

Entwicklung selektiver und oral verfügbarer Inhibitoren der ATM-Kinase mit subnanomolarer zellulärer Aktivität

Dissertation

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Eberhard Karls Universität Tübingen

zur Erlangung des Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

vorgelegt von

Teodor Todorov Dimitrov

aus Sofia, Bulgarien

Tübingen

2023

Gedruckt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Eberhard Karls Universität Tübingen.

Tag der mündlichen Qualifikation:	13.06.2023
Dekan:	Prof. Dr. Thilo Stehle
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. Stefan Laufer
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. Peter Ruth

Zusammenfassung der Dissertation

Die *Ataxia-telangiectasia mutated* (ATM)-Kinase ist ein zentraler Regulator der zellulären DNA-Schadensantwort in Bezug auf DNA-Doppelstrangbrüche (DSB). In vorausgehenden Forschungsarbeiten zeigte sich, dass die Inhibition der ATM zu starken synergistischen Effekten mit verschiedenen etablierten antitumoralen Therapien führen kann, weshalb die Entwicklung potenter und selektiver ATM-Inhibitoren von großem Interesse ist.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden ATM-Inhibitoren verschiedener Strukturklassen synthetisiert, charakterisiert und optimiert. Der Schwerpunkt lag in der Entwicklung neuer ATM-Inhibitoren auf Benzimidazol- und 3*H*-Imidazo[4,5-*b*]pyridin-Basis. Ausgehend von der Darstellung erster vielversprechender *Proof-of-Concept*-Inhibitoren wurden systematische Derivatisierungen verschiedener Teilstrukturen durchgeführt, um essenzielle Struktur-Wirkungsbeziehungen (SAR) abzuleiten. Dabei konnten zwei vielversprechende Leitstrukturen mit einstellig nanomolaren Hemmwerten und deutlich unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften identifiziert werden, die ferner hinsichtlich ihrer metabolischen Stabilität, der Aktivität auf zellulärer Ebene und der Selektivität innerhalb ausgewählter verwandter Kinasen und des Kinoms charakterisiert wurden. Da die ersten Leitstrukturen bei der Translation in den zellulären Assay einen ausgeprägten Aktivitätsverlust aufwiesen, sollten weitreichende Modifikationen beider Strukturklassen durchgeführt werden, um eine effiziente Inhibition auf Zellebene zu ermöglichen. Syntheseoptimierungen erlaubten in mehreren Syntheserouten die Darstellung von Zwischenprodukten ohne säulenchromatographische Aufreinigungsschritte und ermöglichten in einigen Fällen eine effiziente *Late-Stage*-Derivatisierung der Inhibitoren.

Es gelang, mehrere ATM-Kinaseinhibitoren zu identifizieren, welche picomolare Hemmwerte und zugleich subnanomolare Aktivität auf zellulärer Ebene zeigen konnten. Zusätzlich konnte durch weiterführende Optimierungen eine hohe Selektivität erreicht werden. Zwei Vertreter wurden pharmakokinetisch evaluiert und waren oral verfügbar, sodass Kandidaten für weitergehende *in vitro* und *in vivo* Experimente zur Verfügung stehen.

Summary of the Thesis

Ataxia-telangiectasia mutated (ATM) kinase is a key regulator of the cellular DNA damage responding to double-strand breaks. Previous research showed that ATM inhibition can lead to potent synergistic effects with several established antitumor therapies, making the development of potent and selective ATM inhibitors relevant.

In this work, ATM inhibitors of different structural classes were synthesized, characterized, and optimized. The main aim was the development of new ATM inhibitors based on benzimidazole and 3*H*-Imidazo[4,5-*b*]pyridine scaffolds. Starting from first promising proof of concept inhibitors, systematic derivatizations of distinct substructures were generated to derive essential structure-activity relationships (SAR). Two promising lead structures with single-digit nanomolar inhibitory values and distinct physicochemical properties were identified, which were further characterized regarding their metabolic stability, activity at the cellular level, and selectivity within a kinome panel. Since the initial lead structures exhibited a pronounced loss of activity at cellular level, extensive modifications of both structural classes were generated striving to improve their inhibition capacity. Optimization of the synthesis allowed the preparation of intermediates without column chromatographic purification steps in key synthetic routes and, in some cases, enabled efficient late-stage derivatization of the inhibitors.

Several ATM kinase inhibitors were successfully identified with picomolar levels of on-target inhibition, subnanomolar activity at the cellular level, and high selectivity. Two representatives were evaluated pharmacokinetically and were orally available, thus providing candidates for further *in vitro* and *in vivo* experiments.

Publikationsliste

Dimitrov T.; Moschopoulou A.; Seidel L.; Kronenberger T.; Kudolo M.; Poso A.; Geibel C.; Wölffing P.; Dauch D.; Zender L.; Schollmeyer D.; Bajorath J.; Forster M.; Laufer S.; Design and optimization of novel benzimidazole- and imidazo[4,5-*b*]pyridine-based ATM kinase inhibitors with subnanomolar activities. *Journal of Medicinal Chemistry* **2023**, *66* (11), 7304-7330. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.2c02104.

Dimitrov, T.; Anli, C.; Moschopoulou, A. A.; Kronenberger, T.; Kudolo, M.; Geibel, C.; Schwalm, M. P.; Knapp, S.; Zender, L.; Forster, M.; et al. Development of novel urea-based ATM kinase inhibitors with subnanomolar cellular potency and high kinome selectivity. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2022, *235*, 114234. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114234>. (Publikation I)

Wydra, V.; Gerstenecker, S.; Schollmeyer, D.; Andreev, S.; Dimitrov, T.; Massarico Serafim, R.A.; Laufer, S.; Gehringer, M. *N*-(6-Chloro-3-nitropyridin-2-yl)-5-(1-methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)isoquinolin-3-amine. *Molbank2021*, 2021, M1181.
<https://doi.org/10.3390/M1181>

Forster, M.; Chaikuad, A.; Dimitrov, T.; Döring, E.; Holstein, J.; Berger, B.-T.; Gehringer, M.; Ghoreschi, K.; Müller, S.; Knapp, S.; et al. Development, Optimization, and Structure–Activity Relationships of Covalent-Reversible JAK3 Inhibitors Based on a Tricyclic Imidazo[5,4-*d*]pyrrolo[2,3-*b*]pyridine Scaffold. *Journal of Medicinal Chemistry* **2018**, *61* (12), 5350-5366. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b00571.

Patentanmeldungen

Laufer, S.; Forster, M.; Dimitrov, T.; Zender, L.; Moschopoulou, A. Preparation of imidazo[4,5-c]quinoline compounds and their use as ATM kinase inhibitors. WO2022096361, 2022.

Dimitrov, T.; Laufer, S.; Forster, M.; Zender, L.; Moschopoulou, A. ATM Kinase Inhibitors. EP23163492, 2023.

Abkürzungsverzeichnis

A-T	<i>Ataxia telangiectasia</i>
ACN	Acetonitril
AMP-PNP	Adenylyl-imidodiphosphat
aPK	atypische Proteinkinase
aq	wässrige Lösung
ASV	allgemeine Synthesevorschrift
ATM	<i>Ataxia-Telangiectasia-Mutated-Kinase</i>
ATP	Adenosintriphosphat
Boc	tert-Butyloxycarbonyl
CDI	Carbonyldiimidazol
cPr	Cyclopropyl
DC	Dünnschichtchromatographie
DCE	1,2-Dichlorethan
DCM	Dichlormethan
DDR	<i>DNA Damage Response</i>
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMPK	Drug Metabolism and Pharmacokinetics
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DNA-PKcs	DNA-dependent Protein Kinase Catalytic Subunit
EA	Ethylacetat
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid
ePK	eukariotische Proteinkinase
ESI	Elektrospray-Ionisation
FATC	FAT C-terminale Motiv
FC	Friedel-Crafts
FC	Flash-Chromatographie
FLAP	FATC, LBE, A-loop, PRD
FLAP-BE	<i>FLAP binding element</i>
FRET	FLUORESZENZ-RESONANZ-ENERGIETRANSFER
GK	<i>Gatekeeper</i>
HBA	H-Brücken Akzeptor
HBD	H-Brücken Donor
<i>HEAT</i>	<i>Huntingtin, Elongation factor 3, A subunit of protein phosphatase 2A, TOR1</i>
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HRD	<i>Heat-repeats domain</i>
HRI	Hydrophobe Region I
HRII	Hydrophobe Region II
HTRF	<i>Homogeneous Time Resolved Fluorescence</i>

IC ₅₀	mittlere inhibitorische Konzentration
IC ₅₀ ^{ICW}	IC50 im In-Cell-Western-Assay
ICW	In-Cell Western
LBE	LST8- <i>binding element</i>
LM	Lösungsmittel
LR	Lawessons Reagenz
mCPBA	meta-Chlorperbenzoesäure
MS	Massenspektrometrie
NBS	N-Bromsuccinimid
<i>p</i> -TsOH	<i>p</i> -Toluolsulfonsäure
Pd(dppf)Cl ₂	[1,1'-Bis(diphenylphosphino)ferrocen]dichlorpalladium(II)
PE	Petrolether
PI3K	Phosphatidylinositol 3-Kinasen
PIKK	Phosphatidylinositol 3-Kinase Related Kinasen
PK	Pharmakokinetik
PLK1	Polo-like-Kinase 1
PRD	<i>PIKK Regulatory Domain</i>
RT	Raumtemperatur
SAR	Struktur-Wirkungsbeziehung
SMG1	Suppressor of Morphogenesis in Genitalia
S _N Ar	nukleophile aromatische Substitution
T	Teil
TCDI	Thiocarbonyldiimidazol
TFAA	Trifluoracetanhydrid
THF	Tetrahydrofuran
THP	Tetrahydropyran
TRD	<i>tetratricopeptide repeats</i>
tret	Retentionszeit
TRRAP	<i>Transformation/Transcription Domain-associated Protein</i>

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Kinasen	1
1.2	Kinasen als Arzneistofftargets	2
1.3	PIKK-Familie	3
1.4	ATM-Kinase	6
1.4.1	Struktur der ATM-Kinase	6
1.4.2	Pharmakophormodell der ATP-Bindetasche	14
1.4.3	Signalkaskaden	15
1.4.4	Therapeutische Relevanz der ATM-Kinase	17
1.4.5	Inhibitoren der ATM-Kinase	19
1.4.5.1	Unselektive und niederpotente ATM-Kinase-Inhibitoren	19
1.4.5.2	Selektive ATM-Kinase-Inhibitoren	20
1.4.6	ATM-Kinase-Inhibitoren in klinischer Evaluation	22
2	Zielsetzung	24
3	Chemischer Teil	26
3.1	Chinoline-Inhibitoren basierend auf dem 3-Methyl-1,3-dihydro-2H-imidazo[4,5-c]chinolin-2-on-Grundgerüst	26
3.1.1	Modifikationen der Pyridinylother-Seitenkette	26
3.1.2	Darstellung von Imidazo[4,5-c]chinolin-2-thion-Analoga	29
3.1.3	Modifikationen der 1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-phenylharnstoff-Seitenkette	30
3.2	Scaffold-Hopping: Erprobung von Azaindol-Derivaten als <i>Hinge</i>-Bindungsmotiv	33
3.3	Benzimidazole	41
3.3.1	Proof-of-Concept-Inhibitoren	41
3.3.1.1	Allgemeine Synthese des Benzimidazol-Grundgerüsts und Modifikationen der S2-Seitenkette	46
3.3.1.2	Verknüpfung des Benzimidazol-Grundgerüsts mit der S1-Seitenkette	50
3.3.2	Synthese der Hybridverbindung 144	57

3.3.3	Synthese und Modifikationen der Biphenyl-basierten Inhibitoren.....	61
3.3.3.1	Substitutionen am terminalen Ring des S2-Restes	62
3.3.3.2	Einführung verschiedener S1-Seitenketten.....	64
3.3.3.3	Evaluierung des 3 <i>H</i> -Imidazo[4,5- <i>b</i>]pyridin- <i>Hinge</i> -Bindungsmotives	66
3.3.4	Modifikationen der Sulfonamid-basierten Inhibitoren	68
3.3.4.1	Sulfonamid-Inhibitoren: Derivatisierung der S1-Seitenkette	69
3.3.4.2	Fehlgeschlagene S1-Seitenketten-Modifikationen	75
3.3.4.3	Modifikationen des <i>Hinge</i> -Bindungsmotives	76
3.3.4.4	Optimierung der Sulfonamidgruppe	78
3.3.5	Synthese der 3 <i>H</i> ,3' <i>H</i> -5,5'-Bibenz[<i>d</i>]imidazole 247 und 250	82
3.3.6	Darstellung von 5-Methoxy-Benzimidazolen.....	85
3.3.7	Einführung des 3 <i>H</i> -Imidazo[4,5- <i>b</i>]pyridin-Grundgerüsts innerhalb der Sulfonamidinhibitoren	86
3.3.7.1	Verschiebung der Sulfonamidgruppe	90
3.3.7.2	Weitere Modifikationen an den 3 <i>H</i> -Imidazo[4,5- <i>b</i>]pyridin-basierten Hemmstoffen.....	91
3.3.7.3	Weitere Ansätze: Thioether-basierte S1-Seitenketten	95
3.3.7.4	Weitere Ansätze: Alternative Reduktion der 5-Brom-2-nitroaniline.....	96
4	Biologische Testung	97
4.1	Enzymatische Assaysysteme	97
4.1.1	Reaction Biology Corp. ATM FRET-Assay.....	97
4.1.2	HTRF-Assay bei Eurofins.....	98
4.1.3	Untersuchung der Äquivalenz beider Assays	98
4.1.4	KinaseProfiler Selektivität.....	99
4.1.5	DSF-Assay	100
4.1.6	Mikrosomaler Stabilitätsassay	101
4.2	Zelluläre Assaysysteme	101
4.2.1	Zellulärer <i>In-Cell-Western</i> Assay	101
4.2.2	Pharmakokinetik (murin).....	102
5	Biologische Evaluation und Diskussion	103

5.1	Chinolin-basierte Inhibitoren	103
5.2	Azaindol-basierte ATM-Kinaseinhibitoren.....	109
5.3	Inhibitoren auf Basis des Benzimidazol <i>Hinge</i>-Bindungsmotivs.....	111
5.3.1	Primäre SAR-Studien der Benzimidazol-Inhibitoren	116
5.3.2	Modifikationen der Biphenyl-Inhibitoren.....	125
5.3.2.1	Modifikationen der S2-Seitenkette der Biphenyl-basierten Inhibitoren.....	126
5.3.2.2	Modifikationen der S1-Seitenkette der Biphenyl-basierten Inhibitoren.....	128
5.3.2.3	Modifikationen des <i>Hinge</i> -Bindungsmotivs der Biphenyl-Inhibitoren	131
5.3.3	Optimierung der Sulfonamid-basierten Inhibitoren.....	132
5.3.3.1	Modifikationen der 1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-phenylharnstoff- Seitenkette (S1-Seitenkette).....	133
5.3.3.2	Modifikationen des <i>Hinge</i> -Bindungsmotivs innerhalb Sulfonamid-basierten Inhibitoren.....	140
5.3.3.3	SAR-Studien der Sulfonamidgruppe	143
5.3.3.4	Weiterführende Modifikationen der S1-Seitenkette: Einführung der Bibenzimidazol-Inhibitoren	146
5.3.3.5	Modifikationen am <i>Hinge</i> -Bindungsmotiv der Sulfonamid-Inhibitoren	148
5.3.3.6	Modulation der Lipophilie der Verbindungen 272 und 275	155
6	Zusammenfassung der Ergebnisse	160
7	Experimenteller Teil	164
7.1	Materialien und Methoden.....	164
7.2	Allgemeine Synthesevorschriften	165
7.3	Synthese der Verbindungen aus Kapitel 3.1	168
7.4	Synthese der Verbindungen aus Kapitel 3.2	180
7.5	Synthese der Verbindungen aus Kapitel 3.3.1	196
7.6	Synthese der Verbindungen aus Kapitel 3.3.2	240
7.7	Synthese der Verbindungen aus Kapitel 3.3.3	246
7.8	Synthese der Verbindungen aus Kapitel 3.3.4	266
7.9	Synthese der Verbindungen aus Kapitel 3.3.5	302
7.10	Synthese der Verbindungen aus Kapitel 3.3.6	306
7.11	Synthese der Verbindungen aus Kapitel 3.3.7	310

8	Liste der Testverbindungen	337
9	Literaturverzeichnis	353



1 Einleitung

1.1 Kinasen

Die Phosphorylierung durch Kinasen spielt eine wichtige Rolle in zahlreichen biologischen Prozessen. Dabei wird eine γ -Phosphatgruppe, zumeist eines Adenosintriphosphat (ATP)-Moleküls, auf die Hydroxylgruppe verschiedener Substrate wie Peptide, Lipide oder Kohlenhydrate übertragen. Es sind über 500 für Proteinkinasen codierende Gene bekannt. Die entsprechenden Kinasen werden in ihrer Gesamtheit als Kinom bezeichnet (Abbildung 1) und können auf unterschiedliche Arten weiter unterteilt werden. Eine Möglichkeit ist die Einteilung nach Art der modifizierten Aminosäure am Substrat, wobei Serin/Threonin-Kinasen, Tyrosinkinasen und dual-spezifische Proteinkinasen, welche alle drei Arten der zuvor genannten Aminosäuren phosphorylieren, unterschieden werden können.¹⁻³

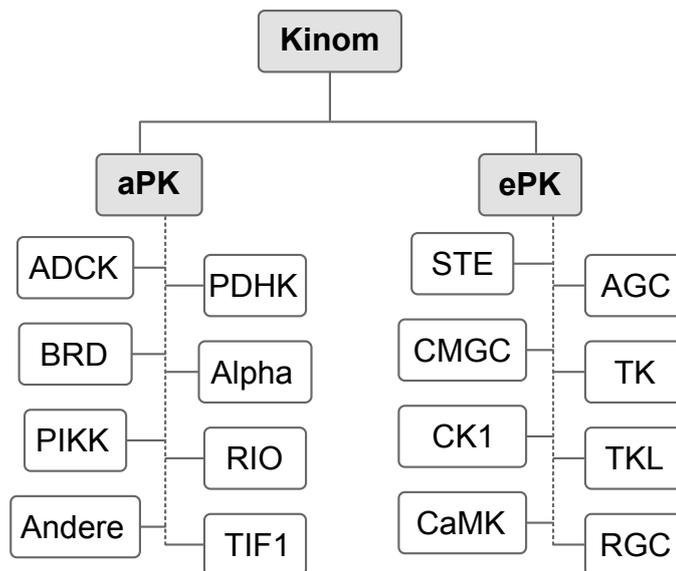


Abbildung 1: Einteilung humaner Proteinkinasen. Abkürzungen: aPK (atypische Kinasen), ePK (eukaryotische Kinasen), AGC (Proteinkinasen A, G, C), TK (Tyrosinkinasen), TKL (Tyrosinkinase-ähnliche Kinasen), RGC (Rezeptor-Guanylyl-Cyclasen), STE Kinasen (Homologs of Yeast Sterile 7, 11, and 20 Kinasen), CMGC (CDK, MAPK, GSK, CLK Kinasen), CK1 (Casein Kinase 1), CaMK (Calcium/Calmodulin-abhängige Kinasen), PDHK (Pyruvat Dehydrogenase Kinasen), Alpha-Kinasen, RIO-Kinasen, TIF1-Kinasen (Transcriptional Intermediary Factor 1), ABC1/ADCK (ABC1 Domain Containing Kinases), BRD (Bromodomäne Kinasen), PIKK (Phosphatidylinositol 3-Kinase-Related Kinases).^{1,2}

Eine weitere Einteilung ist anhand der Sequenzhomologie möglich. Im Proteinkinase-stammbaum nach Manning *et al.* werden eukaryotische Proteinkinasen (ePK) und atypische Proteinkinasen (aPK) unterschieden, die jeweils mehrere Untergruppen beinhalten (Abbildung 1).^{1,2} Eine weitere Unterteilung kann in katalytisch aktive Kinasen und Pseudokinasen erfolgen. Letztere machen ca. 10 % des humanen Kinoms aus und sind

katalytisch inaktiv, da bestimmte Struktur motive fehlen. Dennoch haben diese Proteine eine hohe physiologische Bedeutung und verfügen über wichtige regulatorische Funktionen.⁴

1.2 Kinasen als Arzneistofftargets

Kinasen haben sich zu wichtigen *Targets* für Arzneistoffe im 21. Jahrhundert entwickelt, da sie eine pathophysiologische Relevanz in Bezug auf zahlreiche Krankheiten aufweisen.⁵ Der weltweit erste Kinaseinhibitor war Fasudil, der 1995 in Japan zugelassen wurde und dessen Kinaseinhibition erst retrospektiv bekannt wurde. Sirolimus (oder Rapamycin) stellt den ersten, durch die U.S. Food and Drug Administration (FDA) zugelassenen, allosterischen Inhibitor im Jahr 1999 dar (Abbildung 2). Im Jahr 2001 kam der erste synthetische Wirkstoff Imatinib (Gleevec[®]) auf den amerikanischen Markt, welcher gezielt als Kinaseinhibitor entwickelt wurde. Dieser Wirkstoff zeigte, dass – trotz hoher Strukturhomologie innerhalb der Kinasen – eine hohe Selektivität erzielt werden kann. Nach Imatinib folgten zahlreiche Zulassungen weiterer niedermolekularer Kinaseinhibitoren.⁶ Aktuell sind mehr als 70 Kinaseinhibitoren von der FDA zugelassen, wobei maligne Erkrankungen mit über 60 Vertretern die häufigste Indikation darstellen (Abbildung 2).^{7,8} Elf Arzneistoffe aus dieser Klasse sind für nicht-maligne Erkrankungen zugelassen (Abbildung 2, blau markiert).⁶⁻⁸ Bis auf wenige Ausnahmen, vor allem die Makrolide Everolimus, Sirolimus und Temsirolimus, zeigen die Inhibitoren ähnliche physikochemische Eigenschaften (Abbildung 2B). Der Median für die *Polar Surface Area* (PSA) und für die relative Molekülmasse liegen bei 96 Å² und 482 Dalton. Die meisten Vertreter verfügen über weniger als fünf H-Brücken-Donoren und die Anzahl der H-Brücken-Akzeptoren befindet sich in den meisten Fällen zwischen vier und zehn. Bis auf drei Vertreter sind alle durch die FDA-zugelassenen Kinaseinhibitoren für die orale Applikation zugelassen, wenngleich für einige neben der oralen auch andere Applikationswege möglich sind. Auf das humane Kinom bezogen, können mit den durch die FDA zugelassenen Kinaseinhibitoren ca. ein Zwanzigstel der über 500 Kinasen adressiert werden.⁷

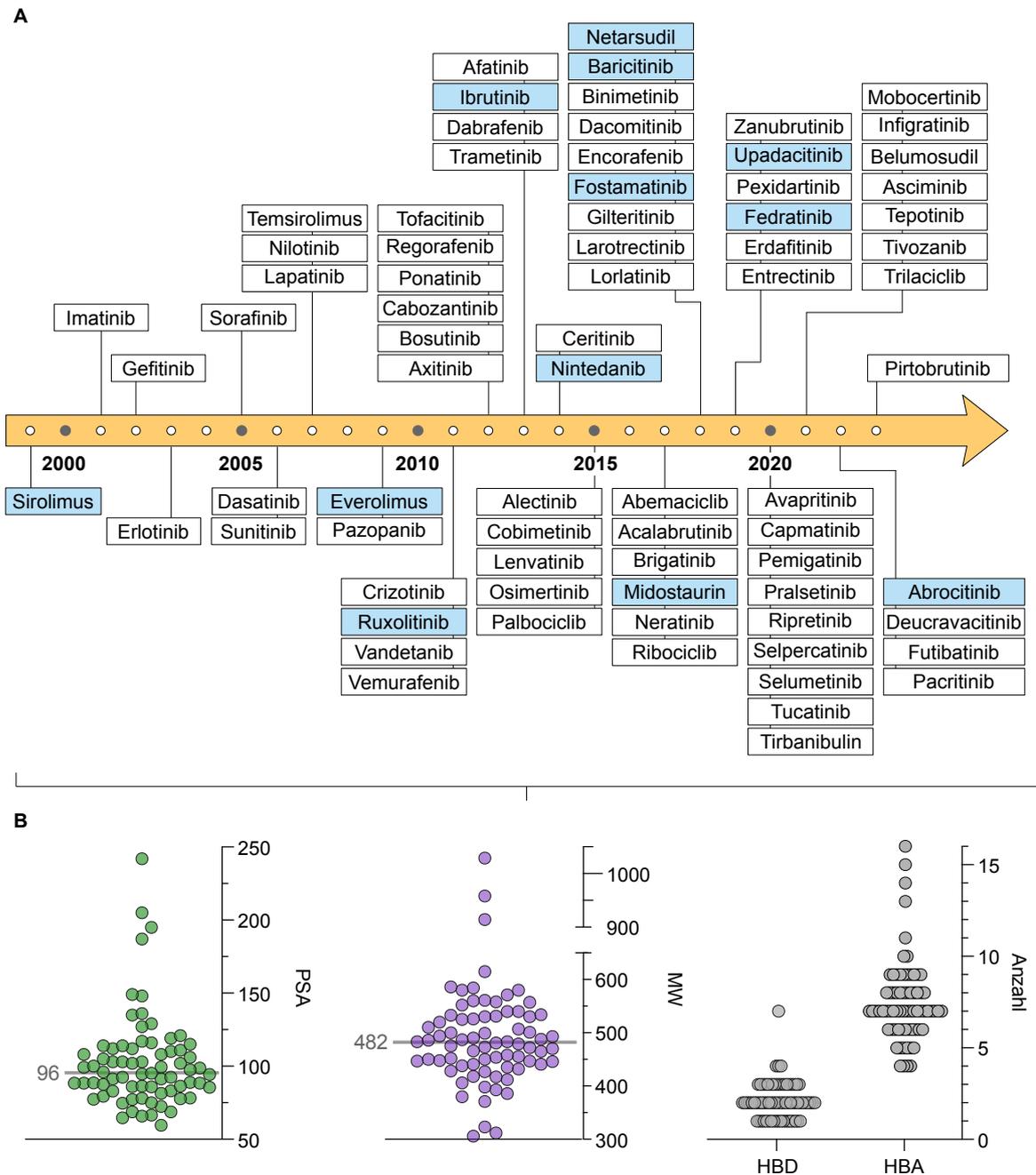


Abbildung 2: A) Zugelassene Proteinkinaseinhibitoren durch die FDA (Stand: April 2023). Die blau markierten Wirkstoffe sind für nicht maligne Erkrankungen zugelassen. B) PSA* in \AA^2 , relative Molekülmasse der Inhibitoren in Dalton (grau: Median) und Anzahl der H-Brücken-Donoren* (HBD) und H-Brücken-Akzeptoren* (HBA). Stand: März 2023.^{6,8} (*ohne Pirtrobrutinib und Tribanibulin)

1.3 PIKK-Familie

Die *Phosphatidylinositol 3-Kinase Related Kinase* (PIKK)-Familie wurde 1995 von Keith und Schreiber klassifiziert. Die Kinasen innerhalb dieser Gruppe gehören zu den aPKs und besitzen eine hohe Strukturhomologie zu der Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K)-Familie.

Die PIKK-Familie beinhaltet die Kinasen *Mammalian Target of Rapamycin* (mTOR), *DNA-dependent Protein Kinase Catalytic Subunit* (DNA-PKcs), *Ataxia-telangiectasia Mutated* (ATM), *Ataxia-telangiectasia and Rad3-related Protein* (ATR), *Transformation/Transcription Domain-associated Protein* (TRRAP) und *Suppressor of Morphogenesis in Genitalia* (SMG1).^{1,9} Trotz der Verwandtschaft zu den PI3Ks unterscheiden sich die PIKKs funktionell deutlich, da diese im Gegensatz zu den PI3Ks keine Lipide phosphorylieren, sondern Ser/Thr-Proteinkinaseaktivität aufweisen.¹⁰⁻¹² Bei allen PIKK-Vertretern handelt es sich um äußerst große Proteine mit über 2500 Aminosäuren (Abbildung 3), bei denen die Kinasedomäne ca. 5 - 10 % der Sequenz ausmacht. Aufgrund der enormen Größe dieser Proteine wurde für die Strukturaufklärung in den letzten Jahren vor allem auf Kryoelektronenmikroskopie (Cryo-EM) als Methode der Wahl zurückgegriffen, wobei zum Teil Auflösungen von unter 3,0 Å realisiert werden konnten.¹³⁻

16

Die Kinasen DNA-PKcs, ATM und ATR sind wichtige Bestandteile der DNA-Schadensantwort (*DNA Damage Response*, DDR), während die mTOR-Kinase das Wachstum und den Stoffwechsel eukaryotischer koordiniert.^{17,18} Die TRRAP reguliert unter anderem Chromatin-basierte Prozesse und die SMG1-Kinase spielt im *Nonsense-mediated mRNA Decay* (NMD) eine wichtige Rolle.^{19,20}

Die Kinasedomäne innerhalb der PIKK-Kinasen zeigt eine geringe Sequenzähnlichkeit im Vergleich zu klassischen ePKs, wodurch die PIKKs zu den aPKs gezählt werden.^{1,9,21} Betrachtet man jedoch die Tertiärstruktur der PIKK-Kinasen, so finden sich zum Teil deutliche Ähnlichkeiten im Vergleich zu den ePKs.²²

Der N-terminale Bereich der PIKKs besteht aus einer α -Solenoid-Domäne, die aus *HEAT repeats* (Huntingtin, Elongation factor 3, A subunit of protein phosphatase 2A, TOR1) in unterschiedlicher Quantität aufgebaut ist (Abbildung 3).^{16,23} Benachbart zur α -Solenoid-Domäne befindet sich die FAT (FRAP-ATM-TRRAP)-Domäne, die aus Tetratricopeptid-Wiederholungen (*tetratricopeptide repeats*, TRD) aufgebaut und um die Kinasedomäne gewickelt ist (Abbildung 3).^{14,24,25} Ausgehend von der konservierten Kinasedomäne (KIN) zeigen die PIKKs zwei weitere konservierte Strukturmerkmale, die C-terminal zur KIN liegen und als *PIKK Regulatory Domain* (PRD) und FAT C-terminale Motiv (FATC) bezeichnet werden. Zusammen mit der FAT-Domäne verfügen diese Einheiten über regulatorische Funktionen.¹² Die FATC-Domäne ist eine kleine hoch konservierte Struktureinheit mit ca. 30 Aminosäuren, die nur in Kombination mit FAT auftritt.^{12,26}

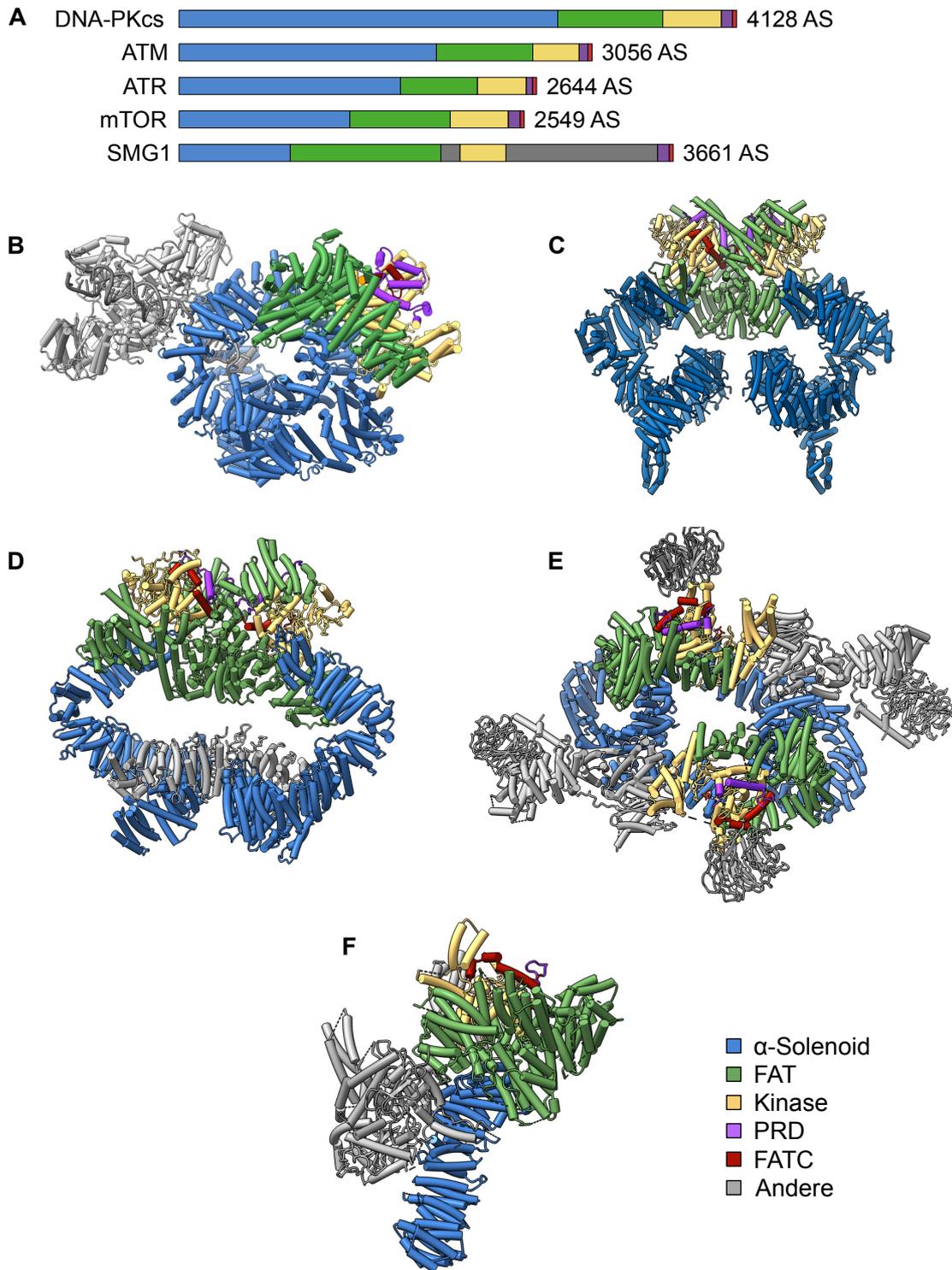


Abbildung 3: A) Schematische Darstellung der Domänen der einzelnen PIKK-Mitglieder mit Ausnahme der TRRAP (3859 AS / 438 kDa).¹⁵ Struktur B) der DNA-PKcs im Komplex mit DNA (PDB: 5Y3R)²⁷, C) der ATM-Kinase (PDB: 7SIC)²⁸, D) der ATR-Kinase als ATR-ATRIP-Komplex (PDB: 5YZ0)²⁹ E), der mTORC1 (PDB: 6BCX)³⁰ und F) der SMG1-Kinase im SMG1-SMG8-SMG9-Komplex (PDB: 6SYT).³¹ Visualisierung (B-F) mit ChimeraX.³²

Mutagenesen in diesem Bereich können zu einer Kinaseinaktivität der ATM führen, wohingegen das *Domain-Swapping*, also die Substitution dieses Elements mit der

Aminosäuresequenz einer anderen PIKK-Kinase, die Kinaseaktivität in manchen Fällen wiederherstellen kann.³³ Die Deletion der FATC führt zu einem Verlust der Kinaseaktivität, wohingegen kleinere Deletionen innerhalb der PRD die Aktivität nicht beeinträchtigen oder sogar verstärken können.^{12,34,35} Dies liegt an der Tatsache, dass die PRD als Pseudosubstrat fungieren kann, welches den Zugang zur Kinase steuert.^{24,36} Die konserviertere C-terminale Hälfte der PRD-Domäne ist ferner für Protein-Protein-Interaktionen und posttranslationale Modifikationen relevant.^{37,38}

1.4 ATM-Kinase

Die *Ataxia Telangiectasia Mutated*-Kinase (ATM-Kinase) ist eine ubiquitär exprimierte Serin/Threonin-Kinase, die spezifisch S/TQ-Aminosäuremotive phosphoryliert und hauptsächlich im Nukleus lokalisiert ist.³⁹⁻⁴⁴ Das entsprechende *ATM*-Gen befindet sich auf dem Chromosom 11q22-23, beinhaltet 12 Kilobasen und wurde 1995 identifiziert.²¹ Die ATM ist ein wichtiger Teil der zellulären DNA-Schadensantwort in Folge von DNA-Doppelstrangbrüchen (DSB).^{17,45,46} Mutationen in diesem Gen verursachen die autosomal rezessive Krankheit *Ataxia telangiectasia* (A-T, auch Louis-Bar-Syndrom), die sich durch einen komplexen Phänotyp auszeichnet und mit einer progressiven Ataxie, Immunschwäche, Radiosensitivität und Krebsprädisposition einhergeht.⁴⁷⁻⁴⁹ Die ATM-Kinase wird als vielversprechendes *Target* in der Onkologie betrachtet, da deren Inhibition in Kombination mit DSB-induzierenden Therapien starke synergistische Effekte zeigt.⁵⁰⁻⁵⁴

1.4.1 Struktur der ATM-Kinase

Aufgrund der enormen Größe der ATM-Kinase (3056 Aminosäuren) beschränkt sich die Strukturaufklärung hauptsächlich auf Cryo-EM-Aufnahmen. Dabei sind zahlreiche Strukturen sowohl der humanen ATM-Kinase als auch von ihrem Ortholog aus Pilzen (zumeist *S. cerevisiae*), die Tel1^{ATM}, publiziert worden. Insgesamt dominiert die homodimere Form, jedoch konnten auch Strukturen der monomeren ATM-Kinase aufgenommen werden. In jüngster Vergangenheit wurden hohe Auflösungen von teilweise unter 3 Å realisiert, wodurch die Aufklärung verschiedener Regulationsmechanismen und die Bindemodi verschiedener niedermolekularer Liganden, wie nicht-hydrolysierbare ATP-Analoga, als auch einiger ATM-Kinase-Inhibitoren ermöglicht wurden.^{13,24,28,36,55-58}

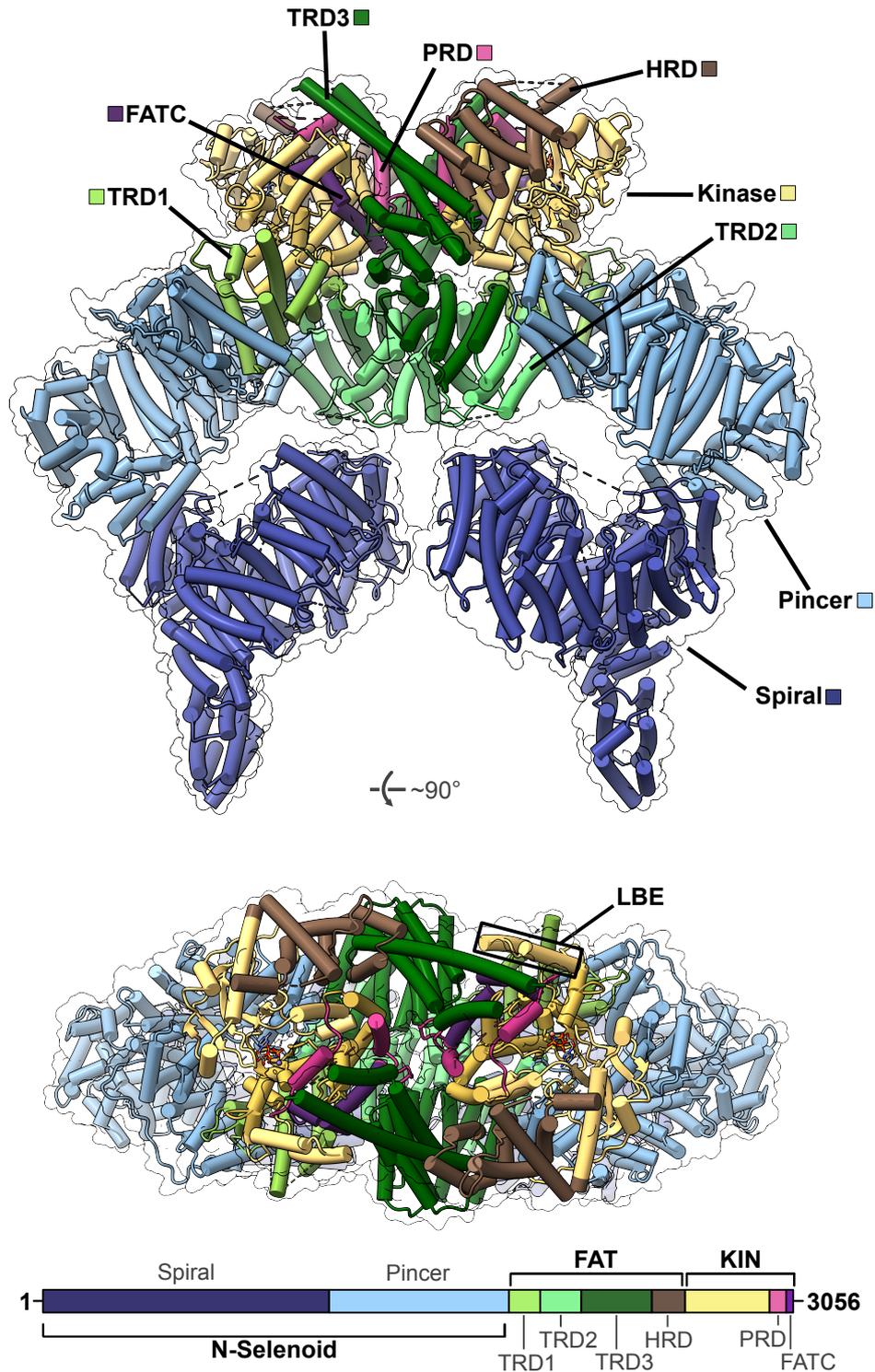


Abbildung 4: Struktur der ATM-Kinase als symmetrisch-geschlossenes Homodimer mit schmetterlingsartiger Form (PDB: 7SIC, Cryo-EM). Gestrichelte Linien zeigen unaufgelöste Strukturbestandteile. Struktur als Einteilung der Domänen nach Warren et al. und Baretić et al.^{24,28} Visualisierung mit ChimeraX.³²

Für die ATM wurden eine Reihe verschiedener Zustände beschrieben, die sich in Bezug auf die enzymatische Aktivität und in Bezug auf die Signalkaskaden unterscheiden (siehe

Kapitel 1.4.3). Im inaktiven Zustand liegt die ATM als autoinhibiertes, symmetrisches und geschlossenes Homodimer vor, wobei die einzelnen Protomere gegenseitig die Peptidsubstratbindung unterbinden (Abbildung 4). Davon sind dimere Zustände zu unterscheiden, bei denen durch post-translationale Modifikationen und durch induzierte Konformationsänderung eine Kinaseaktivität vorhanden ist.^{24,59} Des Weiteren ist der monomere Zustand der ATM zu nennen, der vor allem mit der DNA-Schadensantwort im Zusammenhang gebracht wird und enzymatisch signifikant aktiver als das geschlossene Dimer ist. Als Marker dient dabei zumeist die Autophosphorylierung an Ser1981, welche jedoch nicht essenziell für die erhöhte enzymatische Aktivität ist.^{45,57} Die ATM kann in mehrere Domänen unterteilt werden (Abbildung 4), die im Folgenden beginnend mit den N-terminalen Strukturmotiven dargelegt werden.

Der N-terminale Bereich der ATM-Kinase wird als α - oder N-Solenoid bezeichnet und besteht wie bei anderen PIKKs aus zahlreichen *HEAT repeats* (Abbildung 3 und Abbildung 4).¹⁶ Das N-Solenoid kann in eine *Spiral*-Domäne und eine *Pincer*-Domäne unterteilt werden (Abbildung 4). Die *Spiral*-Domäne ist für die Bindung verschiedener Substrate, Regulator- oder Adapterproteine essenziell, darunter p53, BRCA1 und LKB1.^{24,60} An dieser Stelle erfolgt auch die Bindung des NBS1-Proteins des MRN-Komplexes, welcher die ATM infolge von DNA-Doppelstrangbrüchen rekrutiert (Abbildung 8, siehe Kapitel 1.4.3).^{28,61} Die *Pincer*-Domäne besteht aus fünf Untereinheiten (*N-Pillar*, *Bridge*, *C-Pillar*, *Railing* und *Cap*, in Abbildung 4 nicht dargestellt) und verbindet die *Spiral*-Domäne mit der FAT (FRAP, ATM, TRRAP)-Domäne.²⁴ Die N-Solenoid-Einheit ist deutlich flexibler als die C-terminale FATKIN-Domäne (Abbildung 4) und ist nicht an der Dimerisierung beteiligt.^{13,28}

Der C-terminale Teil wird als FATKIN zusammengefasst und besteht aus der Kinasedomäne (KIN) und der FAT, wobei letztere wiederum in die Domänen die TRD1, TRD2, TRD3, die *Heat-repeats domain* (HRD) unterteilt werden kann. Die FATKIN vermittelt die ATM-Dimerisierung, die vor allem durch TRD2 und TRD3 mediiert wird.^{24,28} Im geschlossenen Zustand bilden FATC, das LST8-*binding element* (LBE, siehe Abbildung 4), der *Activation Loop* (*A-Loop*), und das PRD der KIN-Domäne eine kompakte Anordnung, die insgesamt als FLAP zusammengefasst wird (Abbildung 4, Abbildung 5). Die TRD3 interagiert mit allen Elementen der FLAP, sodass die TRD3-Domäne auch als *FLAP binding element* (FLAP-BE) bezeichnet wird. Im geschlossenen ATM-Dimer drückt das FLAP-BE des einen Monomers auf die PRD-Domäne des anderen,

sodass Peptidsubstrate nicht mehr die Kinase binden können.²⁴ Die PRD bildet hydrophobe Kontakte zum Leu2970 der KIN und H-Brücken ausgehend vom Glu2971 zum *Backbone* des *A-Loops* (Pro2901, Thr2902) aus (Abbildung 5). Dabei ahmt das Glu2971 die ATM-Substrate nach, die spezifisch an SQ/TQ-Motiven phosphoryliert werden.¹³ Die PRD ist somit als regulatorisches Pseudosubstrat zu verstehen, sodass der geschlossene Zustand des ATM-Dimers den inaktiven Zustand widerspiegelt.²⁴ Ausgehend von der FAT-Domäne, die sich um die Kinasedomäne wickelt, sind einige wichtige PIKK-spezifische polare Wechselwirkungen unter anderem zwischen den Aminosäuren Glu1959-Arg2849 (TRD1···KD), Arg2486-Glu2950 (HRD···KD) und Gln2522-Gln2730 (HRD···KD) beobachtbar.²⁴ Mutationen an diesen Stellen führen zu verschiedenen Krankheitsbildern, wodurch ausgegangen wird, dass diese Interaktionen wichtig für die Stabilisierung der gesamten ATM-Kinase sind.²⁴ Die R2849P-Mutation ist mit dem Phänotyp der A-T-Krankheit assoziiert, wohingegen die R2486G-Mutation mit T-Zell Prolymphozytenleukämie in Verbindung gebracht wird.^{62,63} Innerhalb des TRD1 der FAT-Einheit befindet sich die Aminosäure Ser1981, welche infolge von DSBs autophosphoryliert wird.^{24,45}

Neben dem symmetrischen inaktiven ATM-Dimer konnte in der Publikation von Baretić *et al.* ein offener dimerer Zustand mit insgesamt asymmetrischer Konformation beobachtet werden. Während im geschlossenen Dimer die FLAP/FLAP-BE-Interaktion die Substratbindung an der Kinase unterbindet, ist im offenen Zustand keine Interaktion zwischen FLAP und der TRD3 erkennbar. Die PRD ist so orientiert, dass Peptidsubstrate an die Kinase binden können.²⁴ Dieses asymmetrische ATM-Dimer konnte jedoch in anderen Arbeiten nicht beobachtet werden.²⁸

In der Publikation von Xiao *et al.* zeigte die monomere Ser1981-unphosphorylierte Form der ATM eine ~10-fach höhere Kinaseaktivität als das Dimer. Die katalytische Bindetasche des Monomers ist offener und die PRD-Domäne deutlich flexibler, da die FLAP-BE-abhängige Inaktivierung durch das zweite Monomer nicht mehr erfolgen kann und somit die Substratbindung erleichtert wird. Deletionen im Bereich der PRD führen zu einer Hyperaktivierung der Kinaseaktivität, wodurch die Hypothese der Autoinhibition durch PRD als Pseudosubstrat weiter bestärkt werden konnte.⁵⁷

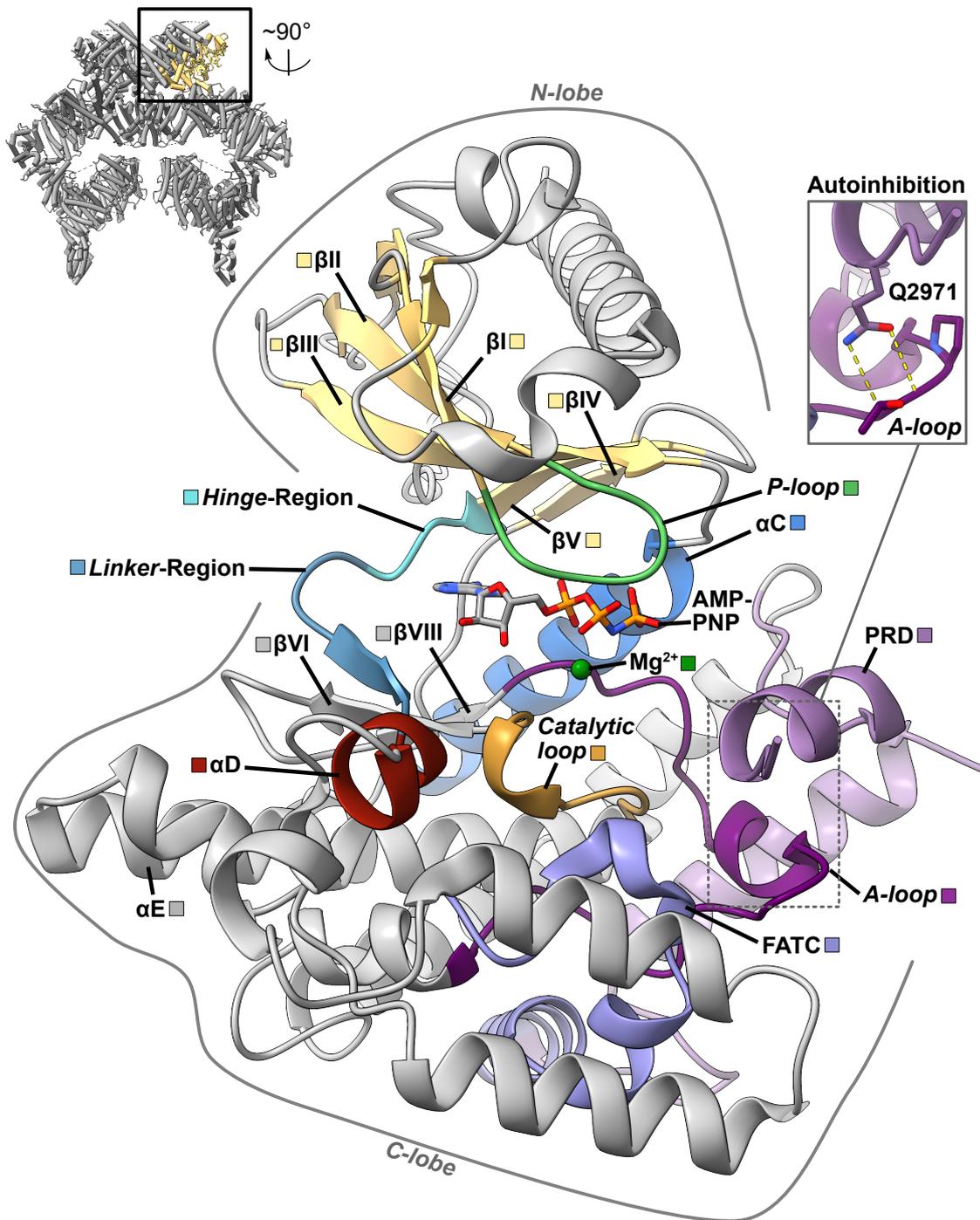


Abbildung 5: Kinasedomäne der ATM-Kinase mit gebundenen AMP-PNP (PDB: 7SIC). Nomenklatur wichtiger Strukturelemente nach Warren et al., Kanev et al. und KLIFS.^{22,28,64} Rechts oben: Die postulierte Autoinhibition durch das Pseudosubstrat PRD am A-Loop nach Stakyte et al.¹³ Visualisierung mit ChimeraX.³²

Die Kinasedomäne der atypischen ATM-Kinase zeigt trotz zahlreicher Unterschiede in der Primärstruktur im Vergleich zu ePKs eine prototypische Tertiärstruktur mit hoch konservierten Regionen.^{22,65} Die für die Proteinkinasen typische zweigliedrige Struktur, die sich in einem *N-* und einem *C-Lobe* einteilen lässt, ist bei isolierter Betrachtung der

Kinasedomäne deutlich erkennbar (Abbildung 5).²² Der *N-Lobe* (AS 2614-2770) setzt sich größtenteils aus antiparallelen β -Faltblättern zusammen und beinhaltet wichtige Struktur motive wie den *P-Loop* (*G-rich Loop*), α C-Helix und die *Gatekeeper*-Aminosäure. Der *C-Lobe* (AS 2771-2957) ist über die *Hinge*-Region mit dem *N-Lobe* verbunden, zeigt insgesamt eine α -Helix-reiche Struktur und beinhaltet wichtige Strukturelemente wie α D-, α E-Helix, den *Activation* und *Catalytic Loop*, als auch das xDLG-Motiv.^{22,28} Das ATP-Molekül bindet in der ATP-Bindetasche, welche sich zwischen beiden *Lobes* befindet (Abbildung 6). In der Literatur sind mehrere Cryo-EM-Aufnahmen der humanen ATM mit nicht-hydrolysierbaren ATP-Analoga ATP γ S und AMP-PNP beschrieben.^{13,28} Innerhalb der ATP-Bindetasche bildet der Adeninring zwei H-Brücken ausgehend vom N6 und N1 zum Rückgrat (*Backbone*) der *Hinge*-Region aus (Abbildung 6 und Abbildung 7). Der Adeninrest wird von den hydrophoben Aminosäuren Leu2715, Leu2767 und Trp2769 des *N-Lobes* und den Resten Leu2877 und Ile2888 des *C-Lobes* umschlossen. Der Riboserest interagiert mit einer der Hydroxylgruppen des Gln2874 über H-Brückenbindungen. In der Phosphatbindetasche sind eine Reihe verschiedener Interaktionen zu beobachten. Ausgehend von der α -Phosphatgruppe bildet sich eine direkte Bindung zum Lys2717 (β III) des *N-Lobes* aus. Der *C-Lobe* wird indirekt über eine durch das Magnesiumion medierte Interaktion zur Aminosäure Asn2875 (*Catalytic Loop*) adressiert. Eine weitere Bindung zur Aminosäure Asp2889 wird indirekt über das Magnesiumion aufgebaut. Die γ -Phosphatgruppe wird von dem Tyr2969 und den Aminosäuren Val2696 und Asn2697 des *G-rich Loops* umschlossen.²⁸ Der *Glycin-rich Loop*, welcher in ePKs wichtig für die katalytische Aktivität der Kinasen ist, unterscheidet sich innerhalb der aPKs und der ATM jedoch deutlich, da das konservierte GxGxxG-Aminosäuremotiv fehlt. Deshalb wird dieser *Loop* in Bezug auf die aPKs bevorzugt als *P-Loop* bezeichnet (Abbildung 5).^{22,66} Die Funktion des *P-Loops* ist in ePKs und aPKs dieselbe, nämlich die Ausrichtung der Phosphatgruppen des ATP-Moleküls.⁶⁷

Im *N-Lobe* der ATM ist die α C-Helix (Abbildung 5 und Abbildung 6, blau) zu finden, die für die Aktivität essenziell ist. In ePKs können meist α C-*in*- und α C-*out*-Konformationen unterschieden werden, wobei die α C-*in*-Konformation die aktive Form darstellt. Eine essenzielle Wechselwirkung für diesen Zustand ist die ionische Bindung zwischen einem Glutamatrest am α C und dem Lysin des konservierten AxK-Aminosäuremotives des β III-Faltblattes.^{22,68,69} In der ATM finden sich diesbezüglich PI3K/PIKK-spezifische Unterschiede (Abbildung 6). Einerseits fehlt in der ATM-Kinase das AxK-

Aminosäuremotiv, die stattdessen ein LVK-Motiv (β III) an der äquivalenten Position trägt.²² Andererseits befindet sich anstatt eines Glutamats eine kürzere Aminosäure Asp2725 in der α C, die nicht in der Lage ist, eine ionische Wechselwirkung zum Lys2717 (β III) auszubilden (Abbildung 6).⁷⁰ Benachbart zum Asp2725 befinden sich in der *Backpocket* der ATM-Kinase, also im Bereich zwischen dem *Gatekeeper* und der α C-Helix, ein Aspartat-reicher Bereich (Abbildung 6B), welcher sich für die Adressierung mit Inhibitoren eignet, die an entsprechender Stelle basische Funktionalitäten tragen.⁷¹

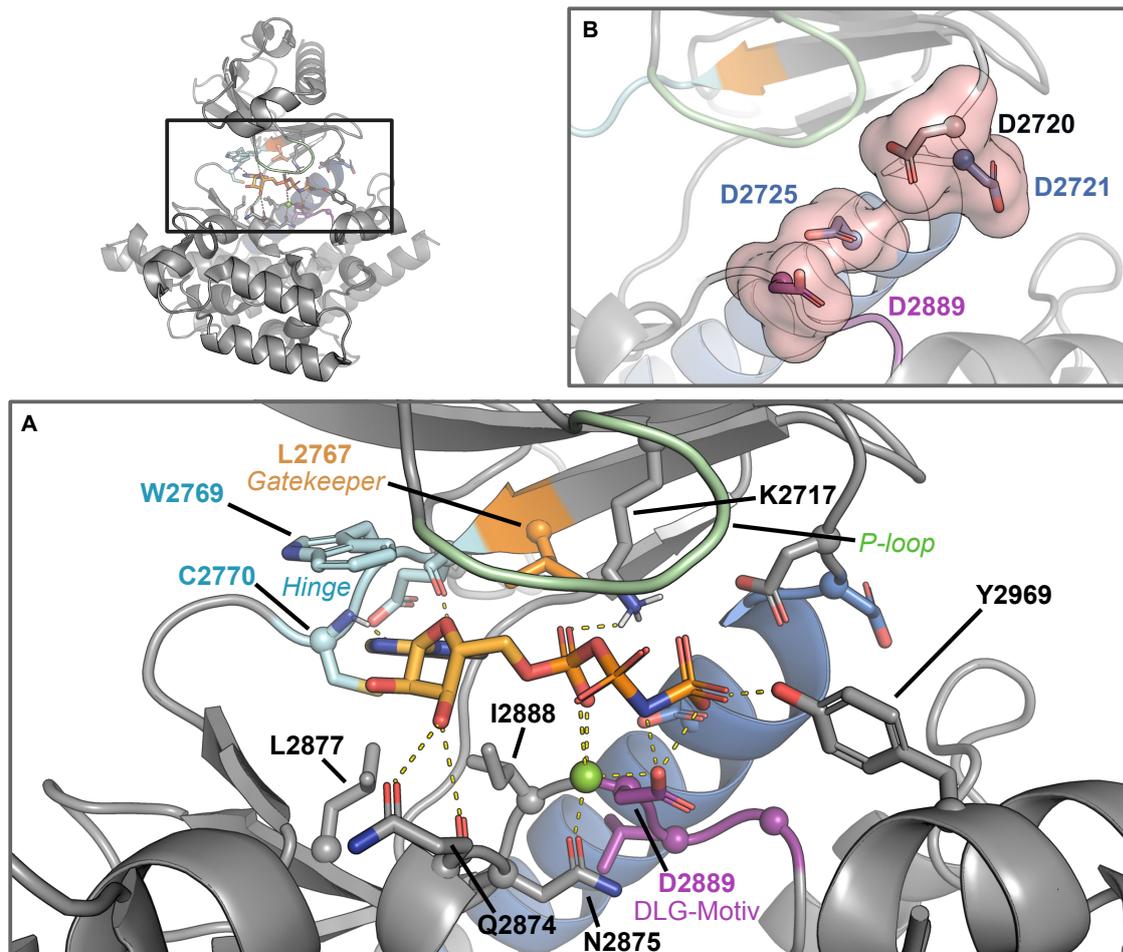


Abbildung 6: Bindung des ATP-Analogon AMP-PNP in der ATP-Bindetasche der ATM-Kinase (PDB: 7SIC). A) ATP-Bindetasche der ATM-Kinase. In Blau ist die α C-Helix abgebildet (vgl. Abbildung 5). B) Aspartat-reicher Bereich der ATM-Kinase in der *Backpocket*.²⁸ Visualisierung mit PyMol.⁷²

Ein weiteres Strukturelement neben der α C-Helix, welches für die Aktivität der Kinasen essenziell ist, ist der *A-Loop* (Abbildung 5). Der *A-Loop* ist unter anderem für die Interaktion mit dem zu phosphorylierenden Substrat verantwortlich.⁶⁹ Dieser beginnt für gewöhnlich in ePKs mit dem DFG-Motiv und endet mit einem APE-Motiv, das den *A-Loop* an die α F-Helix positioniert.^{68,73} Die ATM-Kinase verfügt über kein klassisches DFG-

sondern trägt ein DLG-Motiv (Abbildung 6). Im Ortholog der verwandten ATR-Kinase ATR^{MEC1} zeigt eine F→L-Mutation an äquivalenter Stelle eine ca. 20-fach höhere Basalaktivität der Kinase. Dadurch wurde abgeleitet, dass das DLG-Motiv der Grund sein könnte, warum die ATM ohne zusätzliches Aktivatorprotein und unabhängig von der Autophosphorylierung eine hohe Phosphorylierungsbasalaktivität aufweist.^{13,57,74} Des Weiteren fehlt in der ATM, wie für die meisten aPKs üblich, die gesamte α F-Helix und das APE-Aminosäuremotiv.^{22,75} Im Gegenzug findet sich ein spezifisches PFxLT-Motiv (in der ATM: PFRLT), welches stattdessen das Ende des im Vergleich zu ePKs kürzeren *A-Loops* definiert.²²

Räumlich benachbart zu dem *A-Loop* befindet sich der *Catalytic Loop* (Abbildung 5), der in ePKs das wichtige Y/HRD-Motiv trägt. Das Aspartat in diesem Motiv fungiert bei der Phosphorylierungsreaktion als Base und deprotoniert die Hydroxylgruppe des zu phosphorylierenden Substrates.^{76,77} In der ATM liegt das HRD am Aspartat invertiert vor, sodass sich ein DRH-Motiv ergibt. Es wurde postuliert, dass der Histidinrest anstatt des Aspartates in aPKs als katalytische Base fungieren könnte.^{22,78}

In Proteinkinasen können zwei hydrophobe *Spines* definiert werden, welche nicht über die Aminosäuresequenz ableitbar sind, jedoch innerhalb der Tertiärstruktur konservierte Motive bilden und sich über beide *Lobes* erstrecken. Man unterscheidet die *R-Spine* (*Regulatory Spine*), welche das Substrat, und die *C-Spine* (*Catalytic Spine*), die das ATP-Molekül positioniert. Während die *C-Spine* nur durch den Adeninring des gebundenen ATP vervollständigt wird, ist die *R-Spine* aus Konformationsgründen in der Regel nur in aktiven Kinasen vorhanden.^{68,73,79,80} In den aPKs unterscheiden sich die *Spines* gegenüber den ePKs, da im *C-Lobe* die α F-Helix, die in ePKs die *R-* und *C-Spines* ausrichtet, fehlt. Dies führt zu einer gewissen Reorganisation der *Spines*, insgesamt sind jedoch alternative Strukturmuster hydrophober Aminosäuren zur α F-Helix zu finden, die mit der *C-Spine* interagieren.^{22,73,75} In Bezug auf die *R-Spine* liegt ein zentraler Unterschied im atypischen DRH-Motiv im *Catalytic Loop*, welches trotz der Inversion mit dem DLG-Motiv interagieren kann.²²

1.4.2 Pharmakophormodell der ATP-Bindetasche

Von Traxler *et al.* wurde ein Pharmakophormodell definiert, welches die ATP-Bindetasche der Proteinkinasen in verschiedene Regionen unterteilt, um den Bindemodus ATP-kompetitiver Inhibitoren beschreiben zu können (Abbildung 7).^{53,81,82}

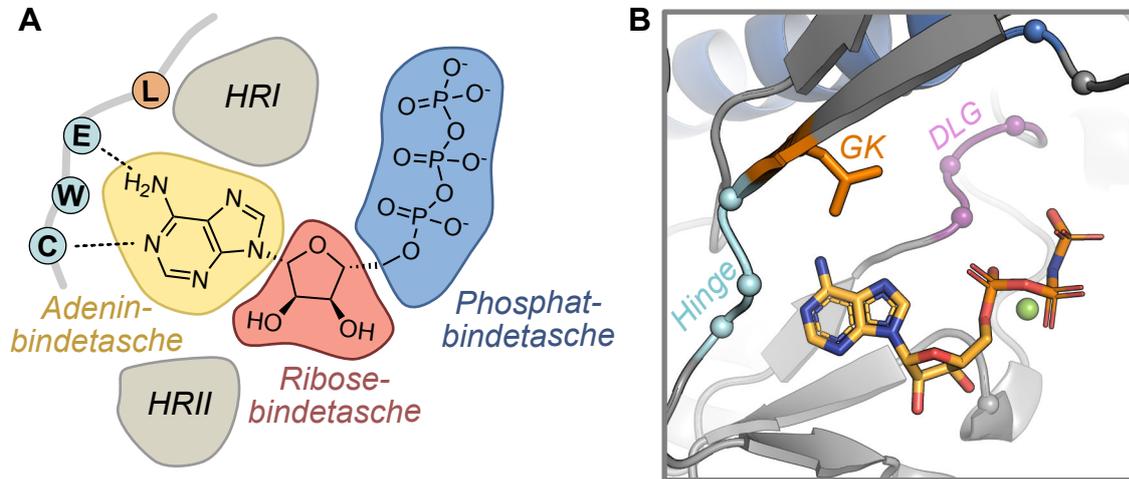


Abbildung 7: A) Simplifizierte Darstellung der verschiedenen Regionen der ATM-Kinase nach dem Modell von Traxler *et al.*⁸¹ B) Bindemodus des ATP-Analogen ATP-ANP (PDB: 7SIC²⁸) aus der gleichen Perspektive wie A. (Einige Sekundärstrukturmotive wie der P-Loop wurden ausgeblendet.) Visualisierung mit PyMol.⁷²

Die drei Regionen der Adenin-, Ribose- und Phosphatbindetasche leiten sich von den jeweiligen Strukturelementen des ATP-Moleküls ab. Zusätzlich wurden die beiden hydrophoben Regionen I und II definiert, die nicht vom ATP besetzt werden. Die hydrophobe Region II (HRII) ist dabei zu dem Solvens exponiert, während sich die hydrophobe Region I (HRI) neben dem N7 Stickstoff des Adeninrings befindet.⁸¹ Dort ist die *Gatekeeper*-Aminosäure (GK, im Fall von ATM das Leu2767, Abbildung 7B) zu finden, deren Sterik ein entscheidender Faktor für die Adressierbarkeit der HRI ist. Infolge von Mutationen an dieser Stelle können sich Resistenzen gegenüber Inhibitoren entwickeln, indem sterisch anspruchsvolle Hemmstoffe nicht mehr binden können.²² Neben dem Modell von Traxler *et al.* sind eine Reihe weiterer Pharmakophormodelle definiert worden, die eine Vielzahl weiterer Bereiche definieren und an dieser Stelle nicht weiter erläutert werden sollen.⁶⁴ Die Nomenklatur der Bindetasche bezieht sich in den folgenden Kapiteln auf das Modell von Traxler *et al.* Der Begriff *Backpocket* wird zusätzlich verwendet und bezieht sich auf den gesamten Bereich zwischen der *Gatekeeper*-Aminosäure und der α C-Helix.²²

1.4.3 Signalkaskaden

In Verbindung DNA-Schadensantwort konnten Proteomanalysen zeigen, dass viele hunderte Proteine durch die ATM- und die ATR-Kinase phosphoryliert werden.⁸³ Aufgrund der komplexen Signaltransduktion sollen in diesem Kapitel lediglich einige wichtige Signalkaskaden zusammengefasst werden.

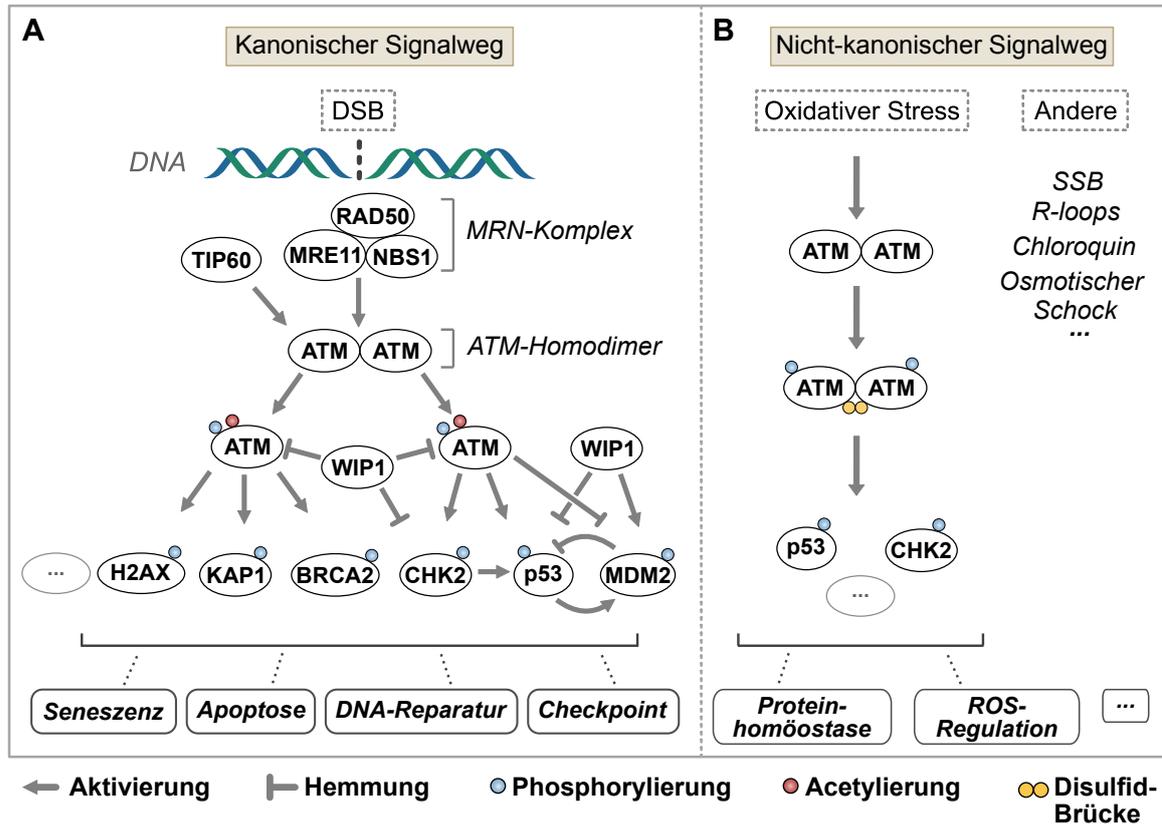


Abbildung 8: Übersicht wichtiger Signalwege in Bezug auf die ATM-Kinase. A) Kanonischer Signalweg im Sinne der ATM-abhängigen DNA-Schadensantwort nach DSB. B) Auswahl beschriebener nicht-kanonischer Signalwege in Bezug auf die ATM-Kinase.^{43-46,84-93}

Für die ATM-Kinase sind kanonische und nicht-kanonische Mechanismen beschrieben, die sich in der Aktivierung und innerhalb der *Downstream-Targets* unterscheiden. Der kanonische Signalweg bezieht sich auf die ATM-Aktivierung infolge von DNA-Doppelstrangbrüchen primär durch den MRE11-RAD50-NBS1 (MRN)-Komplex. Letzterer rekrutiert das inaktive ATM-Homodimer und führt zur Monomerisierung, wodurch es folglich zur Interaktion der ATM-Monomere mit verschiedenen Substraten kommt. NBS1 interagiert direkt mit der ATM, wobei eine Ubiquitinierung der NBS1 durch Skp2 E3 Ligase die Rekrutierung der ATM erleichtert.^{45,46,51,84,94} In diesem Zusammenhang spielt die Autophosphorylierung der ATM am Ser1981 eine wichtige Rolle, was im Allgemeinen mit einer Aktivierung und Monomerisierung der ATM in Verbindung

gebracht wird.⁴⁵ Darüber hinaus sind weitere Autophosphorylierungen, unter anderem an den Aminosäuren Ser367, Ser1893, Ser2996 und Thr1885 beschrieben, welche in Folge von DNA-Schäden beobachtet werden können.^{95,96} Neben der Autophosphorylierung sind Acetylierungen als post-translationale Modifikation der ATM mit hoher Relevanz beschrieben, wobei nach DSBs eine Acetylierung am Lys3016 der ATM durch TIP60 (auch KAT5) induziert wird.^{97,98}

Ein wichtiges *Target* innerhalb der ATM-abhängigen DNA-Schadensantwort ist die Phosphorylierung der H2AX (γ H2AX) durch die ATM (Abbildung 8), die als γ H2AX-Foci wenige Minuten nach ionisierender Strahlung detektiert werden können und als Marker für DSB fungieren können.⁸⁷ Ein wichtiges *Downstream-Target* der ATM stellt das Tumorsuppressorprotein p53 dar.⁴³ Solange DSBs bestehen, wird die ATM pulsierend über einen *Feedback*-Mechanismus aktiviert. Dies führt zu einer Phosphorylierung der CHK2-Kinase, die zusammen mit der ATM das p53-Protein phosphorylieren und zu dessen Stabilisierung führen. Gleichzeitig wird das p53-Regulatorprotein MDM2 phosphoryliert, welches infolgedessen die Degradierung und Ubiquitinierung des p53 unterbindet, sodass eine Akkumulation von p53 resultiert.^{44,85,86} Für die Dephosphorylierung der ATM und zahlreicher *Downstream-Targets* ist die Phosphatase WIP1 verantwortlich.⁸⁹⁻⁹¹ Der kanonische Signalweg führt zur DNA-Reparatur in Verbindung mit einem Zellzyklusarrest bis hin zur Zellseneszenz oder zur Apoptose.^{51,93,99,100}

Zu den nicht-kanonischen Signalwegen der ATM-Kinase gehört die Aktivierung durch oxidativen Stress, der unabhängig von DSB und dem MRN-Komplex ist. Dabei entsteht eine intermolekulare Disulfid-Brücke an dem Cys2991 der *PIKK regulatory domain* (PRD) zwischen den beiden Monomeren, die für diesen Signalweg essenziell ist.^{24,59} Während die Autophosphorylierung am Ser1981, die Phosphorylierung von p53 (am Ser15) und der CHK2-Kinase (an Thr68) sowohl im kanonischen als auch im ROS-abhängigen Signalweg beobachtet wurde, konnte nachgewiesen werden, dass Substrate wie H2AX oder KAP1 nicht durch oxidativen Stress über die ATM phosphoryliert werden.^{45,59} Darüber hinaus ist die ATMIN-abhängige ATM-Aktivierung beschrieben, die in Verbindung mit Chromatinänderungen, z.B. aufgrund von hypotonischem Stress oder zellulärer Chloroquineinwirkung, eine Rolle spielt.^{45,101}

1.4.4 Therapeutische Relevanz der ATM-Kinase

Mutationen im *ATM*-Gen können zu der seltenen autosomal rezessiven Krankheit *Ataxia Telangiectasia* führen, welche zuerst 1926 und wieder im Jahr 1941 durch Louis Bar beschrieben wurde.^{47,102} Diese zeichnet sich durch einen komplexen Phänotyp aus und geht unter anderem mit einer progressiven Ataxie, Immunschwäche und Radiosensitivität einher.⁴⁷

A-T-Zellen zeigen im Vergleich zu gesunden Zellen eine ausgeprägte Sensitivität gegenüber ionisierender Strahlung und DSB-induzierenden Agenzien, da sie nicht in der Lage sind, die DNA-Synthese adäquat zu regulieren.¹⁰³⁻¹⁰⁵ Die damit verbundene Unfähigkeit der Zellzykluskontrolle führt zu einer ausgeprägten Krebsprädisposition.^{47,51} In gesunden Zellen fungiert die ATM-Kinase im Umkehrschluss als Tumorsuppressor durch die Induktion eines Zellzyklusarrestes oder Apoptose. Krebszellen können den tumorsupprimierenden Eigenschaften entgehen, indem die ATM-Expression unterbunden wird. Ein Beispiel ist die microRNA miR18a, die in verschiedenen Brustkrebszelllinien überexprimiert wird und die Expression von *ATM* hemmt.^{51,106} Ein anderes Beispiel stellt die Serin/Threonin-Phosphatase WIP1 dar, die für die Dephosphorylierung der ATM und zahlreicher *Downstream-Targets*, wie p53, verantwortlich ist (Abbildung 8). Eine Überexpression von WIP1 kann in entarteten Zellen zu einer Unterdrückung des ATM-Signalweges führen.^{51,89,107} Umgekehrt kann eine WIP1-Suppression in entsprechenden Tumorzellen Cisplatin-Resistenzen aufheben, sodass eine ATM-medierte Chemotherapie-abhängige Apoptose induziert werden kann.^{51,108}

Interessanterweise weisen einige Tumorentitäten einen hochregulierten ATM-Signalweg auf.⁵¹ Beispielsweise kann das Melanom-assoziierte Antigen-kodierende (MAGE)-Gen *MAGE-C2* in A375-Zellen über eine ATM-abhängige Phosphorylierung des KAP1 die DNA-Reparatur begünstigen und eine Apoptose unterdrücken.¹⁰⁹ Eine verstärkte ATM-Expression ist in Prostatakarzinomen durch den phosphorylierten ACK1-medierten Androgen-Rezeptor oder in Pankreaskarzinomzellen über den Transkriptionsfaktor CUX1 nachgewiesen worden.^{51,110-112} Ein möglicher Erklärungsversuch für die Verstärkung des ATM-Signalwegs könnten Mutationen von Onkogenen in Präkanzerosen sein, die aufgrund einer erhöhten Proliferationsrate gleichzeitig zu erhöhtem Replikationsstress führen und den ATM-Signalweg aktivieren, um die vermehrt entstehenden DNA-Schäden auszugleichen. Spätere Mutationen in Tumorsuppressorgenen, wie z.B. *TP53*, könnten durch Aufhebung der Zellseneszenz und Vermeidung der Apoptoseinduktion letztlich zur

Entstehung maligner Tumoren führen – unter weiterhin hochreguliertem ATM-Signalweg und den damit verbundenen Reparaturmechanismen.^{51,113-115}

Die Hochregulierung des ATM-Signalwegs in malignen Neoplasien kann das Zellüberleben, Resistenzen gegenüber Chemo- und Bestrahlungstherapien, sowie die Metastasierung von Tumoren begünstigen.⁵¹ Chemoresistenzen sind unter anderem in Verbindung mit der Überexpression von Transglutaminase 2 oder HMGA und durch Überaktivierung der p38-MAPK beschrieben.^{51,116-118} CIC-Brustkrebszellen, die einen CD44⁺/CD24^{or low}-Phänotyp aufweisen, zeigen eine ATM-abhängige Radioresistenz, der durch Inhibition der ATM durchbrochen werden kann.¹¹⁹ Auch eine ATM-abhängige AKT-Aktivierung kann das Überleben von Tumorzellen steigern, wohingegen der NFκB-Signalweg in Verbindung mit ATM eine Metastasierung begünstigen kann.^{51,120} Die Betrachtung des p53-Status in Verbindung mit dem ATM-Status von Tumoren kann ferner von Bedeutung sein. Während Krebszellen mit *TP53*^{wf}-Status von einer Inaktivierung der ATM profitieren können, sind p53-defiziente Krebszellen vom ATM- und ATR-Signalweg abhängig.^{51,121,122}

Es wurde bereits früh postuliert, dass ATM-Inhibitoren in der Onkologie vor allem in Verbindung mit DSB-induzierenden Therapien synergistisch eingesetzt werden könnten.⁵⁰⁻⁵² In zahlreichen Veröffentlichungen konnte eine effektive Radiosensibilisierung von Tumorzellen in Verbindung mit ATM-Inhibitoren nachgewiesen werden.^{52-54,123-128} Kombinationen von ATM-Inhibitoren mit Topoisomerase-Inhibitoren, wie Etoposid oder Irinotecan konnten *in vivo* eine deutliche Steigerung der antitumoralen Aktivität in zahlreichen Xenograft-Modellen (z.B. SW620, HBCx-10, HBCx-10) zeigen, ohne die Toxizität signifikant zu erhöhen. Der Zeitpunkt der ATM-Inhibition kann dabei eine große Rolle spielen: Eine Verabreichung des ATM-Inhibitors vier Stunden nach Etoposid-Gabe zeigte im SW620-Xenograft keinen Unterschied gegenüber Etoposid als Monotherapie.¹²⁷ Die Monotherapie mit ATM-Inhibitoren war wirkungslos oder zeigte nur geringe Auswirkungen in Bezug auf das Tumorwachstum.^{54,127,129} ATM-Inhibitoren konnten in zahlreichen Experimenten *in vitro* und *in vivo* eine deutliche Sensibilisierung gegenüber ionisierender Strahlung (IR) hervorrufen bis hin zu kompletten Tumorregressionen.^{53,54} Weitere Synergien konnten unter anderem mit PARP-Inhibitoren unabhängig vom BRCA-Mutationsstatus nachgewiesen werden, was wiederum durch die Induktion von DSBs durch PARP-Inhibition erklärt werden könnte.^{54,129}

1.4.5 Inhibitoren der ATM-Kinase

Eine Vielzahl verschiedener niedermolekularer Verbindungen wurden seit den 1990er Jahren als ATM-Kinase-Inhibitoren identifiziert. An dieser Stelle soll die Entwicklung und die Eigenschaften einiger ausgewählter Vertreter zusammengefasst werden.

1.4.5.1 Unselektive und niederpotente ATM-Kinase-Inhibitoren

Innerhalb früher Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass das psychotrope Xanthin **Coffein** eine schwache Aktivität gegenüber der ATM-Kinase und anderen Vertretern in der PIKK-Familie aufweist. Die mittlere inhibitorische Konzentration (IC_{50}) liegt für die ATM bei 0,2 mM (und ferner $IC_{50}^{mTOR} = 0,4$ mM, $IC_{50}^{ATR} = 1,1$ mM, $IC_{50}^{DNA-PK} = 11$ mM), sodass effektive Serumkonzentrationen *in vivo* praktisch nicht erreichbar sind, ohne schwerste Nebenwirkungen hervorzurufen.^{126,130}

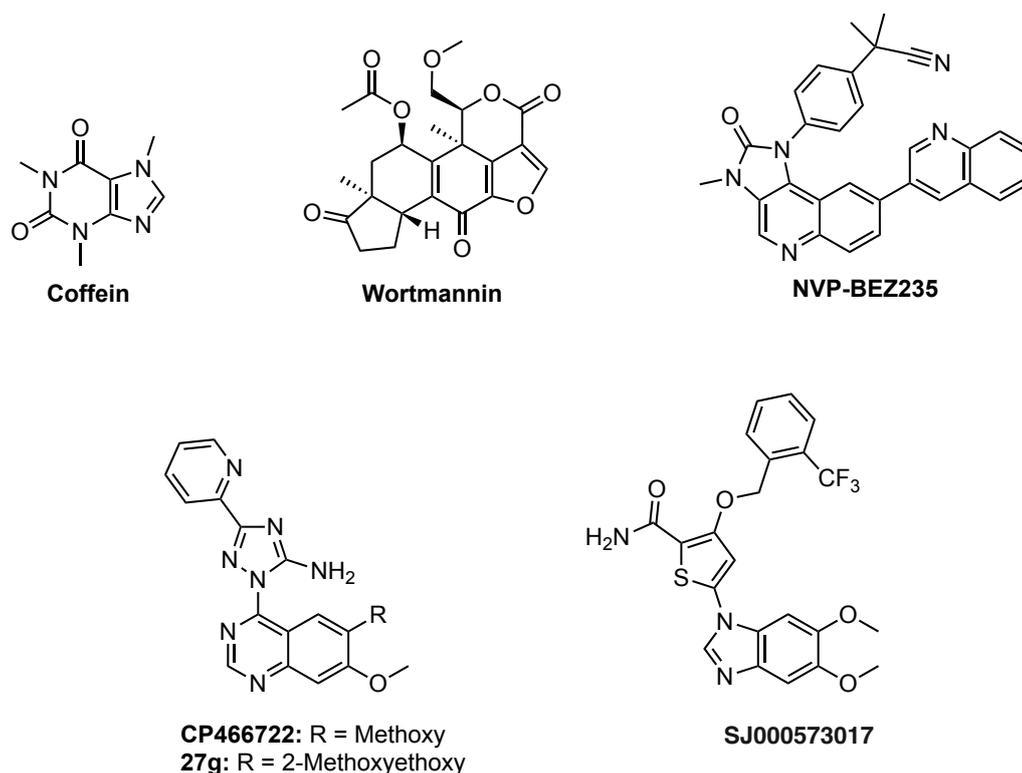


Abbildung 9: Übersicht unselektiver ATM-Kinase-Inhibitoren (Auswahl).

Des Weiteren wurde das Furansteroid **Wortmannin**, das in einigen Pilzarten vorkommt, als Inhibitor der ATM mit einem IC_{50} von 0,15 μ M identifiziert.¹³¹ Auch bei diesem Inhibitor ist keine Selektivität gegenüber verwandten Kinasen gegeben, sodass zahlreiche Hemmwerte für PIKK- und PI3K-Kinasen beschrieben wurden. Zudem handelt es sich um

einen irreversiblen Inhibitor, welcher in der Lage ist, die ϵ -Aminogruppe des Lysins (β III-Faltblattes) der Kinasen unter einer Ringöffnung des Furans zu binden. Aufgrund der ausgeprägten Toxizität kann diese Verbindung nicht klinisch genutzt werden.^{131,132}

Eine wichtige Verbindung stellt Dactolisib (**NVP-BEZ235**) der Firma Novartis dar, welche zunächst als selektiver mTOR/PI3K-Inhibitor beschrieben wurde.¹³³ Spätere Untersuchungen konnten jedoch zeigen, dass keine Selektivität innerhalb der PIKK-Familie gegeben war und die Verbindung sehr hohe Potenzen gegenüber ATM, DNA-PK und ATR aufweist ($IC_{50}^{DNA-PK} = 5 \text{ nM}$, $IC_{50}^{ATR} = 21 \text{ nM}$, $IC_{50}^{ATM} = 7 \text{ nM}$).¹³⁴ Das 3-Methyl-1,3-dihydro-2*H*-imidaz[4,5-*c*]chinolin-2-on-Grundgerüst aus dieser Verbindung ist in zahlreichen später beschriebenen Inhibitoren u.a. von AstraZeneca und Merck KGaA wiederzufinden und stellt insgesamt die momentan wichtigste Strukturklasse der ATM-Kinase-inhibitoren dar.^{53,54,129,135}

Die Verbindung **CP466722** (Abbildung 9) wurde innerhalb der Firma Pfizer ausgehend eines *Screenings* mit ca. 1500 Verbindungen identifiziert.¹²⁴ Dieser Inhibitor lieferte mit einem zellulären IC_{50} -Wert von 0,4 μM einen scheinbar guten Ausgangspunkt für Optimierungen. Die Selektivität dieser Substanz war jedoch insgesamt unvorteilhaft, da innerhalb eines Kinasenpanels 106 von 451 *Targets* (bei 3 μM) signifikant gehemmt wurden (inkl. PIKK- und PI3K-Kinasen) und sich zudem die Löslichkeit (28,8 μM) als auch die Pharmakokinetik insgesamt als unvorteilhaft herausstellten. Optimierungsversuche führten zum Inhibitor **27g** (Abbildung 9), der zwar wichtige Eigenschaften wie die mikrosomale Stabilität (von 0,47 h auf > 4 h) oder die Selektivität (41 *Off-Targets* bei 3 μM) dieser Strukturklasse verbessern konnte. Jedoch zeigte diese Verbindung neben einer Abnahme der Löslichkeit auch eine Reduktion des IC_{50} -Wertes auf 1,2 μM .¹³⁶

Die letzte Verbindung innerhalb dieser Reihe (**SJ000573017**) wurde ursprünglich nicht als ATM-, sondern als PLK1-Inhibitor entwickelt.^{137,138} Erst als in einer späteren Publikation von Guo *et al.*, in der ein Zell-basierter *High-Throughput-Screening* (HTS)-Assay für ATM-Kinaseinhibitoren entwickelt wurde, zeigte dieser Inhibitor eine moderate Aktivität gegenüber ATM mit einem zellulären IC_{50} -Wert von 0,48 μM .¹³⁸

1.4.5.2 Selektive ATM-Kinase-Inhibitoren

Die Firma KuDOS konnte den ATP-kompetitiven Inhibitor **KU-55933** innerhalb eines Screenings identifizieren (Abbildung 10), der einen niedrigen IC_{50}^{ATM} -Wert von 12,9 nM

mit gleichzeitig über 100-facher Selektivität gegenüber verwandten Kinasen der PIKK-Familie zeigen konnte. Es wurde angenommen, dass der Morpholinring dieser Verbindung als *Hinge*-Bindungsmotiv fungiert, was bereits für verwandte PI3K-Inhibitoren kristallographisch bestätigt werden konnte.^{123,139} Die Kontrollsubstanz **KU-58050** (Abbildung 10), bei der der Morpholinring mit einem Piperidinring substituiert wurde, führte zu einem deutlichen Aktivitätsverlust, was die Hypothese weiter stützen sollte.¹²³ Erst 17 Jahre später konnte der Bindemodus über Cryo-EM von Stakyte *et al.* bestätigt werden.¹³

Die von AstraZeneca publizierte Verbindung **AZ32** ist ein hoch potenter Inhibitor der ATM-Kinase ($IC_{50} < 6,2$ nM) mit hoher Selektivität gegenüber ATR und PI3Ka. Diese Verbindung wies eine ausreichende Bioverfügbarkeit auf und war in der Lage, die Blut-Hirn-Schranke zu passieren. Zudem konnte diese Verbindung *in vitro* und *in vivo* gegen *Glioblastome* als *Radiosensitizer* eingesetzt werden. Im Einklang mit vorherigen Publikationen wurde gezeigt, dass vor allem humane Zelllinien mit fehlerhafter p53- bzw. Zellzyklus-Signaltransduktion sensitiver gegenüber einer ATM-Inhibition sind.^{52,82,128,140,141} Jedoch wies dieser Inhibitor eine geringe Löslichkeit (24 μ M) und eine schwache *Off-Target*-Aktivität gegenüber dem kardialen hERG-Kanal ($IC_{50} = 17,6$ μ M) auf.⁸²

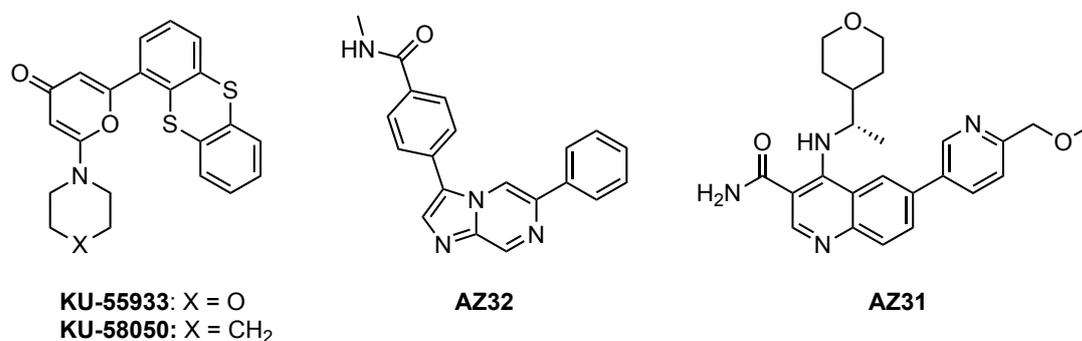


Abbildung 10: Auswahl selektiver ATM-Kinase-Inhibitoren.

Ein weiterer ATM-Inhibitor der Firma AstraZeneca ist **AZ31**, der zum Teil ähnliche Eigenschaften wie **AZ32** vorweisen konnte. Neben einer guten Hemmaktivität gegenüber ATM ($IC_{50} < 1,2$ nM) konnte diese Verbindung eine sehr hohe Selektivität gegenüber zahlreichen Vertretern innerhalb der PIKK- und PI3K-Familie erreichen. Zusätzlich war diese Verbindung im Vergleich zu **AZ32** deutlich besser löslich (> 750 μ M) und die hERG-*Off-Target*-Aktivität lag bei einem IC_{50} -Wert von 8,9 μ M.^{82,142}

1.4.6 ATM-Kinase-Inhibitoren in klinischer Evaluation

Die Weiterentwicklung der Verbindung **KU-55933** führte zu den potenteren Inhibitoren **KU-60019** (Abbildung 11) und **KU-594053**, die IC_{50} -Werte im einstellig nanomolaren Bereich aufweisen konnten.^{125,127} Der Inhibitor **KU-60019** konnte vorteilhafte Selektivitäten innerhalb der PIKK-, PI3K-Familien und gegen 200 weitere Kinasen demonstrieren. Dennoch wurden mikromolare Konzentrationen benötigt, um den ATM-abhängige DDR-Signalweg auf zellulärer Ebene effektiv zu inhibieren.¹²⁵ In *in vivo* Experimenten im murinen *Glioblastom* Xenograft-Modell erwies sich **KU-60019** als effektiver *Radiosensitizer* bei intratumoraler und somit intrakranieller Applikation. Es zeigte sich, dass Gliome mit *TP53^{mut}* deutlich sensitiver auf die Gabe des ATM-Inhibitors als *TP53^w* Zelllinien reagierten.¹²⁸ Momentan befindet sich die Verbindung **KU-60019** in einer klinischen Studie.¹⁴³

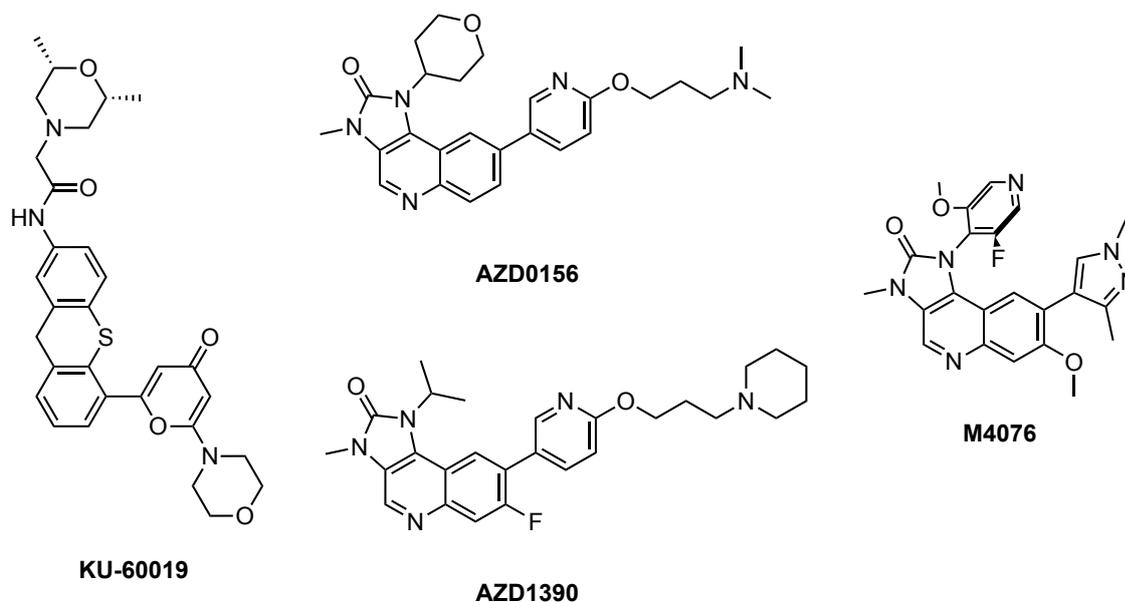


Abbildung 11: ATM-Inhibitoren in klinischen Studien.

AstraZeneca publizierte neben den Verbindungen aus Abbildung 10 noch eine Reihe weiterer ATM-Kinaseinhibitoren.^{71,142} Aufgrund einiger unvorteilhafter Eigenschaften der ATM-Inhibitoren der Chinolin-3-carboxamid-Serie um **AZ31** wurden vielversprechende Optimierungen mit Inhibitoren auf dem 3-Methyl-1,3-dihydro-2*H*-imidazo[4,5-*c*]chinolin-2-on-Grundgerüst (vgl. **NVP-BEZ235** in Abbildung 9) durchgeführt. Die wichtigsten und am weitesten optimierten Verbindungen sind **AZD0156** und **AZD1390** (Abbildung 11). Die Verbindung **AZD0156**, deren Entwicklung 2018 publiziert wurde, verfügt über eine sehr hohe Potenz gegenüber der ATM auf enzymatischer und zellulärer Ebene mit

subnanomolaren IC_{50} -Werten. Die Kinomselektivität innerhalb von 397 Kinasen bei 1 μM führte in fünf Fällen (HASPIN, JAK1, LRRK2, mTOR und PIK4CB) zu einer Inhibition über 65 %. Darüber hinaus zeigten sich Restaktivitäten gegenüber einigen Vertretern aus der PIKK- und PI3K-Familie im dreistellig-nanomolaren Bereich auf enzymatischer Ebene ($IC_{50}^{\text{DNA-PK}} = 0,14 \mu\text{M}$, $IC_{50}^{\text{mTOR}} = 0,20 \mu\text{M}$, $IC_{50}^{\text{PI3Ka}} = 0,32 \mu\text{M}$, $IC_{50}^{\text{PI3Kd}} = 0,27 \mu\text{M}$), welche jedoch im Verhältnis zur ATM-Inhibition dennoch zu guten Selektivitäten führen.^{129,141} Neben sehr guten pharmakokinetischen und toxikologischen Eigenschaften konnten für diese Substanz Synergien mit dem Topoisomerase-Inhibitor Irinotecan oder dem PARP-Inhibitor Olaparib in SW620 und HBCx-10 Xenograft-Modellen nachgewiesen werden, wohingegen die Monotherapie mit **AZD0156** keinerlei Wirksamkeit zeigte. Aufgrund der insgesamt vielversprechenden präklinischen Daten mit dieser Verbindung wurden klinische Studien durchgeführt.^{129,144}

AZD1390 (Abbildung 11) stellt eine Weiterentwicklung des Inhibitors **AZD0156** dar und verfügt über eine bessere Selektivität gegenüber Kinasen aus der PIKK- und PI3K-Familien. Zudem konnte die Blut-Hirn-Gängigkeit verbessert werden, sodass dieser ATM-Kinaseinhibitor in klinischen Studien in Bezug auf die Aktivität gegen Hirntumoren untersucht wird.^{53,145,146}

Merck KGaA publizierte 2022 die zwei vielversprechenden ATM-Kinaseinhibitoren **M3541** und **M4076** (Abbildung 11). Das Atropisomer **M4076** zeigte ähnlich wie **AZD1390** und **AZD0156** subnanomolare Aktivität auf der isolierten ATM-Kinase. Die starke Inhibition konnte auch bei einer hohen ATP-Konzentration von 1 mM beibehalten werden. Auf zellulärer Ebene erreichte die Substanz in acht verschiedenen Zelllinien in Kombination mit Strahlentherapie einen IC_{50} -Wert im zweistelligen nanomolaren Bereich in Bezug auf die ATM-Autophosphorylierung (pATM) und der Phosphorylierung des *Downstream-Targets* pCHK2 (im Durchschnitt 40 nM bzw. 27 nM). Der Inhibitor wurde auf Synergien mit 79 Tumortherapeutika auf 34 verschiedenen Krebszelllinien geprüft, wobei die effektivsten Kombinationen mit PARP-Inhibitoren (unabhängig vom BRCA-Mutationsstatus) und ferner mit Topoisomerase-Inhibitoren erreicht werden konnten. In Xenograft-Modellen (FaDu, NCI-H1975, HBCx9, SW620) konnte eine Kombinationstherapie mit **M4076** einen signifikanten Effekt bis hin zur vollständigen Tumorregression zeigen.⁵⁴ Zusätzlich konnte für diesen Inhibitor der Bindemodus in der ATM-Kinase über Cryo-EM mit einer Auflösung von 3,0 Å aufgeklärt werden. Aktuell befindet sich M4076 in der klinischen Prüfung.^{54,147}

2 Zielsetzung

Die ATM-Kinase ist ein vielversprechendes und durch zahlreiche Forschungsarbeiten validiertes *Target*, dessen Inhibition die Effektivität verschiedener antitumoraler Therapien signifikant steigern kann. Aus diesem Grund ist die Erforschung entsprechender ATM-Kinaseinhibitoren von großem Interesse.

In der vorliegenden Arbeit sollten die Struktur-Wirkungsbeziehungen auf Basis des Imidazo[4,5-*c*]chinolin-2-on-Grundgerüsts in Anlehnung an ATM-Inhibitoren, wie **AZD0156** von AstraZeneca und der projektzugehörigen Harnstoff-basierten Leitstruktur **CA-053**, vor allem in Bezug auf die basische **S1**-Seitenkette weiter erforscht werden (Abbildung 12A,B). Darüber hinaus sollte überprüft werden, ob die Einführung eines zusätzlichen H-Brücken-Donors in das *Hinge*-Bindungsmotiv zu Aktivitätsvorteilen führen kann (Abbildung 12C).

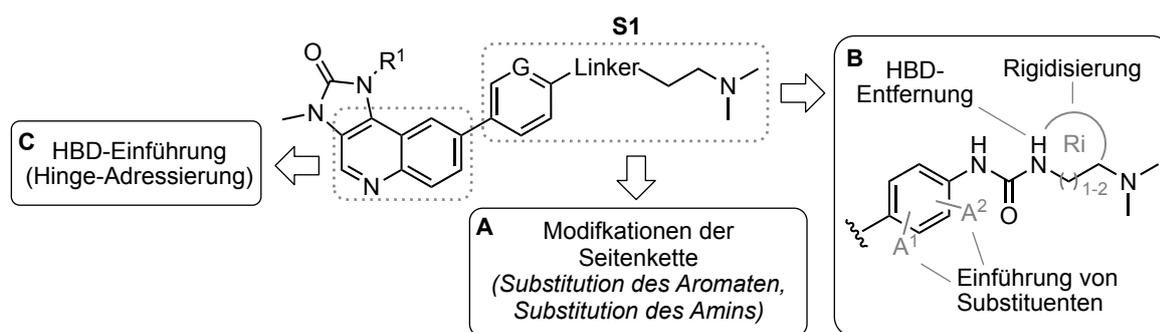


Abbildung 12: Designstrategien basierend auf dem Imidazo[4,5-*c*]chinolin-2-on-Grundgerüsts.

In einer Publikation von Guo *et al.* konnte der PLK1-Inhibitor **SJ000573017** die ATM-Kinase auf zellulärer Ebene mit moderater submikromolarer Potenz inhibieren.¹³⁸ Der Schwerpunkt innerhalb dieser Arbeit stellte den Entwurf von neuen ATM-Kinaseinhibitoren auf Benzimidazolbasis ausgehend von diesem initialen *Hit* dar. Dazu sollten alle peripheren Reste der Verbindung **SJ000573017** entfernt und durch neue Substituenten ersetzt werden (Abbildung 13). Mit der Annahme, dass die Benzimidazolgrundstruktur die *Hinge*-Region der ATM in äquivalenter Weise adressieren kann, wie es für bekannte Chinolin-basierte ATM-Inhibitoren in der Literatur postuliert wurde, sollten erste *Proof-of-Concept*-Hemmstoffe nach dem in Abbildung 13 dargestellten Designkonzept synthetisiert werden. An Position 6 des Benzimidazols sollten zunächst zwei bekannte Seitenketten (**S1**) installiert werden, die effizient die Aspartat-reiche *Backpocket* der ATM adressieren können. An Position 1 des Benzimidazols wurden

zu Beginn unoptimierte und unsubstituierte lipophile Ringe (**S2**) eingeführt, die einerseits eine Tautomerie verhindern, andererseits die Bindetasche in Richtung der hydrophoben Region II bzw. der Zuckertasche okkupieren und darüber hinaus die Derivatisierung in verschiedene räumliche Richtungen ermöglichen sollten (Abbildung 13, S2, graue Markierung).

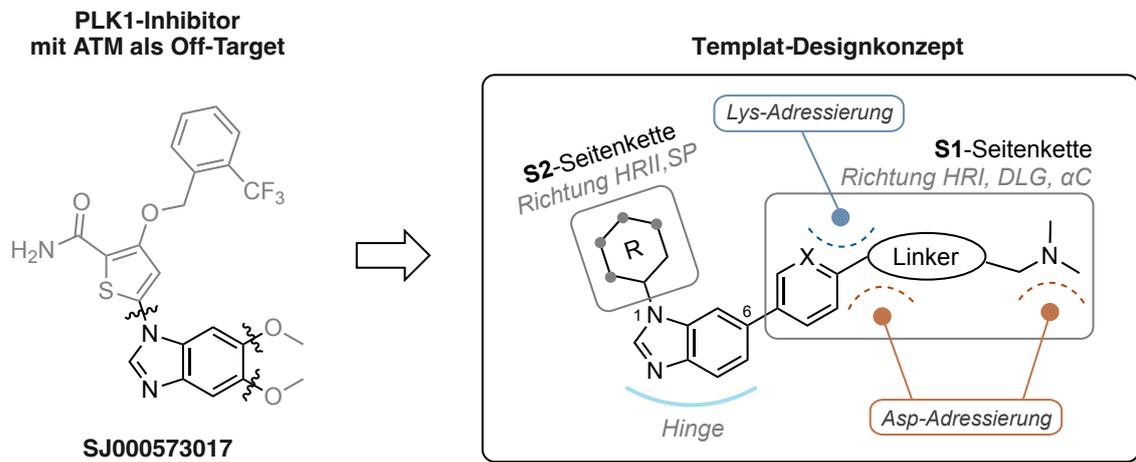


Abbildung 13: Inhibitor-Designkonzept mit angestrebtem Bindemodus. Neben der Adressierung der Hinge-Region wurden Wechselwirkungen in Richtung des Lysins (β III) und der Aspartat-reichen Region angestrebt. Graue Punkte innerhalb der S2-Seitenkette markieren potenzielle Derivatisierungsstellen.

Durch biochemische Verfahren sollte die Hemmung der potenziellen Inhibitoren auf der isolierten ATM-Kinase evaluiert werden, um Rückschlüsse auf die SARs zu ermöglichen und anhand dessen die weitere Vorgehensweise zu planen. Darüber hinaus sollten potente Inhibitoren auf zellulärer Ebene erprobt und entsprechend weiterentwickelt werden. Vielversprechende Vertreter sollten zusätzlich auf metabolische Stabilität und Selektivität getestet werden und ferner pharmakokinetisch hinsichtlich ihrer potenziellen oralen Bioverfügbarkeit evaluiert werden.

3 Chemischer Teil

3.1 Chinoline-Inhibitoren basierend auf dem 3-Methyl-1,3-dihydro-2H-imidazo[4,5-c]chinolin-2-on-Grundgerüst

Zu Beginn des Projekts wurden Inhibitoren synthetisiert, die sich von dem in der Literatur beschriebenen 3-Methyl-1,3-dihydro-2H-imidazo[4,5-c]chinolin-2-on-basierten Grundgerüst ableiten (vgl. Kapitel 1.4.5). Teilergebnisse und Synthesen der Chinolin-basierten Inhibitoren wurden in „Dimitrov, T., et al. (2022). "Development of novel urea-based ATM kinase inhibitors with subnanomolar cellular potency and high kinome selectivity." *European Journal of Medicinal Chemistry* **235**: 114234.“ und innerhalb der Patentanmeldung WO2022096361 publiziert.^{148,149}

3.1.1 Modifikationen der Pyridinylether-Seitenkette

Ausgehend von der Verbindung **AZD0156** sollten anfänglich verschiedene Modifikationen an der Pyridinylether-Seitenkette durchgeführt werden (Abbildung 14).

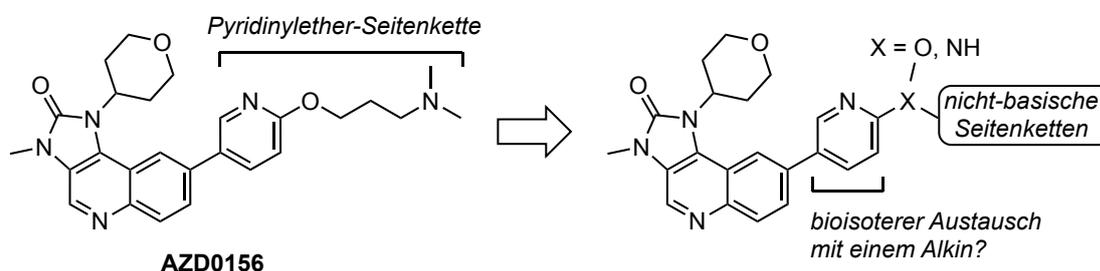
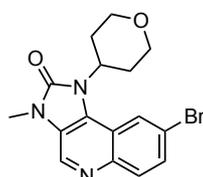
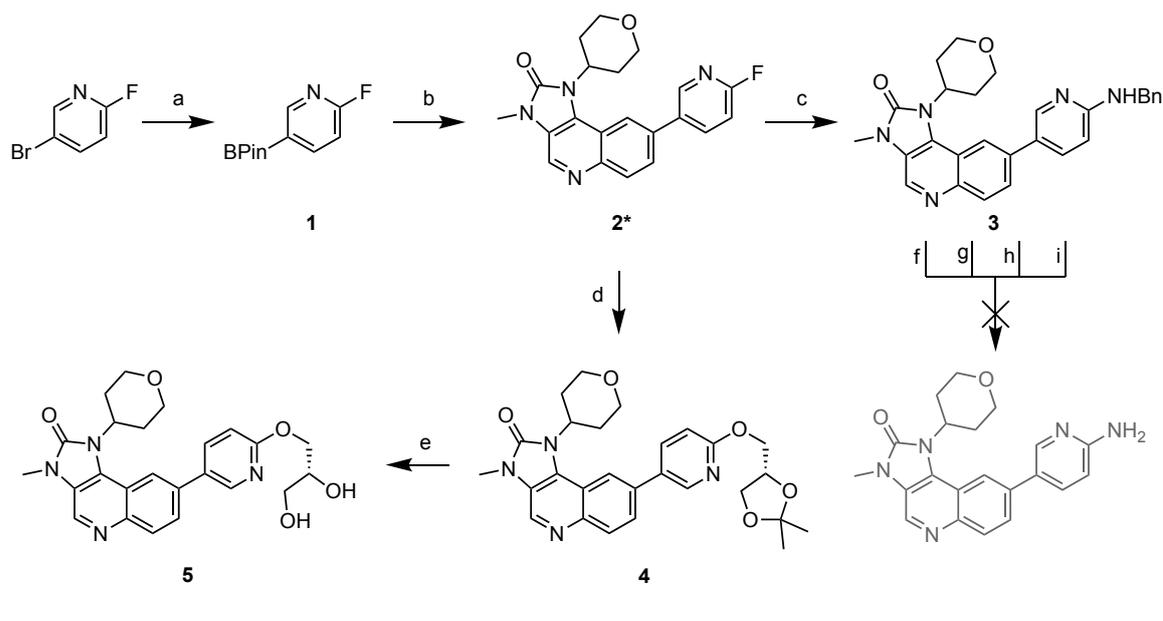


Abbildung 14: Übersicht der ersten Modifikationen der basischen Pyridinylether-Seitenkette ausgehend von der publizierten Verbindung **AZD0156**.

Die publizierte Verbindung **2**¹²⁹ (Schema 1) sollte als synthetischer Ausgangspunkt dienen, um verschiedene Reste in Position 2 des Pyridinylrings erproben zu können. Die Darstellung der Verbindung **2** begann mit der Synthese des Boronsäurepinacolesters **1** über eine Miyaura-Borylierung ausgehend von 5-Brom-2-fluorpyridin mit mäßigen bis sehr guten Ausbeuten von 44-96 %. Dabei wurden klassische Bedingungen¹⁵⁰ verwendet, bis auf den Austausch des Palladiumkomplexes (XPhos Pd G3 anstatt PdCl₂(dppf)). Die Verbindung **2** konnte innerhalb einer Suzuki-Miyaura-Kupplung mit dem korrespondierenden 8-Bromchinolin-Derivat¹²⁹ dargestellt werden, welches zu diesem Zeitpunkt als fertiges Edukt zur Verfügung stand (Schema 1, unten).

**Edukt für Reaktionsschritt b**

8-Brom-3-methyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-
-1,3-dihydro-2H-imidazo[4,5-c]chinolin-2-on

Schema 1: Synthese der ersten Chinolin-basierten Inhibitoren: (a) B_2Pin_2 , KOAc, XPhos Pd G3, Dioxan 44-96 %; (b) 8-Brom-3-methyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-1,3-dihydro-2H-imidazo[4,5-c]chinolin-2-on¹²⁹, $K_3PO_4 \cdot 3H_2O$, XPhos Pd G4, Wasser/Dioxan, 60 °C, 75 %; (c) Benzylamin (neat), 180 °C, 64 %; (d) (S)-(2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methanol, NaH, DMF, 73 %; (e) wässrige HCl (10 %), Dioxan, 57 % (f) H_2 (1 bar), Pd/C, Dioxan, 50 °C, 48 h; (g) H_2 (7,5 bar), Pd/C, Dioxan, 50 °C; (h) H_2 (7 bar), Pd/C + Pd(OH)₂/C (1+1), Dioxan, 50 °C; (i) H_2 (7 bar), Pd/C + Pd(OH)₂/C (1+1), MeOH/EA (1+1), 50 °C.

Eine zentrale Strategie stellte die Einführung einer Aminogruppe in Position 2 des Pyridinylrings dar, welche im späteren Verlauf derivatisiert werden sollte. Dazu wurde zunächst ein Benzylamin-Rest in Verbindung **3** mittels nucleophiler Substitution am Aromaten (S_NAr) in Benzylamin bei 180 °C eingeführt. Nach erfolgreicher Reaktion konnte das Rohprodukt über eine Fällung mit *n*-Pentan gewonnen werden, bevor es säulenchromatographisch aufgereinigt wurde. Neben der Funktion als synthetischer Präkursor wurde auch die inhibitorische Aktivität der Verbindung **3** evaluiert, um die Akzeptanz der ATM-Bindetasche gegenüber dem terminalen Benzyl-Rest zu prüfen. Die hydrogenolytische *N*-Debenzylierung erwies sich jedoch vermutlich aufgrund der Amidinteilstruktur als herausfordernd. Die initialen Reaktionsbedingungen unter H_2 -Atmosphäre (1 atm) zeigten mit Pd/C als Katalysator in Dioxan keinerlei Umsetzung. Auch für die Hydrierung im Reaktor bei Drücken um 7 bar und zusätzlich bei erhöhter

Temperatur konnte keine Umsetzung nachgewiesen werden. Weitere Ansätze mit Zugabe von $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ und Austausch der Lösungsmittel erwiesen sich ebenfalls als nicht zielführend (Schema 1). Zusätzliche Versuche wurden nicht unternommen, da innerhalb des Projektes parallel dazu alternative Syntheserouten durch Dr. Michael Forster etabliert wurden.¹⁴⁸

Das Ketal **4** wurde innerhalb einer $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ ausgehend von **2** mithilfe des korrespondierenden Alkoholats in Dimethylformamid (DMF) synthetisiert, welches darüber hinaus mit einem Gemisch aus Dioxan/Salzsäure (aq., 10 %) zum Diol **5** umgewandelt werden konnte. Aufgrund der leichteren Verfügbarkeit des Edukts wurde sich in der Synthese von **4** auf das (*S*)-Enantiomer beschränkt.

Innerhalb der Strukturklasse der Chinolin-basierten Inhibitoren wurde der ATM-Inhibitor **FM-647** durch AstraZeneca identifiziert, der hohe Hemmwerte auf der isolierten ATM-Kinase zeigte (Abbildung 15).¹²⁹ Davon abgeleitet, stellte sich die Frage, ob der Aryl-Linker bioisoster mit einem Alkin-Linker substituiert werden kann.

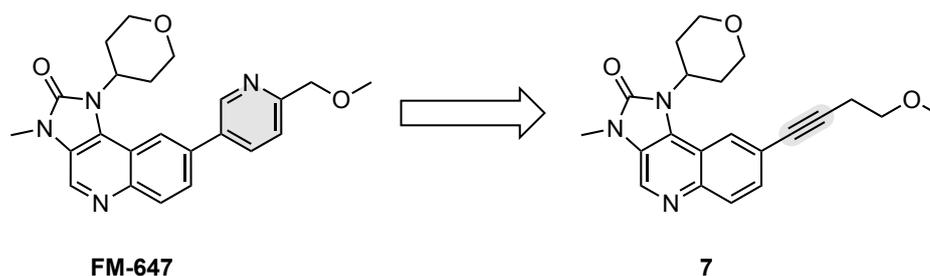
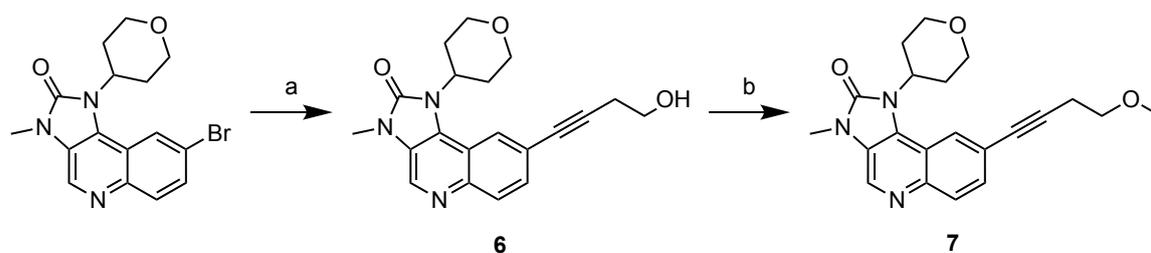


Abbildung 15: Bioisosterer Austausch des Pyridinyl-Linkers aus **FM-647** mit einem Alkin. Die Verbindung **FM-647** wurde von AstraZeneca beschrieben.¹²⁹

Um diese Fragestellung zu überprüfen, wurde mithilfe einer Sonogashira-Kupplung anschließender Methylierung ein 4-Methoxybut-1-in-Rest eingeführt, welcher in etwa die gleiche Länge wie der ursprüngliche Pyridinyl-Rest in der Ausgangssubstanz **FM-647** aufweist.¹⁵¹ Neben dem angestrebten Inhibitor **7** (Schema 2) wurde die inhibitorische Aktivität der unmethylierten Vorstufe **6** aufgrund des höheren H-Brückenbindungspotenzials (wegen sterischer Gründe und des zusätzlichen H-Brücken-Donors) geprüft. Der Alkohol **6** zeigte eine leicht bessere Hemmung gegenüber **7**, jedoch verlieren beide Alkine deutlich an Potenz im Vergleich zur Muttersubstanz **FM-647**, sodass dieser Ansatz nicht weiterverfolgt wurde (siehe Kapitel 5.1).



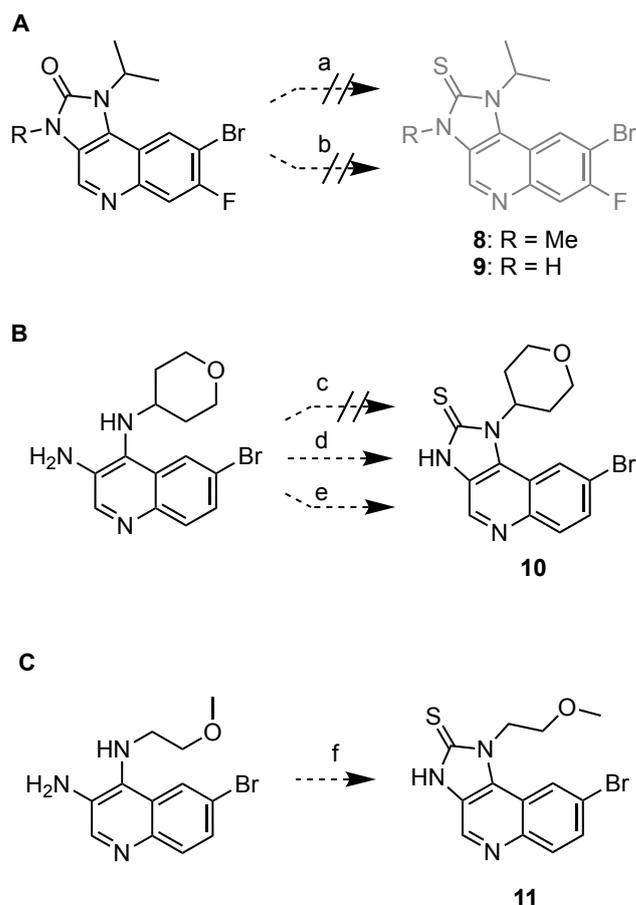
Schema 2: Darstellung der Verbindung 7 über eine Sonogoshira-Reaktion mit anschließender Methylierung. Reaktionsbedingungen: (a) CuI, Et₃N, But-1-in-4-ol, Pd(PPh₃)₂Cl₂, DMF, 60-70 °C, 71 %. (b) NaH, MeI, DMF, 60 %.

3.1.2 Darstellung von Imidazo[4,5-*c*]chinolin-2-thion-Analoga

Neben der Synthese Imidazo[4,5-*c*]chinolin-2-on-basierter Inhibitoren war ein weiteres Ziel, Imidazolidin-2-thion-Analoga bereits bekannter Inhibitoren zu testen. Dazu wurde zunächst versucht, das fertige Imidazo[4,5-*c*]chinolin-2-on-Grundgerüst mithilfe des Lawessons Reagenz (LR) in das gewünschte Produkt **8**, mit Anlehnung an eine Patentvorschrift der Firma Novartis, welche die Thionierung strukturähnlicher PI3K-Inhibitoren durchgeführt haben, zu überführen (Schema 3).¹⁵² Jedoch führte die Reaktion mit verschiedenen Chargen an Lawessons Reagenz und in verschiedenen Lösungsmitteln (Dioxan oder Toluol) oder mit alternativen Edukten (**8**) nicht zu der gewünschten Umsetzung.

Als Alternative zum Lawessons Reagenz wurde ausgehend von den Chinolin-3,4-diaminen in Schema 3B ein Ringschluss mit Thiocarbonyldiimidazol (TCDI) getestet. Während bei einer Reaktionsführung in Tetrahydrofuran (THF) bei Raumtemperatur kein Produkt **10** nachgewiesen werden konnte, änderte sich dies unter Refluxbedingungen. Dabei wurde jedoch nur eine geringe Umsetzung beobachtet. Die Substitution des Lösungsmittels mit DMF¹⁵³ und die Durchführung in der Mikrowelle bei 100 °C führten zu einer deutlichen Zeitersparnis, jedoch insgesamt zu keiner besseren Umsetzung.

Eine weitere Testreaktion wurde mit 6-Brom-*N*⁴-(2-methoxyethyl)chinolin-3,4-diamin¹⁴⁹ durchgeführt, um die entsprechenden Thiocarbonyl-Verbindungen darzustellen (Schema 3C). Zwar wurde bei dieser Vorgehensweise eine deutlich bessere Umsetzung beobachtet, nichtsdestotrotz konnte das Produkt nur als Edukt-Produkt-Gemisch isoliert werden, sodass dieser Synthesansatz nicht weiterverfolgt wurde.



Schema 3: Strategien zur Herstellung verschiedener Thiocarbonyl-Grundgerüste: (a) LR (1,1 - 2,2 eq.), Dioxan, 72 h, 105 °C; (b) LR, Toluol, 120 °C, 20 h, unter Argon; (c) TCDI (1,2 eq), THF, RT, unter Argon; (d) wie c) jedoch bei 50 °C; (e) TCDI (1,2 eq), DMF, 100 °C, MW, unter Argon; (f) TCDI (1,5 eq), DMF, 70 °C, unter N₂. Für alle Reaktionen wurden trockene Lösungsmittel verwendet. Die Edukte für Schema A wurden nach WO2017046216 synthetisiert.¹⁵⁴ Die Edukte für Schema B und C wurden in der projektzugehörigen Arbeit von Dr. Michael Forster synthetisiert.¹⁴⁹

3.1.3 Modifikationen der 1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-phenylharnstoff-Seitenkette

Innerhalb des ATM-Projektes wurde der Inhibitor **FM-638** isoliert, der im *in silico* Modell aufgrund der Harnstoff-Funktion im Vergleich zur Referenzverbindung **AZD0156** zusätzliche H-Brückenbindungen innerhalb der ATM-Bindetasche aufbauen konnte. **FM-638** zeigte jedoch eine schlechte Löslichkeit in PBS-Puffer. Diese Problematik konnte mit dem Inhibitor **CA-053** weitestgehend behoben werden, indem die Tetrahydropyran-Seitenkette (THP) mit einem Methoxyethylen-Rest substituiert wurde.

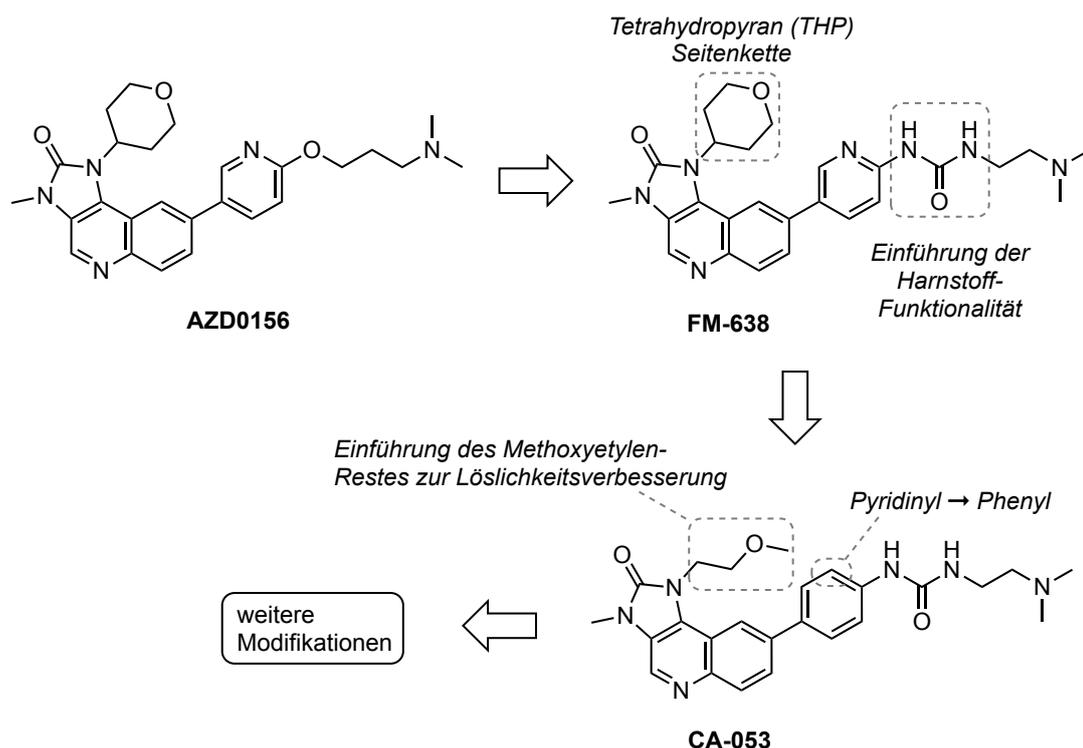
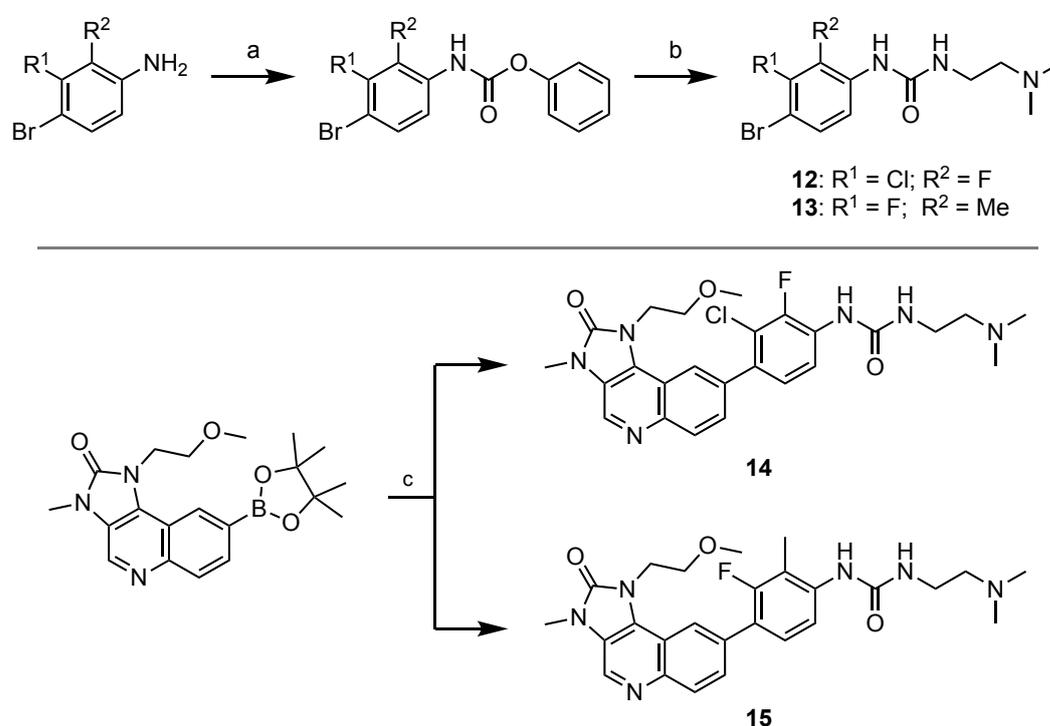


Abbildung 16: Entwicklung des Inhibitors **FM-638** innerhalb des ATM-Projektes. Die Löslichkeit der Harnstoff-basierten Inhibitoren konnte mit der Substitution der THP-Seitenkette in **FM-638** durch den Methoxyethylen-Rest in **CA-053** erheblich verbessert werden. (**FM-638** wurde von Dr. Michael Forster entwickelt. Die Verbindung **CA-053** wurde innerhalb der Masterarbeit von Cetin Anli synthetisiert, die von mir mitbetreut wurde.)

CA-053 erreichte eine Löslichkeit von 1570 μM (aq.) und war insgesamt über 40-fach löslicher als die Ausgangsverbindung **FM-638**.¹⁴⁸ Ausgehend von der Verbindung **CA-053** sollten Struktur-Wirkungsbeziehungen der Harnstoff-Seitenkette ermittelt werden. Zunächst sollten am Aryl-Linker zwischen der Harnstoff-Funktionalität und dem Hinge-Bindungsmotiv diverse Substitutionsmuster erprobt werden. Während die gewünschten Harnstoff-Seitenketten zu Beginn des Projektes über eine Curtius-Umlagerung ausgehend von der 4-Brombenzoesäure mit Diphenylazidophosphat (DPPA) und dem entsprechenden Amin synthetisiert wurden, konnte die Synthese alternativ direkt über die entsprechenden 4-Bromaniline mit synthetischen Phosgeneratzstoffen wie Phenylchlorformiat realisiert werden. Dazu wurde die *One-Pot*-Methode nach Kitteringham *et al.* verwendet, bei der das jeweilige Phenylcarbammat *in situ* generiert wurde und anschließend direkt zur gewünschten Harnstoff-Verbindung umgesetzt werden konnte.¹⁵⁵ Nach dieser Methode wurden die Verbindungen **12** und **13** dargestellt (Schema 4), wobei jeweils unterschiedliche Aufreinigungsmethoden verwendet wurden. Das Rohprodukt der Verbindung **12** wurde nach erfolgreicher Umsetzung der Reaktion und einem basischen Waschschrift als Öl gewonnen und konnte mithilfe von Acetonitril (ACN) in ein kristallines Produkt überführt

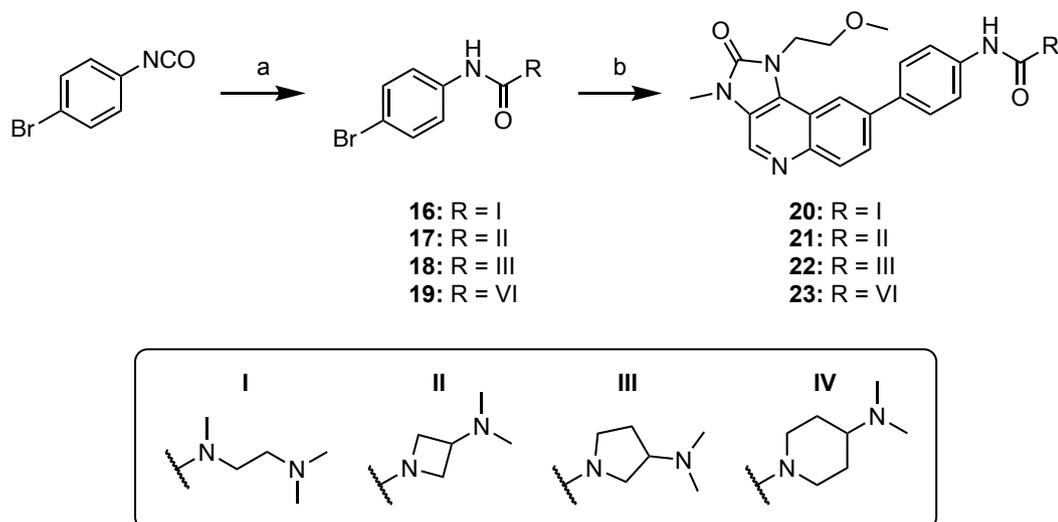
werden. Da sich das Produkt jedoch bei höheren Temperaturen (Raumtemperatur) teilweise wieder in ACN löst, wurde nur eine Ausbeute von 69 % erreicht. Im Gegensatz dazu konnte nach säulenchromatographischer Aufreinigung der Verbindung **13** eine hohe Ausbeute von über 90 % erreicht werden. Die Überführung in die korrespondierenden Inhibitoren **14** und **15** konnte über eine Suzuki-Kupplung mit zufriedenstellenden Ausbeuten realisiert werden (Schema 4, unten). Es zeigte sich, dass kleine Substituenten, wie Fluoratome (Van-der-Vaals-Radius: 1,47 Å), von der Bindetasche akzeptiert wurden, während größere wie Chloratome (Van-der-Vaals-Radius: 1,74 Å) oder Methylreste zu deutlichen Aktivitätsverlusten führten, sodass keine weiteren Derivate synthetisiert wurden.^{148,156}



Schema 4: Darstellung von **CA-053**-Derivaten mit verschiedenen Substitutionsmustern am Phenyl-Linker: (a) Phenylchlorformiat, Et₃N, THF; (b) *N,N*-Dimethylethylendiamin, Et₃N, THF, 69-91 % (Schritt a) und (b) als *One-Pot-Synthese*); (c) **12** bzw. **13**, K₃PO₄·3H₂O, *t*Bu₃P Pd G3, Wasser/Dioxan, 65 °C, 80 %.

Weitere Modifikationen wurden am *N*-(2-(Dimethylamino)ethyl)harnstoff durchgeführt. Dabei sollte geklärt werden, ob die Methylierung des terminalen H-Brücken-Donors zu einem Aktivitätsverlust führt, weshalb das *N*-Methyl-Analogon **20** der Verbindung **CA-053** synthetisiert wurde. Zudem wurden eine Reihe an Rigidisierungsversuchen mit den Verbindungen **21** bis **23** erprobt (Schema 5), welche zum einen das Amin fixieren und zum anderen ggf. die Löslichkeit weiter verbessern sollten, indem die Ausbildung intermolekularer H-Brücken erschwert wird.^{157,158}

Insgesamt zeigten die Reste I-III akzeptable Aktivitäten, während der sterisch anspruchsvollste Aminopiperidin-Rest in dieser Reihe (**23**) zu einem erheblichen Aktivitätsverlust führte (siehe Kapitel 5.1).¹⁴⁸



Schema 5: Darstellung *N*-substituierter und rigidisierter Seitenketten: (a) korrespondierendes Amin als freie Base oder Hydrochlorid, Et₃N (in Falle von HCl-Salzen), Toluol oder DMF, RT, 68-100 %; (b) korrespondierender Boronsäurepinacolester, K₃PO₄·3H₂O, tBu₃P Pd G3, Wasser/Dioxan, 60-65 °C, 37-89 %.

3.2 Scaffold-Hopping: Erprobung von Azaindol-Derivaten als *Hinge*-Bindungsmotiv

Ein weiteres Ziel war die Darstellung alternativer *Hinge*-Bindungsmotive, die über einen zusätzlichen H-Brücken-Donor verfügen und somit gegenüber den zuvor besprochenen Inhibitoren eine weitere H-Brücke zur *Hinge*-Region der ATP-Bindetasche aufbauen sollten (Abbildung 17). Es wurden mehrere Grundgerüste parallel synthetisiert, die sich formal vom 7-Azaindol ableiten (Abbildung 18). Mit dem ersten Motiv (**G1**) sollten zunächst Verbindungen mit einer Strukturähnlichkeit zum literaturbekannten ATM-Kinase-Inhibitor **AZD1390** (Abbildung 11) synthetisiert werden. Die Ringe A und B, einschließlich der Substituenten (R¹, R², Z), wurden unverändert beibehalten, während sich die hauptsächliche Modifikation auf den Ring C fokussieren sollte.⁵³ Darüber hinaus sollte Ring A innerhalb der Synthese alternativ als Imidazolring geschlossen werden, sodass die Substituenten R¹ und R² entfallen. Als zweites Motiv (**G2**) wurde das bicyclische 7-Azaindol gewählt, welches im weiteren Verlauf mit Halogenen an Position 4 oder 5 ausgestattet werden sollte. Über die Halogensubstituenten sollten Kreuzkupplungs-

reaktionen ermöglicht werden, während die Einführung der Seitenkette (SK) an Position 3 durch eine Friedel-Crafts-Reaktion möglich ist.

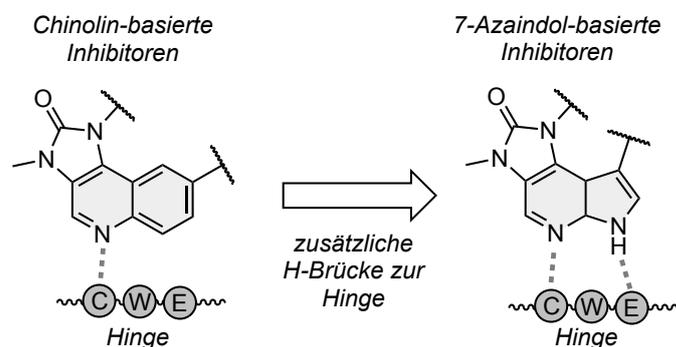


Abbildung 17: Schematische Darstellung des *in silico* Hinge-Bindungsmodus der Chinolin-basierten Inhibitoren (links) und des angestrebten Bindemodus der 7-Azaindol-Derivate (rechts), um eine weitere H-Brücke zur Hinge aufbauen zu können. (Vgl. mit Abbildung 6 und Abbildung 7).

Die Synthese der tricyclischen Grundgerüste (**G1**) wurden nach Schema 6 durchgeführt und sind zum Teil bereits beschrieben.¹⁵⁹ Dabei wurde ausgehend von 4-Chlor-7-azaindol nach Deprotonierung durch Natriumhydrid mit Tosylchlorid (TsCl) tosyliert, gefolgt von der Einführung der Nitrogruppe mit Tetramethylammoniumnitrat und Trifluoressigsäureanhydrid (TFAA) in Position 5.^{159,160} Die Isopropyl-Seitenkette in **26** ließ sich einfach über eine nucleophile Substitutionsreaktion mit *i*PrNH₂ in *i*PrOH mit hohen Ausbeuten einführen. Bevor der Tricyclus mit Carbonyldiimidazol (CDI) geschlossen werden konnte, musste zunächst die Nitrogruppe mit SnCl₂·2H₂O reduziert werden, um das Diamin **27** zu erhalten. Die *N*-Methylierung von **29** erfolgte mithilfe von NaH und Methyljodid (MeI).

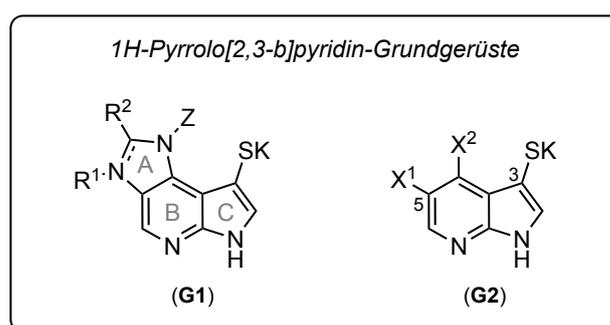
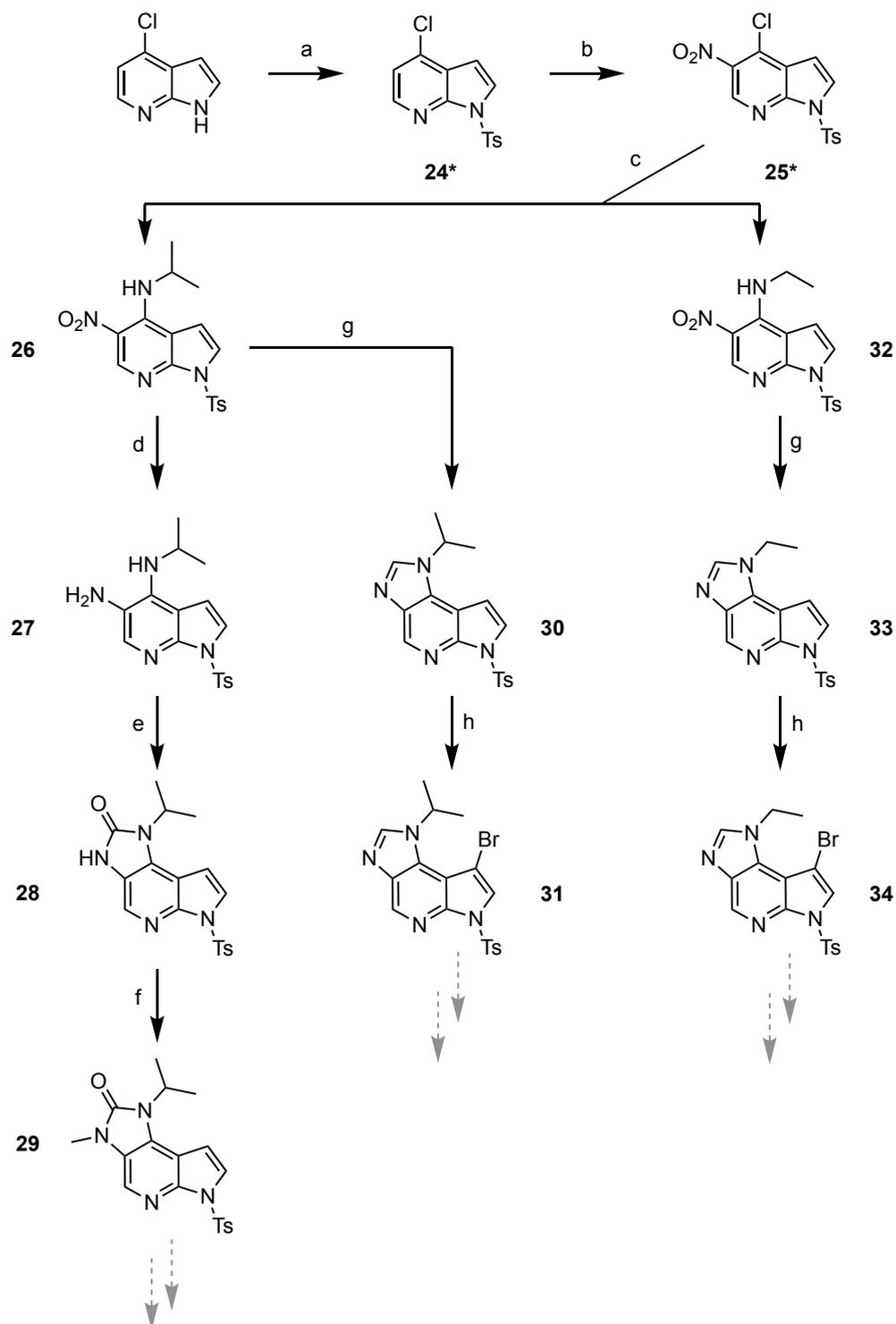


Abbildung 18: Allgemeine Strukturen der 7-Azaindol-basierten Inhibitoren. Die tricyclische Markush-Formel G1 leitet sich dabei vom Imidazo[4,5-c]chinolin-2-on-Grundgerüst ab ($R^1 = \text{Me}$, $R^2 = \text{O}$, $Z = \text{Alkyl}$). Des Weiteren sollte Ring A zu einem Imidazolring geschlossen werden ($R^1 = \text{nicht vorhanden}$, $R^2 = \text{H}$, $Z = \text{Alkyl}$). Die bicyclische Variante G2 sollte in Position 4 und 5 unsubstituiert bleiben ($X^{1-2} = \text{H}$) oder jeweils ein Halogen tragen. Letztere sollten Kreuzkupplungsreaktionen ermöglichen ($X^1 = \text{Br}$, $X^2 = \text{H}$ oder $X^1 = \text{H}$, $X^2 = \text{Cl}$). Der Rest SK repräsentiert Seitenketten, die in Richtung der hydrophoben Region I, α C-Helix und DLG-Motiv binden sollen.

Zwar war eine Tosyl-Entschützung der Verbindung **29** zum Teil möglich, der Ansatz wurde jedoch aufgrund der äußerst schlechten Löslichkeit dieser Substanzklasse in organischen Lösungsmitteln nicht weiterverfolgt.



Schema 6: Syntheschema für das Grundgerüst **G1**: (a) NaH, TsCl, THF, 60 %; (b) Me₄N(NO₃), TFAA, DCM, 0 °C → RT, 94 %; (c) iPrNH₂ oder EtNH₂, Et₃N, iPrOH, Reflux, 95-97 %; (d) SnCl₂·2H₂O, EtOH, Reflux, 83 %; (e) CDI, DMF, 82 %; (f) NaH, MeI, DMF, 85 %; (g) Et₃N/HCOOH, Pd/C, Toluol, Reflux, 59-98 %; (h) NBS, DMF, 39-56 %.

Vergleichbare Probleme ergaben sich bei der Darstellung der 1,6-Dihydroimidazo[4,5-*d*]pyrrolo[2,3-*b*]pyridine **31** und **34** (Schema 6). Diese wurden parallel mithilfe einer ähnlichen Syntheseroute dargestellt, mit dem Unterschied, dass die Reduktion und Ringschluss zum Imidazol ausgehend von den Nitroverbindungen **26** und **32** über eine *One-Pot*-Methode durchgeführt wurden. Dazu wurden die Nitrovorstufen mit Triethylammoniumformiat zusammen mit katalytischen Mengen an Pd/C in Toluol refluxiert, um die entsprechenden Tricyclen zu gewinnen. Diese Synthese stellt eine abgewandelte Form der Vorschrift nach Zhu *et al.* dar, bei der die Reaktion unter Mikrowellenbedingungen vollzogen wird.¹⁶¹ Die beiden Verbindungen **34** und **31** konnten zudem am Pyrrolring mit *N*-Bromsuccinimid (NBS) bromiert werden. Allerdings resultierte dies in äußerst schwerlöslichen Verbindungen, weshalb der Ansatz nicht weiterverfolgt wurde.

Neben den tricyclischen Verbindungen in Schema 6 wurden bicyclische Inhibitoren (**G2**, Abbildung 18) ausgehend von verschiedenen 7-Azaindolen nach dem Konzept in Abbildung 19 synthetisiert. In Position 4 und 5 halogenierte Azaindole sollten dabei eine *Late-Stage*-Derivatisierung ermöglichen.

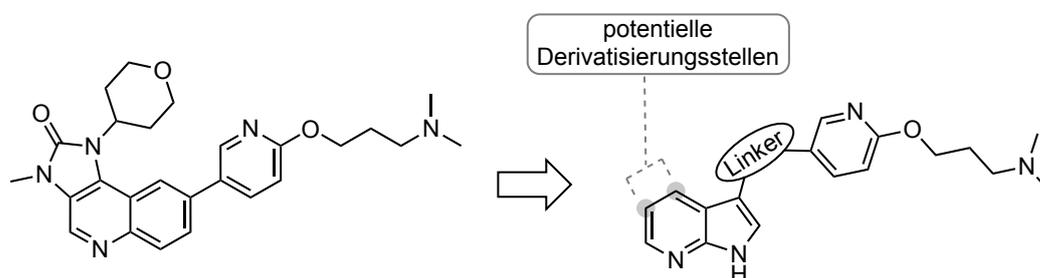


Abbildung 19: Konzept der bicyclischen 7-Azaindole. Während das Hinge-Bindungsmotiv ausgetauscht wurde, sollte die basische Pyridinylether-Seitenkette beibehalten werden.

Als hochspezifischer Rest, der in Richtung HRI und darüber hinaus in die Aspartat-reiche Region der ATM-Kinase bindet (siehe Abbildung 6), sollte das in Literatur bekannte *N,N*-Dimethyl-3-(pyridin-2-yloxy)propan-1-amin-Motiv angebracht werden (Abbildung 19).¹²⁹ Allerdings führt der *Shift* vom Chinolin-Grundgerüst zum 7-Azaindol zu dem Problem, dass die Pyridinylether-Seitenkette aufgrund der reduzierten Ringgröße des Pyrrols nicht deckungsgleich in der Bindetasche liegen kann. Um dieses Problem zum Teil zu kompensieren, sollte mithilfe einer Fridel-Crafts-Acylierung (FCA) ein Carbonyl-Linker zwischen Azaindol und Pyridinring angebracht werden. Dies geschah aus der Überlegung heraus, dass die Carbonylgruppe selbst als H-Brücken-Akzeptor fungieren kann und daher

selbst eine Wechselwirkung mit dem katalytischen K2717 eingehen könnte. Die genaue Positionierung des terminalen Amins wurde zunächst vernachlässigt, da der Propyl-Linker eine hohe Flexibilität aufweist und somit eine gewisse Anpassungsfähigkeit angenommen wurde. Aufgrund dessen wurde zunächst keine kompensierende Verkürzung der Alkylkette vorgenommen.

Zunächst wurde das gänzlich unsubstituierte 7-Azaindol als Ausgangsverbindung gewählt (Abbildung 18, **G2**, $X^{1/2} = \text{H}$), welches mit den korrespondierenden Säurechloriden innerhalb einer FCA umgesetzt werden sollte (Schema 7). Für die Durchführung der FCA am C-3 des Heterocyclus wurde ein Überschuss an AlCl_3 benötigt, da jeder zusätzliche Stickstoff im Heterocyclus einen Komplex mit dem Aluminiumchlorid bilden kann. Das erste Äquivalent an AlCl_3 koordiniert am Pyridinstickstoff, was den pK_s -Wert des Pyrrol NH verringern und damit eine Deprotonierung durch ein zweites Äquivalent an AlCl_3 begünstigen könnte.¹⁶²

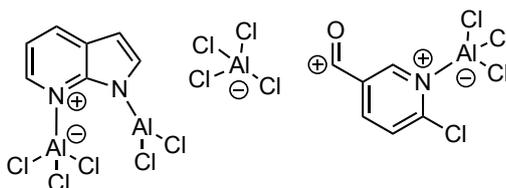
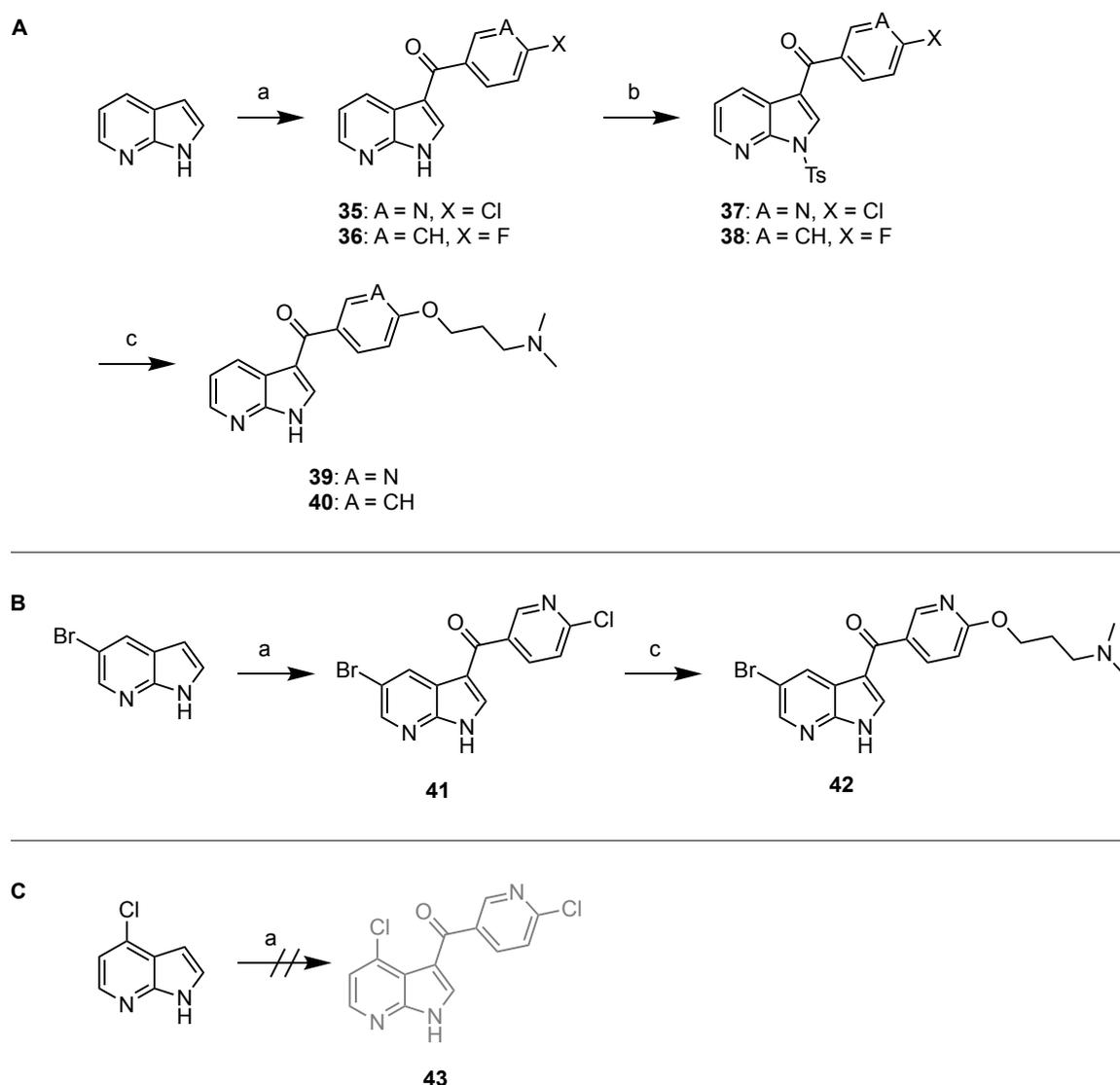


Abbildung 20: Ein Überschuss an Aluminiumchlorid wird benötigt, um eine Friedel-Crafts-Acylierung am C-3 des 7-Azaindols zu ermöglichen. (Modifiziert nach Zhang et al.¹⁶²)

Aufgrund der Verwendung von 6-Chlornicotinoylchlorid als Edukt innerhalb der Synthese von **35** (und **41**) wurde ein weiteres Äquivalent an Lewis-Säure eingesetzt, um den für die Reaktion benötigten Komplex zwischen AlCl_3 und Säurechlorid zu ermöglichen (Abbildung 20). Als Lösungsmittel wurden primär DCM und Dichlorethan verwendet, da damit gute Ausbeuten erzielt werden konnten, wohingegen Nitromethan schlechte bis keine Umsetzungen lieferte. Für die Verbindung **36** ergaben sich die besten Ausbeuten, wenn das 7-Azaindol 1-1,5 Stunden¹⁶² mit AlCl_3 in DCM gerührt wurde, bevor das 4-Fluorbenzoylchlorid portionsweise in die Reaktion gegeben wurde. Während die Verbindungen **35** und **36** extraktiv aufgearbeitet werden mussten, nahm die Löslichkeit für die Verbindung **41**, die einen zusätzlichen Bromsubstituenten trägt, so sehr ab, dass das Produkt beim Verdünnen der Reaktion mit MeOH in kristalliner Form ausfiel und über eine Filtration gewonnen werden konnte. Im Gegensatz dazu war die Umsetzung von 4-Chlor-7-azaindol innerhalb der Friedel-Crafts-Reaktion nicht möglich (Schema 7C).

In Schema 7A wurde eine Tosyl-Schützung durchgeführt, die jedoch für die Darstellung der Verbindungen **39** retrospektiv nicht notwendig war (vergleiche Schema 7B). Ausgehend von **37** konnte innerhalb einer S_NAr mit 3-Dimethylaminopropan-1-ol sowohl das gewünschte Amin eingeführt als auch die Tosylgruppe entfernt werden, indem ein Überschuss an Alkoholat gebildet wurde. Dabei wurde die Reaktion mit Natriumhydrid in 3-Dimethylaminopropan-1-ol als Lösungsmittel durchgeführt. Bei Raumtemperatur konnte nach einer Stunde keine Umsetzung zum gewünschten Produkt **39** beobachtet werden, weswegen eine erhöhte Temperatur von 60 °C eingestellt werden musste.



Schema 7: 7-Azaindol-Derivate mit bicyclischem Hinge-Bindungsmotiv: (a) korrespondierendes Säurechlorid, $AlCl_3$, Dichlorethan oder DCM, RT-40 °C, 53-85 %; (b) NaH, TsCl, THF, 94-97 %; (c) NaH, 3-Dimethylaminopropanol (neat), 60-100 °C, 60-79 %.

Parallel zu **39** wurde die Verbindung **40** unter äquivalenten Bedingungen synthetisiert, welche anstatt den Pyridinyl- einen Phenyl-Rest trägt, um die Relevanz des Stickstoffes evaluieren zu können (Schema 7). Anstatt des 6-Chlornicotinoylchlorides wurde 4-Fluorbenzoylchlorid für die entsprechende FCA verwendet. Die Synthese des 5-Brom-7-Azaindol-Derivates **42** wurde unter Umgehung der Tosyl-Schätzung durchgeführt (Schema 7B). Dabei führte die S_NAr -Reaktion im letzten Schritt zu guten Ausbeuten von 79 %.

Neben den 7-Azaindol-basierten Inhibitoren wurde auch das 4-Azaindol als Grundgerüst erprobt (Abbildung 21). Dieses Regioisomer erlaubt, wie in Schema 8 aufgeführt, die Einführung der Pyridinyl-Seitenkette über eine S_N2 -Reaktion. Dadurch fehlt die Carbonyl-Funktionalität, die in den zuvor besprochenen Verbindungen vertreten ist, womit die so erzeugten Verbindungen einen potenziellen H-Brücken-Akzeptor verlieren. Dadurch ändert sich zudem die Ausrichtung der Pyridinyl-Seitenkette und diese gewinnt durch die Methylen-Brücke an Flexibilität.

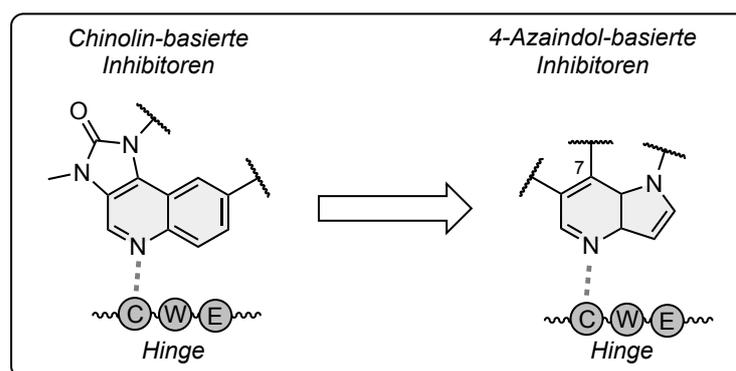
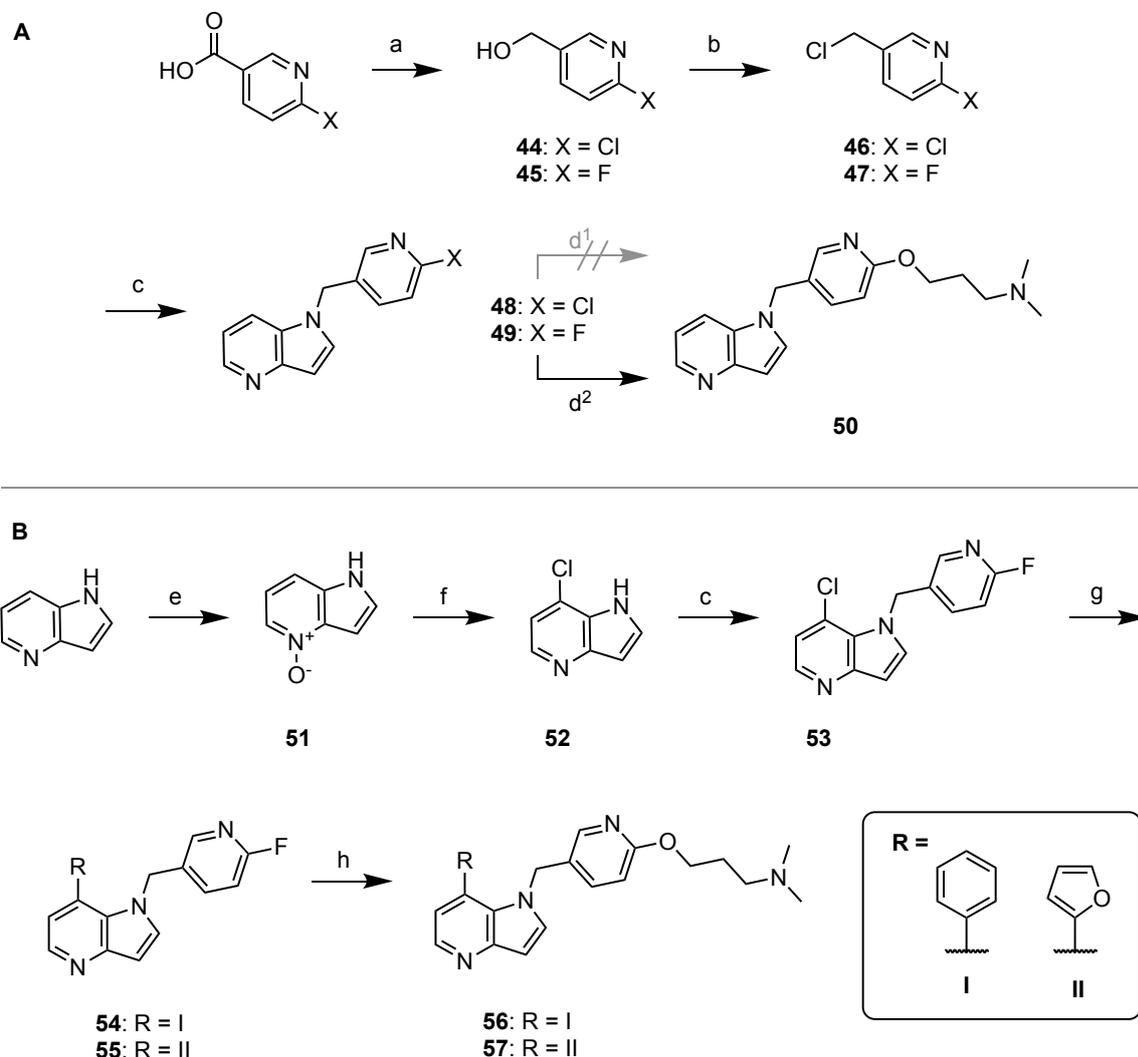


Abbildung 21: Schematische Darstellung des *in silico* Hinge-Bindungsmodus der Chinolin-basierten Inhibitoren (links) und des angestrebten Bindungsmodus der 4-Azaindol-Derivate (rechts).

Die Syntheseroute begann mit der Überführung der 6-Chlornicotinsäure zum (6-chlorpyridin-3-yl)methanol (**44**) mit $LiAlH_4$ in THF unter Refluxbedingungen (Schema 8). Der gewonnene Alkohol konnte über eine Reaktion mit $SOCl_2$ in das korrespondierende 2-Chlor-5-(chlormethyl)pyridin **46** überführt werden, welches in der darauffolgenden Reaktion mit deprotoniertem Pyrrolo[3,2-*b*]pyridin zur Verbindung **48** reagierte. Über die Verbindung **48** konnte jedoch nicht die gewünschte Testverbindung **50** dargestellt werden. Als Alternative wurde die Syntheseroute ausgehend von der 6-Fluornicotinsäure wiederholt, um mithilfe des Fluorsubstituenten in **49** die S_NAr zu **50** zu erleichtern. Zusätzlich wurde auf die Verwendung von DMF gänzlich verzichtet und die Reaktion

wurde direkt in 3-(Dimethylamino)propan-1-ol mit Natriumhydrid durchgeführt, wodurch eine gute Ausbeute erzielt werden konnte.



Schema 8: Darstellung 4-Azaindol-basierter Inhibitoren. Reaktionsbedingungen: (a) LiAlH_4 , THF, Reflux, 43-47 %; (b) SOCl_2 , DCM; (c) 4-Azaindol, NaH, DMF, 35-79 % (über zwei Schritte) bzw. 80 % für **53** über einen Schritt; (d¹) NaH, 3-(Dimethylamino)propan-1-ol, DMF; (d²) NaH, 3-(Dimethylamino)propan-1-ol (neat), RT, 78 %; (e) *m*CPBA, *n*-Hexan/DME (2+1), 97 %; (f) POCl_3 (neat), Reflux, 81 %; (g) Phenylboronsäure oder Furan-2-boronsäurepinacolester, XPhos Pd G3, $\text{K}_3\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Wasser/Dioxan, 70 °C, 94 %; (h) NaH, 3-(Dimethylamino)propan-1-ol neat oder in DMF, 11-67 %.

Wie in Abbildung 21 dargestellt, wurde eine Derivatisierungsstelle an Position 7 des 4-Azaindols angestrebt, sodass ein Chlorsubstituent an dieser Stelle eingeführt werden sollte. Ausgehend vom 4-Azaindol wurde zunächst das *N*-Oxid (**51**, Schema 8) über eine Oxidationsreaktion mit *meta*-Chlorperbenzoesäure (*m*CPBA) mit sehr hohen Ausbeuten hergestellt, welches sich in einer Reaktion in POCl_3 unter Refluxbedingungen in das 7-Chlor-4-azaindol überführen ließ.¹⁶³ Nach vollständiger Umsetzung wurde das

Reaktionsgemisch (v.a. bei größeren Ansätzen) vorsichtig in lauwarmes Wasser getropft, da die Beobachtung gemacht wurde, dass das POCl_3 in Eiswasser nicht immer sofort abreagiert und sich teilweise als zweite Phase anreichert. Mit **52** konnte die $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktion äquivalent zu **48** oder **49** durchgeführt werden, um schließlich mit **53** mithilfe einer Suzuki-Reaktion Reste in Position 7 einführen zu können. Erst am Ende der Syntheseroute wurde jeweils der Aminoalkylether-Rest eingeführt, um mit der basischen Aminogruppe einhergehende säulenchromatographische Trennungsprobleme vermeiden zu können.

Die 7-Azaindol- und 4-Azaindol-Inhibitoren zeigten auf der isolierten ATM-Kinase schlechte Hemmaktivitäten, sodass diese Strukturklasse innerhalb dieser Arbeit nicht weiterverfolgt wurde (siehe Kapitel 5.2).

3.3 Benzimidazole

Teilergebnisse der Benzimidazol-basierten Inhibitoren wurden in „*Dimitrov, T. et al. Design and Optimization of Novel Benzimidazole- and Imidazo[4,5-b]pyridine-Based ATM Kinase Inhibitors with Subnanomolar Activities. Journal of Medicinal Chemistry 2023*“ publiziert. Zudem erfolgte eine Patentanmeldung beim Europäischen Patentamt am 22.03.2023 (Application number: EP23163492).

3.3.1 Proof-of-Concept-Inhibitoren

Innerhalb der Publikation von Guo *et al.* konnte eine attraktive *Off-Target* Aktivität des PLK1-Inhibitor **SJ000573017** gegenüber der ATM-Kinase nachgewiesen werden.¹³⁸ Dieser Umstand wurde innerhalb dieser Arbeit genutzt, um Inhibitoren basierend auf dem Benzimidazol-Grundgerüst zu erstellen, die sich jedoch strukturell maßgeblich von dem ursprünglichen Hit-Inhibitor **SJ000573017** unterscheiden sollten.

Eine *in silico* Analyse des PLK1-Inhibitors **SJ000573017** zeigte, dass der Imidazolring als *Hinge*-Bindungsmotiv fungiert und eine H-Brücke in Richtung C2770 aufbauen kann. Dabei liegt das *Hinge*-Bindungsmotiv des Inhibitors verglichen mit Chinolin-basierten Inhibitoren^{13,129,148} in der Simulation um 180° gedreht in der Bindetasche vor. Die beiden Methoxygruppen sind Richtung Solvens orientiert, während der Thiophen-2-carboxamid-Rest mit dem Aspartat-Rest D2725 der αC -Helix eine Ion-Dipol-Wechselwirkung eingeht (Abbildung 22A und B). Das initiale Designkonzept beruhte zunächst auf der Annahme,

dass Benzimidazol-basierte Inhibitoren einen äquivalenten Bindemodus zur Hinge-Region aufbauen können, wie es für zahlreiche Chinolin-Inhibitoren zunächst nur in *in silico* Modellen beschrieben und später mit Kryoelektronenmikroskopie bestätigt wurde (Abbildung 22C).^{13,129,148} Dazu wurde eine Designstrategie verwendet, wobei die Methoxysubstituenten entfernt und an Position 5 des Benzimidazols hochspezifische bekannte Seitenketten installiert wurden (S1-Seitenkette), die in Richtung der HRI und zudem in Richtung der Aspartat-reichen Region der Bindetasche (α C-Helix, DLG-Motiv) binden sollten (S1, Abbildung 23). Auf der anderen Seite wurde die gesamte Thiophencarboxamid-Seitenkette des PLK1-Inhibitors **SJ000573017** entfernt und gegen zunächst unspezifische lipophile Ringe ersetzt, die von Grund auf neu optimiert werden sollten (S2, Abbildung 23). Der angestrebte Bindemodus ist in Abbildung 22D simplifiziert dargestellt.

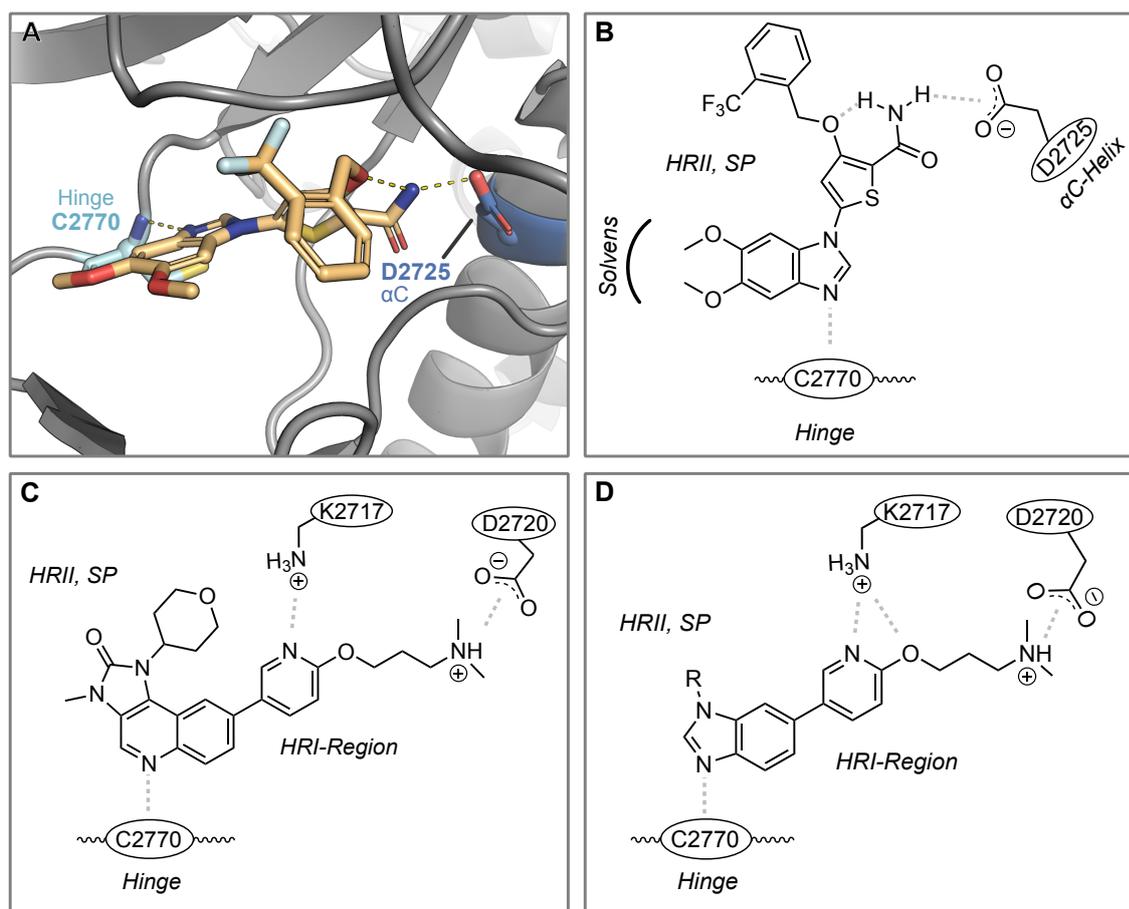


Abbildung 22: Design-Konzept der Benzimidazol-basierten Inhibitoren: A) *In silico* Bindungsmodus des PLK1-Inhibitors **SJ000573017**. Dieser zeigt einerseits eine Wechselwirkung in Richtung C2770 (Hinge) und zudem auch eine Interaktion mit D2725 der α C-Helix. Zudem konnte eine intramolekulare H-Brücke zwischen der Amid- und der Etherfunktion beobachtet werden. Visualisierung mit PyMol.⁷² B) Schematische

Darstellung des *in silico* Bindemodus des PLK1-Inhibitors **SJ000573017** aus A. C) Schematische Darstellung des *in silico* Bindemodus der Verbindung **AZD0156**.¹⁴⁸ D) Design-Konzept und angestrebter Bindemodus der Benzimidazol-basierten Inhibitoren. Die *in silico* Modelle für **SJ000573017** und **AZD0156** wurden von Dr. Thales Kronenberger innerhalb des Projektes erstellt.

Innerhalb dieser Arbeit wurde zunächst auf eine in der Literatur beschriebenen Syntheseroute zurückgegriffen, um die Benzimidazol-Grundgerüste darzustellen.¹⁶⁴ Im weiteren Verlauf wurden zahlreiche Reaktionsbedingungen modifiziert und optimiert. In Abbildung 23 ist die allgemeine Synthesestrategie der Benzimidazol-Inhibitoren zusammengefasst. Die ersten *Proof-of-Concept*-Inhibitoren in Schema 9 konnten innerhalb einer Ein-Schritt-Synthese über eine Suzuki-Reaktion dargestellt werden, da die *N*-substituierte 6-Brombenzimidazole aus einem vorherigen Projekt¹⁶⁴ als Edukte zur Verfügung standen. Die Inhibitoren **58** und **59** konnten dabei in mäßigen bis guten Ausbeuten isoliert werden, wohingegen die Cyclopropyl-Verbindung **60** aufgrund der Bildung von Nebenprodukten verworfen wurde.

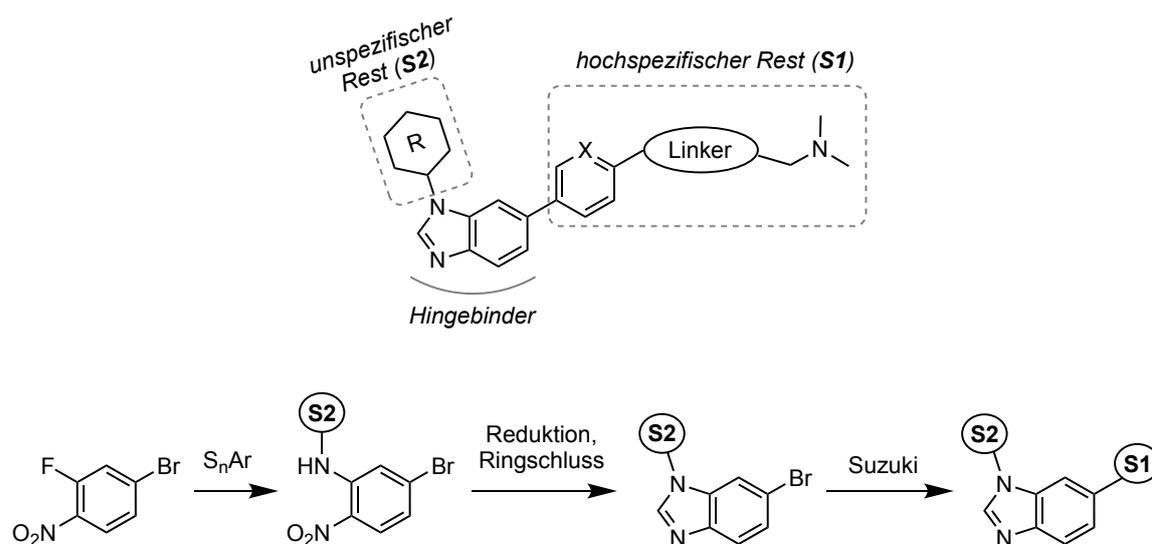
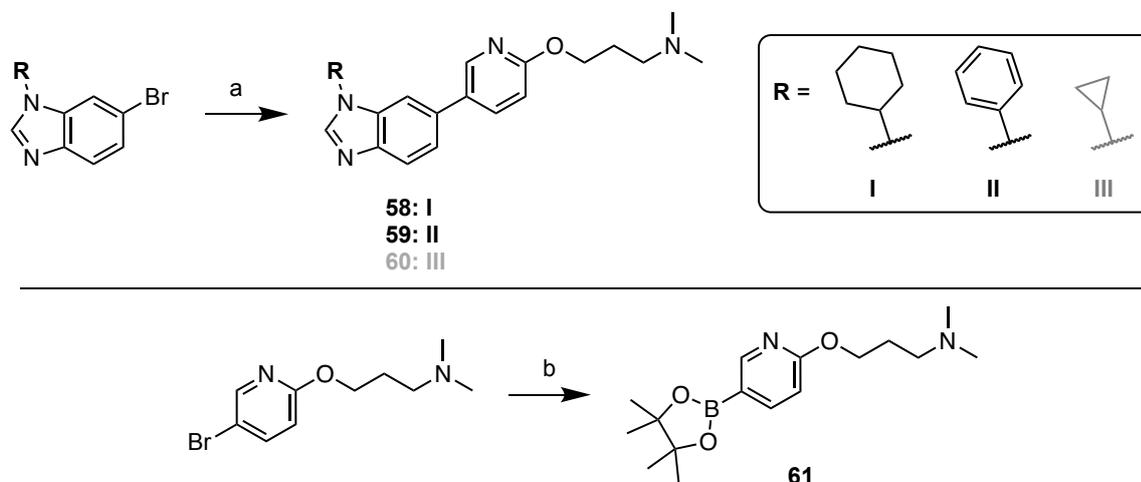


Abbildung 23: Oben: Initiales Designkonzept der Benzimidazol-Inhibitoren. Unten: Allgemeiner Syntheseaufbau, um die **S2**- und die **S1**-Seitenkette einzuführen.

Die Synthese des korrespondierenden Boronsäurepinacolesters **61** ist in Schema 9 (unten) aufgeführt, wobei eine publizierte Vorschrift verwendet wurde.¹⁵⁴ Mithilfe des Metallierungsreagenzes *n*-BuLi kann am korrespondierenden Brompyridin ein Lithium-Halogen-Austausch durchgeführt werden, wobei das so entstehende Metallorganyl über eine Reaktion mit 2-Isopropoxy-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan und

anschließender Hydrolyse mit wässriger NH_4Cl -Lösung zum gewünschten Boronsäurepinacolester (BPin-Ester) abreagieren kann (Schema 9, unten).



Schema 9: Darstellung der ersten Benzimidazol-basierten Inhibitoren (oben); Darstellung der korrespondierenden Seitenkette (unten): (a) **61**, $\text{K}_3\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $t\text{Bu}_3\text{P Pd G3}$ Wasser/Dioxan, 65°C , 58-81 %; (b) 3-((5-Brompyridin-2-yl)oxy)- N,N -dimethylpropan-1-amin, 2-Isopropoxy-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan, $n\text{-BuLi}$ (2,5 M in Hexan), THF, -70 bis -90°C (Aceton/ N_2 -Kältemischung), 92 %. Grau = nicht isolierte Verbindung.

Innerhalb der biologischen Testung auf der isolierten ATM-Kinase konnte vor allem die rigidere Verbindung **59** erfolgsversprechende Ergebnisse liefern (siehe Kapitel 5.3), sodass dieser Inhibitor weiter optimiert werden sollte. Neben der Pyridinyloxy-basierten Seitenkette in **59** wurde auch die 1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-phenylharnstoff-Seitenkette erprobt (Abbildung 24), die innerhalb der Chinolininhibitoren gute Ergebnisse lieferte (vgl. Kapitel 3.1, Abbildung 16).¹⁴⁸

Der formal einfachste Vertreter dieser Klasse war die Verbindung **LS-13**, welche die gleiche Aktivität auf der isolierten ATM-Kinase wie die Verbindung **59** zeigte (Abbildung 24). Die Harnstoff-basierte Seitenkette wurde zu Beginn bevorzugt, da sie neben einer potenziell einfachen Derivatisierbarkeit auch zusätzliche Interaktionen mithilfe der NH-Gruppen innerhalb der Bindetasche eingehen könnte.

Einerseits sollten ausgehend von der nicht-optimierten Verbindung **LS-13** die Struktur-Wirkungsbeziehungen des unsubstituierten Phenylrestes am Benzimidazol (**S2**) untersucht werden, indem verschiedene Reste eingeführt werden sollten. Zum anderen sollten grundlegende SARs in Bezug auf die basische **S1**-Seitenkette geklärt werden.

Beginnend mit der Derivatisierung der **S1**-Seitenkette wurden verschiedene Methylierungsmuster am Harnstoff eingeführt, um die Relevanz der H-Brücken-Donoren

(NH-Gruppen) zu evaluieren. Darüber hinaus wurde der terminale Dimethylaminoethyl-Rest zu einem *N*-Methylpiperidin-4-yl-Ring rigidisiert (Schema 10).

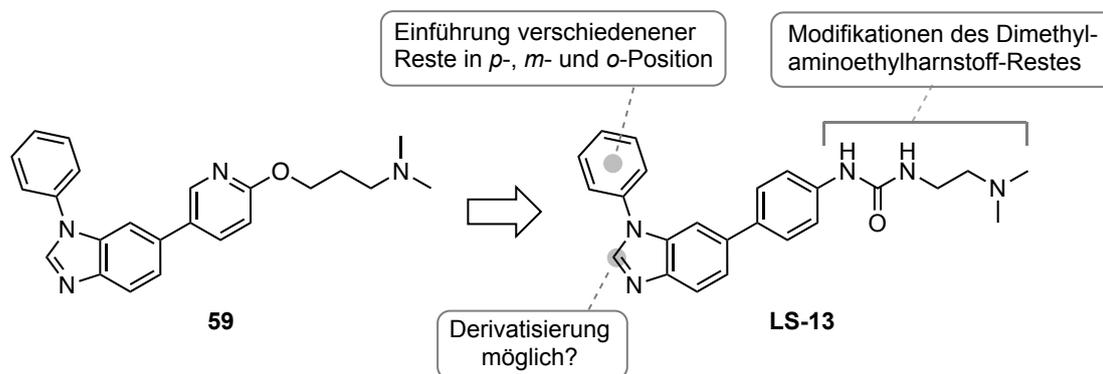
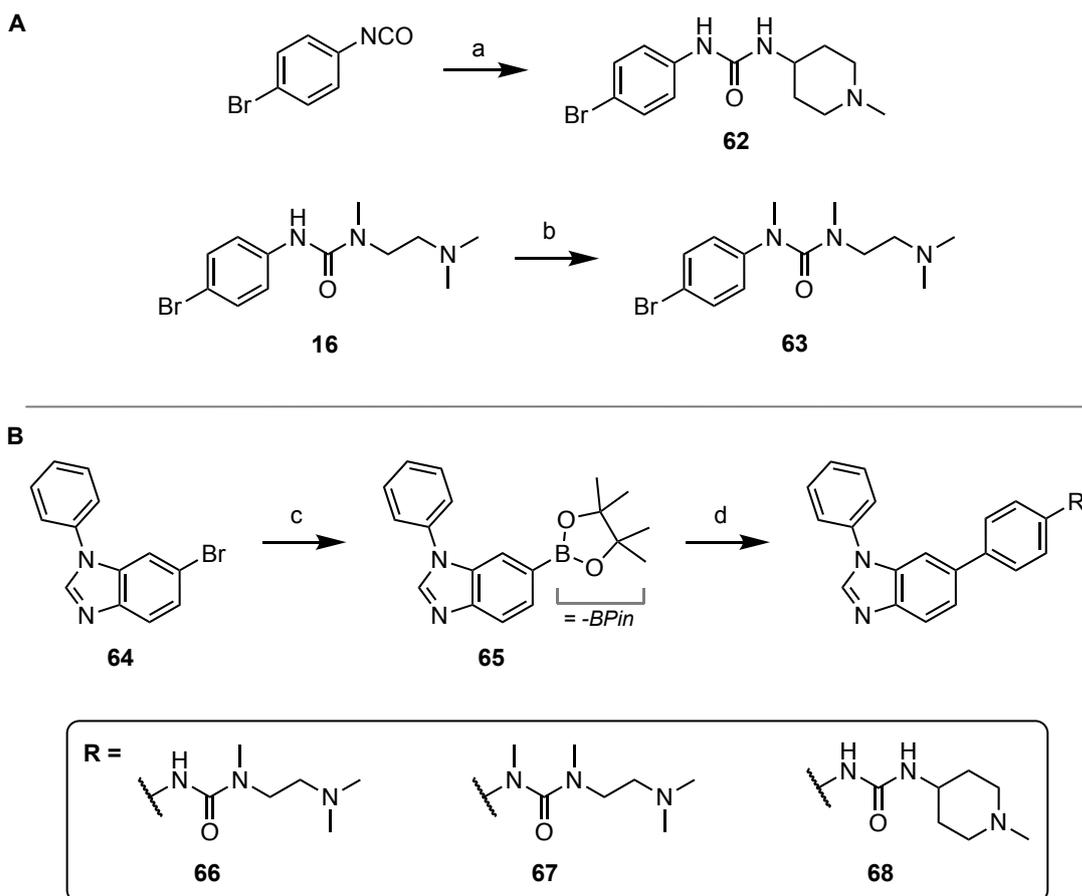


Abbildung 24: Einführung der Harnstoff-basierten Seitenkette. **LS-13** ist formal der einfachste Vertreter der Harnstoff-basierten ATM-Inhibitoren auf Benzimidazol-Basis. Dieser wurde innerhalb der projektzugehörigen Masterarbeit von Lennart Seidel synthetisiert.¹⁶⁵

Die Darstellung der *N*-Methylpiperidin-Seitenkette erfolgte mit 4-Bromphenylisocyanat und 4-Amino-*N*-methylpiperidin in Toluol mit quantitativer Ausbeute (Schema 10). Die Synthese des einfach *N*-methylierten Harnstoffes **16** wurde äquivalent zu **62** dargestellt und bereits in Schema 5 beschrieben. Die Variante des doppelt methylierten Harnstoffes **63** konnte ausgehend von **16** mithilfe der Deprotonierung des Harnstoffes mit Natriumhydrid und der anschließenden Reaktion mit Methyljodid durchgeführt werden. Um die korrespondierenden potenziellen ATM-Inhibitoren über eine Kreuzkupplung darstellen zu können, wurde die Verbindung **64** in den entsprechenden Boronsäurepinacol-Ester (BPin-Ester) transformiert (**65**, Schema 10). Eine anschließende Suzuki-Reaktion führte zu den entsprechenden Testverbindungen **66** bis **68**. Aufgrund persistierender Verunreinigungen nach säulenchromatographischer Aufreinigung mit Normalphasenkieselgel und ammoniakalischem Lösungsmittel (DCM/MeOH + 2 N NH₃) musste bei allen drei Verbindungen (**66** bis **68**) ein weiterer Aufreinigungsschritt mit Umkehrphasenkieselgel (C₁₈) durchgeführt werden, wodurch nur mäßige Ausbeuten resultierten.

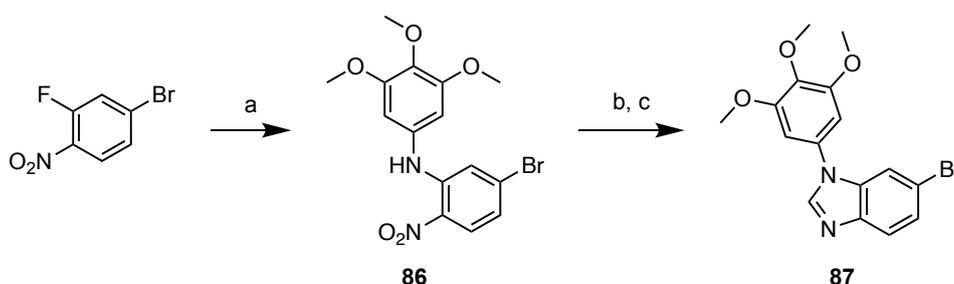
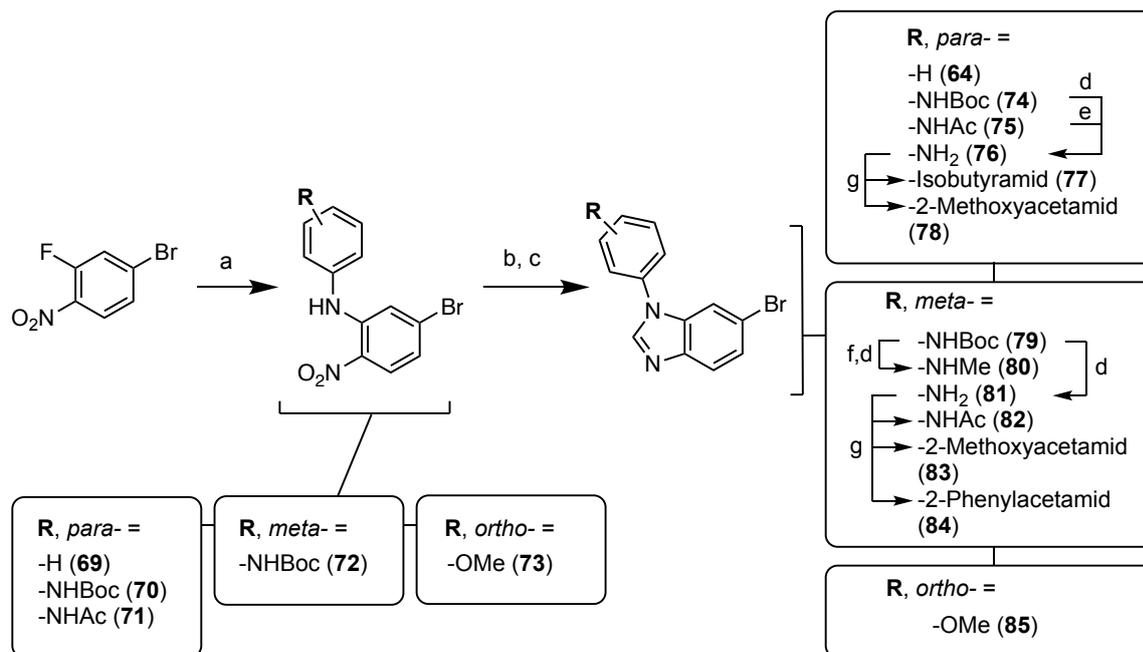


Schema 10: *N*-Methylierungsmuster und Rigidisierung des terminalen Harnstoff-Restes. Reaktionsbedingungen: (a) 4-Brom-phenylisocyanat, 1-Methylpiperidin-4-amin, Toluol, > 99 %; (b) NaH, MeI, DMF (ggf. ungeeignet für größere Maßstäbe¹⁶⁶); (c) B₂Pin₂, KOAc, Pd(dppf)Cl₂, Dioxan, 90 °C; (d) Arylbromide aus A, K₃PO₄·3H₂O, tBu₃P Pd G3, Dioxan/Wasser, 65 °C, 38-71 %.

3.3.1.1 Allgemeine Synthese des Benzimidazol-Grundgerüsts und Modifikationen der S₂-Seitenkette

Neben den zuvor beschriebenen *N*-Methylierungen und Rigidisierungsversuchen der Harnstoff-Seitenkette sollte der unsubstituierte Phenyl-Rest (S₂-Seitenkette) optimiert werden. Dazu wurde als Startmaterial für die Synthesen 4-Brom-2-fluor-1-nitrobenzen verwendet, wobei verschiedene Aniline innerhalb einer S_NAr-Reaktion installiert wurden, die später die S₂-Seitenkette ergaben (Schema 11). Während die endgültigen S₂-Reste bei einigen Verbindungen eingeführt wurden (z.B. das **73**, Schema 11 und weitere in späteren Kapiteln), sind davon Derivate abzugrenzen, die Modifikationen an der S₂-Seitenkette im späteren Verlauf der Syntheseroute ermöglichen. Dazu zählen vor allem innerhalb der in Schema 11 dargestellten Verbindungen die geschützten Amine in *para*- und *meta*-Position **70**, **71** und **72**.

Die S_NAr in Schema 11 wurde zunächst entsprechend der Vorschrift in der Dissertation von Dr. Michael Forster durchgeführt.¹⁶⁴ Dabei wurde das 4-Brom-2-fluor-1-nitrobenzen zusammen mit dem korrespondieren Anilin in *i*PrOH mit Et₃N als Hilfsbase bei 70°C gerührt. Das Lösungsmittel *i*PrOH wurde innerhalb dieser Arbeit mit dem polaraprotischen Lösungsmittel Dimethylformamid (DMF) substituiert, womit sich die Reaktionszeiten z.B. im Fall von Anilin **69** (Schema 11) bei ähnlichen Reaktionstemperaturen von 48 h¹⁶⁴ auf ca. 14-16 h reduzieren ließen. Die Ausbeuten waren innerhalb dieser Reaktion grundsätzlich gut bis sehr gut, lediglich bei **73** zeigte sich eine mäßige Ausbeute mit 50 % aufgrund der *ortho*-ständigen Methoxy-Substitution. In der Regel benötigten die S_NAr-Reaktionen keine anschließende säulenchromatographische Aufreinigung der jeweiligen Nitroprodukte. Diese wurden meist direkt über eine Fällung mit Wasser und anschließender Filtration in ausreichender Reinheit gewonnen. Persistierten Verunreinigungen nach der Aufarbeitung, so konnten die Produkte oftmals in heißem Methanol suspendiert und nach abschließender Abkühlung auf Raumtemperatur wieder durch Filtration mit sehr hoher Reinheit erhalten werden. Umkristallisationen sind zwar möglich (z.B. in MeOH/Aceton-Gemischen), sollten jedoch vermieden werden, da neben einem erhöhten zeitlichen Aufwand und höheren Lösungsmittelverbräuchen, die kristallinen Produkte teilweise zu Problemen aufgrund der damit einhergehenden verminderten Lösungsgeschwindigkeit in der darauffolgenden Reduktion führen können. Bevor der Ringschluss zu den gewünschten 6-Brombenzimidazol-Grundgerüsten vollzogen werden konnte, mussten die korrespondierenden Phenylendiamine über eine Reduktion der Nitrogruppe gewonnen werden, was zunächst mit Zinn-(II)-chlorid in EtOH unter Refluxbedingungen durchgeführt wurde.¹⁶⁴ In späteren Synthesen wurden ausschließlich Zn/NH₄Cl als Reduktionsmittel verwendet, da dies eine einfachere Reaktionsführung mit Methanol als Lösungsmittel bei Raumtemperatur erlaubte und zum Teil zu höheren Ausbeuten (siehe z.B. **64**) führte. Die Aufarbeitung erfolgte durch Verdünnung des Ansatzes mit Ethylacetat (EA) oder Dichlormethan (DCM), wodurch die ungewünschten anorganischen Nebenprodukte ausgefällt und mithilfe einer Kieselgurfiltration entfernt werden konnten.



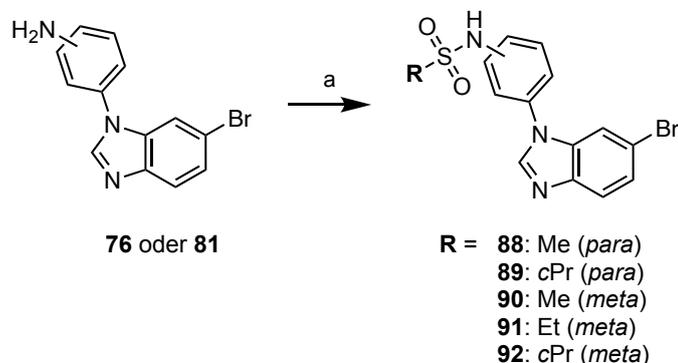
Schema 11: Synthese der ersten Benzimidazol-Grundgerüste und Modifikationen der *S2*-Seitenketten. Reaktionsbedingungen: (a) korrespondierendes Anilin, Et₃N, DMF, 70 °C über Nacht, 50-92 %; (b) Zn/NH₄Cl, MeOH, RT oder SnCl₂·2H₂O in EtOH, 70 °C; (c) Triethylorthoformiat, *p*-TsOH·H₂O, Toluol, 60-80 °C, 74-98 % (über zwei Schritte); (d) ethanolische HCl (1,25 M), RT-60 °C, 74-95 %; (e) KOH, Wasser/MeOH, MW 140 °C, 25 min, 80 %; (f) NaH, MeI in DMF, RT; (g) korrespondierende Säure, EDC·HCl in DCM, RT, 81 %.

Da sich die entsprechenden Phenylendiamine unter Lichteinwirkung schnell verfärben, wurden während der Reaktion zehn Äquivalente an Zinkstaub als physikalischer Lichtschutz verwendet. Außerdem wurden diese Zwischenprodukte direkt und in der Regel ohne weitere Charakterisierung in der nachfolgenden Reaktion eingesetzt. Der Ringschluss zu den korrespondierenden Benzimidazolen wurde primär mithilfe von Triethylorthoformiat und einer katalytischen Menge an *para*-Tosylsäure-Monohydrat bei 60-80 °C in Toluol durchgeführt.¹⁶⁴ Es wurde zudem getestet, ob der Ringschluss direkt mit dem methanolischen Filtrat der vorherigen Reduktionsreaktion durchführbar ist, was jedoch in Rahmen einer Testreaktion fehlschlug. Im späteren Verlauf konnte der Ringschluss jedoch in *i*PrOH realisiert werden (**269**, Schema 34). Die Reaktionen zu den

gewünschten Benzimidazolen zeigten grundsätzlich immer gute bis sehr gute Ausbeuten über zwei Syntheseschritte (Schema 11).

Die Boc-geschützten Aniline **74** (*para*-substituiert) und **79** (*meta*-substituiert) wurden mit ethanolischer HCl in die jeweiligen freien Anilinen überführt, um Modifikationen der NH-Gruppe zu ermöglichen. Dabei erfolgte die Reaktion bei Raumtemperatur oder bei erhöhten Temperaturen bis zu 60 °C. Die entsprechenden Produkte konnten als HCl-Salz mit Ether (1-2 Teile) gefällt und via Filtration gewonnen werden. In gesättigter NaHCO₃-Lösung konnte das Produkt in die freie Base überführt und gleichzeitig präzipitiert werden, sodass diese innerhalb einer zweiten Filtration gewonnen werden konnten.

Neben der Darstellung der Verbindung **76** über die oben beschriebene Boc-Entschützung konnte alternativ auch die Acetylgruppe des Anilides **75** abgespalten werden. Dazu wurde eine methanolische KOH (1M)/Wasser-Mischung genutzt, um die Acetylgruppe innerhalb einer Mikrowellenreaktion bei 140 °C zu entfernen. Ausgehend von den Anilinen **76** und **81** (Schema 11) wurden verschiedene Anilide mit 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid Hydrochlorid (EDC·HCl) und den korrespondierenden Säuren hergestellt (Schema 11, **77**, **78**, **82**, **83** und **84**).



Schema 12: Darstellung der Sulfonamid-Vorstufen: (a) korrespondierendes Sulfonylchlorid in DCM/Et₃N oder DCM/Pyridin, oder in Pyridin, RT, 40-74 %.

Neben den Carbonsäureaniliden wurden eine Reihe an Sulfonsäureaniliden synthetisiert (Schema 12). In den ersten Ansätzen wurde DCM als Lösungsmittel und Et₃N oder Pyridin als Hilfsbase benutzt. Allerdings zeigte sich eine bessere Umsetzung mit höheren Mengen an Pyridin, sodass dieses schlussendlich direkt als Lösungsmittel verwendet wurde. Eine extraktive wässrige Aufarbeitung war für die in Schema 12 aufgeführten, relativ hydrophilen Sulfonamiden unvorteilhaft, da diese zum Teil in der wässrigen Phase persistieren und erst zeitversetzt nadelförmig ausfielen (**91**). Aus diesem Grund wurde bei

späteren Ansätzen lediglich das Pyridin über Destillation entfernt, gefolgt von einer direkten säulenchromatographischen Aufreinigung des Rohprodukts. Diese Problematik bestand nicht bei lipophileren *N*-substituierten Sulfonamiden, welche kein freies NH tragen und im späteren Verlauf der Arbeit synthetisiert wurden (siehe Kapitel 3.3.4.4).

3.3.1.2 Verknüpfung des Benzimidazol-Grundgerüsts mit der S1-Seitenkette

Die Verknüpfung der 6-Brombenzimidazole aus Schema 11 und Schema 12 mit den S1-Seitenketten konnte äquivalent zu den ersten Inhibitoren aus Schema 9 über eine Suzuki-Reaktion realisiert werden. Dabei war ein generelles Ziel, die basischen terminalen Zentren innerhalb der Syntheserouten möglichst am Ende einzuführen (Abbildung 25), um damit einhergehende Probleme bei der säulenchromatographischen Aufreinigung mit Normalphasenkieselgel möglichst zu vermeiden.

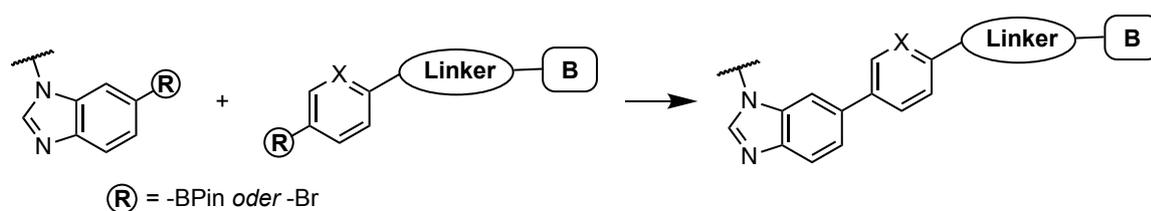


Abbildung 25: Dominierende Synthesestrategie, um die Inhibitoren innerhalb der ersten SAR-Studien zu gewinnen. B = basische Funktion.

Zusätzlich wurden die Vorstufen der basischen Seitenketten in den meisten Fällen als limitierendes Edukt verwendet, da eine unvollständige Umsetzung während der Suzuki-Reaktion und damit verbundene Rückstände in den Rohprodukten oftmals einen zusätzlichen Aufreinigungsschritt mit Umkehrphasenkieselgel verlangen.

Grundsätzlich mussten entweder die 6-Brombenzimidazol-Grundgerüste oder die anzubringende basische S1-Seitenkette in einen Boronsäurepinacolester (BPin-Ester) überführt werden, um die Kreuzkupplung durchführen zu können (Abbildung 26). Um das umständliche Überführen aller Benzimidazole aus Schema 11 und Schema 12 in die entsprechenden BPin-Estern zu umgehen, sollte zunächst der Präkursor der konstant bleibenden Harnstoff-S1-Seitenkette einmalig über eine Miyaura-Borylierung in den BPin-Ester überführt werden (Abbildung 26, Route 2).

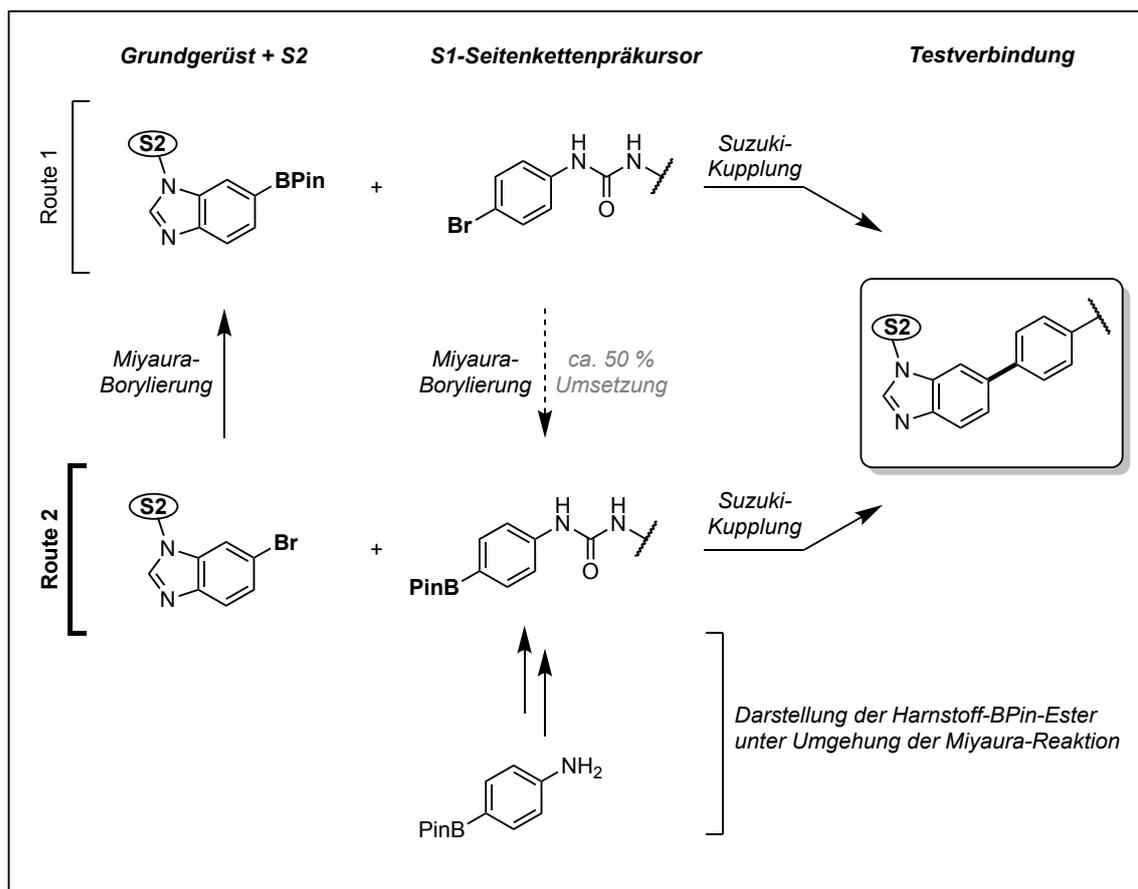
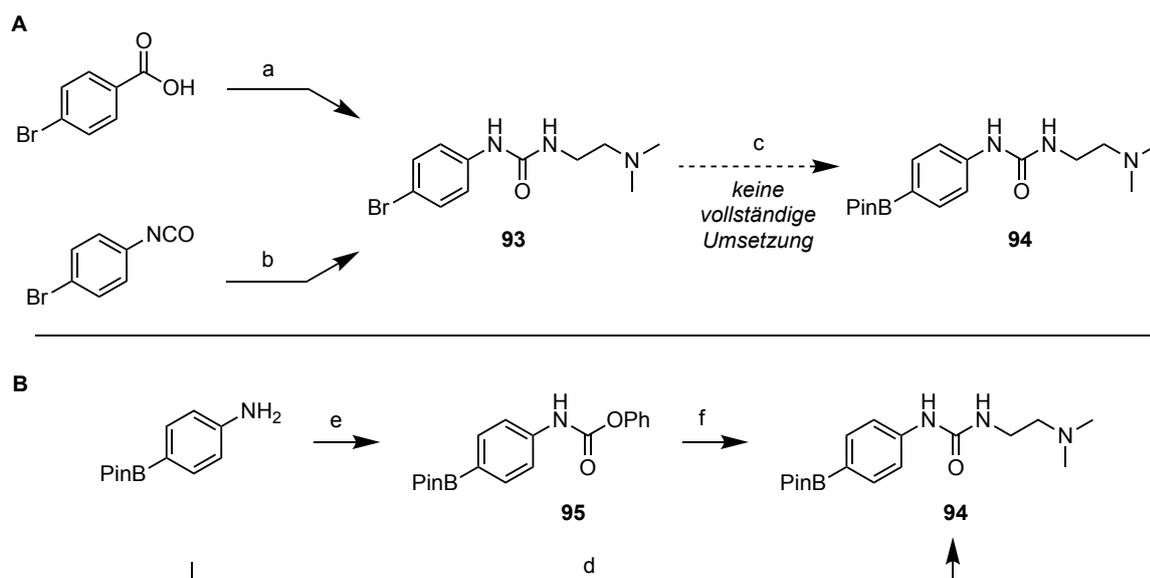


Abbildung 26: Mögliche Synthesestrategien zur Verknüpfung der **S1**-Seitenkette mit dem Benzimidazol-Grundgerüst.

Schema 13A zeigt die anfängliche Synthesestrategie der **S1**-Seitenkettenvorstufen, um die gewünschten BPin-Ester zu erhalten. Zunächst erfolgte die Darstellung des Harnstoffs **93** auf zwei verschiedenen Wegen: In der ersten Variante wurde 4-Brombenzoesäure als Edukt verwendet, das innerhalb einer Curtius-Umlagerung mithilfe von Diphenylazidophosphat (DPPA) unter Hitze *in situ* zum 4-Bromphenylisocyanat überführt werden kann. Dieses reagiert wiederum mit *N,N*-Dimethylethylendiamin zum gewünschten Produkt. Alternativ konnte das kommerziell erhältliche 4-Bromphenylisocyanat verwendet werden, das direkt mit dem entsprechenden Amin bei Raumtemperatur das gewünschte Produkt **93** lieferte. Der einzige Aufarbeitungsschritt bestand in der zweiten Variante darin, das entsprechende Lösungsmittel zu entfernen, um die Produkte mit quantitativen Ausbeuten zu erhalten.¹⁴⁸ Der darauffolgende Versuch, die Verbindung **93** über eine Miyaura-Borylierung in den gewünschten BPin-Ester unter klassischen Bedingungen¹⁵⁰ in Dioxan oder unter leicht modifizierten Ansätzen zu überführen, blieb jedoch erfolglos, da lediglich circa die Hälfte des Arylbromids zum gewünschten Produkt reagierte, bevor die Reaktion zum Erliegen

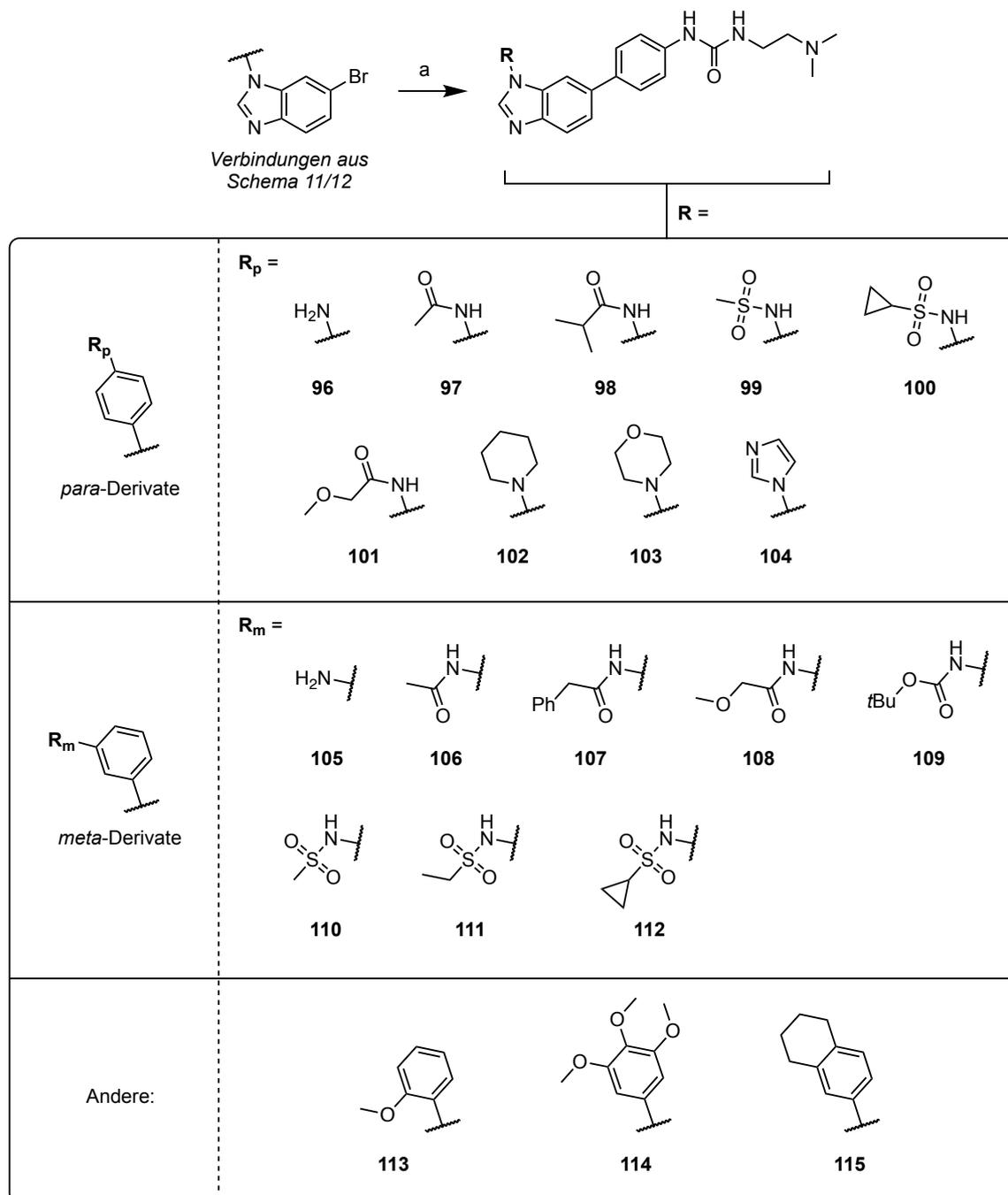
kam (Schema 13A). Als Alternative wurde unter Umgehung der Miyaura-Borylierung die direkte Umsetzung vom kommerziell erhältlichen *p*-Anilinboronsäurepinacolester zum gewünschten Harnstoff-Derivat vorgenommen (Schema 13B). Zu Beginn wurde die Synthese zunächst mit Triphosgen durchgeführt. Zwar konnte dabei eine sehr gute Ausbeute mit > 90 % erzielt werden, dennoch wurde die Reaktion modifiziert, um auf das hochtoxische Triphosgen verzichten zu können. Ein alternatives Reagenz ist das Phenylchlorformiat, welches den Vorteil bietet, dass die entstehende Phenylcarbamatzwischenstufe (**95**) wahlweise isoliert oder direkt zum gewünschten Harnstoff umgesetzt werden kann (Schema 13B). Dabei wurde die Synthese nach der Vorschrift von Kitteringham *et al.* angepasst, um symmetrische Harnstoffnebenprodukte oder die Bildung des korrespondierenden Dicarbamates möglichst zu vermeiden.¹⁵⁵ In der *One-Pot*-Variante (ohne Isolation der Phenylcarbamatzwischenstufe) wurde dabei das Phenylchlorformiat in Tetrahydrofuran (THF) vorgelegt und langsam mit dem Anilin versetzt. Die Zugabe von Et₃N führte zur vollständigen Umsetzung zum Carbamat **95**.



Schema 13: A) (a) 1) DPPA, Et₃N, 80 °C, 2) *N,N*-Dimethylethylendiamin, RT, in Toluol, 83 %; (b) *N,N*-Dimethylethylendiamin, Toluol, > 99 %; (c) B₂Pin₂ (1 eq.), KOAc (3 eq.), PdAc₂/XPhos Pd G3 oder PdCl₂(dppf), Dioxan, (ca. 50 % Umsetzung); B) alternative Syntheseroute. (d) 1) Triphosgen, Et₃N, -5 °C in THF, 2) *N,N*-Dimethylethylendiamin, RT; (e) Phenylchlorformiat, Et₃N in THF, RT, (f) korrespondierendes Amin, Et₃N, Reflux, 32 %.

Mit *N,N*-Dimethylethylendiamin konnte unter Refluxbedingungen die Bildung des gewünschten Harnstoff-Produkts **94** erzielt werden. Grundsätzlich benötigt die Formation der Isocyanat-Zwischenstufe über einen E1cB-Mechanismus¹⁶⁷ eine Hilfsbase. Aufgrund

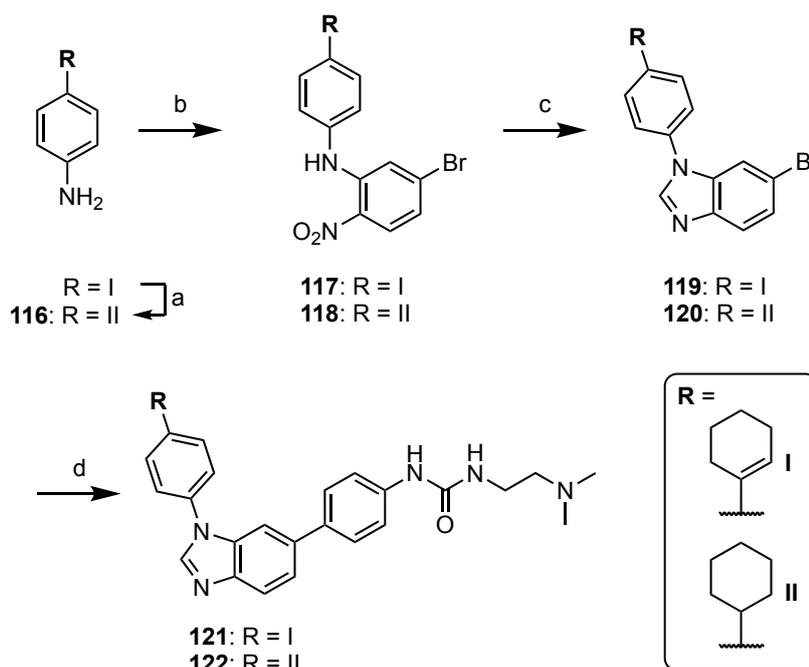
des zweiten basischen Zentrums im *N,N*-Dimethylethylendiamin kann auf die Verwendung eines zweiten Äquivalentes an Triethylamin verzichtet werden.



Schema 14: Darstellung der substituierten *LS-13*-Analoge. a) **94**, $K_3PO_4 \cdot 3H_2O$, *t*Bu₃PPd G3, Dioxan/Wasser 60–80 °C, 35–89 %. Die korrespondierenden 6-Bromimidazole Edukte der Verbindungen **102**, **103**, **104** und **115** standen als Edukte zur Verfügung und mussten nicht synthetisiert werden.

Das innerhalb der Reaktion entstehende Triethylammoniumchlorid konnte einfach über Filtration entfernt werden, allerdings gestaltete sich die Entfernung des Phenols als schwierig. Eine wässrige Extraktion des Phenols bei basischen pH-Werten verschleppte

zum Teil das gewünschte Produkt. Dennoch konnte das Produkt **94** in kontaminierter Form als bräunliches Öl gewonnen werden (mit deutlichem Phenolgeruch), welches unter Lagerung in Ethylacetat nach längerer Zeit zu einer bemerkenswerten Kristallbildung führte. Ausgehend von der Verbindung **94** und den Benzimidazolen aus Schema 11 und Schema 12 wurden über eine Suzuki-Miyaura-Kupplung die potenziellen ATM-Kinase-Inhibitoren in Schema 14 synthetisiert.



Schema 15: Darstellung der Cyclohex-1-en- und Cyclohex-1-enyl-Derivate. Reaktionsbedingungen: (a) NH_4HCOO , Pd/C, EtOH, Reflux, 62 %; (b) 4-Brom-2-fluor-1-nitrobenzen, Et_3N , DMF, 70 °C, 71-86 %; (c) 1) Zn, NH_4Cl , MeOH, RT; 2) Triethylorthoformiat, $p\text{-TsOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$, Toluol, 70-75 °C, 64-68 % (über zwei Schritte); (d) **94**, $\text{K}_3\text{PO}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $t\text{Bu}_3\text{PPd G3}$, Dioxan/Wasser, 60-65 °C, 51-83 %.

Neben den Derivaten in Schema 14 wurden auch Cyclohexyl- und Cyclohex-1-enyl-Reste in *para*-Position der **S2**-Seitenkette installiert (Schema 15). Die Synthese erfolgte dabei ausgehend von 4-(Cyclohex-1-enyl)-anilin und war größtenteils äquivalent zu den bereits beschriebenen Reaktionen in Schema 11 und Schema 14. Innerhalb der Reaktionsfolge zur Darstellung der Verbindung **121** konnten durchgehend kleine und konstante Mengen an Nebenprodukt über HPLC detektiert werden. Infolgedessen wurde die Testverbindung **121** neben der säulenchromatographischen Aufreinigung mit Normalphasenkieselgel zusätzlich mit Umkehrphasenkieselgel purifiziert. Nichtsdestotrotz persistierte die Verunreinigung zum Teil, sodass die Testverbindung **121** lediglich mit ca. 92 % HPLC-Reinheit isoliert werden konnte. Um das entsprechende Cyclohexyl-Derivat **122** darzustellen, wurde die

Doppelbindung des 4-(Cyclohex-1-enyl)-anilin mithilfe von Ammoniumformiat und Pd/C unter Refluxbedingungen in EtOH entfernt. In der korrespondierenden S_NAr konnte die Verbindung **118**, anders als in der ersten Syntheseroute, ohne Verunreinigungen isoliert werden. Dies war auch in den folgenden Reaktionen der Fall, sodass die Testverbindung **122** im Gegensatz zu **121** mit hohen Reinheiten gewonnen werden konnte.

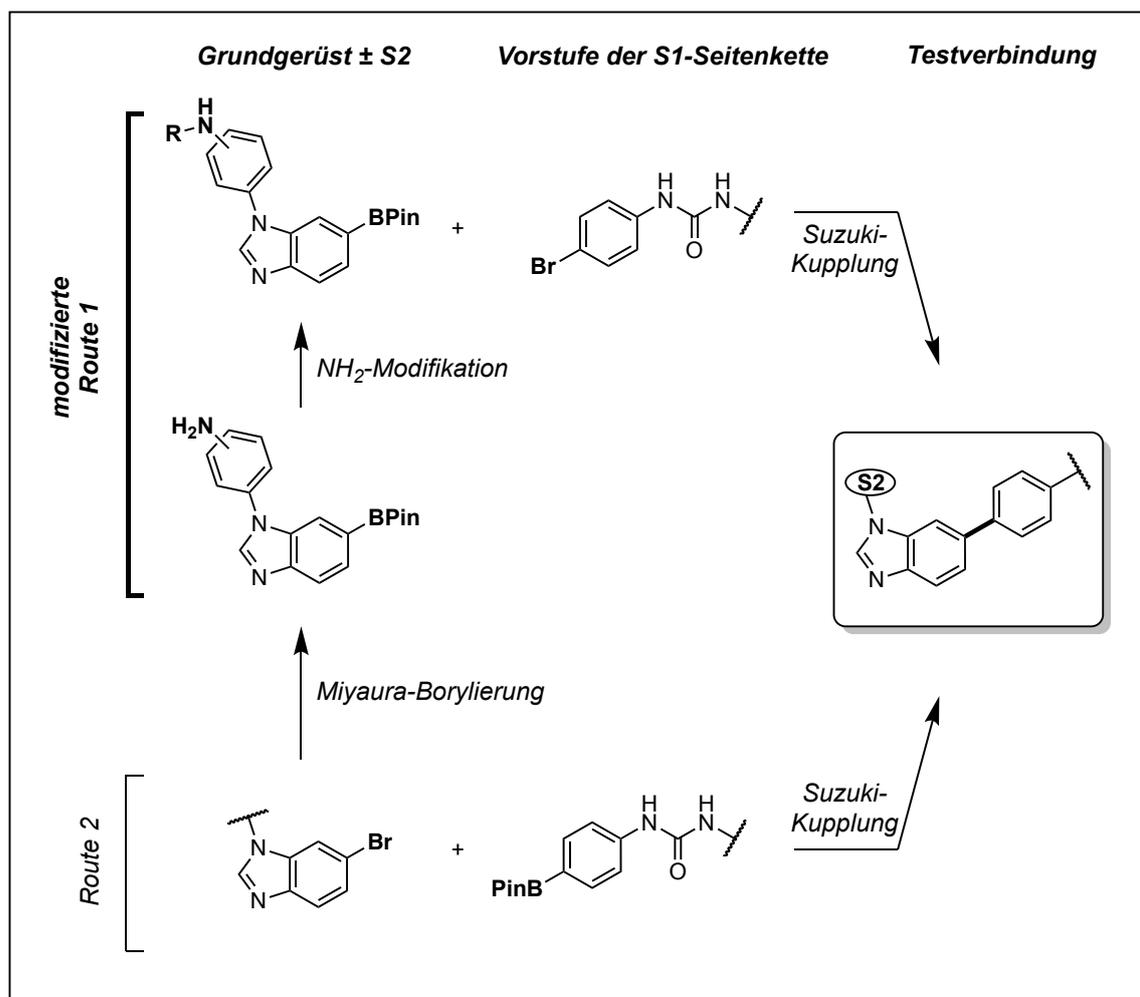
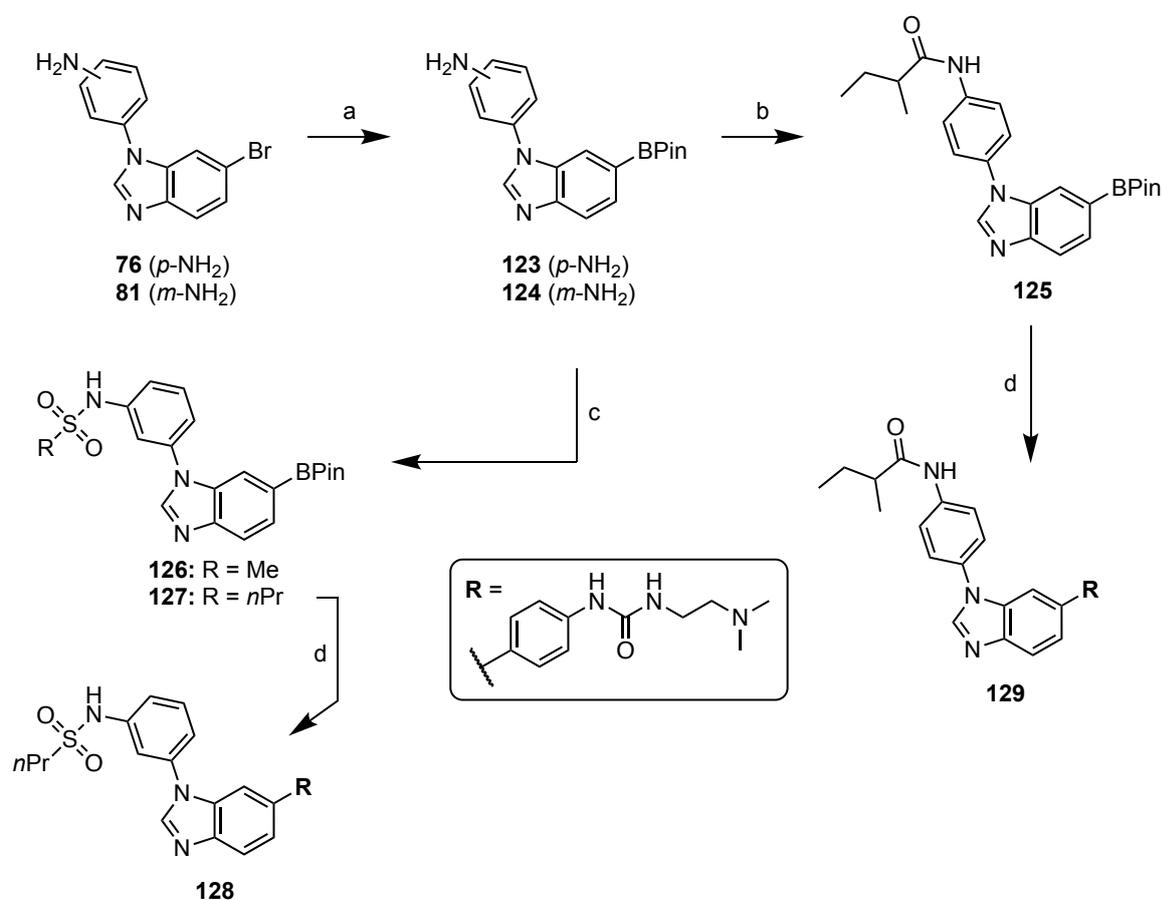


Abbildung 27: Modifizierte Route 1.

Neben der Darstellung zahlreicher Testverbindungen über Route 2 (Abbildung 27, vergleiche Abbildung 26) in Schema 14 und Schema 15 wurden einige Derivate über die invertierte Route 1 hergestellt, bei der die Benzimidazole **76** und **81** in die BPin-Ester transferiert wurden (Schema 16). Über diese Route sollte die Einführung verschiedener S₁-Seitenkette erleichtert werden (siehe Kapitel 3.3.4.1). Ausgehend von den BPin-Estern **123**

und **124** sollten *Late-Stage*-Modifikationen an der anilinischen NH₂-Gruppe möglichst unmittelbar vor der Kreuzkupplung ermöglicht werden.

Die Miyaura-Reaktionen führten insgesamt zu moderaten Ausbeuten zwischen 54-67 %. Dies lag an dem Umstand, dass nach säulenchromatographischer Aufreinigung der BPin-Ester zum Teil moderate Mengen an Nebenprodukt über HPLC detektierbar waren, sodass zusätzlich jeweils eine Kristallisation der öligen Produkte in ACN bei -18 °C durchgeführt wurde. Ausgehend von **123** und **124** konnten sowohl Anilide als auch Sulfonsäureanilide hergestellt werden (Schema 16).



Schema 16: Darstellung und Derivatisierung der Pinacolester aus den Anilinen **76** und **81**: (a) B₂Pin₂, KOAc, Pd(dppf)Cl₂, Dioxan, 70-100 °C, 54-67 %; (b) 2-Methyl-buttersäure, EDC-HCl in DCM, RT, 46 %; (c) korrespondierendes Sulfonylchlorid, Pyridin, RT, 87 %. (d) **93**, K₃PO₄·3H₂O, tBu₃P Pd G3, Dioxan/Wasser, 60 °C, 58-66 %.

Mit den Zwischenverbindungen **126** und **127** wurden jeweils innerhalb einer Suzuki-Reaktion die beiden Testverbindungen **129** und **128** synthetisiert. Die Substanz **126** war Ausgangspunkt zahlreicher Inhibitoren mit modifizierten S1-Resten (siehe Kapitel 3.3.4.1).

Neben den bereits aufgeführten ATM-Inhibitoren in Schema 14 bis Schema 16 wurden eine Reihe weiterer Benzimidazol-basierter Testverbindungen in der projektzugehörigen Arbeit von Dr. Michael Forster und innerhalb der Masterarbeit von Lennart Seidel synthetisiert. Dabei rückten zwei Inhibitorklassen aufgrund hoher Aktivitäten auf der isolierten ATM-Kinase in den Vordergrund. Die erste Gruppe stellt die Sulfonamid-basierten Inhibitoren ausgehend von **110** dar und die zweite Gruppe leitet sich vom Biphenyl-basierten Inhibitor **LS-48** (Abbildung 28) ab.

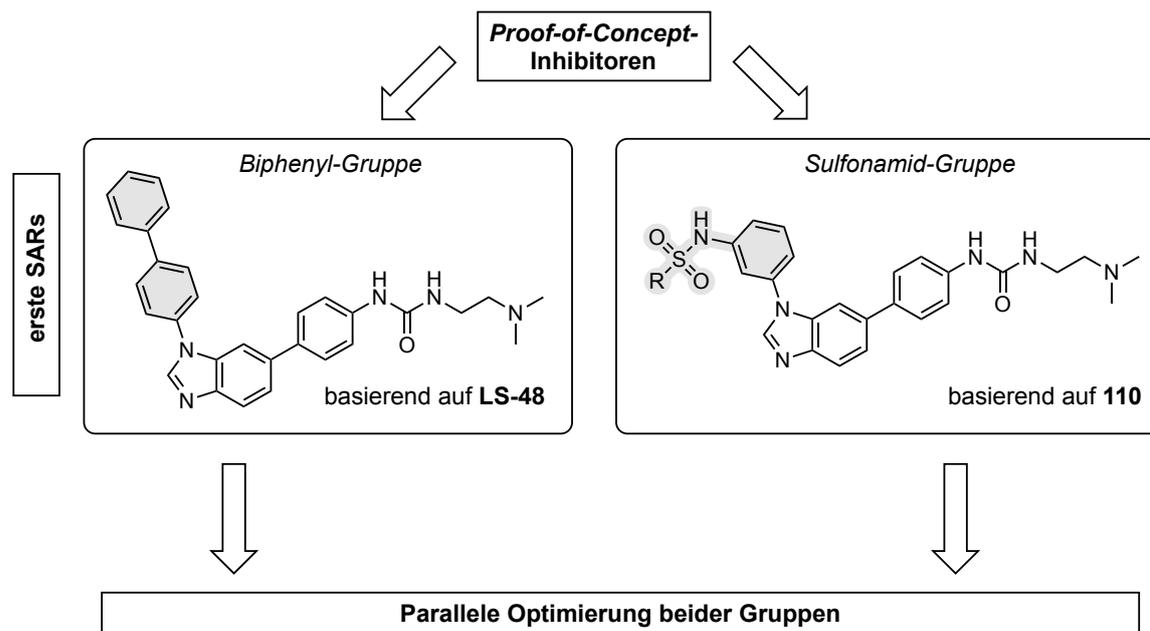


Abbildung 28: Mit den ersten SARs kristallisierten sich zwei Inhibitorgruppen heraus, die erfolgsversprechende Ergebnisse lieferten. Die eine Gruppe leitet sich von dem Inhibitor **110** und dessen Derivate ab, welche eine Sulfonamid-basierte **S2**-Seitenkette tragen (grau markiert, rechts). Die zweite Gruppe basiert auf dem Inhibitor **LS-48**, der innerhalb der projektzugehörigen Masterarbeit von Lennart Seidel unter meiner Mitbetreuung synthetisiert wurde und einen Biphenyl-Rest als **S2**-Seitenkette trägt (links).¹⁶⁵

3.3.2 Synthese der Hybridverbindung 144

Nach der Identifikation der Verbindung **110** und des Biphenyl-Derivats **LS-48** stellte sich die Frage, ob eine Kombination der Funktionalitäten beider **S2**-Seitenketten zu synergistischen Effekten führen würde, sodass ein Hybridinhibitor hergestellt werden sollte (Abbildung 29). Als Startmaterial für die Synthese des Hybridinhibitors wurde das 2-Brom-5-nitroanilin gewählt (Schema 17). Um die Syntheseroute möglichst kurz zu halten, wurde zunächst versucht, die Mesylgruppe direkt zu Beginn einzuführen. Die Reaktion wurde dabei mit MsCl in Pyridin umgesetzt und resultierte in einer mäßigen

Ausbeute von 43 %. Entgegen den Erwartungen führte der Versuch der Resynthese von **130** mit einer anderen Charge an MsCl zu einem Produktgemisch aus Edukt, gewünschtem Produkt und zweifach mesyliertem Nebenprodukt, sodass ein Überschuss an MsCl verwendet wurde, um ausschließlich das doppelt mesylierte Produkt zu erhalten (**131**, Schema 17).

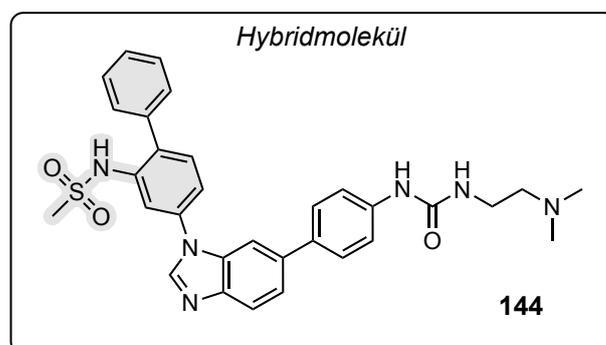
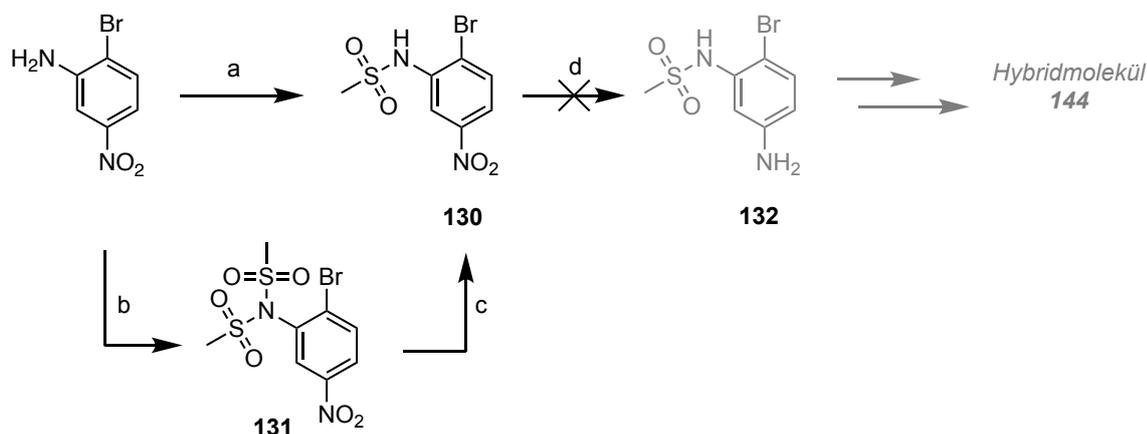


Abbildung 29: Hybridinhibitor **144**, welcher sowohl das Biphenyl- als auch das Sulfonamid-Motiv aus **LS-48** und **110** tragen sollte.

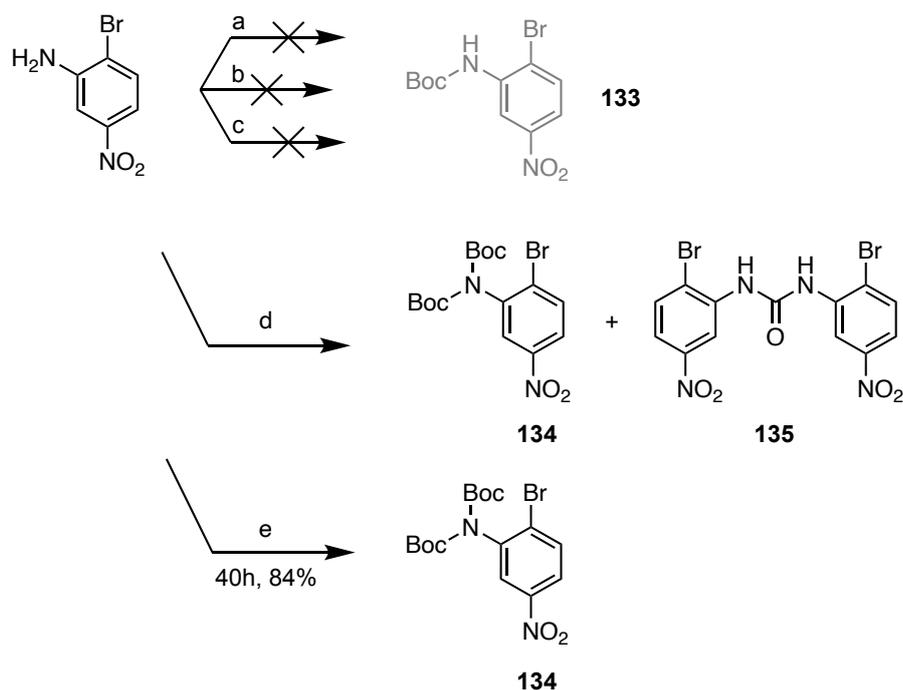
Dieses konnte in einer Mischung aus wässriger NaOH (2 N) und MeOH selektiv zum ursprünglich gewünschten Produkt **130** überführt werden. Die darauffolgende Reduktion der aromatischen Nitrogruppe mit Zn/NH₄Cl führte allerdings zu zahlreichen Nebenprodukten, sodass es zu einem vollständigen Verlust des Ansatzes kam.



Schema 17: Fehlgeschlagene erste Syntheseroute: (a) 1,1 eq. MsCl, Pyridin; (b) 2,15 eq. MsCl, Pyridin, 3 d; (c) NaOH (2N) in MeOH (3+1); (d) Zn, NH₄Cl in MeOH.

Aufgrund dessen sollte als Alternative das 2-Brom-5-nitroanilin zunächst mithilfe einer Boc-Gruppe geschützt werden, um die Sulfonamidgruppe im späteren Verlauf der Synthese einführen zu können (Schema 18). Die Schutzgruppe sollte nach der Reduktion der Nitrogruppe zum Anilin eine möglichst regioselektive S_NAr in *para*-Position zum Brom

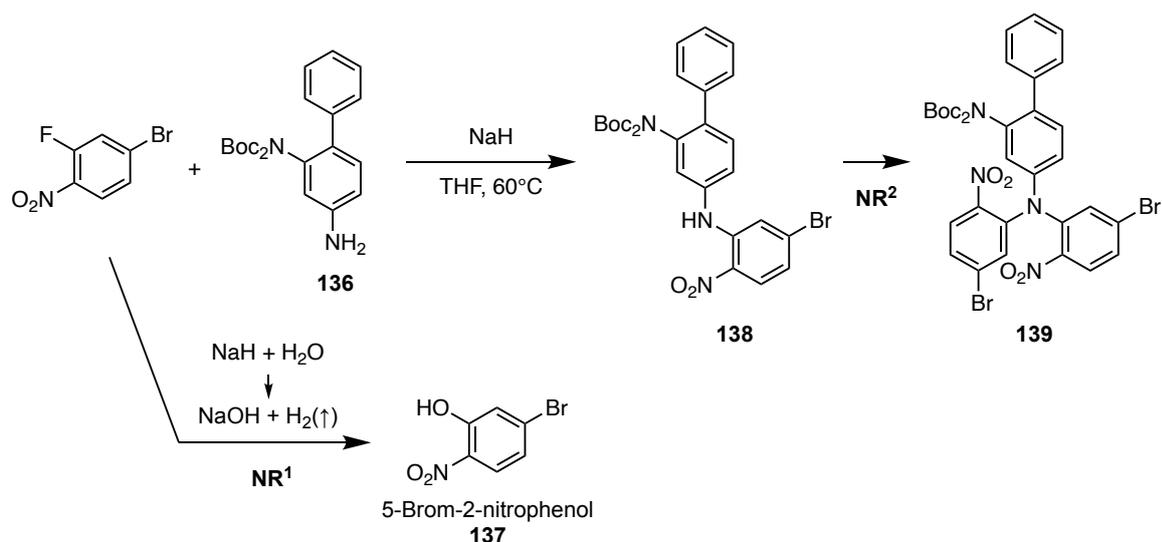
ermöglichen. Allerdings führten erste Versuche mit Di-*tert*-butyldicarbonat (Boc_2O) zunächst bei Raumtemperatur in DCM oder bei $75\text{ }^\circ\text{C}$ in *t*BuOH zu keiner detektierbaren Umsetzung (Schema 18), sodass eine DMAP-katalysierte Reaktion getestet wurde. In Dioxan als Lösungsmittel konnte für die entsprechende Reaktion bei Raumtemperatur lediglich eine sehr langsame Umsetzung beobachtet werden, weshalb zunächst die Temperatur auf $65\text{ }^\circ\text{C}$ erhöht wurde. Dies resultierte jedoch in einem Gemisch aus Edukt, dem korrespondierenden Bis-Boc-Produkt und 1,3-Bis(2-Brom-5-nitrophenyl)harnstoff als Nebenreaktion¹⁶⁸.



Schema 18: Einführung der Boc-Schutzgruppe: (a) Boc_2O (1,05 eq), DCM, RT, 4 d; (b) Boc_2O (1,0 eq), *t*BuOH, $75\text{ }^\circ\text{C}$; (c) Boc_2O (1,0 eq), DMAP, Dioxan, RT; (d) wie (c) nur bei $65\text{ }^\circ\text{C}$; (e) Boc_2O (2-3 eq), RT. Das initial angestrebte Produkt (grau) konnte nicht nachgewiesen werden (DC-MS), es bildete sich jedoch bei $65\text{ }^\circ\text{C}$ sowohl das Harnstoff-Nebenprodukt als auch das Bis-Boc-Derivat. Bei Raumtemperatur gelingt es jedoch das Bis-Boc-Derivat (mit einem Überschuss an Boc_2O) selektiv mit guter Ausbeute herzustellen (84-88 %). Allerdings verläuft die Reaktion langsam und dauert i.d.R. länger als 30 h.

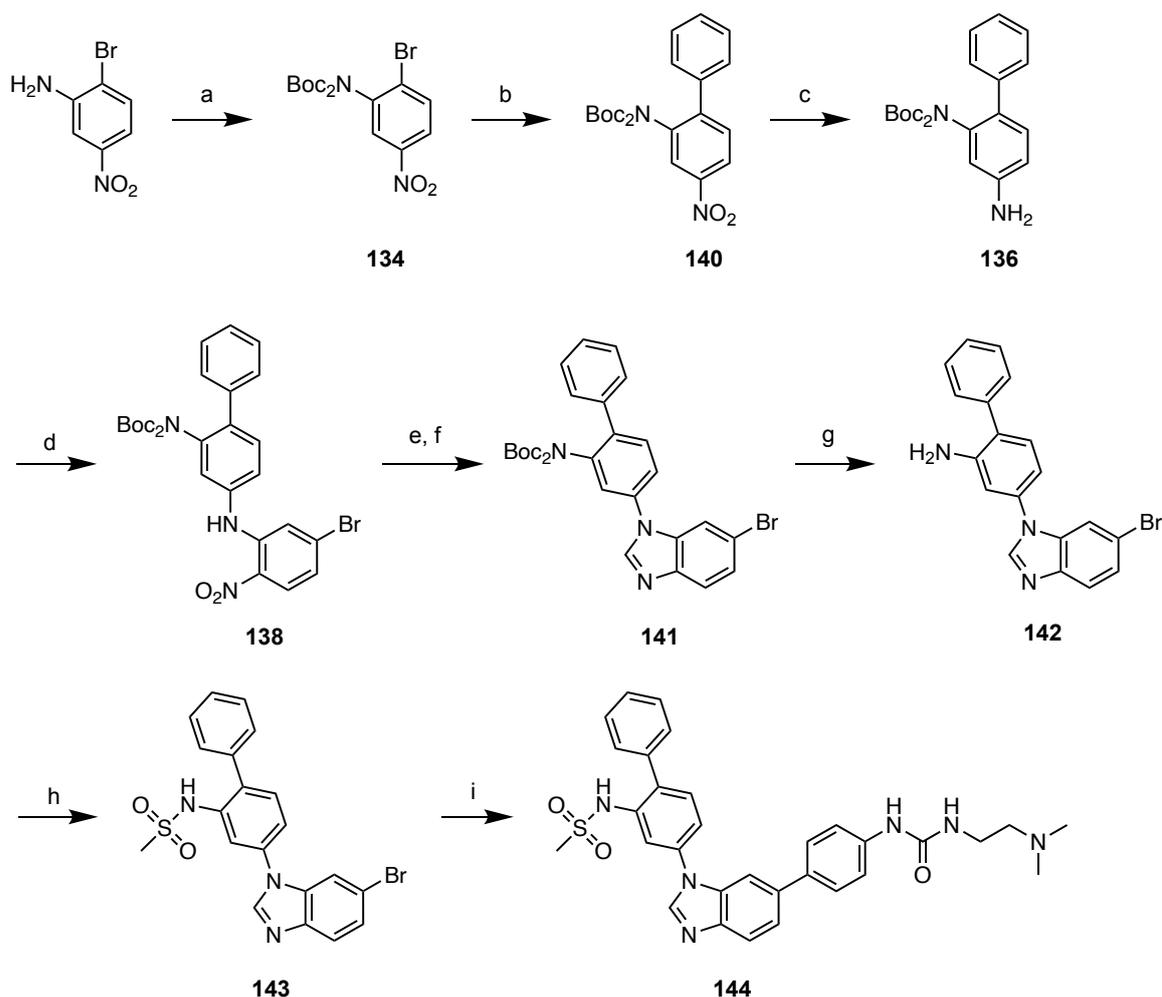
Um die Bildung des Harnstoff-Nebenprodukts zu vermeiden, wurde die Reaktion trotz der langsamen Umsetzung bei Raumtemperatur durchgeführt. Eine zusätzliche Modifikation, um keine Produktgemische, sondern ausschließlich das Bis-Boc-Derivat **134** zu erhalten, war der Einsatz von mindestens zwei Äquivalenten an Boc_2O . Auf die selektive Abspaltung einer Boc-Gruppe (z.B. mithilfe von LiBr)¹⁶⁹ wurde verzichtet, da die nachfolgenden Reaktionen ohne Probleme mit **134** realisiert werden konnten. Ausgehend von der Verbindung **134** konnte, trotz der sterisch anspruchsvollen Boc-Schutzgruppen in *ortho*-position zum Bromsubstituenten, das Biphenyl-Motiv erfolgreich innerhalb einer Suzuki-

Reaktion synthetisiert werden. Auch die Reduktion der aromatischen Nitrogruppe bereitete innerhalb dieser Syntheseroute, im Gegensatz zu **130**, keine Probleme und lieferte mit 86 % eine zufriedenstellende Ausbeute (Schema 20). Aufgrund der geringen Nucleophilie des Anilins **136** musste die S_NAr angepasst werden, da die Reaktionsgeschwindigkeit unter den Bedingungen aus Schema 11 sehr langsam war. Daher wurde das Anilin zunächst mithilfe von NaH in THF deprotoniert und die Reaktion wurde nach Zugabe von 4-Brom-2-fluornitrobenzen unter Refluxbedingungen und Inertgas vollzogen. Retrospektiv stellte sich heraus, dass die verwendete Charge an Natriumhydrid zum Teil wahrscheinlich degradiert war, weswegen deutlich mehr als ein Äquivalent verwendet werden musste, um eine vollständige Umsetzung der Verbindung **140** zu erzwingen. Es konnten zudem zwei Nebenprodukte in der DC-MS identifiziert werden. Das erste Nebenprodukt zeigte die Masse des 5-Brom-2-nitrophenols, welches durch die Reaktion mit NaOH (Kontamination des NaH) erklärt werden kann (Schema 19, **137**). Zudem konnte die Masse, die dem doppelt substituierten Anilin entspricht, gefunden werden (**139**). Mit der Verbindung **138** wurden die folgenden Schritte äquivalent, wie zuvor beschrieben, durchgeführt (siehe Schema 11 und Schema 12). Dabei wurden insgesamt, mit Ausnahme der S_NAr (**138**), zufriedenstellende Ausbeuten erzielt (Schema 20). Zwar konnte der Hybrid-inhibitor in Bezug auf die inhibitorische Aktivität vielversprechende Ergebnisse liefern, jedoch verlor dieser Inhibitor im Vergleich zu **LS-48** deutlich an Selektivität, weshalb die hybride Verbindungsklasse nicht weiterverfolgt wurde (siehe Kapitel 5.3).



Schema 19: Angestrebte S_NAr zur Darstellung der Zwischenverbindung **138** und die beiden Nebenreaktion (NR). Das Produkt konnte jedoch mit 57 % Ausbeute in ausreichender Menge gewonnen werden. Die beiden Nebenprodukte wurden in verschiedenen Fraktionen innerhalb der säulenchromatographischen

Aufreinigung isoliert und mithilfe der DC-MS analysiert: $m/z = 215,9 [M-H]^-$ für das Phenol **137** und $681,0 [M-Boc]^-$ für das zweite Nebenprodukt **139** (mit entsprechendem Bromisotommuster).



Schema 20: Zusammenfassung der erfolgreichen Synthese des Hybridinhibitors **144**: (a) Boc_2O (2 eq.), DMAP, Dioxan, RT, 84 %; (b) Phenylboronsäure, $tBu_3P Pd G3$, $K_3PO_4 \cdot 3H_2O$, Wasser/Dioxan, 70 °C, 94 %; (c) Zn/NH_4Cl , MeOH, RT, 86 %; (d) 4-Brom-2-fluor-1-nitrobenzen, NaH, THF, Reflux, 57 %; (e) Zn/NH_4Cl , MeOH, RT; (f) Triethylorthoformiat, $p-TsOH \cdot H_2O$, Toulol, 65-75 °C, 76 % (über zwei Schritte); (g) ethanolische HCl, 50-60 °C, 82 %; (h) MsCl, Pyridin, RT, 75 %; (i) **94**, $tBu_3P Pd G3$, $K_3PO_4 \cdot 3H_2O$, Wasser/Dioxan, 75 °C, 70 %.

3.3.3 Synthese und Modifikationen der Biphenyl-basierten Inhibitoren

Die Verbindung **LS-48**, die innerhalb der projektbezogenen Masterarbeit von Lennart Seidel synthetisiert wurde, konnte neben einer hohen Aktivität auf der isolierten ATM-Kinase auch eine außerordentlich gute Selektivität gegenüber verwandten PIKK-Kinasen zeigen. Da dieser Inhibitor nur eine moderate zelluläre Aktivität aufwies, sollte die Substanzklasse innerhalb dieser Arbeit primär diesbezüglich optimiert werden (Abbildung 30).

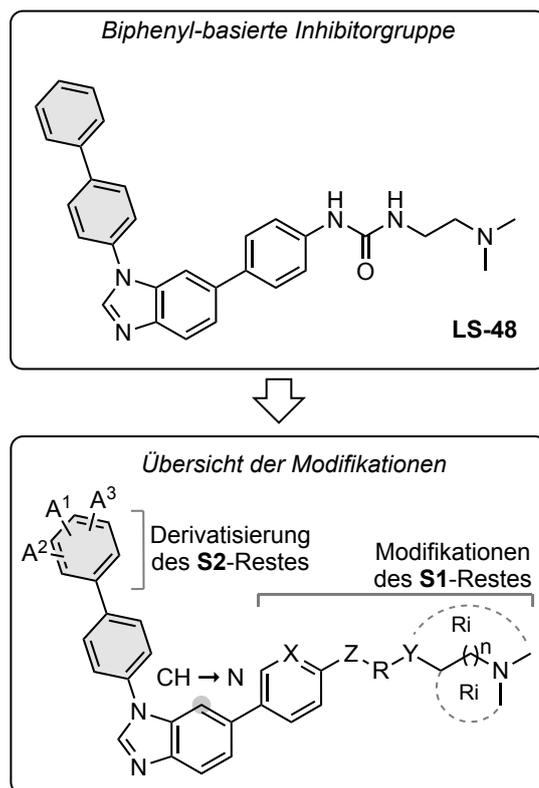
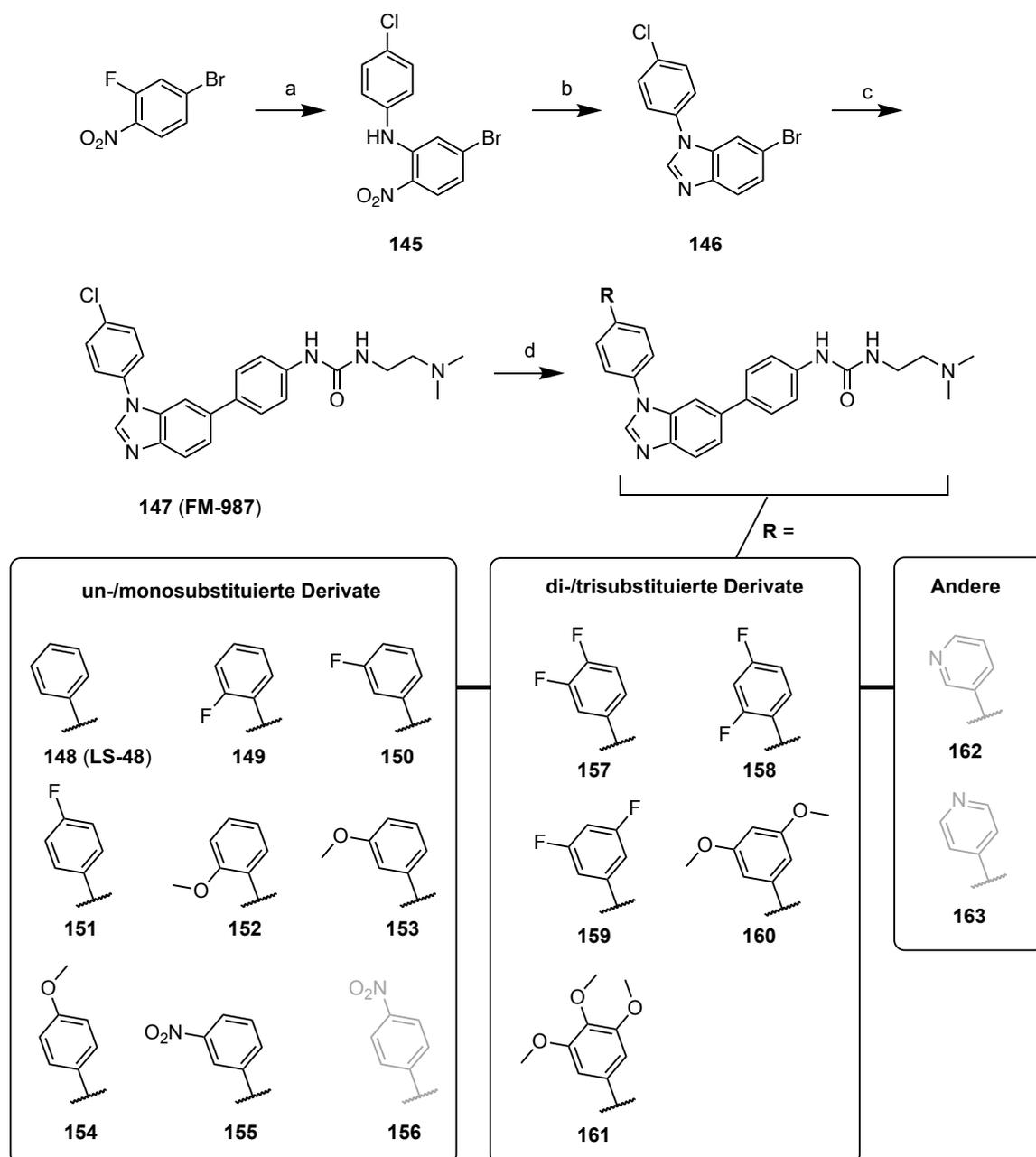


Abbildung 30: Übersicht der Modifikationen am **S2**- bzw. **S1**-Rest und am Hinge-Bindungsmotiv ausgehend von der Leitstruktur **LS-48**. $A^1, A^2, A^3 = -H, -F, -OMe, -NO_2$; $X = CH, N$; $Z = O, NH$; $R = CH, C=O$; $Y = CH, NH, NR$; $n = 0-1$; $Ri = Cyclisierung$. Die Verbindung **LS-48** wurde in der projektzugehörigen Arbeit von Lennard Seidel synthetisiert.¹⁶⁵

3.3.3.1 Substitutionen am terminalen Ring des **S2**-Restes

In der ursprünglichen Darstellung der Verbindung **LS-48** innerhalb der Masterarbeit von Lennart Seidel erfolgte der entscheidende Derivatisierungsschritt der **S2**-Seitenkette (Biphenyl-Rest) zu Beginn der Syntheseroute unter der Verwendung von 4-Aminobiphenyls als Zwischenprodukt. Um effektive SAR-Studien des Biphenyl-Motivs zu ermöglichen, musste die Synthese so umgestellt werden, dass die Derivatisierung möglichst im letzten Schritt durchgeführt werden konnte. Dabei ist der ATM-Inhibitor **FM-987** (initial synthetisiert von Dr. M. Forster) in den Fokus gerückt, da dieser als Arylhalogenid potenziell für eine *Late-Stage*-Modifikation der **S2**-Seitenkette innerhalb einer Kreuzkupplung in Frage kommt (siehe Schema 21). Die Synthese des Inhibitors **FM-987** wurde innerhalb dieser Arbeit modifiziert und optimiert, sodass ausgehend vom 4-Brom-2-fluor-1-nitrobenzen bis zur Darstellung der Verbindung **147** keine säulenchromatographische Aufreinigung mehr benötigt wurde (Schema 21).



Schema 21: Darstellung der Verbindung **FM-987**. Diese wurde zuerst von Dr. Michael Forster innerhalb des Projektes isoliert und charakterisiert. Innerhalb dieser Arbeit wurde die Syntheseroute optimiert, sodass keine säulenchromatographische Aufreinigung der einzelnen Stufen mehr nötig war. Ausgehend von der Verbindung **147** konnten zahlreiche Biphenyl-Analoga dargestellt werden. Bedingungen: (a) *p*-Chloranilin, Et_3N , DMSO, 60 °C, 60 %; (b) 1) Zn, NH_4Cl , MeOH, RT, 2) $\text{EtO}_3(\text{CH})$, *p*-TsOH· H_2O , Toluol, 60-80 °C, 90 % (über 2 Schritte); (c) **94**, $\text{K}_3\text{PO}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}$, *t*Bu₃P Pd G3, Dioxan/Wasser (4+1), 75 °C, 73 %; (d) *t*Bu₃P Pd G3 oder XPhos Pd G4, K_2CO_3 oder $\text{K}_3\text{PO}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}$, korrespondierende Boronsäure, Wasser/Dioxan, 70-80 °C, 43-84 %.

Für die initiale $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ innerhalb der Syntheseroute wurde, entsprechend der nicht-publizierten Vorschrift von Dr. M. Forster, DMSO als Lösungsmittel verwendet. Entgegen der ursprünglichen Synthesevorschrift wurde das Rohprodukt aufgrund der Ansatzgröße innerhalb dieser Arbeit (> 28 mmol) nicht säulenchromatographisch aufgereinigt. Als

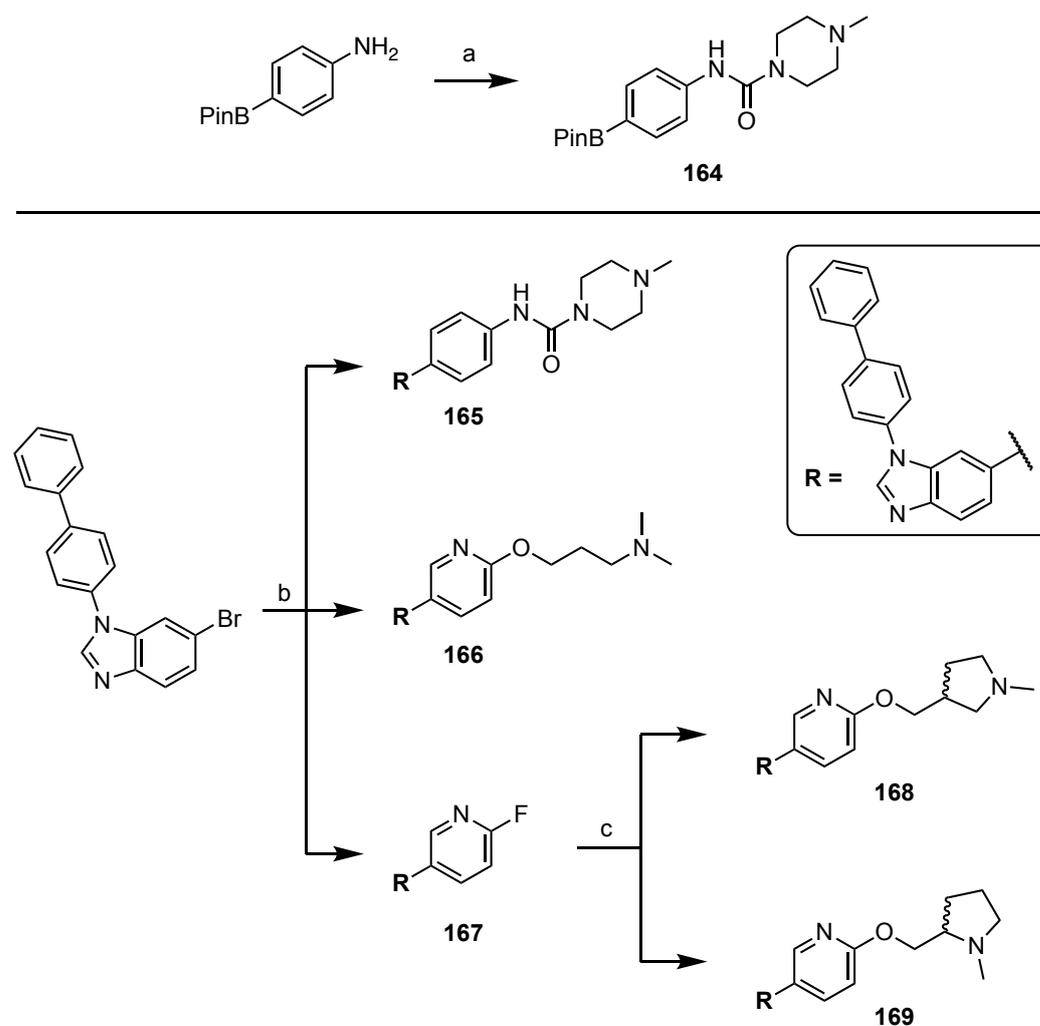
alternative Aufreinigungsmethode konnte gewonnenes Rohprodukt durch das Suspendieren in heißem MeOH und anschließender Filtration bei Raumtemperatur purifiziert und mit einer moderaten Ausbeute von 60 % gewonnen werden. Für das daraus korrespondierende Benzimidazol **146** wurden die zuvor beschriebenen Reaktionsbedingungen aus Schema 11 angewendet. Das schwarzbraune Rohprodukt ließ sich in kleinen Mengen kaltem MeOH (< 10 °C) suspendieren und über eine Filtration mit hoher Ausbeute (90 % über zwei Schritte) und hoher Reinheit (> 99 %) als nahezu farbloses Pulver gewinnen.

Die anschließende Einführung der **S1**-Seitenkette wurde, wie bei den zuvor besprochenen Derivaten (vgl. z.B. Schema 14), über eine Suzuki-Reaktion eingeführt und führte zum gewünschten Arylhalogenid **147**. Auch dieses konnte erfolgreich ohne Säulenchromatographie mit hoher Reinheit über eine Kristallisation in kaltem ACN (-18 °C) und anschließender Filtration purifiziert werden. Eine Besonderheit dieser Syntheseroute stellen die zwei aufeinanderfolgenden Suzuki-Reaktionen dar. Die Regioselektivität ist aufgrund der unterschiedlichen Halogensubstituenten des Dihalogenids **146** und zusätzlich über die Anpassung der Stoffmengenverhältnisse während der ersten Kreuzkupplung gegeben. Ausgehend von **147** konnte durch diese Synthesestrategie ein Portfolio an verschiedenen mono-, di- und trisubstituierten Biphenyl-Derivaten dargestellt werden (Schema 21). Verglichen mit der vorangegangenen Suzuki-Kupplung wurden bei der Darstellung der Biphenyl-basierten Testverbindungen höhere Temperaturen und reaktivere Boronsäuren anstatt BPin-Ester als Edukte verwendet. Zudem wurden grundsätzlich zwei Äquivalente an Boronsäure eingesetzt, um eine vollständige Umsetzung des Eduktes (**147**) zu gewährleisten. Trotz dieser Anpassungen konnten das *p*-Nitro-Derivat **156** und die beiden Pyridin-Derivate **162** und **163** nur als Produkt/Edukt-Gemische isoliert werden, sodass die Ansätze verworfen werden mussten.

3.3.3.2 Einführung verschiedener **S1**-Seitenketten

Neben den zahlreichen Modifikationen des Biphenyl-Motives (**S2**-Rest) wurden auch verschiedene Änderungen an der **S1**-Seitenkette durchgeführt. Eine Strategie war der Versuch, den Dimethylaminoethyl-Rest der **S1**-Seitenkette zu einem *N*-Methylpiperazin in der Verbindung **165** zu rigidisieren, um mit der einhergehenden Fixierung des basischen Zentrums und der Entfernung eines H-Brücken-Donors die Auswirkungen auf die enzymatische und zelluläre Hemmaktivität prüfen zu können (Schema 22). Im

Allgemein ist davon auszugehen, dass die Reduktion der frei drehbaren Bindungen die Membranpermeabilität erhöhen kann.¹⁷⁰ Eine Rigidisierung des terminalen Restes in eine für die Bindung ungünstige Konformation oder eine Rigidisierung, die mit einer unvorteilhaften Sterik einhergeht, kann andererseits zu Aktivitätseinbußen führen, was für die Verbindung **165** beobachtet wurde. Aufgrund dessen wurden im weiteren Verlauf zahlreiche alternative Cyclisierungsstrategien geprüft.



Schema 22: Modifikationen der basischen Seitenkette. (a) 1) Phenylchlorformiat, Et_3N in THF, RT, 2) *N*-Methylpiperazin, Et_3N , Reflux, 43 %. (b) $t\text{Bu}_3\text{P Pd G3}$, $\text{K}_3\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, (6-Fluorpyridin-3-yl)boronsäure oder **164** oder **60**, Wasser/Dioxan (4+1), 60 °C, 91-97 %.

Aufgrund der nicht zielführenden Strategie in **165** wurde alternativ dazu die Pyridinyloxy-Seitenkette, welche zuvor in den *Proof-of-Concept*-Inhibitoren **59** und **58** vorhanden war, erprobt. Mit diesem Rest sollte überprüft werden, ob die geringe zelluläre Aktivität auf die Harnstoff-Funktionalität zurückzuführen ist. Zusätzlich sollten zwei weitere Rigidisierungsversuche ausgehend vom Inhibitor **166** die Konformationsmöglichkeiten der

im Vergleich zu den Harnstoffanaloga flexibleren Pyridinylother-Seitenkette begrenzen. Dazu wurden in **168** und **169** terminale Pyrrolidin-Seitenketten eingeführt. Während in der Verbindung **168** ein äquivalenter C_3 -Spacer, (wie in **166** zwischen Amin- und Etherfunktion) vorhanden ist, ist die Kohlenstoffkette im Konstitutionsisomer **169** um eine Einheit verkürzt.

3.3.3.3 Evaluierung des 3*H*-Imidazo[4,5-*b*]pyridin-*Hinge*-Bindungsmotives

Neben dem Benzimidazol-*Hinge*-Bindungsmotiv sollte auch das Imidazo[4,5-*b*]pyridin-Grundgerüst (= 7-Azabenzimidazol), welches einen zusätzlichen Stickstoff trägt, im Sinne eines *Scaffold-Hoppings*-Ansatzes erprobt werden (Abbildung 31).

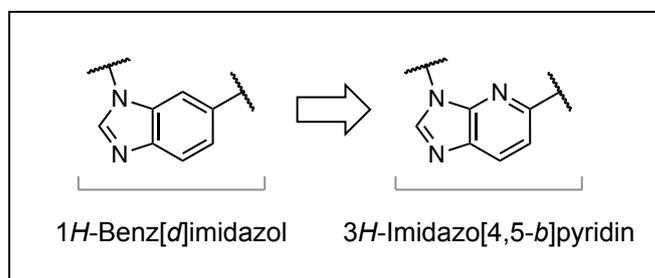
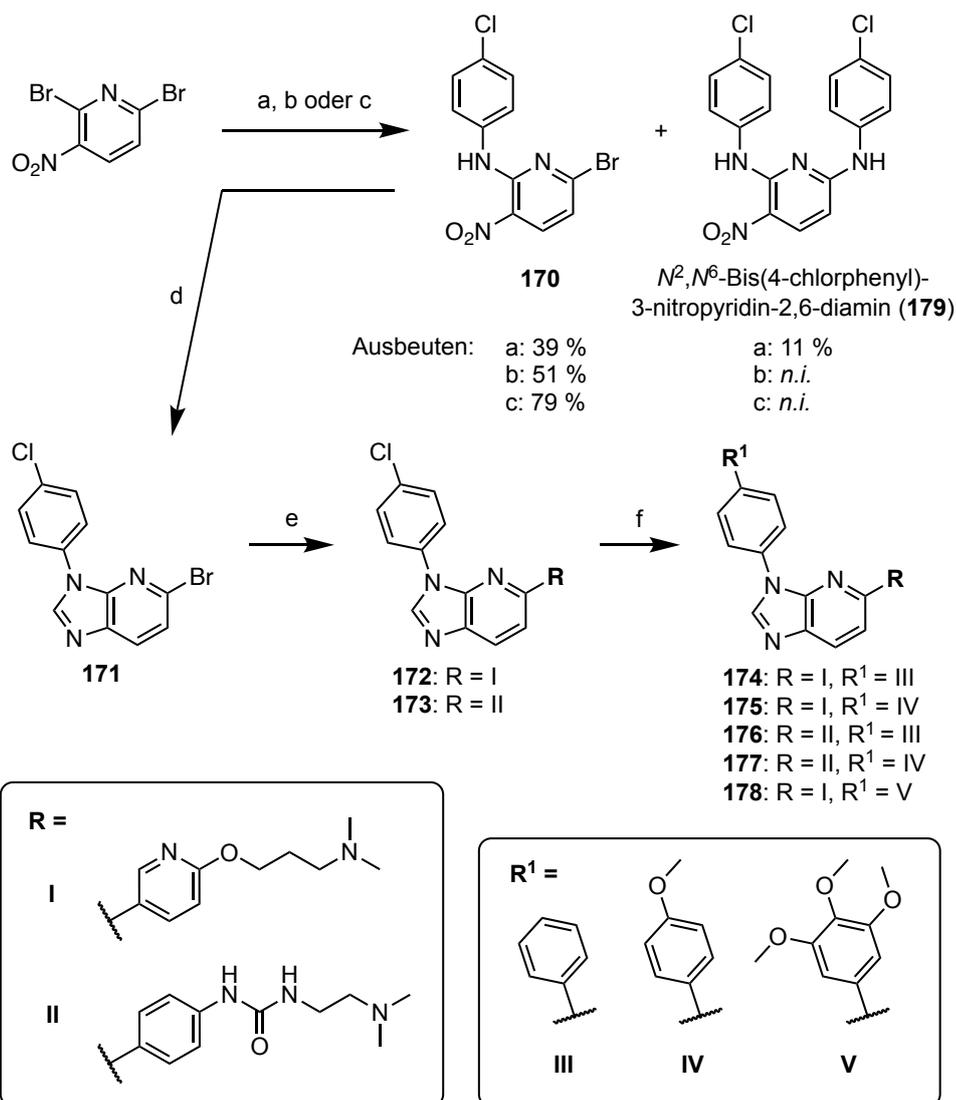


Abbildung 31: Einführung eines zusätzlichen Stickstoffatoms in das *Hinge*-Bindungsmotiv.

Um diese korrespondierenden Inhibitoren zu synthetisieren, wurde 2,6-Dibrom-3-nitropyridin als Startmaterial für die Synthese gewählt, das sich in der Reaktivität deutlich von dem zuvor verwendeten 4-Brom-2-fluor-1-nitrobenzen unterscheidet. Zudem trägt dieses Edukt zwei gleichwertige Halogene in *ortho*-Position zum Pyridinstickstoff, wodurch zunächst unklar war, ob eine selektive Einführung der gewünschten Reste möglich ist. Innerhalb von zwei Testreaktion (ca. 1 μ mol) in DMSO und DMF bei Raumtemperatur konnten weniger Nebenprodukte im Falle von DMSO über DC-Analytik detektiert werden, sodass ein äquivalenter Ansatz mit 4,3 mmol angesetzt wurde (Schema 23). Dabei konnte jedoch verhältnismäßig viel disubstituiertes Nebenprodukt isoliert und über Kernspinresonanzspektroskopie (NMR) nachgewiesen werden, sodass die Reaktionsbedingungen angepasst werden mussten. Mit Anlehnung an die Vorschrift aus dem Patent WO2006024666 wurde auf Alkohole als Lösungsmittel zurückgegriffen.¹⁷¹



Schema 23: Synthese der 3H-Imidazo[4,5-b]pyridin-basierten Inhibitoren. Reaktionsbedingungen: *p*-Chloranilin, Et₃N bei RT in (a) DMSO; (b) MeOH, 1.5 d; (c) MeOH, 4 d; (d) Zn/NH₄Cl, MeOH, RT, 2) EtO₃(CH), *p*-TsOH·H₂O, Toluol, 60-80 °C, 83-96 % (über 2 Schritte); (e) *t*Bu₃P Pd G3 oder XPhos Pd G4, K₂CO₃ oder K₃PO₄·3H₂O, korrespondierender BPin Ester, Wasser/Dioxan, 65-75 °C, 62-73 %; (f) *t*Bu₃P Pd G3 oder XPhos Pd G4, K₂CO₃ oder K₃PO₄·3H₂O, korrespondierende Boronsäure, Wasser/Dioxan, 70-80 °C, 43-93 %. n.i. = nicht isoliert. Für die Zwischenverbindungen (mit Ausnahme von 172) war nach Optimierung der Synthese keine säulenchromatographische Aufreinigung notwendig.

Das EtOH wurde mit MeOH substituiert, um das gewünschte Produkt **170** während der Reaktion besser ausfällen zu können, bevor die Nebenreaktion zum *N*²,*N*⁶-Bis(4-chlorphenyl)-3-nitropyridin-2,6-diamin stattfinden kann. Mit dieser Modifikation konnte die Ausbeute im Vergleich zum ersten Ansatz verdoppelt werden, mit dem Nachteil, dass die Synthese mit vier Tagen Reaktionszeit bei Raumtemperatur verhältnismäßig lange dauerte. Ausgehend von **170** konnte der Ringschluss zum 3H-Imidazo[4,5-b]pyridin, äquivalent zu den vorherigen Benzimidazolsynthesen durchgeführt werden. Das resultierende Dihalogenid **171** wurde genutzt, um sowohl die Harnstoff-basierte als auch

die Ether-basierte Variante der basischen **S1**-Seitenkette aus **LS-48** und **166** am alternativen *Hinge*-Bindungsmotiv zu installieren. Mithilfe einer direkt im Anschluss folgenden zweiten Kreuzkupplungsreaktion konnte der Chlorphenyl-Rest zu den gewünschten Biphenyl-Motiven (**S2**) überführt werden. Dabei wurden sowohl die unsubstituierten **LS-48/166**-Analoga **176** und **174** als auch die *p*-Methoxy-Varianten **175** und **177** (analog zu **154**) isoliert. Zudem wurde die Trimethoxyphenylverbindung **178** dargestellt.

3.3.4 Modifikationen der Sulfonamid-basierten Inhibitoren

Neben den Biphenyl-basierten ATM-Kinase-Inhibitoren sollte die Gruppe der Sulfonamide ausgehend von **110**, **111** und **112** weiter erforscht werden. Ein zentrales Ziel war die Optimierung der zellulären Potenz, da sich eine starke Diskrepanz zwischen enzymatischer und zellulärer Aktivität zeigte.

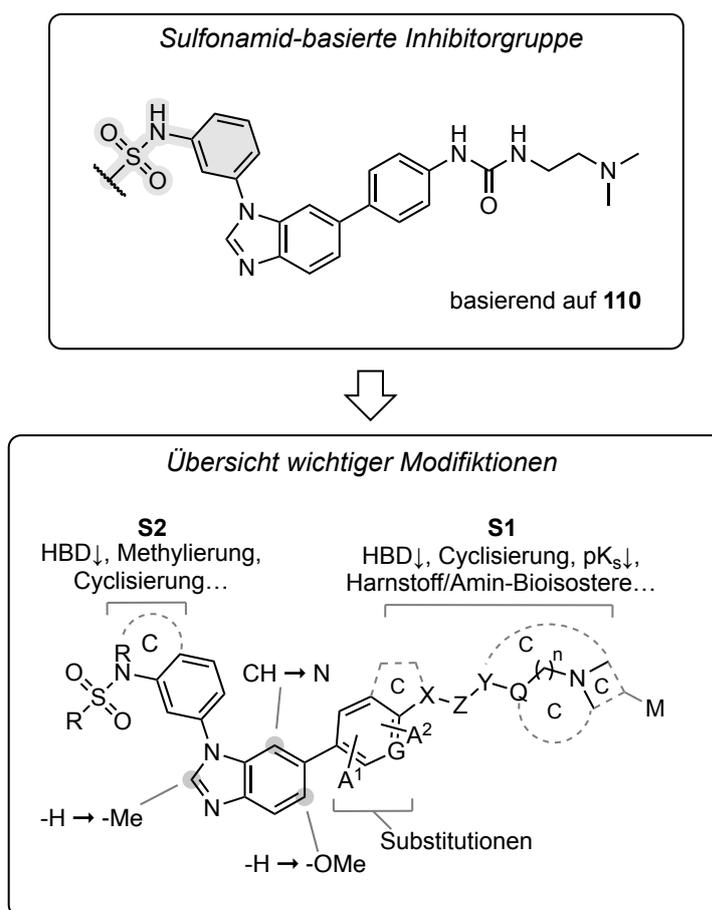


Abbildung 32: Modifikation der Sulfonamid-basierten Inhibitoren ausgehend von der Leitstruktur **110**. C = Cyclisierung/Rigidisierung; A¹, A² = H oder F; G = CH, N; X = NH, NR, CH₂, O; Z = Carbonyl, CH₂,

Thiocarbonyl; Y = NH, NR, CH₂; Q = CH₂, CH-Alkyl, NCH₃, N-Alkyl; M = pK_s-modulierende Gruppen; R = Alkyl; n = 0-1.

Eine Strategie, um Letzteres zu verbessern, war die Erhöhung der Lipophilie dieser Substanzklasse, da angenommen wurde, dass sich die hydrophilen funktionellen Gruppen der insgesamt amphoteren Struktur negativ auf die passive Zellmembranpermeabilität auswirken könnten. Ob andere Faktoren bei der geringen Zellaktivität eine Rolle spielen, wie z.B. die Beteiligung von ABC-Transportern, wurde nicht überprüft und kann grundsätzlich nicht ausgeschlossen werden. Neben der Einführung lipophilerer Reste sollte die Relevanz der einzelnen H-Brücken-Donoren evaluiert und Rigidisierungsstrategien an verschiedenen Stellen erprobt werden (Abbildung 32).

3.3.4.1 Sulfonamid-Inhibitoren: Derivatisierung der S1-Seitenkette

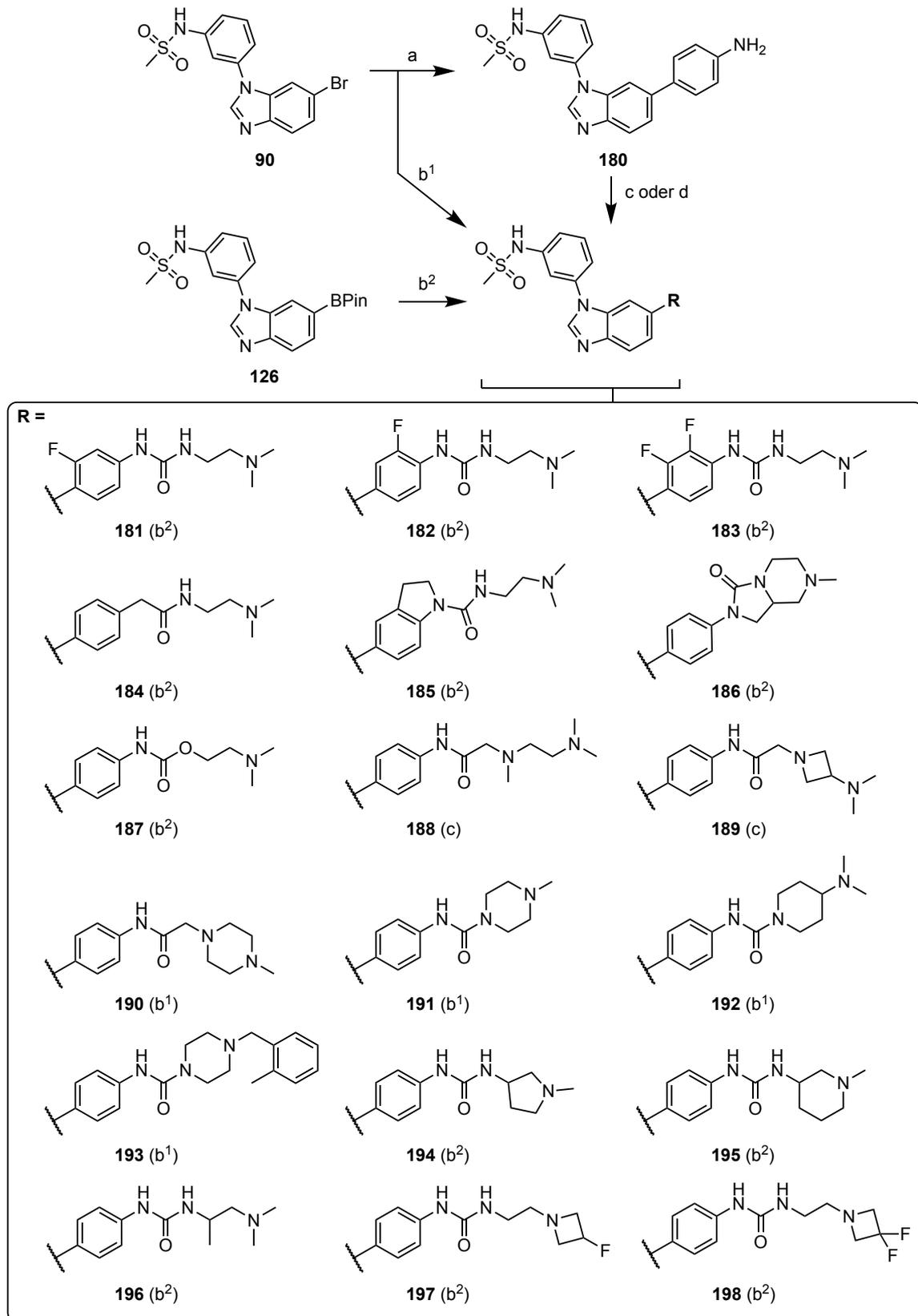
Zu Beginn sollten Modifikationen der Harnstoff-basierte S1-Seitenkette durchgeführt werden, um die SARs der einzelnen Strukturelemente (Phenyl-Linker, Harnstoff-Funktion, terminaler Dimethylaminoethyl-Rest) evaluieren zu können. Durch das Eliminieren der terminalen 1-(2-(Dimethylamino)ethyl)harnstoff-Partialstruktur in Verbindung **180** sollte die Relevanz dieses Restes geprüft werden (Schema 24). Die Darstellung des Inhibitors konnte einfach über eine Suzuki-Miyaura-Kupplung ausgehend von **90** mit 4-Aminophenylboronsäurepinacolester realisiert werden. Mit der resultierenden Verbindung **180** konnte ein starker Aktivitätsverlust auf dem Enzymassay im Vergleich zu **110** verzeichnet werden, was die Signifikanz dieses Restes in Bezug auf die inhibitorische Potenz verdeutlichen konnte.

Ausgehend von **110** sollten zahlreiche Änderungen der S1-Seitenkette erprobt werden, die die Lipophilie und die H-Brücken-Donor-Eigenschaften beeinflussen oder die Basizität des terminalen Amins modulieren (Abbildung 32). Die Synthesestrategie ist in Schema 24 aufgeführt. Dabei konnten drei Syntheserouten unterschieden werden. Zum einen wurde das Benzimidazol-Grundgerüst mit fertiger S2-Seitenkette entweder als Bromid (**90**) oder als BPin-Ester (**126**) innerhalb einer Suzuki-Reaktion eingesetzt, je nachdem mit welcher Funktionalität der entsprechende S1-Seitenkettenpräkursor vorlag. Zudem wurden einige Testverbindungen innerhalb dieses Schemas ausgehend vom Anilin **180** synthetisiert, da die S1-Reste zum Teil nicht mit Suzuki-Reaktionen kompatibel waren (siehe Kapitel 3.3.4.2).

Mit den Verbindungen **181** bis **183** in dieser Reihe sollte überprüft werden, welche Auswirkungen der bioisostere Austausch von Wasserstoffen mit Fluorsubstitutionsmustern am Phenyl-*Linker* zwischen Harnstoff und *Hinge*-Bindungsmotiv hat.¹⁷² Dabei wurden **S1**-Seitenketten getestet, welche innerhalb der projektzugehörigen Chinolin-basierten Inhibitoren erprobt wurden. Dort kristallisierte sich heraus, dass Monofluorsubstitutionen gut von der Bindetasche akzeptiert wurden, wohingegen die 2,3-Difluorsubstitution zu leichten Aktivitätsrückgängen führten.¹⁴⁸ Neben der damit einhergehenden Erhöhung der Lipophilie stellte sich die Frage, ob eine *ortho*-Fluorsubstitution relativ zum Harnstoff über eine Maskierung der NH-Funktion die zelluläre Aktivität erhöhen kann.¹⁷²⁻¹⁷⁴ Im Gegensatz dazu ist dies mit der *meta*-substituierten Kontrollverbindung **181** aufgrund der räumlichen Distanz nicht möglich.¹⁷⁵

Für die entsprechenden Synthesen lag der fertige Seitenkettenpräkursor für die Verbindung **181** als Arylbromid¹⁴⁸ vor, dagegen mussten die Edukte für die Verbindungen **182** und **183** innerhalb dieser Arbeit synthetisiert werden (**199** und **200**, Schema 25). Dabei wurde die Synthese vergleichbar mit den publizierten Vorschriften in **Publikation I**¹⁴⁸ durchgeführt, mit dem einzigen Unterschied, dass die Phenylcarbammat-Zwischenstufe nicht isoliert wurde, sondern die entsprechenden Edukte über die bereits zuvor beschriebene *One-Pot*-Methode¹⁵⁵ direkt in die gewünschten Harnstoffe überführt wurden (Schema 25).

Im Gegensatz zu den Methylierungsstrategien am Harnstoff in Schema 10, die vermutlich eine unvorteilhafte Konformationsänderung der Seitenkette induzieren können (siehe Kapitel 5.3, Abbildung 51) und zudem zu sterischen Effekten führen können, sollte diese Problematik mit der Verbindung **184** vermieden werden, indem die dem Aromaten zugewandte NH-Gruppe mit einer Methylengruppe substituiert wurde. Mit der Entfernung der Harnstoff-Funktion verliert sich zum Teil die damit einhergehende Konformationsbeschränkung, sodass sich die Anzahl frei drehbarer Bindungen erhöht. Als Alternative wurde in der Testverbindung **185** der Phenylring mit einem Indolinring substituiert, sodass auch hier ein HBD entfällt.



Schema 24: Darstellung von **110**-Derivaten mit modifizierten **S1**-Seitenketten. Bedingungen: (a) $t\text{Bu}_3\text{P Pd G3}$, $\text{K}_3\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 4-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)anilin, Wasser/Dioxan, 60 °C, über Nacht, 81 %; (b) $t\text{Bu}_3\text{P Pd G3}$, $\text{K}_3\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, korrespondierender BPin-Ester (b^1) oder Arylbromid (b^2), Wasser/Dioxan, 55-75 °C, über Nacht, 38-82 %; (c) Chloracetylchlorid, Et_3N , Dioxan, dann korrespondierendes Amin, 50 °C, 48-65 %; (d) 1) Phenylchlorformiat, Et_3N , THF, RT, 2) 1-(2-

*Methylbenzyl)piperazin**, 60 °C, über Nacht, 23-48 %. Die Synthese der entsprechenden **S1**-Seitenketten wird in Schema 25 besprochen. Für die Verbindungen **181**, **186**, **194**, **195**, **196** und **197** lagen fertige Präkursoren der **S1**-Seitenketten als Arylbromide vor, da diese für die projektzugehörigen Chinolin-basierten Inhibitoren synthetisiert und zum Teil publiziert wurden.^{148,149} *Es wurde 1-(2-Methylbenzyl)piperazin verwendet, da das 1-Benzylpiperazin aufgrund rechtlicher Beschränkungen nicht verfügbar war.

Im Gegensatz zu den Verbindungen **184** und **185** sollte der bioisostere Austausch der Harnstoff-Funktionalität mit einer Carbamat-Funktion in Verbindung **187** das terminale NH ersetzen. Im Vergleich zu der Methylierung der gleichen NH-Gruppe in Schema 10 hat das Carbamat den Vorteil, dass keine sterischen Effekte den Bindungsmodus beeinflussen.

Die Synthese der **S1**-Seitenkettenvorstufen der Verbindungen **184**, **185** und **187** ist in Schema 25 aufgeführt. Die Synthese des Carbamats **203** ließ sich leicht mit 2-(Dimethylamino)ethan-1-ol und 4-Bromphenylisocyanat äquivalent zum Schema 10 darstellen und trotz einer versehentlichen Temperatureinstellung von 150 °C konnte eine sehr gute Ausbeute von 97 % erzielt werden. Im Gegensatz dazu musste die Synthese der **S1**-Seitenkette der Verbindung **185** modifiziert werden, da ausgehend vom 5-Bromindolin eine Harnstoffdarstellung über Phenylchlorformiat nicht oder nur erschwert möglich ist. Aufgrund des N-substituierten Eduktes kann keine Bildung der Isocyanat-Zwischenstufe erfolgen.^{155,167,176} Aus diesem Grund wurde die Synthese invertiert (Schema 25B) und ausgehend vom *N,N*-Dimethylethylendiamin mit 4-Nitrophenylchlorformiat das *p*-Nitrophenylcarbammat *in situ* generiert, welches über eine Aminolyse mit 5-Bromindolin die gewünschte Vorstufe **201** ergab. Für die Vorstufe **202** (Schema 25B) wurde *N,N*-Dimethylethylendiamin und 4-Bromphenylessigsäure als Startmaterial genutzt, um mithilfe von EDC·HCl das gewünschte Amid zu erhalten.

Mit dem Anilid **188** sollte überprüft werden, ob die Einführung eines Methylene-Restes zwischen N-Me und der Carbonylfunktion im Gegensatz zu der Verbindung **66** (aus Schema 10) zu einem Aktivitätsvorteil führen könnte (Abbildung 33). Durch die zusätzliche Methylengruppe wurde neben der Flexibilität auch geringfügig die Basizität des Stickstoffes erhöht. Neben der äußerst flexiblen Seitenkette in **188** wurden konformativ eingeschränkte Varianten mit dem Azetidin-basierten Inhibitor **189** und mit der sterisch anspruchsvolleren Piperidin-basierten Verbindung **190** synthetisiert. Die zwei Anilide **188** und **189** wurden ausgehend vom Anilin **180** hergestellt. Dazu wurde zunächst mithilfe von Chloracetylchlorid die Anilidfunktion eingeführt, gefolgt von einer nucleophilen Substitution am terminalen Chlorsubstituenten mit den entsprechenden Aminen (Schema 24). Die Verbindung **190** wurde abweichend über eine Suzuki-Reaktion hergestellt. Das entsprechende Anilid wurde dabei zuvor über die Route in Schema 25E dargestellt.

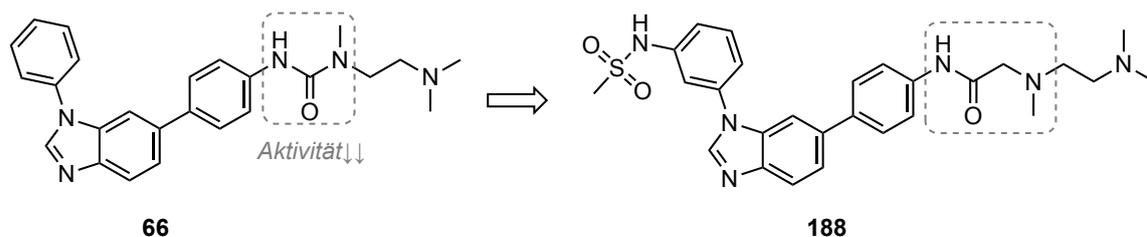
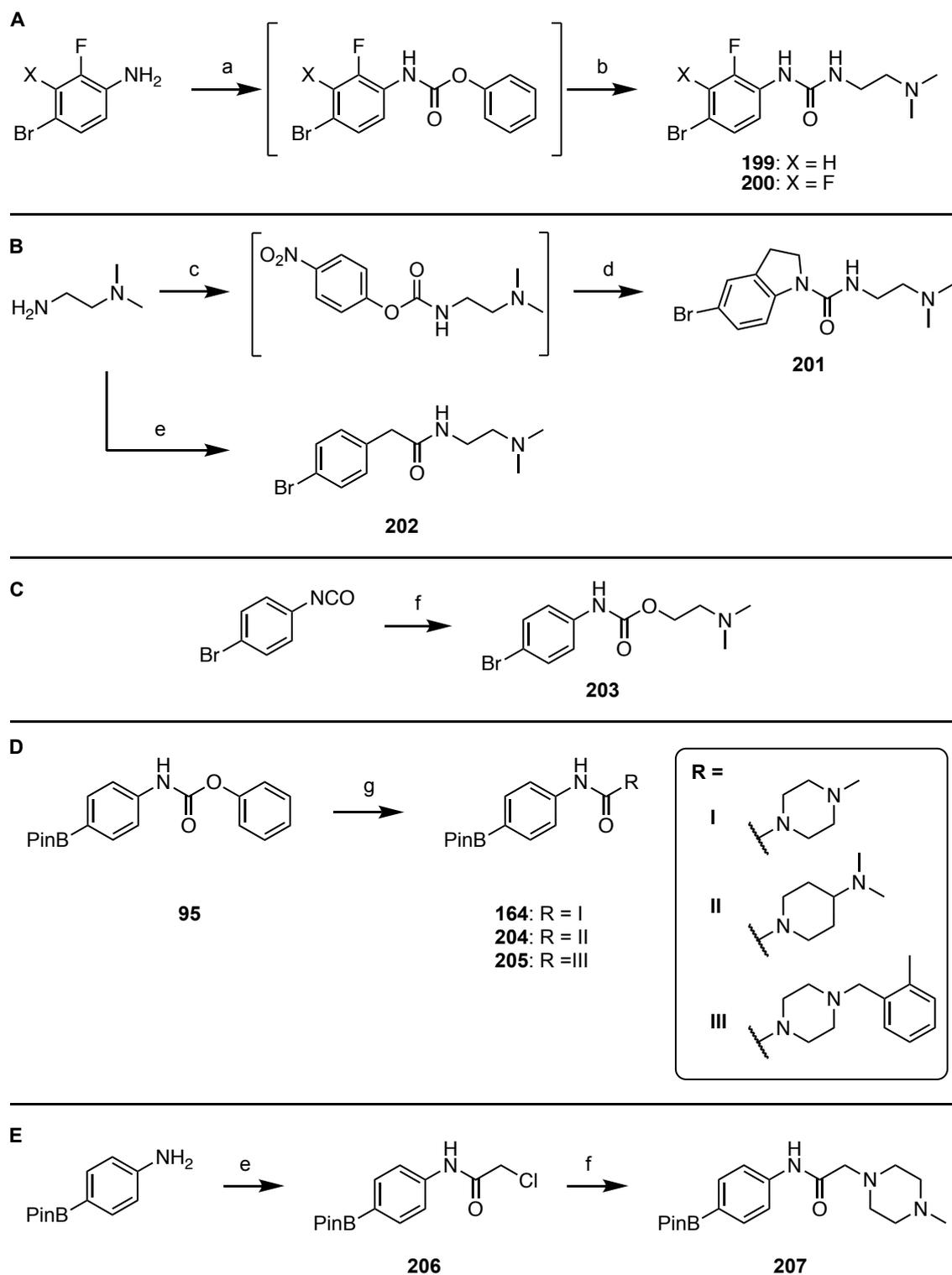


Abbildung 33: Vergleich der **S1**-Seitenketten der Verbindungen **66** und **188**. Durch die Installation des Methylen-Spacers zwischen Carbonyl und der NMe-Funktion erhöht sich die Anzahl der drehbaren Bindungen um zwei.

Alternative Rigidisierungsstrategien wurden in den Inhibitoren **191** bis **195** durchgeführt, mit einer Einbeziehung der Harnstofffunktion und der damit einhergehenden Entfernung eines HBD in den Verbindungen **191** bis **193**, wohingegen die Harnstofffunktion innerhalb von **194** und **195** unberührt bleibt. Abgeleitet von dem Pyrrolidin **194** wurde zudem das ringoffene Derivat **196** synthetisiert.

Für die Synthese der Testverbindung **193** wurde **180** als Edukt genutzt, wobei die Harnstoff-Funktion über eine *One-Pot*-Reaktion¹⁵⁵ mit Phenylchlorformiat und dem korrespondierenden Benzylpiperidin aufgebaut werden konnte. Im Gegensatz dazu wurden die Piperidine **191** und **192** mit den **S1**-Seitenkettenvorstufen **164** und **204** aus Schema 25 dargestellt.

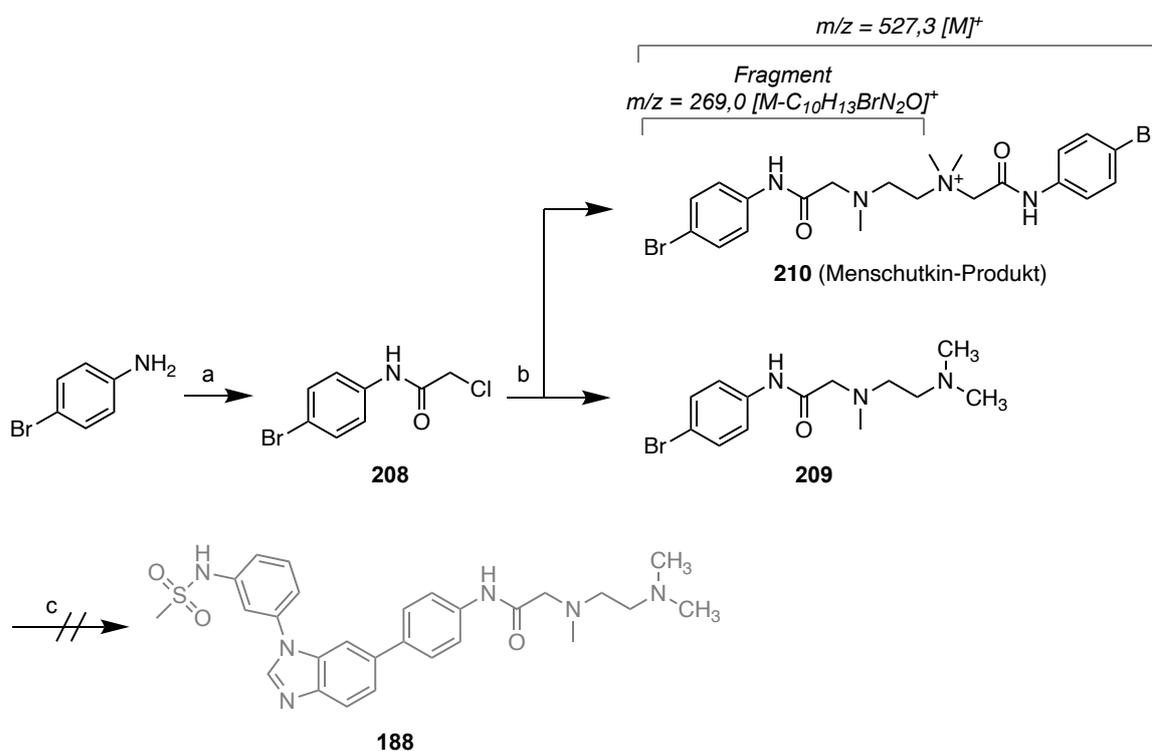
Um die Abhängigkeit der inhibitorischen Aktivität der Strukturklasse in Bezug auf den pK_s -Wert der terminalen basischen Funktion zu prüfen, wurden die beiden Fluorazetidine **197** und **198** synthetisiert.¹⁷⁷ Das entsprechende Desfluorazetidin konnte aufgrund einer sehr schlechten Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln nicht isoliert werden.



Schema 25: Darstellung der modifizierten basischen Seitenketten. Reaktionsbedingungen: (a) Phenylchloroformiat, Et_3N , THF; (b) *N,N*-Dimethylethylenediamin, Reflux, 59-79 %; (c) *p*-Nitrophenylchloroformiat, THF, RT, dann (d) 5-Bromindolin, 50 °C, über Nacht, 34 %; (e) *p*-Bromphenylessigsäure, EDC-HCl, DCM, RT, 49 %; (f) 2-(Dimethylamino)ethan-1-ol, Toluol, 150 °C, 97 %; (g) *N*-Methylpiperazin oder *N,N*-Dimethylpiperidin-4-amin oder 1-(2-Methylbenzyl)piperazin, THF oder Dioxan, 70-80 °C, 43-98 %; (e) Chloroacetylchlorid, Et_3N , Dioxan, 84 %; (f) 1-Methylpiperazin, THF, 50 °C, 32 %.

3.3.4.2 Fehlgeschlagene S1-Seitenketten-Modifikationen

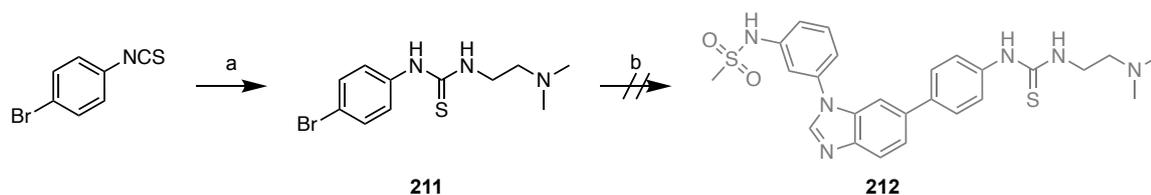
Die Testverbindung **188** (siehe Abbildung 33 und Schema 24) sollte ursprünglich über die in Schema 26 dargestellte Route hergestellt werden. Dabei wurde ausgehend von 4-Bromanilin und Chloracetylchlorid das Anilid **208** synthetisiert, das in einer S_N2-Reaktion in Dioxan mit *N,N,N'*-Trimethylethylendiamin zur Zwischenverbindung **209** reagieren sollte. Da die Reaktion bei 100 °C durchgeführt wurde, bildeten sich signifikante Mengen des unerwünschten Menshutkin-Produkts, welches über DCMS nachgewiesen werden konnte. Dieses ließ sich jedoch aufgrund der hohen Polarität leicht über eine Kieselgel-Filtration entfernen. Die Umsetzung des Diamins **209** mit dem entsprechenden BPin-Ester erwies sich jedoch unter den Suzuki-Bedingungen aus Schema 26 als unmöglich, sodass die Synthese zwangsläufig, wie in Schema 24 aufgeführt, invertiert werden musste.



Schema 26: Ursprünglicher Versuch, die Verbindung **188** zu isolieren. Reaktionsbedingungen: (a) Chloracetylchlorid, Et₃N, DCM, 68 %; (b) *N,N,N'*-Trimethylethylendiamin, Dioxan, 46 %; (c) **126**, tBu₃P Pd G3, K₃PO₄·3H₂O, Wasser/Dioxan, 70 °C.

Eine ähnliche Problematik wie in Schema 26 konnte auch bei dem Versuch beobachtet werden, das Thioharnstoff-Analogon der Verbindung **110** zu synthetisieren (Schema 27). Ausgehend vom 4-Bromphenylthioisocyanat konnte der Thioharnstoff **211** nahezu in quantitativer Ausbeute hergestellt werden, jedoch wurde innerhalb der darauffolgenden

Suzuki-Kupplung keinerlei Umsetzung zum gewünschten Produkt beobachtet, weshalb dieser Ansatz nicht weiterverfolgt wurde.



Schema 27: Gescheiteter Versuch, das Thioharnstoffanalogon der Verbindung **110** darzustellen. Reaktionsbedingungen: (a) *N,N*-Dimethylethylendiamin, Toluol, RT, 96 %; (b) **126**, *t*Bu₃P Pd G3, K₃PO₄ ·H₂O, Wasser/Dioxan, 65 °C.

3.3.4.3 Modifikationen des *Hinge*-Bindungsmotives

Neben den zahlreichen Variationen an der basischen **S1**-Seitenkette sollte auch die Benzimidazol-Kernstruktur modifiziert werden (Abbildung 34). Mehrere Möglichkeiten wurden dabei in Betracht gezogen: Zum einen sollte getestet werden, ob Reste in Position 2 des Imidazolrings von der Bindetasche akzeptiert werden. Zum anderen sollte das Kohlenstoffatom in Position 7 durch einen Stickstoff substituiert werden, um das 3*H*-Imidazo[4,5-*b*]pyridin-Grundgerüst zu erhalten, welches bei den Biphenyl-Inhibitoren bereits erfolgreich erprobt wurde (siehe Kapitel 3.3.3.3).

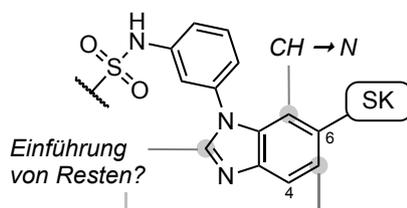
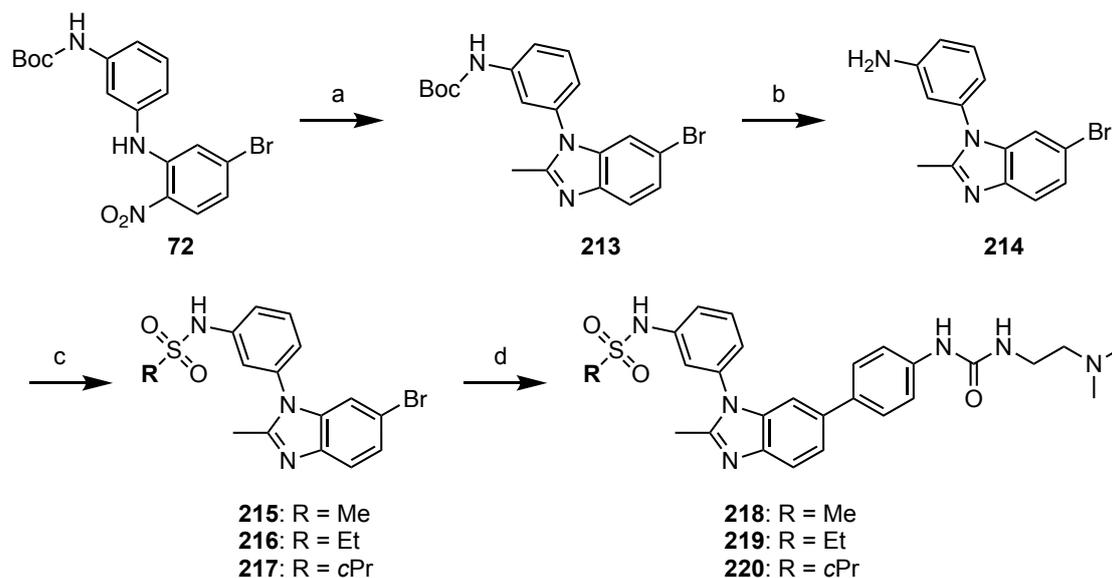


Abbildung 34: Primäre Änderungen am Benzimidazol-Kern der Inhibitoren.

Die Einführung von Resten in Position 4 wurde nicht in Betracht gezogen, da dies vermutlich aus sterischer Sicht die Bindung zur *Hinge*-Region der ATM-Kinase behindern würde.¹⁴² Reste in Position 5 des Benzimidazolrings wurden in späteren Inhibitoren eingeführt (siehe Kapitel 3.3.6).

Die Darstellung der Methylimidazol-Analoga der Sulfonamide konnte einfach realisiert werden, indem ausgehend von der Verbindung **72** nach Reduktion der Nitrogruppe Triethylorthoacetat anstatt Triethylorthoformiat verwendet wurde (Schema 28). Die

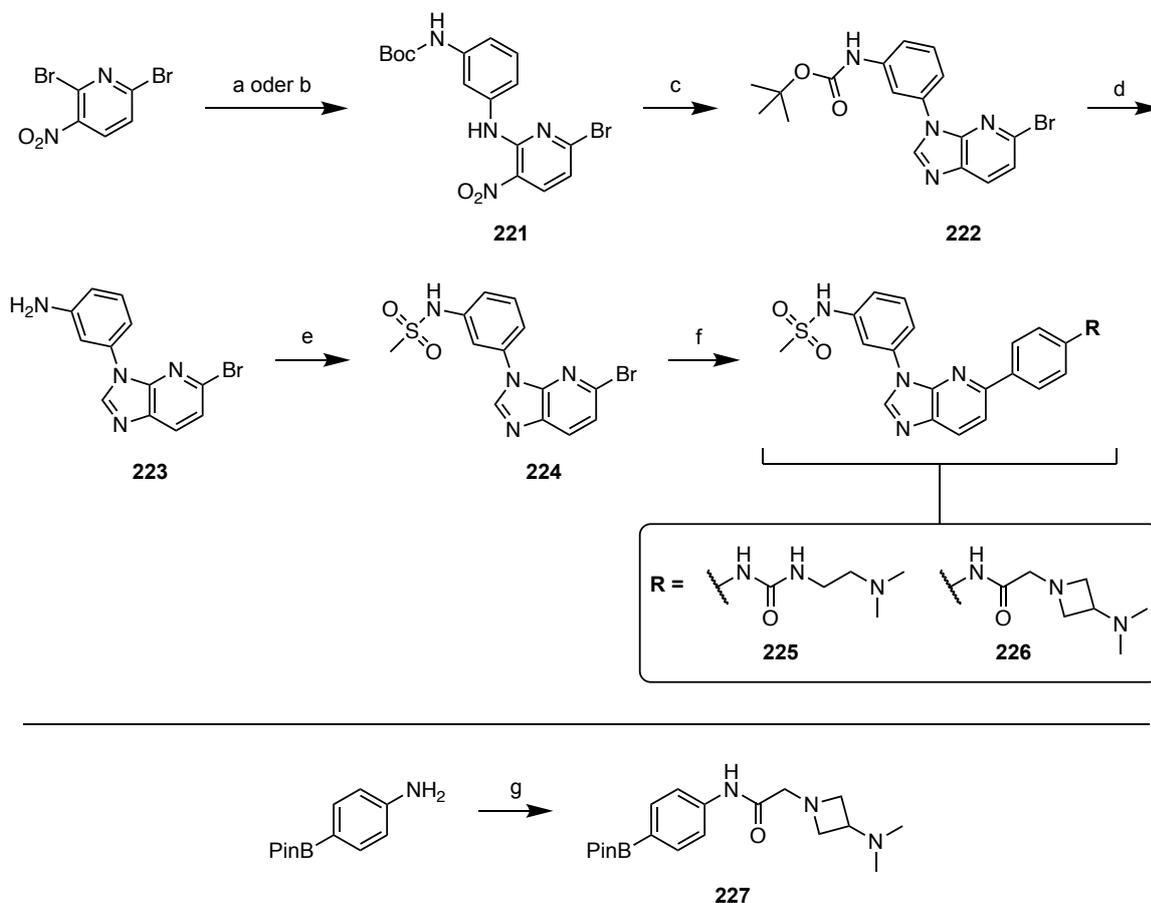
folgenden Reaktionen innerhalb dieser Syntheseroute blieben unverändert. Insgesamt wurden drei Testverbindungen mit dem Methylimidazol-Motiv isoliert (**218** bis **220**).



Schema 28: Darstellung der 2-Methylbenzimidazole. Reaktionsbedingungen: (a) 1) Zn, NH_4Cl , MeOH, RT, 2) Triethylorthoacetat, $p\text{-TsOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$, Toluol, 70-90 °C, 98 % (über zwei Schritte); (b) ethanolische HCl, 50 °C, 74 %; (c) korrespondierendes Sulfonsäurechlorid, Pyridin, 40-69 %; (d) $t\text{Bu}_3\text{P Pd G3}$, $\text{K}_3\text{PO}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}$, **94**, Wasser/Dioxan, 70-75 °C, über Nacht, 59-68 %.

Die Synthese des 3*H*-Imidazo[4,5-*b*]pyridin-Motivs erfolgte äquivalent zu den Biphenyl-Inhibitoren unter der Verwendung von 2,6-Dibrom-3-nitropyridin als Startmaterial. Als Lösungsmittel wurde jedoch DMF verwendet, da diese Synthese vor der zuvor beschriebenen Optimierung der Reaktion in Schema 23 durchgeführt wurde. Bei Reaktionstemperaturen von 70 °C (wie in Schema 11) entstand ein Produktgemisch mit Ausbeuten von unter 20 %. Mitunter konnte die Masse des doppelt substituierten Pyridins über DC-MS nachgewiesen werden. Ein Unterschied zu der zuvor besprochenen Reaktion mit *p*-Chloranilin in Schema 23 ist, dass im Fall des *tert*-Butyl(3-aminophenyl)carbamats als Nucleophil die Reaktion bei Raumtemperatur in DMF ohne die Bildung signifikanter Mengen an Nebenprodukten durchgeführt werden konnte, sodass die Verwendung von Alkoholen als Lösungsmittel nicht zwangsläufig notwendig war. Die Aufarbeitung der Nitropyridine innerhalb dieser Methode unterschied sich zudem geringfügig von den zuvor beschriebenen Nitrobenzen-Derivaten aus Schema 11. Während sich die Nitrobenzene einfach in Wasser fällen ließen, ist dies mit den Pyridinanaloga nicht möglich, da diese sich grundsätzlich auch unter Kühlung (< 10 °C) nicht als Feststoff, sondern als Öl aus der Lösung abscheiden. Um eine filtrierbare Suspension zu erhalten, musste ein kleiner Teil des Produkts mit geringen Mengen an MeOH angerieben werden, sodass eine

Kristallisation zu initiiert wurde. Nach erfolgreichem Animpfen konnte Verbindung **221** schlussendlich über eine Filtration gewonnen und purifiziert werden.



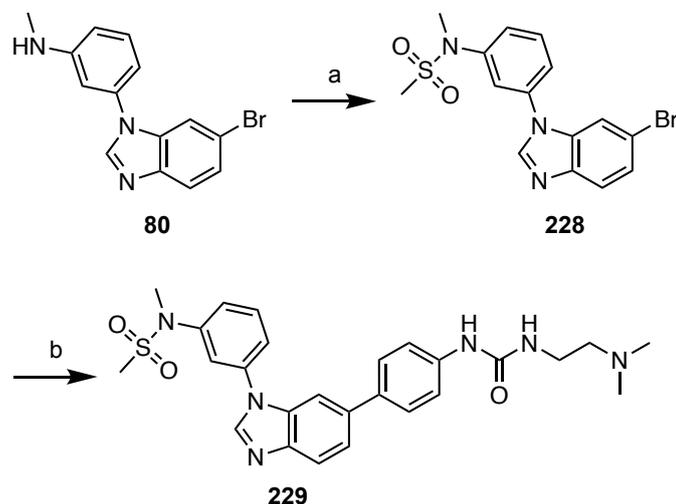
Schema 29: Darstellung der 3H-Imidazo[4,5-b]pyridin-basierten Inhibitoren **225** und **226**. Reaktionsbedingungen: *tert*-Butyl(3-aminophenyl)carbamate, Et_3N in DMF, (a) bei 70 °C, < 20 %; (b) bei RT, 85 %. (c) 1) Zn, NH_4Cl , MeOH, RT, 2) Triethylorthoformiat, *p*-TsOH· H_2O , Toluol, 60-70 °C, 60 % (über zwei Schritte); (d) ethanolische HCl, 50 °C; (e) MsCl, Pyridin, 74 % (über zwei Schritte); (f) *t*Bu₃P Pd G3, $\text{K}_3\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, **94**, Wasser/Dioxan, 60-70 °C, über Nacht, 44-77 %; (g) 1) Chloracetylchlorid, Et_3N , RT dann *N,N*-Dimethylazetidin-3-amin, Et_3N , 50 °C in Dioxan, 76 %.

Die nachfolgenden Syntheseschritte wurden ohne weitere Modifikationen durchgeführt, sodass die beiden Inhibitoren **225** und **226** als 3H-Imidazo[4,5-*b*]pyridin-Analoga der Verbindungen **110** und **189** gewonnen werden konnten. Die Seitenkette **227** für **226** (Schema 29) wurde in Analogie zu Schema 25E dargestellt.

3.3.4.4 Optimierung der Sulfonamidgruppe

Die Sulfonamidgruppe hat einen weitreichenden Einfluss auf die physikochemischen Eigenschaften der ATM-Kinase-Inhibitoren, weswegen eine Optimierung dieser Funktionalität eine hohe Priorität hatte. Vor allem die leicht acide NH-Gruppe (pK_s der *N*-

Phenylmethanesulfonamid-Teilstruktur beträgt ca. 13 in DMSO¹⁷⁸) stand im Verdacht, die Permeabilität negativ beeinflussen zu können. Unter der Annahme, dass die HBD-Funktion dieser Gruppe irrelevant für den Bindemodus ist (siehe Tabelle 6, Verbindung **105**), wurden verschiedene *N*-Substituenten an der Sulfonamidgruppe beginnend mit dem *N*-Methyl-Analogon **229** der Verbindung **110** in Schema 30 eingeführt.



Schema 30: Darstellung des *N*-Methyl-Analogons **229** der Verbindung **110**. Reaktionsbedingungen: (a) MsCl, Pyridin, RT, 79 %, (b) **94**, tBu₃P Pd G3, Dioxan/Wasser, 60 °C, 6 h, 72 %. Für die Synthese der Verbindung **80** siehe Schema 11.

Die Synthese der Verbindung **229** wurde analog zu **110** und ausgehend von **80** (Schema 11) durchgeführt. Da dieser Inhibitor im Enzymassay nahezu äquipotent im Vergleich zu **110** war, aber die zelluläre Aktivität deutlich verbessert wurde, folgten eine Reihe weiterer *N*-substituierter Inhibitoren. Dabei wurden Rigidisierungsstrategien verfolgt, um die Sulfongruppe gezielt auszurichten und die *N*-Aryl-Bindung in ihrer Drehbarkeit einzuschränken, was zunächst mit der Einführung einer Indolin-basierten **S2**-Seitenkette realisiert wurde (siehe Abbildung 35 und Schema 31). Darüber hinaus sollten verschiedene **S1**-Seitenketten und das alternative 3*H*-Imidazo[4,5-*b*]pyridin-Motiv erprobt werden (Abbildung 35). In Schema 31 ist die Synthesestrategie der Indolin-basierten Inhibitoren aufgeführt. Als Startmaterial wurde das 6-Nitroindolin gewählt, an dem die Ms-Gruppe am Indolin Stickstoff eingeführt wurde (**230**), gefolgt von der Reduktion der Nitrogruppe zum 6-Aminoindolin **232**, der S_NAr-Reaktion (**234**) und der Cyclisierung zum Benzimidazol (**236**). Ausgehend von **236** wurden die drei potenziellen Inhibitoren **238** bis **240** gewonnen, welche jeweils Harnstoff-, Anilid-, und Ether-basierte **S1**-Seitenketten tragen (Schema 31).

Die Syntheseroute konnte so optimiert werden, dass mit Ausnahme der Suzuki-Kupplung im letzten Schritt keine säulenchromatographische Aufreinigung der Zwischenprodukte notwendig war.

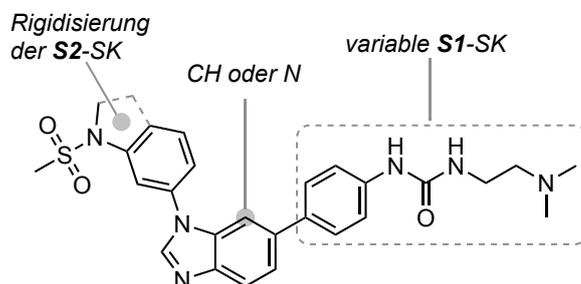
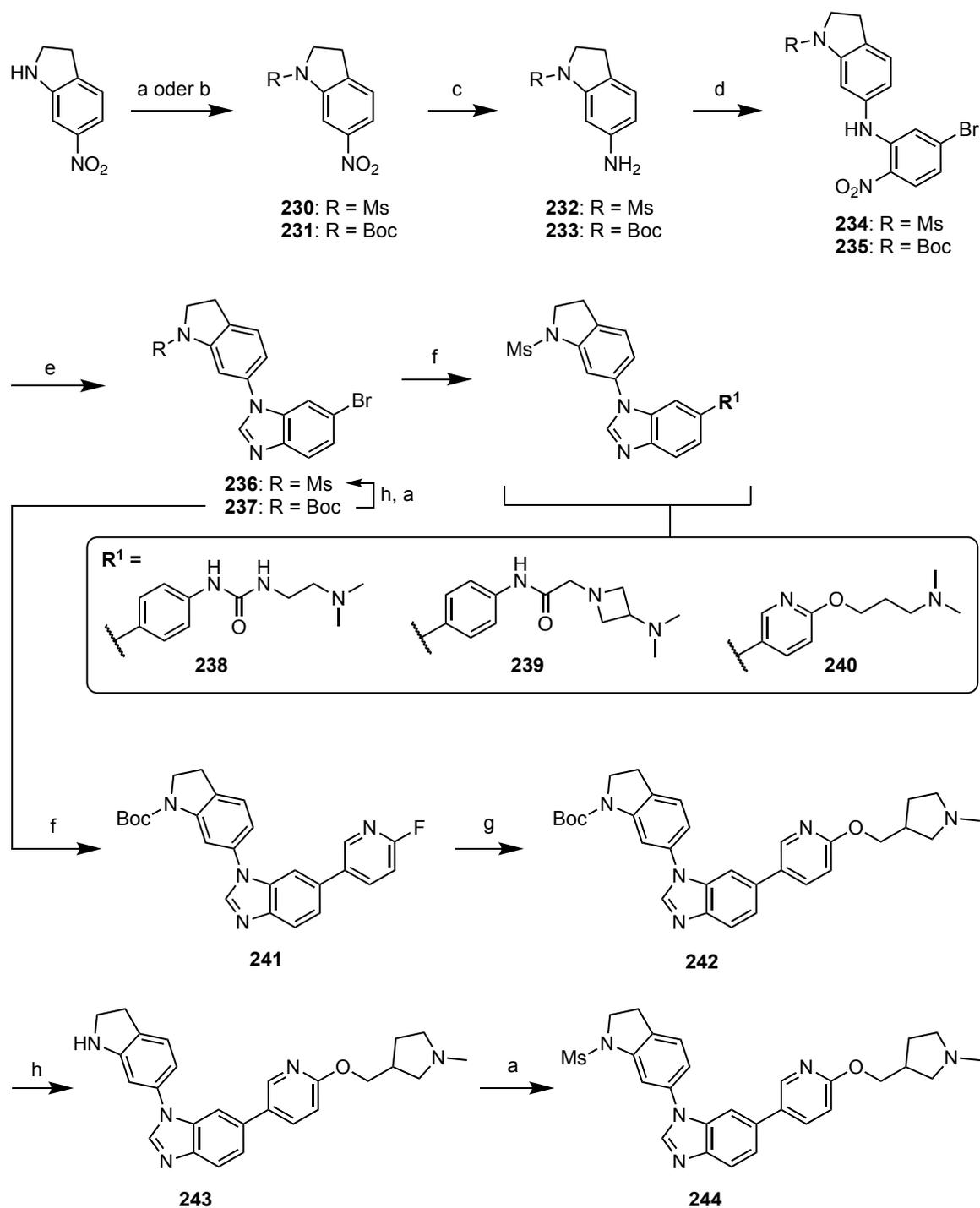


Abbildung 35: Konzepte zur Modifikation des Inhibitors **229**. SK = Seitenkette.

Parallel dazu wurde eine zweite Syntheseroute etabliert, die mit der initialen Einführung der Boc-Schutzgruppe am 6-Nitroindolin eine Möglichkeit bieten sollte, verschiedene Sulfonamid-Substituenten zum späteren Zeitpunkt anbringen zu können (**231**, Schema 31). Von dieser Möglichkeit wurde jedoch innerhalb dieser Arbeit kein Gebrauch gemacht, da später andere Substanzklassen in den Fokus rückten. Aus der Zwischenverbindung **237** sollte innerhalb einer modifizierten Synthese ein cyclisiertes Pyrrolidin-Analogon der Verbindung **240** dargestellt werden (**244**). Dazu wurde zunächst der 2-Fluorpyridinyl-Rest in **241** über eine Suzuki-Reaktion eingeführt, gefolgt von einer S_NAr -Reaktion mit (1-Methyl-pyrrolidin-3-yl)methanol. Zunächst wurde nur das Mesyl-Derivat **244** als *Proof-of-Concept*-Verbindung isoliert und auf der ATM-Kinase getestet. Da dieser Inhibitor entgegen den Erwartungen eine deutliche Aktivitätsabnahme zeigte, wurde der Ansatz dieser Pyrrolidin-basierten **S1**-Seitenkette nicht weiterverfolgt.



Schema 31: Darstellung der ersten Indolin-basierten Inhibitoren. Reaktionsbedingungen für (a) MsCl, Pyridin, RT, 42-99 %; (b) Boc₂O, DMAP, Dioxan, RT, 76-89 %; (c) Zn/NH₄Cl, MeOH, RT, 64-93 %; (d) 4-Brom-2-fluor-1-nitrobenzen, Et₃N, DMF, 70 °C, 40-67 %; (e) 1) Zn/NH₄Cl, MeOH, RT, 2) Triethylorthoformiat, *p*-TsOH·H₂O, 70 °C, 96-98 % (über zwei Schritte); (f) *t*Bu₃P Pd G3, K₃PO₄·3H₂O, korrespondierender Boronsäureepinacolester, Wasser/Dioxan, 50-80 °C, 39-94 %; (g) (1-Methylpyrrolidin-3-yl)methanol, NaH, THF, 50 °C, 82 %; (h) ethanolische HCl, 90 %. Für die Zwischenverbindungen **230** bis **237** war nach Optimierung der Synthese keine säulenchromatographische Aufreinigung erforderlich.

3.3.5 Synthese der 3*H*,3'*H*-5,5'-Bibenz[*d*]imidazole **247** und **250**

Während der Harnstoff-basierte Inhibitor **238** im Vergleich zum Ether-basierten Inhibitor **240** eine Überlegenheit auf enzymatischer Ebene zeigte, führte die Harnstoff-Funktion auf zellulärer Ebene zu einem erheblichen Verlust an Hemmaktivität, was oftmals bei dieser Substanzklasse beobachtet werden kann.¹⁵⁷ Im Gegensatz dazu konnte der Inhibitor **240** die Aktivität auf zellulärer Ebene größtenteils beibehalten (siehe Kapitel 5.3.3.3). Ausgehend von dieser Beobachtung stellte sich die Frage, ob mit einem nicht-klassischen bioisoteren Austausch der Harnstoff-Funktion gegen einen Imidazolring und die damit einhergehende Entfernung eines HBD einen Aktivitätsvorteil auf enzymatischer Ebene gegenüber dem Ether **240** und auf zellulärer Ebene gegenüber dem Harnstoff **238** bieten könnte. Die entsprechende Cyclisierungsstrategie wurde mit dem Bibenzimidazol-Derivat **247** realisiert (Abbildung 36). Parallel dazu sollte die Verbindung **250** synthetisiert werden, welche anders als **247** über keinen H-Brücken-Donor am Benzimidazol der S1-Seitenkette verfügt und damit als Bioisoster der Pyridinyloxy-Seitenkette (aus **240**) zu verstehen ist. Die Verbindung **250** trägt im Gegensatz zu **240** nur noch einen HBA, dessen Position sich deutlich ändert.

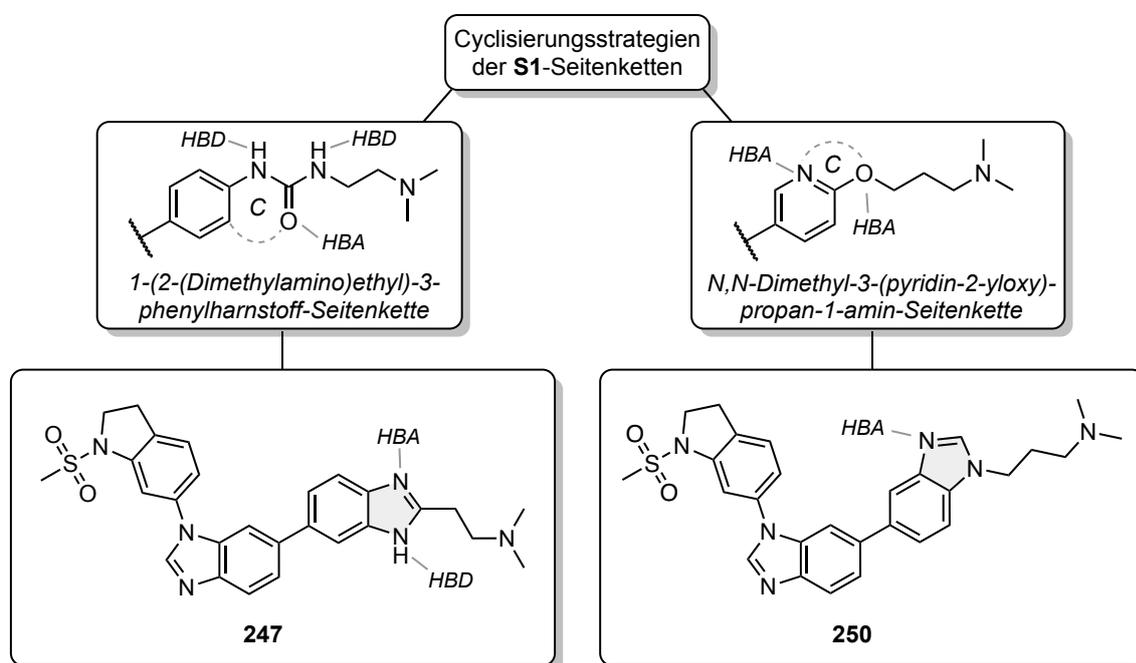
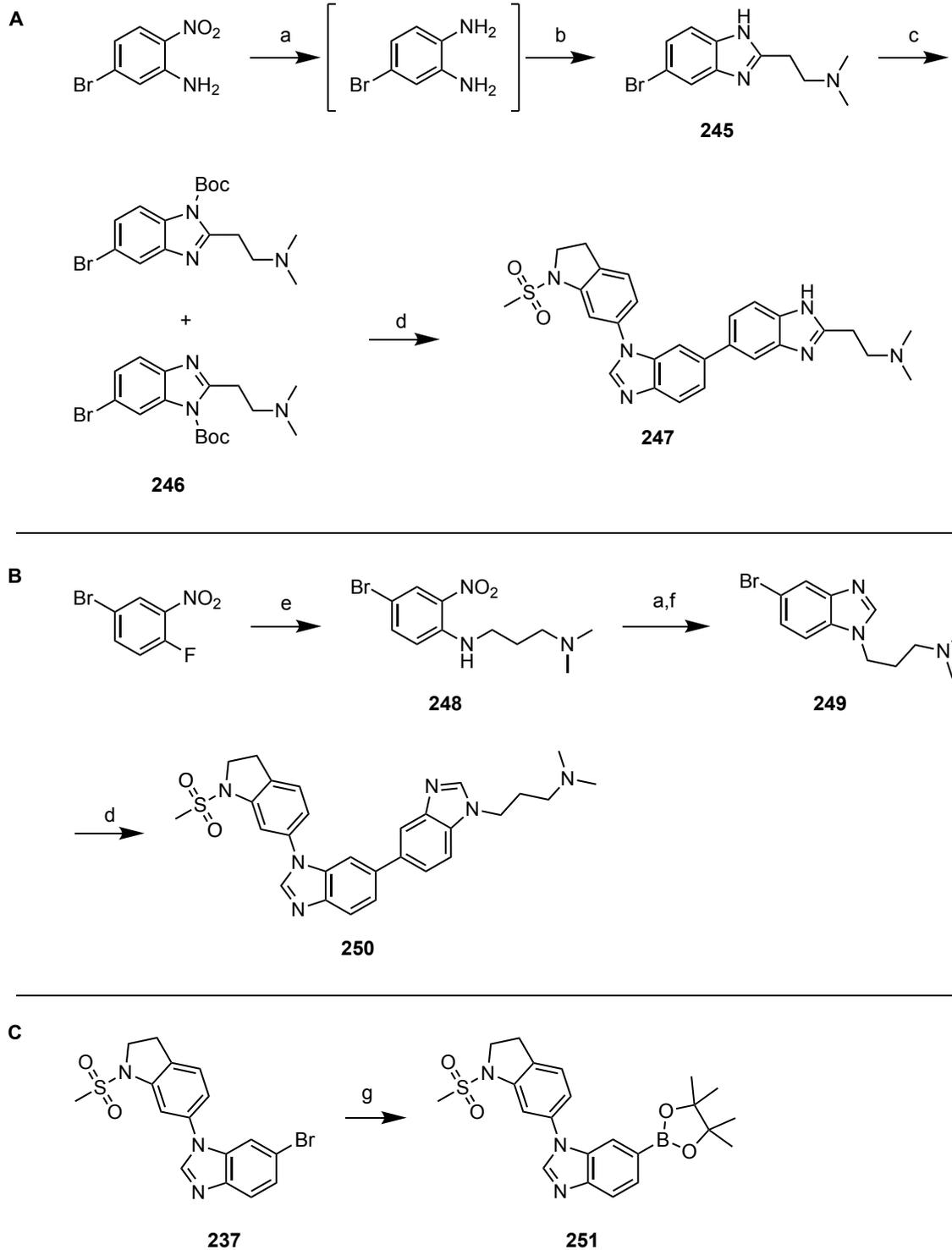


Abbildung 36: Konzept der Bibenzimidazole.

Die Synthese der Verbindung **247** ist in Schema 32 beschrieben. Dabei wurde 5-Brom-2-nitroanilin als Startmaterial genutzt, das zunächst zum korrespondierenden Phenylen-

diamin reduziert wurde. Das Diamin konnte in die gewünschte Vorstufe **245** umgewandelt werden, indem es mit 3-Dimethylaminpropionsäure in konzentrierter Salzsäure unter Rückfluss erhitzt wurde.¹⁷⁹ Diese Synthese führte nur zu geringen Ausbeuten von 17-21 %. Ein Optimierungsversuch wurde nicht vorgenommen, da lediglich ein Inhibitor innerhalb dieser Syntheseroute hergestellt wurde. Die anschließende Boc-Schützung führte zu einem Produktgemisch aus den zwei möglichen Konstitutionsisomeren (**246**). Die Boc-Schützung war notwendig, da das ungeschützte Benzimidazol **245** keine Umsetzung innerhalb einer Suzuki-Reaktion zeigte. Vorteilhafterweise führte die Kreuzkupplung mit **246** nach längerem Rühren (3 Tage bei 80 °C) zu einer gleichzeitigen Abspaltung der Boc-Schutzgruppen und somit direkt zum gewünschten Bibenzimidazol **247**. Dieses konnte trotz zusätzlicher säulenchromatographischer Aufreinigung mit Umkehrphasenkieselgel (C18) lediglich mit einer HPLC-Reinheit von 94 % isoliert werden. Trotzdem wurde diese Verbindung getestet und zeigte eine äußerst hohe Potenz im einstellig nanomolaren Bereich, womit der bioisostere Austausch der Phenylharnstoffgruppe als erfolgreich erachtet wurde. Im Gegensatz dazu konnten auf zellulärer Ebene keine Aktivitätsvorteile erzielt werden (siehe Kapitel 5.3.3.4).

Das zweite Bibenzimidazol **250** (Abbildung 36) wurde ausgehend von 4-Brom-1-fluor-2-nitrobenzen dargestellt (Schema 32B). Dazu wurde mithilfe einer S_NAr -Reaktion die *N,N*-Dimethylpropan-1-amin Seitenkette installiert, gefolgt vom äquivalenten Vorgehen beim Ringschluss zum Benzimidazol wie in Schema 32A. Mit einer abschließenden Suzuki-Reaktion wurde das gewünschte Bibenzimidazol **250** erhalten. Die Verbindung **250** führte zu keiner Inhibition der ATM-Kinase auf enzymatischer Ebene, sodass das Konzept Bibenzimidazol-Inhibitoren nicht weiterverfolgt wurde.



Schema 32: Synthese der Testverbindungen **247** und **250**. Reaktionsbedingungen: (a) Zn, NH_4Cl , MeOH, RT; (b) 3-Dimethylaminopropionsäure (HCl-Salz), in HCl (aq.), Reflux, 17-21 % (über zwei Schritte); (c) Boc₂O, DMAP, Dioxan, RT, 73 %; (d) **251**, *t*Bu₃P Pd G3, $\text{K}_3\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Wasser/Dioxan, 80 °C, 3 d, 45-79 %; (e) *N,N*-Dimethylpropan-1,3-diamin, Et₃N, *i*PrOH, 50 °C, 99 %; (f) Triethylorthoformiat, *p*-TsOH·H₂O, 80-90 °C; (g) B₂Pin₂, PdCl₂(dppf), KOAc, Dioxan, 80 %.

3.3.6 Darstellung von 5-Methoxy-Benzimidazolen

Mit dem ATM-Inhibitor **M4076** von der Firma Merck KGaA konnte gezeigt werden, dass 7-Methoxychinolin-basierte Struktur motive gut von der ATM-Bindetasche akzeptiert werden und eine hohe Selektivität gegenüber anderen PIKK-Kinasen aufweisen.^{54,180,181} Deshalb sollte geprüft werden, ob die Methoxygruppe am Benzimidazol-Grundgerüst an der korrespondierenden Stelle angebracht werden kann und von der Bindetasche toleriert wird (Abbildung 37) und ob sich dadurch Selektivitätsvorteile innerhalb der PIKK- und PI3K-Kinasen ergeben.

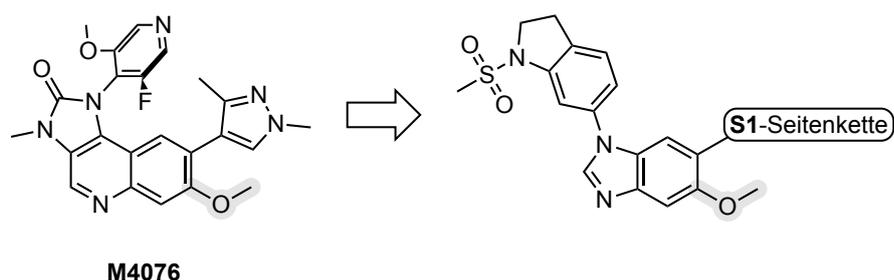
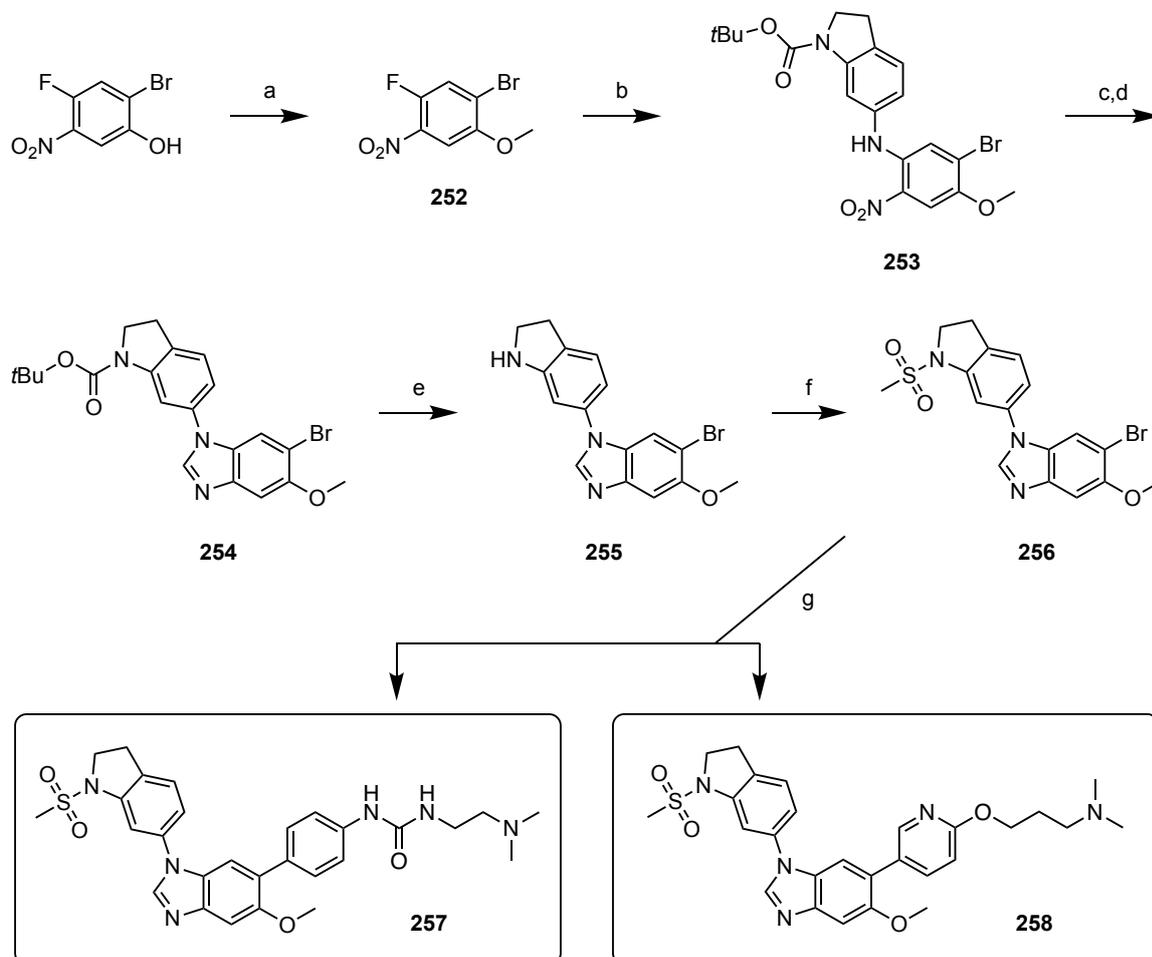


Abbildung 37: Konzept zur Einführung der Methoxygruppe an Position 5 des Benzimidazol-Grundgerüsts.

Um die entsprechenden Verbindungen darstellen zu können, musste die Syntheseroute geringfügig modifiziert werden. Als Startmaterial für die Synthese wurde 2-Brom-4-fluor-5-nitrophenol gewählt, welches innerhalb einer Reaktion in trockenem Aceton mit Methyljodid und K_2CO_3 als Base methyliert werden konnte (**252**, Schema 33).¹⁸² Die Reaktion wurde mit Wasser gestoppt und das Produkt konnte mit einer weiteren Verdünnung unter Kühlung zur Fällung gebracht werden, sodass abweichend zu der Synthesevorschrift aus dem Patent WO2015006100 keine Extraktion notwendig war und das Produkt über eine Filtration gewonnen werden konnte. Da die zusätzliche Methoxygruppe in der Verbindung **252** deutliche Auswirkungen auf die Reaktivität in der darauffolgenden S_NAr -Reaktion hatte, mussten die Reaktionsbedingungen geringfügig angepasst werden, sodass *N*-Methyl-2-pyrrolidon (NMP) anstatt DMF als Lösungsmittel gewählt wurde. Zusätzlich wurde das niedrigsiedende Et_3N (Siedepunkt: 89 °C)¹⁸³ mit Diisopropylethylamin (DIPEA) substituiert (Siedepunkt: 128 °C)¹⁸⁴, um ein Entweichen der Hilfsbase bei den erhöhten Reaktionstemperaturen zu vermeiden. Bei der nachfolgenden Reduktion der Nitrogruppe wurde der Ansatz zu Beginn mit einem Eisbad gekühlt, da unter diesen Reaktionsbedingungen vor allem bei größeren Ansätzen und schneller Zugabe des Zinkpulvers selten spontane Siedeverzüge beobachtet wurden. Innerhalb dieser Syntheseroute wurde zudem das Lösungsmittel beim Ringschluss zum

korrespondierenden Benzimidazol (**254**) *i*PrOH anstatt Toluol verwendet, welches hinsichtlich des niedrigeren Siedepunkts einfacher zu entfernen ist.



Schema 33: Einführung des Methoxy-Restes am Benzimidazol-Hingebindungsmotiv. Reaktionsbedingungen: (a) MeI, K₂CO₃, Aceton, Reflux, 89-94 %; (b) **233**, DIPEA, NMP, 105-110 °C, 54 %; (c) Zn, NH₄Cl, MeOH, < 10 °C → RT; (d) HC(OEt)₃, *p*-TsOH·H₂O, *i*PrOH, 70 °C; (e) ethanolische HCl, 55 °C, 78 % über drei Schritte; (f) MsCl, Pyridin, RT, 85 %; (g) **94** oder **60**, K₂CO₃, XPhos Pd G4, 70-80 °C, 42-81 %.

Die Boc-Schutzgruppe, welche mit **253** eingeführt wurde, sollte die Möglichkeit bieten, ausgehend von **255** verschiedene Alkylreste am Sulfonamid zu installieren. Aufgrund des deutlichen Aktivitätsverlustes der Verbindungen **257** und **258** wurde diese Inhibitor-Klasse jedoch nicht weiterverfolgt.

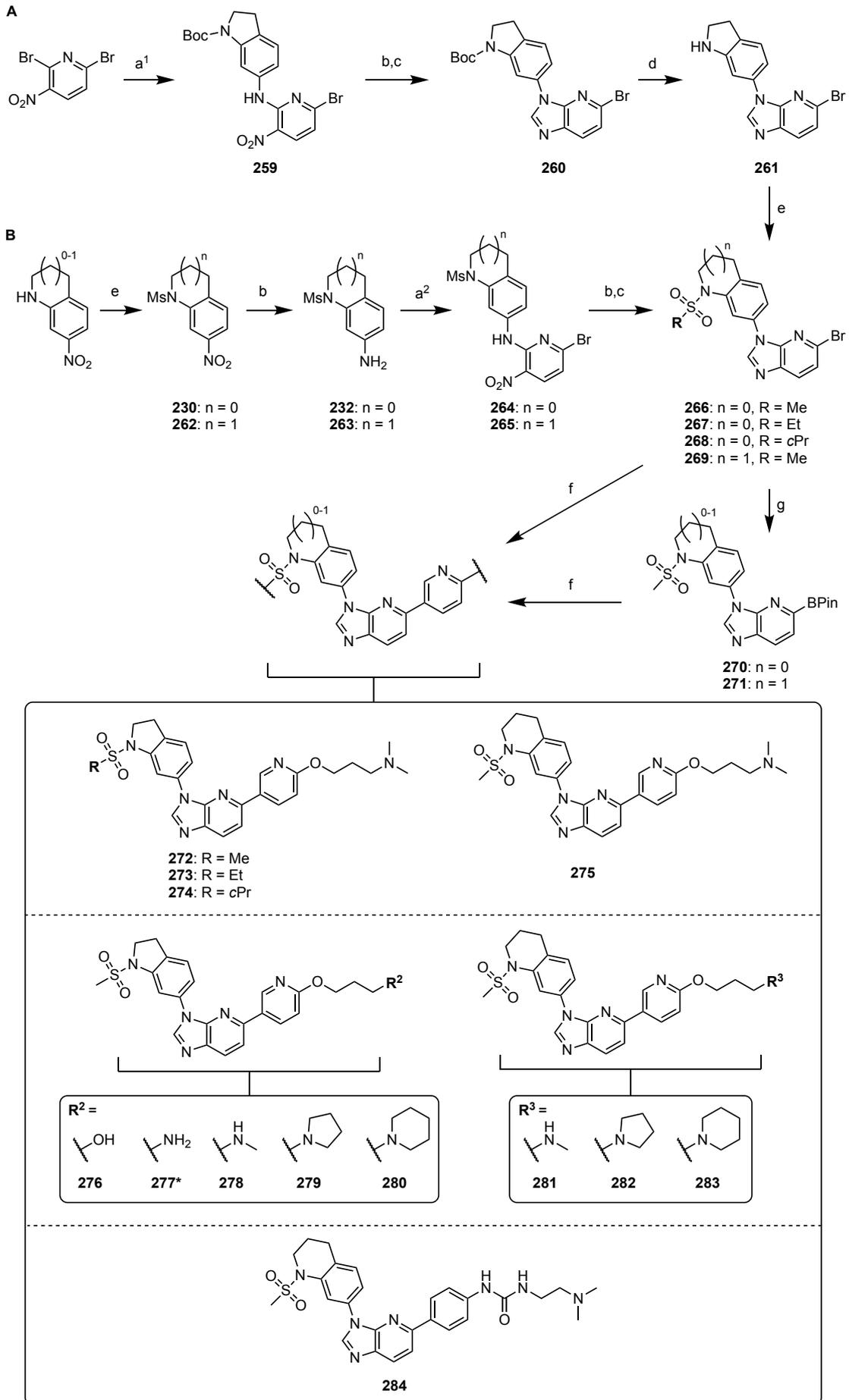
3.3.7 Einführung des 3*H*-Imidazo[4,5-*b*]pyridin-Grundgerüsts innerhalb der Sulfonamidinhibitoren

Neben dem Benzimidazol-Rest, der als *Hinge*-Bindungsmotiv fungiert, sollte innerhalb der Sulfonamid-basierten Inhibitoren das alternative 3*H*-Imidazo[4,5-*b*]pyridin (7-

Azabenzimidazol) als Grundgerüst getestet werden, das bereits innerhalb der Sulfonamidgruppe mit den Inhibitoren aus Schema 29 sehr gute Ergebnisse lieferte (siehe Kapitel 5.3.3.2). Dabei wurden an dieser Stelle zwei Versionen der Synthese realisiert: Zum einen wurde eine etwas längere Syntheseroute gewählt, indem das Boc-geschützte Indolin (**233**, Schema 31) eingeführt wurde, um im späteren Verlauf der Synthese die Sulfonamid-Funktionalisierung zu erlauben (Schema 34A). Zum anderen wurde mit Schema 34B ein schnelleres Syntheseverfahren entworfen, bei dem direkt zu Beginn das Mesylindolin als **S2**-Seitenkette eingeführt wurde (Schema 34B). Neben den Indolinderivaten wurde zudem eine Ringerweiterung zum Tetrahydrochinolin in Schema 34B durchgeführt, um den Effekt der geringfügig abweichenden Ausrichtung der Sulfongruppe zu prüfen. Bei beiden Syntheserouten in Schema 34 konnten nach Optimierung, bis auf **267** und **268**, alle Zwischenprodukte ohne säulenchromatographische Aufreinigung isoliert werden. In dieser Serie lag der Fokus bei den Pyridinylether-basierten Seitenketten, da diese bei vorherigen Inhibitoren die höchsten zellulären Aktivitäten zeigten. Mit den Inhibitoren **272**, **273** und **274** sollten die Aktivitäten der drei verschiedenen Alkylreste an der Sulfonamidgruppe evaluiert werden.

Die Ringerweiterung zum Tetrahydrochinolin innerhalb der Verbindung **275** resultierte zwar in einen marginalen Aktivitätsrückgang auf der isolierten ATM-Kinase, gleichzeitig führte diese Strukturänderung jedoch zu besseren Selektivitäten gegenüber verwandten Kinasen (siehe Kapitel 5.3.3.5).

Ausgehend von den Verbindungen **272** und **275** sollten Inhibitoren mit Fokus auf eine modulierte Lipophilie als *Backup*-Verbindungen für die pharmakokinetische Evaluation dargestellt werden. Dazu sollte primär das terminale Amin modifiziert werden. Einerseits wurden die Methylgruppen schrittweise mit Indolin-Derivaten **277** und **278** und dem Tetrahydrochinolin **281** entfernt, um die Relevanz dieser Alkylreste zu prüfen und die Hydrophilie der Inhibitoren zu erhöhen. Im Gegensatz dazu wurden mit den erweiterten Pyrrolidin- und Piperidin-Seitenketten in den Verbindungen **279**, **280**, **282** und **283** insgesamt lipophilere Inhibitoren synthetisiert. Zudem wurde das Harnstoff-Analogon **284** des Inhibitors **275** dargestellt, um die Beständigkeit der SARs analog zu den zuvor isolierten Indolininhibitoren zu prüfen.



← Schema 34: Synthese der Indolin- und Tetrahydrochinolinderivate: A) Syntheseroute, die eine späte Einführung verschiedener Sulfonamid-Funktionalitäten erlaubt und B) Syntheseroute mit direkter Einführung des Sulfonamidrestes. Reaktionsbedingungen: (a) **233** (= a^1) oder 2,6-Dibrom-3-nitropyridin (= a^2), Et_3N oder DIPEA, DMF (80 %) oder EtOH (76-82 %), RT; (b) Zn, NH_4Cl , MeOH, RT, 73-100 %; (c) Triethylorthoformiat, $p\text{-TsOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$, Toluol oder $i\text{PrOH}$, 60-80 °C, 93-98 % (über zwei Schritte); (d) HCl, EtOH, 55 °C, 67 %; (e) korrespondierendes Sulfonylchlorid, Pyridin, RT, 19-99 %; (f) $t\text{Bu}_3\text{P Pd G3}$ oder XPhos Pd G4 , K_2CO_3 oder $\text{K}_3\text{PO}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}$, korrespondierender Boronsäurepinacolester oder Arylbromid, Wasser/Dioxan, 50-80 °C, 21-91 %. (g) B_2Pin_2 , KOAc, $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$, Dioxan, 80-85 °C, 90-98 %. *Im Falle von **277** wurde ausgehend von **266** eine Suzuki-Kupplung nach (f) mit 2-Fluorpyridin-5-ylboronsäure (= **285**), gefolgt von einer $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ mit 3-Aminopropanol, KOtBu in THF (49 % über zwei Schritte).

Die Verbindung **283** aus dem Schema 34 konnte zudem kristallisiert werden und wurde röntgenkristallographisch vermessen, um die Struktur zu bestätigen (Abbildung 38).

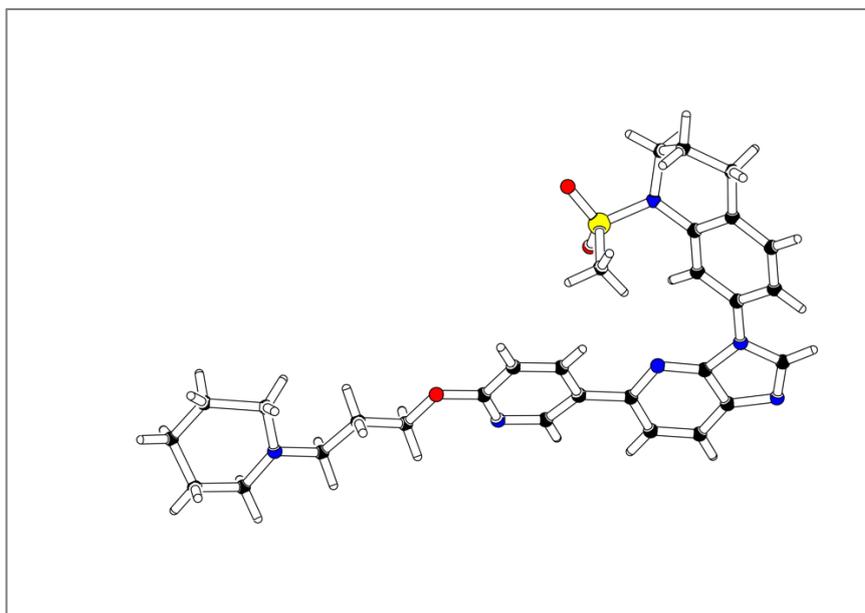
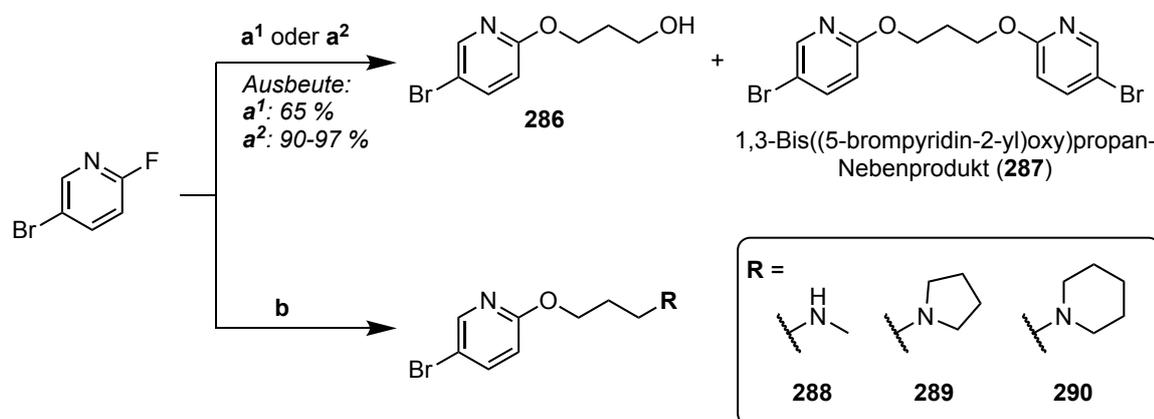


Abbildung 38: Röntgenkristallstruktur der Verbindung **283**. Kristallisation erfolgte mit ca. 8 mg Substanz in ca. 0,4 ml $d_6\text{-DMSO}$. Die Aufnahme der Struktur erfolgte durch Dr. Dieter Schollmeyer aus der Zentralen Analytik der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz. Messung erfolgte mit einem STOE Stadi Vari Diffraktometer (120 °K, CuK α , Wellenlänge: 1.54178 Å, Kristall: 0.020 x 0.030 x 0.640 mm³, farblose Nadel, Anmerkung: Piperidin ist stark ungeordnet). Die Struktur wurde in der CCDC-Datenbank unter der Nummer CCDC-2232013 hinterlegt.

Eine weitere wichtige Verbindung in Bezug auf die SARs war das nicht-basische **277**-Analogon **276**, wobei eine bioisostere Substitution der terminalen Aminogruppe zum korrespondierenden Alkohol unternommen wurde. Aufgrund der Hypothese, dass das terminale Amin über eine ionische Wechselwirkung in die Aspartat-reiche Region (siehe Abbildung 6B) der ATM-Kinase bindet, sollte mit **276** überprüft werden, ob mit diesem nicht-basischen Derivat eine Aktivitätsabnahme zu verzeichnen ist, da lediglich eine schwächere Anion-Dipol-Wechselwirkung aufgebaut werden kann.

Die Vorstufen der modifizierten Pyridinylether-S1-Seitenketten wurden nach Schema 35 dargestellt. Grundsätzlich wurden die korrespondierenden Alkoholate mit 5-Brom-2-

fluorpyridin zu den gewünschten Ethern umgesetzt. Lediglich bei der Verbindung **286** musste die Reaktion angepasst werden, um die Bildung des ungewünschten 1,3-Bis((5-Brompyridin-2-yl)oxy)propan-Nebenprodukts möglichst zu unterbinden. Der Einsatz von vier Äquivalenten Propan-1,3-diol resultierte in Ausbeuten von $\geq 90\%$ gegenüber einer Ausbeute von 65% bei Verwendung äquimolarer Mengen.



Schema 35: Darstellung der modifizierten Pyridinylether-Seitenketten. Reaktionsbedingungen: (a^1) Propan-1,3-diol (1 eq.), NaH, THF; (a^2) Propan-1,3-diol (4 eq.), NaH, THF, 90-97%; (b) korrespondierender Alkohol, KOtBu, THF, 93%.

Die Verbindung **276** sollte zudem ursprünglich ein Derivatisierungspunkt für weitere Inhibitoren darstellen. Dazu sollte die terminale Alkoholgruppe innerhalb einer Hoover-Stahl-Oxidation¹⁸⁵ zu einem Aldehyd oxidiert werden, um eine *Late-Stage*-Einführung des terminalen Amins zu erlauben. Die Reaktion wurde dabei mit verschiedenen Lösungsmitteln getestet (DMF, NMP). Dabei war die äußerst schlechte Löslichkeit der Verbindung **276** problematisch, sodass diese Synthesestrategie verworfen wurde.

3.3.7.1 Verschiebung der Sulfonamidgruppe

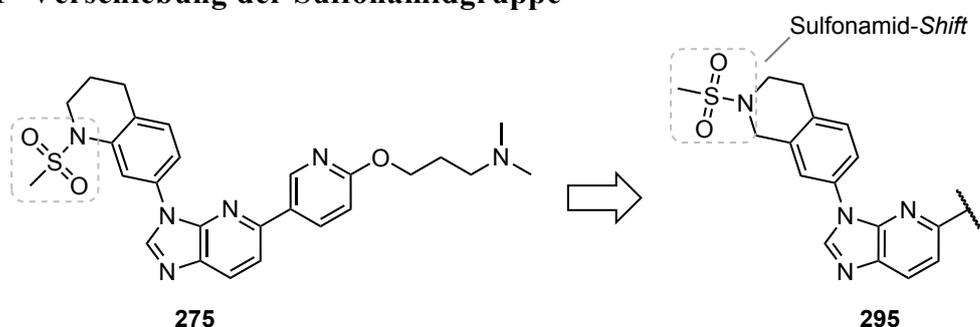
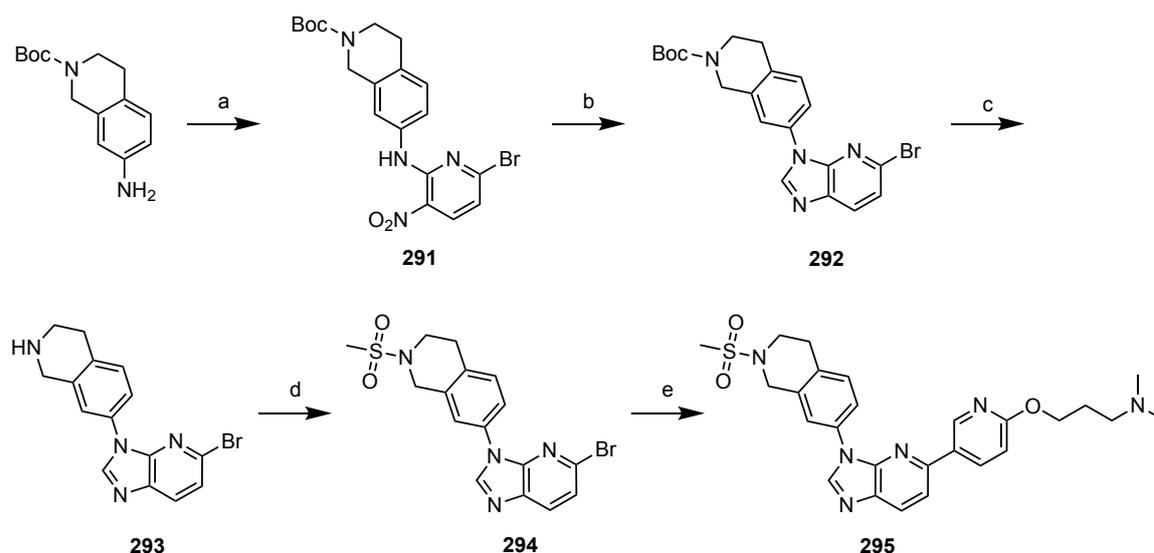


Abbildung 39: Verschiebung der Sulfonamidgruppe mit der Verbindung **295**.

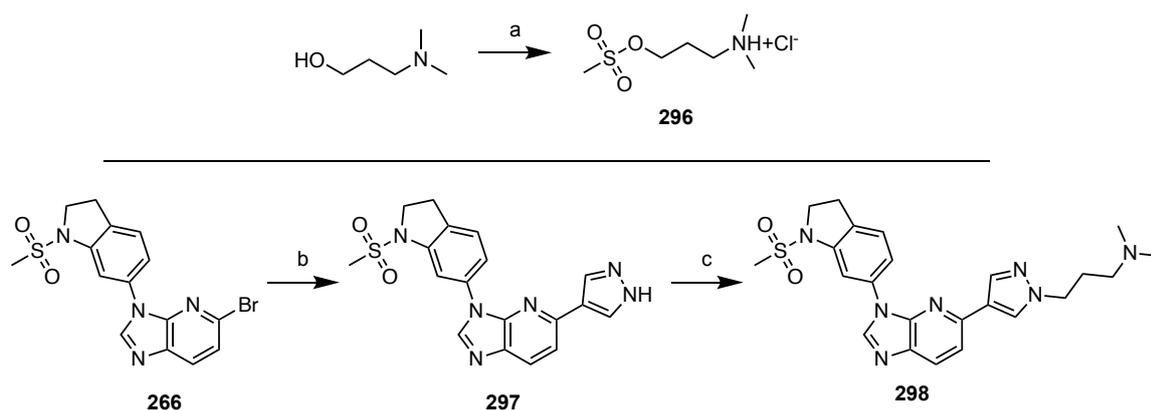
Um die Struktur-Wirkungsbeziehungen der Sulfonamid-Funktionalität weiter aufklären zu können, sollte ausgehend von dem Inhibitor **275** überprüft werden, welche Auswirkungen die Verschiebung dieser funktionellen Gruppe um eine Position haben würde (Abbildung 39). Dazu wurde das kommerziell erhältliche 2-Boc-7-Amino-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin als Startmaterial für die Synthese genutzt, um das Konstitutionsisomer **295** des Inhibitors **275** darstellen zu können (Schema 36).



Schema 36: Darstellung des Tetrahydroisochinolin-Analogons der Verbindung **275**. Reaktionsbedingungen: (a) 2,6-Dibrom-3-nitropyridin, DIPEA, EtOH, RT, 73 %, (b) 1) Zn-Pulver, NH₄Cl, MeOH, RT; 2) Triethylorthoformiat, *p*-TsOH·H₂O, Toluol, 70 °C; (c) ethanolische HCl, 50-60 °C, 50 % (über drei Stufen); (d) MsCl, Pyridin, RT, 84 %; (e) **60**, K₂CO₃, XPhos Pd G4, Wasser/Dioxan, 60 °C, 27 %.

3.3.7.2 Weitere Modifikationen an den 3*H*-Imidazo[4,5-*b*]pyridin-basierten Hemmstoffen

Ein weiteres Nebenprojekt war der Versuch, den Pyridinyl-Linker der Verbindung **272** mit einem Pyrazolring zu ersetzen. Mit der Verbindung **266** konnte innerhalb einer Suzuki-Kupplung der Pyrazol-Rest eingeführt werden, der in der darauffolgenden S_N2-Reaktion mit dem Mesylat **296** zur gewünschten Zielverbindung **298** überführt werden konnte. Das Mesylat **296** konnte einfach über eine Reaktion von 4-(Dimethylamino)-propan-1-ol und Mesylchlorid in DCM mit Anlehnung an die Vorschrift von Tsubaki *et al.* hergestellt werden.¹⁸⁶ Dabei wurde auf die Verwendung von Inertgas verzichtet und die Reaktion wurde bereits nach 20 min gestoppt, indem das ausgefallene Hydrochloridsalz des Produkts über eine Filtration gewonnen wurde.



Schema 37: Substitution des Pyridinyl-Linkers mit einem Pyrazolyl-Linker. Oben: Einführung der Ms-Gruppe am Alkohol: (a) MsCl, DCM, RT, 20 min, 90 %. Unten: (b) 4-Pyrrazolboronsäure-pinacolester, (tBu)₃Pd G3, K₃PO₄·3H₂O, Wasser/Dioxan, 70-80 %, 5 h, 80 %; (c) **296**, K₂CO₃, ACN, 71 %.

Aufgrund deutlicher Aktivitätsverluste auf der isolierten ATM-Kinase wurde dieser Ansatz nicht weiterverfolgt.

Der Inhibitor **272** aus Schema 31 konnte sowohl auf enzymatischer als auch auf zellulärer Ebene eine sehr hohe inhibitorische Aktivität zeigen. Jedoch führte diese Verbindung zu einer moderaten Stabilität im mikrosomalen Stabilitätsassay (murin) und zu einer geringeren maximalen Blutkonzentration in der Maus im Vergleich zu den Ausgangsverbindungen **110** und **240**. Es stellte sich die Frage, ob die Pharmakokinetik mithilfe einer Deuterierung¹⁸⁷ der Methylgruppen am Amin verbessert werden könnte (Abbildung 40).

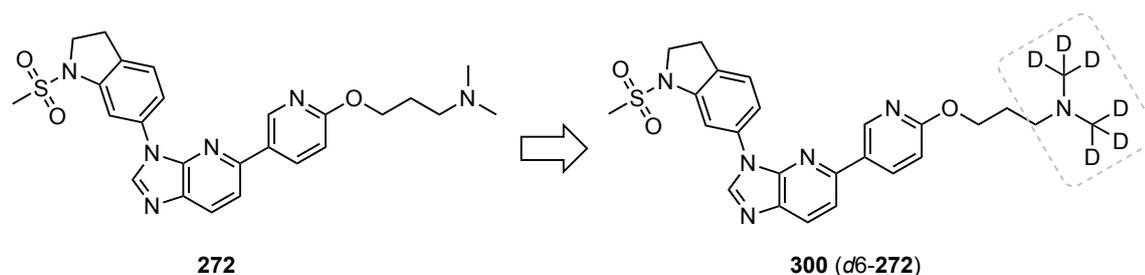
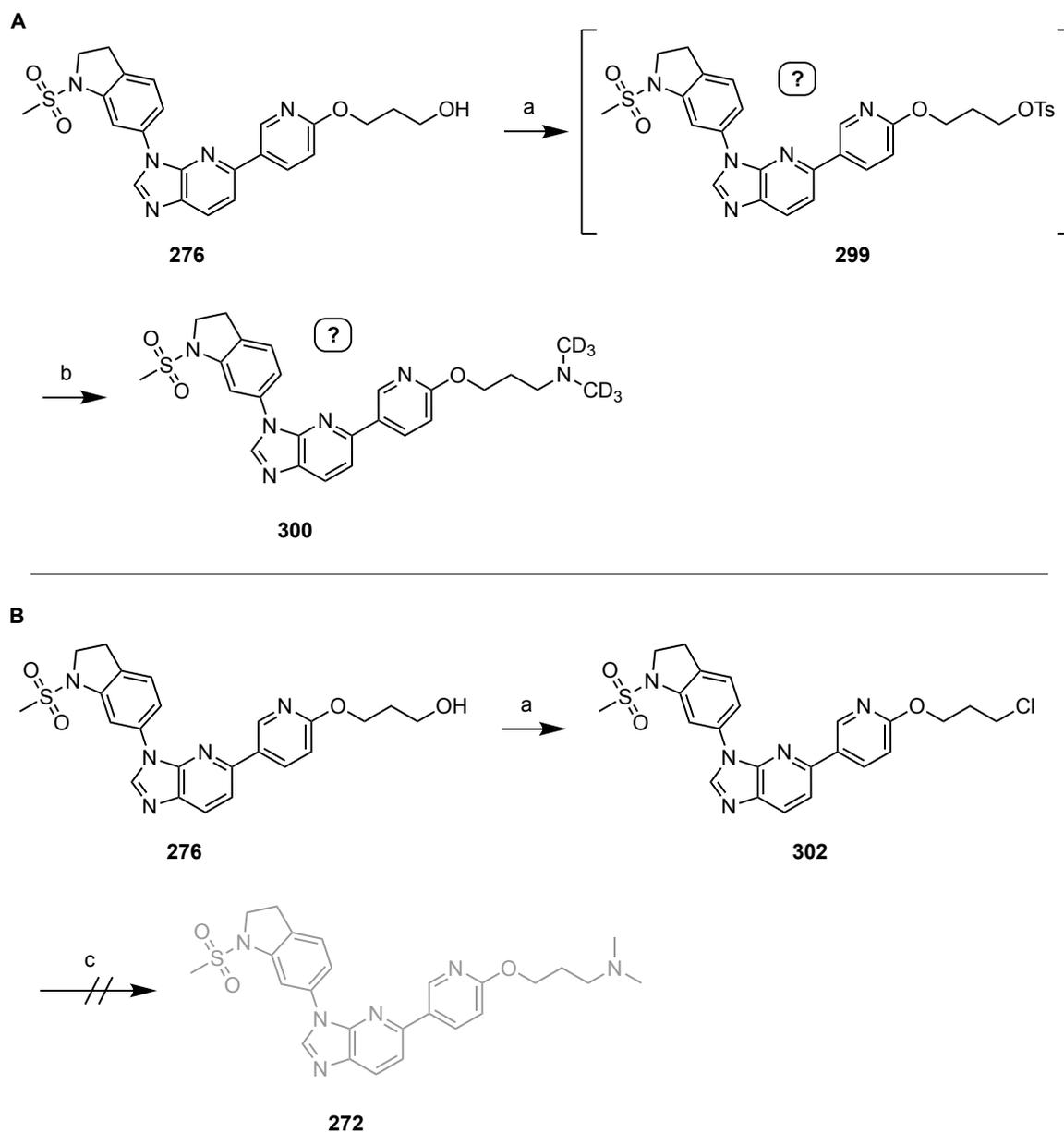


Abbildung 40: Deuterierung der Verbindung **272**.

Um dieses Derivat darstellen zu können, musste die Syntheseroute umgestellt werden, da die kommerzielle Verfügbarkeit deuterierter Edukte beschränkt war. Ausgehend von **276** sollte die terminale Hydroxygruppe tosyliert werden, um eine nukleophile Substitution mit d₆-Dimethylamin an der Position ermöglichen zu können. Da die Löslichkeit der Verbindung **276**, wie zuvor beschrieben, in organischen Lösungsmitteln äußerst gering ist, wurde das ebenfalls schwerlösliche Rohprodukt (**299**) direkt innerhalb der nächsten

Reaktion weiterverwendet, um eine säulenchromatographische Aufreinigung umgehen zu können. Ausgehend von der Zwischenverbindung **299** wurde eine Mikrowellenreaktion mit d_6 -Dimethylamin als Hydrochlorid und Triethylamin als Hilfsbase bei 85 °C durchgeführt (Schema 38).



Schema 38: A) Syntheseversuch der deuterierten Verbindung **300**. Reaktionsbedingungen: (a) TsCl, Et₃N, DMAP, DMF, 50 °C; (b) HN(CD₃)₂ als Hydrochlorid (> 5 eq), Et₃N, MeOH, 85 °C, 25 min. B) Kontrollsynthese zur Darstellung der Ausgangsverbindung **272**. (c) wie (b) nur mit HN(CH₃)₂ als Hydrochlorid.

Das Produkt **300** konnte über eine anschließende säulenchromatographische Aufreinigung gewonnen werden. Während über DC-MS die gewünschte Produktmasse detektiert werden

konnte, zeigte **300**, entgegen den Erwartungen, Änderungen zahlreicher Signale im NMR. Ein zusätzliches breites Singulett (bei 10,4 ppm in *d*₆-DMSO), welches zudem in MeOD austauschbar war und gewisse Ähnlichkeiten zum NMR der Verbindung **296** zeigte, führte zunächst zu der Vermutung, dass eine Protonierung des terminalen Amins vorliegen könnte. Ein Versuch, Kristalle der Verbindung **300** zu erzeugen, um diese röntgenkristallographisch vermessen zu können, schlug aufgrund der zu geringen Kristallgröße fehl. Sowohl die Verbindung **300** als auch die undeuterierte Variante **272** wurden innerhalb eines MS-MS-Experimentes von Dr. Christian Geibel vermessen (Abbildung 41). Dabei konnten die erwarteten exakten Massen beider Verbindungen nachgewiesen werden. Zudem wurden die Fragmentierungsmuster beider Verbindungen gemessen, die insgesamt plausibel und untereinander gleich waren. Lediglich ein zusätzliches Signal der Verbindung **300** mit $m/z = 342,1655$ konnte nicht zugeordnet werden.

Trotz der unvollständigen Strukturaufklärung wurde die Verbindung **300** im mikrosomalen Stabilitätsassay durch Mark Kudolo und auf inhibitorische Aktivität auf der isolierten ATM-Kinase getestet (unter den gleichen Bedingungen wie in Tabelle 20). Nach Inkubation der Verbindung **300** mit murinen Lebermikrosomen zeigte diese Substanz eine deutlich höhere Stabilität, wobei ca. 66 % Restsubstanz nach 120 min detektierbar waren, während bei der undeuterten Ausgangssubstanz **272** ca. 35 % nachgewiesen werden konnten (Abbildung 69). Auf der isolierten ATM-Kinase zeigte **300** jedoch einen starken und unerwarteten Aktivitätsverlust ($IC_{50}^{II} > 100$ nM). Die Synthese wurde ausgehend von **276** wiederholt und zusätzlich eine Kontrollreaktion mit undeutertem Dimethylamin und Dimethylaminhydrochlorid durchgeführt. In allen Fällen konnten die gewünschten Produktmassen gefunden werden, jedoch entsprachen die Produkte nicht der Ausgangsverbindung **272** und zeigten neben den unterschiedlichen NMR-Signalen auch unterschiedliche Signale in der HPLC. Eine genauere Analyse (NMR, DC-MS) des Zwischenprodukts **299** konnte zeigen, dass es sich nicht, wie gewünscht, um das tosylierte Derivat handelte, sondern vermutlich eine Nebenreaktion¹⁸⁸ ablief, die zur chlorierten Verbindung **302** führte. Die genaue Struktur der Verbindung **300** konnte nicht aufgeklärt werden, sodass dieser Ansatz verworfen wurde.

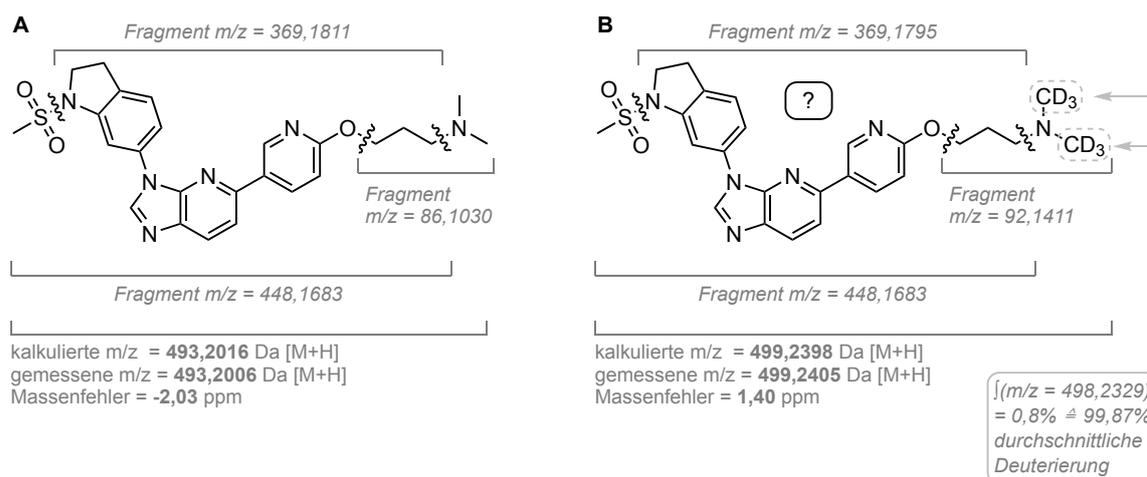
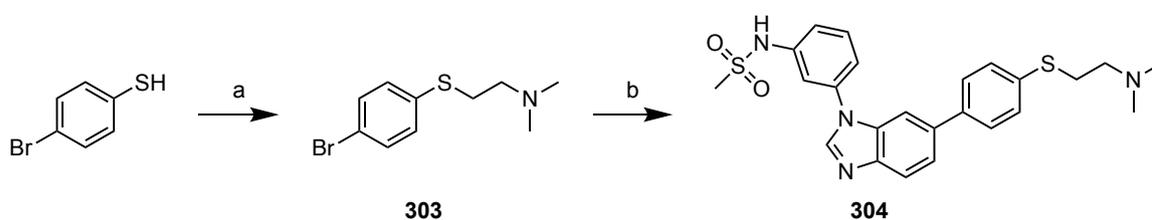


Abbildung 41: MS-MS-Versuch für die Verbindung **272** (A) und für **300** (B). Gemessene exakte Masse (MS1) und entsprechendes Fragmentierungsmuster (M2) bei $CE = 35$ V. Für die Verbindung **300** konnte ein Signal mit $m/z = 342,1655$ nicht zugeordnet werden. Der Deuterierungsgrad der Verbindung **300** wurde bestimmt, indem das Integralverhältnis zwischen $m/z = 498,2329$ (für $d5$ -**300**) und $m/z = 499,2405$ ($d6$ -**300**) berechnet wurde.¹⁸⁹ Durchgeführt von Dr. Christian Geibel, Arbeitskreis Lämmerhofer, Tübingen. Gemessen via Direktinjektion in TripleToF 5600+ Massenspektrometer mit einer TurboIonSpray Quelle. Infusion rate: $10 \mu\text{l}/\text{min}$, MS1: ESI+ mit folgenden Einstellungen: Nebulizer Gas (GS1): 30 psi , Heater Gas (GS2): 30 psi , Curtain Gas (CUR): 30 psi , Source Temperature (T): $200 \text{ }^\circ\text{C}$, Ion Source Voltage (ISVF): $+5500 \text{ V}$, Declustering Potential (DP): 70 V , Collision Energy (CE): 5 V , Collision Energy in MS2: 35 V .

3.3.7.3 Weitere Ansätze: Thioether-basierte S1-Seitenketten

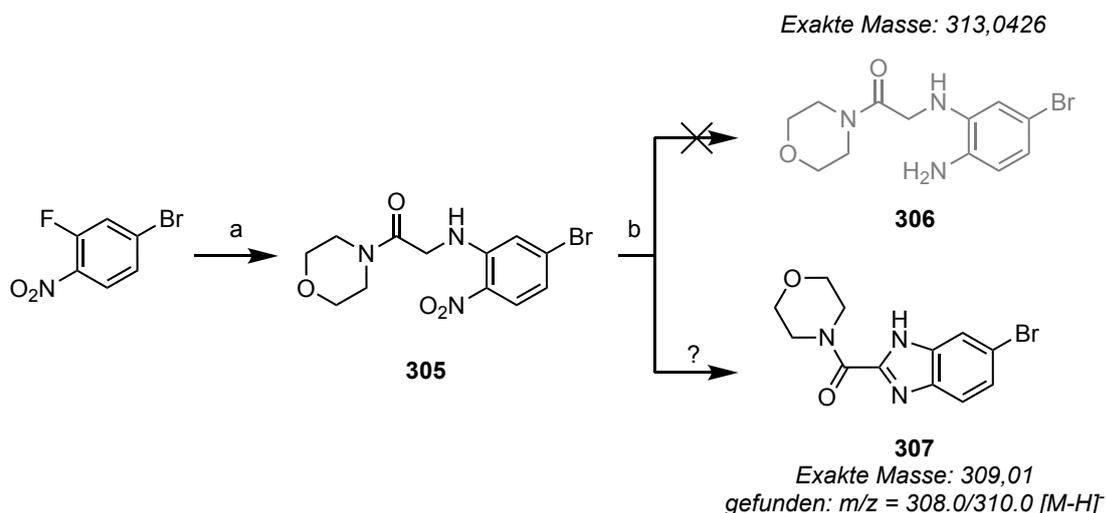
Neben den zahlreichen Varianten der **S1**-Seitenketten innerhalb der **110**-Analoge (Schema 24) wurde zusätzlich getestet, ob die Einführung einer Thioether-Seitenkette mit simultaner Verkürzung des Alkyl-Linkers zum terminalen Amin von der ATM-Kinase akzeptiert wird. Die entsprechende Verbindung wurde ausgehend von 4-Bromthiophenol über eine nukleophile Substitution und anschließender Suzuki-Kupplung synthetisiert (Schema 39). Dieser Inhibitor führte zu einem moderaten IC_{50}^I -Wert von 23 nM und brachte somit keinen Aktivitätsvorteil, sodass diese Inhibitorgruppe nicht weiterverfolgt wurde.



Schema 39: Darstellung Thioether-basierter **S1**-Seitenketten. Reaktionsbedingungen: (a) NaOH , 2-Chlor-N,N-dimethylethan-1-amin (als Hydrochlorid), EtOH , Reflux, 2 h , 91% ; (b) **126**, $\text{K}_3\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $t\text{Bu}_3\text{P Pd G3}$, Wasser/Dioxan, 83% . Durch den verkürzten Linker zwischen Amin und Thioether wird die Basizität desamins beeinflusst ($\Delta pK_s = -1,7$).¹⁷⁷

3.3.7.4 Weitere Ansätze: Alternative Reduktion der 5-Brom-2-nitroaniline

Neben den in Schema 11 beschriebenen Nitro-Reduktionen mit $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ und $\text{Zn}/\text{NH}_4\text{Cl}$ der 5-Brom-2-nitroaniline wurde innerhalb dieser Arbeit die Methode nach Lu *et al.* erprobt. Dabei wird die aromatische Nitrogruppe mit B_2Pin_2 und KOtBu in *i*PrOH reduziert.¹⁹⁰ Diese Vorschrift wurde innerhalb mehrerer Testansätze erprobt. Entgegen den Erwartungen führte diese Synthese nicht zu den gewünschten Phenylendiaminen, sondern vermutlich zu einem Ringschluss zum Benzimidazol (Schema 40). **307** wurde als einzige Verbindung isoliert, da diese über eine andere Syntheseroute in der Literatur beschrieben ist.¹⁹¹ Das vom Produkt aufgenommene $^1\text{H-NMR}$ zeigte dabei die beschriebenen Signale, jedoch wurden darüber hinaus Signale gefunden, die weder der Struktur noch einer Verunreinigung zugeordnet werden konnten, sodass keine endgültige Aussage darüber getroffen werden kann, ob es sich um das besagte Molekül handelt. Aufgrund der unerwarteten Reaktion wurde diese Methode nicht weiterverwendet. Sollte sich herausstellen, dass dieser Ansatz zum Ringschluss in Schema 40 führt, könnte dies ein interessanter Ansatz sein, um eine Metall-freie Reduktion von Nitroarenen mit anschließendem Ringschluss zu ermöglichen. Hervorzuheben ist, dass dabei die Reaktion eine Toleranz gegenüber von Arylhalogeniden zeigt (**307**), was innerhalb der zuvor besprochenen Palladium-katalysierten Methode in Schema 6 nach Zhu *et al.* nicht möglich ist.¹⁶¹



Schema 40: Nitro-Reduktion nach Lu *et al.* Reaktionsbedingungen. Reaktionsbedingungen: (a) korrespondierendes Amin, Et_3N , DMF, 65-70 °C, 80-89 %; (b) B_2Pin_2 (3,1 eq.), KOtBu (1,2 eq.), in *i*PrOH bei 70-110 °C. Die DC-MS-Analyse von (b) zeigte Massen, die einem Ringschluss zum Benzimidazol entsprechen würden.

4 Biologische Testung

Im Rahmen des Projektes wurden alle potenziellen ATM-Kinaseinhibitoren bezüglich ihrer Hemmaktivität auf enzymatischer Ebene und in vielen Fällen auf zellulärer Ebene charakterisiert. Die vielversprechendsten Kandidaten wurden auf Selektivität geprüft. Ferner wurden für ausgewählte Verbindungen *in vivo* und *in vitro Drug Metabolism and Pharmacokinetics* (DMPK) Experimente durchgeführt. Alle aufgeführten Methoden innerhalb dieses Kapitels wurden durch Dritte durchgeführt.

4.1 Enzymatische Assaysysteme

Die IC_{50} -Werte, die mit einem breiten Konzentrationsbereich und einer Maximalkonzentration von $10\ \mu\text{M}$ getestet wurden, werden auch als IC_{50}^I -Werte bezeichnet. IC_{50} -Werte, die mit einer Maximalkonzentration von $1\ \mu\text{M}$ oder $0,1\ \mu\text{M}$ gemessen wurden, werden dagegen als IC_{50}^{II} angegeben.

4.1.1 Reaction Biology Corp. ATM FRET-Assay

Dieser Enzymassay wurde bei Reaction Biology Corp. (RBC) durchgeführt und in der **Publikation I** beschrieben.^{148,192} Für die jeweiligen Inhibitoren erfolgte eine 5-Punktbestimmung beginnend mit einer Maximalkonzentration von $10\ \mu\text{M}$ und 10-fach Verdünnungen (= IC_{50}^I) oder 10-Punktbestimmung mit 3-fach Verdünnungen beginnend ab $0,1\ \mu\text{M}$ (= IC_{50}^{II}). (Referenzverbindung: **AZD0156**, 10-Punktbestimmung, 3-fach Verdünnungen beginnend ab $100\ \text{nM}$). Der FRET-Assay beinhaltet zwei Schritte. Innerhalb des ersten Schrittes wurde das Substrat p53 (Konzentration $100\ \text{nM}$) mit ATP (Konzentration: $10\ \mu\text{M}$) durch die ATM-Kinase phosphoryliert. Im zweiten Schritt erfolgte durch Reagenzienzugabe das Stoppen der Reaktion und das Detektieren des phosphorylierten p53-Proteins an Serin 15. Das resultierende FRET-Signal verhält sich proportional zum Phosphorylierungsgrad des Substrates.^{148,192}

4.1.2 HTRF-Assay bei Eurofins

Der zweite enzymatische ATM-Kinase Assay wurde bei Eurofins KinaseProfiler™ durchgeführt (Produktnummer: ITEM 14-933KP10).

Zusammenfassung der Vorgehensweise: ATM (h) wird in Assay-Puffer inkubiert, der 30 nM GST-cMyc-p53 und Mg/ATP ([ATP] = 10 µM) enthält. Die Reaktion wird durch Zugabe der Mg/ATP-Mischung eingeleitet. Nach 30 Minuten Inkubation bei Raumtemperatur wird die Reaktion durch Zugabe von EDTA-haltiger Stopplösung gestoppt. Schließlich wird der Detektionspuffer hinzugegeben, der einen d2-markierten monoklonalen Anti-GST-Antikörper und einen Europium-markierten Anti-Phospho-Ser15-Antikörper gegen phosphoryliertes p53 enthält. Die Platte wird dann im zeitaufgelösten Fluoreszenzmodus abgelesen und das homogene zeitaufgelöste Fluoreszenzsignal (HTRF) wird nach der Formel $HTRF = 10000 \times (Em665nm/Em620nm)$ bestimmt. Die ATP-Konzentration beträgt 10 µM.¹⁹³

Es wurden 5-Punktbestimmungen mit einer Maximalkonzentration von 1 µM und mit 10-fach Verdünnungen für die jeweiligen Verbindungen getestet. Um das Assaysystem von Eurofins mit dem Assay von RBC zu vergleichen, wurden die Inhibitoren **LS-48**, **110**, **112**, **225**, **238**, **189**, **239**, **226**, **144** und **AZD0156** zusätzlich ausgehend von einer Maximalkonzentration bei 0,1 µM getestet (5-Punktbestimmungen, 4-fach Verdünnungen, siehe Kapitel 4.1.3).

Die CI 95 %-Werte im Falle von Mehrfachbestimmungen sind in Kapitel 8 aufgeführt. Die Kalkulation erfolgte mit GraphPad Prism (Methode: *log(Inhibitor) vs. Response – Variable Slope, Four Parameters*) und wurde von Dr. Thales Kronenberger durchgeführt.

4.1.3 Untersuchung der Äquivalenz beider Assays

Anhand mehrerer Verbindungen, die sowohl bei Eurofins als auch bei RBC unter gleichen Bedingungen getestet wurden, sollte überprüft, ob beide Assayformate gleichwertige Ergebnisse liefern. Für beide Experimente wurde eine Maximalkonzentration von 0,1 µM gewählt. Bei RBC wurden 10-Punktbestimmungen mit 3-fach Verdünnungen (n = 1) durchgeführt. Innerhalb des KinaseProfilers wurden die entsprechenden Verbindungen über eine 5-Punktbestimmung mit 4-fach Verdünnungen (n = 2) getestet.

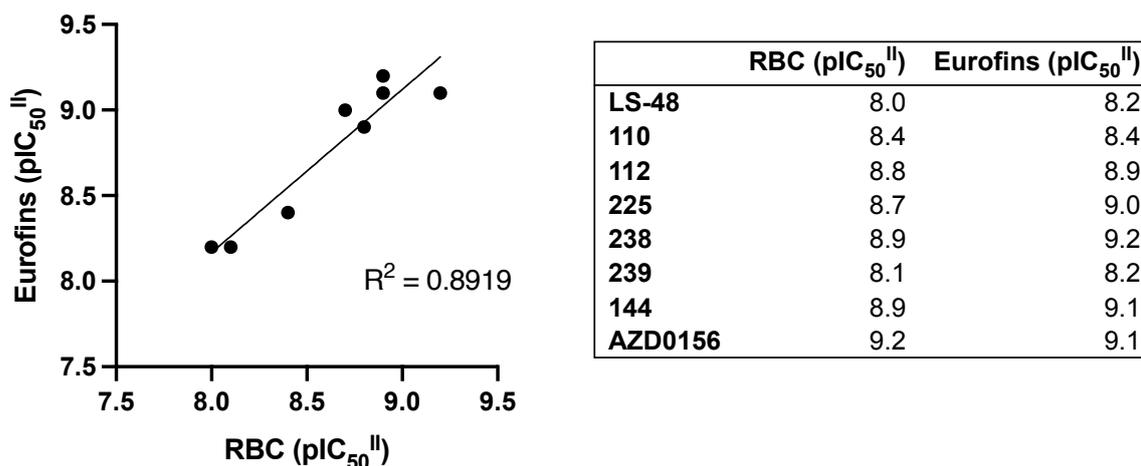


Abbildung 42: Vergleich der enzymatischen ATM-Kinaseassays bei RBC und Eurofins.

4.1.4 KinaseProfiler Selektivität

Die Selektivitäten innerhalb der PIKK-Familie und innerhalb des Minipanel wurden mit den verfügbaren Assayformaten innerhalb des KinaseProfilersTM von Eurofins durchgeführt. Dabei wurde die entsprechende *Off-Target*-Restaktivität bei einer Konzentration von 1 μM ($n = 1 - 2$) oder im Falle des Minipanel bei 1 μM und 0,1 μM ($n = 1$) gemessen. Die verwendeten Assays sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1: Eurofins KinaseProfiler Assays. Es handelt sich um radiometrische Assay, mit Ausnahme der PI3K-Assays, die HTRF-basiert sind.

Kinase	Produktnummer
Abl(h)	14-529KP10
ALK(h)	14-555KP10
Aurora-B(h)	14-835KP10
BRK(h)	14-613KP10
CaMKK2(h)	14-931KP10
CDK1/cyclinB(h)	14-450KP10
CDK2/cyclinA(h)	14-448KP10
CDKL1(h)	16-002KP10
CHK2(h)	14-347KP10
CLIK1(h)	15-026KP10
CLK4(h)	14-917KP10
DYRK1A(h)	14-951KP10
EGFR(h)	14-531KP10
Flt3(h)	14-500KP10

Kinase	Produktnummer
GRK1(h)	14-935KP10
GSK3 β (h)	14-306KP10
HIPK2(h)	14-623KP10
IKK ϵ (h)	14-926KP10
JAK3(h)	14-629KP10
KDR(h)	14-630KP10
Lck(h) activated	14-842KP10
PAK1(h)	14-927KP10
PDGFR β (h)	14-463KP10
PKC θ (h)	14-444KP10
PTK5(h)	14-693KP10
Pyk2(h)	14-567KP10
TLK1(h)	14-938KP10
PI3Kalpha (p110a/p85a)(h)*	14-602KP10
PI3Kgamma (p120gamma)(h)*	14-558KP10
PI3Kbeta (p110b/p85a)(h)*	14-603KP10
PI3Kdelta (p110d/p85a)(h)*	14-604KP10
DNA-PK(h)	14-950KP10
ATR(h)	14-953KP10
mTOR(h)	14-769KP10

**HTRF-basierte Assays*

4.1.5 DSF-Assay

Der DSF-Assay wurde von Martin Schwalm (Arbeitsgruppe von Professor Stefan Knapp, Frankfurt) vermessen. Die entsprechende Methodik wurde innerhalb der **Publikation I** veröffentlicht und wird an dieser Stelle zusammenfassend wiedergegeben: Unterschiede in den Schmelztemperaturdaten (ΔT_m^*) wurden wie in Fedorov et al. (PMID: 21960218) beschrieben gemessen.^{148,194} Gereinigte Proteine wurden in 25 mM HEPES (pH 7,5) und 500 mM NaCl gepuffert und auf einer 384-Well-Platte mit einer Proteinkonzentration von 2 μ M ($V = 10 \mu$ L) getestet. Die Inhibitoren wurden mit einem akustischen Pipetierroboter (ECHO 550, Labcyte) und einer Endkonzentration von 20 μ M hinzugegeben. SYPRO-Orange (Molecular Probes) wurde in einer Verdünnung von 1:5000 zugegeben. Die Filter für die Anregung und Emission wurden auf 465 nm bzw. 590 nm eingestellt. Die Temperatur wurde während der Messung unter Verwendung des QuantStudio5 (Applied Biosystems) von 25 °C mit 3 °C/min bis zu einer Endtemperatur von 95 °C erhöht. Die

Daten wurden mit der Boltzmann-Gleichung in der Protein Thermal Shift Software (Applied Biosystems) analysiert. Die Proben wurden in technischen Duplikaten gemessen.^{148,194} (* ΔT_m relativ zur DMSO-Negativkontrolle)

4.1.6 Mikrosomaler Stabilitätsassay

Dieses Assayformat wurde arbeitskreisintern von Mark Kudolo durchgeführt. Die entsprechende Methodik wurde innerhalb der **Publikation I** veröffentlicht und wird an dieser Stelle zusammengefasst wiedergegeben: Lebermikrosomen von männlichen Mäusen wurden von Xenotech erworben. Die Inkubation der ATM-Inhibitoren erfolgte in Gegenwart eines NADPH-regenerierenden Systems (5 mM Glucose-6-phosphat, 5 U/ml Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase und 1 mM NADP⁺). Der Inhibitor (100 μ M), das NADPH-Regenerierungssystem und 4 mM MgCl₂·6H₂O in 0,1 M Tris-Puffer (pH 7,4) wurden 5 Minuten lang bei 37 °C und 750 U/min auf einem Schüttler vorinkubiert. Die Inkubationsmischung wurde in 50 μ l Aliquots aufgeteilt und die Reaktion wurde durch Zugabe von Mauslebermikrosomen gestartet. Die Reaktion wurde an ausgewählten Zeitpunkten (0, 10, 20, 30, 60 und 120 Minuten) durch Zugabe von 100 μ l internem Standard in einer Konzentration von 50 μ M in MeCN gestoppt. Die Proben wurden 30 Sekunden lang geschüttelt und zentrifugiert (19.800 g/4 °C/15 min). Der Überstand wurde direkt für die LC-MS-Analyse verwendet. Alle Inkubationen wurden in dreifacher Ausführung durchgeführt.¹⁴⁸

4.2 Zellärere Assaysysteme

4.2.1 Zellärer *In-Cell-Western* Assay

Die Evaluation der zellären Aktivität der Inhibitoren wurde basierend auf der Methode von Guo *et al.* von Athina Moschopoulou durchgeführt, in **Publikation I** bereits veröffentlicht und wird an dieser Stelle in kürzerer Form zusammengefasst.^{138,148} Für den *In-Cell-Western* Assay wurden A549 Zellen ($1,5 \cdot 10^4$) mit 25 μ M Etoposid und den zu testenden Verbindungen in verschiedenen Konzentrationen behandelt. Nach 1 h Wirkzeit wurden die Zellen fixiert und nach dem Protokoll von Guo *et al.* gefärbt. Die Fluoreszenzbilder wurden über ein automatisiertes LI-COR Odyssey Classic System bei 700 nm (DRAQ5) und 800 nm (pKAP1) aufgenommen. Die Signalintensität wurde über die

Image Studio Lite Software quantifiziert. Die Dosis-Wirkungs-Kurven wurden mit GraphPad Prism (V 9.1.2, San Diego, CA, USA) erstellt (Einstellung: four-parameter non-linear dose response-variable slope).^{138,148}

4.2.2 Pharmakokinetik (murin)

Die pharmakokinetischen Studien wurden bei der Pharmacelsus GmbH (GBA Holding GmbH Gruppe) durchgeführt. Die Verbindungen wurden als p.o.-Formulierung (EtOH 10 %, PEG400 30 % und Phosal 50PG 60 %) mit einer Dosis von 10 mg/kg verabreicht (als *Cassette Dosing*, n = 3, Geschlecht der Mäuse: männlich, Stamm: C57BL6). Die Blutproben der Mäuse wurden aus dem Schwanz entnommen und in Li-heparin-Röhrchen gefüllt.

5 Biologische Evaluation und Diskussion

5.1 Chinolin-basierte Inhibitoren

Inhibitoren basierend auf dem 3-Methyl-1,3-dihydro-2*H*-imidazo[4,5-*c*]chinolin-2-on bilden aktuell die allgemein wichtigste Klasse an ATM-Kinasehemmern mit den meisten Vertretern in klinischen Studien.^{135,195} Weitere Inhibitoren, die in diese Klasse eingeordnet werden können, wurden innerhalb des ATM-Kinase-Projektes im Arbeitskreis Laufer entwickelt und evaluiert.^{148,149} Teilergebnisse dieser Chinolin-basierten Inhibitoren wurden bereits in „Dimitrov, T., et al. (2022). ‘Development of novel urea-based ATM kinase inhibitors with subnanomolar cellular potency and high kinome selectivity.’ *European Journal of Medicinal Chemistry* **235**: 114234.“ und innerhalb der Patentanmeldung WO2022096361 publiziert.^{148,149}

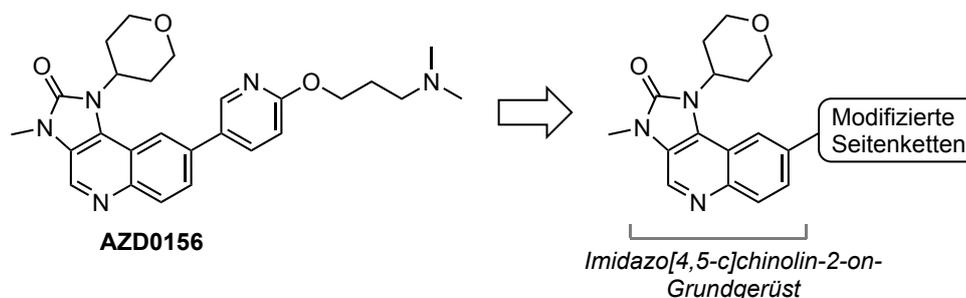
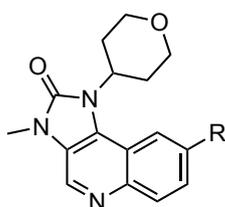


Abbildung 43: Erste Modifikationen ausgehend von dem subnanomolaren ATM-Kinase-Inhibitor **AZD0156** der Firma AstraZeneca.¹²⁹ Unter Beibehaltung des Imidazo[4,5-*c*]chinolin-2-on-Grundgerüsts als Hinge-Bindungsmotiv wurden zunächst Modifikationen an der Pyridinylether-Seitenkette durchgeführt, welche in Richtung der hydrophoben Region I, der α C-Helix und dem DLG-Motiv der Bindetasche bindet.

Bei den ersten isolierten Inhibitoren handelt es sich um Derivate der Verbindung **AZD0156** (Abbildung 43), wobei Modifikationen an der basischen Pyridinylether-Seitenkette durchgeführt wurden. Die isolierten Substanzen wurden innerhalb eines FRET-basierten Enzymassays bei der Firma Reaction Biology getestet. Beginnend mit der Verbindung **2** (Tabelle 2), welche bereits als synthetische Vorstufe für den ATM-Inhibitor von AstraZeneca **AZD0156** in der Literatur beschrieben ist¹²⁹, sollte diese zusätzlich innerhalb dieses ATM-Projektes auf die inhibitorische Aktivität auf der ATM-Kinase überprüft werden. Mit einem IC_{50} -Wert von 4 nM zeigte diese Verbindung auf dem isolierten Enzym, trotz der deutlich verkürzten Seitenkette im Vergleich zum optimierten ATM-Inhibitor **AZD0156**, eine hohe Aktivität im einstellig nanomolaren Bereich. Der Inhibitor **3**, der einen Benzylamin-Rest am Pyridinring trägt, konnte mit einem IC_{50} -Wert von 7 nM eine ähnliche Aktivität in der gleichen Größenordnung zeigen. Diese Verbindung wurde

ursprünglich als synthetischer Präkursor synthetisiert und auf die inhibitorische Aktivität auf der ATM-Kinase getestet, da der lipophile terminale Benzyl-Rest als potenziell interessante Seitenkette erschien, um die ATM-Bindetasche in Richtung der hydrophoben Region I (HRI) zu adressieren.

Tabelle 2: Modifikationen der terminalen Pyridinyl-Seitenkette.



Verbindung	R =	ATM IC ₅₀ [nM] ^a
2 ¹²⁹		4
3		7
4		37
5		3
6		50
7		95

^aFRET-basierter Aktivitätsassay, durchgeführt von Reaction Biology Corp. mit 5 Konzentrationen und 10-fach Verdünnung innerhalb einer Verdünnungsreihe beginnend mit 10 μ M, $n = 1$. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

Die meisten der zu Beginn dieser Arbeit in der Literatur publizierten und intern entwickelten Chinolin-basierten Inhibitoren trugen ein terminales Amin (vgl. Abbildung 46), sodass es sich insgesamt um basische Verbindungen handelte.¹⁴⁸ Mit der Verbindung **5** (Tabelle 2) sollte ein neutraler Hemmstoff dargestellt werden, der mithilfe des Diols zwei H-Brücken (im Sinne von Ion-Dipol-Wechselwirkungen) in Richtung der Aspartat-reichen Region der ATM-Bindetasche ausbilden sollte (Abbildung 44). Dieser Inhibitor konnte

eine hohe Potenz mit einem Hemmwert von 3 nM auf der ATM-Kinase zeigen, ist jedoch den basischen ATM-Kinasehemmstoffen, die grundsätzlich subnanomolare IC₅₀-Werte aufweisen konnten, etwas unterlegen.^{129,148}

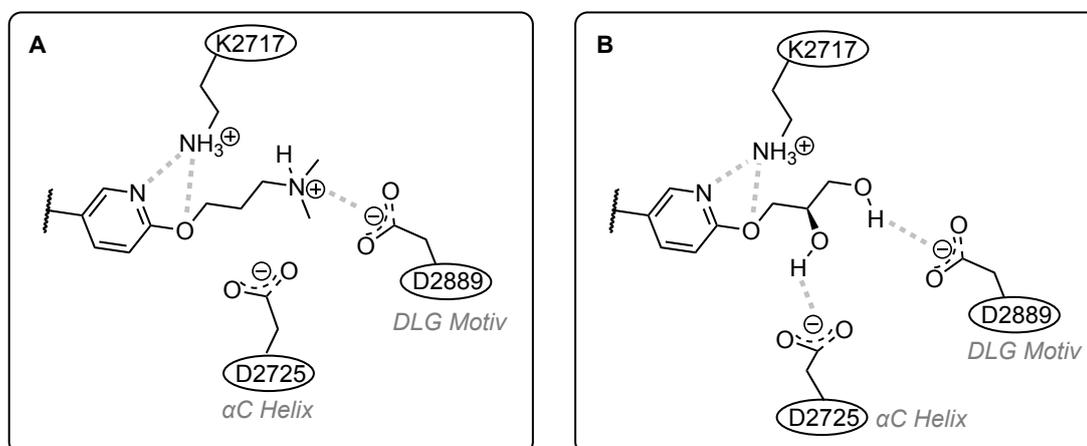


Abbildung 44: Design-Konzept für **5**: Links (A): schematischer Ausschnitt des *in silico* Bindemodus des ATM-Inhibitors **AZD0156** von AstraZeneca.¹⁴⁸ Rechts (B): angestrebter Bindemodus der Verbindung **5**.

Neben **5** wurde auch die Hemmaktivität der Ketal-Vorstufe **4** vermessen (Tabelle 2). Gegenüber dem Diol **4** zeigte diese mit einem IC₅₀-Wert von 37 nM eine deutlich geringere Potenz. Dies geht vermutlich mit der zu hohen Lipophilie einher, welche unvorteilhaft für die recht polare Aspartat-reiche Region der ATM-Bindetasche sein könnte.

Die Verbindung **FM-647** von AstraZeneca stellt einen ATM-Inhibitor dar, der sich aus Strukturelementen der Verbindungen **AZD0156** und **AZ31** zusammensetzt (Abbildung 15).^{129,142} Ausgehend von **FM-647** sollte überprüft werden, ob ein bioisosterer Austausch des Pyridinyl-Linkers mit einem in etwa gleich langem Alkin durchgeführt werden konnte. Die entsprechende Verbindung **7** führte jedoch mit einem IC₅₀-Wert von 95 nM zu einem deutlichen Aktivitätsabfall. Zudem wurde auch die Aktivität der nicht-methylierten Vorstufe **6** evaluiert, welche mit 50 nM eine etwas effektivere Hemmung zeigen konnte. Dieser Ansatz wurde aufgrund des deutlichen Aktivitätsrückgangs dieser Strukturklasse nicht weiterverfolgt.

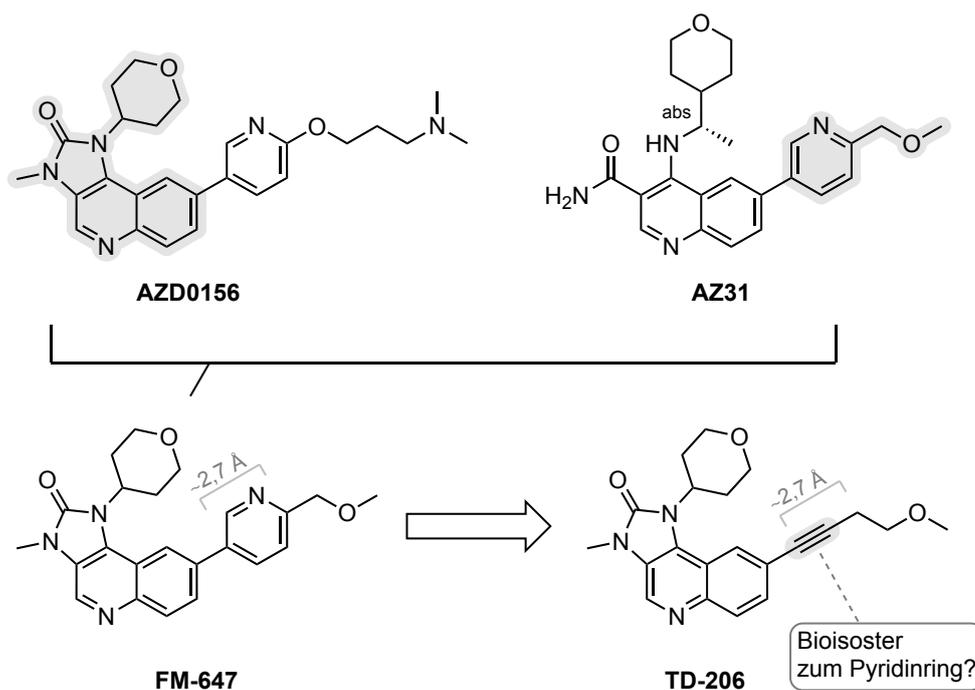


Abbildung 45: Bioisosterer Austausch des Pyridinyl-Linkers aus **FM-647** mit einem Alkin. (Die Verbindung **FM-647** wurde von AstraZeneca publiziert¹²⁹ und zeigte unter den gleichen Assaybedingungen, wie in Tabelle 2 beschrieben, einen IC_{50} -Wert von 1,2 nM.)

Innerhalb des ATM-Projektes im Arbeitskreis von Prof. Stefan Laufer wurde der Harnstoff-basierte Inhibitor **FM-638** (durch Dr. Michael Forster, siehe Abbildung 46) isoliert, der im *in silico* Model einen vorteilhafteren Bindungsmodus gegenüber der Pyridinylether-Seitenkette der Verbindung **AZD0156** zeigen konnte, da die Harnstoffgruppe in der Lage war, zusätzliche H-Brückenbindungen zum Aspartat (D2725) der α C-Helix aufzubauen. Die Ausgangsverbindung **AZD0156** von AstraZeneca führte lediglich zu einer über den Pyridinylether vermittelte H-Brücke in Richtung des Lysins 2717 (Abbildung 44, links).¹⁴⁸ Ein großer Nachteil der Harnstoff-basierten Verbindung **FM-638** war jedoch die extrem verringerte Löslichkeit in PBS-Puffer mit 36 μ M im Gegensatz zu 2970 μ M für die Referenzverbindung **AZD0156** (bei pH = 7,4), sodass es ein zentrales Ziel war, die Löslichkeit dieser Inhibitorgruppe zu verbessern. Dies konnte mit dem Inhibitor **CA-053** erreicht werden, indem die Tetrahydropyran-Seitenkette (THP) mit einem Methoxyethylen-Rest substituiert wurde. Der Inhibitor **CA-053** erreichte eine Löslichkeit von 1570 μ M und ist somit über 40-fach besser löslich als die Ausgangsverbindung **FM-638** (Abbildung 46).¹⁴⁸

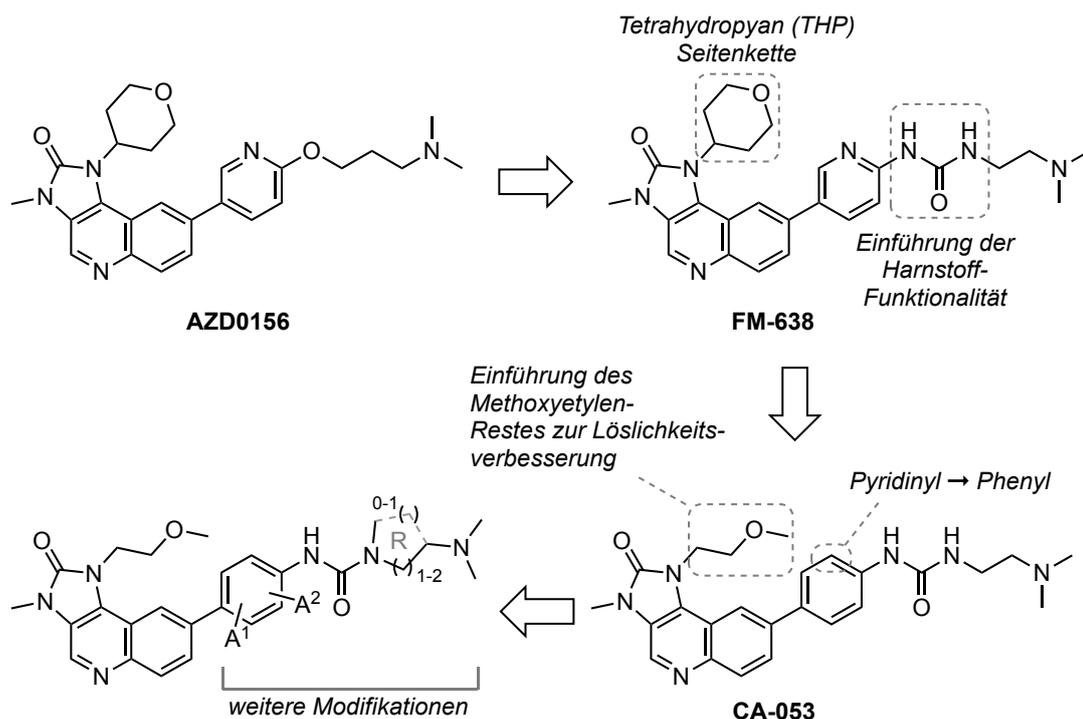


Abbildung 46: Zusammenfassender Ausschnitt aus der Publikation I.¹⁴⁸ Der Inhibitor **FM-638** wurde innerhalb des ATM-Projektes von Dr. Forster dargestellt. Die zunächst schlechte Löslichkeit dieser Harnstoff-basierten Inhibitor-Klasse konnte mit der Substitution der THP-Seitenkette in **FM-638** durch den Methoxyethylen-Rest in **CA-053** erheblich verbessert werden (isoliert von Cetin Anli). Dagegen hatte die Substitution des Pyridinyl- mit einem Phenyl-Linker keine signifikanten Auswirkungen auf die Löslichkeit. Sowohl **AZD0156** als auch **FM-638** und **CA-053** zeigen unter den Assaybedingungen in Tabelle 3 subnanomolare IC_{50} -Werte. Ausgehend von **CA-053** wurden in dieser Arbeit weitere Modifikationen an der basischen Phenylharnstoff-Seitenkette durchgeführt, um weitere SARs zu evaluieren.¹⁴⁸ A = Substituenten am Phenyl-Linker, R = Rigidisierungsstrategien bzw. NH-Maskierung.

Ausgehend von der Leitstruktur **CA-053** sollten Struktur-Wirkungsbeziehungen (SAR) der Harnstoff-Seitenkette ermittelt werden (Abbildung 46), wobei zunächst diverse Substitutionsmuster am Aryl-Linker zwischen der Harnstoff-Funktionalität und dem Hinge-Bindungsmotiv erprobt wurden. Dabei kristallisierte sich heraus, dass vor allem kleinere Fluorsubstituenten von der Bindetasche akzeptiert werden, wohingegen größere, wie der Chlorsubstituent in **14** oder der Methylsubstituent in **15**, eine signifikante Verschlechterung der Hemmwerte verursachten (Tabelle 3). Aufgrund dieser Ergebnisse wurde abgeleitet, dass weitere Modifikationen des Phenyl-Linkers nicht zielführend sein würden, da insgesamt alle Substituenten jenseits der Größe eines Fluoratoms zu Aktivitätseinbußen führten.¹⁴⁸

Tabelle 3: Modifikationen der Harnstoff-Seitenkette.

Verbindung	R =	ATM IC ₅₀ [nM] ^a
14		32
15		37
20		1,6
21		4
22		7
23		945

^aFRET-basierter Aktivitätsassay, durchgeführt von Reaction Biology Corp. mit 5 Konzentrationen und 10-fach Verdünnungen innerhalb einer Verdünnungsreihe beginnend mit 10 μ M, n = 1. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

Modifikationen am terminalen *N*-(2-(Dimethylamino)ethyl)harnstoff-Rest sollten klären, welche Auswirkungen eine einseitige Maskierung der NH-Funktion des Harnstoffes in **20** haben würde und ob eine Rigidisierung der Seitenkette möglich ist (**21** bis **23**, Tabelle 3). Betrachtet man den *N*-methylierten Inhibitor **20**, so zeigte sich eine leichte Verschlechterung der Hemmung in dem nanomolaren Bereich, wohingegen die Leitstruktur **CA-053** im subnanomolaren Bereich lag. Die Rigidisierungsstrategien in den Inhibitoren **21** bis **23** führten zu äußerst interessanten Ergebnissen: Während der Azetidin und Pyrrolidinring in **21** und **22** mit einstellig nanomolaren Hemmwerten eine hohe Potenz

aufwiesen, zeigte der sterisch anspruchsvollere Piperidinring in **23** einen substantiellen Aktivitätsverlust. Insgesamt wurde die Einführung der Ringstrukturen bzw. die NH-Maskierung als nicht zielführend erachtet, da für alle Inhibitoren im Vergleich zu **CA-053** ein Aktivitätsabfall resultierte.

Weitere Ergebnisse bezüglich dieser Substanzklasse sind in der Publikation „Dimitrov, T., et al. (2022). ‘Development of novel urea-based ATM kinase inhibitors with subnanomolar cellular potency and high kinome selectivity.’ *European Journal of Medicinal Chemistry* **235**: 114234.“ zu finden. Die weiteren dort aufgeführten Inhibitoren wurden von Cetin Anli und Dr. Michael Forster dargestellt.

5.2 Azaindol-basierte ATM-Kinaseinhibitoren

Neben den Chinolin-basierten ATM-Kinasehemmstoffen war eines der initialen Ziele innerhalb dieser Arbeit, Inhibitoren zu entwickeln, die eine zweite H-Brücke zur *Hinge*-Region der Kinase aufbauen sollten (Abbildung 47).

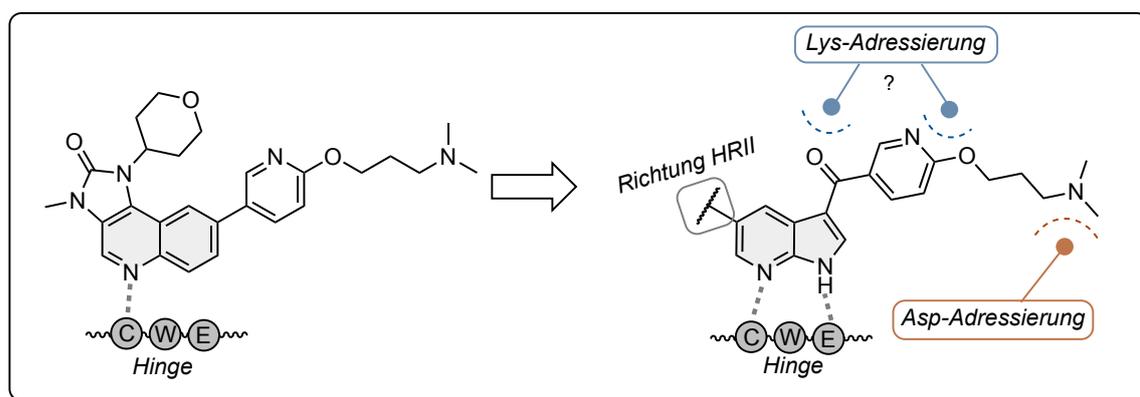
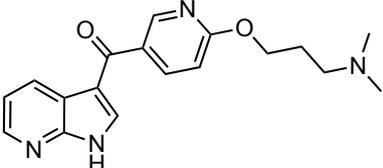
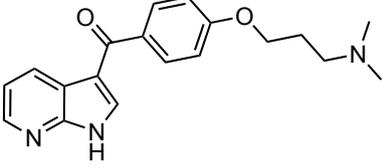
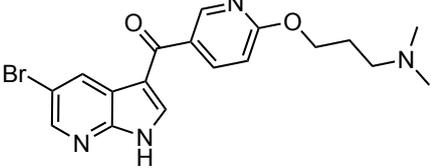
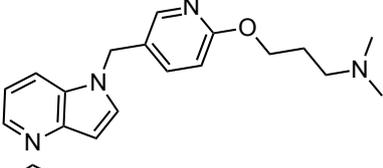
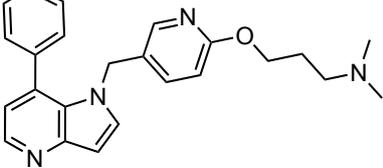
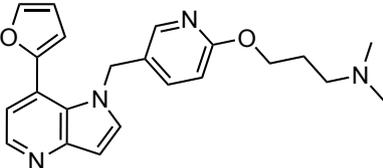


Abbildung 47: Ursprüngliches Design-Konzept ausgehend von **AZD0156** (links), um die *Hinge*-Region der ATM-Kinase mit einer zusätzlichen H-Brücke ausgehend vom NH der 7-Azaindol-Teilstruktur zu adressieren.

Aufgrund der problematischen Realisierung einiger Konzepte hinsichtlich synthetischer Limitierungen (siehe Kapitel 3.2) wurden lediglich strukturell reduzierte bzw. vereinfachte Varianten der Hemmstoffe isoliert (Tabelle 4, **39** bis **42**). Diese Inhibitoren tragen neben dem 7-Azaindol als *Hinge*-Bindungsmotiv und Grundgerüst die hochspezifische Pyridinylether-Seitenkette¹²⁹, welche in Richtung der *Backpocket* binden soll (vergleiche Abbildung 44).¹⁴⁸ Insgesamt war jedoch nicht klar, ob eine äquivalente Bindung dieser Seitenkette in Kombination mit dem 7-Azaindol-*Hinge*-Bindungsmotiv erfolgen kann, da sich neben der Geometrie des 7-Azaindols (durch den Pyrrolring), auch aufgrund des

synthesebedingten Carbonyl-Linkers, die Position der Pyridinylether-Seitenkette insgesamt signifikant ändert (Abbildung 47). Betrachtet man die ersten Verbindungen **39** und **40** (Tabelle 4), bei denen sich lediglich der Linker zwischen dem Ether und der Carbonyl-Funktion unterscheidet (Pyridin-2-yl vs. Phenyl), so war mit diesen Inhibitoren kaum bis keine messbare Hemmung der ATM-Kinase erzielbar.

Tabelle 4: 7-Azaindol- und 4-Azaindol-basierte Inhibitoren.

Verbindung	Struktur	ATM IC ₅₀ [nM] ^a
39		9800
40		> 10 000
42		247
50		> 10 000
56		> 10 000
57		> 10 000

^aFRET-basierter Aktivitätsassay, durchgeführt von Reaction Biology Corp. mit 5 Konzentrationen und 10-fach Verdünnungen innerhalb einer Verdünnungsreihe beginnend mit 10 μM, n = 1. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

Interessanterweise zeigte die Verbindung **42**, die verglichen mit **39** einen zusätzlichen Bromsubstituenten an Position 5 des Azaindols trägt, eine erheblich bessere Hemmung der ATM-Kinase. Die Hypothese hierbei lautet, dass der Bromsubstituent die hydrophobe

Region II (HRII) der Kinase okkupieren könnte, während es den anderen beiden Verbindungen gänzlich an Resten fehlt, die in diese Richtung der Bindetasche ragen. Neben den 7-Azaindol-basierten Inhibitoren wurden auch 4-Azaindole dargestellt (Tabelle 4), die einen Methylen-Linker anstatt eines Carbonyl-Linkers trugen. Alle isolierten Verbindungen in dieser Reihe wiesen jedoch keinerlei Inhibition der ATM-Kinase auf, sodass diese Substanzklasse nicht weiterverfolgt wurde.

5.3 Inhibitoren auf Basis des Benzimidazol *Hinge*-Bindungsmotivs

Teilergebnisse der Benzimidazol-basierten Inhibitoren wurden in „*Dimitrov, T. et al. Design and Optimization of Novel Benzimidazole- and Imidazo[4,5-b]pyridine-Based ATM Kinase Inhibitors with Subnanomolar Activities. Journal of Medicinal Chemistry 2023*“ publiziert. Zudem erfolgte eine Patentanmeldung beim Europäischen Patentamt am 22.03.2023 (Application number: EP23163492).

In der Publikation von Guo *et al.*, in der ein zellulärer *In-Cell-Western* (ICW) Assay für *High-throughput Screenings* (HTS) vorgestellt wurde, zeigte der PLK1-Inhibitor **SJ000573017** (Abbildung 48) eine signifikante *Off-Target*-Aktivität gegenüber der ATM-Kinase mit einem zellulären IC₅₀-Wert von 0,48 µM.^{138,196} Diese Erkenntnis wurde genutzt, um Inhibitoren mit dem gleichen Benzimidazol-Motiv zu entwerfen, ohne jedoch die Substituenten der Verbindung **SJ000573017** zu übernehmen, da diese als nicht optimiert in Bezug auf die ATM-Kinase angesehen wurden. Es wurde angenommen, dass das Benzimidazol-Motiv eine äquivalente Bindung an die *Hinge* aufbauen kann, wie es für zahlreiche Chinolin-basierte Inhibitoren bereits postuliert wurde.^{54,129,148} Um diese Hypothese zu überprüfen, wurden erste *Proof-of-Concept*-Inhibitoren ausgehend vom Benzimidazol-Grundgerüst mit zwei grundlegenden Modifikationen synthetisiert: Zunächst sollte ein unspezifischer Rest an Position 1 des Imidazols installiert werden. Dieser soll in Richtung der hydrophoben Region II bzw. der Zuckertasche der ATP-Bindetasche binden (**S2**-Seitenkette, Abbildung 48) und zudem durch die *N1*-Substitution am Imidazolring eine unerwünschte Tautomerie eines unsubstituierten Benzimidazols verhindern, um somit die H-Brücken-Akzeptor-Funktion des *N3*-Stickstoffes am Imidazol zu garantieren. Dafür wurde zunächst ein Phenyl- und ein Cyclohexyl-Rest eingeführt, wobei die synthetischen Bausteine aus einem vorherigen Projekt¹⁶⁴ bereits als Edukte zur Verfügung standen.

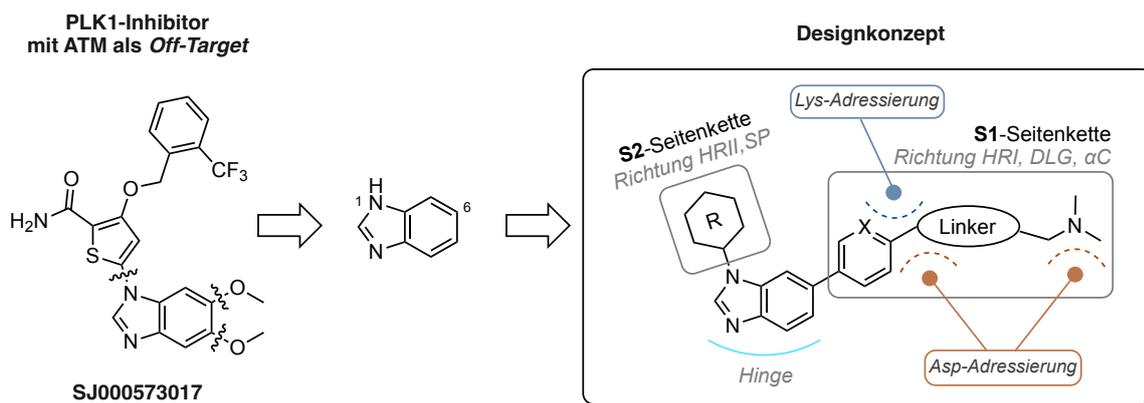


Abbildung 48: Design-Konzept der ersten Proof-of-Concept-Inhibitoren. An der Benzimidazol-Grundstruktur wurde ein unspezifischer lipophiler Rest „R“ (S2-Seitenkette) installiert, der später optimiert wurde und sowohl in Richtung der hydrophoben Region I als auch angrenzend an der Zuckertasche (Sugar pocket, SP) binden sollte. Zudem wurden bekannte hochspezifische Seitenketten S1 eingeführt, die im *in silico* Modell verschiedene Wechselwirkungen in Richtung des katalytischen Lysins (K2717) und der Aspartat-reichen Region der Backpocket eingehen können, welche die hydrophobe Region I der ATM-Kinase umgeben (vergleiche Abbildung 6).

Auf der anderen Seite sollten in Position 6 des Benzimidazolrings bereits bekannte Reste installiert werden, die hochspezifisch in Richtung der Backpocket binden können (S1-Seitenkette). Der erste Rest ist dabei die *N,N*-Dimethyl-3-(pyridin-2-yloxy)propan-1-amin-Seitenkette, die bereits von AstraZeneca beschrieben wurde.¹²⁹

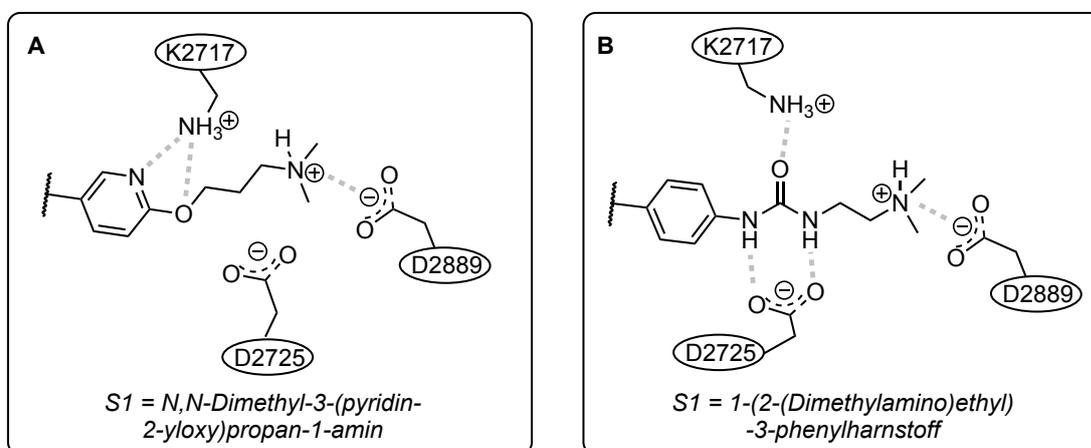


Abbildung 49: Schematische Wechselwirkungen der beiden S1-Seitenketten. Die Seitenkette in Abb. A wurde von AstraZeneca beschrieben, wohingegen die Seitenkette in Abb. B innerhalb der Chinolin-basierten Inhibitoren im Arbeitskreis von Prof. Stefan Laufer entwickelt wurde (siehe Kapitel 5.1).^{129,148}

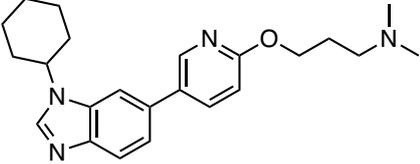
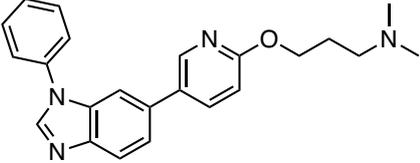
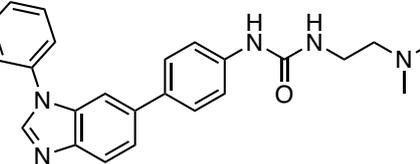
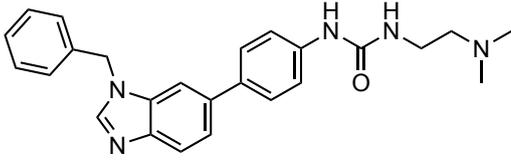
Dabei fungierte der Pyridinring zusammen mit der Ether-Funktion im *in silico* Modell als H-Brückenakzeptor gegenüber dem Lysin K2717, während das terminale Amin in protonierter Form eine ionische Wechselwirkung innerhalb der Aspartat-reichen Region der Bindetasche aufbauen konnte (Abbildung 49).¹⁴⁸ Als zweite Seitenkette wurde der 1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-phenylharnstoff-Rest eingesetzt (welcher bereits im Kapitel

5.1 im Rahmen der Chinolin-basierten Inhibitoren besprochen wurde). Dieser hat den Vorteil, dass die Harnstoff-Funktion über die NH-Gruppen potenziell zusätzliche Wasserstoffbrückenbindungen in Richtung D2525 aufbauen kann (Abbildung 49).¹⁴⁸

Die isolierten Inhibitoren wurden (äquivalent zu den Inhibitoren aus den vorherigen Kapiteln) innerhalb eines FRET-basierten Enzymassays bei der Firma Reaction Biology getestet, der in den folgenden Kapiteln als „primärer Assay“ (IC_{50}^I) bezeichnet wird.

Betrachtet man die ersten synthetisierten Inhibitoren **58** bis **LS-13** in Tabelle 5, so zeigte die deutlich flexiblere Cyclohexyl-Seitenkette in **58** mit einem IC_{50}^I von 283 nM die geringste Aktivität. Die beiden Inhibitoren **59** und **LS-13**, die jeweils unterschiedliche S1-Seitenketten tragen, führten verglichen mit **58** zu einer höheren und untereinander ähnlichen Aktivität. Ausgehend von den ersten Ergebnissen wurde die Harnstoff-basierte Seitenkette aufgrund der einfachen Synthese und der einfachen Derivatisierbarkeit für die Entwicklung weiterer Inhibitoren gewählt.

Tabelle 5. Erste Inhibitoren basierend auf dem Benzimidazol-Grundgerüst.

Verbindung	Struktur	ATM IC_{50}^I [nM] ^a
58		283
59		66
LS-13*		60
LS-23*		2026

Verbindung	Struktur	ATM IC ₅₀ ^I [nM] ^a
66		1252
67		> 10 000
68		> 10 000
114		60

^aFRET-basierter ATM-Kinase-Aktivitätsassay, durchgeführt von Reaction Biology Corp. mit 5 Konzentrationen und 10-fach Verdünnung innerhalb einer Verdünnungsreihe beginnend mit 10 μ M, $n = 1$. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.) *Inhibitoren mit dem Kürzel „LS“ wurden innerhalb der Masterarbeit von Lennart Seidel dargestellt, welche unter meiner Mitbetreuung gefertigt wurden.¹⁶⁵

Der *in silico* Bindungsmodus der Verbindung **LS-13** ist in Abbildung 50 dargestellt. Dabei zeigte vor allem der **S1**-Rest zahlreiche Wechselwirkungen und bildete ausgehend vom Harnstoff eine H-Brücke gegenüber dem Lysin (K2717) und parallel zum Aspartat (D2725) aus, wohingegen das terminale Amin eine attraktive ionische Wechselwirkung zum Aspartat D2889 des DLG-Motivs aufbauen konnte. Neben der Verbindung **LS-13** sollte auch die Positionierung des Phenyl-Restes überprüft werden. Dazu wurde dieser Rest mit einem Benzyl-Rest in **LS-23** substituiert (Tabelle 5). Der eingeführte CH₂-Spacer zwischen dem Hinge-Bindungsmotiv und der **S1**-Seitenkette führte zu einem erheblichen Aktivitätsverlust (IC₅₀^I > 2 μ M), sodass dieser Ansatz innerhalb des Projektes nicht weiterverfolgt wurde. Zudem wurde die Bedeutung des Harnstoffs als H-Brücken-Donor (HBD) überprüft, indem die Stickstoffe in den Verbindungen **66** und **67** N-methyliert wurden (Tabelle 5). Dabei ist deutlich ersichtlich, dass eine einfache Methylierung bei der Verbindung **66** nur äußerst schlecht toleriert wurde, wohingegen die doppelte Methylierung

im Falle von **67** zu keiner messbaren Aktivität innerhalb des Assays führte. Spätere Inhibitoren konnten zeigen (siehe Tabelle 14 und Tabelle 15), dass nicht unbedingt die Absenz der H-Brücken-Donoren für diesen Aktivitätsabfall ursächlich ist.

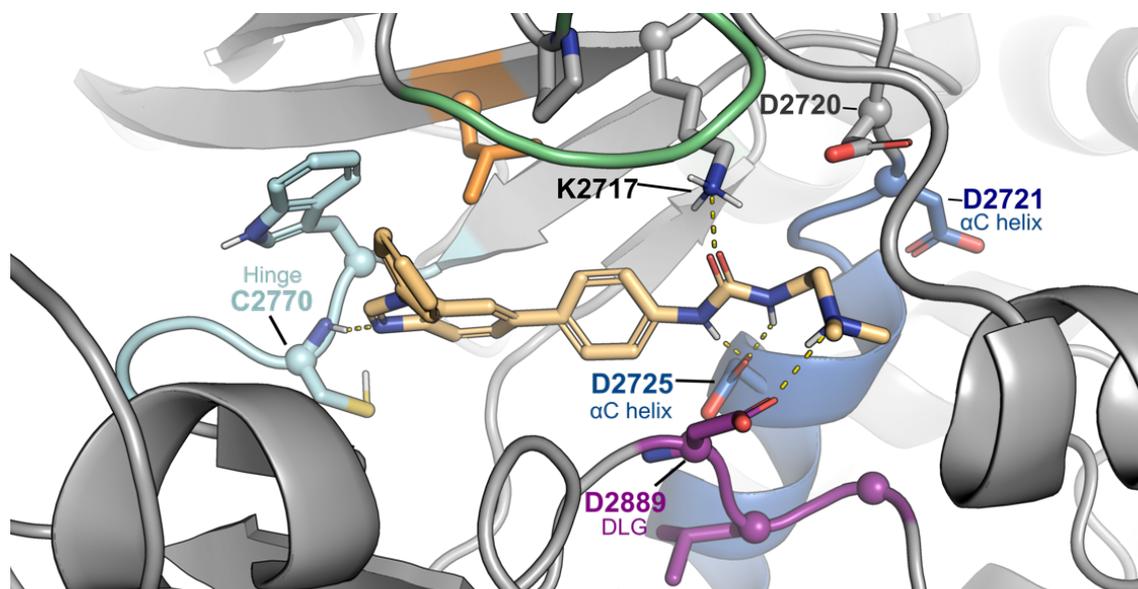


Abbildung 50: Bindungsmodus der Verbindung **LS-13** (beige). Die Erstellung des Modells wurde innerhalb der Publikation I¹⁴⁸ beschrieben und von Thales Kronenberger durchgeführt. Türkis: Hinge-Bindungsregion, orange: Gatekeeper-Aminosäure (L2767), grün: G-rich Loop, blau: α -C-Helix, violett: DLG-Motiv.²² Visualisierung mit PyMol.⁷²

Eine Möglichkeit könnte eine unvorteilhafte *cis,cis*-Konformation des *N*-methylierten Harnstoffs darstellen.¹⁹⁷ Dies konnte retrospektiv in einem *in silico* Experiment bestätigt werden. Dazu wurde zunächst eine Simulation mit dem MMFFs-Algorithmus¹⁹⁸ durchgeführt, die eine Konformationsänderung zeigte. Zudem wurde mit dem „QM Conformer and Tautomer Predictor“ ein zweites *in silico* Experiment von Dr. Thales Kronenberger durchgeführt, dessen Ergebnis in Abbildung 51 aufgeführt ist. Dabei zeigte die Verbindung **LS-13** die angestrebte *trans,trans*-Konformation, die in Abbildung 50 zu sehen ist, wohingegen die Verbindung **67** primär in der ungünstigen *cis,cis*-Konformation vorlag.

Die Rigidisierungsstrategie, welche in der Verbindung **68** umgesetzt wurde, führte ebenfalls zu einem kompletten Aktivitätsverlust. Dabei könnte gegebenenfalls eine Interaktion mit den Aspartat-Resten der Bindedomäne nicht mehr möglich sein. Zudem könnten ungünstige lipophile Interaktionen eine Rolle spielen.

Als letzter Vertreter in dieser Reihe wurde **114** synthetisiert. Mit den drei angebrachten Methoxygruppen sollte überprüft werden, ob es zu einem Aktivitätsabfall aufgrund

sterischer Einschränkungen in der Bindetasche kommt. Da dieser Inhibitor *de facto* die gleiche Aktivität verglichen mit der Mutterverbindung **LS-13** aufwies, folgten zahlreiche Modifikationen an dem Phenyl-Rest der **S2**-Seitenkette.

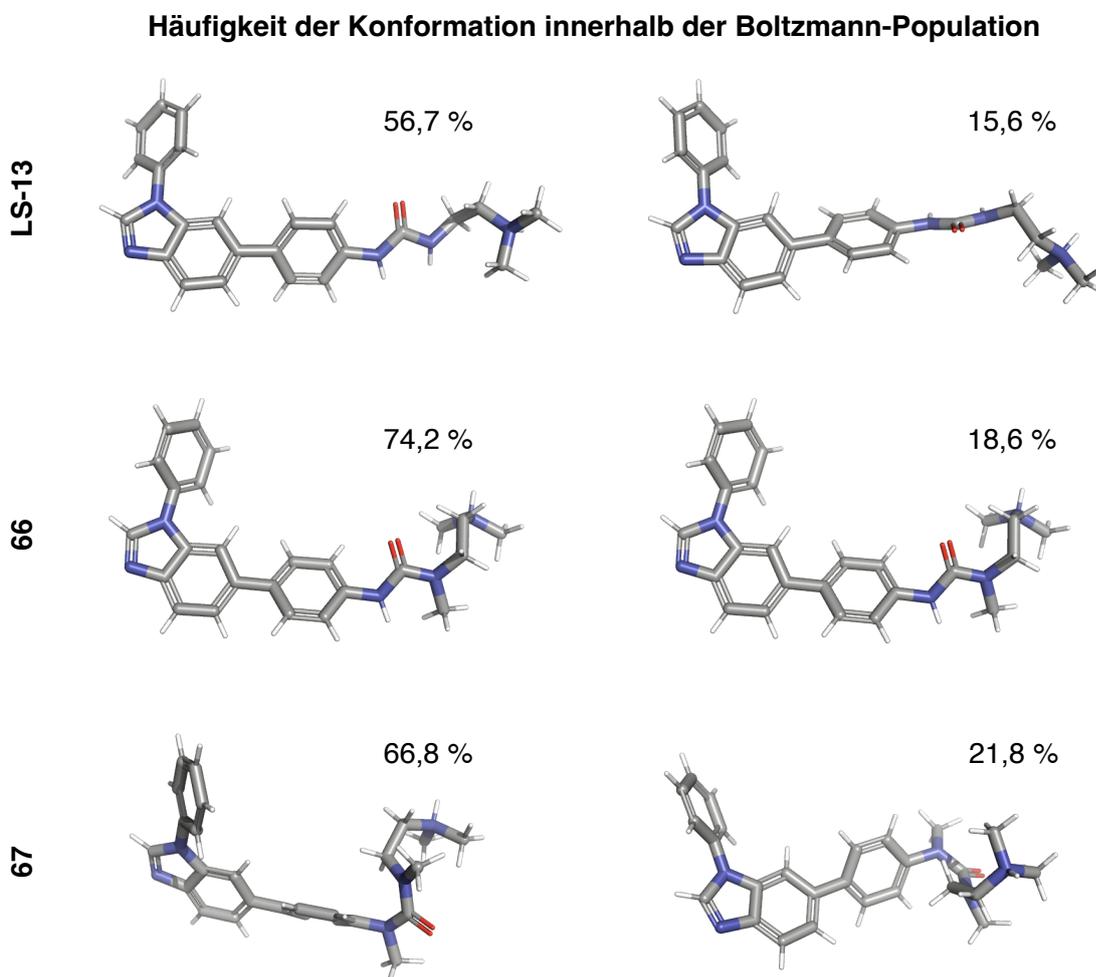


Abbildung 51: Berechnete Konformationen der Verbindungen **LS-13**, **66** und **67**. Dabei liegen die Verbindungen **66** und **LS-13** in der angestrebten *trans,trans*-Konformation vor, während die Verbindung **67** die ungünstige *cis,cis*-Konformation annimmt. (QM Conformer and Tautomer Predictor, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2021, durchgeführt von Dr. Thales Kronenberger.)

5.3.1 Primäre SAR-Studien der Benzimidazol-Inhibitoren

Zunächst wurden zahlreiche, synthetisch einfach zugängliche Reste an der Phenyl-Seitenkette (**S2**) in *ortho*-, *meta*- und *para*-Position installiert (Tabelle 6). Innerhalb der *ortho*-Substitutionen in **LS-24** und **113** war der sterisch weniger anspruchsvolle Fluor-Substituent mit einem Hemmwert von 78 nM aktiver als der Methoxy-Rest in **113** (197 nM).

Tabelle 6: Primäre Modifikationen der *S2*-Seitenkette.

Verb.	R =	IC ₅₀ ^I [nM] ^a	Verb.	R =	IC ₅₀ ^I [nM] ^a
LS-13* (Ausgangs- verbindung)		60	96		42
LS-24*		78	LS-07*		35
113		197	FM-987*		< 1
105		71	FM-992*		3
LS-14*		31	115		16
LS-10*		75			

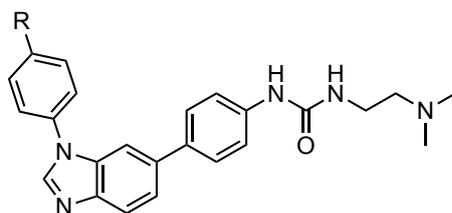
^aFRET-basierter ATM-Kinase-Aktivitätsassay, durchgeführt von Reaction Biology Corp. mit 5 Konzentrationen und 10-fach Verdünnungen beginnend mit 10 μ M, $n = 1$. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.) *Inhibitoren mit dem Kürzel „LS“ wurden innerhalb der Masterarbeit von Lennart Seidel dargestellt, welche unter meiner Mitbetreuung gefertigt wurde.¹⁶⁵ Verbindungen mit dem Kürzel „FM“ wurden von Dr. Michael Forster, der als Postdoktorand am Projekt beteiligt war, synthetisiert.

Eine Aminogruppe in *meta*-Position (**105**) führte im Vergleich zu der Ausgangsverbindung **LS-13** zu keinem Aktivitätsvorteil, wohingegen ein *m*-Methoxy-Rest (**LS-14**) eine leicht erhöhte Potenz aufweisen konnte. Die *para*-Positionierung der Reste in den Verbindungen **LS-10**, **96** und **LS-07** zeigte eine leichte Präferenz für den Amino- und Methoxy-Rest gegenüber dem Fluor. Größere Halogene in den Inhibitoren **FM-987** und **FM-992** führten

zu einer deutlich erhöhten Aktivität im einstelligen nanomolaren Bereich für den Bromsubstituenten und im subnanomolaren Bereich für **FM-987** (Chlorsubstituent), wobei die Auflösungsgrenze des Assays unterschritten wurde. Die letzte Modifikation innerhalb dieser Reihe war der alicyclische Rest in Verbindung **115**, der in einen IC_{50}^I -Wert von 16 nM resultierte.

Ausgehend von den ersten Struktur-Wirkungsbeziehungen in Tabelle 6 wurden weitere *para*-substituierte Derivate mit modifizierten **S2**-Resten synthetisiert, die sich formal in anilinische- und nicht-anilinische Derivate (bzw. **96**-Derivate und nicht-**96**-Derivate) einteilen lassen (Tabelle 7). Betrachtet man den Inhibitor **97** (Tabelle 7), so war zu beobachten, dass der eingeführte Acetanilid-Rest einen Aktivitätsvorteil gegenüber der Ausgangsverbindung **96** aufwies. Die Verbindungen **98** und **129** wurden ursprünglich synthetisiert, um synthetische Lücken innerhalb einer SAR-Studie zu füllen, bei der in einer projektzugehörigen Masterarbeit eine Reihe an *p*-substituierten Aniliden dargestellt wurden. Eine retrospektive Analyse der NMR-Spektren zeigte jedoch, dass die ursprünglichen Verbindungen innerhalb dieser Masterarbeit *meta*- und nicht *para*-substituiert waren. Bei den Verbindungen **98** und **129** war insgesamt zu erkennen, dass größere aliphatische Reste tendenziell zu einem Abfall der Aktivität gegenüber **97** führten. Das Methoxyacetanilid **101** konnte im Gegensatz dazu einen kleinen Aktivitätsvorteil gegenüber **97** zeigen und wies innerhalb der **96**-Derivate mit einem IC_{50}^I -Wert von 10 nM die höchste Aktivität auf. Mit der Betrachtung der Sulfonamide **99** und **100** zeichnete sich ab, dass das Methansulfonsäureamid eine ähnliche Potenz wie das Acetanilid **97** ergab, wohingegen das Cyclopropylsulfonsäureamid **100** eine leicht erhöhte Aktivität präsentierte. Die alicyclische Verbindung **102** brachte mit einem IC_{50}^I -Wert von 25 nM keinen Aktivitätsvorteil durch die Einführung des Piperidin-Restes. Die Aktivität sank mit dem Morpholin-Rest in **103** ($IC_{50}^I = 110$ nM) deutlich, doch dieser Aktivitätsabfall wurde durch die Verbrückung des Morpholinrings zum (1*R*,4*R*)-2-Oxa-5-azabicyclo[2.2.1]heptan-Rest weitestgehend aufgehoben (**FM-1000**, $IC_{50}^I = 45$ nM). Neben den Derivaten der Verbindung **96** wurden eine Reihe weiterer cyclischer Reste in *para*-Position eingeführt (Tabelle 7, rechts).

Tabelle 7: Weitere para-Substitutionsmuster an der S2-Seitenkette. Verbindungen 97 bis FM-1000 (links) lassen sich formal in anilinische-Derivate und 122 bis 104 (rechts) in nicht-anilinische-Derivate unterteilen.

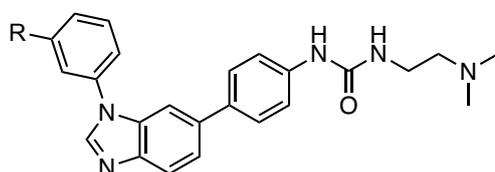


Verb.	R =	IC ₅₀ ¹ [nM] ^a	Verb.	R =	IC ₅₀ ¹ [nM] ^a
Anilinische Derivate			Nicht-Anilinische Derivate		
97		18	122		89
98		30	121**		4
129		67	LS-48*		< 1
101		10	FM-994*		3
99		22	FM-993*		1
100		12	104**		< 1
102**		25			
103		110			
FM-1000*		45			

^aFRET-basierter ATM-Kinase-Aktivitätsassay, durchgeführt von Reaction Biology Corp. mit 5 Konzentrationen und 10-fach Verdünnungen beginnend mit 10 μ M, n = 1. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.) *Inhibitoren mit dem Kürzel „LS“ wurden innerhalb der Masterarbeit von Lennart Seidel dargestellt, welche unter meiner Mitbetreuung gefertigt wurde.¹⁶⁵ Verbindungen mit dem Kürzel „FM“ wurden von Dr. Michael Forster, der als Postdoktorand am Projekt beteiligt war, synthetisiert. **Die HPLC-Reinheit lag bei den markierten Inhibitoren zwischen 91,5-95 %.

Im Hinblick auf die Verbindungen **122** bis **LS-48** war zu beobachten, dass die Inhibition der ATM-Kinase mit rigideren Resten zunahm (Cyclohexyl < Cyclohexenyl ≤ Phenyl), wobei **LS-48** eine attraktive subnanomolare Aktivität zeigen konnte. Die Einführung verschiedener Heterocyclen in den Verbindungen **FM-994**, **FM-993** und **104** führte verglichen mit **121** und **LS-48** zu ähnlichen Aktivitäten (Furan-2-yl- ≤ Thiophen-2-yl ≤ Imidazol-1-yl-). Des Weiteren wurden neben den verschiedenen *para*-Substitutionsmustern der **S2**-Seitenkette in Tabelle 7 auch eine Reihe an *meta*-Substitutionsmustern untersucht (Tabelle 8).

Tabelle 8: Weitere *meta*-Substitutionen an der **S2**-Seitenkette.



Verb.	R =	IC ₅₀ ^I [nM] ^a	Verb.	R =	IC ₅₀ ^I [nM] ^a
LS-35*		14	112		< 1
106		1	128		2
108		7	109		62
110		< 1	107		41
111		< 1			

^aFRET-basierter ATM-Kinase-Aktivitätsassay, durchgeführt von Reaction Biology Corp. mit 5 Konzentrationen und 10-fach Verdünnungen beginnend mit 10 μM, n = 1. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.) *Inhibitoren mit dem Kürzel „LS“ wurden innerhalb der Masterarbeit von Lennart Seidel dargestellt, welche unter meiner Mitbetreuung gefertigt wurde.¹⁶⁵

Dabei wurden primär Abkömmlinge der Verbindung **105** hergestellt (mit Ausnahme von **LS-35**). Im Hinblick auf die Verbindungen **LS-35**, **106** und **110** war zu beobachten, dass die Aktivität in der Reihe $m\text{-Ac} < m\text{-NHAc} \leq m\text{-NHMs}$ steigt, wobei der $\text{IC}_{50}^{\text{I}}$ -Wert im Falle von **110** im subnanomolaren Bereich lag. Größere aliphatische Reste am Sulfonamid in den Verbindungen **111** und **112** zeigten keine detektierbaren Aktivitätsunterschiede. Erst mit der Einführung des $n\text{Pr}$ -Restes in **128** konnte eine leichte Abschwächung der Aktivität konstatiert werden ($\text{IC}_{50}^{\text{I}} = 2 \text{ nM}$). Im Gegensatz zu den p -Derivaten in Tabelle 7 (**97** und **101**) inhibierte das Methoxyacetanilid **108** die ATM-Kinase geringfügig schlechter als das Acetanilid **106**.

Der vorletzte Inhibitor in dieser Reihe war die Verbindung **109**, die als Boc-geschütztes Anilin eine synthetische Vorstufe darstellt. Obwohl die Hemmung nicht sonderlich hoch war ($\text{IC}_{50}^{\text{I}} = 62 \text{ nM}$), zeigte dieser Inhibitor mit seiner Äquipotenz im Vergleich zur Mutterverbindung **105**, dass die sterisch anspruchsvolle Boc-Schutzgruppe keinen Aktivitätsverlust verursachte und von der Bindetasche akzeptiert wurde. Als weiterer sterisch anspruchsvoller Rest wurde das Phenylelessigsäureamid in **107** erprobt, welches unwesentlich aktiver als **109** war.

Ausgehend von den Struktur-Wirkungsbeziehungen, die bis zu diesem Punkt abgeleitet werden konnten, kristallisierten sich zwei Hauptgruppen heraus, die weiter beleuchtet und optimiert werden sollten (Abbildung 52). Dabei handelte es sich zum einen um die Sulfonamidgruppe basierend auf **110** und zum anderen um die Biphenylgruppe basierend auf der Verbindung **LS-48**. Bevor weitere Modifikationen vorgenommen wurden, sollten diese beiden Klassen zunächst tiefgreifender charakterisiert werden. Neben einem angepassten enzymatischen Assay wurde die zelluläre Aktivität auf humane A549-Zellen (Lungenadenokarzinomzellen) überprüft, begleitet von frühen *in vitro* und *in vivo* DMPK-Versuchen (*Drug Metabolism and Pharmacokinetics*), einer Selektivitätstestung innerhalb der PIKK-Familie und darüber hinaus einer Kinom-Selektivität über einen DSF-Assay (*Differential scanning fluorimetry assay*). Die Anpassung des enzymatischen HTRF-basierten Assays erfolgte durch eine Adjustierung des Konzentrationsbereiches, um eine höhere Auflösung bei niedrigen IC_{50} -Werten zu erlauben (gekennzeichnet durch $\text{IC}_{50}^{\text{II}}$, sekundärer Assay). Betrachtet man die Ergebnisse dieses sekundären Assays in Tabelle 9, so liegen die $\text{IC}_{50}^{\text{II}}$ -Werte für die Inhibitoren **110**, **112** und **LS-48** im einstelligen nanomolaren Bereich. Um die zelluläre Aktivität dieser ersten Verbindungen zu evaluieren, wurde der *In-Cell Western Assay* (ICW) von Guo *et al.* in modifizierter Form angewendet

(durchgeführt von Athina Moschopoulou, siehe Kapitel 4.2.1). In diesem Assay wurde der Doppelstrangbruch-induzierende Topoisomerase-II-Inhibitor Etoposid verwendet, um den ATM-Signalweg zu aktivieren. Gemessen wurde die Phosphorylierung des ATM-Downstream-Targets KAP1.^{138,148}

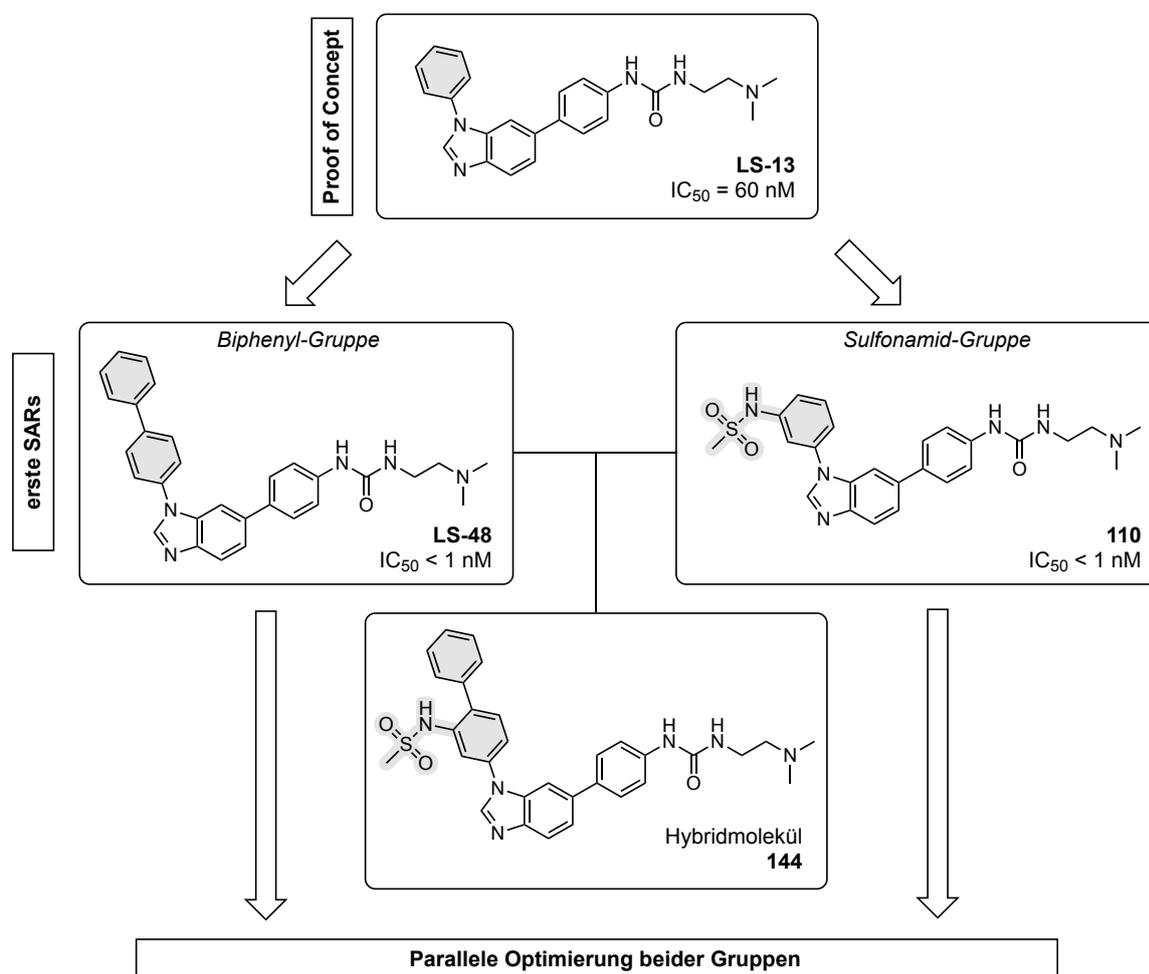


Abbildung 52: Innerhalb der ersten SAR-Studien (ausgehend von **LS-13**) wurden die Verbindung **LS-48** und die Sulfonamid-basierten ATM-Inhibitoren (einfachheitshalber nur **110** abgebildet) identifiziert. Beide Gruppen sollten parallel optimiert werden. Darüber hinaus wurde der Hybridinhibitor **144** synthetisiert, welcher beide Struktur motive aufweist (Methansulfonsäureamid-Motiv aus **110** und der Biphenyl-Rest aus **LS-48**).

Das Biphenyl-Derivat **LS-48** zeigte eine moderate zelluläre Aktivität mit einem IC_{50}^{ICW} -Wert von $0,63 \mu\text{M}$ (Tabelle 9). Innerhalb der Sulfonamide führte **110** zu einem deutlichen Aktivitätsabfall im Vergleich zu **111** und **112**. Der genauere Aktivitätsunterschied war jedoch zunächst lange Zeit unklar, da zum Teil keine eindeutigen sigmoidalen Kurven innerhalb des ICW-Assays generiert werden konnten. Aus diesem Grund wurde der Mesyl-Rest der Verbindung **110** zunächst in zahlreichen nachfolgenden Verbindungen beibehalten.

Tabelle 9: ATM-Hemmaktivität am isolierten Enzym (sekundärer Assay, IC_{50}^I , links) und im zellulären System (ICW-Assay, IC_{50}^{ICW}). Off-Target-Selektivität (innerhalb der PIKK-Familie) als Restaktivität ausgewählter Inhibitoren bei 1 μ M (rechts).

Inh.	IC_{50}^I [nM] ^a	IC_{50}^{ICW} [μ M] ^b	Off-Target-Restaktivität bei 1 μ M ^c		
LS-48	5,8	0,63 (0,526 - 0,745)	110	93	86
110	3,7	11 (7,6 - 17)	108	47	12
111	-	0,61 (0,37 - 1,04)	101	32	11
112	1,4	0,36 (0,25 - 0,53)	118	44	-3
144	0,79	0,26 (0,17 - 0,39)			

^aFRET-basierter ATM-Kinase-Aktivitätsassay, durchgeführt bei Eurofins mit 5 Konzentrationen, 4-fach Verdünnung beginnend bei 0,1 μ M. Eurofins ATM-Kinase-Assay ($n = 2$). ^bICW-Assay, durchgeführt von Athina Moschopoulou, grau in Klammern: CI 95 %. ^cSelektivitätsdaten wurden bei Eurofins KinaseProfilerTM durchgeführt, $n = 2$. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

Neben den getesteten Verbindungen beider Inhibitorgruppen wurde zudem das Hybridmolekül **144** synthetisiert, welches sowohl das Sulfonsäureamid-Motiv aus **110** als auch den Biphenyl-Rest aus **LS-48** trägt (Abbildung 52). Dieser Inhibitor zeigte am isolierten Enzym ebenso wie auf zellulärer Ebene eine erhöhte Potenz im Vergleich zu den beiden Muttersubstanzen. Zusätzlich wurden auch die Selektivitäten innerhalb der verfügbaren PIKK-Kinasen bei 1 μ M Inhibitorkonzentration gemessen (Tabelle 9, Heatmap). Bei keiner der Verbindungen konnte eine Hemmung der ATR-Kinase festgestellt werden. Im Fall der mTOR-Kinase wies **LS-48** die höchste Selektivität mit 93 % Enzymrestaktivität auf, wohingegen das Sulfonamid **110** zu einer deutlichen Hemmung führte, die sich mit **112** noch weiter verstärkte. Das Hybridmolekül **144** präsentierte mit 44 % mTOR-Restaktivität ein vergleichbares Ergebnis. Gegenüber der DNA-PK zeigten alle Inhibitoren grundsätzlich die geringste Selektivität, dennoch wies das Biphenyl **LS-48** auch hier mit großem Abstand die geringste Hemmung im Vergleich zu den anderen Inhibitoren auf. **110** und **112** hemmten die DNA-PK mit nahezu 90 %, wohingegen das Hybridmolekül **144** zu einer vollständigen Hemmung bei 1 μ M führte und insgesamt nicht die hohe Selektivität der Ausgangsverbindung **LS-48** beibehalten konnte.

Neben der Evaluierung beider Inhibitorgruppen in Tabelle 9 wurde die murine mikrosomale Stabilität der Inhibitoren **110** und **LS-48** geprüft (Abbildung 53). Das Biphenyl-Derivat **LS-48** wies dabei eine höhere Stabilität mit 63 % Restsubstanz nach 120 Minuten gegenüber 43 % für das Sulfonamid **110** auf und lag damit in der gleichen Größenordnung wie die mitgetestete Referenzverbindung **AZD0156** (66 % nach 120 Minuten). Sowohl für die Benzimidazole als auch für das Chinolin-Derivat **AZD0156** konnte jeweils ein Hauptmetabolit beobachtet werden, der in allen Fällen die Masse $m/z = [M+16]$ (ESI-MS) zeigte, was mit hoher Wahrscheinlichkeit für eine Oxidationsreaktion spricht. Es wurde angenommen, dass es sich um eine *N*-Oxidation des terminalen Dimethylamin-Restes über die Flavin-haltige Monooxygenase (FMO) handelt, da diese Phase-I-Reaktion für die Referenzverbindung **AZD0156** beschrieben wurde.¹²⁹ AstraZeneca konnte den entsprechenden Metabolit der Verbindung **AZD0156** über eine biokatalytische Oxidationsreaktion isolieren und charakterisieren.

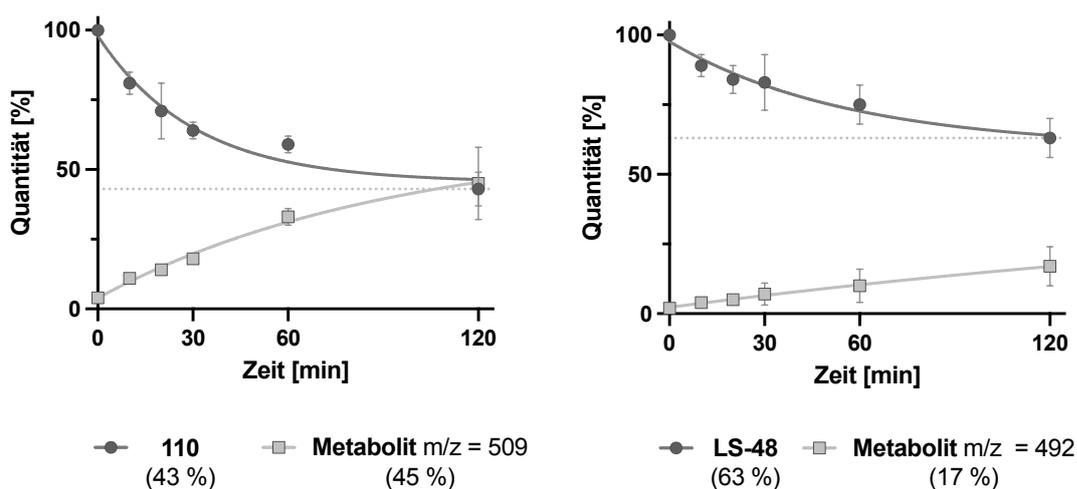


Abbildung 53: Mikrosomale Stabilität (in murinen Lebermikrosomen) der Verbindung **110** und **LS-48** innerhalb von 120 Minuten. Für beide Inhibitoren wurde jeweils ein Hauptmetabolit mit der Masse $m/z = [M+16]$ (über ESI-MS) gefunden. In Klammern: Quantität nach 120 min. Die Testung wurde von Mark Kudolo durchgeführt. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

Zusätzlich zu der PIKK-Selektivität konnte die Kinomselektivität von **110** und **LS-48** innerhalb eines DSF-Assays mit 97 Kinasen bestimmt werden (Abbildung 54). Der Inhibitor **110** erwies sich insgesamt als deutlich promiskuitiver als **LS-48**. Die Verbindung **LS-48** zeigte trotz der höheren Lipophilie eine unerwartet gute Selektivität, die insgesamt mit der Referenzverbindung **AZD0156** vergleichbar war.¹⁴⁸

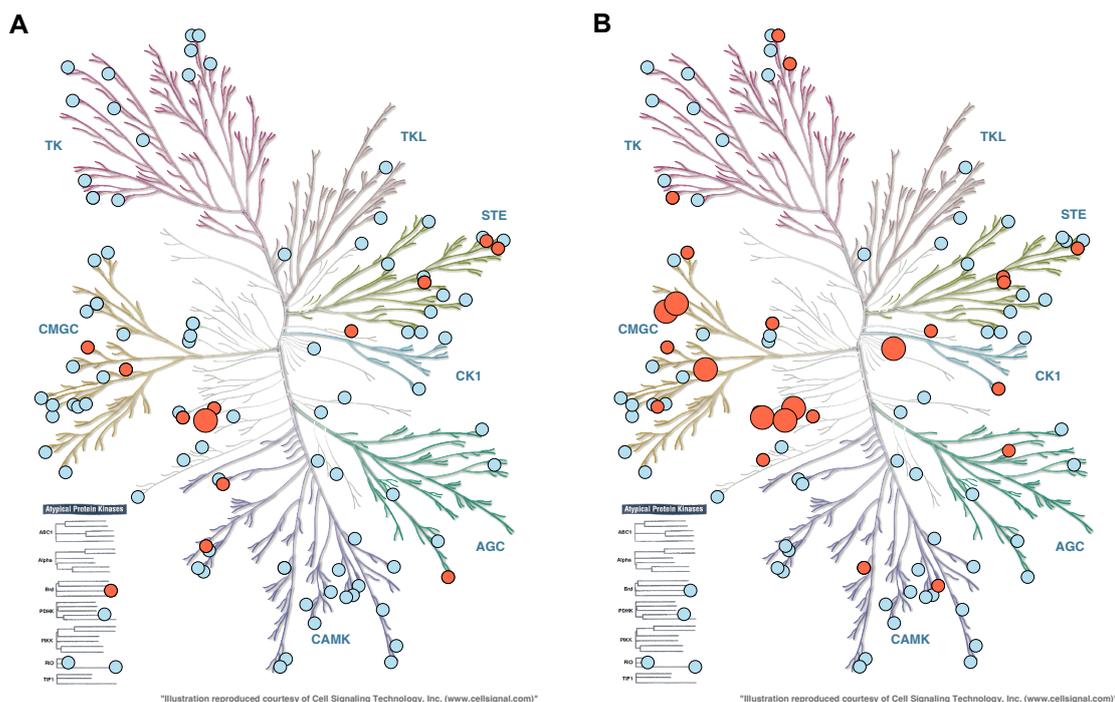


Abbildung 54: Kinom-Screen der Verbindungen **LS-48** (A) und **110** (B) innerhalb des DSF-Assays. Der pan-Kinaseinhibitor Staurosporin wurde als Kontrolle verwendet, Negativkontrolle: DMSO. Blaue Punkte zeigen getestete Kinasen ohne relevante Bindung ($\Delta T_m < 2$ °C). Potenzielle Off-Targets sind als orangefarbene Punkte aufgeführt. Die kleineren orangefarbenen Punkte zeigen dabei $\Delta T_m \geq 2$ °C und die größeren für $\Delta T_m \geq 5$ °C. Das Experiment wurde von Martin Schwalm (Arbeitskreis Prof. Stefan Knapp, Frankfurt) durchgeführt.¹⁴⁸ Die Visualisierung erfolgte mit KinMap.¹⁹⁹ (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

Mit Fokus auf die Diskrepanz zwischen enzymatischer und zellulärer Aktivität beider Inhibitorgruppen und im Hinblick auf die höhere Lipophilie der Verbindung **LS-48** wurden im weiteren Verlauf beide Inhibitorgruppen parallel optimiert.

5.3.2 Modifikationen der Biphenyl-Inhibitoren

Vor der weiteren Derivatisierung der Biphenyl-Inhibitoren wurde zusätzlich zu den oben genannten DMPK-Experimenten die murine Pharmakokinetik der Inhibitoren **LS-48** und **144** evaluiert (Abbildung 55). Der Hybridinhibitor **144** erreichte mit einer maximalen Blutkonzentrationen (C_{max}) von 0,42 μM einen Wert, der nur leicht über den zellulären IC_{50} -Wert lag (ca. 1,6-fach). Die C_{max} von **LS-48** lag mit 0,15 μM dagegen deutlich unter dem zellulären $\text{IC}_{50}^{\text{ICW}}$ -Wert von 0,63 μM , weshalb eine ausreichende Hemmung der ATM-Kinase bei dieser oralen Dosierung als unwahrscheinlich angesehen wurde. An dieser Stelle ist jedoch zu beachten, dass es sich bei der Applikation um so genanntes „Cassette-Dosing“ handelt. Wenngleich diese Methode einige Vorteile bietet (z.B. aus ethischer Sicht, da weniger Tiere benötigt werden), sind dabei auch potenzielle Nachteile

zu beachten: Interaktionen zwischen mehreren Inhibitoren, welche die Absorption, die Verteilung, den Transport, den Metabolismus oder die Elimination betreffen, können bei dieser Methode nicht ausgeschlossen werden.²⁰⁰

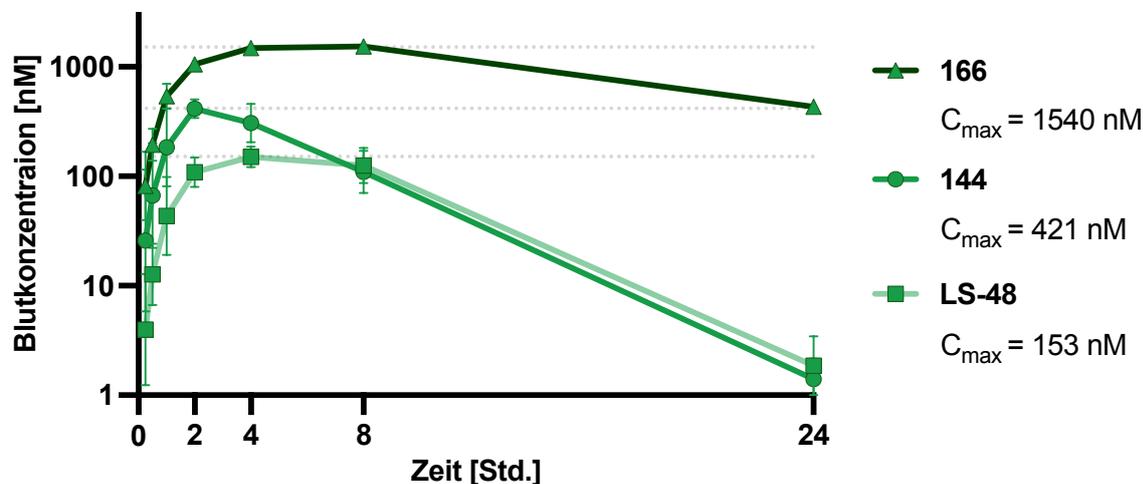


Abbildung 55: Murine Pharmakokinetik der Verbindungen **LS-48**, **144** und **166** (aus Tabelle 12) bei einer Dosierung von 10 mg/kg p.o. Die Testung wurde bei Pharmacelsus durchgeführt, n = 3. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

Obwohl die Verbindung **144** teilweise gute Ergebnisse lieferte, war sowohl die geringe Selektivität gegenüber der DNA-PK (und ferner mTOR) als auch das relativ hohe Molekulargewicht (> 560 Da) nicht optimal. Zudem wurde die erzielte maximale Blutkonzentration relativ zum zellulären IC_{50}^{ICW} -Wert als insgesamt zu niedrig angesehen. Hinzu kam die aufwändigere Synthese der Verbindung **144**, weshalb diese hybride Inhibitor-Klasse nicht weiterverfolgt wurde und sich die folgenden Biphenyl-Inhibitoren ausschließlich von der Verbindung **LS-48** ableiten.

5.3.2.1 Modifikationen der S2-Seitenkette der Biphenyl-basierten Inhibitoren

Ausgehend von **LS-48** sollte zunächst die **S2-Seitenkette** (= Biphenyl-Rest) derivatisiert werden, indem verschiedene Fluor-, Nitro- und Methoxy-Substitutionsmuster eingeführt wurden (Tabelle 10).

Tabelle 10: Modifikationen des Biphenyl-Motivs.

Inh.	R =	IC ₅₀ ^{II} [nM] ^a	Inh.	R =	IC ₅₀ ^{II} [nM] ^a
LS-48 (Ausgangs- verbindung)		5,8	155		4,8
149		17	157		21
150		16	158		25
151		14	159		25
152		6,4	160		2,3
153		7,1	161*		4,4
154		9,3			

^aHTRF-basierter ATM-Kinase-Aktivitätsassay, durchgeführt von Eurofins (KinaseProfiler™) mit 5 Konzentrationen und 10-fach Verdünnungen beginnend bei 1 μM (n = 2, *n = 1 für 161). (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

Durch die Einführung des Monofluor-Substitutionsmusters in den Verbindungen **149** bis **151** konnten leicht höhere IC_{50}^{II} -Werte im Vergleich zu **LS-48** im Bereich zwischen 14 und 17 nM und ohne Präferenz für eine bestimmte Position gemessen werden (Tabelle 10). Die Methoxy-Analoga **152** bis **154** führten zu niedrigeren, einstellig nanomolaren IC_{50}^{II} -Werten im Bereich von 6,4 bis 9,3 nM. Auch hier war keine eindeutige Präferenz für eine Position ersichtlich, was sich gleichermaßen bei den Difluorbiphenylen (**157** bis **159**) fortsetzte. Letztere führten zu den schwächsten Hemmaktivitäten in der gesamten Reihe. Der Dimethoxy-Rest in **160** konnte mit einem IC_{50}^{II} -Wert von 2,3 nM die ATM-Kinase stärker inhibieren als die Monomethoxy-Verbindungen. Mit einem dritten Methoxysubstituent in **161** konnte keine weitere Verbesserung der Hemmung festgestellt werden. Das einzige Nitro-Derivat **155** zeigte einen Hemmwert von 4,8 nM.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass sich folgende SARs für die **S2**-Seitenkette innerhalb dieser Reihe ergeben: Die Hemmung nimmt in der Reihe von -Difluor < -Fluor < -Methoxy \leq -Nitro \approx -Trimethoxy \leq -Dimethoxy zu. Dabei ist nicht ableitbar, welche Eigenschaften der Substituenten aktivitätsbestimmend sind. Die Inhibitoraktivität ist hochgradig substituentenabhängig, jedoch insgesamt unabhängig von der Substituentenposition. Trotz der zum Großteil niedrigen enzymatischen IC_{50}^{II} -Werte der Verbindungen aus Tabelle 10 konnte keiner der Inhibitoren im zellulären Assay eine bessere Inhibition im Vergleich zu **LS-48** (oder **144**) erreichen. Lediglich die Verbindung **161** führte mit einem zellulären IC_{50}^{ICW} von 106 nM zu einer leichten Aktivitätssteigerung, was im Verhältnis zur enzymatischen Aktivität immer noch eine große Diskrepanz darstellte.

5.3.2.2 Modifikationen der S1-Seitenkette der Biphenyl-basierten Inhibitoren

Weiterführende Strategien wurden erprobt, um die zelluläre Aktivität der **LS-48**-Analoga zu optimieren. Zum einen wurde mit der Verbindung **165** versucht, die Harnstoff-Seitenkette zu rigidisieren (Abbildung 56), was allerdings zu einem erheblichen Aktivitätsverlust führte.

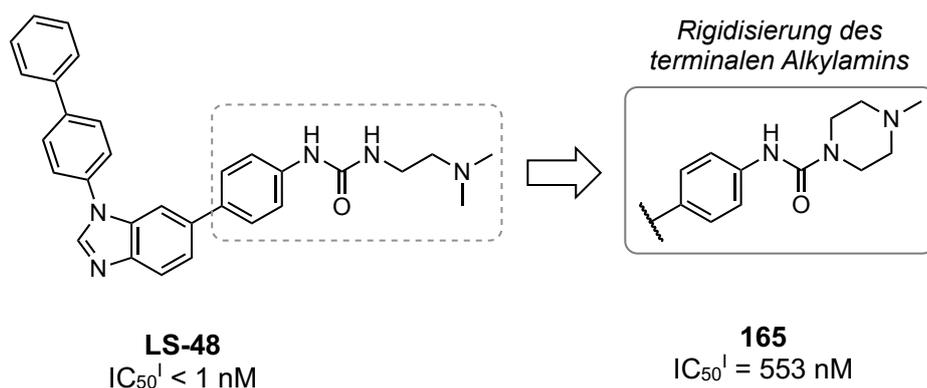


Abbildung 56: Rigidisierung der Harnstoff-Seitenkette zum Piperazin. (Getestet wie in Tabelle 10 beschrieben.)

Des Weiteren wurde die Substitution der **S1**-Seitenkette in **LS-48** mit der lipophileren Pyridinylether-Seitenkette in Verbindung **166** (Tabelle 12) getestet (vergleiche Tabelle 5). Diese Verbindung zeigte mit einem IC_{50}^{II} -Wert von 9,9 nM einen Hemmwert in der gleichen Größenordnung wie die Ausgangssubstanz **LS-48** auf enzymatischer Ebene ($IC_{50}^{II} = 5,8 \text{ nM}$, Tabelle 6). Der theoretische Ansatz hinter dieser Strategie war die Annahme, dass die polare Harnstoff-Funktion sich unter Umständen negativ auf die Zellpermeabilität auswirken könnte.¹⁵⁷ Diese Überlegung konnte mithilfe von *in silico* Modellierung gestützt werden (Tabelle 11). Dabei konnte eine sehr gute Permeabilität für **166** kalkuliert werden, wohingegen sich der Harnstoff-Inhibitor **LS-48** im Vergleich dazu im moderaten Bereich befand. Die initiale zelluläre Testung des Inhibitors **166** zeigte zunächst eine scheinbar gute Aktivität im ICW-Assay, jedoch folgte die Dosis-Wirkungs-Kurve keinem eindeutigen sigmoidalen Trend. Nichtsdestotrotz wurde die Verbindung **166** pharmakokinetisch im Mausmodell untersucht (Abbildung 55, Seite 126) und führte mit C_{max} von 1,54 μM zu einem circa 10-fach höheren Wert im Vergleich zur Verbindung **LS-48** bei gleicher oraler Dosierung. Eine spätere Reevaluation des zellulären IC_{50}^{ICW} -Wertes mit angepasstem Konzentrationsbereich zeigte, dass die ursprüngliche Annahme der deutlich höheren Aktivität falsch war und der Inhibitor **166** mit einem IC_{50}^{ICW} -Wert von 0,61 μM nicht nennenswert potenter auf A549-Zellen als die Ausgangsverbindung **LS-48** (Tabelle 11) ist. Zwar befand sich die maximale Blutkonzentration des Inhibitors **166** über dem IC_{50}^{ICW} -Wert, trotzdem wurde dieser Wert insgesamt als nicht ausreichend hoch erachtet.

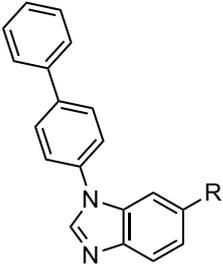
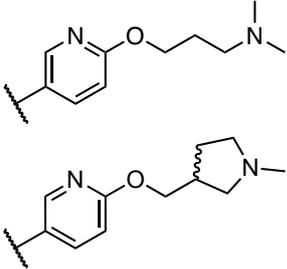
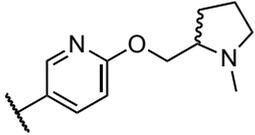
Tabelle 11: QikProp-Kalkulationen und ICW-Assay.

	QPPCaco [nm/sec] ^a	QPPMDCK [nm/sec] ^a	IC ₅₀ ^{ICW} [μM] ^b
LS-48	217	148	0,63 (0,53 – 0,75)
166	1082	596	0,61 (0,46 – 0,80)

^aDurchgeführt mit QikProp, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2022. Werte > 500 gelten als sehr gut; Werte < 25 als schlecht. ^bICW-Assay, durchgeführt von Athina Moschopoulou, in Klammern: CI 95 %.

Als weitere Modifikationen wurden rigidere Varianten der **S1**-Seitenkette aus **166** erprobt. Dazu wurde der endständige Dimethylaminopropyl-Rest mit einem 2-(1-Methylpyrrolidin-3-yl)methoxy-Rest in **168** substituiert, wobei jedoch ein deutlicher Rückgang der Aktivität zu sehen war (IC₅₀^{II} = 66 nM, Tabelle 12). Das Konstitutionsisomer **169** führte zu einem noch stärkeren Aktivitätsverlust, sodass diese Strategie als nicht zielführend angesehen wurde.

 Tabelle 12: Alternative **S1**-Seitenketten (= R).

Verb.	R =	IC ₅₀ ^{II} [nM] ^a
166		9,9
168		66
169		333

^aHTRF-basierter ATM-Kinase-Aktivitätsassay, durchgeführt von Eurofins (KinaseProfilerTM) mit 5 Konzentrationen und 10-fach Verdünnungen beginnend bei 1 μM, n = 2. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

5.3.2.3 Modifikationen des *Hinge*-Bindungsmotivs der Biphenyl-Inhibitoren

Als weitere Modifikation der Biphenyl-Reihe wurde ein abgewandeltes *Hinge*-Bindungsmotiv erprobt, wobei die Benzimidazol-Grundstruktur durch ein 3*H*-Imidazo[4,5-*b*]pyridin substituiert wurde (Tabelle 13). Es wurden dabei jeweils zwei **S1**-Reste (R^2) mit drei **S2**-Seitenketten (R^1) kombiniert. Bei der Gegenüberstellung beider **S2**-Reste (R^2) ist zu erkennen, dass die Harnstoff-basierten Inhibitoren **173** bis **177** in allen Fällen tendenziell höhere Aktivitäten als die äquivalenten Verbindungen **172** bis **175**, die die Ether-basierte Seitenkette tragen, aufweisen konnten. Vergleicht man die 3*H*-Imidazo[4,5-*b*]pyridine mit den Benzimidazol-Analoga, so hemmte **174** die ATM-Kinase in ähnlichem Maße wie die Muttersubstanz **166** (Tabelle 12). Im Gegensatz dazu zeigten die Verbindungen **176** und **177** marginal bessere Hemmwerte als ihre Benzimidazol-Analoga **LS-48** ($IC_{50}^{II} = 5,8$ nM) und **154** ($IC_{50}^{II} = 9,3$ nM). Mit der Verbindung **178** (Tabelle 13) wurde neben **161** (Tabelle 10) ein weiteres Trimethoxybiphenyl-Derivat getestet, allerdings zeigte sich hier ein leichter Aktivitätsrückgang mit einem IC_{50}^{II} von 17 nM (im Vergleich zu 4,4 nM für **161**). Trotz weitreichender Modifikationen, die ausgehend von **LS-48** durchgeführt wurden, konnte kein attraktiver Zuwachs der zellulären Aktivität innerhalb der Biphenyl-basierten Inhibitoren erzielt werden. Zwar konnten die Verbindungen **144** und besonders **166** als Inhibitoren mit guten pharmakokinetischen Eigenschaften identifiziert werden, allerdings wurde die maximale Blutkonzentration relativ zu den zellulären Hemmwerten als nicht ausreichend erachtet. Insgesamt war die Diskrepanz von enzymatischem und zellulärem Hemmwert innerhalb aller Biphenyl-Inhibitoren unverhältnismäßig groß, wobei die genauen Gründe hierfür nicht abschließend geklärt werden konnten. Grundsätzlich kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Lipophilie dieser Reihe zu hoch war oder dass es sich um ein zelllinienspezifisches Phänomen handelt. Auch andere Faktoren, wie eine Beteiligung von Effluxpumpen, wären denkbar. Aufgrund der durchgehend unzureichenden zellulären Hemmwerte wurde diese Inhibitorklasse nicht weiterverfolgt.

Tabelle 13: Erprobung des abgewandelten Hinge-Bindungsmotivs (3H-Imidazo[4,5-b]pyridin).

Verb.	R ¹ =	R ² =	IC ₅₀ ^{II} [nM] ^a
172			166
174			11
175			10
173			58
176			2,2
177			2,1
178			17

^aHTRF-basierter ATM-Kinase-Aktivitätsassay, durchgeführt von Eurofins (KinaseProfilerTM) mit 5 Konzentrationen und 10-fach Verdünnungen beginnend bei 1 μ M, n = 2. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

5.3.3 Optimierung der Sulfonamid-basierten Inhibitoren

Neben dem Ziel, die enzymatische Hemmung dieser Substanzklasse weiter zu verbessern, lag der Fokus auf der Verbesserung der zellulären Aktivität. Der Großteil der verschiedenen

Modifikationen, die an dieser Inhibitorgruppe durchgeführt werden sollten, sind in der Abbildung 57 zusammengefasst.

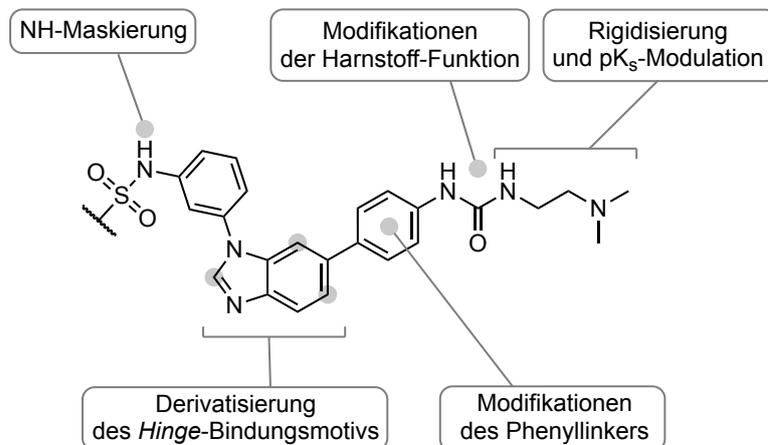


Abbildung 57: Übersicht der wichtigsten Konzepte der Modifikationen der Sulfonamid-basierten ATM-Kinase Inhibitoren.

5.3.3.1 Modifikationen der 1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-phenylharnstoff-Seitenkette (S1-Seitenkette)

Zunächst wurden die Struktur-Wirkungsbeziehungen der basischen S1-Seitenkette evaluiert, die im *in silico* Modell zahlreiche Wasserstoffbrückenbindungen ausgehend vom Harnstoff sowie eine ionische Wechselwirkung mit dem terminalen Amin ausbildete (Abbildung 50). Dazu wurde die Aktivität der synthetischen Vorstufe **180** überprüft, bei der ein Großteil der Seitenkette fehlt (Abbildung 58). Die Verbindung **180** führte zu einem substantiellen Potenzverlust auf der isolierten ATM-Kinase ($\Delta pIC_{50}^I > 3$), was die Wichtigkeit dieses Restes belegt.

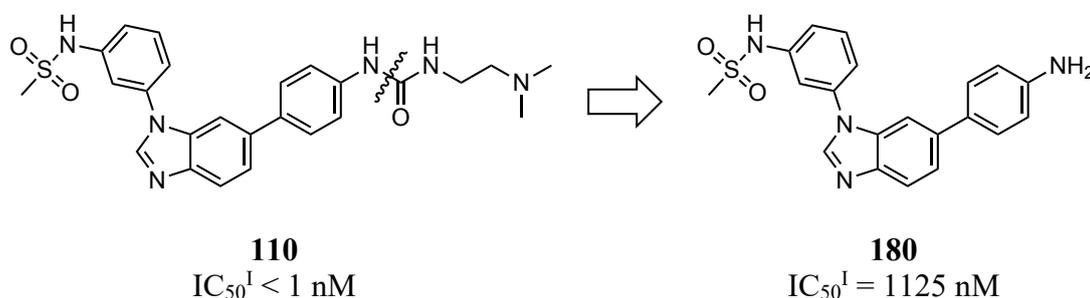


Abbildung 58: Das Entfernen der Harnstoff- und der Amin-Funktion führt zu einem erheblichen Aktivitätsverlust. (Gemessen mit dem primären Enzymassay (IC_{50}^I). Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

Die initialen Modifikationsstrategien, die an der Harnstoff-Seitenkette durchgeführt werden sollten, sind in Abbildung 59 zusammengefasst. Neben Dekorationen des Phenyl-Restes (A^1 , A^2) sollten dabei auch verschiedene Rigidisierungsversuche (C^1 - C^4) unternommen werden, wobei die Einführung des Rings R^3 primär das Ziel haben sollte, modulierende Gruppen (M) zu installieren, welche die Basizität des terminalen Amins beeinflussen. Zudem sollten die NH-Gruppen mit bioisosteren Motiven ausgetauscht werden, um die Polarität des Harnstoffes bzw. die Anzahl an H-Brücken-Donoren zu verändern.

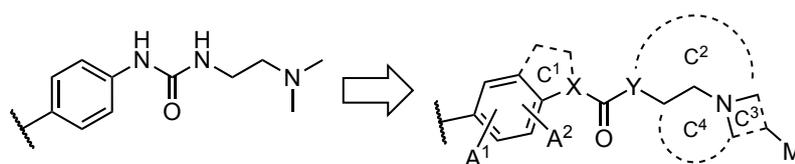
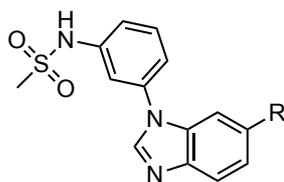


Abbildung 59: Übersicht der wichtigsten Modifikationen an der basischen Harnstoff-Seitenkette (**S1**). (A^1 , A^2 stellen Substituenten am Phenyl-Linker dar; C^1 bis C^4 repräsentieren verschiedene Cyclisierungsstrategien; M zumeist basizitätsverändernde Gruppen.)

Es wurden zunächst Fluor-Substituenten am Phenyllinker eingeführt, der den Harnstoff mit dem *Hinge*-Bindungsmotiv verknüpft (Abbildung 62, A^1 und A^2). Diese Modifikationen konnten bereits innerhalb der Chinolin-basierten ATM-Kinaseinhibitoren (s. Kapitel 5.1) eine hohe Aktivität zeigen (während sterisch anspruchsvollere Substituenten die Aktivität negativ beeinflusst haben), sodass geprüft werden sollte, ob sich diese SARs auf die Benzimidazol-Strukturklasse übertragen lassen.¹⁴⁸ Es wurden jeweils die beiden monosubstituierten Fluor-Derivate **181** und **182** sowie das disubstituierte 2,3-Difluorphenyl-Derivat **183** (Tabelle 14) synthetisiert. Die Derivate **181** und **182** zeigen untereinander eine ähnliche Aktivität mit einem IC_{50}^I -Wert von 3 nM, womit die subnanomolaren IC_{50} -Werte der Ausgangsverbindung **110** im primären Assay nicht mehr erreicht wurden. Die disubstituierte Verbindung **183** führte zu einem deutlicheren Abfall der Aktivität mit einem IC_{50}^I -Wert von 40 nM.

Tabelle 14: Erste Modifikationen der *S1*-Seitenkette mit Fokus auf dem Phenyl-Linker und dem arylischen NH-Rest des Harnstoffes.


Verb.	R =	IC ₅₀ ^I [nM] ^a	Verb.	R =	IC ₅₀ ^I [nM] ^a
110 (Ausgangs- verbindung)		< 1	184		280
181		3	185		264
182		3	186		343
183		40			

^aFRET-basierter ATM-Kinase-Aktivitätsassay, durchgeführt von Reaction Biology Corp. mit 5 Konzentrationen und 10-fach Verdünnungen beginnend mit 10 μ M, $n = 1$. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

Eine weitere Strategie war es, einen H-Brücken-Donor der Harnstoffgruppe zu entfernen, was auf zwei verschiedenen Wegen realisiert werden konnte: Zum einen wurde der zum Aromaten zugewandte NH-Rest mit einer Methylengruppe substituiert, woraus das 2-Phenylacetamid-Derivat **184** resultierte (Tabelle 14). Dabei führte der Verlust der Harnstofffunktion jedoch zu einem substanziellen Aktivitätsverlust im Vergleich zur Ausgangsverbindung **110** ($\Delta pIC_{50}^I > 2,4$). Zum anderen wurde versucht, denselben NH-Rest in **185** durch Inkorporation in einen Indolinring zu maskieren, allerdings verlor der Inhibitor im gleichen Maße an Potenz (Tabelle 14). Die maximal mögliche Rigidisierung der basischen Harnstoff-Seitenkette wurde mit Verbindung **186** realisiert, wobei entgegen den Erwartungen eine vergleichsweise niedrige Aktivitätsabnahme beobachtet werden konnte (vgl. zweifach *N*-methylierten Harnstoff in Verbindung **67** in Tabelle 5).

Aufgrund der zum großen Teil unattraktiven Hemmwerte der in Tabelle 14 aufgezeigten Verbindungen wurden lediglich **181** und **182** für eine weitere Charakterisierung der zellulären Aktivität in Betracht gezogen. Allerdings zeigen auch diese beiden Inhibitoren keinerlei Verbesserungen auf zellulärer Ebene im Vergleich zur Ausgangsverbindung **110** ($IC_{50}^{ICW} \gg 1 \mu M$, durchgeführt von Athina Moschopoulou), wodurch dieser Ansatz nicht mehr weiterverfolgt wurde.

Neben den ersten Modifikationen der **S1**-Seitenkette, die sich primär auf den Phenyl-Linker und die arylische NH-Gruppe der Harnstoff-Funktion konzentrierten, wurde im Folgenden der terminale aromatenabgewandte Teil der **S1**-Seitenkette modifiziert. Mit dem Ziel, einen H-Brücken-Donor der Harnstoff-Funktion zu entfernen und damit die Zellpermeabilität zu verbessern, wurde die Carbamatgruppe in der Verbindung **187** als Bioisoster eingeführt (Tabelle 15, S.139). Dieser Inhibitor wurde im Allgemeinen mit einem IC_{50} -Wert von 4 nM gut von der Bindetasche der ATM-Kinase toleriert. Im zellulären Assay zeigte diese Verbindung einen substanziell besseren Hemmwert mit 24 nM (IC_{50}^{ICW} , CI 95 %: 5.5 - 88) als die Mutterverbindung **110** ($IC_{50}^{ICW} = 11 \mu M$, $\Delta pIC_{50}^{ICW} \sim 2,7$).

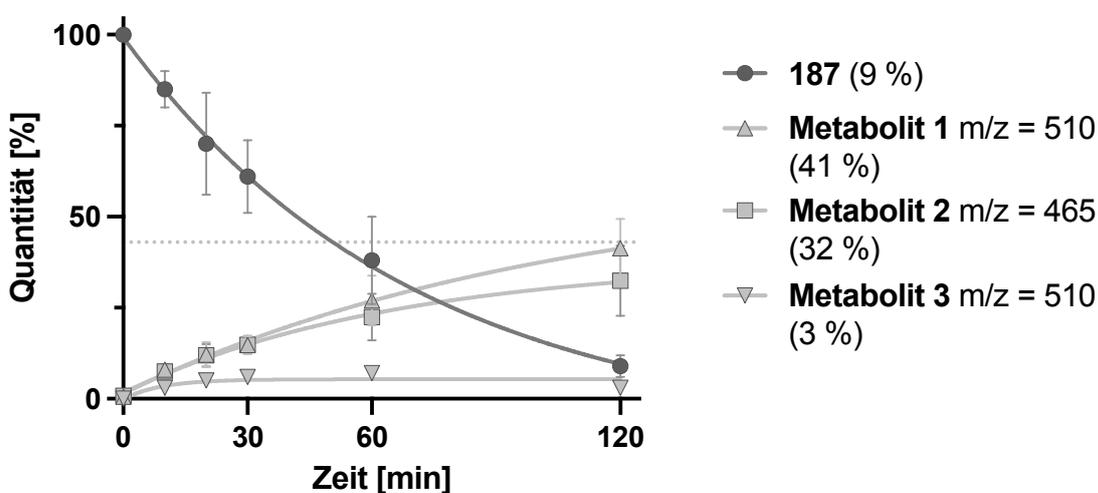


Abbildung 60: Mikrosomaler Abbau der Verbindung **187**. Das Experiment wurde mit murinen Lebermikrosomen durchgeführt. Für **187** wurden drei verschiedene Metaboliten detektiert. In Klammern ist jeweils der Anteil der einzelnen Substanzen nach 120 min angegeben. (Experiment wurde von Mark Kudolo durchgeführt. Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

Allerdings führte die Carbamat-Funktion zu einer äußerst schlechten Stabilität im murinen Lebermikrosomassay mit Bildung mehrerer Metaboliten (Abbildung 60). Dabei waren lediglich 9 % des Inhibitors nach 120 min nachweisbar, was im Vergleich zu der

Muttersubstanz **110** unvorteilhaft niedrig ist. Die vermuteten Metaboliten der Verbindung **187** sind in Abbildung 61 aufgeführt.

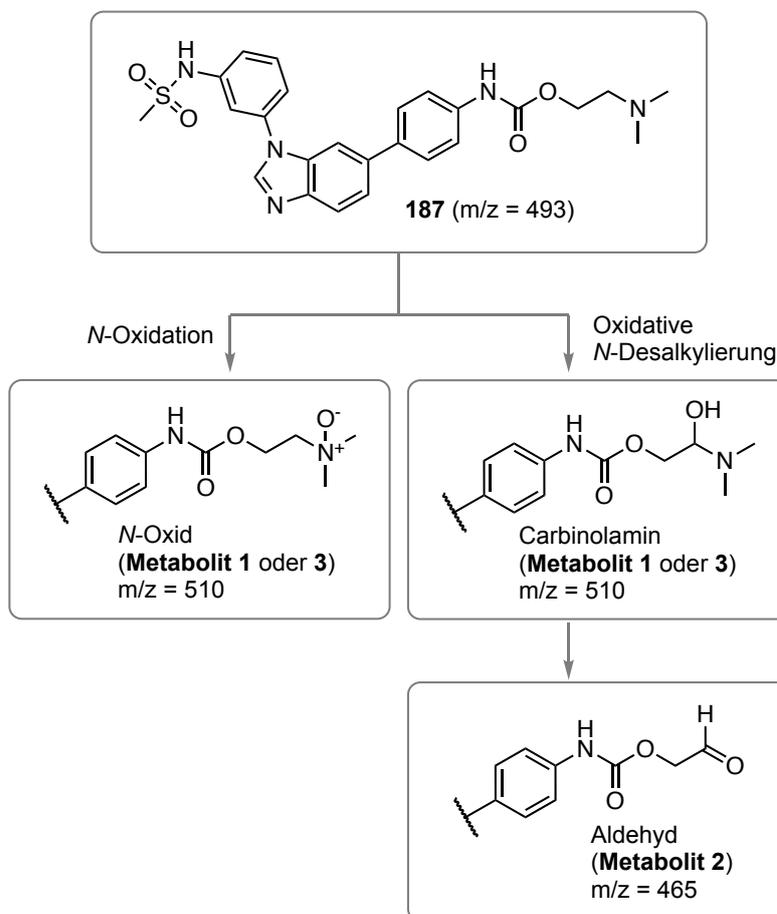


Abbildung 61: Vermutete Metabolisierung der Verbindung **187**. Die Verbindung **187** könnte einerseits durch Flavin-haltige Monoxygenasen am terminalen tertiären Amin N-oxidiert werden, wohingegen die oxidative N-Desalkylierung über CYP-Enzyme plausibel wäre.^{129,201}

Da sich zu Beginn der Entwicklung der Benzimidazol-basierten Inhibitoren herausstellte, dass eine N-Methylierung des Harnstoffs schlecht von der ATM-Bindetasche toleriert wird (Tabelle 5), wurde ein alternativer Ansatz mit der Verbindung **188** erprobt (Abbildung 62 und Tabelle 15). Durch das Installieren einer Methylenbrücke zwischen dem methylierten Stickstoff und der Carbonyl-Funktion sollte der Seitenkette zusätzliche Flexibilität verliehen werden, zudem gewinnt der Stickstoff geringfügig an Basizität.

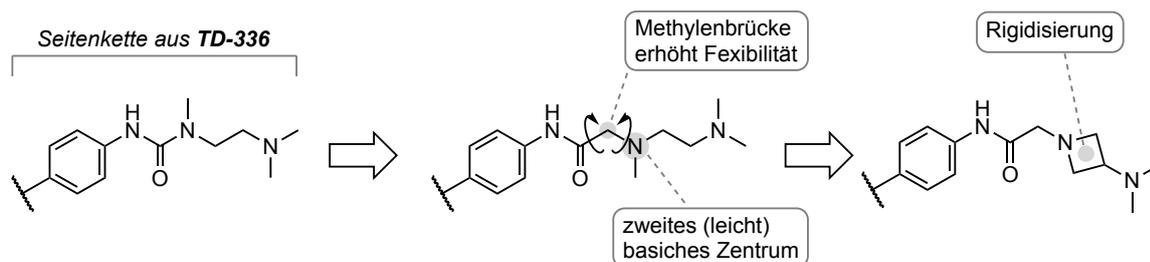
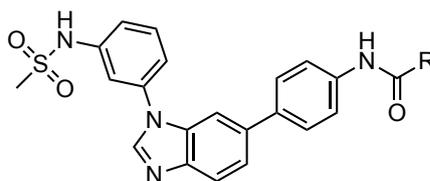


Abbildung 62: S1-Seitenkette der Verbindung **66*** (links, $IC_{50}^I = 1252 \text{ nM}$), **188** (mittig, $IC_{50}^I = 20 \text{ nM}$) und **189** (rechts, $IC_{50}^I < 1 \text{ nM}$). (***66** trägt anders als die beiden Inhibitoren keine Sulfonamid-Funktion an der S2-Seitenkette.)

Zwar ist die ursprüngliche Verbindung **66** nicht direkt mit **188** vergleichbar, da sie nicht die Sulfonamid-Funktion trägt, trotzdem lässt sich schlussfolgern, dass die modifizierte Seitenkette in **188** tendenziell besser akzeptiert wird ($IC_{50}^I = 20 \text{ nM}$, Tabelle 15). Aufgrund der geringeren Aktivität von **188** im Vergleich zur Muttersubstanz **110** wurde zusätzlich eine Rigidisierung der Seitenkette erprobt, um die Flexibilität des terminalen *N,N*-Dimethylaminoethyl-Restes einzuschränken. Dabei wurde dieser mit einem Dimethylaminoazetidin ausgetauscht (**189**, Tabelle 15). Mit dieser Modifikation konnte die Potenz des Inhibitors in den subnanomolaren Bereich gebracht werden, jedoch zeigte sich innerhalb des ICW-Assays keine Verbesserung der Aktivität. Als weitere Alternative dazu wurde auch der sterisch anspruchsvollere Inhibitor **190** synthetisiert, der jedoch mit einem Hemmwert von 166 nM eine deutlich schlechtere Potenz aufwies.

Verschiedene weitere Rigidisierungsstrategien des terminalen Dimethylethylenamin-Restes wurden erprobt: Ein *N*-Methylpiperazin in **191** und ein *N,N*-Dimethylpiperidin-4-amin in **192** sollten das terminale basische Zentrum in zwei verschiedenen Positionen fixieren. So zeigte **191**, analog zum bereits in Kapitel 5.3.2 diskutierten Biphenyl **165** (siehe Seite 129), einen essenziellen Affinitätsabfall, der in diesem Fall sogar noch erheblicher war. Die strukturell ähnliche Verbindung **192**, bei der das basische Zentrum außerhalb des Rings repositioniert wurde, resultierte in einen ähnlichen Aktivitätsabfall mit einem IC_{50}^I -Wert im mikromolaren Bereich.

Eine Erweiterung des *N*-Methylpiperazin- zu einem *N*-(2-Methylbenzyl)piperazin in **193** führte entgegen den Erwartungen zu einem deutlichen Aktivitätszuwachs. Somit zeigt diese sterisch anspruchsvolle Verbindung, dass die Bindetasche deutlich größere S1-Seitenketten als die zuvor getesteten toleriert. Ob dieser Aktivitätszuwachs auf hydrophobe Effekte oder gerichtete Interaktionen des Aromaten zurückzuführen ist, bleibt unklar.

Tabelle 15: Weitere Modifikationen der **S1**-Seitenkette.


Verb.	R =	IC ₅₀ ^I [nM] ^a	Verb.	R =	IC ₅₀ ^I [nM] ^a
110 (Ausgangs- verbindung)		< 1	193		343
187		4	194		2
188		20	195		3
189		< 1	196		4
190		166	197		2
191		1576	198		10
192		6472			

^aFRET-basierter ATM-Kinase-Aktivitätsassay, durchgeführt von Reaction Biology Corp. mit 5 Konzentrationen und 10-fach Verdünnungen beginnend mit 10 μ M, $n = 1$. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

Weitere Möglichkeiten, Ringstrukturen an die **S1**-Seitenkette anzubringen, wurden mit den Inhibitoren **194** und **195** realisiert, wobei NH-Gruppen des Harnstoffes in diesem Fall unberührt bleiben. Der Dimethylethylenamin-Rest wurde jeweils zu einem Methylpyrrolidin in **194** oder einem Methylpiperidin in **195** abgewandelt. Diese beiden Derivate zeigten im primären Assay attraktive IC₅₀^I-Werte zwischen 2 und 3 nM, waren damit jedoch insgesamt schlechter als die Ausgangssubstanz **110** (IC₅₀^I < 1 nM, Tabelle 8). Die Einführung der Ringe und die damit eingehende Reduktion der drehbaren Bindungen resultierte im zellulären Assay auch in diesem Fall in keiner Verbesserung der Hemmung (IC₅₀^{ICW} > 1 μ M), sodass diese Strategie auch nicht als zielführend erachtet wurde. Inhibitor

196, welcher das ringoffene Analogon von **194** darstellt, zeigte mit einem Hemmwert von 4 nM keinen Unterschied zur Ausgangssubstanz **194**.

In einer weiteren Serie sollte die Relevanz des terminalen basischen Zentrums untersucht werden, indem Reste eingeführt wurden, die die Basizität des Stickstoffs modulieren. Dazu wurde der Dimethylamin-Rest mit Monofluor- bzw. Difluoracetidin in den Verbindungen **197** und **198** substituiert. Aus dieser Modifikation resultierte ein deutlicher Aktivitätsabfall, der mit der sinkenden Basizität des Amins korreliert. (Weitere Amin-Bioisostere in Tabelle 24 zeigten ein vergleichbares Ergebnis). Die korrespondierende Desfluoracetidin-Verbindung konnte aufgrund einer äußerst schlechten Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln nicht isoliert werden.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die zahlreichen Modifikationen der basischen Seitenkette in Tabelle 15 unter anderem auch potente Inhibitoren hervorgebracht haben. Dennoch konnten, bis auf **189**, keine Inhibitoren gefunden werden, die im Vergleich mit dem Ausgangsinhibitor **110** eine subnanomolare Aktivität im primären Assay aufwiesen. Die potenteren Inhibitoren innerhalb dieser Reihe führten zudem zu keiner Verbesserung innerhalb des zellulären Assays. Als einzige Ausnahme ist das Carbamat **187** hervorzuheben, welches eine deutliche Potenzsteigerung mit zweistellig nanomolaren Werten auf zellulärer Ebene zeigte. Jedoch verliert dieser Inhibitor aufgrund der Carbamat-Funktion erheblich an mikrosomaler Stabilität, was diese Verbindung für eine weitere Optimierung ausschloss.

5.3.3.2 Modifikationen des *Hinge*-Bindungsmotivs innerhalb Sulfonamid-basierten Inhibitoren

Neben den zahlreichen Modifikationen an der Harnstoff-basierten **S1**-Seitenkette des Sulfonamids **110** sollten auch die SARs des *Hinge*-Bindungsmotivs untersucht werden. Dafür kamen primär die drei Positionen, die in Abbildung 63 markiert sind, infrage. Eine Derivatisierung in Position 4 des Benzimidazols wurde nicht durchgeführt, da diese eine Bindung zur *Hinge*-Region sterisch behindern würde. Dies konnte bereits für Chinolin-3-carboxamid-basierten Inhibitoren von AstraZeneca gezeigt werden. Eine Methylierung der äquivalenten Position 8 des Chinolins resultierte in einem > 80-fachen Verlust an Aktivität.¹⁴²

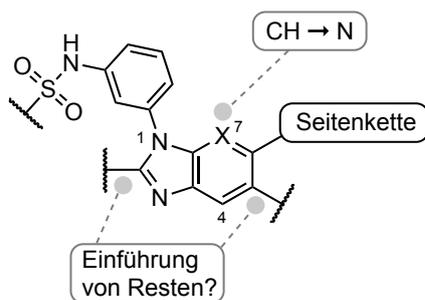
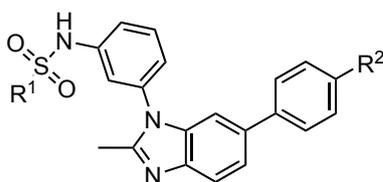


Abbildung 63: Übersicht der Modifikationen am Hinge-Bindungsmotiv. Die Modifikationen in Position 5 des Benzimidazols wurden zu einem späteren Zeitpunkt durchgeführt (s. Abbildung 68).

Zunächst wurde die Einführung einer Methylgruppe des Imidazols an Position 2 untersucht (Tabelle 16). Diese Änderung wurde zusammen mit drei verschiedenen Resten am Sulfonamid kombiniert. Verglichen mit den nicht-methylierten Ausgangsinhibitoren aus Tabelle 8 (**110**, **111** und **112**), welche subnanomolare Hemmwerte im primären Assay zeigten, führte die Einführung der Methylgruppe in **218**, **219** und **220** zu einem Verlust an Aktivität. Insgesamt zeigt **219** ($R^1 = \text{Et}$) in dieser Reihe die geringste Aktivität mit 16 nM. Auch in späteren Inhibitoren konnte der Trend beobachtet werden, dass der Ethyl-Substituent am Sulfonamid geringfügig an Potenz gegenüber Methyl oder Cyclopropyl verliert (siehe Tabelle 20).

Tabelle 16: Modifikationen des Hinge-Bindungsmotivs.

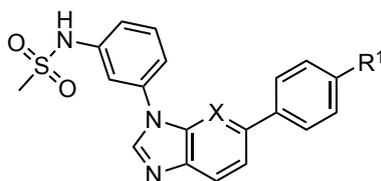


Verb.	$R^1 =$	$R^2 =$	IC_{50}^I [nM] ^a
218	Me		9,5
219	Et		16
220	cPr		8

^aFRET-basierter ATM-Kinase-Aktivitätsassay, durchgeführt von Reaction Biology Corp. mit 5 Konzentrationen und 10-fach Verdünnungen beginnend mit 10 μM , $n = 1$. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

Als zweite Modifikation wurde das Benzimidazol-Grundgerüst durch 3*H*-Imidazo[4,5-*b*]pyridin ersetzt, das zuvor im Rahmen der Biphenyl-basierten Inhibitoren beschrieben wurde (s. Tabelle 13). Dieses Grundgerüst wurde einerseits mit der 1-(2-(Dimethylamino)ethyl)harnstoff-**S1**-Seitenkette (**225**, Tabelle 17) und andererseits mit der 2-(3-(Dimethylamino)azetidin-1-yl)acetanilid-Seitenkette (**226**, Tabelle 17) kombiniert. Beide Inhibitoren wiesen subnanomolare Potenzen im primären biochemischen Assay auf. Aufgrund der hohen Aktivitäten der Inhibitoren im primären Assay (IC_{50}^I , Tabelle 17) wurde der IC_{50}^{II} -Wert dieser Verbindungen bestimmt, um eine bessere Vergleichbarkeit zur Ausgangssubstanz **110** und **189** zu erlauben (Tabelle 17). Interessanterweise zeigte der sekundäre Assay für die beiden Azetidine **189** und **226** erheblich höhere IC_{50}^{II} -Werte im Vergleich zum primären Assay (Tabelle 17). Die Abweichung für **189** stellte den höchsten gemessenen Unterschied zwischen primären und sekundären Assay dar (unter insgesamt 20 gemessenen Verbindungen, $\Delta pIC_{50}(\mathbf{189}) \geq 1,5$, s. S.97).

Tabelle 17: Imidazol- vs. 3*H*-Imidazo[4,5-*b*]pyridin-Grundgerüst.



Verb.	X =	R ¹ =	IC ₅₀ ^I [nM] ^a	IC ₅₀ ^{II} [nM] ^b
110	CH		< 1	4,1
189	CH		< 1	30
225	N		< 1	1,9
226	N		< 1	22

^aDurchgeführt bei RBC. 5 Konzentrationen, 10-fach Verdünnung, Startkonzentration bei 10 μ M.

^bDurchgeführt bei RBC. 10 Konzentrationen, 3-fach Verdünnung, Startkonzentration bei 100 nM. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

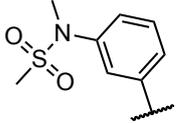
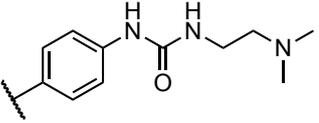
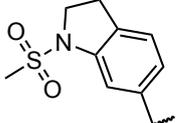
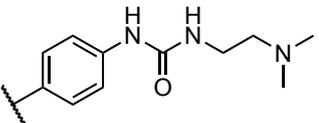
Trotzdem lässt sich innerhalb dieser Tabelle erkennen, dass das 3*H*-Imidazo[4,5-*b*]pyridin-Grundgerüst tendenziell etwas höhere Aktivitäten als die Benzimidazol-Analoga aufweist.

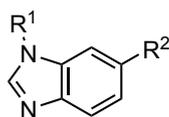
(Dies bestätigt sich auch mit späteren Inhibitoren, siehe **240** und **272** in Tabelle 18 und Tabelle 20). Für die Verbindung **225** wurde zudem die Selektivität innerhalb der PIKK-Familie untersucht. Dabei wurden für ATR, mTOR und DNA-PK Restaktivitäten von 102 %, 43 % und 15 % bei 1 μ M gemessen, womit keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zur Ausgangsverbindung **110** zu sehen waren (siehe Tabelle 9).

5.3.3.3 SAR-Studien der Sulfonamidgruppe

Als weitere größere SAR-Studie innerhalb der Sulfonamid-basierten Inhibitoren sollte die Rolle der Sulfonanilidgruppe an der **S2**-Seitenkette näher untersucht werden. Hiermit sollte die Hypothese untersucht werden, dass das freie NH der Sulfonamide keine direkten Bindungen in der Bindetasche eingeht und somit für eine effektive Hemmung der Kinase nicht essenziell ist. Vielmehr könnte es die physikochemischen Eigenschaften der Inhibitoren negativ beeinflussen. Als leicht acide Gruppe ($pK_s^{\text{calc.}} = 10,77$, berechnet von Dr. Thales Kronenberger mit Schödinger/Jaguar²⁰²) könnte vor allem in Kombination mit weiteren H-Brücken-Donoren (HBD) und mit dem terminalen Amin eine unvorteilhaft hohe Polarität resultieren, welche die Zellpermeabilität insgesamt behindern könnte. Die einfachste Methode, um die NH-Gruppe zu maskieren, stellte die Methylierung in Verbindung **229** dar (Tabelle 18). Diese konnte im sekundären Enzymassay die hohe Aktivität der Muttersubstanz **110** ($IC_{50}^{\text{II}} = 3,7$ nM) beibehalten. Damit lässt sich ableiten, dass die NH-Funktion keine relevanten Interaktionen eingeht. Diese Modifikation führte überdies zu einer substantziellen Verbesserung der zellulären ATM-Inhibition.

Tabelle 18: Modifikationen der Sulfonamidfunktion (IC_{50}^{II}).

Verbindung	R ¹ =	R ² =	IC ₅₀ ^{II} [nM] ^a	IC ₅₀ ^{ICW} [nM] ^b
229			5,5	110 (45,4 - 261)
238			0,65	207 (175 - 245)

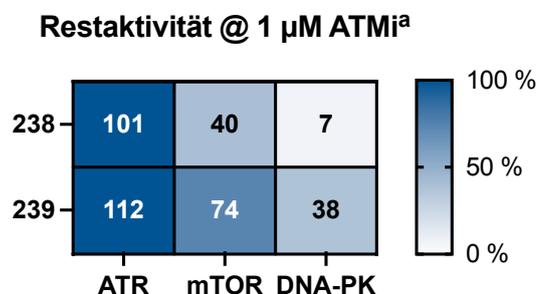


Verbindung	R ¹ =	R ² =	IC ₅₀ ^{II} [nM] ^a	IC ₅₀ ^{ICW} [nM] ^b
239			6,4	1,2 (0,39 - 3,7)
240			2,5	9,4 (3,4 - 25)
244			23	-

^aHTRF-basierter ATM-Kinase-Aktivitätsassay, durchgeführt von Eurofins (KinaseProfilerTM) mit 5 Konzentrationen und 10-fach Verdünnungen beginnend bei 1 μ M, n = 2. ^bICW-Assay wurde von Athina Moschopoulou durchgeführt, grau in Klammern: CI 95 %. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

Während die Muttersubstanz **110** Hemmwerte von 11 μ M zeigte, lagen die Hemmwerte im Fall des *N*-methylierten Analogon **229** bei 110 nM, was einem ~100-fachen Aktivitätsunterschied entspricht (Tabelle 18). Neben der Methylierung in **229** wurde eine Cyclisierung der S2-Seitenkette mit dem Indolin-Derivat **238** realisiert. Diese Änderung führte zu einer deutlichen Verbesserung der Aktivität im picomolaren Bereich im Vergleich zu den Ausgangsverbindungen **229** oder **110** im biochemischen Assay (Tabelle 18 und Tabelle 17).

Tabelle 19: PIKK-Selektivitäten der Verbindungen **238** und **239**.



^aSelektivitätsdaten wurden bei Eurofins KinaseProfilerTM mit einer InhibitorKonzentration (ATMi) von 1 μ M durchgeführt, n = 2. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

Zudem konnte eine deutliche Potenzsteigerung der zellulären Inhibition mit einem Hemmwert von 207 nM erreicht werden, was sich in einer ähnlichen Größenordnung wie **229** befindet. Eine Messung der PIKK-Selektivität der Verbindung **238** zeigte für Kinasen ATR, mTOR und DNA-PK Restaktivitätswerte, die vergleichbar mit den Werten für die Ausgangsverbindung **110** waren (Tabelle 19, vgl. Tabelle 9 für **110**).

Darüber hinaus wurde die Indolin-basierte **S2**-Seitenkette auch in Kombination mit dem Dimethylaminoazetididin-Rest (R^2) (aus der Verbindung **189**, Tabelle 17) im Inhibitor **239** erprobt (Tabelle 18). Gegenüber der nicht-cyclisierten Ausgangsverbindung **189** ($IC_{50}^{II} = 30$ nM, freies NH, Tabelle 17) führte die Verbindung **239** zu einem deutlichen Aktivitätsvorteil mit einem IC_{50}^{II} von 6,4 nM. Zudem konnte dieser Inhibitor die zelluläre ATM-Kinasehemmung noch einmal gravierend verbessern: Der zelluläre IC_{50}^{ICW} -Wert dieser Verbindung lag mit 1,2 nM im einstellig nanomolaren Bereich, was eine Aktivitätssteigerung um vier Größenordnungen gegenüber der Muttersubstanz **110** ausmacht. Zudem verbesserte sich Selektivität gegenüber mTOR und DNA-PK verglichen mit **110** (Tabelle 19, vgl. Tabelle 9 für **110**). Eine weitere Reduktion der HBD wurde mit der Pyridin-2-yloxy-basierten **S1**-Seitenkette in **240** durchgeführt (Tabelle 18).

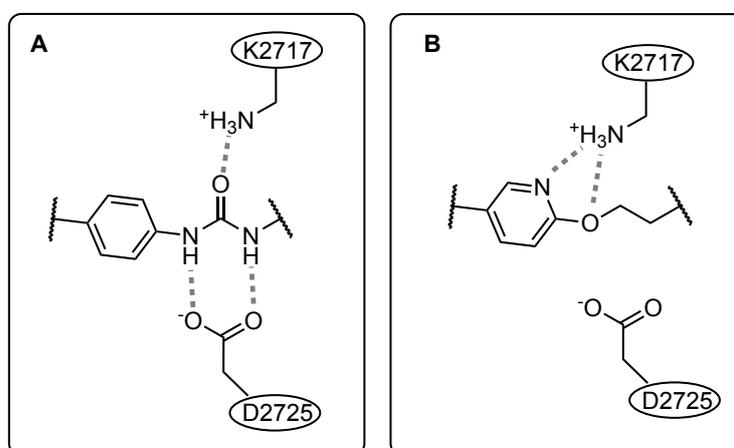


Abbildung 64: Schematische Darstellung der möglichen Wechselwirkungen, welche für die Phenylharnstoff- und Pyridinyloxy-basierten Seitenketten im *in silico* Model beobachtet wurden.¹⁴⁸ (*In silico* Modellierung wurde von Dr. Thales Kronenberger durchgeführt.)

Hierbei zeigte sich eine leichte Unterlegenheit der Ether-basierten **S1**-Seitenkette in **240** gegenüber der Harnstoff-basierten Seitenkette in **238** auf enzymatischer Ebene, was in gleicher Weise innerhalb der Biphenyl-basierten Inhibitoren beobachtet werden konnte (siehe z.B. Tabelle 13). Dies könnte primär mit der fehlenden Adressierung des Aspartat-Restes (D2725, α C-Helix) im Falle des Ethers zusammenhängen (Abbildung 64).

Betrachtet man die zellulären Hemmwerte der Verbindungen **240** und **238**, so war wiederum eine deutliche Überlegenheit der Pyridinylether-S1-Seitenkette zu beobachten, wobei der Hemmwert im einstellig nanomolaren Bereich lag. Eine Cyclisierung des endständigenamins zum *N*-Methylpyrrolidin in **244** zeigte dagegen einen Potenzverlust, was gleichermaßen im Falle der Biphenyl-Analoga zu beobachten war (**168**, Tabelle 12).

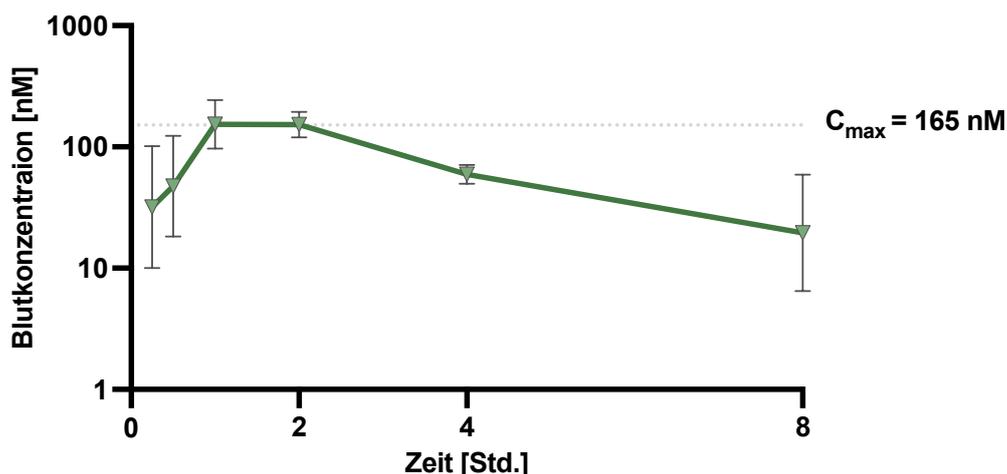


Abbildung 65: Murine Pharmakokinetik von der Verbindung **240**. Dosierung: p.o. 10 mg/kg, Cassette-Dosing, durchgeführt bei Pharmacelsus. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

Basierend auf den Ergebnissen aus Tabelle 18 wurde die Verbindung **240** für eine weitere pharmakokinetische Charakterisierung gewählt (Abbildung 65). Die dabei gemessene maximale Blutkonzentration betrug 165 nM (bzw. 81 ng/ml), was verglichen mit den Ergebnissen der zuvor diskutierten Biphenyle zunächst als gering erschien. Setzt man jedoch die pharmakokinetischen Eigenschaften der Verbindung ins Verhältnis zu den pharmakodynamischen, so liegt die maximale Blutkonzentration ca. 18-fach über den zellulären IC_{50}^{ICW} -Wert für **240**, wodurch sich eine deutliche Verbesserung im Vergleich zu den Biphenyl-Inhibitoren ergibt. Die Halbwertszeit ($t_{1/2z}$) betrug bei diesem Inhibitor moderate 2,7 Stunden.

5.3.3.4 Weiterführende Modifikationen der S1-Seitenkette: Einführung der Bibenzimidazol-Inhibitoren

Ausgehend von der Beobachtung, dass die Harnstoff-basierte S1-Seitenkette in **238** auf enzymatischer Ebene einen Aktivitätsvorteil gegenüber **240** zeigte (Tabelle 18), wurde

nach einer Möglichkeit gesucht, die Anzahl der HBDs zu reduzieren und dennoch eine H-Brücke in Richtung D2725 zu bilden.

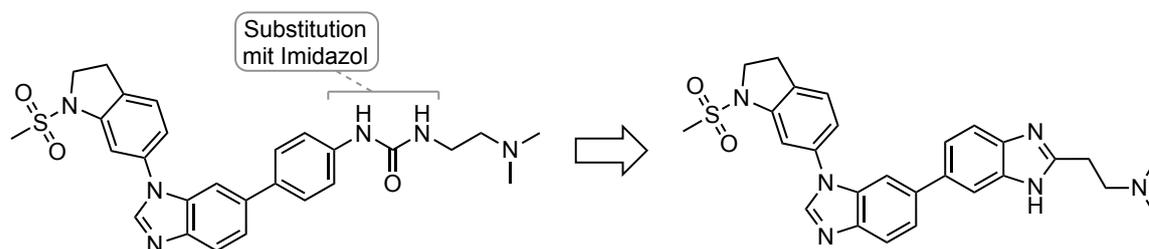


Abbildung 66: Austausch der Harnstoff-Funktion durch einen Imidazolring in **247** (rechts), welcher zwei potenzielle tautomere Formen bietet. Der Inhibitor **247** zeigt mit einem IC_{50}^{II} von 1,6 nM eine gute Aktivität auf dem isolierten Enzym. Auf zellulärer Ebene liegt der IC_{50}^{ICW} bei 0,46 μ M. (IC_{50}^{ICW} wurde von Athina Moschopoulou gemessen. IC_{50}^{II} wurde, wie in Tabelle 18 beschrieben, bei Eurofins durchgeführt.)

Dazu wurde mit der Verbindung **247** (Abbildung 66) versucht, den Harnstoff bioisoster mit einem Imidazolring zu substituieren, allerdings konnte diese Verbindung nur mit einer HPLC-Reinheit von 93,5 % isoliert werden. Nichtsdestotrotz wurde der Inhibitor dennoch getestet und führte zu einer sehr hohen Aktivität mit einem IC_{50}^{II} von 1,6 nM auf der ATM-Kinase. Auf zellulärer Ebene konnte dieser Inhibitor mit einem IC_{50}^{ICW} -Wert von 0,46 μ M jedoch keinen Vorteil gegenüber **238** zeigen.

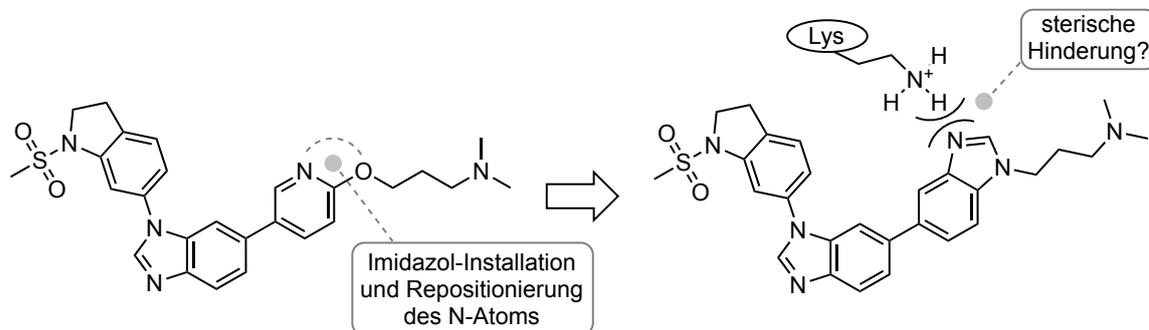


Abbildung 67: Cyclisierung und Repositionierung des aromatischen Stickstoffs ausgehend von **240**, links (s. Tabelle 18). Die Verbindung **250** (rechts) zeigt jedoch im Enzymassay keine Aktivität ($IC_{50}^{II} > 1 \mu$ M).

Neben **247** wurde auch das Bibenzimidazol **250** synthetisiert, welches die Pyridin-basierte S1-Seitenkette aus der Verbindung **240** bioisoster ersetzen sollte (Abbildung 67), wobei die Positionierung des Stickstoffs als H-Brücken-Akzeptor maßgeblich verändert wird und die Anzahl drehbarer Bindungen insgesamt um eine Achse reduziert wird. Der zusätzlich eingeführte Imidazolring in **250** führte jedoch zu keiner messbaren Hemmung der ATM-Kinase, sodass von einer sterischen Hinderung ausgegangen werden könnte.

5.3.3.5 Modifikationen am *Hinge*-Bindungsmotiv der Sulfonamid-Inhibitoren

Die Firma Merck (KGaA) publizierte mit der Verbindung **M4076** einen weiteren klinischen ATM-Kinaseinhibitor, welcher ebenfalls zur Gruppe der Imidazo[4,5-*c*]chinolin-2-on-basierten Inhibitoren gehört und insgesamt eine sehr hohe Selektivität aufweist (Abbildung 68).⁵⁴ Dieser Inhibitor trägt in Position 7 des Chinolin-Motivs eine Methoxygruppe, wobei sich die Frage stellte, ob eine äquivalente Einführung dieser Gruppe am Benzimidazol-Grundgerüst zu Aktivitäts- oder Selektivitätsvorteilen führen würde, sodass Methoxy-Analoga der Verbindungen **238** und **240** dargestellt wurden (Abbildung 68).

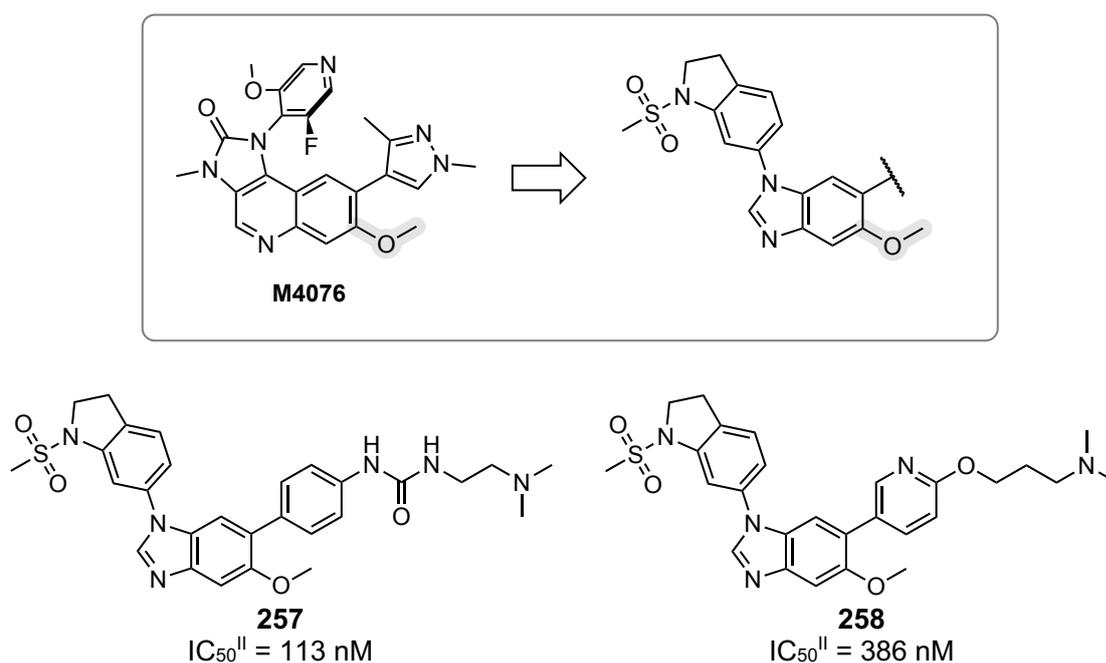


Abbildung 68: Einführung der Methoxygruppe an Position 5 des Benzimidazol-Hinge-Bindungsmotivs. (Testung erfolgte wie in Tabelle 18^a beschrieben.)

Die Inhibitoren **257** und **258** zeigten jedoch einen starken Aktivitätsverlust mit IC_{50}^{II} -Werten im dreistelligen nanomolaren Bereich, sodass die SARs der Verbindung **M4076** nicht übertragen werden konnten.

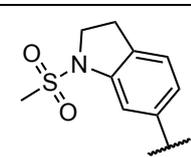
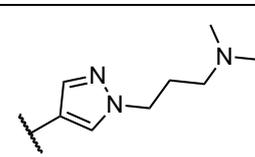
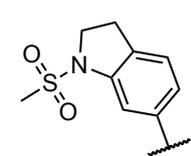
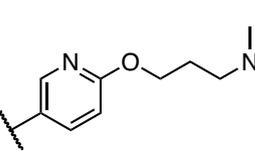
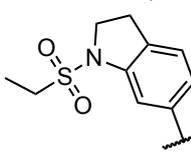
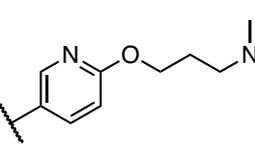
Auch an dieser Stelle sollte zusätzlich das alternative 3*H*-Imidazo[4,5-*b*]pyridin-Grundgerüst erprobt werden (Tabelle 20), welches bereits zuvor in Tabelle 17 innerhalb der Strukturklasse der Sulfonamid-basierten ATM-Kinaseinhibitoren eingeführt wurde und tendenziell leicht verbesserte Aktivitäten lieferte. Vergleicht man das 3*H*-Imidazo[4,5-*b*]pyridin-Analogon **272** der Verbindung **240**, so war zu beobachten, dass auch hier ein Aktivitätsvorteil mit subnanomolaren Hemmwerten zu verzeichnen war (Tabelle 20, vgl. Tabelle 18). Die Ethyl- und Cyclopropyl-Derivate **273** und **274** zeigten im Einklang vorheriger SARs ähnliche Aktivitäten, wobei auch in dieser Reihe eine tendenziell etwas

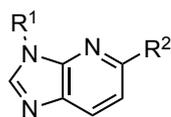
unterlegende Hemmung der Ethyl-Verbindung beobachtet werden konnte (vergleiche Tabelle 16). Mit der Verbindung **298** sollte eine alternative **S2**-Seitenkette getestet werden, die einen Pyrazolring anstatt des Pyridinylethers beinhaltet, was jedoch mit einem substanziellen Verlust der Hemmaktivität einherging.

Ausgehend vom Methylsulfonylindolin-Rest (**S2**) stellte sich die Frage, ob die Ausrichtung des Sulfonyl-Restes weiter optimiert werden konnte, wozu anstatt des Indolins auch ein Tetrahydrochinolin-Rest als **S2**-Seitenkette erprobt wurde (**275**, Tabelle 20). Die Ringerweiterung in **275** zeigte dabei eine marginal schlechtere Inhibition im subnanomolaren Bereich verglichen mit dem Indolin **272**, was sich auch mit zahlreichen weiteren Tetrahydrochinolin-Inhibitoren bestätigte (vergleiche Tabelle 24).

Neben **275** wurde auch das Harnstoff-Analogon **284** dargestellt, welches im Einklang mit den bereits beobachteten SARs auf dem isolierten Enzym eine höhere Aktivität, jedoch auf zellulärer Ebene zu einem deutlichen Aktivitätsrückgang führte. Ausgehend von **275** sollte die Auswirkung einer Verschiebung des Sulfonamid-Restes überprüft werden, sodass das Tetrahydroisochinolin-Analogon **295** synthetisiert wurde (Tabelle 20). Dabei war eine deutliche Abnahme der Aktivität zu beobachten, woraus sich schließen lässt, dass die Sulfonylgruppe eine gerichtete Interaktion in der Bindetasche eingeht, die nur bestimmte strukturelle Modifikationen erlaubt.

Tabelle 20: Evaluierung des 3H-Imidazo[4,5-b]pyridin-Grundgerüsts.

Verb.	R ¹ =	R ² =	IC ₅₀ ^{II} [nM] ^a	IC ₅₀ ^{ICW} [nM] ^b
298			237	-
272			0,48	1,4 (0.91 - 2.2)
273			0,78	< 1



Verb.	R ¹ =	R ² =	IC ₅₀ ^H [nM] ^a	IC ₅₀ ^{ICW} [nM] ^b
274			0,41	< 0,1
275			0,96	0,60 (0,43 - 0,83)
284			0,59	59 (29 - 116)
295			211	971 (488 - 2078)

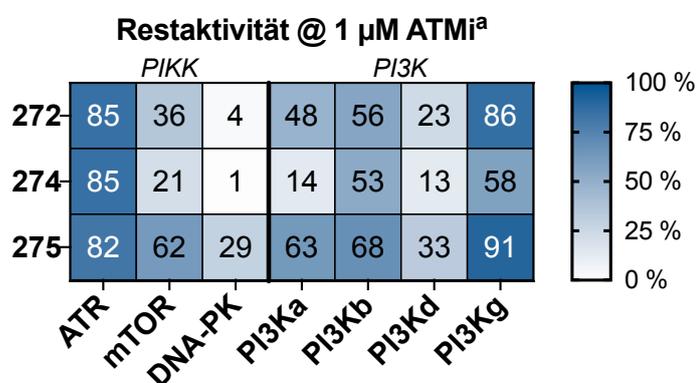
^aHTRF-basierter ATM-Kinase-Aktivitätsassay, durchgeführt von Eurofins (KinaseProfilerTM) mit 5 Konzentrationen und 10-fach Verdünnungen beginnend bei 1 μ M, n = 2. Referenzverbindung: IC₅₀^H(AZD0156) = 0,90 nM. ^bICW-Assay wurde von Athina Moschopoulou durchgeführt, grau in Klammern: CI 95 %. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

Insgesamt zeigten die meisten Inhibitoren aus Tabelle 20 eine sehr hohe enzymatische Aktivität, die in vielen Fällen die Hemmaktivität der Referenzverbindung **AZD0156** überstieg. Zudem konnten zahlreiche Inhibitoren aus Tabelle 20 eine subnanomolare Potenz auf zellulärer Ebene zeigen. Mit **274** wurde in vier Experimenten eine signifikant stärkere ATM-Inhibition verglichen mit der Referenzverbindung **AZD0156** festgestellt (ICW durchgeführt von Athina Moschopoulou, jeweils n = 3).

Aufgrund der vielversprechenden Ergebnisse aus Tabelle 24 sollten die Inhibitoren **272**, **274** und **275** weiter charakterisiert werden. Dazu wurde zunächst die Selektivität innerhalb der verwandten Kinasen der PIKK- und PI3K-Familien bestimmt (Tabelle 21). Insgesamt hemmten die getesteten Inhibitoren die ATR-Kinase stärker im Vergleich zu den Muttersubstanzen **110** und **112**, bei denen keine Hemmung bei 1 μ M festgestellt werden konnte. Dennoch war die Restaktivität der ATR-Kinase mit > 80 % in allen Fällen zufriedenstellend. Darüber hinaus zeigte die Verbindung **274** durchgehend insgesamt niedrigere Selektivitäten als **272**, wohingegen die Ringerweiterung zum

Tetrahydrochinolin mit dem Inhibitor **275** in einen deutlichen Selektivitätsvorteil resultierte. Betrachtet man den inhibitorischen Effekt auf die mTOR-Kinase, so zeigte **275** eine deutlich geringere Hemmung als **272** und **274**. Die DNA-PK wurde unter allen getesteten Kinasen insgesamt am stärksten gehemmt. Hierbei führten **272** und **274** zu einer nahezu vollständigen Inhibition, während **275** deutlich bessere Werte lieferte. Innerhalb der getesteten Mitglieder der PI3K-Familie wurden gegenüber PI3Ka, PI3Kb und PI3Kg gute Selektivitäten (mit Ausnahme von **274**) erreicht. Als problematischer zeigte sich die Selektivität der getesteten Inhibitoren gegenüber PI3Kd.

Tabelle 21: PIKK- und PI3K-Selektivitäten ausgewählter 3H-Imidazo[4,5-b]pyridin-Inhibitoren.



^aRestaktivität der Kinasen bei 1 μ M Inhibitorkonzentration (ATMi), $n = 2$, durchgeführt von Eurofins. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

Auch die mikrosomale Stabilität dieser Verbindungen wurde evaluiert (Abbildung 69). Dabei zeigten alle drei Inhibitoren eine geringere Stabilität im Vergleich zu der Muttersubstanz **110**, die nach 120 min noch zu 43 % vorlag. Für die Verbindung **274** konnte innerhalb dieser Reihe die niedrigste Stabilität mit 10 % Restsubstanz nach 120 min nachgewiesen werden. Für alle drei Verbindungen wurden jeweils zwei Metaboliten mit der Masse $m/z = [M+16]$ gefunden. Vermutet wird auch hier eine *N*-Oxid Bildung über die FMO¹²⁹ (vgl. Abbildung 53) und zudem eine Hydroxylierungs-Reaktion.

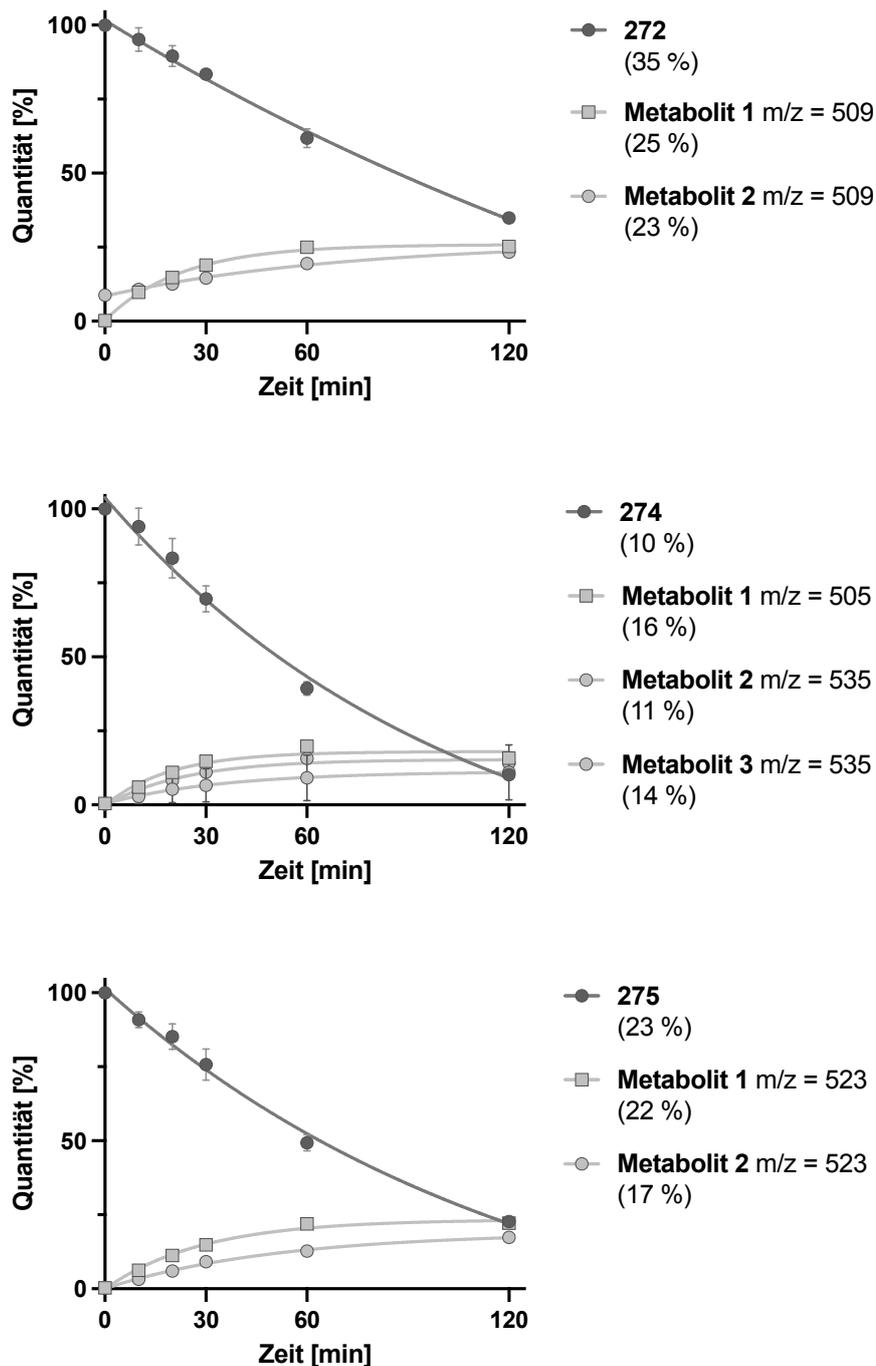


Abbildung 69: Mikrosomaler Stabilitätsassay der Verbindungen **272** ($m/z = 493$), **274** ($m/z = 519$) und **275** ($m/z = 507$), durchgeführt von Mark Kudolo. In Klammern: Anteil in % nach 120 min. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

Im Fall vom Cyclopropyl-Derivat **274** wurde zusätzlich noch ein dritter Metabolit mit einer $m/z = [M-14]$ Masse gefunden. Aufgrund der höheren mikrosomalen Stabilität der Verbindungen **272** und **275** wurden diese für eine pharmakokinetische Evaluation im Mausmodell gewählt (Abbildung 70). Im direkten Vergleich zwischen **272** und dem

Benzimidazol-Analogon **240** (Abbildung 65, $C_{\max} = 165$ nM) resultierte mit dem 3*H*-Imidazo[4,5-*b*]pyridin-Grundgerüst eine deutliche Reduktion der maximalen Blutkonzentration mit einem Wert von 42 nM (Abbildung 70). Für die Verbindung **275** wurde mit 57 nM ein ähnlicher Wert gemessen. Die Halbwertszeit konnte aufgrund zu weniger Datenpunkte nicht berechnet werden.

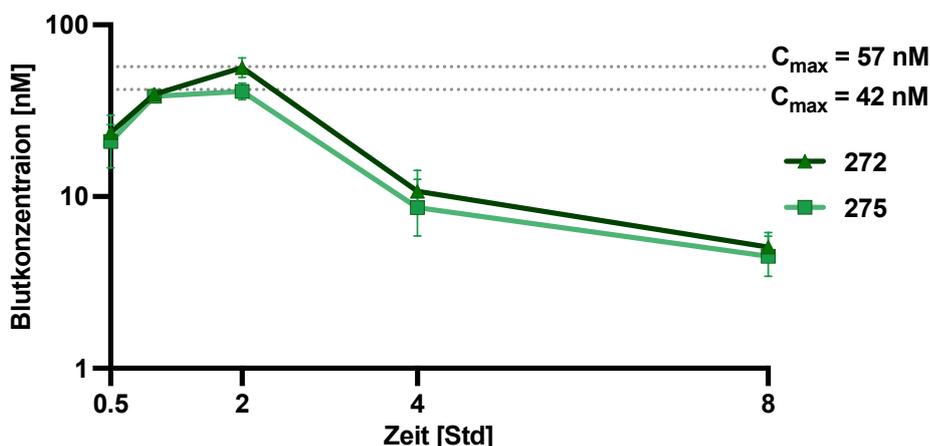


Abbildung 70: Murine Pharmakokinetik der Verbindungen **272** und **275**. Dosierung: 10 mg/kg p.o., Cassette Dosing, durchgeführt von Pharmacelsus. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.) Aufgrund des Cassette Dosing können auch an dieser Stelle pharmakokinetische Interaktionen nicht ausgeschlossen werden.²⁰⁰

Obwohl die Blutkonzentrationen der Verbindungen zunächst gering erscheinen, sind diese ca. 40- bis 70-fach höher als die gemessenen IC_{50}^{ICW} -Werte, sodass eine deutliche Verbesserung im Vergleich zur Verbindung **240** erzielt werden konnte (vgl. Abbildung 65). Insgesamt wurden zudem die zellulären IC_{80}^{ICW} -Werte überschritten, sodass eine *in vivo* Inhibition der ATM-Kinase wahrscheinlich erscheint.

Tabelle 22: Zelluläre IC_{50} - und IC_{80} -Werte im Vergleich zur gemessenen C_{\max} .

Verbindung	IC_{50}^{ICW} [nM]	IC_{80}^{ICW} [nM]	C_{\max} [nM]
272	1,4	8,3	57
275	0,60	21	42

Obwohl **272** als auch **275** gute Ergebnisse lieferten, wurde **275** aufgrund der besseren Selektivitäten innerhalb der PIKK- und PI3K-Familien gewählt, um die Selektivität dieser Verbindung innerhalb eines Kinase-Minipanelns zu bestimmen, welches von Prof. Jürgen Bajorath in Anlehnung an die Publikation von Laufkötter *et al.* und Bembenek *et al.* erstellt wurde.^{203,204} Dabei wurden 28 Kinasen gewählt, die ausgehend von den beiden unabhängigen Publikationen als repräsentativ für das gesamte Kinom angesehen wurden,

um die Promiskuität der Verbindung **275** innerhalb des Kinoms einordnen zu können (Tabelle 23).

Tabelle 23: Kinase Minipanel mit 28 Kinasen. Die Daten wurden bei Eurofins (KinaseProfiler™) erhoben (n = 1). (Siehe Kapitel 4.1.4 für weitere Informationen.)

Kinase	275 @ 0.1 µM [%]	275 @ 1 µM [%]
Abl(h)	101	100
ALK(h)	88	95
Aurora-B(h)	99	92
BRK(h)	94	94
CaMKK2(h)	102	91
CDK1/cyclinB(h)	96	94
CDK2/cyclinA(h)	89	92
CDKL1(h)	86	91
CHK2(h)	100	94
CLIK1(h)	88	82
CLK4(h)	102	63
DYRK1A(h)	92	64
EGFR(h)	95	92
Flt3(h)	87	61
GRK1(h)	93	95
GSK3β(h)	107	103
HIPK2(h)	113	102
IKKε(h)	94	99
JAK3(h)	105	113
KDR(h)	113	101
Lck(h) activated	104	96
PAK1(h)	107	109
PDGFRβ(h)	107	104
PKCθ(h)	92	93
PTK5(h)	102	96
Pyk2(h)	87	94
TLK1(h)	81	85
PI3 Kinase (p110a/p85a)(h)	94	63

Bei einer Inhibitorkonzentration von 0,1 µM konnte ein ausgezeichnetes Ergebnis mit Kinaserestaktivitäten von > 80 % erzielt werden. Die Erhöhung der Inhibitorkonzentration um das 10-fache führte nur in vier Fällen (CLK4, DYRK1, FLT3 und PI3Ka) zu Restaktivitäten unter 80 %. Nichtsdestotrotz lagen alle Werte über 60 % und somit ist

keines der getesteten Enzyme innerhalb dieses Panels als *Off-Target* anzusehen. Somit lässt sich zusammenfassen, dass der Inhibitor **275** tendenziell als nicht-promiskuitive Verbindung anzusehen ist und eine hohe Kinom-weite Selektivität wahrscheinlich ist.

5.3.3.6 Modulation der Lipophilie der Verbindungen **272** und **275**

Ausgehend von den Inhibitoren **272** und **275** wurden Modifikationen am terminalen basischen Zentrum der Verbindungen unternommen. Diese sollten zum einen die Relevanz desamins weiter beleuchten und zum anderen war das Ziel, die Lipophilie dieser Verbindungen zu modulieren. Mit dem Inhibitor **277** wurde das Desdimethyl-Äquivalent der Verbindung **272** synthetisiert, was zu einer leicht verringerten Inhibition der ATM-Kinase führte (IC_{50} -Wert = 5 nM, Tabelle 24). Als Bioisoster zu **277** wurde der Alkohol **276** (Tabelle 24) als nicht-basisches Analogon dargestellt. Der Austausch der terminalen Aminogruppe mit einer Hydroxygruppe verringerte die Aktivität deutlich (IC_{50} = 32 nM, Tabelle 24). Die Hypothese hierbei lautet, dass die terminale Hydroxygruppe im Gegensatz zu den Amin-Analoga in Richtung der Aspartat-reichen Region nur als H-Brücken-Donor fungieren kann, ohne eine ionische Wechselwirkung eingehen zu können, sodass sich lediglich eine schwächere Ion-Dipol-Interaktion ausbilden kann (Abbildung 71). Auf zellulärer Ebene zeigte sich der Aktivitätsunterschied im Vergleich zur Ausgangsverbindung **272** noch deutlicher (Tabelle 24). Hierbei liegt die Vermutung nahe, dass die erhöhte Polarität der terminalen Funktionalität die Permeabilität insgesamt negativ beeinflussen könnte.

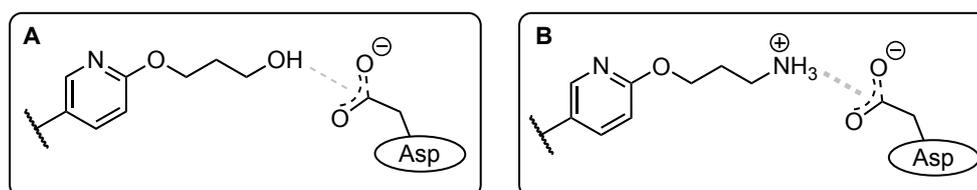


Abbildung 71: Hypothetische Bindung in Richtung der Asp-reichen Region (vgl. Abbildung 6) der Seitenkette von **276** (A) und von **277** (B). Während die Hydroxygruppe nur eine Ion-Dipol-Wechselwirkung zum Aspartat eingehen kann, kann das primäre Amin in **277** protoniert vorliegen und eine stärkere Ion-Ion-Wechselwirkung eingehen.

Da die Lipophilie maßgeblich die pharmakokinetischen ADME-Eigenschaften der Inhibitoren (Absorption, Distribution, Metabolismus und Elimination) beeinflusst²⁰⁵, wurden ausgehend von **272** und **275** eine Reihe an *Backup*-Verbindungen synthetisiert, die genau diese Eigenschaft modulieren sollten (**278** bis **283**, Tabelle 24). Um dies zu

realisieren, wurde ausschließlich das terminale Amin der **S1**-Seitenkette modifiziert. Dabei sollten sowohl lipophilere als auch hydrophilere Analoga dargestellt werden, um einen „Sweet-Spot“ zwischen hoher enzymatischer Aktivität, ausreichender Permeabilität und minimaler metabolischer Labilität zu finden.²⁰⁵ Zu den hydrophileren Verbindungen gehörten genau genommen auch die zuvor besprochenen Inhibitoren **276** und **277**. Diese wurden jedoch aufgrund der signifikanten Aktivitätsverlusten auf zellulärer Ebene nicht weiter in Betracht gezogen. Zudem kamen für eine pharmakokinetische Evaluation primär basische Verbindungen infrage, da diese im Allgemeinen zu höheren Verteilungsvolumina tendieren.²⁰⁶ Analog zu der Verbindung **277** bildeten die Monomethylamin-Varianten **278** und **281** (Tabelle 24) eine Zwischenform, die jedoch auf enzymatischer und zellulärer Ebene die hohe Aktivität der Mutterverbindungen beibehalten konnten.

Im Gegensatz dazu wurden mit terminalen Pyrrolidin- bzw. Piperidin-Resten lipophilere **272**- und **275**-Analoga realisiert (**279** bis **283**, Tabelle 24). Trotz der Eventualität, dass eine erhöhte Lipophilie zu einer niedrigeren metabolischen Stabilität beitragen kann, wurde hierbei auf eine positive Beeinflussung der Verteilungsvolumina spekuliert.^{205,206} Sowohl die enzymatischen als auch die zellulären Hemmwerte dieser Verbindungen (**279** bis **283**) waren durchweg im picomolaren Bereich.

Tabelle 24: Modulierung der Lipophilie durch die Modifikation des terminalen Amins der **S1**-Seitenkette (= R^2).

erb.	$R^1 =$	$R^2 =$	IC_{50}^{II} [nM] ^a	IC_{50}^{ICW} [nM] ^b	tPSA
276			32	236 (190 - 296)	107
277			5,0	77 (63 - 94)	113
278			0,98	< 1	99

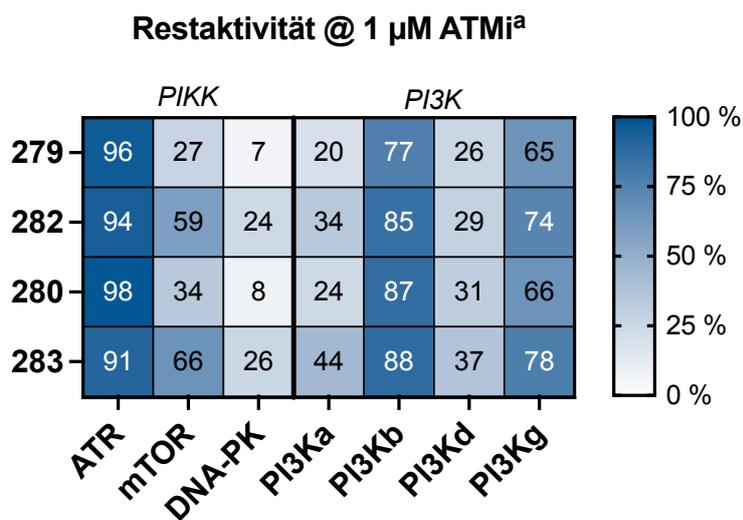
281			1,5	< 1	99
279			0,56	< 1	90
282			0,85	< 1	90
280			0,76	< 1	90
283			0,96	< 1	90

^aHTRF-basierter ATM-Kinase-Aktivitätsassay, durchgeführt von Eurofins (KinaseProfiler™) mit 5 Konzentrationen und 10-fach Verdünnungen beginnend bei 1 μ M, n = 1. Referenzverbindung: IC₅₀^H(AZD0156) = 0,90 nM. ^bICW-Assay wurde von Athina Moschopoulou durchgeführt, grau in Klammern: CI 95 %. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

Ausgehend von den guten Ergebnissen in Tabelle 24 wurden von den Verbindungen **279** bis **283** die Selektivitäten innerhalb der verwandten Kinasen in den PIKK- und PI3K-Familien getestet (Tabelle 25). Mit Hinblick auf die *Off-Target*-Aktivität gegenüber ATR zeigten alle vier Inhibitoren tendenziell eine höhere Selektivität als die Dimethylamin-Analoga **272** und **275** (Tabelle 21). Dagegen lassen sich im Fall von mTOR und DNA-PK keine signifikanten Veränderungen erkennen. Die Struktur-Selektivitäts-Beziehungen innerhalb der PI3K-Familie folgen verschiedenen Trends: Während für PI3Ka eine leichte Selektivitätsabnahme verzeichnet werden konnte, war für die PI3Kb ein Selektivitätszuwachs zu beobachten. Dagegen zeigte sich bezüglich der PI3Kd kein Unterschied, wohingegen sich im Falle PI3Kg eine leichte Verschlechterung gegenüber den Mutterverbindungen abzeichnete.

Insgesamt wurde mit den Verbindungen aus Tabelle 24 ein breites Portfolio an *Backup*-Verbindungen abgedeckt und trotz der insgesamt guten Ergebnisse wurde keiner der dort aufgeführten Inhibitoren pharmakokinetisch evaluiert, da die Ausgangsverbindungen **272** und **275** ausreichend gute Werte im pharmakokinetischen Mausmodell erreichten.

Tabelle 25: Selektivität der Verbindungen 279 bis 283 aus Tabelle 24 innerhalb der PIKK- und PI3K-Familie.



^aRestaktivität der Kinasen in % bei 1 μ M InhibitorKonzentration, (n=1), durchgeführt bei Eurofins KinaseProfilerTM. (Siehe Kapitel 4 für weitere Informationen.)

6 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die PIKK-Kinase ATM ist ein zentraler Regulator der DNA-Schadensantwort in Bezug auf DNA-Doppelstrangbrüche. Die Inhibition dieser Kinase ermöglicht, die Effektivität zahlreicher antitumoraler Therapien zu verbessern, sodass die ATM ein vielversprechendes *Target* innerhalb der Onkologie darstellt. In dieser Arbeit konnten zahlreiche neue ATM-Kinaseinhibitoren entwickelt und charakterisiert werden, die sich in Imidazo[4,5-*c*]chinolin-2-on- und Benzimidazol-basierte Inhibitoren unterteilt werden können. Dabei stellten die Benzimidazol-Inhibitoren den Schwerpunkt dieser Arbeit dar.

1. Imidazo[4,5-*c*]chinolin-2-on-basierte ATM-Kinase-Inhibitoren

Innerhalb der Imidazo[4,5-*c*]chinolin-2-on-Serie konnte vor allem die *Backpocket*-adressierende **S1**-Seitenkette mit Anlehnung an die projektinterne Leitstruktur **CA-053** weitgehend modifiziert werden, um weitere Struktur-Wirkungsbeziehungen dieser Teilstruktur zu ermitteln (Abbildung 72A).

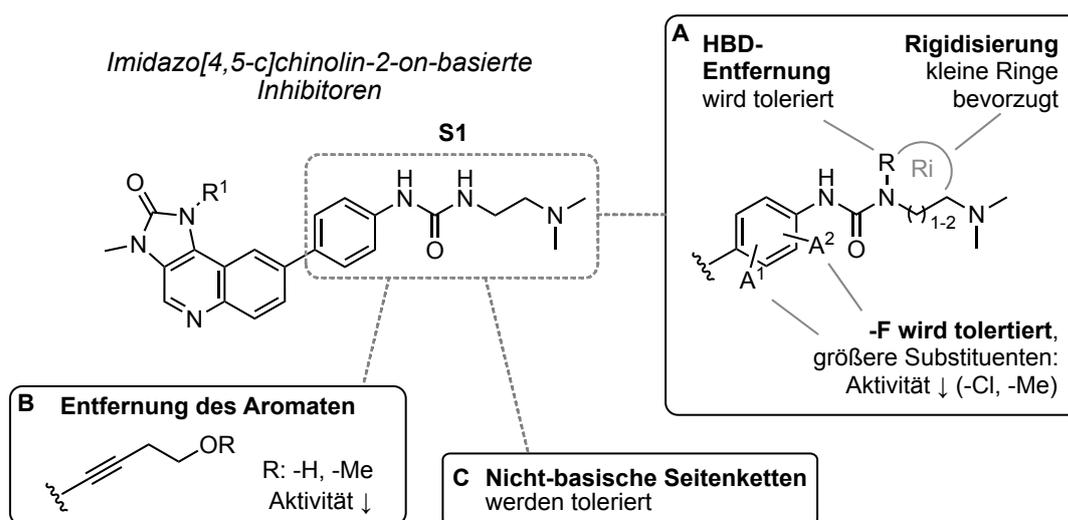


Abbildung 72: Die wichtigsten SARs innerhalb der Chinolin-basierten ATM-Inhibitoren. R^1 = Methoxyethylen (=CA-053) oder Tetrahydropyran-4-yl.

Die Entfernung eines H-Brücken-Donors durch Methylierung oder durch Rigidisierung des Dimethylaminoethylen-Restes (Azetidin, Pyrrolidin) resultierte in überwiegend hochpotenten Inhibitoren ($IC_{50} = 2 - 7$ nM), wohingegen die Einführung des größeren Piperidins nicht toleriert wurde ($IC_{50} = 945$ nM). Darüber hinaus zeigten diverse nicht-basische **S1**-Reste überwiegend hohe Aktivitäten ($IC_{50} = 4 - 37$ nM). Größere

Substituenten am Aryl-Linker sowie der bioisostere Austausch des Aromaten gegen ein Alkin führten dagegen zu Aktivitätseinbußen ($IC_{50} = 30 - 90$ nM).

2. ATM-Kinase-Inhibitoren basierend auf dem Benzimidazol-Scaffold

Innerhalb eines publizierten HTS-Screenings konnte ein PLK1-Inhibitor auf Benzimidazolbasis eine moderate Off-Target-Aktivität gegenüber der ATM-Kinase zeigen. Dieser *Hit* wurde in der vorliegenden Arbeit genutzt, um eine Klasse neuer Benzimidazolbasierter Inhibitoren zu entwickeln. Dazu wurden basierend auf einer rationalen Designstrategie erste *Proof-of-Concept*-Inhibitoren dargestellt, die mit IC_{50} -Werten zwischen $0,06 - 0,28$ μ M einen erfolgsversprechenden Ausgangspunkt für weitere Optimierungen bieten konnten.

In ersten weitreichenden SAR-Studien wurden Sulfonamid-basierte Inhibitoren mit einstellig nanomolaren IC_{50} -Werten auf der ATM-Kinase als vielversprechende Leitstrukturklasse identifiziert (Abbildung 73C). Zugleich kristallisierte sich im Rahmen einer projektzugehörigen Masterarbeit eine weitere Klasse mit potenten und PIKK-selektiven Biphenyl-Inhibitoren heraus (Abbildung 73B). Ein zunächst synthetisierter Hybridinhibitor (**144**), der die Strukturmerkmale beider Gruppen vereinigte, führte zu picomolarer Aktivität auf der ATM im sekundären Assay (= IC_{50}^{II} , adjustierter Konzentrationsbereich für niedrige IC_{50} -Werte). Aufgrund ausgeprägter *Off-Target*-Aktivitäten, einer hohen Molekülmasse (569 Da) und zugleich aufwendigerer Synthese wurde dieses Konzept nicht weiterverfolgt, sodass die Biphenyl- und Sulfonamid-Strukturklassen unabhängig voneinander optimiert wurden (Abbildung 73B,C).

Der erste Biphenyl-Inhibitor (Abbildung 73C, **LS-48**) wies neben einer hohen Potenz und Selektivität zugleich eine vorteilhafte mikrosomale Stabilität (murin) auf, verlor jedoch auf zellulärer Ebene signifikant an Aktivität (~100-fach), sodass ein Hauptziel darin bestand, letztere zu optimieren. Von besonderem Interesse war die Modifikation des Biphenyl-Motivs, welches durch eine Abwandlung der Syntheseroute im Sinne einer *Late-Stage*-Derivatisierung umfassend modifiziert werden konnte (Abbildung 73B). Die resultierenden Inhibitoren lieferten hohe bis sehr hohe enzymatische Aktivitäten ($IC_{50}^{II} = 4,4 - 25$ nM). Weiterführende Veränderungen an anderen Strukturelementen führten zum Inhibitor **166**, der mit $1,54$ μ M eine 10-fach höhere maximale Blutkonzentration (C_{max} , murin) als die Ausgangsverbindung **LS-48** aufwies. Jedoch konnte kein einziger Vertreter innerhalb dieser Serie, trotz hoher Potenzen im enzymatischen Assay (IC_{50}^{II} -Median bei 14 nM), zu

einer Verbesserung auf zellulärer Ebene führen, sodass diese Verbindungsklasse nicht weiterverfolgt wurde.

Die ersten Inhibitoren innerhalb der Sulfonamid-Serie (Abbildung 73C) zeigten neben hoher inhibitorischer Aktivität (IC_{50}^{II} 1,4 – 3,7 nM) gleichzeitig ein unvorteilhaftes Selektivitätsprofil. Darüber hinaus verlor der erste Vertreter **110** (Abbildung 73C) auf A549-Zellen bedeutsam an Aktivität ($IC_{50}^{ICW} = 11 \mu M$). Verschiedene Strategien wurden erprobt, um die zelluläre Hemmaktivität dieser Strukturklasse zu optimieren. Eine Schlüsselrolle spielte die Entfernung der polaren NH-Funktion der Sulfonamidgruppe (Abbildung 73C, R²). Die Einführung rigiderer **S2**-Seitenketten auf Indolinbasis und die simultane Entfernung der Harnstofffunktion führten zu zellulären IC_{50}^{ICW} -Werten im einstellig nanomolaren Bereich (Abbildung 73C: C¹, Linker = Ether). Mit zusätzlichen Modifikationen am Grundgerüst konnten subnanomolare IC_{50} -Werte auf zellulärer Ebene erzielt werden (Abbildung 73C: X = N), die vor allem mit **274** die Aktivität der Referenzverbindung **AZD0156** übertreffen konnten. Die Ringerweiterung der **S2**-Seitenkette zum Tetrahydrochinolin **275** (Abbildung 73, C¹: n = 2) führte zusätzlich zu einem deutlich verbesserten Selektivitätsprofil.

Für zwei Inhibitoren (**275**, **272**) wurde darüber hinaus die Pharmakokinetik im Mausmodell evaluiert. Die C_{max} dieser Verbindungen lagen nach oraler Einmalgabe deutlich über den zellulären IC_{50} -Werten (40- bis 70-fach, 10 mg/kg p.o., Abbildung 73C), sodass eine *in vivo* Inhibition der ATM möglich sein könnte.

Die zentralen Resultate der Optimierungsarbeit in Bezug auf die Benzimidazol-basierten Inhibitoren sind im Folgenden aufgeführt:

- Über 100 neue Verbindungen mit umfassenden Modifikationen konnten dargestellt werden.
- Durch Syntheseoptimierung mussten Zwischenprodukte relevanter Syntheserouten nicht mehr säulenchromatographisch aufgereinigt werden.
- Zahlreiche hochpotente Inhibitoren konnten identifiziert werden (IC_{50} -Mediane der beiden verwendeten Enzymassays betragen 20 nM bzw. 10 nM).
- Die zelluläre Aktivität der Sulfonamid-Serie konnte von anfänglich dreistellig nanomolaren bis mikromolaren Werten auf picomolare Werte optimiert werden.

- Insgesamt neun Inhibitoren zeigten auf zellulärer Ebene subnanomolare IC_{50} -Werte und gleichzeitig zufriedenstellende bis hohe Selektivitäten gegenüber verwandten PIKK-/PI3K-Kinasen.
- Zwei dieser Verbindungen konnten im Mausversuch orale Bioverfügbarkeit zeigen, sodass weiterführende *in vivo* Experimente mit diesen Inhibitoren denkbar wären.

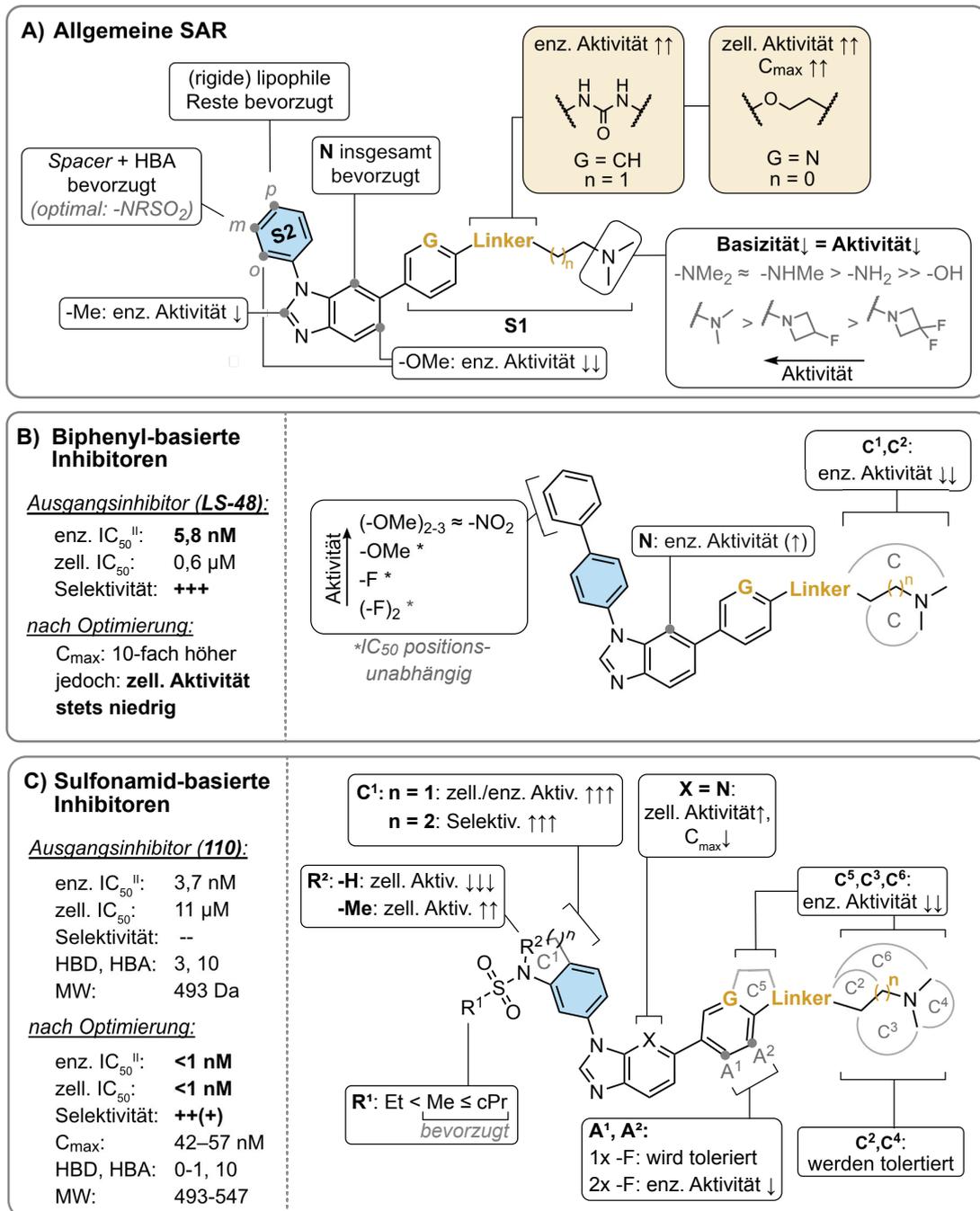


Abbildung 73: Auswahl wichtiger Struktur-Wirkungsbeziehungen der beiden Benzimidazol-basierten Inhibitorgruppen. Die SAR beziehen sich ausschließlich auf die in A abgebildeten Harnstoff- und Ether-basierten Linker (gelb). ↓ = Abnahme, ↑ Zunahme.

7 Experimenteller Teil

7.1 Materialien und Methoden

Die eingesetzten **Reagenzien** und **Lösungsmittel** waren, falls nicht anders angemerkt, von kommerzieller Qualität und wurden von folgenden Anbietern bezogen: Sigma Aldrich Chemie GmbH, BLDPharm Ltd., Acros Organics B.V.B.A., Carbolution Chemicals GmbH, Fluorochem, Apollo Scientific. Kommerzielle trockene Lösungsmittel wurden von Acros Organics B.V.B.A. bezogen.

Die **DC-Analytik** wurde auf Merck 60 F254 oder Macherey Nagel ALUGRAM® Xtra SIL G/UV254 Kieselgelplatten durchgeführt. Die Analyse erfolgte unter UV-Licht (254 nm oder 366 nm) oder ggf. mit Färbereagenzien.

Die **Säulenchromatographie** wurde im präparativen Maßstab mithilfe einer automatischen Interchim PuriFlash 430 auf Grace Davison Davisil LC60A 20 – 45 micron Kieselgel durchgeführt. Für die Vorsäulen wurde Merck Geduran® Si60 63 – 200 micron Kieselgel eingesetzt. Zudem wurde das Umkehrphasen-Kieselgel Merck LiChroprep® RP-18 40 – 63 µm verwendet. (Wenn nicht anders beschrieben, wurde immer Normalphasenkieselgel verwendet.)

¹H und **¹³C Spektren** wurden mit Bruker Avance 200, Bruker Avance 400 oder Bruker Avance III HD Geräten aufgenommen. Dazu wurden deuterierte Lösungsmittel (Sigma Aldrich) verwendet. Die chemische Verschiebung wurde relativ zu Tetramethylsilan (TMS) angegeben.

Die **Massenspektrometrie** wurde mit Advion DC-MS Interface durchgeführt. Folgende Einstellungen wurden vorgenommen: ESI-Spannung: 3,50 kV; Kapillar-Spannung: 187 V; Quellen-Spannung: 44 V; Kapillar-Temperatur: 250 °C; Desolv.-Gas-Temperatur: 250 °C Gas-Flussrate: 5 l/min (N₂).

Die **Infrarotspektroskopie** wurde mit einem Agilent Cary 630 FTIR und einem Perkin Elmer Spectrum One (FTIR) durchgeführt.

Die **Reinheit** der Verbindungen wurde mit folgenden Methoden durchgeführt:

Methode A wurde auf einer Agilent 1100 Series LC mit einer Phenomenex Luna C8 Säule (150 x 4,6 mm, 5 µm) und Detektion erfolgte mittels eines UV-DAD bei 254 nm und 230 nm durchgeführt. Gradient: 0,01 M KH₂PO₄, pH 2,30 (Solvent A), MeOH (Solvent B),

40 % B auf 85 % B in 8 min, 85 % B für 5 min, 85 % auf 40 % B in 1 min, 40 % B für 2 min, Stopp nach 16 min, Flussrate: 1,5 ml/min. Falls nicht anders beschrieben, wurde ausschließlich diese Methode genutzt.

Methode B wurde auf einer Agilent 1100 Series LC mit einer Phenomenex Luna C8 Säule (150 x 4,6 mm, 5 μ m) und die Detektion mithilfe eines UV-DAD bei 254 nm und 230 nm gemessen. Die Elution wurde mit folgendem Gradienten durchgeführt: 0.01M KH₂PO₄, pH 2,30 (Solvent A), MeOH (Solvent B), 40 % B auf 90 % B in 10 min, 90 % B für 13 min, 90 % auf 40 % B in 1 min, 40 % B für 1 min, Stopp nach 24 min, Flussrate: 1,5 ml/min.

Methode C (durchgeführt von Christian Geibel, Arbeitskreis Lämmerhofer) wurde auf einer Agilent 1260 HPLC (Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland) mit einem UV-DAD-Detektor (ausgerüstet mit einer quaternären Pumpe und einem Entgaser) durchgeführt. Säule: YMC Triart C18, Partikelgröße: 1,9 μ m, 100 mm x 2 mm (1 x i.d.). Mobile Phase A: Wasser + 0,1 % Ameisensäure, B: Acetonitril + 0,1 % Ameisensäure, Gradient: 0,00 min A: 90 %, 15,00 min: A: 20 %, 20,00 min: A: 20 %, 20,01 min: A: 90 %, Flussrate: 0,5 ml/min, Säulentemperatur: 25 °C, Wellenlängen: 230 nm, 254 nm.

Für die Analytik der einzelnen Verbindungen wurden in den folgenden Kapiteln Punkte als Dezimaltrennzeichen zur besseren Lesbarkeit verwendet.

7.2 Allgemeine Synthesevorschriften

Im Folgenden werden allgemeine Synthesevorschriften (ASV) zusammengefasst. Extraktionen wurden, wenn nicht anders beschrieben, 3 – 4x durchgeführt. Das Trocknen organischer Phasen (nach wässriger Extraktion) wurde über trockenem Natriumsulfat durchgeführt.

ASV 1: nucleophile Substitution am Aromaten (S_nAr) ausgehend von 4-Brom-2-fluor-1-nitrobenzen

4-Brom-2-fluor-1-nitrobenzen wurde in trockenem DMF (oder *i*PrOH) gelöst und das korrespondierende Amin (i.d.R. Anilin) und Et₃N wurden hinzugefügt. Die Reaktion wurde bei 70 °C gerührt, bis über DC oder HPLC eine vollständige Umsetzung nachgewiesen werden konnte. Der Ansatz wurde mit der 5- bis 10-fachen Menge an Wasser verdünnt. Das Produkt wurde mithilfe einer Filtration gewonnen und i.d.R. luftgetrocknet.

ASV 2: Reduktion aromatischer Nitrogruppen mit SnCl₂

Die Ausgangsverbindung wurde in EtOH gelöst und SnCl₂·2H₂O (4,2 eq) wurde hinzugefügt. Die Reaktion wurde unter Refluxbedingungen gerührt, bis die Reaktionskontrolle (DC oder HPLC) eine vollständige Umsetzung des Eduktes zeigte. Die Reaktion wurde mit gesättigter NaHCO₃-Lösung verdünnt und das Produkt wurde mit EA (3x) extrahiert. Die organische Phase wurde getrocknet, eingeeengt und im Falle von Phenylendiaminen wurde das Rohprodukt ohne weitere Charakterisierung direkt für die Cyclisierung (**ASV 4**) verwendet.

ASV 3: Reduktion aromatischer Nitrogruppen mit Zn/NH₄Cl

Die Ausgangsverbindung wurde mit 10 eq an NH₄Cl in MeOH suspendiert und die Suspension anschließend mit einem Eisbad auf < 10 °C gekühlt (bei Ansätzen unter 1 mmol Ausgangsverbindung wurde i.d.R. auf eine Kühlung verzichtet). 10 eq Zinkpulver wurden langsam und portionsweise unter starkem Rühren hinzugefügt und die Kühlung wurde nach ca. 30 min entfernt. Nach erfolgreicher Reaktionskontrolle via DC(-MS) wurde die Reaktion mit 1 – 2 T EA oder DCM verdünnt, über Kieselgur filtriert und das Filtrat eingeeengt, um das Rohprodukt zu erhalten. Im Falle von Phenylendiaminen wurde das Rohprodukt ohne weitere Charakterisierung verwendet.

ASV 4: Cyclisierung der Phenylendiamine bzw. Pyridindiamine zu den korrespondierenden Benzimidazolen bzw. Imidazopyridinen

Das entsprechende Diamin wurde in Toluol gelöst/suspendiert und mit 3 eq an Triethylorthoformiat und 0,1 eq *para*-Tosylsäuremonohydrat versetzt und bei 60 – 80 °C gerührt, bis die Reaktionskontrolle (DC oder HPLC) die vollständige Umsetzung zum gewünschten Produkt (bestätigt über DC-MS) zeigte (i.d.R. ≤ 3 h). Die Reaktion wurde mit MeOH gestoppt und für weitere 15 – 30 min unter Hitze gerührt. Die Lösungsmittel wurden evaporiert und das Rohprodukt wurde i.d.R. säulenchromatographisch aufgereinigt.

ASV 5: Entfernung von Boc-Schutzgruppen

Das Boc-geschützte Edukt wurde in EtOH suspendiert/gelöst und mit 5 eq an ethanolischer HCl (1,25 M) versetzt (im Fall von Imidazopyridinen 6 eq). Die Reaktion wurde bei 50 – 60 °C gerührt, bis über DC oder HPLC eine vollständige Umsetzung nachgewiesen werden konnte (i.d.R. über Nacht). Die Reaktion wurde mit 1 – 2 Teilen an Et₂O bei Raumtemperatur verdünnt. Das HCl-Salz des Produkts wurde per Filtration gewonnen und

als Feststoff auf gesättigte NaHCO_3 -Lösung (Überschuss) gegeben. Die entstandene Suspension wurde filtriert, um die gewünschte freie Base zu erhalten.

ASV 6: Einführung von Sulfonylalkylresten

Das Edukt (i.d.R. ein Anilin) wurde in trockenem Pyridin gelöst und das entsprechende Sulfonylchlorid anschließend (direkt oder in Pyridin gelöst) langsam zum Edukt hinzuge tropft (RT oder unter Eiskühlung). Die Reaktion wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis über HPLC ein vollständiger Verbrauch des Eduktes nachgewiesen werden konnte und anschließend mit einem Überschuss an MeOH gestoppt und für ca. 15 – 30 min bei Raumtemperatur weiter gerührt. Die Lösungsmittel wurden evaporiert und das Rohprodukt wurde i.d.R. chromatographisch aufgereinigt.

ASV 7: Suzuki-Kupplung

Das Halogenid und das Boronsäurederivat (i.d.R. Boronsäurepinacolester) wurden zusammen mit i.d.R. 4 eq an Base $\text{K}_3\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ in einer Mischung aus Dioxan und Wasser (meist 4 + 1, seltener 3 + 1) gelöst bzw. suspendiert. Es wurde für mehrere Minuten Argon in die Lösung geleitet (ca. 5 min). Unter Argonatmosphäre wurde der Präkatalysator $t\text{Bu}_3\text{P}$ Pd G₃ hinzugefügt und die Reaktion wurde bei 50 – 70 °C über Nacht im geschlossenen System gerührt. Nach erfolgreicher Reaktionskontrolle (DC-MS oder HPLC) wurde die Reaktion mit gesättigter Salzwasserlösung oder bei basischen Produkten mit NaHCO_3 -Lösung (oder ggf. mit 2 N NaOH) verdünnt (i.d.R. 1 T) und das Produkt wurde mit DCM extrahiert (i.d.R. 3 – 4x). Die organische Phase wurde getrocknet und das Rohprodukt wurde via Flash-Chromatographie aufgereinigt.

ASV 8: Suzuki-Kupplung II

Das Halogenid und das Boronsäurederivat (i.d.R. Boronsäurepinacolester) wurden zusammen mit i.d.R. 4 eq an K_2CO_3 in einer Mischung aus Dioxan und Wasser (meist 3 + 1 oder 4 + 1) gelöst bzw. suspendiert. Es wurde für mehrere Minuten Argon in die Lösung geleitet. Unter Argonatmosphäre wurde der Präkatalysator XPhos Pd G4 hinzugefügt und die Reaktion wurde bei 50 – 80 °C über Nacht im geschlossenen System gerührt. Nach erfolgreicher Reaktionskontrolle (DC-MS) wurde der Ansatz am Rotationsverdampfer einengt und das Rohprodukt wurde via Flash-Chromatographie aufgereinigt.

ASV 9: Harnstoff-Darstellung aus 4-Bromphenylisocyanat

Das 4-Bromphenylisocyanat wurde in trockenem Toluol gelöst und mit dem entsprechenden Amin (oder Alkohol) versetzt. Die Reaktion wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis die DC eine vollständige Umsetzung zeigte. Anschließend wurde der Ansatz mit MeOH verdünnt und die Lösungsmittel werden am Rotationsverdampfer entfernt.

ASV 10: Harnstoffsynthese über Phenylchlorformiat (One-Pot-Methode)

Schritt 1: Das Phenylchlorformiat wurde in der Hälfte der angegebenen Menge an trockenem THF gelöst. Das Anilin (1 eq) wurde in der restlichen Menge an THF gelöst und langsam zum Phenylchlorformiat getropft. Die Reaktion wurde für 5 min bei Raumtemperatur gerührt, bevor Et₃N (1 eq) hinzugegeben wurde (meist resultiert eine starke Rauchentwicklung). Der Ansatz wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis die vollständige Umsetzung des Anilins nachgewiesen werden konnte (i.d.R. 0,5 – 1 h).

Schritt 2: Das aliphatische Amin (1 eq) und ggf. ein weiteres Äquivalent an Et₃N wurden hinzugegeben. Die Reaktion wurde auf Reflux erhitzt, bis der vollständige Verbrauch des Phenylcarbamatzwischenprodukts und die Bildung des gewünschten Harnstoffprodukts über DC-MS nachgewiesen werden konnten.

ASV 11: Miyaura-Borylierung mit Arylbromiden

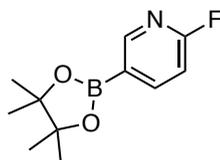
Das Arylbromid (i.d.R. 1 eq) wurde in trockenem Dioxan zusammen mit KOAc (3 – 4 eq) und B₂Pin₂ (i.d.R. 0,99 – 1eq) suspendiert. Im geschlossenen System wurde Inertgasatmosphäre eingestellt (i.d.R. Argon) und 2,5 – 5 mol% Pd(dppf)Cl₂ (oder Pd(dppf)Cl₂·DCM) wurde in die Suspension gegeben. Die Reaktion wurde auf 70 – 100 °C erhitzt und i.d.R. über Nacht gerührt, bis über HPLC der vollständige Verbrauch des Arylbromids nachgewiesen werden konnte. Der Ansatz wurde mit einem Teil DCM verdünnt und über Kieselgur filtriert. Die schwarz-braune Suspension wurde eingengt.

7.3 Synthese der Verbindungen aus Kapitel 3.1

Einige Synthesen in diesem Unterkapitel sind bereits publiziert. (siehe: „Dimitrov, T., et al. (2022). "Development of novel urea-based ATM kinase inhibitors with subnanomolar cellular potency and high kinome selectivity." *European Journal of Medicinal Chemistry* **235**: 114234.“ bzw. „Laufer, S.; Forster, M.; Dimitrov, T.; Zender, L.; Moschopoulou, A.

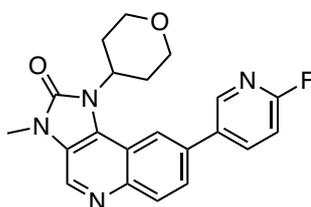
Preparation of imidazo[4,5-*c*]quinoline compounds and their use as ATM kinase inhibitors. WO2022096361, 2022.”)

2-Fluor-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyridin (**1**)



Eine Suspension aus 5-Brom-2-fluorpyridin (500 mg, 2,84 mmol), B₂Pin₂ (717 mg, 2,82 mmol) und trockenem KOAc (836 mg, 8,52 mmol) in 15 ml trockenem Dioxan wurde unter Argon-Atmosphäre gerührt und mit 0,01 eq XPhos Pd G4 und 0,01 eq Pd(OAc)₂ versetzt. Die Reaktion wurde auf 70 °C erhitzt und für 6 h gerührt, bis die Reaktionskontrolle über HPLC einen vollständigen Verbrauch des Eduktes zeigte. Der Ansatz wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und Kieselgel mit EA/PE (1 + 1) filtriert. Nach dem Entfernen der Lösungsmittel unter vermindertem Druck konnte ein braunes Harz gewonnen werden, welches mit der Zugabe an Diethylether in eine kristalline Form überführt werden konnte. Das gewünschte Produkt wurde via Filtration gewonnen (379 mg, 60 %). ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.61 – 8.53 (m, 1H), 8.21 – 8.06 (m, 1H), 6.96 – 6.83 (m, 1H), 1.32 (s, 12H). HPLC t_{ret} = 2.81 min.

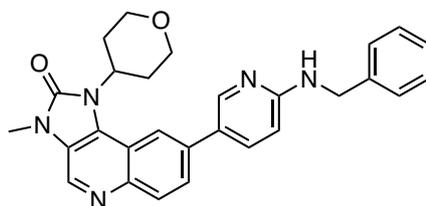
8-(6-Fluorpyridin-3-yl)-3-methyl-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-1,3-dihydro-2*H*-imidazo[4,5-*c*]chinolin-2-on (**2**)¹²⁹



Synthese nach ASV 7 mit 337 mg 8-Brom-3-methyl-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-1,3-dihydro-2*H*-imidazo[4,5-*c*]chinolin-2-on¹²⁹ (0,93 mmol), 313 mg **1** (1,40 mmol), 6 ml K₃PO₄ (0,5 M) und 16 mg XPhos Pd G4 (2 mol%). Der Reaktionsansatz wurde bei 60 °C gerührt und zeigte nach ca. 45 min eine vollständige Umsetzung (via DC-Kontrolle). Die Reaktion wurde mit NH₄Cl-Lösung verdünnt und das Produkt wurde mit DCM extrahiert (3x). Nach Trocknen und Einengen der organischen Phase wurde das bräunliche

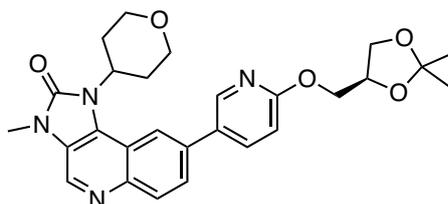
Rohprodukt mit einer kleinen Menge an Chloroform versetzt und via Filtration als weißer Feststoff gewonnen. Das Filtrat wurde bei $< 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert, um weiteres Produkt auszufällen und dieses innerhalb einer weiteren Filtration zu gewinnen. Man erhält 265 mg an weiß-grauen Feststoff (75 %). $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 8.76 (s, 1H), 8.59 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 8.53 – 8.43 (m, 1H), 8.29 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 8.21 – 8.08 (m, 1H), 7.83 (dd, $J = 8.9, 1.8$ Hz, 1H), 7.12 (dd, $J = 8.5, 2.9$ Hz, 1H), 5.21 – 5.00 (m, 1H), 4.33 – 4.17 (m, 2H), 3.78 – 3.50 (m, 5H), 3.08 – 2.80 (m, 2H), 2.03 – 1.87 (m, 2H). ESI-MS m/z : 401,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

8-(6-(Benzylamino)pyridin-3-yl)-3-methyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-1,3-dihydro-2H-imidazo[4,5-*c*]chinolin-2-on (**3**)



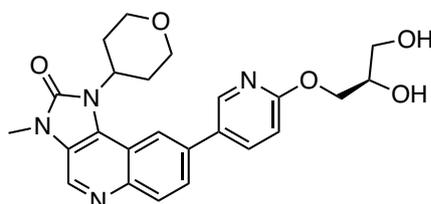
In 2 ml Benzylamin wurden 101 mg an **2** (0,267 mmol) gelöst und bei $180\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt, bis die Reaktionskontrolle über DC eine vollständige Umsetzung des Eduktes zeigte. Die Reaktion wurde auf Raumtemperatur gekühlt und mit *n*-Pentan verdünnt, um das Rohprodukt via Filtration gewinnen zu können. Das Produkt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (DCM/MeOH 1 – 9 %). Ausbeute: 79 mg weiß-gelber Feststoff (64 %). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.68 (s, 1H), 8.51 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 8.38 (s, 1H), 8.20 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.89 – 7.82 (m, 1H), 7.80 (dd, $J = 8.9, 1.7$ Hz, 1H), 7.44 – 7.28 (m, 5H), 6.58 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 5.47 (s, 1H), 5.18 – 5.03 (m, 1H), 4.60 (d, $J = 5.7$ Hz, 2H), 4.24 (dd, $J = 11.6, 4.4$ Hz, 2H), 3.66 – 3.57 (m, 5H), 3.04 – 2.88 (m, 2H), 1.94 (dd, $J = 12.7, 2.8$ Hz, 2H). HPLC $t_{\text{ret}} = 7.32$ min. ESI-MS m/z : 488,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 464,2 $[\text{M}-\text{H}]^-$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 669, 701, 747, 813, 908, 980, 1009, 1022, 1085, 1141, 1163, 1179, 1334, 1452, 1513, 1528, 1595, 1705, 2831, 2851, 2920, 3239.

(*S*)-8-(6-((2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methoxy)pyridin-3-yl)-3-methyl-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-1,3-dihydro-2*H*-imidazo[4,5-*c*]chinolin-2-on (**4**)



(*S*)-(2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methanol (34 μ l, 0,24 mmol) wurde unter Argon-Atmosphäre in 4 ml trockenem DMF gelöst. NaH (11 mg, 0,28 mmol) wurde hinzugegeben und 15 min gerührt, bis keine Gasbildung mehr erfolgte. **2** (35 mg, 0,092 mmol) wurde zur Lösung hinzugefügt, wobei sich die Reaktion gelb färbte. Der Ansatz wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis die Reaktionskontrolle (via DC) eine vollständige Umsetzung des Eduktes zeigte. Die Reaktion wurde mit EA verdünnt und die organische Phase wurde 2x mit Wasser gewaschen. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgt mit DCM/MeOH 1 – 9 %. Man erhält einen weißen Feststoff (33 mg, 73 %). ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 8.70 (s, 1H), 8.49 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.23 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.94 (dd, $J = 8.7, 2.4$ Hz, 1H), 7.80 (dd, $J = 8.8, 1.4$ Hz, 1H), 6.96 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 5.20 – 4.96 (m, 1H), 4.61 – 4.35 (m, 3H), 4.30 – 4.11 (m, 3H), 3.95 – 3.82 (m, 1H), 3.69 – 3.50 (m, 5H), 3.08 – 2.81 (m, 2H), 2.01 – 1.85 (m, 2H), 1.44 (d, $J = 14.0$ Hz, 6H). HPLC $t_{\text{ret}} = 7.44$ min. ESI-MS m/z : 513,2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. IR [cm^{-1}] 669, 744, 824, 831, 1006, 1016, 1057, 1086, 1134, 1182, 1235, 1285, 1299, 1347, 1354, 1382, 1495, 1577, 1597, 1692, 2837, 2928, 2984.

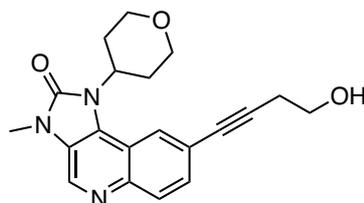
(*R*)-8-(6-(2,3-Dihydroxypropoxy)pyridin-3-yl)-3-methyl-1-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-1,3-dihydro-2*H*-imidazo[4,5-*c*]chinolin-2-on (**5**)



In 12 ml Dioxan und 5 ml Salzsäure (10 %) wurden 66 mg an **4** (0,117 mmol, 87 % HPLC-Reinheit) gelöst und bei Raumtemperatur gerührt, bis die HPLC eine vollständige Umsetzung zeigte (ca. 2,5h). Die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit DCM/MeOH 1 – 9 % aufgereinigt,

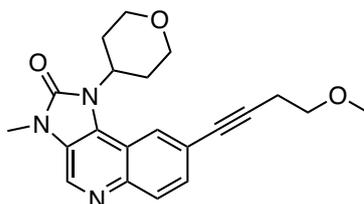
um das gewünschte Produkt als Feststoff zu erhalten (30 mg, 57 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.93 (s, 1H), 8.66 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 8.43 (s, 1H), 8.20 (dd, $J = 8.6, 2.5$ Hz, 1H), 8.15 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 8.04 – 7.94 (m, 1H), 7.00 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 5.21 – 5.09 (m, 1H), 4.95 (bs, 1H), 4.67 (bs, 1H), 4.37 (dd, $J = 10.9, 4.3$ Hz, 1H), 4.24 (dd, $J = 10.9, 6.5$ Hz, 1H), 4.12 – 4.01 (m, 2H), 3.89 – 3.80 (m, 1H), 3.59 (t, $J = 11.5$ Hz, 2H), 3.51 (s, 3H), 3.47 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.82 – 2.62 (m, 2H), 2.02 – 1.85 (m, 2H). HPLC $t_{\text{ret}} = 2.31$ min. ESI-MS m/z : 473,5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 669, 744, 824, 883, 983, 1016, 1025, 1043, 1052, 1082, 1132, 1182, 1241, 1280, 1350, 1380, 1491, 1590, 1598, 1705, 2850, 2919.

8-(4-Hydroxybut-1-yn-1-yl)-3-methyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-1,3-dihydro-2H-imidazo[4,5-c]chinolin-2-on (**6**)



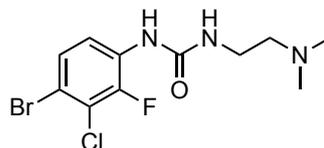
In 2 ml trockenem DMF wurde 181 mg 8-Brom-3-methyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-1,3-dihydro-2H-imidazo[4,5-c]chinolin-2-on (0,5 mmol), 19 mg CuI (0,1 mmol), 0,35 ml Et_3N (2,5 mmol) und 70 mg But-1-in-4-ol (1,0 mmol) gegeben und unter Argon gerührt. $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_3\text{Cl}$ (44 mg) wurde zum Gemisch hinzugefügt und die schwarze Reaktion wurde bei 60 – 70 °C über Nacht gerührt. Die Reaktionskontrolle erfolgte über DC (DCM/MeOH 5 %). Die Reaktion wurde mit halbgesättigter NH_4Cl -Lösung verdünnt, wobei eine Suspension entstand. Das Rohprodukt wurde über eine Filtration gewonnen. Das Produkt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (DCM/MeOH 1 – 8 %). Ausbeute 125 mg Feststoff (71 %). ^1H NMR (200 MHz, DMSO) δ 8.86 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.98 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.64 – 7.49 (m, 1H), 5.07 – 4.86 (m, 2H), 4.04 (dd, $J = 11.0, 3.7$ Hz, 2H), 3.71 – 3.51 (m, 4H), 3.47 (s, 3H), 2.82 – 2.70 (m, 1H), 2.70 – 2.58 (m, 3H), 1.94 – 1.77 (m, 2H). HPLC $t_{\text{ret}} = 3.00$ min. ESI-MS m/z : 374.0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 352.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 674, 747, 825, 835, 879, 980, 1012, 1031, 1056, 1070, 1088, 1141, 1182, 1347, 1381, 1406, 1435, 1472, 1511, 1576, 1685, 2830, 3421.

8-(4-Methoxybut-1-yn-1-yl)-3-methyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-1,3-dihydro-2H-imidazo[4,5-c]chinolin-2-on (7)



In 2 ml trockenem DMF wurden 24 mg **6** (68 μmol) gelöst und mit 3 mg NaH (60 wt%, 82 μmol) versetzt. Nach 15 min Rühren bei Raumtemperatur wurden 5 μl MeI (82 μmol) in die Reaktion gegeben. Nach 2 h zeigte die Reaktionskontrolle über HPLC eine vollständige Umsetzung, sodass die Reaktion mit NH_4Cl -Lösung gestoppt wurde. Das Produkt wurde mit EA extrahiert, die organischen Phasen wurden getrocknet und eingeeengt. Die Aufreinigung des Rohprodukts erfolgte säulenchromatographisch (DCM/MeOH). Beigefarbener Feststoff 60 %. HPLC $t_{\text{ret}} = 4,32$ min. ESI-MS m/z : 388,0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. IR [cm^{-1}] 673, 745, 824, 839, 880, 980, 1001, 1013, 1030, 1058, 1088, 1101, 1114, 1142, 1178, 1234, 1346, 1353, 1383, 1406, 1434, 1457, 1474, 1511, 1577, 1705, 2831, 2921.

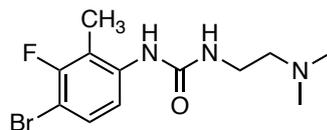
1-(4-Brom-3-chlor-2-fluorphenyl)-3-(2-(dimethylamino)ethyl)harnstoff (**12**)¹⁴⁸



Zu einer Lösung von 235 mg Phenylchlorameisensäureester (1,5 mmol) in 2 ml trockenem THF wurden 337 mg 4-Brom-3-chlor-2-fluoranilin (1,5 mmol) in 2 ml THF zugetropft. Anschließend wurden 0,21 ml Et_3N (1,5 mmol) der Reaktion zugesetzt, was zur Bildung eines weißen Niederschlags führte. Nach etwa 20 min zeigte die Reaktionskontrolle via DC eine vollständige Umwandlung zum gewünschten Carbamat-Zwischenprodukt. Weitere 0,21 ml Et_3N (1,5 mmol) und 132 mg *N,N*-Dimethylethylendiamin (1,5 mmol) wurden hinzugegeben. Das Reaktionsgefäß wurde bei 65 °C gerührt, bis die DC den vollständigen Verbrauch des Phenylcarbamats anzeigte. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Mischung mit DCM verdünnt und die organische Phase mit NaOH (3x) gewaschen. Nach Trocknung und Einengen unter vermindertem Druck wurde die Kristallisation des gelben Öls durch Zugabe geringer Mengen von MeCN eingeleitet. Das kristalline Produkt

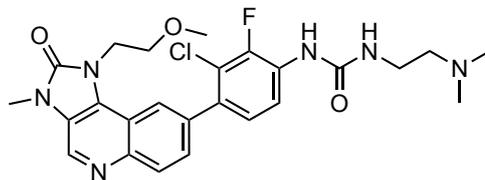
wurde mit wenig MeCN verdünnt und durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 348 mg weißer Feststoff (69 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.72 (s, 1H), 8.21 – 8.05 (m, 1H), 7.46 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 6.83 – 6.68 (m, 1H), 3.22 – 3.13 (m, 2H), 2.31 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.16 (s, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 154.4, 147.63 (d, J = 246.3 Hz), 129.51 (d, J = 10.6 Hz), 128.21 (d, J = 3.7 Hz), 120.35 (d, J = 17.5 Hz), 119.2, 112.2, 58.3, 45.0, 37.0. HPLC t_{ret} = 4.88 min. ESI-MS m/z : 338.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

1-(4-Brom-3-fluor-2-methylphenyl)-3-(2-(dimethylamino)ethyl)harnstoff (**13**)¹⁴⁸



Die Reaktion erfolgte äquivalent zu **12** mit 286 mg 4-Brom-3-fluor-2-methylanilin (1.4 mmol), 219 mg Phenylchlorformiat (1,40 mmol), 123 mg *N,N*-Dimethylethylendiamin (1,4 mmol) und 0,2 ml Et₃N in 5 ml THF. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: 2,5 – 9 %). Ausbeute: 407 mg farbloses Produkt (91 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.04 (s, 1H), 7.74 (dd, J = 9.0, 0.9 Hz, 1H), 7.41 – 7.31 (m, 1H), 6.67 (t, J = 5.1 Hz, 1H), 3.21 – 3.15 (m, 2H), 2.32 (t, J = 6.1 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H), 2.12 (d, J = 2.3 Hz, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 156.25 (d, J = 239.4 Hz), 154.9, 139.78 (d, J = 5.9 Hz), 129.47 (d, J = 1.5 Hz), 117.04 (d, J = 3.0 Hz), 115.33 (d, J = 19.4 Hz), 99.32 (d, J = 22.6 Hz), 58.5, 45.0, 37.0, 9.72 (d, J = 5.3 Hz).

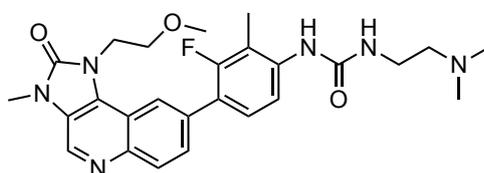
1-(3-Chlor-2-fluor-4-(1-(2-methoxyethyl)-3-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1H-imidazo[4,5-c]chinolin-8-yl)phenyl)-3-(2-(dimethylamino)ethyl)harnstoff (**14**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 58 mg 1-(2-Methoxyethyl)-3-methyl-8-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1,3-dihydro-2H-imidazo[4,5-c]chinolin-2-on¹⁴⁸ (0,15 mmol), 51 mg **12** (0,15 mmol) und 170 mg K₃PO₄·3H₂O (0,638 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) bei 65 °C über Nacht. Das Reaktionsgemisch wurde mit DCM verdünnt und die Suspension mit Salzlösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Gradient (FC): DCM / MeOH + 2 N NH₃ 2 – 8,5 % Ausbeute: 62 mg (80 %) weißer Feststoff. ^1H NMR (400 MHz,

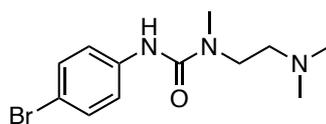
DMSO) δ 8.92 (s, 1H), 8.77 (br s, 1H), 8.31 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 8.28 – 8.22 (m, 1H), 8.12 – 8.06 (m, 1H), 7.69 (dd, $J = 8.8, 1.8$ Hz, 1H), 7.31 (dd, $J = 8.7, 1.6$ Hz, 1H), 6.77 (t, $J = 5.2$ Hz, 1H), 4.47 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 3.73 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 3.54 (s, 3H), 3.25 – 3.19 (m, 5H), 2.35 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H), 2.19 (s, 6H). HPLC $t_{\text{ret}} = 2.30$ min. ESI-MS m/z : 515.6 $[M+H]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 664, 722, 745, 762, 806, 829, 850, 866, 879, 942, 958, 995, 1024, 1039, 1059, 1117, 1167, 1202, 1243, 1275, 1361, 1380, 1411, 1434, 1456, 1488, 1518, 1578, 1637, 1700, 2823, 2937, 3330.

1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-(3-fluor-4-(1-(2-methoxyethyl)-3-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1H-imidazo[4,5-c]chinolin-8-yl)-2-methylphenyl)harnstoff (**15**)¹⁴⁸



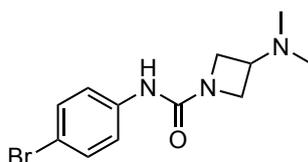
Durchführung nach **ASV 7** mit 58 mg 1-(2-Methoxyethyl)-3-methyl-8-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1,3-dihydro-2H-imidazo[4,5-c]chinolin-2-on¹⁴⁸ (0,15 mmol) und 48 mg **13** (0,15 mmol) sowie 138 mg $\text{K}_3\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (0,518 mmol) in 3 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) bei 70 °C. (Reaktionszeit: 3 h) Das Reaktionsgemisch wurde mit EA verdünnt, die organische Phase mit Salzlösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Der Rückstand wurde durch Flash-Chromatographie (DCM / MeOH + 2 N NH_3 1 – 7 %) aufgereinigt, um 59 mg (80 %) des Produkts als weißen Feststoff zu erhalten. Die Verbindung wurde, aufgrund persistierender Verunreinigungen, ein zweites Mal via RP-Flash-Chromatographie ($\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ 10 – 100 %) aufgereinigt. ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.88 (s, 1H), 8.38 – 8.33 (m, 1H), 8.12 (s, 1H), 8.07 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.94 – 7.87 (m, 1H), 7.80 – 7.74 (m, 1H), 7.40 (t, $J = 8.9$ Hz, 1H), 6.72 (t, $J = 5.1$ Hz, 1H), 4.48 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 3.75 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H), 3.53 (s, 3H), 3.25 – 3.19 (m, 5H), 2.35 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H), 2.19 (s, 9H). HPLC $t_{\text{ret}} = 1.87$ min. ESI-MS m/z : 495.6 $[M+H]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 745, 821, 1005, 1108, 1230, 1277, 1359, 1379, 1409, 1486, 1577, 1677, 3381.

3-(4-Bromphenyl)-1-(2-(dimethylamino)ethyl)-1-methylharnstoff (**16**)



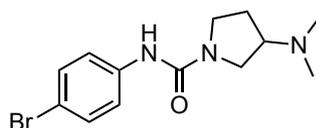
Durchführung nach **ASV 9** mit 250 mg 4-Brom-phenylisocyanat (1,26 mmol) in 5 ml Toluol und 0,2 ml *N*¹,*N*¹,*N*²-Trimethylethan-1,2-diamin (1,9 mmol). (Reaktion ist etwas exotherm, ggf. kühlen) Ausbeute: öliges Produkt, welches unter Kühlung zu einem gelblichen Feststoff kristallisiert (377 mg, 100 %). ¹H NMR (200 MHz, DMSO) δ 9.22 (s, 1H), 7.50 – 7.27 (m, 4H), 3.42 – 3.34 (m, 2H), 2.91 (s, 3H), 2.41 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 2.21 (s, 6H). ¹³C NMR (50 MHz, DMSO) δ 155.5, 140.4, 131.1, 121.0, 112.7, 57.8, 46.6, 45.3, 34.9. HPLC *t*_{ret} = 2.77 min. ESI-MS *m/z*: 254.9 [M-NMe₂]⁺.

N-(4-Bromphenyl)-3-(dimethylamino)azetidin-1-carboxamid (**17**)¹⁴⁸



Durchführung nach **ASV 9** mit 140 mg *N,N*-Dimethylazetidin-3-amin (Dihydrochlorid, 0,788 mmol) und 149 mg 4-Bromphenylisocyanat (0,750 mmol). Ausbeute: 176 mg (79 %) weißer Feststoff. ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.54 (s, 1H), 7.48 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.39 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 3.99 – 3.91 (m, 2H), 3.77 – 3.68 (m, 2H), 3.05 – 2.96 (m, 1H), 2.07 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 156.4, 139.7, 131.1, 120.5, 113.0, 54.5, 53.4, 41.4. HPLC *t*_{ret} = 3.12 min. ESI-MS *m/z*: 398.2 [M+H]⁺.

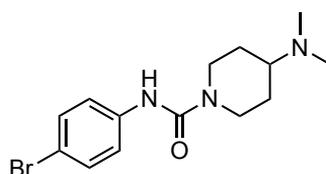
N-(4-Bromphenyl)-3-(dimethylamino)pyrrolidin-1-carboxamid (**18**)¹⁴⁸



Durchführung nach **ASV 9** mit 147 mg *N,N*-Dimethylpyrrolidin-3-amin (Dihydrochlorid, 0,789 mmol), 149 mg 4-Bromphenylisocyanat (0,750 mmol) und 190 mg Et₃N (1,88 mmol). Die Reaktion wurde mit 4,5 ml Wasser verdünnt, mit NaOH auf pH 9 eingestellt und mit EA (3x20 ml) extrahiert. Nach Trocknung über Na₂SO₄ wurden die vereinigten

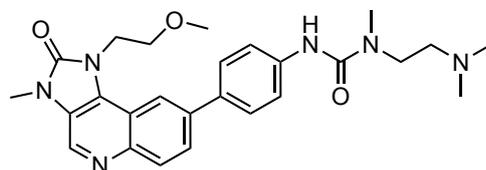
organischen Phasen unter vermindertem Druck eingeengt. Ausbeute: 160 mg (68 %) weißer Feststoff. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 8.24 (s, 1H), 7.50 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.38 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 3.67 – 3.60 (m, 1H), 3.58 – 3.50 (m, 1H), 3.34 – 3.26 (m, 1H), 3.09 (t, $J = 9.1$ Hz, 1H), 2.74 – 2.63 (m, 1H), 2.18 (s, 6H), 2.09 – 2.00 (m, 1H), 1.75 – 1.64 (m, 1H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, DMSO) δ 153.5, 140.0, 131.0, 121.2, 113.0, 64.7, 49.9, 44.8, 43.8, 29.4. HPLC $t_{\text{ret}} = 3.02$ min. ESI-MS m/z : 310.1 $[\text{M-H}]^-$.

N-(4-Bromphenyl)-4-(dimethylamino)piperidin-1-carboxamid (**19**)¹⁴⁸



Durchführung nach **ASV 9** mit 101 mg *N,N*-Dimethylpiperidin-4-amin (1,05 mmol) und 149 mg 4-Bromphenylisocyanat (0,75 mmol). Ausbeute: 214 mg (88 %) als weißer Feststoff. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 8.60 (s, 1H), 7.44 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.38 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 4.14 – 4.05 (m, 2H), 2.84 – 2.72 (m, 2H), 2.31 – 2.21 (m, 1H), 2.17 (s, 6H), 1.80 – 1.70 (m, 2H), 1.34 – 1.20 (m, 2H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, DMSO) δ 154.5, 140.2, 131.0, 121.3, 113.0, 61.3, 43.0, 41.4, 28.0. HPLC $t_{\text{ret}} = 3.22$ min. ESI-MS m/z : 326.3 $[\text{M+H}]^+$.

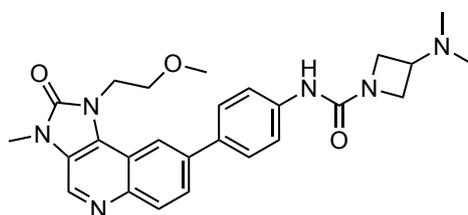
1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-(4-(1-(2-methoxyethyl)-3-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-imidazo[4,5-*c*]chinolin-8-yl)phenyl)-1-methylharnstoff (**20**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 120 mg **16** (0,400 mmol) und 161 mg 1-(2-Methoxyethyl)-3-methyl-8-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1,3-dihydro-2*H*-imidazo[4,5-*c*]chinolin-2-on¹⁴⁸ (0,420 mmol). Gradient (FC): DCM / MeOH + NH_3 (3 – 8 %). Ausbeute: 70 mg (35 %) als weißer Feststoff. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 9.31 (s, 1H), 8.84 (s, 1H), 8.41 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 8.06 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.91 (dd, $J = 8.9, 1.8$ Hz, 1H), 7.72 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.57 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 4.55 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H), 3.77 (t, $J =$

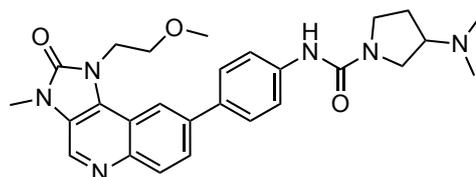
5.6 Hz, 2H), 3.52 (s, 3H), 3.41 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 3.24 (s, 3H), 2.95 (s, 3H), 2.45 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 2.25 (s, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.7, 153.4, 143.5, 140.9, 137.4, 132.8, 132.3, 130.6, 128.4, 127.0, 125.4, 122.8, 119.4, 117.3, 115.3, 70.0, 58.3, 57.9, 46.7, 45.2, 42.5, 34.9, 27.4. HPLC $t_{\text{ret}} = 1.49$ min. ESI m/z : 499.4 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 745, 820, 896, 909, 929, 991, 1018, 1036, 1113, 1184, 1241, 1289, 1318, 1376, 1457, 1483, 1508, 1597, 1653, 1696, 2778, 2822.

3-(Dimethylamino)-N-(4-(1-(2-methoxyethyl)-3-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1H-imidazo[4,5-c]chinolin-8-yl)phenyl)azetidine-1-carboxamid (**21**)



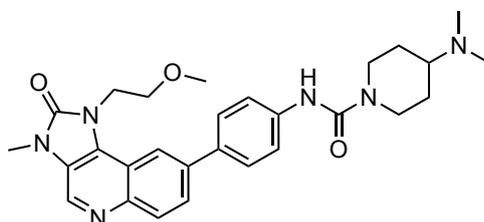
Durchführung nach **ASV 7** mit 45 mg **17** (0,15 mmol) und 58 mg 1-(2-Methoxyethyl)-3-methyl-8-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1,3-dihydro-2H-imidazo[4,5-c]chinolin-2-on¹⁴⁸ (0,15 mmol) und 136 mg $\text{K}_3\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (0,60 mmol) in 2,0 ml Dioxan und 0,5 ml Wasser. Die Reaktion wurde über Nacht bei 60 °C durchgeführt. Gradient (FC): DCM / MeOH + 2 N NH_3 (6 – 10 %). Ausbeute: 55 mg (77 %) als weißer Feststoff. ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.84 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 8.41 (s, 1H), 8.06 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.91 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.73 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.67 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 4.55 (t, $J = 5.1$ Hz, 2H), 4.04 – 3.94 (m, 2H), 3.83 – 3.73 (m, 4H), 3.53 (s, 3H), 3.24 (s, 3H), 3.09 – 2.99 (m, 1H), 2.10 (s, 6H). HPLC $t_{\text{ret}} = 2.18$ min. ESI-MS m/z : 475.6 $[\text{M}+\text{H}]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 745, 822, 893, 906, 1038, 1096, 1113, 1161, 1185, 1239, 1376, 1524, 1586, 1668, 1694, 2820, 2870, 2941.

3-(Dimethylamino)-N-(4-(1-(2-methoxyethyl)-3-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1H-imidazo[4,5-c]chinolin-8-yl)phenyl)pyrrolidin-1-carboxamid (**22**).



Durchführung nach **ASV 7** mit 47 mg **18** (0,15 mmol), 63 mg 1-(2-Methoxyethyl)-3-methyl-8-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1,3-dihydro-2H-imidazo[4,5-c]chinolin-2-on¹⁴⁸ (0,17 mmol) und 136 mg K₃PO₄·3H₂O (0,60 mmol) in 2,5 ml Dioxan und 0,5 ml Wasser. Die Reaktion wurde über Nacht bei 60 °C durchgeführt. Gradient (FC): DCM / MeOH + 2 N NH₃ (6 – 10 %). Ausbeute: 65 mg (89 %) weißer Feststoff. ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.84 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.06 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.77 – 7.64 (m, 4H), 4.55 (t, *J* = 5.1 Hz, 2H), 3.77 (t, *J* = 5.3 Hz, 2H), 3.72 – 3.65 (m, 1H), 3.63 – 3.56 (m, 1H), 3.52 (s, 3H), 3.34 – 3.30 (m, 1H), 3.25 (s, 3H), 3.17–3.09 (m, 1H), 2.74 – 2.64 (m, 1H), 2.19 (s, 6H), 2.12 – 2.02 (m, 1H), 1.78 – 1.65 (m, 1H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 153.7, 153.5, 143.5, 140.6, 137.4, 132.8, 132.5, 130.6, 128.5, 126.9, 125.5, 122.9, 119.7, 117.4, 115.3, 70.1, 64.8, 58.4, 50.0, 44.9, 43.8, 42.5, 29.5, 27.5. HPLC *t*_{ret} = 2.17 min. ESI-MS *m/z*: 489.6 [M+H]⁺. IR [cm⁻¹] 744, 822, 893, 912, 954, 991, 1036, 1057, 1111, 1242, 1292, 1356, 1374, 1407, 1418, 1482, 1507, 1577, 1663, 1702, 3383.

4-(Dimethylamino)-N-(4-(1-(2-methoxyethyl)-3-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1H-imidazo[4,5-c]chinolin-8-yl)phenyl)piperidin-1-carboxamid (**23**)

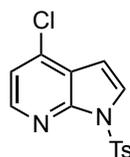


Durchführung nach **ASV 7** mit 49 mg **19** (0,15 mmol), 54 mg 1-(2-Methoxyethyl)-3-methyl-8-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1,3-dihydro-2H-imidazo[4,5-c]chinolin-2-on¹⁴⁸ (0,17 mmol) und 136 mg K₃PO₄·3H₂O (0,60 mmol) in 2,5 ml Dioxan und 0,5 ml Wasser über Nacht bei 60 °C. Gradient (FC): DCM / MeOH + 2 N NH₃ (5 – 10 %). Ausbeute: 75 mg (99 %) weißer Feststoff. ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.84 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.06 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.72 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.64 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 4.61 – 4.48 (m, 2H), 4.22 – 4.10 (m, 2H), 3.82 – 3.73 (m, 2H), 3.52 (s, 3H), 3.24 (s, 3H), 2.88 – 2.75 (m, 2H), 2.37 – 2.27 (m, 1H), 2.20 (s, 6H), 1.85 – 1.72 (m, 2H), 1.39 – 1.25 (m, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 154.71, 153.48, 143.53, 140.77, 137.42, 132.86, 132.56, 130.62, 128.50, 126.93, 125.52, 122.87, 119.82, 117.38, 115.35, 70.07, 61.42, 58.37, 43.13, 42.56, 41.33, 28.04, 27.47. HPLC *t*_{ret} = 2.26 min. ESI-MS *m/z*: 503.1 [M+H]⁺. IR [cm⁻¹] 742, 820, 998, 1043, 1110, 1171,

1231, 1272, 1294, 1316, 1330, 1359, 1379, 1410, 1420, 1481, 1508, 1577, 1593, 1654, 1688, 2771.

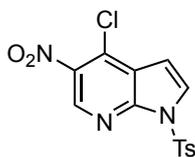
7.4 Synthese der Verbindungen aus Kapitel 3.2

4-Chlor-1-tosyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin (**24**)



In einem Rundkolben wurde 2500 mg 7-Azaindol (16,38 mmol) in ca. 80 ml trockenem THF gelöst. Es wurde NaH (785 mg, 60 wt%, 19,7 mmol) portionsweise hinzugegeben und die Suspension wurde 15 min nach vollständiger Zugabe gerührt, bis keine Gasbildung sichtbar war. Es wurden 3277 mg TsCl (17,19 mmol) in ca. 20 ml THF gelöst und zu der Reaktion getropft. Nach 1,5 h zeigte die Reaktionskontrolle eine vollständige Umsetzung (HPLC) und der Ansatz wurde mit gesättigter NH₄Cl-Lösung verdünnt. Das Produkt wurde EA extrahiert und die organischen Phasen wurden mit gesättigter K₂CO₃-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde getrocknet und die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde mit kaltem MeOH suspendiert und via Filtration gewonnen. Ausbeute: 2971 mg hellbrauner Feststoff (60 %). HPLC $t_{\text{ret}} = 8.45$ min (mit interner HPLC-Datenbank abgeglichen, keine weitere Charakterisierung).¹⁵⁹

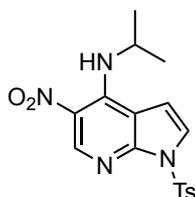
4-Chlor-5-nitro-1-tosyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin (**25**)



Zu einer Lösung von 2,00 g **24** (6,52 mmol) in 60 ml trockenem DCM wurden insgesamt 1509 mg Me₄N(NO₃) (11,08 mmol) hinzugegeben. In weiteren 20 ml DCM wurden 1,18 ml TFAA (8,48 mmol) gelöst und bei 0 °C über 1 h zur Reaktion getropft. Die gelbe Lösung wurde auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt, bis via HPLC eine vollständige Umsetzung des Ausgangsmaterials nachgewiesen werden konnte. Die Reaktion wurde mit DCM verdünnt und die organische Phase mit gesättigter NaHCO₃- und NH₄Cl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde getrocknet, die LM evaporiert und

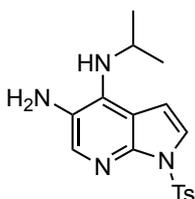
das Rohprodukt in MeOH erhitzt. Die Suspension wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Produkt via Filtration gewonnen. Ausbeute: 2145 mg weißgelber FS (94 %). HPLC $t_{\text{ret}} = 8.76$ min. Das gewünschte Produkt wurde mithilfe der internen HPLC-Datenbank eindeutig identifiziert. Eine weitere Charakterisierung wurde nicht durchgeführt.¹⁵⁹

N-Isopropyl-5-nitro-1-tosyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-4-amin (**26**)



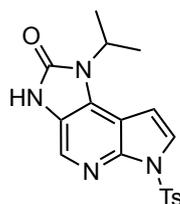
Durchgeführt nach **ASV 1**, jedoch mit 1500 mg **25** (4,27 mmol), 457 μl *i*PrNH₂ (5,34 mmol) und 888 μl Et₃N (6,41 mmol) als Startmaterial in 16 ml *i*PrOH unter Refluxbedingungen. Ausbeute: 1520 mg gelber Feststoff (95 %). ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 9.09 (s, 1H), 8.98 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 8.06 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.58 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.77 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H), 4.41 – 4.16 (m, 1H), 2.39 (s, 3H), 1.40 (d, $J = 6.3$ Hz, 6H). HPLC $t_{\text{ret}} = 8.55$ min. ESI-MS m/z : 373,4 [M-H]⁻.

*N*⁴-Isopropyl-1-tosyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-4,5-diamin (**27**)



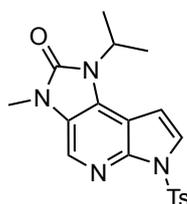
Durchgeführt nach **ASV 2** mit 619 mg **26** (1,80 mmol), 1621 mg SnCl₂·2H₂O (7,187 mmol) in 40 ml EtOH. Ausbeute: 517 mg Feststoff (83 %). ¹H NMR (200 MHz, DMSO) δ 7.88 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.54 (s, 1H), 7.44 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H), 7.36 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.73 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H), 5.05 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 4.34 (s, 2H), 4.16 – 3.93 (m, 1H), 2.32 (s, 3H), 1.18 (d, $J = 6.2$ Hz, 6H). ¹³C NMR (50 MHz, DMSO) δ 144.8, 143.4, 136.1, 135.0, 132.8, 129.6, 127.4, 126.2, 122.5, 107.5, 105.9, 44.6, 23.5, 21.0. HPLC $t_{\text{ret}} = 4.89$ min. ESI m/z : 345.3 [M+H]⁺.

1-Isopropyl-6-tosyl-3,6-dihydroimidazo[4,5-*d*]pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(1*H*)-on (**28**)



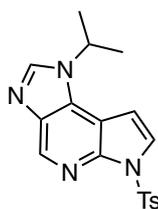
Eine Lösung von 400 mg **27** (1,16 mmol) in 8 ml trockenem DMF wurde unter Argon-Atmosphäre gerührt und mit 235 mg CDI (1,45 mmol) versetzt. Die Reaktionskontrolle über HPLC und DC zeigte nach 30 min eine vollständige Umsetzung des Eduktes. Die Reaktion wurde mit NH₄Cl-Lösung verdünnt und das Produkt wurde mithilfe einer Filtration gewonnen (Trocknung im Umluftofen für 1 h bei 60 °C). Ausbeute: weiß-beiger Feststoff (82 %). ¹H NMR (200 MHz, DMSO) δ 11.17 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.97 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.86 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H), 7.37 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.03 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 4.88 – 4.63 (m, 1H), 2.31 (s, 3H), 1.47 (d, *J* = 6.9 Hz, 6H). HPLC *t*_{ret} = 7.23 min. ESI *m/z*: 393.3 [M+Na]⁺.

1-Isopropyl-3-methyl-6-tosyl-3,6-dihydroimidazo[4,5-*d*]pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-2(1*H*)-on (**29**)



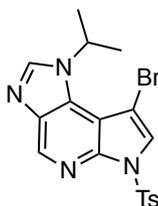
In 12 ml trockenem DMF wurden 200 mg **28** (0,540 mmol) gegeben und mit 27 mg NaH (0,68 mmol) versetzt. Die Suspension wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis keine Gasbildung mehr sichtbar war. MeI (100 mg, 0,705 mmol) wurde hinzugefügt. Nach ca. 1,5 h zeigte die Reaktionskontrolle (HPLC) einen vollständigen Verbrauch des Eduktes. Die Reaktion wurde mit einem Überschuss an MeOH gestoppt und NH₄Cl-Lösung verdünnt. Das Rohprodukt wurde mit DCM extrahiert und mit DCM/MeOH 1 – 9 % säulenchromatographisch aufgereinigt. Ausbeute: 220 mg Feststoff (85 %). ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.16 – 8.02 (m, 3H), 7.77 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 7.34 – 7.17 (m, 2H), 6.74 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H), 4.87 (hept, *J* = 6.8 Hz, 1H), 3.46 (s, 3H), 2.36 (s, 3H), 1.59 (d, *J* = 7.0 Hz, 6H). HPLC *t*_{ret} = 7.38 min. ESI *m/z*: 407.3 [M+Na]⁺.

1-Isopropyl-6-tosyl-1,6-dihydroimidazo[4,5-*d*]pyrrolo[2,3-*b*]pyridin (**30**)



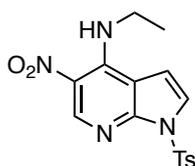
Zu einer Suspension aus **26** (824 mg, 2,20 mmol) in 10 ml Toluol wurde Pd/C (10 m%) und 11 ml Et₃N/HCOOH (5 + 2) hinzugegeben. Die Reaktion wurde über Nacht unter Refluxbedingungen gerührt, bis die Reaktionskontrolle über HPLC einen vollständigen Verbrauch des Eduktes zeigte. Der Ansatz wurde mit EA verdünnt, über Kieselgur filtriert und das Filtrat mit gesättigter NH₄Cl- und NaHCO₃-Lösung gewaschen. Nach Trocknung und Einengen der organischen Phase wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch mit PE/EA 50 – 90 % purifiziert. Ausbeute: 459 mg gelbliches Öl (59 %). ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.92 (s, 1H), 8.22 – 7.94 (m, 3H), 7.84 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H), 7.26 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 6.80 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H), 5.02 – 4.65 (m, 1H), 2.37 (s, 3H), 1.71 (d, *J* = 6.6 Hz, 6H). HPLC *t*_{ret} = 6.44 min. ESI *m/z*: 377.4 [M+Na]⁺.

8-Brom-1-isopropyl-6-tosyl-1,6-dihydroimidazo[4,5-*d*]pyrrolo[2,3-*b*]pyridin (**31**)



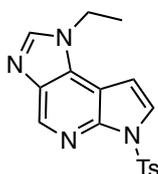
Zu einer Lösung von 73 mg **30** (0,21 mmol) in 4 ml trockenem DMF wurden 43 mg NBS (0,24 mmol) hinzugefügt. Die Reaktion wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis via DC ein vollständiger Verbrauch des Startmaterials nachgewiesen werden konnte. Der Ansatz wurde mit gesättigter NaHCO₃-Lösung verdünnt und das Produkt wurde mit EA extrahiert. Die organische Phase wurde getrocknet und eingengt, um das Rohprodukt zu erhalten. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (mit DCM/MeOH 1 – 9 %), wurde das Produkt als Feststoff gewonnen (86 mg, 56 %). ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.90 (s, 1H), 8.14 – 8.05 (m, 3H), 7.88 (s, 1H), 7.26 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 5.75 (hept, *J* = 6.6 Hz, 1H), 2.34 (s, 3H), 1.64 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H). ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 145.7, 142.1, 140.4, 139.6, 137.9, 134.9, 129.7, 128.6, 124.9, 108.0, 90.2, 51.0, 23.9, 21.8. HPLC *t*_{ret} = 8.65 min. ESI *m/z*: 455.5 [M+Na]⁺, 487.5 [M+Na+MeOH]⁺.

N-Ethyl-5-nitro-1-tosyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-4-amin (**32**)



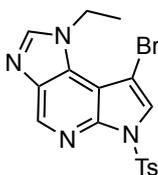
Zu einer Lösung aus 250 mg **25** (0,712 mmol) in trockenem DMF wurden insgesamt 144 mg Ethylamin (Hydrochlorid, 1,78 mmol) und 270 mg Et₃N (1,78 mmol) hinzugegeben. Der Ansatz wurde bei 70 °C gerührt, bis über DC die vollständige Umsetzung der Edukte nachgewiesen werden konnte. Die Reaktion wurde mit Wasser verdünnt (5 – 10-fachen Menge) und das Rohprodukt durch Filtration gewonnen. Dieses wurde anschließend per Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: PE/EA+MeOH (95+5) 10 – 90 %). Ausbeute: 222 mg gelber Feststoff (86 %). ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 9.03 (s, 1H), 8.00 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.53 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 7.26 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 6.82 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 3.72 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.63 (s, 1H), 2.35 (s, 3H), 1.39 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H). HPLC *t*_{ret} = 8.16 min. ESI *m/z*: 359.4 [M-H]⁻, 383.5 [M+Na]⁺, 415.6 [M+Na+MeOH]⁺.

1-Ethyl-6-tosyl-1,6-dihydroimidazo[4,5-*d*]pyrrolo[2,3-*b*]pyridin (**33**)



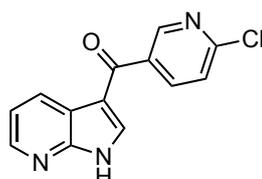
Durchführung gemäß der Vorschrift für **30** mit 100 mg **32** (0,277 mmol) in 4 ml Toluol und 1 ml Et₃N/HCOOH. Ausbeute: 92 mg Feststoff (98 %). ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.92 (s, 1H), 8.11 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.98 (s, 1H), 7.80 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H), 7.26 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 6.78 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H), 4.41 (q, *J* = 7.3 Hz, 2H), 2.35 (s, 3H), 1.58 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H). HPLC *t*_{ret} = 6.13 min. ESI *m/z*: 339.3 [M-H]⁻, 363.3 [M+Na]⁺, 395.3 [M+Na+MeOH]⁺.

8-Brom-1-ethyl-6-tosyl-1,6-dihydroimidazo[4,5-*d*]pyrrolo[2,3-*b*]pyridin (**34**)



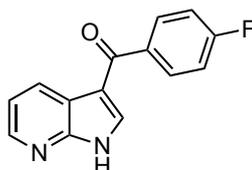
Die Durchführung erfolgte, wie für **31** beschrieben, mit 40 mg **33** (0,12 mmol) und 21 mg NBS (0,12 mmol). Ausbeute: 19 mg Feststoff (39 %). $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 8.92 (s, 1H), 8.11 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 8.03 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.28 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H), 4.81 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.36 (s, 3H), 1.55 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H). HPLC $t_{\text{ret}} = 8.36$ min. ESI m/z : 417.4 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 441.4 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 473.4 $[\text{M}+\text{Na}+\text{MeOH}]^+$.

(6-Chlorpyridin-3-yl)(1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-3-yl)methanon (**35**)



Zu einer Lösung von 100 mg 7-Azaindol (0,846 mmol) in DCE (4 ml) wurden 586 mg AlCl_3 (4,36 mmol) hinzugefügt. 6-Chlornicotinoylchlorid (238 mg, 1,35 mmol) wurde zur gelben Suspension gegeben. Die Reaktion wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt, bis die Reaktionskontrolle via HPLC einen vollständigen Verbrauch der Edukte zeigte. Anschließend wurde der Ansatz auf Eiswasser gegossen und mit NaOH neutralisiert. Das Produkt wurde mit EA extrahiert. Nach Trocknung der organischen Phase und der Entfernung der Lösungsmittel am Rotationsverdampfer konnten 185 mg Feststoff (85 %) gewonnen werden. $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, DMSO) δ 12.80 (s, 1H), 8.92 – 8.72 (m, 1H), 8.54 (dd, $J = 7.9, 1.6$ Hz, 1H), 8.39 (dd, $J = 4.7, 1.6$ Hz, 1H), 8.32 – 8.20 (m, 2H), 7.74 – 7.65 (m, 1H), 7.32 (dd, $J = 7.9, 4.7$ Hz, 1H). $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, DMSO) δ 186.7, 152.5, 149.6, 149.2, 144.8, 139.7, 137.1, 134.4, 129.8, 124.4, 118.5, 118.4, 113.6. HPLC $t_{\text{ret}} = 5.81$ min. ESI m/z : 256.0 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

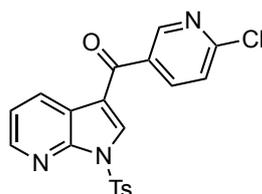
(4-Fluorphenyl)(1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-3-yl)methanon (**36**)



Zu einer Lösung von 500 mg 1,7-Diazainden (4,23 mmol) wurde AlCl_3 (1804 mg, 13,54 mmol) hinzugefügt und für 1 – 1,5 h bei Raumtemperatur gerührt. 4-Fluorbenzoylchlorid (800 μl , 6,77 mmol) wurde portionsweise (100 μl / 10 min)

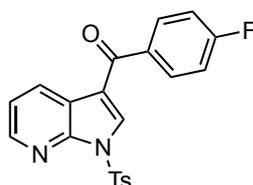
hinzugefügt. Nach Rühren über Nacht zeigte die HPLC eine vollständige Umsetzung. Anschließend wurde die Reaktionslösung unter Kühlung (Eisbad) langsam mit MeOH versetzt. Die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt in EA aufgenommen und mit NH₄Cl-Lösung gewaschen. Nach Trocknung der organischen Phase und der Entfernung der Lösungsmittel am Rotationsverdampfer wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch aufgereinigt (mit PE/EA+MeOH (95 + 5), Lösungsmittel nicht optimal). Ausbeute: 935 mg Feststoff (92 %). ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 12.58 (s, 1H), 8.80 (dd, *J* = 7.9, 1.5 Hz, 1H), 8.55 – 8.42 (m, 1H), 8.01 – 7.87 (m, 3H), 7.46 – 7.34 (m, 1H), 7.31 – 7.18 (m, 2H). HPLC *t*_{ret} = 6.30 min. ESI *m/z*: 241.1 [M+H]⁺, 239.1 [M-H]⁻.

(6-Chlorpyridin-3-yl)(1-tosyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-3-yl)methanon (**37**)



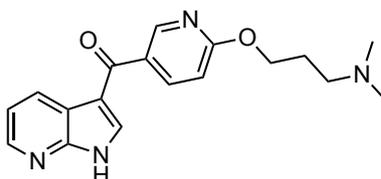
Zu einer Lösung von 79 mg **35** (0,31 mmol) in 20 ml trockenem THF wurde NaH (20 mg, 0,50 mmol) unter Argon-Schutzgas hinzugegeben. Nach 10 min wurde TsCl (82 mg, 0,43 mmol) hinzugefügt und bei Raumtemperatur gerührt, bis die Reaktionskontrolle (HPLC) eine vollständige Umsetzung zeigte. Die Reaktion wurde mit gesättigter NH₄Cl-Lösung gestoppt und anschließend mit EA extrahiert. Nach Trocknung der organischen Phase und der Entfernung der Lösungsmittel am Rotationsverdampfer wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch aufgereinigt (DCM/MeOH 1 – 5 %). Ausbeute: 118 mg Feststoff (94 %). ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.86 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.64 – 8.48 (m, 2H), 8.23 – 8.07 (m, 4H), 7.54 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.41 – 7.28 (m, 3H), 2.40 (s, 3H). HPLC *t*_{ret} = 8.63 min. ESI *m/z*: 433.9 [M+Na]⁺.

(4-Fluorphenyl)(1-tosyl-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-3-yl)methanon (**38**)



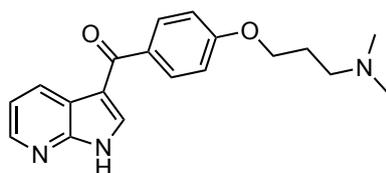
Zu einer Lösung von 236 mg **36** (0,982 mmol) in trockenem THF wurde NaH (68 mg, 1,7 mmol) unter Argon-Schutzgas hinzugegeben. Nach 10 min wurde TsCl (253 mg, 1,32 mmol) hinzugefügt und bei Raumtemperatur gerührt, bis die Reaktionskontrolle (HPLC) eine vollständige Umsetzung anzeigte. Die Reaktion wurde mit gesättigter NH₄Cl-Lösung gestoppt und das Produkt mit EA extrahiert. Nach Trocknung und dem Einengen der organischen Phase konnte das Produkt als Feststoff gewonnen werden (374 mg, 97 %). ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.65 – 8.51 (m, 2H), 8.25 – 8.11 (m, 3H), 8.00 – 7.89 (m, 2H), 7.39 – 7.23 (m, 5H), 2.43 (s, 3H). HPLC *t*_{ret} = 9.06 min.

(6-(3-(Dimethylamino)propoxy)pyridin-3-yl)(1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-3-yl)methanon
(**39**)



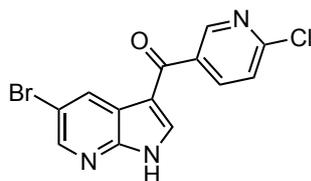
Zu einer Suspension aus **37** (32 mg, 0,78 mmol) in 3-(Dimethylamino)propan-1-ol (1 ml) wurden 7 mg NaH (60 wt%, 0,2 mmol) hinzugefügt. Die Reaktion wurde bei Raumtemperatur gerührt und zeigte nach einer Stunde nur eine geringe Umsetzung (HPLC), sodass eine Temperatur von 60 °C eingestellt wurde (über Nacht). Die Reaktion wurde mit 1 ml gesättigter NH₄Cl-Lösung gestoppt und mit NaHCO₃-Lösung verdünnt. Das Produkt wurde mit EA extrahiert. Nach Trocknung der organischen Phase und der Entfernung der Lösungsmittel am Rotationsverdampfer wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch aufgereinigt (PE/EA + MeOH (95 + 5), jedoch nicht optimal, ggf. basisches Lösungsmittel verwenden). Ausbeute: 15 mg weißlicher Feststoff (60 %). ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 12.48 (bs, 1H), 8.81 – 8.61 (m, 2H), 8.45 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H), 8.19 – 8.03 (m, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.41 – 7.28 (m, 1H), 6.85 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 4.45 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 2.49 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 2.28 (s, 6H), 2.10 – 1.92 (m, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 188.2, 166.1, 149.4, 148.8, 144.5, 139.4, 133.7, 131.8, 129.3, 119.9, 118.8, 115.7, 111.4, 65.2, 56.5, 45.6, 27.4. HPLC *t*_{ret} = 2.65 min. ESI *m/z*: 325,0 [M+H]⁺, 323,0 [M-H]⁻. IR [cm⁻¹] 682, 756, 766, 779, 800, 885, 1010, 1031, 1122, 1210, 1292, 1374, 1411, 1457, 1497, 1517, 1587, 1629, 2852, 2920, 3021, 3084.

(4-(3-(Dimethylamino)propoxy)phenyl)(1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-3-yl)methanon (**40**)



Zu 3-(Dimethylamino)propan-1-ol (0,5 ml) wurde 21 mg NaH (60 wt%, 0,5 mmol) portionsweise unter Eiskühlung hinzugefügt. Nachdem keine Gasbildung zu sehen war, wurden 20 mg **38** (0,051 mmol) hinzugegeben und die Reaktion bei 100 °C gerührt, bis die Reaktionskontrolle (HPLC) eine vollständige Umsetzung anzeigte. Die Reaktion wurde mit Wasser verdünnt, mit NaOH basifiziert und das Produkt mit EA extrahiert. Das Rohprodukt wurde mit DCM/MeOH + NH₃ (4 – 10 %) säulenchromatographisch aufgereinigt. Ausbeute 12 mg (73 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.57 (s, 1H), 8.53 – 8.47 (m, 1H), 8.40 – 8.32 (m, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.89 – 7.77 (m, 2H), 7.28 (dd, *J* = 7.8, 4.7 Hz, 1H), 7.16 – 7.00 (m, 2H), 4.10 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 2.39 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.16 (s, 6H), 1.93 – 1.84 (m, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 188.6, 161.6, 149.1, 144.5, 134.9, 132.1, 130.9, 129.9, 119.0, 118.1, 114.4, 114.0, 66.3, 55.7, 45.3, 26.9. HPLC *t*_{ret} = 2.56 min. ESI *m/z*: 324,0 [M+H]⁺, 322,0 [M-H]⁻. IR [cm⁻¹] 680, 706, 761, 772, 799, 841, 884, 1006, 1042, 1120, 1148, 1170, 1205, 1247, 1257, 1290, 1363, 1413, 1452, 1508, 1569, 1584, 1602, 2768, 2801, 2823, 2861.

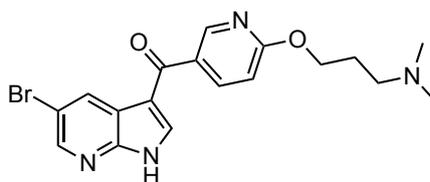
(5-Brom-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-3-yl)(6-chlorpyridin-3-yl)methanon (**41**)



Zu einer Lösung von 933 mg 5-Brom-7-Azaindol (4,73 mmol) in trockenem DCM (20 ml) wurde 3615 mg AlCl₃ (27,12 mmol) hinzugefügt und für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. 6-Chlornicotinoylchlorid (1000 mg, 5,68 mmol) wurde portionsweise hinzugefügt und die Reaktion wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis die Reaktionskontrolle (HPLC) eine vollständige Umsetzung anzeigte. Unter Kühlung (Eisbad) wurde der Ansatz mit MeOH verdünnt, wobei das Produkt als weiß-glitzernder Feststoff ausfällt und abgesaugt wurde. Ausbeute: 1131 mg (71 %). ¹H NMR (200 MHz, DMSO) δ 13.03 (s, 1H), 8.87 – 8.77 (m, 1H), 8.65 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 8.48 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 8.37 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 8.25 (dd,

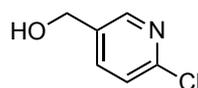
$J = 8.3, 2.5$ Hz, 1H), 7.71 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO) δ 186.6, 152.7, 149.6, 147.6, 145.0, 139.7, 138.4, 134.0, 131.5, 124.5, 120.1, 113.9, 113.0.

(5-Brom-1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-3-yl)(6-(3-(dimethylamino)propoxy)pyridin-3-yl)methanon (**42**)



Zu 3-(Dimethylamino)propan-1-ol (5 ml) wurde 252 mg NaH (60 wt%, 6,30 mmol) portionsweise unter Eiskühlung hinzugegeben. Nachdem keine Gasbildung mehr zu sehen war, wurde 848 mg **41** (2,52 mmol) portionsweise hinzugegeben und die Reaktion bei Raumtemperatur gerührt, bis die Reaktionskontrolle (HPLC) eine vollständige Umsetzung anzeigte. Die Reaktion wurde mit Wasser verdünnt, mit NaOH basifiziert und das Produkt mit EA extrahiert. Das Rohprodukt wurde mit DCM/MeOH + NH_3 säulenchromatographisch aufgereinigt. Da sich noch Dimethylaminopropanol im Produkt befand, wurde es unter Hochvakuum entfernt. Ausbeute: weißlicher Feststoff (807 mg, 79 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.84 (bs, 1H), 8.66 (dd, $J = 13.8, 2.3$ Hz, 2H), 8.46 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.13 (dd, $J = 8.6, 2.4$ Hz, 1H), 6.95 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 4.39 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.15 (s, 6H), 1.94 – 1.83 (m, 2H). HPLC $t_{\text{ret}} = 8.13$ min. ESI m/z : 402,8 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 400,9 $[\text{M}-\text{H}]^-$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 660, 701, 735, 759, 770, 789, 800, 824, 835, 874, 889, 1012, 1025, 1040, 1085, 1118, 1170, 1200, 1231, 1258, 1278, 1288, 1354, 1400, 1446, 1464, 1593, 2947.

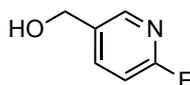
(6-Chlorpyridin-3-yl)methanol (**44**)



In 3 ml trockenem THF wurden 315 mg 6-Chlornicotinsäure gelöst. In weiteren 2 ml THF wurde LiAlH_4 (90 mg, 2,37 mmol) suspendiert und portionsweise zu der gelösten Säure gegeben. Die Reaktion wurde für 15 min bei Raumtemperatur gerührt und anschließend auf Reflux erhitzt, bis die Reaktionskontrolle via DC eine vollständige Umsetzung zeigte. Unter Eiskühlung wurde kalte gesättigte NH_4Cl -Lösung in die Reaktion gegeben (ca. 1 T).

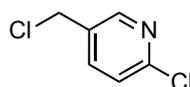
Natriumsulfat wurde hinzugefügt, gefolgt von einer Extraktion mit EA (3x). Nach Trocknung der organischen Phase wurden die Lösungsmittel entfernt, um das Produkt als Öl zu erhalten, welches mithilfe von Ultraschall in einen kristallinen Feststoff überführt werden konnte. Ausbeute: 135 mg (47 %). $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 8.22 – 8.09 (m, 1H), 7.65 – 7.50 (m, 1H), 7.24 – 7.12 (m, 1H), 4.82 – 4.50 (m, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 149.8, 147.8, 137.8, 135.9, 124.1, 61.1.

(6-Fluorpyridin-3-yl)methanol (**45**)



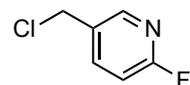
Durchführung nach der Vorschrift von **44** mit 564 mg 6-Fluornicotinsäure (4,00 mmol) und 182 mg LiAlH_4 (4,8 mmol) in 20 ml THF. Das Produkt wurde zusätzlich säulenchromatographisch aufgereinigt (Lösungsmittel: PE/EA). Ausbeute: 217 mg gelbe Flüssigkeit (43 %). $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 8.16 – 8.05 (m, 1H), 7.88 – 7.72 (m, 1H), 6.90 (dd, $J = 8.4, 2.6$ Hz, 1H), 4.68 (s, 2H), 2.96 (s, 1H). $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 163.15 (d, $J = 239.4$ Hz), 146.02 (d, $J = 14.3$ Hz), 140.59 (d, $J = 8.1$ Hz), 134.29 (d, $J = 4.4$ Hz), 109.58 (d, $J = 37.1$ Hz), 61.68 (d, $J = 1.6$ Hz). HPLC $t_{\text{ret}} = 2.07$ min.

2-Chlor-5-(chlormethyl)pyridin (**46**)²⁰⁷



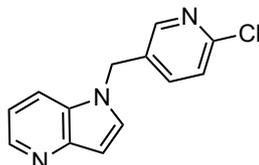
Zu einer Lösung von 122 mg **44** (0,850 mmol) in trockenem DCM (3 ml) wurden ca. 80 μl SOCl_2 langsam hinzugefügt, wobei sich kurzzeitig eine weiße Suspension bildete. Nach vollständiger Umsetzung (ca. 2 h, Kontrolle via DC) wurde die Reaktion unter vermindertem Druck eingengt. Rohausbeute: 128 mg (92 %). Das Rohprodukt wurde ohne weitere Charakterisierung verwendet.

5-(Chlormethyl)-2-fluorpyridin (**47**)



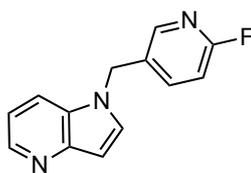
Durchführung nach der Vorschrift von **46** mit 108 mg **45** (0,850 mmol), 80 μ l SOCl₂ und 2 ml DCM. Das Produkt wurde ohne weitere Charakterisierung verwendet.

1-((6-Chlorpyridin-3-yl)methyl)-1*H*-pyrrolo[3,2-*b*]pyridin (**48**)



In 4 ml trockenem DMF wurden 103 mg 4-Azaindol (0,869 mmol) gelöst, gefolgt von der portionsweisen Zugabe an NaH (60 wt%, 41 mg, 1,03 mmol). Nach 10 min Rühren bei Raumtemperatur wurde **46** (128 mg, 0,790 mmol) hinzugefügt. Nachdem über DC die vollständige Umsetzung nachgewiesen werden konnte, wurde das DMF am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit PE/EA 30 – 80 % aufgereinigt. Man erhält ein gelbliches Öl, welches zu einem Feststoff erstarrt. Ausbeute: 164 mg Feststoff (85 %). ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.48 (dd, $J = 4.7, 1.2$ Hz, 1H), 8.28 (m, 1H), 7.55 – 7.46 (m, 1H), 7.35 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 1.6$ Hz, 2H), 7.14 – 7.04 (m, 1H), 6.83 – 6.72 (m, 1H), 5.32 (s, 2H). ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 151.5, 148.1, 147.2, 143.9, 137.3, 131.5, 131.2, 129.0, 124.8, 117.0, 116.7, 104.0, 47.4. HPLC $t_{\text{ret}} = 1.49$ min.

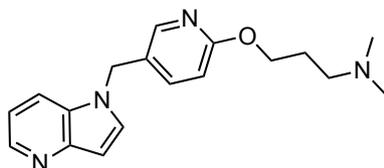
1-((6-Fluorpyridin-3-yl)methyl)-1*H*-pyrrolo[3,2-*b*]pyridin (**49**)



In 3 ml trockenem THF wurden 110 mg 4-Azaindol (0,935 mmol) gelöst und portionsweise mit 48 mg NaH (60 wt%, 1,2 mmol) versetzt. Der Ansatz wurde für 15 min bei Raumtemperatur gerührt, bis keine Gasentwicklung mehr sichtbar war. **47** (0,850 mmol) wurde in 1 ml THF gelöst und portionsweise in die Reaktion getropft. Der Ansatz wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis die vollständige Umsetzung via DC nachgewiesen werden konnte. Das Lösungsmittel wurde mithilfe eines Rotationsverdampfers entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (PE/EA 20 – 80 %) aufgereinigt. Ausbeute:

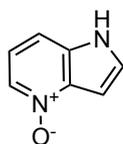
67 mg Feststoff (32 %). HPLC $t_{\text{ret}} = 1.06$ min. ESI m/z : 228,0 $[M+H]^+$, 225,9 $[M-H]^-$. Das Produkt wurde ohne weitere Charakterisierung für die Folgereaktion verwendet.

3-((5-((1*H*-Pyrrolo[3,2-*b*]pyridin-1-yl)methyl)pyridin-2-yl)oxy)-*N,N*-dimethylpropan-1-amin (**50**)



In 0,5 ml 3-(Dimethylamino)propan-1-ol wurden 14 mg NaH (0,35 mmol) suspendiert und bei Raumtemperatur gerührt, bis keine Gasentwicklung mehr sichtbar war. **49** (67 mg, 0,30 mmol) wurde hinzugegeben und die Reaktion bis zur vollständigen Umsetzung (DC-Kontrolle) bei Raumtemperatur gerührt. Das 3-(Dimethylamino)propan-1-ol wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (DCM/MeOH + NH₃ (2 N) 3 – 9 %). Ausbeute: 71 mg farbloses Öl (78 %). ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.54 – 8.34 (m, 1H), 8.09 – 7.93 (m, 1H), 7.54 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.37 – 7.19 (m, 2H), 7.05 (dd, $J = 8.1, 4.8$ Hz, 1H), 6.71 (d, $J = 3.0$ Hz, 1H), 6.63 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 5.19 (s, 2H), 4.28 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 2.40 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 2.22 (s, 6H), 2.00 – 1.81 (m, 2H). ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 163.9, 147.2, 145.6, 143.5, 137.7, 131.1, 129.1, 124.8, 116.8, 116.6, 111.5, 103.2, 64.5, 56.4, 47.7, 45.5, 27.3. HPLC $t_{\text{ret}} = 0.95$ min. ESI m/z : 311.0 $[M+H]^+$, 265.9 $[M-NMe_2]^+$. IR [cm⁻¹] 728, 771, 831, 895, 947, 1038, 1088, 1130, 1173, 1220, 1259, 1287, 1320, 1367, 1419, 1468, 1490, 1572, 1606, 2827.

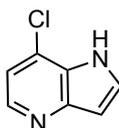
1*H*-Pyrrolo[3,2-*b*]pyridin 4-oxid (**51**)



In einer Mischung aus *n*-Hexan und 1,2-Dimethoxyethan (2 + 1 T, 9 ml) wurde 175 mg *m*CPBA (1,02 mmol) gegeben und 100 mg 4-Azaindol (0,846 mmol) wurden portionsweise hinzugefügt. Nach vollständiger Umsetzung (DC-Kontrolle) wurde das Produkt durch Filtration gewonnen und mit *n*-Hexan gewaschen. Ausbeute: 111 mg

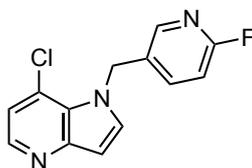
Feststoff (97 %). ^1H NMR (200 MHz, DMSO) δ 11.80 (s, 1H), 8.03 (dd, $J = 6.2, 0.5$ Hz, 1H), 7.59 (t, $J = 2.9$ Hz, 1H), 7.51 – 7.41 (m, 1H), 7.08 (dd, $J = 8.3, 6.1$ Hz, 1H), 6.71 – 6.60 (m, 1H). ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO) δ 166.4, 133.7, 133.3, 133.1, 131.0, 129.2, 128.3. HPLC $t_{\text{ret}} = 1.39$ min. ESI m/z : 135.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 133.0 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

7-Chlor-1*H*-pyrrolo[3,2-*b*]pyridin (**52**)¹⁶³



51 (30 mg) wurde in POCl_3 (0,5 ml) gelöst und auf Refluxtemperatur erhitzt. Nach 2 h konnte über HPLC eine vollständige Umsetzung nachgewiesen werden, wobei das Produkt zum Teil ausfiel. Das Reaktionsgemisch wurde langsam auf das 5 – 10x Volumen an lauwarmem Wasser gegossen, die gelbe wässrige Lösung mit NaOH neutralisiert und mit DCM extrahiert. Nach Trocknen der organischen Phase und Entfernung des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde das gewünschte Produkt als Feststoff erhalten. Ausbeute: 28 mg (81 %). ^1H NMR (200 MHz, DMSO) δ 11.87 (s, 1H), 8.27 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.72 (t, $J = 3.0$ Hz, 1H), 7.25 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 6.69 – 6.63 (m, 1H). ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO) δ 147.7, 143.0, 130.4, 125.9, 124.9, 116.0, 102.8. HPLC $t_{\text{ret}} = 1.20$ min. ESI m/z : 152,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 150,9 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

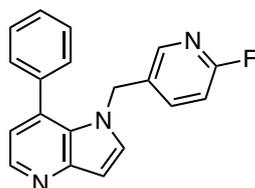
7-Chlor-1-((6-fluorpyridin-3-yl)methyl)-1*H*-pyrrolo[3,2-*b*]pyridin (**53**)



In 8 ml DMF wurden 160 mg **52** (1,05 mmol) gelöst und Natriumhydrid (50 mg, 1,26 mmol) wurde portionsweise in die Lösung gegeben. Das Gemisch wurde gerührt, bis keine Gasbildung mehr zu beobachten war, bevor **47** (183 mg, 1,26 mmol) in die Suspension gegeben wurde. Nach 30 min zeigte die Reaktionskontrolle via HPLC eine vollständige Umsetzung. Die Reaktion wurde mit kalter NH_4Cl -Lösung gestoppt, neutralisiert und zweimal mit EA extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und die Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt.

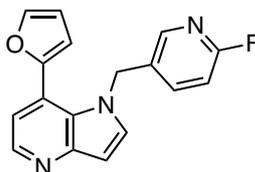
Das Produkt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (DCM/MeOH 0,5 - 5 %). Ausbeute: 264 mg (80 %). ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 8.31 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.46 – 7.31 (m, 2H), 7.08 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 6.90 – 6.75 (m, 2H), 5.69 (s, 2H). ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 163.4 (d, $J = 240.0$ Hz), 149.4, 145.8 (d, $J = 15.1$ Hz), 144.1, 139.4 (d, $J = 8.0$ Hz), 133.7, 131.5 (d, $J = 4.6$ Hz), 126.0, 125.2, 118.6, 110.0 (d, $J = 37.7$ Hz), 109.6, 104.6, 49.2 (d, $J = 1.3$ Hz). HPLC $t_{\text{ret}} = 1.90$ min. ESI m/z : 261.9 $[\text{M}+\text{H}]$.

1-((6-Fluorpyridin-3-yl)methyl)-7-phenyl-1*H*-pyrrolo[3,2-*b*]pyridin (**54**)



Durchführung nach **ASV 8**, mit 95 mg **53** (0,40 mmol), 53 mg Phenylboronsäure (0,436 mmol), XPhos Pd G3 (2 mol%), 2,1 ml K_3PO_4 (1,1 mmol), 2,5 ml Dioxan bei 70 °C (über Nacht). Nach erfolgreicher Reaktionskontrolle (via HPLC) wurde die Reaktion mit Salzwasser verdünnt und 2x mit EA extrahiert. Die organischen Phasen wurden getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (DCM/MeOH 0,5 – 5 %). Ausbeute: 103 mg Feststoff (94 %, Verunreinigungen im NMR). ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 8.56 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 7.45 – 7.14 (m, 7H), 7.00 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 6.95 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 6.86 – 6.72 (m, 1H), 6.64 (dd, $J = 8.5, 2.6$ Hz, 1H), 5.02 (s, 2H). HPLC $t_{\text{ret}} = 2.44$ min. ESI m/z : 304.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

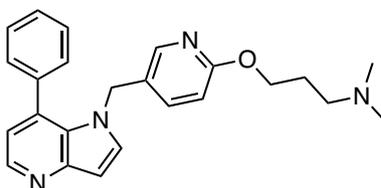
1-((6-Fluorpyridin-3-yl)methyl)-7-(furan-2-yl)-1*H*-pyrrolo[3,2-*b*]pyridin (**55**)



Durchführung nach **ASV 8**, mit 92 mg **53** (0,35 mmol), 82 mg Furan-2-boronsäurepinacolester (0,42 mmol), XPhos Pd G3 (2 mol%), 2,1 ml K_3PO_4 (1,1 mmol), 2,5 ml Dioxan bei 70 °C (über Nacht). Nach erfolgreicher Reaktionskontrolle (via HPLC) wurde die Reaktion mit Salzwasser verdünnt und 2x mit EA extrahiert. Die organischen Phasen

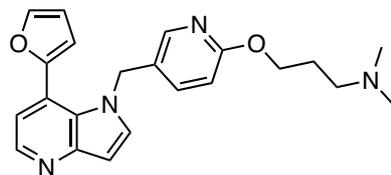
wurden getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (DCM/MeOH 0,5 – 3,5 %). Ausbeute: nicht bestimmt. $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 8.40 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.62 – 7.46 (m, 2H), 7.36 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 7.10 – 6.91 (m, 2H), 6.81 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 6.63 (dd, $J = 8.5, 2.8$ Hz, 1H), 6.53 – 6.33 (m, 2H), 5.23 (s, 2H). $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 162.9 (d, $J = 239.3$ Hz), 150.0, 148.7, 145.0 (d, $J = 14.9$ Hz), 143.1, 143.0, 143.0, 138.8 (d, $J = 8.0$ Hz), 133.7, 130.7 (d, $J = 4.6$ Hz), 125.6, 122.6, 118.0, 112.1, 110.6, 110.6, 109.6, 109.3 (d, $J = 37.6$ Hz), 74.8, 49.1 (d, $J = 1.3$ Hz), 24.7.

N,N-Dimethyl-3-((5-((7-phenyl-1*H*-pyrrolo[3,2-*b*]pyridin-1-yl)methyl)pyridin-2-yl)oxy)propan-1-amin (**56**)



In 4 ml trockenem DMF wurden 103 mg **54** (0,340 mmol) gelöst und mit 20 mg NaH (60 wt%, 0,50 mmol) versetzt. 3-(Dimethylamino)propan-1-ol (48 mg, 0,46 mmol) wurde zur Reaktion getropft und der Ansatz wurde bei Raumtemperatur gerührt. Da nach 2,5 h keine Umsetzung gemessen werden konnte, wurde die Reaktion auf 50 °C erhitzt. Nach 48 h wurden die Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (DCM/MeOH + NH_3 2 N 6 %). Ausbeute: 14 mg flüssiges Produkt (11 %). $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 8.49 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H), 7.52 – 7.23 (m, 7H), 6.91 (dd, $J = 12.6, 4.0$ Hz, 2H), 6.71 (dd, $J = 8.5, 2.4$ Hz, 1H), 6.49 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.92 (s, 2H), 4.27 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 2.51 – 2.40 (m, 2H), 2.28 (s, 6H), 2.05 – 1.84 (m, 2H). $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 163.5, 148.4, 144.8, 143.4, 137.8, 136.8, 134.1, 133.4, 129.2, 128.5, 128.3, 126.6, 125.7, 119.0, 110.8, 103.8, 64.4, 56.5, 49.7, 45.5, 27.3. HPLC $t_{\text{ret}} = 1.11$ min. ESI m/z : 387.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$. IR [cm^{-1}] 703, 731, 762, 794, 829, 949, 1039, 1098, 1129, 1156, 1185, 1282, 1315, 1350, 1383, 1405, 1444, 1467, 1489, 1519.

3-((5-((7-(Furan-2-yl)-1*H*-pyrrolo[3,2-*b*]pyridin-1-yl)methyl)pyridin-2-yl)oxy)-*N,N*-dimethylpropan-1-amin (**57**)

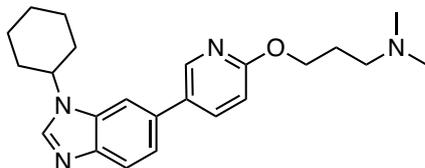


In 1 ml 3-(Dimethylamino)-propan-1-ol wurde 87 mg **55** (0,297 mmol) gelöst und mit 16 mg NaH (60 wt%, 0,42 mmol) ersetzt und die Reaktion wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Das 3-(Dimethylamino)-propan-1-ol wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (DCM/MeOH + NH₃ 2 N 2–9 %). Ausbeute 75 mg flüssiges Produkt (67 %). ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.41 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H), 7.54 (s, 2H), 7.33 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 7.04 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 6.91 (dd, *J* = 8.5, 2.2 Hz, 1H), 6.79 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 6.56 – 6.42 (m, 3H), 5.13 (s, 2H), 4.21 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 2.46 – 2.30 (m, 2H), 2.20 (s, 6H), 1.98 – 1.78 (m, 2H). ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 163.5, 150.3, 148.9, 144.8, 143.1, 143.0, 137.0, 133.6, 126.0, 125.6, 122.7, 118.0, 112.1, 110.9, 110.6, 103.9, 64.4, 56.4, 49.3, 45.4, 27.2. IR [cm⁻¹] 680, 733, 791, 808, 826, 883, 893, 965, 1014, 1038, 1099, 1129, 1159, 1184, 1218, 1257, 1284, 1315, 1371, 1391, 1468, 1490, 1519, 1558, 1571, 1608, 2779, 2822, 2949, 3369.

7.5 Synthese der Verbindungen aus Kapitel 3.3.1

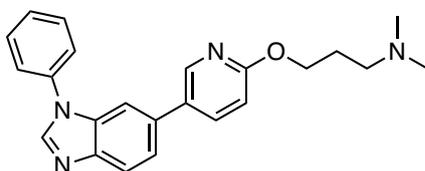
Einige Synthesen in diesem Unterkapitel wurden publiziert, siehe: Dimitrov, T.; Moschopoulou, A. A.; Seidel, L.; Kronenberger, T.; Kudolo, M.; Poso, A.; Geibel, C.; Wölffing, P.; Dauch, D.; Zender, L.; et al. Design and Optimization of Novel Benzimidazole- and Imidazo[4,5-*b*]pyridine-Based ATM Kinase Inhibitors with Subnanomolar Activities. *Journal of Medicinal Chemistry* **2023**. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.2c02104. bzw. die Patentanmeldung: Dimitrov, T.; Laufer, S.; Forster, M.; Zender, L.; Moschopoulou, A. ATM Kinase Inhibitors. EP23163492, 2023.

3-((5-(1-Cyclohexyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)pyridin-2-yl)oxy)-*N,N*-dimethylpropan-1-amin (**58**)



Zu einer Lösung von 6-Brom-1-cyclohexyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol (55 mg, 0,18 mmol) in 2,5 ml Dioxan und 97 mg **60** (0,32 mmol) wurde 1,2 ml 0,5 M aq. K_3PO_4 unter Argon hinzugefügt. *t*Bu₃P Pd G3 (2 mol%) wurde hinzugegeben und die Reaktion wurde auf 65 °C erhitzt, bis via DC der vollständige Verbrauch der Edukte nachgewiesen werden konnte. Die Reaktion wurde mit gesättigter NaCl-Lösung verdünnt und das Produkt wurde 3x mit EA extrahiert. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (DCM/MeOH + 2 N NH₃ 1 – 9 %). Ausbeute: 40 mg Feststoff (58 %). ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.41 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.91 – 7.74 (m, 2H), 7.54 – 7.47 (m, 1H), 7.42 (dd, *J* = 8.3, 1.5 Hz, 1H), 6.82 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 4.45 – 4.15 (m, 3H), 2.63 – 2.41 (m, 2H), 2.36 – 2.18 (m, 8H), 2.11 – 1.69 (m, 7H), 1.65 – 1.28 (m, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 163.3, 145.5, 143.7, 141.2, 138.0, 134.2, 133.2, 131.0, 121.7, 121.0, 110.9, 108.3, 64.5, 56.6, 55.7, 45.4, 33.5, 27.3, 25.9, 25.6. HPLC *t*_{ret} = 1.73 min. ESI-MS *m/z*: 379.3 [M+H]⁺, 401.3 [M+Na]⁺. IR [cm⁻¹] 719, 756, 816, 892, 913, 946, 998, 1048, 1128, 1173, 1200, 1219, 1281, 1322, 1368, 1392, 1463, 1603, 1688, 2858.

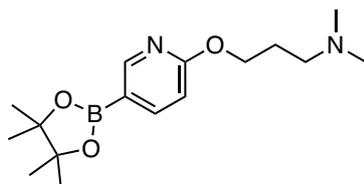
N,N-Dimethyl-3-((5-(1-phenyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)pyridin-2-yl)oxy)propan-1-amin (**59**)



Durchgeführt nach ASV 7 mit 50 mg **64** (0,18 mmol), 97 mg **60** (0,32 mmol) und 1,1 ml 0.5 M aq. K_3PO_4 . Ausbeute: 55 mg bräunliche Flüssigkeit (81 %). ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.35 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.90 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.77 (dd, *J* = 8.5, 2.4 Hz, 1H), 7.65 – 7.40 (m, 7H), 6.77 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 4.35 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 2.49 – 2.36 (m, 2H), 2.23 (s, 6H), 2.03 – 1.86 (m, 2H). ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 163.3, 145.3, 143.5, 142.9, 137.8, 136.3, 134.4, 134.2, 130.4, 130.2, 128.3, 124.2, 122.2, 121.0, 110.9,

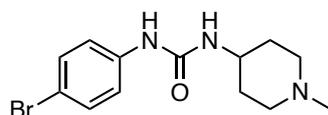
108.5, 64.5, 56.5, 45.6, 27.5. HPLC $t_{\text{ret}} = 3.46$ min. ESI-MS m/z : 373.2 $[M+H]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 695, 758, 816, 912, 946, 1004, 1041, 1076, 1099, 1131, 1157, 1181, 1227, 1280, 1318, 1362, 1392, 1464, 1501, 1599.

N,N-Dimethyl-3-((5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyridin-2-yl)oxy)propan-1-amin (**60**)¹⁴⁹



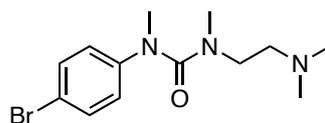
3-((5-Brompyridin-2-yl)oxy)-*N,N*-dimethylpropan-1-amin (2560 mg, 9,92 mmol) und 2-Isopropoxy-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan (1938 mg, 10,42 mmol) wurden in trockenem THF gelöst und auf -70 bis -90 °C gekühlt. 4,37 ml *n*-BuLi (10,9 mmol) wurden langsam in die Lösung getropft und die Reaktion für eine weitere Stunde unter Kühlung gerührt, bevor diese auf Raumtemperatur erwärmt wurde. Die Reaktion wurde mit halbgesättigter NH_4Cl -Lösung gestoppt und mit EA extrahiert. Die organische Phase wurde 2 x mit gesättigter Salzlösung gewaschen, getrocknet und eingengt. Ausbeute: 2771 mg leicht gelbes Öl (92 %). Die Identität des Produkts wurde per HPLC-Datenbank bestätigt.¹⁴⁹

1-(4-Bromphenyl)-3-(1-methylpiperidin-4-yl)harnstoff (**62**)



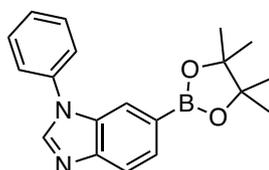
Durchführung nach **ASV 9** mit 198 mg 4-Brom-phenylisocyanat (1,0 mmol) in 10 ml Toluol und 145 μl 1-Methylpiperidin-4-amin (1,15 mmol). Ausbeute: quantitativ. ^1H NMR (200 MHz, DMSO) δ 8.45 (s, 1H), 7.44 – 7.28 (m, 4H), 6.14 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 3.54 – 3.37 (m, 1H), 2.72 – 2.54 (m, 2H), 2.14 (s, 3H), 2.07 – 1.89 (m, 2H), 1.85 – 1.68 (m, 2H), 1.50 – 1.25 (m, 2H). ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO) δ 154.6, 140.2, 131.7, 119.8, 112.5, 54.2, 46.3, 46.0, 32.4. HPLC $t_{\text{ret}} = 3.80$ min. ESI-MS m/z : 312.1 $[M+H]^+$.

1-(4-Bromphenyl)-3-(2-(dimethylamino)ethyl)-1,3-dimethylharnstoff (**63**)



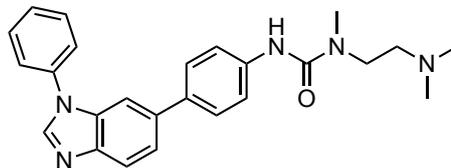
In einem Reaktionsrohr wurden 100 mg **16** (0,33 mmol) in 2 ml trockenem DMF gelöst. Natriumhydrid (16 mg, 0,40 mmol, 60 %ige Dispersion in Mineralöl) wurde portionsweise zugegeben und die Reaktion wurde etwa 15 min gerührt, bis keine Gasbildung mehr zu beobachten war. Methyljodid (ca. 0,4 mmol) wurde zugegeben und der Ansatz über Nacht gerührt, bis die DC einen vollständigen Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts zeigte (bestätigt durch DC-MS). Die Reaktion wurde mit gesättigter NaHCO₃-Lösung (6 ml) gestoppt. Das Produkt wurde mit EA extrahiert und säulenchromatographisch (DCM/MeOH + 2 N NH₃ 1,5 - 8,5 %) aufgereinigt. (Das Produkt zeigte in der HPLC noch größere Mengen an Iodid). Ausbeute: 73 mg Öl, das sich nach längerer Lagerung verfestigt. HPLC $t_{\text{ret}} = 3.31$ min. ESI-MS m/z : 269.1 [M-NMe₂]⁺. Das Produkt wurde ohne weitere Charakterisierung verwendet.

1-Phenyl-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-benzo[d]imidazol (**65**)



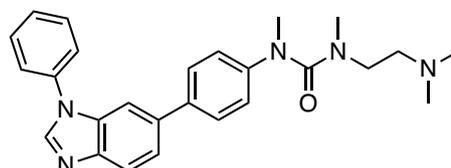
In einem Rundkolben wurden 623 mg **64** (2,30 mmol), 584 mg B₂Pin₂ (2,30 mmol) und 1000 mg KOAc in trockenem 12 ml Dioxan unter Argon gelöst/suspendiert. Eine katalytische Menge an Pd(dppf)Cl₂·DCM (0,12 mmol, 5 mol%) wurde hinzugefügt. Die Reaktion wurde 24 h lang bei 90 °C gerührt, bis die HPLC den vollständigen Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts anzeigte (bestätigt durch DC-MS). Das Produkt wurde über SiO₂ (grobes, 63-200 µm) mit DCM/MeOH 1 % filtriert, um das Rohprodukt als braunes Öl zu erhalten. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.15 (s, 1H), 8.03 – 7.94 (m, 1H), 7.92 – 7.84 (m, 1H), 7.79 (dd, $J = 8.2, 0.8$ Hz, 1H), 7.65 – 7.42 (m, 5H), 1.35 (s, 12H). HPLC $t_{\text{ret}} = 9.06$ min. ESI-MS m/z : 375.0 [M+MeOH+Na]⁺.

1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-1-methyl-3-(4-(1-phenyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)harnstoff (**66**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 30 mg **65** (0,094 mmol) und 34 mg **16** (0,112 mmol) in 2 ml Dioxan/Wasser (3 + 1). Die Reaktion wurde über Nacht bei 65 °C gerührt, bis via HPLC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts nachgewiesen werden konnten (bestätigt durch DC-MS). Die Aufreinigung des Rohprodukts erfolgte via Flash-Chromatographie. Gradient: DCM/MeOH + NH₃ (2 N) 1 – 7 %. Aufgrund persistierender Verunreinigungen wurde ein zweiter Aufreinigungsschritt mit Umkehrphasen-Kieselgel (C18) durchgeführt. Gradient: Wasser/MeOH 10 – 100 %. Ausbeute: 39 mg Feststoff (46 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.23 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 7.82 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.78 – 7.72 (m, 3H), 7.68 – 7.63 (m, 2H), 7.60 – 7.56 (m, 3H), 7.54 – 7.48 (m, 3H), 3.39 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 2.94 (s, 3H), 2.44 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 2.23 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.7, 143.7, 142.9, 140.3, 136.1, 136.0, 133.8, 133.6, 130.2, 127.7, 127.0, 123.8, 121.5, 120.2, 119.4, 107.8, 57.9, 46.7, 45.3, 34.9. HPLC *t*_{ret} = 3.92 min. ESI-MS *m/z*: 436.2 [M+Na]⁺, 468.2 [M+Na+MeOH]⁺, 412.2 [M-H]⁻. IR [cm⁻¹] 693, 753, 813, 1021, 1230, 1286, 1472, 1521, 1595, 2773, 2822, 2933.

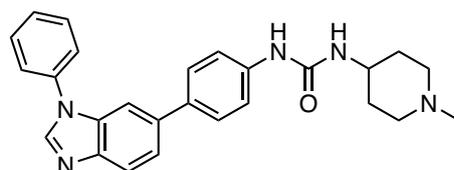
1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-1,3-dimethyl-3-(4-(1-phenyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)harnstoff (**67**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 68 mg **65** (0,214 mmol) und 61 mg **63** (0,194 mmol) in Dioxan/Wasser (3 + 1). Die Reaktion wurde über Nacht bei 65 °C gerührt, bis via HPLC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts nachgewiesen werden konnten (bestätigt durch DC-MS). Die Aufreinigung des Rohprodukts erfolgte via Flash-Chromatographie. Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃

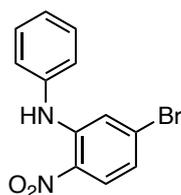
1 – 7 %. Aufgrund persistierender Verunreinigungen wurde ein zweiter Aufreinigungsschritt mit Umkehrphasen-Kieselgel (C18) durchgeführt. Gradient: Wasser/MeOH 10 – 90 %. Ausbeute: 59 mg öliges Produkt, welches nach einiger Zeit zu einem Feststoff erstarrt (71 %). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 8.59 (s, 1H), 7.84 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.78 – 7.74 (m, 3H), 7.68 – 7.63 (m, 4H), 7.59 (dd, $J = 8.4, 1.7$ Hz, 1H), 7.54 – 7.49 (m, 1H), 7.20 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 3.25 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 3.09 (s, 3H), 2.60 (s, 3H), 2.27 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 2.12 (s, 6H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, DMSO) δ 160.7, 145.8, 144.0, 143.2, 136.0, 135.8, 135.7, 133.8, 130.3, 128.0, 128.0, 124.0, 122.7, 121.9, 120.4, 108.3, 56.3, 47.1, 45.3, 38.8, 36.1. HPLC $t_{\text{ret}} = 4.75$ min. ESI-MS m/z : 450.4 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 383.4 $[\text{M}-\text{NMe}_2]^+$, 298.3 $[\text{M}-\text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}]^+$, 129.2 $[\text{M}-\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{N}_3]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 693, 757, 816, 909, 1111, 1148, 1226, 1290, 1383, 1472, 1498, 1599, 1640, 2766, 2818, 2855, 2926.

1-(1-Methylpiperidin-4-yl)-3-(4-(1-phenyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)harnstoff
(68)



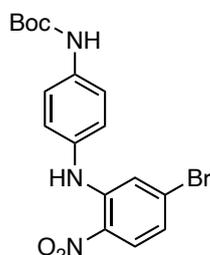
Durchführung nach ASV 7 mit 74 mg **65** (0,231 mmol) und 60 mg **62** (0,193 mmol) in 9 ml Dioxan/Wasser über Nacht bei 75 °C. Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 7 – 10 %. Aufgrund persistierender Verunreinigungen erfolgte ein zweiter säulenchromatographischer Aufreinigungsschritt mit Umkehrphasen-Kieselgel (C18, Lösungsmittel: Wasser/MeOH 10 – 100 %). Ausbeute: 37 mg weißer Feststoff (38 %). $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, DMSO) δ 8.56 (s, 1H), 8.44 (s, 1H), 7.85 – 7.42 (m, 12H), 6.15 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 3.54 – 3.42 (m, 1H), 2.71 – 2.56 (m, 2H), 2.14 (s, 3H), 2.07 – 1.90 (m, 2H), 1.87 – 1.71 (m, 2H), 1.50 – 1.28 (m, 2H). $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, DMSO) δ 154.5, 143.7, 142.9, 139.8, 136.1, 136.0, 133.8, 133.3, 130.2, 127.8, 127.4, 123.8, 121.5, 120.2, 117.9, 107.8, 53.9, 46.0, 45.7, 32.1. HPLC $t_{\text{ret}} = 4.28$ min. ESI-MS m/z : 416.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 460.4 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 697, 760, 824, 1040, 1066, 1118, 1223, 1275, 1375, 1405, 1476, 1547, 1640, 2792, 2848, 2933, 3027, 3086, 3362.

5-Brom-2-nitro-*N*-phenylanilin (**69**)



Synthese nach **ASV 1**. Zu einer Lösung von 1100 mg 4-Brom-2-fluor-1-nitrobenzol (5,00 mmol) in 7 ml trockenem DMF wurden 605 mg Anilin (6,50 mmol) und 0,9 ml Et₃N (6,5 mmol) hinzugefügt. Die Reaktion wurde über Nacht bei 70 °C erhitzt, bis die HPLC eine vollständige Umsetzung der Ausgangsstoffe zeigte. Der Ansatz wurde mit Wasser verdünnt und das Produkt anschließend durch Filtration gewonnen. Der orangefarbene Feststoff wurde bei 70 °C in einem Umluftofen getrocknet. Ausbeute: 1347 mg orangefarbener Feststoff (92 %). ¹H NMR (200 MHz, DMSO) δ 9.49 (s, 1H), 8.08 – 8.00 (m, 1H), 7.52 – 7.41 (m, 2H), 7.39 – 7.21 (m, 3H), 7.16 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.05 – 6.96 (m, 1H). ¹³C NMR (50 MHz, DMSO) δ 143.2, 138.5, 132.3, 130.0, 129.7, 128.2, 125.8, 124.7, 120.5, 118.3. HPLC *t*_{ret} = 9.96 min.

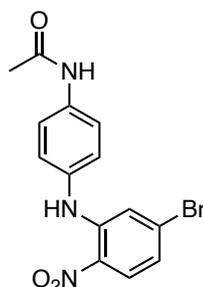
tert-Butyl(4-((5-brom-2-nitrophenyl)amino)phenyl)carbammat (**70**)



Synthese nach **ASV 1** in 20 ml trockenem DMF mit 5200 mg 4-Brom-2-fluor-1-nitrobenzol (23,67 mmol), 5415 mg *tert*-Butyl(4-aminophenyl)carbammat (26,00 mmol) und 3,28 ml Et₃N in 20 ml trockenem DMF bei 75 °C. Die Reaktion wurde nach vollständiger Umsetzung (Reaktionskontrolle via DC) mit 100 ml Wasser gestoppt. Das gewünschte Rohprodukt wurde via Filtration gewonnen, mit Wasser gewaschen, luftgetrocknet und anschließend für 0,5 h in 250 ml heißem MeOH suspendiert. Die Suspension wurde anschließend auf -10 °C abgekühlt und das Produkt durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 8644 mg orangefarbener Feststoff (87 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.48 (s, 1H), 9.45 (s, 1H), 8.02 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.54 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.23 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.00 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 6.93 (dd, *J* = 9.1, 1.8 Hz, 1H), 1.48 (s, 9H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO)

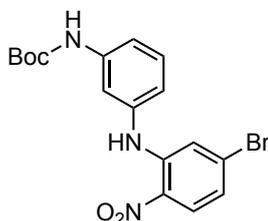
δ 152.7, 144.1, 137.8, 132.0, 131.5, 130.0, 128.1, 126.0, 119.8, 119.1, 117.9, 79.1, 28.1.
HPLC t_{ret} = 10.45 min.

N-(4-((5-Brom-2-nitrophenyl)amino)phenyl)acetamid (**71**)



Synthese nach **ASV 1** mit 471 mg 4-Brom-2-fluor-1-nitrobenzol (2,14 mmol), 369 mg *N*-(4-Aminophenyl)acetamid (2,45 mmol) und 0,34 ml Et₃N in 6 ml trockenem DMF bei 60 °C. Das Rühren wurde 2 Tage fortgesetzt, bis die DC einen vollständigen Verbrauch der Ausgangsstoffe anzeigte. Die Reaktion wurde mit Wasser gestoppt. Das gewünschte Produkt wurde durch Filtration gewonnen, mit Wasser gewaschen und luftgetrocknet. Ausbeute: 665 mg orangefarbener Feststoff (89 %). ¹H NMR (200 MHz, DMSO) δ 10.05 (s, 1H), 9.46 (s, 1H), 8.03 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.66 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.26 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.10 – 7.00 (m, 1H), 7.00 – 6.91 (m, 1H), 2.06 (s, 3H). ¹³C NMR (50 MHz, DMSO) δ 168.3, 144.0, 137.5, 133.0, 131.7, 130.1, 128.2, 125.9, 120.0, 120.0, 118.0, 24.0. HPLC t_{ret} = 8.96 min. ESI-MS m/z : 358.1 [M-H]⁻, 372.2 [M+Na]⁺.

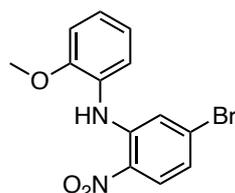
tert-Butyl(3-((5-brom-2-nitrophenyl)amino)phenyl)carbammat (**72**)



Synthese nach **ASV 1** in 20 ml trockenem DMF mit 6600 mg 4-Brom-2-fluor-1-nitrobenzol (30,00 mmol), 6996 mg *t*-Butyl(3-aminophenyl)carbanat (33.60 mmol) und 4,7 ml Et₃N (33,6 mmol) über Nacht bei 70 °C. Die Reaktion wurde nach erfolgreicher Reaktionskontrolle mit 200 ml Wasser gestoppt. Das Rohprodukt wurde durch Filtration als gelber Feststoff gewonnen. Der Feststoff wurde in MeOH/Aceton (95 + 5)

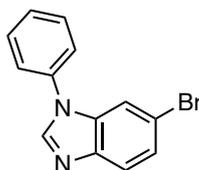
umkristallisiert. Ausbeute: gelber kristalliner Feststoff 10,44 g (85 %). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 9.50 (s, 1H), 9.43 (s, 1H), 8.04 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.36 – 7.28 (m, 2H), 7.20 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.01 (dd, $J = 9.0, 2.0$ Hz, 1H), 6.96 – 6.89 (m, 1H), 1.47 (s, 9H). $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, DMSO) δ 153.1, 143.4, 141.3, 139.2, 132.7, 130.3, 130.2, 128.6, 120.9, 118.9, 118.4, 115.8, 114.2, 79.7, 28.5. HPLC $t_{\text{ret}} = 10.54$ min.

5-Brom-*N*-(2-methoxyphenyl)-2-nitroanilin (**73**)



Synthese nach **ASV 1** mit 660 mg 4-Brom-2-fluor-1-nitrobenzol (3,00 mmol), 526 mg 2-Methoxyanilin (3,92 mmol) und 1,0 ml Et_3N in trockenem DMF über Nacht bei 70 °C. Die Reaktion wurde nach vollständiger Umsetzung der Edukte (Reaktionskontrolle via DC) mit Wasser verdünnt und das Produkt durch Filtration gewonnen und nach Trocknung in heißem Methanol suspendiert/gerührt (ca. 0,5 h). Nach Abkühlen der Suspension auf Raumtemperatur wurde das Produkt über Filtration als roter Feststoff (482 mg, 50 %) gewonnen. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 9.38 (s, 1H), 8.04 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.38 (dd, $J = 7.8, 1.5$ Hz, 1H), 7.32 – 7.26 (m, 1H), 7.18 (dd, $J = 8.3, 1.1$ Hz, 1H), 7.05 (dd, $J = 7.6, 1.2$ Hz, 1H), 7.02 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 6.98 (dd, $J = 9.0, 2.1$ Hz, 1H), 3.81 (s, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, DMSO) δ 152.9, 142.9, 131.8, 130.1, 128.0, 127.1, 126.3, 125.0, 120.9, 120.2, 118.0, 112.4, 55.7. HPLC $t_{\text{ret}} = 10.02$ min.

6-Brom-1-phenyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol (**64**)

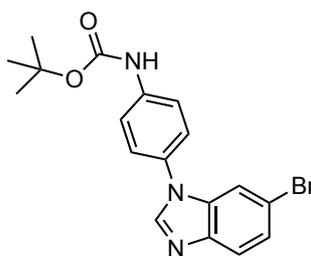


Schritt 1: nach **ASV 2** mit 586 mg **69** (2,0 mmol) und 1900 mg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (8,4 mmol). Das Rohprodukt wurde direkt in Schritt 2 verwendet. Schritt 2: nach **ASV 4** in 10 ml Toluol mit 0,99 ml Triethylorthoformiat (6,0 mmol) und 38 mg $p\text{-TsOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,2 mmol). Die

Reaktion wurde über Nacht bei 70 °C gerührt. Das Rohprodukt wurde durch Flash-Chromatographie (DCM/MeOH 0,5 – 5 %) aufgereinigt. Ausbeute: 403 mg Feststoff (74 %).

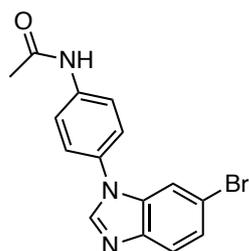
Alternative Vorschrift: Schritt 1 nach **ASV 3** mit 1174 mg **69** (4,01 mmol), 2615 mg Zn-Pulver und 2140 mg NH₄Cl in 40 ml MeOH. Schritt 2: Synthese nach **ASV 4** mit 1790 mg Triethylorthoformiat (12,0 mmol) und 76 mg *p*-TsOH·H₂O (10 mol%) in 100 ml Toluol. Das braune Öl wurde mit DCM über Kieselgel (63 - 200 μm) filtriert. Das Lösungsmittel wurde entfernt und man erhält ein bräunliches Öl, welches zu einem FS erstarrt. Ausbeute 909 mg Feststoff (83 %). ¹H NMR (200 MHz, DMSO) δ 8.61 (s, 1H), 7.78 – 7.71 (m, 2H), 7.70 – 7.58 (m, 4H), 7.57 – 7.41 (m, 2H). ¹³C NMR (50 MHz, DMSO) δ 144.4, 142.9, 135.4, 134.3, 130.2, 128.1, 125.5, 123.9, 121.7, 115.9, 113.4. HPLC *t*_{ret} = 8.89 min.

tert-Butyl(4-(6-Brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)carbammat (**74**)



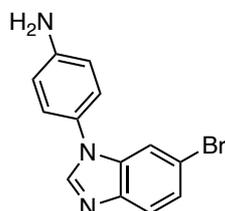
Schritt 1: nach **ASV 3** mit 2858 mg **70** (7,00 mmol), 3744 mg NH₄Cl (70,0 mmol), 4577 mg Zinkpulver (70,0 mmol) in 50 ml MeOH. Schritt 2: nach **ASV 4** mit 3,5 ml Triethylorthoformiat (21 mmol) und 133 mg *p*-TsOH·H₂O (0,7 mmol) bei 70 °C über Nacht. Gradient (FC): DCM/MeOH 1 – 6 %. Ausbeute: 2668 mg brauner Feststoff (98 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.66 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 7.74 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.72 – 7.67 (m, 3H), 7.56 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 7.44 (dd, *J* = 8.6, 1.8 Hz, 1H), 1.49 (s, 9H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 152.8, 144.3, 142.3, 139.6, 134.6, 129.2, 125.4, 124.6, 121.5, 119.1, 115.9, 113.4, 79.4, 28.1. HPLC *t*_{ret} = 9.84 min. ESI-MS *m/z*: 410.0 [M+Na]⁺, 444.1 [M+MeOH+Na]⁺.

N-(4-(6-Brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)acetamid (**75**)



Schritt 1: nach **ASV 2** mit 350 mg **71** (1,0 mmol) und 1800 mg SnCl₂·2H₂O (8,0 mmol) in 40 ml EtOH (Reaktionszeit ca. 4 h). Schritt 2: nach **ASV 4** mit 0,50 ml Triethylorthoformiat (3,0 mmol) und 19 mg *p*-TsOH·H₂O (0,1 mmol) in EtOH (Reaktionszeit: 2 h). Gradient (FC): DCM/MeOH 1,5 - 5 %. Ausbeute: 215 mg Feststoff (65 %). ¹H NMR (200 MHz, DMSO) δ 10.21 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 7.82 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.77 – 7.68 (m, 2H), 7.60 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.43 (dd, *J* = 8.8, 1.6 Hz, 1H), 2.10 (s, 3H). ¹³C NMR (DMSO) δ: 168.6, 144.3, 142.7, 139.2, 134.5, 130.1, 125.4, 124.5, 121.6, 120.1, 115.8, 113.4, 24.0. HPLC *t*_{ret} = 7.45 min. ESI-MS *m/z*: 329.9 [M+H]⁺.

4-(6-Brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)anilin (**76**)

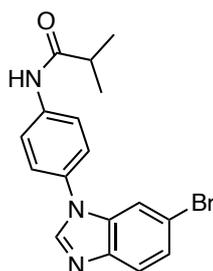


In einem Mikrowellenreaktionsgefäß wurden 500 mg **75** (1,51 mmol) in 9 ml methanolischer KOH (1M) und einem Überschuss an Wasser suspendiert. Die Reaktion wurde 25 min lang bei 140 °C in der Mikrowelle gerührt, anschließend mit gesättigter Salzlösung übergossen und das Produkt mit DCM extrahiert. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel wurde evaporiert. Das Rohprodukt wurde durch Flash-Chromatographie (DCM/MeOH 0,5 – 5 %) aufgereinigt, um 351 mg des gewünschten Produkts als Feststoff (80 %) zu erhalten.

Alternative Synthese nach **ASV 5** mit 2020 mg **74** (5,18 mmol) in 150 ml EtOH. HCl-Gas (Überschuss) wurde eingeleitet und die Reaktion bei 50 °C gerührt, bis die DC einen vollständigen Verbrauch des Ausgangsmaterials anzeigte. Die Reaktion wurde mit etwa 150 ml Diethylether verdünnt und das Produkt als Hydrochloridsalz durch Filtration

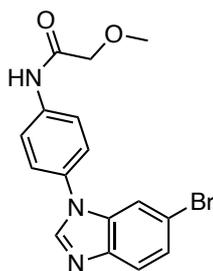
gewonnen. Ausbeute: 1408 mg weißrosa Feststoff (84 %). $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, DMSO) δ 8.39 (s, 1H), 7.69 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.59 – 7.53 (m, 1H), 7.39 (dd, $J = 8.5, 1.9$ Hz, 1H), 7.25 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.74 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 5.48 (s, 2H). $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, DMSO) δ 149.1, 144.6, 142.5, 135.2, 125.3, 124.9, 123.4, 121.5, 115.4, 114.3, 113.2. HPLC $t_{\text{ret}} = 6.31$ min. ESI-MS m/z : 288.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

N-(4-(6-Brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)isobutyramid (**77**)



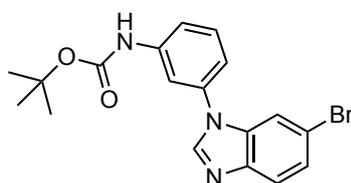
Zu einer Lösung von 144 mg **76** (0,50 mmol) und 153 mg EDC·HCl (0,80 mmol) in 3 ml trockenem DCM wurden 73 μl Thiazol-4-carbonsäure (0,81 mmol) hinzugesetzt. Die Reaktion wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis via HPLC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts nachgewiesen werden konnten (bestätigt durch DC-MS). Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und die Aufreinigung erfolgte via Flash-Chromatographie. Gradient: DCM/MeOH 0,5-5 %. Ausbeute: 145 mg farbloser Feststoff (81 %). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 10.10 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 7.86 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.76 – 7.68 (m, 2H), 7.60 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.48 – 7.41 (m, 1H), 2.71 – 2.58 (m, 1H), 1.14 (d, $J = 6.7$ Hz, 6H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, DMSO) δ 175.5, 144.3, 142.7, 139.3, 134.5, 130.0, 125.4, 124.5, 121.6, 120.2, 115.8, 113.3, 35.0, 19.5. HPLC $t_{\text{ret}} = 8.77$ min. ESI-MS m/z : 356.3 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 392.4 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$.

N-(4-(6-Brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)-2-methoxyacetamid (**78**)



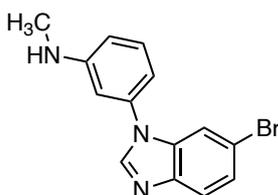
Die Synthese erfolge äquivalent zu **77** mit 74 mg **76** (0,257 mmol), 109 mg EDC·HCl (0,569 mmol) und 48 µl 2-Methoxyessigsäure (0,616 mmol). Ausbeute: 61 mg Feststoff (66 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.05 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 7.93 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.75 – 7.70 (m, 2H), 7.63 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.44 (dd, *J* = 8.6, 1.7 Hz, 1H), 4.06 (s, 2H), 3.41 (s, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 168.4, 144.4, 142.7, 138.3, 134.5, 130.6, 125.4, 124.4, 121.6, 120.9, 115.9, 113.4, 71.7, 58.7. HPLC *t*_{ret} = 7.59 min. ESI-MS *m/z*: 358.0 [M-H]⁻.

tert-Butyl(3-(6-Brom-1H-benzo[d]imidazol-1-yl)phenyl)carbammat (**79**)



Schritt 1 nach **ASV 3** mit 679 mg **72** (1,96 mmol), 1,05 g NH₄Cl (19,6 mmol) und 1,28 g Zn-Pulver (19,6 mmol) in 50 ml MeOH. Schritt 2 nach **ASV 4** mit dem Rohprodukt aus Schritt 1 (670 mg, 1,80 mmol), 875 µl Triethylorthoformiat (5,30 mmol) und 34 mg *p*-TsOH·H₂O in 40 ml Toluol. Reaktionstemperatur: 70 – 90 °C. Reaktionsdauer: 1,5 h. Gradient (FC): DCM/MeOH 0 – 2 % Ausbeute: weißlicher Feststoff (576 mg, 84 % über zwei Schritte). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.68 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 7.78 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.77 – 7.72 (m, 2H), 7.63 – 7.58 (m, 1H), 7.50 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.46 (dd, *J* = 8.6, 1.9 Hz, 1H), 7.29 – 7.25 (m, 1H), 1.49 (s, 9H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 152.7, 144.1, 142.8, 141.1, 135.7, 134.2, 130.5, 125.6, 121.7, 117.4, 117.2, 116.0, 113.5, 112.9, 79.6, 28.1. HPLC *t*_{ret} = 10.01 min. ESI-MS *m/z*: 388.4 [M+H]⁺.

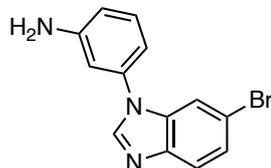
3-(6-Brom-1H-benzo[d]imidazol-1-yl)-*N*-methylanilin (**80**)



Schritt 1: Zu einer Lösung von 272 mg **79** (0.70 mmol) in 4 ml trockenem DMF wurde 42 mg NaH (60 wt%, Dispersion in Mineralöl) hinzugegeben. Nach 1 h Rühren bei Raumtemperatur wurden 50 µl MeI (0,84 mmol) hinzugefügt. Nach 1,5 h zeigte die HPLC

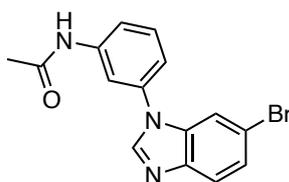
die vollständige Umsetzung des Edukts, sodass die Reaktion mit MeOH gestoppt wurde. Das Lösungsmittel wurde eingedampft und das Rohprodukt wurde via Flash-Chromatographie (Gradient: DCM/MeOH 0,5 – 2 %) aufgereinigt. (HPLC-Reinheit > 92 %). HPLC $t_{\text{ret}} = 10.02$ min. Das Produkt wurde ohne weitere Charakterisierung verwendet. Schritt 2 wurde nach **ASV 5** durchgeführt: 185 mg Rohprodukt aus Schritt 1, 1,0 ml ethanolische HCl (2,5 M) in 2 ml EtOH. Das Salz wurde in die freie Base mit gesättigter NaHCO₃-Lösung (Überschuss) überführt, gefolgt von einer Extraktion mit DCM (3x). Die organische Phase wurde getrocknet und das Lösungsmittel evaporiert, um die gewünschte freie Base als bräunlichen Feststoff zu erhalten (126 mg, 91 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.54 (s, 1H), 7.76 – 7.70 (m, 2H), 7.46 – 7.41 (m, 1H), 7.35 – 7.27 (m, 1H), 6.78 – 6.71 (m, 2H), 6.68 – 6.63 (m, 1H), 6.15 – 6.07 (m, 1H), 2.74 (d, $J = 4.5$ Hz, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 151.4, 144.2, 142.8, 136.3, 134.4, 130.4, 125.3, 121.7, 115.7, 113.5, 111.3, 110.2, 106.3, 29.6. HPLC $t_{\text{ret}} = 9.08$ min. ESI-MS m/z : 302.4 [M+H]⁺, 300.3 [M-H]⁻.

3-(6-Brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)anilin (**81**)



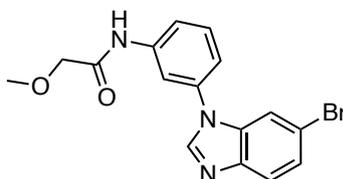
Synthese nach **ASV 5** mit **79** (5870 mg, 20.37 mmol) und 60 ml ethanolischer HCl (1,25 M) in 40 ml EtOH. Reaktionszeit: über Nacht. Die Reaktion wurde mit 100 ml Diethylether verdünnt und das Chlorwasserstoffsalt des Produkts wurde durch Filtration gewonnen (weißer Feststoff). Das Salz wurde in gesättigter NaHCO₃ suspendiert, die freie Base wurde via Filtration als bräunlicher Feststoff gewonnen (3929 mg, 90 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.52 (s, 1H), 7.75 – 7.70 (m, 2H), 7.43 (dd, $J = 8.6, 1.8$ Hz, 1H), 7.24 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.80 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 6.72 (ddd, $J = 7.7, 2.0, 0.7$ Hz, 1H), 6.68 (ddd, $J = 8.1, 2.0, 0.7$ Hz, 1H), 5.54 (s, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 150.4, 144.1, 142.9, 136.1, 134.3, 130.5, 125.3, 121.7, 115.7, 113.5, 113.4, 110.4, 108.2. HPLC $t_{\text{ret}} = 7.37$ min. ESI-MS m/z : 287.8 [M+H]⁺.

N-(3-(6-Brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)acetamid (**82**)



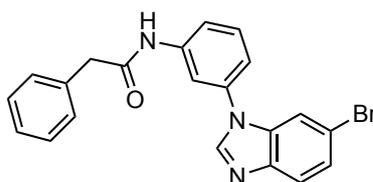
Zu einer Lösung von **81** (49 mg, 0,17 mmol) in 1,5 ml trockenem DCM wurden EDC·HCl (39 mg, 0,204 mmol) und 12 µl Essigsäure (0,204 mmol) hinzugefügt. Die Reaktion wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis die DC einen vollständigen Verbrauch des Ausgangsmaterials zeigte (DC-Lösungsmittel: DCM/MeOH 5 % + HCOOH). Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt anschließend via Flash-Chromatographie (DCM/MeOH 0 – 5 %) aufgereinigt. Ausbeute: 45 mg rosafarbener Feststoff (80 %). ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.05 (s, 1H), 7.88 – 7.76 (m, 1H), 7.71 – 7.52 (m, 3H), 7.50 – 7.35 (m, 2H), 7.19 – 7.08 (m, 1H), 2.16 (s, 3H). ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 169.6, 142.8, 142.4, 140.3, 136.0, 134.6, 130.6, 126.5, 121.5, 119.4, 119.0, 117.4, 115.2, 113.9, 24.2. HPLC *t*_{ret} = 7.78 min. ESI-MS *m/z*: 328.0 [M+H]⁺.

N-(3-(6-Brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)-2-methoxyacetamid (**83**)



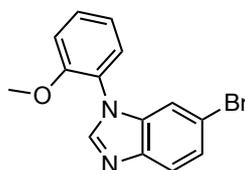
Die Synthese erfolgte äquivalent zu **82** mit 92 mg **81** (0,32 mmol), 73 mg EDC·HCl (0,383 mmol) und 35 mg 2-Methoxyessigsäure (0,383 mmol). Ausbeute: 100 mg pinker Feststoff (87 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.10 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 8.02 (t, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.86 – 7.79 (m, 2H), 7.75 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.60 – 7.54 (m, 1H), 7.47 (dd, *J* = 8.6, 1.8 Hz, 1H), 7.40 – 7.35 (m, 1H), 4.06 (s, 2H), 3.40 (s, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 168.7, 144.2, 142.9, 139.8, 135.6, 134.1, 130.5, 125.6, 121.8, 119.1, 118.7, 116.0, 114.6, 113.5, 71.7, 58.7. HPLC *t*_{ret} = 7.90 min. ESI-MS *m/z*: 358.0 [M-H]⁻.

N-(3-(6-Brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)-2-phenylacetamid (**84**)



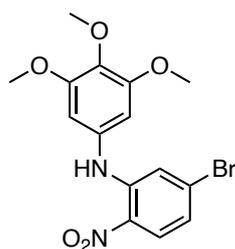
Die Synthese erfolgte äquivalent zu **82** mit 101 mg **81** (0,350 mmol), 81 mg EDC·HCl (0,42 mmol) und 57 mg 2-Phenylelessigsäure (0,42 mmol). Ausbeute: 134 mg weißlicher Feststoff (94 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.52 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 7.96 (t, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.77 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.74 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.72 – 7.67 (m, 1H), 7.56 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.46 (dd, *J* = 8.6, 1.8 Hz, 1H), 7.38 – 7.30 (m, 5H), 7.27 – 7.22 (m, 1H), 3.70 (s, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 169.5, 144.0, 142.8, 140.5, 135.6, 134.1, 130.5, 129.1, 128.2, 126.5, 125.5, 121.7, 118.4, 118.3, 117.2, 115.9, 114.0, 113.3, 43.3. HPLC *t*_{ret} = 9.21 min. ESI-MS *m/z*: 404.1 [M-H]⁻.

6-Brom-1-(2-methoxyphenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol (**85**)



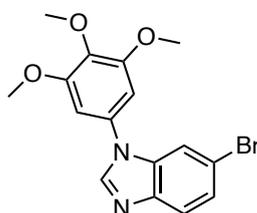
Schritt 1: Durchführung nach **ASV 2** mit 418 mg **73** (1,29 mmol), 692 mg NH₄Cl (12,9 mmol), 846 mg Zn-Pulver (12,9 mmol) in 30 ml MeOH. Schritt 2 nach **ASV 4**: mit 0,64 ml Triethylorthoformiat (3,88 mmol) und 25 mg *p*-TsOH·H₂O (0,13 mmol) bei 70 °C in Toluol über Nacht. Die Aufreinigung des Rohprodukts erfolgte via Flash-Chromatographie (Gradient: DCM/MeOH 1 – 6 %). Ausbeute: 375 mg braunes Öl, welches sich nach einiger Zeit verfestigt (96 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.45 (s, 1H), 7.75 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.58 – 7.52 (m, 2H), 7.44 (dd, *J* = 8.6, 1.9 Hz, 1H), 7.39 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.34 (dd, *J* = 8.3, 1.0 Hz, 1H), 7.17 (td, *J* = 7.6, 1.2 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 153.6, 145.4, 141.6, 135.3, 130.5, 127.6, 125.2, 123.3, 121.2, 121.0, 115.6, 113.6, 113.0, 55.8. HPLC *t*_{ret} = 8.73 min. ESI-MS *m/z*: 303.1 [M+H]⁺.

N-(5-Brom-2-nitrophenyl)-3,4,5-trimethoxyanilin (**86**)



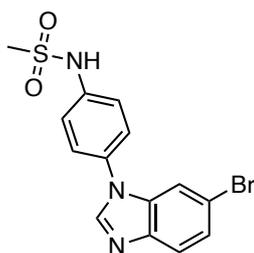
Durchführung nach **ASV 1** mit 330 mg 4-Brom-2-fluor-1-nitrobenzol (1,5 mmol), 330 mg 3,4,5-Trimethoxyanilin (1,8 mmol) und 0,25 ml Et₃N in 10 ml Isopropanol. Die Reaktion wurde unter Reflux gerührt, bis die DC den vollständigen Verbrauch der Ausgangsstoffe anzeigte. Die Reaktion wurde mit gesättigter Salzlösung verdünnt und das gewünschte Produkt durch Filtration gewonnen, mit Wasser gewaschen und 1 h lang bei 60 °C im Umluftofen getrocknet. Ausbeute: 425 mg orangener Feststoff (74 %). ¹H NMR (200 MHz, DMSO) δ 9.40 (s, 1H), 8.04 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.22 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 6.99 (dd, *J* = 9.0, 1.7 Hz, 1H), 6.70 (s, 2H), 3.76 (s, 6H), 3.69 (s, 3H). HPLC *t*_{ret} = 9.26 min.

6-Brom-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol (**87**)



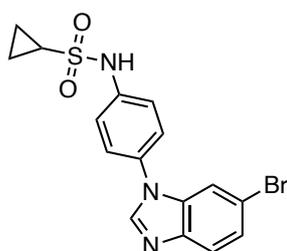
Durchführung nach **ASV 2** mit 100 mg **86** (0,261 mmol) und 236 mg SnCl₂·2H₂O (1,04 mmol) in 4 ml EtOH (Rückfluss). Schritt 2 wurde nach **ASV 4** mit 130 µl Triethylorthoformiat (0,781 mmol) und 5 mg *p*-TsOH·H₂O (0,3 mmol) durchgeführt. Das Rohprodukt wurde via Flash-Chromatographie (PE/EA 20 – 70 %) aufgereinigt. Ausbeute: 64 mg Feststoff (67 % über zwei Schritte). ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.07 (s, 1H), 7.72 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.64 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.43 (dd, *J* = 8.6, 1.8 Hz, 1H), 6.66 (s, 2H), 3.94 – 3.89 (m, 9H). ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 154.4, 143.1, 142.7, 138.5, 135.3, 131.4, 126.4, 121.9, 117.3, 113.7, 102.4, 61.2, 56.6. HPLC *t*_{ret} = 8.47 min. ESI-MS *m/z*: 363.5 [M+H]⁺.

N-(4-(6-Brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)methansulfonamid (**88**)



Zu einer Lösung von 114 mg **76** (0,350 mmol, Salzsäure) und 121 μ l Triethylamin (0,875 mmol) wurden 41 μ l MsCl (0,42 mmol) in 4 ml trockenem THF hinzugefügt. Die Suspension wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis via HPLC der vollständige Verbrauch des Ausgangsmaterials nachgewiesen werden konnte. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt via Flash-Chromatographie (Gradient: DCM/MeOH 1 – 6 %) aufgereinigt, um das gewünschte Produkt als Feststoff (86 mg, 67 %) zu erhalten. ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.07 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 7.75 – 7.71 (m, 2H), 7.68 – 7.63 (m, 2H), 7.46 – 7.41 (m, 3H), 3.09 (s, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 144.3, 142.7, 138.2, 134.5, 131.0, 125.4, 125.2, 121.6, 120.6, 115.9, 113.4, 39.5. HPLC $t_{\text{ret}} = 7.16$ min. ESI-MS m/z : 363.6 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 366.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

N-(4-(6-Brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)cyclopropansulfonamid (**89**)



In einem Mikrowellengefäß wurden 114 mg **76** (Hydrochloridsalz, 0,350 mmol) in trockenem Pyridin (1 ml) suspendiert und 86 μ l Cyclopropansulfonylchlorid hinzugefügt. Das verschlossene Gefäß wurde 1,5 h lang bei 135 °C in der Mikrowelle gerührt. Anschließend wurde das Pyridin am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt via Flash-Chromatographie (Gradient: DCM/MeOH 1 – 5,5 %) aufgereinigt, um 95 mg des gewünschten Produkts als Feststoff (69 %) zu erhalten. ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.05 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 7.76 – 7.71 (m, 2H), 7.65 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.49 – 7.43 (m, 3H), 2.78 – 2.69 (m, 1H), 1.03 – 0.97 (m, 4H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 144.3,

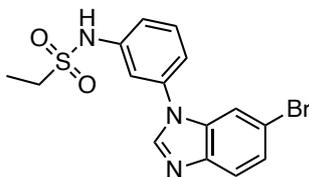
142.7, 138.2, 134.5, 131.0, 125.5, 125.0, 121.7, 121.0, 115.9, 113.4, 29.7, 5.1. HPLC $t_{\text{ret}} = 7.79$ min. ESI-MS m/z : 389.6 $[M-H]^-$, 392.0 $[M+H]^+$.

N-(3-(6-Brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)methansulfonamid (**90**)



Zu einer Lösung von 100 mg **81** in 2 ml trockenem DCM wurden 42 μl Pyridin (0,52 mmol) und 41 μl MsCl (0,42 mmol) hinzugefügt. Die dunkel gefärbte Reaktion wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach erfolgreicher Reaktionskontrolle über HPLC wurde die Reaktion mit 1 T MeOH gestoppt und die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie (Gradient: DCM/MeOH 1 – 4 %) aufgereinigt. Ausbeute: 94 mg Feststoff (74 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.13 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 7.80 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.75 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.59 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.49 – 7.44 (m, 2H), 7.44 – 7.40 (m, 1H), 7.33 (dd, $J = 7.9, 1.3$ Hz, 1H), 3.13 (s, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 144.0, 142.9, 139.9, 136.1, 134.1, 131.0, 125.6, 121.7, 118.6, 118.5, 116.0, 114.1, 113.4, 39.7. HPLC $t_{\text{ret}} = 7.35$ min. ESI-MS m/z : 364.0 $[M+H]^+$.

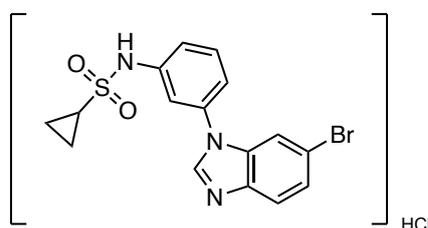
N-(3-(6-Brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)ethansulfonamid (**91**)



Zu einer Lösung von 100 mg **81** (0,35 mmol) in 1 ml trockenem Pyridin wurden 37 μl Ethansulfonylchlorid (0,39 mmol) hinzugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Eine Extraktion mit EA aus Salzwasser schlug zum Teil fehl, da das Produkt in signifikanten Mengen in der wässrigen Phase verbleibt (auch unter Einstellung basischer/saurer pH-Werte) und innerhalb von zwei Tagen als graue Nadeln aus der wässrigen Phase ausfällt. Das Rohprodukt aus der organischen und wässrigen Phase wurde vereinigt und via Flash-Chromatographie (DCM/MeOH 1 – 8 %) aufgereinigt, um 71 mg

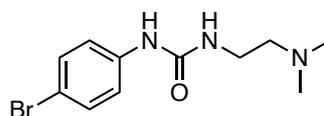
des gewünschten Produkts (54 %) zu erhalten. ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.15 (s, 1H), 8.63 (s, 1H), 7.79 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.58 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.50 – 7.44 (m, 2H), 7.43 – 7.38 (m, 1H), 7.33 (dd, *J* = 8.1, 1.5 Hz, 1H), 3.23 (q, *J* = 7.3 Hz, 2H), 1.24 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 144.0, 142.9, 140.0, 136.1, 134.0, 131.1, 125.6, 121.7, 118.4, 118.2, 115.9, 113.7, 113.4, 45.6, 8.0. HPLC *t*_{ret} = 7.90 min. ESI-MS *m/z*: 378.2 [M-H]⁻.

N-(3-(6-Brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)cyclopropansulfonamid (**92**)



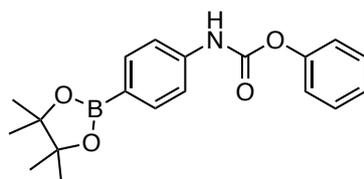
Zu einer Lösung von 104 mg (0,361 mmol) **81** in 1 ml trockenem DCM wurden 1 ml Pyridin und 50 µl Cyclopropansulfonylchlorid (0,49 mmol) hinzugefügt. Die dunkle Reaktion wurde 2 h lang gerührt, bis die HPLC den vollständigen Verbrauch des Ausgangsmaterials zeigte. Die Reaktion wurde mit 10 %iger HCl verdünnt und mit Ethylacetat extrahiert. Das Rohprodukt aus der organischen Phase konnte nicht durch Flash-Chromatographie aufgereinigt werden, war stark verunreinigt und wurde verworfen. Signifikante Mengen des Produkts verblieben in der wässrigen Phase, fielen über Nacht als bräunlicher Feststoff aus und wurden per Filtration gewonnen. Ausbeute: 78 mg (als HCl-Salz, 50 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.25 (s, 1H), 9.32 (s, 1H), 8.30 (bs, 1H), 7.91 – 7.82 (m, 2H), 7.70 – 7.54 (m, 3H), 7.51 – 7.39 (m, 2H), 2.87 – 2.77 (m, 1H), 1.05 – 0.95 (m, 4H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 143.5, 140.1, 137.1, 135.0, 133.2, 131.1, 127.6, 120.1, 119.7, 119.4, 117.5, 115.2, 114.5, 29.8, 5.1. HPLC *t*_{ret} = 8.04 min. ESI-MS *m/z*: 390.1 [M+H]⁺.

1-(4-Bromphenyl)-3-(2-(dimethylamino)ethyl)harnstoff (**93**)¹⁴⁸



Zu einer Lösung von 243 mg 4-Brom-1-phenylisocyanat (1,23 mmol) in trockenem Toluol wurden 147 μ l *N,N*-Dimethylethylendiamin hinzugefügt und die Reaktion bei Raumtemperatur gerührt. Nach 15 min fällt das Produkt aus, sodass die Reaktion auf 50 °C erhitzt wurde, um eine rührbare Lösung zu erhalten. Die Reaktionskontrolle via DC zeigte nach 1 h den vollständigen Verbrauch des Eduktes, sodass anschließend das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt wurde, um das gewünschte Produkt als weißen Feststoff zu erhalten (quantitative Ausbeute). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.78 (s, 1H), 7.40 – 7.33 (m, 4H), 6.10 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 3.16 (m, J = 11.6, 6.0 Hz, 1H), 2.31 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 2.15 (s, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 154.9, 140.0, 131.2, 119.3, 112.0, 58.4, 44.9, 36.9. HPLC t_{ret} = 3.37 min.

Phenyl(4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)carbammat (**95**)



Zu einer Lösung von 5,00 mmol Phenylchlorformiat in 20 ml trockenem THF wurde eine Lösung von 1096 mg 4-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)anilin (5,00 mmol) in 10 ml trockenem THF tropfenweise über 10 min zugegeben. Triethylamin (5,0 mmol) wurde der Reaktion zugesetzt. Die Reaktion wurde 15 min lang bei Raumtemperatur gerührt und die Suspension über Kieselgur filtriert. Circa die Hälfte des Lösungsmittels wurde am Rotationsverdampfer entfernt und die Lösung mit 150 ml *n*-Pentan versetzt. Das Produkt fällt mit Hilfe von Ultraschall aus und wurde durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 1356 mg weißlicher Feststoff (80 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.42 (s, 1H), 7.64 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.55 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.46 – 7.40 (m, 2H), 7.30 – 7.21 (m, 3H), 1.28 (s, 12H). HPLC t_{ret} = 9.13 min.

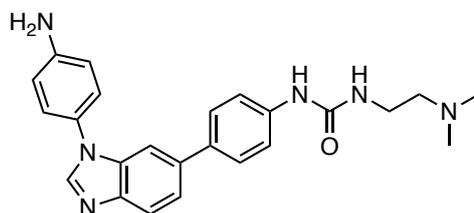
1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-(4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)harnstoff (**94**)



Eine Lösung von 104 mg Triphosgen (0,350 mmol) in 5 ml trockenem THF wurde auf $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Eine weitere Lösung von 219 mg 4-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)anilin (1,00 mmol) und 0,32 ml Triethylamin in 6 ml trockenem THF wurde innerhalb von 20 min tropfenweise zu der Triphosgenlösung gegeben. Nach 30 min wurde das Eisbad entfernt und die Suspension wurde 30 min bei Raumtemperatur gerührt. 110 mg *N,N*-Dimethylethan-1,2-diamin wurden in 1 ml trockenem THF gelöst und portionsweise zur Reaktion zugegeben. Nach 30 min wurde die Reaktion mit Ethylacetat verdünnt und zweimal mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel anschließend am Rotationsverdampfer entfernt. Das Produkt wurde als farbloses Öl erhalten (309 mg, 93 %). ^1H NMR (200 MHz, DMSO) δ 8.80 (s, 1H), 7.52 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.39 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.16 (t, $J = 5.3$ Hz, 1H), 3.23 – 3.11 (m, 2H), 2.32 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H), 2.16 (s, 6H), 1.26 (s, 12H). ^{13}C NMR (50 MHz, DMSO) δ 154.9, 143.6, 135.4, 116.4, 83.2, 58.4, 45.0, 36.9, 24.7. HPLC $t_{\text{ret}} = 4.15$ min.

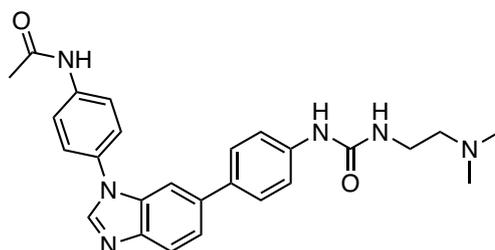
Alternative Vorschrift: Zu einer Lösung von 5,00 mmol Phenylchlorformiat in 20 ml trockenem THF wurde eine Lösung von 1096 mg 4-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)anilin (5,00 mmol) in 10 ml trockenem THF tropfenweise über 10 min zugegeben. Triethylamin (10,0 mmol) wurde über 1 min zu der Reaktion hinzugefügt. Die Reaktion wurde 15 min lang bei Raumtemperatur gerührt, bevor 0,55 ml *N,N*-Dimethylethylendieamin zugegeben und die Reaktion 3 – 4 h lang unter Rückfluss gerührt wurde. Die Reaktion wurde abgekühlt, mit DCM verdünnt und mit NaOH (2 N) gewaschen. Die organische Phase wurde getrocknet und die Lösungsmittel wurden bei vermindertem Druck entfernt, um das Rohprodukt als braunes Öl zu erhalten. Dieses wurde in einer kleinen Menge Ethylacetat (10 – 15 ml) erhitzt und über Nacht bei Raumtemperatur gelagert, um das Produkt als farblose Kristalle zu erhalten. Ausbeute: 526 mg (32 %).

1-(4-(1-(4-Aminophenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)-3-(2-(dimethylamino)ethyl)harnstoff (**96**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 96 mg **76** (0,33 mmol) und 122 mg **94** (0,366 mmol) in 4,5 ml Dioxan/Wasser (2 + 1). Das Rühren wurde bei 70 °C für 2,5 h fortgesetzt, bis über DC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts nachgewiesen werden konnten (bestätigt durch DC-MS). Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt. Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 8,5 – 10 %. Ausbeute: 90 mg hellrosa Feststoff (65 %). ¹H NMR (200 MHz, DMSO) δ 8.75 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 7.76 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.61 – 7.40 (m, 6H), 7.30 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.76 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.10 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 5.45 (s, 2H), 3.25 – 3.11 (m, 2H), 2.32 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H). ¹³C NMR (DMSO) δ: 155.1, 148.8, 143.9, 142.5, 139.8, 135.6, 134.7, 133.4, 127.2, 125.3, 124.1, 120.9, 119.9, 117.8, 114.4, 107.6, 48.6, 45.0, 36.9. HPLC *t*_{ret} = 1.57 min. ESI-MS *m/z*: 415.3 [M+H]⁺, 449.1 [M+Cl]⁻. IR [cm⁻¹] 812, 1224, 1285, 1406, 1470, 1515, 1594, 1653, 2926, 3327.

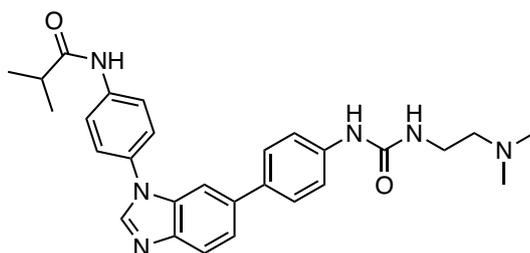
N-(4-(6-(4-(3-(2-(Dimethylamino)ethyl)ureido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)acetamid (**97**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 73 mg **75** (0,227 mmol) und 83 mg **94** (0,250 mmol) in 3,5 ml Dioxan/Wasser (3 + 1). Das Rühren wurde über Nacht bei 70 °C fortgesetzt, bis über DC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts nachgewiesen werden konnten (bestätigt durch DC-MS). Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt. Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 5 – 10 %. Ausbeute: 62 mg weiß-beiger Feststoff (60 %). ¹H NMR (200 MHz, DMSO) δ

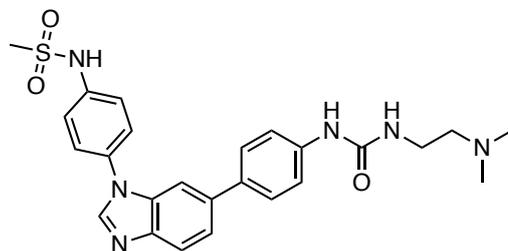
10.20 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 7.90 – 7.74 (m, 3H), 7.71 – 7.62 (m, 3H), 7.62 – 7.41 (m, 5H), 6.09 (t, $J = 5.1$ Hz, 1H), 3.27 – 3.12 (m, 2H), 2.33 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H), 2.18 (s, 6H), 2.10 (s, 3H). HPLC $t_{\text{ret}} = 2.70$ min. ESI-MS m/z : 457.3 [M+H], 455.3 [M-H]⁻, 491.3 [M+Cl]⁻, 479.3 [M+Na]⁺. IR [cm^{-1}] 813, 1225, 1312, 1369, 1409, 1470, 1514, 1596, 1663, 2929, 3301.

N-(4-(6-(4-(3-(2-(Dimethylamino)ethyl)ureido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)isobutyramid (**98**)



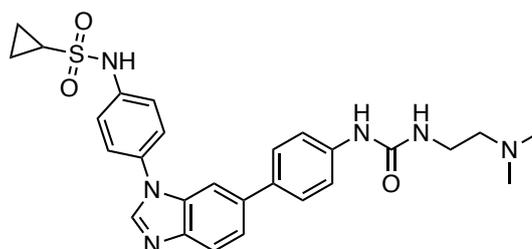
Durchführung nach ASV 7 mit 54 mg **77** (0,15 mmol) und 50 mg **94** (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1). Das Rühren wurde über Nacht bei 60 °C fortgesetzt bis über DC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts nachgewiesen werden konnten (bestätigt durch DC-MS). Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt. Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 1 – 10 %. Ausbeute: 65 mg farbloser Feststoff (89 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.09 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 7.87 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.79 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.66 (d, $J = 8.9$ Hz, 3H), 7.60 – 7.52 (m, 3H), 7.47 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.10 (t, $J = 5.2$ Hz, 1H), 3.23 – 3.14 (m, 2H), 2.70 – 2.59 (m, 1H), 2.33 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H), 2.18 (s, 6H), 1.14 (d, $J = 6.8$ Hz, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 176.0, 155.6, 144.1, 143.2, 140.4, 139.5, 136.5, 134.5, 133.7, 131.1, 127.8, 124.9, 121.8, 120.7, 120.5, 118.3, 108.2, 59.0, 45.5, 37.4, 35.5, 20.0. HPLC $t_{\text{ret}} = 5.17$ min. ESI-MS m/z : 485.8 [M+H]⁺, 483.8 [M-H]⁻, 519.9 [M+Cl]⁻. IR [cm^{-1}] 813, 836, 1224, 1290, 1307, 1406, 1466, 1513, 1595, 1654, 1663, 2775, 2853, 2926, 2964.

N-(4-(6-(4-(3-(2-(Dimethylamino)ethyl)ureido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)methansulfonamid (**99**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 63 mg **88** (0,172 mmol) und 63 mg **94** (0,189 mmol) in 7,5 ml Dioxan/Wasser (6 + 1,5). Das Rühren wurde über Nacht bei 80 °C fortgesetzt. Über DC konnte kein vollständiger Verbrauch der Ausgangsstoffe nachgewiesen werden. Zusätzliches Hinzufügen von Präkatalysator konnte keine weitere Umsetzung initiieren (nach 3 h). Die Reaktion wurde mit Ethylacetat verdünnt und mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. Nach Trocknung der organischen Phase und Entfernung der Lösungsmittel am Rotationsverdampfer wurde das Rohprodukt via Flash-Chromatographie aufgereinigt. Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 1 – 10 %. Ausbeute: 40 mg beiger Feststoff (47 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.05 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 7.80 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.72 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.70 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 7.50 – 7.42 (m, 4H), 6.11 (t, *J* = 5.3 Hz, 1H), 3.22 – 3.16 (m, 2H), 3.09 (s, 3H), 2.35 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.1, 143.7, 142.8, 139.9, 137.9, 136.1, 133.9, 133.2, 131.6, 127.3, 125.0, 121.4, 120.7, 120.1, 117.8, 107.8, 58.5, 45.0, 39.5, 36.9. HPLC *t*_{ret} = 2.95 min. ESI-MS *m/z*: 493.3 [M+H]⁺, 448.2 [M-NMe₂]⁺. IR [cm⁻¹] 813, 913, 965, 1100, 1148, 1223, 1312, 1405, 1469, 1513, 1595, 1662, 2855, 2922.

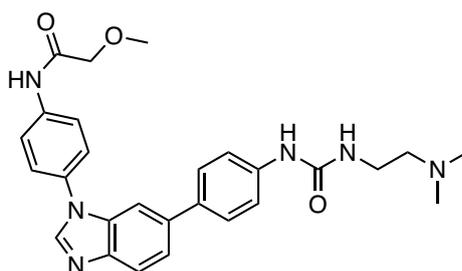
N-(4-(6-(4-(3-(2-(Dimethylamino)ethyl)ureido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)cyclopropansulfonamid (**100**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 70 mg **89** (0,18 mmol) und 65 mg **94** (0,20 mmol) in 8 ml Dioxan/Wasser (6 + 2). Das Rühren wurde über Nacht bei 65 °C fortgesetzt, bis via DC der

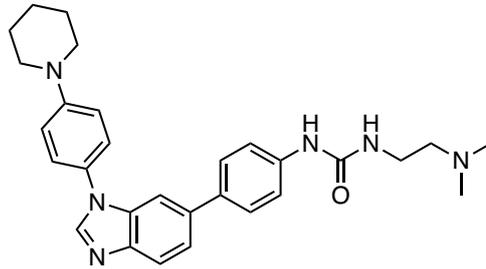
vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts nachgewiesen werden konnten (bestätigt durch DC-MS). Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 1 – 10 %. Ausbeute: 69 mg weißlicher Feststoff (75 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.04 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 7.80 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.72 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.69 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H), 7.58 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.55 (dd, *J* = 8.5, 1.6 Hz, 1H), 7.47 (dd, *J* = 8.7, 1.9 Hz, 4H), 6.11 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.22 – 3.17 (m, 2H), 2.78 – 2.70 (m, 1H), 2.34 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.18 (s, 6H), 1.04 – 0.96 (m, 4H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.0, 143.6, 142.7, 139.9, 137.9, 136.0, 133.9, 133.2, 131.5, 127.3, 124.8, 121.3, 121.1, 120.0, 117.8, 107.7, 58.5, 44.9, 36.9, 29.7, 5.0. HPLC *t*_{ret} = 3.67 min. ESI-MS *m/z*: 519.3 [M+H]⁺, 541.1 [M+Na]⁺, 474.2 [M-NMe₂]⁺, 431.1 [M-C₄H₁₁N₂]⁺. IR [cm⁻¹] 697, 813, 913, 1036, 1141, 1223, 1405, 1469, 1513, 1595, 1662, 2922.

N-(4-(6-(4-(3-(2-(Dimethylamino)ethyl)ureido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)-2-methoxyacetamid (**101**)



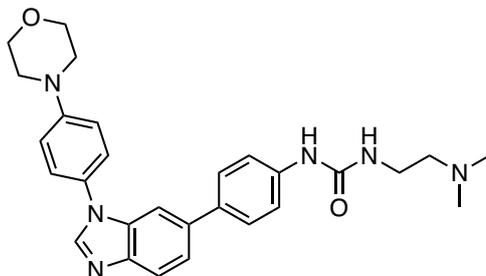
Durchführung nach ASV 7 mit 50 mg **78** (0,139 mmol) und 56 mg **94** (0,167 mmol) in 4,5 ml Dioxan/Wasser (6 + 3). Das Rühren wurde bei 60 °C für 24 h fortgesetzt, bis via DC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts nachgewiesen werden konnten (bestätigt durch DC-MS). Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 10 – 90 %. Ausbeute: 54 mg weiß-gelblicher Feststoff (80 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.05 (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 7.94 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.79 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.71 – 7.66 (m, 3H), 7.60 – 7.53 (m, 3H), 7.47 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.10 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.06 (s, 2H), 3.41 (s, 3H), 3.22 – 3.15 (m, *J* = 11.6, 5.9 Hz, 2H), 2.33 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 168.4, 155.1, 143.7, 142.8, 139.9, 138.0, 136.0, 133.9, 133.2, 131.2, 127.3, 124.3, 121.4, 121.0, 120.1, 117.8, 107.8, 71.7, 58.7, 58.5, 45.0, 36.9. HPLC *t*_{ret} = 3.13 min. ESI-MS *m/z*: 487.5 [M+H]⁺; 509.5 [M+Na]⁺, 521.6 [M+Cl]⁻, 442.4 [M-N(CH₃)₂]⁺, 399.3 [M-C₄H₁₁N₂]⁺. IR [cm⁻¹] 835, 1111, 1226, 1312, 1409, 1513, 1595, 1666, 2773, 2822, 2922, 3258.

1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-(4-(1-(4-(piperidin-1-yl)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)harnstoff (**102**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 56 mg 6-Bromo-1-(4-(piperidin-1-yl)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol (0,158 mmol) und 50 mg **94** (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1). Das Rühren wurde über Nacht bei 70 °C fortgesetzt, bis via DC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts nachgewiesen werden konnten (bestätigt durch DC-MS). Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 3,5-10 %. Ausbeute: 60 mg Feststoff (83 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.80 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 7.78 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.62 – 7.59 (m, 1H), 7.57 – 7.49 (m, 5H), 7.46 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.13 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 6.15 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.26 – 3.22 (m, 4H), 3.22 – 3.18 (m, 2H), 2.40 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 2.23 (s, 6H), 1.67 – 1.61 (m, 4H), 1.60 – 1.54 (m, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.1, 150.9, 143.8, 142.7, 139.9, 135.8, 134.3, 133.3, 127.3, 126.3, 124.9, 121.1, 120.0, 117.8, 116.3, 107.6, 58.4, 49.2, 44.8, 36.7, 25.1, 23.9. HPLC *t*_{ret} = 4.18 min (Methode C). ESI-MS *m/z*: 517.1 [M+Cl]⁻, 483.2 [M+H]⁺. IR [cm⁻¹] 813, 913, 1023, 1126, 1224, 1289, 1312, 1385, 1406, 1470, 1515, 1595, 1653, 1663, 1675, 2851, 2932.

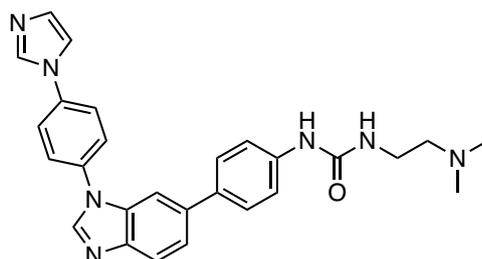
1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-(4-(1-(4-morpholinophenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)harnstoff (**103**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 54 mg 4-(4-(6-Bromo-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)morpholin (0,15 mmol) und 50 mg **94** (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser

(4 + 1). Das Rühren wurde über Nacht bei 70 °C fortgesetzt. Die Reaktion wurde mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gestoppt und 3x mit DCM extrahiert. Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 10 %. Ausbeute: 67 mg rosa-grülicher Feststoff (92 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.74 (s, 1H), 8.43 (s, 1H), 7.78 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.63 – 7.59 (m, 1H), 7.59 – 7.51 (m, 5H), 7.46 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.16 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 6.09 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.84 – 3.73 (m, 4H), 3.24 – 3.15 (m, 6H), 2.33 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.1, 150.5, 143.8, 142.7, 139.9, 135.8, 134.3, 133.3, 127.3, 127.2, 124.9, 121.2, 120.0, 117.8, 115.8, 107.6, 66.1, 58.5, 48.1, 45.0, 36.9. HPLC *t*_{ret} = 5.30 min. ESI-MS *m/z*: 485.5 [M+H]⁺, 519.5 [M+Cl]⁻. IR [cm⁻¹] 813, 924, 1050, 1114, 1183, 1226, 1290, 1380, 1407, 1448, 1469, 1516, 1594, 1653, 1685, 2768, 2818, 2851, 2887, 2949, 3003, 3034, 3081, 3316.

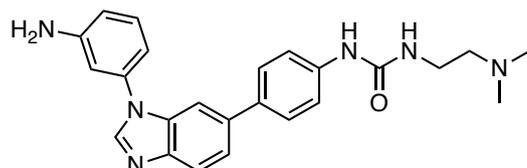
1-(4-(1-(4-(1*H*-Imidazol-1-yl)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)-3-(2-(dimethylamino)ethyl)harnstoff (**104**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 55 mg 1-(4-(1*H*-Imidazol-1-yl)phenyl)-6-brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol (0,16 mmol) und 50 mg **94** (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1). Das Rühren wurde über Nacht bei 70 °C fortgesetzt, bis via DC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts nachgewiesen werden konnten (bestätigt durch DC-MS). Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 7,5 – 10 %. Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM gelöst und mit *n*-Pentan ausgefällt, um das Produkt durch Filtration zu gewinnen. Ausbeute: 41 mg purpurweißer Feststoff (59 %, HPLC-Reinheit: λ(254 nm) > 95 %, λ(230 nm) > 93 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.75 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 7.97 – 7.91 (m, 4H), 7.90 – 7.86 (m, 1H), 7.82 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.77 – 7.73 (m, 1H), 7.62 – 7.55 (m, 3H), 7.47 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.20 – 7.14 (m, 1H), 6.10 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.22 – 3.16 (m, *J* = 11.5, 5.9 Hz, 2H), 2.34 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.18 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.1, 143.7, 142.8, 140.0, 136.2, 136.1, 135.7, 134.3, 133.8, 133.2, 130.1, 127.3, 125.3, 121.8, 121.5,

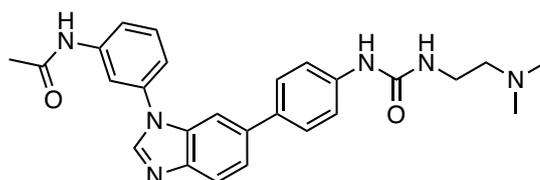
120.2, 118.1, 117.8, 107.8, 58.5, 45.0, 36.9. HPLC $t_{\text{ret}} = 3.94$ min. HPLC $t_{\text{ret}} = 2.31$ min (Methode C). ESI-MS m/z : 466.3 $[M+H]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 812, 963, 1055, 1224, 1303, 1407, 1446, 1470, 1485, 1521, 1595, 1654, 1663, 1670, 2781, 2821, 2940, 3308.

1-(4-(1-(3-Aminophenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)-3-(2-(dimethylamino)ethyl)harnstoff (**105**)



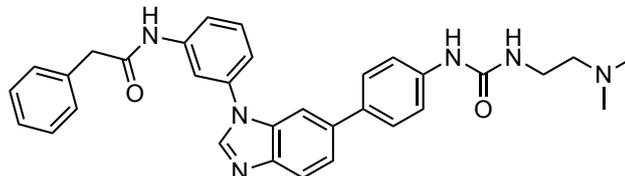
Durchführung nach **ASV 7** mit 179 mg **124** (0,374 mmol), 107 mg **93** (0,374 mmol) und 398 mg $\text{K}_3\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (1,49 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1). Das Rühren wurde über Nacht bei 70 °C fortgesetzt, bis über DC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts nachgewiesen werden konnten (bestätigt durch DC-MS). Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (DCM/MeOH + 2 N NH_3 6 – 10 %). Ausbeute: 138 mg Feststoff (89 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.76 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 7.78 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.75 – 7.69 (m, 1H), 7.59 – 7.51 (m, 3H), 7.48 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.25 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 6.90 – 6.83 (m, 1H), 6.78 (dd, $J = 7.7, 1.3$ Hz, 1H), 6.67 (dd, $J = 8.1, 1.4$ Hz, 1H), 6.11 (t, $J = 5.2$ Hz, 1H), 5.53 (s, 2H), 3.22 – 3.16 (m, 2H), 2.33 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H), 2.18 (s, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.1, 150.3, 143.5, 142.9, 139.9, 136.7, 135.9, 133.7, 133.3, 130.5, 127.3, 121.3, 120.1, 117.8, 113.1, 110.4, 108.2, 108.0, 58.5, 45.0, 36.9. HPLC $t_{\text{ret}} = 2.16$ min. ESI-MS m/z : 415.5 $[M+H]^+$, 449.2 $[M+Cl]^-$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 691, 813, 1221, 1310, 1405, 1497, 1538, 1597, 1675, 2853, 2919.

N-(3-(6-(4-(3-(2-(Dimethylamino)ethyl)ureido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)acetamid (**106**)



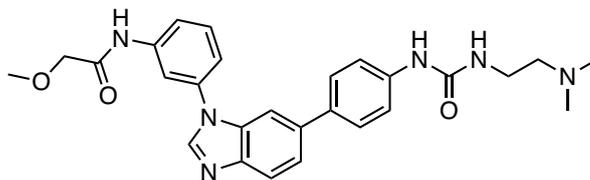
Durchführung nach **ASV 7** mit 45 mg **82** (0,136 mmol) und 55 mg **94** (0,164 mmol) in 8 ml Dioxan/Wasser (4 + 1). Das Rühren wurde über Nacht bei 65 °C fortgesetzt, bis über DC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts nachgewiesen werden konnten (bestätigt durch DC-MS). Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 7 – 10 %. Eine zweite säulenchromatographische Purifikation wurde mit C18-Umkehrphasen-Kieselgel (Gradient (FC): Wasser/MeOH 10 – 90 %) durchgeführt. Ausbeute: 22 mg weißer Feststoff (35 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.27 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.05 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.81 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.79 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 7.65 – 7.61 (m, 1H), 7.60 – 7.53 (m, 4H), 7.48 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.41 – 7.37 (m, 1H), 6.15 (t, *J* = 5.3 Hz, 1H), 3.21 – 3.16 (m, 2H), 2.33 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H), 2.09 (s, 3H). HPLC *t*_{ret} = 3.49 min. ESI-MS *m/z*: 457.2 [M+H]⁺, 479.2 [M+Na]⁺, 455.2 [M-H]⁻, 491.2 [M+Cl]⁻. IR [cm⁻¹] 690, 779, 809, 1237, 1372, 1491, 1558, 1595, 1636, 1677, 2773, 2818, 2930, 3291.

N-(3-(6-(4-(3-(2-(Dimethylamino)ethyl)ureido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)-2-phenylacetamid (**107**)



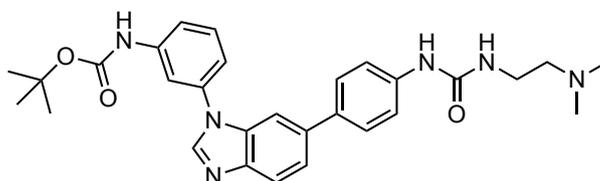
Durchführung nach **ASV 7** mit 71 mg **84** (0,18 mmol) und 64 mg **94** (0,19 mmol) in 4 ml Dioxan/Wasser (3 + 1). Das Rühren wurde über Nacht bei 65 °C fortgesetzt, bis über DC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts nachgewiesen werden konnten (bestätigt durch DC-MS). Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 1 – 9 %. Ausbeute: 81 mg weißer Feststoff (87 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.52 (s, 1H), 8.77 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.10 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.83 – 7.77 (m, 2H), 7.68 – 7.63 (m, 1H), 7.61 – 7.54 (m, 4H), 7.48 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.44 – 7.40 (m, 1H), 7.39 – 7.32 (m, 4H), 7.28 – 7.23 (m, 1H), 6.12 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.70 (s, 2H), 3.23 – 3.17 (m, 2H), 2.34 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.18 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 169.6, 155.0, 143.3, 142.9, 140.5, 139.9, 136.1, 136.1, 135.6, 133.6, 133.1, 130.4, 129.0, 128.2, 127.2, 126.5, 121.4, 120.1, 118.1, 117.9, 117.8, 113.9, 107.8, 58.5, 44.9, 43.3, 36.9. HPLC *t*_{ret} = 5.46 min. ESI-MS *m/z*: 533.5 [M+H]⁺, 555.5 [M+Na]⁺, 488.5 [M-NMe₂]⁺. IR [cm⁻¹] 692, 813, 1221, 1472, 1491, 1534, 1597, 1654, 2819, 2853, 2920, 3271.

N-(3-(6-(4-(3-(2-(Dimethylamino)ethyl)ureido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)-2-methoxyacetamid (**108**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 89 mg **83** (0,247 mmol) und 86 mg **94** (0,259 mmol) in 6,5 ml Dioxan/Wasser (5 + 1,5). Das Rühren wurde über Nacht bei 65 °C fortgesetzt, bis über DC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts nachgewiesen werden konnten (bestätigt durch DC-MS). Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 2 – 8 %. Ein zweiter chromatographischer Reinigungsschritt wurde mit Umkehrphasen-Kieselgel (C18, Gradient (FC): Wasser/MeOH 5 – 85 %) durchgeführt. Ausbeute: 78 mg weißer Feststoff (65 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.11 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.14 (t, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.84 – 7.78 (m, 3H), 7.61 – 7.55 (m, 4H), 7.48 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.45 – 7.42 (m, 1H), 6.14 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.06 (s, 2H), 3.40 (s, 3H), 3.19 (dd, *J* = 11.5, 6.0 Hz, 2H), 2.33 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 168.7, 155.1, 143.5, 142.9, 140.0, 139.9, 136.2, 136.1, 133.6, 133.2, 130.4, 127.3, 121.5, 120.2, 118.6, 118.5, 117.8, 114.6, 107.9, 71.7, 58.7, 58.5, 45.0, 37.0. HPLC *t*_{ret} = 3.64 min. ESI-MS *m/z*: 487,3 [M+H]⁺, 442.2 [M-NMe₂]⁺, 421,4 [M+Cl]⁻, 485,4 [M-H]⁻. IR [cm⁻¹] 690, 813, 1111, 1223, 1290, 1491, 1528, 1595, 1666, 2773, 2818, 2933, 3273.

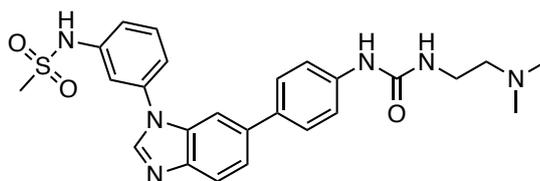
tert-Butyl(3-(6-(4-(3-(2-(dimethylamino)ethyl)ureido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)carbammat (**109**)



Durchführung nach **ASV 7**. In einem Reaktionsgefäß wurden 80 mg **79** (1,0 mmol), 85 mg **94** (1,2 mmol) und 169 mg K₃PO₄·3H₂O (0,636 mmol) in 3,6 ml Dioxan/Wasser (3 + 1) unter Argonatmosphäre suspendiert/gelöst. Eine katalytische Menge *t*Bu₃P Pd G3 wurde hinzugefügt. Es wurde 3,5 h lang bei 65 °C gerührt, bis über DC der vollständige Verbrauch

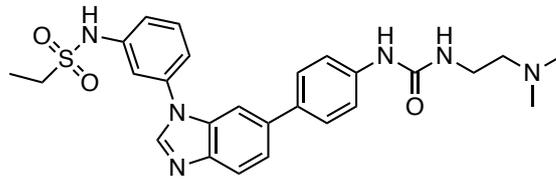
der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts nachgewiesen werden konnten (bestätigt durch DC-MS). Die Reaktion wurde mit EA verdünnt und in einem Scheidetrichter mit 2 N NaOH gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet und das Rohprodukt durch Flash-Chromatographie (DCM/MeOH + 2 N NH₃ 5 – 10 %) purifiziert. Ausbeute: 82 mg beiger Feststoff (75 %). ¹H NMR (200 MHz, DMSO) δ 9.73 (s, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.02 – 7.93 (m, 1H), 7.89 – 7.77 (m, 2H), 7.67 – 7.44 (m, 7H), 7.38 – 7.28 (m, 1H), 6.17 – 6.04 (m, 1H), 3.26 – 3.12 (m, *J* = 4.8 Hz, 2H), 2.33 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H), 1.51 (s, 9H). HPLC *t*_{ret} = 6.08 min. ESI-MS *m/z*: 515.8 [M+H]⁺, 549.6 [M+Cl]⁻. IR [cm⁻¹] 691, 813, 1052, 1154, 1223, 1365, 1472, 1490, 1538, 1598, 1717, 2971, 3307.

N-(3-(6-(4-(3-(2-(Dimethylamino)ethyl)ureido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)methansulfonamid (**110**)



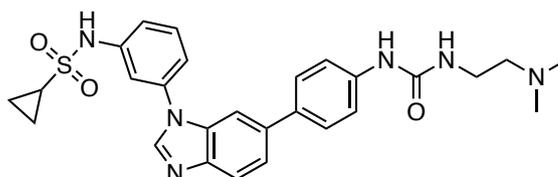
Durchführung nach **ASV 7** mit **90** (68 mg, 0,19 mmol), **94** (68 mg, 0,20 mmol) und K₃PO₄·3H₂O (149 mg, 0,558 mmol) in Dioxan/Wasser (9 + 2,5 ml) über Nacht bei 75 °C. Das Rohprodukt wurde durch Flash-Chromatographie aufgereinigt. Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 2 – 10 %. Ausbeute: 72 mg weißlicher Feststoff (79 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.12 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 7.84 – 7.78 (m, 2H), 7.63 – 7.55 (m, 5H), 7.51 – 7.44 (m, 3H), 7.33 – 7.28 (m, 1H), 6.11 (t, *J* = 5.3 Hz, 1H), 3.22 – 3.16 (m, 2H), 3.12 (s, 3H), 2.34 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.18 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.1, 143.5, 142.9, 140.0, 140.0, 136.7, 136.2, 133.5, 133.1, 131.1, 127.3, 121.5, 120.2, 118.3, 118.1, 117.8, 113.8, 107.9, 58.5, 45.0, 39.7, 36.9. HPLC *t*_{ret} = 3.56 min. ESI-MS *m/z*: 493.4 [M+H]⁺, 515.4 [M+Na]⁺, 490.8 [M-H]⁻, 448.3 [M-NMe₂]⁺. IR [cm⁻¹] 693, 813, 965, 1100, 1148, 1215, 1312, 1405, 1480, 1524, 1595, 1655, 2822, 2855, 2922.

N-(3-(6-(4-(3-(2-(Dimethylamino)ethyl)ureido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)ethansulfonamid (**111**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 55 mg **91** (0,15 mmol) und 48 mg **94** (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1). Das Rühren wurde über Nacht bei 60 °C fortgesetzt, bis über DC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts nachgewiesen werden konnten (bestätigt durch DC-MS). Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 2 – 10 %. Ausbeute: 64 mg beiger Feststoff (89 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.16 (bs, 1H), 8.77 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 7.86 – 7.75 (m, 2H), 7.65 – 7.53 (m, 5H), 7.51 – 7.42 (m, 3H), 7.34 – 7.29 (m, 1H), 6.12 (t, *J* = 4.6 Hz, 1H), 3.27 – 3.21 (m, 2H), 3.21 – 3.16 (m, 2H), 2.34 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 2.18 (s, 6H), 1.24 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H). HPLC *t*_{ret} = 4.79 min. ESI-MS *m/z*: 507.6 [M+H]⁺, 505.6 [M-H]⁻. IR [cm⁻¹] 693, 813, 928, 1139, 1217, 1310, 1406, 1482, 1594, 1653, 1663, 2853, 2922.

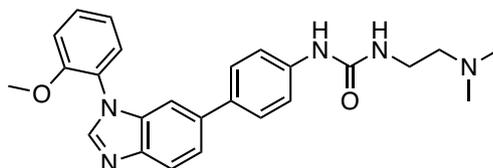
N-(3-(6-(4-(3-(2-(Dimethylamino)ethyl)ureido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)-cyclopropansulfonamid (**112**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 55 mg **92** (0,14 mmol) und 51 mg **94** (0,153 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1). Das Rühren wurde über Nacht bei 60 °C fortgesetzt, bis über DC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts nachgewiesen werden konnten (bestätigt durch DC-MS). Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 4 – 10 %. Ausbeute: 54 mg farbloser Feststoff (74 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.89 (bs, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 7.84 – 7.77 (m, 2H), 7.63 – 7.56 (m, 5H), 7.50 – 7.45 (m, 3H), 7.37 – 7.32 (m, 1H), 6.11 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.21 – 3.16 (m, 2H), 2.84 – 2.75 (m, 1H), 2.34 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.18 (s, 6H), 1.02 – 0.94 (m, 4H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.1, 143.5, 143.0, 140.0, 140.0, 136.6, 136.2, 133.5, 133.1, 131.1, 127.3, 121.6, 120.3, 118.8, 118.6, 117.9, 114.3, 107.8, 58.5, 45.0, 37.0, 29.8,

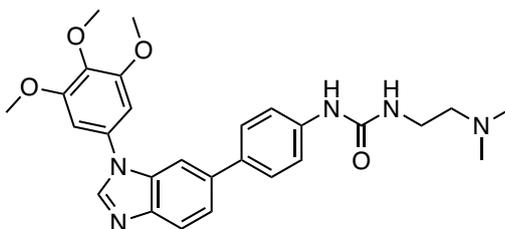
5.1. HPLC $t_{\text{ret}} = 4.86$ min. ESI-MS m/z : 519.5 $[M+H]^+$, 517.4 $[M+H]^-$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 694, 813, 887, 1037, 1144, 1217, 1307, 1406, 1482, 1523, 1594, 1654, 2855, 2922.

1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-(4-(1-(2-methoxyphenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)harnstoff (**113**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 58 mg **85** (0,19 mmol) und 70 mg **94** (0,21 mmol) in 4 ml Dioxan/Wasser (3 + 1). Die Reaktion wurde über Nacht bei 65 °C gerührt, bis mit DC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts nachgewiesen werden konnten (bestätigt durch DC-MS). Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 2,5 – 10 %. Eine zweite Purifikation wurde mit Umkehrphasen-Kieselgel (C18, Gradient: Wasser/MeOH 10 – 100 %) durchgeführt. Ausbeute: 56 mg Feststoff (69 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.79 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 7.77 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.59 – 7.49 (m, 5H), 7.45 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.37 – 7.32 (m, 2H), 7.18 (td, $J = 7.6, 1.1$ Hz, 1H), 6.15 (t, $J = 5.2$ Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.21 – 3.13 (m, 2H), 2.32 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H), 2.16 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.2, 153.8, 144.8, 142.1, 139.9, 135.8, 134.9, 133.3, 130.2, 127.7, 127.3, 124.1, 121.2, 121.1, 119.8, 117.9, 113.1, 108.0, 58.6, 55.9, 45.1, 37.0. HPLC $t_{\text{ret}} = 3.85$ min. ESI-MS m/z : 427.4 $[M-H]^-$, 385.2 $[M-NMe_2]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 751, 813, 1020, 1221, 1249, 1282, 1406, 1470, 1507, 1595, 1654, 2932.

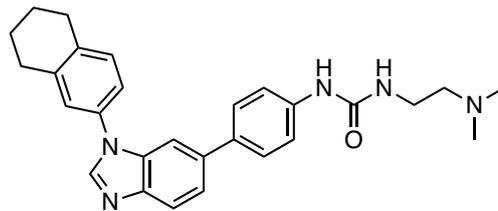
1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-(4-(1-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)urea (**114**)



Durchführung nach **ASV 8** mit **87** (61 mg, 0,17 mmol), **60** (51 mg, 0,17 mmol) und K₂CO₃ (89 mg, 0,65 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 65 °C. Nach

vollständiger Umsetzung der Edukte (Reaktionskontrolle via HPLC) wurde die Reaktion eingengt und das Produkt per Säulenchromatographie aufgereinigt (DCM/MeOH + NH₃ 2 N 5 – 8,4 %). Ausbeute: 51 mg weiß-gelblicher Feststoff (69 %). HPLC $t_{\text{ret}} = 3.99$ min. ESI-MS m/z : 490.2 [M+H]⁺, 489.4 [M-H]⁻. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 8.74 – 8.29 (m, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.87 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.65 – 7.60 (m, 1H), 7.57 – 7.47 (m, 3H), 7.45 – 7.37 (m, 2H), 6.71 (s, 2H), 5.77 – 5.59 (m, 1H), 3.96 – 3.86 (m, 9H), 3.40 – 3.27 (m, 2H), 2.58 – 2.48 (m, 2H), 2.31 (s, 6H). ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 156.3, 154.3, 142.7, 142.5, 139.1, 138.0, 137.5, 135.4, 134.6, 131.9, 127.9, 122.7, 120.4, 119.3, 108.5, 102.3, 77.4, 61.1, 59.4, 56.5, 45.1. IR [cm⁻¹] 3314, 2938, 1665, 1595, 1535, 1507, 1474, 1419, 1385, 1310, 1283, 1224, 1184, 1123, 1056, 1001, 911, 859, 813, 770, 715, 679.

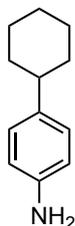
1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-(4-(1-(5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl)-1H-benzo[d]imidazol-6-yl)phenyl)harnstoff (**115**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 52 mg 6-Brom-1-(5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl)-1H-benzo[d]imidazol (0,15 mmol) und 50 mg **94** (0,15 mmol) in 4 ml Dioxan/Wasser (3 + 1). Das Rühren wurde bei 75 °C 4 h lang fortgesetzt, bis über DC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts nachgewiesen werden konnten (bestätigt durch DC-MS). Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 6 – 10 %. Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM aufgelöst, mit Pentan ausgefällt und durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 43 mg Feststoff (63 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.75 (s, 1H), 8.47 (s, 1H), 7.79 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.70 – 7.64 (m, 1H), 7.60 – 7.52 (m, 3H), 7.46 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.44 – 7.41 (m, 1H), 7.40 – 7.36 (m, 1H), 7.30 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.11 (t, $J = 5.2$ Hz, 1H), 3.19 (m, $J = 11.5, 5.8$ Hz, 2H), 2.88 – 2.77 (m, 4H), 2.35 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H), 2.19 (s, 6H), 1.83 – 1.74 (m, 4H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.1, 143.7, 142.8, 139.9, 138.7, 136.5, 136.0, 133.9, 133.3, 133.3, 130.4, 127.3, 124.2, 121.3, 121.1, 120.1, 117.8, 107.8, 58.5, 45.0, 36.9, 28.8, 28.4, 22.6, 22.4. HPLC $t_{\text{ret}} = 8.61$ min.

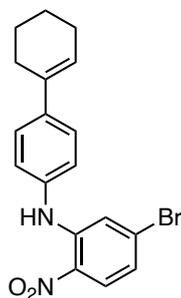
ESI-MS m/z : 454.4 $[M+H]^+$. IR $[cm^{-1}]$ 811, 910, 1041, 1054, 1183, 1226, 1290, 1308, 1406, 1448, 1469, 1506, 1534, 1594, 1654, 2768, 2818, 2857, 2928, 3324.

4-Cyclohexylanilin (**116**)



Zu einer Lösung von 1189 mg 4-(Cyclohex-1-enyl)anilin (0,40 mmol) in 1,5 mol EtOH wurden 2144 mg NH_4HCOO zugegeben, gefolgt von 60 mg Pd/C (10 %). Die Reaktion wurde auf Rückfluss erhitzt, bis über HPLC der vollständige Verbrauch des Ausgangsmaterials nachgewiesen werden konnte. Anschließend wurde der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt und über Kieselgur filtriert. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie mit Petrolether und Ethylacetat (0 – 70 %) aufgereinigt, um das gewünschte Produkt als rotes Öl zu erhalten, das nach kurzer Zeit zu einem Feststoff erstarrt. Ausbeute: 744 mg Feststoff (62 %). 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 6.84 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 6.47 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 4.84 (s, 2H), 2.35 – 2.22 (m, 1H), 1.81 – 1.62 (m, 5H), 1.38 – 1.11 (m, 5H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 146.4, 135.0, 126.8, 113.9, 42.9, 34.4, 26.5, 25.7. HPLC $t_{ret} = 5.72$ min. ESI-MS m/z : 176.2 $[M+H]^+$.

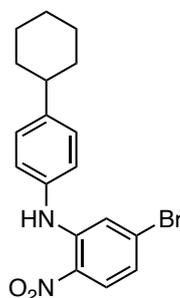
N-(5-Brom-2-nitrophenyl)-2',3',4',5'-tetrahydro-[1,1'-biphenyl]-4-amin (**117**)



Durchführung nach **ASV 1** mit 1100 mg 4-Brom-2-fluor-1-nitrobenzol (5,0 mmol), 1040 mg 4-(Cyclohex-1-enyl)anilin (6,0 mmol) und 0,83 ml Et_3N in 5 ml trockenem DMF bei 70 °C. Das Rühren wurde für 2 d fortgesetzt, bis über DC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe nachgewiesen werden konnte. Die Reaktion wurde mit Wasser

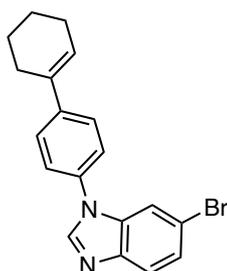
gestoppt. Das Rohprodukt wurde in siedendem MeOH suspendiert und für 15–30 min gerührt. Die Suspension wurde mit einem Eisbad gekühlt und das gewünschte Produkt durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 1614 mg rot-kristalliner Feststoff (86 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.47 (s, 1H), 8.04 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.48 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.28 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.18 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.00 (dd, $J = 9.0, 2.0$ Hz, 1H), 6.25 – 6.17 (m, 1H), 2.42 – 2.33 (m, 2H), 2.24 – 2.14 (m, 2H), 1.77 – 1.68 (m, 2H), 1.65 – 1.56 (m, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 143.1, 139.1, 136.9, 135.0, 132.2, 130.0, 128.2, 125.7, 124.4, 124.3, 120.4, 118.3, 26.5, 25.4, 22.5, 21.7. HPLC $t_{\text{ret}} = 13.19$ min.

5-Brom-*N*-(4-cyclohexylphenyl)-2-nitroanilin (**118**)



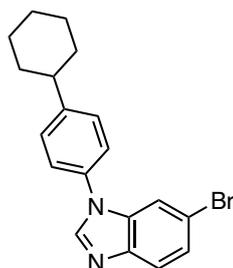
Durchführung nach **ASV 1** mit 736 mg 4-Brom-2-fluor-1-nitrobenzol (4,2 mmol), 770 mg 4-Cyclohexylanilin (3,5 mmol) und 0,6 ml Et_3N in 5 ml trockenem DMF bei 70 °C (über Nacht). Die Reaktion wurde mit Salzlösung verdünnt und das Produkt mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet und die Lösungsmittel wurden unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie (PE/EA 0 – 1 %) aufgereinigt. Das Produkt wurde mit einer kleinen Menge an MeOH überschichtet, um eine Kristallisation zu initiieren. Die Suspension wurde bis zum Rückfluss erhitzt und homogenisiert. Anschließend wurde diese für mehrere Stunden bei -18 °C gelagert, das Produkt anschließend durch Filtration gewonnen und mit einer kleinen Menge MeOH gewaschen. Ausbeute: 854 mg (71 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.47 (s, 1H), 8.05 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.26 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.13 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 6.98 (dd, $J = 9.1, 2.0$ Hz, 1H), 2.59 – 2.52 (m, 1H), 1.88 – 1.76 (m, 4H), 1.75 – 1.68 (m, 1H), 1.48 – 1.31 (m, 4H), 1.30 – 1.20 (m, 1H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 145.5, 143.5, 135.9, 131.9, 130.0, 128.2, 127.9, 124.9, 120.1, 118.0, 43.2, 33.9, 26.3, 25.6. HPLC $t_{\text{ret}} = 13.53$ min. ESI-MS m/z : 373.4 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

6-Brom-1-(2',3',4',5'-tetrahydro-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol (**119**)



Schritt 1: Durchführung nach **ASV 3** mit 1432 mg **117** (3,83 mmol), 2048 mg NH₄Cl (38,3 mmol), 2504 mg Zinkpulver (38,3 mmol) in 50 ml MeOH. Schritt 2: Durchführung nach **ASV 4** mit 1,9 ml Triethylorthoformiat (11,5 mmol) und 73 mg *p*-TsOH·H₂O (0,38 mmol) in 50 ml Toluol bei 70 °C über Nacht. Flash-Gradient: DCM/MeOH 0 – 1,9 %. Ausbeute: 862 mg (64 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.59 (s, 1H), 7.76 – 7.72 (m, 2H), 7.65 – 7.60 (m, 4H), 7.45 (dd, *J* = 8.6, 1.8 Hz, 1H), 6.30 – 6.25 (m, 1H), 2.45 – 2.39 (m, 2H), 2.25 – 2.18 (m, 2H), 1.79 – 1.72 (m, 2H), 1.67 – 1.59 (m, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 144.3, 142.8, 141.5, 135.0, 134.3, 133.8, 126.2, 125.5, 125.5, 123.7, 121.7, 115.9, 113.4, 26.6, 25.4, 22.5, 21.6. HPLC *t*_{ret} = 12.40 min. ESI-MS *m/z*: 355.3 [M+H]⁺.

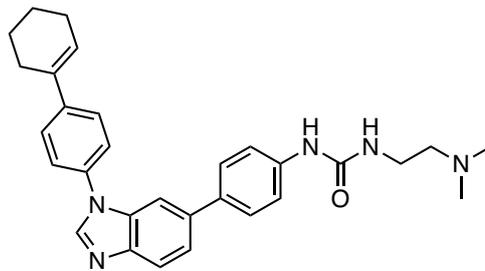
6-Brom-1-(4-cyclohexylphenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol (**120**)



Schritt 1: Durchführung nach **ASV 3** mit 804 mg **118** (2,14 mmol), 916 mg NH₄Cl (17,1 mmol), 1373 mg Zinkpulver (25,7 mmol) in 50 ml MeOH. Schritt 2: Durchführung nach **ASV 4** mit 1,1 ml Triethylorthoformiat (6,4 mmol) und 70 mg *p*-TsOH·H₂O (0,24 mmol) in 50 ml Toluol bei 70 – 75 °C über Nacht. Gradient (Flash-Chromatographie): DCM/MeOH 0 – 1,8 %. Ausbeute: 516 mg (68 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.57 (s, 1H), 7.75 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.72 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.58 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.49 – 7.43 (m, 3H), 2.66 – 2.57 (m, 1H), 1.88 – 1.78 (m, 4H), 1.76 – 1.68 (m, 1H), 1.51 – 1.33 (m, 4H), 1.31 – 1.20 (m, 1H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 147.7,

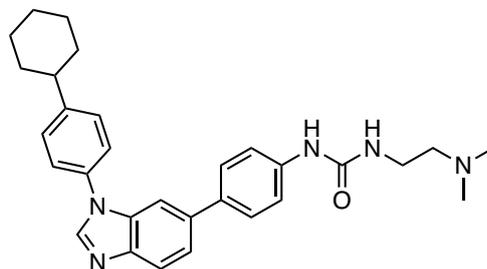
144.4, 142.6, 134.4, 133.1, 128.3, 125.5, 123.9, 121.6, 115.9, 113.4, 43.3, 33.8, 26.3, 25.5.
HPLC $t_{\text{ret}} = 12.87$ min. ESI-MS m/z : 355.4 $[M+H]^+$.

1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-(4-(1-(2',3',4',5'-tetrahydro-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)harnstoff (**121**)



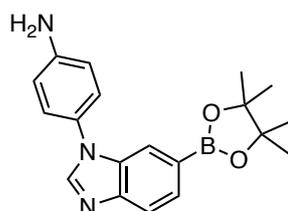
Durchführung nach ASV 7 mit 66 mg **119** (0,17 mmol) und 43 mg **93** (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 60 °C. Die Reaktion wurde mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung verdünnt und das Produkt mit DCM extrahiert. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH_3 4 – 10 %). Aufgrund persistierender Verunreinigungen wurde eine zweite Purifikation mit Umkehrphasen-C18-Kieselgel durchgeführt (Gradient: Wasser + Et_3N (0,05 M)/MeOH 15 – 100 %) Ausbeute: 50 mg Feststoff (83 %, Reinheit: $\lambda(254 \text{ nm}) = 93 \%$, $\lambda(230 \text{ nm}) = 92 \%$). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.75 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 7.80 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.73 – 7.62 (m, 5H), 7.60 – 7.53 (m, 3H), 7.47 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.33 – 6.24 (m, 1H), 6.10 (t, $J = 5.1$ Hz, 1H), 3.22 – 3.15 (m, 2H), 2.47 – 2.40 (m, 2H), 2.33 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H), 2.26 – 2.13 (m, 8H), 1.82 – 1.72 (m, 2H), 1.69 – 1.59 (m, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.1, 143.6, 142.9, 141.1, 139.9, 136.1, 135.0, 134.3, 133.8, 133.2, 127.3, 126.1, 125.3, 123.6, 121.4, 120.1, 117.8, 107.8, 58.5, 45.0, 36.9, 26.6, 25.4, 22.5, 21.6. HPLC $t_{\text{ret}} = 7.67$ min (Methode C). ESI-MS m/z : 480.8 $[M+H]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 800, 813, 1224, 1311, 1407, 1445, 1470, 1490, 1514, 1596, 1653, 1662, 2823, 2855, 2924.

1-(4-(1-(4-Cyclohexylphenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)-3-(2-(dimethylamino)ethyl)harnstoff (**122**)



Durchführung nach ASV 7 mit 59 mg **120** (0,17 mmol) und 50 mg **93** (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 65 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 3 – 9 %). Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM gelöst, anschließend mit *n*-Pentan ausgefällt und durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 37 mg Feststoff (51 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.75 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 7.80 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.71 – 7.67 (m, 1H), 7.65 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.60 – 7.52 (m, 3H), 7.52 – 7.42 (m, 4H), 6.10 (t, *J* = 5.1 Hz, 1H), 3.22 – 3.14 (m, *J* = 11.5, 5.9 Hz, 2H), 2.67 – 2.58 (m, 1H), 2.33 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H), 1.90 – 1.78 (m, 4H), 1.73 (d, *J* = 12.5 Hz, 1H), 1.54 – 1.35 (m, 4H), 1.32 – 1.22 (m, 1H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.1, 147.2, 143.8, 142.9, 139.9, 136.0, 133.8, 133.8, 133.2, 128.3, 127.4, 123.7, 121.4, 120.1, 117.8, 107.8, 58.5, 45.0, 43.4, 36.9, 33.9, 26.3, 25.6. HPLC *t*_{ret} = 7.90 min. ESI-MS *m/z*: 482.4 [M+H]⁺, 480.5 [M-H]⁻, 516.4 [M+Cl]⁻. IR [cm⁻¹] 693, 718, 762, 801, 818, 863, 895, 904, 915, 969, 986, 1010, 1044, 1062, 1095, 1123, 1152, 1165, 1206, 1225, 1241, 1270, 1293, 1305, 1311, 1326, 1405, 1428, 1444, 1467, 1480, 1491, 1510, 1601, 2769, 2814.

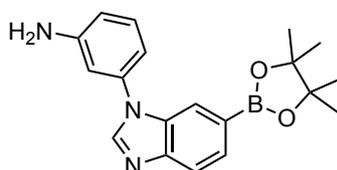
4-(6-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)anilin (**123**)



Durchführung nach ASV 11 mit 925 mg **76** (3,21 mmol), 802 mg B₂Pin₂ (3,18 mmol), 977 mg KOAc (9,95 mmol) und 5 mol% Pd(dppf)Cl₂ in 12 ml Dioxan bei 80 °C über

Nacht. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH 0 – 3,5 %). Die Produktfraktionen wurden vereinigt und eingengt, um das Produkt als Öl zu erhalten. Das Öl wurde mit einer kleinen Menge ACN überschichtet und bei -18 °C gelagert, um die Kristallisation zu initiieren. Das Produkt wurde durch Filtration gewonnen und mit 1,5 ml kaltem ACN gewaschen. Ausbeute: farblose Kristalle (612 mg, 58 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.40 (s, 1H), 7.75 – 7.70 (m, 1H), 7.70 – 7.66 (m, 1H), 7.56 (dd, *J* = 8.1, 0.9 Hz, 1H), 7.23 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.76 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 5.48 (s, 2H), 1.28 (s, 12H). HPLC *t*_{ret} = 7.54 min.

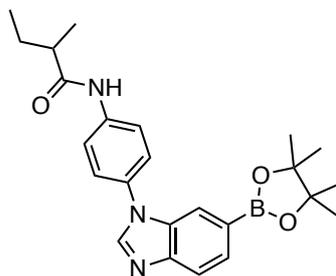
3-(6-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)anilin
(124)



Durchführung nach **ASV 11** mit 100 mg **81** (0,347 mmol), 87 mg B₂Pin₂ (0,344), 102 mg KOAc (1,04 mmol) und Pd(dppf)Cl₂·DCM (5 mol%, 17 μmol) in 3 ml trockenem Dioxan und über Nacht bei 75 °C gerührt. Die Reaktion wurde mit EA verdünnt und über Kieselgur filtriert. Das braune Filtrat wurde unter vermindertem Druck eingedampft, um das Rohprodukt als braunes Öl zu erhalten. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH 0 – 5 %). Ausbeute: 99 mg Schaum/Harz (0,295 mmol, 85 %).

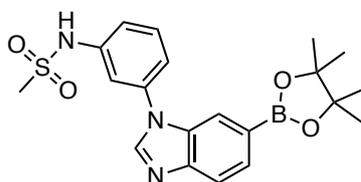
Alternative Aufarbeitung: FC-Gradient mit DCM/MeOH 1 – 1,2 %. Das gelblich ölige Produkt wurde mit Acetonitril überschichtet und über Nacht bei -18 °C gelagert, um nach Filtration/Dekantieren der organischen Phase ein kristallines weißes Produkt zu erhalten (54 – 67 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.51 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.75 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.60 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.26 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.81 – 6.75 (m, 1H), 6.73 – 6.66 (m, *J* = 6.6 Hz, 2H), 5.57 (s, 2H), 1.29 (s, 12H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 150.3, 146.1, 144.3, 136.4, 133.3, 130.4, 128.1, 122.9, 119.4, 116.9, 113.5, 111.0, 108.8, 83.7, 24.6. HPLC *t*_{ret} = 8.11 min. ESI-MS *m/z*: 336.3 [M+H]⁺.

2-Methyl-*N*-(4-(6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)butanamid (**125**)



In einem Rundkolben wurden 117 mg **123** (0,35 mmol) und 114 mg EDC·HCl (0,60 mmol) in 2 ml trockenem DCM gelöst. 2-Methoxyessigsäure (62 µl, 0,57 mmol) wurde in portionsweise hinzugegeben und die Reaktion bei Raumtemperatur gerührt, bis über HPLC der vollständige Verbrauch des Eduktes (**123**) nachgewiesen werden konnte. Das Rohprodukt wurde direkt über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH 0,5 – 5 %). Das farblose flüssige Produkt wurde in einer geringen Menge an *n*-Pentan/Diethylether aufgenommen und mit wenigen Tropfen ACN versetzt. Ultraschall führte zur Bildung feiner farbloser Kristalle (nadelförmig), welche durch Filtration gewonnen werden konnten. Ausbeute: 68 mg farbloser kristalliner Feststoff (46 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.12 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 7.88 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.81 – 7.72 (m, 2H), 7.64 – 7.53 (m, 3H), 2.48 – 2.40 (m, 1H), 1.73 – 1.58 (m, 1H), 1.51 – 1.37 (m, 1H), 1.29 (s, 12H), 1.12 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H), 0.93 – 0.87 (m, 3H). HPLC *t*_{ret} = 9.41 min. ESI-MS *m/z*: 318.5 [M-H]⁻, 454.6 [M+Cl]⁻, 420.6 [M+H]⁺, 442.6 [M+Na]⁺.

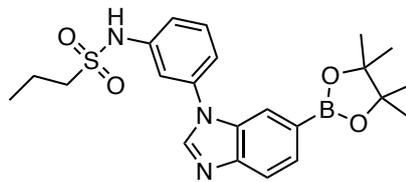
N-(3-(6-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)methansulfonamid (**126**)



Zu einer Lösung von 243 mg **124** (0,55 mmol, 85 % Reinheit) in trockenem Pyridin (4 – 5 ml) wurden 71 mg MsCl (0,62 mmol) zugegeben, wobei sich die Lösung gelb färbte. Über HPLC kann der vollständige Verbrauch des Ausgangsmaterials nach 2,5 h nachgewiesen werden. Die Reaktion wurde mit MeOH verdünnt, für weitere 15 min bei Raumtemperatur gerührt und die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer entfernt.

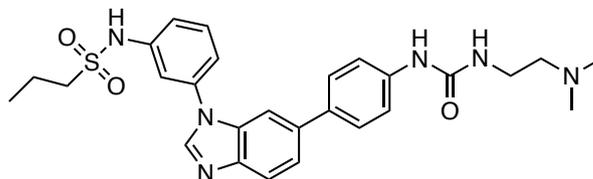
Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH 2 – 6 %). Ausbeute: farbloser Feststoff (196 mg, 87 %). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 10.17 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.78 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.66 – 7.58 (m, 2H), 7.44 (s, 1H), 7.42 – 7.32 (m, 2H), 3.13 (s, 3H), 1.30 (s, 12H). HPLC $t_{\text{ret}} = 8.11$ min. ESI-MS m/z : 412.2 $[\text{M-H}]^-$.

N-(3-(6-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)propan-1-sulfonamid (**127**)



In 5 ml trockenem Pyridin wurden 185 mg **124** (0,36 mmol, 69 % HPLC-Reinheit) und 74 mg Propan-1-sulfonylchlorid (0,52 mmol) gelöst. Die orangefarbene Reaktion wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, bis über HPLC der vollständige Verbrauch des Ausgangsmaterials nachgewiesen werden konnte. Die Reaktion wurde mit MeOH verdünnt. Das Gemisch wurde auf gesättigter NH_4Cl -Lösung gegossen und mit DCM (4x) extrahiert. Die organische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet und die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer entfernt. HPLC $t_{\text{ret}} = 8.72$ min. Ausbeute: 149 mg. (Das Rohprodukt wurde ohne weitere Charakterisierung direkt in der nächsten Reaktion verwendet).

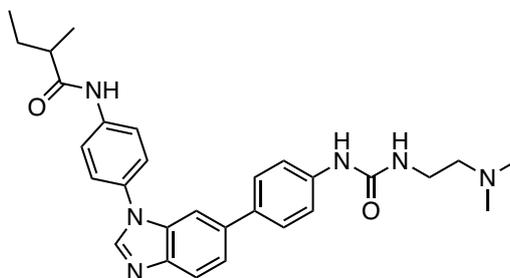
N-(3-(6-(4-(3-(2-(Dimethylamino)ethyl)ureido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)propan-1-sulfonamid (**128**)



Durchführung nach ASV 7 mit 43 mg **93** (0,15 mmol) und 91 mg **127** (58 % HPLC-Reinheit) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) bei 60 °C über Nacht. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH_3 5 – 10 %). Ausbeute: 45 mg farbloses Pulver (58 %). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 10.13 (bs, 1H),

8.75 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 7.84 – 7.76 (m, 2H), 7.64 – 7.55 (m, 5H), 7.48 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.46 – 7.42 (m, 1H), 7.31 (dd, $J = 8.1, 1.2$ Hz, 1H), 6.10 (t, $J = 5.2$ Hz, 1H), 3.24 – 3.16 (m, 4H), 2.34 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H), 2.18 (s, 6H), 1.80 – 1.68 (m, 2H), 0.96 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.1, 143.4, 142.9, 140.0, 140.0, 136.7, 136.1, 133.4, 133.1, 131.2, 127.2, 121.5, 120.2, 118.2, 117.8, 117.8, 113.4, 107.8, 58.5, 52.8, 45.0, 36.9, 16.9, 12.5. Ausbeute: 45 mg solid (58 %). HPLC $t_{\text{ret}} = 4.65$ min. ESI-MS m/z : 521.6 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 519.6 $[\text{M}-\text{H}]^-$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 693, 813, 930, 1098, 1140, 1217, 1309, 1406, 1482, 1595, 1653, 2852, 2922.

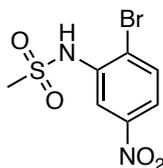
N-(4-(6-(4-(3-(2-(Dimethylamino)ethyl)ureido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)-2-methylbutanamid (**129**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 56 mg **125** (0,13 mmol) und 38 mg **93** (0,134 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) bei 60 °C über Nacht. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH_3 6 – 10 %). Ausbeute: 44 mg Feststoff (66 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.11 (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 7.88 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.79 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.71 – 7.62 (m, 3H), 7.61 – 7.52 (m, 3H), 7.47 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.09 (t, $J = 4.7$ Hz, 1H), 3.22 – 3.15 (m, 2H), 2.48 – 2.40 (m, 1H), 2.33 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 2.17 (s, 6H), 1.71 – 1.59 (m, 1H), 1.49 – 1.38 (m, 1H), 1.12 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H), 0.89 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 174.9, 155.1, 143.7, 142.7, 139.9, 138.9, 136.0, 134.0, 133.2, 130.6, 127.3, 124.4, 121.3, 120.3, 120.0, 117.8, 107.7, 58.5, 45.0, 42.2, 36.9, 26.8, 17.4, 11.7. HPLC $t_{\text{ret}} = 5.61$ min. ESI-MS m/z : 499.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 497.4 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 533.6 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 813, 836, 1184, 1224, 1290, 1308, 1407, 1513, 1595, 1653, 2776, 2855, 2872, 2923, 2958.

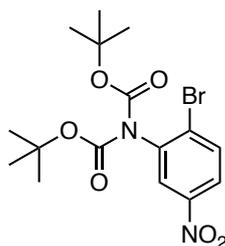
7.6 Synthese der Verbindungen aus Kapitel 3.3.2

N-(2-Brom-5-nitrophenyl)methansulfonamid (**130**)



In 5 ml trockenem Pyridin wurde 2-Brom-5-nitroanilin (1085 mg, 5,000 mmol) gelöst und 0,43 ml MsCl (5,5 mmol) über 2 – 3 min portionsweise hinzugegeben. Die Reaktion wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis über HPLC der vollständige Verbrauch des Ausgangsmaterials nachgewiesen werden konnte. Anschließend wurde der Ansatz mit einem Überschuss an MeOH gestoppt und die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: PE/EA 30 – 100 %, nicht optimal). Aufgrund persistierender Verunreinigungen im Produkt wurde dieses in MeOH aufgenommen und für 15 min gerührt. Das Produkt kann über Filtration als homogener beige-kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 632 mg (43 %). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 9.85 (s, 1H), 8.20 (dd, $J = 2.1, 0.8$ Hz, 1H), 8.00 – 7.98 (m, 2H), 3.15 (s, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, DMSO) δ 147.2, 136.8, 134.5, 126.4, 121.6, 120.6, 41.1. HPLC $t_{\text{ret}} = 4.54$ min. ESI-MS m/z : 293.2 [M-H] $^-$.

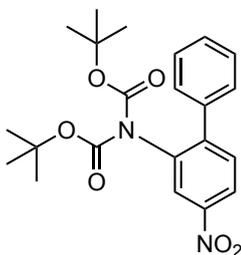
tert-Butyl(2-brom-5-nitrophenyl)(*tert*-butoxycarbonyl)carbammat (**134**)



Zu einer Lösung von 935 mg 2-Brom-5-nitroanilin (4,31 mmol) in 6 ml trockenem Dioxan wurden 2818 mg Boc_2O (12,9 mmol in 6 ml trockenem Dioxan) zugetropft. Der Reaktion wurde DMAP zugesetzt (10 mol%), wodurch sich die Lösung dunkel färbte. Die HPLC-Kontrolle der Reaktion nach 40 h zeigte eine vollständige Umsetzung des Ausgangsmaterials. Die Reaktion wurde anschließend mit Ethylacetat verdünnt und 2x mit 10 %iger HCl und 2x mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung gewaschen. Die organische Phase

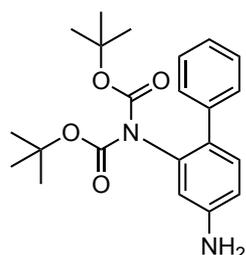
wurde über Na₂SO₄ getrocknet und die Lösungsmittel wurden unter vermindertem Druck eingengt. Der Rückstand wurde via Flash-Chromatographie mit PE/DCM 70 – 100 % aufgereinigt. Das Produkt wurde als bräunliches Öl erhalten, das unter vermindertem Druck zu einem Feststoff erstarrt. Ausbeute: 1501 mg Feststoff (84 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.41 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 8.15 (dd, *J* = 8.8, 2.7 Hz, 1H), 8.04 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 1.36 (s, 18H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 149.3, 147.2, 139.5, 133.7, 130.9, 125.2, 124.2, 83.0, 27.4. HPLC *t*_{ret} = 10.59 min. ESI-MS *m/z*: 439.2 [M+Na]⁺, 471.2 [M+MeOH+Na]⁺, 315.1 [M-C₅H₉O₂]⁺.

tert-Butyl(*tert*-butoxycarbonyl)(4-nitro-[1,1'-biphenyl]-2-yl)carbamate (**140**)



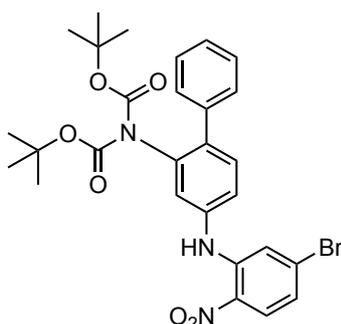
Darstellung nach ASV 7 mit 390 mg **134** (0,94 mmol) und 114 mg Phenylboronsäure (0,94 mmol) in 5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 70 °C. Der Ansatz wurde mit DCM verdünnt und mit Salzlösung gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase und Verdampfen der Lösungsmittel unter vermindertem Druck wurde das Produkt via Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: PE/DCM 50 – 100 %). Das Produkt wurde als Öl gewonnen. Mit einigen Tropfen MeOH konnte die Kristallisation initiiert werden. Ausbeute nach Filtration: 363 mg Feststoff (94 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.29 (dd, *J* = 8.5, 2.4 Hz, 1H), 8.27 – 8.24 (m, 1H), 7.69 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.53 – 7.46 (m, 3H), 7.39 – 7.33 (m, 2H), 1.24 (s, 18H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 150.3, 146.9, 146.1, 137.6, 136.5, 131.5, 128.7, 128.7, 128.2, 124.5, 123.1, 82.7, 27.2. HPLC *t*_{ret} = 10.55 min. ESI-MS *m/z*: 437.3 [M+Na]⁺, 469.4 [M+MeOH+Na]⁺.

tert-Butyl(4-amino-[1,1'-biphenyl]-2-yl)(*tert*-butoxycarbonyl)carbammat (**136**)



Zu einer Suspension aus 617 mg **140** (1,49 mmol) und 797 mg NH₄Cl (14,9 mmol) in 20 ml MeOH wurde 1,0 g Zinkpulver (15 mmol) hinzugefügt. Die Suspension wurde gerührt, bis die HPLC den vollständigen Verbrauch des Ausgangsstoffs anzeigte. Die Reaktion wurde mit DCM verdünnt und über Kieselgur filtriert. Die Lösungsmittel wurden eingedampft und das Rohprodukt wurde via Flash-Chromatographie (DCM/MeOH 0 – 3 %) aufgereinigt. Ausbeute: 1277 mg bräunlicher Feststoff (86 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.36 – 7.31 (m, 2H), 7.27 – 7.22 (m, 3H), 7.04 – 7.00 (m, 1H), 6.60 (dd, *J* = 8.3, 2.3 Hz, 1H), 6.37 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 5.28 (s, 2H), 1.22 (s, 18H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 151.4, 148.7, 139.2, 136.8, 130.4, 128.2, 128.1, 126.8, 126.2, 113.8, 113.7, 81.5, 27.3. HPLC *t*_{ret} = 10.45 min. ESI-MS *m/z*: 407.4 [M+Na]⁺, 439.4 [M+MeOH+Na]⁺.

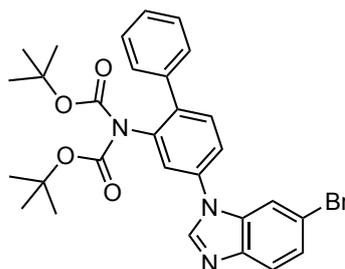
tert-Butyl(4-((5-Brom-2-nitrophenyl)amino)-[1,1'-biphenyl]-2-yl)(*tert*-butoxycarbonyl)carbammat (**138**)



Zu einer Lösung von 298 mg **136** (0,775 mmol) in 14 ml trockenem THF wurde unter Argonatmosphäre gerührt und es wurden 34 mg NaH (0,85 mmol) hinzugegeben. Nach 30 min wurde 4-Brom-2-fluor-1-nitrobenzol (179 mg, 0,814 mmol) hinzugefügt, wobei sich die Reaktion dunkelviolett färbte. Die Reaktion wurde über Nacht auf Rückfluss erhitzt. Die Reaktionskontrolle (mittels HPLC) ergab keinen vollständigen Verbrauch des Ausgangsmaterials, daher wurden insgesamt 52 mg NaH und 93 mg 4-Brom-2-fluor-1-

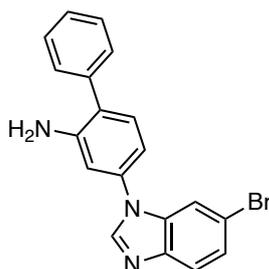
nitrobenzol zugegeben, bis mittels HPLC kein Umsatz mehr nachgewiesen werden konnte. Die Reaktion wurde mit gesättigter NH_4Cl -Lösung gestoppt und das Produkt mit DCM extrahiert. Nach Trocknung und Einengen der organischen Phasen wurde das Produkt durch Flash-Chromatographie (PE/DCM 75 – 100 %) aufgereinigt. Ausbeute: 257 mg orange solid (57 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.55 (s, 1H), 8.08 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.49 – 7.43 (m, 3H), 7.43 – 7.33 (m, 5H), 7.25 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.08 (dd, $J = 9.0, 2.0$ Hz, 1H), 1.27 (s, 18H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 150.6, 142.8, 138.5, 137.9, 137.4, 136.5, 132.9, 131.2, 129.9, 128.4, 128.3, 128.3, 127.5, 124.7, 124.3, 121.0, 118.5, 82.0, 27.3. HPLC $t_{\text{ret}} = 14.94$ min (Methode B). ESI-MS m/z : 582.2 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 606.3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 638.3 $[\text{M}+\text{MeOH}+\text{Na}]^+$.

tert-Butyl(4-(6-Brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)-[1,1'-biphenyl]-2-yl)(*tert*-butoxycarbonyl)carbammat (**141**)



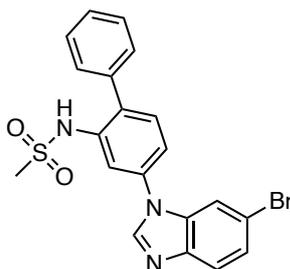
Darstellung nach ASV 4 unter Benutzung von 247 mg **138** (0.422 mmol). Das Produkt wurde durch Flash-Chromatographie (DCM/MeOH 1 – 3 %) aufgereinigt. Ausbeute: 182 mg rötlicher Feststoff (76 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.69 (s, 1H), 7.87 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.79 – 7.77 (m, 1H), 7.76 – 7.74 (m, 2H), 7.62 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.52 – 7.46 (m, 3H), 7.45 – 7.36 (m, 3H), 1.28 (s, 18H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 150.5, 144.1, 142.9, 138.9, 137.8, 137.5, 134.9, 134.2, 131.7, 128.5, 128.3, 127.9, 125.7, 124.3, 123.6, 121.8, 116.0, 113.4, 82.2, 27.4. HPLC $t_{\text{ret}} = 12.85$ min (Methode B). ESI-MS m/z : 586.4 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

4-(6-Brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)-[1,1'-biphenyl]-2-amin (**142**)



Zu einer Lösung von **141** (176 mg, 0,312 mmol) in 8 ml EtOH wurden 3 ml ethanolische HCl (1,25 M) gegeben. Die Reaktion wurde 6 h lang bei 50 – 60 °C gerührt. Die rote Suspension (weißer Feststoff) wurde mit Et₂O (ca. 10 ml) verdünnt und das Produkt via Filtration gewonnen. Der weiße Feststoff wurde in gesättigter NaHCO₃-Lösung suspendiert und die freie Base mit DCM (2x) extrahiert. Nach Trocknung und Einengen der organischen Phase wurde das Produkt als bräunlicher Feststoff gewonnen (93 mg, 82 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.57 (s, 1H), 7.82 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.74 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.53 – 7.47 (m, 4H), 7.46 (dd, *J* = 8.6, 1.9 Hz, 1H), 7.43 – 7.36 (m, 1H), 7.21 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.04 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 6.89 (dd, *J* = 8.0, 2.2 Hz, 1H), 5.23 (s, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 146.7, 144.1, 142.9, 138.6, 135.4, 134.2, 131.6, 128.9, 128.6, 127.2, 125.4, 125.3, 121.7, 115.8, 113.6, 111.4, 109.3. HPLC *t*_{ret} = 11.73 min.

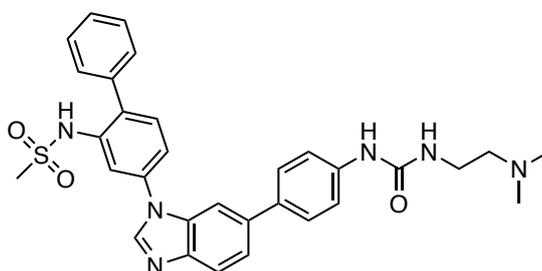
N-(4-(6-Brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)-[1,1'-biphenyl]-2-yl)methansulfonamid (**143**)



142 (88 mg, 0.42 mmol) wurde in 5 ml trockenem Pyridin gelöst/suspendiert. MsCl (20 µl, 0,25 mmol) wurde zugegeben und die gelbliche Lösung bei Raumtemperatur gerührt. Die HPLC-Kontrolle der Reaktion (nach 1,5 h) zeigte eine langsame Umsetzung, weshalb der Ansatz auf 50 °C erhitzt wurde. Nach 12 h wurden weitere 22 µl MsCl (0,28 mmol) zugegeben, da die Reaktion zum Stillstand kam. Nach weiteren 48 h war die Reaktion nahezu vollständig umgesetzt und wurde mit MeOH gestoppt. Die Lösungsmittel wurden evaporiert und das Produkt wurde durch Flash-Chromatographie (DCM/MeOH 1,5 –

2,7 %) aufgereinigt, um das gewünschte Produkt als Feststoff zu erhalten (0,08 g, 75 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.24 (s, 1H), 8.69 (s, 1H), 7.86 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.77 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.72 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.66 (dd, $J = 8.2, 2.2$ Hz, 1H), 7.58 – 7.55 (m, 1H), 7.54 – 7.47 (m, 5H), 7.46 – 7.41 (m, 1H), 2.87 (s, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 144.2, 142.9, 137.8, 137.1, 135.4, 135.0, 134.2, 132.5, 129.4, 128.5, 127.7, 125.7, 121.8, 121.4, 121.2, 116.1, 113.5, 41.1. HPLC $t_{\text{ret}} = 8.82$ min. ESI-MS m/z : 440.1 $[\text{M-H}]^-$.

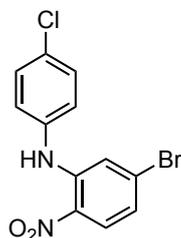
N-(4-(6-(4-(3-(2-(Dimethylamino)ethyl)ureido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)-[1,1'-biphenyl]-2-yl)methansulfonamid (**144**)



Durchführung nach ASV 7 mit 73 mg **143** (0,17 mmol) und 50 mg **94** (0,15 mmol) in 4 ml Dioxan/Wasser (4 + 1). Die Reaktion wurde bei 75 °C für 8 h lang gerührt, bis via DC ein vollständiger Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts nachgewiesen werden konnten (bestätigt durch DC-MS). Gradient (FC): DCM/MeOH + NH_3 2 N 5 – 10 %. Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM aufgenommen, mit *n*-Pentan ausgefällt und durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 60 mg Feststoff (70 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.26 (bs, 1H), 8.76 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 7.91 – 7.86 (m, 1H), 7.85 – 7.79 (m, 2H), 7.67 – 7.58 (m, 4H), 7.58 – 7.53 (m, 3H), 7.52 – 7.46 (m, 4H), 7.45 – 7.39 (m, 1H), 6.12 (t, $J = 5.0$ Hz, 1H), 3.20 (dd, $J = 11.3, 5.7$ Hz, 2H), 2.88 (s, 3H), 2.37 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H), 2.20 (s, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.1, 143.5, 142.9, 140.0, 138.1, 136.1, 135.5, 133.6, 133.1, 132.4, 129.5, 128.9, 128.6, 128.4, 127.5, 127.3, 121.5, 120.5, 120.3, 120.2, 117.8, 107.8, 58.4, 44.9, 40.9, 36.8. HPLC $t_{\text{ret}} = 7.73$ min. ESI-MS m/z : 569.2 $[\text{M+H}]^+$, 567.2 $[\text{M-H}]^-$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 701, 755, 813, 911, 969, 1098, 1149, 1221, 1313, 1406, 1472, 1487, 1519, 1595, 1663, 2770, 2822, 2932, 3029, 3301.

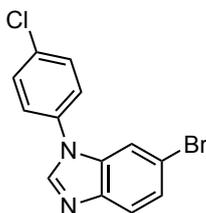
7.7 Synthese der Verbindungen aus Kapitel 3.3.3

5-Brom-*N*-(4-chlorphenyl)-2-nitroanilin (**145**)



Zu einer Lösung von 3650 mg 4-Chloranilin (28,61 mmol) und 6360 mg 4-Brom-2-fluor-1-nitrobenzol (29,06 mmol) in 50 ml DMSO wurden 9 ml Et₃N (65 mmol) hinzugegeben und die Reaktion wurde über Nacht auf 60 °C erhitzt. Nach vollständiger Umsetzung wurde der Ansatz mit einem Überschuss an Wasser verdünnt. Die resultierende Suspension wurde filtriert, um das Rohprodukt zu erhalten. Der orangefarbene Feststoff wurde in MeOH suspendiert und unter Refluxbedingungen gerührt (ca. 15 – 30 min). Die Suspension wurde auf Raumtemperatur gekühlt und eine Stunde lang bei 0 °C gelagert. Das Produkt wurde durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 5630 mg oranger Feststoff (60 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.44 (s, 1H), 8.04 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.52 – 7.45 (m, 2H), 7.40 – 7.33 (m, 2H), 7.20 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.05 (dd, *J* = 9.0, 2.0 Hz, 1H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 142.5, 137.8, 133.0, 129.9, 129.6, 129.4, 128.2, 126.0, 121.1, 118.7. HPLC *t*_{ret} = 10.58 min. ESI-MS *m/z*: 325.1 [M-H]⁻.

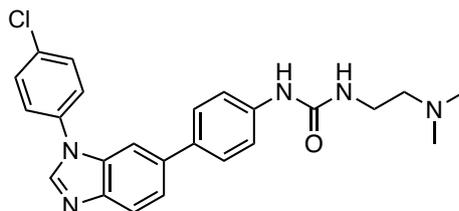
6-Brom-1-(4-chlorphenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol (**146**)



Synthese nach **ASV 3** unter Verwendung von 5435 mg **145** (16,59 mmol), 10,85 g Zn-Pulver (165,9 mmol) und 8,88 g NH₄Cl in ca. 100 ml MeOH und anschließend nach **ASV 4** mit 316 mg *p*-TsOH·H₂O (1,66 mmol) und 8,3 ml Triethylorthoformiat (49,8 mmol) in ca. 100 ml Toluol. Das schwarze Rohprodukt wurde in einer kleinen Menge MeOH suspendiert und die Suspension wurde unter Kühlung (Kühlmittel: EtOH + Eis) gerührt. Das Produkt wurde durch Filtration gewonnen und mit einer kleinen Menge an kaltem MeOH gewaschen. Ausbeute: 4586 mg weißer Feststoff (90 %). ¹H NMR (400 MHz,

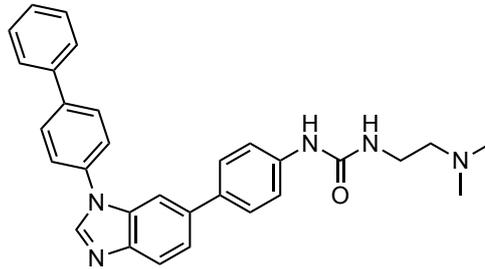
DMSO) δ 8.60 (s, 1H), 7.78 – 7.72 (m, 4H), 7.68 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.46 (dd, J = 8.6, 1.6 Hz, 1H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 144.3, 142.7, 134.3, 134.2, 132.4, 130.0, 125.7, 125.7, 121.7, 116.1, 113.4. HPLC = 9.59 min.

1-(4-(1-(4-Chlorphenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)-3-(2-(dimethylamino)ethyl)harnstoff (**147**, **FM-987**)



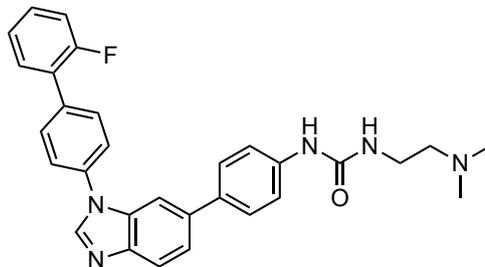
Durchführung nach **ASV 7** mit 1538 mg **146** (5,00 mmol) und 1666 mg **94** (5,00 mmol) in 50 ml Dioxan/Wasser (4 + 1). Das Rühren wurde über Nacht bei 75 °C fortgesetzt, bis die DC einen vollständigen Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Bildung des gewünschten Produkts zeigte (bestätigt durch DC-MS). Die Reaktion wurde mit NaCl-Lösung verdünnt und das Produkt mit Ethylacetat extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, über Na_2SO_4 getrocknet und die Lösungsmittel wurden evaporiert, um das Rohprodukt als Schaum zu erhalten. Das Produkt wurde in ACN gelöst und 1 h bei -18 °C gelagert. Trituration führte zu einer Suspension, die mit kaltem ACN verdünnt wurde. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff abfiltriert. Ausbeute: 1591 mg Feststoff (73 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.76 (br s, 1H), 8.56 (s, J = 9.1 Hz, 1H), 7.83 – 7.78 (m, 3H), 7.74 – 7.67 (m, 3H), 7.61 – 7.54 (m, 3H), 7.51 – 7.43 (m, 2H), 6.10 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 3.22 – 3.14 (m, 2H), 2.33 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.1, 143.6, 142.8, 140.0, 136.2, 134.9, 133.6, 133.1, 132.0, 130.0, 127.4, 125.6, 121.6, 120.2, 117.8, 107.8, 58.5, 45.0, 36.9. HPLC t_{ret} = 5.28 min. ESI-MS m/z : 434.6 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

1-(4-(1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)-3-(2-(dimethylamino)ethyl)harnstoff (**148**, LS-48)



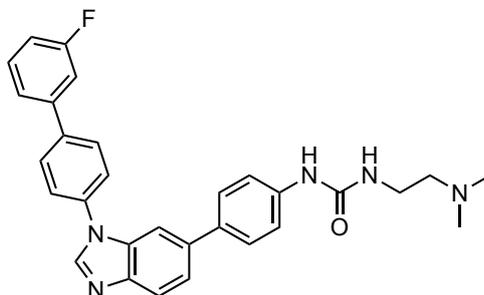
Durchführung nach **ASV 7** mit 65 mg **147** (0,15 mmol) und 37 mg Phenylboronsäure (0,30 mmol) in 4,2 ml Dioxan/Wasser (4 + 1). Die Reaktion wurde über Nacht bei 75 °C gerührt. Gradient (FC): DCM/MeOH + NH₃ 2 N 5 – 10 %. Ausbeute: 56 mg Feststoff (79 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.76 (s, 1H), 8.61 (s, 1H), 7.96 – 7.91 (m, 2H), 7.87 – 7.81 (m, 3H), 7.80 – 7.75 (m, 3H), 7.61 – 7.56 (m, 3H), 7.55 – 7.46 (m, 4H), 7.45 – 7.39 (m, 1H), 6.10 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.21 – 3.16 (m, 2H), 2.33 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H). HPLC *t*_{ret} = 7.02 min. ESI-MS *m/z*: 476.3 [M+H]⁺.

1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-(4-(1-(2'-fluor-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)harnstoff (**149**)



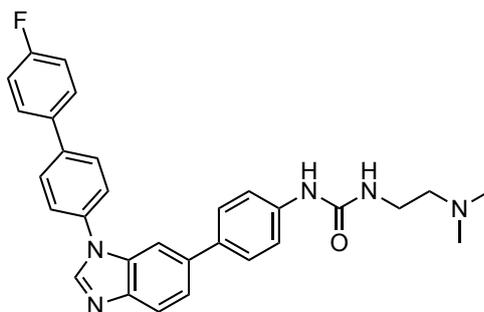
Durchführung nach **ASV 7** mit 65 mg **147** (0,15 mmol) und 42 mg (2-Fluorphenyl)boronsäure (0,30 mmol) in 4,2 ml Dioxan/Wasser (3 + 1) über Nacht bei 80 °C. Gradient (FC): DCM/MeOH + NH₃ 2 N 6 – 10 %. Das Produkt wurde in einer kleinen Menge EA aufgenommen, mit *n*-Pentan ausgefällt und mittels Filtration gewonnen. Ausbeute: 60 mg Feststoff (81 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.75 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 7.88 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.85 – 7.78 (m, 4H), 7.67 – 7.56 (m, 4H), 7.51 – 7.45 (m, 3H), 7.40 – 7.33 (m, 2H), 6.10 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.19 (m, *J* = 11.6, 5.8 Hz, 2H), 2.33 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H). HPLC *t*_{ret} = 7.09 min. ESI-MS *m/z*: 494.5 [M+H]⁺. IR [cm⁻¹] 755, 813, 1224, 1290, 1406, 1469, 1485, 1522, 1595, 1654, 2771, 2819, 2937, 3314.

1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-(4-(1-(3'-fluor-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)harnstoff (**150**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 65 mg **147** (0,15 mmol) und 42 mg (3-Fluorphenyl)boronsäure (0,30 mmol) in 4.2 ml Dioxan/Wasser (3 + 1). Die Reaktion wurde über Nacht bei 75 °C gerührt. Gradient (FC): DCM/MeOH + NH₃ (2 N) 6 – 10 %. Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM aufgenommen, mit *n*-Pentan ausgefällt und mittels Filtration gewonnen. Ausbeute: 50 mg farbloser Feststoff (68 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.76 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 7.98 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.87 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.85 – 7.81 (m, 1H), 7.80 – 7.78 (m, 1H), 7.67 – 7.53 (m, 6H), 7.48 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.29 – 7.22 (m, 1H), 6.10 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.22 – 3.16 (m, *J* = 11.6, 5.9 Hz, 2H), 2.33 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.18 (s, 6H) (kleinere Verunreinigungen im NMR im arom. Bereich; wurde dennoch getestet, da HPLC-Reinheit > 98 %). HPLC *t*_{ret} = 7.16 min. ESI-MS *m/z*: 494.4 [M+H]⁺. IR [cm⁻¹] 783, 814, 836, 880, 1183, 1226, 1250, 1290, 1445, 1472, 1487, 1523, 1540, 1590, 1654, 2768, 2820, 2858, 2935, 2968, 3320.

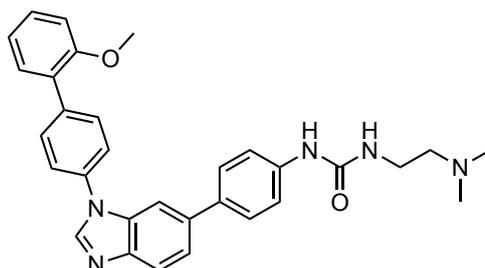
1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-(4-(1-(4'-fluor-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)harnstoff (**151**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 62 mg **147** (0,13 mmol) und 24 mg 4-Fluorphenylboronsäure (0,17 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1). Die Reaktion wurde über Nacht

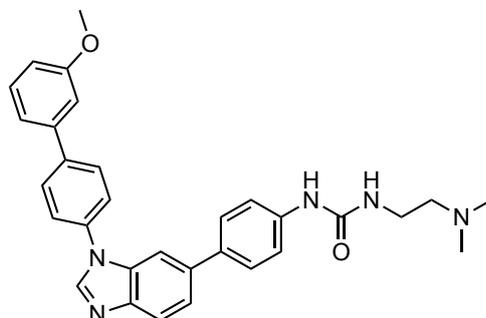
bei 70 °C gerührt. Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 4 – 10 %. Das Produkt wurde in einer kleinen Menge EA aufgenommen, mit *n*-Pentan ausgefällt und mittels Filtration gewonnen. Ausbeute: 54 mg farbloser Feststoff (84 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.75 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 7.91 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.86 – 7.80 (m, 5H), 7.78 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 7.61 – 7.55 (m, 3H), 7.48 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.34 (t, *J* = 8.9 Hz, 2H), 6.10 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.21 – 3.15 (m, *J* = 11.5, 6.0 Hz, 2H), 2.33 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 162.02 (d, *J* = 244.9 Hz), 155.0, 143.5, 142.9, 139.9, 138.4, 136.1, 135.50 (d, *J* = 3.0 Hz), 135.2, 133.7, 133.2, 128.70 (d, *J* = 8.2 Hz), 128.2, 127.2, 124.2, 121.4, 120.1, 117.8, 115.77 (d, *J* = 21.4 Hz), 107.8, 58.5, 44.9, 36.9. HPLC *t*_{ret} = 6.95 min. ESI-MS *m/z*: 494.2 [M+H]⁺. IR [cm⁻¹] 813, 1158, 1223, 1292, 1312, 1407, 1445, 1469, 1497, 1523, 1595, 1654, 2771, 2820, 3309.

1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-(4-(1-(2'-methoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)harnstoff (**152**)



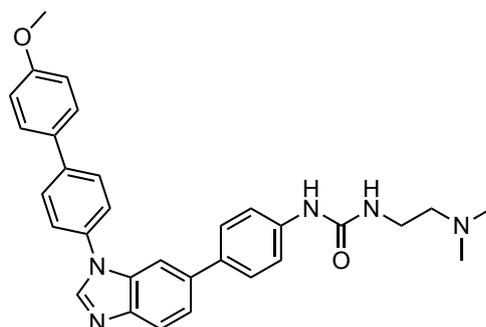
Durchführung nach **ASV 7** mit 65 mg **147** (0,15 mmol) und 46 mg (2-Methoxyphenyl)boronsäure (0,30 mmol) in 4,2 ml Dioxan/Wasser (3 + 1). Die Reaktion wurde über Nacht bei 80 °C gerührt. Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 6 – 10 %. Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM gelöst, mit *n*-Pentan ausgefällt und mittels Filtration gewonnen. Ausbeute: 60 mg farbloser Feststoff (79 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.74 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 7.85 – 7.76 (m, 4H), 7.74 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.62 – 7.54 (m, 3H), 7.48 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.43 – 7.36 (m, 2H), 7.20 – 7.14 (m, 1H), 7.12 – 7.05 (m, 1H), 6.10 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.22 – 3.15 (m, *J* = 11.5, 5.9 Hz, 2H), 2.33 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 156.2, 155.1, 143.7, 142.9, 139.9, 137.5, 136.2, 134.6, 133.7, 133.3, 130.8, 130.4, 129.3, 128.6, 127.4, 123.3, 121.5, 120.9, 120.1, 117.8, 111.8, 107.9, 58.5, 55.5, 45.0, 36.9. HPLC *t*_{ret} = 6.97 min. ESI-MS *m/z*: 506.5 [M+H]⁺. IR [cm⁻¹] 753, 814, 837, 1005, 1024, 1225, 1406, 1469, 1488, 1518, 1595, 1654, 2771, 2820, 2938, 3312.

1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-(4-(1-(3'-methoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)harnstoff (**153**)



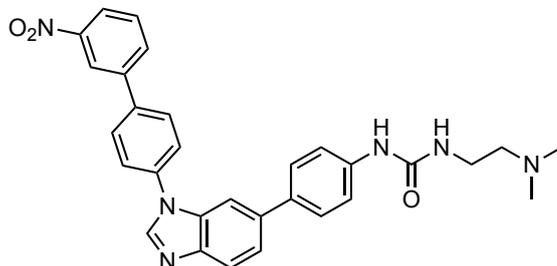
Durchführung nach **ASV 7** mit 65 mg **147** (0,15 mmol) und 46 mg (3-Methoxyphenyl)boronsäure (0,30 mmol) in 4.2 ml Dioxan/Wasser (3 + 1). Die Reaktion wurde über Nacht bei 80 °C gerührt. Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 6 – 10 %. Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM gelöst, mit *n*-Pentan ausgefällt und mittels Filtration gewonnen. Ausbeute: 49 mg farbloser Feststoff (65 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.74 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 7.94 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.87 – 7.81 (m, 3H), 7.80 – 7.76 (m, 1H), 7.62 – 7.55 (m, 3H), 7.48 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.43 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.37 – 7.28 (m, 2H), 6.99 (dd, *J* = 8.1, 2.1 Hz, 1H), 6.09 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.22 – 3.15 (m, *J* = 11.6, 5.9 Hz, 2H), 2.33 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 159.8, 155.1, 143.7, 142.9, 140.6, 140.0, 139.3, 136.2, 135.3, 133.7, 133.2, 130.1, 128.4, 127.3, 124.1, 121.5, 120.2, 119.0, 117.8, 113.5, 112.2, 107.9, 58.5, 55.2, 45.0, 36.9. HPLC *t*_{ret} = 7.03 min. ESI-MS *m/z*: 506.4 [M+H]⁺. IR [cm⁻¹] 813, 1014, 1030, 1051, 1211, 1292, 1405, 1469, 1483, 1521, 1595, 1653, 2768, 2820, 2936, 3329.

1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-(4-(1-(4'-methoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)harnstoff (**154**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 65 mg **147** (0,15 mmol) und 46 mg (4-Methoxyphenyl)boronsäure (0,30 mmol) in 4.2 ml Dioxan/Wasser (3 + 1). Die Reaktion wurde über Nacht bei 80 °C gerührt. Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 6 – 10 %. Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM gelöst, mit *n*-Pentan ausgefällt und mittels Filtration gewonnen. Ausbeute: 64 mg Feststoff (84 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.76 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 7.88 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.84 – 7.78 (m, 3H), 7.78 – 7.76 (m, 1H), 7.72 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.62 – 7.55 (m, 3H), 7.48 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.07 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.10 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.21 – 3.16 (m, *J* = 11.5, 5.8 Hz, 2H), 2.33 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 159.2, 155.1, 143.7, 142.9, 140.0, 139.2, 136.1, 134.6, 133.8, 133.2, 131.4, 127.9, 127.7, 127.3, 124.2, 121.5, 120.1, 117.8, 114.5, 107.9, 58.5, 55.2, 45.0, 36.9. HPLC *t*_{ret} = 7.03 min. ESI-MS *m/z*: 506.4 [M+H]⁺. IR [cm⁻¹] 813, 1038, 1176, 1224, 1245, 1291, 1406, 1469, 1498, 1597, 1653, 2773, 2823, 2939, 3313.

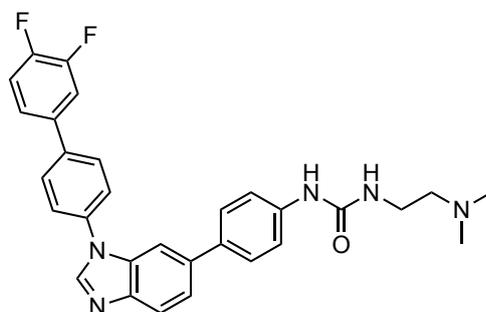
1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-(4-(1-(3'-nitro-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)harnstoff (**155**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 65 mg **147** (0,15 mmol) und 50 mg (3-Nitrophenyl)boronsäure (0,30 mmol) in 4,2 ml Dioxan/Wasser (3 + 1). Die Reaktion wurde über Nacht bei 80 °C gerührt. Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 3,5 – 10 %. Das gelbliche Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM gelöst, mit *n*-Pentan ausgefällt und mittels Filtration gewonnen. Ausbeute: 56 mg gelber Feststoff (72 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.76 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.55 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.31 – 8.22 (m, 2H), 8.07 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.93 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.86 – 7.77 (m, 3H), 7.64 – 7.55 (m, 3H), 7.48 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.10 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.23 – 3.14 (m, *J* = 11.5, 5.9 Hz, 2H), 2.33 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.1, 148.5, 143.7, 143.0, 140.7, 140.0, 137.0, 136.2, 136.2, 133.6, 133.3, 133.1, 130.7, 128.8, 127.4, 124.3, 122.5, 121.6, 121.3, 120.2, 117.8, 107.9, 58.5, 45.0, 36.9. HPLC *t*_{ret} = 6.97 min. ESI-MS

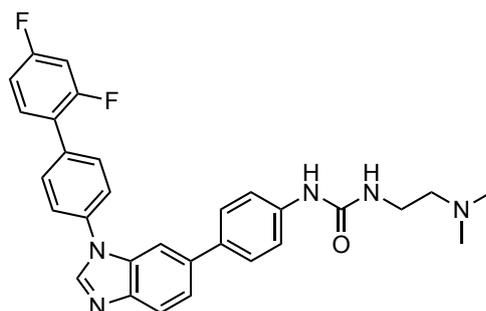
m/z: 543.4 [M+Na]⁺, 555.5 [M+Cl]⁻. IR [cm⁻¹] 722, 777, 813, 1225, 1347, 1470, 1515, 1596, 1661.

1-(4-(1-(3',4'-Difluor-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)-3-(2-(dimethylamino)ethyl)harnstoff (**157**)



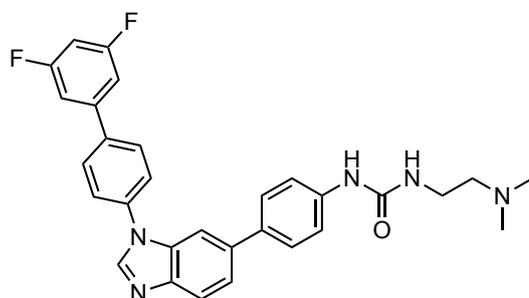
Durchführung nach **ASV 7** mit 62 mg **147** (0,13 mmol) und 27 mg 3,4-Difluorphenylboronsäure (0,17 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (3 + 1). Die Reaktion wurde über Nacht bei 70 °C gerührt. Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 4 – 10 %. Das Produkt wurde in einer kleinen Menge EA aufgenommen, mit *n*-Pentan ausgefällt und mittels Filtration gewonnen. Ausbeute: 58 mg farbloser Feststoff (87 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.75 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 7.96 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.93 – 7.84 (m, 3H), 7.82 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.79 – 7.76 (m, 1H), 7.68 – 7.62 (m, 1H), 7.62 – 7.53 (m, 4H), 7.48 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.10 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.21 – 3.15 (m, *J* = 11.6, 5.9 Hz, 2H), 2.33 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H). HPLC *t*_{ret} = 7.30 min. ESI-MS m/z: 512.2 [M+H]⁺, 546.1 [M+Cl]⁻. IR [cm⁻¹] 773, 811, 1116, 1182, 1223, 1265, 1277, 1310, 1405, 1469, 1502, 1597, 1654, 2770, 2819, 2944, 3319.

1-(4-(1-(2',4'-Difluor-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)-3-(2-(dimethylamino)ethyl)harnstoff (**158**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 65 mg **147** (0,15 mmol) und 47 mg 2,4-Difluorphenylboronsäure (0,30 mmol) in 4,2 ml Dioxan/Wasser (3 + 1). Die Reaktion wurde über Nacht bei 80 °C gerührt. Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 7 – 10 %. Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM aufgenommen, mit *n*-Pentan und Ethylacetat ausgefällt und mittels Filtration gewonnen. Ausbeute: 53 mg farbloser Feststoff (69 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.75 (s, 1H), 8.61 (s, 1H), 7.88 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.85 – 7.77 (m, 4H), 7.74 – 7.66 (m, 1H), 7.62 – 7.55 (m, 3H), 7.48 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.45 – 7.38 (m, 1H), 7.25 (td, *J* = 8.4, 2.1 Hz, 1H), 6.10 (t, *J* = 5.1 Hz, 1H), 3.23 – 3.15 (m, *J* = 11.5, 5.8 Hz, 2H), 2.33 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 162.4 (dd, *J* = 247.4, 12.3 Hz), 159.7 (dd, *J* = 248.9, 12.4 Hz), 155.6, 144.2, 143.4, 140.5, 136.7, 136.1, 134.1, 134.0 – 133.9 (m), 133.7, 132.4 (dd, *J* = 9.7, 4.6 Hz), 130.9 (d, *J* = 2.7 Hz), 127.9, 124.4, 124.4 (dd, *J* = 13.2, 3.9 Hz), 122.1, 120.7, 118.3, 112.7 (dd, *J* = 21.1, 3.6 Hz), 108.4, 105.5 – 104.8 (m). HPLC *t*_{ret} = 7.15 min. ESI-MS *m/z*: 512.4 [M+H]⁺. IR [cm⁻¹] 811, 841, 964, 1100, 1141, 1224, 1470, 1496, 1523, 1595, 1655, 1663.

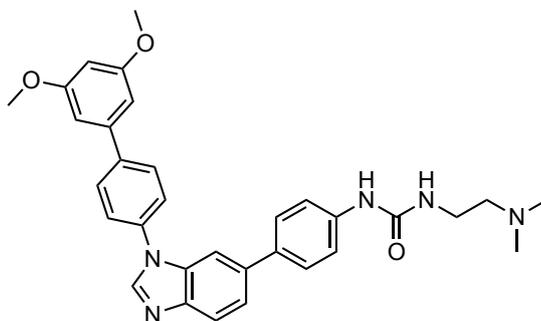
1-(4-(1-(3',5'-Difluor-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)-3-(2-(dimethylamino)ethyl)harnstoff (**159**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 65 mg **147** (0,15 mmol) und 47 mg 3,5-Difluorphenylboronsäure (0,30 mmol) in 4,2 ml Dioxan/Wasser (3 + 1). Die Reaktion wurde über Nacht bei 75 °C gerührt. Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 6 – 10 %. Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM aufgenommen, mit *n*-Pentan ausgefällt und mittels Filtration gewonnen. Ausbeute: 39 mg weißer Feststoff (51 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.76 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.02 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.88 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.82 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.63 – 7.53 (m, 5H), 7.48 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.28 (tt, *J* = 9.2, 2.0 Hz, 1H), 6.10 (t, *J* = 5.1 Hz, 1H), 3.21 – 3.15 (m, *J* = 11.4, 5.8 Hz, 2H), 2.33 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H). HPLC *t*_{ret} = 7.30 min. ESI-MS *m/z*: 512.2 [M+H]⁺,

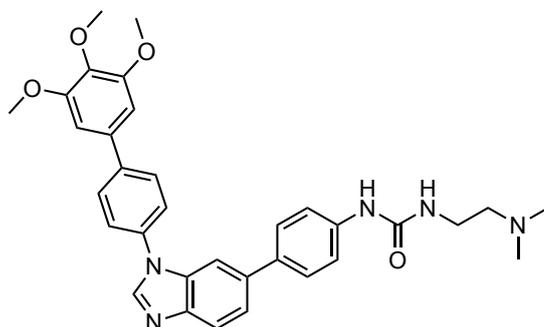
546.1 [M+Cl]⁻. IR [cm⁻¹] 813, 833, 988, 1113, 1204, 1225, 1292, 1450, 1470, 1491, 1521, 1593, 1653, 2776, 2819, 2941, 3293.

1-(4-(1-(3',5'-Dimethoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)-3-(2-(dimethylamino)ethyl)harnstoff (**160**)



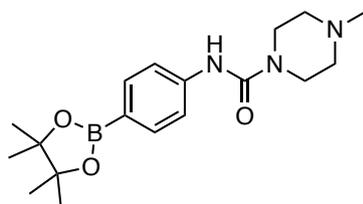
Durchführung nach **ASV 7** mit 65 mg **147** (0,15 mmol) und 55 mg (3,5-Dimethoxyphenyl)boronsäure (0,30 mmol) in 4,2 ml Dioxan/Wasser (3 + 1). Die Reaktion wurde über Nacht bei 80 °C gerührt. Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 3,5 – 10 %. Der gelbliche Feststoff wurde in MeOH umkristallisiert. Ausbeute: 42 mg farbloser Feststoff (52 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.75 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 7.94 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.86 – 7.81 (m, 3H), 7.79 – 7.77 (m, 1H), 7.61 – 7.56 (m, 3H), 7.47 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.89 (d, *J* = 2.2 Hz, 2H), 6.56 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H), 6.10 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.84 (s, 6H), 3.21 – 3.15 (m, *J* = 11.6, 6.0 Hz, 2H), 2.32 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 161.0, 155.1, 143.7, 142.9, 141.3, 140.0, 139.4, 136.2, 135.4, 133.7, 133.2, 128.5, 127.4, 124.1, 121.5, 120.2, 117.8, 107.9, 104.9, 99.8, 58.5, 55.3, 45.0, 36.9. HPLC *t*_{ret} = 7.30 min. ESI-MS *m/z*: 535.8 [M+H]⁺, 533.8 [M-H]⁻, 569.9 [M+Cl]⁻, 557.8 [M+Na]⁺. IR [cm⁻¹] 801, 828, 1033, 1158, 1198, 1210, 1218, 1335, 1406, 1473, 1521, 1591, 1632, 2768, 2822, 2938, 3086, 3308.

1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-(4-(1-(3',4',5'-trimethoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)harnstoff (**161**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 87 mg **147** (0,20 mmol) und 85 mg (3,4,5-Trimethoxyphenyl)boronsäure (0,40 mmol) in 4,2 ml Dioxan/Wasser (3 + 1). Die Reaktion wurde über Nacht bei 70 °C gerührt. Lösungsmittel (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃. Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM aufgenommen, mit *n*-Pentan ausgefällt und mittels Filtration gewonnen. Ausbeute: 94 mg weißlicher Feststoff (83 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.73 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 7.96 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.87 – 7.80 (m, 3H), 7.77 (s, 1H), 7.62 – 7.55 (m, 3H), 7.47 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.02 (s, 2H), 6.09 (t, *J* = 5.1 Hz, 1H), 3.90 (s, 6H), 3.72 (s, 3H), 3.22 – 3.16 (m, 2H), 2.33 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.2, 153.3, 143.7, 142.9, 139.9, 139.7, 137.5, 136.2, 135.1, 134.9, 133.8, 133.3, 128.4, 127.4, 124.1, 121.5, 120.2, 117.9, 107.9, 104.3, 60.1, 58.4, 56.1, 44.9, 36.8. HPLC *t*_{ret} = 6.62 min. ESI-MS *m/z*: 566.9 [M+H]⁺. IR [cm⁻¹] 774, 815, 878, 912, 1003, 1124, 1185, 1227, 1291, 1313, 1343, 1402, 1471, 1498, 1524, 1591, 1666, 2824, 2938, 3329.

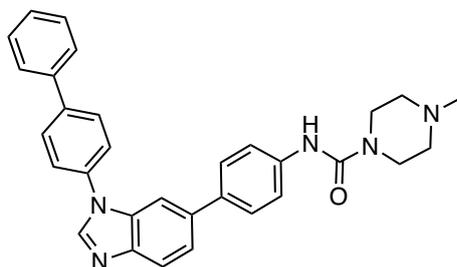
4-Methyl-*N*-(4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)piperazin-1-carboxamid (**164**)



Zu einer Lösung von **95** (254, 0,750 mmol) in 2 ml trockenem THF wurde 1-Methylpiperazin (75 mg, 0,75 mmol) zugegeben und die Reaktion über Nacht bei 70 °C gerührt. Zur Reaktion wurde mit ACN/*n*-Pentan (ca. 2 ml, 1 + 1, zweiphasig) gegeben und

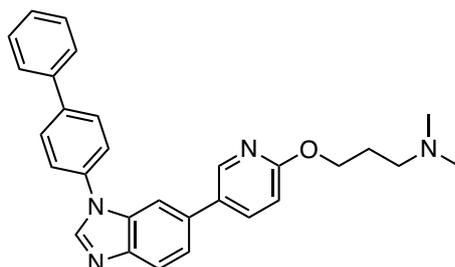
die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer entfernt. Der erhaltene Feststoff wurde in Diethylether suspendiert und das Produkt durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 110 mg (42 %). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 8.67 (s, 1H), 7.59 – 7.45 (m, 4H), 3.49 – 3.41 (m, 4H), 2.42 – 2.30 (m, 4H), 2.23 (s, 3H), 1.27 (s, 12H). HPLC $t_{\text{ret}} = 4.283$ min. ESI-MS m/z : 346.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

N-(4-(1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)-4-methylpiperazin-1-carboxamid (**165**)



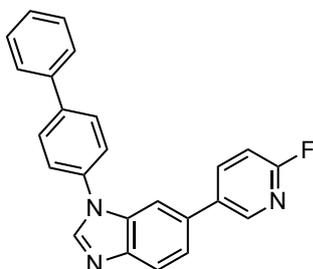
Durchführung nach **ASV 7** mit 47 mg 1-([1,1'-biphenyl]-4-yl)-6-Brom-1*H*-benzimidazol (0,136 mmol) und 48 mg **94** (0,136 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser bei 60 °C über Nacht. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH 2 – 10 %). Ausbeute: 64 mg beiger Feststoff (97 %). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 8.68 – 8.52 (m, 2H), 7.93 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.88 – 7.73 (m, 6H), 7.65 – 7.48 (m, 7H), 7.45 – 7.39 (m, 1H), 3.50 – 3.41 (m, 4H), 2.37 – 2.26 (m, 4H), 2.20 (s, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, DMSO) δ 154.9, 143.7, 143.0, 139.9, 139.5, 139.1, 136.1, 135.2, 133.9, 133.7, 129.1, 128.3, 127.8, 127.0, 126.8, 124.3, 121.6, 120.2, 119.8, 108.0, 54.5, 45.7, 43.6. HPLC $t_{\text{ret}} = 7.03$ min. ESI-MS m/z : 488.6 $[\text{M}+\text{H}]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 695, 761, 812, 999, 1141, 1225, 1290, 1411, 1490, 1521, 1592, 1636, 2790, 2846, 2931.

3-((5-(1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)pyridin-2-yl)oxy)-*N,N*-dimethylpropan-1-amin (**166**)



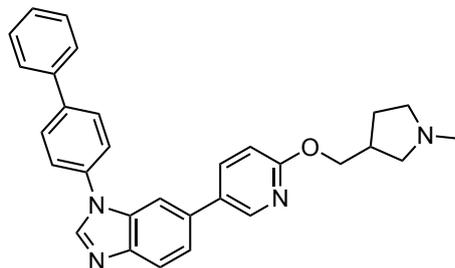
Durchführung nach **ASV 7** mit 55 mg 1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-6-brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol (0,16 mmol) und 45 mg **60** (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1). Die Reaktion wurde über Nacht bei 70 °C gerührt. Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 6 – 10 %. Ausbeute: 34 mg halbfestes Produkt (48 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.65 (s, 1H), 8.52 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 8.08 (dd, *J* = 8.6, 2.6 Hz, 1H), 7.95 – 7.91 (m, 2H), 7.89 – 7.84 (m, 4H), 7.79 – 7.76 (m, 2H), 7.60 (dd, *J* = 8.4, 1.7 Hz, 1H), 7.55 – 7.50 (m, 2H), 7.45 – 7.40 (m, 1H), 6.91 – 6.86 (m, 1H), 4.32 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 2.35 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.14 (s, 6H), 1.86 (p, *J* = 6.8 Hz, 2H). HPLC *t*_{ret} = 9.78 min. ESI-MS *m/z*: 449.4 [M+H]⁺.

1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-6-(6-fluorpyridin-3-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol (**167**)



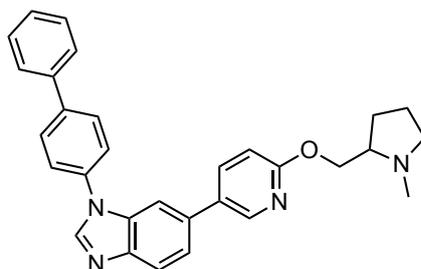
Durchgeführt nach **ASV 7** mit 126 mg 1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-6-brom-benzimidazol (0,361 mmol) und 71 mg (6-Fluorpyridin-3-yl)boronsäure (0,505 mmol) in 4 ml Dioxan/Wasser (3 + 1) über Nacht bei 60 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH 2 – 8 %). Ausbeute: 120 mg weißlicher Schaum (91 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.69 (s, 1H), 8.64 – 8.61 (m, *J* = 2.6 Hz, 1H), 8.37 (td, *J* = 8.3, 2.7 Hz, 1H), 7.95 – 7.86 (m, 6H), 7.80 – 7.74 (m, 2H), 7.65 (dd, *J* = 8.4, 1.7 Hz, 1H), 7.55 – 7.49 (m, 2H), 7.46 – 7.39 (m, 1H), 7.27 (dd, *J* = 8.5, 2.7 Hz, 1H). HPLC *t*_{ret} = 9.31 min.

1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-6-(6-((1-methylpyrrolidin-3-yl)methoxy)pyridin-3-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol (**168**)



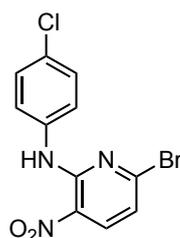
Zu einer Lösung von **167** (55 mg, 0,15 mmol) und (1-Methylpyrrolidin-3-yl)methanol (35 mg, 0,30 mmol) in trockenem THF (2,0 ml) wurde NaH (12 mg, 0,30 mmol, 60 wt%) hinzugefügt. Die Reaktion wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis über DC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe nachgewiesen werden konnte. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das Produkt über Flash-Chromatographie (DCM/MeOH + 2 N NH₃ 6 – 10 %) aufgereinigt. Ausbeute: weißlicher Schaum (61 mg, 88 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.65 (s, 1H), 8.53 – 8.50 (m, 1H), 8.07 (dd, *J* = 8.6, 2.6 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.89 – 7.85 (m, 4H), 7.79 – 7.75 (m, 2H), 7.60 (dd, *J* = 8.4, 1.7 Hz, 1H), 7.55 – 7.50 (m, 2H), 7.45 – 7.40 (m, 1H), 6.91 – 6.86 (m, 1H), 4.25 – 4.13 (m, 2H), 2.64 – 2.51 (m, 3H), 2.44 – 2.34 (m, 2H), 2.25 (s, 3H), 1.98 – 1.89 (m, 1H), 1.55 – 1.46 (m, 1H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 162.6, 145.0, 144.0, 143.3, 139.5, 139.1, 138.1, 135.2, 133.7, 132.9, 129.9, 129.1, 128.3, 127.8, 126.7, 124.2, 121.6, 120.4, 110.5, 108.6, 68.9, 59.0, 55.3, 41.7, 36.8, 27.6. HPLC *t*_{ret} = 6.96 min. ESI-MS *m/z*: 461.4 [M+H]⁺, 483.4 [M+Na]⁺. IR [cm⁻¹] 696, 762, 815, 1007, 1226, 1278, 1448, 1459, 1490, 1601, 2775, 2935, 3372.

1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-6-(6-((1-methylpyrrolidin-2-yl)methoxy)pyridin-3-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol (**169**)



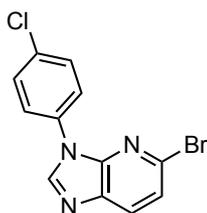
Durchführung wie für **168** beschrieben mit 55 mg **167**, 37 mg 1-Methylpyrrolidin-2-yl)methanol (0,31 mmol) und 17 mg NaH (0,43 mmol, 60 wt%). Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 5 – 10 % (nicht optimal). Ausbeute: 17 mg weißlicher Schaum (24 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.65 (s, 1H), 8.53 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 8.08 (dd, *J* = 8.6, 2.6 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.89 – 7.84 (m, 4H), 7.80 – 7.75 (m, 2H), 7.60 (dd, *J* = 8.3, 1.7 Hz, 1H), 7.55 – 7.49 (m, 2H), 7.45 – 7.39 (m, 1H), 6.89 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 4.31 (dd, *J* = 10.7, 5.3 Hz, 1H), 4.17 (dd, *J* = 10.7, 6.0 Hz, 1H), 2.99 – 2.92 (m, 1H), 2.61 – 2.54 (m, 1H), 2.36 (s, 3H), 2.22 – 2.14 (m, 1H), 1.99 – 1.89 (m, 1H), 1.73 – 1.55 (m, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 162.6, 145.0, 144.0, 143.3, 139.5, 139.1, 138.1, 135.2, 133.7, 132.9, 129.9, 129.1, 128.3, 127.8, 126.7, 124.2, 121.6, 120.4, 110.6, 108.6, 68.4, 63.5, 57.1, 41.3, 28.4, 22.5. HPLC *t*_{ret} = 6.70 min. ESI-MS *m/z*: 461.4 [M+H]⁺.

6-Brom-*N*-(4-chlorphenyl)-3-nitropyridin-2-amin (**170**)



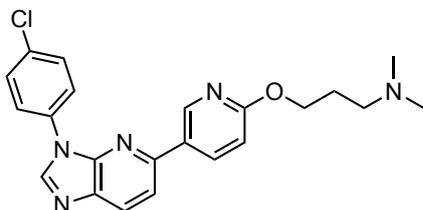
Zu einer Lösung von 14,00 g 2,6-Dibrom-3-nitropyridin (50,00 mmol) in 200 ml MeOH wurden 6380 mg *p*-Chloranilin (50,00 mmol) und 7,0 ml Et₃N (75 mmol) gegeben. Nach 0,5 – 1 h bildete sich bei Raumtemperatur eine Suspension. Die Reaktion wurde gerührt, bis die DC den vollständigen Verbrauch der Ausgangsstoffe zeigte. Das Produkt wurde durch Filtration gewonnen und mit einer kleinen Menge MeOH gewaschen. Ausbeute: 13,01 g orangeroter Feststoff (79 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.10 (s, 1H), 8.40 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.63 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.44 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.17 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 148.7, 145.7, 138.1, 136.7, 128.6, 128.6, 128.5, 124.6, 118.2. HPLC *t*_{ret} = 9.76 min.

5-Brom-3-(4-chlorphenyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin (**171**)



Durchführung nach **ASV 3**, gefolgt von **ASV 4** mit 13,01 g **170** (39,60 mmol). Das Rohprodukt wurde über Kieselgur filtriert. Das dunkelgraue Produkt wurde in MeOH suspendiert und durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 10,14 g hellgrauer Feststoff (83 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.91 (s, 1H), 8.19 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.93 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.71 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.59 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 146.0, 144.7, 135.2, 134.9, 133.4, 132.3, 131.0, 129.6, 125.1, 122.7. HPLC $t_{\text{ret}} = 8.99$ min.

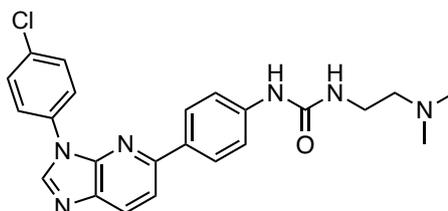
3-((5-(3-(4-Chlorphenyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-5-yl)pyridin-2-yl)oxy)-*N,N*-dimethylpropan-1-amin (**172**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 670 mg **60** (2,19 mmol) und 744 mg **171** (2,41 mmol) in 39 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) bei 65 °C über Nacht. Die Reaktion wurde mit NaCl-Lösung verdünnt und mit NaOH (aq., 10 %) basifiziert. Das Rohprodukt wurde mit DCM extrahiert. Die organische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet und evaporiert. Flash-Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH_3 3 – 4,1 %. Ausbeute: 554 mg grauvioletter Feststoff (62 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.97 – 8.89 (m, 2H), 8.40 (dd, $J = 8.7, 2.4$ Hz, 1H), 8.26 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 8.11 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.96 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.72 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.91 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.34 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.35 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.14 (s, 6H), 1.87 (p, $J = 6.8$ Hz, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 163.7, 149.4, 146.2, 145.6, 144.3, 137.4, 134.7, 134.1, 131.5, 129.5, 128.9, 127.9, 124.5, 115.5, 110.7, 64.2, 55.7, 45.2, 26.7. HPLC $t_{\text{ret}} = 5.90$ min. ESI-MS m/z : 408.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 660, 724, 782, 813, 828,

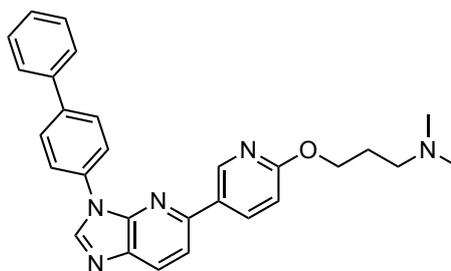
980, 1004, 1090, 1161, 1235, 1280, 1299, 1308, 1356, 1414, 1458, 1501, 1590, 2775, 2823, 2859, 2952, 2966, 3084.

1-(4-(3-(4-Chlorphenyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-5-yl)phenyl)-3-(2-(dimethylamino)ethyl)harnstoff (**173**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 294 mg **94** (0,879 mmol) und 326 mg **171** (1,06 mmol) in 17,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1). Die Reaktion wurde über Nacht bei 65 °C gerührt. Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 4 – 7,5 %. Der violette Feststoff wurde in kaltem MeOH suspendiert und mittels Filtration gewonnen. Ausbeute: 210 mg weißer Feststoff (55 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.89 (s, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.21 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 8.13 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 8.03 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.90 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.72 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.52 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.15 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.22 – 3.16 (m, 2H), 2.33 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.0, 151.8, 146.1, 143.9, 141.6, 134.3, 134.3, 131.4, 131.1, 129.5, 128.7, 127.3, 124.4, 117.4, 115.2, 58.5, 45.0, 37.0. HPLC *t*_{ret} = 6.12 min. ESI-MS *m/z*: 435.0 [M+H]⁺, 389.9 [M-NMe₂]⁺, 469.0 [M+Cl]⁻, 433.0 [M-H]⁻, 318.8 [C₅H₁₂N₂O]⁻. IR [cm⁻¹] 805, 825, 1093, 1181, 1210, 1230, 1404, 1461, 1502, 1560, 1570, 1584, 1628, 2776, 2935, 3077, 3295.

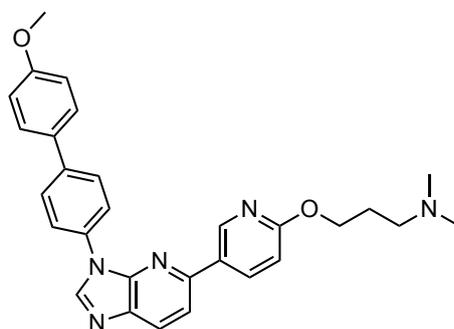
3-((5-(3-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-5-yl)pyridin-2-yl)oxy)-*N,N*-dimethylpropan-1-amin (**174**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 61 mg **172** (0,15 mmol) und 83 mg Phenylboronsäure (0,68 mmol) in 2,6 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) bei 75 °C über Nacht. Gradient (FC):

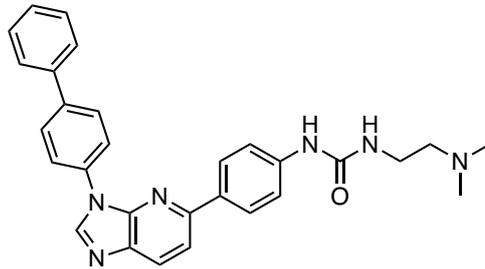
DCM/MeOH + 2 N NH₃ 4 – 10 %. Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM aufgenommen, mit *n*-Pentan ausgefällt und mittels Filtration gewonnen. Ausbeute: 51 mg farbloser Feststoff (76 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.97 (s, 1H), 8.95 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.43 (dd, *J* = 8.7, 2.3 Hz, 1H), 8.27 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.16 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 8.01 – 7.91 (m, 3H), 7.83 – 7.74 (m, 2H), 7.51 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.45 – 7.37 (m, 1H), 6.92 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 4.34 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 2.34 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.14 (s, 6H), 1.91 – 1.82 (m, 2H). HPLC *t*_{ret} = 7.13 min. ESI-MS *m/z*: 450.2 [M+H]⁺. IR [cm⁻¹] 693, 721, 761, 782, 811, 829, 841, 1031, 1049, 1155, 1216, 1231, 1279, 1290, 1300, 1356, 1392, 1410, 1458, 1497, 1595, 2753, 2768, 2814, 2861, 2883, 2951, 3073.

3-((5-(3-(4'-Methoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-5-yl)pyridin-2-yl)oxy)-*N,N*-dimethylpropan-1-amin (**175**)



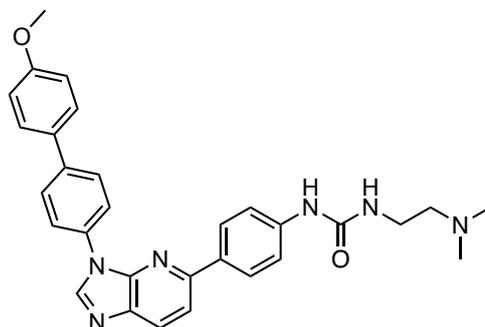
Durchführung nach **ASV 7** mit 61 mg **172** (0,15 mmol) und 28 mg (4-Methoxyphenyl)boronsäure (0,184 mmol) in 2,6 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) bei 75 °C über Nacht. Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 1 – 9 %. Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM aufgenommen, mit *n*-Pentan ausgefällt und mittels Filtration gewonnen. Ausbeute: 61 mg farbloser Feststoff (85 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.00 – 8.90 (m, 2H), 8.43 (dd, *J* = 8.7, 2.3 Hz, 1H), 8.27 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.11 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.97 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.89 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.73 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.07 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.92 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 4.34 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 2.35 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.15 (s, 6H), 1.94 – 1.81 (m, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 163.7, 159.2, 149.4, 146.4, 145.6, 144.4, 138.7, 137.5, 134.8, 133.9, 131.5, 128.8, 128.0, 127.8, 127.1, 123.2, 115.4, 114.5, 110.7, 64.2, 55.7, 55.2, 45.2, 26.7. HPLC *t*_{ret} = 7.22 min. ESI-MS *m/z*: 480.2 [M+H]⁺. IR [cm⁻¹] 813, 1001, 1200, 1231, 1253, 1270, 1289, 1357, 1407, 1461, 1500, 1598, 2755, 2771, 2882, 2940.

1-(4-(3-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-5-yl)phenyl)-3-(2-(dimethylamino)ethyl)harnstoff (**176**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 65 mg **173** (0,15 mmol) und 73 mg Phenylboronsäure (0,60 mmol) in 3 ml Dioxan/Wasser (4 + 1). Die Reaktion wurde über Nacht bei 75 °C gerührt. Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 3 – 10 %. Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM aufgenommen, mit *n*-Pentan ausgefällt und mittels Filtration gewonnen. Ausbeute: 31 mg farbloser Feststoff (43 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.94 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.22 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 8.18 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 8.05 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.96 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.91 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.83 – 7.76 (m, 2H), 7.57 – 7.48 (m, 4H), 7.45 – 7.37 (m, 1H), 6.16 (s, 1H), 3.23 – 3.15 (m, *J* = 11.4, 5.8 Hz, 2H), 2.33 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H). HPLC *t*_{ret} = 7.36 min. ESI-MS *m/z*: 510.9 [M+Cl]⁻, 474.9 [M-H]⁻, 476.9 [M+H]⁺. IR [cm⁻¹] 692, 759, 823, 1231, 1297, 1405, 1461, 1491, 1524, 1551, 1593, 1641, 2938, 3260.

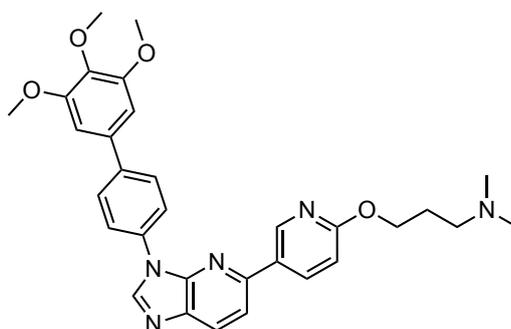
1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-(4-(3-(4'-methoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-5-yl)phenyl)harnstoff (**177**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 65 mg **173** (0,15 mmol) und 68 mg (4-Methoxyphenyl)boronsäure (0,45 mmol) in 3 ml Dioxan/Wasser (4 + 1). Die Reaktion wurde über Nacht bei 75 °C gerührt. Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH₃ 3,5 – 10 %. Das Produkt wurde in MeOH umkristallisiert und mit wenig kaltem MeOH gewaschen.

Ausbeute: 40 mg farbloser Feststoff (53 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.91 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.22 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 8.13 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 8.05 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.96 – 7.85 (m, 3H), 7.74 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.52 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.07 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.15 (t, $J = 5.2$ Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.24 – 3.15 (m, $J = 11.5, 5.9$ Hz, 2H), 2.33 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H), 2.17 (s, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 159.1, 155.0, 151.7, 146.3, 144.0, 141.5, 138.6, 134.3, 134.0, 131.5, 131.3, 128.6, 127.8, 127.3, 127.1, 123.1, 117.4, 115.1, 114.5, 58.5, 55.2, 45.0, 36.9. HPLC $t_{\text{ret}} = 7.44$ min. ESI-MS m/z : 541.0 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$, 505.2 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 506.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 816, 1038, 1179, 1230, 1406, 1457, 1500, 1560, 1635, 2766, 2937, 3294.

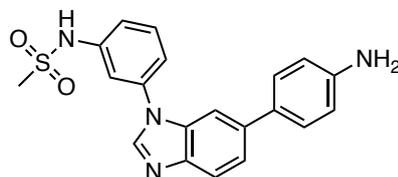
N,N-Dimethyl-3-(((5-(3-(3',4',5'-trimethoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-5-yl)pyridin-2-yl)oxy)propan-1-amin (**178**)



Durchführung nach **ASV 8** mit 83 mg (3,4,5-Trimethoxyphenyl)boronsäure (0,39 mmol), 42 mg **172** (0,10 mmol), 55 mg K_2CO_3 (0,4 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 80 °C. Gradient (FC): DCM/MeOH + 2 N NH_3 4 – 8 %. Ausbeute: 50 mg (93 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.00 – 8.95 (m, 2H), 8.44 (dd, $J = 8.7, 2.5$ Hz, 1H), 8.28 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 8.16 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 8.02 – 7.95 (m, 3H), 7.05 (s, 2H), 6.93 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.35 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 3.91 (s, 6H), 3.72 (s, 3H), 2.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.15 (s, 6H), 1.87 (p, $J = 6.8$ Hz, 2H). HPLC $t_{\text{ret}} = 6.68$ min. ESI-MS m/z : 540.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 1590, 1500, 1399, 1455, 773, 1344, 1281, 1001, 1124.

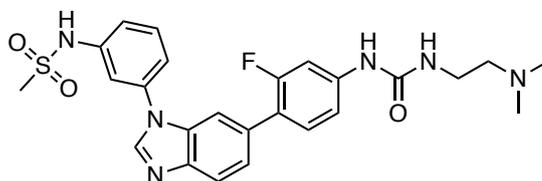
7.8 Synthese der Verbindungen aus Kapitel 3.3.4

N-(3-(6-(4-Aminophenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)methansulfonamid (**180**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 55 mg **90** (0,15 mmol) und 35 mg 4-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)anilin (0,158 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 60 °C. Aufreinigung: Das Rohprodukt wurde in ca. 8 ml DCM mit 0,1 ml MeOH suspendiert. Die Suspension wurde leicht erhitzt, bis sich die Substanz gelöst hat. Eine kleine Menge an *n-n*-Pentan wurde hinzugegeben, um eine Präzipitation zu initiieren. Das gewünschte Produkt wurde über Filtration als weißer Feststoff gewonnen. Ausbeute: 46 mg weißer Feststoff (81 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.15 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 7.76 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.71 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 7.62 – 7.56 (m, 2H), 7.50 (dd, *J* = 8.5, 1.6 Hz, 1H), 7.48 – 7.44 (m, 1H), 7.41 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.33 – 7.28 (m, 1H), 6.65 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 5.24 (s, 2H), 3.13 (s, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 148.1, 143.0, 142.3, 139.8, 137.0, 136.7, 133.5, 131.0, 128.0, 127.5, 121.1, 120.0, 118.4, 118.0, 114.3, 113.8, 107.0, 39.7. HPLC *t*_{ret} = 5.12 min. ESI-MS *m/z*: 379.3 [M+H]⁺, 377.2 [M-H]⁻. IR [cm⁻¹] 692, 795, 810, 820, 856, 967, 1150, 1221, 1236, 1302, 1319, 1470, 1482, 1498, 1601, 2728, 3105.

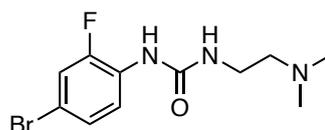
N-(3-(6-(4-(3-(2-(Dimethylamino)ethyl)ureido)-2-fluorphenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)methansulfonamid (**181**)



Durchgeführt nach **ASV 7** mit 80 mg **126** (0,19 mmol) und 46 mg 1-(4-Brom-3-fluorphenyl)-3-(2-(dimethylamino)ethyl)harnstoff¹⁴⁸ (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) bei 70 °C für 5 h. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 4 – 10 %). Ausbeute: 53 mg Feststoff (69 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.08 (bs, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.61

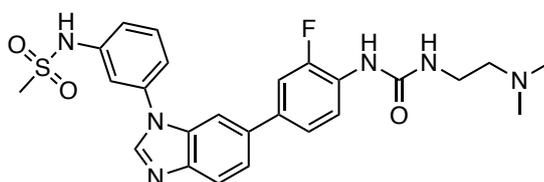
(s, 1H), 7.87 – 7.80 (m, 1H), 7.74 – 7.67 (m, 1H), 7.62 – 7.53 (m, 2H), 7.52 (t, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.48 – 7.42 (m, 3H), 7.34 – 7.28 (m, 1H), 7.12 (dd, $J = 8.5, 2.0$ Hz, 1H), 6.19 (t, $J = 5.2$ Hz, 1H), 3.23 – 3.17 (m, 2H), 3.11 (s, 3H), 2.35 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H), 2.19 (s, 6H). HPLC $t_{\text{ret}} = 4.60$ min. ESI-MS m/z : 511.6 $[M+H]^+$, 509.6 $[M-H]^-$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 693, 749, 800, 857, 965, 1031, 1100, 1148, 1217, 1324, 1411, 1467, 1595, 1675, 2853, 2920.

1-(4-Brom-2-fluorphenyl)-3-(2-(dimethylamino)ethyl)harnstoff (**199**)



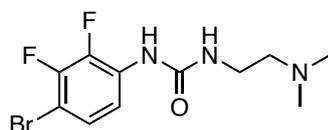
Durchführung nach **ASV 10**. 4-Brom-2-fluoranilin (190 mg, 1,00 mmol) wurde in THF gelöst. Phenylchlorformiat (156 mg, 1,00 mmol) wurde langsam hinzuge tropft. Die Reaktion wurde für 5 min bei Raumtemperatur gerührt, bevor 0,14 ml Et_3N (1,0 mmol) hinzugegeben wurde. Nach 15 – 30 min konnte über DC eine vollständige Umsetzung zum Zwischenprodukt nachgewiesen werden, sodass *N,N*-Dimethylethylendiamin (0,11 ml, 1,0 mmol) und ein weiteres Äquivalent an Et_3N (0,14 ml) in das Gemisch gegeben wurde. Der Ansatz wurde über Nacht unter Refluxbedingungen gerührt. Nach vollständiger Umsetzung der Edukte (Reaktionskontrolle via DC) wurde die Reaktion über Kieselgur filtriert. Das Filtrat wurde eingeeengt und in DCM oder EA aufgenommen. Die organische Phase wurde 3x mit 10 % aq. 2 N NaOH gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase und Entfernen der Lösungsmittel am Rotationsverdampfer wurde das Produkt als gelbes Öl gewonnen, welches in einer kleinen Menge an DCM (0,5 ml) aufgenommen und mit *n*-Pentan ausgefällt wurde. Das Produkt wurde durch Filtration als weißes Pulver gewonnen. Ausbeute: 239 mg Feststoff (79 %). Das Produkt wurde erfolgreich über die interne HPLC-Datenbank identifiziert.¹⁴⁸

N-(3-(6-(4-(3-(2-(Dimethylamino)ethyl)ureido)-3-fluorphenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)methansulfonamid (**182**)



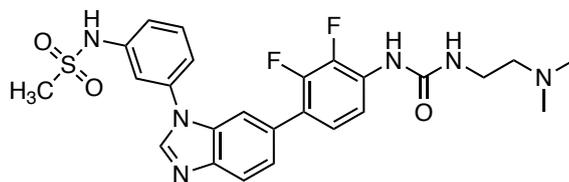
Durchführung nach **ASV 7** mit 62 mg **126** (0,15 mmol) und 46 mg 1-(4-Brom-2-fluorphenyl)-3-(2-(dimethylamino)ethyl)harnstoff¹⁴⁸ (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 55 – 65 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 2 – 10 %). Ausbeute: 48 mg Feststoff (63 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.13 (bs, 1H), 8.71 – 8.45 (m, 2H), 8.23 (t, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 1.0 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.65 – 7.55 (m, 4H), 7.48 (dd, *J* = 8.1, 1.3 Hz, 2H), 7.31 (dd, *J* = 8.1, 1.2 Hz, 1H), 6.69 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.25 – 3.17 (m, 2H), 3.13 (s, 3H), 2.34 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.18 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.3, 152.4 (d, *J* = 241.1 Hz), 144.2, 143.7, 140.4, 137.1, 135.3 (d, *J* = 1.9 Hz), 134.4 (d, *J* = 7.0 Hz), 134.4, 133.9, 131.6, 128.00 (d, *J* = 10.5 Hz), 123.21 (d, *J* = 2.6 Hz), 122.1, 120.84 (d, *J* = 1.7 Hz), 118.9, 118.7, 114.4, 113.6 (d, *J* = 20.1 Hz), 108.7, 58.9, 45.5, 40.2, 37.5. HPLC *t*_{ret} = 4.69 min. ESI-MS *m/z*: 511.6 [M+H]⁺, 509.6 [M-H]⁻, 545.5 [M+Cl]⁻. IR [cm⁻¹] 698, 805, 962, 1144, 1245, 1321, 1412, 1491, 1540, 1595, 1640, 2767, 2922, 3105.

1-(4-Brom-2,3-difluorphenyl)-3-(2-(dimethylamino)ethyl)harnstoff (**200**)



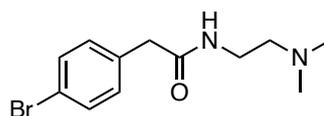
Durchführung nach **ASV 10** mit 4-Brom-2,3-difluoranilin (321 mg, 1,54 mmol), 242 mg Phenylchlorformiat (1,54 mmol) und 0,22 ml Et₃N in 12 ml THF. Schritt 2: Die Zugabe des *N,N*-Dimethylethylendiamins (0,17 ml, 1,5 mmol) und 0,22 ml Et₃N erfolgte nach 30 min. Die Reaktion wurde über Kieselgur filtriert und das Filtrat wurde 2x mit NaOH (2 N) gewaschen. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH 3 – 10 %). Ausbeute: 293 mg Öl, welches nach kurzer Zeit kristallisiert (59 %). Das Produkt wurde erfolgreich über die interne HPLC-Datenbank identifiziert.¹⁴⁸

N-(3-(6-(4-(3-(2-(Dimethylamino)ethyl)ureido)-2,3-difluorphenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)methansulfonamid (**183**)



Durchführung nach **ASV 7** mit **126** (68 mg, 0,165 mmol) und **200** (48 mg, 0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser bei 70 °C über Nacht. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH 6 – 10 %). Ausbeute: 30 mg farbloser Feststoff (38 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.06 (bs, 1H), 8.75 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.10 – 7.99 (m, 1H), 7.86 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.77 – 7.72 (m, 1H), 7.62 – 7.56 (m, 1H), 7.54 – 7.51 (m, 1H), 7.51 – 7.43 (m, 2H), 7.35 – 7.27 (m, 2H), 6.72 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.23 – 3.18 (m, 2H), 3.11 (s, 3H), 2.34 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.18 (s, 6H). HPLC *t*_{ret} = 4.48 min. ESI-MS *m/z*: 529.8 [M+H]⁺, 527.7 [M-H]⁻. IR [cm⁻¹] 691, 798, 965, 1024, 1083, 1099, 1147, 1220, 1321, 1437, 1457, 1477, 1534, 1599, 1670, 2923.

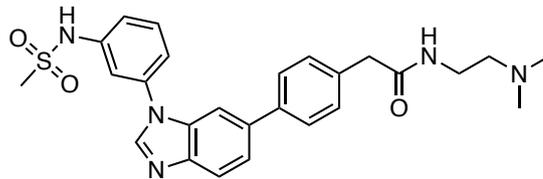
2-(4-Bromphenyl)-*N*-(2-(dimethylamino)ethyl)acetamid (**202**)



Zu einer Lösung von 215 mg 2-(4-Bromphenyl)essigsäure (1,0 mmol) in 8 ml trockenem THF wurden 230 mg EDC·HCl (1,2 mmol) und 106 mg *N,N*-Dimethylethan-1,2-diamin (1,2 mmol) hinzugefügt und die Suspension wurde über Nacht gerührt. Weitere 106 mg *N,N*-Dimethylethan-1,2-diamin wurden hinzugegeben, da Ausgangsmaterial über DC nachgewiesen werden konnte. Nach vollständiger Umsetzung der Edukte (Reaktionskontrolle via DC) wurde die Reaktion mit gesättigter NaHCO₃-Lösung verdünnt und mit DCM extrahiert (3x). Nach Trocknung der organischen Phasen über Na₂SO₄ und Entfernung der Lösungsmittel unter vermindertem Druck wurde das Rohprodukt über Flash-Chromatographie (DCM/MeOH + 2 N NH₃ 5 – 9 %) aufgereinigt. Ausbeute: 140 mg weißlicher Feststoff (49 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.99 (t, *J* = 4.8 Hz, 1H), 7.48 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.21 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.38 (s, 2H), 3.15 – 3.09 (m, 2H), 2.25 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 2.12 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 169.6, 136.0, 131.2, 131.0, 119.5,

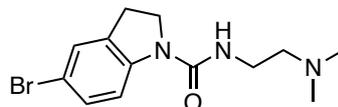
58.2, 45.2, 41.5, 36.9. HPLC $t_{\text{ret}} = 3.24$ min. ESI-MS m/z : 285.1 $[M+H]^+$, 240.0 $[M-NMe_2]^+$.

N-(2-(Dimethylamino)ethyl)-2-(4-(1-(3-(methylsulfonamido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)acetamid (**184**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 63 mg **126** (0,15 mmol) und 43 mg **202** (0,15 mmol) in 4 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 65 °C. Flash-Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 5 – 10 %. Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM aufgenommen, mit *n*-Pentan ausgefällt und durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 38 mg farbloser Feststoff (52 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.13 (bs, 1H), 8.63 (s, 1H), 8.02 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H), 7.88 – 7.82 (m, 2H), 7.65 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.63 – 7.56 (m, 3H), 7.50 – 7.45 (m, 1H), 7.35 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.30 (dd, $J = 8.0, 1.5$ Hz, 1H), 3.45 (s, 2H), 3.18 – 3.11 (m, 5H), 2.28 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 2.14 (s, 6H). HPLC $t_{\text{ret}} = 4.23$ min. ESI-MS m/z : 492.4 $[M+H]^+$, 490.0 $[M-H]^-$. IR [cm^{-1}] 693, 798, 809, 850, 862, 967, 1152, 1166, 1222, 1238, 1302, 1316, 1326, 1448, 1483, 1494, 1508, 1603, 1647, 2764, 2816.

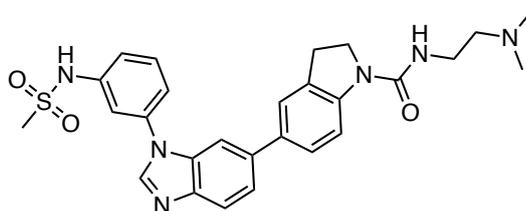
5-Brom-*N*-(2-(dimethylamino)ethyl)indolin-1-carboxamid (**201**)



Zu einer Lösung von 88 mg *N,N'*-Dimethylethan-1,2-diamin (1,0 mmol) in 4 ml trockenem THF wurden 201 mg 4-Nitrophenylchlorameisensäureester (1,0 mmol) langsam portionsweise zugegeben. Nach 10 min wurden 101 mg Et₃N (1,0 mmol) und 312 mg 5-Nitroindolin (1,0 mmol) hinzugefügt. Die Reaktion wurde über Nacht bei 50 °C gerührt. Der Ansatz wurde mit Ethylacetat verdünnt und 4x mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet und die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 4,5 – 10 %) aufgereinigt. Ausbeute:

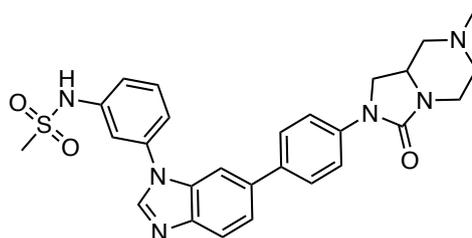
gelber Feststoff (106 mg, 34 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.75 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.21 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 6.57 (t, $J = 4.7$ Hz, 1H), 3.86 (t, $J = 8.6$ Hz, 2H), 3.23 – 3.16 (m, 2H), 3.11 (t, $J = 8.6$ Hz, 2H), 2.33 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 2.16 (s, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 154.6, 143.8, 133.4, 129.4, 127.2, 115.6, 112.0, 58.8, 46.9, 45.3, 37.8, 26.9. HPLC $t_{\text{ret}} = 4.17$ min. ESI-MS m/z : 312.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 267.2 $[\text{M}-\text{NMe}]^+$.

N-(2-(Dimethylamino)ethyl)-5-(1-(3-(methylsulfonamido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)indolin-1-carboxamid (**185**)



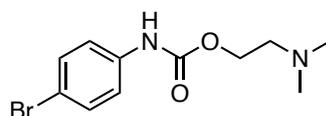
Durchführung nach **ASV 7** mit 62 mg **126** (0,15 mmol) und 46 mg **201** (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 65 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH_3 4 – 10 %). Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM aufgenommen, mit *n*-Pentan ausgefällt und durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 64 mg farbloser Feststoff (82 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.57 (s, 1H), 7.88 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.83 – 7.75 (m, 2H), 7.62 – 7.55 (m, 3H), 7.53 – 7.50 (m, 1H), 7.47 – 7.43 (m, 2H), 7.30 (dd, $J = 8.1, 1.3$ Hz, 1H), 6.57 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H), 3.90 (t, $J = 8.7$ Hz, 2H), 3.23 (m, $J = 12.8, 6.5$ Hz, 2H), 3.17 (t, $J = 8.6$ Hz, 3H), 3.11 (s, 3H), 2.39 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.19 (s, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 154.7, 143.5, 143.3, 142.6, 139.9, 136.5, 136.4, 133.4, 133.3, 131.3, 131.1, 125.7, 123.0, 121.6, 120.0, 118.3, 118.2, 114.2, 113.8, 107.7, 58.5, 46.8, 45.0, 39.5, 37.5, 27.1. HPLC $t_{\text{ret}} = 4.83$ min. ESI-MS m/z : 519.8 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 517.8 $[\text{M}-\text{H}]^-$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 694, 809, 861, 967, 1151, 1241, 1307, 1381, 1478, 1603, 1653, 2768, 2816.

N-(3-(6-(4-(7-Methyl-3-oxohexahydroimidazo[1,5-*a*]pyrazin-2(3*H*)-yl)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)methansulfonamid (**186**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 75 mg **126** (ca. ~80 % HPLC-Reinheit) und 40 mg 2-(4-Bromphenyl)-7-methylhexahydroimidazo[1,5-*a*]pyrazin-3(2*H*)-on¹⁴⁹ (0,129 mmol) in 7 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) bei 70 – 75 °C über Nacht. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 3 – 10 %). (Zwischenausbeute: 66 mg). Die Substanz in einer kleinen Menge DCM aufgenommen und mit Pentan ausgefällt (~3 + 1 DCM/Pentan). Das Produkt wurde durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 28 mg farbloser Feststoff (42 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.14 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 7.83 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.73 – 7.64 (m, 4H), 7.63 – 7.55 (m, 3H), 7.48 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.31 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 3.93 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H), 3.84 – 3.68 (m, 2H), 3.49 (dd, *J* = 9.3, 4.1 Hz, 1H), 3.13 (s, 3H), 2.95 (td, *J* = 12.7, 3.2 Hz, 1H), 2.87 (dd, *J* = 10.8, 2.5 Hz, 1H), 2.74 – 2.66 (m, 1H), 2.21 (s, 3H), 1.90 – 1.73 (m, 2H). *t*_{ret} = 3.62 min. ESI-MS *m/z*: 516.0 [M-H]⁻. IR [cm⁻¹] 692, 796, 817, 1152, 1163, 1237, 1273, 1318, 1428, 1473, 1524, 1602, 1704, 2786, 2854, 3105.

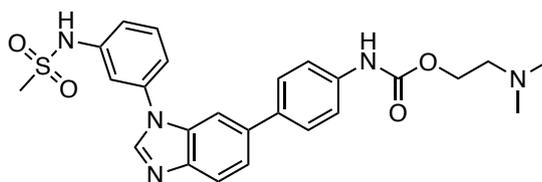
2-(Dimethylamino)ethyl(4-bromphenyl)carbammat (**203**)



Durchführung nach **ASV 9** mit 4-Bromphenylcyanat (99 mg, 0,50 mmol), *N,N*-Dimethylaminoethanol (48 mg, 0,54 mmol) in 3 ml trockenem Toluol. Die Reaktion wurde (unbeabsichtigt) kurzzeitig auf 150 °C erhitzt. Die Reaktion wurde anschließend bei Raumtemperatur mit MeOH verdünnt und die Lösungsmittel wurden unter vermindertem Druck entfernt, um das Produkt als farblosen Feststoff (139 mg, 97 %) zu erhalten. ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.99 (s, 1H), 6.65 – 6.60 (m, 4H), 3.33 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 1.70

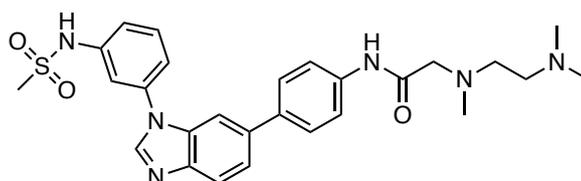
– 1.65 (m, 2H), 1.36 (s, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 153.4, 138.6, 131.5, 120.0, 113.8, 61.9, 57.6, 45.2. HPLC $t_{\text{ret}} = 3.94$ mi. ESI-MS m/z : 287.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 242.2 $[\text{M}-\text{NMe}]^+$.

2-(Dimethylamino)ethyl(4-(1-(3-(methylsulfonamido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)carbammat (**187**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 43 mg **126** (0,10 mmol) und 68 mg **203** (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) bei 65 °C (4 h Reaktionszeit). Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH_3 1 – 8 %). Aufgrund persistierender Verunreinigungen wurde eine zweite Purifikation mit Umkehrphasen-C18-Kieselgel durchgeführt (Gradient: Wasser/MeOH 10 – 100 %). Ausbeute: 14 mg farbloser Feststoff (28 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.12 (bs, 1H), 9.76 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 7.85 – 7.80 (m, 2H), 7.65 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.62 – 7.54 (m, 5H), 7.46 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.30 (dd, $J = 8.1, 1.2$ Hz, 1H), 4.17 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H), 3.12 (s, 3H), 2.54 – 2.51 (m, 2H), 2.19 (s, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 153.5, 143.6, 143.1, 140.1, 138.5, 136.7, 135.9, 134.6, 133.5, 131.1, 127.4, 121.7, 120.3, 118.6, 118.3, 118.2, 113.9, 108.1, 61.8, 57.6, 45.3, 39.7. HPLC $t_{\text{ret}} = 3.88$ min. ESI-MS m/z : 494.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 492.9 $[\text{M}-\text{H}]^-$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 693, 766, 796, 813, 969, 1151, 1208, 1221, 1314, 1326, 1411, 1511, 1602, 1708, 1718, 2769.

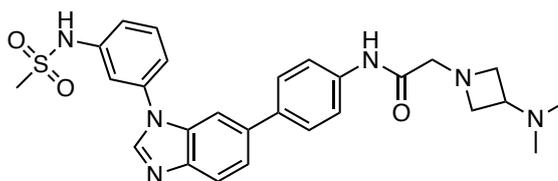
2-((2-(Dimethylamino)ethyl)(methyl)amino)-*N*-(4-(1-(3-(methylsulfonamido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)acetamid (**188**)



Zu einer Lösung von **180** (101 mg, 0,267 mmol) in trockenem Dioxan (12 ml) wurden 22 μl Chloracetylchlorid hinzugefügt. Nach 5 min wurden 0,6 ml Triethylamin (0,4 mmol) hinzugetropft. Nach weiteren 30 min wurde *N,N,N'*-Trimethylethyldiamin (0,10 ml) in

die Suspension hinzugegeben und die Reaktion über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die DC-Kontrolle zeigte keine vollständige Umsetzung des Zwischenprodukts, weshalb weitere 0,05 ml Amin hinzugegeben und der Ansatz auf 50 °C erhitzt wurde. Nach vollständiger Umsetzung (Reaktionskontrolle via HPLC) wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH 10 %, anschließend DCM/MeOH + 2 N NH₃ 10 %). Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM aufgenommen, mit *n*-Pentan präzipitiert und via Filtration gewonnen. Ausbeute: 67 mg farbloser Feststoff (48 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.39 – 9.94 (m, 2H), 8.61 (s, 1H), 7.86 – 7.81 (m, 2H), 7.74 – 7.67 (m, 4H), 7.63 – 7.55 (m, 3H), 7.49 – 7.44 (m, 1H), 7.30 (dd, *J* = 8.1, 1.3 Hz, 1H), 3.17 (s, 2H), 3.12 (s, 3H), 2.56 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.39 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.19 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 169.6, 143.7, 143.2, 140.2, 138.0, 136.7, 135.8, 135.4, 133.5, 131.1, 127.4, 121.7, 120.3, 119.3, 118.3, 118.2, 113.9, 108.2, 61.2, 57.0, 54.8, 45.3, 43.3, 39.7. HPLC *t*_{ret} = 5.65 min. ESI-MS *m/z*: 521.4 [M+H]⁺, 519.3 [M-H]⁻. IR [cm⁻¹] 691, 725, 740, 796, 809, 822, 841, 860, 874, 895, 916, 969, 988, 1016, 1037, 1122, 1151, 1165, 1206, 1238, 1299, 1325, 1407, 1469, 1483, 1497, 1511, 1529, 1600, 1666, 2768, 2812, 2859, 2903.

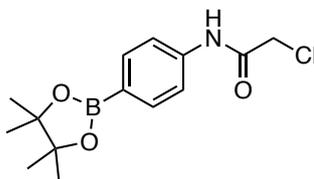
2-(3-(Dimethylamino)azetidin-1-yl)-*N*-(4-(1-(3-(methylsulfonylamido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)acetamid (**189**)



Schritt 1 (**189a**): In 10 ml trockenem Dioxan wurden 118 mg **180** (0,312 mmol) gelöst und 27 µl Chloroacetylchlorid (0,34 mmol) hinzugegeben, wobei die Lösung sofort in eine Suspension überging. Nach 5 min wurde Et₃N (65 µl, 0,47 mmol) hinzugefügt. Die Reaktion wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis über DC der vollständige Verbrauch des Ausgangsmaterials nachgewiesen werden konnte. Die rötliche Suspension wurde über Kieselgur filtriert und das Filtrat zur Trockne eingedampft. Das Rohprodukt wurde durch Flash-Chromatographie (Gradient: DCM/MeOH 0 – 10 %) aufgereinigt, um das gewünschte Produkt als Feststoff (103 mg, 73 %) zu erhalten. ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.40 (s, 1H), 10.14 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 7.88 – 7.82 (m, 2H), 7.75 – 7.68 (m, 4H), 7.65

– 7.56 (m, 3H), 7.51 – 7.47 (m, 1H), 7.34 – 7.31 (m, 1H), 4.29 (s, 2H), 3.14 (s, 3H). HPLC $t_{\text{ret}} = 8.72$ min. ESI-MS m/z : 453.3 $[M-H]^-$. Schritt 2: In 3 ml trockenem Dioxan wurde **189a** (50 mg, 0,11 mmol), *N,N*-Dimethylazetididin-3-amin (19 mg, 0,11 mmol, als Dihydrochloridsalz) und Et_3N (0,05 ml, 0,33 mmol) gelöst/suspendiert. Die Reaktion wurde auf 50 °C erhitzt, bis über DC der vollständige Verbrauch des Ausgangsmaterials nachgewiesen werden konnte. Die Reaktion wurde zur Trockne eingedampft und das Rohprodukt über Flash-Chromatographie (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH_3 5 – 10 %) aufgereinigt. Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM aufgenommen, mit *n*-Pentan präzipitiert und via Filtration gewonnen. Ausbeute: 30 mg gelblicher Feststoff (53 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.14 (bs, 1H), 9.76 (s, 1H), 8.61 (s, 1H), 7.87 – 7.79 (m, 2H), 7.74 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.67 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.63 – 7.55 (m, 3H), 7.50 – 7.45 (m, 1H), 7.34 – 7.27 (m, 1H), 3.54 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 3.25 (s, 2H), 3.13 (s, 3H), 2.97 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 2.91 – 2.83 (m, 1H), 2.03 (s, 6H). HPLC $t_{\text{ret}} = 3.19$ min (Methode C). ESI-MS m/z : 519.3 $[M+H]^+$, 517.3 $[M-H]^-$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 693, 796, 813, 838, 856, 895, 967, 1152, 1165, 1204, 1242, 1294, 1312, 1326, 1409, 1482, 1491, 1508, 1526, 1588, 1604, 1688, 2774, 2821, 2848, 2945, 3027, 3106, 3303.

2-Chlor-*N*-(4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)acetamid (**206**)



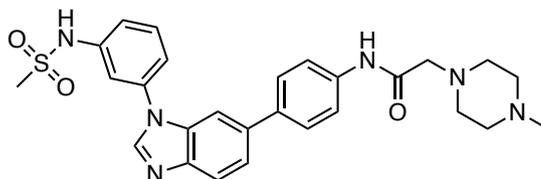
4-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)anilin (657 mg, 3,00 mmol) wurde in 12 ml trockenem Dioxan gelöst und Chloracetylchlorid (0,24 ml, 3,0 mmol) wurde langsam hinzugegossen. Nach 5 – 10 min Rühren bei Raumtemperatur wurden 0,46 ml Et_3N (3,3 mmol) zur Reaktion zugegeben, wobei eine starke Rauchentwicklung zu beobachten war. Die Reaktion wurde nach 30 min über Kieselgur filtriert und das braune Filtrat bis zur Hälfte des Volumens eingeeengt. Der Rückstand wurde mit *n*-Pentan trituriert. Das gewünschte Produkt wurde durch Filtration als farbloses Produkt gewonnen (740 mg, 84 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.41 (s, 1H), 7.67 – 7.58 (m, 4H), 4.26 (s, 2H), 1.28 (s, 12H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 164.9, 141.3, 135.4, 118.4, 83.5, 43.6, 24.7. HPLC $t_{\text{ret}} = 9.50$ min.

2-(4-Methylpiperazin-1-yl)-*N*-(4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)acetamid (**207**)



Zu einer Lösung von 295 mg **206** (1,00 mmol) in 5 ml trockenem THF wurden 100 mg 1-Methylpiperazin (1,00 mmol) zugegeben und die Reaktion wurde über Nacht bei 50 °C gerührt. Die HPLC-Kontrolle der Reaktion zeigte den vollständigen Verbrauch des Ausgangsmaterials. Triethylamin (3 mmol) wurde der Reaktion bei Raumtemperatur zugesetzt und die Reaktion über Kieselgur filtriert. Das Filtrat wurde eingedampft und das Rohprodukt (braunes Öl) wurde über Flash-Chromatographie (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 5 – 10 %) aufgereinigt. Ausbeute: 113 mg weißer Feststoff (32 %). ESI-MS *m/z*: 360.3 [M+H]⁺. Das Produkt wurde ohne weitere Charakterisierung in der nächsten Reaktion eingesetzt.

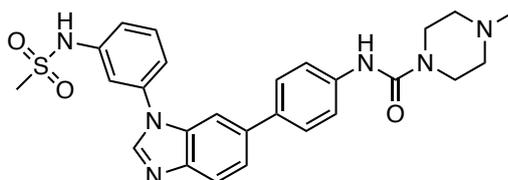
2-(4-Methylpiperazin-1-yl)-*N*-(4-(1-(3-(methylsulfonamido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)acetamid (**190**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 44 mg **90** (0,12 mmol) und 41 mg **207** (0,115 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) bei 75 °C (Reaktionszeit: 8 h). Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 5 – 10 %). Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM aufgenommen, mit *n*-Pentan präzipitiert und via Filtration gewonnen. Ausbeute: 39 mg farbloser Feststoff (65 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.14 (s, 1H), 9.77 (s, 1H), 8.61 (s, 1H), 7.86 – 7.81 (m, *J* = 4.8, 3.5 Hz, 2H), 7.73 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.68 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.63 – 7.56 (m, 3H), 7.50 – 7.44 (m, 1H), 7.33 – 7.28 (m, 1H), 3.13 (s, 5H), 2.60 – 2.50 (m, 4H), 2.39 (s, 4H), 2.18 (s, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 168.3, 143.7, 143.2, 140.0, 137.9, 136.7, 135.8, 135.6, 133.5, 131.1, 127.3, 121.7, 120.3, 119.8, 118.4, 118.2, 113.9, 108.2, 61.8, 54.5, 52.7, 45.7, 39.7. HPLC

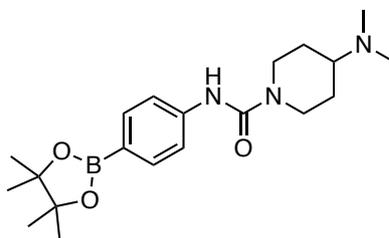
$t_{\text{ret}} = 6.78$ min. ESI-MS m/z : 519.1 $[M+H]^+$, 517.1 $[M-H]^-$, 541.1 $[M+Na]^+$. IR $[cm^{-1}]$ 693, 799, 815, 967, 1014, 1152, 1165, 1240, 1298, 1325, 1410, 1470, 1483, 1496, 1510, 1525, 1603, 1676, 2689, 2741, 2801, 2855, 2932, 3027, 3107, 3341.

4-Methyl-*N*-(4-(1-(3-(methylsulfonamido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)piperazin-1-carboxamid (**191**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 55 mg **90** (0,15 mmol) und 57 mg **164** (0,165 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) bei 65 °C (Reaktionszeit: 6 h). Die Lösungsmittel wurden nach vollständiger Umsetzung (Reaktionskontrolle via DC) am Rotationsverdampfer entfernt. Flash-Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH_3 7 – 10 %. Ausbeute: 61 mg farbloser Feststoff (81 %). 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.14 (bs, 1H), 8.65 – 8.55 (m, 2H), 7.86 – 7.78 (m, 2H), 7.66 – 7.54 (m, 7H), 7.48 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 3.49 – 3.42 (m, 4H), 3.13 (s, 3H), 2.37 – 2.28 (m, 4H), 2.21 (s, 3H). HPLC $t_{\text{ret}} = 4.00$ min. ESI-MS m/z : 505.4 $[M+H]^+$, 527.4 $[M+Na]^+$, 503.4 $[M-H]^-$, 539.4 $[M+Cl]^-$. IR $[cm^{-1}]$ 691, 796, 811, 966, 999, 1150, 1230, 1302, 1324, 1472, 1483, 1494, 1511, 1524, 1601, 1654, 2741, 2789, 2853, 2923, 3103.

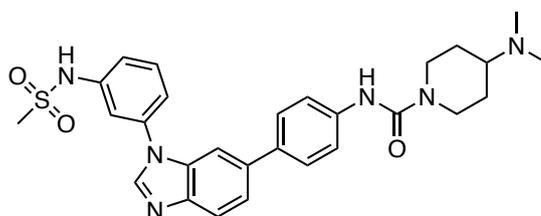
4-(Dimethylamino)-*N*-(4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)piperidin-1-carboxamid (**204**)



Zu einer Lösung von 150 mg (0,442 mmol) **95** in 3 ml trockenem Dioxan wurden 57 mg *N,N*-Dimethylpiperidin-4-amin hinzugefügt und die Reaktion auf 80 °C erhitzt. Nach 3 h wurde die Reaktion mit 3 ml NaOH-Lösung (2 N) verdünnt, gefolgt von einer Extraktion mit DCM. Die organische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet und die Lösungsmittel

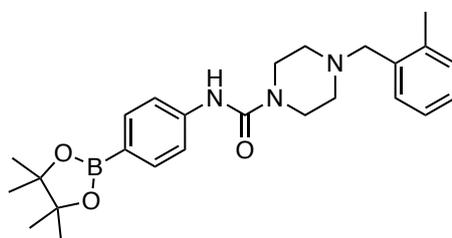
wurden am Rotationsverdampfer entfernt, um das Rohprodukt als Öl zu erhalten, welches ohne weitere Charakterisierung verwendet wurde.

4-(Dimethylamino)-*N*-(4-(1-(3-(methylsulfonamido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)piperidin-1-carboxamid (**192**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 57 mg **90** (0,16 mmol) und 58 mg **204** (0,16 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 60 °C. Die Lösungsmittel wurden ohne Extraktion am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 7 – 10 %). Da in einigen Produktfraktionen Verunreinigungen persistierten, wurde zusätzlich eine Purifikation mit Umkehrphasen-Kieselgel (C18) durchgeführt (Gradient: Wasser/MeOH 10 – 90 %). Ausbeute: 59 mg Feststoff (73 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.08 (bs, 1H), 8.65 – 8.53 (m, 2H), 7.87 – 7.76 (m, 2H), 7.64 – 7.54 (m, 7H), 7.50 – 7.42 (m, 1H), 7.33 – 7.26 (m, 1H), 4.22 – 4.07 (m, 2H), 3.12 (s, 3H), 2.86 – 2.72 (m, 2H), 2.36 – 2.24 (m, 1H), 2.19 (s, 6H), 1.87 – 1.70 (m, 2H), 1.37 – 1.24 (m, 2H). HPLC *t*_{ret} = 4.16 min. ESI-MS *m/z*: 533.5 [M+H]⁺, 555.5 [M+Na]⁺, 531.5 [M-H]⁻, 567.6 [M+Cl]⁻.

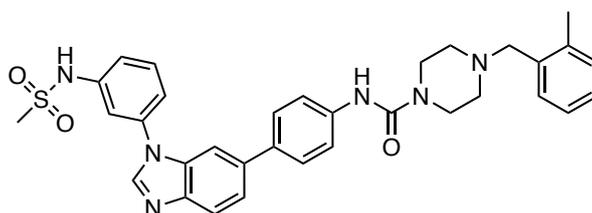
4-(2-Methylbenzyl)-*N*-(4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)piperazin-1-carboxamid (**205**)



Zu einer Lösung von 89 mg **95** (0,26 mmol) in 2 ml trockenem Dioxan wurden 50 mg 1-(2-Methylbenzyl)piperazin (0,26 mmol) hinzugefügt und über Nacht bei 80 °C gerührt. Nach vollständiger Umsetzung des Eduktes (Reaktionskontrolle via DC/HPLC) wurde die

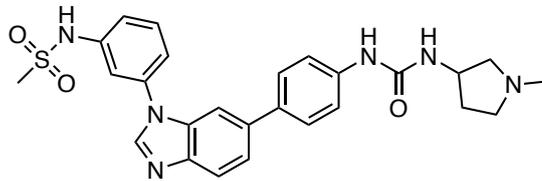
Reaktion bei Raumtemperatur mit DCM verdünnt und das Gemisch mit 2x mit NaOH (2 N) gewaschen. Nach Trocknung der organischen Phase und dem Entfernen der Lösungsmittel am Rotationsverdampfer wurde der gelbe Feststoff in wenig EA/PE umkristallisiert. Ausbeute: 72 mg Feststoff (64 %). HPLC $t_{\text{ret}} = 5.79$ min. ESI-MS m/z : 436,4 $[M+H]^+$, 458,4 $[M+Na]^+$, 490,4 $[M+Na+MeOH]^+$, 470,4 $[M+Cl]^-$. Das Produkt wurde ohne weitere Charakterisierung verwendet.

4-(2-Methylbenzyl)-*N*-(4-(1-(3-(methylsulfonamido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)piperazin-1-carboxamid (**193**)



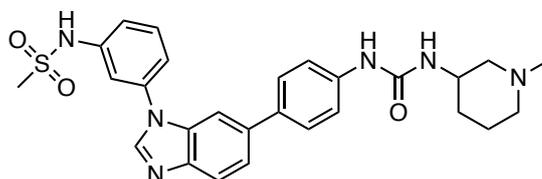
Durchführung nach **ASV 7** mit 41 mg **90** (0,11 mmol) und 49 mg **205** (0,11 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser über Nacht bei 60 – 70 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 7 – 10 %). Da in einigen Produktfraktionen Verunreinigungen persistierten, wurde zusätzlich eine Purifikation mit Umkehrphasen-Kieselgel (C18) durchgeführt (Gradient: Wasser/MeOH 10 – 90 %). Ausbeute: 32 mg farbloser Feststoff (48 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.12 (bs, 1H), 8.66 – 8.55 (m, 2H), 7.85 – 7.79 (m, 2H), 7.65 – 7.54 (m, 7H), 7.49 – 7.44 (m, 1H), 7.34 – 7.28 (m, 1H), 7.27 – 7.22 (m, 1H), 7.20 – 7.11 (m, 3H), 3.50 – 3.43 (m, 6H), 3.12 (s, 3H), 2.45 – 2.36 (m, 4H), 2.34 (s, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 154.9, 143.5, 143.0, 140.0, 140.0, 137.1, 136.7, 136.2, 136.0, 133.9, 133.5, 131.2, 130.1, 129.6, 127.0, 126.9, 125.4, 121.6, 120.3, 119.9, 118.4, 118.2, 114.0, 108.0, 60.1, 52.7, 43.9, 39.7, 18.9. HPLC $t_{\text{ret}} = 5.82$ min. ESI-MS m/z : 594.9 $[M+H]^+$. IR [cm^{-1}] 693, 742, 813, 914, 964, 999, 1146, 1232, 1309, 1412, 1483, 1595, 1636.

N-(3-(6-(4-(3-(1-Methylpyrrolidin-3-yl)ureido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)methansulfonamid (**194**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 85 mg **126** (0,21 mmol) und 45 mg 1-(4-Bromphenyl)-3-(1-methylpyrrolidin-3-yl)harnstoff¹⁴⁸ (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 65 °C. Die Reaktion wurde mit gesättigter NaHCO₃-Lösung verdünnt, gefolgt von einer Extraktion mit DCM. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 5 – 10 %). Ausbeute: 36 mg weißlicher Feststoff (48 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.19 (bs, 1H), 8.59 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 7.84 – 7.78 (m, 2H), 7.62 – 7.56 (m, 5H), 7.47 (d, *J* = 8.6 Hz, 3H), 7.31 (dd, *J* = 8.1, 1.2 Hz, 1H), 6.42 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 4.19 – 4.10 (m, 1H), 3.13 (s, 3H), 2.75 – 2.64 (m, 1H), 2.61 – 2.53 (m, 1H), 2.44 – 2.39 (m, 1H), 2.34 – 2.25 (m, 4H), 2.22 – 2.12 (m, 1H), 1.58 – 1.48 (m, 1H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 154.6, 143.4, 142.9, 139.9, 139.7, 136.7, 136.1, 133.5, 133.2, 131.0, 127.2, 121.5, 120.2, 118.4, 118.1, 117.9, 113.9, 107.8, 62.6, 54.4, 49.0, 41.6, 39.7, 32.6. HPLC *t*_{ret} = 3.63 min. ESI-MS *m/z*: 505.8 [M+H]⁺, 503.8 [M-H]⁻. IR [cm⁻¹] 693, 813, 965, 1100, 1146, 1218, 1310, 1482, 1522, 2851, 2920.

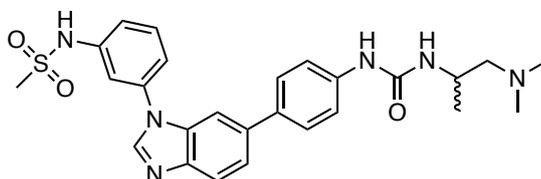
N-(3-(6-(4-(3-(1-Methylpiperidin-3-yl)ureido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)methansulfonamid (**195**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 85 mg **126** (0,21 mmol) und 47 mg 1-(4-Bromphenyl)-3-(1-methylpiperidin-3-yl)harnstoff¹⁴⁸ (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 70 °C. Die Reaktion wurde mit gesättigter NaHCO₃-Lösung verdünnt, gefolgt von einer Extraktion mit DCM. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 5 – 10 %). Ausbeute: 53 mg farbloser Feststoff (68 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.17 (s, 1H), 8.65 – 8.57 (m, 2H), 7.85 –

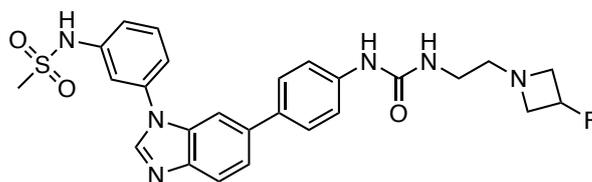
7.78 (m, 2H), 7.64 – 7.56 (m, 5H), 7.48 (d, $J = 8.6$ Hz, 3H), 7.31 (dd, $J = 8.1, 1.2$ Hz, 1H), 6.28 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 3.80 – 3.67 (m, 1H), 3.13 (s, 3H), 2.50 (s, 1H), 2.33 – 2.03 (m, 6H), 1.72 – 1.55 (m, 2H), 1.53 – 1.45 (m, 1H), 1.38 – 1.28 (m, 1H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 154.4, 143.5, 142.9, 140.0, 139.9, 136.7, 136.2, 133.5, 133.1, 131.1, 127.3, 121.5, 120.2, 118.4, 118.1, 117.8, 113.9, 107.9, 60.6, 55.2, 46.1, 45.1, 39.7, 29.1, 22.3. HPLC $t_{\text{ret}} = 3.84$ min. ESI-MS m/z : 519.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 517.9 $[\text{M}-\text{H}]^-$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 965, 1097, 1146, 1217, 1314, 1482, 1523, 1594, 1653, 2922, 3316.

N-(3-(6-(4-(3-(1-(Dimethylamino)propan-2-yl)ureido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)methansulfonamid (**196**)



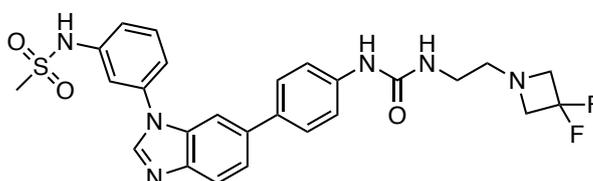
Durchführung nach **ASV 7** mit 80 mg **126** (ca. 0,165 mmol, ~85 % Reinheit) und 45 mg 1-(4-Bromphenyl)-3-(1-(dimethylamino)propan-2-yl)harnstoff¹⁴⁸ (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 70 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 2 – 10 %). Ausbeute: 52 mg farbloser Feststoff (68 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.15 (bs, 1H), 8.63 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 7.85 – 7.77 (m, 2H), 7.64 – 7.55 (m, 5H), 7.51 – 7.45 (m, 3H), 7.34 – 7.27 (m, 1H), 6.00 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 3.83 – 3.68 (m, 1H), 3.13 (s, 3H), 2.35 – 2.26 (m, 1H), 2.17 (s, 6H), 2.16 – 2.10 (m, 1H), 1.09 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 154.8, 143.5, 142.9, 140.0, 140.0, 136.7, 136.2, 133.5, 133.1, 131.1, 127.2, 121.5, 120.2, 118.4, 118.1, 117.8, 113.9, 107.8, 64.7, 45.4, 43.1, 39.7, 19.7. HPLC $t_{\text{ret}} = 3.88$ min. ESI-MS m/z : 507.8 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 505.8 $[\text{M}-\text{H}]^-$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 693, 813, 965, 1033, 1100, 1147, 1218, 1312, 1406, 1482, 1522, 1594, 1654, 1663, 2923, 3341.

N-(3-(6-(4-(3-(2-(3-Fluorazetidin-1-yl)ethyl)ureido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)methansulfonamid (**197**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 79 mg **126** (0,16 mmol, 85 % HPLC-Reinheit) und 45 mg 1-(4-Bromphenyl)-3-(2-(3-fluorazetidin-1-yl)ethyl)harnstoff¹⁴⁸ (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 80 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 6 – 10 %). Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM aufgenommen, mit *n*-Pentan präzipitiert und durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 76 mg farbloser Feststoff (97 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.13 (bs, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 7.86 – 7.76 (m, 2H), 7.65 – 7.54 (m, 5H), 7.51 – 7.44 (m, 3H), 7.31 (dd, *J* = 8.1, 1.2 Hz, 1H), 6.11 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H), 5.27 – 5.05 (m, 1H), 3.65 – 3.52 (m, 2H), 3.19 – 3.04 (m, 7H), 2.53 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.0, 143.5, 142.9, 139.9, 139.9, 136.7, 136.2, 133.5, 133.2, 131.1, 127.3, 121.5, 120.2, 118.4, 118.1, 117.9, 113.8, 107.9, 82.84 (d, *J* = 201.7 Hz), 61.1, 60.9, 58.6, 37.3. HPLC *t*_{ret} = 3.64 min. ESI-MS *m/z*: 523.9 [M+H]⁺. IR [cm⁻¹] 694, 801, 813, 964, 1142, 1219, 1312, 1472, 1487, 1523, 1597, 1653, 2846, 2923, 3308.

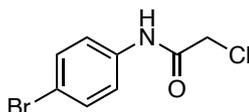
N-(3-(6-(4-(3-(2-(3,3-Difluorazetidin-1-yl)ethyl)ureido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)methansulfonamid (**198**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 80 mg **126** (0,17 mmol, 85 % HPLC-Reinheit) und 50 mg 1-(4-Bromphenyl)-3-(2-(3,3-difluorazetidin-1-yl)ethyl)harnstoff¹⁴⁸ (0,15 mmol) in 4 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 70 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH 1,5 – 8 %). Das Produkt wurde in einem Gemisch aus DCM und *n*-Pentan (1 + 1) suspendiert und durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 60 mg farbloser Feststoff (74 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.14 (s, 1H),

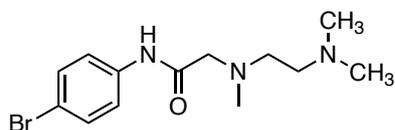
8.69 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 7.86 – 7.77 (m, 2H), 7.63 – 7.54 (m, 5H), 7.52 – 7.45 (m, 3H), 7.34 – 7.28 (m, 1H), 6.16 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H), 3.61 (t, $J = 12.5$ Hz, 4H), 3.16 – 3.08 (m, 5H), 2.63 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H). HPLC $t_{\text{ret}} = 3.88$ min. ESI-MS m/z : 539.8 $[\text{M-H}]^-$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 693, 790, 813, 892, 964, 977, 1139, 1221, 1313, 1491, 1523, 1601, 1655, 3318.

N-(4-Bromphenyl)-2-chloroacetamid (**208**)



4-Bromanilin (1161 mg, 6,71 mmol) wurde in 36 ml trockenem DCM gelöst und Chloroacetylchlorid (0,56 ml, 6,7 mmol) langsam hinzugegeben. Dabei entstand eine Suspension, die nach 5 min bei Raumtemperatur mit Et_3N (1,2 ml, 8,0 mmol) versetzt wurde. Da es zu einer Wärmeentwicklung kam, wurde die Reaktion mit einem Eisbad gekühlt. Nach 30 min zeigte die Reaktionskontrolle via DC einen vollständigen Verbrauch des Eduktes. Die Reaktion wurde in einen Scheidetrichter transferiert und mit NaCl-Lösung (gesättigt) gewaschen. Die NaCl-Lösung wurde mit EA reextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet und eingedunstet. Das Rohprodukt (grauer Feststoff) wurde in EtOH umkristallisiert. Ausbeute: 1136 mg weißlicher Feststoff (68 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.43 (s, 1H), 7.57 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.51 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 4.25 (s, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 164.8, 137.9, 131.7, 121.3, 115.5, 43.5. HPLC $t_{\text{ret}} = 8.58$ min.

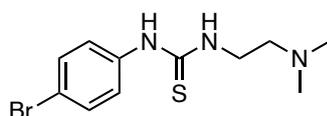
N-(4-Bromphenyl)-2-((2-(dimethylamino)ethyl)(methyl)amino)acetamid (**209**)



Zu einer Lösung von 203 mg *N,N,N'*-Trimethylethylendiamin (2,00 mmol) in trockenem Dioxan wurden 494 mg **208** (2,00 mmol) hinzugegeben und die Reaktion auf 100 °C erhitzt (nicht optimal \rightarrow Menshutkin-Produkt wurde als Nebenprodukt gefunden). Reaktionszeit: 15 min. Die Reaktion wurde mit wässriger NaOH (2 N) bei Raumtemperatur verdünnt und das Rohprodukt mit EA und DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden

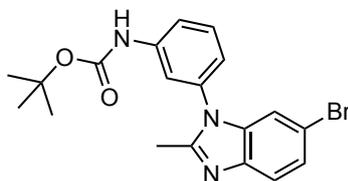
über Na₂SO₄ getrocknet und die Lösungsmittel eingedampft. Das Rohprodukt wurde mit groben SiO₂ isokratisch mit DCM/MeOH 2 N NH₃ 10 % aufgereinigt. Ausbeute: 322 mg gelbes Öl (46 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.24 (s, 1H), 7.59 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.49 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 3.15 (s, 2H), 2.53 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.38 – 2.32 (m, 5H), 2.15 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 169.9, 138.1, 131.6, 120.9, 114.7, 61.1, 57.0, 54.8, 45.3, 43.3. HPLC *t*_{ret} = 4.73 min. ESI-MS *m/z*: 314.3 [M+H]⁺.

1-(4-Bromphenyl)-3-(2-(dimethylamino)ethyl)thioharnstoff (**211**)



In 12 ml trockenem Toluol wurden 515 mg 4-Bromthioisocyanat (2,32 mmol) gelöst und *N,N*-Dimethylethylendimain (212 mg, 2,41 mmol) hinzugegeben. Nach kurzer Zeit entstand ein voluminöser Niederschlag. Die Reaktionskontrolle über DC zeigte nach 30 min eine vollständige Umsetzung (gewünschtes Produkt über DC-MS nachgewiesen). Das Produkt wurde über eine Filtration gewonnen. Ausbeute: 699 mg Feststoff (96 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.77 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.49 – 7.45 (m, 4H), 3.62 – 3.43 (m, 2H), 2.42 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.18 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 180.2, 139.0, 131.2, 124.4, 115.5, 57.1, 45.0, 41.7. HPLC *t*_{ret} = 4.14 min. ESI-MS *m/z*: 257.0 [M-NMe₂]⁺, 302.2 [M+H], 300.0 [M-H]⁻.

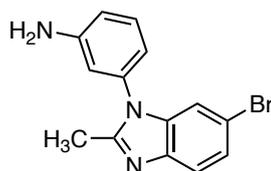
tert-Butyl(3-(6-brom-2-methyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)carbammat (**213**)



Durchführung nach **ASV 3** mit 826 mg **72** (2,0 mmol), 1068 mg Zinkpulver (16,34 mmol) und 1698 mg NH₄Cl (31,74 mmol) in 40 ml MeOH. Im Schritt 2 nach **ASV 4** wurde Triethylorthoacetat (6,0 mmol, 1,1 ml) anstatt Triethylorthoformiat unter den gleichen Bedingungen verwendet. Ausbeute: 795 mg Feststoff (98 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.69 (s, 1H), 7.65 – 7.60 (m, 2H), 7.60 – 7.56 (m, 1H), 7.52 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.37 (dd, *J* = 8.5, 1.9 Hz, 1H), 7.27 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.17 – 7.13 (m, 1H), 2.43 (s, 3H), 1.47 (s,

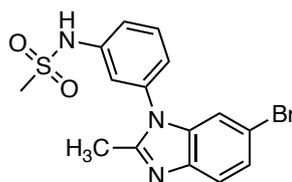
9H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 152.7, 152.6, 141.2, 141.1, 136.9, 135.1, 130.4, 125.1, 120.3, 120.2, 118.4, 115.9, 114.7, 112.6, 79.6, 28.1, 14.1. HPLC $t_{\text{ret}} = 10.93$ min. ESI-MS m/z : 424.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

3-(6-Brom-2-methyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)anilin (**214**)



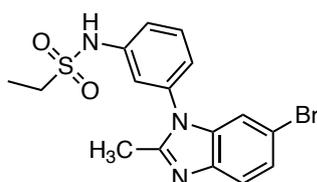
Durchführung nach **ASV 5** mit 756 mg **213** in 15 ml EtOH. Die Lösung wurde mit ethanolischer HCl (1,25 M, 7,5 ml) versetzt (resultiert in Reaktion bräunlicher Färbung). Der Ansatz wurde 6 h lang bei 50 °C gerührt, bis die HPLC einen nahezu vollständigen Verbrauch des Ausgangsmaterials (< 3 %) anzeigte. Ausbeute: 1397 mg (74 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.56 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.34 (dd, $J = 8.5, 1.9$ Hz, 1H), 7.27 – 7.22 (m, 2H), 6.73 (dd, $J = 8.1, 1.3$ Hz, 1H), 6.63 – 6.56 (m, 2H), 5.51 (s, 2H), 2.42 (s, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 152.5, 150.3, 141.4, 137.1, 135.6, 130.4, 124.7, 120.2, 114.4, 114.2, 113.3, 112.6, 111.2, 14.1. HPLC $t_{\text{ret}} = 6.25$ min.

N-(3-(6-Brom-2-methyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)methansulfonamid (**215**)



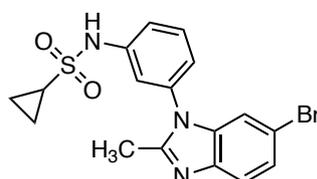
Durchführung nach **ASV 6** mit 105 mg **214** (0,347 mmol) und 0,03 ml MsCl (0,42 mmol) in 2 ml trockenem Pyridin. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH 0 – 6 %). Ausbeute: 51 mg Feststoff (40 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.10 (s, 1H), 7.63 – 7.58 (m, 2H), 7.40 – 7.35 (m, 2H), 7.33 – 7.28 (m, 3H), 3.12 (s, 3H), 2.44 (s, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 152.5, 141.5, 139.9, 136.9, 135.7, 131.0, 125.0, 121.7, 120.3, 119.6, 117.3, 114.7, 112.6, 39.8, 14.2. HPLC $t_{\text{ret}} = 7.16$ min.

N-(3-(6-Brom-2-methyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)ethansulfonamid (**216**)



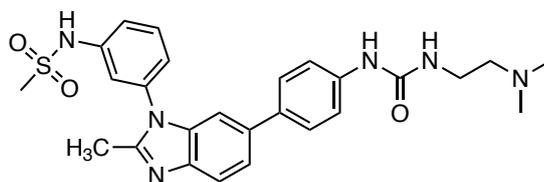
Zu einer Lösung von **214** (100 mg, 0,330 mmol) in 2 ml trockenem Pyridin wurden 51 μ l Ethansulfonylchlorid (0,396 mmol) hinzugetropft. Die orange-braune Reaktion wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständiger Umsetzung der Edukte (Reaktionskontrolle via HPLC) wurde die Reaktion mit 1 T MeOH verdünnt und die Lösungsmittel wurden evaporiert. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie (DCM/MeOH 1,5 %) aufgereinigt. Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM aufgenommen, mit *n*-Pentan präzipitiert und durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 90 mg farbloser Feststoff (69 %). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 10.15 (s, 1H), 7.62 – 7.56 (m, 2H), 7.40 – 7.36 (m, 2H), 7.33 – 7.27 (m, 3H), 3.22 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.44 (s, 3H), 1.23 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H). HPLC $t_{\text{ret}} = 8.82$ min. ESI-MS m/z : 392.0 $[\text{M-H}]^-$, 394.0 $[\text{M+H}]^+$.

N-(3-(6-Brom-2-methyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)cyclopropansulfonamid (**217**)



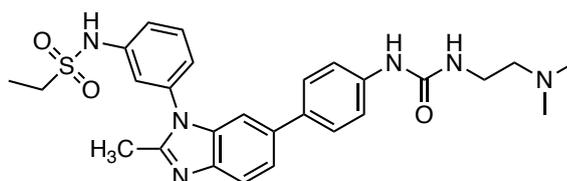
Durchführung nach **ASV 6** mit 100 mg **214** (0,330 mmol) und 46 μ l Cyclopropansulfonylchlorid (0,424 mmol). Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH 1,5 – 3,5 %). Ausbeute: 86 mg farbloser Feststoff (64 %). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 10.09 (s, 1H), 7.63 – 7.57 (m, 2H), 7.43 – 7.39 (m, 1H), 7.38 (dd, $J = 8.5, 1.9$ Hz, 1H), 7.33 – 7.28 (m, 3H), 2.82 – 2.74 (m, 1H), 2.44 (s, 3H), 1.00 – 0.95 (m, 4H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, DMSO) δ 152.5, 141.5, 139.9, 136.9, 135.6, 130.9, 125.0, 122.0, 120.4, 120.3, 117.9, 114.7, 112.5, 29.8, 14.2, 5.1. HPLC $t_{\text{ret}} = 7.04$ min. ESI-MS m/z : 404.1 $[\text{M-H}]^-$.

N-(3-(6-(4-(3-(2-(Dimethylamino)ethyl)ureido)phenyl)-2-methyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)methansulfonamid (**218**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 42 mg **215** (0,11 mmol) und 37 mg **94** (0,11 mmol) in 5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 70 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 10 %). Ausbeute: 33 mg weißlicher Feststoff (59 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.08 (bs, 1H), 8.89 (s, 1H), 7.66 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.64 – 7.58 (m, 1H), 7.53 – 7.44 (m, 5H), 7.39 – 7.32 (m, 4H), 6.33 (s, 1H), 3.32 – 3.27 (m, 2H), 3.12 (s, 3H), 2.69 (s, 2H), 2.46 (d, *J* = 8.9 Hz, 9H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.3, 151.6, 141.5, 139.8, 139.6, 136.3, 136.2, 135.0, 133.4, 131.0, 127.1, 121.7, 121.0, 119.3, 118.8, 118.0, 117.3, 107.1, 57.8, 44.0, 39.8, 35.9, 14.4. HPLC *t*_{ret} = 2.88 min. ESI-MS *m/z*: 507.4 [M+H]⁺, 505.3 [M-H]⁻. IR [cm⁻¹] 696, 756, 793, 813, 840, 965, 1103, 1146, 1222, 1274, 1310, 1388, 1405, 1471, 1521, 1595, 1670, 1684.

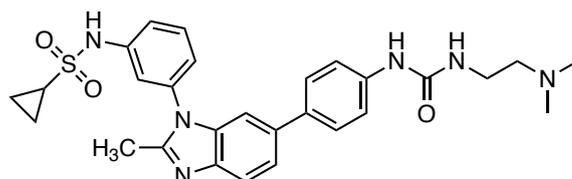
N-(3-(6-(4-(3-(2-(Dimethylamino)ethyl)ureido)phenyl)-2-methyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)ethansulfonamid (**219**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 69 mg **216** (0,18 mmol) und 50 mg **94** (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 75 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 5,5 – 10 %, Ausbeute: 63 mg). Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM aufgenommen, mit *n*-Pentan präzipitiert und durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 50 mg weißlicher Feststoff (64 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.14 (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 7.66 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.63 – 7.58 (m, 1H), 7.52 – 7.47 (m, 3H), 7.44 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.39 – 7.32 (m, 4H), 6.11 (t, *J* = 5.1 Hz, 1H), 3.25 – 3.15 (m, 4H), 2.48 (s, 3H), 2.35 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.19 (s, 6H), 1.23

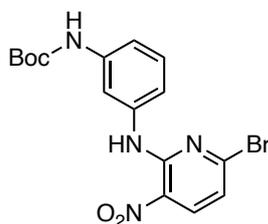
(t, $J = 7.3$ Hz, 3H). HPLC $t_{\text{ret}} = 5.29$ min. ESI-MS m/z : 521.3 $[M+H]^+$, 519.3 $[M-H]^-$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 677, 699, 817, 958, 1148, 1232, 1278, 1310, 1325, 1391, 1472, 1523, 1551, 1593, 1647, 2759, 2816, 2938, 2978, 3279, 3288.

N-(3-(6-(4-(3-(2-(Dimethylamino)ethyl)ureido)phenyl)-2-methyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)cyclopropansulfonamid (**220**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 69 mg **217** (0,170 mmol) und 50 mg **94** (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 75 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 9 – 10 %). Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM aufgenommen, mit *n*-Pentan präzipitiert und durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 54 mg farbloser Feststoff (68 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.08 (bs, 1H), 8.75 (s, 1H), 7.66 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.63 – 7.58 (m, 1H), 7.52 – 7.47 (m, 3H), 7.45 – 7.38 (m, 4H), 7.38 – 7.34 (m, 1H), 7.32 – 7.30 (m, 1H), 6.11 (t, $J = 5.2$ Hz, 1H), 3.21 – 3.16 (m, 2H), 2.78 (p, $J = 6.4$ Hz, 1H), 2.48 (s, 3H), 2.35 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H), 2.19 (s, 6H), 0.96 (d, $J = 6.3$ Hz, 4H). HPLC $t_{\text{ret}} = 6.55$ min. ESI-MS m/z : 533.3 $[M+H]^+$, 531.3 $[M-H]^-$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 699, 814, 887, 1037, 1146, 1226, 1308, 1331, 1388, 1472, 1522, 1594, 1653, 2773, 2819, 2876, 2929, 3036, 3307.

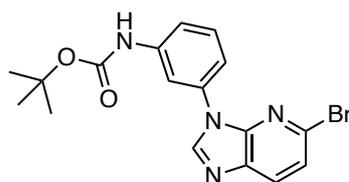
tert-Butyl(3-((6-brom-3-nitropyridin-2-yl)amino)phenyl)carbamate (**221**)



Zu einer Lösung von 988 mg 2,6-Dibrom-3-nitropyridin (3,51 mmol) in 12 ml trockenem DMF wurden 695 mg *tert*-Butyl(3-aminophenyl)carbamate (3,34 mmol) portionsweise zugegeben. Nach 5 min wurden 0,6 ml Triethylamin (4,2 mmol) zugetropft, wobei sich die Lösung sofort braun und später dunkelrot-orange färbte. Die Reaktion wurde bei

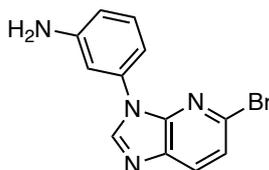
Raumtemperatur gerührt, bis über DC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe nachgewiesen werden konnte (ca. 6 h). Die Reaktion wurde mit Wasser verdünnt (5 – 10 T), wobei das Produkt ausölte. Eine kleine Menge des Produkts wurde in einer kleinen Menge MeOH aufgenommen und mithilfe von Kratzen konnte eine Kristallisation eingeleitet werden. Die Impfkristalle wurden mit dem restlichen Rohprodukt vereinigt, um eine Kristallisation einzuleiten. Der resultierende Feststoff wurde durch Filtration gewonnen und luftgetrocknet. Ausbeute: 1158 mg rot-oranger Feststoff (85 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.02 (s, 1H), 9.45 (s, 1H), 8.39 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.73 – 7.66 (m, 1H), 7.30 – 7.21 (m, 3H), 7.13 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 1.48 (s, 9H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 152.7, 148.9, 145.8, 140.0, 138.1, 137.9, 128.8, 128.4, 117.8, 116.7, 114.8, 112.8, 79.2, 28.1. HPLC t_{ret} = 10.46 min. ESI-MS m/z : 407.3 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 431.3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

tert-Butyl(3-(5-brom-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-3-yl)phenyl)carbammat (**222**)



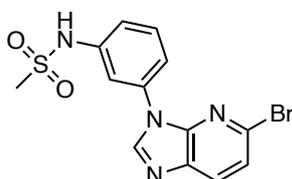
Schritt 1: Durchführung nach **ASV 3** mit 418 mg **221** (1,02 mmol), 910 mg Zinkpulver (13,91 mmol), 547 mg NH_4Cl (10,24 mmol) in 30 ml MeOH. Nach 1,5 h zeigte die Reaktionskontrolle (über DC) den vollständigen Verbrauch des Ausgangsmaterials. Schritt 2: nach **ASV 4** mit 0,55 ml Triethylorthoformiat und 19 mg *p*-TsOH· H_2O in 30 ml Toluol bei 60 – 70 °C (Reaktionszeit: 1,5 h). Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH 0 – 3 %). Ausbeute: 240 mg Feststoff (60 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.71 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.18 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.93 (t, J = 2.0 Hz, 1H), 7.60 – 7.53 (m, 2H), 7.50 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.38 – 7.34 (m, 1H), 1.49 (s, 9H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 152.7, 146.1, 144.9, 140.7, 135.2, 134.7, 134.7, 130.9, 129.9, 122.6, 117.7, 117.6, 113.5, 79.5, 28.1. HPLC t_{ret} = 10.35 min. ESI-MS m/z : 411.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

3-(5-Brom-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-3-yl)anilin (**223**)



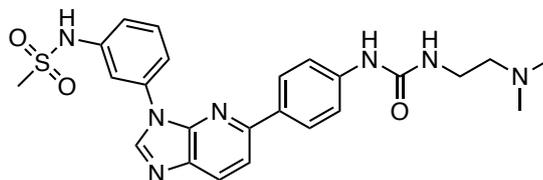
Durchführung nach **ASV 5** mit 226 mg **222** in ca. 4 ml EtOH. Ethanolische HCl (1,25 M, 4 ml) wurde hinzugefügt und die Reaktion über Nacht auf 50 °C erhitzt. Die weißlich-beige Suspension wurde mit Diethylether (ca. 8 ml) verdünnt und das HCl-Salz des Produkts wurde durch Filtration gewonnen. Das Hydrochloridsalz wurde in gesättigter NaHCO₃-Lösung gegeben und mit DCM (4x) extrahiert. Die organische Phase wurde getrocknet und evaporiert, um das Produkt als Feststoff zu erhalten. ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.75 (s, 1H), 8.16 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.55 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.22 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.94 (t, *J* = 2.1 Hz, 1H), 6.86 – 6.82 (m, 1H), 6.69 – 6.65 (m, 1H), 5.51 (s, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 149.9, 146.1, 145.0, 135.1, 135.0, 134.8, 130.8, 130.0, 122.3, 113.5, 110.7, 108.7. HPLC *t*_{ret} = 8.24 min. ESI-MS *m/z*: 289.0 [M+H]⁺.

N-(3-(5-Brom-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-3-yl)phenyl)methansulfonamid (**224**)



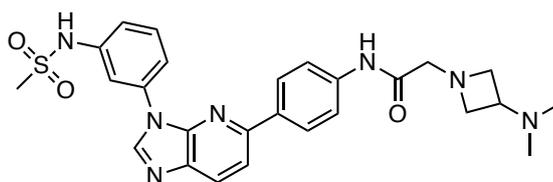
223 (gesamtes Rohprodukt) wurde in trockenem Pyridin (ca. 3 ml) gelöst und mit MsCl (62 µl, 0,64 mmol) versetzt. Nach 12 h Rühren bei Raumtemperatur zeigte die Reaktionskontrolle über HPLC den vollständigen Verbrauch des Ausgangsmaterials. Die Reaktion wurde mit MeOH verdünnt und für 15 min weitergerührt. Die Lösungsmittel wurden evaporiert und das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie (Gradient: DCM/MeOH 0 – 5 %) aufgereinigt. Aufgrund persistierender Pyridinreste wurde das Produkt unter Hochvakuum getrocknet. Ausbeute: 151 mg Schaum/Feststoff (74 % über zwei Schritte). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.21 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.20 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.73 (t, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.62 – 7.56 (m, 2H), 7.55 – 7.51 (m, 1H), 7.32 – 7.27 (m, 1H), 3.16 (s, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 146.0, 144.8, 139.6, 135.2, 135.2, 134.9, 131.0, 130.6, 122.7, 118.4, 118.4, 113.9, 39.6. HPLC *t*_{ret} = 8.12 min.

N-(3-(5-(4-(3-(2-(Dimethylamino)ethyl)ureido)phenyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-3-yl)phenyl)methansulfonamid (**225**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 51 mg **94** (0,153 mmol) und 61 mg **224** (0,165 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 60 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 5 – 10 %). Ausbeute: 58 mg Feststoff (77 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.15 (bs, 1H), 8.89 – 8.83 (m, 2H), 8.21 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 8.11 – 8.06 (m, 3H), 7.90 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.68 – 7.64 (m, 1H), 7.59 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.51 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.29 – 7.25 (m, 1H), 6.16 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.23 – 3.18 (m, *J* = 11.5, 5.9 Hz, 2H), 3.12 (s, 3H), 2.36 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H). HPLC *t*_{ret} = 5.63 min. ESI-MS *m/z*: 494.0 [M+H]⁺, 491.9 [M-H]⁻. IR [cm⁻¹] 662, 677, 693, 743, 759, 781, 788, 817, 962, 976, 1141, 1182, 1224, 1307, 1320, 1404, 1457, 1497, 1515, 1539, 1595, 1653, 2764, 2817, 2855, 2930, 2972, 3056, 3088, 3124, 3308.

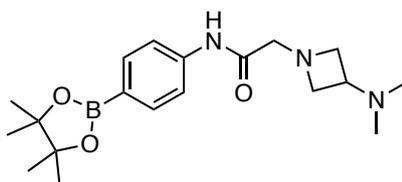
2-(3-(Dimethylamino)azetidin-1-yl)-*N*-(4-(3-(3-(methylsulfonamido)phenyl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-5-yl)phenyl)acetamid (**226**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 58 mg **224** (0,16 mmol) und 54 mg **227** (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 70 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 6 – 10 %). Ausbeute: 34 mg weißlicher Feststoff (44 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.18 (bs, 1H), 9.82 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.24 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 8.16 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 8.13 (t, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.95 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.78 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.68 – 7.63 (m, 1H), 7.59 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.29 – 7.24 (m, 1H), 3.54 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 3.25 (s, 2H), 3.12 (s, 3H), 2.95 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 2.89 – 2.82 (m, 1H), 2.02 (s, 6H). HPLC *t*_{ret} = 3.67 min (Methode C). ESI-

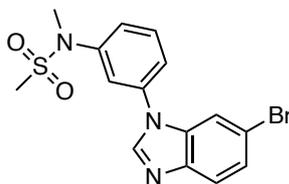
MS m/z : 520.3 $[M+H]^+$. IR $[cm^{-1}]$ 688, 781, 817, 963, 1142, 1308, 1401, 1457, 1500, 1522, 1593, 1676, 2819, 2850, 2927.

2-(3-(Dimethylamino)azetidin-1-yl)-*N*-(4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)acetamid (**227**)



4-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)anilin (328 mg, 1,5 mmol) wurde in 10 ml trockenem Dioxan gelöst. Chloracetylchlorid (0,12 ml, 1,5 mmol) wurde tropfenweise zu der Lösung gegeben, gefolgt von der Zugabe an Triethylamin (0,25 ml, 1,8 mmol). Die Reaktion wurde 15 min lang gerührt, bis die Reaktionskontrolle über DC den vollständigen Verbrauch des Ausgangsmaterials anzeigte. *N,N*-Dimethylazetidin-3-amin (260 mg, 1,5 mmol, Dihydrochloridsalz) wurde der Reaktion zugesetzt, gefolgt von weiteren 0,25 ml Trimethylamin (1,8 mmol). Der Ansatz wurde 2,5 h lang bei 50 °C gerührt und anschließend mit wässriger NaOH (2 N) verdünnt. Das Produkt wurde mit DCM extrahiert. Nach Trocknen und Entfernen der organischen Phase wurde das Rohprodukt als braunes Harz (411 mg, 76 %) gewonnen. 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.78 (s, 1H), 7.65 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.59 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 3.51 (dd, J = 7.2, 6.3 Hz, 2H), 3.22 (s, 2H), 2.93 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 2.86 – 2.80 (m, 1H), 2.00 (s, 6H), 1.28 (s, 12H). HPLC t_{ret} = 6.32 min. ESI-MS m/z : 360.1 $[M+H]^+$.

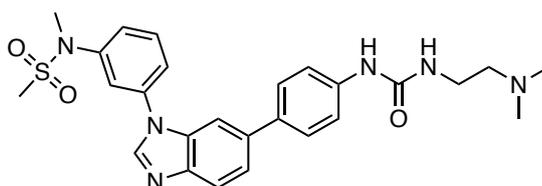
N-(3-(6-Brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)-*N*-methylmethansulfonamid (**228**)



Durchführung nach **ASV 6** mit 120 mg **80** (0,40 mmol) und 40 μ l MsCl (0,52 mmol) in 2 ml trockenem Pyridin. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH 0 – 10 %). Ausbeute: 120 mg (79 %). 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.64 (s, 1H), 7.81 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.77 – 7.73 (m, 2H), 7.69 – 7.62 (m, 2H),

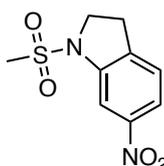
7.57 – 7.53 (m, 1H), 7.47 (dd, $J = 8.6, 1.7$ Hz, 1H), 3.34 (s, 3H), 3.04 (s, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 144.3, 143.0, 142.8, 135.8, 134.2, 130.6, 125.6, 125.4, 122.1, 121.7, 121.4, 116.0, 113.5, 37.5, 35.3. HPLC $t_{\text{ret}} = 7.67$ min. ESI-MS m/z : 380.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 402.3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

N-(3-(6-(4-(3-(2-(Dimethylamino)ethyl)ureido)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)-*N*-methylmethansulfonamid (**229**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 57 mg **228** (0,15 mmol) und 50 mg **94** (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 60 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 4,5 – 10 %). Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM gelöst, mit *n*-Pentan ausgefällt und durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 55 mg Feststoff (72 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.74 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 7.87 – 7.76 (m, 3H), 7.73 – 7.64 (m, 2H), 7.63 – 7.51 (m, 4H), 7.47 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.11 (t, $J = 5.0$ Hz, 1H), 3.35 (s, 3H), 3.23 – 3.16 (m, 2H), 3.05 (s, 3H), 2.34 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H), 2.18 (s, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.1, 143.6, 143.0, 142.9, 139.9, 136.3, 136.1, 133.6, 133.0, 130.6, 127.2, 124.9, 121.9, 121.5, 121.2, 120.1, 117.8, 107.8, 58.5, 45.0, 37.5, 36.9, 35.3. HPLC $t_{\text{ret}} = 4.59$ min. ESI-MS m/z : 507.8 $[\text{M}+\text{H}]^+$. IR [cm^{-1}] 696, 777, 814, 881, 956, 1144, 1223, 1334, 1407, 1473, 1493, 1523, 1597, 1653, 2774, 3325.

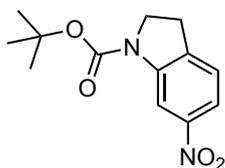
1-(Methylsulfonyl)-6-nitroindolin (**230**)



Zu einer eisgekühlten Lösung von 11,5 g 6-Nitroindolin (70,05 mmol) in 70 ml Pyridin wurden 8,13 g MsCl (70,98 mmol) portionsweise zugegeben. Die Reaktion wurde für 20 – 30 min unter Eiskühlung gerührt, wobei sich eine dunkelrote Suspension bildete. Nach

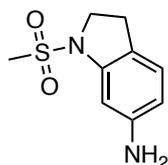
vollständiger Umsetzung des Eduktes (Reaktionskontrolle via HPLC nach ca. 2 h bei Raumtemperatur) wurde die Reaktion mit kaltem Wasser (350 ml) verdünnt. Das Produkt wurde durch Filtration gewonnen, mit Wasser gewaschen und luftgetrocknet (auf der Sinterfritte mit Unterdruck), Ausbeute: dunkelroter kristalliner Feststoff (16,75 g, 99 %). (Optionaler Aufreinigungsschritt: Produkt in heißem MeOH suspendieren und bei Raumtemperatur erneut filtrieren). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.97 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.91 (dd, $J = 8.2, 2.2$ Hz, 1H), 7.55 – 7.50 (m, $J = 8.2$ Hz, 1H), 4.06 (t, $J = 8.6$ Hz, 2H), 3.25 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 3.13 (s, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 147.5, 143.1, 140.2, 126.2, 118.8, 107.4, 50.4, 34.9, 27.5. HPLC $t_{\text{ret}} = 7.66$ min.

tert-Butyl-6-nitroindolin-1-carboxylat (**231**)



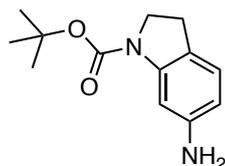
Zu einer Lösung von 5194 mg 6-Nitroindolin (31,66 mmol) in 40 ml Dioxan wurden 6910 mg Boc₂O und eine katalytische Menge DMAP (40 mg) hinzugegeben. Der Ansatz wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, bis die Reaktionskontrolle über DC den vollständigen Verbrauch des Ausgangsmaterials zeigte. Das Lösungsmittel wurde evaporiert und das flüssige Rohprodukt wurde mit einer kleinen Menge MeOH überschichtet, um die Kristallisation einzuleiten. Die Suspension wurde im Kühlschrank gelagert. Das Produkt wurde durch Filtration gewonnen und mit einer kleinen Menge kaltem MeOH gewaschen. Ausbeute: 7464 mg hellgelber Feststoff (28,24 mmol, 89 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.58 – 8.04 (m, 1H), 7.80 (dd, $J = 8.2, 2.2$ Hz, 1H), 7.42 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 3.99 (t, $J = 8.7$ Hz, 2H), 3.17 (t, $J = 8.7$ Hz, 2H), 1.52 (s, 9H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 151.6, 147.1, 143.7, 140.1, 125.4, 117.7, 108.0, 80.9, 48.0, 27.9, 26.9. HPLC $t_{\text{ret}} = 11.13$ min.

1-(Methylsulfonyl)indolin-6-amin (**232**)



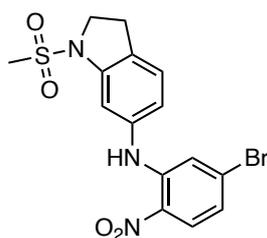
Zu einer eisgekühlten Suspension aus 329 mg **230** (1,36 mmol) und 726 mg NH₄Cl (13 mmol) in MeOH wurden 888 mg Zinkpulver (13 mmol) langsam über 5 min zugegeben, wobei sich die Farbe schnell ins Violette veränderte. Die Reaktion wurde mit 1 T EA verdünnt, nachdem die Reaktionskontrolle (DC) den vollständigen Verbrauch des Ausgangsmaterials zeigte (typischerweise durch eine farblose Reaktionslösung/Überstand gekennzeichnet). Die Suspension wurde über Kieselgur filtriert. Die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer entfernt, wobei ein kristallines bräunliches Produkt (260 mg, 90 %) erhalten wurde. ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 6.90 – 6.85 (m, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.60 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 6.23 (dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz, 1H), 5.10 (s, 2H), 3.83 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H), 2.95 – 2.86 (m, 5H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 148.5, 142.7, 125.4, 118.2, 109.2, 99.6, 50.6, 33.6, 26.6. HPLC *t*_{ret} = 1.87 min. ESI-MS *m/z*: 213.1 [M+H]⁺.

tert-Butyl-6-aminoindolin-1-carboxylat (**233**)



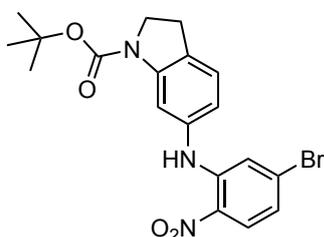
Durchführung nach ASV **3** mit 14,01 g **231** (53,01 mmol), 34,65 g Zinkpulver und 28,35 g NH₄Cl in 250 ml MeOH. Nach der Aufarbeitung erhält man ein Öl, wobei die Kristallisation durch Kratzen eingeleitet werden konnte (cave: ggf. kühlen, da die Kristallisation stark exotherm ist und zu einem Siedeverzug führen kann, wenn Lösungsmittelreste vorhanden sind). Das Rohprodukt wurde in EtOH/EA umkristallisiert und das erhaltene gelblich-kristalline Produkt wurde mit geringen Mengen kalten EtOH gewaschen. Ausbeute: 11,58 g (93 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.08 (bs, 1H), 6.79 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.13 (dd, *J* = 7.9, 2.1 Hz, 1H), 4.93 (s, 2H), 3.82 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 2.85 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 1.49 (s, 9H). HPLC *t*_{ret} = 7.75 min.

N-(5-Brom-2-nitrophenyl)-1-(methylsulfonyl)indolin-6-amin (**234**)



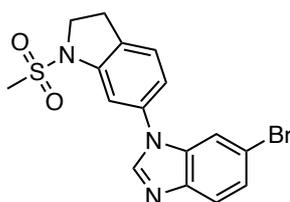
Durchführung nach **ASV 1** mit 261 mg 4-Brom-2-fluor-1-nitrobenzol (1,19 mmol), 240 mg **232** (mmol) und 0,48 ml Et₃N bei 70 °C. Reaktionszeit: 48 h, Ausbeute: 185 mg gelblicher Feststoff (40 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.47 (s, 1H), 8.04 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.33 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.23 – 7.17 (m, 2H), 7.04 – 6.97 (m, 2H), 3.98 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 3.13 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 3.06 (s, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 143.2, 143.2, 138.0, 132.4, 129.8, 129.3, 128.2, 126.2, 120.5, 119.5, 118.6, 109.8, 50.5, 34.3, 27.0. HPLC *t*_{ret} = 10.60 min. ESI-MS *m/z*: 434.1 [M+Na]⁺.

tert-Butyl-6-((5-brom-2-nitrophenyl)amino)indolin-1-carboxylat (**235**)



Durchführung nach **ASV 1** mit 4508 mg 4-Brom-2-fluor-1-nitrobenzol (20,49 mmol), 4571 mg **233** (19,51 mmol) und 30,7 mmol Et₃N bei 65 °C (Reaktionszeit: über Nacht). Die Reaktion wurde mit Eiswasser gestoppt, wobei das Produkt einen halbfesten Schlamm bildete. Ein Teil des Produkts wurde in MeOH aufgenommen und verrieben, um die Kristallisation zu initiieren. Der gewonnene Feststoff wurde mit dem restlichen Produkt vereinigt und verrieben, um eine Suspension zu erhalten. Das Rohprodukt wurde über Filtration gewonnen und in heißem MeOH suspendiert und für ca. 0,5 h gerührt, bevor es auf Raumtemperatur abgekühlt und erneut filtriert wurde. Ausbeute (Rückstand): 5664 mg orangefarbener Feststoff (67 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.44 (s, 1H), 8.04 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.75 – 7.46 (m, 1H), 7.32 – 7.07 (m, 2H), 7.02 – 6.95 (m, 1H), 6.89 (dd, *J* = 7.9, 1.6 Hz, 1H), 3.95 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 3.08 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 1.47 (s, 9H). HPLC *t*_{ret} = 13.81 min. ESI-MS *m/z*: 456.1 [M+Na]⁺.

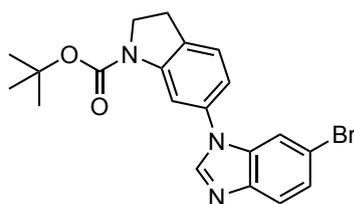
6-Brom-1-(1-(methylsulfonyl)indolin-6-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol (**236**)



Schritt 1: Durchführung nach **ASV 3** mit 167 mg **234** (0,405 mmol), 560 mg Zinkpulver, 457 mg NH₄Cl und 30 ml verwendet wurden. Schritt 2 nach **ASV 4** mit 0,2 ml Triethylorthoformiat (1,2 mmol) und 30 ml Toluol. Gradient (FC): DCM/MeOH 0,5 – 2,5 %. Ausbeute: 154 mg Feststoff (96 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.62 (s, 1H), 7.74 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.32 (dd, *J* = 7.9, 2.0 Hz, 1H), 4.06 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 3.22 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 3.14 (s, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 144.4, 143.4, 142.8, 134.7, 134.5, 131.9, 126.7, 125.5, 121.7, 118.9, 115.9, 113.4, 108.9, 50.5, 34.8, 27.1. HPLC *t*_{ret} = 9.99 min. ESI-MS *m/z*: 414.1 [M+Na]⁺.

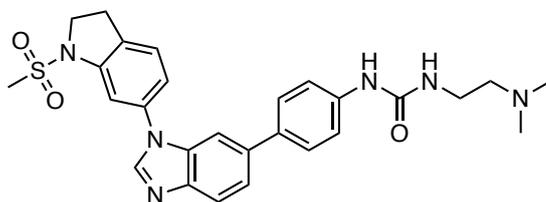
Alternative Route, Schritt 1: **237** (2029 mg, 4,90 mmol) wurde in 50 ml EtOH gelöst, mit 24 ml ethanolischer HCl (1,25 M) versetzt und auf 60 °C erhitzt, bis über HPLC der vollständige Verbrauch des Eduktes nachgewiesen werden konnte. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt wurde in NaOH-Lösung (2 N) suspendiert und mit DCM extrahiert. Die organischen Phasen werden getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Man erhält das gewünschte Produkt als dunklen Schaum (1455 mg, 95 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.48 (s, 1H), 7.71 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.42 (dd, *J* = 8.6, 1.9 Hz, 1H), 7.22 – 7.17 (m, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.71 (dd, *J* = 7.6, 2.0 Hz, 1H), 6.67 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 5.93 – 5.87 (m, 1H), 3.53 (td, *J* = 8.6, 1.5 Hz, 2H), 2.99 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 154.1, 144.3, 142.8, 134.6, 134.5, 129.0, 125.2, 125.1, 121.6, 115.6, 113.4, 111.8, 103.2, 46.8, 28.7. HPLC *t*_{ret} = 8.18 min. ESI-MS *m/z*: 314.2 [M+H]⁺. Schritt 2: Das Produkt aus Schritt 1 (1427 mg, 4,54 mmol) wurde in 15 ml trockenem Pyridin gelöst. 550 mg MsCl (4,80 mmol) wurden über 5 min zugegeben. Nach vollständiger Umsetzung wurde die Reaktion mit Wasser gestoppt und durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 1338 mg, 75 %.

tert-Butyl-6-(6-brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)indolin-1-carboxylat (**237**)



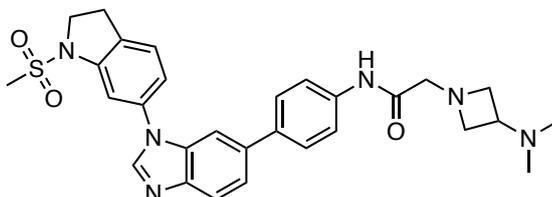
Schritt 1: Durchführung nach **ASV 3** mit 5664 mg **235** (13,04 mmol), 8530 mg Zinkpulver, 7000 mg NH₄Cl in etwa 80 ml MeOH (Reaktionszeit: über Nacht). Schritt 2 nach **ASV 4** mit 6,5 ml Triethylorthoformiat (40 mmol) und 250 mg *p*-TsOH·H₂O (10 mmol%) in 150 ml Toluol bei 70 °C verwendet (Reaktionszeit: 4,5 h). Ausbeute: 5295 mg dunkler Feststoff (98 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.57 (s, 1H), 7.91 – 7.57 (m, 3H), 7.46 (dd, *J* = 8.6, 1.9 Hz, 1H), 7.43 (m, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.21 (dd, *J* = 7.9, 2.0 Hz, 1H), 4.01 (t, *J* = 8.7 Hz, 2H), 3.16 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 1.51 (s, 9H). HPLC *t*_{ret} = 10.82 min.

1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-(4-(1-(1-(methylsulfonyl)indolin-6-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)harnstoff (**238**)



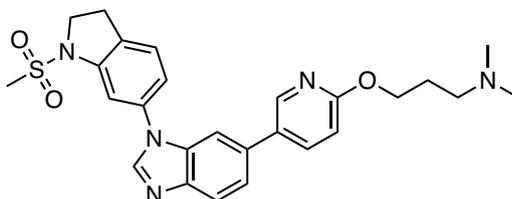
Durchführung nach **ASV 7** mit 65 mg **236** (0,17 mmol) und 50 mg **94** (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 60 °C. Die Reaktion wurde auf gesättigte NaHCO₃-Lösung gegossen und 4x mit DCM extrahiert. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 6 – 10 %). Ausbeute: 57 mg Feststoff (73 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.76 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 7.80 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.59 – 7.45 (m, 7H), 7.41 – 7.36 (m, 1H), 6.12 (t, *J* = 4.8 Hz, 1H), 4.07 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H), 3.25 – 3.17 (m, 4H), 3.15 (s, 3H), 2.34 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.18 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.1, 143.7, 143.3, 142.8, 140.0, 136.0, 135.3, 133.8, 133.1, 131.4, 127.2, 126.8, 121.4, 120.2, 118.6, 117.9, 108.6, 107.7, 58.5, 50.5, 45.0, 36.9, 34.8, 27.1. HPLC *t*_{ret} = 6.77 min. ESI-MS *m/z*: 519.4 [M+H]⁺. IR [cm⁻¹] 774, 813, 974, 1155, 1221, 1314, 1344, 1472, 1497, 1523, 1595, 1653, 1662, 1685, 2768, 2817, 2932.

2-(3-(Dimethylamino)azetidin-1-yl)-*N*-(4-(1-(1-(methylsulfonyl)indolin-6-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)acetamid (**239**)



Durchführung nach ASV 7 mit 63 mg **236** (0,16 mmol) und 54 mg **227** (0,15 mmol) in 5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 70 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 5 – 10 %). Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM aufgenommen, mit *n*-Pentan gefällt und durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 32 mg Feststoff (39 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 9.74 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 7.82 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.76 – 7.70 (m, 3H), 7.63 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.59 (dd, *J* = 8.5, 1.2 Hz, 1H), 7.54 – 7.49 (m, 2H), 7.39 (dd, *J* = 7.9, 1.6 Hz, 1H), 4.07 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.53 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.26 – 3.19 (m, 4H), 3.15 (s, 3H), 2.94 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.88 – 2.80 (m, 1H), 2.01 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 168.2, 143.9, 143.3, 143.1, 137.9, 135.7, 135.5, 135.2, 133.8, 131.5, 127.1, 126.8, 121.6, 120.3, 119.9, 118.6, 108.6, 108.1, 62.6, 59.5, 56.6, 50.5, 41.7, 34.9, 27.1. HPLC *t*_{ret} = 3.82 min (Methode C). ESI-MS *m/z*: 545.3 [M+H]⁺. IR [cm⁻¹] 774, 814, 973, 1013, 1058, 1100, 1155, 1344, 1406, 1472, 1497, 1523, 1608, 1676, 2775, 2819, 2937.

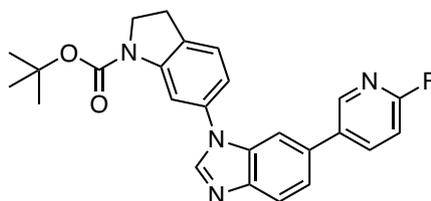
N,N-Dimethyl-3-((5-(1-(1-(methylsulfonyl)indolin-6-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)pyridin-2-yl)oxy)propan-1-amin (**240**)



Durchführung nach ASV 7 mit 62 mg **236** (0,16 mmol) und 46 mg **60** (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 70 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 3 – 10 %). Das flüssige Produkt wurde in *n*-Pentan und einer kleinen Menge Diethylether suspendiert und anschließend durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 40 mg Feststoff (54 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.62 (s, 1H), 8.48 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 8.02 (dd, *J* = 8.6, 2.5 Hz, 1H), 7.85

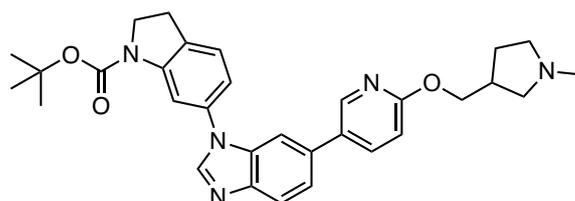
(d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.79 – 7.74 (m, 1H), 7.59 (dd, $J = 8.4, 1.2$ Hz, 1H), 7.54 – 7.48 (m, 2H), 7.40 (dd, $J = 7.9, 1.7$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 4.31 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 4.06 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 3.22 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 3.15 (s, 3H), 2.35 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.14 (s, 6H), 1.91 – 1.82 (m, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 162.7, 144.9, 144.0, 143.3, 143.2, 137.9, 135.2, 133.8, 132.8, 131.5, 129.7, 126.8, 121.5, 120.4, 118.6, 110.7, 108.6, 108.3, 64.0, 55.8, 50.5, 45.2, 34.9, 27.1, 26.7. HPLC $t_{\text{ret}} = 5.76$ min. ESI-MS m/z : 492.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 772, 816, 824, 845, 956, 974, 1006, 1035, 1054, 1102, 1149, 1217, 1232, 1294, 1321, 1335, 1451, 1467, 1476, 1502, 1605, 2769, 2820, 2948, 2991.

tert-Butyl-6-(6-(6-Fluorpyridin-3-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)indolin-1-carboxylat
(241)



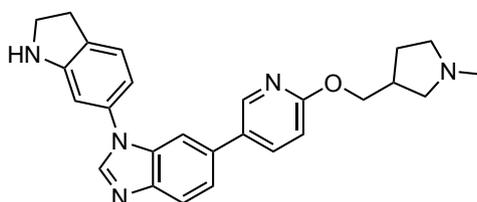
Durchführung nach **ASV 7** mit 414 mg **237** (1,00 mmol) und 309 mg (6-Fluorpyridin-3-yl)boronsäure (2,19 mmol) in 20 ml Dioxan/Wasser (3 + 1) über Nacht bei 75 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH_3 0 – 3 %). Ausbeute: 405 mg weißlicher Schaum (94 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.60 (s, 1H), 8.58 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 8.32 (td, $J = 8.2, 2.5$ Hz, 1H), 8.04 – 7.72 (m, 3H), 7.64 (dd, $J = 8.4, 1.7$ Hz, 1H), 7.48 – 7.41 (m, 1H), 7.30 (dd, $J = 7.9, 2.1$ Hz, 1H), 7.26 (dd, $J = 8.6, 2.8$ Hz, 1H), 4.02 (t, $J = 8.7$ Hz, 2H), 3.17 (t, $J = 8.6$ Hz, 2H), 1.48 (bs, 9H). HPLC $t_{\text{ret}} = 9.65$ min. ESI-MS m/z : 453.4 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

tert-Butyl-6-(6-(6-((1-methylpyrrolidin-3-yl)methoxy)pyridin-3-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)indolin-1-carboxylat (242)



Zu einer Lösung von (1-Methylpyrrolidin-3-yl)methanol (293 mg, 2,54 mmol) in trockenem THF (15 ml) wurde NaH (112 mg, 2,80 mmol, 60 wt%) hinzugefügt. Nach 5 min wurde **241** (373 mg, 0,867 mmol) zugegeben und die Reaktion wurde bei 50 °C gerührt, bis über DC eine vollständige Umsetzung nachgewiesen werden konnte. Die Reaktion wurde mit MeOH verdünnt und die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 2 – 10 %), um das Produkt als Öl zu erhalten. Die Verfestigung kann mit einer kleinen Menge MeOH initiiert werden, gefolgt von einer Entfernung des MeOH am Rotationsverdampfer. Ausbeute: 375 mg Schaum (82 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.55 (s, 1H), 8.49 – 8.45 (m, 1H), 8.02 (dd, *J* = 8.6, 2.6 Hz, 1H), 7.98 – 7.71 (m, 3H), 7.58 (dd, *J* = 8.4, 1.7 Hz, 1H), 7.46 – 7.41 (m, 1H), 7.28 (dd, *J* = 7.9, 2.0 Hz, 1H), 6.86 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 4.23 – 4.12 (m, 2H), 4.01 (t, *J* = 8.7 Hz, 2H), 3.16 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 2.62 – 2.45 (m, 3H), 2.41 – 2.30 (m, 2H), 2.23 (s, 3H), 1.97 – 1.87 (m, 1H), 1.55 – 1.35 (m, 10H). HPLC *t*_{ret} = 7.14 min. ESI-MS *m/z*: 526.6 [M-H].

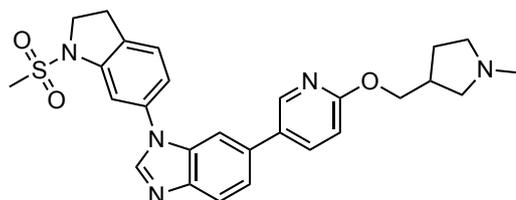
1-(Indolin-6-yl)-6-(6-((1-methylpyrrolidin-3-yl)methoxy)pyridin-3-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol (**243**)



Nach **ASV 5**. Zu einer Lösung von 351 mg **242** (0,668 mmol) wurde ethanolische HCl (1,25 M, 3,8 ml) hinzugefügt und die Reaktion wurde über Nacht bei 50 °C gerührt. Die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer entfernt und das Produkt wurde durch Flash-Chromatographie aufgereinigt (DCM/MeOH + 2 N NH₃ 4 – 10 %). Ausbeute: 263 mg Schaum (90 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.48 – 8.45 (m, 2H), 8.02 (dd, *J* = 8.6, 2.6 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.73 – 7.71 (m, 1H), 7.55 (dd, *J* = 8.4, 1.7 Hz, 1H), 7.24 – 7.18 (m, 1H), 6.88 (dd, *J* = 8.6, 0.5 Hz, 1H), 6.79 (dd, *J* = 7.6, 2.0 Hz, 1H), 6.74 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 5.88 – 5.83 (m, 1H), 4.24 – 4.12 (m, 2H), 3.53 (td, *J* = 8.7, 1.1 Hz, 2H), 2.99 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 2.62 – 2.51 (m, 3H), 2.46 – 2.34 (m, 2H), 2.26 (s, 3H), 2.00 – 1.88 (m, 1H), 1.56 – 1.46 (m, 1H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 162.6, 154.1, 144.8, 143.9, 143.2, 138.0, 135.0, 133.9, 132.6, 130.0, 128.7, 125.1, 121.3, 120.3, 111.8, 110.6,

108.5, 103.3, 68.8, 59.0, 55.3, 46.8, 41.7, 36.8, 28.7, 27.6. HPLC $t_{\text{ret}} = 3.27$ min. ESI-MS m/z : 426.4 $[M+H]^+$.

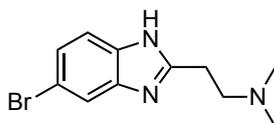
6-(6-((1-Methylpyrrolidin-3-yl)methoxy)pyridin-3-yl)-1-(1-(methylsulfonyl)indolin-6-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol (**244**)



Zu einer Lösung von 64 mg **243** (0,15 mmol) in 3 ml trockenem Pyridin wurden 27 mg MsCl (0,24 mmol) hinzugefügt. Die orange Reaktion (später dunkelviolet) wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, bis über HPLC der vollständige Verbrauch des Eduktes nachgewiesen werden konnte. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (DCM/MeOH + 2 N NH₃ 6 – 10 %). Ausbeute: 32 mg gelber Schaum (42 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.62 (s, 1H), 8.49 – 8.45 (m, 1H), 8.02 (dd, $J = 8.6, 2.6$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 7.59 (dd, $J = 8.4, 1.7$ Hz, 1H), 7.53 – 7.49 (m, 2H), 7.40 (dd, $J = 7.9, 2.0$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 4.24 – 4.13 (m, 2H), 4.06 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 3.22 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 3.15 (s, 3H), 2.63 – 2.45 (m, 3H), 2.43 – 2.33 (m, 2H), 2.24 (s, 3H), 1.98 – 1.89 (m, 1H), 1.54 – 1.46 (m, 1H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 162.7, 144.8, 144.0, 143.3, 143.3, 137.9, 135.2, 133.8, 132.8, 131.5, 129.8, 126.8, 121.5, 120.4, 118.6, 110.6, 108.6, 108.3, 68.9, 59.1, 55.4, 50.5, 41.8, 36.9, 34.9, 27.6, 27.1. HPLC $t_{\text{ret}} = 4.52$ min. ESI-MS m/z : 504.5 $[M+H]^+$.

7.9 Synthese der Verbindungen aus Kapitel 3.3.5

2-(5-Brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)-*N,N*-dimethylethan-1-amin (**245**)

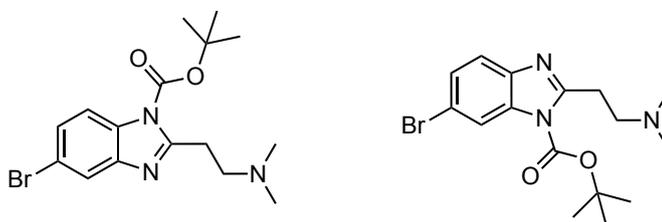


5-Brom-2-Nitroanilin (651 mg, 3,00 mmol) und 1605 mg NH₄Cl (30,00 mmol) wurden in MeOH suspendiert. Zn-Pulver (1962 mg, 30,00 mmol) wurde portionsweise zugegeben

und bei Raumtemperatur gerührt, bis die Suspension die gelbe Farbe verlor und die Reaktionskontrolle über DC eine vollständige Umsetzung anzeigte. Die Reaktion wurde mit Ethylacetat (1 T) verdünnt und über Kieselgur filtriert. Das Filtrat wurde am Rotationsverdampfer eingeeengt und das Rohprodukt wurde in 80 ml HCl (10 %, aq.) gelöst. 3-Dimethylaminopropionsäure (1200 mg, Salzsäure) wurde zugegeben und die Reaktion auf Rückfluss erhitzt, bis über DC den vollständigen Verbrauch des Diamins zeigte (ca. 3 d). Der Ansatz wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und auf einen pH-Wert ≥ 10 eingestellt. Das Produkt wurde mit Ethylacetat (4x) extrahiert. Nach Trocknen der organischen Phase über Na_2SO_4 und dem Entfernen der Lösungsmittel am Rotationsverdampfer wurde das Rohprodukt durch Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + NH_3 1 – 9 %). Ausbeute: 167 mg dunkles Öl (21 %). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 12.33 (bs, 1H), 7.68 – 7.50 (m, 1H), 7.48 – 7.40 (m, 1H), 7.27 – 7.11 (m, 1H), 2.93 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.67 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.18 (s, 6H). HPLC $t_{\text{ret}} = 2.33$ min/ 2.67 min. ESI-MS m/z : 265.7 $[\text{M-H}]^-$.

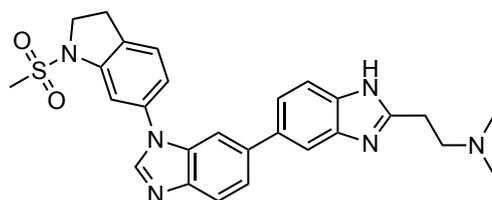
tert-Butyl-5-brom-2-(2-(dimethylamino)ethyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-carboxylat,

tert-Butyl-6-brom-2-(2-(dimethylamino)ethyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-carboxylat (**246**)



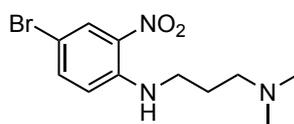
245 (162 mg, 0,604 mmol) wurde in trockenem Dioxan (5 ml) gelöst. Boc_2O (132 mg, 0,604 mmol) und 7 mg DMAP (10 mol%) wurden der Reaktion zugesetzt. Die Reaktion wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt anschließend durch Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + NH_3 2 N 2 – 4,5 %). Ausbeute: 163 mg rötliches Öl (73 %). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 8.05 – 7.57 (m, 2H), 7.51 – 7.34 (m, 1H), 3.29 – 3.23 (m, 2H), 2.78 – 2.70 (m, 2H), 2.20 (s, 6H), 1.70 – 1.61 (m, 9H).

N,N-Dimethyl-2-(3'-(1-(methylsulfonyl)indolin-6-yl)-1*H*,3'*H*-[5,5'-bibenzo[*d*]imidazol]-2-yl)ethan-1-amin (**247**)



246 (57 mg, 0,16 mmol) und **251** (95 mg, 0,22 mmol) wurden in 2,5 ml Dioxan gelöst. 0,62 ml K_3PO_4 (0,5 M, aq.) wurden zugegeben und das Gemisch wurde unter Argonatmosphäre gerührt, bevor eine katalytische Menge *t*Bu₃P Pd G3 hinzugegeben wurde. Die Reaktion wurde für drei Tage bei 80 °C gerührt, bis die DC einen vollständigen Verbrauch der Ausgangsstoffe anzeigte. Die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt wurde durch Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + NH₃ 2 N 3,5 – 10 %). Ein zweiter chromatographischer Aufreinigungsschritt wurde mit C18-Kieselgel durchgeführt (H₂O + NH₃ 0,2 % + MeOH 15 – 90 %), um das gewünschte Produkt als Feststoff mit 94 % HPLC-Reinheit zu erhalten. Ausbeute: 59 mg Feststoff (79 %) ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.21 (bs, 1H), 8.60 (s, 1H), 7.84 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.79 – 7.70 (m, 2H), 7.66 – 7.61 (m, 1H), 7.57 – 7.50 (m, 3H), 7.46 – 7.39 (m, 2H), 4.07 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 3.23 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.15 (s, 3H), 2.99 – 2.94 (m, 2H), 2.75 – 2.69 (m, 2H), 2.22 – 2.18 (m, 6H). HPLC *t*_{ret} = 3.82 min. ESI-MS *m/z*: 499.1 [M-H]⁻.

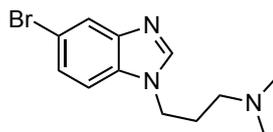
*N*¹-(4-Brom-2-nitrophenyl)-*N*³,*N*³-dimethylpropan-1,3-diamin (**248**)



4-Brom-1-fluor-2-nitrobenzen (808 mg, 3,67 mmol) und *N*¹,*N*¹-Dimethylpropan-1,3-diamin (376 mg, 2,68 mmol) wurden in 8 – 10 ml *i*PrOH gelöst und mit 1,3 ml Et₃N versetzt. Das orangefarbene Gemisch wurde über Nacht bei 50 °C gerührt. Nach erfolgreicher Reaktionskontrolle über DC wurde die Reaktion mit 1 T an EA verdünnt und mit 2 N NaOH und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknung der organischen Phasen wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt, um das gewünschte Produkt als orangenes Öl zu erhalten. Ausbeute: 1104 mg (99 %). ¹H NMR (400 MHz,

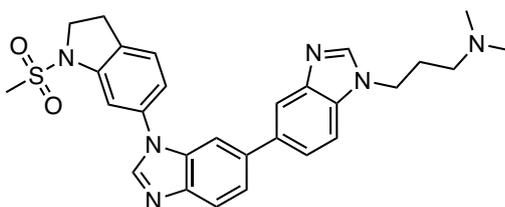
DMSO) δ 8.63 (t, $J = 5.2$ Hz, 1H), 8.15 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.63 (dd, $J = 9.2, 2.4$ Hz, 1H), 7.04 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 3.41 – 3.34 (m, $J = 12.2, 6.6$ Hz, 2H), 2.32 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 2.15 (s, 6H), 1.74 (p, $J = 6.6$ Hz, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 144.3, 138.8, 131.3, 127.8, 116.9, 104.8, 57.0, 45.2, 41.6, 25.6. HPLC $t_{\text{ret}} = 4.24$ min. ESI-MS m/z : 302.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

3-(5-Brom-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)-*N,N*-dimethylpropan-1-amin (**249**)



Schritt 1 nach **ASV 3** mit **248** (1080 mg, 3,57 mmol), 2,34 g Zinkpulver (35,7 mmol) und NH_4Cl (1,91 g, 35,7 mmol) in 10 ml MeOH. Schritt 2 nach **ASV 4** mit 68 mg *p*-TsOH· H_2O (10 mol%) und 1,6 ml $\text{HC}(\text{OEt})_3$ in Toluol bei 80 – 90 °C. Nach erfolgreicher Reaktionskontrolle wurde die Reaktion mit MeOH gestoppt und die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Aufreinigung verwendet. ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.30 (s, 1H), 7.86 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.41 (dd, $J = 8.6, 1.8$ Hz, 1H), 4.31 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.55 – 2.50 (m, 2H), 2.36 (s, 6H), 2.08 – 1.98 (m, 2H).

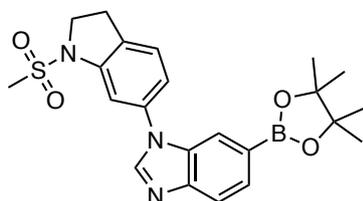
N,N-Dimethyl-3-(3'-(1-(methylsulfonyl)indolin-6-yl)-1*H*,3'*H*-[5,5'-bibenzo[*d*]imidazol]-1-yl)propan-1-amin (**250**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 42 mg **249** (0,15 mmol) und 86 mg **251** (0,20 mmol), 1,2 ml K_3PO_4 (0,5 M, aq.) in Dioxan über Nacht bei 65 °C. Das Rohprodukt wurde via Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + NH_3 2 N 2,5 – 8 %). Man erhält das Produkt als bräunliches Öl, welches in DCM aufgenommen und mit kleinen Mengen an *n*-Pentan und Ether suspendiert und durch Filtration gewonnen werden kann. Ausbeute: weißlicher Feststoff (35 mg, 45 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.61 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.97 – 7.91 (m, 1H), 7.87 – 7.83 (m, 1H), 7.82 – 7.80 (m, 1H), 7.71 – 7.64 (m, 2H),

7.60 (dd, $J = 8.5, 1.2$ Hz, 1H), 7.55 – 7.50 (m, 2H), 7.42 (dd, $J = 7.9, 1.7$ Hz, 1H), 4.29 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 4.07 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 3.22 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 3.15 (s, 3H), 2.16 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.12 (s, 6H), 1.98 – 1.90 (m, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 144.9, 144.2, 143.7, 143.3, 142.9, 137.1, 135.3, 134.7, 133.8, 133.4, 131.4, 126.8, 122.3, 122.0, 120.2, 118.5, 117.8, 110.8, 108.8, 108.6, 55.7, 50.5, 45.1, 42.2, 34.8, 27.4, 27.1. HPLC $t_{\text{ret}} = 2.78$ min. ESI-MS m/z : 537.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 774, 800, 973, 1154, 1219, 1342, 1462, 1492, 1609, 2770, 2935.

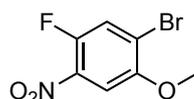
1-(1-(Methylsulfonyl)indolin-6-yl)-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol (**251**)



Durchführung nach **ASV 11** mit 392 mg **236** (1,00 mmol), 381 mg B_2Pin_2 (1,50 mmol), 443 mg KOAc (4,50 mmol) und 5 mol% $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ in 8 ml Dioxan bei 80 °C (Reaktionszeit: 36 h). Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH 0 – 1,7 %). Ausbeute: aufgrund von Verunreinigungen nicht berechnet. ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.64 (s, 1H), 7.81 – 7.79 (m, 1H), 7.77 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.60 (dd, $J = 8.1, 0.7$ Hz, 1H), 7.56 – 7.52 (m, 1H), 7.39 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.30 (dd, $J = 7.9, 1.9$ Hz, 1H), 4.06 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 3.23 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 3.13 (s, 3H), 1.29 (s, 12H). HPLC $t_{\text{ret}} = 7.76$ min.

7.10 Synthese der Verbindungen aus Kapitel 3.3.6

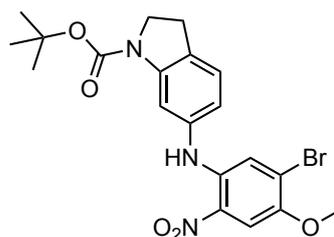
1-Brom-5-fluor-2-methoxy-4-nitrobenzen (**252**)



Zu einer Lösung von 2-Brom-4-fluor-5-nitrophenol (944 mg, 4,00 mmol) in trockenem Aceton (20 ml) wurden K_2CO_3 (1105 mg, 8,00 mmol) und MeI (0,5 ml, 8,0 mmol) gegeben. Nach 10 min wurde die Reaktion unter Rückfluss gerührt, bis die DC den vollständigen Verbrauch des Ausgangsmaterials anzeigte. Die Reaktion wurde mit Wasser

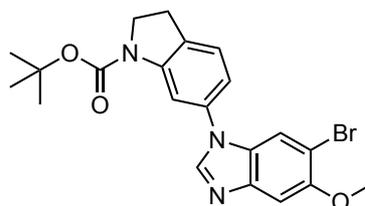
verdünnt und auf Eis gegossen. Das Produkt wurde durch Filtration als farbloser Feststoff gewonnen. Ausbeute: 943 mg (94 %). $^{208} \text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 8.05 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 7.75 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 3.95 (s, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, DMSO) δ 152.12 (d, $J = 2.6$ Hz), 148.41 (d, $J = 258.8$ Hz), 136.08 (d, $J = 8.3$ Hz), 122.81 (d, $J = 25.3$ Hz), 118.24 (d, $J = 8.9$ Hz), 108.24 (d, $J = 2.5$ Hz), 57.4. HPLC $t_{\text{ret}} = 7.56$ min.

tert-Butyl-6-((5-brom-4-methoxy-2-nitrophenyl)amino)indolin-1-carboxylat (**253**)



Zu einer Lösung von 1925 mg **252** (7,700 mmol) und 1894 mg **233** (8,090 mmol) in 20 ml NMP wurden 2,8 ml DIPEA hinzugefügt. Die Reaktion wurde 2,5 Tage lang bei 105 °C gerührt, bis die HPLC den vollständigen Verbrauch der Ausgangsstoffe zeigte. Die Reaktion wurde mit Wasser gestoppt, wobei das Produkt ausfällte. Eine kleine Menge des Produkts wurde mit Aceton trituriert und mit dem restlichen halbfesten Produkt vereinigt, um eine Suspension zu erhalten. Das Produkt wurde durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 1906 mg bräunlicher Feststoff (54 %). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 9.14 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.64 – 7.24 (m, $J = 94.8$ Hz, 2H), 7.20 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 6.83 (dd, $J = 7.9$, 1.8 Hz, 1H), 3.94 (t, $J = 8.6$ Hz, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.05 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 1.46 (s, 9H). HPLC $t_{\text{ret}} = 10.95$ min.

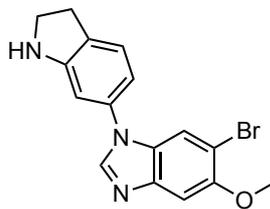
tert-Butyl-6-(6-brom-5-methoxy-1*H*-benz[*d*]imidazol-1-yl)indolin-1-carboxylat (**254**)



Schritt 1: nach **ASV 3** mit 1810 mg **253**, 2550 mg Zinkpulver (39,00 mmol), 2090 mg NH_4Cl (39,00 mmol) und 50 ml MeOH. Schritt 2: nach **ASV 4** mit 2 ml Triethylorthoformiat (12 mmol), 74 mg *p*-TsOH·H₂O (0,39 mmol) in 100 ml 2-Propanol

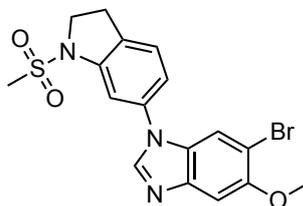
(70 °C, 1,5 h). Ausbeute: Rohprodukt wurde direkt weiterverwendet, nicht berechnet. ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.55 (s, 1H), 7.95 – 7.55 (m, 2H), 7.49 (s, 1H), 7.41 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.19 (dd, $J = 7.9, 2.1$ Hz, 1H), 4.00 (t, $J = 8.7$ Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.14 (t, $J = 8.6$ Hz, 2H), 1.50 (s, 9H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 151.8, 143.9, 143.6, 134.5, 131.6, 128.0, 126.1, 125.5, 117.1, 114.3, 109.2, 107.4, 102.8, 56.6, 54.9, 48.0, 27.9, 26.5. HPLC $t_{\text{ret}} = 10.47$ min. ESI-MS m/z : 466.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

6-Brom-1-(indolin-6-yl)-5-methoxy-1*H*-benz[*d*]imidazol (**255**)



Durchführung nach **ASV 5** mit **254** in 16 ml EtOH und 16 ml ethanolischer HCl (1,25 M, 20 mmol) bei 55 °C. Ausbeute: 1045 mg bräunlicher Schaum (78 % über 3 Stufen). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.43 (s, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.19 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.70 (dd, $J = 7.6, 2.0$ Hz, 1H), 6.66 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 5.88 (s, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.52 (td, $J = 8.6, 1.4$ Hz, 2H), 2.98 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 154.1, 151.5, 143.9, 134.8, 128.8, 128.2, 125.1, 114.3, 111.5, 107.1, 102.9, 102.8, 56.6, 46.9, 28.7. HPLC $t_{\text{ret}} = 6.80$ min. ESI-MS m/z : 343.8 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

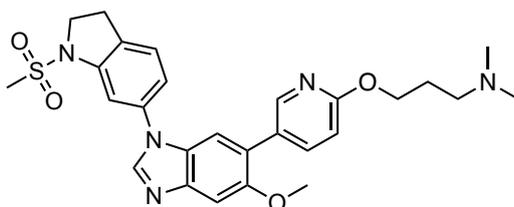
6-Brom-5-methoxy-1-(1-(methylsulfonyl)indolin-6-yl)-1*H*-benz[*d*]imidazol (**256**)



Nach **ASV 6** mit 516 mg **255** (1,50 mmol) und 180 mg MsCl (1,58 mmol) in 8 ml Pyridin für 1,5 h. Das Rohprodukt wurde per Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH 0 – 1,5 %). Ausbeute: 539 mg Schaum (85 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.56 (s, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.51 – 7.47 (m, 2H), 7.39 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.31 (dd, $J = 7.9, 2.0$ Hz, 1H), 4.05 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.21 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 3.14 (s, 3H).

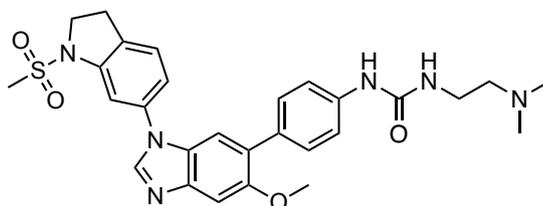
^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 151.7, 144.1, 144.0, 143.4, 135.0, 131.7, 128.1, 126.7, 118.5, 114.3, 108.5, 107.4, 102.9, 56.6, 50.5, 34.8, 27.1. HPLC $t_{\text{ret}} = 7.46$ min.

3-((5-(5-Methoxy-1-(1-(methylsulfonyl)indolin-6-yl)-1*H*-benz[*d*]imidazol-6-yl)pyridin-2-yl)oxy)-*N,N*-dimethylpropan-1-amin (**258**)



Nach **ASV 8** unter Verwendung von 83 mg **256** (0,18 mmol, 92 % HPLC-Reinheit), 46 mg **60** (0,15 mmol), 83 mg K_2CO_3 und XPhos Pd G4. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit DCM/MeOH + NH_3 2 N 0 – 3,5 %. Ausbeute: 33 mg Feststoff (42 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.57 (s, 1H), 8.26 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.83 (dd, $J = 8.6, 2.3$ Hz, 1H), 7.51 – 7.43 (m, 4H), 7.40 – 7.34 (m, 1H), 6.84 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 4.30 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 4.04 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.19 (t, $J = 8.3$ Hz, 2H), 3.12 (s, 3H), 2.35 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.15 (s, 6H), 1.91 – 1.81 (m, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 162.2, 153.1, 146.7, 144.2, 143.6, 143.3, 140.3, 135.3, 131.3, 127.6, 127.6, 126.7, 123.8, 118.2, 111.6, 109.7, 108.3, 102.1, 63.9, 56.1, 55.8, 50.5, 45.2, 34.8, 27.1, 26.7. HPLC $t_{\text{ret}} = 4.11$ min. ESI-MS m/z : 543.9 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 772, 834, 967, 1038, 1152, 1227, 1280, 1347, 1457, 1469, 1497, 1601, 2775, 2817, 2937.

1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-(4-(5-methoxy-1-(1-(methylsulfonyl)indolin-6-yl)-1*H*-benz[*d*]imidazol-6-yl)phenyl)harnstoff (**257**)

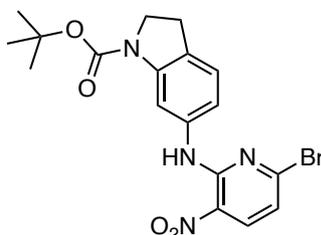


Durchführung nach **ASV 8** mit 63 mg **256** (0,11 mmol, 92 % HPLC-Reinheit), 50 mg **94** (0,15 mmol), 83 mg K_3CO_3 (0,45 mmol) in Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 80 °C. Das Rohprodukt wurde durch Flash-Chromatographie (DCM/MeOH + NH_3 0 – 10 %) aufgereinigt. Ausbeute: 35 mg weißlicher Feststoff (43 %, HPLC-Reinheit 94 %). ^1H NMR

(400 MHz, DMSO) δ 8.71 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 7.49 – 7.33 (m, 9H), 6.12 (t, $J = 4.9$ Hz, 1H), 4.04 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.23 – 3.16 (m, 4H), 3.12 (s, 3H), 2.36 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 2.20 (s, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.1, 153.2, 143.6, 143.3, 139.4, 135.4, 131.2, 131.2, 129.8, 127.6, 127.4, 126.7, 118.2, 117.0, 111.3, 108.2, 102.0, 58.5, 56.0, 50.5, 44.9, 36.8, 34.8, 27.1. HPLC $t_{\text{ret}} = 3.88$ min. ESI-MS m/z : 549.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 772, 836, 976, 1017, 1035, 1158, 1213, 1230, 1320, 1344, 1457, 1469, 1500, 1536, 1603, 1700.

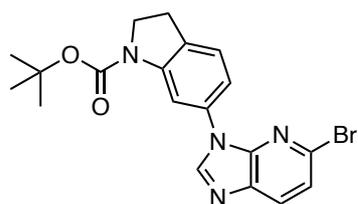
7.11 Synthese der Verbindungen aus Kapitel 3.3.7

tert-Butyl-6-((6-brom-3-nitropyridin-2-yl)amino)indolin-1-carboxylat (**259**)



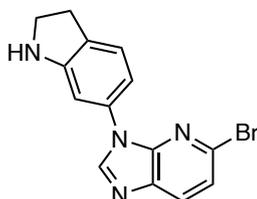
6407 mg 2,6-Dibrom-3-nitropyridin (22,73 mmol), 5858 mg **233** (25,00 mmol) und 4,8 ml Et_3N wurden in 50 ml trockenem DMF bei Raumtemperatur gerührt. (Das Lösen des Pyridins ist leicht endotherm, die Reaktion selbst ist jedoch exotherm. Eine Kühlung könnte von Vorteil sein.) Die Reaktion wurde über Nacht gerührt, bis über DC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe nachgewiesen werden konnte. Die Reaktion wurde mit einer kleinen Menge MeOH und ca. 500 ml Wasser verdünnt. Das Produkt wurde durch Filtration gewonnen, luftgetrocknet und danach in 200 ml EtOH unter Reflux gerührt (ca. 0,5 h). Die Suspension wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Produkt wurde erneut durch Filtration als orangeroter Feststoff (7579 mg, 71 %) gewonnen. ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.03 (s, 1H), 8.37 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.91 – 7.53 (m, 1H), 7.24 – 7.05 (m, 3H), 3.94 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 3.06 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 1.50 (s, 9H). HPLC $t_{\text{ret}} = 8.12$ min.

tert-Butyl-6-(5-brom-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-3-yl)indolin-1-carboxylat (**260**)



Schritt 1: Durchführung nach **ASV 3** mit 1298 mg **259** (2,982 mmol), 1,6 g Zinkpulver, ca. 2g NH₄Cl in 40 ml MeOH. Die Reaktion zeigte nach ca. 0,5 h eine leicht grünliche Farbe. Schritt 2 nach **ASV 4** mit 1,5 ml Triethylorthoformiat und 10 mol% *p*-TsOH·H₂O in Toluol. Das Rohprodukt wurde über Kieselgur/SiO₂ (70 – 200 μm) mit DCM und einigen Tropfen MeOH filtriert. Die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer entfernt, um das Produkt als bräunlichen Schaum zu gewinnen (1148 mg, 93 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.80 (s, 1H), 8.17 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.57 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.41 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.29 (dd, *J* = 7.9, 2.0 Hz, 1H), 4.00 (t, *J* = 8.7 Hz, 2H), 3.15 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 1.51 (s, 9H). HPLC *t*_{ret} = 14.01 min. ESI-MS *m/z*: 437.3 [M+Na]⁺.

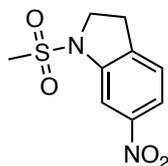
5-Brom-3-(indolin-6-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin (**261**)



260 (1110 mg, 2,67 mmol) wurde in 40 ml EtOH aufgelöst. 13 ml ethanolische HCl (1,25 M) wurden zugegeben und die Reaktion wurde bei 55 °C gerührt, bis über DC der vollständige Verbrauch des Ausgangsmaterials nachgewiesen werden konnte. Die Reaktion wurde mit 1 T Diethylether verdünnt und das Hydrochloridsalz des Produkts wurde durch Filtration gewonnen. Das Salz wurde in gesättigter NaHCO₃-Lösung mit einer kleinen Menge an MeOH suspendiert. Das Produkt wurde 4x mit DCM extrahiert. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet und die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer entfernt, um das Produkt als braunen Feststoff zu erhalten (567 mg, 67 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.75 (s, 1H), 8.14 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.54 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.19 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 6.88 – 6.83 (m, 2H), 5.94 (s, 1H), 3.52 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 2.98 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 153.6, 146.2, 145.1, 134.9,

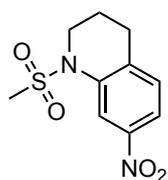
134.7, 133.6, 130.7, 129.0, 124.6, 122.2, 111.9, 103.5, 46.8, 28.7. HPLC $t_{\text{ret}} = 5.55$ min.

1-(Methylsulfonyl)-6-nitroindolin (**230**)



Zu einer eisgekühlten Lösung von 11,5 g 6-Nitroindolin (70,05 mmol) in 70 ml Pyridin werden 8,130 g MsCl (70,98 mmol) portionsweise zugegeben. Das Kühlen der dunkelroten Reaktion wurde für 30 min fortgesetzt. Die Reaktion wurde mit kaltem Wasser (350 ml) gestoppt/verdünnt, nachdem über HPLC der vollständige Verbrauch des Ausgangsmaterials nachgewiesen werden konnte (Reaktionszeit: ca. 2 h). Das Produkt wurde durch Filtration gewonnen, mit Wasser gewaschen und luftgetrocknet. Ausbeute: dunkelroter, kristalliner Feststoff (16,75 g, 99 %). (Optionaler Reinigungsschritt: Produkt kann in heißem MeOH suspendiert werden (ca. 0,5 h) und erneut über Filtration gewonnen werden.) $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 7.97 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.91 (dd, $J = 8.2, 2.2$ Hz, 1H), 7.55 – 7.50 (m, $J = 8.2$ Hz, 1H), 4.06 (t, $J = 8.6$ Hz, 2H), 3.25 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 3.13 (s, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, DMSO) δ 147.5, 143.1, 140.2, 126.2, 118.8, 107.4, 50.4, 34.9, 27.5. HPLC $t_{\text{ret}} = 7.66$ min.

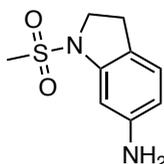
1-(Methylsulfonyl)-7-nitro-1,2,3,4-tetrahydrochinolin (**262**)



Zu einer Lösung von 1232 mg 7-Nitro-1,2,3,4-tetrahydrochinolin (6,91 mmol) in 18 ml trockenem Pyridin wurden 932 mg MsCl (8,13 mmol) hinzugegeben und die Reaktion wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis über HPLC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe nachgewiesen werden konnte. Die Reaktion wurde mit 10 Teilen Wasser gestoppt und das gewünschte Produkt wurde durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 1668 mg gelblicher Feststoff (94 %). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 8.44 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 7.91 (dd, $J = 8.4, 2.3$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 3.78 – 3.73 (m, 2H), 3.15 (s,

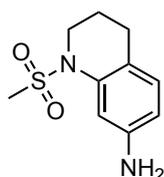
3H), 2.92 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 1.99 – 1.92 (m, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 145.9, 137.5, 137.4, 130.8, 118.2, 116.5, 45.8, 38.4, 26.9, 21.0. HPLC $t_{\text{ret}} = 5.45$ min.

1-(Methylsulfonyl)indolin-6-amin (**232**)



Durchführung nach **ASV 3**. Zu einer eisgekühlten Suspension aus 329 mg **230** (1,36 mmol) und 726 mg NH_4Cl (13 mmol) in MeOH wurden 888 mg Zinkpulver (13 mmol) langsam über 5 min zugegeben. Die Reaktion wurde nach erfolgreicher Reaktionskontrolle mit 5 T EA verdünnt. Die Suspension wurde über Kieselgur filtriert. Das Filtrat wurde am Rotationsverdampfer eingengt um das gewünschte Produkt als kristallin-bräunlichen Feststoff (260 mg, 90 %) zu erhalten. ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 6.90 – 6.85 (m, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.60 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 6.23 (dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, 1H), 5.10 (s, 2H), 3.83 (t, $J = 8.3$ Hz, 2H), 2.95 – 2.86 (m, 5H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 148.5, 142.7, 125.4, 118.2, 109.2, 99.6, 50.6, 33.6, 26.6. HPLC $t_{\text{ret}} = 1.87$ min. ESI-MS m/z : 213.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

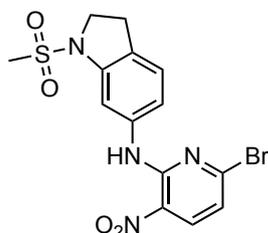
1-(Methylsulfonyl)-1,2,3,4-tetrahydrochinolin-7-amin (**263**)



Zu einer eisgekühlten roten Suspension aus 1486 mg **262** (5,80 mmol) und 31 g NH_4Cl (580 mmol) in MeOH wurden 38 g Zinkpulver (580 mmol) langsam über 5 min zugegeben. Die Reaktion wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis über DC der vollständige Verbrauch des Ausgangsmaterials nachgewiesen werden konnte. Die Reaktion wurde mit 5 T Ethylacetat verdünnt und die resultierende Suspension wurde über Kieselgur filtriert. Nach Entfernen der Lösungsmittel am Rotationsverdampfer konnte das Produkt als gelber Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: quantitativ (> 99 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 6.84 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 6.81 – 6.77 (m, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.32 (dd, $J = 8.1, 2.2$ Hz, 1H), 4.98 (s, 2H), 3.65 – 3.59 (m, 2H), 2.95 (s, 3H), 2.61 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 1.88 – 1.80 (m,

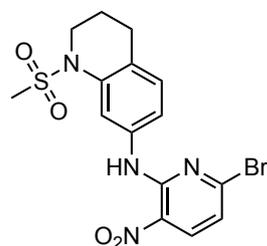
2H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 147.1, 137.2, 129.8, 116.1, 110.9, 107.4, 46.1, 38.1, 25.6, 22.0. HPLC $t_{\text{ret}} = 1.58$ min.

N-(6-Brom-3-nitropyridin-2-yl)-1-(methylsulfonyl)indolin-6-amin (**264**)



Zu einer Lösung von 11,42 g **232** (52,96 mmol) und 15,68 g 2,6-Dibrom-3-nitropyridin (55,61 mmol) in 60 ml trockenem DMF wurden 11,0 ml Et_3N hinzugegeben und die Reaktion wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis über DC der vollständige Verbrauch des **232** nachgewiesen werden konnte. Die Reaktion wurde mit Wasser verdünnt (5 – 10 T) und die resultierende Suspension wurde filtriert. Der Rückstand wurde in MeOH/Aceton (9 + 1, ca. 400 ml) suspendiert und unter Refluxbedingungen gerührt (ca. 1 h). Die Suspension wurde auf Raumtemperatur gekühlt und das gewünschte Produkt wurde durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 17,57 g braun-kristalliner Feststoff (80 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.07 (s, 1H), 8.39 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.27 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.18 (dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 3.97 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 3.11 (t, $J = 8.6$ Hz, 2H), 3.07 (s, 3H). ESI-MS m/z : 435.5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

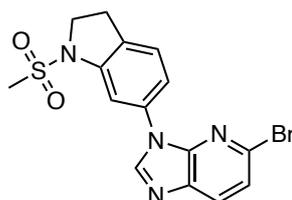
N-(6-Brom-3-nitropyridin-2-yl)-1-(methylsulfonyl)-1,2,3,4-tetrahydrochinolin-7-amin (**265**)



Eine Lösung von 818 mg 2,6-Dibrom-3-nitropyridin (2,90 mmol), 1,0 ml DIPEA und 656 mg **263** (2,90 mmol) in 20 ml EtOH wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Die dunkelrote Suspension wurde über Nacht bei 5 °C gelagert. Das Produkt wurde durch Filtration gewonnen und mit einer kleinen Menge kaltem EtOH gewaschen. Ausbeute:

1019 mg roter Feststoff (82 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.06 (s, 1H), 8.39 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.91 – 7.77 (m, 1H), 7.27 – 7.21 (m, 1H), 7.18 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.13 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 3.77 – 3.68 (m, 2H), 3.14 (s, 3H), 2.80 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 1.98 – 1.89 (m, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 149.0, 145.9, 138.1, 137.0, 135.7, 129.7, 128.3, 125.4, 118.8, 117.8, 116.0, 45.9, 38.5, 26.3, 21.7. HPLC t_{ret} = 8.26 min.

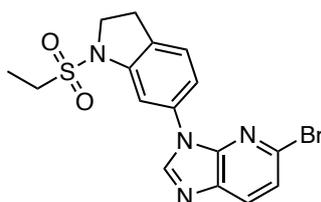
5-Brom-3-(1-(methylsulfonyl)indolin-6-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin (**266**)



Durchführung nach **ASV 6**. Zu einer Lösung von 350 mg **261** (1,11 mmol) in 10 ml trockenem Pyridin wurden 139 mg MsCl (1,21 mmol) unter Eiskühlung hinzugegeben. Die Reaktion wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis über HPLC der vollständige Verbrauch des Eduktes nachgewiesen werden konnte. Die Reaktion wurde mit MeOH verdünnt und die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt. (Gradient: DCM/MeOH 0,5 – 4,0 %). Ausbeute: 297 mg weißlicher Feststoff (68 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.88 (s, 1H), 8.18 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.64 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 7.57 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.52 – 7.49 (m, J = 8.0 Hz, 1H), 7.42 (dd, J = 8.0, 1.9 Hz, 1H), 4.05 (t, J = 8.5 Hz, 2H), 3.21 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 3.13 (s, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 146.1, 144.9, 143.0, 135.1, 134.8, 133.7, 131.8, 130.9, 126.2, 122.5, 118.7, 108.9, 50.6, 34.4, 27.1. HPLC t_{ret} = 9.89 min. ESI-MS m/z : 415.0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

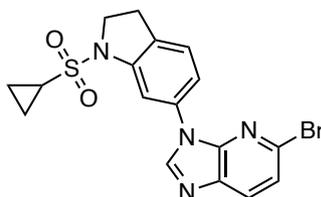
Alternative Synthese: Durchführung nach **ASV 6**. Zu einer Lösung von 884 mg **261** (2,80 mmol) in 14 ml trockenem Pyridin wurden 321 mg MsCl (2,80 mmol) unter Eiskühlung bei -5 °C hinzugegeben. Die Reaktion wurde nach 45 min bei Raumtemperatur gerührt, bis über HPLC der vollständige Verbrauch des Eduktes nachgewiesen werden konnte. Die Reaktion wurde mit wenig EtOH verdünnt und auf 150 ml Eiswasser gegossen. Das Produkt wurde durch Filtration gewonnen, mit Wasser gewaschen und luftgetrocknet. Ausbeute: 1026 mg dunkelvioletter Feststoff (93 %).

5-Brom-3-(1-(ethylsulfonyl)indolin-6-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin (**267**)



Durchführung nach **ASV 6** mit **261** (189 mg, 0,600 mmol) in 3 ml trockenem Pyridin und 81 mg Ethansulfonylchlorid (81 mg, 0,630 mmol). Die Reaktion wurde mit einem Überschuss EtOH gestoppt und mit kaltem Wasser verdünnt. Das Rohprodukt wurde durch Filtration gewonnen und durch Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH 0 – 0,9 %). Ausbeute: weißlicher Feststoff (62 mg, 19 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.86 (s, 1H), 8.18 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.67 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.57 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.51 – 7.47 (m, 1H), 7.39 (dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz, 1H), 4.09 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 3.36 (q, *J* = 7.4 Hz, 2H), 3.22 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 1.29 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 146.1, 144.9, 143.1, 135.0, 134.7, 133.6, 131.4, 130.9, 126.2, 122.5, 118.2, 108.6, 50.5, 43.1, 27.1, 7.5. HPLC *t*_{ret} = 7.38 min.

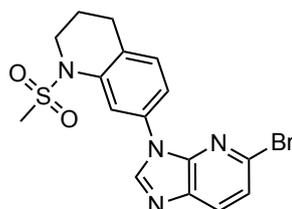
5-Brom-3-(1-(cyclopropylsulfonyl)indolin-6-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin (**268**)



Durchführung nach **ASV 6** mit 473 mg **261** (1,50 mmol) und 295 mg Cyclopropan-sulfonylchlorid (2,10 mmol). Die dunkelviolette Reaktion wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und mit MeOH gestoppt und mit 100 ml Wasser verdünnt. Die feine Suspension wurde über Watte filtriert. Das Produkt wurde luftgetrocknet und mit DCM/MeOH von der Watte heruntergelöst. Die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt wurde durch Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH 0 – 1,3 %). Ausbeute: farbloser, kristalliner Feststoff (260 mg, 41 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.86 (s, 1H), 8.18 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.58 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.52 – 7.47 (m, 1H), 7.39 (dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz, 1H), 4.11 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 3.22 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 2.96 (tt, *J* = 8.0, 4.8 Hz, 1H), 1.25 – 1.20 (m, 2H), 1.04 – 0.97 (m, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 146.1, 144.9, 143.0, 135.1,

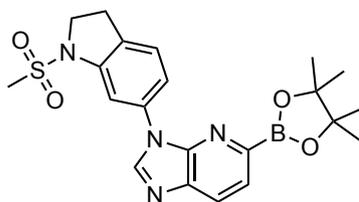
134.8, 133.7, 131.7, 130.9, 126.3, 122.5, 118.3, 109.2, 50.8, 27.3, 26.3, 4.2. HPLC $t_{\text{ret}} = 7.70$ min.

7-(5-Brom-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-3-yl)-1-(methylsulfonyl)-1,2,3,4-tetrahydrochinolin (**269**)



Schritt 1: Durchführung nach **ASV 3** mit 1667 mg **265** (3,90 mmol), 2551 mg Zinkpulver (39 mmol), 2087 mg NH_4Cl (39 mmol) in 40 ml MeOH. Schritt 2: Durchführung nach **ASV 4** mit 10 mol% *p*-TsOH·H₂O und 1,94 ml Triethylorthoformiat. Es wurde anstelle von Toluol Isopropanol verwendet. Aufreinigung: Das Rohprodukt wurde in ca. 100 ml MeOH refluxiert und bei Raumtemperatur durch Filtration als grauer Feststoff gewonnen (1316 mg, 83 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.86 (s, 1H), 8.19 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 8.06 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.58 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.48 (dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz, 1H), 7.44 – 7.40 (m, $J = 8.2$ Hz, 1H), 3.81 – 3.75 (m, 2H), 3.23 (s, 3H), 2.88 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 2.03 – 1.95 (m, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 146.0, 144.7, 137.7, 135.1, 134.8, 132.5, 131.0, 130.7, 128.8, 122.5, 118.6, 116.3, 45.9, 38.4, 26.4, 21.7. HPLC $t_{\text{ret}} = 7.49$ min. ESI-MS m/z : 429.0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

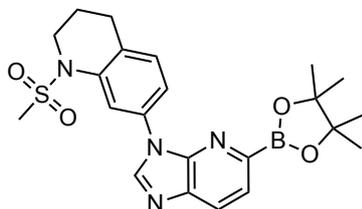
3-(1-(Methylsulfonyl)indolin-6-yl)-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin (**270**)



Durchführung nach **ASV 11** mit 345 mg **266**, 321 mg B_2Pin_2 (1,26 mmol) und 31 mg $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ in 10 ml trockenem Dioxan. Nach vollständiger Umsetzung des Ausgangsmaterials (Reaktionskontrolle über HPLC) wurde die Reaktion mit ca. 20 ml DCM verdünnt und über Kieselgur filtriert. Die Lösungsmittel wurden am

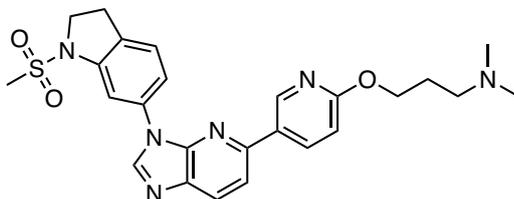
Rotationsverdampfer entfernt, sodass das Rohprodukt als dunkelbraunes Öl gewonnen werden konnte. Dieses wurde mit Diethylether überschichtet und PE wurde langsam unter Rühren hinzugegeben, bis das Produkt ausfiel. Das Produkt konnte durch Filtration als grauer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 377 mg (98 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.90 (s, 1H), 8.15 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.75 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.53 – 7.48 (m, 1H), 7.44 – 7.36 (m, 1H), 4.05 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.27 – 3.16 (m, 5H), 1.31 (s, 12H). HPLC $t_{\text{ret}} = 5.48$ min.

1-(Methylsulfonyl)-7-(5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-3-yl)-1,2,3,4-tetrahydrochinolin (**271**)



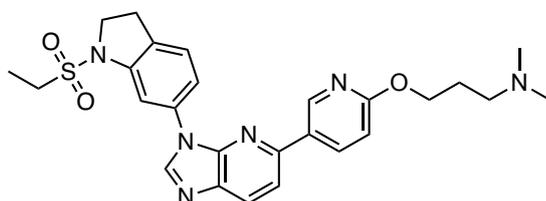
Durchführung nach ASV 11 mit 489 mg **269**, 279 mg B_2Pin_2 (1,10 mmol) und 39 mg $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ in 9 ml trockenem Dioxan. Nach vollständiger Umsetzung (Reaktionskontrolle über HPLC) wurde die Reaktion mit 1 T DCM verdünnt und über Kieselgur filtriert. Die Lösungsmittel wurden evaporiert. Der resultierende dunkle Schaum wurde in einer kleinen Menge DCM aufgenommen und mit einer kleinen Menge Diethylether versetzt. Mithilfe der Zugabe einer geringen Menge an PE konnte das Produkt gefällt und durch Filtration gewonnen werden. Ausbeute: 490 mg grau-kristalliner Feststoff (90 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.91 (s, 1H), 8.19 – 8.14 (m, 2H), 7.77 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.46 (dd, $J = 8.1, 2.0$ Hz, 1H), 7.40 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 3.82 – 3.76 (m, 2H), 3.36 (s, 3H), 2.88 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 2.03 – 1.96 (m, 2H), 1.31 (s, 12H). HPLC $t_{\text{ret}} = 6.21$ min. ESI-MS m/z : 453.1 $[\text{M}-\text{H}]^+$.

N,N-Dimethyl-3-((5-(3-(1-(methylsulfonyl)indolin-6-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-5-yl)pyridin-2-yl)oxy)propan-1-amin (**272**)



Durchführung nach **ASV 7** mit 62 mg **266** (0,16 mmol) und 46 mg **60** (0,15 mmol) in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 70 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 4 – 10 %). Ausbeute: 44 mg weißer Feststoff (60 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.94 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.48 (dd, *J* = 8.7, 2.5 Hz, 1H), 8.26 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.16 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.97 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.55 (dd, *J* = 8.0, 1.9 Hz, 1H), 7.50 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.93 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 4.34 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 4.06 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 3.21 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.14 (s, 3H), 2.36 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.15 (s, 6H), 1.87 (p, *J* = 6.8 Hz, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 163.7, 149.3, 146.2, 145.6, 144.4, 142.9, 137.5, 134.7, 134.6, 130.8, 128.9, 128.0, 126.2, 117.2, 115.3, 110.6, 107.9, 64.2, 55.7, 50.5, 45.2, 34.3, 27.1, 26.7. HPLC *t*_{ret} = 6.84 min. ESI-MS *m/z*: 493.3 [M+H]⁺, 515.3 [M+Na]⁺, 448.3 [M-NMe₂]⁺. IR [cm⁻¹] 778, 820, 977, 999, 1105, 1133, 1150, 1216, 1257, 1278, 1292, 1305, 1316, 1332, 1413, 1463, 1501, 1595, 2766, 2952.

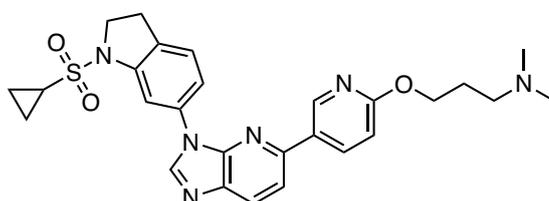
3-((5-(3-(1-(Ethylsulfonyl)indolin-6-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-5-yl)pyridin-2-yl)oxy)-*N,N*-dimethylpropan-1-amin (**273**)



Durchführung nach **ASV 8** mit 57 mg **267** (0,14 mmol) und 79 mg **60** (0,26 mmol) und 146 mg K₂CO₃ in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 70 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 4 – 10 %). Ausbeute: 31 mg weißer Feststoff (44 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.95 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.47 (dd, *J* = 8.7, 2.5 Hz, 1H), 8.26 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.14 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.96 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.51 (dd, *J* = 8.0, 1.8 Hz, 1H), 7.48 (d, *J*

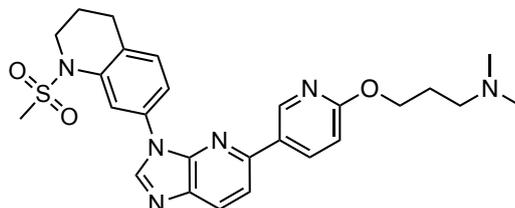
= 8.0 Hz, 1H), 6.90 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.34 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 4.10 (t, $J = 8.6$ Hz, 2H), 3.36 (dd, $J = 14.7, 7.4$ Hz, 2H), 3.23 (t, $J = 8.6$ Hz, 2H), 2.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.15 (s, 6H), 1.92 – 1.83 (m, 2H), 1.28 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 163.7, 149.3, 146.2, 145.6, 144.4, 143.0, 137.5, 134.7, 134.5, 130.6, 128.8, 128.0, 126.2, 117.0, 115.3, 110.5, 107.9, 64.2, 55.7, 50.5, 45.1, 43.2, 27.1, 26.7, 7.3. HPLC $t_{\text{ret}} = 5.22$ min. ESI-MS m/z : 507.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 529.3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

3-((5-(3-(1-(Cyclopropylsulfonyl)indolin-6-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-5-yl)pyridin-2-yl)oxy)-*N,N*-dimethylpropan-1-amin (**274**)



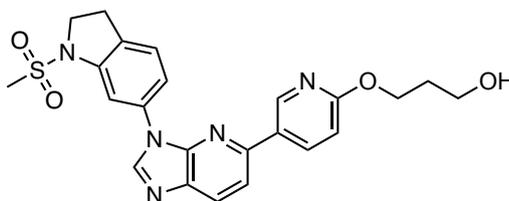
Durchführung nach **ASV 8** mit 80 mg **268** (0,192 mmol), 49 mg **60** (0,16 mmol), 89 mg K_2CO_3 (0,64 mmol) und XPhos Pd G4 in 4 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 80 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH_3 1 – 4,5 %). Das Produkt wurde als halbfester/harziger Stoff erhalten und wurde über Nacht bei -18 °C gelagert, um einen weißlichen Feststoff zu erhalten. Ausbeute: 40 mg (48 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.95 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.46 (dd, $J = 8.7, 2.4$ Hz, 1H), 8.30 – 8.23 (m, 2H), 7.96 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.54 (dd, $J = 8.0, 1.7$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.35 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 4.12 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 3.23 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 2.98 – 2.90 (m, 1H), 2.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.15 (s, 6H), 1.92 – 1.83 (m, 2H), 1.20 – 1.14 (m, 2H), 0.99 – 0.92 (m, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 163.7, 149.5, 146.2, 145.8, 144.4, 143.1, 137.6, 134.8, 134.6, 130.9, 128.9, 128.0, 126.3, 117.1, 115.5, 110.5, 108.5, 64.2, 55.8, 50.8, 45.2, 27.3, 26.7, 26.3, 4.0. HPLC $t_{\text{ret}} = 5.75$ min. ESI-MS m/z : 519.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

N,N-Dimethyl-3-((5-(3-(1-(methylsulfonyl)-1,2,3,4-tetrahydrochinolin-7-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-5-yl)pyridin-2-yl)oxy)propan-1-amin (**275**)



Durchführung nach **ASV 8** mit 78 mg **269** (0,192 mmol), 49 mg **60** (0,16 mmol), 89 mg K_2CO_3 (0,64 mmol) und in 4 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 80 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH_3 0,5-3 %). Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM aufgenommen, mit *n*-Pentan ausgefällt und durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 37 mg weißlicher Feststoff (46 %). 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.93 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.47 (dd, $J = 8.7, 2.4$ Hz, 1H), 8.36 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 8.26 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.96 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.62 (dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, 1H), 7.43 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.92 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.34 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 3.84 – 3.74 (m, 2H), 3.17 (s, 3H), 2.89 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 2.35 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.14 (s, 6H), 2.03 – 1.95 (m, 2H), 1.91 – 1.82 (m, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 163.7, 149.5, 146.3, 145.7, 144.4, 137.7, 137.7, 134.7, 133.3, 130.7, 128.8, 128.2, 128.1, 118.1, 116.1, 115.4, 110.6, 64.2, 55.8, 46.0, 45.2, 38.5, 26.7, 26.4, 21.6. HPLC $t_{ret} = 5.32$ min. ESI-MS m/z : 507.2 $[M+H]^+$. IR $[cm^{-1}]$ 766, 783, 821, 833, 860, 868, 889, 953, 982, 1054, 1146, 1219, 1286, 1320, 1361, 1394, 1414, 1465, 1502, 1595, 2773, 2820, 2945.

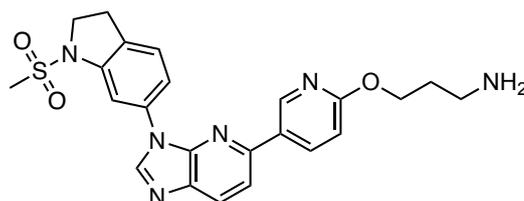
3-((5-(3-(1-(Methylsulfonyl)indolin-6-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-5-yl)pyridin-2-yl)oxy)propan-1-ol (**276**)



Durchführung nach **ASV 8** mit 1468 mg **270** (3,00 mmol), 696 mg **286** (3,00 mmol), 1658 mg K_2CO_3 (12,00 mmol) in 16 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 75 °C. Die Suspension wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und mit kaltem MeOH verdünnt. Die

resultierende Suspension wurde filtriert und der Rückstand/Rohprodukt wurde mit Wasser und mit MeOH gewaschen und luftgetrocknet. Ausbeute: 1264 mg weißlicher Feststoff (91 %). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 8.99 – 8.90 (m, 2H), 8.48 (dd, $J = 8.7, 2.5$ Hz, 1H), 8.26 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 8.16 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.55 (dd, $J = 8.0, 1.9$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.94 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.57 (t, $J = 5.2$ Hz, 1H), 4.38 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 4.06 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 3.60 – 3.54 (m, 2H), 3.21 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 3.15 (s, 3H), 1.89 (p, $J = 6.4$ Hz, 2H). $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, DMSO) δ 163.8, 149.3, 146.2, 145.6, 144.4, 142.9, 137.5, 134.8, 134.6, 130.8, 128.9, 128.0, 126.3, 117.2, 115.3, 110.6, 108.0, 63.1, 57.4, 50.6, 34.3, 32.0, 27.1. HPLC $t_{\text{ret}} = 7.19$ min. ESI-MS m/z : 488.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 776, 814, 827, 874, 916, 977, 1053, 1107, 1137, 1150, 1217, 1297, 1306, 1332, 1370, 1397, 1415, 1467, 1501, 1597, 3397.

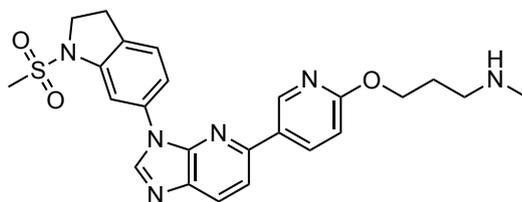
3-((5-(3-(1-(Methylsulfonyl)indolin-6-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-5-yl)pyridin-2-yl)oxy)propan-1-amin (**277**)



Schritt 1 (**285**): Durchführung nach **ASV 8** mit 1026 mg **266** (2,30 mmol, 88 % HPLC-Reinheit), 268 mg (6-Fluorpyridin-3-yl)boronsäure (2,61 mmol) und 1443 mg K_2CO_3 in 18 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 75 °C. Das Rohprodukt wurde durch Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH 0 – 1,3 %). Das gewonnene Produkt wurde in MeOH suspendiert und durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 815 mg weißer Feststoff (86 %). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 9.03 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.75 (td, $J = 8.3, 2.6$ Hz, 1H), 8.33 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 8.21 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 8.08 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.56 (dd, $J = 8.0, 1.9$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.35 (dd, $J = 8.6, 2.7$ Hz, 1H), 4.06 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 3.22 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 3.14 (s, 3H). HPLC $t_{\text{ret}} = 7.14$ min. Schritt 2: 40 mg 3-Aminopropan-1-ol (0,532 mmol) und 60 mg KO*t*Bu (0,532 mmol) wurden in 5 ml trockenem THF gerührt. 109 mg des Produkts aus Schritt 1 (0,266 mmol) wurden zugegeben und die Reaktion wurde bei 50 °C gerührt, bis über DC der vollständige Verbrauch des Ausgangsmaterials nachgewiesen werden konnte. Die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt wurde durch

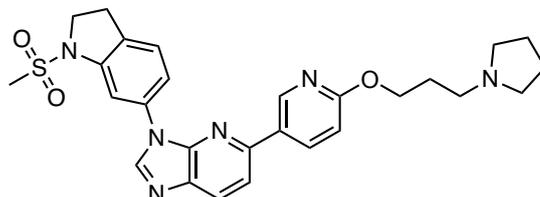
Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 2 – 8,5 %). Ausbeute: 71 mg Feststoff (57 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.93 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 8.92 (s, 1H), 8.47 (dd, *J* = 8.7, 2.5 Hz, 1H), 8.26 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.16 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.97 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.55 (dd, *J* = 8.0, 1.9 Hz, 1H), 7.50 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.93 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 4.38 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 4.06 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 3.21 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.14 (s, 3H), 2.69 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 1.81 (p, *J* = 6.6 Hz, 2H), 1.52 (bs, 2H). HPLC *t*_{ret} = 4.90 min. ESI-MS *m/z*: 465.4 [M+H]⁺. IR [cm⁻¹] 776, 814, 977, 1009, 1105, 1150, 1217, 1291, 1331, 1413, 1463, 1500, 1595, 2919.

N-Methyl-3-((5-(3-(1-(methylsulfonyl)indolin-6-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-5-yl)pyridin-2-yl)oxy)propan-1-amin (**278**)



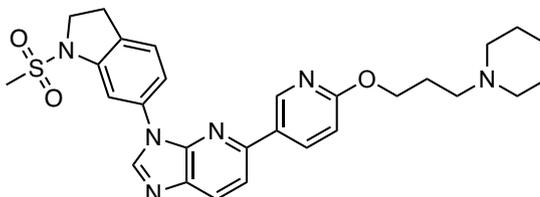
Durchführung nach **ASV 8** mit 91 mg **270** (0,21 mmol), 37 mg **288** (0,15 mmol), 98 mg K₂CO₃ (0,71 mmol) in 4 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 65 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 4 – 10 %). Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM aufgenommen, mit *n*-Pentan ausgefällt und durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 35 mg gräulicher Feststoff (49 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.96 – 8.90 (m, 2H), 8.47 (dd, *J* = 8.7, 2.5 Hz, 1H), 8.26 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.16 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 7.97 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.55 (dd, *J* = 8.0, 1.9 Hz, 1H), 7.50 (mf, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.93 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 4.36 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 4.06 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 3.21 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 3.14 (s, 3H), 2.61 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 2.28 (s, 3H), 1.87 (p, *J* = 6.7 Hz, 2H), (NH below water peak). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 163.8, 149.4, 146.2, 145.6, 144.4, 142.9, 137.5, 134.7, 134.6, 130.8, 128.9, 128.0, 126.2, 117.2, 115.3, 110.6, 108.0, 64.3, 50.6, 48.2, 36.1, 34.4, 28.7, 27.1. HPLC *t*_{ret} = 4.83 min. ESI-MS *m/z*: 479.2 [M+H]⁺. IR [cm⁻¹] 782, 822, 866, 980, 1010, 1105, 1224, 1257, 1294, 1331, 1412, 1463, 1502, 1598, 2921.

3-(1-(Methylsulfonyl)indolin-6-yl)-5-(6-(3-(pyrrolidin-1-yl)propoxy)pyridin-3-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin (**279**)



Durchführung nach **ASV 8** mit 97 mg **270** (0,22 mmol), 57 mg **289** (0,20 mmol), 111 mg K_2CO_3 (0,80 mmol) in 5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 75 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH_3 3,5-6,5 %). Das Produkt wurde in heißem MeOH suspendiert, die Suspension wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und das Endprodukt wurde durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 22 mg weißlicher Feststoff (21 %). 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.95 – 8.91 (m, 2H), 8.48 (dd, $J = 8.7, 2.5$ Hz, 1H), 8.26 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 8.16 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 7.97 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.55 (dd, $J = 8.0, 1.9$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.93 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.36 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 4.06 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 3.21 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 3.14 (s, 3H), 2.55 – 2.51 (m, 2H), 2.46 – 2.39 (m, 4H), 1.91 (p, $J = 6.8$ Hz, 2H), 1.73 – 1.63 (m, 4H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 163.7, 149.3, 146.2, 145.5, 144.3, 142.9, 137.5, 134.7, 134.6, 130.7, 128.8, 128.0, 126.2, 117.2, 115.3, 110.6, 107.9, 64.3, 53.6, 52.3, 50.5, 34.4, 28.0, 27.0, 23.1. HPLC $t_{ret} = 4.40$ min. ESI-MS m/z : 519.4 $[M+H]^+$. IR $[cm^{-1}]$ 777, 816, 835, 862, 876, 917, 960, 977, 1010, 1049, 1107, 1136, 1178, 1220, 1258, 1279, 1291, 1305, 1315, 1334, 1361, 1395, 1416, 1464, 1505, 1599, 2789, 2953.

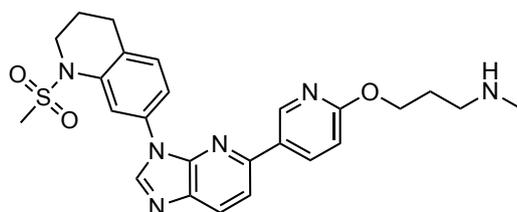
3-(1-(Methylsulfonyl)indolin-6-yl)-5-(6-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)pyridin-3-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin (**280**)



Durchführung nach **ASV 8** mit 97 mg **270** (0,22 mmol), 60 mg **290** (0,20 mmol), 111 mg K_2CO_3 (0,80 mmol) in 5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 75 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH_3 4 – 7,3 %). Das Produkt wurde in heißem MeOH suspendiert, die Suspension wurde auf

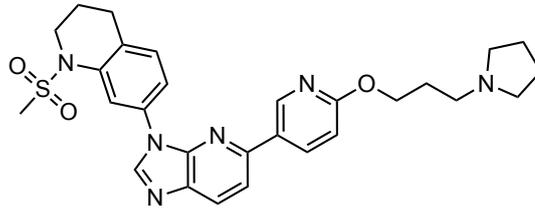
Raumtemperatur abgekühlt und das Endprodukt wurde durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 46 mg weißlicher Feststoff (43 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.98 – 8.88 (m, 2H), 8.48 (dd, $J = 8.7, 2.3$ Hz, 1H), 8.26 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 8.19 – 8.13 (m, 1H), 7.98 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.55 (dd, $J = 8.0, 1.5$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.93 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.34 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 4.06 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 3.22 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 3.14 (s, 3H), 2.39 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.36 – 2.27 (m, 4H), 1.94 – 1.84 (m, 2H), 1.53 – 1.45 (m, 4H), 1.41 – 1.33 (m, 2H). HPLC $t_{\text{ret}} = 4.40$ min. ESI-MS m/z : 533.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 777, 820, 862, 876, 917, 953, 978, 1010, 1044, 1060, 1107, 1177, 1219, 1259, 1278, 1292, 1306, 1316, 1333, 1360.

N-Methyl-3-((5-(3-(1-(methylsulfonyl)-1,2,3,4-tetrahydrochinolin-7-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-5-yl)pyridin-2-yl)oxy)propan-1-amin (**281**)



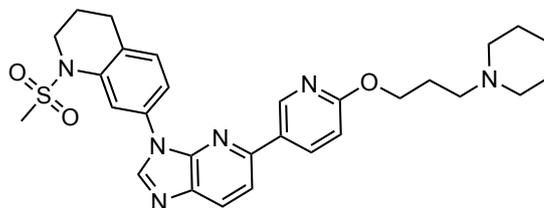
Durchführung nach **ASV 8** mit 107 mg **271** (0,24 mmol), 50 mg **288** (0,20 mmol), 113 mg K_2CO_3 (0,82 mmol) in 4 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 65 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH_3 6 – 8,2 %). Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM aufgenommen, mit *n*-Pentan ausgefällt und durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 41 mg gräulicher Feststoff (42 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.93 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.47 (dd, $J = 8.7, 2.5$ Hz, 1H), 8.36 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.26 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.62 (dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz, 1H), 7.43 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.92 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.37 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 3.84 – 3.75 (m, 2H), 3.28 (bs, 1H), 3.16 (s, 3H), 2.90 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 2.61 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.29 (s, 3H), 2.03 – 1.96 (m, 2H), 1.87 (p, $J = 6.7$ Hz, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 163.7, 149.5, 146.2, 145.6, 144.3, 137.6, 137.6, 134.6, 133.3, 130.6, 128.8, 128.2, 128.0, 118.1, 116.1, 115.4, 110.5, 64.2, 48.2, 46.0, 38.4, 36.1, 28.7, 26.3, 21.6. HPLC $t_{\text{ret}} = 5.18$ min. ESI-MS m/z : 493.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 666, 769, 784, 821, 869, 887, 918, 970, 985, 1004, 1018, 1038, 1077, 1091, 1120, 1182, 1229, 1258, 1288, 1320, 1364, 1414, 1465, 1506, 1598, 2949.

1-(Methylsulfonyl)-7-(5-(6-(3-(pyrrolidin-1-yl)propoxy)pyridin-3-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-3-yl)-1,2,3,4-tetrahydrochinolin (**282**)



Durchführung nach **ASV 8** mit 100 mg **271** (0,22 mmol), 57 mg **289** (0,20 mmol), 111 mg K_2CO_3 (0,80 mmol) in 5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 75 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH_3 4 – 7,3 %). Das Produkt wurde in heißem MeOH suspendiert, die Suspension auf Raumtemperatur abgekühlt und das Endprodukt durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 47 mg weißlicher Feststoff (44 %). 1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.93 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.47 (dd, $J = 8.7, 2.5$ Hz, 1H), 8.36 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 8.26 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.62 (dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, 1H), 7.42 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.36 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 3.82 – 3.75 (m, 2H), 3.16 (s, 3H), 2.90 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 2.55 – 2.50 (m, 2H), 2.43 (dd, $J = 8.3, 3.1$ Hz, 4H), 2.04 – 1.96 (m, 2H), 1.95 – 1.87 (m, 2H), 1.73 – 1.62 (m, 4H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 163.7, 149.5, 146.2, 145.6, 144.3, 137.6, 137.6, 134.6, 133.3, 130.6, 128.8, 128.2, 128.1, 118.1, 116.1, 115.4, 110.5, 64.3, 53.6, 52.3, 46.0, 38.4, 28.0, 26.4, 23.1, 21.6. HPLC $t_{ret} = 4.71$ min. ESI-MS m/z : 533.4 $[M+H]^+$. IR $[cm^{-1}]$ 667, 737, 768, 783, 821, 834, 862, 887, 918, 960, 983, 1004, 1017, 1048, 1076, 1090, 1123, 1183, 1220, 1258.

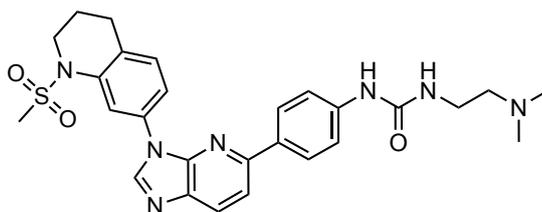
1-(Methylsulfonyl)-7-(5-(6-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)pyridin-3-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-3-yl)-1,2,3,4-tetrahydrochinolin (**283**)



Durchführung nach **ASV 8** mit 78 mg **271** (0,22 mmol), 60 mg **290** (0,20 mmol), 111 mg K_2CO_3 (0,80 mmol) in 5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) über Nacht bei 75 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH_3

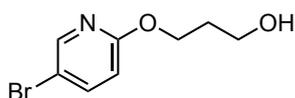
4 – 7,5 %). Das Produkt wurde in heißem MeOH suspendiert, die Suspension auf Raumtemperatur abgekühlt und das Produkt durch Filtration gewonnen. Ausbeute: 76 mg grau-weißer Feststoff (70 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.95 – 8.91 (m, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.47 (dd, $J = 8.7, 2.5$ Hz, 1H), 8.36 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.26 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.62 (dd, $J = 8.2, 2.2$ Hz, 1H), 7.42 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.33 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 3.83 – 3.75 (m, 2H), 3.16 (s, 3H), 2.89 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 2.42 – 2.25 (m, 6H), 2.05 – 1.95 (m, 2H), 1.93 – 1.84 (m, 2H), 1.53 – 1.45 (m, 4H), 1.40 – 1.33 (m, 2H). HPLC $t_{\text{ret}} = 4.775$ min. ESI-MS m/z : 547.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 783, 819, 868, 888, 918, 954, 984, 1004, 1018, 1047, 1062, 1077, 1091, 1183, 1221, 1260, 1289, 1306, 1363, 1378.

1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-3-(4-(3-(1-(methylsulfonyl)-1,2,3,4-tetrahydrochinolin-7-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-5-yl)phenyl)harnstoff (**284**)



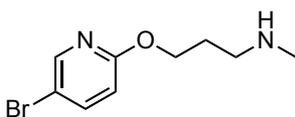
Durchführung nach **ASV 8** mit 73 mg **271** (0,16 mmol), 42 mg **93** (0,15 mmol) und 160 mg K_2CO_3 (0,60 mmol) über Nacht bei 70 °C. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH_3 5 – 9,2 %). Ausbeute: 57 mg weißlicher Feststoff (71 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.87 – 8.79 (m, 2H), 8.35 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.20 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 8.06 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.88 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.64 (dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz, 1H), 7.49 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.43 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.15 (t, $J = 5.2$ Hz, 1H), 3.82 – 3.76 (m, 2H), 3.23 – 3.15 (m, 5H), 2.90 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 2.35 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H), 2.19 (s, 6H), 2.04 – 1.97 (m, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 155.0, 151.8, 146.2, 144.0, 141.4, 137.7, 134.2, 133.4, 131.3, 130.6, 128.5, 128.2, 127.4, 118.1, 117.3, 116.1, 115.2, 58.4, 46.0, 45.0, 38.6, 36.9, 26.3, 21.6. HPLC $t_{\text{ret}} = 5.28$ min. ESI-MS m/z : 534.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 532.4 $[\text{M}-\text{H}]^-$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 766, 781, 817, 869, 886, 987, 1002, 1033, 1056, 1090, 1184, 1225, 1286, 1324, 1409, 1462, 1508, 1540, 1598, 1655, 2942.

3-((5-Brompyridin-2-yl)oxy)propan-1-ol (**286**)

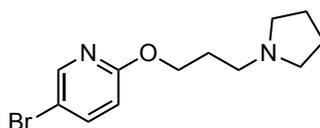


Zu einer Lösung von 5-Brom-2-fluorpyridin (1251 mg, 7,108 mmol) und Propan-1,3-diol (2306 mg, 30,30 mmol) in 15 ml trockenem THF wurden 296 mg NaH (60 Gew.-%, 7,40 mmol) portionsweise zugegeben. Nachdem keine Gasbildung mehr zu beobachten war, wurde die Reaktion auf 50 °C erhitzt. Nach etwa 5 h zeigte die Reaktionskontrolle mittels HPLC den vollständigen Verbrauch der Ausgangsstoffe und die Reaktion wurde durch Zugabe von gesättigter Salzlösung gestoppt. Das Produkt wurde mit EA extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet. Die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer entfernt und das Produkt wurde durch Flash-Chromatographie (Gradient: DCM/MeOH 0 – 1 %) aufgereinigt. Ausbeute: 1596 mg gelblicher Feststoff (97 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.26 (dd, *J* = 2.6, 0.6 Hz, 1H), 7.87 (dd, *J* = 8.8, 2.6 Hz, 1H), 6.81 (dd, *J* = 8.8, 0.6 Hz, 1H), 4.53 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.28 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.56 – 3.50 (m, *J* = 11.5, 6.2 Hz, 2H), 1.84 (p, *J* = 6.4 Hz, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 162.4, 147.2, 141.5, 112.9, 111.2, 63.3, 57.3, 31.8. HPLC *t*_{ret} = 6.23 min. ESI-MS *m/z*: 253.8 [M+Na]⁺.

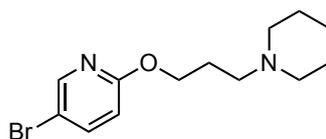
3-((5-Brompyridin-2-yl)oxy)-*N*-methylpropan-1-amin (**288**)



Durchführung nach der Vorschrift für **286** mit 996 mg 5-Brom-2-fluorpyridin (5,66 mmol), 604 mg 3-(Methylamino)propan-1-ol (6,78 mmol) und 793 mg KO^{*t*}Bu (7,07 mmol) in 14 ml trockenem THF. Die Reaktion wurde nach 1 h mit NaOH (2 N, 1 Teil) verdünnt und mit DCM extrahiert. Das Produkt wurde ohne weitere Purifikation verwendet. Ausbeute: 1293 mg (93 %). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.17 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.62 (dd, *J* = 8.8, 2.6 Hz, 1H), 6.64 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 4.33 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 2.73 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 2.44 (s, *J* = 8.1 Hz, 3H), 1.95 (p, *J* = 6.7 Hz, 2H), 1.51 (bs, 1H). HPLC *t*_{ret} = 2.58 min. ESI-MS *m/z*: 245.0 [M+H].

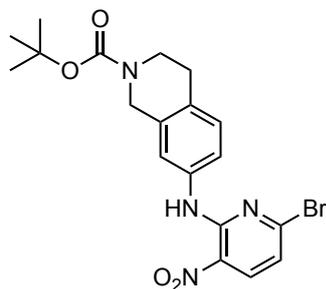
5-Brom-2-(3-(pyrrolidin-1-yl)propoxy)pyridin (**289**)

Durchführung nach der Vorschrift für **286** mit 982 mg 5-Brom-2-fluorpyridin (5,58 mmol), 666 mg 3-(Pyrrolidin-1-yl)propan-1-ol (5,15 mmol) und 636 mg KO^tBu (5,67 mmol) in 15 ml trockenem THF. (Eine Kühlung könnte von Vorteil sein, da die Reaktion exotherm verläuft.) Rohausbeute: 1539 mg gelber Feststoff. ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.25 (dd, *J* = 2.6, 0.5 Hz, 1H), 7.87 (dd, *J* = 8.8, 2.6 Hz, 1H), 6.80 (dd, *J* = 8.8, 0.6 Hz, 1H), 4.25 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 2.50 – 2.46 (m, 2H), 2.44 – 2.37 (m, 4H), 1.86 (p, *J* = 6.8 Hz, 2H), 1.69 – 1.63 (m, 4H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 162.3, 147.1, 141.5, 112.8, 111.2, 64.5, 53.5, 52.2, 27.8, 23.1. ESI-MS *m/z*: 285.0 [M+H].

5-Brom-2-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)pyridin (**290**)

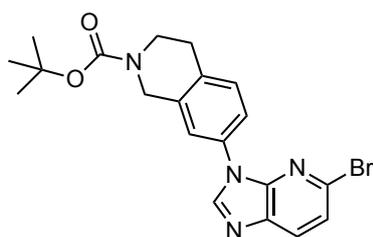
Durchführung nach der Vorschrift für **286** mit 981 mg 5-Brom-2-fluorpyridin (5,58 mmol), 742 mg 3-(Piperidin-1-yl)propan-1-ol (5,18 mmol) und 639 mg KO^tBu (5,70 mmol) in 15 ml trockenem THF. (Eine Kühlung könnte von Vorteil sein, da die Reaktion exotherm verläuft.) Rohausbeute: 2561 mg gelber Feststoff. ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.25 (dd, *J* = 2.6, 0.5 Hz, 1H), 7.87 (dd, *J* = 8.8, 2.6 Hz, 1H), 6.80 (dd, *J* = 8.8, 0.5 Hz, 1H), 4.23 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 2.36 – 2.25 (m, 6H), 1.88 – 1.79 (m, 2H), 1.51 – 1.43 (m, 4H), 1.40 – 1.32 (m, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 162.4, 147.2, 141.5, 112.8, 111.2, 64.6, 55.1, 54.0, 25.9, 25.6, 24.1. ESI-MS *m/z*: 299.1 [M+H].

tert-Butyl-7-((6-brom-3-nitropyridin-2-yl)amino)-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-carboxylat (**291**)



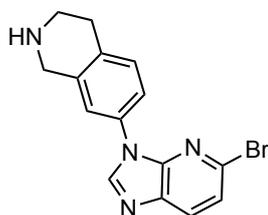
1905 mg 2,6-Dibrom-3-nitropyridin (4,24 mmol), 1052 mg *tert*-Butyl-7-amino-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-carboxylat (4,24 mmol), 1096 mg DIPEA (8,480 mmol) wurden in 30 ml EtOH bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Verbrauch der Ausgangsstoffe (Reaktionskontrolle über DC) wurde die Suspension 15 min lang im Eisbad gekühlt. Das Produkt wurde durch Filtration gewonnen und luftgetrocknet. Ausbeute: 1394 mg orangefarbener Feststoff (73 %). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 10.04 (s, 1H), 8.39 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.44 – 7.39 (m, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.17 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.12 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 4.49 (s, 2H), 3.57 (t, $J = 5.8$ Hz, 2H), 2.77 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 1.43 (s, 9H). HPLC $t_{\text{ret}} = 10.74$ min. ESI-MS m/z : 471.6 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 447.7 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

tert-Butyl-7-(5-brom-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-3-yl)-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-carboxylat (**292**)



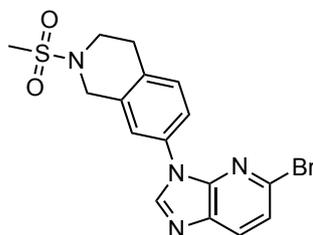
Schritt 1: Durchführung nach **ASV 3** mit 1329 mg **291** (2,96 mmol), 1934 mg Zn-Pulver (29,60 mmol) und 1582 mg NH_4Cl (29,60 mmol) in 40 ml MeOH. Schritt 2: Durchführung nach **ASV 4**. Das Produkt aus Schritt 1 wurde mit 1,5 ml Triethylorthoformiat und 56 mg *p*-TsOH· H_2O in 100 ml Toluol bei 70 °C gerührt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Aufreinigung verwendet. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO) δ 8.84 (s, 1H), 8.17 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.68 – 7.63 (m, 2H), 7.57 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.43 – 7.39 (m, 1H), 4.60 (s, 2H), 3.61 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 2.87 (t, $J = 5.8$ Hz, 2H), 1.44 (s, 9H). ESI-MS m/z : 451.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

7-(5-Brom-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-3-yl)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (**293**)



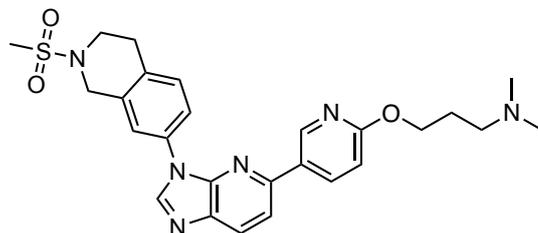
Durchführung nach **ASV 5** mit 1153 mg **292** und 13 ml ethanolischer HCl (1,25 M) in 30 ml EtOH. Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 2 – 5 %). Ausbeute: 420 mg gelblicher Feststoff (50 % über 3 Schritte). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.81 (s, 1H), 8.16 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.58 – 7.53 (m, 2H), 7.47 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.30 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 3.94 (s, 2H), 3.01 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 2.77 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H). (NH-Singal unter dem H₂O-Signal). HPLC *t*_{ret} = 3.09 min. ESI-MS *m/z*: 329.1 [M+H]⁺.

7-(5-Brom-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-3-yl)-2-(methylsulfonyl)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (**294**)



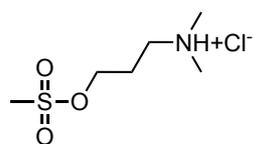
Zu einer Lösung von 199 mg **293** (0,604 mmol) in 7 ml trockenem Pyridin wurden insgesamt 121 mg MsCl (1,06 mmol) hinzugegeben und die Reaktion wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis der vollständige Verbrauch des Ausgangsmaterials mittels HPLC nachgewiesen werden konnte. Die Reaktion wurde mit MeOH verdünnt und die Lösungsmittel wurden am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde durch Flash-Chromatographie (Gradient: DCM/MeOH 1 – 7 %) aufgereinigt. Ausbeute: 206 mg weißlicher Feststoff (84 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.84 (s, 1H), 8.18 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.71 – 7.67 (m, 2H), 7.57 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.45 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 4.48 (s, 2H), 3.50 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 3.03 – 2.97 (m, 5H). HPLC *t*_{ret} = 6.72 min. ESI-MS *m/z*: 429.0 [M+Na]⁺.

N,N-Dimethyl-3-((5-(3-(2-(methylsulfonyl)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-7-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-5-yl)pyridin-2-yl)oxy)propan-1-amin (**295**)

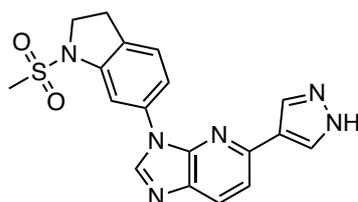


Durchführung nach **ASV 8** mit 94 mg **294** (0,23 mmol) und 61 mg **60** (0,20 mmol) in 4 ml Dioxan/Wasser (4 + 1). Das Rohprodukt wurde über Flash-Chromatographie aufgereinigt (Gradient: DCM/MeOH + 2 N NH₃ 4 – 8,5 %). Ausbeute: gelblicher Feststoff (48 mg, 47 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.91 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 8.85 (s, 1H), 8.39 (dd, *J* = 8.7, 2.5 Hz, 1H), 8.26 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.95 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.89 (dd, *J* = 8.2, 2.1 Hz, 1H), 7.84 – 7.81 (m, 1H), 7.47 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 6.92 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 4.50 (s, 2H), 4.34 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.51 (t, *J* = 5.9 Hz, 2H), 3.04 – 2.98 (m, 5H), 2.35 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.15 (s, 6H), 1.87 (p, *J* = 6.8 Hz, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 163.7, 149.4, 146.3, 145.5, 144.4, 137.4, 134.6, 133.5, 133.2, 132.7, 129.9, 128.8, 128.0, 121.5, 120.9, 115.3, 110.6, 64.2, 55.7, 46.8, 45.1, 42.9, 35.0, 27.9, 26.7. HPLC *t*_{ret} = 4.59 min. ESI-MS *m/z*: 507.3 [M+H]⁺, 529.2 [M+Na]⁺. IR [cm⁻¹] 819, 871, 925, 963, 1024, 1075, 1146, 1236, 1282, 1323, 1410, 1459, 1513, 1597, 2941.

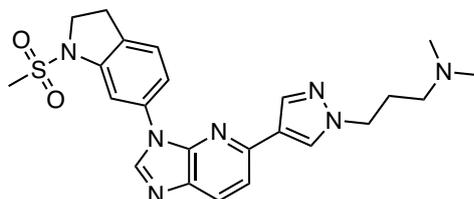
N,N-Dimethyl-3-((methylsulfonyl)oxy)propan-1-aminium chloride (**296**)



3-(Dimethylamino)propan-1-ol (583 mg, 5,65 mmol) wurde in 10 ml trockenem DCM gerührt und in einem Eisbad gekühlt. MsCl (683 mg, 5,96 mmol) wurde portionsweise hinzugegeben. Nach 20 min wurde die Suspension filtriert und das Produkt mit einer kleinen Menge DCM gewaschen. Ausbeute: 1110 mg mit Feststoff (90 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.14 (s, 1H), 4.31 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.22 (s, 3H), 3.16 – 3.07 (m, 2H), 2.72 (d, *J* = 3.8 Hz, 6H), 2.18 – 2.06 (m, 2H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 67.6, 53.0, 41.9, 36.7, 23.7.

3-(1-(Methylsulfonyl)indolin-6-yl)-5-(1*H*-pyrazol-4-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin (**297**)


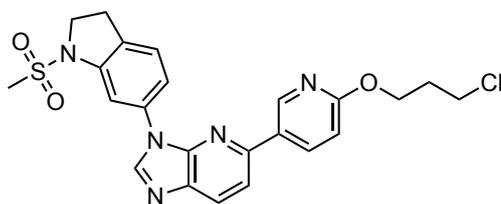
Durchführung nach **ASV 8** mit **266** (98 mg, 0,25 mmol), 4-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-Pyrazol (77 mg, 0,40 mmol), einer katalytischen Menge tBu₃Pd G3 und XPhos Pd G4 (ca. 7 mg) in 2,5 ml K₃PO₄ (0,5 M, aq.) und 6 ml Dioxan bei 70 °C über Nacht. Nach vollständiger Umsetzung wurde die Reaktion mit gesättigter NH₄Cl-Lösung verdünnt, mit DCM extrahiert, die organischen Phasen getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Das beige Rohprodukt wurde in MeOH suspendiert und filtriert. Der Rückstand wurde mit *n*-Pentan gewaschen und luftgetrockent. Ausbeute: 76 mg weißlicher Feststoff (80 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.06 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.49 – 8.34 (m, *J* = 1.8 Hz, 2H), 8.26 – 8.10 (m, 2H), 7.72 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.56 (dd, *J* = 8.1, 1.9 Hz, 1H), 7.50 – 7.45 (m, 1H), 4.06 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 3.20 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.13 (s, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 147.6, 146.0, 143.1, 142.9, 137.4, 135.1, 133.9, 130.3, 128.6, 127.3, 126.2, 122.4, 116.3, 115.5, 107.5, 50.6, 34.5, 27.1. HPLC *t*_{ret} = 5.91 min. ESI-MS *m/z*: 403.1 [M+Na]⁺.

N,N-Dimethyl-3-(4-(3-(1-(methylsulfonyl)indolin-6-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridin-5-yl)-1*H*-pyrazol-1-yl)propan-1-amin (**298**)


In 3 ml trockenem ACN wurde **297** (50 mg, 0,31 mmol), **296** (29 mg, 0,13 mmol) und K₂CO₃ (55 mg, 0,39 mmol) suspendiert und über Nacht bei 65 °C gerührt. Nach Entfernen des ACN am Rotationsverdampfer wurde das Rohprodukt durch Flash-Chromatographie aufgereinigt (DCM/MeOH + NH₃ (2 N) 0 – 7,5 %). Ausbeute: 44 mg weißer Feststoff (73 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.88 (s, 1H), 8.40 – 8.33 (m, 2H), 8.15 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.67 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.56 (dd, *J* = 8.1, 1.9 Hz, 1H), 7.48 (mf, *J* = 8.1 Hz, 1H), 4.16 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 4.06 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 3.20 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H),

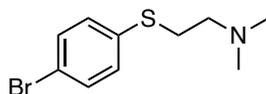
3.14 (s, 3H), 2.19 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.12 (s, 6H), 1.95 (p, $J = 7.0$ Hz, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO) δ 147.3, 146.0, 143.2, 142.9, 137.2, 135.0, 133.9, 130.4, 128.8, 128.6, 126.2, 122.7, 116.5, 115.2, 107.5, 55.9, 50.6, 49.7, 45.1, 34.5, 27.7, 27.0. HPLC $t_{\text{ret}} = 4.10$ min. ESI-MS m/z : 466.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. IR $[\text{cm}^{-1}]$ 779, 794, 813, 827, 900, 976, 1011, 1059, 1105, 1149, 1202, 1217, 1311, 1330, 1407, 1496, 1560, 1596, 2758, 2812.

5-(6-(3-Chlorpropoxy)pyridin-3-yl)-3-(1-(methylsulfonyl)indolin-6-yl)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine (**302**)



In 5 ml trockenem DMF wurden 50 mg **276** (0,11 mmol), 42 mg TsCl (0,22 mmol), 22 μl Et_3N (0.16 mmol) und 1 mg DMAP (0,01 mmol) gelöst bzw. suspendiert. Der Ansatz wurde für 24 h bei 50°C gerührt. Der Ansatz wurde anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt und mit 5 – 10 T an Wasser verdünnt. Die Suspension wurde mit Watte filtriert und der Rückstand mit DCM/MeOH gelöst und eingengt. Ausbeute: 26 mg (49 %). ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.92 (s, 1H), 8.57 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 8.33 – 8.27 (m, 2H), 8.23 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.56 – 7.44 (m, 2H), 6.54 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H), 4.12 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 4.06 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 3.70 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 3.21 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 3.14 (s, 3H), 2.22 – 2.13 (m, 2H). HPLC $t_{\text{ret}} = 7.09$ min. ESI-MS m/z : 506.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 448,2 $[\text{M}-\text{Cl}]^+$.

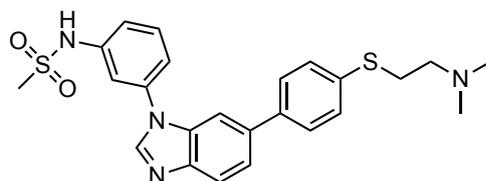
2-((4-Bromphenyl)thio)-*N,N*-dimethylethan-1-amin (**303**)²⁰⁹



4-Bromthiophenol (378 mg, 2,00 mmol) und NaOH (184 mg, 4,60 mmol) wurden in 12 ml EtOH gelöst. 2-Chlor-*N,N*-dimethylethan-1-aminhydrochlorid (288 mg, 2,00 mmol) wurde hinzugegeben und die Reaktion wurde 2 h lang unter Rückfluss gerührt. Die Reaktion wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und mit Diethylether extrahiert, gefolgt von der Extraktion der organischen Phase mit 10 %iger HCl. Der pH-Wert der wässrigen Phase wurde auf 9 eingestellt und anschließend mit Diethylether reextrahiert. Die

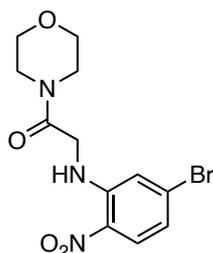
organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Ausbeute: 473 mg Flüssigkeit (91 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.50 – 7.45 (m, 2H), 7.29 – 7.24 (m, 2H), 3.10 – 3.02 (m, 2H), 2.48 – 2.41 (m, 2H), 2.15 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 136.4, 131.7, 129.6, 118.2, 57.8, 44.9, 30.1. HPLC t_{ret} = 3.65 min. ESI-MS m/z: 260.2 [M+H]⁺.

N-(3-(6-(4-((2-(Dimethylamino)ethyl)thio)phenyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-yl)phenyl)methansulfonamid (**304**)



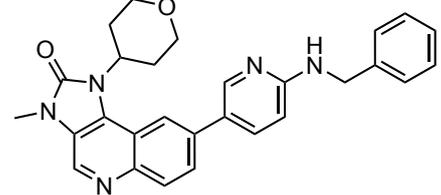
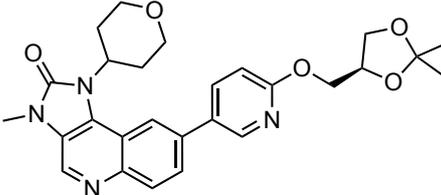
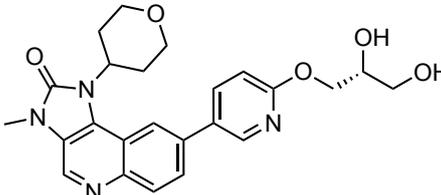
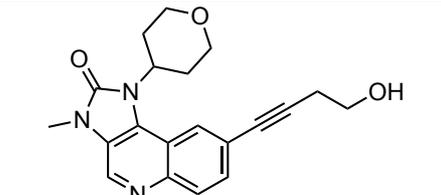
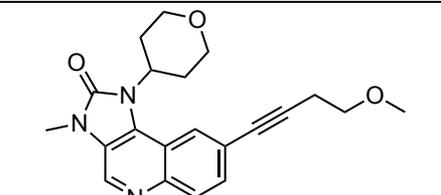
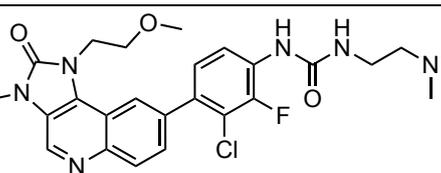
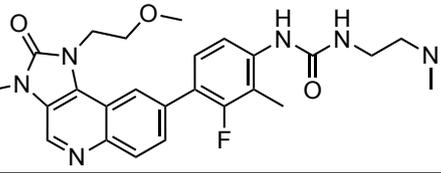
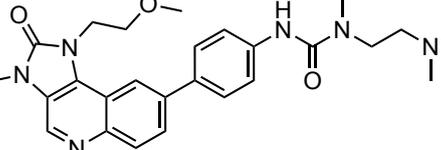
126 (90 mg, 0,22 mmol), **303** (53 mg, 0,20 mmol) und K₃PO₄ (217 mg) wurden in 2,5 ml Dioxan/Wasser (4 + 1) gelöst. Das Gemisch wurde unter Argonatmosphäre gerührt und eine katalytische Menge tBu₃P Pd G3 wurde hinzugegeben. Die Reaktion wurde über Nacht bei 65 °C gerührt, bis über DC der vollständige Verbrauch der Ausgangsstoffe nachgewiesen werden konnte. Die Reaktion wurde mit gesättigter NaHCO₃-Lösung verdünnt, gefolgt von der Extraktion mit DCM. Die organischen Phase wurden über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Das Rohprodukt wurde in ACN suspendiert und das Lösungsmittel wurde dekantiert. Das Produkt wurde in einer kleinen Menge DCM und *n*-Pentan suspendiert und durch Filtration gesammelt. Ausbeute: 79 mg weißlicher Feststoff (83 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.14 (s, 1H), 8.63 (s, 1H), 7.88 – 7.82 (m, 2H), 7.71 – 7.66 (m, 2H), 7.64 – 7.57 (m, 3H), 7.50 – 7.46 (m, 1H), 7.44 – 7.39 (m, 2H), 7.33 – 7.29 (m, 1H), 3.16 – 3.08 (m, 5H), 2.52 – 2.47 (m, 2H), 2.17 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 143.8, 143.4, 140.0, 137.8, 136.6, 135.7, 135.5, 133.5, 131.2, 128.3, 127.6, 121.7, 120.4, 118.4, 118.1, 113.8, 108.5, 58.0, 44.9, 39.7, 30.2. HPLC t_{ret} = 4.45 min. ESI-MS m/z: 465.3 [M-H]⁻. IR [cm⁻¹] 692, 759, 801, 818, 862, 895, 904, 915, 969, 985, 1010, 1095, 1122, 1152, 1164, 1206, 1225, 1241, 1292, 1304, 1310, 1326, 1404, 1444, 1466, 1480, 1491, 1509, 1601, 2768, 2816, 2856, 2972, 3104.

2-((5-Brom-2-nitrophenyl)amino)-1-morpholinoethan-1-on (**305**)

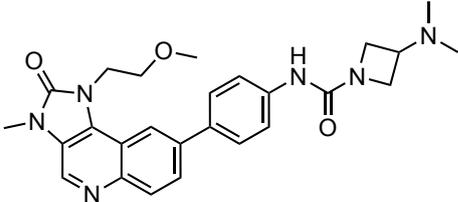
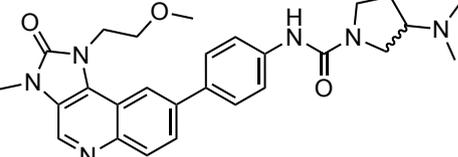
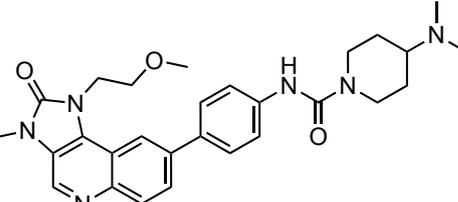
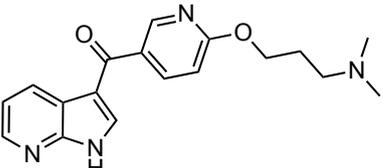
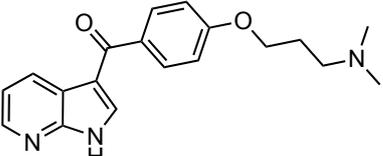
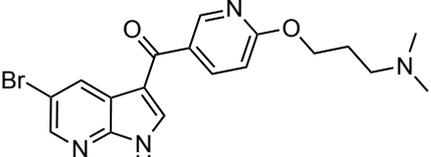
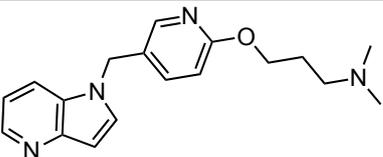
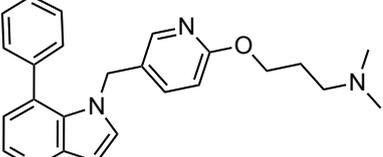
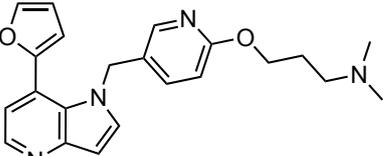


4-Brom-2-Fluor-1-nitrobenzen (400 mg, 1,82 mmol), 2-Amino-1-morpholinoethan-1-onhydrochlorid (394 mg, 1,54 mmol) und 0,66 ml Et₃N wurden in Isopropanol bei 65 °C gerührt, bis über DC der vollständige Verbrauch der Edukte nachgewiesen werden konnte. Die Reaktion wurde mit Wasser verdünnt, um das Produkt als gelben Feststoff gewinnen zu können. Ausbeute: 556 mg gelber Feststoff (89 %). ¹H NMR (200 MHz, DMSO) δ 8.87 – 8.65 (m, 1H), 8.00 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 6.86 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 4.23 (d, *J* = 3.6 Hz, 2H), 3.75 – 3.42 (m, 8H). HPLC *t*_{ret} = 6.76 min. ESI-MS *m/z*: 366.3 [M+H]⁺, 398.4 [M+Na+MeOH]⁺.

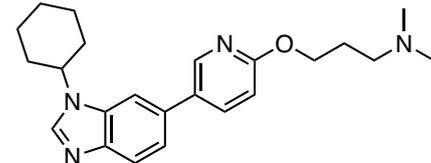
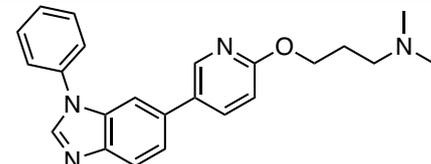
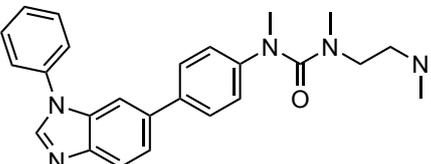
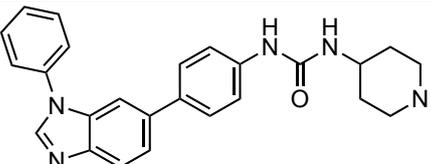
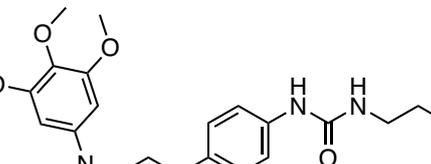
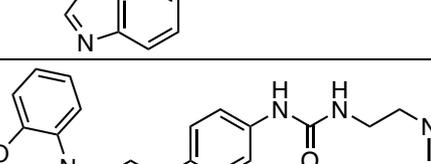
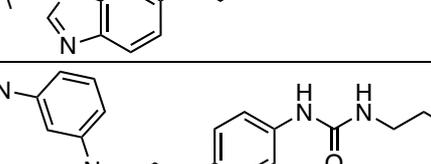
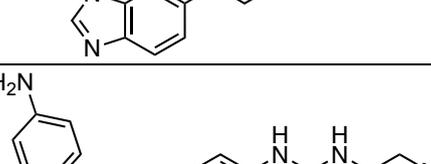
8 Liste der Testverbindungen

No.	Struktur	ATM IC ₅₀ [nM]
1		IC ₅₀ ^I = 7
2		IC ₅₀ ^I = 37
3		IC ₅₀ ^I = 3
4		IC ₅₀ ^I = 50
5		IC ₅₀ ^I = 95
6		IC ₅₀ ^I = 32
7		IC ₅₀ ^I = 37
8		IC ₅₀ ^I = 2

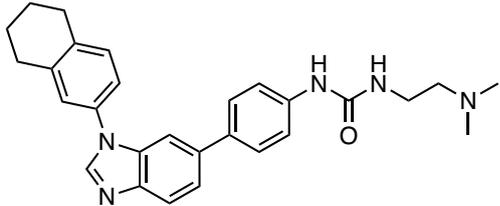
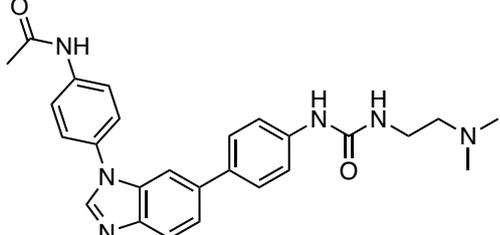
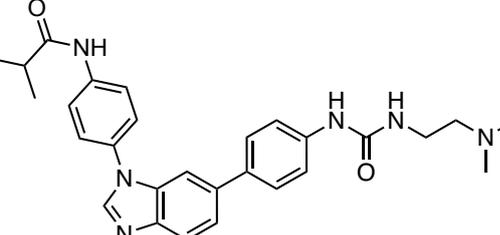
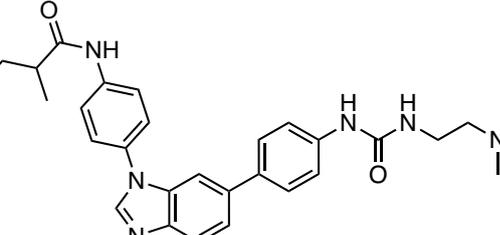
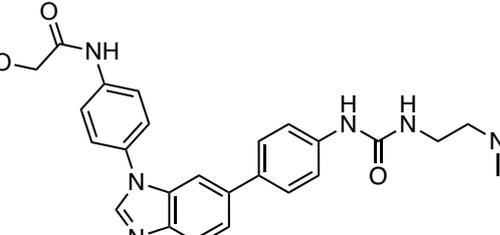
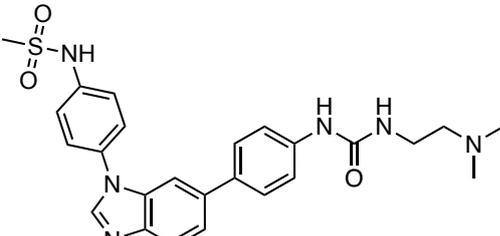
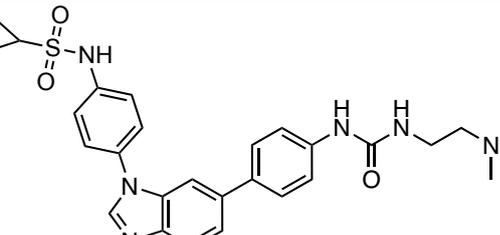
Liste der Testverbindungen

No.	Struktur	ATM IC ₅₀ [nM]
9		IC ₅₀ ^I = 4
10		IC ₅₀ ^I = 7
11		IC ₅₀ ^I = 945
12		IC ₅₀ ^I = 9800
13		IC ₅₀ ^I > 10000
14		IC ₅₀ ^I = 247
15		IC ₅₀ ^I > 10000
16		IC ₅₀ ^I > 10000
17		IC ₅₀ ^I > 10000

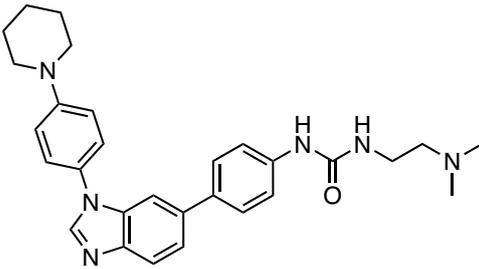
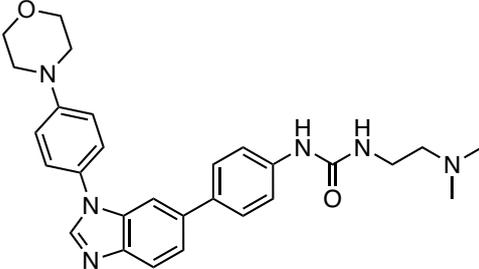
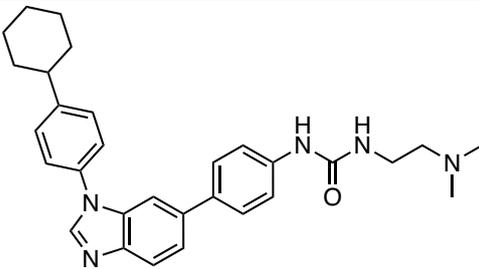
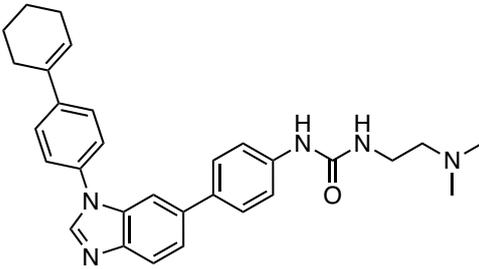
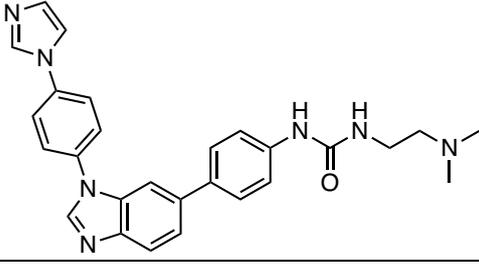
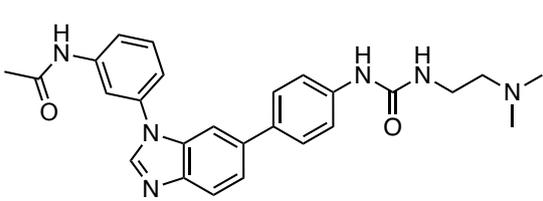
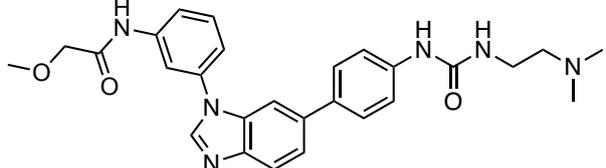
Liste der Testverbindungen

No.	Struktur	ATM IC ₅₀ [nM]
18		IC ₅₀ ^I = 283
19		IC ₅₀ ^I = 66
20		IC ₅₀ ^I = 1252
21		IC ₅₀ ^I > 10000
22		IC ₅₀ ^I > 10000
23		IC ₅₀ ^I = 60
24		IC ₅₀ ^I = 197
25		IC ₅₀ ^I = 71
26		IC ₅₀ ^I = 42

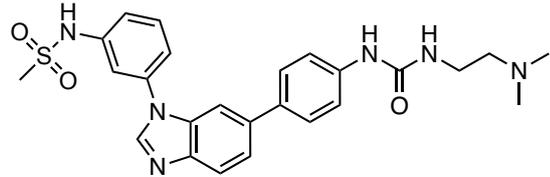
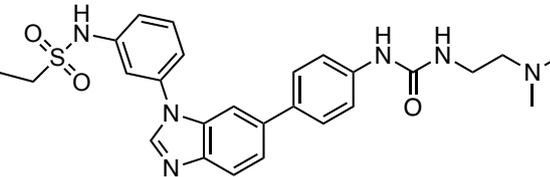
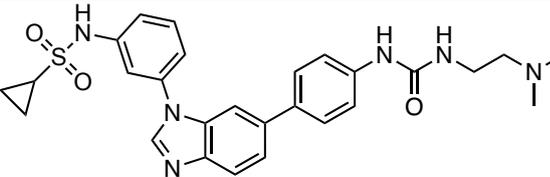
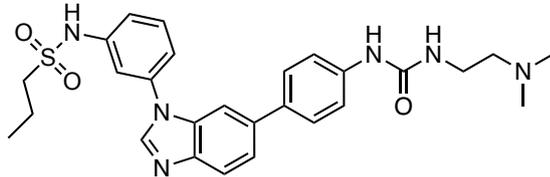
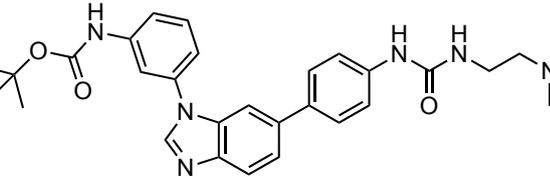
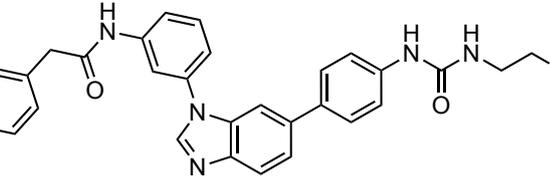
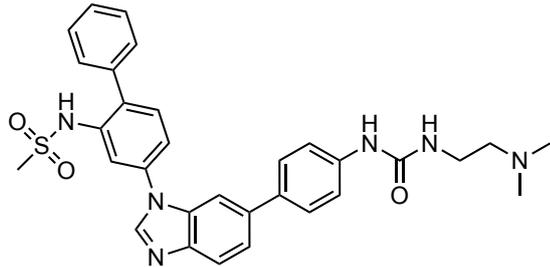
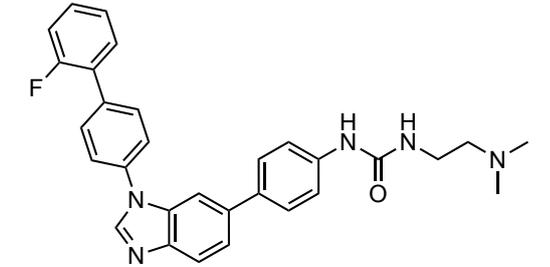
Liste der Testverbindungen

No.	Struktur	ATM IC ₅₀ [nM]
27		IC ₅₀ ^I = 16
28		IC ₅₀ ^I = 18
29		IC ₅₀ ^I = 30
30		IC ₅₀ ^I = 67
31		IC ₅₀ ^I = 10
32		IC ₅₀ ^I = 22
33		IC ₅₀ ^I = 12

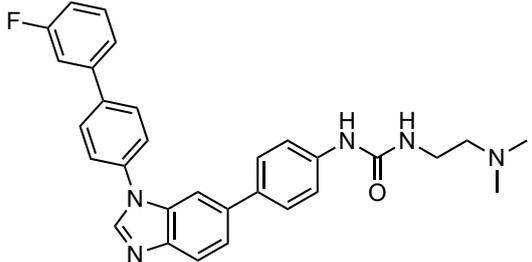
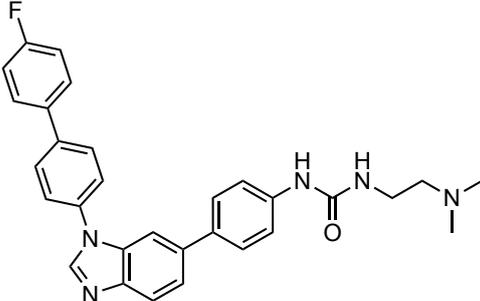
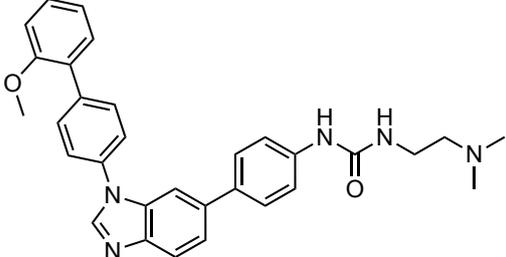
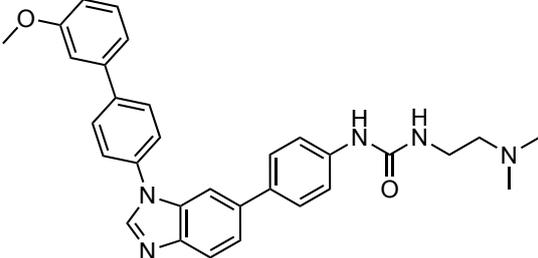
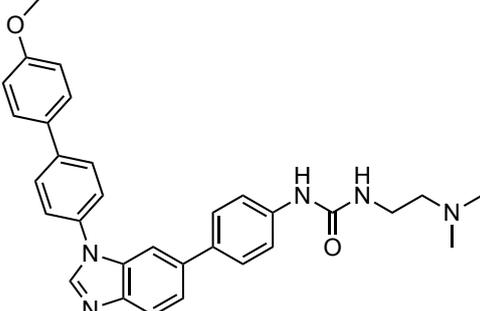
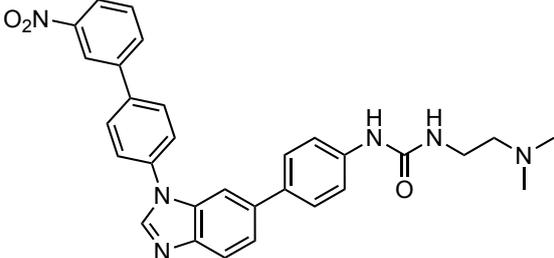
Liste der Testverbindungen

No.	Struktur	ATM IC ₅₀ [nM]
34		IC ₅₀ ^I = 25
35		IC ₅₀ ^I = 110
36		IC ₅₀ ^I = 89
37		IC ₅₀ ^I = 4*
38		IC ₅₀ ^I < 1
39		IC ₅₀ ^I = 1
40		IC ₅₀ ^I = 7

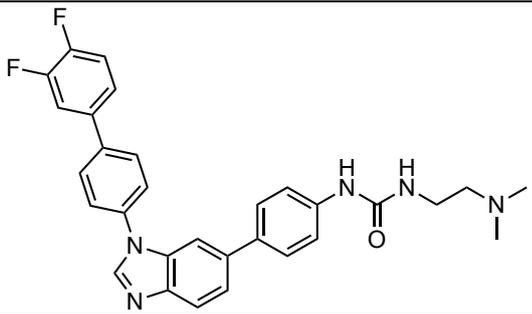
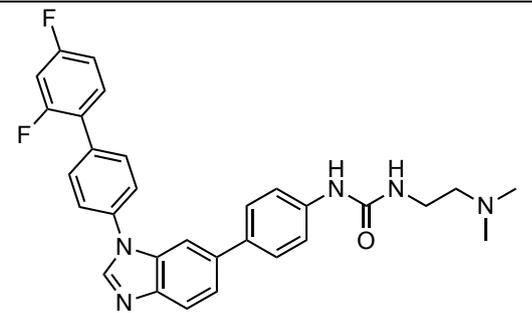
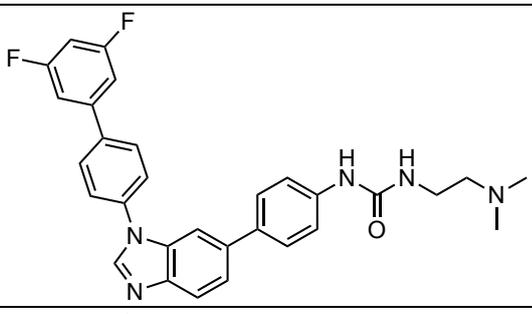
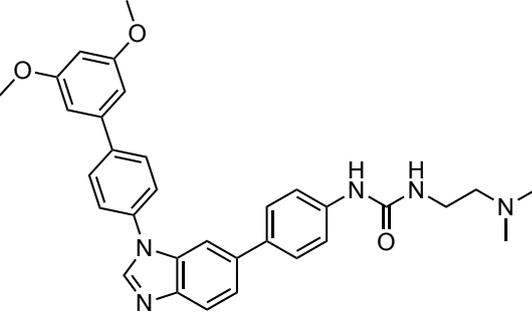
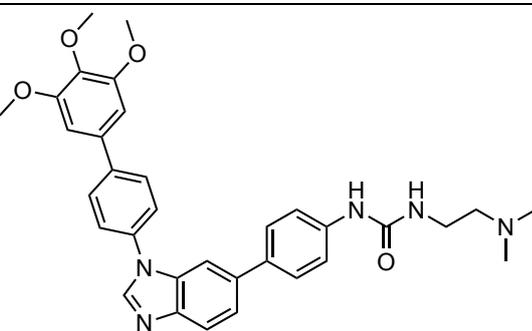
Liste der Testverbindungen

No.	Struktur	ATM IC ₅₀ [nM]
41		IC ₅₀ ^I < 1
		IC ₅₀ ^{II} = 3,7 (CI 95 % 2,5 – 6,6)
42		IC ₅₀ ^I < 1
43		IC ₅₀ ^I < 1
		IC ₅₀ ^{II} = 1,4 (CI 95 % 0,98 – 2,0)
44		IC ₅₀ ^I = 2
45		IC ₅₀ ^I = 62
46		IC ₅₀ ^I = 41
47		IC ₅₀ ^I < 1
		IC ₅₀ ^{II} = 0,79 (CI 95 % 0,47 – 1,3)
48		IC ₅₀ ^{II} = 17 (CI 95 % 13 – 22)

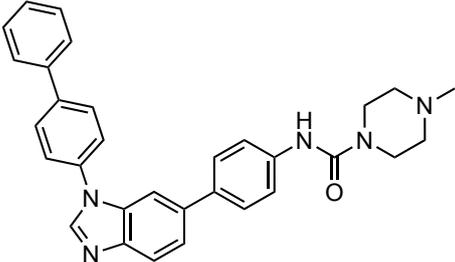
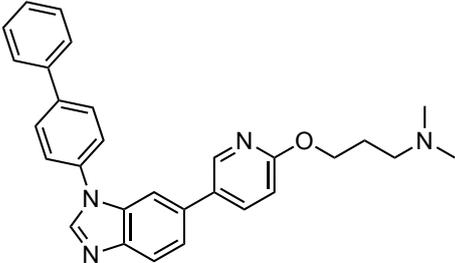
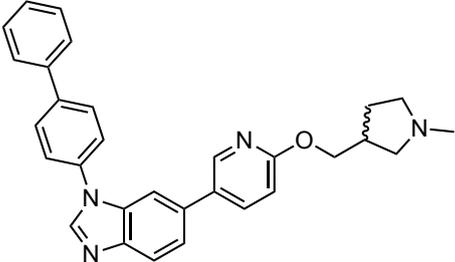
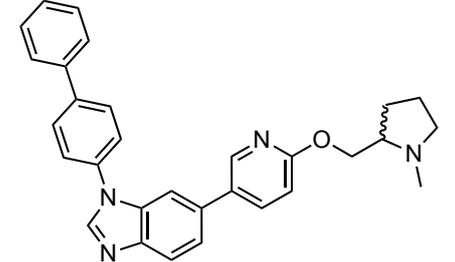
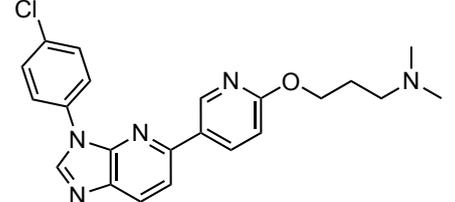
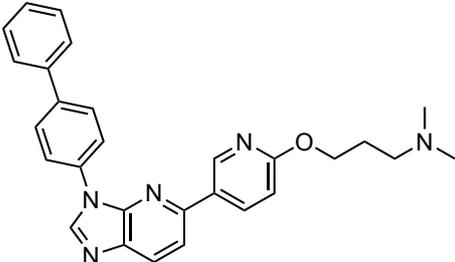
Liste der Testverbindungen

No.	Struktur	ATM IC ₅₀ [nM]
49		<p>IC₅₀^{II} = 16 (CI 95 % 11 – 27)</p>
50		<p>IC₅₀^{II} = 14 (CI 95 % 11 – 18)</p>
51		<p>IC₅₀^{II} = 6,4 (CI 95 % 4,2 – 10)</p>
52		<p>IC₅₀^{II} = 7,1 (CI 95 % 5,8 – 8,6)</p>
53		<p>IC₅₀^{II} = 9,3 (CI 95 % 7,9 – 11)</p>
54		<p>IC₅₀^{II} = 4,8 (CI 95 % 3,3 – 6,9)</p>

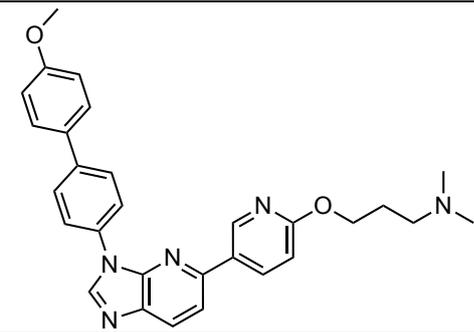
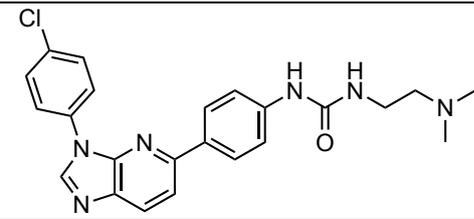
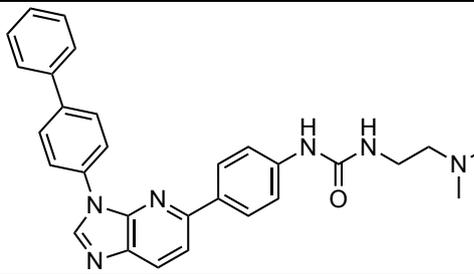
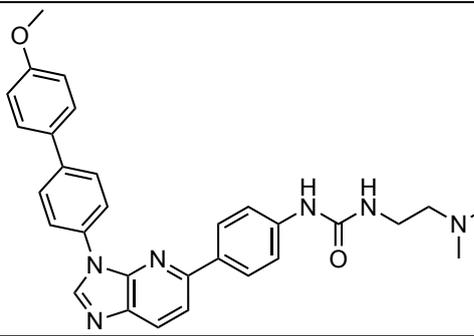
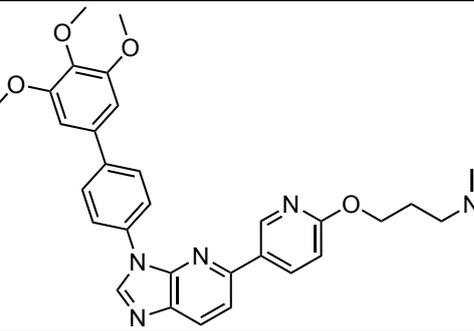
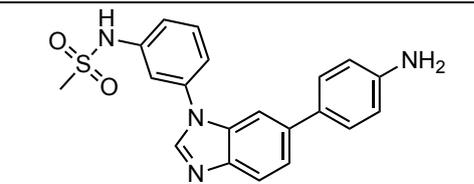
Liste der Testverbindungen

No.	Struktur	ATM IC ₅₀ [nM]
55		<p>IC₅₀^{II} = 21 (CI 95 % 16 – 27)</p>
56		<p>IC₅₀^{II} = 25 (CI 95 % 17 – 35)</p>
57		<p>IC₅₀^{II} = 25 (CI 95 % 15 – 52)</p>
58		<p>IC₅₀^{II} = 2,3 (CI 95 % 1,7 – 3,0)</p>
59		<p>IC₅₀^{II} = 4,4 (CI 95 % 1,7 – 3,0)</p>

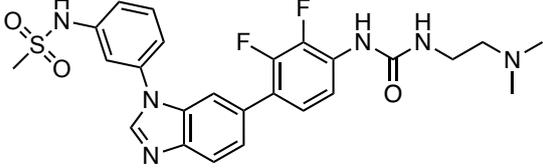
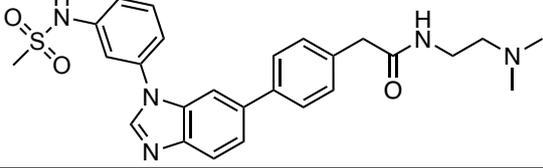
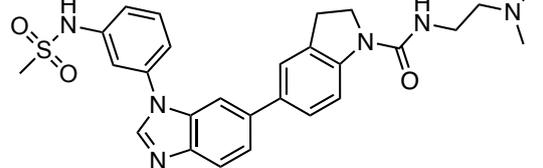
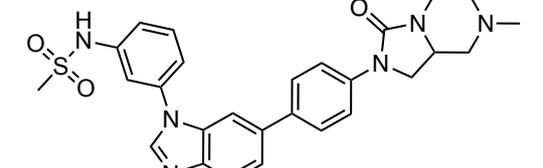
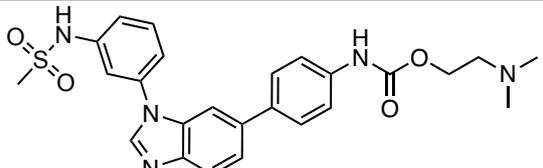
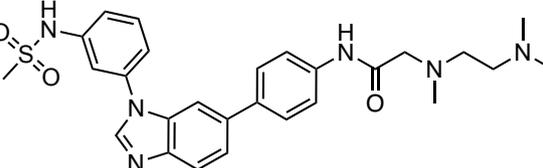
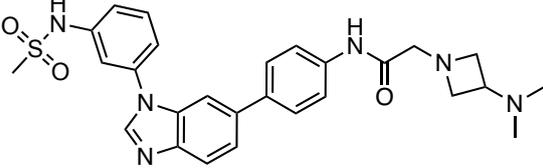
Liste der Testverbindungen

No.	Struktur	ATM IC ₅₀ [nM]
60		IC ₅₀ ^I = 553
61		IC ₅₀ ^{II} = 9,9 (CI 95 % 8,2 – 12)
62		IC ₅₀ ^{II} = 66 (CI 95 % 48 – 96)
63		IC ₅₀ ^{II} = 333 (CI 95 % n.k.)
64		IC ₅₀ ^{II} = 166 (CI 95 % 132 – ?)
65		IC ₅₀ ^{II} = 11 (CI 95 % 8,3 – 12)

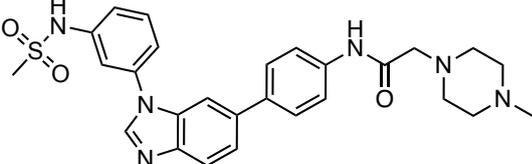
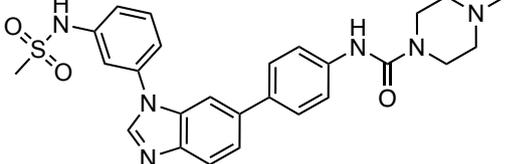
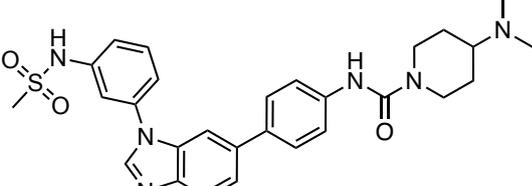
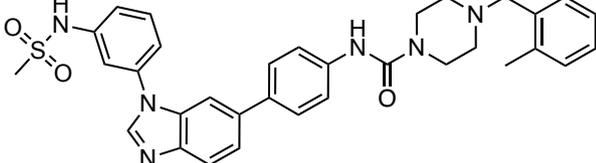
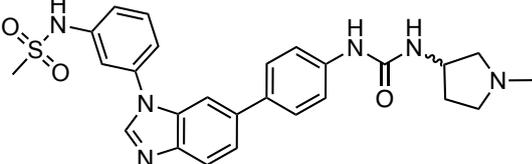
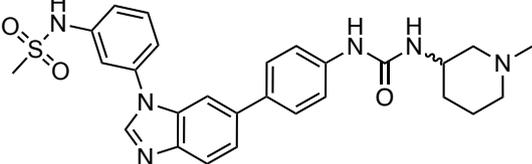
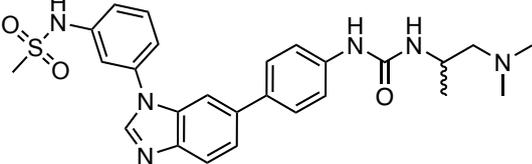
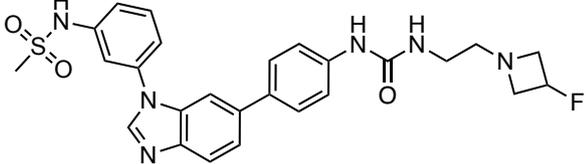
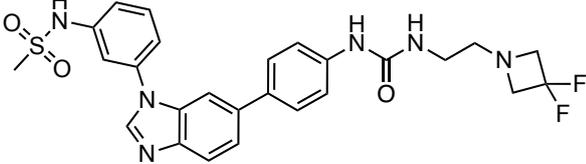
Liste der Testverbindungen

No.	Struktur	ATM IC ₅₀ [nM]
66		<p>IC₅₀^{II} = 10 (CI 95 % 5,7 – 21)</p>
67		<p>IC₅₀^{II} = 58 (CI 95 % 31 – 363)</p>
68		<p>IC₅₀^{II} = 2,2 (CI 95 % 1,4 – 3,2)</p>
69		<p>IC₅₀^{II} = 2,1 (CI 95 % 1,6 – 2,7)</p>
70		<p>IC₅₀^{II} = 17</p>
71		<p>IC₅₀^I = 1125</p>

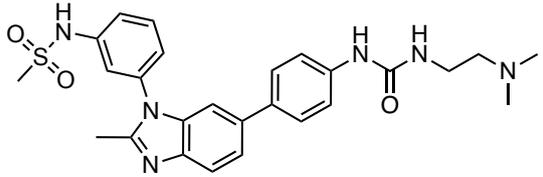
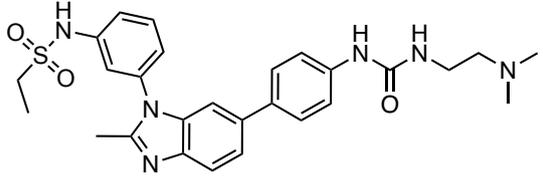
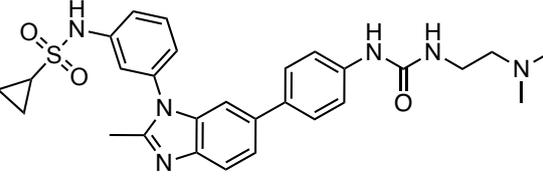
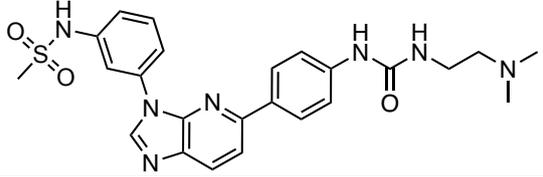
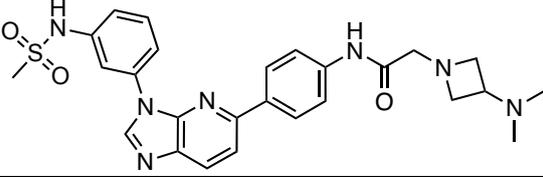
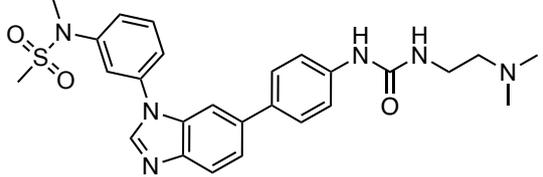
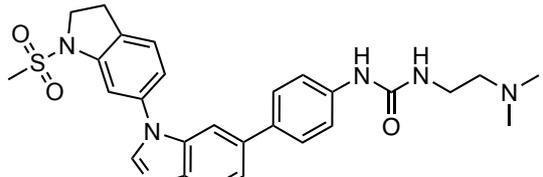
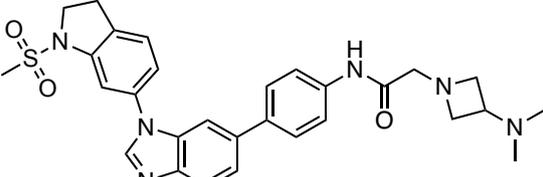
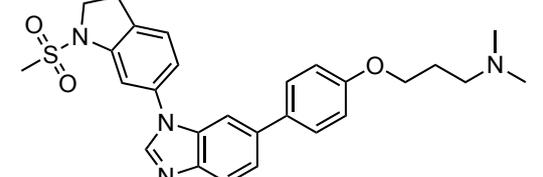
Liste der Testverbindungen

No.	Struktur	ATM IC ₅₀ [nM]
72		IC ₅₀ ^I = 3
73		IC ₅₀ ^I = 3
74		IC ₅₀ ^I = 40
75		IC ₅₀ ^I = 280
76		IC ₅₀ ^I = 264
77		IC ₅₀ ^I = 343
78		IC ₅₀ ^I = 4
79		IC ₅₀ ^I = 20
80		IC ₅₀ ^I < 1

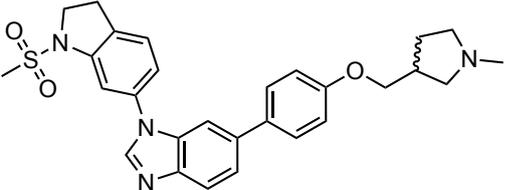
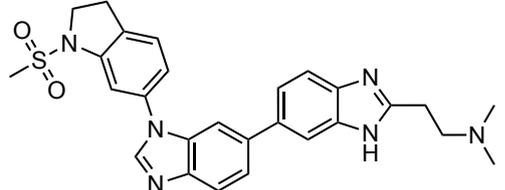
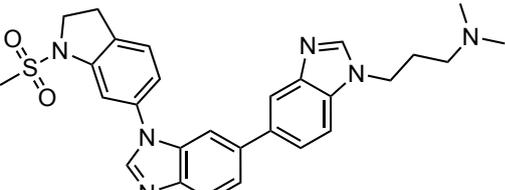
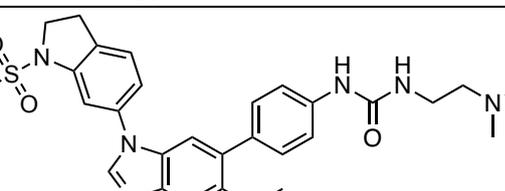
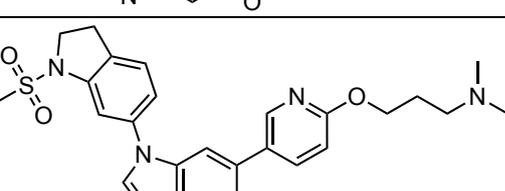
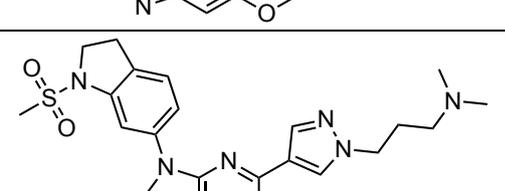
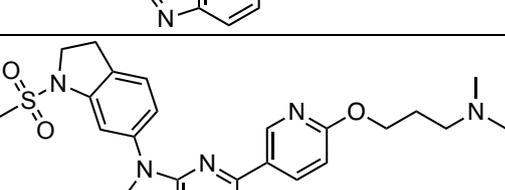
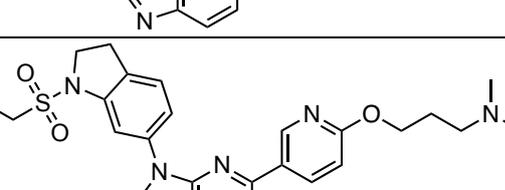
Liste der Testverbindungen

No.	Struktur	ATM IC ₅₀ [nM]
81		IC ₅₀ ^I = 166
82		IC ₅₀ ^I = 1576
83		IC ₅₀ ^I = 6472
84		IC ₅₀ ^I = 343
85		IC ₅₀ ^I = 2
86		IC ₅₀ ^I = 3
87		IC ₅₀ ^I = 4
88		IC ₅₀ ^I = 2
89		IC ₅₀ ^I = 10

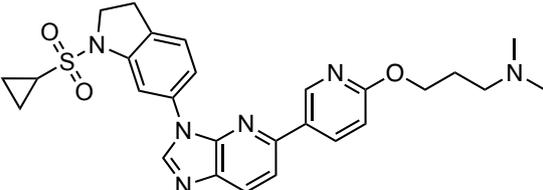
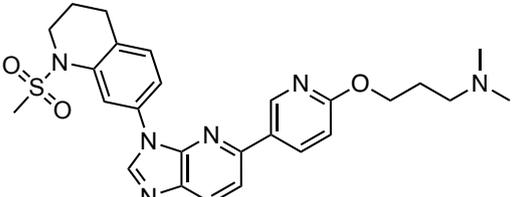
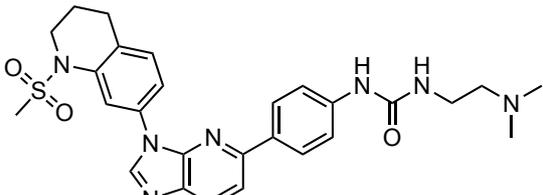
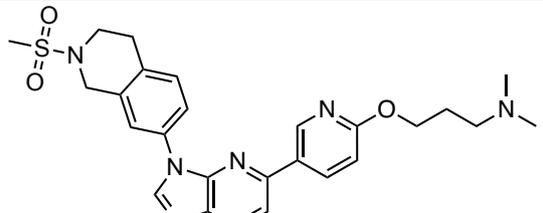
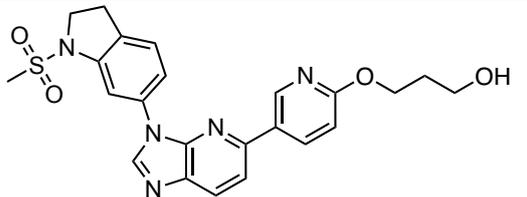
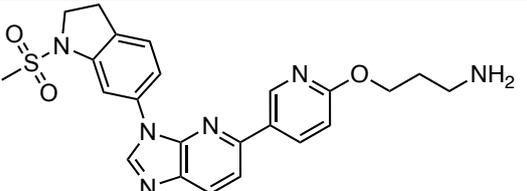
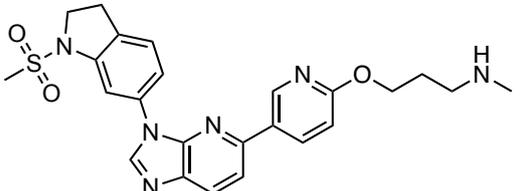
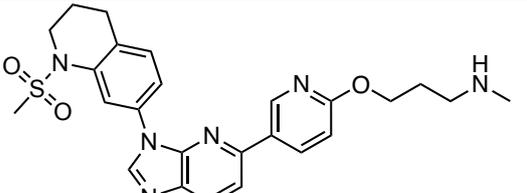
Liste der Testverbindungen

No.	Struktur	ATM IC ₅₀ [nM]
90		IC ₅₀ ^I = 9,5
91		IC ₅₀ ^I = 16
92		IC ₅₀ ^I = 8
93		IC ₅₀ ^I = 1
		IC ₅₀ ^{II} = 1,9
94		IC ₅₀ ^I = 1
		IC ₅₀ ^{II} = 22
95		IC ₅₀ ^{II} = 5,5 (CI 95 % 4,4 – 6,8)
96		IC ₅₀ ^{II} = 0,65 (CI 95 % 0,48 – 0,85)
97		IC ₅₀ ^{II} = 6,4 (CI 95 % 4,8 – 8,5)
98		IC ₅₀ ^{II} = 2,5 (CI 95 % 1,8 – 3,3)

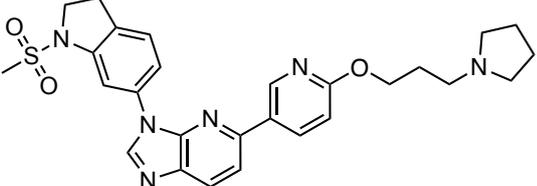
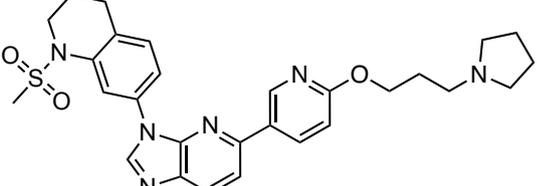
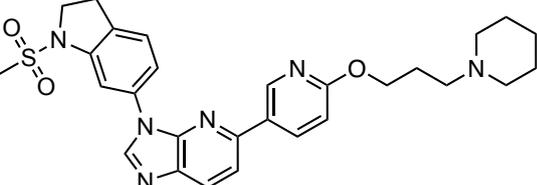
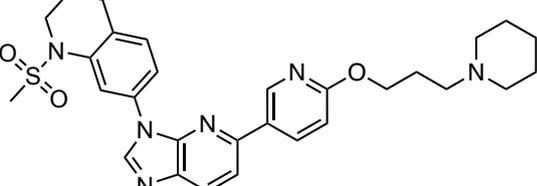
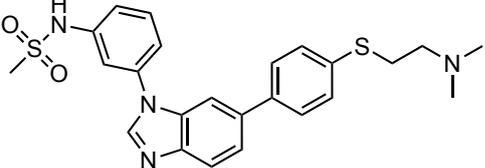
Liste der Testverbindungen

No.	Struktur	ATM IC ₅₀ [nM]
99		<p>IC₅₀^{II} = 23 (CI 95 % 15 – 36)</p>
100		<p>IC₅₀^{II} = 1,6* (CI 95 % 1,1 – 2,1)</p>
101		<p>IC₅₀^{II} > 1000</p>
102		<p>IC₅₀^{II} = 113 (CI 95 % n.k.)</p>
103		<p>IC₅₀^{II} = 386 (CI 95 % n.k.)</p>
104		<p>IC₅₀^{II} = 237 (CI 95 % n.k.)</p>
105		<p>IC₅₀^{II} = 0,48 (CI 95 % 0,39 – 0,59)</p>
106		<p>IC₅₀^{II} = 0,78</p>

Liste der Testverbindungen

No.	Struktur	ATM IC ₅₀ [nM]
107		<p>IC₅₀^{II} = 0,41 (CI 95 % 0,34 – 0,49)</p>
108		<p>IC₅₀^{II} = 0,96 (CI 95 % 0,76 – 0,96)</p>
109		<p>IC₅₀^{II} = 0,59</p>
110		<p>IC₅₀^{II} = 211</p>
111		<p>IC₅₀^{II} = 32 (CI 95 % ? – 7,2)</p>
112		<p>IC₅₀^{II} = 5,0 (CI 95 % 3,1 – ?)</p>
113		<p>IC₅₀^{II} = 0,98</p>
114		<p>IC₅₀^{II} = 1,5</p>

Liste der Testverbindungen

No.	Struktur	ATM IC ₅₀ [nM]
115		IC ₅₀ ^{II} = 0,56
116		IC ₅₀ ^{II} = 0,85
117		IC ₅₀ ^{II} = 0,76
118		IC ₅₀ ^{II} = 0,96
119		IC ₅₀ ^I = 23

n.k.: nicht kalkulierbar; IC₅₀^I: erstes Assayformat mit breitem Konzentrationsbereich; IC₅₀^{II}: zweites Assayformat mit engem Konzentrationsbereich. Siehe Kapitel 4.1 für weitere Informationen.

9 Literaturverzeichnis

- (1) Manning, G.; Whyte, D. B.; Martinez, R.; Hunter, T.; Sudarsanam, S. The Protein Kinase Complement of the Human Genome. *Science* **2002**, 298 (5600), 1912-1934. DOI: doi:10.1126/science.1075762.
- (2) Duong-Ly, K. C.; Peterson, J. R. The Human Kinome and Kinase Inhibition. *Current Protocols in Pharmacology* **2013**, 60 (1), 2.9.1-2.9.14. DOI: <https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0209s60>.
- (3) Fabbro, D.; Cowan-Jacob, S. W.; Moebitz, H. Ten things you should know about protein kinases: IUPHAR Review 14. *Br J Pharmacol* **2015**, 172 (11), 2675-2700. DOI: 10.1111/bph.13096 From NLM.
- (4) Boudeau, J.; Miranda-Saavedra, D.; Barton, G. J.; Alessi, D. R. Emerging roles of pseudokinases. *Trends in Cell Biology* **2006**, 16 (9), 443-452. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2006.07.003>.
- (5) Cohen, P. Protein kinases — the major drug targets of the twenty-first century? *Nature Reviews Drug Discovery* **2002**, 1 (4), 309-315. DOI: 10.1038/nrd773.
- (6) Attwood, M. M.; Fabbro, D.; Sokolov, A. V.; Knapp, S.; Schiöth, H. B. Trends in kinase drug discovery: targets, indications and inhibitor design. *Nature Reviews Drug Discovery* **2021**. DOI: 10.1038/s41573-021-00252-y.
- (7) Roskoski, R. Properties of FDA-approved small molecule protein kinase inhibitors: A 2023 update. *Pharmacological Research* **2023**, 187, 106552. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2022.106552>.
- (8) Jr., R. R. *PROTEIN KINASE INHIBITORS*. <https://brimr.org/protein-kinase-inhibitors/> (accessed 2023).
- (9) Keith, C. T.; Schreiber, S. L. PIK-Related Kinases: DNA Repair, Recombination, and Cell Cycle Checkpoints. *Science* **1995**, 270 (5233), 50-50. DOI: doi:10.1126/science.270.5233.50.
- (10) Hartley, K. O.; Gell, D.; Smith, G. C.; Zhang, H.; Divecha, N.; Connelly, M. A.; Admon, A.; Lees-Miller, S. P.; Anderson, C. W.; Jackson, S. P. DNA-dependent protein kinase catalytic subunit: a relative of phosphatidylinositol 3-kinase and the ataxia telangiectasia gene product. *Cell* **1995**, 82 (5), 849-856. DOI: 10.1016/0092-8674(95)90482-4 From NLM.
- (11) Brunn, G. J.; Williams, J.; Sabers, C.; Wiederrecht, G.; Lawrence Jr, J. C.; Abraham, R. T. Direct inhibition of the signaling functions of the mammalian target of rapamycin by the phosphoinositide 3-kinase inhibitors, wortmannin and LY294002. *The EMBO Journal* **1996**, 15 (19), 5256-5267. DOI: <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1996.tb00911.x>.
- (12) Lempiäinen, H.; Halazonetis, T. D. Emerging common themes in regulation of PIKKs and PI3Ks. *The EMBO Journal* **2009**, 28 (20), 3067-3073. DOI: <https://doi.org/10.1038/emboj.2009.281>.
- (13) Stakyte, K.; Rotheneder, M.; Lammens, K.; Bartho, J. D.; Grädler, U.; Fuchß, T.; Pehl, U.; Alt, A.; van de Logt, E.; Hopfner, K. P. Molecular basis of human ATM kinase inhibition. *Nature Structural & Molecular Biology* **2021**, 28 (10), 789-798. DOI: 10.1038/s41594-021-00654-x.
- (14) Jansma, M.; Hopfner, K.-P. Structural basis of the (in)activity of the apical DNA damage response kinases ATM, ATR and DNA-PKcs. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* **2020**. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2020.10.009>.
- (15) Imseng, S.; Aylett, C. H. S.; Maier, T. Architecture and activation of phosphatidylinositol 3-kinase related kinases. *Current Opinion in Structural Biology* **2018**, 49, 177-189. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2018.03.010>.
- (16) Perry, J.; Kleckner, N. The ATRs, ATMs, and TORs Are Giant HEAT Repeat Proteins. *Cell* **2003**, 112 (2), 151-155. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00033-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00033-3).
- (17) Blackford, A. N.; Jackson, S. P. ATM, ATR, and DNA-PK: The Trinity at the Heart of the DNA Damage Response. *Molecular Cell* **2017**, 66 (6), 801-817. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.05.015>.

- (18) Saxton, R. A.; Sabatini, D. M. mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. *Cell* **2017**, *168* (6), 960-976. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.02.004>.
- (19) Murr, R.; Vaissière, T.; Sawan, C.; Shukla, V.; Herceg, Z. Orchestration of chromatin-based processes: mind the TRRAP. *Oncogene* **2007**, *26* (37), 5358-5372. DOI: 10.1038/sj.onc.1210605.
- (20) Yamashita, A.; Kashima, I.; Ohno, S. The role of SMG-1 in nonsense-mediated mRNA decay. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics* **2005**, *1754* (1), 305-315. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2005.10.002>.
- (21) Savitsky, K.; Bar-Shira, A.; Gilad, S.; Rotman, G.; Ziv, Y.; Vanagaite, L.; Tagle, D.; Smith, S.; Uziel, T.; Sfez, S.; et al. A single ataxia telangiectasia gene with a product similar to PI-3 kinase. *Science* **1995**, *268* (5218), 1749-1753. DOI: 10.1126/science.7792600.
- (22) Kanev, G. K.; de Graaf, C.; de Esch, I. J. P.; Leurs, R.; Würdinger, T.; Westerman, B. A.; Kooistra, A. J. The Landscape of Atypical and Eukaryotic Protein Kinases. *Trends in Pharmacological Sciences* **2019**, *40* (11), 818-832. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tips.2019.09.002>.
- (23) Sibanda, B. L.; Chirgadze, D. Y.; Blundell, T. L. Crystal structure of DNA-PKcs reveals a large open-ring cradle comprised of HEAT repeats. *Nature* **2010**, *463* (7277), 118-121. DOI: 10.1038/nature08648.
- (24) Baretić, D.; Pollard, H. K.; Fisher, D. I.; Johnson, C. M.; Santhanam, B.; Truman, C. M.; Kouba, T.; Fersht, A. R.; Phillips, C.; Williams, R. L. Structures of closed and open conformations of dimeric human ATM. *Science Advances* **2017**, *3* (5), e1700933. DOI: doi:10.1126/sciadv.1700933.
- (25) Yang, H.; Rudge, D. G.; Koos, J. D.; Vaidialingam, B.; Yang, H. J.; Pavletich, N. P. mTOR kinase structure, mechanism and regulation. *Nature* **2013**, *497* (7448), 217-223. DOI: 10.1038/nature12122.
- (26) Bosotti, R.; Isacchi, A.; Sonhammer, E. L. L. FAT: a novel domain in PIK-related kinases. *Trends in Biochemical Sciences* **2000**, *25* (5), 225-227. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(00\)01563-2](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(00)01563-2).
- (27) Yin, X.; Liu, M.; Tian, Y.; Wang, J.; Xu, Y. Cryo-EM structure of human DNA-PK holoenzyme. *Cell Research* **2017**, *27* (11), 1341-1350. DOI: 10.1038/cr.2017.110.
- (28) Warren, C.; Pavletich, N. P. Structure of the human ATM kinase and mechanism of Nbs1 binding. *eLife* **2022**, *11*, e74218. DOI: 10.7554/eLife.74218.
- (29) Rao, Q.; Liu, M.; Tian, Y.; Wu, Z.; Hao, Y.; Song, L.; Qin, Z.; Ding, C.; Wang, H.-W.; Wang, J.; et al. Cryo-EM structure of human ATR-ATRIP complex. *Cell Research* **2018**, *28* (2), 143-156. DOI: 10.1038/cr.2017.158.
- (30) Yang, H.; Jiang, X.; Li, B.; Yang, H. J.; Miller, M.; Yang, A.; Dhar, A.; Pavletich, N. P. Mechanisms of mTORC1 activation by RHEB and inhibition by PRAS40. *Nature* **2017**, *552* (7685), 368-373. DOI: 10.1038/nature25023.
- (31) Gat, Y.; Schuller, J. M.; Lingaraju, M.; Weyher, E.; Bonneau, F.; Strauss, M.; Murray, P. J.; Conti, E. InsP6 binding to PIKK kinases revealed by the cryo-EM structure of an SMG1-SMG8-SMG9 complex. *Nature Structural & Molecular Biology* **2019**, *26* (12), 1089-1093. DOI: 10.1038/s41594-019-0342-7.
- (32) Pettersen, E. F.; Goddard, T. D.; Huang, C. C.; Meng, E. C.; Couch, G. S.; Croll, T. I.; Morris, J. H.; Ferrin, T. E. UCSF ChimeraX: Structure visualization for researchers, educators, and developers. *Protein Science* **2021**, *30* (1), 70-82. DOI: <https://doi.org/10.1002/pro.3943>.
- (33) Jiang, X.; Sun, Y.; Chen, S.; Roy, K.; Price, B. D. The FATC Domains of PIKK Proteins Are Functionally Equivalent and Participate in the Tip60-dependent Activation of DNA-PKcs and ATM*. *Journal of Biological Chemistry* **2006**, *281* (23), 15741-15746. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M513172200>.
- (34) Sekulić, A.; Hudson, C. C.; Homme, J. L.; Yin, P.; Otterness, D. M.; Karnitz, L. M.; Abraham, R. T. A direct linkage between the phosphoinositide 3-kinase-AKT signaling pathway and the mammalian target of rapamycin in mitogen-stimulated and transformed cells. *Cancer Res* **2000**, *60* (13), 3504-3513. From NLM.

- (35) Mordes, D. A.; Glick, G. G.; Zhao, R.; Cortez, D. TopBP1 activates ATR through ATRIP and a PIKK regulatory domain. *Genes Dev* **2008**, *22* (11), 1478-1489. DOI: 10.1101/gad.1666208 From NLM.
- (36) Jansma, M.; Linke-Winnebeck, C.; Eustermann, S.; Lammens, K.; Kostrewa, D.; Stakyte, K.; Litz, C.; Kessler, B.; Hopfner, K.-P. Near-Complete Structure and Model of Tel1ATM from *Chaetomium thermophilum* Reveals a Robust Autoinhibited ATP State. *Structure* **2020**, *28* (1), 83-95.e85. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.str.2019.10.013>.
- (37) Sun, Y.; Xu, Y.; Roy, K.; Price, B. D. DNA Damage-Induced Acetylation of Lysine 3016 of ATM Activates ATM Kinase Activity. *Molecular and Cellular Biology* **2007**, *27* (24), 8502-8509. DOI: doi:10.1128/MCB.01382-07.
- (38) Sun, Y.; Jiang, X.; Chen, S.; Fernandes, N.; Price, B. D. A role for the Tip60 histone acetyltransferase in the acetylation and activation of ATM. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2005**, *102* (37), 13182-13187. DOI: doi:10.1073/pnas.0504211102.
- (39) Kim, S.-T.; Lim, D.-S.; Canman, C. E.; Kastan, M. B. Substrate Specificities and Identification of Putative Substrates of ATM Kinase Family Members *. *Journal of Biological Chemistry* **1999**, *274* (53), 37538-37543. DOI: 10.1074/jbc.274.53.37538 (accessed 2023/02/24).
- (40) O'Neill, T.; Dwyer, A. J.; Ziv, Y.; Chan, D. W.; Lees-Miller, S. P.; Abraham, R. H.; Lai, J. H.; Hill, D.; Shiloh, Y.; Cantley, L. C.; et al. Utilization of Oriented Peptide Libraries to Identify Substrate Motifs Selected by ATM *. *Journal of Biological Chemistry* **2000**, *275* (30), 22719-22727. DOI: 10.1074/jbc.M001002200 (accessed 2023/02/24).
- (41) Chen, G.; Lee, E. The product of the ATM gene is a 370-kDa nuclear phosphoprotein. *J Biol Chem* **1996**, *271* (52), 33693-33697. DOI: 10.1074/jbc.271.52.33693 From NLM.
- (42) Chan, D. W.; Son, S.-C.; Block, W.; Ye, R.; Khanna, K. K.; Wold, M. S.; Douglas, P.; Goodarzi, A. A.; Pelley, J.; Taya, Y.; et al. Purification and Characterization of ATM from Human Placenta: A MANGANESE-DEPENDENT, WORTMANNIN-SENSITIVE SERINE/THREONINE PROTEIN KINASE *. *Journal of Biological Chemistry* **2000**, *275* (11), 7803-7810. DOI: 10.1074/jbc.275.11.7803 (accessed 2023/02/18).
- (43) Canman, C. E.; Lim, D.-S.; Cimprich, K. A.; Taya, Y.; Tamai, K.; Sakaguchi, K.; Appella, E.; Kastan, M. B.; Siliciano, J. D. Activation of the ATM Kinase by Ionizing Radiation and Phosphorylation of p53. *Science* **1998**, *281* (5383), 1677-1679. DOI: 10.1126/science.281.5383.1677.
- (44) Ahn, J. Y.; Schwarz, J. K.; Piwnicka-Worms, H.; Canman, C. E. Threonine 68 phosphorylation by ataxia telangiectasia mutated is required for efficient activation of Chk2 in response to ionizing radiation. *Cancer Res* **2000**, *60* (21), 5934-5936. From NLM.
- (45) Bakkenist, C. J.; Kastan, M. B. DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation and dimer dissociation. *Nature* **2003**, *421* (6922), 499-506. DOI: 10.1038/nature01368.
- (46) Lee, J.-H.; Paull, T. T. ATM Activation by DNA Double-Strand Breaks Through the Mre11-Rad50-Nbs1 Complex. *Science* **2005**, *308* (5721), 551-554. DOI: doi:10.1126/science.1108297.
- (47) McFarlin, D. E.; Strober, W.; Waldmann, T. A. ATAXIA-TELANGIECTASIA. *Medicine* **1972**, *51* (4).
- (48) Swift, M.; Morrell, D.; Massey, R. B.; Chase, C. L. Incidence of Cancer in 161 Families Affected by Ataxia-Telangiectasia. *New England Journal of Medicine* **1991**, *325* (26), 1831-1836. DOI: 10.1056/nejm199112263252602.
- (49) Swift, M.; Reitnauer, P. J.; Morrell, D.; Chase, C. L. Breast and Other Cancers in Families with Ataxia-Telangiectasia. *New England Journal of Medicine* **1987**, *316* (21), 1289-1294. DOI: 10.1056/nejm198705213162101.
- (50) Helleday, T.; Petermann, E.; Lundin, C.; Hodgson, B.; Sharma, R. A. DNA repair pathways as targets for cancer therapy. *Nature Reviews Cancer* **2008**, *8* (3), 193-204. DOI: 10.1038/nrc2342.
- (51) Cremona, C. A.; Behrens, A. ATM signalling and cancer. *Oncogene* **2014**, *33* (26), 3351-3360. DOI: 10.1038/onc.2013.275.

- (52) Sarkaria, J. N.; Eshleman, J. S. ATM as a target for novel radiosensitizers. *Seminars in Radiation Oncology* **2001**, *11* (4), 316-327. DOI: <https://doi.org/10.1053/srao.2001.26030>.
- (53) Durant, S. T.; Zheng, L.; Wang, Y.; Chen, K.; Zhang, L.; Zhang, T.; Yang, Z.; Riches, L.; Trinidad, A. G.; Fok, J. H. L.; et al. The brain-penetrant clinical ATM inhibitor AZD1390 radiosensitizes and improves survival of preclinical brain tumor models. *Science advances* **2018**, *4* (6), eaat1719-eaat1719. DOI: 10.1126/sciadv.aat1719 PubMed.
- (54) Zimmermann, A.; Zenke, F. T.; Chiu, L.-Y.; Dahmen, H.; Pehl, U.; Fuchss, T.; Grombacher, T.; Blume, B.; Vassilev, L. T.; Blaukat, A. A New Class of Selective ATM Inhibitors as Combination Partners of DNA Double-Strand Break Inducing Cancer Therapies. *Molecular cancer therapeutics* **2022**, *21* (6), 859-870. DOI: 10.1158/1535-7163.mct-21-0934 PubMed.
- (55) Yates, L. A.; Williams, R. M.; Hailemariam, S.; Ayala, R.; Burgers, P.; Zhang, X. Cryo-EM Structure of Nucleotide-Bound Tel1ATM Unravels the Molecular Basis of Inhibition and Structural Rationale for Disease-Associated Mutations. *Structure* **2019**. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.str.2019.10.012>.
- (56) Xin, J.; Xu, Z.; Wang, X.; Tian, Y.; Zhang, Z.; Cai, G. Structural basis of allosteric regulation of Tel1/ATM kinase. *Cell Research* **2019**, *29* (8), 655-665. DOI: 10.1038/s41422-019-0176-1.
- (57) Xiao, J.; Liu, M.; Qi, Y.; Chaban, Y.; Gao, C.; Pan, B.; Tian, Y.; Yu, Z.; Li, J.; Zhang, P.; et al. Structural insights into the activation of ATM kinase. *Cell research* **2019**, *29* (8), 683-685. DOI: 10.1038/s41422-019-0205-0 PubMed.
- (58) Lau, W. C. Y.; Li, Y.; Liu, Z.; Gao, Y.; Zhang, Q.; Huen, M. S. Y. Structure of the human dimeric ATM kinase. *Cell Cycle* **2016**, *15* (8), 1117-1124. DOI: 10.1080/15384101.2016.1158362.
- (59) Guo, Z.; Kozlov, S.; Lavin, M. F.; Person, M. D.; Paull, T. T. ATM Activation by Oxidative Stress. *Science* **2010**, *330* (6003), 517-521. DOI: 10.1126/science.1192912.
- (60) Fernandes, N.; Sun, Y.; Chen, S.; Paul, P.; Shaw, R. J.; Cantley, L. C.; Price, B. D. DNA Damage-induced Association of ATM with Its Target Proteins Requires a Protein Interaction Domain in the N Terminus of ATM *. *Journal of Biological Chemistry* **2005**, *280* (15), 15158-15164. DOI: 10.1074/jbc.M412065200 (accessed 2023/01/29).
- (61) You, Z.; Chahwan, C.; Bailis, J.; Hunter, T.; Russell, P. ATM Activation and Its Recruitment to Damaged DNA Require Binding to the C Terminus of Nbs1. *Molecular and Cellular Biology* **2005**, *25* (13), 5363-5379. DOI: doi:10.1128/MCB.25.13.5363-5379.2005.
- (62) Sandoval, N.; Platzer, M.; Rosenthal, A.; Dörk, T.; Bendix, R.; Skawran, B.; Stuhmann, M.; Wegner, R.-D.; Sperling, K.; Banin, S.; et al. Characterization of ATM Gene Mutations in 66 Ataxia Telangiectasia Families. *Human Molecular Genetics* **1999**, *8* (1), 69-79. DOI: 10.1093/hmg/8.1.69 (accessed 1/29/2023).
- (63) Stoppa-Lyonnet, D.; Soulier, J.; Laugé, A.; Dastot, H.; Garand, R.; Sigaux, F.; Stern, M.-H. Inactivation of the ATM Gene in T-Cell Prolymphocytic Leukemias. *Blood* **1998**, *91* (10), 3920-3926. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood.V91.10.3920>.
- (64) van Linden, O. P. J.; Kooistra, A. J.; Leurs, R.; de Esch, I. J. P.; de Graaf, C. KLIFS: A Knowledge-Based Structural Database To Navigate Kinase–Ligand Interaction Space. *Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, *57* (2), 249-277. DOI: 10.1021/jm400378w.
- (65) Yamaguchi, H.; Matsushita, M.; Nairn, A. C.; Kuriyan, J. Crystal Structure of the Atypical Protein Kinase Domain of a TRP Channel with Phosphotransferase Activity. *Molecular Cell* **2001**, *7* (5), 1047-1057. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(01\)00256-8](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(01)00256-8).
- (66) Berndt, A.; Miller, S.; Williams, O.; Le, D. D.; Houseman, B. T.; Pacold, J. I.; Gorrec, F.; Hon, W.-C.; Ren, P.; Liu, Y.; et al. The p110δ structure: mechanisms for selectivity and potency of new PI(3)K inhibitors. *Nature Chemical Biology* **2010**, *6* (2), 117-124. DOI: 10.1038/nchembio.293.
- (67) Baretic, D.; Williams, R. L. The structural basis for mTOR function. *Seminars in Cell & Developmental Biology* **2014**, *36*, 91-101. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2014.09.024>.

- (68) Roskoski, R. Classification of small molecule protein kinase inhibitors based upon the structures of their drug-enzyme complexes. *Pharmacological Research* **2016**, *103*, 26-48. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.10.021>.
- (69) Endicott, J. A.; Noble, M. E. M.; Johnson, L. N. The Structural Basis for Control of Eukaryotic Protein Kinases. *Annual Review of Biochemistry* **2012**, *81* (1), 587-613. DOI: 10.1146/annurev-biochem-052410-090317.
- (70) Vadas, O.; Burke, J. E.; Zhang, X.; Berndt, A.; Williams, R. L. Structural Basis for Activation and Inhibition of Class I Phosphoinositide 3-Kinases. *Science Signaling* **2011**, *4* (195), re2-re2. DOI: doi:10.1126/scisignal.2002165.
- (71) Barlaam, B.; Cadogan, E.; Campbell, A.; Colclough, N.; Dishington, A.; Durant, S.; Goldberg, K.; Hassall, L. A.; Hughes, G. D.; MacFaul, P. A.; et al. Discovery of a Series of 3-Cinnoline Carboxamides as Orally Bioavailable, Highly Potent, and Selective ATM Inhibitors. *ACS Medicinal Chemistry Letters* **2018**, *9* (8), 809-814. DOI: 10.1021/acsmmedchemlett.8b00200.
- (72) *The PyMOL Molecular Graphics System*; <http://www.pymol.org/pymol> (accessed 2023).
- (73) Taylor, S. S.; Kornev, A. P. Protein kinases: evolution of dynamic regulatory proteins. *Trends in Biochemical Sciences* **2011**, *36* (2), 65-77. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2010.09.006>.
- (74) Tannous, E. A.; Yates, L. A.; Zhang, X.; Burgers, P. M. Mechanism of auto-inhibition and activation of Mec1ATR checkpoint kinase. *Nature Structural & Molecular Biology* **2021**, *28* (1), 50-61. DOI: 10.1038/s41594-020-00522-0.
- (75) Kannan, N.; Neuwald, A. F. Did Protein Kinase Regulatory Mechanisms Evolve Through Elaboration of a Simple Structural Component? *Journal of Molecular Biology* **2005**, *351* (5), 956-972. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2005.06.057>.
- (76) Skamnaki, V. T.; Owen, D. J.; Noble, M. E. M.; Lowe, E. D.; Lowe, G.; Oikonomakos, N. G.; Johnson, L. N. Catalytic Mechanism of Phosphorylase Kinase Probed by Mutational Studies. *Biochemistry* **1999**, *38* (44), 14718-14730. DOI: 10.1021/bi991454f.
- (77) Roskoski, R. A historical overview of protein kinases and their targeted small molecule inhibitors. *Pharmacological Research* **2015**, *100*, 1-23. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.07.010>.
- (78) Miller, S.; Tavshanjian, B.; Oleksy, A.; Perisic, O.; Houseman, B. T.; Shokat, K. M.; Williams, R. L. Shaping Development of Autophagy Inhibitors with the Structure of the Lipid Kinase Vps34. *Science* **2010**, *327* (5973), 1638-1642. DOI: doi:10.1126/science.1184429.
- (79) Kornev, A. P.; Taylor, S. S.; Ten Eyck, L. F. A helix scaffold for the assembly of active protein kinases. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2008**, *105* (38), 14377-14382. DOI: doi:10.1073/pnas.0807988105.
- (80) Kornev, A. P.; Haste, N. M.; Taylor, S. S.; Eyck, L. F. T. Surface Comparison of Active and Inactive Protein Kinases Identifies a Conserved Activation Mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2006**, *103* (47), 17783-17788. (accessed 2023/02/19/).JSTOR.
- (81) Traxler, P.; Furet, P. Strategies toward the Design of Novel and Selective Protein Tyrosine Kinase Inhibitors. *Pharmacology & Therapeutics* **1999**, *82* (2), 195-206. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0163-7258\(98\)00044-8](https://doi.org/10.1016/S0163-7258(98)00044-8).
- (82) Karlin, J.; Allen, J.; Ahmad, S. F.; Hughes, G.; Sheridan, V.; Odedra, R.; Farrington, P.; Cadogan, E. B.; Riches, L. C.; Garcia-Trinidad, A.; et al. Orally Bioavailable and Blood-Brain Barrier-Penetrating ATM Inhibitor (AZ32) Radiosensitizes Intracranial Gliomas in Mice. *Molecular Cancer Therapeutics* **2018**, *17* (8), 1637-1647. DOI: 10.1158/1535-7163.Mct-17-0975 (accessed 11/26/2022).
- (83) Matsuoka, S.; Ballif, B. A.; Smogorzewska, A.; McDonald, E. R.; Hurov, K. E.; Luo, J.; Bakalarski, C. E.; Zhao, Z.; Solimini, N.; Lerenthal, Y.; et al. ATM and ATR Substrate Analysis Reveals Extensive Protein Networks Responsive to DNA Damage. *Science* **2007**, *316* (5828), 1160-1166. DOI: 10.1126/science.1140321.

- (84) Uziel, T.; Lerenthal, Y.; Moyal, L.; Andegeko, Y.; Mittelman, L.; Shiloh, Y. Requirement of the MRN complex for ATM activation by DNA damage. *The EMBO Journal* **2003**, *22* (20), 5612-5621. DOI: <https://doi.org/10.1093/emboj/cdg541>.
- (85) Khosravi, R.; Maya, R.; Gottlieb, T.; Oren, M.; Shiloh, Y.; Shkedy, D. Rapid ATM-dependent phosphorylation of MDM2 precedes p53 accumulation in response to DNA damage. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1999**, *96* (26), 14973-14977. DOI: doi:10.1073/pnas.96.26.14973.
- (86) Batchelor, E.; Mock, C. S.; Bhan, I.; Loewer, A.; Lahav, G. Recurrent Initiation: A Mechanism for Triggering p53 Pulses in Response to DNA Damage. *Molecular Cell* **2008**, *30* (3), 277-289. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2008.03.016>.
- (87) Bonner, W. M.; Redon, C. E.; Dickey, J. S.; Nakamura, A. J.; Sedelnikova, O. A.; Solier, S.; Pommier, Y. γ H2AX and cancer. *Nature Reviews Cancer* **2008**, *8* (12), 957-967. DOI: 10.1038/nrc2523.
- (88) Shreeram, S.; Demidov, O. N.; Hee, W. K.; Yamaguchi, H.; Onishi, N.; Kek, C.; Timofeev, O. N.; Dudgeon, C.; Fornace, A. J.; Anderson, C. W.; et al. Wip1 Phosphatase Modulates ATM-Dependent Signaling Pathways. *Molecular Cell* **2006**, *23* (5), 757-764. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2006.07.010>.
- (89) Le Guezennec, X.; Bulavin, D. V. WIP1 phosphatase at the crossroads of cancer and aging. *Trends in Biochemical Sciences* **2010**, *35* (2), 109-114. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2009.09.005>.
- (90) Fujimoto, H.; Onishi, N.; Kato, N.; Takekawa, M.; Xu, X. Z.; Kosugi, A.; Kondo, T.; Imamura, M.; Oishi, I.; Yoda, A.; et al. Regulation of the antioncogenic Chk2 kinase by the oncogenic Wip1 phosphatase. *Cell Death & Differentiation* **2006**, *13* (7), 1170-1180. DOI: 10.1038/sj.cdd.4401801.
- (91) Lu, X.; Ma, O.; Nguyen, T.-A.; Jones, S. N.; Oren, M.; Donehower, L. A. The Wip1 Phosphatase Acts as a Gatekeeper in the p53-Mdm2 Autoregulatory Loop. *Cancer Cell* **2007**, *12* (4), 342-354. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2007.08.033>.
- (92) Lavin, M. F.; Yeo, A. J. Clinical potential of ATM inhibitors. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* **2020**, *821*, 111695. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2020.111695>.
- (93) Lee, J.-H.; Paull, T. T. Cellular functions of the protein kinase ATM and their relevance to human disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **2021**, *22* (12), 796-814. DOI: 10.1038/s41580-021-00394-2.
- (94) Wu, J.; Zhang, X.; Zhang, L.; Wu, C.-Y.; Rezaeian, Abdol H.; Chan, C.-H.; Li, J.-M.; Wang, J.; Gao, Y.; Han, F.; et al. Skp2 E3 Ligase Integrates ATM Activation and Homologous Recombination Repair by Ubiquitinating NBS1. *Molecular Cell* **2012**, *46* (3), 351-361. DOI: 10.1016/j.molcel.2012.02.018 (accessed 2023/02/16).
- (95) Kozlov, S. V.; Graham, M. E.; Jakob, B.; Tobias, F.; Kijas, A. W.; Tanuji, M.; Chen, P.; Robinson, P. J.; Taucher-Scholz, G.; Suzuki, K.; et al. Autophosphorylation and ATM Activation: ADDITIONAL SITES ADD TO THE COMPLEXITY*. *Journal of Biological Chemistry* **2011**, *286* (11), 9107-9119. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.204065>.
- (96) Kozlov, S. V.; Graham, M. E.; Peng, C.; Chen, P.; Robinson, P. J.; Lavin, M. F. Involvement of novel autophosphorylation sites in ATM activation. *The EMBO Journal* **2006**, *25* (15), 3504-3514. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601231>.
- (97) Sun, Y.; Jiang, X.; Chen, S.; Fernandes, N.; Price, B. D. A role for the Tip60 histone acetyltransferase in the acetylation and activation of ATM. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2005**, *102* (37), 13182-13187. DOI: 10.1073/pnas.0504211102 From NLM.
- (98) Sun, Y.; Xu, Y.; Roy, K.; Price, B. D. DNA damage-induced acetylation of lysine 3016 of ATM activates ATM kinase activity. *Mol Cell Biol* **2007**, *27* (24), 8502-8509. DOI: 10.1128/mcb.01382-07 From NLM.
- (99) Kang, H. T.; Park, J. T.; Choi, K.; Kim, Y.; Choi, H. J. C.; Jung, C. W.; Lee, Y.-S.; Park, S. C. Chemical screening identifies ATM as a target for alleviating senescence. *Nature Chemical Biology* **2017**, *13* (6), 616-623. DOI: 10.1038/nchembio.2342.
- (100) Hirao, A.; Cheung, A.; Duncan, G.; Girard, P.-M.; Elia, A. J.; Wakeham, A.; Okada, H.; Sarkissian, T.; Wong, J. A.; Sakai, T.; et al. Chk2 Is a Tumor Suppressor That

- Regulates Apoptosis in both an Ataxia Telangiectasia Mutated (ATM)-Dependent and an ATM-Independent Manner. *Molecular and Cellular Biology* **2002**, 22 (18), 6521-6532. DOI: doi:10.1128/MCB.22.18.6521-6532.2002.
- (101) Kanu, N.; Behrens, A. ATMIN defines an NBS1-independent pathway of ATM signalling. *The EMBO Journal* **2007**, 26 (12), 2933-2941. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601733>.
- (102) Bar, L. Sur un syndrome progressif comprenant des télangiectasies capillaires cutanées et conjonctivales symétriques, à disposition naevoïde et des troubles cérébelleux. *Stereotactic and Functional Neurosurgery* **1941**, 4 (1-2), 32-42. DOI: 10.1159/000106149.
- (103) Houldsworth, J.; Lavin, M. F. Effect of ionizing radiation on DNA synthesis in ataxia telangiectasia cells. *Nucleic Acids Res* **1980**, 8 (16), 3709-3720. DOI: 10.1093/nar/8.16.3709 From NLM.
- (104) Painter, R. B. Radioresistant DNA synthesis: an intrinsic feature of ataxia telangiectasia. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* **1981**, 84 (1), 183-190. DOI: [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(81\)90061-0](https://doi.org/10.1016/0027-5107(81)90061-0).
- (105) Shiloh, Y. ATM and related protein kinases: safeguarding genome integrity. *Nature Reviews Cancer* **2003**, 3 (3), 155-168. DOI: 10.1038/nrc1011.
- (106) Song, L.; Lin, C.; Wu, Z.; Gong, H.; Zeng, Y.; Wu, J.; Li, M.; Li, J. miR-18a Impairs DNA Damage Response through Downregulation of Ataxia Telangiectasia Mutated (ATM) Kinase. *PLOS ONE* **2011**, 6 (9), e25454. DOI: 10.1371/journal.pone.0025454.
- (107) Shreeram, S.; Hee, W. K.; Demidov, O. N.; Kek, C.; Yamaguchi, H.; Fornace, A. J., Jr.; Anderson, C. W.; Appella, E.; Bulavin, D. V. Regulation of ATM/p53-dependent suppression of myc-induced lymphomas by Wip1 phosphatase. *J Exp Med* **2006**, 203 (13), 2793-2799. DOI: 10.1084/jem.20061563 From NLM.
- (108) Wang, L.; Mosel, A. J.; Oakley, G. G.; Peng, A. Deficient DNA damage signaling leads to chemoresistance to cisplatin in oral cancer. *Mol Cancer Ther* **2012**, 11 (11), 2401-2409. DOI: 10.1158/1535-7163.Mct-12-0448 From NLM.
- (109) Bhatia, N.; Xiao, T. Z.; Rosenthal, K. A.; Siddiqui, I. A.; Thiyagarajan, S.; Smart, B.; Meng, Q.; Zuleger, C. L.; Mukhtar, H.; Kenney, S. C.; et al. MAGE-C2 Promotes Growth and Tumorigenicity of Melanoma Cells, Phosphorylation of KAP1, and DNA Damage Repair. *Journal of Investigative Dermatology* **2013**, 133 (3), 759-767. DOI: <https://doi.org/10.1038/jid.2012.355>.
- (110) Ripka, S.; Neesse, A.; Riedel, J.; Bug, E.; Aigner, A.; Poulsom, R.; Fulda, S.; Neoptolemos, J.; Greenhalf, W.; Barth, P.; et al. CUX1: target of Akt signalling and mediator of resistance to apoptosis in pancreatic cancer. *Gut* **2010**, 59 (8), 1101-1110. DOI: 10.1136/gut.2009.189720.
- (111) Mahajan, K.; Coppola, D.; Rawal, B.; Chen, Y. A.; Lawrence, H. R.; Engelman, R. W.; Lawrence, N. J.; Mahajan, N. P. Ack1-mediated androgen receptor phosphorylation modulates radiation resistance in castration-resistant prostate cancer. *J Biol Chem* **2012**, 287 (26), 22112-22122. DOI: 10.1074/jbc.M112.357384 From NLM.
- (112) Vadnais, C.; Davoudi, S.; Afshin, M.; Harada, R.; Dudley, R.; Clermont, P. L.; Drobetsky, E.; Nepveu, A. CUX1 transcription factor is required for optimal ATM/ATR-mediated responses to DNA damage. *Nucleic Acids Res* **2012**, 40 (10), 4483-4495. DOI: 10.1093/nar/gks041 From NLM.
- (113) Gorgoulis, V. G.; Vassiliou, L.-V. F.; Karakaidos, P.; Zacharatos, P.; Kotsinas, A.; Liloglou, T.; Venere, M.; DiTullio, R. A.; Kastriakis, N. G.; Levy, B.; et al. Activation of the DNA damage checkpoint and genomic instability in human precancerous lesions. *Nature* **2005**, 434 (7035), 907-913. DOI: 10.1038/nature03485.
- (114) Bartkova, J.; Rezaei, N.; Lontos, M.; Karakaidos, P.; Kletsas, D.; Issaeva, N.; Vassiliou, L.-V. F.; Kolettas, E.; Niforou, K.; Zoumpourlis, V. C.; et al. Oncogene-induced senescence is part of the tumorigenesis barrier imposed by DNA damage checkpoints. *Nature* **2006**, 444 (7119), 633-637. DOI: 10.1038/nature05268.

- (115) Halazonetis, T. D.; Gorgoulis, V. G.; Bartek, J. An Oncogene-Induced DNA Damage Model for Cancer Development. *Science* **2008**, *319* (5868), 1352-1355. DOI: 10.1126/science.1140735.
- (116) Ai, L.; Skehan, R. R.; Saydi, J.; Lin, T.; Brown, K. D. Ataxia-Telangiectasia, Mutated (ATM)/Nuclear Factor κ light chain enhancer of activated B cells (NF κ B) signaling controls basal and DNA damage-induced transglutaminase 2 expression. *J Biol Chem* **2012**, *287* (22), 18330-18341. DOI: 10.1074/jbc.M112.339317 From NLM.
- (117) Palmieri, D.; Valentino, T.; D'Angelo, D.; De Martino, I.; Postiglione, I.; Pacelli, R.; Croce, C. M.; Fedele, M.; Fusco, A. HMGA proteins promote ATM expression and enhance cancer cell resistance to genotoxic agents. *Oncogene* **2011**, *30* (27), 3024-3035. DOI: 10.1038/onc.2011.21 From NLM.
- (118) Yang, Y.; Xia, F.; Hermance, N.; Mabb, A.; Simonson, S.; Morrissey, S.; Gandhi, P.; Munson, M.; Miyamoto, S.; Kelliher, M. A. A cytosolic ATM/NEMO/RIP1 complex recruits TAK1 to mediate the NF- κ B and p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK)/MAPK-activated protein 2 responses to DNA damage. *Mol Cell Biol* **2011**, *31* (14), 2774-2786. DOI: 10.1128/mcb.01139-10 From NLM.
- (119) Yin, H.; Glass, J. The phenotypic radiation resistance of CD44+/CD24(-or low) breast cancer cells is mediated through the enhanced activation of ATM signaling. *PLoS One* **2011**, *6* (9), e24080. DOI: 10.1371/journal.pone.0024080 From NLM.
- (120) Li, Y.; Yang, D.-Q. The ATM Inhibitor KU-55933 Suppresses Cell Proliferation and Induces Apoptosis by Blocking Akt In Cancer Cells with Overactivated Akt. *Molecular Cancer Therapeutics* **2010**, *9* (1), 113-125. DOI: 10.1158/1535-7163.Mct-08-1189 (accessed 2/24/2023).
- (121) Reinhardt, H. C.; Aslanian, A. S.; Lees, J. A.; Yaffe, M. B. p53-Deficient Cells Rely on ATM- and ATR-Mediated Checkpoint Signaling through the p38MAPK/MK2 Pathway for Survival after DNA Damage. *Cancer Cell* **2007**, *11* (2), 175-189. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.11.024>.
- (122) Jiang, H.; Reinhardt, H. C.; Bartkova, J.; Tommiska, J.; Blomqvist, C.; Nevanlinna, H.; Bartek, J.; Yaffe, M. B.; Hemann, M. T. The combined status of ATM and p53 link tumor development with therapeutic response. *Genes Dev* **2009**, *23* (16), 1895-1909. DOI: 10.1101/gad.1815309 From NLM.
- (123) Hickson, I.; Zhao, Y.; Richardson, C. J.; Green, S. J.; Martin, N. M. B.; Orr, A. I.; Reaper, P. M.; Jackson, S. P.; Curtin, N. J.; Smith, G. C. M. Identification and Characterization of a Novel and Specific Inhibitor of the Ataxia-Telangiectasia Mutated Kinase ATM. *Cancer Research* **2004**, *64* (24), 9152-9159. DOI: 10.1158/0008-5472.Can-04-2727.
- (124) Rainey, M. D.; Charlton, M. E.; Stanton, R. V.; Kastan, M. B. Transient Inhibition of ATM Kinase Is Sufficient to Enhance Cellular Sensitivity to Ionizing Radiation. *Cancer Research* **2008**, *68* (18), 7466-7474. DOI: 10.1158/0008-5472.Can-08-0763.
- (125) Golding, S. E.; Rosenberg, E.; Valerie, N.; Hussaini, I.; Frigerio, M.; Cockcroft, X. F.; Chong, W. Y.; Hummersone, M.; Rigoreau, L.; Menear, K. A.; et al. Improved ATM kinase inhibitor KU-60019 radiosensitizes glioma cells, compromises insulin, AKT and ERK prosurvival signaling, and inhibits migration and invasion. *Molecular Cancer Therapeutics* **2009**, *8* (10), 2894-2902. DOI: 10.1158/1535-7163.Mct-09-0519.
- (126) Sarkaria, J. N.; Busby, E. C.; Tibbetts, R. S.; Roos, P.; Taya, Y.; Karnitz, L. M.; Abraham, R. T. Inhibition of ATM and ATR Kinase Activities by the Radiosensitizing Agent, Caffeine1. *Cancer Research* **1999**, *59* (17), 4375-4382. (accessed 9/4/2022).
- (127) Batey, M. A.; Zhao, Y.; Kyle, S.; Richardson, C.; Slade, A.; Martin, N. M. B.; Lau, A.; Newell, D. R.; Curtin, N. J. Preclinical Evaluation of a Novel ATM Inhibitor, KU59403, In Vitro and In Vivo in p53 Functional and Dysfunctional Models of Human Cancer. *Molecular Cancer Therapeutics* **2013**, *12* (6), 959-967. DOI: 10.1158/1535-7163.Mct-12-0707.
- (128) Biddlestone-Thorpe, L.; Sajjad, M.; Rosenberg, E.; Beckta, J. M.; Valerie, N. C. K.; Tokarz, M.; Adams, B. R.; Wagner, A. F.; Khalil, A.; Gilfor, D.; et al. ATM Kinase Inhibition Preferentially Sensitizes p53-Mutant Glioma to Ionizing Radiation. *Clinical Cancer Research* **2013**, *19* (12), 3189-3200. DOI: 10.1158/1078-0432.Ccr-12-3408.

- (129) Pike, K. G.; Barlaam, B.; Cadogan, E.; Campbell, A.; Chen, Y.; Colclough, N.; Davies, N. L.; de-Almeida, C.; Degorce, S. L.; Didelot, M.; et al. The Identification of Potent, Selective, and Orally Available Inhibitors of Ataxia Telangiectasia Mutated (ATM) Kinase: The Discovery of AZD0156 (8-{6-[3-(Dimethylamino)propoxy]pyridin-3-yl}-3-methyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-1,3-dihydro-2H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one). *Journal of Medicinal Chemistry* **2018**, *61* (9), 3823-3841. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.7b01896.
- (130) Blasina, A.; Price, B. D.; Turenne, G. A.; McGowan, C. H. Caffeine inhibits the checkpoint kinase ATM. *Current Biology* **1999**, *9* (19), 1135-1138. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(99\)80486-2](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(99)80486-2).
- (131) Sarkaria, J. N.; Tibbetts, R. S.; Busby, E. C.; Kennedy, A. P.; Hill, D. E.; Abraham, R. T. Inhibition of phosphoinositide 3-kinase related kinases by the radiosensitizing agent wortmannin. *Cancer Res* **1998**, *58* (19), 4375-4382. From NLM.
- (132) Powis, G.; Bonjouklian, R.; Berggren, M. M.; Gallegos, A.; Abraham, R.; Ashendel, C.; Zalkow, L.; Matter, W. F.; Dodge, J.; Grindey, G.; et al. Wortmannin, a Potent and Selective Inhibitor of Phosphatidylinositol-3-kinase1. *Cancer Research* **1994**, *54* (9), 2419-2423. (accessed 2/14/2023).
- (133) Maira, S.-M.; Stauffer, F. d. r.; Brueggen, J.; Furet, P.; Schnell, C.; Fritsch, C.; Brachmann, S.; Chène, P.; De Pover, A.; Schoemaker, K.; et al. Identification and characterization of NVP-BEZ235, a new orally available dual phosphatidylinositol 3-kinase/mammalian target of rapamycin inhibitor with potent in vivo antitumor activity. *Molecular Cancer Therapeutics* **2008**, *7* (7), 1851-1863. DOI: 10.1158/1535-7163.Mct-08-0017 (accessed 2/14/2023).
- (134) Toledo, L. I.; Murga, M.; Zur, R.; Soria, R.; Rodriguez, A.; Martinez, S.; Oyarzabal, J.; Pastor, J.; Bischoff, J. R.; Fernandez-Capetillo, O. A cell-based screen identifies ATR inhibitors with synthetic lethal properties for cancer-associated mutations. *Nature Structural & Molecular Biology* **2011**, *18* (6), 721-727. DOI: 10.1038/nsmb.2076.
- (135) Myers, S. H.; Ortega, J. A.; Cavalli, A. Synthetic Lethality through the Lens of Medicinal Chemistry. *Journal of Medicinal Chemistry* **2020**, *63* (23), 14151-14183. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.0c00766.
- (136) Min, J.; Guo, K.; Suryadevara, P. K.; Zhu, F.; Holbrook, G.; Chen, Y.; Feau, C.; Young, B. M.; Lemoff, A.; Connelly, M. C.; et al. Optimization of a Novel Series of Ataxia-Telangiectasia Mutated Kinase Inhibitors as Potential Radiosensitizing Agents. *Journal of Medicinal Chemistry* **2016**, *59* (2), 559-577. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b01092.
- (137) Emmitte, K. A.; Andrews, C. W.; Badiang, J. G.; Davis-Ward, R. G.; Dickson, H. D.; Drewry, D. H.; Emerson, H. K.; Epperly, A. H.; Hassler, D. F.; Knick, V. B.; et al. Discovery of thiophene inhibitors of polo-like kinase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2009**, *19* (3), 1018-1021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2008.11.041>.
- (138) Guo, K.; Shelat, A. A.; Guy, R. K.; Kastan, M. B. Development of a cell-based, high-throughput screening assay for ATM kinase inhibitors. *J Biomol Screen* **2014**, *19* (4), 538-546. DOI: 10.1177/1087057113520325.
- (139) Walker, E. H.; Pacold, M. E.; Perisic, O.; Stephens, L.; Hawkins, P. T.; Wymann, M. P.; Williams, R. L. Structural Determinants of Phosphoinositide 3-Kinase Inhibition by Wortmannin, LY294002, Quercetin, Myricetin, and Staurosporine. *Molecular Cell* **2000**, *6* (4), 909-919. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(05\)00089-4](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(05)00089-4).
- (140) Durant, S. T.; Karlin, J.; Pike, K.; Colclough, N.; Mukhopadhyay, N.; Ahmad, S. F.; Bekta, J. M.; Tokarz, M.; Bardelle, C.; Hughes, G.; et al. Abstract 3041: Blood-brain barrier penetrating ATM inhibitor (AZ32) radiosensitises intracranial gliomas in mice. *Cancer Research* **2016**, *76* (14 Supplement), 3041-3041. DOI: 10.1158/1538-7445.Am2016-3041 (accessed 4/13/2023).
- (141) Pike, K. G. 8.07 - Discovery of AZD0156: The First Potent and Selective Inhibitor of ATM Kinase for Clinical Evaluation. In *Comprehensive Medicinal Chemistry III*, Chackalamannil, S., Rotella, D., Ward, S. E. Eds.; Elsevier, 2017; pp 161-177.
- (142) Degorce, S. L.; Barlaam, B.; Cadogan, E.; Dishington, A.; Ducray, R.; Glossop, S. C.; Hassall, L. A.; Lach, F.; Lau, A.; McGuire, T. M.; et al. Discovery of Novel 3-Quinoline Carboxamides as Potent, Selective, and Orally Bioavailable Inhibitors of Ataxia

- Telangiectasia Mutated (ATM) Kinase. *Journal of Medicinal Chemistry* **2016**, 59 (13), 6281-6292. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.6b00519.
- (143) Evaluation of a Promising New Combination of Protein Kinase Inhibitors on Organotypic Cultures of Human Renal Tumors. <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT03571438>.
- (144) Study to Assess the Safety and Preliminary Efficacy of AZD0156 at Increasing Doses Alone or in Combination With Other Anti-cancer Treatment in Patients With Advanced Cancer. <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT02588105>.
- (145) A Study to Assess the Safety and Tolerability of AZD1390 Given With Radiation Therapy in Patients With Brain Cancer. <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT03423628>.
- (146) AZD1390 in Recurrent Grade IV Glioma Patients. <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT05182905>.
- (147) First-in-human Study of M4076 in Advanced Solid Tumors (DDRiver Solid Tumors 410). <https://ClinicalTrials.gov/show/NCT04882917>.
- (148) Dimitrov, T.; Anli, C.; Moschopoulou, A. A.; Kronenberger, T.; Kudolo, M.; Geibel, C.; Schwalm, M. P.; Knapp, S.; Zender, L.; Forster, M.; et al. Development of novel urea-based ATM kinase inhibitors with subnanomolar cellular potency and high kinome selectivity. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2022**, 235, 114234. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114234>.
- (149) Laufer, S.; Forster, M.; Dimitrov, T.; Zender, L.; Moschopoulou, A. Preparation of imidazo[4,5-c]quinoline compounds and their use as ATM kinase inhibitors. WO2022096361, 2022.
- (150) Ishiyama, T.; Murata, M.; Miyaura, N. Palladium(0)-Catalyzed Cross-Coupling Reaction of Alkoxydiboron with Haloarenes: A Direct Procedure for Arylboronic Esters. *The Journal of Organic Chemistry* **1995**, 60 (23), 7508-7510. DOI: 10.1021/jo00128a024.
- (151) Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Hagihara, N. A convenient synthesis of acetylenes: catalytic substitutions of acetylenic hydrogen with bromoalkenes, iodoarenes and bromopyridines. *Tetrahedron Letters* **1975**, 16 (50), 4467-4470. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)91094-3](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)91094-3).
- (152) Furet, P.; Kalthoff, F. S.; Mah, R.; Ragot, C.; Stauffer, F. 1H-Imidazo[4,5-c]quinolinone compounds as protein kinase inhibitors and their preparation and use in the treatment of proliferative diseases. WO2010139731, 2010.
- (153) Gerster, J. F.; Lindstrom, K. J.; Miller, R. L.; Tomai, M. A.; Birmachu, W.; Bomersine, S. N.; Gibson, S. J.; Imbertson, L. M.; Jacobson, J. R.; Knafla, R. T.; et al. Synthesis and Structure-Activity-Relationships of 1H-Imidazo[4,5-c]quinolines That Induce Interferon Production. *Journal of Medicinal Chemistry* **2005**, 48 (10), 3481-3491. DOI: 10.1021/jm049211v.
- (154) Pike, K. G.; Barlaam, B. C.; Hunt, T. A.; Eatherton, A. J. Preparation of 8-[6-[3-(amino)propoxy]-3-pyridyl]-1-isopropyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-one derivatives as selective modulators of ataxia telangiectasia mutated (ATM) kinase for the treatment of cancer. WO2017046216, 2017.
- (155) Kitteringham, J.; Shipton, M. R.; Voyle, M. A Simple Method for the Synthesis of Unsymmetrical Ureas. *Synthetic Communications* **2000**, 30 (11), 1937-1943. DOI: 10.1080/00397910008087243.
- (156) Bondi, A. van der Waals Volumes and Radii. *The Journal of Physical Chemistry* **1964**, 68 (3), 441-451. DOI: 10.1021/j100785a001.
- (157) Ghosh, A. K.; Brindisi, M. Urea Derivatives in Modern Drug Discovery and Medicinal Chemistry. *Journal of Medicinal Chemistry* **2019**. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.9b01541.
- (158) Scully, S. S.; Tang, A. J.; Lundh, M.; Mosher, C. M.; Perkins, K. M.; Wagner, B. K. Small-Molecule Inhibitors of Cytokine-Mediated STAT1 Signal Transduction in β -Cells with Improved Aqueous Solubility. *Journal of Medicinal Chemistry* **2013**, 56 (10), 4125-4129. DOI: 10.1021/jm400397x.
- (159) Forster, M. Scaffold-Hopping-Strategie zur Entwicklung neuer kovalenter Januskinase 3 Inhibitoren mit hoher Isoform Selektivität. Dissertation, Eberhard Karls Universität Tübingen, 2018.

- (160) Shackelford, S. A.; Anderson, M. B.; Christie, L. C.; Goetzen, T.; Guzman, M. C.; Hananel, M. A.; Kornreich, W. D.; Li, H.; Pathak, V. P.; Rabinovich, A. K.; et al. Electrophilic Tetraalkylammonium Nitrate Nitration. II. Improved Anhydrous Aromatic and Heteroaromatic Mononitration with Tetramethylammonium Nitrate and Triflic Anhydride, Including Selected Microwave Examples. *The Journal of Organic Chemistry* **2003**, *68* (2), 267-275. DOI: 10.1021/jo026202q.
- (161) Zhu, K.; Hao, J.-H.; Zhang, C.-P.; Zhang, J.; Feng, Y.; Qin, H.-L. Diversified facile synthesis of benzimidazoles, quinazolin-4(3H)-ones and 1,4-benzodiazepine-2,5-diones via palladium-catalyzed transfer hydrogenation/condensation cascade of nitro arenes under microwave irradiation. *RSC Advances* **2015**, *5* (15), 11132-11135, 10.1039/C4RA15765F. DOI: 10.1039/C4RA15765F.
- (162) Zhang, Z.; Yang, Z.; Wong, H.; Zhu, J.; Meanwell, N. A.; Kadow, J. F.; Wang, T. An Effective Procedure for the Acylation of Azaindoles at C-3. *The Journal of Organic Chemistry* **2002**, *67* (17), 6226-6227. DOI: 10.1021/jo020135i.
- (163) Dunn, R.; Xie, W.; Tehim, A. Preparation of 3-substituted pyrrolo[3,2-b]pyridines having 5-HT₆ receptor affinity. WO2009023844, 2009.
- (164) Forster, M. Scaffold-Hopping-Strategie zur Entwicklung neuer kovalenter Januskinase 3 Inhibitoren mit hoher Isoform Selektivität. Dissertation, 2018.
- (165) Seidel, L. Synthese neuer ATM-Kinase-Inhibitoren mit Benzimidazol-Grundstruktur. In (*unveröffentlichte Masterarbeit, Pharmazie*), Eberhard Karls Universität Tübingen, Tübingen, 2020.
- (166) Yang, Q.; Sheng, M.; Huang, Y. Potential Safety Hazards Associated with Using N,N-Dimethylformamide in Chemical Reactions. *Organic Process Research & Development* **2020**, *24* (9), 1586-1601. DOI: 10.1021/acs.oprd.0c00330.
- (167) Bender, M. L.; Homer, R. B. The Mechanism of the Alkaline Hydrolysis of p-Nitrophenyl N-Methylcarbamate¹. *The Journal of Organic Chemistry* **1965**, *30* (11), 3975-3978. DOI: 10.1021/jo01022a528.
- (168) Knölker, H.-J.; Braxmeier, T.; Schlechtingen, G. A Novel Method for the Synthesis of Isocyanates Under Mild Conditions. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1995**, *34* (22), 2497-2500. DOI: <https://doi.org/10.1002/anie.199524971>.
- (169) Yaghi, O. M.; Suzuki, M.; Deng, H.; Wang, L. Preparation of transition metal organic frameworks comprising a plurality of sbus with different metal ions and/or a plurality of organic linking ligands with different functional groups. WO2015195179, 2015.
- (170) Veber, D. F.; Johnson, S. R.; Cheng, H.-Y.; Smith, B. R.; Ward, K. W.; Kopple, K. D. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *Journal of Medicinal Chemistry* **2002**, *45* (12), 2615-2623. DOI: 10.1021/jm020017n.
- (171) Rueckle, T.; Quattropiani, A.; Pomel, V.; Dorbais, J.; Covini, D.; Bischoff, A. Preparation of pyridine methylene thioxothiazolidinones as phosphoinositide inhibitors. WO2006024666, 2006.
- (172) Meanwell, N. A. Synopsis of Some Recent Tactical Application of Bioisosteres in Drug Design. *Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *54* (8), 2529-2591. DOI: 10.1021/jm1013693.
- (173) Smart, B. E. Fluorine substituent effects (on bioactivity). *Journal of Fluorine Chemistry* **2001**, *109* (1), 3-11. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0022-1139\(01\)00375-X](https://doi.org/10.1016/S0022-1139(01)00375-X).
- (174) Landry, M. L.; Crawford, J. J. LogD Contributions of Substituents Commonly Used in Medicinal Chemistry. *ACS Medicinal Chemistry Letters* **2020**, *11* (1), 72-76. DOI: 10.1021/acsmchemlett.9b00489.
- (175) Dalvit, C.; Vulpetti, A. Intermolecular and Intramolecular Hydrogen Bonds Involving Fluorine Atoms: Implications for Recognition, Selectivity, and Chemical Properties. *ChemMedChem* **2012**, *7* (2), 262-272. DOI: <https://doi.org/10.1002/cmdc.201100483>.
- (176) Menger, F. M.; Glass, L. E. Dominance of an ionic mechanism over a cyclic concerted process in a hydrocarbon solvent. *The Journal of Organic Chemistry* **1974**, *39* (16), 2469-2470. DOI: 10.1021/jo00930a052.
- (177) Morgenthaler, M.; Schweizer, E.; Hoffmann-Röder, A.; Benini, F.; Martin, R. E.; Jaeschke, G.; Wagner, B.; Fischer, H.; Bendels, S.; Zimmerli, D.; et al. Predicting and

- Tuning Physicochemical Properties in Lead Optimization: Amine Basicities. *ChemMedChem* **2007**, 2 (8), 1100-1115. DOI: <https://doi.org/10.1002/cmdc.200700059>.
- (178) Reich, H.; Bordwell, F. Equilibrium pKa Table (DMSO Solvent and Reference). 2022.
- (179) Bartlett, M. J.; Codelli, J. A.; Corkey, B. K.; Cosman, J. L.; Elbel, K.; Loyer-Drew, J. A.; Sperandio, D.; Van Veldhuizen, J.; Yang, H.; Yeung, S. C. Benzimidazole- and imidazopyridinecarboximidamide compounds as IDO1 inhibitors and their preparation. US20160333009, 2016.
- (180) Fuchss, T.; Schiemann, K. Preparation of imidazoquinolines and use thereof as ATM kinase inhibitors. WO2016155884, 2016.
- (181) Fuchss, T.; Becker, A.; Kubas, H.; Graedler, U. Preparation of imidazolonylquinoline compounds and therapeutic uses thereof. WO2020193660, 2020.
- (182) Hartz, R. A.; Ahuja, V. T.; Bronson, J. J.; Dzierba, C. D.; Macor, J. E.; Nara, S. J.; Rajamani, R. Preparation of aryl amide compounds as adaptor associated kinase 1 (AAK1 kinase) inhibitors. WO2015006100, 2015.
- (183) GESTIS-Stoffdatenbank. *Triethylamin*. 2023. <https://gestis.dguv.de/data?name=018390> (accessed 20.01.2023).
- (184) GESTIS-Stoffdatenbank. *Ethyl-diisopropylamin*. GESTIS-Stoffdatenbank des IFA, 2023. <https://gestis.dguv.de/data?name=494809> (accessed 20.01.2023).
- (185) Hoover, J. M.; Stahl, S. S. Highly Practical Copper(I)/TEMPO Catalyst System for Chemoselective Aerobic Oxidation of Primary Alcohols. *Journal of the American Chemical Society* **2011**, 133 (42), 16901-16910. DOI: 10.1021/ja206230h.
- (186) Tsubaki, K.; Tanima, D.; Sasamori, T.; Tokitoh, N.; Kawabata, T. Colorimetric recognition of the length of α,ω -diamines in water. *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48 (12), 2135-2138. DOI: 10.1016/j.tetlet.2007.01.099.
- (187) Pirali, T.; Serafini, M.; Cargnin, S.; Genazzani, A. A. Applications of Deuterium in Medicinal Chemistry. *Journal of Medicinal Chemistry* **2019**, 62 (11), 5276-5297. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b01808.
- (188) Ding, R.; He, Y.; Wang, X.; Xu, J.; Chen, Y.; Feng, M.; Qi, C. Treatment of alcohols with tosyl chloride does not always lead to the formation of tosylates. *Molecules* **2011**, 16 (7), 5665-5673. DOI: 10.3390/molecules16075665 From NLM.
- (189) Zhu, Y.; Zhou, J.; Jiao, B. Deuterated Clopidogrel Analogues as a New Generation of Antiplatelet Agents. *ACS Medicinal Chemistry Letters* **2013**, 4 (3), 349-352. DOI: 10.1021/ml300460t.
- (190) Lu, H.; Geng, Z.; Li, J.; Zou, D.; Wu, Y.; Wu, Y. Metal-Free Reduction of Aromatic Nitro Compounds to Aromatic Amines with B2pin2 in Isopropanol. *Organic Letters* **2016**, 18 (11), 2774-2776. DOI: 10.1021/acs.orglett.6b01274.
- (191) Kim, E. H.; Yoo, S. E.; Kang, N. S.; Ku, T. S.; Park, M. Y.; Kim, Y. H.; Bae, H. J.; Kim, J. U.; In, T. G.; Ju, C. G. Preparation of novel indene derivatives for treating retinal diseases. KR1551313, 2015.
- (192) Corporation, R. B. *RBC ATM Kinase Assay*. 2021. https://www.reactionbiology.com/datasheet/atm_kin_malvern (accessed 2022 24.01.2023).
- (193) Eurofins. *ATM Human PIKK Kinase Enzymatic ELISA / EIA Assay [10 μ M ATP], KinaseProfiler*. 2023. <https://www.eurofinsdiscovery.com/catalogmanagement/viewItem/ATM-Human-PIKK-Kinase-Enzymatic-ELISA-EIA-Assay-10-uM-ATP-KinaseProfiler/14-933KP10> (accessed 09.03.2023).
- (194) Fedorov, O.; Niesen, F. H.; Knapp, S. Kinase inhibitor selectivity profiling using differential scanning fluorimetry. *Methods Mol Biol* **2012**, 795, 109-118. DOI: 10.1007/978-1-61779-337-0_7 From NLM.
- (195) Zimmermann, A.; Zenke, F. T.; Chiu, L.-Y.; Dahmen, H.; Pehl, U.; Fuchss, T.; Grombacher, T.; Blume, B.; Vassilev, L. T.; Blaukat, A. A new class of selective ATM inhibitors as combination partners of DNA double-strand break inducing cancer therapies. *Molecular cancer therapeutics* **2022**, molcanther.0934.2021. DOI: 10.1158/1535-7163.mct-21-0934 PubMed.

- (196) Emmitte, K. A.; Adjebang, G. M.; Andrews, C. W.; Alberti, J. G. B.; Bambal, R.; Chamberlain, S. D.; Davis-Ward, R. G.; Dickson, H. D.; Hassler, D. F.; Hornberger, K. R.; et al. Design of potent thiophene inhibitors of polo-like kinase 1 with improved solubility and reduced protein binding. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2009**, *19* (6), 1694-1697. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.01.094>.
- (197) Matsumura, M.; Tanatani, A.; Azumaya, I.; Masu, H.; Hashizume, D.; Kagechika, H.; Muranaka, A.; Uchiyama, M. Unusual conformational preference of an aromatic secondary urea: solvent-dependent open-closed conformational switching of N,N'-bis(porphyrinyl)urea. *Chemical Communications* **2013**, *49* (23), 2290-2292, 10.1039/C2CC37583D. DOI: 10.1039/C2CC37583D.
- (198) *MacroModel*, Schrödinger, LLC; New York, NY, 2021. (accessed release 2022-4).
- (199) Eid, S.; Turk, S.; Volkamer, A.; Rippmann, F.; Fulle, S. KinMap: a web-based tool for interactive navigation through human kinome data. *BMC Bioinformatics* **2017**, *18* (1), 16. DOI: 10.1186/s12859-016-1433-7.
- (200) Kerns, E. H.; Di, L. Chapter 37 - Pharmacokinetic Methods. In *Drug-like Properties: Concepts, Structure Design and Methods*, Kerns, E. H., Di, L. Eds.; Academic Press, 2008; pp 409-415.
- (201) Rose, J.; Castagnoli Jr., N. The metabolism of tertiary amines. *Medicinal Research Reviews* **1983**, *3* (1), 73-88. DOI: <https://doi.org/10.1002/med.2610030105>.
- (202) Schrödinger, L. Schrödinger Release 2022-4: Jaguar. **New York, NY, 2021**.
- (203) Laufkötter, O.; Laufer, S.; Bajorath, J. Identifying representative kinases for inhibitor evaluation via systematic analysis of compound-based target relationships. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2020**, *204*, 112641. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112641>.
- (204) Bembenek, S. D.; Hirst, G.; Mirzadegan, T. Determination of a Focused Mini Kinase Panel for Early Identification of Selective Kinase Inhibitors. *Journal of Chemical Information and Modeling* **2018**, *58* (7), 1434-1440. DOI: 10.1021/acs.jcim.8b00222.
- (205) Johnson, T. W.; Gallego, R. A.; Edwards, M. P. Lipophilic Efficiency as an Important Metric in Drug Design. *Journal of Medicinal Chemistry* **2018**, *61* (15), 6401-6420. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b00077.
- (206) Smith, D. A.; Beaumont, K.; Maurer, T. S.; Di, L. Volume of Distribution in Drug Design. *Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, *58* (15), 5691-5698. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b00201.
- (207) Otrubova, K.; Cravatt, B. F.; Boger, D. L. Design, Synthesis, and Characterization of α -Ketoheterocycles That Additionally Target the Cytosolic Port Cys269 of Fatty Acid Amide Hydrolase. *Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, *57* (3), 1079-1089. DOI: 10.1021/jm401820q.
- (208) Hartz, R. A.; Ahuja, V. T.; Bronson, J. J.; Dzierba, C. D.; Macor, J. E.; Nara, S. J.; Rajamani, R. Preparation of aryl amide compounds as adaptor associated kinase 1 (AAK1 kinase) inhibitors. WO2015006100, 2015.
- (209) Badarau, E.; Bugno, R.; Suzenet, F.; Bojarski, A. J.; Finaru, A.-L.; Guillaumet, G. SAR studies on new bis-aryls 5-HT7 ligands: Synthesis and molecular modeling. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2010**, *18* (5), 1958-1967. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.01.035>.