

NEUE BISARYLMETHANON-DERIVATE ALS FLT3- INHIBITOREN UND „PROTEOLYSIS TARGETING CHIMERAS“ (PROTACs) SYNTHESE UND BIOLOGISCHE TESTUNG

DISSERTATION

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

der Fakultät für Chemie und Pharmazie

der Universität Regensburg



Lukas Wirth

aus Neusäß

2023

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Juni 2017 bis April 2023 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Siavosh Mahboobi am Institut für Pharmazie der Fakultät für Chemie und Pharmazie der Universität Regensburg angefertigt.

Das Promotionsgesuch wurde eingereicht im April 2023.

Tag der mündlichen Prüfung:

Prüfungsausschuss:

Prof. Dr. S. Elz	(Vorsitzender)
Prof. Dr. S. Mahboobi	(Erstgutachter)
Prof. Dr. J. Heilmann	(Zweitgutachter)
Prof. Dr. J. Wegener	(Drittprüfer)

Danke.

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei allen bedanken, die mich während der Promotionszeit begleitet und unterstützt haben:

Bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Siavosh Mahboobi, für das interessante Dissertationsthema und die fachliche Unterstützung während der gesamten Promotionszeit. Besonders bedanken möchte ich mich auch für den stets verständnisvollen und menschlichen Umgang.

Bei Herrn Prof. Dr. Sigurd Elz für die Möglichkeit, eine Promotion an seinem Lehrstuhl durchführen zu können, und bei Prof. Dr. Dr. Wolfgang Wiegand für die kritische Durchsicht dieser Arbeit sowie verschiedener Publikationsmanuskripte.

Bei Herrn Prof. Dr. Jörg Heilmann für die Erstellung eines Zweitgutachtens und seiner Teilnahme am Prüfungsausschuss und bei Herrn Prof. Dr. Joachim Wegener für seine Bereitwilligkeit, das Amt des Drittprüfers zu übernehmen.

Bei Herrn Prof. Dr. Karsten Spiekermann (Ludwig-Maximilians-Universität München), bei Herrn Prof. Dr. Heinz-Herbert Fiebig (4HF Biotec Freiburg) und bei Herrn Prof. Dr. Bernhard Küster (Technische Universität München) für Kooperationen und fachliche Unterstützung.

Bei Marina Able (Ludwig-Maximilians-Universität München) für die Durchführung einiger zellulären Testungen, bei Prof. Dr. Stefan Dove (Universität Regensburg) für die Durchführung der Studien zum Molecular Modeling, bei Dr. Maria Reinecke (Technische Universität München) für die Durchführung des Kinobead-Assays und bei Dr. Kirsten Utpatel (Universität Regensburg) für die Durchführung der histologischen Untersuchungen.

Bei Dr. Herwig Pongratz und Julia Blüml für die Unterstützung bei Synthese und Laborarbeit und für das angenehme Arbeitsumfeld, auch in Mittagspausen und bei abendlichen Aktivitäten.

Bei Dr. Andreas Sellmer mit seiner hilfsbereiten Art für wertvolle Anregungen bezüglich Synthesen und Informationen zur biologischen Evaluierung, sowie Hilfe beim Schreiben wissenschaftlicher Arbeiten.

Bei meinen ehemaligen und derzeitigen Kollegen Franziska Naporra, Elisabeth Grünstein, Sebastian Pitzl, Steffen Pockes, Aurelia Elz, Niklas Rosier, Martin Nagl, Merlin Bresinsky, Alexander Hubmann und Jonas Daschner und vor allem meinem langjährigen Laborkollegen Simon Scheuerer für ein ausgezeichnetes Arbeitsklima während der gesamten Dissertation.

Bei allen ehemaligen und derzeitigen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Lehrstuhls Pharmazeutische und Medizinische Chemie II und allen Auszubildenden, die im Rahmen ihrer Ausbildung zu dieser Arbeit beigetragen haben.

Bei allen Mitarbeitern der analytischen Abteilung der Universität Regensburg, insbesondere Fritz Kastner für die Aufnahme von NMR-Spektren, sowie Josef Kiermaier und Wolfgang Söllner für die Aufnahme von MS-Daten.

Bei Uta Hasselmann für das Management aller organisatorischer Probleme.

Bei meinen Freunden, die mich durch das Studium und die Doktorarbeit begleitet haben, insbesondere Andreas Graml, Alexander Wimmer, Alexander Dietz, Benjamin Zeller, Tobias Luxenhofer, Christian Mayer, Manuel Brunner, Matthias Schmalzbauer und Thomas Weinbender, sowie Monika Enzinger, Sina Malenke, Florian Ridders, Rainer Herzog, Sebastian Schlegel und Grigor Gurzadyan.

Bei meinen Bandkollegen Martin Killisperger, Simon Weis und Manuel Maier; sowie meinen BiersBiersBiers-Freunden Michael Schimpke, Benedikt Betscher, Alexander Pahr, Stefan Wittstruck, Tobias Guß und Patrick Matern für unzählige lustige Momente und schöne Zeiten.

Bei meinen langjährigen Freunden Jonas Welsch, Roland Kießling, Adriana Ostertag und Michael Dobkowitz für schöne gemeinsame Erlebnisse abseits der Universität.

Bei meinen Kollegen vom großen, edlen und einzig wahren HSV für sportliche Erfolge und fußballerische Höhepunkte.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Familie, meinen Eltern Doris und Richard und meinen Schwestern Lena, Anna und Kathi.

Vor allem möchte ich mich bei Denise Mönnich für ihre unermessliche Geduld, Hilfe und Rückhalt auch in den schwierigen Phasen der letzten Jahre bedanken.

INHALTSVERZEICHNIS

1.	Einleitung.....	1
1.1.	Hämatopoese	2
1.2.	Leukämien	3
1.2.1.	Allgemeines	3
1.2.2.	Statistik	3
1.2.3.	Klassifizierung	4
1.3.	Akute Myeloische Leukämie.....	6
1.3.1.	Entstehung.....	6
1.3.2.	Ursachen und Symptome	6
1.3.3.	Zahlen und Daten	7
1.3.4.	Diagnose und Klassifikation.....	7
1.3.5.	Therapie und Prognose	9
1.4.	Proteinkinasen.....	11
1.5.	Rezeptortyrosin-Kinasen	12
1.6.	FMS-like Tyrosinkinase 3	14
1.6.1.	Allgemeines	14
1.6.2.	Aufbau	14
1.6.3.	FLT3-Ligand.....	16
1.6.4.	Regulation.....	16
1.6.5.	Nachgeschaltete Signalwege	18
1.7.	FLT3 in der Hämatopoese.....	20
1.7.1.	Signaltransduktion.....	20
1.7.2.	Arten von Mutationen.....	20
1.7.3.	Folgen der Mutationen.....	21
1.8.	FLT3-Inhibitoren	23
1.8.1.	Inhibition von FLT3	23
1.8.2.	Einteilung.....	24
1.8.3.	Beispiele	24
1.8.4.	Bindemodus.....	28
1.9.	Resistenzen.....	31
1.9.1.	Entstehung von Resistenzen.....	31
1.9.2.	Überwindung von Resistenzen	32
1.9.3.	Kovalente Inhibitoren	32

1.10.	PROTACs	35
1.10.1.	Allgemeines	35
1.10.2.	Aufbau	35
1.10.3.	Wirkungsweise	36
1.10.4.	Vorteile	37
1.10.5.	Bausteine für Ubiquitin-Ligasen	37
1.10.6.	PROTAC-Strategie für FLT3	38
2.	Chemischer Teil	39
2.1.	Stand der Forschung.....	40
2.2.	Ziel der Arbeit	42
2.3.	Marbotinib 20 und Marbotinib-Carbamat 21	46
2.3.1.	Synthese Marbotinib 20	46
2.3.2.	Synthese Marbotinib-Carbamat 21	49
2.4.	Grundstruktur I.....	51
2.4.1.	Kopfgruppe 1	51
2.4.2.	Kopfgruppe 2	52
2.4.3.	Kopfgruppe 3	53
2.5.	Grundstruktur II.....	55
2.6.	Grundstruktur III.....	57
2.7.	Grundstruktur IV.....	62
2.7.1.	Methylgruppe	62
2.7.2.	Morpholin.....	63
2.7.3.	Dimer	71
2.7.4.	Weitere Versuche.....	73
2.8.	Grundstruktur V.....	74
2.8.1.	Methylgruppe	74
2.8.2.	Verbindungen ohne Linker	76
2.8.3.	CH ₂ -Verbindung	76
2.9.	Grundstruktur VI.....	81
2.9.1.	Kopfgruppe a	82
2.9.2.	Kopfgruppe b	99
2.9.3.	Kopfgruppe c	100
2.9.4.	Kopfgruppe d	103
2.9.5.	Kopfgruppe e	104
2.9.6.	Kopfgruppe f und zusätzliche Versuche	107

2.10.	Grundstruktur VII.....	109
2.10.1.	Synthese der Carbamate	109
2.10.2.	Synthese der Hydrochloride	110
2.10.3.	Kontrolle der Protonierung und Analyse des Protonierungsgrades	110
2.11.	Grundstruktur VIII.....	113
2.12.	PROTACs	119
2.12.1.	Allgemeine Strukturübersicht	119
2.12.2.	Linker und Vorversuche.....	119
2.12.3.	Zielprotein-bindender Ligand	125
2.12.4.	E3-Ligase-spezifischer Ligand	128
2.12.5.	Versuche zur Synthese von PROTACs.....	132
3.	Pharmakologischer Teil	135
3.1.	Enzym-Inhibitions-Assay.....	136
3.1.1.	Allgemeines und Referenzen.....	137
3.1.2.	Marbotinib 20 und Marbotinib-Carbamat 21	138
3.1.3.	Grundstrukturen I-V	139
3.1.4.	Grundstruktur VI.....	142
3.1.5.	Grundstruktur VII.....	146
3.1.6.	Auswertung	147
3.2.	Evaluation der Wirkstoffe in zellulären Systemen	149
3.2.1.	Proliferations-Assay mit MV4-11-Zellen.....	150
3.2.2.	Proliferations-Assay mit Ba/F3 pMIY-Mutanten	152
3.2.3.	Apoptose-Assay mit Ba/F3 pMIY-Mutanten.....	156
3.2.4.	Selektivität in einem zellulären System.....	158
3.3.	Selektivität.....	161
3.3.1.	Kinaseprofil.....	162
3.3.2.	Phosphorylierungs-Assay in zellulären Systemen	164
3.3.3.	Kinobead-Assay	166
3.4.	Bindemodus.....	173
3.4.1.	Molecular Modeling	174
3.4.2.	Kristallisation im Rezeptor.....	178
3.5.	Löslichkeitstest	180
3.6.	<i>In vivo</i> -Charakterisierung	185
3.6.1.	Marbotinib 20 und Marbotinib-Carbamat 21c.....	186
3.6.2.	Voruntersuchungen und Überlegungen bezüglich 150c und 214c	188

3.6.3.	Untersuchungen zur Tolerabilität von 150c und 214c	188
3.6.4.	Untersuchungen zur Wirksamkeit von 150c	193
3.6.5.	Histologie.....	202
3.7.	Ergebnisse und Vergleiche	204
4.	Zusammenfassung und Ausblick	207
5.	Chemisch-Experimenteller Teil.....	217
5.1.	Allgemeine Angaben.....	218
5.2.	Allgemeine Arbeitsvorschriften.....	221
5.2.1.	Allgemeine Vorschrift 1 (AV1): Phenylsulfonyl-Schätzung.....	221
5.2.2.	Allgemeine Vorschrift 2 (AV2): Acetylierung.....	221
5.2.3.	Allgemeine Vorschrift 3 (AV3): α -Bromierung	221
5.2.4.	Allgemeine Vorschrift 4 (AV4): Ringschluss zum Benzofuran	222
5.2.5.	Allgemeine Vorschrift 5 (AV5): Phenylsulfonyl-Entschätzung	222
5.2.6.	Allgemeine Vorschrift 6 (AV6): Boc-Entschätzung	222
5.2.7.	Allgemeine Vorschrift 7 (AV7): Hydrierung	222
5.2.8.	Allgemeine Vorschrift 8 (AV8): Darstellung der Bisarylharstoff-Einheit	222
5.2.9.	Allgemeine Vorschrift 9 (AV9): Darstellung eines Carbamats.....	223
5.2.10.	Allgemeine Vorschrift 10 (AV10): Bildung eines Hydrochlorids	223
5.2.11.	Allgemeine Vorschrift 11 (AV11): Säureamide	223
5.2.12.	Allgemeine Vorschrift 12 (AV12): Acylchloride	225
5.2.13.	Allgemeine Vorschrift 13 (AV13): Alkylierung am Indol-N	225
5.2.14.	Allgemeine Vorschrift 14 (AV14): Bildung der Aminomethylverbindungen	225
5.2.15.	Allgemeine Vorschrift 15 (AV15): Freisetzung einer Carbonsäure.....	226
5.2.16.	Allgemeine Vorschrift 16 (AV16): Aromaten-Nitrierung	226
5.2.17.	Allgemeine Vorschrift 17 (AV17): Alkylierung eines aromatischen Alkohols.....	226
5.2.18.	Allgemeine Vorschrift 18 (AV18): Verseifung.....	226
5.2.19.	Allgemeine Vorschrift 19 (AV19): Ringschluss zum Benzofuran	227
5.2.20.	Allgemeine Vorschrift 20 (AV20): Radikalische Bromierung	227
5.2.21.	Allgemeine Vorschrift 21 (AV21): Nukleophile Substitution	227
5.2.22.	Allgemeine Vorschrift 22 (AV22): Silyl-Schätzung.....	227
5.2.23.	Allgemeine Vorschrift 23 (AV23): Reduktive Aminierung	227
5.2.24.	Allgemeine Vorschrift 24 (AV24): Zyklisierung Benzimidazol.....	228
5.2.25.	Allgemeine Vorschrift 25 (AV25): Zyklisierung zum Alkohol	228
5.2.26.	Allgemeine Vorschrift 26 (AV26): Verseifung <i>tert</i> -Butyl-Ester	228
5.2.27.	Allgemeine Vorschrift 27 (AV27): Darstellung Azid	228

5.2.28.	Allgemeine Vorschrift 28 (AV28): Click-Reaktion	229
5.3.	Marbotinib und Marbotinib-Carbamat	230
5.4.	Grundstruktur I.....	240
5.5.	Grundstruktur II.....	251
5.6.	Grundstruktur III.....	253
5.7.	Grundstruktur IV.....	266
5.7.1.	Methylgruppe	266
5.7.2.	Morpholin.....	268
5.7.3.	Dimer	270
5.7.4.	Weitere Versuche.....	272
5.8.	Grundstruktur V.....	275
5.8.1.	Methylgruppe	275
5.8.2.	Verbindungen ohne Linker	278
5.8.3.	CH ₂ -Verbindung	280
5.9.	Grundstruktur VI.....	292
5.9.1.	Kopfgruppe a – Synthese der Amine	292
5.9.2.	Kopfgruppe a – Synthese der Produkte.....	297
5.9.3.	Kopfgruppe a – Boc-Entschützungs-Reaktionen	307
5.9.4.	Kopfgruppe a – Synthese der Hydrochloride	308
5.9.5.	Kopfgruppe b	310
5.9.6.	Kopfgruppe c	314
5.9.7.	Kopfgruppe d – Synthese der Produkte	324
5.9.8.	Kopfgruppe d – Boc-Entschützungs-Reaktion und Synthese von Enon-Systemen .	326
5.9.9.	Kopfgruppe e	327
5.9.10.	Zusätzliche Versuche	340
5.10.	Grundstruktur VII.....	342
5.10.1.	Synthese der Carbamate	342
5.10.2.	Synthese der Hydrochloride	348
5.11.	Grundstruktur VIII.....	350
5.12.	PROTACs	357
5.12.1.	Linker	357
5.12.2.	Zielprotein-bindende Liganden	361
5.12.3.	E3-Ligase-spezifische Liganden.....	370
5.12.4.	PROTACs	376
6.	Pharmakologisch-Experimenteller Teil.....	379

6.1.	Enzym-Inhibitions-Assay.....	380
6.2.	Evaluation der Wirkstoffe im zellulären System	381
6.2.1.	Zelllinien	381
6.2.2.	Zellkultur.....	381
6.2.3.	Proliferations-Assays	381
6.2.4.	Apoptose-Assay	382
6.2.5.	Phosphorylierungs-Assay	382
6.3.	Selektivität.....	384
6.3.1.	Kinaseprofil.....	384
6.3.2.	Kinobead-Assay	384
6.4.	Bindemodus.....	386
6.5.	Löslichkeitstests.....	387
6.6.	<i>In vivo</i> -Charakterisierung	388
6.6.1.	<i>In vivo</i> -Tolerabilitäts- und Wirksamkeitsstudien.....	388
6.6.2.	Histologie.....	388
7.	Anhang.....	389
7.1.	Formelübersicht	390
7.2.	NMR-Spektren	397
7.3.	Abbildungsverzeichnis.....	411
7.4.	Tabellenverzeichnis	420
7.5.	Literaturverzeichnis	423
7.6.	Eidesstattliche Erklärung	481

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Neben den gängigen physikalischen und chemischen Abkürzungen werden folgende Abkürzungen im Laufe dieser Arbeit verwendet:

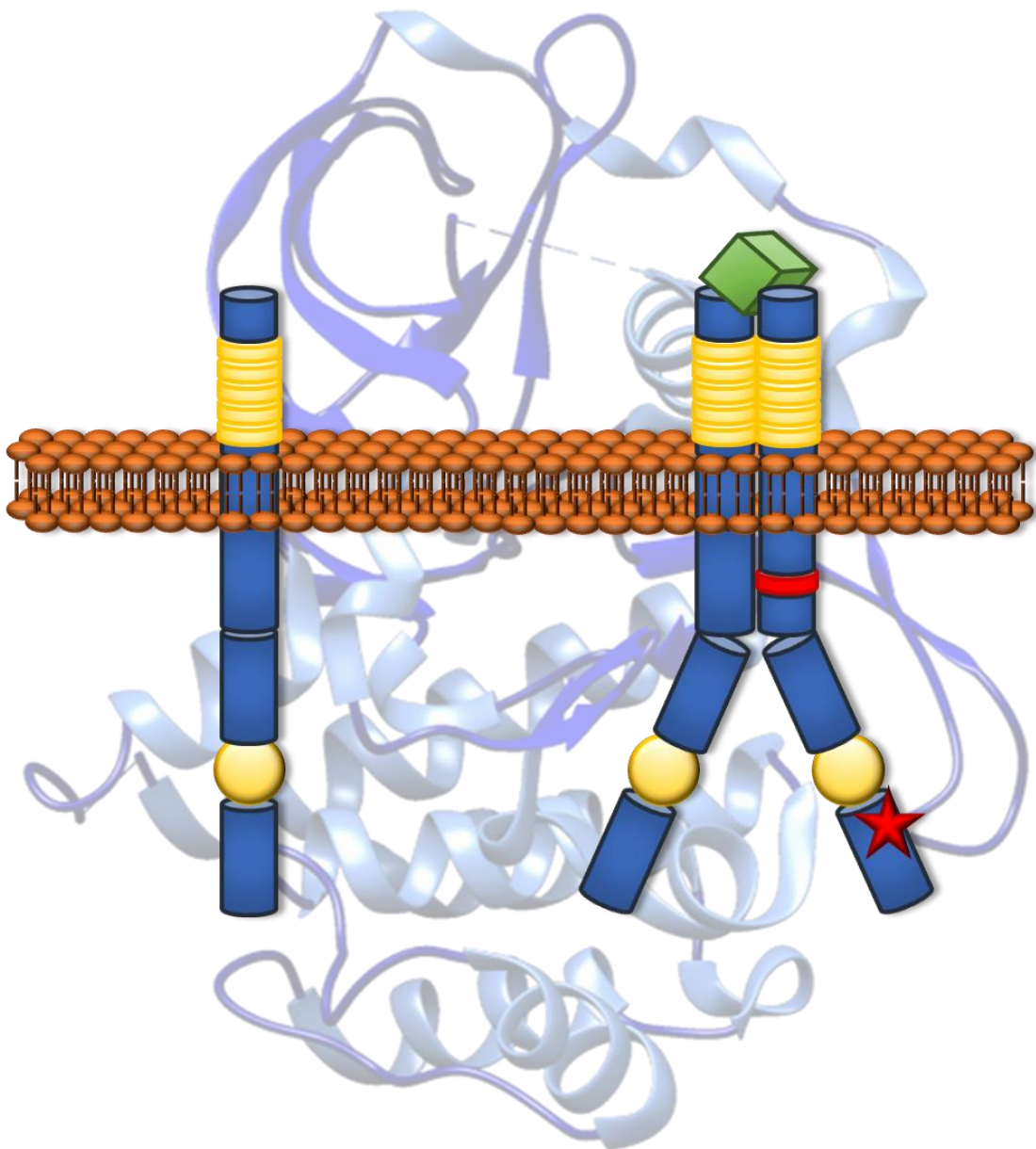
Å	Angström
Abb.	Abbildung
AcOAc	Essigsäureanhydrid
ADP	Adenosindiphosphat
AGC	Automatische Verstärkungsregel, <i>engl.</i> automatic gain control
AIBN	Azobis(isobutyronitril)
AKT	Proteinkinase B
ALL	Akute Lymphatische Leukämie
AML	Akute Myeloische Leukämie
AML1	Protein der akuten myeloischen Leukämie 1
ATCC	American Type Culture Collection
ATP	Adenosintriphosphat
AV	Allgemeine Vorschrift
AXL	Durch das AXL-Gen codiertes Protein
Bn	Benzyl
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
BOP	Benzotriazolylxytris(dimethylamino)phosphoniumhexafluorophosphat
br	Breit
BTK	Bruton-Tyrosinkinase
BuLi	Butyllithium
CAMK	Ca ²⁺ /Calmodulin-abhängige Proteinkinase
CCK	Kolonkarzinom-Kinase, <i>engl.</i> colon carcinoma kinase
CDI	1,1'-Carbodiimidazol
CDK	Cyclin-abhängige Kinase, <i>engl.</i> Cyclin-dependent kinase
CDX	Cell line-derived xenograft
CEPBA	CCAAT/Enhancer-bindendes Protein alpha, <i>engl.</i> CCAAT/enhancer-binding protein alpha
CK1	Caseinkinase 1
CLAE	Chloracetatesterase
CLL	Chronische Lymphatische Leukämie
CML	Chronische Myeloische Leukämie
COSY	Correlation Spectroscopy
CSF1R	Rezeptor für koloniestimulierenden Faktor 1, <i>engl.</i> colony stimulating factor 1 receptor
CuAAC	Kupfer-katalysierte Azid-Alkin-Cycloaddition
d	Dublett
DAPI	4',6-Diamidin-2-phenylindol
DBU	Diazabicycloundecen
DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
DCM	Dichlormethan
dd	Dublett von Dubletts
ddd	Dublett von Dubletts von Dubletts
DDR	Discoidin-Domänen-Rezeptor
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin

DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen
dt	Dublett von Triplets
DTT	Dithiothreitol
EA	Ethylacetat
EC ₅₀	Mittlere effektive Konzentration
EDC*HCl	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid Hydrochlorid
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EGFR	Rezeptor für den epidermalen Wachstumsfaktor, <i>engl.</i> epidermal growth factor receptor
EI	Elektronenionisation
ELISA	Enzymgekoppelter Immunadsorptionstest, <i>engl.</i> enzyme-linked immunosorbent Assay
eq.	Äquivalente, <i>engl.</i> equivalents
ERK	Extrazellulär-signalgesteuerte Kinasen, <i>engl.</i> extracellular-signal regulated kinases
ESI	Elektrosprayionisation
EWG	Elektronenziehende Gruppe, <i>engl.</i> electron-withdrawing group
FAB	French-American-British
FBS/FCS	Fetales Kälberserum, <i>engl.</i> fetal bovine serum/ fetal calf serum
FDA	US Food and Drug Administration
FFPE	Formalin-fixiertes Paraffin-eingebettetes Gewebe, <i>engl.</i> formalin-fixed paraffin-embedded tissue/ formaldehyde-fixed paraffin-embedded tissue
FL	FLT3-Ligand
FLK-2/FLK2	Fetale Leberkinase 2, <i>engl.</i> fetal liver kinase 2
FLT3	FMS-ähnliche Tyrosinkinase 3, <i>engl.</i> FMS-like Tyrosin kinase 3
GCT-TS	Riesenzell-Tumoren der Sehnenscheide, <i>engl.</i> giant cell tumor of the tendon sheath
GM-CSF	Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor/ Granulozyten-Monozyten-Kolonie-stimulierender Faktor, <i>engl.</i> granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
GPCR	G-Protein gekoppelter Rezeptor, <i>engl.</i> G-Protein coupled receptor
GSK3	Glykogensynthase-Kinase 3
HATU	O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-hexafluorphosphat
HCC	Leberzellkarzinom, <i>engl.</i> hepatocellular carcinoma
HDAC	Histon-Deacetylase
Her2	Menschlicher epidermaler Wachstumsfaktor-Rezeptor 2, <i>engl.</i> human epidermal growth factor receptor 2
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HRMS	High Resolution Mass Spectrometry
HSC	Hämatopoetische Stammzellen, <i>engl.</i> hematopoietic stem cells
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
IC ₅₀	Mittlere inhibitorische Konzentration
IL-3	Interleukin-3
IMDM	Iscove's Modified Dulbecco's Medium
IP	Intraperitoneal
IR	Infrarotspektrometrie
ITD	Interne Tandem-Duplikation
J	Kopplungskonstante
JAK	Januskinase
JMD	Juxtamembran-Domäne

K _d	Dissoziationskonstante
KD	Kinasedomäne
KI	Kinaseinsert
konz.	konzentriert
Lit.	Literatur
LM	Lösungsmittel
LRMS	Low-Resolution Mass Spectrometry
m	Multipllett
M	Molekulargewicht
m/z	Verhältnis Masse/Ladung
MAPK	Kinase der Mitogen-aktivierten Proteinkinase, <i>engl.</i> mitogen-activated protein kinase
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MEF	Murine embryonale Fibroblasten
MEK/MAP2K	Mitogen-aktivierte Proteinkinase-Kinase
MetAP2	Methionin-Aminopeptidase 2
MPO	Myeloperoxidase
MS	Massenspektrometrie
MTD	Maximale verträgliche Dosis, <i>engl.</i> maximum tolerable dose
mTOR	Abkürzung für: mechanistisches Ziel von Rapamycin, <i>engl.</i> mechanistic target of Rapamycin
NaOAc	Natriumacetat
NBS	N-Bromsuccinimid
NCE	Normalisierte Kollisionsenergie, <i>engl.</i> normalized collision energy
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
NMR	Kernspinresonanz, <i>engl.</i> nuclear magnetic resonance
NOD	Non-Obese Diabetes
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
NPM	Nucleophosphim
NSCLC	Nicht-kleinzelliger Lungenkrebs, <i>engl.</i> non-small-cell lung cancer
NSG	NOD-SCID-Gamma
p	Pentett
p.a.	Pro analysi
PBS	Phosphat-gepufferte Salzlösung, <i>engl.</i> phosphate-buffered saline
PDB	Proteindatenbank
PDGFR	Thrombozyten-Wachstumsfaktor-Rezeptor, <i>engl.</i> platelet-derived growth-factor receptor
PE	Petrolether
PEG	Polyethylenglykol
PGM1	Phosphoglucomutase-1
PI3K	Phosphoinositid-3-Kinasen
PKA	Proteinkinase A
PKC	Proteinkinase C
PKG	Proteinkinase G
PO	Peroral
POI	<i>engl.</i> protein of interest
ppm	Parts per million
PROTAC	Auf Proteolyse abzielende Chimäre, <i>engl.</i> proteolysis targetting chimera
PTFE	Polytetrafluorethylen
q	Quartett
RAF	<i>engl.</i> Abkürzung für: rapidly accelerated fibrosarcoma oder rat fibrosarcoma
RAS	<i>engl.</i> Abkürzung für: rat sarcoma
RC	Regenerierte Cellulose

RCC	Nierenzellkarzinom, <i>engl.</i> renal cell carcinoma
RET	<i>engl.</i> Abkürzung für: rearranged during transfection
R _f	Retentionsfaktor
ROESY	Rotating-frame nuclear Overhauser effect correlation spectroscopy
RP-HPLC	Reversed phase HPLC
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
RT	Raumtemperatur
RTK	Rezeptor-Tyrosinkinase
s	Singulett
SC	Säulenchromatographie
SCF	Stammzellfaktor, <i>engl.</i> stem cell factor
SCID	Severe Combined Immuno-Deficiency
SEER	Surveillance, Epidemiology and End Results
Smp.	Schmelzpunkt
Src/c-Src	<i>engl.</i> Abkürzung für: cellular sarcoma
STAT	Signalgeber und Aktivator der Transkription, <i>engl.</i> signal transducer and activator of transcription
STK	Serin/Threonin-Kinase
SYK	Milz-Tyrosinkinase, <i>engl.</i> spleen tyrosin kinase
t	Triplett
t ₀	Totzeit
T	Temperatur
TBAB	Tetrabutylammoniumbromid
TBV	Gesamtblutvolumen, <i>engl.</i> total blood volume
TFA	Trifluoressigsäure
TGCT	Tenosynovialer Riesenzelltumor, <i>engl.</i> tenosynovial giant cell tumor
THF	Tetrahydrofuran
TK	Tyrosinkinase
TKD	Tyrosinkinase-Domäne
TKL	Tyrosinkinase-ähnlich, <i>engl.</i> tyrosinkinase-like
TMD	Transmembran-Domäne
TOCSY	Total correlation Spektroskopie
TrK	Tropomyosinrezeptorkinase
t _R	Retentionszeit
UPS	Ubiquitin-Proteasom-System
VEGFR	Rezeptor für den vaskulären endothelialen Wachstumsfaktor, <i>engl.</i> vascular endothelial growth factor receptor
verd.	Verdünnt
VHL	Von Hippel-Lindau-Protein
WT	Wild-Typ
WHO	Weltgesundheitsorganisation, <i>engl.</i> world health organisation

1. EINLEITUNG



1.1. HÄMATOPOESE

Als Stammzellen werden Zellen bezeichnet, aus denen verschiedene Zelltypen erzeugt werden können. Durch Zellteilung generieren Stammzellen einerseits Tochterzellen, die eine identische Kopie der Mutterzelle darstellen und andererseits reife differenzierte Zellen, die spezifische Aufgaben im Organismus übernehmen.^{1; 2} Die Differenzierung multipotenter hämatopoetischer Stammzellen (HSC, *engl.* hematopoietic stem cell) zu verschiedenartigen reifen Blutzellen wird als Hämatopoese bezeichnet, die bei Erwachsenen im Knochenmark und in lymphatischen Organen stattfindet (Abb. 1). Aus multipotenten HSCs entwickeln sich letztlich alle Zellen des hämatopoetischen Systems, wobei sich die Stammzellen in einem ersten Schritt in lymphatische oder myeloische Vorläuferzellen differenzieren. Aus lymphatischen Vorläuferzellen entwickeln sich während der Hämatopoese natürliche Killerzellen (NK-Zellen) und Lymphozyten, die in B- und T-Zellen klassifiziert werden. Aus den myeloischen Vorläuferzellen entwickeln sich Erythrozyten, Thrombozyten, Monozyten und Granulozyten, die sich weiter in basophile, eosinophile und neutrophile Granulozyten unterteilen lassen. HSCs besitzen ein Selbsterneuerungspotential, das eine stetige Neubildung der zellulären Bestandteile des Blutes gewährleistet.³⁻⁵

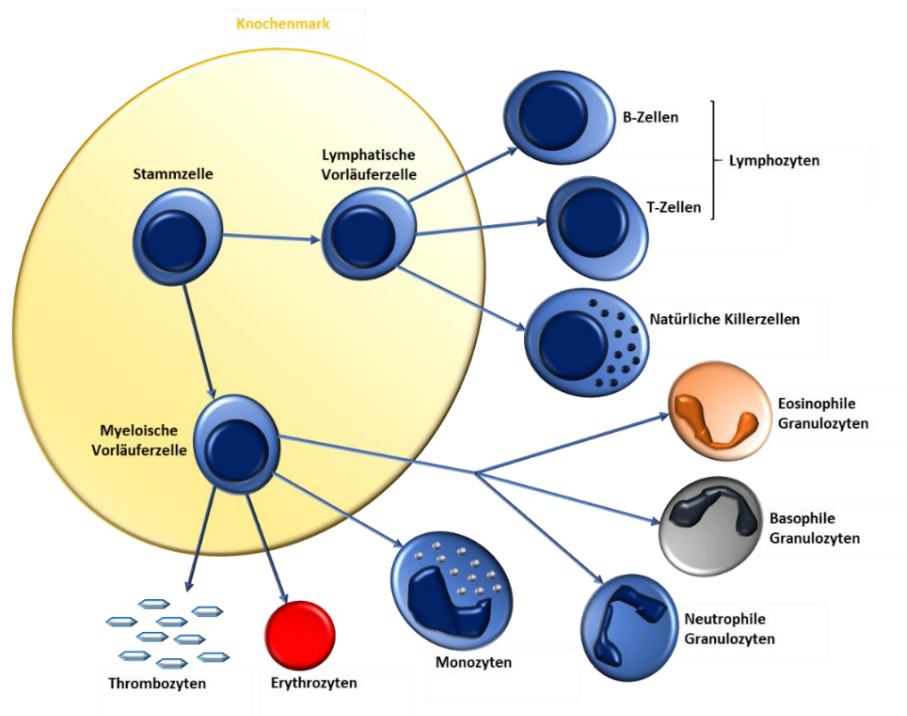


Abb. 1: Überblick über die normale Hämatopoese.³

Während Erythrozyten für den Transport von Sauerstoff zuständig sind, spielen Leukozyten eine wichtige Rolle bei der Immunabwehr, und Thrombozyten sind für die Blutgerinnung von Bedeutung.^{6; 7}

1.2. LEUKÄMIEN

1.2.1. Allgemeines

Leukämien sind eine heterogene Gruppe von Krebserkrankungen des blutbildenden Systems. Diese unterscheiden sich teilweise stark hinsichtlich ihrer Ursachen, ihrer Häufigkeit, ihrer Behandlungsmöglichkeiten und ihrer Heilungschancen.⁶⁻⁸ Die Symptomatik der Leukämie war bereits seit *Hippokrates* bekannt und wurde erstmals zwischen 1839 und 1845 als eigenes Krankheitsbild beschrieben.⁹ Die Bezeichnung selbst geht auf den deutschen Arzt *Rudolf Virchow* zurück, der die Erkrankung 1847 aufgrund von Beobachtungen der Blutzusammensetzung einer Patientin, die eine Erhöhung der weißen Blutkörperchen im Blutbild aufwies, als Weißblütigkeit (*altgr.* λευκός *leukós* = weiß, αἷμα *haima* = Blut) beschrieb.¹⁰⁻¹² Grundsätzlich liegt eine Entartung früher Vorläuferzellen der normalen Blutbildung vor, wobei die leukämischen Zellen ihre Fähigkeit zur Ausreifung verlieren. Eine klonale Vermehrung unreifer Blutzellen mit einer gesteigerten Proliferationsaktivität und einer Differenzierungsstörung führt mit der Zeit zum Mangel an funktionsfähigen Blutzellen. Somit kommt es zur Verdrängung der regulären Hämatopoese und zur vermehrten Ausschwemmung dieser unreifen Blutzellen ins periphere Blut und damit sehr rasch in weitere Organe des Organismus.^{13, 14}

1.2.2. Statistik

In Deutschland wurden 2018 fast 500 000 Krebs-Neuerkrankungen registriert (Frauen: 232 700, Männer: 265 200) und ähnliche Zahlen für das Jahr 2022 prognostiziert (Frauen: 235 900, Männer: 274 300, für August 2022). Der Anteil der Leukämien an allen Krebsneuerkrankungen lag dabei im Jahr 2018 bei 2.3% (Frauen) bzw. 2.6% (Männer) und der Anteil der Todesfälle durch Leukämien an allen Krebssterbefällen bei 3.5% (Frauen) bzw. 3.7% (Männer) (s. Abb. 2A und B).¹⁵

Einleitung

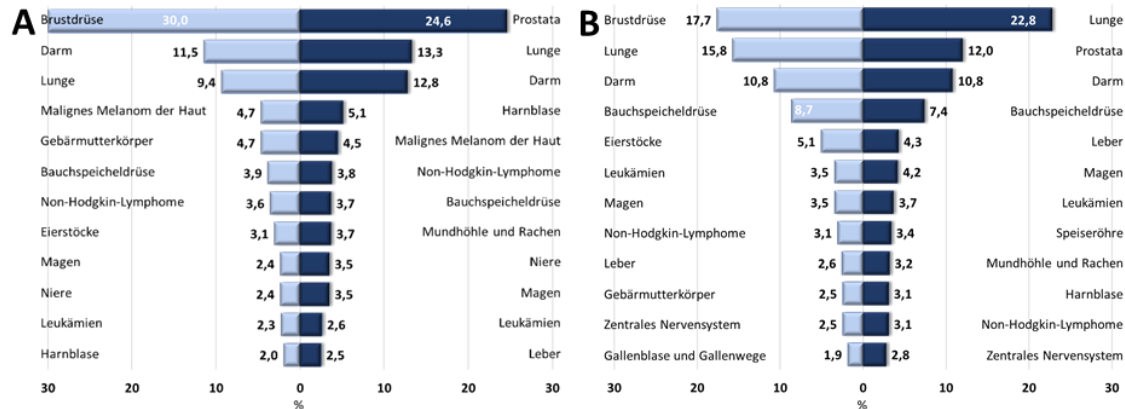


Abb. 2: (A) Prozentualer, organspezifischer und nach Geschlechtern getrennter Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an der Anzahl aller Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2018. (B) Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an der Anzahl aller Krebssterbefällen in Deutschland 2018. In beiden Diagrammen sind die Zahlen für Frauen in Hellblau, für Männer in Dunkelblau dargestellt.¹⁵

1.2.3. Klassifizierung

Leukämien können entspr. der Herkunft ihrer malignen Zellen eingeteilt und lymphatische und myeloische Leukämien unterschieden werden. Myeloische Leukämien entstehen aus den Vorstufen der Granulozyten, lymphatische Leukämien aus den Vorstufen der Lymphozyten. Weiterhin können Leukämien akut oder chronisch auftreten, wobei akute Fälle schnell verlaufen und chronische Leukämien schleichend voranschreiten und deshalb oft relativ spät erkannt werden. Akute Fälle sind mit schweren Krankheitsverläufen assoziiert und führen unbehandelt meist in relativ kurzer Zeit zum Tod.¹⁶ Zusammenfassend werden die Akute Myeloische Leukämie (AML), die Akute Lymphatische Leukämie (ALL), die Chronisch Myeloische Leukämie (CML) und die Chronisch Lymphatische Leukämie (CLL) unterschieden. Daneben existiert noch die Klasse myelodysplastischer Syndrome (MDS).^{17–20}

Betrachtet man deutschlandweit alle Fälle von leukämischen Neuerkrankungen nach Geschlechtern getrennt, handelt es sich bei Frauen bei 7% aller Fälle um ALL, bei 34% um CLL, bei 27% um AML, bei 9% um CLL, und auf sonstige Leukämieformen fallen 24%. Bei den Männern werden 7% aller Neuerkrankungen der ALL zugeschrieben, 38% der CLL, 22% der AML, 8% der CML, und bei 25% handelt es sich um sonstige Leukämieformen.¹⁵ Die ALL betrifft vor allem junge Erwachsene, während sich eine AML vor allem bei Älteren entwickelt. Erfasst man das relative 5-Jahres-Überleben, eingeteilt nach Form der Leukämie und dem Geschlecht, zeigt sich, dass chronische Leukämien mit einer deutlich besseren Prognose verbunden sind als akute Formen (Abb. 3). Außerdem wird ersichtlich, dass gerade die AML im Vergleich zu anderen Leukämieformen mit deutlich schlechteren Prognosen verbunden ist.¹⁵

Einleitung

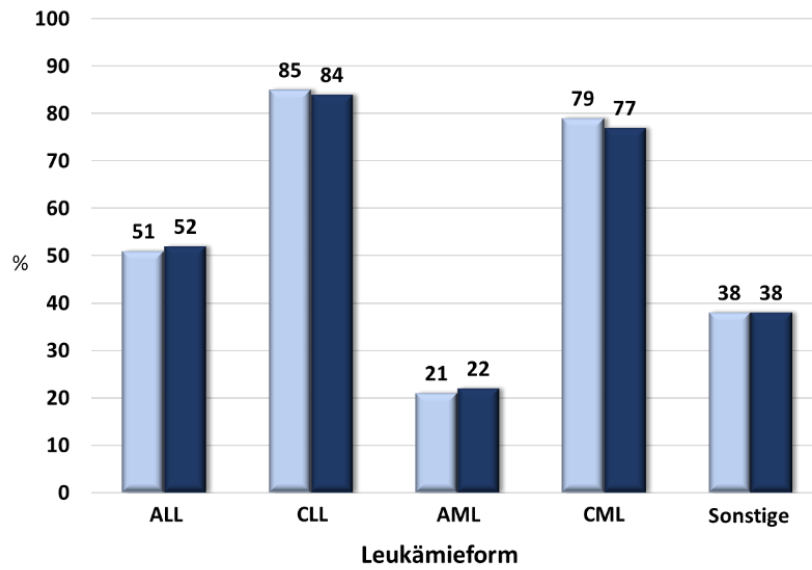


Abb. 3: Relatives 5-Jahres-Überleben eingeteilt nach Form der Leukämie und Geschlecht. Die Daten beziehen sich auf die Jahre 2017 und 2018. Zahlen für Frauen in Hellblau, für Männer in Dunkelblau.¹⁵

1.3. AKUTE MYELOISCHE LEUKÄMIE

1.3.1. Entstehung

Bei AML handelt es sich um eine Gruppe bösartiger Tumorerkrankung des blutbildenden Systems mit einer Transformation myeloischer Vorläuferzellen.²¹ Die Leukämieform gehört zu den häufigsten malignen Erkrankungen des blutbildenden Systems im Erwachsenenalter und zeichnet sich durch eine erhöhte Anzahl myeloider unreifer Zellen im Knochenmark aus.^{21; 22}

Da es sich bei der Leukämogenese um einen mehrstufigen, über Jahre andauernden Prozess handelt, geht man in Anlehnung an die „2-Hit-Hypothese“ davon aus, dass zur Entstehung einer AML mindestens zwei verschiedene Arten von Mutationen gleichzeitig vorliegen müssen.^{23–25} Einerseits muss durch eine Mutation die Proliferation gefördert werden (Typ I), andererseits muss die Fähigkeit zur Differenzierung verloren gehen (Typ II).^{26–28} Typ I-Mutationen aktivieren Signalwege, die durch Kinasen gesteuert sind. Beispielsweise aktivieren Mutationen in FLT3 (FMS-like Tyrosinkinase 3) oder c-KIT konstitutiv für ständiges und unkontrolliertes proliferatives Verhalten hämatopoetischer Vorläuferzellen. Typ II-Mutationen betreffen Transkriptionsfaktoren und Koaktivatoren der Transkription. Dies betrifft die Differenzierung von myeloischen Progenitor-Zellen, wobei die Gene AML1 (Protein der akuten myeloischen Leukämie 1, *engl.* acute myeloid leukemia 1 protein) und CEBPA (CCAAT/Enhancer-bindendes Protein alpha, *engl.* CCAAT/enhancer binding protein alpha) häufig betroffen sind. Erst durch die Koexistenz genetischer Läsionen beider Klassen kann eine AML entstehen.^{29–35}

1.3.2. Ursachen und Symptome

Bei den meisten Fällen von AML ist die Ursache nicht genau bekannt. Knochenmarksschädigungen durch ionisierende Strahlung, Chemikalien wie Benzol, Tabak oder Zigarettenrauch, Pestizide, sowie alkylierende Substanzen gelten allerdings als Risikofaktoren für die Entwicklung der Erkrankung. Ebenso tritt AML häufiger bei Personen mit hämatologischen Vorerkrankungen auf, und genetische Faktoren spielen eine Rolle. Tritt eine AML-Erkrankung primär und ohne bekannte Ätiologie auf, wird sie als „de novo“ bezeichnet und unterscheidet sich von „sekundären“ AML-Erkrankungen, die durch Beteiligung bestimmter Risikofaktoren, wie einer bereits bestehenden Knochenmarkserkrankung, entstanden sind.^{21; 22; 36–42}

Die Verdrängung der normalen Hämatopoese führt meist zu einer Reihe vielfältiger unspezifischer Symptome, wobei Patienten über Abgeschlagenheit und Niedergeschlagenheit, Blässe, Müdigkeit,

Blutungen, Nachtschweiß, Gewichtsverlust und häufig auftretende Infekte klagen.^{21; 30; 43} Unbehandelt führt die AML innerhalb weniger Monate zum Tod.⁴³

1.3.3. Zahlen und Daten

Die AML tritt mit einer Inzidenz von ca. 4/100 000 Menschen pro Jahr auf, wobei die Zahl der Neuerkrankungen bei den Männern (ca. 60%) höher ist als bei Frauen (ca. 40%).⁴³ Die Erkrankung kann prinzipiell in jedem Lebensalter auftreten, die Inzidenz steigt allerdings mit dem Alter bis zum 85. Lebensjahr stark an, und das mediane Erkrankungsalter bei Erwachsenen lag in Deutschland 2013 bei 71 Jahren.^{15; 44–47} Während die relative Zahl der Neuerkrankungen in den Jahren 2010–2014 laut US-amerikanischem Krebsregister SEER (Surveillance, Epidemiology and End Results Program des National Cancer Institute) bei Personen unter 65 Jahren bei ca. 2/100 000 lag, stieg sie für ältere Menschen auf über 20/100 000. Ebenso verringert sich die Fünf-Jahres-Überlebensrate, die bei Patienten unter 65 Jahren noch bei 40–45% liegt, bei älteren bei 10–15%.^{46;}

48

1.3.4. Diagnose und Klassifikation

Eine Verdachtsdiagnose einer Leukämie kann bereits nach klinischer Untersuchung aufgrund eines Blutbilds gestellt werden, wobei zuerst auf quantitative Veränderungen der Hämatopoese des Patienten geachtet wird. Zur endgültigen Diagnose „AML“ wird das Knochenmark zytologisch oder histologisch mit Hilfe einer Knochenmarkspunktion und eines peripheren Blutausstriches beurteilt. Dadurch kann im Anschluss eine Zuordnung zu einem bestimmten Subtyp folgen.^{49; 50} AML ist aus klinischer und biologischer Sicht eine sehr heterogene Erkrankung.²² Das älteste System zur Einstufung der AML ist die 1976 eingeführte FAB (French-American-British)-Klassifizierung, deren Ordnung auf zytomorphologischen und zytochemischen Merkmalen beruht, die durch immunologische Untersuchungen ergänzt wurden. Eingeteilt wird entspr. der hämatopoetischen Linienzugehörigkeit der Blasten und dem Differenzierungsgrad in die Subgruppen M0–M7. Die FAB-Klassifizierung wurde immer wieder ergänzt.^{51; 52} Diese Einteilung kann allerdings die genetische Vielfältigkeit einer AML nicht ausreichend wiedergeben. Daher wird AML mittlerweile über ein Klassifikationssystem eingeteilt, das von der WHO (Weltgesundheitsorganisation, *engl.* world health organisation) eingeführt wurde und regelmäßig überarbeitet wird. Dabei werden neben morphologischen und zytochemischen Merkmalen auch molekulargenetische und immunologische Merkmale einbezogen, was zu einer besseren Objektivität, Zuverlässigkeit und Validität führen soll.^{50; 53–55} Während bei der FAB-Klassifikation eine AML ab einem Blastengehalt von 30% gegeben war, liegt Leukämie laut WHO-Klassifikation bereits ab einem Infiltrationsgrad des Knochenmarks mit mehr als 20% unreifer Vorläuferzellen

Einleitung

vor. Diese Einteilung wurde 2008 aktualisiert. Dabei wird sowohl anhand zytogenetischer Aberrationen als auch anhand molekularer Marker NPM1 (Nucleophosmin 1) und CEBPA in 4 Kategorien eingeteilt (Tabelle 1).^{53; 55; 56}

Tabelle 1: Einteilung der verschiedenen Kategorien der AML nach der WHO.^{53; 55; 56}

Kategorie der AML
AML mit spezifischen zytogenetischen Veränderungen
AML mit t(8;21)(q22;q22); RUNX1-RUNX1T1 AML mit inv(16)(p13.1q22) oder t(16;16)(p13.1;q22); CBFB-MYH11 APL mit t(15;17)(q22;q12); PML-RARA AML mit t(9;11)(p22;q23); MLLT3-MLL AML mit t(6;9)(p23;q34); DEK-NUP214 AML mit inv(3)(q21q26.2) oder t(3;3)(q21;q26.2); RPN1-EVI1 AML (megakaryoblastisch) mit t(1;22)(p13;q13); RBM15-MKL1 AML mit <i>NPM1-Mutation</i> (provisorische Entität) AML mit <i>CEBPA-Mutation</i> (provisorische Entität)
AML mit Myelodysplasie-assoziierten Veränderungen
Definiert durch Zytogenetik Definiert durch MDS-Vorphase Definiert durch Morphologie
Therapieassoziierte AML
AML - nicht anders spezifiziert
AML mit minimaler Differenzierung AML ohne Ausreifung AML mit Ausreifung Akute myelomonozytäre Leukämie Akute monoblastische/akute monozytäre Leukämie Akute Erythrozytenleukämie (erythrozytäre/myeloische und rein erythrozytäre Varianten) Akute Megakaryoblastenleukämie Akute Basophilenleukämie Akute Panmyelose mit Myelofibrose

Prinzipiell ist eine Klassifikation der AML Inhalt vieler Studien und sie wird kontinuierlich angepasst.^{32; 57}

1.3.5. Therapie und Prognose

Bei der Diagnosestellung spielen die festgestellten chromosomalen und molekulargenetischen Abweichungen in den unreifen Vorläuferzellen eine wichtige Rolle, da davon Therapieplanung und -durchführung und die Risikoabschätzung auch in Bezug auf das Gesamtüberleben abhängen.^{58–61} Dadurch kann in drei Risikokategorien mit günstiger, intermediärer oder ungünstiger Prognose eingeteilt und patientenbezogene Charakteristika wie Alter und Allgemeinzustand bei der Therapieauswahl berücksichtigt werden.^{49; 62} Die zytogenetischen Veränderungen t(8;21)(q22;q22), t(15;17)(q22;q12) und inv(16)(p13.1;q22) oder t(16;16)(p13.1;q22) sind z.B. mit einem günstigen Risiko verbunden und weisen nach der Primärtherapie hohe Remissionsraten und vielversprechende Langzeitprognosen auf. Im Gegensatz dazu sprechen komplexere Karyotypen oder Veränderungen der Chromosomen 5 und 7, inv(3)(q21q26)/t(3;3)(q21;q26) und Translokationen, die die Chromosomenregion 11q23 einbeziehen, meist schlecht auf Therapie an.⁵⁹ Nach der Diagnose sollte unmittelbar behandelt werden, da die Prognose sonst schnell schlechter werden kann.⁶³ Eine große Herausforderung für die Therapiefindung stellt die Heterogenität der Erkrankung dar, wobei durch den Nachweis zytogenetischer Veränderungen bei der Diagnose eine individuell angepasste Therapie geplant und damit das Ergebnis verbessert werden kann. Die konventionelle Standardbehandlung von AML erfolgt bei Erstdiagnose mit Hilfe einer Chemotherapie und eventuell mit darauffolgender Stammzellentransplantation und setzt sich aus einer Induktions-, einer Konsolidierungs- und einer Erhaltungs-Phase zusammen. In der Induktionsphase soll eine komplette Remission erreicht werden, die zur Normalisierung von Blutbild und Knochenmark und zur Eliminierung der malignen Blutzellen führt. Die Anzahl der Blasten im Knochenmark soll dabei auf 1000/μL fallen, und im peripheren Blut sollen Thrombozytenwerte von >100 000/μL vorliegen. Schnelles Erreichen der kompletten Remission ist dabei mit einer günstigeren Prognose und einem besseren Langzeitüberleben des Patienten verbunden. In der Induktionsphase wird das sogenannte „7+3-Schema“ angewandt, das aus einer siebentägigen Behandlung mit dem Zytostatikum Cytarabin neben einer dreitägigen Therapie mit einem Anthrazyklin wie z.B. Daunorubicin besteht. Mit einer Induktionstherapie auf dieser Basis kann bei bis zu 80% der jüngeren Patienten unter 60 Jahren und bei ca. 50% der älteren Patienten über 60 Jahren eine komplette Remission erreicht werden.^{22; 49; 64–69} Oft gibt es allerdings persistierende Zellen, die unentdeckt bleiben und damit zu einem Rückfall führen könnten. Daher soll der Therapieerfolg nach kompletter Remission mit der anschließenden Konsolidierungsphase gefestigt und ein Rückfall dauerhaft ausgeschlossen werden, wobei die hoch-dosierte

Chemotherapie mit Cytarabin etabliert ist.^{62; 70–72} Anschließend kann eine lang andauernde, meist zyklische Erhaltungstherapie folgen, bei der mit niedrig-dosierten Zytostatika behandelt wird und/oder eine allogene oder autologe hämatopoetische Stammzellentransplantation durchgeführt werden kann.^{21; 73–77} Die genaue Durchführung der Therapie richtet sich nach dem Allgemeinzustand des Patienten bei Diagnosestellung, sowie dem Alter und eventuellen Komorbiditäten. Vor allem bei jüngeren Patienten und Patienten mit einem eher günstigen Risikoprofil konnten Fortschritte mit einer intensiven Chemotherapie erreicht werden. Bei älteren Patienten muss allerdings oft eine Konsolidierungsphase mit weniger intensiver Chemotherapie durchgeführt werden, da es zu toxischen Reaktionen kommen kann. Bei Patienten mit einem eher ungünstigen Risikoprofil wird eine frühzeitigere allogene Stammzellentransplantation empfohlen.^{22; 66; 71; 78–82} Während bei Patienten unter 60 Jahren mit einer intensiven Chemotherapie 5-Jahres-Überlebesraten von 30 bis 40% erreicht werden, ist die Prognose für ältere Menschen über 60 Jahren deutlich schlechter. Die 5-Jahres-Überlebensrate beträgt nur ca. 15%.^{64; 78; 83; 84}

1.4. PROTEINKINASEN

Tumorerkrankungen entstehen häufig, wenn die Signaltransduktion dereguliert ist. Zellen reagieren auf Veränderungen von Umweltfaktoren durch die Aktivierung spezifischer Rezeptoren und Signalwege. Eine Signalweiterleitung erfolgt meist durch membranständige Proteine wie GPCRs (G-Protein-gekoppelte Rezeptoren, *engl.* G-Protein coupled receptors), Ionenkanäle oder enzymgekoppelte Signalwege.⁸⁵ Durch Wechselwirkung der extrazellulären Domäne mit dem entspr. Liganden wird intrazellulär eine Reihe von Signalwegen aktiviert. Dabei spielen Phosphorylierungs- oder entspr. Dephosphorylierungs-Vorgänge an Molekülen eine wichtige Rolle.⁸⁶ Wird ein Rezeptor aktiviert, können Proteinkinasen Phosphatgruppen von ATP auf die Hydroxygruppen bestimmter Aminosäuren der Zielproteine übertragen.⁸⁷

Bei etwa 2% des menschlichen Genoms handelt es sich um Gene, die für Proteinkinasen codieren, wodurch die Anzahl verschiedener Proteinkinasen bei über 500 liegt.^{88–90} Die meisten Proteinkinasen phosphorylieren entweder die Aminosäuren Serin/Threonin bzw. Tyrosin. Bei den Tyrosin-Kinasen ist wiederum eine Unterteilung in Rezeptor-Tyrosinkinasen und Tyrosinkinasen ohne Rezeptorfunktion möglich. Die Gesamtheit aller Proteinkinasen des menschlichen Körpers wird als Kinom bezeichnet (Abb. 4).^{91–93}

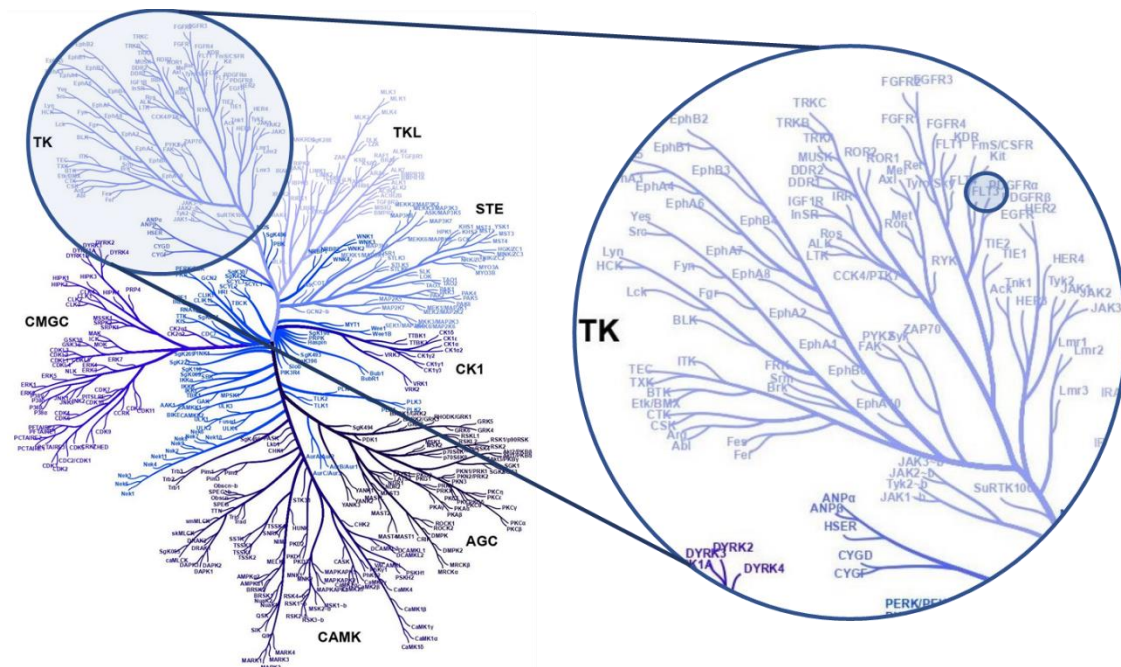


Abb. 4: Überblick über die menschlichen Proteinkinasen in einer Darstellung des menschlichen Kinoms als Baum. Die Abkürzungen der einzelnen Bereiche stehen für folgende Gruppen von Proteinkinasen: TK: Tyrosinkinase, TKL: Tyrosinkinase-ähnlich (*engl.* tyrosine kinase-like), STE: Homologe der yeast Sterile 7, 11 und 20 Kinasen, CK1: Caseinkinase 1, AGC: PKA-, PKG- und PKC-Familien, CAMK: Ca²⁺/calmodulin-abhängige Proteinkinase, CMGC: CDK-, MAPK-, GSK3- und CLK-Familien. Die Familie der Tyrosinkinasen ist dabei hervorgehoben, und FLT3 eingekreist.^{89; 94} Der Überblick über das Kinom wurde mit Hilfe der Software Coral von Phanstiel Lab erstellt (<http://phanstiel-lab.med.unc.edu/CORAL/>).

1.5. REZEPTORTYROSIN-KINASEN

Bei der Gruppe der Rezeptortyrosinkinassen (RTKs) handelt es sich um o.a. transmembrane Proteine, die eine intrinsische und ligandenstimulierte Kinaseaktivität aufweisen.⁹⁵ Mit Hilfe dieser Proteine können extrazelluläre Signale in den intrazellulären Raum weitergeleitet werden. Sie spielen durch die reversible Phosphorylierung von Tyrosin-Resten eine wesentliche Rolle bei Zellteilung, Proliferation und Differenzierung. RTKs übertragen einen Phosphatrest auf die Hydroxylgruppe bestimmter Tyrosin-Reste von Zielproteinen, wodurch intrazelluläre Signalkaskaden ausgelöst werden.^{88; 96–100}

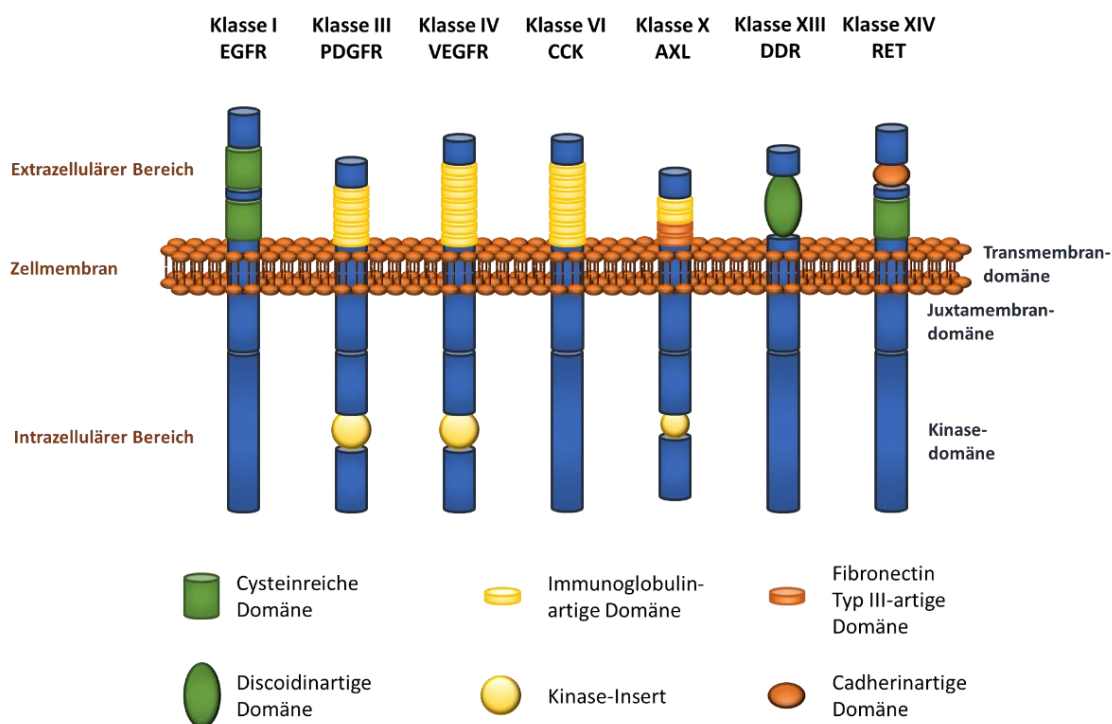


Abb. 5: Schematische Darstellung ausgewählter Klassen von RTKs. Dargestellt sind die Klassen EGFR (Epidermaler Wachstumsfaktor-Rezeptor, *engl.* epidermal growth factor receptor), PDGFR (Thrombozyten-Wachstumsfaktor-Rezeptor, *engl.* platelet-derived growth factor receptor), VEGFR (Rezeptor für den vaskulären endothelialen Wachstumsfaktor, *engl.* vascular endothelial growth factor receptor), CCK (Kolonkarzinom-Kinase, *engl.* colon carcinoma kinase), AXL (wird durch das AXL-Gen codiert), DDR (Discoidin-Domäne-Rezeptor, *engl.* discoidin domain receptor) und RET (Abkürzung für: „rearranged during transfection“). Neben der Nummer und der Bezeichnung der jeweiligen Klasse ist der Aufbau der Kinase anschaulich dargestellt. Im intrazellulären Bereich ist an die Zellmembran angrenzend in Blau die Juxtamembran-Domäne (JMD) und darauffolgend die Kinasedomäne (KD) dargestellt. In Klasse III, IV und X ist eine zweigeteilte Kinasedomäne zu sehen, deren Teile durch einen Kinase-Insert (KI, Gelb) getrennt sind. Die Transmembran-Domäne (TMD) ist ebenfalls in Blau dargestellt und führt durch die Zellmembran. Im extrazellulären Bereich unterscheiden sich die Domänen der einzelnen Klassen stärker voneinander, wobei die einzelnen Elemente, wie in der Abb. beschrieben, in Braun, Gelb und Grün dargestellt sind.⁹⁰

Im humanen Genom finden sich 58 RTKs, die in 20 Familien unterteilt und häufig mit malignen Erkrankungen verbunden sind.^{90; 101} Die Einteilung in die Subfamilien erfolgt aufgrund der Sequenz der TKD und der Struktur der extrazellulären Domäne.^{101; 102} Viele Klassen tragen dabei den Namen eines natürlichen Liganden eines ihrer Mitglieder. Grundsätzlich sind alle RTKs strukturell ähnlich,

Einleitung

wobei sie sich am stärksten in ihrer Ligand-bindenden extrazellulären Domäne unterscheiden. Neben dieser extrazellulären Domäne haben alle RTKs eine Transmembrandomäne (TMD) und einen intrazellulären Bereich, in dem sich eine Juxtamembran-Domäne (JMD) und eine bzw. zwei hoch-konservierte Kinasedomäne(n) (TKD, Abb. 5).^{103; 104} RTKs findet man im hämatopoetischen Gewebe; sie übernehmen Aufgaben bei der Weiterleitung von Wachstums-, Differenzierungs- und Entwicklungssignalen.¹⁰⁵ Für mehr als die Hälfte aller 58 identifizierten RTKs wurden Zusammenhänge mit hämatologischen Erkrankungen festgestellt.^{106; 107}

1.6. FMS-LIKE TYROSINKINASE 3

1.6.1. Allgemeines

Ein Beispiel für eine Tyrosinkinase ist die FMS-like Tyrosinkinase 3 (FLT3). Das humane Gen für FLT3 besteht aus 24 Exons und ist auf dem Chromosom 13q12 lokalisiert.¹⁰⁸ Bei der FMS-like Tyrosinkinase 3 handelt es sich um eine Rezeptor-Tyrosinkinase, die auch als fetale Leberkinase 2 (FLK2/FLK-2) oder Stammzell-Kinase 1 (STK1) bezeichnet wird.^{109; 110} Die Kinase wurde 1991 erstmals von zwei verschiedenen Gruppen unabhängig voneinander isoliert.^{109; 111; 112} FLT3 wird vor allem in hämatopoetischen Stammzellen und unreifen Vorläuferzellen im Knochenmark, im Thymus oder den Lymphknoten exprimiert, wobei die Expression abnimmt je weiter die Zelldifferenzierung fortgeschritten ist.^{109; 113–115} Zusammen mit c-KIT (Stammzellfaktor-Rezeptor), CSF1R (Rezeptor für den kolonie-stimulierenden Faktor 1, *engl.* colony-stimulating factor 1 receptor), PDGFR α und PDGFR β (Thrombozyten-Wachstumsfaktor-Rezeptor A und B, *engl.* platelet-derived growth factor receptor) gehört das Protein zur Gruppe III der Rezeptortyrosinkinasen.^{104;}

¹¹⁶

1.6.2. Aufbau

Der extrazelluläre Bereich der Klasse III-RTKs besteht aus fünf Immunglobulin-ähnlichen Domänen. Bezogen auf die Zellmembran, sind dabei die äußeren drei dieser Domänen für die Bindung eines Liganden essenziell, während die beiden inneren Domänen an der Dimerisierung des Liganden nach Aktivierung beteiligt sind.^{117; 118} Im Anschluss an die extrazelluläre Domäne liegt die TMD, bevor im intrazellulären Bereich die JMD und zwei TKDs folgen, die N-terminale TKD1 und die C-terminale TKD2. Beide Tyrosinkinase-Domänen sind durch einen hydrophoben Kinase-Insert (KI) getrennt (Abb. 6).^{26; 116; 119; 120}

Einleitung

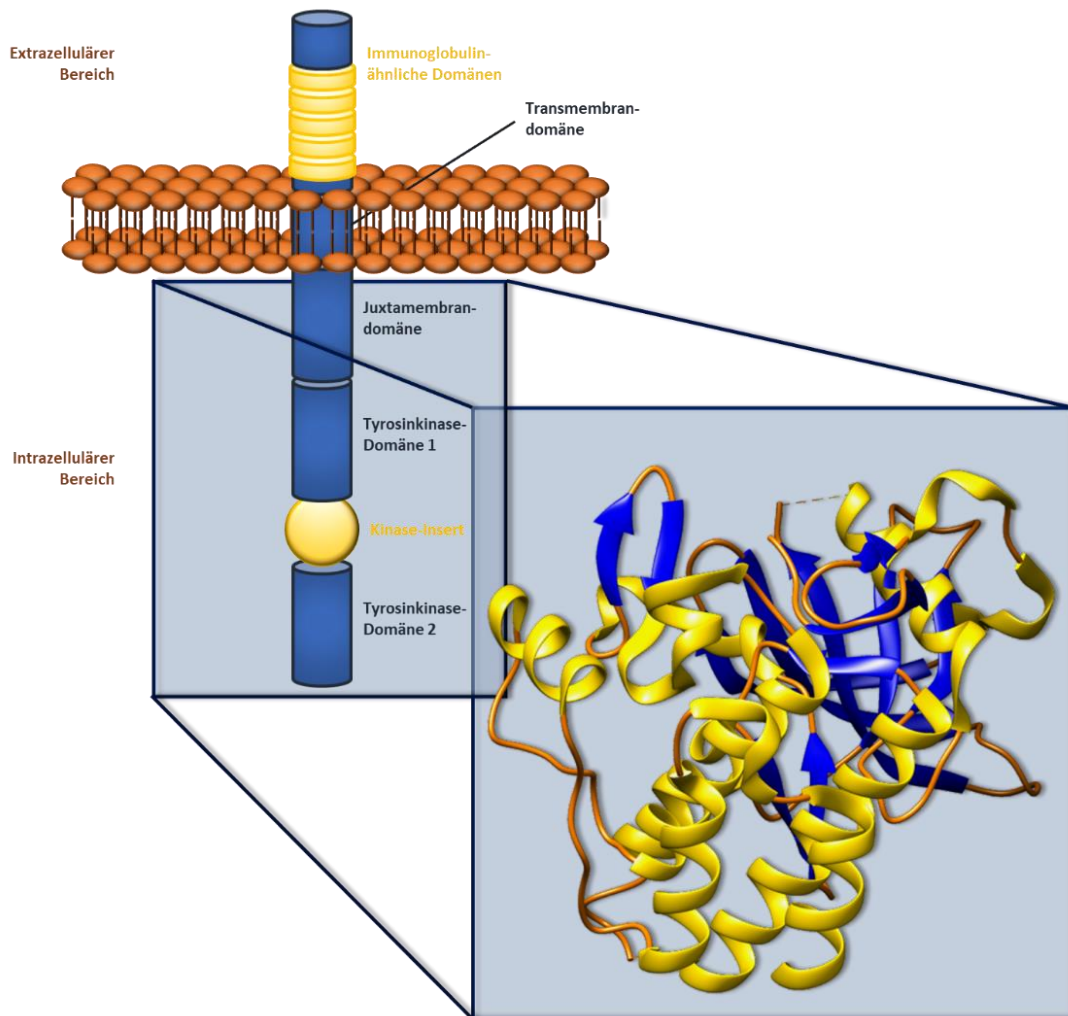


Abb. 6: Schematischer Überblick über den Aufbau von FLT3. Die Zellmembran ist Braun, im extrazellulären Bereich befinden sich die Immunoglobulin-ähnlichen Domänen (Gelb). Die Zellmembran wird von einer TMD (Blau) durchzogen, während sich im intrazellulären Bereich, ebenfalls in Blau, die JMD, die TKD1 und die TKD2 anschließen. Beide TKDs werden vom Kinase-Insert getrennt (gelbe Kugel). Zusätzlich ist die Proteinstruktur des intrazellulären Bereichs im Bändermodell abgebildet, wobei α -Helices in Gelb, β -Faltblätter in Blau und Random-Coil-Abschnitte in Braun dargestellt sind (PDB: 1RJ8). Das Bändermodell wurde mit Chimera 1.16 erstellt.¹²¹

FLT3 liegt nach der Translation als lösliches Protein von 130-143 kDa vor, bevor durch posttranslationale Glykosidierung die reife und membrangebundene Form entsteht: 158-160 kDa.^{122; 123} Das gesamte Protein weist 993 Aminosäuren auf, wobei der extrazelluläre Bereich 517 Aminosäuren umfasst. Nach der TMD startet der 430 Aminosäuren lange intrazelluläre Bereich mit der JMD, die sich von Aminosäure 572 bis 603 erstreckt. Die Aminosäuren 604-958 werden den anschließenden hoch-konservierten TKDs zugeordnet, die durch den 74 Aminosäuren langen KI unterbrochen werden, der die Hinge-Region bildet.^{110; 111; 114} 2004 gelang erstmals die Kristallisation und damit eine bessere Strukturaufklärung der inaktiven Form der Kinase. In der ersten (N-terminalen) TKD liegt danach die ATP-Bindetasche (ATP binding pocket), während die Aktivierungsschleife (activation loop, A-loop) in der zweiten (C-terminalen) lokalisiert ist und die Katalyse bewirkt. Die Aktivierungsschleife enthält das sogenannte DFG-Motiv, das aus den

Einleitung

Aminosäuren D829, F830 und G831 besteht. Die Schleife liegt entweder in einer „DFG in“- oder einer „DFG out“-Konformation vor und regelt dadurch die Kinaseaktivität.¹²¹

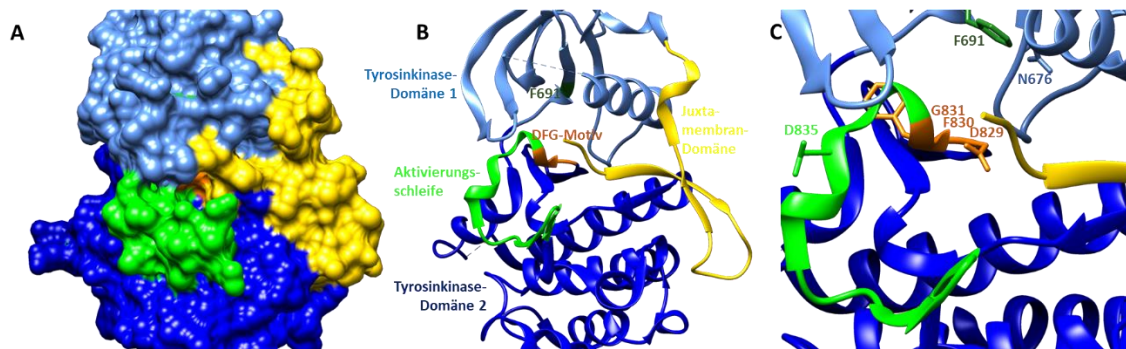


Abb. 7: (A) Schematische Darstellung des intrazellulären Bereichs von FLT3 in autoinhibierter Form (PDB: 1RJB) als Kalottenmodell, (B) Schematische Darstellung des intrazellulären Bereichs von FLT3 in autoinhibierter Form (PDB: 1RJB) als Bändermodell, (C) Vergrößerte Darstellung der intrazellulären Domäne als Bändermodell. Der Ausschnitt zeigt Aktivierungsschleife, DFG-Motiv und einige wichtige Aminosäuren, die extra im Stäbchenmodell gezeigt sind. In allen 3 Abbildungen ist die TKD1 in Hellblau, die TKD2 in Dunkelblau und die JMD in Gelb dargestellt. Die Aktivierungsschleife ist in Hellgrün, das DFG-Motiv in Braun und der „Gatekeeper“-Rest F691 in Dunkelgrün gezeigt. Alle Abbildungen wurden mit Chimera 1.16 erstellt.^{121; 124}

1.6.3. FLT3-Ligand

Der FLT3-Rezeptor wird durch den FL (FLT3-Ligand) aktiviert, der in einer löslichen und in einer membrangebundenen Form vorliegen kann und durch das entspr. FLT3LG-Gen kodiert wird. Dieses Protein besteht aus 235 Aminosäuren in vier Domänen.^{122; 125–127} Der FL bildet ein nicht-kovalent gebundenes Dimer und wird ubiquitär exprimiert,^{126; 128; 129} und zwar in hämatopoetischen Zelllinien und in der Umgebung des hämatopoetischen Knochenmarks. Der FLT3-Rezeptor kann durch beide Formen von FL aktiviert werden und dadurch das Zellwachstum von Vorläuferzellen im Knochenmark und im peripheren Blut anregen.¹²⁶

1.6.4. Regulation

Die RTK FLT3 liegt normalerweise inaktiv vor, wobei der Rezeptor unphosphoryliert ist und als Monomer vorliegt. Durch Bindung des FL an die extrazelluläre Domäne von FLT3 kommt es zur Dimerisierung und damit zur Aktivierung des Rezeptors (Abb. 8).^{31; 130; 131}

Einleitung

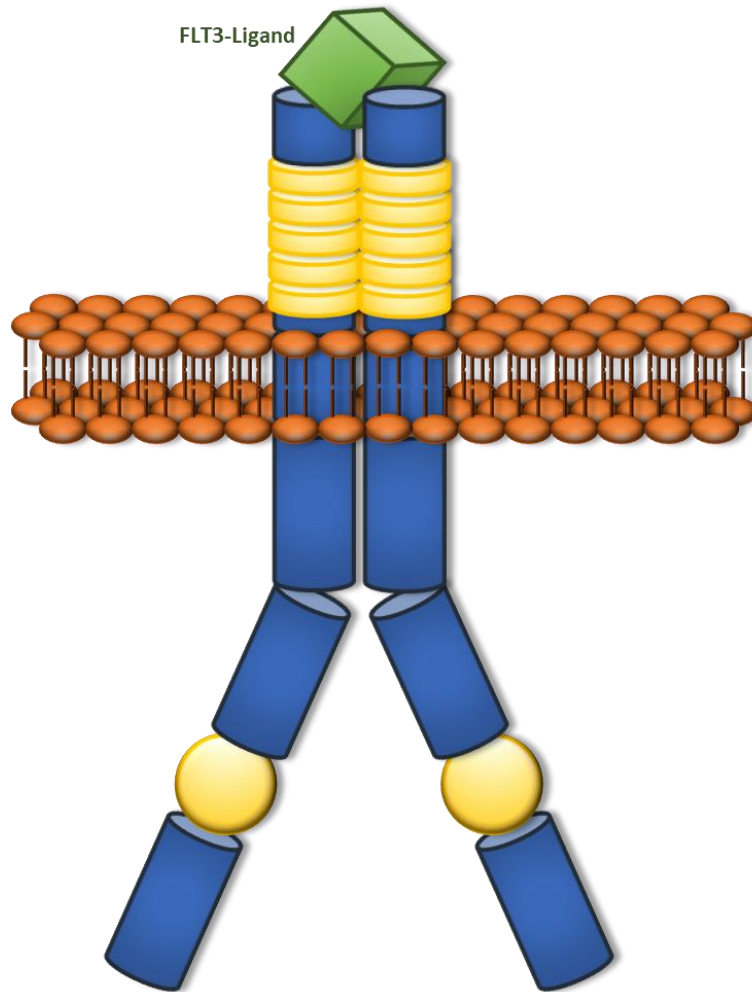


Abb. 8: Schematische Darstellung eines FLT3-Homodimers, das durch die Bindung des FL gebildet wurde. In Braun ist die Zellmembran zu sehen. Im extrazellulären Bereich befinden sich die Immunoglobulin-ähnlichen Domänen (gelbe Ringe). Die Zellmembran wird von einer TMD (Blau) durchzogen, während sich im intrazellulären Bereich (ebenfalls in Blau) die JMD, die TKD1 und die TKD2 anschließen. Beide TKDs werden durch KIs getrennt (gelbe Kugeln), der FL ist als grüner Würfel dargestellt.^{31; 130; 131}

Im inaktiven Zustand kommt es durch eine Blockade des aktiven Zentrums (katalytisch aktive Kinaseschleife) durch die Aktivierungsschleife zu einer Autoinhibition, wobei sich das DFG-Motiv außerhalb der Regulierungstasche befindet („DFG-out“). Die JMD wirkt bei der inaktiven Form ebenfalls autoinhibitorisch und verhindert die Anlagerung des Substrats, indem sie die ATP-Bindetasche sterisch blockiert und so die inaktive Form der Kinase stabilisiert. Durch Bindung des spezifischen FL wird das Protein aktiviert und die Stabilisierung der inaktiven Form aufgehoben. Dies führt zu einer Konformationsänderung und induziert die besagte Bildung von Homodimeren. Es kommt zu einer Autophosphorylierung der regulatorischen Tyrosin-Seitenketten Y589 und/oder Y591 der JMD durch das gebundene ATP und infolgedessen zur vollständigen Aktivierung der Tyrosinkinase-Aktivität. Die JMD bewegt sich dabei aus der regulatorischen Tasche und die Aktivierungsschleife nimmt eine offene Konformation an und lässt somit die Bindung von

ATP und Substraten zu. Das DFG-Motiv bewegt sich in die regulatorische Tasche („DFG-in“), wodurch Substraten der Zugang zur Kinase möglich wird (Abb. 9).^{27; 121; 132–138}

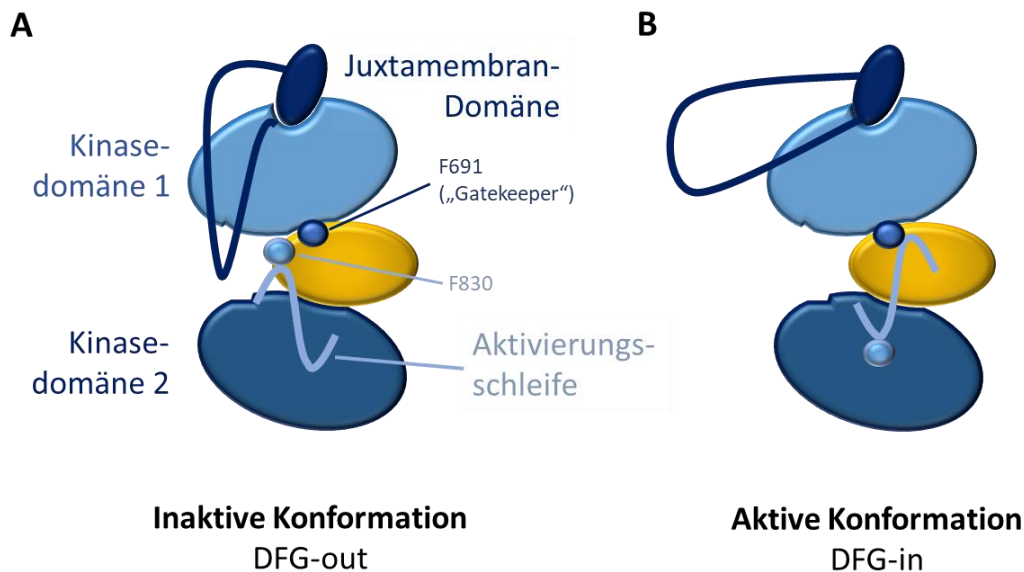


Abb. 9: Vergleich zwischen inaktiver („DFG-out“, A) und aktiver („DFG-in“, B) Konformation des FLT3-Rezeptors. JMD, TKD1 und TKD2 sind in verschiedenen Blau-Tönen dargestellt und entspr. beschriftet. Die Gatekeeper-Aminosäure F691 und die Aminosäure F830 des DFG-Motivs sind ebenfalls markiert. Die JMD (Juxtamembran-Domäne) verändert bei Aktivierung ihre Position und bewegt sich aus der regulatorischen Tasche. Die in Hellblau dargestellte Aktivierungsschleife mit dem DFG-Motiv verändert ebenfalls ihre Lage, sodass sich Substrate anlagern können.¹³⁹

1.6.5. Nachgeschaltete Signalwege

Die Aktivierung von FLT3 führt letztlich zur Induktion einiger nachgeschalteter Signalkaskaden. Dabei werden der PI3K-AKT-Signalweg (PI3K: Phosphatidylinositol 3-Kinase, AKT: Protein-Kinase B),^{140; 141} der RAS-RAF-MEK-ERK-Signalweg (RAS: Akronym von *rat sarcoma*, RAF: Akronym von *rat fibrosarcoma*, MEK: Mitogen-aktivierte Proteinkinase-Kinase, *engl.* mitogen-activated protein kinase kinase, ERK: extrazellulär-signalgesteuerte Kinasen, *engl.* extracellular-signal regulated kinase)^{142; 143} und der STAT5-Signalweg (Signalgeber und Aktivator der Transkription, *engl.* signal transducer and activator of transcription 5)^{144; 145} aktiviert, die bei der Regulation von Zellproliferation und -differenzierung in der Hämatopoese mitwirken (Abb. 10).¹⁴⁶

Einleitung

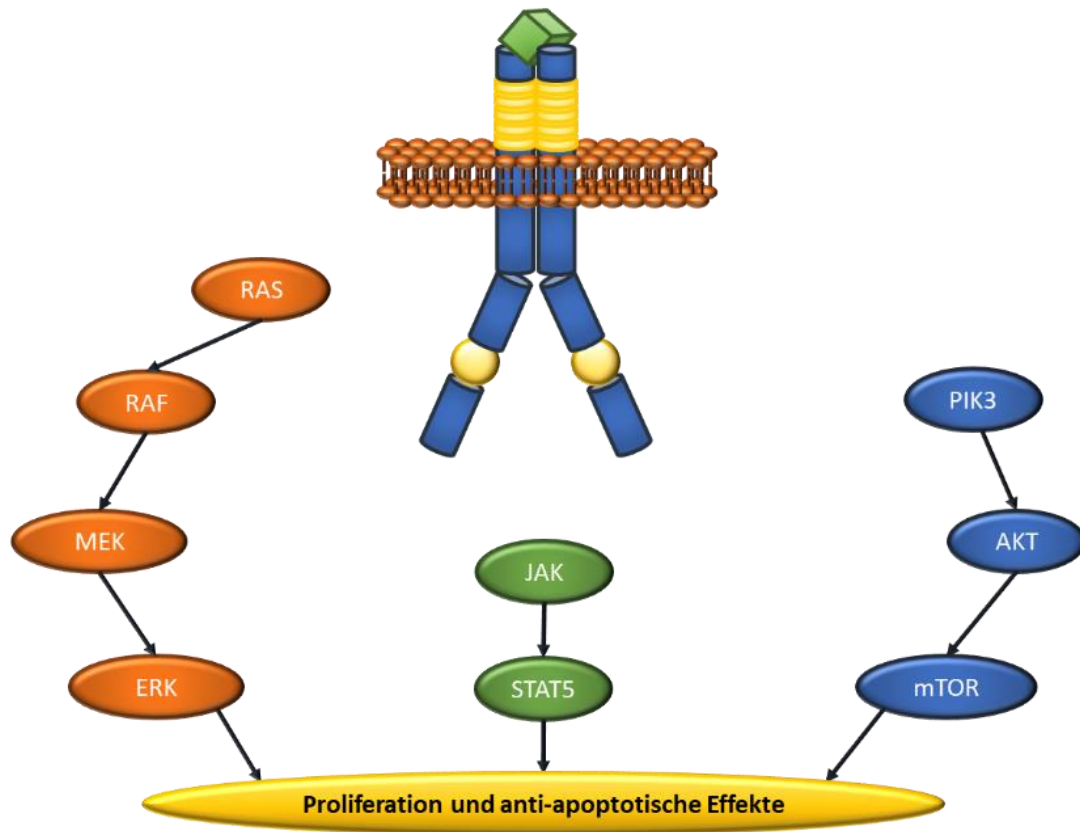


Abb. 10: Vereinfachter Überblick über FLT3-nachgeschaltete Signalkaskaden. Aktivierung von FLT3 führt zur Induktion der drei gezeigten Signalwege. Der RAS-RAF-MEK-ERK-Signalweg (RAS: Akronym von *rat sarcoma*, RAF: Akronym von *rat fibrosarcoma*, MEK: Mitogen-aktivierte Proteinkinase-Kinase, *engl.* mitogen-activated protein kinase kinase, ERK: extrazellulär-signalgesteuerte Kinasen, *engl.* extracellular-signal regulated kinase) in Orange, der STAT-Signalweg in Grün (JAK: Januskinase, STAT5: Signalgeber und Aktivator der Transkription, *engl.* signal transducer and activator of transcription 5) und der PI3K-AKT-Signalweg (PI3K: Phosphatidylinositol 3-Kinase, AKT: Protein-Kinase B, mTOR: mechanistisches Ziel von Rapamycin, *engl.* mechanistic target of Rapamycin) ist in Blau gezeigt.^{124; 147–150}

1.7. FLT3 IN DER HÄMATOPOESE

1.7.1. Signaltransduktion

Die FMS-like Tyrosinkinase 3 spielt eine wichtige Rolle bei der Regulation von Proliferation und Differenzierung normaler hämatopoetischer Stammzellen und somit bei der Ausbildung von Leukämien.¹¹⁴ Es wurde festgestellt, dass in den meisten AML-Fällen auch die Expression von FLT3 im Vergleich zum gesunden Knochenmark erhöht ist.^{132; 151–153} Diese Erhöhung von FLT3 hängt mit der Anzahl leukämischer Blasten zusammen. Die Aktivierung des FLT3-Rezeptors führt dadurch zu anti-apoptotischen Signalen und fördert auch die Proliferation von AML-Blasten.¹⁵³

1.7.2. Arten von Mutationen

Neben einer erhöhten Expression konnte bei AML-Patienten eine Anhäufung genetischer Aberrationen im FLT3-Gen festgestellt werden.²⁶ Dabei sind aktivierende Mutationen von FLT3 eine der häufigsten Veränderungen. Sie sind mit einer schlechten Prognose verknüpft.^{32; 62} Mutationen führen dazu, dass die Kontrolle der Proliferation und die Differenzierung hämatopoetischer Zellen durch die Ligand-Bindung verloren gehen.¹⁵⁴

Die häufigsten Mutationen treten bei 20-30% aller Patienten auf, werden ITD-Mutationen (interne Tandemduplikation) genannt und wurden 1996 das erste Mal beschrieben.¹⁵⁵ Dabei handelt es sich um Duplikationen eines Fragments im Bereich der JMD, die 2 bis 68 Aminosäuren lang sind (Abb. 11). Das Resultat von ITD-Mutationen ist eine dauerhafte Aktivierung des Rezeptors.^{115; 156–158} Die veränderte Primärstruktur des Proteins führt zum Verlust der autoinhibitorischen Funktion der JMD, und es kommt zur Ligand-unabhängigen Dimerisierung und zu konstitutiver Autophosphorylierung.^{121; 156; 159} Punktmutationen in der Aktivierungsschleife innerhalb der zweiten TKD (FLT3-TKD-Mutationen) sind eine zweite Form häufig vorkommender Mutationen, finden sich bei bis zu 10% aller AML-Patienten und kommen unabhängig von ITD-Mutationen vor (Abb. 11). Dabei werden einzelne Aminosäuren ausgetauscht, wobei Asp835 am häufigsten betroffen ist und meistens durch Tyrosin ersetzt ist (D835Y). Seltener wird diese Aminosäure auch durch Histidin (D835H), Valin (D835V) oder Glutaminsäure (D835E) ersetzt. Darüber hinaus kann es zu Deletionen (z.B. I836del) oder Insertionen innerhalb dieser Kinase-Domäne kommen. Punktmutationen führen ebenfalls zu einem Liganden-unabhängig aktivierten Rezeptor und so zur deregulierten Aktivierung nachgeschalteter Signalwege.^{115; 160–163} Die autoinhibitorische Funktion der Aktivierungsschleife wird aufgehoben, da Aminosäuren ausgetauscht werden, die zur Stabilisierung der geschlossenen Konformation notwendig sind. Die Flexibilität der

Aktivierungsschleife nimmt durch den Austausch zu, und eine Tyrosin-Phosphorylierung wird gefördert (Abb. 11).^{121; 164}

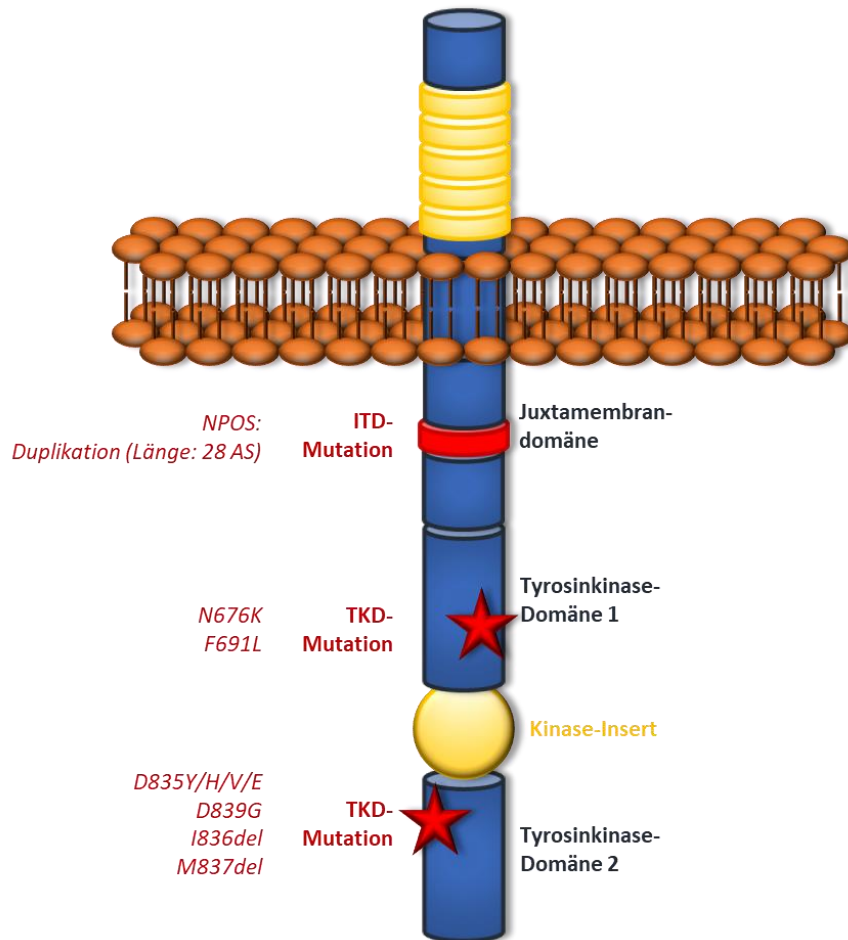


Abb. 11: Überblick über die Lage verschiedener Mutationen in FLT3. Die einzelnen Bereiche der Tyrosinkinase sind entspr. beschriftet. In Rot sind mögliche Mutationen eingezeichnet, wobei eine mögliche ITD-Mutation innerhalb der JMD als Ring und eine mögliche TKD-Mutation innerhalb der TKD1 oder der TKD2 als Stern dargestellt ist. Beispielfhaft sind hier einige wichtige TKD-Mutationen benannt.^{165–167}

Neben den beiden häufigsten Formen mutierter FLT3 wurden weitere seltener vorkommende Mutationen beschrieben, z.B. Punktmutationen in der JMD¹⁶⁸ oder auch ITDs außerhalb der JMD.^{163; 169}

1.7.3. Folgen der Mutationen

Sowohl FLT3-ITDs als auch FLT3-TKDs aktivieren die beiden nachgeschalteten Signalwege RAS/RAF/MEK/ERK und PI3K/AKT, während eine starke STAT-Aktivierung nur bei FLT3-ITD beobachtet wird.^{170–176} Diese Ligand-unabhängige Deregulation der Signalwege durch FLT3-ITD führt zu erhöhter Proliferation und verhindert die Differenzierung der leukämischen Zellen.^{161; 171; 177} ITD-Mutationen von FLT3 sind mit einer schlechten Prognose, erniedrigter Remissionsdauer und einem erniedrigten Gesamtüberleben verbunden, während für TKD-Mutationen bisher noch

kein Einfluss auf die Prognose der AML-Patienten nachgewiesen werden konnte.^{154; 156; 161; 162; 178–}
¹⁸⁶ Untersuchungen zum Einfluss der Länge einer ITD auf die Prognose führten bisher zu
verschiedenen Ergebnissen, allerdings konnte kein eindeutiger Trend abgeleitet werden.^{187–190}
Allerdings scheint das Verhältnis von Mutation zu WT-FLT3 von Bedeutung bezüglich der Prognose
zu sein, wobei sich eine Verschlechterung des krankheitsfreien Überlebens und des
Gesamtüberlebens bei erhöhter Menge mutierter FLT3 ergibt.^{154; 162; 190; 191}

1.8. FLT3-INHIBITOREN

1.8.1. Inhibition von FLT3

Da herkömmliche Therapieansätze der AML oft nicht zum gewünschten Ergebnis führen und FLT3-Mutationen gehäuft bei AML-Patienten auftreten und mit schlechten Prognosen einhergehen, scheint FLT3 das optimale molekulare Ziel für eine systematische, selektive Therapie zu sein.^{192; 193} Daher wurde in den letzten Jahren ausgiebig nach zielgerichteten Strategien mit kleinmolekularen FLT3-Inhibitoren gesucht. Damit soll die teilweise sehr schlechte Prognose der FLT3-mutierten AML-Patienten verbessert werden.^{174; 192–194} Neue vielversprechende Optionen zur Therapie von AML sind daher molekulare Strukturen, die in der Lage sind, die mutationsbedingte konstitutive Tyrosinkinase-Aktivität zu blockieren. Die Signaltransduktion kann durch kleine Moleküle unterdrückt werden, die in Konkurrenz zu ATP reversibel an die aktive Bindungsstelle binden und dadurch die Phosphorylierung von Substraten verhindern. Die enzymatische Wirkung der Kinase wird blockiert und die Signalweiterleitung unterdrückt.¹⁹⁵ Es wurden schon einige kleinmolekulare Wirkstoffe, die als direkte FLT3-Tyrosinkinase-Inhibitoren wirken können, entwickelt, und bezüglich ihrer Wirksamkeit in klinischen Modellen getestet, wobei einige vielversprechende Ergebnisse erhalten wurden.^{66; 120; 196–198} Ein zeitlicher Überblick über die Entwicklung von FLT3-Inhibitoren ist im Folgenden gezeigt (Abb. 12).

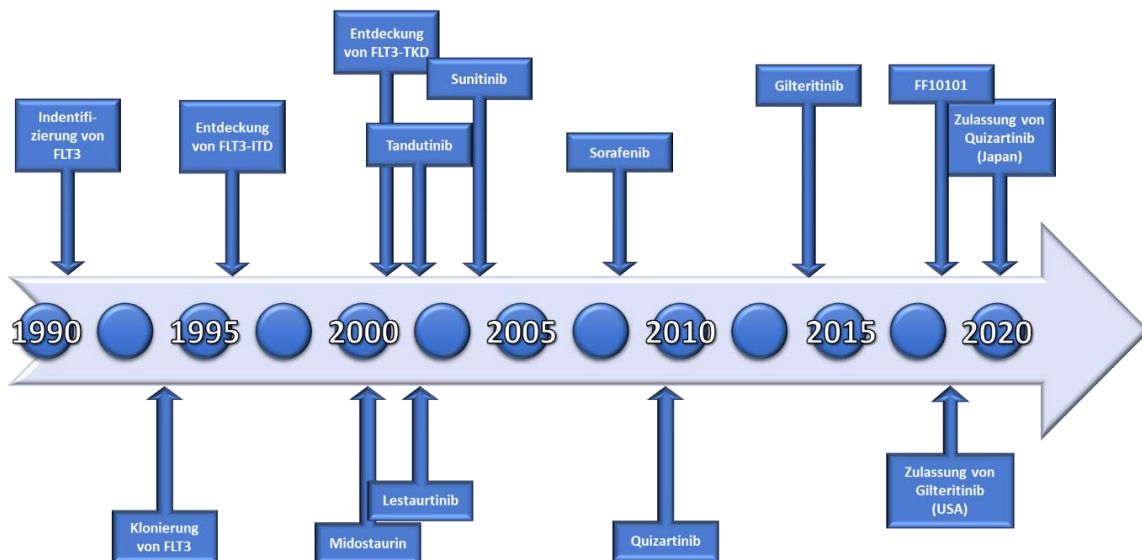


Abb. 12: Zeitlicher Überblick über die Entdeckung von FLT3 und entspr. Mutationen, sowie der daraus folgenden Entwicklung kleinmolekularer Wirkstoffe. Neben der Entdeckung einzelner Wirkstoffe ist auch der Zeitpunkt der Zulassung angegeben.^{109; 112; 114; 139; 155; 160; 193; 199–216}

Nach der Identifizierung der Tyrosinkinase FLT3 1991^{109; 111; 112} und einer anschließenden ersten Klonierung 1993¹¹⁴ startete mit der Entdeckung verschiedener Arten von Mutationen^{155; 160} die

Suche nach kleinmolekularen Wirkstoffen. Den Anfang machten dabei ab dem Jahr 2000 FLT3-Inhibitoren wie Midostaurin **1**, Lestaurtinib **2**, Tandutinib **3**, Sunitinib **4** oder Sorafenib **5**.^{199–207} Einige Zeit später wurden ab dem Jahr 2009 die spezifischeren Hemmstoffe Quizartinib **6**, Crenolanib **7** und Gilteritinib **8** sowie FF-10101 **9** entwickelt.^{208; 209; 211; 212} Mittlerweile wurden die Wirkstoffe Midostaurin **1** (USA), Gilteritinib **8** (USA) und Quizartinib **6** (Japan) nach ausreichenden Studien zur Behandlung bestimmter Patientengruppen zugelassen.^{139; 213–216}

1.8.2. Einteilung

FLT3-Inhibitoren sind Tyrosinkinase-Inhibitoren und können aufgrund ihrer Wirksamkeit und ihrer Spezifität in eine erste und in eine zweite Generation klassifiziert werden.^{167; 217; 218} Zu den deutlich unspezifischeren Inhibitoren der ersten Generation zählen Midostaurin **1**, Lestaurtinib **2**, Tandutinib **3**, Sunitinib **4** oder Sorafenib **5**. Diese Reihe von Wirkstoffen wurde nicht explizit zur Inhibition von FLT3 entwickelt und ist meist mit einer unspezifischen Inhibition mehrerer verschiedener RTKs verbunden. Die meisten Hemmstoffe der ersten Generation zeigen dadurch zwar eine starke FLT3-Inhibition, sind allerdings auch wenig-selektiv und unspezifisch bezüglich ihrer Rezeptoren. Dadurch ist ihre Wirksamkeit verringert und es kommt zu unerwünschten Nebenwirkungen.^{196; 198; 219}

Aufgrund der geringen Selektivität der Inhibitoren der ersten Generation und dem Auftreten von dosis-limitierenden Nebenwirkungen wurden wirkungsstärkere und spezifischere Inhibitoren der zweiten Generation entwickelt. Beispiele für Inhibitoren der zweiten Generation sind Quizartinib **6**, Crenolanib **7** oder Gilteritinib **8**.^{196; 198; 219–222}

1.8.3. Beispiele

Die genannten Moleküle sollen im Folgenden als ausgewählte Beispiele für FLT3-Inhibitoren der beiden Generationen vorgestellt werden. Struktur und Bezeichnung des jeweiligen Wirkstoffes sowie der entspr. Bindemodus sind in tabellarischer Form gezeigt (Tabelle 2 und Tabelle 3).

1.8.3.1. *Midostaurin (1)*

Bei Midostaurin **1** (PKC412) handelt es sich um einen Multikinaseinhibitor. Das Molekül zeigt neben inhibitorischen Fähigkeiten gegenüber FLT3 und dessen mutierten Formen auch Aktivität gegenüber PDGFR α und β , c-KIT, VEGFR, Src und CDK1 und wurde ursprünglich auch als Protein-Kinase C- und als VEGFR-Inhibitor entwickelt.²²³ Beim Indolcarbazol Midostaurin **1** handelt es sich um das Benzoylderivat des Naturstoffes Staurosporin **10**. Der Wirkstoff zeigte vielversprechende Erfolge bei AML-Patienten mit einer FLT3-ITD und einer FLT3-TKD-Mutation.²⁰⁰ Midostaurin **1** wurde im Jahr 2017 als Therapiestandard zur Behandlung einer neu-diagnostizierten adulten AML

mit FLT3-Mutation in Kombination mit Chemotherapie zugelassen. Im Zuge der sogenannten RATIFY-Studie wurde ein verlängertes Gesamtüberleben im Vergleich zu einer Placebo-Gruppe bei den Patienten festgestellt, die neben der Standardtherapie zusätzlich mit Midostaurin **1** behandelt wurden.²²⁴

1.8.3.2. *Lestaurtinib (2)*

Auch bei Lestaurtinib **2** (CEP-701) handelt es sich um einen Multikinaseinhibitor, der strukturell mit Staurosporin **10** verwandt ist und der neben FLT3 und entspr. mutierten Formen auch JAK2, VEGFR, TrKA, TrKB und TrKC hemmt.^{203; 225–227}

1.8.3.3. *Tandutinib (3)*

Tandutinib **3** (MLN518, CT53518) hemmt neben FLT3 auch PDGFR und c-KIT. Das Chinazolin-Derivat zeigt eine Hemmung der Autophosphorylierung von FLT3-ITD sowie antiproliferative und apoptotische Effekte gegenüber verschiedenen Zelllinien, die FLT3-ITD-Mutationen enthalten.^{201; 228; 229}

1.8.3.4. *Sunitinib (4)*

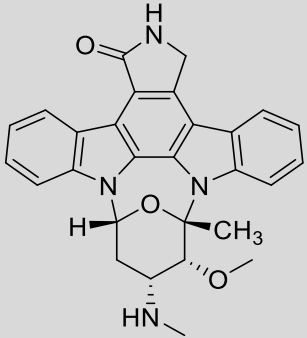
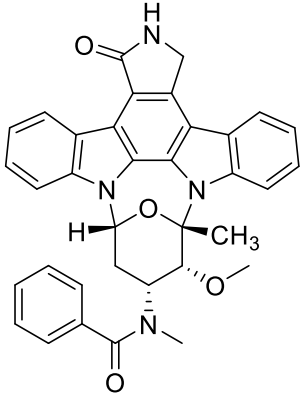
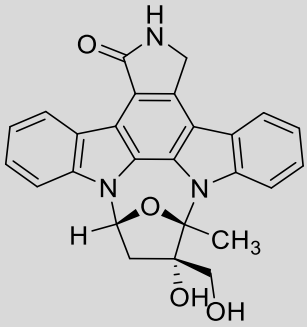
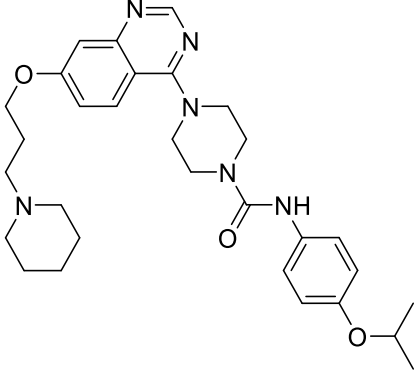
Sunitinib **4** (SU11248) weist inhibitorische Fähigkeiten gegenüber FLT3, VEGFR1, VEGFR2 und VEGFR3, PDGFR α und β , CSF, RET und c-KIT auf.²³⁰ Der Inhibitor zeigte in einer Phase I-Studie *in vivo*-Wirksamkeit in Bezug auf die Hemmung der FLT3-Phosphorylierung bei Vorliegen einer FLT3-Mutation.²⁰⁴ Sunitinib ist ein Indolinon-Derivat und zur Behandlung des Nierenzellkarzinoms sowie gastrointestinalen Stromatumoren zugelassen.^{231; 232}

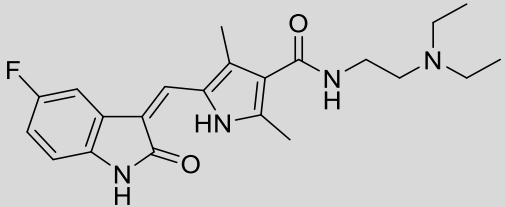
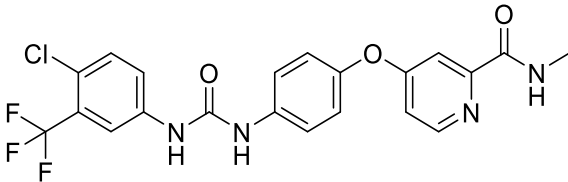
1.8.3.5. *Sorafenib (5)*

Der Inhibitor Sorafenib **5** (BAY43-9006) ist ebenfalls ein Multikinaseinhibitor der ersten Generation, der FLT3, c-KIT, VEGFR1, VEGFR2 und VEGFR3, PDGFR α und β und RET inhibiert.^{233; 234} Der Hemmstoff ist aktuell zur Behandlung von HCC (hepatocellular carcinoma) und RCC (renal cell carcinoma) zugelassen.²³⁵

Einleitung

Tabelle 2: Beispiele für FLT3-Inhibitoren der ersten Generation. Bezeichnungen und die chemische Struktur der Wirkstoffe sowie die Art des Bindemodus sind aufgelistet.

Bezeichnung	Struktur	Art des Bindemodus
Staurosporin 10		
Midostaurin 1 PKC412 CGP41251		Typ I
Lestaurtinib 2 CEP701 KT5555		Typ I
Tandutinib 3 MLN0518 CT53518		Typ II

Sunitinib 4 SU11248		Typ I
Sorafenib 5 BAY43-9006		Typ II

1.8.3.6. Quizartinib (6)

Quizartinib **6** (AC220) gehört zur zweiten Generation der Tyrosinkinase-Inhibitoren und ist in der Lage, die FLT3-Kinase hoch-selektiv und potent zu hemmen.²⁰⁸ Nachteilig sind eine eingeschränkte Wirksamkeit des Hemmstoffes bezüglich der inaktiven Form der Kinase und die Bildung von Resistenzen, die auf Mutationen von D835 und F691 zurückzuführen sind.²³⁶

1.8.3.7. Crenolanib (7)

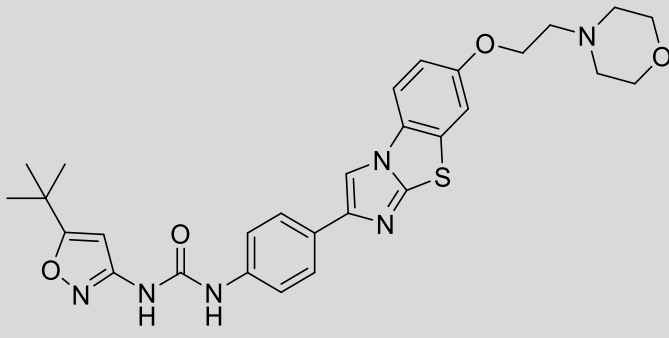
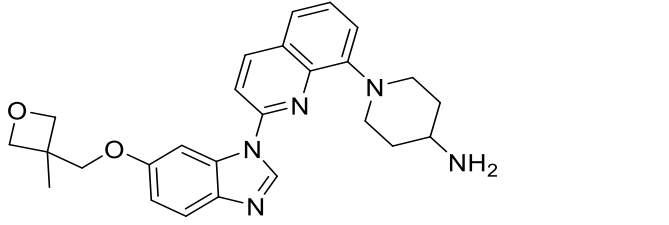
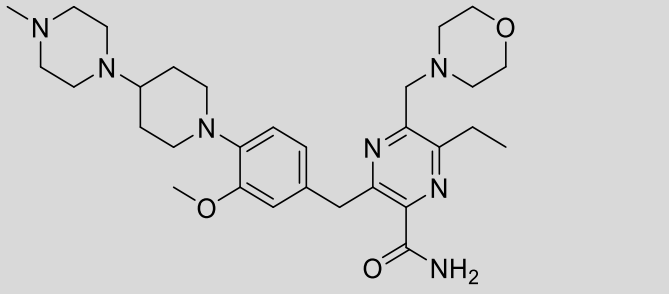
Crenolanib **7** (CP868-596) ist ein weiteres Beispiel für einen Inhibitor der zweiten Generation. Crenolanib **7** wurde ursprünglich als PDGFR-Inhibitor entwickelt und hemmt die beiden Mutanten FLT3-ITD und FLT3-D835 hochselektiv und sehr stark. Erste klinische Studien haben vielversprechende Ergebnisse mit hohen Remissionsraten geliefert.^{209; 237–239}

1.8.3.8. Gilteritinib (8)

Gilteritinib **8** (ASP2215) gehört der zweiten Generation von FLT3-Inhibitoren an, hemmt sehr selektiv FLT3 und AXL und ist zusätzlich auch gegenüber FLT3-ITD und FLT3-D835 aktiv. Durch Gilteritinib **8** konnte in einer Phase I/II-Studie durch Monotherapie eine dauerhafte FLT3-Hemmung bei rezidivierenden und refraktären AML-Patienten erreicht werden. Der Wirkstoff besitzt eine lange Halbwertszeit und ein großes therapeutisches Fenster. Außerdem wird eine mehr als 85%ige Hemmung der FLT3-Phosphorylierung bei einer Dosis erreicht, die weit unter der maximal verträglichen Dosis liegt.²⁴⁰ Gilteritinib **8** wurde im November 2018 in den USA zur Behandlung von FLT3-mutierter, rezidivierter oder refraktärer AML in Kombination mit Cytarabin und Anthrazyklinen zugelassen.^{210; 214; 241}

Einleitung

Tabelle 3: Beispiele für FLT3-Inhibitoren der zweiten Generation. Bezeichnungen und die chemische Struktur der Wirkstoffe sowie die Art des Bindemodus sind aufgelistet.

Bezeichnung	Struktur	Art des Bindemodus
Quizartinib 6 AC220		Typ II
Crenolanib 7 CP868-596		Typ I
Gilteritinib 8 ASP2215		Typ I

Von den vorgestellten Wirkstoffen wurden bisher Midostaurin **1** zur Behandlung erwachsener Patienten mit FLT3-mutierter AML²¹³ und Gilteritinib **8** als Monotherapie zur Behandlung rezidivierender oder refraktärer FLT3-mutierter AML zugelassen.¹³⁹ Quizartinib **6** zeigte in ersten Studien vielversprechende Ergebnisse und wurde daher in Japan bereits für die Behandlung rezidivierender oder refraktärer AML zugelassen. Die FDA lehnte eine Zulassung dagegen vorerst ab.^{242–244}

1.8.4. Bindemodus

Neben der Einteilung in erste und zweite Generation gibt es auch die Möglichkeit, FLT3-Inhibitoren nach ihrem Bindemodus in Inhibitoren vom Typ I und Inhibitoren vom Typ II zu klassifizieren. Die Art des Bindemodus wurde bereits in der dritten Spalte von Tabelle 2 und Tabelle 3 aufgeführt. Dabei geht es vor allem um die Lage der DFG-Einheit in der Aktivierungsschleife der

Einleitung

Kinasedomäne. Die DFG-Einheit kann je nach Phosphorylierungszustand in einer aktiven „DFG-in“- und einer inaktiven „DFG-out“-Konformation vorliegen.^{245–247}

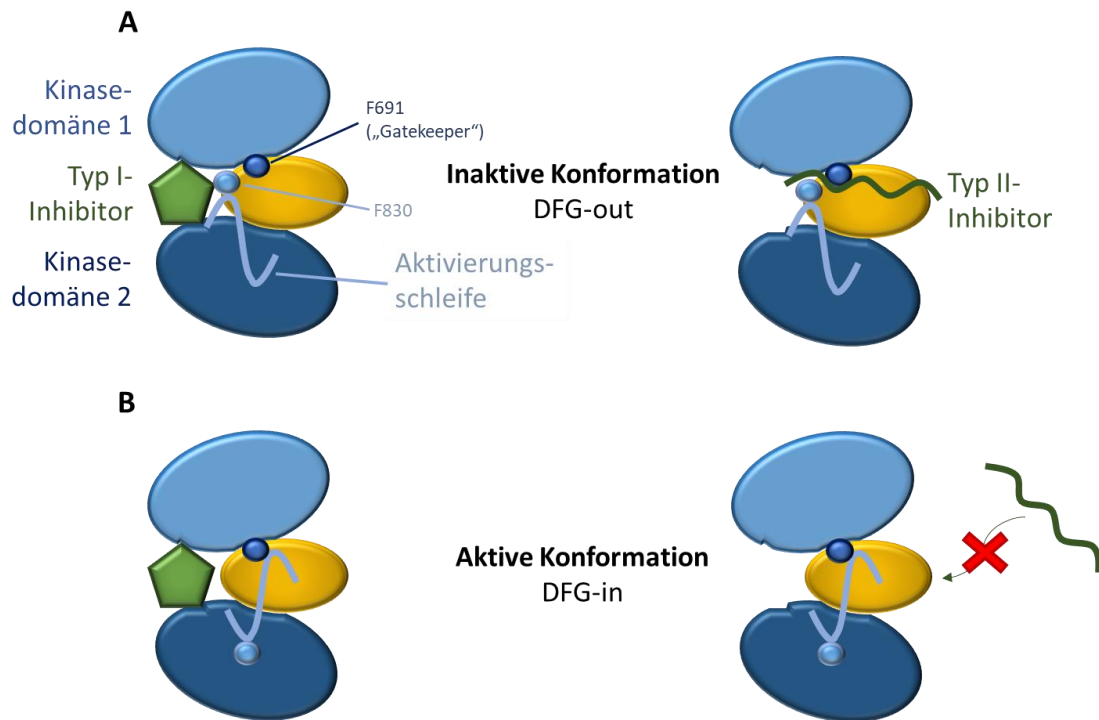


Abb. 13: Vergleich zwischen dem Bindemodus von Typ I- und Typ II-Inhibitoren gegenüber der inaktiven („DFG-out“, A) und der aktiven („DFG-in“, B) Konformation des FLT3-Rezeptors. TKD1 und TKD2 sind in verschiedenen Blau-Tönen dargestellt und entspr. beschriftet. Die Gatekeeper-Aminosäure F691 und die Aminosäure F830 des DFG-Motivs sind ebenfalls markiert. Die in Hellblau dargestellte Aktivierungsschleife mit dem DFG-Motiv verändert ihre Lage beim Übergang von der inaktiven in die aktive Form. Die Bindung eines Inhibitors von Typ I (grünes Fünfeck) kann in beiden Konformationen stattfinden, während ein Inhibitor vom Typ II (grüne Welle) nur an die inaktive Konformation binden kann.¹³⁹

Typ I-Inhibitoren binden an die „DFG-in“-Konformation, die für die Koordination von ATP im aktiven Zustand erforderlich ist. Im Gegensatz dazu stabilisieren Typ-II-Inhibitoren die „DFG-out“-Konformation des inaktiven Zustands. Hemmstoffe vom Typ II sind meist selektiver als Typ I-Inhibitoren, da Kinasen ähnliche aktive, aber unterschiedliche inaktive Konformationen annehmen.²⁴⁸ Die Bindung des Inhibitors Quizartinib 6 in die inaktive Version von FLT3 ist als Beispiel gezeigt (Abb. 14).²⁴⁹

Einleitung

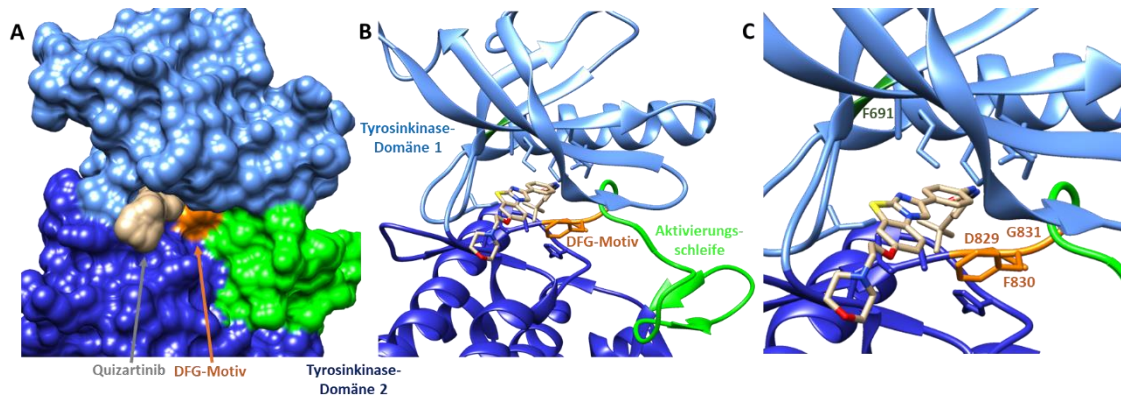


Abb. 14: (A) Schematische Darstellung der intrazellulären Domäne als Kalottenmodell. Quizartinib (6) in der Bindetasche ist in Grau zu sehen (PDB: 4XUF), (B) Darstellung der intrazellulären Domäne als Bändermodell. Quizartinib (6) sowie für Wechselwirkungen wichtige Aminosäuren sind im Stäbchenmodell gezeigt. (C) Vergrößerte Darstellung der intrazellulären Domäne als Bändermodell. Der Ausschnitt zeigt Aktivierungsschleife, DFG-Motiv und einige wichtige Aminosäuren, die im Stäbchenmodell gezeigt sind. In allen drei Abbildungen ist die TKD1 in Hellblau und die TKD2 in Dunkelblau dargestellt. Die Aktivierungsschleife ist in Hellgrün, das DFG-Motiv in Braun und der „Gatekeeper“-Rest F691 in Dunkelgrün gezeigt. Alle Abbildungen wurden mit Chimera 1.16 erstellt.^{124; 249}

Bei den vorgestellten Inhibitoren Midostaurin (1), Lestaurtinib (2), Sunitinib (4), Crenolanib (7) und Gilteritinib (8) handelt es sich um Inhibitoren vom Typ I, die an die ATP-Bindestelle in der aktiven Tasche von FLT3 binden und die sowohl gegen ITD- als auch gegen TKD-Mutationen des Proteins wirken können. Tandutinib (3), Sorafenib (5) und Quizartinib (6) hingegen gehören zu den Inhibitoren vom Typ II und wechselwirken mit einer benachbarten hydrophoben Tasche. Diese Tasche ist nur im inaktiven Zustand erreichbar und wird durch TKD-Mutationen unzugänglich gemacht. TKD-Mutationen verleihen den FLT3-Inhibitoren daher eine gewisse Resistenz gegenüber Typ II-Inhibitoren.^{222; 250}

1.9. RESISTENZEN

1.9.1. Entstehung von Resistenzen

Bei der Entwicklung von Tyrosinkinase-Inhibitoren kann die Selektivität der Wirkstoffe problematisch werden, da die ATP-Bindetaschen vieler Kinasen strukturell sehr ähnlich sind. Werden mehrere Tyrosinkinasen unspezifisch gehemmt, können Nebenwirkungen entstehen.²⁵¹ Weiterhin führt die Behandlung der AML oftmals zu Resistenzen der Tumorzellen gegenüber bestehenden und neuen Medikamenten. Beispielsweise entwickeln Patienten mit mutierter FLT3 nach zunächst erfolgreicher Behandlung durch Quizartinib (**6**) häufig sekundäre Mutationen, die zu Resistenz gegenüber dem Wirkstoff führt und mit einem Wiederauftreten der Erkrankung verbunden ist. Derartige Resistenzmechanismen sind vielfältig und die häufigste Ursache für das Fehlschlagen von Therapien auf Basis von Tyrosinkinase-Inhibitoren.^{252; 253} Erfolge bei der Therapie mit FLT3-Inhibitoren zeigen sich daher schnell, sie sind aber oft vorübergehend, und es kann meist keine dauerhafte und komplette Remission erzielt werden. Das vorübergehende Therapieansprechen beeinträchtigt die klinischen Einsatzmöglichkeiten.^{218; 220; 254; 255}

Resistenzen werden als primär bezeichnet, wenn sie schon vor der Behandlung bestehen. Entsteht eine Resistenz erst durch Behandlung mit TKIs, wird von einer sekundären Resistenz gesprochen.²¹⁸ Der Großteil der sekundären Resistenzen, die zu Medikamentenresistenz führen, beruht auf Punktmutationen innerhalb der TKD von FLT3 mit ITD-Mutation.^{217; 256; 257} Meist finden sich D835-Mutationen in der Aktivierungsschleife von FLT3, wobei die Asparaginsäure durch sperrige und hydrophobe Substituenten wie Tyrosin, Valin, Phenylalanin oder Isoleucin ausgetauscht ist. Diese Mutationen führen durch fehlende Wasserstoff-Brücken-Bindungen zwischen S838 und D835 zur Stabilisierung der DFG-in-Konformation und damit zur Änderung der Bindeaktivität. Das führt zu einer Resistenz gegenüber Inhibitoren vom Typ II.²⁵⁸ Ebenfalls häufig sind Mutationen von F691 („Gatekeeper“) oder N676, die die Bindung von beispielsweise Quizartinib (**6**) beeinträchtigen und so zu Resistenzen führen.^{252; 259–261} Durch die Mutation von F691 wird die Bindung des Wirkstoffs beeinflusst. Der Phenylalanin-Rezeptor und das aromatische System von z.B. Quizartinib (**6**) können nicht mehr wechselwirken.^{259; 262} Da sich N676 in der ATP-Bindungsregion befindet, stört eine Mutation von N676 die Autoinhibition von FLT3.²⁶¹ Allen sekundären Punktmutationen ist gemeinsam, dass sie einen Verlust der Reaktion auf FLT3-Inhibitoren verursachen bzw. die Reaktion verringern.¹⁹⁷

Neben dem Auftreten sekundärer Mutationen existieren weitere Mechanismen, die durch Behandlung mit FLT3-Inhibitoren zu Wirkstoffresistenzen führen. Beispielsweise kommt es zu

einer ausgleichenden Aktivierung verschiedener nachgeschalteter Signalwege wie dem PI3K/AKT/mTOR- oder dem JAK/STAT5-Weg.^{263–265} Außerdem ist die Konzentration des FLT3-Liganden bei AML-Patienten mit mutierter FLT3 deutlich erhöht, wenn mit einer Chemotherapie behandelt wurde. Aufgrund einer daraus folgenden Aktivierung des FLT3-Rezeptors ist die Wirksamkeit der Inhibitoren bei den betroffenen Patienten entspr. verringert.^{226; 266} Daneben wird die Milz-Tyrosinkinase SYK aktiviert, was zu einer Transaktivierung von FLT3 durch eine direkte Bindung führen kann. Das wurde durch *in vivo*-Studien gezeigt.²⁶⁷ Weiterhin konnte eine Erhöhung der Phosphorylierung der RTK AXL in Zellen mit einer ITD in FLT3 nach der Behandlung mit FLT3-Inhibitoren und eine Hochregulierung der Expression der onkogenen Serin/Threonin-Kinase Pim1 (durch das Gen Pim1 codiertes Protein) festgestellt werden.^{268–270}

1.9.2. Überwindung von Resistenzen

Aufgrund der Komplexität von Resistenzmechanismen gibt es verschiedenartige Ansätze, diese Mechanismen zu überwinden. Kombinationstherapien mit anderen Wirkstoffen oder auch eine Verwendung von Multi-Target-Wirkstoffen sind geeignete Konzepte.²²⁰ Außerdem wird intensiv nach neuen FLT3-Inhibitoren gesucht, die gegenüber FLT3 mit einer ITD und AC220-resistenten sekundären Mutationen in der Aktivierungsschleife wirken.²⁵² Crenolanib (**7**) beispielsweise scheint eine vielversprechende Möglichkeit zur Hemmung von therapieassoziierten FLT3-ITD-Mutationen^{237; 238} zu sein und zeigt darüber hinaus eine hohe Inhibitorspezifität.²³⁹ Für Crenolanib (**7**) wurden Eigenschaften eines Typ I-Tyrosinkinase-Inhibitors gegen FLT3-ITD und deren Mutanten gezeigt, und das Molekül ist sowohl *in vitro* als auch *in vivo* aktiv gegen FLT3-ITD und FLT3-ITD mit sekundären Mutationen an D835 oder F691.^{237–239}

Weitere untersuchte Ansätze zur Überwindung von therapie-assoziierten Resistenzen bieten Kombinationstherapien verschiedener FLT3-Inhibitoren wie Crenolanib (**7**) und Sorafenib (**5**), sowie die Kombination von FLT3-Inhibitoren mit Histon-Deacetylase (HDAC)-Inhibitoren oder mit hypomethylierenden Medikamenten.^{238; 271–274}

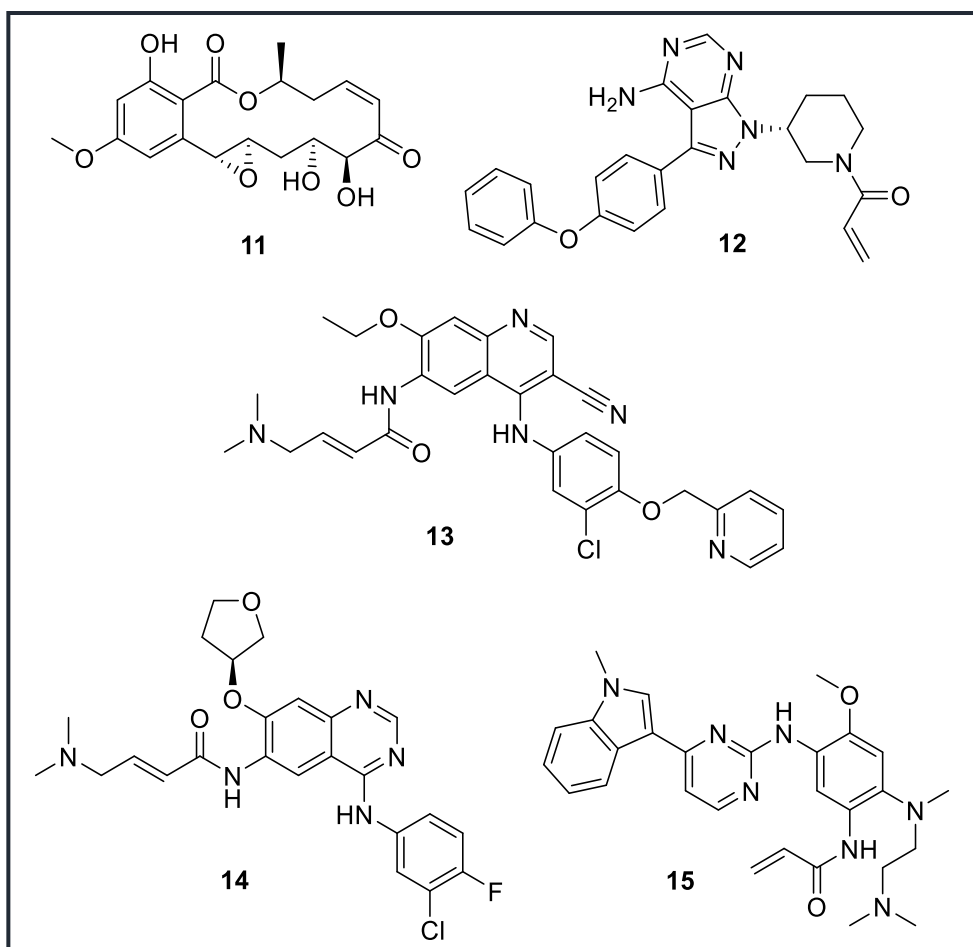
1.9.3. Kovalente Inhibitoren

Eine interessante Möglichkeit zur Überwindung von Resistenzen sind kovalente Inhibitoren von Tyrosinkinasen mit einem irreversiblen Bindemodus. Um irreversible Tyrosinkinase-Inhibitoren zu erzeugen, kann ein bereits aktiver reversibler Kinaseinhibitor mit einer entspr. funktionelle Gruppe ergänzt werden.²⁷⁵ Wirkstoffe dieser Art bieten viele Vorteile gegenüber klassischen und reversibel-bindenden Wirkstoffen, da therapeutische Anwendungen mit deutlich geringeren Dosen möglich sind und folglich die therapeutische Breite erhöht wird. Allerdings muss eine sehr

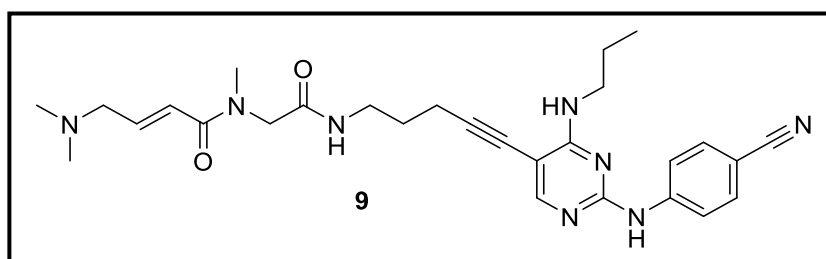
hohe Selektivität des Wirkstoffes gegeben sein. Die Wirkung derartiger Inhibitoren beruht auf einer Reaktion einer nukleophilen Aminosäure-Seitenkette mit einer reaktiven und elektrophilen Gruppe des Hemmstoffes. Dafür werden meist Acrylamide, Propargylamide, Vinylsulfonamide oder α -Haloacetamide eingesetzt. Die irreversible Bindung beruht auf einer S_N2 -Reaktion oder einer Michael-Addition, nachdem das Elektrophil zuerst durch reversible Bindung in der Nähe der nukleophilen Aminosäure positioniert wird. Eine irreversible Bindung führt zu einer längeren Bindung am Rezeptor und damit zu einer erhöhten inhibitorischen Potenz. Dieser doppelte Bindemechanismus kann auch zu einer deutlich erhöhten Selektivität des Inhibitors führen.^{275–279}

Der Naturstoff Hypothemycin **11** ist als Multikinase-Inhibitor ein Beispiel für einen kovalent-irreversiblen Inhibitor.²⁸⁰ Allgemein wurden bisher einige irreversible Wirkstoffe, die als TKIs wirken sollen, zur Behandlung von Krebserkrankungen zugelassen. Dabei handelt es sich zum ersten um den BTK-Inhibitor Ibrutinib (**12**), der z.B. zur Behandlung von CLL zugelassen ist. Der Inhibitor Neratinib (**13**) ist seit 2017 in den USA zur Behandlung bestimmter Formen von Brustkrebs zur Hemmung des Her2-Rezeptors zugelassen. Afatinib (**14**) kann den EGF- und den Her2-Rezeptor inhibieren und wurde schon 2013 zur Behandlung des nicht-kleinzelligen Lungenkarzinoms zugelassen. Osimertinib (**15**) wird ebenfalls für die Behandlung des nicht-kleinzelligen Lungenkarzinoms verwendet.^{279; 281–288}

Einleitung



Auch der neuartige FLT3-Inhibitor FF-10101 **9** ist ein potenter und kovalenter irreversibler Inhibitor. Das Molekül bindet an den Cystein-Rest 695 und wird nicht von den Mutationen beeinflusst, die üblicherweise zur Ausbildung von Resistenzen führen.²¹¹



1.10. PROTACs

1.10.1. Allgemeines

Wie bereits beschrieben, ist eine gezielte Hemmung entspr. Kinasen durch kleinmolekulare Inhibitoren weiterhin von großem Interesse, weist allerdings einige Probleme und eventuelle Einschränkungen durch Resistenzen aus. Als weiterer Lösungsansatz könnte ein gezielter Abbau der entspr. Proteine in Frage kommen. Eine Liganden-vermittelte Proteindegradation ist mit großen Unsicherheiten durch die hohen therapeutischen Dosen verbunden. Folglich erscheint die Technik nicht als besonders geeignet. Die PROTAC-Technologie gibt allerdings eine neue und besser vorhersehbare therapeutische Strategie, um Krankheiten zu behandeln, die durch eine abnorme Expression eines Proteins verursacht werden.^{289–295} Als PROTACs (*engl.* **pro**teolysis **targeting** **chimeras**, „auf Proteolyse abzielende Chimären“) werden niedermolekulare Substanzen bezeichnet, die durch die Rekrutierung von Ubiquitinligasen den gezielten Abbau bestimmter krankheitsassoziierter Zielproteine induzieren.²⁹⁶ Während kleinmolekulare Inhibitoren einzig in der Lage sind, die Proteinfunktion teilweise zu verändern, sind PROTACs in der Lage, einen vollständigen Proteinabbau zu induzieren und – damit verbunden – alle Funktionen des Proteins zu beeinträchtigen.²⁹⁷

1.10.2. Aufbau

Bei PROTACs handelt es sich um kleine hetero-bifunktionelle Moleküle, die aus zwei verschiedenen Liganden bestehen, welche durch einen Linker miteinander verbunden sind. Während ein Ligand dafür verantwortlich ist, ein Zielprotein (POI, *engl.* Protein of interest) zu binden, soll der andere gleichzeitig eine E3-Ligase rekrutieren (Abb. 15).^{298–300}

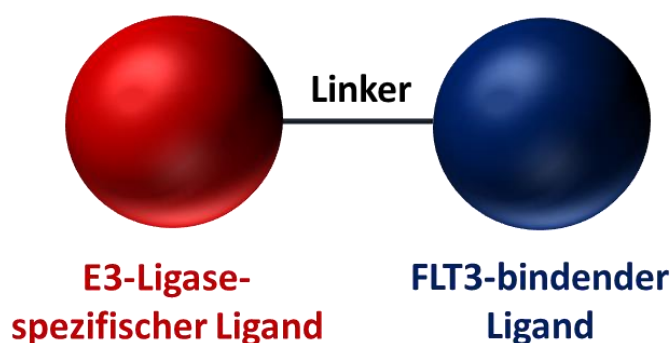


Abb. 15: Schematische Darstellung eines PROTAC-Moleküls zum gezielten Abbau von FLT3. Ein zielproteinbindender Ligand ist in Blau dargestellt und der Baustein zur Rekrutierung einer E3 Ligase in Rot.³⁰¹

1.10.3. Wirkungsweise

Das Prinzip der PROTACs wurde in Form des sogenannten PROTAC-1 vorgestellt. Dabei handelte es sich um eine Verknüpfung eines Moleküls, das an das MetAP2-Protein binden kann mit der Ubiquitinligase/E3-Ligase SCF- β -TRCP.³⁰² Allgemein induzieren PROTACs den Abbau des Zielproteins über ein Ubiquitin-Proteasom-System (UPS). Das Protein wird in mehreren Schritten abgebaut, wobei das PROTAC zuerst sowohl das POI als auch eine E3-Ligase zu einem ternären Komplex bindet, der das POI in eine günstige räumliche Nähe zur Ubiquitinligase bringt. Anschließend vermittelt die gebundene Ubiquitinligase mehrfach eine Übertragung von Ubiquitin von einem E2-Enzym auf einen Lysin-Rest des POI, sodass eine poly-Ubiquitin-Kette auf der Oberfläche des POI entsteht. Zuletzt trennt sich der ternäre Komplex auf, wobei das poly-ubiquitinierte POI über 26S-Proteasome in Aminosäuren und kleine Peptide abgebaut wird und das abgetrennte PROTAC wieder mit dem Zyklus startet (Abb. 16).^{302–309}

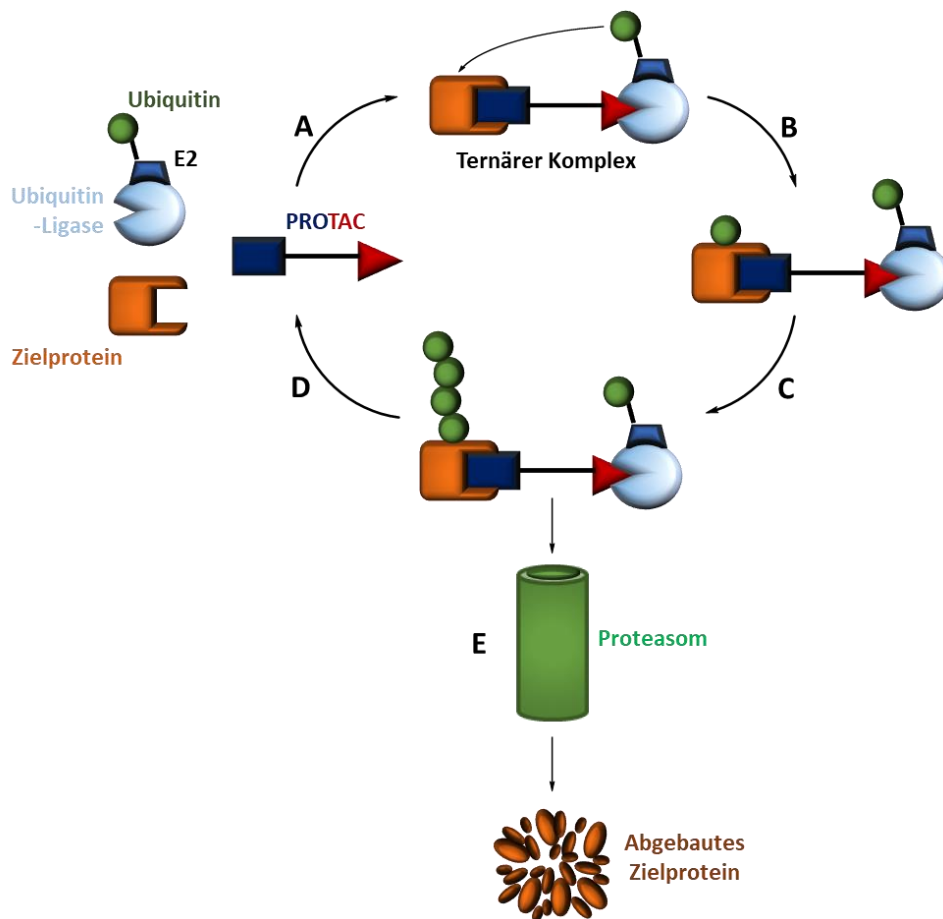


Abb. 16: Schematische Darstellung der PROTAC-Technologie. Das Zielprotein ist in Braun dargestellt, die E3-Ligase in Hellblau, das heterofunktionelle PROTAC-Molekül in Blau und Rot. (A) Das PROTAC bindet gleichzeitig an das Zielprotein und einen E3-Ubiquitin-Ligase-Komplex. (B) Durch die Komplexbildung wird Ubiquitin (in Grün dargestellt) auf das Zielmolekül übertragen. (C) Die Ubiquitinübertragung wird mehrmals wiederholt. Das führt zu einer Polyubiquitinierung des Zielproteins. (D) Einerseits wird durch anschließende Dissoziation des Komplexes das eingesetzte PROTAC wieder freigesetzt und kann nachfolgende Abbauprozesse katalysieren. (E) Andererseits wird das polyubiquitinierte Zielprotein erkannt und das Proteasom (in Grün dargestellt) abgebaut.^{309; 310}

Die ersten PROTACs waren auf peptidischer Basis aufgebaut und zeigten damit eine geringe Zellpermeabilität. Ein Durchbruch konnte erreicht werden, als mehrere PROTACs auf Grundlage niedermolekularer Liganden der E3-Ligase von Hippel-Lindau entwickelt wurden.²⁸⁹

1.10.4. Vorteile

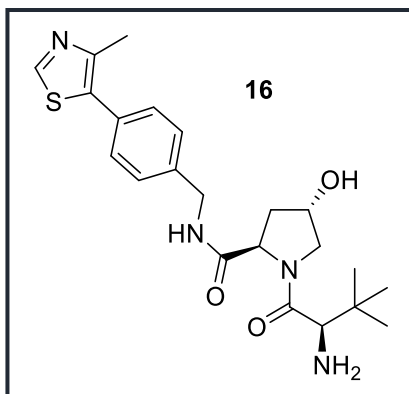
Durch die Art der Wirkung von PROTACs entsteht eine einmalige Möglichkeit für eine deutlich erhöhte Selektivität. Einerseits werden selektive Zielprotein-bindende Bausteine verwendet, andererseits muss eine Übertragung von Ubiquitin auf einen freiliegenden Lysin-Rest des Zielprotein möglich sein. Dieser zweite Schritt erweitert die Selektivität durch verschiedene Positionierungen der entspr. Lysin-Reste in Bezug auf die Ligase, sodass selbst bei sehr ähnlichen Proteinen eine gewisse Unterscheidung besteht.²⁹² Ein weiterer wichtiger Vorteil von PROTACs besteht darin, dass die Moleküle in der Lage sind, auch auf das „untherapierbare“ Proteom, also Rezeptoren ohne gut definierte Liganden-Bindungsstelle, abzu zielen. Die meisten Proteine verfügen nicht über aktive Stellen, um von Wirkstoffen angegriffen werden zu können. Das schränkt die Effektivität kleinmolekulare Wirkstoffe ein.³⁰³ Der Ligand des Zielproteins in PROTACs hingegen muss nicht zwangsläufig an das aktive Zentrum des Proteins binden.^{311–313} Ein weiterer Vorteil: PROTACs werden katalytisch eingesetzt. Das macht sie zu äußerst wirksamen Verbindungen, da mehrere Zyklen des Proteinabbaus vermittelt werden können.²⁸⁹ Dadurch kann sich eine deutlich höhere Wirksamkeit, verglichen mit einem entspr. Inhibitor, ergeben und eine Arzneimittelwirkung in sehr geringen Dosen wird möglich. Unerwünschte Nebenwirkungen aufgrund hoher Wirkstoffkonzentrationen können auf diese Weise verhindert werden.^{314; 315} Außerdem haben PROTACs das Potenzial, die pharmakodynamische Wirkung zu verlängern.³¹¹ Schließlich kann es durch die üblichen zielgerichteten Behandlungen zu einer Arzneimittelresistenz durch z.B. Punktmutationen kommen. Mutationen im Zielmolekül treten durch Selektionsdruck auf, verhindern oftmals die Bindung eines Wirkstoffes und blockieren damit dessen Wirksamkeit. Ein gezielter Abbau des Zielproteins durch PROTACs kann somit diese Art von Resistenzmechanismen bekämpfen.³¹¹

1.10.5. Bausteine für Ubiquitin-Ligasen

1.10.5.1. VHL-Ligand (Von Hippel-Lindau-Ligand)

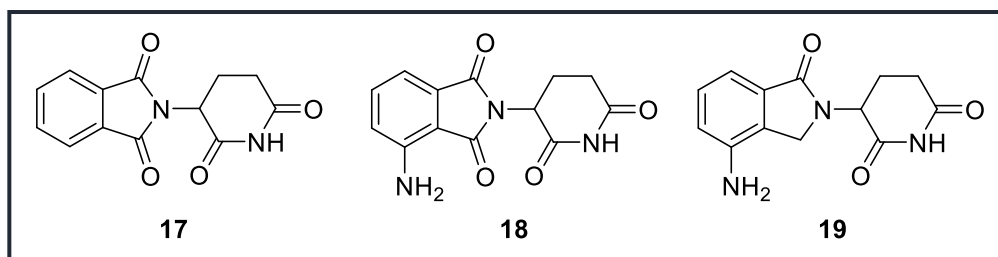
Nach der Entwicklung des PROTAC-Konzepts folgten vor allem Forschungen, einen geeigneten E3-Ligase-Baustein zu finden. Der Ligand **16** des Von-Hippel-Lindau-Proteins erwies sich als sehr vorteilhaft.^{289; 299; 316; 317}

Einleitung



1.10.5.2. Thalidomid

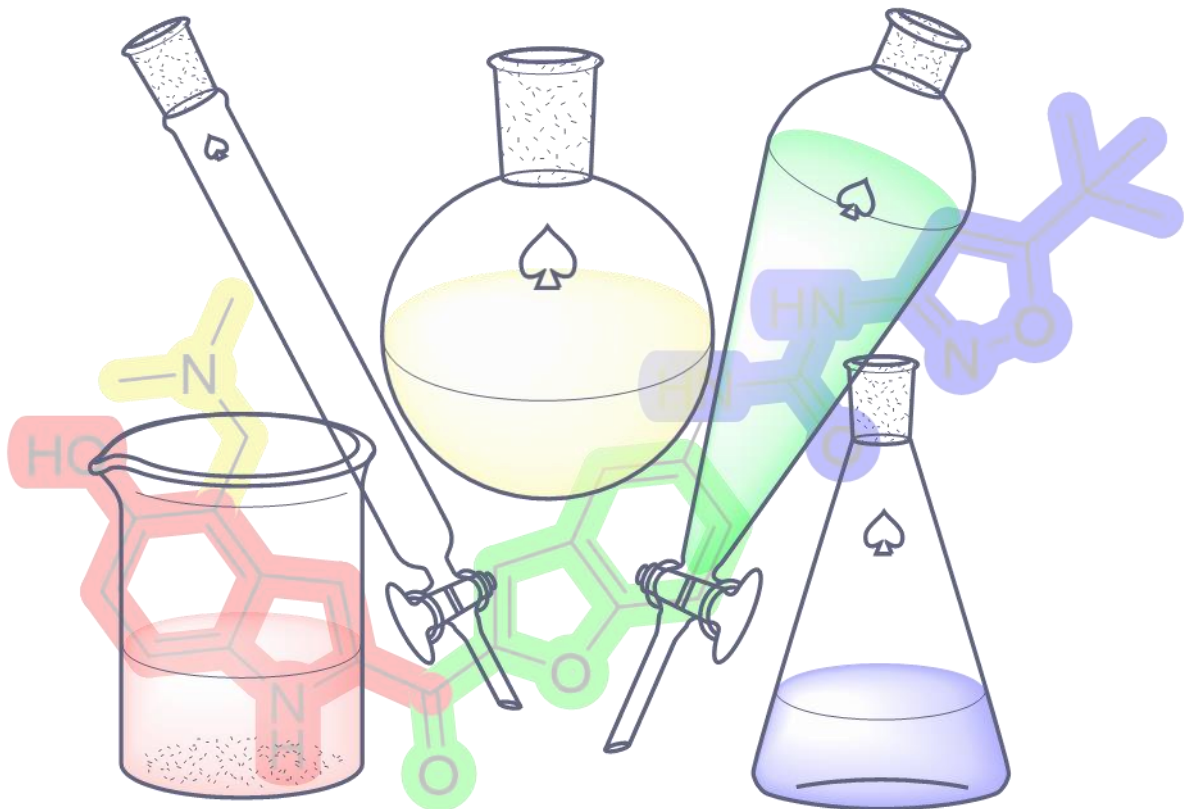
Neben dem VHL-Liganden **16** wurden auch Thalidomid (**17**) und einige Derivate (z.B. Pomalidomid **18** oder Lenalidomid **19**) als Ubiquitinligase-Bausteine verwendet, da sie mit der E3-Ligase Cereblon (Gen-Name: CRBN) interagieren können.^{292; 318; 319}



1.10.6. PROTAC-Strategie für FLT3

Die PROTAC-Strategie kann auf eine Reihe von Zielmolekülen angewandt werden. Daher wurde eine derartige Strategie auch für Kinasen entwickelt, da auch die Rezeptor-Tyrosinkinase FLT3 theoretisch durch PROTACs abgebaut werden kann. Daher wurden auf Grundlage des selektiven Inhibitors Quizartinib (**6**) bereits PROTACs synthetisiert, die FLT3 und FLT3-ITD erfolgreich abbauen können.^{296; 320}

2. CHEMISCHER TEIL



2.1. STAND DER FORSCHUNG

Wie in der Einleitung (Kapitel 1) beschrieben, sind neue und verbesserte kleine Moleküle nötig, die als FLT3-Inhibitoren wirken und entweder als Monotherapie oder in Kombination eingesetzt werden können. Diese unbedingte Notwendigkeit ergibt sich vor allem aus der Entwicklung der beschriebenen Resistenzen durch gängige Therapien.

Vorangegangene Arbeiten des Arbeitskreises Prof. Mahboobi zeigten, dass Derivate mit einem Bisindol-Grundgerüst sehr wirksame Inhibitoren der Rezeptor-Tyrosin-Kinasen FLT3 und PDGFR sind.³²¹ Durch Modifizieren der Bis(1*H*-indol-2-yl)methanon-Verbindungen in Position 5 eines der Indolringe konnten Wirkung und Selektivität der Inhibitoren verändert werden. Während eine Methoxy-Gruppe an C-5 die Selektivität für den PDGF-Rezeptor erhöhte, konnte durch eine OH-Gruppe an dieser Position FLT3 sehr selektiv gehemmt werden (Abb. 17A).^{321; 322} Durch die Kombination der entwickelten Grundstruktur mit dem aus Quizartinib (AC220, **6**) bekannten 5-(*tert*-Butyl)isoxazol-Ring konnte Bernadette Pilsch weiter verbesserte Ergebnisse erzielen, wobei sich allgemein die Position 5' des Indolrings für das besagte Strukturelement als die für die Wirkung wichtigste herausstellte (Abb. 17B).³²³

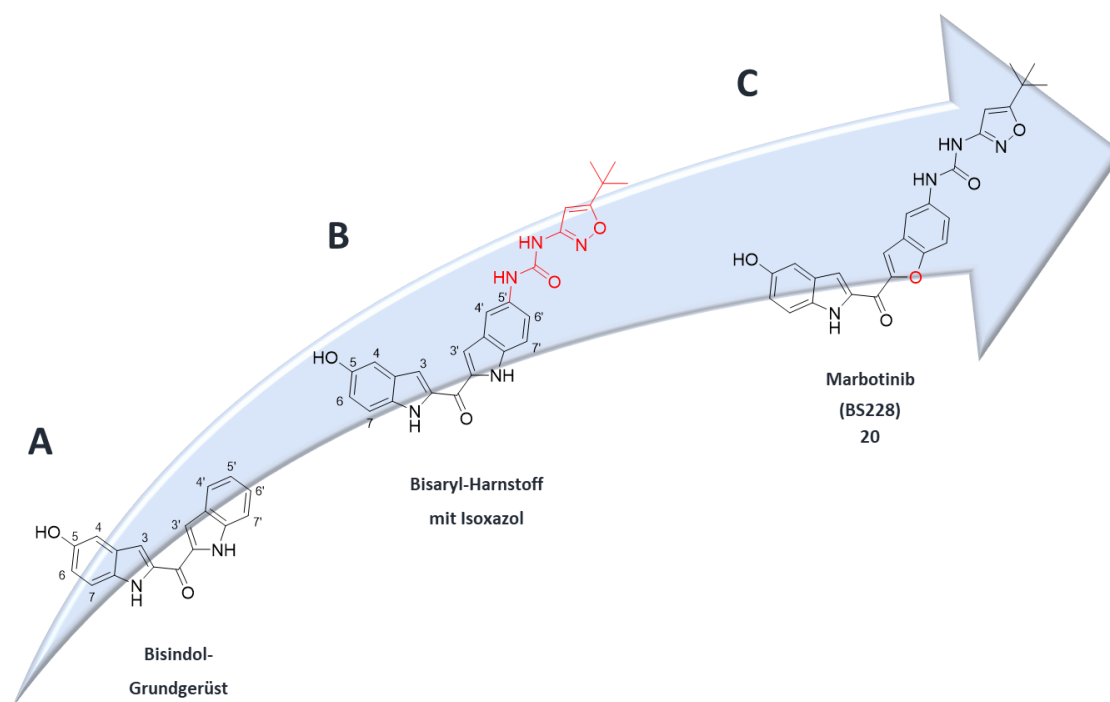


Abb. 17: Schrittweise Entwicklung des FLT3-Inhibitors Marbotinib (BS228, **20**) ausgehend von einem Bisindol-Grundgerüst. (A) Bisindol-Grundgerüst, (B) Kopplung des Bisindol-Grundgerüsts mit einer Aryl-Harnstoff-Einheit, (C) Marbotinib **20**.

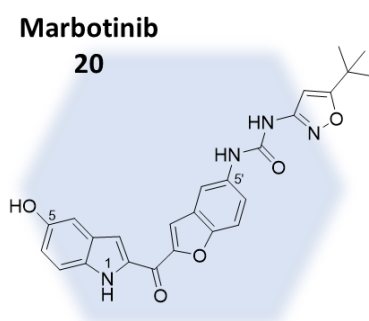
In der Folge wurden weitere Modifikationen synthetisiert; dabei wurden auch die Heterozyklen variiert. Durch den Austausch eines der beiden Indolringe durch einen Benzofuran-Ring konnten

weitere Verbesserungen in biologischen Testungen erzielt werden.^{324–326} Zuletzt führte eine von Bernadette Pilsl synthetisierte Verbindung zu hervorragenden Ergebnissen in verschiedenen Testreihen. Zum Design dieses Moleküls wurde die Grundstruktur (Benzofuran-2-yl(1*H*-indol-2-yl)methanon) einerseits um eine OH-Gruppe an C-5 des Indolrings erweitert. Zum anderen wurde der aus Quizartinib (**6**) bekannte 5-(*tert*-Butyl)isoxazol-Ring über eine Harnstoff-Einheit an C-5' mit dem Benzofuran-Ring verbunden und somit Marbotinib **20** (BS228) erhalten (Abb. 17C).^{324–326}

Marbotinib **20** lieferte herausragende Ergebnisse bei der Evaluierung in biologischen Testsystemen. Das Molekül wirkte inhibitorisch in Enzymtests gegenüber den beiden häufigsten Mutanten von FLT3: Sowohl FLT3-ITD als auch die therapie-assoziierte Mutante FLT3-D835Y wurden auffällig stark gehemmt, da Marbotinib **20** in inaktive und aktive Konformationen von FLT3 in entgegengesetzten Orientierungen passt. In Proliferations- und Apoptose-Assays in der humanen AML-Zelllinie (MV4-11) wurden sehr gute Ergebnisse in Bezug auf die Zellviabilität und Apoptoseinduktion erhalten. Weiterhin erwies sich Marbotinib **20** als sehr selektiver Wirkstoff, der nur gegenüber wenigen anderen Kinasen inhibitorisch aktiv ist.^{324; 325; 327} Auch *in vivo*-Tests waren erfolgreich: Marbotinib **20** verlängerte das Überleben leukämischer Mäuse deutlich.^{326; 327}

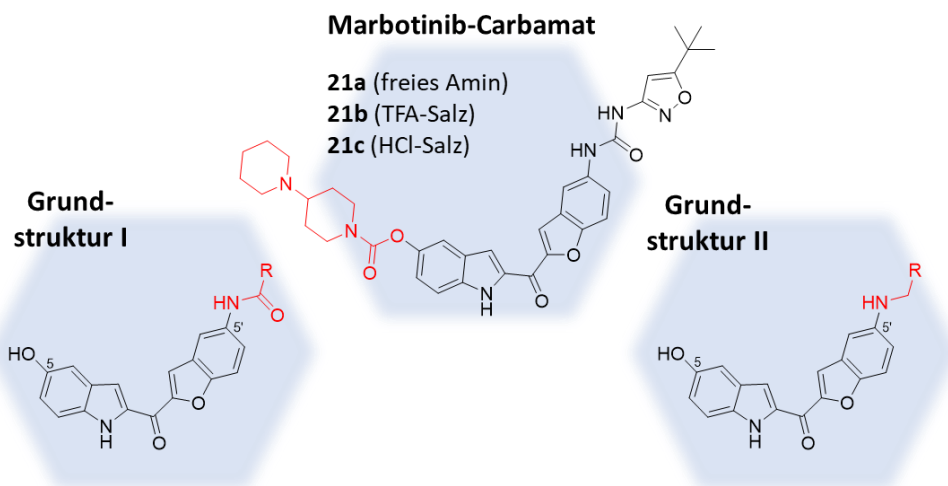
2.2. ZIEL DER ARBEIT

Neben einer Optimierung der Synthese des vielversprechenden FLT3-Inhibitors Marbotinib **20** sollen im Rahmen dieser Arbeit verschiedene Grundstrukturen ausgearbeitet werden, die auf den erwähnten Forschungsergebnissen beruhen und in verschiedenen Bereichen zu weiteren Verbesserungen führen sollen. Dabei sollte neben einer weiteren Steigerung der Wirksamkeit insbesondere die Löslichkeit der neuen Moleküle verbessert werden. Die bereits bekannten Bisarylmethanon-Verbindungen wie Marbotinib **20** lösten sich schlecht in polaren Lösemitteln wie Wasser und Ethanol. Damit war wahrscheinlich, dass sie auch in Bezug auf ihre Bioverfügbarkeit Defizite aufwiesen. Mit neuen Derivaten sollten diese Nachteile umgangen werden können.

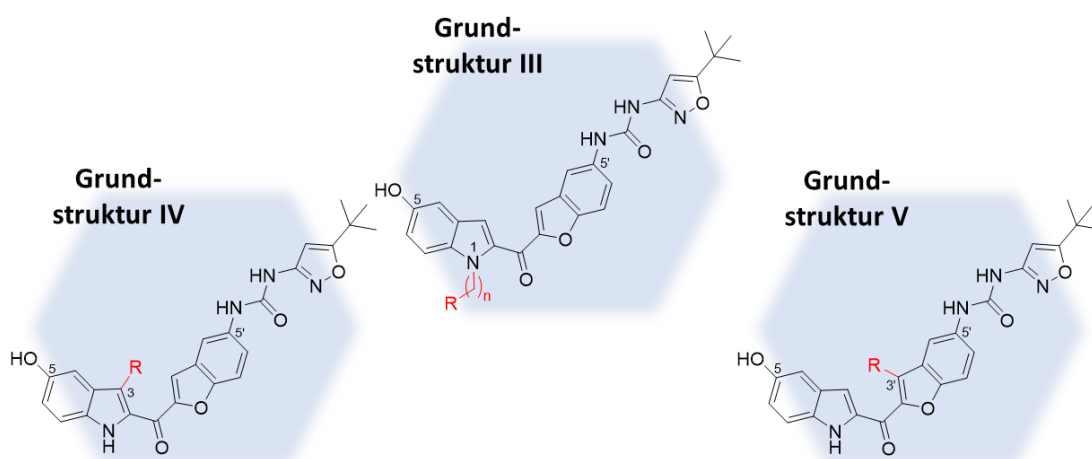


Eine erste Herangehensweise zur Überwindung schlechter Löslichkeit ist das Prodrug-Konzept. Marbotinib **20** soll bei möglichst gleichbleibender Wirksamkeit in ein Carbamat überführt werden.^{321; 326} Mit dem Carbamat **21a** wird ein tertiäres Amin in die Molekülstruktur von Marbotinib **20** eingeführt. Folglich kann der Inhibitor protoniert und in ein TFA-Salz **21b** oder das HCl-Salz **21c** überführt werden. Das sollte die Löslichkeit des Wirkstoffes in polaren Lösemitteln deutlich erhöhen.^{328–330}

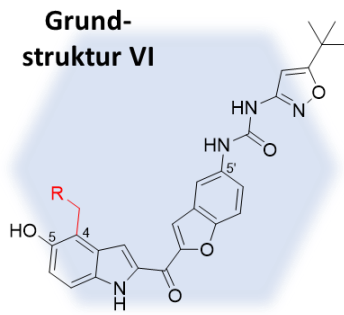
Im nächsten Teil soll der Isoxazol-Ring in Position C-5' von Marbotinib **20** durch andere Strukturelemente ersetzt werden. Ziel war eine weitere Verbesserung der inhibitorischen Wirkung. Zum einen sollen dazu fluorierte Benzoessäure- und Essigsäureamide verwendet werden, zum anderen Enonsysteme in Form fluorierte Zimtsäureamide hergestellt werden, um sogar eine potenziell irreversibel hemmende Wirkstoffklasse zu erhalten (**Grundstruktur I**). Daneben sollen fluorierte Amin-Derivate (**Grundstruktur II**) synthetisiert werden, die ebenfalls die inhibitorischen Fähigkeiten verbessern sollten.



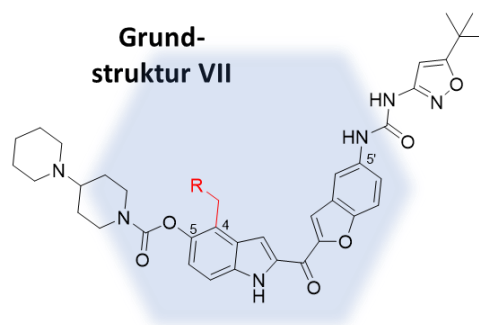
Um Löslichkeit und Bioverfügbarkeit von Marbotinib **20** zu erhöhen, soll die Molekülstruktur modifiziert und eine löslichkeitssteigernde Gruppe in verschiedenen Positionen eingefügt werden. Dies soll z.B. durch Einführung tertiärer Amine erreicht werden, die in ein beliebiges Salz überführt werden können. Neben einem Dimethylamin-Rest sollen dafür verschiedene Heterozyklen verwendet werden. Diese potenziell löslichkeits-erhöhenden Gruppen sollen über Kohlenwasserstoff-Ketten verschiedener Länge als Linker am Indol-N (**Grundstruktur III**), an C-3 des Indolrings (**Grundstruktur IV**) oder an C-3' des Benzofuran-Rings (**Grundstruktur V**) angehängt werden.



Als weitere Grundstruktur wurden Moleküle mit Modifikationen an C-4 des Indolrings entworfen (**Grundstruktur VI**). Hierbei soll einerseits erneut die Wasserlöslichkeit das Ziel sein, andererseits sollen durch die Einführung von Enonen oder Enon-ähnlichen Systemen potenziell-irreversible Wirkstoffe synthetisiert werden.



Für die synthetisierten Moleküle mit **Grundstruktur VI** soll analog zu den Versuchen mit Marbotinib **20** das erwähnte Prodrug-Konzept angewandt und einige der Moleküle in entspr. Carbamate überführt werden (**Grundstruktur VII**).



Ein zusammenfassender graphischer Überblick über die geplanten Modifikationen ist im Folgenden gezeigt (Abb. 18):

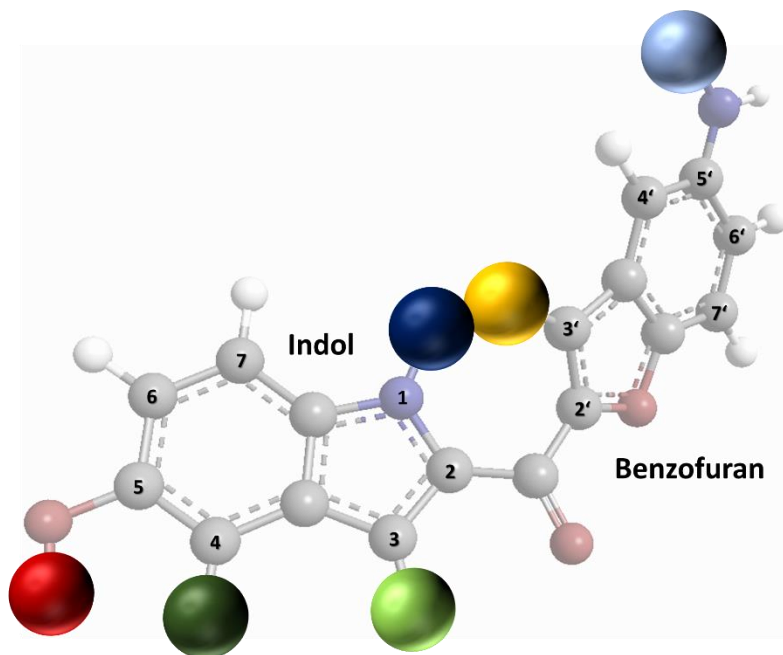
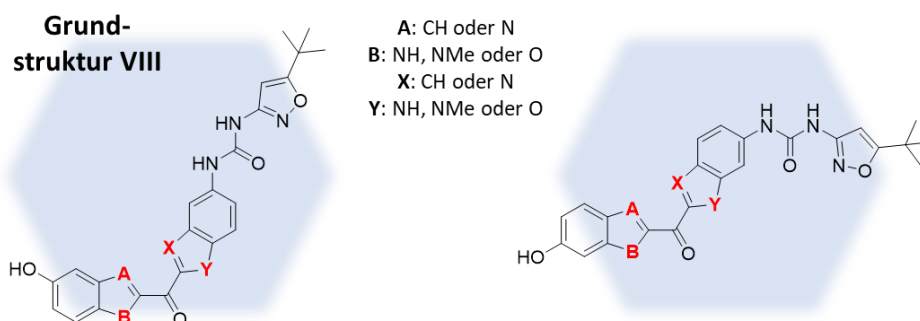
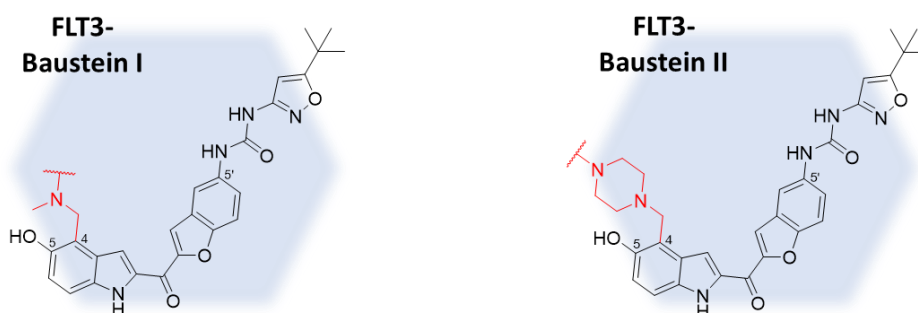


Abb. 18: Überblick über die geplanten Modifikationen an der Grundstruktur. Das Grundgerüst soll dabei eine über ein Keton verbrückte Bisaryleinheit bestehend aus einem Indolring und einem Benzofuran-Ring bilden.

Weiter soll versucht werden, den Indol- bzw. Benzofuran-Ring des Grundgerüsts von Marbotinib **20** zu verändern, um so Moleküle der **Grundstruktur VIII** zu erhalten. Damit könnte die Gruppe der o.a. Heterozyklen um Benzoxazole und Benzimidazole erweitert werden.

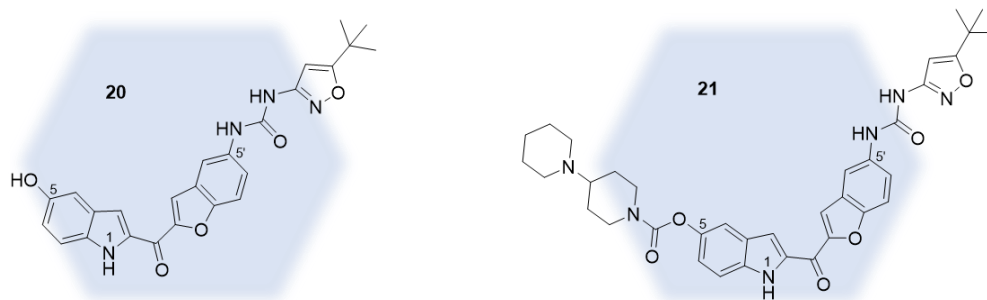


Neben den beschriebenen Modifikationen der Grundstruktur der Bisarylmethanon-Derivate sollen PROTACs auf Basis der beschriebenen neuen Marbotinib-Derivate der **Grundstruktur VI** synthetisiert werden. Die biologisch-interessantesten hergestellten FLT3-Inhibitoren sollen dazu über die sekundären Amine durch Linker verschiedener Art und Länge mit einem Liganden für eine E3-Ligase verbunden werden. Durch zusätzliche Variation der E3-Ligase-Bausteine ist theoretisch eine sehr breite Palette an Kombinationen möglich.



Nach der Synthese der vorgestellten Moleküle sollen die Grundstrukturen ausführlich biologisch charakterisiert werden. Dabei soll die inhibitorische Wirkung der Verbindungen gegenüber der Rezeptor-Tyrosinkinase FLT3 in Enzymtests evaluiert werden. Ausgewählte Verbindungen sollen anschließend in zellulären Systemen und zuletzt in einem *in vivo*-Modell geprüft werden. Weiterhin sollen die neu-synthetisierten Verbindungen auf ihre Löslichkeit und die Kinase-Selektivität untersucht werden.

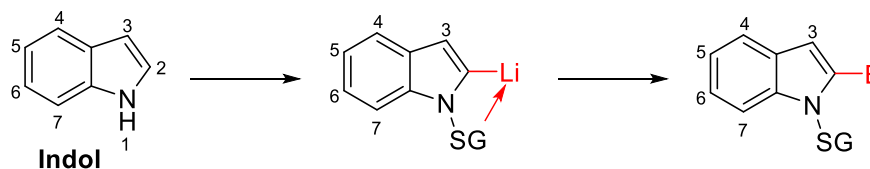
2.3. MARBOTINIB 20 UND MARBOTINIB-CARBAMAT 21



Im ersten Teil dieser Arbeit wurde der von Bernadette Pilsl erstmals synthetisierte, bewährte FLT3-Inhibitor Marbotinib **20** synthetisiert. Dazu wurde die grundsätzliche Reaktionssequenz von Pilsl³²⁵ ausgehend von 5-Benzoyloxyindol **22** verwendet, die Synthese an wenigen Stellen modifiziert, die Durchführung einzelner Schritte vereinfacht und außerdem zusätzlich eine andere Variante der Reaktionssequenz durchgeführt. Eine Vereinfachung und Optimierung der Synthese war zum einen wichtig, um die Verbindungen für entspr. *in vitro*- und *in vivo*-Tests in großem Maßstab synthetisieren zu können. Zum anderen sind die einzelnen Stufen der Marbotinib-Synthese Startmaterialien eines Großteils der weiteren Stoffgruppen.

2.3.1. Synthese Marbotinib 20

Indol ist ein elektronenreicher Aromat, der dadurch bei elektrophilen Substitutionen sehr reaktiv ist. Aufgrund der Elektronenverteilung im Ring stellt nach dem N-Atom das C-Atom in Position 3 die reaktivste Position für elektrophile Reaktionen dar. Zur Synthese der beschriebenen Bisarylmethanon-Derivate muss die Reaktivität verändert werden, um elektrophile Substitutionen an Position 2 durchführen zu können. Dies kann durch Einführung einer elektronenziehenden Schutzgruppe erreicht werden, was die Elektronendichte im aromatischen System verändert und so die Einführung des Substituenten im nächsten Schritt in Position 2 dirigieren kann (Schema 1).



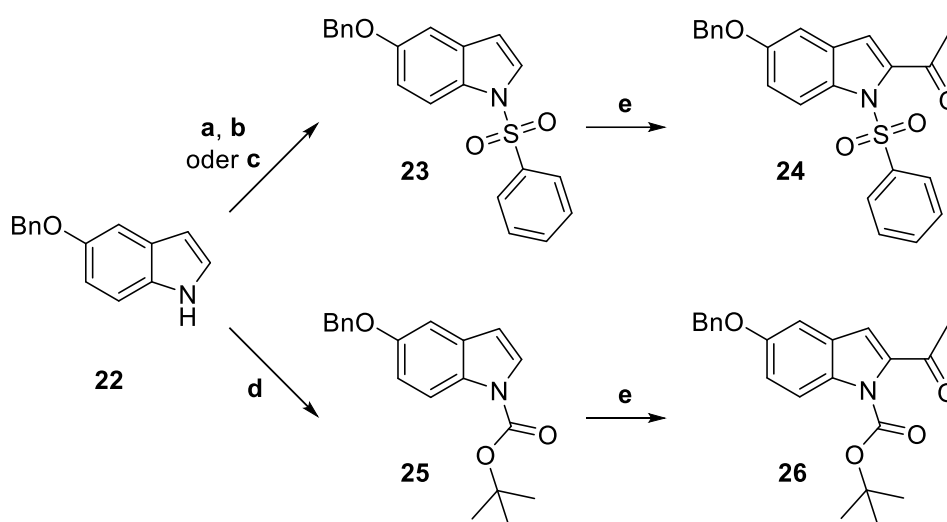
Schema 1: Aktivierung von Position 2 des Indolrings durch die Einführung einer elektronenziehenden Schutzgruppe am Indol-N.

Für diese Reaktionssequenz wurde das Indol-N entweder mit einer Phenylsulfonyl-Gruppe (**23**)^{321; 322; 331; 332} oder einer *tert*-Butyloxycarbonyl-Gruppe (Boc-Gruppe, **25**) geschützt (Schema 2).^{333; 334}

Der Schutz durch die Phenylsulfonyl-Gruppe mit Phenylsulfonylchlorid zur Synthese von **23** gelang

dabei am besten mit NaH in THF oder DMF (Ausb.: 89%),^{321; 322} wurde allerdings zusätzlich einerseits mit NaOH und TBAB in Wasser und Toluol (Ausb.: 38%)³³¹ und andererseits mit n-BuLi in THF (Ausb.: 33%)³³² durchgeführt. Der Schutz durch die Boc-Schutzgruppe zur Synthese von **25** wurde mit DMAP in DCM durchgeführt.^{324; 333; 334}

Im nächsten Schritt wurden **23** bzw. **25** mit n-BuLi in THF an C-2 lithiiert. Der metallierte Aromat kann ein reaktives Carbonsäurederivat nukleophil angreifen. So wurde C-2 des Indolrings in der o.a. Syntheseroute mit AcOAc in THF acetyliert und **24** bzw. **26** konnten isoliert werden (Schema 2).^{324; 325; 335} Die Kristallisation der Produkte aus Diethylether erleichterte diesen Syntheseschritt, der zudem Zeit sparte.

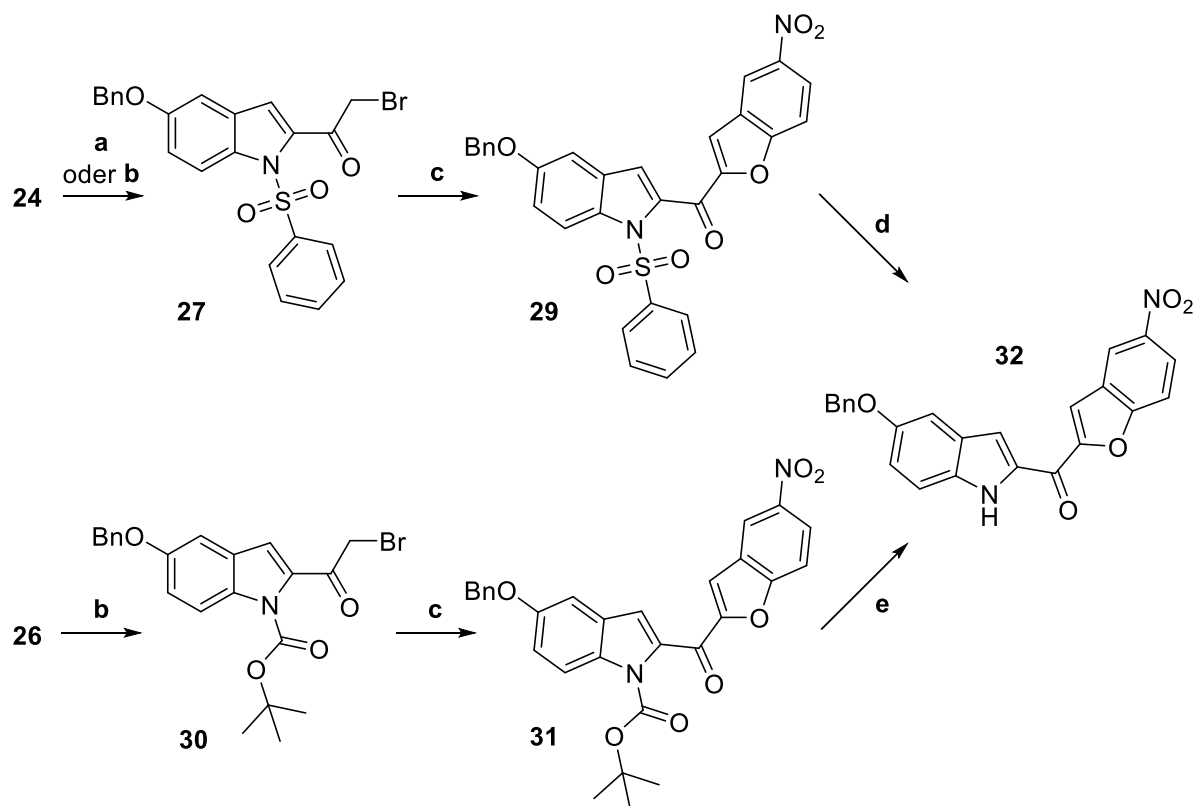


Schema 2: Synthese von **23** und **25**. Reaktionen und Bedingungen: (a) NaH (1.2 eq.), Phenylsulfonylchlorid (1.3 eq.), THF, 0 °C-RT, über Nacht, 89%, (b) NaOH (13 eq.), TBAB (0.1 eq.), Phenylsulfonylchlorid (1.5 eq.), Wasser/Toluol, 0 °C-RT, über Nacht, 38%, (c) n-BuLi (1.2 eq.), Phenylsulfonylchlorid (1.2 eq.), THF, -78 °C-RT, über Nacht, 33%, (d) Boc₂O (1.2 eq.), DMAP (0.2 eq.), DCM, RT, über Nacht, 92%, (e) n-BuLi (1.2 eq.), AcOAc (1.5 eq.), THF, -78 °C-RT, für **24**: 74%, für **26**: 19%.

Das Keton **24** sollte auf verschiedene Arten in α -Position bromiert werden: Die Verwendung von Phenyltrimethylammonium Tribromid erwies sich als besonders geeignet (Ausb.: 74%).^{324; 336} Als Nebenprodukt wurde dabei vor allem ein zweifach α -bromiertes Molekül isoliert. Mit deutlich schlechteren Ausbeuten wurde das gewünschte Produkt **27** durch Kupfer(II)-bromid in EA erhalten (Ausb.: 19%),³³⁷ während einige andere Versuche zu Produktmischungen führten.³³⁷⁻³⁴¹ Verbindung **26** wurde daher ebenfalls unter Verwendung von Phenyltrimethylammonium Tribromid in α -Position bromiert, um **30** zu erhalten (Schema 3).³³⁶

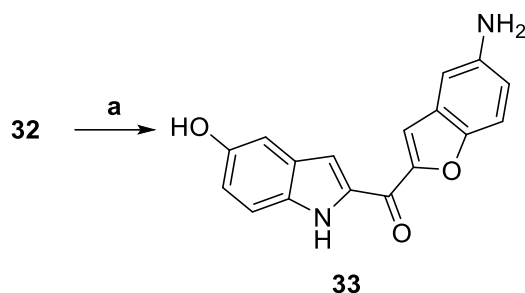
Die Umsetzung der bromierten Verbindungen **27** bzw. **30** mit 2-Hydroxy-5-nitrobenzaldehyd **28** unter basischen Bedingungen führte zum Benzofuran-Ring (**29** bzw. **31**) und durch anschließende Entschützung des Indol-N wurde **32** erhalten (Schema 3).^{324; 325; 342} Die Phenylsulfonyl-Verbindung **29** wurde mit NaOH entschützt,^{324; 343; 344} während die Boc-Schutzgruppe der Verbindung **31** mit

TFA entfernt wurde (Schema 3).^{345; 346} Direkte Weiterverwendung ohne Reinigung der jeweiligen Zwischenstufen **29** und **31** führte zu **32**, das durch einfache Kristallisation aus Wasser und EA gereinigt wurde. Produkt **32** konnte mit sehr hoher Ausbeute und zeitsparend isoliert werden.



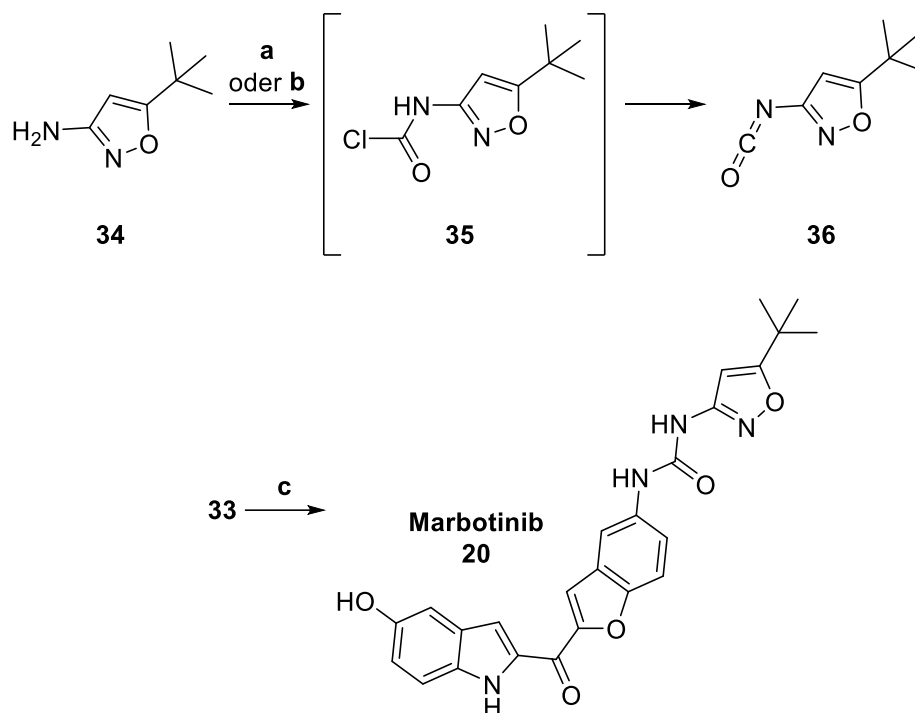
Schema 3: Synthese von **32** aus **24** bzw. **26**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Kupfer (II)-bromid (2.4 eq.), Reflux, 3 d, 19%, (b) Trimethylphenylammonium Tribromid (1.1-1.2 eq.), THF, RT, 4 h, für **27**: 74%, für **30**: 20%, (c) 2-Hydroxy-5-nitrobenzaldehyd **28** (1.0 eq.), K₂CO₃ (1.0 eq.), 2-Butanon, Reflux, 4 h, (d) NaOH (10% in Wasser), MeOH/THF, Reflux, 4 h, 80% (über 2 Schritte), (e) TFA, DCM, RT, 1 h, 33% (über 2 Schritte).

Durch Ammoniumformiat und Palladium (10% auf Aktivkohle) wurde im nächsten Schritt hydrogenolytisch sowohl die Benzyloxy-Schutzgruppe entfernt als auch die Nitro-Gruppe zum Amin reduziert. **33** wurde einfach durch Ausfällen in Wasser isoliert (Schema 4).^{322; 324}



Schema 4: Synthese von **33**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Ammoniumformiat (4.0 eq.), Pd (10% auf Aktivkohle), THF/MeOH, Reflux, 1 h, 95%.

Durch die Reaktion von 5-*tert*-Butylisoxazol-3-amin **34** mit Phosgen oder Triphosgen konnte unter basischen Bedingungen 5-(*tert*-Butyl)-3-isocyanatisoxazol **36** erhalten werden, das direkt weiter mit **33** zu Marbotinib **20** umgesetzt wurde (Schema 5).³²⁴



Schema 5: Synthese von Marbotinib **20**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Phosgen (4.0 eq.), Pyridin (8.0 eq.), DCM, 0 °C-RT, über Nacht, (b) Triphosgen (0.5 eq.), Pyridin (8.0 eq.), DCM, 0 °C-RT, über Nacht, (c) **36** (0.2 M in THF, 2.2 eq.), Pyridin (25 eq.), THF, RT, über Nacht, 75% (über alle Schritte).

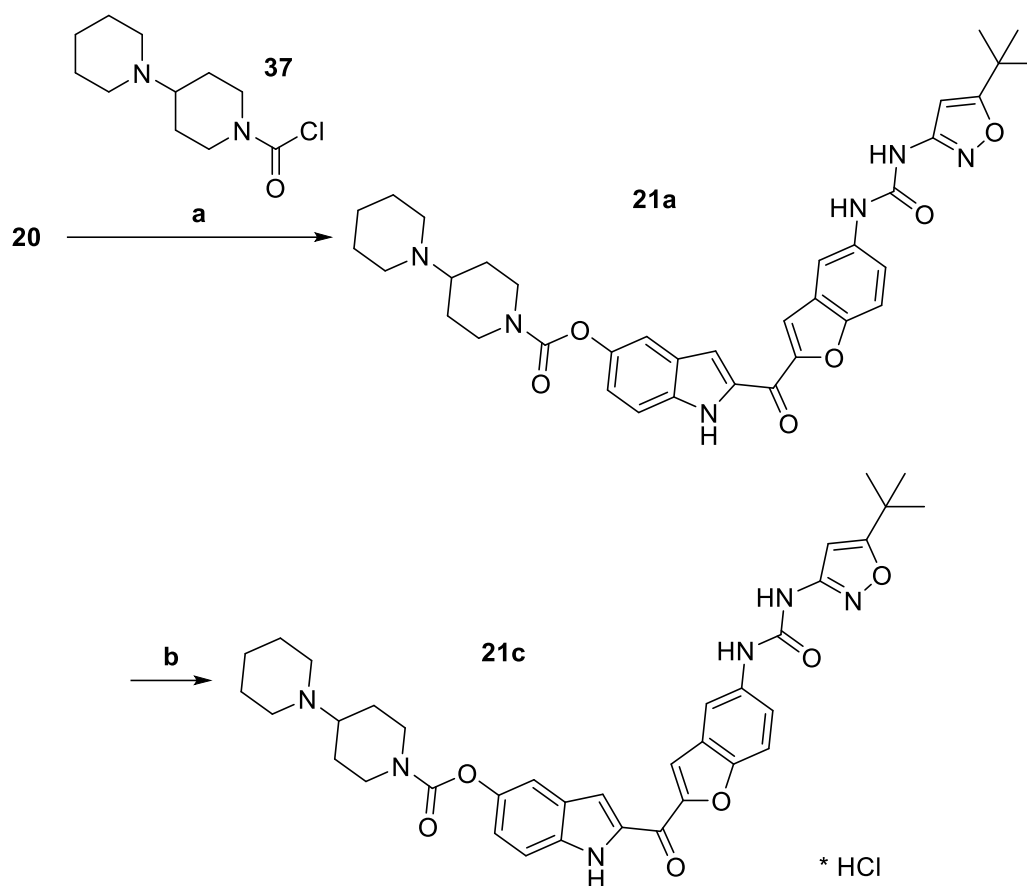
Allgemein konnte durch Variation von Durchführung und Aufarbeitung eine Syntheseroute erarbeitet werden, die mit relativ hoher Gesamtausbeute und geringem Aufwand verbunden ist. Aufgrund der Wichtigkeit des Moleküls Marbotinib **20** und einiger Zwischenstufen für diese Arbeit war eine Optimierung der Synthese dieser Art unbedingt notwendig.

2.3.2. Synthese Marbotinib-Carbamat **21**

Um die Wasser- und Ethanol-Löslichkeit des Wirkstoffes zu erhöhen, wurde ein potenzielles Prodrug entwickelt: Der aromatische Alkohol Marbotinib **20** wurde mit [1,4'-Bipiperidin]-1'-carbonylchlorid **37** in das Carbamat **21a** überführt. – Als Prodrugs werden Moleküle bezeichnet, die selbst inaktiv sind, aus denen allerdings durch Metabolisierung im Körper der eigentliche Wirkstoff entsteht. Mit dem Prodrug-Konzept können verschiedene Ziele, wie zum Beispiel die Verbesserung des Geschmacks eines Wirkstoffes oder eine Resorptionssteigerung, verfolgt werden. In der Literatur sind bereits einige erfolgreiche Beispiele für Prodrugs bekannt.^{347–349}

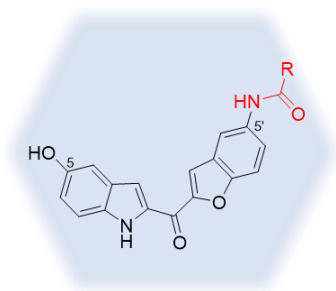
Durch die [1,4'-Bipiperidin]-1'-carboxylat-Gruppe wurde der Molekülstruktur eine unter physiologischen Bedingungen abspaltbare Gruppe hinzugefügt, die des Weiteren über ein

tertiäres Amin verfügt. Um optimale Reinheit zu erreichen, wurde Verbindung **21a** mit Hilfe der präp. HPLC gereinigt und das TFA-Salz **21b** erhalten. Zusätzlich konnte aus **21a** in einem nächsten Schritt unter sauren Bedingungen das HCl-Salz **21c** erhalten werden, was die Wasserlöslichkeit des Wirkstoffes deutlich erhöhen kann (Schema 6).³²⁴



Schema 6: Synthese von **21a** und **21c**. Reaktionen und Bedingungen: (a) **37** (2.4 eq.), Pyridin/DCM, RT, über Nacht, 97%, (b) HCl (2 M in Diethylether oder 5-6 M in Isopropanol), MeOH/DCM, RT, 2 h, quantitativ.

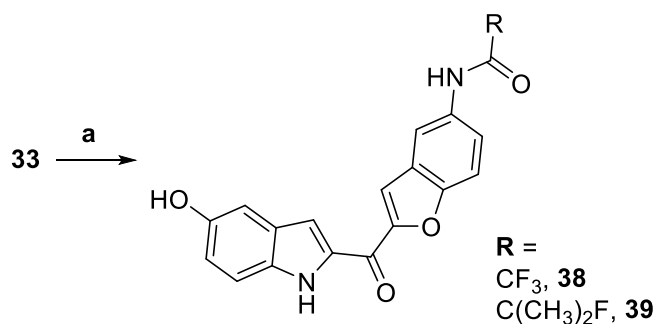
2.4. GRUNDSTRUKTUR I



Grundstruktur I sollte eine Alternative zum bekannten substituierten Isoxazol-Ring sein. Statt über eine Harnstoff-Einheit sollten verschiedene Gruppen als Amide mit dem Bisaryl-Grundkörper verbunden werden. Dazu wurden substituierte Zimtsäure-, Benzoesäure- und Essigsäure-Derivate verwendet. Verbindung **33** aus der Marbotinib-Synthese wurde als Startverbindung gewählt, um die gewünschten Produkte isolieren zu können.

2.4.1. Kopfgruppe 1

Zur Synthese der Moleküle der **Grundstruktur I** wurden gut verfügbare reaktive Carbonsäure-Verbindungen verwendet. **Kopfgruppe 1** wurde durch die Reaktion verschiedener fluorierter Essigsäure-Verbindungen mit **33** erhalten (Schema 7).^{350–352}

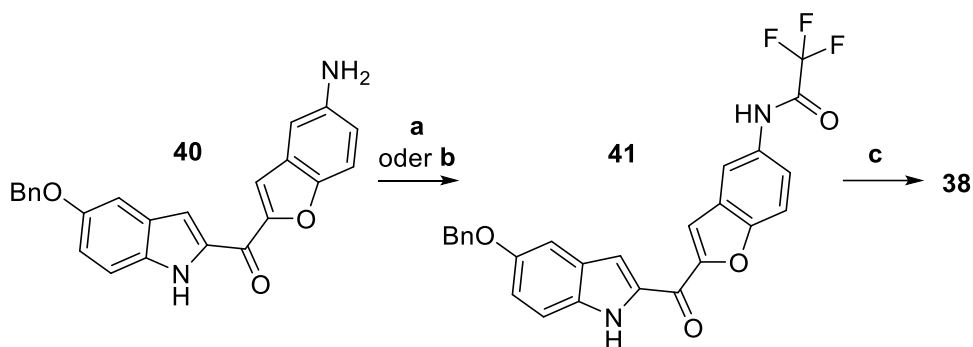


*Schema 7: Synthese von **38** und **39**. Reaktionen und Bedingungen: (a) TFA-Anhydrid (1.1 eq., für **38**) oder 2-Fluor-2-methylpropansäure-Pivalinsäure-Anhydrid (1.5 eq., für **39**), THF, über Nacht, für **38**: 62%, für **39**: 82%.³⁵²*

Während zur Synthese von **38** TFA-Anhydrid eingesetzt wurde, wurde zur Synthese von **39** zuerst ein gemischtes Anhydrid aus 2-Fluor-2-methylpropansäure und Pivalinsäurechlorid hergestellt, das dann ohne weitere Reinigung für die Bildung des Amids **39** verwendet wurde. Dabei wurde der Unterschied in der Elektronendichte an den beiden Carbonyl-C-Atomen genutzt.³⁵²

Eine andere Variante zur Synthese der gewünschten Verbindungen wurde mit **40**, einem Nebenprodukt der Synthese von Marbotinib **20**, durchgeführt. Sollte sich diese Syntheseroute zur Herstellung der gewünschten **Grundstruktur I** mit **Kopfgruppe 1** etablieren, müsste **40** künftig

gezielt in großen Ausbeuten synthetisiert werden. **40** wurde testweise auf die zwei bereits beschriebenen Wege zu **38** umgesetzt: Einerseits mit TFA-Anhydrid, andererseits wurde mit dem gemischten Anhydrid aus Trifluoressigsäure und Pivalinsäurechlorid gearbeitet.³⁵² Durch anschließende Hydrierung wurde **38** isoliert.^{322; 324}

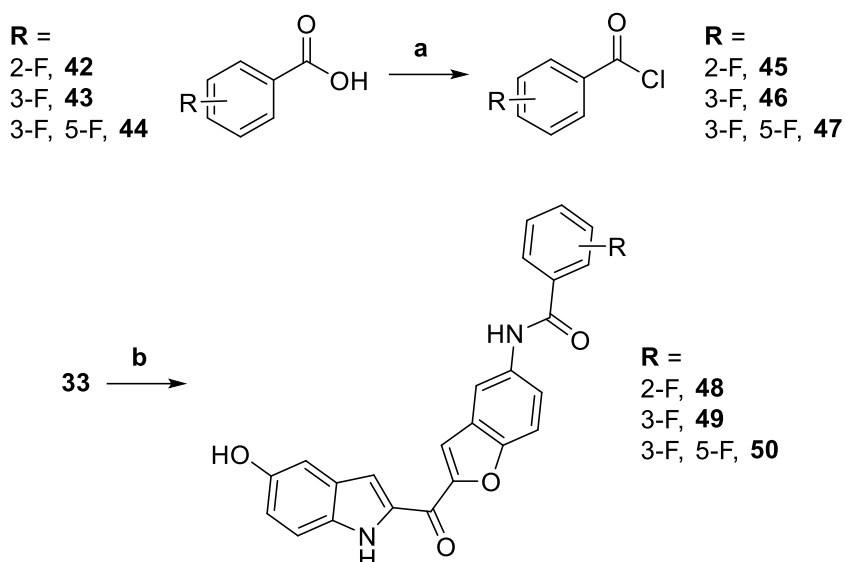


Schema 8: Synthese von **38**. Reaktionen und Bedingungen: (a) TFA-Anhydrid (1.1 eq.), THF, RT, über Nacht, quantitativ, (b) Trifluoressigsäure-Pivalinsäure-Anhydrid (1.1 eq.), THF, RT, über Nacht, 86%, (c) Ammoniumformiat (4.0 eq.), Pd (10% auf Aktivkohle), THF/MeOH, Reflux, 1 h, 98%.

Allgemein lässt sich sagen, dass das gewünschte Produkt durch die Synthesevariante ausgehend von **40** (Schema 8) erfolgreicher erreicht werden könnte als ausgehend von **33** (Schema 7). Daher könnte diese Variante (Schema 8) für weitere Derivate der Essigsäureamide in Betracht gezogen werden. Voraussetzung wäre allerdings eine gezielte und mit hoher Ausbeute verbundene Synthese von Verbindung **40**.

2.4.2. Kopfgruppe 2

Auch für Moleküle der **Grundstruktur 1** mit **Kopfgruppe 2** wurden reaktive Carbonsäure-Verbindungen verwendet. Dafür wurden Verbindungen **48-50** synthetisiert, wobei die fluorierten Benzoessäure-Derivate **42-44** zu den Carbonsäurechloriden **45-47** und im Anschluss **45-47** mit **33** zu **48-50** umgesetzt wurde (Schema 9).^{350; 351}



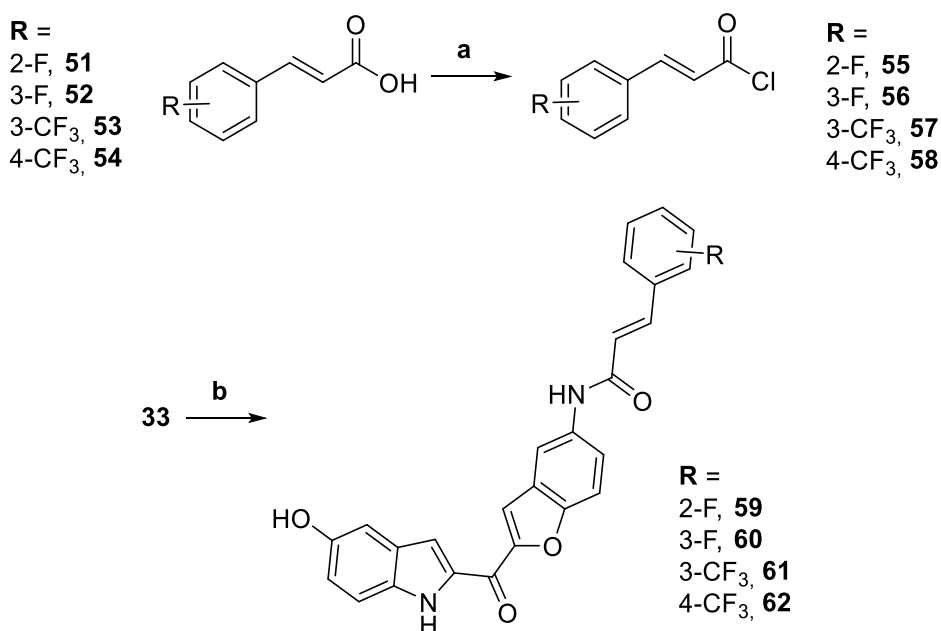
Schema 9: Synthese von **48-50**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Thionylchlorid, Reflux, 2 h, (b) Säurechloride **45-47**, THF, über Nacht, 0-80 °C, 69-91%.

Bei der Synthese von Molekülen mit **Kopfgruppe 2** kann eventuell analog zum Syntheschema für **Kopfgruppe 1** auch mit dem Benzyl-geschützten Phenol **40** gearbeitet werden. Weiter wäre der Einsatz von mehreren Äquivalenten **33** im Vergleich zur entspr. reaktiven Carbonsäure-Verbindung wahrscheinlich mit aufwändigerer Reinigung, allerdings maximalen Ausbeuten verbunden. Eventuell könnte die Ausbeute der Reaktion auch durch den Einsatz einer entspr. Base optimiert werden.³⁵³

2.4.3. Kopfgruppe 3

Durch die Synthese von Molekülen der **Grundstruktur I** mit **Kopfgruppe 3** aus verschiedenen Zimtsäuren konnte zusätzlich ein Enon-System in den Verbindungen **59-62** erhalten werden. Hierbei wurden ebenfalls zuerst die fluorierten Zimtsäure-Derivate **51-54** in die entspr. Carbonsäurechloride **55-58** überführt, welche anschließend mit Verbindung **33** zu **59-62** umgesetzt wurden (Schema 10).^{350; 351}

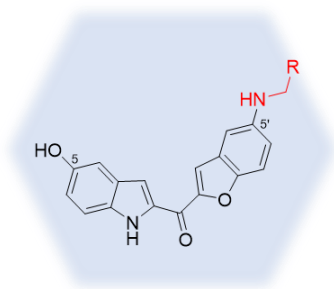
Chemischer Teil



Schema 10: Synthese von 59-62. Reaktionen und Bedingungen: (a) Thionylchlorid, Reflux, 2 h, (b) Säurechloride 55-58, THF, 2-16 h, 0 °C-RT, 14-45%.

Vor allem bei der Synthese dieser Derivate wären durch Einsatz mehrerer Äquivalente **33** bezogen auf die entspr. reaktiven Carbonsäure-Verbindung oder die Verwendung einer Hilfsbase wahrscheinlich verbesserte Ausbeuten zu erwarten.³⁵⁴ Eventuell kann eine Reaktion auch mit Reagenzien wie z.B. CDI erreicht werden.³⁵⁵ Wie bei der Synthese der Zimtsäure-Derivate wäre die Einführung weiterer Enon-Systeme möglich, da aber keine der synthetisierten Modifikationen an dieser Position eine verbesserte biologische Wirksamkeit verglichen mit Marbotinib **20** aufweist, wurden diese Grundstruktur nicht weiter untersucht. Außerdem wurden im Rahmen dieser Arbeit keine Untersuchungen zum möglichen irreversiblen Bindemodus durchgeführt.

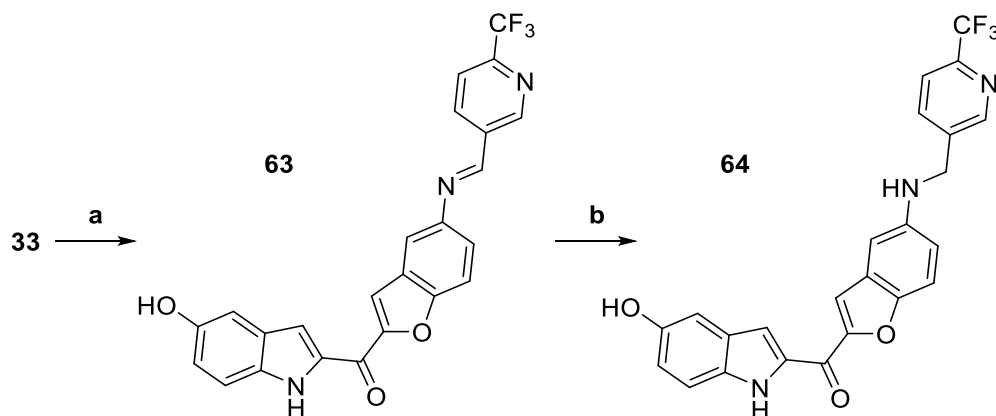
2.5. GRUNDSTRUKTUR II



Mit **Grundstruktur II** sollte, wie schon mit **Grundstruktur I**, eine andere Kopfgruppe statt des bekannten Isoxazol-Rings synthetisiert werden. Ein aromatisches System wurde mit dem Bisaryl-Grundkörper über ein Amin verknüpft. Verbindung **33** wurde erneut als Startverbindung gewählt.

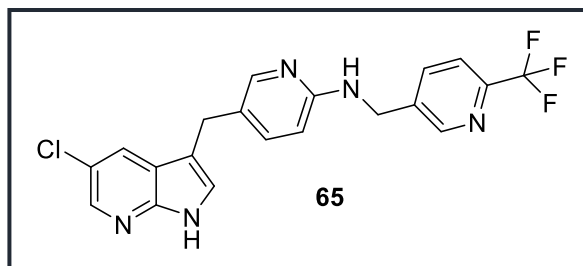
Die gewünschten Amine wurden durch reduktive Aminierung aus dem entspr. aromatischen Aldehyd und **33** synthetisiert. Die Imin-Zwischenstufe **63** wurde ebenfalls isoliert (Schema 11).^{356;}

357



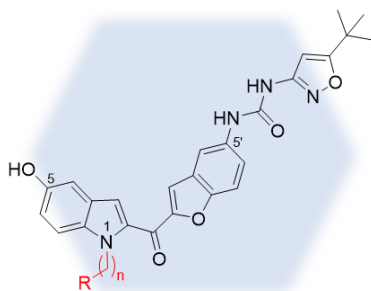
Schema 11: Synthese von **64**. Reaktionen und Bedingungen: (a) 6-(Trifluormethyl)nicotinaldehyd (1.2 eq.), THF, RT, über Nacht, 43%, (b) NaBH₄, Borsäure, THF/MeOH, 0 °C, 2 h, 40%.

Die Verknüpfung des Amins mit einer Trifluormethylpyridin-Gruppe ist aus dem Wirkstoff Pexidartinib **65** bekannt, einem Inhibitor der Tyrosinkinase CSF1-R, das 2019 von der FDA für die Behandlung von Riesenzell-Tumoren der Sehnenscheide (GCT-TS, Giant cell tumor of the tendon sheath, auch bezeichnet als Tenosynovialer Riesenzelltumor: TGCT, tenosynovial giant cell tumor) zugelassen wurde.^{358; 359}



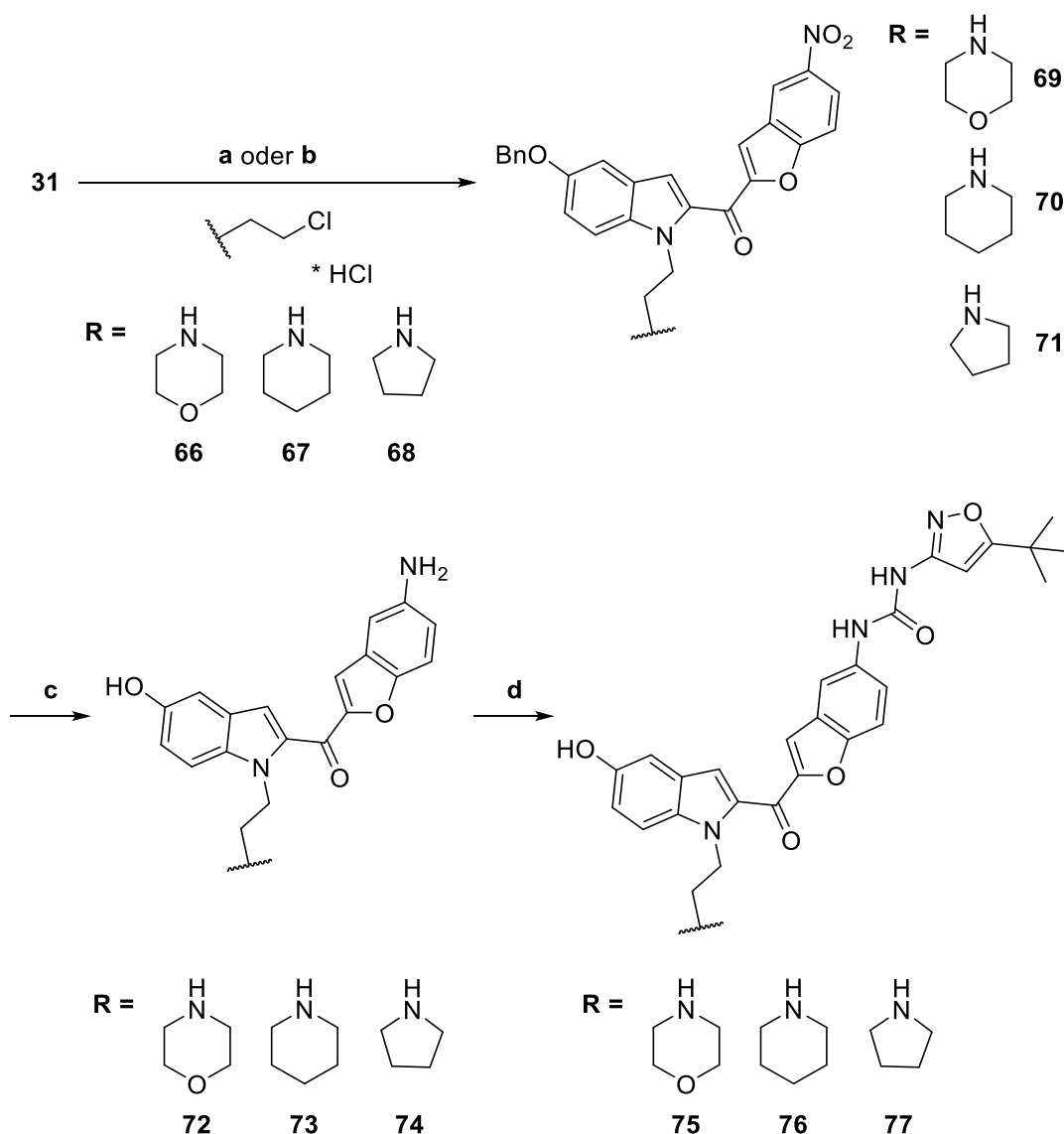
Die Produktpalette könnte bei dieser Stoffgruppe durch Verwendung anderer Aldehyde ebenfalls beliebig erweitert werden, die Grundstruktur wurde aufgrund der biologischen Wirkung allerdings ebenfalls nicht weiter untersucht.

2.6. GRUNDSTRUKTUR III



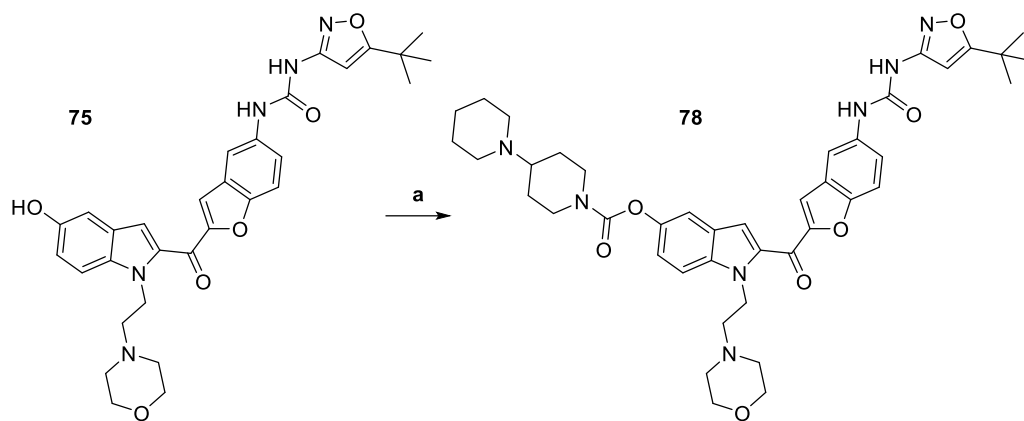
Bei **Grundstruktur III** und bei weiteren Grundstrukturen sollte auf das Problem der Löslichkeit der Moleküle in Wasser und Ethanol eingegangen werden. Dafür sollten N-haltige Heterozyklen in die Molekülstruktur eingebaut werden, die in Salze überführt werden könnten. Die entspr. Heterozyklen sollten über eine Kohlenwasserstoff-Kette mit dem Indol-N verbunden werden. Ausgangsmolekül war Verbindung **32**.

Um einen N-haltigen Heterozyklus mit einer C₂-Kette mit **32** zu verknüpfen, wurde 4-(2-Chloroethyl)morpholin-HCl **66**, 4-(2-Chloroethyl)piperidin-HCl **67** oder 4-(2-Chloroethyl)pyrrolidin-HCl **68** verwendet und unter basischen Bedingungen **69-71** gebildet.^{360; 361} Anschließend wurde die Nitrogruppe zum Amin hydriert. Gleichzeitig wurde die Benzylgruppe zu **72-74** abgespalten. Zuletzt wurde die aus Marbotinib **20** bekannte Isoxazol-Gruppe angefügt und die gewünschten Verbindungen **75-77** erhalten (Schema 12).^{324; 325}



Schema 12: Synthese der Derivate **75-77**. Reaktionen und Bedingungen: **(a)** **66**, **67** oder **68** (1.2 eq.), K_2CO_3 (5.0 eq.), DMF, 80 °C, über Nacht, 94%-quantitativ, **(b)** **67** (2.0 eq.), KOH (4.0 eq.), DMSO, RT, über Nacht, 91%, **(c)** Ammoniumformiat (4.0 eq.), Pd (10% auf Aktivkohle), THF/MeOH, Reflux, 1 h, 39-46%, **(d)** 5-(*tert*-Butyl)-3-isocyanatisoxazol **36** (0.2 M in THF, 2.2 eq.), Pyridin (25 eq.), THF, RT, 16 h, 66-83%.

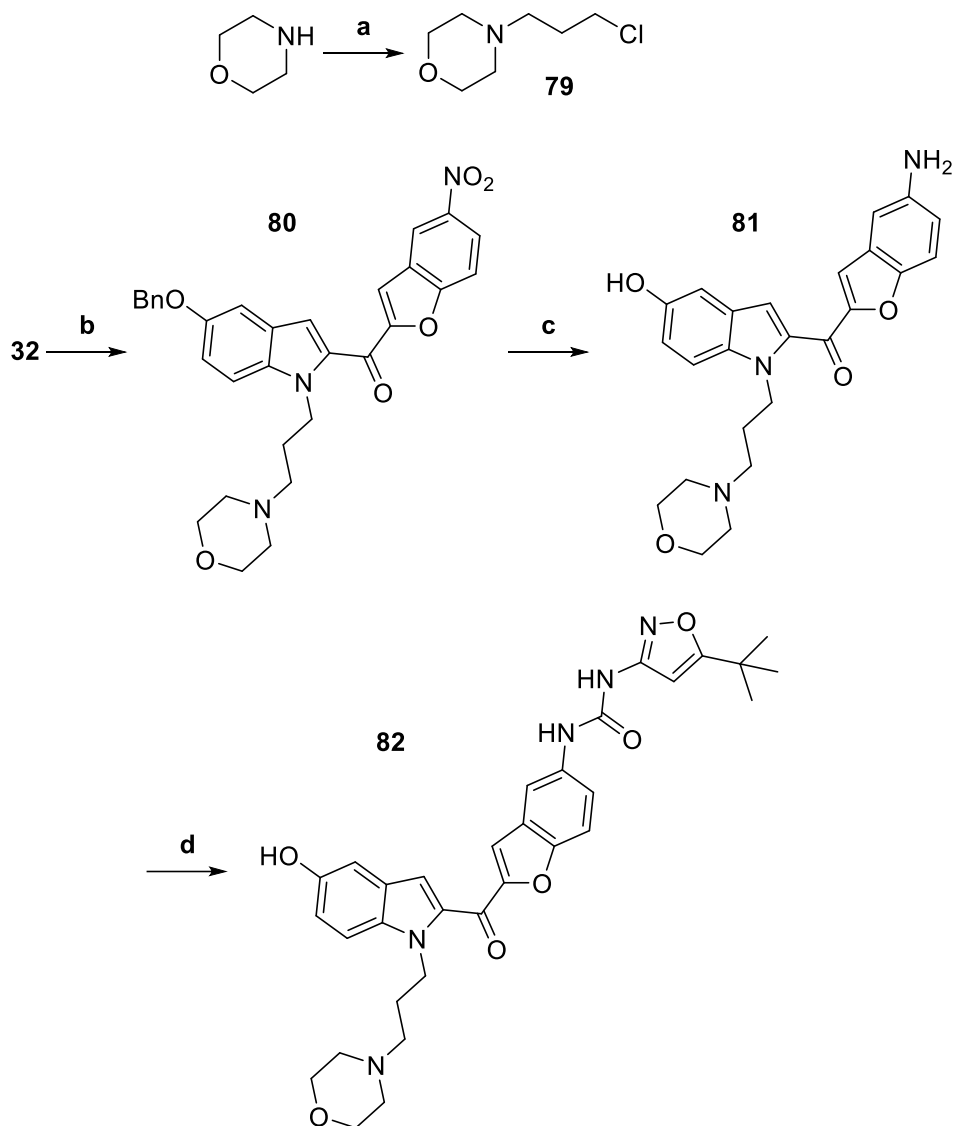
Die Durchführung der Reaktion **a** in DMSO und mit KOH als Base³⁶² wurde für eine Piperidin-Verbindung durchgeführt, war allerdings etwas weniger ergiebig und ist mit aufwändigerer Aufarbeitung verbunden (Ausb.: 91%). Zur weiteren Löslichkeitsverbesserung wurde aus **75** darüber hinaus mit [1,4'-Bipiperidin]-1'-carbonylchlorid **37** Carbamat **78** gebildet (Schema 13).^{324;}



Schema 13: Synthese von **78** aus **75**. Reaktionen und Bedingungen: (a) **37** (2.4 eq.), Pyridin/DCM (1:1), RT, über Nacht, 94%.

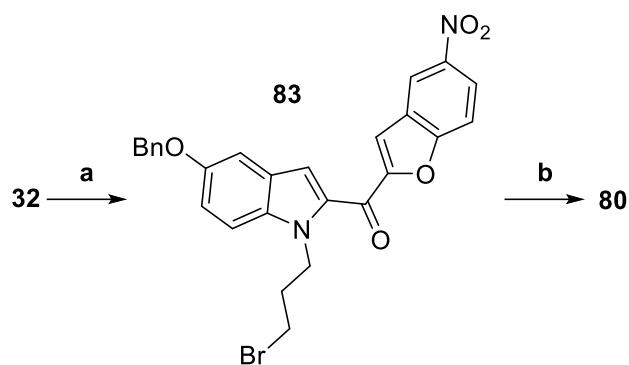
Um einen N-haltigen Heterozyklus mit einer C₃-Kette mit **32** zu verknüpfen, wurde 4-(3-Brompropyl)morpholin **79** aus Morpholin und 1,3-Dibrompropan synthetisiert.³⁶³ **79** wurde mit **32** umgesetzt und unter basischen Bedingungen **80** gebildet.^{360; 361} Anschließend wurde die Nitrogruppe zum Amin hydriert, die Benzylgruppe zu **81** abgespalten und die Isoxazol-Gruppe angefügt, um die gewünschte Verbindung **82** zu erhalten (Schema 14).^{324; 325}

Chemischer Teil



*Schema 14: Synthese von **82** aus **32**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Morpholin (2.0 eq.), 1-Brom-3-chlorpropan (1.0 eq.), Toluol, Reflux, über Nacht, 68%, (b) **79** (1.2 eq.), K₂CO₃ (5.0 eq.), DMF, 80 °C, über Nacht, 68%, (c) Ammoniumformiat (4.0 eq.), Pd (10% auf Aktivkohle), THF/MeOH, Reflux, 1 h, 54%, (d) 5-(*tert*-Butyl)-3-isocyanatisoxazol **36** (0.2 M in THF, 2.2 eq.), Pyridin (25 eq.), THF, RT, über Nacht, 75%.*

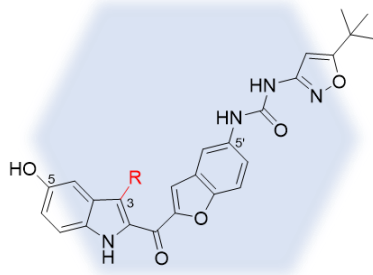
Zusätzlich wurde **80** in anderer Reihenfolge aufgebaut. **32** wurde mit 1,3-Dibrompropan zu **83** umgesetzt.³⁶⁴ **80** wurde nach einer nukleophilen Substitution mit Morpholin erhalten (Schema 15).³⁶⁵



Schema 15: Synthese von **80** aus **32**. Reaktionen und Bedingungen: (a) NaH (1.2 eq.), 1,3-Dibrompropan (2.3 eq.), DMF, 0 °C-RT, über Nacht, 76%, (b) Morpholin (1.2 eq.), K₂CO₃ (3.0 eq.), DMF, RT, über Nacht, 88%.

Allgemein bietet auch diese Stoffklasse neben den beispielhaft synthetisierten Produkten durch weitere Variation des sekundären Amins und der Kettenlänge des Linkers ein breites Feld an Möglichkeiten für weitere Moleküle.

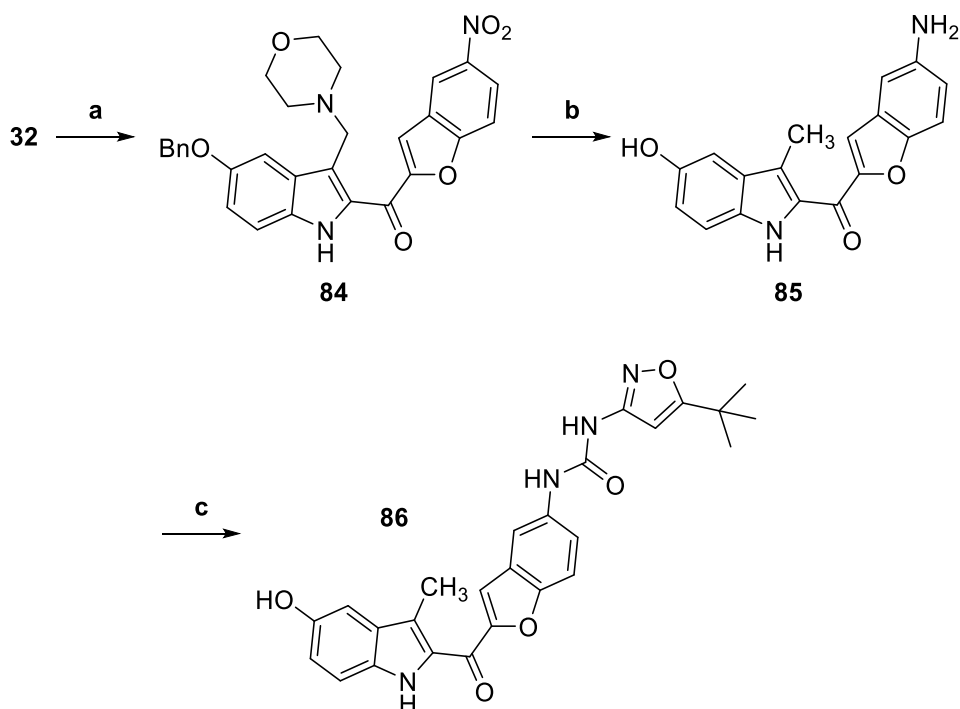
2.7. GRUNDSTRUKTUR IV



Weitere Modifikationen der Molekülstruktur sollten an C-3 des Indolrings von Marbotinib **20** vorgenommen und damit die **Grundstruktur IV** geschaffen werden. Dazu wurden neben einer einfachen Methylgruppe (**87**) der Heterozyklus Morpholin (**90**) beispielhaft für weitere sekundäre Amine als Kopfgruppe verwendet, wobei die Verknüpfung über eine CH₂-Gruppe erfolgte. Weiterhin wurde ein Dimer aus zwei Marbotinib-Molekülen (**93**) synthetisiert.

2.7.1. Methylgruppe

Mit der Synthese einer Verbindung mit Methylgruppe an C-3 des Indolrings sollte überprüft werden, inwiefern sich Substituenten in dieser Position auf die biologische Wirkung der Verbindungen auswirken. Daher wurde **86** in drei Reaktionen ausgehend von **32** synthetisiert. Beim ersten Schritt wurde **32** mit Morpholin und Formaldehyd nach Mannich zu **84** umgesetzt.³⁶⁶ Die nachfolgende Hydrierung (**85**) und anschließende Kopplung erfolgten nach bewährter Vorschrift (vgl. Kapitel 2.3.1) und führten zu **86** (Schema 16). Bei der Hydrierung konnte in einem Schritt neben Reduktion der Nitrogruppe und Abspalten der Benzylgruppe eine Methylgruppe am C-3 des Indolrings erhalten werden.^{324; 325}

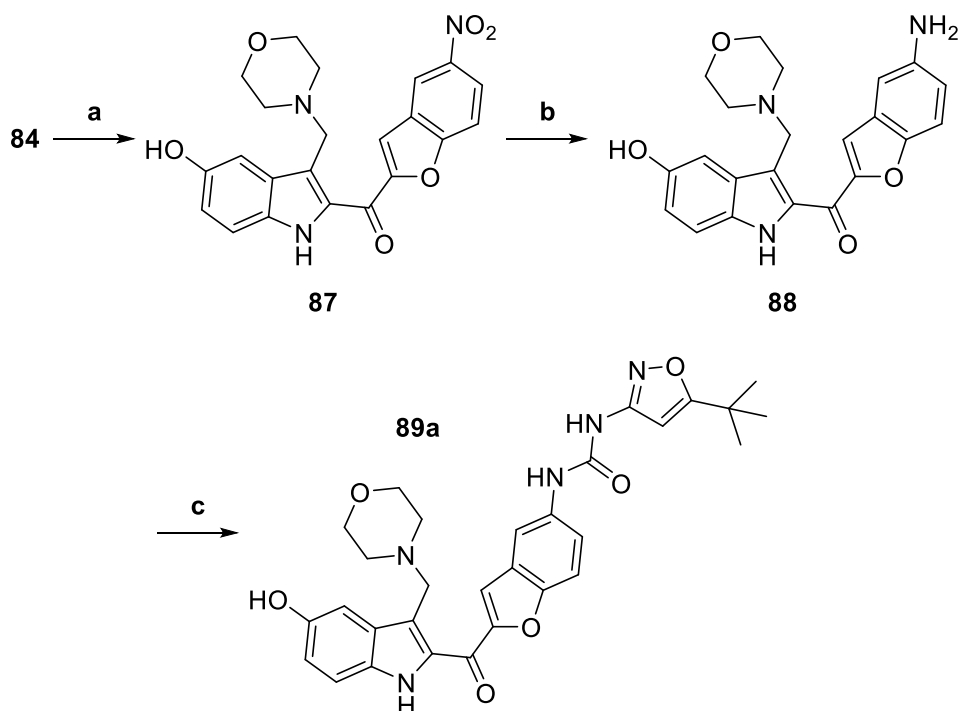


Schema 16: Synthese des Derivats **86**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Morpholin (3.0 eq.), Paraformaldehyd (3.0 eq.), DMF, 80 °C, 4 h, 34%, (b) Ammoniumformiat (4.0 eq.), Pd (10% auf Aktivkohle), THF/MeOH, Reflux, 1 h, quantitativ, (c) 5-(*tert*-Butyl)-3-isocyanatisoxazol **36** (0.2 M in THF, 2.2 eq.), Pyridin (25 eq.), THF, RT, über Nacht, 49%.

2.7.2. Morpholin

2.7.2.1. Synthese

Das Ziel, Heterozyklen in die Molekülstruktur einzuführen, wurde auch für Derivate der **Grundstruktur IV** verfolgt. Dazu wurde erneut das sekundäre Amin Morpholin verwendet und die Reaktionsfolge mit Verbindung **84** gestartet. Die Benzylgruppe wurde unter Beibehalten der Morpholinomethyl-Gruppe unabhängig von der Nitrogruppe entfernt und anschließend in einem 2. Schritt die Nitrogruppe reduziert. Zur Spaltung der Benzylgruppe wurde Bortribromid verwendet (**87**),^{367–369} während die Nitrogruppe mit Raney-Nickel und Hydrazin reduziert wurde (**88**).^{370; 371} Der letzte Schritt dieser Reaktionssequenz erfolgte wie bereits mehrfach beschrieben, wodurch **89a** isoliert werden konnte (Schema 17).^{324; 325} Um optimale Reinheit zu erreichen, wurde Verbindung **89a** mit Hilfe der präp. HPLC gereinigt und das TFA-Salz **89b** erhalten.



Schema 17: Synthese des Derivats **89a**. Reaktionen und Bedingungen: (a) BBr_3 (5.0 eq.), DCM, -78°C , 1 h, 70%, (b) Raney-Ni (10% w/w), Hydrazin-Monohydrat (2.0 eq.), MeOH, RT, 1 h, (c) 5-(*tert*-Butyl)-3-isocyanatinoxazol **36** (0.2 M in THF, 2.2 eq.), Pyridin (25 eq.), THF, RT, über Nacht, 17% (über 2 Stufen).

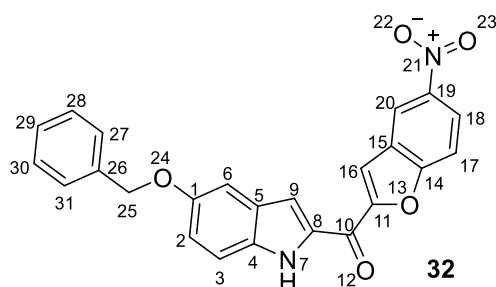
Die Benzylgruppe konnte auch mit Bortrifluorid-Etherat und Dimethylsulfid abgespalten werden,^{372; 373} allerdings erwies sich die Variante mit Bortribromid als schneller und leichter in der Handhabung. Die Nitrogruppe konnte weder mit Eisen und Essigsäure noch mit Zink und HCl reduziert werden.^{374–376}

2.7.2.2. NMR-Analytik

Zur genauen Charakterisierung der Molekülstrukturen wurden einige der neu synthetisierten Substanzen mit ein- und zweidimensionaler NMR-Analytik untersucht. Für das Produkt **84** der Grundstruktur **IV** konnte so die Struktur detailliert aufgeklärt werden. Aus den Integralen, chemischen Verschiebungen und Multipllett-Aufspaltungen der Signale des ^1H -NMR-Spektrums konnten erste Informationen über die Struktur gezogen werden. Weiterhin wurden ^{13}C -Spektren, DEPT135- und DEPT90-Spektren (distortionless enhancement by polarization transfer) verwendet, um die einzelnen C-Atome zu analysieren und nach Anzahl der direkt gebundenen H-Atome zu differenzieren. Zur Bestimmung von Verknüpfungen der einzelnen Atome und Molekülteile und somit der exakten räumlichen Struktur der Moleküle wurden zusätzlich einige zweidimensionale Messmethoden angewandt. Mit Hilfe homonuklearer COSY- (correlation spectroscopy) und TOCSY- (Total Correlation Spectroscopy) Spektren konnten dabei H-Atome, die über skalare Kopplungen verfügen, miteinander verknüpft werden. Dabei werden skalare Kopplungen über 2-3 Bindungen (COSY) bzw. innerhalb eines ganzen Spinsystems (TOCSY) sichtbar. HSQC (heteronuclear single quantum coherence) und HMBC (heteronuclear multi bond correlation) sind

zweidimensionale Methoden, bei der die chemischen Verschiebungen von skalar-koppelnden ^1H - und ^{13}C -Kernen über eine einzige (HSQC) bzw. mehrere (HMBC) Bindungen korreliert werden. Damit konnten H-Atome den entspr. C-Atomen eindeutig zugeordnet werden. Zur Vervollständigung der Strukturaufklärung wurden die homonuklearen räumlichen Kopplungen der ^1H -Kerne in NOESY- (nuclear overhauser enhancement and exchange spectroscopy) oder ROESY- (Rotating frame overhauser enhancement spectroscopy) Experimenten untersucht.^{377; 378}

Im Folgenden wird die vollständige Strukturaufklärung von **32** besprochen und anschließend auf Unterschiede und Gemeinsamkeiten mit **84** eingegangen. Diese beiden Moleküle wurden ausgewählt, da es sich dabei um die Stufen der Reaktionssequenz handelt, bei denen eine Zuordnung eindeutig durchführbar ist.



Bei der Analyse des COSY-Spektrums konnten durch die entspr. Kreuzsignale einzelne Spinsysteme bestimmt werden und damit drei zusammengehörige Signale aromatischer CH-Gruppen des Benzofuran-Rings (17-20), sowie des Indolrings (2, 3 und 6) bestimmt werden (Abb. 19). Bestätigt wurden diese Zusammenhänge durch die entspr. Multiplizitäten im ^1H -NMR-Spektrum. Dabei wird das eine Spinsystem aus den beiden Dubletts ($J = 2.4\text{ Hz}$ und $J = 8.9\text{ Hz}$) und einem Dublett von Dubletts ($J = 9.0, 2.4\text{ Hz}$) gebildet, während das andere Spinsystem aus den Dubletts ($J = 2.4\text{ Hz}$ und $J = 9.1\text{ Hz}$) sowie einem Dublett von Dubletts ($J = 9.1, 2.5\text{ Hz}$) besteht.

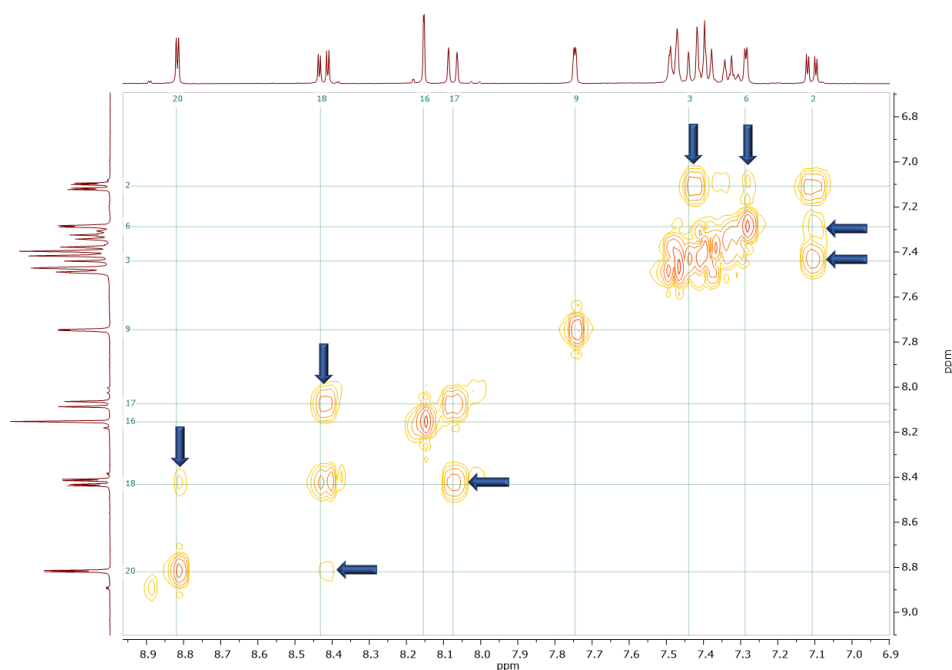


Abb. 19: Auszug aus dem COSY-Spektrum der Verbindung **32** in DMSO- d_6 . Die entscheidenden und im Text beschriebenen Kreuzsignale sind mit blauen Pfeilen gekennzeichnet. Der Ausschnitt des zugehörigen ^1H -Spektrums (400 MHz) ist entspr. normiert abgebildet und die jeweiligen Signale sind analog zur Nummerierung im Molekül gekennzeichnet. Die Nummerierung der Atome des Moleküls erfolgte durch das Programm MestreNova 9.0.1.

Im NOESY-Spektrum können die räumlichen Kopplungen zwischen H17 und H18 sowie H2 und H3 beobachtet werden. Um die im COSY-Spektrum bestimmten Spinsysteme den beiden Heterozyklen zuzuordnen, konnten weiter eine Kopplung zwischen der benzyllischen CH_2 -Gruppe und H6 herangezogen werden, wodurch die Vermutungen bestätigt werden konnten. Bei den Signalen, die mit 17-20 nummeriert wurden, handelt es sich um die Protonen des Benzofuran-Rings, bei den Signalen mit den Nummern 2, 3 und 6 um die des Indolrings. Außerdem besteht eine räumliche Kopplung zwischen H9 und H16. Dieses Kreuzsignal konnte durch skalare Kopplung im COSY-Spektrum ebenfalls nicht erkannt werden, ist allerdings im NOESY-Spektrum gut sichtbar (Abb. 20). Beim ^1H -Signal von H9 handelt es sich um ein Dublett von Dubletts ($J = 2.3 \text{ Hz}$ und $J = 0.9 \text{ Hz}$), beim ^1H -Signal von H16 um ein Dublett ($J = 0.9 \text{ Hz}$).

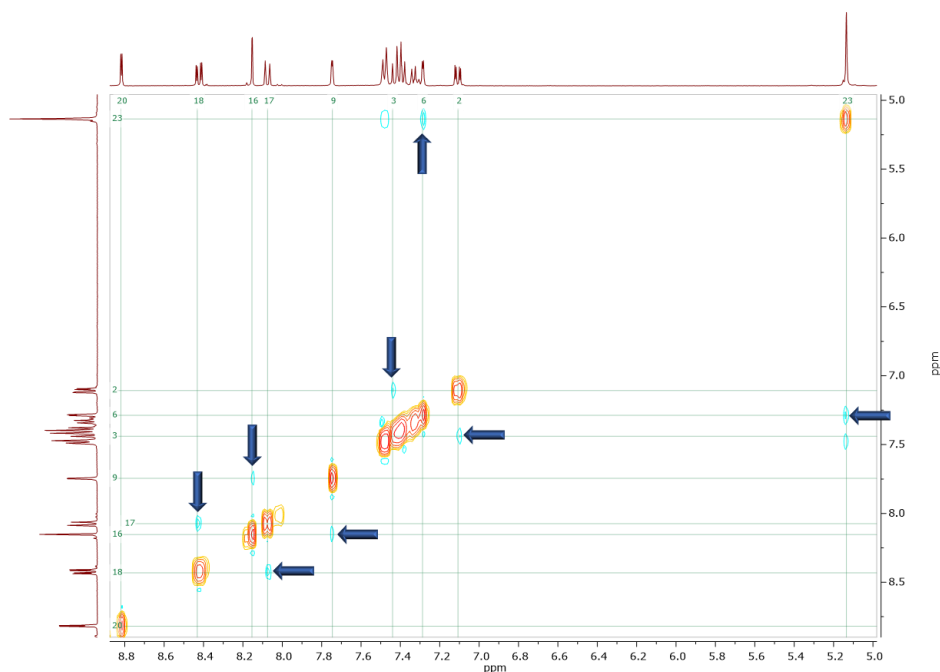


Abb. 20: Auszug aus dem NOESY-Spektrum der Verbindung **32** in DMSO- d_6 . Die entscheidenden und im Text beschriebenen Kreuzsignale sind mit blauen Pfeilen gekennzeichnet. Der Ausschnitt des zugehörigen ^1H -Spektrums (400 MHz) ist entspr. normiert abgebildet und die jeweiligen Signale sind analog zur Nummerierung im Molekül gekennzeichnet.

Zuletzt wurde ein TOCSY-Spektrum aufgenommen, um die beiden Signale von H9 und H16 richtig zuordnen zu können.

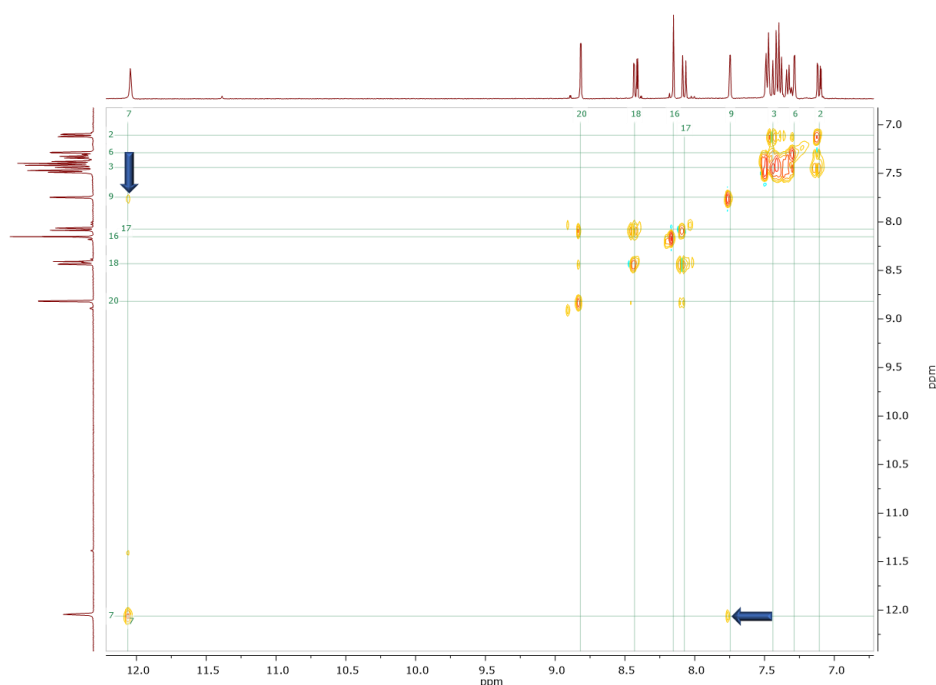
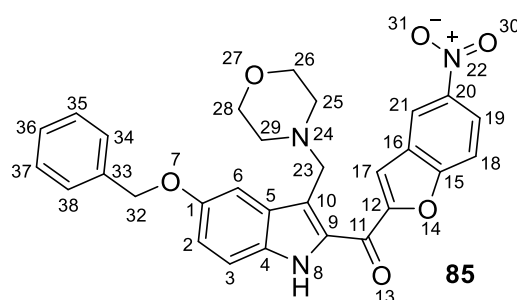


Abb. 21: Auszug aus dem TOCSY-Spektrum der Verbindung **32** in DMSO- d_6 . Die entscheidenden und im Text beschriebenen Kreuzsignale sind mit blauen Pfeilen gekennzeichnet. Der Ausschnitt des zugehörigen ^1H -Spektrums (400 MHz) ist entspr. normiert abgebildet und die jeweiligen Signale sind analog zur Nummerierung im Molekül gekennzeichnet.

Da eine Kopplung zwischen dem Indol-NH (8) und H9 erkannt werden konnte, kann H9 ebenfalls dem Indolring zugeordnet werden, während H16 zum Benzofuran-Ring gehört (Abb. 21).

Durch die Analyse des HSQC-Spektrums konnten Protonen ihren zugehörigen Kohlenstoff-Atomen zugeordnet werden, während das HMBC-Spektrum in diesem Fall ausschließlich zu Kontrollzwecken hinzugezogen wurde. Beide Spektren sind daher nicht abgebildet. Außerdem wurden bei der Analyse von Verbindung **32** die aromatischen Signale der Schutzgruppe nicht extra beachtet.

Basierend auf der Analyse der NMR-Spektren von Verbindung **32** wird im Folgenden eine Komplettanalyse von Molekül **84** vorgenommen:



Dazu wird zuerst ein Vergleich der beiden ^1H -Spektren herangezogen und entspr. Unterschiede gekennzeichnet (Abb. 22).

Dabei können allgemein einige Signale erkannt werden, die sich bei ähnlichen chemischen Verschiebungen befinden wie schon im Spektrum von **32** und daher mit großer Wahrscheinlichkeit den entspr. aromatischen Protonen zuzuordnen sind. Weiterhin kann erkannt werden, dass sich im aromatischen Bereich ein ^1H -Signal weniger befindet als noch bei Verbindung **32**, während zwei Signale eine deutliche Veränderung der chemischen Verschiebung aufweisen. Vermutlich verschwindet das Dublett von Dubletts bei 7.75 ppm aus dem ^1H -Spektrum von Verbindung **32** komplett. Das Proton, das im Spektrum von Verbindung **32** für das Dublett bei 8.15 ppm verantwortlich war, wird wahrscheinlich im Spektrum von Verbindung **84** ein Singulett bei 8.04 ppm bilden. Das Signal bei 7.29 ppm aus dem ^1H -Spektrum von **32** erfährt im ^1H -Spektrum von **84** eine Tieffeldverschiebung bis 7.44 ppm (Abb. 22A und B).

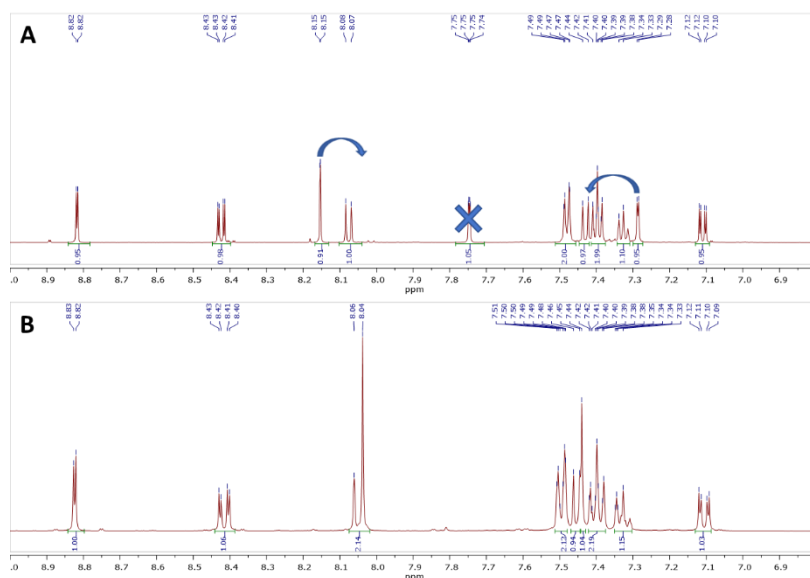


Abb. 22: Vergleich der ^1H -Spektren (400 MHz) der Verbindungen **32** (A) und **84** (B) in $\text{DMSO}-d_6$. Die entscheidenden und im Text beschriebenen Veränderungen der chemischen Verschiebungen einzelner Signale sind mit blauen Pfeilen, das Verschwinden eines Signals mit einem Kreuz gekennzeichnet.

Aus dem Vergleich der ^1H -Spektren kann mit großer Sicherheit geschlossen werden, dass sich der Methylmorpholin-Rest an einer der aromatischen Positionen befindet, wobei das C3'-Atom des Benzofuran-Rings oder das C3-Atom des Indolrings dafür in Frage kommen könnten. Dazu muss geklärt werden, ob es sich beim Singulett bei 8.04 ppm im ^1H -Spektrum von **84** um das Signal handelt, das vom Proton des C3'-Atoms des Benzofuran-Rings oder des C3-Atoms des Indolrings ausgeht und ob die Vermutung stimmt, dass es sich beim Dublett von Dubletts bei 7.75 ppm aus dem Spektrum von **32** um das in ^1H -Spektrum von **84** verschwundene Signal handelt.

Durch die Analyse von ^1H - und COSY-Spektrum von Verbindung **84** konnten einige Vermutungen bestätigt werden. Durch die Multiplizitäten im ^1H -Spektrum und entspr. Kreuzsignale im COSY-Spektrum ist auch hier eine Einteilung in die einzelnen Spinsysteme möglich (H2, H3 und H6 sowie H18, H19 und H21). Im NOESY-Spektrum ist erneut eine Kopplung der benzylichen CH_2 -Gruppe und H6 zu sehen, was das eine der genannten Spinsysteme erneut eindeutig dem Indolring zuordnet. Im NOESY-Spektrum von **84** ist kein Kreuzsignal mehr zwischen dem wichtigen Singulett bei 8.04 ppm und einem anderen Signal zu sehen. Es besteht bei Verbindung **84** also im Gegensatz zu **32** keine räumliche Kopplung zwischen den beiden Ringen, was bestätigen würde, dass sich die eingeführte Gruppe am C3'-Atom des Benzofuran-Rings oder am C3-Atom des Indolrings befindet.

Die Analyse des TOCSY-Spektrums von Verbindung **84** liefert ebenfalls einige wichtige Informationen. Während bei Verbindung **32** eine Kopplung zwischen dem Indol-NH und dem Proton an Position C3 des Indolrings zu erkennen war, ist bei Verbindung **84** kein TOCSY-Kreuzsignal für entsprechendes Proton (H8) sichtbar.

Letzte Zusammenhänge bei der Komplettanalyse von Molekül **84** können über ein HSQC- bzw. ein HMBC-Spektrum geklärt werden. Dabei geht es entscheidend um die Frage, an welcher Position im Molekül die Methylmorpholin-Gruppe lokalisiert ist. Im HSQC-Spektrum ist zu sehen, dass das Singulett bei 8.04 ppm mit dem Signal des C-Atoms bei ca. 115 ppm koppelt (Abb. 23).



Abb. 23: Auszug aus dem HSQC-Spektrum der Verbindung **84** in DMSO- d_6 . Das entscheidenden und im Text beschriebenen Signal ist mit einem blauen Pfeil gekennzeichnet. Die Ausschnitte der zugehörigen ^1H - (400 MHz) und ^{13}C -Spektren (101 MHz) ist entspr. normiert abgebildet und die jeweiligen Signale sind analog zur Nummerierung im Molekül gekennzeichnet. Die Nummerierung der Atome des Moleküls erfolgte durch das Programm MestreNova 9.0.1.

Im HMBC-Spektrum von Verbindung **84** findet sich für das Indol-NH kein Kopplungssignal mit dem C-Signal bei ca. 115 ppm (Abb. 24, Kreis). Weiterhin zeigt die CH_2 -Gruppe (H23) Kopplungssignale zu denselben quartären C-Atomen im HMBC-Spektrum wie auch das Indol-NH (H8).

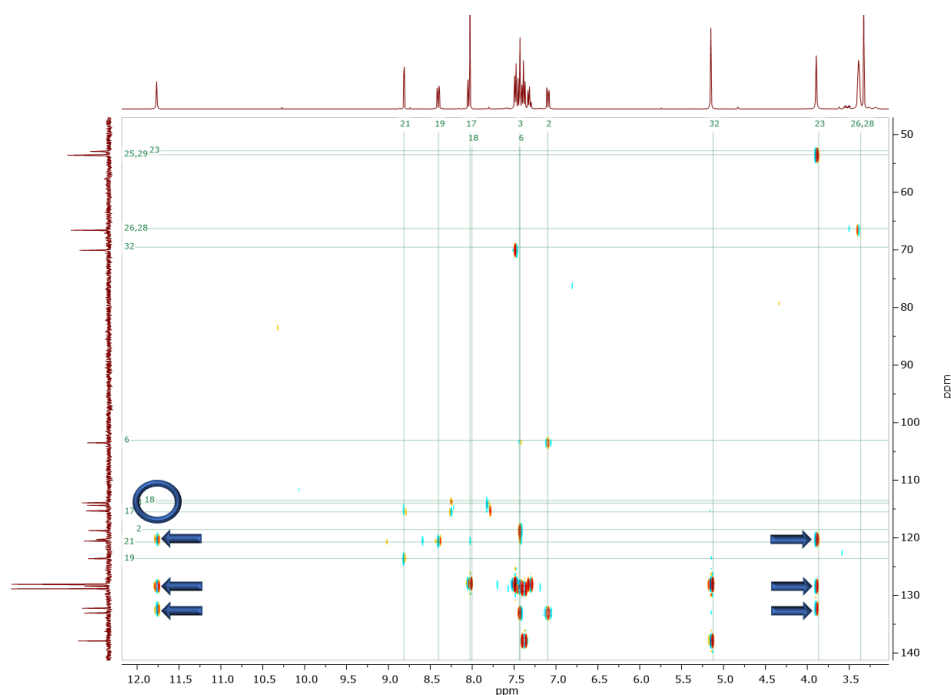


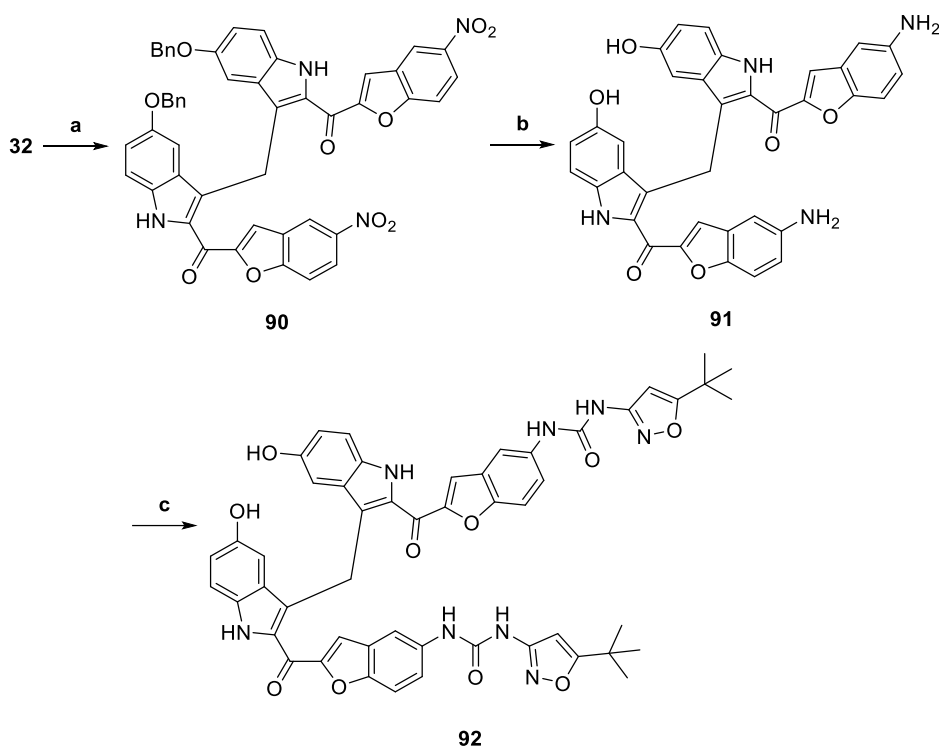
Abb. 24: Auszug aus dem HMBC-Spektrum der Verbindung **84** in DMSO- d_6 . Die entscheidenden und im Text beschriebenen Signale sind mit blauen Pfeilen gekennzeichnet, ein fehlendes Signal mit einem blauen Kreis markiert. Die Ausschnitte der zugehörigen ^1H - (400 MHz) und ^{13}C -Spektren (101 MHz) ist entspr. normiert abgebildet und die jeweiligen Signale sind analog zur Nummerierung im Molekül gekennzeichnet.

Durch diese NMR-Komplettanalyse sowie einer zusätzlichen ausführlichen Analyse von **87** kann die Struktur von Verbindung **84** und der damit verbundenen Derivate mit großer Sicherheit bestätigt werden.

2.7.3. Dimer

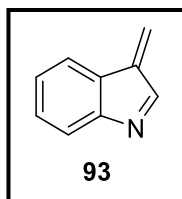
Unter den Bedingungen der Reaktion von **32** mit Morpholin zu **84** wurde mit Dimethylamin als sekundärem Amin ein Dimer **90** zweier Moleküle **32** isoliert. Das Dimer scheint ebenfalls über C-3 des Indolrings der beiden Moleküle verknüpft zu sein. Ausgehend von **90** wurde in zwei Schritten **92** synthetisiert, wie für Marbotinib **20** beschrieben (Schema 18, vgl. Kapitel 2.3.1).^{324; 325}

Chemischer Teil



Schema 18: Synthese des Derivats **92**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Dimethylamin (2 M in THF, 3.0 eq.), Paraformaldehyd (3.0 eq.), DMF, 80 °C, 4 h, 22%, (b) Ammoniumformiat (4.0 eq.), Pd (10% auf Aktivkohle), THF/MeOH, Reflux, 1 h, 82%, (c) 5-(*tert*-Butyl)-3-isocyanatisoxazol **35** (0.2 M in THF, 2.2 eq.), Pyridin (25 eq.), THF, RT, über Nacht, 40%.

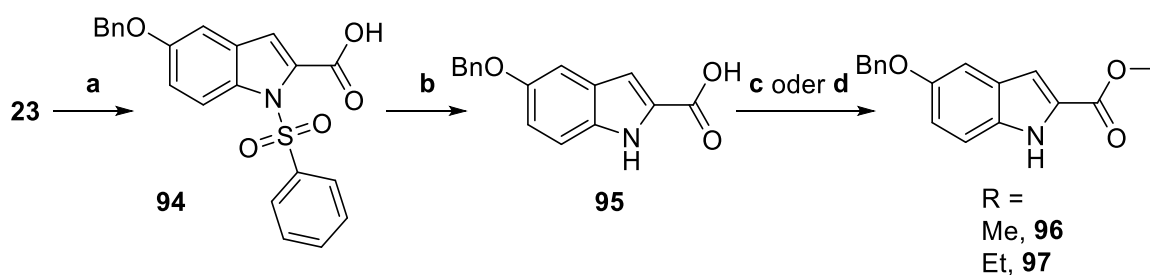
Dimer **90** wurde bei der Synthese von **84** ebenfalls isoliert, trat dabei allerdings nur als Nebenprodukt mit einer kleinen Ausbeute auf. Zum Mechanismus des ersten Schritts der Reaktionssequenz (s. Schema 16 und Schema 18) werden daher nur ein paar Vermutungen beschrieben. Während bei Verwendung des Amins Morpholin größtenteils eine Methylamin-Gruppe (**83**) gebildet wird und nur ein geringer Teil zum Dimer **90** reagiert, entsteht durch Reaktion mit Dimethylamin vor allem Dimer **90**. Die Bildung eines Dimers zweier Indol-Moleküle unter Verwendung von Formaldehyd mit Mikrowellen als Energiezufuhr oder verschiedenen Katalysatoren ist bekannt und wurde bereits mehrfach beschrieben.^{379–381} Ein Zusammenspiel von Mannich-Reaktion mit dem entspr. Amin und einer Dimerbildung ist zumindest säurekatalysiert ebenfalls bekannt, wobei von einer Zwischenstufe **93** ausgegangen wird, die entweder durch eine Mannich-Reaktion oder durch Reaktion der Indolverbindung mit Formaldehyd entstehen kann.^{382–384} Eine Bildung der gewünschten Aminverbindung über eine Mannich-Reaktion und anschließende Dimerbildung wird allerdings normalerweise erst nach Methylierung des Stickstoffs beobachtet.^{385; 386}



Eventuell könnte zur Klärung des Mechanismus geprüft werden, ob **32** und Formaldehyd ohne Zusatz eines Amins reagieren, und um welche Art von Reaktion es sich dabei handelt.

2.7.4. Weitere Versuche

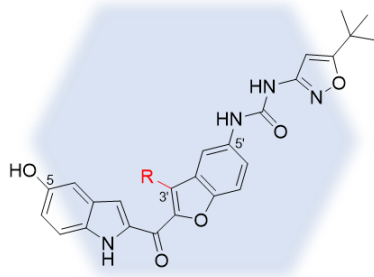
Zusätzlich wurde allgemein an einer alternativen Syntheseroute zur Herstellung von Molekülen mit einer beliebigen Modifikation in Position 3 des Indolrings gearbeitet. Die Syntheseidee basiert darauf, bereits im ersten Schritt eine Carbonylgruppe an Position 2 des Indolrings einzuführen, um erst anschließend die gewünschte Modifikation in Position 3 des Indolrings zu erhalten. Die ersten Stufen der geplanten Syntheseroute wurden im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert, allerdings wurde die Syntheseroute ebenfalls nicht weiter durchgeführt. Nachdem in einem ersten Schritt eine Carbonsäure **94** erhalten wurde,³²² erwies es sich als sinnvoll, direkt im Anschluss die Benzylsulfonyl-Gruppe zu entfernen (**95**).^{324; 343; 344} Die erhaltene Säure **95** wurde auf verschiedene Arten entweder mit einer Methyl- oder einer Ethylgruppe zu **96** bzw. **97** verestert. Dabei wurde jeweils neben einer „klassischen“ Veresterung mit Schwefelsäure und dem entspr. Alkohol^{387–392} auch eine Variante nach Schotten und Baumann mit Thionylchlorid durchgeführt.^{393–396}



*Schema 19: Synthese von **96** und **97**. Reaktionen und Bedingungen: (a) n-BuLi (1.2 eq.), CO₂, THF, -78 °C-RT, über Nacht, 77%, (b) NaOH (10% in Wasser), MeOH/THF, Reflux, 4 h, 68%, (c) H₂SO₄, Alkohol, Reflux, 6 h, **96**: 57%, **97**: 43%, (d) Thionylchlorid, Alkohol, Reflux, 6 h, **96**: 62%, **97**: 53%.*

Ausgehend von einem der beiden synthetisierten Ester **96** oder **97** könnten verschiedene Modifikationen in Position 3 erreicht werden. Beispielsweise könnten an dieser Stelle eine Halogenierung^{397; 398} und anschließend eine Übergangsmetall-katalysierte Kopplung³⁹⁸ durchgeführt werden oder eine Vilsmeier-Haack-Reaktion³⁹⁹ erfolgen. Auch durch Bildung eines Azids⁴⁰⁰ und anschließender Click-Reaktion zum Triazol wären weitere Stoffklassen denkbar.

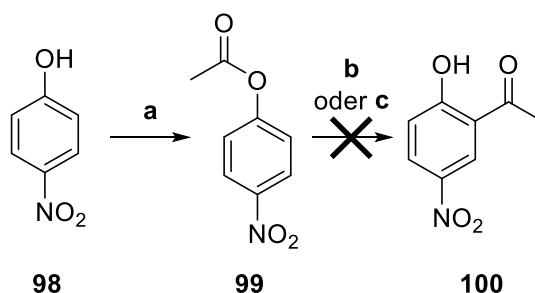
2.8. GRUNDSTRUKTUR V



Beim Design von **Grundstruktur V** sollte zuerst geprüft werden, ob Modifikationen an C-3' des Benzofuran-Rings von Marbotinib **20** vorgenommen werden können und welche Auswirkungen derartige Modifikationen auf die Wirkung der Moleküle besitzen. Dazu wurde analog zu den Arbeiten zu **Grundstruktur IV** (s. Kapitel 2.7) ein C-3'-Methyl-Derivat an entspr. Position synthetisiert. Wie bei den Molekülen der **Grundstruktur IV** sollten auch an dieser Position stickstoffhaltige Heterozyklen eingefügt werden, um die Löslichkeit der Moleküle zu verbessern. Die Verknüpfung sollte über eine CH₂-Gruppe erfolgen.

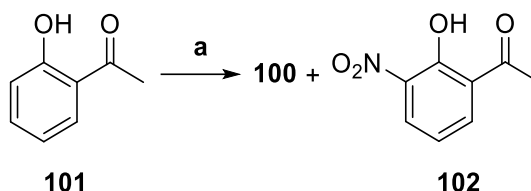
2.8.1. Methylgruppe

Eine Methylgruppe in C-3' des Benzofuran-Rings konnte erhalten werden, indem eine ähnliche Reaktionssequenz verwendet wurde, die aus der Synthese von Marbotinib **20** bekannt war. Dazu wurde statt 2-Hydroxy-5-nitrobenzaldehyd (**28**) 1-(2-Hydroxy-5-nitrophenyl)ethan-1-on (**100**) mit der bromierten Indolverbindung **27** (s. Kapitel 2.3.1) umgesetzt. **100** sollte einerseits durch nukleophile Reaktion des Phenols **98** mit anschließender Fries-Umlagerung synthetisiert werden (Schema 20)⁴⁰¹ und andererseits durch aromatische Nitrierung von 1-(2-Hydroxyphenyl)ethan-1-on **101** (Schema 21).^{402; 403} Es wurde davon ausgegangen, dass die aromatische Nitrierung mit einer aufwändigeren Reinigung verbunden ist.



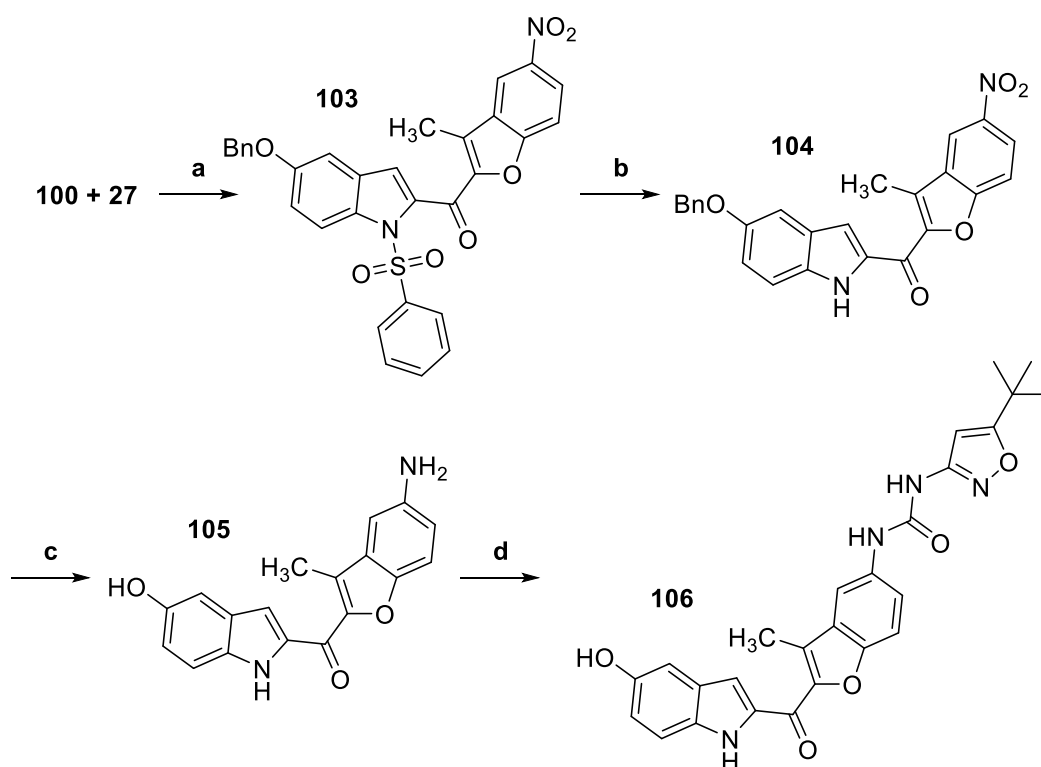
Schema 20: Synthese von **99** und Versuch zur Synthese von **100**. Reaktionen und Bedingungen: (a) NaOH (1.5 eq.), AcOAc (1.5 eq.), Wasser, 95 °C, 10 min, 85%, (b) Zink (1.0 eq), DMF, 65 °C, 4 h, (c) AlCl₃ (1.2 eq.), 160-170 °C, 5 h.

Da allerdings die Fries-Umlagerung nicht zum gewünschten Produkt **100** führte, wurde die alternative Reaktion der aromatischen Nitrierung mit rauchender Salpetersäure durchgeführt und die erwarteten Regioisomere **100** und **102** aufwändig chromatographisch voneinander getrennt (Schema 21).^{402; 403}



Schema 21: Synthese von **100** und **102**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Rauchende Salpetersäure (1.5 eq.), Essigsäure, RT, über Nacht, **100**: 40%, **102**: 24%.

Im Anschluss wurde die nitrierte Verbindung **102** mit dem α -bromierten Keton **27** (s. Kapitel 2.3.1) unter basischen Bedingungen zum methylierten Benzofuran-System **103** umgesetzt. Ohne Reinigung wurde die Phenylsulfonyl-Verbindung **103** durch NaOH entschützt. Die weiteren Schritte entsprechen der Marbotinib-Synthese (Schema 22, vgl. Kapitel 2.3.1).^{324; 325; 342}

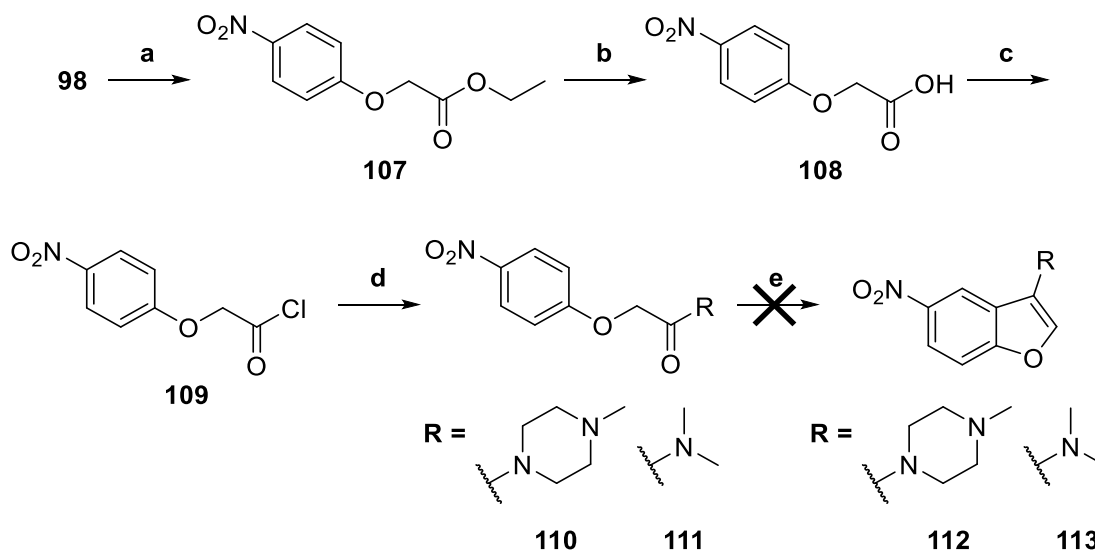


Schema 22: Synthese von **106**. Reaktionen und Bedingungen: (a) **27** (s. Kapitel 2.3.1, 1.0 eq.), 2-Butanon, Reflux, 4 h, (b) NaOH (10% in Wasser), MeOH/THF, Reflux, 4 h, 50% (über 2 Schritte), (c) Ammoniumformiat (4.0 eq.), Pd (10% auf Aktivkohle), THF/MeOH, Reflux, 1 h, quantitativ, (d) **36** (s. Kapitel 2.3.1, 0.2 M in THF, 2.2 eq.), Pyridin (25 eq.), THF, RT, über Nacht, 64%.

Prinzipiell besteht wahrscheinlich die Möglichkeit, auf die beschriebene Art weitere Moleküle mit **Grundstruktur V** durch Variation des Ketons zu synthetisieren.

2.8.2. Verbindungen ohne Linker

Zusätzlich sollten Moleküle mit **Grundstruktur V** synthetisiert werden, deren Molekülstrukturen einen stickstoffhaltigen Heterozyklus in der entspr. Position des Benzofuran-Rings tragen. Nitrophenol **98** wurde im ersten Schritt zu **107** alkyliert.⁴⁰⁴ Nach Verseifung (**108**) und Säurechlorierung zu **109** wurden die Amide **110** und **111** erhalten.^{405; 406} Der anschließende Ringschluss zu den beiden Zielmolekülen **112** und **113** gelang nicht.⁴⁰⁷



Schema 23: Synthese von **110** und **111** und Versuch zur Synthese von **112** und **113**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Ethylbromoacetat (1.0 eq.), K₂CO₃ (4.0 eq.), MeCN, 60 °C, 2 h, 99%, (b) K₂CO₃ (1.3 eq.), Wasser, Reflux, 2 h, 98%, (c) Thionylchlorid, DMF, 2 h, RT, (d) Amin (1.2 eq.), DCM, 0 °C-RT, 1 h, **110**: 84%, **111**: 87%, (e) 2-Fluorpyridin (1.0 eq.), Trifluormethansulfonsäure-Anhydrid (1.0 eq.), DCM, RT, 6 h.

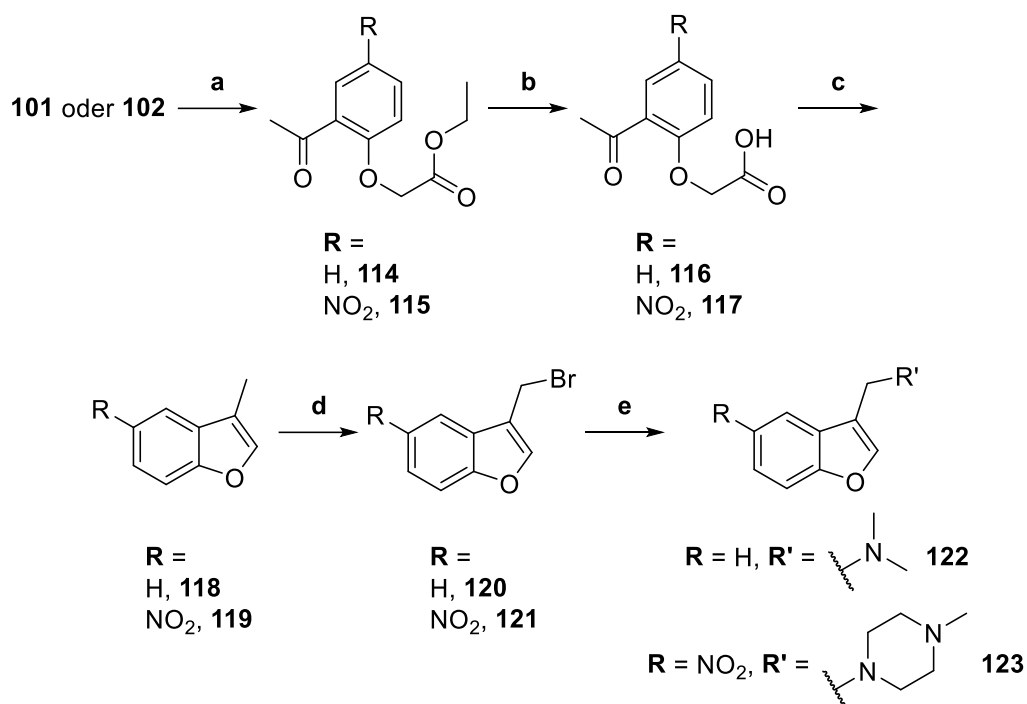
2.8.3. CH₂-Verbindung

Daneben wurde an der Verknüpfung eines stickstoffhaltigen Heterozyklus über eine CH₂-Gruppe gearbeitet. Da in einer Reaktionsfolge, wie sie bei der Synthese des Moleküls der **Grundstruktur IV** (s. Kapitel 2.7) verwendet wurde, eine höhere Reaktivität des Indolrings als des Benzofuran-Rings festgestellt wurde, sollte beim Versuch der Synthese dieser Verbindungen alternativ vorgegangen werden.

2.8.3.1. Reaktionssequenz A

Zuerst wurden 1-(2-Hydroxyphenyl)ethan-1-on **101** bzw. 1-(2-Hydroxy-5-nitrophenyl)ethan-1-on **102** zu **114** bzw. **115** alkyliert.^{404; 408} Anschließend wurde verseift (**116** bzw. **117**)⁴⁰⁵ und der Ring in einer Kondensationsreaktion zu den methylierten Benzofuran-Verbindungen **118** bzw. **119** geschlossen.⁴⁰⁸ Nach radikalischer Bromierung (**120** bzw. **121**)^{409–412} konnten verschiedene Amine als Nukleophil eingefügt und die Produkte **122** und **123** isoliert werden.^{402; 411–413}

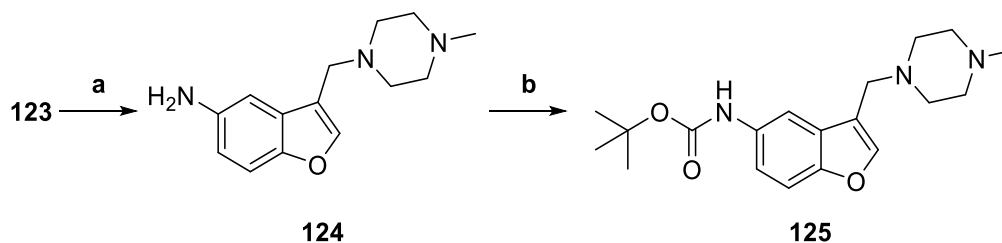
Chemischer Teil



*Schema 24: Synthese von 122 und 123. Reaktionen und Bedingungen: (a) Ethylbromoacetat (1.4 eq.), K₂CO₃ (4.0 eq.), Aceton, 60 °C, 3 h, **114**: 64%, **115**: 93%, (b) K₂CO₃ (1.3 eq.), Wasser, Reflux, 2 h, **116**: 97%, **117**: 87%, (c) NaOAc (6.0 eq.), AcOAc, Reflux, über Nacht, **118**: 5%, **119**: 7%, (d) NBS (1.0 eq.), AIBN (0.1 eq.), CCl₄ oder Benzol, Reflux, über Nacht, (e) Amin (3.0 eq.), DMF, RT, 30 min, **122**: 42%, **123**: 31%.*

Die geringen Ausbeuten der Ringschluss-Reaktion **c** können eventuell durch zu geringe Reaktionstemperaturen erklärt werden, da **116** bzw. **117** in einem ersten Teilschritt der Reaktion **c** zu entspr. Benzofuran-2-carbonsäure umgesetzt werden und die Produkte **118** bzw. **119** im Anschluss thermisch durch Decarboxylierung entstehen. Außerdem wäre eine alternative und eventuell vielversprechendere Synthese, den Ringschluss direkt ausgehend von den Estern **114** bzw. **115** durchzuführen, den Benzofuran-2-carbonsäureester zu verseifen und anschließend gezielt eine Decarboxylierung durchzuführen.^{414; 415}

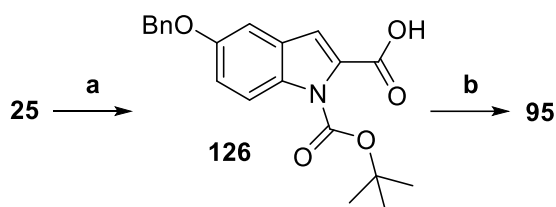
Die Nitrogruppe wurde zum Amin **124** reduziert und anschließend mit einer Boc-Gruppe geschützt, um **125** zu erhalten.^{416–418}



Schema 25: Synthese von 125. Reaktionen und Bedingungen: (a) Pd (10% auf Aktivkohle), H₂, EA/MeOH, RT, 8 h, (b) Boc₂O (1.1 eq.), THF, Reflux, über Nacht, 34% (über 2 Stufen).

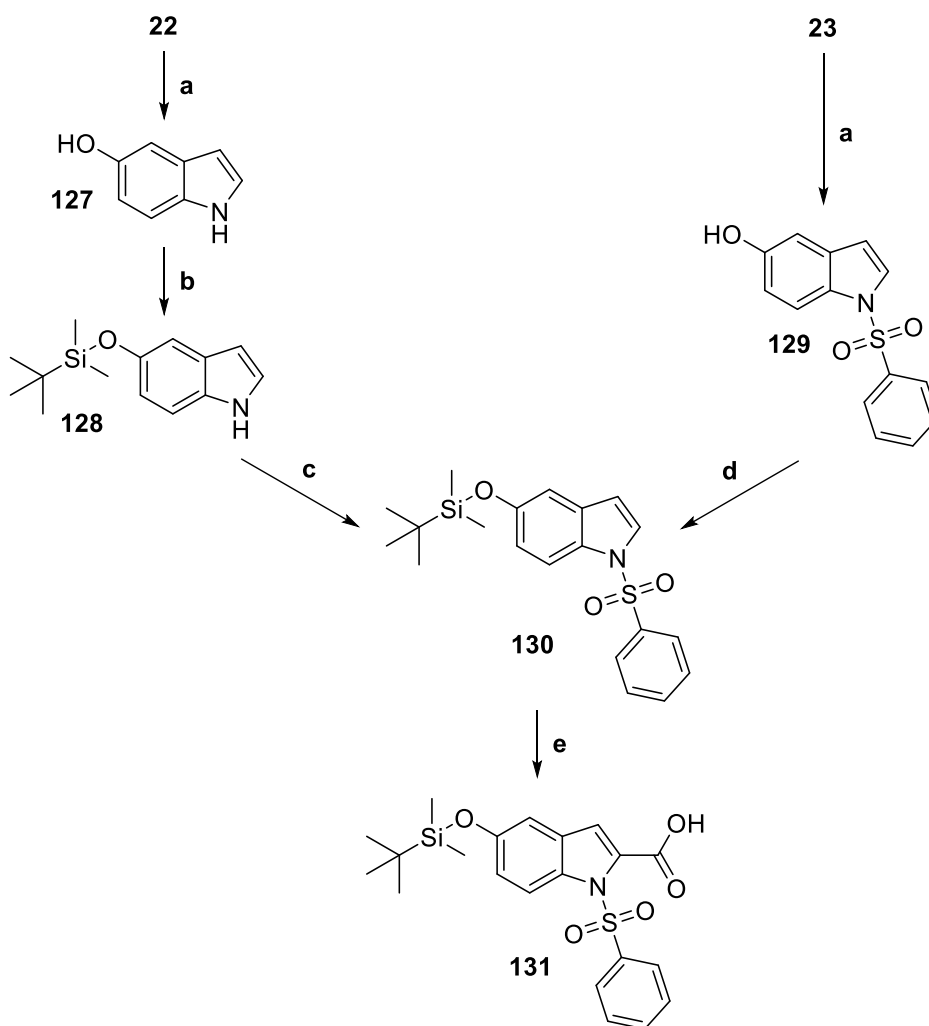
Um anschließend das gewünschte Produkt zu erhalten, sollten als „Gegenstücke“ entspr. Indol-Verbindungen verwendet werden. Zusätzlich zur schon beschriebenen Synthese über eine

Verbindung mit Phenylsulfonyl-Schutzgruppe am Indol-N (Schema 19) wurde daher zuerst das gewünschte Produkt **95** in größeren Ausbeuten durch Verwendung einer Boc-Schutzgruppe über das Molekül **126** erhalten. Dazu wurde die Indol-Carbonsäure **95** in zwei Stufen nach bereits beschriebenen Vorschriften aus **25** synthetisiert (Schema 26).^{322; 346}



Schema 26: Synthese von **95**. Reaktionen und Bedingungen: (a) n-BuLi (1.2 eq.), CO₂, THF, -78 °C-RT, über Nacht, 60%, (b) TFA/DCM, RT, 1 h, quantitativ.

Außerdem wurde eine weitere Carbonsäure-Verbindung **131** mit dem Ziel synthetisiert, unerwünschte Nebenreaktionen zu vermeiden, die mit einer Hydrierung verbunden sind. Dazu wurde die Benzyl-Schutzgruppe der OH-Gruppe entfernt und durch eine Silylgruppe ersetzt. Dafür wurden zwei verschiedene Syntheserouten eingesetzt und **22** oder **23** als Ausgang verwendet. Bei beiden Verbindungen wurde im ersten Schritt die Benzylgruppe durch Hydrierung abgespalten und **127** bzw. **129** isoliert.^{324; 419; 420} Im zweiten Schritt wurde die Hydroxygruppe des Phenols mit *tert*-Butylchloridimethylsilan auf zwei verschiedene Arten geschützt (**128** bzw. **130**).^{322; 421} Das Indol-N von **128** wurde im Anschluss wie beschrieben mit einer Phenylsulfonyl-Gruppe geschützt und **130** erhalten.³²¹ Zuletzt wurde aus **130** wie ebenfalls beschrieben die Carbonsäure **131** synthetisiert (Schema 27).³²²

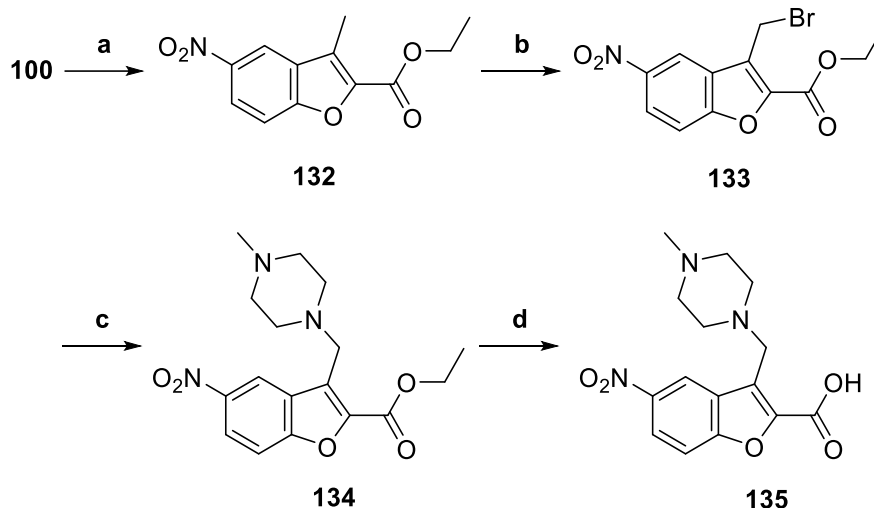


*Schema 27: Synthese von 131. Reaktionen und Bedingungen: (a) Ammoniumformiat (4.0 eq.), Pd (10% auf Aktivkohle), EtOH, 60 °C, 2-8 h, **127**: 60%, **129**: 33%, (b) Imidazol (2.0 eq.), *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (1.2 eq.), DMF, RT, 1 h, 97% (c) NaH (1.2 eq.), Phenylsulfonsäurechlorid (1.3 eq.), DMF, RT, über Nacht, 49%, (d) NaH (1.1 eq.), *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (1.1 eq.), THF, RT, über Nacht, 57%, (e) *n*-BuLi (1.1 eq.), CO₂, THF, -78 °C-RT, über Nacht, 33%.*

Nach Synthese der „Bausteine“ wurden einige Kopplungsversuche mit den Carbonsäure-Verbindungen **94**, **95**, **126** oder **131** und **122**, **123** oder **125** durchgeführt, von denen allerdings im Rahmen dieser Arbeit keiner zum gewünschten Produkt führte.

2.8.3.2. Reaktionssequenz B

Da eine Kopplung der Benzofuran-Verbindungen mit Indol-Carbonsäuren auf die durchgeführten Arten nicht zielführend war, sollte der Benzofuran-Ring schon vor der Kopplung in eine entspr. substituierte Carbonsäure überführt werden. Zur Synthese dieser Art von Verbindungen wurde 1-(2-Hydroxy-5-nitrophenyl)ethan-1-on **100** in einem Schritt zum Ester **132** zyklisiert.⁴²² Die methylierte Benzofuran-Verbindung **132** wurde radikalisch bromiert (**133**)^{409; 411; 412} und anschließend in einer nukleophilen Substitution der stickstoffhaltige Heterozyklus angefügt, um den Ester **134** zu erhalten.^{402; 411–413} Dieser wurde verseift und **135** isoliert.⁴²³

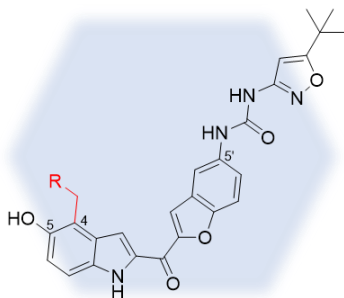


Schema 28: Synthese von **135**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Ethylbromoacetat (1.2 eq.), K_2CO_3 (2.0 eq.), MeCN/DMF (4:1), Reflux, über Nacht, 68%, (b) NBS (1.5 eq.), AIBN (0.2 eq.), Benzol, Reflux, über Nacht, (c) *N*-Me-Piperazin (3.0 eq.), DMF, RT, 30 min, 87% (über 2 Stufen), (d) NaOH (1 M in Wasser, 1.0 eq.), EtOH, RT, 3 h, 91%.

Eine weitere Möglichkeit zur Synthese von **135** wäre eine Alkylierung von **100**, wie bereits für **114** bzw. **115** in Kapitel 2.8.3.1 gezeigt, und anschließender α -Bromierung des Ketons. Nach einer Substitutionsreaktion mit dem gewünschten Amin könnte ebenfalls ein Ringschluss versucht werden.⁴²⁴

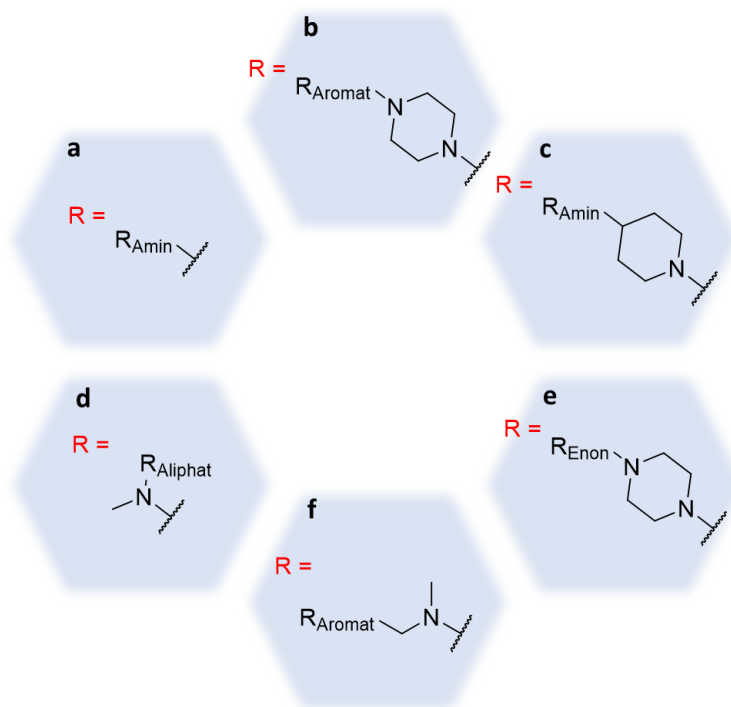
Auch im Anschluss an diese Reaktionssequenz wurde im Rahmen dieser Arbeit keine der Kopplungen von **135** mit einem Indolderivat erfolgreich durchgeführt.

2.9. GRUNDSTRUKTUR VI



Weitere Modifikationen sollten an C-4 des Indolrings von Marbotinib **20** vorgenommen werden. So sollte die neue **Grundstruktur VI** geschaffen werden. Auch diese Modifikationen sollten in erster Linie die Löslichkeit der entspr. Moleküle erhöhen. Dazu wurden erneut verschiedene sekundäre Amine als Kopfgruppe verwendet, die bei dieser Grundstruktur teilweise auch mit Enonsystemen verbunden wurden. Die Verknüpfung erfolgte über eine CH₂-Gruppe. Marbotinib **20** wurde als Startverbindung gewählt, um die gewünschten Produkte zu erhalten.

Die **Grundstruktur VI** wurde weiter unterteilt, und die neuen Moleküle wurden nach verschiedenen Kopfgruppen eingeteilt. Ein Überblick über die verwendeten **Kopfgruppen a-f** ist im Folgenden gegeben:



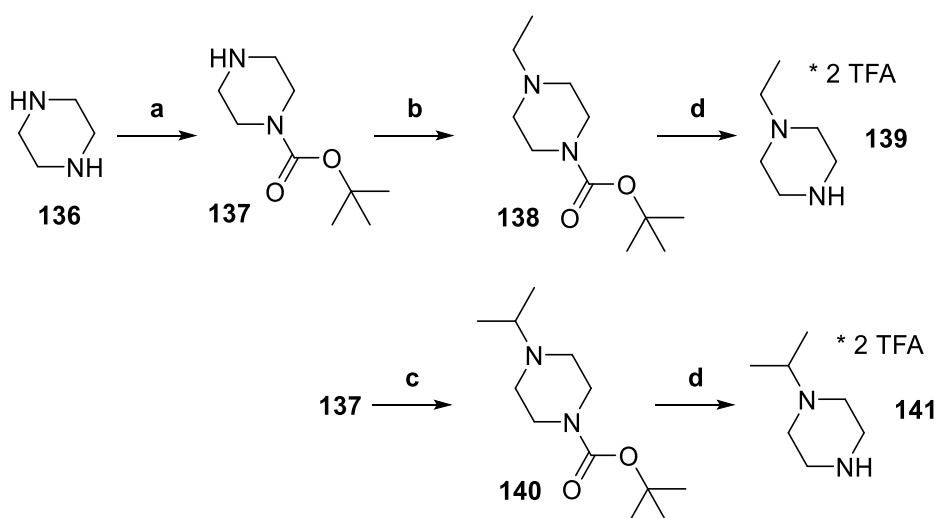
2.9.1. Kopfgruppe a

Zur Synthese von **Grundstruktur VI** mit **Kopfgruppe a** wurden Dimethylamin und die sekundären Amine Morpholin, Piperidin, Pyrrolidin, *N*-Methyl-Homopiperazin, sowie die drei alkylierten Piperazin-Derivate *N*-Methylpiperazin, *N*-Ethylpiperazin und *N*-Isopropylpiperazin verwendet.

N-Ethylpiperazin und *N*-Isopropylpiperazin wurden dabei als TFA-Salze **139** und **141** synthetisiert und entweder als Amine (für die Reaktionen in EtOH) oder TFA-Salze (für die Reaktionen in Essigsäure) verwendet. Daneben wurden Reaktionen mit *N*-Boc-Piperazin **137** und *tert*-Butylpiperidin-4-ylcarbamate **146** durchgeführt.

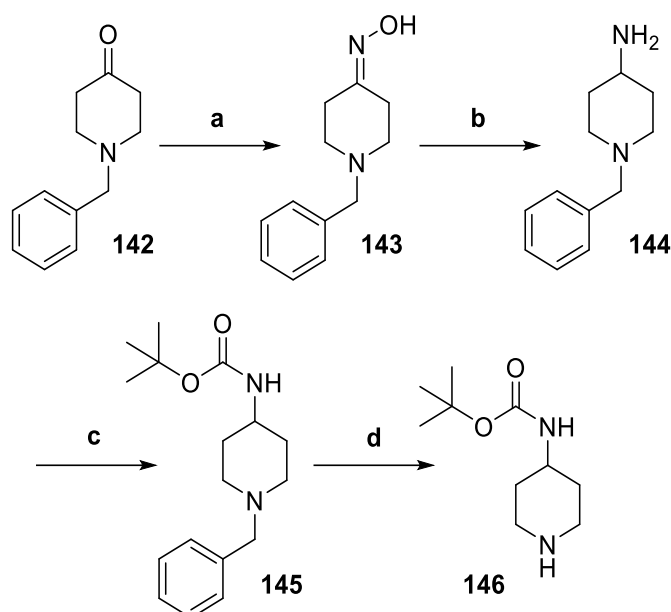
2.9.1.1. Synthese der Amine

Während einige Amine kommerziell erhältlich sind, wurden die TFA-Salze **139** und **140** synthetisiert. Dazu wurde Piperazin **136** verwendet, einfach Boc-geschützt (**137**),⁴²⁵ durch nukleophile Substitution oder reduktive Aminierung (**138** bzw. **140**)^{426–428} *N*-alkyliert und anschließend die Boc-Schutzgruppe im Säuren abgespalten (**139** bzw. **141**) (Schema 29).^{426; 427}



Schema 29: Synthese von **139** und **141**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Boc₂O (0.5 eq.), DCM, RT, über Nacht, 27%, (b) Iodethan (1.1 eq.), DIPEA (1.1 eq.), MeCN, 0 °C-RT, über Nacht, 36%, (c) Aceton (2.0 eq.), Essigsäure (2.0 eq.), Natriumcyanoborhydrid (2.0 eq.), MeOH/THF (1:4), RT, über Nacht, 75%, (d) TFA, DCM, RT, 1 h, **139**: quantitativ, **141**: quantitativ.

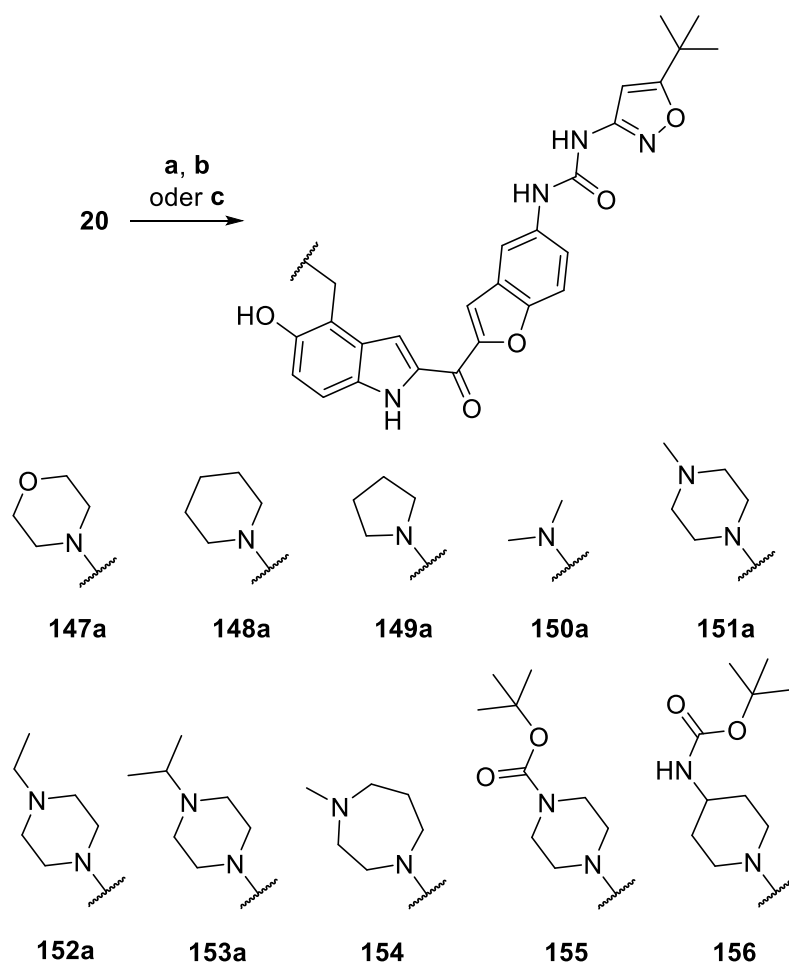
tert-Butylpiperidin-4-ylcarbamate **146** wurde ausgehend von 1-Benzylpiperidin-4-on **142** in einer vierstufigen Synthese hergestellt (Schema 30). Das Ketoxim **143** wurde aus **142** mit Hydroxylamin erhalten.⁴²⁹ **143** wurde mit Lithiumaluminiumhydrid zum Amin **144** reduziert,⁴³⁰ welches anschließend Boc-geschützt wurde zu **145**.⁴³¹ Zuletzt wurde die Benzylgruppe durch katalytische Hydrierung entfernt und **146** isoliert.⁴²⁰



Schema 30: Synthese von **146**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Hydroxylamin-HCl (2.0 eq.), K₂CO₃ (2.0 eq.), EtOH, Reflux, 2 h, 78%, (b) LiAlH₄ (2.6 eq.), THF, Reflux, über Nacht, 96%, (c) Boc₂O (1.1 eq.), Triethylamin (1.5 eq.), DCM, 0 °C-Reflux, über Nacht, 80%, (d) Ammoniumformiat (4.0 eq.), Pd (10% auf Aktivkohle), THF/MeOH (1:1), Reflux, 4 h.

2.9.1.2. Synthese der Produkte

Um die gewünschte Aminomethyl-Gruppe an C-4 des Indolrings von Marbotinib **20** zu erhalten, wurde **20** mit den entspr. Aminen und Paraformaldehyd oder Formaldehyd-Lösung (37% in Wasser) zu **147a-156** umgesetzt (Schema 31). Zur Syntheseoptimierung wurden dazu verschiedene Lösemittel und Reaktionsbedingungen verwendet.^{366; 432–434} Alle Reaktionen, für die EtOH als Lösemittel verwendet wurde, wurden von Dr. Herwig Pongratz durchgeführt. Um optimale Reinheit zu erreichen, wurden die Verbindungen **147a-153a** durch präp. HPLC gereinigt und die TFA-Salze **147b-153b** erhalten.





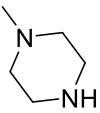
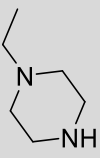
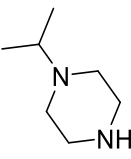
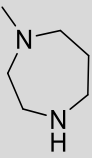


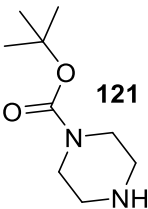
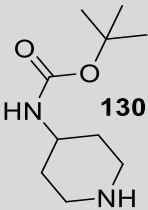
Schema 31: Synthese von 147a-156. Reaktionen und Bedingungen: (a) Paraformaldehyd (3.0 eq.), Amin (3.0 eq.), DMF, 80 °C, 4 h, 6-50%, (b) Formaldehyd-Lösung (37% in Wasser, 1.5 eq.), Amin (1.5 eq.), Essigsäure, RT, über Nacht, 23-94%, (c) Formaldehyd-Lösung (37% in Wasser, 2.2 eq.), Amin (2.4 eq.), EtOH, 60 °C, über Nacht, 0-87%. *Reaktion zeigte keinen Umsatz.*

Die Ausbeuten der verschiedenen Derivate konnten durch optimierte Reaktionsbedingungen, durch Variation der Lösemittel und der Reaktionstemperatur deutlich verbessert werden (Tabelle 4).

Chemischer Teil

Tabelle 4: Überblick über die Ausbeuten bei der Synthese der Produkte **131a-140**. Die Methoden wurden nach dem verwendeten Lösemittel benannt (n.d. bedeutet nicht durchgeführt). Die jeweils beste Ausbeute wurde „**fett**“ markiert.

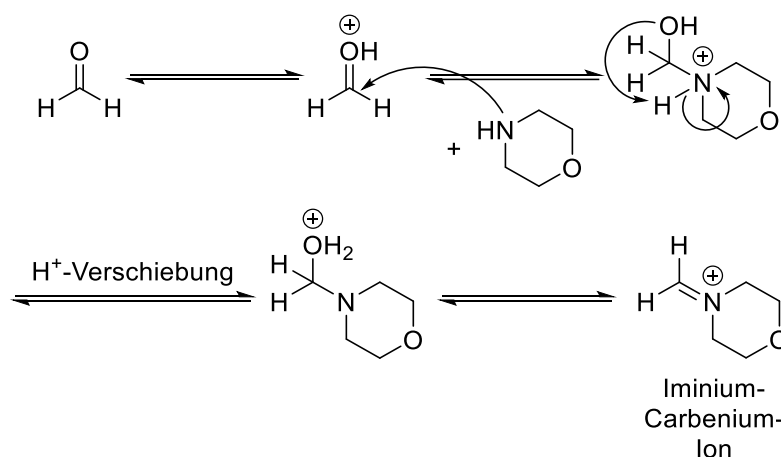
Bezeichnung	Verwendetes Amin	Ausbeute		
		Essig-säure	DMF	EtOH
147a		28%	50%	87%
148a		46%	29%	73%
149a		51%	6%	41%
150a		69%	n.d.	48%
151a		94%	24%	79%
152a	 Amin oder 2*TFA	37%	n.d.	78%
153a	 Amin oder 2*TFA	66%	n.d.	86%
154		23%	n.d.	64%

155		80%	n.d.	59%
156		27%	n.d.	0%

Reaktionen, die in EtOH oder Essigsäure durchgeführt wurden, ergaben im Allgemeinen höhere Ausbeuten als Reaktionen in DMF. Daher wurde eine Synthese in DMF nicht für jedes Derivat durchgeführt. Aufgrund einer relativ einfachen und sauberen Aufarbeitung, sowie breiten Anwendungsmöglichkeiten mit vielen verschiedenartigen, auch schwach-reaktiveren Aminen wurden die meisten folgenden Synthesen dieser Art in Essigsäure durchgeführt.

2.9.1.3. Überlegungen zum Reaktionsmechanismus

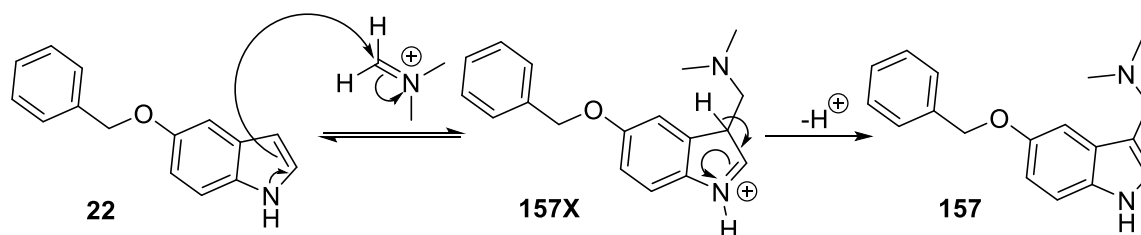
Die Reaktion, auf der die Synthese aller Verbindungen dieser Grundstruktur basiert, ist eine Mannich-Reaktion. Der zugrundeliegende Mechanismus der Reaktion in Essigsäure ist beispielhaft für Morpholin gezeigt (Schema 32). Aus dem Amin und Formaldehyd entsteht säurekatalysiert ein Iminium-Carbenium-Ion als Zwischenstufe.^{435–438}



Schema 32: Möglicher Mechanismus zur Bildung eines Iminium-Carbenium-Ions aus Formaldehyd und dem sekundären Amin Morpholin als Zwischenstufe der Mannich-Reaktion.^{435; 437}

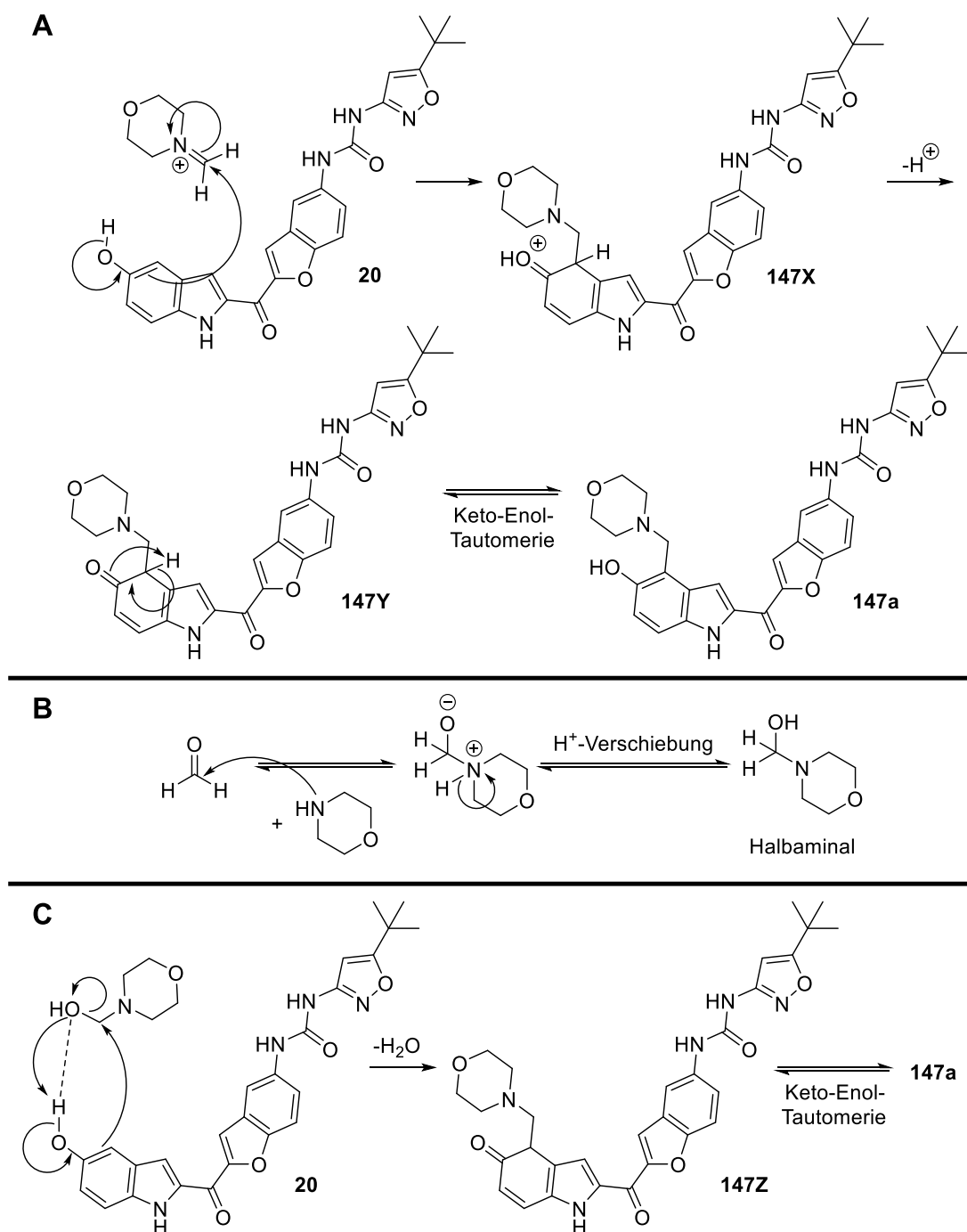
Im Anschluss daran reagiert Indol nukleophil, wobei die reaktive Position hierfür im Normalfall C-3 des Indolrings ist. Dafür ist beispielhaft der Mechanismus der Reaktion von Benzyloxyindol **22** zu

Benzyloxygramin **157** dargestellt: Das entspricht dem 1. Schritt der Serotonin-Synthese nach Hamlin und Fischer (Schema 33).^{439; 440}



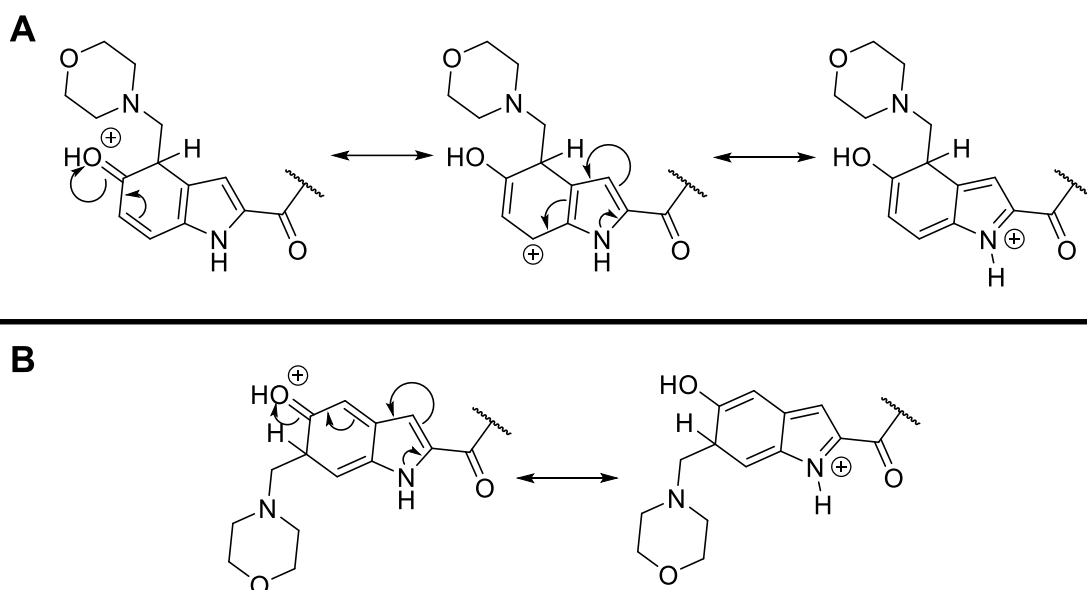
Schema 33: Beispielhafte Darstellung des zweiten Teils der Mannich-Reaktion ausgehend von 5-Benzyloxyindol **22** und einem Dimethylamin-Iminiumion.

Trägt C-5 des Indolrings allerdings eine phenolische OH-Gruppe, ergibt sich eine abweichende Regioselektivität. Die freie Hydroxygruppe scheint die Reaktivität der Verbindung für eine anschließende nukleophile Reaktion in Position 4 des Indolrings zu schieben. Es ergibt sich wahrscheinlich ein Mechanismus ähnlich zu dem der Betti-Reaktion mit sekundären Aminen.^{441; 442} Durch den elektronenschiebenden Effekt der OH-Gruppe könnte die Reaktion an Position 4 des Indolrings bevorzugt und **147X** erzeugt werden. Nach Deprotonierung zu **147Y** würde über eine Keto-Enol-Tautomerie Produkt **147a** und damit die anfängliche Aromatizität wieder erreicht werden (Schema 34A).^{443; 444} Da die beschriebene Mannich-Reaktion, wie ebenfalls durchgeführt, in DMF und damit in aprotischer Umgebung stattfinden kann, wird bei dieser Variante von einem leicht veränderten Mechanismus ausgegangen: Die Bildung eines Iminium-Ions wird bei Durchführung mit DMF ausgeschlossen und stattdessen ein Halbamin als Zwischenstufe vermutet (Schema 34B).^{437; 438} In der nachfolgenden Reaktion könnte sich durch eine intermolekulare Wasserstoffbrücke ein *quasi*-sechsgliedriger Übergangszustand bilden und damit die Bildung des Produkts **147a** über **147Z** bevorzugt ablaufen (Schema 34C).⁴³³



Schema 34: Mögliche Mechanismen zur Bildung von **147a** aus **20**. (A) Säurekatalysierte Reaktion ausgehend von **20** und einem Iminium-Ion, (B) Bildung eines Halbaminols aus Morpholin und Formaldehyd, (C) Reaktion ausgehend von **20** und einem Halbaminol.^{433; 437; 438; 443; 444}

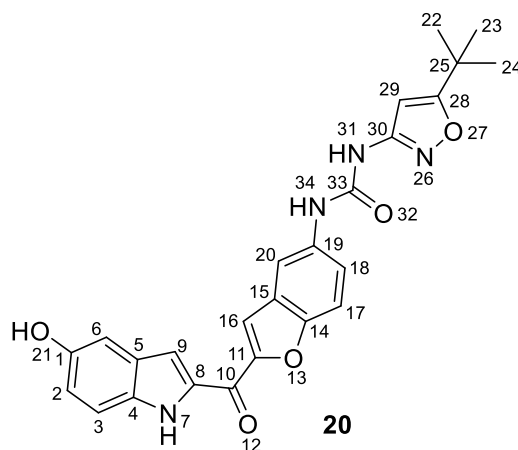
Auch die Beobachtung bezüglich der bevorzugten Regioselektivität einer der beiden ortho-Positionen bei der durchgeführten Mannich-Reaktion könnte durch einen Mechanismus analog zu einem bereits postulierten Modell unter Zuhilfenahme der kationischen Zwischenstufen erklärt werden (Schema 35). Das bevorzugte Produkt entsteht danach aus dem resonanzstabilisierten Zwischenprodukt, in dem eine Delokalisierung ohne Zerstörung des π -Elektronen-Systems des Pyrrol-Rings stattfinden kann (Schema 35A), was bei theoretischer Reaktion an Position 6 nicht gegeben ist (Schema 35B).⁴³³



Schema 35: Darstellung einiger Grenzstrukturen des Übergangszustandes der Mannich-Reaktion der synthetisierten Verbindungen für eine Reaktion an (A) Position 4 des Indolrings oder (B) an Position 6 des Indolrings.⁴³³

2.9.1.4. NMR-Analytik

Die Molekülstrukturen aller Substanzen der **Grundstruktur VI** wurde ebenfalls ausführlich mit Hilfe ein- und zweidimensionaler NMR-Analytik untersucht. Zum Vergleich wurde für Verbindung **20** und anschließend exemplarisch für alle Moleküle der **Grundstruktur VI** eine vollständige Strukturaufklärung für **150a** vorgenommen.



Zuerst wurde dafür ein Heteroatomaustausch durchgeführt, um Protonen, die an C-Atome gebunden sind von Protonen, die an Heteroatome gebunden sind, zu unterscheiden. Ein Heteroatomaustausch wurde durch Zugabe einer kleinen Menge deuterierten Wassers induziert und anschließend die ^1H -NMR-Spektren vor und nach dem Austausch verglichen (Abb. 25A und B). Die Signale, die von den Protonen der Heteroatome erzeugt werden, fallen nach dem Heteroatomaustausch weg und sind in der Abb. gekennzeichnet.⁴⁴⁵

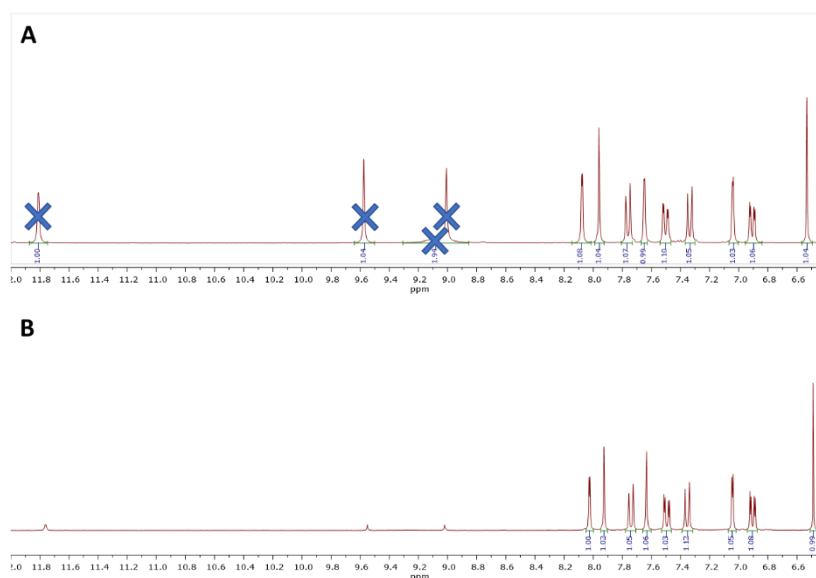


Abb. 25: Auszug aus dem ^1H -Spektrum der Verbindung **20** in $\text{DMSO}-d_6$ (400 MHz). Ein Heteroatomaustausch-Experiment wurde durchgeführt und das Spektrum (A) vor Zugabe von deuteriertem Wasser und (B) nach Zugabe und 1 h Wartezeit verglichen.

Bei den restlichen Signalen zwischen 8.2 und 6.5 ppm handelt es sich um die Signale der aromatischen CH-Gruppen des Moleküls. Eine Zuordnung der einzelnen Signale war ähnlich durchführbar wie auch schon bei der Analytik von **Grundstruktur IV**. Entspr. Signale, die zur Beschreibung wichtig sind, sind in Abb. 26 mit einem blauen Pfeil gekennzeichnet. Bei der Analyse des COSY-Spektrums (Abb. 26A) konnte ein Kreuzsignal zwischen H9 und H7 festgestellt werden, was einer Kopplung des Indol-NH mit dem Proton in Position 3 des Indolrings entspricht. Außerdem können zwei unabhängige Spinsysteme festgestellt werden, wobei die Signale von 2, 3 und 6, sowie von 17, 18 und 20 Kreuzsignale unterschiedlicher Intensität aufwiesen (Abb. 26B). Aus dem NOESY-Spektrum von Verbindung **20** kann eine räumliche Nähe von H3 und H7 festgestellt werden, da die beiden entspr. Signale ein Kreuzsignal aufweisen. Das Spinsystem mit den Signalen 2, 3 und 6 kann damit dem Indolring zugeordnet werden. Die Heteroatom-Signale 31 und 34 weisen ebenfalls Kreuzpeaks im NOESY-Spektrum auf, was eine Zuordnung zu den beiden NH-Protonen der Harnstoff-Einheit möglich macht (Abb. 26C). Signal 34 zeigt im NOESY-Spektrum zusätzlich dazu Kreuzpeaks mit den Signalen 18 und 20, wodurch das komplette Spinsystem mit den Signalen 17, 18 und 20 dem Benzofuran-Ring zugeordnet werden kann. Im Bereich der aromatischen Signale finden sich Kopplungen zwischen den Signalen 2 und 3, 6 und 9 sowie 17 und 18. Dadurch ist eine relativ eindeutige Zuordnung der einzelnen Signale möglich. Eine Kopplung zwischen den Signalen 16 und 20 kann aufgrund von Überlagerung nicht eindeutig bestätigt werden. Weiterhin kann ein Kreuzsignal zwischen 9 und 16 erkannt werden. Da Signal 9, wie beschrieben, zum Proton in Position 3 des Indolrings gehört (H9), kann Signal 16 dem entspr. räumlich naheliegenden Proton in Position 3' des Benzofuran-Rings zugeordnet werden (H16) (Abb. 26D). Im ROESY-Spektrum der Substanz konnte ein Kreuzsignal zwischen Signal 29 und Signal

22, 23 und 24 erkannt werden, was eine räumliche Nähe zwischen der *tert*-Butylgruppe und dem aromatischen Proton des Isoxazol-Rings (H29) bestätigt (Abb. 26E). Das Signal von H29 zeigte in einem TOCSY-Spektrum keine skalaren Kopplungen, womit die isolierte Position des Protons bestätigt werden kann. Zusätzlich sind die einzelnen Spinsysteme durch blaue Kästen verdeutlicht und eine Kopplung zwischen Signal 7 (Indol-NH) und Signal 9 (CH am C-3 des Indolrings) erkennbar (Abb. 26F). Bestätigt werden alle Zusammenhänge durch die entspr. Multiplizitäten im ^1H -NMR-Spektrum.

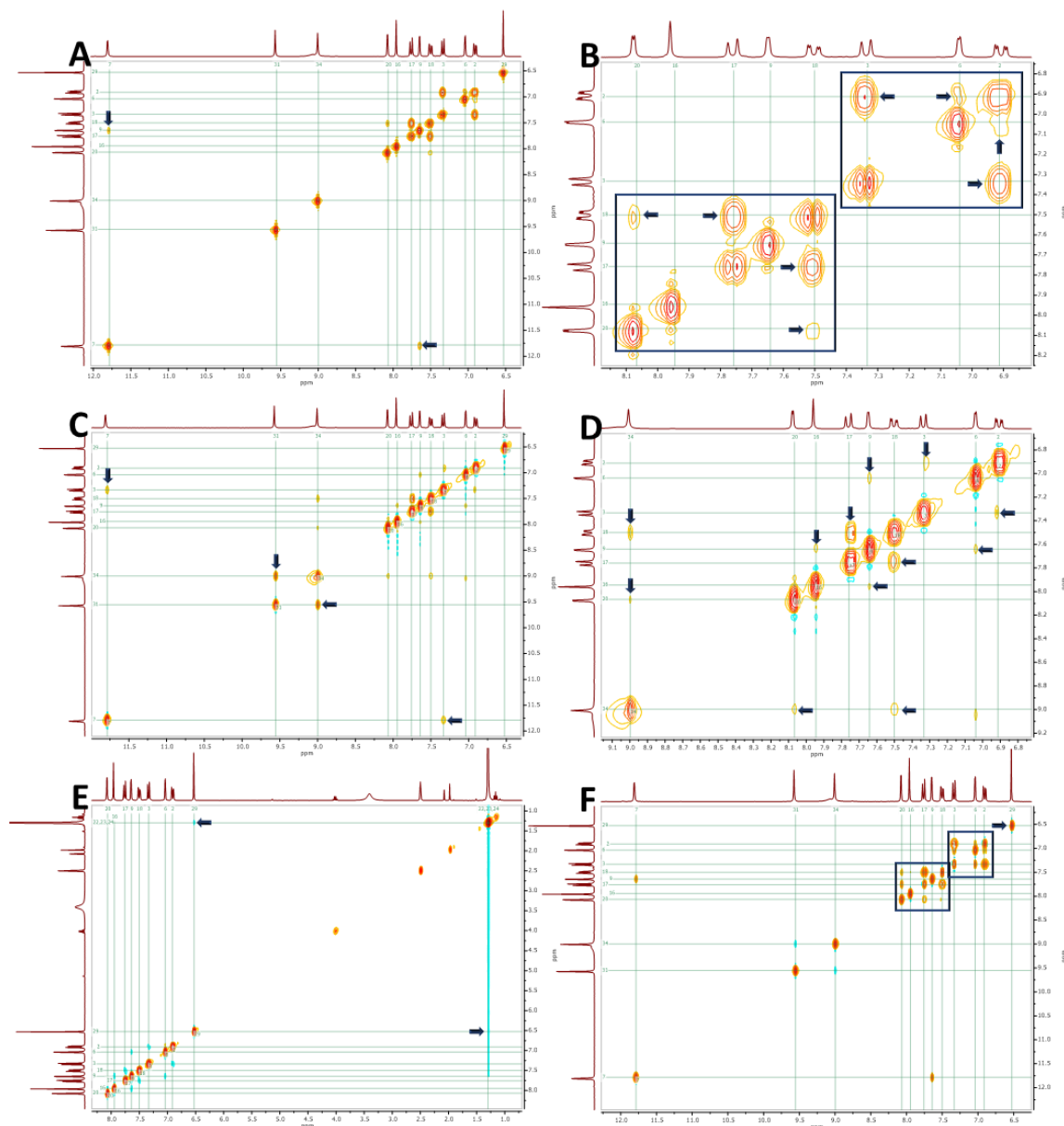
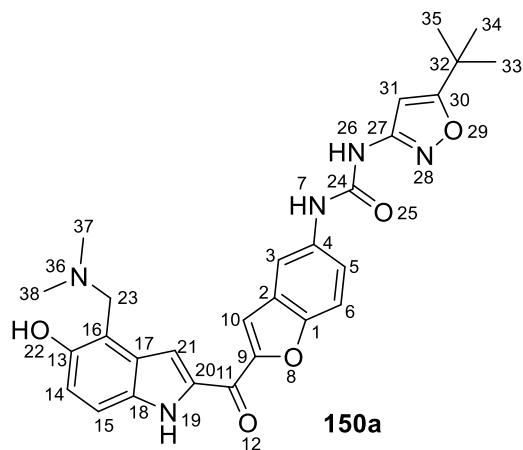


Abb. 26: Auszug aus dem COSY- (A, B), NOESY- (C, D), ROESY- (E) und TOCSY-Spektrum (F) von Verbindung **20** in $\text{DMSO}-d_6$. Die entscheidenden und im Text beschriebenen Kreuzsignale sind mit blauen Pfeilen gekennzeichnet. Die entscheidenden und im Text beschriebenen Spinsysteme sind mit blauen Rechtecken gekennzeichnet. Der Ausschnitt des zugehörigen ^1H -Spektrums (400 MHz) ist entspr. normiert abgebildet und die jeweiligen Signale sind analog zur Nummerierung im Molekül gekennzeichnet. Einige Diagonal- und Kreuzsignale sind ebenfalls mit der entsprechenden Nummer gekennzeichnet. Die Nummerierung der Atome des Moleküls erfolgte durch das Programm MestreNova 9.0.1.

Sowohl ein HSQC- als auch ein HMBC-Spektrum der Verbindung konnten die Ergebnisse bestätigen und sind nicht mehr extra abgebildet.

Basierend auf der Analyse der NMR-Spektren von Verbindung **20** wird im Folgenden eine Komplettanalyse von Molekül **150a** vorgenommen.



Dazu wird zuerst, wie schon bei der Analyse der Verbindung mit **Grundstruktur IV** ein Vergleich der beiden ^1H -Spektren herangezogen und entspr. Unterschiede gekennzeichnet (Abb. 27). Auch hier finden sich allgemein einige Signale, die sich ungefähr bei gleicher chemischer Verschiebung befinden wie schon im ^1H -Spektrum von **20**. Diese Signale sind daher wahrscheinlich denselben aromatischen Protonen zuzuordnen. Im aromatischen Bereich findet sich außerdem ein Signal weniger, während statt eines Dublett von Dubletts bei 6.91 ppm im Spektrum von **20** ein Dublett bei 6.88 ppm im Spektrum von **150a** vorhanden ist.

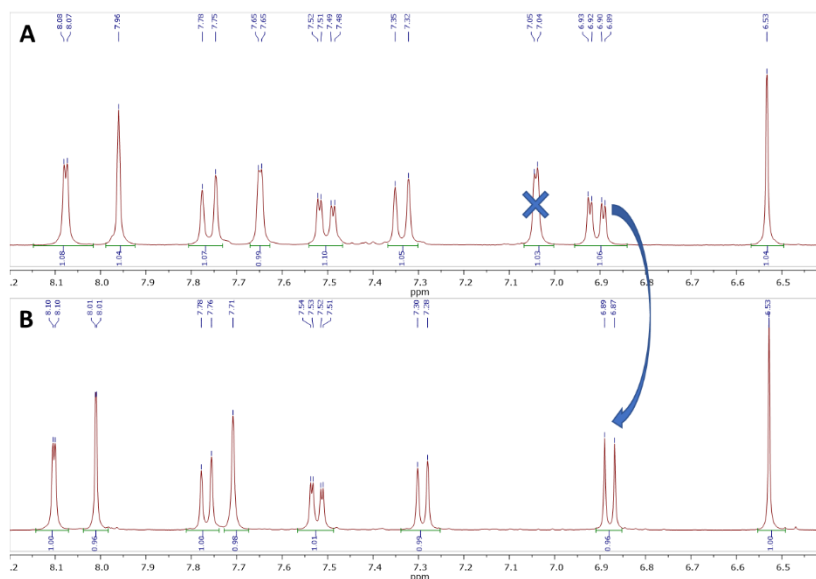


Abb. 27: Vergleich der ^1H -Spektren (400 MHz) von Verbindung **20** (A) und **150a** (B) in $\text{DMSO}-d_6$. Die entscheidenden und im Text beschriebenen Veränderungen eines einzelnen Signals ist mit einem blauen Pfeil, das Verschwinden eines Signals durch ein Kreuz gekennzeichnet.

Aus dem Vergleich der ^1H -Spektren kann daher auch hier der Schluss gezogen werden, dass sich der Dimethylamin-Rest an einer der aromatischen Positionen befindet, wobei wahrscheinlich das Signal des Protons am C-4 des Indolrings verschwindet, die Aminomethyl-Gruppe sich wahrscheinlich also an Position C-4 des Indolrings befindet. Zur Bestätigung dieser Annahme wurden zweidimensionale Techniken verwendet (Abb. 28).

Entspr. Signale, die zur Beschreibung wichtig sind, sind mit einem blauen Pfeil gekennzeichnet. Bei der Analyse des COSY-Spektrums (Abb. 28A) konnte ein Kreuzsignal zwischen den Signalen 19 und 21 festgestellt werden, was einer Kopplung des Indol-NHs mit dem Proton in Position 3 des Indolrings entspricht. Das spricht dafür, dass der Methylamino-Rest nicht an Position 3 des Indolrings lokalisiert ist. In einem größeren Ausschnitt des COSY-Spektrums sind die einzelnen Spinsysteme mit blauen Kästen markiert. Signal 14 und 15 sind dabei die einzigen beiden Signale des einen Spinsystems und weisen Kreuzpeaks auf. Das zweite abgebildete Spinsystem umfasst die Signale 3, 5 und 6 (Abb. 28B). Bei Betrachtung des NOESY-Spektrums kann man Kreuzsignale zwischen 5 und 6, sowie 5 und 7 feststellen, was bestätigt, dass es sich bei den Signalen 3, 5 und 6 um die Signale des Benzofuran-Rings handelt. Dagegen kann das Spinsystem der Signale 14 und 15 entspr. dem Indolring zugeordnet werden. Auch zwischen diesen beiden Signalen kann im NOESY-Spektrum eine räumliche Kopplung festgestellt werden. Zusätzlich ist eine Kopplung zwischen den Signalen 10 und 21 zu erkennen, was eine räumliche Nähe zwischen Position 3 des Indolrings und Position 3' des Benzofuran-Rings bestätigt und damit auch die Vermutung, dass sich die Methylamino-Gruppe an keiner der beiden Positionen befindet (Abb. 28C). In einem ROESY-Spektrum tritt zusätzlich ein weiterer Kreuzpeak auf, der eine räumliche Kopplung von Signal 21 und 23 zeigt und damit bestätigt, dass die Methylamino-Gruppe in Position 4 des Indolrings lokalisiert ist (Abb. 28D). In einem TOCSY-Spektrum von Verbindung **150a** können Kreuzsignale zwischen 19 und 21, sowie zwischen 14 und 21 erkannt werden. Außerdem können dieselben Spinsysteme eingeteilt werden, wie schon bei der Auswertung des COSY-Spektrums. Diese sind auch entspr. mit blauen Rechtecken gekennzeichnet (Abb. 28E).

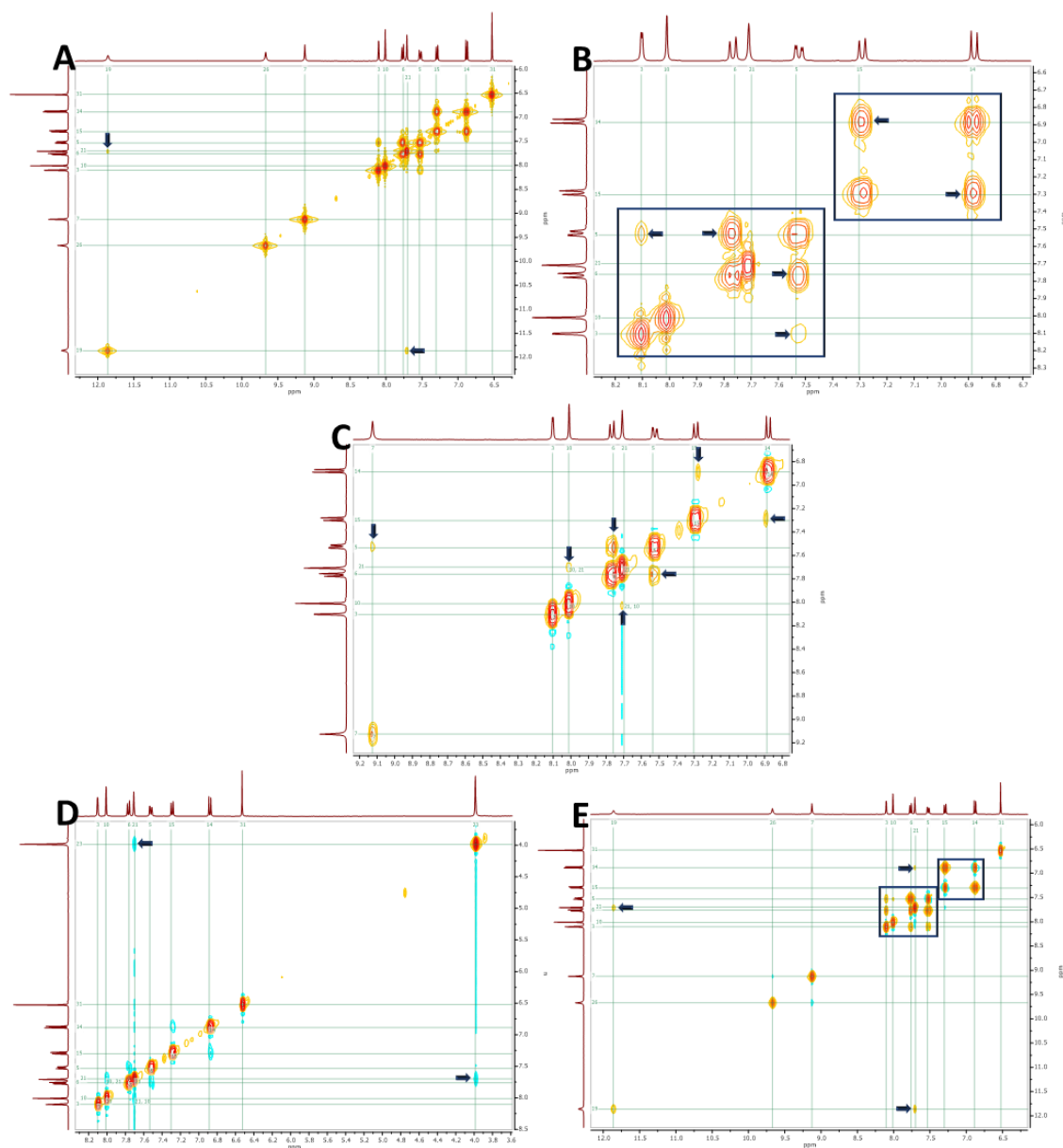


Abb. 28: Auszug aus dem COSY- (A, B), NOESY- (C), ROESY- (D) und TOCSY-Spektrum (E) der Verbindung **150a** in DMSO- d_6 . Die entscheidenden und im Text beschriebenen Kreuzsignale sind mit blauen Pfeilen gekennzeichnet. Die entscheidenden und im Text beschriebenen Spinsysteme sind mit blauen Rechtecken gekennzeichnet. Der Ausschnitt des zugehörigen ^1H -Spektrums (400 MHz) ist entspr. normiert abgebildet und die jeweiligen Signale sind analog zur Nummerierung im Molekül gekennzeichnet. Einige Diagonal- und Kreuzsignale sind ebenfalls mit der entspr. Nummer gekennzeichnet. Die Nummerierung der Atome des Moleküls erfolgte durch das Programm MestreNova 9.0.1.

Durch diese ausführliche Analyse von Verbindung **150a** kann die Vermutung bezüglich der Struktur aller Derivate dieser Grundstruktur mit großer Sicherheit bestätigt werden.

2.9.1.5. Reaktionskontrolle

Da die gezeigte Mannich-Reaktion zur Synthese von Molekülen der **Grundstruktur VI** mit **Kopfgruppe a** einen Schlüsselschritt dieser Arbeit darstellt und zu vielversprechenden Produkten führt, wurde der Reaktionsverlauf genauer analysiert. Dazu wurde eine Reaktion von **20** zu **150a** durchgeführt und regelmäßig eine kleine Probe mit analytischer HPLC untersucht. Für interessante Informationen bezüglich des Fortschreitens der Reaktion wurden einzelne Intergrale verglichen.

Die Peakflächen des Startmaterials und des Produkts jedes einzelnen Laufs wurden bestimmt. Anschließend wurde der Quotient aus dem Integral des Peaks des Startmaterials bzw. des Produkts und der Summe der Integrale der beiden Peaks bestimmt (Tabelle 5).

Tabelle 5: Überblick über den Reaktionsverlauf der Reaktion von **20** zu **150a**. Der Anteil des Startmaterials und der Anteil des Produkts in % sind angegeben. Die Angaben ergeben sich aus dem Quotienten dem Integral des Peaks des Startmaterials bzw. des Produkts und der Summe der Integrale der beiden Peaks.

Reaktionszeit	Anteil Startmaterial (%)	Anteil Produkt (%)
Start	100	0
10 min	69	31
30 min	57	43
60 min	35	65
2 h	25	75
3 h	19	81
6 h	6	94
24 h	0	100

Wie in Tabelle 5 gezeigt, ist bereits nach 10 min ein deutlicher Umsatz von **20** zu **150a** zu erkennen, während nach 1 h deutlich über 50% des eingesetzten Startmaterial **20** in der beispielhaften Mannich-Reaktion umgesetzt sind. Nach 6 h Reaktionszeit findet sich fast kein Startmaterial **20** mehr in der Reaktionsmischung (6%). Die letzte Probe wurde der Reaktionsmischung nach 24 h Reaktionszeit entnommen und kann als Ende der Reaktion angesehen werden.

Zur besseren Übersichtlichkeit sind die relevanten Ausschnitte (11-22 min) aus den einzelnen HPLC-Läufen in Abb. 29 dargestellt. Dabei kann der Reaktionsfortschritt ebenfalls gut beobachtet werden.

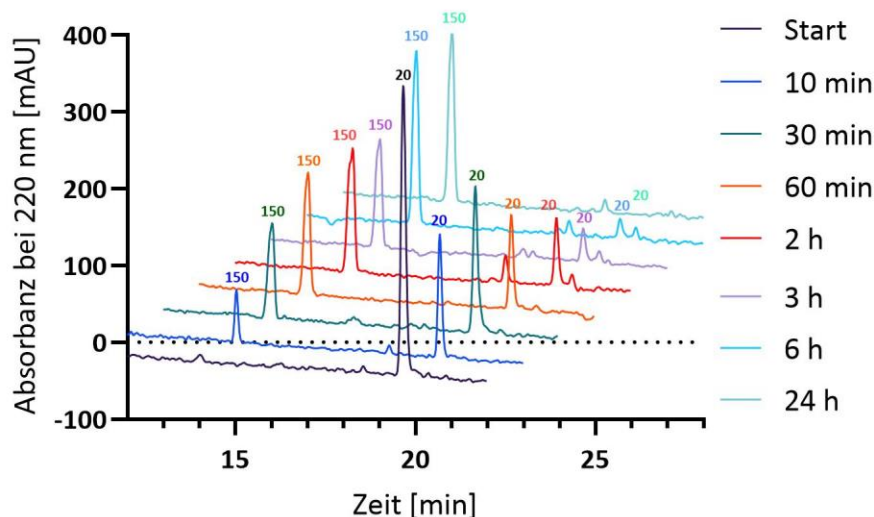
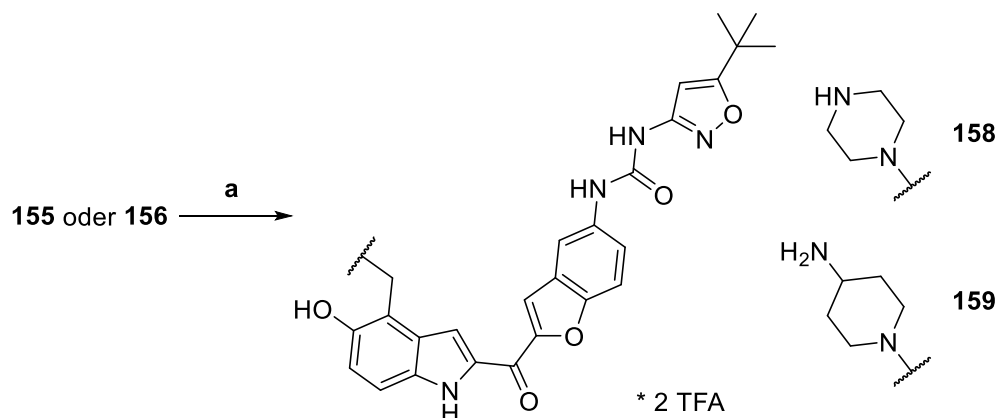


Abb. 29: Ausschnitte aus den HPLC-Läufen zur Untersuchung des zeitlichen Verlaufs der Reaktion von **20** zu **150a**. Nach definierten Zeitabschnitten wurden der Reaktionsmischung Proben entnommen und ein HPLC-Lauf durchgeführt.

2.9.1.6. Boc-Entschützungs-Reaktionen

Die Moleküle **155** und **156** sind Boc-geschützte Amine. Diese Schutzgruppen wurden mit Trifluoressigsäure abgespalten, um **158** bzw. **159** zu erhalten (Schema 36).³⁴⁶

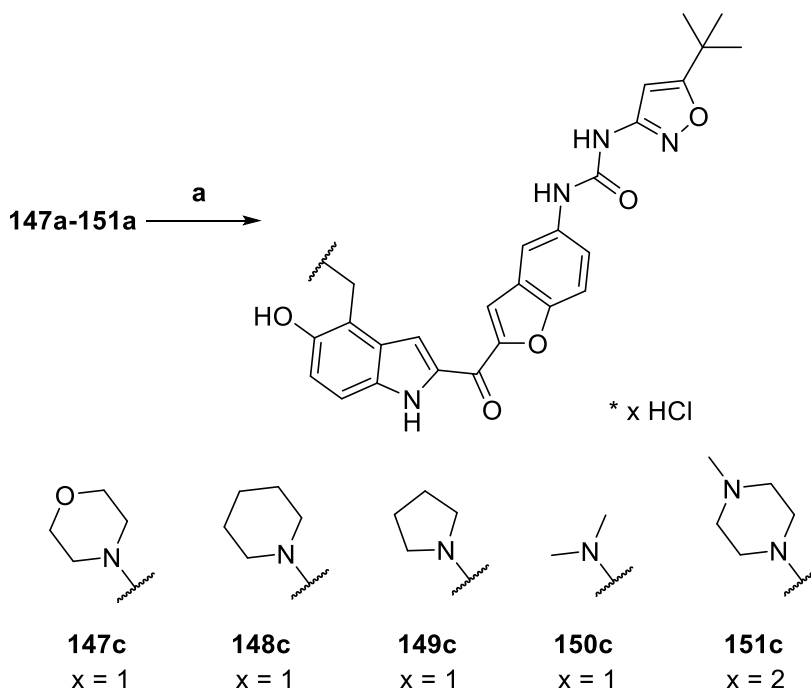


Schema 36: Synthese von **158** und **159**. Reaktionen und Bedingungen: (a) TFA, DCM, RT, 1 h, quantitativ.

Beide Moleküle bieten die Möglichkeit, weitere Syntheseschritte am jeweiligen Stickstoff-Atom durchzuführen und weitere Stoffgruppen zu erhalten.

2.9.1.7. Darstellung der Hydrochloride

Da alle Verbindungen der **Grundstruktur VI** mit dem Ziel hergestellt wurden, die Löslichkeit in polaren Lösemitteln zu erhöhen, wurden einige der Moleküle in biologisch relevante HCl-Salze überführt. Dies geschah durch die Verwendung von HCl in Diethylether, Isopropanol oder Wasser, sodass die Salze **147c-151c** isoliert werden konnten (Schema 37).³²⁴



Schema 37: Herstellung von **147c-151c**. Reaktionen und Bedingungen: (a) HCl (5-6 M in Isopropanol oder 2 M in Diethylether oder 37% in Wasser), MeOH, RT, 2 h, quantitativ. Der Protonierungsgrad der synthetisierten Salze ist angegeben.

Der Protonierungsgrad der synthetisierten Salze entspricht dabei der Anzahl der vorhandenen Amingruppen und ist im Schema angegeben.

2.9.1.8. Kontrolle der Protonierung

Die Protonierung wurde durch den Vergleich der ^1H -NMR-Spektren von **150a**, **150b** und **150c** überprüft. Neben dem neu-auf tretenden Signal des Protons am Dimethylamin-Rest bei Werten >9 ppm mit einem Integral von ca. 1 lassen einige weitere Indizien Rückschlüsse zu und bestätigen eine Protonierung des Amins. In Abb. 30 sind die relevanten Bereiche der NMR-Spektren zur besseren Vergleichbarkeit entspr. untereinander gezeigt. Im aromatischen Bereich lässt sich nach Protonierung (Abb. 30B und C) eine veränderte chemische Verschiebung einiger Signale feststellen. Dabei handelt es sich ausschließlich um die Signale des Indolrings. Die Benzofuran-Signale hingegen werden kaum beeinflusst. Die beiden Dubletts **1** (6.87 ppm) bzw. **2** (7.28 ppm, Abb. 30A) erfahren nach Protonierung der Dimethylamino-Gruppe eine deutliche Tieffeldverschiebung und erscheinen bei 7.09 und 7.48 ppm (Abb. 30B) bzw. bei 7.13 und 7.49 ppm (Abb. 30C). Dublett **3** (7.70 ppm, Abb. 30A) wird ebenfalls beeinflusst und befindet sich in den beiden protonierten Molekülen bei 7.87 ppm (Abb. 30B) bzw. 7.92 ppm (Abb. 30C).

Auch bei Betrachtung des aliphatischen Bereichs des ^1H -NMR-Spektrums fallen nach Protonierung deutliche Veränderungen auf. Die beiden CH_3 -Gruppen der Dimethylamin-Gruppe von **150a** bilden Singulett **4** (2.34 ppm, Abb. 30D), während nach Protonierung eine deutliche Tieffeldverschiebung erkennbar ist und das Signal bei 2.84 ppm erscheint (Abb. 30E und F). Auch Signal **5** (3.96 ppm,

Abb. 30D) verschiebt sich nach der Bildung eines Salzes und findet sich bei 4.57 ppm (Abb. 30E) bzw. 4.58 ppm (Abb. 30F). Des Weiteren wird eine Aufspaltung dieser beiden aliphatischen Signale sichtbar. Während es sich vor Protonierung bei beiden Signalen **4** und **5** jeweils um ein Singulett handelt (Abb. 30D), koppeln die für die Signale relevanten Gruppen nach Protonierung mit dem H^+ des Salzes und werden jeweils in ein Dublett aufgespalten (Abb. 30E und F).

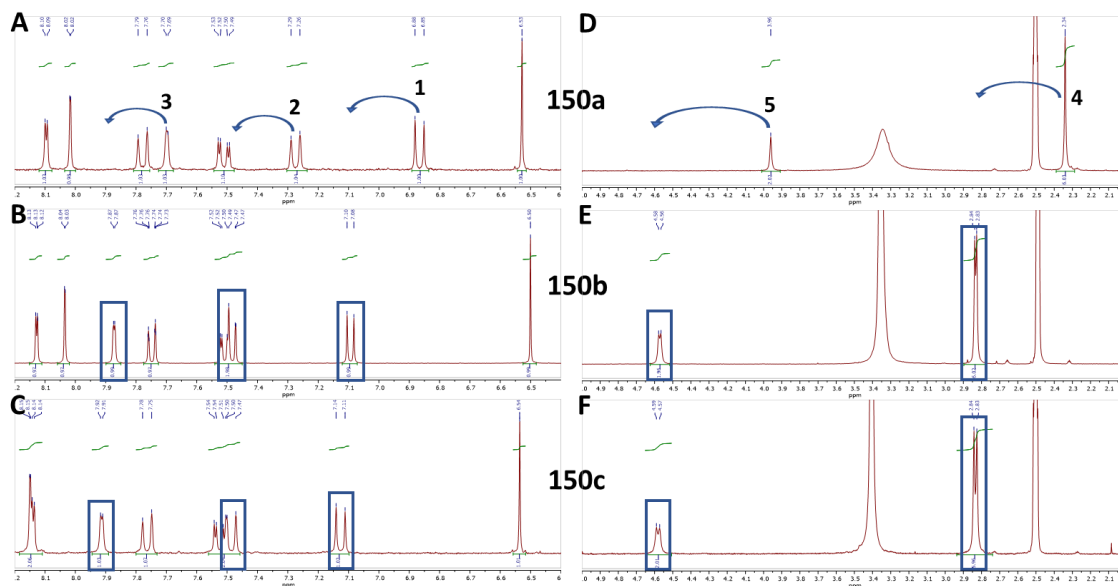


Abb. 30: Ausschnitte aus den 1H -NMR-Spektren der Verbindungen **150a**, **150b** und **150c** in $DMSO-d_6$. Die entspr. Spektren sind aus Gründen der Vergleichbarkeit untereinander dargestellt. (A) Ausschnitt des Bereichs 8.2–6.4 ppm von **150a** bei 300 MHz. Die Verschiebung der relevanten Signale **1–3** ist durch Pfeile gekennzeichnet. (B) Ausschnitt des Bereichs 8.2–6.4 ppm von **150b** bei 400 MHz. Die relevanten Signale sind durch blaue Rechtecke gekennzeichnet. (C) Ausschnitt des Bereichs 8.2–6.4 ppm von **150c** bei 300 MHz. Die relevanten Signale sind durch blaue Rechtecke gekennzeichnet. (D) Ausschnitt des Bereichs 5.0–2.0 ppm von **150a** bei 300 MHz. Die Verschiebung der relevanten Signale **4** und **5** ist durch Pfeile gekennzeichnet. (E) Ausschnitt des Bereichs 5.0–2.0 ppm von **150b** bei 400 MHz. Die relevanten Signale sind durch blaue Rechtecke gekennzeichnet. (F) Ausschnitt des Bereichs 5.0–2.0 ppm von **150c** bei 300 MHz. Die relevanten Signale sind durch blaue Rechtecke gekennzeichnet.

2.9.1.9. Stabilitätstest

Beispielhaft für alle Moleküle der **Grundstruktur VI** wurde Verbindung **150c** bezüglich ihrer Stabilität als Feststoff oder als Lösung in DMSO, Wasser und Ethanol evaluiert. Dazu wurde einerseits der Feststoff selbst und andererseits eine 0.5 mM Stammlösung im jeweiligen Lösemittel hergestellt und bei RT gelagert. Nach festgelegten Zeitabschnitten wurde jeweils eine Probe des Feststoffs bzw. der jeweiligen Stammlösungen mit analytischer HPLC untersucht und so die Reinheit der Proben bestimmt. Die einzelnen Chromatogramme wurden miteinander verglichen. Die einzelnen Chromatogramme zeigen, dass Verbindung **150c** als Feststoff und in DMSO-Lösung sehr stabil ist, da selbst nach 3 Monaten keine Zersetzungsprodukte auftreten. (Abb. 31A und B).

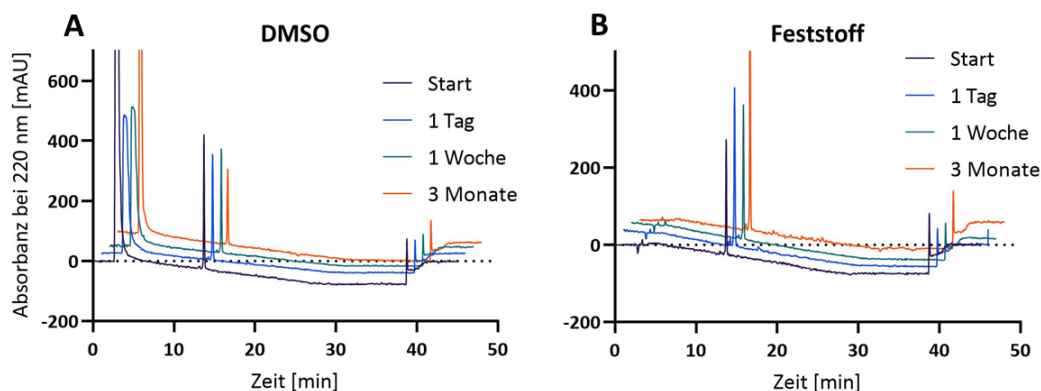


Abb. 31: Stabilitätstest von Verbindung **150c**. Die Chromatogramme von Verbindung **150c** zum Startzeitpunkt, nach einem Tag, nach einer Woche und nach 3 Monaten bei RT in (A) DMSO und (B) als Feststoff.

In protischen Lösemitteln wie Wasser oder Ethanol konnte allerdings nach 3 Monaten eine Zersetzung des Moleküls beobachtet werden. (Abb. 32A und B)

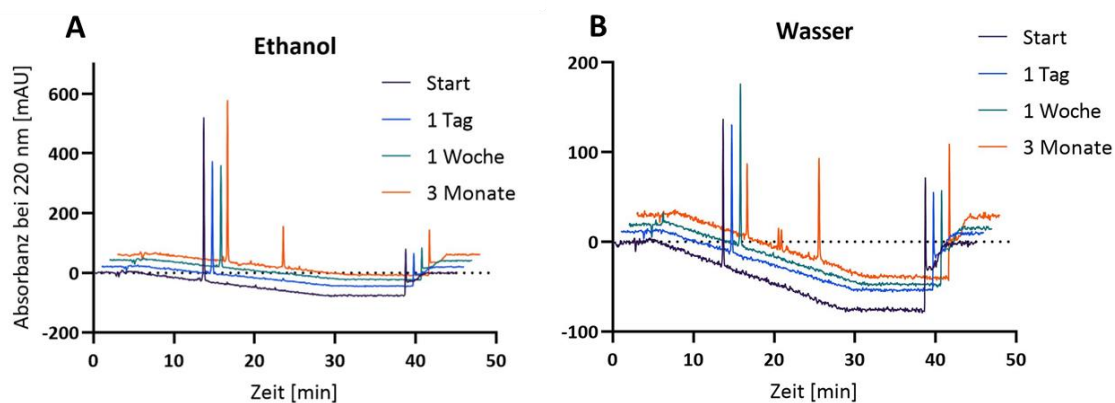
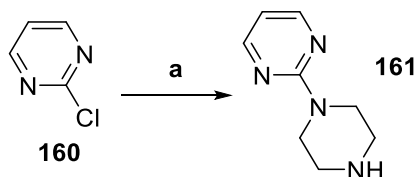


Abb. 32: Stabilitätstest von Verbindung **150c**. Die Chromatogramme von Verbindung **150c** zum Startzeitpunkt, nach einem Tag, nach einer Woche und nach 3 Monaten bei RT in (A) Ethanol und (B) Wasser.

2.9.2. Kopfgruppe b

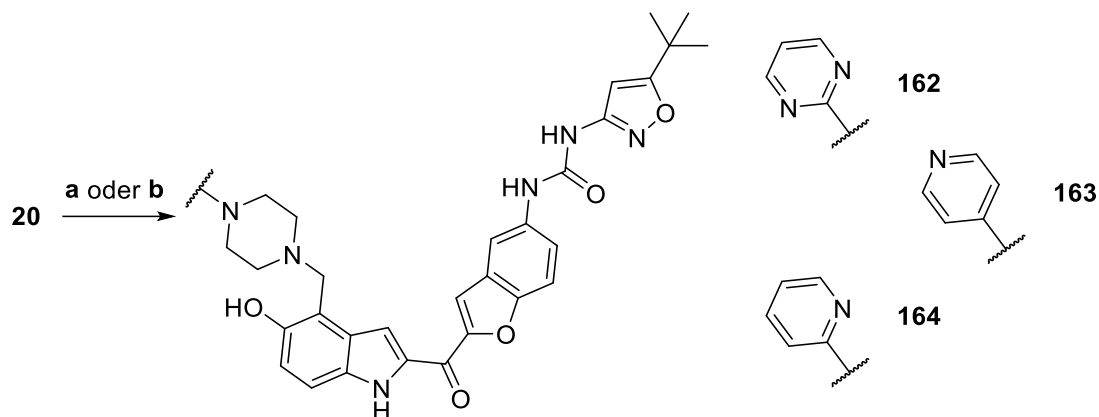
Die Verbindungen der **Grundstruktur VI** mit **Kopfgruppe b** wurden synthetisiert, um den aliphatischen Piperazin-Ring mit einem Heteroaromaten zu kombinieren. Durch die Reaktion von 2-Chlorpyrimidin **160** mit Piperazin entstand 2-(Piperazin-1-yl)pyrimidin **161** (Schema 38).⁴⁴⁶



Schema 38: Synthese von **161**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Piperazin **137** (2.5 eq.), Wasser, 60 °C, über Nacht, 82%.

Die Amine 1-(Pyridin-4-yl)piperazin und 1-(Pyridin-2-yl)piperazin wurden kommerziell erworben. Alle Amine wurden mit Marbotinib **20** zu **162-164** umgesetzt (Schema 39). Die Synthese von **163**

und **164** wurde in Essigsäure durchgeführt, **162** wurde in Essigsäure (Ausbeute: 29%) oder von Dr. Herwig Pongratz in EtOH (Ausbeute: 63%) auf dieselbe Art synthetisiert, die für **Kopfgruppe a** dieser Grundstruktur beschrieben ist (s. Kapitel 2.9.1.2).^{432–434}



Schema 39: Synthese von **162-164**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Formaldehyd-Lösung (37% in Wasser, 1.5 eq.), Amin (1.5 eq.), Essigsäure, RT, über Nacht, 29-76%, (b) für **162**: Formaldehyd-Lösung (37% in Wasser, 2.2 eq.), Amin (2.4 eq.), EtOH, 60 °C, über Nacht, 63%.

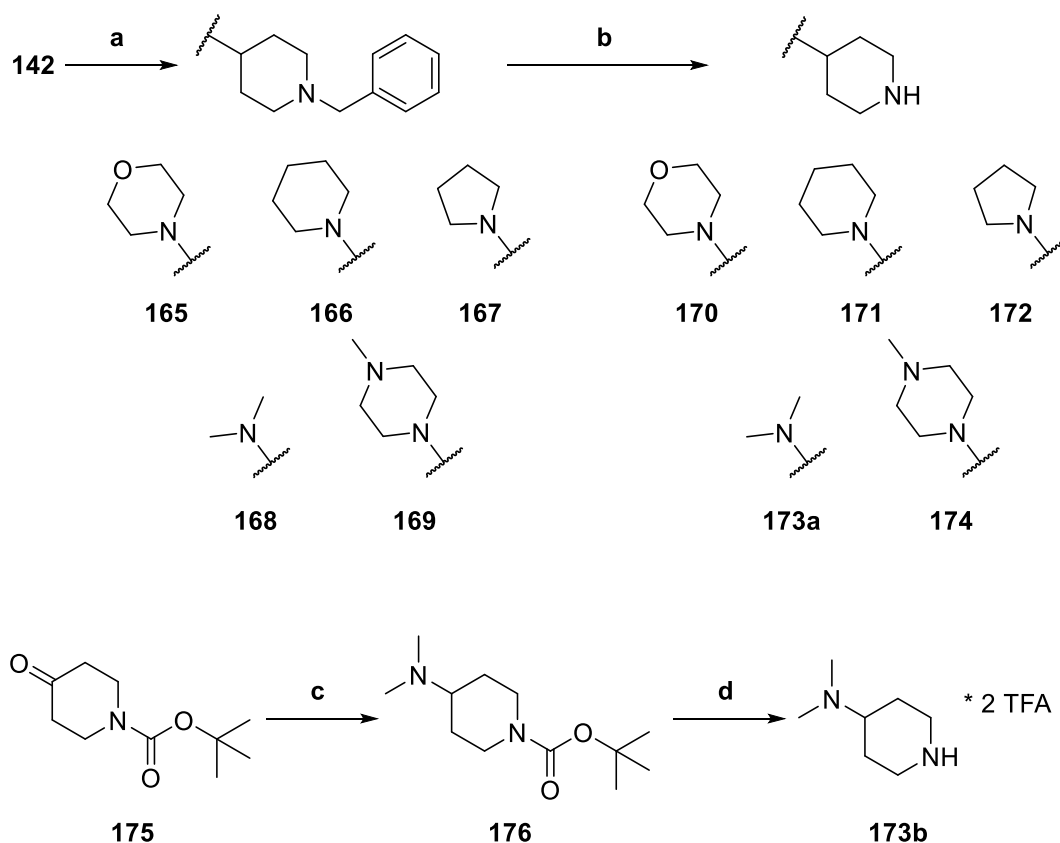
Theoretisch bietet diese Stoffgruppe die Möglichkeit, weitere Derivate durch Variation des verbundenen Aromaten herzustellen. Aufgrund der biologischen Testergebnisse (s. Kapitel 3.1.4) wurden allerdings keine weiteren Derivate synthetisiert.

2.9.3. Kopfgruppe c

2.9.3.1. Synthese der Amine

Bei den Molekülen der **Grundstruktur VI** mit **Kopfgruppe c** sollte ein Piperidin-Ring mit einem weiteren Heterozyklus kombiniert werden, wie zum Beispiel durch die 1-Methyl-4-(piperidin-4-yl)piperazin-Gruppe aus dem Tyrosinkinase-Inhibitor Gilteritinib **8** beschrieben.^{210; 212} Dadurch sollte eine höhere Zahl protonierbarer tertiärer Amine pro Molekül erreicht werden, wodurch eine verbesserte Löslichkeit in polaren Lösemitteln erwartet wurde. Dafür wurden Morpholin, Piperidin, Pyrrolidin, Dimethylamin und *N*-Methylpiperazin verwendet. 1-Benzylpiperidin-4-on **142** wurde in einer reduktiven Aminierung mit den entspr. Aminen umgesetzt, um die fünf gewünschten Verbindungen **165-169** zu erhalten.⁴⁴⁷ Anschließend wurde die Benzylgruppe durch Hydrierung entfernt (**170-174**).⁴⁴⁷ Die Synthese von *N,N*-Dimethylpiperidin-4-amin **173** wurde alternativ ausgehend von **175** durchgeführt,⁴⁴⁸ wobei die Boc-Schutzgruppe im zweiten Schritt sauer abgespalten und das TFA-Salz **173b** des entspr. Amins erhalten wurde (Schema 40).^{324; 419;}

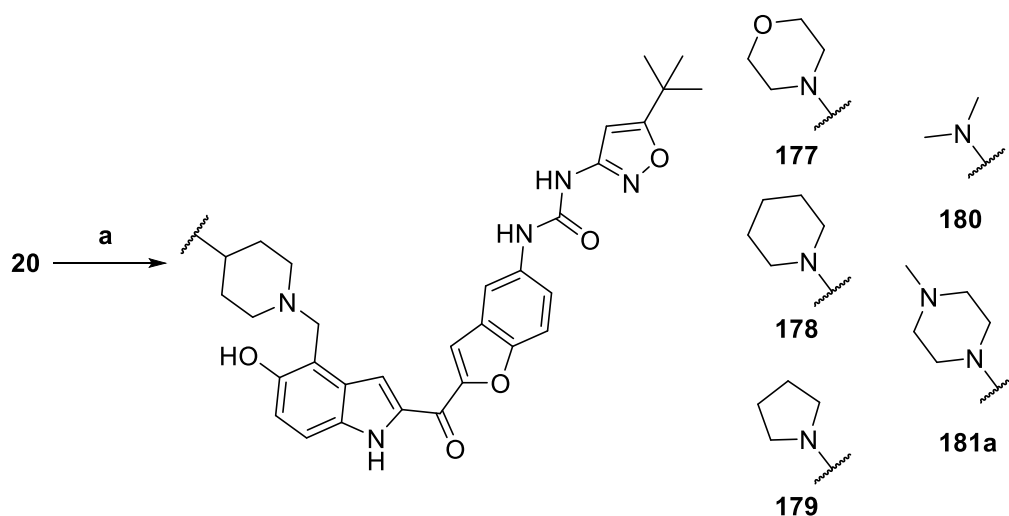
420; 449



Schema 40: Synthese von **170-174**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Amin (1.0 eq.), Essigsäure (1.0 eq.), Natriumcyanoborhydrid (2.0 eq.), DCM, RT, über Nacht, (b) Ammoniumformiat (4.0 eq.), Pd (10% auf Aktivkohle), MeOH, Reflux, 1 h, (c) Amin (1.0 eq.), Natriumcyanoborhydrid (2.0 eq.), MeOH, RT, über Nacht, (d) TFA, DCM, RT, 1 h.

2.9.3.2. Synthese der Produkte

Alle Amine wurden in der beschriebenen Mannich-Reaktion mit Marbotinib **20** in Essigsäure zu **177-181** umgesetzt (Schema 41, vgl. Kapitel 2.9.1.2).⁴³² Um optimale Reinheit zu erreichen, wurde Verbindung **181a** durch präp. HPLC gereinigt und das TFA-Salz **181b** erhalten.



Schema 41: Synthese von **177-181a**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Formaldehyd-Lösung (37% in Wasser, 1.5 eq.), Amin (1.5 eq.), Essigsäure, RT, über Nacht, 44-79%.

Die Synthese von Verbindung **181a** sollte von Dr. Herwig Pongratz ebenfalls in EtOH durchgeführt werden, führte allerdings nicht zum gewünschten Produkt.

2.9.3.3. Analyse des Protonierungsgrades

Nach der beispielhaften Kontrolle der Protonierung von **150a-c** (vgl. Kapitel 2.9.1.8) wurde zusätzlich der Protonierungsgrad analysiert. Dies wurde ebenfalls mit NMR-Spektroskopie für Verbindung **181b** durchgeführt, da bei dieser Verbindung eine dreifache Protonierung beobachtet werden sollte. Zur Kontrolle des Protonierungsgrades wurden sowohl **181b** als auch 4-(Trifluormethyl)zimtsäure **54** in DMSO- d_6 gelöst und ein ^1H - sowie ein ^{19}F -NMR-Spektrum dieser Mischung gemessen. Durch Vergleich der Integrale jeweils eines Protonensignals beider Moleküle wurde das Stoffmengen-Verhältnis der beiden Verbindungen in der NMR-Probe bestimmt (Abb. 33A). Beim Dublett bei 6.67 ppm handelt es sich um das Signal eines Protons der Doppelbindung der Zimtsäure **54**, was also einem Proton entspricht, während es sich beim Signal bei 7.11 ppm um ein Signal eines aromatischen Protons von **181b** handelt. Durch einen Vergleich der Integrale beider Signale kann davon ausgegangen werden, dass ein Stoffmengen-Verhältnis von 11.29 zu 1.00 zwischen **54** und **181b** in der Probe vorliegt. Während Molekül **54** drei Fluor-Atome der CF_3 -Gruppe besitzt, sollte **181b** ein dreifaches TFA-Salz sein und daher 9 Fluor-Atome im Molekül vorhanden sein. Entspr. sollte beim Vergleich der Integrale im ^{19}F -NMR-Spektrum ein Verhältnis von 1 zu 3.76 vorliegen, was genau nachgewiesen werden konnte (Abb. 33B).

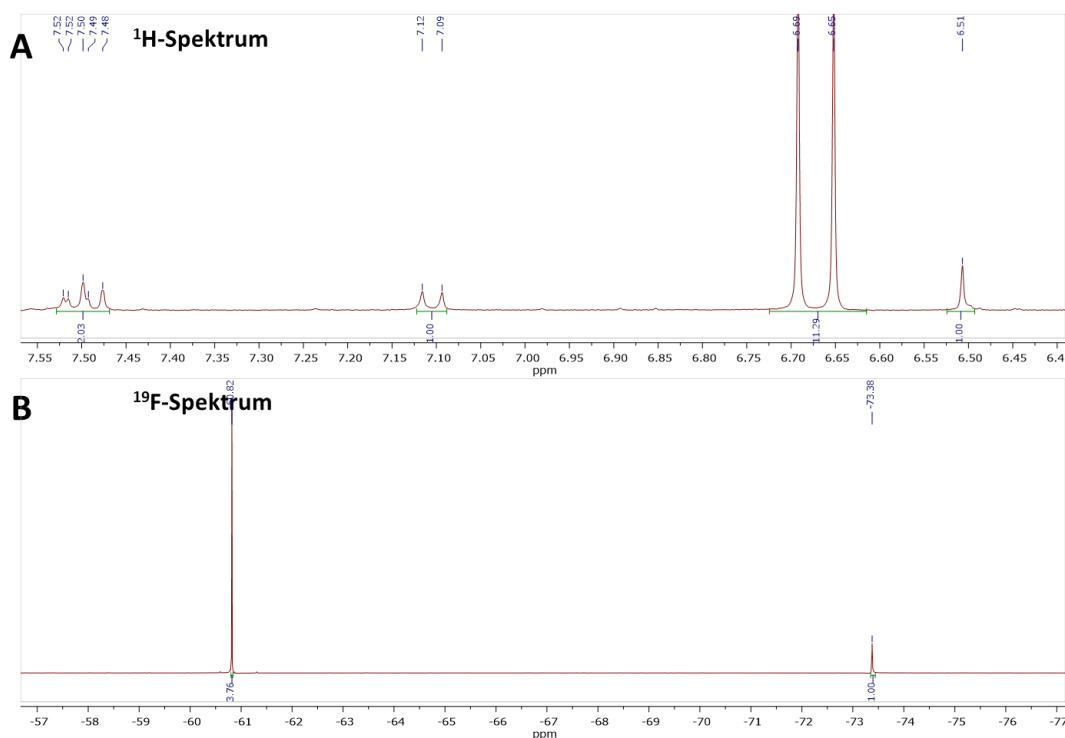


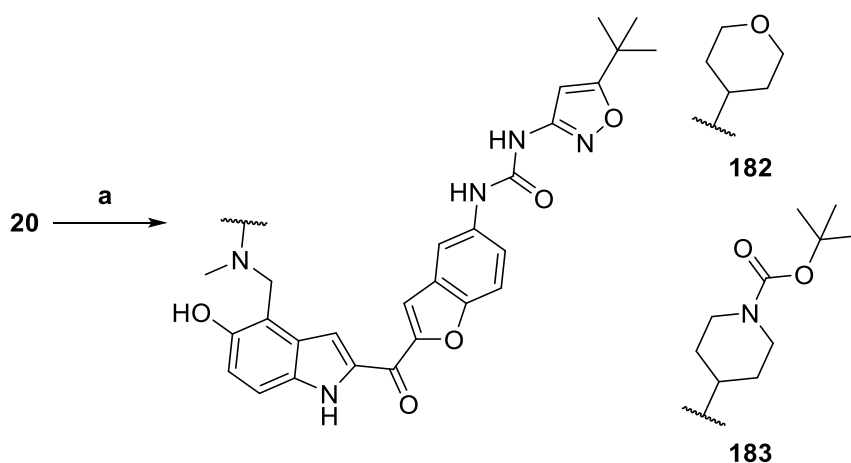
Abb. 33: ^1H -Spektrum (400 MHz) und ^{19}F -Spektrum (377 MHz) eines Gemisches aus 4-(Trifluormethyl)zimtsäure **54** und **181b** in DMSO- d_6 .

2.9.4. Kopfgruppe d

Kopfgruppe d aus der Gruppe der Verbindungen mit **Grundstruktur VI** sollte eine Methylamin-Einheit mit einem Heterozyklus verbinden. Dazu wurden Heterozyklen mit Sauerstoff oder *N*-Boc-Amin verwendet. Dadurch wurde sich eine erhöhte Löslichkeit, sowie günstige Wechselwirkung bei der Bindung der Verbindung im Rezeptor erwartet.

2.9.4.1. Synthese der Produkte

Die synthetisierten Verbindungen **182** und **183** wurden mit Hilfe der Mannich-Reaktion mit den entspr. Aminen in Essigsäure hergestellt (Schema 42).⁴³²

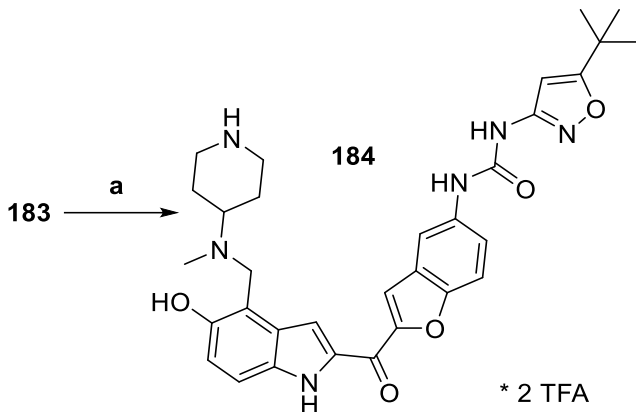


Schema 42: Synthese von **182** und **183**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Formaldehyd-Lösung (37% in Wasser, 1.5 eq.), Amin (1.5 eq.), Essigsäure, RT, über Nacht, 44-57%.

Verbindung **183** bietet ferner die Möglichkeit, weitere Modifikationen an **20** vorzunehmen und nach Abspalten der Boc-Schutzgruppe über das Stickstoffatom z.B. Enon-Systeme einzuführen.

2.9.4.2. Boc-Entschützungs-Reaktion

Um Verbindung **183** weiter zu modifizieren, wurde dessen Boc-Schutzgruppe abgespalten³⁴⁶ und das protonierte Amin **184** isoliert (Schema 43).



Schema 43: Synthese von **184**. Reaktionen und Bedingungen: (a) TFA, DCM, RT, 1 h, quantitativ.

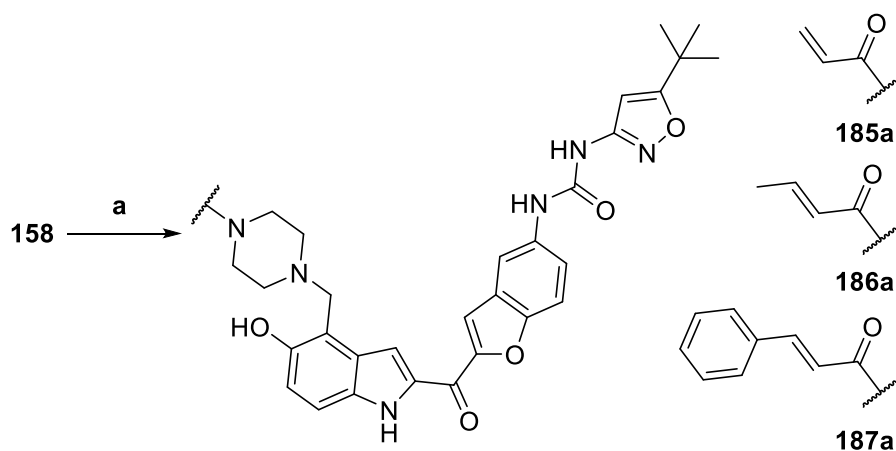
Neben der Synthese einer Palette von Enonsystemen oder Enon-ähnlichen Verbindungen könnte eine Synthese ähnlicher Art zur Synthese anderer Amide als PROTAC-Bausteine (s. Kapitel 2.12.3) übernommen werden.

2.9.5. Kopfgruppe e

Allgemein bieten Enonsysteme oder Enon-ähnliche Verbindungen die Möglichkeit, potenziell irreversible Verbindungen als Wirkstoffe zu synthetisieren. Die Verbindung eines Piperazin-Rings mit verschiedenen Enonsystemen führte zu den Amiden **185-187** und **204-206**.

2.9.5.1. Synthese-Variante 1

Zuerst wurde Verbindung **158** als Startmaterial verwendet und dieses sekundäre Amin mit entspr. Carbonsäurechloriden bzw. Carbonsäure-Anhydriden zu **185a-187a** umgesetzt (Schema 44).⁴⁵⁰⁻⁴⁵² Um optimale Reinheit zu erreichen, wurden **185a-187a** mit präp. HPLC gereinigt und die TFA-Salze **185b-187b** erhalten.



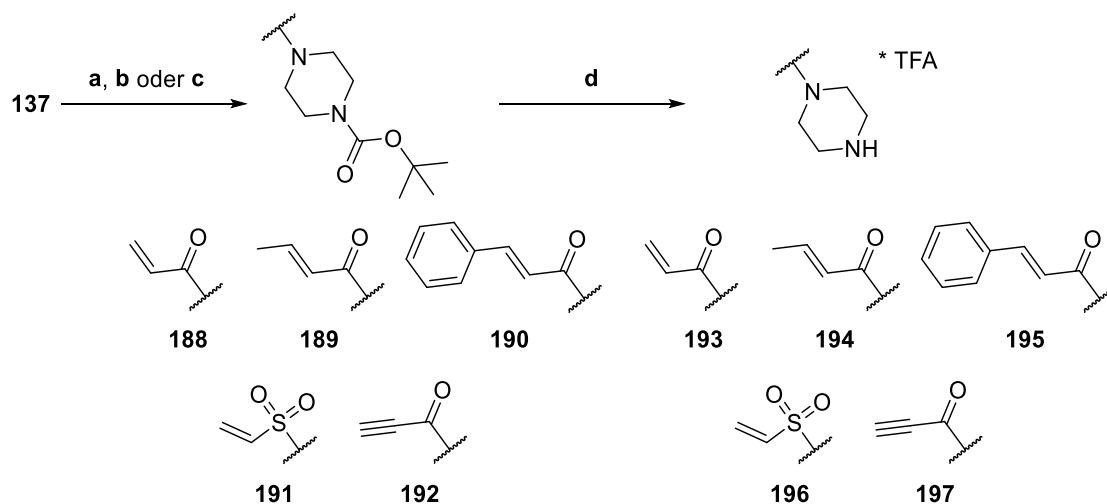
Schema 44: Synthese von **185a**–**187a**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Acrylsäurechlorid (1.2 eq.), Crotonsäurechlorid (1.2 eq.) oder Zimtsäurechlorid (1.2 eq.), DIPEA (4.0 eq.), THF, 0 °C-RT, 1 h, 10–71%.

Theoretisch bestände auch für Verbindung **159** die Möglichkeit, Reaktionen dieser Art durchzuführen und Enon-Systeme oder Enon-ähnliche Verbindungen im Molekül zu erzeugen. Aufgrund einer verhältnismäßig schlechten Inhibitor-Fähigkeit von **159** verglichen mit **158** wurden Moleküle dieser Art allerdings nicht als vielversprechend angesehen.

Da für die Syntheseroute (Schema 44) allgemein eine relativ große Menge an Marbotinib **20** eingesetzt werden muss, wurde an einer weiteren Synthese-Variante gearbeitet.

2.9.5.2. Synthese-Variante 2

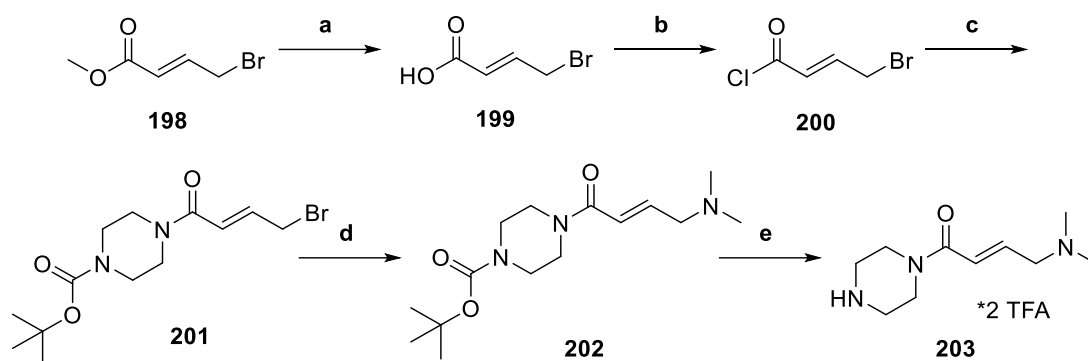
Eine zweite durchgeführte Überlegung zur Herstellung der gewünschten Verbindungen **185a-187a** und einer noch breiteren Palette an Enonen oder Enon-ähnlichen Verbindungen (**204-206**) beruht darauf, in einer ersten Reaktionssequenz das entspr. Amin zu synthetisieren und im Anschluss daran die bewährte Mannich-Reaktion mit Marbotinib **20** durchzuführen (s. Kapitel 2.9.1.2). Dazu wurden einige Amide **188-190** und **192** sowie ein Sulfonamid **191** aus den entspr. reaktiven Carbonsäure- oder Sulfonsäure-Derivaten und *N*-Boc-Piperazin **137** unter basischen Bedingungen synthetisiert und anschließend jeweils die Boc-Schutzgruppe mit TFA abgespalten (Schema 45).^{346; 450-454} Die daraus erhaltenen TFA-Salze **193-197** der Amine wurde direkt weiterverwendet. Zur Synthese von **191** musste 2-Chloroethan-1-sulfonylchlorid und die doppelte Anzahl an Äquivalenten der Base verwendet werden, um nach Bildung des Sulfonamids eine Eliminierungsreaktion zum Vinylsulfonamid **191** zu erreichen.^{455; 456}



Schema 45: Synthese von **193-197**. Reaktionen und Bedingungen: (a) für **188**, **189** und **190**: Acrylsäurechlorid (1.1 eq.) oder Crotonsäureanhydrid (1.1 eq.) oder Zimtsäurechlorid (1.1 eq.), Triethylamin (1.5 eq.), DCM, RT, über Nacht, 39-84%, (b) für **191**: 2-Chlorsulfonylchlorid (1.1 eq.), Triethylamin (3.0 eq.), DCM, RT, 5h, 47%, (c) für **192**: Propiolsäure (1.1 eq.), DMAP (0.1 eq.), DCC (0.7 eq.), RT, über Nacht, 62%, (d) TFA, DCM, RT, 1 h, quantitativ.

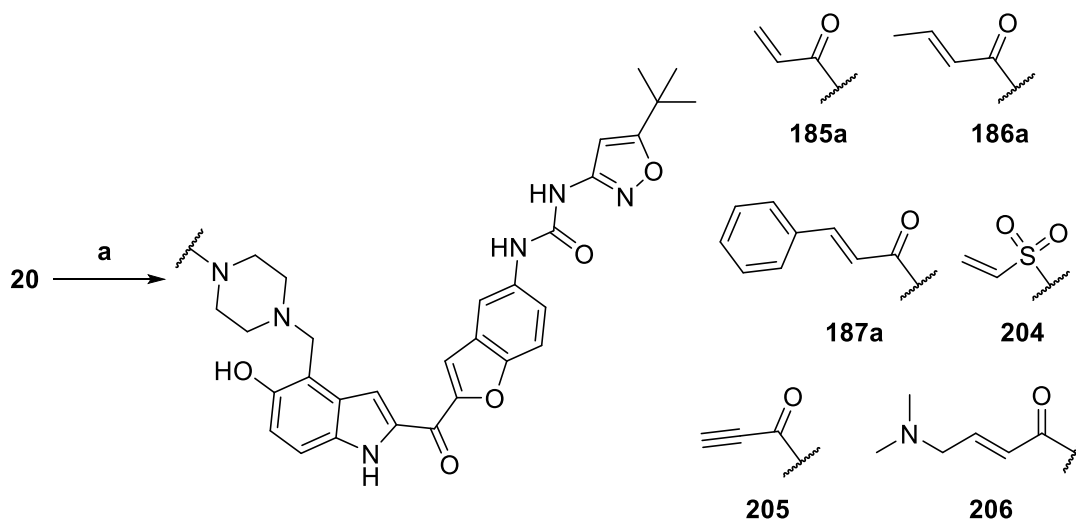
Weiterhin wurde ein Amid aus 4-(Dimethylamino)but-2-ensäure als in Tyrosinkinase-Inhibitoren (Neratinib **13**, Afatinib **14**)^{283; 284; 457; 458} bewährte Kopfgruppe verwendet, um einen weiteren aktiven potenziell irreversiblen Inhibitor zu erhalten. Dafür wurde ebenfalls zuerst das sekundäre

Amin **203** in einer fünf-stufigen Synthese ausgehend vom kommerziell erhältlichen Methylester der 4-Brombut-2-ensäure **198** hergestellt und anschließend mit Marbotinib **20** umgesetzt. Im ersten Reaktionsschritt wurde der Ester **198** verseift (**199**),⁴⁵⁹ um dann das Säurechlorid **200** zu bilden,⁴⁵⁹ das mit *N*-Boc-Piperazin **137** zum Amid **201** umgesetzt wurde.^{459; 460} In einer nukleophilen Substitutionsreaktion mit Dimethylamin wurde **202** erhalten⁴⁶¹ und zuletzt die Boc-Gruppe abgespalten (**203**, Schema 46).³⁴⁶



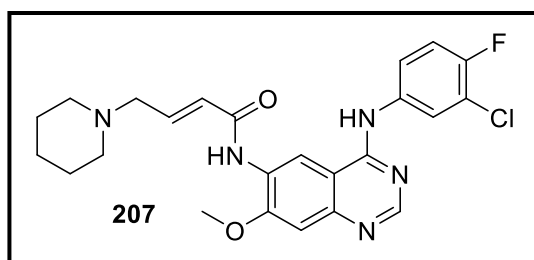
Schema 46: Synthese von **203**. Reaktionen und Bedingungen: (a) LiOH (1.6 eq.), THF/Wasser, 0 °C, 2 h, 72%, (b) Oxalylchlorid (2.0 eq.), DMF, RT, über Nacht, (c) *N*-Boc-Piperazin **137** (1.0 eq.), Na₂CO₃ (3.0 eq.), DCM, RT, 1 h, 24%, (d) Dimethylamin (2.5 eq.), THF, -78-40 °C, über Nacht, 59% (über 2 Schritte), (e) DCM, TFA, RT, 1 h, quantitativ.

Die synthetisierten Enon- oder Enon-ähnlichen Aminverbindungen **193-197** und **203** wurden dann mit Marbotinib **20** zu den gewünschten Produkten **185a-187a** und **204-206** umgesetzt. Zur Synthese wurde ausschließlich die Synthesevariante mit Essigsäure verwendet.⁴³²

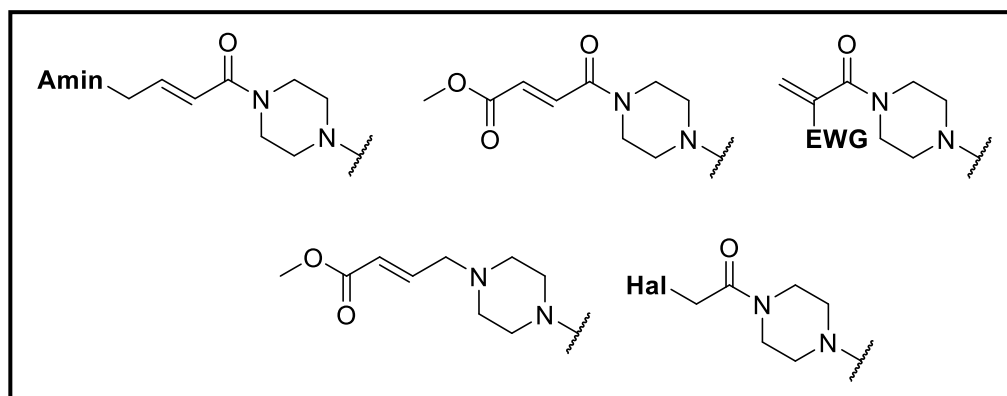


Schema 47: Synthese von **185a-187a** und **204-206**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Formaldehyd-Lösung (37% in Wasser, 1.5 eq.), Amin (1.5 eq.), Essigsäure, RT, über Nacht, 16-62%.

Die Stoffklasse irreversibler Inhibitoren bietet eine Vielzahl weiterer Möglichkeiten. Durch Verwendung derselben Strategie könnten weitere Piperazin- oder auch Aminopiperidin-Verbindungen synthetisiert werden. Einerseits können wie beim EGFR-Inhibitor Dacomitinib **207** analog zu **193** beliebige weitere Amine anstelle von Dimethylamin verwendet werden.^{462; 463}

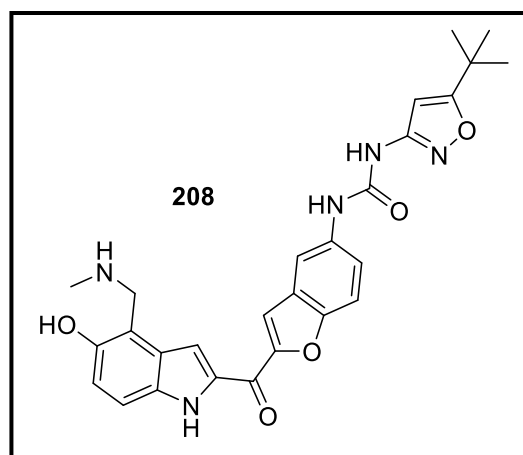


Andererseits könnten zur Verstärkung der Elektrophilie der Enon-Verbindungen elektronenziehende Gruppen (EWG, *engl.* electron withdrawing group) an einer der beiden Positionen der Doppelbindung eingefügt werden. Durch Verwendung von z.B. Methyl 4-(piperazin-1-yl)but-2-enoat können zwei protonierbare Amine erhalten und damit zusätzlich zur Enon-Struktur die Löslichkeit des Moleküls durch Bildung eines zweiwertigen Salzes erhöht werden. Halogene in α -Position zur Carbonylgruppe sind ebenfalls eine Möglichkeit zur Synthese irreversibler Wirkstoffe dar.

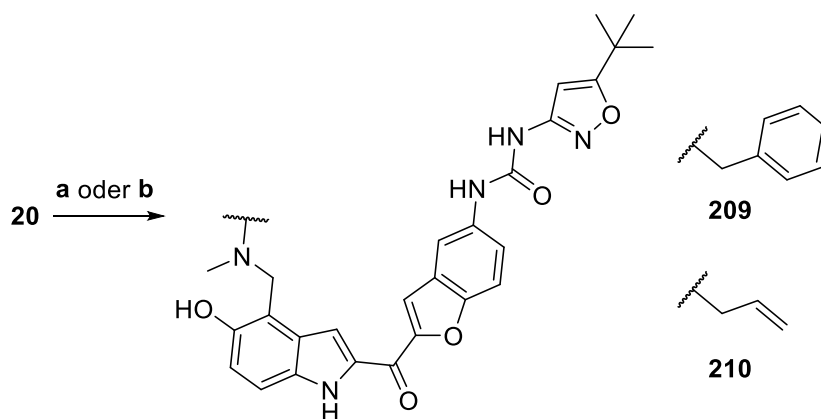


2.9.6. Kopfgruppe f und zusätzliche Versuche

In dieser Arbeit wurden weitere Moleküle nach bewährtem Schema synthetisiert, um alternative Stoffklassen zu erhalten. In erster Linie wurde das Ziel verfolgt, Molekül **208** herzustellen, um auch an dieser Position weitere Modifikationen vornehmen zu können, was sowohl zur Synthese einiger zusätzlicher potenziell-irreversibler Moleküle als auch zur Synthese von PROTACs als Ansatz genutzt werden könnte.



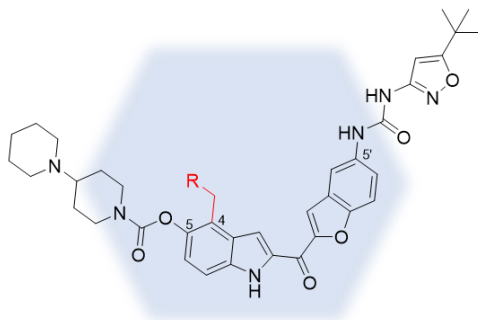
Daher wurden die beiden Moleküle **209** und **210**, wie beschrieben, in Essigsäure synthetisiert (Ausb.: **209**: 69%, **210**: 95%).⁴³² Die Reaktion zur Synthese von **209** wurde zusätzlich von Dr. Herwig Pongratz in EtOH (Ausb.: 81%)^{433; 434} durchgeführt. Allerdings konnte die Schutzgruppe anschließend bei beiden Molekülen nicht entfernt werden.^{464; 465}



Schema 48: Synthese von **209** und **210**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Formaldehyd-Lösung (37% in Wasser, 1.5 eq.), Amin (1.5 eq.), Essigsäure, RT, über Nacht, 69-95%, (b) Formaldehyd-Lösung (37% in Wasser, 2.2 eq.), Amin (2.4 eq.), EtOH, 60 °C, über Nacht, 81%.

Auch **209** wurde als eigene Stoffklasse angesehen, da verschiedene weitere Varianten aromatischer Systeme eingesetzt werden könnten und wurde ebenfalls biologisch evaluiert.

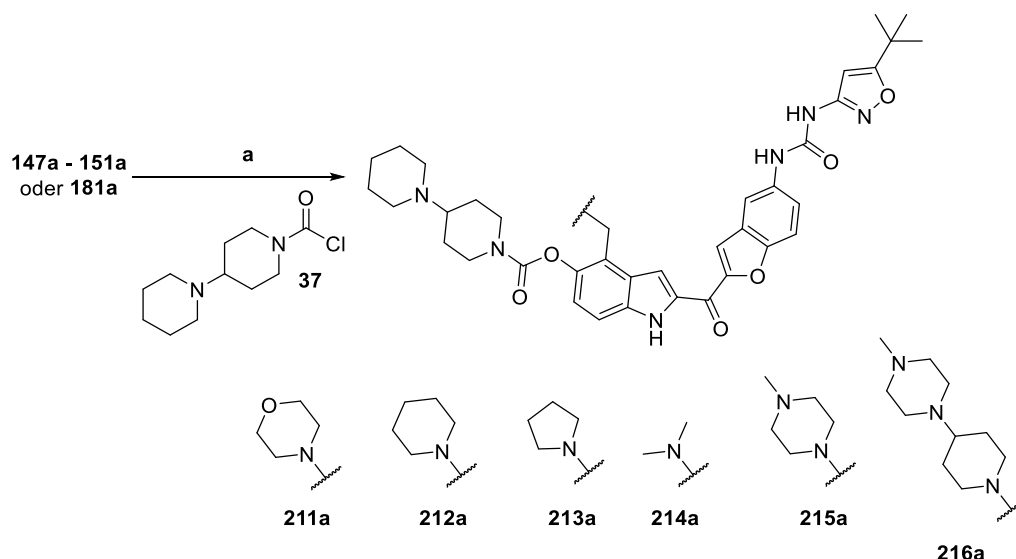
2.10. GRUNDSTRUKTUR VII



Bei **Grundstruktur VII** handelte es sich um Carbamate einiger Verbindungen der **Grundstruktur VI**. Die Verbindungen sollten mit einem Prodrug-Konzept in Moleküle überführt werden, deren Bioverfügbarkeit weiter erhöht ist.^{347–349} Wie schon von Marbotinib **20** bekannt, konnte durch die Überführung in ein Carbamat ein weiteres tertiäres Amin in der Molekülstruktur erhalten werden, das im Anschluss als ein beliebiges Salz isoliert werden könnte.³²⁴

2.10.1. Synthese der Carbamate

Die Carbamate wurden auf dieselbe Weise wie schon Marbotinib-Carbamat **21a** hergestellt. Durch Reaktion der Verbindungen **147a-151a** oder **181a** mit dem Säurechlorid **37** in DCM/Pyridin wurden die Verbindungen **211a-216a** erhalten (Schema 49).³²⁴ Um optimale Reinheit zu erreichen, wurden **211a-216a** durch präp. HPLC gereinigt und die TFA-Salze **211b-216b** erhalten.



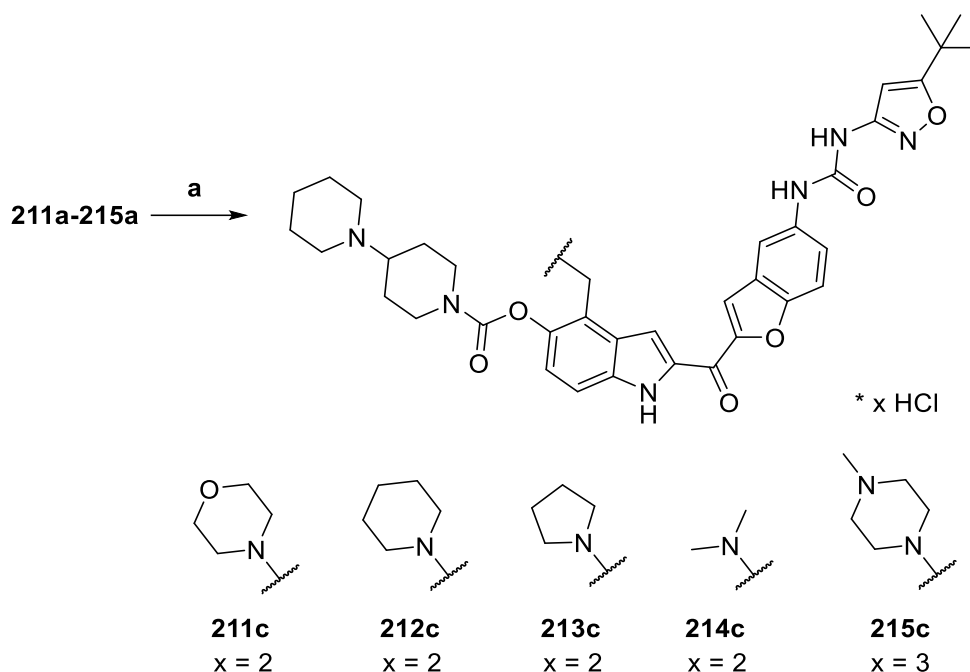
Schema 49: Synthese von **211a-216a**. Reaktionen und Bedingungen: (a) **37** (2.4 eq.), Pyridin/DCM, RT, über Nacht, 72–85%.

Alle sechs Carbamate **211a-216a** basieren auf den entspr. Alkoholen als Startmaterialien, die in biologischen Prüfungen beste Ergebnisse erzielen konnten, und alle konnten mit hohen

Ausbeuten isoliert werden. Die Synthese weiterer Carbamate wurde aufgrund der biologischen Testergebnisse der zugehörigen Alkohol-Verbindungen als nicht nötig erachtet.

2.10.2. Synthese der Hydrochloride

Aus allen synthetisierten Carbamaten **211a-215a** wurden anschließend nach bekanntem Schema die zugehörigen HCl-Salze **211c-215c** hergestellt.³²⁴



Schema 50: Synthese von **211c-215c**. Reaktionen und Bedingungen: (a) HCl (2 M in Diethylether oder 5-6 M in Isopropanol), MeOH/DCM, RT, 2 h, quantitativ. Der Protonierungsgrad der synthetisierten Salze ist ebenfalls angegeben.

Die Anzahl der Amine entspricht dem Protonierungsgrad der Moleküle und ist im Schema mit angegeben.

2.10.3. Kontrolle der Protonierung und Analyse des Protonierungsgrades

Wie bereits für die Verbindungen der **Stoffgruppe VI** beschrieben (s. Kapitel 2.9.1.8) wurden die synthetisierten Carbamate der **Stoffgruppe VII** ebenfalls hinsichtlich einer erfolgten Protonierung kontrolliert. Die Protonierung wurde durch den Vergleich der ¹H-NMR-Spektren von **214a**, **214b** und **214c** überprüft. Ähnlich wie bei der Analyse von **150a-c** wurden Tieffeldverschiebungen der Signale der aromatischen Protonen des Indolrings beobachtet. Die beiden Dubletts **1** (7.08 ppm) bzw. **2** (7.43 ppm, Abb. 34A) erfahren dabei nach Protonierung der Dimethylamino-Gruppe eine Verschiebung hin zu 7.27 und 7.64 ppm (Abb. 34B) bzw. zu 7.24 und 7.63 ppm (Abb. 34C). Dublett

3 (7.92 ppm, Abb. 34A) wird ebenfalls beeinflusst und befindet sich in den beiden protonierten Molekülen **214b** und **214c** bei 8.10 ppm (Abb. 34B) bzw. 8.14 ppm (Abb. 34C).

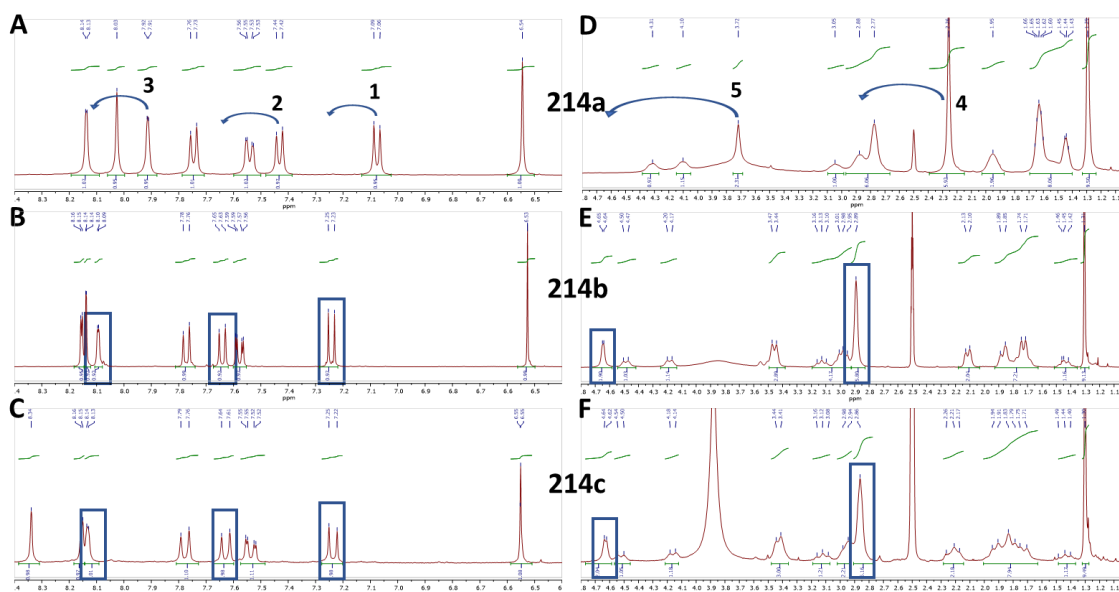


Abb. 34: Ausschnitte aus den ^1H -NMR-Spektren der Verbindungen **214a**, **214b** und **214c** in $\text{DMSO-}d_6$. Die entspr. Spektren sind aus Gründen der Vergleichbarkeit untereinander dargestellt. (A) Ausschnitt des Bereichs 8.4-6.4 ppm von **214a** bei 400 MHz. Die Verschiebung der relevanten Signale ist durch Pfeile gekennzeichnet. (B) Ausschnitt des Bereichs 8.4-6.4 ppm von **214b** bei 400 MHz. Die relevanten Signale sind durch blaue Rechtecke gekennzeichnet. (C) Ausschnitt des Bereichs 8.4-6.4 ppm von **214c** bei 300 MHz. Die relevanten Signale sind durch blaue Rechtecke gekennzeichnet. (D) Ausschnitt des Bereichs 4.8-1.0 ppm von **214a** bei 400 MHz. Die Verschiebung der relevanten Signale ist durch Pfeile gekennzeichnet. (E) Ausschnitt des Bereichs 4.8-1.0 ppm von **214b** bei 400 MHz. Die relevanten Signale sind durch blaue Rechtecke gekennzeichnet. (F) Ausschnitt des Bereichs 4.8-1.0 ppm von **214c** bei 300 MHz. Die relevanten Signale sind durch blaue Rechtecke gekennzeichnet.

Eine Tieffeldverschiebung einiger aliphatischer Signale ist beim Vergleich der Spektren ebenfalls zu sehen (Abb. 34D-E). Die Veränderung der chemischen Verschiebung von Singulett **4** der beiden CH_3 -Gruppen der Dimethylamin-Einheit und der CH_2 -Gruppe (Singulett **5**) ist in der Abbildung gezeigt. Weiterhin befinden sich die Signale einiger Protonen der Piperazin-Ringe des Carbamat-Rests nach Protonierung bei veränderten chemischen Verschiebungen.

Auch der Protonierungsgrad der Verbindungen der **Stoffklasse VII** wurde mit NMR-Spektroskopie analysiert, wie bereits in Kapitel 2.9.3.3 beschrieben. Beispielhaft wurde hierfür Verbindung **216b** verwendet, da bei dieser Verbindung eine vierfache Protonierung beobachtet werden sollte. Sowohl **216b** als auch 4-(Trifluormethyl)zimtsäure **54** wurden in $\text{DMSO-}d_6$ gelöst und ein ^1H - sowie ein ^{19}F -NMR-Spektrum aufgenommen. Das Integral des Dubletts eines Protons der Doppelbindung der Zimtsäure **54** bei 6.68 ppm wurde mit dem Integral des aromatischen Signals von **216b** bei 6.52 ppm verglichen. Auf diese Art wurde ein Stoffmengen-Verhältnis von 5.36 zu 1.00 zwischen **54** und **216b** in der Probe bestimmt. Während Molekül **54** die drei Fluor-Atome der CF_3 -Gruppe besitzt, sollte **216b** ein vierfaches TFA-Salz sein und daher 12 Fluor-Atome im Molekül vorhanden

sein. Entspr. sollte beim Vergleich der Integrale des ^{19}F -Spektrums ein Verhältnis von 1 zu 1.34 vorliegen, was genau nachgewiesen werden konnte (Abb. 35A und B).

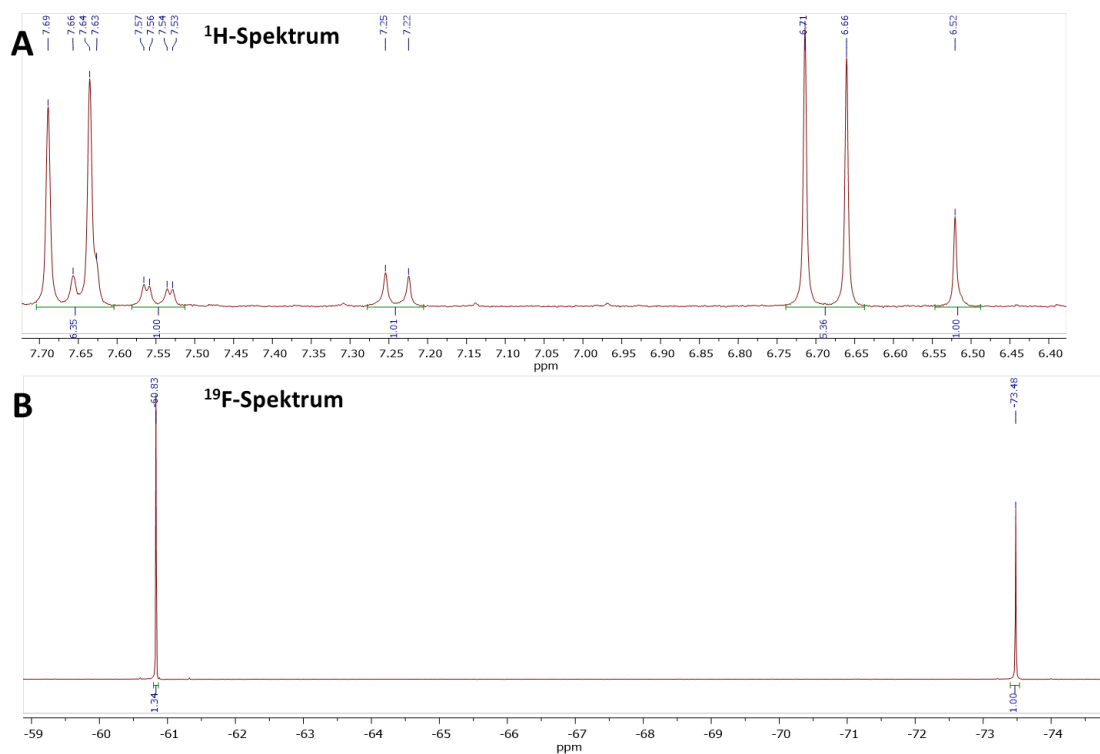
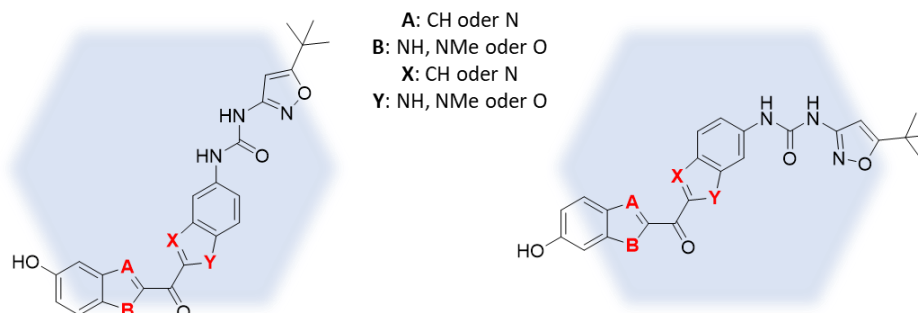


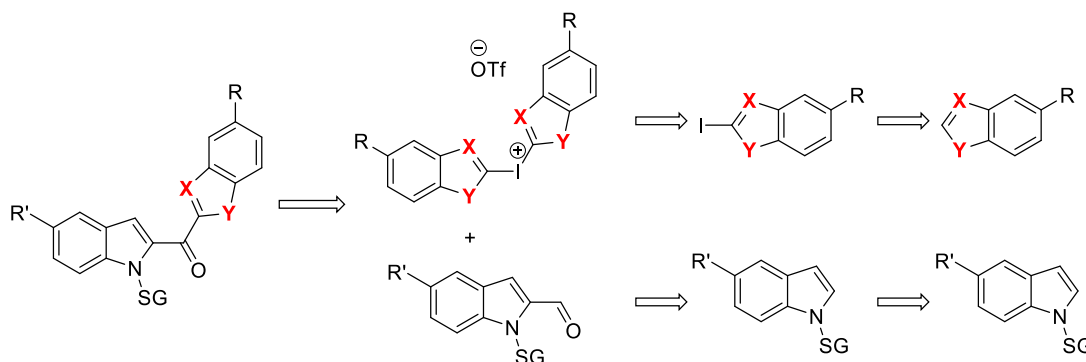
Abb. 35: ^1H -Spektrum (300 MHz) und ^{19}F -Spektrum (377 MHz) eines Gemisches aus 4-(Trifluormethyl)zimtsäure **54** und **216b** in DMSO-d_6 .

2.11. GRUNDSTRUKTUR VIII



Neben den bisherigen Grundstrukturen sollte eine weitere Klasse von Molekülen synthetisiert werden, die im Rahmen dieser Arbeit mit der sehr allgemeinen **Grundstruktur VIII** dargestellt ist. Ausgehend von diesen Strukturen, wäre eine extrem breite Palette an Produkten möglich. Dazu wurden verschiedene Herangehensweisen ausgewählt und retrosynthetisch analysiert. Teile der einzelnen retrosynthetischen Ansätze sind im Folgenden aufgelistet.

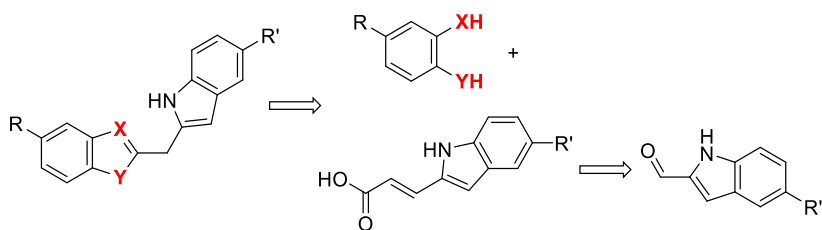
Dabei sollten erste Versuche mit Iodonium-Salzen gemacht werden. Diese können nach Iodierung des Heterozyklus und anschließender Reaktion mit einem weiteren nicht-iodierten Heterozyklus gebildet werden. Das daraus entstehende Iodonium-Salz könnte anschließend mit einem Aldehyd gekoppelt werden. Keiner der durchgeführten Versuche führte allerdings zu einer erfolgreichen Verbindung der Heterozyklen (Schema 51).^{466–470}



Schema 51: Retrosynthetischer Ansatz zur Synthese von heterozyklischen Systemen mit zwei Heteroatomen basierend auf der Reaktion eines entspr. Aldehyds mit einem Iodonium-Salz.

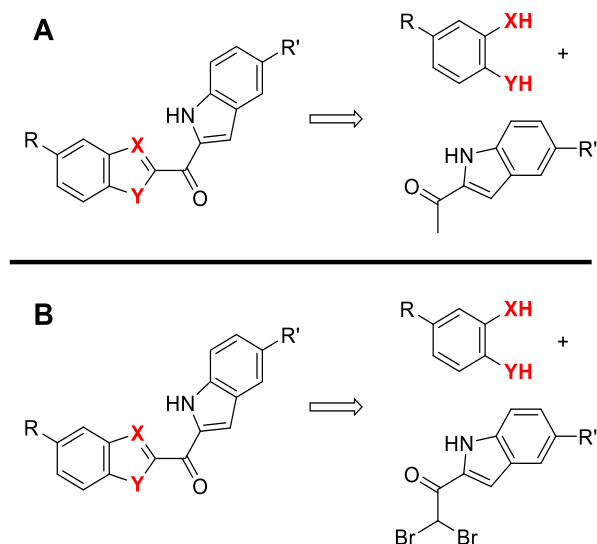
Eine weitere Idee zur Synthese der gewünschten Produkte ist ein Ansatz, basierend auf 3-(1H-indol-2-yl)acrylsäure und mehrfach substituierten Phenol- oder Anilin-Verbindungen. Testweise wurde eine Reaktion mit Zimtsäure durchgeführt, die allerdings erfolglos war (Schema 52).⁴⁷¹

Chemischer Teil



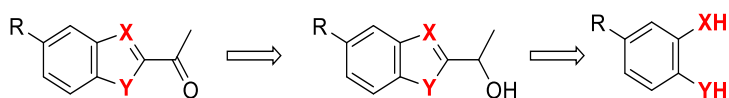
Schema 52: Retrosynthetischer Ansatz zur Synthese von heterozyklischen Systemen mit zwei Heteroatomen basierend auf der Reaktion einer entspr. Acrylsäure.

Zwei weitere Ansätze beruhen darauf, die gewünschte mehrfach-substituierte Phenol- bzw. Anilin-Verbindung mit 1-(1*H*-Indol-2-yl)ethan-1-on (Schema 53A)⁴⁷² oder mit einer zweifach α -bromierten Ketonverbindung zu koppeln (Schema 53B).⁴⁷³ Eine zweifach bromierte Verbindung tritt, wie beschrieben, als Nebenprodukt der Marbotinib-Synthese auf, könnte aber wahrscheinlich auch direkt aus dem monobromierten Molekül synthetisiert werden.⁴⁷⁴ Allerdings führten auch diese beiden Ansätze nicht zu den gewünschten Produkten.



Schema 53: Retrosynthetischer Ansatz zur Synthese von heterozyklischen Systemen mit zwei Heteroatomen basierend auf (A) der Reaktion eines entspr. Ketons oder (B) eines zweifach α -bromierten Ketons.

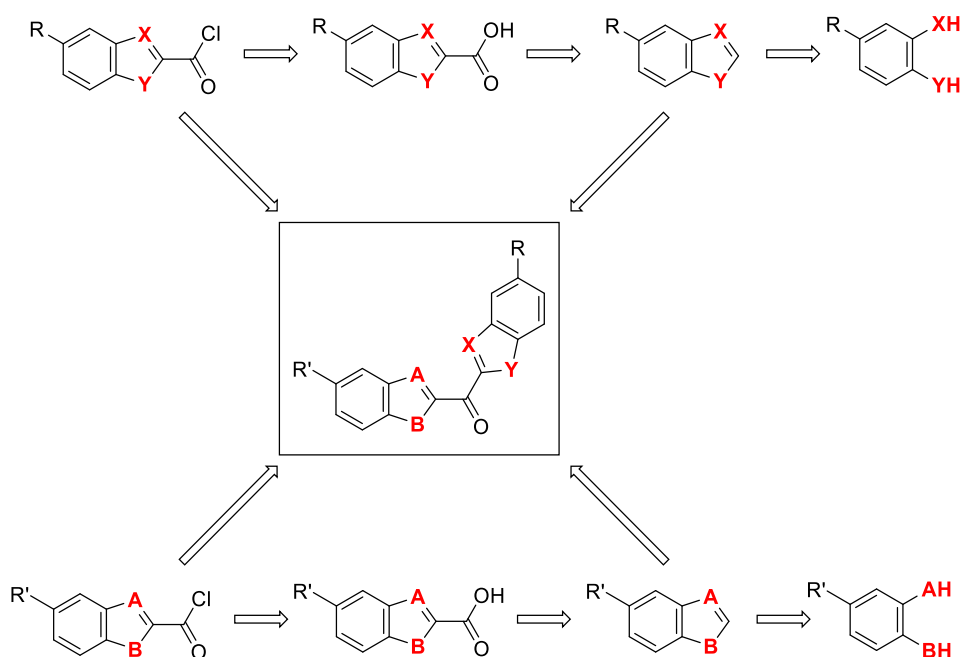
Ein vielversprechender Ansatz, der allerdings nur einen gewissen Bereich der gewünschten Stoffklasse zugänglich macht, beruht auf einer ähnlichen Idee wie die Reaktionssequenz, die bei der Marbotinib-Synthese zum gewünschten Produkt führt (vgl. Kapitel 2.3.1). Durch Reaktion des Startmaterials mit Milchsäure sollte ein sekundärer Alkohol synthetisiert werden, der durch anschließende Oxidation in ein Keton überführt werden konnte (Schema 54).^{475–477}



Schema 54: Retrosynthetischer Ansatz zur Synthese von heterozyklischen Systemen mit zwei Heteroatomen über einen Alkohol mit anschließender Oxidationsreaktion.

Nach der Bildung eines Ketons sollte dieses in α -Position bromiert werden, um anschließend analog zur Marbotinib-Synthese durch eine Ringschluss-Reaktion den Benzofuran-Ring zu erhalten. Während die ersten Stufen dieser Reaktionssequenz synthetisiert wurden, konnten weitere Schritte im Rahmen dieser Arbeit nicht mehr durchgeführt werden (vergl. Schema 60).

Daneben wurde an einer allgemeineren Strategie zur Synthese von Molekülen mit der **Grundstruktur VIII** gearbeitet. Dazu konnten einige Versuche und Teilsynthesen durchgeführt werden, allerdings wurden weitere Syntheseschritte nicht mehr im Rahmen dieser Arbeit behandelt. Die allgemeine Syntheseroute wurde ebenfalls retrosynthetisch analysiert (Schema 55).

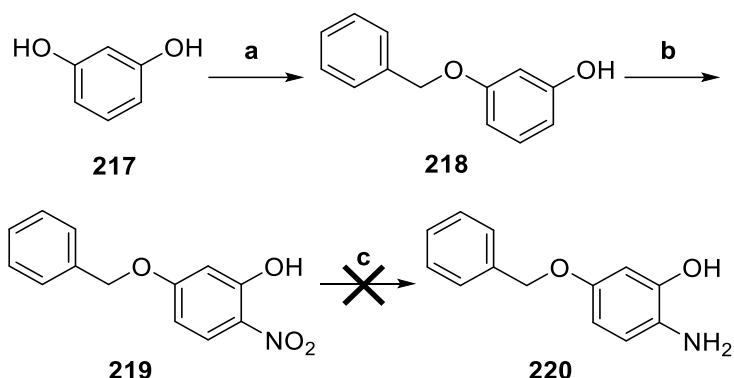


Schema 55: Allgemeine retrosynthetische Strategie zur Synthese von heterozyklischen Systemen mit zwei Heteroatomen.

Im Folgenden sind einige in dieser Arbeit durchgeführten Versuche gezeigt (Schema 56 - Schema 60). In erster Linie ging es dabei darum, aromatische Systeme mit dem gewünschten Substitutionsmuster einzelner Amino- oder Hydroxygruppen zu synthetisieren und die nötigen Schutzgruppen zu verwenden.

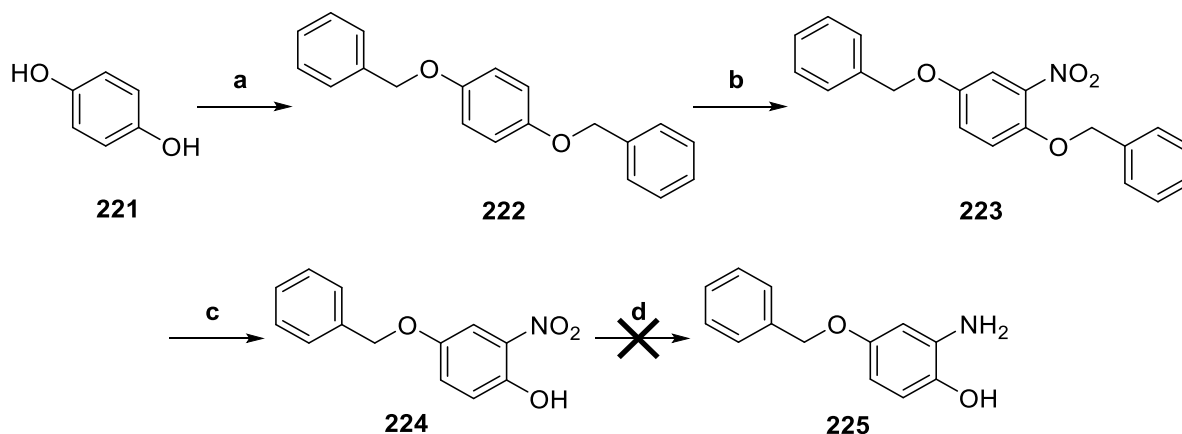
Zur Synthese von **220** wurde Resorcin **217** als Startmaterial verwendet, einfach Benzyl-geschützt (**218**)⁴⁷⁸ und anschließend am Aromaten nitriert, um **219** zu erhalten.^{402; 403; 408} Die Reduktion der

Nitrogruppe zu **220** erwies sich als in dieser Form nicht zielführend,⁴⁷⁹ könnte aber zukünftig nach alternativer Literatur mit $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ erneut versucht werden (Schema 56).⁴⁸⁰



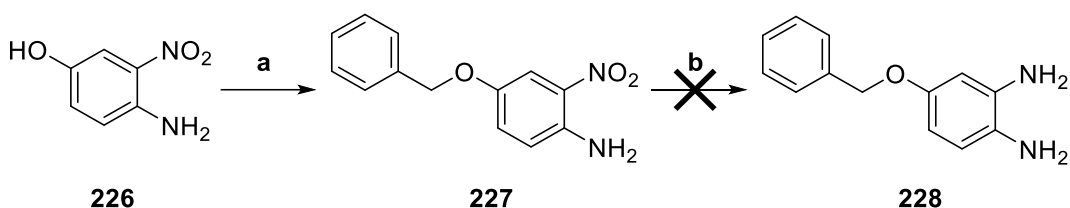
Schema 56: Synthese von **219** und Versuch zur Synthese von **220**. Reaktionen und Bedingungen: (a) K_2CO_3 (1.0 eq.), Benzylbromid (1.0 eq.), Aceton, Reflux, über Nacht, (b) HNO_3 (1.5 eq.), Essigsäure, RT, über Nacht, 19% (über 2 Stufen), (c) Zink (20 eq.), Essigsäure, RT, 1 h.

Zur Synthese von Verbindung **225** wurde Hydrochinon **221** als Startmaterial verwendet und beide phenolischen Hydroxygruppen mit einer Benzylgruppe geschützt (**222**).⁴⁸¹ Nach anschließender aromatischer Nitrierung (**223**)^{402; 403; 408; 481} wurde eine Schutzgruppe entfernt und Verbindung **224** erhalten.⁴⁸¹ Eine Reduktion der Nitrogruppe zum Amin (**225**) konnte mit den bekannten Bedingungen nicht erreicht werden, könnte aber eventuell auf alternativem Weg nach entspr. Literatur erreicht werden (Schema 57).⁴⁸⁰



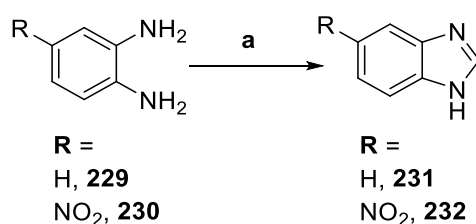
Schema 57: Synthese von **224** und Versuch zur Synthese von **225**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Benzylbromid (2.2 eq.), KOH (2.4 eq.), EtOH, RT, 4 h, 58%, (b) HNO_3 (1.5 eq.), Essigsäure, RT, über Nacht, 81%, (c) TFA/DCM (1:3), RT, 1 h, 39%, (d) Zink (20 eq.), Essigsäure, RT, 1 h.

Zur Synthese von **228** wurde die phenolische Hydroxygruppe der Verbindung **226** durch eine Benzylgruppe (**227**) geschützt,⁴⁸² anschließend konnte allerdings die Nitrogruppe erneut nicht zum Amin reduziert werden (Schema 58).^{483; 484}



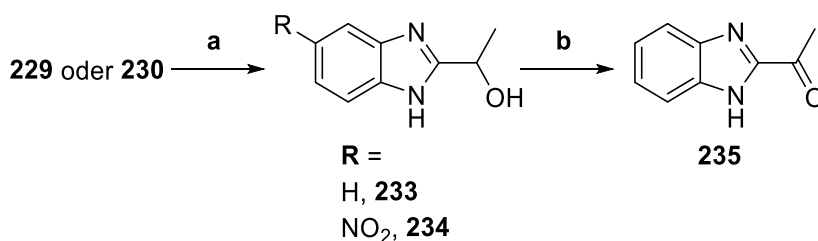
Schema 58: Synthese von **227** und Versuch zur Synthese von **228**. Reaktionen und Bedingungen: (a) KO^tBu (1.1 eq.), Benzylbromid (1.1 eq.), DMF, 0 °C, 2 h, 94%, (b) SnCl₂·4 H₂O (4.0 eq.), HCl (5 M in Wasser, 5.0 eq.), EtOH, 0-50 °C, 3 h.

Die ortho-Diamine **229** und **230** wurden in einer Ringschluss-Reaktion mit Orthoameisensäuretrimethylester umgesetzt, um die Benzimidazole **231** und **232** zu erhalten (Schema 59).^{485; 486}



Schema 59: Synthese von **231** und **232**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Trimethylorthoformiat, 120 °C, über Nacht, 42-65%.

Daneben wurden bereits beschriebene Versuche zur direkten Bildung einer Carbonylgruppe am Benzimidazol-Ring durchgeführt. Dazu wurden die ortho-Diamine **229** bzw. **230** verwendet und mit Milchsäure ein Ring gebildet (**233** bzw. **234**). Der sekundäre Alkohol **233** wurde in einem weiteren Schritt mit Kaliumdichromat zum Keton oxidiert **235** (Schema 60).⁴⁷⁵⁻⁴⁷⁷

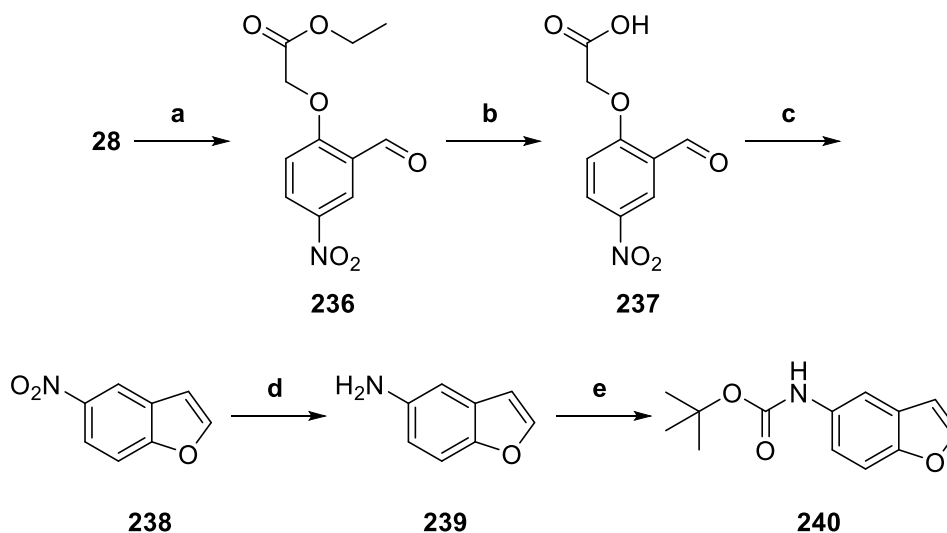


Schema 60: Synthese von **234** und **235**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Milchsäure (1.2 eq.), HCl (4 M in Wasser), Reflux, über Nacht, 53-84%, (b) K₂Cr₂O₇ (1.5 eq.), H₂SO₄, RT, 1 h, 64%.

Wie schon beschrieben, könnte bei dieser Reaktionssequenz weiter vorgegangen werden wie bei der Synthese von Marbotinib **20** und nach Bromierung des Ketons **235** in α-Position der Benzofuran-Ring direkt aus einem entspr. Salicylaldehyd aufgebaut werden (s. Kapitel 2.3.1).

Als allgemeines „Gegenstück“ für Verbindungen mit zwei Heteroatomen sollte Nitrobenzofuran **240** synthetisiert werden. Daher wurde eine dreistufige Synthese durchgeführt, um das gewünschte Produkt **240** zu isolieren. Die Synthese wurde analog zur Synthese von **120** bzw. **121** durchgeführt, allerdings der entspr. Aldehyd **28** statt des Ketons **100** verwendet. Alkylierung

(**236**)^{404; 408} und anschließende Verseifung führte zu Verbindung **237**.⁴⁰⁵ Die Verseifungsreaktion gelang ausschließlich mit K_2CO_3 mit guter Ausbeute,⁴⁰⁵ während die LiOH als Base zu einer Produktmischung führte.⁴⁸⁷ Der Ringschluss zu **238** wurde mit NaOAc und AcOAc durchgeführt (Schema 61).⁴⁸⁷



Schema 61: Synthese von **240**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Ethylbromoacetat (1.4 eq.), K_2CO_3 (4.0 eq.), Aceton, Reflux, 1 h, 83%, (b) K_2CO_3 (1.5 eq.), Wasser, Reflux, 1 h, 50%, (c) NaOAc (6.0 eq.), AcOAc, Reflux, über Nacht, 33%, (d) Zn (7.0 eq.), $CuSO_4$, HCl (3 M in Wasser), THF/MeOH (2:1), RT, 1 h, (e) Boc_2O (1.2 eq.), DMAP (0.2 eq.), THF, RT, über Nacht, 21% (über 2 Stufen).

Die Nitrogruppe wurde reduziert^{488–490} und das entstandene Amin **239** ohne Reinigung im nächsten Schritt mit einer Boc-Gruppe geschützt (**240**):³²⁴ Da im Rahmen dieser Arbeit keine geeigneten Carbonsäure-Derivate von Benzimidazol- oder Benzoxazol-Verbindungen synthetisiert werden konnten, waren Kopplungsversuche nicht möglich. Da die Ausbeute der Ringschluss-Reaktion **c** auch in dieser Reaktionssequenz mit relativ geringen Ausbeuten verbunden war, könnte eine alternative Sequenz versucht werden, die schon in Kapitel 2.8.3.1 beschrieben ist und darauf basiert, den Ringschluss direkt ausgehend von **236** durchzuführen. Der Benzofuran-2-carbonsäureester wird verseift und anschließend gezielt eine Decarboxylierung durchgeführt.^{414;}

415

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass zur Synthese dieser Grundstruktur noch einige weitere Versuche durchgeführt werden müssen. Vielversprechend für weitere Syntheseschritte wäre einerseits eine Bromierung von **235** oder ähnlichen Derivaten und weiterem Vorgehen analog zur Marbotinib-Synthese (vgl. Kapitel 2.3.1). Eine Kopplung von Carbonsäuren wie z.B. **94**, **126** oder **131** mit Verbindungen wie **231** oder **232** könnte darüber hinaus noch ausführlicher versucht werden (s. Schema 55).

2.12. PROTACs

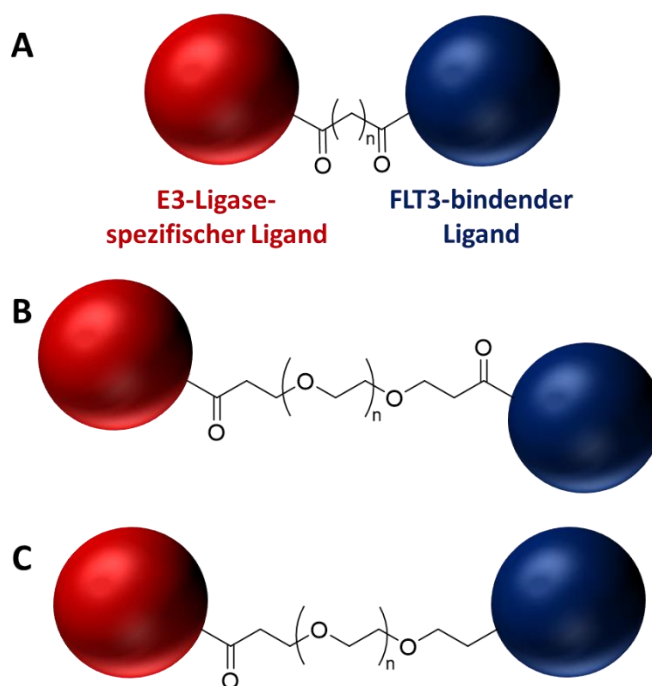
Im folgenden Kapitel zum Thema PROTACs sollten einige Verbindungen einer breiten Variation an Möglichkeiten synthetisiert werden. Dadurch sollte ein gewisser Bereich an Strukturen abgedeckt werden. Es wurden im Folgenden einige Bausteine für PROTACs synthetisiert, allerdings letztlich bei weitem nicht alle Kombinationsmöglichkeiten verwendet.

2.12.1. Allgemeine Strukturübersicht

Wie in der Einleitung (Kapitel 1) beschrieben, kann die chemische Struktur der Wirkstoffklasse der PROTACs grundsätzlich in drei verschiedene Elemente gegliedert werden. Als erster Baustein fungiert ein Ligand, der eine hohe Affinität zum entspr. Zielprotein (POI) aufweist. Der „Mittelteil“ besteht aus einem Linker, der den ersten Liganden mit dem dritten Abschnitt, einem E3-Ligase-spezifischen Liganden verbindet.

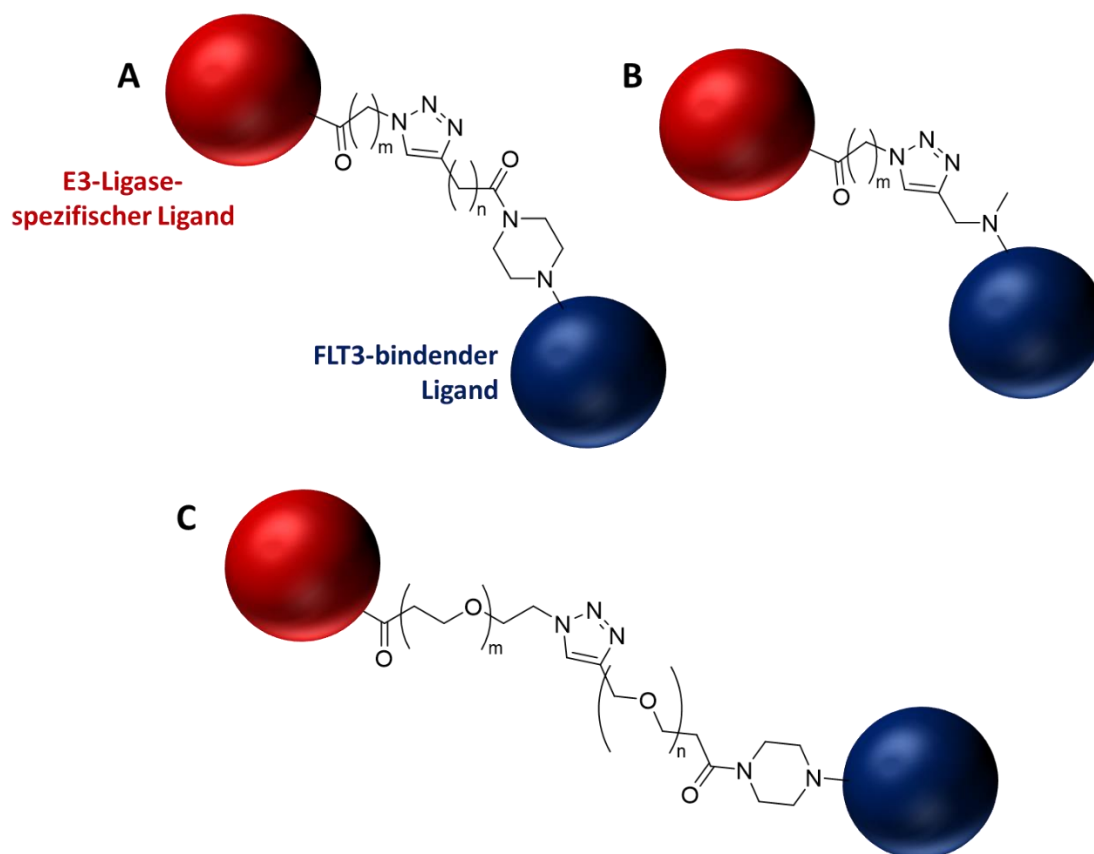
2.12.2. Linker und Vorversuche

Zur Kombination der beiden Bausteine sollten verschiedene Arten von Linkern verwendet werden. In ersten Versuchen wurden verschiedene PEG-Linker synthetisiert. Die Verknüpfung der Linker mit dem Zielprotein-bindenden Liganden sollte entweder über ein Amid oder über ein Amin vorgenommen werden. Die Verbindung des Linkers mit dem E3-Ligase-spezifischen Liganden sollte ausschließlich über ein Amid erfolgen (Schema 62).



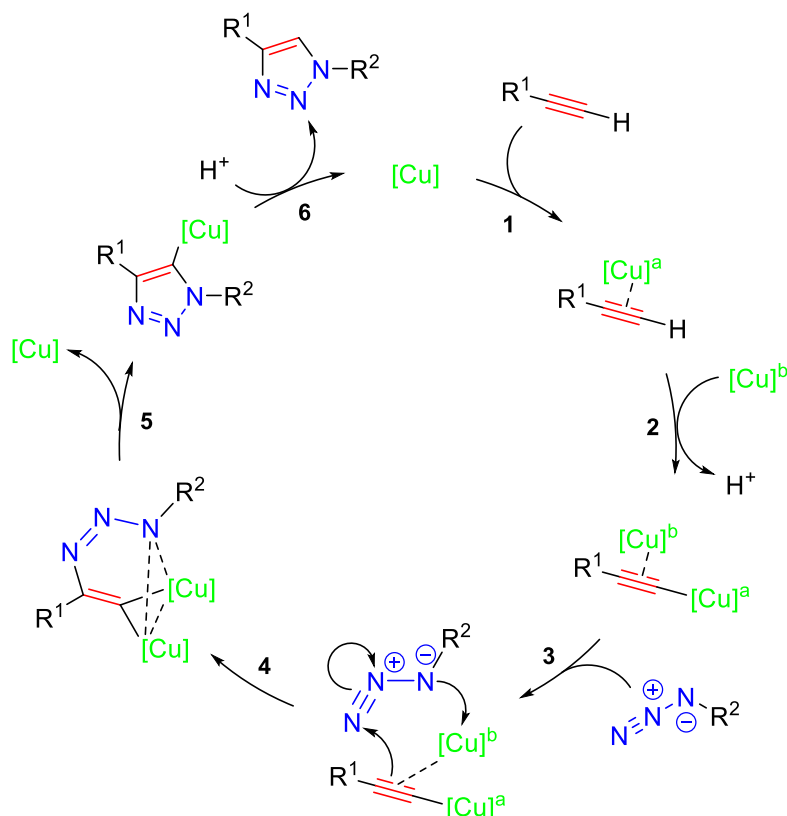
Schema 62: Überblick über PROTAC-Zielstrukturen bei Verwendung eines Alkyl-Linkers (A) oder verschieden verknüpfter PEG-Linker (B, C).

Aus synthetischer Sicht als praktisch erwiesen sich weiterhin 1,2,3-Triazol-Ringe innerhalb des Linkers, die durch eine Azid-Alkin-Cycloaddition synthetisierbar sind. Dazu sollten die E3-Ligase-Bausteine über die primäre Aminogruppe mit verschiedenen langkettigen Carbonsäuren zu Amiden umgesetzt werden, wobei Kohlenstoff- oder PEG-Ketten mit einem endständigen Azid versehen sein sollten. Als „Gegenstück“ können Kohlenstoff- oder PEG-Ketten mit endständigen Alkinen, die entweder als Amid oder als Amin an die FLT3-Inhibitoren gebunden waren, verwendet werden. Eine Synthese entspr. Zielmoleküle wäre auch in entgegengesetzter Form möglich, sodass sich das endständige Alkin am Baustein des FLT3-Inhibitors befindet und das Azid entspr. am E3-Ligase-spezifischen Baustein (Schema 63).



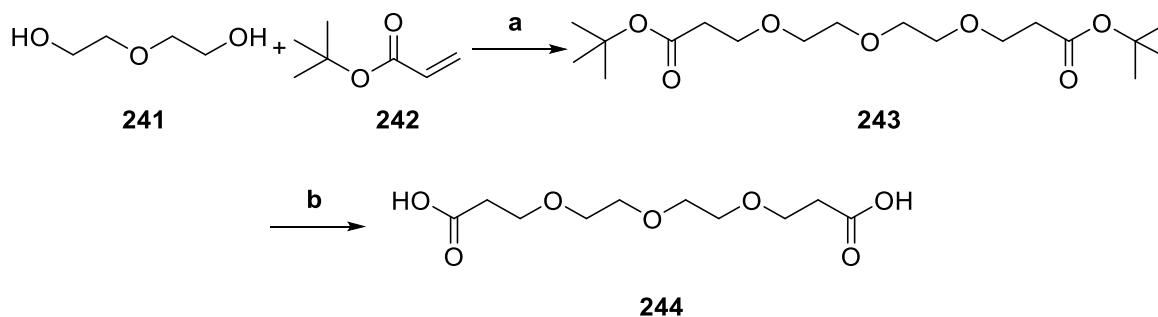
Schema 63: Überblick über PROTAC-Zielstrukturen unter Verwendung eines Triazol-Rings mit Alkyllinker verknüpft mit dem FLT3-Inhibitor über ein Amid (A) oder über ein Amin (B). Die Verwendung von PEG-Linkern verknüpft über ein Amid wäre ebenfalls möglich (C).

Je nach Länge der beiden Kohlenstoff- oder PEG-Ketten kann die Länge des Linkers des PROTACs variiert werden. Alkin- und Azid-Baustein können im Anschluss mit Hilfe einer 1,3-dipolaren Cycloaddition beliebig zum 1,2,3-Triazol kombiniert werden. Diese auf der Huisgen-Reaktion^{491–493} basierende Kupfer(I)-katalysierte Azid-Alkin-Cycloaddition (CuAAC) ist ein grundlegendes Beispiel der Click-Chemie dar und wurde sowohl von Folkin und Sharpless, als auch von Meldal unabhängig entdeckt.^{494; 495} Während erste vorgeschlagene Mechanismen von einem am Katalyse-Zyklus beteiligten Kupfer-Atom ausgingen, gilt mittlerweile ein Mechanismus, basierend auf zwei Kupferatomen, als sehr wahrscheinlich (Schema 64).^{494; 496–503}



Schema 64: Überblick über den möglichen Katalysezyklus einer Triazol-Bildung durch eine Click-Reaktion.⁴⁹⁶

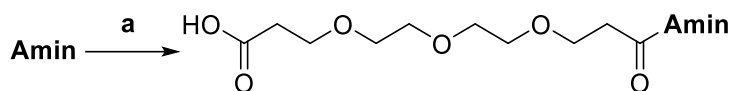
Die erste Überlegung zur Gestaltung von PEG-Linkern ist in Schema 62B gezeigt und sollte auf einer Dicarbonsäure basieren. Diethylenglykol **241** wurde als Startmaterial verwendet und durch Reaktion mit *tert*-Butylacrylat **242** Verbindung **243** erhalten.⁵⁰⁴ Die Verwendung von Ameisensäure stellte eine geeignete Methode zur Synthese der gewünschten Dicarbonsäure **244** dar, während sich durch die Verwendung von TFA größere Schwierigkeiten bei der Isolation des Produkts ergaben (Schema 65).⁵⁰⁴ Es bietet sich natürlich die Möglichkeit einer Variation der Länge der PEG-Linker durch Verwendung von Edukten mit alternativen Polymerisierungsgraden.



Schema 65: Synthese von **244**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Natrium (0.02 eq.), **242** (2.6 eq.), THF, RT, 2 h, 47%, (b) Ameisensäure, RT, über Nacht, quantitativ.

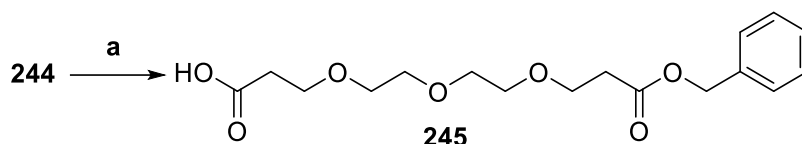
Durch die Reaktion von **244** mit dem Säurechlorid eines der Amine **16-19** entstanden zwar die gewünschten Produkte, konnten allerdings nach aufwändiger Aufarbeitung und Reinigung mit

präp. HPLC nur in sehr kleinen Ausbeuten isoliert werden. Dieser Schritt wird daher nur allgemein dargestellt (Schema 66) und wird nicht weiter behandelt.⁵⁰⁵



Schema 66: Versuch zur Synthese einiger Amide. Reaktionen und Bedingungen: (a) Säurechlorid (3.0 eq.), Triethylamin (1.1 eq.), THF/MeCN, RT, über Nacht.

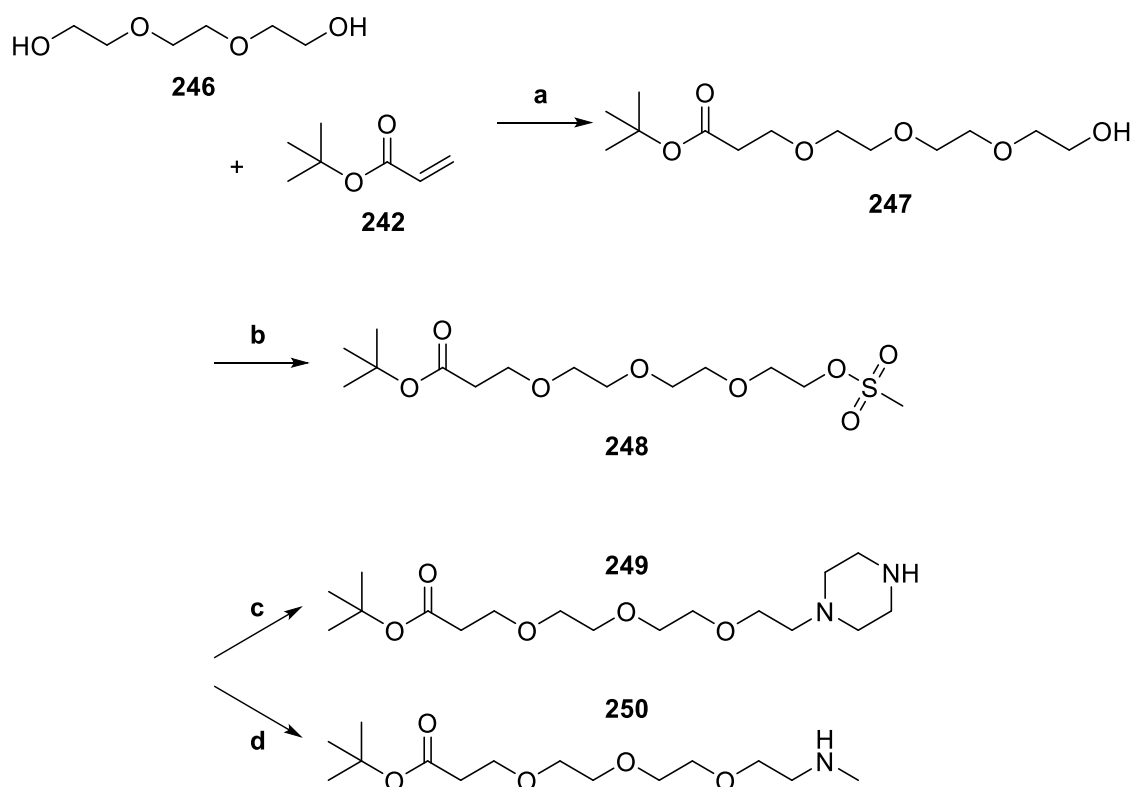
Als geeigneter wurde ein zweiter Vorschlag erachtet, der mit einer einseitigen Veresterung der Dicarbonsäure startet (**245**), um die anschließende Amid-Bildung zu erleichtern (Schema 67). Auch dabei konnte nur eine kleine Ausbeute erreicht werden. Allerdings wurde diese Idee trotzdem als deutlich vielversprechender angesehen.⁵⁰⁶



Schema 67: Synthese von **245**. Reaktionen und Bedingungen: (a) DBU (1.0 eq.), Benzylbromid (1.0 eq.), 0 °C-RT, über Nacht, 22%.

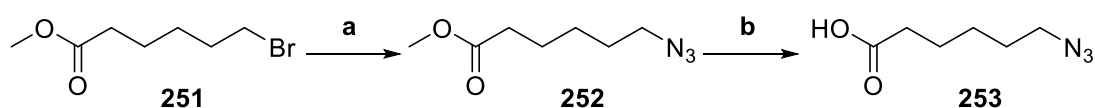
Eine weitere Idee sind PEG-Linker, die über ein Amid mit dem E3-Ligase-spezifischen Liganden verbunden werden, während der FLT3-Baustein über ein Amin mit dem Linker verknüpft wird. Dazu sollten die Verbindungen verwendet werden, die sich im Laufe der Arbeit als besonders vielversprechende Inhibitoren der Tyrosinkinase herausgestellt hatten.

Im ersten Syntheseschritt wurde Triethylenglykol **246** mit *tert*-Butylacrylat **242** umgesetzt, dabei allerdings eine deutlich veränderte Anzahl an Äquivalenten verwendet wurde, um eine Reaktion nur auf einer Seite des Diols stattfinden zu lassen (**247**).⁵⁰⁷⁻⁵¹¹ In einem nächsten Schritt wurde Methansulfonsäurechlorid verwendet, um eine Abgangsgruppe zu generieren (**248**),^{509; 512-514} die im Anschluss von Piperazin bzw. Methylamin in einer nukleophilen Substitutionsreaktion abgespalten werden konnte, sodass die beiden gewünschten Produkte **249**⁵¹¹ und **250**⁵¹⁵ isoliert wurden (Schema 68).



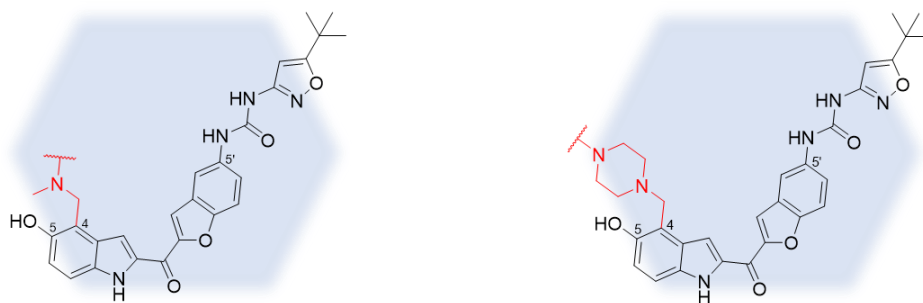
Schema 68: Synthese von **249** und **250**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Natrium (0.03 eq.), **242** (0.3 eq.), THF, RT, über Nacht, 59%, (b) Methansulfonsäurechlorid (1.2 eq.), Triethylamin (2.0 eq.), DCM, RT, über Nacht, 59%, (c) Methylamin (20 eq.), THF, 50 °C, über Nacht, 54%, (d) Piperazin **136** (10 eq.), THF, 50 °C, über Nacht, 86%.

Zuletzt wurde in Vorbereitung auf die beschriebenen Click-Reaktionen ein Baustein für einen Alkyllinker mit endständigem Azid synthetisiert. Die Synthese wurde mit dem Methylester der 6-Bromohexansäure **251** gestartet, das Azid **252** gebildet^{516–518} und der Ester im Anschluss zur Carbonsäure **253** verseift (Schema 69).^{519; 520}



Schema 69: Synthese von **253**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Natriumazid (3.0 eq.), DMF, 80 °C, über Nacht, 93%, (b) LiOH (3.0 eq.), MeOH, RT, 4 h, 98%.

2.12.3. Zielprotein-bindender Ligand

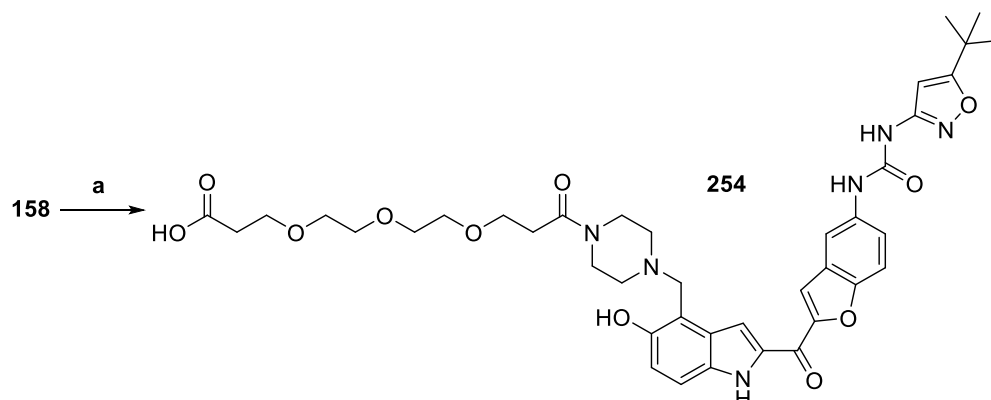


2.12.3.1. Liganden

Basierend auf den im Rahmen dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse bezüglich der biologischen Wirksamkeit der synthetisierten FLT3-Inhibitoren, die in Kapitel 3 („Pharmakologischer Teil“) vorgestellt werden, wurden zwei verschiedene Grundstrukturen ausgewählt, die als Zielprotein-bindende Liganden verwendet werden sollten. Dabei sollte einerseits die Verknüpfung mit dem Linker über das vielversprechende C-4 des Indolrings stattfinden, da sich Substituenten an dieser Position sogar als vorteilhaft für die Wirksamkeit der FLT3-Inhibitoren herausgestellt hatten. Andererseits sollte die Kopplung an dieser Stelle zusätzlich über die bewährten sekundären Amine erreicht werden, wobei der Fokus hierbei auf alkylierten Methylamin-Resten und den *N*-substituierten Piperazin-Ringen liegen sollte.

2.12.3.2. Bausteine

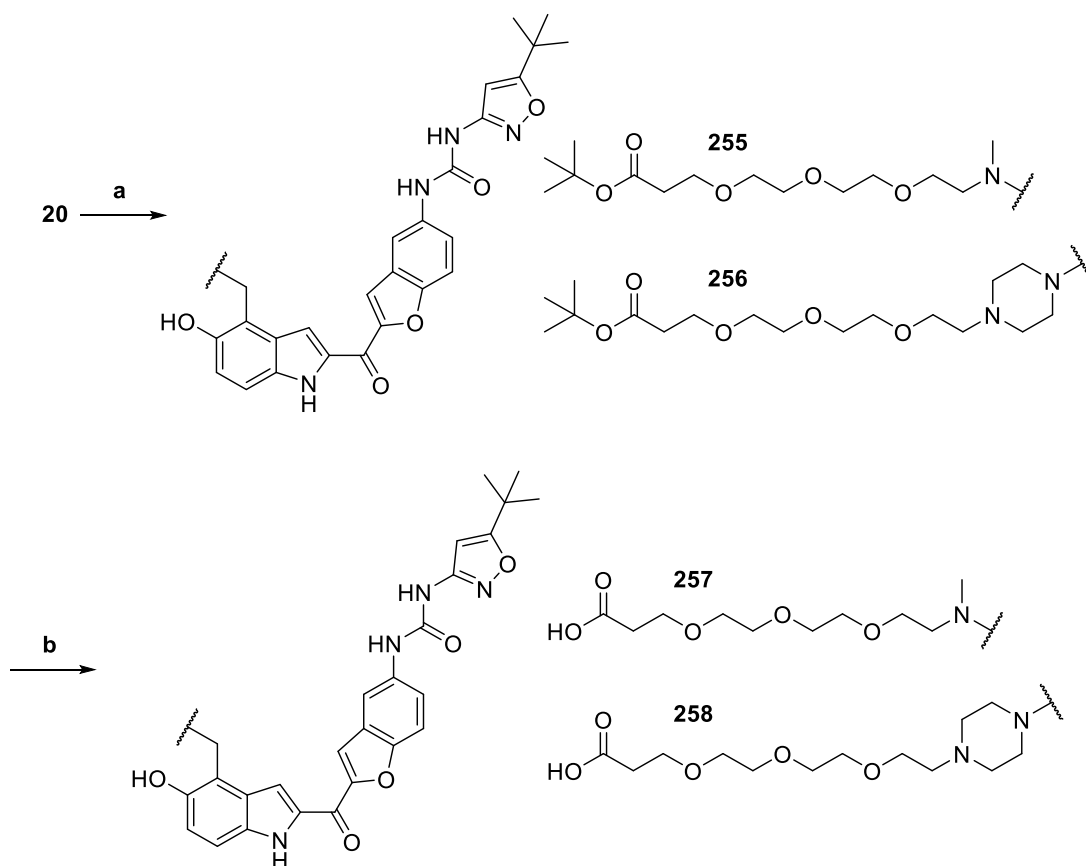
Zur Synthese von PROTACs mit der allgemeinen Struktur, die in Schema 62B gezeigt ist, wurde **158** als Startmaterial verwendet und mit **244** mit BOP und Triethylamin zu **254** umgesetzt (Schema 70).⁵²¹



Schema 70: Synthese von **254**. Reaktionen und Bedingungen: (a) **244** (3.0 eq.), BOP (1.1 eq.), Triethylamin (3.0 eq.), DMF, 50 °C, über Nacht, 25%.

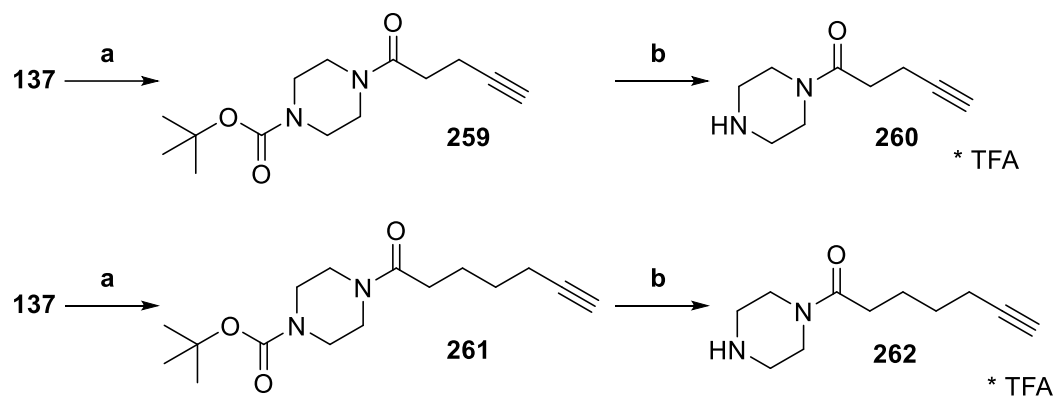
Weiterhin wurden Versuche zur Synthese von Verbindungen, die in Schema 62C gezeigt sind, durchgeführt. Beide sekundäre Amine **249** und **250** konnten analog zu den bereits synthetisierten

Derivaten der **Grundstruktur VI** in einer Mannich-Reaktion an C-4 mit Marbotinib **20** verbunden werden (Schema 71).⁴³² Mit Ameisensäure wurde bei beiden Derivaten **255** und **256** die *tert*-Butylgruppe entfernt und die Carbonsäuren **257** und **258** erhalten.⁵⁰⁴



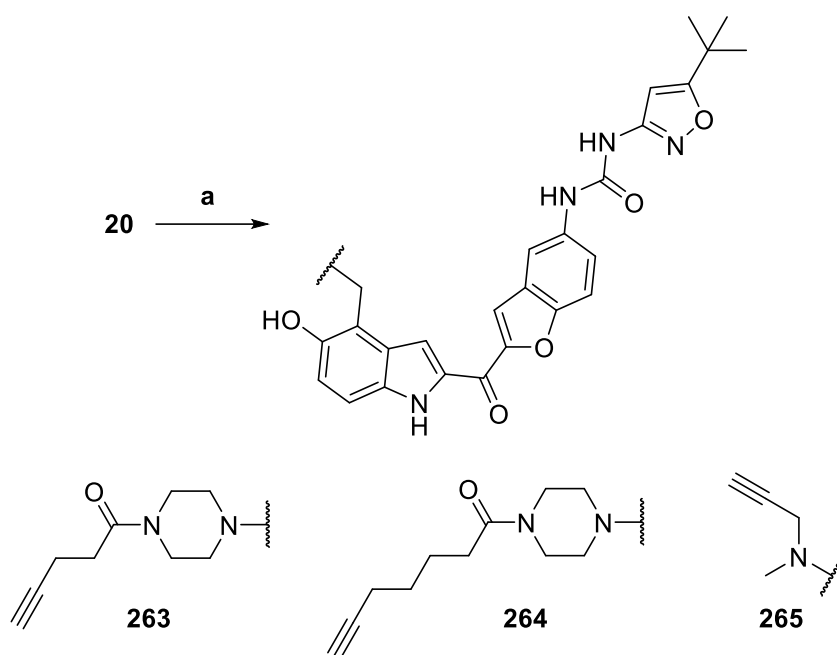
Schema 71: Synthese von 257 und 258. Reaktionen und Bedingungen: (a) Formaldehyd-Lösung (37% in Wasser, 1.5 eq.), Amin (1.5 eq.), Essigsäure, RT, über Nacht, 70-87%, (b) Ameisensäure, RT, über Nacht, quantitativ.

Als Bausteine für die Click-Reaktionen zur Synthese von Triazol-PROTACs wurden einige aus Marbotinib **20** und Piperazin-Derivaten synthetisierte Verbindungen verwendet. Verbindung **197** wurde bereits beschrieben und ähnlich dazu die beiden Amide **260** und **262** mit längeren Kohlenwasserstoff-Ketten synthetisiert. Die Synthese beider Derivate wurde mit *N*-Boc-Piperazin **137** gestartet und die entspr. Carbonsäuren zur Synthese von **259** und **261** eingesetzt,^{522–524} bevor die Boc-Schutzgruppe mit TFA wieder abgespalten wurde (Schema 72).³⁴⁶



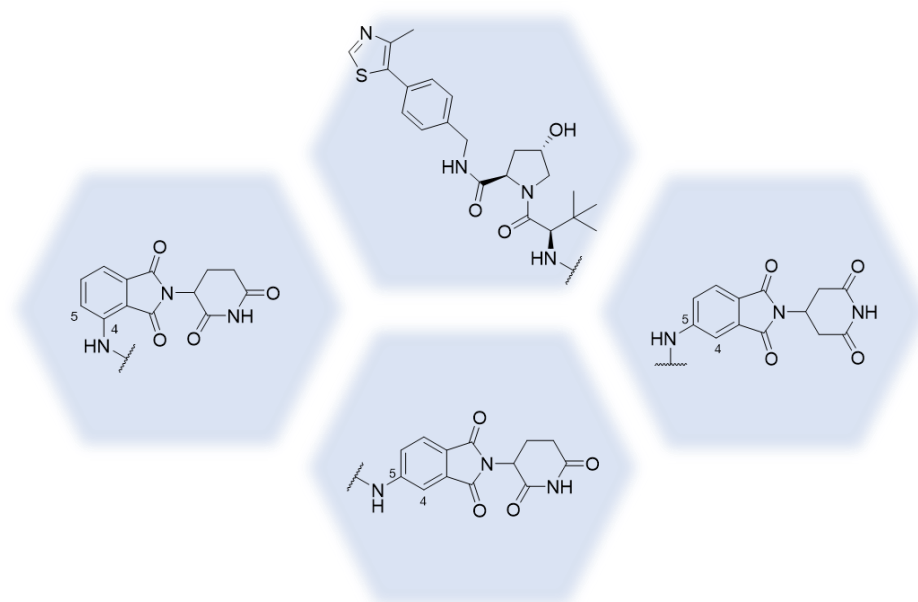
Schema 72: Synthese von **260** und **262**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Carbonsäure (0.9 eq.), *N*-Me-Morpholin (1.1 eq.), EDC*HCl (1.1 eq.), DCM, RT, über Nacht, 67-90%, (b) TFA, DCM, RT, 1 h, quantitativ.

Neben den beiden sekundären Aminen **260** und **262** wurde das kommerziell erhältliche Propargylamin verwendet und zusätzlich zur bereits vorgestellten Verbindung **205** drei weitere Derivate **263-265** mit den etablierten Bedingungen synthetisiert (Schema 73).⁴³²



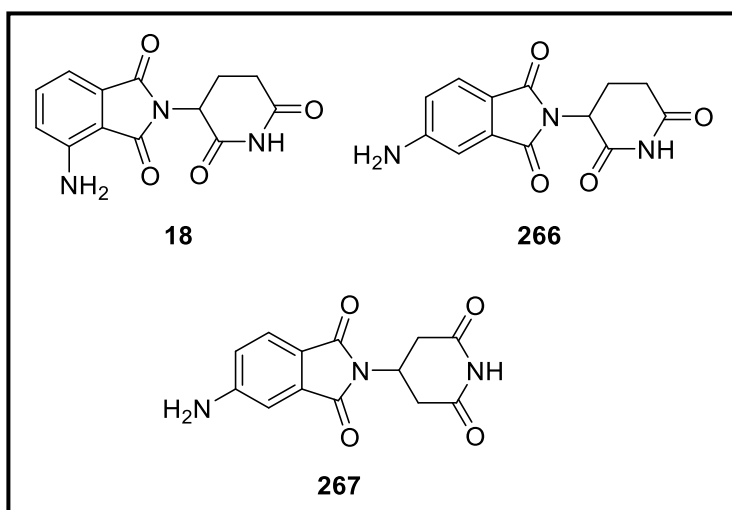
Schema 73: Synthese von **263-265**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Formaldehyd-Lösung (37% in Wasser, 1.5 eq.), Amin (1.5 eq.), Essigsäure, RT, über Nacht, 53-73%.

2.12.4. E3-Ligase-spezifischer Ligand



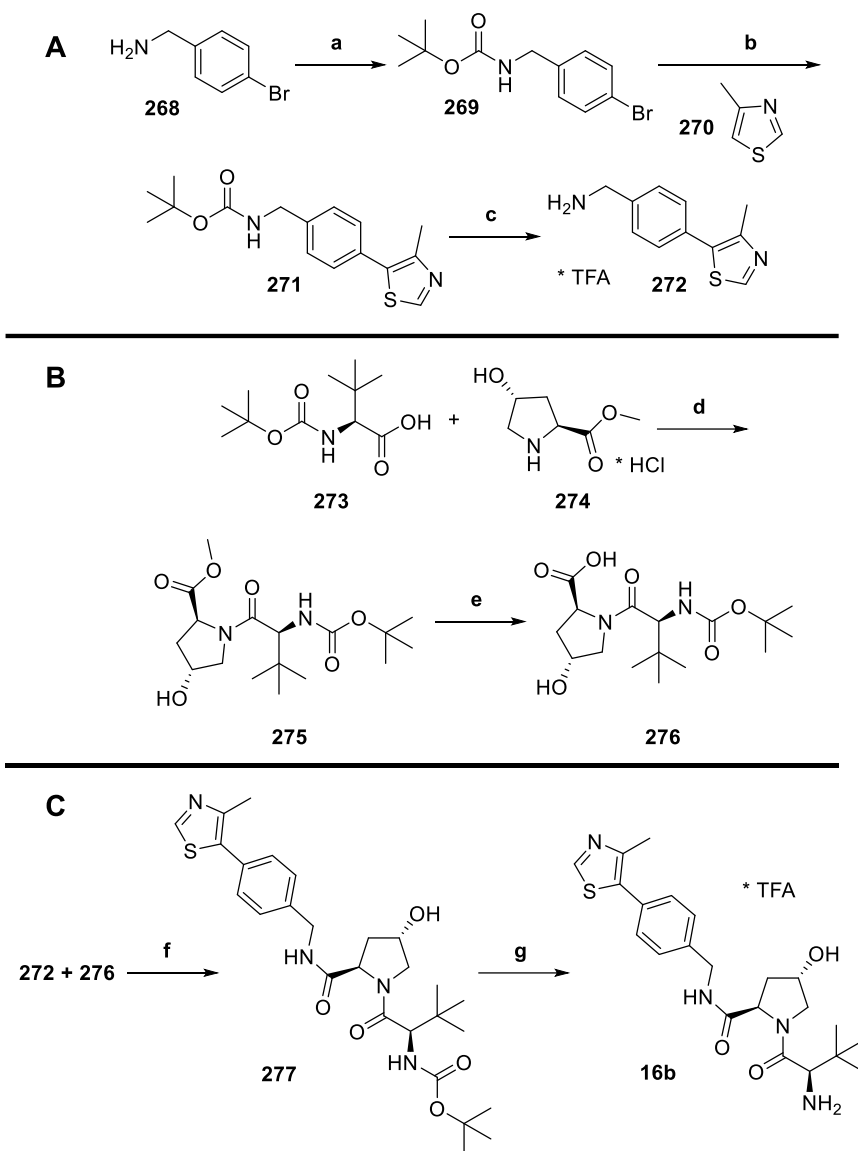
2.12.4.1. Liganden

Als E3-Ligase-bindende Liganden wurden vier verschiedene Grundstrukturen verwendet. Zum einen sollten verschiedene Thalidomid-basierte Derivate (Pomalidomid **18**, **266** und **267**) eingesetzt werden, zum anderen der Von-Hippel-Lindau-Ligand (VHL-Ligand, **16**). Bei den Thalidomid-Derivaten handelt es sich, wie in der Einleitung beschrieben, um Liganden für die E3-Ligase CRBN.



Die verschiedenen Thalidomid-artigen Liganden **18**, **266** und **267** wurden von Dr. Herwig Pongratz, Dr. Emerich Eichhorn oder Alexander Zimmermann synthetisiert und wurden vor Verwendung und aus analytischen Gründen mit Hilfe der präp. HPLC gereinigt. Die Synthese ist an dieser Stelle nicht extra beschrieben. Der Boc-geschützte VHL-Ligand **277** wurde von Dr. Herwig Pongratz hergestellt.

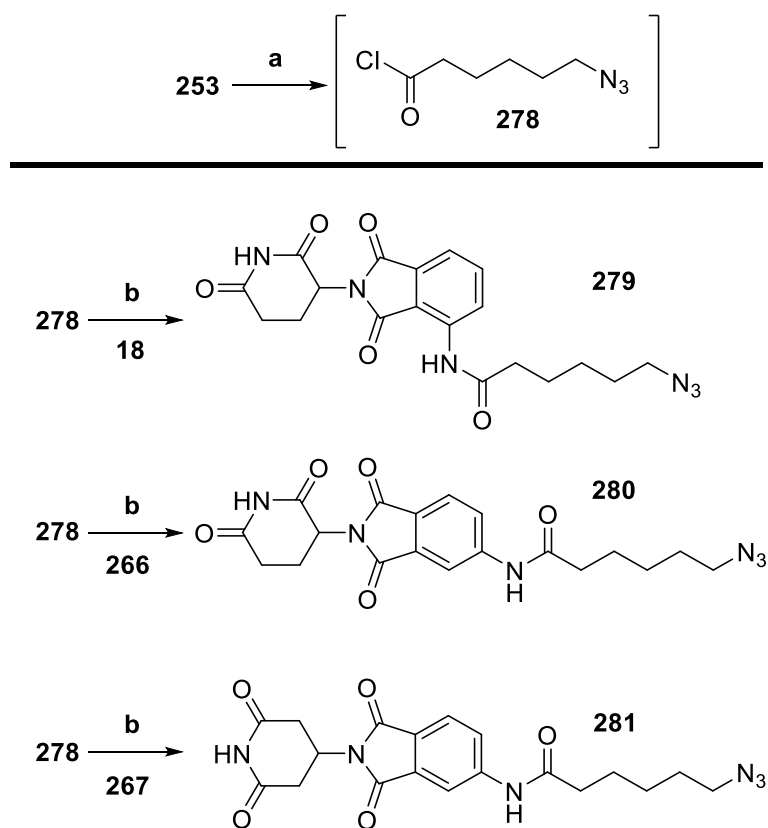
Die Synthese dieses Liganden wird im Folgenden kurz beschrieben, allerdings wird im Experimentellen Teil keine analytische Auswertung durchgeführt. Zur Synthese wurde das Amin **268** mit einer Boc-Gruppe geschützt (**269**), anschließend eine Heck-Reaktion mit 4-Methylthiazol **270** zu **271** durchgeführt und das Amin wieder entschützt (**272**). **276** wurde durch Reaktion von **273** und **274** und anschließende Verseifung des Esters **275** erhalten. Die beiden Teilstücke **272** und **276** wurden mit Hilfe des Kopplungsreagenzes HATU zu **277** verknüpft. Vor Weiterverwendung wurde die Boc-Schutzgruppe mit TFA entfernt und das entspr. Salz **16b** in nachfolgende Reaktionen eingesetzt.^{525; 526}



*Schema 74: Synthese von 16b. Reaktionen und Bedingungen: (A) (a) NaHCO₃ (0.9 eq.), Boc₂O (1.2 eq.) EA/Wasser (1:1), RT, 1 h, (b) Pd(OAc)₂ (1 mol%), K₂CO₃ (2.0 eq.), 4-Methylthiazol **270** (2.0 eq.), *N,N*-Dimethylacetamid, Reflux, 2 h, (c) DCM/TFA (2:1), RT, 2 h, (B) (d) **274** (1.1 eq.), DIPEA (6.0 eq.), HATU (1.2 eq.), DMF, RT, über Nacht, (e) LiOH (2.0 eq.), THF/Wasser (1:1), RT, 4 h, (C) (f) **272** (1.1 eq.), DIPEA (6.0 eq.), HATU (1.2 eq.), DMF, RT, über Nacht, (g) TFA, DCM, RT, 1 h.*

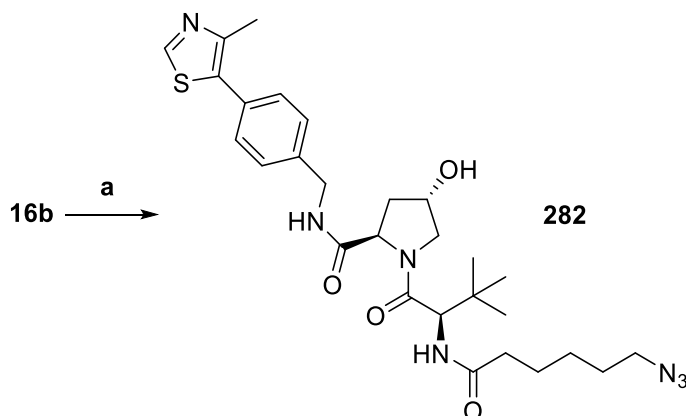
2.12.4.2. Bausteine

Die drei Thalidomid-artigen Amine wurden eingesetzt zur Synthese der drei Verbindungen **279-281**. Diese musste über das Säurechlorid **278** erfolgen (Schema 75), wurde allerdings ohne zwischenzeitliche Reinigung in einem Ansatz durchgeführt.⁵²⁷



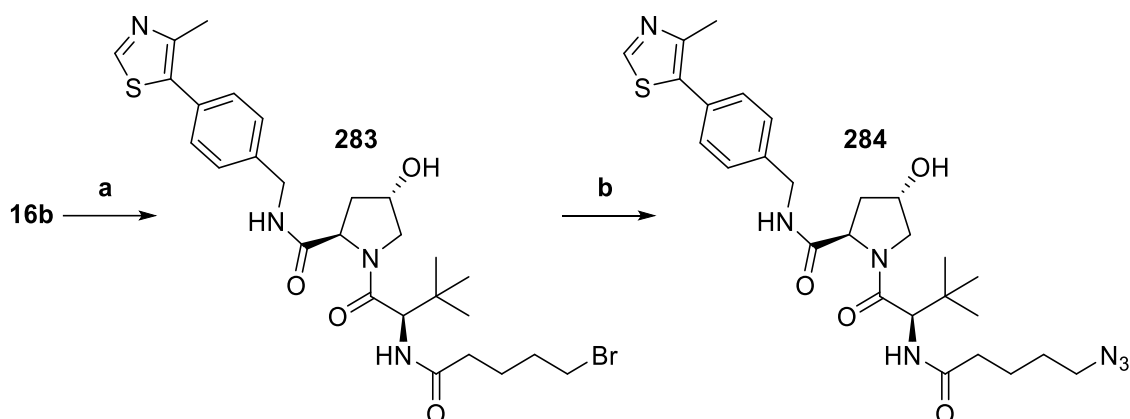
Schema 75: Synthese von **279-281**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Oxalylchlorid (1.0 eq.), DMF, DCM, RT, 1 h, (b) Amin **18**, **266** bzw. **267** (0.9 eq.), Pyridin (4.0 eq.), RT, über Nacht, 42-49%.

Die Synthese von **282** konnte hingegen durch die Verwendung von **16b** und der Carbonsäure **253** mit Hilfe des Kopplungsreagenz HATU im Basischen durchgeführt werden (Schema 76).^{528; 529}



Schema 76: Synthese von **282**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Carbonsäure **253** (1.0 eq.), HATU (1.5 eq.), DIPEA (6.0 eq.), DMF, RT, über Nacht, 93%.

Zusätzlich wurde Amid **284** mit Kopplungsreagenz EDC*HCl synthetisiert und dafür die endständig-bromierte Pentansäure verwendet.⁵³⁰ Damit sollte eine alternative Syntheseroute für Derivate dieser Art gezeigt werden und die Möglichkeit, die Kohlenwasserstoff-Kette und damit der Linkerlänge des fertigen PROTACs zu variieren. Aus der bromierten Verbindung **283** wurde im nächsten Schritt das Azid **284** erhalten (Schema 77).^{516–518}

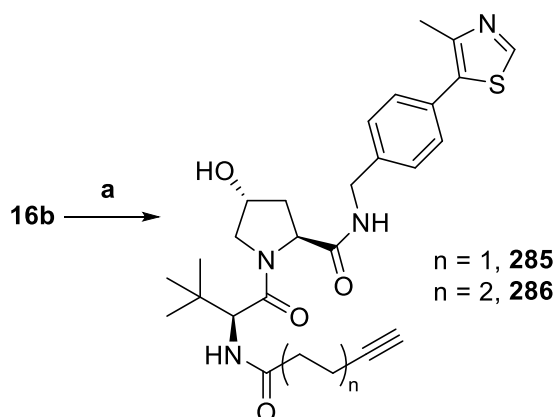


Schema 77: Synthese von **284**. Reaktionen und Bedingungen: (a) Carbonsäure (1.0 eq.), EDC*HCl (1.1 eq.), DIPEA (6.0 eq.), RT, über Nacht, 61%, (b) Natriumazid (3.0 eq.), DMF, 80 °C, über Nacht, quantitativ.

So könnten weitere Carbonsäuren mit anderen Linkerlängen eingesetzt, PEG-basierte Carbonsäuren verwendet oder auch das endständige Bromid durch Dimethylamin⁵³¹ oder *N*-Boc-Piperazin ersetzt werden.⁵³⁰

Zuletzt wurde die Möglichkeit geprüft, ob eine Variation beider Komponenten zur Durchführung einer Click-Reaktion und ob die Synthese eines E3-Ligase-spezifischen Baustein mit einer Alkin-Gruppe zu besseren Ausbeuten führen. Der VHL-Ligand **16b** wurde dafür im Basischen mit HATU als Kopplungsreagenz mit 4-Pentin- oder 6-Heptinsäure gekoppelt (**285** bzw. **286**, Schema 78).^{528;}

529

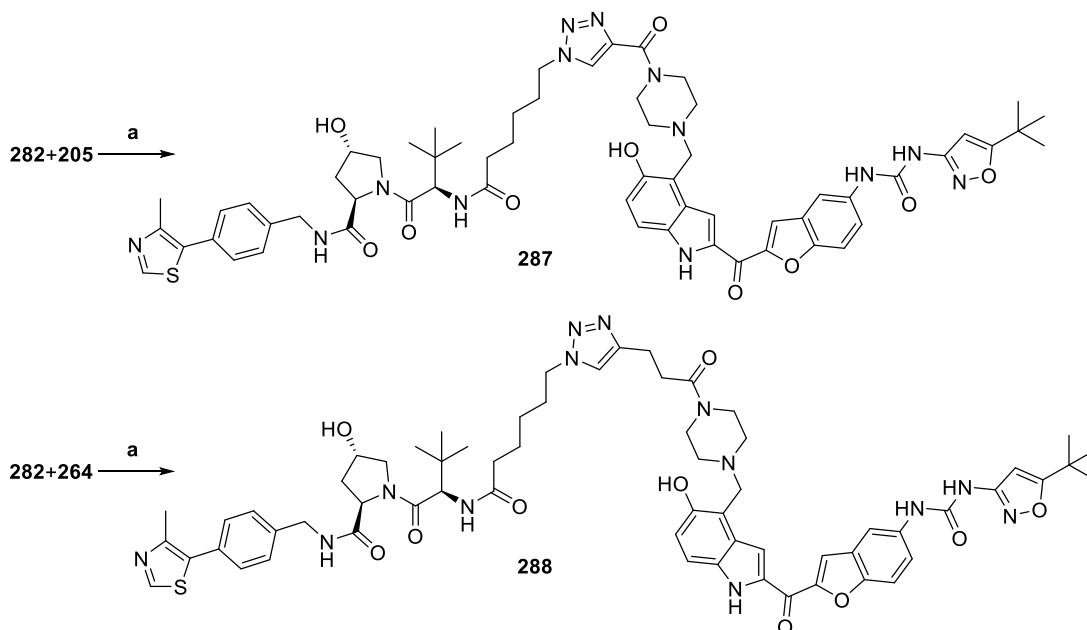


Schema 78: Synthese von **285** und **286**. Reaktionen und Bedingungen: (a) HATU (1.1 eq.), DIPEA (4.4 eq.), DMF, RT, über Nacht, 55-61%.

2.12.5. Versuche zur Synthese von PROTACs

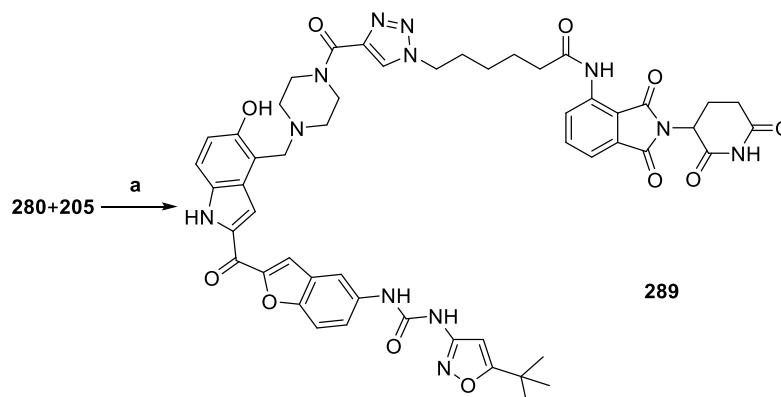
Einer der E3-Ligase-spezifischen Liganden (**16b**, **18**, **266** und **267**) sollte mit den Verbindungen **254**, **257** und **258** gekoppelt werden. Dazu wurden verschiedene Reaktionen durchgeführt, die allerdings ausschließlich ein anderes Produkt lieferten. NMR- bzw. MS-Analyse deuteten einen intramolekularen Ringschluss an. Vor weiteren Versuchen müssten überlegt werden, die Hydroxygruppe von Marbotinib **20** bzw. der Verbindungen **254**, **257** oder **258** vor der Kopplungsreaktion zu schützen oder mit einer entspr. geschützten Verbindung zu arbeiten. Außerdem könnte die Reaktionssequenz anders aufgebaut werden und die in Schema 66 beschriebene Synthese optimiert werden. Auch die Verwendung einer geeigneten Schutzgruppe am N-Atom der Amine **249** bzw. **250** könnte eine vielversprechende Syntheseroute sein. Eine weitere Alternative wäre die Verwendung einseitig veresterter Dicarbonsäuren wie in Schema 67.

Zur Synthese der PROTACs mit Triazol-Ringen im Linker wurde die beschriebene Click-Reaktion verwendet. Für diese Reaktion wurde eine Kombination aus Kupfer(II)-sulfat und Ascorbinsäure als Reduktionsmittel verwendet, um das katalytisch notwendige Kupfer(I)-salz *in situ* zu erzeugen. Für alle beschriebenen Reaktionen erwies sich DMF als geeignetes Lösemittel, und einige der bereits gezeigten Bausteine wurden entspr. kombiniert.^{532–534} Allgemein wurden PROTACs mit dem VHL-Liganden als E3-Ligase-spezifischem Baustein mit verschiedenen der gezeigten FLT3-Inhibitor-Strukturen verbunden und so die Moleküle **287** und **288** erhalten (Schema 79).



Schema 79: Synthese von **287** und **288**. Reaktionen und Bedingungen: (a) **282** (1.0 eq.), CuSO₄ (0.1 eq.), Ascorbinsäure (0.3 eq.), DMF, 30 min, 68–77%.

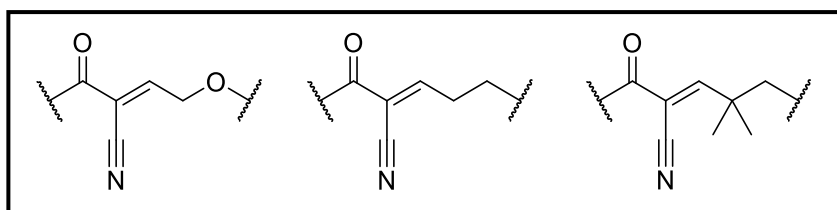
Außerdem wurden zwei PROTACs mit dem Pomalidomid **18** als E3-Ligase-spezifischem Baustein mit verschiedenen der gezeigten FLT3-Inhibitor-Strukturen verbunden (Schema 80).



Schema 80: Synthese von **289**. Reaktionen und Bedingungen: (a) **280** (1.0 eq.), CuSO₄ (0.1 eq.), Ascorbinsäure (0.3 eq.), DMF, 30 min, 54%.

Das Feld der PROTACs bietet allgemein einen Ansatzpunkt für weitere Forschung, wobei weitere Versuche und andere Wege zur Synthese von PROTACs mit reinen Alkyl- oder PEG-Linkern erste interessante Ansätze wären. Außerdem könnte auf Basis zukünftiger Testergebnisse ebenfalls die Länge der Linker variiert werden. Weiterhin könnten alle gezeigten Bausteine beliebig variiert bzw. im Anschluss auf beschriebene Art mit einer Click-Reaktion verbunden werden.

Eine interessante Idee der aktuellen Forschung sind potenziell irreversible oder kovalent-reversible PROTACs, mit denen schon einige Fortschritte erzielt wurden. Enon-Systeme oder andere Molekülgruppen, die zu potenziell irreversiblen PROTACs führen, wurden dabei vor allem am Protein-spezifischen Liganden eingeführt. Kovalent-reversible PROTACs sollen die Vorteile irreversibler und reversibler Varianten vereinen und basieren meist auf α -Cyanoacrylaten.^{535–538}



Darüber hinaus wurden bereits einige „Photoswitch“-PROTACs vorgestellt: Sie können durch Licht aktiviert bzw. deaktiviert oder durch Licht einer bestimmten Wellenlänge in ihre aktive Form überführt werden.⁵³⁹

3. PHARMAKOLOGISCHER TEIL

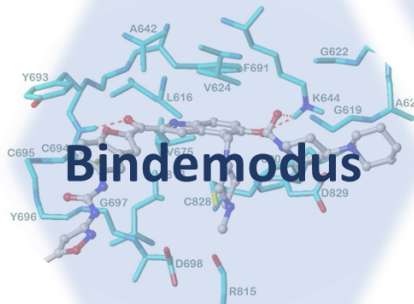
Enzymtests



**Testungen im
Zellsystem**



Bindemodus



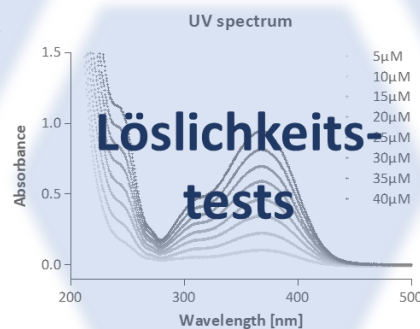
**In vivo-
Testungen**



**Evaluierung der
Selektivität**

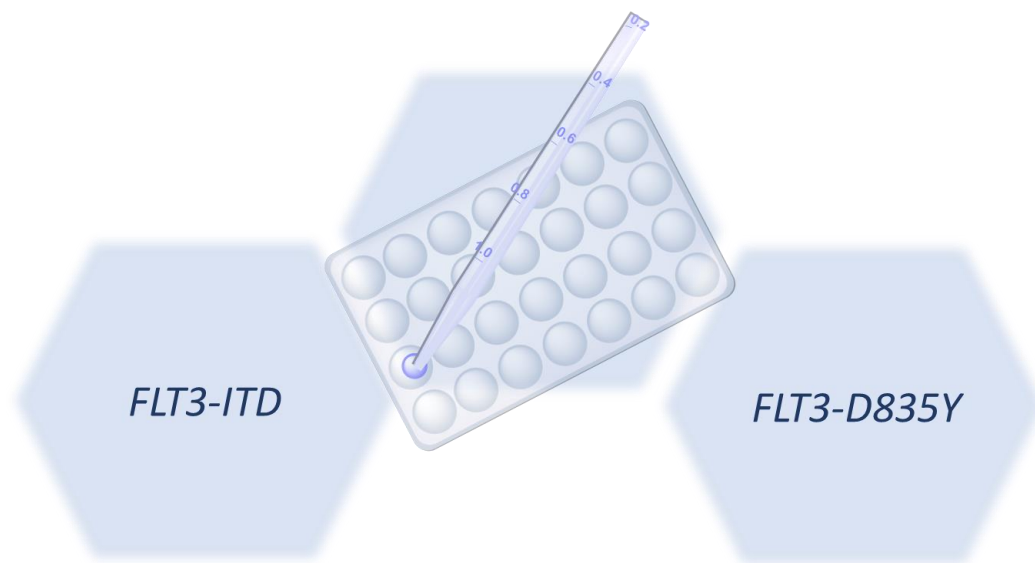


**Löslichkeits-
tests**



3.1. ENZYM-INHIBITIONS-ASSAY

Zunächst wurden die synthetisierten Substanzen als Inhibitoren der Enzymaktivität mutierter FLT3 untersucht. Neben der Untersuchung der therapeutisch-wichtigen ITD-Mutation wurden die aktivsten Derivate auf ihr Potential zur Inhibierung der häufigsten therapie-assoziierten Punktmutation FLT3-D835Y evaluiert.



3.1.1. Allgemeines und Referenzen

Die Testreihen wurden von der Firma Reaction Biology Corporation (Malvern, PA, United States) durchgeführt. Entspr. IC_{50} -Werte (mittlere inhibitorische Konzentration) für die Hemmung der Enzymaktivität von FLT3-ITD wurden bestimmt. Alle synthetisierten Verbindungen wurden in einem Kinase-Assay nach der Anleitung von Reaction Biology unter Verwendung von 10 μ M ATP geprüft. Von allen Derivaten wurde die inhibitorische Wirkung des freien Amins, des TFA- oder des HCl-Salzes evaluiert. Beispielhaft werden im Folgenden die Testergebnisse für die enzymatischen Assays der Verbindungen **150b**, **151b**, **214b** und **215b** basierend auf den von Reaction Biology erhaltenen Daten graphisch dargestellt (Abb. 36).

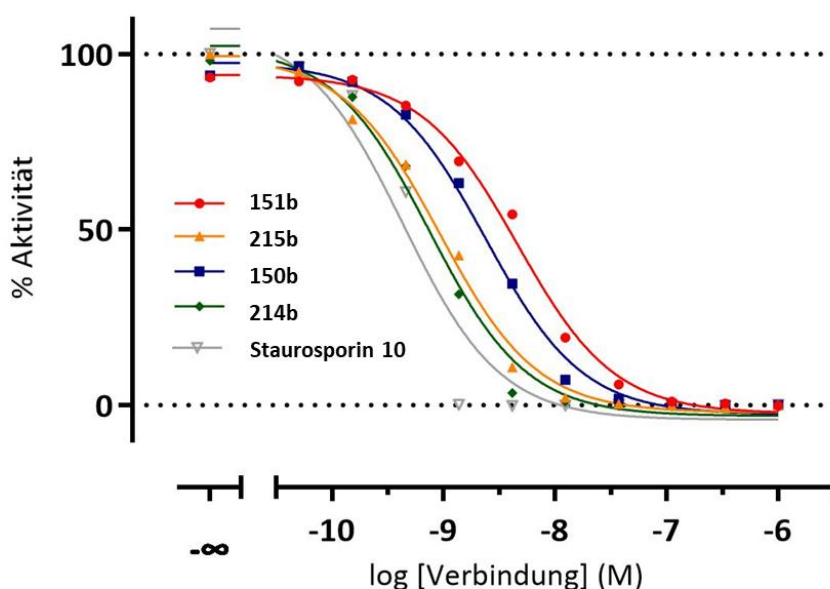


Abb. 36: Beispielhafte Darstellung der Inhibitionskurven für FLT3-ITD der Substanzen **150b**, **151b**, **214b** und **215b** aus dem enzymatischen Assay verglichen mit der Referenz Staurosporin **10**. Die Graphen wurden auf Basis der von der Firma ReactionBiology erhaltenen Daten mit dem Programm GraphPad Prism 9 erstellt.

Als Referenz-Verbindung der Testreihe wurde Staurosporin **10** verwendet. Daneben sind in Tabelle 6 zum Vergleich entspr. IC_{50} -Werte von Quizartinib **6** und Midostaurin **1** aus früheren Testreihen angegeben.³²⁴

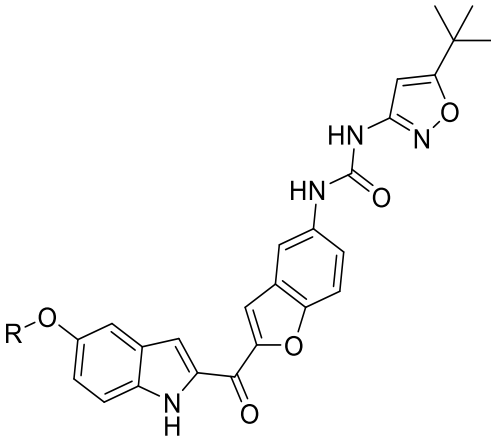
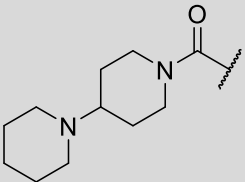
Tabelle 6: IC₅₀-Werte einiger Referenzen für die Inhibierung der Enzymaktivität von FLT3-ITD und FLT3-D835Y. Staurosporin wurde in allen Testreihen als Referenz verwendet. Die Werte für Midostaurin und Quizartinib stammen aus früheren Testreihen.³²⁴

Referenz	IC ₅₀ -Werte [nM]	
	ITD	D835Y
Midostaurin 1	0.73 ³²⁴	0.15 ³²⁴
Quizartinib 6	4.2 ³²⁴	137 ³²⁴
Staurosporin 10	1.20 ³²⁴	0.14 ³²⁴

3.1.2. Marbotinib 20 und Marbotinib-Carbamat 21

Das HCl-Salz von Marbotinib-Carbamat **21c** wurde als Inhibitor der Enzymaktivität mutierter FLT3 evaluiert. Neben der besonders häufig vorkommenden ITD-Mutante wurde dabei die therapie-assoziierte Punktmutation D835Y verwendet. Die entspr. IC₅₀-Werte von Marbotinib **20** stammen aus früheren Arbeiten^{324–326} und sind vor allem zu Vergleichszwecken mit angegeben.

Tabelle 7: IC₅₀-Werte von Marbotinib **20** und des HCl-Salzes von Marbotinib-Carbamat **20c** für die Inhibierung der Enzymaktivität von FLT3-ITD und FLT3-D835Y. Die Werte von Marbotinib **20** stammen aus vorangegangenen Arbeiten und sind vor allem zu Vergleichszwecken angegeben.^{324; 325}

Verbindung	R	IC ₅₀ -Werte [nM]	
		ITD	D835Y
	H	2.3 ^{324–326}	4.84 ^{324–326}
21c		3.9 ³²⁴	3.03 ³²⁴

Marbotinib-Carbamat **21c** zeigt in dieser Testreihe vergleichbare IC₅₀-Werte (**ITD**: 3.9 nM, **D835Y**: 3.03 nM) und damit vergleichbare inhibitorische Wirkung sowohl gegenüber FLT3-ITD als auch gegenüber FLT3-D835Y wie Marbotinib **20** (**ITD**: 2.3 nM, **D835Y**: 4.84 nM^{324–326}). Außerdem scheint die Verbindung FLT3-ITD ähnlich stark zu inhibieren wie Quizartinib **6** (**ITD**: 4.2 nM³²⁴) und zeigt im Gegensatz dazu auch eine hohe Aktivität gegenüber FLT3-D835Y. Quizartinib **6** ist diesbezüglich deutlich inaktiver (**D835Y**: 137 nM³²⁴).

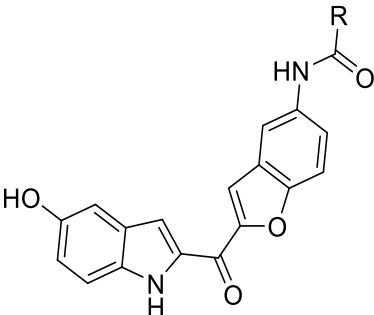
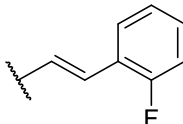
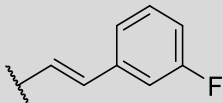
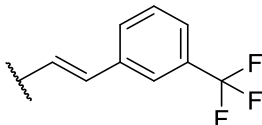
3.1.3. Grundstrukturen I-V

Im Folgenden sind die Ergebnisse der neu synthetisierten Verbindungen der **Grundstrukturen I** bis **V** zusammengefasst. Aus **Grundstruktur I** und **II** wurden nur ein paar Verbindungen beispielhaft bezüglich ihrer inhibitorischen Aktivität untersucht, wobei keine der Verbindungen ausgeprägte inhibitorische Stärke gegenüber der enzymatischen Aktivität der ITD-Mutation von FLT3 zeigte.

Der Austausch der Isoxazol-Einheit durch eines der gezeigten fluorierten Amide oder ein Amin führt zu einem Verlust an Wirksamkeit. Modifikationen dieser Art scheinen die Wechselwirkungen in der Bindetasche zu verschlechtern.

Tabelle 8 zeigt die IC_{50} -Werte aller getesteten Verbindungen der **Grundstruktur I**. Bei allen Verbindungen dieser Stoffgruppe wurde ausschließlich die inhibitorische Wirkung im Enzymtest gegenüber der Längenmutation von FLT3 untersucht. Für **59**, **60** und **61** (IC_{50} -Werte zwischen 390 und 882 nM) konnte allerdings keine ausgeprägte Inhibitorfähigkeit festgestellt werden.

Tabelle 8: IC_{50} -Werte der getesteten Moleküle mit **Grundstrukturen I** für die Inhibierung der Enzymaktivität von FLT3-ITD.

		
Verbindung	R	IC_{50} -Werte [nM] FLT3-ITD
59		882
60		390
61		588


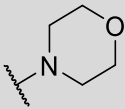
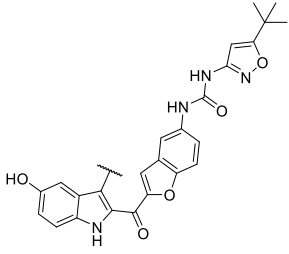
Verbindung **64b** mit **Grundstruktur II** wurde bezüglich der inhibitorischen Fähigkeit gegenüber FLT3-ITD evaluiert, wobei der Austausch der Isoxazol-Einheit von Marbotinib **20** durch das

fluorierte Amin die Wirkung ebenfalls etwas vermindert (IC_{50} -Wert: 10.3 nM). Trotz allem kann eine Wirksamkeit von **64b** im nanomolaren Bereich festgestellt werden.

Verbindungen mit **Grundstruktur III** wurden bisher nicht biologisch evaluiert.

Tabelle 9 gibt einen Überblick über die IC_{50} -Werte der enzymatischen Tests der Verbindungen mit **Grundstruktur IV**. Alle synthetisierten Moleküle dieser Grundstruktur wurden auf ihre hemmende Wirkung gegenüber der Kinaseaktivität einer Längenmutation (FLT3-ITD) analysiert, wobei **86** zusätzlich auch gegenüber der Punktmutation FLT3-D835Y getestet wurde. Verbindung **89** wurde als TFA-Salz **89b** eingesetzt.

Tabelle 9: IC_{50} -Werte der getesteten Moleküle mit **Grundstruktur IV** für die Inhibierung der Enzymaktivität von FLT3-ITD und FLT3-D835Y.

Verbindung	R	IC_{50} -Werte [nM]	
		ITD	D835Y
86		26.7	237
89b		306	n.d.
92		>1000	n.d.

Die Verbindungen **86** und **89b** (IC_{50} -Werte: 26.7-306 nM) inhibieren FLT3-ITD im nanomolaren Bereich, während Verbindung **92** die Aktivität längenmutierter FLT3 nur schwach inhibiert (IC_{50} -Wert: >1000). Modifikationen an C-3 des Indolrings von Marbotinib scheinen die Hemmung ebenfalls zu schwächen. Während eine Methylgruppe noch schwach hemmt, verringern raumgreifende Substituenten, die eventuell die Löslichkeit erhöhen könnten, die Wirksamkeit im Enzymtest deutlich.

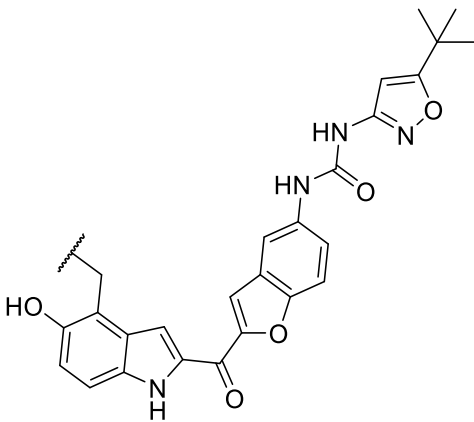
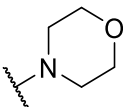
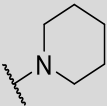
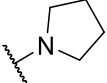

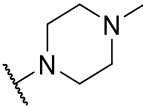
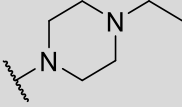
Für **106** mit **Grundstruktur V** konnte eine Hemmung von FLT3-ITD im nanomolaren Bereich festgestellt werden (IC_{50} -Wert: 19.6 nM), wobei allerdings auch eine Modifikation in Position 3' des Benzofuran-Rings die Wirksamkeit verglichen mit Marbotinib **20** und Marbotinib-Carbamat **21c** verringert.

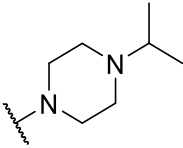
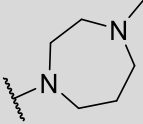
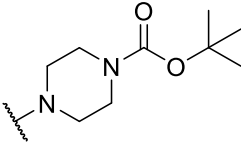
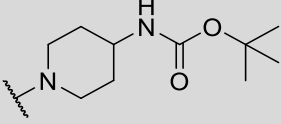
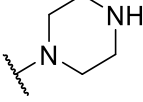
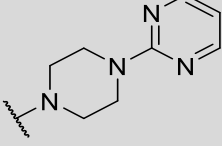
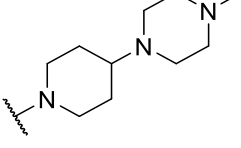
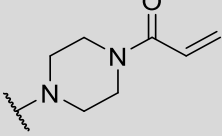
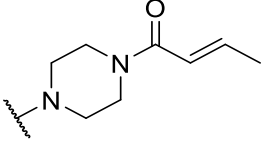
3.1.4. Grundstruktur VI

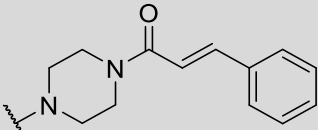
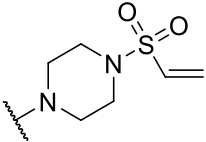
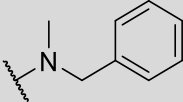
Die Ergebnisse der Enzymtests einiger Verbindungen mit **Grundstruktur VI** sind im folgenden Kapitel gezeigt (Tabelle 10). Alle Verbindungen wurden entweder als Amine (**a**) oder als entspr. TFA-Salze (**b**) bezüglich ihrer inhibitorischen Fähigkeiten gegenüber FLT3-ITD untersucht. Die potentesten Inhibitoren wurden dann in Bezug auf die Hemmung der Aktivität der therapie-assoziierte Mutante FLT3-D835Y getestet.

Pharmakologischer Teil

Tabelle 10: IC₅₀-Werte aller getesteten Moleküle mit **Grundstruktur VI** für die Inhibierung der Enzymaktivität von FLT3-ITD und FLT3-D835Y.

<div>  </div>			
Verbindung	R	IC ₅₀ -Werte [nM]	
		ITD	D835Y
147b		9.08	24.2
148b		13.7	87.0
149b		4.10	17.8
150b		2.40	3.83
151b		1.89	4.95
152a		1.28	4.23

153a		1.98	2.60
154a		36.9	17.4
155		36.6	n.d.
156		460	69.5
158		3.36	9.55
159		13.1	n.d.
181b		12.2	327
185b		1.47	10.8
186b		4.32	21.8

187a		10.0	n.d.
204		6.23	n.d.
209		324	30.4

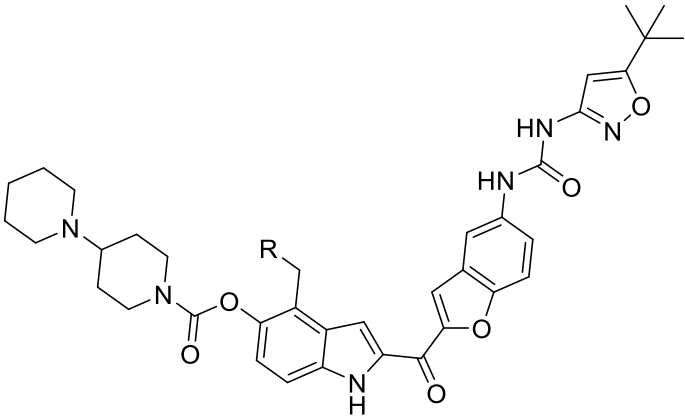
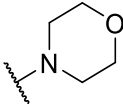
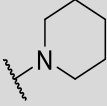
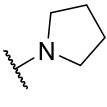

Alle getesteten Verbindungen der **Grundstruktur VI** hemmen die Kinaseaktivität von FLT3-ITD im nanomolaren Bereich, einige sogar im sehr niedrigen nanomolaren Bereich (IC_{50} -Werte: 1.28-324 nM). Außerdem hemmen viele Verbindungen dieser Stoffklasse zusätzlich die Aktivität von FLT3-D835Y im niedrigen nanomolaren Bereich (IC_{50} -Werte: 2.60-327 nM). Gerade kleine Substituenten wie Dimethylamin oder Heterozyklen hemmen am stärksten. Daraus kann geschlossen werden, dass an C-4 des Indolrings ohne Aktivitätsverlust Modifikationen bis zu einer gewissen räumlichen Größe an der Molekülstruktur von Marbotinib **20** vorgenommen werden können. Für Verbindung **150** wurde neben dem TFA-Salz **150b** auch das freie Amin **150a** untersucht und sehr ähnliche Daten erhalten (IC_{50} -Wert: 1.51 nM).

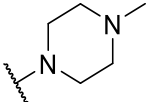
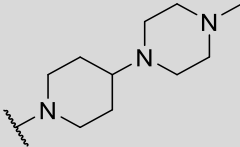
Die Enone und Enon-ähnlichen Wirkstoffe wirken inhibitorisch ähnlich (IC_{50} -Werte (FLT3-ITD): 1.47-10.0 nM, IC_{50} -Werte (FLT3-D835Y): 10.8-21.8 nM) gegenüber den beiden Mutationen, verglichen mit Molekülen ähnlicher Gestalt ohne das entspr. Enon-System (1.89 nM für **151a**, 36.6 nM für **155** oder 3.36 nM für **158**). Bei den getesteten potenziell-irreversiblen Verbindungen kann allgemein ein gewisser Trend festgestellt werden: Größere Modifikationen liefern schlechtere Ergebnisse für beide Arten von Mutationen. Um eine Aussage zur möglichen irreversiblen Bindung der Moleküle treffen zu können, müssten zusätzlich Versuche durchgeführt werden, wie sie bereits in der Arbeit von Bernadette PilsI gezeigt wurden.³²⁵ Alle weiteren Verbindungen dieser Stoffgruppe wurden im Rahmen dieser Arbeit nicht mehr biologisch evaluiert.

3.1.5. Grundstruktur VII

Zusätzlich zu den Verbindungen mit **Grundstruktur VI** wurden alle synthetisierten Carbamate mit **Grundstruktur VII** bezüglich ihrer inhibitorischen Fähigkeiten evaluiert. Die IC_{50} -Werte aus den Testreihen aller sechs Verbindungen **211-216** sind in Tabelle 11 aufgelistet. Alle Verbindungen wurden als entspr. TFA-Salze (**b**) analysiert.

Tabelle 11: IC_{50} -Werte getesteter Moleküle mit **Grundstruktur VII** für die Inhibierung der Enzymaktivität von FLT3-ITD und FLT3-D835Y.

			
Verbindung	R	IC_{50} -Werte [nM]	
		ITD	D835Y
211b		1.29	6.63
212b		1.22	17.0
213b		1.52	5.50
214b		0.81	0.62

215b		0.94	1.71
216b		111	>1000

Alle getesteten Verbindungen der **Grundstruktur VII** hemmen die Aktivität von FLT3-ITD in einem niedrigen nanomolaren oder sogar sub-nanomolaren Bereich (IC_{50} -Werte: 0.81-111 nM). Außerdem hemmen einige Verbindungen die Kinasewirkung von FLT3-D835Y im niedrigen nanomolaren bzw. sub-nanomolaren Bereich (IC_{50} -Werte: 0.62-17 nM für **211b-215b**). Die schlechteste inhibitorische Aktivität zeigt Verbindung **216b** (111 nM für FLT3-ITD und >1000 für FLT3-D835Y). Für Verbindung **214** wurde neben dem TFA-Salz **214b** auch das freie Amin **214a** untersucht und ähnliche Daten erhalten (IC_{50} -Wert: 1.23 nM).

3.1.6. Auswertung

In allen durchgeführten Enzym-Testungen zeigen neben Marbotinib-Carbamat **21c** die Moleküle der **Stoffgruppe VI** und **VII** vielversprechende Ergebnisse (Tabelle 10 und Tabelle 11). Sehr viele Moleküle dieser Stoffgruppen hemmen die Enzymaktivität von FLT3-ITD im teils sehr niedrigen nanomolaren bis sub-nanomolaren Bereich. Einige Moleküle weisen dabei Inhibitor-Fähigkeiten auf, die mit dem potenten, aber unselektiven Inhibitor Staurosporin **10** (IC_{50} -Wert: 1.20 nM) mindestens vergleichbar sind, und einige zeigen sogar annähernd dieselbe Wirksamkeit wie Midostaurin **1** (IC_{50} -Wert: 0.70 nM). Marbotinib-Carbamat **21c** inhibiert FLT3-ITD fast vergleichbar in niedrigem nanomolarem Bereich (IC_{50} -Wert: 3.9 nM). Bei Betrachtung der **Stoffgruppe VI** stechen die alkyltierten Piperazin-Derivate **151**, **152** und **153** (IC_{50} -Werte: 1.28-1.98 nM) sowie das Dimethylamin-Derivat **150** (IC_{50} -Wert: 1.51 nM) hervor. In **Stoffgruppe VII** wird für das *N*-Methylpiperazin-Derivat **215** (IC_{50} -Wert: 0.94 nM) sowie das Dimethylamin-Derivat **214** (IC_{50} -Wert: 0.81 nM) eine sehr starke Inhibierung der Kinaseaktivität von FLT3-ITD festgestellt. Viele Verbindungen erreichen darüber hinaus mindestens gleichwertige inhibitorische Fähigkeiten verglichen mit Marbotinib **20** (IC_{50} -Wert: 2.3 nM).³²⁴

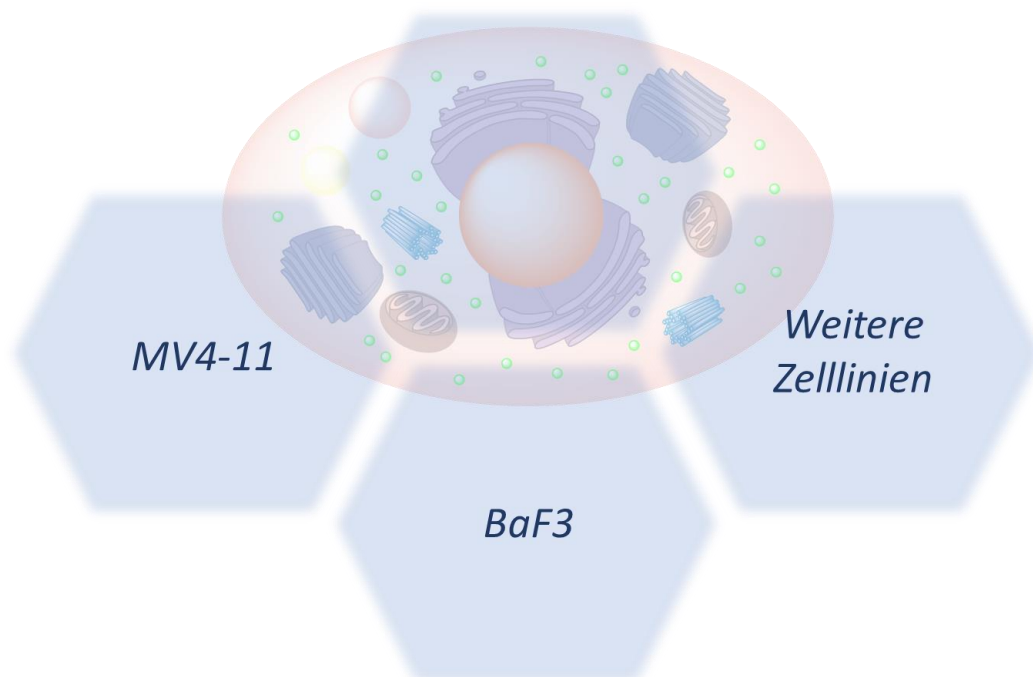
Untersuchungen zur Inhibierung der enzymatischen Aktivität der häufigsten TKD-Mutante FLT3-D835Y liefern sowohl für Moleküle der **Stoffgruppe VI** als auch für Moleküle der **Stoffgruppe VII** erneut eine bemerkenswerte Aktivität. Auch Marbotinib-Carbamat **21c** inhibiert FLT3-D835Y in

niedrigem nanomolarem Bereich (IC_{50} -Wert: 3.03 nM). Die alkylierten Piperazin-Derivate **151**, **152** und **153** (IC_{50} -Werte: 2.60-4.95 nM) sowie das Dimethylamin-Derivat **150** (IC_{50} -Wert: 3.83 nM) aus **Stoffgruppe VI** können diese Mutante in einem sehr niedrigen nanomolaren Bereich inhibieren. Die Carbamate aus **Stoffgruppe VII** ergeben ebenfalls sehr kleine IC_{50} -Werte für die Hemmung von FLT3-D835Y (1.71 nM für das *N*-Methylpiperazin-Derivat **215** und 0.62 nM für das Dimethylamin-Derivat **214**). Damit werden annähernd gleiche Werte wie für die beiden Multikinase-Inhibitoren Midostaurin **1** (IC_{50} -Wert: 0.15 nM) und Staurosporin **10** (IC_{50} -Wert: 0.14 nM) erreicht. Die Enzymaktivität von FLT3 mit dieser Punktmutation wird etwas stärker inhibiert als durch Marbotinib **20** (IC_{50} -Wert: 4.84 nM). Außerdem ist festzustellen, dass für die meisten der neu synthetisierten Verbindungen die Aktivität gegenüber der therapie-assoziierten Mutante nicht verringert ist. Das ist dagegen bei den Tyrosinkinase-Inhibitoren von Typ II der Fall. Verglichen mit dem Therapiepräparat Quizartinib **6** (IC_{50} -Wert: 137 nM) zeigt ein Großteil der Verbindungen deutlich niedrigere IC_{50} -Werte und damit deutlich weniger Probleme mit den einleitend beschriebenen Resistenzen.

Weiterhin zeigen die Daten aber auch, dass die synthetisierten potenziellen Prodrugs (**Grundstruktur VII**) eine vergleichbare Wirkung wie entsprechende Alkohole (**Grundstruktur VI**) besitzen. Das bedeutet, dass sogar die Carbamate eine starke inhibitorische Wirkung zeigen und theoretisch auch ohne Abspaltung der Gruppe nach dem Prodrug-Konzept im Enzymtest wirksam sind. Substituenten in Position 6 des Indol-Rings scheinen die Wirksamkeit von Marbotinib **20** ebenfalls kaum zu beeinflussen.

3.2. EVALUATION DER WIRKSTOFFE IN ZELLULÄREN SYSTEMEN

Im Anschluss an die Untersuchungen zur Hemmung der Enzymaktivität durch die neu synthetisierten Inhibitoren wurden verschiedene Testungen in zellulären Systemen durchgeführt. Die Fähigkeit einiger neu synthetisierter Verbindungen zur Proliferationshemmung bzw. Apoptoseinduktion verschiedener menschlicher Leukämie-Zelllinien und an Ba/F3-Zellen mit resistenten FLT3-Mutationen wurde dazu untersucht.



3.2.1. Proliferations-Assay mit MV4-11-Zellen

Basierend auf den Ergebnissen der Enzym-Inhibitions-Assays wurden die vielversprechendsten Wirkstoffe in einem Proliferations-Assay untersucht. 14 Moleküle der **Grundstruktur VI** und **VII** wurden von der Firma Reaction Biology Corporation mit Hilfe des CellTiterGlo®-Assays bezüglich ihrer Zellviabilität in MV4-11-Zellen, einer humanen AML-Zelllinie mit ITD-mutierter FLT3, analysiert, und die zugehörigen IC₅₀-Werte bestimmt. Alle Substanzen mit Ausnahme von **152** und **153** wurden dabei als TFA-Salze (**b**) getestet. Staurosporin **10** diente als Referenz-Verbindung. Ein Überblick über den Ablauf des Cell Titer Glo®-Assays ist gezeigt (Abb. 37): Nach Zugabe des Inhibitors wurden die MV4-11-Zellen 72 h inkubiert, anschließend wurde das Cell Titer Glo®-Reagenz zugegeben. Nach weiteren 15 min Inkubation wurde die Zahl der lebenden Zellen durch Messung der Lumineszenz bestimmt. Lumineszenz entsteht durch die Reaktion von Luciferin **290** zu Oxyluciferin **291**, läuft nur in Anwesenheit von ATP ab und ist damit ein Weg, die Zahl der lebenden Zellen zu bestimmen.⁵⁴⁰

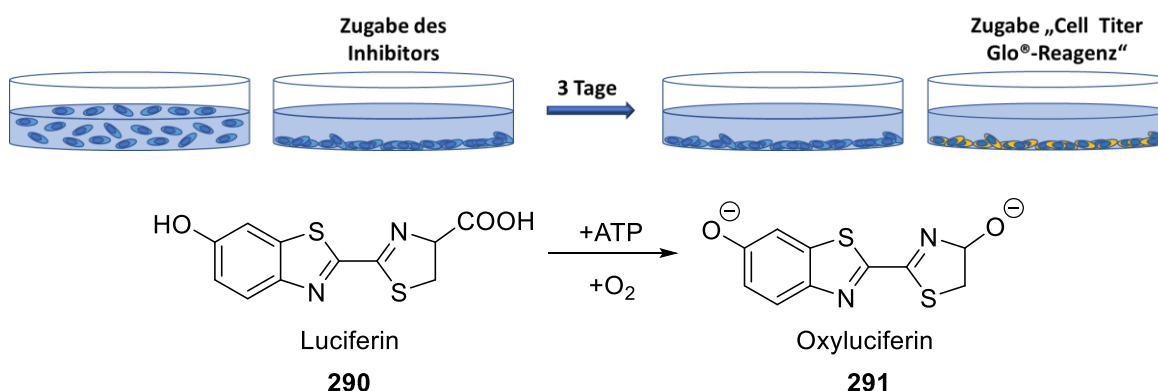


Abb. 37: Überblick über den Ablauf des Cell Titer Glo®-Assays. Der jeweilige Inhibitor wird den Zellen 3 d inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeit wird das Cell Titer Glo®-Reagenz zugegeben und die Lumineszenz als Parameter für die Zellviabilität gemessen. Der Assay beruht auf der ATP-katalysierten Reaktion von Luciferin **290** zu Oxyluciferin **291**.⁵⁴⁰

Beispielhaft werden im Folgenden die Testergebnisse für die enzymatischen Assays der Verbindungen **150b**, **151b**, **214b** und **215b** graphisch dargestellt (Abb. 38).

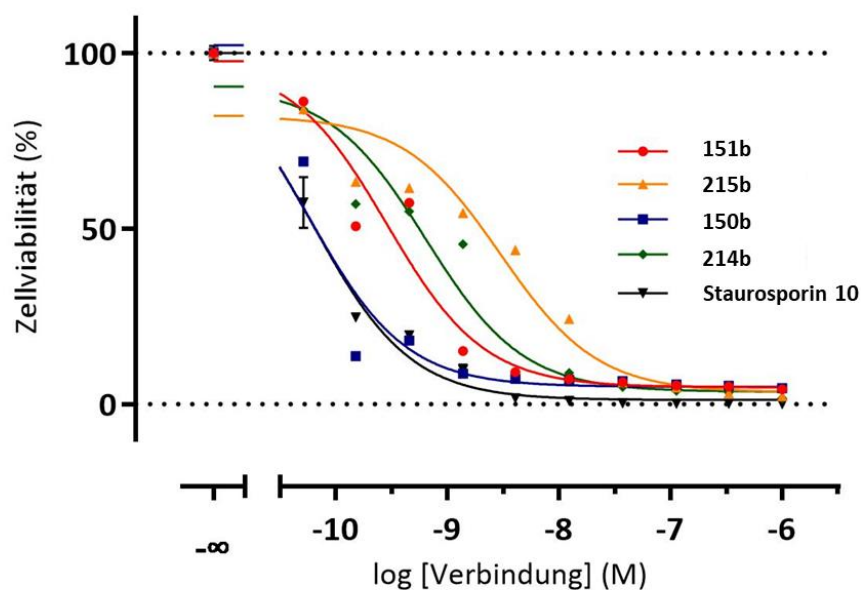


Abb. 38: Beispielhafte Darstellung der Viabilitätskurven von MV4-11 Zellen, erhalten aus dem CellTiterGlo®-Assay, mit den Substanzen **151b**, **215b**, **150b** und **214b** verglichen mit der Referenz Staurosporin **10**. Die Graphen wurden auf Basis der von der Firma ReactionBiology erhaltenen Daten mit dem Programm GraphPad Prism 9 erstellt.

Die aus der Testreihe der Verbindungen aus **Stoffgruppe VI** erhaltenen IC_{50} -Werte sowie der Referenzverbindung Staurosporin **10** sind in Tabelle 12 gelistet.

Tabelle 12: IC_{50} -Werte aller getesteten Moleküle mit **Grundstruktur VI** aus dem Proliferationsassay mit MV4-11-Zellen. Die anti-proliferative Aktivität der neun Verbindungen wurde im ZellTiter-Glo® Viability Assay bestimmt. Der IC_{50} -Wert der Referenzverbindung Staurosporin **10** ist ebenfalls angegeben.

Grundstruktur VI					
Verbindung	147b	149b	151b	152a	153a
IC_{50} [nM]	0.50	0.58	0.27	0.13	0.31
Verbindung	150b	158	185b	186b	10
IC_{50} [nM]	0.07	0.42	0.17	0.24	0.06

Daneben wurden einige Carbamate der **Stoffgruppe VII** untersucht. Die Ergebnisse dieser Testreihe sind in Tabelle 13 aufgelistet. Zusätzlich ist auch hier der IC_{50} -Wert der Referenzverbindung Staurosporin **10** angegeben.

Tabelle 13: IC₅₀-Werte aller getesteten Moleküle mit **Grundstruktur VII** aus dem Proliferationsassay mit MV4-11-Zellen. Die anti-proliferative Aktivität der fünf Verbindungen wurde im ZellTiter-Glo® Viability Assay bestimmt. Der IC₅₀-Wert der Referenzverbindung Staurosporin **10** ist ebenfalls angegeben.

Grundstruktur VII						
Verbindung	211b	212b	213b	214b	215b	10
IC ₅₀ [nM]	0.38	135	8.9	0.48	1.42	0.06

Einige der synthetisierten Substanzen zeigen sehr niedrige IC₅₀-Werte im Proliferationsassay mit MV4-11 Zellen. Vor allem die Verbindungen der **Stoffgruppe VI** hemmen die Proliferation der AML-Zelllinie im sub-nanomolaren Bereich stark, wobei das Dimethylamin-Derivat **150b** (IC₅₀ = 0.07 nM) herausragende Ergebnisse liefert. Die Verbindung zeigt in diesem Testsystem vergleichbare Werte mit der Referenzsubstanz, dem unspezifischen Multikinase-Inhibitor Staurosporin **10** (IC₅₀ = 0.06 nM). Bei den Carbamaten der **Stoffgruppe VII** geben sich für Morpholin-Verbindung **211b** (IC₅₀ = 0.38 nM) und ein Molekül mit Dimethylamin-Rest **214b** (IC₅₀ = 0.48 nM) die besten Ergebnisse.

In früheren Arbeiten wurden bereits Midostaurin **1** (IC₅₀ = 21 nM) und Marbotinib **20** (IC₅₀ = 0.64 nM) in demselben Testsystem evaluiert.³²⁴ Alle getesteten Verbindungen der **Stoffgruppe VI** zeigen eine vergleichbare oder sogar bessere Wirksamkeit im Vergleich mit Marbotinib **20** und eine deutlich wirksamere Inhibierung der Proliferation verglichen mit dem Multikinase-Inhibitor Midostaurin **1**. Von den Molekülen der **Stoffgruppe VII** zeigen **211b** und **214b** eine mindestens vergleichbare antiproliferative Wirksamkeit auf die MV4-11-Zellen wie Marbotinib **20**.

3.2.2. Proliferations-Assay mit Ba/F3 pMIY-Mutanten

Diese Testreihe wurde von Marina Able (Ludwig-Maximilian-Universität München, Medizinische Fakultät III) durchgeführt, und die gesamte fachliche Auswertung, die im folgenden Abschnitt der Arbeit gezeigt ist, stammt auch von Marina Able.

Wie bereits beschrieben, kann es bei der Behandlung von AML zu therapie-assoziierten Mutationen kommen. Da diese sekundären Mutationen eine Resistenz auf bestimmte Wirkstoffe hervorrufen können, wurden Untersuchungen mit Zellen, die ebensolche Mutationen oder Kombinationen von Mutationen tragen, durchgeführt. Dazu wurden sowohl die beiden ausgewählten Substanzen **150c** und **151c** der **Grundstruktur VI** als auch ihre Carbamate **214c** und **215c** der **Grundstruktur VII** in einem Proliferations-Assay mit Ba/F3-Zellen, die die FLT3-

Mutationen NPOS, NPOS N676K, NPOS D835Y, D835Y oder N676K D835Y tragen, untersucht. NPOS betrifft die JMD von FLT3 und stellt eine Längenmutation dar, während es sich bei den Mutationen D835Y und N676K um sehr häufige Punktmutation handelt. Alle Substanzen wurden in diesem Testsystem als HCl-Salze eingesetzt und ihre antiproliferative Wirksamkeit untersucht. Quizartinib **6**, Midostaurin **1** und Marbotinib **20** wurden als Referenz verwendet, um die neuen Wirkstoffe hinsichtlich ihrer Aktivität einzuordnen. Die Zellen wurden mit den Verbindungen inkubiert und die Anzahl der noch lebenden Zellen nach 72 h mit einem *Vi-Cell Cell Viability Analyzer* bestimmt. Die entspr. IC₅₀-Werte wurden von Marina Able bestimmt und sind in Tabelle 14 zu sehen.

Alle getesteten Verbindungen **150c**, **151c**, **214c** und **215c** zeigen starke inhibitorische Fähigkeiten der Proliferation der Ba/F3-Zellen mit der klinisch besonders relevanten FLT3-ITD-Mutante (NPOS). Die entspr. IC₅₀-Werte liegen in einem niedrigen nanomolaren Bereich (0.29-10.51 nM), wobei **150c** besonders herausragte. Der IC₅₀-Wert der Verbindung übertrifft sowohl den IC₅₀-Wert von Midostaurin (8.17 nM) als auch den IC₅₀-Wert von Quizartinib (1.36 nM). Darüberhinaus ergab die Testreihe für **150c** absolut vergleichbare bzw. leicht verbesserte IC₅₀-Werte wie für Marbotinib (0.55 nM). Das zugehörige Carbamat **214c** stellte sich in dieser Testreihe als etwas weniger wirksam heraus, zeigte allerdings trotzdem eine höhere Aktivität (IC₅₀ = 3.34 nM) als der Multikinase-Inhibitor Midostaurin **1** (s. Abb. 39A).

Neben den ITD-Mutationen können, wie bereits beschrieben, Mutationen in der Tyrosinkinase-Domäne auftreten. Diese Mutationen können primär oder sekundär sein und verleihen oft Resistenzen gegenüber Tyrosinkinase-Inhibitoren. Dazu wurden in diesem Testsystem Ba/F3-Zellen mit weiteren Mutationen verwendet (s. Tabelle 14). Verbindung **150c** zeigte in den Testreihen mit allen anderen getesteten mutierten FLT3-Versionen eine höhere Wirksamkeit als Quizartinib **6** und eine mindestens vergleichbare Wirksamkeit wie Midostaurin **1** (s. Abb. 39A). Tragen die Ba/F3 pMIY-Zellen mit einer ITD-Mutation eine zusätzliche N676K-Punktmutation, kann eine gewisse Resistenz gegenüber Midostaurin **1** (IC₅₀ = 71.93 nM) festgestellt werden, während **150c** sich weiterhin hochwirksam zeigt (IC₅₀=2.07 nM). Die ebenfalls häufig auftretende Punktmutation D835Y wiederum erzeugt eine gewisse Resistenz gegenüber Quizartinib **6** (IC₅₀ = 4.78 nM), wobei **150c** auch gegenüber dieser Mutante vielversprechende inhibitorische Fähigkeiten aufweist (IC₅₀ = 0.77 nM).

Tabelle 14: Mittlere IC₅₀-Werte und Standardabweichung der ausgewählten Moleküle **150c**, **151c**, **214c** und **215c** (in nM) aus dem Proliferationsassay mit verschiedenen FLT3-mutierten Ba/F3-Zellen (NPOS, NPOS N676K, NPOS D835Y, D835Y und N676K D835Y). Die Werte wurden mit den Referenzsubstanzen Midostaurin **1**, Quizartinib **6** und Marbotinib **20** verglichen.

Verbindung	IC ₅₀ [nM]				
	NPOS	NPOS N676K	NPOS D835Y	D835Y	N676K D835Y
150c	0.29± 0.03	2.07± 0.22	11.69± 1.60	0.77± 0.10	7.44
151c	2.87± 0.18	12.59± 1.07	19.82± 2.60	3.27± 0.46	14.37
214c	3.34± 0.26	17.78± 2.20	87.39± 12.0	9.36± 1.24	78.4
215c	10.51± 0.93	37.22± 2.83	290.4± 77.38	31.69± 5.59	275
1	8.17± 0.70	71.93± 7.49	6.03± 1.26	1.22± 0.10	5.82
6	1.36± 0.09	6.68± 0.91	26.87± 3.81	4.78± 0.43	19.83
20	0.55± 0.03	2.69± 0.14	3.15± 0.28	0.70± 0.08	3.11

Als nur geringfügig weniger wirksam als der Inhibitor **150c** gegenüber allen vorgestellten Mutationen stellt sich Verbindung **151c** heraus. Auch diese Verbindung zeigt absolut vergleichbare IC₅₀-Werte wie Quizartinib **6**, erreicht allerdings nicht ganz die anti-proliferative Wirksamkeit von Marbotinib **20**. Eine graphische Darstellung über alle von Marina Able erhaltenen Ergebnisse ist in Abb. 44 gezeigt. Neben den jeweiligen Graphen ist die entspr. Mutation bildlich dargestellt.

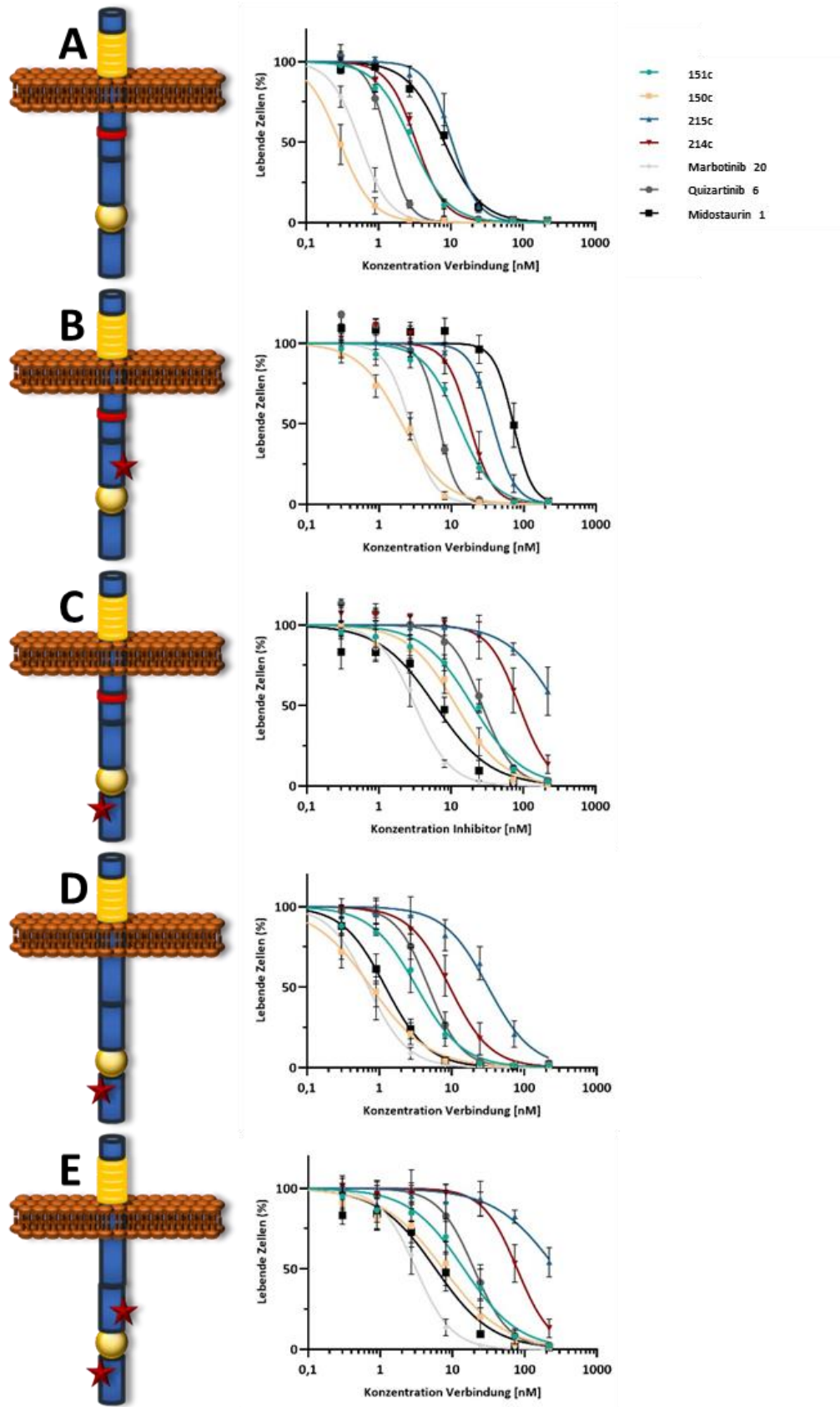


Abb. 39: Darstellung der Viabilitätskurven der verschiedenen Mutationen von Ba/F3 pMIY-Zellen, erhalten aus dem Proliferations-Assay mit den Substanzen **150c**, **151c**, **214c** und **215c** und verglichen mit Marbotinib **20**, Quizartinib **6** und Midostaurin **1**. (A) ITD-Mutation NPOS, (B) ITD-Mutation NPOS und TKD-Mutation N676K, (C) ITD-Mutation NPOS und TKD-Mutation D835Y, (D) TKD-Mutation D835Y, (E) TKD-Mutation N676K und TKD-Mutation D835Y. Die Graphen wurden aus den von Marina Able erhaltenen Daten mit dem Programm GraphPad Prism 9 erstellt.

Die Verbindungen **151c** und **214c** wirken zwar allgemein schwächer als **150c**, inhibierten allerdings alle getesteten Varianten von FLT3-Mutationen in einem niedrigen nanomolaren Bereich (<100 nM). Das Carbamat **215c** ist die schwächst-wirksame Verbindung. Durch die potenzielle Prodrug-Struktur der Carbamate könnte allerdings *in vivo* eine deutlich höhere Aktivität erwartet werden. Zusammenfassend wurde die Summe der einzelnen IC₅₀-Werte gebildet und im Folgenden graphisch dargestellt (Abb. 40).

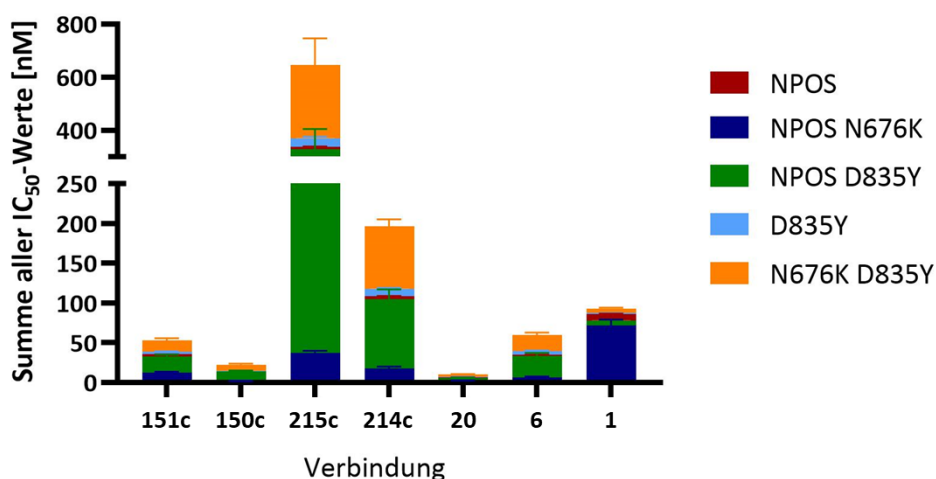


Abb. 40: Darstellung der Summe aller bestimmten IC₅₀-Werte der verschiedenen Mutationen von Ba/F3 pMIY-Zellen, erhalten aus dem Proliferations-Assay mit den Substanzen **150c**, **151c**, **214c** und **215c** und verglichen mit Marbotinib **20**, Quizartinib **6** und Midostaurin **1**. Die Abb. wurde aus den von Marina Able erhaltenen Daten mit dem Programm GraphPad Prism 9 erstellt.

3.2.3. Apoptose-Assay mit Ba/F3 pMIY-Mutanten

Die Testreihe wurde von Marina Able (Ludwig-Maximilian-Universität München, Medizinische Fakultät III) durchgeführt. Auch die fachliche Auswertung, die im folgenden Abschnitt der Arbeit übernommen wurde, stammt von Marina Able (Ludwig-Maximilian-Universität München, Medizinische Fakultät III).

Neben der Inhibierung des Wachstums von Krebszellen zielt eine Therapie ebenfalls darauf ab, die betroffenen Zellen durch die Einleitung der Apoptose abzutöten. Daher wurde die Wirksamkeit der Substanzen **150c** und **151c**, sowie ihrer Carbamate **214c** und **215c** in Bezug auf die Induktion von Apoptose in den entspr. Zielzellen in einem weiteren zellulären Assay untersucht. Apoptose wurde dabei mittels Färbung mit Annexin V und anschließender Durchflusszytometrie detektiert. Die Ba/F3 pMIY-Zellen mit den entspr. Mutationen wurden davor 48 h mit bis zu 100 nM der ausgewählten Verbindungen inkubiert. Alle Substanzen wurden in diesem Testsystem ebenfalls als HCl-Salze eingesetzt, wobei Quizartinib **6**, Midostaurin **1** und Marbotinib **20** als Referenz verwendet wurden.

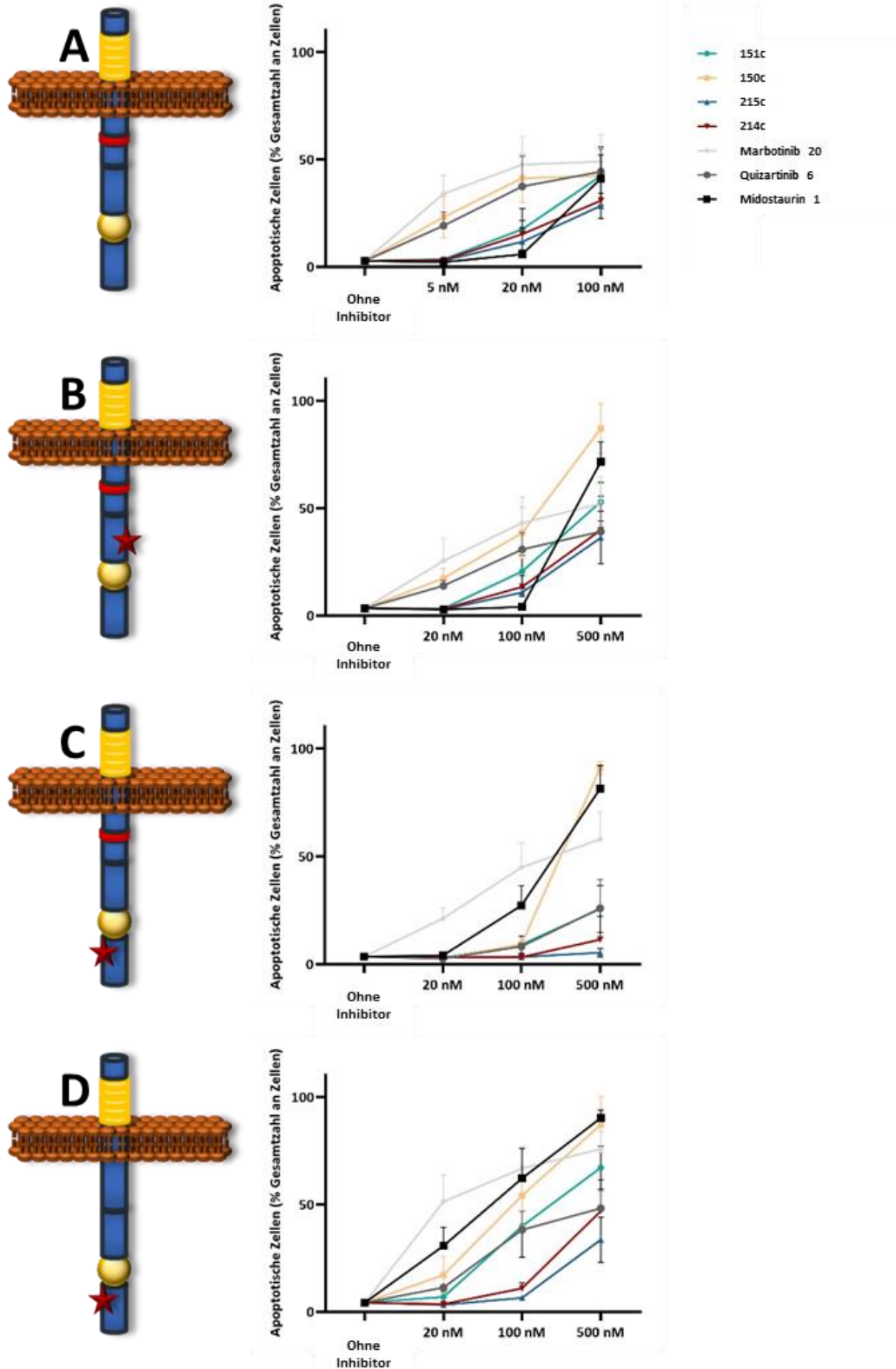


Abb. 41: Darstellung der Apoptosekurven der verschiedenen Mutationen von Ba/F3 pMLY-Zellen erhalten aus dem Apoptose-Assay mit den Substanzen **150c**, **151c**, **214c** und **215c** verglichen mit Marbotinib **20**, Quizartinib **6** und Midostaurin **1**. (A) ITD-Mutation NPOS, (B) ITD-Mutation NPOS und TKD-Mutation N676K, (C) ITD-Mutation NPOS und TKD-Mutation D835Y, (D) TKD-Mutation D835Y. Die Graphen wurden aus den von Marina Able erhaltenen Daten mit dem Programm GraphPad Prism 9 erstellt.

Bei Betrachtung der therapeutisch wichtigen ITD (NPOS)-Mutation führten alle getesteten Verbindungen zu einem maximalen Anteil apoptotischer Zellen zwischen 28.34 (**215c**) und 42.37% (**151c**). **150c** und **214c** stellten sich als die wirksamsten Verbindungen heraus (Abb. 41A) und es konnte ein dosis-abhängiger Anstieg apoptotischer Zellen festgestellt werden.

Die Ergebnisse des Apoptose-Tests stehen im Einklang mit den Ergebnissen des Proliferationstests. **150c** und **151c** erwiesen sich als die potentesten Apoptose-induzierenden Verbindungen (Abb. 41A und B). **150c** zeigte sich als hochwirksam verglichen mit Quizartinib **6** in den D835Y-Zellen (54.11% im Gegensatz zu 38.19% apoptotische Zellen bei 100 nM). Weiterhin zeigte **150c** hohe Wirksamkeit verglichen mit Midostaurin **1** (38.43% im Gegensatz zu 3.96% apoptotische Zellen bei 100 nM). Alle getesteten Verbindungen zeigten ein vergleichbares apoptotisches Potenzial mit Quizartinib **6** und Midostaurin **1** und lösten bei einem hohen Prozentsatz der Zellen in allen getesteten Zelllinien bei etwa 100-500 nM Apoptose aus.

3.2.4. Selektivität in einem zellulären System

Zur weiteren Evaluierung der biologischen Wirksamkeit wurden die Verbindungen **150b** und **151b** der **Grundstruktur VI** und die entspr. Carbamate **214b** und **215b** der **Grundstruktur VII** in einem weiteren Zellviabilitäts-Assay analysiert. Alle Verbindungen wurden als TFA-Salze eingesetzt. Dazu wurde von der Firma Charles River Laboratories unter der Leitung von Dr. Gerhard Kelter ein CellTiter-Blue® Cell Viability Assay durchgeführt und die antiproliferative Wirksamkeit gegenüber den vier Zelllinien EOL-1 (akute myeloische eosinophile Leukämie, FLT3-WT), MOLM-13 (akute myeloische Leukämie, heterozygote FLT3-ITD), MONO-MAC-1 (akute monozytische Leukämie, aktivierende Punktmutation FLT3-V592A) und MONO-MAC-6 (akute monozytische Leukämie, aktivierende Punktmutation FLT3-V592A) untersucht. Abb. 42 zeigt die Kurven, die mit Hilfe der von Charles River Laboratories erhaltenen Daten erstellt wurden (**A**: EOL-1, **B**: MOLM-13, **C**: MONO-MAC-1, **D**: MONO-MAC-6), wobei dabei die T/C-Werte (Test vs. Control) gegen den Logarithmus der Konzentration des Inhibitors aufgetragen sind.

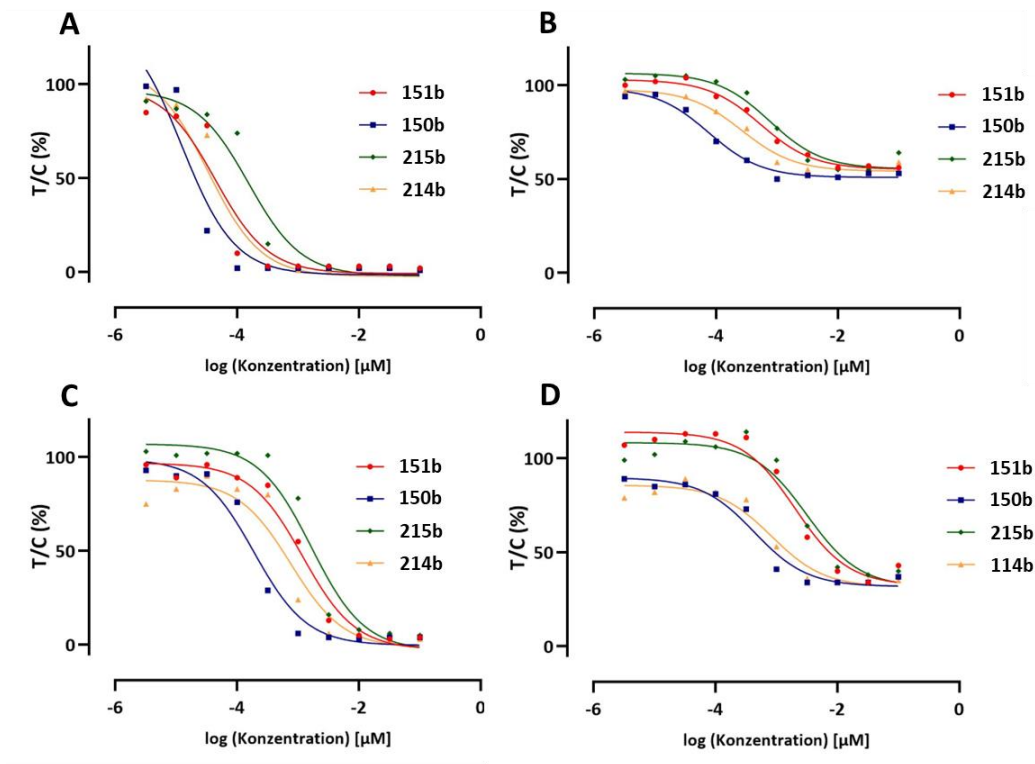


Abb. 42: Darstellung der T/C-Kurven (Test vs. Control) verschiedener leukämischer Zellen bei Behandlung mit verschiedenen Wirkstoffen, erhalten aus dem CellTiterBlue® Cell Viability-Assay. Die Graphen des Proliferationsassays mit der Zelllinie EOL-1 (A), MOLM-13 (B), MONO-MAC 1 (C) und MONO-MAC 6 (D) für die Substanzen **150b**, **151b**, **214b** und **215b** sind abgebildet. Die Graphen wurden aus den von der Firma Charles River Laboratories erhaltenen Daten mit dem Programm GraphPad Prism 9 erstellt.

Im Folgenden sind die erhaltenen IC_{50} -Werte aus dem durchgeführten Proliferations-Assay in einem Blasendiagramm gezeigt, wobei stärkere Inhibitionsfähigkeit mit einer Blase größeren Durchmessers dargestellt ist. Zusätzlich sind die einzelnen Werte in jeder Blase in μM angegeben. Diese Werte wurden direkt aus dem Abschlussbericht der o.a. Firma übernommen wurden.

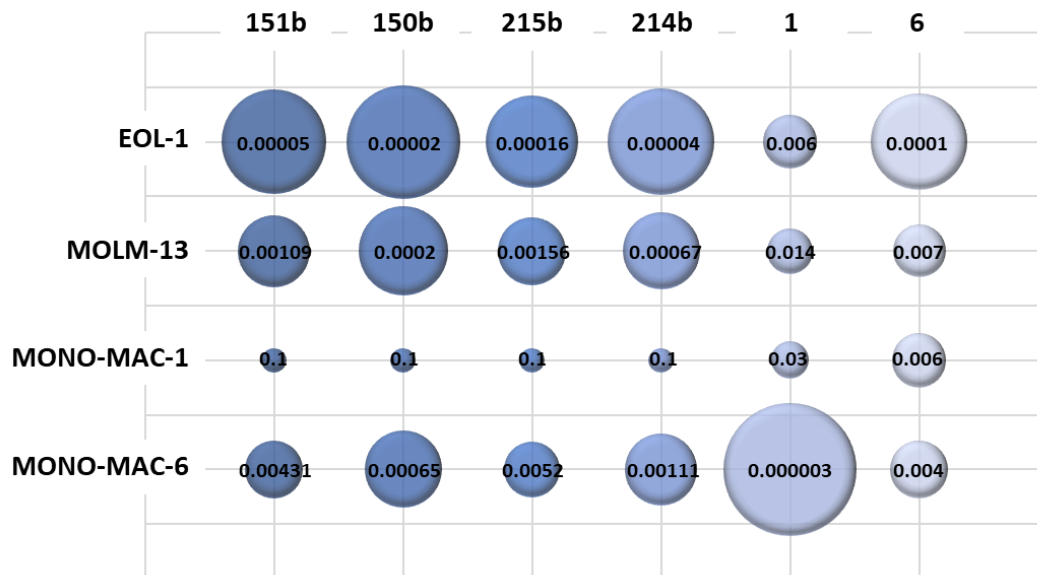
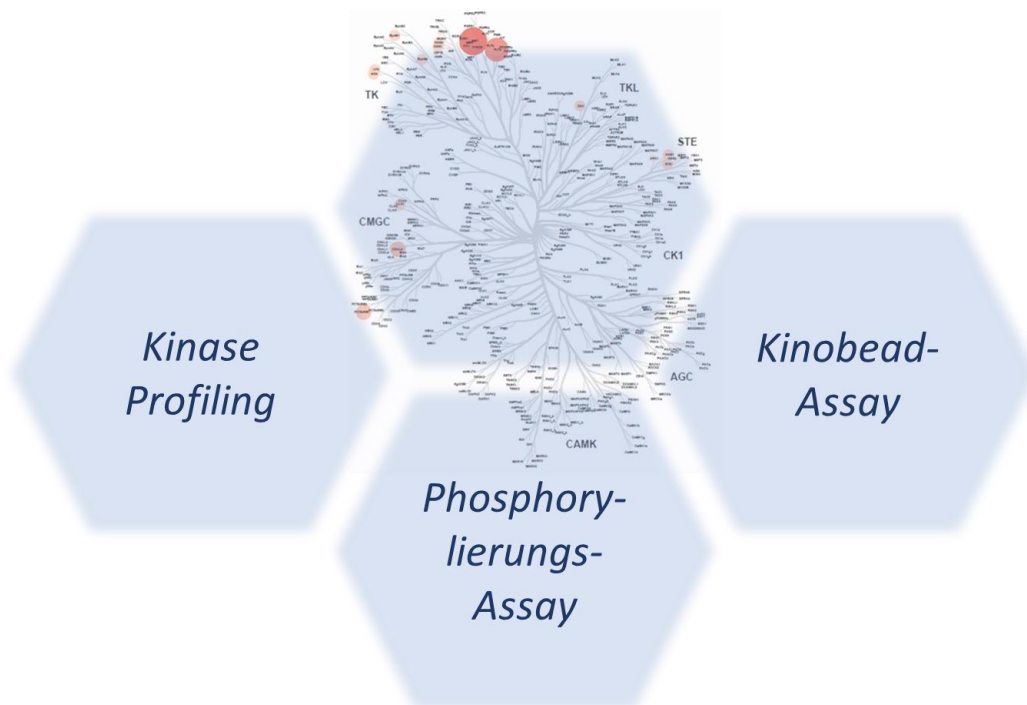


Abb. 43: Vergleich der IC_{50} -Werte des Proliferationstests einzelner Substanzen gegenüber den vier verschiedenen leukämischen Zelllinien in einem 3-dimensionalen Blasendiagramm. Der Durchmesser der jeweiligen Blase gibt dabei die Stärke der antiproliferativen Aktivität des jeweiligen Inhibitors an. Die IC_{50} -Werte sind zusätzlich in den Blasen angegeben.

Alle vier getesteten Substanzen zeigten hohe Aktivität auf alle vier Zelllinien. **150b** zeigte die im Gesamten die niedrigsten IC_{50} -Werte. Bei Betrachtung der vier ausgewählten Zelllinien stellte sich EOL-1 als die sensitivste Linie heraus. Die individuellen IC_{50} -Werte lagen zwischen 0.02 nM und 0.16 nM.

3.3. SELEKTIVITÄT

Nach ausführlicher Evaluierung der neuen Wirkstoffe in enzymatischen und in zellulären Testsystemen, sollte die Selektivität ausgewählter synthetisierter Kinase-Inhibitoren untersucht werden. Dazu wurde in einem enzymatischen Assay die Inhibition gegenüber FLT3 im Vergleich zu anderen Rezeptor-Tyrosinkinasen untersucht. Außerdem wurde die Inhibierung von c-KIT und FLT3-ITD im Rahmen eines Phosphorylierungs-Assays getestet. Zusätzlich wurde die Bindung und damit die potenziell-hemmende Wirkung der Moleküle auf weitere Kinasen aus einer breiten Datenbank in einem Kinobead-Assay analysiert.⁵⁴¹



3.3.1. Kinaseprofil

Die folgende Testreihe wurde von der Firma Reaction Biology Corporation (Malvern, PA, United States) durchgeführt. Dabei wurde in Enzymtests das Potential der ausgewählten Verbindungen **214b** und **215b** zur Hemmung der Aktivität von acht ausgewählten Tyrosinkinase bestimmt. Die synthetisierten Verbindungen wurden in einem Kinase-Assay nach der Anleitung von Reaction Biology unter Verwendung von 10 μM ATP geprüft. Bei beiden Derivaten wurde die inhibitorische Wirkung des TFA-Salzes (**b**) evaluiert. Abb. 44 zeigt eine graphische Darstellung der Testergebnisse auf Basis der von Reaction Biology erhaltenen Daten. Dabei werden jeweils beide Wirkstoffe mit einer entspr. Referenz verglichen.

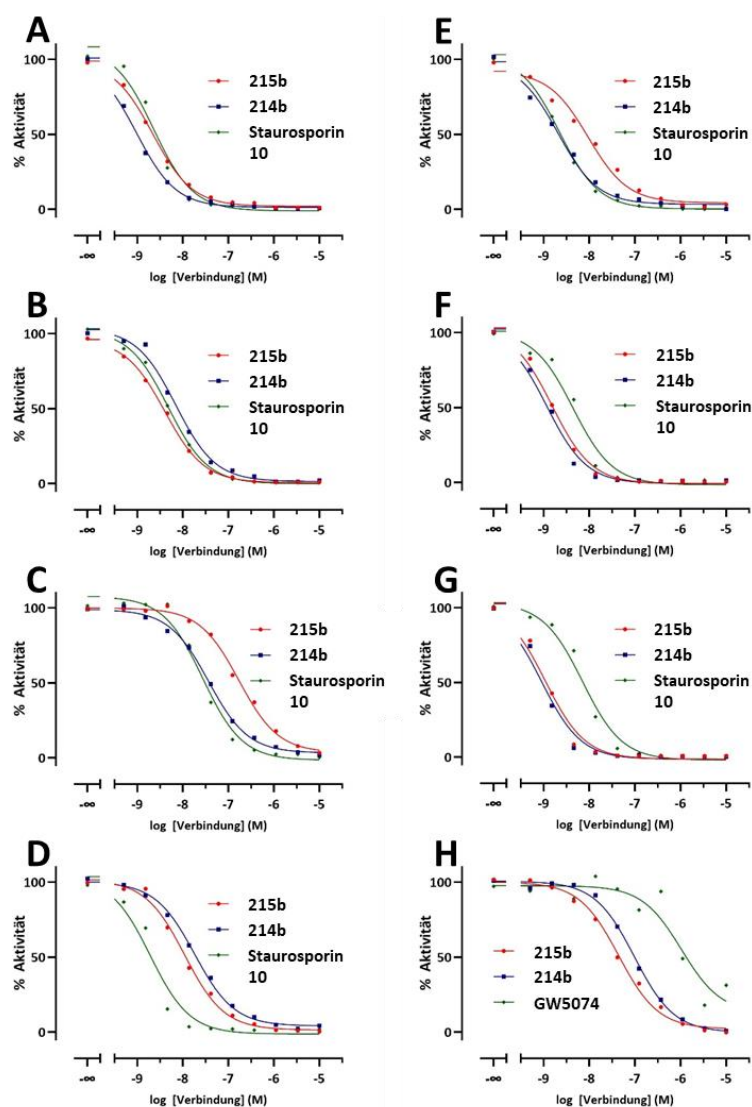


Abb. 44: Darstellung der Inhibitionskurven der Substanzen **214b**, **215b** verglichen mit der Referenz Staurosporin **10** bzw. GW5074 aus dem enzymatischen Assay gegenüber verschiedenen Kinasen. Graphen für die Testergebnisse bezüglich der Hemmung der Enzymaktivität von c-KIT (**A**), cSrc (**B**), CDK16 (**C**), DDR2 (**D**), PDGFR α (**E**), PDGFR β (**F**), RET (**G**) und ZAK (**H**) sind dargestellt. Alle Graphen wurden auf Basis der von der Firma ReactionBiology erhaltenen Daten mit dem Programm GraphPad Prism 9 erstellt.

Die von o.a. Firma aus den Graphen bestimmten IC₅₀-Werte sind in Tabelle 15 aufgeführt.

Tabelle 15: IC₅₀-Werte der Verbindungen **214b** und **215b** sowie einer jeweiligen Referenz bezüglich der Inhibierung der Enzymaktivität ausgewählter Kinasen.

Kinase	IC ₅₀ [nM]			
	215b	214b	Stauro- sporin 10	GW5074
c-KIT	2.30	1.00	0.577	
c-Src	4.03	7.51	1.31	
CDK16/cyclin-Y (PCTAIRE)	185	38.4	12.0	
DDR2	11.3	18.8	0.515	
PDGFR α	8.61	1.99	0.517	
PDGFR β	1.62	1.28	1.47	
RET	1.22	1.01	2.45	
ZAK/MLTK	43.1	97.7		2050

Anhand der von Reaction Biology erhaltenen IC₅₀-Werten zeigt sich, dass beide Verbindungen **214b** und **215b** die Aktivität der meisten Kinasen weniger beeinflussen als die Referenzsubstanz Staurosporin **10**. Die einzige Ausnahme ist PDGFR β dar, bei der für die Verbindungen **214b** (IC₅₀ = 1.28 nM) und **215b** (IC₅₀ = 1.62 nM) ähnliche IC₅₀-Werte erhalten werden wie für Staurosporin **10** (IC₅₀ = 1.47 nM). Zur besseren Übersicht werden die Ergebnisse graphisch als Netzdiagramm dargestellt und zur anschaulicheren Darstellung die pIC₅₀-Werte verwendet (Abb. 45).

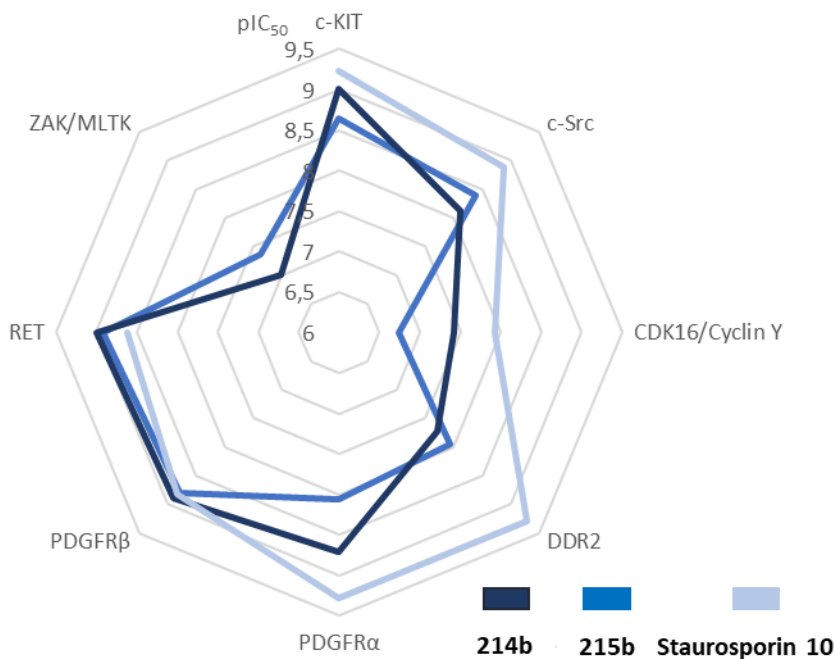


Abb. 45: Graphische Darstellung der pIC₅₀-Werte der Enzymtests zur Bestimmung der Inhibierung acht verschiedener Kinasen in einem Netzdiagramm. Alle Werte wurden von Reaction Biology erhalten. Die Werte für **214b**, **215b** und der Referenz Staurosporin **10** sind in verschiedenen Blautönen abgebildet.

Aus Tabelle 15 und Abb. 45 wird ersichtlich, dass außerdem die Aktivität der RET-Kinase durch **215b** (IC₅₀ = 1.22 nM) und **214b** (IC₅₀ = 1.01 nM) deutlich inhibiert wird. RET ist allerdings eine Kinase, die vor allem in der Embryonalentwicklung eine Rolle spielt, dabei für die Differenzierung von Neuronen verantwortlich ist und im erwachsenen Organismus keine Funktion besitzt.⁵⁴²

3.3.2. Phosphorylierungs-Assay in zellulären Systemen

Für alle Inhibitoren der Tyrosinkinase FLT3 ist es wichtig, dass neben der FLT3-Hemmung die Tyrosinkinase c-KIT möglichst schwach gehemmt wird.²³⁹ Daher wurden die Inhibierungen der Phosphorylierung von FLT3-ITD und c-KIT für die laut Enzym- und Zelltests vielversprechendsten Verbindungen **150** und **151** sowie deren Carbamate **214** und **215** in einem zellulären System untersucht. Alle Verbindungen wurden von der Firma Reaction Biology Germany (Freiburg, Deutschland) unter der Leitung von Dr. Daniel Feger als TFA-Salze **150b**, **151b**, **214b** und **215b** getestet.

3.3.2.1. Zelluläre Kinase-Aktivität FLT3-ITD

Für den Phosphorylierungstest mit FLT3-ITD wurde eine MEF-Zelllinie (Murine embryonale Fibroblasten) verwendet, die exogen eine große Menge an humanem FLT3-ITD in voller Länge exprimiert. Autophosphorylierung wurde mit humanem FL induziert, die von der Firma erhaltenen IC₅₀-Werte werden in Tabelle 16 gezeigt.

Tabelle 16: IC₅₀-Werte aus dem zellulären Phosphorylierungs-Assay mit FLT3-ITD. Die IC₅₀-Werte wurden von der Firma Reaction Biology bestimmt, Sunitinib **4** wurde als Referenz verwendet. Zusätzlich werden zu Vergleichszwecken entspr. von der Firma o.a. erhaltene Werte für Midostaurin **1** und Quizartinib **6** angegeben.

Verbindung	IC ₅₀ (Kinase activity) [nM]
151b	6.9
150b	3.1
215b	8.6
214b	2.5
Sunitinib 4	49
Midostaurin 1	1.3
Quizartinib 6	0.8

Alle vier Verbindungen inhibieren die Phosphorylierung von FLT3-ITD sehr stark. Verglichen mit dem kommerziell erhältlichen Multikinase-Inhibitor Sunitinib **4** ergeben sich deutlich niedrigere IC₅₀-Werte für die vier Verbindungen (2.5-8.6 nM) als für die Referenz-Verbindung (49 nM). Die stärkste inhibitorische Wirkung zeigte dabei **214b** (IC₅₀-Wert: 2.5 nM). Alle synthetisierten Inhibitoren zeigen eine annähernd vergleichbare Inhibierung der Phosphorylierung im durchgeführten Assay wie Midostaurin **1** (IC₅₀-Wert: 1.3) und Quizartinib **6** (IC₅₀-Wert: 0.81 nM). Daten dieser beiden Inhibitoren wurden auf Nachfrage direkt von der Firma Reaction Biology erhalten.

3.3.2.2. Zelluläre Kinase-Aktivität c-KIT

Für den Phosphorylierungstest mit c-KIT wurde die humane megakaryoblastische Zelllinie M07e verwendet, die endogen eine große Menge an Wildtyp-c-KIT exprimiert. Autophosphorylierung wurde durch Behandlung mit SCF induziert. Die von der Firma erhaltenen IC₅₀-Werte werden in Tabelle 17 gezeigt.

Tabelle 17: IC₅₀-Werte aus dem zellulären Phosphorylierungs-Assay mit c-KIT. Die IC₅₀-Werte wurden von der Firma Reaction Biology bestimmt, Sunitinib **4** wurde als Referenz verwendet.

Verbindung	IC ₅₀ (Kinase activity) [nM]
151b	3.2
150b	1.8
215b	6.4
214b	3.2
Sunitinib 4	0.9

Alle vier Verbindungen zeigen eine gewisse Inhibition der Phosphorylierung von c-KIT. Verglichen mit dem kommerziell erhältlichen Multikinase-Inhibitor Sunitinib **4** ergeben sich allerdings höhere IC₅₀-Werte für alle vier Verbindungen (1.8-6.4 nM) als für die Referenz-Verbindung (0.9 nM). Die Kinase wird nicht in dem Maße wie durch die Referenzsubstanz inhibiert. IC₅₀-Werte für die Inhibitoren Midostaurin **1** und Quizartinib **6** konnten auf Nachfrage nicht erhalten werden, und eine vergleichbare Testreihe für beide Substanzen liegt nicht vor.

3.3.3. Kinobead-Assay

Die Durchführung der Testreihe wurde von Dr. Maria Reinecke (Technische Universität München-Lehrstuhl für Proteomik und Bioanalytik) durchgeführt. Die gesamte fachliche Auswertung, die im folgenden Abschnitt der Arbeit gezeigt ist, stammt von Dr. Maria Reinecke.

Im Rahmen dieser Untersuchung wurde die Selektivität der vier Verbindungen **150**, **151**, **214** und **215** analysiert und alle Moleküle dabei als entspr. TFA-Salze **150b**, **151b**, **214b** und **215b** eingesetzt. In einem chemischen Proteomics-Assay wurden Kinase-Inhibitor-Profile (Kinobeads) erstellt. Die Durchführung der Testreihe ist im Folgenden kurz beschrieben. Lysate von fünf Krebszelllinien (OVCAR-8, SK-N-BE(2), MV4-11, Colo205 und K-562) werden in Anwesenheit bzw. in Abwesenheit der vier Verbindungen mit Kinobeads inkubiert, die mehr als 250 menschliche Kinasen erfassen. Grundlegend für diesen Versuch sind verschiedene unselektive Kinase-Inhibitoren, die an sogenannte „Beads“ gekoppelt sind. Diese Kinobeads sind in der Lage, reversibel an die ATP-Bindetasche der Kinasen zu binden. Verschiedene Konzentrationen des

Inhibitors und eine unbehandelte Kontrollgruppe werden verwendet, wobei der jeweilige Inhibitor und die Kinobeads um dieselbe Bindestelle der Kinase konkurrieren. Dies führt zu einem verringerten Vorkommen des Inhibitors an den Kinobeads. Da beide Wechselwirkungen reversibel sind, ergibt sich nach einiger Zeit ein thermodynamisches Gleichgewicht. Die Proteine werden anschließend von den Kinobeads eluiert, verdaut und das erhaltene Peptidgemisch mit LC-MS/MS analysiert. Die Grundannahme besteht darin, dass die erhaltene Signalintensität dabei proportional zur vorhandenen Menge an Protein ist. Daraus folgende Bindekurven werden auf Basis der relativen Intensitäten bei jeder Wirkstoffkonzentration bestimmt (Abb. 46).

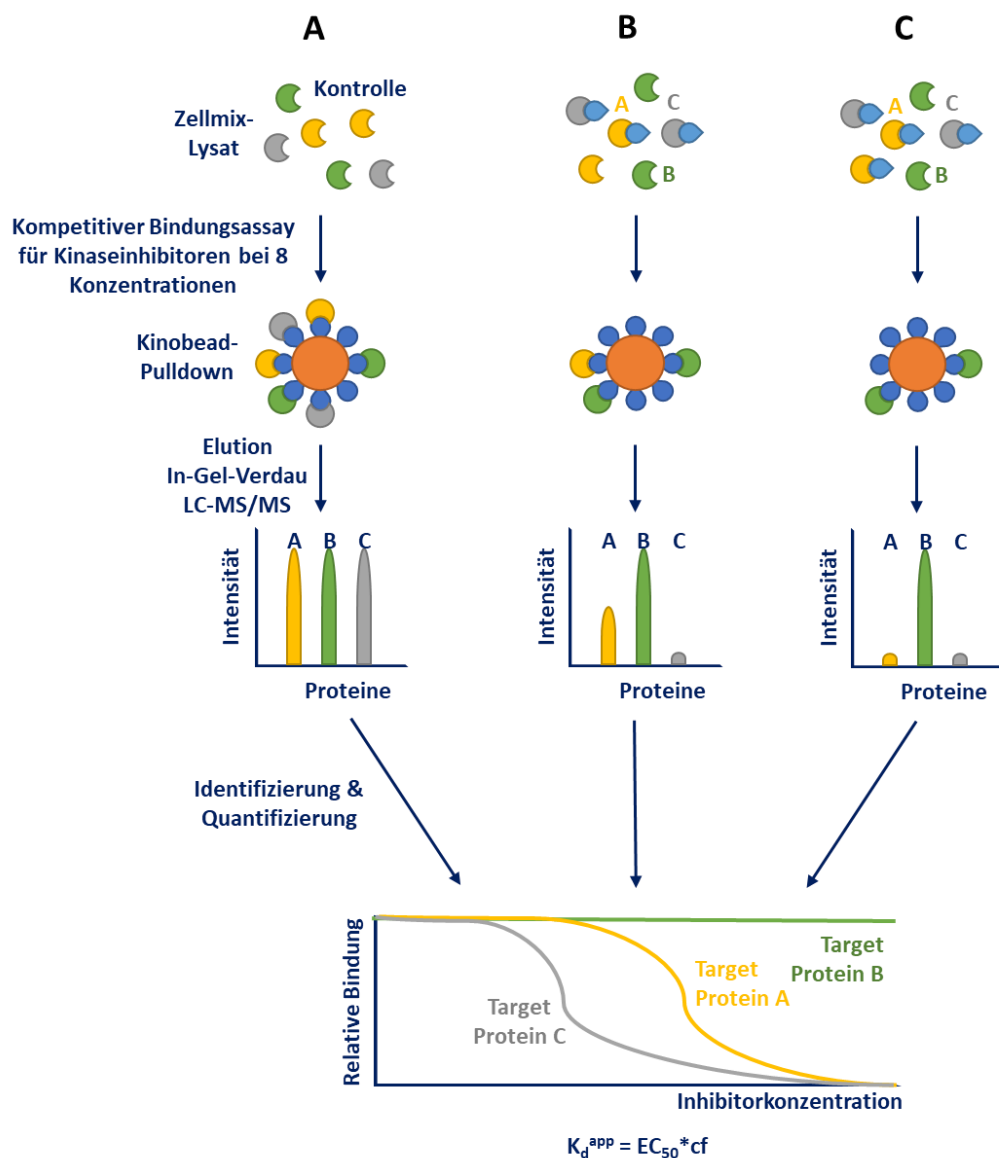


Abb. 46: Überblick zur schrittweisen Durchführung des Kinobead-Assays.⁵⁴¹ (A) Kontrolle ohne Wirkstoff, (B+C) Zugabe des Wirkstoffes beispielhaft in zwei verschiedenen Konzentrationen dargestellt. Der kompetitive Bindungsassay wurde mit acht verschiedenen Konzentrationen durchgeführt und die Kinobeads anschließend quantitativ untersucht. Nach Elution und In-Gel-Verdau wird eine massenspektrometrische Analyse vorgenommen (LC-MS/MS) und die potenziellen Zielproteine identifiziert.

Die K_d^{app} -Werte (negativer Logarithmus der scheinbaren Dissoziationskonstanten in M) für alle vier untersuchten Inhibitoren wurden bestimmt. Zur graphischen Darstellung der potenziellen Zielkinasen für Verbindung **150b** wurde die aus der Einleitung bekannte Kinom-Darstellung (vgl. Kapitel 1.4) als Baum verwendet, und alle Zielproteine, gegen die der Inhibitor aktiv ist, wurden quantitativ gekennzeichnet (Abb. 47). Der Durchmesser und die Farbintensität der einzelnen Kreise ist dabei abhängig von der Bindungsaffinität von **150b** an die jeweilige Kinase und bezieht sich auf die von Dr. Reinecke erhaltenen pK_d -Werte.

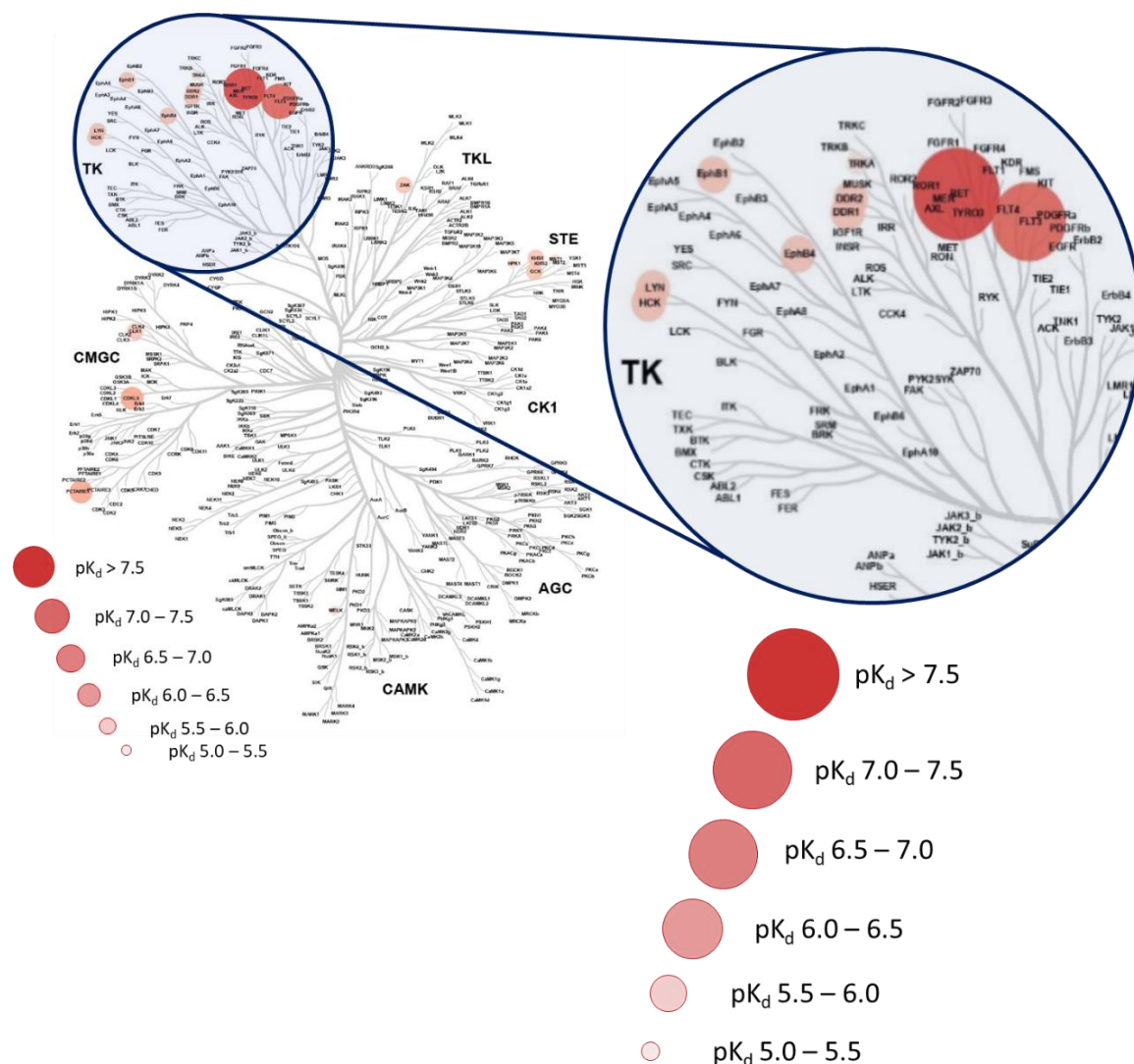


Abb. 47: Darstellung des gesamten Kinoms als „Kinase-Baum“. Die Kinase-Selektivität, basierend auf den pK_d -Werten [M] aus dem Kinobead-Assays von Verbindung **150b**, ist durch rote Kreise verschiedener Größe und Intensität gezeigt. Die Abb. wurde auf Basis der von Dr. Reinecke erhaltenen Daten mit dem Programm „Coral“ erstellt (<http://phanstiellab.med.unc.edu/CORAL/>).^{89; 94}

Die Kinaseaktivität aller vier Verbindungen ist in tabellarischer Form gezeigt. Die zugehörige Farbskala ist ebenfalls angegeben. Alle Verbindungen mit Ausnahme von **214b** zeigen eine konzentrationsabhängige Verringerung der Intensität von FLT3 auf die Kinobeads. Für Verbindung **214b** konnte FLT3 nicht quantifiziert werden (Tabelle 18 und

Tabelle 19).

Tabelle 18: Farbskala zur Darstellung der pK_d -Werte der Bindung des Inhibitors mit einigen Zielkinasen.

Farbe	pK_d (M)
	8.5-9.0
	8.0-8.5
	7.5-8.0
	7.0-7.5
	6.5-7.0
	6.0-6.5
	5.5-6.0
	5.0-5.5
	4.5-5.0
	4.0-4.5
	3.5-4.0
	3.0-3.5

Tabelle 19: Darstellung der pK_d -Werte der Bindung des Inhibitors mit einigen Zielkinasen. Der Farbcode zeigt den pK_d^{app} Bereich der Wechselwirkung zwischen Wirkstoff und der jeweiligen Kinase an.

	150b	151b	214b	215b
ZAK	5.64	5.95	6.71	6.39
CDK16	5.87	6.15	6.60	6.45
DDR2	6.13	5.80	6.25	6.17
CDKL5	6.12	6.07	6.41	6.24
NTRK1	6.40	5.48	6.75	6.60
DDR1	6.68	5.65	6.40	6.08
RET	7.76	7.68	8.95	8.60
FLT3	6.97	7.01		8.96
TANK			5.61	5.84

Pharmakologischer Teil

EPHA4			5.62	5.85
EPHB2			5.48	5.78
TBKB1			5.66	5.61
AXL			5.67	5.59
AZI2			5.64	5.71
TBK1			5.37	5.65
EPHB3			5.47	5.50
LCK			5.12	6.43
FYN			6.13	5.99
EPHA2			6.09	6.22
YES1			5.86	6.02
EPHA5			5.66	5.99
PDGFR β			6.61	6.05
CLK4			6.55	5.97
FRK	5.29		6.43	5.99
MAP4K1		5.49	6.06	6.34
CLK1		5.70	6.13	6.47
HCK		5.73	5.85	6.23
EPHB4		5.73	6.52	6.60
MAP4K5		5.81	5.27	6.75
MELK		5.47	5.78	5.55
LYN	4.24	5.66	6.19	6.37
TNIK			5.23	
ABL1			5.26	
CCNT2			5.33	
PTK2			5.06	
MAP2K5			5.61	
CDK9			4.44	

STK4		5.48		5.60
EPHB1		5.53		5.78
MAP4K2		5.73		6.92
MAPK9				5.77
MAP4K3				5.91
STK3				5.64
IRAK4				5.59
CCNT1				5.51
EPHA7				6.28
CDK17				6.55

Alle Verbindungen binden neben FLT3 auch stark an die Kinase RET, was allerdings aus bereits beschriebenen Gründen (vgl. Kapitel 3.3.1) vernachlässigbar ist. Alle weiteren Kinasen, die als potenzielle Zielproteine erkannt wurden, zeigen laut Kinobead-Assay geringere Affinität zu FLT3, wobei die beiden Alkohole **150b** und **151b** Affinität zu deutlich weniger Zielproteinen zeigen als die Carbamate **214b** und **215b**. Allgemein weist Verbindung **150b** die höchste Selektivität für FLT3 im Kinobead-Assay auf und erweist sich als sehr selektiver FLT3-Inhibitor.

Die zugehörigen Dosis-Wirkungs-Kurven für FLT3 nach den kompetitiven Experimenten des Kinobead-Assays für **150b**, **151b** und **215b** sind in Abb. 48 gezeigt.

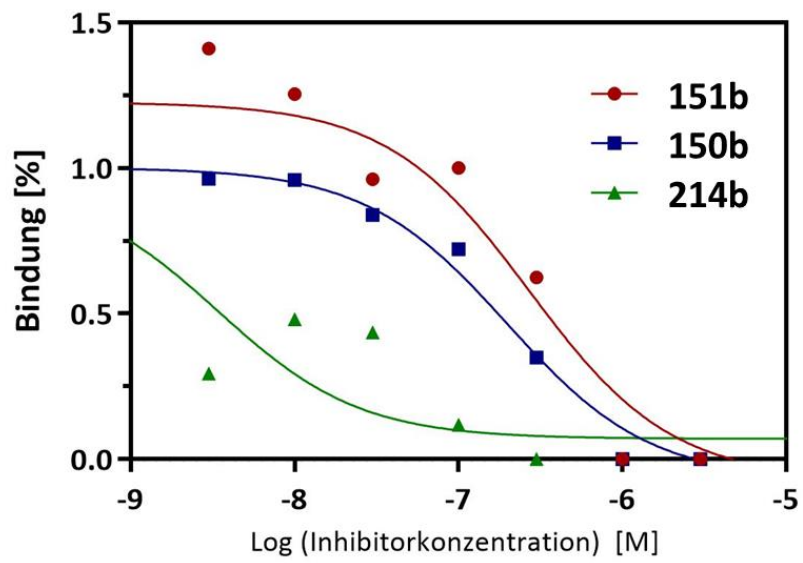
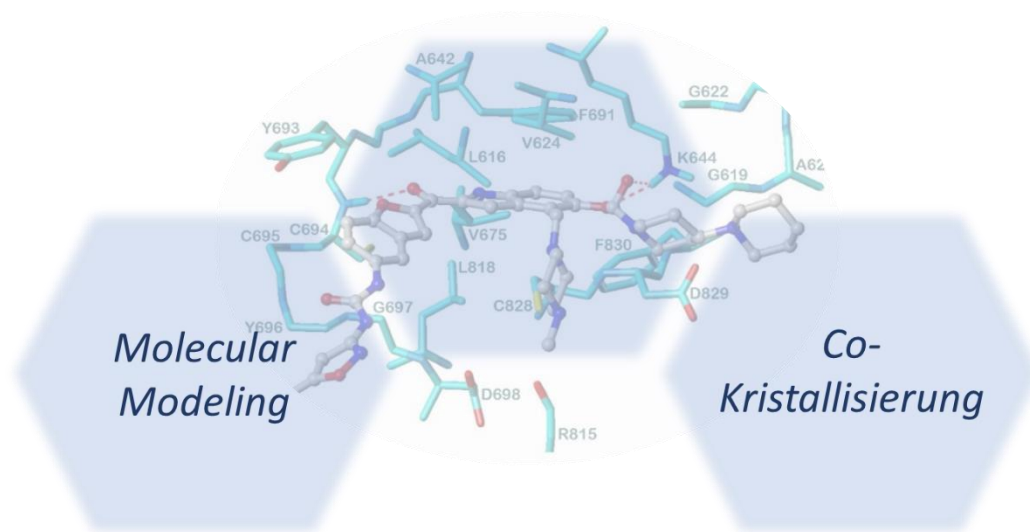


Abb. 48: Dosis-Wirkungs-Kurven für FLT3 nach den kompetitiven Experimenten mit **150b**, **151b** und **214b**.

3.4. BINDEMODOUS

Der Bindemodus von FLT3-Inhibitoren spielt eine wichtige Rolle für deren Fähigkeiten als Wirkstoff. Daher wurde die Art der Bindung der neu-synthetisierten Verbindungen mit Molecular Modeling untersucht. Durch die Wechselwirkungen einer beispielhaften Verbindung mit Aminosäuren im Bereich der Kinase-Domäne konnten diesbezüglich Rückschlüsse gezogen werden.



3.4.1. Molecular Modeling

Experimente zum Molecular Modeling und die gesamte fachliche Auswertung wurden von Professor Dr. Stefan Dove (Universität Regensburg) durchgeführt. Dadurch sollte der Bindemodus der synthetisierten Moleküle der **Grundstruktur VII** geklärt werden.

Die Problematik bei der Vorhersage besteht darin, dass weder die Struktur von FLT3-ITD noch die von FLT3-D835Y mit ausreichender Sicherheit bestätigt werden können. Die autoinhibitorische Funktion beruht beim inaktiven WT-FLT3 auf der Faltung der JMD in der Tyrosinkinase-Domäne.¹²¹ ITDs befinden sich in der JMD von FLT3 und verhindern so deren autoinhibitorische Funktion, weshalb FLT3-ITD zu den aktivierenden Mutationen zählt. In Co-Kristallstrukturen von FLT3 im Komplex mit dem Tyrosinkinase-Inhibitor Quizartinib **6** (PDB 4XUF,²⁴⁹ PDB 4RT7²⁵⁹) ist die JMD nicht aufgelöst. Außerdem ist die Domäne nicht mit der Quizartinib-Bindung vereinbar. Daher können diese bekannten Co-Kristallstrukturen als Vorlage dienen, um die Bindung von Inhibitoren an ITD-Mutationen von FLT3 vorherzusagen. Beide Strukturen sind auch ohne Autoinhibition durch die JMD Beispiele für die inaktive DFG-out-Konformation. Daher wurde mit den neu synthetisierten Verbindungen ähnlich vorgegangen wie bereits mit Marbotinib **20**. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit mit Quizartinib **6** wurde Marbotinib **20** an die ATP-Bindungsstelle von FLT3 (PDB: 4XUF) andockt.³²⁴ Derselbe Bindemodus sollte daher auf die neu synthetisierten Derivate angewandt werden.

Die Punktmutation FLT3-D835Y befindet sich in der Aktivierungsschleife der TKD und ist nicht an der Bindung des Inhibitors beteiligt. Bei Betrachtung eines Modells des aktivierten FLT3-Rezeptors ist diese Aminosäure neben einem hydrophoben Bereich lokalisiert,²⁴⁹ der sich durch hydrophobe Mutationen wie D835Y weiter vergrößern kann. Dadurch wird die Aktivierungsschleife in einer erweiterten DFG-in-Konformation stabilisiert. Bei der Punktmutation D835Y handelt es sich daher wahrscheinlich um einen aktiven Zustand. Es muss daher untersucht werden, ob die Verbindungen der **Grundstruktur VI** zusätzlich in der Lage sind, an die aktive Form von FLT3 zu binden. Dazu wurde ein Modell konstruiert, das auf dem inaktiven Zustand der Kinase (PDB 4XUF) basiert und das DFG-Motiv und die Aktivierungsschleife aus der aktivierten Konformation von c-KIT (PDB 1PKG) verwendet. Wie in vorangegangenen Publikationen wurde dieses Modell durch Homologie konstruiert.^{249; 259}

Beispielhaft für alle Moleküle der **Grundstruktur VI** wurde Verbindung **215** verwendet und in die erstellten Modelle von aktivem und inaktivem Rezeptor eingefügt. Die Wahl fiel auf dieses Molekül, da einerseits eine hohe Aktivität für beide Formen von Mutationen festgestellt werden konnte und das Molekül andererseits über ein relativ großes Volumen verfügt, das das Volumen

aller wirksamen Derivate dieser Grundstruktur umfasst. Die Position der Verbindung in der ATP-Bindestelle des inaktiven Zustands entspricht der von Marbotinib **20** (Abb. 49A).³²⁴ Dabei können die zusätzlichen Reste der Indoleinheit in Position 4 und 5 freie Stellen besetzen. Kennzeichnend für diesen Quizartinib-ähnlichen Bindemodus ist die Lage der (*tert*-Butyl)isoxazolgruppe in der Nähe des DFG-Motivs und die Anpassung der Indolkomponente an die Hinge-Region.

Der Quizartinib-ähnliche Bindemodus von Verbindung **215** ist beim Modell der aktiven FLT3 nicht möglich, da die (*tert*-Butyl)isoxazol-Gruppe mit dem DFG-Motiv und der Aktivierungsschleife kollidiert (Abb. 49B). Ein Modell von Marbotinib **20** in einer FLT3-Kristallstruktur wurde vor Kurzem veröffentlicht,³²⁷ wobei ein Modell von FLT3 komplexiert mit Gilteritinib **8** als Grundlage verwendet wurde (PDB 6JQR⁵⁴³). Dabei wurde eine umgekehrte Orientierung von Marbotinib **20** in der Bindetasche als Ergebnis erhalten. Der Benzofuran-Teil befand sich dabei in der Nähe der Hinge-Region. Es wurde angenommen, dass dieses Modell die Bindung im aktiven Zustand darstellt. Der Komplex von Gilteritinib **8** mit dem FLT3-Rezeptor repräsentiert allerdings einen autoinhibierten inaktiven Zustand.⁵⁴³ Ähnlich wie in anderen inaktiven FLT3-Strukturen findet man eine spezifische Konformation des DFG-Motivs (wahrscheinlich durch die Anpassung des Liganden induziert) und den Verlauf der schlecht aufgelösten Aktivierungsschleife. Das Einfügen von Verbindung **215** in das bereits beschriebene Modell des aktiven Zustands ergab trotzdem ebenfalls einen umgekehrten Bindemodus, verglichen mit dem Modell des inaktiven Zustands. Die DFG-in-Orientierung und die Konformation der Aktivierungsschleife ergibt ausreichend Platz für den Bipiperidincarboxylat-Teil und, verglichen mit der inaktiven Struktur, ist in der aktiven Struktur der Benzofuran-2-carbonyl-Anteil statt des Indol-Teils in Richtung der Hinge-Region ausgerichtet. Dieser umgekehrte Bindemodus wäre beim inaktiven Modell nicht möglich, da sowohl die 4-Methyl-piperazinmethyl- als auch die Bipiperidincarboxylat-Teile mit dem DFG-Motiv, das sich in der DFG-out-Orientierung befindet, zusammenträfen. Zusätzlich würde der Bipiperidincarboxylat-Substituent mit der nachfolgenden Schleife kollidieren (Abb. 49A). Zusammengefasst deuten alle Untersuchungen darauf hin, dass zwei unterschiedliche inverse Bindemodi für Verbindung **215** vorliegen, je nachdem, ob die Bindung am aktiven oder inaktiven Zustand von FLT3 erfolgt. Beim Vergleich der beiden Modi kann festgestellt werden, dass die Benzofuran- und die Indol-Einheiten sehr eng an F691 (Gatekeeper-Rest) gebunden sind (Abb. 49).

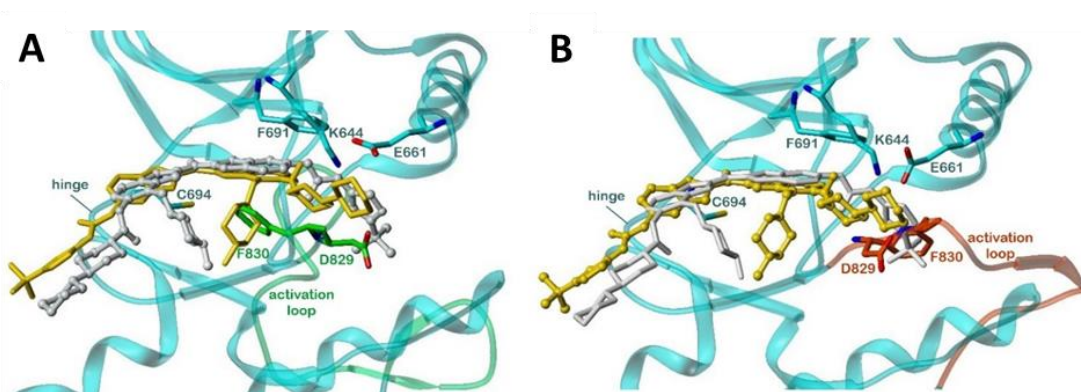


Abb. 49: Übersicht über die alternativen Bindungsmodi von Verbindung **215** im inaktiven (A) bzw. im aktiven Zustand (B) von FLT3. Im inaktiven Zustand ist Verbindung **215** in Grau dargestellt (A), im aktiven Zustand in Gelb (B). Das Kugel-Stab-Modell von **215** stellt jeweils den richtigen Bindemodus dar, das Stäbchenmodell den falschen Bindemodus. Die Aminosäuren D829 und F830 aus dem DFG-Motiv und der Aktivierungsschleife sind im inaktiven Zustand Grün (A), im aktiven Zustand Braun (B) gezeigt.

Die Bindemodi von **215** sind in Abb. 50 detailliert dargestellt. Die Quizartinib-ähnliche Bindung von Marbotinib **20**^{324; 327} im inaktiven Zustand wird durch **215** exakt abgebildet. Der Bereich mit dem Indolmethanon ist auf die Hinge-Region (F691-Y696) ausgerichtet, und Indol-N sowie Methanon-O sind an zweizähligen Wasserstoffbrückenbindungen mit dem Rückgrat-O bzw. dem NH von C694 beteiligt. Eine Solvatisierung des Bipiperidin-Carboxylat-Anteils bleibt teilweise bestehen, wobei die Struktureinheit nur einige van-der-Waals-Wechselwirkungen mit Y696, G697, D698 und N701 ausbildet. Der 4-Methylpiperazinmethyl-Substituent ist zwischen G697 und D698 auf der einen sowie F830 und R834 auf der anderen Seite eingebettet. Befinden sich in C-3 des Indolrings raumgreifende Substituenten (wie z.B. bei **89b**), können die Verbindungen ebenfalls in die Bindetasche passen. Allerdings funktioniert dies nur nach einer Konformationsänderung, insbesondere von F830. Der lipophile Benzofuran-Rand wechselwirkt mit einem hydrophoben Bereich, der aus den Aminosäuren V675, F691 (Gatekeeper-Rest), L818 und F830 (DFG-Motiv) besteht. Die gegenüberliegende Kante steht über van-der-Waals-Wechselwirkungen in Kontakt mit A833. Ein Carboxyl-O der Aminosäure E661 bildet zwei Wasserstoffbrückenbindungen mit den beiden NH-Einheiten der Harnstoff-Einheit, während eine weitere Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem Sauerstoff der Harnstoff-Einheit und dem NH des Rückgrats von D829 besteht. Wie bei vielen anderen Tyrosinkinase wird E661 durch eine Salzbrücke mit K644 stabilisiert. Die Seitenketten der Aminosäuren M664 und M665 sind zur Isoxazol-Ebene hin ausgerichtet, und wie im Fall von Quizartinib **20**²⁴⁹ beherbergt eine hydrophobe Tasche, bestehend aus M664, I674, L802 und I827, den *tert*-Butyl-Substituenten.

Im aktiven Zustand zeichnet sich der Bindemodus durch eine umgekehrte Orientierung von Verbindung **215** aus. Dies wird hauptsächlich durch einen Austausch der Indolmethanon-Einheit gegen die Benzofuran-Einheit und umgekehrt charakterisiert. Der Methanon-Sauerstoff wechselwirkt auch in diesem Modell über eine Wasserstoffbrückenbindung mit dem NH-

Grundgerüst von C694 in der Hinge-Region. Das Benzofuran-O kann in diesem Fall jedoch keine zweite Wasserstoffbrückenbindung mit C694 bilden. Die van-der-Waals-Wechselwirkungen der Benzofuran-Harnstoff-Einheit finden in diesem Fall mit Y693, C695, Y696 und G697 in der Hinge-Region statt. Die (*tert*-Butyl)isoxazol-Gruppe ragt in das Lösungsmittel hinein und wasservermittelte Wechselwirkungen mit D698 und N701 sind möglich. Die Indoleinheit wechselwirkt mit den Aminosäuren V624, V675, F691 und L818. Der 4-Methyl-piperazinmethyl-Substituent ist an einer anderen Stelle lokalisiert als im inaktiven Zustand. Es kommt zu schwachen Wechselwirkungen mit den Seitenketten D698 und C828, sowie dem Rückgrat von R815. Auffallend ist, dass auch im aktiven Zustand eine zweifache Wasserstoffbrückenbindung gebildet wird. Diese besteht in diesem Fall allerdings zwischen der endständigen Aminogruppe von K644 und den beiden Sauerstoffatomen des Carboxylats. Der Bipiperidin-Substituent ragt in das Lösemittel hinein, und es ergeben sich nur ein paar van-der-Waals-Wechselwirkungen mit dem Rückgrat von G619, A620, F621 und G622 sowie mit der Seitenkette von D829. Die beschriebene Salzbrücke zwischen K644 und D661 ist in diesem Modell ebenfalls vorhanden. Aus den Ergebnissen lässt sich zusammenfassend sagen, dass Verbindung **215** und die meisten anderen Verbindungen der Moleküle aus **Stoffgruppe VI** und **VII** generell in der Lage sind, sowohl an den aktiven als auch an den inaktiven Zustand von FLT3 zu binden. Es bleibt allerdings spekulativ, inwieweit die ITD- und die D835Y-Mutation von FLT3 einen dieser Zustände darstellen, da inaktive Konformationen von Tyrosinkinasen gewisse Unterschiede aufweisen, während ihre aktiven Zustände sehr ähnlich sind.⁵⁴⁴ Die Kristallstruktur von FLT3 im Komplex mit Quizartinib²⁴⁹ deutet darauf hin, dass eine dysfunktionale JMD, wie es bei der ITD-Mutation der Fall ist, einen inaktiven Zustand beibehält. Daher nimmt ITD-mutierte FLT3 wahrscheinlich eine inaktive Konformation ohne Autoinhibition an.

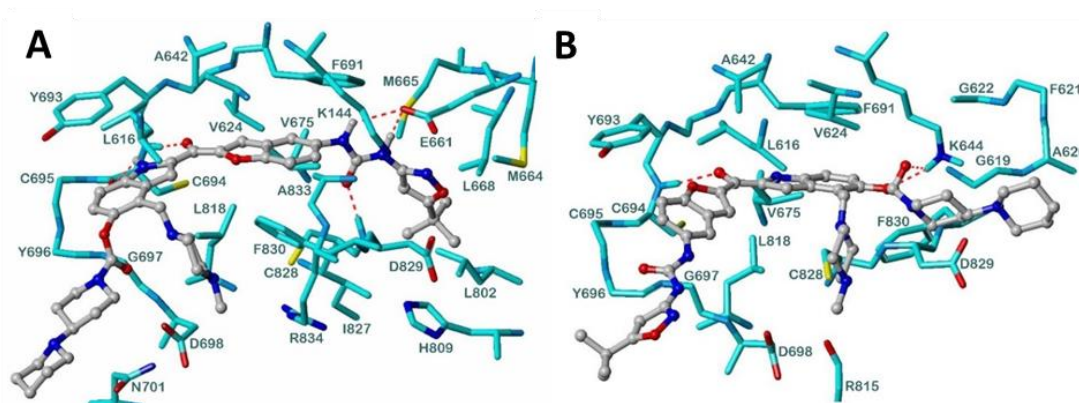


Abb. 50: Übersicht über die Bindungsmodi von Verbindung **215** im inaktiven (A) bzw. im aktiven Zustand (B) von FLT3 im Detail. In der Abb. sind alle Aminosäuren zu sehen, die innerhalb eines Bereichs von 3.5 Å um den Liganden liegen. Zur besseren Übersichtlichkeit wurden einige Seitenketten, die nicht zur Bindung beitragen, weggelassen. Die roten gestrichelten Linien kennzeichnen intramolekulare Wasserstoffbrückenwechselwirkungen.

Wie beschrieben, könnten FLT3-D835Y und andere Mutanten mit hydrophoben Aminosäuren in Position 835 aktive Zustände darstellen.²⁴⁹ Sollte dies der Fall sein, würden die Daten in den Tabelle 10 und Tabelle 11 tatsächlich die Bindung der Inhibitoren an die inaktive (FLT3-ITD) und aktive Konformation (FLT3-D835Y) ausdrücken, die durch die Bindemodi entspr. modelliert wurden (Abb. 50A bzw. B). Es gibt einige Anhaltspunkte, die für diese Hypothese sprechen. Bei beiden Mutanten finden sich ähnliche K_m -Werte für ATP (ProQuinase/Reaction Biology veröffentlichte abweichende Werte von 1 μM und 4.8 μM bei FLT3-ITD sowie 2 μM und 2.4 μM bei FIt3-D835Y). Das Verhältnis der IC_{50} -Werte bzw. die Differenz der pIC_{50} -Werte der Verbindungen in den entspr. Tabellen spiegelt direkt das Verhältnis der Affinität zu FLT3-ITD und FLT3-D835Y wider. Für die 20 getesteten Verbindungen mit quantitativen Daten in den beiden Assays ergibt sich eine mittlere pIC_{50} -Differenz von 0.33. Diese Verbindungen besitzen somit eine höhere Affinität zu FLT3-ITD als zu FLT3-D835Y. Zu diesem Unterschied könnten die höhere Zahl an Wasserstoffbrückenbindungen (5 gegenüber 3) und die hydrophoben Wechselwirkungen der *tert*-Butylgruppe im Bindungsmodus im inaktiven Zustand beitragen. Zusätzlich dazu ist die Korrelation der pK_i -Werte sehr schwach (R^2 : 0.47), was ebenfalls für unterschiedliche Zustände und Bindemodi spricht. Die Verbindungen **156** und **209** zeigen eine höhere Affinität zu FLT3-D835Y als zu FLT3-ITD, was vor allem auf die geringe Potenz gegen FLT3-ITD zurückzuführen ist. Bei Verbindung **156** kann der flexible *tert*-Butylcarbamat-Rest im aktiven Zustand mit der endständigen *tert*-Butylgruppe an die Seitenketten von L700 und R815 passen, wohingegen eine Verlängerung des 4-Substituenten durch eine zusätzliche Gruppe zu einer geringeren Affinität im aktiven Zustand führt. Dies ist z.B. in den Verbindungen **181** und **216** durch eine zusätzliche starre Piperazinmethyl-Gruppe der Fall.

3.4.2. Kristallisation im Rezeptor

Neben den Experimenten zum Molecular Modelling sollte versucht werden, eine Kristallstruktur einer der synthetisierten Verbindungen im Komplex mit der FLT3-Kinasedomäne zu erhalten. Eine Co-Kristallisation dieser Art wurde bereits für Quizartinib **20** durchgeführt (PDB 4XUF,²⁴⁹ PDB 4RT7²⁵⁹).

Für weitere Informationen oder eventuell zu einer Kooperation wurden dazu einige der Autoren kontaktiert. Von Dr. Catherine Smith (University of California, San Francisco, Kalifornien, USA) erfuhren wir, dass Arbeiten zu den Kristallstrukturen von „Industriepartnern bei Pexxikon Inc in Berkeley durchgeführt wurden“. Zwar besäße die Arbeitsgruppe „Zelllinien mit den verschiedenen Mutationen“, habe allerdings „nicht die Fähigkeit, selbst die Co-Kristallstrukturen“ zu erstellen. Weiter wurde mitgeteilt, dass „Plexxikon ein Arzneimittel-Unternehmen ist“, weswegen es unwahrscheinlich ist, „dass sie dies für ein Arzneimittel tun, das sie nicht selbst entwickelt haben“.

Anschließend haben wir Gespräche mit der Firma CubeBiotech GmbH (Monheim am Rhein, Deutschland) gesprochen. Dabei konnte keine Lösung gefunden werden, die mit ausreichender Sicherheit auf Erfolg durchgeführt werden konnte.

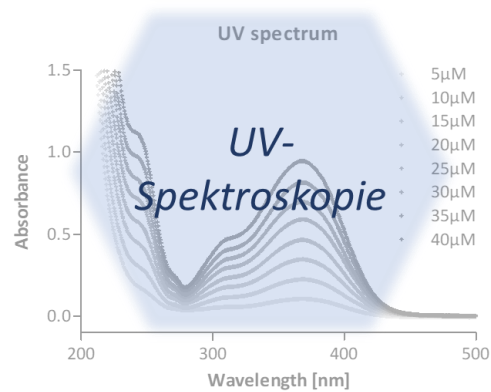
Daneben wurden Informationen in der Abteilung Biophysik I der Universität Regensburg eingeholt, die ebenfalls nicht zum gewünschten Ziel führten.

Da in unserer Arbeitsgruppe ebenfalls bereits intensiv an selektiven HDAC-Inhibitoren geforscht wurde, wurde Prof. Dr. Christianson (University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania, USA) per E-Mail kontaktiert, der allerdings nur bezüglich der HDAC-Inhibitoren weiterhelfen konnte. Auch Dr. Cyril Barinka (Academy of Sciences of the Czech Republic, Prag, Tschechien), der unserer Arbeitsgruppe letztlich bei der Co-Kristallisation von HDACs mit dem entspr. Inhibitor weiterhelfen konnte, hatte leider „weder Know-How noch Arbeitskräfte, um ein neues Projekt im Bereich der Kinasen zu starten“.

Eine Anfrage an Prof. Dr. Stefan Knapp (Goethe-Universität, Frankfurt am Main, Deutschland) brachte einige weitere Informationen. Dabei wurde erklärt, dass die Arbeitsgruppe „in der Vergangenheit schon sehr intensiv versucht“ habe, „die Kristallisation von FLT3 (und auch von Mutanten) zu reproduzieren“. Allerdings sei das Protein „sehr instabil“ und die Arbeitsgruppe konnte es bisher nicht „kristallisieren“. Darüber hinaus wurde allerdings angeboten, die synthetisierte Reihe von Inhibitoren der **Grundstruktur VI** oder **VII** „zu screenen und dann zu versuchen, die Leitstruktur mit einer anderen RTK zu kristallisieren“. Dies wurde allerdings als wenig zielführend erachtet.

3.5. LÖSLICHKEITSTEST

Ein wichtiger Faktor beim Design der neuen FLT3-Inhibitoren ist deren Löslichkeit. Durch erhöhte Löslichkeit in Wasser oder Ethanol sollte eine gesteigerte Bioverfügbarkeit erreicht werden. Dafür wurde die Löslichkeit der pharmakologisch vielversprechendsten Verbindungen sowie einiger HCl- bzw. TFA-Salze in den beiden Lösemitteln mit UV-Spektroskopie untersucht.



Von Lösungen der jeweiligen Verbindung wurde ein UV/Vis-Spektrum aufgezeichnet und das langwelligste Maximum bestimmt. Anschließend wurden die Absorbanzen von Lösungen verschiedener Konzentrationen bei dieser Wellenlänge bestimmt (Dreifachbestimmung, Verwendung des Mittelwerts), um Kalibriergeraden zu erhalten. So wurden die Wasser- und Ethanol-Löslichkeiten des HCl-Salzes von Marbotinib-Carbamat **21c** (Tabelle 20) sowie ausgewählter Moleküle mit **Grundstruktur VI** (Tabelle 20) und **Grundstruktur VII** (Tabelle 21) bestimmt.

Tabelle 20: Überblick über die durch UV-Spektroskopie bestimmte Löslichkeit von Marbotinib-Carbamat **20c** und einiger der neu-synthetisierten Verbindungen **Grundstruktur VI** und der entspr. Salze in Wasser und Ethanol. Die auf dieselbe Art bestimmten Löslichkeitswerte von Marbotinib **20** und die Löslichkeitswerte von Quizartinib **6** und Midostaurin **1** sind ebenfalls angegeben. Die verwendete Wellenlänge betrug für alle Amine (**a**) 372 nm, für TFA und HCl-Salze (**b**) 374 nm.

Verbindung	Löslichkeit [g/L] im Lösemittel		
	DMSO	Wasser	EtOH
147a	Löslich	<0.1	<0.1
147b	Löslich	0.1	2.6
148a	Löslich	<0.1	1.8
148b	Löslich	<0.1	1.7
149a	Löslich	<0.1	<0.1
149b	Löslich	<0.1	2.4
150a	Löslich	<0.1	0.6
150b	Löslich	<0.1	5.9
150c	Löslich	5.8	2.4
151a	Löslich	<0.1	0.9
151b	Löslich	<0.1	3.6
152a	Löslich	<0.1	1.0

152b	Löslich	0.2	4.4
153a	Löslich	<0.1	0.9
153b	Löslich	0.4	1.8
155	Löslich	<0.1	0.9
158	Löslich	<0.1	1.1
185a	Löslich	<0.1	0.2
185b	Löslich	0.2	2.5
Quizartinib 6	33.2*	Unlöslich*	Unlöslich*
Marbotinib 20	Löslich	<0.1	0.2
Midostaurin 1	100**	Unlöslich**	2**, ***
21c	Löslich	0.1	1.4

*Angabe des Anbieters SelleckChem (<https://www.selleckchem.com/products/AC-220.html>)

**Angabe des Anbieters SelleckChem (<https://www.selleckchem.com/products/midostaurin-pkc412.html>)

***im Wasserbad bei 50 °C erwärmt

Einige der Verbindungen der **Stoffklasse VI** weisen eine deutlich erhöhte Löslichkeit verglichen mit Marbotinib **20** auf. Vor allem durch die Bildung der Salze konnten deutliche Fortschritte bezüglich der Löslichkeit erreicht werden. Beste Werte konnten dabei für **150c** (5.8 g/mL in Wasser) und **150b** (5.9 g/mL in Ethanol) erhalten werden. Auch das HCl-Salz von Marbotinib-Carbamat **21c** (0.1 g/mL in Wasser bzw. 1.4 g/mL in Ethanol) weist eine erhöhte Löslichkeit gegenüber Marbotinib **20** (<0.1 g/mL in Wasser bzw. 0.2 g/mL in Ethanol) und Quizartinib **6** bzw. Midostaurin **1** auf. Nach dem europäischen Arzneibuch wird einzig Verbindung **150c** als „Leicht löslich“ in Wasser eingestuft, während alle anderen Verbindungen „Sehr leicht löslich“ in Wasser bezeichnet werden. Die Löslichkeit vieler Verbindungen in Ethanol wird nach dieser verbaler Einstufung als „Leicht löslich“ bezeichnet (1 bis 10 g/mL).⁵⁴⁵

Tabelle 21: Überblick über die durch UV-Spektroskopie bestimmte Löslichkeit einiger der neu-synthetisierten Verbindungen der **Grundstruktur VII** und der entspr. Salze in Wasser und Ethanol. Die auf dieselbe Art bestimmten Löslichkeitswerte von Marbotinib **20** und die Löslichkeitswerte von Quizartinib **6** und Midostaurin **1** sind ebenfalls angegeben. Die verwendete Wellenlänge betrug für alle Amine (a) 363 nm, für TFA und HCl-Salze (b) 367 nm.

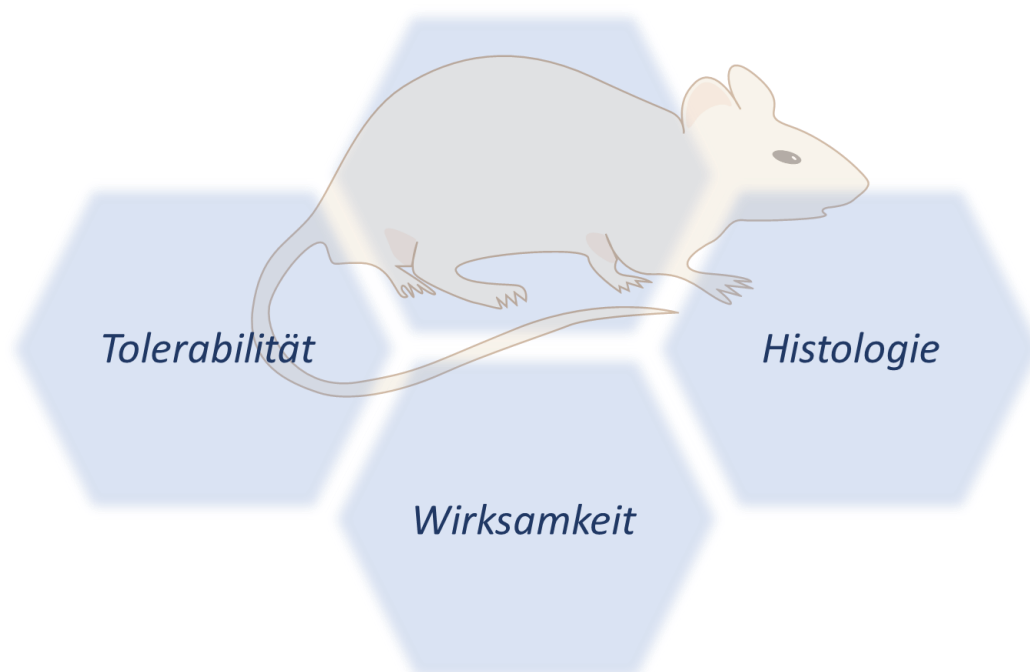
Verbindung	Löslichkeit [g/L] im Lösemittel		
	DMSO	Wasser	EtOH
211a	Löslich	<0.1	0.9
211b	Löslich	1.7	41
212a	Löslich	<0.1	1.3
212b	Löslich	11	12
213a	Löslich	<0.1	1.2
213b	Löslich	12	16
214a	Löslich	0.2	1.2
214b	Löslich	13	50
214c	Löslich	62	148
215a	Löslich	0.2	1.2
215b	Löslich	7.8	6.2
215c	Löslich	17	4.8

Mit Hilfe der UV/Vis-Methode zur Bestimmung der Löslichkeiten der synthetisierten Verbindungen konnte eine deutlich erhöhte Löslichkeit einiger Moleküle im Vergleich zu Quizartinib **6**, Midostaurin **1** und Marbotinib **20** sowohl in Wasser als auch in Ethanol festgestellt werden (Tabelle 20 und Tabelle 21). Während die Referenzsubstanzen keine oder nur eine geringe Löslichkeit in beiden Lösemitteln zeigten, sind alle HCl- bzw. TFA-Salze der neuen Verbindungen in Ethanol und vor allem Salze der Carbamate der **Stoffgruppe VII** in Wasser löslich. Die höchste

Wasserlöslichkeit wurde für die Verbindungen **215c** (17 g/L) und **214c** (62 g/L) festgestellt, während **211b** (41 g/L), **214b** (50 g/L) und **214c** (148 g/L) eine sehr gute Löslichkeit in Ethanol zeigten.

3.6. *IN VIVO*-CHARAKTERISIERUNG

Zuerst wurde das HCl-Salz von Marbotinib-Carbamat **21c** *in vivo* untersucht. Daneben wurden einige der neu-synthetisierten FLT3-Inhibitoren der **Grundstrukturen VI** und **VII** für eine mögliche *in vivo*-Charakterisierung geprüft. Nach einigen Voruntersuchungen wurden zudem die HCl-Salze der Verbindungen **150c** und **214c** ausgewählt und bezüglich ihrer Tolerabilität analysiert. Anschließend wurden mit dem Wirkstoff **150c** eine Wirksamkeitsstudie an tumorösen NOD-SCID-Mäusen und eine histologische Untersuchung durchgeführt.



3.6.1. Marbotinib **20** und Marbotinib-Carbamat **21c**

Die Untersuchungen zur *in vivo*-Wirksamkeit von Marbotinib **20** und Marbotinib-Carbamat **21c** wurden in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Oliver Krämer (Johannes Gutenberg-Universität, Mainz) durchgeführt und sind im Folgenden kurz beschrieben. Alle Daten sind bereits veröffentlicht.^{324; 326; 327}

Die *in vivo*-Tolerabilität und -Wirksamkeit von Marbotinib **20** wurde in einem Xenotransplantations-Modell mit NSG-Mäusen (NOD-SCID- γ -Chain) untersucht. Dafür wurden Mäusen 10^6 MV4-11-Zellen subkutan injiziert. Nach 5 d wurde Tumorstadium festgestellt und die Behandlung mit Marbotinib **20** an Tag 11 begonnen. **20** wurde oral oder durch intraperitoneale Injektion in verschiedenen Dosen verabreicht, während einer Kontrollgruppe über denselben Zeitraum Midostaurin **1** verabreicht wurde. Die Behandlung mit Marbotinib **20** erhöhte die Lebensdauer der Mäuse im Vergleich mit unbehandelten Kontrollgruppen (34 d vs. 27 d) und ähnlich wie die mit derselben Dosis Midostaurin **1** behandelten Mäuse (36 d).^{324–326}

Nach der *in vivo*-Charakterisierung von Marbotinib **20** wurde von einer geringen biologischen Verfügbarkeit der Verbindung durch niedrige Löslichkeit in Wasser oder Ethanol ausgegangen. Um dieses Problem zu umgehen, wurde das HCl-Salz **21c** des Carbamats **21** als entspr. potentielles Prodrug von Marbotinib **20** synthetisiert, weil sich davon höhere Bioverfügbarkeit erhofft wurde. Zur Bestimmung der *in vivo*-Wirksamkeit von **21c** wurde eine weitere Testreihe durchgeführt und ebenfalls ein Modell mit NSG-Mäusen verwendet. Den Mäusen wurden intravenös 10^6 MV4-11-Zellen injiziert. Von Tag 14 bis 18 nach der Injektion wurden die Mäuse mit einem Wirkstoff behandelt. Dabei erhielten die Mäuse einmal täglich über eine Magensonde Marbotinib **20**, das HCl-Salz von Marbotinib-Carbamat **21c** oder Quizartinib **6**. Zum Vergleich wurden einige Mäuse nur mit dem reinen Trägerstoff 40% Captisol behandelt. Nach Auftreten leukämischer Symptome wurden die Mäuse getötet. Sowohl eine Behandlung mit 50 bzw. 75 mg/kg Marbotinib **20**, als auch mit 10, 50 bzw. 75 mg/kg Marbotinib-Carbamat **21c** verlängert das Leben leukämischer Mäuse erheblich. Während in dieser Testreihe beiden mit Marbotinib **20** behandelten Gruppen die Lebenszeit nur verhältnismäßig gering zunahm (27-35 d für 50 mg/kg bzw. 27-36 d für 75 mg/kg vs. 26-29 d in der unbehandelten Gruppe), wurde durch Marbotinib-Carbamat **21c** die Lebenszeit dosisabhängig stark verlängert (32-52 d für 50 mg/kg bzw. 37-63 d für 75 mg/kg vs. 26-29 d in der unbehandelten Gruppe). Der Wirkstoff wurde in den Konzentrationen 50 und 75 mg/kg eingesetzt und war auch in Dosen von 75 mg/kg gut verträglich. Quizartinib **6** wurde in Dosen von 10 bis 50 mg/kg eingesetzt, wobei eine Dosis von 10 mg/kg normalerweise die höchste verwendete Dosis in Maus-Experimenten ist. Die Dosis von 50 mg/kg ist bei Behandlung am Menschen nicht erreichbar. Sie wurde damit nur zu Vergleichszwecken verwendet.^{208; 546; 547} Auch Quizartinib **6**

verlängert die Überlebenszeit der leukämischen Mäuse signifikant (35-44 d für 10 mg/kg bzw. 31-52 d für 50 mg/kg vs. 26-29 d in der unbehandelten Gruppe). Einerseits mussten die ersten der mit 50 mg/kg Marbotinib-Carbamat **21c** behandelten Mäuse einige Zeit früher getötet werden als die mit 50 mg/kg Quizartinib **6** behandelten, andererseits überlebten die letzten Mäuse der Marbotinib-Carbamat-Gruppe (50 mg/kg) länger als die letzte Maus in der Quizartinib-Gruppe (50 mg/kg). 75 mg/kg Marbotinib-Carbamat **21c** führte zu einer ähnlichen Beobachtung. Die ersten Mäuse mussten früher getötet werden als in der Quizartinib-Gruppe (50 mg/kg), allerdings wurde eine deutlich verlängerte Lebenszeit für die letzten Mäuse der Gruppe festgestellt. Allgemein wurden während keiner Behandlung mit einem der Wirkstoffe ein signifikanter Gewichtsverlust oder toxische Wirkungen auf Leber, Lunge, Herz oder Nieren festgestellt.^{324; 326; 327}

Weiterhin wurden die Plasmakonzentration von Marbotinib-Carbamat **21c** im Blut untersucht. Alle zugehörigen Bestimmungen wurden unter der Leitung von Prof. Dr. Georg Hempel (WWU Münster, Deutschland) durchgeführt und die Ergebnisse entsprechend eingeschätzt. Bei der Analyse des Blutplasmas konnte ausschließlich Marbotinib **20** detektiert werden, allerdings nicht das zugehörige Carbamat **21c**, was den „Prodrug“-Charakter der Verbindung bestätigt. Die Plasmakonzentration fiel nach intraperitonealer Zugabe von 75 mg/kg deutlich geringer aus als erwartet, die Substanz zeigt ein sehr hohes Verteilungsvolumen und eine rasche Ausscheidung mit einer Halbwertszeit von ca. 3 h. Bei wiederholter Gabe war nach intraperitonealer Gabe keine Kumulation zu beobachten. Auch bei oraler Gabe von 75 mg/kg konnte bei der Untersuchung des Plasmas nur eine geringe Konzentration von etwa 10-20% festgestellt werden. Die Resorption erfolgt relativ langsam und auch zu den spätesten Abnahmezeitpunkten nach 16 h sind noch nennenswerte Konzentrationen zu detektieren. Durch die erhaltenen Daten ergibt sich ein uneinheitliches Bild und noch keine klare Charakterisierung der Pharmakokinetik. Aus fast allen Werten ergibt sich allerdings nach oraler Zugabe der Eindruck einer langsamen Resorption mit t_{\max} im Bereich von 4-6 h und mit einer vergleichbaren Halbwertszeit wie nach intraperitonealer Gabe. Allgemein kann man zu dem Schluss kommen, dass die langsame Freisetzung von Marbotinib zum längeren Überleben der Mäuse beiträgt und die Verbindung trotz kurzer Halbwertszeit bei oraler Gabe durch die verzögerte Resorption einen niedrigen, aber lang andauernden Plasmaspiegel erreicht.

Um allerdings allgemein eine verbesserte Bioverfügbarkeit zu erreichen und die Nachteile des Prodrug-Konzept zu umgehen, wurden die bereits beschriebenen Verbindungen mit verschiedenen Grundstrukturen synthetisiert und davon vor allem interessante Verbindungen der **Grundstruktur VI** und **VII** für weitere *in vivo*-Testungen evaluiert.

3.6.2. Voruntersuchungen und Überlegungen bezüglich 150c und 214c

Zur *in vivo*-Charakterisierung von Verbindungen der **Grundstruktur VI** wurden einige Voruntersuchungen getroffen. Aufgrund vorangegangener enzymatischer Assays und Tests in Zellsystemen sowie den Ergebnissen der Löslichkeitsuntersuchung sollten die neu-synthetisierte Verbindung **150** und das entspr. Carbamat **214** in den nachfolgenden Tests untersucht werden. Einige pH-Wert-Bestimmungen bekräftigten den Einsatz dieser beiden Moleküle für die folgenden Testreihen, da die Inhibitoren **151** und **215** zwar ebenfalls sehr gute Ergebnisse in vorangegangenen Testreihen lieferten, deren wässrige Lösungen allerdings niedrigere pH-Werte aufweisen und daher keine optimale Verträglichkeit versprechen. Der entspr. Wirkstoff wurde in Reinstwasser gelöst, die pH-Werte wurden mit Hilfe einer pH-Elektrode bei 20 °C bestimmt. Der pH-Wert einer 200 µM Lösung von **215c** beträgt 4.08 und der einer 10 µM Lösung 5.28, während die vergleichbaren Lösungen von **214c** pH-Werte von 4.23 bzw. 5.43 aufweisen.

3.6.3. Untersuchungen zur Tolerabilität von 150c und 214c

Beide ausgewählten Moleküle wurden als HCl-Salze (**150c** und **214c**) eingesetzt. Alle folgenden Versuche wurden von der Firma Crown Bioscience UK Ltd. (Hillcrest, Vereinigtes Königreich) unter der Leitung von Katy Hull durchgeführt und sind im Folgenden beschrieben.

In einer ersten Versuchsreihe sollte die maximal verträgliche Dosis (MTD, *engl.* maximum tolerable dose) des Carbamats **214c** in nicht-tumorösen NOD (Non-Obese Diabetic) SCID (Severe combined immunodeficient) Mäusen bestimmt werden. Anschließend wurde eine vergleichbare Versuchsreihe zur Bestimmung der MTD der Verbindung **150c** durchgeführt.

Für die Testreihe mit **214c** wurden 21 Mäuse (*Mus musculus*) in 7 Gruppen unterteilt, während die Tolerabilitäts-Studie von **150c** mit 15 Mäusen in 5 Gruppen durchgeführt wurde. Es handelte sich ausschließlich um weibliche Tiere, die zum Start der Untersuchung zwischen 6 und 8 Wochen alt waren und mindestens 15 g wogen. Alle Mäuse wurden von der Firma Charles River erhalten. Die Tiere wurden in Einzelkäfigen gehalten, Futter (Teklad 2919) und Wasser waren dauerhaft zugänglich, eine Akklimatisierung erfolgte über mindestens 14 d. Alle durchgeführten Schritte sowie die Überwachung des Tierschutzes erfolgten in Übereinstimmung mit der Standardvorgehensweise der Firma Crown Bioscience UK. Alle Mäuse wurden einmal täglich in Bezug auf ihre körperliche Erscheinung, ihr Verhalten und klinische Veränderungen untersucht, wobei besonderes auf Anzeichen von Lähmungen der hinteren Gliedmaßen, Bewegungsstörungen, geschwollenen Sprunggelenken und/oder Läsionen geachtet wurde.

Außerdem wurden alle Mäuse einmal täglich gewogen. Das Körpergewicht der Mäuse, Dosierung und Anmerkungen zu klinischen Zuständen wurden in Echtzeit mit Hilfe der Software StudyLog aufgenommen. Zur nachfolgenden Analyse wurden die Daten in Microsoft Excel exportiert. Die Behandlung mit der jeweiligen Verbindung startete an Tag 1 und wurde anschließend für 4 d fortgeführt. Beide Moleküle wurden als Lösung in entionisiertem Wasser verabreicht. Die Lösungen wurden täglich mit Hilfe von Ultraschall hergestellt und auf die entspr. Konzentration verdünnt. Falls bei einer Maus an einem Tag der Dosierungsphase ein Gewichtsverlust >10% des Körpergewichts festgestellt wurde, wurde die Dosierung für diese Maus pausiert, während bei allen anderen Mäusen der Gruppe normal weiter behandelt wurden. Die Behandlung der bezeichneten Maus wurde fortgeführt, sobald sich deren Körpergewicht so weit erholt hatte, dass der Gewichtsverlust <5% des Körpergewichts des ersten Tages betrug. Verlor eine Maus >10% ihres Körpergewichts, wurde die ganze Gruppe mit *Diet Gel Recovery*[®] und/oder Brei behandelt. Sollte an drei aufeinanderfolgenden Tagen ein Verlust des Körpergewichts von >15% im Vergleich zum ersten Tag festgestellt werden oder sollte eine Maus >20% ihres Körpergewichts verlieren, wurde das entspr. Tier getötet. Die Mäuse wurden ebenfalls aus dem Versuch genommen, wenn sich klinische Anzeichen zeigten. Beim Auftreten von geschwollenen Sprunggelenken wurden die Tiere beobachtet und bei Entwicklung von Läsionen sofort getötet. Der Abbruch der Studie erfolgte in Übereinstimmung mit dem United Kingdom Animals Scientific Procedures Act 1986, der Home Office Project Licence und der Standardvorgehensweise von Crown Bioscience UK.

3.6.3.1. Versuche mit **214c**

Die Untersuchungen starteten mit der Dosierung der reinen Trägersubstanz ohne Wirkstoff (Gruppe 1) und der 100 mg/kg oralen Dosierung von **214c** (Gruppe 5), sowie der 100 mg/kg intraperitonealen Dosierung von **214c** (Gruppe 7). Da diese Konzentrationen über beide Aufnahmewege nicht vertragen wurden, wurden die niedrigeren Konzentrationen verwendet und fortgesetzt, bis alle Konzentrationen dosiert waren. Das Dosierschema der MTD-Studie mit **214c** zeigt Tabelle 22.

Tabelle 22: Überblick über das Dosierschema der *in-vivo*-Tolerabilitäts-Studie von **214c**.

Gruppe	1	2	3	4	5	6	7
Anzahl Mäuse	3	3	3	3	3	3	3
Dosis [mg/kg]	0	25	50	75	100	50	100
Dosisvolumen [mL/kg]	10	10	10	10	10	10	10
Konzentration [mg/mL]	0	2.5	5.0	7.5	10	5.0	10
Aufnahme	PO*	PO	PO	PO	PO	IP*	IP
Dosierungs- frequenz	D*	D	D	D	D	D	D

*PO = Peroral, IP = Intraperitoneal, D = Daily

Alle Mäuse wurden bei dieser MTD-Studie 24 h nach der letzten Dosis der jeweiligen Testkonzentrationen getötet. Beide Gruppen mit intraperitonealer Dosierung (Gruppen 6 und 7) zeigten schon ungefähr 5 min nach der ersten Dosierung klinische Symptome. Ein generell zurückhaltendes Verhalten, eine erhöhte Atemfrequenz, blasse Färbung der Ohren und generelle Kälte bei Berührung wurden festgestellt. Aufgrund der Schwere der klinischen Anzeichen wurden die Mäuse maximal 1 h nach deren Auftreten getötet. Die Gruppen mit oraler Dosierung (Gruppen 1 bis 5) zeigten allgemein eine bessere Tolerabilität, allerdings konnte auch hier keine der Konzentrationen alle fünf Tage appliziert werden. Die Mäuse aus Gruppe 2 und 3 (25 mg/kg und 50 mg/kg) erhielten 3 Dosen von Verbindung **214c**, bevor die Verabreichung aufgrund einer Kombination von klinischen Anzeichen und Verlust des Körpergewichts abgebrochen werden musste. Zwei Dosen von Verbindung **214c** wurden den Mäusen aus Gruppe 4 und 5 (75 mg/kg und 100 mg/kg) verabreicht, bevor klinische Anzeichen auftraten. In Gruppe 5 wurde außerdem ein Verlust des Körpergewichts >20% festgestellt, weshalb die Behandlung abgebrochen werden musste. Bei allen Gruppen mit oraler Verabreichung (Gruppen 1 bis 5) wurde die Entwicklung des Körpergewichts innerhalb dieser fünf Tage bestimmt und das relative Körpergewicht in Bezug auf das Körpergewicht des ersten Tages graphisch dargestellt (Abb. 51). Da bei beiden Gruppen mit intraperitonealer Verabreichung (Gruppe 6 und 7) nach der ersten Dosis die Anwendung beendet werden musste, wurden keine entspr. Daten generiert.

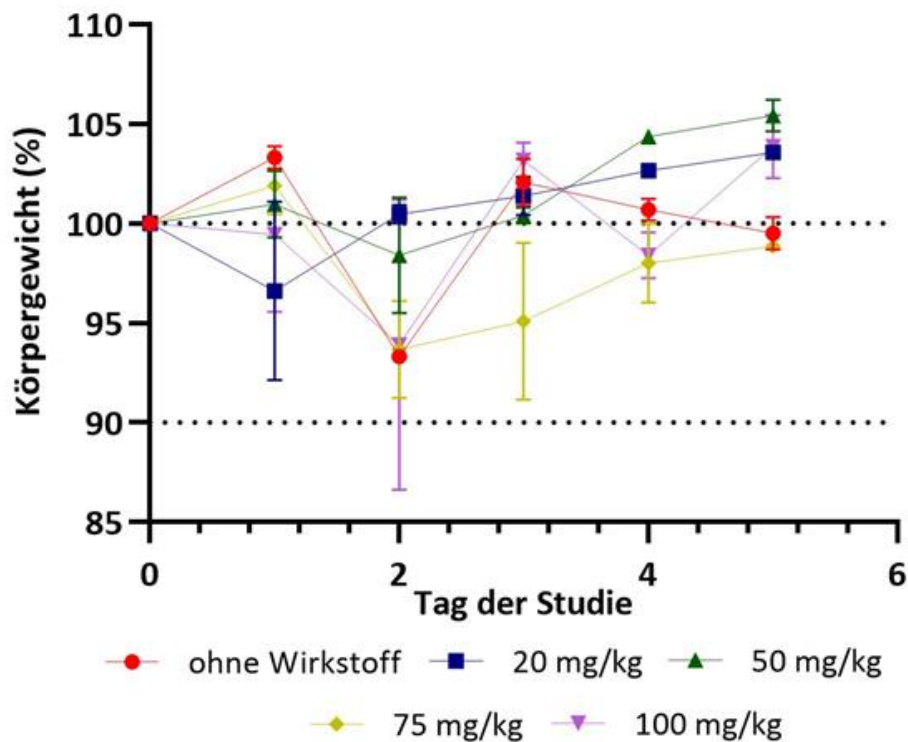


Abb. 51: Verlauf des mittleren relativen Körpergewichts (%) + SEM der oralen Behandlungsgruppen der Tolerabilitäts-Studie mit **199c**. Die einzelnen Gruppen sind in verschiedenen Farben dargestellt.

3.6.3.2. Versuche mit **150c**

Die Dosierungen wurden in dieser Testreihe schrittweise gesteigert. Dabei wurde mit der niedrigsten oralen Dosis von 20 mg/kg **150c** begonnen (Gruppe 1). Da diese Konzentration gut verträglich war, wurde die Dosis erhöht und die Gruppen 2 und 3 dosiert. Im Anschluss an die Gruppen mit oraler Verabreichung wurde die Gruppe 4 mit einer intraperitonealen Dosis von 20 mg/kg **150c** behandelt. Diese Konzentration wurde allerdings nicht vertragen und deshalb die intraperitoneale Dosis von 50 mg/kg nicht mehr verabreicht. Das Dosierschema der MTD-Studie mit **150c** ist im Folgenden gezeigt (Tabelle 23).

Tabelle 23: Überblick über das Dosierschema der *in-vivo*-Tolerabilitäts-Studie von **150c**.

Gruppe	1	2	3	4	5
Anzahl Mäuse	3	3	3	3	3
Dosis [mg/kg]	20	50	75	20	50
Dosisvolumen [mL/kg]	10	10	10	10	10
Konzentration [mg/mL]	2.0	5.0	7.5	2.0	5.0
Aufnahme	PO*	PO	PO	IP	IP
Dosierungs- frequenz	D*	D	D	D	D

*PO = Peroral, D = Daily

Alle Mäuse wurden bei dieser MTD-Studie 10 d nach der letzten Dosis der jeweiligen Testkonzentrationen getötet. In den Gruppen, in denen **150c** mit 50 bzw. 75 mg/kg oral verabreicht wurde (Gruppen 2 und 3), verlor jeweils eine Maus während der fünftägigen Dosierungs-Phase Körpergewicht >10%. Dieser Gewichtsverlust trat bei der Maus aus Gruppe 2 nach der Verabreichung von drei Dosen auf und bei der Maus aus Gruppe 3 nach vier Dosen. Bei der Maus aus Gruppe 3 wurden zusätzlich geschwollene Sprunggelenke am rechten Hinterfuß beobachtet. Beiden Mäusen wurde bis zum Ende der Studie keine weitere Dosis mehr verabreicht, und beide konnten ihr Körpergewicht im Anschluss nach ein paar Tagen wiedererlangen. Bei allen Gruppen mit oraler Verabreichung (Gruppen 1 bis 3) wurde das Körpergewicht innerhalb dieser 5 Tagen und in einer anschließenden 10-tägigen Beobachtung bestimmt. Der Verlauf des relativen Körpergewichts in Bezug auf das Körpergewicht des 1. Tages ist in Abb. 52 gezeigt. Da die erste Gruppe mit intraperitonealer Verabreichung (Gruppe 4) nach Anwendung der 1. Dosis beendet werden musste und die zweite Gruppe mit intraperitonealer Verabreichung (Gruppe 5) entspr. gar nicht gestartet wurde, wurden auch dazu keine Daten generiert.

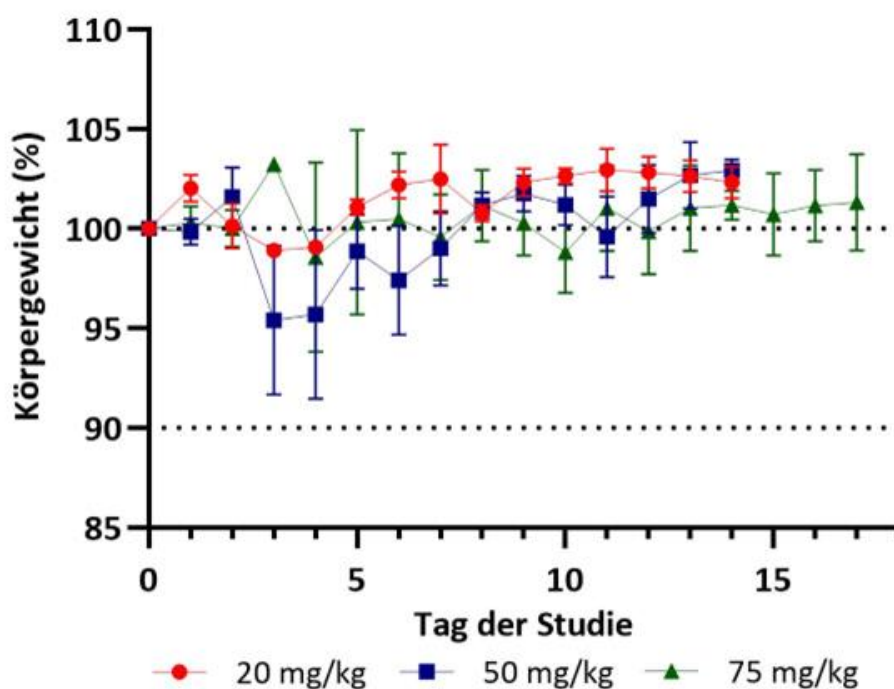


Abb. 52: Verlauf des mittleren relativen Körpergewichts (%) + SEM der oralen Behandlungsgruppen der Tolerabilitätsstudie mit **150c**. Die einzelnen Gruppen sind in verschiedenen Farben dargestellt.

3.6.3.3. Fazit der Versuche zur Tolerabilität

Die beiden Tolerabilitätsstudien hatten das Ziel, die Verträglichkeit der Verbindungen **214c** und **150c** zu evaluieren. Das Carbamat **214c** erwies sich dabei unabhängig von der Art der Verabreichung (oral oder intraperitoneal) als schlecht verträglich. In der nachfolgenden Verträglichkeits-Studie mit **150c** zeigte sich, dass eine intraperitoneale Verabreichung absolut ungeeignet ist. Bei oraler Verabreichung konnte allerdings eine gute Verträglichkeit beobachtet werden. Die Dosierung von **150c** mit 20 mg/kg wurde ohne klinische Symptome oder Gewichtsverlust vertragen. Bei 50 mg/kg verlor eine Maus >10% Gewicht, was allerdings im Laufe der 10-tägigen Beobachtungsphase wieder ausgeglichen wurde. Bei einer der Mäuse, die mit 75 mg/kg behandelt wurden, wurden ein Gewichtsverlust >10% und geschwollene Sprunggelenke am rechten Hinterfuß festgestellt. Da die klinischen Symptome allerdings erst nach der Verabreichungsphase beobachtet wurden, kann davon ausgegangen werden, dass diese nicht durch den Wirkstoff verursacht wurden.

3.6.4. Untersuchungen zur Wirksamkeit von 150c

3.6.4.1. Allgemeine Informationen

Basierend auf den Versuchen zur Bestimmung der Tolerabilität wurde die Anti-Tumor-Wirksamkeit von **150c** *in vivo* an tumorösen NOD SCID Mäusen untersucht. Die Verbindung sollte

dazu oral in Dosen von 20 mg/kg und 50 mg/kg verabreicht werden. Für sinnvolle Schlüsse und einer Validierbarkeit der Ergebnisse sollten Midostaurin **1** und Quizartinib **6** als Vergleich eingesetzt werden. Beide Substanzen können in derartigen Studien in Dosen bis zu 50 mg/kg gegeben werden.^{327; 548} Die komplette Studie wurde von der Firma Crown Bioscience UK Ltd. (Hillcrest, Vereinigtes Königreich) unter der Leitung von Katy Hull durchgeführt und sind im Folgenden beschrieben.

Für den Test wurden 25 Mäuse (*Mus musculus*) in 7 Gruppen unterteilt und zusätzlich 8 Mäuse als Überschuss gehalten. Es handelte sich ausschließlich um weibliche Tiere, die zum Start der Untersuchung zwischen 8 und 9 Wochen alt waren und mindestens 18 g wogen. Alle Mäuse wurden von der Firma Charles River erhalten, alle weiteren Daten zur Haltung der Mäuse entsprachen den Daten der Tolerabilitäts-Studien (s. Kapitel 3.6.3). Die MV4-11-Zellen wurden von ATCC erhalten (Katalog-Nummer CRL-9591) und in Iscoves Medium mit 10% FBS und 2 mM L-Glutamin kultiviert. Die Zellsuspension wurde gemäß dem Standardverfahren von Crown Bioscience UK vorbereitet, und zur Tumorimplantation wurden allen Mäusen 1×10^7 MV4-11 Zellen in 100 μ L Matrigel/PBS (1:1) mit der Air-Gap-Methode in die linke Flanke injiziert. Alle Mäuse wurden einmal täglich in Bezug auf ihre körperliche Erscheinung, ihr Verhalten und klinische Veränderungen untersucht, wobei besonders auf Anzeichen von Lähmungen der hinteren Gliedmaßen, Bewegungsstörungen, geschwollenen Sprunggelenken und/oder Läsionen geachtet wurde. Alle Mäuse wurden einmal täglich gewogen und das Tumolvolumen dreimal pro Woche durch zweidimensionale Messung mit einem elektronischen Messschieber bestimmt. Das Tumolvolumen wurde durch die Formel $0.5 \times (L \times W^2)$ abgeschätzt, das Körpergewicht der Mäuse, Dosierung und Anmerkungen zu klinischen Zuständen wurden in Echtzeit mit Hilfe der Software StudyLog aufgenommen und die Daten für die nachfolgende Analyse in Microsoft Excel exportiert. Nach subkutaner Injektion der Zellen erreichten die Mäuse an der Injektionsstelle zu >95% Tumore. Ab einem mittleren Tumolvolumen von 100-200 mm³ wurden die Mäuse zufällig in Behandlungsgruppen mit einem einheitlichen mittleren Tumolvolumen (128 mm³) zwischen den Gruppen eingeteilt. Die Behandlung wurde einen Tag nach der Einteilung gestartet, für vier Tage fortgesetzt, und die Mäuse wurden anschließend für weitere 4 Wochen überwacht (Abb. 53).

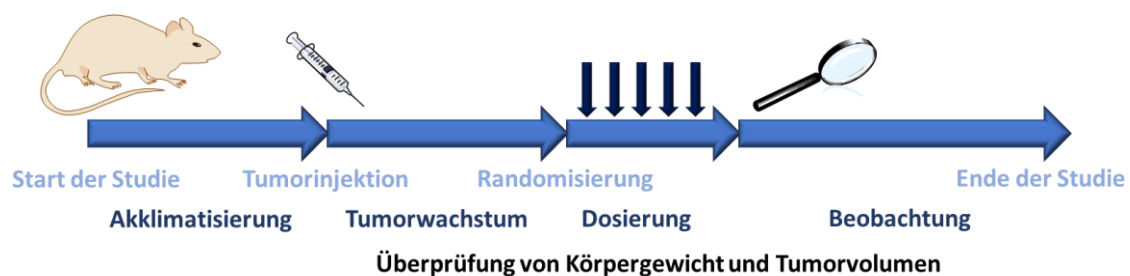


Abb. 53: Überblick über den zeitlichen Verlauf der *in vivo*-Wirksamkeitsstudie.

Testsubstanz **150c** wurde in entionisiertem Wasser gelöst und anschließend auf die benötigte Konzentration verdünnt. Die entspr. Lösungen wurden täglich mit Ultraschall hergestellt und in 24 h verwendet. Vergleichssubstanz Midostaurin **1** wurde in 5% DMSO gelöst und 45% PEG300 und entionisiertes Wasser zugegeben. Die Proben wurden durch Vortex und Ultraschall gemischt und anschließend innerhalb von 30 min verwendet. Vergleichssubstanz Quizartinib **6** wurde in 0.5% Methylcellulose suspendiert und die Suspension mit Ultraschall gut gemischt. Die entspr. Suspensionen wurden täglich hergestellt und in 24 h verwendet, wobei vor jeder Verabreichung Vortexen erforderlich war.

Die kontrollierten Wirkstoffpräparate wurden entspr. den Misuse of Drugs Regulations 2001 gelagert, verwendet und entsorgt. Crown Bioscience UK Ltd. besitzt eine Lizenz gemäß der Misuse of Drugs Regulations 2001 SI 2001/3998 für den Besitz, die Lieferung und die Herstellung von Arzneimitteln nach Liste 1 und Liste 4 Teil 2.

Die Dosierung der Mäuse der einzelnen Gruppen erfolgte nach Tabelle 24:

Tabelle 24: Überblick über das Dosierschema der *in-vivo*-Wirksamkeitsstudie von **150c**.

Gruppe	1	2	3	4	5
Testsubstanz	--	150c	150c	1	6
Anzahl Mäuse	5	5	5	5	5
Dosis [mg/kg]	0	20	50	50	50
Dosisvolumen [mL/kg]	10	10	10	10	10
Konzentration [mg/mL]	0.0	2.0	5.0	5.0	5.0
Aufnahme	PO*	PO	PO	PO	PO
Dosierungs- frequenz	D*	D	D	D	D

*PO = Peroral, D = Daily

Mit Dosierungspausen aufgrund von Gewichtsverlust wurde verfahren, wie für die Tolerabilitäts-Tests beschrieben (s. Kapitel 3.6.3). Ebenso wurde der Endpunkt der Studie für jede Maus individuell festgelegt, wie für die Tolerabilitäts-Studie beschrieben (s. Kapitel 3.6.3).

Jedem Tier wurde zu dem Zeitpunkt Vollblut entnommen, an dem die unbehandelten Mäuse der Behandlungsgruppe 1 ausschieden. Die Proben der Mäuse aus Gruppe 1 wurden über eine Herzpunktion entnommen, die Proben der weiteren Gruppen über die Schwanzvene unter Verwendung von EDTA als Antikoagulans für die Ausstrichanalyse, die eine Gesamt-Leukozytenzahl und den Prozentsatz der leukämischen Blasten beinhaltet. Die Proben wurden bis zum Versand am selben Tag kühl gelagert. Von jeder Behandlungsgruppe wurde erneut zu dem Zeitpunkt Vollblut entnommen, an dem die jeweilige Gruppe aus der Studie ausschied. Die Proben der Mäuse wurden durch Herzpunktion unter Verwendung von EDTA als Antikoagulans entnommen und ebenfalls die Gesamt-Leukozytenzahl und der Prozentsatz der leukämischen Blasten analysiert. Die Proben wurden bis zum Versand am selben Tag kühl gelagert.

Die Tumore von drei Mäusen aus Behandlungsgruppe 1 wurden nach Ausscheiden der Gruppe aus der Studie entnommen und gewogen, dann in Formalin fixiert und zu FFPE verarbeitet, bevor sie histologisch analysiert wurden (s. Kapitel 3.6.5).

Der Tierschutz im Rahmen der beiden Tolerabilitäts-Studien und der Wirksamkeitsstudie entsprach dem UK Animals Scientific Procedures Act 1986 (ASPA) im Einklang mit der Richtlinie 2010/63/EU des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2010 zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere. Alle Verfahren zur Verwaltung der Versuchsdaten und zur Berichterstattung erfolgten in strikter Übereinstimmung mit den geltenden Richtlinien und Standardarbeitsanweisungen von Crown Bioscience UK. Die Methoden und Ergebnisse im abschließenden Studienbericht geben die während der Studie gewonnenen Rohdaten korrekt wieder. Die Blutproben wurden gemäß den Beschränkungen der Projektlizenz und den Standardarbeitsanweisungen von Crown Bioscience UK entnommen: Das Gesamtvolumen der Proben überstieg bei Einzelproben nicht 10% des Gesamtblutvolumens (TBV, *engl.* total blood volume, berechnet als 70 mL/kg), bei Mehrfachproben nicht 10% in 24 h oder 15% des TBV in einem beliebigen Zeitraum von 28 d.

3.6.4.2. *Ergebnisse*

Aus der Wirksamkeitsstudie von **150c** konnten bemerkenswerte Ergebnisse erhalten werden. Aus der Anzahl an Todesfällen konnte eine sehr gute Verträglichkeit der Substanz festgestellt werden. Nur eine Maus der beiden Gruppen, die mit **150c** behandelt wurden (Gruppe 2 und 3) musste nach 20 d der Studie getötet werden, während jeweils zwei Mäuse der Gruppen, die mit Midostaurin **1** (Gruppe 4) und Quizartinib **6** (Gruppe 5) behandelt wurden, zu diesem Zeitpunkt schon

ausgeschieden waren. Aus Gruppe 4 mussten je eine Maus an Studientag 5 und 8, aus Gruppe 5 zwei Mäuse an Studientag 6 getötet werden (s. Abb. 54). Eine statistische Analyse wurde mit der Log-Rank-Mantel-Cox-Methode durchgeführt und ergab, dass der Wirkstoff **150c** in einer Dosierung von 50 mg/kg die einzige Behandlungsgruppe war, die sich in Bezug auf die Überlebensrate statistisch signifikant von der ohne Wirkstoff behandelten Gruppe unterschied.

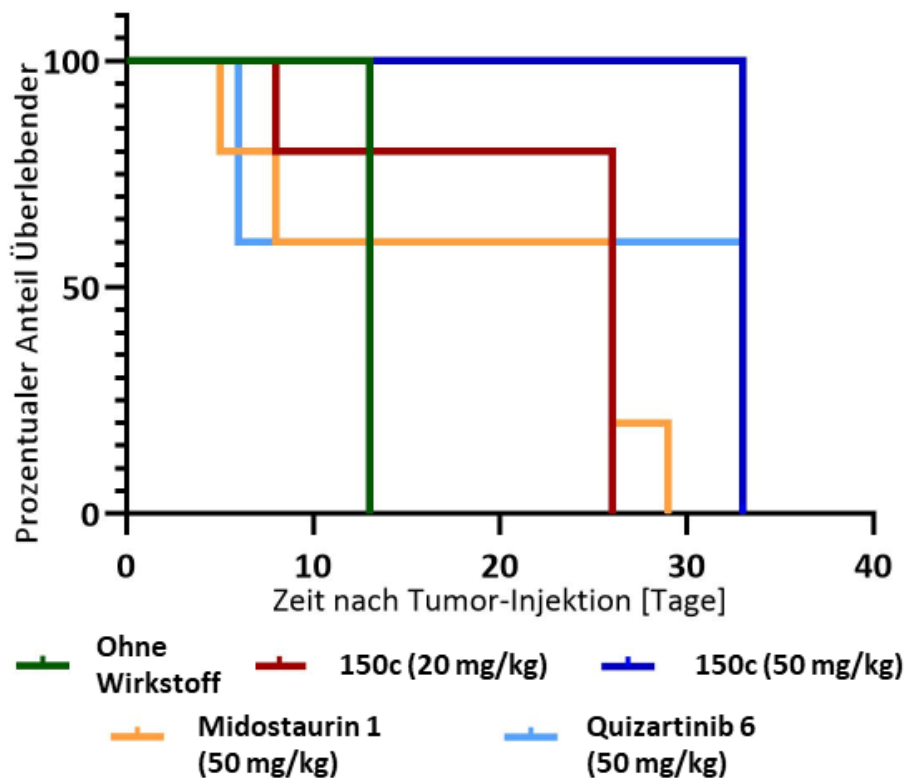


Abb. 54: Kaplan-Meier-Plot zur Darstellung der Beziehung zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen und dem Überleben der Mäuse. Jede Gruppe bestand aus 5 Mäusen, die einzelnen Behandlungsgruppen sind in verschiedenen Farben dargestellt.

Während der gesamten Studie wurde das Körpergewicht in den einzelnen Behandlungsgruppen gut gehalten. Eine Maus aus Gruppe 5 zeigte an einem Tag einen Verlust des Körpergewichts von >10%, was zu einem Tag Dosierungspause führte. Nach Erholung konnte normal weiter behandelt werden. Bei drei Mäusen wurden im Laufe der Studie schwere klinische Anzeichen beobachtet, sodass die Studie aus Gründen des Tierschutzes abgebrochen wurde. Die Verträglichkeit von **150c** spiegelt sich auch in der Entwicklung des relativen Körpergewichts wider. Die Mäuse aus Gruppe 2 (Dosierung mit 20 mg/kg **150c**) wiesen im Laufe der kompletten Studie ein höheres relatives Körpergewicht als die Mäuse aus Gruppe 5 (Dosierung mit 50 mg/kg Quizartinib **6**) auf. Darüber hinaus lag das mittlere Körpergewicht der Mäuse dieser Gruppe ebenfalls lange Zeit und vor allem gegen Studienende über dem relativen Körpergewicht der Mäuse aus Gruppe 4 (Dosierung mit 50 mg/kg Midostaurin **1**). Auch die Mäuse aus Gruppe 3 (Dosierung mit 50 mg/kg **150c**) zeigten

einen geringeren relativen Körpergewichtsverlust im Vergleich zu den mit 50 mg/kg Quizartinib 6 behandelten Mäusen und einen gerade gegen Ende absolut vergleichbaren relativen Körpergewichtsverlust wie die Mäuse aus Gruppe 4 (Abb. 55).

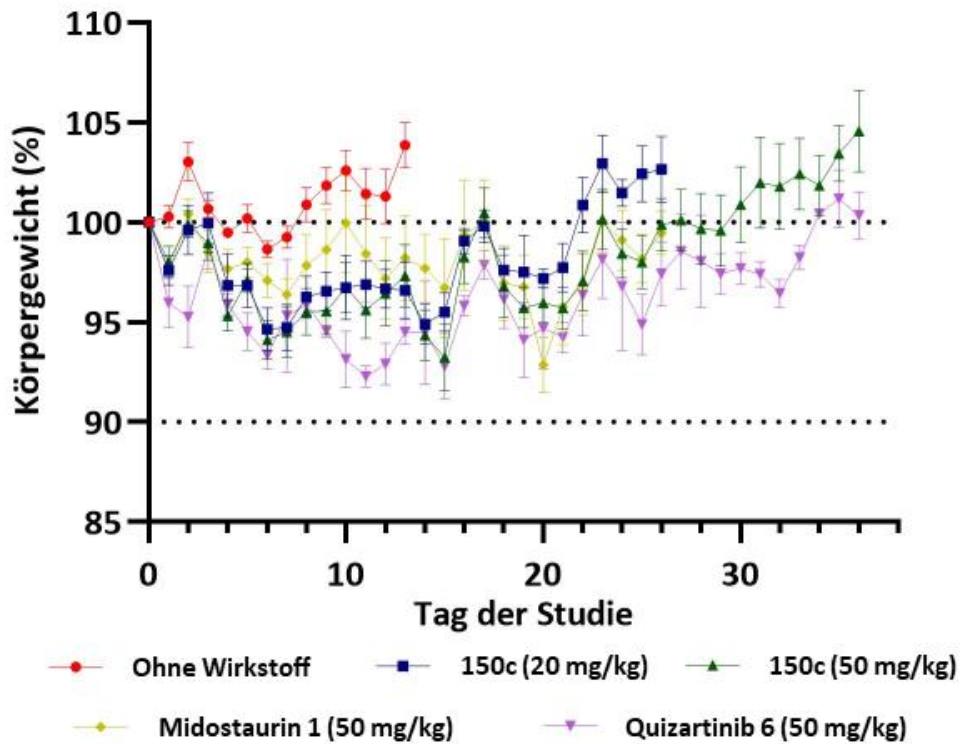


Abb. 55: Verlauf des mittleren relativen Körpergewichts (%) + SEM aller Behandlungsgruppen der Wirksamkeitsstudie mit Midostaurin 1, Quizartinib 6 und 150c. Die einzelnen Gruppen sind in verschiedenen Farben dargestellt.

Zur Einschätzung der Tumorchemmung wurde regelmäßig das Tumolvolumen aller Mäuse nach der erwähnten Methode bestimmt. Das mittlere relative Tumolvolumen aller Mäuse einer Gruppe sollte dabei über den gesamten Zeitraum der Studie als Größe verwendet werden, um die einzelnen Gruppen miteinander zu vergleichen (Abb. 56).

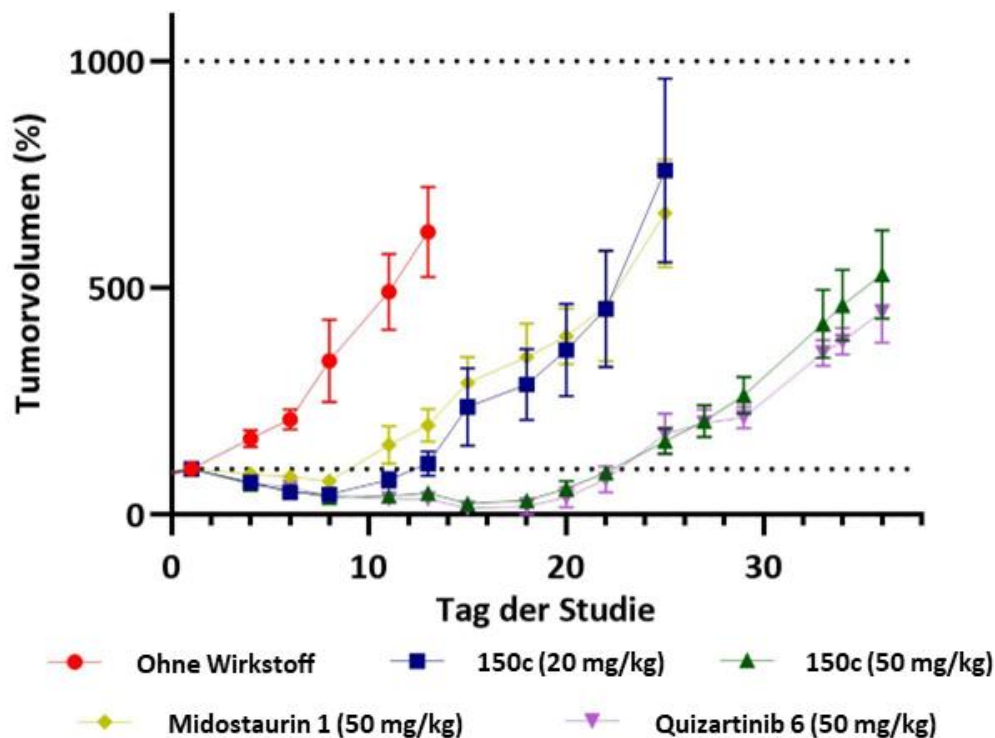


Abb. 56: Verlauf des mittleren relativen Tumorzvolumens (%) + SEM aller Behandlungsgruppen der Wirksamkeitsstudie mit Midostaurin 1, Quizartinib 6 und 150c. Die einzelnen Gruppen sind in verschiedenen Farben dargestellt.

Allgemein ist in jeder Behandlungsgruppe ein Rückgang des Tumorwachstums zu erkennen, wobei in Gruppe 3 (50 mg/kg **150c**) und Gruppe 5 (50 mg/kg Quizartinib **6**) eine deutlich stärkere Wirkung auf die Tumore beobachtet wurde als in Gruppe 2 (20 mg/kg **150c**) und Gruppe 4 (50 mg/kg Midostaurin **1**). Bei gleicher Wirkstoffdosis (50 mg/kg) zeigte **150c** (Gruppe 3) dabei eine deutlich stärkere Hemmung des Tumorwachstums als Midostaurin **1** (Gruppe 4). Sogar bei Behandlung mit einer deutlich niedrigeren Dosis **150c** (20 mg/kg, Gruppe 2) konnte eine vergleichbare wachstumshemmende Wirkung festgestellt werden. Weiterhin konnte ein fast vergleichbarer Verlauf des mittleren relativen Tumorwachstums zwischen den beiden Gruppen, die mit 50 mg/kg **150c** (Gruppe 3) und mit 50 mg/kg Quizartinib **6** (Gruppe 5) behandelt wurden, festgestellt werden. Allgemein wiesen Gruppe 2 und 4, sowie Gruppe 3 und 5 ähnliche Wachstums-Kinetik auf. Bei der statistischen Analyse unter Verwendung von 2-Way ANOVA wurde festgestellt, dass sich jede Behandlungsgruppe mit einem Wirkstoff am Tag 13 statistisch signifikant von der Behandlungsgruppe ohne Wirkstoff (Gruppe 1) unterscheidet. Weiterhin wurde festgestellt, dass Gruppe 3 und Gruppe 5 statistisch signifikant von Gruppe 2 und Gruppe 4 abwichen. Vergleiche zwischen den gemessenen absoluten Tumorzvolumina in den einzelnen Behandlungsgruppen mit den gemessenen absoluten Tumorzvolumina der unbehandelten Gruppe 1 sind in Abb. 57 zu sehen.

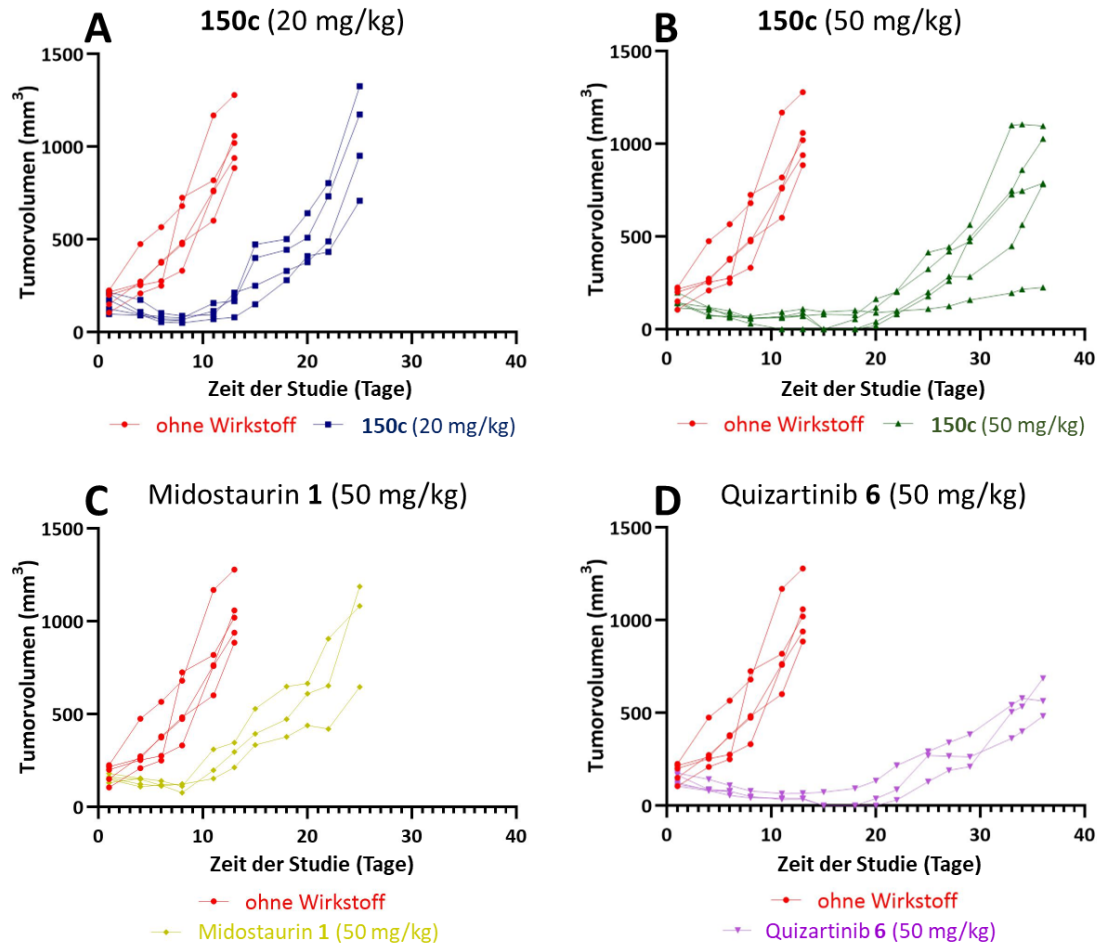


Abb. 57: Individuelle absolute Tumorstadien der einzelnen Behandlungsgruppen. (A) Tumorstadien der Mäuse aus Gruppe 2 (20 mg/kg 150c) verglichen mit den Mäusen der unbehandelten Gruppe 1, (B) Tumorstadien der Mäuse aus Gruppe 3 (50 mg/kg 150c) verglichen mit den Mäusen der unbehandelten Gruppe 1, (C) Tumorstadien der Mäuse aus Gruppe 4 (50 mg/kg Midostaurin 1) verglichen mit den Mäusen der unbehandelten Gruppe 1, (D) Tumorstadien der Mäuse aus Gruppe 5 (50 mg/kg Quizartinib 6) verglichen mit den Mäusen der unbehandelten Gruppe 1.

Nachdem Gruppe 1 ausgeschieden war, wurde bei den Mäusen aller Gruppen eine Blutanalyse durchgeführt, um die Gesamtzahl an Leukozyten und den Prozentsatz der leukämischen Blasten in jeder Behandlungsgruppe zu bestimmen. Die zugehörigen Ergebnisse sind in Tabelle 25 dargestellt.

Tabelle 25: Blutanalyse nach Ausscheiden der einzelnen Gruppen. Der Mittelwert der Leukozytenzahl und des Hämoglobin-Wertes aller Mäuse ist angegeben.

Gruppe	Mittelwert der Leukozytenzahl [$10^9/L$]
1	1.38
2	0.65
3	0.84
4	0.87
5	0.53

Nach dem Ausscheiden der jeweiligen weiteren Gruppen, wurde bei den Mäusen aller Gruppen erneut eine Blutanalyse durchgeführt, um die Gesamtzahl an Leukozyten und den Prozentsatz der leukämischen Blasten in jeder Behandlungsgruppe zu bestimmen. Die zugehörigen Ergebnisse sowie der jeweilige Mittelwert des Hämoglobins sind in Tabelle 26 dargestellt.

Tabelle 26: Blutanalyse nach Ausscheiden der einzelnen Gruppen. Der Mittelwert der Leukozytenzahl und des Hämoglobin-Wertes aller Mäuse ist angegeben.

Gruppe	Mittelwert der Leukozytenzahl [$10^9/L$]	Mittelwert Hämoglobin [g/dL]
2	0.76	11.4
3	1.55	10.5
4	1.16	10.8
5	0.83	8.5

Die Ergebnisse zeigen einen Rückgang der Gesamtzahl an Leukozyten in den mit Wirkstoff behandelten Gruppen 2 bis 5 verglichen mit der unbehandelten Gruppe 1. Die statistische Analyse der Gesamtzahl an Leukozyten jeder Behandlungsgruppe im Vergleich zu Gruppe 1 unter

Verwendung eines ungepaarten parametrischen t-Tests mit Welch-Korrektur ergab, dass die **150c** bei 20 mg/kg und Quizartinib **6** statistisch signifikant waren (p-Werte <0.05: 0.047 für **150c** bzw. 0.012 für Quizartinib **6**). Gruppe 3 (50 mg/kg **150c**) und 4 (50 mg/kg Midostaurin **1**) erwiesen sich als nicht statistisch signifikant mit (p-Werte >0.05: 0.075 für **150c** bzw. 0.084 für Midostaurin **1**).

Eine statistische Analyse der Gesamtzahl an Leukozyten zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen bei deren Beendigung unter Verwendung des ungepaarten parametrischen t-Tests mit Welch-Korrektur ergab keinen signifikanten Unterschied beim Vergleich der Behandlungsgruppen (p-Werte >0.05). Es wurden keine leukämischen Blasten in den Blutproben beobachtet, als Gruppe 1 beendet wurde und als die Behandlungsgruppen 2 bis 5 beendet wurden.

3.6.5. Histologie

Zum Zwecke einer histologischen Analyse wurden nach Ausscheiden der Mäuse aus Gruppe 1, drei Mäusen dieser Gruppe Gewebeproben entnommen, gewogen, in Formalin fixiert und zu FFPE verarbeitet. Entspr. Massen der Tumorproben sind in Tabelle 27 gezeigt.

Tabelle 27: Überblick über die Massen der drei entnommenen Tumorproben.

Maus	Tumormasse [g]
1	1.047
2	1.461
3	1.006

Eine histologische Analyse wurde unter der Leitung von Dr. Kirsten Utpatel (Universität Regensburg, Institut für Pathologie, Regensburg, Deutschland) durchgeführt. Die folgende Auswertung stammt ebenfalls von Dr. Kirsten Utpatel.

Histologisch zeigt sich ein tumorartiges blastisches Infiltrat im Fettgewebe, das aus Monoblasten und Promonozyten besteht (Abb. 58). Mitose und Apoptose sind immer sichtbar.

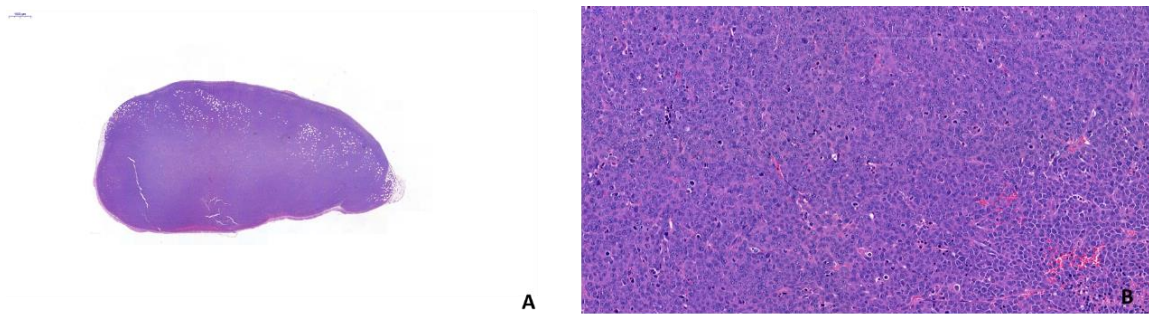


Abb. 58: (A) HE-Übersicht (Hämatoxylin und Eosin) des blastischen Infiltrats im Fettgewebe (Maßstabsleiste: 1000 µm); (B) Blastisches Infiltrat bestehend aus Monoblasten und Promonozyten (Maßstabsleiste: 50 µm).

Die Blasten zeigen eine partielle Positivität für Chloracetat-Esterase (CLAE), Myeloperoxidase (MPO) und CD68 (PGM1), was eine myelomonozytäre Differenzierung bestätigt. CD34 wird von einigen der unreifen Blasten exprimiert (Abb. 59).

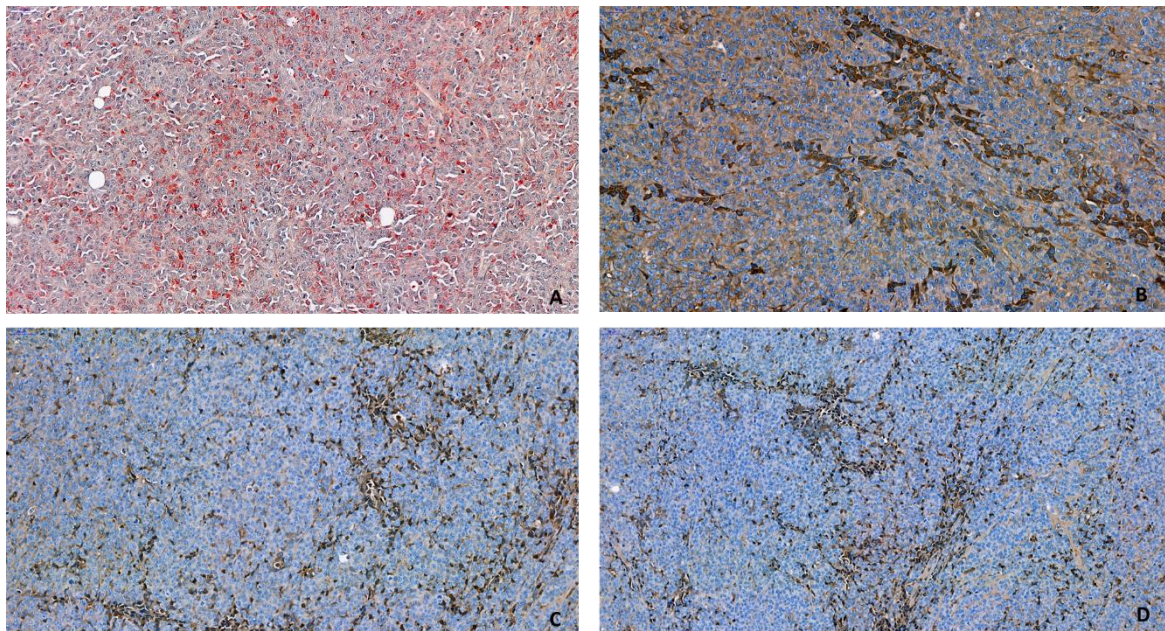


Abb. 59: (A) Blasten zeigen teilweise CLAE-Positivität; (B) Heterogene Expression von MPO in den Blasten mit geringerer Expression in den unreifen Blasten; (C) Partielle Expression von CD68, insbesondere in den reiferen Blasten; (D) CD34 wird auch von einigen der myeloischen Blasten exprimiert (Maßstabsleiste: 50 µm).

3.7. ERGEBNISSE UND VERGLEICHE

Zu Marbotinib **20** wurden in vorangehenden Arbeiten Testreihen zur *in vivo*-Wirksamkeit durchgeführt.^{324; 326; 327} Dabei wurden vergleichbare Ergebnisse bezüglich des Gesamtüberlebens mit Midostaurin **1** beobachtet.³²⁶ Bei einem Vergleich zwischen Marbotinib **20** und Quizartinib **6** verlängerte Quizartinib **6** sogar niedriger dosiert (10 mg/kg) die Lebenszeit deutlicher als Marbotinib **20** (50 mg/kg).³²⁶

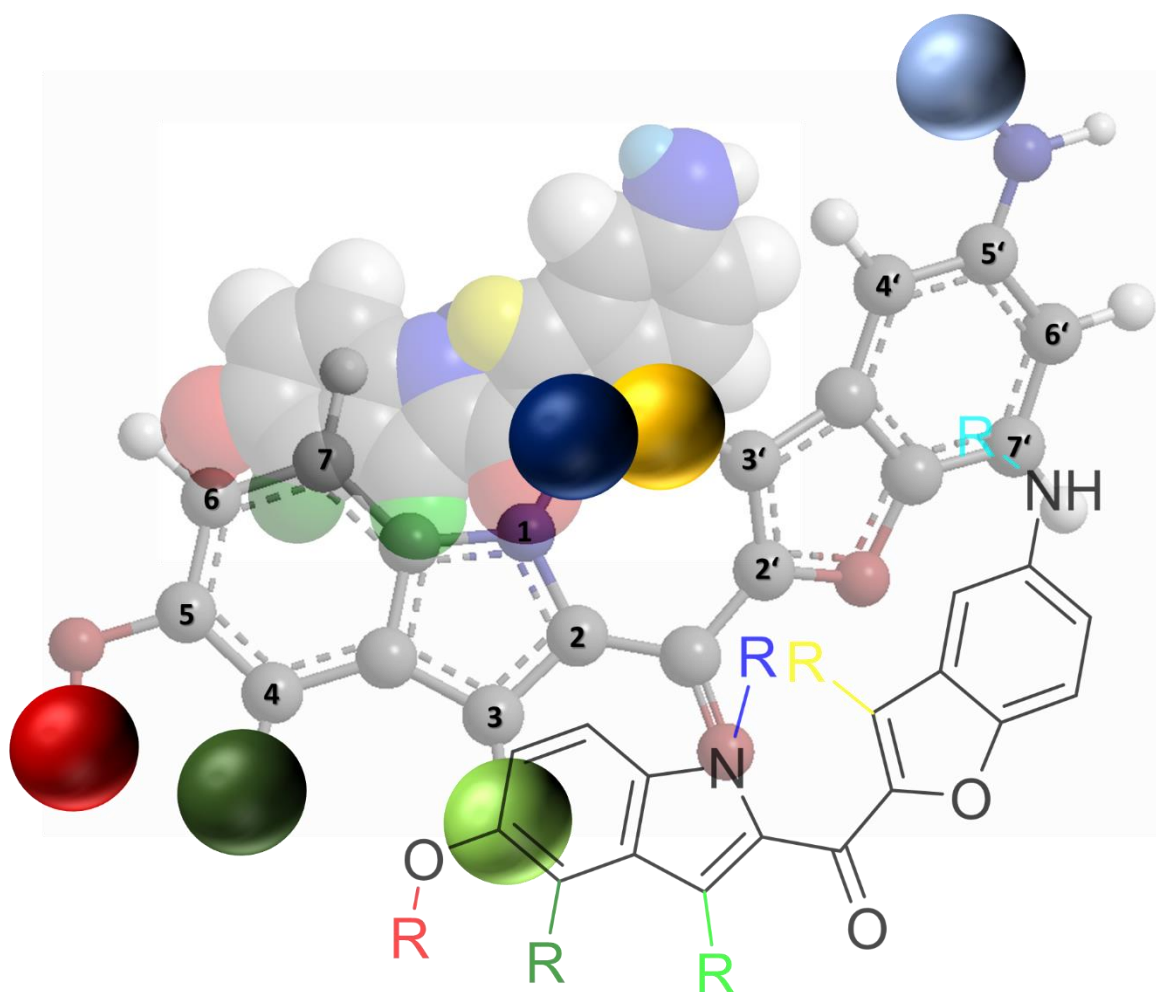
Darüberhinaus wurden Marbotinib-Carbamat **21c** und Quizartinib **6** bezüglich der jeweiligen *in vivo*-Wirksamkeit verglichen. In dieser Testreihe wurde Quizartinib **6** in den Dosen 10 und 50 mg/kg eingesetzt, während Marbotinib-Carbamat **21c** mit 50 und 75 mg/kg dosiert wurde. Beide Verbindungen erhöhten die Lebenszeit der tumorösen Mäuse erheblich. Zwar traten die ersten Todesfälle in den mit Quizartinib (**6**)-behandelten Gruppen teilweise deutlich später auf als in den Marbotinib-Carbamat (**21c**)-Gruppen, einige Mäuse der Marbotinib-Carbamat (**21c**)-Gruppe lebten dafür allerdings länger. Der Wirkstoff Marbotinib-Carbamat **21c** ist zusätzlich in hohen Dosen bis hin zu 75 mg/kg tolerierbar. Marbotinib-Carbamat **21c** wurde synthetisiert, um die Löslichkeit und damit die Bioverfügbarkeit des Wirkstoffes mit Hilfe des Prodrug-Konzepts zu verbessern.^{328–330; 347; 349; 549} Dazu wurde das Molekül deutlich vergrößert und um einen inaktiven Teil erweitert. Nach Abspalten der Carbamat-Gruppe *in vivo* wird das Prodrug wieder zum unlöslichen Wirkstoff. Das Konzept scheint bei Verbindung **21c** mit einigen Unsicherheiten und Problemen bezüglich der Bioverfügbarkeit verbunden zu sein.

Neben der Synthese von Carbamaten wurde im Rahmen dieser Arbeit ein weiteres Konzept verfolgt und Derivate wie beispielsweise Verbindung **150c** synthetisiert. Da das Molekül eine Aminogruppe in seiner Struktur aufweist, die eine Salzbildung und damit eine sehr gute Wasser- und Ethanol-Löslichkeit ermöglicht, kann sogar auf die Bildung eines Prodrugs verzichtet werden. Auch die neu synthetisierte Verbindung **150c** verlängerte bei Anwendung in verschiedenen Dosen die Lebenszeit tumoröser Mäuse, und beim Vergleich der *in vivo*-Wirksamkeit konnten deutliche Vorteile gegenüber Midostaurin **1** sowohl in Bezug auf das Gesamtüberleben als auch bei der Hemmung des Tumorwachstums erzielt werden. Bei Betrachtung des Tumolvolumens zeigte Verbindung **150c** bei Behandlung mit gleichen Dosen eine deutlich bessere und selbst bei Behandlung mit deutlich kleineren Dosen noch eine mindestens vergleichbare Wirksamkeit wie Midostaurin **1**. In Bezug auf Anzahl und Zeitpunkt der Todesfälle konnte ebenfalls eine deutlich bessere Wirksamkeit festgestellt werden. Auch im Vergleich mit Quizartinib **6** konnten hinsichtlich des Gesamtüberlebens große Vorteile erkannt werden. Bei Betrachtung der Regression des Tumolvolumens wurden fast vergleichbare Kurven erhalten, allerdings ergab die Behandlung mit

Quizartinib **6** eine Letalität von 2/5. und die Mäuse wiesen bei Behandlung mit Quizartinib **6** einen stärkeren Verlust des Körpergewichts auf als bei Behandlung mit Verbindung **150c**. Die Zeit bis zum Erreichen von 500 mm³ betrug etwa 7 d für die unbehandelte Gruppe, 18 d für Gruppe 4 (Behandlung mit 50 mg/kg Midostaurin **1**), 20 d für Gruppe 2 (Behandlung mit 20 mg/kg **150c**), 31 d für Gruppe 3 (Behandlung mit 50 mg/kg **150c**) und 31 d für Gruppe 5 (Behandlung mit 50 mg/kg Quizartinib **6**). Die mediane Überlebenszeit stieg in Gruppe 3 und Gruppe 5 um das Dreifache auf 36 d im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe mit 12 d. Laut der Studie zur Tolerabilität des Wirkstoffes **150c** der Einsatz einer höheren Dosis von bis zu 75 mg/kg möglich, was wahrscheinlich zu einer weiteren deutlichen Wirksamkeitssteigerung führen würde. Das MV4-11-Leukämiemodell verallgemeinerte sich nach subkutaner Implantation nicht. Weder in der unbehandelten Kontrollgruppe noch in einer der behandelten Gruppen wurde eine Leukopenie mit verminderten Leukozyten und keinen Blasten beschrieben. MV4-11 hat also ein aleukämisches Wachstumsmuster. Insgesamt sieht Verbindung **150c** mit einer guten Verträglichkeit und einer hohen Antitumoraktivität im FLT3-mutierten AML-Modell sehr vielversprechend aus. Die Verbindung zeigte eine ähnliche Aktivität wie Quizartinib **6**, war aber besser verträglich und zeigte eine höhere antileukämische Aktivität als Midostaurin **1**.

Zusammengefasst liefert vor allem Verbindung **150c** hervorragende Ergebnisse in den durchgeführten Studien zu *in vivo*-Tolerabilität und -Wirksamkeit. Das Molekül weist selbst in relativ niedriger Konzentration eine sehr gute Wirksamkeit in Bezug auf Überlebensdauer auf und besticht mit einer sehr guten Verträglichkeit durch orale Aufnahme bis hin zu 75 mg/kg.

4. ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

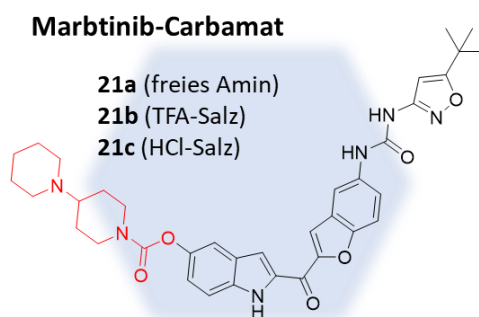


Bei der Diagnose der AML werden bei einem großen Anteil aller Patienten genetische Aberrationen festgestellt, die die Tyrosinkinase FLT3 betreffen. Diese aktivierenden Mutationen tragen kausal zum Fortschreiten der Erkrankung bei und sind oft mit schlechten Prognosen für die betroffenen Patienten verbunden. Daraus folgend ergibt sich durch Inhibierung oder sogar den Abbau des entspr. Proteins ein Ansatzpunkt für Behandlungsstrategien gegen diese Erkrankung, um die Proliferation der leukämischen Blasten zu stoppen und ihre Apoptose zu induzieren. Als besonders problematisch bei den konventionellen Strategien zur AML-Behandlung erweisen sich im Laufe der Therapie erlernte Resistenzen durch Mutationen innerhalb der FLT3-Proteinsequenz. Im Zentrum der Forschung steht also weiterhin die Entwicklung von kleinmolekularen Wirkstoffen, die in der Lage sind, verschiedene Mutationen von FLT3 inhibieren zu können.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden einige neue Bisarylmethanon-Derivate auf Grundlage des etablierten FLT3-Inhibitors Marbotinib gestaltet und synthetisiert. Im Anschluss wurde deren Potential als Hemmstoff aktivierender ITD-, sowie therapie-assoziiierter TKD-Mutationen der Tyrosinkinase FLT3 in biologischen Testreihen evaluiert. Dabei wurde neben einer erneuten Steigerung der Wirksamkeit insbesondere Wert darauf gelegt, die Löslichkeit der Verbindungen in polaren Lösemitteln und damit verbunden die biologische Wirksamkeit der Moleküle zu erhöhen.

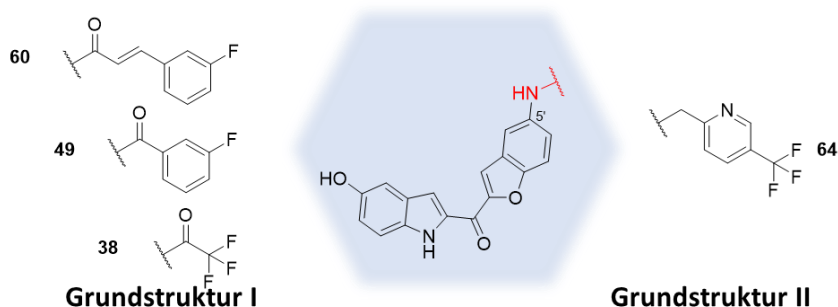
Dazu wurden einige Grundstrukturen entwickelt, die sich durch verschiedene Gruppen an verschiedenen Positionen der Bisarylmethanon-Grundstruktur auszeichnen. Eine erste Einschätzung über die biologische Wirksamkeit der synthetisierten Produkte wurde nach der Bestimmung ihrer inhibitorischen Wirkung gegenüber der häufigsten Mutation von FLT3 in einem enzymatischen Testsystem gemacht. Darauf aufbauend wurden vielversprechende Grundstrukturen auch bezüglich ihrer Hemmwirkung gegenüber der therapie-assoziierten Mutante FLT3-D835Y und anschließend in zellulären Systemen und eventuell *in vivo* untersucht.

Im ersten Teil der Arbeit wurde ein Carbamat **21** synthetisiert. Diese Modifikation stellt ein erstes Konzept zur Erhöhung der Löslichkeit des Wirkstoffes dar, da es sich um ein potenzielles Prodrug des etablierten FLT3-Inhibitors Marbotinib handelt.



Marbotinib-Carbamat **21** zeigt starke Aktivität in enzymatischen Testungen sowohl gegenüber der Längenmutation FLT3-ITD als auch der Punktmutation FLT3-D835Y. Weiterhin verlängert Marbotinib-Carbamat **21** das Überleben leukämischer Mäuse in *in vivo*-Testreihen deutlich und das Molekül weist eine erhöhte Wasserlöslichkeit im Vergleich mit Marbotinib **20** auf. Allerdings zeigten sich in pharmakokinetischen Untersuchungen weiterhin Defizite hinsichtlich der Bioverfügbarkeit. Eine kurze Halbwertszeit und ein geringer Plasmaspiegel wurden ebenfalls registriert.

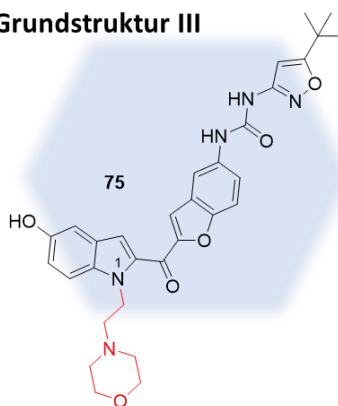
Weitere Ideen bezogen sich auf die die Position 5' des Benzofuran-Rings und die Synthese fluorierter Verbindungen. Die Bisarylharnstoff-Einheit aus Marbotinib **20** wurde in einer ersten Versuchsreihe durch fluoridierte Essigsäure-, Benzoesäure- und Zimtsäureamide ersetzt und einige Produkte der **Grundstruktur II** synthetisiert. Außerdem wurde die Grundstruktur des Moleküls an derselben Position über ein Amin mit einem fluorierten Aromaten verbunden (**Grundstruktur III**).



Grundstruktur I zeigte nicht annähernd vergleichbare inhibitorische Wirkung gegenüber FLT3-ITD wie Marbotinib **20**. **Grundstruktur II** dagegen stellte sich als deutlich wirksamer heraus, allerdings nicht vergleichbar mit Marbotinib **20**.

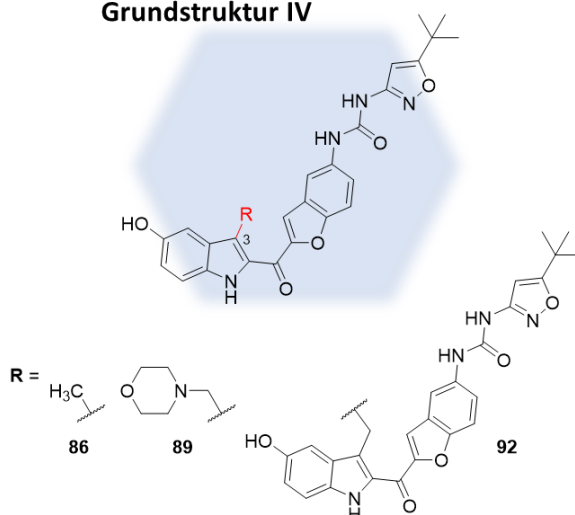
Für das Design der weiteren Stoffgruppen wurde daher die Isoxazol-Einheit beibehalten und entspr. andere Positionen des Grundmoleküls verändert. Neben dem Carbamat-Ansatz bei der Synthese von **21** zur Erhöhung der Löslichkeit des Wirkstoffes in Wasser und Ethanol, wurde zusätzlich ein zweites Konzept mit demselben Ziel verfolgt. Dazu wurden verschiedene Substituenten und vor allem Löslichkeits-erhöhende Gruppen an verschiedenen Positionen des Moleküls eingeführt und beispielsweise einige Moleküle der **Grundstruktur III** synthetisiert (z.B. **75**).

Grundstruktur III

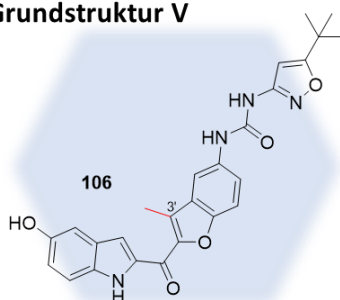


Bei den Überlegungen zur Gestaltung weiterer Grundstrukturen wurden weiter die **Grundstrukturen IV** und **V** entwickelt, wobei der Fokus auf Position 3 des Indolrings (**Grundstruktur IV**) bzw. 3' des Benzofuran-Rings (**Grundstruktur V**) gerichtet war.

Grundstruktur IV



Grundstruktur V



Bei den synthetisierten Verbindungen der **Grundstruktur IV** kann einzig die Methyl-substituierte Verbindung **86** eine angemessene inhibitorische Wirkung gegenüber FLT3-ITD, allerdings nicht gegenüber FLT3-D835Y aufweisen. Ein größerer Substituent in dieser Position, wie die gezeigte Morpholinmethyl-Gruppe in Verbindung **89**, verringert diese inhibitorische Wirkung deutlich, während ein Dimer aus zwei Marbotinib-Einheiten (**92**) einen Effekt der gewünschten Art komplett

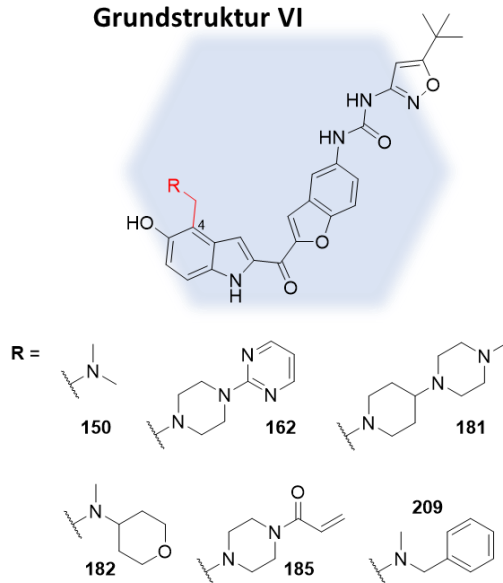
verhindert. Die Methyl-substituierte Verbindung **106** der **Grundstruktur V** konnte verglichen mit Marbotinib **20** ebenfalls nur eine geringere Hemmwirkung gegenüber FLT3-ITD aufweisen.

Mit den Verbindungen der **Grundstruktur VI** konnte im Gegensatz zu den bisher gezeigten Stoffklassen eine Gruppe von Molekülen mit sehr hohem Potenzial geschaffen werden. Allen Verbindungen dieser Klasse ist ein Aminomethyl-Rest in Position 4 des Indolrings gemeinsam. Durch Verwendung einer breiten Palette von Aminen verschiedener Struktur konnte ein vielfältiges Spektrum an Molekülen verschiedener Kopfgruppen unterschieden werden.

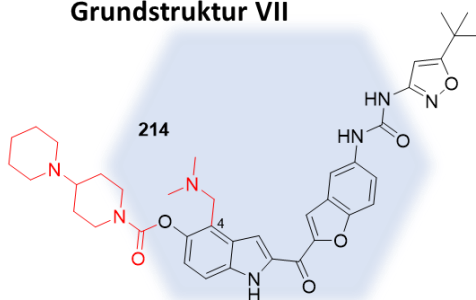
Eine besonders potente Inhibition der Tyrosinkinase FLT3 konnte durch möglichst einfache sekundäre Amine erreicht werden, wobei neben der Dimethylamin-Verbindung **150** ein Derivat mit *N*-Methyl-Piperazin **151** als Kopfgruppe herausragende Eigenschaften zeigten. Modelling-Experimente bestätigen eine starke Bindung der gezeigten Moleküle zum entspr. Rezeptor.

Zusätzlich wurde für einige der wirksamen Verbindungen mit **Grundstruktur VI** das bekannte Carbamat-Konzept angewandt und einige Moleküle mit **Grundstruktur VII** synthetisiert.

Grundstruktur VI



Grundstruktur VII



Auch viele Verbindungen dieser Struktur zeigen stark ausgeprägte inhibitorische Fähigkeiten sowohl gegenüber FLT3-ITD als auch gegenüber FLT3-D835Y.

Sehr viele Verbindungen der **Grundstrukturen VI** und **VII** erwiesen sich auch in zellulären Testsystemen als potente Inhibitoren mit enormen antiproliferativen Eigenschaften. Verbindung **150** und **151** sowie deren Carbamate **214** und **215** wirken besonders wachstumshemmend auf die menschliche Leukämie-Zelllinien MV4-11, EOL-1, MOLM-12, MONO-MAC-1 und MONO-MAC-6, sowie auf Ba/F3-Zellen mit resistenz-mutierter FLT3. Zusätzlich wird von den vier Verbindungen Apoptose in den mutierten Ba/F3-Zellen induziert. Alle vier Verbindungen zeigen in einem hohen Maße Kinase-Selektivität, wobei **150** und **151** außer FLT3 fast keine weitere Kinase beeinflussen. Einzig die Rezeptor-Tyrosinkinase RET stellt ein weiteres potenzielles Ziel dar, spielt aber im Stoffwechsel eines erwachsenen Menschen keine entscheidende Rolle.⁵⁴² Ein großer Vorteil entspr. HCl- bzw. TFA-Salze vieler neu-synthetisierten Verbindungen stellt ihre deutlich erhöhte Wasser- und Ethanol-Löslichkeit im Vergleich zu Marbotinib **20** dar, wodurch sich eine deutlich bessere Bioverfügbarkeit ergeben soll.

Durch Untersuchungen zur *in vivo*-Tolerabilität zeigten sowohl Marbotinib-Carbat **21c** als auch das HCl-Salz **150c** eine besonders hohe Verträglichkeit vor allem durch orale Applikation. Darüber hinaus verlängern beide Wirkstoffe das Leben leukämischer Mäuse drastisch und erweisen sich als deutlich besser verträglich und in höheren Dosen anwendbar als die beiden etablierten Wirkstoffe Quizartinib **6** und Midostaurin **1**.^{324; 327}

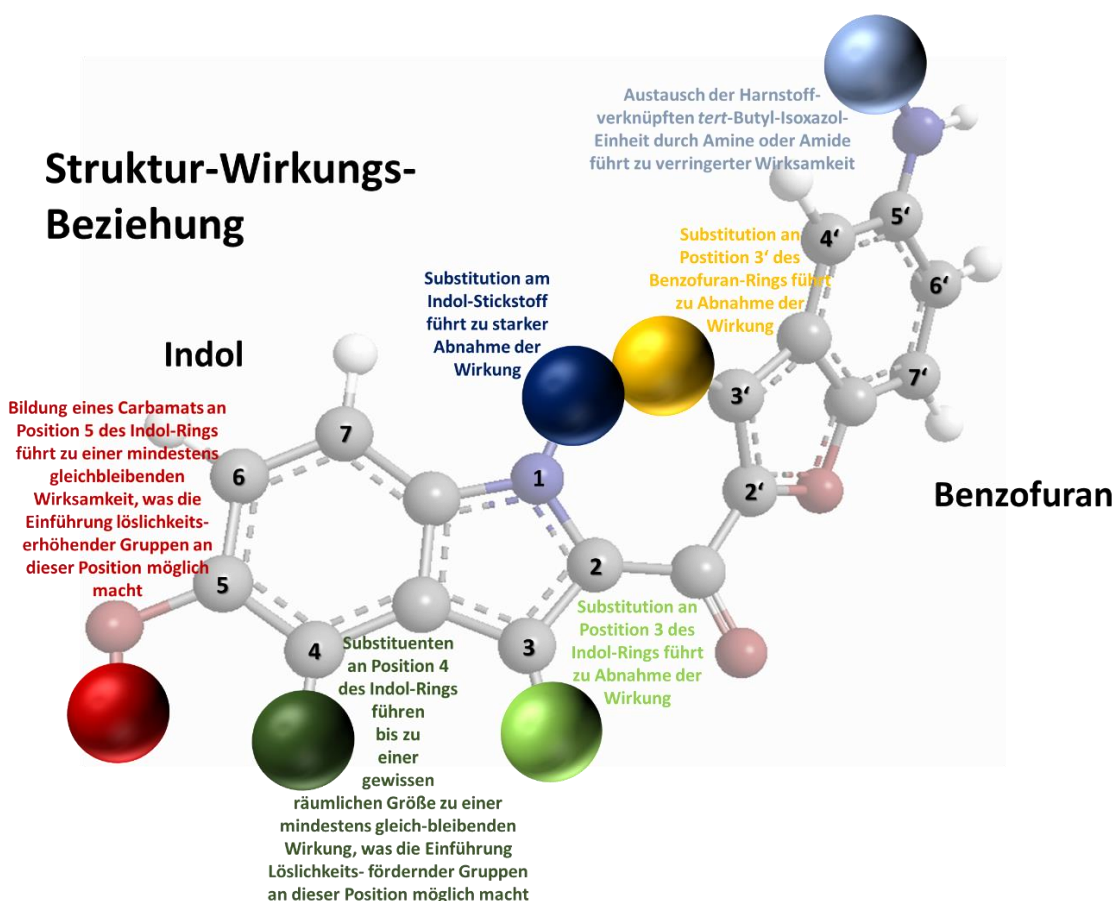


Abb. 60: Struktur-Wirkungsbeziehung auf Basis der Testergebnisse aller neu-synthetisierter Stoffgruppen. Zu jeder einzelnen Grundstruktur ist kurz erläutert, inwiefern durch Modifikationen an der entspr. Position verbesserte oder verschlechterte Wirksamkeit erreicht wird.

Zusammenfassend kann das Problem der geringen Wasser- und Ethanol-Löslichkeit und einer damit verbundenen geringen *in vivo*-Verfügbarkeit des Wirkstoffes Marbotinib **20** mit Hilfe beider Ansätze umgangen werden. Einerseits kann durch Bildung eines Carbamats und damit verbunden durch Einführen eines tertiären Amins in die Molekülstruktur und anschließender Bildung eines Salzes ein lösliches Derivat des Inhibitors **21c** erhalten werden. Andererseits kann der Inhibitor Marbotinib **20** durch Derivatisierung an Position 4 des Indolrings in eine Aminomethyl-Verbindung überführt werden, die ebenfalls ein tertiäres Amin beinhaltet. Das Molekül ist daher ebenfalls in ein Salz wie beispielsweise **150c** mit deutlich besserer Wasser- und Ethanol-Löslichkeit überführbar. Beide Moleküle erweisen sich als deutlich geeigneter für *in vivo*-Anwendungen, zeigen deutliche Vorteile gegenüber Marbotinib **20** und insgesamt mindestens vergleichbare Ergebnisse wie die beiden etablierten Wirkstoffe Midostaurin **1** und Quizartinib **6**. Verbindung **150c** ist in der Lage, das Tumorstwachstum *in vivo* deutlich besser zu reduzieren als Midostaurin **1** und nahezu im selben Maß wie Quizartinib **6**. Dagegen zeigt der Wirkstoff eine deutlich verbesserte Verträglichkeit als die beiden Vergleichssubstanzen (vgl. Abb. 61)

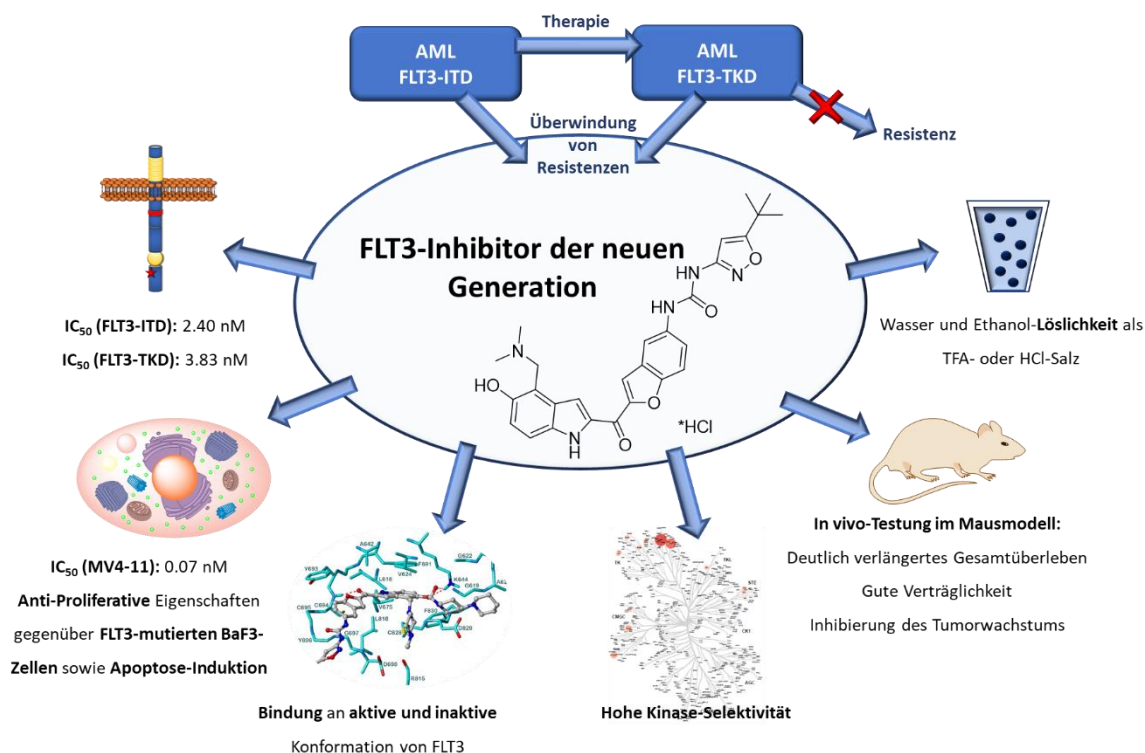
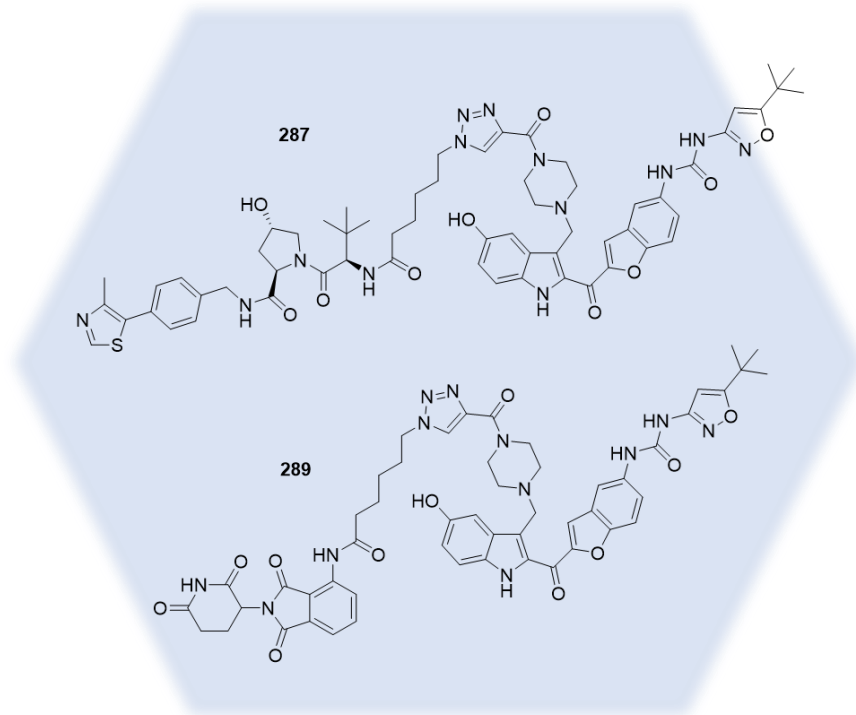


Abb. 61: Graphischer Überblick über die Testergebnisse der vielversprechenden neu-synthetisierten Verbindung **150c**.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde ein weiteres Konzept eingeführt, von dem sich ebenfalls eine verbesserte Strategie zur Überwindung von Resistenzen und weiterer Problematiken der konventionellen AML-Therapie versprochen wird. PROTACs sollen durch die Verknüpfung eines FLT3-bindenden Liganden mit einer E3-Ligase-spezifischen Struktur den Abbau der entspr. Proteine induzieren. Zu diesem Zweck beinhaltet diese Arbeit einige Beispiele zum Design von PROTACs, die auf FLT3 abzielen sollen. Bei allen synthetisierten Molekülen handelt es sich dabei um Moleküle, deren Verknüpfung auf Alkylketten und einem Triazol-Ring basiert, während als E3-Ligase-spezifische Ligand VHL- oder Thalidomid-Derivate verwendet wurden. Eine vielversprechende Struktur aus dem ersten Teil der Arbeit wurden als FLT3-Ligand verwendet, wie bei **287** und **289** beispielhaft gezeigt.

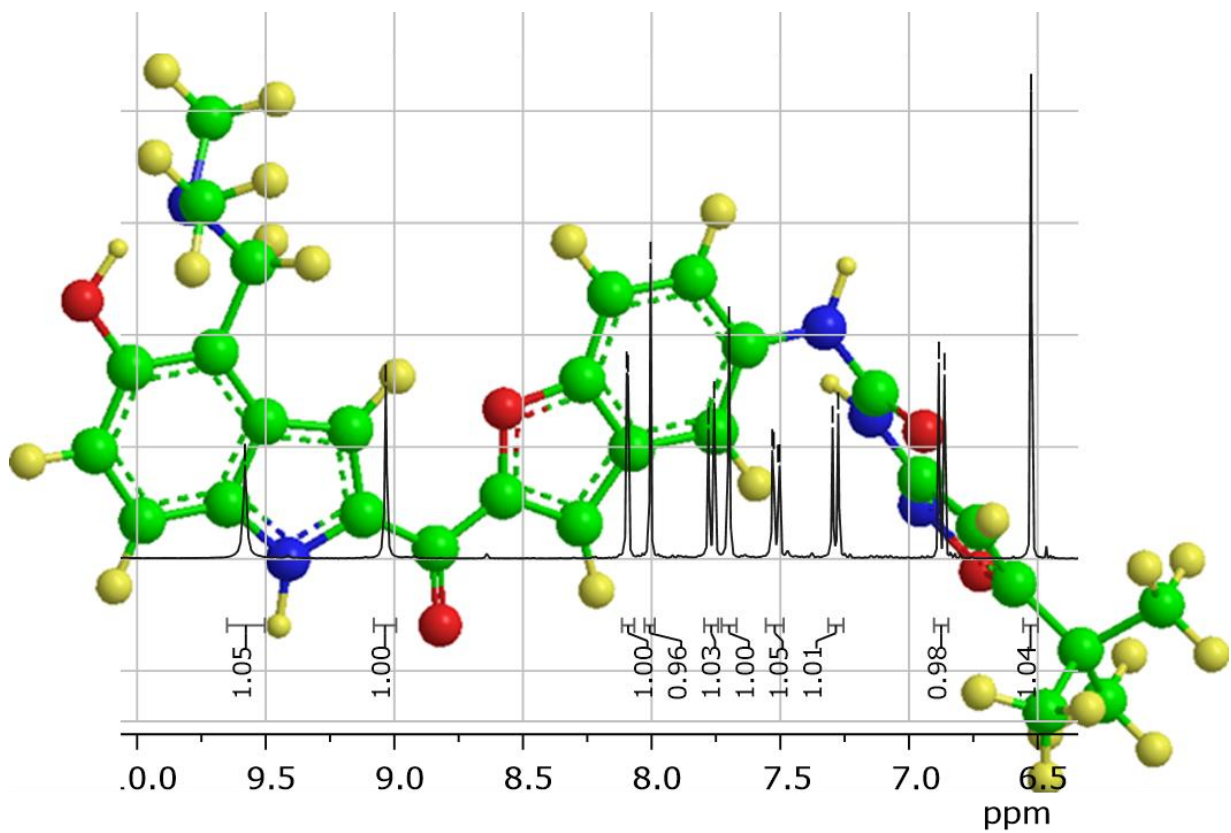
PROTACs



Im Rahmen weiterer Arbeiten könnten PROTACs dieser Art ausführlich biologisch auf ihre Wirkung in Bezug auf den Proteinabbau untersucht werden. Außerdem bietet sich durch Variation von Länge und Gestalt des Linkers ein breites Spektrum weiterer Verbindungen. Linker auf Basis von PEG oder reine Alkyl-Linker stellen eventuell ebenso weitere vielversprechende Ideen zur Synthese von FLT3-PROTACs dar, wie die Einführung irreversibler oder kovalent-reversibler Gruppen.

5. CHEMISCH-EXPERIMENTELLER

TEIL



5.1. ALLGEMEINE ANGABEN

In diesem Kapitel sind die Materialien und Methoden beschrieben, die zu Synthese, Reinigung und analytischer Charakterisierung aller Verbindungen im Laufe dieser Arbeit verwendet wurden. Lösemittel und Chemikalien wurden von folgenden Herstellern kommerziell erworben: Acros Organics (Geel, Belgien), Abcr GmbH (Karlsruhe, Deutschland), Alfa Aesar GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland), BLD Pharmatech GmbH (Kaiserslautern, Deutschland), Carbolution Chemicals GmbH (Saarbrücken, Deutschland), Carbosynth (Berkshire, England), Fisher Scientific (Loughborough, England), Fluorochem Ltd. (Hadfield, England), Manchester Organics (Runcorn, England), Merck KGaA (Darmstadt), Sigma Aldrich Chemie GmbH (München, Deutschland) oder TCI Europe (Zwijndrecht, Belgien). Diese Lösemittel und Chemikalien wurden ohne weitere Reinigung verwendet, trockene Lösemittel wurden bei Bedarf nach entspr. Vorschriften vor der Verwendung ausreichend getrocknet. Deuterierte Lösemittel für die NMR-Spektroskopie wurden von Deutero GmbH (Kastellaun, Deutschland) bezogen. Zur Herstellung von Probenlösungen und als Fließmittel für analytische oder präp. HPLC wurde Reinstwasser verwendet. Alle abgebildeten chemischen Strukturen und sowie deren Nomenklatur wurden durch das Programm ChemDraw 20.0 (Perkin Elmer, Massachusetts, USA) generiert.

Alle ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren sowie alle 2D-Spektren (HMBC, HSQC, COSY und NOESY) wurden mit folgenden Geräten der Firma Bruker Biospin (Karlsruhe, Deutschland) gemessen: Avance 300 (^1H : 300 MHz, ^{13}C : 75 MHz), Avance 400 (^1H : 400 MHz, ^{13}C : 101 MHz) oder mit einem Avance III HD 600 (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz). Die chemische Verschiebung ist in ppm (parts per million) angegeben und die Skala bezieht sich auf Tetramethylsilan als Ursprung. Bei der Messung der ^1H -Spektren erfolgte eine Normierung auf das Signal der Restprotonen des verwendeten Lösemittels: δ (CDCl_3) = 7.26 ppm, δ ($\text{DMSO-}d_6$) = 2.50 ppm, δ ($\text{Aceton-}d_6$) = 2.05 ppm und δ ($\text{Methanol-}d_4$) = 3.31 ppm. Bei der Messung der ^{13}C -Spektren erfolgte eine Normierung auf das Signal des verwendeten Lösemittels: δ (CDCl_3) = 77.2 ppm, δ ($\text{DMSO-}d_6$) = 39.5 ppm, δ ($\text{Aceton-}d_6$) = 29.8 ppm und δ ($\text{Methanol-}d_4$) = 49.0 ppm.⁵⁵² Die Multiplizität der Signale im ^1H -NMR-Spektrum wurde durch die Abkürzungen s (Singulett), d (Dublett), t (Triplet), q (Quartett), p (Pentett), m (Multiplett), dd (Dublett vom Dublett), dt (Dublett vom Triplet) oder ddd (Dublett vom Dublett vom Dublett) angegeben. Bei den Kohlenstoffatomen erfolgte die Bestimmung der Multiplizität durch Messung von DEPT 90- und DEPT 135-Spektren, wobei die Signale primärer sowie tertiärer C-Atome entspr. mit + (positives Signal im DEPT135-Spektrum), die sekundärer C-Atome mit - (negatives Signal im DEPT135-Spektrum) gekennzeichnet wurden. Quartäre C-Atome hingegen sind durch kein Signal im DEPT135-Spektrum gekennzeichnet. Sofern es sich bei einer Verbindung um ein fluoriertes Derivat bzw. um das TFA-Salz einer Struktur handelte, wurden zusätzlich die

Signale eines ^{19}F -Spektrums angegeben. Einige Derivate, bei denen die richtige Konstitution bewiesen werden sollte, wurden ausführlich mit zweidimensionalen Techniken (HSQC, HMBC, COSY, NOESY, ROESY, TOCSY) untersucht.

Alle Schmelzpunkte wurden mit einem Büchi B-545 (Flawil, Schweiz) bestimmt und sind unkorrigiert angegeben. Zur Bestimmung wurden Schmelzpunkt-Kapillaren der Firma Marienfeld-Superior Laboratory Glassware (Lauda-Königshofen, Deutschland) verwendet.

Alle IR-Messungen wurden an einem Tensor 27 Spektrometer der Firma Bruker durchgeführt, wobei KBr als Matrix diente. Der Aufnahmebereich lag hierbei zwischen 4000 und 400 cm^{-1} .

Elementaranalysen wurden von der Zentralen Analytik der Fakultät Chemie und Pharmazie der Universität Regensburg entweder mit einem Vario Micro Cube (Elementar Analysensysteme GmbH, Langenselbold, Deutschland) oder mit einem Titrino plus 848 (Metrohm GmbH, Filderstadt, Deutschland) durchgeführt.

Alle massenspektrometrischen Messungen wurden von der Abteilung für Zentrale Analytik der Fakultät Chemie und Pharmazie (Universität Regensburg, Abteilung für Massenspektrometrie) durchgeführt. Zur Aufnahme niedrigauflösender Massenspektren (LRMS) wurde entweder ein Finnigan ThermoQuest TSQ 7000 Spektrometer-Gerät (Thermo Finnigan, San Jose, USA) mit Elektrosprayionisation (ESI), gekoppelt mit einem 1100 Series HPLC-Gerät (Agilent Technologies, Santa Clara, USA), oder ein MAT SSQ 710A (Thermo Finnigan) mit Elektronenionisation (EI) verwendet. Hochauflösende Massenspektren (HRMS) wurden an einem Agilent 6540 UHD Accurate-Mass Q-TOF LC/MS-System (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) mit ESI gemessen.

Dünnschichtchromatographische Analyse zur Reaktionskontrolle wurde auf Kieselgel 60 F 254-Platten mit Aluminium als Trägermaterial von der Firma Merck KGaA durchgeführt. Die Auswertung der Platten erfolgte unter UV-Licht (254/366 nm) sowie bei einigen Verbindungen durch Anfärben mit geeigneten Färbereagenzien (Ninhydrin oder Kaliumpermanganat). Säulenchromatographische Reinigung vieler Verbindungen erfolgte mit Geduran 60 (0.063-0.200 mm, Merck KGaA) als stationärer Phase.

Die Reinigung einiger Verbindungen wurde mit Hilfe einer präp. HPLC vorgenommen. Dazu wurde ein System der Firma Waters (Milford, MA, USA), bestehend aus einem 2524 Binary Gradient Module, einem 2489 UV/Vis-Detektor und einem PrepInjekt, verwendet. Als stationäre Phase diente eine Phenomenex Kinetex 5U XB-C18 100A, während eine Mischung aus MeCN und 0.1% TFA in Reinstwasser als mobile Phase verwendet wurde. Vor allen HPLC-Anwendungen wurden die Eluenten ausreichend entgast, die Probe in einem Lösemittelverhältnis mit minimal-nötigem organischen Anteil gelöst und über einen Nylon-Filter (13 mm, 0.45 μm , Phenomenex Ltd.,

Aschaffenburg, Deutschland) filtriert. Die Detektion erfolgte bei 220 nm, die Temperatur der Säule betrug 23 °C und die Flussrate betrug 18 bzw. 20 mL/min.

Reinheitsbestimmungen mit Hilfe einer analytischen HPLC wurden mit einem 1100 HPLC-System von Agilent Technologies Inc. (Santa Clara, CA, USA) mit einem instant Pilot Controller, einer G1312A Bin Pump, einem G1329A ALS Autosampler, einem G1379A Vakuum-Entgaser, einem G1316A Column Compartment und einem G1315B DAD Detektor durchgeführt. Als Säule wurde eine Phenomenex Kinetex XB-C18 (250x4.6 mm, 5 µm) verwendet und auf 30 °C temperiert. Durch Bestimmung des prozentualen Anteils der Flächenpeaks bei 220 nm konnte die Reinheit der Proben bestimmt werden. Als mobile Phase diente eine Mischung aus MeCN (**B**) und 0.05% TFA in Reinstwasser (**A**). Zur Elution wurde ein linearer Gradient verwendet (Tabelle 28). Die Flussrate betrug 1.00 mL/min und die Totzeit $t_0 = 3.21$ min. Alle Proben wurden vor der Injektion mit einem Polytetrafluorethylen (PTFE)-Filter (15 mm, 0.2 µm) filtriert.

Tabelle 28: Verlauf der Methode der analytischen HPLC. Eluent A: 0.05% TFA in Wasser, Eluent B: Acetonitril.

Zeit [min]	Flussrate [mL/min]	% A	% B
	1.00	90	10
25.0	1.00	5	95
35.0	1.00	5	95
36.0	1.00	90	10
45.0	1.00	90	10

Zur Lyophilisierung wurde eine Christ alpha 2-4 LD Gefriertrocknung mit einer Vacuubrand RZ Drehschieber-Vakuumpumpe verwendet.

5.2. ALLGEMEINE ARBEITSVORSCHRIFTEN

5.2.1. Allgemeine Vorschrift 1 (AV1): Phenylsulfonyl-Schützung

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{321; 325} NaH (60% in Paraffin, 1.1 eq.) wurde in DMF oder THF (10 mL/g Startmaterial) suspendiert und bei 0 °C eine Lösung des Startmaterials (1.0 eq.) in DMF oder THF (10 mL/g Startmaterial) zugetropft. Nachdem die Reaktionsmischung 1 h bei RT gerührt wurde, wurde eine Lösung von Benzolsulfonylchlorid (1.2 eq.) in DMF oder THF (10 mL/g Startmaterial) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht gerührt und nach Reaktionsende auf eine NaHCO₃-Lösung (5% in Wasser) gekippt. Das Produkt wurde dreimal mit Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Natriumsulfat getrocknet, das Trockenmittel abfiltriert und das Lösemittel entfernt.

5.2.2. Allgemeine Vorschrift 2 (AV2): Acetylierung

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{324; 325; 553} Das Startmaterial (1.0 eq.) wurde in THF (15 mL/g Startmaterial) gelöst und bei -78 °C n-BuLi (1.6 M Lösung in Hexan, 1.1 eq.) zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei -78 °C gerührt und auf eine vorgekühlte Lösung AcOAc (1.5 eq.) in THF (15 mL/g Startmaterial) gekippt. Nach 1 h bei -78 °C wurde die Lösung erwärmt und über Nacht bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde die Reaktionsmischung auf eine NaCl-Lösung (gesättigt in Wasser) gekippt und das Produkt dreimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet, das Trockenmittel abfiltriert und das Lösemittel entfernt.

5.2.3. Allgemeine Vorschrift 3 (AV3): α -Bromierung

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{324; 336} Zu einer Lösung des Startmaterials (1.0 eq.) in THF (25 mL/g Startmaterial) wurde portionsweise über den Zeitraum von 30 min Trimethylphenylammonium Tribromid (1.1 eq.) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 4 h bei RT gerührt und nach Reaktionsende NaCl-Lösung (gesättigt in Wasser) zugegeben. Mit HCl (halbkonzentriert in Wasser) wurde ein pH-Wert von 1 eingestellt und das Produkt dreimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet, das Trockenmittel abfiltriert und das Lösemittel entfernt.

5.2.4. Allgemeine Vorschrift 4 (AV4): Ringschluss zum Benzofuran

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{324; 342} Zu einer Lösung des Startmaterials (1.0 eq.) in 2-Butanon (40 mL/g Startmaterial) wurden K_2CO_3 (1.0 eq.) und 2-Hydroxy-5-nitrobenzaldehyd **27** (1.0 eq.) gegeben und die Reaktionsmischung 4 h refluxiert. Nach Reaktionsende wurde der Feststoff abfiltriert und das Lösemittel entfernt.

5.2.5. Allgemeine Vorschrift 5 (AV5): Phenylsulfonyl-Entschützung

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{324; 344} Zum Startmaterial (1.0 eq.) wurde eine Mischung aus THF/MeOH und NaOH (10% in Wasser) (1:1:1, 40 mL/g Startmaterial) gegeben und die Reaktionsmischung 4 h refluxiert.

5.2.6. Allgemeine Vorschrift 6 (AV6): Boc-Entschützung

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.³⁴⁶ Zum Startmaterial (1.0 eq.) wurde eine Mischung aus TFA und DCM (1:4, 40 mL/g Startmaterial) gegeben und die Reaktionsmischung 1 h bei RT gerührt.

5.2.7. Allgemeine Vorschrift 7 (AV7): Hydrierung

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{324; 419; 420} Eine Lösung des Startmaterials (1.0 eq.) in THF/MeOH (1:1, 100 mL/g Startmaterial) oder EtOH (100 mL/g Startmaterial) wurde refluxiert. Bei dieser Temperatur wurden Ammoniumformiat (4.0 eq.) und Pd (10% auf Aktivkohle) zugegeben und die Reaktionsmischung 1 h refluxiert. Nach Reaktionsende wurde der Katalysator durch Filtration der Reaktionsmischung über Celite entfernt.

5.2.8. Allgemeine Vorschrift 8 (AV8): Darstellung der Bisarylharnstoff-Einheit

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.³²⁴ Triphosgen (0.5 eq.) oder eine Lösung von Phosgen (20% in Toluol, 8.8 eq.) wurde bei 0 °C zu einer Lösung von 5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-amin **33** (2.2 eq.) in DCM (150 mL/g Startmaterial) gegeben. Pyridin (16 eq.) wurde hinzugefügt und die Reaktionsmischung über Nacht bei RT gerührt. Das Lösemittel wurde entfernt, der Rückstand in THF (375 mL/g Startmaterial) wiederaufgenommen und die Lösung abfiltriert. Die Lösung von 5-

(*tert*-Butyl)-3-isocyanatoisoxazol **35** (2.2 eq.) in THF wurde zu einer Lösung des Startmaterials (1.0 eq.) in THF getropft und Pyridin (25 eq.) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei RT gerührt und nach Reaktionsende EA zugegeben. Die organische Phase wurde zweimal mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt.

5.2.9. Allgemeine Vorschrift 9 (AV9): Darstellung eines Carbamats

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.³²⁴ Zu einer Lösung des Startmaterials (1.0 eq.) in DCM/Pyridin (1:1, 100 mL/g Startmaterial) wurde portionsweise [1,4'-Bipiperidin]-1'-carbonylchlorid **36** (1.2 eq.) gegeben. Die Lösung wurde über Nacht bei RT gerührt und bei Bedarf weiter Säurechlorid zugegeben (bis zu 2.4 eq.). Nach Reaktionsende wurde die Reaktionsmischung mit DCM verdünnt und die organische Phase zweimal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt.

5.2.10. Allgemeine Vorschrift 10 (AV10): Bildung eines Hydrochlorids

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.³²⁴ Das Startmaterial wurde in MeOH (150 mL/g Startmaterial) gelöst und HCl (2 M in Diethylether oder 5-6 M in Isopropanol oder 37% in Wasser) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 2 h bei RT gerührt und das Lösemittel entfernt.

5.2.11. Allgemeine Vorschrift 11 (AV11): Säureamide

5.2.11.1. Allgemeine Vorschrift 11A (AV11A)

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{270; 350; 351; 405; 406} Das Carbonsäurechlorid (1.5 eq.) oder Carbonsäureanhydrid (1.2 eq.) wurde in THF (80 mL/g Startmaterial) oder DCM (80 mL/g Startmaterial) gelöst und bei 0 °C eine Lösung des Startmaterials in THF (40 mL/g Startmaterial) zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde 0.5-6 h bei RT (80 °C für Verbindung **49**) gerührt.

5.2.11.2. Allgemeine Vorschrift 11B (AV11B)

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.³⁵² Der entspr. Methylester (1.5 eq.) wurde in THF (10 mL/g Ester) gelöst und KOH (1 M in Wasser, 1.5 eq.) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei RT gerührt und das Lösemittel entfernt. Das entstandene Kaliumsalz (1.5 eq.) wurde in THF (5 mL/g Startmaterial) suspendiert und bei 0 °C Pivalinsäurechlorid (1.5 eq.) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde auf RT erwärmt und nach 1 h eine Lösung des

Startmaterials **33** (1.0 eq.) in THF (20 mL/g Startmaterial) zugetropft. Nach 1 h bei RT wurde Wasser zugegeben und das organische Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt.

5.2.11.3. *Allgemeine Vorschrift 11C (AV11C)*

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{450–452} Zu einer Lösung des Startmaterials (1.0 eq.) in THF (15 mL/g Startmaterial) oder DCM (15 mL/g Startmaterial) wurde bei 0 °C das Carbonsäurechlorid oder -anhydrid (1.1–2.0 eq.) und DIPEA oder Triethylamin zugegeben und die Reaktionsmischung über Nacht bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde das Lösemittel entfernt, der Rückstand in EA aufgenommen und die organische Phase zweimal mit Wasser und einmal mit NaCl-Lösung (gesättigt in Wasser) gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt.

5.2.11.4. *Allgemeine Vorschrift 11D (AV11D)*

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{522–524} Das Startmaterial (1.0 eq.), die Carbonsäure (1.0 eq.), *N*-Methylmorpholin (1.1 eq.) und EDC*HCl (1.1 eq.) wurden in DCM (80 mL/g Startmaterial) gelöst und über Nacht bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde die Reaktionsmischung mit DCM verdünnt und mit Wasser und NaCl-Lösung (gesättigt in Wasser) gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt.

5.2.11.5. *Allgemeine Vorschrift 11E (AV11E)*

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁵²⁷ Zu einer Lösung der Carbonsäure (1.1 eq.) in DCM (20 mL/g Carbonsäure) wurde bei 0 °C Oxalylchlorid (1.1 eq.) gegeben und drei Tropfen DMF hinzugefügt. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei RT gerührt und das Amin (1.0 eq.) sowie Pyridin (4.4 eq.) zugegeben. Nach Reaktion über Nacht wurde die Lösung auf NaCl-Lösung (gesättigt in Wasser) gekippt und das Produkt dreimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt.

5.2.11.6. *Allgemeine Vorschrift 11F (AV11F)*

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{528; 529} Das Amin (1.1 eq.) wurde in DMF (100 mL/g Startmaterial) gelöst und HATU (1.1 eq.) und DIPEA (4.4 eq.) zugegeben. Die Reaktion wurde über Nacht bei RT gerührt und nach Reaktionsende Wasser zugegeben. Das Produkt wurde dreimal mit DCM extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit NaCl-Lösung (gesättigt in Wasser) gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt.

5.2.12. Allgemeine Vorschrift 12 (AV12): Acylchloride

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁵⁵⁴ Das Startmaterial wurde in Thionylchlorid (4 mL/g Startmaterial) gelöst und die Reaktionsmischung 2 h refluxiert. Nach Reaktionsende wurde überschüssiges Thionylchlorid destillativ entfernt.

5.2.13. Allgemeine Vorschrift 13 (AV13): Alkylierung am Indol-N

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{360; 361} Zu einer Suspension des Startmaterials **32** (1.0 eq.) in DMF wurden K_2CO_3 (5.0 eq.) und das entspr. Hydrochlorid (1.2 eq.) gegeben und die Reaktionsmischung über Nacht bei 80 °C gerührt. Nach Reaktionsende wurde die Lösung auf Wasser gekippt und das Produkt dreimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt.

5.2.14. Allgemeine Vorschrift 14 (AV14): Bildung der Aminomethylverbindungen

5.2.14.1. Allgemeine Vorschrift 14A (AV14A): Reaktion in DMF

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.³⁶⁶ Eine Suspension des Startmaterials (1.0 eq.) in DMF (300 mL/g Startmaterial) wurde auf 80 °C erhitzt und bei dieser Temperatur Paraformaldehyd (3.0 eq.) und nach 15 min das entspr. Amin (3.0 eq.) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 4 h bei 80 °C gerührt und nach Reaktionsende auf Wasser gekippt. Das Produkt wurde dreimal mit EA extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt.

5.2.14.2. Allgemeine Vorschrift 14B (AV14B): Reaktion in Essigsäure

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁴³² Eine Lösung des entspr.amins (1.2-1.5 eq.) und Formaldehyd-Lösung (37% in Wasser, 1.5 eq.) wurden in konz. Essigsäure (50 mL/g Startmaterial) gelöst und 10 min gerührt. Nach Zugabe einer Suspension des Startmaterials (1.0 eq.) in konz. Essigsäure (10 mL/g Startmaterial) wurde die Reaktionsmischung über Nacht bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde NaOH (30% in Wasser) oder $NaHCO_3$ -Lösung (gesättigt in Wasser) zugegeben und das Produkt dreimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt.

5.2.14.3. Allgemeine Vorschrift 14C (AV14C): Reaktion in EtOH

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{433; 434} Eine Suspension des Startmaterials (1.0 eq.) in EtOH (20 mL/g Startmaterial) wurde auf 60 °C erhitzt. Bei dieser Temperatur wurde das entspr. Amin (1.1 eq.) und Formaldehyd-Lösung (37% in Wasser, 1.2 eq.) zugegeben und die

Reaktionsmischung 4 h gerührt. Bei Bedarf wurde erneut eine Portion des entspr. Amins (1.1 eq.) und Formaldehyd-Lösung (37% in Wasser, 1.2 eq.) zugegeben und die Reaktionsmischung über Nacht bei 60 °C gerührt. Nach Reaktionsende wurde EA zugegeben und die organische Phase mit NaHCO₃-Lösung (gesättigt in Wasser) und Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt.

5.2.15. Allgemeine Vorschrift 15 (AV15): Freisetzung einer Carbonsäure

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.³²² Das Startmaterial (1.0 eq.) wurde in THF (10 mL/g Startmaterial) gelöst und die Lösung auf -78 °C gekühlt. n-BuLi (1.6 M in THF, 1.2 eq.) wurde zugetropft und die Reaktionsmischung 1 h bei -78 °C gerührt. Anschließend wurde ein großer Überschuss an festem CO₂ zugegeben und über Nacht auf RT aufgewärmt. Nach Reaktionsende wurde das Lösemittel entfernt und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Die wässrige Phase wurde zweimal mit EA gewaschen und mit HCl (0.1 M in Wasser) angesäuert.

5.2.16. Allgemeine Vorschrift 16 (AV16): Aromaten-Nitrierung

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{402; 403; 408; 481} Das Startmaterial (1.0 eq.) wurde in konz. Essigsäure (10 mL/g Startmaterial) gelöst und rauchende Salpetersäure (1.5 eq.) zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei RT gerührt und nach Reaktionsende auf Eiswasser gegossen.

5.2.17. Allgemeine Vorschrift 17 (AV17): Alkylierung eines aromatischen Alkohols

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{404; 408} Zu einer Lösung des Startmaterials (1.0 eq.) in Acetonitril (20 mL/g Startmaterial) oder Aceton (20 mL/g Startmaterial) wurden K₂CO₃ (4.0 eq.) und Ethylbromoacetat (1.0 eq.) gegeben und die Reaktionsmischung 4 h bei 60 °C gerührt. Das Lösemittel wurde entfernt und der Rückstand in EA aufgenommen. Die organische Phase wurde zweimal mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt.

5.2.18. Allgemeine Vorschrift 18 (AV18): Verseifung

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁴⁰⁵ Zu einer Suspension des Startmaterials (1.0 eq.) in Wasser (30 mL/g Startmaterial) wurde K₂CO₃ (1.5 eq.) gegeben und die

Reaktionsmischung 2 h refluxiert. Nach Reaktionsende wurde heiß filtriert und das Filtrat mit HCl (1 M in Wasser) angesäuert.

5.2.19. Allgemeine Vorschrift 19 (AV19): Ringschluss zum Benzofuran

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁴⁰⁸ Das Startmaterial (1.0 eq.) wurde in AcOAc (20 mL/g Startmaterial) suspendiert und NaOAc (6.0 eq.) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht refluxiert und nach Ende der Reaktion auf Eiswasser gekippt.

5.2.20. Allgemeine Vorschrift 20 (AV20): Radikalische Bromierung

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{409–412} Zu einer Suspension des Startmaterials (1.0 eq.) in Benzol oder CCl₄ (20 mL/g Startmaterial) wurde NBS (1.1 eq.) sowie AIBN (0.2 eq.) gegeben und die Reaktionsmischung über Nacht refluxiert. Nach Reaktionsende wurde das Lösemittel entfernt und der Rückstand in EA aufgenommen. Die organische Phase wurde zweimal mit Wasser und einmal mit NaCl-Lösung (gesättigt in Wasser) gewaschen und mit Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde entfernt.

5.2.21. Allgemeine Vorschrift 21 (AV21): Nukleophile Substitution

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{402; 411–413} Zu einer Lösung des Startmaterials (1.0 eq.) in DMF (30 mL/g Startmaterial) oder THF (15 mL/g Startmaterial) wurde das gewünschte Amin gegeben (3.0 eq.) und die Reaktionsmischung 30 min bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde das Lösemittel entfernt.

5.2.22. Allgemeine Vorschrift 22 (AV22): Silyl-Schützung

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁴²¹ Zu einer Lösung des Startmaterials (1.0 eq.) in DMF (30 mL/g Startmaterial) wurden Imidazol (2.0 eq.) und *tert*-Butyl-Dimethylsilylchlorid (1.2 eq.) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei RT gerührt und Diethylether zugegeben. Die organische Phase wurde mit Wasser und NaCl-Lösung (gesättigt in Wasser) gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt.

5.2.23. Allgemeine Vorschrift 23 (AV23): Reduktive Aminierung

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁴⁴⁷ Zu einer Lösung des Startmaterials (1.0 eq.) in DCM (30 mL/g Startmaterial) wurde das entspr. Amin (1.1 eq.) und Essigsäure (konz., 1.1 eq.)

gegeben. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C gekühlt und portionsweise Natriumtriacetoxyborhydrid (3.0 eq.) zugegeben. Nach 1 h bei 0 °C wurde über Nacht bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde Wasser zugegeben, die wässrige Phase zweimal mit DCM gewaschen und mit NaOH (2 M in Wasser) ein pH-Wert von 9 eingestellt. Das Produkt wurde dreimal mit EA extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt.

5.2.24. Allgemeine Vorschrift 24 (AV24): Zyklisierung Benzimidazol

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt. Eine Lösung des Startmaterials (1.0 eq.) in Trimethylorthoformiat (20 mL/g Startmaterial) wurde über Nacht bei 120 °C gerührt. Nach Reaktionsende wurde die Reaktionsmischung langsam auf Eiswasser gekippt und das Produkt zweimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt.

5.2.25. Allgemeine Vorschrift 25 (AV25): Zyklisierung zum Alkohol

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{475–477} Das Startmaterial (1.0 eq.) und Milchsäure (1.2 eq.) wurden vereinigt und HCl (4 M in Wasser, 4 mL/g Startmaterial) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht refluxiert, Ammoniak (25% in Wasser) zugegeben und der entstandene Feststoff abfiltriert.

5.2.26. Allgemeine Vorschrift 26 (AV26): Verseifung *tert*-Butyl-Ester

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁵⁰⁴ Eine Lösung des Startmaterials (1.0 eq.) in Ameisensäure (10 mL/g Startmaterial) wurde über Nacht bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde das Lösemittel entfernt.

5.2.27. Allgemeine Vorschrift 27 (AV27): Darstellung Azid

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{516–518} Das Startmaterial (1.0 eq.) wurde in DMF gelöst und Natriumazid (3.0 eq.) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei 80 °C gerührt und der Feststoff nach Reaktionsende abfiltriert. Das Filtrat wurde mit EA verdünnt und die organische Phase dreimal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt.

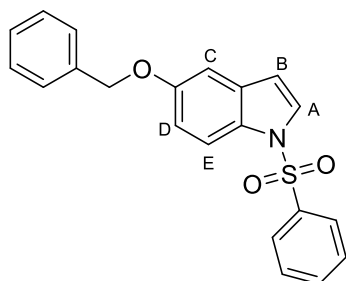
5.2.28. Allgemeine Vorschrift 28 (AV28): Click-Reaktion

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{532–534} Das Azid (1.0 eq.) und die Alkinverbindung (1.0 eq.) wurden in DMF (100 mL/g Startmaterial) gelöst und Ascorbinsäure (0.3 eq.) und Kupfer(II)-sulfat (0.1 eq.) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 30 min bei RT gerührt und das Lösemittel anschließend entfernt.

5.3. MARBOTINIB UND MARBOTINIB-CARBAMAT

5-(Benzyloxy)-1-(phenylsulfonyl)-1*H*-indol (23)

$C_{21}H_{17}NO_3S$ ($M = 363.43$ g/mol)

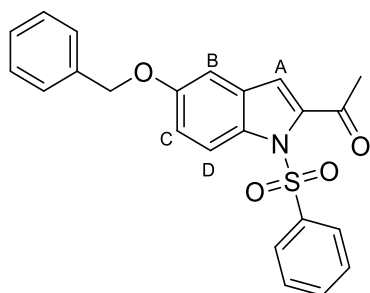


Die Synthese wurde gemäß AV1 ausgehend von 5-(Benzyloxy)-1*H*-indol **22** in THF oder DMF durchgeführt. Kristallisation aus EtOH ergab einen weißen Feststoff. **Ausbeute:** 89%. Alternativ wurde die Synthese in Toluol mit TBAB und NaOH durchgeführt.³³¹ Das Startmaterial (1.0 eq.) wurde in Toluol (10 mL/g Startmaterial) gelöst und bei 0 °C Phenylsulfonylchlorid (1.5 eq.) und TBAB (0.1 eq.) zugegeben. NaOH (13 eq.) in Wasser (10 mL/g Startmaterial) wurden zugetropft und die Reaktionsmischung über Nacht bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde das Produkt dreimal mit Diethylether extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde entfernt und nach Säulenchromatographie ein weißer Feststoff erhalten. **Ausbeute:** 38%. Alternativ wurde die Synthese in THF mit *n*-BuLi durchgeführt.³³² Das Startmaterial (1.0 eq.) wurde in THF (10 mL/g Startmaterial) gelöst und bei -78 °C *n*-BuLi (1.2 eq.) zugegeben. Nach 1 h wurde Phenylsulfonylchlorid (1.2 eq.) zugegeben und die Reaktionsmischung über Nacht bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde NaHCO₃-Lösung (2% in Wasser) zugegeben und das Produkt dreimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Nach Kristallisation aus EtOH wurde ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 33%. $R_f = 0.43$ (PE/EA 5:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 7.97-7.91 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.86 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.77 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 7.69-7.61 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.60-7.51 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.47-7.41 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.40-7.26 (m, 3H, CH_{Ar}), 7.20 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 7.04 (dd, $J = 9.0, 2.5$ Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 6.76 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 5.08 (s, 2H, CH_{2, Benzyl}). **¹H-NMR** (CDCl₃, 400 MHz): δ 7.93 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.91-7.83 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.54 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 7.55-7.48 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.45-7.29 (m, 8H, CH_{Ar}), 7.06 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 7.04 (dd, $J = 8.9, 2.5$ Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 6.59 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 5.07 (s, 2H, CH_{2, Benzyl}). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 155.2 (C_{Ar}), 137.1 (C_{Ar}), 137.0 (C_{Ar}), 134.5 (+, CH_{Ar}), 131.6 (C_{Ar}), 129.8 (+, CH_{Ar}), 128.9 (C_{Ar}), 128.4 (+, CH_{Ar}), 127.8 (+, CH_{Ar, A}), 127.7 (+, CH_{Ar}), 127.7 (+, CH_{Ar}), 126.6 (+, CH_{Ar}), 114.3 (+, CH_{Ar, D}), 114.0 (+, CH_{Ar, E}), 109.8 (+, CH_{Ar, B}), 105.2 (+, CH_{Ar, C}), 69.6

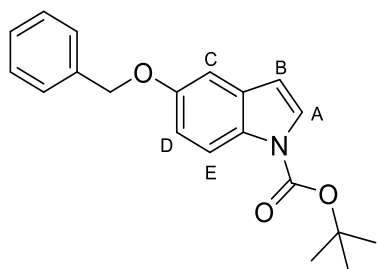
(-, CH₂, Benzyl). ¹³C-NMR (CDCl₃, 101 MHz): δ 155.8 (C_{Ar}), 138.3 (C_{Ar}), 137.1 (C_{Ar}), 133.8 (+, CH_{Ar}), 131.8 (C_{Ar}), 129.8 (C_{Ar}), 129.3 (+, CH_{Ar}), 128.7 (+, CH_{Ar}), 128.1 (+, CH_{Ar}, A), 127.6 (+, CH_{Ar}), 127.2 (+, CH_{Ar}), 126.8 (+, CH_{Ar}), 114.6 (+, CH_{Ar}, D), 114.5 (+, CH_{Ar}, E), 109.5 (+, CH_{Ar}, B), 105.1 (+, CH_{Ar}, C), 70.6 (-, CH₂, Benzyl). HRMS (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für C₂₁H₁₈NO₃S⁺: 364.1002, gefunden: 364.1005. Smp.: 80-81 °C (Lit.: 79-81 °C).³²¹

1-(5-(Benzyloxy)-1-(phenylsulfonyl)-1H-indol-2-yl)ethan-1-on (24)

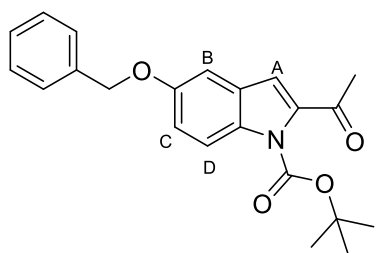
C₂₃H₁₉NO₄S (M = 405.47 g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV2 ausgehend von **23** durchgeführt. Kristallisation aus Diethylether ergab einen weißen Feststoff. **Ausbeute:** 74%. **R_f** = 0.33 (PE/EA 3:1). ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 7.97 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, CH_{Ar}, D), 7.93-7.87 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.73-7.66 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.63-7.56 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.51 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, CH_{Ar}, A), 7.48-7.29 (m, 5H, CH_{Ar}), 7.27 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, CH_{Ar}, B), 7.20 (dd, *J* = 9.2, 2.6 Hz, 1H, CH_{Ar}, C), 5.12 (s, 2H, CH₂, Benzyl), 2.58 (s, 3H, CH₃). ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.07 (dt, *J* = 9.2, 0.7 Hz, 1H, CH_{Ar}, E), 7.94-7.86 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.56-7.49 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.47-7.32 (m, 7H, CH_{Ar}), 7.16 (dd, *J* = 9.2, 2.5 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.05-7.02 (m, 2H, CH_{Ar}), 5.07 (s, 2H, CH₂, Benzyl), 2.62 (s, 3H, CH₃). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 190.7 (C=O), 155.6 (C_{Ar}), 140.0 (C_{Ar}), 137.4 (C_{Ar}), 136.9 (C_{Ar}), 134.4 (+, CH_{Ar}), 132.9 (C_{Ar}), 129.4 (+, CH_{Ar}), 129.2 (C_{Ar}), 128.5 (+, CH_{Ar}), 127.9 (+, CH_{Ar}), 127.8 (+, CH_{Ar}), 126.9 (+, CH_{Ar}), 118.7 (+, CH_{Ar}, A), 117.8 (+, CH_{Ar}, C), 116.5 (+, CH_{Ar}, D), 106.1 (+, CH_{Ar}, B), 69.7 (-, CH₂, Benzyl), 29.3 (+, CH₃). ¹³C-NMR (CDCl₃, 75 MHz): δ 191.8 (C=O), 156.2 (C_{Ar}), 140.8 (C_{Ar}), 138.0 (C_{Ar}), 136.7 (C_{Ar}), 133.8 (+, CH_{Ar}), 133.8 (C_{Ar}), 129.5 (C_{Ar}), 128.9 (+, CH_{Ar}), 128.7 (+, CH_{Ar}), 128.2 (+, CH_{Ar}), 127.6 (+, CH_{Ar}), 127.3 (+, CH_{Ar}), 118.0 (+, CH_{Ar}, A), 117.9 (+, CH_{Ar}, C), 117.0 (+, CH_{Ar}, D), 105.8 (+, CH_{Ar}, B), 70.6 (-, CH₂, Benzyl), 29.8 (+, CH₃). HRMS (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für C₂₃H₂₀NO₄S⁺: 406.1108, gefunden: 406.1112. Smp.: 157-159 °C. (Lit.: 155.6-159.1 °C).³²⁴

tert-Butyl 5-(benzyloxy)-1H-indol-1-carboxylat (25)**C₂₀H₂₁NO₃ (M = 323.39 g/mol)**

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{324; 333; 334} Das Startmaterial **22** (1.0 eq.) wurde in DCM (20 mL/g Startmaterial) gelöst und Boc₂O (1.2 eq.) zugegeben. Nach Zugabe von DMAP (0.2 eq.) wurde die Reaktionsmischung über Nacht bei RT gerührt und das Lösemittel nach Reaktionsende entfernt. Nach Reinigung des Produkts mit SC (SiO₂, PE/EA 9:1) wurde ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 92%. **R_f** = 0.61 (PE/EA 9:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 7.98 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.62 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 7.48-7.44 (m, 2H), 7.41-7.34 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.34-7.27 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.22 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 7.02 (dd, *J* = 9.0, 2.5 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 6.61 (dd, *J* = 3.7, 0.7 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 5.11 (s, 2H, CH_{2, Benzyl}), 1.59 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 154.5 (C_{Ar}), 149.0 (C_{Ar}), 137.3 (C_{Ar}), 131.0 (C_{Ar}), 129.3 (C_{Ar}), 128.3 (+, CH_{Ar}), 127.7 (+, CH_{Ar}), 127.6 (+, CH_{Ar}), 126.6 (+, CH_{Ar}), 115.4 (+, CH_{Ar}), 113.6 (+, CH_{Ar}), 107.3 (+, CH_{Ar}), 104.9 (+, CH_{Ar}), 83.4 (O-C_{quart}), 69.5 (-, CH_{2, Benzyl}), 27.6 (+, 3*CH₃). **LRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ für C₂₀H₂₂NO₃⁺: 558.2. **Smp.:** 62-63 °C.

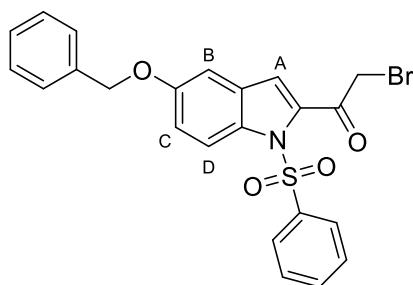
tert-Butyl 2-acetyl-5-(benzyloxy)-1H-indol-1-carboxylat (26)**C₂₂H₂₃NO₄ (M = 365.43 g/mol)**

Die Synthese wurde gemäß AV2 ausgehend von **25** durchgeführt. Reinigung mit SC (SiO₂, PE/EA 9:1) ergab einen weißen Feststoff. **Ausbeute:** 19%. **R_f** = 0.54 (PE/EA 9:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 7.82 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.50-7.44 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.42-7.31 (m, 4H, CH_{Ar}), 7.30 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 7.17 (dd, *J* = 9.1, 2.6 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 5.14 (s, 2H, CH_{2, Benzyl}), 2.53 (s, 3H, CH₃), 1.53 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 190.9 (C=O), 154.8 (C=O), 149.1 (C_{Ar}), 138.9 (C_{Ar}), 137.1 (C_{Ar}), 132.4 (C_{Ar}), 128.4 (+, CH_{Ar}), 127.9 (C_{Ar}), 127.8 (+, CH_{Ar}), 127.7 (+, CH_{Ar}), 117.7

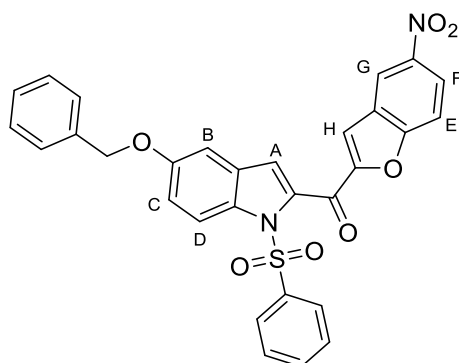
(C_{Ar}), 117.5 (+, CH_{Ar}), 114.9 (+, CH_{Ar}), 114.8 (+, CH_{Ar}), 105.7 (+, CH_{Ar}), 84.4 (O- C_{quart}), 69.6 (-, CH_2 , Benzyl), 28.6 (+, CH_3), 27.2 (+, 3* CH_3). **HRMS** (ESI): m/z [$\text{M} + \text{Na}^+$] berechnet: für $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{NNaO}_4^+$: 388.1519, gefunden: 388.1527. **Smp.**: 97-98 °C. **IR** (KBr): 3079, 3029, 2977, 2903, 2862, 1731, 1683, 1533 cm^{-1} .

1-(5-(Benzyloxy)-1-(phenylsulfonyl)-1*H*-indol-2-yl)-2-bromoethan-1-on (27)

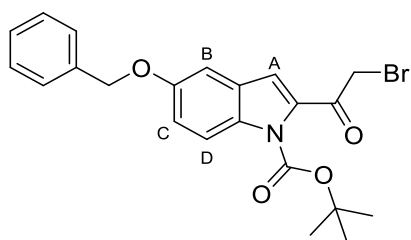
$\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{BrNO}_4\text{S}$ ($M = 484.36$ g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV3 ausgehend von **24** durchgeführt. Nach Reinigung mit SC (SiO_2 , PE/DCM 2:1) wurde ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute**: 74%. Alternativ wurde die Bromierung mit Kupfer(II)-bromid durchgeführt.³³⁷ Zu einer Lösung von **24** in EA (50 mL/g Startmaterial) wurde CuBr_2 (2.0 eq.) gegeben und die Reaktionsmischung 3 d refluxiert. Nach Reaktionsende wurde der Feststoff abfiltriert und das Filtrat dreimal mit NaHCO_3 -Lösung (gesättigt in Wasser) und einmal mit NaCl (gesättigt in Wasser) gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Nach Reinigung mit SC (SiO_2 , PE/DCM 2:1) wurde ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute**: 19%. $R_f = 0.44$ (PE/EA 4:1). **$^1\text{H-NMR}$** ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz): δ 8.00 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, D}}$), 7.97-7.91 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.76-7.66 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.70 (d, $J = 0.8$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, A}}$), 7.64-7.55 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.50-7.31 (m, 5H, CH_{Ar}), 7.30 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, B}}$), 7.24 (dd, $J = 9.2, 2.6$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, C}}$), 5.13 (s, 2H, CH_2 , Benzyl), 4.91 (s, 2H, CO- CH_2 -Br). **$^1\text{H-NMR}$** (CDCl_3 , 300 MHz): δ 8.02 (dt, $J = 9.1, 0.7$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, D}}$), 7.80-7.74 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.56-7.49 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.45-7.30 (m, 7H, CH_{Ar}), 7.16 (dd, $J = 9.1, 2.5$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, C}}$), 7.10 (d, $J = 0.8$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, A}}$), 7.01 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, B}}$), 5.05 (s, 2H, CH_2 , Benzyl), 4.53 (s, 2H, CO- CH_2 -Br). **$^{13}\text{C-NMR}$** ($\text{DMSO}-d_6$, 75 MHz): δ 184.6 ($\text{C}=\text{O}$), 155.7 (C_{Ar}), 137.0 (C_{Ar}), 136.8 (C_{Ar}), 136.4 (C_{Ar}), 134.6 (+, CH_{Ar}), 133.0 (C_{Ar}), 129.5 (C_{Ar}), 129.0 (+, CH_{Ar}), 128.5 (+, CH_{Ar}), 127.9 (+, CH_{Ar}), 127.8 (+, CH_{Ar}), 127.0 (+, CH_{Ar}), 120.1 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, A}}$), 118.5 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, C}}$), 116.4 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, D}}$), 106.1 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, B}}$), 69.7 (-, CH_2 , Benzyl), 35.4 (-, CO- CH_2 -Br). **$^{13}\text{C-NMR}$** (CDCl_3 , 75 MHz): δ 187.1 ($\text{C}=\text{O}$), 156.6 (C_{Ar}), 137.5 (C_{Ar}), 136.6 (C_{Ar}), 136.5 (C_{Ar}), 134.3 (+, CH_{Ar}), 133.4 (C_{Ar}), 130.0 (C_{Ar}), 129.1 (+, CH_{Ar}), 128.8 (+, CH_{Ar}), 128.3 (+, CH_{Ar}), 127.6 (+, CH_{Ar}), 127.4 (+, CH_{Ar}), 119.9 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, A}}$), 118.5 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, C}}$), 117.1 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, D}}$), 105.9 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, B}}$), 70.6 (-, CH_2 , Benzyl), 34.0 (-, CO- CH_2 -Br). **HRMS** (ESI): m/z [$\text{M} + \text{H}^+$] berechnet: für $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{BrNO}_4\text{S}^+$: 484.0213, gefunden: 484.0213. **Smp.**: 136.5-138.5 °C (Lit.: 139.9-141.4 °C).³²⁴

(5-(Benzyloxy)-1-(phenylsulfonyl)-1*H*-indol-2-yl)(5-nitrobenzofuran-2-yl)methanon (29)**C₃₀H₂₀N₂O₇S** (*M* = 552.56 g/mol)

Die Synthese wurde gemäß AV4 ausgehend von **27** durchgeführt. Das Produkt wurde ohne Reinigung weiterverwendet. Ein kleiner Teil des Produkts wurde zu analytischen Zwecken gereinigt. Kristallisation aus Wasser und EA ergab einen blass-gelben Feststoff. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 8.85 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 8.45 (dd, *J* = 9.3, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 8.07 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 8.06 (dt, *J* = 9.4, 0.8 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.99 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.94-7.88 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.76-7.69 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.65-7.59 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.58 (d, *J* = 0.8 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.48-7.43 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.42-7.37 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.36-7.30 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.33 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.26 (dd, *J* = 9.1, 2.6 Hz, 1H, CH_{Ar}), 5.14 (s, 2H, CH₂, Benzylyl). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₀H₂₁N₂O₇S⁺: 553.1064, gefunden: 553.1063. **Smp.**: Zersetzung ab 212 °C. **IR** (KBr): 3121, 3029, 1654, 1515, 1446, 1350, 1175 cm⁻¹.

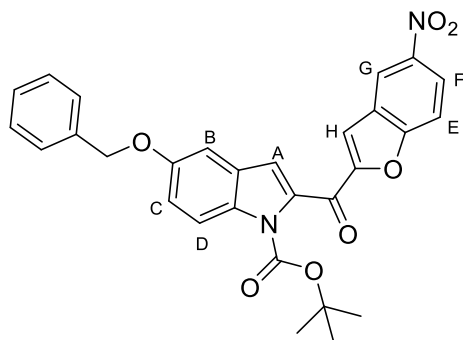
tert*-Butyl 5-(benzyloxy)-2-(2-bromoacetyl)-1*H*-indol-1-carboxylat (30)*C₂₂H₂₂BrNO₄** (*M* = 444.33 g/mol)

Die Synthese wurde gemäß AV3 ausgehend von **26** durchgeführt. Nach Reinigung mit SC (SiO₂, PE/DCM 2:1) wurde ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute**: 20%. **R_f** = 0.33 (PE/EA 9:1). **¹H-NMR** (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.96 (dd, *J* = 9.1, 0.7 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.49–7.30 (m, 6H, 6*CH_{Ar}), 7.16 (dd, *J* = 9.1, 2.5 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 7.11 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 7.04 (d, *J* = 0.7 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 5.11 (s, 2H, CH₂, Benzylyl), 4.35 (s, 2H, CO-CH₂-Br), 1.63 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 75 MHz): δ 185.8 (C=O), 155.6 (C=O), 149.6 (C_{Ar}), 137.0 (C_{Ar}), 136.0 (C_{Ar}), 133.2 (CH_{Ar}), 128.8 (+, C_{Ar}), 128.3 (C_{Ar}), 128.2 (+,

CH_{Ar} , 127.6 (+, CH_{Ar}), 118.3 (+, CH_{Ar}), 116.2 (+, CH_{Ar}), 115.4 (+, CH_{Ar}), 105.5 (+, CH_{Ar} ; A), 85.5 (O- C_{quart}), 70.7 (-, CH_2 , Benzy), 33.3 (-, CO- CH_2 -Br), 28.0 (+, 3* CH_3). **HRMS** (ESI): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ berechnet: für $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{BrNO}_4^+$: 444.0805, gefunden: 444.0803. **Smp.**: 98-100 °C. **IR** (KBr): 3125, 3024, 2982, 2933, 2897, 1735, 1679, 1616 cm^{-1} .

***tert*-Butyl 5-(benzyloxy)-2-(5-nitrobenzofuran-2-carbonyl)-1*H*-indol-1-carboxylat (31)**

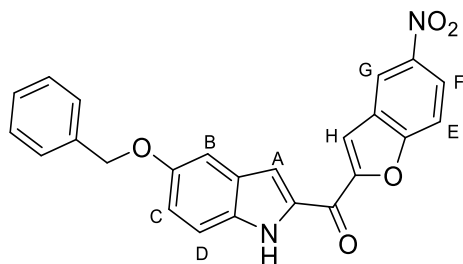
$\text{C}_{29}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_7$ ($M = 512.52$ g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV4 ausgehend von **30** durchgeführt. Das Produkt wurde ohne Reinigung weiterverwendet.

(5-(Benzyloxy)-1*H*-indol-2-yl)(5-nitrobenzofuran-2-yl)methanon (32)

$\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5$ ($M = 412.40$ g/mol)

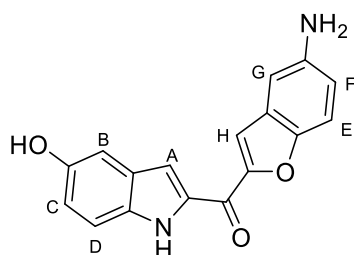


Phenylsulfonyl-Schutzgruppe: Die Synthese wurde gemäß AV5 ausgehend von **29** durchgeführt. Nach Reaktionsende wurden Wasser und EA zugegeben und der ausgefallene Feststoff abfiltriert. Nach Waschen mit EA und Diethylether wurde ein gelber Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 80% (über 2 Schritte). **Benzyloxycarbonyl-Schutzgruppe:** Die Synthese wurde gemäß AV6 ausgehend von **31** durchgeführt. Nach Reaktionsende wurden Wasser und EA zugegeben und der ausgefallene Feststoff abfiltriert. Nach Waschen mit EA und Diethylether wurde ein gelber Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 33% (über 2 Schritte). **$^1\text{H-NMR}$** ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz): δ 12.05 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, Indol-NH), 8.83 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, CH_{Ar} , G), 8.43 (dd, $J = 9.1, 2.5$ Hz, 1H, CH_{Ar} , F), 8.16 (d, $J = 0.9$ Hz, 1H, CH_{Ar} , H), 8.09 (dt, $J = 9.2, 0.7$ Hz, 1H, CH_{Ar} , E), 7.76 (dd, $J = 2.3, 0.9$ Hz, 1H, CH_{Ar} , A), 7.52-7.47 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.44 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H, CH_{Ar} , D), 7.42-7.38 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.36-7.31 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.30 (d, $J = 2.4$ Hz,

1H, CH_{Ar, B}), 7.12 (dd, *J* = 9.0, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 5.15 (s, 2H, CH_{2, Benzyl}). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 151 MHz): δ 172.7 (C=O), 157.6 (C_{Ar}), 154.6 (C_{Ar}), 153.3 (C_{Ar}), 144.4 (C_{Ar}), 137.3 (C_{Ar}), 134.1 (C_{Ar}), 133.7 (C_{Ar}), 128.4 (+, CH_{Ar}), 127.8 (+, CH_{Ar, E}), 127.7 (+, CH_{Ar}), 127.5 (C_{Ar}), 123.3 (+, CH_{Ar, F}), 120.1 (+, CH_{Ar, G}), 119.1 (+, CH_{Ar, C}), 114.7 (+, CH_{Ar, H}), 113.9 (+, CH_{Ar, D}), 113.5 (+, CH_{Ar, E}), 111.5 (+, CH_{Ar, A}), 104.0 (+, CH_{Ar, B}), 69.6 (-, CH_{2, Benzyl}). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₀H₃₂N₅O₆⁺: 413.1132, gefunden: 413.1130. **Smp.**: Zersetzung ab 275 °C (Lit.: 278.2-281.1 °C).³²⁴

(5-Aminobenzofuran-2-yl)(5-hydroxy-1*H*-indol-2-yl)methanon (33)

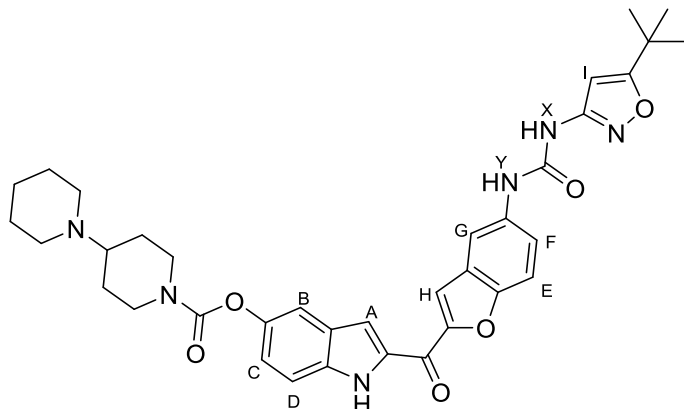
C₁₇H₁₂N₂O₃ (*M* = 292.29 g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV7 ausgehend von **32** durchgeführt. Das Filtrat wurde auf Wasser gekippt und durch Entfernen des organischen Lösemittels ein gelber Feststoff kristallisiert, der durch Filtration isoliert wurde. **Ausbeute**: 97%. *R_f* = 0.63 (DCM/MeOH 98:2). ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.74 (s, 1H, Indol-NH), 9.04 (s, 1H, OH), 7.75 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.59 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.47 (dd, *J* = 9.5, 0.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.32 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.03 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.92–6.84 (m, 3H, CH_{Ar}), 5.12 (s, 2H, NH₂). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 173.2 (C=O), 152.3 (C_{Ar}), 151.6 (C_{Ar}), 148.8 (C_{Ar}), 145.7 (C_{Ar}), 134.1 (C_{Ar}), 133.1 (C_{Ar}), 128.1 (C_{Ar}), 127.7 (C_{Ar}), 117.8 (+, CH_{Ar}), 117.7 (+, CH_{Ar}), 113.9 (+, CH_{Ar}), 113.4 (+, CH_{Ar}), 112.2 (+, CH_{Ar}), 109.9 (+, CH_{Ar}), 104.9 (+, CH_{Ar}), 104.2 (+, CH_{Ar}). *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₆H₁₃N₂O₃⁺: 293.0921, gefunden: 293.0925. **Smp.**: Zersetzung ab 223 °C (Lit.: 228.4-231.2 °C).³²⁴

2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-1*H*-indol-5-yl [1,4'-bipiperidin]-1'-carboxylat (21a)

C₃₆H₄₀N₆O₆ (*M* = 652.75 g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV9 ausgehend von **20** durchgeführt. Zum Rückstand wurde Diethylether gegeben und der ausgefallene Feststoff abfiltriert. **Ausbeute:** 95%. **R_f** = 0.25 (DCM/MeOH 90:10). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 600 MHz): δ 12.11 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, Indol-NH), 9.66 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.12 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.08 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 7.99 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 7.78 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 7.75 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.52 (dd, *J* = 9.0, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 7.49-7.45 (m, 2H, CH_{Ar, B} und D), 7.09 (dd, *J* = 8.8, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar, I}), 4.22 (br s, 1H, CH_{Aliph}), 4.06 (br s, 1H, CH_{Aliph}), 3.01 (br s, 1H, CH_{Aliph}), 2.84 (br s, 1H, CH_{Aliph}), 2.53-2.43 (m, 5H, CH_{Aliph}), 1.77 (br s, 2H, CH_{Aliph}), 1.52-1.35 (m, 8H, CH_{Aliph}), 1.29 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 151 MHz): δ 180.1 (C=O), 173.3 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 153.4 (C_{Ar}), 152.7 (C_{Ar}), 151.7 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 145.4 (C_{Ar}), 135.7 (C_{Ar}), 135.4 (C_{Ar}), 134.6 (C_{Ar}), 127.2 (C_{Ar}), 127.1 (C_{Ar}), 121.7 (+, CH_{Ar, C}), 120.9 (+, CH_{Ar, F}), 114.8 (+, CH_{Ar, H}), 114.6 (+, CH_{Ar}), 113.1 (+, CH_{Ar}), 112.5 (+, CH_{Ar, E}), 112.0 (+, CH_{Ar, G}), 111.1 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, I}), 61.4 (+, CH_{Aliph}), 49.7 (-, CH_{2, Aliph}), 43.5 (-, CH_{2, Aliph}), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, 3*(CH₃)), 27.7 (-, CH_{2, Aliph}), 26.0 (-, CH_{2, Aliph}), 24.5 (-, CH_{2, Aliph}). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₆H₄₁N₆O₆⁺: 653.3082, gefunden: 653.3094. **Smp.:** 260-261 °C (Lit.: 261.3-262.9 °C).³²⁴ **RP-HPLC:** >97%, (*t_R* = 14.79 min).

2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-1*H*-indol-5-yl [1,4'-bipiperidin]-1'-carboxylat Hydrochlorid (21c)

C₃₆H₄₁ClN₆O₆ (*M* = 689.21 g/mol)

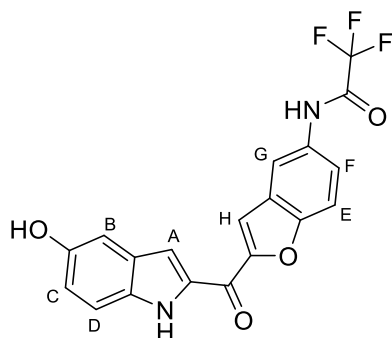
Die Synthese wurde gemäß AV10 ausgehend von **21a** durchgeführt. Bei Bedarf wurde eine weitere Reinigung durch Auskochen in EA vorgenommen. **Ausbeute:** 90%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 12.14 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, Indol-NH), 10.50 (s, 1H, NH⁺), 9.78 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.68 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.09 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 8.00 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 7.79 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar, A}),

7.75 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, E}}$), 7.53 (dd, $J = 9.0, 2.2$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, F}}$), 7.51-7.46 (m, 2H, $\text{CH}_{\text{Ar, B und D}}$), 7.11 (dd, $J = 8.9, 2.3$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, C}}$), 6.54 (s, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, I}}$), 4.32 (br s, 1H, CH_{Aliph}), 4.16 (br s, 1H, CH_{Aliph}), 3.50-3.29 (m, 4H, CH_{Aliph}), 3.14-2.77 (m, 5H, CH_{Aliph}), 2.21-2.11 (m, 2H, CH_{Aliph}), 1.96-1.60 (m, 8H, CH_{Aliph}), 1.47-1.34 (m, 1H, CH_{Aliph}), 1.29 (s, 9H, $3 \cdot \text{CH}_3$). $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 101 MHz): δ 180.1 (C=O), 173.3 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 153.4 (C_{Ar}), 152.7 (C_{Ar}), 151.8 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 145.2 (C_{Ar}), 135.7 (C_{Ar}), 135.6 (C_{Ar}), 134.6 (C_{Ar}), 127.2 (C_{Ar}), 127.1 (C_{Ar}), 121.5 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, C}}$), 120.7 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, F}}$), 114.8 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, H}}$), 114.6 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, B/D}}$), 113.1 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, B/D}}$), 112.5 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, E}}$), 111.6 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, G}}$), 111.1 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, A}}$), 92.5 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, I}}$), 62.2 (+, CH_{Aliph}), 48.9 (-, $\text{CH}_2, \text{Aliph}$), 42.9 (-, $\text{CH}_2, \text{Aliph}$), 32.5 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 28.4 (+, $3 \cdot (\text{CH}_3)$), 25.4 (-, $\text{CH}_2, \text{Aliph}$), 22.5 (-, $\text{CH}_2, \text{Aliph}$), 21.6 (-, $\text{CH}_2, \text{Aliph}$), **RP-HPLC**: >99%, ($t_R = 14.95$ min).

5.4. GRUNDSTRUKTUR I

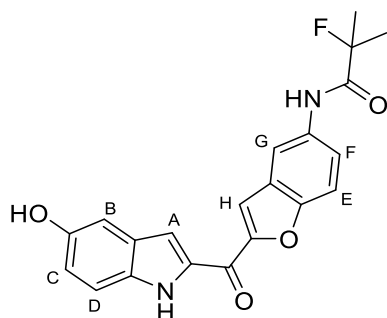
2,2,2-Trifluor-*N*-(2-(5-hydroxy-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)acetamid (**38**)

C₁₉H₁₁F₃N₂O₄ (M = 388.30 g/mol)

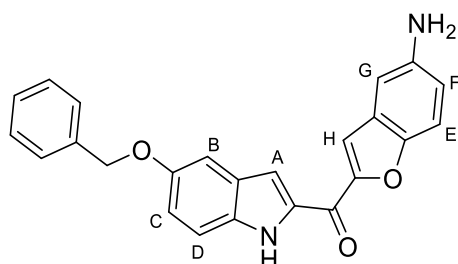


Die Synthese wurde gemäß AV11A ausgehend von **33** und Trifluoressigsäure-Anhydrid in THF durchgeführt. Nach 3 h bei RT wurde NaHCO₃-Lösung (gesättigt in Wasser) zugegeben und das Produkt zweimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Reinigung mit SC (SiO₂, DCM) ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute:** 62%. Alternativ wurde die Synthese gemäß AV7 ausgehend von **41** durchgeführt. Die Hydrierung wurde in THF/MeOH (1:1) durchgeführt und nach Entfernen des Lösemittels wurde ein gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 98%. **R_f** = 0.60 (DCM/MeOH 95:5). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.84 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H, Indol-NH), 11.45 (s, 1H, Amid-NH), 9.09 (s, 1H, OH), 8.27 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 8.06 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 7.88 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.77 (dd, *J* = 9.0, 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 7.66 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 7.34 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.04 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.91 (dd, *J* = 8.8, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, C}). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 172.9 (C=O), 153.1 (C_{Ar}), 152.4 (C_{Ar}), 151.6 (C_{Ar}), 133.7 (C_{Ar}), 133.2 (C_{Ar}), 132.4 (C_{Ar}), 127.9 (C_{Ar}), 127.0 (C_{Ar}), 122.1 (+, CH_{Ar}), 118.1 (+, CH_{Ar}), 115.3 (+, CH_{Ar}), 114.3 (+, CH_{Ar}), 113.3 (+, CH_{Ar}), 112.7 (+, CH_{Ar}), 110.3 (+, CH_{Ar}), 104.8 (+, CH_{Ar}). * **¹⁹F-NMR** (DMSO-*d*₆, 282 MHz) δ -73.3. **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₉H₁₂F₃N₂O₄⁺: 389.0744, gefunden: 389.0747. **Smp.:** 188-190 °C. **IR (KBr):** 3315, 1715, 1610, 1554, 1517, 1225 cm⁻¹.

*Die ¹³C-Signale der CF₃-Gruppe und CF₃-C=O sollten zum q aufspalten, konnten allerdings nicht identifiziert werden.

2-Fluor-N-(2-(5-hydroxy-1H-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)-2-methylpropanamid (39)**C₂₁H₁₇FN₂O₄ (M = 380.38 g/mol)**

Die Synthese wurde gemäß AV11B ausgehend von **33** und Methyl 2-fluor-2-methylpropanoat durchgeführt. Ein gelb-oranger Feststoff wurde abfiltriert. **Ausbeute:** 82%. **R_f** = 0.50 (DCM/MeOH 95:5). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.81 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, Indol-NH), 10.14 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, Amid-NH), 9.07 (s, 1H, OH), 8.31 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 8.01 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 7.82 (dd, *J* = 9.1, 2.0 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 7.77 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.65 (dd, *J* = 2.3, 0.9 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 7.33 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.04 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.91 (dd, *J* = 8.8, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 1.65 (s, 3H, CH₃), 1.58 (s, 3H, CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 173.0, 171.1 (d, *J* = 21.8 Hz), 152.9, 151.9, 151.6, 134.5, 133.8, 133.2, 128.0, 127.6, 126.8, 122.3, 118.1, 114.4, 114.3, 113.4, 112.1, 110.2, 104.9, 95.4 (d, *J* = 182.3 Hz), 25.0 (d, *J* = 23.9 Hz). **¹⁹F-NMR** (DMSO-*d*₆, 282 MHz): δ -143.9. **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₂₁H₁₈FN₂O₄⁺: 381.1245, gefunden: 381.1249. **Smp.:** 226-229 °C. **IR (KBr):** 3303, 2925, 2854, 1669, 1615, 1558, 1230 cm⁻¹.

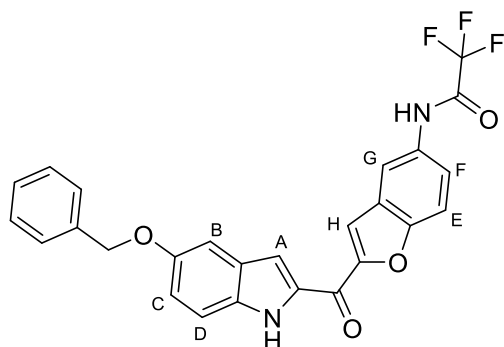
(5-Aminobenzofuran-2-yl)(5-(benzyloxy)-1H-indol-2-yl)methanon (40)**C₂₄H₁₈N₂O₃ (M = 382.42 g/mol)**

Das Produkt wurde in dieser Arbeit ausschließlich als Nebenprodukt der Synthese von **33** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **R_f** = 0.04 (DCM). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.90 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, Indol-NH), 7.76 (d, *J* = 0.8 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 7.66 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 7.52-7.45 (m, 3H, 3*CH_{Ar}), 7.44-7.37 (m, 3H, 3*CH_{Ar}), 7.33 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.29 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.29 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.08 (dd, *J* = 8.9, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.90 (dd, *J* = 7.8, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.87 (s, 1H, CH_{Ar}), 5.14 (br s, 4H, CH₂, Benzyl+NH₂). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 173.1 (C=O), 153.1, 152.3,

148.8, 145.7, 137.4, 134.2, 133.6, 129.2, 128.4, 127.7, 127.7, 127.5, 118.2, 117.8, 114.0, 113.8, 112.2, 110.4, 104.2, 104.1, 69.6 (CH_2 , Benzyl). **HRMS** (ESI): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ berechnet: für $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_3^+$: 383.1390, gefunden: 383.1396. **Smp.**: Zersetzung ab 217 °C. **IR** (KBr): 3458, 3373, 3290, 2857, 1610, 1553, 1516, 1446 cm^{-1} .

***N*-(2-(5-(Benzyloxy)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)-2,2,2-trifluoroacetamid (41)**

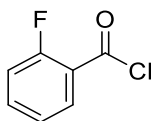
$\text{C}_{26}\text{H}_{17}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_4$ ($M = 478.43$ g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV11A ausgehend von **40** und Trifluoressigsäureanhydrid in THF durchgeführt. Nach 30 min bei RT wurde NaHCO_3 -Lösung (gesättigt in Wasser) zugegeben und das Produkt zweimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde entfernt und ein gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute**: quantitativ. Alternativ wurde die Synthese gemäß AV11B ausgehend von **40** und Trifluormethylacetat durchgeführt. Ein gelb-oranger Feststoff wurde abfiltriert. **Ausbeute**: 86%. $R_f = 0.56$ (DCM). $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz): δ 11.98 (d, $J = 0.9$ Hz, 1H, Indol-NH), 11.44 (s, 1H, Amid-NH), 8.27 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, G}}$), 8.07 (d, $J = 0.9$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, H}}$), 7.87 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, E}}$), 7.78 (dd, $J = 9.0, 2.2$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, F}}$), 7.73 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, A}}$), 7.51-7.47 (m, 2H, $2 \times \text{CH}_{\text{Ar}}$), 7.46-7.38 (m, 3H, $3 \times \text{CH}_{\text{Ar}}$), 7.36-7.31 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.29 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, B}}$), 7.10 (dd, $J = 9.0, 2.4$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, C}}$), 5.14 (s, 2H, CH_2 , Benzyl). $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$, 75 MHz): δ 173.1 ($\text{C}=\text{O}$), 154.6 (q, $J = 36.9$ Hz, $\text{C}=\text{O}$), 153.2 (C_{Ar}), 153.1 (C_{Ar}), 152.6 (C_{Ar}), 137.4 (C_{Ar}), 134.0 (C_{Ar}), 133.9 (C_{Ar}), 132.6 (C_{Ar}), 128.4 (+, CH_{Ar}), 127.8 (+, CH_{Ar}), 127.7 (+, CH_{Ar}), 127.5 (C_{Ar}), 127.2 (C_{Ar}), 122.4 (+, CH_{Ar}), 118.7 (+, CH_{Ar}), 115.9 (q, $J = 288.7$ Hz, CF_3), 115.5 (+, CH_{Ar}), 114.6 (+, CH_{Ar}), 113.9 (+, CH_{Ar}), 112.8 (+, CH_{Ar}), 111.0 (+, CH_{Ar}), 104.0 (+, CH_{Ar}), 69.6 (-, CH_2 , Benzyl). $^{19}\text{F-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$, 376 MHz) δ -73.4. **HRMS** (ESI): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ berechnet: für $\text{C}_{26}\text{H}_{18}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_4^+$: 479.1213, gefunden: 479.1216. **Smp.**: Zersetzung ab 207 °C. **IR** (KBr): 3303, 3033, 1717, 1612, 1554, 1517, 1205 cm^{-1} .

2-Fluorbenzoylchlorid (45)

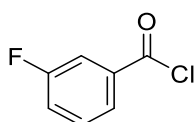
C_7H_4ClFO ($M = 158.56$ g/mol)



Die Synthese durchgeführt gemäß AV12 ausgehend von **42** durchgeführt und das Produkt ohne weitere Reinigung verwendet.

3-Fluorbenzoylchlorid (46)

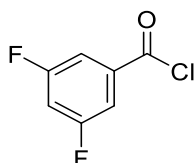
C_7H_4ClFO ($M = 158.56$ g/mol)



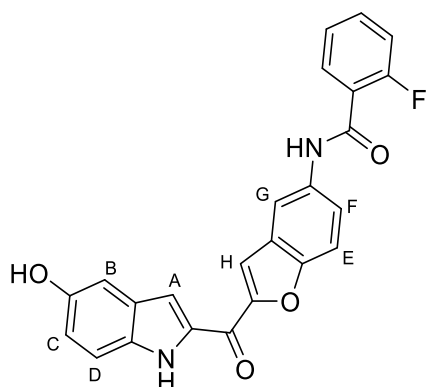
Die Synthese wurde gemäß AV12 ausgehend von **43** durchgeführt und das Produkt ohne weitere Reinigung verwendet.

3,5-Difluorbenzoylchlorid (47)

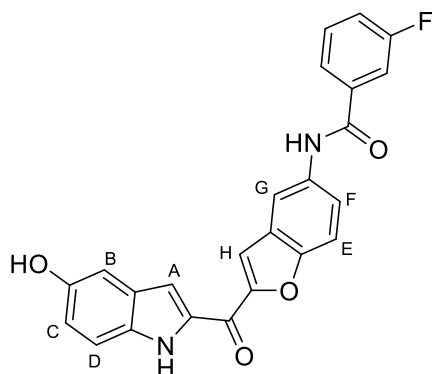
$C_7H_3ClF_2O$ ($M = 176.55$ g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV12 ausgehend von **44** durchgeführt und das Produkt ohne weitere Reinigung verwendet.

2-Fluor-N-(2-(5-hydroxy-1H-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)benzamid (48)**C₂₄H₁₅FN₂O₄ (M = 414.39 g/mol)**

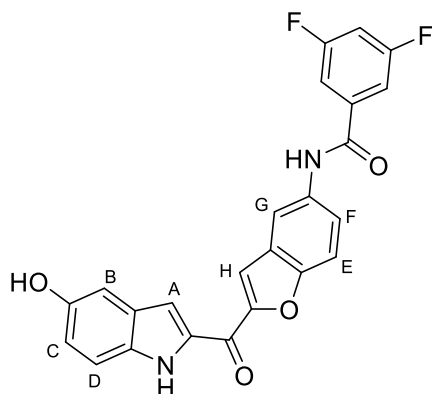
Die Synthese wurde gemäß AV11A ausgehend von **33** und **45** in THF durchgeführt. Nach 6 h bei RT wurde EA zugegeben und die organische Phase zweimal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Nach Reinigung mit SC (SiO₂, PE/EA 1:2) wurde ein gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 69%. **R_f** = 0.14 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4.5:0.5). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.82 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, Indol-NH), 10.62 (s, 1H, Amid-NH), 9.07 (s, 1H, OH), 8.40 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 8.04 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 7.79-7.67 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.66 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.65-7.55 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.41-7.29 (m, 3H, 3*CH_{Ar}), 7.04 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.91 (dd, *J* = 8.9, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, C}). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 173.1, 162.8, 158.9 (d, *J* = 248.8 Hz), 152.9, 151.8, 151.6, 135.2, 133.8, 133.2, 132.5 (d, *J* = 8.7 Hz), 129.9 (d, *J* = 3.0 Hz), 128.0, 128.0 (d, *J* = 77.1 Hz), 127.1, 125.0 (d, *J* = 15.1 Hz), 124.6 (d, *J* = 3.5 Hz), 121.4, 118.1, 116.2 (d, *J* = 21.7 Hz), 114.5, 113.4, 112.4, 110.3, 104.9. **¹⁹F-NMR** (DMSO-*d*₆, 377 MHz): δ -114.3. **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₂₄H₁₆FN₂O₄⁺: 415.1089, gefunden: 415.1092. **Smp.:** Zersetzung ab 254 °C. **IR (KBr):** 3443, 3386, 3294, 2924, 1659, 1597, 1542, 1517, 1226, 1191 cm⁻¹.

3-Fluor-N-(2-(5-hydroxy-1H-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)benzamid (49)**C₂₄H₁₅FN₂O₄ (M = 414.39 g/mol)**

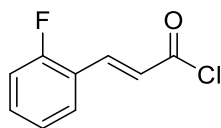
Die Synthese wurde gemäß AV11A ausgehend von **33** und **46** in THF durchgeführt. Nach 4 h bei 80 °C wurde Wasser zugegeben und der ausgefallene gelbe Feststoff abfiltriert. **Ausbeute:** 88%. **R_f** = 0.35 (DCM/MeOH 95:5). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.82 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, Indol-NH), 10.50 (s, 1H, Amid-NH), 9.07 (s, 1H, OH), 8.39 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 8.05 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 7.91-7.78 (m, 1H, 4*CH_{Ar}), 7.67 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.64-7.57 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.47 (td, *J* = 8.7, 2.8 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.34 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.05 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.91 (dd, *J* = 8.8, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, C}). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 173.1, 164.2 (d, *J* = 2.5 Hz), 162.0 (d, *J* = 244.4 Hz), 152.9, 151.9, 151.7, 137.2 (d, *J* = 6.7 Hz), 135.2, 133.9, 132.2, 130.6 (d, *J* = 8.1 Hz), 128.0, 127.0, 123.9 (d, *J* = 2.7 Hz), 122.2, 118.7, 118.2 (d, *J* = 20.3 Hz), 114.6 (d, *J* = 12.1 Hz), 114.4, 114.2, 113.4, 112.3, 110.3, 104.9. **¹⁹F-NMR** (DMSO-*d*₆, 282 MHz): δ -112.1. **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₂₄H₁₆FN₂O₄⁺: 415.1089, gefunden: 415.1092. **Smp.:** Zersetzung ab 269 °C. **IR (KBr):** 3468, 3380, 2924, 2854, 1739, 1593, 1516, 1412, 1347, 1269, 1234, 1205 cm⁻¹.

3,5-Difluoro-N-(2-(5-hydroxy-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)benzamid (**50**)

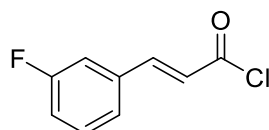
C₂₄H₁₄F₂N₂O₄ (*M* = 432.38 g/mol)



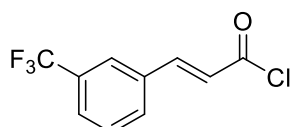
Die Synthese wurde gemäß AV11A ausgehend von **33** und **47** in THF durchgeführt. Nach 6 h bei RT wurde Wasser zugegeben und der ausgefallene gelbe Feststoff abfiltriert. **Ausbeute:** 91%. **R_f** = 0.43 (DCM/MeOH 95:5). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.83 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, Indol-NH), 10.55 (s, 1H, Amid-NH), 9.08 (s, 1H, OH), 8.38 (t, *J* = 1.5 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 8.05 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 7.84 (s, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.73 (dt, *J* = 6.8, 2.1 Hz, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.66 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.55 (tt, *J* = 9.2, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.34 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.05 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.91 (dd, *J* = 8.8, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar, C}). **¹⁹F-NMR** (DMSO-*d*₆, 282 MHz): δ -108.3. **IR (KBr):** 3341, 2924, 1595, 1558, 1515, 1344, 1200 cm⁻¹.

(E)-3-(2-Fluorphenyl)acryloylchlorid, 2-Fluorzimtsäurechlorid (55)**C₉H₆ClFO** (*M* = 184.59 g/mol)

Die Synthese wurde gemäß AV12 ausgehend von **51** durchgeführt. Ein weißer Feststoff wurde als Produkt isoliert. **Ausbeute:** quantitativ. **¹H-NMR** (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.93 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H, Ar-CH=CH-CO), 7.55 (td, *J* = 7.5, 1.8 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.46 (dddd, *J* = 8.3, 7.2, 5.3, 1.8 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.22 (td, *J* = 7.6, 1.2 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.14 (ddd, *J* = 10.7, 8.3, 1.2 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.74 (td, *J* = 15.8 Hz, 1H, Ar-CH=CH-CO). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 75 MHz): δ 166.4, 161.9 (d, *J* = 256.5 Hz), 143.2 (d, *J* = 2.9 Hz), 133.7 (d, *J* = 9.1 Hz), 130.0 (d, *J* = 2.5 Hz), 124.9 (d, *J* = 3.6 Hz), 124.8 (d, *J* = 7.5 Hz), 121.3 (d, *J* = 11.2 Hz), 116.6 (d, *J* = 21.7 Hz). **¹⁹F-NMR** (CDCl₃, 282 MHz) δ -112.8.

(E)-3-(3-Fluorphenyl)acryloylchlorid, 3-Fluorzimtsäurechlorid (56)**C₉H₆ClFO** (*M* = 184.59 g/mol)

Die Synthese wurde gemäß AV12 ausgehend von **52** durchgeführt. Ein weißer Feststoff wurde als Produkt isoliert. **Ausbeute:** quantitativ. **¹H-NMR** (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.77 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H, Ar-CH=CH-CO), 7.42 (td, *J* = 7.9, 5.5 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.35 (dt, *J* = 7.7, 1.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.25 (ddd, *J* = 9.4, 2.5, 1.7 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.17 (tdd, *J* = 8.2, 2.6, 1.3 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.63 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H, Ar-CH=CH-CO). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 75 MHz): δ 166.4, 163.1 (d, *J* = 248.0 Hz), 149.1 (d, *J* = 2.8 Hz), 135.2 (d, *J* = 7.7 Hz), 131.0 (d, *J* = 8.3 Hz), 125.2 (d, *J* = 3.0 Hz), 123.8, 119.0 (d, *J* = 21.4 Hz), 115.2 (d, *J* = 22.1 Hz). **¹⁹F-NMR** (CDCl₃, 282 MHz) δ -112.0.

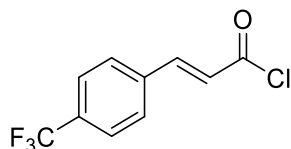
(E)-3-(3-(Trifluormethyl)phenyl)acryloylchlorid, 3-(Trifluormethyl)zimtsäurechlorid (57)**C₁₀H₆ClF₃O** (*M* = 234.60 g/mol)

Die Synthese wurde gemäß AV12 ausgehend von **53** durchgeführt. Ein weißer Feststoff wurde als Produkt isoliert. **Ausbeute:** quantitativ. **¹H-NMR** (CDCl₃, 400 MHz): δ 7.85 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H, Ar-

$\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}$), 7.82 (br s, 1H, CH_{Ar}), 7.78-7.70 (m, 2H, 2^*CH_{Ar}), 7.59 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.72 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H, $\text{Ar}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}$). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz): δ 166.0, 148.6, 133.9, 132.1, 130.0, 128.4 (q, $J = 3.6$ Hz), 125.7 (q, $J = 3.8$ Hz), 124.5, 123.7 (q, $J = 272.5$ Hz). $^{19}\text{F-NMR}$ (CDCl_3 , 282 MHz) δ -63.5.

(E)-3-(4-(Trifluormethyl)phenyl)acryloylchlorid, 4-(Trifluormethyl)zimtsäurechlorid (58)

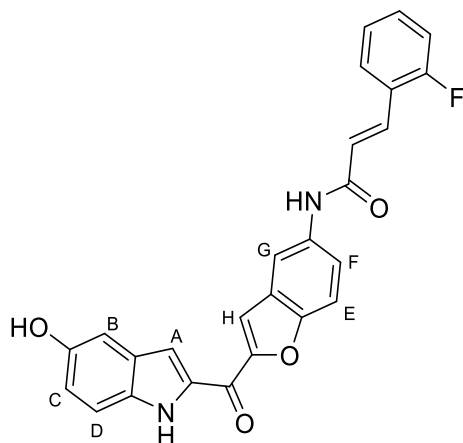
$\text{C}_{10}\text{H}_6\text{ClF}_3\text{O}$ ($M = 234.60$ g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV12 ausgehend von **54** durchgeführt. Ein weißer Feststoff wurde als Produkt isoliert. **Ausbeute:** quantitativ. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7.85 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H, $\text{Ar}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}$), 7.72-7.67 (m, 4H, 4^*CH_{Ar}), 6.73 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H, $\text{Ar}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}$). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz): δ 165.9, 148.4 (d, $J = 2.8$ Hz), 136.3, 133.2 (q, $J = 32.9$ Hz), 129.2, 126.2 (q, $J = 3.8$ Hz), 124.9, 123.6 (d, $J = 272.6$ Hz). $^{19}\text{F-NMR}$ (CDCl_3 , 282 MHz) δ -63.6.

(E)-3-(2-Fluorphenyl)-N-(2-(5-hydroxy-1H-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)acrylamid (59)

$\text{C}_{26}\text{H}_{17}\text{FN}_2\text{O}_4$ ($M = 440.43$ g/mol)

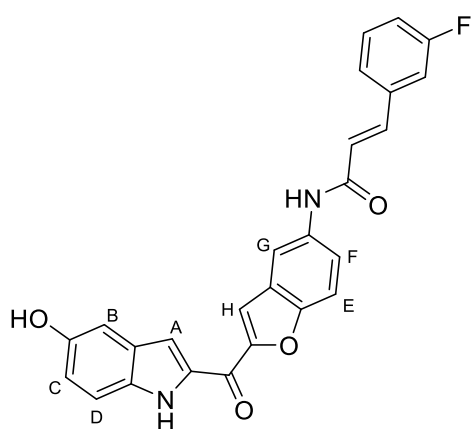


Die Synthese wurde gemäß AV11A ausgehend von **33** und **55** in THF durchgeführt. Nach 6 h bei RT wurde NaHCO_3 -Lösung (gesättigt in Wasser) zugegeben und das Produkt zweimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Nach Reinigung mit SC (SiO_2 , DCM) wurde ein gelber Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 29%. $R_f = 0.38$ (PE/EA 1:1). $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz): δ 11.79 (s, 1H, Indol-NH), 10.51 (s, 1H, Amid-NH), 9.05 (s, 1H, OH), 8.40 (s, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, G}}$), 8.03 (s, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, H}}$), 7.80 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, E}}$), 7.76-7.71 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.68 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{DoBi, J}}$), 7.65 (s,

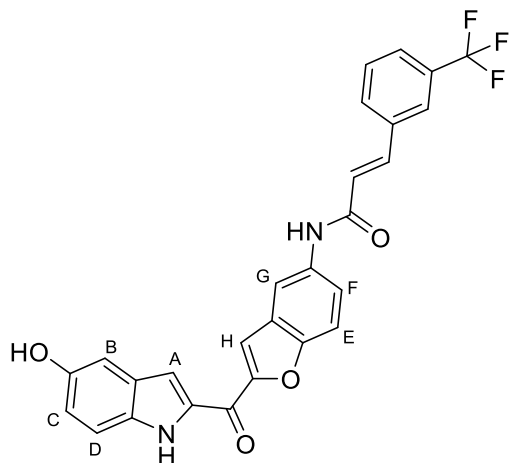
1H, CH_{Ar}), 7.48 (q, *J* = 7.0 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.38-7.27 (m, 3H, CH_{Ar}), 7.04 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.00 (d, *J* = 15.9 Hz, 1H, CH_{DoBi, I}), 6.91 (dd, *J* = 8.8, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, C}). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 173.1, 163.3, 160.6 (d, *J* = 250.7 Hz), 152.9, 151.9, 151.7, 135.6, 134.4, 133.9, 133.2, 132.7, 131.7 (d, *J* = 9.0 Hz), 129.6 (d, *J* = 3.1 Hz), 128.0, 127.2, 125.1 (d, *J* = 3.2 Hz), 122.4 (d, *J* = 11.6 Hz), 121.0, 118.1, 116.2 (d, *J* = 21.4 Hz), 114.5, 113.4, 112.8, 112.5, 110.3, 104.9. **¹⁹F-NMR** (DMSO-*d*₆, 377 MHz): δ -115.0. **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₂₆H₁₈FN₂O₄⁺: 441.1245, gefunden: 441.1247. **Smp.**: Zersetzung ab 310 °C. **IR (KBr)**: 3302, 1672, 1598, 1554, 1517, 1225, 1137 cm⁻¹.

(*E*)-3-(3-Fluorphenyl)-*N*-(2-(5-hydroxy-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)acrylamid (60)

C₂₆H₁₇FN₂O₄ (*M* = 440.43 g/mol)

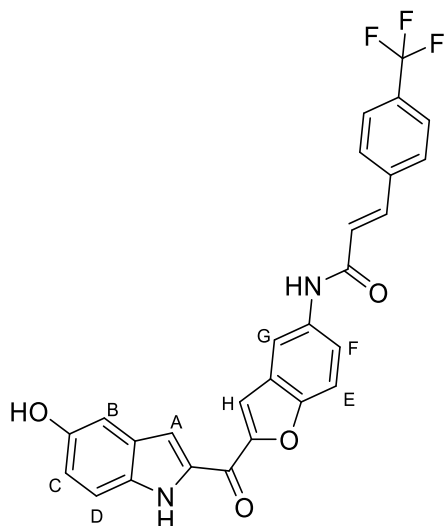


Die Synthese wurde gemäß AV11A ausgehend von **33** und **56** in THF durchgeführt. Nach 4 h bei RT wurde NaHCO₃-Lösung (gesättigt in Wasser) zugegeben und das Produkt zweimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Nach Reinigung mit SC (SiO₂, PE/EA 2:1) wurde ein gelber Feststoff isoliert. **Ausbeute**: 30%. **R_f** = 0.33 (PE/EA 1:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.78 (d, 1H, *J* = 2.3 Hz, Indol-NH), 10.42 (s, 1H, Amid-NH), 9.04 (s, 1H, OH), 8.37 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 8.02 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 7.79 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.72 (dd, *J* = 9.1, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.66-7.59 (m, 2H, CH_{Ar} + CH_{DoBi, J}), 7.53-7.45 (m, 3H, 3*CH_{Ar}), 7.32 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.29-7.19 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.02 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.94-6.85 (m, 2H, CH_{Ar} + CH_{DoBi, I}). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 173.1, 163.3, 162.5 (d, *J* = 244.2 Hz), 153.0, 152.9, 151.6, 138.8, 137.4 (d, *J* = 8.0 Hz), 135.6, 133.9, 133.2, 131.0 (d, *J* = 8.4 Hz), 128.0, 127.2, 123.9, 121.0, 118.1, 116.5 (d, *J* = 5.6 Hz), 116.3 (d, *J* = 1.5 Hz), 114.5, 114.2 (d, *J* = 21.9 Hz), 113.4, 112.8, 112.5, 110.3, 104.9. **¹⁹F-NMR** (DMSO-*d*₆, 377 MHz): δ -112.4. **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₂₆H₁₈FN₂O₄⁺: 441.1245, gefunden: 441.1245. **Smp.**: 249-250 °C. **IR (KBr)**: 3294, 2927, 1660, 1613, 1558, 1473, 1351, 1206 cm⁻¹.

(E)-N-(2-(5-Hydroxy-1H-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)-3-(3-(trifluormethyl)phenyl)acrylamid (61)**C₂₇H₁₇F₃N₂O₄ (M = 490.44 g/mol)**

Die Synthese wurde gemäß AV11A ausgehend von **33** und **57** in THF durchgeführt. Nach 1.5 h bei RT wurde NaHCO₃-Lösung (gesättigt in Wasser) zugegeben und das Produkt zweimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Reinigung mit SC (SiO₂, DCM) ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute:** 14%. **R_f** = 0.33 (PE/EA 1:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.79 (d, 1H, *J* = 2.3 Hz, Indol-NH), 10.45 (s, 1H, Amid-NH), 9.05 (s, 1H, OH), 8.39 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 8.09-7.92 (m, 3H, 3*CH_{Ar}), 7.84-7.66 (m, 5H, CH_{DoBi, J}, 4*CH_{Ar}), 7.65 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.33 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.03 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.01 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H, CH_{DoBi, I}), 6.90 (dd, *J* = 8.8, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar}). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 173.1, 163.2, 152.9, 151.7, 138.4, 135.9, 135.5, 133.9, 133.2, 131.6, 130.2, 128.0, 127.2, 124.5, 120.9, 118.1, 114.5, 113.4, 112.7, 112.5, 110.3, 104.9.* **¹⁹F-NMR** (DMSO-*d*₆, 377 MHz): δ -60.8. **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₂₇H₁₈F₃N₂O₄⁺: 491.1213, gefunden: 491.1214. **Smp.:** Zersetzung ab 232 °C. **IR (KBr):** 3303, 2924, 1670, 1611, 1558, 1473, 1334, 1229 cm⁻¹.

*Einige ¹³C-Signale der sollten zum q aufspalten, konnten allerdings nicht identifiziert werden.

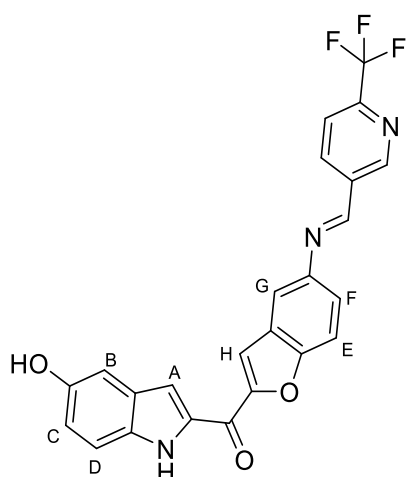
(E)-N-(2-(5-Hydroxy-1H-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)-3-(4-(trifluormethyl)phenyl)acrylamid (62)**C₂₇H₁₇F₃N₂O₄ (M = 490.44 g/mol)**

Die Synthese wurde gemäß AV11A ausgehend von **33** und **58** in THF durchgeführt. Nach 1.5 h bei RT wurde NaHCO₃-Lösung (gesättigt in Wasser) zugegeben und das Produkt zweimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Reinigung mit SC (SiO₂, DCM) ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute:** 45%. **R_f** = 0.24 (PE/EA 1:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.80 (s, 1H, Indol-NH), 10.55 (s, 1H, Amid-NH), 9.06 (s, 1H, OH), 8.38 (s, 1H, CH_{Ar}), 8.13-7.53 (m, 9H, 7*CH_{Ar} + CH_{DoBi}, J), 7.34 (d, J = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.13-6.81 (m, 3H, 2*CH_{Ar} + CH_{DoBi}, I). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 173.1, 162.7, 153.0, 151.7, 151.7, 135.4, 134.8, 133.9, 133.3, 133.2, 129.9, 128.0, 127.9, 127.2, 126.9, 126.2 (q, J = 5.3 Hz), 124.2 (q, J = 273.4 Hz), 121.0, 118.1, 114.5, 113.4, 113.0, 112.6, 110.3, 105.0. **¹⁹F-NMR** (DMSO-*d*₆, 377 MHz): δ -60.8. **HRMS** (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für C₂₇H₁₈F₃N₂O₄⁺: 491.1213, gefunden: 491.1213. **Smp.:** Zersetzung ab 236 °C. **IR (KBr):** 3303, 1677, 1598, 1546, 1314, 1226, 1124 cm⁻¹.

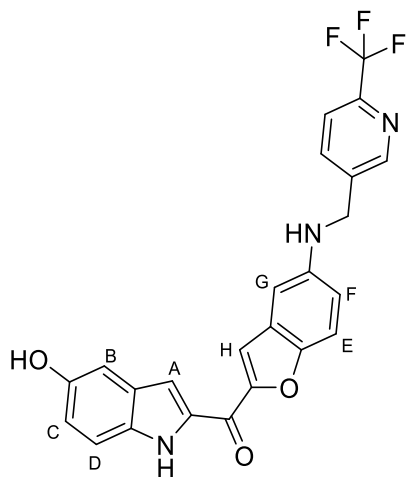
5.5. GRUNDSTRUKTUR II

(*E*)-(5-Hydroxy-1*H*-indol-2-yl)(5-(((5-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)methylen)amino)benzofuran-2-yl)methanon (63)

$C_{24}H_{14}F_3N_3O_3$ ($M = 449.39$ g/mol)

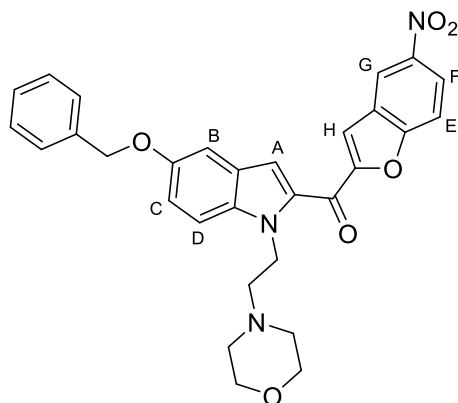


Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{357; 555} Zu einer Lösung von Trifluornicotinaldehyd (1.2 eq.) in THF (10 mL/g Startmaterial) wurde eine Lösung des Startmaterials **33** (1.0 eq.) in THF (90 mL/g Startmaterial) gegeben und die Reaktionsmischung über Nacht bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde Wasser zugegeben und das Produkt zweimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Reinigung mit SC (SiO₂, PE/EA 2:1) ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute:** 43%. **R_f** = 0.19 (PE/EA 1:1). **Smp.:** Zersetzung ab 253 °C. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.84 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, Indol-NH), 9.27 (s, 1H, N=CH), 9.09 (s, 1H, OH), 8.92 (s, 1H, CH_{Ar}), 8.58 (dd, *J* = 8.2, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar}), 8.05 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, CH_{Ar}), 8.00 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.90 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.80 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.67 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.61 (dd, *J* = 8.8, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.34 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.05 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.92 (dd, *J* = 8.9, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar}). **¹⁹F-NMR** (DMSO-*d*₆, 377 MHz): δ -66.6. **IR (KBr):** 3302, 2924, 1708, 1608, 1555, 1331, 1189, 1083 cm⁻¹.

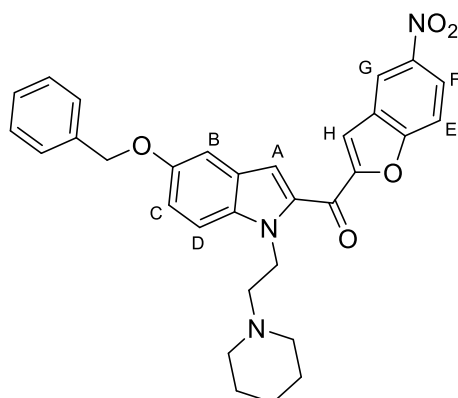
(5-Hydroxy-1*H*-indol-2-yl)(5-(((6-(trifluoromethyl)pyridin-3-yl)methyl)amino)benzofuran-2-yl)methanon (64a)**C₂₄H₁₆F₃N₃O₃ (*M* = 451.41 g/mol)**

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.³⁵⁶ Zu einer Lösung des Startmaterials **63** (1.0 eq.) in THF/MeOH (1:1, 100 mL/g Startmaterial) wurde bei 0 °C Natriumborhydrid (1.1 eq.) und Borsäure (1.0 eq.) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 2 h bei 0 °C gerührt und NaHCO₃-Lösung (gesättigt in Wasser) zugegeben. Das Produkt wurde viermal mit DCM extrahiert, die gesammelten organischen Phasen mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Reinigung mit SC (SiO₂, PE/EA 2:1) ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute:** 40%. **R_f** = 0.39 (PE/EA 1:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.73 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, Indol-NH), 9.05 (s, 1H, OH), 8.82 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, CH_{Ar}), 8.05 (d, *J* = 8.1, 2.0 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.88 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.74 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.63-7.50 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.32 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.07-6.96 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 6.89 (dd, *J* = 8.8, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.77 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.54 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H, NH-CH₂), 4.49 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H, NH-CH₂). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 173.1, 152.4, 151.6, 149.5, 149.0, 145.2, 140.0, 136.9, 134.0, 133.1, 128.0, 127.7, 120.6, 120.5, 117.9, 117.4, 114.0, 113.4, 112.7, 109.9, 101.7, 44.3. **¹⁹F-NMR** (DMSO-*d*₆, 377 MHz): δ -66.6. **HRMS** (ESI): *m/z* [*M* + *H*]⁺ berechnet: für C₂₄H₁₇F₃N₃O₃⁺: 452.1217, gefunden: 452.1222. Zusätzliche Reinigung des Produkts wurde durch präp. HPLC erreicht. Dabei wurde das einfache TFA-Salz **64b** der entspr. Verbindung isoliert. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.73 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 9.04 (s, 1H), 8.82 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 8.06 (dd, *J* = 8.1, 2.0 Hz, 1H), 7.89 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.57 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 7.55 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.31 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.01 (td, *J* = 4.5, 2.3 Hz, 2H), 6.88 (dd, *J* = 8.8, 2.2 Hz, 1H), 6.78 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 4.50 (s, 2H). **Smp.:** Zersetzung ab 204 °C. **IR (KBr):** 3427, 3298, 2924, 2853, 1608, 1553, 1516, 1272, 1087 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >99%, (*t_R* = 18.76 min). C₂₆H₁₇F₆N₃O₅ [565.43].

5.6. GRUNDSTRUKTUR III

(5-(Benzyloxy)-1-(2-morpholinoethyl)-1*H*-indol-2-yl)(5-nitrobenzofuran-2-yl)methanon (69) $C_{30}H_{27}N_3O_6$ ($M = 525.56$ g/mol)

Die Reaktion wurde nach AV13 ausgehend von **32** und 4-(2-Chlorethyl)morpholin Hydrochlorid **66** durchgeführt. Nach Auskochen mit PE wurde ein gelber Feststoff isoliert. **Ausbeute:** quantitativ. $R_f = 0.31$ (DCM/MeOH 98:2). **1H -NMR** (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 8.82 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, $CH_{Ar, G}$), 8.40 (dd, $J = 9.3, 2.5$ Hz, 1H, $CH_{Ar, F}$), 8.07-8.01 (m, 2H, $CH_{Ar, E} + CH_{Ar, H}$), 7.60 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.52-7.46 (m, 3H, $3 \cdot CH_{Ar}$), 7.43-7.32 (m, 3H, $3 \cdot CH_{Ar}$), 7.28 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, $CH_{Ar, B}$), 7.16 (dd, $J = 9.1, 2.4$ Hz, 1H, $CH_{Ar, B}$), 5.14 (s, 2H, CH_2 , Benzyl), 4.64 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H, CH_2-CH_2), 3.30 (t, $J = 4.6$ Hz, 4H, $2 \cdot CH_2$, Morpholin), 2.58-2.51 (m, 2H, CH_2-CH_2), 2.31 (t, $J = 4.6$ Hz, 4H, $2 \cdot CH_2$, Morpholin). **1H -NMR** (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.68 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, $CH_{Ar, G}$), 8.40 (dd, $J = 9.2, 2.4$ Hz, 1H, $CH_{Ar, F}$), 7.75 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, $CH_{Ar, F}$), 7.71 (d, $J = 0.9$ Hz, 1H, $CH_{Ar, H}$), 7.51 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.50-7.45 (m, 2H, $2 \cdot CH_{Ar}$), 7.44-7.32 (m, 4H, $4 \cdot CH_{Ar}$), 7.24-7.17 (m, 2H, $CH_{Ar, A} + CH_{Ar, C}$), 5.13 (s, 2H, CH_2 , Benzyl), 4.70 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, CH_2-CH_2), 3.58 (t, $J = 4.6$ Hz, 4H, $2 \cdot CH_2$, Morpholin), 2.72 (t, 2H, $J = 6.8$ Hz, CH_2-CH_2), 2.53 (t, $J = 4.6$ Hz, 4H, $2 \cdot CH_2$, Morpholin). **^{13}C -NMR** (DMSO- d_6 , 101 MHz): δ 174.2 (C=O), 157.6 (C_{Ar}), 154.8 (C_{Ar}), 153.4 (C_{Ar}), 144.3 (C_{Ar}), 137.3 (C_{Ar}), 135.3 (C_{Ar}), 134.2 (C_{Ar}), 128.4 (+, CH_{Ar}), 127.7 (+, CH_{Ar}), 127.6 (+, CH_{Ar}), 127.4 (C_{Ar}), 126.1 (C_{Ar}), 123.2 (+, CH_{Ar}), 120.3 (+, CH_{Ar}), 118.3 (+, CH_{Ar}), 116.0 (+, CH_{Ar}), 113.4 (+, CH_{Ar}), 113.3 (+, CH_{Ar}), 112.2 (+, CH_{Ar}), 104.2 (+, CH_{Ar}), 69.6 (-, CH_2), 66.0 (-, CH_2), 58.4 (-, CH_2), 53.5 (-, CH_2), 41.3 (-, CH_2). **^{13}C -NMR** (CDCl₃, 101 MHz): δ 174.6 (C=O), 158.2 (C_{Ar}), 156.0 (C_{Ar}), 154.3 (C_{Ar}), 145.0 (C_{Ar}), 137.2 (C_{Ar}), 136.1 (C_{Ar}), 133.9 (C_{Ar}), 128.7 (+, CH_{Ar}), 128.1 (+, CH_{Ar}), 127.6 (+, CH_{Ar}), 127.5 (C_{Ar}), 126.6 (C_{Ar}), 123.2 (+, CH_{Ar}), 119.8 (+, CH_{Ar}), 119.6 (+, CH_{Ar}), 114.6 (+, CH_{Ar}), 114.2 (+, CH_{Ar}), 113.1 (+, CH_{Ar}), 111.7 (+, CH_{Ar}), 104.5 (+, CH_{Ar}), 70.7 (-, CH_2), 67.0 (-, CH_2), 58.6 (-, CH_2), 54.1 (-, CH_2), 42.5 (-, CH_2). **HRMS** (ESI): m/z $[M + H]^+$ berechnet: für $C_{30}H_{28}N_3O_6^+$: 526.1973, gefunden: 526.1976. **Smp.:** 169-170 °C. **IR** (KBr): 3106, 2918, 2847, 1621, 1513, 1459, 1349, 1193 cm^{-1} .

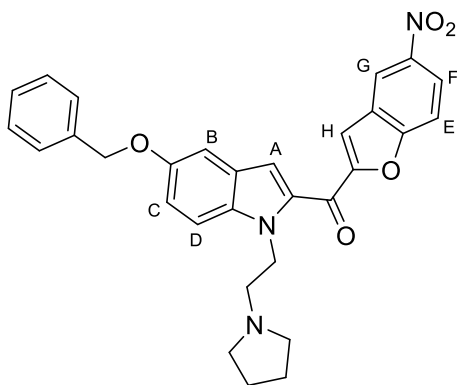
(5-(Benzyloxy)-1-(2-(piperidin-1-yl)ethyl)-1*H*-indol-2-yl)(5-nitrobenzofuran-2-yl)methanon (70)**C₃₁H₂₉N₃O₅ (M = 523.59 g/mol)**

Die Reaktion wurde nach AV13 ausgehend von **32** und 4-(2-Chlorethyl)piperidin Hydrochlorid **67** durchgeführt. Nach Auskochen mit PE wurde ein gelber Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 95%. Alternativ wurde die Synthese mit KOH in DMSO durchgeführt.³⁶² Zu einer Suspension von **32** in DMSO (50 mL/g Startmaterial) wurde eine Suspension von KOH (fein gemahlen, 4.0 eq.) in DMSO (50 mL/g Startmaterial) getropft. Nach 1 h bei RT wurde 4-(2-Chlorethyl)piperidin Hydrochlorid **67** (2.0 eq.) zugegeben und die Reaktionsmischung über Nacht bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde Wasser zugegeben und das Produkt dreimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser und NaCl-Lösung (gesättigt in Wasser) gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Nach SC (SiO₂, PE/EA 1:1) wurde ein gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 91%. **R_f** = 0.72 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4.5:0.5). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 8.82 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 8.40 (dd, *J* = 9.1, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 8.06-8.00 (m, 2H, CH_{Ar, E} + CH_{Ar, H}), 7.59 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.52-7.45 (m, 3H, 3*CH_{Ar}), 7.44-7.37 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.36-7.30 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.28 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 7.15 (dd, *J* = 9.1, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 5.14 (s, 2H, CH_{2, Benzyl}), 4.62 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH₂-CH₂), 2.50-2.47 (m, 2H, CH₂-CH₂), 2.30 (s, 4H, 2*CH_{2, Piperidin}), 1.31-1.09 (m, 8H, 4*CH_{2, Piperidin}). **¹H-NMR** (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.67 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 8.38 (dd, *J* = 9.1, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 7.74 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.70 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H, CH_{Ar, H}), 7.52-7.45 (m, 3H, 3*CH_{Ar}), 7.44-7.37 (m, 3H, 3*CH_{Ar}), 7.37-7.30 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.23-7.16 (m, 2H, CH_{Ar, B+C}), 5.12 (s, 2H, CH_{2, Benzyl}), 4.69 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH₂-CH₂), 2.69 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH₂-CH₂), 2.51 (t, *J* = 5.2 Hz, 4H, 2*CH_{2, Piperidin}), 1.51 (p, *J* = 5.5 Hz, 4H, 2*CH_{2, Piperidin}), 1.38 (q, *J* = 5.8 Hz, 2H, CH_{2, Piperidin}). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 174.1 (C=O), 157.6 (C_{Ar}), 154.9 (C_{Ar}), 153.4 (C_{Ar}), 144.3 (C_{Ar}), 137.3 (C_{Ar}), 135.3 (C_{Ar}), 134.2 (C_{Ar}), 128.4 (+, CH_{Ar}), 127.7 (+, CH_{Ar}), 127.6 (+, CH_{Ar}), 127.4 (C_{Ar}), 126.0 (C_{Ar}), 123.2 (+, CH_{Ar}), 120.2 (+, CH_{Ar}), 118.3 (+, CH_{Ar}), 115.8 (+, CH_{Ar}), 113.3 (+, CH_{Ar}), 113.3 (+, CH_{Ar}), 112.2 (+, CH_{Ar}), 104.2 (+, CH_{Ar}), 69.6 (-, CH₂), 58.7 (-, CH₂), 54.3 (-, CH₂), 41.8 (-, CH₂), 25.4 (-, CH₂), 23.8 (-, CH₂). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 75 MHz): δ 174.4 (C=O), 158.1 (C_{Ar}), 156.0 (C_{Ar}),

154.2 (C_{Ar}), 144.9 (C_{Ar}), 137.2 (C_{Ar}), 136.2 (C_{Ar}), 133.7 (C_{Ar}), 128.7 (+, CH_{Ar}), 128.1 (+, CH_{Ar}), 127.6 (+, CH_{Ar}), 127.5 (C_{Ar}), 126.5 (C_{Ar}), 123.1 (+, CH_{Ar}), 119.8 (+, CH_{Ar}), 119.6 (+, CH_{Ar}), 114.5 (+, CH_{Ar}), 114.0 (+, CH_{Ar}), 113.1 (+, CH_{Ar}), 111.8 (+, CH_{Ar}), 104.3 (+, CH_{Ar}), 70.7 (-, CH_2), 58.8 (-, CH_2), 55.0 (-, CH_2), 42.8 (-, CH_2), 26.0 (-, CH_2), 24.3 (-, CH_2). **HRMS** (ESI): m/z $[M + H]^+$ berechnet: für $C_{31}H_{30}N_3O_5^+$: 524.2180, gefunden: 524.2187. **Smp.**: 132-134 °C. **IR (KBr)**: 3100, 2925, 2852, 1619, 1556, 1525, 1447, 1347, 1197 cm^{-1} .

(5-(Benzyloxy)-1-(2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl)-1H-indol-2-yl)(5-nitrobenzofuran-2-yl)methanon (71)

$C_{30}H_{27}N_3O_5$ ($M = 509.56$ g/mol)

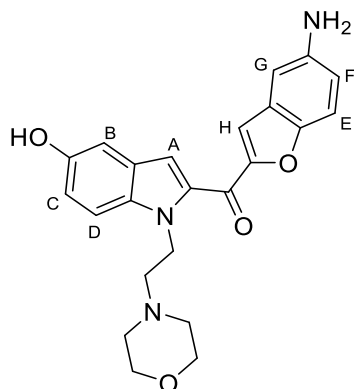


Die Reaktion wurde nach AV13 ausgehend von **32** und 4-(2-Chlorethyl)pyrrolidin Hydrochlorid **68** durchgeführt. Nach Auskochen mit PE wurde ein gelber Feststoff isoliert. **Ausbeute**: 94%. **R_f** = 0.53 (DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 95:4.5:0.5). **1H -NMR** ($DMSO-d_6$, 300 MHz): δ 8.83 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, $CH_{Ar, G}$), 8.41 (dd, $J = 9.1, 2.5$ Hz, 1H, $CH_{Ar, F}$), 8.05 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, $CH_{Ar, E}$), 8.01 (s, 1H, $CH_{Ar, H}$), 7.60 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H, $CH_{Ar, D}$), 7.53-7.46 (m, 3H, $3 \cdot CH_{Ar}$), 7.44-7.37 (m, 2H, $2 \cdot CH_{Ar}$), 7.37-7.31 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.29 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, $CH_{Ar, B}$), 7.16 (dd, $J = 9.1, 2.5$ Hz, 1H, $CH_{Ar, C}$), 5.15 (s, 2H, $CH_2, Benzyl$), 4.61 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H, CH_2-CH_2), 2.64 (t, 2H, $J = 6.3$ Hz, CH_2-CH_2), 2.38 (p, 4H, $J = 3.4$ Hz, $2 \cdot CH_2, Pyrrolidin$), 1.42 (p, 4H, $J = 3.2$ Hz, $2 \cdot CH_2, Pyrrolidin$). **1H -NMR** ($CDCl_3$, 300 MHz): δ 8.65 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, $CH_{Ar, G}$), 8.37 (dd, $J = 9.1, 2.3$ Hz, 1H, $CH_{Ar, F}$), 7.72 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, $CH_{Ar, E}$), 7.68 (d, $J = 0.8$ Hz, 1H, $CH_{Ar, H}$), 7.51 (d, $J = 0.7$ Hz, 1H, $CH_{Ar, A}$), 7.49-7.44 (m, 2H, $2 \cdot CH_{Ar}$), 7.43-7.36 (m, 3H, $3 \cdot CH_{Ar}$), 7.35-7.30 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.23-7.16 (m, 2H, $CH_{Ar, B+C}$), 5.11 (s, 2H, $CH_2, Benzyl$), 4.69 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, CH_2-CH_2), 2.87 (t, 2H, $J = 7.5$ Hz, CH_2-CH_2), 2.68-2.60 (m, 4H, $2 \cdot CH_2, Pyrrolidin$), 1.82-1.62 (m, 4H, $2 \cdot CH_2, Pyrrolidin$). **^{13}C -NMR** ($DMSO-d_6$, 101 MHz): δ 174.0 ($C=O$), 157.6 (C_{Ar}), 154.9 (C_{Ar}), 153.4 (C_{Ar}), 144.3 (C_{Ar}), 137.3 (C_{Ar}), 135.2 (C_{Ar}), 134.2 (C_{Ar}), 128.4 (+, CH_{Ar}), 127.7 (+, CH_{Ar}), 127.6 (+, CH_{Ar}), 127.4 (C_{Ar}), 126.1 (C_{Ar}), 123.2 (+, CH_{Ar}), 120.2 (+, CH_{Ar}), 118.2 (+, CH_{Ar}), 115.7 (+, CH_{Ar}), 113.3 (+, CH_{Ar}), 112.9 (+, CH_{Ar}), 112.1 (+, CH_{Ar}), 104.2 (+, CH_{Ar}), 69.6 (-, CH_2), 55.6 (-, CH_2), 53.6 (-, CH_2), 43.1 (-, CH_2), 23.1 (-, CH_2). **^{13}C -NMR** ($CDCl_3$, 75 MHz): δ 174.1 ($C=O$), 157.7 (C_{Ar}), 154.9 (C_{Ar}), 153.4 (C_{Ar}), 144.3 (C_{Ar}), 137.3 (C_{Ar}), 135.2 (C_{Ar}), 134.5 (C_{Ar}), 134.4 (+, CH_{Ar}), 128.0 (+, CH_{Ar}), 127.5 (+, CH_{Ar}), 127.4 (C_{Ar}), 126.5 (C_{Ar}),

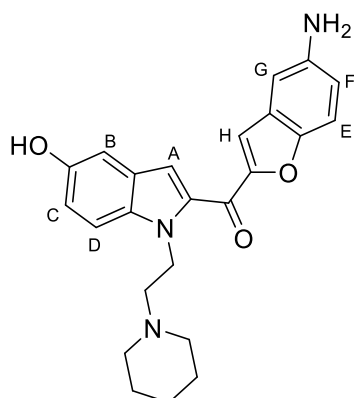
123.1 (+, CH_{Ar}), 119.7 (+, CH_{Ar}), 119.6 (+, CH_{Ar}), 114.5 (+, CH_{Ar}), 114.0 (+, CH_{Ar}), 113.0 (+, CH_{Ar}), 111.7 (+, CH_{Ar}), 104.3 (+, CH_{Ar}), 70.6 (-, CH₂), 55.9 (-, CH₂), 54.4 (-, CH₂), 44.2 (-, CH₂), 23.6 (-, CH₂). **HRMS** (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für C₃₀H₂₈N₃O₅⁺: 510.2023, gefunden: 510.2031. **Smp.**: 134-135 °C. **IR (KBr)**: 3123, 2967, 2918, 2785, 1629, 1513, 1345, 1196 cm⁻¹.

(5-Aminobenzofuran-2-yl)(5-hydroxy-1-(2-morpholinoethyl)-1H-indol-2-yl)methanon (72)

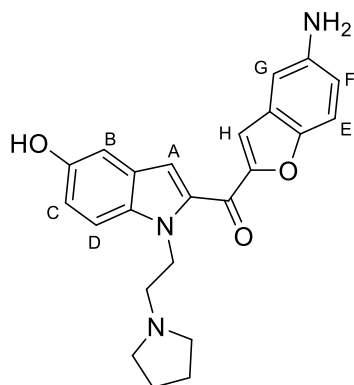
C₂₃H₂₃N₃O₄ (M = 405.45 g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV7 ausgehend von **69** durchgeführt. Das Filtrat wurde auf Wasser gekippt und das Produkt dreimal mit EA extrahiert. Reinigung mit SC (SiO₂, DCM/MeOH 99:1) ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute**: 46%. **R_f** = 0.43 (DCM/MeOH 95:5). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 9.10 (s, 1H, OH), 7.61 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.49-7.42 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.34 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.03 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.93 (dd, *J* = 8.9, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.90-6.84 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 5.12 (s, 2H, NH₂), 4.59 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH₂-CH₂), 3.34-3.24 (m, 4H, 2*CH₂, Morpholin), 2.51-2.41 (m, 2H, CH₂-CH₂), 2.31 (t, *J* = 4.6 Hz, 4H, 2*CH₂, Morpholin). **¹H-NMR** (CDCl₃, 400 MHz): δ 7.43 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.39 (d, *J* = 8.8, 1H, CH_{Ar}), 7.35 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.26 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.08 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.98 (dd, *J* = 8.9, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.90 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.85 (dd, *J* = 8.7, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 4.64 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂-CH₂), 3.60 (t, *J* = 4.5 Hz, 4H, 2*CH₂, Morpholin), 2.72 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂-CH₂), 2.54 (t, *J* = 4.5 Hz, 4H, 2*CH₂, Morpholin). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 175.0 (C=O), 152.6 (C_{Ar}), 151.9 (C_{Ar}), 148.8 (C_{Ar}), 145.6 (C_{Ar}), 134.7 (C_{Ar}), 134.3 (C_{Ar}), 127.7 (C_{Ar}), 126.6 (C_{Ar}), 117.7 (+, CH_{Ar}), 117.1 (+, CH_{Ar}), 115.4 (+, CH_{Ar}), 112.1 (+, CH_{Ar}), 111.7 (+, CH_{Ar}), 111.6 (+, CH_{Ar}), 105.2 (+, CH_{Ar}), 104.4 (+, CH_{Ar}), 65.9 (-, CH₂), 58.4 (-, CH₂), 53.5 (-, CH₂), 41.1 (-, CH₂). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 101 MHz): δ 175.8 (C=O), 153.8 (C_{Ar}), 150.8 (C_{Ar}), 148.9 (C_{Ar}), 143.1 (C_{Ar}), 135.5 (C_{Ar}), 134.9 (C_{Ar}), 128.1 (C_{Ar}), 127.0 (C_{Ar}), 118.4 (+, CH_{Ar}), 117.5 (+, CH_{Ar}), 115.0 (+, CH_{Ar}), 113.0 (+, CH_{Ar}), 112.8 (+, CH_{Ar}), 111.4 (+, CH_{Ar}), 106.6 (+, CH_{Ar}), 106.4 (+, CH_{Ar}), 66.9 (-, CH₂), 58.5 (-, CH₂), 54.0 (-, CH₂), 42.2 (-, CH₂). **HRMS** (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für C₂₃H₂₄N₃O₄⁺: 406.1761, gefunden: 406.1766. **Smp.**: Zersetzung ab 198 °C. **IR**: 3358, 2924, 1617, 1546, 1514, 1458, 1205 cm⁻¹.

(5-Aminobenzofuran-2-yl)(5-hydroxy-1-(2-morpholinoethyl)-1H-indol-2-yl)methanon (73)**C₂₄H₂₅N₃O₃ (M = 403.48 g/mol)**

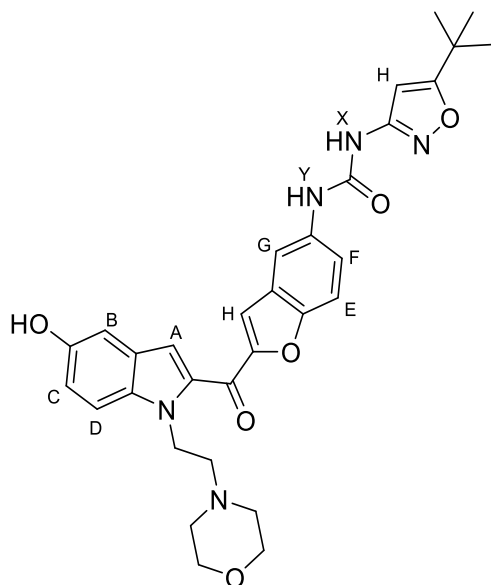
Die Synthese wurde gemäß AV7 ausgehend von **70** durchgeführt. Das Filtrat wurde auf Wasser gekippt und das Produkt dreimal mit EA extrahiert. Reinigung mit SC (SiO₂, DCM/MeOH 99:1) ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute:** 41%. **R_f** = 0.32 (DCM/MeOH 95:5). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 9.08 (s, 1H, OH), 7.59 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.45-7.40 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.34 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.01 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.92 (dd, *J* = 8.9, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.87-6.83 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 5.08 (s, 2H, NH₂), 4.57 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH₂-CH₂), 2.49-2.38 (m, 2H, CH₂-CH₂), 2.37-2.18 (m, 4H, 2*CH₂, Piperidin), 1.35-1.15 (m, 6H, 3*CH₂, Piperidin). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 174.8 (C=O), 152.6 (C_{Ar}), 151.8 (C_{Ar}), 148.8 (C_{Ar}), 145.6 (C_{Ar}), 134.5 (C_{Ar}), 134.3 (C_{Ar}), 127.7 (C_{Ar}), 126.6 (C_{Ar}), 117.7 (+, CH_{Ar}), 117.2 (+, CH_{Ar}), 115.3 (+, CH_{Ar}), 112.1 (+, CH_{Ar}), 111.7 (+, CH_{Ar}), 111.6 (+, CH_{Ar}), 105.2 (+, CH_{Ar}), 104.3 (+, CH_{Ar}), 54.9 (-, CH₂), 54.3 (-, CH₂), 41.6 (-, CH₂), 25.3 (-, CH₂), 23.8 (-, CH₂). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₂₄H₂₆N₃O₃⁺: 404.1969, gefunden: 404.1971. **Smp.:** Zersetzung ab 194 °C. **IR:** 3347, 2933, 1617, 1545, 1514, 1457, 1204 cm⁻¹.

(5-Aminobenzofuran-2-yl)(5-hydroxy-1-(2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl)-1H-indol-2-yl)methanon (74)**C₂₃H₂₃N₃O₃ (M = 389.46 g/mol)**

Die Synthese wurde gemäß AV7 ausgehend von **71** durchgeführt. Das Filtrat wurde auf Wasser gekippt und das Produkt dreimal mit EA extrahiert. Reinigung mit SC (SiO₂, DCM/MeOH 99:1) ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute:** 39%. **R_f** = 0.13 (DCM/MeOH 95:5). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 9.18 (s, 1H, OH), 7.61 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.49 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.46-7.41 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.39 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.05 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.95 (dd, *J* = 8.9, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.90-6.83 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 5.11 (s, 2H, NH₂), 4.73-4.55 (m, CH₂-CH₂), 2.81 (s, 2H, br, CH₂-CH₂), 2.57 (s, 4H, br, 2*CH₂, Pyrrolidin), 1.57 (s, 4H, br, 2*CH₂, Pyrrolidin). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 174.7 (C=O), 152.5 (C_{Ar}), 152.0 (C_{Ar}), 148.9 (C_{Ar}), 145.6 (C_{Ar}), 134.3 (C_{Ar}), 134.3 (C_{Ar}), 127.7 (C_{Ar}), 126.7 (C_{Ar}), 117.8 (+, CH_{Ar}), 117.4 (+, CH_{Ar}), 115.3 (+, CH_{Ar}), 112.1 (+, CH_{Ar}), 112.0 (+, CH_{Ar}), 111.5 (+, CH_{Ar}), 105.3 (+, CH_{Ar}), 104.4 (+, CH_{Ar}), 54.9 (-, CH₂), 53.6 (-, CH₂), 23.0 (-, CH₂), 21.0 (-, CH₂). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₂₃H₂₄N₃O₃⁺: 390.1812, gefunden: 390.1820. **Smp.:** Zersetzung ab 176 °C. **IR:** 3357, 2925, 1617, 1545, 1513, 1457, 1203 cm⁻¹.

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-1-(2-morpholinoethyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (75)

C₃₁H₃₃N₅O₆ (M = 571.63 g/mol)

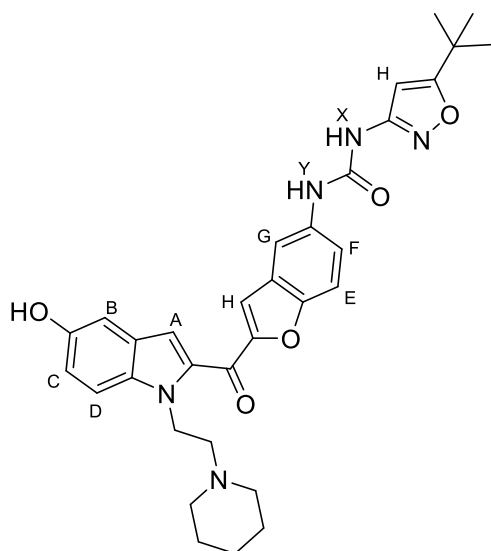


Die Synthese wurde gemäß AV8 ausgehend von **72** durchgeführt. Reinigung mit SC (SiO₂, DCM/MeOH 95:5) ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute:** 66%. **R_f** = 0.48 (DCM/MeOH 95:5). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 9.57 (s, 1H, NH_{Harnstoff}, Y), 9.14 (s, 1H, NH_{Harnstoff}, X), 9.01 (s, 1H, OH), 8.06 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.84 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.73 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.53-7.46 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.42 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.04 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.96 (dd, *J* = 8.9, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar}), 4.63 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH₂-CH₂), 2.62-2.52 (m, 4H, 2*CH₂, Morpholin), 2.43-2.26 (m, 6H, 2*CH₂, Morpholin + CH₂-CH₂), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **¹H-NMR** (Aceton-*d*₆, 300 MHz): δ 9.06 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 8.20 (d,

$J = 1.6$ Hz, 1H), 7.77 (d, $J = 0.8$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.61 (dd, $J = 9.0, 2.1$ Hz, 1H), 7.54-7.47 (m, 2H), 7.14 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 7.04 (dd, $J = 8.9, 2.4$ Hz, 1H), 6.47 (s, 1H), 4.75 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.47 (t, $J = 4.6$ Hz, 4H), 2.47 (t, $J = 5.7$ Hz, 4H), 2.53 (s, 4H, br), 1.35 (s, 9H). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 101 MHz): δ 180.7 (C=O), 175.3 (C=O), 158.9 (C_{Ar}), 153.7 (C_{Ar}), 152.5 (C_{Ar}), 152.1 (C_{Ar}), 151.9 (C_{Ar}), 135.7 (C_{Ar}), 134.9 (C_{Ar}), 134.9 (C_{Ar}), 127.7 (C_{Ar}), 127.1 (C_{Ar}), 121.3 (+, CH_{Ar}), 118.0 (+, CH_{Ar}), 116.3 (+, CH_{Ar}), 112.9 (+, CH_{Ar}), 112.7 (+, CH_{Ar}), 112.1 (+, CH_{Ar}), 105.8 (+, CH_{Ar}), 93.0 (+, CH_{Ar}), 73.5 (-, CH₂), 66.3 (-, CH₂), 59.2 (-, CH₂), 53.9 (-, CH₂), 32.9 (C(CH₃)), 28.8 (+, 3*CH₃). $^{13}\text{C-NMR}$ (Aceton- d_6 , 75 MHz): δ 181.4 (C=O), 176.1 (C=O), 155.0 (C_{Ar}), 153.1 (C_{Ar}), 153.0 (C_{Ar}), 152.5 (C_{Ar}), 152.0 (C_{Ar}), 136.5 (C_{Ar}), 136.0 (C_{Ar}), 135.8 (C_{Ar}), 128.5 (C_{Ar}), 128.1 (C_{Ar}), 121.9 (+, CH_{Ar}), 118.3 (+, CH_{Ar}), 116.1 (+, CH_{Ar}), 113.4 (+, CH_{Ar}), 113.1 (+, CH_{Ar}), 112.4 (+, CH_{Ar}), 106.5 (+, CH_{Ar}), 93.2 (+, CH_{Ar}), 67.0 (-, CH₂), 59.3 (-, CH₂), 54.7 (-, CH₂), 42.3 (-, CH₂), 33.5 (3*C(CH₃)), 28.9 (+, 3*CH₃). HRMS (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für C₃₁H₃₄N₅O₆⁺: 572.2504, gefunden: 572.2512. Smp.: Zersetzung ab 214 °C. IR (KBr): 3300, 2925, 1704, 1608, 1543, 1469, 1212 cm⁻¹.

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-1-(2-(piperidin-1-yl)ethyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (76)

C₃₂H₃₅N₅O₅ ($M = 569.66$ g/mol)

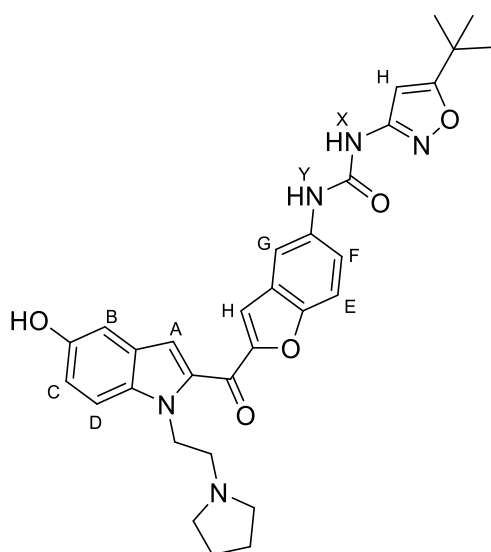


Die Synthese wurde gemäß AV8 ausgehend von **73** durchgeführt. Reinigung mit SC (SiO₂, DCM/MeOH 95:5) ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute:** 76%. $R_f = 0.57$ (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4.5:0.5). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 9.55 (s, 1H, NH_{Harnstoff}, Y), 9.11 (s, 1H, NH_{Harnstoff}, X), 8.98 (s, 1H, OH), 8.05 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.82 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.72 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.50 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.45 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.40 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.42 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.03 (s, 1H, CH_{Ar}), 6.94 (dd, $J = 8.9, 2.3$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar}), 4.59 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, CH₂-CH₂), 2.50-2.43 (m, 2H, CH₂-CH₂), 2.30 (s, 4H, br, 2*CH₂, piperidin), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃), 1.22 (s, 6H, br, 3*CH₂,

Piperidin). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 174.7 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 153.2 (C_{Ar}), 151.9 (C_{Ar}), 151.6 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 135.2 (C_{Ar}), 134.5 (C_{Ar}), 134.3 (C_{Ar}), 127.2 (C_{Ar}), 126.6 (C_{Ar}), 120.7 (+, CH_{Ar}), 117.4 (+, CH_{Ar}), 115.6 (+, CH_{Ar}), 112.3 (+, CH_{Ar}), 112.2 (+, CH_{Ar}), 111.6 (+, CH_{Ar}), 105.2 (+, CH_{Ar}), 92.4 (+, CH_{Ar}), 58.6 (-, CH₂), 54.3 (-, CH₂), 41.6 (-, CH₂), 32.5 (C(CH₃)), 28.3 (+, 3*CH₃), 25.3 (-, CH₂), 23.8 (-, CH₂). **HRMS** (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für C₃₂H₃₆N₅O₅⁺: 570.2711, gefunden: 570.2715. **Smp.**: Zersetzung ab 157 °C. **IR (KBr)**: 3384, 2933, 1700, 1611, 1548, 1468, 1207 cm⁻¹.

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-1-(2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (77)

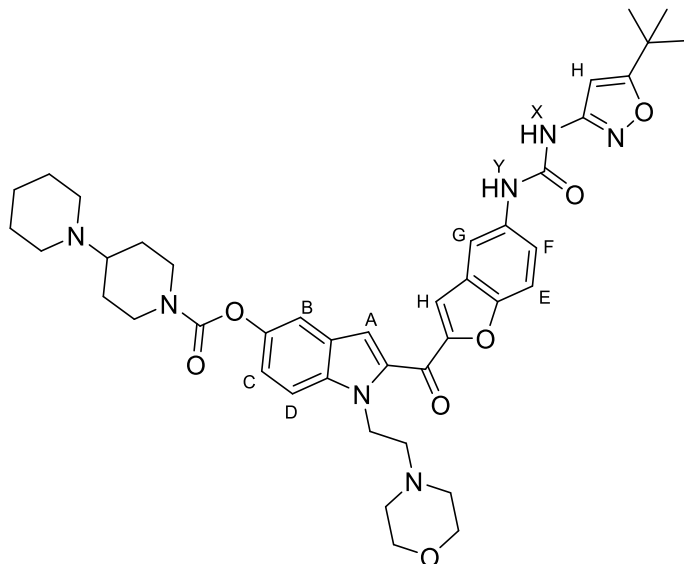
C₃₁H₃₃N₅O₅ (M = 555.64 g/mol)



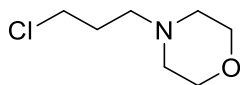
Die Synthese wurde gemäß AV8 ausgehend von **74** durchgeführt. Reinigung mit SC (SiO₂, DCM/MeOH 95:5) ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute**: 83%. **R_f** = 0.62 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4.5:0.5). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 9.60 (s, 1H, NH_{Harnstoff}, Y), 9.16 (s, 1H, NH_{Harnstoff}, X), 9.09 (s, 1H, OH), 8.05 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.82 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.72 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.54-7.45 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.43 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.04 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.96 (dd, *J* = 8.9, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar}), 4.61 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, CH₂-CH₂), 2.74 (s, 2H, br, CH₂-CH₂), 2.50-2.47 (m, 4H, 2*CH₂, Pyrrolidin), 1.58-1.47 (m, 4H, 2*CH₂, Pyrrolidin), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für C₃₁H₃₄N₅O₅⁺: 556.2554, gefunden: 556.2556. **Smp.**: Zersetzung ab 202 °C. **IR (KBr)**: 3284, 2923, 1700, 1617, 1540, 1472 cm⁻¹.

2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-1-(2-morpholinoethyl)-1*H*-indol-5-yl [1,4'-bipiperidin]-1'-carboxylat (78**)**

C₄₂H₅₁N₇O₇ (*M* = 765.91 g/mol)

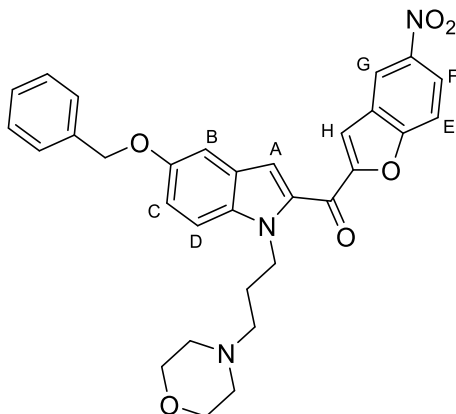


Die Synthese wurde gemäß AV9 ausgehend von **75** durchgeführt. Reinigung mit SC (SiO₂, DCM/MeOH 90:10) ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute:** 94%. **R_f** = 0.66 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4.5:0.5). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 9.57 (s, 1H, NH_{Harnstoff}, γ), 9.05 (s, 1H, NH_{Harnstoff}, x), 8.07 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.87 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.72 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.66 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.52-7.46 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.15 (dd, *J* = 9.0, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.51 (s, 1H, CH_{Ar}), 4.67 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, CH₂-CH₂), 4.24 (s, 1H, ½ CH₂, Aliphat), 4.08 (s, 1H, ½ CH₂, Aliphat), 3.27 (s, 4H, br, 2*CH₂, Aliphat), 3.02 (s, 1H, ½ CH₂, Aliphat), 2.85 (s, 1H, ½ CH₂, Aliphat), 2.60-2.50 (m, 8H, 4*CH₂, Morpholin), 2.35-2.25 (m, 4H, 2*CH₂, Aliphat), 1.83 (s, 2H, br, CH₂, Aliphat), 1.62-1.35 (m, 7H, 3*CH₂, Aliphat + CH_{Aliphat}), 1.29 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.1 (C=O), 175.1 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 153.4 (C_{Ar}), 153.0 (C_{Ar}), 151.7 (C_{Ar}), 151.4 (C_{Ar}), 145.5 (C_{Ar}), 136.8 (C_{Ar}), 135.4 (C_{Ar}), 135.4 (C_{Ar}), 127.2 (C_{Ar}), 125.7 (C_{Ar}), 121.0 (+, CH_{Ar}), 120.2 (+, CH_{Ar}), 116.3 (+, CH_{Ar}), 114.6 (+, CH_{Ar}), 112.6 (+, CH_{Ar}), 112.4 (+, CH_{Ar}), 112.1 (+, CH_{Ar}), 111.5 (+, CH_{Ar}), 92.5 (+, CH_{Ar}), 65.9 (-, CH₂, Aliphat), 61.6 (+, CH_{Aliphat}), 58.5 (-, CH₂, Aliphat), 53.5 (-, CH₂, Aliphat), 49.5 (-, CH₂, Aliphat), 43.5 (-, CH₂, Aliphat), 41.2 (-, CH₂, Aliphat), 32.4 (C(CH₃)₃), 28.3 (+, 3*(CH₃)), 27.2 (-, CH₂, Aliphat), 25.2 (-, CH₂, Aliphat), 22.5 (-, CH₂, Aliphat). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₄₂H₅₂N₇O₇⁺: 766.3922, gefunden: 766.3925. **Smp.:** Zersetzung ab 238 °C. **IR** (KBr): 3287, 2932, 1717, 1612, 1545, 1467, 1184 cm⁻¹.

4-(3-Chloropropyl)morpholin (79)**C₇H₁₄ClNO** (*M* = 163.65 g/mol)

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.³⁶³ Zu einer Lösung von Morpholin (2.0 eq.) in Toluol (7.5 mL/g Morpholin) wurde 1-Brom-3-chlorpropan (1.0 eq.) gegeben und die Reaktionsmischung über Nacht refluxiert. Der entstandene Feststoff wurde abfiltriert und das Filtrat zweimal mit HCl (1 M in Wasser) extrahiert. Die wässrige Phase wurde anschließend basifiziert und das Produkt mit dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet, das Lösemittel entfernt und ein gelbes Öl isoliert.

Ausbeute: 68%. **¹H-NMR** (CDCl₃, 300 MHz): δ 3.73-3.66 (m, 4H, 2*CH₂, Morpholin), 3.60 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH₂), 2.50-2.38 (m, 6H, 2*CH₂, Morpholin+ CH₂), 1.99-1.87 (m, 2H, CH₂). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 75 MHz): δ 67.1 (-, CH₂), 55.8 (-, CH₂), 53.8 (-, CH₂), 43.2 (-, CH₂), 29.7 (-, CH₂).

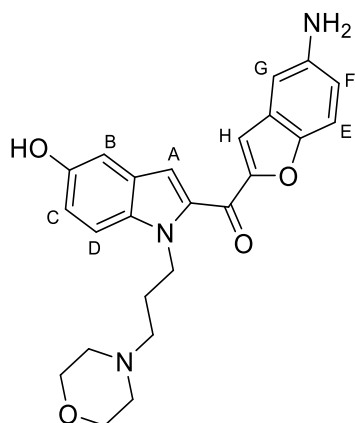
(5-(Benzyloxy)-1-(3-morpholinopropyl)-1*H*-indol-2-yl)(5-nitrobenzofuran-2-yl)methanon (80)**C₃₁H₂₉N₃O₆** (*M* = 539.59 g/mol)

Die Synthese wurde nach AV13 ausgehend von **32** und **79** durchgeführt. Nach Reinigung mit SC (SiO₂, DCM) wurde ein gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 68%. Alternativ wurde die Synthese nach Literatur ausgehend von **83** und Morpholin durchgeführt.³⁶⁵ Das Startmaterial (1.0 eq.) wurde in DMF (20 mL/g Startmaterial) gelöst, Morpholin (1.2 eq.) und K₂CO₃ (3.0 eq.) zugegeben und die Reaktionsmischung über Nacht bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde die Reaktionsmischung mit EA verdünnt, die organische Phase dreimal mit Wasser gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde entfernt und nach Reinigung mit SC (SiO₂, DCM) wurde ein gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 93%. **R_f** = 0.24 (DCM/MeOH 98:2). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 8.84 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 8.43 (dd, *J* = 9.1, 2.5 Hz, 1H, CH_{Ar, F}),

8.10-8.03 (m, 2H, $\text{CH}_{\text{Ar, E}} + \text{CH}_{\text{Ar, H}}$), 7.67 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.63 (d, $J = 0.7$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.52-7.47 (m, 2H, $2 \times \text{CH}_{\text{Ar}}$), 7.45-7.39 (m, 2H, $2 \times \text{CH}_{\text{Ar}}$), 7.37-7.32 (m, 1H, $1 \times \text{CH}_{\text{Ar}}$), 7.31 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, B}}$), 7.19 (dd, $J = 9.1, 2.5$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, B}}$), 5.16 (s, 2H, $\text{CH}_2, \text{Benzyl}$), 4.60 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 3.50 (t, $J = 4.6$ Hz, 4H, $2 \times \text{CH}_2, \text{Morpholin}$), 2.26 (s, 4H, br, $2 \times \text{CH}_2, \text{Morpholin}$), 2.20 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 1.90 (p, $J = 6.8$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 101 MHz): δ 174.0 (C=O), 158.8 (C_{Ar}), 154.9 (C_{Ar}), 153.4 (C_{Ar}), 144.4 (C_{Ar}), 137.3 (C_{Ar}), 135.8 (C_{Ar}), 133.2 (C_{Ar}), 128.4 (+, CH_{Ar}), 127.7 (+, CH_{Ar}), 127.6 (+, CH_{Ar}), 127.4 (C_{Ar}), 125.8 (C_{Ar}), 123.3 (+, CH_{Ar}), 121.1 (+, CH_{Ar}), 120.3 (+, CH_{Ar}), 115.7 (+, CH_{Ar}), 114.0 (+, CH_{Ar}), 113.4 (+, CH_{Ar}), 112.5 (+, CH_{Ar}), 104.2 (+, CH_{Ar}), 69.6 (-, CH_2), 66.0 (-, CH_2), 54.8 (-, CH_2), 53.1 (-, CH_2), 42.6 (-, CH_2), 26.7 (-, CH_2). **HRMS** (ESI): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ berechnet: für $\text{C}_{31}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_6^+$: 540.2129, gefunden: 540.2134. **Smp.**: Zersetzung ab 182 °C. **IR** (KBr): 3425, 3098, 2952, 1626, 1561, 1513, 1348, 1205 cm^{-1} .

(5-Aminobenzofuran-2-yl)(5-hydroxy-1-(3-morpholinopropyl)-1H-indol-2-yl)methanon (81)

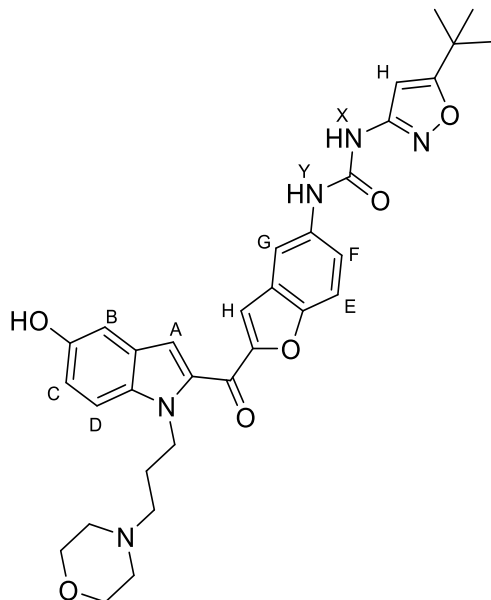
$\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_4$ ($M = 419.48$ g/mol)



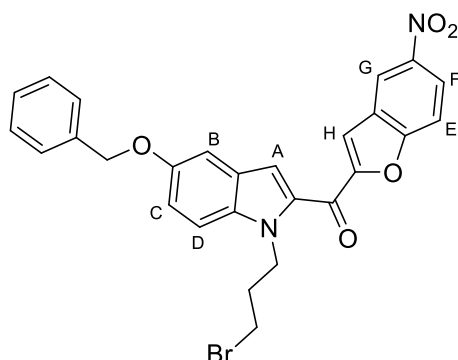
Die Synthese wurde gemäß AV7 ausgehend von **80** durchgeführt. Das Lösemittel des Filtrats wurde entfernt und ein gelb-oranger Feststoff aus PE und DCM auskristallisiert. **Ausbeute**: 54%. **R_f** = 0.53 (DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 95:4.5:0.5). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 7.62 (d, $J = 1.0$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.51-7.41 (m, 3H, $3 \times \text{CH}_{\text{Ar}}$), 7.04 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.95 (dd, $J = 9.0, 2.4$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.90-6.84 (m, 2H, $2 \times \text{CH}_{\text{Ar}}$), 4.52 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 3.49 (t, $J = 4.6$ Hz, 4H, $2 \times \text{CH}_2, \text{Morpholin}$), 2.24 (s, 4H, br, $2 \times \text{CH}_2, \text{Morpholin}$), 2.16 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 1.84 (p, $J = 6.9$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 75 MHz): δ 174.7 (C=O), 152.6 (C_{Ar}), 151.8 (C_{Ar}), 148.8 (C_{Ar}), 145.6 (C_{Ar}), 134.6 (C_{Ar}), 133.7 (C_{Ar}), 127.7 (C_{Ar}), 126.4 (C_{Ar}), 117.7 (+, CH_{Ar}), 117.5 (+, CH_{Ar}), 115.2 (+, CH_{Ar}), 112.3 (+, CH_{Ar}), 112.1 (+, CH_{Ar}), 111.8 (+, CH_{Ar}), 105.2 (+, CH_{Ar}), 104.3 (+, CH_{Ar}), 66.1 (-, CH_2), 54.9 (-, CH_2), 53.2 (-, CH_2), 42.2 (-, CH_2), 26.8 (-, CH_2). **HRMS** (ESI): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ berechnet: für $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_4^+$: 420.1918, gefunden: 420.1922. **Smp.**: Zersetzung ab 97 °C. **IR** (KBr): 3356, 2923, 1617, 1546, 1512, 1458, 1203 cm^{-1} .

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-1-(3-morpholinopropyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (82)

C₃₂H₃₅N₅O₆ (M = 585.66 g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV8 ausgehend von **81** durchgeführt. Kristallisation aus PE und DCM ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute:** 75%. **R_f** = 0.51 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4.5:0.5). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 9.62 (s, 1H, NH_{Harnstoff}, Y), 9.20 (s, 1H, OH), 9.03 (s, 1H, NH_{Harnstoff}, X), 8.08 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.84 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.73 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.55-7.48 (m, 3H, 3*CH_{Ar}), 7.10-6.94 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 6.54 (s, 1H, CH_{Ar}), 4.56 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₂-CH₂), 3.52 (t, *J* = 4.6 Hz, 4H, 2*CH₂, Morpholin), 2.27 (s, 4H, br, 2*CH₂, Morpholin), 2.20 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, CH₂-CH₂-CH₂), 1.87 (p, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH₂-CH₂-CH₂), 1.31 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.1 (C=O), 174.5 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 153.2 (C_{Ar}), 151.9 (C_{Ar}), 151.6 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 135.2 (C_{Ar}), 134.8 (C_{Ar}), 133.5 (C_{Ar}), 127.2 (C_{Ar}), 126.4 (C_{Ar}), 120.7 (+, CH_{Ar}), 117.8 (+, CH_{Ar}), 115.4 (+, CH_{Ar}), 112.8 (+, CH_{Ar}), 112.3 (+, CH_{Ar}), 112.1 (+, CH_{Ar}), 111.8 (+, CH_{Ar}), 105.2 (+, CH_{Ar}), 92.5 (+, CH_{Ar}), 66.1 (-, CH₂), 54.9 (-, CH₂), 53.1 (-, CH₂), 42.3 (-, CH₂), 32.5 (-, 3*C(CH₃)), 28.3 (+, 3*CH₃), 26.8 (-, CH₂). **Smp.:** Zersetzung ab 149 °C. **IR (KBr):** 3294, 2965, 1700, 1611, 1547, 1468, 1206 cm⁻¹.

(5-(Benzyloxy)-1-(3-bromopropyl)-1*H*-indol-2-yl)(5-nitrobenzofuran-2-yl)methanon (83)**C₂₇H₂₁BrN₂O₅ (M = 533.38 g/mol)**

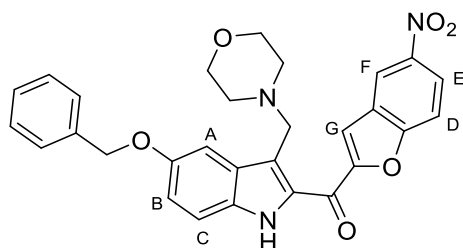
Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.³⁶⁴ Zu einer Suspension des Startmaterials **32** (1.0 eq.) in DMF wurde bei 0 °C portionsweise NaH (60% in Paraffinöl, 1.2 eq.) zugegeben und die Reaktionsmischung 2 h bei RT gerührt. Nach Zugabe von 1,3-Dibrompropan (2.3 eq.) wurde die Reaktionsmischung über Nacht bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde Wasser zugegeben und das Produkt dreimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Reinigung mit SC (SiO₂, PE/DCM 1:1) ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute:** 76%. **R_f** = 0.15 (PE/DCM 1:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 8.81 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 8.41 (dd, *J* = 9.3, 2.5 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 8.07-8.01 (m, 2H, CH_{Ar, E} + CH_{Ar, H}), 7.52-7.46 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.44-7.37 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.37-7.29 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.21 (dd, *J* = 9.2, 2.5 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 5.15 (s, 2H, CH_{2, Benzyloxy}), 4.64 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H, CH₂-CH₂-N), 3.52 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH₂-CH₂-Br), 2.29 (p, *J* = 6.6 Hz, 2H, CH₂-CH₂-CH₂). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 101 MHz): δ 173.8 (C=O), 157.6 (C_{Ar}), 154.8 (C_{Ar}), 153.5 (C_{Ar}), 144.3 (C_{Ar}), 137.2 (C_{Ar}), 135.5 (C_{Ar}), 133.1 (C_{Ar}), 128.4 (+, CH_{Ar}), 127.8 (+, CH_{Ar}), 127.6 (+, CH_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 126.0 (C_{Ar}), 123.2 (+, CH_{Ar}), 120.2 (+, CH_{Ar}), 119.0 (+, CH_{Ar}), 115.8 (+, CH_{Ar}), 114.2 (+, CH_{Ar}), 113.4 (+, CH_{Ar}), 112.1 (+, CH_{Ar}), 104.3 (+, CH_{Ar}), 69.6 (-, CH_{2, Benzyloxy}), 43.3 (-, CH₂), 33.3 (-, CH₂), 31.5 (-, CH₂). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₂₇H₂₂BrN₂O₅⁺: 533.0707, gefunden: 533.0705. **Smp.:** 155-157 °C. **IR (KBr):** 3096, 2932, 1620, 1511, 1351, 1201 cm⁻¹.

5.7. GRUNDSTRUKTUR IV

5.7.1. Methylgruppe

(5-(Benzyloxy)-3-(morpholinmethyl)-1*H*-indol-2-yl)(5-nitrobenzofuran-2-yl)methanon (84)

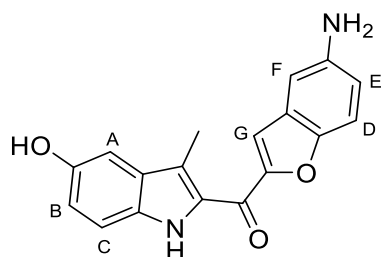
$C_{29}H_{25}N_3O_6$ ($M = 511.53$ g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV14A ausgehend von Morpholin und **32** durchgeführt. Reinigung mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute:** 34%. $R_f = 0.21$ (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.79 (s, 1H, Indol-NH), 8.83 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 8.43 (dd, $J = 9.0, 2.4$ Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 8.05 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 8.04 (s, 1H, CH_{Ar, G}), 7.52-7.47 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.47-7.43 (m, 2H, CH_{Ar, A+C}), 7.47-7.37 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.36-7.29 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.10 (dd, $J = 9.1, 2.3$ Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 5.16 (s, 2H, CH_{2, Benzyl}), 3.90 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.40 (dt, $J = 4.6, 2.6$ Hz, 4H, 2*CH_{2, Morpholin}), 2.24 (t, $J = 4.3$ Hz, 4H, 2*CH_{2, Morpholin}). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 175.3 (C=O), 157.5 (C_{Ar}), 154.9 (C_{Ar}), 152.9 (C_{Ar}), 144.3 (C_{Ar}), 137.4 (C_{Ar}), 132.6 (C_{Ar}), 131.8 (C_{Ar}), 128.4 (+, CH_{Ar}), 128.0 (C_{Ar}), 127.7 (+, CH_{Ar}), 127.6 (+, CH_{Ar}), 127.5 (C_{Ar}), 123.1 (+, CH_{Ar, E}), 120.1 (+, CH_{Ar, F}), 119.8 (C_{Ar}), 118.3 (CH_{Ar, B}), 114.8 (+, CH_{Ar, G}), 113.9 (+, CH_{Ar, C}), 113.5 (+, CH_{Ar, D}), 103.0 (+, CH_{Ar, A}), 69.6 (-, CH_{2, Benzyl}), 66.1 (-, CH_{2, Morpholin}), 53.1 (-, CH_{2, Morpholin}), 52.4 (-, Ar-CH₂-N). **LRMS** (ESI): m/z [M + H]⁺ für C₃₀H₂₆N₃O₆⁺: 512.2. **Smp.:** Zersetzung ab 196 °C. **IR** (KBr): 3283, 3019, 1601, 1560, 1524, 1343, 1207 cm⁻¹.

(5-Aminobenzofuran-2-yl)(5-hydroxy-3-methyl-1*H*-indol-2-yl)methanon (85)

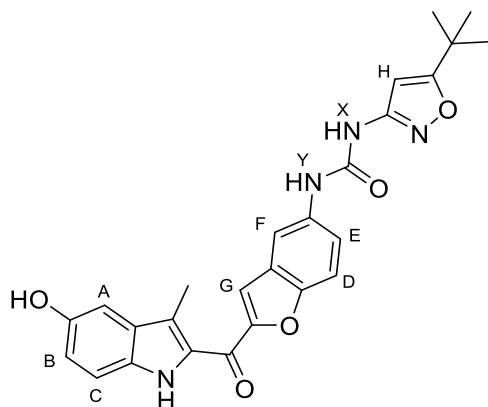
$C_{18}H_{14}N_2O_3$ ($M = 306.32$ g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV7 ausgehend von **84** durchgeführt. Das Lösemittel wurde entfernt und nach Reinigung mit SC (SiO₂, DCM/MeOH 95:5) ein gelber Feststoff isoliert. **Ausbeute:** quantitativ. **R_f** = 0.32 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 96:3.5:0.5). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.26 (s, 1H, Indol-NH), 9.02 (s, 1H, OH), 7.56 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.50-7.40 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.35 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.95-6.83 (m, 4H, 4*CH_{Ar}), 5.20 (s, 2H, NH₂), 2.45 (s, 3H, Ar-CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 175.0 (C=O), 152.4, 151.2, 148.6, 145.6, 131.9, 131.1, 128.5, 127.7, 118.8, 117.5, 117.5, 114.4, 113.6, 112.3, 104.2, 102.7, 10.6 (Ar-CH₃). **LRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ für C₁₈H₁₅N₂O₃⁺: 307.1. **Smp.:** 195.4-199.2 °C. **IR (KBr):** 3317, 2923, 1609, 1551, 1453, 1204 cm⁻¹.

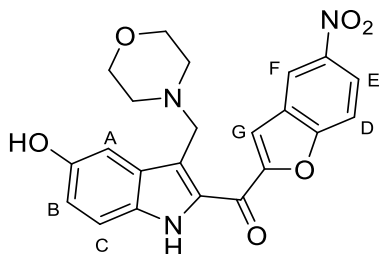
1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-3-methyl-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (86)

C₂₆H₂₄N₄O₅ (M = 472.50 g/mol)

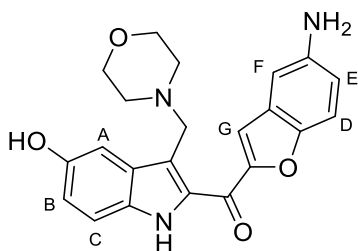


Die Synthese wurde gemäß AV8 ausgehend von **85** durchgeführt. Reinigung mit SC (SiO₂, DCM/MeOH 95:5) ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute:** 49%. **R_f** = 0.25 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 96:3.5:0.5). Zusätzliche Reinigung erfolgt mit präp. HPLC. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.31 (s, 1H, Indol-NH), 9.54 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 9.05 (br s, 1H, OH), 8.98 (s, 1H, NH, Harnstoff-NH_Y), 8.06 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 7.77 (s, 1H, CH_{Ar, F}), 7.73 (d, *J* = 9.0, 1H, CH_{Ar, D}), 7.50 (dd, *J* = 9.0, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.36 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.95-6.89 (m, 2H, CH_{Ar, A+B}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 2.47 (s, 3H, Ar-CH₃), 1.30 (s, 9H, C(CH₃)₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 180.7 (C=O), 175.4, 158.9, 153.5, 152.1, 151.7, 151.6, 135.6, 132.5, 131.4, 128.9, 127.7, 121.1, 119.8, 118.3, 115.2, 114.1, 113.0, 112.6, 103.2, 92.9, 32.9 (C(CH₃)₃), 28.8 (+, C(CH₃)₃), 11.1 (+, Ar-CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₂₆H₂₅N₄O₅⁺: 473.1819, gefunden: 473.1825. **Smp.:** 146.9-151.8 °C. **RP-HPLC:** >99%, (*t_R* = 19.85 min). **IR (KBr):** 3323, 2967, 2871, 1688, 1558, 1204 cm⁻¹.

5.7.2. Morphinol

(5-Hydroxy-3-(morpholinmethyl)-1*H*-indol-2-yl)(5-nitrobenzofuran-2-yl)methanon (87)**C₂₂H₁₉N₃O₆ (M = 421.41 g/mol)**

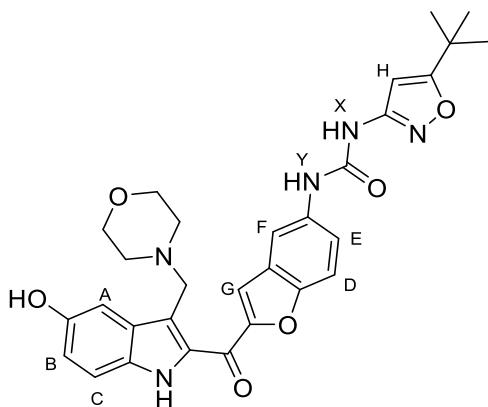
Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{367–369} Eine Lösung des Startmaterials **84** (1.0 eq.) in DCM (200 mL/g Startmaterial) wurde auf -78 °C gekühlt und tropfenweise BBr₃ (5.0 eq.) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei dieser Temperatur gerührt und nach Reaktionsende NaHCO₃-Lösung (gesättigt in Wasser) zugegeben. DCM wurde entfernt und das Produkt dreimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Reinigung mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute:** 70%. **R_f** = 0.18 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.62 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.83 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 8.42 (dd, *J* = 9.1, 2.5 Hz, 1H), 8.05 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.36 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.19 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 6.92 (dd, *J* = 8.8, 2.3 Hz, 1H), 3.86 (s, 2H), 3.45 (t, *J* = 4.5 Hz, 4H), 2.28 (t, *J* = 4.5 Hz, 4H). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz) δ 175.2 (C=O), 157.5 (C_{Ar}), 155.0 (C_{Ar}), 151.4 (C_{Ar}), 144.3 (C_{Ar}), 132.0 (C_{Ar}), 131.7 (C_{Ar}), 128.5 (C_{Ar}), 127.5 (C_{Ar}), 123.1 (+, CH_{Ar}), 120.1 (+, CH_{Ar}), 119.2 (C_{Ar}), 117.9 (+, CH_{Ar}), 114.8 (+, CH_{Ar}), 113.5 (+, CH_{Ar}), 113.5 (+, CH_{Ar}), 103.8 (+, CH_{Ar}), 66.1 (-, Ar-CH₂), 53.3 (-, CH₂, Morpholin), 52.6 (-, CH₂, Morpholin). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₂₂H₂₀N₃O₆⁺: 422.1347, gefunden: 422.1350. **Smp.:** Zersetzung ab 240 °C. **IR (KBr):** 3398, 3249, 2927, 1619, 1558, 1525, 1345, 1208 cm⁻¹.

(5-Aminobenzofuran-2-yl)(5-hydroxy-3-(morpholinmethyl)-1*H*-indol-2-yl)methanon (88)**C₂₂H₂₁N₃O₄ (M = 391.43 g/mol)**

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{370, 371} Zu einer Lösung des Startmaterials **87** (1.0 eq.) in MeOH (500 mL/g Startmaterial) wurde Raney-Nickel (10% w/w) gegeben. Nach 5 min wurde Hydrazin-Hydrat (3.0 eq.) zugetropft die Reaktionsmischung 1 h bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde über Celite filtriert und das Produkt ohne Reinigung weiterverwendet. Ein kleiner Teil wurde zu analytischen Zwecken analysiert. ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.45 (s, 1H, Indol-NH), 8.98 (s, 1H, OH), 7.64 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.44 (dd, *J* = 9.6, 0.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.33 (d, *J* = 8.8 Hz, CH_{Ar}), 7.18 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.90-6.84 (m, 3H, 3*CH_{Ar}), 5.09 (s, 2H, NH₂), 3.85 (s, 2H, N-CH₂), 3.49 (t, *J* = 4.6 Hz, 4H, 2*CH₂, Morpholin), 2.31 (t, *J* = 4.6 Hz, 4H, 2*CH₂, Morpholin). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₂₂H₂₂N₃O₄⁺: 392.1605, gefunden: 392.1608.

(5-Aminobenzofuran-2-yl)(5-hydroxy-3-(morpholinmethyl)-1*H*-indol-2-yl)methanon (89a)

C₃₀H₃₁N₅O₆ (M = 557.61 g/mol)



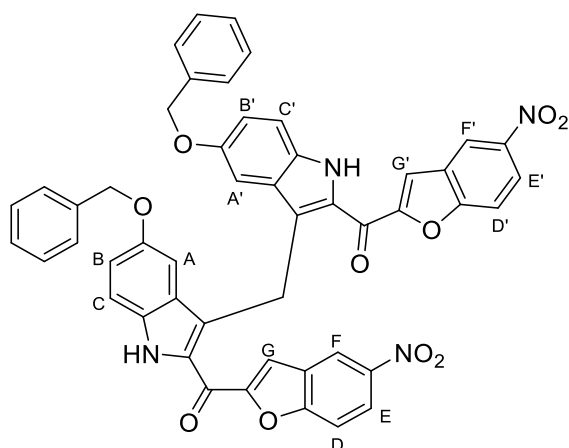
Die Synthese wurde gemäß AV8 ausgehend von **88** durchgeführt. Reinigung mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1) ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute:** 17% (über 2 Stufen). **R_f** = 0.14 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.53 (s, 1H, Indol-NH), 9.55 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 9.01 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 8.98 (s, 1H, OH), 8.06 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 7.84 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 7.72 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.50 (dd, *J* = 9.0, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.35 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 7.19 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 6.89 (dd, *J* = 8.8, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 3.86 (s, 2H), 3.48 (t, *J* = 4.6 Hz, 4H), 2.31 (t, *J* = 4.6 Hz, 4H), 1.30 (s, 9H). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.7 (C=O), 176.1 (C_{Ar}), 158.9 (C_{Ar}), 153.6 (C_{Ar}), 152.1 (C_{Ar}), 151.8 (C_{Ar}), 151.7 (C_{Ar}), 135.7 (C_{Ar}), 132.6 (C_{Ar}), 132.21 (C_{Ar}), 129.0 (C_{Ar}), 127.7 (C_{Ar}), 121.2 (+, CH_{Ar, E}), 118.79 (C_{Ar}), 117.80 (+, CH_{Ar, B}), 115.51 (+, CH_{Ar, G}), 113.93 (+, CH_{Ar, C}), 112.9 (+, CH_{Ar, D}), 112.5 (+, CH_{Ar, F}), 104.4 (+, CH_{Ar, A}), 92.9 (+, CH_{Ar, H}), 66.7 (-, CH₂, Morpholin), 53.7 (-, CH₂, Morpholin), 53.0 (-, N-CH₂), 33.0 (C(CH₃)₃), 28.8 (+, C(CH₃)₃). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₀H₃₂N₅O₆⁺: 558.2347, gefunden: 558.2348. Zusätzliche Reinigung des Produkts wurde durch präp. HPLC erreicht. Dabei wurde das einfache TFA-Salz **89b** der entspr. Verbindung isoliert. ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 12.20 (s, 1H), 9.71 (s, 1H), 9.38 (s, 1H), 9.27 (s, 1H), 9.17 (s, 1H), 8.14

(d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.79 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.60-7.51 (m, 2H), 7.21 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.05 (dd, $J = 8.9, 2.2$ Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 4.75 (s, 2H), 3.98 (d, $J = 12.7$ Hz, 2H), 3.71 (t, $J = 11.9$ Hz, 2H), 3.38 (s, 4H), 1.31 (s, 9H). **$^1\text{H-NMR}$** (Methanol- d_4 , 300 MHz): δ 8.09 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.91 (d, $J = 0.9$ Hz, 1H), 7.77 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.60-7.53 (m, 2H), 7.17-7.13 (m, 1H), 7.08 (dd, $J = 9.0, 2.3$ Hz, 1H), 6.38 (s, 1H), 4.79 (s, 2H), 4.09 (d, $J = 13.0$ Hz, 2H), 3.80 (t, $J = 12.0$ Hz, 2H), 3.61-3.44 (m, 4H), 1.36 (s, 9H). **$^{19}\text{F-NMR}$** (Methanol- d_4 , 377 MHz) δ -73.4. **Smp.:** Zersetzung ab 195 °C. **IR (KBr):** 3284, 2973, 1679, 1613, 1554, 1205 cm^{-1} . **RP-HPLC:** >99%, ($t_R = 13.62$ min). $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_8$ [671.63].

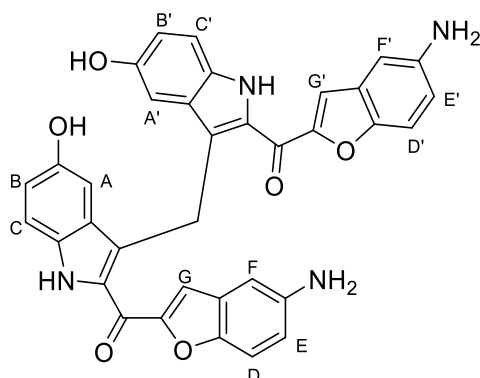
5.7.3. Dimer

(Methylenbis(5-(benzyloxy)-1H-indol-3,2-diyl))bis((5-nitrobenzofuran-2-yl)methanon) (90)

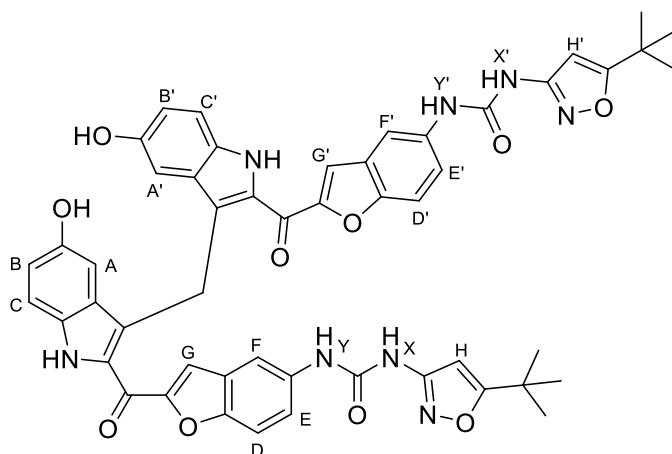
$\text{C}_{49}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_{10}$ ($M = 836.81$ g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV14A ausgehend von Dimethylamin (2 M in THF) und **32** durchgeführt. Reinigung mit SC (SiO_2 , DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 99:0.9:0.1) ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute:** 22%. $R_f = 0.13$ (DCM). **$^1\text{H-NMR}$** ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz): δ 11.65 (s, 2H, 2*Indol-NH), 8.66 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H, 2* CH_{Ar}), 8.26 (dd, $J = 9.3, 2.4$ Hz, 2H, 2* CH_{Ar}), 7.88 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 2* CH_{Ar}), 7.88 (d, $J = 0.9$ Hz, 2H, 2* CH_{Ar}), 7.39 (dd, $J = 8.6, 0.9$ Hz, 2H, 2* CH_{Ar}), 7.27-7.22 (m, 6H, 6* CH_{Ar}), 7.16 (dd, $J = 6.6, 3.1$ Hz, 4H, 4* CH_{Ar}), 6.97-6.93 (m, 4H, 4* CH_{Ar}), 5.00 (s, 2H, Ar- CH_2 -Ar), 4.64 (s, 4H, CH_2 , Benzyloxy). **$^{13}\text{C-NMR}$** ($\text{DMSO}-d_6$, 101 MHz): δ 175.5 (C=O), 157.9 (C_{Ar}), 154.9 (C_{Ar}), 153.1 (C_{Ar}), 144.6 (C_{Ar}), 137.2 (C_{Ar}), 133.2 (C_{Ar}), 131.2 (C_{Ar}), 128.6, 128.1, 128.1, 127.9, 127.7, 124.0, 123.5, 120.6, 118.8, 116.0, 114.5, 113.9, 102.3, 69.6 (-, CH_2 , Benzyloxy). **LRMS (ESI):** m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ für $\text{C}_{49}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}_{10}^+$: 837.2. **Smp.:** Zersetzung ab 224 °C. **IR (KBr):** 3416, 3093, 2862, 1677, 1616, 1553, 1520, 1344 cm^{-1} .

(Methylenbis(5-hydroxy-1*H*-indol-3,2-diyl))bis((5-aminobenzofuran-2-yl)methanon) (91)**C₃₅H₂₄N₄O₆ (M = 596.60 g/mol)**

Die Synthese wurde gemäß AV7 ausgehend von **90** durchgeführt. Das Lösemittel wurde entfernt und nach Reinigung mit SC (SiO₂, DCM/MeOH 95:5) ein gelber Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 82%. **R_f** = 0.10 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 96:3.5:0.5). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.33 (s, 2H, 2*Indol-NH), 8.76 (s, 2H, 2*OH), 7.63-7.58 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.46-7.40 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.31 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2*CH_{Ar}), 6.90-6.84 (m, 4H, 4*CH_{Ar}), 6.76 (dd, *J* = 8.8, 2.3 Hz, 2H, 2*CH_{Ar}), 6.58 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H, 2*CH_{Ar}), 5.10 (s, 4H, 2*NH₂), 4.86 (s, 2H, Ar-CH₂-Ar). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 175.8, 153.0, 151.1, 149.1, 146.0, 132.5, 131.4, 128.6, 128.2, 122.4, 118.1, 117.7, 117.6, 115.3, 113.9, 112.7, 104.7, 104.4. **LRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ für C₃₅H₂₅N₄O₆⁺: 597.2. **Smp.**: 180 °C. **IR (KBr)**: 3318, 1604, 1548, 1453, 1331, 1267 cm⁻¹.

1,1'-((3,3'-Methylenbis(5-hydroxy-1*H*-indol-3,2-diyl-2-carbonyl))bis(benzofuran-2,5-diyl))bis(3-(5-(*tert*-butyl)isoxazol-3-yl)harnstoff) (92)**C₅₁H₄₄N₈O₁₀ (M = 928.96 g/mol)**

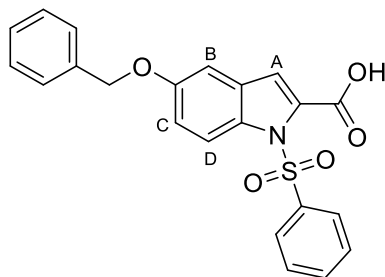
Die Synthese wurde gemäß AV8 ausgehend von **91** durchgeführt. Reinigung mit SC (SiO₂, DCM/MeOH 10:1) ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute:** 40%. **R_f** = 0.17 (DCM/MeOH/7 M NH₃

in MeOH 96:3.5:0.5). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.38 (s, 2H, 2*Indol-NH), 9.53 (s, 2H, 2*OH), 8.93 (s, 2H, Harnstoff-NH_Y), 8.81 (s, 2H, Harnstoff-NH_X), 8.04 (d, *J* = 2.2 Hz, 2H, CH_{Ar, F+F'}), 7.75 (d, *J* = 1.0 Hz, 2H, CH_{Ar, G+G'}), 7.68 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, CH_{Ar, D+D'}), 7.46 (dd, *J* = 9.0, 2.3 Hz, 2H, CH_{Ar, E+E'}), 7.32 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, CH_{Ar, C+C'}), 6.80 (dd, *J* = 8.8, 2.3 Hz, 2H, CH_{Ar, B+B'}), 6.60 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H, CH_{Ar, A+A'}), 6.53 (s, 2H, CH_{Ar, H+H'}), 4.88 (s, 2H, Ar-CH₂-Ar), 1.30 (s, 18H, 2*C(CH₃)₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.6 (C=O), 175.7 (C=O), 158.9 (C_{Ar}), 153.5 (C_{Ar}), 152.0 (C_{Ar}), 151.6 (C_{Ar}), 151.2 (C_{Ar}), 135.6 (C_{Ar}), 132.6 (C_{Ar}), 131.3 (C_{Ar}), 128.5 (C_{Ar}), 127.7 (C_{Ar}), 122.8 (+, CH_{Ar}), 121.1 (C_{Ar}), 117.9 (+, CH_{Ar}), 115.5 (+, CH_{Ar}), 114.0 (+, CH_{Ar}), 113.0 (+, CH_{Ar}), 112.5 (+, CH_{Ar}), 104.3 (+, CH_{Ar}), 93.0 (+, CH_{Ar}), 70.2, 32.9 (C(CH₃)₃), 28.8 (+, 3*CH₃). **LRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ für C₅₁H₄₅N₈O₁₀⁺: 929.3. **Smp.**: 245 °C. **IR (KBr)**: 3317, 2968, 1689, 1610, 1549, 1469, 1365, 1274, 1206 cm⁻¹. **RP-HPLC**: >98%, (t_R = 21.44 min).

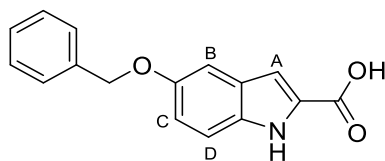
5.7.4. Weitere Versuche

5-(Benzyloxy)-1-(phenylsulfonyl)-1*H*-indol-2-carbonsäure (94)

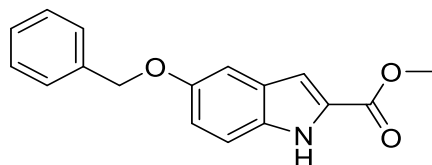
C₂₂H₁₇NO₅S (*M* = 407.44 g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV15 ausgehend von **23** durchgeführt. Das Produkt wurde dreimal mit EA extrahiert, die gesammelten organischen Phasen mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Kristallisation aus PE/DCM ergab einen beigen Feststoff. **Ausbeute**: 77%. **R_f** = 0.00 (DCM). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 13.64 (s, 1H, Indol-NH), 8.00-7.95 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.93 (d, *J* = 9.1, 1H, CH_{Ar}), 7.73-7.66 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.64-7.55 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.47-7.42 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.41-7.28 (m, 3H, 3*CH_{Ar}), 7.26-7.23 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.15 (dd, *J* = 9.2, 2.6 Hz, 1H, CH_{Ar}), 5.10 (s, 2H, CH₂, Benzyloxy).

5-(Benzyloxy)-1H-indol-2-carbonsäure (95)**C₁₆H₁₃NO₃ (M = 267.28 g/mol)**

Die Synthese wurde gemäß AV5 ausgehend von **94** durchgeführt. Das organische Lösemittel wurde entfernt und der Rückstand angesäuert. Das Produkt wurde dreimal mit EA extrahiert und das Produkt ohne weitere Aufreinigung verwendet. **Ausbeute:** 68%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 12.82 (s, 1H, OH), 11.65 (s, 1H, Indol-NH), 7.52-7.42 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.45-7.25 (m, 4H, 4*CH_{Ar}), 7.20 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.98 (dd, *J* = 9.0, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 5.09 (s, 2H, CH_{2, Benzyl}). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 75 MHz): δ 162.8 (C=O), 152.9 (C_{Ar}), 137.5 (C_{Ar}), 132.7 (C_{Ar}), 128.8 (C_{Ar}), 128.4 (+, CH_{Ar}), 127.7 (+, CH_{Ar}), 127.7 (+, CH_{Ar}), 127.1 (C_{Ar}), 116.3 (+, CH_{Ar}), 113.4 (+, CH_{Ar}), 107.0 (+, CH_{Ar}), 103.6 (+, CH_{Ar}), 69.6 (-, CH_{2, Benzyl}).

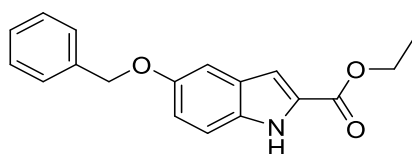
Methyl 5-(benzyloxy)-1H-indol-2-carboxylat (96)**C₁₇H₁₅NO₃ (M = 281.31 g/mol)**

Die Synthese wurde nach Literatur^{387–392} ausgehend von **95** durchgeführt. Zu einer Lösung der Carbonsäure (1.0 eq.) in MeOH (20 mL/g Startmaterial) wurde Schwefelsäure (0.3 mL/g Startmaterial) gegeben und die Reaktionsmischung 6 h refluxiert. Nach Reaktionsende wurde EA zugegeben und das Produkt dreimal mit NaHCO₃-Lösung (gesättigt in Wasser) und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Nach Kristallisation aus PE und DCM wurde ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 57%. Alternativ wurde die Reaktion nach Literatur^{393; 394} durchgeführt. Zu einer Lösung des Startmaterials (1.0 eq.) in MeOH (20 mL/g Startmaterial) wurde bei 0 °C Thionylchlorid (2.0 eq.) zugegeben und die Reaktionsmischung anschließend 6 h refluxiert. Nach Reaktionsende wurde EA zugegeben und das Produkt dreimal mit NaHCO₃-Lösung (gesättigt in Wasser) und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Nach Kristallisation aus PE und DCM wurde ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 62%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.82 (s, 1H, Indol-NH), 7.50-7.43 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.42-7.30 (m,

4H, 4*CH_{Ar}), 7.21 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.06 (dd, *J* = 2.2, 0.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.00 (dd, *J* = 9.0, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 5.09 (s, 2H, CH₂, Benzyl), 3.86 (s, 3H, CH₃). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 161.7 (C=O), 153.0 (C_{Ar}), 137.4 (C_{Ar}), 132.9 (C_{Ar}), 128.4 (+, CH_{Ar}), 127.7 (+, CH_{Ar}), 127.7 (+, CH_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 127.0 (C_{Ar}), 116.8 (+, CH_{Ar}), 113.5 (+, CH_{Ar}), 107.4 (+, CH_{Ar}), 103.5 (+, CH_{Ar}), 69.6 (-, CH₂, Benzyl), 51.7 (CH₃). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₇H₁₆NO₃⁺: 282.1125, gefunden: 282.1130.

Ethyl 5-(benzyloxy)-1*H*-indol-2-carboxylat (97)

C₁₈H₁₇NO₃ (*M* = 295.34 g/mol)



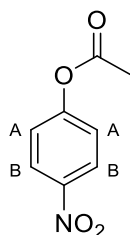
Die Synthese wurde nach Literatur^{393–396} ausgehend von **95** durchgeführt. Zu einer Lösung der Carbonsäure (1.0 eq.) in EtOH (20 mL/g Startmaterial) wurde Schwefelsäure (0.3 mL/g Startmaterial) gegeben und die Reaktionsmischung 6 h refluxiert. Nach Reaktionsende wurde EA zugegeben und das Produkt dreimal mit NaHCO₃-Lösung (gesättigt in Wasser) und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Nach Kristallisation aus PE und DCM wurde ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 43%. Alternativ wurde die Reaktion nach Literatur^{395; 396} durchgeführt. Zu einer Lösung des Startmaterials (1.0 eq.) in EtOH (20 mL/g Startmaterial) wurde bei 0 °C Thionylchlorid (2.0 eq.) zugegeben und die Reaktionsmischung anschließend 6 h refluxiert. Nach Reaktionsende wurde EA zugegeben und das Produkt dreimal mit NaHCO₃-Lösung (gesättigt in Wasser) und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Nach Kristallisation aus PE und DCM wurde ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 53%. ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.77 (s, 1H, Indol-NH), 7.50–7.44 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.43–7.28 (m, 4H, 4*CH_{Ar}), 7.20 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.04 (dd, *J* = 2.2, 0.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.00 (dd, *J* = 9.0, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 5.09 (s, 2H, CH₂, Benzyl), 4.32 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 1.33 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₂-CH₃). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 161.2 (C=O), 153.0 (C_{Ar}), 137.4 (C_{Ar}), 132.8 (C_{Ar}), 128.4 (+, CH_{Ar}), 127.7 (+, CH_{Ar}), 127.7 (+, CH_{Ar}), 127.6 (C_{Ar}), 127.0 (C_{Ar}), 116.7 (+, CH_{Ar}), 113.5 (+, CH_{Ar}), 107.3 (+, CH_{Ar}), 103.5 (+, CH_{Ar}), 69.6 (-, CH₂, Benzyl), 60.3 (-, CH₂-CH₃), 14.3 (+, CH₂-CH₃). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₇H₁₆NO₃⁺: 296.1281, gefunden: 296.1281.

5.8. GRUNDSTRUKTUR V

5.8.1. Methylgruppe

4-Nitrophenyl acetat (99)

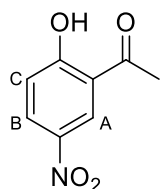
$\text{C}_8\text{H}_7\text{NO}_4$ ($M = 181.15 \text{ g/mol}$)



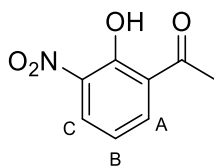
Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁴⁰¹ NaOH (1.5 eq.) wurde in Wasser (5 mL/g Startmaterial) gelöst und Nitrophenol **98** zugegeben. Bei 95 °C wurde AcOAc zugegeben und die Reaktionsmischung anschließend auf RT abgekühlt. Der entstandene weiße Feststoff wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen. **Ausbeute:** 85%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 8.34-8.25 (m, 2H, $\text{CH}_{\text{Ar,B}}$), 7.49-7.41 (m, 2H, $\text{CH}_{\text{Ar,A}}$), 2.32 (s, 3H, CH_3).

1-(2-Hydroxy-5-nitrophenyl)ethan-1-on (100)

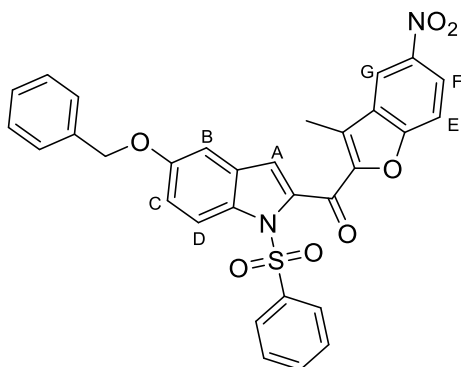
$\text{C}_8\text{H}_7\text{NO}_4$ ($M = 181.15 \text{ g/mol}$)



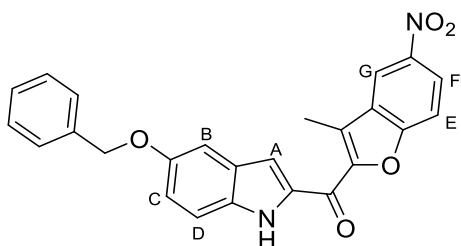
Die Synthese wurde gemäß AV16 ausgehend von 1-(2-Hydroxyphenyl)ethan-1-on **101** durchgeführt. Der entstandene Feststoff wurde abfiltriert und nach Reinigung mit SC (SiO_2 , PE/DCM 4:1) wurde ein gelber Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 40%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 12.43 (s, 1H, OH), 8.54 (d, $J = 2.9 \text{ Hz}$, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar,A}}$), 8.30 (dd, $J = 9.2, 2.9 \text{ Hz}$, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar,B}}$), 7.15 (d, $J = 9.2$, $\text{CH}_{\text{Ar,C}}$), 2.67 (s, 3H, CH_3). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 200.6 ($\text{C}=\text{O}$), 164.6 (C_{Ar}), 139.4 (C_{Ar}), 129.8 (+, CH_{Ar}), 126.8 (+, CH_{Ar}), 122.3 (C_{Ar}), 118.7 (+, CH_{Ar}), 29.5 (CH_3).

1-(2-Hydroxy-3-nitrophenyl)ethan-1-on (102)**C₈H₇NO₄ (M = 181.15 g/mol)**

Das Produkt wurde als Nebenprodukt bei der Synthese von **100** isoliert. Reinigung mit SC (SiO₂, PE/DCM 4:1) ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute:** 24%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 13.06 (s, 1H, OH), 8.26 (dd, *J* = 7.9, 1.6 Hz, 1H, CH_{Ar}), 8.20 (dd, *J* = 8.2, 1.7 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.14 (t, *J* = 8.0, CH_{Ar, B}), 2.71 (s, 3H, CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 205.0 (C=O), 154.4 (C_{Ar}), 138.1 (C_{Ar}), 137.0 (+, CH_{Ar}), 131.3 (+, CH_{Ar}), 122.6 (C_{Ar}), 118.8 (+, CH_{Ar}), 27.9 (+, CH₃).

(5-(Benzyloxy)-1-(phenylsulfonyl)-1*H*-indol-2-yl)(3-methyl-5-nitrobenzofuran-2-yl)methanon (103)**C₃₁H₂₂N₂O₇S (M = 566.58 g/mol)**

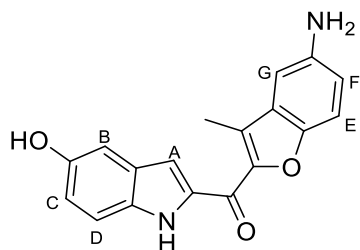
Die Synthese wurde gemäß AV4 ausgehend von **100** durchgeführt. Das Produkt wurde ohne Reinigung weiterverwendet. Das Rohprodukt wurde mit Massenspektrometrie analysiert. **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₁H₂₃N₂O₇S⁺: 567.1220, gefunden: 567.1222.

(5-(Benzyloxy)-1*H*-indol-2-yl)(3-methyl-5-nitrobenzofuran-2-yl)methanon (104)**C₂₅H₁₈N₂O₅ (M = 426.42 g/mol)**

Die Synthese wurde gemäß AV5 ausgehend von **103** durchgeführt. Nach Reaktionsende wurden Wasser und EA zugegeben und der ausgefallene Feststoff abfiltriert. Nach Waschen mit EA und Diethylether wurde ein gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 50% (über 2 Schritte). **R_f** = 0.54 (DCM). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.91 (s, 1H), 8.81 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 8.43 (dd, *J* = 9.1, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 8.05 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.80 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 7.52-7.46 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.45-7.37 (m, 3H, 3*CH_{Ar}), 7.36-7.30 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.28 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 7.09 (dd, *J* = 9.0, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 5.13 (s, 2H, CH_{2, Benzyl}), 2.72 (s, 3H, CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 174.2 (C=O), 156.2, 153.1, 149.7, 144.1, 137.3, 134.3, 133.7, 129.1, 128.4, 127.7, 127.6, 127.5, 126.2, 123.5, 118.8, 118.5, 113.8, 113.5, 111.5, 104.0, 69.6 (–, CH_{2, Benzyl}), 9.5 (+, CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₂₅H₁₉N₂O₅⁺: 427.1288, gefunden: 427.1290. **Smp.:** 261-263 °C. **IR (KBr):** 3322, 2857, 1605, 1558, 1460, 1339, 1211, 1043 cm⁻¹.

(5-Amino-3-methylbenzofuran-2-yl)(5-hydroxy-1*H*-indol-2-yl)methanon (105)

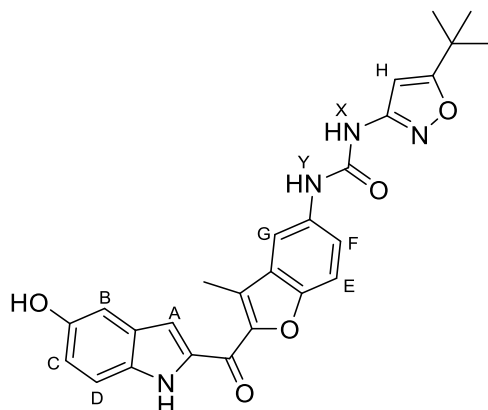
C₁₈H₁₄N₂O₃ (M = 306.32 g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV7 ausgehend von **104** durchgeführt. Das Filtrat wurde auf Wasser gekippt und das organische Lösemittel entfernt. Das Produkt wurde dreimal mit EA extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde entfernt und ein gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** quantitativ. **R_f** = 0.28 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4.5:0.5). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.59 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H, Indol-NH), 8.98 (s, 1H, OH), 7.62 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.47 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.33 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.02 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.88 (td, *J* = 9.9, 2.3 Hz, 2H, 2*CH_{Ar}), 6.81 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar}), 5.11 (s, 2H, NH₂), 2.56 (s, 3H, CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 174.6 (C=O), 151.4 (C_{Ar}), 147.7 (C_{Ar}), 147.1 (C_{Ar}), 145.3 (C_{Ar}), 134.7 (C_{Ar}), 132.7 (C_{Ar}), 129.4 (C_{Ar}), 128.1 (C_{Ar}), 125.0 (C_{Ar}), 117.9 (+, CH_{Ar}), 117.5 (+, CH_{Ar}), 113.3 (+, CH_{Ar}), 112.2 (+, CH_{Ar}), 109.9 (+, CH_{Ar}), 105.0 (+, CH_{Ar}), 102.7 (+, CH_{Ar}), 9.7 (+, CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₈H₁₅N₂O₃⁺: 307.1077, gefunden: 307.1082. **Smp.:** Zersetzung ab 238 °C. **IR (KBr):** 3337, 2925, 1739, 1614, 1560, 1456, 1342, 1206 cm⁻¹.

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-1*H*-indol-2-carbonyl)-3-methylbenzofuran-5-yl)harnstoff (106)

C₂₆H₂₄N₄O₅ (M = 472.49 g/mol)

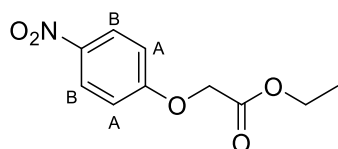


Die Synthese wurde gemäß AV8 ausgehend von **105** durchgeführt. Kristallisation aus DCM und PE ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute:** 64%. **R_f** = 0.30 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4.5:0.5). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.69 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H, Indol-NH), 9.60 (s, 1H, OH), 9.03 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.98 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 8.04 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 7.76 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.69 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 7.48 (dd, *J* = 9.0, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 7.33 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.03 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.89 (dd, *J* = 8.9, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.55 (s, 1H, CH_{2, Benzyl}), 2.64 (s, 3H, CH₃), 1.30 (s, 9H, C(CH₃)₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 174.6 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 154.9 (C_{Ar}), 151.6 (C_{Ar}), 149.8 (C_{Ar}), 148.2 (C_{Ar}), 134.9 (C_{Ar}), 134.5 (C_{Ar}), 132.9 (C_{Ar}), 128.9 (C_{Ar}), 128.1 (C_{Ar}), 125.4 (C_{Ar}), 121.1 (+, CH_{Ar}), 117.8 (+, CH_{Ar}), 113.3 (+, CH_{Ar}), 112.5 (+, CH_{Ar}), 110.3 (+, CH_{Ar}), 110.1 (+, CH_{Ar}), 105.0 (+, CH_{Ar}), 92.5 (+, CH_{Ar}), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, C(CH₃)₃), 9.55 (+, Ar-CH₃). **Smp.:** Zersetzung ab 244 °C. **IR (KBr):** 3277, 2969, 1700, 1610, 1558, 1207 cm⁻¹.

5.8.2. Verbindungen ohne Linker

Ethyl 2-(4-nitrophenoxy)acetat (107)

C₁₀H₁₁NO₅ (M = 225.20 g/mol)

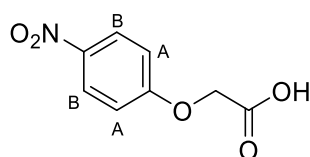


Die Synthese wurde gemäß AV17 ausgehend von Nitrophenol **98** in Acetonitril durchgeführt. Durch Abdestillation des überschüssigen Startmaterials wurde ein weißer Feststoff isoliert.

Ausbeute: 99%. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 8.31-8.07 (m, 2H, 2* CH_{Ar}), 7.26-7.06 (m, 2H, 2* CH_{Ar}), 4.97 (s, 2H, O- CH_2 -CO), 4.18 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, O- CH_2 - CH_3), 1.21 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, O- CH_2 - CH_3). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 75 MHz): δ 168.0 (C=O), 162.8 (C_{Ar}), 141.3 (C_{Ar}), 125.8 (+, CH_{Ar}), 115.2 (+, CH_{Ar}), 65.1 (-, CH_2), 61.0 (-, CH_2), 14.0 (+, CH_3). **HRMS** (EI-MS): m/z [M + H] $^+$ berechnet: für $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{NO}_5^+$: 225.06317, gefunden: 225.06249.

2-(4-Nitrophenoxy)essigsäure (108)

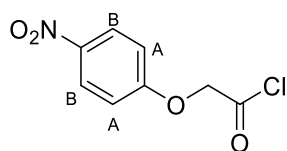
$\text{C}_8\text{H}_7\text{NO}_5$ ($M = 197.03$ g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV18 ausgehend von **107** durchgeführt. Der entstandene weiße Feststoff wurde abfiltriert. **Ausbeute:** 98%. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 13.23 (s, 1H, br, OH), 8.29-8.10 (m, 2H, 2* CH_{Ar}), 7.21-7.04 (m, 2H, 2* CH_{Ar}), 4.88 (s, 2H, O- CH_2 -CO). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 75 MHz): δ 169.5 (C=O), 163.1 (C_{Ar}), 141.2 (C_{Ar}), 125.8 (+, CH_{Ar}), 115.2 (+, CH_{Ar}), 65.0 (-, CH_2). **HRMS** (ESI): m/z [M + H] $^+$ berechnet: für $\text{C}_8\text{H}_8\text{NO}_5^+$: 196.0251, gefunden: 196.0252.

2-(4-Nitrophenoxy)acetylchlorid (109)

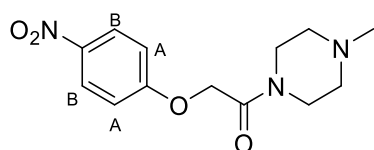
$\text{C}_8\text{H}_6\text{ClNO}_4$ ($M = 215.59$ g/mol)



Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁴⁰⁶ Das Startmaterial **108** (1.0 eq.) wurde in Thionylchlorid (5 mL/g Startmaterial) gelöst und DMF zugegeben. Nach 2 h wurde überschüssiges Thionylchlorid entfernt und das Produkt ohne Reinigung weiterverwendet.

1-(4-Methylpiperazin-1-yl)-2-(4-nitrophenoxy)ethan-1-on (110)

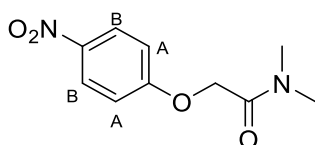
$\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4$ ($M = 279.30$ g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV11A ausgehend von **109** und *N*-Me-Piperazin in DCM durchgeführt. Nach 1 h bei RT wurde die Reaktionsmischung zweimal mit Wasser und einmal mit NaCl-Lösung (gesättigt in Wasser) gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. **Ausbeute:** 84%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 8.23-8.14 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.15-7.06 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 5.05 (s, 2H, O-CH₂-CO), 3.43 (q, *J* = 5.4 Hz, 4H, 2*CH₂, Piperazin), 2.35 (t, *J* = 5.1 Hz, 2H, CH₂, Piperazin), 3.27 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H, CH₂, Piperazin), 2.19 (s, 3H, CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 164.8 (C=O), 163.5 (C_{Ar}), 140.9 (C_{Ar}), 125.6 (+, CH_{Ar}), 115.2 (+, CH_{Ar}), 66.0 (-, O-CH₂-CO), 54.3 (d, *J* = 33.1 Hz, -, CH₂, Piperazin), 45.6 (+, CH₃), 42.4 (d, *J* = 267.8 Hz, -, CH₂, Piperazin). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₃H₁₈N₃O₄⁺: 280.1292, gefunden: 280.1292.

N,N-Dimethyl-2-(4-nitrophenoxy)acetamid (**111**)

C₁₀H₁₂N₂O₄ (*M* = 224.22 g/mol)

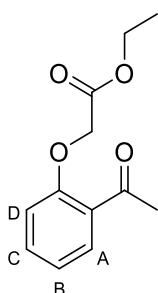


Die Synthese wurde gemäß AV11A ausgehend von **93** und Dimethylamin (2 M in THF) in DCM durchgeführt. Nach 1 h bei RT wurde die Reaktionsmischung zweimal mit Wasser und einmal mit NaCl-Lösung (gesättigt in Wasser) gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. **Ausbeute:** 87%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 8.22-8.12 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.15-7.05 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 5.04 (s, 2H, O-CH₂-CO), 2.99 (s, 3H, CH₃), 2.85 (s, 3H, CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 166.2 (C=O), 163.6 (C_{Ar}), 140.9 (C_{Ar}), 125.6 (+, CH_{Ar}), 115.2 (+, CH_{Ar}), 65.9 (-, CH₂), 35.4 (+, CH₃), 34.9 (+, CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₀H₁₃N₂O₄⁺: 225.0870, gefunden: 225.0869.

5.8.3. CH₂-Verbindung

Ethyl 2-(2-acetylphenoxy)acetat (**114**)

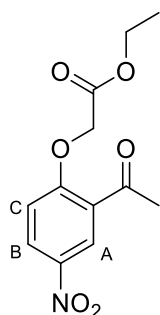
C₁₂H₁₄O₄ (*M* = 222.24 g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV17 ausgehend von **101** in Aceton durchgeführt. Durch Abdestillation des überschüssigen Startmaterials und Kristallisation aus kaltem Hexan wurde ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 64%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 7.46 (dd, *J* = 7.7, 1.8 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.38 (ddd, *J* = 8.8, 7.2, 1.8 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.97 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.93 (td, *J* = 7.5, 0.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 4.82 (s, 2H, O-CH₂-CO), 4.06 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 2.49 (s, 3H, CO-CH₃), 1.09 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₂-CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 199.0 (C=O), 168.3 (C=O), 156.7 (C_{Ar}), 133.6 (+, CH_{Ar}), 129.5 (+, CH_{Ar}), 128.3 (C_{Ar}), 121.2 (+, CH_{Ar}), 113.3 (+, CH_{Ar}), 65.2 (-, O-CH₂-CO), 60.8 (-, CH₂-CH₃), 31.7 (+, CO-CH₃), 14.0 (+, CH₂-CH₃).

Ethyl 2-(2-acetyl-4-nitrophenoxy)acetat (**115**)

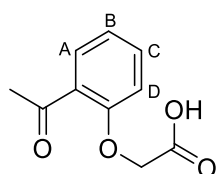
C₁₂H₁₃NO₆ (*M* = 267.24 g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV17 ausgehend von **100** in Aceton durchgeführt. Durch Abdestillation des überschüssigen Startmaterials und Kristallisation aus PE wurde ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 93%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 8.41-8.33 (m, 2H, CH_{Ar,A+B}), 7.37 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H, CH_{Ar,C}), 5.14 (s, 2H, O-CH₂-CO), 4.21 (q, 2H, O-CH₂-CH₃), 2.66 (s, 3H, CH₃-CO), 1.23 (t, 3H, O-CH₂-CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 197.2 (C=O), 167.6 (C=O), 161.2 (C_{Ar}), 141.1 (C_{Ar}), 128.6 (+, CH_{Ar}), 128.2 (C_{Ar}), 125.2 (+, CH_{Ar}), 114.6 (+, CH_{Ar}), 65.9 (-, O-CH₂-CO), 61.1 (-, CH₂-CH₃), 31.4 (+, CO-CH₃), 14.0 (+, CH₂-CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₂H₁₄NO₆⁺: 268.0816, gefunden: 268.0819.

2-(2-Acetylphenoxy)essigsäure (**116**)

C₁₀H₁₀O₄ (*M* = 194.19 g/mol)

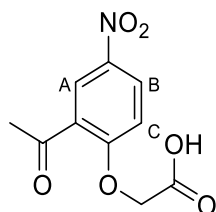


Die Synthese wurde gemäß AV18 ausgehend von **114** durchgeführt. Der entstandene gelbe Feststoff wurde abfiltriert und mit kaltem Wasser gewaschen. **Ausbeute:** quantitativ. **¹H-NMR**

(DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 7.57 (dd, J = 7.7, 1.8 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.50 (ddd, J = 8.8, 7.2, 1.8 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.07 (d, J = 8.3 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.03 (td, J = 7.4, 0.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 4.84 (s, 2H, O- CH_2 -CO), 2.61 (s, 3H, CO- CH_3). ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 101 MHz): δ 199.2 (C=O), 169.9 (C=O), 156.9 (C_{Ar}), 133.7 (+, CH_{Ar}), 129.6 (+, CH_{Ar}), 128.3 (C_{Ar}), 121.0 (+, CH_{Ar}), 113.2 (+, CH_{Ar}), 65.0 (-, O- CH_2 -CO), 31.8 (+, CO- CH_3).

2-(2-Acetyl-4-nitrophenoxy)essigsäure (117)

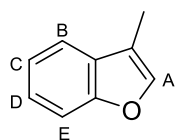
$\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}_6$ (M = 239.18 g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV18 ausgehend von **115** durchgeführt. Der entstandene gelbe Feststoff wurde abfiltriert und mit kaltem Wasser gewaschen. **Ausbeute:** 87%. ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 13.39 (br s, 1H, COOH), 8.42-8.32 (m, 2H, $\text{CH}_{\text{Ar,A+B}}$), 7.40-7.29 (m, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar,C}}$), 5.05 (s, 2H, O- CH_2 -CO), 2.65 (s, 3H, CH_3 -CO). ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz): δ 197.4 (C=O), 169.1 (C=O), 161.5 (C_{Ar}), 141.0 (C_{Ar}), 128.6 (+, CH_{Ar}), 128.2 (C_{Ar}), 125.2 (+, CH_{Ar}), 114.5 (+, CH_{Ar}), 65.7 (-, O- CH_2 -CO), 31.5 (+, CO- CH_3). HRMS (ESI): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ berechnet: für $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{NO}_6^+$: 240.0503, gefunden: 240.0503.

3-Methylbenzofuran (118)

$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}$ (M = 132.15 g/mol)

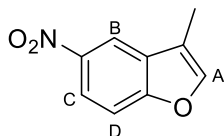


Die Synthese wurde gemäß AV19 ausgehend von **116** durchgeführt. Das Produkt wurde dreimal mit EA extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Wasser gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde entfernt, der Rückstand in EA aufgenommen und zweimal mit NaOH (1 M in Wasser) gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Kristallisation aus PE/DCM ergab einen weißen Feststoff. **Ausbeute:** 5%. ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 7.75 (q, J = 1.5 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.59 (dd, J = 7.4, 1.5 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.52 (dt, J = 8.0, 1.0 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.30 (td, J = 8.1, 7.7, 1.6 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.25 (td, J = 7.4, 1.2 Hz, 1H, CH_{Ar}), 2.21 (d, J = 1.3 Hz 3H, Ar- CH_3). ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 101 MHz): δ 154.5

(C_{Ar}), 142.0 (+, CH_{Ar}), 128.6 (C_{Ar}), 124.2 (+, CH_{Ar}), 122.4 (+, CH_{Ar}), 119.6 (+, CH_{Ar}), 115.2 (C_{Ar}), 111.1 (+, CH_{Ar}), 7.52 (+, Ar-CH₃).

3-Methyl-5-nitrobenzofuran (119)

C₉H₇NO₃ (M = 177.16 g/mol)

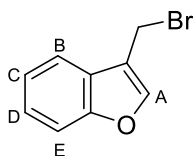


Die Synthese wurde gemäß AV19 ausgehend von **117** durchgeführt. Das Produkt wurde dreimal mit EA extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Wasser gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde entfernt, der Rückstand in EA aufgenommen und zweimal mit NaOH (1 M in Wasser) gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Kristallisation aus PE/DCM ergab einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 7%. ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 8.55 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 8.20 (dd, *J* = 9.1, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 8.03 (q, *J* = 1.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.78 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, CH_{Ar}), 2.28 (s, 3H, CH₃). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 157.5 (C_{Ar}), 145.5 (+, CH_{Ar}), 143.5 (C_{Ar}), 129.3 (C_{Ar}), 120.0 (+, CH_{Ar}), 116.7 (+, CH_{Ar}), 116.4 (C_{Ar}), 112.1 (+, CH_{Ar}), 7.4 (Ar-CH₃).

3-(Bromomethyl)benzofuran (120)

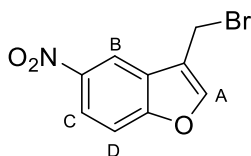
C₉H₇BrO (M = 211.06 g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV20 ausgehend von **118** in Tetrachlorkohlenstoff durchgeführt. Das Produkt wurde ohne Reinigung weiterverwendet.

3-(Bromomethyl)-5-nitrobenzofuran (121)

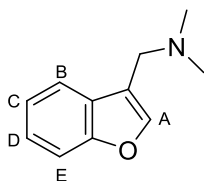
C₉H₆BrNO₃ (M = 256.06 g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV20 ausgehend von **119** in Benzol durchgeführt. Das Produkt wurde ohne Reinigung weiterverwendet. Ein kleiner Teil des Produkts wurde zu analytischen Zwecken gereinigt. $R_f = 0.88$ (DCM). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 8.70 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar,B}}$), 8.42 (s, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar,A}}$), 8.28 (dd, $J = 9.1, 2.5$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar,C}}$), 7.88 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar,D}}$), 5.00 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Br}$). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 101 MHz): δ 157.6 (C_{Ar}), 147.8 (+, $\text{CH}_{\text{Ar,A}}$), 143.7 (C_{Ar}), 126.8 (C_{Ar}), 120.8 (+, $\text{CH}_{\text{Ar,C}}$), 119.2 (C_{Ar}), 116.8 (+, $\text{CH}_{\text{Ar,B}}$), 112.8 (+, $\text{CH}_{\text{Ar,D}}$), 22.7 (-, $\text{CH}_2\text{-Br}$). **MS** (EI-MS, 70 eV) m/z : 255.0 $[\text{M}]^+$ (5), 176.0 (100), 130.0 (65), 102.0 (17). **Smp.**: 128-130 °C. **IR (KBr)**: 3106, 2925, 1579, 1517, 1449, 1344, 1220, 1091 cm^{-1} .

1-(Benzofuran-3-yl)-*N,N*-dimethylmethanamin (**122**)

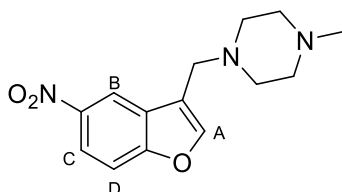
$\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{NO}$ ($M = 175.23$ g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV21 ausgehend von **120** und Dimethylamin (2 M in THF) bei RT in DMF durchgeführt. Der Rückstand wurde in EA aufgenommen und die organische Phase mit NaHCO_3 -Lösung (gesättigt in Wasser), Wasser und NaCl-Lösung (gesättigt in Wasser) gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Reinigung mit SC (SiO_2 , DCM) ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute**: 42% (über 2 Stufen). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 7.88-7.83 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.69 (ddd, $J = 7.4, 1.6, 0.7$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.56-7.51 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.34-7.26 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.23 (td, $J = 7.4, 1.2$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 3.50 (d, $J = 1.0$ Hz, 2H, $\text{Ar-CH}_2\text{-N}$), 2.16 (s, 6H, $2 \times \text{CH}_3$). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 75 MHz): δ 154.8 (C_{Ar}), 143.6 (+, CH_{Ar}), 127.8 (C_{Ar}), 124.3 (+, CH_{Ar}), 122.5 (+, CH_{Ar}), 120.6 (+, CH_{Ar}), 117.5 (C_{Ar}), 111.2 (+, CH_{Ar}), 52.4 ($\text{Ar-CH}_2\text{-N}$), 44.9 (+, $2 \times \text{CH}_3$).

1-Methyl-4-((5-nitrobenzofuran-3-yl)methyl)piperazin (**123**)

$\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3$ ($M = 275.31$ g/mol)

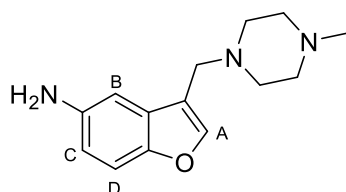


Die Synthese wurde gemäß AV21 ausgehend von **121** und *N*-Methyl-Piperazin bei RT in DMF durchgeführt. Zum Rückstand wurde Wasser gegeben, der entstandene orangefarbene Feststoff

abfiltriert und mit Diethylether gewaschen. **Ausbeute:** 31% (über 2 Stufen). **R_f** = 0.09 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4.5:0.5). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 8.64 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar,B}), 8.21 (dd, *J* = 9.1, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar,C}), 8.16 (s, 1H, CH_{Ar,A}), 7.81 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, CH_{Ar,D}), 3.66 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 2.46-2.36 (m, 4H, CH₂, Piperazin), 2.35-2.22 (m, 4H, CH₂, Piperazin), 2.13 (s, 3H, CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 157.8 (C_{Ar}), 147.0 (CH_{Ar}), 143.5 (C_{Ar}), 128.3 (C_{Ar}), 120.2 (CH_{Ar}), 118.3 (C_{Ar}), 117.2 (CH_{Ar}), 112.3 (CH_{Ar}), 54.8 (-, CH₂), 52.5 (-, CH₂), 50.7 (-, CH₂), 45.7 (+, CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₄H₁₈N₃O₃⁺: 276.1234, gefunden: 276.1347. **Smp.:** 103-105 °C. **IR (KBr):** 3422, 3113, 2931, 2787, 1594, 1521, 1447, 1344 cm⁻¹.

3-((4-Methylpiperazin-1-yl)methyl)benzofuran-5-amin (**124**)

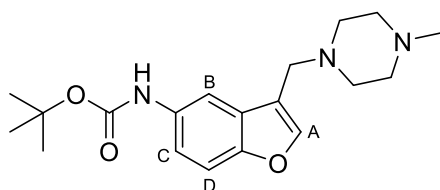
C₁₄H₁₉N₃O (*M* = 245.33 g/mol)



Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{416–418} Das Startmaterial **123** (1.0 eq.) wurde in EA/MeOH (2:1, 120 mL/g Startmaterial) gelöst und Pd (10% auf Aktivkohle) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 8 h unter H₂-Atmosphäre gerührt und nach Reaktionsende über Celite filtriert. Das Lösemittel des Filtrats wurde entfernt und das Produkt wurde ohne Reinigung weiterverwendet.

tert-Butyl (3-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)benzofuran-5-yl)carbamate (**125**)

C₁₉H₂₇N₃O₃ (*M* = 345.44 g/mol)

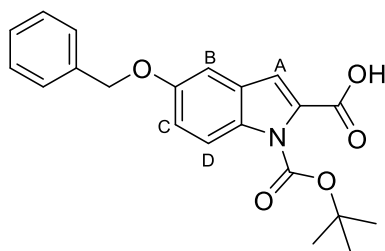


Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{416–418} Zu einer Lösung des Startmaterials **124** (1.0 eq.) in THF (120 mL/g Startmaterial) wurde Boc₂O (1.1 eq.) gegeben und die Reaktionsmischung über Nacht refluxiert. Nach Reaktionsende wurde das Lösemittel entfernt. Reinigung mit SC (SiO₂, DCM) ergab einen beigen Feststoff. **Ausbeute:** 34% (über 2 Stufen). **R_f** = 0.82 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 90:9:1). **¹H-NMR** (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.69 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar,B}), 7.49 (t, *J* = 1.1 Hz, 1H, CH_{Ar,A}), 7.33 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar,D}), 7.20 (dd, *J* = 8.8, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar,C}), 6.74 (s, 1H, NH), 3.59 (d, *J* = 1.9 Hz, 2H, Ar-CH₂-N), 2.79-2.36 (m, 8H, 4*CH₂, Piperazin), 2.31 (s,

3H, CH₃), 1.51 (s, 9H, 3*CH₃). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 153.4 (C=O), 152.0 (C_{Ar}), 144.1 (CH_{Ar}), 133.5 (C_{Ar}), 128.4 (C_{Ar}), 118.2 (C_{Ar}), 117.1 (CH_{Ar}), 111.4 (CH_{Ar}), 110.8 (CH_{Ar}), 80.4 (C(CH₃)₃), 55.0 (-, CH₂), 52.7 (-, CH₂), 51.8 (-, CH₂), 45.8 (+, N-CH₃), 28.5 (+, 3*CH₃). HRMS (EI-MS): m/z [M + H]⁺ berechnet: für C₁₉H₂₈N₃O₃⁺: 346.2125, gefunden: 346.2129. Smp.: 112-113 °C. IR (KBr): 3209, 2974, 2812, 1718, 1566, 1342, 1152 cm⁻¹.

5-(Benzyloxy)-1-(*tert*-butoxycarbonyl)-1*H*-indol-2-carbonsäure (**126**)

C₂₁H₂₁NO₅ (M = 367.40 g/mol)

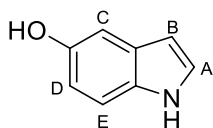


Die Synthese wurde gemäß AV15 ausgehend von **25** durchgeführt. Das Produkt wurde dreimal mit EA extrahiert, die gesammelten organischen Phasen mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. **Ausbeute:** 60%. **R_f** = 0.21 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 90:9:1). ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 13.32 (s, 1H, OH), 7.86 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.49-7.44 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.43-7.37 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.35-7.30 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.29 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 7.14 (dd, *J* = 9.1, 2.6 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 7.10 (d, *J* = 0.7 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 5.13 (s, 2H, CH_{2, Benzyl}), 1.56 (s, 9H, 3*CH₃). ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 11.10 (s, 1H, OH), 7.99 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.50-7.45 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.44-7.32 (m, 4H, 4*CH_{Ar}), 7.18 (dd, *J* = 9.1, 2.6 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 7.14 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 5.12 (s, 2H, CH_{2, Benzyl}), 1.68 (s, 9H, 3*CH₃). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 162.6 (C=O), 154.8 (C=O), 148.8 (C_{Ar}), 137.1 (C_{Ar}), 132.3 (C_{Ar}), 131.6 (C_{Ar}), 128.4 (+, CH_{Ar}), 128.0 (C_{Ar}), 127.8 (+, CH_{Ar}), 127.7 (+, CH_{Ar}), 116.6 (+, CH_{Ar}), 114.9 (+, CH_{Ar}), 113.2 (+, CH_{Ar}), 105.4 (+, CH_{Ar}), 84.4 (C(CH₃)₃), 69.6 (-, CH_{2, Benzyl}), 27.2 (+, 3*CH₃). ¹³C-NMR (CDCl₃, 75 MHz): δ 165.2 (C=O), 155.7 (C=O), 150.7 (C_{Ar}), 136.9 (C_{Ar}), 133.5 (C_{Ar}), 130.4 (C_{Ar}), 128.7 (+, CH_{Ar}), 128.2 (+, CH_{Ar}), 128.0 (C_{Ar}), 127.6 (+, CH_{Ar}), 119.4 (+, CH_{Ar}), 118.3 (+, CH_{Ar}), 116.5 (+, CH_{Ar}), 105.4 (+, CH_{Ar}), 86.1 (C(CH₃)₃), 70.6 (-, CH_{2, Benzyl}), 28.0 (+, 3*CH₃). HRMS (ESI): m/z [M + Na]⁺ berechnet: für C₂₁H₂₁NaNO₅⁺: 390.1312, gefunden: 390.1314. Smp.: 114-115 °C. IR (KBr): 2978, 1739, 1679, 1542, 1428, 1319, 1221 cm⁻¹.

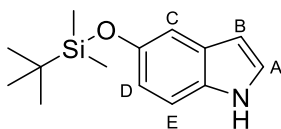
5-(Benzyloxy)-1*H*-indol-2-carbonsäure (**95**)

C₁₆H₁₃NO₃ (M = 267.28 g/mol)

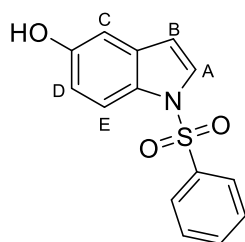
Die Synthese wurde gemäß AV6 ausgehend von **126** durchgeführt. **Ausbeute:** quantitativ. Die Analytik von **95** ist bereits in Kapitel 5.7.4 gezeigt.

1H-Indol-5-ol (127)**C₈H₇NO (M = 133.15 g/mol)**

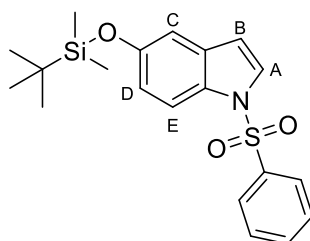
Die Synthese wurde gemäß AV7 ausgehend von **22** in EtOH durchgeführt. Nach Entfernen des Lösemittels wurde ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 60%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 9.36 (s, 1H, Indol-NH), 7.95-7.88 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.74 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.70-7.62 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.59-7.51 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 6.89 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 6.81 (dd, *J* = 8.9, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 6.69 (dd, *J* = 3.7, 0.7 Hz, 1H, CH_{Ar, B}). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 154.1 (C_{Ar}), 137.1 (C_{Ar}), 134.4 (+, CH_{Ar}), 131.9 (C_{Ar}), 129.7 (+, CH_{Ar}), 129.3 (C_{Ar}), 128.0 (C_{Ar}), 127.5 (+, CH_{Ar}), 126.6 (+, CH_{Ar}), 114.0 (+, CH_{Ar}), 109.7 (+, CH_{Ar}), 106.0 (+, CH_{Ar}). **HRMS** (EI-MS): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₈H₈NO⁺: 133.05222, gefunden: 133.05193.

5-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-1H-indol (128)**C₁₄H₂₁NOSi (M = 247.41 g/mol)**

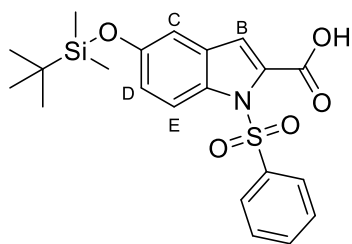
Die Synthese wurde gemäß AV22 ausgehend von **127** durchgeführt. Nach Säulenchromatographie (PE/EA 9:1) wurde ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 97%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 7.93 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH_{Ar}), 7.80 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.74 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.65 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.55 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, CH_{Ar}), 7.01 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.84 (dd, *J* = 8.9, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.73 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H, CH_{Ar}), 0.91 (s, 9H, C(CH₃)₃), 0.13 (s, 6H, 2*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 151.5 (C_{Ar}), 137.1 (C_{Ar}), 134.5 (+, CH_{Ar}), 131.7 (C_{Ar}), 129.7 (+, CH_{Ar}), 129.3 (C_{Ar}), 127.7 (+, CH_{Ar}), 126.6 (+, CH_{Ar}), 117.9 (+, CH_{Ar}), 113.9 (+, CH_{Ar}), 111.1 (+, CH_{Ar}), 109.6 (+, CH_{Ar}), 25.5 (C(CH₃)₃), 17.8 (C(CH₃)₃), -4.6 (+, 2*CH₃).

1-(Phenylsulfonyl)-1H-indol-5-ol (129)**C₁₄H₁₁NO₃S (M = 273.31 g/mol)**

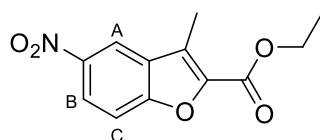
Die Synthese wurde gemäß AV7 ausgehend von **23** durchgeführt. Das Lösemittel wurde entfernt und nach SC (SiO₂, PE/EA 9:1) ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 33%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 9.36 (s, 1H, Indol-NH), 7.95-7.88 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.74 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.70-7.62 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.59-7.51 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 6.89 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 6.81 (dd, *J* = 8.9, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 6.69 (dd, *J* = 3.7, 0.7 Hz, 1H, CH_{Ar, B}). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 154.1 (C_{Ar}), 137.1 (C_{Ar}), 134.4 (+, CH_{Ar}), 131.9 (C_{Ar}), 129.7 (+, CH_{Ar}), 129.3 (C_{Ar}), 128.0 (C_{Ar}), 127.5 (+, CH_{Ar}), 126.6 (+, CH_{Ar}), 114.0 (+, CH_{Ar}), 109.7 (+, CH_{Ar}), 106.0 (+, CH_{Ar}).

5-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-1-(phenylsulfonyl)-1H-indol (130)**C₂₀H₂₅NO₃Si (M = 387.57 g/mol)**

Die Synthese wurde gemäß AV1 ausgehend von **128** durchgeführt. Nach Reinigung mit SC (SiO₂, PE/EA 9:1) wurde ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 49%. Die Synthese wurde alternativ gemäß AV22 ausgehend von **129** durchgeführt. Nach Reinigung mit SC (SiO₂, PE/EA 9:1) wurde ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 57%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 7.93 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH_{Ar}), 7.80 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.74 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.65 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.55 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, CH_{Ar}), 7.01 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.84 (dd, *J* = 8.9, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.73 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H, CH_{Ar}), 0.91 (s, 9H, C(CH₃)₃), 0.13 (s, 6H, 2*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 151.5 (C_{Ar}), 137.1 (C_{Ar}), 134.5 (+, CH_{Ar}), 131.7 (C_{Ar}), 129.7 (+, CH_{Ar}), 129.3 (C_{Ar}), 127.7 (+, CH_{Ar}), 126.6 (+, CH_{Ar}), 117.9 (+, CH_{Ar}), 113.9 (+, CH_{Ar}), 111.1 (+, CH_{Ar}), 109.6 (+, CH_{Ar}), 25.5 (C(CH₃)₃), 17.8 (C(CH₃)₃), -4.6 (+, 2*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₂₀H₂₆NO₃Si⁺: 388.1397, gefunden: 388.1411.

5-((*tert*-Butyldimethylsilyl)oxy)-1-(phenylsulfonyl)-1*H*-indol-2-carbonsäure (131)**C₂₁H₂₅NO₅Si (M = 431.58 g/mol)**

Die Synthese wurde gemäß AV15 ausgehend von **130** durchgeführt. Das Produkt wurde dreimal mit EA extrahiert, die gesammelten organischen Phasen mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. **Ausbeute:** 33%. **R_f** = 0.07 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 90:9:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 13.26 (s, 1H, OH), 8.06-7.98 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.93 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.78-7.71 (m, 1H, CH_{Ar}), 7.68-7.60 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.27 (d, *J* = 0.5 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.13 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.03 (dd, *J* = 9.0, 2.5 Hz, 1H, CH_{Ar}), 0.97 (s, 9H, C(CH₃)₃), 0.20 (s, 6H, 2*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 172.1 (C=O), 161.9 (C_{Ar}), 152.0 (C_{Ar}), 137.3 (C_{Ar}), 134.5 (+, CH_{Ar}), 133.7 (C_{Ar}), 132.3 (C_{Ar}), 129.5 (C_{Ar}), 129.4 (+, CH_{Ar}), 127.0 (+, CH_{Ar}), 120.4 (+, CH_{Ar}), 116.2 (+, CH_{Ar}), 116.0 (+, CH_{Ar}), 112.0 (+, CH_{Ar}), 25.6 (C(CH₃)₃), 18.0 (C(CH₃)₃), -4.6 (+, 2*CH₃).

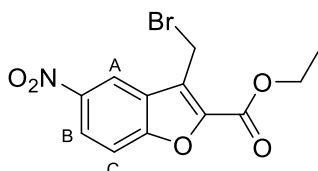
Ethyl 3-methyl-5-nitrobenzofuran-2-carboxylat (132)**C₁₂H₁₁NO₅ (M = 249.22 g/mol)**

Die Reaktion wurde nach Lit. durchgeführt.⁴²² Zu einer Lösung von 1-(2-Hydroxy-5-nitrophenyl)ethan-1-on (1.0 eq., **100**) in Acetonitril/DMF (4:1, 10 mL/g Startmaterial) wurden Ethylbromoacetat (1.2 eq.) und Kaliumcarbonat (2.0 eq.) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht refluxiert. Nach Reaktionsende wurde der Feststoff abfiltriert und das Lösemittel des Filtrats entfernt. Zum Rückstand wurde Wasser gegeben, der entstandene braune Feststoff abfiltriert und mit Wasser gewaschen. **Ausbeute:** 68%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 8.68 (dd, *J* = 2.4, 0.5 Hz, 1H, CH_{Ar,A}), 8.31 (dd, *J* = 9.1, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar,B}), 7.86 (dd, *J* = 9.2, 0.5 Hz, 1H, CH_{Ar,C}), 4.36 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₃-CH₂-O), 2.55 (s, 3H, Ar-CH₃), 1.35 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₃-CH₂-O). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 158.8 (C=O), 156.1 (CH_{Ar}-C_{Ar}-O), 143.9 (C_{Ar}-NO₂), 142.9 (O-C_{Ar}-C=O), 128.8 (CH_{Ar}-C_{Ar}-C_{Ar}), 126.0 (C_{Ar}-CH₃), 123.2 (CH_{Ar,B}), 118.4 (CH_{Ar,A}), 113.1 (CH_{Ar,C}), 61.3 (CH₃-CH₂-O), 14.0

(CH₃-CH₂-O), 9.0 (Ar-CH₃). **HRMS** (EI-MS): m/z [M + H]⁺ berechnet: für C₁₂H₁₂NO₅⁺: 249.06317, gefunden: 249.06252.

Ethyl 3-(bromomethyl)-5-nitrobenzofuran-2-carboxylat (133)

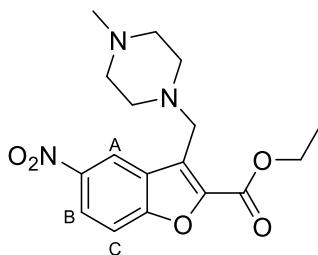
C₁₂H₁₀BrNO₅ (*M* = 328.12 g/mol)



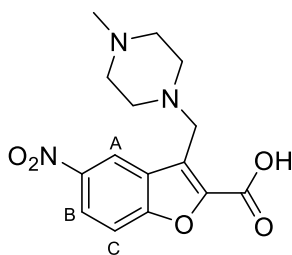
Die Synthese wurde gemäß AV20 ausgehend von **132** in Benzol durchgeführt. Das Produkt wurde ohne Reinigung weiterverwendet.

Ethyl 3-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)-5-nitrobenzofuran-2-carboxylat (134)

C₁₇H₂₁N₃O₅ (*M* = 347.37 g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV21 ausgehend von **133** und *N*-Methyl-Piperazin in THF durchgeführt. Der Rückstand wurde in EA aufgenommen und die organische Phase mit NaHCO₃-Lösung (gesättigt in Wasser), Wasser und NaCl-Lösung (gesättigt in Wasser) gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Reinigung mit SC (SiO₂, DCM) ergab einen gelben Feststoff. **Ausbeute:** 87% (über 2 Stufen). **R_f** = 0.86 (DCM). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 8.96 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 8.38 (dd, *J* = 9.2, 2.5 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 7.96 (dd, *J* = 9.2 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 4.39 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₃-CH₂-O), 4.07 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 2.51-2.22 (m, 8H, 4*CH₂, Piperazin), 2.15 (s, 3H, N-CH₃), 1.36 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₃-CH₂-O). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 158.8 (C=O), 156.5 (CH_{Ar}-C_{Ar}-O), 143.9 (C_{Ar}-NO₂), 143.8 (O-C_{Ar}-C=O), 128.2 (CH_{Ar}-C_{Ar}-C_{Ar}), 126.6 (C_{Ar}-CH₂), 123.2 (+, CH_{Ar, B}), 119.9 (+, CH_{Ar, A}), 113.3 (+, CH_{Ar, C}), 61.6 (-, CH₃-CH₂-O), 54.8 (-, 2*CH₂, Piperazin), 52.8 (-, 2*CH₂, Piperazin), 51.3 (-, Ar-CH₂-N), 45.7 (+, N-CH₃), 14.1 (+, CH₃-CH₂-O). **HRMS** (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für C₁₇H₂₂N₃O₅⁺: 348.1554, gefunden: 348.1559. **Smp.:** Zersetzung ab 192 °C. **IR (KBr):** 3105, 2970, 2936, 2793, 1725, 1594, 1530, 1443 cm⁻¹.

3-((4-Methylpiperazin-1-yl)methyl)-5-nitrobenzofuran-2-carbonsäure (135)**C₁₅H₁₇N₃O₅ (M = 392.23 g/mol)**

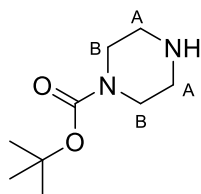
Die Reaktion wurde nach Lit. durchgeführt.⁴²³ **134** (1.0 eq.) wurde in EtOH gelöst und NaOH (1 M in Wasser, 1.0 eq.) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 3 h bei RT gerührt und das Lösemittel nach Reaktionsende entfernt. Der weiße Feststoff wurde ohne weitere Reinigung verwendet. **Ausbeute:** 91%. **R_f** = 0.02 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 90:9:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.83 (s, 1H, COOH), 9.11 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 8.39 (dd, *J* = 9.2, 2.4 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 7.99 (dd, *J* = 9.2 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 4.64 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.68-3.14 (m, 8H, 4*CH₂, Piperazin), 2.76 (s, 3H, N-CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 160.3 (C=O), 156.7 (CH_{Ar}-C_{Ar}-O), 144.6 (C_{Ar}-NO₂), 129.9 (O-C_{Ar}-C=O), 128.5 (CH_{Ar}-C_{Ar}-C_{Ar}), 127.1 (C_{Ar}-CH₂), 123.62 (+, CH_{Ar, B}), 120.3 (+, CH_{Ar, A}), 113.7 (+, CH_{Ar, C}), 51.2 (-, Ar-CH₂-N), 49.0 (-, 2*CH₂, Piperazin), 48.0 (-, 2*CH₂, Piperazin), 42.1 (+, N-CH₃). **HRMS** (EI-MS): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₅H₁₇N₃O₅⁺: 320.1241, gefunden: 320.1244. **Smp.:** 278-280 °C. **IR (KBr):** 3105, 2970, 2936, 2793, 1725, 1594, 1530, 1443 cm⁻¹.

5.9. GRUNDSTRUKTUR VI

5.9.1. Kopfgruppe a – Synthese der Amine

tert-Butyl piperazin-1-carboxylat (137)

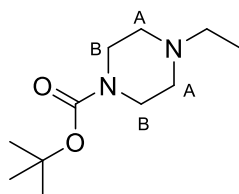
C₉H₁₈N₂O₂ (M = 186.26 g/mol)



Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁴²⁵ Piperazin **136** (2.0 eq.) wurde in DCM (35 mL/g Startmaterial) gelöst und bei 0 °C Boc₂O (1.0 eq.) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei RT gerührt und der weiße Feststoff nach Reaktionsende abfiltriert. Das Lösemittel wurde entfernt, der Rückstand in destilliertem Wasser aufgenommen und der entstandene weiße Feststoff abfiltriert. Das Filtrat wurde mit K₂CO₃ gesättigt und zweimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Reinigung mit SC (SiO₂, DCM) ergab einen weißen Feststoff. **Ausbeute:** 27%. **¹H-NMR** (CDCl₃, 400 MHz): δ 3.38-3.29 (m, 4H, 2*CH₂, B), 2.78-2.71 (m, 4H, 2*CH₂, A), 2.30 (s, 1H, NH), 1.39 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 101 MHz): δ 154.8 (C=O), 79.6 (C(CH₃)₃), 45.8 (-, 2*CH₂), 44.4 (-, 2*CH₂), 28.4 (+, C(CH₃)₃). **HRMS** (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für C₉H₁₈N₂O₂⁺: 187.1441, gefunden: 187.1441.

tert-Butyl 4-ethylpiperazin-1-carboxylat (138)

C₁₁H₂₂N₂O₂ (M = 214.31 g/mol)

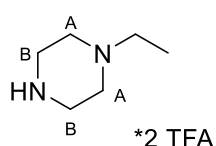


Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{426–428} Zu einer Lösung von *N*-Boc-Piperazin **137** (1.0 eq.) in Acetonitril (20 mL/g Startmaterial) wurde bei 0 °C Iodethan (1.1 eq.) und DIPEA (1.1 eq.) zugegeben und die Reaktionsmischung über Nacht bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde EA zugegeben und die organische Phase zweimal mit Wasser und einmal mit NaCl-Lösung (gesättigt in Wasser) gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und

das Lösemittel entfernt. Nach Reinigung mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) wurde ein gelbes Öl isoliert. **Ausbeute:** 36%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 3.28 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2*CH₂,_B), 2.30 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H, N-CH₂-CH₃), 2.27 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2*CH₂,_A), 1.38 (s, 9H, C(CH₃)₃), 0.98 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, N-CH₂-CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 153.9 (C=O), 78.7 (C(CH₃)₃), 52.2 (-, 2*CH₂,_A), 51.7 (-, 2*CH₂), 43.7 (-, CH₂,_B), 42.9 (-, CH₂,_B), 28.1 (+, C(CH₃)₃), 11.9 (+, N-CH₂-CH₃). **HRMS** (EI-MS): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₁H₂₃N₂O₂⁺: 215.1754, gefunden: 215.1755.

1-Ethylpiperazin Bis(2,2,2-Trifluoracetat) (139)

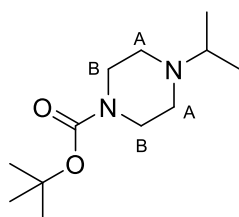
C₁₀H₁₆F₆N₂O₄ (*M* = 342.24 g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV6 ausgehend von **138** durchgeführt. Das Lösemittel und überschüssige TFA wurden entfernt und ein gelb-braunes Öl isoliert. **Ausbeute:** quantitativ. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 9.85 (br s, 3H, NH⁺), 3.42 (br s, 8H, 4*CH₂), 3.19 (q, *J* = 7.3 Hz, 2H, N-CH₂-CH₃), 1.21 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, N-CH₂-CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 51.0 (-, CH₂,_A), 47.5 (-, CH₂), 40.3 (-, CH₂,_B), 8.9 (+, N-CH₂-CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₀H₁₇N₂O₄⁺: 114.11515, gefunden: 114.11494.

tert-Butyl 4-isopropylpiperazin-1-carboxylat (140)

C₁₂H₂₄N₂O₂ (*M* = 228.34 g/mol)

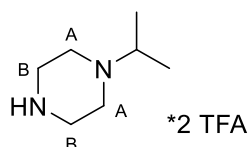


Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{426–428} Zu einer Lösung *N*-Boc-Piperazin **137** (1.0 eq.) in MeOH/THF (1:4, 30 mL/g Startmaterial) wurde Aceton (0.8 mL/g Startmaterial) und konz. Essigsäure (0.7 mL/g Startmaterial) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei RT gerührt und das Lösemittel nach Reaktionsende entfernt. Der Rückstand wurde mit HCl (1 M in Wasser) auf einen pH-Wert von 1 gebracht und die wässrige Phase zweimal mit Diethylether gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit K₂CO₃ gesättigt und das Produkt zweimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das

Lösemittel entfernt. Reinigung mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) ergab einen weißen Feststoff. **Ausbeute:** 75%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 3.27 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2*CH₂), 2.64 (hept, *J* = 6.6 Hz, 1H, N-CH-(CH₃)₂), 3.40-2.30 (m, 4H, 2*CH₂), 1.38 (s, 9H, C(CH₃)₃), 0.95 (d, *J* = 6.6 Hz, 6H, N-CH-(CH₃)₂). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 154.2 (C=O), 79.1 (C(CH₃)₃), 54.2 (+, N-CH-(CH₃)₂), 48.3 (-, 2*CH_{2,A}), 44.3 (-, 2*CH_{2,B}), 28.5 (+, C(CH₃)₃), 18.5 (+, N-CH-(CH₃)₂). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₂H₂₅N₂O₂⁺: 229.1911, gefunden: 229.1918.

1-Isopropylpiperazin Bis(2,2,2-Trifluoracetat) (141)

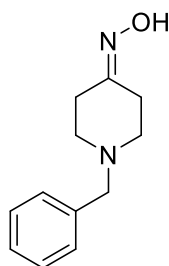
C₁₁H₁₈F₆N₂O₄ (M = 356.27 g/mol)



Die Synthese wurde gemäß AV6 ausgehend von **140** durchgeführt. Das Lösemittel und überschüssige TFA wurden entfernt und ein gelb-braunes Öl isoliert. **Ausbeute:** quantitativ. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 9.37 (br s, 3H, NH⁺), 3.57 (hept, *J* = 6.6 Hz, 1H, N-CH-(CH₃)₂), 3.75-3.10 (m, 8H, 4*CH₂), 1.25 (d, *J* = 6.6 Hz, 6H, N-CH-(CH₃)₂). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 57.8 (+, N-CH-(CH₃)₂), 44.6 (-, 2*CH_{2,A}), 40.8 (-, 2*CH_{2,B}), 16.2 (+, N-CH-(CH₃)₂). **HRMS** (EI-MS): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₁H₁₉N₂O₄⁺: 128.13080, gefunden: 128.13045.

1-Benzylpiperidin-4-on oxim (143)

C₁₂H₁₆N₂O (M = 204.27 g/mol)

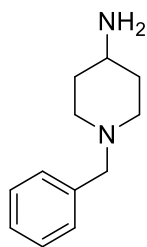


Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁴²⁹ 1-Benzylpiperidin-1-on **142** (1.0 eq.) wurde zu einer Suspension von Hydroxylamin-HCl (2.0 eq.) und K₂CO₃ (2.0 eq.) in EtOH (20 mL/g Startmaterial) gegeben und die Reaktionsmischung 2 h refluxiert. Der Feststoff wurde abfiltriert und das Lösemittel entfernt. Der Rückstand wurde in KOH (20% in Wasser) aufgenommen und das Produkt zweimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit NaCl-Lösung (gesättigt in Wasser) gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Ein weißer-beiger Feststoff wurde isoliert. **Ausbeute:** 78%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆,

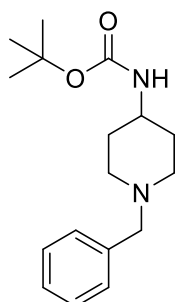
300 MHz): δ 7.69 (s, 1H, OH), 7.37-7.22 (m, 5H, 5*CH_{Ar}), 3.55 (s, 2H, CH₂, Benzyl), 2.72-2.60 (m, 2H, CH₂), 2.60-2.48 (m, 4H, 2*CH₂), 2.40-2.30 (m, 2H, CH₂). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 154.5 (C=N), 138.4 (C_{Ar}), 128.7 (+, CH_{Ar}), 128.2 (+, CH_{Ar}), 127.0 (+, CH_{Ar}), 61.7 (-, CH₂), 53.4 (-, CH₂), 52.0 (-, CH₂), 31.1 (-, CH₂), 24.2 (-, CH₂). HRMS (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für C₁₂H₁₇N₂O⁺: 205.1335, gefunden: 205.1338.

1-Benzylpiperidin-4-amin (**144**)

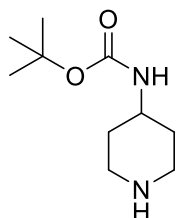
C₁₂H₁₈N₂ (*M* = 190.29 g/mol)



Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁴³⁰ Einer Lösung von **143** (1.0 eq.) in THF (15 mL/g Startmaterial) wurde bei 0 °C tropfenweise zu einer Suspension von LiAlH₄ (2.6 eq.) in THF (15 mL/g Startmaterial) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht refluxiert und nach Reaktionsende KOH (5% in Wasser, 1 mL/g Startmaterial) zugegeben. Die Suspension wurde über Celite filtriert und das Lösemittel des Filtrats entfernt. Der Rückstand wurde in DCM aufgenommen und mit NaCl-Lösung (gesättigt in Wasser) gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Als Produkt wurde ein weißer-beiger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 96%. ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 7.37-7.16 (m, 5H, 5*CH_{Ar}), 3.40 (s, 2H, CH₂, Benzyl), 2.76-2.63 (m, 2H, CH₂), 2.58-2.42 (m, 1H, CH), 2.20-1.50 (br s, 2H, NH₂), 1.99-1.83 (m, 2H, CH₂), 1.69-1.58 (m, 4H, 2*CH₂), 1.31-1.12 (m, 2H, CH₂). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 138.8 (C_{Ar}), 128.7 (+, CH_{Ar}), 128.1 (+, CH_{Ar}), 126.8 (+, CH_{Ar}), 62.3 (-, CH₂, Benzyl), 52.1 (-, 2*CH₂), 48.4 (+, CH), 35.5 (-, 2*CH₂). HRMS (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für C₁₂H₁₉N₂⁺: 191.1543, gefunden: 191.1545.

tert-Butyl (1-benzylpiperidin-4-yl)carbamate (145)**C₁₇H₂₆N₂O₂ (M = 290.41 g/mol)**

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁴³¹ Eine Lösung von **144** (1.0 eq.) in DCM (10 mL/g Startmaterial) wurde bei 0 °C tropfenweise zu einer Lösung Boc₂O (1.1 eq.) und Triethylamin (1.5 eq.) in DCM (20 mL/g Startmaterial) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht refluxiert und nach Reaktionsende mit DCM verdünnt. Die organische Phase wurde mit NaHCO₃-Lösung (gesättigt in Wasser) und mit NaCl-Lösung (gesättigt in Wasser) gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH 95:5) gereinigt und das Produkt als weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 80%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 7.35-7.18 (m, 5H, 5*CH_{Ar}), 6.74 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, NH), 3.41 (s, 2H, CH₂, Benzyl), 3.26-3.14 (m, 1H, CH), 2.76-2.69 (m, 2H, CH₂), 1.96-1.87 (m, 2H, CH₂), 1.70-1.61 (m, 2H, CH₂), 1.42-1.30 (m, 2H, CH₂), 1.37 (s, 9H, C(CH₃)₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 154.8 (C=O), 138.7 (C_{Ar}), 128.7 (+, CH_{Ar}), 128.1 (+, CH_{Ar}), 126.8 (+, CH_{Ar}), 77.4 (C(CH₃)₃), 62.2 (-, CH₂, Benzyl), 52.2 (-, CH₂), 47.6 (+, CH), 31.9 (-, CH₂), 28.3 (+, C(CH₃)₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₇H₂₇N₂O₂⁺: 291.2067, gefunden: 291.2071.

tert-Butyl piperidin-4-ylcarbamate (146)**C₁₀H₂₀N₂O₂ (M = 200.28 g/mol)**

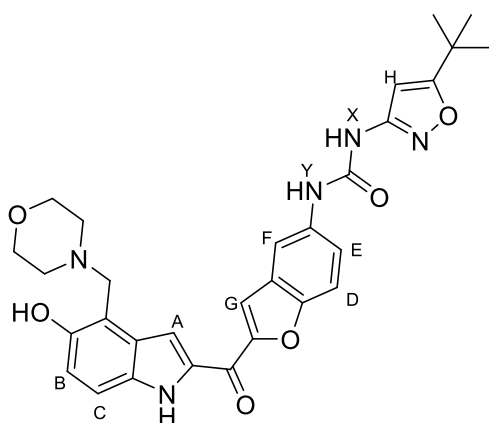
Die Synthese wurde ausgehend von **145** nach AV7 durchgeführt. Das Lösemittel wurde entfernt und der blass-gelbe Feststoff ohne weitere Reinigung verwendet. Ein kleiner Teil wurde zu Analysezwecken aufgereinigt. **¹H-NMR** (CDCl₃, 400 MHz): δ 4.66 (br s, 1H, NH_{Amid}), 3.44 (br s, 1H, CH), 2.97 (dt, *J* = 12.6, 3.3 Hz, 2H, CH₂), 2.57 (td, *J* = 12.4, 2.4 Hz, 2H, CH₂), 1.85 (dd, *J* = 12.3, 3.7 Hz, 2H, CH₂), 1.71 (br s, 1H, NH_{Amin}), 1.36 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.20 (qd, *J* = 11.5, 4.0 Hz, 2H, CH₂). **¹³C-NMR**

(CDCl₃, 101 MHz): δ 155.0 (C=O), 78.9 (C(CH₃)₃), 48.0 (+, CH), 45.3 (-, CH₂), 33.8 (-, CH₂), 28.3 (+, C(CH₃)₃).

5.9.2. Kopfgruppe a – Synthese der Produkte

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-3-(morpholinomethyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (**147a**)

C₃₀H₃₁N₅O₆ (M = 557.61 g/mol)

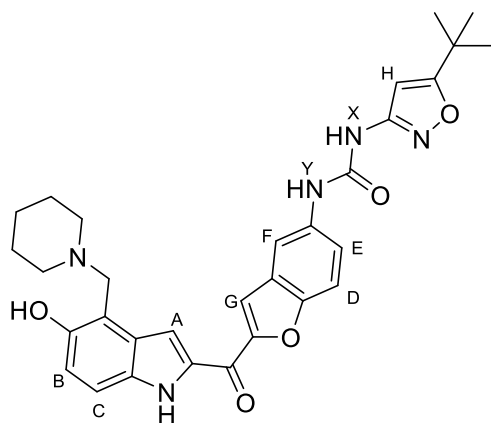


Die Synthese wurde ausgehend von Morpholin und **20** nach AV14A durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1 oder DCM/MeOH 95:5) gereinigt und **147a** als gelb-oranger Feststoff isoliert. Bei Bedarf wurde das Produkt aus PE/DCM kristallisiert. **Ausbeute:** 50%. Alternativ wurde die Synthese nach AV14B durchgeführt. **Ausbeute:** 28%. Alternativ wurde die Synthese nach AV14C durchgeführt. **Ausbeute:** 87%. **R_f** = 0.49 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.86 (s, 1H, Indol-NH), 10.15 (s, 1H, br, OH), 9.59 (s, 1H, Harnstoff-NH_x), 9.01 (s, 1H, Harnstoff-NH_y), 8.10 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 8.00 (s, 1H, CH_{Ar, G}), 7.83-7.70 (m, 2H, CH_{Ar, A+D}), 7.51 (dd, *J* = 9.0, 2.0 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.27 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.88 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.53 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 3.99 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.64 (s, 4H, 2*CH₂, Morpholin), 2.55 (s, 4H, 2*CH₂, Morpholin), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 151 MHz): δ 180.7 (C=O), 173.5 (C=O), 158.9 (C_{Ar}), 153.3 (C_{Ar}), 152.1 (C_{Ar}), 151.7 (C_{Ar}), 151.1 (C_{Ar}), 135.7 (C_{Ar}), 134.1 (C_{Ar}), 133.6 (C_{Ar}), 128.3 (C_{Ar}), 127.7 (C_{Ar}), 121.2 (+, CH_{Ar, E}), 118.6 (+, CH_{Ar, B}), 114.9 (+, CH_{Ar, G}), 112.9 (+, CH_{Ar, C}), 112.8 (+, CH_{Ar, D}), 112.5 (+, CH_{Ar, F}), 112.0 (C_{Ar}), 109.4 (+, CH_{Ar, A}), 92.9 (+, CH_{Ar, H}), 66.8 (CH₂, Morpholin), 56.4 (-, Ar-CH₂-N), 53.4 (CH₂, Morpholin), 33.0 (C(CH₃)₃), 28.8 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₀H₃₂N₅O₆⁺: 558.2347, gefunden: 558.2346. **Smp.:** Zersetzung ab 241 °C. **IR (KBr):** 3190, 2925, 1689, 1613, 1551, 1337, 1216, 1151 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >97%, (t_R = 13.95 min). Zusätzliche Reinigung des Produkts wurde durch präp. HPLC erreicht. Dabei wurde das einfache TFA-Salz **147b** der entspr. Verbindung isoliert. **¹H-NMR**

(Methanol- d_4 , 400 MHz): δ 7.99 (s, 1H), 7.86 (s, 2H), 7.65 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.55 -7.46 (m, 2H), 7.07 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 6.34 (s, 1H), 4.74 (s, 2H), 4.16-3.96 (m, 2H), 3.92-3.72 (m, 2H), 3.62-3.51 (m, 2H), 3.49-3.36 (m, 2H), 1.35 (s, 9H). ^{19}F -NMR (Methanol- d_4 , 377 MHz) δ -75.3. $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_8$ [671.63].

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-3-(piperidin-1-ylmethyl)-1H-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (148a)

$\text{C}_{31}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_5$ (M = 555.64 g/mol)

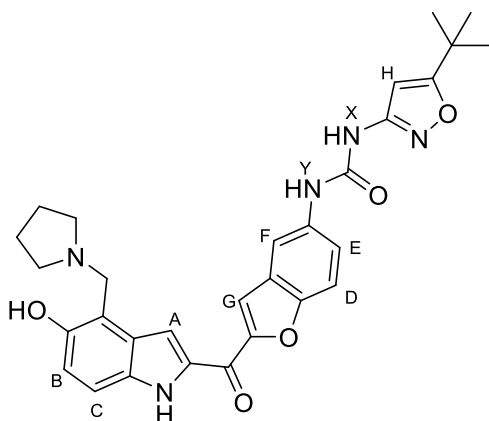


Die Synthese wurde ausgehend von Piperidin und **20** nach AV14A durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO_2 , DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 99:0.9:0.1 oder DCM/MeOH 95:5) gereinigt und **148a** als gelb-oranger Feststoff isoliert. Bei Bedarf wurde das Produkt aus PE/DCM kristallisiert. **Ausbeute:** 29%. Alternativ wurde die Synthese nach AV14B durchgeführt. **Ausbeute:** 46%. Alternativ wurde die Synthese nach AV14C durchgeführt. **Ausbeute:** 73%. R_f = 0.48 (DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 95:4:1). ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 11.86 (s, 1H, Indol-NH), 9.61 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.04 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.10 (d, J = 2.1 Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, F}}$), 8.01 (d, J = 0.7 Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, G}}$), 7.76 (d, J = 9.0 Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, D}}$), 7.72 (s, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, A}}$), 7.51 (dd, J = 9.0, 2.2 Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, E}}$), 7.27 (d, J = 8.8 Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, C}}$), 6.85 (d, J = 8.8 Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, B}}$), 6.53 (s, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, H}}$), 4.02 (s, 2H, Ar- CH_2 -N), 2.57 (s, 4H, 2* CH_2 , Piperidin), 1.65-1.52 (m, 4H, 2* CH_2 , Piperidin), 1.50-1.36 (m, 2H, CH_2 , Piperidin), 1.30 (s, 9H, 3* CH_3). ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 173.0 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 152.8 (C_{Ar}), 151.6 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 135.3 (C_{Ar}), 133.6 (C_{Ar}), 133.1 (C_{Ar}), 127.4 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 120.7 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, E}}$), 118.1 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, B}}$), 114.4 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, G}}$), 112.5 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, C}}$), 112.2 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, D}}$), 112.0 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, F}}$), 111.2 (C_{Ar}), 108.4 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, A}}$), 92.5 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, H}}$), 56.9 (-, Ar- CH_2 -N), 53.5 (CH_2 , Piperidin), 32.5 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 28.4 (+, 3* CH_3), 25.5 (CH_2 , Piperidin), 23.6 (CH_2 , Piperidin). **HRMS** (ESI): m/z [$M + \text{H}$]⁺ berechnet: für $\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{N}_5\text{O}_5^+$: 556.2554, gefunden: 556.2562. **Smp.:** Zersetzung ab 199 °C. **IR** (KBr): 3204, 2939, 1695, 1598, 1545, 1378, 1214, 1153 cm^{-1} . **RP-HPLC:** >99%, (t_R = 14.50 min). Zusätzliche Reinigung des Produkts wurde durch präp. HPLC erreicht. Dabei wurde das einfache TFA-Salz **148b** der

entspr. Verbindung isoliert. ¹H-NMR (Methanol-*d*₄, 400 MHz): δ 7.95 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.59 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.47 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.43 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 6.32 (s, 1H), 4.63 (s, 2H), 3.62 (d, *J* = 12.4 Hz, 2H), 3.17 (t, *J* = 11.3 Hz, 2H), 1.95 (d, *J* = 13.2 Hz, 2H), 1.87-1.74 (m, 3H), 1.62-1.48 (m, 1H), 1.33 (s, 9H). ¹⁹F-NMR (Methanol-*d*₄, 377 MHz) δ -75.3. C₃₃H₃₄F₃N₅O₇ [669.65].

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-3-(pyrrolidin-1-ylmethyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (149a)

C₃₀H₃₁N₅O₅ (*M* = 541.61 g/mol)

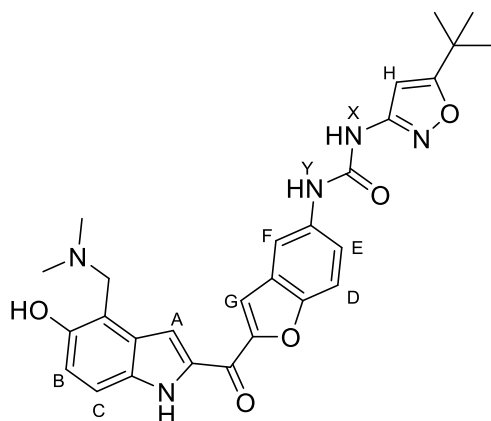


Die Synthese wurde ausgehend von Pyrrolidin und **20** nach AV14A durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1 oder DCM/MeOH 95:5) gereinigt und **149a** als gelb-oranger Feststoff isoliert. Bei Bedarf wurde das Produkt aus PE/DCM kristallisiert. **Ausbeute:** 6%. Alternativ wurde die Synthese nach AV14B durchgeführt. **Ausbeute:** 51%. Alternativ wurde die Synthese nach AV14C durchgeführt. **Ausbeute:** 41%. **R_f** = 0.65 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.88 (s, 1H, Indol-NH), 9.66 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.17 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.10 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 8.02 (d, *J* = 0.7 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 7.76 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.73 (s, 1H, CH_{Ar, A}), 7.52 (dd, *J* = 9.0, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.28 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.88 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.53 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.19 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 2.79-2.64 (m, 4H, 2*CH₂, Pyrrolidin), 1.86-1.74 (m, 4H, 2*CH₂, Pyrrolidin), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.1 (C=O), 173.1 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 152.7 (C_{Ar}), 151.7 (C_{Ar}), 151.2 (C_{Ar}), 151.1 (C_{Ar}), 135.3 (C_{Ar}), 133.7 (C_{Ar}), 133.0 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 127.2 (C_{Ar}), 120.6 (+, CH_{Ar, E}), 118.0 (+, CH_{Ar, B}), 114.5 (+, CH_{Ar, G}), 112.5 (+, CH_{Ar, C}), 112.4 (+, CH_{Ar, D}), 111.9 (+, CH_{Ar, F}), 111.9 (C_{Ar}), 108.4 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 53.3 (-, Ar-CH₂-N), 53.1 (CH₂, Pyrrolidin), 32.4 (C(CH₃)₃), 28.3 (+, 3*CH₃), 23.2 (CH₂, Pyrrolidin). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet für C₃₀H₃₂N₅O₅⁺: 542.2398, gefunden: 542.2407. **Smp.:** Zersetzung ab 203 °C. **IR (KBr):** 3193, 2968, 2813, 1688, 1613, 1547, 1341, 1217, 1153 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >99%, (t_R = 14.22 min). Zusätzliche Reinigung des Produkts wurde

durch präp. HPLC erreicht. Dabei wurde das einfache TFA-Salz **149b** der entspr. Verbindung isoliert. ¹H-NMR (Methanol-*d*₄, 400 MHz): δ 7.91 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.56 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.45 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.41 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 6.31 (s, 1H), 4.71 (s, 2H), 3.65-3.52 (m, 2H), 3.43-3.33 (m, 2H), 2.28-2.15 (m, 2H), 2.10-1.95 (m, 2H), 1.32 (s, 9H). ¹⁹F-NMR (Methanol-*d*₄, 377 MHz) δ -75.3. C₃₂H₃₂F₃N₅O₇ [655.62].

1-(5-*tert*-Butylisoxazol-3-yl)-3-(2-(3-((dimethylamino)methyl)-5-hydroxy-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (150a)

C₂₈H₂₉N₅O₅ (*M* = 515.56 g/mol)

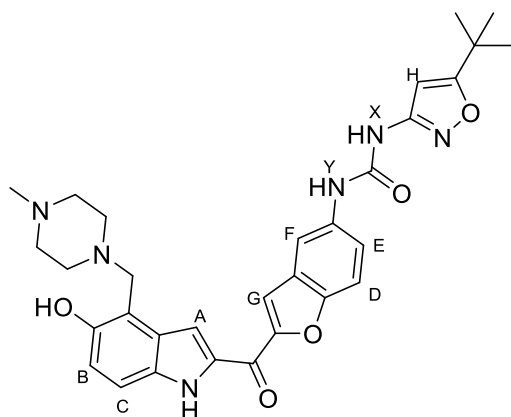


Die Synthese wurde ausgehend von Dimethylamin (40% in Wasser oder 2 M in THF) und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1 oder DCM/MeOH 95:5) gereinigt und **150a** als gelb-oranger Feststoff isoliert. Bei Bedarf wurde das Produkt aus PE/DCM kristallisiert. **Ausbeute:** 69%. Alternativ wurde die Synthese nach AV14C durchgeführt. **Ausbeute:** 48%. *R_f* = 0.67 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.84 (s, 1H, Indol-NH), 9.58 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.03 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.09 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 8.00 (s, 1H, CH_{Ar, G}), 7.77 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.70 (s, 1H, CH_{Ar, A}), 7.52 (dd, *J* = 9.0, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.29 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.87 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.53 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 3.97 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 2.35 (s, 6H, 2*CH₃, Dimethylamin), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 173.0 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 152.8 (C_{Ar}), 151.6 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 151.2 (C_{Ar}), 135.3 (C_{Ar}), 133.6 (C_{Ar}), 133.0 (C_{Ar}), 127.5 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 120.7 (+, CH_{Ar, E}), 118.1 (+, CH_{Ar, B}), 114.4 (+, CH_{Ar, G}), 112.5 (+, CH_{Ar, C}), 112.4 (+, CH_{Ar, D}), 112.0 (+, CH_{Ar, F}), 111.8 (C_{Ar}), 108.4 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 57.4 (-, Ar-CH₂-N), 44.4 (+, 2*CH₃, Dimethylamin), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet für C₂₈H₃₀N₅O₅⁺: 516.2241, gefunden: 516.2246. **Smp.:** Zersetzung ab 217 °C. **IR (KBr):** 3208, 2975, 2825, 1694, 1587, 1545, 1380, 1280, 1214, 1147 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >99%, (*t_R* = 13.66 min). Zusätzliche Reinigung des Produkts wurde durch präp. HPLC erreicht. Dabei wurde das einfache TFA-Salz **150b** der entspr. Verbindung isoliert. ¹H-NMR

(Methanol- d_4 , 300 MHz): δ 8.07 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.71 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.55 (dd, J = 8.9, 2.1 Hz, 1H), 7.53 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.09 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 6.39 (s, 1H), 4.70 (s, 2H), 2.96 (s, 6H), 1.37 (s, 9H). ^{19}F -NMR (Methanol- d_4 , 377 MHz): δ -75.3. $\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_7$ [629.58].

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-3-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)-1H-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (151a)

$\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_5$ (M = 570.65 g/mol)

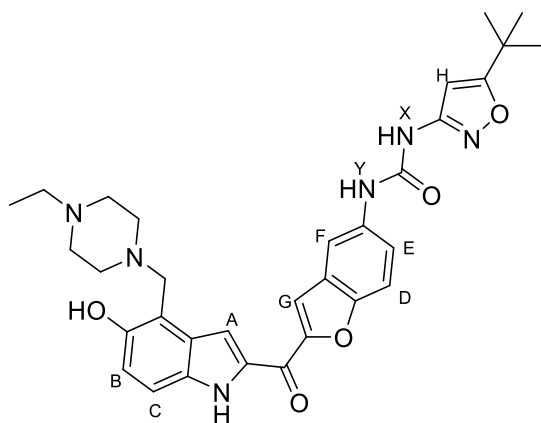


Die Synthese wurde ausgehend von *N*-Methylpiperazin und **20** nach AV14A durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO_2 , DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 99:0.9:0.1 oder DCM/MeOH 95:5) gereinigt und **151a** als gelb-oranger Feststoff isoliert. Bei Bedarf wurde das Produkt aus PE/DCM kristallisiert. **Ausbeute:** 24%. Alternativ wurde die Synthese nach AV14B durchgeführt. **Ausbeute:** 94%. Alternativ wurde die Synthese nach AV14C durchgeführt. **Ausbeute:** 79%. R_f = 0.27 (DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 95:4:1). ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 11.83 (s, 1H, Indol-NH), 10.51 (s, 1H, br, OH), 9.58 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.04 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.09 (d, J = 2.0 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 8.00 (d, J = 0.6 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 7.76 (d, J = 9.0 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.74 (s, 1H, CH_{Ar, A}), 7.52 (dd, J = 9.0, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.27 (d, J = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.86 (d, J = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.01 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 2.77-2.52 (m, 4H, 2*CH₂, *N*-Me-Piperazin), 2.47-2.24 (m, 4H, 2*CH₂, *N*-Me-Piperazin), 2.19 (s, 3H, N-CH₃, *N*-Me-Piperazin), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 173.0 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 152.8 (C_{Ar}), 151.6 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 150.9 (C_{Ar}), 135.3 (C_{Ar}), 133.6 (C_{Ar}), 133.1 (C_{Ar}), 127.5 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 120.7 (+, CH_{Ar, E}), 118.1 (+, CH_{Ar, B}), 114.4 (+, CH_{Ar, G}), 112.5 (+, CH_{Ar, C}), 112.2 (+, CH_{Ar, D}), 112.0 (+, CH_{Ar, F}), 111.5 (C_{Ar}), 108.6 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 55.9 (-, Ar-CH₂-N), 54.7 (-, CH₂, *N*-Me-Piperazin), 52.2 (-, CH₂, *N*-Me-Piperazin), 45.5 (+, CH₃, *N*-Me-Piperazin), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für $\text{C}_{31}\text{H}_{35}\text{N}_6\text{O}_5^+$: 571.2663, gefunden: 571.2668. **Smp.:** Zersetzung ab 212 °C. **IR (KBr):** 3184, 2928, 1700, 1598, 1548, 1445, 1341, 1218, 1160 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >99%, (t_R = 12.11 min). Zusätzliche Reinigung des Produkts wurde durch präp. HPLC erreicht. Dabei wurde das zweifache TFA-Salz **151b** der entspr. Verbindung

isoliert. $^1\text{H-NMR}$ (Methanol- d_4 , 400 MHz): δ 7.92 (s, 1H), 7.79 (s, 2H), 7.61 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.48 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.42 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 6.26 (s, 1H), 4.60 (s, 2H), 3.68-3.55 (m, 8H), 2.87 (s, 3H), 1.33 (s, 9H). $^{19}\text{F-NMR}$ (Methanol- d_4 , 377 MHz) δ -75.4. $\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{F}_6\text{N}_6\text{O}_9$ [798.69].

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(3-((4-ethylpiperazin-1-yl)methyl)-5-hydroxy-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (152a)

$\text{C}_{32}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_5$ (M = 584.68 g/mol)

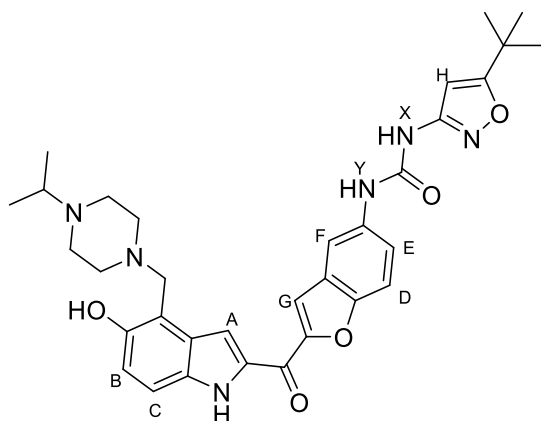


Die Synthese wurde ausgehend von *N*-Ethylpiperazin 2,2,2-Bistrifluoracetat **139** und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO_2 , DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 99:0.9:0.1 oder DCM/MeOH 95:5) gereinigt und **152a** als gelb-oranger Feststoff isoliert. Bei Bedarf wurde das Produkt aus PE/DCM kristallisiert. **Ausbeute:** 37%. Alternativ wurde die Synthese nach AV14C ausgehend von *N*-Ethylpiperazin durchgeführt. **Ausbeute:** 78%. R_f = 0.59 (DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 95:4:1). $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz): δ 11.86 (s, 1H, Indol-NH), 10.57 (s, 1H, br, OH), 9.60 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.01 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.10 (s, 1H, CH_{Ar, F}), 8.01 (s, 1H, CH_{Ar, G}), 7.76 (d, J = 9.1 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.73 (s, 1H, CH_{Ar, A}), 7.51 (d, J = 8.5 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.26 (d, J = 8.7 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.85 (d, J = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.53 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.01 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 2.91-2.01 (m, 8H, 4*CH₂, *N*-Et-Piperazin), 2.33 (q, J = 7.1 Hz, 2H, N-CH₂-CH₃), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃), 0.98 (t, J = 7.1 Hz, 3H, N-CH₂-CH₃). $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$, 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 173.1 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 152.8 (C_{Ar}), 151.6 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 150.9 (C_{Ar}), 135.3 (C_{Ar}), 133.6 (C_{Ar}), 133.1 (C_{Ar}), 127.5 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 120.7 (+, CH_{Ar, E}), 118.1 (+, CH_{Ar, B}), 114.4 (+, CH_{Ar, G}), 112.5 (+, CH_{Ar, C}), 112.2 (+, CH_{Ar, D}), 112.0 (+, CH_{Ar, F}), 111.5 (C_{Ar}), 108.6 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 56.0 (-, Ar-CH₂-N), 52.4 (-, CH₂), 52.3 (-, CH₂), 51.5 (-, CH₂), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, 3*CH₃), 12.0 (+, CH₂-CH₃). **HRMS** (ESI): m/z [$M + H$]⁺ berechnet: für $\text{C}_{32}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_5^+$: 585.2820, gefunden: 585.2827. **Smp.:** Zersetzung ab 201 °C. **IR (KBr):** 3206, 2972, 2813, 1695, 1613, 1554, 1213, 1147 cm^{-1} . **RP-HPLC:** >98%, (t_R = 12.18 min). Zusätzliche Reinigung des Produkts wurde durch präp. HPLC erreicht. Dabei wurde das zweifache TFA-Salz

152b der entspr. Verbindung isoliert. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 12.04 (s, 1H), 9.77 (s, 1H), 9.39 (s, 1H), 8.13 (d, J = 2.1 Hz, 2H), 7.88 (s, 1H), 7.77 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.52 (dd, J = 9.0, 2.2 Hz, 1H), 7.44 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.07 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 6.53 (s, 1H), 4.45 (s, 2H), 3.50-3.00 (m, 10H), 1.30 (s, 9H), 1.19 (t, J = 7.7 Hz, 3H). $^{19}\text{F-NMR}$ (Methanol- d_4 , 377 MHz) δ -75.3. $\text{C}_{36}\text{H}_{38}\text{F}_6\text{N}_6\text{O}_9$ [812.72].

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-3-((4-isopropylpiperazin-1-yl)methyl)-1H-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (153a)

$\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{N}_6\text{O}_5$ (M = 598.70 g/mol)

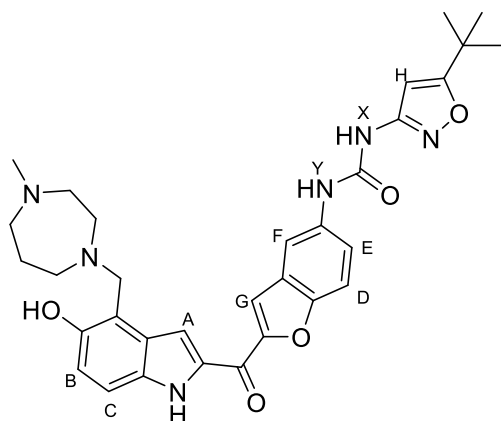


Die Synthese wurde ausgehend von *N*-Isopropylpiperazin 2,2,2-Bistrifluoracetat **141** und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO_2 , DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 99:0.9:0.1 oder DCM/MeOH 95:5) gereinigt und **153a** als gelb-oranger Feststoff isoliert. Bei Bedarf wurde das Produkt aus PE/DCM kristallisiert. **Ausbeute:** 66%. Alternativ wurde die Synthese nach AV14C ausgehend von *N*-Isopropylpiperazin durchgeführt. **Ausbeute:** 86%. R_f = 0.72 (DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 95:4:1). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 11.86 (s, 1H, Indol-NH), 10.48 (s, 1H, br, OH), 9.61 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.03 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.10 (d, J = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 8.01 (s, 1H, CH_{Ar, G}), 7.76 (d, J = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.73 (s, 1H, CH_{Ar, A}), 7.51 (dd, J = 9.0, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.27 (d, J = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.86 (d, J = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.53 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.01 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 2.89-2.52 (m, 9H, 4*CH₂, *N*-lpr-Piperazin + N-CH(CH₃)₂), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃), 0.98 (t, J = 6.4 Hz, 6H, N-CH(CH₃)₂). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 173.1 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 152.7 (C_{Ar}), 151.6 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 150.9 (C_{Ar}), 135.3 (C_{Ar}), 133.6 (C_{Ar}), 133.1 (C_{Ar}), 127.6 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 120.7 (+, CH_{Ar, E}), 118.1 (+, CH_{Ar, B}), 114.5 (+, CH_{Ar, G}), 112.5 (+, CH_{Ar, C}), 112.3 (+, CH_{Ar, D}), 112.0 (+, CH_{Ar, F}), 111.4 (C_{Ar}), 108.6 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 55.7 (-, Ar-CH₂-N), 53.9 (+, N-CH(CH₃)₂), 52.4 (-, CH₂), 48.0 (-, CH₂), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, 3*CH₃), 18.0 (+, 2*CH₃). **HRMS** (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für $\text{C}_{33}\text{H}_{39}\text{N}_6\text{O}_5^+$: 599.2976, gefunden: 599.2980. **Smp.:** Zersetzung ab 208 °C. **IR (KBr):** 3176, 2966, 2816, 1696, 1609, 1557, 1205, 1103 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >95%, (t_R =

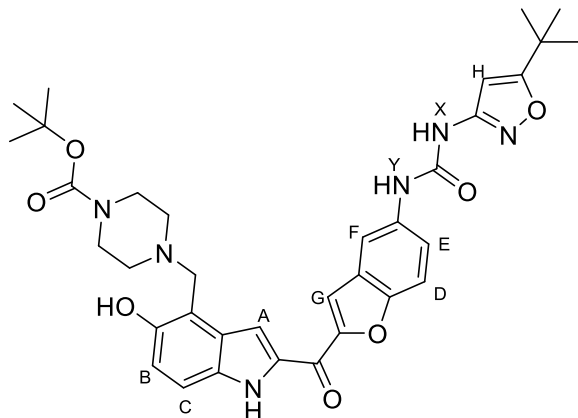
12.54 min). Zusätzliche Reinigung des Produkts wurde durch präp. HPLC erreicht. Dabei wurde das zweifache TFA-Salz **153b** der entspr. Verbindung isoliert. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 12.07 (s, 1H), 9.80 (s, 1H), 9.64 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.13 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.78 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.55-7.42 (m, 2H), 7.11 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.54 (s, 1H), 4.58 (s, 2H), 3.85-3.45 (m, 9H), 1.30 (s, 9H), 1.24 (d, *J* = 6.4 Hz, 6H). **¹⁹F-NMR** (Methanol-*d*₄, 377 MHz) δ -75.3. C₃₇H₄₀F₆N₆O₉ [826.75].

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-3-((4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)methyl)-1H-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (154)

C₃₂H₃₆N₆O₅ (M = 584.68 g/mol)



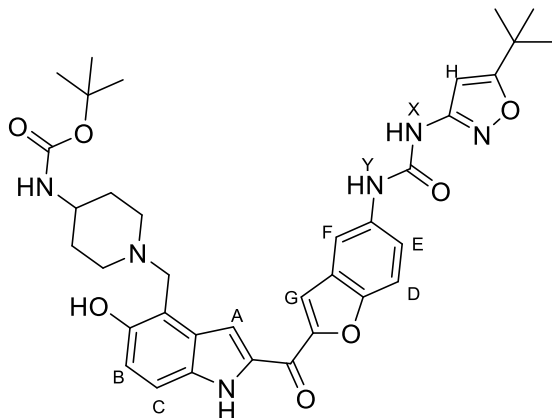
Die Synthese wurde ausgehend von 1-Methyl-1,4-diazepan und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1 oder DCM/MeOH 95:5) gereinigt und **154** als gelb-oranger Feststoff isoliert. Bei Bedarf wurde das Produkt aus PE/DCM kristallisiert. **Ausbeute:** 23%. Alternativ wurde die Synthese nach AV14C durchgeführt. **Ausbeute:** 64%. **R_f** = 0.29 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.85 (s, 1H, Indol-NH), 9.66 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.11 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.09 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 8.01 (s, 1H, CH_{Ar, G}), 7.76 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.73 (s, 1H, CH_{Ar, A}), 7.52 (dd, *J* = 9.0, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.27 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.85 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.53 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.11 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 2.86-2.75 (m, 4H, 2*CH₂), 2.65-2.56 (m, 4H, 2*CH₂), 2.27 (s, 3H, CH₃), 1.85-1.76 (m, 2H, CH₂), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 180.1 (C=O), 173.0 (C=O), 158.5 (C_{Ar}), 152.8 (C_{Ar}), 151.7 (C_{Ar}), 151.4 (C_{Ar}), 151.2 (C_{Ar}), 135.4 (C_{Ar}), 133.6 (C_{Ar}), 133.1 (C_{Ar}), 127.4 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 120.6 (+, CH_{Ar, E}), 118.2 (+, CH_{Ar, B}), 114.5 (+, CH_{Ar, G}), 112.5 (+, CH_{Ar, C}), 112.3 (+, CH_{Ar, D}), 112.1 (+, CH_{Ar, F}), 111.9 (C_{Ar}), 108.5 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 56.7 (-, Ar-CH₂-N), 56.6 (-, CH₂, Aliph), 56.0 (-, CH₂, Aliph), 54.1 (-, CH₂, Aliph), 53.6 (-, CH₂, Aliph), 46.5 (+, N-CH₃, Homopiperazin), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, 3*CH₃), 26.5 (-, CH₂, Aliph). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₂H₃₇N₆O₅⁺: 585.2820, gefunden: 585.2833. **Smp.:** Zersetzung ab 197 °C. **IR (KBr):** 3339, 2978, 1701, 1621, 1471, 1227, 1144 cm⁻¹.

tert-Butyl 4-((2-(5-(3-(5-(tert-butyl)isoxazol-3-yl)harnstoff)benzofuran-2-carbonyl)-5-hydroxy-1H-indol-3-yl)methyl)piperazin-1-carboxylat (155)**C₃₅H₄₀N₆O₇ (M = 656.74 g/mol)**

Die Synthese wurde ausgehend von *N*-Boc-Piperazin **137** und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1 oder DCM/MeOH 95:5) gereinigt und **155** als gelb-oranger Feststoff isoliert. Bei Bedarf wurde das Produkt aus PE/DCM kristallisiert. **Ausbeute:** 80%. Alternativ wurde die Synthese nach AV14C durchgeführt. **Ausbeute:** 59%. **R_f** = 0.73 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.83 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H, Indol-NH), 9.91 (s, 1H, br, OH), 9.55 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 8.97 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.09 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 7.97 (s, 1H, CH_{Ar, G}), 7.80-7.69 (m, 2H, CH_{Ar, A+D}), 7.49 (dd, *J* = 9.0, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.27 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.89 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.51 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 3.97 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.45-3.30 (m, 4H, 2*CH₂, *N*-Boc-Piperazin), 2.65-2.48 (m, 4H, 2*CH₂, *N*-Boc-Piperazin), 1.38 (s, 9H, 3*CH₃, *N*-Boc-Piperazin), 1.29 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 173.1 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 153.8 (C=O), 152.8 (C_{Ar}), 151.6 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 150.5 (C_{Ar}), 135.3 (C_{Ar}), 133.7 (C_{Ar}), 133.2 (C_{Ar}), 127.9 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 120.7 (+, CH_{Ar, E}), 118.1 (+, CH_{Ar, B}), 114.4 (+, CH_{Ar, G}), 112.5 (+, CH_{Ar, C}), 112.4 (+, CH_{Ar, D}), 112.1 (+, CH_{Ar, F}), 112.0 (C_{Ar}), 109.0 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 78.9 (C(CH₃)₃, *N*-Boc-Piperazin), 55.2 (-, Ar-CH₂-N), 52.2 (-, 2*CH₂, *N*-Me-Piperazin), 42.9 (-, 2*CH₂, *N*-Boc-Piperazin), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, 3*CH₃), 28.0 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₅H₄₁N₆O₇⁺: 657.3031, gefunden: 657.3037. **Smp.:** Zersetzung ab 218 °C. **IR (KBr):** 3305, 2972, 1700, 1606, 1545, 1472, 1213, 1146 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >96%, (t_R = 15.68 min).

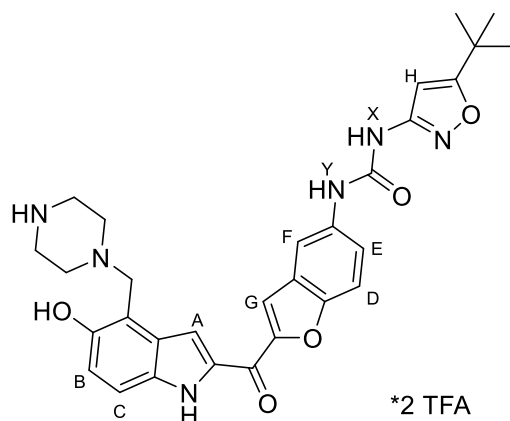
***tert*-Butyl (1-((2-(5-(3-(5-(*tert*-butyl)isoxazol-3-yl)harnstoff)benzofuran-2-carbonyl)-5-hydroxy-1*H*-indol-4-yl)methyl)piperidin-4-yl)carbamate (**156**)**

C₃₆H₄₂N₆O₇ (M = 670.77 g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von *tert*-Butyl piperidin-4-ylcarbamate **146** und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1 oder DCM/MeOH 95:5) gereinigt und **156** als gelb-oranger Feststoff isoliert. Bei Bedarf wurde das Produkt aus PE/DCM kristallisiert. **Ausbeute:** 27%. Alternativ wurde die Synthese nach AV14C durchgeführt. **Ausbeute:** 0%. **R_f** = 0.19 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.88 (s, 1H, Indol-NH), 10.71 (s, 1H, br, OH), 9.63 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.06 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.10 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 8.01 (s, 1H, CH_{Ar, G}), 7.77 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.71 (s, 1H, CH_{Ar, A}), 7.51 (dd, *J* = 9.0, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.28 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.87 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.53 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.04 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.69-3.48 (m, 1H, CH), 2.98 (d, *J* = 11.3 Hz, 2H, CH₂), 2.39-2.21 (m, 2H, CH₂), 1.84-1.72 (m, 2H, CH₂), 1.54-1.41 (m, 2H, CH₂), 1.37 (s, 9H, 3*CH₃, *N*-Boc-Amin), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 173.0 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 154.9 (C=O), 152.7 (C_{Ar}), 151.6 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 151.1 (C_{Ar}), 135.3 (C_{Ar}), 133.6 (C_{Ar}), 133.1 (C_{Ar}), 127.5 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 120.7 (+, CH_{Ar, E}), 118.1 (+, CH_{Ar, B}), 114.4 (+, CH_{Ar, G}), 112.5 (+, CH_{Ar, C}), 112.2 (+, CH_{Ar, D}), 112.0 (+, CH_{Ar, F}), 111.5 (C_{Ar}), 108.4 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 77.5 (C(CH₃)₃, *N*-Boc-Amin), 56.1 (-, Ar-CH₂-N), 51.7 (-, 2*CH₂), 32.5 (C(CH₃)₃), 31.8 (-, 2*CH₂), 28.4 (+, 3*CH₃), 28.3 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): berechnet: für C₃₆H₄₃N₆O₇⁺: 671.3188, gefunden: 671.3206. **Smp.:** Zersetzung ab 202 °C. **IR (KBr):** 3351, 2976, 1704, 1604, 1508, 1366, 1226, 1161 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >99%, (t_R = 15.31 min).

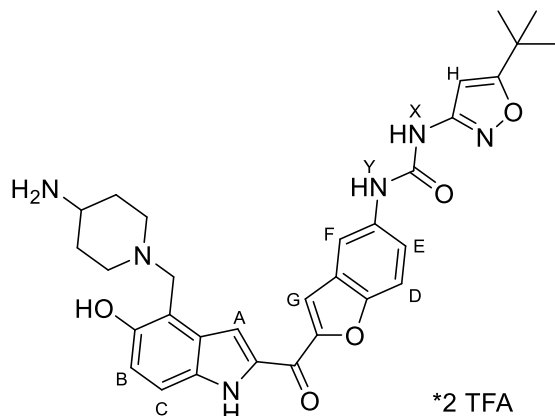
5.9.3. Kopfgruppe a – Boc-Entschützungs-Reaktionen

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-3-(piperazin-1-ylmethyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff Bis(2,2,2-Trifluoracetat) (**158**) $C_{34}H_{34}F_6N_6O_9$ ($M = 784.67$ g/mol)

Die Synthese wurde ausgehend von **155** nach AV6 durchgeführt. Nach Entfernen des Lösemittels und der überschüssigen TFA wurde **158** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** quantitativ. $R_f = 0.64$ (DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 90:9:1). **1H -NMR** (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 12.07 (s, 1H, Indol-NH), 11.28 (br s, 1H, NH^+), 10.04 (s, 1H, br, OH), 9.78 (s, 1H, Harnstoff- NH_X), 9.58 (s, 1H, Harnstoff- NH_Y), 9.31 (br s, 1H, NH_2^+), 8.11 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H, $CH_{Ar, F}$), 8.00 (s, 1H, $CH_{Ar, G}$), 7.82-7.74 (m, 2H, $CH_{Ar, A+D}$), 7.54 (dd, $J = 9.0, 2.2$ Hz, 1H, $CH_{Ar, E}$), 7.29 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, $CH_{Ar, C}$), 6.96 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, $CH_{Ar, B}$), 6.54 (s, 1H, $CH_{Ar, H}$), 3.97 (s, 2H, Ar- CH_2 -N), 3.12-3.02 (m, 4H, 2* CH_2 , Piperazin), 2.78-2.63 (m, 4H, 2* CH_2 , Piperazin), 1.30 (s, 9H, 3* CH_3). **^{13}C -NMR** (DMSO- d_6 , 101 MHz): δ 180.1 (C=O), 173.3 (C=O), 158.5 (C_{Ar}), 152.3 (C_{Ar}), 151.8 (C_{Ar}), 151.8 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 135.6 (C_{Ar}), 134.5 (C_{Ar}), 132.9 (C_{Ar}), 129.1 (C_{Ar}), 127.2 (C_{Ar}), 120.9 (+, $CH_{Ar, E}$), 117.4 (+, $CH_{Ar, B}$), 115.8 (+, $CH_{Ar, G}$), 115.0 (+, $CH_{Ar, C}$), 112.6 (+, $CH_{Ar, D}$), 111.9 (+, $CH_{Ar, F}$), 109.5 (C_{Ar}), 108.6 (+, $CH_{Ar, A}$), 92.6 (+, $CH_{Ar, H}$), 51.7 (-, Ar- CH_2 -N), 47.9 (-, CH_2), 40.5 (-, CH_2), 32.5 ($C(CH_3)_3$), 28.4 (+, 3* CH_3). **^{19}F -NMR** (DMSO- d_6 , 377 MHz) δ -73.4. **HRMS** (ESI): berechnet: für $C_{30}H_{33}N_6O_5^+$: 557.2507, gefunden: 557.2508. **Smp.:** 196 °C. **IR** (KBr): 3339, 3006, 2704, 1701, 1675, 1564, 1403, 1196 cm^{-1} . **RP-HPLC:** >99%, ($t_R = 11.88$ min).

1-(2-(4-((4-Aminopiperidin-1-yl)methyl)-5-hydroxy-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)-3-(5-(*tert*-butyl)isoxazol-3-yl)harnstoff Bis(2,2,2-Trifluoracetat) (159)

C₃₅H₃₆F₆N₆O₉ (*M* = 798.70 g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von **156** nach AV6 durchgeführt. Nach Entfernen des Lösemittels und der überschüssigen TFA wurde **159** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** quantitativ. **R_f** = 0.10 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 90:9:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 12.09 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, Indol-NH), 10.00 (br s, 1H), 9.81 (br s, 1H), 9.67 (s, 1H), 9.31 (s, 1H), 8.23-8.06 (m, 4H), 8.06 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.85 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.76 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.54 (dd, *J* = 9.0, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.50 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.12 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar}), 4.57 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.62 (d, *J* = 12.2 Hz, 2H, CH₂), 3.31-3.13 (m, 3H, CH+CH₂), 2.09 (d, *J* = 13.4 Hz, 2H, CH₂), 1.87-1.72 (m, 2H, CH₂), 1.31 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.1 (C=O), 173.3 (C=O), 158.5 (C_{Ar}), 152.2 (C_{Ar}), 151.8 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 150.0 (C_{Ar}), 135.6 (C_{Ar}), 134.4 (C_{Ar}), 132.9 (C_{Ar}), 129.1 (C_{Ar}), 127.2 (C_{Ar}), 120.9 (+, CH_{Ar}, E), 117.4 (+, CH_{Ar}, B), 115.8 (+, CH_{Ar}, G), 115.0 (+, CH_{Ar}, C), 113.1 (+, CH_{Ar}, D), 112.5 (+, CH_{Ar}, F), 111.9 (C_{Ar}), 108.7 (+, CH_{Ar}, A), 92.6 (+, CH_{Ar}, H), 51.8 (-, Ar-CH₂-N), 50.2 (-, CH₂), 45.0 (+, CH), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, 3*CH₃), 27.2 (-, CH₂). **¹⁹F-NMR** (Methanol-*d*₄, 377 MHz): δ -73.6. **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₁H₃₅N₆O₅⁺: 571.2663, gefunden: 571.2673. **IR (KBr)**: 3116, 1675, 1545, 1202 cm⁻¹. **RP-HPLC**: >99%, (*t_R* = 11.44 min).

5.9.4. Kopfgruppe a – Synthese der Hydrochloride

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-4-(morpholinmethyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff Hydrochlorid (147c)

C₃₀H₃₂ClN₅O₆ (*M* = 594.07 g/mol)

Die Synthese wurde ausgehend von **147a** nach AV10 durchgeführt. Ein gelb-oranger Feststoff wurde isoliert. Bei Bedarf wurde eine weitere Reinigung durch Auskochen in EA vorgenommen.

Ausbeute: quantitativ. **¹H-NMR** (Methanol-*d*₄, 300 MHz) δ 8.05 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.91

(s, 1H), 7.70 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.53 (dd, $J = 9.0, 2.5$ Hz, 2H), 7.08 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 6.37 (s, 1H), 4.75 (s, 2H), 4.16-3.97 (m, 2H), 3.90-3.71 (m, 2H), 3.61-3.36 (m, 4H), 1.36 (s, 9H). **HRMS** (ESI): m/z $[M + H]^+$ berechnet: für $C_{30}H_{32}N_5O_6^+$: 558.2347, gefunden: 558.2357.

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-4-(piperidin-1-ylmethyl)-1H-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff Hydrochlorid (148c)

$C_{31}H_{34}ClN_5O_5$ ($M = 592.09$ g/mol)

Die Synthese wurde ausgehend von **148a** nach AV10 durchgeführt. Ein gelb-oranger Feststoff wurde isoliert. Bei Bedarf wurde eine weitere Reinigung durch Auskochen in EA vorgenommen. **Ausbeute:** quantitativ. **1H -NMR** (Methanol- d_4 , 400 MHz) δ 8.04 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.69 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.57-7.47 (m, 2H), 7.07 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 6.37 (s, 1H), 4.66 (s, 2H), 3.60 (d, $J = 12.0$ Hz, 2H), 3.17 (t, $J = 11.8$ Hz, 2H), 2.02-1.52 (m, 6H), 1.35 (s, 9H). **HRMS** (ESI): m/z $[M + H]^+$ berechnet: für $C_{31}H_{34}N_5O_5^+$: 556.2554, gefunden: 556.2565.

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-4-(pyrrolidin-1-ylmethyl)-1H-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff Hydrochlorid (149c)

$C_{30}H_{32}ClN_5O_5$ ($M = 578.07$ g/mol)

Die Synthese wurde ausgehend von **149a** nach AV10 durchgeführt. Ein gelb-oranger Feststoff wurde isoliert. Bei Bedarf wurde eine weitere Reinigung durch Auskochen in EA vorgenommen. **Ausbeute:** quantitativ. **1H -NMR** (Methanol- d_4 , 400 MHz) δ 8.02 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.88 (s, 2H), 7.67 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.54-7.45 (m, 2H), 7.06 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 6.36 (s, 1H), 4.74 (s, 1H), 3.65-3.50 (m, 2H), 3.47-3.33 (m, 2H), 2.33-2.15 (m, 2H), 2.11-1.98 (m, 2H), 1.35 (s, 9H). **HRMS** (ESI): m/z $[M + H]^+$ berechnet: für $C_{30}H_{32}N_5O_5^+$: 542.2398, gefunden: 542.2406.

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(4-(dimethylamino)methyl)-5-hydroxy-1H-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff Hydrochlorid (150c)

$C_{28}H_{30}ClN_5O_5$ ($M = 552.03$ g/mol)

Die Synthese wurde ausgehend von **150a** nach AV10 durchgeführt. Ein gelb-oranger Feststoff wurde isoliert. Bei Bedarf wurde eine weitere Reinigung durch Auskochen in EA vorgenommen. **Ausbeute:** quantitativ. **RP-HPLC:** >99%, ($t_R = 13.63$ min). **1H -NMR** (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 12.09 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 10.00 (s, 1H), 9.78 (s, 1H), 9.67 (br s, 1H), 9.64 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 8.13 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.92 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.53 (dd, $J = 9.0, 2.1$ Hz, 1H), 7.48 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 6.54 (s, 1H), 4.58 (s, 2H), 2.83 (s, 6H), 1.30 (s, 9H). **HRMS** (ESI): m/z $[M + H]^+$ berechnet: für $C_{28}H_{30}N_5O_5^+$: 516.2241, gefunden: 516.2248. **Elementaranalyse**

(C₂₈H₃₀ClN₅O₅·1.5 H₂O): berechnet: C 58.08, H 5.74, N 12.09; gefunden: C 58.13, H 5.77, N 11.98.

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-4-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff Dihydrochlorid (151c)

C₂₈H₃₀ClN₅O₅ (M = 552.03 g/mol)

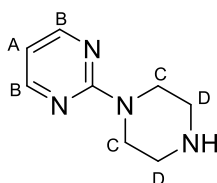
Die Synthese wurde ausgehend von **151a** nach AV10 durchgeführt. Ein gelb-oranger Feststoff wurde isoliert. Bei Bedarf wurde eine weitere Reinigung durch Auskochen in EA vorgenommen.

Ausbeute: quantitativ. **RP-HPLC:** >99%, (t_R = 12.29 min). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 12.08 (s, 1H), 11.57 (s, 1H), 9.82 (s, 1H), 9.80 (s, 1H), 8.38 (s, 1H), 8.13 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.78 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.51 (dd, *J* = 9.0, 2.1 Hz, 1H), 7.49 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.14 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 6.55 (s, 1H), 4.63 (s, 2H), 3.92-3.61 (m, 4H), 3.59-3.46 (m, 4H), 2.80 (s, 3H), 1.30 (s, 9H). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₁H₃₅N₆O₅⁺: 571.2663, gefunden: 578.2668.

5.9.5. Kopfgruppe b

2-(Piperazin-1-yl)pyrimidin (161)

C₈H₁₂N₄ (M = 164.21 g/mol)

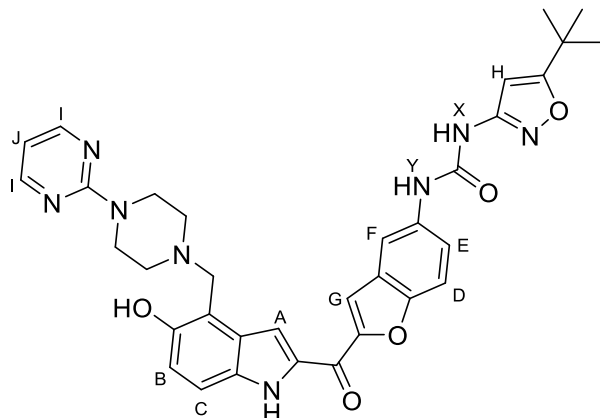


Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁴⁴⁶ Zu einer Lösung von Piperazin **136** (2.5 eq.) in Wasser (5 mL/g Startmaterial) wurde bei 60 °C 2-Chlorpyrimidin **160** (1.0 eq.) portionsweise zugegeben und die Reaktionsmischung über Nacht bei dieser Temperatur gerührt. Nach Reaktionsende wurde NaHCO₃-Lösung (gesättigt in Wasser) zugegeben und das Produkt dreimal mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Dabei wurde ein weißer Feststoff als Produkt isoliert.

Ausbeute: 82%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 8.31 (d, *J* = 4.7 Hz, 2H, CH_{Ar, B}), 6.54 (t, *J* = 4.7 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 3.67-3.60 (m, 4H, CH_{2, C}), 2.75-2.66 (m, 4H, CH_{2, D}), 2.40 (s, 1H, NH). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 161.3 (C_{Ar}), 157.7 (+, CH_{Ar}), 109.6 (+, CH_{Ar}), 45.5 (-, CH₂), 44.5 (-, CH₂).

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-4-((4-(pyrimidin-2-yl)piperazin-1-yl)methyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (162)

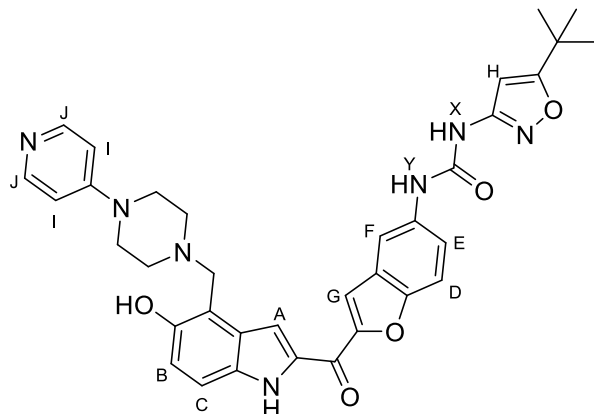
C₃₄H₃₄N₈O₅ (M = 634.70 g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von 2-(Piperazin-1-yl)pyrimidin **161** und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1 oder DCM/MeOH 95:5) gereinigt und **162** als gelb-oranger Feststoff isoliert. Bei Bedarf wurde das Produkt aus PE/DCM kristallisiert. **Ausbeute:** 29%. Alternativ wurde die Synthese nach 14C durchgeführt. **Ausbeute:** 63%. **R_f** = 0.31 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.87 (s, 1H, Indol-NH), 10.12 (s, 1H, br, OH), 9.58 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.04 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.36 (d, *J* = 4.7 Hz, 2H, CH_{Ar, I}), 8.09 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 8.00 (s, 1H, CH_{Ar, G}), 7.77 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 7.73 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.48 (dd, *J* = 9.0, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.29 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.91 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.63 (t, *J* = 4.7 Hz, 1H, CH_{Ar, J}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.04 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.85-3.74 (m, 4H, 2*CH₂, Piperazin), 2.68-2.58 (m, 4H, 2*CH₂, Piperazin), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 173.1 (C=O), 161.1 (C_{Ar}), 158.4 (C_{Ar}), 157.9 (+, CH_{Ar, I}), 152.8 (C_{Ar}), 151.6 (C_{Ar}), 151.2 (C_{Ar}), 150.6 (C_{Ar}), 135.3 (C_{Ar}), 133.6 (C_{Ar}), 133.2 (C_{Ar}), 127.8 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 120.6 (+, CH_{Ar, E}), 115.7 (+, CH_{Ar, B}), 114.4 (+, CH_{Ar, G}), 112.4 (+, CH_{Ar, C}), 112.4 (+, CH_{Ar, D}), 112.0 (+, CH_{Ar, F}), 111.8 (C_{Ar}), 108.9 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 55.6 (-, Ar-CH₂-N), 52.2 (-, CH₂), 43.4 (-, CH₂), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₄H₃₅N₈O₅⁺: 635.2725, gefunden: 635.2733. **Smp.:** Zersetzung ab 239 °C. **IR** (KBr): 3284, 2927, 1689, 1587, 1549, 1216, 1150 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >97%, (t_R = 14.68 min).

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-4-((4-(pyridin-4-yl)piperazin-1-yl)methyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (163)

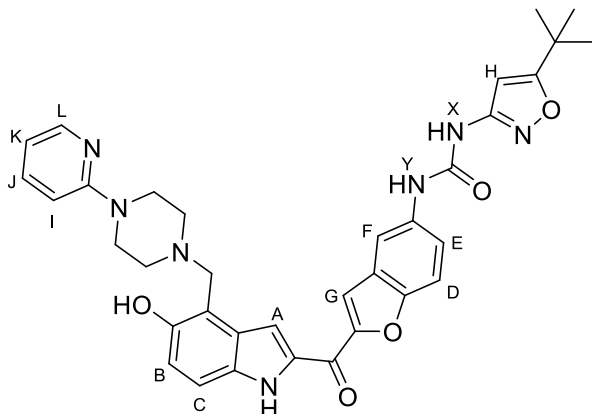
C₃₅H₃₅N₇O₅ (M = 633.71 g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von 1-(Pyridin-4-yl)piperazin und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) gereinigt und **163** als gelb-oranger Feststoff isoliert. Bei Bedarf wurde das Produkt aus PE/DCM kristallisiert. **Ausbeute:** 65%. **R_f** = 0.58 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.86 (s, 1H, Indol-NH), 10.01 (s, 1H, br, OH), 9.58 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.01 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.16 (s, 2H, br, CH_{Ar, J}), 8.09 (s, 1H, br, CH_{Ar, F}), 8.00 (s, 1H, br, CH_{Ar, G}), 7.79 (s, 1H, br, CH_{Ar, A}), 7.71 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.47 (d, *J* = 9.0, 1H, CH_{Ar, E}), 7.29 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.92 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.82 (s, 1H, br, CH_{Ar, I}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.03 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.43-3.29 (m, 4H, 2*CH₂, Piperazin), 2.71-2.62 (m, 4H, 2*CH₂, Piperazin), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 173.1 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 154.4 (C_{Ar}), 152.8 (C_{Ar}), 151.6 (C_{Ar}), 151.2 (C_{Ar}), 150.5 (C_{Ar}), 149.7 (+, CH_{Ar, J}), 135.3 (C_{Ar}), 133.6 (C_{Ar}), 133.2 (C_{Ar}), 127.9 (C_{Ar}), 127.2 (C_{Ar}), 120.6 (+, CH_{Ar, E}), 118.1 (+, CH_{Ar, B}), 114.4 (+, CH_{Ar, G}), 112.4 (+, CH_{Ar, C}), 112.4 (+, CH_{Ar, D}), 112.0 (+, CH_{Ar, F}), 111.9 (C_{Ar}), 108.4 (+, CH_{Ar, I}), 109.1 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 55.2 (-, Ar-CH₂-N), 51.8 (-, CH₂, Piperazin), 45.6 (-, CH₂, Piperazin), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₄H₃₅N₈O₅⁺: 634.2772, gefunden: 634.2784. **Smp.:** Zersetzung ab 221 °C. **IR (KBr):** 3288, 2967, 1719, 1602, 1552, 1213, 1149 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >99%, (t_R = 11.61 min).

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-4-((4-(pyridin-4-yl)piperazin-1-yl)methyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (164)

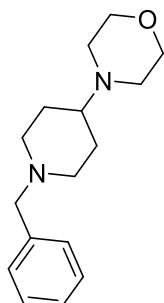
C₃₅H₃₅N₇O₅ (*M* = 633.71 g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von 1-(Pyridin-4-yl)piperazin und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) gereinigt und **164** als gelb-oranger Feststoff isoliert. Bei Bedarf wurde das Produkt aus PE/DCM kristallisiert. **Ausbeute:** 76%. **R_f** = 0.65 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.87 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, Indol-NH), 10.27 (s, 1H, br, OH), 9.56 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 8.97 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.11 (dd, *J* = 5.1, 1.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 8.08 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 8.00 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 7.79 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 7.72 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.53 (ddd, *J* = 8.9, 7.1, 2.0 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.47 (dd, *J* = 9.0, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.29 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.90 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.84 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.64 (dd, *J* = 7.1, 4.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.05 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.60-3.50 (m, 4H, 2*CH₂, Piperazin), 2.70-2.62 (m, 4H, 2*CH₂, Piperazin), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 173.1 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 152.8 (C_{Ar}), 151.6 (C_{Ar}), 151.2 (C_{Ar}), 150.7 (C_{Ar}), 147.6, 137.6, 135.2 (C_{Ar}), 133.6 (C_{Ar}), 133.2 (C_{Ar}), 127.8 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 120.7 (+, CH_{Ar, E}), 118.2 (+, CH_{Ar, B}), 114.4 (+, CH_{Ar, G}), 113.1, 112.4 (+, CH_{Ar, C}), 112.3 (+, CH_{Ar, D}), 112.0 (+, CH_{Ar, F}), 111.8 (C_{Ar}), 108.9, 107.2 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 55.7 (-, Ar-CH₂-N), 52.1 (-, CH₂, Piperazin), 44.8 (-, CH₂, Piperazin), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₄H₃₅N₈O₅⁺: 634.2772, gefunden: 634.2783. **Smp.:** Zersetzung ab 226 °C. **IR (KBr):** 3284, 3169, 2966, 1689, 1594, 1550, 1340, 1219 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >99%, (*t_R* = 12.60 min).

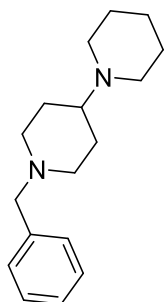
5.9.6. Kopfgruppe c

4-(1-Benzylpiperidin-4-yl)morpholin (165)

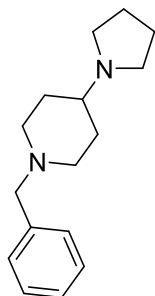
 $C_{16}H_{24}N_2O$ ($M = 260.38$ g/mol)

Die Synthese wurde ausgehend von **142** und Morpholin nach AV23 durchgeführt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet. Ein kleiner Teil wurde zu Analysezwecken isoliert. 1H -NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ 7.37-7.18 (m, 5H, 5* CH_{Ar}), 3.74-3.68 (m, 4H, 2* CH_2 , Morpholin), 3.49 (s, 2H, CH_2 , Benzyl), 2.98-2.88 (m, 2H, CH_2 , Piperidin), 2.56-2.52 (m, 4H, 2* CH_2 , Morpholin), 2.25-2.13 (m, 1H, $CH_{Piperidin}$), 2.02-1.91 (m, 2H, CH_2 , Piperidin), 1.83-1.72 (m, 2H, CH_2 , Piperidin), 1.67-1.44 (m, 2H, CH_2 , Piperidin).

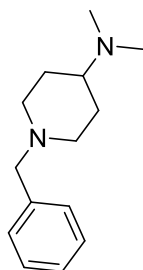
1'-Benzyl-1,4'-bipiperidin (166)

 $C_{17}H_{26}N_2$ ($M = 258.41$ g/mol)

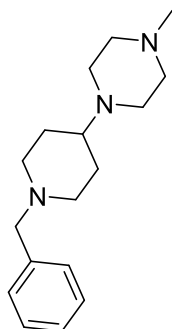
Die Synthese wurde ausgehend von **142** und Piperidin nach AV23 durchgeführt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet. Ein kleiner Teil wurde zu Analysezwecken isoliert. 1H -NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ 7.37-7.18 (m, 5H, 5* CH_{Ar}), 3.48 (s, 2H, CH_2 , Benzyl), 2.98-2.90 (m, 2H, CH_2 , Piperidin), 2.51 (t, $J = 5.3$ Hz, 4H, 2* CH_2 , Piperidin), 2.28 (tt, $J = 11.6, 3.8$ Hz, 1H, $CH_{Piperidin}$), 1.95 (td, $J = 11.8, 2.3$ Hz, 2H, CH_2 , Piperidin), 1.76 (dt, $J = 13.1, 2.8$ Hz, 2H, CH_2 , Piperidin), 1.63-1.54 (m, 6H, 3* CH_2 , Piperidin), 1.43 (q, $J = 6.1$ Hz, 2H, CH_2 , Piperidin).

1-Benzyl-4-(pyrrolidin-1-yl)piperidin (167)**C₁₆H₂₄N₂ (M = 244.38 g/mol)**

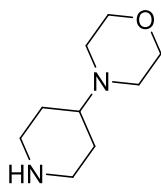
Die Synthese wurde ausgehend von **142** und Pyrrolidin nach AV23 durchgeführt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet. Ein kleiner Teil wurde zu Analysezwecken isoliert. **¹H-NMR** (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.38-7.17 (m, 5H, 5*CH_{Ar}), 3.49 (s, 2H, CH₂, Benzyl), 2.92-2.81 (m, 2H, CH₂, Piperidin), 2.60-2.50 (m, 4H, 2*CH₂, Pyrrolidin), 2.05-1.93 (m, 3H, CH₂, Piperidin + CH_{Piperidin}), 1.89-1.80 (m, 2H, CH₂, Piperidin), 1.80-1.69 (m, 4H, 2*CH₂, Pyrrolidin), 1.65-1.49 (m, 2H, CH₂, Piperidin).

1-Benzyl-N,N-dimethylpiperidin-4-amin (168)**C₁₄H₂₂N₂ (M = 218.34 g/mol)**

Die Synthese wurde ausgehend von **142** und Dimethylamin (2 M in THF) nach AV23 durchgeführt. Nach Reinigung mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) wurde ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 78%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 7.36-7.18 (m, 5H, 5*CH_{Ar}), 3.41 (s, 2H, CH₂, Benzyl), 2.80 (dt, *J* = 11.2, 3.2 Hz, 2H, CH₂, Piperidin), 2.14 (s, 6H, 2*CH₃, Dimethylamin), 2.01 (tt, *J* = 11.1, 3.9 Hz, 1H, CH_{Piperidin}), 1.88 (td, *J* = 11.7, 2.4 Hz, 2H, CH₂, Piperidin), 1.68 (dt, *J* = 12.8, 2.7 Hz, 2H, CH₂, Piperidin), 1.35 (qd, *J* = 12.0, 3.8 Hz, 2H, CH₂, Piperidin). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 138.7 (C_{Ar}), 128.7 (+, CH_{Ar}), 128.1 (+, CH_{Ar}), 126.8 (+, CH_{Ar}), 62.2 (-, CH₂, Benzyl), 61.7 (+, CH_{Aliph}), 52.4 (-, CH₂, Aliph), 41.5 (+, 2*CH₃, Aliph), 28.1 (-, CH₂, Aliph). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₄H₂₃N₂⁺: 219.1856, gefunden: 219.1857.

1-(1-Benzylpiperidin-4-yl)-4-methylpiperazin (169)**C₁₇H₂₇N₃ (M = 273.42 g/mol)**

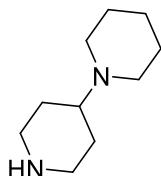
Die Synthese wurde ausgehend von **142** und *N*-Methyl-Piperazin nach AV23 durchgeführt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet. Ein kleiner Teil wurde zu Analysezwecken isoliert. ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.34-7.17 (m, 5H, 5*CH_{Ar}), 3.46 (s, 2H, CH₂, Benzyl), 2.96-2.87 (m, 2H, CH₂, Piperidin), 2.68-2.31 (m, 8H, 4*CH₂, *N*-Methyl-Piperazin), 2.25 (s, 3H, CH₃, *N*-Methyl-Piperazin), 2.30-2.18 (m, 1H, CH_{Piperidin}), 1.93 (td, *J* = 11.9, 2.2 Hz, 2H, CH₂, Piperidin), 1.82-1.70 (m, 2H, CH₂, Piperidin), 1.55 (qd, *J* = 12.1, 3.7 Hz, 2H, CH₂, Piperidin). ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 7.35-7.18 (m, 5H, 5*CH_{Ar}), 3.41 (s, 2H, CH₂, Benzyl), 2.84-2.76 (m, 2H, CH₂, Piperidin), 2.49-2.20 (m, 8H, 4*CH₂, *N*-Methyl-Piperazin), 2.11 (s, 3H, CH₃, *N*-Methyl-Piperazin), 2.18-2.05 (m, 1H, CH_{Piperidin}), 1.88 (td, *J* = 11.6, 1.8 Hz, 2H, CH₂, Piperidin), 1.68 (d, *J* = 11.9, 2H, CH₂, Piperidin), 1.36 (qd, *J* = 12.0, 3.7 Hz, 2H, CH₂, Piperidin). ¹H-NMR (Methanol-*d*₄, 300 MHz): δ 7.35-7.18 (m, 5H, 5*CH_{Ar}), 3.48 (s, 2H, CH₂, Benzyl), 2.93 (dt, *J* = 12.7, 3.0 Hz, 2H, CH₂, Piperidin), 2.80-2.32 (m, 8H, 4*CH₂, *N*-Methyl-Piperazin), 2.26 (s, 3H, CH₃, *N*-Methyl-Piperazin), 2.31-2.09 (m, 1H, CH_{Piperidin}), 1.98 (td, *J* = 12.1, 2.4 Hz, 2H, CH₂, Piperidin), 1.89-1.77 (m, 2H, CH₂, Piperidin), 1.52 (qd, *J* = 12.4, 3.5 Hz, 2H, CH₂, Piperidin). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 138.7 (C_{Ar}), 128.7 (CH_{Ar}), 128.1 (CH_{Ar}), 126.8 (CH_{Ar}), 62.2 (-, CH₂, Aliph), 61.2 (+, CH_{Aliph}), 55.2 (-, CH₂, Aliph), 52.6 (-, CH₂, Aliph), 48.6 (-, CH₂, Aliph), 45.8 (+, CH₃), 28.0 (-, CH₂, Aliph). ¹³C-NMR (Methanol-*d*₄, 300 MHz): δ 137.3 (C_{Ar}), 129.3 (CH_{Ar}), 128.0 (CH_{Ar}), 127.1 (CH_{Ar}), 62.6 (-, CH₂, Aliph), 61.6 (+, CH_{Aliph}), 54.5 (-, CH₂, Aliph), 52.5 (-, CH₂, Aliph), 48.4 (-, CH₂, Aliph), 44.7 (+, CH₃), 27.5 (-, CH₂, Aliph).

4-(Piperidin-4-yl)morpholin (170)**C₉H₁₈N₂O (M = 170.26 g/mol)**

Die Synthese wurde ausgehend von **165** nach AV7 durchgeführt. Das Lösemittel wurde entfernt und das Produkt wurde ohne Reinigung direkt weiterverwendet.

1,4'-Bipiperidin (171)

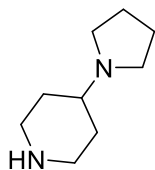
$\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{N}_2$ ($M = 168.28 \text{ g/mol}$)



Die Synthese wurde ausgehend von **166** nach AV7 durchgeführt. Das Lösemittel wurde entfernt und das Produkt wurde ohne Reinigung direkt weiterverwendet.

4-(Pyrrolidin-1-yl)piperidin (172)

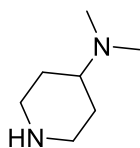
$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{N}_2$ ($M = 154.26 \text{ g/mol}$)



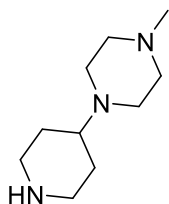
Die Synthese wurde ausgehend von **167** nach AV7 durchgeführt. Das Lösemittel wurde entfernt und das Produkt wurde ohne Reinigung direkt weiterverwendet.

N,N-Dimethylpiperidin-4-amin (173a)

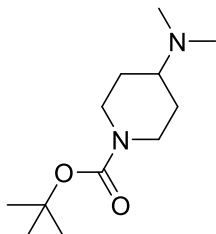
$\text{C}_7\text{H}_{16}\text{N}_2$ ($M = 128.22 \text{ g/mol}$)



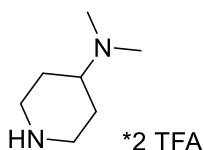
Die Synthese wurde ausgehend von **168** nach AV7 durchgeführt. Das Lösemittel wurde entfernt und das Produkt wurde ohne Reinigung direkt weiterverwendet.

1-Methyl-4-(piperidin-4-yl)piperazin (174)**C₁₀H₂₁N₃ (M = 183.30 g/mol)**

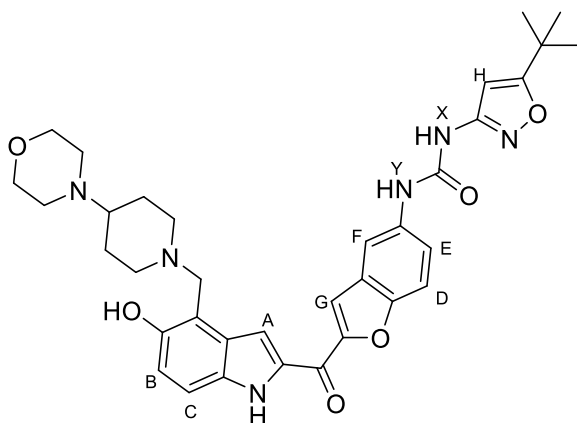
Die Synthese wurde ausgehend von **169** nach AV7 durchgeführt. Das Lösemittel wurde entfernt und das Produkt wurde ohne Reinigung direkt weiterverwendet. Ein kleiner Teil wurde zu Analysezwecken isoliert. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 3.02 (br s, 2H, CH₂, Aliph), 2.95-2.86 (m, 2H, CH₂, Aliph), 2.48-2.32 (m, 6H, 3*CH₂, Aliph), 2.27 (br s, 3H, NH + CH₂, Aliph), 2.22-2.13 (m, 1H, CH_{Aliph}), 2.12 (s, 3H, CH₃), 1.70-1.60 (m, 2H, CH₂, Aliph), 1.21 (qd, *J* = 12.0, 4.0 Hz, 2H, CH₂, Aliph). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 61.7 (+, CH_{Aliph}), 55.3 (-, CH₂, Aliph), 48.3 (-, CH₂, Aliph), 45.8 (+, CH₃), 45.7 (-, CH₂, Aliph), 29.3 (-, CH₂, Aliph).

tert-Butyl 4-(dimethylamino)piperidin-1-carboxylat (176)**C₁₂H₂₄N₂O₂ (M = 228.34 g/mol)**

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁴⁴⁸ Zu einer Lösung des Startmaterials **175** (1.0 eq.) in MeOH (30 mL/g Startmaterial) wurde Dimethylamin-Lösung (2 M in THF, 4.0 eq.) gegeben. Nach Zugabe von Natriumcyanoborhydrid (0.5 eq.) wurde die Reaktionsmischung über Nacht bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde Wasser zugegeben und das organische Lösemittel entfernt. Das Produkt wurde zweimal mit EA extrahiert, mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung verwendet. Ein kleiner Teil wurde zu analytischen Zwecken mit SC (SiO₂, DCM) gereinigt. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 3.91 (d, *J* = 13.1 Hz, 2H, CH₂, Piperidin), 2.70 (s, 2H, CH₂, Piperidin), 2.28-2.17 (m, 1H, CH_{Piperidin}), 2.15 (s, 6H, 2*CH₃, Dimethylamin), 1.74-1.64 (m, 2H, CH₂, Piperidin), 1.38 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.19 (qd, *J* = 12.1, 4.2 Hz, 2H, CH₂, Piperidin). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 153.8 (C=O), 78.5 (-, CH₂, Benzyl), 61.2 (+, CH_{Aliph}), 52.4 (-, CH₂, Aliph), 41.3 (+, 2*CH₃, Aliph), 28.1 (+, C(CH₃)₃), 27.9 (-, CH₂, Aliph). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₂H₂₅N₂O₂⁺: 229.1911, gefunden: 229.1913.

N,N*-Dimethylpiperidin-4-amin Bis(2,2,2-Trifluoracetat) (173b)*C₁₁H₁₈F₆N₂O₄ (M = 356.27 g/mol)**

Die Synthese wurde ausgehend von **175** nach AV6 durchgeführt. Lösemittel und überschüssige TFA wurden entfernt und das Produkt ohne Reinigung weiterverwendet. **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₇H₁₇N₂⁺: 129.1386, gefunden: 129.1385.

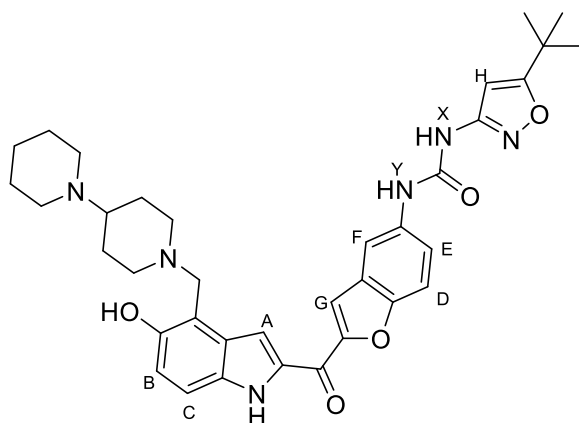
1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-3-((4-morpholinopiperidin-1-yl)methyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (177)**C₃₅H₄₀N₆O₆ (M = 640.74 g/mol)**

Die Synthese wurde ausgehend von 4-(Piperidin-4-yl)morpholin **170** und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) gereinigt und **177** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute**: 78%. **R_f** = 0.50 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.83 (s, 1H, Indol-NH), 9.57 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.00 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.09 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 7.99 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 7.79 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.76 (s, 1H, CH_{Ar, A}), 7.50 (dd, *J* = 9.0, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.26 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.86 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 3.99 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.56 (t, *J* = 4.6 Hz, 4H, 2*CH_{2, Aliph}), 3.01 (d, *J* = 11.2 Hz, 2H, CH_{2, Aliph}), 2.45 (t, *J* = 4.7 Hz, 4H, 2*CH_{2, Aliph}), 2.23-2.12 (m, 3H, CH_{Aliph} + CH_{2, Aliph}), 1.84 (d, *J* = 12.2 Hz, 2H, CH_{2, Aliph}), 1.52-1.39 (m, 2H, CH_{2, Aliph}), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 173.0 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 152.8 (C_{Ar}), 151.6 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 151.0 (C_{Ar}), 135.3 (C_{Ar}), 133.6 (C_{Ar}), 133.1 (C_{Ar}), 127.4 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 120.7 (+, CH_{Ar, E}), 118.2 (+, CH_{Ar, B}), 114.4 (+, CH_{Ar, G}), 112.5 (+, CH_{Ar, C}), 112.2 (+, CH_{Ar, D}), 112.0 (+, CH_{Ar, F}), 111.8 (C_{Ar}), 108.8 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 66.6 (-, CH_{2, Aliph}), 60.9 (+, CH_{Aliph}).

56.1 (-, Ar-CH₂-N), 52.1 (-, CH₂, Aliph), 49.5 (-, CH₂, Aliph), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, 3*CH₃), 28.1 (-, CH₂, Aliph). **HRMS** (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für C₃₅H₄₀N₆O₆⁺: 641.3082, gefunden: 641.3091. **Smp.**: Zersetzung ab 232 °C. **IR** (KBr): 3187, 2968, 1701, 1550, 1445, 1216 cm⁻¹. **RP-HPLC**: >99%, (t_R = 11.54 min).

1-(2-(3-([1,4'-Bipiperidin]-1'-ylmethyl)-5-hydroxy-1H-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)-3-(5-(tert-butyl)isoxazol-3-yl)harnstoff (178)

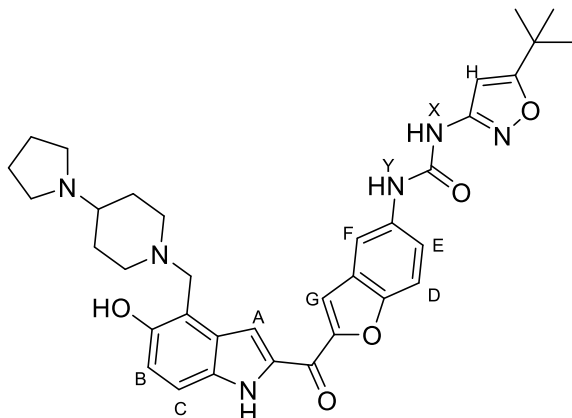
C₃₆H₄₂N₆O₅ (M = 638.77 g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von 1,4'-Bipiperidin **171** und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) gereinigt und **178** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute**: 66%. **R_f** = 0.39 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.83 (s, 1H, Indol-NH), 10.65 (s, 1H, br, OH), 9.59 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.03 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.09 (s, 1H, CH_{Ar, F}), 7.99 (s, 1H, CH_{Ar, G}), 7.78 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.74 (s, 1H, CH_{Ar, A}), 7.50 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.26 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.85 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 3.98 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.01 (d, *J* = 10.9 Hz, 2H, CH_{2, Aliph}), 2.45 (s, 4H, br, 2*CH_{2, Aliph}), 2.31-2.21 (m, 1H, CH_{Aliph}), 2.14 (t, *J* = 11.6 Hz, 2H, CH_{2, Aliph}), 1.76 (d, *J* = 12.1 Hz, 2H, CH_{2, Aliph}), 1.54-1.40 (m, 6H, 3*CH_{2, Aliph}), 1.39-1.33 (m, 2H, CH_{2, Aliph}), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 173.0 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 152.8 (C_{Ar}), 151.6 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 151.0 (C_{Ar}), 135.3 (C_{Ar}), 133.6 (C_{Ar}), 133.1 (C_{Ar}), 127.4 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 120.6 (+, CH_{Ar, E}), 118.2 (+, CH_{Ar, B}), 114.4 (+, CH_{Ar, G}), 112.5 (+, CH_{Ar, C}), 112.1 (+, CH_{Ar, D}), 112.0 (+, CH_{Ar, F}), 111.8 (C_{Ar}), 109.5 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 61.5 (+, CH_{Aliph}), 56.2 (-, Ar-CH₂-N), 52.5 (-, CH_{2, Aliph}), 49.8 (-, CH_{2, Aliph}), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, 3*CH₃), 27.7 (-, CH_{2, Aliph}), 26.0 (-, CH_{2, Aliph}), 24.5 (-, CH_{2, Aliph}). **HRMS** (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für C₃₆H₄₃N₆O₅⁺: 639.3289, gefunden: 639.3295. **Smp.**: Zersetzung ab 218 °C. **IR** (KBr): 3194, 2932, 1690, 1550, 1469, 1217, 1148 cm⁻¹. **RP-HPLC**: >98%, (t_R = 11.74 min).

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-3-((4-(pyrrolidin-1-yl)piperidin-1-yl)methyl)-1H-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (179)

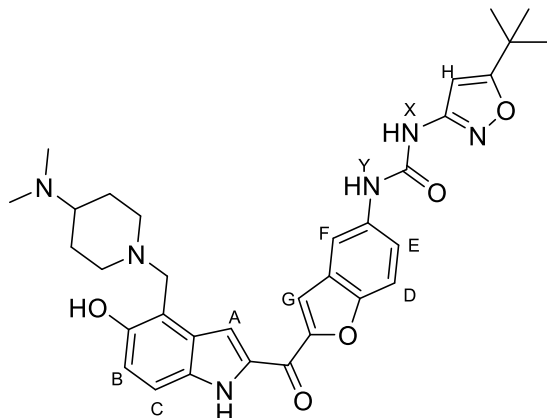
C₃₅H₄₀N₆O₅ (M = 624.74 g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von 4-(Pyrrolidin-1-yl)piperidin **172** und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) gereinigt und **179** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 79%. **R_f** = 0.31 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.83 (s, 1H, Indol-NH), 9.74 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.20 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.10 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 7.99 (d, *J* = 1.0 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 7.80 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.76 (s, 1H, CH_{Ar, A}), 7.52 (dd, *J* = 9.0, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.26 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.85 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.00 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 2.94 (d, *J* = 11.1 Hz, 2H, CH_{2, Aliph}), 2.59-2.51 (m, 4H, 2*CH_{2, Aliph}), 2.23 (t, *J* = 11.2 Hz, 2H, CH_{2, Aliph}), 2.16-2.08 (m, 1H, CH_{Aliph}), 1.92-1.84 (m, 2H, CH_{2, Aliph}), 1.71-1.64 (m, 4H, 2*CH_{2, Aliph}), 1.50 (q, *J* = 11.1 Hz, 2H, CH_{2, Aliph}), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.1 (C=O), 173.0 (C=O), 158.5 (C_{Ar}), 152.8 (C_{Ar}), 151.7 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 151.0 (C_{Ar}), 135.4 (C_{Ar}), 133.6 (C_{Ar}), 133.1 (C_{Ar}), 127.4 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 120.6 (+, CH_{Ar, E}), 118.1 (+, CH_{Ar, B}), 114.4 (+, CH_{Ar, G}), 112.5 (+, CH_{Ar, C}), 112.1 (+, CH_{Ar, D}), 111.9 (+, CH_{Ar, F}), 111.7 (C_{Ar}), 108.7 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 60.5 (+, CH_{Aliph}), 56.2 (-, Ar-CH₂-N), 51.2 (-, CH_{2, Aliph}), 50.9 (-, CH_{2, Aliph}), 32.5 (C(CH₃)₃), 30.9 (-, CH_{2, Aliph}), 28.4 (+, 3*CH₃), 23.0 (-, CH_{2, Aliph}), 21.5 (-, CH_{2, Aliph}). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₅H₄₁N₆O₅⁺: 625.3133, gefunden: 625.3141. **Smp.:** Zersetzung ab 214 °C. **IR (KBr):** 3188, 2967, 1697, 1549, 1338, 1217, 1148 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >99%, (t_R = 11.63 min).

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(3-((4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)methyl)-5-hydroxy-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (180)

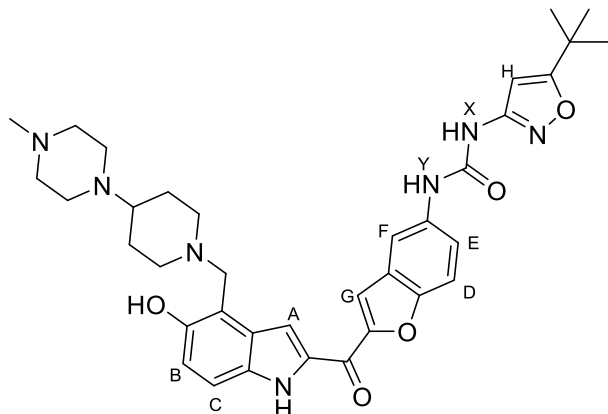
C₃₃H₃₈N₆O₅ (M = 598.70 g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von *N,N*-Dimethylpiperidin-4-amin **173b** und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) gereinigt und **180** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 58%. **R_f** = 0.28 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.83 (s, 1H, Indol-NH), 9.61 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.05 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.09 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 8.00 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 7.78 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.72 (s, 1H, CH_{Ar, A}), 7.51 (dd, *J* = 9.0, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.26 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.85 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.00 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.00 (d, *J* = 11.3 Hz, 2H, CH_{2, Aliph}), 2.27-2.09 (m, 9H, 2*CH₃ + CH_{2, Aliph} + CH_{Aliph}), 1.81 (d, *J* = 12.3 Hz, 2H, CH_{2, Aliph}), 1.52-1.35 (m, 2H, CH_{2, Aliph}), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.1 (C=O), 173.0 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 152.8 (C_{Ar}), 151.7 (C_{Ar}), 151.2 (C_{Ar}), 151.1 (C_{Ar}), 135.4 (C_{Ar}), 133.6 (C_{Ar}), 133.1 (C_{Ar}), 127.4 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 120.6 (+, CH_{Ar, E}), 118.1 (+, CH_{Ar, B}), 114.4 (+, CH_{Ar, G}), 112.5 (+, CH_{Ar, C}), 112.1 (+, CH_{Ar, D}), 111.9 (+, CH_{Ar, F}), 111.7 (C_{Ar}), 108.5 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 61.2 (+, CH_{Aliph}), 56.1 (-, Ar-CH₂-N), 51.9 (-, CH_{2, Aliph}), 41.5 (+, 2*CH₃), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, 3*CH₃), 28.2 (-, CH_{2, Aliph}). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₃H₃₉N₆O₅⁺: 599.2976, gefunden: 599.2986. **Smp.:** Zersetzung ab 188 °C. **IR (KBr):** 3274, 2966, 1692, 1610, 1550, 1470, 1216, 1148 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >99%, (t_R = 11.46 min).

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-3-((4-(4-methylpiperazin-1-yl)piperidin-1-yl)methyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (181a)

C₃₆H₄₃N₇O₅ (*M* = 653.78 g/mol)

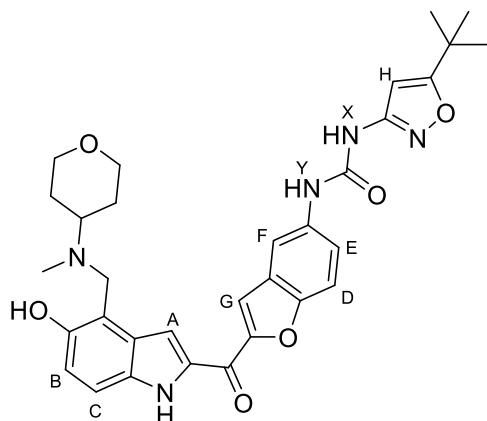


Die Synthese wurde ausgehend von 1-Methyl-4-(piperidin-4-yl)piperazin **174** und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) gereinigt und **181a** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 44%. **R_f** = 0.15 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.85 (s, 1H, Indol-NH), 10.62 (s, 1H, OH), 9.60 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.02 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.09 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 8.00 (s, 1H, CH_{Ar, G}), 7.79 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.76 (d, *J* = 1.0 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 7.51 (dd, *J* = 9.0, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.26 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.85 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.53 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 3.99 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.01 (d, *J* = 11.1 Hz, 2H, CH_{2, Aliph}), 2.48-2.19 (m, 11H, 5*CH_{2, Aliph} + CH_{Aliph}), 2.13 (s, 3H, CH₃), 1.82 (d, *J* = 12.1 Hz, 2H, CH_{2, Aliph}), 1.52-1.38 (m, 2H, CH_{2, Aliph}), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.1 (C=O), 173.1 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 152.8 (C_{Ar}), 151.7 (C_{Ar}), 151.2 (C_{Ar}), 151.0 (C_{Ar}), 135.4 (C_{Ar}), 133.7 (C_{Ar}), 133.1 (C_{Ar}), 127.6 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 120.6 (+, CH_{Ar, E}), 118.1 (+, CH_{Ar, B}), 114.5 (+, CH_{Ar, G}), 112.5 (+, CH_{Ar, C}), 112.4 (+, CH_{Ar, D}), 112.4 (+, CH_{Ar, F}), 111.9 (C_{Ar}), 108.7 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 60.3 (+, CH_{Aliph}), 55.6 (-, Ar-CH₂-N), 54.5 (-, CH_{2, Aliph}), 52.0 (-, CH_{2, Aliph}), 48.0 (-, CH_{2, Aliph}), 45.0 (+, CH₃), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, 3*CH₃), 27.8 (-, CH_{2, Aliph}). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₆H₄₄N₇O₅⁺: 654.3398, gefunden: 654.3413. **Smp.**: 218 °C. **IR (KBr)**: 3269, 2967, 1690, 1611, 1550, 1218, 1150 cm⁻¹. Zusätzliche Reinigung des Produkts wurde durch präp. HPLC erreicht. Dabei wurde das einfache TFA-Salz **181b** der entspr. Verbindung isoliert. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 12.12 (s, 1H), 9.99 (s, 1H), 9.78 (s, 1H), 9.37 (s, 1H), 9.27 (s, 1H), 8.16 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.07 (d, *J* = 0.5 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.76 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.57-7.46 (m, 2H), 7.11 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 4.58 (s, 2H), 3.60 (d, *J* = 11.6 Hz, 2H), 3.48-3.47 (m, 3H), 3.16-2.88 (m, 6H), 2.75 (s, 3H), 2.68-2.59 (m, 1H), 2.46-2.36 (m, 1H), 1.97 (d, *J* = 11.9 Hz, 2H), 1.78-1.60 (m, 2H), 1.31 (s, 9H). **¹⁹F-NMR** (Methanol-*d*₄, 377 MHz): δ -75.3. **RP-HPLC**: >99%, (*t_R* = 11.88 min). C₄₂H₄₆F₉N₇O₁₁ [995.84].

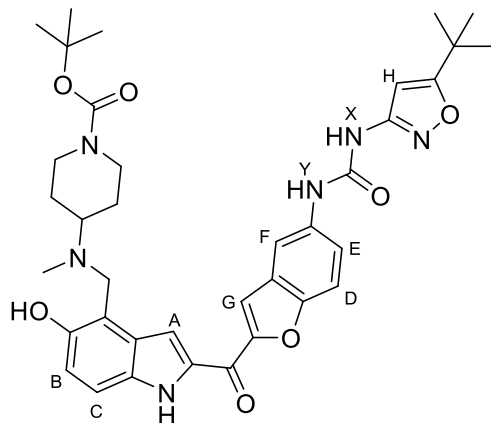
5.9.7. Kopfgruppe d – Synthese der Produkte

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-3-((methyl(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)methyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (182)

C₃₂H₃₅N₅O₆ (*M* = 585.66 g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von *N*-Methyltetrahydro-2*H*-pyran-4-amin und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) gereinigt und **182** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 44%. **R_f** = 0.47 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.82 (s, 1H, Indol-NH), 10.89 (s, 1H, br, OH), 9.67 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.09 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.09 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 7.98 (s, 1H, CH_{Ar, G}), 7.78-7.68 (m, 2H, CH_{Ar, A+D}), 7.50 (dd, *J* = 8.9, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.25 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.82 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.51 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.12 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.94 (d, *J* = 11.3 Hz, 2H, CH_{2, Aliph}), 3.30 (t, *J* = 11.1 Hz, 2H, CH_{2, Aliph}), 2.87-2.75 (m, 1H, CH_{Aliph}), 2.27 (s, 3H, CH₃), 1.81 (d, *J* = 11.9 Hz, 2H, CH_{2, Aliph}), 1.71-1.56 (m, 2H, CH_{2, Aliph}), 1.29 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 173.1 (C=O), 158.5 (C_{Ar}), 152.8 (C_{Ar}), 151.7 (C_{Ar}), 151.4 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 135.4 (C_{Ar}), 133.6 (C_{Ar}), 133.1 (C_{Ar}), 127.4 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 120.8 (+, CH_{Ar, E}), 118.3 (+, CH_{Ar, B}), 114.5 (+, CH_{Ar, G}), 112.5 (+, CH_{Ar, C}), 112.2 (+, CH_{Ar, D}), 112.1 (+, CH_{Ar, F}), 112.0 (C_{Ar}), 108.6 (+, CH_{Ar, A}), 92.6 (+, CH_{Ar, H}), 66.6 (-, CH_{2, Aliph}), 59.2 (+, CH_{Aliph}), 52.2 (Ar-CH₂-N), 36.9 (+, N-CH₃), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.6 (-, CH_{2, Aliph}), 28.4 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₂H₃₆N₅O₆⁺: 586.2660, gefunden: 586.2666. **Smp.:** Zersetzung ab 190 °C, **IR (KBr):** 3274, 2965, 1700, 1609, 1550, 1217, 1148 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >94%, (*t_R* = 13.96 min).

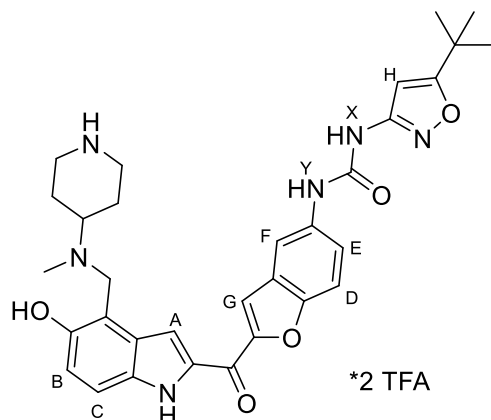
tert*-Butyl 4-(((2-(5-(3-(5-(*tert*-butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-5-hydroxy-1*H*-indol-3-yl)methyl)(methylamino)piperidin-1-carboxylat (**183**)*C₃₇H₄₄N₆O₇ (M = 684.79 g/mol)**

Die Synthese wurde ausgehend von *tert*-Butyl 4-(methylamino)piperidin-1-carboxylat und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) gereinigt und **183** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 57%. **R_f** = 0.43 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.83 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, Indol-NH), 10.89 (s, 1H, OH), 9.64 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.06 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.11 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 7.99 (s, 1H, CH_{Ar, G}), 7.75 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.73 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 7.51 (dd, *J* = 9.0, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.26 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.83 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.53 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.12 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 4.05 (d, *J* = 12.5 Hz, 2H, CH_{2, Aliph}), 2.87-2.59 (m, 3H, CH_{Aliph} + CH_{2, Aliph}), 2.27 (s, 3H, CH₃), 1.86 (d, *J* = 12.0 Hz, 2H, CH_{2, Aliph}), 1.55-1.43 (m, 2H, CH_{2, Aliph}), 1.39 (s, 9H, 3*CH₃), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.1 (C=O), 173.0 (C=O), 158.5 (C_{Ar}), 153.7 (C=O), 152.8 (C_{Ar}), 151.6 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 151.2 (C_{Ar}), 135.3 (C_{Ar}), 133.6 (C_{Ar}), 133.1 (C_{Ar}), 127.4 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 120.6 (+, CH_{Ar, E}), 118.2 (+, CH_{Ar, B}), 114.4 (+, CH_{Ar, G}), 112.5 (+, CH_{Ar, C}), 112.1 (+, CH_{Ar, D}), 112.0 (+, CH_{Ar, F}), 112.0 (C_{Ar}), 108.5 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 78.6 (C(CH₃)₃, Boc), 60.0 (+, CH_{Aliph}), 56.9 (-, Ar-CH₂-N), 52.3 (-, CH_{2, Aliph}), 42.8 (-, CH_{2, Aliph}), 36.8 (+, N-CH₃), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.5 (+, 3*CH₃), 28.2 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₇H₄₅N₆O₇⁺: 685.3344, gefunden: 685.3356. **Smp.:** Zersetzung ab 208 °C. **IR (KBr):** 3193, 2969, 1696, 1605, 1550, 1217, 1148 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >93%, (t_R = 15.71 min).

5.9.8. Kopfgruppe d – Boc-Entschützungs-Reaktion und Synthese von Enon-Systemen

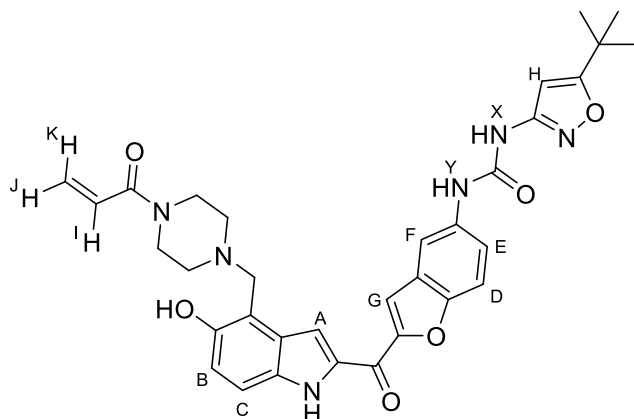
1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-3-((methyl(piperidin-4-yl)amino)methyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harstoff Bis(2,2,2-trifluoracetat) (**184**)

$C_{36}H_{38}F_6N_6O_9$ ($M = 812.72$ g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von **183** nach AV6 durchgeführt. Das Lösemittel und überschüssige TFA wurden entfernt und das Rohprodukt ohne Reinigung weiterverwendet. **Ausbeute:** quantitativ. $R_f = 0.04$ (DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 95:4:1). **1H -NMR** ($DMSO-d_6$, 400 MHz): δ 12.12 (s, 1H, Indol-NH), 10.16 (s, 1H), 9.81 (s, 1H), 9.32 (s, 2H), 8.92 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 8.02 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.87 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.74 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.60-7.44 (m, 2H, 2* CH_{Ar}), 7.12 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.50 (s, 1H, $CH_{Ar, H}$), 4.69 (s, 1H, $\frac{1}{2}$ Ar- CH_2 -N), 4.47 (s, 1H, $\frac{1}{2}$ Ar- CH_2 -N), 3.80-3.57 (m, 4H, CH_2 , Aliph), 3.00 (s, 2H, CH_2 , Aliph), 2.75 (s, 3H, CH_3), 2.42-2.30 (m, 1H, CH), 2.15-1.90 (m, 2H, CH_2 , Aliph), 1.29 (s, 9H, 3* CH_3). **IR (KBr):** 3299, 1677, 1614, 1554, 1203 cm^{-1} . **HRMS** (ESI): m/z $[M + H]^+$ berechnet: für $C_{32}H_{37}N_6O_5^+$: 585.2820, gefunden: 585.2825. **RP-HPLC:** >97%, ($t_R = 11.34$ min).

5.9.9. Kopfgruppe e

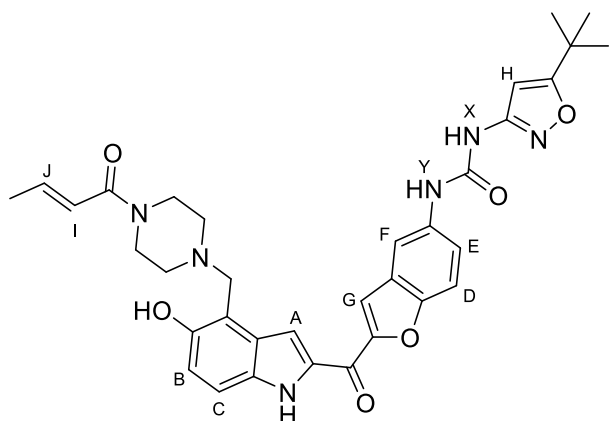
1-(2-(3-((4-Acryloylpiperazin-1-yl)methyl)-5-hydroxy-1H-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)-3-(5-(*tert*-butyl)isoxazol-3-yl)harnstoff (185a) $C_{33}H_{34}N_6O_6$ ($M = 610.67$ g/mol)

Die Synthese wurde ausgehend von Acrylsäurechlorid (1.2 eq.), DIPEA (4.0 eq.) und **158** nach AV11C in DCM durchgeführt. Nach Kristallisation aus DCM und PE wurde **185a** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 71%. Die Synthese wurde alternativ ausgehend von 1-(Piperazin-1-yl)prop-2-en-1-on 2,2,2-Trifluoracetat **193** und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 98:1.8:0.2) gereinigt und **185a** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 50%. $R_f = 0.60$ (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.87 (s, 1H, Indol-NH), 9.89 (1H, s, OH), 9.58 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.01 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.10 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 7.99 (s, 1H, CH_{Ar, G}), 7.81-7.67 (m, 2H, CH_{Ar, D+A}), 7.50 (dd, $J = 9.1, 2.2$ Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.29 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.91 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.80 (dd, $J = 16.6, 10.4$ Hz, 1H, CH_{DoBi, I}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 6.11 (dd, $J = 16.7, 2.4$ Hz, 1H, CH_{DoBi, K}), 5.67 (dd, $J = 10.5, 2.4$ Hz, 1H, CH_{DoBi, J}), 4.00 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.60 (s, 4H, br, 2*CH₂, Piperazin), 2.55 (s, 4H, br, 2*CH₂, Piperazin), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 173.1 (C=O), 164.2 (C=O), 158.5 (C_{Ar}), 152.8 (C_{Ar}), 151.7 (C_{Ar}), 151.2 (C_{Ar}), 150.5 (C_{Ar}), 135.4 (C_{Ar}), 133.7 (C_{Ar}), 133.2 (C_{Ar}), 128.2, 128.0, 127.4 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 120.7 (+, CH_{Ar, E}), 118.1 (+, CH_{Ar, B}), 114.5 (+, CH_{Ar, G}), 112.5 (+, CH_{Ar, C}), 112.4 (+, CH_{Ar, D}), 112.0 (+, CH_{Ar, F}), 111.9 (C_{Ar}), 109.0 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 55.0 (-, Ar-CH₂-N), 45.7 (-, CH₂, Aliphat), 45.0 (-, CH₂, Aliphat), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für C₃₃H₃₅N₆O₆⁺: 611.2613, gefunden: 611.2622. **RP-HPLC**: >98%, ($t_R = 13.67$ min). **Smp.**: Zersetzung ab 207 °C. **IR** (KBr): 3291, 2967, 1706, 1609, 1554, 1473, 1273, 1214, 1153 cm⁻¹. Zusätzliche Reinigung des Produkts wurde durch präp. HPLC erreicht. Dabei wurde das einfache TFA-Salz **171b** der entspr. Verbindung isoliert. **¹H-NMR** (Methanol-*d*₄, 400 MHz): δ 8.00 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.87-7.83 (m, 2H), 7.65 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.54-7.48 (m, 2H),

7.08 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 6.78 (dd, $J = 16.8, 10.6$ Hz, 1H), 6.34 (s, 1H), 6.29 (dd, $J = 16.7, 1.8$ Hz, 1H), 5.82 (dd, $J = 10.6, 1.8$ Hz, 1H), 4.77 (s, 2H), 3.80-3.36 (m, 8H), 1.36 (s, 9H). ^{19}F -NMR (Methanol- d_4 , 377 MHz): δ -75.4.

(*E*)-1-(2-(3-((4-(But-2-enoyl)piperazin-1-yl)methyl)-5-hydroxy-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)-3-(5-(*tert*-butyl)isoxazol-3-yl)harnstoff (186a)

C₃₄H₃₆N₆O₆ ($M = 624.70$ g/mol)

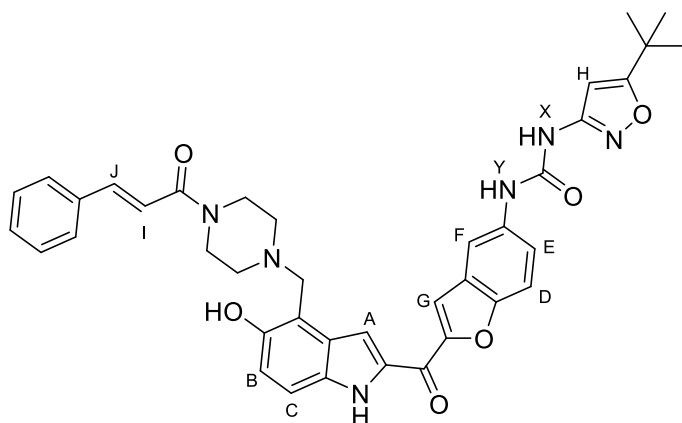


Die Synthese wurde ausgehend von Crotonsäurechlorid (1.2 eq.) oder -anhydrid, DIPEA (4.0 eq.) und **158** nach AV11C in THF durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (DCM/MeOH 98:2) gereinigt und **186a** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 23%. Die Synthese wurde alternativ ausgehend von (*E*)-1-(Piperazin-1-yl)but-2-en-1-on 2,2,2-Trifluoracetat **194** und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 98:1.8:0.2) gereinigt und **186a** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 55%. **R_f** = 0.57 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 11.87 (s, 1H, Indol-NH), 9.91 (s, 1H, br, OH), 9.57 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 8.99 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.10 (s, 1H, br, CH_{Ar, F}), 7.99 (s, 1H, br, CH_{Ar, G}), 7.84-7.69 (m, 2H, CH_{Ar, D} + CH_{Ar, A}), 7.50 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.29 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.91 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.68 (dq, $J = 13.5, 6.5$ Hz, 1H, CH_{DoBi, J}), 6.57-6.42 (m, 2H, CH_{Ar, H} + CH_{DoBi, I}), 3.99 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.58 (s, 4H, br, 2*CH₂), 2.53 (s, 4H, br, 2*CH₂), 1.82 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH₃), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz): δ 180.4 (C=O), 173.3 (C=O), 164.5 (C=O), 158.6 (C_{Ar}), 152.9 (C_{Ar}), 151.8 (C_{Ar}), 151.4 (C_{Ar}), 150.7 (C_{Ar}), 141.2 (CH_{DoBi, J}), 135.4 (C_{Ar}), 133.9 (C_{Ar}), 133.3 (C_{Ar}), 128.2 (C_{Ar}), 127.4 (C_{Ar}), 121.8 (CH_{DoBi, I}), 121.0 (+, CH_{Ar, E}), 118.2 (+, CH_{Ar, B}), 114.7 (+, CH_{Ar, G}), 114.2 (+, CH_{Ar, C}), 112.8 (+, CH_{Ar, D}), 112.6 (+, CH_{Ar, F}), 112.3 (C_{Ar}), 109.1 (+, CH_{Ar, A}), 92.7 (+, CH_{Ar, H}), 55.0 (-, Ar-CH₂-N), 52.5 (-, CH₂, Piperazin), 44.8 (-, CH₂, Piperazin), 32.6 (C(CH₃)₃), 28.5 (+, 3*CH₃), 17.9 (+, CH₃). **HRMS** (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für C₃₄H₃₇N₆O₆⁺: 625.2769, gefunden: 625.2778. **RP-HPLC**: >99%, ($t_R = 13.98$ min). **Smp.**: Zersetzung ab 234 °C. **IR** (KBr): 3188, 2967, 1690, 1614, 1550, 1447, 1218, 1151 cm⁻¹. Zusätzliche Reinigung des Produkts wurde durch

präp. HPLC erreicht. Dabei wurde das einfache TFA-Salz **186b** der entspr. Verbindung isoliert. **¹H-NMR** (Methanol-*d*₄, 400 MHz): δ 8.01 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.88-7.84 (m, 2H), 7.66 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.55-7.47 (m, 2H), 7.07 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 6.95-6.82 (m, 1H), 6.46 (dd, *J* = 15.0, 1.8 Hz, 1H), 6.34 (s, 1H), 4.74 (s, 2H), 1.88 (dd, *J* = 6.8, 1.6 Hz, 3H), 1.35 (s, 9H). **¹⁹F-NMR** (Methanol-*d*₄, 377 MHz): δ -75.3.

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(3-((4-cinnamoylpiperazin-1-yl)methyl)-5-hydroxy-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (187a)

C₃₉H₃₈N₆O₆ (*M* = 686.77 g/mol)

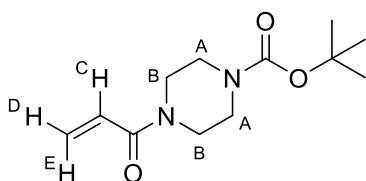


Die Synthese wurde ausgehend von Zimtsäurechlorid (2.0 eq.), DIPEA (8.0 eq.) und **158** nach AV11C in THF durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (DCM/MeOH 98:2) gereinigt und **187a** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 10%. Die Synthese wurde alternativ ausgehend von (*E*)-3-Phenyl-1-(piperazin-1-yl)prop-2-en-1-on 2,2,2-Trifluoracetat **195** und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 98:1.8:0.2) gereinigt und **187a** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 62%. **R_f** = 0.57 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.87 (d, 1H, *J* = 1.7 Hz, Indol-NH), 9.57 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 8.99 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.09 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 7.99 (d, *J* = 0.6 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 7.79-7.67 (m, 4H, 4*CH_{Ar}), 7.54-7.45 (m, 2H, CH_{Ar} + CH_{DoBi, J}), 7.43-7.34 (m, 3H, 3*CH_{Ar}), 7.32-7.22 (m, 2H, CH_{Ar} + CH_{DoBi, I}), 6.92 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.51 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.02 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.84-3.71 (m, 2H, CH₂, Aliph_{at}), 3.69-3.58 (m, 2H, CH₂, Aliph_{at}), 2.70-2.55 (m, 4H, 2*CH₂, Aliph_{at}), 1.29 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 180.4 (C=O), 173.3 (C=O), 164.6 (C=O), 158.6 (C_{Ar}), 152.9 (C_{Ar}), 151.8 (C_{Ar}), 151.4 (C_{Ar}), 150.7 (C_{Ar}), 142.0 (+, CH_{DoBi}), 135.4 (C_{Ar}), 135.2 (C_{Ar}), 134.7 (C_{Ar}), 133.8 (C_{Ar}), 133.3 (C_{Ar}), 129.7 (+, CH_{Ar}), 128.9 (+, CH_{Ar}), 128.2 (C_{Ar}), 127.4 (C_{Ar}), 121.0 (+, CH_{Ar, E}), 118.2 (+, CH_{DoBi}), 118.2 (+, CH_{Ar, B}), 114.7 (+, CH_{Ar, G}), 112.8 (+, CH_{Ar, C}), 112.6 (+, CH_{Ar, D}), 112.3 (+, CH_{Ar, F}), 111.7 (C_{Ar}), 109.2 (+, CH_{Ar, A}), 92.6 (+, CH_{Ar, H}), 55.1 (-, Ar-CH₂-N), 52.5 (-, CH₂, Piperazin), 45.1 (-, CH₂, Piperazin), 32.6 (C(CH₃)₃), 28.5 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₉H₃₉N₆O₆⁺:

687.2926, gefunden: 687.2932. **Smp.:** Zersetzung ab 203 °C. **IR (KBr):** 3277, 2967, 1690, 1610, 1550, 1437, 1217, 1149 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >95%, (t_R = 15.33 min). Zusätzliche Reinigung des Produkts wurde durch präp. HPLC erreicht. Dabei wurde das einfache TFA-Salz **187b** der entspr. Verbindung isoliert. **¹H-NMR** (Methanol-*d*₄, 400 MHz): δ 7.94 (s, 1H, br), 7.84-7.80 (m, 2H), 7.65-7.57 (m, 5H), 7.52-7.30 (m, 5H), 7.15 (dd, *J* = 15.5, 3.1 Hz, 1H), 7.05 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 6.30 (s, 1H), 4.74 (s, 2H), 1.33 (s, 9H). **¹⁹F-NMR** (Methanol-*d*₄, 377 MHz): δ -75.3.

tert-Butyl 4-acryloylpiperazin-1-carboxylat (188)

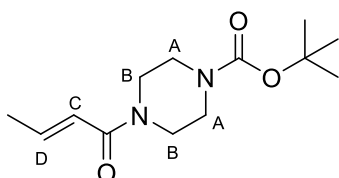
C₁₂H₂₀N₂O₃ (M = 240.30 g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von Acrylsäurechlorid (1.1 eq.), Triethylamin (1.5 eq.) und *N*-Boc-Piperazin **137** nach AV11C durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, PE/EA 1:1) gereinigt ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 39%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 6.79 (dd, *J* = 16.7, 10.4 Hz, 1H, CH_{DoBi, C}), 6.12 (dd, *J* = 16.7, 2.4 Hz, 1H, CH_{DoBi, E}), 5.70 (dd, *J* = 10.4, 2.4 Hz, 1H, CH_{DoBi, D}), 3.58-3.44 (m, 4H, 2*CH_{2, B}), 3.34-3.22 (m, 4H, 2*CH_{2, A}), 1.41 (s, 9H, 3*CH₃). **¹H-NMR** (CDCl₃, 300 MHz): δ 6.51 (dd, *J* = 16.8, 10.5 Hz, 1H, CH_{DoBi, C}), 6.24 (dd, *J* = 16.8, 2.0 Hz, 1H, CH_{DoBi, E}), 5.66 (dd, *J* = 10.5, 2.0 Hz, 1H, CH_{DoBi, D}), 3.65-3.46 (m, 4H, 2*CH_{2, B}), 3.43-3.30 (m, 4H, 2*CH_{2, A}), 1.42 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 164.3 (C=O), 153.8 (C=O), 128.1 (CH_{DoBi, C}), 127.6 (CH_{DoBi, D+E}), 79.2 (C(CH₃)₃), 44.8 (-, CH_{2, Aliph}), 41.2 (-, CH_{2, Aliph}), 28.1 (+, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 75 MHz): δ 165.6 (C=O), 154.6 (C=O), 128.2 (d, CH_{DoBi, D+E}), 127.4 (CH_{DoBi, C}), 80.3 (C(CH₃)₃), 43.6 (-, CH_{2, Aliph}), 41.8 (-, CH_{2, Aliph}), 28.4 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₂H₂₁N₂O₃⁺: 241.1547, gefunden: 241.1549.

tert-Butyl (E)-4-(but-2-enoyl)piperazin-1-carboxylat (189)

C₁₃H₂₂N₂O₃ (M = 254.33 g/mol)

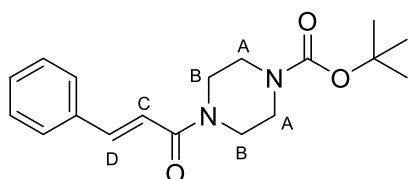


Die Synthese wurde ausgehend von Crotonsäureanhydrid (1.1 eq.), Triethylamin (1.5 eq.) und *N*-Boc-Piperazin **137** nach AV11C durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, PE/EA 1:1)

gereinigt ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 82%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 6.69 (dq, *J* = 15.0, 6.7 Hz, 1H, CH_{DoBi}, D), 6.48 (dq, *J* = 14.8, 1.5 Hz, 1H, CH_{DoBi}, C), 3.58-3.39 (m, 4H, 2*CH_{2,B}), 3.33-3.24 (m, 4H, 2*CH_{2,B}), 1.83 (dd, *J* = 6.7, 1.5 Hz, 3H, CH₃), 1.41 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 164.4 (C=O), 153.8 (C=O), 141.0 (CH_{DoBi}, D), 121.8 (CH_{DoBi}, C), 79.1 (C(CH₃)₃), 44.7 (-, CH₂, Aliph), 41.1 (-, CH₂, Aliph), 28.0 (+, 3*CH₃), 17.8 (+, CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₃H₂₃N₂O₃⁺: 255.1703, gefunden: 255.1705.

tert-Butyl 4-cinnamoylpiperazin-1-carboxylat (190)

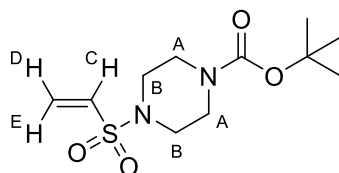
C₁₈H₂₄N₂O₃ (M = 316.40 g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von Zimtsäurechlorid (1.1 eq.), Triethylamin (1.5 eq.) und *N*-Boc-Piperazin **137** nach AV11C durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, PE/EA 2:1) gereinigt ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 84%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 7.75-7.68 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.51 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H, CH_{DoBi}, D), 7.45-7.34 (m, 3H, 3*CH_{Ar}), 7.26 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H, CH_{DoBi}, C), 3.76-3.48 (m, 4H, 2*CH_{2,B}), 3.44-3.31 (m, 4H, 2*CH_{2,B}), 1.42 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 164.5 (C=O), 153.8 (C=O), 141.8 (CH_{DoBi}, D), 135.1 (C_{Ar}), 129.6 (CH_{Ar}), 128.8 (CH_{Ar}), 128.0 (CH_{Ar}), 118.1 (CH_{DoBi}, C), 79.2 (C(CH₃)₃), 44.8 (-, CH₂, Aliph), 41.5 (-, CH₂, Aliph), 28.0 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₈H₂₅N₂O₃⁺: 317.1860, gefunden: 317.1861.

tert-Butyl 4-(vinylsulfonyl)piperazin-1-carboxylat (191)

C₁₁H₂₀N₂O₄S (M = 276.35 g/mol)

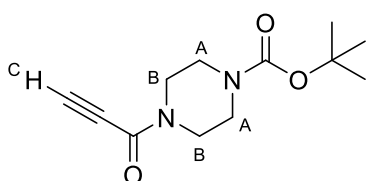


Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁴⁵⁶ Zu einer Lösung des Startmaterials **137** (1.0 eq.) in THF (20 mL/g Startmaterial) wurde bei 0 °C Chlorethansulfonsäurechlorid (1.1 eq.) und Triethylamin (1.5 eq.) zugegeben. Nach 1 h bei RT wurde eine weitere Portion Triethylamin (1.5 eq.) hinzugefügt und die Reaktionsmischung 5 h bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde das Lösemittel entfernt, der Rückstand in EA aufgenommen und die organische Phase zweimal mit Wasser und einmal mit NaCl-Lösung (gesättigt in Wasser) gewaschen. Die organische Phase wurde

mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, PE/EA 4:1) gereinigt ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 47%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 6.81 (dd, *J* = 16.5, 10.0 Hz, 1H, CH_{DoBi, C}), 6.19 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H, CH_{DoBi, E}), 6.12 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H, CH_{DoBi, D}), 3.45-3.37 (m, 4H, 2*CH_{2, A}), 3.03-2.95 (m, 4H, 2*CH_{2, A}), 1.40 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 154.0 (C=O), 132.9 (CH_{DoBi, C}), 130.2 (CH_{DoBi, D+E}), 79.8 (C(CH₃)₃), 45.6 (-, CH_{2, Aliph}), 43.0 (-, CH_{2, Aliph}), 28.4 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₁H₂₁N₂O₄S⁺: 277.1217, gefunden: 277.1219.

tert-Butyl 4-propioloylpiperazine-1-carboxylat (192)

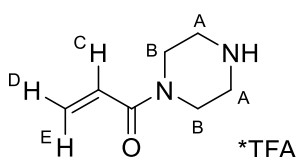
C₁₂H₁₈N₂O₃ (M = 238.29 g/mol)



Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{453; 454} Zu einer Lösung des Startmaterials **137** (1.0 eq.) in DCM (15 mL/g Startmaterial) wurde DMAP (0.1 eq.) gegeben und die Reaktionsmischung auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe von Propionsäure (1.1 eq.) und DCC (0.7 eq.) wurde die Lösung über Nacht bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde der Feststoff abfiltriert und das Filtrat zweimal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Durch Kristallisation aus PE/DCM wurde ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 62%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 4.59 (s, 1H, CH_C), 3.68-3.62 (m, 2H, CH₂), 3.49-3.43 (m, 2H, CH₂), 3.42-3.28 (m, 4H, 2*CH₂), 1.40 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 154.1 (C=O), 151.7 (C=O), 83.1 (C_{Alkin}), 79.8 (C(CH₃)₃), 75.9 (C_{Alkin}), 44.8 (-, CH_{2, Aliph}), 41.2 (-, CH_{2, Aliph}), 28.5 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₂H₁₉N₂O₃⁺: 239.1390, gefunden: 239.1390.

1-(Piperazin-1-yl)prop-2-en-1-on 2,2,2-Trifluoracetat (193)

C₉H₁₃F₃N₂O₃ (M = 254.21 g/mol)

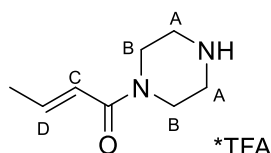


Die Synthese wurde ausgehend von **188** nach AV6 durchgeführt. Das Lösemittel und überschüssige TFA wurden entfernt und das Rohprodukt ohne Reinigung weiterverwendet. Ein kleiner Teil wurde zu analytischen Zwecken isoliert. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 9.05 (s, 2H), 6.77 (dd, *J* = 16.7,

10.5 Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{DoBi, C}}$), 6.14 (dd, $J = 16.7, 2.3$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{DoBi, E}}$), 5.72 (dd, $J = 10.5, 2.3$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{DoBi, D}}$), 3.74 (s, 4H, br, $2 \cdot \text{CH}_{2, \text{B}}$), 3.12 (s, 4H, br, $2 \cdot \text{CH}_{2, \text{B}}$).

(E)-1-(Piperazin-1-yl)but-2-en-1-on 2,2,2-Trifluoracetat (194)

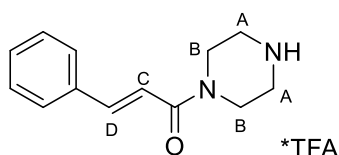
$\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_3$ ($M = 268.24$ g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von **189** nach AV6 durchgeführt. Das Lösemittel und überschüssige TFA wurden entfernt und das Rohprodukt ohne Reinigung weiterverwendet. Ein kleiner Teil wurde zu analytischen Zwecken isoliert. $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz): δ 6.07 (dq, $J = 15.0, 6.8$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{DoBi, D}}$), 5.68 (dq, $J = 15.0, 1.7$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{DoBi, C}}$), 3.07 (t, $J = 5.3$, 4H, $2 \cdot \text{CH}_{2, \text{Aliph}}$), 2.47-2.40 (m, 4H, $2 \cdot \text{CH}_{2, \text{Aliph}}$), 1.11 (dd, $J = 6.8, 1.7$ Hz, 3H, CH_3). **HRMS** (ESI): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ berechnet: für $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}^+$: 155.1179, gefunden: 155.1178.

(E)-3-Phenyl-1-(piperazin-1-yl)prop-2-en-1-on 2,2,2-Trifluoracetat (195)

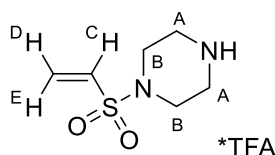
$\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_3$ ($M = 330.31$ g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von **190** nach AV6 durchgeführt. Das Lösemittel und überschüssige TFA wurden entfernt und das Rohprodukt ohne Reinigung weiterverwendet. Ein kleiner Teil wurde zu analytischen Zwecken isoliert. $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz): δ 6.87-6.80 (m, 3H, $2 \cdot \text{CH}_{\text{Ar}} + \text{CH}_{\text{DoBi, D}}$), 6.62-6.56 (m, 3H, $3 \cdot \text{CH}_{\text{Ar}}$), 6.37 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{DoBi, C}}$), 3.17 (s, 4H, br, $2 \cdot \text{CH}_{2, \text{Aliph}}$), 2.50-2.42 (m, 4H, $2 \cdot \text{CH}_{2, \text{Aliph}}$). **HRMS** (ESI): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ berechnet: für $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}^+$: 217.1335, gefunden: 217.1336.

1-(Vinylsulfonyl)piperazin 2,2,2-Trifluoracetat (196)

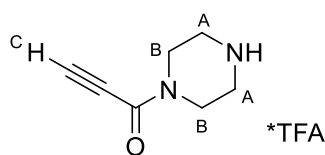
$\text{C}_8\text{H}_{13}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ ($M = 290.26$ g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von **191** nach AV6 durchgeführt. Das Lösemittel und überschüssige TFA wurden entfernt und das Rohprodukt ohne Reinigung weiterverwendet. Ein kleiner Teil wurde zu analytischen Zwecken isoliert. $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz): δ 6.88 (dd, $J = 16.5, 10.0$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{DoBi, C}}$), 6.24 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{DoBi, E}}$), 6.17 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{DoBi, D}}$), 3.30-3.12 (m, 8H, $4 \cdot \text{CH}_2, \text{Aliph}$). **HRMS** (ESI): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ berechnet: für $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}^+$: 177.0692, gefunden: 177.0690.

1-(Piperazin-1-yl)prop-2-yn-1-on 2,2,2-Trifluoracetat (**197**)

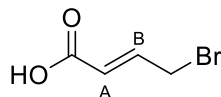
$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_3$ ($M = 252.19$ g/mol)



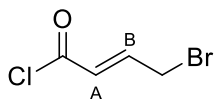
Die Synthese wurde ausgehend von **192** nach AV6 durchgeführt. Das Lösemittel und überschüssige TFA wurden entfernt und das Rohprodukt ohne Reinigung weiterverwendet.

(*E*)-4-Bromobut-2-ensäure (**199**)

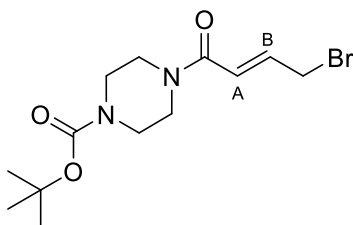
$\text{C}_4\text{H}_5\text{BrO}_2$ ($M = 164.99$ g/mol)



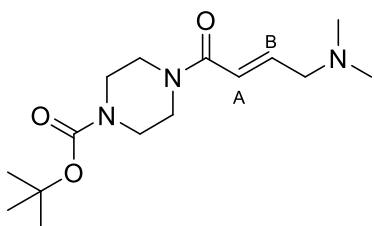
Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁴⁵⁹ Zu einer Lösung des Startmaterials **198** (1.0 eq.) in THF (7.5 mL/g Startmaterial) wurde eine Lösung von LiOH (1.6 eq.) in Wasser (10 mL/g Startmaterial) getropft und die Reaktionsmischung 2 h bei 0 °C gerührt. Kaltes Wasser wurde zugegeben und die wässrige Phase zweimal mit PE gewaschen. Zur wässrigen Phase wurde bei 0 °C HCl (konz. in Wasser) getropft und ein pH-Wert von 1 eingestellt. Das Produkt wurde dreimal mit EA extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde entfernt und ein gelber Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 71%. $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz): δ 12.60 (s, 1H, br, OH), 6.85 (dt, $J = 15.1, 7.5$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{DoBi, B}}$), 6.06 (dt, $J = 15.3, 1.2$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{DoBi, A}}$), 4.26 (dd, $J = 7.4, 1.2$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-Br}$). $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 75 MHz): δ 166.5 (C=O), 142.3 ($\text{CH}_{\text{DoBi, B}}$), 125.1 ($\text{CH}_{\text{DoBi, A}}$), 30.8 ($\text{CH}_2\text{-Br}$).

(E)-4-Bromobut-2-ensäurechlorid (200)**C₄H₅BrO₂ (M = 164.99 g/mol)**

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁴⁵⁹ Zu einer Lösung von (E)-4-Bromobut-2-ensäure **199** in DCM (25 mL/g Startmaterial) wurden Oxalylchlorid (2.0 eq.) und DMF (3 Tropfen) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei RT gerührt und das Lösemittel sowie überschüssiges Oxalylchlorid entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne Reinigung weiterverwendet.

tert-Butyl (E)-4-(4-bromobut-2-enoyl)piperazin-1-carboxylat (201)**C₁₃H₂₁BrN₂O₃ (M = 333.23 g/mol)**

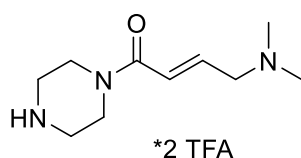
Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{459; 460} Zu einer Suspension von N-Boc-Piperazin **137** (1.0 eq.) und Na₂CO₃ (3.0 eq.) in DCM (20 mL/g Startmaterial) suspendiert wurde bei 0 °C eine Suspension des Startmaterials **200** (1.0 eq.) in DCM (20 mL/g Startmaterial) getropft. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei RT gerührt und nach Reaktionsende Wasser zugegeben. Das Produkt wurde dreimal mit DCM extrahiert, mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, PE/EA 2:1) gereinigt ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 24%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 6.85-6.61 (m, 2H, CH_{DoBi}, A + CH_{DoBi}, B), 4.36 (dd, *J* = 6.3, 0.9 Hz, 1H, CH₂-Br), 4.26 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H, CH₂-Br), 3.58-3.44 (m, 4H, 2*CH₂, Aliph), 3.39-3.26 (m, 4H, 2*CH₂, Aliph), 1.41 (s, 9H, 3*CH₃). **LRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ für C₁₃H₂₂BrN₂O₃⁺: 333.1.

tert-Butyl (E)-4-(4-(dimethylamino)but-2-enoyl)piperazin-1-carboxylat (202)**C₁₅H₂₇N₃O₃ (M = 297.40 g/mol)**

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁴⁶¹ Zu einer Lösung des Startmaterials **201** (1.0 eq.) in THF (40 mL/g Startmaterial) wurde bei -78 °C Dimethylamin (2 M in THF, 2.5 eq.) zugegeben und die Reaktionsmischung nach vollständiger Zugabe über Nacht bei 40 °C gerührt. Nach Reaktionsende wurde der Feststoff abfiltriert und das Lösemittel des Filtrats entfernt. Der Rückstand wurde in DCM aufgenommen und mit NaHCO₃-Lösung (gesättigt in Wasser) gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) gereinigt ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 59%. **¹H-NMR** (CDCl₃, 300 MHz): δ 6.86 (dt, *J* = 15.2, 5.9 Hz, 1H, CH_{DoBi}, B), 6.43 (dt, *J* = 15.2, 1.6 Hz, 1H, CH_{DoBi}, A), 3.70-3.50 (m, 4H, 2*CH₂, Aliphat), 3.48-3.38 (m, 4H, 2*CH₂, Aliphat), 3.09 (dd, *J* = 5.9, 1.5 Hz, 2H, NCH₂), 2.27 (s, 6H, N(CH₃)₂) 1.46 (s, 9H, 3*CH₃). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 6.72-6.49 (m, 2H, CH_{DoBi}, A + CH_{DoBi}, B), 3.50 (s, 4H, br, 2*CH₂, Aliphat), 3.32 (s, 4H, br, 2*CH₂, Aliphat), 3.01 (d, *J* = 4.5 Hz, 2H, N-CH₂), 2.13 (s, 6H, N(CH₃)₂) 1.40 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 75 MHz): δ 165.3 (C=O), 154.6 (C=O), 142.8 (CH_{DoBi}, B), 121.8 (CH_{DoBi}, A), 80.4 (C(CH₃)₃), 60.6 (-, CH₂-N), 45.5 (+, N(CH₃)₂), 44.2 (-, CH₂, Aliphat), 41.8 (-, CH₂, Aliphat), 28.4 (+, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 164.2 (C=O), 153.7 (C=O), 142.4 (CH_{DoBi}, B), 122.1 (CH_{DoBi}, A), 79.2 (C(CH₃)₃), 60.0 (-, CH₂-N), 45.1 (+, N(CH₃)₂), 44.8 (-, CH₂, Aliphat), 41.7 (-, CH₂, Aliphat), 28.0 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₅H₂₈N₃O₃⁺: 298.2125, gefunden: 298.2129.

(*E*)-4-(Dimethylamino)-1-(piperazin-1-yl)but-2-en-1-on Bis(2,2,2-Trifluoracetat) (203)

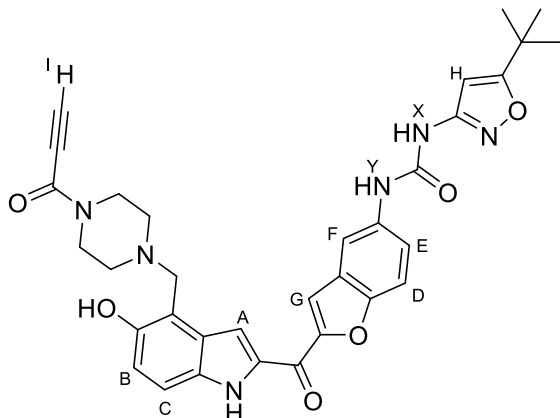
C₁₄H₂₁F₆N₃O₅ (M = 425.33 g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von **202** nach AV6 durchgeführt. Das Lösemittel und überschüssige TFA wurden entfernt und das Rohprodukt ohne Reinigung weiterverwendet.

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-3-((4-propioloylpiperazin-1-yl)methyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (205)

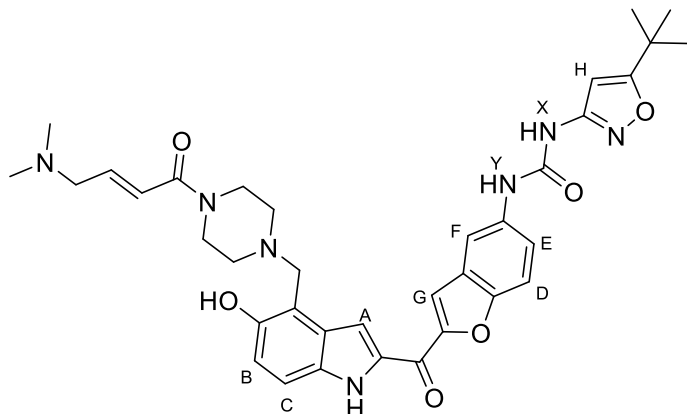
C₃₃H₃₂N₆O₆ (M = 608.66 g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von 1-(Piperazin-1-yl)prop-2-yn-1-on 2,2,2-Trifluoracetat **197** und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) gereinigt und **205** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 44%. **R_f** = 0.64 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.85 (d, 1H, *J* = 2.3 Hz, Indol-NH), 9.84 (s, 1H, br, OH), 9.57 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 8.99 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.10 (d, 1H, *J* = 2.2 Hz, CH_{Ar, F}), 7.98 (d, 1H, *J* = 0.9 Hz, CH_{Ar, G}), 7.76 (s, 1H, CH_{Ar, A}), 7.74 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz, CH_{Ar, G}), 7.51 (dd, *J* = 9.0, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.29 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.92 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.55 (s, 1H, CH_{Alkin}), 3.99 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.74 (t, *J* = 5.1 Hz, 2H, CH_{2, Aliph}), 3.55 (t, *J* = 5.1 Hz, 2H, CH_{2, Aliph}), 2.63-2.58 (m, 2H, CH_{2, Aliph}), 2.55-2.51 (m, 2H, CH_{2, Aliph}), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 173.1 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 152.8 (C_{Ar}), 151.6 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 151.0 (C_{Ar}), 150.4 (C=O), 135.3 (C_{Ar}), 133.7 (C_{Ar}), 133.2 (C_{Ar}), 128.1 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 120.7 (+, CH_{Ar, E}), 118.1 (+, CH_{Ar, B}), 114.4 (+, CH_{Ar, G}), 112.5 (+, CH_{Ar, C}), 112.1 (+, CH_{Ar, D}), 112.0 (+, CH_{Ar, F}), 109.1 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 82.5 (CH_{Alkin}), 75.6 (C_{Alkin}), 52.5 (-, Ar-CH₂-N), 51.8 (-, CH_{2, Aliph}), 46.4 (-, CH_{2, Aliph}), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₃H₃₃N₆O₆⁺: 609.2456, gefunden: 609.2465. **Smp.:** Zersetzung ab 246 °C. **IR (KBr):** 3186, 2966, 2104, 1688, 1636, 1552, 1437, 1338, 1218 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >97%, (t_R = 14.07 min).

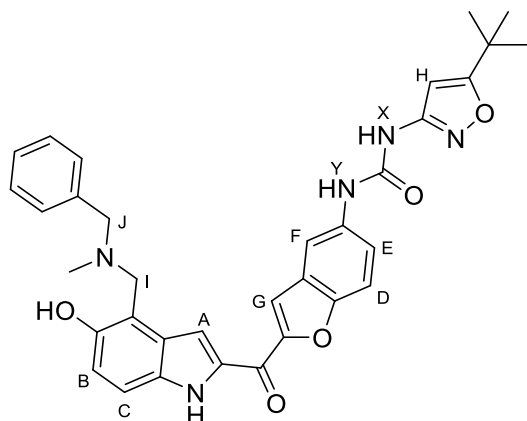
(E)-1-(5-(tert-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(3-((4-(4-(dimethylamino)but-2-enoyl)piperazin-1-yl)methyl)-5-hydroxy-1H-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (206)

C₃₆H₄₁N₇O₆ (M = 667.77 g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von (E)-4-(Dimethylamino)-1-(piperazin-1-yl)but-2-en-1-on Bis(2,2,2-Trifluoracetat) **203** und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) gereinigt und **206** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 37%. **R_f** = 0.19 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.86 (d, 1H, *J* = 2.3 Hz, Indol-NH), 9.91 (s, 1H, br, OH), 9.58 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.01 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.10 (d, 1H, *J* = 2.2 Hz, CH_{Ar, F}), 7.99 (d, 1H, *J* = 1.0 Hz, CH_{Ar, G}), 7.78-7.70 (m, 2H, CH_{Ar, A+G}), 7.50 (dd, *J* = 9.1, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.28 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.91 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.62-6.56 (m, 2H, 2*CH_{D0Bi}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 3.99 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.59 (br s, 4H, 2*CH₂, Piperazin), 3.09-2.93 (m, 2H, Ar-CH₂-N), 2.63-2.58 (m, 2H, (CH₃)₂-N-CH₂), 2.54 (br s, 4H, 2*CH₂, Aliphat), 2.13 (s, 6H, (CH₃)₂-N-CH₂), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 180.3 (C=O), 173.2 (C=O), 164.1 (C=O), 158.5 (C_{Ar}), 152.8 (C_{Ar}), 151.7 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 150.6 (C_{Ar}), 141.7 (CH_{D0Bi}), 135.4 (C_{Ar}), 133.8 (C_{Ar}), 133.2 (C_{Ar}), 128.1 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 122.6 (CH_{D0Bi}), 120.8 (+, CH_{Ar, E}), 118.2 (+, CH_{Ar, B}), 114.5 (+, CH_{Ar, G}), 112.6 (+, CH_{Ar, C}), 112.5 (+, CH_{Ar, D}), 112.2 (+, CH_{Ar, F}), 112.0 (C_{Ar}), 109.1 (+, CH_{Ar, A}), 92.6 (+, CH_{Ar, H}), 56.4 (-, Ar-CH₂-N), 55.1 (-, CH₂, *N*-Me-Piperazin), 52.3 (-, CH₂, *N*-Me-Piperazin), 44.9 (+, 2*CH₃, Dimethylamin), 32.6 (C(CH₃)₃), 28.5 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₆H₄₂N₇O₆⁺: 668.3191, gefunden: 668.3205. **Smp.:** Zersetzung ab 192 °C. **IR (KBr):** 3194, 2966, 1691, 1611, 1550, 1217 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >91%, (t_R = 11.56 min).

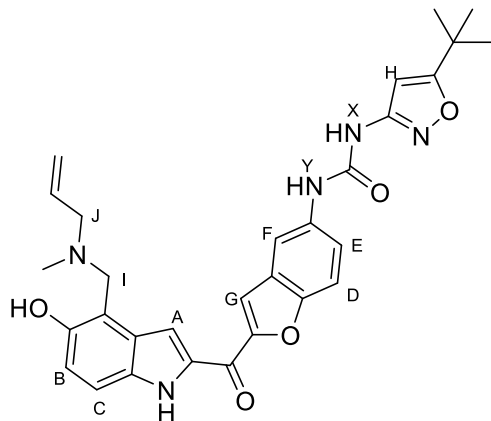
5.9.10. Zusätzliche Versuche

1-(2-(3-((Benzyl(methyl)amino)methyl)-5-hydroxy-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)-3-(5-(*tert*-butyl)isoxazol-3-yl)harnstoff (209) $C_{34}H_{33}N_5O_5$ ($M = 591.67$ g/mol)

Die Synthese wurde ausgehend von *N*-Methyl-1-phenylmethanamin und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1 oder DCM/MeOH 95:5) gereinigt und **209** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 69%. Alternativ wurde die Synthese nach AV14C durchgeführt. **Ausbeute:** 81%. **R_f** = 0.33 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.87 (s, 1H, Indol-NH), 10.41 (s, 1H, br, OH), 9.60 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.02 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.12 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 7.98 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 7.80-7.71 (m, 2H, CH_{Ar, D+A}), 7.52 (dd, *J* = 9.0, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.42-7.22 (m, 6H, 6*CH_{Ar}), 6.90 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.53 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.02 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.67 (s, 2H, N-CH₂-Benzyl), 2.20 (s, 3H, N-CH₃), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 173.1 (C=O), 158.5 (C_{Ar}), 152.8 (C_{Ar}), 151.7 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 150.8 (C_{Ar}), 138.1 (C_{Ar, Benzyl}), 135.3 (C_{Ar}), 133.6 (C_{Ar}), 133.2 (C_{Ar}), 129.1 (CH_{Ar, Benzyl}), 128.4 (CH_{Ar, Benzyl}), 127.6 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 127.3 (CH_{Ar, Benzyl}), 120.7 (+, CH_{Ar, E}), 118.1 (+, CH_{Ar, B}), 114.4 (+, CH_{Ar, G}), 112.5 (+, CH_{Ar, C}), 112.3 (+, CH_{Ar, D}), 112.0 (+, CH_{Ar, F}), 109.5 (C_{Ar}), 108.8 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 61.1 (-, Ar-CH₂-N), 41.2 (+, N-CH₃), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet für C₃₄H₃₄N₅O₅⁺: 592.2554, gefunden: 592.2565. **Smp.:** Zersetzung ab 220 °C. **IR (KBr):** 3318, 2969, 1706, 1612, 1547, 1213, 1149 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >98%, (t_R = 15.43 min).

1-(2-(4-((Allyl(methyl)amino)methyl)-5-hydroxy-1H-indole-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)-3-(5-(tert-butyl)isoxazol-3-yl)harnstoff (210)

C₃₀H₃₁N₅O₅ (M = 541.61 g/mol)



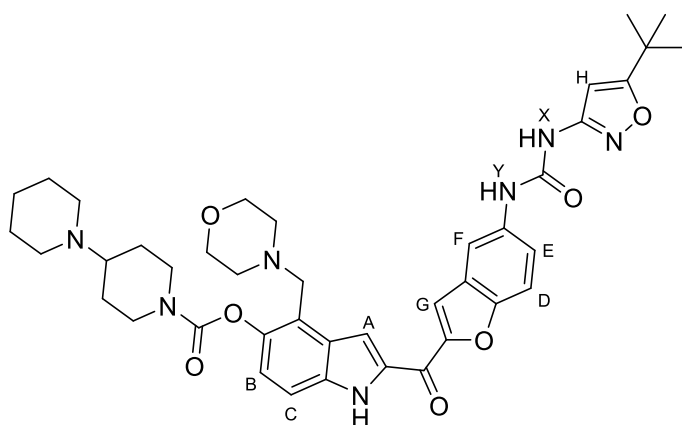
Die Synthese wurde ausgehend von *N*-Methyl-1-phenylmethanamin und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde durch Kristallisation aus DCM/PE gereinigt und **210** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 95%. **R_f** = 0.60 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.85 (s, 1H, Indol-NH), 10.96 (s, 1H, OH), 10.24 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.70 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.12 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 7.99 (s, 1H, CH_{Ar, G}), 7.83-7.68 (m, 2H, CH_{Ar, D} + CH_{Ar, A}), 7.56 (dd, *J* = 8.9, 2.0 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.27 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.87 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.53 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 5.96 (td, *J* = 16.6, 6.4 Hz, 1H, CH_{DoBi}), 5.35-5.17 (m, 2H, CH_{2, DoBi}), 4.00 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.18 (d, 2H, N-CH₂-CH_{DoBi}), 2.27 (s, 3H, N-CH₃), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 180.0 (C=O), 173.1 (C=O), 158.6 (C_{Ar}), 152.8 (C_{Ar}), 152.0 (C_{Ar}), 151.2 (C_{Ar}), 151.1 (C_{Ar}), 135.7 (C_{Ar}), 134.9 (C_{Ar}), 133.7 (CH_{DoBi}), 133.1 (C_{Ar}), 127.6 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 120.7 (+, CH_{Ar, E}), 118.5 (CH_{2, DoBi}), 118.2 (+, CH_{Ar, B}), 114.5 (+, CH_{Ar, G}), 112.4 (+, CH_{Ar, C}), 112.3 (+, CH_{Ar, D}), 112.2 (+, CH_{Ar, F}), 111.9 (C_{Ar}), 108.6 (+, CH_{Ar, A}), 92.6 (+, CH_{Ar, H}), 59.4 (DoBi-CH₂-N), 55.0 (-, Ar-CH₂-N), 41.3 (+, N-CH₃), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet für C₃₀H₃₂N₅O₅⁺: 542.2398, gefunden: 542.2407. **Smp.:** Zersetzung ab 203 °C. **IR (KBr):** 3279, 2969, 1695, 1552, 1471, 1217 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >96%, (*t_R* = 14.42 min).

5.10. GRUNDSTRUKTUR VII

5.10.1. Synthese der Carbamate

2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-3-(morpholinomethyl)-1*H*-indol-5-yl [1,4'-bipiperidin]-1'-carboxylat (211a**)**

C₄₁H₄₉N₇O₇ (M = 751.89 g/mol)



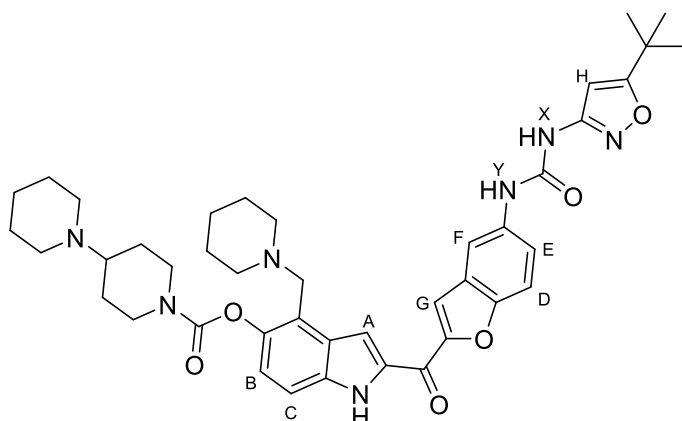
Die Synthese wurde ausgehend von **147a** nach AV9 durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1) gereinigt und **211a** als gelb-oranger Feststoff isoliert.

Ausbeute: 76%. **R_f** = 0.64 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 90:9:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 12.13 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, Indol-NH), 9.74 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.15 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.13 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 8.01 (br s, 2H, CH_{Ar, G} + CH_{Ar, A}), 7.74 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.51 (dd, *J* = 8.9, 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.40 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 7.06 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.54 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.35-4.22 (m, 1H, CH_{Aliph}), 4.11-4.01 (m, 1H, CH_{Aliph}), 3.73 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.60-3.51 (m, 4H, CH_{Aliph}), 3.11-2.97 (m, 1H, CH_{Aliph}), 2.93-2.79 (m, 1H, CH_{Aliph}), 2.48-2.31 (m, 8H, 4*CH₂, Aliph), 1.85-1.76 (s, 2H, br, CH₂, Aliph), 1.69-1.34 (m, 9H, CH_{Aliph}), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.1 (C=O), 173.2 (C=O), 158.6 (C_{Ar}), 153.3 (C_{Ar}), 152.6 (C=O), 151.8, 151.2, 148.2, 135.8, 135.7, 134.2, 127.9, 127.2, 122.9, 122.6, 120.9, 114.8, 112.3, 112.2, 110.7, 109.5, 92.6 (+, CH_{Ar, H}), 66.4, 61.8, 53.3 (-, Ar-CH₂-N), 49.4, 48.6, 45.4, 43.2 (br), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, 3*CH₃), 27.3, 26.4, 24.4. **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₄₁H₅₀N₇O₇⁺: 752.3766, gefunden: 752.3779. **Smp.**: 214-216 °C. **RP-HPLC**: >99%, (*t_R* = 12.25 min). **IR** (KBr): 3363, 2928, 1713, 1613, 1551, 1468, 1203, 1158 cm⁻¹. Zusätzliche Reinigung des Produkts wurde durch präp. HPLC erreicht. Dabei wurde das zweifache TFA-Salz **211b** der entspr. Verbindung isoliert. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 12.45 (s, 1H), 10.27 (br s, 1H), 9.77 (s, 1H), 9.50 (br s, 1H), 9.26 (s, 1H), 8.17 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.12 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.77 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.64 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.54 (dd, *J* = 9.0, 2.1 Hz, 1H), 7.23 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 4.69 (s, 2H), 4.46 (d, *J* = 13.7 Hz, 1H), 4.19 (d,

$J = 11.5$ Hz, 1H), 4.05-3.93 (m, 2H), 3.79-3.60 (m, 3H), 3.55-3.39 (m, 4H), 3.08-2.88 (m, 4H), 2.11 (d, $J = 11.8$ Hz, 2H), 1.93-1.61 (m, 9H), 1.51-1.37 (m, 1H), 1.30 (s, 9H). $^{19}\text{F-NMR}$ (Methanol- d_4 , 377 MHz): δ -75.3. $\text{C}_{45}\text{H}_{51}\text{F}_6\text{N}_7\text{O}_{11}$ [979.92].

2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-3-(piperidin-1-ylmethyl)-1*H*-indol-5-yl [1,4'-bipiperidin]-1'-carboxylat (212a**)**

$\text{C}_{42}\text{H}_{51}\text{N}_7\text{O}_6$ ($M = 749.91$ g/mol)



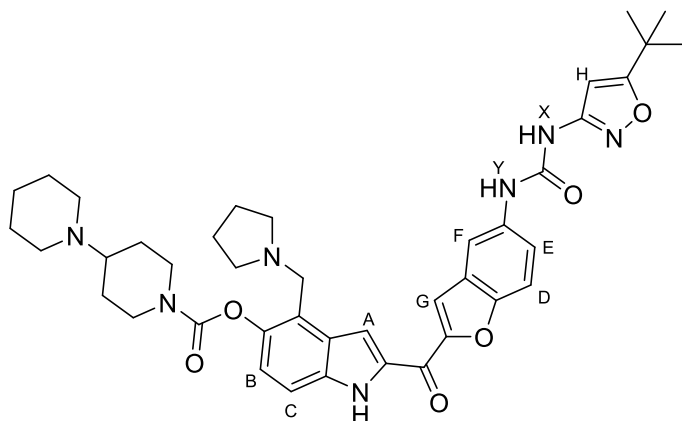
Die Synthese wurde ausgehend von **148a** nach AV9 durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO_2 , DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 95:4:1) gereinigt und **212a** als gelb-oranger Feststoff isoliert.

Ausbeute: 83%. **R_f** = 0.60 (DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 90:9:1). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 12.11 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, Indol-NH), 9.69 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.31 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.13 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 8.03 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 7.99 (s, 1H, CH_{Ar, A}), 7.71 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.52 (dd, $J = 9.0, 2.2$ Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.39 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 7.05 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.53 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.30 (br d, $J = 9.9$ Hz, 1H, CH_{Aliph}), 4.08 (br d, $J = 9.9$ Hz, 1H, CH_{Aliph}), 3.69 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.12-2.97 (m, 1H, CH_{Aliph}), 2.94-2.76 (m, 1H, CH_{Aliph}), 2.73-2.55 (m, 4H, 2*CH_{2, Aliph}), 2.44-2.31 (m, 4H, 2*CH_{2, Aliph}), 1.94-1.80 (s, 2H, br, CH_{2, Aliph}), 1.64-1.35 (m, 15H, CH_{Aliph}), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 101 MHz): δ 180.1 (C=O), 173.2 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 153.2 (C_{Ar}), 152.8 (C=O), 151.7, 151.2, 149.6, 143.5, 136.1, 135.9, 135.4, 134.0, 127.9, 127.2, 123.9, 122.5, 120.8, 114.6, 112.3, 111.9, 111.1, 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 61.7, 54.8 (-, Ar-CH₂-N), 54.1, 49.4, 43.2 (br), 32.4 (C(CH₃)₃), 28.3 (+, 3*CH₃), 26.9 (d, $J = 31.8$ Hz), 26.7, 25.7, 23.9. **HRMS** (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für $\text{C}_{42}\text{H}_{52}\text{N}_7\text{O}_6^+$: 750.3974, gefunden: 750.3982. **Smp.**: 221-223 °C. **RP-HPLC**: >96%, (t_R = 12.67 min). **IR (KBr)**: 3420, 2932, 1700, 1617, 1540, 1437, 1209 cm^{-1} . Zusätzliche Reinigung des Produkts wurde durch präp. HPLC erreicht. Dabei wurde das zweifache TFA-Salz **212b** der entspr. Verbindung isoliert. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 12.46 (d, $J = 0.8$ Hz, 1H), 9.77 (s, 1H), 9.65 (s, 1H), 9.58 (s, 1H), 9.27 (s, 1H), 8.17 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 8.13 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.78 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.54 (dd, $J = 9.0, 2.2$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 4.63

(s, 2H), 4.45 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 4.19 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 3.62-3.36 (m, 4H), 3.24-2.86 (m, 7H), 2.12 (d, $J = 10.9$ Hz, 2H), 1.95-1.60 (m, 12 H), 1.51-1.35 (m, 2H), 1.31 (s, 9H). $^{19}\text{F-NMR}$ (Methanol- d_4 , 377 MHz): δ -75.2. $\text{C}_{46}\text{H}_{53}\text{F}_6\text{N}_7\text{O}_{10}$ [977.94].

2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-3-(pyrrolidin-1-ylmethyl)-1H-indol-5-yl [1,4'-bipiperidin]-1'-carboxylat (213a**)**

$\text{C}_{41}\text{H}_{49}\text{N}_7\text{O}_6$ ($M = 735.89$ g/mol)



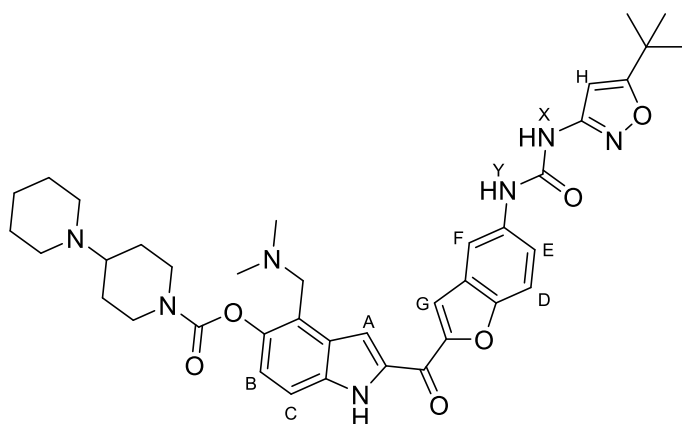
Die Synthese wurde ausgehend von **149a** nach AV9 durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO_2 , DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 95:4:1) gereinigt und **213a** als gelb-oranger Feststoff isoliert.

Ausbeute: 77%. $R_f = 0.42$ (DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 90:9:1). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 12.08 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, Indol-NH), 9.58 (s, 1H, Harnstoff-NH_x), 9.04 (s, 1H, Harnstoff-NH_y), 8.12 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 7.99 (s, 1H, CH_{Ar, G}), 7.94 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 7.74 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.51 (dd, $J = 9.0, 2.1$ Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.39 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 7.05 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.53 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.33-4.22 (m, 1H, CH_{Aliph}), 4.12-4.00 (m, 1H, CH_{Aliph}), 3.86 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.10-2.96 (m, 1H, CH_{Aliph}), 2.92-2.78 (m, 1H, CH_{Aliph}), 2.50-2.35 (m, 8H, 4*CH_{2, Aliph}), 1.86-1.74 (s, 2H, br, CH_{2, Aliph}), 1.67 (br s, 4H, 2*CH_{2, Aliph}), 1.54-1.34 (m, 9H, CH_{Aliph}) 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 173.2 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 153.2 (C_{Ar}), 152.7 (C=O), 151.6, 151.3, 143.2, 135.9, 135.3, 134.1, 127.8, 127.2, 124.1, 122.6, 120.9, 114.7, 112.4, 112.1, 111.9, 110.7, 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 61.4, 53.6 (-, Ar-CH₂-N), 51.0, 49.6, 43.6 (br), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.3 (+, 3*CH₃), 27.7 (d, $J = 27.5$ Hz), 26.0, 24.5, 23.2. **HRMS** (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für $\text{C}_{41}\text{H}_{50}\text{N}_7\text{O}_6^+$: 736.3817, gefunden: 736.3828. **Smp.:** Zersetzung ab 206-208 °C. **RP-HPLC:** >97%, ($t_R = 12.41$ min). **IR (KBr):** 3279, 2966, 1707, 1616, 1543, 1472, 1208, 1160 cm^{-1} . Zusätzliche Reinigung des Produkts wurde durch präp. HPLC erreicht. Dabei wurde das zweifache TFA-Salz **213b** der entspr. Verbindung isoliert. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 12.45 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 10.13 (s, 1H), 9.86 (s, 1H), 9.77 (s, 1H), 9.42 (s, 1H), 8.21-8.09 (m, 3H), 7.78 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.56 (dd, $J = 9.0, 2.1$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 6.53 (s, 1H), 4.72 (s, 2H), 4.48 (d, $J = 11.0$ Hz,

1H), 4.19 (d, $J = 13.2$ Hz, 1H), 3.39-3.35 (m, 2H), 3.34-2.87 (m, 7H), 2.21-1.61 (m, 14H), 1.52-1.37 (m, 1H), 1.31 (s, 9H). ^{19}F -NMR (Methanol- d_4 , 377 MHz): δ -75.3. $\text{C}_{45}\text{H}_{51}\text{F}_6\text{N}_7\text{O}_{10}$ [963.92].

2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-3-((dimethylamino)methyl)-1H-indol-5-yl [1,4'-bipiperidin]-1'-carboxylat (214a**)**

$\text{C}_{39}\text{H}_{47}\text{N}_7\text{O}_6$ ($M = 709.85$ g/mol)



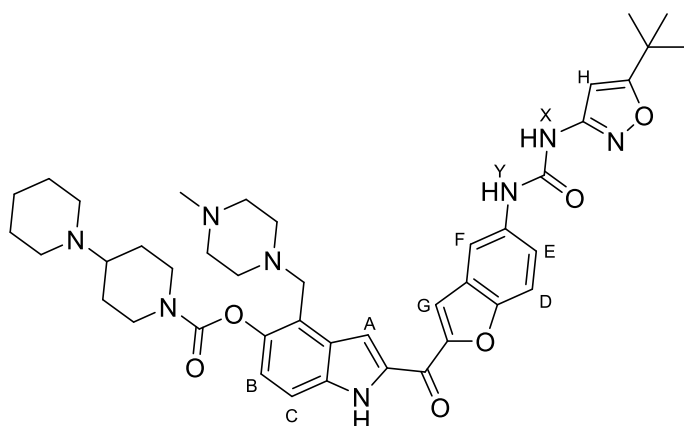
Die Synthese wurde ausgehend von **150a** nach AV9 durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO_2 , DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 95:4:1) gereinigt und **214a** als gelb-oranger Feststoff isoliert.

Ausbeute: 72%. $R_f = 0.16$ (DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 95:4:1). ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 12.08 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, Indol-NH), 9.59 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.04 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.13 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 7.99 (s, 1H, CH_{Ar, G}), 7.89 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 7.75 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.52 (dd, $J = 9.0, 2.1$ Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.40 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 7.06 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.53 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.34-4.21 (m, 1H, CH_{Aliph}), 4.12-3.98 (m, 1H, CH_{Aliph}), 3.62 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.09-2.95 (m, 1H, CH_{Aliph}), 2.93-2.78 (m, 1H, CH_{Aliph}), 2.51-2.42 (m, 4H, 2*CH₂, Aliph), 2.20 (s, 6H, N(CH₃)₂), 1.80 (br s, 2H, CH₂, Aliph), 1.58-1.35 (m, 9H, 9*CH_{Aliph}), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 173.2 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 153.2 (C_{Ar}), 152.7 (C=O), 151.6, 151.3, 143.5, 135.8, 135.3, 134.1, 127.9, 127.2, 123.7, 122.5, 120.8, 114.7, 112.4, 112.2, 112.1, 110.8, 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 61.4, 55.0 (-, Ar-CH₂-N), 49.6, 45.4, 43.7 (br), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.3 (+, 3*CH₃), 27.7 (d, $J = 27.2$ Hz), 26.0, 24.5. **HRMS** (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für $\text{C}_{39}\text{H}_{48}\text{N}_7\text{O}_6^+$: 710.3661, gefunden: 710.3673. **Smp.:** 216-218 °C. **RP-HPLC:** >99%, ($t_R = 11.82$ min). **IR** (KBr): 3278, 2934, 1707, 1614, 1542, 1207, 1152 cm^{-1} . Zusätzliche Reinigung des Produkts wurde durch präp. HPLC erreicht. Dabei wurde das zweifache TFA-Salz **214b** der entspr. Verbindung isoliert. ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 12.46 (s, 1H), 9.87 (s, 1H), 9.77 (s, 1H), 9.55 (s, 1H), 9.27 (s, 1H), 8.16 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.14 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.78 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.55 (dd, $J = 9.0, 2.1$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 6.58 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 4.65 (s, 2H), 4.48 (d, $J = 11.9$ Hz,

1H), 4.19 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 3.20-2.94 (m, 6H), 2.89 (s, 6H), 2.11 (d, $J = 10.2$ Hz, 2H), 1.95-1.63 (m, 8H), 1.54-1.38 (m, 1H), 1.30 (s, 9H). ^{19}F -NMR (DMSO- d_6 , 377 MHz): δ -75.3. $\text{C}_{43}\text{H}_{49}\text{F}_6\text{N}_7\text{O}_{10}$ [937.89].

2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-3-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)-1H-indol-5-yl [1,4'-bipiperidin]-1'-carboxylat (215a)

$\text{C}_{42}\text{H}_{52}\text{N}_8\text{O}_6$ ($M = 764.93$ g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von **151a** nach AV9 durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO_2 , DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 95:4:1) gereinigt und **215a** als gelb-oranger Feststoff isoliert.

Ausbeute: 84%. $R_f = 0.11$ (DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 90:9:1). ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 12.07 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, Indol-NH), 9.62 (s, 1H, Harnstoff-NH_x), 9.14 (s, 1H, Harnstoff-NH_y), 8.11 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 7.99 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 7.97 (s, 1H, CH_{Ar, A}), 7.72 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.52 (dd, $J = 9.0, 2.3$ Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.39 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 7.04 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.32-4.20 (m, 1H, CH_{Aliph}), 4.12-4.02 (m, 1H, CH_{Aliph}), 3.71 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.09-2.94 (m, 1H, CH_{Aliph}), 2.91-2.77 (m, 1H, CH_{Aliph}), 2.61-2.25 (m, 12H, 12*CH_{Aliph}), 2.61-2.25 (m, 12H, 12*CH_{Aliph}), 2.15 (s, 3H, N-CH₃), 1.88-1.75 (m, 2H, 2*CH_{Aliph}), 1.59-1.34 (m, 9H, 9*CH_{Aliph}), 1.29 (s, 9H, 3*CH₃). ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 173.2 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 153.2 (C_{Ar}), 152.8 (C=O), 151.6, 151.3, 143.6, 135.9, 135.4, 134.1, 127.8, 127.2, 123.3, 122.6, 120.8, 114.6, 112.3, 112.1, 112.0, 111.0, 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 61.5, 54.8, 54.0, 52.6 (-, Ar-CH₂-N), 49.6, 45.6, 43.5 (br), 32.4 (C(CH₃)₃), 28.3 (+, 3*CH₃), 27.5 (d, $J = 27.6$ Hz), 25.7, 24.2. **HRMS** (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für $\text{C}_{42}\text{H}_{53}\text{N}_8\text{O}_6^+$: 765.4083, gefunden: 765.4091. **Smp.:** 212-215 °C. **RP-HPLC:** >95%, ($t_R = 12.37$ min). **IR (KBr):** 3274, 2965, 1700, 1616, 1542, 1472, 1207, 1116 cm^{-1} . Zusätzliche Reinigung des Produkts wurde durch präp. HPLC erreicht. Dabei wurde das dreifache TFA-Salz **215b** der entspr. Verbindung isoliert. ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 12.22 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 9.76 (s, 1H), 9.76 (br s, 1H), 9.50 (s, 1H), 9.24 (s, 1H), 8.15 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.95 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.77 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.53 (dd, $J = 9.0, 2.2$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.11 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 4.40 (d, $J = 10.6$ Hz, 1H), 4.19 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H), 3.89 (s, 2H), 3.55-

$J = 10.6$ Hz, 2H), 1.98 (d, $J = 12.4$ Hz, 2H), 1.87 (d, $J = 12.4$ Hz, 2H), 1.78-1.60 (m, 6H), 1.50-1.38 (m, 1H), 1.30 (s, 9H). $^{19}\text{F-NMR}$ (Methanol- d_4 , 377 MHz): δ -75.3. $\text{C}_{55}\text{H}_{65}\text{F}_{12}\text{N}_9\text{O}_{14}$ [1304.14].

5.10.2. Synthese der Hydrochloride

2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)harnstoff)benzofuran-2-carbonyl)-3-(morpholinmethyl)-1*H*-indol-5-yl [1,4'-bipiperidin]-1'-carboxylat Dihydrochlorid (211c)

$\text{C}_{41}\text{H}_{51}\text{Cl}_2\text{N}_7\text{O}_7$ ($M = 824.80$ g/mol)

Die Synthese wurde ausgehend von **211a** nach AV10 durchgeführt. Ein gelb-oranger Feststoff wurde isoliert. Bei Bedarf wurde eine weitere Reinigung durch Auskochen in EA vorgenommen.

Ausbeute: quantitativ. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 12.43 (s, 1H), 10.92 (br s, 1H), 10.58 (br s, 1H), 9.77 (s, 1H), 9.62 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.21-8.12 (m, 2H), 7.78 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.52 (dd, $J = 9.0, 2.1$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 6.55 (s, 1H), 4.68 (s, 2H), 4.50 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 4.17 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 4.04-3.79 (m, 4H), 3.78-3.57 (m, 2H), 3.34-3.06 (m, 4H), 3.04-2.85 (m, 3H), 2.25-2.13 (m, 2H), 2.00-1.65 (m, 9H), 1.50-1.38 (m, 1H), 1.30 (s, 9H). **HRMS** (ESI): m/z [$M + H$] $^+$ berechnet: für $\text{C}_{41}\text{H}_{50}\text{N}_7\text{O}_7^+$: 752.3766, gefunden: 752.3777.

2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-3-(piperidin-1-ylmethyl)-1*H*-indol-5-yl [1,4'-bipiperidin]-1'-carboxylat Dihydrochlorid (212c)

$\text{C}_{42}\text{H}_{53}\text{Cl}_2\text{N}_7\text{O}_6$ ($M = 822.83$ g/mol)

Die Synthese wurde ausgehend von **212a** nach AV10 durchgeführt. Ein gelb-oranger Feststoff wurde isoliert. Bei Bedarf wurde eine weitere Reinigung durch Auskochen in EA vorgenommen.

Ausbeute: quantitativ. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 12.42 (s, 1H), 10.87 (br s, 1H), 10.41 (br s, 1H), 9.89 (s, 1H), 9.85 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.15 (s, 2H), 7.77 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.54 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 6.55 (s, 1H), 4.58 (s, 2H), 4.16 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H), 3.60-3.24 (m, 6H), 3.14-2.81 (m, 6H), 2.30-2.13 (m, 2H), 2.00-1.55 (m, 12H), 1.49-1.36 (m, 2H), 1.30 (s, 9H). **HRMS** (ESI): m/z [$M + H$] $^+$ berechnet: für $\text{C}_{42}\text{H}_{52}\text{N}_7\text{O}_6^+$: 750.3974, gefunden: 750.3974.

2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-3-(pyrrolidin-1-ylmethyl)-1*H*-indol-5-yl [1,4'-bipiperidin]-1'-carboxylat Dihydrochlorid (213c)

$\text{C}_{41}\text{H}_{51}\text{Cl}_2\text{N}_7\text{O}_6$ ($M = 808.80$ g/mol)

Die Synthese wurde ausgehend von **213a** nach AV10 durchgeführt. Ein gelb-oranger Feststoff wurde isoliert. Bei Bedarf wurde eine weitere Reinigung durch Auskochen in EA vorgenommen.

Ausbeute: quantitativ. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 12.39 (s, 1H), 10.46 (s, 1H), 9.74 (s, 1H),

9.52 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.16 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.77 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.59 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.52 (dd, $J = 9.0, 2.0$ Hz, 1H), 7.21 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 6.54 (s, 1H), 4.51 (s, 2H), 4.48 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H), 4.16 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 3.23-2.79 (m, 9H), 2.23-1.41 (m, 15H), 1.30 (s, 9H). **HRMS** (ESI): m/z $[M + H]^+$ berechnet: für $C_{41}H_{51}N_7O_6^+$: 736.3825, gefunden: 736.3817.

2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-3-((dimethylamino)methyl)-1*H*-indol-5-yl [1,4'-bipiperidin]-1'-carboxylat (214c)

$C_{39}H_{49}Cl_2N_7O_6$ ($M = 782.76$ g/mol)

Die Synthese wurde ausgehend von **214a** nach AV10 durchgeführt. Ein gelb-oranger Feststoff wurde isoliert. Bei Bedarf wurde eine weitere Reinigung durch Auskochen in EA vorgenommen.

Ausbeute: quantitativ. **1H -NMR** (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 12.43 (s, 1H), 10.75 (br s, 1H), 10.43 (br s, 1H), 9.82 (s, 1H), 9.78 (s, 1H), 8.43 (s, 1H), 8.15 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.78 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.54 (dd, $J = 9.0, 2.0$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 6.55 (s, 1H), 4.63 (d, $J = 4.8$ Hz, 2H), 4.52 (d, $J = 13.1$ Hz, 1H), 4.16 (d, $J = 11.4$ Hz, 1H), 3.43 (d, $J = 9.6$ Hz, 3H), 3.18-3.06 (m, 1H), 3.02-2.91 (m, 2H), 2.86 (s, 6H), 2.30-2.13 (m, 2H), 2.00-1.62 (m, 8H), 1.50-1.36 (m, 1H), 1.30 (s, 9H). **HRMS** (ESI): m/z $[M + H]^+$ berechnet: für $C_{39}H_{48}N_7O_6^+$: 710.3661, gefunden: 710.3673. **RP-HPLC:** >99%, ($t_R = 11.82$ min).

2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-3-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)-1*H*-indol-5-yl [1,4'-bipiperidin]-1'-carboxylat Trihydrochlorid (215c)

$C_{42}H_{55}Cl_3N_8O_6$ ($M = 764.93$ g/mol)

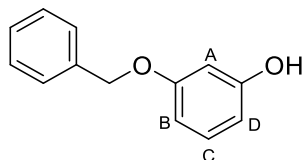
Die Synthese wurde ausgehend von **215a** nach AV10 durchgeführt. Ein gelb-oranger Feststoff wurde isoliert. Bei Bedarf wurde eine weitere Reinigung durch Auskochen in EA vorgenommen.

Ausbeute: quantitativ. **1H -NMR** (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 12.27 (s, 1H), 10.42 (s, 1H), 9.80 (s, 1H), 9.70 (s, 1H), 8.14 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.53 (dd, $J = 9.0, 2.0$ Hz, 1H), 7.51-7.44 (m, 1H), 7.14 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.54 (s, 1H), 4.44 (d, $J = 13.4$ Hz, 1H), 4.17 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H), 3.21-2.88 (m, 7H), 2.74 (s, 3H), 2.32-2.14 (m, 2H), 1.99-1.62 (m, 7H), 1.54-1.37 (m, 1H), 1.30 (s, 9H). $C_{42}H_{55}Cl_3N_8O_6$ [874.30]. **HRMS** (ESI): m/z $[M + H]^+$ berechnet: für $C_{42}H_{53}N_8O_6^+$: 765.4083, gefunden: 765.4088. **RP-HPLC:** >99%, ($t_R = 12.11$ min).

5.11. GRUNDSTRUKTUR VIII

3-(Benzyloxy)phenol (**218**)

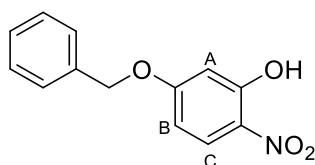
$C_{13}H_{12}O_2$ ($M = 200.24$ g/mol)



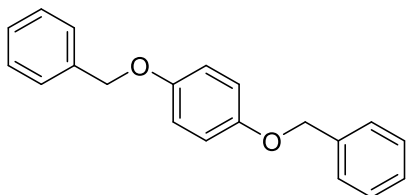
Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁴⁷⁸ Resorcin **217** (3.0 eq.) wurde in Aceton (7 mL/g Startmaterial) gelöst und K_2CO_3 (1.0 eq.) zugegeben. Benzylbromid (1.0 eq.) wurde zugegeben und die Reaktionsmischung über Nacht refluxiert. Nach Reaktionsende wurde der Feststoff abfiltriert und das Lösemittel des Filtrats entfernt. Der Rückstand wurde in EA aufgenommen und zweimal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO_2 , PE/EA 95:5) gereinigt und ein orange-brauner Feststoff isoliert. 1H -NMR ($DMSO-d_6$, 300 MHz): δ 9.46 (s, 1H, OH), 7.49-7.28 (m, 5H, 5* H_{Ar}), 7.14-7.01 (m, 1H, H_{Ar}), 6.52-6.36 (m, 3H, 3* H_{Ar}), 5.04 (s, 2H, CH_2 , Benzyl). ^{13}C -NMR ($DMSO-d_6$, 75 MHz): δ 159.7 (C_{Ar}), 158.7 (C_{Ar}), 137.3 (C_{Ar}), 129.9 (+, CH_{Ar}), 128.5 (+, CH_{Ar}), 127.8 (+, CH_{Ar}), 127.6 (+, CH_{Ar}), 108.1 (+, CH_{Ar}), 105.5 (+, CH_{Ar}), 102.2 (+, CH_{Ar}), 69.1 (O- CH_2).

5-(Benzyloxy)-2-nitrophenol (**219**)

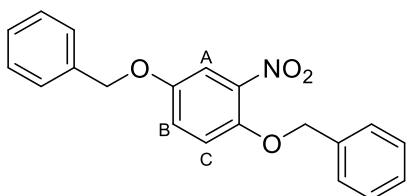
$C_{13}H_{11}O_4$ ($M = 245.23$ g/mol)



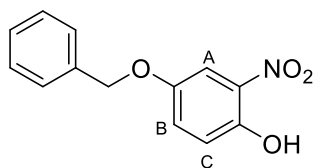
Die Synthese wurde ausgehend von **218** nach AV16 durchgeführt. Der entstandene Feststoff wurde abfiltriert und nach Reinigung mit SC (PE/EA 95:5) ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 19% (über 2 Stufen) 1H -NMR ($DMSO-d_6$, 300 MHz): δ 10.98 (s, 1H, OH), 7.96 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, $H_{Ar,c}$), 7.49-7.32 (m, 5H), 6.71 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H, $H_{Ar,A}$), 6.65 (dd, $J = 9.3, 2.7$ Hz, 1H, $H_{Ar,B}$), 5.19 (s, 2H, CH_2 , Benzyl). ^{13}C -NMR ($DMSO-d_6$, 75 MHz): δ 164.4 (C_{Ar}), 155.7 (C_{Ar}), 135.9 (C_{Ar}), 129.3 (C_{Ar}), 128.6 (+, CH_{Ar}), 128.2 (+, CH_{Ar}), 127.9 (+, CH_{Ar}), 127.4 (+, CH_{Ar}), 108.2 (+, CH_{Ar}), 103.2 (+, CH_{Ar}), 102.2 (+, CH_{Ar}), 70.1 (O- CH_2). **MS** (EI-MS, 70 eV) m/z : 245.1 [M]⁺ (2), 91.1 (100), 65.0 (12), 39.0 (3).

1,4-Bis(benzyloxy)benzol (222)**C₂₀H₁₈O₂ (M = 290.36 g/mol)**

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁴⁸¹ Zu einer Lösung von Hydrochinon **221** (1.0 eq.) in EtOH (17 mL/g Startmaterial) wurden KOH (2.4 eq.) und Benzylbromid (2.2 eq.) gegeben und die Reaktionsmischung 4 h bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde die Reaktionsmischung auf Wasser gekippt und der ausgefallene Feststoff abfiltriert. Nach Umkristallisation aus EtOH wurde ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 58%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 7.48-7.32 (m, 8H, 8*CH_{Ar}), 7.37-7.25 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 6.93 (m, 4H, 4*CH_{Ar}), 5.03 (s, 4H, 2*CH₂, Benzyli). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 152.5 (C_{Ar}), 137.3 (C_{Ar}), 128.4 (+, CH_{Ar}), 127.7 (+, CH_{Ar}), 127.6 (+, CH_{Ar}), 115.7 (+, CH_{Ar}), 69.6 (-, O-CH₂).

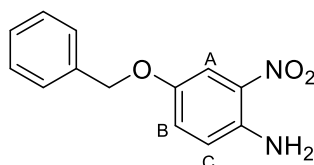
(((2-Nitro-1,4-phenylene)bis(oxy))bis(methylene))dibenzol (223)**C₂₀H₁₇NO₄ (M = 335.36 g/mol)**

Die Synthese wurde ausgehend von **222** nach AV16 durchgeführt. Der entstandene Feststoff wurde abfiltriert und nach Umkristallisation aus MeOH ein gelber Feststoff erhalten. **Ausbeute:** 81%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 7.58 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 7.48-7.43 (m, 4H), 7.42-7.38 (m, 3H), 7.38-7.34 (m, 3H), 7.33-7.27 (m, 2H), 5.22 (s, 2H), 5.11 (s, 2H). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 151.7 (C_{Ar}), 145.1 (C_{Ar}), 139.9 (C_{Ar}), 136.5 (C_{Ar}), 136.3 (C_{Ar}), 128.5 (+, CH_{Ar}), 128.0 (+, CH_{Ar}), 127.8 (+, CH_{Ar}), 127.4 (+, CH_{Ar}), 121.2 (+, CH_{Ar}), 117.1 (+, CH_{Ar}), 110.7 (+, CH_{Ar}), 71.0 (-, O-CH₂), 70.2 (-, O-CH₂). **MS** (FD) *m/z* (%): 335.11 [M]⁺.

4-(Benzyloxy)-2-nitrophenol (224)**C₁₃H₁₁NO₄ (M = 245.23 g/mol)**

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁴⁸¹ Zu einer Lösung des Startmaterial **223** (1.0 eq.) in DCM (15 mL/g Startmaterial) wurde TFA (5 mL/g Startmaterial) gegeben und die Reaktionsmischung 1 h bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde die zweimal mit NaOH (1 M in Wasser) extrahiert und die wässrige Phase anschließend mit HCl (1 M in Wasser) neutralisiert. Das Produkt wurde zweimal mit Chloroform extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Ein gelber Feststoff wurde isoliert.

Ausbeute: 39%. ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 10.48 (s, 1H, OH), 7.50 (d, *J* = 3.1 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.45-7.41 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.34-7.29 (m, H, CH_{Ar}), 7.27 (dd, *J* = 9.1, 3.1 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.08 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, CH_{Ar}), 5.08 (s, 2H, CH₂, Benzyl). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 150.9 (C_{Ar}), 147.2 (C_{Ar}), 137.0 (C_{Ar}), 136.4 (C_{Ar}), 128.9 (+, CH_{Ar}), 128.4 (+, CH_{Ar}), 128.2 (+, CH_{Ar}), 124.6 (+, CH_{Ar}), 120.7 (+, CH_{Ar}), 109.6 (+, CH_{Ar}), 70.1 (-, O-CH₂).

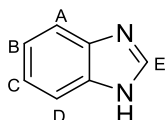
4-(Benzyloxy)-2-nitroanilin (227)**C₁₃H₁₂N₂O₃ (M = 244.25 g/mol)**

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁴⁸² Eine Lösung des Startmaterials **226** (1.0 eq.) in DMF (10 mL/g Startmaterial) wurde auf 0 °C gekühlt und KO^tBu (1.1 eq.) zugegeben. Nach 30 min bei 0 °C wurde eine Lösung von Benzylbromid (1.1 eq.) in DMF (20 mL/g Startmaterial) zugegeben und die Reaktionsmischung weitere 2 h bei 0 °C gerührt. Nach Reaktionsende wurde NH₄Cl-Lösung (10% in Wasser) zugegeben und das Produkt dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Ein roter Feststoff wurde isoliert. **Ausbeute:** 94%. ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 7.48 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 7.49-7.28 (m, 5H, CH_{Ar}), 7.29 (br s, 2H, NH₂), 7.23 (dd, *J* = 9.2, 3.0 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 7.01 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 5.05 (s, 2H, CH_{Benzyl}). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 148.1 (C_{Ar}), 142.1 (C_{Ar}), 136.8 (C_{Ar}), 129.0 (C_{Ar}), 128.4 (+, CH_{Ar}), 127.9 (+, CH_{Ar}), 127.7 (+, CH_{Ar}), 127.7 (+,

CH_{Ar} , 120.8 (+, CH_{Ar}), 106.5 (+, CH_{Ar}), 69.8 ($\text{O}-\text{CH}_2$). **LR-MS** (ESI) m/z (%): 245.09 [MH^+] (100). **HRMS** (ESI): m/z [$\text{M} + \text{H}^+$] berechnet: für $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_3^+$: 245.0921, gefunden: 245.0920, berechnet: für $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{NaO}_3^+$: 267.0740, gefunden: 267.0739.

1*H*-Benzo[d]imidazol (231)

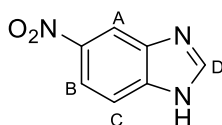
$\text{C}_7\text{H}_6\text{N}_2$ ($M = 118.14$ g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von **229** nach AV24 durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO_2 , DCM) gereinigt und ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 65%. **$^1\text{H-NMR}$** ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz): δ 8.67 (s, 1H, NH), 8.20 (s, 1H, CH_{Ar} , E), 7.69 (dd, $J = 6.0, 3.2$ Hz, 2H, CH_{Ar} , A+D), 7.31 (dd, $J = 6.1, 3.1$ Hz, 2H, CH_{Ar} , B+C).

5-Nitro-1*H*-benzo[d]imidazol (232)

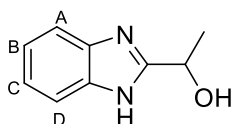
$\text{C}_7\text{H}_5\text{N}_3\text{O}_2$ ($M = 163,14$ g/mol)



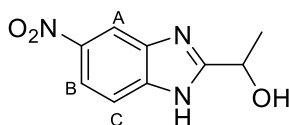
Die Synthese wurde ausgehend von **230** nach AV24 durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO_2 , DCM) gereinigt und ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 42%. **$^1\text{H-NMR}$** ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz): δ 13.08 (s, 1H, NH), 8.68-8.36 (m, 2H, 2* CH_{Ar}), 8.09 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.74 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, CH_{Ar}).

1-(1*H*-Benzo[d]imidazol-2-yl)ethan-1-ol (233)

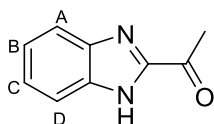
$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}$ ($M = 162.19$ g/mol)



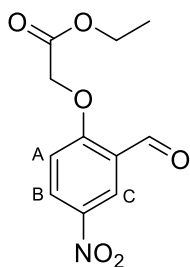
Die Synthese wurde ausgehend von **229** nach AV25 durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO_2 , DCM) gereinigt und ein beiger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 84%. **$^1\text{H-NMR}$** ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz): δ 7.52 (dd, $J = 6.0, 3.2$ Hz, 2H, 2* CH_{Ar}), 7.14 (dd, $J = 6.0, 3.2$ Hz, 2H, 2* CH_{Ar}), 5.00 (q, $J = 6.6$ Hz, 1H, CH), 1.54 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH_3).

1-(5-Nitro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)ethan-1-ol (234)**C₉H₉N₃O₃ (M = 207.13 g/mol)**

Die Synthese wurde ausgehend von **230** nach AV25 durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM) gereinigt und ein beiger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 53%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 12.96 (s, 1H, NH), 8.39 (s, 1H, CH_{Ar, A}), 8.07 (dd, *J* = 8.9, 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 7.64 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 5.99 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H, OH), 4.99 (dt, *J* = 11.2, 5.6 Hz, 2H, CH_{Aliph}), 1.53 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, CH₃).

1-(1*H*-Benzo[*d*]imidazol-2-yl)ethan-1-on (235)**C₉H₈N₂O (M = 160.18 g/mol)**

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{475–477} Eine Lösung des Startmaterials (1.0 eq.) in verd. Schwefelsäure (5%, 15 mL/g Startmaterial) wurde zu K₂Cr₂O₇ (1:5 eq.) in verd. Schwefelsäure (25%, 30 mL/g Startmaterial) gegeben und die Reaktionsmischung 1 h bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde Ammoniak (25% in Wasser) zugegeben und der entstandene Feststoff abfiltriert. **Ausbeute:** 64%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 12.23 (s, 1H, NH), 7.94–7.48 (m, 2H, 2*CH_{Ar}), 7.34 (s, 2H, 2*CH_{Ar}), 2.69 (s, 3H, CH₃).

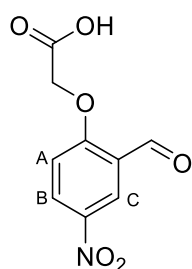
Ethyl 2-(2-formyl-4-nitrophenoxy)acetat (236)**C₁₁H₁₁NO₆ (M = 253.21 g/mol)**

Die Synthese wurde ausgehend von 2-Hydroxy-5-nitrobenzaldehyd **28** nach AV17 in Aceton durchgeführt. Durch Abdestillation des überschüssigen Startmaterials wurde ein weißer Feststoff

isoliert. **Ausbeute:** 83%. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 10.38 (s, 1H, HC=O), 8.46 (dd, J = 9.1, 3.0 Hz, 1H, CH_{Ar}), 8.42 (d, J = 2.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.44 (d, J = 9.2 Hz, 1H, CH_{Ar}), 5.19 (s, 2H, O-CH₂-CO), 4.20 (q, J = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 1.22 (t, J = 7.1 Hz, 3H, CH₂-CH₃). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 101 MHz): δ 187.8 (HC=O), 167.7 (C=O), 164.0 (C_{Ar}), 141.4 (+, CH_{Ar}), 130.7 (+, CH_{Ar}), 124.3 (C_{Ar}), 123.4 (+, CH_{Ar}), 115.3 (+, CH_{Ar}), 66.0 (-, O-CH₂-C=O), 61.2 (-, CH₂-CH₃), 14.0 (+, CH₂-CH₃).

2-(2-Formyl-4-nitrophenoxy)essigsäure (237)

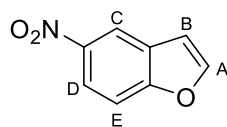
$\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}_6$ ($M = 225.16$ g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von **236** nach AV18 durchgeführt. Das Produkt wurde dreimal mit EA extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösemittels wurde ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 50%. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 13.34 (s, 1H, OH), 10.39 (s, 1H, HC=O), 8.47 (dd, J = 9.2, 3.0 Hz, 1H, CH_{Ar}), 8.43 (d, J = 2.9 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.41 (d, J = 9.2 Hz, 1H, CH_{Ar}), 5.09 (s, 2H, O-CH₂-CO). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 75 MHz): δ 187.9 (HC=O), 169.1 (C=O), 164.2 (C_{Ar}), 141.3 (+, CH_{Ar}), 130.7 (+, CH_{Ar}), 124.2 (C_{Ar}), 123.4 (+, CH_{Ar}), 115.2 (+, CH_{Ar}), 65.8 (-, O-CH₂-C=O).

5-Nitrobenzofuran (238)

$\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}_6$ ($M = 225.16$ g/mol)

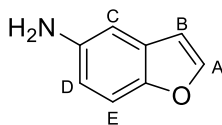


Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁴⁸⁷ Die Synthese wurde ausgehend von **237** nach AV19 durchgeführt. Das Produkt wurde mit EA extrahiert und die organische Phase zweimal mit NaHCO₃-Lösung (gesättigt in Wasser), mit Wasser und mit NaCl-Lösung (gesättigt in Wasser) gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, PE/EA 9:1) gereinigt und ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 33%. $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 8.64 (d, J = 2.5 Hz, 1H, CH_{Ar}), 8.26 (d, J = 2.3 Hz, 1H, CH_{Ar}), 8.21 (dd, J = 9.1, 2.5 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.85 (d, J = 9.1 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.20 (d, J = 2.3 Hz, 1H,

CH_{Ar} . $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 75 MHz): δ 157.2 (C_{Ar}), 149.4 (+, CH_{Ar}), 143.7 (C_{Ar}), 127.9 (C_{Ar}), 120.1 (+, CH_{Ar}), 117.9 (+, CH_{Ar}), 112.2 (+, CH_{Ar}), 107.9 (+, CH_{Ar}).

Benzofuran-5-amin (**239**)

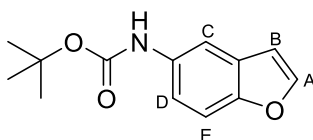
$\text{C}_8\text{H}_7\text{NO}$ ($M = 133.15$ g/mol)



Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{488–490} Das Startmaterial **238** (1.0 eq.) wurde in THF/MeOH (2:1, 75 mL/g Startmaterial) gelöst und Zn-Staub (3.00 g/g Startmaterial) und CuSO_4 (0.10 g/g Startmaterial) zugegeben. HCl (3 M in Wasser, 15 mL/g Startmaterial) wurde zugetropft und die Reaktionsmischung 1 h bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde der Feststoff abfiltriert und das Filtrat mit Ammoniak (konz. in Wasser) alkalisiert. Das Produkt wurde dreimal mit DCM extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde entfernt und das Rohprodukt ohne Reinigung weiterverwendet.

tert-Butyl benzofuran-5-ylcarbammat (**240**)

$\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}_3$ ($M = 233.27$ g/mol)



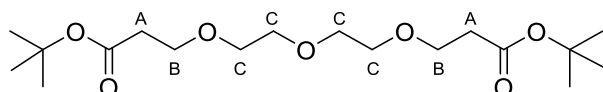
Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.³²⁴ Das Startmaterial **239** (1.0 eq.) wurde in THF (40 mL/g Startmaterial) gelöst und bei 0 °C Boc_2O (1.2 eq.) und DMAP (0.2 eq.) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei RT gerührt und nach Reaktionsende Diethylamin (1.2 eq.) zugegeben. Nach 1 h Rühren bei RT wurde die Reaktionsmischung auf Wasser gekippt und das Produkt dreimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. **Ausbeute:** 21% (über 2 Stufen). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.62 (s, 1H, CH_{Ar}), 7.47 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.27 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.01 (dd, $J = 8.8, 2.3$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.58 (dd, $J = 2.3, 0.9$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 6.43 (s, 1H, NH), 1.41 (s, 9H, $3 \times \text{CH}_3$). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 101 MHz): δ 153.4 ($\text{C}=\text{O}$), 151.6 (C_{Ar}), 145.8 (+, CH_{Ar}), 133.7 (C_{Ar}), 128.0 (C_{Ar}), 125.7 (+, CH_{Ar}), 116.8 (+, CH_{Ar}), 111.5 (+, CH_{Ar}), 106.9 (+, CH_{Ar}), 80.5 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 28.5 (+, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

5.12. PROTACs

5.12.1. Linker

Di-*tert*-butyl 3,3'-((oxybis(ethane-2,1-diyl))bis(oxy))dipropionate (**243**)

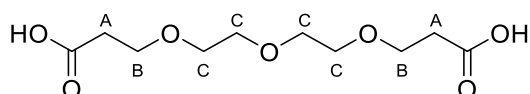
$C_{18}H_{34}O_7$ ($M = 362.46$ g/mol)



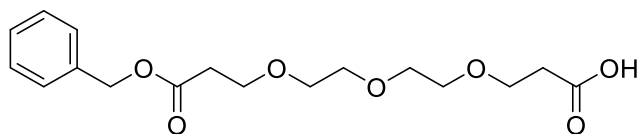
Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁵⁰⁴ Natrium (0.02 eq.) wurde zu einer Lösung von Diethylenglykol **241** (1.0 eq.) in THF (4 mL/g Startmaterial) gegeben und die Reaktionsmischung 2 h bei RT gerührt. *Tert*-Butylacrylat **242** (2.6 eq.) wurde zugegeben und über Nacht bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde NaCl-Lösung (gesättigt in Wasser) gegeben und das Produkt dreimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, PE/EA 9:1) gereinigt und ein blass-gelbes Öl isoliert. **Ausbeute:** 47%. **R_f** = 0.20 (PE/EA 9:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 3.67 (t, *J* = 7.3 Hz, 4H, 2*CH₂,_B), 3.60-3.54 (m, 8H, 4*CH₂,_C), 2.49 (t, *J* = 7.3 Hz, 4H, 2*CH₂,_A), 1.48 (s, 18H, 2*O-C(CH₃)₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 170.3 (C=O), 79.6 (O-C_{quart}-(CH₃)₃), 69.7 (-), 69.7 (-), 66.2 (-), 35.8 (-), 27.7 (+, C-(CH₃)₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₈H₃₅N₇⁺: 380.2643, gefunden: 380.2653.

3,3'-((Oxybis(ethane-2,1-diyl))bis(oxy))dipropionic acid (**244**)

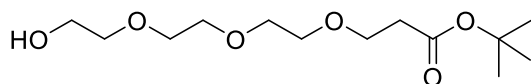
$C_{10}H_{18}O_7$ ($M = 250.25$ g/mol)



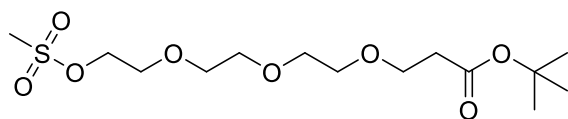
Die Synthese wurde ausgehend von **243** nach AV26 durchgeführt. Nach Co-Destillation mit EA wurde ein klares Öl isoliert. **Ausbeute:** quantitativ. **R_f** = 0.00 (PE/EA 9:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 12.19 (s, 2H, 2*COOH), 3.58 (t, *J* = 6.3 Hz, 4H, 2*CH₂,_B), 3.51-3.44 (m, 8H, 4*CH₂,_C), 2.43 (t, *J* = 6.3 Hz, 4H, 2*CH₂,_A). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 172.9 (2*C=O), 69.9 (-, 2*CH₂,_C), 69.8 (-, 2*CH₂,_C), 66.4 (-, 2*CH₂,_B), 34.9 (-, 2*CH₂,_A). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₀H₁₉N₇⁺: 251.1125, gefunden: 251.1127.

3-Oxo-1-phenyl-2,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-säure (245)**C₁₇H₂₄O₇ (M = 340.37 g/mol)**

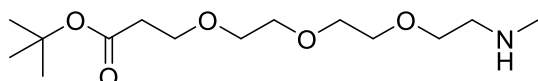
Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁵⁰⁶ Zu einer Lösung der Dicarbonsäure **244** (1.0 eq.) in THF (10 mL/g Startmaterial) wurden bei 0 °C DBU (1.0 eq.) und Benzylbromid (1.0 eq.) gegeben und die Reaktionsmischung über Nacht bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde Wasser zugegeben und das Produkt dreimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 90:9:1) gereinigt und ein gelbes Öl isoliert. **Ausbeute:** 22%. **R_f** = 0.05 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 12.18 (s, 1H, br, COOH), 7.44-7.26 (m, 5H, 5*CH_{Ar}), 5.11 (s, 2H, CH₂, Benzyl), 3.66 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H, CH₂), 3.59 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH₂), 3.48 (d, *J* = 2.5 Hz, 8H, 4*CH₂), 2.60 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, CH₂), 2.44 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH₂). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 172.7 (C=O), 171.1 (C=O), 136.2 (C_{Ar}), 128.4 (+, CH_{Ar}), 128.0 (+, CH_{Ar}), 127.9 (+, CH_{Ar}), 69.8 (-, CH₂), 69.7 (-, CH₂), 69.7 (-, CH₂), 69.7 (-, CH₂), 66.3 (-, CH₂), 66.1 (-, CH₂), 65.4 (-, CH₂), 34.8 (-, CH₂), 34.7 (-, CH₂).

tert-Butyl 3-(2-(2-(2-hydroxyethoxy)ethoxy)ethoxy)propanoat (247)**C₁₃H₂₆O₆ (M = 278.35 g/mol)**

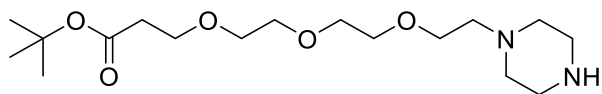
Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁵⁰⁷⁻⁵¹¹ Triethylenglykol (**246**, 1.0 eq.) wurde in THF (3-4 mL/g Startmaterial) gelöst und Natrium (0.03 eq.) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 2 h bei RT gerührt und *tert*-Butylacrylat (0.3 eq.) zugegeben. Anschließend wurde über Nacht bei RT gerührt und nach Reaktionsende mit HCl (1 M in Wasser) ein pH-Wert von 7 eingestellt. Das Produkt wurde dreimal mit EA extrahiert, die vereinigten organischen Phasen dreimal mit NaCl (gesättigt in Wasser) gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde entfernt und nach Reinigung mit SC (SiO₂, DCM/MeOH 95:5) ein gelbes Öl isoliert. **Ausbeute:** 59%. **R_f** = 0.09 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 90:9:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 4.47 (br s, 1H, OH), 3.58 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, CH₂), 3.53-3.45 (m, 10H, 5*CH₂), 3.43-3.37 (m, 2H, CH₂), 2.41 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, CH₂), 1.39 (s, 9H, O-C-(CH₃)₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 170.4 (C=O), 79.7 (C(CH₃)₃), 72.4 (-), 69.9 (-), 69.8 (-), 69.7 (-), 69.7 (-), 66.3 (-), 60.2 (-), 35.9 (-), 27.8 (+).

tert-Butyl 3-(2-(2-(2-((methylsulfonyl)oxy)ethoxy)ethoxy)ethoxy)propanoat (248)**C₁₄H₂₈O₈S** (*M* = 356.43 g/mol)

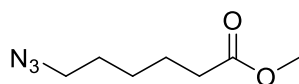
Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{509; 512–514} Triethylamin (2.0 eq.) wurde zu einer Lösung **247** (1.0 eq.) in DCM (30 mL/g Startmaterial) gegeben und die Reaktionsmischung 30 min bei RT gerührt. Methansulfonsäurechlorid (1.2 eq.) wurde zugegeben und über Nacht gerührt. Nach Reaktionsende durch Zugabe von HCl (1 M in Wasser) wurde die wässrige Phase abgetrennt, die organische Phase zweimal mit NaHCO₃-Lösung (gesättigt in Wasser) und einmal mit NaCl-Lösung (gesättigt in Wasser) gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, PE/EA 9:1) gereinigt und ein blass-gelbes Öl isoliert. **Ausbeute:** 59%. **R_f** = 0.06 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 90:9:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 4.36-4.26 (m, 2H, CH₂), 3.70-3.64 (m, 2H, CH₂), 3.62-3.52 (m, 6H, 3*CH₂), 3.51-3.44 (m, 4H, 2*CH₂), 3.17 (s, 1H, SO₂-CH₃), 2.41 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, CH₂), 1.40 (s, 9H, O-C-(CH₃)₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 170.4 (C=O), 79.7, 69.8 (-), 69.7 (-), 69.7 (-), 69.7 (-), 69.7 (-), 68.3 (-), 66.2 (-), 36.8 (+), 35.8 (-), 27.7 (+).

tert-Butyl 5,8,11-trioxa-2-azatetradecan-14-oat (249)**C₁₄H₂₉NO₅** (*M* = 291.39 g/mol)

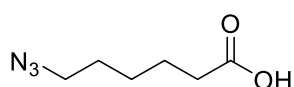
Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁵¹¹ Das Startmaterial **248** (1.0 eq.) wurde in THF (3 mL/g Startmaterial) gelöst und eine Methylamin-Lösung (2 M in MeOH, 20 eq.) und die Reaktionsmischung bei 50 °C über Nacht gerührt. Nach Reaktionsende wurde das Lösemittel entfernt und der Rückstand in DCM aufgenommen. Die organische Phase wurde mit NaCl-Lösung (gesättigt in Wasser) gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wurde entfernt und ein gelbes Öl isoliert. **Ausbeute:** 54%. **R_f** = 0.17 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 90:9:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 3.58 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, CH₂), 3.52-3.47 (m, 9H, NH+4*CH₂), 3.44 (t, *J* = 5.6 Hz, 2H, CH₂), 2.59 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H, CH₂), 2.41 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, CH₂), 2.28 (s, 3H, CH₃), 1.39 (s, 9H, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₄H₃₀NO₅⁺: 292.2118, gefunden: 292.2119.

tert-Butyl 3-(2-(2-(2-(piperazin-1-yl)ethoxy)ethoxy)ethoxy)propanoat (250)**C₁₇H₃₄N₂O₅ (M = 346.47 g/mol)**

Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.⁵¹⁵ Zu einer Lösung von Piperazin **136** (10 eq.) in THF (25 mL/g Startmaterial) wurde eine Lösung des Startmaterials **248** (1.0 eq.) in THF (25 mL/g Startmaterial) gegeben und die Reaktionsmischung über Nacht bei 50 °C gerührt. Nach Reaktionsende wurde der Feststoff abfiltriert und das Lösemittel entfernt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 98:1.8:0.2) gereinigt und ein blass-gelbes Öl isoliert. $R_f = 0.11$ (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 90:9:1). ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 3.58 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, CH₂), 3.53-3.47 (m, 13H, NH+6*CH₂), 2.66 (s, 2H, br, CH₂), 2.46-2.26 (m, 8H, 4*CH₂), 1.39 (s, 9H, 3*CH₃). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 170.8 (C=O), 80.1 (C(CH₃)₃), 70.2 (-, CH₂), 70.2 (-, CH₂), 70.1 (-, CH₂), 70.1 (-, CH₂), 68.7 (-, CH₂), 66.7 (-, CH₂), 36.3 (-, CH₂), 28.2 (C(CH₃)₃). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₁₇H₃₅N₂O₅⁺: 347.2540, gefunden: 347.2545.

Methyl 6-azidoheptanoat (252)**C₇H₁₃N₃O₂ (M = 171.20 g/mol)**

Die Synthese wurde ausgehend von **251** nach AV27 durchgeführt. Überschüssiges DMF wurde durch Co-Destillation mit Heptan entfernt und ein blass-gelbes Öl isoliert. **Ausbeute:** 93%. ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 3.58 (s, 3H, CH₃), 3.31 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH₂), 2.31 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH₂), 1.61-1.47 (m, 4H, 2*CH₂), 1.39-1.24 (m, 2H, CH₂). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 173.2 (C=O), 51.2 (+, CH₃), 50.5 (-, CH₂), 33.1 (-, CH₂), 28.0 (-, CH₂), 25.7 (-, CH₂), 24.0 (-, CH₂). HRMS (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₇H₁₄N₃O₂⁺: 172.1081, gefunden: 172.1081.

6-Azidoheptansäure (253)**C₆H₁₁N₃O₂ (M = 157.17 g/mol)**

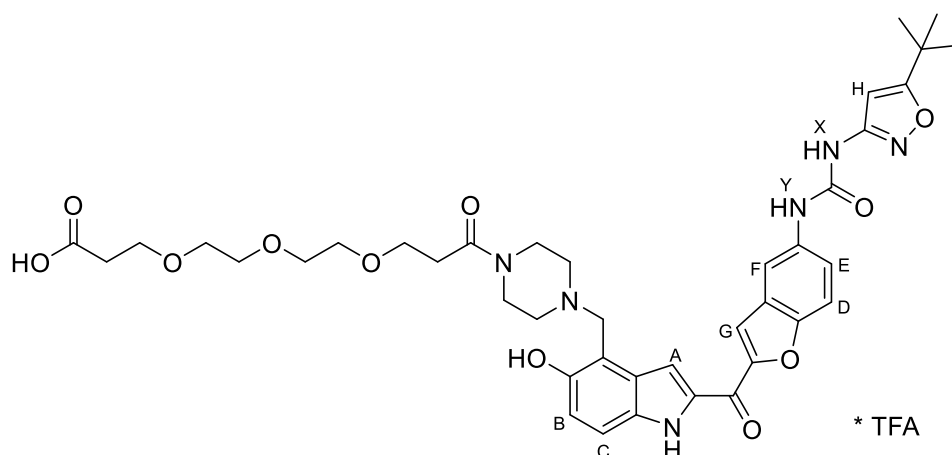
Die Synthese wurde nach Literatur durchgeführt.^{519; 520} Zu einer Lösung des Startmaterials **252** (1.0 eq.) in MeOH (20 mL/g Startmaterial) wurde eine Lösung von LiOH (3.0 eq., 5 mL/g

Startmaterial) getropft und die Reaktionsmischung 4 h bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde die wässrige Phase dreimal mit Diethylether gewaschen und die wässrige Phase auf eine KHSO₄-Lösung (gesättigt in Wasser) gekippt. Das Produkt wurde dreimal mit EA extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. **Ausbeute:** 98%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 12.00 (s, 1H, COOH), 3.30 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH₂), 2.20 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH₂), 1.61-1.43 (m, 4H, 2*CH₂), 1.39-1.23 (m, 2H, CH₂). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 174.5 (C=O), 50.6 (-, CH₂), 33.6 (-, CH₂), 28.1 (-, CH₂), 25.8 (-, CH₂), 24.1 (-, CH₂). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₆H₁₂N₃O₂⁺: 158.0924, gefunden: 158.0925.

5.12.2. Zielprotein-bindende Liganden

3-(2-(2-(3-(4-((2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-5-hydroxy-1*H*-indol-4-yl)methyl)piperazin-1-yl)-3-oxopropoxy)ethoxy)ethoxy)propansäure Bis(2,2,2-trifluoracetat) (254)

C₄₂H₄₉F₃N₆O₁₃ (M = 902.88 g/mol)

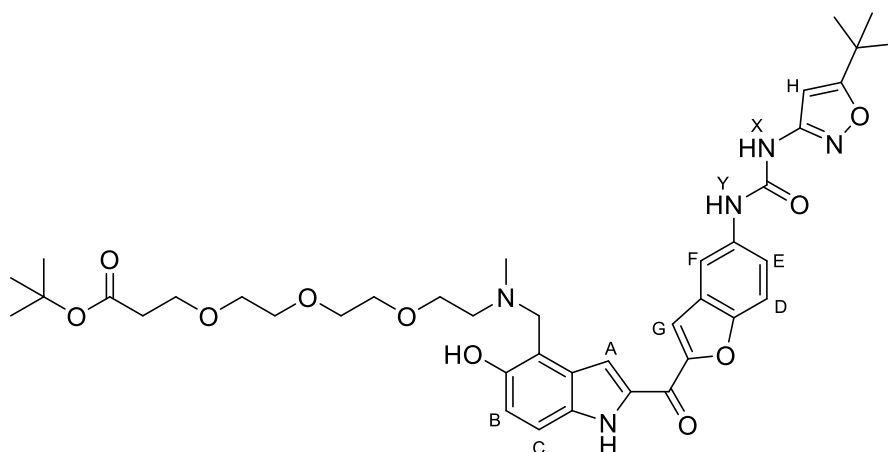


Die Synthese wurde nach Lit. durchgeführt.⁵²¹ Zu einer Lösung von **158** in DMF (80 mL/g Startmaterial) wurde **244** (3.0 eq.) und BOP (1.1 eq.) gegeben. Anschließend wurde Triethylamin (3.0 eq.) hinzugefügt und die Reaktionsmischung über Nacht bei 50 °C gerührt. Nach Reaktionsende wurde das Lösemittel entfernt und zum Rückstand Wasser und EA gegeben. Das Produkt wurde dreimal mit EA extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Nach Kristallisation aus DCM und PE wurde ein gelb-oranger Feststoff isoliert, der mit präp. HPLC gereinigt und das TFA-Salz isoliert wurde. **Ausbeute:** 25%. **R_f** = 0.00 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 12.12 (s, 1H, br, COOH), 12.11 (s, 1H, Indol-NH), 10.40-9.63 (m, 3H), 9.29 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.14 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 8.06 (s, 1H, CH_{Ar, G}), 7.89 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 7.76 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.54 (dd, *J* = 9.0, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.49 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 7.11 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar,}

b), 6.52 (s, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, H}}$), 4.60 (s, 2H, $\text{Ar-CH}_2\text{-N}$), 4.52-4.02 (m, 2H, CH_2), 3.71-2.90 (m, 18H, $9 \times \text{CH}_2$), 2.61 (s, 2H, br, CH_2), 2.41 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H, CH_2), 1.30 (s, 9H, $3 \times \text{CH}_3$). **HRMS** (ESI): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ berechnet: für $\text{C}_{40}\text{H}_{49}\text{N}_6\text{O}_{11}^+$: 789.3454, gefunden: 789.3466. **Smp.**: Zersetzung ab 161 °C. **IR** (KBr): 3186, 2966, 1688, 1612, 1551, 1203 cm^{-1} .

tert-Butyl 1-(2-(5-(3-(5-(tert-butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-5-hydroxy-1H-indol-4-yl)-2-methyl-5,8,11-trioxa-2-azatetradecan-14-olat (255)

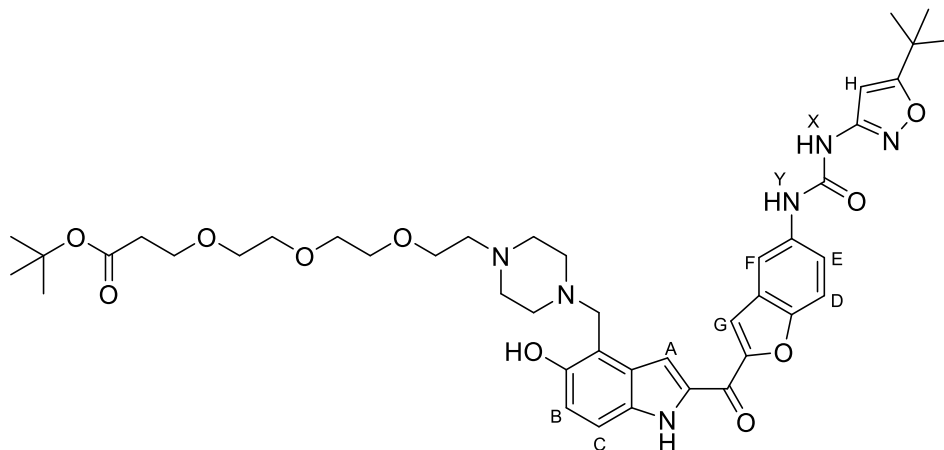
$\text{C}_{40}\text{H}_{51}\text{N}_5\text{O}_{10}$ ($M = 761.87$ g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von **250** und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO_2 , DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 99:0.9:0.1 oder DCM/MeOH 95:5) gereinigt und **245** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute**: 70%. $R_f = 0.35$ (DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 95:4:1). **$^1\text{H-NMR}$** ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz): δ 11.86 (s, 1H, Indol-NH), 10.90 (s, 1H, Harnstoff- NH_X), 10.38 (s, 1H, Harnstoff- NH_Y), 8.15 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, F}}$), 8.00 (s, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, G}}$), 7.79-7.69 (m, 2H, $\text{CH}_{\text{Ar, D}} + \text{CH}_{\text{Ar, A}}$), 7.62 (dd, $J = 9.0, 2.1$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, E}}$), 7.28 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, C}}$), 6.86 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, B}}$), 6.53 (s, 1H, $\text{CH}_{\text{Ar, H}}$), 4.05 (s, 2H, $\text{Ar-CH}_2\text{-N}$), 3.62 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H, CH_2), 3.57-3.36 (m, 10H, $5 \times \text{CH}_2$), 2.72 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H, CH_2), 2.37 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H, CH_2), 2.31 (s, 3H, CH_3), 1.35 (s, 9H, $3 \times \text{CH}_3$), 1.29 (s, 9H, $3 \times \text{CH}_3$). **$^{13}\text{C-NMR}$** ($\text{DMSO-}d_6$, 75 MHz): δ 179.7 (C=O), 173.1 (C=O), 170.4 (C=O), 158.9 (C_{Ar}), 152.7 (C_{Ar}), 152.3 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 151.1 (C_{Ar}), 136.2 (C_{Ar}), 133.7 (C_{Ar}), 133.1 (C_{Ar}), 127.5 (C_{Ar}), 127.2 (C_{Ar}), 120.6 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, E}}$), 118.2 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, B}}$), 114.5 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, G}}$), 112.3 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, C}}$), 112.2 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, D}}$), 112.2 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, F}}$), 111.6 (C_{Ar}), 108.4 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, A}}$), 92.7 (+, $\text{CH}_{\text{Ar, H}}$), 79.7 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 69.8 (-, CH_2), 69.7 (-, CH_2), 69.6 (-, CH_2), 68.0 (-, CH_2), 66.2 (-, CH_2), 56.0 (-, CH_2), 55.9 (-, CH_2), 41.7 (+, CH_3), 35.8 (-, CH_2), 32.4 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 28.4 (+, $3 \times \text{CH}_3$), 27.7 (+, $3 \times \text{CH}_3$). **HRMS** (ESI): m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ berechnet: für $\text{C}_{40}\text{H}_{52}\text{N}_5\text{O}_{10}^+$: 762.3709, gefunden: 762.3722. **Smp.**: Zersetzung ab 158 °C. **IR** (KBr): 3283, 2970, 1726, 1612, 1550, 1215, 1148 cm^{-1} .

tert-Butyl 3-(2-(2-(2-(4-((2-(5-(3-(5-(tert-butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-5-hydroxy-1H-indol-4-yl)methyl)piperazin-1-yl)ethoxy)ethoxy)ethoxy)propanoat (256)

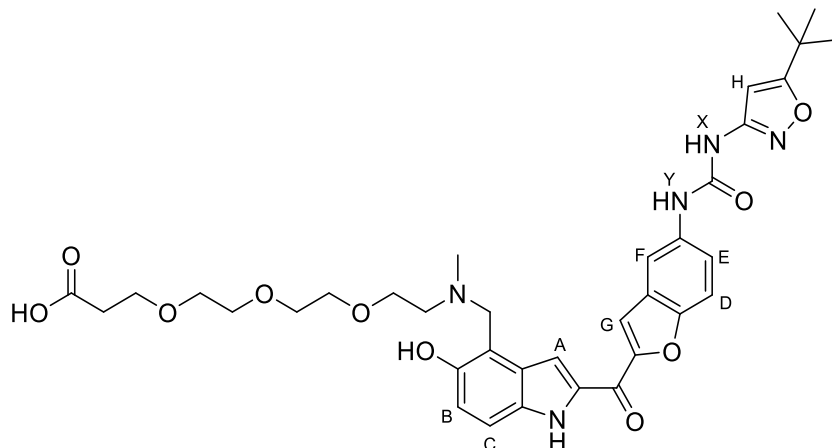
C₄₃H₅₆N₆O₁₀ (M = 816.95 g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von **249** und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1 oder DCM/MeOH 95:5) gereinigt und **256** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 87%. **R_f** = 0.32 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.85 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, Indol-NH), 10.57 (s, 1H, OH), 10.28 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.75 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.12 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 8.00 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 7.78-7.70 (m, 2H, CH_{Ar, D} + CH_{Ar, A}), 7.56 (dd, *J* = 9.0, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.26 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.85 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.01 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.56 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, CH₂), 3.53-3.42 (m, 12H, 6*CH₂), 2.65-2.52 (m, 4H, 2*CH₂), 2.47-2.33 (m, 6H, 3*CH₂), 1.36 (s, 9H, 3*CH₃), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₄₃H₅₇N₆O₁₀⁺: 817.4131, gefunden: 817.4141. **Smp.:** Zersetzung ab 159 °C. **IR (KBr):** 3287, 2970, 1717, 1611, 1551, 1217, 1149 cm⁻¹.

1-(2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-5-hydroxy-1*H*-indol-4-yl)-2-methyl-5,8,11-trioxa-2-azatetradecan-14-säure (257)

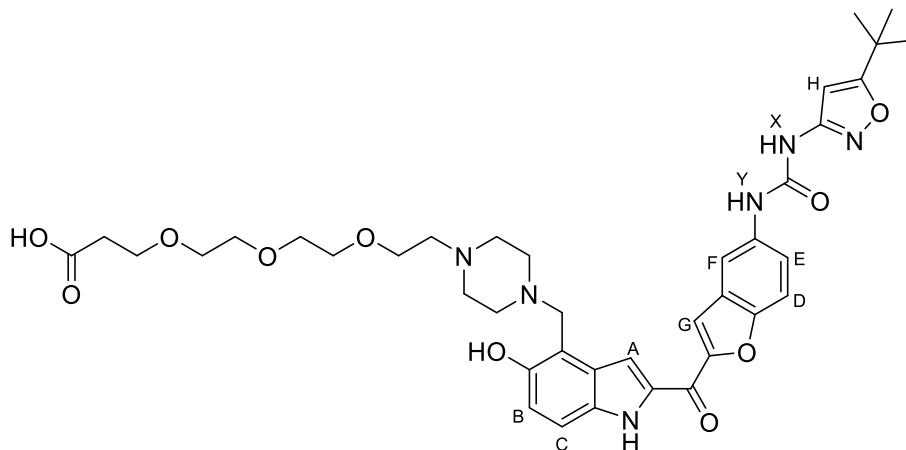
C₃₆H₄₃N₅O₁₀ (*M* = 705.77 g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von **255** nach AV26 durchgeführt. Nach Entfernen überschüssiger Ameisensäure durch Co-Destillation mit EA wurde ein gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** quantitativ. **R_f** = 0.00 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 12.08 (s, 1H, Indol-NH), 9.91 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.46 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.12 (s, 1H, CH_{Ar, F}), 8.04 (s, 1H, CH_{Ar, G}), 7.84 (s, 1H, CH_{Ar, A}), 7.74 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.57 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.48 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 7.11 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.64 (s, 2H, br, CH₂), 3.86 (t, *J* = 4.9 Hz, 2H, CH₂), 3.67-3.31 (m, 12H, 6*CH₂), 2.79 (s, 3H, CH₃), 2.37 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH₂), 1.29 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.1 (C=O), 173.3 (C=O), 172.6 (C=O), 158.5 (C_{Ar}), 152.4 (C_{Ar}), 151.8 (C_{Ar}), 151.4 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 135.7 (C_{Ar}), 134.4 (C_{Ar}), 132.9 (C_{Ar}), 128.7 (C_{Ar}), 127.2 (C_{Ar}), 120.9 (+, CH_{Ar, E}), 117.3 (+, CH_{Ar, B}), 115.5 (+, CH_{Ar, G}), 115.0 (+, CH_{Ar, C}), 112.5 (+, CH_{Ar, D}), 111.9 (+, CH_{Ar, F}), 108.5 (C_{Ar}), 106.3 (+, CH_{Ar, A}), 92.6 (+, CH_{Ar, H}), 69.6 (-, CH₂), 69.6 (-, CH₂), 69.6 (-, CH₂), 69.5 (-, CH₂), 66.2 (-, CH₂), 64.8 (-, CH₂), 54.9 (-, Ar-CH₂-N), 51.8 (-, CH₂), 40.8 (+, N-CH₃), 34.7 (-, CH₂), 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₆H₄₄N₅O₁₀⁺: 706.3083, gefunden: 706.3092. **Smp.:** Zersetzung ab 154 °C. **IR (KBr):** 3185, 2967, 1688, 1612, 1551, 1202 cm⁻¹. Ein kleiner Teil des Produkts wurde zu Analysezwecken mit präp. HPLC gereinigt und das einfache TFA-Salz **257b** isoliert. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 12.12 (s, 1H, br, COOH), 12.11 (s, 1H, Indol-NH), 10.04 (s, 1H, br, OH), 9.80 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 9.29 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.14 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 8.06 (s, 1H, CH_{Ar, G}), 7.89 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 7.76 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.54 (dd, *J* = 9.0, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.49 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 7.11 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.60 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 4.52-4.02 (m, 2H, CH₂), 3.71-2.90 (m, 18H, 9*CH₂), 2.61 (s, 2H, br, CH₂), 2.41 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH₂), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). C₃₈H₄₄F₃N₅O₁₂ [819.79].

3-(2-(2-(2-(4-((2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-5-hydroxy-1*H*-indol-4-yl)methyl)piperazin-1-yl)ethoxy)ethoxy)ethoxy)propansäure (258)

C₃₉H₄₈N₆O₁₀ (*M* = 760.85 g/mol)

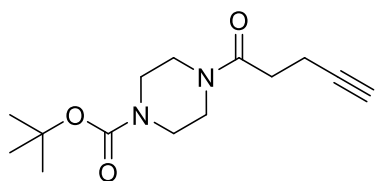


Die Synthese wurde ausgehend von **256** nach AV26 durchgeführt. Nach Entfernen überschüssiger Ameisensäure durch Co-Destillation mit EA wurde ein gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** quantitativ. **R_f** = 0.00 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₃₉H₄₉N₆O₁₀⁺: 761.3505, gefunden: 761.3516. **IR (KBr):** 2967, 1675, 1552, 1471, 1201 cm⁻¹.

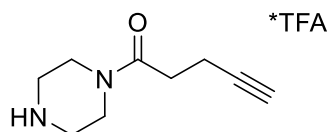
5.12.2.1. *Synthese der Amine*

***tert*-Butyl 4-(pent-4-ynoyl)piperazin-1-carboxylat (259)**

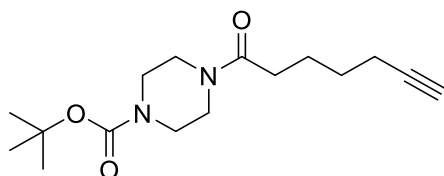
C₁₄H₂₂N₂O₃ (*M* = 266.34 g/mol)



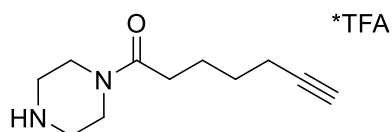
Die Synthese wurde ausgehend von *N*-Boc-Piperazin **137** nach AV11D durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) gereinigt und ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 67%. **R_f** = 0.67 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (CDCl₃, 300 MHz): δ 3.58-3.50 (m, 2H, CH₂), 3.43-3.27 (m, 6H, 3*CH₂), 2.56-2.43 (m, 4H, 2*CH₂), 1.92 (t, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH_{Alkin}), 1.40 (s, 9H). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 75 MHz): δ 169.6 (C=O), 154.6 (C=O), 83.4 (C_{Alkin}), 80.5 (C(CH₃)₃), 69.0 (+, CH_{Alkin}), 45.3 (-, CH₂), 41.6 (-, CH₂), 32.3 (-, CH₂), 28.5 (+, C(CH₃)₃), 14.6 (-, CH₂). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet für C₁₄H₂₃N₂O₃⁺: 267.1703, gefunden: 267.1709, *m/z* [M + Na]⁺ berechnet für C₁₄H₂₂N₂NaO₃⁺: 289.1523, gefunden: 289.1530.

1-(Piperazin-1-yl)prop-2-yn-1-on 2,2,2-Trifluoracetat (260)**C₁₁H₁₅F₃N₂O₃ (M = 280.25 g/mol)**

Die Synthese wurde ausgehend von **259** nach AV6 durchgeführt. Lösemittel und überschüssige TFA wurden entfernt und das Rohprodukt ohne Reinigung weiterverwendet. **HRMS** (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für C₉H₁₅N₂O⁺: 167.1179, gefunden: 167.1181.

tert-Butyl 4-(hept-6-ynoyl)piperazin-1-carboxylat (261)**C₁₆H₂₆N₂O₃ (M = 294.40 g/mol)**

Die Synthese wurde ausgehend von *N*-Boc-Piperazin **137** nach AV11D durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) gereinigt und ein weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 90%. **R_f** = 0.71 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (CDCl₃, 300 MHz): δ 3.70-3.30 (m, 8H, 4*CH₂), 2.40-2.30 (m, 2H, CH₂), 2.22 (td, *J* = 6.9, 2.7 Hz, 2H, CH₂), 1.94 (t, *J* = 2.6 Hz, 1H, CH_{Alkin}), 1.83-1.68 (m, 2H, CH₂), 1.65-1.52 (m, 2H, CH₂), 1.46 (s, 9H). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 75 MHz): δ 171.5 (C=O), 154.7 (C=O), 84.2 (C_{Alkin}), 80.4 (C(CH₃)₃), 68.8 (+, CH_{Alkin}), 32.9 (-, CH₂), 28.5 (+, C(CH₃)₃), 28.2 (-, CH₂), 24.4 (-, CH₂), 14.3 (-, CH₂). **HRMS** (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für C₁₆H₂₇N₂O₃⁺: 295.2016, gefunden: 295.2023, m/z [M + Na]⁺ berechnet für C₁₆H₂₆N₂NaO₃⁺: 317.1836, gefunden: 317.1843. **Smp.**: 78-79 °C. **IR** (KBr): 3232, 2977, 2869, 1687, 1643, 1365, 1240, 1175 cm⁻¹.

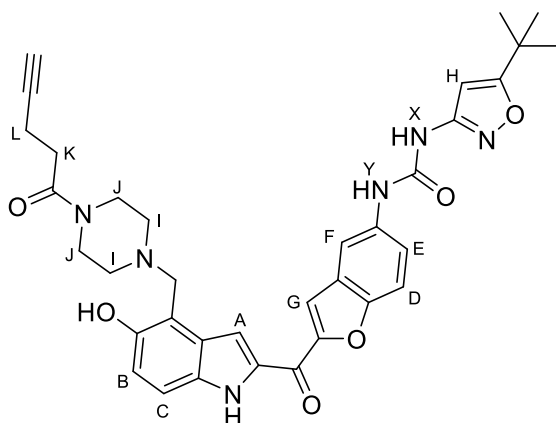
1-(Piperazin-1-yl)hept-6-yn-1-on 2,2,2-Trifluoracetat (262)**C₁₃H₁₉F₃N₂O₃ (M = 308.30 g/mol)**

Die Synthese wurde ausgehend von **261** nach AV6 durchgeführt. Lösemittel und überschüssige TFA wurden entfernt und das Rohprodukt ohne Reinigung weiterverwendet. **HRMS** (ESI): m/z $[M + H]^+$ berechnet: für $C_{11}H_{18}N_2O^+$: 195.1492, gefunden: 195.1495.

5.12.2.2. Synthese der Bausteine

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-3-((4-(pent-4-ynoyl)piperazin-1-yl)methyl)-1H-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (**263**)

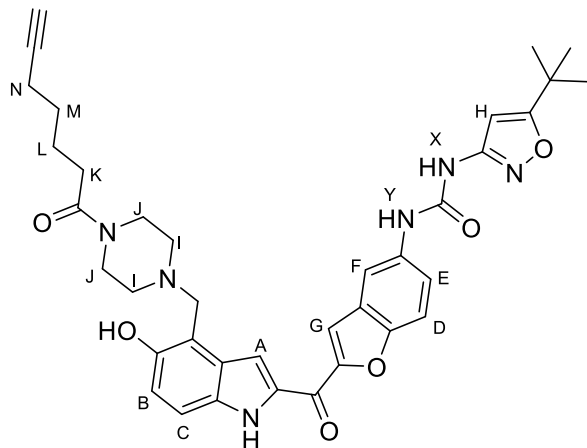
$C_{35}H_{36}N_6O_6$ ($M = 636.71$ g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von 1-(Piperazin-1-yl)pent-4-yn-1-on **260** und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO_2 , DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 99:0.9:0.1) gereinigt und **263** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute**: 53%. $R_f = 0.59$ (DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 95:4:1). **1H -NMR** ($DMSO-d_6$, 400 MHz): δ 11.85 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, Indol-NH), 10.89 (s, 1H, br, OH), 9.58 (s, 1H, Harnstoff- NH_X), 9.00 (s, 1H, Harnstoff- NH_Y), 8.09 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, $CH_{Ar, F}$), 7.98 (s, 1H, $CH_{Ar, G}$), 7.79-7.70 (m, 2H, $CH_{Ar, D} + CH_{Ar, A}$), 7.51 (dd, $J = 8.9, 2.2$ Hz, 1H, $CH_{Ar, E}$), 7.29 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, $CH_{Ar, C}$), 6.90 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, $CH_{Ar, B}$), 6.52 (s, 1H, $CH_{Ar, H}$), 3.99 (s, 2H, Ar- CH_2 -N), 3.57-3.46 (m, 4H, 2* CH_2 , Piperazin), 2.73 (t, $J = 2.6$ Hz, 1H, CH_{Alkin}), 2.57-2.52 (m, 6H, CH_2 - CH_2 + 2* CH_2 , Piperazin), 2.38-2.32 (m, 2H, CH_2 - CH_2), 1.30 (s, 9H, 3* CH_3). **^{13}C -NMR** ($DMSO-d_6$, 101 MHz): δ 180.2 ($C=O$), 173.1 ($C=O$), 168.9 ($C=O$), 158.5 (C_{Ar}), 152.8 (C_{Ar}), 151.7 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 150.5 (C_{Ar}), 135.3 (C_{Ar}), 133.7 (C_{Ar}), 133.2 (C_{Ar}), 127.9 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 120.7 (+, $CH_{Ar, E}$), 118.1 (+, $CH_{Ar, B}$), 114.5 (+, $CH_{Ar, G}$), 112.5 (+, $CH_{Ar, C}$), 112.4 (+, $CH_{Ar, D}$), 112.1 (+, $CH_{Ar, F}$), 111.9 (C_{Ar}), 109.0 (+, $CH_{Ar, A}$), 92.5 (+, $CH_{Ar, H}$), 84.1, 71.2, 55.2 (-, Ar- CH_2 -N), 52.5, 44.7, 32.5 ($C(CH_3)_3$), 31.3, 28.4 (+, 3* CH_3), 13.9. **HRMS** (ESI): m/z $[M + H]^+$ berechnet für $C_{35}H_{37}N_6O_6^+$: 637.2769, gefunden: 637.2775, m/z $[M + Na]^+$ berechnet für $C_{35}H_{36}N_6NaO_6^+$: 659.2589, gefunden: 659.2586. **Smp.**: Zersetzung ab 183 °C. **IR** (**KBr**): 3280, 2970, 1690, 1532, 1437, 1230 cm^{-1} . **RP-HPLC**: >95%, ($t_R = 14.36$ min).

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(3-((4-(hept-6-ynoyl)piperazin-1-yl)methyl)-5-hydroxy-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (264)

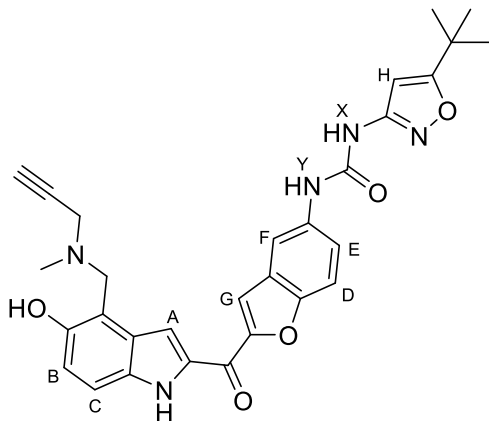
C₃₇H₄₀N₆O₆ (M = 664.76 g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von 1-(Piperazin-1-yl)hept-6-yn-1-on **262** und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) gereinigt und **264** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 64%. **R_f** = 0.61 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.85 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, Indol-NH), 10.07 (s, 1H, br, OH), 9.57 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 8.99 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.09 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 7.99 (s, 1H, CH_{Ar, G}), 7.77-7.72 (m, 2H, CH_{Ar, D} + CH_{Ar, A}), 7.50 (dd, *J* = 9.0, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.29 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.90 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.52 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 4.00 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.55-3.46 (m, 4H, 2*CH₂, Piperazin), 2.73 (t, *J* = 2.7 Hz, 1H, CH_{Alkin}), 2.57-2.52 (m, 4H, 2*CH₂, Piperazin), 2.31 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH_{2, K}), 2.16 (td, *J* = 7.0, 2.7 Hz, 2H, CH_{2, N}), 1.57 (p, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH_{2, L}), 1.45 (p, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH_{2, M}), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 173.1 (C=O), 172.0 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 152.8 (C_{Ar}), 151.6 (C_{Ar}), 151.5 (C_{Ar}), 151.3, 150.5 (C_{Ar}), 135.3 (C_{Ar}), 133.7 (C_{Ar}), 133.2 (C_{Ar}), 127.9 (C_{Ar}), 127.3 (C_{Ar}), 120.7 (+, CH_{Ar, E}), 118.1 (+, CH_{Ar, B}), 114.4 (+, CH_{Ar, G}), 112.5 (+, CH_{Ar, C}), 112.4 (+, CH_{Ar, D}), 112.1 (+, CH_{Ar, F}), 112.0 (C_{Ar}), 108.2 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 84.4, 71.2, 55.2 (-, Ar-CH₂-N), 52.7, 44.9, 41.7, 32.5 (C(CH₃)₃), 31.7, 28.4 (+, 3*CH₃), 27.6, 23.9, 17.5. **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet für C₃₇H₄₁N₆O₆⁺: 665.3082, gefunden: 665.3092, *m/z* [M + Na]⁺ berechnet für C₃₇H₄₀N₆NaO₆⁺: 687.2902, gefunden: 687.2899. **Smp.**: Zersetzung ab 178 °C. **IR** (KBr): 3287, 2927, 1611, 1551, 1468, 1439, 1216 cm⁻¹. **RP-HPLC**: >98%, (t_R = 14.97 min).

1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-3-((methyl(prop-2-yn-1-yl)amino)methyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (265)

C₃₀H₂₉N₅O₅ (*M* = 539.59 g/mol)



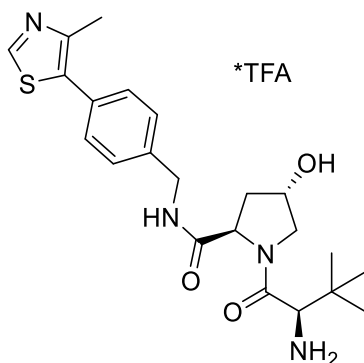
Die Synthese wurde ausgehend von *N*-Methylprop-2-yn-1-amin und **20** nach AV14B durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) gereinigt und **265** als gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 73%. **R_f** = 0.28 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.84 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, Indol-NH), 9.77 (s, 1H, br, OH), 9.56 (s, 1H, Harnstoff-NH_X), 8.98 (s, 1H, Harnstoff-NH_Y), 8.10 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{Ar, F}), 7.96 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H, CH_{Ar, A}), 7.75 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, CH_{Ar, D}), 7.72 (dd, *J* = 2.3, 0.9 Hz, 1H, CH_{Ar, G}), 7.51 (dd, *J* = 9.0, 2.2 Hz, 1H, CH_{Ar, E}), 7.29 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, CH_{Ar, C}), 6.91 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, CH_{Ar, B}), 6.53 (s, 1H, CH_{Ar, H}), 3.99 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 3.44 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, N-CH₂-C), 3.32 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{Alkin}), 2.33 (s, 3H, CH₃), 1.30 (s, 9H, 3*CH₃). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 180.2 (C=O), 173.0 (C=O), 158.4 (C_{Ar}), 152.9 (C_{Ar}), 151.6 (C_{Ar}), 151.3 (C_{Ar}), 150.5 (C_{Ar}), 135.3 (C_{Ar}), 133.6 (C_{Ar}), 133.2 (C_{Ar}), 127.9 (C_{Ar}), 127.2 (C_{Ar}), 120.7 (+, CH_{Ar, E}), 118.1 (+, CH_{Ar, B}), 114.3 (+, CH_{Ar, G}), 112.5 (+, CH_{Ar, C}), 112.5 (+, CH_{Ar, D}), 112.1 (+, CH_{Ar, F}), 112.0 (C_{Ar}), 108.9 (+, CH_{Ar, A}), 92.5 (+, CH_{Ar, H}), 79.1, 76.4, 52.8 (-, Ar-CH₂-N), 44.8, 40.9, 32.5 (C(CH₃)₃), 28.4 (+, 3*CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet für C₃₀H₃₀N₅O₅⁺: 540.2241, gefunden: 540.2251. **Smp.:** Zersetzung ab 232 °C. **IR (KBr):** 3206, 2972, 1693, 1616, 1589, 1545, 1215, 1149 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >95%, (*t_R* = 14.35 min).

5.12.3. E3-Ligase-spezifische Liganden

5.12.3.1. Synthese des Amins

(2*R*,4*S*)-1-((*R*)-2-Amino-3,3-dimethylbutanoyl)-4-hydroxy-*N*-(4-(4-methylthiazol-5-yl)benzyl)pyrrolidin-2-carboxamid 2,2,2-Trifluoracetat (16b)

C₂₄H₃₁F₃N₄O₅S (M = 544.59 g/mol)

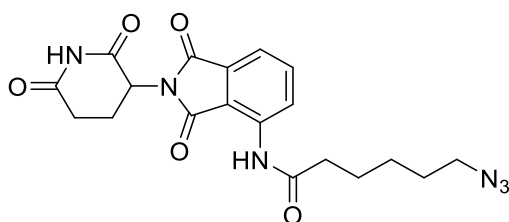


Die Synthese wurde ausgehend von **277** nach AV6 durchgeführt. Lösemittel und überschüssige TFA wurden entfernt und das Rohprodukt ohne Reinigung weiterverwendet. **HRMS** (ESI): *m/z* [*M* + *H*]⁺ berechnet: für C₂₂H₃₁N₄O₃S⁺: 431.2111, gefunden: 431.2111.

5.12.3.2. Synthese der Bausteine

6-Azido-*N*-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxoisindolin-4-yl)hexanamid (279)

C₁₉H₂₀N₆O₅ (M = 412.41 g/mol)

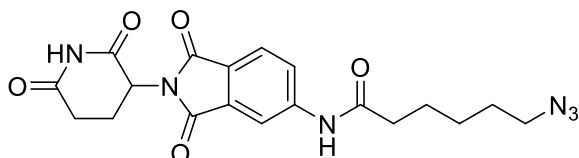


Die Synthese wurde ausgehend von **278** und **18** nach AV11E durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) gereinigt und **280** als blass-gelber Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 49%. **R_f** = 0.42 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.14 (s, 1H, NH_{imid}), 9.69 (s, 1H, NH_{amid}), 8.46 (dd, *J* = 8.5, 0.8 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.82 (dd, *J* = 8.5, 7.3 Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.60 (dd, *J* = 7.3, 0.8 Hz, 1H, CH_{Ar}), 5.13 (dd, *J* = 12.7, 5.4 Hz, 1H, CH_{Aliph}), 3.32 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH₂, Aliph), 2.95-2.83 (m, 1H, ½ CH₂, Aliph), 2.64-2.57 (m, 1H, ½ CH₂, Aliph), 2.56-2.50 (m, 1H, ½ CH₂, Aliph), 2.46 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH₂, Aliph), 2.10-2.00 (m, 1H, ½ CH₂, Aliph), 1.68-1.52 (m, 4H, 2*CH₂, Aliph), 1.42-1.33 (m, 2H, CH₂, Aliph). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 172.7 (C=O), 171.9 (C=O), 169.8 (C=O), 167.7 (C=O), 166.7 (C=O), 136.5 (+, CH_{Ar}), 136.1 (C_{Ar}), 131.5 (C_{Ar}),

126.3 (CH_{Ar}), 118.3 (CH_{Ar}) 117.0 (C_{Ar}), 50.5 (-, CH_2), 48.9 (+, CH_{Aliph}), 36.3 (-, CH_2), 30.9 (-, CH_2), 28.0 (-, CH_2), 25.7 (-, CH_2), 24.3 (-, CH_2), 22.0 (-, CH_2). **Smp.:** 170-173 °C.

6-Azido-*N*-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxoisindolin-5-yl)hexanamid (280)

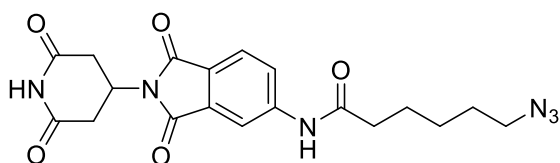
$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{O}_5$ ($M = 412.41$ g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von **278** und **266** nach AV11E durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO_2 , DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 99:0.9:0.1) gereinigt und **281** als cremefarbener Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 44%. $R_f = 0.23$ (DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 95:4:1). $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 400 MHz): δ 11.11 (s, 1H, NH_{imid}), 10.54 (s, 1H, NH_{amid}), 8.25 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.90 (dd, $J = 8.3, 1.8$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.86 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 5.12 (dd, $J = 12.9, 5.4$ Hz, 1H, CH_{Aliph}), 3.39-3.29 (m, 2H, CH_2 , Aliph), 2.95-2.82 (m, 1H, $\frac{1}{2}$ CH_2 , Aliph), 2.65-2.58 (m, 1H, $\frac{1}{2}$ CH_2 , Aliph), 2.58-2.51 (m, 1H, $\frac{1}{2}$ CH_2 , Aliph), 2.40 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H, CH_2 , Aliph), 2.09-2.00 (m, 1H, $\frac{1}{2}$ CH_2 , Aliph), 1.69-1.51 (m, 4H, 2^*CH_2 , Aliph), 1.42-1.32 (m, 2H, CH_2 , Aliph). $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 101 MHz): δ 172.8 (C=O), 172.2 (C=O), 169.9 (C=O), 167.0 (C=O), 166.8 (C=O), 145.1 (C_{Ar}), 132.8 (C_{Ar}), 124.7 (C_{Ar}), 124.7 (+, CH_{Ar}), 123.5 (+, CH_{Ar}), 112.8 (+, CH_{Ar}), 50.5 (-, CH_2), 49.0 (+, CH_{Aliph}), 36.4 (-, CH_2), 31.0 (-, CH_2), 28.0 (-, CH_2), 25.8 (-, CH_2), 24.3 (-, CH_2), 22.1 (-, CH_2). **HRMS** (ESI): m/z [$M + \text{H}$] $^+$ berechnet für $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_6\text{O}_5^+$: 413.1568, gefunden: 413.1572. **Smp.:** 190-194 °C. **IR (KBr):** 3352, 3203, 3097, 2939, 2098, 1770, 1719, 1614, 1542 cm^{-1} .

6-Azido-*N*-(2-(2,6-dioxopiperidin-4-yl)-1,3-dioxoisindolin-5-yl)hexanamid (281)

$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{O}_5$ ($M = 412.41$ g/mol)

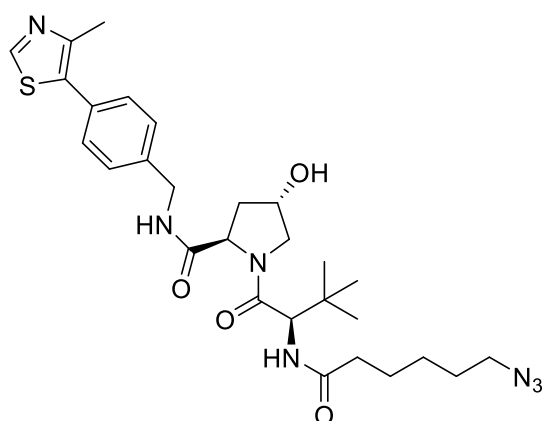


Die Synthese wurde ausgehend von **278** und **267** nach AV11E durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO_2 , DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 99:0.9:0.1) gereinigt und **282** als weißer Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 42%. $R_f = 0.25$ (DCM/MeOH/7 M NH_3 in MeOH 95:4:1). $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 400 MHz): δ 11.11 (s, 1H, NH_{imid}), 10.55 (s, 1H, NH_{amid}), 8.25 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.90 (dd, $J = 8.2, 1.8$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 7.86 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, CH_{Ar}), 5.12 (dd, $J = 12.8, 5.4$ Hz, 1H, CH_{Aliph}), 3.39-3.33 (m, 2H, CH_2 , Aliph), 2.96-2.82 (m, 1H, $\frac{1}{2}$ CH_2 , Aliph), 2.65-2.58 (m, 1H, $\frac{1}{2}$ CH_2 ,

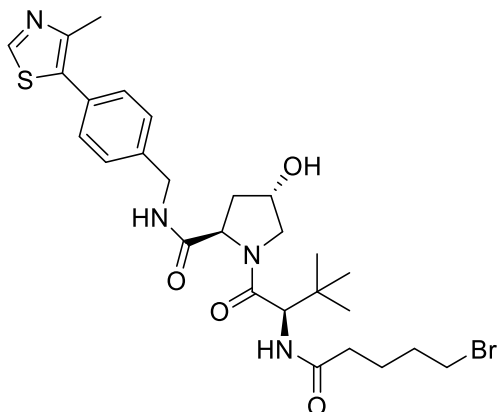
Aliphat), 2.58-2.53 (m, 1H, $\frac{1}{2}$ CH₂, Aliphat), 2.41 (t, J = 7.4 Hz, 2H, CH₂, Aliphat), 2.10-2.00 (m, 1H, $\frac{1}{2}$ CH₂, Aliphat), 1.69-1.52 (m, 4H, 2*CH₂, Aliphat), 1.42-1.33 (m, 2H, CH₂, Aliphat). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 172.8 (C=O), 172.2 (C=O), 169.9 (C=O), 167.0 (C=O), 166.8 (C=O), 145.1 (C_{Ar}), 132.8 (C_{Ar}), 124.7 (C_{Ar}), 124.7 (+, CH_{Ar}), 123.5 (+, CH_{Ar}), 112.8 (+, CH_{Ar}), 50.5 (-, CH₂), 49.0 (+, CH_{Aliphat}), 36.4 (-, CH₂), 31.0 (-, CH₂), 28.0 (-, CH₂), 25.8 (-, CH₂), 24.3 (-, CH₂), 22.1 (-, CH₂). HRMS (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet für C₁₉H₂₁N₆O₅⁺: 413.1568, gefunden: 413.1573. Smp.: 184-187 °C. IR (KBr): 3348, 3204, 3096, 2936, 2098, 1770, 1719, 1614, 1542 cm⁻¹.

(2*R*,4*S*)-1-((*R*)-2-(6-Azidohexanamido)-3,3-dimethylbutanoyl)-4-hydroxy-*N*-(4-(4-methylthiazol-5-yl)benzyl)pyrrolidin-2-carboxamid (282)

C₂₈H₃₉N₇O₄S (M = 569.73 g/mol)



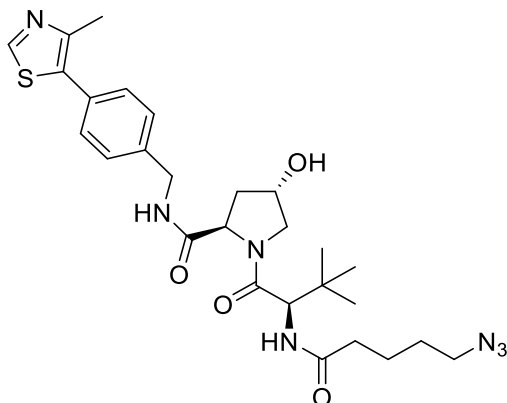
Die Synthese wurde ausgehend von **16b** und **253** nach AV11F durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 99:0.9:0.1) gereinigt und **283** als oranges Öl isoliert. **Ausbeute:** 93%. ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.67 (s, 1H), 7.41-7.28 (m, 5H), 6.26 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 4.67 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 4.57-4.47 (m, 3H), 4.32 (dd, J = 15.0, 5.3 Hz, 1H), 4.01 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 3.76-3.59 (m, 3H), 3.23 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.15 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.49 (s, 3H), 2.48-2.37 (m, 1H), 2.18 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.15-2.05 (m, 1H), 1.67-1.50 (m, 4H), 0.92 (s, 9H). HRMS (ESI): m/z [M + H]⁺ berechnet: für C₂₈H₄₀N₇O₄S⁺: 570.2857, gefunden: 570.2864.

(2*R*,4*S*)-1-((*R*)-2-(5-Bromopentanamido)-3,3-dimethylbutanoyl)-4-hydroxy-*N*-(4-(4-methylthiazol-5-yl)benzyl)pyrrolidin-2-carboxamid (283)**C₂₇H₃₇BrN₄O₄S** (*M* = 593.58 g/mol)

Die Reaktion wurde nach Literatur durchgeführt.⁵³⁰ Das Startmaterial **16b** (1.0 eq.) wurde in THF (30 mL/g Startmaterial) gelöst und 5-Bromvaleriansäure (1.0 eq.) zugegeben. Nach Zugabe von DIPEA (6.0 eq.) und EDC*HCl (1.1 eq.) wurde die Reaktionsmischung über Nacht bei RT gerührt. Nach Reaktionsende wurde das Lösemittel entfernt und der Rückstand in EA aufgenommen. Die organische Phase wurde zweimal mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Reinigung mit SC (SiO₂, EA) ergab einen weißen Feststoff. **Ausbeute:** 61%. **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 8.78 (s, 1H), 7.35 (m, 5H), 6.18 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 4.71 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 4.62-4.46 (m, 3H), 4.33 (dd, *J* = 15.0, 5.2 Hz, 1H), 4.09-4.02 (m, 1H), 3.62 (dd, *J* = 11.3, 3.7 Hz, 1H), 3.38 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 2.59-2.43 (m, 1H), 2.53 (s, 2H), 2.23 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.15-2.08 (m, 1H), 1.93-1.68 (m, 4H), 0.93 (s, 9H), 0.84 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H). **¹³C-NMR** (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 172.8 (C=O), 171.6 (C=O), 171.1 (C=O), 150.6 (+, CH_{Ar}), 148.2 (C_{Ar}), 138.2 (C_{Ar}), 131.7 (C_{Ar}), 130.8 (C_{Ar}), 129.5 (+, CH_{Ar}), 128.0 (+, CH_{Ar}), 70.0 (+, CH), 58.9 (+, CH), 57.5 (+, CH), 56.8 (-, CH₂), 43.2 (-, CH₂), 36.5 (-, CH₂), 35.4 (C(CH₃)₃), 35.3 (-, CH₂), 33.2 (-, CH₂), 32.0 (-, CH₂), 26.5 (+, CH₃), 24.2 (-, CH₂), 16.1 (+, CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₂₇H₃₈BrN₄O₄S⁺: 593.1792, gefunden: 593.1802.

(2*R*,4*S*)-1-((*R*)-2-(5-Azidopentanamido)-3,3-dimethylbutanoyl)-4-hydroxy-*N*-(4-(4-methylthiazol-5-yl)benzyl)pyrrolidin-2-carboxamid (284)

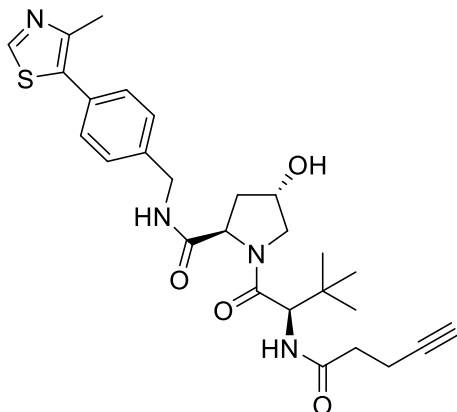
C₂₇H₃₇N₇O₄S (*M* = 555.70 g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von **283** nach AV27 durchgeführt. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung weiterverwendet. **Ausbeute:** quantitativ. **¹H-NMR** (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.69 (s, 1H), 7.46-7.27 (m, 5H), 6.31 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 4.66 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 4.58-4.45 (m, 3H), 4.32 (dd, *J* = 15.0, 5.3 Hz, 1H), 3.99 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H), 3.69-3.58 (m, 1H), 3.25 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 2.49 (s, 3H), 2.46-2.35 (m, 1H), 2.24-2.17 (m, 1H), 2.15-2.02 (m, 1H), 1.74-1.48 (m, 5H), 0.93 (s, 9H). **¹³C-NMR** (CDCl₃, 75 MHz): δ 173.0 (C=O), 171.7 (C=O), 171.0 (C=O), 150.6 (+, CH_{Ar}), 148.4 (C_{Ar}), 138.2 (C_{Ar}), 131.7 (C_{Ar}), 130.9 (C_{Ar}), 129.6 (+, CH_{Ar}), 128.1 (+, CH_{Ar}), 70.1 (+, CH), 58.8 (+, CH), 57.6 (+, CH), 56.9 (-, CH₂), 43.3 (-, CH₂), 36.3 (-, CH₂), 35.8 (-, CH₂), 35.3 (C(CH₃)₃), 32.0 (-, CH₂), 28.4 (-, CH₂), 26.5 (+, CH₃), 22.8 (-, CH₂), 16.1 (+, CH₃). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₂₇H₃₈N₇O₄S⁺: 556.2700, gefunden: 556.2712.

(2*R*,4*S*)-1-((*R*)-3,3-Dimethyl-2-(pent-4-ynamido)butanoyl)-4-hydroxy-*N*-(4-(4-methylthiazol-5-yl)benzyl)pyrrolidin-2-carboxamid (285)

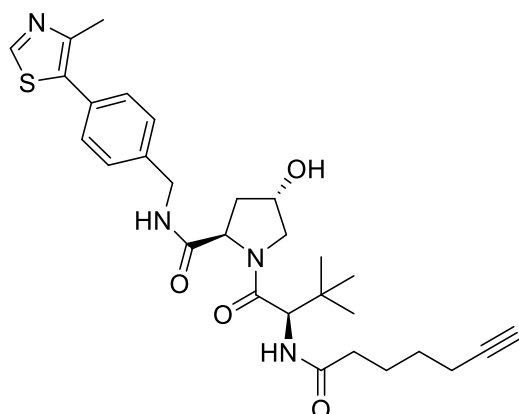
C₂₇H₃₄N₄O₄S (*M* = 510.65 g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von **16b** nach AV11F durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4.5:0.5) gereinigt und **286** als blass-gelber Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 55%. **R_f** = 0.15 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.79 (s, 1H), 7.45-7.31 (m, 5H), 6.31 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 4.70 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 4.63-4.47 (m, 3H), 4.33 (dd, *J* = 15.0, 5.1 Hz, 1H), 4.08 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H), 3.62 (dd, *J* = 11.4, 3.6 Hz, 1H), 2.52 (s, 3H), 2.50-2.43 (m, 1H), 2.28-2.10 (m, 3H), 1.95 (t, *J* = 2.6 Hz, 1H), 1.83-1.65 (m, 2H), 1.62-1.46 (m, 2H), 0.94 (s, 9H). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₂₇H₃₅N₄O₄S⁺: 511.2374, gefunden: 511.2378.

(2*R*,4*S*)-1-((*R*)-2-(Hept-6-ynamido)-3,3-dimethylbutanoyl)-4-hydroxy-*N*-(4-(4-methylthiazol-5-yl)benzyl)pyrrolidin-2-carboxamid (286)

C₂₉H₃₈N₄O₄S (M = 538.71 g/mol)

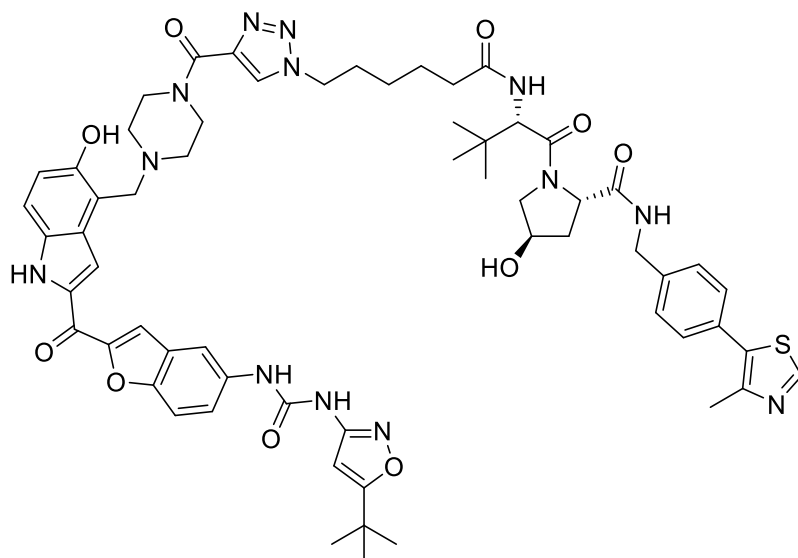


Die Synthese wurde ausgehend von **16b** nach AV11F durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4.5:0.5) gereinigt und **286** als blass-gelber Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 61%. **R_f** = 0.13 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4:1). **¹H-NMR** (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.70 (s, 1H), 7.40-7.27 (m, 5H), 6.63 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 4.67 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.60-4.48 (m, 3H), 4.33 (dd, *J* = 15.1, 5.3 Hz, 1H), 4.04 (dd, *J* = 11.3, 2.0 Hz, 1H), 3.77-3.59 (m, 3H), 3.22-3.12 (m, 2H), 2.50 (s, 3H), 2.49-2.34 (m, 5H), 2.19-2.08 (m, 1H), 2.03-1.95 (m, 1H), 0.94 (s, 9H). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₂₉H₃₉N₄O₄S⁺: 539.2687, gefunden: 539.2693.

5.12.4. PROTACs

(2*S*,4*R*)-1-((*S*)-2-(6-(4-(4-((2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-5-hydroxy-1*H*-indol-4-yl)methyl)piperazin-1-carbonyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)hexanamido)-3,3-dimethylbutanoyl)-4-hydroxy-*N*-(4-(4-methylthiazol-5-yl)benzyl)pyrrolidin-2-carboxamid (287)

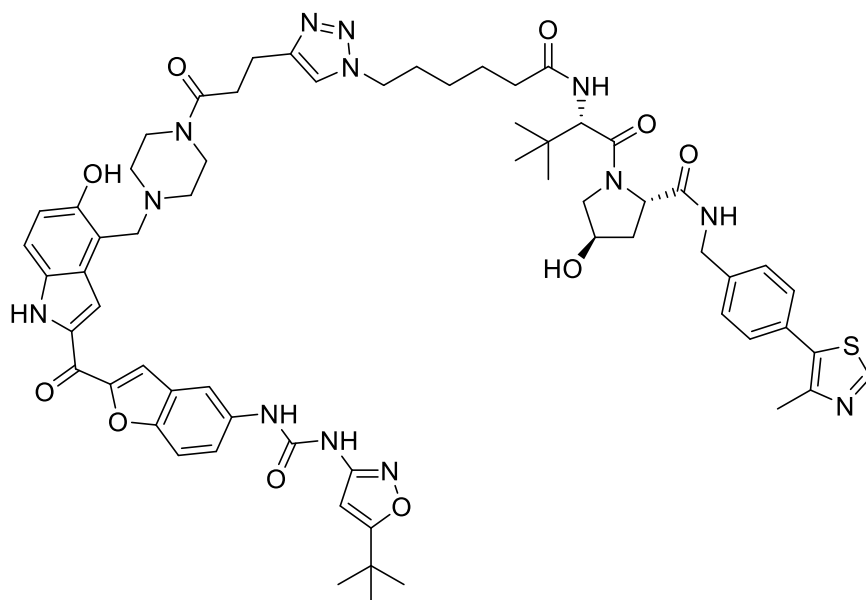
C₆₁H₇₁N₁₃O₁₀S (M = 1178.38 g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von **205** und **282** nach AV28 durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4.5:0.5) gereinigt und ein gelb-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 77%. **R_f** = 0.61 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 90:9:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.87 (s, 1H), 9.90 (s, 1H), 9.56 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.59-8.50 (m, 2H), 8.09 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.85 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.75 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.50 (dd, *J* = 9.0, 2.2 Hz, 1H), 7.45-7.34 (m, 4H), 7.31 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.93 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.12 (s, 1H), 4.53 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 4.48-4.33 (m, 5H), 4.21 (dd, *J* = 15.9, 5.4 Hz, 1H), 4.16-4.00 (m, 3H), 3.65 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H), 2.74-2.60 (m, 3H), 2.44 (s, 3H), 2.30-2.19 (m, 1H), 2.16-1.98 (m, 3H), 1.93-1.88 (m, 1H), 1.83 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.50 (p, *J* = 7.4 Hz, 2H), 1.30 (s, 9H), 1.28-1.17 (m, 5H), 0.91 (s, 9H). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₆₁H₇₂N₁₃O₁₀S⁺: 1178.5240, gefunden: 1178.5242. **Smp.**: Zersetzung ab 163 °C. **IR (KBr)**: 3288, 2925, 1612, 1549, 1436, 1216 cm⁻¹. **RP-HPLC**: >98%, (*t_R* = 14.76 min).

(2*S*,4*R*)-1-((*S*)-2-(6-(4-(3-(4-((2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-5-hydroxy-1*H*-indol-4-yl)methyl)piperazin-1-yl)-3-oxopropyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)hexanamido)-3,3-dimethylbutanoyl)-4-hydroxy-*N*-(4-(4-methylthiazol-5-yl)benzyl)pyrrolidin-2-carboxamid (288)

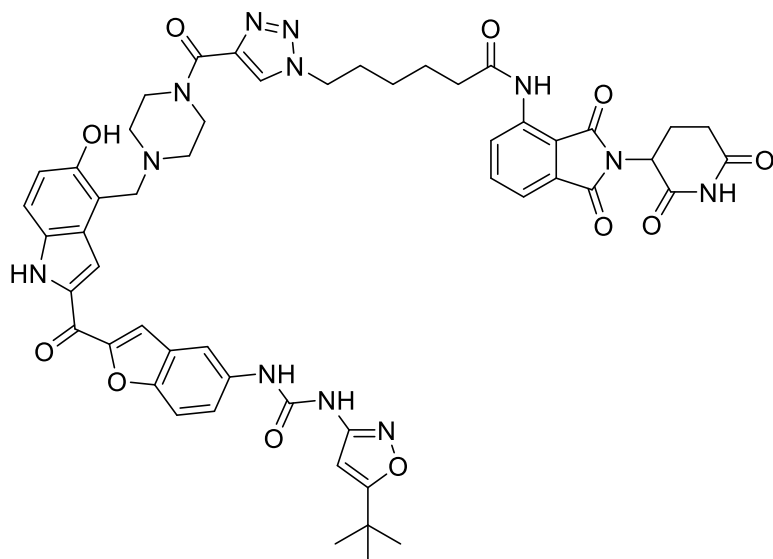
C₆₃H₇₅N₁₃O₁₀S (*M* = 1206.43 g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von **263** und **282** nach AV28 durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4.5:0.5) gereinigt und ein gelber-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 68%. **R_f** = 0.58 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 90:9:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 11.84 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 9.93 (s, 1H), 9.55 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.54 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 8.08 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.84 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.75-7.71 (m, 2H), 7.49 (dd, *J* = 9.0, 2.2 Hz, 1H), 7.42-7.34 (m, 4H), 7.28 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.89 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.51 (s, 1H), 5.11 (s, 1H), 4.51 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 4.45-4.38 (m, 2H), 4.33 (s, 1H), 4.26-4.16 (m, 3H), 3.98 (s, 2H), 3.68-3.60 (m, 2H), 3.55-3.45 (m, 4H), 2.84-2.77 (m, 2H), 2.56-2.52 (m, 2H), 2.42 (s, 3H), 2.25-2.18 (m, 1H), 2.14-2.06 (m, 1H), 2.05-1.98 (m, 1H), 1.92-1.84 (m, 1H), 1.75 (p, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.52-1.45 (m, 2H), 1.29 (s, 9H), 1.24-1.13 (m, 5H), 0.90 (s, 9H). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₆₃H₇₆N₁₃O₁₀S⁺: 1206.5553, gefunden: 1206.5556. **Smp.:** Zersetzung ab 161 °C. **IR** (**KBr**): 3279, 2928, 1690, 1613, 1549, 1439, 1218 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >97%, (*t_R* = 14.46 min).

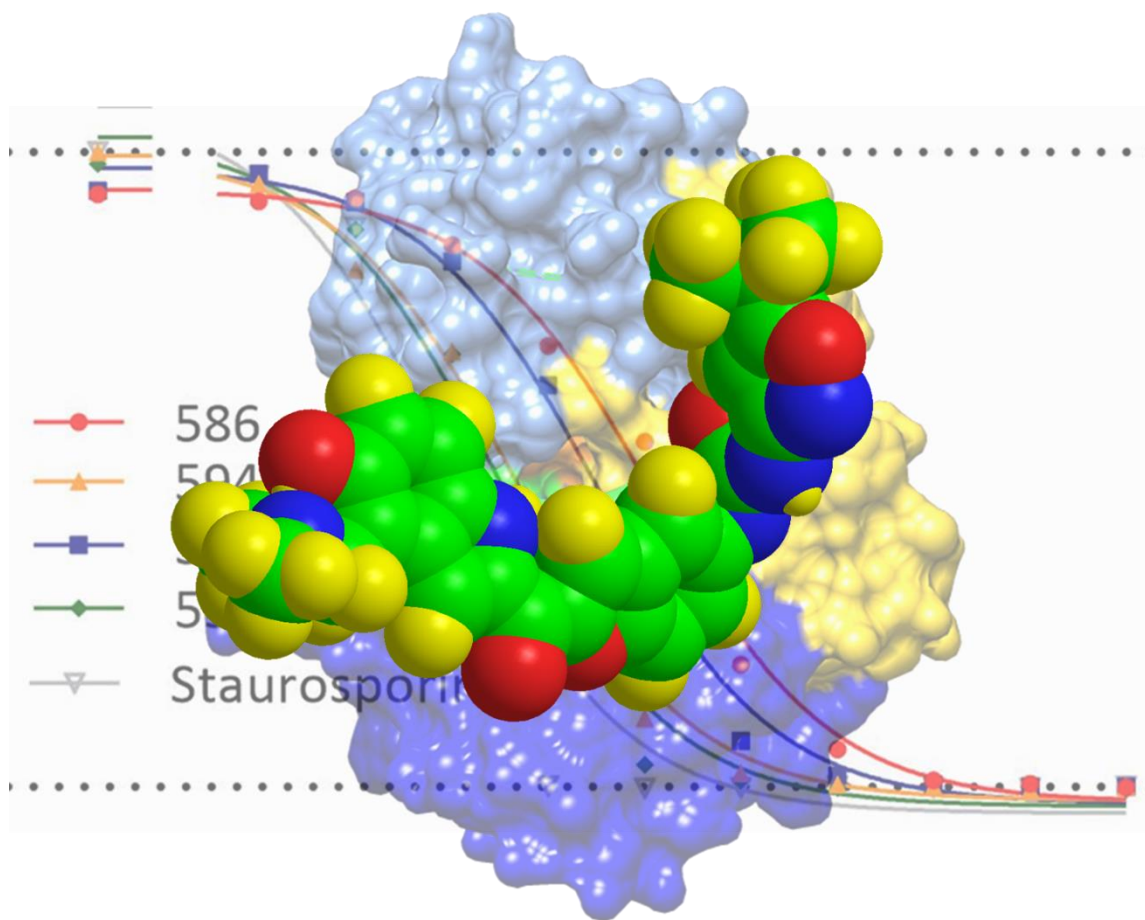
6-(4-(4-((2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-5-hydroxy-1*H*-indol-4-yl)methyl)piperazine-1-carbonyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-*N*-(2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)-1,3-dioxoisindolin-4-yl)hexanamid (289)

C₅₂H₅₂N₁₂O₁₁ (*M* = 1021.06 g/mol)



Die Synthese wurde ausgehend von **205** und **279** nach AV28 durchgeführt. Das Rohprodukt wurde mit SC (SiO₂, DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 95:4.5:0.5) gereinigt und ein gelber-oranger Feststoff isoliert. **Ausbeute:** 54%. **R_f** = 0.66 (DCM/MeOH/7 M NH₃ in MeOH 90:9:1). **¹H-NMR** (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 11.87 (s, 1H), 11.15 (s, 1H), 9.95 (s, 1H), 9.69 (s, 1H), 9.59 (s, 1H), 9.02 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.43 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.84-7.71 (m, 3H), 7.59 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.50 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.30 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 6.92 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 6.52 (s, 1H), 5.14 (dd, *J* = 13.1, 5.4 Hz, 1H), 4.40 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 4.20-3.94 (m, 3H), 3.77-3.52 (m, 3H), 2.86 (d, *J* = 15.0 Hz, 1H), 2.76-2.54 (m, 5H), 2.06 (s, 1H), 1.88 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 1.70-1.56 (m, 2H), 1.29 (s, 12H). **HRMS** (ESI): *m/z* [M + H]⁺ berechnet: für C₅₂H₅₃N₁₂O₁₁⁺: 1021.3951, gefunden: 1021.3963. **Smp.:** Zersetzung ab 199 °C. **IR (KBr):** 3288, 2928, 1706, 1616, 1549, 1206 cm⁻¹. **RP-HPLC:** >98%, (*t_R* = 14.76 min).

6. PHARMAKOLOGISCH- EXPERIMENTELLER TEIL



6.1. ENZYM-INHIBITIONS-ASSAY

Die Enzym-Inhibitions-Assays für FLT3-ITD und FLT3-D835Y wurden von Reaction Biology nach dem entspr. Protokoll der Firma durchgeführt.

6.2. EVALUATION DER WIRKSTOFFE IM ZELLULÄREN SYSTEM

6.2.1. Zelllinien

Alle Zelllinien mit Ausnahme der MV4-11-Zellen wurden von der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ, Braunschweig, Deutschland) bezogen. Die MV4-11-Zellen stammten aus dem American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, Vereinigte Staaten). Die Ba/F3-Zelllinien exprimieren zuverlässig verschiedene Mutationen des humanen FLT3-Rezeptors und wurden auf bereits beschriebene Weise erzeugt.^{168; 556}

6.2.2. Zellkultur

Alle AML-Zelllinien wurden nach dem entspr. Protokoll des Anbieters behandelt. Die MV4-11-Zellen wurden in IMDM mit 100 µg/mL Penicillin, 100 µg/mL Streptomycin und 10% FBS kultiviert. Die M07e-Zellen wurden in RPMI mit 20% FCS und 10 ng/mL GM-CSF kultiviert. Die MEF-FLT3-ITD-Zellen wurden in DMEM mit 10% FCS kultiviert. Die Ba/F3-Zellen wurden in RPMI-1640 mit 10% FBS und 1% Penicillin/Streptomycin kultiviert, dabei allerdings auf die Zugabe von IL-3 verzichtet, da die Zelllinien mit FLT3-Mutation im Vergleich zu den WT-Zellen IL-3-unabhängig sind. Die humanen Leukämie-Zelllinien EOL-1, MOLM-13, MONO-MAC-1 und MONO-MAC-6 wurden in RPMI-1640 mit 10% FCS und 50 µg/mL Gentamycin kultiviert. Alle Zellen wurden bei 37 °C und 5% CO₂ gehalten.

6.2.3. Proliferations-Assays

Antiproliferative Eigenschaften einiger Verbindungen wurden auf verschiedene Weisen untersucht. Die Proliferation wurde dabei in drei verschiedenen Assays analysiert. Sowohl der Cell Titer Glo® Assay (Promega, Madison, WI, Vereinigte Staaten), als auch der Cell Titer Blue® Assay (Promega, Fitchburg, WI, Vereinigte Staaten) wurden nach dem Protokoll des entspr. Anbieters durchgeführt. Beim dritten Assay wurde eine Auswertung mit Hilfe eines *Vi-Cell Cell Viability Analyzers* (Beckman Coulter, Krefeld, Deutschland) durchgeführt. Der jeweilige verwendete Assay ist bei den entspr. Experimenten angegeben.

Der Cell Titer Glo® Assay wurde von der Firma Reaction Biology durchgeführt. Dafür wurden 2-4x10⁶ MV4-11 Zellen/mL zusammen mit der Testsubstanz oder Staurosporin in 1:3-Verdünnung für 72 h in 384-Well-Platten inkubiert, wobei mit einer Konzentration von 1 mM begonnen wurde. Lumineszenz wurde dabei mit einem Envision 2104 Multilabel Reader (PerkinElmer, Santa Clara, CA, Vereinigte Staaten) aufgenommen.

Der Cell Titer Blue® Assay wurde von der Firma Charles River durchgeführt. Dazu wurden $1.4\text{--}2.9 \times 10^5$ Zellen/mL in einer 96-Well-Platte ausgesät. Nach 24 h wurden die Zellen für 72 h mit der in DMSO verdünnten Testsubstanz behandelt. Die Testsubstanz wurde in einem Konzentrationsbereich zwischen 3.16 pM und 100 nM verwendet. Das Cell Titer Blue®-Reagenz wurde zugegeben und nach 4 h die Fluoreszenz mit einem Enspire Multimode Plate Reader (Anregung $\lambda = 570$ nm, Emission $\lambda = 600$ nm) gemessen.

Der Vi-Cell Assay wurde von Marina Able durchgeführt. Dazu wurden 1.5×10^4 Ba/F3-Zellen/mL in einer 48-Well-Platte ausgesät. Die Zellen wurden mit der Testsubstanz in DMSO behandelt, wobei ein Konzentrationsbereich zwischen 0.3 und 218.7 nM in einer dreifachen Verdünnung in RPMI verwendet wurde. Zur Kontrolle wurden Zellen mit einer vergleichbaren Menge an DMSO ohne Inhibitor behandelt. Nach 72 h wurde die Anzahl lebender Zellen mit Hilfe eines *Vi-Cell Cell Viability Analyzers* bestimmt.

Für alle Assays wurden Dosis-Wirkungskurven gezeichnet und IC_{50} -Werte durch die Programme *GraphPad Prism 4* (Cell Titer Glo® Assay), *GraphPad Prism 9.1.2* (Vi-Cell assay) oder *Charles River Discovery Research Services Germany Data-Warehouse Software* (Cell Titer Blue® Assay) berechnet, wozu ein nicht-linearer Fit verwendet wurde.

6.2.4. Apoptose-Assay

Der Apoptose-Assay wurde von Marina Able durchgeführt. Dazu wurden 1.5×10^6 Ba/F3-Zellen/mL in 24-Well-Platten ausgesät und 48 h mit dem jeweiligen Inhibitor behandelt. Dabei wurde ein Konzentrationsbereich zwischen 5 und 100 nM bzw. 20 und 500 nM verwendet. Alle Zellen wurden anschließend einmal mit PBS und einmal mit *Annexin V* binding buffer (BD biosciences, Franklin Lakes, NJ, Vereinigte Staaten) gewaschen, mit *APC Annexin V* (550475, BD Biosciences) für 10 min den Anweisungen des Herstellers entspr. angefärbt und direkt im Anschluss mit einem *BD FACS-Canto Cell Analyser* (BD Bioscience) vermessen. Direkt vor der Messung wurde den Zellen DAPI zugegeben. Das Verhältnis toter und lebendiger Zellen wurden mit Hilfe der *FlowJo 10.7.2 software* analysiert.

6.2.5. Phosphorylierungs-Assay

Der Phosphorylierungs-Assay wurde von der Firma Reaction Biology Europe unter der Leitung von Dr. Daniel Feger verwendet. Die Verbindungen wurden in DMSO gelöst und in zweifacher Ausführung in acht Konzentrationen in einer 96-Well-Platte getestet. Die Zugabe der Verbindungen erfolgte durch Nanodrop-Dosierung mit einem Tecan-Dispenser. Die endgültige DMSO-Konzentration im Assay betrug 0.1%.

Für den zellulären c-KIT-Phosphorylierungs-Assay wurde die humane Zelllinie M07e (Akute megakaryoblastische Leukämie) verwendet, die endogen einen hohen Anteil an WT-c-KIT exprimiert. Die Stimulation dieser Zellen mit humanem Stammzellofaktor (SCF) führt zu einer Rezeptortyrosin-Autophosphorylierung. M07e-Zellen wurden in RPMI mit 20% FCS und 10 ng/ml GM-CSF in Multiwell-Zellkulturplatten ausgesät. Nach Serum- und Wachstumsfaktor-Starvation über Nacht wurden die Zellen in serumfreiem Medium 90 min bei 37 °C mit den Verbindungen inkubiert. Mit 1.0×10^{-5} M Staurosporin behandelte Zellen wurden als Kontrolle verwendet. Zur Stimulierung wurden die Zellen mit 100 ng/mL SCF für 3 min bei RT behandelt. Nach der Zelllyse wurde die Quantifizierung der Rezeptor-Autophosphorylierung in 96-Well-Platten mittels Sandwich-ELISA unter Verwendung eines kinasespezifischen Capture-Antikörpers und eines Anti-Phosphotyrosin-Detektionsantikörpers durchgeführt.

Für den zellulären FLT3-ITD-Phosphorylierungstest wurde die murine Zelllinie MEF (murine embryonale Fibroblasten) verwendet, die eine hohe Menge an exogen eingeführtem humanem FLT3-ITD in voller Länge exprimiert. Die Stimulierung dieser Zellen mit humanem FL führt zu einer Rezeptortyrosin Autophosphorylierung. MEF-FLT3-ITD-Zellen wurden in DMEM mit 10% FCS in Multiwell-Zellkulturplatten ausgesät. Nach einer Serum-Starvation über Nacht wurden die Zellen 90 min bei 37 °C mit den Verbindungen inkubiert. Mit 1.0×10^{-5} M Staurosporin behandelte Zellen wurden als Kontrolle verwendet. Zur Stimulierung wurden die Zellen mit 50 ng/mL FL für 5 min bei RT behandelt. Nach der Zelllyse wurde die Quantifizierung der Rezeptor-Autophosphorylierung in 96-Well-Platten mittels Sandwich-ELISA unter Verwendung eines kinasespezifischen Capture-Antikörpers und eines Anti-Phosphotyrosin-Detektionsantikörpers durchgeführt.

6.3. SELEKTIVITÄT

6.3.1. Kinaseprofil

Die Enzym-Inhibitions-Assays für die hierbei verwendeten acht Kinasen wurden von Reaction Biology nach dem entspr. Protokoll der Firma durchgeführt.

6.3.2. Kinobead-Assay

Die Kinobead-Experimente wurden wie bereits beschrieben von Dr. Maria Reinecke durchgeführt.⁵⁵⁷ OVCAR-8, MV4-11, K-562, SK-N-BE(2) und Colo205-Zellen wurden dafür in 0.8% NP40, 50 mM Tris-HCl pH 7.5, 5% Glycerol, 1.5 mM MgCl₂, 150 mM NaCl, 1 mM Na₃VO₄, 25 mM NaF, 1 mM DTT, Proteaseinhibitoren (SigmaFast, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, Vereinigte Staaten) und Phosphataseinhibitoren (hergestellt nach Phosphataseinhibitor-Cocktail 1, 2 und 3 von Sigma Aldrich) lysiert. Die Zelllysate-Mischung wurde hergestellt, indem die Lysate der fünf Zelllinien im Verhältnis 1:1:1:1:1 in Bezug auf die Gesamtproteinmenge gemischt wurden. Die Gesamtproteinmenge wurde mit dem Bradford-Assay bestimmt. 2.5 mg der Zelllysate-Mischung wurde mit ansteigender Wirkstoffkonzentration 45 min bei 4 °C in einem Schüttler vorinkubiert. Dazu wurden Wirkstoffkonzentrationen von 1 nM, 3 nM, 10 nM, 30 nM, 100 nM, 300 nM, 1 µM, 3 µM, 30 µM, sowie eine reine DMSO-Probe verwendet. Die Lysate wurden mit Kinobeads (17 µL abgesetzte Beads) 30 min bei 4 °C inkubiert und die Beads anschließend gewaschen. Die an die Beads gebundenen Proteine wurden mit 8 M Harnstoff, 50 mM Tris HCl pH 7.4, 50 mM DTT für 30 min bei RT reduziert. Nach der Alkylierung des Proteins mit 55 mM CAA wurden die Proteine mit Trypsin über Nacht bei 37 °C verdaut. Die Peptide wurden mit SepPak tC18 µElution-Platten entsalzt und in einem Speedvac getrocknet.

Die Peptide wurden mit einer Dionex Ultimate3000 nano HPLC gemessen, die online mit einem Orbitrap Fusion Lumos Tribrid (Thermo Fisher Scientific) Massenspektrometer gekoppelt war. Die Peptide wurden auf eine Trap-Säule gegeben und 10 min lang mit Lösungsmittel A0 (0.1% Ameisensäure in HPLC-Wasser) bei einer Flussrate von 5 µL/min gewaschen und anschließend auf einer analytischen Säule mit einem 50-minütigen Gradienten von 4-32% Lösungsmittel B (0.1% Ameisensäure, 5% DMSO in Acetonitril) in Lösungsmittel A1 (0.1% Ameisensäure, 5% DMSO in HPLC-Wasser) bei einer Flussrate von 300 nL/min getrennt. Das Massenspektrometer wurde in einem datenabhängigen Modus betrieben und schaltete automatisch zwischen MS1- und MS2-Spektren um. MS1-Spektren wurden in einem Masse-Ladungs-Verhältnis (m/z)-Bereich von 360-1300 m/z bei einer Auflösung von 60.000 (bei m/z 200) im Orbitrap mit einer maximalen

Injektionszeit von 50 ms und einem Zielwert der automatischen Verstärkungsregelung (AGC) von $4e5$ aufgenommen. Bis zu 12 Vorstufen von Peptiden wurden isoliert (Isolationsbreite von 1.7 Th, maximale Injektionszeit von 75 ms, AGC-Wert von $2e5$), durch HCD mit 30% normalisierter Kollisionsenergie (NCE) fragmentiert und im Orbitrap bei einer Auflösung von 15.000 analysiert. Die dynamische Ausschlussdauer der fragmentierten Vorläufer-Ionen wurde auf 30 s eingestellt.

Die Peptid- und Proteinidentifizierung und -quantifizierung wurde mit MaxQuant (v.1.6.3.3) durchgeführt, indem die Tandem-MS-Daten mit der eingebetteten Suchmaschine Andromeda mit allen kanonischen Proteinsequenzen verglichen wurden, die in der UniProtKB-Referenzdatenbank (heruntergeladen am 28.11.18, 20193 Entitäten) annotiert sind.

Für die kompetitiven Bindungsassays der Kinobeads wurden die Proteinintensitäten auf die jeweilige DMSO-Kontrolle normalisiert, und IC_{50} - und EC_{50} -Werte durch eine log-logistische Regression mit vier Parametern abgeleitet, die das "drc"-Paket in R verwendet. Eine scheinbare Dissoziationskonstante (K_d^{app}) wurde durch Multiplikation der geschätzten EC_{50} -Werte mit einem proteinabhängigen Korrekturfaktor berechnet. Der Korrekturfaktor eines Proteins ist definiert als das Verhältnis der Proteinmenge, die bei zwei aufeinanderfolgenden Pulldowns desselben DMSO-Kontrolllysats erfasst wurde. Die Zielproteine der Verbindungen wurden manuell kommentiert. Ein Protein galt als Zielprotein, wenn die resultierende Bindungskurve eine sigmoidale Kurvenform mit einer dosisabhängigen Abnahme der Bindung an die Beads aufwies. Zusätzlich wurden die Anzahl der einzigartigen Peptide und MS/MS-Zahlen pro Bedingung sowie die Proteinintensität in der DMSO-Kontrolle berücksichtigt.

Die massenspektrometrischen Proteomik-Daten und die Dosis-Wirkungs-Kurven wurden beim ProteomeXchange Consortium (<http://proteomecentral.proteomexchange.org>) über das PRIDE-Partner-Repository⁵⁵⁸ mit dem Datensatz-Identifikator PXD038479 hinterlegt.

6.4. BINDEMODOUS

Die Studien zum Molecular Modeling wurden von Prof. Dr. Stefan Dove mit dem Molecular Modeling Paket SYBYLx 2.0 (Certara, L.P., St. Louis, MO, USA) durchgeführt und dazu die Kristallstruktur von FLT3 mit gebundenem FLT3-Inhibitor Quizartinib verwendet (PDB-ID 4XUF),²⁴⁹ was den inaktiven Zustand der Kinase darstellt. Ein Modell des aktiven Zustands wurde konstruiert, indem das DFG-Motiv und der Aktivierungsschleife durch die entspr. Sequenz der aktiven c-KIT-Struktur (PDB-ID 1PKG) ersetzt wurden. Die Verbindung **215** wurde basierend auf dem Bindemodus von Quizartinib **6** und Marbotinib **20** an das Modell des inaktiven Zustands gedockt.³²⁴ Beim Modell des aktiven Zustands wurde Verbindung **215** durch Anpassung an die Docking-Position von Marbotinib **20** an die Struktur von FLT3 im Komplex mit Gilteritinib **8** verwendet.³²⁷ Die Modelle wurden folgendermaßen vorbereitet: Wasserstoff wurde hinzugefügt und die Ladungen wurden zugewiesen (Proteine und Wassermoleküle - AMBER_FF99, Liganden - Gasteiger-Hueckel). Die Komplexe wurden in zwei Schritten verfeinert: Minimierung mit festem Liganden unter Verwendung des AMBER_FF99-Kraftfelds⁵⁵⁹ und Minimierung der Teilmenge von **215** und den umgebenden (bis zu 6 Å entfernten) Proteinresten (Tripos-Kraftfeld).⁵⁶⁰ In beiden Minimierungsschritten wurde *Powells conjugate gradient method with termination* bei einer *root-mean-square force* von 0.05 kcal/molxÅ⁻¹ angewendet.

6.5. LÖSLICHKEITSTESTS

Alle UV-Vis-Messungen wurden mit einem Agilent Cary 60 UV-Vis 2.00 zwischen 800 und 200 nm durchgeführt. Die Absorption wurde mit einer Scanrate von 300.0 nm/min, einem Datenintervall von 0.50 nm und einer Zeit von 0.1 s gemessen. Für alle Messungen wurde eine Küvette mit 10 mm Lichtweg verwendet. Aus mehreren verschiedenen Konzentrationen wurde eine Kalibrierkurve erstellt und die Löslichkeit der jeweiligen Verbindung durch Messung der Absorption einer verdünnten gesättigten Lösung bestimmt. Als Blank wurde eine Mischung aus Reinstwasser und Ethanol im Verhältnis 1:1 oder 5:95 aufgenommen. Für die Kalibrierkurve wurde eine 100 μM - oder eine 10 μM -Lösung der Verbindung in einem Reinstwasser:EtOH (1:1) oder (5:95)-Gemisch hergestellt und verdünnt, um mindestens 6 Konzentrationen zu erhalten. Die gesättigte Lösung der jeweiligen Verbindung wurde durch mindestens 12-stündiges Schütteln in Reinstwasser oder Ethanol in einem Mikroreaktionsgefäß und anschließendes Zentrifugieren hergestellt. Der Überstand wurde mit einer Spritze entnommen und durch einen Spritzenfilter mit RC-Membran (regenerierte Cellulose) filtriert. Die gesättigte Lösung wurde mit Reinstwasser und EtOH verdünnt, um eine geeignete Konzentration in einer Wasser:EtOH (1:1)- oder (5:95)-Mischung zu erhalten.

6.6. *IN VIVO*-CHARAKTERISIERUNG

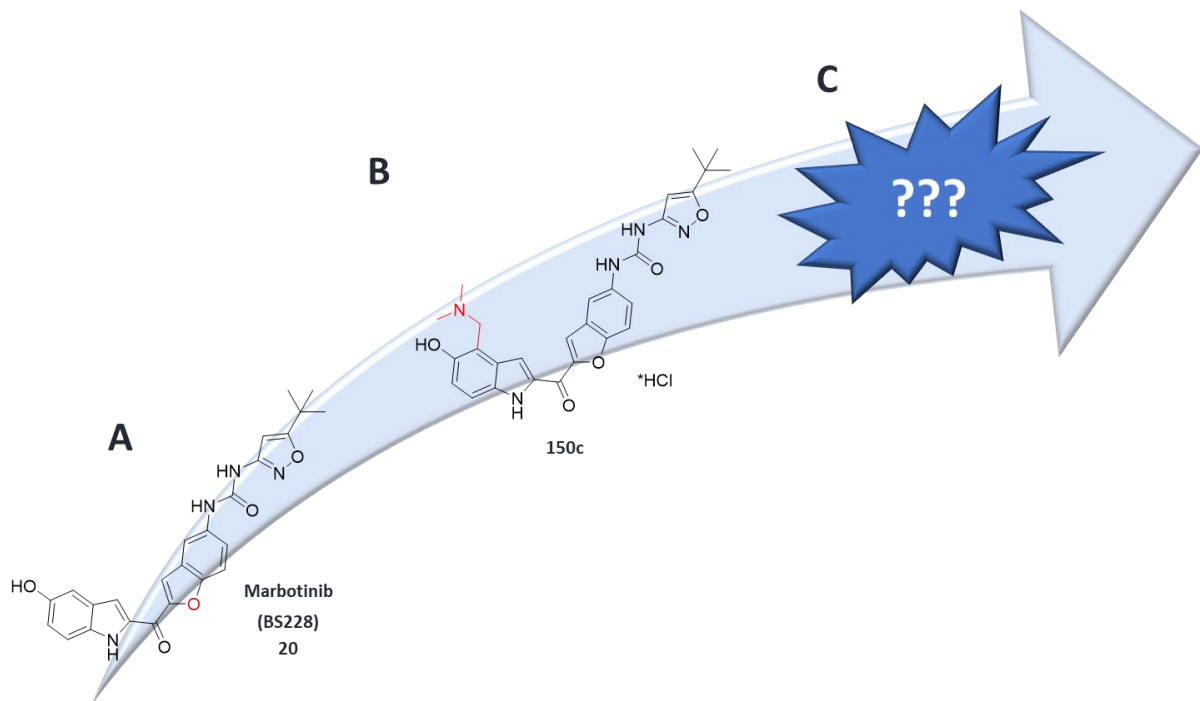
6.6.1. *In vivo*-Tolerabilitäts- und Wirksamkeitsstudien

Die *In-vivo*-Tolerabilitäts-Studie wurde von Crown Bioscience UK Ltd. (Hillcrest, Vereinigtes Königreich) durchgeführt. Dazu wurden nicht-tumoröse NOD/SCID-Mäuse verwendet. Alle Mäuse wurden von Charles River (Wilmington, MA, USA) zur Verfügung gestellt. Die *In-vivo*-Wirksamkeitsstudie im subkutanen MV4-11 CDX-Modell (cell-line derived Xenograft) wurde von Crown Bioscience UK Ltd. durchgeführt, wobei tumoröse NOD/SCID-Mäuse verwendet wurden. Alle Mäuse wurden von Charles River zur Verfügung gestellt, während die MV4-11-Zellen von ATCC geliefert und in Iscoves + 10% FBS + 2 mM L-Glutamin kultiviert wurden. Der Tumor wurde durch Injektion von 1×10^7 MV4-11-Zellen pro Maus in 100 μ L Matrigel:PBS (1:1) in die linke Flanke jeder Maus implantiert. Körpergewicht, Dosierung und alle Kommentare zu den klinischen Bedingungen wurden in Echtzeit mit der Studienverwaltungssoftware StudyLog erfasst. Alle nachfolgenden Datenanalysen und -umwandlungen wurden mit Microsoft Excel und/oder GraphPad Prism durchgeführt.

6.6.2. Histologie

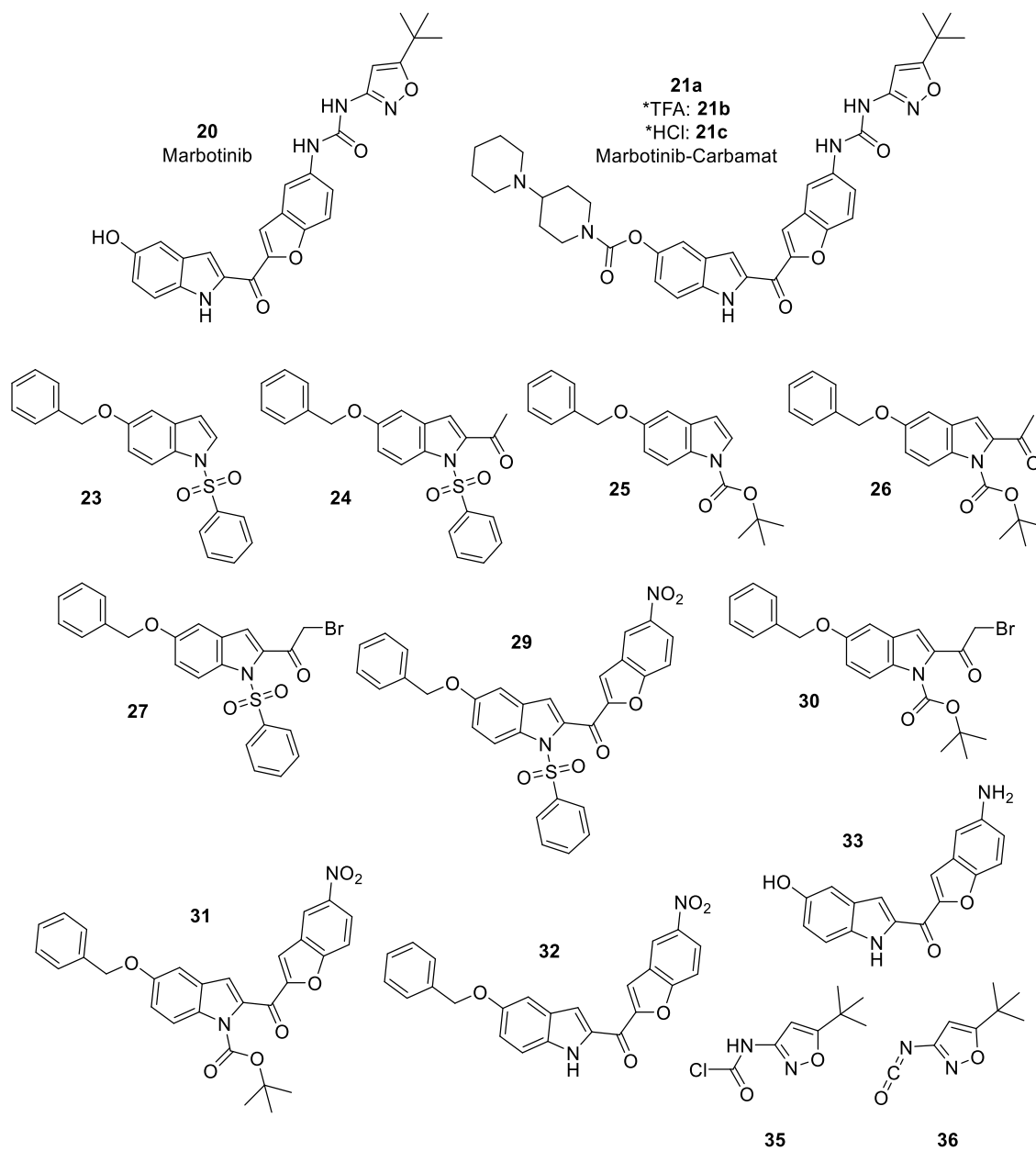
Die Studien zur Histologie wurden von Dr. Kirsten Utpatel durchgeführt. Die Tumorgewebe wurden in neutral gepuffertem Formalin fixiert und die Tumorproben anschließend in Paraffin eingebettet. Nach einem Standardprotokoll wurden 3 μ m dicke Gewebeschnitte geschnitten und mit Hämatoxylin und Eosin (HE) sowie CLAE gefärbt. Für die Immunhistochemie wurde das formalinfixierte und paraffin-eingebettete (FFPE) Tumorgewebe mit einer Dicke von 2-3 μ m auf Superfrost OT geschnitten und ungefähr 30 min bei 70 °C getrocknet. Immunhistochemische Färbung erfolgte mit einem VENTANA BenchMark ULTRA Färbeautomaten (Ventana Medical Systems Inc., Roche-Gruppe, Tucson, AZ, Vereinigte Staaten). Die Antigenrückgewinnung wurde mit CC1-Antigen-Rückgewinnungslösung (Ventana; Tris-EDTA; pH 8.0) bei 100 °C für 32 min durchgeführt. Die Objektträger wurden mit einem primären Antikörper gegen MPO (Dako, Dänemark, Code-Nr. A 0398, Verdünnung 1:300), CD34 (Dako, Dänemark, Code-Nr. M7165, Verdünnung 1:50), CD68 (Dako, Dänemark, Code-Nr. M0878, Verdünnung 1:100) 30 min bei RT inkubiert, anschließend mit dem OptiView DAB IHC Detection Kit (Ventana) sichtbar gemacht und mit Hämatoxylin gegengefärbt.

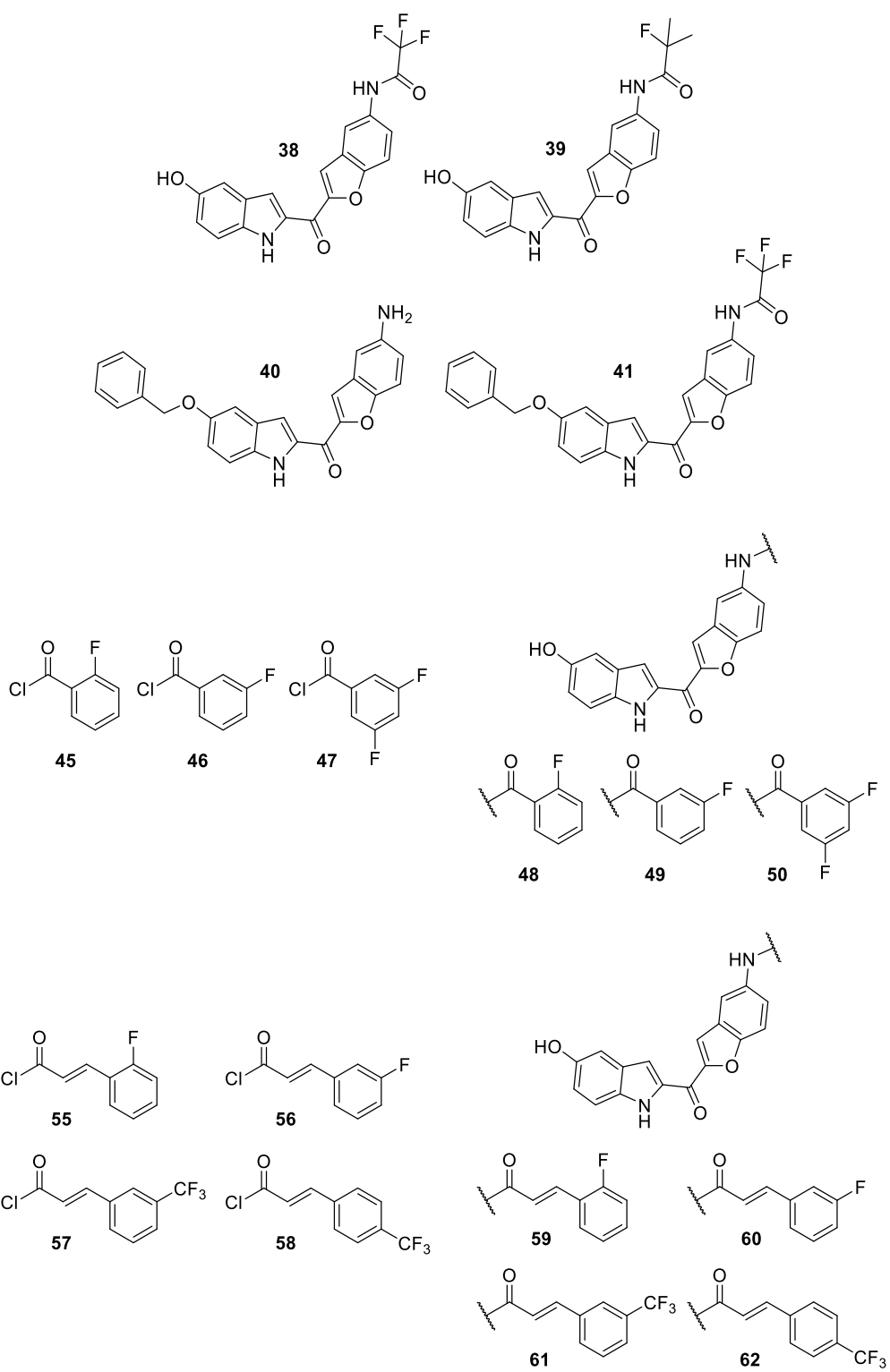
7. ANHANG

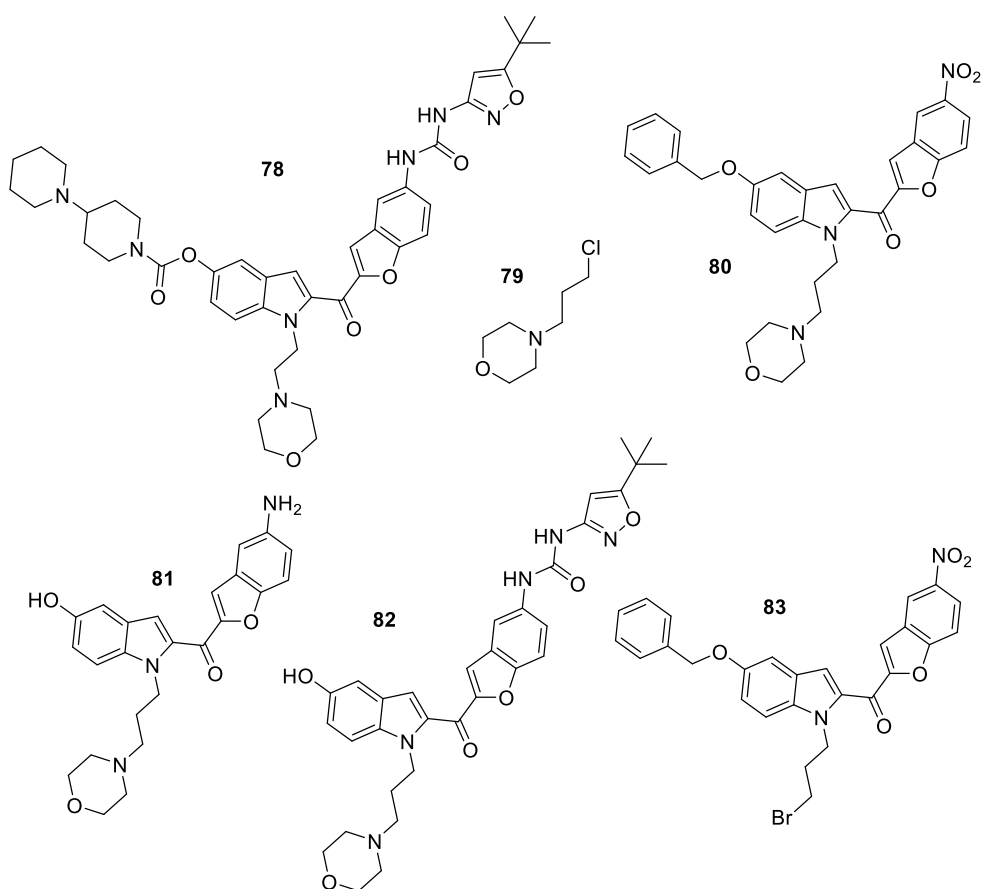
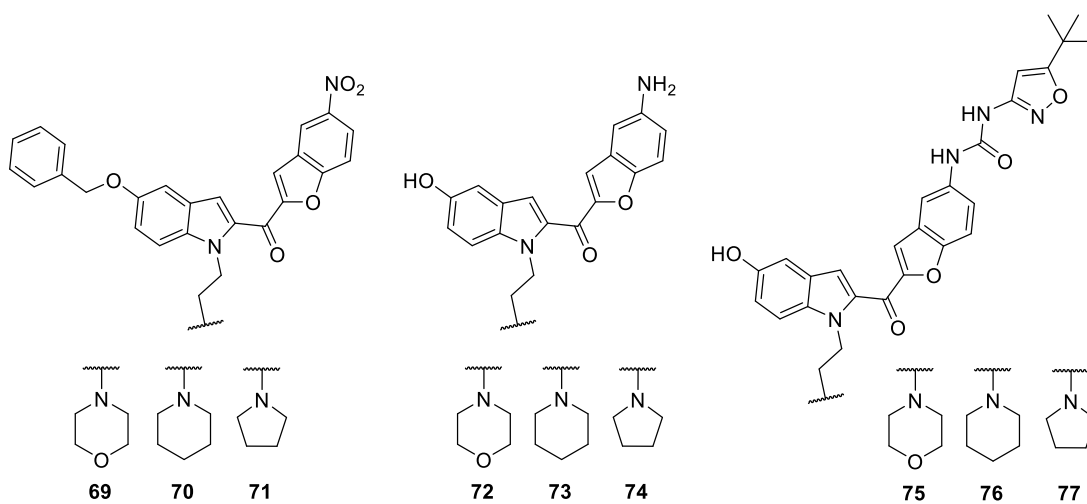
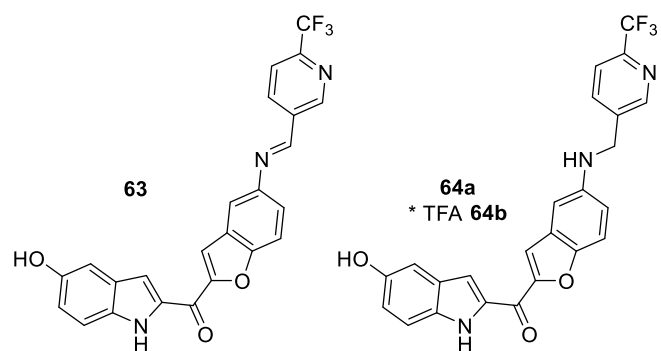


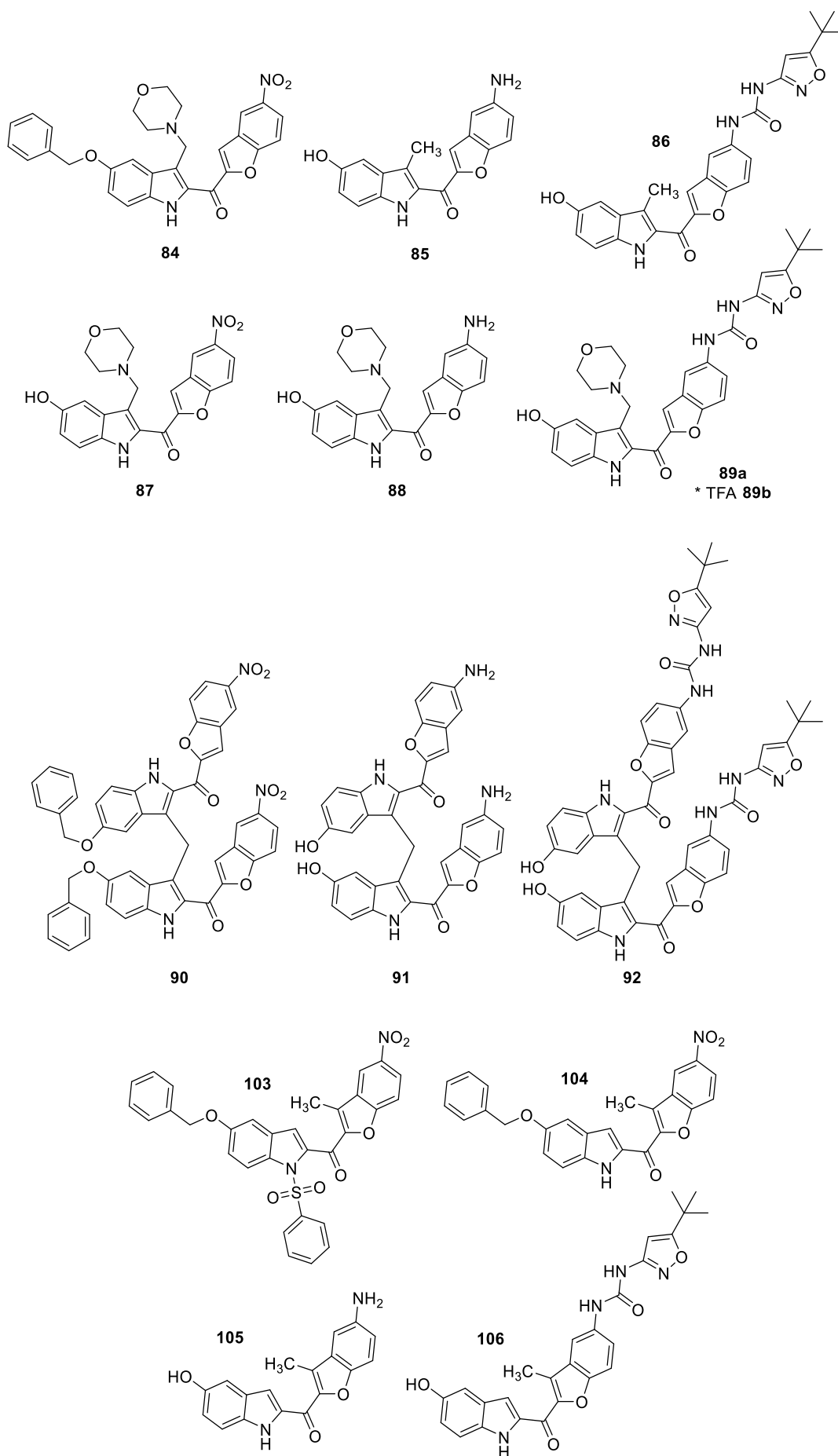
7.1. FORMELÜBERSICHT

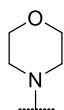
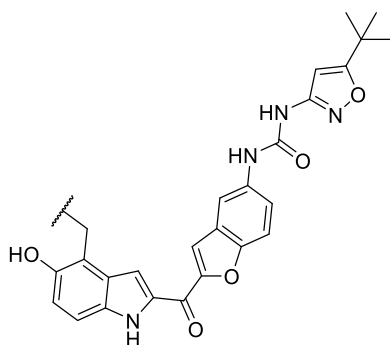
Das folgende Kapitel zeigt eine Übersicht über wichtige im Rahmen dieser Arbeit synthetisierte Moleküle.





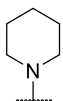






147a

* TFA **147b**
* HCl **147c**



148a

* TFA **148b**
* HCl **148c**



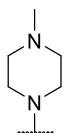
149a

* TFA **149b**
* HCl **149c**



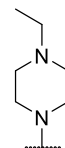
150a

* TFA **150b**
* HCl **150c**



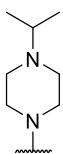
151a

* 2 TFA **151b**
* 2 HCl **151c**



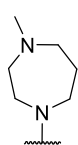
152a

* 2 TFA **152b**

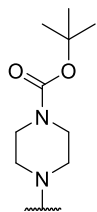


153a

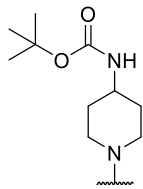
* 2 TFA **153b**



154a

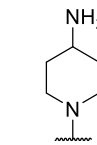
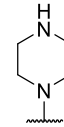


155

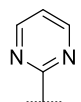
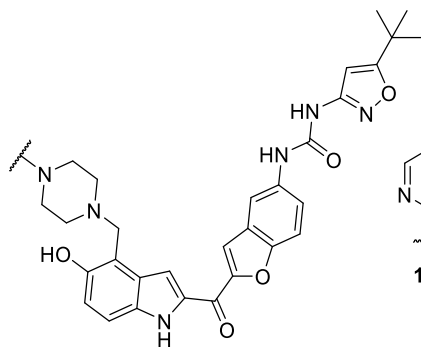


156

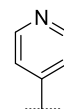
* 2 TFA **158**



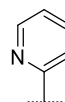
* 2 TFA **159**



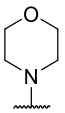
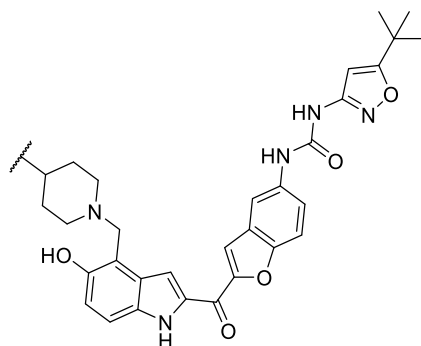
162



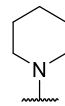
163



164



177



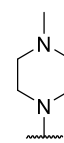
178



179

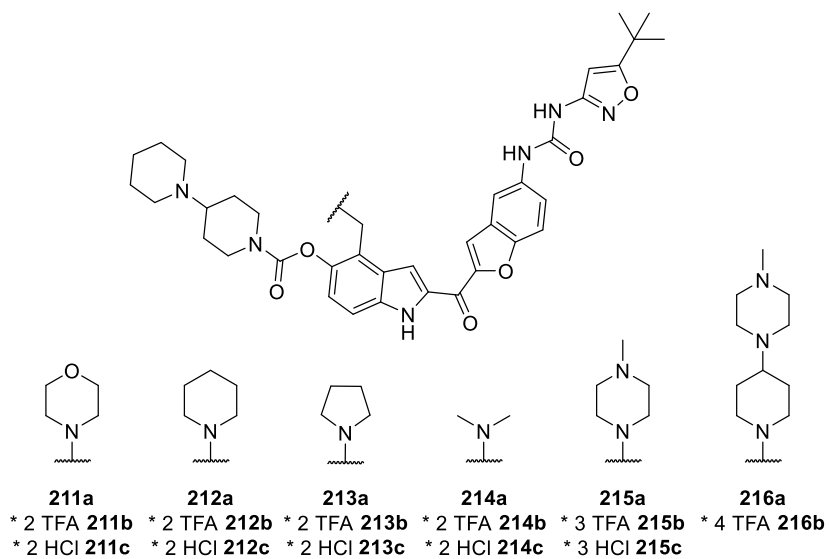
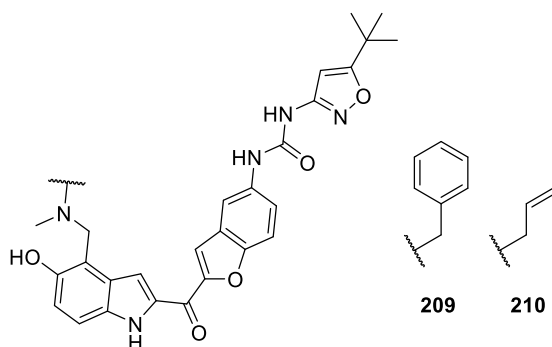
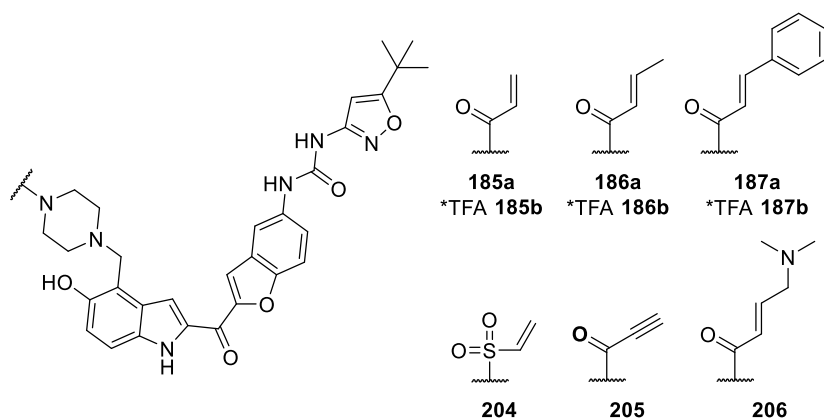
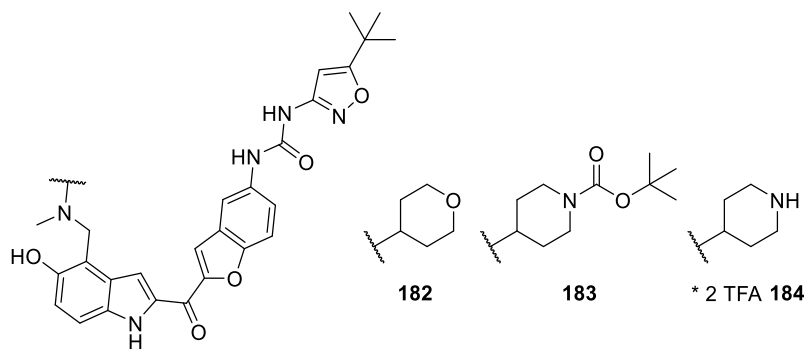


180



181a

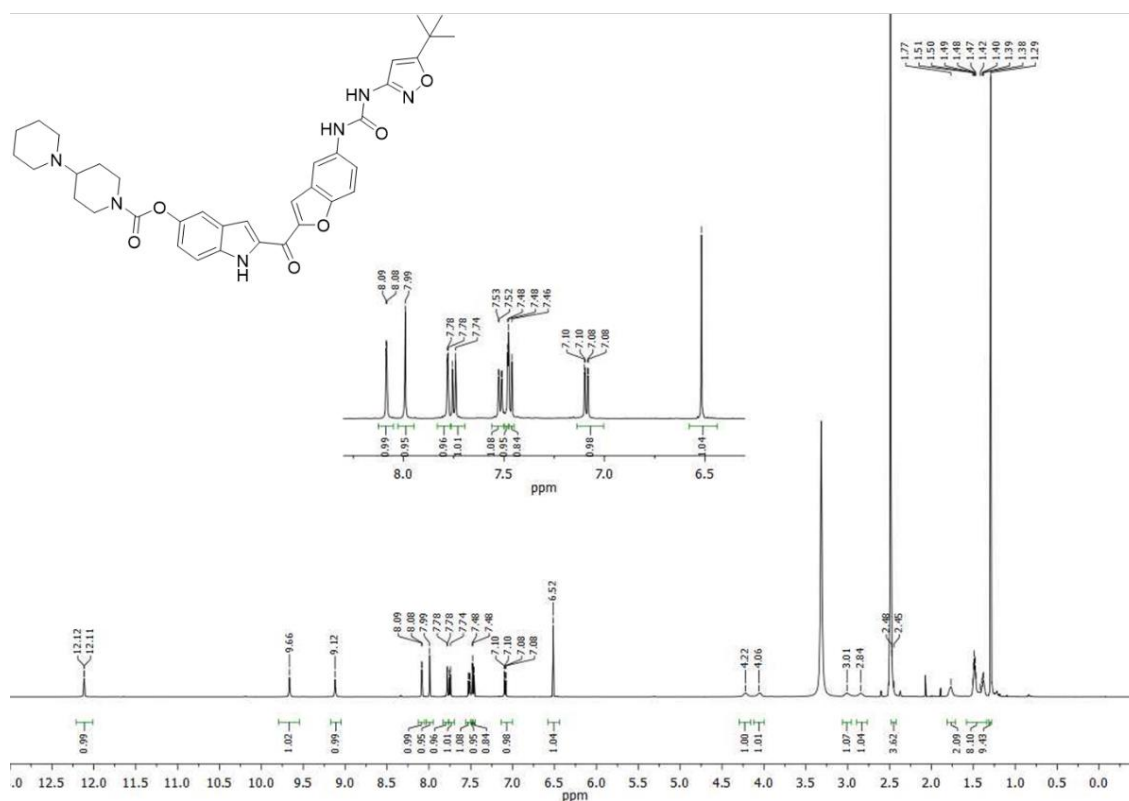
* 3 TFA **181b**



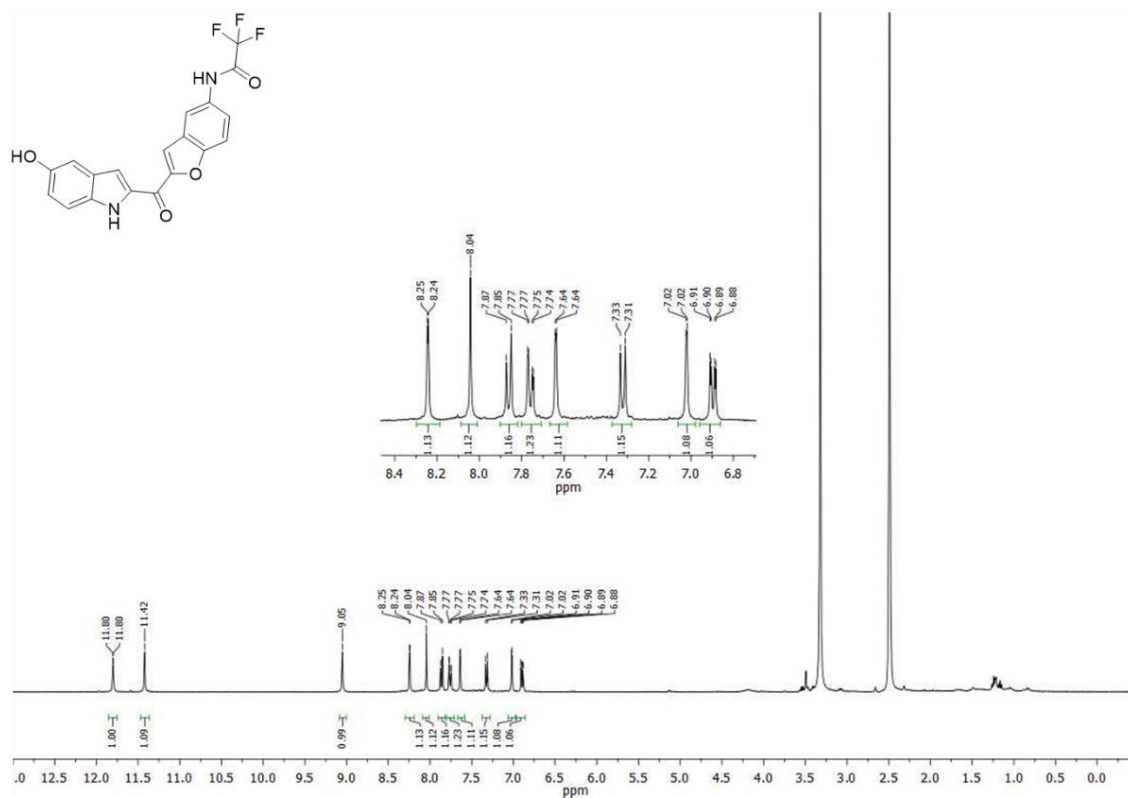
7.2. NMR-SPEKTREN

In diesem Kapitel folgen Abbildungen der ^1H -NMR-Spektren ausgewählter Verbindungen dieser Arbeit. Es ist mindestens ein Spektrum einer beispielhaften Verbindung jeder Grundstruktur gezeigt. Innerhalb einiger Grundstrukturen sind verschiedene Verbindungen abgebildet. Außerdem finden sich die Spektren der pharmakologisch ausführlich analysierten TFA- bzw. HCl-Salze **150b** und **c**, **151b**, **214b** und **c** sowie **215b**. Alle Spektren wurden in $\text{DMSO}-d_6$ aufgenommen und mit der Software MestReNova 9.0.1 ausgewertet.

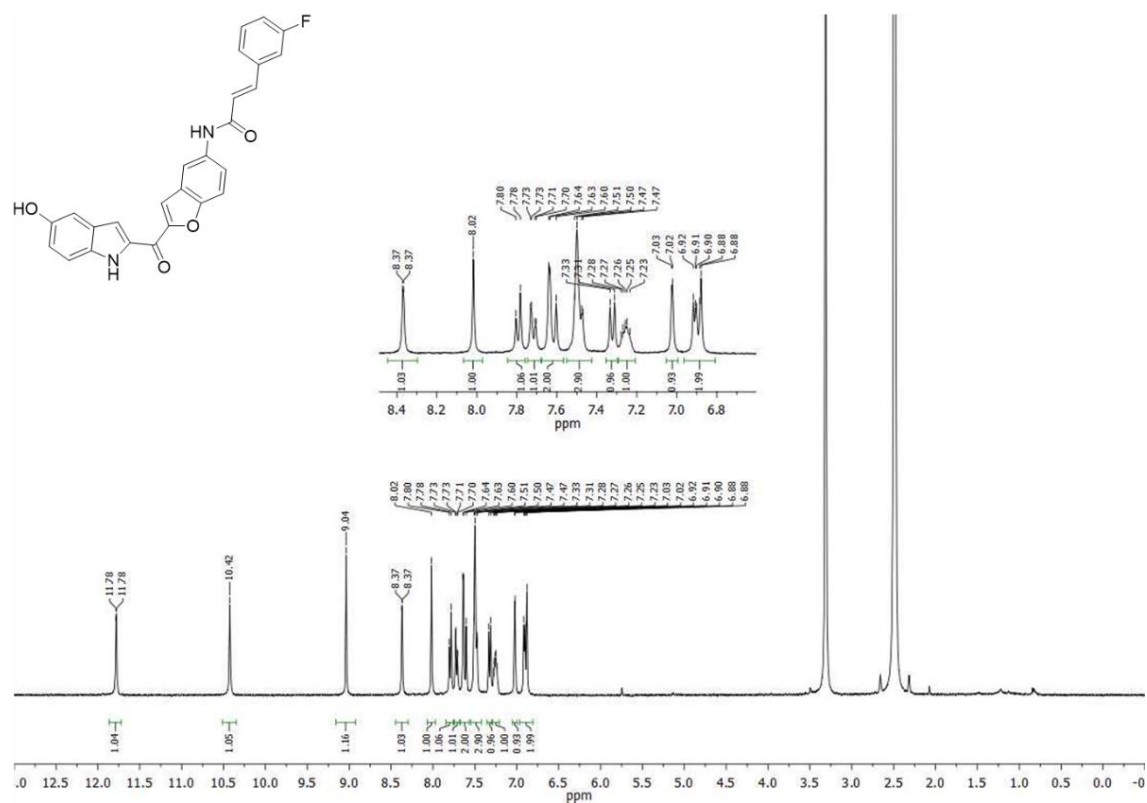
2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-1*H*-indol-5-yl [1,4'-bipiperidin]-1'-carboxylat (**21a**)



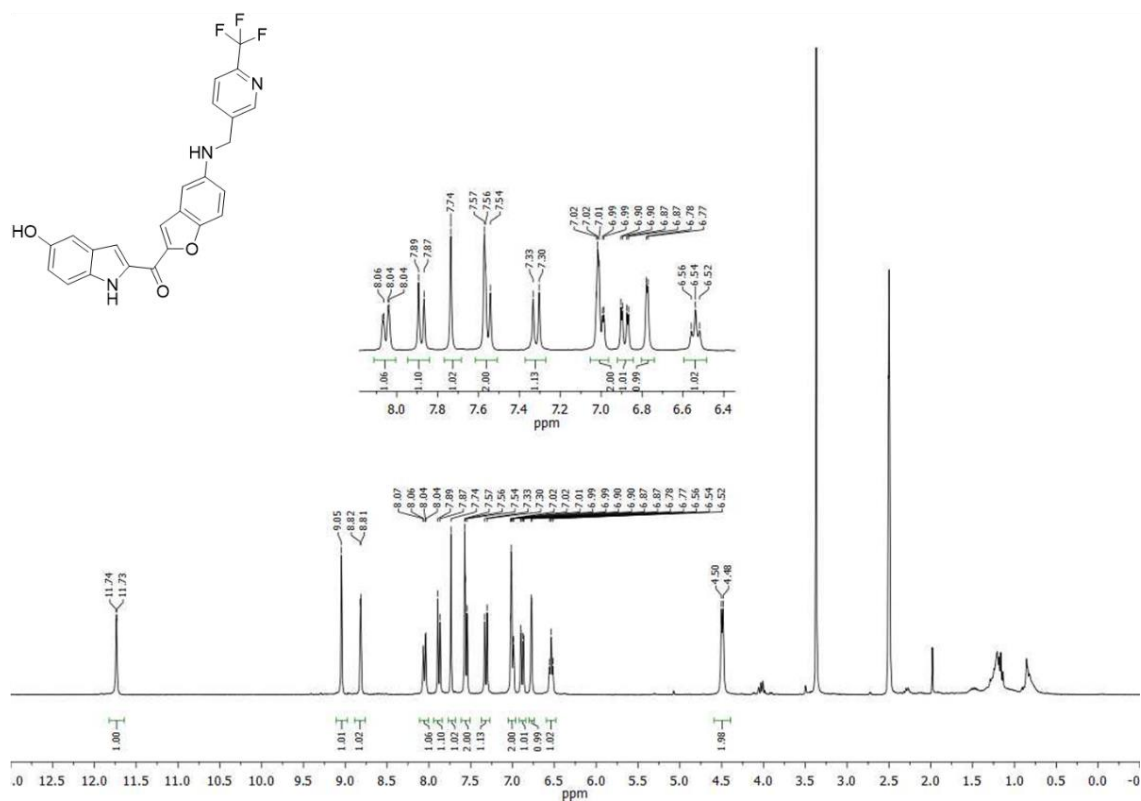
2,2,2-Trifluor-*N*-(2-(5-hydroxy-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)acetamid (38)



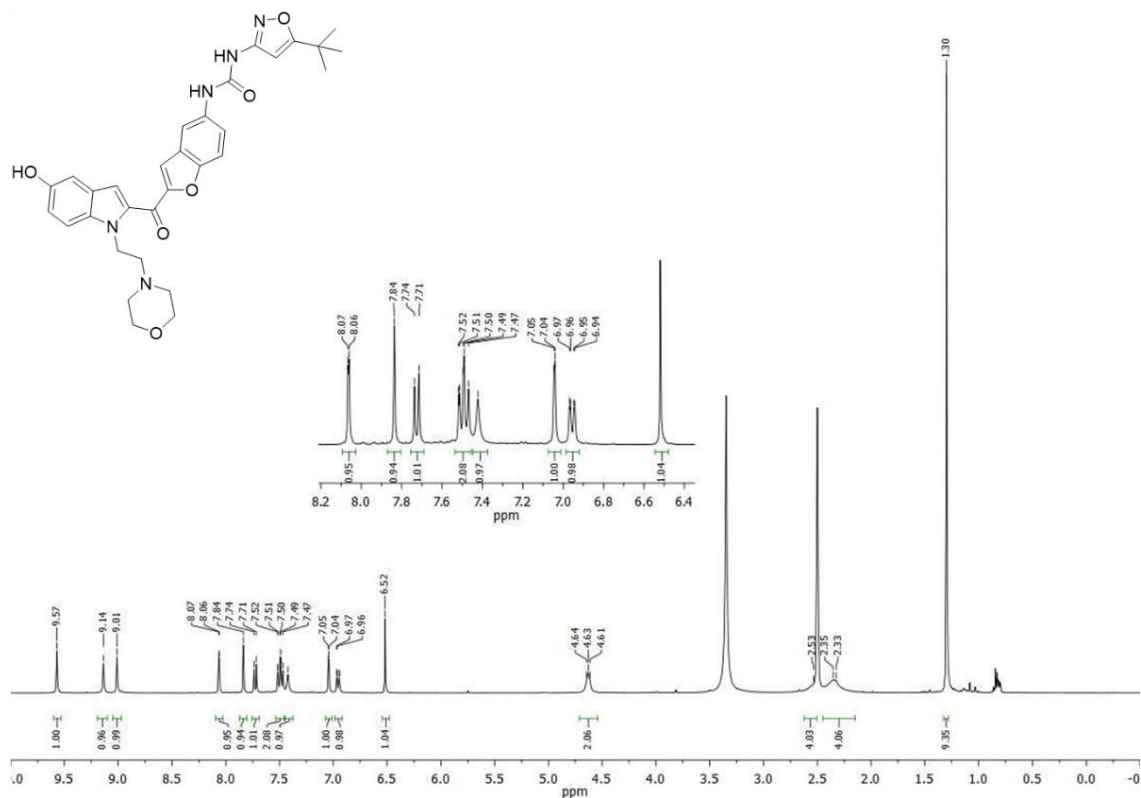
(E)-3-(3-Fluorophenyl)-N-(2-(5-hydroxy-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)acrylamid (60)



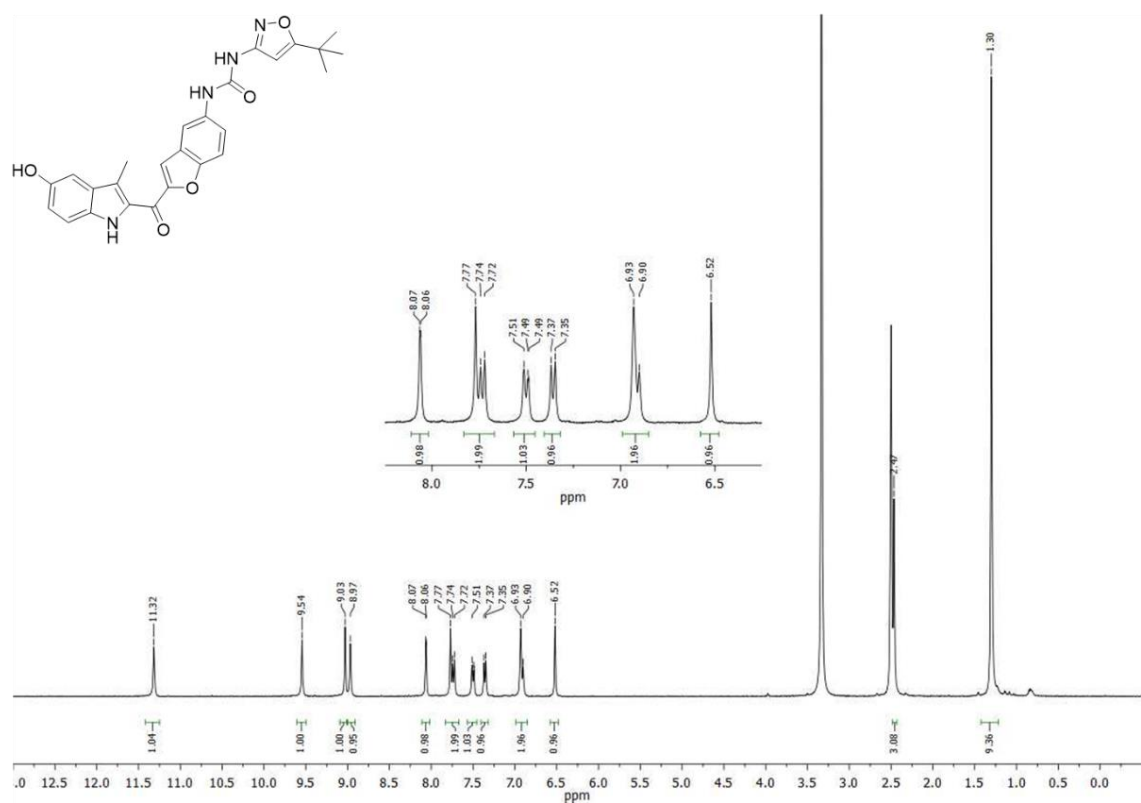
(5-Hydroxy-1*H*-indol-2-yl)(5-(((6-(trifluoromethyl)pyridin-3-yl)methyl)amino)benzofuran-2-yl)methanon (64a)



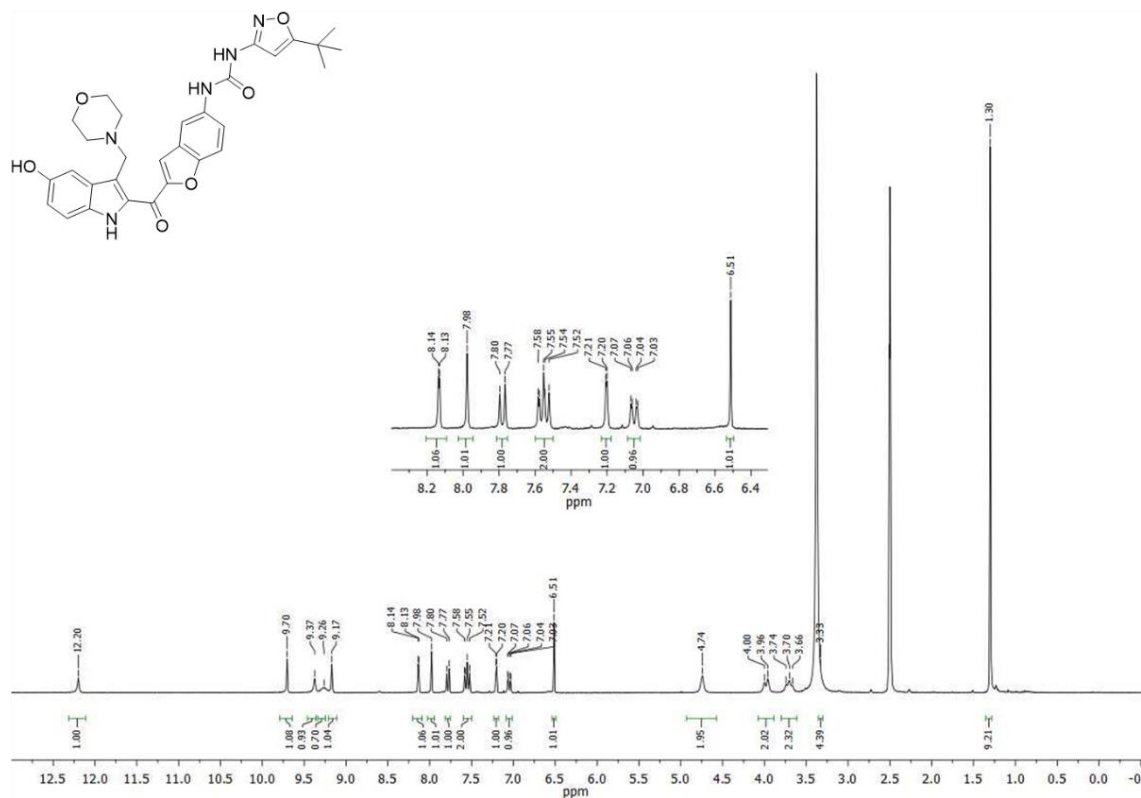
1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-1-(2-morpholinoethyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (75)



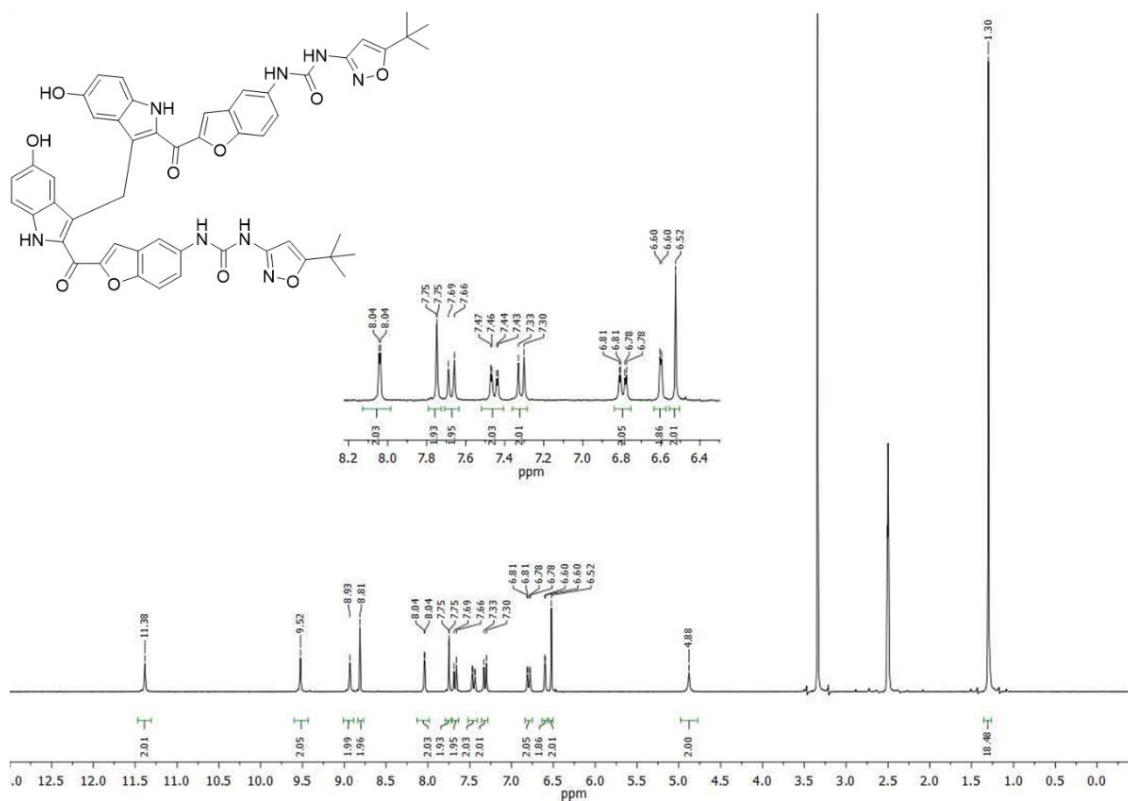
1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-3-methyl-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (86)



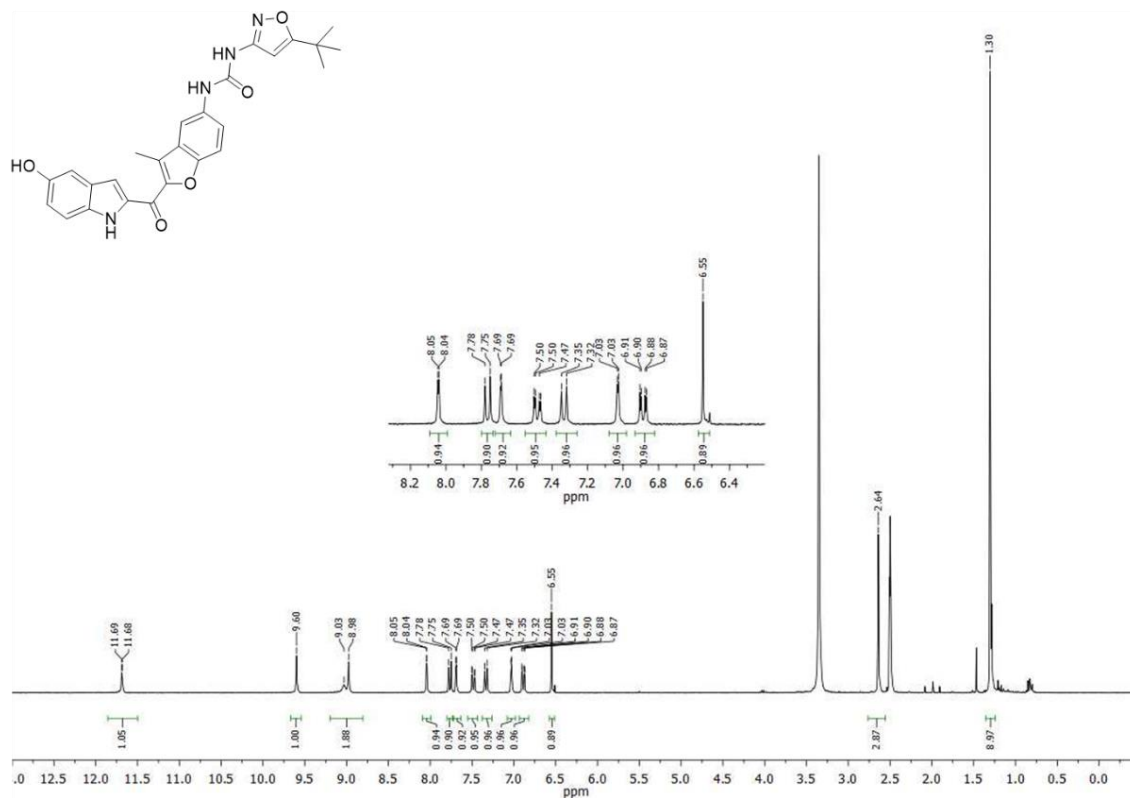
(5-Aminobenzofuran-2-yl)(5-hydroxy-3-(morpholinmethyl)-1*H*-indol-2-yl)methanon 2,2,2-Trifluoroacetat (89b)



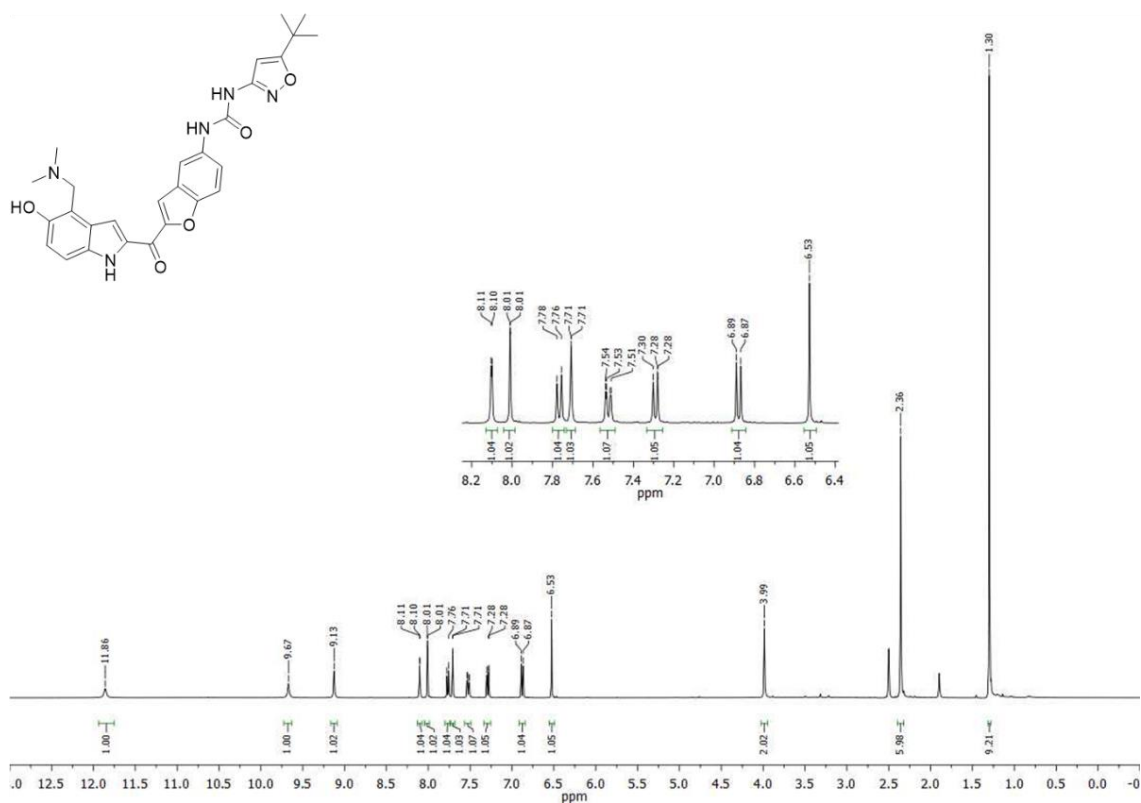
1,1'-((3,3'-Methylenbis(5-hydroxy-1*H*-indol-3,2-diyl-2-carbonyl))bis(benzofuran-2,5-diyl))bis(3-(5-(*tert*-butyl)isoxazol-3-yl)harnstoff) (92)



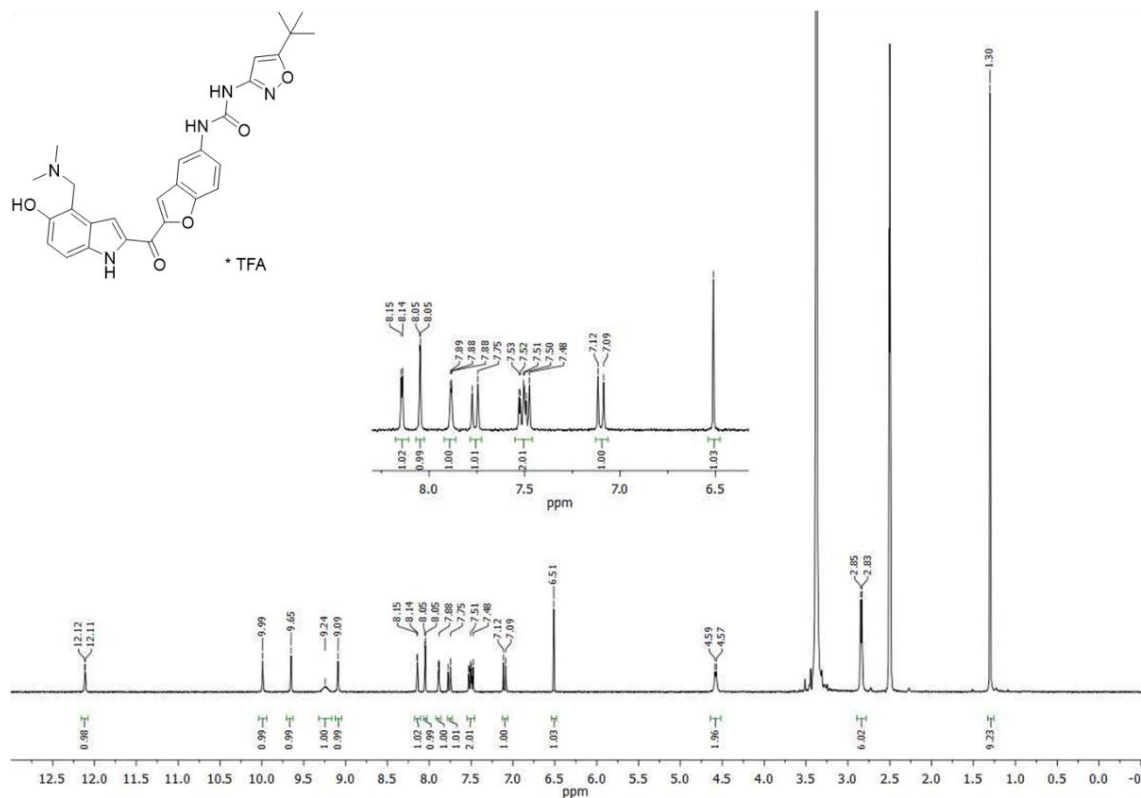
1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-1*H*-indol-2-carbonyl)-3-methylbenzofuran-5-yl)harnstoff (106)



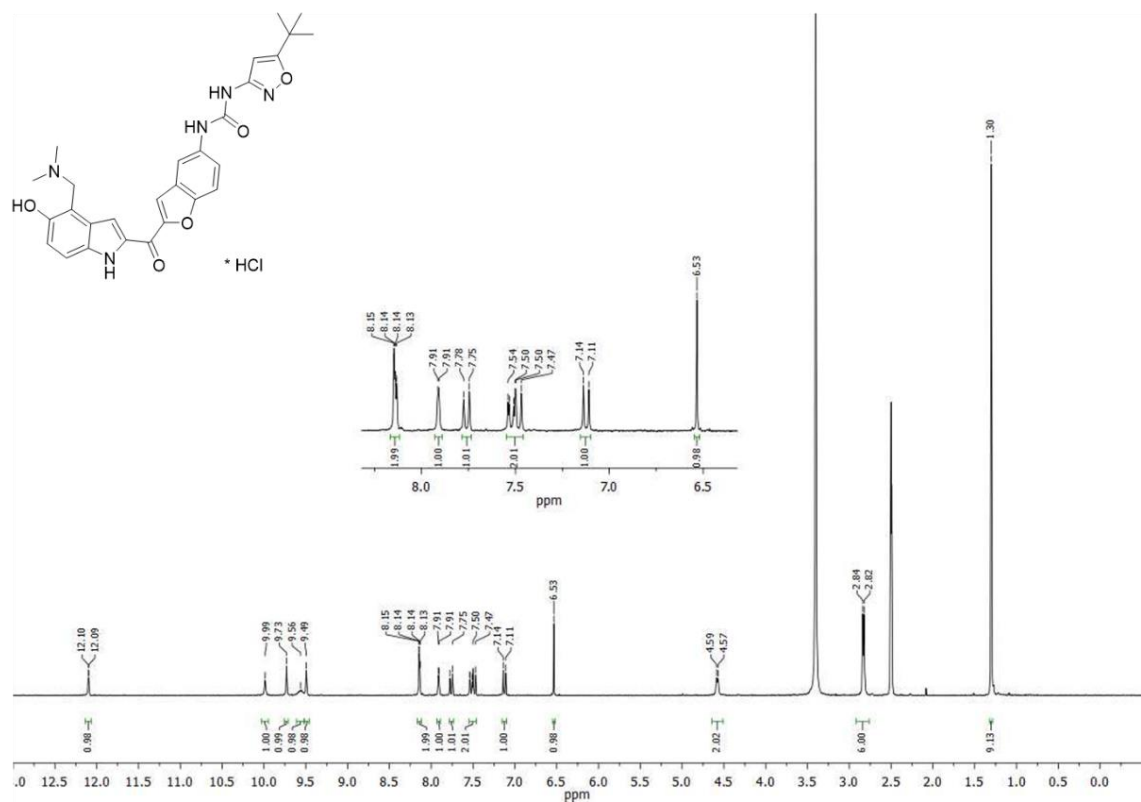
1-(5-*tert*-Butylisoxazol-3-yl)-3-(2-(3-((dimethylamino)methyl)-5-hydroxy-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (150a)



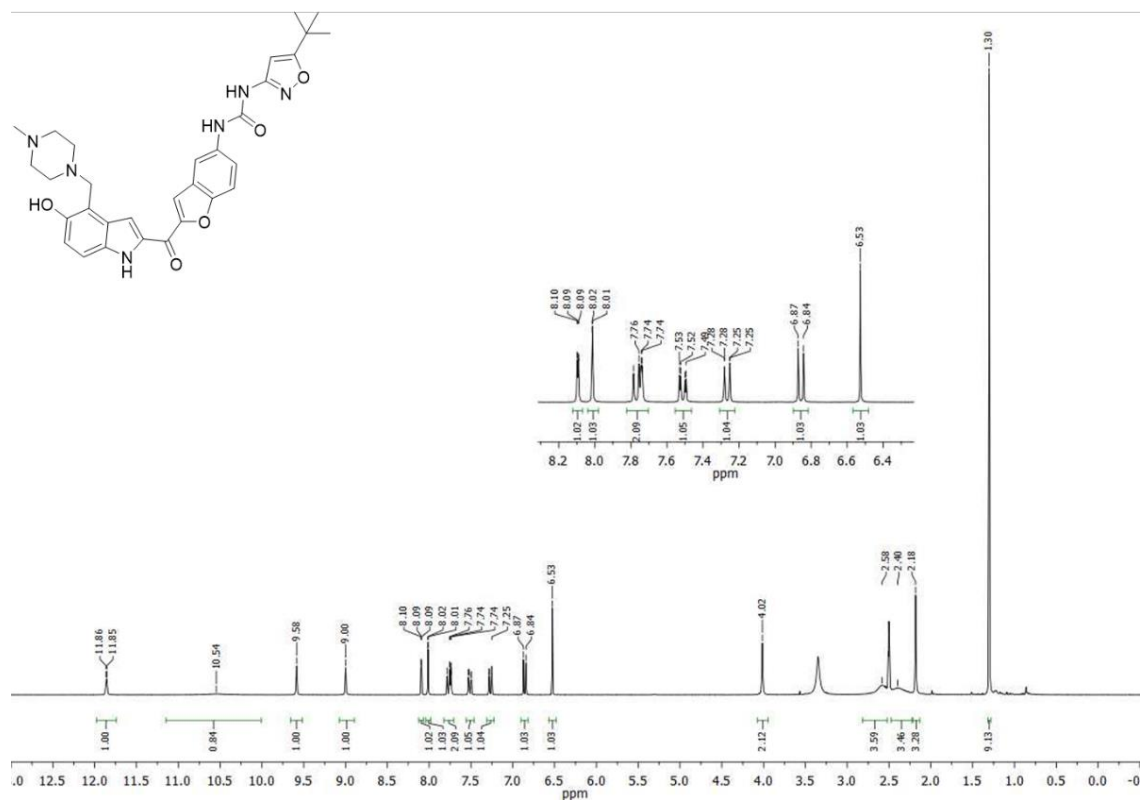
1-(5-*tert*-Butylisoxazol-3-yl)-3-(2-(3-((dimethylamino)methyl)-5-hydroxy-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff 2,2,2-Trifluoracetat (150b)



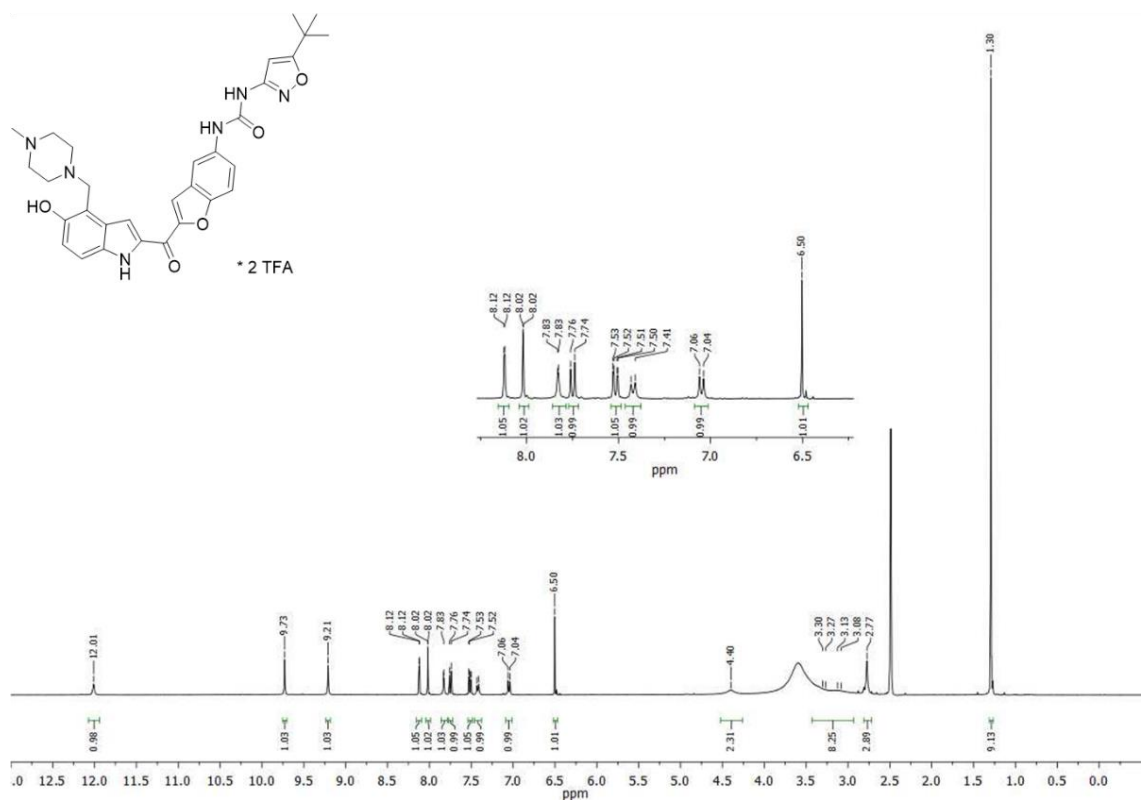
1-(5-*tert*-Butylisoxazol-3-yl)-3-(2-(3-((dimethylamino)methyl)-5-hydroxy-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff Hydrochlorid (150c)



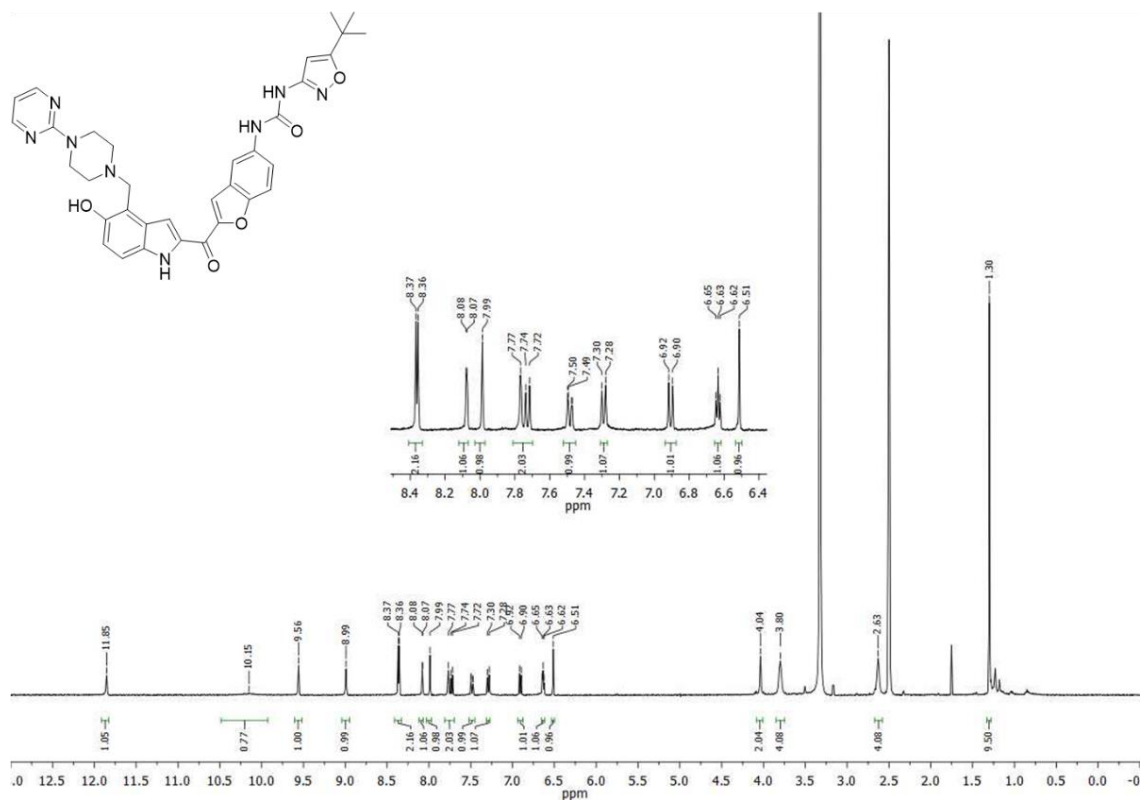
1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-3-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (151a)



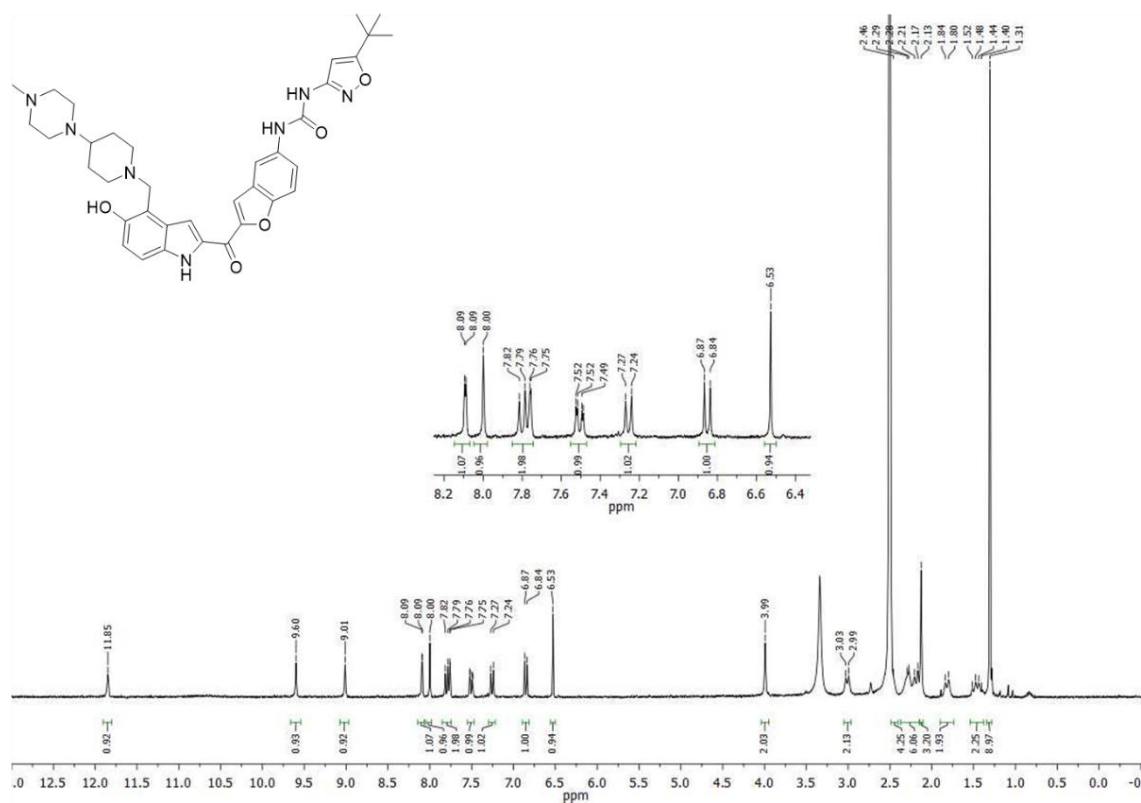
1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-3-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff 2,2,2-Trifluoracetat (151b)



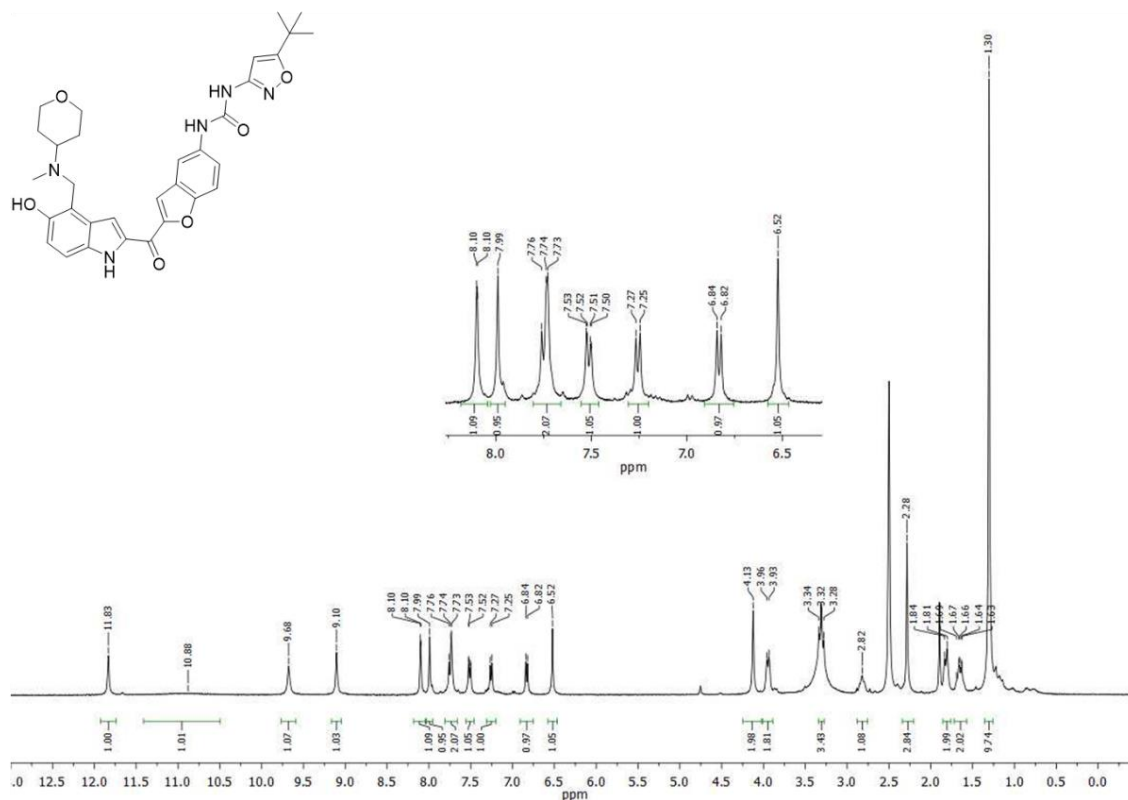
1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-4-((4-(pyrimidin-2-yl)piperazin-1-yl)methyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (162)



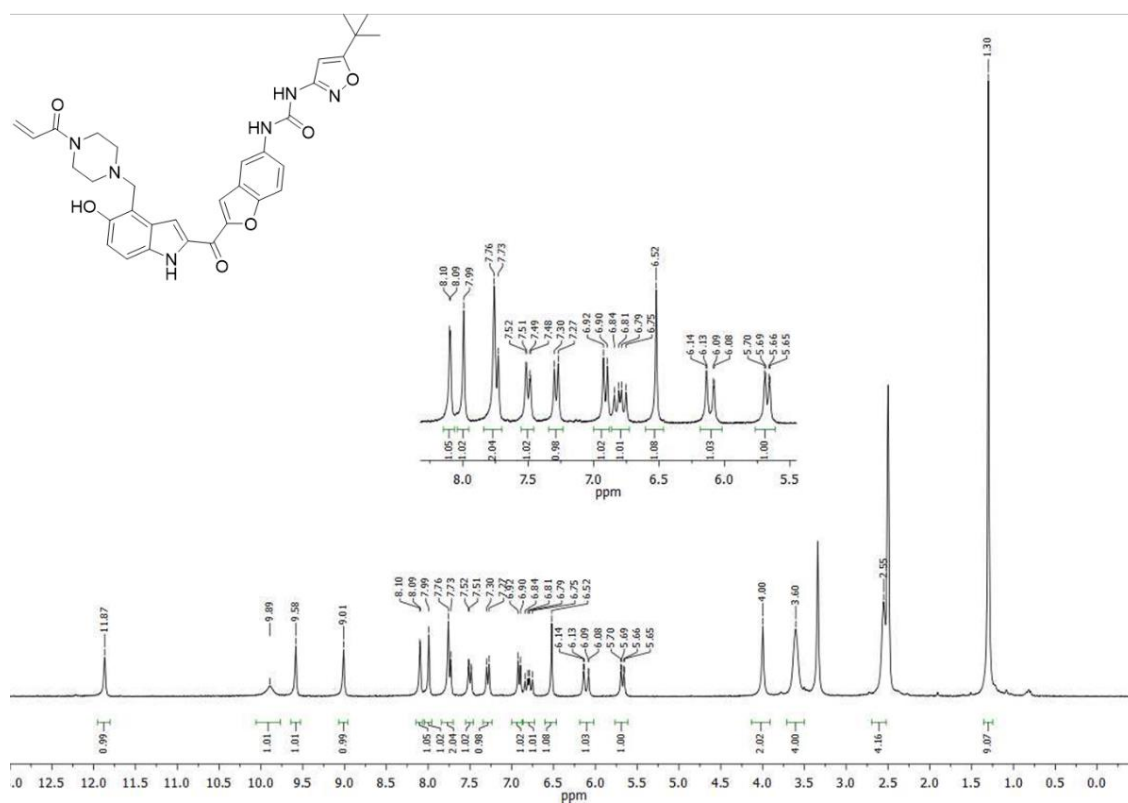
1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-3-((4-(4-methylpiperazin-1-yl)piperidin-1-yl)methyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (181a)



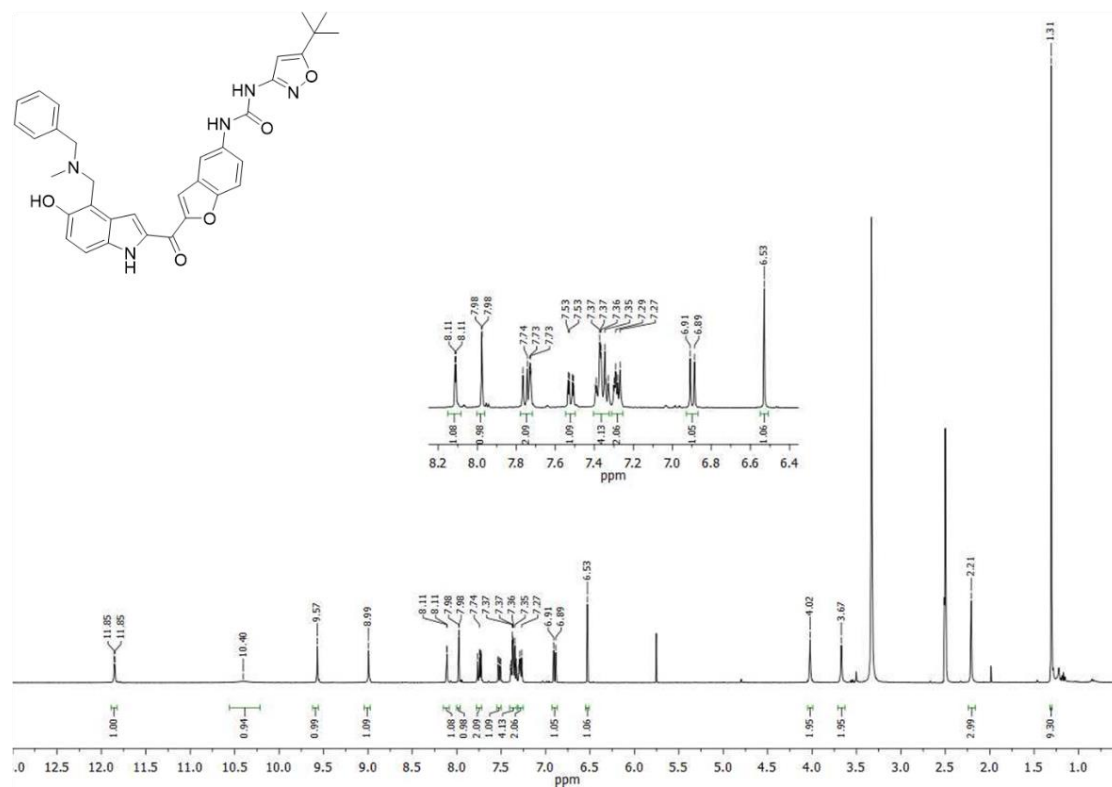
1-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)-3-(2-(5-hydroxy-3-((methyl(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)methyl)-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)harnstoff (182)



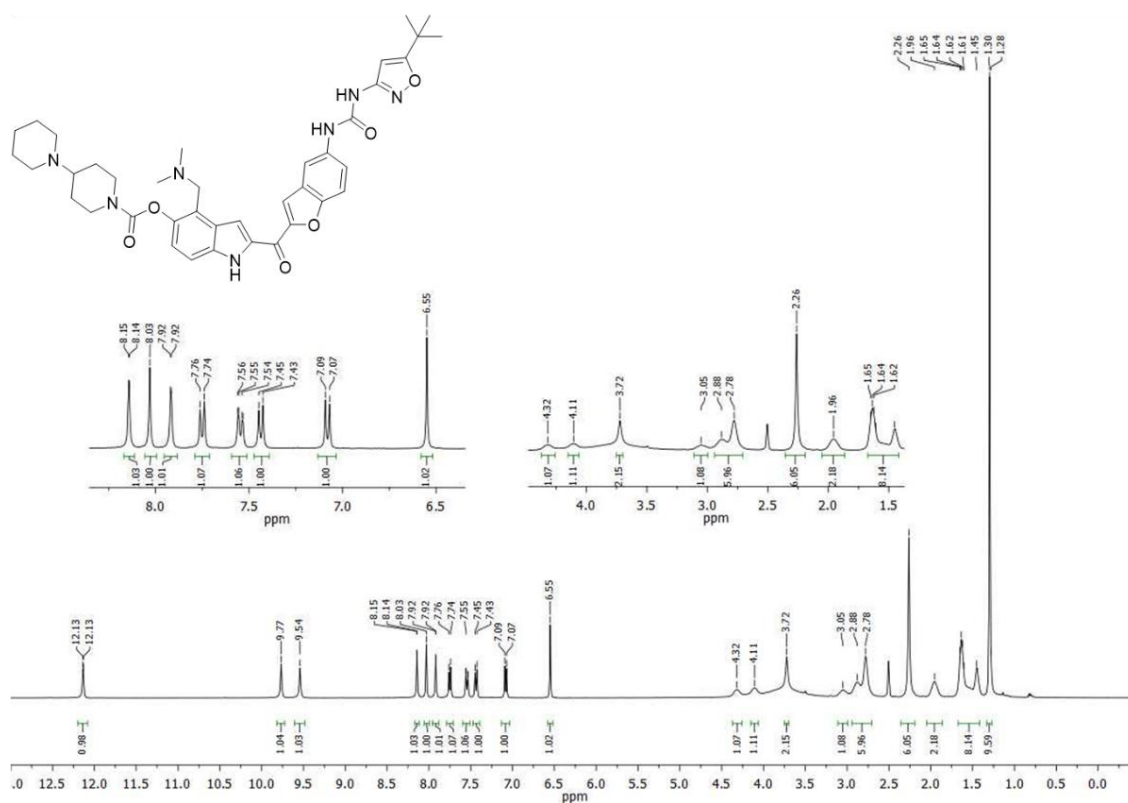
1-(2-(3-((4-Acryloylpiperazin-1-yl)methyl)-5-hydroxy-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)-3-(5-(*tert*-butyl)isoxazol-3-yl)harnstoff (185a)



1-(2-(3-((Benzyl(methyl)amino)methyl)-5-hydroxy-1*H*-indol-2-carbonyl)benzofuran-5-yl)-3-(5-(*tert*-butyl)isoxazol-3-yl)harnstoff (209)



2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-3-((dimethylamino)methyl)-1*H*-indol-5-yl [1,4'-bipiperidin]-1'-carboxylat (214a)



Chemical structure of compound 10 is shown above the spectrum. The spectrum displays peaks from 0 to 13 ppm. Key peaks include aromatic signals between 7.2-8.2 ppm, a carbamate NH singlet at 6.52 ppm, a furan-2-ylmethyl CH₂ doublet at 4.63 ppm, a methoxy singlet at 3.90 ppm, a piperidine CH₂ multiplet at 2.88 ppm, and various aliphatic signals between 1.4-2.5 ppm. Integration values are provided below the baseline.

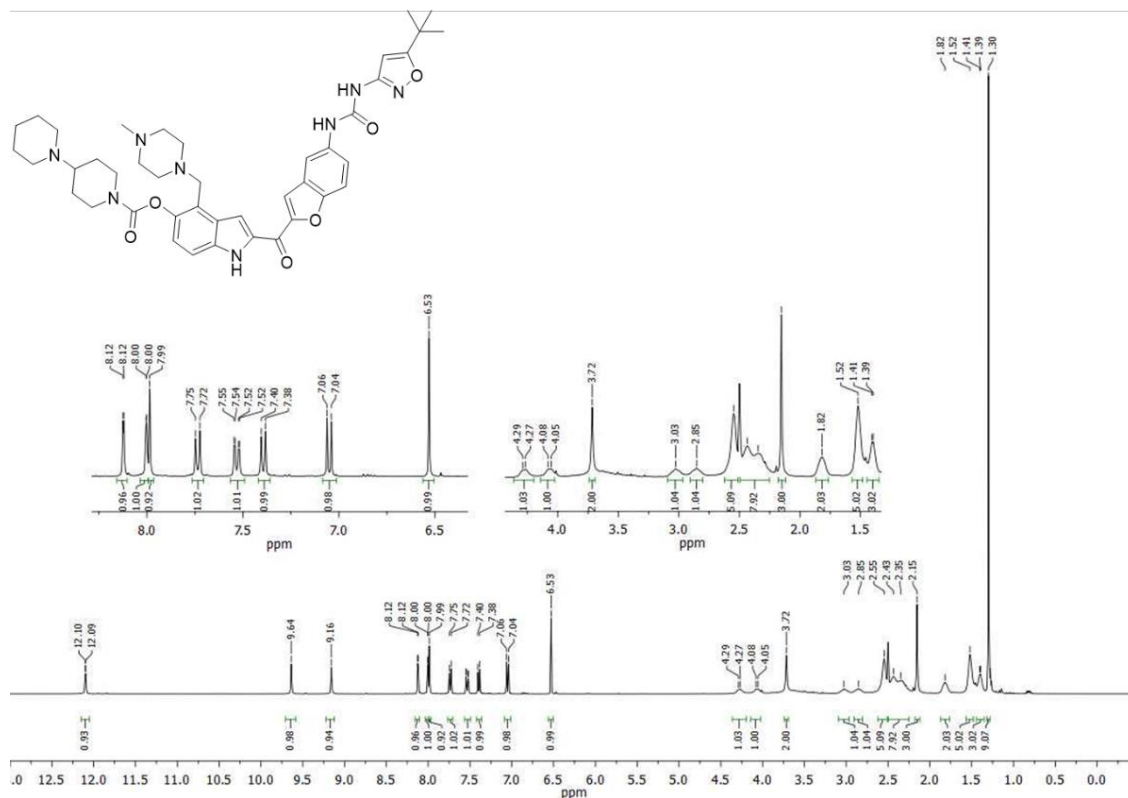
Chemical structure of the compound is shown above the spectrum. The compound is a complex molecule featuring a piperidine ring, a carbamate group, a benzimidazole system, a furan ring, and a 4-tert-butyl-5-isoxazol-3-yl group. The spectrum is labeled with chemical shifts in ppm and integration values.

Chemical Structure: CC(C)(C)c1cc2oc(cc2n1)NC(=O)Nc3ccc4c(c3)c5ccccc5c4C(=O)c6c[nH]c7cc8c(c6)oc(=O)N8CCN9CCCCC9

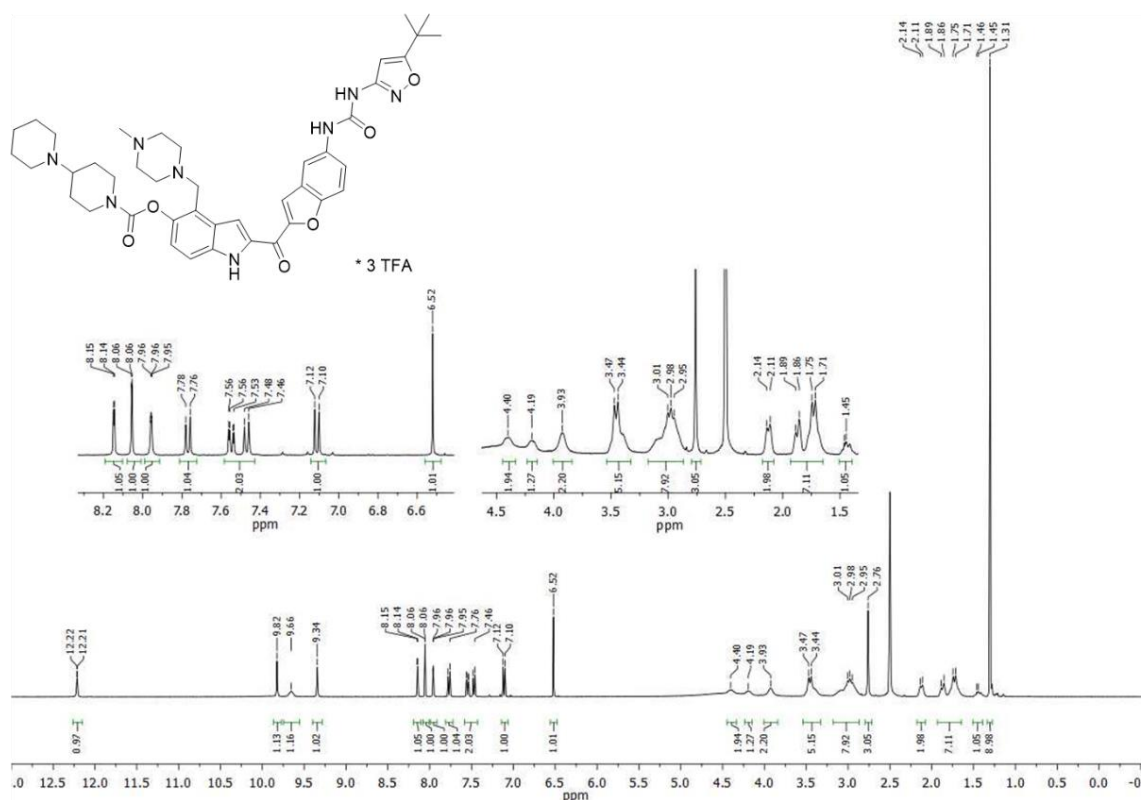
1H NMR Spectrum (CDCl₃):

- Chemical Shifts (ppm):** 12.43, 8.34, 8.16, 8.15, 8.13, 7.79, 7.76, 7.64, 7.55, 7.52, 7.25, 7.22, 6.55, 4.64, 4.62, 4.54, 4.50, 4.18, 4.14, 3.44, 3.41, 2.86, 2.84, 2.26, 2.21, 2.17, 1.94, 1.91, 1.83, 1.79, 1.75, 1.71, 1.64, 1.40, 1.30.
- Integration Values:** 1.03, 1.00, 1.00, 1.00, 0.96, 0.97, 1.00, 1.00, 0.98, 1.11, 0.98, 1.08, 1.09, 1.14, 3.06, 1.15, 5.94, 2.11, 7.84, 1.11, 2.11, 3.06, 5.64, 2.11, 7.84, 1.11, 9.05.

2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-3-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)-1*H*-indol-5-yl [1,4'-bipiperidin]-1'-carboxylat (215a)



2-(5-(3-(5-(*tert*-Butyl)isoxazol-3-yl)ureido)benzofuran-2-carbonyl)-3-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)-1*H*-indol-5-yl [1,4'-bipiperidin]-1'-carboxylat Tris(2,2,2-Trifluoracetat) (215b)



Chemical structure of compound 10:

CC1=CC=C(C=C1)C2=CC=CC=C2NC(=O)N[C@@H]3C[C@H](C(C)(C)C)C[C@@H]3C(=O)NCC(=O)N4CC[C@H](C5=CC=CC=C5C6=CC=CC=C6C7=CC=CC=C7C8=CC=CC=C8C9=CC=CC=C9C10=CC=CC=C10C11=CC=CC=C11C12=CC=CC=C12C13=CC=CC=C13C14=CC=CC=C14C15=CC=CC=C15C16=CC=CC=C16C17=CC=CC=C17C18=CC=CC=C18C19=CC=CC=C19C20=CC=CC=C20C21=CC=CC=C21C22=CC=CC=C22C23=CC=CC=C23C24=CC=CC=C24C25=CC=CC=C25C26=CC=CC=C26C27=CC=CC=C27C28=CC=CC=C28C29=CC=CC=C29C30=CC=CC=C30C31=CC=CC=C31C32=CC=CC=C32C33=CC=CC=C33C34=CC=CC=C34C35=CC=CC=C35C36=CC=CC=C36C37=CC=CC=C37C38=CC=CC=C38C39=CC=CC=C39C40=CC=CC=C40C41=CC=CC=C41C42=CC=CC=C42C43=CC=CC=C43C44=CC=CC=C44C45=CC=CC=C45C46=CC=CC=C46C47=CC=CC=C47C48=CC=CC=C48C49=CC=CC=C49C50=CC=CC=C50C51=CC=CC=C51C52=CC=CC=C52C53=CC=CC=C53C54=CC=CC=C54C55=CC=CC=C55C56=CC=CC=C56C57=CC=CC=C57C58=CC=CC=C58C59=CC=CC=C59C60=CC=CC=C60C61=CC=CC=C61C62=CC=CC=C62C63=CC=CC=C63C64=CC=CC=C64C65=CC=CC=C65C66=CC=CC=C66C67=CC=CC=C67C68=CC=CC=C68C69=CC=CC=C69C70=CC=CC=C70C71=CC=CC=C71C72=CC=CC=C72C73=CC=CC=C73C74=CC=CC=C74C75=CC=CC=C75C76=CC=CC=C76C77=CC=CC=C77C78=CC=CC=C78C79=CC=CC=C79C80=CC=CC=C80C81=CC=CC=C81C82=CC=CC=C82C83=CC=CC=C83C84=CC=CC=C84C85=CC=CC=C85C86=CC=CC=C86C87=CC=CC=C87C88=CC=CC=C88C89=CC=CC=C89C90=CC=CC=C90C91=CC=CC=C91C92=CC=CC=C92C93=CC=CC=C93C94=CC=CC=C94C95=CC=CC=C95C96=CC=CC=C96C97=CC=CC=C97C98=CC=CC=C98C99=CC=CC=C99C100=CC=CC=C100C101=CC=CC=C101C102=CC=CC=C102C103=CC=CC=C103C104=CC=CC=C104C105=CC=CC=C105C106=CC=CC=C106C107=CC=CC=C107C108=CC=CC=C108C109=CC=CC=C109C110=CC=CC=C110C111=CC=CC=C111C112=CC=CC=C112C113=CC=CC=C113C114=CC=CC=C114C115=CC=CC=C115C116=CC=CC=C116C117=CC=CC=C117C118=CC=CC=C118C119=CC=CC=C119C120=CC=CC=C120C121=CC=CC=C121C122=CC=CC=C122C123=CC=CC=C123C124=CC=CC=C124C125=CC=CC=C125C126=CC=CC=C126C127=CC=CC=C127C128=CC=CC=C128C129=CC=CC=C129C130=CC=CC=C130C131=CC=CC=C131C132=CC=CC=C132C133=CC=CC=C133C134=CC=CC=C134C135=CC=CC=C135C136=CC=CC=C136C137=CC=CC=C137C138=CC=CC=C138C139=CC=CC=C139C140=CC=CC=C140C141=CC=CC=C141C142=CC=CC=C142C143=CC=CC=C143C144=CC=CC=C144C145=CC=CC=C145C146=CC=CC=C146C147=CC=CC=C147C148=CC=CC=C148C149=CC=CC=C149C150=CC=CC=C150C151=CC=CC=C151C152=CC=CC=C152C153=CC=CC=C153C154=CC=CC=C154C155=CC=CC=C155C156=CC=CC=C156C157=CC=CC=C157C158=CC=CC=C158C159=CC=CC=C159C160=CC=CC=C160C161=CC=CC=C161C162=CC=CC=C162C163=CC=CC=C163C164=CC=CC=C164C165=CC=CC=C165C166=CC=CC=C166C167=CC=CC=C167C168=CC=CC=C168C169=CC=CC=C169C170=CC=CC=C170C171=CC=CC=C171C172=CC=CC=C172C173=CC=CC=C173C174=CC=CC=C174C175=CC=CC=C175C176=CC=CC=C176C177=CC=CC=C177C178=CC=CC=C178C179=CC=CC=C179C180=CC=CC=C180C181=CC=CC=C181C182=CC=CC=C182C183=CC=CC=C183C184=CC=CC=C184C185=CC=CC=C185C186=CC=CC=C186C187=CC=CC=C187C188=CC=CC=C188C189=CC=CC=C189C190=CC=CC=C190C191=CC=CC=C191C192=CC=CC=C192C193=CC=CC=C193C194=CC=CC=C194C195=CC=CC=C195C196=CC=CC=C196C197=CC=CC=C197C198=CC=CC=C198C199=CC=CC=C199C200=CC=CC=C200C201=CC=CC=C201C202=CC=CC=C202C203=CC=CC=C203C204=CC=CC=C204C205=CC=CC=C205C206=CC=CC=C206C207=CC=CC=C207C208=CC=CC=C208C209=CC=CC=C209C210=CC=CC=C210C211=CC=CC=C211C212=CC=CC=C212C213=CC=CC=C213C214=CC=CC=C214C215=CC=CC=C215C216=CC=CC=C216C217=CC=CC=C217C218=CC=CC=C218C219=CC=CC=C219C220=CC=CC=C220C221=CC=CC=C221C222=CC=CC=C222C223=CC=CC=C223C224=CC=CC=C224C225=CC=CC=C225C226=CC=CC=C226C227=CC=CC=C227C228=CC=CC=C228C229=CC=CC=C229C230=CC=CC=C230C231=CC=CC=C231C232=CC=CC=C232C233=CC=CC=C233C234=CC=CC=C234C235=CC=CC=C235C236=CC=CC=C236C237=CC=CC=C237C238=CC=CC=C238C239=CC=CC=C239C240=CC=CC=C240C241=CC=CC=C241C242=CC=CC=C242C243=CC=CC=C243C244=CC=CC=C244C245=CC=CC=C245C246=CC=CC=C246C247=CC=CC=C247C248=CC=CC=C248C249=CC=CC=C249C250=CC=CC=C250C251=CC=CC=C251C252=CC=CC=C252C253=CC=CC=C253C254=CC=CC=C254C255=CC=CC=C255C256=CC=CC=C256C257=CC=CC=C257C258=CC=CC=C258C259=CC=CC=C259C260=CC=CC=C260C261=CC=CC=C261C262=CC=CC=C262C263=CC=CC=C263C264=CC=CC=C264C265=CC=CC=C265C266=CC=CC=C266C267=CC=CC=C267C268=CC=CC=C268C269=CC=CC=C269C270=CC=CC=C270C271=CC=CC=C271C272=CC=CC=C272C273=CC=CC=C273C274=CC=CC=C274C275=CC=CC=C275C276=CC=CC=C276C277=CC=CC=C277C278=CC=CC=C278C279=CC=CC=C279C280=CC=CC=C280C281=CC=CC=C281C282=CC=CC=C282C283=CC=CC=C283C284=CC=CC=C284C285=CC=CC=C285C286=CC=CC=C286C287=CC=CC=C287C288=CC=CC=C288C289=CC=CC=C289C290=CC=CC=C290C291=CC=CC=C291C292=CC=CC=C292C293=CC=CC=C293C294=CC=CC=C294C295=CC=CC=C295C296=CC=CC=C296C297=CC=CC=C297C298=CC=CC=C298C299=CC=CC=C299C300=CC=CC=C300C301=CC=CC=C301C302=CC=CC=C302C303=CC=CC=C303C304=CC=CC=C304C305=CC=CC=C305C306=CC=CC=C306C307=CC=CC=C307C308=CC=CC=C308C309=CC=CC=C309C310=CC=CC=C310C311=CC=CC=C311C312=CC=CC=C312C313=CC=CC=C313C314=CC=CC=C314C315=CC=CC=C315C316=CC=CC=C316C317=CC=CC=C317C318=CC=CC=C318C319=CC=CC=C319C320=CC=CC=C320C321=CC=CC=C321C322=CC=CC=C322C323=CC=CC=C323C324=CC=CC=C324C325=CC=CC=C325C326=CC=CC=C326C327=CC=CC=C327C328=CC=CC=C328C329=CC=CC=C329C330=CC=CC=C330C331=CC=CC=C331C332=CC=CC=C332C333=CC=CC=C333C334=CC=CC=C334C335=CC=CC=C335C336=CC=CC=C336C337=CC=CC=C337C338=CC=CC=C338C339=CC=CC=C339C340=CC=CC=C340C341=CC=CC=C341C342=CC=CC=C342C34

7.3. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1: Überblick über die normale Hämatopoese. ³	2
Abb. 2: (A) Prozentualer, organspezifischer und nach Geschlechtern getrennter Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an der Anzahl aller Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2018. (B) Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an der Anzahl aller Krebssterbefällen in Deutschland 2018. In beiden Diagrammen sind die Zahlen für Frauen in Hellblau, für Männer in Dunkelblau dargestellt. ¹⁵	4
Abb. 3: Relatives 5-Jahres-Überleben eingeteilt nach Form der Leukämie und Geschlecht. Die Daten beziehen sich auf die Jahre 2017 und 2018. Zahlen für Frauen in Hellblau, für Männer in Dunkelblau. ¹⁵	5
Abb. 4: Überblick über die menschlichen Proteinkinasen in einer Darstellung des menschlichen Kinoms als Baum. Die Abkürzungen der einzelnen Bereiche stehen für folgende Gruppen von Proteinkinasen: TK: Tyrosinkinase, TKL: Tyrosinkinase-ähnlich (engl. tyrosine kinase-like), STE: Homologe der yeast Sterile 7, 11 und 20 Kinasen, CK1: Caseinkinase 1, AGC: PKA-, PKG- und PKC-Familien, CAMK: Ca ²⁺ /calmodulin-abhängige Proteinkinase, CMGC: CDK-, MAPK-, GSK3- und CLK-Familien. Die Familie der Tyrosinkinasen ist dabei hervorgehoben, und FLT3 eingekreist. ^{89; 94} Der Überblick über das Kinom wurde mit Hilfe der Software Coral von Phanstiel Lab erstellt (http://phanstiel-lab.med.unc.edu/CORAL/).	11
Abb. 5: Schematische Darstellung ausgewählter Klassen von RTKs. Dargestellt sind die Klassen EGFR (Epidermaler Wachstumsfaktor-Rezeptor, engl. epidermal growth factor receptor), PDGFR (Thrombozyten-Wachstumsfaktor-Rezeptor, engl. platelet-derived growth factor receptor), VEGFR (Rezeptor für den vaskulären endothelialen Wachstumsfaktor, engl. vascular endothelial growth factor receptor), CCK (Kolonkarzinom-Kinase, engl. colon carcinoma kinase), AXL (wird durch das AXL-Gen codiert), DDR (Discoidin-Domäne-Rezeptor, engl. discoidin domain receptor) und RET (Abkürzung für: „rearranged during transfection“). Neben der Nummer und der Bezeichnung der jeweiligen Klasse ist der Aufbau der Kinase anschaulich dargestellt. Im intrazellulären Bereich ist an die Zellmembran angrenzend in Blau die Juxtamembran-Domäne (JMD) und darauffolgend die Kinasedomäne (KD) dargestellt. In Klasse III, IV und X ist eine zweigeteilte Kinasedomäne zu sehen, deren Teile durch einen Kinase-Insert (KI, Gelb) getrennt sind. Die Transmembran-Domäne (TMD) ist ebenfalls in Blau dargestellt und führt durch die Zellmembran. Im extrazellulären Bereich unterscheiden sich die Domänen der einzelnen Klassen stärker voneinander, wobei die einzelnen Elemente, wie in der Abb. beschrieben, in Braun, Gelb und Grün dargestellt sind. ⁹⁰	12

Abb. 6: Schematischer Überblick über den Aufbau von FLT3. Die Zellmembran ist Braun, im extrazellulären Bereich befinden sich die Immunoglobulin-ähnlichen Domänen (Gelb). Die Zellmembran wird von einer TMD (Blau) durchzogen, während sich im intrazellulären Bereich, ebenfalls in Blau, die JMD, die TKD1 und die TKD2 anschließen. Beide TKDs werden vom Kinase-Insert getrennt (gelbe Kugel). Zusätzlich ist die Proteinstruktur des intrazellulären Bereichs im Bändermodell abgebildet, wobei α -Helices in Gelb, β -Faltblätter in Blau und Random-Coil-Abschnitte in Braun dargestellt sind (PDB: 1RJB). Das Bändermodell wurde mit Chimera 1.16 erstellt. ¹²¹	15
Abb. 7: (A) Schematische Darstellung des intrazellulären Bereichs von FLT3 in autoinhibierter Form (PDB: 1RJB) als Kalottenmodell, (B) Schematische Darstellung des intrazellulären Bereichs von FLT3 in autoinhibierter Form (PDB: 1RJB) als Bändermodell, (C) Vergrößerte Darstellung der intrazellulären Domäne als Bändermodell. Der Ausschnitt zeigt Aktivierungsschleife, DFG-Motiv und einige wichtige Aminosäuren, die extra im Stäbchenmodell gezeigt sind. In allen 3 Abbildungen ist die TKD1 in Hellblau, die TKD2 in Dunkelblau und die JMD in Gelb dargestellt. Die Aktivierungsschleife ist in Hellgrün, das DFG-Motiv in Braun und der „Gatekeeper“-Rest F691 in Dunkelgrün gezeigt. Alle Abbildungen wurden mit Chimera 1.16 erstellt. ^{121; 124}	16
Abb. 8: Schematische Darstellung eines FLT3-Homodimers, das durch die Bindung des FL gebildet wurde. In Braun ist die Zellmembran zu sehen. Im extrazellulären Bereich befinden sich die Immunoglobulin-ähnlichen Domänen (gelbe Ringe). Die Zellmembran wird von einer TMD (Blau) durchzogen, während sich im intrazellulären Bereich (ebenfalls in Blau) die JMD, die TKD1 und die TKD2 anschließen. Beide TKDs werden durch KIs getrennt (gelbe Kugeln), der FL ist als grüner Würfel dargestellt. ^{31; 130; 131}	17
Abb. 9: Vergleich zwischen inaktiver („DFG-out“, A) und aktiver („DFG-in“, B) Konformation des FLT3-Rezeptors. JMD, TKD1 und TKD2 sind in verschiedenen Blau-Tönen dargestellt und entspr. beschriftet. Die Gatekeeper-Aminosäure F691 und die Aminosäure F830 des DFG-Motivs sind ebenfalls markiert. Die JMD (Juxtamembran-Domäne) verändert bei Aktivierung ihre Position und bewegt sich aus der regulatorischen Tasche. Die in Hellblau dargestellte Aktivierungsschleife mit dem DFG-Motiv verändert ebenfalls ihre Lage, sodass sich Substrate anlagern können. ¹³⁹	18
Abb. 10: Vereinfachter Überblick über FLT3-nachgeschaltete Signalkaskaden. Aktivierung von FLT3 führt zur Induktion der drei gezeigten Signalwege. Der RAS-RAF-MEK-ERK-Signalweg (RAS: Akronym von rat sarcoma, RAF: Akronym von rat fibrosarcoma, MEK: Mitogen-aktivierte Proteinkinase-Kinase, engl. mitogen-activated protein kinase kinase, ERK: extrazellulär-signalgesteuerte Kinasen, engl. extracellular-signal regulated kinase) in Orange, der STAT-Signalweg in Grün (JAK: Januskinase, STAT5: Signalgeber und Aktivator der Transkription, engl. signal transducer and activator of transcription 5) und der PI3K-AKT-Signalweg (PI3K:	

Phosphatidylinositol 3-Kinase, AKT: Protein-Kinase B, mTOR: mechanistisches Ziel von Rapamycin, engl. mechanistic target of Rapamycin) ist in Blau gezeigt. ^{124; 147–150}	19
Abb. 11: Überblick über die Lage verschiedener Mutationen in FLT3. Die einzelnen Bereiche der Tyrosinkinase sind entspr. beschriftet. In Rot sind mögliche Mutationen eingezeichnet, wobei eine mögliche ITD-Mutation innerhalb der JMD als Ring und eine mögliche TKD-Mutation innerhalb der TKD1 oder der TKD2 als Stern dargestellt ist. Beispielhaft sind hier einige wichtige TKD-Mutationen benannt. ^{165–167}	21
Abb. 12: Zeitlicher Überblick über die Entdeckung von FLT3 und entspr. Mutationen, sowie der daraus folgenden Entwicklung kleinmolekularer Wirkstoffe. Neben der Entdeckung einzelner Wirkstoffe ist auch der Zeitpunkt der Zulassung angegeben. ^{109; 112; 114; 139; 155; 160; 193; 199–216}	23
Abb. 13: Vergleich zwischen dem Bindemodus von Typ I- und Typ II-Inhibitoren gegenüber der inaktiven („DFG-out“, A) und der aktiven („DFG-in“, B) Konformation des FLT3-Rezeptors. TKD1 und TKD2 sind in verschiedenen Blau-Tönen dargestellt und entspr. beschriftet. Die Gatekeeper-Aminosäure F691 und die Aminosäure F830 des DFG-Motivs sind ebenfalls markiert. Die in Hellblau dargestellte Aktivierungsschleife mit dem DFG-Motiv verändert ihre Lage beim Übergang von der inaktiven in die aktive Form. Die Bindung eines Inhibitors von Typ I (grünes Fünfeck) kann in beiden Konformationen stattfinden, während ein Inhibitor vom Typ II (grüne Welle) nur an die inaktive Konformation binden kann. ¹³⁹	29
Abb. 14: (A) Schematische Darstellung der intrazellulären Domäne als Kalottenmodell. Quizartinib (6) in der Bindetasche ist in Grau zu sehen (PDB: 4XUF), (B) Darstellung der intrazellulären Domäne als Bändermodell. Quizartinib (6) sowie für Wechselwirkungen wichtige Aminosäuren sind im Stäbchenmodell gezeigt. (C) Vergrößerte Darstellung der intrazellulären Domäne als Bändermodell. Der Ausschnitt zeigt Aktivierungsschleife, DFG-Motiv und einige wichtige Aminosäuren, die im Stäbchenmodell gezeigt sind. In allen drei Abbildungen ist die TKD1 in Hellblau und die TKD2 in Dunkelblau dargestellt. Die Aktivierungsschleife ist in Hellgrün, das DFG-Motiv in Braun und der „Gatekeeper“-Rest F691 in Dunkelgrün gezeigt. Alle Abbildungen wurden mit Chimera 1.16 erstellt. ^{124; 249}	30
Abb. 15: Schematische Darstellung eines PROTAC-Moleküls zum gezielten Abbau von FLT3. Ein zielproteinbindender Ligand ist in Blau dargestellt und der Baustein zur Rekrutierung einer E3 Ligase in Rot. ³⁰¹	35
Abb. 16: Schematische Darstellung der PROTAC-Technologie. Das Zielprotein ist in Braun dargestellt, die E3-Ligase in Hellblau, das heterofunktionelle PROTAC-Molekül in Blau und Rot. (A) Das PROTAC bindet gleichzeitig an das Zielprotein und einen E3-Ubiquitin-Ligase-Komplex. (B) Durch die Komplexbildung wird Ubiquitin (in Grün dargestellt) auf das Zielmolekül übertragen. (C) Die Ubiquitinübertragung wird mehrmals wiederholt. Das führt zu einer Polyubiquitinierung des	

Zielproteins. (D) Einerseits wird durch anschließende Dissoziation des Komplexes das eingesetzte PROTAC wieder freigesetzt und kann nachfolgende Abbauprozesse katalysieren. (E) Andererseits wird das polyubiquitinierte Zielprotein erkannt und das Proteasom (in Grün dargestellt) abgebaut. ^{309; 310}	36
Abb. 17: Schrittweise Entwicklung des FLT3-Inhibitors Marbotinib (BS228, 20) ausgehend von einem Bisindol-Grundgerüst. (A) Bisindol-Grundgerüst, (B) Kopplung des Bisindol-Grundgerüsts mit einer Aryl-Harnstoff-Einheit, (C) Marbotinib 20	40
Abb. 18: Überblick über die geplanten Modifikationen an der Grundstruktur. Das Grundgerüst soll dabei eine über ein Keton verbrückte Bisaryleinheit bestehend aus einem Indolring und einem Benzofuran-Ring bilden.	44
Abb. 19: Auszug aus dem COSY-Spektrum der Verbindung 32 in DMSO-d ₆ . Die entscheidenden und im Text beschriebenen Kreuzsignale sind mit blauen Pfeilen gekennzeichnet. Der Ausschnitt des zugehörigen ¹ H-Spektrums (400 MHz) ist entspr. normiert abgebildet und die jeweiligen Signale sind analog zur Nummerierung im Molekül gekennzeichnet. Die Nummerierung der Atome des Moleküls erfolgte durch das Programm MestreNova 9.0.1.....	66
Abb. 20: Auszug aus dem NOESY-Spektrum der Verbindung 32 in DMSO-d ₆ . Die entscheidenden und im Text beschriebenen Kreuzsignale sind mit blauen Pfeilen gekennzeichnet. Der Ausschnitt des zugehörigen ¹ H-Spektrums (400 MHz) ist entspr. normiert abgebildet und die jeweiligen Signale sind analog zur Nummerierung im Molekül gekennzeichnet.	67
Abb. 21: Auszug aus dem TOCSY-Spektrum der Verbindung 32 in DMSO-d ₆ . Die entscheidenden und im Text beschriebenen Kreuzsignale sind mit blauen Pfeilen gekennzeichnet. Der Ausschnitt des zugehörigen ¹ H-Spektrums (400 MHz) ist entspr. normiert abgebildet und die jeweiligen Signale sind analog zur Nummerierung im Molekül gekennzeichnet.	67
Abb. 22: Vergleich der ¹ H-Spektren (400 MHz) der Verbindungen 32 (A) und 84 (B) in DMSO-d ₆ . Die entscheidenden und im Text beschriebenen Veränderungen der chemischen Verschiebungen einzelner Signale sind mit blauen Pfeilen, das Verschwinden eines Signals mit einem Kreuz gekennzeichnet.	69
Abb. 23: Auszug aus dem HSQC-Spektrum der Verbindung 84 in DMSO-d ₆ . Das entscheidenden und im Text beschriebenen Signal ist mit einem blauen Pfeil gekennzeichnet. Die Ausschnitte der zugehörigen ¹ H- (400 MHz) und ¹³ C-Spektren (101 MHz) ist entspr. normiert abgebildet und die jeweiligen Signale sind analog zur Nummerierung im Molekül gekennzeichnet. Die Nummerierung der Atome des Moleküls erfolgte durch das Programm MestreNova 9.0.1.	70
Abb. 24: Auszug aus dem HMBC-Spektrum der Verbindung 84 in DMSO-d ₆ . Die entscheidenden und im Text beschriebenen Signale sind mit blauen Pfeilen gekennzeichnet, ein fehlendes Signal mit einem blauen Kreis markiert. Die Ausschnitte der zugehörigen ¹ H- (400 MHz) und ¹³ C-Spektren	

(101 MHz) ist entspr. normiert abgebildet und die jeweiligen Signale sind analog zur Nummerierung im Molekül gekennzeichnet.....	71
Abb. 25: Auszug aus dem ^1H -Spektrum der Verbindung 20 in DMSO-d_6 (400 MHz). Ein Heteroatomaustausch-Experiment wurde durchgeführt und das Spektrum (A) vor Zugabe von deuteriertem Wasser und (B) nach Zugabe und 1 h Wartezeit verglichen.....	90
Abb. 26: Auszug aus dem COSY- (A, B), NOESY- (C, D), ROESY- (E) und TOCSY-Spektrum (F) von Verbindung 20 in DMSO-d_6 . Die entscheidenden und im Text beschriebenen Kreuzsignale sind mit blauen Pfeilen gekennzeichnet. Die entscheidenden und im Text beschriebenen Spinsysteme sind mit blauen Rechtecken gekennzeichnet. Der Ausschnitt des zugehörigen ^1H -Spektrums (400 MHz) ist entspr. normiert abgebildet und die jeweiligen Signale sind analog zur Nummerierung im Molekül gekennzeichnet. Einige Diagonal- und Kreuzsignale sind ebenfalls mit der entsprechenden Nummer gekennzeichnet. Die Nummerierung der Atome des Moleküls erfolgte durch das Programm MestreNova 9.0.1.....	91
Abb. 27: Vergleich der ^1H -Spektren (400 MHz) von Verbindung 20 (A) und 150a (B) in DMSO-d_6 . Die entscheidenden und im Text beschriebenen Veränderungen eines einzelnen Signals ist mit einem blauen Pfeil, das Verschwinden eines Signals durch ein Kreuz gekennzeichnet.	92
Abb. 28: Auszug aus dem COSY- (A, B), NOESY- (C), ROESY- (D) und TOCSY-Spektrum (E) der Verbindung 150a in DMSO-d_6 . Die entscheidenden und im Text beschriebenen Kreuzsignale sind mit blauen Pfeilen gekennzeichnet. Die entscheidenden und im Text beschriebenen Spinsysteme sind mit blauen Rechtecken gekennzeichnet. Der Ausschnitt des zugehörigen ^1H -Spektrums (400 MHz) ist entspr. normiert abgebildet und die jeweiligen Signale sind analog zur Nummerierung im Molekül gekennzeichnet. Einige Diagonal- und Kreuzsignale sind ebenfalls mit der entspr. Nummer gekennzeichnet. Die Nummerierung der Atome des Moleküls erfolgte durch das Programm MestreNova 9.0.1.	94
Abb. 29: Ausschnitte aus den HPLC-Läufen zur Untersuchung des zeitlichen Verlaufs der Reaktion von 20 zu 150a . Nach definierten Zeitabschnitten wurden der Reaktionsmischung Proben entnommen und ein HPLC-Lauf durchgeführt.	96
Abb. 30: Ausschnitte aus den ^1H -NMR-Spektren der Verbindungen 150a , 150b und 150c in DMSO-d_6 . Die entspr. Spektren sind aus Gründen der Vergleichbarkeit untereinander dargestellt. (A) Ausschnitt des Bereichs 8.2-6.4 ppm von 150a bei 300 MHz. Die Verschiebung der relevanten Signale 1-3 ist durch Pfeile gekennzeichnet. (B) Ausschnitt des Bereichs 8.2-6.4 ppm von 150b bei 400 MHz. Die relevanten Signale sind durch blaue Rechtecke gekennzeichnet. (C) Ausschnitt des Bereichs 8.2-6.4 ppm von 150c bei 300 MHz. Die relevanten Signale sind durch blaue Rechtecke gekennzeichnet. (D) Ausschnitt des Bereichs 5.0-2.0 ppm von 150a bei 300 MHz. Die Verschiebung der relevanten Signale 1 und 5 ist durch Pfeile gekennzeichnet. (E) Ausschnitt des Bereichs 5.0-	

2.0 ppm von 150b bei 400 MHz. Die relevanten Signale sind durch blaue Rechtecke gekennzeichnet. (F) Ausschnitt des Bereichs 5.0-2.0 ppm von 150c bei 300 MHz. Die relevanten Signale sind durch blaue Rechtecke gekennzeichnet.....	98
Abb. 31: Stabilitätstest von Verbindung 150c . Die Chromatogramme von Verbindung 150c zum Startzeitpunkt, nach einem Tag, nach einer Woche und nach 3 Monaten bei RT in (A) DMSO und (B) als Feststoff.....	99
Abb. 32: Stabilitätstest von Verbindung 150c . Die Chromatogramme von Verbindung 150c zum Startzeitpunkt, nach einem Tag, nach einer Woche und nach 3 Monaten bei RT in (A) Ethanol und (B) Wasser.	99
Abb. 33: ¹ H-Spektrum (400 MHz) und ¹⁹ F-Spektrum (377 MHz) eines Gemisches aus 4-(Trifluormethyl)zimtsäure 54 und 181b in DMSO-d ₆	102
Abb. 34: Ausschnitte aus den ¹ H-NMR-Spektren der Verbindungen 214a , 214b und 214c in DMSO-d ₆ . Die entspr. Spektren sind aus Gründen der Vergleichbarkeit untereinander dargestellt. (A) Ausschnitt des Bereichs 8.4-6.4 ppm von 214a bei 400 MHz. Die Verschiebung der relevanten Signale ist durch Pfeile gekennzeichnet. (B) Ausschnitt des Bereichs 8.4-6.4 ppm von 214b bei 400 MHz. Die relevanten Signale sind durch blaue Rechtecke gekennzeichnet. (C) Ausschnitt des Bereichs 8.4-6.4 ppm von 214c bei 300 MHz. Die relevanten Signale sind durch blaue Rechtecke gekennzeichnet. (D) Ausschnitt des Bereichs 4.8-1.0 ppm von 214a bei 400 MHz. Die Verschiebung der relevanten Signale ist durch Pfeile gekennzeichnet. (E) Ausschnitt des Bereichs 4.8-1.0 ppm von 214b bei 400 MHz. Die relevanten Signale sind durch blaue Rechtecke gekennzeichnet. (F) Ausschnitt des Bereichs 4.8-1.0 ppm von 214c bei 300 MHz. Die relevanten Signale sind durch blaue Rechtecke gekennzeichnet.....	111
Abb. 35: ¹ H-Spektrum (300 MHz) und ¹⁹ F-Spektrum (377 MHz) eines Gemisches aus 4-(Trifluormethyl)zimtsäure 54 und 216b in DMSO-d ₆	112
Abb. 36: Beispielhafte Darstellung der Inhibitionskurven für FLT3-ITD der Substanzen 150b , 151b , 214b und 215b aus dem enzymatischen Assay verglichen mit der Referenz Staurosporin 10 . Die Graphen wurden auf Basis der von der Firma ReactionBiology erhaltenen Daten mit dem Programm GraphPad Prism 9 erstellt.....	137
Abb. 37: Überblick über den Ablauf des Cell Titer Glo®-Assays. Der jeweilige Inhibitor wird den Zellen 3 d inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeit wird das Cell Titer Glo®-Reagenz zugegeben und die Lumineszenz als Parameter für die Zellviabilität gemessen. Der Assay beruht auf der ATP-katalysierten Reaktion von Luciferin 290 zu Oxyluciferin 291 . ⁵⁴⁰	150
Abb. 38: Beispielhafte Darstellung der Viabilitätskurven von MV4-11 Zellen, erhalten aus dem CellTiterGlo®-Assay, mit den Substanzen 151b , 215b , 150b und 214b verglichen mit der Referenz	

Staurosporin 10 . Die Graphen wurden auf Basis der von der Firma ReactionBiology erhaltenen Daten mit dem Programm GraphPad Prism 9 erstellt.	151
Abb. 39: Darstellung der Viabilitätskurven der verschiedenen Mutationen von Ba/F3 pMIY-Zellen, erhalten aus dem Proliferations-Assay mit den Substanzen 150c , 151c , 214c und 215c und verglichen mit Marbotinib 20 , Quizartinib 6 und Midostaurin 1 . (A) ITD-Mutation NPOS, (B) ITD-Mutation NPOS und TKD-Mutation N676K, (C) ITD-Mutation NPOS und TKD-Mutation D835Y, (D) TKD-Mutation D835Y, (E) TKD-Mutation N676K und TKD-Mutation D835Y. Die Graphen wurden aus den von Marina Able erhaltenen Daten mit dem Programm GraphPad Prism 9 erstellt.....	155
Abb. 40: Darstellung der Summe aller bestimmten IC ₅₀ -Werte der verschiedenen Mutationen von Ba/F3 pMIY-Zellen, erhalten aus dem Proliferations-Assay mit den Substanzen 150c , 151c , 214c und 215c und verglichen mit Marbotinib 20 , Quizartinib 6 und Midostaurin 1 . Die Abb. wurde aus den von Marina Able erhaltenen Daten mit dem Programm GraphPad Prism 9 erstellt.	156
Abb. 41: Darstellung der Apoptosekurven der verschiedenen Mutationen von Ba/F3 pMIY-Zellen erhalten aus dem Apoptose-Assay mit den Substanzen 150c , 151c , 214c und 215c verglichen mit Marbotinib 20 , Quizartinib 6 und Midostaurin 1 . (A) ITD-Mutation NPOS, (B) ITD-Mutation NPOS und TKD-Mutation N676K, (C) ITD-Mutation NPOS und TKD-Mutation D835Y, (D) TKD-Mutation D835Y. Die Graphen wurden aus den von Marina Able erhaltenen Daten mit dem Programm GraphPad Prism 9 erstellt.....	157
Abb. 42: Darstellung der T/C-Kurven (Test vs. Control) verschiedener leukämischer Zellen bei Behandlung mit verschiedenen Wirkstoffen, erhalten aus dem CellTiterBlue® Cell Viability-Assay. Die Graphen des Proliferationsassays mit der Zelllinie EOL-1 (A), MOLM-13 (B), MONO-MAC 1 (C) und MONO-MAC 6 (D) für die Substanzen 150b , 151b , 214b und 215b sind abgebildet. Die Graphen wurden aus den von der Firma Charles River Laboratories erhaltenen Daten mit dem Programm GraphPad Prism 9 erstellt.....	159
Abb. 43: Vergleich der IC ₅₀ -Werte des Proliferationstests einzelner Substanzen gegenüber den vier verschiedenen leukämischen Zelllinien in einem 3-dimensionalen Blasendiagramm. Der Durchmesser der jeweiligen Blase gibt dabei die Stärke der antiproliferativen Aktivität des jeweiligen Inhibitors an. Die IC ₅₀ -Werte sind zusätzlich in den Blasen angegeben.	160
Abb. 44: Darstellung der Inhibitionskurven der Substanzen 214b , 215b verglichen mit der Referenz Staurosporin 10 bzw. GW5074 aus dem enzymatischen Assay gegenüber verschiedenen Kinasen. Graphen für die Testergebnisse bezüglich der Hemmung der Enzymaktivität von c-KIT (A), cSrc (B), CDK16 (C), DDR2 (D), PDGFRα (E), PDGFRβ (F), RET (G) und ZAK (H) sind dargestellt. Alle Graphen wurden auf Basis der von der Firma ReactionBiology erhaltenen Daten mit dem Programm GraphPad Prism 9 erstellt.....	162

Abb. 45: Graphische Darstellung der pIC ₅₀ -Werte der Enzymtests zur Bestimmung der Inhibierung acht verschiedener Kinasen in einem Netzdiagramm. Alle Werte wurden von Reaction Biology erhalten. Die Werte für 214b , 215b und der Referenz Staurosporin 10 sind in verschiedenen Blautönen abgebildet.	164
Abb. 46: Überblick zur schrittweisen Durchführung des Kinobead-Assays. ⁵⁴¹ (A) Kontrolle ohne Wirkstoff, (B+C) Zugabe des Wirkstoffes beispielhaft in zwei verschiedenen Konzentrationen dargestellt. Der kompetitive Bindungsassay wurde mit acht verschiedenen Konzentrationen durchgeführt und die Kinobeads anschließend quantitativ untersucht. Nach Elution und In-Gel-Verdau wird eine massenspektrometrische Analyse vorgenommen (LC-MS/MS) und die potenziellen Zielproteine identifiziert.	167
Abb. 47: Darstellung des gesamten Kinoms als „Kinase-Baum“. Die Kinase-Selektivität, basierend auf den pK _d -Werten [M] aus dem Kinobead-Assays von Verbindung 150b , ist durch rote Kreise verschiedener Größe und Intensität gezeigt. Die Abb. wurde auf Basis der von Dr. Reinecke erhaltenen Daten mit dem Programm „Coral“ erstellt (http://phanstiel-lab.med.unc.edu/CORAL/). ^{89; 94}	168
Abb. 48: Dosis-Wirkungs-Kurven für FLT3 nach den kompetitiven Experimenten mit 150b , 151b und 214b	172
Abb. 49: Übersicht über die alternativen Bindungsmodi von Verbindung 215 im inaktiven (A) bzw. im aktiven Zustand (B) von FLT3. Im inaktiven Zustand ist Verbindung 215 in Grau dargestellt (A), im aktiven Zustand in Gelb (B). Das Kugel-Stab-Modell von 215 stellt jeweils den richtigen Bindemodus dar, das Stäbchenmodell den falschen Bindemodus. Die Aminosäuren D829 und F830 aus dem DFG-Motiv und der Aktivierungsschleife sind im inaktiven Zustand Grün (A), im aktiven Zustand Braun (B) gezeigt.	176
Abb. 50: Übersicht über die Bindungsmodi von Verbindung 215 im inaktiven (A) bzw. im aktiven Zustand (B) von FLT3 im Detail. In der Abb. sind alle Aminosäuren zu sehen, die innerhalb eines Bereichs von 3.5 Å um den Liganden liegen. Zur besseren Übersichtlichkeit wurden einige Seitenketten, die nicht zur Bindung beitragen, weggelassen. Die roten gestrichelten Linien kennzeichnen intramolekulare Wasserstoffbrückenwechselwirkungen.	177
Abb. 51: Verlauf des mittleren relativen Körpergewichts (%) + SEM der oralen Behandlungsgruppen der Tolerabilitäts-Studie mit 199c . Die einzelnen Gruppen sind in verschiedenen Farben dargestellt.	191
Abb. 52: Verlauf des mittleren relativen Körpergewichts (%) + SEM der oralen Behandlungsgruppen der Tolerabilitätsstudie mit 150c . Die einzelnen Gruppen sind in verschiedenen Farben dargestellt.	193
Abb. 53: Überblick über den zeitlichen Verlauf der in vivo-Wirksamkeitsstudie.	194

Abb. 54: Kaplan-Meier-Plot zur Darstellung der Beziehung zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen und dem Überleben der Mäuse. Jede Gruppe bestand aus 5 Mäusen, die einzelnen Behandlungsgruppen sind in verschiedenen Farben dargestellt.	197
Abb. 55: Verlauf des mittleren relativen Körpergewichts (%) + SEM aller Behandlungsgruppen der Wirksamkeitsstudie mit Midostaurin 1 , Quizartinib 6 und 150c . Die einzelnen Gruppen sind in verschiedenen Farben dargestellt.....	198
Abb. 56: Verlauf des mittleren relativen Tumorummens (%) + SEM aller Behandlungsgruppen der Wirksamkeitsstudie mit Midostaurin 1 , Quizartinib 6 und 134c . Die einzelnen Gruppen sind in verschiedenen Farben dargestellt.....	199
Abb. 57: Individuelle absolute Tumorummina der einzelnen Behandlungsgruppen. (A) Tumorummina der Mäuse aus Gruppe 2 (20 mg/kg 150c) verglichen mit den Mäusen der unbehandelten Gruppe 1, (B) Tumorummina der Mäuse aus Gruppe 3 (50 mg/kg 150c) verglichen mit den Mäusen der unbehandelten Gruppe 1, (C) Tumorummina der Mäuse aus Gruppe 4 (50 mg/kg Midostaurin 1) verglichen mit den Mäusen der unbehandelten Gruppe 1, (D) Tumorummina der Mäuse aus Gruppe 5 (50 mg/kg Quizartinib 6) verglichen mit den Mäusen der unbehandelten Gruppe 1.	200
Abb. 58: (A) HE-Übersicht (Hämatoxylin und Eosin) des blastischen Infiltrats im Fettgewebe (Maßstabsleiste: 1000 µm); (B) Blastisches Infiltrat bestehend aus Monoblasten und Promonozyten (Maßstabsleiste: 50 µm).....	203
Abb. 59: (A) Blasten zeigen teilweise CLAE-Positivität; (B) Heterogene Expression von MPO in den Blasten mit geringerer Expression in den unreifen Blasten; (C) Partielle Expression von CD68, insbesondere in den reiferen Blasten; (D) CD34 wird auch von einigen der myeloischen Blasten exprimiert (Maßstabsleiste: 50 µm).....	203
Abb. 60: Struktur-Wirkungsbeziehung auf Basis der Testergebnisse aller neu-synthetisierter Stoffgruppen. Zu jeder einzelnen Grundstruktur ist kurz erläutert, inwiefern durch Modifikationen an der entspr. Position verbesserte oder verschlechterte Wirksamkeit erreicht wird.....	213
Abb. 61: Graphischer Überblick über die Testergebnisse der vielversprechenden neu-synthetisierten Verbindung 150c	214

7.4. TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Einteilung der verschiedenen Kategorien der AML nach der WHO. ^{53; 55; 56}	8
Tabelle 2: Beispiele für FLT3-Inhibitoren der ersten Generation. Bezeichnungen und die chemische Struktur der Wirkstoffe sowie die Art des Bindemodus sind aufgelistet.	26
Tabelle 3: Beispiele für FLT3-Inhibitoren der zweiten Generation. Bezeichnungen und die chemische Struktur der Wirkstoffe sowie die Art des Bindemodus sind aufgelistet.	28
Tabelle 4: Überblick über die Ausbeuten bei der Synthese der Produkte 131a-140 . Die Methoden wurden nach dem verwendeten Lösemittel benannt (n.d. bedeutet nicht durchgeführt). Die jeweils beste Ausbeute wurde „ fett “ markiert.	85
Tabelle 5: Überblick über den Reaktionsverlauf der Reaktion von 20 zu 150a . Der Anteil des Startmaterials und der Anteil des Produkts in % sind angegeben. Die Angaben ergeben sich aus dem Quotienten dem Integral des Peaks des Startmaterials bzw. des Produkts und der Summe der Integrale der beiden Peaks.	95
Tabelle 6: IC ₅₀ -Werte einiger Referenzen für die Inhibierung der Enzymaktivität von FLT3-ITD und FLT3-D835Y. Staurosporin wurde in allen Testreihen als Referenz verwendet. Die Werte für Midostaurin und Quizartinib stammen aus früheren Testreihen. ³²⁴	138
Tabelle 7: IC ₅₀ -Werte von Marbotinib 20 und des HCl-Salzes von Marbotinib-Carbamat 20c für die Inhibierung der Enzymaktivität von FLT3-ITD und FLT3-D835Y. Die Werte von Marbotinib 20 stammen aus vorangegangenen Arbeiten und sind vor allem zu Vergleichszwecken angegeben. ^{324; 325}	139
Tabelle 8: IC ₅₀ -Werte der getesteten Moleküle mit Grundstrukturen I für die Inhibierung der Enzymaktivität von FLT3-ITD.	140
Tabelle 9: IC ₅₀ -Werte der getesteten Moleküle mit Grundstruktur IV für die Inhibierung der Enzymaktivität von FLT3-ITD und FLT3-D835Y.	141
Tabelle 10: IC ₅₀ -Werte aller getesteten Moleküle mit Grundstruktur VI für die Inhibierung der Enzymaktivität von FLT3-ITD und FLT3-D835Y.	143
Tabelle 11: IC ₅₀ -Werte getesteter Moleküle mit Grundstruktur VII für die Inhibierung der Enzymaktivität von FLT3-ITD und FLT3-D835Y.	146
Tabelle 12: IC ₅₀ -Werte aller getesteten Moleküle mit Grundstruktur VI aus dem Proliferationsassay mit MV4-11-Zellen. Die anti-proliferative Aktivität der neun Verbindungen wurde im ZellTiter-Glo® Viability Assay bestimmt. Der IC ₅₀ -Wert der Referenzverbindung Staurosporin 10 ist ebenfalls angegeben.	151
Tabelle 13: IC ₅₀ -Werte aller getesteten Moleküle mit Grundstruktur VII aus dem Proliferationsassay mit MV4-11-Zellen. Die anti-proliferative Aktivität der fünf Verbindungen	

wurde im ZellTiter-Glo® Viability Assay bestimmt. Der IC ₅₀ -Wert der Referenzverbindung Staurosporin 10 ist ebenfalls angegeben.	152
Tabelle 14: Mittlere IC ₅₀ -Werte und Standardabweichung der ausgewählten Moleküle 150c , 151c , 214c und 215c (in nM) aus dem Proliferationsassay mit verschiedenen FLT3-mutierten Ba/F3-Zellen (NPOS, NPOS N676K, NPOS D835Y, D835Y und N676K D835Y). Die Werte wurden mit den Referenzsubstanzen Midostaurin 1 , Quizartinib 6 und Marbotinib 20 verglichen.	154
Tabelle 15: IC ₅₀ -Werte der Verbindungen 214b und 215b sowie einer jeweiligen Referenz bezüglich der Inhibierung der Enzymaktivität ausgewählter Kinasen.	163
Tabelle 16: IC ₅₀ -Werte aus dem zellulären Phosphorylierungs-Assay mit FLT3-ITD. Die IC ₅₀ -Werte wurden von der Firma Reaction Biology bestimmt, Sunitinib 4 wurde als Referenz verwendet. Zusätzlich werden zu Vergleichszwecken entspr. von der Firma o.a. erhaltene Werte für Midostaurin 1 und Quizartinib 6 angegeben.	165
Tabelle 17: IC ₅₀ -Werte aus dem zellulären Phosphorylierungs-Assay mit c-KIT. Die IC ₅₀ -Werte wurden von der Firma Reaction Biology bestimmt, Sunitinib 4 wurde als Referenz verwendet.	166
Tabelle 18: Farbskala zur Darstellung der pK _d -Werte der Bindung des Inhibitors mit einigen Zielkinasen.	169
Tabelle 19: Darstellung der pK _d -Werte der Bindung des Inhibitors mit einigen Zielkinasen. Der Farbcode zeigt den pK _d ^{app} Bereich der Wechselwirkung zwischen Wirkstoff und der jeweiligen Kinase an.	169
Tabelle 20: Überblick über die durch UV-Spektroskopie bestimmte Löslichkeit von Marbotinib-Carbamat 20c und einiger der neu-synthetisierten Verbindungen Grundstruktur VI und der entspr. Salze in Wasser und Ethanol. Die auf dieselbe Art bestimmten Löslichkeitswerte von Marbotinib 20 und die Löslichkeitswerte von Quizartinib 6 und Midostaurin 1 sind ebenfalls angegeben. Die verwendete Wellenlänge betrug für alle Amine (a) 372 nm, für TFA und HCl-Salze (b) 374 nm.	181
Tabelle 21: Überblick über die durch UV-Spektroskopie bestimmte Löslichkeit einiger der neu-synthetisierten Verbindungen der Grundstruktur VII und der entspr. Salze in Wasser und Ethanol. Die auf dieselbe Art bestimmten Löslichkeitswerte von Marbotinib 20 und die Löslichkeitswerte von Quizartinib 6 und Midostaurin 1 sind ebenfalls angegeben. Die verwendete Wellenlänge betrug für alle Amine (a) 363 nm, für TFA und HCl-Salze (b) 367 nm.	183
Tabelle 22: Überblick über das Dosierschema der in-vivo-Tolerabilitäts-Studie von 214c	190
Tabelle 23: Überblick über das Dosierschema der in-vivo-Tolerabilitäts-Studie von 150c	192
Tabelle 24: Überblick über das Dosierschema der in-vivo-Wirksamkeitsstudie von 150c	195
Tabelle 25: Blutanalyse nach Ausscheiden der einzelnen Gruppen. Der Mittelwert der Leukozytenzahl und des Hämoglobin-Wertes aller Mäuse ist angegeben.	201

Tabelle 26: Blutanalyse nach Ausscheiden der einzelnen Gruppen. Der Mittelwert der Leukozytenzahl und des Hämoglobin-Wertes aller Mäuse ist angegeben.	201
Tabelle 27: Überblick über die Massen der drei entnommenen Tumorproben.....	202
Tabelle 28: Verlauf der Methode der analytischen HPLC. Eluent A: 0.05% TFA in Wasser, Eluent B: Acetonitril.....	220

7.5. LITERATURVERZEICHNIS

- 1 Morrison, S. J.; Shah, N. M.; Anderson, D. J. Regulatory Mechanisms in Stem Cell Biology. *Cell* **1997**, *88*, 287–298. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81867-X.
- 2 Reya, T.; Morrison, S. J.; Clarke, M. F., Weissmann I. L. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* **2001**, *88*, 105–111.
- 3 Gökbüget, N.; Hehn, S.; Wolf, A. Die akute lymphatische Leukämie (ALL) des Erwachsenen. https://www.kompetenznetz-leukaemie.de/content/patienten/leukaemien/blut_und_blutbildung/.
- 4 Morrison, S. J.; Uchida, N.; Weissman I. L. The Biology of Hematopoietic Stem Cells. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* **1995**, *11*, 35–71.
- 5 Weissman, I. L. Stem Cells: Units of Development, Units of Regeneration and Units in Evolution. *Cell* **2000**, *100*, 157–168.
- 6 Heilmeyer, L.; Begemann, H.; Holmgren, I. Blut und Blutkrankheiten. by Ludwig Heilmeyer and Herbert Begemann. *Acta Medica Scandinavica* **1951**, *140*, 238. DOI: 10.1111/j.0954-6820.1951.tb10175.x.
- 7 Gerabek, W. E.; Haage, B. D.; Keil, G.; Wegner, W., Eds. *Enzyklopädie Medizingeschichte*; de Gruyter: Berlin, 2005.
- 8 Faderl, S.; Talpaz, M.; Estrov, Z.; O'Brien, S.; Kurzrock, R.; Kantarjian, H. M. The Biology of Chronic Myeloid Leukemia. *N. Engl. J. Med.* **1999**, *341*, 164–172.
- 9 Begemann, H., Ed. *Blut und Blutkrankheiten*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2012.
- 10 Virchow, R. Weißes Blut (Leukämie). *Archiv für pathologische Anatomie* **1847**, *1*, 563–572.
- 11 Kampen, K. R. The discovery and early understanding of leukemia. *Leuk. Res.* **2012**, *36*, 6–13. DOI: 10.1016/j.leukres.2011.09.028.
- 12 Hiddemann, W.; Bartram, C. R. *Die Onkologie*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2010.
- 13 Passegué E.; Jamieson C. H. M.; Ailles L. E.; Weissman I. L. Normal and leukemic hematopoiesis: Are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics? *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2003**, *100*, 11842–11849.

- 14 Bonnet, D.; Dick, J. E. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nature Medicine* **1997**, *3*, 730–737.
- 15 Robert Koch-Institut. Krebs in Deutschland für 2017/2018 **2021**, *13*, 142–145.
- 16 Khwaja, A.; Bjorkholm, M.; Gale, R. E.; Levine, R. L.; Jordan, C. T.; Ehninger, G.; Bloomfield, C. D.; Estey, E.; Burnett, A.; Cornelissen, J. J.; Scheinberg, D. A.; Bouscary, D.; Linch, D. C. Acute Myeloid Leukaemia. *Nature Reviews Disease Primers* **2016**, *2*. DOI: 10.1007/SpringerReference_34235.
- 17 Kaudewitz, P. Leukämien. In *Dermatologie und Venerologie*. Braun-Falco, O.; Plewig, G.; Wolff, H. H.; Burgdorf, W. H. C.; Landthaler, M., Eds.; Springer-Verlag: Berlin/Heidelberg; pp. 1387–1393.
- 18 Reinhardt, D.; Ritter, J. Klassifikation der Leukämien und malignen Lymphome. In *Pädiatrische Hämatologie und Onkologie*. Gadner, H.; Gaedicke, G.; Niemeyer, C.; Ritter, J., Eds.; Springer-Verlag: Berlin/Heidelberg; pp. 647–655.
- 19 Bacher, U.; Haferlach, C.; Kern, W.; Schnittger, S.; Haferlach, T. Klassifikation von Leukämien. *Onkopipeline* **2008**, *1*, 41–48. DOI: 10.1007/s15035-008-0121-0.
- 20 Adamietz, I. A.; Bremer, M.; Hoelzer, D.; Strumberg, D. Leukämien des Erwachsenen. *Onkologie* **2009**, *15*, 311–332. DOI: 10.1007/s00761-008-1498-7.
- 21 Löwenberg, B.; Downing, J. R.; Burnett, A. Acute Myeloid Leukemia. *N. Engl. J. Med.* **1999**, *341*, 1051–1062. DOI: 10.1046/j.0013-0427.2003.00027.x.
- 22 Estey, E.; Döhner, H. Acute Myeloid Leukaemia. *Lancet* **2006**, *368*, 1894–1907. DOI: 10.1007/SpringerReference_34235.
- 23 Fialkow, P. J.; Janssen, J. W.; Bartram, C. R. Clonal remissions in acute nonlymphocytic leukemia: evidence for a multistep pathogenesis of the malignancy. *Blood* **1991**, *77*, 1415–1417. DOI: 10.1182/blood.V77.7.1415.1415.
- 24 Grove, C. S.; Vassiliou, G. S. Acute myeloid leukaemia: a paradigm for the clonal evolution of cancer? *Dis. Model. Mech.* **2014**, *7*, 941–951. DOI: 10.1242/dmm.015974.
- 25 Knudson, A. G. Mutation and Cancer: Statistical Study of Retinoblastoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1971**, *68*, 820–823.
- 26 Gilliland, D. G.; Griffin, J. D. The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia. *Blood* **2002**, *100*, 1532–1542. DOI: 10.1182/blood-2002-02-0492.

- 27 Reilly, J. T. Class III receptor tyrosine kinases: role in leukaemogenesis. *Br. J. Haematol.* **2002**, *116*, 744–757. DOI: 10.1046/j.0007-1048.2001.03294.x.
- 28 Fröhling, S.; Scholl, C.; Gilliland, D. G.; Levine, R. L. Genetics of myeloid malignancies: pathogenetic and clinical implications. *Journal of clinical oncology* **2005**, *23*, 6285–6295. DOI: 10.1200/JCO.2005.05.010.
- 29 Renneville, A.; Roumier, C.; Biggio, V.; Nibourel, O.; Boissel, N.; Fenaux, P.; Preudhomme, C. Cooperating gene mutations in acute myeloid leukemia: a review of the literature. *Leukemia* **2008**, *22*, 915–931. DOI: 10.1038/leu.2008.19.
- 30 Kouchkovsky, I. de; Abdul-Hay, M. 'Acute myeloid leukemia: a comprehensive review and 2016 update'. *Blood Cancer J.* **2016**, *6*, e441. DOI: 10.1038/bcj.2016.50.
- 31 Grafone, T.; Palmisano, M.; Nicci, C.; Storti, S. An overview on the role of FLT3-tyrosine kinase receptor in acute myeloid leukemia: biology and treatment. *Oncol. Rev.* **2012**, *6*, 64-74. DOI: 10.4081/oncol.2012.e8.
- 32 Bullinger, L.; Döhner K.; Döhner H. Genomics of Acute Myeloid Leukemia Diagnosis and Pathways. *Journal of clinical oncology* **2017**, *35*, 934–946.
- 33 Schessl, C.; Rawat, V. P. S.; Cusan, M.; Deshpande, A.; Kohl, T. M.; Rosten, P. M.; Spiekermann, K.; Humphries, R. K.; Schnittger, S.; Kern, W.; Hiddemann, W.; Quintanilla-Martinez, L.; Bohlander, S. K.; Feuring-Buske, M.; Buske, C. The AML1-ETO fusion gene and the FLT3 length mutation collaborate in inducing acute leukemia in mice. *Journal of Clinical Investigation* **2005**, *115*, 2159–2168.
- 34 Schlenk, R. F.; Döhner, K.; Krauter, J.; Fröhling, S.; Corbacioglu, A.; Bullinger, L.; Habdank, M.; Späth, D.; Morgan, M.; Benner, A.; Schlegelberger, B.; Heil, G.; Ganser, A.; Döhner, H. Mutations and Treatment Outcome in Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia. *New England Journal of Medicine* **2008**, *358*, 1909–1918. DOI: 10.22334/jbhost.v6i2.217.s47.
- 35 Kelly, L. M.; Gilliland, D. G. Genetics of Myeloid Leukemias. *Annual Review of Genomics and Human Genetics* **2002**, *3*, 179–198.
- 36 Radivoyevitch, T.; Sachs, R. K.; Gale, R. P.; Molenaar, R. J.; Brenner, D. J.; Hill, B. T.; Kalaycio, M. E.; Carraway, H. E.; Mukherjee, S.; Sekeres, M. A.; Maciejewski, J. P. Defining AML and MDS second cancer risk dynamics after diagnoses of first cancers treated or not with radiation. *Leukemia* **2016**, *30*, 285–294. DOI: 10.1038/leu.2015.258.
- 37 Austin, H.; Delzell, E.; Cole, P. Benzene and Leukemia. *American Journal of Epidemiology* **1988**, *127*, 419–439.

- 38 Creutzig, U.; Kaspers, G. J. L. Revised recommendations of the International Working Group for diagnosis, standardization of response criteria, treatment outcomes, and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukemia. *Journal of clinical oncology* **2004**, *22*, 3432–3433. DOI: 10.1200/JCO.2004.99.116.
- 39 Belson, M.; Kingsley, B.; Holmes, A. Risk Factors for Acute Leukemia in Children: A Review. *Environmental Health Perspectives* **2007**, *115*, 138–145.
- 40 Cardis, E.; Gilbert, E. S.; Carpenter, L.; Howe, G.; Kato, I.; Armstrong, B. K.; Beral, V.; Cowper, G.; Douglas, A.; Fix, J.; Fry, S. A.; Kaldor, J.; Lave, C.; Salmon, L.; Smith, P. G.; Voelz, G. L.; Wiggs, L. D. Effects of Low Doses and Low Dose Rates of External Ionizing Radiation: Cancer Mortality among Nuclear Industry Workers in Three Countries. *Radiation Research* **1995**, *142*, 117–132.
- 41 Kane, E. V.; Roman, E.; Cartwright, R.; Parker, J.; Morgan, G. Tobacco and the risk of acute leukaemia in adults. *British Journal of Cancer* **1999**, *81*, 1228–1233.
- 42 Gundestrup, M.; Storm, H. H. Radiation-induced acute myeloid leukaemia and other cancers in commercial jet cockpit crew: a population-based cohort study. *The Lancet* **1999**, *354*, 2029–2031. DOI: 10.1016/S0140-6736(99)05093-X.
- 43 Deschler, B.; Lübbert, M. Acute Myeloid Leukemia: Epidemiology and Etiology. *Cancer* **2006**, *107*, 2099–2107. DOI: 10.1007/978-3-540-72304-2_3.
- 44 Juliusson, G.; Antunovic, P.; Derolf, A.; Lehmann, S.; Möllgård, L.; Stockelberg, D.; Tidefelt, U.; Wahlin, A.; Höglund, M. Age and acute myeloid leukemia: real world data on decision to treat and outcomes from the Swedish Acute Leukemia Registry. *Blood* **2009**, *113*, 4179–4187. DOI: 10.1182/blood-2008-07-172007.
- 45 Fey, M. F.; Buske, C. Acute myeloblastic leukaemias in adult patients: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* **2013**, *24*, 138–143. DOI: 10.1093/annonc/mdt320.
- 46 Ferrara, F.; Schiffer, C. A. Acute myeloid leukaemia in adults. *The Lancet* **2013**, *381*, 484–495. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)61727-9.
- 47 Robert Koch-Institut (RKI). Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016.
- 48 Howlander, N.; Noone, A. M.; Krapcho, M.; Miller, D.; Bishop, K.; Kosary, C. L.; Yu, M.; Ruhl, J.; Tatalovich, Z.; Mariotto, A.; Lewis, D. R.; Chen, H. S.; Feuer, E. J.; Cronin, K. A. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2014, National Cancer Institute. November 2016 SEER data submission.
- 49 Döhner, H.; Estey, E. H.; Amadori, S.; Appelbaum, F. R.; Büchner, T.; Burnett, A. K.; Dombret, H.; Fenaux, P.; Grimwade, D.; Larson, R. A.; Lo-Coco, F.; Naoe, T.; Niederwieser, D.; Ossenkoppele,

- G. J.; Sanz, M. A.; Sierra, J.; Tallman, M. S.; Löwenberg, B.; Bloomfield, C. D. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* **2010**, *115*, 453–474. DOI: 10.1182/blood-2009-07-235358.
- 50 Vardiman, J. W.; Harris, N. L.; Brunning, R. D. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood* **2002**, *100*, 2292–2302. DOI: 10.1182/blood-2002-04-1199.
- 51 Bennett, J. M.; Catovsky, D.; Daniel, M. T.; Flandrin, G.; Galton, D. A. G.; Gralnick, H. R.; Sultan, C. Proposed Revised Criteria for the Classification of Acute Myeloid Leukemia. A Report of the French-American-British Cooperative Group. *Annals of Internal Medicine* **1985**, *103*, 620–625.
- 52 Bennett, J. M.; Catovsky, D.; Daniel, M.-T.; Flandrin, G.; Galton, D. A. G.; Gralnick, H. R.; Sultan, C. Proposals for the Classification of the Acute Leukaemias French-American-British (FAB) Co-operative Group. *British Journal of Hematology* **1976**, *33*, 451–458.
- 53 Vardiman, J. W.; Thiele, J.; Arber, D. A.; Brunning, R. D.; Borowitz, M. J.; Porwit, A.; Harris, N. L.; Le Beau, M. M.; Hellström-Lindberg, E.; Tefferi, A.; Bloomfield, C. D. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* **2009**, *114*, 937–951. DOI: 10.1182/blood-2009-03-209262.
- 54 Vardiman, J. W. The World Health Organization (WHO) classification of tumors of the hematopoietic and lymphoid tissues: an overview with emphasis on the myeloid neoplasms. *Chem. Biol. Interact.* **2010**, *184*, 16–20. DOI: 10.1016/j.cbi.2009.10.009.
- 55 Arber, D. A.; Orazi, A.; Hasserjian, R.; Thiele, J.; Borowitz, M. J.; Le Beau, M. M.; Bloomfield, C. D.; Cazzola, M.; Vardiman, J. W. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* **2016**, *127*, 2391-2405.
- 56 Campo, E.; Swerdlow, S. H.; Harris, N. L.; Pileri, S.; Stein, H.; Jaffe, E. S. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood* **2011**, *117*, 5019–5032.
- 57 Papaemmanuil, E.; Gerstung, M.; Bullinger, L.; Gaidzik, V. I.; Paschka, P.; Roberts, N. D.; Potter, N. E.; Heuser, M.; Thol, F.; Bolli, N.; Gundem, G.; van Loo, P.; Martincorena, I.; Ganly, P.; Mudie, L.; McLaren, S.; O’Meara, S.; Raine, K.; Jones, D. R.; Teague, J. W.; Butler, A. P.; Greaves, M.; Ganser, A.; Döhner, K.; Schlenk, R. F.; Döhner, H.; Campbell, P. J. Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia. *New England Journal of Medicine* **2016**, *374*, 2209–2221.

- 58 Zaidi, S. Z.; Owaidah, T.; Al Sharif, F.; Ahmed, S. Y.; Chaudhri, N.; Aljurf, M. The challenge of risk stratification in acute myeloid leukemia with normal karyotype. *Hematology/Oncology and Stem Cell Therapy* **2008**, *1*, 141–158. DOI: 10.1016/S1658-3876(08)50023-9.
- 59 Medinger, M.; Lengerke, C.; Passweg, J. Novel Prognostic and Therapeutic Mutations in Acute Myeloid Leukemia. *Cancer Genomics & Proteomics* **2016**, *13*, 317–330.
- 60 Grimwade, D.; Walker, H.; Oliver, F.; Wheatley, K.; Harrison, C.; Harrison, G.; Rees, J.; Hann, I.; Stevens, R.; Burnett, A.; Goldstone, A. The Importance of Diagnostic Cytogenetics on Outcome in AML: Analysis of 1,612 Patients Entered Into the MRC AML 10 Trial. *Blood* **1998**, *92*, 2322–2333. DOI: 10.1182/blood.V92.7.2322.
- 61 Mrózek, K.; Heerema, N. A.; Bloomfield, C. D. Cytogenetics in acute leukemia. *Blood Rev.* **2004**, *18*, 115–136.
- 62 Döhner, H.; Estey, E.; Grimwalde, D.; Amadori, S.; Appelbaum, F. R.; Büchner, T.; Dombret, H.; Ebert B. L.; Fenaux, P.; Larson, R. A.; Levine, R. L.; Lo-Coco, F.; Naoe, T.; Niederwieser, D.; Ossenkoppele, G. J.; Sanz, M.; Sierra, J.; Tallman, M. S.; Tien H.-F.; Wei A. H.; Löwenberg, B.; Bloomfield, C. D. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood* **2017**, *129*, 424–447.
- 63 Sekeres, M. A.; Elson, P.; Kalaycio, M. E.; Advani, A. S.; Copelan, E. A.; Faderl, S.; Kantarjian, H. M.; Estey, E. Time from diagnosis to treatment initiation predicts survival in younger, but not older, acute myeloid leukemia patients. *Blood* **2009**, *113*, 28–36.
- 64 Appelbaum, F. R.; Gundacker, H.; Head, D. R.; Slovak, M. L.; Willman, C. L.; Godwin, J. E.; Anderson, J. E.; Petersdorf, S. H. Age and acute myeloid leukemia. *Blood* **2006**, *107*, 3481–3485.
- 65 Döhner, H.; Weisdorf, D. J.; Bloomfield, C. D. Acute Myeloid Leukemia. *New England Journal of Medicine* **2015**, *373*, 1136–1152. DOI: 10.1007/SpringerReference_171717.
- 66 Tallman, M. S.; Gilliland, D. G.; Rowe, J. M. Drug therapy for acute myeloid leukemia. *Blood* **2005**, *106*, 1154–1163. DOI: 10.1182/blood-2005-01-0178.
- 67 Cheson, B. D.; Bennett, J. M.; Kopecky, K. J.; Büchner, T.; Willman, C. L.; Estey, E. H.; Schiffer, C. A.; Doehner, H.; Tallman, M. S.; Lister, A. T.; Lo-Coco, F.; Willemze, R.; Biondi, A.; Hiddemann, W.; Larson, R. A.; Löwenberg, B.; Sanz, M. A.; Head, D. R.; Ohno, R.; Bloomfield, C. D.; International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia. Revised recommendations of the International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia. *Journal of clinical oncology* **2003**, *21*, 4642–4649.

- 68 Fernandez, H. F.; Sun, Z.; Yao, X.; Litzow, M. R.; Luger, S. M.; Paietta, E. M.; Racevskis, J.; Dewald, G. W.; Ketterling, R. P.; Bennett, J. M.; Rowe, J. M.; Lazarus, H. M.; Tallman, M. S. Anthracycline Dose Intensification in Acute Myeloid Leukemia. *New England Journal of Medicine* **2009**, *361*, 1249–1259.
- 69 Löwenberg, B.; Ossenkoppele, G. J.; van Putten, W.; Schouten, H. C.; Graux, C.; Ferrant, A.; Sonneveld, P.; Maertens, J.; Jongen-Lavrencic, M.; Lilienfeld-Toal, M. von; Biemond, B. J.; Vellenga, E.; Kooy, M. v. M.; Verdonck, L. F.; Beck, J.; Döhner, H.; Gratwohl, A.; Pabst, T.; Verhoef, G. High-Dose Daunorubicin in Older Patients with Acute Myeloid Leukemia. *New England Journal of Medicine* **2009**, *361*, 1235–1248.
- 70 Schlenk, R. F. Post-remission therapy for acute myeloid leukemia. *Haematologica* **2014**, *99*, 1663–1670.
- 71 Koreth, J.; Schlenk, R.; Kopecky, K. J.; Honda, S.; Sierra, J.; Djulbegovic, B. J.; Wadleigh, M.; DeAngelo, D. J.; Stone, R. M.; Sakamaki, H.; Appelbaum, F. R.; Döhner, H.; Antin, J. H.; Soiffer, R. J.; Cutler, C. Allogeneic Stem Cell Transplantation for Acute Myeloid Leukemia in First Complete Remission: Systematic Review and Meta-analysis of Prospective Clinical Trials. *Journal of the American Medical Association* **2009**, *301*, 2349–2361.
- 72 Schlenk, R. F.; Taskesen, E.; van Norden, Y.; Krauter, J.; Ganser, A.; Bullinger, L.; Gaidzik, V. I.; Paschka, P.; Corbacioglu, A.; Göhring, G.; Kündgen, A.; Held, G.; Götze, K.; Vellenga, E.; Kuball, J.; Schanz, U.; Passweg, J.; Pabst, T.; Maertens, J.; Ossenkoppele, G. J.; Delwel, R.; Döhner, H.; Cornelissen, J. J.; Döhner, K.; Löwenberg, B. The value of allogeneic and autologous hematopoietic stem cell transplantation in prognostically favorable acute myeloid leukemia with double mutant CEBPA. *Blood* **2013**, *122*, 1576–1582. DOI: 10.1182/blood-2013-05-503847.
- 73 Gewirtz, D. A. A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunorubicin. *Biochemical Pharmacology* **1999**, *57*, 727–741. DOI: 10.1016/S0006-2952(98)00307-4.
- 74 Dombret, H.; Gardin, C. An update of current treatments for adult acute myeloid leukemia. *Blood* **2016**, *127*, 53–61. DOI: 10.1182/blood-2015-08-604520.
- 75 Minotti, G.; Menna, P.; Salvatorelli, E.; Cairo, G.; Gianni, L. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacol. Rev.* **2004**, *56*, 185–229. DOI: 10.1124/pr.56.2.6.
- 76 Cornelissen, J. J.; Versluis, J.; Passweg, J. R.; van Putten, W. L. J.; Manz, M. G.; Maertens, J.; Beverloo, H. B.; Valk, P. J. M.; van Marwijk Kooy, M.; Wijermans, P. W.; Schaafsma, M. R.; Biemond, B. J.; Vekemans, M.-C.; Breems, D. A.; Verdonck, L. F.; Fey, M. F.; Jongen-Lavrencic,

- M.; Janssen, J. J. W. M.; Huls, G.; Kuball, J.; Pabst, T.; Graux, C.; Schouten, H. C.; Gratwohl, A.; Vellenga, E.; Ossenkoppele, G.; Löwenberg, B. Comparative therapeutic value of post-remission approaches in patients with acute myeloid leukemia aged 40-60 years. *Leukemia* **2015**, *29*, 1041–1050. DOI: 10.1038/leu.2014.332.
- 77 Lekakis, L. J.; Cooper, B. W.; Lima, M. G. de. Allogeneic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission: are we closer to knowing who needs it? *Curr. Hematol. Malign. Rep.* **2014**, *9*, 128–137. DOI: 10.1007/s11899-014-0207-4.
- 78 Büchner, T.; Berdel, W. E.; Haferlach, C.; Haferlach, T.; Schnittger, S.; Müller-Tidow, C.; Braess, J.; Spiekermann, K.; Kienast, J.; Staib, P.; Grüneisen, A.; Kern, W.; Reichle, A.; Maschmeyer, G.; Aul, C.; Lengfelder, E.; Sauerland, M.-C.; Heinecke, A.; Wörmann, B.; Hiddemann, W. Age-Related Risk Profile and Chemotherapy Dose Response in Acute Myeloid Leukemia: A Study by the German Acute Myeloid Leukemia Cooperative Group. *Journal of clinical oncology* **2009**, *27*, 61–69.
- 79 Ossenkoppele, G.; Löwenberg, B. How I treat the older patient with acute myeloid leukemia. *Blood* **2015**, *125*, 767–774. DOI: 10.1182/blood-2014-08-551499.
- 80 Sperr, W. R.; Piribauer, M.; Wimazal, F.; Fonatsch, C.; Thalhammer-Scherrer, R.; Schwarzing, I.; Geissler, K.; Knöbl, P.; Jäger, U.; Lechner, K.; Valent, P. A Novel Effective and Safe Consolidation for Patients Over 60 Years with Acute Myeloid Leukemia: Intermediate Dose Cytarabine (2 x 1 g/m² on Days 1, 3, and 5). *Clinical Cancer Research* **2004**, *10*, 3965–3971.
- 81 Koreth, J.; Schlenk, R.; Kopecky, K. J.; Honda, S.; Sierra, J.; Djulbegovic, B. J.; Wadleigh, M.; DeAngelo, D. J.; Stone, R. M.; Sakamaki, H.; Appelbaum, F. R.; Döhner, H.; Antin, J. H.; Soiffer, R. J.; Cutler, C. Allogeneic Stem Cell Transplantation for Acute Myeloid Leukemia in First Complete Remission: Systematic Review and Meta-analysis of Prospective Clinical Trials. *Journal of the American Medical Association* **2009**, *301*, 2349–2361.
- 82 Basara, N.; Schulze, A.; Wedding, U.; Mohren, M.; Gerhardt, A.; Junghans, C.; Peter, N.; Dölken, G.; Becker, C.; Heyn, S.; Kliem, C.; Lange, T.; Krah, R.; Pönsch, W.; Fricke, H.-J.; Sayer, H. G.; Al-Ali, H.; Kamprad, F.; Niederwieser, D. Early related or unrelated haematopoietic cell transplantation results in higher overall survival and leukaemia-free survival compared with conventional chemotherapy in high-risk acute myeloid leukaemia patients in first complete remission. *Leukemia* **2009**, *23*, 635–640. DOI: 10.1038/leu.2008.352.
- 83 Schlenk, R. F.; Benner, A.; Hartmann, F.; Del Valle, F.; Weber, C.; Pralle, H.; Fischer, J. T.; Gunzer, U.; Pezzutto, A.; Weber, W.; Grimminger, W.; Preiss, J.; Hensel, M.; Fröhling, S.; Döhner, K.; Haas, R.; Döhner, H. Risk-adapted postremission therapy in acute myeloid leukemia: results of

- the German multicenter AML HD93 treatment trial. *Leukemia* **2003**, *17*, 1521–1528. DOI: 10.1038/sj.leu.2403009.
- 84 Löwenberg, B.; Griffin, J. D.; Tallman, M. S. Acute Myeloid Leukemia and Acute Promyelocytic Leukemia. *American Society of Hematology Education Program* **2003**, 82–101.
 - 85 Uings, I. J.; Farrow, S. N. Cell receptors and cell signalling. *J Clin Pathol: Mol Pathol* **2000**, *53*, 295–299.
 - 86 Graves, J. D.; Krebs, E. G. Protein Phosphorylation and Signal Transduction. *Pharmacological Therapy* **1999**, *82*, 111–121.
 - 87 Dyguda, E.; Szefczyk, B.; Sokalski, W. The Mechanism of Phosphoryl Transfer Reaction and the Role of Active Site Residues on the Basis of Ribokinase-Like Kinases. *International Journal of Molecular Sciences* **2004**, *5*, 141–153. DOI: 10.3390/i5040141.
 - 88 Hunter, T. Oncoprotein Networks. *Cell* **1997**, *88*, 333–346. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81872-3.
 - 89 Manning, G.; Whyte, D. B.; Martinez, R.; Hunter, T.; Sudarsanam, S. The Protein Kinase Complement of the Human Genome. *Science* **2002**, *298*, 1912–1933.
 - 90 Blume-Jensen, P.; Hunter, T. Oncogenic kinase signalling. *Nature* **2001**, *411*, 355–365. DOI: 10.1038/35077225.
 - 91 Zhang, J.; Ravichandran, K. D.; Garrison, J. C. A Key Role for the Phosphorylation of Ser440 by the Cyclic AMP-dependent Protein Kinase in Regulating the Activity of the Src Homology 2 Domain-containing Inositol 5'-Phosphatase (SHIP1)*. *Journal of Biological Chemistry* **2010**, *285*, 34839–34849.
 - 92 Elong Edimo, W.; Derua, R.; Janssens, V.; Nakamura, T.; Vanderwinden, J.-M.; Waelkens, E.; Erneux, C. Evidence of SHIP2 Ser132 phosphorylation, its nuclear localization and stability. *Biochemical Journal* **2011**, *439*, 391–401.
 - 93 Sattler, M.; Verma, S.; Pride, Y. B.; Salgia, R.; Rohrschneider, L. R.; Griffin, J. D. SHIP1, an SH2 domain containing polyinositol-5-phosphatase, regulates migration through two critical tyrosine residues and forms a novel signaling complex with DOK1 and CRKL. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 2451–2458. DOI: 10.1074/jbc.M006250200.
 - 94 Metz, K. S.; Deoudes, E. M.; Berginski, M. E.; Jimenez-Ruiz, I.; Aksoy, B. A.; Hammerbacher, J.; Gomez, S. M.; Phanstiel, D. H. Coral: Clear and Customizable Visualization of Human Kinome Data. *Cell Syst.* **2018**, *7*, 347-350.e1. DOI: 10.1016/j.cels.2018.07.001.

- 95 Hunter, T. Signaling—2000 and Beyond. *Cell* **2000**, *100*, 113–127. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81688-8.
- 96 Mayer, B. J.; Baltimore, D. Signalling through SH2 and SH3 domains. *Trends in Cell Biology* **1993**, *3*, 8–13.
- 97 Pawson, T. Protein modules and signalling networks. *Nature* **1995**, *373*, 573–580. DOI: 10.1038/373573a0.
- 98 Kavanaugh, W. M.; Turck, C. W.; Williams, L. T. PTB Domain Binding to Signaling Proteins Through a Sequence Motif Containing Phosphotyrosine. *Science* **1995**, *268*, 1177–1179.
- 99 Songyang, Z.; Shoelson, S. E.; Chaudhuri, M.; Gish, G.; Pawson, T.; Haser, W. G.; King, F.; Roberts, T.; Ratnofsky, S.; Lechleider, R. J.; Neel, B. G.; Birge, R. B.; Fajardo, J. E.; Chou, M. M.; Hanafusa, H.; Schaffhausen, B.; Cantley, L. C. SH2 Domains Recognize Specific Phosphopeptide Sequences. *Cell* **1993**, *72*, 767–778.
- 100 Margolis, B.; Borg, J. P.; Straight, S.; Meyer, D. The function of PTB domain proteins. *Kidney Int.* **1999**, *56*, 1230–1237. DOI: 10.1046/j.1523-1755.1999.00700.x.
- 101 Robinson, D. R.; Wu, Y. M.; Lin, S. F. The protein tyrosine kinase family of the human genome. *Oncogene* **2000**, *19*, 5548–5557. DOI: 10.1038/sj.onc.1203957.
- 102 Ullrich, A.; Schlessinger, J. Signal Transduction by Receptors with Tyrosine Kinase Activity. *Cell* **1990**, *61*, 203–212.
- 103 Hanks, S. K.; Quinn, A. M.; Hunter, T. The Protein Kinase Family: Conserved Features and Deduced Phylogeny of the Catalytic Domains. *Science* **1988**, *241*, 42–52.
- 104 Lemmon, M. A.; Schlessinger, J. Cell Signaling by Receptor Tyrosine Kinases. *Cell* **2010**, *141*, 1117–1134. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)00114-8.
- 105 Gupta, R.; Knight, C. L.; Bain, B. J. Receptor tyrosine kinase mutations in myeloid neoplasms. *Br. J. Haematol.* **2002**, *117*, 489–508. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2002.03469.x.
- 106 Robertson, S. C.; Tynan, J. A.; Donoghue, D. J. RTK mutations and human syndromes. *Trends in Genetics* **2000**, *16*, 265–271. DOI: 10.1016/S0168-9525(00)02021-7.
- 107 Reilly, J. T. Receptor tyrosine kinases in normal and malignant haematopoiesis. *Blood Rev.* **2003**, *17*, 241–248.
- 108 Shurin, M. FLT3: Receptor and Ligand. Biology and Potential Clinical Application. *Cytokine & Growth Factor Reviews* **1998**, *9*, 37–48. DOI: 10.1016/S1359-6101(97)00035-X.

- 109 Matthews, W.; Jordan, C. T.; Gavin, M.; Jenkins, N. A.; Copeland, N. G.; Lemischka, I. R. A receptor tyrosine kinase cDNA isolated from a population of enriched primitive hematopoietic cells and exhibiting close genetic linkage to c-kit. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1991**, *88*, 9026–9030.
- 110 Small, D.; Levenstein, M.; Kim, E.; Carow, C.; Amin, S.; Rockwell, P.; Witte, L.; Burrow, C.; Ratajczak, M. Z.; Gewirtz, A. M.; Civin, C. I. STK-1, the human homolog of Flk-2/Flt-3, is selectively expressed in CD34+ human bone marrow cells and is involved in the proliferation of early progenitor/stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1994**, *91*, 459–463.
- 111 Rosnet, O.; Mattei, M.-G.; Marchetto, S.; Birnbaum, D. Isolation and Chromosomal Localization of a novel FMS-like Tyrosine Kinase Gene. *Genomics* **1991**, *9*, 380–385.
- 112 Rosnet, O.; Marchetto, S.; deLapeyriere, O.; Birnbaum, D. Murine Flt3, a gene encoding a novel tyrosine kinase receptor of the PDGFR/CSF1R family. *Oncogene* **1991**, *6*, 1641–1650.
- 113 Kikushige, Y.; Yoshimoto, G.; Miyamoto, T.; Iino, T.; Mori, Y.; Iwasaki, H.; Niino, H.; Takenaka, K.; Nagafuji, K.; Harada, M.; Ishikawa, F.; Akashi, K. Human Flt3 Is Expressed at the Hematopoietic Stem Cell and the Granulocyte/Macrophage Progenitor Stages to Maintain Cell Survival. *The Journal of Immunology* **2008**, *180*, 7358–7367.
- 114 Rosnet, O.; Schiff, C.; Pebusque, M. J.; Marchetto, S.; Tonnelle, C.; Toiron, Y.; Birg, F.; Birnbaum, D. Human FLT3/FLK2 gene: cDNA cloning and expression in hematopoietic cells. *Blood* **1993**, *82*, 1110–1119. DOI: 10.1182/blood.V82.4.1110.1110.
- 115 Stirewalt, D. L.; Radich, J. P. The role of FLT3 in haematopoietic malignancies. *Nature Reviews Cancer* **2003**, *3*, 650–665.
- 116 Verstraete, K.; Savvides, S. N. Extracellular assembly and activation principles of oncogenic class III receptor tyrosine kinases. *Nature Reviews Cancer* **2012**, *12*, 753–766. DOI: 10.1038/nrc3371.
- 117 Blechman, J. M.; Lev, S.; Barg, J.; Eisenstein, M.; Vaks, B.; Vogel, Z.; Givol, D.; Yarden, Y. The fourth immunoglobulin domain of the stem cell factor receptor couples ligand binding to signal transduction. *Cell* **1995**, *80*, 103–113. DOI: 10.1016/0092-8674(95)90455-7.
- 118 Blechman, J. M.; Yarden, Y. Structural Aspects of Receptor Dimerization - c-Kit as an Example. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1995**, *766*, 344–362.
- 119 Agnès, F.; Shamon, B.; Dina, C.; Rosnet, O.; Birnbaum, D.; Galibert, F. Genomic structure of the downstream part of the human FLT3 gene: exon/intron structure conservation among genes encoding receptor tyrosine kinases (RTK) of subclass III. *Gene* **1994**, *145*, 283–288. DOI: 10.1016/0378-1119(94)90021-3.

- 120 Chen, Y.; Pan, Y.; Guo, Y.; Zhao, W.; Ho, W. T.; Wang, J.; Xu, M.; Yang, F.-C.; Zhao, Z. J. Tyrosine kinase inhibitors targeting FLT3 in the treatment of acute myeloid leukemia. *Stem Cell Investigation* **2017**, *4*.
- 121 Griffith, J.; Black, J.; Faerman, C.; Swenson, L.; Wynn, M.; Lu, F.; Lippke, J.; Saxena, K. The Structural Basis for Autoinhibition of FLT3 by the Juxtamembrane Domain. *Molecular Cell* **2004**, *13*, 169–178.
- 122 Lyman, S. D.; James, L.; Bos, T. V.; Vries, P. de; Brasel, K.; Gliniak, B.; Hollingsworth, L. T.; Picha, K. S.; McKenna, H. J.; Splett, R. R.; Fletcher, F. A.; Maraskovsky, E.; Farrah, T.; Foxworthe, D.; Williams, D. E.; Beckmann, M. P. Molecular cloning of a ligand for the flt3flk-2 tyrosine kinase receptor: A proliferative factor for primitive hematopoietic cells. *Cell* **1993**, *75*, 1157–1167. DOI: 10.1016/0092-8674(93)90325-K.
- 123 Maroc, N.; Rottapel, R.; Rosnet, O.; Marchetto, S.; Lavezzi, C.; Mannoni, P.; Birnbaum, D.; Dubreuil, P. Biochemical characterization and analysis of the transforming potential of the FLT3/FLK2 receptor tyrosine kinase. *Oncogene* **1993**, *8*, 909–918.
- 124 Zhong, Y.; Qiu, R.-Z.; Sun, S.-L.; Zhao, C.; Fan, T.-Y.; Chen, M.; Li, N.-G.; Shi, Z.-H. Small-Molecule Fms-like Tyrosine Kinase 3 Inhibitors: An Attractive and Efficient Method for the Treatment of Acute Myeloid Leukemia. *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 12403–12428. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.0c00696.
- 125 Hannum, C.; Culpepper, J.; Campbell, D.; McClanahan, T.; Zurawski, S.; Bazan, J. F.; Kastelein, R.; Hudak, S.; Wagner, J.; Mattson, J.; Luh, J.; Duda, G.; Martina, N.; Peterson, D.; Menon, S.; Shanafelt, A.; Muench, M.; Kelner, G.; Namikawa, R.; Rennick, D.; Roncarolo, M.-G.; Zlotnik, A.; Rosnet, O.; Dubreuil, P.; Birnbaum, D.; Lee, F. Ligand for FLT3jFLK2 receptor tyrosine kinase regulates growth of haematopoietic stem cells and is encoded by variant RNAs. *Nature* **1994**, *368*, 643–648.
- 126 Lyman, S. D.; James, L.; Johnson, L.; Brasel, K.; Vries, P. de; Escobar, S. S.; Downey, H.; Splett, R. R.; Beckmann, M. P.; McKenna, H. J. Cloning of the human homologue of the murine flt3 ligand: a growth factor for early hematopoietic progenitor cells. *Blood* **1994**, *83*, 2795–2801.
- 127 Lyman, S. D. Biology of flt3 ligand and receptor. *International Journal of Hematology* **1995**, *62*, 63–73. DOI: 10.1016/0925-5710(95)00389-A.
- 128 Graddis, T. J.; Brasel, K.; Friend, D.; Srinivasan, S.; Wee, S.; Lyman, S. D.; March, C. J.; McGrew, J. T. Structure-function analysis of FLT3 ligand-FLT3 receptor interactions using a rapid functional screen. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 17626–17633.

- 129 Brasel, K.; Escobar, S.; Anderberg, R.; Vries, P. de; Gruss, H. J.; Lyman, S. D. Expression of the flt3 receptor and its ligand on hematopoietic cells. *Leukemia* **1995**, *9*, 1212–1218.
- 130 Annesley, C. E.; Brown, P. The Biology and Targeting of FLT3 in Pediatric Leukemia. *Front. Oncol.* **2014**, *4*, 263. DOI: 10.3389/fonc.2014.00263.
- 131 Nitika; Wei, J.; Hui, A.-M. Role of Biomarkers in FLT3 AML. *Cancers (Basel)* **2022**, *14*. DOI: 10.3390/cancers14051164.
- 132 Carow, C. E.; Levenstein, M.; Kaufmann, S. H.; Chen, J.; Amin, S.; Rockwell, P.; Witte, L.; Borowitz, M. J.; Civin, C. I.; Small, D. Expression of the hematopoietic growth factor receptor FLT3 (STK- 1/Flk2) in human leukemias. *Blood* **1996**, *87*, 1089–1096. DOI: 10.1182/blood.V87.3.1089.bloodjournal8731089.
- 133 Takahashi, S. Downstream molecular pathways of FLT3 in the pathogenesis of acute myeloid leukemia: biology and therapeutic implications. *J. Hematol. Oncol.* **2011**, *4*. DOI: 10.1186/1756-8722-4-13.
- 134 Hubbard, S. R.; Till, J. H. Protein Tyrosine Kinase Structure and Function. *Annual Review of Biochemistry* **2000**, *69*, 373–398.
- 135 Heldin, C.-H. Dimerization of cell surface receptors in signal transduction. *Cell* **1995**, *80*, 213–223. DOI: 10.1016/0092-8674(95)90404-2.
- 136 Lemmon, M. A.; Schlessinger, J. Regulation of signal transduction and signal diversity by receptor oligomerization. *Trends in Biochemical Sciences* **1994**, *19*, 459–463. DOI: 10.1016/0968-0004(94)90130-9.
- 137 Schlessinger, J. Cell Signaling by Receptor Tyrosine Kinases. *Cell* **2000**, *103*, 211–225. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)00114-8.
- 138 Shewchuk, L. M.; Hassell, A. M.; Ellis, B.; Holmes, W. D.; Davis, R.; Horne, E. L.; Kadwell, S. H.; McKee, D. D.; Moore, J. T. Structure of the Tie2 RTK Domain: Self-Inhibition by the Nucleotide Binding Loop, Activation Loop, and C-Terminal Tail. *Structure* **2000**, *8*, 1105–1113.
- 139 Levis, M.; Perl, A. E. Gilteritinib: potent targeting of FLT3 mutations in AML. *Blood Adv.* **2020**, *4*, 1178–1191. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019000174.
- 140 Zhang, S.; Broxmeyer, H. E. p85 subunit of PI3 kinase does not bind to human Flt3 receptor, but associates with SHP2, SHIP, and a tyrosine-phosphorylated 100-kDa protein in Flt3 ligand-stimulated hematopoietic cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1999**, *254*, 440–445. DOI: 10.1006/bbrc.1998.9959.

- 141 Zhang, S.; Broxmeyer, H. E. Flt3 ligand induces tyrosine phosphorylation of gab1 and gab2 and their association with shp-2, grb2, and PI3 kinase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2000**, *277*, 195–199. DOI: 10.1006/bbrc.2000.3662.
- 142 Srinivasa, S. P.; Doshi, P. D. Extracellular signal-regulated kinase and p38 mitogen-activated protein kinase pathways cooperate in mediating cytokine-induced proliferation of a leukemic cell line. *Leukemia* **2002**, *16*, 244–253. DOI: 10.1038/sj.leu.2402367.
- 143 Zhang, S.; Mantel, C.; Broxmeyer, H. E. Flt3 signaling involves tyrosyl-phosphorylation of SHP-2 and SHIP and their association with Grb2 and Shc in Baf3/Flt3 cells. *J. Leukoc. Biol.* **1999**, *65*, 372–380. DOI: 10.1002/jlb.65.3.372.
- 144 Zhang, S.; Fukuda, S.; Lee, Y.; Hangoc, G.; Cooper, S.; Spolski, R.; Leonard, W. J.; Broxmeyer, H. E. Essential role of signal transducer and activator of transcription (Stat)5a but not Stat5b for Flt3-dependent signaling. *J. Exp. Med.* **2000**, *192*, 719–728. DOI: 10.1084/jem.192.5.719.
- 145 Parcells, B. W.; Ikeda, A. K.; Simms-Waldrip, T.; Moore, T. B.; Sakamoto, K. M. FMS-Like Tyrosine Kinase 3 in Normal Hematopoiesis and Acute Myeloid Leukemia. *Stem Cells* **2006**, *24*, 1174–1184.
- 146 Turner, A. M.; Lin, N. L.; Issarachai, S.; Lyman, S. D.; Broudy, V. C. FLT3 receptor expression on the surface of normal and malignant human hematopoietic cells. *Blood* **1996**, *88*, 3383–3390. DOI: 10.1182/blood.V88.9.3383.bloodjournal8893383.
- 147 Lim, S. H.; Dubielecka, P. M.; Raghunathan, V. M. Molecular targeting in acute myeloid leukemia. *J. Transl. Med.* **2017**, *15*, 183. DOI: 10.1186/s12967-017-1281-x.
- 148 Lonetti, A.; Pession, A.; Masetti, R. Targeted Therapies for Pediatric AML: Gaps and Perspective. *Front. Pediatr.* **2019**, *7*, 463. DOI: 10.3389/fped.2019.00463.
- 149 Orlova, A.; Wingelhofer, B.; Neubauer, H. A.; Maurer, B.; Berger-Becvar, A.; Keserű, G. M.; Gunning, P. T.; Valent, P.; Moriggl, R. Emerging therapeutic targets in myeloproliferative neoplasms and peripheral T-cell leukemia and lymphomas. *Expert Opin. Ther. Targets* **2018**, *22*, 45–57. DOI: 10.1080/14728222.2018.1406924.
- 150 Vainchenker W.; Constantinescu S. N. JAK/STAT signaling in hematological malignancies.
- 151 Birg, F.; Courcoul, M.; Rosnet, O.; Bardin, F.; Pebusque, M. J.; Marchetto, S.; Tabilio, A.; Mannoni, P.; Birnbaum, D. Expression of the FMS/KIT-like gene FLT3 in human acute leukemias of the myeloid and lymphoid lineages. *Blood* **1992**, *80*, 2584–2593. DOI: 10.1182/blood.V80.10.2584.2584.

- 152 Rosnet, O.; Bühring, H. J.; Marchetto, S.; Rappold, I.; Lavagna, C.; Sainty, D.; Arnoulet, C.; Chabannon, C.; Kanz, L.; Hannum, C.; Birnbaum, D. Human FLT3/FLK2 receptor tyrosine kinase is expressed at the surface of normal and malignant hematopoietic cells. *Leukemia* **1996**, *10*, 238–248.
- 153 Drexler, H. G. Expression of FLT3 receptor and response to FLT3 ligand by leukemic cells. *Leukemia* **1996**, *10*, 588–599.
- 154 Kottaridis, P. D.; Gale, R. E.; Frew, M. E.; Harrison, G.; Langabeer, S. E.; Belton, A. A.; Walker, H.; Wheatley, K.; Bowen, D. T.; Burnett, A. K.; Goldstone, A. H.; Linch, D. C. The presence of a FLT3 internal tandem duplication in patients with acute myeloid leukemia (AML) adds important prognostic information to cytogenetic risk group and response to the first cycle of chemotherapy: analysis of 854 patients from the United Kingdom Medical Research Council AML 10 and 12 trials. *Blood* **2001**, *98*, 1752–1759. DOI: 10.1182/blood.v98.6.1752.
- 155 Nakao, M.; Yokota, S.; Iwai, T.; Kaneko, H.; Horiike, S.; Kashima, K.; Sonoda, Y.; Fujimoto, T.; Misawa, S. Internal tandem duplication of the *flt3* gene found in acute myeloid leukemia. *Leukemia* **1996**, *10*, 1911–1918.
- 156 Kiyoi, H.; Towatari, M.; Yokota, S.; Hamaguchi, M.; Ohno, R.; Saito, H.; Naoe, T. Internal tandem duplication of the FLT3 gene is a novel modality of elongation mutation which causes constitutive activation of the product. *Leukemia* **1998**, *12*, 1333–1337.
- 157 Vempati, S.; Reindl, C.; Kaza, S. K.; Kern, R.; Malamoussi, T.; Dugas, M.; Mellert, G.; Schnittger, S.; Hiddemann, W.; Spiekermann, K. Arginine 595 is duplicated in patients with acute leukemias carrying internal tandem duplications of FLT3 and modulates its transforming potential. *Blood* **2007**, *110*, 686–694. DOI: 10.1182/blood-2006-10-053181.
- 158 Schnittger, S.; Schoch, C.; Dugas, M.; Kern, W.; Staib, P.; Wuchter, C.; Löffler, H.; Sauerland, C. M.; Serve, H.; Büchner, T.; Haferlach, T.; Hiddemann, W. Analysis of FLT3 length mutations in 1003 patients with acute myeloid leukemia: correlation to cytogenetics, FAB subtype, and prognosis in the AMLCG study and usefulness as a marker for the detection of minimal residual disease. *Blood* **2002**, *100*, 59–66. DOI: 10.1182/blood.v100.1.59.
- 159 Kiyoi, H.; Ohno, R.; Ueda, R.; Saito, H.; Naoe, T. Mechanism of constitutive activation of FLT3 with internal tandem duplication in the juxtamembrane domain. *Oncogene* **2002**, *21*, 2555–2563. DOI: 10.1038/sj.onc.1205332.
- 160 Yamamoto, Y.; Kiyoi, H.; Nakano, Y.; Suzuki, R.; Kodera, Y.; Miyawaki, S.; Asou, N.; Kuriyama, K.; Yagasaki, F.; Shimazaki, C.; Akiyama, H.; Saito, K.; Nishimura, M.; Motoji, T.; Shinagawa, K.; Takeshita, A.; Saito, H.; Ueda, R.; Ohno, R.; Naoe, T. Activating mutation of D835 within the

- activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies. *Blood* **2001**, *97*, 2434–2439. DOI: 10.1182/blood.v97.8.2434.
- 161 Abu-Duhier, F. M.; Goodeve, A. C.; Wilson, G. A.; Care, R. S.; Peake, I. R.; Reilly, J. T. Identification of novel FLT-3 Asp835 mutations in adult acute myeloid leukaemia. *British Journal of Hematology* **2001**, *113*, 983–988. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2001.02850.x.
- 162 Thiede, C.; Steudel, C.; Mohr, B.; Schaich, M.; Schäkel, U.; Platzbecker, U.; Wermke, M.; Bornhäuser, M.; Ritter, M.; Neubauer, A.; Ehninger, G.; Illmer, T. Analysis of FLT3-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis. *Blood* **2002**, *99*, 4326–4335. DOI: 10.1182/blood.v99.12.4326.
- 163 Spiekermann, K.; Bagrintseva, K.; Schoch, C.; Haferlach, T.; Hiddemann, W.; Schnittger, S. A new and recurrent activating length mutation in exon 20 of the FLT3 gene in acute myeloid leukemia. *Blood* **2002**, *100*, 3423–3425. DOI: 10.1182/blood-2002-03-0953.
- 164 Janke, H.; Pastore, F.; Schumacher, D.; Herold, T.; Hopfner, K.-P.; Schneider, S.; Berdel, W. E.; Büchner, T.; Woermann, B. J.; Subklewe, M.; Bohlander, S. K.; Hiddemann, W.; Spiekermann, K.; Polzer, H. Activating FLT3 mutants show distinct gain-of-function phenotypes in vitro and a characteristic signaling pathway profile associated with prognosis in acute myeloid leukemia. *PLoS One* **2014**, *9*, e89560. DOI: 10.1371/journal.pone.0089560.
- 165 Staudt, D.; Murray, H.; Alvaro, F.; Enjeti, A.; Verrills, N.; Dun, M. D. *Targeting Oncogenic Signaling in Mutant FLT3 Acute Myeloid Leukemia: the Path to Least Resistance*, 2018.
- 166 Molina Garay, C.; Carrillo Sánchez, K.; Flores Lagunes, L. L.; Jiménez Olivares, M.; Muñoz Rivas, A.; Villegas Torres, B. E.; Flores Aguilar, H.; Núñez Enríquez, J. C.; Jiménez Hernández, E.; Bekker Méndez, V. C.; Torres Nava, J. R.; Flores Lujano, J.; Martín Trejo, J. A.; Mata Rocha, M.; Medina Sansón, A.; Espinoza Hernández, L. E.; Peñaloza Gonzalez, J. G.; Espinosa Elizondo, R. M.; Flores Villegas, L. V.; Amador Sanchez, R.; Pérez Saldívar, M. L.; Sepúlveda Robles, O. A.; Rosas Vargas, H.; Rangel López, A.; Domínguez López, M. L.; García Latorre, E. A.; Reyes Maldonado, E.; Galindo Delgado, P.; Mejía Aranguré, J. M.; Alaez Verson, C. Profiling FLT3 Mutations in Mexican Acute Myeloid Leukemia Pediatric Patients: Impact on Overall Survival. *Front. Pediatr.* **2020**, *8*, 586. DOI: 10.3389/fped.2020.00586.
- 167 Eguchi, M.; Minami, Y.; Kuzume, A.; Chi, S. Mechanisms Underlying Resistance to FLT3 Inhibitors in Acute Myeloid Leukemia. *Biomedicines* **2020**, *8*. DOI: 10.3390/biomedicines8080245.
- 168 Reindl, C.; Bagrintseva, K.; Vempati, S.; Schnittger, S.; Ellwart, J. W.; Wenig, K.; Hopfner, K.-P.; Hiddemann, W.; Spiekermann, K. Point mutations in the juxtamembrane domain of FLT3 define

- a new class of activating mutations in AML. *Blood* **2006**, *107*, 3700–3707. DOI: 10.1182/blood-2005-06-2596.
- 169 Breitenbuecher, F.; Markova, B.; Kasper, S.; Carius, B.; Stauder, T.; Böhmer, F. D.; Masson, K.; Rönstrand, L.; Huber, C.; Kindler, T.; Fischer, T. A novel molecular mechanism of primary resistance to FLT3-kinase inhibitors in AML. *Blood* **2009**, *113*, 4063–4073. DOI: 10.1182/blood-2007-11-126664.
- 170 Choudhary, C.; Schwäble, J.; Brandts, C.; Tickenbrock, L.; Sargin, B.; Kindler, T.; Fischer, T.; Berdel, W. E.; Müller-Tidow, C.; Serve, H. AML-associated Flt3 kinase domain mutations show signal transduction differences compared with Flt3 ITD mutations. *Blood* **2005**, *106*, 265–273. DOI: 10.1182/blood-2004-07-2942.
- 171 Hayakawa, F.; Towatari, M.; Kiyoi, H.; Tanimoto, M.; Kitamura, T.; Saito, H.; Naoe, T. Tandem-duplicated Flt3 constitutively activates STAT5 and MAP kinase and introduces autonomous cell growth in IL-3-dependent cell lines. *Oncogene* **2000**, *19*, 624–631. DOI: 10.1038/sj.onc.1203354.
- 172 Tse, K. F.; Mukherjee, G.; Small, D. Constitutive activation of FLT3 stimulates multiple intracellular signal transducers and results in transformation. *Leukemia* **2000**, *14*, 1766–1776. DOI: 10.1038/sj.leu.2401905.
- 173 Chaladon, Y.; Schwaller, J. Targeting mutated protein tyrosine kinases and their signaling pathways in hematologic malignancies. *Haematologica* **2005**, *90*, 949–968.
- 174 Mizuki, M.; Fenski, R.; Halfter, H.; Matsumura, I.; Schmidt, R.; Müller, C.; Grüning, W.; Kratz-Albers, K.; Serve, S.; Steur, C.; Büchner, T.; Kienast, J.; Kanakura, Y.; Berdel, W. E.; Serve, H. Flt3 mutations from patients with acute myeloid leukemia induce transformation of 32D cells mediated by the Ras and STAT5 pathways. *Blood* **2000**, *96*, 3907–3914. DOI: 10.1182/blood.V96.12.3907.
- 175 Choudhary, C.; Brandts, C.; Schwable, J.; Tickenbrock, L.; Sargin, B.; Ueker, A.; Bohmer, F. D.; Berdel, W. E.; Müller-Tidow, C.; Serve, H. Activation Mechanisms of STAT5 by Oncogenic Flt3-ITD. *Blood* **2006**, *108*, 1435. DOI: 10.1182/blood.V108.11.1435.1435.
- 176 Spiekermann, K.; Bagrintseva, K.; Schwab, R.; Schmieja, K.; Hiddemann, W. Overexpression and constitutive activation of FLT3 induces STAT5 activation in primary acute myeloid leukemia blast cells. *Clinical Cancer Research* **2003**, *9*, 2140–2150.
- 177 Steelman, L. S.; Abrams, S. L.; Whelan, J.; Bertrand, F. E.; Ludwig, D. E.; Bäsecke, J.; Libra, M.; Stivala, F.; Milella, M.; Tafuri, A.; Lunghi, P.; Bonati, A.; Martelli, A. M.; McCubrey, J. A. Contributions of the Raf/MEK/ERK, PI3K/PTEN/Akt/mTOR and Jak/STAT pathways to leukemia. *Leukemia* **2008**, *22*, 686–707. DOI: 10.1038/leu.2008.26.

- 178 Mead, A. J.; Linch, D. C.; Hills, R. K.; Wheatley, K.; Burnett, A. K.; Gale, R. E. FLT3 tyrosine kinase domain mutations are biologically distinct from and have a significantly more favorable prognosis than FLT3 internal tandem duplications in patients with acute myeloid leukemia. *Blood* **2007**, *110*, 1262–1270. DOI: 10.1182/blood-2006-04-015826.
- 179 Fröhling, S.; Schlenk, R. F.; Breitnick, J.; Benner, A.; Kreitmeier, S.; Tobis, K.; Döhner, H.; Döhner, K. Prognostic significance of activating FLT3 mutations in younger adults (16 to 60 years) with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: a study of the AML Study Group Ulm. *Blood* **2002**, *100*, 4372–4380. DOI: 10.1182/blood-2002-05-1440.
- 180 Bienz, M.; Ludwig, M.; Mueller, B. U.; Oppliner Leibundgut, E.; Ratschiller, D.; Solenthaler, M.; Fey, M. F.; Pabst, T. Risk Assessment in Patients with Acute Myeloid Leukemia and a Normal Karyotype. *Clinical Cancer Research* **2005**, *11*, 1416–1424.
- 181 Ravandi, F.; Kantarjian, H.; Faderl S.; Garcia-Manero, G.; O’Brien, S.; Koller, C.; Pierce, S.; Brandt, M.; Kennedy, D.; Cortes, J.; Beran, M. Outcome of patients with FLT3-mutated acute myeloid leukemia in first relapse. *Leuk. Res.* **2010**, *34*, 752–756.
- 182 Kim, Y.; Lee, G. D.; Park, J.; Yoon, J.-H.; Kim, H.-J.; Min, W.-S.; Kim, M. Quantitative fragment analysis of FLT3-ITD efficiently identifying poor prognostic group with high mutant allele burden or long ITD length. *Blood Cancer J.* **2015**, *5*, e336. DOI: 10.1038/bcj.2015.61.
- 183 Rombouts, W. J.; Blokland, I.; Löwenberg, B.; Ploemacher, R. E. Biological characteristics and prognosis of adult acute myeloid leukemia with internal tandem duplications in the Flt3 gene. *Leukemia* **2000**, *14*, 675–683. DOI: 10.1038/sj.leu.2401731.
- 184 Meshinchi, S.; Woods, W. G.; Stirewalt, D. L.; Sweetser, D. A.; Buckley, J. D.; Tjoa, T. K.; Bernstein, I. D.; Radich, J. P. Prevalence and prognostic significance of Flt3 internal tandem duplication in pediatric acute myeloid leukemia. *Blood* **2001**, *97*, 89–94. DOI: 10.1182/blood.v97.1.89.
- 185 Moreno, I.; Martin, G.; Bolufer, P.; Barragán, E.; Rueda, E.; Román, J.; Fernández, P.; León, P.; Mena, A.; Cervera, J.; Torres, A.; Sanz, M. A. Incidence and prognostic value of FLT3 internal tandem duplication and D835 mutations in acute myeloid leukemia. *Haematologica* **2003**, *88*, 19–24.
- 186 Yanada, M.; Matsuo, K.; Suzuki, T.; Kiyoi, H.; Naoe, T. Prognostic significance of FLT3 internal tandem duplication and tyrosine kinase domain mutations for acute myeloid leukemia: a meta-analysis. *Leukemia* **2005**, *19*, 1345–1349. DOI: 10.1038/sj.leu.2403838.

- 187 Stirewalt, D. L.; Kopecky, K. J.; Meshinchi, S.; Engel, J. H.; Pogossova-Agadjanyan, E. L.; Linsley, J.; Slovak, M. L.; Willman, C. L.; Radich, J. P. Size of FLT3 internal tandem duplication has prognostic significance in patients with acute myeloid leukemia. *Blood* **2006**, *107*, 3724–3726.
- 188 Kusec, R.; Jaksic, O.; Ostojic, S.; Kardum-Skelin, I.; Vrhovac, R.; Jaksic, B. More on prognostic significance of FLT3/ITD size in acute myeloid leukemia (AML). *Blood* **2006**, *108*, 405–406. DOI: 10.1182/blood-2005-12-5128.
- 189 Ponziani, V.; Gianfaldoni, G.; Mannelli, F.; Leoni, F.; Ciolli, S.; Guglielmelli, P.; Antonioli, E.; Longo, G.; Bosi, A.; Vannucchi, A. M. The size of duplication does not add to the prognostic significance of FLT3 internal tandem duplication in acute myeloid leukemia patients. *Leukemia* **2006**, *20*, 2074–2076. DOI: 10.1038/sj.leu.2404368.
- 190 Gale, R. E.; Green, C.; Allen, C.; Mead, A. J.; Burnett, A. K.; Hills, R. K.; Linch, D. C. The impact of FLT3 internal tandem duplication mutant level, number, size, and interaction with NPM1 mutations in a large cohort of young adult patients with acute myeloid leukemia. *Blood* **2008**, *111*, 2776–2784. DOI: 10.1182/blood-2007-08-109090.
- 191 Whitman, S. P.; Strout, M. P.; Marcucci, G.; Freud, A. G.; Culley, L. L.; Zeleznik-Le, N. J.; Mrózek, K.; Theil, K. S.; Kees, U. R.; Bloomfield, C. D.; Caligiuri, M. A. The partial nontandem duplication of the MLL (ALL1) gene is a novel rearrangement that generates three distinct fusion transcripts in B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Research* **2001**, *61*, 59–63.
- 192 Kayser, S.; Levis, M. J. FLT3 tyrosine kinase inhibitors in acute myeloid leukemia: clinical implications and limitations. *Leuk. Lymphoma* **2014**, *55*, 243–255. DOI: 10.3109/10428194.2013.800198.
- 193 Kiyoi, H.; Kawashima, N.; Ishikawa, Y. FLT3 mutations in acute myeloid leukemia: Therapeutic paradigm beyond inhibitor development. *Cancer Sci.* **2020**, *111*, 312–322. DOI: 10.1111/cas.14274.
- 194 Brunet, S.; Labopin, M.; Esteve, J.; Cornelissen, J.; Socié, G.; Iori, A. P.; Verdonck, L. F.; Volin, L.; Gratwohl, A.; Sierra, J.; Mohty, M.; Rocha, V. Impact of FLT3 internal tandem duplication on the outcome of related and unrelated hematopoietic transplantation for adult acute myeloid leukemia in first remission: a retrospective analysis. *Journal of clinical oncology* **2012**, *30*, 735–741. DOI: 10.1200/JCO.2011.36.9868.
- 195 Brown, P.; Small, D. FLT3 Inhibitors: a paradigm for the development of targeted therapeutics for paediatric cancer. *European Journal of Cancer* **2004**, *40*, 707–721.
- 196 Fathi, A.; Levis, M. FLT3 inhibitors: a story of the old and the new. *Curr. Opin. Hematol.* **2011**, *18*, 71–76. DOI: 10.1097/MOH.0b013e3283439a03.

- 197 Kindler, T.; Lipka, D. B.; Fischer, T. FLT3 as a therapeutic target in AML: still challenging after all these years. *Blood* **2010**, *116*, 5089–5102. DOI: 10.1182/blood-2010-04-261867.
- 198 Grunwald, M. R.; Levis, M. J. FLT3 inhibitors for acute myeloid leukemia: a review of their efficacy and mechanisms of resistance. *International Journal of Hematology* **2013**, *97*, 683–694. DOI: 10.1007/s12185-013-1334-8.
- 199 Fabbro, D.; Ruetz, S.; Bodis, S.; Pruschy, M.; Csermak, K.; Man, A.; Campochiaro, P.; Wood, J.; O'Reilly, T.; Meyer, T. PKC412--a protein kinase inhibitor with a broad therapeutic potential. *Anticancer. Drug Des.* **2000**, *15*, 17–28.
- 200 Stone, R. M.; DeAngelo, D. J.; Klimek, V.; Galinsky, I.; Estey, E.; Nimer, S. D.; Grandin, W.; Lebwohl, D.; Wang, Y.; Cohen, P.; Fox, E. A.; Neuberg, D.; Clark, J.; Gilliland, D. G.; Griffin, J. D. Patients with acute myeloid leukemia and an activating mutation in FLT3 respond to a small-molecule FLT3 tyrosine kinase inhibitor, PKC412. *Blood* **2005**, *105*, 54–60. DOI: 10.1182/blood-2004-03-0891.
- 201 Kelly, L. M.; Yu, J.-C.; Boulton, C. L.; Apatira, M.; Li, J.; Sullivan, C. M.; Williams, I.; Amaral, S. M.; Curley, D. P.; Duclos, N.; Neuberg, D.; Scarborough, R. M.; Pandey, A.; Hollenbach, S.; Abe, K.; Lokker, N. A.; Gilliland, D. G.; Giese, N. A. CT53518, a novel selective FLT3 antagonist for the treatment of acute myelogenous leukemia (AML). *Cancer Cell* **2002**, *1*, 421–432. DOI: 10.1016/S1535-6108(02)00070-3.
- 202 Griswold, I. J.; Shen, L. J.; La Rosée, P.; Demehri, S.; Heinrich, M. C.; Brazier, R. M.; McGreevey, L.; Haley, A. D.; Giese, N.; Druker, B. J.; Deininger, M. W. Effects of MLN518, a dual FLT3 and KIT inhibitor, on normal and malignant hematopoiesis. *Blood* **2004**, *104*, 2912–2918. DOI: 10.1182/blood-2003-05-1669.
- 203 Smith, B. D.; Levis, M.; Beran, M.; Giles, F.; Kantarjian, H.; Berg, K.; Murphy, K. M.; Dausers, T.; Allebach, J.; Small, D. Single-agent CEP-701, a novel FLT3 inhibitor, shows biologic and clinical activity in patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Blood* **2004**, *103*, 3669–3676. DOI: 10.1182/blood-2003-11-3775.
- 204 O'Farrell, A.-M.; Abrams, T. J.; Yuen, H. A.; Ngai, T. J.; Louie, S. G.; Yee, K. W. H.; Wong, L. M.; Hong, W.; Lee, L. B.; Town, A.; Smolich, B. D.; Manning, W. C.; Murray, L. J.; Heinrich, M. C.; Cherrington, J. M. SU11248 is a novel FLT3 tyrosine kinase inhibitor with potent activity in vitro and in vivo. *Blood* **2003**, *101*, 3597–3605. DOI: 10.1182/blood-2002-07-2307.
- 205 Mendel, D. B.; Laird, A. D.; Xin, X.; Louie, S. G.; Christensen, J. G.; Li, G.; Schreck, R. E.; Abrams, T. J.; Ngai, T. J.; Lee, L. B.; Murray, L. J.; Carver, J.; Chan, E.; Moss, K. G.; Haznedar, J. O.; Sukbuntherng, J.; Blake, R. A.; Sun, L.; Tang, C.; Miller, T.; Shirazian, S.; McMahon, G.;

- Cherrington, J. M. In vivo antitumor activity of SU11248, a novel tyrosine kinase inhibitor targeting vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor receptors: determination of a pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship. *Clin Cancer Res* **2003**, *9*, 327–337.
- 206 Escudier, B.; Eisen, T.; Stadler, W. M.; Szczylik, C.; Oudard, S.; Siebels, M.; Negrier, S.; Chevreau, C.; Solska, E.; Desai, A. A.; Rolland, F.; Demkow, T.; Hutson, T. E.; Gore, M.; Freeman, S.; Schwartz, B.; Shan, M.; Simantov, R.; Bukowski, R. M. Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. *N. Engl. J. Med.* **2007**, *356*, 125–134. DOI: 10.1056/NEJMoa060655.
- 207 Zhang, W.; Konopleva, M.; Shi, Y.; McQueen, T.; Harris, D.; Ling, X.; Estrov, Z.; Quintás-Cardama, A.; Small, D.; Cortes, J.; Andreeff, M. Mutant FLT3: a direct target of sorafenib in acute myelogenous leukemia. *J. Natl. Cancer Inst.* **2008**, *100*, 184–198. DOI: 10.1093/jnci/djm328.
- 208 Zarrinkar, P. P.; Gunawardane, R. N.; Cramer, M. D.; Gardner, M. F.; Brigham, D.; Belli, B.; Karaman, M. W.; Pratz, K. W.; Pallares, G.; Chao, Q.; Sprankle, K. G.; Patel, H. K.; Levis, M.; Armstrong, R. C.; James, J.; Bhagwat, S. S. AC220 is a uniquely potent and selective inhibitor of FLT3 for the treatment of acute myeloid leukemia (AML). *Blood* **2009**, *114*, 2984–2992. DOI: 10.1182/blood-2009-05-222034.
- 209 Lewis, N. L.; Lewis, L. D.; Eder, J. P.; Reddy, N. J.; Guo, F.; Pierce, K. J.; Olszanski, A. J.; Cohen, R. B. Phase I study of the safety, tolerability, and pharmacokinetics of oral CP-868,596, a highly specific platelet-derived growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor in patients with advanced cancers. *J. Clin. Oncol.* **2009**, *27*, 5262–5269. DOI: 10.1200/JCO.2009.21.8487.
- 210 Mori, M.; Kaneko, N.; Ueno, Y.; Tanaka, R.; Cho, K.; Saito, R.; Kondoh, Y.; Shimada, I.; Kuromitsu, S. ASP2215, a novel FLT3/AXL inhibitor: Preclinical evaluation in acute myeloid leukemia (AML). *JCO* **2014**, *32*, 7070. DOI: 10.1200/jco.2014.32.15_suppl.7070.
- 211 Yamaura, T.; Nakatani, T.; Uda, K.; Ogura, H.; Shin, W.; Kurokawa, N.; Saito, K.; Fujikawa, N.; Date, T.; Takasaki, M.; Terada, D.; Hirai, A.; Akashi, A.; Chen, F.; Adachi, Y.; Ishikawa, Y.; Hayakawa, F.; Hagiwara, S.; Naoe, T.; Kiyoi, H. A novel irreversible FLT3 inhibitor, FF-10101, shows excellent efficacy against AML cells with FLT3 mutations. *Blood* **2018**, *131*, 426–438. DOI: 10.1182/blood-2017-05-786657.
- 212 Ueno, Y.; Kaneko, N.; Saito, R.; Kondoh, Y.; Shimada, I.; Mori, M.; Kuromitsu, S. ASP2215, a novel FLT3/AXL inhibitor: Preclinical evaluation in combination with cytarabine and anthracycline in acute myeloid leukemia (AML). *JCO* **2014**, *32*, 7071. DOI: 10.1200/jco.2014.32.15_suppl.7071.
- 213 Levis, M. Midostaurin approved for FLT3-mutated AML. *Blood* **2017**, *129*, 3403–3406. DOI: 10.1182/blood-2017-05-782292.

- 214 FDA. FDA approves gilteritinib for relapsed or refractory acute myeloid leukemia (AML) with a FLT3 mutation. <https://www.fda.gov/drugs/fda-approves-gilteritinib-relapsed-or-refractory-acute-myeloid-leukemia-aml-flt3-mutation>.
- 215 Zhou, F.; Ge, Z.; Chen, B. Quizartinib (AC220): a promising option for acute myeloid leukemia. *Drug Des. Devel. Ther.* **2019**, *13*, 1117–1125. DOI: 10.2147/DDDT.S198950.
- 216 Pulte, E. D.; Norsworthy, K. J.; Wang, Y.; Xu, Q.; Qosa, H.; Gudi, R.; Przepiorka, D.; Fu, W.; Okusanya, O. O.; Goldberg, K. B.; Claro, R. A. de; Farrell, A. T.; Pazdur, R. FDA Approval Summary: Gilteritinib for Relapsed or Refractory Acute Myeloid Leukemia with a FLT3 Mutation. *Clin. Cancer Res.* **2021**, *27*, 3515–3521. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-4271.
- 217 Daver, N.; Schlenk, R. F.; Russell, N. H.; Levis, M. J. Targeting FLT3 mutations in AML: review of current knowledge and evidence. *Leukemia* **2019**, *33*, 299–312. DOI: 10.1038/s41375-018-0357-9.
- 218 Larrosa-Garcia, M.; Baer, M. R. FLT3 Inhibitors in Acute Myeloid Leukemia: Current Status and Future Directions. *Mol. Cancer Ther.* **2017**, *16*, 991–1001. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-16-0876.
- 219 Leung, A. Y. H.; Man, C.-H.; Kwong, Y.-L. FLT3 inhibition: a moving and evolving target in acute myeloid leukaemia. *Leukemia* **2013**, *27*, 260–268. DOI: 10.1038/leu.2012.195.
- 220 Wang, Z.; Cai, J.; Cheng, J.; Yang, W.; Zhu, Y.; Li, H.; Lu, T.; Chen, Y.; Lu, S. FLT3 Inhibitors in Acute Myeloid Leukemia: Challenges and Recent Developments in Overcoming Resistance. *J. Med. Chem.* **2021**, *64*, 2878–2900. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.0c01851.
- 221 Ustun, C.; DeRemer, D. L.; Jillella, A. P.; Bhalla, K. N. Investigational drugs targeting FLT3 for leukemia. *Expert Opin. Investig. Drugs* **2009**, *18*, 1445–1456. DOI: 10.1517/13543780903179278.
- 222 Ambinder, A. J.; Levis, M. Potential targeting of FLT3 acute myeloid leukemia. *Haematologica* **2021**, *106*, 671–681. DOI: 10.3324/haematol.2019.240754.
- 223 Gallogly, M. M.; Lazarus, H. M. Midostaurin: an emerging treatment for acute myeloid leukemia patients. *J. Blood Med.* **2016**, *7*, 73–83. DOI: 10.2147/JBM.S100283.
- 224 Stone, R. M.; Mandrekar, S. J.; Sanford, B. L.; Laumann, K.; Geyer, S.; Bloomfield, C. D.; Thiede, C.; Prior, T. W.; Döhner, K.; Marcucci, G.; Lo-Coco, F.; Klisovic, R. B.; Wei, A.; Sierra, J.; Sanz, M. A.; Brandwein, J. M.; Witte, T. de; Niederwieser, D.; Appelbaum, F. R.; Medeiros, B. C.; Tallman, M. S.; Krauter, J.; Schlenk, R. F.; Ganser, A.; Serve, H.; Ehninger, G.; Amadori, S.; Larson, R. A.;

- Döhner H. Midostaurin plus Chemotherapy for Acute Myeloid Leukemia with a FLT3 Mutation. *New England Journal of Medicine* **2017**, 377, 454–464. DOI: 10.22334/jbhost.v6i2.217.s47.
- 225 Knapper, S.; Burnett, A. K.; Littlewood, T.; Kell, W. J.; Agrawal, S.; Chopra, R.; Clark, R.; Levis, M. J.; Small, D. A phase 2 trial of the FLT3 inhibitor lestaurtinib (CEP701) as first-line treatment for older patients with acute myeloid leukemia not considered fit for intensive chemotherapy. *Blood* **2006**, 108, 3262–3270. DOI: 10.1182/blood-2006-04-015560.
- 226 Levis, M.; Ravandi, F.; Wang, E. S.; Baer, M. R.; Perl, A.; Coutre, S.; Erba, H.; Stuart, R. K.; Baccarani, M.; Cripe, L. D.; Tallman, M. S.; Meloni, G. S.; Godley, L. A.; Langston, A. A.; Amadori, S.; Lewis, I. D.; Nagler, A.; Stone, R.; Yee, K.; Advani, A.; Douer, D.; Wiktor-Jedrzejczak, W.; Juliusson, G.; Litzow, M. R.; Petersdorf, S. Results from a randomized trial of salvage chemotherapy followed by lestaurtinib for patients with FLT3 mutant AML in first relapse. *Blood* **2011**, 117, 3294–3301.
- 227 Knapper, S.; Russell, N.; Gilkes, A.; Hills, R. K.; Gale, R. E.; Cavenagh, J. D.; Jones, G.; Kjeldsen, L.; Grunwald, M. R.; Thomas, I.; Konig, H.; Levis, M. J.; Burnett, A. K. A randomized assessment of adding the kinase inhibitor lestaurtinib to first-line chemotherapy for FLT3-mutated AML. *Blood* **2017**, 129, 1143–1154. DOI: 10.1182/blood-2016-07-730648.
- 228 Angelo, D. J. de; Stone, R. M.; Heaney, M. L.; Nimer, S. D.; Paquette, R.; Bruner-Klisovic, R.; Caligiuri, M. A.; Cooper, M. R.; LeCerf, J.-M.; Iyer, G.; Heinrich, M. C.; Druker, B. J. Phase II Evaluation of the Tyrosine Kinase Inhibitor MLN518 in Patients with Acute Myeloid Leukemia (AML) Bearing a FLT3 Internal Tandem Duplication (ITD) Mutation. *Blood* **2004**, 104, 1792. DOI: 10.1182/blood.V104.11.1792.1792.
- 229 Schittenhelm, M. M.; Kampa, K. M.; Yee, K. W. H.; Heinrich, M. C. The FLT3 inhibitor tandutinib (formerly MLN518) has sequence-independent synergistic effects with cytarabine and daunorubicin. *Cell Cycle* **2009**, 8, 2621–2630. DOI: 10.4161/cc.8.16.9355.
- 230 Leick, M. B.; Levis, M. J. The Future of Targeting FLT3 Activation in AML. *Curr. Hematol. Malign. Rep.* **2017**, 12, 153–167. DOI: 10.1007/s11899-017-0381-2.
- 231 Fiedler, W.; Serve, H.; Döhner, H.; Schwittay, M.; Ottmann, O. G.; O'Farrell, A.-M.; Bello, C. L.; Allred, R.; Manning, W. C.; Cherrington, J. M.; Louie, S. G.; Hong, W.; Brega, N. M.; Massimini, G.; Scigalla, P.; Berdel, W. E.; Hossfeld, D. K. A phase 1 study of SU11248 in the treatment of patients with refractory or resistant acute myeloid leukemia (AML) or not amenable to conventional therapy for the disease. *Blood* **2005**, 105, 986–993. DOI: 10.1182/blood-2004-05-1846.

- 232 FDA. FDA Approves New Treatment for Gastrointestinal and Kidney Cancer.
<https://web.archive.org/web/20060203031129/http://www.fda.gov/bbs/topics/news/2006/NEW01302.html>.
- 233 Metzelder, S.; Scholl, S.; Matthias, K.; Reiter, A.; Meyer, R. G.; Heinicke, T.; Giagounidis, A.; Wolfgang, B.; Vöhringer, M.; Stadler, M.; Schultheis, B.; Müller, L.; Hänel, M.; Hochhaus, A.; Enghofer, E.; Neubauer, A.; Burchert, A. Compassionate Use of Sorafenib in Relapsed and Refractory Flt3-ITD Positive Acute Myeloid Leukemia. *Blood* **2009**, *114*, 2060. DOI: 10.1182/blood.V114.22.2060.2060.
- 234 Kumar, R.; Crouthamel, M.-C.; Rominger, D. H.; Gontarek, R. R.; Tummino, P. J.; Levin, R. A.; King, A. G. Myelosuppression and kinase selectivity of multikinase angiogenesis inhibitors. *British Journal of Cancer* **2009**, *101*, 1717–1723. DOI: 10.1038/sj.bjc.6605366.
- 235 Wilhelm, S. M.; Adnane, L.; Newell, P.; Villanueva, A.; Llovet, J. M.; Lynch, M. Preclinical overview of sorafenib, a multikinase inhibitor that targets both Raf and VEGF and PDGF receptor tyrosine kinase signaling. *Mol. Cancer Ther.* **2008**, *7*, 3129–3140. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-08-0013.
- 236 Cortes, J.; Foran, J.; Ghirdaladze, D.; DeVetten, M. P.; Zodelava, M.; Holman, P.; Levis, M. J.; Kantarjian, H. M.; Borthakur, G.; James, J.; Zarrinkar, P. P.; Gunawardane, R. N.; Armstrong, R. C.; Padre, N. M.; Wierenga, W.; Corringham, R.; Trikha, M. AC220, a Potent, Selective, Second Generation FLT3 Receptor Tyrosine Kinase (RTK) Inhibitor, in a First-in-Human (FIH) Phase 1 AML Study. *Blood* **2009**, *114*, 636. DOI: 10.1182/blood.V114.22.636.636.
- 237 Galanis, A.; Ma, H.; Rajkhowa, T.; Ramachandran, A.; Small, D.; Cortes, J.; Levis, M. Crenolanib is a potent inhibitor of FLT3 with activity against resistance-conferring point mutants. *Blood* **2014**, *123*, 94–100. DOI: 10.1182/blood-2013-10-529313.
- 238 Zimmerman, E. I.; Turner, D. C.; Buaboonnam, J.; Hu, S.; Orwick, S.; Roberts, M. S.; Janke, L. J.; Ramachandran, A.; Stewart, C. F.; Inaba, H.; Baker, S. D. Crenolanib is active against models of drug-resistant FLT3-ITD-positive acute myeloid leukemia. *Blood* **2013**, *122*, 3607–3615. DOI: 10.1182/blood-2013-07-513044.
- 239 Smith, C. C.; Lasater, E. A.; Lin, K. C.; Wang, Q.; McCreery, M. Q.; Stewart, W. K.; Damon, L. E.; Perl, A. E.; Jeschke, G. R.; Sugita, M.; Carroll, M.; Kogan, S. C.; Kuriyan, J.; Shah, N. P. Crenolanib is a selective type I pan-FLT3 inhibitor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2014**, *111*, 5319–5324. DOI: 10.1073/pnas.1320661111.
- 240 Perl, A. E.; Altman, J. K.; Cortes, J.; Smith, C.; Litzow, M.; Baer, M. R.; Claxton, D.; Erba, H. P.; Gill, S.; Goldberg, S.; Jurcic, J. G.; Larson, R. A.; Liu, C.; Ritchie, E.; Schiller, G.; Spira, A. I.; Strickland, S.

- A.; Tibes, R.; Ustun, C.; Wang, E. S.; Stuart, R.; Röhlig, C.; Neubauer, A.; Martinelli, G.; Bahceci, E.; Levis, M. Selective inhibition of FLT3 by gilteritinib in relapsed or refractory acute myeloid leukaemia: a multicentre, first-in-human, open-label, phase 1–2 study. *The Lancet Oncology* **2017**, *18*, 1061–1075. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30416-3.
- 241 Lee, L. Y.; Hernandez, D.; Rajkhowa, T.; Smith, S. C.; Raman, J. R.; Nguyen, B.; Small, D.; Levis, M. Preclinical studies of gilteritinib, a next-generation FLT3 inhibitor. *Blood* **2017**, *129*, 257–260. DOI: 10.1182/blood-2016-10-745133.
- 242 Cortes, J. E.; Khaled, S.; Martinelli, G.; Perl, A. E.; Ganguly, S.; Russell, N.; Krämer, A.; Dombret, H.; Hogge, D.; Jonas, B. A.; Leung, A. Y.-H.; Mehta, P.; Montesinos, P.; Radsak, M.; Sica, S.; Arunachalam, M.; Holmes, M.; Kobayashi, K.; Namuyinga, R.; Ge, N.; Yver, A.; Zhang, Y.; Levis, M. J. Quizartinib versus salvage chemotherapy in relapsed or refractory FLT3-ITD acute myeloid leukaemia (QuANTUM-R): a multicentre, randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *The Lancet Oncology* **2019**, *20*, 984–997. DOI: 10.1016/S1470-2045(19)30150-0.
- 243 Altman, J. K.; Foran, J. M.; Pratz, K. W.; Trone, D.; Cortes, J. E.; Tallman, M. S. Phase 1 study of quizartinib in combination with induction and consolidation chemotherapy in patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia. *Am. J. Hematol.* **2018**, *93*, 213–221. DOI: 10.1002/ajh.24974.
- 244 Swaminathan, M.; Kantarjian, H. M.; Levis, M.; Guerra, V.; Borthakur, G.; Alvarado, Y.; DiNardo, C. D.; Kadia, T.; Garcia-Manero, G.; Ohanian, M.; Daver, N.; Konopleva, M.; Pemmaraju, N.; Ferrajoli, A.; Andreeff, M.; Jain, N.; Estrov, Z.; Jabbour, E. J.; Wierda, W. G.; Pierce, S.; Pinsoy, M. R.; Xiao, L.; Ravandi, F.; Cortes, J. E. A phase I/II study of the combination of quizartinib with azacitidine or low-dose cytarabine for the treatment of patients with acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *Haematologica* **2021**, *106*, 2121–2130. DOI: 10.3324/haematol.2020.263392.
- 245 Zhao, Z.; Wu, H.; Wang, L.; Liu, Y.; Knapp, S.; Liu, Q.; Gray, N. S. Exploration of type II binding mode: A privileged approach for kinase inhibitor focused drug discovery? *ACS Chem. Biol.* **2014**, *9*, 1230–1241. DOI: 10.1021/cb500129t.
- 246 Angiolini, M. Targeting the DFG-in kinase conformation: a new trend emerging from a patent analysis. *Future Med. Chem.* **2011**, *3*, 309–337. DOI: 10.4155/fmc.10.294.
- 247 Ke, Y.-Y.; Singh, V. K.; Coumar, M. S.; Hsu, Y. C.; Wang, W.-C.; Song, J.-S.; Chen, C.-H.; Lin, W.-H.; Wu, S.-H.; Hsu, J. T. A.; Shih, C.; Hsieh, H.-P. Homology modeling of DFG-in FMS-like tyrosine kinase 3 (FLT3) and structure-based virtual screening for inhibitor identification. *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 11702. DOI: 10.1038/srep11702.

- 248 Liu, Y.; Gray, N. S. Rational design of inhibitors that bind to inactive kinase conformations. *Nat. Chem. Biol.* **2006**, *2*, 358–364. DOI: 10.1038/nchembio799.
- 249 Zorn, J. A.; Wang, Q.; Fujimura, E.; Barros, T.; Kuriyan, J. *Crystal structure of the FLT3 kinase domain bound to the inhibitor quizartinib (AC220)*, 2015.
- 250 Smith, C. C.; Paguirigan, A.; Jeschke, G. R.; Lin, K. C.; Massi, E.; Tarver, T.; Chin, C.-S.; Asthana, S.; Olshen, A.; Travers, K. J.; Wang, S.; Levis, M. J.; Perl, A. E.; Radich, J. P.; Shah, N. P. Heterogeneous resistance to quizartinib in acute myeloid leukemia revealed by single-cell analysis. *Blood* **2017**, *130*, 48–58. DOI: 10.1182/blood-2016-04-711820.
- 251 Cools, J.; Mentens, N.; Furet, P. Prediction of Resistance to Small Molecule FLT3 Inhibitors: Implications for Molecularly Targeted Therapy of Acute Leukemia. *Cancer Research* **2004**, *64*, 6385–6389.
- 252 Smith, C. C.; Wang, Q.; Chin, C.-S.; Salerno, S.; Damon, L. E.; Levis, M. J.; Perl, A. E.; Travers, K. J.; Wang, S.; Hunt, J. P.; Zarrinkar, P. P.; Schadt, E. E.; Kasarskis, A.; Kuriyan, J.; Shah, N. P. Validation of ITD mutations in FLT3 as a therapeutic target in human acute myeloid leukaemia. *Nature* **2012**, *485*, 260–263.
- 253 Pratz, K. W.; Levis, M. J. Bench to bedside targeting of FLT3 in acute leukemia. *Curr. Drug Targets* **2010**, *11*, 781–789. DOI: 10.2174/138945010791320782.
- 254 Hogan, F. L.; Williams, V.; Knapper, S. FLT3 Inhibition in Acute Myeloid Leukaemia - Current Knowledge and Future Prospects. *Curr. Cancer Drug Targets* **2020**, *20*, 513–531. DOI: 10.2174/1570163817666200518075820.
- 255 Liu Yin, J. A.; Wheatley, K.; Rees, J. K.; Burnett, A. K. Comparison of 'sequential' versus 'standard' chemotherapy as re-induction treatment, with or without cyclosporine, in refractory/relapsed acute myeloid leukaemia (AML): results of the UK Medical Research Council AML-R trial. *Br. J. Haematol.* **2001**, *113*, 713–726. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2001.02785.x.
- 256 Williams, A. B.; Nguyen, B.; Li, L.; Brown, P.; Levis, M.; Leahy, D.; Small, D. Mutations of FLT3/ITD confer resistance to multiple tyrosine kinase inhibitors. *Leukemia* **2013**, *27*, 48–55. DOI: 10.1038/leu.2012.191.
- 257 Alvarado, Y.; Kantarjian, H.; Luthra, R.; Ravandi, F.; Borthakur, G.; Garcia-Manero, G.; Konopleva, M.; Estrov, Z.; Andreeff, M.; Cortes, J. Treatment with FLT3 Inhibitor in patients with FLT3-mutated AML is associated with development of secondary FLT3-TKD mutations. *Cancer* **2014**, *120*, 2142–2149.

- 258 Smith, C. C.; Lin, K.; Stecula, A.; Sali, A.; Shah, N. P. FLT3 D835 mutations confer differential resistance to type II FLT3 inhibitors. *Leukemia* **2015**, *29*, 2390–2392. DOI: 10.1038/leu.2015.165.
- 259 Smith, C. C.; Zhang, C.; Lin, K. C.; Lasater, E. A.; Zhang, Y.; Massi, E.; Damon, L. E.; Pendleton, M.; Bashir, A.; Sebra, R.; Perl, A.; Kasarskis, A.; Shellooe, R.; Tsang, G.; Carias, H.; Powell, B.; Burton, E. A.; Matusow, B.; Zhang, J.; Spevak, W.; Ibrahim, P. N.; Le, M. H.; Hsu, H. H.; Habets, G.; West, B. L.; Bollag, G.; Shah, N. P. Characterizing and Overriding the Structural Mechanism of the Quizartinib-Resistant FLT3 "Gatekeeper" F691L Mutation with PLX3397. *Cancer Discov.* **2015**, *5*, 668–679. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-15-0060.
- 260 Heidel, F.; Solem, F. K.; Breitenbuecher, F.; Lipka, D. B.; Kasper, S.; Thiede, M. H.; Brandts, C.; Serve, H.; Roesel, J.; Giles, F.; Feldman, E.; Ehninger, G.; Schiller, G. J.; Nimer, S.; Stone, R. M.; Wang, Y.; Kindler, T.; Cohen, P. S.; Huber, C.; Fischer, T. Clinical resistance to the kinase inhibitor PKC412 in acute myeloid leukemia by mutation of Asn-676 in the FLT3 tyrosine kinase domain. *Blood* **2006**, *107*, 293–300. DOI: 10.1182/blood-2005-06-2469.
- 261 Opatz, S.; Polzer, H.; Herold, T.; Konstandin, N. P.; Ksienzyk, B.; Zellmeier, E.; Vosberg, S.; Graf, A.; Krebs, S.; Blum, H.; Hopfner, K.-P.; Kakadia, P. M.; Schneider, S.; Dufour, A.; Braess, J.; Sauerland, M. C.; Berdel, W. E.; Büchner, T.; Woermann, B. J.; Hiddemann, W.; Spiekermann, K.; Bohlander, S. K.; Greif, P. A. Exome sequencing identifies recurring FLT3 N676K mutations in core-binding factor leukemia. *Blood* **2013**, *122*, 1761–1769. DOI: 10.1182/blood-2013-01-476473.
- 262 Smith, C. C.; Lin, K.; Stecula, A.; Sali, A.; Shah, N. P. FLT3 D835 mutations confer differential resistance to type II FLT3 inhibitors. *Leukemia* **2015**, *29*, 2390–2392. DOI: 10.1038/leu.2015.165.
- 263 Nelson, E. A.; Walker, S. R.; Xiang, M.; Weisberg, E.; Bar-Natan, M.; Barrett, R.; Liu, S.; Kharbanda, S.; Christie, A. L.; Nicolais, M.; Griffin, J. D.; Stone, R. M.; Kung, A. L.; Frank, D. A. The STAT5 Inhibitor Pimozide Displays Efficacy in Models of Acute Myelogenous Leukemia Driven by FLT3 Mutations. *Genes Cancer* **2012**, *3*, 503–511. DOI: 10.1177/1947601912466555.
- 264 Lindblad, O.; Cordero, E.; Puissant, A.; Macaulay, L.; Kabir, N. N.; Sun, J.; Haraldsson, K.; Borg, Å.; Levander, F.; Stegmaier, K.; Pietras, K.; Ronnstrand, L.; Kazi, J. U. Aberrant Activation of the PI3K/mTOR Pathway Promotes Resistance to Sorafenib in AML. *Blood* **2015**, *126*, 2472. DOI: 10.1182/blood.V126.23.2472.2472.
- 265 Piloto, O.; Wright, M.; Brown, P.; Kim, K.-T.; Levis, M.; Small, D. Prolonged exposure to FLT3 inhibitors leads to resistance via activation of parallel signaling pathways. *Blood* **2007**, *109*, 1643–1652. DOI: 10.1182/blood-2006-05-023804.

- 266 Sato, T.; Yang, X.; Knapper, S.; White, P.; Smith, B. D.; Galkin, S.; Small, D.; Burnett, A.; Levis, M. FLT3 ligand impedes the efficacy of FLT3 inhibitors in vitro and in vivo. *Blood* **2011**, *117*, 3286–3293.
- 267 Puissant, A.; Fenouille, N.; Alexe, G.; Pikman, Y.; Bassil, C. F.; Mehta, S.; Du, J.; Kazi, J. U.; Luciano, F.; Rönstrand, L.; Kung, A. L.; Aster, J. C.; Galinsky, I.; Stone, R. M.; DeAngelo, D. J.; Hemann, M. T.; Stegmaier, K. SYK is a critical regulator of FLT3 in acute myeloid leukemia. *Cancer Cell* **2014**, *25*, 226–242. DOI: 10.1016/j.ccr.2014.01.022.
- 268 Park, I.-K.; Mundy-Bosse, B.; Whitman, S. P.; Zhang, X.; Warner, S. L.; Bearss, D. J.; Blum, W.; Marcucci, G.; Caligiuri, M. A. Receptor tyrosine kinase Axl is required for resistance of leukemic cells to FLT3-targeted therapy in acute myeloid leukemia. *Leukemia* **2015**, *29*, 2382–2389. DOI: 10.1038/leu.2015.147.
- 269 Natarajan, K.; Xie, Y.; Burcu, M.; Linn, D. E.; Qiu, Y.; Baer, M. R. Pim-1 kinase phosphorylates and stabilizes 130 kDa FLT3 and promotes aberrant STAT5 signaling in acute myeloid leukemia with FLT3 internal tandem duplication. *PLoS One* **2013**, *8*, e74653. DOI: 10.1371/journal.pone.0074653.
- 270 Green, A. S.; Maciel, T. T.; Hospital, M.-A.; Yin, C.; Mazed, F.; Townsend, E. C.; Pilorge, S.; Lambert, M.; Paubelle, E.; Jacquiel, A.; Zylbersztejn, F.; Decroocq, J.; Poulain, L.; Sujobert, P.; Jacque, N.; Adam, K.; So, J. C. C.; Kosmider, O.; Auberger, P.; Hermine, O.; Weinstock, D. M.; Lacombe, C.; Mayeux, P.; Vanasse, G. J.; Leung, A. Y.; Moura, I. C.; Bouscary, D.; Tamburini, J. Pim kinases modulate resistance to FLT3 tyrosine kinase inhibitors in FLT3-ITD acute myeloid leukemia. *Sci. Adv.* **2015**, *1*, e1500221. DOI: 10.1126/sciadv.1500221.
- 271 Mahboobi, S.; Dove, S.; Sellmer, A.; Winkler, M.; Eichhorn, E.; Pongratz, H.; Ciossek, T.; Baer, T.; Maier, T.; Beckers, T. Design of chimeric histone deacetylase- and tyrosine kinase-inhibitors: a series of imatinib hybrides as potent inhibitors of wild-type and mutant BCR-ABL, PDGF-Rbeta, and histone deacetylases. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 2265–2279. DOI: 10.1021/jm800988r.
- 272 Pietschmann, K.; Bolck, H. A.; Buchwald, M.; Spielberg, S.; Polzer, H.; Spiekermann, K.; Bug, G.; Heinzl, T.; Böhmer, F.-D.; Krämer, O. H. Breakdown of the FLT3-ITD/STAT5 axis and synergistic apoptosis induction by the histone deacetylase inhibitor panobinostat and FLT3-specific inhibitors. *Mol. Cancer Ther.* **2012**, *11*, 2373–2383. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-12-0129.
- 273 Chang, E.; Ganguly, S.; Rajkhowa, T.; Gocke, C. D.; Levis, M.; Konig, H. The combination of FLT3 and DNA methyltransferase inhibition is synergistically cytotoxic to FLT3/ITD acute myeloid leukemia cells. *Leukemia* **2016**, *30*, 1025–1032. DOI: 10.1038/leu.2015.346.

- 274 Ravandi, F.; Alattar, M. L.; Grunwald, M. R.; Rudek, M. A.; Rajkhowa, T.; Richie, M. A.; Pierce, S.; Daver, N.; Garcia-Manero, G.; Faderl, S.; Nazha, A.; Konopleva, M.; Borthakur, G.; Burger, J.; Kadia, T.; Deltasala, S.; Andreeff, M.; Cortes, J.; Kantarjian, H.; Levis, M. Phase 2 study of azacytidine plus sorafenib in patients with acute myeloid leukemia and FLT-3 internal tandem duplication mutation. *Blood* **2013**, *121*, 4655–4662. DOI: 10.1182/blood-2013-01-480228.
- 275 Liu, Q.; Sabnis, Y.; Zhao, Z.; Zhang, T.; Buhrlage, S. J.; Jones, L. H.; Gray, N. S. Developing irreversible inhibitors of the protein kinase cysteinome. *Chem. Biol.* **2013**, *20*, 146–159. DOI: 10.1016/j.chembiol.2012.12.006.
- 276 Lonsdale, R.; Ward, R. A. Structure-based design of targeted covalent inhibitors. *Chem. Soc. Rev.* **2018**, *47*, 3816–3830. DOI: 10.1039/c7cs00220c.
- 277 Bauer, R. A. Covalent inhibitors in drug discovery: from accidental discoveries to avoided liabilities and designed therapies. *Drug Discov. Today* **2015**, *20*, 1061–1073. DOI: 10.1016/j.drudis.2015.05.005.
- 278 Bhullar, K. S.; Lagarón, N. O.; McGowan, E. M.; Parmar, I.; Jha, A.; Hubbard, B. P.; Rupasinghe, H. P. V. Kinase-targeted cancer therapies: progress, challenges and future directions. *Mol. Cancer* **2018**, *17*, 48. DOI: 10.1186/s12943-018-0804-2.
- 279 Chaikuad, A.; Koch, P.; Laufer, S. A.; Knapp, S. The Cysteinome of Protein Kinases as a Target in Drug Development. *Angewandte Chemie International Edition* **2018**, *57*, 4372–4385.
- 280 Schirmer, A.; Kennedy, J.; Murli, S.; Reid, R.; Santi, D. V. Targeted covalent inactivation of protein kinases by resorcylic acid lactone polyketides. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2006**, *103*, 4234–4239. DOI: 10.1073/pnas.0600445103.
- 281 Parmar, S.; Patel, K.; Pinilla-Ibarz, J. Ibrutinib (Imbruvica): A Novel Targeted Therapy for Chronic Lymphocytic Leukemia. *P. T.* **2014**, *39*, 483–519.
- 282 Chan, A. Neratinib in HER-2-positive breast cancer: results to date and clinical usefulness. *Ther. Adv. Med. Oncol.* **2016**, *8*, 339–350. DOI: 10.1177/1758834016656494.
- 283 Deeks, E. D. Neratinib: First Global Approval. *Drugs* **2017**, *77*, 1695–1704. DOI: 10.1007/s40265-017-0811-4.
- 284 Hirsh, V. Afatinib (BIBW 2992) development in non-small-cell lung cancer. *Future Oncol.* **2011**, *7*, 817–825. DOI: 10.2217/fon.11.62.
- 285 Lee, C. K.; Brown, C.; Gralla, R. J.; Hirsh, V.; Thongprasert, S.; Tsai, C.-M.; Tan, E. H.; Ho, J. C.-M.; Da Chu, T.; Zaatar, A.; Osorio Sanchez, J. A.; van Vu, V.; Au, J. S. K.; Inoue, A.; Lee, S. M.; Gebiski, V.; Yang, J. C.-H. Impact of EGFR inhibitor in non-small cell lung cancer on progression-free and

- overall survival: a meta-analysis. *J. Natl. Cancer Inst.* **2013**, *105*, 595–605. DOI: 10.1093/jnci/djt072.
- 286 Chen, X.; Zhu, Q.; Zhu, L.; Pei, D.; Liu, Y.; Yin, Y.; Schuler, M.; Shu, Y. Clinical perspective of afatinib in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* **2013**, *81*, 155–161. DOI: 10.1016/j.lungcan.2013.02.021.
- 287 Ayeni, D.; Politi, K.; Goldberg, S. B. Emerging Agents and New Mutations in EGFR-Mutant Lung Cancer. *Clin. Cancer Res.* **2015**, *21*, 3818–3820. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-1211.
- 288 Tan, C.-S.; Gilligan, D.; Pacey, S. Treatment approaches for EGFR-inhibitor-resistant patients with non-small-cell lung cancer. *The Lancet Oncology* **2015**, *16*, e447–e459. DOI: 10.1016/S1470-2045(15)00246-6.
- 289 Bondeson, D. P.; Mares, A.; Smith, I. E. D.; Ko, E.; Campos, S.; Miah, A. H.; Mulholland, K. E.; Routly, N.; Buckley, D. L.; Gustafson, J. L.; Zinn, N.; Grandi, P.; Shimamura, S.; Bergamini, G.; Faeth-Savitski, M.; Bantscheff, M.; Cox, C.; Gordon, D. A.; Willard, R. R.; Flanagan, J. J.; Casillas, L. N.; Votta, B. J.; Besten, W. den; Famm, K.; Kruidenier, L.; Carter, P. S.; Harling, J. D.; Churcher, I.; Crews, C. M. Catalytic in vivo protein knockdown by small-molecule PROTACs. *Nat. Chem. Biol.* **2015**, *11*, 611–617. DOI: 10.1038/nchembio.1858.
- 290 Preisler-Mashek, M. T.; Solodin, N.; Stark, B. L.; Tyrivier, M. K.; Alarid, E. T. Ligand-specific regulation of proteasome-mediated proteolysis of estrogen receptor- α . *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2002**, *282*, E891–8. DOI: 10.1152/ajpendo.00353.2001.
- 291 Levenson, J. D.; Zhang, H.; Chen, J.; Tahir, S. K.; Phillips, D. C.; Xue, J.; Nimmer, P.; Jin, S.; Smith, M.; Xiao, Y.; Kovar, P.; Tanaka, A.; Bruncko, M.; Sheppard, G. S.; Wang, L.; Gierke, S.; Kategaya, L.; Anderson, D. J.; Wong, C.; Eastham-Anderson, J.; Ludlam, M. J. C.; Sampath, D.; Fairbrother, W. J.; Wertz, I.; Rosenberg, S. H.; Tse, C.; Elmore, S. W.; Souers, A. J. Potent and selective small-molecule MCL-1 inhibitors demonstrate on-target cancer cell killing activity as single agents and in combination with ABT-263 (navitoclax). *Cell Death Dis.* **2015**, *6*, e1590. DOI: 10.1038/cddis.2014.561.
- 292 Lu, J.; Qian, Y.; Altieri, M.; Dong, H.; Wang, J.; Raina, K.; Hines, J.; Winkler, J. D.; Crew, A. P.; Coleman, K.; Crews, C. M. Hijacking the E3 Ubiquitin Ligase Cereblon to Efficiently Target BRD4. *Chem. Biol.* **2015**, *22*, 755–763. DOI: 10.1016/j.chembiol.2015.05.009.
- 293 Feltham, R.; Bettjeman, B.; Budhidarmo, R.; Mace, P. D.; Shirley, S.; Condon, S. M.; Chunduru, S. K.; McKinlay, M. A.; Vaux, D. L.; Silke, J.; Day, C. L. Smac mimetics activate the E3 ligase activity of cIAP1 protein by promoting RING domain dimerization. *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 17015–17028. DOI: 10.1074/jbc.M111.222919.

- 294 Gustafson, J. L.; Neklesa, T. K.; Cox, C. S.; Roth, A. G.; Buckley, D. L.; Tae, H. S.; Sundberg, T. B.; Stagg, D. B.; Hines, J.; McDonnell, D. P.; Norris, J. D.; Crews, C. M. Small-Molecule-Mediated Degradation of the Androgen Receptor through Hydrophobic Tagging. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2015**, *54*, 9659–9662. DOI: 10.1002/anie.201503720.
- 295 Deshaies, R. J. Protein degradation: Prime time for PROTACs. *Nat. Chem. Biol.* **2015**, *11*, 634–635. DOI: 10.1038/nchembio.1887.
- 296 Tan, L.; Gray, N. S. When Kinases Meet PROTACs. *Chin. J. Chem.* **2018**, *36*, 971–977. DOI: 10.1002/cjoc.201800293.
- 297 Pettersson, M.; Crews, C. M. PROteolysis Targeting Chimeras (PROTACs) - Past, present and future. *Drug Discov. Today Technol.* **2019**, *31*, 15–27. DOI: 10.1016/j.ddtec.2019.01.002.
- 298 Coleman, K. G.; Crews, C. M. Proteolysis-Targeting Chimeras: Harnessing the Ubiquitin-Proteasome System to Induce Degradation of Specific Target Proteins. *Annu. Rev. Cancer Biol.* **2018**, *2*, 41–58. DOI: 10.1146/ANNUREV-CANCERBIO-030617-050430.
- 299 Buckley, D. L.; Raina, K.; Darricarrere, N.; Hines, J.; Gustafson, J. L.; Smith, I. E.; Miah, A. H.; Harling, J. D.; Crews, C. M. HaloPROTACs: Use of Small Molecule PROTACs to Induce Degradation of HaloTag Fusion Proteins. *ACS Chem. Biol.* **2015**, *10*, 1831–1837. DOI: 10.1021/acscchembio.5b00442.
- 300 Vollmer, S.; Cunoosamy, D.; Lv, H.; Feng, H.; Li, X.; Nan, Z.; Yang, W.; Perry, M. W. D. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of MEK PROTACs. *J. Med. Chem.* **2020**, *63*, 157–162. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.9b00810.
- 301 Bondeson, D. P.; Smith, B. E.; Burslem, G. M.; Buhimschi, A. D.; Hines, J.; Jaime-Figueroa, S.; Wang, J.; Hamman, B. D.; Ishchenko, A.; Crews, C. M. Lessons in PROTAC Design from Selective Degradation with a Promiscuous Warhead. *Cell Chem. Biol.* **2018**, *25*, 78–87.e5. DOI: 10.1016/j.chembiol.2017.09.010.
- 302 Sakamoto, K. M.; Kim, K. B.; Kumagai, A.; Mercurio, F.; Crews, C. M.; Deshaies, R. J. Protacs: chimeric molecules that target proteins to the Skp1-Cullin-F box complex for ubiquitination and degradation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2001**, *98*, 8554–8559. DOI: 10.1073/pnas.141230798.
- 303 Toure, M.; Crews, C. M. Small-Molecule PROTACs: New Approaches to Protein Degradation. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2016**, *55*, 1966–1973. DOI: 10.1002/anie.201507978.
- 304 Yin, L.; Hu, Q. Chimera induced protein degradation: PROTACs and beyond. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *206*, 112494. DOI: 10.1016/j.ejmech.2020.112494.

- 305 Zhou, X.; Dong, R.; Zhang, J.-Y.; Zheng, X.; Sun, L.-P. PROTAC: A promising technology for cancer treatment. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *203*, 112539. DOI: 10.1016/j.ejmech.2020.112539.
- 306 Martín-Acosta, P.; Xiao, X. PROTACs to address the challenges facing small molecule inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, *210*, 112993. DOI: 10.1016/j.ejmech.2020.112993.
- 307 Zeng, S.; Huang, W.; Zheng, X.; Liyan, C.; Zhang, Z.; Wang, J.; Shen, Z. Proteolysis targeting chimera (PROTAC) in drug discovery paradigm: Recent progress and future challenges. *Eur. J. Med. Chem.* **2021**, *210*, 112981. DOI: 10.1016/j.ejmech.2020.112981.
- 308 Corson, T. W.; Aberle, N.; Crews, C. M. Design and Applications of Bifunctional Small Molecules: Why Two Heads Are Better Than One. *ACS Chem. Biol.* **2008**, *3*, 677–692. DOI: 10.1021/cb8001792.
- 309 Sun, X.; Gao, H.; Yang, Y.; He, M.; Wu, Y.; Song, Y.; Tong, Y.; Rao, Y. PROTACs: great opportunities for academia and industry. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2019**, *4*, 64. DOI: 10.1038/s41392-019-0101-6.
- 310 Garber, K. The PROTAC gold rush. *Nat. Biotechnol.* **2022**, *40*, 12–16. DOI: 10.1038/s41587-021-01173-2.
- 311 Neklesa, T. K.; Winkler, J. D.; Crews, C. M. Targeted protein degradation by PROTACs. *Pharmacol. Ther.* **2017**, *174*, 138–144. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2017.02.027.
- 312 Guo, J.; Liu, J.; Wei, W. Degrading proteins in animals: "PROTAC"tion goes in vivo. *Cell Res.* **2019**, *29*, 179–180. DOI: 10.1038/s41422-019-0144-9.
- 313 Schapira, M.; Calabrese, M. F.; Bullock, A. N.; Crews, C. M. Targeted protein degradation: expanding the toolbox. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2019**, *18*, 949–963. DOI: 10.1038/s41573-019-0047-y.
- 314 Adjei, A. A. What is the right dose? The elusive optimal biologic dose in phase I clinical trials. *JCO* **2006**, *24*, 4054–4055. DOI: 10.1200/JCO.2006.07.4658.
- 315 Olson, C. M.; Jiang, B.; Erb, M. A.; Liang, Y.; Doctor, Z. M.; Zhang, Z.; Zhang, T.; Kwiatkowski, N.; Boukhali, M.; Green, J. L.; Haas, W.; Nomanbhoy, T.; Fischer, E. S.; Young, R. A.; Bradner, J. E.; Winter, G. E.; Gray, N. S. Pharmacological perturbation of CDK9 using selective CDK9 inhibition or degradation. *Nat. Chem. Biol.* **2018**, *14*, 163–170. DOI: 10.1038/nchembio.2538.
- 316 Buckley, D. L.; Gustafson, J. L.; van Molle, I.; Roth, A. G.; Tae, H. S.; Gareiss, P. C.; Jorgensen, W. L.; Ciulli, A.; Crews, C. M. Small-molecule inhibitors of the interaction between the E3 ligase VHL and HIF1 α . *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2012**, *51*, 11463–11467. DOI: 10.1002/anie.201206231.

- 317 Buckley, D. L.; van Molle, I.; Gareiss, P. C.; Tae, H. S.; Michel, J.; Noblin, D. J.; Jorgensen, W. L.; Ciulli, A.; Crews, C. M. Targeting the von Hippel-Lindau E3 ubiquitin ligase using small molecules to disrupt the VHL/HIF-1 α interaction. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 4465–4468. DOI: 10.1021/ja209924v.
- 318 Winter, G. E.; Buckley, D. L.; Paulk, J.; Roberts, J. M.; Souza, A.; Dhe-Paganon, S.; Bradner, J. E. Phthalimide conjugation as a strategy for in vivo target protein degradation. *Science* **2015**, *348*, 1376–1381.
- 319 Girardini, M.; Maniaci, C.; Hughes, S. J.; Testa, A.; Ciulli, A. Cereblon versus VHL: Hijacking E3 ligases against each other using PROTACs. *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, *27*, 2466–2479. DOI: 10.1016/j.bmc.2019.02.048.
- 320 Huang, H.-T.; Dobrovolsky, D.; Paulk, J.; Yang, G.; Weisberg, E. L.; Doctor, Z. M.; Buckley, D. L.; Cho, J.-H.; Ko, E.; Jang, J.; Shi, K.; Choi, H. G.; Griffin, J. D.; Li, Y.; Treon, S. P.; Fischer, E. S.; Bradner, J. E.; Tan, L.; Gray, N. S. A Chemoproteomic Approach to Query the Degradable Kinome Using a Multi-kinase Degradator. *Cell Chem. Biol.* **2018**, *25*, 88-99.e6. DOI: 10.1016/j.chembiol.2017.10.005.
- 321 Mahboobi, S.; Teller, S.; Pongratz, H.; Hufsky, H.; Sellmer, A.; Botzki, A.; Uecker, A.; Beckers, T.; Baasner, S.; Schächtele, C.; Überall, F.; Kassack, M. U.; Dove, S.; Böhmer, F.-D. Bis(1H-2-indolyl)methanones as a Novel Class of Inhibitors of the Platelet-Derived Growth Factor Receptor Kinase. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1002–1018.
- 322 Mahboobi, S.; Uecker, A.; Sellmer, A.; Cénac, C.; Höcher, H.; Pongratz, H.; Eichhorn, E.; Hufsky, H.; Trümpler, A.; Sicker, M.; Heidel, F.; Fischer, T.; Stocking, C.; Elz, S.; Böhmer, F.-D.; Dove, S. Novel bis(1H-indol-2-yl)methanones as potent inhibitors of FLT3 and platelet-derived growth factor receptor tyrosine kinase. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 3101–3115. DOI: 10.1021/jm058033i.
- 323 Streifinger, B. *Neue Indolderivate: Synthese und biologische Testung*: Regensburg, 2010.
- 324 Sellmer, A.; Pilsl, B.; Beyer, M.; Pongratz, H.; Wirth, L.; Elz, S.; Dove, S.; Henninger, S. J.; Spiekermann, K.; Polzer, H.; Klaeger, S.; Kuster, B.; Böhmer, F. D.; Fiebig, H.-H.; Krämer, O. H.; Mahboobi, S. A series of novel aryl-methanone derivatives as inhibitors of FMS-like tyrosine kinase 3 (FLT3) in FLT3-ITD-positive acute myeloid leukemia. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *193*, 112232. DOI: 10.1016/j.ejmech.2020.112232.
- 325 Pilsl, B. *Neue Indolderivate als FLT3-Inhibitoren und chimäre FLT3- und HDAC-Inhibitoren: Synthese und biologische Testung*: Regensburg, 2019.

- 326 Mahboobi, S.; Sellmer, A.; Pongratz, H.; Pils, B.; Krämer, O.; Kindler, T.; Beyer, M. Synthesis, Pharmacology and use of New and Selective FMS-like tyrosine kinase 3 (FLT3) FLT3 Inhibitors, 2019.
- 327 Beyer, M.; Henninger, S. J.; Haehnel, P. S.; Mustafa, A.-H. M.; Gurdal, E.; Schubert, B.; Christmann, M.; Sellmer, A.; Mahboobi, S.; Drube, S.; Sippl, W.; Kindler, T.; Krämer, O. H. Identification of a highly efficient dual type I/II FMS-like tyrosine kinase inhibitor that disrupts the growth of leukemic cells. *Cell Chem. Biol.* **2022**, *29*, 398-411.e4. DOI: 10.1016/j.chembiol.2021.10.011.
- 328 Matošević, A.; Bosak, A. Carbamate group as structural motif in drugs: a review of carbamate derivatives used as therapeutic agents. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* **2020**, *71*, 285–299. DOI: 10.2478/aiht-2020-71-3466.
- 329 Rollas, S.; Kucukguzel, S. G. Hydrazone, Amide, Carbamate, Macromolecular and Other Prodrugs of Doxorubicin. *The Open Drug Delivery Journal* **2008**, *2*, 77–85. DOI: 10.2174/1874126600802010077.
- 330 Jornada, D. H.; dos Santos F., Guilherme F.; Chiba, D. E.; Melo, T. R. F. de; dos Santos, J. L.; Chung, M. C. The Prodrug Approach: A Successful Tool for Improving Drug Solubility. *Molecules* **2015**, *21*, 42. DOI: 10.3390/molecules21010042.
- 331 Cadilla, R.; Larkin, A.; McDougald, D. L.; Randhawa, A. S.; Ray, J. A.; Stetson, K.; Stewart, E. L.; Turnbull, P. S.; Zhou, H. Preparation of indole derivatives as modulators of androgen receptor, 2007-09-13. Published Online: September 13, 2007.
- 332 Just, G.; Xin, Z.; Marsault, E.; Jin, Y.; Wang, J.; Manoharan, M. Method for preparing oligonucleotides with boranophosphate linkages, 1999-06-30. Published Online: June 30, 1999.
- 333 Pagano, N.; Maksimoska, J.; Bregman, H.; Williams, D. S.; Webster, R. D.; Xue, F.; Meggers, E. Ruthenium half-sandwich complexes as protein kinase inhibitors: derivatization of the pyridocarbazole pharmacophore ligand. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 1218–1227. DOI: 10.1039/b700433h.
- 334 Betebenner, D. A.; DeGoey, D. A.; Maring, C. J.; Krueger, A. C.; Iwasaki, N.; Rockway, T. W.; Cooper, C. S.; Anderson, D. D.; Donner, P. L.; Green, B. E.; Kempf, D. J.; Liu, D.; McDaniel, K. F.; Madigan, D. L.; Motter, C. E.; Pratt, J. K.; Shanley, J. P.; Tufano, M. D.; Wagner, R.; Zhang, R.; Molla, A.; Mo, H.; Pilot-Matias, T. J.; Masse, S. V. L.; Carrick, R. J.; He, W.; Lu, L.; Grampovnik, D. J. Preparation of naphthyridines and pyridopyrimidines as antiviral compounds for treatment of HCV infections, 20.12.2006. Published Online: December 20, 2006.

- 335 Smart, B. P.; Oslund, R. C.; Walsh, L. A.; Gelb, M. H. The first potent inhibitor of mammalian group X secreted phospholipase A2: elucidation of sites for enhanced binding. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 2858–2860. DOI: 10.1021/jm060136t.
- 336 Beck, H.; Li, V. M.-J.; Cancho Grande, Y.; Timmermann, A.; Brohm, D.; Joerissen, H.; Bogner, P.; Gerisch, M.; Lang, D. Preparation of heterobicyclically substituted 4-oxobutanoic acid derivatives and use thereof, 2015-06-08. Published Online: June 08, 2015.
- 337 Lawrence, M. R.; Miller M. M.; Seifert D. A.; Posy, S. L.; Wong, P. C.; Banville, J.; Ruediger E. H.; Deon, D. H.; Martel, A.; Tremblay, F.; Guy, J.; Lavallee, J.-F. Imidazothiadiazole derivatives as Protease activated receptor 4 (PAR4) inhibitors for treating Platelet aggregation, 26.04.2012. Published Online: April 26, 2012.
- 338 Diana, P.; Carbone, A.; Barraja, P.; Montalbano, A.; Parrino, B.; Lopergolo, A.; Pennati, M.; Zaffaroni, N.; Cirrincione, G. Synthesis and antitumor activity of 3-(2-phenyl-1,3-thiazol-4-yl)-1H-indoles and 3-(2-phenyl-1,3-thiazol-4-yl)-1H-7-azaindoles. *ChemMedChem* **2011**, *6*, 1300–1309. DOI: 10.1002/cmdc.201100078.
- 339 Clemo, N. G.; Gedge, D. R.; Pattenden, G. Synthesis of calythrone and related cyclopentene-1,3-diones via rearrangement of 4-ylidenebutenolides. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **1981**, 1448. DOI: 10.1039/p19810001448.
- 340 Che, Z.; Liu, S.; Tian, Y.; Hu, Z.; Chen, Y.; Chen, G. Design and Synthesis of Novel N-Arylsulfonyl-3-(2-yl-ethanone)-6-methylindole Derivatives as Inhibitors of HIV-1 Replication. *Pharmaceuticals* **2015**, *8*, 221–229. DOI: 10.3390/ph8020221.
- 341 Terent'ev, A. O.; Platonov, M. M.; Krylov, I. B.; Nikishin, G. I. Synthesis of 1,2,4,5,7,8-hexaoxonanes by iodine-catalyzed reactions of bis(1-hydroperoxycycloalkyl) peroxides with ketals. *Russ Chem Bull* **2009**, *58*, 335–338. DOI: 10.1007/s11172-010-0012-8.
- 342 Carrër, A.; Brinet, D.; Florent, J.-C.; Rousselle, P.; Bertounesque, E. Palladium-catalyzed direct arylation of polysubstituted benzofurans. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 1316–1327. DOI: 10.1021/jo202060k.
- 343 Mahboobi, S.; Pongratz, H.; Hufsky, H.; Hockemeyer, J.; Frieser, M.; Lyssenko, A.; Paper, D. H.; Bürgermeister, J.; Böhmer, F. D.; Fiebig, H. H.; Burger, A. M.; Baasner, S.; Beckers, T. Synthetic 2-aroylindole derivatives as a new class of potent tubulin-inhibitory, antimitotic agents. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4535–4553. DOI: 10.1021/jm010940.
- 344 Yang, J.-M.; Zhu, C.-Z.; Tang, X.-Y.; Shi, M. Rhodium(II)-Catalyzed Intramolecular Annulation of 1-Sulfonyl-1,2,3-Triazoles with Pyrrole and Indole Rings: Facile Synthesis of N-Bridgehead Azepine Skeletons. *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 5242–5246. DOI: 10.1002/ange.201400881.

- 345 Wang, Q.; Arnst, K. E.; Wang, Y.; Kumar, G.; Ma, D.; White, S. W.; Miller, D. D.; Li, W.; Li, W. Structure-Guided Design, Synthesis, and Biological Evaluation of (2-(1H-Indol-3-yl)-1H-imidazol-4-yl)(3,4,5-trimethoxyphenyl) Methanone (ABI-231) Analogues Targeting the Colchicine Binding Site in Tubulin. *J. Med. Chem.* **2019**, *62*, 6734–6750. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.9b00706.
- 346 Hotra, A.; Ragunathan, P.; Ng, P. S.; Seankongsuk, P.; Harikishore, A.; Sarathy, J. P.; Saw, W.-G.; Lakshmanan, U.; Sae-Lao, P.; Kalia, N. P.; Shin, J.; Kalyanasundaram, R.; Anbarasu, S.; Parthasarathy, K.; Pradeep, C. N.; Makhija, H.; Dröge, P.; Poulsen, A.; Tan, J. H. L.; Pethe, K.; Dick, T.; Bates, R. W.; Grüber, G. Discovery of a Novel Mycobacterial F-ATP Synthase Inhibitor and its Potency in Combination with Diarylquinolines. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2020**, *59*, 13295–13304. DOI: 10.1002/anie.202002546.
- 347 Rautio, J.; Kumpulainen, H.; Heimbach, T.; Oliyai, R.; Oh, D.; Järvinen, T.; Savolainen, J. Prodrugs: design and clinical applications. *Nature Reviews Drug Discovery* **2008**, *7*, 255–270.
- 348 Obach, R. S. Pharmacologically active drug metabolites: impact on drug discovery and pharmacotherapy. *Pharmacol. Rev.* **2013**, *65*, 578–640. DOI: 10.1124/pr.111.005439.
- 349 Zawilska, J. B.; Wojcieszak, J.; Olejniczak, A. B. Prodrugs: A challenge for the drug development. *Pharmacological Reports* **2013**, *65*, 1–14. DOI: 10.1016/S1734-1140(13)70959-9.
- 350 Agag, T.; Arza, C. R.; Maurer, F. H. J.; Ishida, H. Primary Amine-Functional Benzoxazine Monomers and Their Use for Amide-Containing Monomeric Benzoxazines. *Macromolecules* **2010**, *43*, 2748–2758. DOI: 10.1021/ma902556k.
- 351 Bernhard, Y.; Winckler, P.; Chassagnon, R.; Richard, P.; Gigot, É.; Perrier-Cornet, J.-M.; Decréau, R. A. Subphthalocyanines: addressing water-solubility, nano-encapsulation, and activation for optical imaging of B16 melanoma cells. *Chem. Commun. (Camb)* **2014**, *50*, 13975–13978. DOI: 10.1039/c4cc05503a.
- 352 Lambert, C.; Viehe, H. G. Esters and amides from aziridine 2-carboxylic acid salts. *Tetrahedron Letters* **1985**, *26*, 4439–4442. DOI: 10.1016/S0040-4039(00)88924-8.
- 353 Kuramochi, T.; Kakefuda, A.; Yamada, H.; Sato, I.; Taguchi, T.; Sakamoto, S. Synthesis and structure-activity relationships of phenoxy pyridine derivatives as novel inhibitors of the sodium-calcium exchanger. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 5039–5056. DOI: 10.1016/j.bmc.2004.07.038.
- 354 Gao, X.; Tang, J.; Liu, H.; Liu, L.; Kang, L.; Chen, W. Structure-activity relationship investigation of tertiary amine derivatives of cinnamic acid as acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors: compared with that of phenylpropionic acid, sorbic acid and hexanoic acid. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2018**, *33*, 519–524. DOI: 10.1080/14756366.2018.1436053.

- 355 Kumar, A.; Narasimhan, B.; Kumar, D. Synthesis, antimicrobial, and QSAR studies of substituted benzamides. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 4113–4124. DOI: 10.1016/j.bmc.2007.03.074.
- 356 López, F. I.; La Cruz, F. N. de; López, J.; Martínez, J. M.; Alcaraz, Y.; Delgado, F.; Sánchez-Recillas, A.; Estrada-Soto, S.; Vázquez, M. A. A simple method for the synthesis of 1,3-diaminopropan-2-ols derivatives and their ex vivo relaxant activity on isolated rat tracheal rings. *Med Chem Res* **2017**, *26*, 1325–1335. DOI: 10.1007/s00044-017-1853-6.
- 357 Galullo, V.; Zelle, R.; Mazdiyasni, H.; Baker, C. T.; Will, P.; Guo, J.; Fensome, A.; Soenen, D.; Kern, J. C.; Moore, W. J.; Melenski, E. G.; Kaplan, J.; Sabatucci, J. P. Carboxamides as ion channel modulators and their preparation, pharmaceutical compositions and use in the treatment of diseases, 11.12.2007. Published Online: December 11, 2007.
- 358 FDA. FDA approves pexidartinib for tenosynovial giant cell tumor.
<https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-pexidartinib-tenosynovial-giant-cell-tumor>.
- 359 Lamb, Y. N. Pexidartinib: First Approval. *Drugs* **2019**, *79*, 1805–1812. DOI: 10.1007/s40265-019-01210-0.
- 360 Elbaum, D.; Askew, B.; Booker, S.; Germain, J.; Habgood, G.; Handley, M.; Kim, T.-S.; Li, A.; Nishimura, N.; Patel, V. F.; Yuan, C. C.; Kim, J. L. Preparation of substituted arylamine derivatives as antitumor agents, 17.07.2002. Published Online: July 17, 2002.
- 361 Shi, Y.; Duan, Y.-H.; Ji, Y.-Y.; Wang, Z.-L.; Wu, Y.-R.; Gunosewoyo, H.; Xie, X.-Y.; Chen, J.-Z.; Yang, F.; Li, J.; Tang, J.; Xie, X.; Yu, L.-F. Amidoalkylindoles as Potent and Selective Cannabinoid Type 2 Receptor Agonists with in Vivo Efficacy in a Mouse Model of Multiple Sclerosis. *J. Med. Chem.* **2017**, *60*, 7067–7083. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.7b00724.
- 362 Choi-Sledeski, Y. M.; Liang, G.; Nieduzak, T. R.; Poli, G. B.; Shum, P. W.-K.; Stoklosa, G. T.; Zhao, Z. Preparation of indolylpiperidinylbenzylamine derivatives for use as beta-tryptase inhibitors, 21.12.2010. Published Online: December 21, 2010.
- 363 Weidner-Wells, M. A.; Henninger, T. C.; Hlasta, D. J. Isoxazoles and oxadiazoles as anti-inflammatory inhibitors of IL-8, 06.06.2001. Published Online: June 06, 2001.
- 364 Yi, J.; Lu, X.; Sun, Y.-Y.; Xiao, B.; Liu, L. Nickel-catalyzed sonogashira reactions of non-activated secondary alkyl bromides and iodides. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2013**, *52*, 12409–12413. DOI: 10.1002/anie.201307069.

- 365 Pal, A.; Hajipour, A. R.; Fontanilla, D.; Ramachandran, S.; Chu, U. B.; Mavlyutov, T.; Ruoho, A. E. Identification of regions of the sigma-1 receptor ligand binding site using a novel photoprobe. *Mol. Pharmacol.* **2007**, *72*, 921–933. DOI: 10.1124/mol.107.038307.
- 366 Işgör, Y. G.; Kiliç, Z.; Olgen, S. Novel aminomethylindole derivatives as inhibitors of pp60c-Src tyrosine kinase: synthesis and biological activity. *Chem. Biol. Drug Des.* **2008**, *72*, 599–604. DOI: 10.1111/j.1747-0285.2008.00734.x.
- 367 Bourderioux, A.; Bénéteau, V.; Mérour, J.-Y.; Baldeyrou, B.; Ballot, C.; Lansiaux, A.; Bailly, C.; Le Guével, R.; Guillouzo, C.; Routier, S. Synthesis and biological evaluation of novel oxophenylarcylflavins as potential anticancer agents. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 2108–2117. DOI: 10.1039/B801121D.
- 368 Routier, S.; Mérour, J.-Y.; Dias, N.; Lansiaux, A.; Bailly, C.; Lozach, O.; Meijer, L. Synthesis and biological evaluation of novel phenylcarbazoles as potential anticancer agents. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 789–799. DOI: 10.1021/jm050945x.
- 369 Xia, Z.; Farhana, L.; Correa, R. G.; Das, J. K.; Castro, D. J.; Yu, J.; Oshima, R. G.; Reed, J. C.; Fontana, J. A.; Dawson, M. I. Heteroatom-substituted analogues of orphan nuclear receptor small heterodimer partner ligand and apoptosis inducer (E)-4-3-(1-Adamantyl)-4-hydroxyphenyl-3-chlorocinnamic acid. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 3793–3816. DOI: 10.1021/jm200051z.
- 370 Orús, L.; Pérez-Silanes, S.; Oficialdegui, A.-M.; Martínez-Esparza, J.; Del Castillo, J.-C.; Mourelle, M.; Langer, T.; Guccione, S.; Donzella, G.; Krovat, E. M.; Poptodorov, K.; Lasheras, B.; Ballaz, S.; Hervías, I.; Tordera, R.; Del Río, J.; Monge, A. Synthesis and molecular modeling of new 1-aryl-3-4-arylpiperazin-1-yl-1-propane derivatives with high affinity at the serotonin transporter and at 5-HT(1A) receptors. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4128–4139. DOI: 10.1021/jm0111200.
- 371 Řezníčková, E.; Gucký, T.; Kováčová, V.; Ajani, H.; Jorda, R.; Kryštof, V. Activity of 2,6,9-trisubstituted purines as potent PDGFR α kinase inhibitors with antileukaemic activity. *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *182*, 111663. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.111663.
- 372 Kim, Y.-W.; Hackett, J. C.; Brueggemeier, R. W. Synthesis and aromatase inhibitory activity of novel pyridine-containing isoflavones. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 4032–4040. DOI: 10.1021/jm0306024.
- 373 Myllymäki, M. J.; Saario, S. M.; Kataja, A. O.; Castillo-Melendez, J. A.; Nevalainen, T.; Juvonen, R. O.; Järvinen, T.; Koskinen, A. M. P. Design, synthesis, and in vitro evaluation of carbamate derivatives of 2-benzoxazolyl- and 2-benzothiazolyl-(3-hydroxyphenyl)-methanones as novel

- fatty acid amide hydrolase inhibitors. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 4236–4242. DOI: 10.1021/jm070501w.
- 374 Diab, S.; Teo, T.; Kumarasiri, M.; Li, P.; Yu, M.; Lam, F.; Basnet, S. K. C.; Sykes, M. J.; Albrecht, H.; Milne, R.; Wang, S. Discovery of 5-(2-(phenylamino)pyrimidin-4-yl)thiazol-2(3H)-one derivatives as potent Mnk2 inhibitors: synthesis, SAR analysis and biological evaluation. *ChemMedChem* **2014**, *9*, 962–972. DOI: 10.1002/cmdc.201300552.
- 375 Rajamathe, S.; Bhuvaneswari, M. Solvent Free Facile Room Temperature Reduction of Aromatic Carbonyl and Nitro Compounds by Zn/Conc. HCl System-An Experimental and DFT Study. *Asian J. Chem.* **2018**, *30*, 639–644. DOI: 10.14233/ajchem.2018.21071.
- 376 Pandey, A. K.; Sharma, R.; Shivahare, R.; Arora, A.; Rastogi, N.; Gupta, S.; Chauhan, P. M. S. Synthesis of perspicamide A and related diverse analogues: their bioevaluation as potent antileishmanial agents. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 1534–1546. DOI: 10.1021/jo3025626.
- 377 Hesse, M.; Meier, H.; Zeeh, B. *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*; Thieme: Stuttgart, 2005.
- 378 Friebolin, H. *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*; Wiley-VCH: Weinheim, 2013.
- 379 Halimehjani, A. Z.; Barati, V. Synthesis of Novel Tetracationic Ammonium Salts and Their Applications as Catalyst for the Synthesis of Xanthenes, Benzoxanthenes and Bis(indolyl)methanes in Water. *ChemistrySelect* **2018**, *3*, 3024–3028. DOI: 10.1002/slct.201800060.
- 380 Pillaiyar, T.; Köse, M.; Sylvester, K.; Weighardt, H.; Thimm, D.; Borges, G.; Förster, I.; Kügelgen, I. von; Müller, C. E. Diindolylmethane Derivatives: Potent Agonists of the Immunostimulatory Orphan G Protein-Coupled Receptor GPR84. *J. Med. Chem.* **2017**, *60*, 3636–3655. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.6b01593.
- 381 Mitra, B.; Ghosh, P. Humic acid: A Biodegradable Organocatalyst for Solvent-free Synthesis of Bis(indolyl)methanes, Bis(pyrazolyl)methanes, Bis-coumarins and Bis-lawsones. *ChemistrySelect* **2021**, *6*, 68–81. DOI: 10.1002/slct.202004245.
- 382 Johansson, H.; Jørgensen, T. B.; Gloriam, D. E.; Bräuner-Osborne, H.; Pedersen, D. S. 3-Substituted 2-phenyl-indoles: privileged structures for medicinal chemistry. *RSC Adv* **2013**, *3*, 945–960. DOI: 10.1039/c2ra21902f.
- 383 Sarmah, D.; Bora, U. Methylene Surrogates for the Synthesis of 3,3'-Diindolylmethanes. *ChemistrySelect* **2020**, *5*, 8577–8603. DOI: 10.1002/slct.202001694.

- 384 Tocco, G.; Zedda, G.; Casu, M.; Simbula, G.; Begala, M. Solvent-Free Addition of Indole to Aldehydes: Unexpected Synthesis of Novel 1-1-(1H-Indol-3-yl) Alkyl-1H-Indoles and Preliminary Evaluation of Their Cytotoxicity in Hepatocarcinoma Cells. *Molecules* **2017**, *22*. DOI: 10.3390/molecules22101747.
- 385 Pillaiyar, T.; Gorska, E.; Schnakenburg, G.; Müller, C. E. General Synthesis of Unsymmetrical 3,3'-(Aza)diindolylmethane Derivatives. *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 9902–9913. DOI: 10.1021/acs.joc.8b01349.
- 386 La Herran, G. de; Segura, A.; Csáky, A. G. Benzylic substitution of gramines with boronic acids and rhodium or iridium catalysts. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 961–964. DOI: 10.1021/ol063042m.
- 387 Wang, M.-P.; Chiu, C.-C.; Lu, T.-J.; Lee, D.-S. Indolylbenzimidazole-based ligands catalyze the coupling of arylboronic acids with aryl halides. *Appl Organometal Chem* **2018**, *32*. DOI: 10.1002/aoc.4348.
- 388 Mistry, S. N.; Shonberg, J.; Draper-Joyce, C. J.; Klein Herenbrink, C.; Michino, M.; Shi, L.; Christopoulos, A.; Capuano, B.; Scammells, P. J.; Lane, J. R. Discovery of a Novel Class of Negative Allosteric Modulator of the Dopamine D2 Receptor Through Fragmentation of a Bitopic Ligand. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 6819–6843. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b00585.
- 389 Adepu, R.; Prasad, B.; Ashfaq, M. A.; Ehtesham, N. Z.; Pal, M. New MCR based on intramolecular Heck reaction under aerobic conditions: a direct access to cytotoxic fused N-heterocycles. *RSC Adv* **2014**, *4*, 49324–49328. DOI: 10.1039/C4RA10702K.
- 390 Kumar, D.; Kumar, N. M.; Noel, B.; Shah, K. A series of 2-arylamino-5-(indolyl)-1,3,4-thiadiazoles as potent cytotoxic agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 432–438. DOI: 10.1016/j.ejmech.2012.06.047.
- 391 Whiting, A. L.; Hof, F. Binding trimethyllysine and other cationic guests in water with a series of indole-derived hosts: large differences in affinity from subtle changes in structure. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 6885–6892. DOI: 10.1039/C2OB25882J.
- 392 Jørgensen, M. R.; Olsen, C. A.; Mellor, I. R.; Usherwood, P. N. R.; Witt, M.; Franzyk, H.; Jaroszewski, J. W. The effects of conformational constraints and steric bulk in the amino acid moiety of philanthotoxins on AMPAR antagonism. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 56–70. DOI: 10.1021/jm049906w.
- 393 Mietke, T.; Cruchter, T.; Larionov, V. A.; Faber, T.; Harms, K.; Meggers, E. Asymmetric Nazarov Cyclizations Catalyzed by Chiral-at-Metal Complexes. *Adv. Synth. Catal.* **2018**, *360*, 2093–2100. DOI: 10.1002/adsc.201701546.

- 394 Johansson, H.; Boesgaard, M. W.; Nørskov-Lauritsen, L.; Larsen, I.; Kuhne, S.; Gloriam, D. E.; Bräuner-Osborne, H.; Sejer Pedersen, D. Selective Allosteric Antagonists for the G Protein-Coupled Receptor GPRC6A Based on the 2-Phenylindole Privileged Structure Scaffold. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 8938–8951. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b01254.
- 395 Fugard, A. J.; Thompson, B. K.; Slawin, A. M. Z.; Taylor, J. E.; Smith, A. D. Organocatalytic Synthesis of Fused Bicyclic 2,3-Dihydro-1,3,4-oxadiazoles through an Intramolecular Cascade Cyclization. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 5824–5827. DOI: 10.1021/acs.orglett.5b02997.
- 396 González Cabrera, D.; Douelle, F.; Feng, T.-S.; Nchinda, A. T.; Younis, Y.; White, K. L.; Wu, Q.; Ryan, E.; Burrows, J. N.; Waterson, D.; Witty, M. J.; Wittlin, S.; Charman, S. A.; Chibale, K. Novel Orally Active Antimalarial Thiazoles. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 7713–7719. DOI: 10.1021/jm201108k.
- 397 Beaumont, S.; Retailleau, P.; Dauban, P.; Dodd, R. H. Synthesis of Indolobenzazepinones by Application of an Isocyanide-Based Multicomponent Reaction. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *2008*, 5162–5175. DOI: 10.1002/ejoc.200800643.
- 398 Neagoie, C.; Vedrenne, E.; Buron, F.; Mérour, J.-Y.; Rosca, S.; Bourg, S.; Lozach, O.; Meijer, L.; Baldeyrou, B.; Lansiaux, A.; Routier, S. Synthesis of chromeno3,4-bindoles as Lamellarin D analogues: a novel DYRK1A inhibitor class. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *49*, 379–396. DOI: 10.1016/j.ejmech.2012.01.040.
- 399 Monge, A.; Parrado, P.; Font, M.; Fernández-Alvarez, E. Selective thromboxane synthetase inhibitors and antihypertensive agents. New derivatives of 4-hydrazino-5H-pyridazino4,5-bindole, 4-hydrazinopyridazino4,5-aindole, and related compounds. *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 1029–1035. DOI: 10.1021/jm00389a012.
- 400 Prasad, P. K.; Kalshetti, R. G.; Reddi, R. N.; Kamble, S. P.; Sudalai, A. I2-mediated regioselective C-3 azidation of indoles. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 3027–3030. DOI: 10.1039/c6ob00295a.
- 401 Joshi, R. A.; Gurjar, M. K.; Tripathy, N. K.; Chorghade, M. S. A New and Improved Process for Celiprolol Hydrochloride. *Org. Process Res. Dev.* **2001**, *5*, 176–178. DOI: 10.1021/op000297l.
- 402 Verner, E.; Katz, B. A.; Spencer, J. R.; Allen, D.; Hataye, J.; Hruzewicz, W.; Hui, H. C.; Kolesnikov, A.; Li, Y.; Luong, C.; Martelli, A.; Radika, K.; Rai, R.; She, M.; Shrader, W.; Sprengeler, P. A.; Trapp, S.; Wang, J.; Young, W. B.; Mackman, R. L. Development of serine protease inhibitors displaying a multicentered short (<2.3 Å) hydrogen bond binding mode: inhibitors of urokinase-type plasminogen activator and factor Xa. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 2753–2771. DOI: 10.1021/jm0100638.

- 403 Panteleon, V.; Marakos, P.; Pouli, N.; Mikros, E.; Andreadou, I. Synthesis, conformational analysis and free radical scavenging activity of some new spiropyranoquinolinones. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **2003**, *51*, 522–529. DOI: 10.1248/cpb.51.522.
- 404 Tomasić, T.; Zidar, N.; Sink, R.; Kovac, A.; Blanot, D.; Contreras-Martel, C.; Dessen, A.; Müller-Premru, M.; Zega, A.; Gobec, S.; Kikelj, D.; Masic, L. P. Structure-based design of a new series of D-glutamic acid based inhibitors of bacterial UDP-N-acetylmuramoyl-L-alanine:D-glutamate ligase (MurD). *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 4600–4610. DOI: 10.1021/jm2002525.
- 405 Suzuki, T.; Horaguchi, T.; Shimizu, T.; Abe, T. Benzofuran Derivatives. I. On the Effects of Substituents in Benzofuran Syntheses. *BCSJ* **1983**, *56*, 2762–2767. DOI: 10.1246/bcsj.56.2762.
- 406 Jiang, H.; Feng, Z.; Chen, T.; Li, Z.; Huang, W.; Luo, Y.; Zhao, Y. (E)-3-(Aryl(arylamino)Methylene)Indolin-2-One Derivatives: An Efficient Synthetic Approach and Evaluation of their Cancer Inhibitory Activity. *Journal of Chemical Research* **2018**, *42*, 44–49. DOI: 10.3184/174751918X15166485941737.
- 407 Anil, P.; Chatterjee, A.; Vijaya Laxmi, S. Mild and Efficient Tf₂O-Mediated Synthesis of 3-Amino-1-benzofurans. *Russ J Org Chem* **2019**, *55*, 1374–1379. DOI: 10.1134/S1070428019090173.
- 408 Nitz, T. J.; Salzwedel, K.; Finnegan, C.; Brunton, S.; Flanagan, S.; Montalbetti, C.; Coulter, T. S. N-(Thiazol-2-yl) fused heterocyclic amides as anti-HIV agents and preparation thereof, 2008-12-23. Published Online: December 23, 2008.
- 409 Coaviche-Yoval, A.; Andrade-Jorge, E.; Pérez-González, C.; Luna, H.; Tovar-Miranda, R.; Trujillo-Ferrara, J. G. Quantum Reality in the Selective Reduction of a Benzofuran System. *Molecules* **2019**, *24*. DOI: 10.3390/molecules24112061.
- 410 Vangveravong, S.; Taylor, M.; Xu, J.; Cui, J.; Calvin, W.; Babic, S.; Luedtke, R. R.; Mach, R. H. Synthesis and characterization of selective dopamine D2 receptor antagonists. 2. Azaindole, benzofuran, and benzothiophene analogs of L-741,626. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 5291–5300. DOI: 10.1016/j.bmc.2010.05.052.
- 411 Kim, H. M.; Sendzik, M.; Spencer, J. R.; Zhang, P. Preparation of saframycin analogs as antitumor agents, 2005-05-26. Published Online: May 26, 2005.
- 412 Sendzik, M. Preparation of alkynyl(hetero)arylhydroxamates as inhibitors of histone deacetylase (HDAC), 2004-08-19. Published Online: August 19, 2004.
- 413 Bass, K. E.; Broder, S. E.; Young, P. R. Heteroarylamides and related compounds and their preparation, pharmaceutical compositions, and a method of monitoring anti-tumor activity of an HDAC inhibitor, 2005-10-07. Published Online: October 07, 2005.

- 414 Huang, H.; Zhang, J.-Q.; Liu, J.-M.; Wang, M.-M.; Shu, L.; Yan, Y.; Zhan, X.-H.; Wang, P.; Huan, X.-T.; Zhang, D.-Y. Discovery of novel benzofuran scaffold as 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase inhibitors. *Pest Manag. Sci.* **2021**, *77*, 1409–1421. DOI: 10.1002/ps.6159.
- 415 Bo, Y. Y.; Chakrabarti, P. P.; Chen, N.; Doherty, E. M.; Fotsch, C. H.; Han, N.; Kelly, M. G.; Liu, Q.; Norman, M. H.; Wang, X.; Zhu, J.; Ognyanov, V. Preparation of vanilloid receptor ligands and their use in treatments, 2002-12-10. Published Online: December 10, 2002.
- 416 Stover, J. S.; Shi, J.; Jin, W.; Vogt, P. K.; Boger, D. L. Discovery of inhibitors of aberrant gene transcription from Libraries of DNA binding molecules: inhibition of LEF-1-mediated gene transcription and oncogenic transformation. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3342–3348. DOI: 10.1021/ja809083d.
- 417 Beck, H. P.; Dillon, M.; Jones, B.; Martinez, L. P.; Pei, Z. Preparation of acetamide derivatives as DNA polymerase theta (Pol θ) inhibitors, 2020-01-29. Published Online: January 29, 2020.
- 418 Wagner, E.; Wittmann, H.-J.; Elz, S.; Strasser, A. Mepyramine-JNJ7777120-hybrid compounds show high affinity to hH(1)R, but low affinity to hH(4)R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 6274–6280. DOI: 10.1016/j.bmcl.2011.09.001.
- 419 Cox, E. D.; Diaz-Arauzo, H.; Huang, Q.; Reddy, M. S.; Ma, C.; Harris, B.; McKernan, R.; Skolnick, P.; Cook, J. M. Synthesis and evaluation of analogues of the partial agonist 6-(propyloxy)-4-(methoxymethyl)-beta-carboline-3-carboxylic acid ethyl ester (6-PBC) and the full agonist 6-(benzyloxy)-4-(methoxymethyl)-beta-carboline-3-carboxylic acid ethyl ester (Zk 93423) at wild type and recombinant GABAA receptors. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 2537–2552. DOI: 10.1021/jm970460b.
- 420 Fujimoto, T.; Imaeda, Y.; Konishi, N.; Hiroe, K.; Kawamura, M.; Textor, G. P.; Aertgeerts, K.; Kubo, K. Discovery of a tetrahydropyrimidin-2(1H)-one derivative (TAK-442) as a potent, selective, and orally active factor Xa inhibitor. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 3517–3531. DOI: 10.1021/jm901699j.
- 421 Ito, F.; Shudo, K.; Yamaguchi, K. Total synthesis of (\pm)-hyrtiazepine. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 1805–1811. DOI: 10.1016/j.tet.2011.01.029.
- 422 Chen, W.; Zhou, Z.-H.; Chen, H.-B. Efficient synthesis of chiral benzofuryl β -amino alcohols via a catalytic asymmetric Henry reaction. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 1530–1536. DOI: 10.1039/C6OB02569B.
- 423 Abedinifar, F.; Farnia, S. M. F.; Mahdavi, M.; Nadri, H.; Moradi, A.; Ghasemi, J. B.; Küçükılınç, T.; Firoozpour, L.; Foroumadi, A. Synthesis and cholinesterase inhibitory activity of new 2-benzofuran carboxamide-benzylpyridinium salts. *Bioorg. Chem.* **2018**, *80*, 180–188. DOI: 10.1016/j.bioorg.2018.06.006.

- 424 Wang, H.; Zhu, X.; Lu, S.; Sun, C.; Xu, Z.; Xu, J. New Synthesis of Abexinostat. *HETEROCYCLES* **2021**, *102*, 1803. DOI: 10.3987/COM-21-14500.
- 425 Gobbo, P.; Gunawardene, P.; Luo, W.; Workentin, M. Synthesis of a Toolbox of Clickable Rhodamine B Derivatives. *Synlett* **2015**, *26*, 1169–1174. DOI: 10.1055/s-0034-1380191.
- 426 Chandrika, N. T.; Shrestha, S. K.; Ngo, H. X.; Garneau-Tsodikova, S. Synthesis and investigation of novel benzimidazole derivatives as antifungal agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24*, 3680–3686. DOI: 10.1016/j.bmc.2016.06.010.
- 427 Baxter, E. W.; Reitz, A. B. Reductive Aminations of Carbonyl Compounds with Borohydride and Borane Reducing Agents. In *Organic Reactions*; John Wiley & Sons, Inc: Hoboken, NJ, USA; pp. 1–714.
- 428 Sorensen, J. L.; Andersen, K. E.; Pettersson, I. Preparation of aryloxadiazols and related compounds as histamine H3 receptor antagonist, 2003-12-18. Published Online: December 18, 2003.
- 429 Luo, Z.; Sheng, J.; Sun, Y.; Lu, C.; Yan, J.; Liu, A.; Luo, H.-B.; Huang, L.; Li, X. Synthesis and evaluation of multi-target-directed ligands against Alzheimer's disease based on the fusion of donepezil and ebselen. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 9089–9099. DOI: 10.1021/jm401047q.
- 430 Yakukhnov, S. A.; Ananikov, V. P. Catalytic Transfer Hydrodebenzylation with Low Palladium Loading. *Adv. Synth. Catal.* **2019**, *361*, 4781–4789. DOI: 10.1002/adsc.201900686.
- 431 Sundriyal, S.; Malmquist, N. A.; Caron, J.; Blundell, S.; Liu, F.; Chen, X.; Srimongkolpithak, N.; Jin, J.; Charman, S. A.; Scherf, A.; Fuchter, M. J. Development of diaminoquinazoline histone lysine methyltransferase inhibitors as potent blood-stage antimalarial compounds. *ChemMedChem* **2014**, *9*, 2360–2373. DOI: 10.1002/cmdc.201402098.
- 432 Bandini, M.; Eichholzer, A. Enantioselective gold-catalyzed allylic alkylation of indoles with alcohols: an efficient route to functionalized tetrahydrocarbazoles. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2009**, *48*, 9533–9537. DOI: 10.1002/anie.200904388.
- 433 Monti, S. A.; Johnson, W. O. Position selective mannich reactions of some 5- and 6-hydroxyindoles. *Tetrahedron* **1970**, *26*, 3685–3694. DOI: 10.1016/S0040-4020(01)92947-3.
- 434 Harriman, G. C.; Kolz, C. N.; Luly, J. R.; Roth, B. D.; Song, Y.; Trivedi, B. K. Preparation of pyrrolobenzopyranoquinolizinecarboxylates and analogs as CCR-5 chemokine receptor antagonists, 1999-12-20. Published Online: December 20, 1999.
- 435 Blicke, F. F. The Mannich Reaction. In *Organic Reactions*; John Wiley & Sons, Inc: Hoboken, NJ, USA; pp. 303–341.

- 436 Mannich, C.; Krösche, W. Ueber ein Kondensationsprodukt aus Formaldehyd, Ammoniak und Antipyrin. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **1912**, 250, 647–667. DOI: 10.1002/ardp.19122500151.
- 437 CUMMINGS, T. F.; SHELTON, J. R. Mannich Reaction Mechanisms. *J. Org. Chem.* **1960**, 25, 419–423. DOI: 10.1021/jo01073a029.
- 438 Arend, M.; Westermann, B.; Risch, N. Modern Variants of the Mannich Reaction. *Angewandte Chemie International Edition* **1998**, 37, 1044–1070. DOI: 10.1002/(SICI)1521-3773(19980504)37:8<1044::AID-ANIE1044>3.0.CO;2-E.
- 439 Ek, A.; Witkop, B. The Synthesis of Labile Hydroxytryptophan Metabolites 1. *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, 76, 5579–5588. DOI: 10.1021/ja01651a001.
- 440 Hamlin, K. E.; Fischer, F. E. THE SYNTHESIS OF 5-HYDROXYTRYPTAMINE. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, 73, 5007–5008. DOI: 10.1021/ja01154a551.
- 441 Cardellicchio, C.; Ciccarella, G.; Naso, F.; Schingaro, E.; Scordari, F. The Betti base: absolute configuration and routes to a family of related chiral nonracemic bases. *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, 9, 3667–3675. DOI: 10.1016/S0957-4166(98)00379-6.
- 442 Palmieri, G. A practical o-hydroxybenzylamines promoted enantioselective addition of dialkylzincs to aldehydes with asymmetric amplification. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, 11, 3361–3373. DOI: 10.1016/S0957-4166(00)00290-1.
- 443 Iftikhar, R.; Kamran, M.; Iftikhar, A.; Parveen, S.; Naeem, N.; Jamil, N. Recent advances in the green synthesis of Betti bases and their applications: a review. *Mol. Divers.* **2022**. DOI: 10.1007/s11030-022-10427-3.
- 444 Kidwai, M.; Chauhan, R. Catalyst-free Synthesis of Betti bases in a Mannich-Type Reaction. *Asian Journal of Organic Chemistry* **2013**, 2, 395–398. DOI: 10.1002/ajoc.201300039.
- 445 Breitmaier, E. Erkennung von Teilstrukturen durch NMR. In *Vom NMR-Spektrum zur Strukturformel organischer Verbindungen*, 2nd ed. Breitmaier, E., Ed.; Teubner: Stuttgart; pp. 11–66.
- 446 Mills, L. R.; Barrera Arbelaez, L. M.; Rousseaux, S. A. L. Electrophilic Zinc Homoenolates: Synthesis of Cyclopropylamines from Cyclopropanols and Amines. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139, 11357–11360. DOI: 10.1021/jacs.7b07104.
- 447 Rudolf, K.; Mueller, S. G.; Stenkamp, D.; Lustenberger, P.; Dreyer, A.; Bauer, E.; Schindler, M.; Arndt, K.; Doods, H. Preparation of benzo-1,3-diazepin-2-ones and related compounds as CGRP

- receptor antagonists for the treatment of migraine headaches, 2003-10-23. Published Online: October 23, 2003.
- 448 Brun, S.; Beret, A.; Bassissi, F.; Halfon, P.; Courcambeck, J. Preparation of substituted 2,4-diamino-quinoline derivatives for use in the treatment of proliferative diseases, 2017-05-04. Published Online: May 04, 2017.
- 449 Diwan, S. S.; Dalvi, S. W.; Mulla, H. R. Cheap, Efficient, and Scalable Synthesis of 4- N , N - Dimethylaminopiperidine. *Synthetic Communications* **2008**, *39*, 273–277. DOI: 10.1080/00397910802372533.
- 450 Jo, Y. S.; van der Vlies, A. J.; Gantz, J.; Thacher, T. N.; Antonijevic, S.; Cavadini, S.; Demurtas, D.; Stergiopulos, N.; Hubbell, J. A. Micelles for delivery of nitric oxide. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 14413–14418. DOI: 10.1021/ja905123t.
- 451 Liu, Q.; Zhu, F.-P.; Jin, X.-L.; Wang, X.-J.; Chen, H.; Wu, L.-Z. Visible-Light-Driven Intermolecular 2+2 Cycloadditions between Coumarin-3-Carboxylates and Acrylamide Analogs. *Chemistry* **2015**, *21*, 10326–10329. DOI: 10.1002/chem.201501176.
- 452 Bateman, L. A.; Nguyen, T. B.; Roberts, A. M.; Miyamoto, D. K.; Ku, W.-M.; Huffman, T. R.; Petri, Y.; Heslin, M. J.; Contreras, C. M.; Skibola, C. F.; Olzmann, J. A.; Nomura, D. K. Chemoproteomics-enabled covalent ligand screen reveals a cysteine hotspot in reticulon 4 that impairs ER morphology and cancer pathogenicity. *Chem. Commun. (Camb)* **2017**, *53*, 7234–7237. DOI: 10.1039/c7cc01480e.
- 453 Oakdale, J. S.; Sit, R. K.; Fokin, V. V. Ruthenium-catalyzed cycloadditions of 1-haloalkynes with nitrile oxides and organic azides: synthesis of 4-haloisoxazoles and 5-halotriazoles. *Chemistry* **2014**, *20*, 11101–11110. DOI: 10.1002/chem.201402559.
- 454 Seath, C. P.; Burley, G. A.; Watson, A. J. B. Determining the Origin of Rate-Independent Chemoselectivity in CuAAC Reactions: An Alkyne-Specific Shift in Rate-Determining Step. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2017**, *56*, 3314–3318. DOI: 10.1002/anie.201612288.
- 455 Li, Z.; Yazaki, R.; Ohshima, T. Chemo- and Regioselective Direct Functional Group Installation through Catalytic Hydroxy Group Selective Conjugate Addition of Amino Alcohols to α,β -Unsaturated Sulfonyl Compounds. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 3350–3353. DOI: 10.1021/acs.orglett.6b01464.
- 456 Hirokawa, Y.; Kato, S.; Kinoshita, H.; Tanaka, T. Preparation of novel mutilin derivatives as antibacterial agents, 2008-03-25. Published Online: March 25, 2008.

- 457 Feldinger, K.; Kong, A. Profile of neratinib and its potential in the treatment of breast cancer. *Breast Cancer (Dove Med. Press)* **2015**, *7*, 147–162. DOI: 10.2147/BCTT.S54414.
- 458 Nelson, V.; Ziehr, J.; Agulnik, M.; Johnson, M. Afatinib: emerging next-generation tyrosine kinase inhibitor for NSCLC. *Onco. Targets. Ther.* **2013**, *6*, 135–143. DOI: 10.2147/OTT.S23165.
- 459 Yan, S.; Wang, L.; Frye, L. L.; Chen, W.; Loury, D. J. Preparation of purinone compounds as kinase inhibitors, 2013-01-30. Published Online: January 30, 2013.
- 460 Bock, M.; Hao, M.-H.; Korpai, M.; Nyavanandi, V. K.; Puyang, X.; Samajdar, S.; Smith, P. G.; Wang, J.; Zheng, G. Z.; Zhu, P.; Mitchell, L. H.; Larsen, N.; Rioux, N.; Prajapati, S.; Reynolds, D.; O'Shea, M.; Samarakoon, T. Preparation of tetrasubstituted alkene compounds as anticancer agents and their use in the treatment of breast cancer, 2017-11-22. Published Online: November 22, 2017.
- 461 Considine, J. L.; Daigneault, S.; Chew, W.; Iera, S.; Duncan, S. M.; Ren, J. A large-scale synthesis of 4-amino-2-butenoyl chlorides, useful as intermediates in preparation of [(dimethylaminocrotonyl)amido]quinoline derivatives, 2004-01-16. Published Online: January 16, 2004.
- 462 Brzezniak, C.; Carter, C. A.; Giaccone, G. Dacomitinib, a new therapy for the treatment of non-small cell lung cancer. *Expert Opin. Pharmacother.* **2013**, *14*, 247–253. DOI: 10.1517/14656566.2013.758714.
- 463 Ou, S.-H. I.; Soo, R. A. Dacomitinib in lung cancer: a "lost generation" EGFR tyrosine-kinase inhibitor from a bygone era? *Drug Des. Devel. Ther.* **2015**, *9*, 5641–5653. DOI: 10.2147/DDDT.S52787.
- 464 Dolle, R. E.; Worm, K.; Goodman, A. J.; Chu, G.-H.; Lebourdonnec, B. Pyridine compounds as cannabinoid receptor agonists and ligands and their preparation, pharmaceutical compositions and use in the treatment of diseases, 2007-11-19. Published Online: November 19, 2007.
- 465 Lemaire-Audoire, S.; Savignac, M.; Genêt, J. P.; Bernard, J.-M. Selective deprotection of allyl amines using palladium. *Tetrahedron Letters* **1995**, *36*, 1267–1270. DOI: 10.1016/0040-4039(95)00003-U.
- 466 Liu, X.; Zhao, X.; Liang, F.; Ren, B. t-BuONa-mediated direct C-H halogenation of electron-deficient (hetero)arenes. *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 886–890. DOI: 10.1039/c7ob03081a.
- 467 Bielawski, M.; Zhu, M.; Olofsson, B. Efficient and General One-Pot Synthesis of Diaryliodonium Triflates: Optimization, Scope and Limitations. *Adv. Synth. Catal.* **2007**, *349*, 2610–2618. DOI: 10.1002/adsc.200700373.

- 468 Toh, Q. Y.; McNally, A.; Vera, S.; Erdmann, N.; Gaunt, M. J. Organocatalytic C-H bond arylation of aldehydes to bis-heteroaryl ketones. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 3772–3775. DOI: 10.1021/ja400051d.
- 469 Miralles, N.; Romero, R. M.; Fernández, E.; Muñiz, K. A mild carbon-boron bond formation from diaryliodonium salts. *Chem. Commun. (Camb)* **2015**, *51*, 14068–14071. DOI: 10.1039/c5cc04944j.
- 470 Pramanick, P. K.; Zhou, Z.; Hou, Z.-L.; Yao, B. Free Amino Group-Directed γ -C(sp³)-H Arylation of α -Amino Esters with Diaryliodonium Triflates by Palladium Catalysis. *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 5684–5694. DOI: 10.1021/acs.joc.9b00605.
- 471 Guntreddi, T.; Vanjari, R.; Kumar, S.; Singh, R.; Singh, N.; Kumar, P.; Singh, K. N. Elemental sulfur mediated synthesis of benzoxazoles, benzothiazoles and quinoxalines via decarboxylative coupling of 2-hydroxy/mercapto/amino-anilines with cinnamic acids. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 81013–81016. DOI: 10.1039/c6ra17491d.
- 472 Zhu, Y.-P.; Lian, M.; Jia, F.-C.; Liu, M.-C.; Yuan, J.-J.; Gao, Q.-H.; Wu, A.-X. I₂ promoted domino oxidative cyclization for one-pot synthesis of 2-acylbenzothiazoles via metal-free sp³ C-H functionalization. *Chem. Commun. (Camb)* **2012**, *48*, 9086–9088. DOI: 10.1039/c2cc34561g.
- 473 Jiang, J.; Zou, H.; Dong, Q.; Wang, R.; Lu, L.; Zhu, Y.; He, W. Synthesis of 2-Keto(hetero)aryl Benzox(thio)azoles through Base Promoted Cyclization of 2-Amino(thio)phenols with α,α -Dihaloketones. *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 51–56. DOI: 10.1021/acs.joc.5b02093.
- 474 Walter, M.; Coburg, Y. von; Isensee, K.; Sander, K.; Ligneau, X.; Camelin, J.-C.; Schwartz, J.-C.; Stark, H. Azole derivatives as histamine H₃ receptor antagonists, part I: thiazol-2-yl ethers. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 5879–5882. DOI: 10.1016/j.bmcl.2010.07.098.
- 475 Malla Reddy, V.; Ravinder Reddy, K. Synthesis and antibacterial activity of some novel 6-(1H-benzimidazol-2-yl)-8-(5-nitro-2-furyl)-3-(4-pyridyl)-7,8-dihydro-1,2,4-triazolo[3,4-b]1,3,4-thiadiazepines. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **2010**, *58*, 1081–1084. DOI: 10.1248/cpb.58.1081.
- 476 Hsu, M.-H.; Hsu, S.-M.; Kuo, Y.-C.; Liu, C.-Y.; Hsieh, C.-Y.; Twu, Y.-C.; Wang, C.-K.; Wang, Y.-H.; Liao, Y.-J. Treatment with low-dose sorafenib in combination with a novel benzimidazole derivative bearing a pyrrolidine side chain provides synergistic anti-proliferative effects against human liver cancer. *RSC Adv.* **2017**, *7*, 16253–16263. DOI: 10.1039/c6ra28281d.
- 477 Krishna Prasad, P. M.; Sundararajan, R. Design and synthesis of novel 2-(5-(4-aryl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-yl)-1-(substituted aminomethyl)-1H-benzimidazole as potent anticonvulsants. *Med Chem Res* **2017**, *26*, 3158–3172. DOI: 10.1007/s00044-017-2010-y.

- 478 Zhang, H.; Ma, C.; Zheng, Z.; Sun, R.; Yu, X.; Zhao, J. Synthesis of 2-arylbenzofuran-3-carbaldehydes via an organocatalytic 3+2 annulation/oxidative aromatization reaction. *Chem. Commun. (Camb)* **2018**, *54*, 4935–4938. DOI: 10.1039/C8CC02474J.
- 479 Shibuya, K.; Kawamine, K.; Miura, T.; Ozaki, C.; Edano, T.; Mizuno, K.; Yoshinaka, Y.; Tsunenari, Y. Design, synthesis and pharmacology of aortic-selective acyl-CoA: Cholesterol O-acyltransferase (ACAT/SOAT) inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, *26*, 4001–4013. DOI: 10.1016/j.bmc.2018.06.024.
- 480 Reed, M. J.; Potter, B. V. L. Preparation of heterocyclic sulfamate compounds as inhibitors of estrone sulfatase and aromatase for treating cancer, 2006-04-07. Published Online: April 07, 2006.
- 481 Takei, Y.; Murata, A.; Yamagishi, K.; Arai, S.; Nakamura, H.; Inoue, T.; Takeoka, S. Intracellular click reaction with a fluorescent chemical Ca²⁺ indicator to prolong its cytosolic retention. *Chem. Commun. (Camb)* **2013**, *49*, 7313–7315. DOI: 10.1039/C3CC42489H.
- 482 Cherney, R. J.; Duan, J. J.-W.; Voss, M. E.; Chen, L.; Wang, L.; Meyer, D. T.; Wasserman, Z. R.; Hardman, K. D.; Liu, R.-Q.; Covington, M. B.; Qian, M.; Mandlekar, S.; Christ, D. D.; Trzaskos, J. M.; Newton, R. C.; Magolda, R. L.; Wexler, R. R.; Decicco, C. P. Design, synthesis, and evaluation of benzothiadiazepine hydroxamates as selective tumor necrosis factor- α converting enzyme inhibitors. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 1811–1823. DOI: 10.1021/jm020475w.
- 483 Wang, J.; Qian, X.; Cui, J. Detecting Hg²⁺ ions with an ICT fluorescent sensor molecule: remarkable emission spectra shift and unique selectivity. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 4308–4311. DOI: 10.1021/jo052642g.
- 484 Madsen, P.; Knudsen, L. B.; Wiberg, F. C.; Carr, R. D. Discovery and structure-activity relationship of the first non-peptide competitive human glucagon receptor antagonists. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 5150–5157. DOI: 10.1021/jm9810304.
- 485 Fortenberry, C.; Nammalwar, B.; Bunce, R. A. Ammonium Chloride-catalyzed Synthesis of Benzo-fused Heterocycles from o -Substituted Anilines and Orthoesters. *Organic Preparations and Procedures International* **2013**, *45*, 57–65. DOI: 10.1080/00304948.2013.743751.
- 486 Kaboudin, B.; Khodamorady, M.; Abedi, Y. A Practical and Convenient Method for the Synthesis of Some Benzimidazoles. *Organic Preparations and Procedures International* **2013**, *45*, 162–167. DOI: 10.1080/00304948.2013.765294.
- 487 William, A. D.; Lee, A. C.-H.; Goh, K. C.; Blanchard, S.; Poulsen, A.; Teo, E. L.; Nagaraj, H.; Lee, C. P.; Wang, H.; Williams, M.; Sun, E. T.; Hu, C.; Jayaraman, R.; Pasha, M. K.; Ethirajulu, K.; Wood, J. M.; Dymock, B. W. Discovery of kinase spectrum selective macrocycle (16E)-14-methyl-20-oxa-

- 5,7,14,26-tetraazatetracyclo[9.3.1.1(2,6).1(8,12)heptacosa-1(25),2(26),3,5,8(27),9,11,16,21,23-decaene (SB1317/TG02), a potent inhibitor of cyclin dependent kinases (CDKs), Janus kinase 2 (JAK2), and fms-like tyrosine kinase-3 (FLT3) for the treatment of cancer. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 169–196. DOI: 10.1021/jm201112g.
- 488 Stephenson, M. J.; Howell, L. A.; O'Connell, M. A.; Fox, K. R.; Adcock, C.; Kingston, J.; Sheldrake, H.; Pors, K.; Collingwood, S. P.; Searcey, M. Solid-Phase Synthesis of Duocarmycin Analogues and the Effect of C-Terminal Substitution on Biological Activity. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 9454–9467. DOI: 10.1021/acs.joc.5b01373.
- 489 Twum, E. A.; Woodman, T. J.; Wang, W.; Threadgill, M. D. Observation by NMR of cationic Wheland-like intermediates in the deiodination of protected 1-iodonaphthalene-2,4-diamines in acidic media. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 6208–6214. DOI: 10.1039/C3OB41386A.
- 490 Taliani, S.; Da Pozzo, E.; Bellandi, M.; Bendinelli, S.; Pugliesi, I.; Simorini, F.; La Motta, C.; Salerno, S.; Marini, A. M.; Da Settimo, F.; Cosimelli, B.; Greco, G.; Novellino, E.; Martini, C. Novel irreversible fluorescent probes targeting the 18 kDa translocator protein: synthesis and biological characterization. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 4085–4093. DOI: 10.1021/jm100100q.
- 491 Huisgen, R. Proceedings of the Chemical Society. October 1961. *Proc. Chem. Soc.* **1961**, 357. DOI: 10.1039/PS9610000357.
- 492 Huisgen, R. Kinetics and Mechanism of 1,3-Dipolar Cycloadditions. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1963**, *2*, 633–645. DOI: 10.1002/anie.196306331.
- 493 Huisgen, R. 1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and Future. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1963**, *2*, 565–598. DOI: 10.1002/anie.196305651.
- 494 Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective “Ligation” of Azides and Terminal Alkynes. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2002**, *41*, 2596–2599. DOI: 10.1002/1521-3773(20020715)41:14<2596::AID-ANIE2596>3.0.CO;2-4.
- 495 Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. Peptidotriazoles on solid phase: 1,2,3-triazoles by regiospecific copper(I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057–3064. DOI: 10.1021/jo011148j.
- 496 Worrell, B. T.; Malik, J. A.; Fokin, V. V. Direct evidence of a dinuclear copper intermediate in Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloadditions. *Science* **2013**, *340*, 457–460. DOI: 10.1126/science.1229506.

- 497 Himo, F.; Lovell, T.; Hilgraf, R.; Rostovtsev, V. V.; Noodleman, L.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. Copper(I)-catalyzed synthesis of azoles. DFT study predicts unprecedented reactivity and intermediates. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 210–216. DOI: 10.1021/ja0471525.
- 498 Bock, V. D.; Hiemstra, H.; van Maarseveen, J. H. Cu I -Catalyzed Alkyne–Azide “Click” Cycloadditions from a Mechanistic and Synthetic Perspective. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, *2006*, 51–68. DOI: 10.1002/ejoc.200500483.
- 499 Iacobucci, C.; Reale, S.; Gal, J.-F.; Angelis, F. de. Dinuclear copper intermediates in copper(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition directly observed by electrospray ionization mass spectrometry. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2015**, *54*, 3065–3068. DOI: 10.1002/anie.201410301.
- 500 Jin, L.; Tolentino, D. R.; Melaimi, M.; Bertrand, G. Isolation of bis(copper) key intermediates in Cu-catalyzed azide-alkyne "click reaction". *Sci. Adv.* **2015**, *1*, e1500304. DOI: 10.1126/sciadv.1500304.
- 501 Özkılıç, Y.; Tüzün, N. Ş. A DFT Study on the Binuclear CuAAC Reaction: Mechanism in Light of New Experiments. *Organometallics* **2016**, *35*, 2589–2599. DOI: 10.1021/acs.organomet.6b00279.
- 502 Ziegler, M. S.; Lakshmi, K. V.; Tilley, T. D. Dicopper Cu(I)Cu(I) and Cu(I)Cu(II) Complexes in Copper-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 5378–5386. DOI: 10.1021/jacs.6b13261.
- 503 Rodionov, V. O.; Fokin, V. V.; Finn, M. G. Mechanism of the ligand-free CuI-catalyzed azide-alkyne cycloaddition reaction. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **2005**, *44*, 2210–2215. DOI: 10.1002/anie.200461496.
- 504 Zhao, R. Y.; Yang, Q.; Huang, Y.; Zhao, L.; Gai, S.; Ye, H.; Lei, J.; Xu, Y.; Cao, M.; Guo, H.; Jia, J.; Tong, Q.; Li, W.; Zhou, X.; Xie, H.; Bai, L.; Cai, X.; Zhuo, X.; Zhang, X.; Zheng, J. A conjugate of a tubulysin analog with branched linkers and methods of using the conjugate in targeted treatment of cancer, infection and autoimmune disease, 2017-12-31. Published Online: December 31, 2017.
- 505 Hwang, J. Y.; Du Ha, J.; Cho, S. Y.; Kim, P.; Park, B. C.; Kim, S.; Kim, J. H.; Park, S. G. Preparation of small molecule inducers of cereblon degradation for prevention or treatment of cereblon-related diseases, 2018-10-05. Published Online: October 05, 2018.
- 506 Hossain, M. I.; Hanashima, S.; Nomura, T.; Lethu, S.; Tsuchikawa, H.; Murata, M.; Kusaka, H.; Kita, S.; Maenaka, K. Synthesis and Th1-immunostimulatory activity of α -galactosylceramide analogues bearing a halogen-containing or selenium-containing acyl chain. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24*, 3687–3695. DOI: 10.1016/j.bmc.2016.06.007.

- 507 Li, Z.; Yang, D.; Gabathuler, R.; Chen, Q. Synthesis of Novel Heterobifunctional Isocyanato Cross-Linkers and Their Applications for the Preparation of 10-Hydroxycamptothecin and SN-38 Conjugates with Melanotransferrin P97. *Synthetic Communications* **2007**, *37*, 1899–1915. DOI: 10.1080/10426910701319928.
- 508 Cromm, P. M.; Samarasinghe, K. T. G.; Hines, J.; Crews, C. M. Addressing Kinase-Independent Functions of Fak via PROTAC-Mediated Degradation. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 17019–17026. DOI: 10.1021/jacs.8b08008.
- 509 Nag, O. K.; Jeong, J.-E.; Nguyen, T. L.; Woo, H. Y. Synthesis and optical properties of pH-responsive conjugated polyampholytes. *Macromol. Res.* **2015**, *23*, 457–465. DOI: 10.1007/s13233-015-3056-7.
- 510 Schellinger, J. G.; Danan-Leon, L. M.; Hoch, J. A.; Kassa, A.; Srivastava, I.; Davis, D.; Gervay-Hague, J. Synthesis of a trimeric gp120 epitope mimic conjugated to a T-helper peptide to improve antigenicity. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 3230–3233. DOI: 10.1021/ja1083915.
- 511 Lewis, J. G.; Jacobs, J. W.; Reich, N.; Leadbetter, M. R.; Bell, N.; Chang, H.-T.; Chen, T.; Navre, M.; Charmot, D.; Carreras, C.; Labonte, E.; Du, X.; Oslob, J. Benzamide compounds as inhibitors of phosphate transport and their preparation, 2011-07-07. Published Online: July 07, 2011.
- 512 Wosnick, J. H.; Mello, C. M.; Swager, T. M. Synthesis and application of poly(phenylene ethynylene)s for bioconjugation: a conjugated polymer-based fluorogenic probe for proteases. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3400–3405. DOI: 10.1021/ja043134b.
- 513 Herzner, H.; Kunz, H. Spacer-separated sialyl LewisX cyclopeptide conjugates as potential E-selectin ligands. *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 541–557. DOI: 10.1016/j.carres.2006.09.012.
- 514 Wu, X.; Zong, X.; Ji, M. A New Route for the Synthesis of 1-Amino-3,6,9,12-Tetraoxapentadecan-15-Oic Acid. *Journal of Chemical Research* **2016**, *40*, 368–370. DOI: 10.3184/174751916X14631433537513.
- 515 Campos, S. A.; Harling, J. D.; Miah, A. H.; Smith, I. E. D. Proteolysis targeting chimeras (protacs) directed to the modulation of the estrogen receptor, 2014-01-09. Published Online: January 09, 2014.
- 516 Fang, K.; Dong, G.; Li, Y.; He, S.; Wu, Y.; Wu, S.; Wang, W.; Sheng, C. Discovery of Novel Indoleamine 2,3-Dioxygenase 1 (IDO1) and Histone Deacetylase (HDAC) Dual Inhibitors. *ACS Med. Chem. Lett.* **2018**, *9*, 312–317. DOI: 10.1021/acsmedchemlett.7b00487.

- 517 Mariani, A.; Bartoli, A.; Atwal, M.; Lee, K. C.; Austin, C. A.; Rodriguez, R. Differential Targeting of Human Topoisomerase II Isoforms with Small Molecules. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 4851–4856. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b00473.
- 518 Colombano, G.; Travelli, C.; Galli, U.; Caldarelli, A.; Chini, M. G.; Canonico, P. L.; Sorba, G.; Bifulco, G.; Tron, G. C.; Genazzani, A. A. A novel potent nicotinamide phosphoribosyltransferase inhibitor synthesized via click chemistry. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 616–623. DOI: 10.1021/jm9010669.
- 519 Lee, J.-M.; Kim, J.; Shin, Y.; Yeom, C.-E.; Lee, J. E.; Hyeon, T.; Moon Kim, B. Heterogeneous asymmetric Henry reaction using a chiral bis(oxazoline)-copper complex immobilized on magnetically separable mesocellular mesoporous silica support. *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 285–291. DOI: 10.1016/j.tetasy.2010.01.024.
- 520 Srinivasan, R.; Tan, L. P.; Wu, H.; Yang, P.-Y.; Kalesh, K. A.; Yao, S. Q. High-throughput synthesis of azide libraries suitable for direct "click" chemistry and in situ screening. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 1821–1828. DOI: 10.1039/B902338K.
- 521 Mourier, N.; Traubaud, C.; Graciet, J. C.; Simon, V.; Niddam, V.; Fauray, P.; Charvet, A. S.; Camplo, M.; Chermann, J.-C.; Kraus, J. L. Peptide-Nucleoside Conjugates: Synthesis and Anti-HIV Activities. *Nucleosides and Nucleotides* **1995**, *14*, 1393–1402. DOI: 10.1080/15257779508010699.
- 522 Johnson, T. K.; Soellner, M. B. Bivalent Inhibitors of c-Src Tyrosine Kinase That Bind a Regulatory Domain. *Bioconjug. Chem.* **2016**, *27*, 1745–1749. DOI: 10.1021/acs.bioconjchem.6b00243.
- 523 Niphakis, M. J.; Cognetta, A. B.; Chang, J. W.; Buczynski, M. W.; Parsons, L. H.; Byrne, F.; Burston, J. J.; Chapman, V.; Cravatt, B. F. Evaluation of NHS carbamates as a potent and selective class of endocannabinoid hydrolase inhibitors. *ACS Chem. Neurosci.* **2013**, *4*, 1322–1332. DOI: 10.1021/cn400116z.
- 524 Mishra, N. M.; Briers, Y.; Lamberigts, C.; Steenackers, H.; Robijns, S.; Landuyt, B.; Vanderleyden, J.; Schoofs, L.; Lavigne, R.; Luyten, W.; van der Eycken, E. V. Evaluation of the antibacterial and antibiofilm activities of novel CRAMP-vancomycin conjugates with diverse linkers. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 7477–7486. DOI: 10.1039/C5OB00830A.
- 525 Steinebach, C.; Kehm, H.; Lindner, S.; Vu, L. P.; Köpf, S.; López Mármol, Á.; Weiler, C.; Wagner, K. G.; Reichenzeller, M.; Krönke, J.; Gütschow, M. PROTAC-mediated crosstalk between E3 ligases. *Chem. Commun. (Camb)* **2019**, *55*, 1821–1824. DOI: 10.1039/c8cc09541h.

- 526 Steinebach, C.; Voell, S. A.; Vu, L. P.; Bricelj, A.; Sosič, I.; Schnakenburg, G.; Gütschow, M. A Facile Synthesis of Ligands for the von Hippel–Lindau E3 Ligase. *Synthesis* **2020**, *52*, 2521–2527. DOI: 10.1055/s-0040-1707400.
- 527 Kawamata, Y.; Hayashi, K.; Carlson, E.; Shaji, S.; Waldmann, D.; Simmons, B. J.; Edwards, J. T.; Zapf, C. W.; Saito, M.; Baran, P. S. Chemoselective Electrosynthesis Using Rapid Alternating Polarity. *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 16580–16588. DOI: 10.1021/jacs.1c06572.
- 528 Yang, K.; Wu, H.; Zhang, Z.; Leisten, E. D.; Nie, X.; Liu, B.; Wen, Z.; Zhang, J.; Cunningham, M. D.; Tang, W. Development of Selective Histone Deacetylase 6 (HDAC6) Degraders Recruiting Von Hippel-Lindau (VHL) E3 Ubiquitin Ligase. *ACS Med. Chem. Lett.* **2020**, *11*, 575–581. DOI: 10.1021/acsmmedchemlett.0c00046.
- 529 Zheng, M.; Huo, J.; Gu, X.; Wang, Y.; Wu, C.; Zhang, Q.; Wang, W.; Liu, Y.; Liu, Y.; Zhou, X.; Chen, L.; Zhou, Y.; Li, H. Rational Design and Synthesis of Novel Dual PROTACs for Simultaneous Degradation of EGFR and PARP. *J. Med. Chem.* **2021**, *64*, 7839–7852. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.1c00649.
- 530 Jin, J.; Irie, H.; Liu, J.; Xiong, Y.; Byerly, J.; Tomita, S.; Hu, J. Preparation as heterocyclic compounds as protein tyrosine kinase 6 (PTK6) degradation / disruption compounds and methods of use, 2019-07-03. Published Online: July 03, 2019.
- 531 Zhao, H.-Y.; Wang, H.-P.; Mao, Y.-Z.; Zhang, H.; Xin, M.; Xi, X.-X.; Lei, H.; Mao, S.; Li, D.-H.; Zhang, S.-Q. Discovery of Potent PROTACs Targeting EGFR Mutants through the Optimization of Covalent EGFR Ligands. *J. Med. Chem.* **2022**, *65*, 4709–4726. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.1c01827.
- 532 Zhao, Q.; Ren, C.; Liu, L.; Chen, J.; Shao, Y.; Sun, N.; Sun, R.; Kong, Y.; Ding, X.; Zhang, X.; Xu, Y.; Yang, B.; Yin, Q.; Yang, X.; Jiang, B. Discovery of SIAIS178 as an Effective BCR-ABL Degradator by Recruiting Von Hippel-Lindau (VHL) E3 Ubiquitin Ligase. *J. Med. Chem.* **2019**, *62*, 9281–9298. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.9b01264.
- 533 Kamal, A.; Subba Rao, A. V.; Vishnuvardhan, M. V. P. S.; Srinivas Reddy, T.; Swapna, K.; Bagul, C.; Subba Reddy, N. V.; Srinivasulu, V. Synthesis of 2-anilinopyridyl-triazole conjugates as antimitotic agents. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 4879–4895. DOI: 10.1039/C5OB00232J.
- 534 Katritzky, A. R.; Singh, S. K. Synthesis of C -Carbamoyl-1,2,3-triazoles by Microwave-Induced 1,3-Dipolar Cycloaddition of Organic Azides to Acetylenic Amides. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 9077–9079. DOI: 10.1021/jo026398u.
- 535 Gabizon, R.; Shraga, A.; Gehrtz, P.; Livnah, E.; Shorer, Y.; Gurwicz, N.; Avram, L.; Unger, T.; Aharoni, H.; Albeck, S.; Brandis, A.; Shulman, Z.; Katz, B.-Z.; Herishanu, Y.; London, N. Efficient

- Targeted Degradation via Reversible and Irreversible Covalent PROTACs. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 11734–11742. DOI: 10.1021/jacs.9b13907.
- 536 Guo, W.-H.; Qi, X.; Yu, X.; Liu, Y.; Chung, C.-I.; Bai, F.; Lin, X.; Lu, D.; Wang, L.; Chen, J.; Su, L. H.; Nomie, K. J.; Li, F.; Wang, M. C.; Shu, X.; Onuchic, J. N.; Woyach, J. A.; Wang, M. L.; Wang, J. Enhancing intracellular accumulation and target engagement of PROTACs with reversible covalent chemistry. *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 4268. DOI: 10.1038/s41467-020-17997-6.
- 537 Kiely-Collins, H.; Winter, G. E.; Bernardes, G. J. L. The role of reversible and irreversible covalent chemistry in targeted protein degradation. *Cell Chem. Biol.* **2021**, *28*, 952–968. DOI: 10.1016/j.chembiol.2021.03.005.
- 538 Yuan, M.; Chu, Y.; Duan, Y. Reversible Covalent PROTACs: Novel and Efficient Targeted Degradation Strategy. *Front. Chem.* **2021**, *9*, 691093. DOI: 10.3389/fchem.2021.691093.
- 539 Hu, Z.; Crews, C. M. Recent Developments in PROTAC-Mediated Protein Degradation: From Bench to Clinic. *Chembiochem* **2022**, *23*, e202100270. DOI: 10.1002/cbic.202100270.
- 540 Reaction Biology. Cell Proliferation and Cell Viability Assay Services. <https://www.reactionbiology.com/services/cell-based-assays/cell-proliferation-and-viability-assays>.
- 541 Reinecke, M.; Heinzlmeir, S.; Wilhelm, M.; Médard, G.; Klaeger, S.; Kuster, B. Kinobeads: A Chemical Proteomic Approach for Kinase Inhibitor Selectivity Profiling and Target Discovery. In *Target Discovery and Validation*. Plowright, A. T., Ed.; Wiley; pp. 97–130.
- 542 Honma, Y.; Kawano, M.; Kohsaka, S.; Ogawa, M. Axonal projections of mechanoreceptive dorsal root ganglion neurons depend on Ret. *Development* **2010**, *137*, 2319–2328. DOI: 10.1242/dev.046995.
- 543 Kawase, T.; Nakazawa, T.; Eguchi, T.; Tsuzuki, H.; Ueno, Y.; Amano, Y.; Suzuki, T.; Mori, M.; Yoshida, T. Effect of Fms-like tyrosine kinase 3 (FLT3) ligand (FL) on antitumor activity of gilteritinib, a FLT3 inhibitor, in mice xenografted with FL-overexpressing cells. *Oncotarget* **2019**, *10*, 6111–6123. DOI: 10.18632/oncotarget.27222.
- 544 Mol, C. D.; Lim, K. B.; Sridhar, V.; Zou, H.; Chien, E. Y. T.; Sang, B.-C.; Nowakowski, J.; Kassel, D. B.; Cronin, C. N.; McRee, D. E. Structure of a c-kit product complex reveals the basis for kinase transactivation. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 31461–31464. DOI: 10.1074/jbc.C300186200.
- 545 Deutscher Apotheker-Verlag Doktor Roland Schmiedel. *Europäisches Arzneibuch 8. Ausgabe, 2. Nachtrag (Ph.Eur. 8.2)*; Deutscher Apotheker Verlag: Stuttgart, 2015.

- 546 Cortes, J.; Perl, A. E.; Döhner, H.; Kantarjian, H.; Martinelli, G.; Kovacs, T.; Rousselot, P.; Steffen, B.; Dombret, H.; Estey, E.; Strickland, S.; Altman, J. K.; Baldus, C. D.; Burnett, A.; Krämer, A.; Russell, N.; Shah, N. P.; Smith, C. C.; Wang, E. S.; Ifrah, N.; Gammon, G.; Trone, D.; Lazzaretto, D.; Levis, M. Quizartinib, an FLT3 inhibitor, as monotherapy in patients with relapsed or refractory acute myeloid leukaemia: an open-label, multicentre, single-arm, phase 2 trial. *The Lancet Oncology* **2018**, *19*, 889–903. DOI: 10.1016/S1470-2045(18)30240-7.
- 547 Cortes, J. E.; Tallman, M. S.; Schiller, G. J.; Trone, D.; Gammon, G.; Goldberg, S. L.; Perl, A. E.; Marie, J.-P.; Martinelli, G.; Kantarjian, H. M.; Levis, M. J. Phase 2b study of 2 dosing regimens of quizartinib monotherapy in FLT3-ITD-mutated, relapsed or refractory AML. *Blood* **2018**, *132*, 598–607. DOI: 10.1182/blood-2018-01-821629.
- 548 Weisberg, E.; Meng, C.; Case, A. E.; Tiv, H. L.; Gokhale, P. C.; Buhrlage, S. J.; Yang, J.; Liu, X.; Wang, J.; Gray, N.; Adamia, S.; Sattler, M.; Stone, R.; Griffin, J. D. Effects of the multi-kinase inhibitor midostaurin in combination with chemotherapy in models of acute myeloid leukaemia. *J. Cell. Mol. Med.* **2020**, *24*, 2968–2980. DOI: 10.1111/jcmm.14927.
- 549 Stella, V. J. Prodrugs: Some thoughts and current issues. *J. Pharm. Sci.* **2010**, *99*, 4755–4765. DOI: 10.1002/jps.22205.
- 550 Beaumont, K.; Webster, R.; Gardner, I.; Dack, K. Design of ester prodrugs to enhance oral absorption of poorly permeable compounds: challenges to the discovery scientist. *Curr. Drug Metab.* **2003**, *4*, 461–485. DOI: 10.2174/1389200033489253.
- 551 Ettmayer, P.; Amidon, G. L.; Clement, B.; Testa, B. Lessons learned from marketed and investigational prodrugs. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 2393–2404. DOI: 10.1021/jm0303812.
- 552 Fulmer, G. R.; Miller, A. J. M.; Sherden, N. H.; Gottlieb, H. E.; Nudelman, A.; Stoltz, B. M.; Bercaw, J. E.; Goldberg, K. I. NMR Chemical Shifts of Trace Impurities: Common Laboratory Solvents, Organics, and Gases in Deuterated Solvents Relevant to the Organometallic Chemist. *Organometallics* **2010**, *29*, 2176–2179. DOI: 10.1021/om100106e.
- 553 Jiang, J.; Gribble, G. W. A DIRECT LITHIATION ROUTE TO 2-ACYL-1-(PHENYLSULFONYL)INDOLES. *Synthetic Communications* **2002**, *32*, 2035–2040. DOI: 10.1081/SCC-120004854.
- 554 Kraus, J. M.; Tatipaka, H. B.; McGuffin, S. A.; Chennamaneni, N. K.; Karimi, M.; Arif, J.; Verlinde, C. L. M. J.; Buckner, F. S.; Gelb, M. H. Second generation analogues of the cancer drug clinical candidate tipifarnib for anti-Chagas disease drug discovery. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 3887–3898. DOI: 10.1021/jm9013136.
- 555 Zelle, R.; Mazdiyasni, H.; Galullo, V.; Baker, C. T.; Will, P.; Guo, J.; Soenen, D.; Fensome, A.; Kern, J. C.; Moore, W. J.; Melenski, E. G.; Kaplan, J. Carboxamide derivatives as ion channel

- modulators and their preparation, pharmaceutical compositions and use in the treatment of diseases, 2007-12-11. Published Online: December 11, 2007.
- 556 Polzer, H.; Janke, H.; Schmid, D.; Hiddemann, W.; Spiekermann, K. Casitas B-lineage lymphoma mutants activate AKT to induce transformation in cooperation with class III receptor tyrosine kinases. *Exp Hematol* **2013**, *41*, 271-80.e4. DOI: 10.1016/j.exphem.2012.10.016.
- 557 Reinecke, M.; Ruprecht, B.; Poser, S.; Wiechmann, S.; Wilhelm, M.; Heinzlmeir, S.; Kuster, B.; Médard, G. Chemoproteomic Selectivity Profiling of PIKK and PI3K Kinase Inhibitors. *ACS Chem. Biol.* **2019**, *14*, 655–664. DOI: 10.1021/acscchembio.8b01020.
- 558 Vizcaíno, J. A.; Csordas, A.; del-Toro, N.; Dianes, J. A.; Griss, J.; Lavidas, I.; Mayer, G.; Perez-Riverol, Y.; Reisinger, F.; Ternent, T.; Xu, Q.-W.; Wang, R.; Hermjakob, H. 2016 update of the PRIDE database and its related tools. *Nucleic Acids Res.* **2016**, *44*, D447-56. DOI: 10.1093/nar/gkv1145.
- 559 Cornell, W. D.; Cieplak, P.; Bayly, C. I.; Gould, I. R.; Merz, K. M.; Ferguson, D. M.; Spellmeyer, D. C.; Fox, T.; Caldwell, J. W.; Kollman, P. A. A Second Generation Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids, and Organic Molecules. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5179–5197. DOI: 10.1021/ja00124a002.
- 560 Clark, M.; Cramer, R. D.; van Opdenbosch, N. Validation of the general purpose tripos 5.2 force field. *J. Comput. Chem.* **1989**, *10*, 982–1012. DOI: 10.1002/jcc.540100804.

7.6. EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe des Literaturzitats gekennzeichnet.

Weitere Personen waren an der inhaltlich-materiellen Herstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich hierfür nicht die entgeltliche Hilfe eines Promotionsberaters oder anderer Personen in Anspruch genommen. Niemand hat von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Regensburg, im März 2023

Lukas Wirth