

Synthese und Struktur-Wirkungsbeziehungsuntersuchungen von
neuartigen Inhibitoren humaner Astacinproteasen

DISSERTATION

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

der Naturwissenschaftlichen Fakultät I

der Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg,

vorgelegt

von Frau Kathrin Tan
geb. am 15.04.1994 in Bayreuth

Gutachter:

1. PD Dr. Matthias Schmidt
2. Prof. Dr. Stephan Schilling
3. Prof. Dr. Finn Hansen

Halle (Saale), 08.03.2023

VORABVERÖFFENTLICHUNGEN

Teilergebnisse und Inhalte der vorliegenden Dissertation wurden bereits veröffentlicht in:

Körschgen, H.; Jäger, C.; Tan, K.; Buchholz, M.; Stöcker, W.; Ramsbeck, D.

A Primary Evaluation of Potential Small-Molecule Inhibitors of the Astacin Metalloproteinase Ovastacin, a Novel Drug Target in Female Infertility Treatment.

ChemMedChem **2020**, *15*, 1499–1504.

DOI: 10.1002/cmdc.202000397.

Tan, K.; Jäger, C.; Körschgen, H.; Geissler, S.; Schlenzig, D.; Buchholz, M.; Stöcker, W.; Ramsbeck, D.

Heteroaromatic Inhibitors of the Astacin Proteinases Meprin α , Meprin β and Ovastacin Discovered by a Scaffold-Hopping Approach.

ChemMedChem **2021**, *16*, 976–988.

DOI: 10.1002/cmdc.202000822.

INHALTSVERZEICHNIS

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	IV
Abbildungsverzeichnis	VI
Tabellenverzeichnis	IX
1 Einleitung	1
1.1 Einblick in die funktionellen und strukturellen Aspekte der Astacine.....	1
1.1.1 Meprin α und Meprin β	1
1.1.2 Ovastacin.....	3
1.1.3 Struktureller Vergleich der humanen Astacinproteasen.....	4
1.2 Humane Astacine als neue potentielle Arzneistofftargets.....	6
1.2.1 Meprine als Wirkstofftarget.....	6
1.2.2 Ovastacin als Wirkstofftarget.....	9
1.3 Überblick zu bekannten Inhibitoren der Astacinproteasen.....	10
1.4 Mögliche Strategien der Optimierung einer Leitstruktur.....	14
1.5 Zielstellung.....	15
2 Synthetische Arbeiten	17
2.1 Synthese von Derivaten mit Amingrundkörper.....	17
2.2 Synthese von Derivaten mit heteroaromatischem Grundkörper.....	19
2.2.1 Synthese der monozyklischen heteroaromatischen Derivate.....	19
2.2.1.1 Darstellung der 1,2,5-substituierten Pyrrolderivate.....	19
2.2.1.2 Darstellung der 3,4,5-substituierten Pyrazol- und Isoxazolderivate.....	20
2.2.1.3 Darstellung der 3,4,5-substituierten 1,2,4-Triazolderivate.....	22
2.2.1.4 Darstellung des 1,4,5-substituierten 1,2,3-Triazolderivats.....	23
2.2.1.5 Darstellung des 1,4,5-substituierten Imidazolderivats.....	24
2.2.1.6 Darstellung der 1,3,5-substituierten Pyrazolderivate.....	25
2.2.2 Synthese der anellierten heteroaromatischen Derivate.....	26
2.2.2.1 Darstellung der <i>N</i> -substituierten 2-Phenylindolderivate.....	26
2.2.2.2 Darstellung des 3-substituierten 2-Phenylindolderivats.....	27
2.2.2.3 Darstellung der <i>N</i> -substituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate.....	28
2.2.2.4 Darstellung der <i>N</i> -substituierten 2-Phenylimidazo[4,5- <i>b</i>]pyridinderivate.....	29
2.2.2.5 Darstellung des 3-substituierten 2-Phenylindazolderivats.....	32
2.3 Synthese der Pyrazolderivate mit Strukturvariationen der Substituenten.....	33
2.3.1 Synthese von 3,4,5-substituierten Pyrazolderivaten mit Variation an 3- und 5-Position.....	33
2.3.1.1 Darstellungsversuche der 3,4,5-substituierten Pyrazolderivate über CLAISEN-Kondensation und anschließender <i>C</i> -Alkylierung.....	33
2.3.1.2 Darstellung der 3,4,5-substituierten Pyrazolderivate aus Arylketonen und Säurechloriden oder aktivierten Carbonsäuren.....	34

2.3.2	Synthese von <i>N</i> -substituierten 3,5-Diphenylpyrazolderivaten	44
2.3.2.1	Darstellung des Diphenylpyrazolcarbonsäuremethylesterderivats als Ausgangsstoff.....	44
2.3.2.2	Darstellung der <i>N</i> -substituierten 3,5-Diphenylpyrazolderivate via CHAN-LAM-Kupplung	45
2.3.2.3	Darstellung der <i>N</i> -substituierten 3,5-Diphenylpyrazolderivate via <i>N</i> -Alkylierung.....	46
2.4	Synthese der substituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate	49
2.5	Synthese der 1,3-substituierten 2-Phenylindolderivate	52
3	Biochemische Charakterisierung.....	55
4	Dockinguntersuchungen	56
5	Ergebnisse und Diskussion	58
5.1	Biochemische Charakterisierung der dargestellten Verbindungen	58
5.1.1	Inhibitoren basierend auf einer Amingrundstruktur	58
5.1.2	Inhibitoren mit heteroaromatischer Grundstruktur	63
5.1.3	Inhibitoren basierend auf einer Pyrazolgrundstruktur	68
5.1.3.1	3,4,5-substituierte Pyrazolderivate mit struktureller Variation der Substituenten.....	68
5.1.3.2	<i>N</i> -substituierte 3,5-Diphenylpyrazolderivate	75
5.1.4	Inhibitoren basierend auf einer Benzimidazolgrundstruktur	83
5.1.5	Inhibitoren basierend auf einer Indolgrundstruktur	85
5.2	Diskussion der Struktur-Wirkungsbeziehungen unter Zuhilfenahme von computerchemischen Methoden.....	87
5.2.1	Einfluss der strukturellen Variation der Inhibitoren mit Amingrundstruktur auf die inhibitorische Aktivität	87
5.2.2	Inhibitoren mit heteroaromatischer Grundstruktur.....	91
5.2.2.1	Design neuer heteroaromatischer Grundkörper.....	91
5.2.2.2	Einfluss der heteroaromatischen Grundkörper auf die inhibitorische Aktivität.....	96
5.2.3	Einfluss der Substituenten in 3- und 5-Position der 3,4,5-substituierten Pyrazole auf die inhibitorische Aktivität	102
5.2.3.1	Modulation der inhibitorischen Aktivität durch die Variation eines Arylrestes.....	102
5.2.3.2	Modulation der inhibitorischen Aktivität durch die Variation beider Arylreste.....	107
5.2.3.3	Vergleich zwischen aromatischen und gesättigten Substituenten	108
5.2.4	Modulation der inhibitorischen Aktivität durch die Einführung von <i>N</i> -Substituenten am Diphenylpyrazolgrundkörper.....	110
5.2.5	Modulation der inhibitorischen Aktivität durch die Modifikation der Substituenten am 2-Phenylbenzimidazolgrundkörper	114
5.2.6	Modulation der inhibitorischen Aktivität durch die Einführung von Substituenten am 2-Phenylindolgrundkörper	116
5.3	Diskussion der Selektivität gegenüber den <i>off-target</i> -Metalloproteasen	118
6	Zusammenfassung und Ausblick.....	120
7	Experimenteller Teil	123
7.1	Allgemeine experimentelle Angaben.....	123

7.2	Synthese der Verbindungen	126
7.2.1	Synthese der tertiären Amine.....	126
7.2.2	Synthese der Derivate mit heteroaromatischem Grundkörper	129
7.2.3	Synthese der Pyrazolderivate mit Strukturvariationen der Substituenten	141
7.2.4	Synthese der <i>N</i> -substituierten 3,5-Diphenylpyrazolderivate.....	147
7.2.5	Synthese der substituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate.....	150
7.2.6	Synthese der 1,3-substituierten 2-Phenylindolderivate.....	152
7.3	Durchführung der Assays.....	153
7.3.1	Enzymaktivitätsassay.....	153
7.3.2	Zellviabilitätsassay.....	155
7.4	Computergestützte Methoden	156
8	Literaturverzeichnis	157
9	Anhang.....	i
9.1	Analytische Daten der Verbindungen	i
9.1.1	Tertiäre Amine.....	i
9.1.2	Derivate mit heteroaromatischem Grundkörper.....	ix
9.1.3	3,4,5-substituierte Pyrazolderivate.....	xv
9.1.4	<i>N</i> -substituierte 3,5-Diphenylpyrazolderivate	xxxvi
9.1.5	Substituierte 2-Phenylbenzimidazolderivate.....	lviii
9.1.6	1,3-substituierte 2-Phenylindolderivate	lxv
9.2	¹ H-NMR-Spektren von ausgewählten Zielverbindungen	lxviii
9.3	Inhibierung der <i>off-target</i> -Metalloproteasen und <i>in vitro</i> Toxizität.....	lxxvii
9.4	Einfluss der verschiedenen Assaybedingungen	lxxviii
9.5	Dockingexperimente	lxxix
9.5.1	Scoringwerte der Inhibitoren aus Dockingexperimenten.....	lxxix
9.5.2	Dockingprotokoll (Beispiel)	lxxx
	Danksagung.....	lxxxix
	Liste der Veröffentlichungen	xc
	Lebenslauf.....	xciii
	Eidstattliche Erklärung	xcv

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

[Cp*RhCl ₂] ₂	Pentamethylcyclopentadienyl-rhodiumdichlorid Dimer
μM.....	mikromolar
Å.....	Ångström
Abz.....	2-Aminobenzoyl
ADAM.....	A Disintegrin And Metalloproteinase
ANP.....	Atriales natriuretisches Peptid
APCI.....	Atmospheric Pressure Chemical Ionization
APP.....	Amyloid Precursor Protein
Äq.....	Äquivalent
Ar.....	Aromat
Bim.....	Benzimidazol
BMP-1.....	bone morphogenetic protein-1
BNP.....	Brain-type natriuretisches Peptid
Boc.....	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
br s.....	breites Signal (NMR)
CDI.....	1,1'-Carbonyldiimidazol
CTGF.....	connective tissue growth factor
d.....	Dublett (NMR)
Dabcyl.....	4-((4-(Dimethylamino)phenyl)azo)benzoesäure
Dap.....	2,3-Diaminopropionsäure
DBU.....	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DCC.....	Dicyclohexylcarbodiimid
DCM.....	Dichlormethan
dd.....	Dublett vom Dublett (NMR)
DEAD.....	Azodicarbonsäurediethylester
DIAD.....	Diisopropylazodicarboxylat
DIPEA.....	Diisopropylethylamin
DMEDA.....	<i>N,N'</i> -Dimethylethylendiamin
DMF.....	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMPU.....	Dimethylpropylenharnstoff
DMSO.....	Dimethylsulfoxid
Dnp.....	2,4-Dinitrophenyl
Edans.....	5-((2-Aminoethyl)amino)naphthalen-1-sulfonsäure
ESI.....	Elektrospray-Ionisation
EZM.....	extrazelluläre Matrix
Fmoc.....	Fluorenylmethoxycarbonyl
FRET.....	Fluoreszenz-Resonanzenergietransfer
GOLD.....	Genetic Optimization for Ligand Docking
hMep.....	humanes Meprin
HPLC.....	High Performance Liquid Chromatography
HRMS.....	High-resolution mass spectrometry

Hz	Hertz
IVF	<i>In-vitro</i> -Fertilisation
LiHMDS	Lithium-bis(trimethylsilyl)amid
m	Multipllett (NMR)
MAM	meprin A5 protein tyrosine phosphatase μ
m/z	Masse pro Ladung
Mca	Methyl-Coumaryl-Amid
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
MHz	Megahertz
min	Minute
MMMT	maligne Müller'sche Mischtumore
ml	Milliliter
MMP	Matrix-Metalloproteasen
mOva	murines Ovastacin
MS	Massenspektrometrie
n.b.	nicht bestimmt
NaOH	Natriumhydroxid
nM	nanomolar
NMR	Nuclear Magnetic Resonance (Kernmagnetresonanz)
PDB	Protein Data Bank
pM	picomolar
PMB	<i>p</i> -Methoxybenzyl
ppm	parts per million
PPTS	Pyridinium- <i>p</i> -toluolsulfonat
RA	Restaktivität
rt	retention time (Retentionszeit)
s	Singulett (NMR)
SAS1B	Sperm Acrosomal SLLP1 Binding
t	Tripllett (NMR)
TBTU	2-(1H-Benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetramethylaminiumtetrafluorborat
TEA	Triethylamin
TFA	Trifluoressigsäure
TGF	Transforming Growth Factor
THF	Tetrahydrofuran
TIMP	tissue inhibitors of metalloproteinase
TRAF	tumour-necrosis-factor-receptor-associated factor
TRIS	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
VEGF-A	vascular endothelial growth factor A
δ	delta (chemische Verschiebung)

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1:	Schematische Übersicht von Meprin α und β mit den Multidomänen	2
Abbildung 2:	A) Homologie Modell von Meprin α (Templat 4GWN) und B) Kristallstruktur von Meprin β (PDB: 4GWN)	3
Abbildung 3:	Vergleich der Proteasedomänen und der aktiven Zentren.....	5
Abbildung 4:	Möglicher Mechanismus der Interaktion von Ovastacin mit Fetuin-B an der Eizelle nach STÖCKER et al. ^[45]	9
Abbildung 5:	Die ersten beschriebenen Verbindungen mit inhibitorischer Aktivität gegenüber Meprin α und β	11
Abbildung 6:	Inhibitorische Aktivitäten der Meprininhibitoren mit Sulfonamid- und Amingrundstruktur.	12
Abbildung 7:	A) Aktives Zentrum der Kokristallisation von Meprin β mit Verbindung 2a , B) schematische 2D-Darstellung des Bindungsmodus von 2a in Meprin β	13
Abbildung 8:	Schematische Übersicht der Entwicklung von neuartigen Inhibitoren humaner Astacinproteasen.....	15
Abbildung 9:	Schematische Darstellung des FRET-basierten Assays	55
Abbildung 10:	Schematische Darstellung der vermuteten repulsiven Wechselwirkung zwischen einem basischen Substituenten und einem Argininrest im aktivem Zentrum. ...	87
Abbildung 11:	Dockinglösung von 4c in A) hMeprin α (1/20, Homologie Modell) und in B) hMeprin β (3/20, PDB: 7AQ1); schematische 2D-Darstellung der möglichen Bindungsmodi von 4c in C) Meprin α und D) Meprin β	88
Abbildung 12:	A) Dockinglösung von 2c (1/20) in mOvastacin (Homologie Modell) dargestellt in der Seitenansicht; B) schematische 2D-Darstellung des möglichen Bindungsmodus von 2c	90
Abbildung 13:	Mögliche Zyklisierungsstrategien des tertiären Amingrundgerüsts.....	91
Abbildung 14:	Meprin β in Komplex mit Verbindung 2a mit den Argininresten in blau dargestellt (PDB: 7AQ1).....	92
Abbildung 15:	A) Konformationen von 2a aus Monomer A und B von Meprin β (PDB: 7AQ1); B) Templat für flexibles <i>Alignment</i> mit fixierten Atomen (dunkelgrau) und frei beweglichen Atomen (rot).	93
Abbildung 16:	Flexibles <i>Alignment</i> der heteroaromatischen Grundkörper 5a , 5b , 6a , 6b , 7a und 7b (farbig) mit der bioaktiven Konformation von Verbindung 2a	93
Abbildung 17:	Top gerankte Dockinglösungen der Derivate 5a , 5b , 6a , 6b , 7a und 7b innerhalb des aktiven Zentrums von Meprin β (PDB: 7AQ1), Meprin α (Homologie Modell) und mOvastacin (Homologie Modell).	94
Abbildung 18:	Vergleich der Dockinglösungen der monozyklischen heteroaromatischen Derivate 5a-j mit C ₁ -Spacer (A) und C ₂ -Spacer (B) in Meprin α (Homologie Modell)	97
Abbildung 19:	Vergleich der Dockinglösungen der monozyklischen heteroaromatischen Derivate 5a-j mit C ₁ -Spacer (A) und C ₂ -Spacer (B) in Meprin β (PDB: 7AQ1).	97
Abbildung 20:	Elektrostatischen Potentiale der Derivate 5a , 5c , 5e , 5g , 5i und 5j dargestellt über die Einfärbung der Isooberfläche der Elektronendichte	98

Abbildung 21:	Vergleich der Dockinglösungen der anellierten Verbindungen 7a , 7c , 7d , 7f-h mit C ₁ -Spacer in Meprin α (A, Homologie Modell) und Meprin β (B, C, PDB: 7AQ1).	100
Abbildung 22:	Elektrostatischen Potentiale der Derivate 7a , 7c , 7d , 7f , 7g und 7h dargestellt über die Einfärbung der Isooberfläche der Elektronendichte	101
Abbildung 23:	A) Dockinglösung des monosubstituierten Pyrazolderivats 100e (1/20, blau) in Meprin α (Homologie Modell); B) schematische 2D-Darstellung des möglichen Bindungsmodus von 100e in Meprin α	103
Abbildung 24:	Dockinglösung des monosubstituierten Pyrazolderivats 100m in A) Meprin α (1/20) und in C) Meprin β (3/20, PDB: 7AQ1); schematische 2D-Darstellung des möglichen Bindungsmodus von 100m in B) Meprin α und D) Meprin β	104
Abbildung 25:	A) Dockinglösung des monosubstituierten Pyrazolderivats 100m in mOvastacin (1/20, Homologie Modell); B) schematische 2D-Darstellung des möglichen Bindungsmodus von 100m in mOvastacin.	105
Abbildung 26:	Dockinglösung des monosubstituierten Pyrazolderivats 100p in Meprin α (A, 1/20) und Meprin β (B, 1/20); C) Berechnete pK _s -Werte der aciden Funktionalitäten	106
Abbildung 27:	Dockinglösung des disubstituierten Pyrazolderivats 101j in Meprin α (A, 5/20) und in Meprin β (B, 2/20); S ₁ -Bindetasche wird im Vergleich dazu von 2a (weiß, kokristallisierter Ligand in Meprin β) adressiert.	107
Abbildung 28:	A) Vergleich der Dockinglösungen des disubstituierten Pyrazolderivats 101m mit 1,4-Cyclohexancarbonsäurerest (orange, 8/20) und 101b mit Carboxyphenylrest (grau, 3/20) in Meprin β ; B) Dockinglösung des disubstituierten Pyrazolderivats 101k mit 1,2-Cyclohexancarbonsäurerest (dunkelgrün, 1/20) in Meprin β	109
Abbildung 29:	A) Dockinglösung des <i>N</i> -substituierten Pyrazolderivats 126k (1/20, Docking mit flexiblen Seitenketten Y ¹⁸⁷ und R ²⁴²) in Meprin α ; B) schematische 2D-Darstellung des möglichen Bindungsmodus von 126k in Meprin α	111
Abbildung 30:	A) Dockinglösung des <i>N</i> -substituierten Pyrazolderivats 126i (1/20, Docking mit flexiblen Seitenketten R ¹⁸⁴ und R ²³⁸) in Meprin β ; B) schematische 2D-Darstellung des möglichen Bindungsmodus von 126i in Meprin β	112
Abbildung 31:	A) Dockinglösung des <i>N</i> -substituierten Pyrazolderivats 126k (2/20, Docking mit flexiblen Seitenketten F ²¹⁴ und R ²⁶⁴) in murinen Ovastacin; B) schematische 2D-Darstellung des möglichen Bindungsmodus von 126k in Ovastacin.	113
Abbildung 32:	Dockinglösung des <i>N</i> -substituierten Pyrazolderivats 127k (1/20, Docking mit flexiblen Seitenketten Y ¹⁸⁷ und R ²⁴²) in Meprin α ; B) schematische 2D-Darstellung des möglichen Bindungsmodus von 127k in Meprin α	113
Abbildung 33:	A) Dockinglösung des substituierten 2-Phenylbenzimidazols 144c (1/20) in Meprin α ; B) schematische 2D-Darstellung des möglichen Bindungsmodus von 144c in Meprin α	115
Abbildung 34:	A) Dockinglösung des substituierten 2-Phenylbenzimidazols 144c (1/20) in Meprin β ; B) schematische 2D-Darstellung des möglichen Bindungsmodus von 144c in Meprin β	116

Abbildung 35:	A) Dockinglösung des N-substituierten Indolderivats 151c (6/20, Docking mit flexiblen Seitenketten Y ¹⁸⁷ und R ²⁴²) in Meprin α ; B) schematische 2D-Darstellung des möglichen Bindungsmodus von 151c in Meprin α	117
Abbildung 36:	Chemische Struktur der nicht-selektiven MMP-Inhibitoren NNGH und CGS-27023A.	118
Abbildung 37:	Zusammenfassung der Struktur-Wirkungsbeziehungen der heteroaromatischen Derivate hinsichtlich der Inhibition von Meprin α und β	121
Abbildung 38:	Zusammenfassung der Struktur-Wirkungsbeziehung der Pyrazolderivate hinsichtlich der Inhibition von Ovastacin.....	121
Abbildung 39:	Highlightverbindungen der dargestellten Derivate mit den inhibitorischen Aktivitäten	122

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Mögliche Indikationen im Zusammenhang mit Meprin α und β	9
Tabelle 2: Dargestellte Derivate der tertiären Amine.....	18
Tabelle 3: Übersicht der 3,4,5-substituierten Pyrazolderivate mit einem Phenylrest und Variation eines Restes R.....	39
Tabelle 4: Übersicht der 3,4,5-substituierten Pyrazolderivate mit Variation von R ¹ und R ²	40
Tabelle 5: Darstellung von Methyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (33) unter verschiedenen Reaktionsbedingungen.....	44
Tabelle 6: Übersicht der <i>N</i> -substituierten 3,5-Diphenylpyrazolderivate über <i>N</i> -Alkylierung ...	47
Tabelle 7: Übersicht der <i>N</i> -substituierten 3,5-Diphenylpyrazolderivate via MITSUNOBU-Reaktion.....	48
Tabelle 8: Übersicht der substituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate mit Phenylvariationen.	50
Tabelle 9: Übersicht der disubstituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate.....	52
Tabelle 10: Reaktionsbedingungen der CHAN-LAM-Kupplungen zur Darstellung des <i>N</i> -phenylierten 2-Phenylindolderivats.....	54
Tabelle 11: Inhibitorische Aktivitäten der unsymmetrisch substituierten tertiären Amine gegenüber hMeprin α und β	59
Tabelle 12: Inhibitorische Aktivitäten der tertiären Amine gegenüber mOvastacin.....	61
Tabelle 13: Inhibitorische Aktivitäten der monozyklischen Heteroaromaten gegenüber hMeprin α und β	65
Tabelle 14: Inhibitorische Aktivitäten der anellierten Heteroaromaten gegenüber hMeprin α und β	66
Tabelle 15: Inhibitorische Aktivitäten der heteroaromatischen Grundstrukturen gegenüber mOvastacin.....	67
Tabelle 16: Inhibierung der <i>off-target</i> -Metalloproteasen von ausgewählten heteroaromatischen Derivaten.....	67
Tabelle 17: Inhibitorische Aktivitäten der 3,4,5-substituierten Pyrazolderivate gegenüber hMeprin α und β mit Variation eines Restes.....	69
Tabelle 18: Inhibitorische Aktivitäten der 3,4,5-substituierten Pyrazolderivate gegenüber hMeprin α und β mit Variation von zwei Resten.....	72
Tabelle 19: Inhibitorische Aktivitäten der 3,4,5-substituierten Pyrazolderivate gegenüber mOvastacin.....	74
Tabelle 20: Inhibierung der <i>off-target</i> -Metalloproteasen von ausgewählten 3,4,5-substituierten Pyrazolderivaten.....	74
Tabelle 21: Inhibitorische Aktivitäten der <i>N</i> -substituierten Diphenylpyrazole mit einfachen Substituenten und Alkylresten gegenüber hMeprin α und β	76
Tabelle 22: Inhibitorische Aktivitäten der <i>N</i> -benzylierten Diphenylpyrazole gegenüber hMeprin α und β	79
Tabelle 23: Inhibitorische Aktivitäten der <i>N</i> -benzylierten Diphenylpyrazole mit alternativen Linkern gegenüber hMeprin α und β	80
Tabelle 24: Inhibitorische Aktivitäten der <i>N</i> -substituierten Diphenylpyrazolderivate gegenüber mOvastacin.....	81

Tabelle 25: Inhibierung der <i>off-target</i> -Metalloproteasen von ausgewählten <i>N</i> -substituierten Pyrazolderivaten.....	82
Tabelle 26: Inhibitorische Aktivitäten der substituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate mit Phenylvariationen.....	83
Tabelle 27: Inhibitorische Aktivitäten der disubstituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate.....	84
Tabelle 28: Inhibierung der <i>off-target</i> -Metalloproteasen des substituierten 2-Phenylbenzimidazol-derivats	84
Tabelle 29: Inhibitorische Aktivitäten der <i>N</i> -substituierten 2-Phenylindolderivate	85
Tabelle 30: Inhibierung der <i>off-target</i> -Metalloproteasen von ausgewählten <i>N</i> -substituierten 2-Phenylindolderivaten	86
Tabelle 31: Übersicht der eingesetzten Substrate, Puffer, Assayvolumina.....	154
Tabelle 32: Inhibierung der <i>off-target</i> -Metalloproteasen bei einer Inhibitorkonzentration von 200 μM	lxxvii
Tabelle 33: <i>In vitro</i> Toxizität von ausgewählten Verbindungen.....	lxxvii
Tabelle 34: Inhibitorische Aktivitäten von ausgewählten heteroaromatischen Derivaten unter verschiedenen Assaybedingungen	lxxviii
Tabelle 35: Vergleich der Scoringwerte aus Dockingexperimenten in Meprin α	lxxix
Tabelle 36: Vergleich der Scoringwerte aus Dockingexperimenten in Meprin β	lxxx
Tabelle 37: Vergleich der Scoringwerte aus Dockingexperimenten in Ovastacin.....	lxxx

1 EINLEITUNG

1.1 Einblick in die funktionellen und strukturellen Aspekte der Astacine

In Wirbeltieren stellen die Proteasen die größte Enzymfamilie dar.^[1] Eine Klasse der Proteasen sind die Metalloproteasen, die für die Spaltung von Peptidbindungen im aktiven Zentrum Metallionen benötigen. Zinkabhängige Metalloproteasen werden zur Metzincin-Superfamilie zusammengefasst, zu denen die Astacinproteasen angehört sind.^[2] Für den katalytischen Mechanismus spielt das Zinkion im aktiven Zentrum des Enzyms eine entscheidende Rolle, welches bei den Astacinproteasen durch die konservierte Aminosäuresequenz HExxHxxGxxH im aktiven Zentrum gebunden wird.^[3] Des Weiteren wird das Zinkion von einem konservierten Methionin-enthaltenden „*Met-turn*“ umgeben. Namensgebend für die Astacin-Subfamilie ist der Flusskrebs *Astacus astacus*, bei dem ein Enzym dieser Familie erstmalig gefunden und charakterisiert wurde.^[4] Mittlerweile sind mehrere hundert Astacine in verschiedenen Arten von Bakterien bis hin zum Menschen identifiziert worden. Beim Menschen sind sechs Gene der Astacinfamilie bekannt. Diese kodieren für die Proteine Meprin α und β , Ovastacin, BMP-1 (*bone morphogenetic protein-1*) mit seiner *Splicing*-Variante sowie den *tolloid-like*-Proteasen.^[2]

1.1.1 Meprin α und Meprin β

In den 1980er Jahren wurden die Meprine erstmalig in der Membran des Bürstensaums der Niere von Mäusen entdeckt.^[5] Aufgrund der Entdeckung einer neuen Metalloprotease in der Niere wurde die Bezeichnung „Meprin“ (*metalloprotease from renal tissue*) eingeführt. Meprin α und β werden in einer Kombination aus unterschiedlichen Domänen translatiert (Abbildung 1). Sie werden als membrangebundene Dimere exprimiert, die durch intermolekulare Disulfidbrücken in der MAM („*meprin A5 protein tyrosine phosphatase μ* “-) Domäne gebildet und stabilisiert werden.^[6] Die in Meprin α zusätzlich vorhandene „*Inserted*“-Domäne zwischen der TRAF („*tumour-necrosis-factor-receptor-associated factor*“-) und EGF („*epidermal growth factor*“-) like-Domäne führt zu einer konstitutiven proteolytischen Spaltung durch Furin im Golgi-Apparat, wodurch Meprin α in den extrazellulären Raum sezerniert wird (Abbildung 1, links). Nach der Freisetzung der Meprin α -Dimere erfolgt eine ring- bzw. kettenförmige Oligomerisierung über nicht-kovalente Wechselwirkungen, was zu der Bildung von Komplexen mit einer Größe von bis zu 6,4 MDa führen kann.^[7] Im Gegensatz dazu liegt die Isoform Meprin β membrangebunden vor. Durch andere Metalloproteasen wie ADAM10 und ADAM17 kann Meprin β aber auch über ein *Ectodomain-Shedding* von der Zelloberfläche gespalten werden und somit ein anderes

Substratspektrum aufweisen.^[8,9] Da die Meprine als inaktive Zymogene (Proenzyme) exprimiert werden, ist eine posttranslationale Modifikation für die proteolytische Aktivität essentiell. Die Aktivierung erfolgt über die Abspaltung des N-terminalen Propeptids durch verschiedene Arten von Proteinasen wie einigen Serinproteasen (z.B. Kallikreine, Trypsin).^[6] Bereits aktiviertes Meprin β kann nicht mehr von der Zellmembran durch ADAM10/17 abgespalten werden und bleibt somit membrangebunden.^[10] Neben den Homodimeren wurde in einer Studie nachgewiesen, dass humanes Meprin α und β über Disulfidbrücken-verknüpfte membrangebundene Heterodimere bilden können, wodurch die Furin-vermittelte Sekretion von Meprin α verhindert wird (Abbildung 1, rechts).^[11] Dadurch kann auch Meprin α in einem Enzymkomplex an der Zelloberfläche positioniert sein.

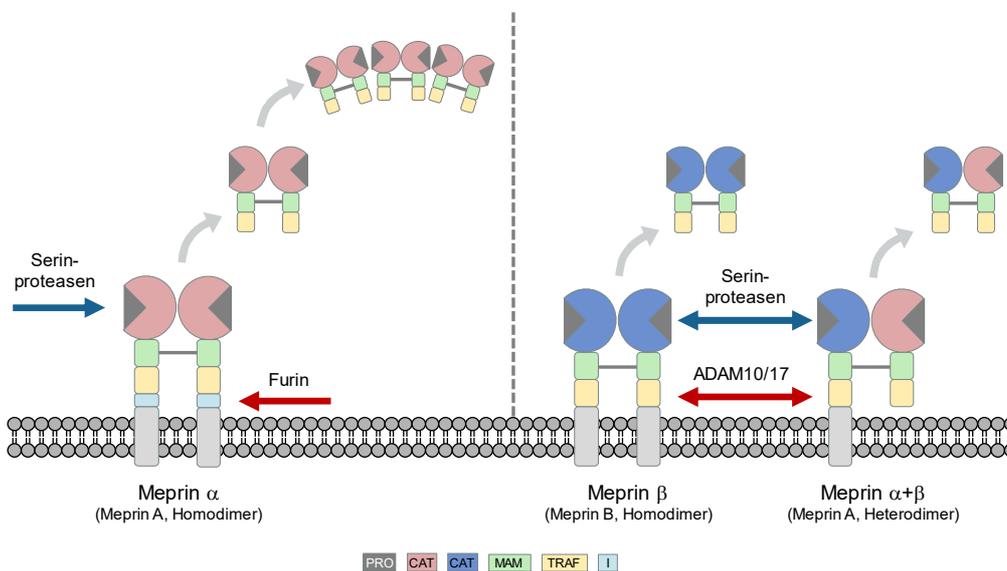


Abbildung 1: Schematische Übersicht von Meprin α und β mit den Multidomänen. Meprine werden als Zymogene exprimiert, welche ein Propeptid (PRO) N-terminal zur Proteasedomäne (CAT) aufweisen. Die Abspaltung des Propeptids (PRO) erfolgt über Serinproteinasen, wodurch die Meprine ihre proteolytische Aktivität erhalten. Meprin α enthält zusätzlich eine „Inserted“-Domäne (I), die konstitutiv durch Furin gespalten wird. Meprin α wird sezerniert und bildet Oligomere (links). Membrangebundenes Meprin β und die Heterodimere können auch durch ADAM10/17 von der Zelloberfläche gespalten werden (rechts).

Neben der Niere und des Darms als Hauptexpressionsorte sind die Meprinisoformen in anderen Organen weit verbreitet und können eine Vielzahl an Substraten hydrolysieren.^[2,6,12] Darunter zählen Proteine der extrazellulären Matrix, Zytokine, Adhäsionsverbindungen, Hormone, bioaktive Peptide und Zelloberflächenproteine.^[12] In Proteomik-basierten Untersuchungen wurden für Meprin α und β bestimmte Substratspezifitäten festgestellt. Die Untersuchung von humanen Peptiden ließ auf eine auffällige Präferenz für negativ geladene Aminosäuren in P_1' -Position für Meprin β schließen, die auch für Meprin α in einer weniger ausgeprägten Form nachweisbar war.^[13] Zuvor bestimmte Spaltstellen von Meprin α an hydrophoben Aminosäuren in P_1' - und Prolin in P_2' -Position untermauerten die Hypothese.^[14,15]

Die Analyse von nativen Substraten zeigte jedoch nicht nur für Meprin β eine erhöhte Präferenz für Aspartat- und Glutamatreste in P₁'-Position, sondern auch für alle anderen Astacinproteasen, wie Meprin α , BMP-1 und Ovastacin, was auf den konservierten positiv geladenen Argininrest in der S₁'-Bindetasche innerhalb des aktiven Zentrums zurückzuführen ist. Neben der P₁'-Position weist Meprin β darüber hinaus auch eine ausgeprägte Spezifität für negativ geladene Aminosäuren in P₂' und P₃' sowie N-terminal von der Spaltstelle in P₁- und P₂-Position auf.^[13] Diese Spezifität resultiert aus der Interaktion der negativ geladenen Aminosäurereste des Substrats mit den positiv geladenen Argininresten, die innerhalb des aktiven Zentrums von Meprin β vorliegen. Beim Vergleich der Kristallstruktur von Meprin β und des Homologie Modells von Meprin α sind im aktiven Zentrum von Meprin β mehrere Positionen als basische Argininreste (Arg¹⁴⁶, Arg¹⁸⁴, Arg²³⁸) identifiziert worden, während die jeweiligen Aminosäuren in Meprin α zum Teil durch Tyrosinreste (Tyr¹⁴⁹, Tyr¹⁸⁷) ersetzt sind und somit neutrale Eigenschaften aufweisen (Abbildung 2).^[16] Aufgrund des hohen Anteils an negativ geladenen

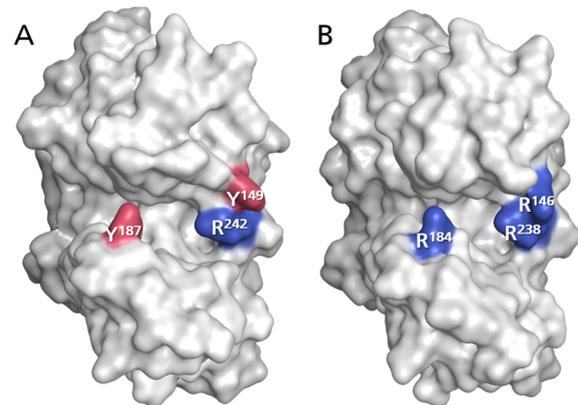


Abbildung 2: A) Homologie Modell von Meprin α (Templat 4GWN) und B) Kristallstruktur von Meprin β (PDB: 4GWN)

Aminosäureresten zählen gastrointestinale Peptide wie Gastrin und Cholecystokinin zu den besten Substraten für Meprin β . Für Meprin α sind wiederum Substanz P, ein Modulator der Nozizeption, und Zytokine gute Substrate.^[2] Die Spaltung von verschiedenen Substraten führt zu unterschiedlichen Veränderungen der biologischen Funktion und Aktivität. Die Identifizierung der Substrate stellt einen wichtigen Schritt für das Verständnis von möglichen pathophysiologischen Zuständen dar und könnte zusammen mit den Erkenntnissen der Strukturaufklärung wegweisend für die Entwicklung von Inhibitoren der Meprin Metalloproteasen sein.

1.1.2 Ovastacin

Die Metalloprotease Ovastacin wurde ursprünglich in unbefruchteten Maus-Eizellen und humanen Eizellen entdeckt.^[17] Ovastacin wird als inaktives Zymogen (Pro-Ovastacin) translatiert, welches ein Signalpeptid, ein Propeptid, eine katalytische Proteasedomäne und eine C-terminale Domäne mit unbekannter Struktur und Funktion enthält.^[3] Die Expression von Ovastacin ist auf Eizellen beschränkt.^[3,18,19] Ovastacin wurde in peripheren kortikalen Granula der Eizelle nachgewiesen. Es wurde gezeigt, dass Ovastacin nach der Befruchtung aus den kortikalen Granula durch Exozytose freigesetzt wird und das Zona pellucida-Protein ZP2 an einer konservierten Spaltstelle

hydrolysiert. Die Spaltung bewirkt eine Verhärtung der Zona pellucida, welches einen mechanischen Schutz bietet und für weitere Spermien undurchlässig ist.^[20] In anderen Studien wurde Ovastacin auch als Bindungspartner von Spermien beschrieben, welcher am Oolemma verankert ist und als SAS1B (*Sperm Acrosomal SLLP1 Binding*) bezeichnet wird.^[18,19] Weiterführende Untersuchungen könnten zur Aufklärung der bisher widersprüchlichen Daten führen. So wird davon ausgegangen, dass bei der Exozytose ein Teil der C-terminalen Domäne von Ovastacin an das Plasmalemma gebunden bleibt, während die N-terminale aktive Ovastacin-Domäne sezerniert wird. Somit könnte Ovastacin sowohl als oolemmaler Rezeptor namens SAS1B als auch als sezernierte Protease fungieren.^[18,20,21] Während der Befruchtung werden neben Ovastacin auch einige Serinproteasen freigesetzt, die für die extrazelluläre Aktivierung des Pro-Ovastacins verantwortlich sein könnten. Untersuchungen zufolge wird Ovastacin teilweise bereits intrazellulär vor der Befruchtung und der Kortikalreaktion aktiviert. Aktiv freigesetzt bedarf es keiner weiteren Prozessierung durch Serinproteasen. Somit könnte Ovastacin durch die partielle Spaltung des Zona pellucida-Proteins ZP2 vor der Befruchtung eine vorzeitige Verhärtung der Zona pellucida vermitteln.^[21]

1.1.3 Struktureller Vergleich der humanen Astacinproteasen

Für das Inhibitor-Design sind die strukturellen Eigenschaften des aktiven Zentrums der jeweiligen Zielenzyme von Bedeutung. Während die Strukturen von BMP-1 (PDB: 3EDG) und Meprin β (PDB: 4GWN) über Kristallstrukturanalyse bereits aufgeklärt wurden, sind für Meprin α und Ovastacin keine Informationen über die dreidimensionale Struktur verfügbar. Mit der Erstellung von Homologie-Modellen von Meprin α ^[16] und Ovastacin¹ kann ein struktureller Vergleich aller humaner Astacinproteasen ermöglicht werden. Für das Homologie-Modell von Meprin α wurde als Grundlage die Kristallstruktur von Meprin β (PDB: 4GWN) verwendet. Innerhalb der Proteasedomäne weisen die zwei Isoformen eine Sequenzidentität von 55% auf.^[14] Das Homologie-Modell von Ovastacin basiert auf der Kristallstruktur des verwandten „hatching“-Enzyms ZHE1 vom Zebrafisch *Danio rerio* (PDB: 3LQB), bei der Ovastacin eine Sequenzidentität von 47% mit ZHE1 besitzt. Alle Astacinproteasen weisen ein ähnliches Faltungsmuster auf (Abbildung 3: A, C, E und G). Jedoch unterscheiden sich die Astacine deutlich hinsichtlich der Aminosäuren innerhalb der aktiven Zentren in den S₁-, S₁'- und S₂'-Bindetaschen (Abbildung 3: B, D, F und H). Diese strukturellen Unterschiede führen zu einer Veränderung der Substratspezifitäten^[3] und könnten zum anderen auch für das Design von selektiven Inhibitoren genutzt werden. Da unterschiedliche Interaktionen oder Wechselwirkungen zwischen Inhibitor und Enzym

¹ Korschgen, H., Jäger, C., Tan, K., Buchholz, M., Stöcker, W., Ramsbeck, D., *ChemMedChem* **2020**, *15*, 1499–1504.

präferiert werden, könnte eine Modulation der Selektivität der Inhibitoren innerhalb der Astacinproteasen ermöglicht werden. Die S_1 -Bindetasche ist bei allen humanen Astacinen unterschiedlich. Bei BMP-1 und Meprin β liegen die Aminosäuren Gln¹²⁴ und Arg¹⁸⁴ vor, die durch polare Seitenketten gekennzeichnet sind. Im Gegensatz dazu weist die S_1 -Bindetasche von Ovastacin mit Phe²¹⁴ und Meprin α mit Tyr¹⁸⁷ einen lipophilen Charakter auf. Die unterschiedlichen Aminosäuren in der S_1 -Bindetasche könnten bei der Entwicklung von Astacininhibitoren hinsichtlich der Modulation der Selektivität eine Rolle spielen. Im Gegensatz dazu sind die Aminosäuren in der S_1' -Bindetasche innerhalb der Astacinproteasen konserviert. Die Präferenz der Astacine für Substrate mit sauren Aminosäuren in P_1' -Position^[13] könnte durch die in der S_1' -Bindetasche vorliegenden Argininreste (Arg¹⁷⁶ in BMP-1, Arg²⁴² in Meprin α , Arg²³⁸ in Meprin β , Arg²⁶⁴ in Ovastacin) begründet sein. Beim Vergleich der dazu benachbarten Aminosäuren können jedoch Unterschiede festgestellt werden. Meprin α und β weisen mit Gln²¹⁵ und Ser²¹² polare Aminosäuren auf, dessen Seitenketten bei Bindung eines Liganden Wasserstoffbrückenbindungen eingehen könnten. Dagegen könnten die Aminosäuren Gly²³⁹ in Ovastacin und Ala¹⁵⁰ in BMP-1 ohne polaren Seitenketten weniger an solchen Wechselwirkungen beteiligt sein. Die S_2' -Bindetaschen der Astacinproteasen weisen wiederum Ähnlichkeiten auf. Eine hydrophile, basische Umgebung wird durch Lys⁸⁶ in BMP-1, Arg¹⁴⁶ in Meprin β und Arg¹⁷⁷ in Ovastacin erhalten. Nur Meprin α weist stattdessen eine lipophile Umgebung mit Tyr¹⁴⁹ in der S_2' -Bindetasche auf.

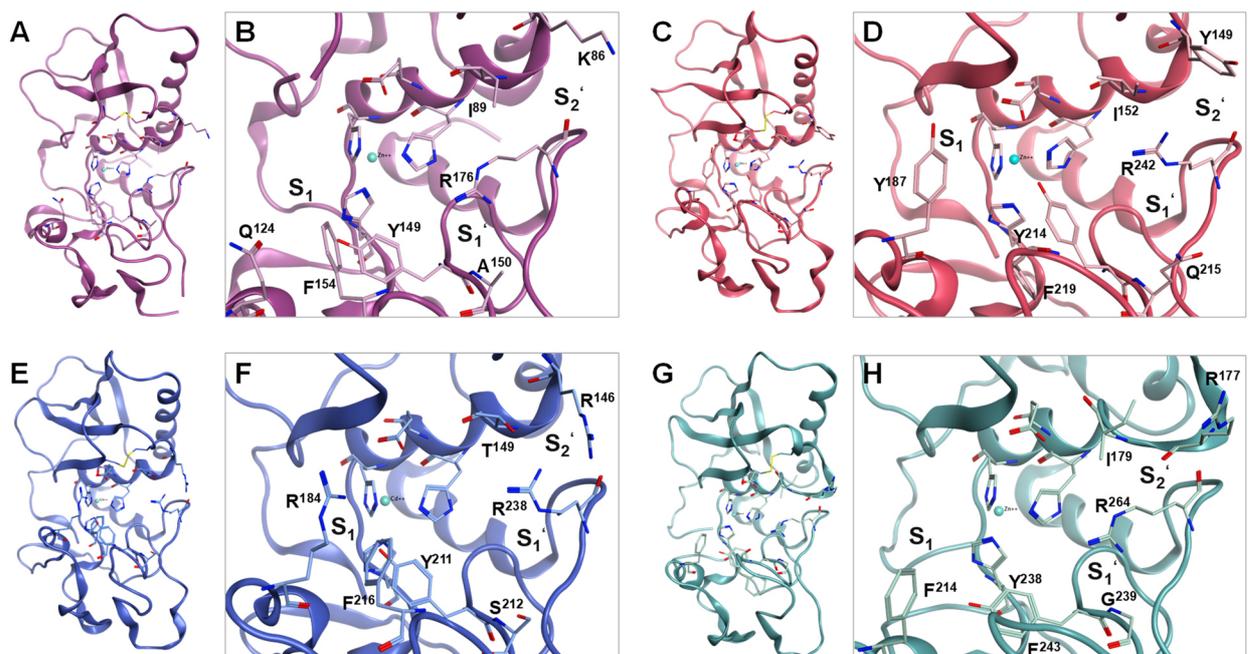


Abbildung 3: Vergleich der Proteasedomänen und der aktiven Zentren von humanen BMP-1 (PDB: 3EDG, A und B), humanen Meprin α (Homologie Modell, Templat: 4GWN, C und D), humanen Meprin β (PDB: 4GWN, E und F), humanen Ovastacin (Homologie Modell, Templat: 3LQB, G und H).

1.2 Humane Astacine als neue potentielle Arzneistofftargets

Die Metzincin-Superfamilie der Proteasen umfasst zahlreiche Enzyme, die als Zielproteine für die Entwicklung von neuen Arzneistoffen dienen. Die mit den Astacinen eng verwandten Metalloproteasen MMPs und ADAMs sind bereits in den letzten Jahrzehnten als Targets für die Behandlung von rheumatoider Arthritis und Krebserkrankungen in der Arzneistoffentwicklung bekannt geworden. Allerdings scheiterten die meisten Entwicklungen an der geringen Selektivität der Inhibitoren, die zu schweren Nebenwirkungen führten.^[22] In jüngerer Vergangenheit haben auch die Astacine als potentielle Targets an Bedeutung gewonnen. Besonders BMP-1/*tolloid-like*-Proteasen (BTPs) standen im Fokus der Wirkstoffentwicklung für fibrotische Erkrankungen.^[23] Die anderen Astacinproteasen Meprin α , Meprin β und Ovastacin zeichnen sich jedoch auch als potentielle Arzneistofftargets aus, da sie an vielen pathophysiologischen Vorgängen beteiligt sein könnten.

1.2.1 Meprine als Wirkstofftarget

Meprin α und β stellen potentielle Arzneistofftargets für die Behandlung verschiedener Erkrankungen dar. Je nach Expressionsort sind die Meprine aufgrund ihrer proteolytischen Aktivität an unterschiedlichen physiologischen Funktionen und pathophysiologischen Zuständen beteiligt.

Die proteolytische Aktivität von Meprin α ist überwiegend bedeutsam bei der Spaltung von Proteinen, denen eine wichtige Rolle in der Entstehung und Progression von Tumoren zugesprochen werden. Meprin α begünstigt in Folge der proteolytischen Aktivierung der pro-angiogenetischen Wachstumsfaktoren VEGF-A (*vascular endothelial growth factor A*) und CTGF (*connective tissue growth factor*) die Angiogenese.^[9,24] In Übereinstimmung mit der pro-angiogenetischen Aktivität ist Meprin α in verschiedenen Krebserkrankungen nachgewiesen worden. Eine erhöhte Meprin α -Aktivität wird mit kolorektalen Karzinom in Verbindung gebracht. *In vitro*-Untersuchungen weisen auf eine pro-migratorische und pro-angiogenetische Aktivität von Meprin α hin, was die Tumorprogression fördern könnte.^[25,26] In einer weiteren Studie wird die Rolle von Meprin α bei der Progression des kolorektalen Karzinoms in Knockout-Experimenten *in vitro* und *in vivo* bestätigt.^[27] Zudem wird gezeigt, dass humane Gewebeproben des kolorektalen Karzinoms eine erhöhte Meprin- α -Expression sowohl auf mRNA- als auch auf Proteinebene aufweisen. Eine Überexpression von Meprin α konnte auch in humanen Zellen des hepatozellulären Karzinom festgestellt werden. Hierbei führt die Expression von Meprin α zu einer Erhöhung der Invasivität und des Migrationsverhaltens von Tumoren.^[28,29]

Neue Studien zeigen auch, dass Meprin α bei dem pathologischen Prozess des kardialen Remodeling beteiligt sein könnte. Eine Defizienz von Meprin α ist mit einer Verringerung des TAC und Angiotensin II-induzierten kardialen Remodeling verbunden, was sich über eine Reduktion der Fibroblastenaktivierung, der Infiltration von Makrophagen und Zytokinen sowie der Expression von pro-hypertrophen Markern (ANP, BNP, β -MHC) äußert.^[30]

Die biologische Funktion von Meprin β hängt stark davon ab, ob Meprin β membrangebunden vorliegt oder durch ein *Ectodomain-Shedding* von der Zelloberfläche gespalten wird. In Abhängigkeit der Lokalisation wird für Meprin β eine Beteiligung bei der Entstehung der Alzheimer-Erkrankung diskutiert. Membrangebundenes Meprin β ist in der Lage das Amyloid-Vorläuferprotein APP an der β -Sekretase-Spaltstelle zu spalten, was zu der Bildung von neurotoxischen Amyloid- β -Peptiden führt und die Neurodegeneration fördert.^[6,31,32] Zudem wird gezeigt, dass Meprin β an einer anderen Spaltstelle abseits der Amyloid- β -Sequenz N-terminale APP-Fragmente generiert, die eher eine neuroprotektive Rolle einnehmen.^[33] Mit der Freisetzung von membrangebundenen Meprin β durch ADAM10 wird die β -Sekretaseaktivität vollständig aufgehoben, sodass die Bildung von neurotoxischen Amyloid- β -Peptiden verhindert wird. Lösliches Meprin β ist immer noch in der Lage N-terminale APP-Fragmente freizusetzen, welche keine neurotoxischen Eigenschaften aufweisen.^[31]

Im Dünndarm wird Meprin β auch eine wichtige physiologische Funktion bei der Erneuerung der intestinalen Mucusschicht zugeschrieben.^[34] Die Hauptstrukturkomponente der Mucusschicht ist Mucin 2, die nur durch die lösliche Form von Meprin β gespalten wird. Eine Spaltung des membrangebundenen Meprin β durch ADAMs^[9] (Abschnitt 1.1.1) von der Zelloberfläche der Epithelzellen des Dünndarms ist daher entscheidend für die Ablösung der Mucusschicht, um somit das Wachstum von Bakterien zu verhindern.^[10,34] Im Entzündungsprozess ist die ADAM-abhängige Spaltung von Meprin β und die damit verbundene Mucusablösung eingeschränkt. So wurde ein erhöhter Spiegel an membrangebundenen Meprin β in entzündeten Gewebeproben im Vergleich zu nicht entzündetem Gewebe von Morbus Crohn Patienten bestimmt.^[10]

Eine Beteiligung von Meprin β bei der Invasion von Tumorzellen wird ebenfalls diskutiert.^[35] In neuroendokrinen Tumoren der Bauchspeicheldrüse ist eine erhöhte Expression von Meprin β beschrieben worden.^[36] Die genaue Rolle von Meprin β in der Tumormikroumgebung bedarf jedoch weiterer Untersuchungen.

Beide Meprinisoformen werden in der menschlichen Epidermis konstitutiv exprimiert. Dabei ist die Expression von Meprin α auf das *Stratum basale* beschränkt, wo Meprin α die Proliferation humaner Keratinozyten fördert. Meprin β wird wiederum im *Stratum granulosum* exprimiert und

könnte an der Verhornung der Haut beteiligt sein.^[6] Als C- und N-Prokollagenasen sind Meprin α und β in der Lage C- und N-Propeptide der Kollagene I und III zu spalten, wodurch die Bildung von Kollagenfibrillen eingeleitet wird. Im Gegensatz dazu stellt BMP-1 als verwandte Astacinprotease nur eine C-Prokollagenase dar. Das C-Propeptid des Kollagens III wird dabei von allen drei Astacinen an der gleichen Stelle gespalten, jedoch erfolgt die Prozessierung durch die Meprine effizienter als durch BMP-1.^[37] Meprine sind somit maßgeblich an dem Aufbau von Kollagen in der Haut und an der Aufrechterhaltung der Integrität des Bindegewebes beteiligt. Durch eine Überexpression können Meprine aber auch mit fibrotischen Erkrankungen in Verbindung gebracht werden.^[38] Untersuchungen zeigen, dass die Meprinaktivität in Keloiden und hypertrophen Narben im Vergleich zum normalen Gewebe hochreguliert ist.^[39] Weitere Substrate von Meprin α und β im Zusammenhang mit dem Netzwerk der extrazellulären Matrix (EZM) sind Nidogen-1, Tenascin-C und Fibronectin, die als wichtige Glykoproteine die Bindungen an die EZM vermitteln. Die Spaltung dieser Netzwerke durch Proteasen führt zu einer Störung der EZM-Bindung und gleichzeitig zur Bildung von pro-inflammatorischen Fragmenten.^[40] Meprine könnten auch bei der Entstehung der Lungenfibrose eine Rolle spielen, die durch die Störung der Integrität der Epithelschicht ausgelöst wird und mit Kollagenablagerungen als Teil eines Gewebeheilungsprozesses verbunden ist. Beide Isoformen sind an der Störung der Integrität der Epithelschicht *in vitro* beteiligt. Bei *in vivo*-Untersuchungen können Kollagenablagerungen in der Lunge von Bleomycin-behandelten Mäusen nur Meprin β zugeordnet werden.^[41]

Meprin α und β sind auch an der Modulation der Immunumgebung beteiligt, indem sie pro-inflammatorische Zytokine (Interleukine: IL-1 β , IL-6, IL-18 oder TGF- α), und Chemokine (CCL2/MCP-1) prozessieren und aktivieren, die die Migration von Leukozyten zum Verletzungsort oder zur Infektion induzieren.^[40,42] Daher spielen Meprine eine wichtige Rolle in der Pathogenese vieler entzündlicher Erkrankungen. Chronisch-entzündliche Erkrankungen wie Vaskulitis und chronisch-entzündliche Darmerkrankungen (CED) oder Nieren- und Urogenitalverletzungen werden mit der Zytokin-vermittelten Immunantwort durch Meprine in Verbindung gebracht.^[40] Untersuchungen von Knockout-Mäusen zeigen einen Zusammenhang zwischen der Meprin β -Aktivität und der Pathophysiologie von CED, während Meprin α hingegen eine protektive Rolle einnimmt.^[43,44] Der Unterschied zwischen der anti-inflammatorischen Rolle von Meprin α und der pro-inflammatorischen Aktivität von Meprin β könnte durch die Aktivierung von Entzündungsmediatoren (z.B. IL-18) begründet sein, die nur durch Meprin β aber nicht durch Meprin α vermittelt wird.^[43] Für Meprine wird auch eine Beteiligung beim akuten Nierenversagen diskutiert. In Maus-Modellen, bei der die Nephrotoxizität induziert wurde, konnte eine Umverteilung von Meprin α und β vom apikalen Bürstensaum des proximalen Tubulus zur

basolateralen tubulären Basalmembran beobachtet werden. Die erhöhte Meprinaktivität an der Basalmembran führt zum Abbau des renalen tubulären Laminin-Nidogen-Komplexes sowie zur Spaltung von Zelladhäsionsmolekülen (E-Cadherin und Tenascin-C), was eine Schädigung der tubulären Basalmembran und eine Leukozyteninfiltration zu Folge hat.^[6,12]

Ausgehend von den im Text geschilderten pathophysiologischen Zuständen können verschiedene Indikationen für Meprin α und β (Tabelle 1) abgeleitet und zusammengefasst werden.

Tabelle 1: Mögliche Indikationen im Zusammenhang mit Meprin α und β

Meprin	Indikation	Lit.
Meprin α	Kolorektales Karzinom, Hepatozelluläres Karzinom	[25–29]
Meprin α	Kardiales Remodeling	[30]
Meprin β	Morbus Alzheimer	[31,32]
Meprin β	CED	[43,44]
Meprin α/β	Fibrotische Erkrankungen (β : Lungenfibrose)	[37–41]
Meprin α/β	Akutes Nierenversagen	[12]

1.2.2 Ovastacin als Wirkstofftarget

Die Astacinprotease Ovastacin ist im Zusammenspiel mit dem Plasmaprotein Fetuin-B an der Regulierung der Befruchtung beteiligt.^[45] Die explosionsartige Exozytose von Ovastacin aus den Kortikalvesikeln der Eizelle unmittelbar nach einer erfolgreichen Befruchtung durch ein Spermium führt zu einer Spaltung des Zona pellucida-Proteins ZP2. Die daraus resultierende Verhärtung der Zona pellucida verhindert weitere Spermien vor dem Eindringen in die Eizelle und

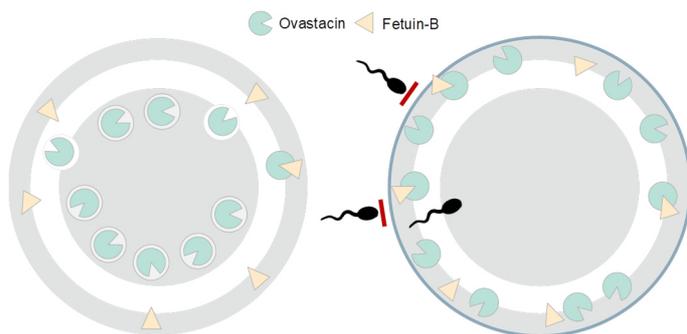


Abbildung 4: Möglicher Mechanismus der Interaktion von Ovastacin mit Fetuin-B an der Eizelle nach STÖCKER et al.^[45]

somit auch Polyspermie (Abbildung 4, rechts).^[20] Allerdings werden auch vor der Befruchtung geringe Mengen Ovastacin aus unbefruchteten Eizellen frei, was eine Unfruchtbarkeit aufgrund einer vorzeitigen ZP-Verhärtung zu Folge hat.^[21] Unter physiologischen Bedingungen wird die Spaltung von ZP2 vor der Befruchtung durch das

Plasmaprotein Fetuin-B gehemmt (Abbildung 4, links). Das Plasmaprotein stellt einen sehr potenten endogenen Inhibitor von Ovastacin dar.^[46,47] Bei einer Befruchtung tritt jedoch der Verhärtungsprozess der Zona pellucida ein, da eine hohe Konzentration von Ovastacin freigesetzt wird, welche die Hemmkapazität von Fetuin-B übersteigt.^[45] Das Zusammenspiel des

proteolytischen Netzwerks bestehend aus den Zona pellucida-Proteinen, Ovastacin und Fetuin-B ist damit ein wichtiger Mechanismus bei der Regulation der weiblichen Fertilität. Besonders die Regulation der Ovastacinaktivität könnte als neue Behandlungsstrategie für die weibliche Unfruchtbarkeit angesehen werden. Die derzeitige Behandlungsmöglichkeit umfasst eine Medikation mit Hormonen oder anderen Peptiden, welche die Eizellreifung fördern. Wenn konservative medizinische Behandlungen zu keiner Schwangerschaft führen, werden auch *In-vitro*-Fertilisation (IVF) und andere verwandte Techniken der assistierten Reproduktion angewendet. Die vorzeitige Verhärtung der Zona pellucida ist eine häufige Komplikation bei der IVF, die zu einer Verringerung der Befruchtungsrate führt.^[48,49] Die Inhibierung von Ovastacin könnte somit die Erfolgsrate bei der IVF positiv beeinflussen. Um die Befruchtungsrate zu verbessern, werden bereits humane und tierische Serumkomponenten als Zusätze für Kulturmedien eingesetzt, welche die Proteine der Fetuin-Familie enthalten. Allerdings sind die Fetuin-B enthaltenden Serumzusätze der Medien schlecht definiert und bergen auch Infektionsrisiken, da sie Komponenten tierischen oder menschlichen Ursprungs enthalten.^[48] Ovastacin bzw. SAS1B könnte zukünftig auch als Neoantigen ein interessantes Target darstellen. Verschiedene Untersuchungen bringen SAS1B mit endometrioiden sowie MMT-Uteruskarzinomen^[50] und Pankreaskarzinomen^[51] in Verbindung. SAS1B könnte als ein Tumorerflächenantigen für immuntherapeutische Strategien bei Krebs in Betracht gezogen werden. Der qualitative Expressionsunterschied zwischen Tumor- und normalen Zellen und die physiologische Beschränkung von SAS1B auf Oozyten ermöglicht ein tumorselektives Targeting.^[19,50,51] Neue Studien zeigen auch, dass das SAS1B-Gen im Zusammenhang mit dem Fortschreiten des Schilddrüsenkrebses steht.^[52] Bislang konnte noch nicht geklärt werden, ob SAS1B eine direkte Rolle bei der Tumorprogression und Metastasierung spielt. Andernfalls könnte SAS1B auch als Target für *small molecules* in Betracht gezogen werden.

1.3 Überblick zu bekannten Inhibitoren der Astacinproteasen

Die physiologische Regulation der Meprine ist bislang noch nicht umfassend erforscht. Während die TIMPs (*tissue inhibitors of metalloproteinases*) die proteolytische Aktivität der MMPs und ADAMs regulieren, werden die Meprine nicht durch TIMPs inhibiert.^[2] In ersten Untersuchungen wurde das Plasmaprotein Fetuin-A als endogener Meprininhibitor identifiziert. Cystatin C, welches wie Fetuin-A der Cystatin-Superfamilie der Cystein-Protease-Inhibitoren angehört, konnte als Inhibitor von humanem Meprin α , aber nicht Meprin β zugeordnet werden.^[53] Neueste Studien zeigen jedoch keine inhibitorische Aktivität von Fetuin-A gegenüber den Meprinen, sowie den anderen Astacinen und den verwandten Metalloproteasen MMPs und

ADAMs.^[46] Im Gegensatz dazu wird für das mit Fetuin-A eng verwandte Fetuin-B eine hohe Aktivität im nanomolaren Bereich gegenüber Meprin α und β festgestellt. Damit ist Fetuin-B nicht nur ein endogener Ovastacininhibitor (siehe Abschnitt 1.2.2), sondern auch ein Meprininhibitor mit einer hohen Selektivität gegenüber BMP1/*tolloid-like*-Proteasen und anderen Proteinasen.^[46,47,54] Die regulierte Inhibierung von Ovastacin durch Fetuin-B verhindert die vorzeitige Verhärtung der Zona pellucida und ist damit essentiell und unverzichtbar für die weibliche Fruchtbarkeit.^[21,45,54] Die Folgen der Hemmung von Meprin α und β durch Fetuin-B sind noch nicht geklärt. Es könnten jedoch viele physiologische Funktionen beeinflusst werden.^[46] Unter den ersten exogenen Meprininhibitoren, die in der Literatur beschrieben wurden, erwies sich die natürlich vorkommende Verbindung Actinonin als sehr potenter Inhibitor gegenüber Meprin α ($K_i=20$ nM).^[55] Die Isoform Meprin β wird auch von Actinonin im mikromolaren Bereich inhibiert. Des Weiteren konnten einige MMP-Inhibitoren wie Galardin und NNGH (*N*-Isobutyl-*N*-(4-methoxyphenylsulfonyl)glycylhydroxamsäure) als Meprininhibitoren identifiziert werden, die eine geringere Hemmaktivität im Vergleich zu Actinonin aufweisen. In einem Hochdurchsatz-Screening sind zudem NF449 und PPNDS als sehr potente Inhibitoren gegenüber Meprin β mit einer inhibitorischen Aktivität im nanomolaren Bereich identifiziert worden (Abbildung 5).^[56]

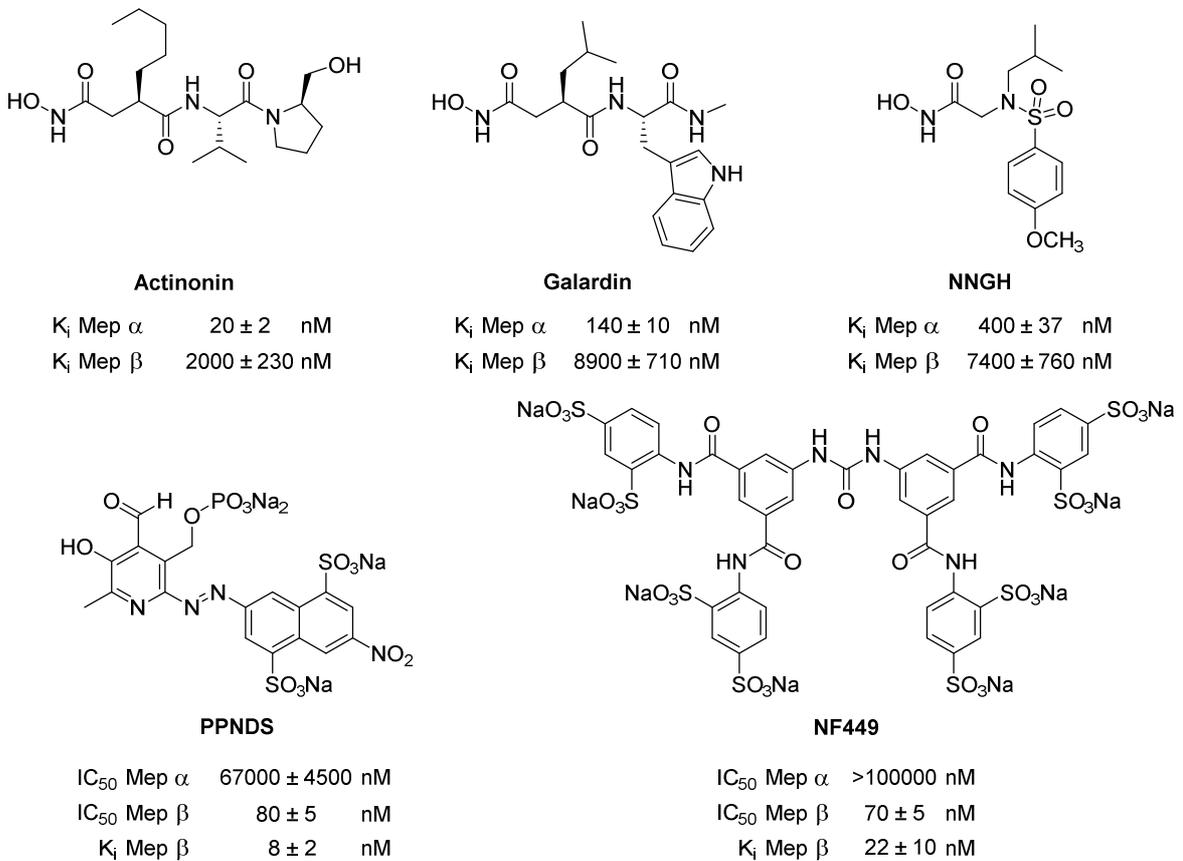


Abbildung 5: Die ersten beschriebenen Verbindungen mit inhibitorischer Aktivität gegenüber Meprin α und β .

Trotz der hohen Aktivität besteht bei den bekannten Verbindungen jedoch die Problematik der Selektivität, da neben Meprin α und β auch die verwandten Metalloproteasen der Metzincin-Superfamilie wie MMPs und ADAMs inhibiert werden. In den letzten Jahren wurden erste Fortschritte in der Entwicklung von Meprininhibitoren erzielt. So wurden in den Arbeiten von RAMSBECK *et al.*, ausgehend von der Leitstruktur NNGH, die ersten Meprin β -Inhibitoren mit einer Sulfonamidgrundstruktur dargestellt und erste Untersuchungen zu Struktur-Wirkungsbeziehungen durchgeführt.^[57] Die Einführung von aciden Resten (Abbildung 6, **1**) führte nicht nur zu einer Erhöhung der Meprin β -Aktivität, es konnte auch eine hohe Selektivität gegenüber den verwandten Metalloproteasen beobachtet werden. Die Präferenz von Meprin β zu aciden funktionellen Gruppen konnte mittels Struktur-Wirkungsbeziehung bestätigt werden. Der bioisostere Ersatz der Sulfonamidstruktur führte zu einer neuen Generation von Meprininhibitoren.^[58] Über einen strukturbasierten Ansatz wurde der Sulfonamidgrundkörper gegen ein tertiäres Amin ausgetauscht, um die Selektivität gegenüber den verwandten Metalloproteasen zu verbessern. Das Inhibitor-design basiert auf den strukturellen Unterschieden zwischen den Astacinen und den anderen Proteasen der Metzincine. Die in den Metzincin-Metalloproteasen wie MMPs und ADAMs vorhandene S-förmige Schleife (*double S-shaped loop*) benachbart zum aktiven Zentrum ermöglicht eine Interaktion der Sulfonamidinhibitoren mit dem Proteinrückgrat über die Ausbildung von Wasserstoffbrücken.^[55,59] Innerhalb der Proteasen der Astacinfamilie ist jedoch diese S-Schleife nicht vorhanden oder nur aus wenigen Aminosäuren aufgebaut^[60], sodass eine Beteiligung des Sulfonamidgerüst an der Bindung eher unwahrscheinlich ist. Die Verbindungen basierend auf einem tertiären Amin zeigen keine großen Unterschiede in der Aktivität gegenüber Meprin β im Vergleich zu den Sulfonamiden (Abbildung 6, **1** und **2a**), wiesen aber eine bemerkenswerte Selektivität gegenüber den anderen Metalloproteasen auf.^[58]

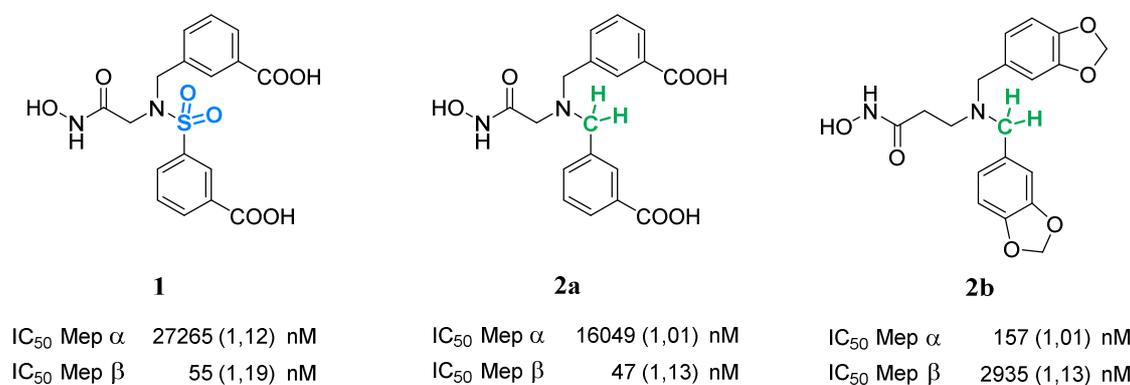


Abbildung 6: Inhibitorische Aktivitäten (als geometrisches Mittel mit geometrischer Standardabweichung) der Meprininhibitoren mit Sulfonamid- und Amingrundstruktur.

Auf Grundlage der Amingrundstruktur wurden weitere Modifikationen der Substituenten untersucht, was zu einer neuen Klasse von Meprin α -Inhibitoren führte. Durch die Verlängerung der Spacergruppe und der Einführung von Wasserstoffbrückendonatoren wurden Inhibitoren (Abbildung 6, **2b**) im nanomolaren Bereich erzielt, die etwas weniger potent im Vergleich zu Actinonin (Abbildung 5) sind, aber eine hohe Selektivität gegenüber den *off-target*-Metalloproteasen aufweisen.^[16] Für Ovastacin sind bislang noch keine synthetischen Inhibitoren beschrieben worden.

Für die Meprininhibitoren der Strukturklasse der tertiären Amine konnte bereits durch die Einführung unterschiedlicher Substituenten die Selektivität in Richtung Meprin α oder Meprin β moduliert werden. Besonders für die Hemmung von Meprin β werden acide Reste bevorzugt, die aufgrund der hohen Dichte an Argininresten im aktiven Zentrum ionische Wechselwirkungen eingehen können. Eine Kokristallisation von Meprin β mit dem tertiären Amin **2a** (PDB: 7AQ1) zeigte, dass die Benzoessäurereste jeweils zu den Argininresten der S_1 - und S_1' -Bindetasche orientiert sind (Abbildung 7A). Innerhalb der S_1' -Bindetasche scheint jedoch das Arg²³⁸ nicht an der Bindung beteiligt zu sein. Der Benzoessäurerest wird über eine Wasserstoffbrücke mit Ser²¹² und eine über ein Wassermolekül überbrückte Wasserstoffbrücke mit Thr²¹⁴ fixiert (Abbildung 7B). Diese Interaktionen tragen nicht nur zur Bindungsaffinität, sondern auch zur Selektivität gegenüber Meprin α bei. In Meprin α liegen an den Positionen die entsprechende Aminosäuren Gln²¹⁵ und Phe²¹⁷ vor, die aufgrund der raumfüllenden Struktur und der unpolaren Eigenschaft kein Wasserstoffbrücken-Netzwerk ausbilden können und somit zu einer geringeren Hemmaktivität gegenüber Meprin α führen könnten.^[61]

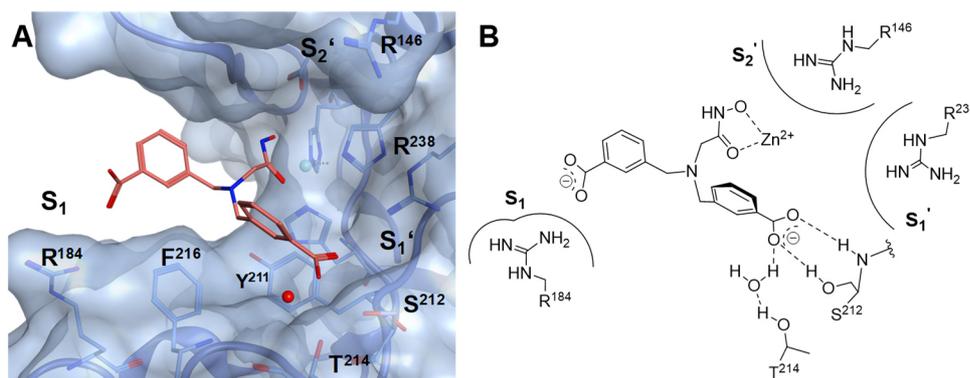


Abbildung 7: A) Aktives Zentrum der Kokristallisation von Meprin β mit Verbindung **2a**, B) schematische 2D-Darstellung des Bindungsmodus von **2a** in Meprin β .

1.4 Mögliche Strategien der Optimierung einer Leitstruktur

Eine Leitstruktur weist bereits eine erwünschte biologische Aktivität auf. Für den therapeutischen Einsatz ist die Struktur nicht ideal, sodass weitere Modifikationen benötigt werden. Durch gezielte strukturelle Abwandlungen einer Leitstruktur können weitere Optimierungen hinsichtlich der Bindungsaffinität, der Selektivität und der pharmakokinetischen Eigenschaften erfolgen. Je nach Molekül und Zielsetzung des Optimierungsprozesses gibt es diverse Strategien zur Modifikation der Struktur. So können beispielsweise hydrophobe bzw. hydrophile Gruppen eingeführt werden, um die Lipophilie zu verändern. Mit der Variation von Substituenten am Aromaten oder Heterozyklus können Auswirkungen auf die Interaktion zum Protein untersucht werden. Variierende Längen von aliphatischen Resten oder Linkerelementen, sowie die Änderung der Größe von Ringsystemen können genutzt werden, um die Dimension der Bindetasche zu erfassen. Ein Austausch bestimmter funktioneller Gruppen gegen sterisch und elektronisch verwandte Gruppen kann von Vorteil sein, um die pharmakokinetische Eigenschaften zu verbessern. Dabei wird der Begriff „Bioisosterer Ersatz“ verwendet, wenn die biologische Wirkung beim Austausch erhalten bleibt.^[62,63] In der Regel wird im Rahmen einer Optimierung zunächst die Bindungsaffinität gegen das entsprechende Targetenzym verbessert. Die Affinität setzt sich aus einem enthalpischen (ΔH) und entropischen Bindungsbeitrag ($T\Delta S$) zusammen (Gleichung 1).

Gleichung 1: Gibbs-Helmholtz-Gleichung

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S = RT \ln K_i$$

Durch chemische Variationen könnten zusätzliche Wechselwirkungen wie Wasserstoffbrücken oder elektrostatische Wechselwirkungen eingebracht werden, die zum Enthalpiegewinn beitragen. Diese enthalpischen Gewinne können jedoch auch von kompensierenden entropischen Verlusten begleitet werden. Hydrophobe Wechselwirkungen sind im Wesentlichen entropischer Natur. Der Entropiegewinn ist dabei auf die Freisetzung von gebundenen Wassermolekülen zurückzuführen. Im Gegensatz dazu führt die Bindung des Liganden am Enzym aufgrund des Verlusts der Freiheitsgrade zu einem Entropieverlust, was sich ungünstig auf die freie Enthalpie ΔG auswirkt.^[62,64] Eine Konformationseinschränkung bzw. Rigidisierung kann als bekannte Strategie des Wirkstoffdesigns angewendet werden, um den entropischen Verlust zu minimieren. Spezifische strukturelle Einschränkungen werden in einer Leitstruktur eingeführt, um die Gesamtzahl der möglichen Konformationen zu reduzieren.^[65] Durch eine Verringerung der konformativen Flexibilität wird die Entropie S bei der Bindung des Liganden am Enzym weniger beeinträchtigt, sodass eine Verbesserung der entropischen Bindungsbeiträge, sowie eine Erhöhung der Bindungsaffinität erzielt werden kann.

1.5 Zielstellung

Die Metalloproteasen der Astacinfamilie sind aufgrund ihrer Beteiligung an zahlreichen Erkrankungen als potentielle Arzneistofftargets von zunehmenden Interesse. Innerhalb der Astacin-Subfamilie stand BMP-1 als antifibrotisches Target in den letzten zwei Jahrzehnten im Fokus der Arzneimittelentwicklung. Seit einigen Jahren gewinnen aber auch die anderen Astacineproteasen – Meprin α , Meprin β und Ovastacin – als potentielle Arzneistofftargets immer mehr an Bedeutung.

Das Ziel dieser Arbeit bestand darin, neuartige Inhibitoren der humanen Astacinproteasen Meprin α und β und Ovastacin darzustellen und zu charakterisieren.

Meprin α und β werden mit zahlreichen Erkrankungen in Verbindung gebracht. Um die therapeutische Relevanz dieser potenziellen Targets zu validieren, werden hochpotente und selektive Inhibitoren benötigt. Ausgehend von den ersten potenten Meprininhibitoren mit einer Amingrundstruktur sollte eine weitere Optimierung der Verbindungen (**3** und **4**) erfolgen (Abbildung 8). Über verschiedene Modifikationen der tertiären Amine sollte zum einen die Selektivität innerhalb der Meprinisoformen moduliert und verbessert werden. Da die tertiären Amine eine hohe konformative Flexibilität aufwiesen, war ein weiteres Ziel, neuartige rigide Grundkörper (**5-7**) mit einer eingeschränkten Konformation zu finden, um eine Erhöhung der Bindungsaffinität zu realisieren. Für die Modulation der inhibitorischen Aktivität sowie der Selektivität innerhalb der zwei Meprinisoformen sollten verschiedene Modifikationen und Derivatisierungen dieser neuartigen Grundkörper (**5-7**) durchgeführt und biochemisch charakterisiert werden.

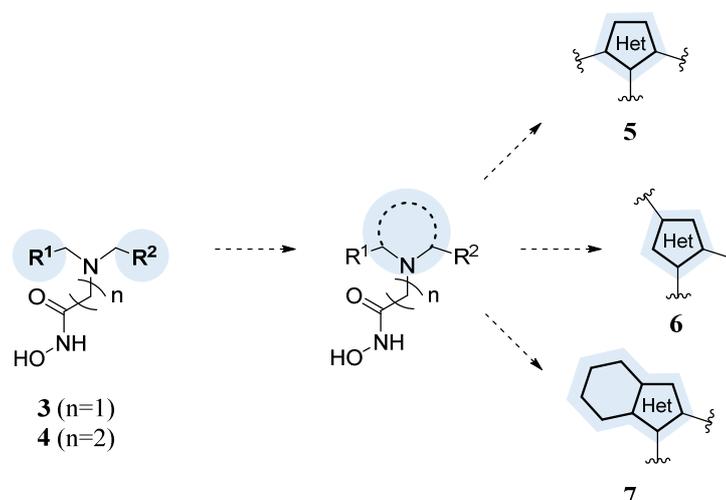


Abbildung 8: Schematische Übersicht der Entwicklung von neuartigen Inhibitoren humaner Astacinproteasen.

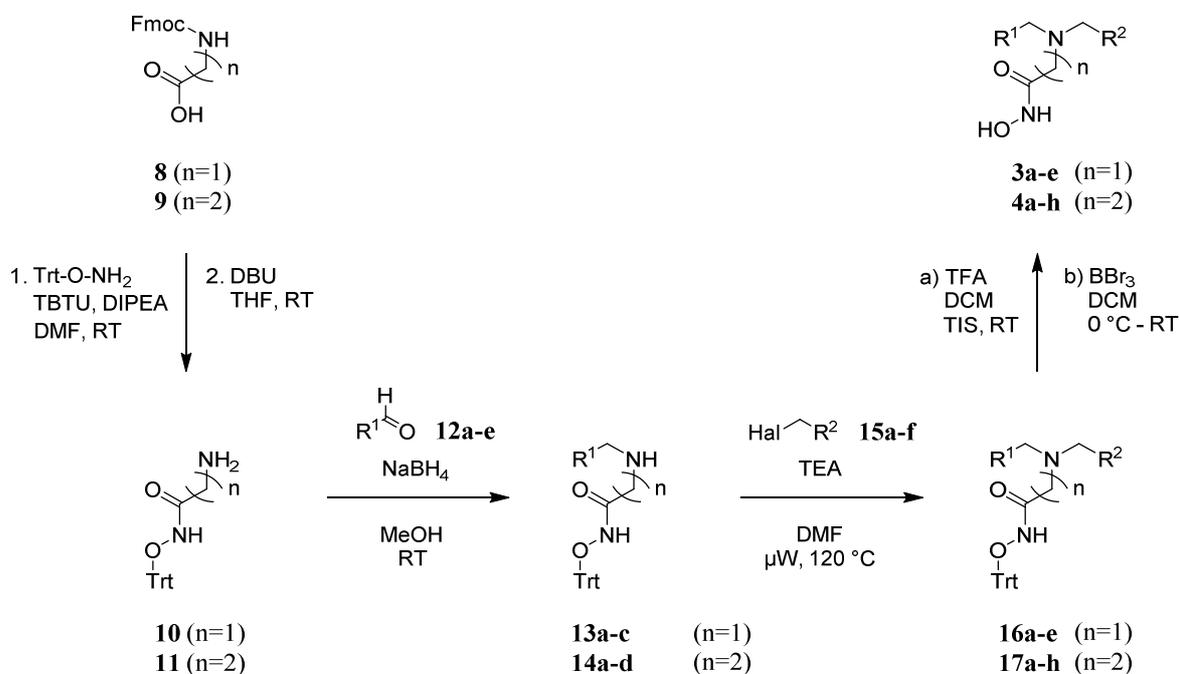
Die Inhibierung von Ovastacin stellt eine neue Behandlungsmöglichkeit für die weibliche Unfruchtbarkeit dar. Da bislang nur Fetuin-B als endogener Inhibitor bekannt ist, war das Ziel, neue kleine Moleküle als Inhibitoren von Ovastacin zu finden. Mit der Darstellung von Ovastacininhibitoren könnte zum einen eine nicht-hormonelle Alternative zu den bisherigen Unfruchtbarkeitsbehandlungen geschaffen werden. Zum anderen könnten solche Inhibitoren zur Steigerung der Befruchtungsrate auch als Zusatz für Kulturmedien in der IVF verwendet werden. Die dargestellten Verbindungen sollten somit auch erstmalig auf die inhibitorische Aktivität gegenüber Ovastacin evaluiert werden.

Für die dargestellten Derivate sollte eine Untersuchung der Struktur-Wirkungsbeziehungen erfolgen. Um einen Einblick in mögliche Bindungsmodi der Verbindungen zu erhalten, war es Gegenstand der Arbeit, Dockingexperimente an den Targetenzymen durchzuführen und anhand der Dockingergebnisse die Bindung der Verbindungen am jeweiligen Enzym zu interpretieren.

2 SYNTHETISCHE ARBEITEN

2.1 Synthese von Derivaten mit Amingrundkörper

Die beschriebenen Inhibitoren aus vorherigen Arbeiten basieren auf einem tertiären Amin als Grundkörper.^[16,58] Ausgehend von diesen Verbindungen wurden weitere Derivate der Gruppe der tertiären Amine dargestellt. Abhängig von der Spacerlänge wurde die Synthese entweder mit Fmoc-Glycin (**8**) oder Fmoc- β -Alanin (**9**) durchgeführt. Im ersten Schritt wurde die tritylgeschützte Hydroxamsäure über eine Kupplungsreaktion der Fmoc-geschützten Aminosäuren mit Tritylhydroxylamin generiert. Das jeweilige primäre Amin (**10** bzw. **11**) wurde nach der Fmoc-Abspaltung mittels 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) erhalten und bildete den Ausgangspunkt für die Synthese der verschiedenen tertiären Aminderivate (Schema 1).



Schema 1: Reaktionsschema zur Darstellung der tertiären Aminderivate.

Die Einführung der unterschiedlichen Substituenten für die Darstellung der asymmetrisch substituierten Amine erfolgte über zwei Reaktionsschritte. Der erste Substituent wurde über eine reduktive Aminierung mit dem jeweiligen Aldehyd (**12**) und Natriumborhydrid (NaBH₄) eingeführt. Im zweiten Schritt konnte das sekundäre Amin (**13** bzw. **14**) mit dem entsprechenden Benzylhalogenid (**15**) zum tertiären Amin (**16** bzw. **17**) alkyliert werden. Da die funktionellen Gruppen von einigen Aldehyden (**12a,c**) und einem Benzylhalogenidderivat (**15d**) geschützt vorlagen, wurden abschließend die entsprechenden Schutzgruppen über verschiedene Möglichkeiten abgespalten. Die Abspaltung der Triphenylmethyl- (Trityl) bzw. *tert*-

Butyloxycarbonylschutzgruppe (Boc) wurde säurekatalysiert mit Trifluoressigsäure (TFA) durchgeführt (Methode a, **16b-d**, **17d-h**). Bei Phenolen, die als Ether geschützt waren, erfolgte die Entschützung mit der Lewis-Säure Bortribromid (BBr_3), die gleichzeitig die Abspaltung der Trityl- bzw. Boc-Schutzgruppe ermöglichte (Methode b, **16a,e**, **17a,b**). Das Aminderivat **17c**, welches sowohl einen Phenol- als auch einen Benzodioxolanrest aufweist, konnte nicht mit Bortribromid behandelt werden, da die im Benzodioxolan integrierte Etherstruktur auch von der Lewis-Säure gespalten werden könnte.

Tabelle 2: Dargestellte Derivate der tertiären Amine

Nr.	n	R ¹	R ²	Nr.	n	R ¹	R ²
3a	1			4c	2		
3b	1			4d	2		
3c	1			4e	2		
3d	1			4f	2		
3e	1			4g	2		
4a	2			4h	2		
4b	2						

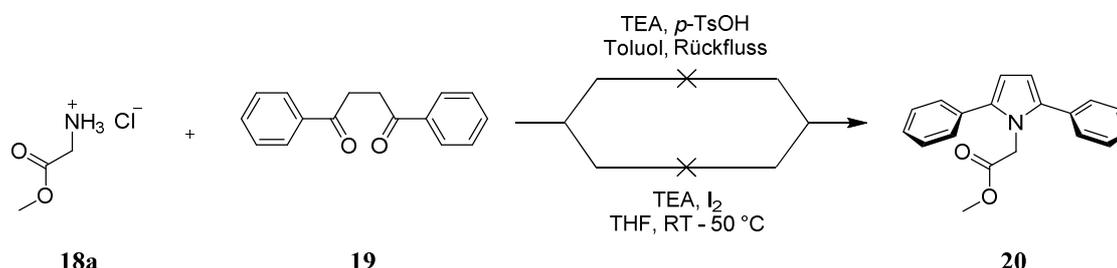
2.2 Synthese von Derivaten mit heteroaromatischem Grundkörper

Ausgehend von der Amingrundstruktur wurden im Rahmen dieser Arbeit Inhibitoren mit einem heteroaromatischen Grundkörper entwickelt, die in ihrer konformativen Flexibilität eingeschränkt sind.

2.2.1 Synthese der monozyklischen heteroaromatischen Derivate

2.2.1.1 Darstellung der 1,2,5-substituierten Pyrrolderivate

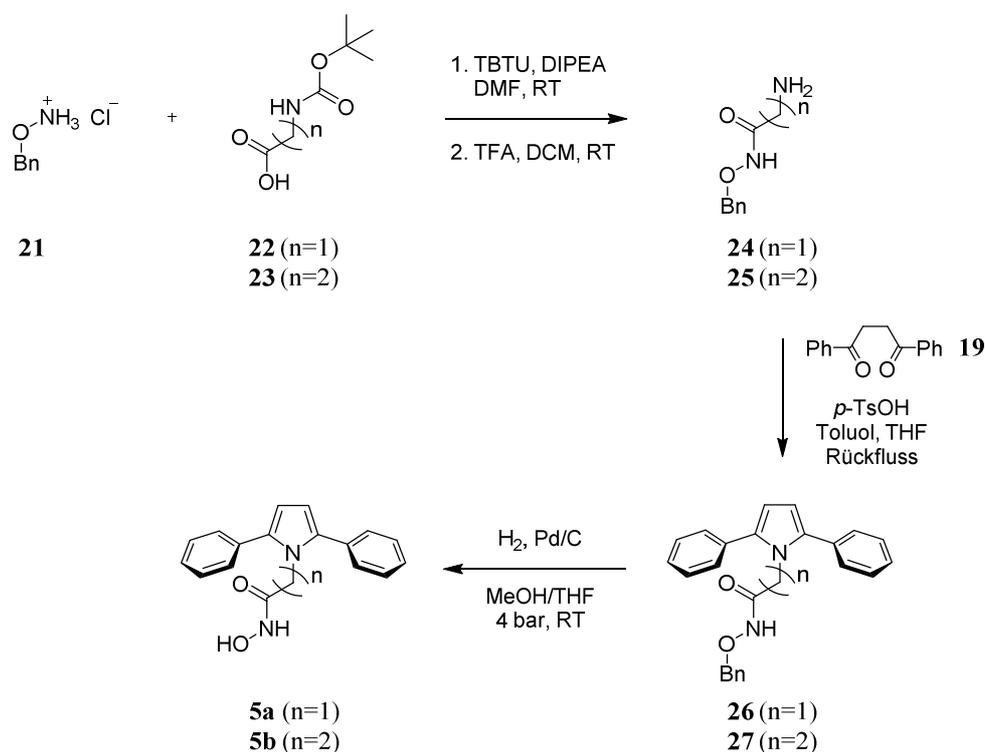
Die klassische PAAL-KNORR-PYRROL-Synthese ist eine etablierte Methode zur Darstellung von polysubstituierten Pyrrolen durch die säurekatalysierte Kondensation von Alkylaminen mit 1,4-Dicarbonylverbindungen.^[66] Die Reaktion kann unter neutralen oder schwach sauren Bedingungen durchgeführt werden. Für die Darstellung des 2,5-Diphenylpyrrolderivats **20** wurde im ersten Versuch Glycinmethylester Hydrochlorid (**18a**) und 1,4-Diphenylbutan-1,4-dion (**19**) mit *p*-Toluolsulfonsäure als sauren Katalysator in Toluol unter Rückfluss erhitzt (Schema 2).^[67] Das Hydrochlorid wurde zuvor mit Triethylamin versetzt, damit Glycinmethylester als freies Amin reagieren kann. Jedoch konnte auch nach einer Reaktionszeit von 48 Stunden nur das Edukt und Spuren des Furans als Nebenprodukt über ESI-MS und HPLC-Chromatogramm detektiert werden.



Schema 2: Säurekatalysierte Cyclokondensation von 1,4-Diphenylbutan-1,4-dion mit Glycinmethylester Hydrochlorid.

Als zweite Variante wurde eine von RYZHKOV *et al.*^[68] beschriebene Methode angewendet, bei der die PAAL-KNORR-PYRROL-Synthese in Gegenwart von katalytischen Mengen Jod durchgeführt wird. Jod fungiert dabei als Lewis-Säure und katalysiert die Reaktion durch die Aktivierung der Carbonylverbindung. Dazu wurde das Glycinmethylester Hydrochlorid (**18a**) erneut mit Triethylamin inkubiert und anschließend mit Jod versetzt (Schema 2). Jedoch ließ sich bei Raumtemperatur nur das Edukt im Ansatz nachweisen. Auch eine Erwärmung des Reaktionsgemischs auf 50 °C war nicht erfolgreich. Eine Umsetzung konnte mittels Dünnschichtchromatographie und HPLC nicht beobachtet werden. Es wurden lediglich nur Spuren des Produkts **20** im Massenspektrum detektiert. Da die Verwendung des Aminhydrochloridsalzes keine zielführende Option für die Darstellung der 1,2,5-substituierten Pyrrolderivate war, wurde die Synthese mit freien Alkylaminen wiederholt (Schema 3). Als Alkylamine wurden

benzylgeschützte Aminohydroxamsäuren (**24** und **25**) dargestellt. Die Darstellung erfolgte je nach Spacerlänge über eine Kupplungsreaktion mit Benzylhydroxylamin Hydrochlorid (**21**) und *N*-Boc-Glycin (**22**) oder *N*-Boc- β -Alanin (**23**). Anschließend wurde die Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure in Dichlormethan abgespalten. Im Gegensatz zum Aminhydrochloridsalz führte die Umsetzung der freien Amine (**24** bzw. **25**) mit 1,4-Diphenylbutan-1,4-dion (**19**) und *p*-Toluolsulfonsäure als sauren Katalysator zu den gewünschten Produkten **26** und **27**.^[67] Durch die Entschützung der Benzylschutzgruppe mittels Hydrierung mit Palladium auf Aktivkohle wurden die Pyrrolderivate **5a** und **5b** erhalten.

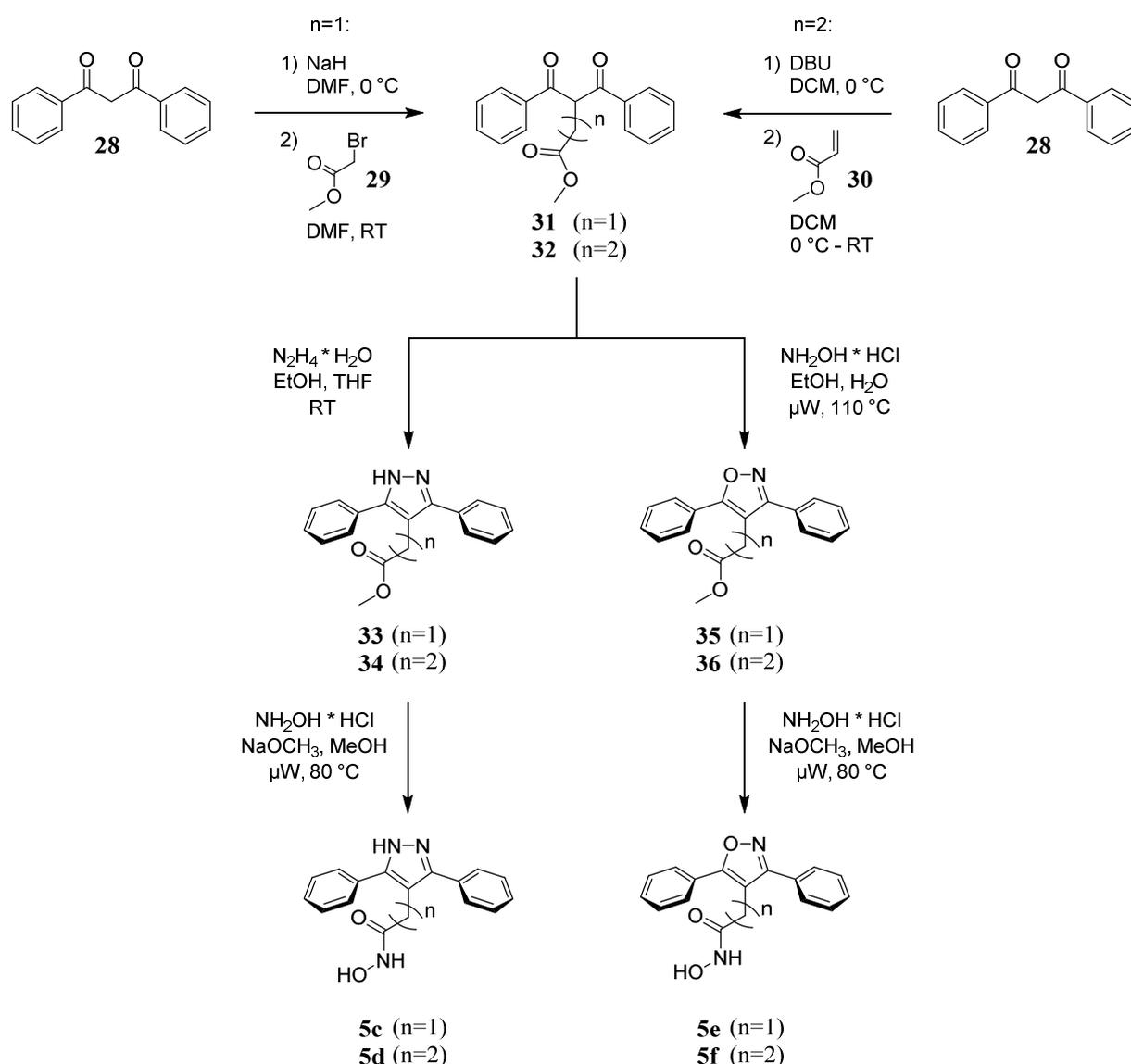


Schema 3: Reaktionsschema zur Darstellung der 2,5-Diphenylpyrrolderivate.

2.2.1.2 Darstellung der 3,4,5-substituierten Pyrazol- und Isoxazolderivate

Die am häufigsten angewandte Methode zur Synthese von substituierten Pyrazolverbindungen ist die sogenannte KNORR-Pyrazol-Synthese, welche von KNORR 1883 erstmalig beschrieben wurde.^[69] Bei dieser Reaktion können Pyrazolderivate durch die Zyklisierung von 1,3-Dicarbonylverbindungen und Hydrazinen dargestellt werden. Analog dazu lassen sich auch Isoxazolderivate über eine Cyclokondensation aus β -Diketonen und Hydroxylamin (CLAISEN-Isoxazol-Synthese) darstellen.^[70] Zur Darstellung der β -Diketonderivate wurden zunächst die entsprechenden Methylester eingeführt (Schema 4). Während die Alkylierungsreaktion des 1,3-Diphenylpropan-1,3-dions (**28**) mit Natriumhydrid und Bromessigsäuremethylester (**29**) zur gewünschten Verbindung **31** führte, konnte bei der

Darstellung des längeren Analogons **32** unter gleichen Reaktionsbedingungen nur sehr geringe Ausbeuten erzielt werden. Dies lässt sich mit der Eliminierung von HBr aus Brompropansäuremethylester (**29**) zu Methylacrylat als mögliche Konkurrenzreaktion in Gegenwart von Natriumhydrid als starke Base begründen. Alternativ wurde die MICHAEL-Addition angewendet, welche zu einer höheren Ausbeute von Verbindung **32** führte. Dabei konnte das CH-acide 1,3-Diketon (**28**) und Methylacrylat (**30**) als Michael-Akzeptor unter Verwendung von 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) zum gewünschten Produkt **32** umgesetzt werden.^[71] Im Unterschied zur Alkylierung von Enolaten mit Alkylhalogeniden ist bei der MICHAEL-Addition nur eine katalytische Menge an Base, in dem Fall DBU, notwendig.



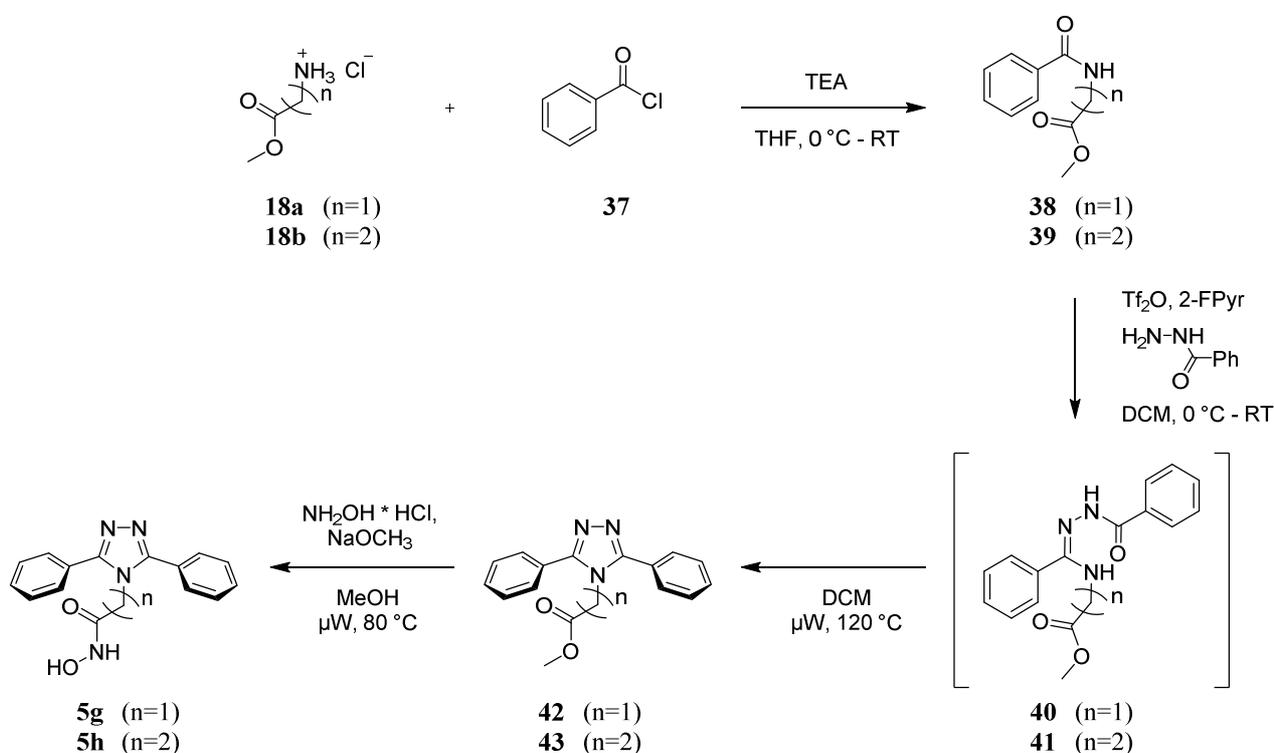
Schema 4: Reaktionsschema zur Darstellung der 3,5-Diphenylpyrazol- und 3,5-Diphenylisoxazol-derivate.

Der nächste Syntheseschritt war die Zyklisierung der 1,3-Dicarbonylverbindungen zum jeweiligen Pyrazol- oder Isoxazol-Heteroaromaten. Die 3,5-Diphenylpyrazolderivate (**33** bzw. **34**) waren

über eine Cyclokondensation der entsprechenden 1,3-Diketonderivate (**31** bzw. **32**) mit Hydrazin Monohydrat synthetisch zugänglich. Hinsichtlich der 3,5-Diphenylisoxazolderivate (**35** bzw. **36**) war die Umsetzung der 1,3-Diketone (**31** bzw. **32**) mit Hydroxylaminhydrochlorid unter neutralen Bedingungen ohne Einsatz von Base möglich.^[72] Im letzten Schritt erfolgte die Umsetzung aller Esterderivate (**33-36**) zur Hydroxamsäure (**5c-f**) mit Hydroxylaminhydrochlorid und Natriummethanolat.

2.2.1.3 Darstellung der 3,4,5-substituierten 1,2,4-Triazolderivate

Für die Darstellung von substituierten 1,2,4-Triazolen sind eine Reihe an Synthesestrategien bekannt. Die am häufigsten untersuchten Synthesewege beinhalten die Cyclodehydratisierung von *N*-Acylamidrazonderivaten, die sich aus verschiedenen Präkursoren wie z.B. Amiden, Amidrazonen, *N'*-Acetyl-*N,N*-dimethylhydrazonamiden und Oxadiazolen darstellen lassen.^[73] Eine Darstellungsmöglichkeit des 1,2,4-Triazols über die *N*-Acylamidrazonzwischenstufe basiert auf den Arbeiten von BECHARA *et al.*, die eine *one-pot*-Synthese aus sekundären Amiden und Hydraziden beschreiben.^[74] Hierbei wurden zunächst die jeweiligen sekundären Benzamidderivate (**38** bzw. **39**) aus Glycinmethylester Hydrochlorid (**18a**) bzw. β -Alaninmethylester Hydrochlorid (**18b**) und Benzoylchlorid (**37**) dargestellt und für die nachfolgende *one-pot*-Synthese verwendet (Schema 5).

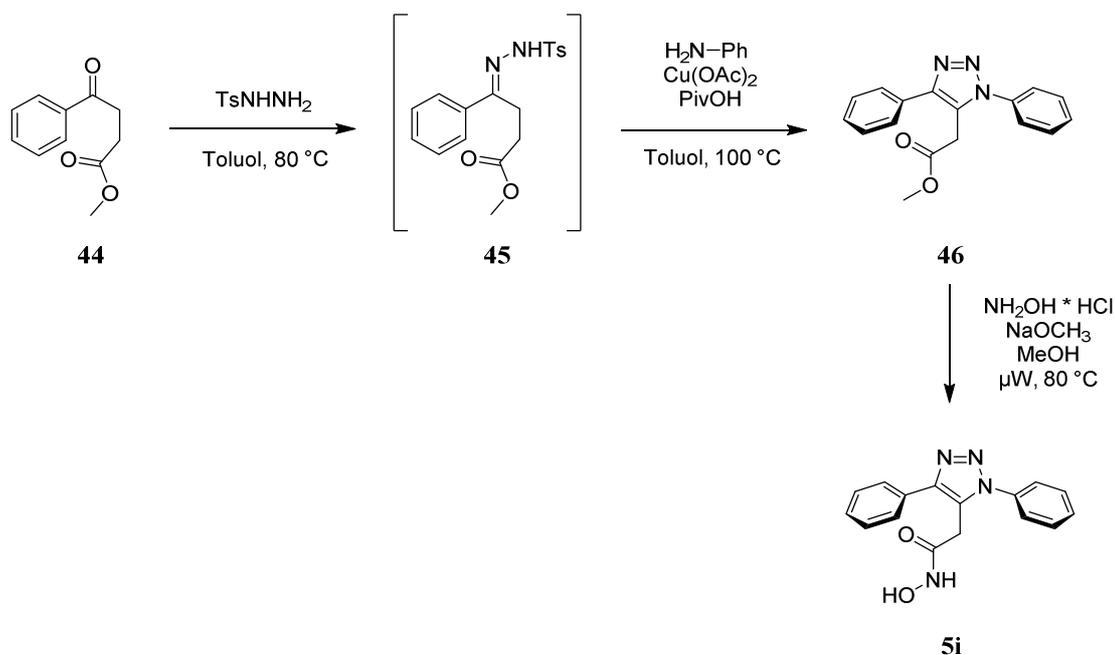


Schema 5: Reaktionsschema zur Darstellung der 3,4,5-substituierten 1,2,4-Triazolderivate.

Nach der Aktivierung des jeweiligen Benzamidderivats (**38** bzw. **39**) mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid in Gegenwart der Base 2-Fluorpyridin und der Zugabe des Benzhydrazids zum *N*-Acylamidrazon (**40** bzw. **41**) folgte eine mikrowelleninduzierte Cyclodehydratisierung zum entsprechenden 1,2,4-Triazolderivat (**42** bzw. **43**). Die Umsetzung der Methylesterfunktion zur Hydroxamsäure stellte den letzten Reaktionsschritt dar, um die Hydroxamsäuren der Zielverbindungen **5g** und **5h** zu erhalten.

2.2.1.4 Darstellung des 1,4,5-substituierten 1,2,3-Triazolderivats

Die Synthese des 1,2,3-Triazolderivats erfolgte nach den Arbeiten von CHEN *et al.*, die eine Kupfer-vermittelte Synthese von 1,2,3-Triazolen aus *N*-Tosylhydrazon und Anilin beschreiben, bei der auf den Einsatz von Natriumazid bzw. organischem Azid wegen der bestehenden Toxizität und Explosionsgefahr verzichtet wird (Schema 6).^[75]

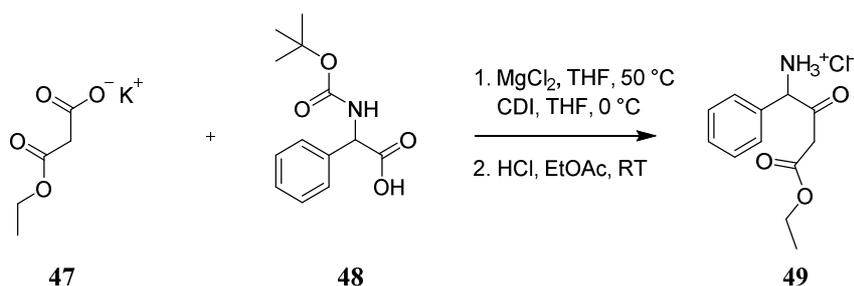


Schema 6: Reaktionsschema zur Darstellung der 1,4,5-substituierten 1,2,3-Triazolderivate.

Das entsprechende *N*-Tosylhydrazon **45** wurde durch die Reaktion von *p*-Toluolsulfonsäurehydrazid mit 3-Benzoylpropionsäuremethylester (**44**) in Toluol bei 80 °C erhalten. Der Reaktionsverlauf wurde mittels Dünnschichtchromatographie und ESI-MS verfolgt. Dabei konnte nach zwei Stunden eine vollständige Umsetzung der Edukte festgestellt werden. Ohne Isolierung des Zwischenprodukts **45** konnte das 1,4-Diphenyl-1,2,3-triazolderivat **46** durch Zugabe von Anilin, Kupfer(II)-acetat und Pivalinsäure regioselektiv dargestellt werden. Der letzte Reaktionsschritt umfasste die Umsetzung der Methylesterzwischenstufe **46** zur Hydroxamsäure (**5i**) unter Verwendung von Hydroxylaminhydrochlorid und Natriummethanolat.

2.2.1.5 Darstellung des 1,4,5-substituierten Imidazolderivats

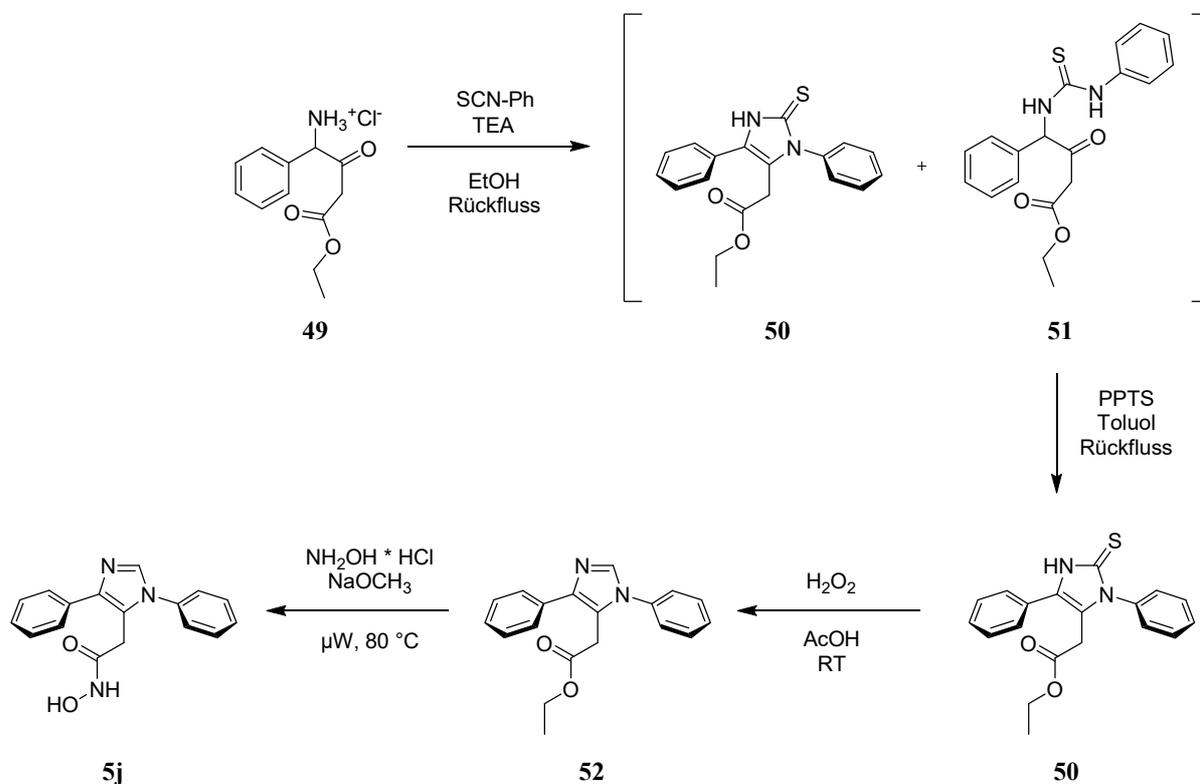
Die Synthese des 1,4,5-substituierten Imidazolderivats basiert auf einer von XI *et al.* beschriebenen Methode.^[76] Die regioselektive Darstellung von *N*-substituierten Imidazolderivaten beruht auf der MARCKWALD-Synthese.^[77] Hierbei handelt es sich um die Zyklisierung eines α -Aminocarbonylderivats mit Isothiocyanat, die zu einem zyklischen Thioharnstoffderivat führt. Die verschiedenen Substituenten am Imidazol können über die jeweiligen Reste des α -Aminocarbonylderivats und des Isothiocyanats regioselektiv eingeführt werden. Während des Desulfurierungsschritts des zyklischen Thioharnstoffs zum Imidazol bleibt die Regioselektivität erhalten. Für die Synthese des 1,4,5-substituierten Imidazolderivats wurde zunächst ein β -Keto- γ -aminoester als α -Aminocarbonylderivat dargestellt, sodass die Methylesterfunktion an Position 5 des Imidazols eingeführt werden konnte. Dazu wurde die Carboxylgruppe des Boc-Phenylglycins (**48**) mit 1,1'-Carbonyldiimidazol (CDI) aktiviert und anschließend über eine *C*-Acylierung mit dem Kaliumsalz des Monoethylmalonats (**47**) umgesetzt (Schema 7).^[78] Die Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mit Chlorwasserstoff (HCl) in Ethylacetat lieferte das Aminsalz (**49**) als weißen Feststoff.



Schema 7: Reaktionsschema zur Darstellung des β -Keto- γ -Aminoesters.

Die Zyklisierung zum Thioharnstoff nach der MARCKWALD-Synthese erfolgte mit Phenylisothiocyanat und Triethylamin in Ethanol (Schema 8). Dieser Reaktionsschritt führte jedoch zu einem 1:1 Gemisch aus zyklischem (**50**) und azyklischem (**51**) Thioharnstoffderivat, welches anhand des Massenspektrums und HPLC-Chromatogramms detektiert werden konnten. Auch XI *et al.* berichten über die Beobachtung von sowohl zyklischen als auch azyklischen Thioharnstoffen bei der Verwendung bestimmter Isothiocyanatderivate.^[76] Als effektive Methode wird der Einsatz von Pyridinium-*p*-toluolsulfonat (PPTS) zur Katalyse der Cyclodehydratisierung des azyklischen Thioharnstoffs beschrieben. Ohne Isolierung der zyklischen (**50**) und azyklischen (**51**) Thioharnstoffzwischenprodukte wurde das Gemisch mit PPTS versetzt und in Toluol unter Rückfluss erhitzt, wobei eine vollständige Umsetzung des azyklischen Thioharnstoffs **51** zum zyklischen Produkt **50** beobachtet werden konnte. Es folgte der Desulfurierungsschritt des Thioharnstoffderivats **50** zum Imidazolesterderivat **52**, welcher unter oxidativen Bedingungen mit

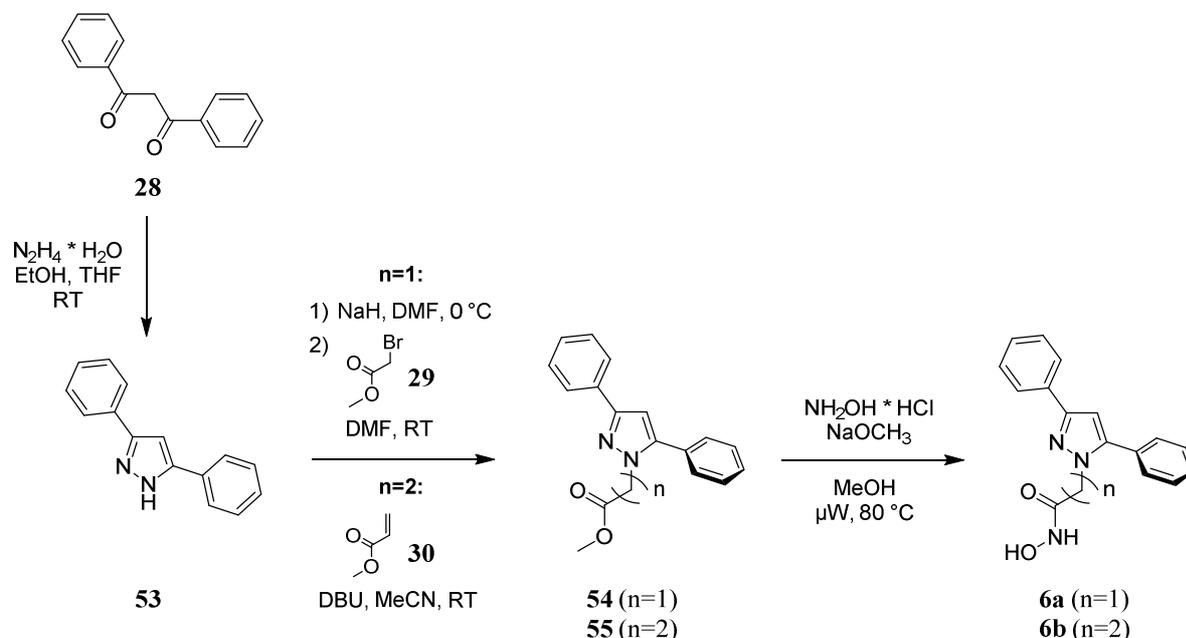
Wasserstoffperoxid in Eisessig durchgeführt wurde.^[79] Das Endprodukt **5j** wurde durch die Umsetzung des Methylesters zur Hydroxamsäure mit Hydroxylaminhydrochlorid und Natriummethanolat erhalten.



Schema 8: Reaktionsschema zur Darstellung des 1,4,5-substituierten Imidazolderivats.

2.2.1.6 Darstellung der 1,3,5-substituierten Pyrazolderivate

Im Abschnitt 2.2.1.2 wurde bereits die Darstellung von 3,5-Diphenylpyrazolderivaten beschrieben, bei der an Position 4 des Heteroaromaten die Hydroxamsäurefunktion eingeführt wurde. Für das initiale Screening der verschiedenen heteroaromatischen Grundkörper kann mit der Darstellung von 1,3,5-substituierten Pyrazolderivaten eine weitere Variante der Konformation untersucht werden, bei der die Hydroxamsäurefunktion an Position 1 eingeführt ist. Das 3,5-Diphenylpyrazol (**53**) war über die Zyklisierung von 1,3-Diphenylpropan-1,3-dion (**28**) mit Hydrazin Monohydrat zugänglich. Anschließend folgte die Alkylierung des freien Stickstoffs am Pyrazol. Bei der Darstellung des Pyrazolderivats **54** mit einem C_1 -Spacer wurde die Methylesterfunktion über N -Alkylierung mit Natriumhydrid als Base und Bromessigsäuremethylester (**29**) eingeführt. Das Analogon **55** mit verlängerter Spacergruppe wurde mit Hilfe einer AZA-MICHAEL-Addition dargestellt.^[80] Dabei wurde das 3,5-Diphenylpyrazol (**53**) mit Methylacrylat (**30**) und katalytischen Mengen an DBU umgesetzt. Anschließend erfolgte bei beiden Methylesterzwischenstufen **54** und **55** die Umsetzung mit Hydroxylaminhydrochlorid und Natriummethanolat zu den finalen Hydroxamsäurederivaten **6a** und **6b** (Schema 9).

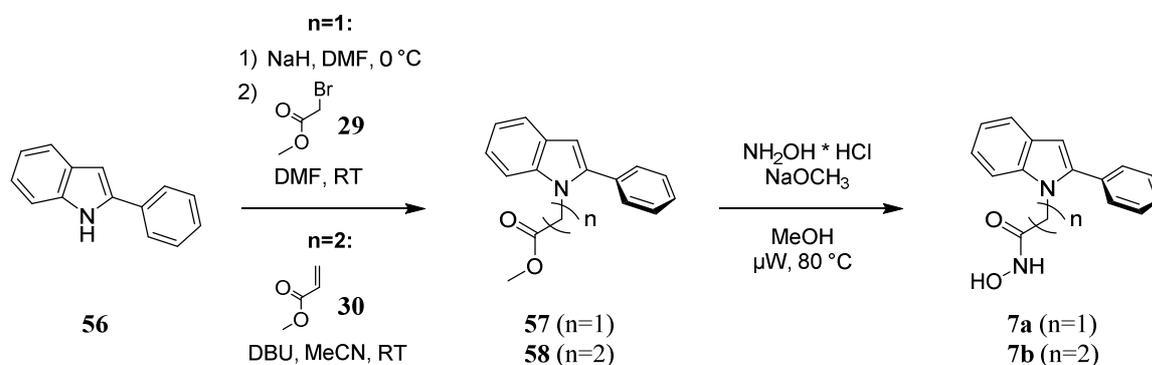


Schema 9: Reaktionsschema zur Darstellung der 1,3,5-substituierten Pyrazolderivate.

2.2.2 Synthese der anellierten heteroaromatischen Derivate

2.2.2.1 Darstellung der *N*-substituierten 2-Phenylindolderivate

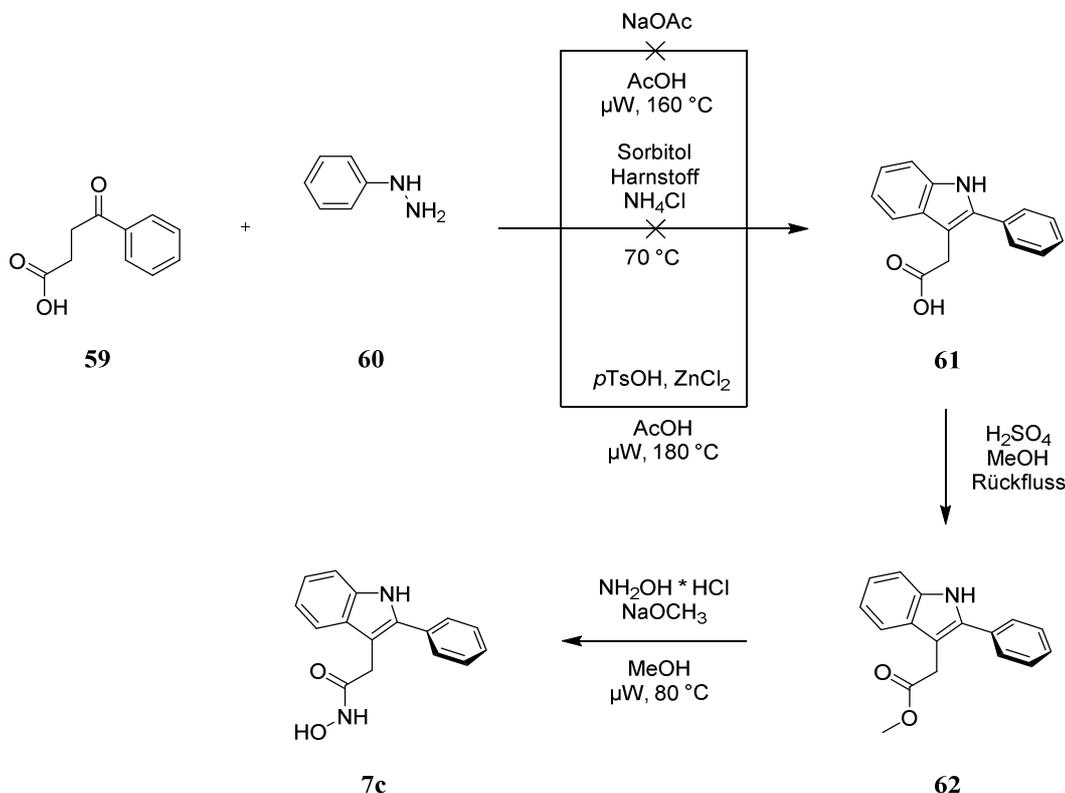
Für die Darstellung der *N*-substituierten 2-Phenylindolderivate konnte auf das kommerziell erhältliche 2-Phenylindol (**56**) als Ausgangsstoff zurückgegriffen werden. Die Einführung der Methylesterfunktion erfolgte entweder über eine Alkylierungsreaktion mit Bromessigsäuremethylester (**29**) und Natriumhydrid für das Derivat **57** mit einem C_1 -Spacer oder über eine AZA-MICHAEL-Addition^[80] mit Methylacrylat (**30**) und DBU für Verbindung **58** mit einem C_2 -Spacer. Die Methylesterintermediate **57** und **58** wurden im letzten Schritt zur Hydroxamsäure durch Hydroxyaminolyse umgesetzt, um die jeweiligen 2-Phenylindolderivate **7a** und **7b** zu erhalten.



Schema 10: Reaktionsschema zur Darstellung der *N*-substituierten 2-Phenylindolderivate.

2.2.2.2 Darstellung des 3-substituierten 2-Phenylindolderivats

Die weitverbreitetste Methode zur Darstellung von Indolen ist die FISCHER-Indol-Synthese, die erstmalig 1883 von FISCHER entwickelt wurde.^[81] Die Reaktion ermöglicht die Bildung von Indolen aus Arylhydrazinen und Ketonen oder Aldehyden in Gegenwart eines sauren Katalysators. Zur Darstellung des 2-Phenylindolderivats wurde zunächst eine Mikrowellenreaktion ausgehend von 3-Benzoylpropionsäure (**59**) und Phenylhydrazin (**60**) in Gegenwart von Natriumacetat und Eisessig durchgeführt (Schema 11).^[82] Mittels Dünnschichtchromatographie und analytischer HPLC konnte die Umsetzung der Edukte detektiert werden. Allerdings war das Produkt im Massenspektrum nicht nachweisbar. Zudem konnte mittels ¹H-Kernspinresonanzspektroskopie bestimmt werden, dass kein Indolderivat dargestellt wurde. Vermutlich wurde nur die Arylhydrazonzwischenstufe isoliert, die vor dem eigentlichen Ringschluss aus Phenylhydrazin und dem entsprechenden Keton gebildet wird. Bei einem weiteren Versuch wurde eine Methode von GORE *et al.* angewendet, bei der die Darstellung von Indolen unter milden Bedingungen in niedrig schmelzenden Gemischen realisiert wird.^[83] Für die Schmelze wurden Sorbitol, Harnstoff und Ammoniumchlorid auf 70 °C erwärmt. Diese dienten nicht nur als Lösungsmittel, sondern auch als Katalysatoren. Jedoch konnte bei dieser Variante nur die Arylhydrazonzwischenstufe isoliert werden.

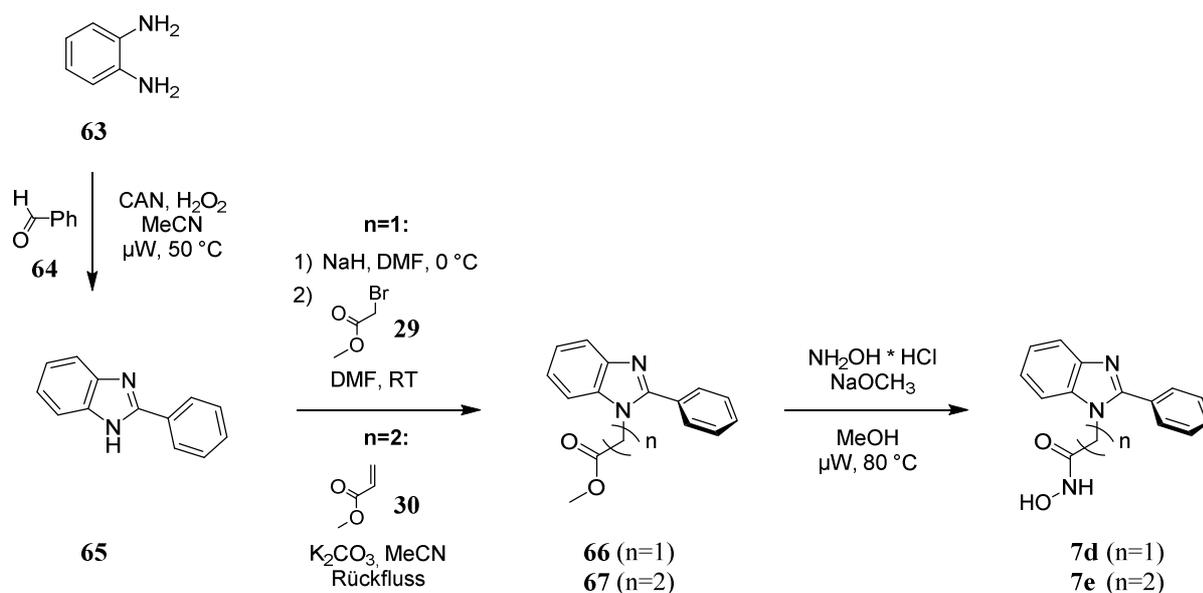


Schema 11: Reaktionsschema zur Darstellung des 3-substituierten 2-Phenylindolderivats.

Die Verwendung von *p*-Toluolsulfonsäure (*p*TsOH) als Brønsted-Säure und Zinkchlorid als Lewis-Säure führte letztlich zum gewünschten Produkt (Schema 11).^[84] Dabei konnte neben dem Arylhydrazonderivat zusätzlich das cyclisierte Indolprodukt **61** als überwiegender Teil detektiert werden. Nach der chromatographischen Aufreinigung folgte die Veresterung der freien Carbonsäure, sodass im letzten Reaktionsschritt das Methylesterintermediat **62** mit Hydroxylaminhydrochlorid und Natriummethanolat mittels Mikrowellensynthese zur Hydroxamsäure der Zielverbindung **7c** umgesetzt werden konnte.

2.2.2.3 Darstellung der *N*-substituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate

Benzimidazole sind wichtige Grundkörper im Bereich der medizinischen Chemie, die in mehreren bekannten potenten Wirkstoffen wie Protonenpumpenhemmern (z.B. Omeprazol)^[85] oder Antihelminthika (z.B. Albendazol)^[86] wiederzufinden sind. Aufgrund dieser Relevanz des Benzimidazols als Pharmakophor wurden bereits umfangreiche Untersuchungen zu verschiedenen Synthesestrategien durchgeführt. Eine Möglichkeit zur Darstellung von 2-Phenylbenzimidazolen ist die Cyclokondensation von *o*-Phenyldiaminen mit Aldehyden.^[87] Die Kondensation von *o*-Phenyldiaminen und Aldehyden erfordert ein oxidatives Reagenz zur Erzeugung des Benzimidazolkerns. Dazu können verschiedene Reagenzien wie Kupfer(II)-acetat, Natriumdisulfit, Nitrobenzol und auch Luft verwendet werden.^[88] Eine milde und elegante Variante zur Synthese von 2-Phenylbenzimidazolen wurde von BAHRAMI *et al.* publiziert. Hierbei wird die Oxidation der Schiffschen Base durch Ammoniumcer(IV)-nitrat (CAN) in Gegenwart von Wasserstoffperoxid (H₂O₂) katalysiert.^[89]

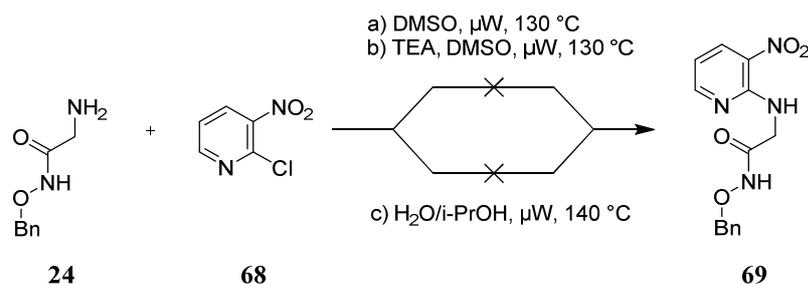


Schema 12: Reaktionsschema zur Darstellung der *N*-substituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate.

In Anlehnung an BAHRAMI *et al.* wurden für die Synthese des 2-Phenylbenzimidazols (**65**) Ammoniumcer(IV)-nitrat als Oxidationsmittel und H₂O₂ als Katalysator verwendet. Die Umsetzung des Benzaldehyds (**64**) und *o*-Phenylendiamins (**63**) in Acetonitril bei 50 °C mittels Mikrowellensynthese führte zum gewünschten Produkt (Schema 12). Die Einführung der Methylesterfunktion erfolgte entweder über eine *N*-Alkylierung mit Natriumhydrid und Bromessigsäuremethylester (**29**) in Dimethylformamid zur Darstellung von Verbindung **66** oder im Fall des Analogons **67** mit C₂-Spacer über eine MICHAEL-Addition mit Methylacrylat (**30**) in Gegenwart von Kaliumcarbonat in Acetonitril.^[90] Der letzte Syntheseschritt war die Umsetzung der Methylesterintermediate **66** und **67** zur Hydroxamsäure mit Hydroxylaminhydrochlorid und Natriummethanolat, um die finalen 2-Phenylbenzimidazol-derivate **7d** und **7e** zu erhalten.

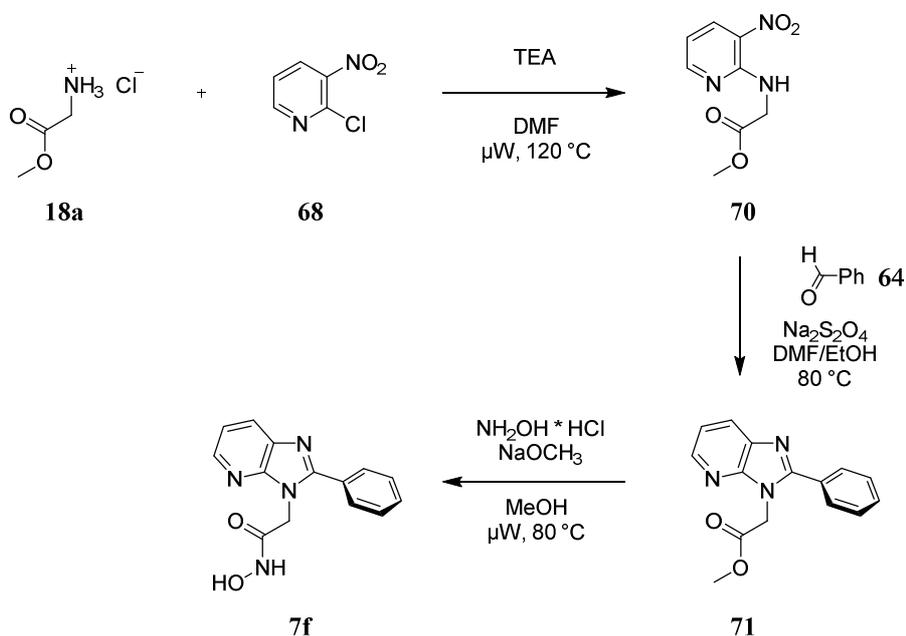
2.2.2.4 Darstellung der *N*-substituierten 2-Phenylimidazo[4,5-*b*]pyridinderivate

Die bekanntesten Ansätze zur Darstellung von Imidazo[4,5-*b*]pyridinen beinhalten Cyclokondensationsreaktionen von 2,3-Diaminopyridinen mit Carbonsäuren oder mit Aldehyden unter oxidativen Bedingungen.^[91] Jedoch ist es eine Herausforderung *N*-substituierte Imidazo[4,5-*b*]pyridine ausgehend von der unsubstituierten Form regioselektiv darzustellen, da die direkte Alkylierung von unsubstituierten Imidazo[4,5-*b*]pyridinen zu einem Gemisch aus Regioisomeren führt.^[92] Nach den Arbeiten von YANG *et al.* kann eine regioselektive Darstellung von *N*3-substituierten Imidazo[4,5-*b*]pyridinderivaten über eine reduktive Zyklisierung aus 2-Amino-3-nitropyridin und einem Aldehyd ermöglicht werden.^[93] Der wesentliche Punkt der regioselektiven Synthese ist die Verwendung eines Pyridins mit einer zuvor eingeführten *N*-Alkylgruppe bei der Zyklisierungsreaktion zum gewünschten Imidazo[4,5-*b*]pyridin. Das jeweilige *N*-substituierte 2-Amino-3-nitropyridin kann mittels einer nukleophilen aromatischen Substitution aus 2-Chloro-3-nitropyridin (**68**) und dem entsprechenden primären Amin erhalten werden. Die Reaktion wurde zunächst mit einer benzylgeschützten Aminohydroxamsäure **24** als Amin durchgeführt. Das Erhitzen des primären Amins **24** und des 2-Chloro-3-nitropyridins (**68**) in Dimethylsulfoxid führte jedoch nicht zur Umsetzung zum gewünschten *N*-substituierten 2-Amino-3-nitropyridinprodukt **69** (Schema 13).^[93] Auch nach Zugabe der Base Triethylamin und weiterem Erhitzen des Reaktionsgemischs konnten nur die beiden Edukte detektiert werden. Bei der Verwendung von Wasser-Isopropanol^[94] als Lösungsmittelgemisch konnte auch keine Umsetzung der Ausgangsstoffe beobachtet werden. Die benzylgeschützte Aminohydroxamsäure **24** scheint somit für die nukleophile aromatische Substitution nicht geeignet zu sein.



Schema 13: Darstellungsversuche des *N*-substituierten 2-Amino-3-nitropyridins.

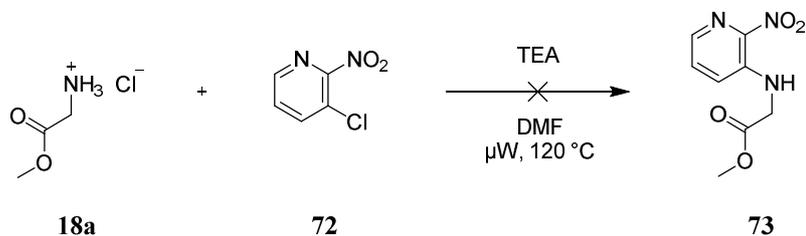
Alternativ wurde die Reaktion mit Glycinmethylester Hydrochlorid (**18a**) und der Hilfsbase Triethylamin in Dimethylformamid als Mikrowellenreaktion durchgeführt (Schema 14).^[95] Das substituierte 2-Amino-3-nitropyridinzwischenprodukt **70** konnte ohne Probleme dargestellt und ohne chromatographische Reinigung weiterverwendet werden. Die reduktive Zyklisierung des 2-Amino-3-nitropyridinderivats **70** mit Benzaldehyd (**64**) fand nach der Methode von YANG *et al.* unter Verwendung von Natriumdithionit als Reduktionsmittel statt.^[93] Die Methylesterfunktion des zyklisierten 2-Phenylimidazo[4,5-*b*]pyridins **71** wurde im letzten Schritt mit Hydroxylaminhydrochlorid und Natriummethanolat mittels Mikrowellensynthese zur Hydroxamsäure (**7f**) umgesetzt.



Schema 14: Reaktionsschema zur Darstellung des *N*3-substituierten 2-Phenylimidazo[4,5-*b*]pyridinderivats.

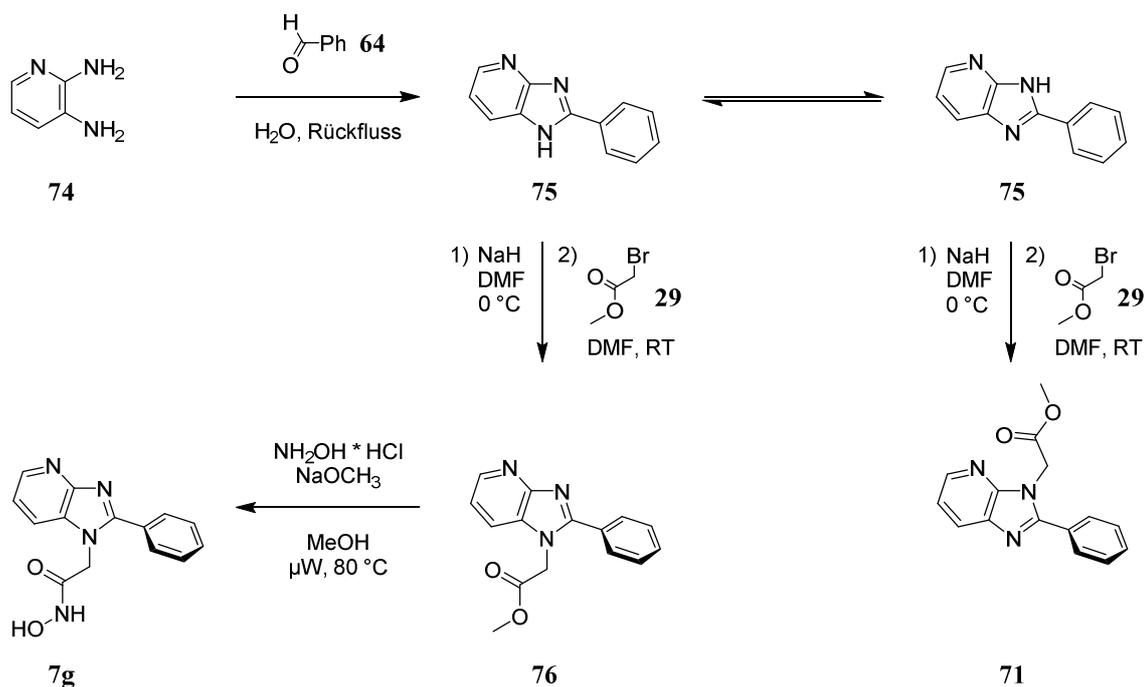
Die Synthese des *N*1-substituierten 2-Phenylimidazo[4,5-*b*]pyridinderivats sollte analog zum *N*3-substituierten 2-Phenylimidazo[4,5-*b*]pyridinisomer über die reduktive Zyklisierung des entsprechenden *N*-alkylierten Aminonitropyridins und des Benzaldehyds erfolgen.^[93] Für die Darstellung des *N*-alkylierten 3-Amino-2-nitropyridins ist eine nukleophile aromatische Substitution in 3-Position des Pyridins notwendig. Ausgehend vom 3-Chloro-2-nitropyridin (**72**)

konnte jedoch keine Umsetzung beobachtet werden (Schema 15), da die 3-Position des Pyridins weniger für die Reaktion bevorzugt wird. Nukleophile aromatische Substitutionen am Pyridin laufen in der Regel an der 2- und 4-Position ab, da nach Angriff des Nucleophils die negative Ladung effektiv an der Stickstoffposition delokalisiert und dadurch besser stabilisiert wird.



Schema 15: Darstellungsversuch des *N*-alkylierten 3-Amino-2-nitropyridinderivats.

Schließlich wurde ausgehend von 2,3-Diaminopyridin (**74**) und Benzaldehyd (**64**) das unsubstituierte 2-Phenylimidazo[4,5-*b*]pyridin (**75**) über eine Cyclokondensation dargestellt (Schema 16). Nach einer Vorschrift von KALE *et al.* ist für die Reaktion oxidativer Luftsauerstoff ausreichend und kein zusätzliches Oxidationsmittel notwendig.^[96]



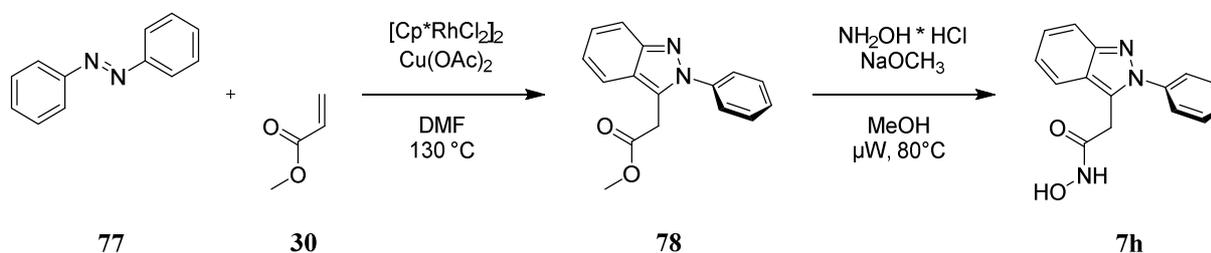
Schema 16: Reaktionsschema zur Darstellung des *N*1-substituierten 2-Phenylimidazo[4,5-*b*]pyridinderivats.

Da das Imidazo[4,5-*b*]pyridinderivat **75** unsubstituiert vorliegt, können zwei tautomere Formen auftreten. Die nachfolgende *N*-Alkylierung mit Bromessigsäuremethylester (**29**) führte demzufolge zu einem Gemisch aus zwei Regioisomeren (**71** und **76**). Da sich das Elutionsverhalten beider Isomere stark unterschieden hat und die analytischen Eigenschaften des *N*3-Regioisomers **71** als Vergleich bereits bekannt waren, konnte das *N*1-Regioisomer **76** ohne Probleme isoliert

werden. Abschließend konnte die Methylesterfunktion von **76** über eine Mikrowellenreaktion mit Hydroxylaminhydrochlorid zur Hydroxamsäure (**7g**) umgesetzt werden.

2.2.2.5 Darstellung des 3-substituierten 2-Phenylindazolderivats

Indazole lassen sich über eine Vielzahl an Synthesemethoden darstellen. Für die Darstellung des 3-substituierten 2-Phenylindazolderivats wurde die Methode der Arbeiten von *CAI et al.* verwendet.^[97] Sie beschreiben eine selektive Umsetzung über eine Rhodium-katalysierte C-H-Funktionalisierung von Azobenzolen zu Indazolen. Die Reaktion ausgehend von Azobenzol (**77**) und Methylacrylat (**30**) ermöglicht den Aufbau des Indazolgerüsts (**78**) mit bereits eingeführter Phenylgruppe in 2-Position und Methylesterfunktion in 3-Position des Indazols (Schema 17).



Schema 17: Reaktionsschema zur Darstellung des 3-substituierten 2-Phenylindazolderivats.

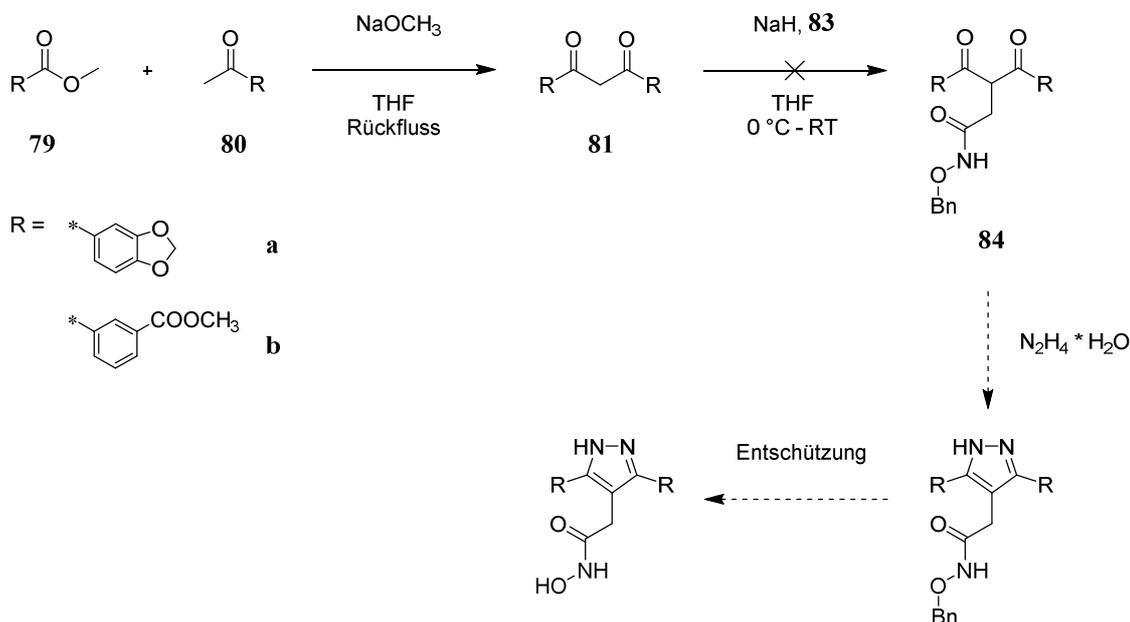
Dabei sind zum einen $[\text{Cp}^*\text{RhCl}_2]_2$ als Katalysator und Kupfer(II)-acetat als Oxidationsmittel entscheidend für eine erfolgreiche Umsetzung. Um das finale Produkt **7h** zu erhalten, wurde wie bereits in den vorherigen Abschnitten beschrieben die Methylesterfunktion zur Hydroxamsäure über Hydroxylaminolyse umgesetzt.

2.3 Synthese der Pyrazolderivate mit Strukturvariationen der Substituenten

2.3.1 Synthese von 3,4,5-substituierten Pyrazolderivaten mit Variation an 3- und 5-Position

2.3.1.1 Darstellungsversuche der 3,4,5-substituierten Pyrazolderivate über CLAISEN-Kondensation und anschließender C-Alkylierung

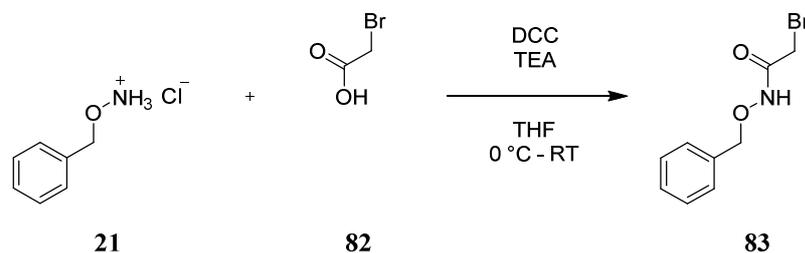
Wie in Abschnitt 2.2.1.2 beschrieben, lassen sich Pyrazolderivate über eine Cyclocondensation aus 1,3-Diketonen mit Hydrazinen darstellen. Die Modifikation der Phenylreste in 3- und 5-Position des Pyrazols erfolgt über die Variation der jeweiligen Reste des 1,3-Diketonderivats. Die Synthese der aromatischen 1,3-Diketonderivate **81a** und **81b** war über eine gekreuzte CLAISEN-Kondensation aus dem entsprechend substituierten Benzoesäuremethylester- (**79a** bzw. **79b**) und Acetophenonderivat (**80a** bzw. **80b**) möglich (Schema 18).^[98] Während bei der klassischen CLAISEN-Kondensation die Reaktion zwischen zwei enolisierbaren Estern stattfindet, werden bei der gekreuzten Variante ein enolisierbares Ester- bzw. Ketonderivat und ein nicht-enolisierbarer Ester verwendet. Die Deprotonierung des Acetophenons in α -Position zur Carbonylgruppe und damit die Bildung des Enolats erfolgte mittels der Base Natriummethanolat.



Schema 18: Darstellungsversuch der 3,4,5-substituierten Pyrazolderivate mit Variation an Position 3 und 5.

Vor der Zyklisierung des 1,3-Diketons zum Pyrazol sollte die Hydroxamsäurefunktion eingeführt werden. Da die β -Dicarbonylverbindung am α -Kohlenstoffatom CH-acid ist, kann eine Alkylierung mit Natriumhydrid als Base und dem Alkylhalogenid **83** durchgeführt werden. Dieser *O*-benzylgeschützte Hydroxamsäurebaustein **83** wurde ausgehend von *O*-Benzylhydroxylamin

Hydrochlorid (**21**) und Bromessigsäure (**82**) mittels *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) als Kupplungsreagenz dargestellt (Schema 19).



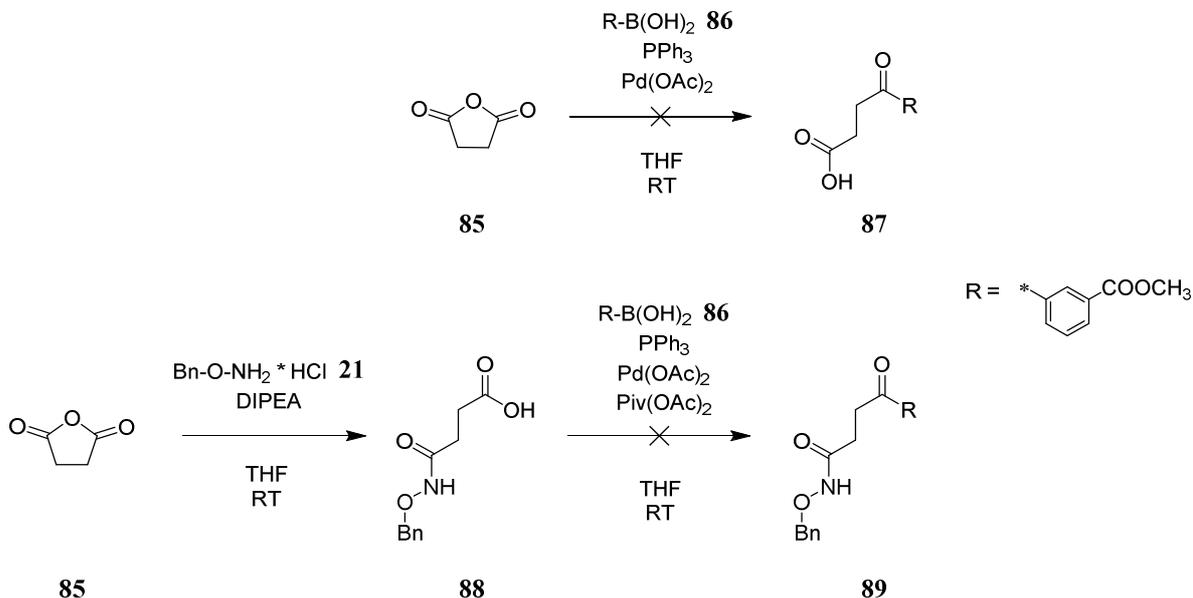
Schema 19: Darstellung des *O*-benzylgeschützten Hydroxamsäurebausteins für die Alkylierung der 1,3-Diketonderivate.

Beim Alkylierungsschritt des entsprechend substituierten 1,3-Diketons **81a** bzw. **81b** (Schema 18) wurde jedoch keine Umsetzung beobachtet. Es wurden nur Spuren des Produkts **84** im ESI-MS detektiert.

2.3.1.2 Darstellung der 3,4,5-substituierten Pyrazolderivate aus Arylketonen und Säurechloriden oder aktivierten Carbonsäuren

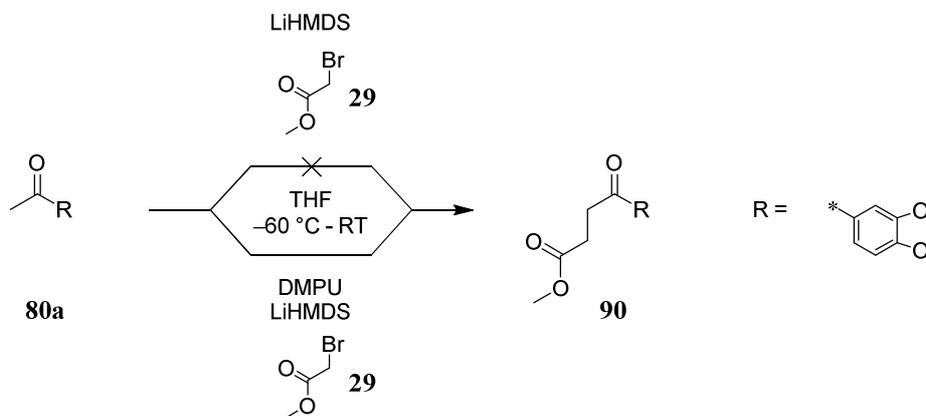
Da die Einführung der Hydroxamsäurefunktion über die Alkylierung des Diketons (**81a** bzw. **81b**) nicht möglich war, wurden andere Synthesestrategien untersucht. Alternativ kann die Hydroxamsäurefunktion auch schon vor der Generierung des 1,3-Diketons an das jeweilige Acetophenon eingeführt werden. Eine weitverbreitete Methode zur Darstellung von Arylketonen ist die Friedel-Craft-Acylierung.^[99] Jedoch ist die Methode aufgrund der begrenzten Regioselektivität und Anwendbarkeit bei Aromaten mit bestimmten funktionellen Gruppen für die Einführung von Arylvariationen eher ungeeignet. Eine bessere Variante, die eine breite Darstellung an variierenden Arylketonderivaten ermöglicht, ist eine von GOOBEN und GHOSH beschriebene Palladium-katalysierte Kreuzkupplung von Boronsäuren und Carbonsäuren oder Anhydriden.^[100,101] Die Synthese erfolgte ausgehend von Bernsteinsäureanhydrid (**85**) und einem Boronsäurederivat **86** in Tetrahydrofuran, um die entsprechende Benzoylpropionsäure **87** zu erhalten (Schema 20). Unter den in der Literatur angegebenen Reaktionsbedingungen konnte jedoch kein Produkt isoliert werden. Als Nebenreaktion könnte eine „Protodeborierung“ stattgefunden haben, da bei der Reaktion als Nebenprodukt Benzoesäuremethylester über ¹H-NMR-Spektroskopie nachgewiesen wurde. Die Kreuzkupplung wurde zudem auch mit einem Carbonsäurederivat **88** und der entsprechenden Boronsäure **86** durchgeführt. Das Carbonsäurederivat **88** wurde zuvor aus Benzylhydroxylamin Hydrochlorid (**21**) und Bernsteinsäureanhydrid (**85**) dargestellt. Für die Palladium-katalysierte Kupplung soll die Carbonsäure **88** mittels Pivalinsäureanhydrid über die Generierung von Mischanhydriden *in situ* aktiviert werden. Das sterisch anspruchsvolle Pivalinsäureanhydrid besitzt dabei selber eine geringe Reaktivität und

reagiert nicht bei Kreuzkupplungen.^[100,101] Die Entstehung des Produkts **89** konnte jedoch auch nicht nachgewiesen werden.



Schema 20: Darstellungsversuch von Benzoylpropionsäurederivaten.

Da keine der Kreuzkupplungen zum gewünschten Produkt führte, wurde für die Synthese des Benzoylpropionsäurederivats die Alkylierung von Enolatanionen ausgehend von dem entsprechenden Acetophenonderivat und einem Alkylhalogenid untersucht (Schema 21).

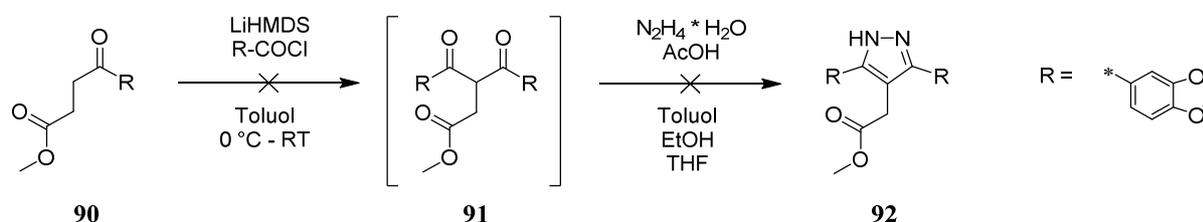


Schema 21: Reaktionsschema zur Darstellung des Arylketonderivats über C-Alkylierung.

Das Acetophenon **80a** wurde mit Lithium-bis(trimethylsilyl)amid (LiHMDS) versetzt, um das entsprechende Lithiumenolat zu generieren. Enolate stellen gute Nucleophile dar, die mit Alkylhalogeniden reagieren können. Als Alkylhalogenid wurde Bromessigsäuremethylester (**29**) verwendet, da der Methylester in einem späteren Syntheseschritt zur Hydroxamsäure umgesetzt werden kann. Jedoch wurde bei der Alkylierungsreaktion keine Umsetzung der Edukte beobachtet. Erst mit dem Einsatz von Dimethylpropylenharnstoff (DMPU) als Cosolvent konnte das gewünschte Produkt **90** erhalten werden.^[102] DMPU ist in der Lage, Lithium-Cluster aufzubrechen

und die Lithium-Kationen zu solvatisieren und führt zur Erhöhung der Nukleophilie des Carbanions.

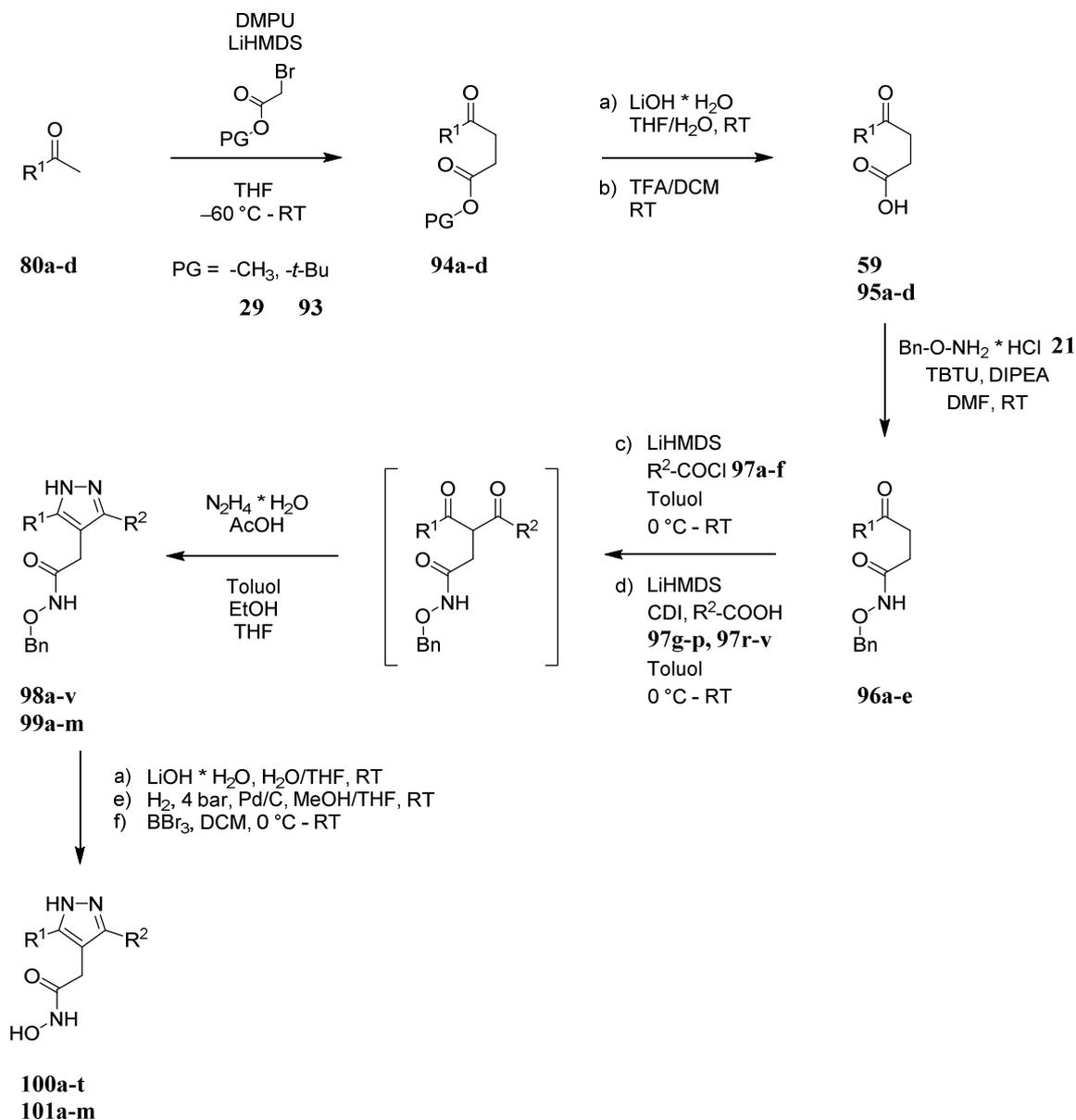
Nach der Darstellung des Arylketonderivats **90** sollte die Einführung des zweiten Arylrestes über die Synthese des entsprechenden 1,3-Diketons erfolgen. Die Synthese wurde bereits in Abschnitt 2.3.1.1 mit Acetophenon- und Benzoesäuremethylesterderivaten über die gekreuzte CLAISEN-Kondensation (Schema 18) untersucht. Da die Umsetzungen der gekreuzten CLAISEN-Kondensation in vorherigen Versuchen nicht vollständig verliefen und eine Aufreinigung der Gemische erforderlich war, wurde eine weitere Synthesemethode untersucht, bei der die chromatographische Aufreinigung der Diketonzwischenstufe umgangen werden konnte (Schema 22). In den Arbeiten von HELLER und NATARAJAN^[103] werden 1,3-Diketone aus Ketonen und Säurechloriden dargestellt und durch Zugabe von Hydrazin Monohydrat *in situ* zu den entsprechenden Pyrazolderivaten umgesetzt. LiHMDS wurde als starke Base verwendet, um das entsprechende Enolat anion aus dem Benzoylpropionsäureester **90** darzustellen. Das Lithiumenolat kann anschließend mit dem elektrophilen Säurechloridderivat reagieren. Die Umsetzung des Säurechlorids wurde mittels Dünnschichtchromatographie beobachtet. Anschließend wurde ohne Isolierung des 1,3-Diketons **91** das Reaktionsgemisch mit Hydrazin Monohydrat versetzt. Allerdings konnte nach Aufarbeitung des Reaktionsgemischs das Pyrazolprodukt **92** nicht nachgewiesen werden.



Schema 22: Darstellungsversuch des 3,4,5-substituierten Pyrazolderivats ausgehend vom Benzoylpropionsäuremethylesterderivat.

Da der Syntheseversuch ausgehend vom Benzoylpropionsäuremethylester **90** nicht zum Produkt führte, wurde die Reaktion nach HELLER und NATARAJAN^[103] mit einem anderen Arylketon als Edukt wiederholt. Anstelle des Methylesterderivats **90** sollte eine *O*-benzylgeschützte Hydroxamsäure (**96**) eingeführt werden. Für die Synthese wurde, wie zuvor beschrieben, das entsprechende Acetophenonderivat **80a-d** mit einem Bromessigsäureester (**29** oder **93**) alkyliert. Die Esterzwischenstufe (**94a-d**) wurde im weiteren Schritt zur Carbonsäure (**95a-d**) hydrolysiert, sodass anschließend eine Kupplungsreaktion mit Benzylhydroxylamin Hydrochlorid (**21**) und dem Kupplungsreagenz TBTU durchgeführt werden konnte. Unter Verwendung der Arylketonderivate (**96a-e**), welche eine *O*-benzylgeschützte Hydroxamsäurefunktion aufweisen, konnten die Pyrazolzwischenprodukte (**98, 99**) erfolgreich mittels dieser *one-pot*-Synthese dargestellt werden.

Die Darstellung der verschiedenen 3,4,5-substituierten Pyrazolderivate (**100**, **101**) mit variierenden Resten in 3- und 5-Position des Pyrazols ist in Schema 23 zusammengefasst.



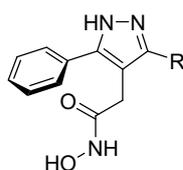
Schema 23: Reaktionsschema zur Darstellung der 3,4,5-substituierten Pyrazolderivate.

Es wurden zum einen Pyrazolderivate (**100a-t**, Tabelle 3) mit einem unsubstituierten Phenylrest ($R^1 = \text{Ph}$) und nur einem variierenden Rest (R^2) dargestellt. Zum anderen wurden beide Reste der Pyrazolderivate (**101a-m**, Tabelle 4) modifiziert, was durch die Verwendung von unterschiedlichen Acetophenonderivaten **80a-d** realisiert wurde. Um die funktionellen Gruppen orthogonal zu schützen, wurde das Acetophenonderivat entweder mit Bromessigsäuremethylester (**29**) oder -*tert*-butylester (**93**) alkyliert. Die anschließende Entschützung zur freien Carbonsäure (**95a-d**) erfolgte dementsprechend entweder über die Hydrolyse des Methylesters mit Lithiumhydroxid (Methode a) oder säurekatalysiert mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan

(Methode b). Nach der Kupplungsreaktion der Carbonsäurederivate **59** und **95a-d** mit Benzylhydroxylamin Hydrochlorid (**21**) zu den benzylgeschützten Hydroxamsäuren (**96a-e**) wurden im nächsten Reaktionsschritt die jeweiligen Pyrazolderivate dargestellt.

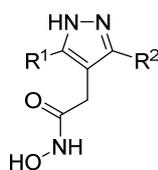
In Tabelle 2 und 3 sind die dargestellten Pyrazolderivate sowie die angewendeten Methoden (a-f) aufgeführt. Eine Reihe der Pyrazolderivate wurde wie in der Literatur beschrieben ausgehend vom jeweiligen Carbonsäurechlorid **97a-f** dargestellt (Methode c). Für die Einführung einiger Substituenten standen allerdings die entsprechenden Säurechloridderivate nicht zur Verfügung. Alternativ wurde dafür ein Carbonsäurederivat (**97g-p**, **97r-w**) verwendet, das zuvor mit Hilfe von 1,1'-Carbonyldiimidazol (CDI) aktiviert wurde (Methode d). Dabei bildet sich ein Acylimidazol, welches in der Folgereaktion wie das jeweilige Carbonsäurechlorid reagiert. Die Einführung bestimmter Reste wurde mit Edukten durchgeführt, deren funktionelle Gruppen als Ether oder Methylester geschützt vorlagen. Nach der Cyclokondensation zum Pyrazolderivat (**98a-t** bzw. **99a-m**) erfolgte die Abspaltung der jeweiligen Schutzgruppen der Verbindungen auf verschiedene Weise. Die Benzylschutzgruppe der *O*-benzylgeschützten Hydroxamsäure konnte über eine katalytische Hydrierung in Gegenwart von Palladium auf Kohle als Katalysator (Methode e) abgespalten werden. Eine Debenzylierung erfolgte auch unter Verwendung von Bortribromid (BBr_3) als starke Lewis-Säure (Methode f). Das hatte den Vorteil, dass bei einigen Verbindungen in einem Schritt verschiedene Schutzgruppen abgespalten werden konnten, da die Entschützung der als Ether geschützten Phenole und als Methylester geschützten Carbonsäuren auch über BBr_3 möglich war.^[104,105] Die Reaktivität der Entschützung mit BBr_3 variiert zwischen den einzelnen Schutzgruppen, sodass die Verwendung stöchiometrischer Mengen an BBr_3 angepasst werden musste.^[106] Die Entschützung der Benzylschutzgruppe des Pyrazolderivats **100q** mit BBr_3 führte teilweise zu der Bildung eines zyklisierten Amids. Üblicherweise lassen sich Amide nicht ohne starkes Erhitzen direkt aus einem Amin und einer Carbonsäure darstellen. Die Zyklisierung könnte allerdings durch das Vorhandensein von BBr_3 als Lewis-Säure stattgefunden haben. Das zyklisierte Nebenprodukt konnte nur bei dem 1,2-Cyclohexancarbonsäurederivat **100q** festgestellt werden, was mit der räumlichen Nähe der Carbonsäure zur NH-Funktion des Pyrazols zusammenhängt. Folglich wurde für ein weiteres Pyrazolderivat **101k** (Tabelle 4) mit einem 1,2-Cyclohexancarbonsäurerest eine andere Entschützungsstrategie angewendet. Um eine Zyklisierung zu verhindern, wurde im ersten Schritt die Methylesterfunktion mit Lithiumhydroxid (Methode a) zur Carboxygruppe hydrolysiert. Anschließend wurde die Benzylschutzgruppe der *O*-benzylgeschützten Hydroxamsäure mittels katalytischer Hydrierung (Methode e) abgespalten.

Tabelle 3: Übersicht der 3,4,5-substituierten Pyrazolderivate mit einem Phenylrest und Variation eines Restes R



	Methode	R		Methode	R
100a	c, f	*-CH ₃	100k	d, f	*-C ₆ H ₄ -COOH
100b	c, f	*-C ₆ H ₅	100l	d, f	*-C ₆ H ₂ (F)(OH)(Cl)
100c	c, f	*-C ₅ H ₉	100m	d, f	*-C ₆ H ₂ (F)(OH)(Cl)
100d	c, e	*-C ₆ H ₄ (OCH ₃)	100n	d, f	*-C ₄ H ₃ (OH)(O-N)
100e	c, e	*-C ₆ H ₄ (OCH ₃) ₂	100o	d, f	*-C ₄ H ₂ (CF ₃)(HN-N)
100f	c, e	*-C ₆ H ₃ (O) ₂	100p	d, f	*-C ₆ H ₄ (N ₃ NH)
100g	d, e	*-C ₆ H ₃ (OCH ₃) ₂	100q	c ¹ , f	*-C ₆ H ₁₀ (HOOC)
100h	d, f	*-C ₆ H ₄ (CN)	100r	d, f	*-C ₆ H ₁₀ (COOH)
100i	d, f	*-C ₆ H ₄ (CN)	100s	d, f	*-C ₆ H ₁₀ (COOH)
100j	d, f	*-C ₆ H ₄ (COOH)	100t	d, f	*-C ₆ H ₁₀ (COOH)

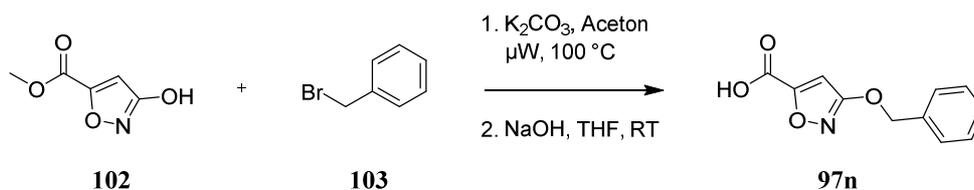
¹ Für die Darstellung der Verbindungen **100q** wurde das entsprechende Säureanhydrid verwendet.

Tabelle 4: Übersicht der 3,4,5-substituierten Pyrazolderivate mit Variation von R¹ und R²

	Meth.	R ¹	R ²		Meth.	R ¹	R ²
101a	c, e			101h	d, f		
101b	d, f			101i	d, f		
101c	d, f			101j	d, f		
101d	d, f			101k	c ¹ , a+e		
101e	d, a+e			101l	d, f		
101f	d, a+e			101m	d, f		
101g	d, f						

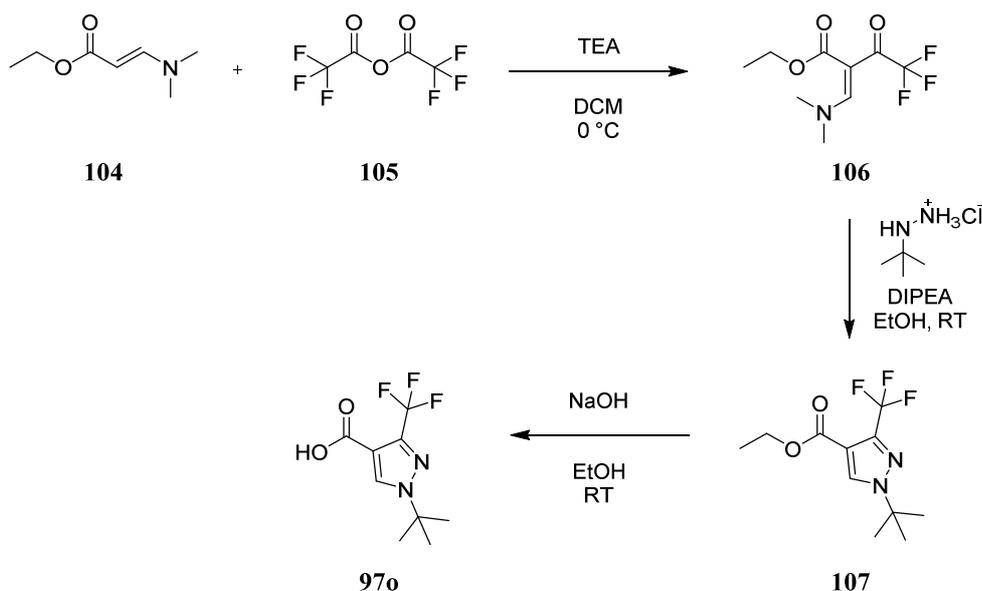
Neben der Synthese von substituierten Pyrazolderivaten, die als Arylvariation Reste mit einer Carboxylfunktion aufweisen, wurden auch einige Pyrazolderivate mit Carbonsäurebioisosteren als Rest dargestellt. Für die Einführung verschiedener Carbonsäurebioisostere (**97n-p**, **97u** und **97v**) musste der chemische Grundbaustein zunächst synthetisch dargestellt werden. Das entsprechende Carbonsäurederivat **97n** zur Einführung des 3-Hydroxyisoxazolrestes war über Methyl-3-hydroxy-5-isoxazolcarboxylat (**102**) synthetisch zugänglich (Schema 24). Über eine Alkylierung mit Benzylbromid (**103**) wurde die Hydroxyfunktion als Benzylether geschützt. Anschließend wurde der Methyl ester zur freien Carbonsäure **97n** hydrolysiert, sodass die Darstellung des entsprechend substituierten Pyrazolderivats **98n** im nächsten Schritt erfolgen kann (Schema 23).

¹ Für die Darstellung der Verbindung **101k** wurde das entsprechende Säureanhydrid verwendet.



Schema 24: Reaktionsschema zur Darstellung des 3-Hydroxyisoxazol-5-carbonsäurederivats.

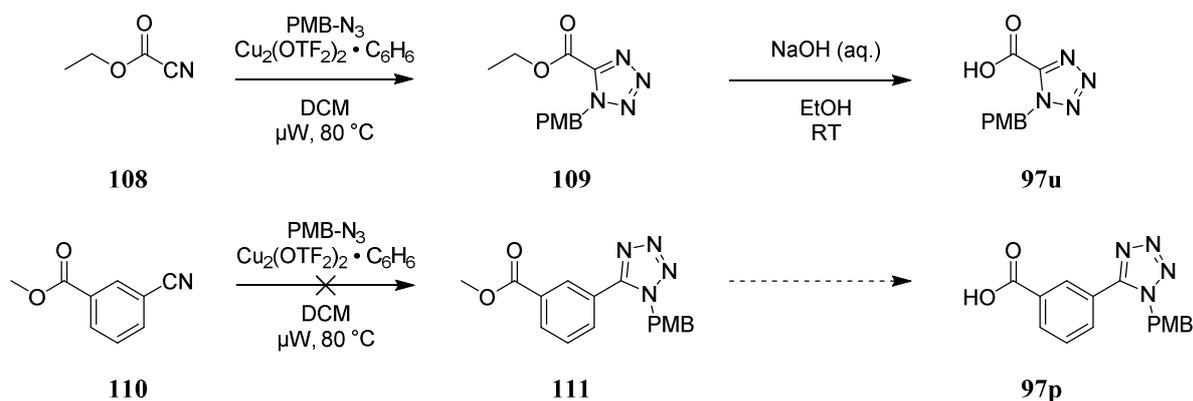
Das 3-(Trifluoromethyl)-pyrazol-4-carbonsäurederivat **97o** wurde ausgehend von Ethyl-3-(dimethylamino)acrylat (**104**) dargestellt (Schema 25). Mit Hilfe von Trifluoressigsäureanhydrid (**105**) wurde die Trifluoromethylgruppe eingeführt und zur entsprechenden 1,3-Diketonzwischenstufe **106** acyliert. Die Cyclokondensation mit *tert*-Butylhydrazin Hydrochlorid führte zum *tert*-butylgeschützten Trifluoromethylpyrazolderivat **107**. Es folgte eine basische Hydrolyse des Ethylesters zur freien Carbonsäure, um das gewünschte 3-(Trifluoromethyl)-pyrazol-4-carbonsäurederivat **97o** zu erhalten. Unter Verwendung von **97o** konnte die Pyrazolzwischenstufe **98o** im nächsten Schritt dargestellt werden (Schema 23).



Schema 25: Reaktionsschema zur Darstellung des 3-(Trifluoromethyl)-pyrazol-4-carbonsäurederivats.

Eine gängige Methode zur Darstellung von 5-substituierten Tetrazolen ist die 1,3-dipolare Cycloaddition von Aziden und Nitrilen.^[107] Die Synthese des entsprechend geschützten Tetrazol-5-carbonsäurederivats **97u** und des Phenyltetrazolderivats **97p** erfolgte nach der Vorschrift von BOSCH und VILARRASA (Schema 26).^[108] Sie beschreiben eine milde und mikrowellen-basierte Methode zur Synthese von Tetrazolen aus Nitrilen und organischen Aziden. Da die Tetrazolderivate mit einer Schutzgruppe vorliegen sollten, wurde die Umsetzung des jeweiligen Nitrils **108** bzw. **110** mit *p*-Methoxybenzylazid durchgeführt, sodass am Tetrazol die *p*-Methoxybenzylschutzgruppe (PMB) bereits eingeführt wird. Die Anwesenheit des Kupfer(I)-

triflat-Benzol-Komplexes ermöglicht eine milde Reaktion bei Raumtemperatur. Die Reaktionszeit von 48 Stunden bei Raumtemperatur wurde mittels Mikrowellensynthese bei 80 °C auf zwei Stunden verkürzt. Bei der Darstellung des Tetrazol-5-carbonsäureesters **109** konnte das gewünschte Produkt erhalten werden.¹ Die Ethylesterfunktion der Tetrazolderivats **109** wurde im Anschluss mit wässriger Natriumhydroxidlösung zur freien Carbonsäure **97u** hydrolysiert. Allerdings konnte bei der anschließenden Darstellung zur Pyrazolzwischenstufe **98u** kein Produkt isoliert werden (Schema 23). Die Synthese des Tetrazols nach der Vorschrift von BOSCH und VILARRASA^[108] konnte nicht auf die Darstellung des Phenyltetrazolanalogons **111** übertragen werden, da keine Umsetzung des Ausgangsstoffs **110** beobachtet wurde. In ihren Arbeiten wurden ausschließlich ‚aktivierte‘ Nitrile untersucht, die an elektronenziehenden Gruppen gebunden sind. Mit einem Ethylester ist Cyanameisensäureethylester (**108**) somit als Dipolarophil reaktiver als im Vergleich zum 3-Cyanobenzoesäuremethylester (**110**).



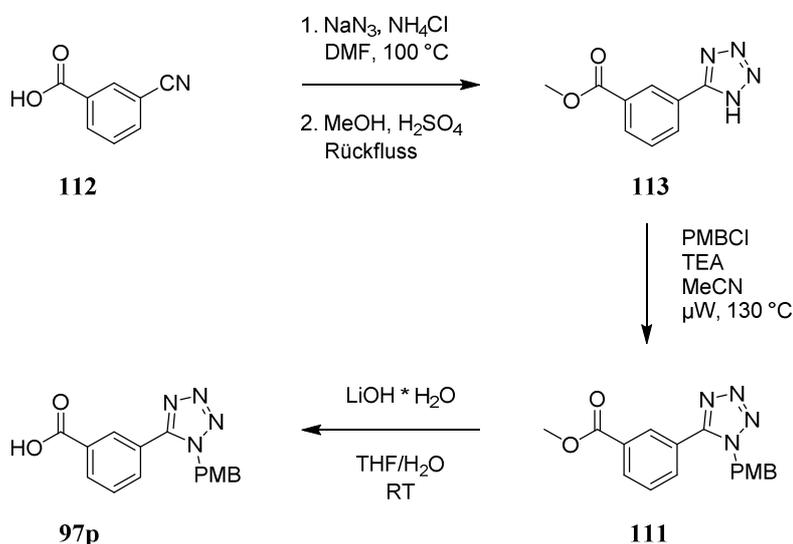
Schema 26: Reaktionsschema zur Darstellung der Tetrazolderivate nach BOSCH und VILARRASA.^[108]

Da die Umsetzung des Cyanobenzoesäuremethylesters (**110**) mit *p*-Methoxybenzylazid nicht zum gewünschten Produkt führte, wurde ein neuer Versuch durchgeführt, bei dem zunächst das *N*-unsubstituierte Tetrazol dargestellt wurde. Hierfür wurde 3-Cyanobenzoesäure (**112**) mit Natriumazid und Ammoniumchlorid versetzt.^[109] In Anwesenheit von Ammoniumchlorid wird aus Natriumazid *in situ* Stickstoffwasserstoffsäure generiert, welches mit einem Nitril zum Tetrazolgerüst weiterreagieren kann.^[110] Das Phenyltetrazolderivat konnte unter diesen Reaktionsbedingungen dargestellt werden. Mit einer anschließenden Veresterung wurde das Phenyltetrazolmethylesterintermediat **113**^{II} erhalten, um die Carbonsäurefunktion im nächsten

¹ In der Literatur wird berichtet, dass auch geringe Mengen des 1,4-Regioisomers erhalten wurden. In Schema 26 sind nur die entsprechenden 1,5-Regioisomere dargestellt. Für die weiterführenden Reaktionen ist die Zuordnung und Identifizierung des jeweiligen Regioisomers nicht relevant, da die PMB-Schutzgruppe im letzten Reaktionsschritt entfernt wird.

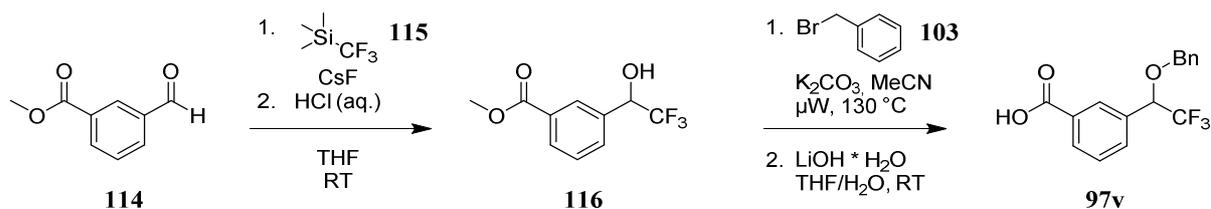
^{II} Da das Tetrazol **113** am freien Stickstoff unsubstituiert vorliegt, kann die Verbindung sowohl in der 1H- als auch 2H-tautomeren Form auftreten. Die Tetrazolderivate sind im Schema 27 in ihrer 1H-tautomeren Form aufgeführt.

Syntheseschritt vor der Alkylierungsreaktion mit *p*-Methoxybenzylchlorid zu schützen (Schema 27). Bei der Einführung der *p*-Methoxybenzylschutzgruppe (PMB) an das Tetrazol wurde aufgrund der Tautomerie des Tetrazols ein Gemisch aus 1,4- und 1,5-Regioisomeren (Verhältnis 1:2) isoliert. Eine Trennung der zwei Isomere war über Flash-Chromatographie möglich. Welches Regioisomer für weiterführende Reaktionen verwendet wird, ist in dem Fall nicht entscheidend, da die PMB-Schutzgruppe im letzten Reaktionsschritt abgespalten wird und das Tetrazol am Stickstoff unsubstituiert vorliegt. Abschließend wurde die Methylesterfunktion von **111** mit Lithiumhydroxid Monohydrat zur freien Carbonsäure (**97p**) hydrolysiert. Im Unterschied zur Tetrazol-5-carbonsäurederivat **97u** konnte bei der Darstellung des 3,4,5-substituierten Pyrazols **98p** das Phenyltetrazol (**97p**) als Rest erfolgreich eingeführt werden (Schema 23, Tabelle 3).



Schema 27: Reaktionsschema zur Darstellung der PMB-geschützten 3-(1H-Tetrazol-5-yl)benzoesäure.

Die Darstellung des 3-(2,2,2-Trifluoro-1-hydroxyethyl)benzoesäurederivats **97v** (Schema 28) erfolgte ausgehend von 3-Formylbenzoesäure (**114**) und Trifluormethyltrimethylsilan (**115**).^[111] Letzteres ist auch als Ruppert-Prakash-Reagenz bekannt und reagiert in Gegenwart eines anionischen Initiators Caesiumfluorid mit Aldehyden und Ketonen zu Trimethylsilylthern.



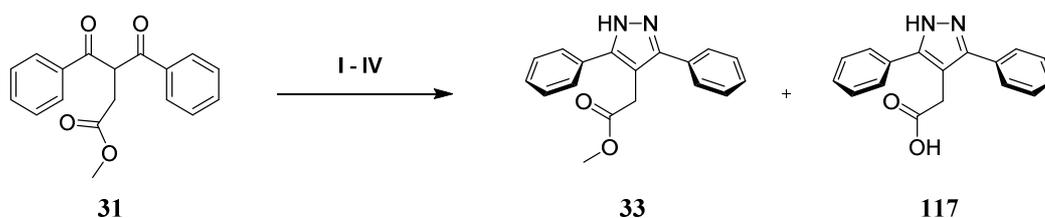
Schema 28: Reaktionsschema zur Darstellung des 3-(2,2,2-Trifluoro-1-hydroxyethyl)benzoesäurederivats.

Die anschließende Hydrolyse in wässriger HCl führte zur Desilylierung und zum entsprechenden Trifluoromethylethanolderivat **116**.^[111,112] Um die Hydroxygruppe zu schützen, folgte eine Alkylierung mit Benzylbromid (**103**) und Kaliumcarbonat. Der Methylester wurde im Anschluss mittels Lithiumhydroxid hydrolysiert, sodass das erhaltene Carbonsäurederivat **97v** für die weitere Reaktion zum Pyrazolderivat verwendet werden kann (Schema 23). Jedoch konnte keine Umsetzung zur benzylgeschützten Pyrazolzwischenstufe **98v** beobachtet werden.

2.3.2 Synthese von *N*-substituierten 3,5-Diphenylpyrazolderivaten

2.3.2.1 Darstellung des Diphenylpyrazolcarbonsäuremethylesterderivats als Ausgangsstoff

Neben den in Abschnitt 2.3.1 aufgeführten substituierten Pyrazolderivaten mit variierenden Resten in 3- und 5-Position des Pyrazols sollten auch 3,5-Diphenylpyrazolderivate dargestellt werden, welche direkt am Stickstoffatom des Pyrazols in 1-Position verschiedene Reste aufweisen. Für die Einführung unterschiedlicher Substituenten mussten daher größere Mengen des 3,5-Diphenylpyrazolethansäuremethylesters **33** dargestellt werden. Die in Abschnitt 2.2.1.2 beschriebene Methode zur Darstellung des 3,5-Diphenylpyrazolderivats **33** mit Hydrazin Monohydrat in Tetrahydrofuran (THF) und Ethanol war für kleine Ansätze mit einer Ausbeute von 58% prinzipiell gut geeignet (Tabelle 5, Variante I). Die Übertragung der Reaktionsbedingungen auf einen größeren Ansatz führte jedoch zu einer deutlichen Verminderung der Ausbeute des Produkts (25%), da der Großteil des Pyrazolmethylesters **33** zur freien Carbonsäure **117** hydrolysiert war (Tabelle 5, Variante II, Schema 29).



Schema 29: Reaktionsschema zur Darstellung von Methyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat.

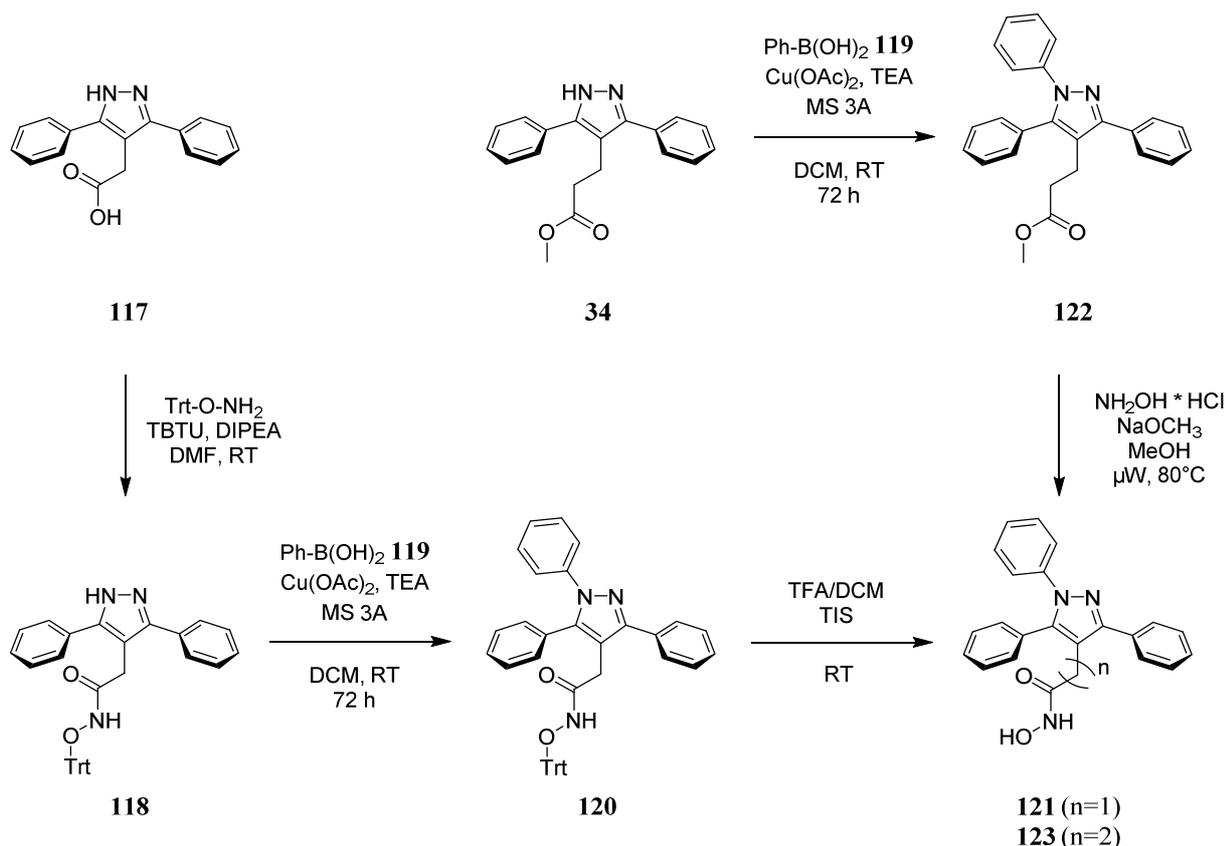
Tabelle 5: Darstellung von Methyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (**33**) unter verschiedenen Reaktionsbedingungen

	Ansatzgröße	Reaktionsbedingungen	HPLC-Chromatogramm		
			Ausbeute 33	33	117
I	1 mmol	NH ₂ NH ₂ * H ₂ O RT, THF/EtOH	58%	75%	24%
II	8 mmol	NH ₂ NH ₂ * H ₂ O RT, THF/EtOH	25%	23%	74%
III	8 mmol	NH ₂ NH ₂ (1 M in THF), MS 3Å RT, THF	38%	48%	44%
IV	7 mmol	NH ₂ NH ₂ * 2HCl Rückfluss, MeOH ^[113]	85%	92%	0%

Während das Carbonsäurenebenprodukt **117** im HPLC-Chromatogramm des Rohgemischs vom kleinen Ansatz nur zu etwa 25% vorlag, wurde der Anteil des Nebenprodukts im größeren Ansatz um das Dreifache erhöht. Um die basische Hydrolyse des Esters zu vermeiden, wurde im nächsten Versuch wasserfreies Hydrazin verwendet (Tabelle 5, Variante III). Da die Reaktion im Lösungsmittel THF abläuft, wurde das 1,3-Diketonderivat mit einer 1 M Hydrazin-Lösung in THF umgesetzt. Zusätzlich wurde Molekularsieb zugesetzt, um das bei der Reaktion entstandene Wasser zu binden. Die veränderten Reaktionsbedingungen führten im Vergleich zu Variante II zu einer Verbesserung der Ausbeute (38%). Das Carbonsäurenebenprodukt **117** konnte nach wie vor detektiert werden, das Verhältnis zwischen Ester **33** und Säure **117** lag aber nur noch ca. bei 1:1. Die Umsetzung des 1,3-Diketonderivats mit Hydrazin Dihydrochlorid in Methanol erzielte schließlich, ohne Bildung des Carbonsäurenebenprodukts **117**, eine hohe Ausbeute des Produkts von 85% (Tabelle 5, Variante IV).^[113] Zudem konnte trotz Erhitzens unter Rückfluss keine Hydrazinolyse des Methylesters festgestellt werden. Die weiteren Resynthesen des Diphenylpyrazolethansäuremethylesters **33** und auch des Analogons **34** mit C₂-Spacer wurden unter den in Variante IV angegebenen Reaktionsbedingungen durchgeführt.

2.3.2.2 Darstellung der *N*-substituierten 3,5-Diphenylpyrazolderivate via CHAN-LAM-Kupplung

Die Substitution in 1-Position des 3,5-Diphenylpyrazolderivats wurde zum einen mittels der CHAN-LAM-Kupplung realisiert.^[114] Die oxidative Kupplung von Boronsäuren mit Aminen, Alkoholen und Thiolen ermöglicht die Knüpfung einer Kohlenstoff-Heteroatom-Bindung und wird durch Kupfer(II) vermittelt. Durch den Einsatz von Phenylboronsäure **119** konnte ein Phenylsubstituent eingeführt werden. Die phenylierten Pyrazolderivate wurden entweder ausgehend von dem tritylgeschützten 3,5-Diphenylpyrazolderivat **118** oder dem 3,5-Diphenylpyrazol-4-propansäure-methylester **34** als Variante mit verlängertem Spacer (n=2) dargestellt. Die tritylgeschützte Variante des Ausgangsstoffes **118** wurde über eine Kupplungsreaktion aus 3,5-Diphenylpyrazol-4-ethansäure (**117**) mit Tritylhydroxylamin und TBTU als Kupplungsreagenz generiert. Dieses Carbonsäurederivat **117** wurde bei der Synthese des 3,5-Diphenylpyrazol-4-ethansäure-methylesters (**33**) in vorherigen Versuchen als Nebenprodukt isoliert (Abschnitt 2.3.2.1). Die Tritylschutzgruppe konnte säurekatalysiert mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan im letzten Reaktionsschritt abgespalten werden, um das phenylierte Pyrazolderivat **121** zu erhalten. Das phenylierte Pyrazolderivat **122** mit C₂-Spacer, welches ausgehend vom 3,5-Diphenylpyrazol-4-propansäuremethylester (**34**) über CHAN-LAM-Kupplung dargestellt wurde, konnte im letzten Schritt über eine Hydroxyaminolyse des Esters zum Endprodukt **123** umgesetzt werden (Schema 30).



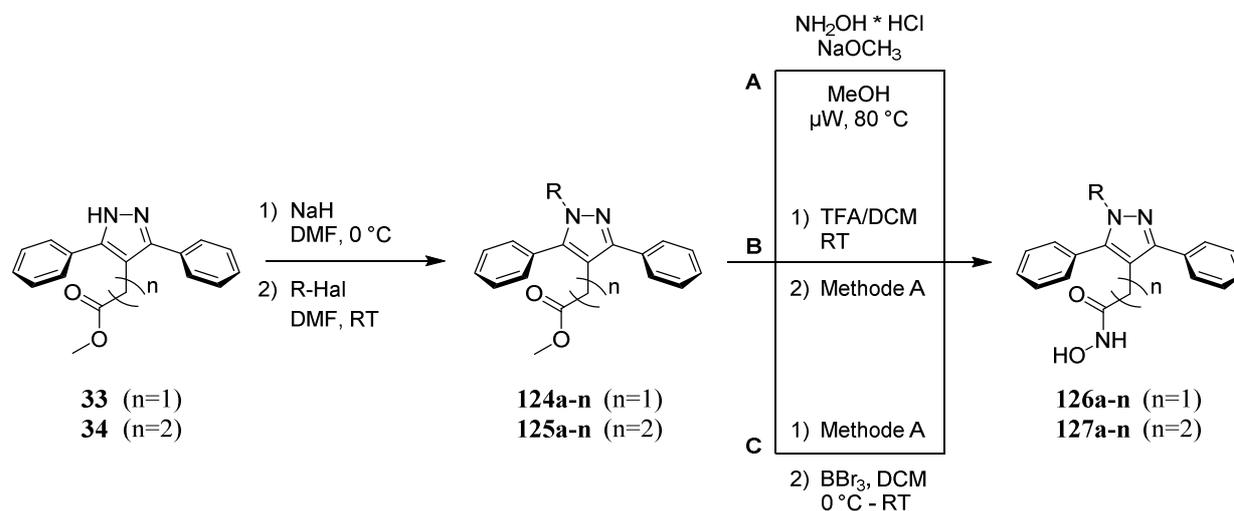
Schema 30: Reaktionsschema zur Darstellung der Triphenylpyrazolderivate über CHAN-LAM-Kupplung.

2.3.2.3 Darstellung der *N*-substituierten 3,5-Diphenylpyrazolderivate via *N*-Alkylierung

Die Einführung einer Reihe von verschiedenen Alkyl- und Benzylresten erfolgte über eine *N*-Alkylierung mit Natriumhydrid unter Verwendung des jeweiligen Alkyl- oder Benzylhalogenids (Schema 31). Die Alkylierungsreaktionen wurden ausgehend vom 3,5-Diphenylpyrazol-4-ethansäuremethylester (**33**) für die Pyrazolderivate mit C₁-Spacer durchgeführt und auch für ausgewählte Substituenten für die Pyrazolderivate mit C₂-Spacer¹ ausgehend vom 3,5-Diphenylpyrazol-4-propansäuremethylester (**33**) wiederholt. Die Alkylierungsreaktionen wurden mit Ausnahme bei den pyridinsubstituierten Pyrazolderivaten (**124m,n** und **125m,n**) bei Raumtemperatur durchgeführt. Für die Einführung der Pyridinsubstituenten war eine erhöhte Temperatur von 80 °C notwendig. Die *N*-substituierten 3,5-Diphenylpyrazolesterzwischenstufen **124a-h,m,n** und **125a-h,m,n** wurden anschließend mit Hydroxylaminhydrochlorid mittels Mikrowellenreaktion zum jeweiligen Hydroxamsäurederivat umgesetzt (Methode A). Pyrazolderivate, welche als eingeführte Reste *tert*-butylgeschützte Carboxylgruppen (**124i,j** und **125i,j**) enthalten, wurden vor der Umsetzung zur Hydroxamsäure

¹ Die *N*-substituierten 3,5-Diphenylpyrazolderivate mit C₂-Spacer wurden im Rahmen eines betreuten Praktikums dargestellt und sind entsprechend gekennzeichnet.

mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan behandelt (Methode B), um die Schutzgruppe zu entfernen. Eingeführte Phenolreste, die als Ether geschützt sind (**124k,l** und **125k,l**) konnten nach der Umsetzung zur Hydroxamsäure unter Verwendung von Bortribromid entschützt werden (Methode C). Die dargestellten *N*-substituierten 3,5-Diphenylpyrazolderivate aus Schema 31 sind in Tabelle 6 zusammengefasst.



Schema 31: Reaktionsschema zur Darstellung der *N*-substituierten 3,5-Diphenylpyrazolderivate über *N*-Alkylierung.

Tabelle 6: Übersicht der *N*-substituierten 3,5-Diphenylpyrazolderivate über *N*-Alkylierung

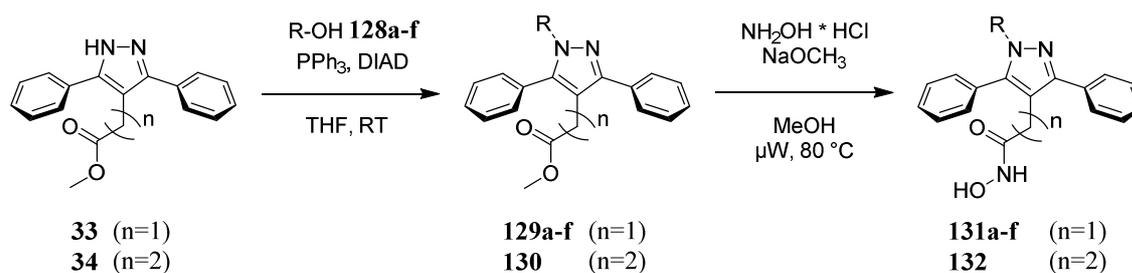
	n=1	n=2	R				Methode
		126a	127a^I	CH ₃			
	n=1	n=2	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Methode
	126b	127b^I	H	H	H	H	A
	126c	127c^I	H	H	OCH ₃	H	A
	126d	127d^I	H	OCH ₃	H	H	A
	126e	127e^I	H	-OCH ₂ O-		H	A
	126f	127f^I	H	H	OCHF ₂	H	A
	126g	127g^I	H	OCHF ₂	H	H	A
	126h	127h^I	H	H	CN	H	A ^{II}
	126i	127i^I	H	H	COOH	H	B
	126j	127j^I	H	COOH	H	H	B
	126k	127k	H	Cl	OH	F	C
	126l	127l^I	Cl	OH	F	H	C
	126m	127m^I	H	H	N _{Pyridin}	H	A
	126n	127n^I	H	N _{Pyridin}	H	H	A

^I Die Verbindung wurde im Rahmen eines betreuten Praktikums dargestellt.

^{II} Die Reaktion erfolgte bei Raumtemperatur über Nacht.

Eine Reihe an *N*-substituierten 3,5-Diphenylpyrazolderivaten wurden über eine MITSUNOBU-Reaktion dargestellt, welche 1967 von Oyo Mitsunobu entdeckt wurde.^[115] Sie ermöglicht die Synthese von Estern, Ethern, Aminen, Thioethern und weiteren Verbindungen aus primären und sekundären Alkoholen unter Verwendung von Triphenylphosphin und Diethylazodicarboxylat (DEAD) oder Diisopropylazodicarboxylat (DIAD). Das eingesetzte Nukleophil sollte für die Protonierung der Reagenzien DEAD oder DIAD leicht sauer sein ($pK_s \leq 15$), was für die NH-Funktion des Pyrazols (pK_s 13,4) zutrifft.

Einige Alkoholderivate **128b-f** wurden mit Hilfe einer GRIGNARD-Reaktion aus dem jeweiligen Keton und dem Phenylmagnesiumhalogenidderivat dargestellt (siehe Abschnitt 7.2.4). Die Umsetzung der 3,5-Diphenylpyrazolausgangsstoffe (**33** und **34**) zu den *N*-substituierten 3,5-Diphenylpyrazolderivaten (**129a-f**, **130**) erfolgte mit dem jeweiligen Alkohol unter Einsatz von Triphenylphosphin und DIAD (Schema 32). Die Zielverbindungen **131a-f** bzw. **132** wurden im letzten Syntheseschritt mittels Hydroxyaminolyse der Methylesterfunktion erhalten.



Schema 32: Reaktionsschema zur Darstellung der *N*-substituierten 3,5-Diphenylpyrazolderivate über MITSUNOBU-Reaktion.

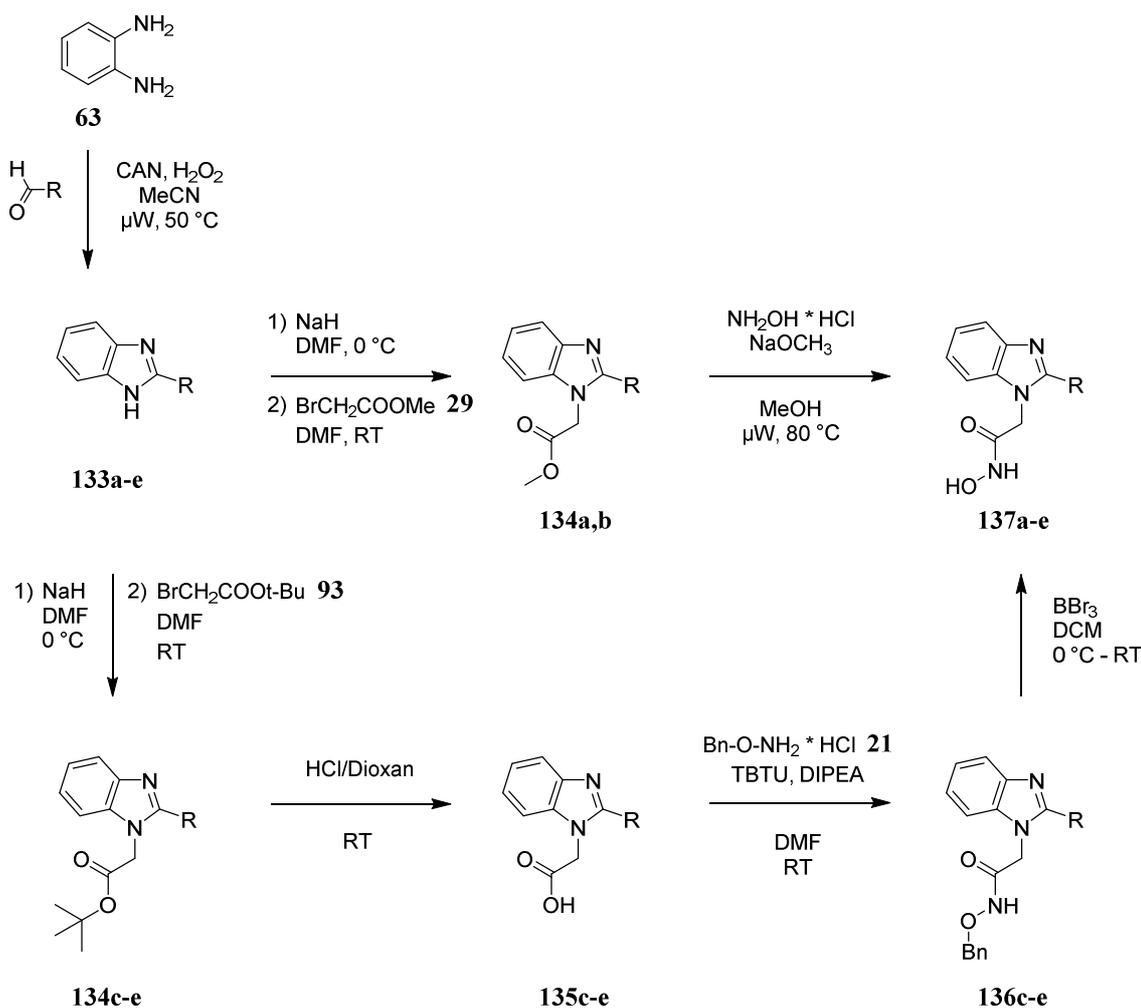
Tabelle 7: Übersicht der *N*-substituierten 3,5-Diphenylpyrazolderivate via MITSUNOBU-Reaktion

n=1	n=2	R	n=1	R	n=1	R	n=1	R
131a	132¹		131b		131d		131f	
			131c		131e			

¹ Die Verbindung wurde im Rahmen eines betreuten Praktikums dargestellt.

2.4 Synthese der substituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate

Die Darstellung des 2-Phenylbenzimidazolgrundkörpers wurde, wie in Abschnitt 2.2.2.3 beschrieben, mit Hilfe einer Kondensationsreaktion aus *o*-Phenylendiamin (**63**) und Benzaldehyd realisiert.^[89] Durch den Einsatz von verschiedenen substituierten Benzaldehyden ist die Derivatisierung des Phenylbenzimidazols am Phenylrest möglich. Somit konnten mit dieser Methode neben den unsubstituierten 2-Phenylbenzimidazolderivaten **7d** und **7e** auch noch weitere substituierte Derivate dargestellt werden (Schema 33).

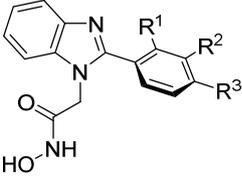


Schema 33: Reaktionsschema zur Darstellung der substituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate mit Phenylvariationen.

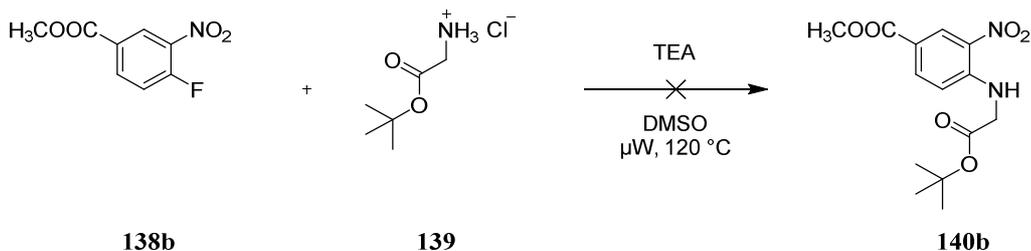
Nach der Darstellung der 2-Phenylbenzimidazole **133a-e** wurde in Abhängigkeit der Schutzgruppe am Phenylrest entweder eine Methylester- oder eine *tert*-Butylesterfunktion über eine Alkylierung eingeführt. So mussten die 2-Phenylbenzimidazole **133c-e**, welche eine als methylestergeschützte Carboxylgruppe aufweisen, mit Bromethansäure-*tert*-butylester (**93**) alkyliert werden, damit die Orthogonalität der Schutzgruppen aufrechterhalten wird. Aufgrund der Säurestabilität des *tert*-Butylesters wurde im nächsten Schritt die *tert*-Butylschutzgruppe in Gegenwart von

Chlorwasserstoff in Dioxan selektiv abgespalten. Die freien Carbonsäuren **135c-e** wurden anschließend mit Benzylhydroxylamin Hydrochlorid (**21**) gekuppelt. Eine parallele Entschützung der Benzylschutzgruppe, sowie des Methylesters der Verbindungen **136c-e** erfolgte durch die Zugabe von Bortribromid in Dichlormethan und führte zu den Endprodukten **137c-e**. Die 2-Phenylbenzimidazole **133a** und **133b**, welche mit Bromethansäuremethylester (**29**) alkyliert wurden, konnten mittels Hydroxyaminolyse zu den jeweiligen Hydroxamsäurezielverbindungen **137a** und **137b** umgesetzt werden. Da der Halogenphenolrest des Derivats **137b** als Ether geschützt vorlag, war noch eine Entschützung des Ethers mittels Bortribromid in Dichlormethan im finalen Schritt notwendig.

Tabelle 8: Übersicht der substituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate mit Phenylvariationen

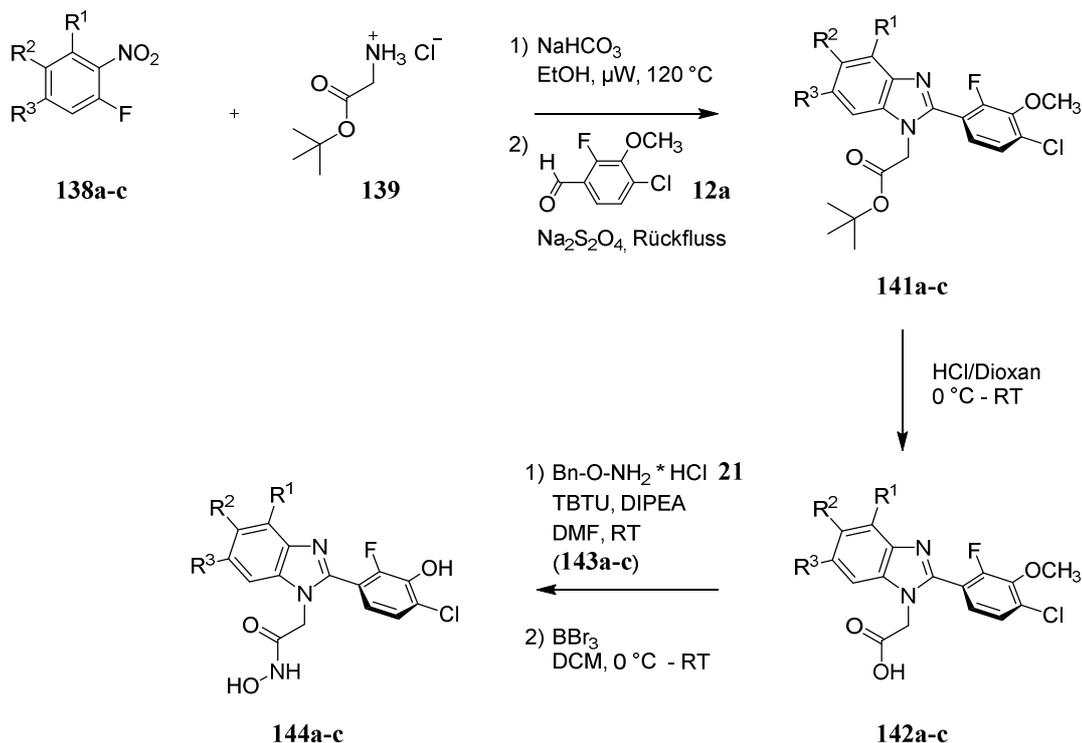
	R ¹	R ²	R ³	
	137a	H	H	OCH ₃
	137b	F	OH	Cl
	137c	COOH	H	H
	137d	H	COOH	H
	137e	H	H	COOH

Für die Darstellung der substituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate, die neben der Derivatisierung des Phenylrests auch verschiedene Substituenten direkt am Benzimidazolgrundkörper aufweisen, wurden die oben beschriebene Synthesestrategie (Schema 33) nicht angewendet. Diese Methode ist nicht für eine regioselektive Synthese der 1,2-disubstituierten Benzimidazole geeignet. Dem liegt zugrunde, dass Benzimidazolderivate, deren Stickstoffatome unsubstituiert vorliegen, in zwei tautomeren Formen auftreten können. Es existiert ein schneller Austausch des Protons zwischen *N*1 und *N*3. Würde eine Alkylierung am freien Stickstoff eines substituierten 2-Phenylbenzimidazols stattfinden, so könnten zwei verschiedene Regioisomere entstehen. Eine Möglichkeit der regioselektiven Darstellung ist die reduktive Zyklisierung von *o*-Nitroanilinen und Aldehyden, welche von YANG *et al.* untersucht wurde.^[93] Diese Methode wurde auch bei der Darstellung des *N*3-substituierten 2-Phenylimidazo[4,5-*b*]pyridins (Abschnitt 2.2.2.4) erfolgreich angewendet und ermöglicht auch die regioselektive Synthese von disubstituierten 2-Phenylbenzimidazolen unter Verwendung von *N*-alkylierten Nitroanilinen. Für das jeweilige *N*-alkylierte Nitroanilin **140b** wurde Glycin-*tert*-butylester Hydrochlorid (**139**) mit dem entsprechend substituierten 1-Fluoro-2-nitrobenzol **138b** unter Verwendung von Triethylamin als Hilfsbase aryliert (Schema 34). Nach der Umsetzung konnte im Massenspektrum jedoch kein Produkt nachgewiesen werden.



Schema 34: Darstellungsversuch der *N*-alkylierten Nitroanilinzwischenstufe.

Mit der Umstellung des Lösungsmittels und der Base auf Ethanol und Natriumhydrogencarbonat war die Darstellung des *N*-alkylierten Nitroanilins jedoch erfolgreich.^[116,117] Die anschließende reduktive Zyklisierung des *N*-alkylierten Nitroanilins und des jeweiligen Benzaldehyds **12a** erfolgte mit Natriumdithionit als Reduktionsmittel in Ethanol.^[93] Da für das *N*-alkylierte Nitroanilinderivat aufgrund der sehr guten Umsetzung keine chromatographische Reinigung benötigt und die reduktive Zyklisierung im gleichen Lösungsmittel wie die Arylierung durchgeführt wurde, konnten die nachfolgenden Derivate (**141a-c**) über eine *one-pot*-Synthese dargestellt werden (Schema 35).

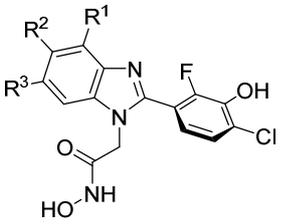


Schema 35: Reaktionsschema zur Darstellung der disubstituierten 2-Phenylbenzimidazolederivate.

Die *tert*-Butylesterschutzgruppe der Zwischenstufen **141a-c** wurde unter sauren Bedingungen mit Chlorwasserstoff in Dioxan abgespalten, sodass im nächsten Schritt eine Kupplungsreaktion mit den freien Carbonsäuren **142a-c** und Benzylhydroxylamin Hydrochlorid (**21**) zur Darstellung der Hydroxamsäurefunktion durchgeführt werden konnte. Alle Schutzgruppen wurden in Gegenwart

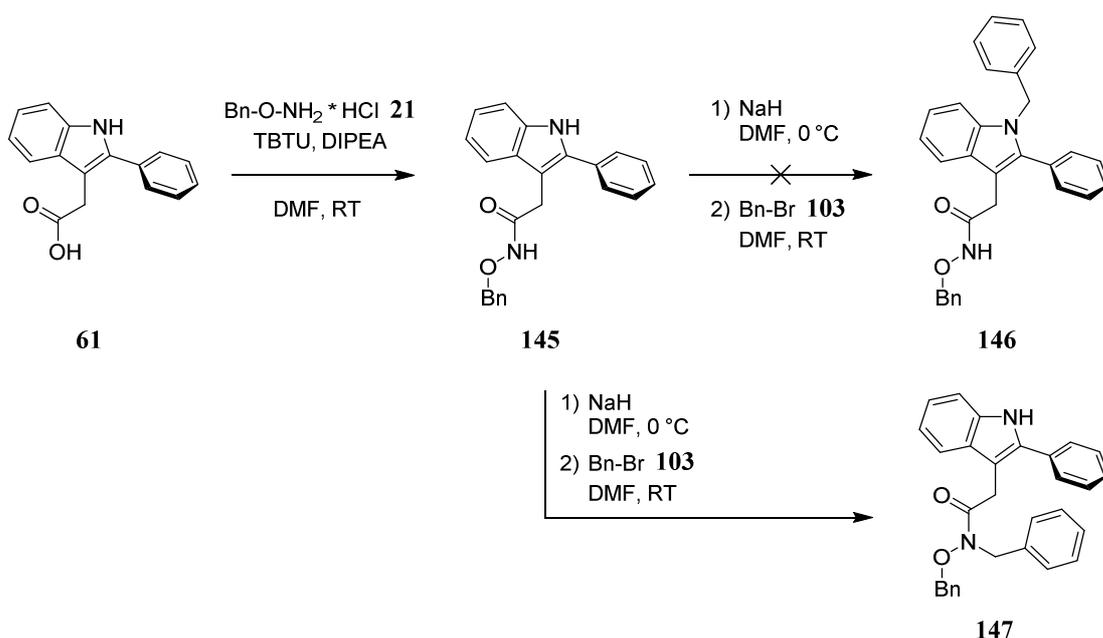
von Bortribromid in Dichlormethan im letzten Reaktionsschritt entfernt, um die finalen disubstituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate **144a-c** zu erhalten (Tabelle 9).

Tabelle 9: Übersicht der disubstituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate

	R ¹	R ²	R ³
	144a	COOH	H
	144b	H	COOH
	144c	H	H

2.5 Synthese der 1,3-substituierten 2-Phenylindolderivate

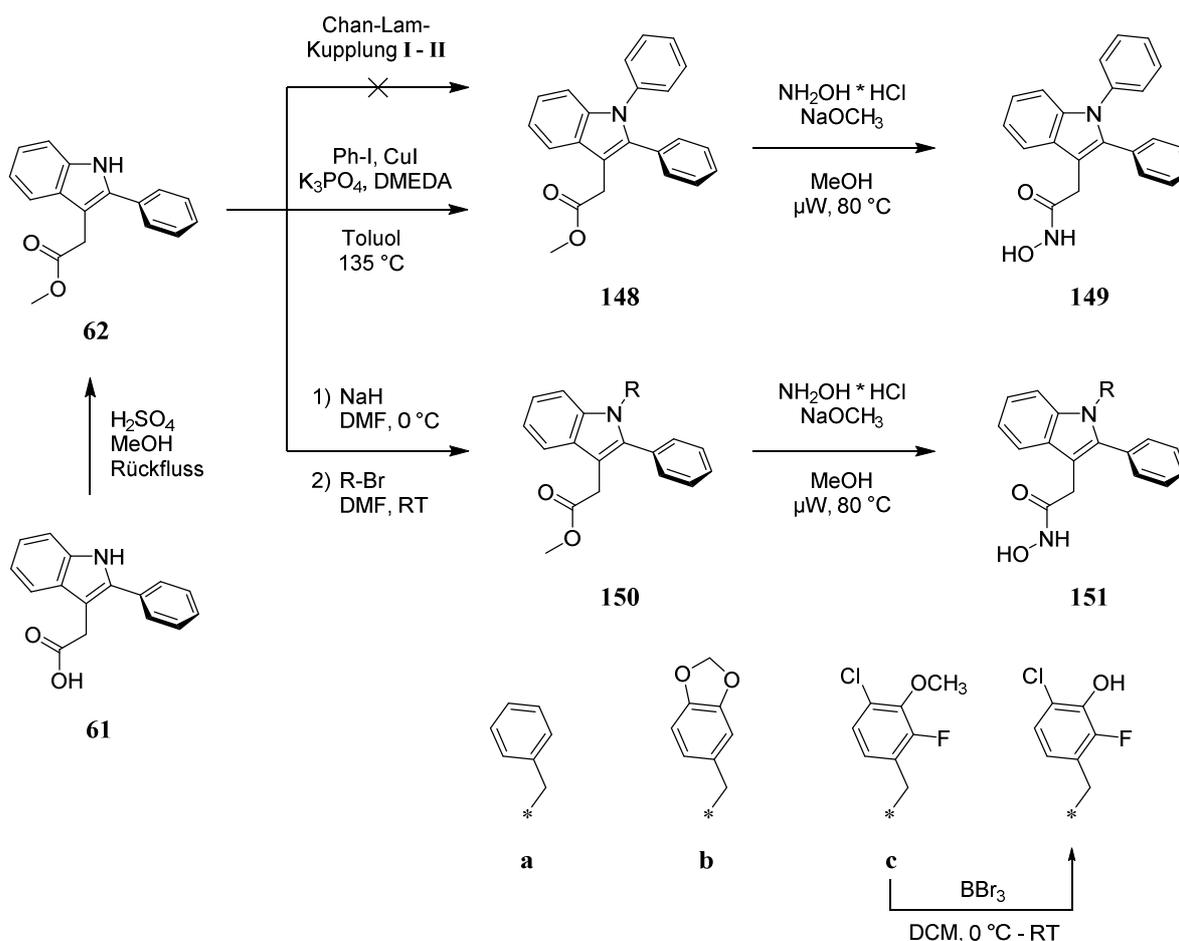
Ausgehend vom 2-Phenylindolgrundkörper können verschiedene Substituenten am freien Stickstoffatom des Indols eingeführt werden. Das 2-Phenylindolderivat kann über eine FISCHER-Indol-Synthese dargestellt werden. Unter den verschiedenen Varianten dieser Methode (siehe Abschnitt 2.2.2.2) erwies sich für die Darstellung des 2-Phenylindol-3-carbonsäurederivats **61** der Einsatz von Toluolsulfonsäure (*p*TsOH) und Zinkchlorid als geeignet.^[84] Um aus der freien Carbonsäure **61** die Hydroxamsäure zu generieren, wurde anschließend mit Benzylhydroxylamin Hydrochlorid (**21**) in Gegenwart des Kupplungsreagenzes TBTU und der Base Diisopropylethylamin (DIPEA) gekuppelt. Die entstandene benzylgeschützte Hydroxamsäure **145** muss zum späteren Zeitpunkt nur noch entschützt werden (Schema 36).



Schema 36: Darstellungsversuch des *N*-benzylierten 2-Phenylindolderivats.

Die Einführung von verschiedenen Benzylresten in 1-Position des freien Indolderivats soll analog zu den *N*-substituierten 3,5-Diphenylpyrazolderivaten (Abschnitt 2.3.2.3) über eine *N*-Alkylierung mit Natriumhydrid unter Verwendung des jeweiligen Benzylhalogenids erfolgen. Dafür wurde zunächst die 2-Phenylindolzwischenstufe **145** mit Benzylbromid (**103**) alkyliert. Durch ¹H-NMR-Spektroskopie wurde jedoch festgestellt, dass die Substitution nicht am freien Stickstoffatom des Indols (**146**), sondern an der Stickstofffunktion der Hydroxamsäure (**147**) erfolgte (Schema 36).

Als alternative Darstellungsmöglichkeit der Hydroxamsäurefunktion bietet sich in dem Fall die Hydroxyaminolyse des Esters an. Die Methylesterfunktion lässt sich auf einfache Weise durch die Veresterung der 2-Phenylindol-3-ethansäure (**61**) darstellen (Schema 37). Die dargestellte Indolzwischenstufe **62** ist besser für den weiteren Alkylierungsschritt geeignet, da neben der Stickstofffunktion des Indols kein weiteres konkurrierendes Nukleophil im Molekül vorhanden ist. Die *N*-Alkylierungen mit Natriumhydrid und den jeweiligen Benzylbromiden führten zu den benzylierten 2-Phenylindolintermediaten **150a-c**.



Schema 37: Reaktionsschema zur Darstellung der 1,3-substituierten 2-Phenylindolderivate.

Für die Einführung des Phenylsubstituenten (**148**) wurde im ersten Versuch eine CHAN-LAM-Kupplung angewendet, welche auch bereits bei der Synthese der Triphenylpyrazolderivate (Abschnitt 2.3.2.2) zum Einsatz kam. Die Kupfer(II)-vermittelte oxidative Kupplung erfolgte mit Phenylboronsäure und Triethylamin als Base.^[114] Unter den in der von LAM *et al.* angegebenen Reaktionsbedingungen (Tabelle 10, I) konnte jedoch kein Produkt nachgewiesen werden.

Tabelle 10: Reaktionsbedingungen der CHAN-LAM-Kupplungen zur Darstellung des *N*-phenylierten 2-Phenylindolderivats

CHAN-LAM-Kupplung	Reaktionsbedingungen
I	Cu(OAc) ₂ , TEA, MS 3 Å, DCM, RT
II	Cu(OAc) ₂ , DBU, DMSO, MW, 100 °C

Eine andere Variante der CHAN-LAM-Kupplung wird in den Arbeiten von CHEN *et al.* beschrieben.^[118] Die mikrowellenunterstützte Reaktion wurde mit 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) als Base durchgeführt (Tabelle 10, II). Dabei konnte aber auch keine Umsetzung der Ausgangsstoffe beobachtet werden. Eine weitere Möglichkeit der *N*-Arylierung von stickstoffhaltigen Heterozyklen stellt die Kupplung eines aromatischen Halogenids mit einem Nukleophil dar. In den Arbeiten von ANTILLA *et al.*^[119] wird eine kupferkatalysierte *N*-Arylierung von Indolen beschrieben, welche auch als Ullmann-Reaktion bezeichnet wird. Neben Kupferiodid wurden *N,N'*-Dimethylethyldiamin (DMEDA) – ein Diamin-Ligand – und Kaliumcarbonat als Base eingesetzt, um die Kupplungsreaktion effektiv zu katalysieren. Mit dieser Methode war die Darstellung des *N*-phenylierten Indolderivats **148** möglich. Nach der Einführung der jeweiligen Substituenten am 2-Phenylindolderivat (**62**) wurde im nachfolgenden Reaktionsschritt die Methylesterfunktion der Intermediate **148** bzw. **150a-c** zu den Hydroxamsäureprodukten **149** bzw. **151a-c** mit Hydroxylaminhydrochlorid und Natriummethanolat umgesetzt.

3 BIOCHEMISCHE CHARAKTERISIERUNG

Für die Bestimmung der inhibitorischen Aktivitäten der Verbindungen gegenüber Meprin α , β und Ovastacin wurde ein FRET-basierter Assay verwendet, welches eine quantitative Untersuchung der Enzymaktivität über die Stärke der Fluoreszenz ermöglicht. FRET (Fluoreszenz-Resonanzenergietransfer) beruht auf einem abstandsabhängigen strahlungslosen Energietransfer eines angeregten Donors zum geeigneten Akzeptor.^[62] Die für den Assay eingesetzten Substrate bestehen aus einem Fluorophor (Donor) und einem Quencher (Akzeptor). Beide Moleküle sind über eine kurze Peptidsequenz verbunden, welche eine Spaltstelle des Enzyms enthält. Bei Anregung des Donormoleküls findet aufgrund der räumlichen Nähe des Donor-Akzeptor-Komplexes eine intramolekulare Fluoreszenzlöschung statt. Bei enzymatischer Spaltung der Peptidbindung zwischen dem Fluorophor und Quencher wird durch die größere Entfernung beider Moleküle die Fluoreszenz freigesetzt, die kontinuierlich detektiert werden kann und eine quantitative Messung der Enzymaktivität ermöglicht.^[120] Somit ist bei höheren Hemmaktivitäten der Inhibitoren eine geringere messbare Fluoreszenz zu beobachten, da weniger Substratmoleküle enzymatisch gespalten werden.

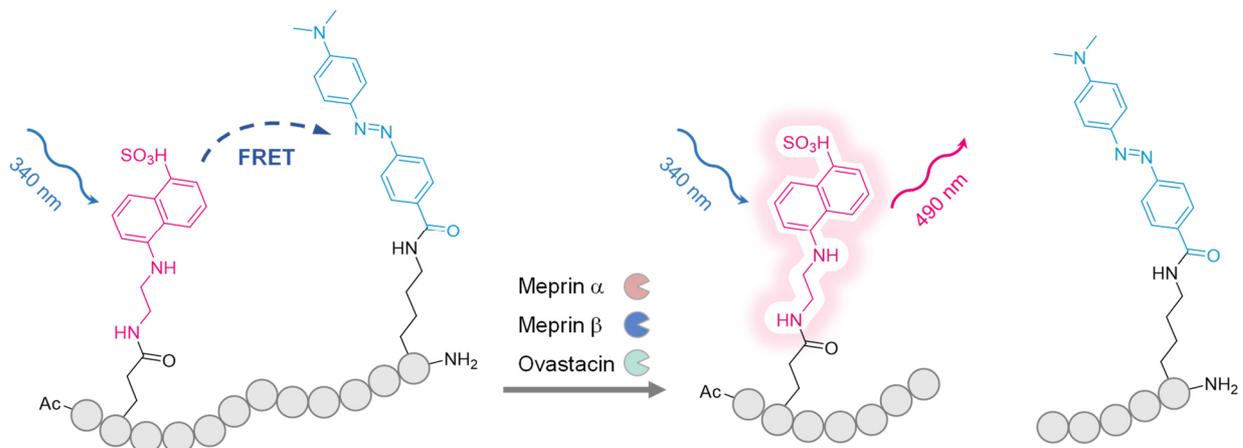


Abbildung 9: Schematische Darstellung des FRET-basierten Assays am Beispiel des Substrats Ac-RE(Edans)-DR-Nle-VGDDPYK(Dabcyl)-NH₂.

Die inhibitorischen Aktivitäten sind als IC₅₀-Werte oder apparente Bindungskonstanten ($K_i^{(app)}$) dargestellt. Die $K_i^{(app)}$ -Werte wurden über die Morrison-Gleichung^[121] berechnet. Die Ergebnisse aus drei unabhängigen Experimenten sind in dieser Arbeit als geometrisches Mittel mit geometrischer Standardabweichung angegeben.

4 DOCKINGUNTERSUCHUNGEN

Das molekulare Docking ist eine strukturbasierte Methode, die dazu dient, mögliche aktive Konformationen von Liganden an einem Target zu analysieren. Es gibt viele molekulare Dockingmethoden, die auf unterschiedlichen Mechanismen beruhen und für die Vorhersage von Interaktionen des Liganden mit dem Zielprotein eingesetzt werden können.^[122] Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Software GOLD (Genetic Optimization for Ligand Docking) für die Dockingexperimente verwendet. GOLD nutzt einen genetischen Algorithmus zur Generierung der Ligandenkonformationen.^[123] Genetische Algorithmen verwenden Strategien sowie die Semantik der Genetik und der biologischen Evolution. Dabei wird zuerst eine Ausgangspopulation von möglichen Konformationen des Liganden per Zufallsprinzip generiert. Jeder Konformation wird bei der Evaluation basierend auf der vorhergesagten Bindungsaffinität ein Fitnessscore zugewiesen. Im weiteren Vorgehen werden bestimmte Konformationen basierend auf dem Fitnessscore selektiert. In der neu erzeugten Zwischenpopulation werden die Eigenschaften (Parameterwerte) der Konformationen verändert (Mutation) und miteinander kombiniert (Rekombination), um eine neue Population von Konformationen (neue Generation) zu erzeugen. Dieser Zyklus mit Scoring, Selektion, Mutation und Rekombination wird mehrmals wiederholt, um die Protein-Liganden-Interaktionen zu optimieren.^[124] In der Software GOLD (2020.1) werden verschiedene Scoringfunktionen angeboten. Es stehen empirischen Funktionen wie GoldScore, ChemScore^[125], CHEMPLP^[126] oder die wissensbasierte Funktion ASP^[127], welche aus einer Datenbank von Protein-Ligand-Komplexen abgeleitet ist, zur Verfügung. Die Dockingexperimente wurden mit der Scoringfunktion ChemScore durchgeführt (Gleichung 2).

Gleichung 2: ChemScore Scoringfunktion

$$\begin{aligned}\Delta G_{\text{binding}} &= \Delta G_0 + \Delta G_{\text{hbond}} + \Delta G_{\text{metal}} + \Delta G_{\text{lipo}} + \Delta G_{\text{rot}} \\ \text{ChemScore} &= \Delta G_{\text{binding}} + P_{\text{clash}} + c_{\text{internal}}P_{\text{internal}}\end{aligned}$$

Der Term $\Delta G_{\text{binding}}$ stellt die gesamte freie Energieänderung dar, die bei der Bindung des Liganden auftritt und durch verschiedene Komponenten gebildet wird. Die finale ChemScore-Fitnessfunktion enthält auch einen Term für die Kollision von Protein- und Ligandenatomen (P_{clash}) und einen Term für die interne Energie ($c_{\text{internal}}P_{\text{internal}}$), die negativ in die Gleichung eingehen. Für humanes Meprin β standen zwei Kristallstrukturen mit dem PDB-Eintrag 7AQ1^[61] und 4GWN^[128] als Protein für das Docking zu Verfügung. Aufgrund der induzierten Anpassung („*induced fit*“) des Enzyms bei Bildung eines Protein-Ligand-Komplexes, die bei Meprin β und anderen Astacinen vorkommt, wurde die Kristallstruktur 7AQ1 für die Dockingexperimente favorisiert.^[3,61] Im Gegensatz zur Kristallstruktur 4GWN wurde bei der Struktur 7AQ1 humanes

Meprin β mit dem hydroxamsäurebasierten Inhibitor **2a** kokristallisiert, was eine geeignetere Abbildung der Konformation des Enzyms bei Bindung für die Dockingexperimente darstellt. Untersuchungen zeigten auch eine höhere Genauigkeit des Dockings bei der Verwendung der ligandengebundenen Konformation eines Enzyms im Vergleich zur ungebundenen Enzymkonformation.^[129] Ausgehend von der Kristallstruktur 7AQ1 wurde die Proteasedomäne von Monomer A des Meprin β Homodimers verwendet, was mit einer besseren Auflösung der S₁-Bindetasche innerhalb des aktiven Zentrums im Vergleich zu Monomer B begründet ist.^[61] Das Hydroxamsäure-Fragment des kokristallisierten Inhibitors **2a** wurde für ein *Scaffold-Match-Constraint* genutzt, bei der die Liganden an dieser bestimmten Bindungsposition platziert werden. Durch diese Einschränkung könnten plausible Positionierungen der Verbindungen am Zinkion erhalten werden, um die Interaktion der Inhibitoren mit dem Metall widerzuspiegeln. Für die anderen Astacinproteasen Meprin α und Ovastacin sind keine Kristallstrukturen vorhanden, sodass die entsprechenden Homologie Modelle genutzt wurden. Um in den beiden Fällen auch ein *Scaffold Constraint* anwenden zu können, wurden ein strukturelles Alignment der Homologie Modelle und der Kristallstruktur 7AQ1 durchgeführt, damit der Hydroxamsäure-*Scaffold* an den jeweiligen Zinkionen positioniert ist. Mit Hilfe der Dockinguntersuchungen können mögliche Bindungsmodi der Verbindungen analysiert werden, um die Unterschiede in den inhibitorischen Aktivitäten interpretieren zu können. Die Vorhersagekraft der verfügbaren Methoden ist jedoch noch immer begrenzt. In vergleichenden Studien wurde eine schlechte Korrelation zwischen den ermittelten Scoringwerten der Dockinglösung und den experimentellen Bindungsaffinitäten nachgewiesen.^[130] Ein weiteres Problem stellt die fehlende Flexibilität des Proteins bei den Dockinguntersuchungen dar. Aufgrund der Komplexität des Proteins und des hohen Rechenaufwands wird das Protein als starr angesehen, sodass die flexible Adaption des Proteins bei Bindung eines Liganden während des Dockings nicht simuliert werden kann.^[131] Die in Abschnitt 5.2 diskutierten Interaktionen sind demzufolge hauptsächlich auf den Ergebnissen der Dockinguntersuchungen in das starre Protein zurückzuführen. In vereinzelt Fällen wurde für eine bessere Darstellung des potentiellen Bindungsmodus ein Docking unter Berücksichtigung von flexiblen Seitenketten angewendet.

5 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

5.1 Biochemische Charakterisierung der dargestellten Verbindungen

5.1.1 Inhibitoren basierend auf einer Amingrundstruktur

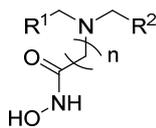
Ausgehend von den bereits beschriebenen Inhibitoren auf der Basis einer Amingrundstruktur wurden weitere Derivate mit unterschiedlicher Spacerlänge ($n=1$, $n=2$) und verschiedenen Substituenten hinsichtlich ihrer inhibitorischen Aktivität gegenüber Meprin α und β untersucht. In den vorherigen Arbeiten konnten über die Modifikation der Substituenten die ersten selektiven Inhibitoren gegenüber Meprin α ^[16] und β ^[58] dargestellt werden (siehe Abschnitt 1.3). Zudem konnte festgestellt werden, dass sich die Verlängerung der Spacergruppe zwischen der Amin- und Hydroxamsäurefunktion positiv auf die Aktivität gegenüber Meprin α auswirkte.^[16]

Im Rahmen dieser Arbeit wurden unsymmetrisch substituierte Amine (**3a-e** und **4a-h**) dargestellt, welche inhibitorische Aktivitäten im mehrstelligen nanomolaren bis mikromolaren Bereich aufweisen (Tabelle 11). Mit der Kombination unterschiedlicher Substituenten wurde das Ziel verfolgt, die Selektivität innerhalb der Meprinisoforamen zu modulieren. Zum einen sollte die Selektivität von Meprin α gegenüber Meprin β erhöht und zum anderen die Hemmaktivitäten beider Isoformen für eine äquipotente Hemmung angeglichen werden. Tertiäre Amine, welche einen Benzodioxolanrest zusammen mit einem basischen Substituenten (**3b-d** und **4e,f,h**) aufweisen, besaßen vergleichsweise eine geringere Hemmaktivität gegenüber Meprin β als die anderen dargestellten Derivate. Da die Verlängerung der Spacergruppe ($n=2$) sich positiv auf die Aktivität gegenüber Meprin α auswirkt, wurden für die Derivate mit C₂-Spacer höhere Selektivitätsfaktoren (SF) für Meprin α erzielt. So konnte beispielsweise mit der Darstellung von **4f** als längeres Analogon von **3c** die Aktivität gegenüber Meprin α um das Fünffache und gegenüber Meprin β nur um das Zweifache gesteigert werden. Die selektivste Verbindung in dieser Reihe stellt das tertiäre Aminderivat **4h** mit einem Selektivitätsfaktor (SF) von 30 dar, welches einen Dimethylanilinsubstituenten aufweist. Die Kombination eines basischen Substituenten mit einem Halogenphenol (**3a,e** und **4a,g**) führte stattdessen zu vergleichbaren inhibitorischen Aktivitäten gegenüber Meprin α und β im mehrstelligen nanomolaren bis mikromolaren Bereich. Wurde der basische Rest durch einen neutralen, lipophilen Halogenphenylrest (**4b**) oder einen elektronenreichen Benzodioxolanrest (**4c**) ausgetauscht, so blieb die äquipotente Inhibierung gegenüber Meprin α und β erhalten. Die inhibitorische Aktivität konnte aber bis in den unteren dreistelligen nanomolaren Bereich gesteigert werden. Beim Austausch des aciden Halogenphenols durch einen hydrophoben Halogenarylrest wurde in

Kombination mit einem Benzodioxolansubstituenten (**4d**) eine ähnliche Hemmaktivität gegenüber Meprin α festgestellt. Der Verlust der aciden Phenolfunktion führte hierbei zu einer sechsfachen Aktivitätsverminderung gegenüber Meprin β .

Tabelle 11: Inhibitorische Aktivitäten der unsymmetrisch substituierten tertiären Amine gegenüber hMeprin α und β

	R ¹	R ²	n	IC ₅₀ [nM]		SF ^[c]
				hMeprin α ^[a]	hMeprin β ^[b]	
2i ^[16]			1	1913 (1,07)	6545 (1,08)	3
2b ^[16]			2	157 (1,01)	2935 (1,13)	19
2h ^[58]			1	368 (1,02)	24 (1,07)	0,07
2c ^[16]			2	186 (1,00)	28 (1,04)	0,15
3a			1	632 (1,03)	389 (1,05)	0,6
3b			1	2843 (1,06)	26773 (1,07)	9
3c			1	2500 (1,03)	22000 (1,00)	9
3d			1	1014 (1,02)	6483 (1,07)	6
3e			1	495 (1,04)	320 (1,01)	0,6
4a			2	645 (1,01)	702 (1,04)	1
4b			2	215 (1,09)	273 (1,08)	1
4c			2	158 (1,07)	146 (1,08)	1



	R ¹	R ²	n	IC ₅₀ [nM]		SF ^[c]
				hMeprin α ^[a]	hMeprin β ^[b]	
4d			2	185 (1,19)	960 (1,04)	5
4e			2	474 (1,01)	8175 (1,01)	17
4f			2	463 (1,02)	9648 (1,03)	21
4g			2	1104 (1,05)	1217 (1,10)	1
4h			2	301 (1,08)	9126 (1,06)	30

[a] 40 mM HEPES, 100 mM NaCl, pH 7,4; [b] 40 mM Tris, pH 8; [c] SF: Selektivitätsfaktor (IC₅₀ Meprin β/ IC₅₀ Meprin α)

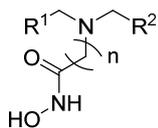
Im Vergleich zu den symmetrisch substituierten Aminen **2b** und **2c** konnte mit der Darstellung der unsymmetrisch substituierten Derivate keine Erhöhung in der Aktivität gegenüber Meprin α bestimmt werden. Die Selektivität von Meprin α gegenüber der β-Isoform wurde mit der Kombination eines basischen Substituenten und einem Benzodioxolanrest (**4e,f,h**) gesteigert. Die Selektivitätsfaktoren dieser Verbindungen bewegen sich jedoch in einem ähnlichen Bereich wie das symmetrisch substituierte Amin **2b** mit zwei Benzodioxolanresten (SF=19). Die unsymmetrisch substituierten Amine mit jeweils einem Halogenphenolrest (**3a,e**, **4a-c**, **4g**) sind gegenüber Meprin β weniger aktiv verglichen mit den symmetrisch substituierten Aminen **2c** und **2h** mit zwei Halogenphenolresten. Diese Aktivitätsverminderung gegenüber Meprin β durch die Reduzierung eines aciden Phenolrestes führte zu einem Angleichen der Hemmaktivitäten zwischen Meprin α und β. Die Hemmaktivität gegenüber Meprin α blieb im Vergleich zu **2b** bei wenigen Derivaten mit einem Halophenolrest unverändert, sodass mit **4b** und **4c** äquipotente Inhibitoren im unteren dreistelligen nanomolaren Bereich bestimmt wurden.

Ausgewählte Derivate wurden ebenfalls hinsichtlich der Aktivität gegenüber Ovastacin untersucht.¹ Die Evaluierung der ausgewählten Verbindungen (Tabelle 12) ergab eine Inhibierung der Ovastacinaktivität mit Hemmaktivitäten im mikromolaren und oberen nanomolaren Bereich. Eine geringere Inhibierung von murinem Ovastacin konnte bei Derivaten festgestellt werden, die vorzugsweise Meprin β hemmen im Vergleich zu Verbindungen, die eine erhöhte Aktivität gegenüber Meprin α aufweisen. Insbesondere Verbindungen mit mindestens einer Carboxylgruppe (**2a,d,e-g**) als acide Funktion führten zu einer verminderten Aktivität gegenüber Ovastacin. Mit der Reduzierung der Acidität durch einen Austausch der Carboxylgruppen gegen ein Halogenphenol (**2c** und **2h**) wurde eine Aktivitätssteigerung im dreistelligen nanomolaren Bereich erzielt. Des Weiteren war eine Verlängerung der Spacerlänge von C₁ auf C₂ mit einer Steigerung der inhibitorischen Aktivität (**2b-d**) verbunden. Dieser positive Effekt in Bezug auf die Spacerlänge wurde auch bereits für Meprin α beobachtet.

Tabelle 12: Inhibitorische Aktivitäten der tertiären Amine gegenüber mOvastacin

	R ¹	R ²	n	K _i ^(app) [nM] mOvastacin ^[a]	IC ₅₀ [nM]	
					hMeprin α ^[b]	hMeprin β ^[c]
2a			1	2173 (1,01)	16050 (1,01)	49 (1,42)
2d			2	1037 (1,01)	5030 (1,01)	495 (1,00)
2e			1	11169 (1,01)	n.b. ^[d]	1283 (1,01)
2f			1	6386 (1,01)	3412 (1,10)	78 (1,04)
2g			1	2385 (1,24)	1909 (1,04)	276 (1,36)
2i			1	2538 (1,11)	1913 (1,07)	6545 (1,08)
2b			2	1150 (1,06)	157 (1,00)	2935 (1,13)
2h			1	802 (1,27)	368 (1,02)	24 (1,07)
2c			2	490 (1,10)	186 (1,00)	28 (1,04)

¹ Korschgen, H., Jäger, C., Tan, K., Buchholz, M., Stöcker, W., Ramsbeck, D., *ChemMedChem* **2020**, *15*, 1499–1504.



	R ¹	R ²	n	K _i ^(app) [nM] mOvastacin ^[a]	IC ₅₀ [nM]	
					hMeprin α ^[b]	hMeprin β ^[c]
2j			2	2164 (1,00)	1001 (1,04)	19187 (1,05)
2k			2	1130 (1,08)	495 (1,07)	19539 (1,05)
2l			2	27335 (1,34)	7675 (1,06)	53855 (1,06)
2m			2	1273 (1,06)	3415 (1,02)	68246 (1,02)
4a			2	3269 (1,00)	645 (1,01)	702 (1,04)
4b			2	760 (1,10)	215 (1,09)	273 (1,08)
4c			2	764 (1,25)	158 (1,07)	146 (1,08)
4d			2	1956 (1,02)	185 (1,19)	960 (1,04)
4e			2	7938 (1,03)	474 (1,01)	8175 (1,01)
4f			2	7223 (1,05)	463 (1,02)	9648 (1,03)
4g			2	8134 (1,01)	1104 (1,05)	1217 (1,10)

[a] 50 mM Tris/HCl, 150 mM NaCl, pH 7,4; [b] 40 mM HEPES, 100 mM NaCl, pH 7,4; [c] 40 mM Tris, pH 8; [d] nicht bestimmt

Ausgehend von diesen ersten Ergebnissen wurden weitere tertiäre Amine mit C₂-Spacer **2j-m** und **4a-g** hinsichtlich der inhibitorischen Aktivität gegenüber murinen Ovastacin untersucht. Der Verlust der aciden Phenolfunktion führte bei Verbindung **2j** mit den lipophilen

Halogenarylstsubstituenten zu einer deutlichen Verminderung der Ovastacinaktivität. Bei einer Veretherung der Phenolstruktur (**2k**) war der Aktivitätsverlust dagegen weniger ausgeprägt. Die Kombination des Halogenphenols mit einem elektronenarmen Chlor-Fluorarylrest (**4b**) oder einem elektronenreichen Benzodioxolanrest (**4c**) war mit einer Aktivitätssteigerung verbunden. Wurde der Benzodioxolansubstituent stattdessen mit dem Chlor-Fluorarylrest ohne acide Phenolfunktion (**4d**) kombiniert, konnte erneut eine Reduktion der Hemmaktivität im Vergleich zu **4c** beobachtet werden. Die Einführung von elektronenarmen Substituenten wie Pyridin- (**4a,e-g** und **2l**) oder Benzonitrilresten (**2m**) führte ebenfalls zu einer Verminderung der inhibitorischen Aktivität gegenüber Ovastacin. Mit der Untersuchung der Aminderivate hinsichtlich der Aktivität gegenüber Ovastacin wurde für Verbindung **2c** mit zwei Chlor-Fluorphenolresten die höchste Hemmaktivität im dreistelligen nanomolaren Bereich bestimmt. Ein Vergleich der inhibitorischen Aktivitäten gegenüber den verschiedenen Astacinproteasen (Tabelle 12) zeigte, dass das Aminderivat **2c** eine etwas höhere Aktivität gegenüber den Meprinen als Ovastacin aufwies.

5.1.2 Inhibitoren mit heteroaromatischer Grundstruktur

Mit dem Ziel der Untersuchung von neuartigen Grundkörpern zur Optimierung der Astacininhibitoren wurde eine Reihe an unterschiedlichen heteroaromatischen Derivaten dargestellt, welche die bioaktive Konformation des tertiärenamins einfrieren sollten. Die inhibitorischen Aktivitäten der verschiedenen monozyklischen und anellierten Heteroaromaten wurden gegenüber Meprin α und β bestimmt und mit der Aktivität der analogen tertiären Aminderivate verglichen (Tabelle 13).¹ Insgesamt konnte bei Betrachtung aller heteroaromatischer Derivate höhere Hemmaktivitäten im Vergleich zu den tertiären Aminen **2n** und **2o** festgestellt werden. Dabei waren die heteroaromatischen Verbindungen generell aktiver gegenüber Meprin α als gegenüber Meprin β , was vergleichbar ist mit den tertiären Aminen **2n** und **2o**. Unterschiede gibt es im Bezug auf den Einfluss der Spacerlänge. Innerhalb der heteroaromatischen Derivate wurde die C₁-Spacergruppe zwischen der Hydroxamsäurefunktion und dem heteroaromatischen Grundkörper gegenüber des C₂-Spacers bevorzugt. Bei den tertiären Aminen führte wiederum die Darstellung der Derivate mit einer verlängerten Spacergruppe zu einer erhöhten Aktivität gegenüber Meprin α im Vergleich zu den Aminderivaten mit C₁-Spacer.

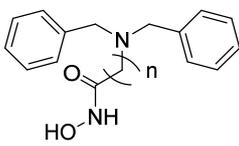
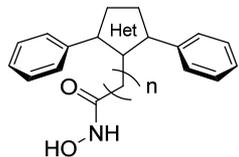
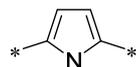
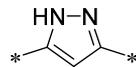
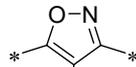
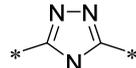
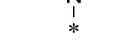
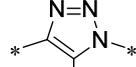
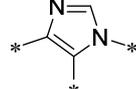
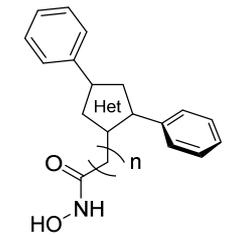
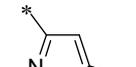
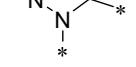
Der Austausch der flexiblen Grundstruktur des tertiärenamins durch den Pyrrolgrundkörper, welches strukturell dem Amin am nächsten liegt, führte bei **5a** im Vergleich zu **2n** zu einer

¹ Tan, K., Jäger, C., Körschgen, H., Geissler, S., Schlenzig, D., Buchholz, M., Stöcker, W., Ramsbeck, D., *ChemMedChem* **2021**, *16*, 976–988.

deutlichen Aktivitätssteigerung um den Faktor 400 gegenüber Meprin α . Die geringere Inhibierung gegenüber Meprin β im mikromolaren Bereich hat eine hohe Meprin α -Selektivität um den Faktor 200 zufolge. Mit dem Austausch des Pyrrolgrundkörpers (**5a**) gegen ein Pyrazol (**5c**) und Isoxazol (**5e**) wurde eine weitere Steigerung der Hemmaktivität um das Fünffache gegenüber Meprin α erreicht. Beide Verbindungen **5c** und **5e** weisen einen $K_i^{(app)}$ -Wert im einstelligen nanomolaren Bereich auf und sind damit 2000fach potenter gegenüber Meprin α als das Aminanalogon **2n**. Für das Pyrazol- und Isoxazolderivat (**5c**, **5e**) konnte im Vergleich zum Pyrrol (**5a**) auch eine Aktivitätssteigerung gegenüber Meprin β im mehrstelligen nanomolaren Bereich festgestellt werden. Die inhibitorische Aktivität des Isoxazols (**5e**) gegenüber Meprin β ist hierbei um das Vierfache vermindert verglichen mit dem Pyrazolderivat (**5c**), was wiederum die Selektivität für Meprin α auf Faktor 200 erhöht. Eine weitere Erhöhung der Meprin α -Selektivität auf den Faktor von 400 wurde mit der Verlängerung des Spacers beim Isoxazolderivat (**5f**) erzielt, da die Abnahme der Aktivität gegenüber Meprin β im Vergleich zu Meprin α ausgeprägter war. Für die 1,2,4-Triazole **5g** und **5h** konnte eine geringe Aktivitätsverminderung um Faktor zehn im Vergleich zu den Isoxazolen **5e** und **5f** verzeichnet werden. Die inhibitorischen Aktivitäten der 1,2,4-Triazolderivate **5g** und **5h** sind somit mit den Aktivitäten der Pyrrolderivate **5a** und **5b** vergleichbar. Der Austausch des 1,2,4-Triazolgrundkörpers (**5g**) durch das 1,2,3-Triazol (**5i**) wirkte sich dagegen günstig auf die inhibitorische Aktivität gegenüber Meprin α und β aus. Ebenso wurde die Imidazolgrundstruktur (**5j**) für die Inhibierung von Meprin α und β bevorzugt. Die Aktivitäten beider heteroaromatischer Derivate **5i** und **5j** liegen etwa im gleichen Bereich wie die entsprechenden Pyrazol- und Isoxazolderivate **5c** und **5e**.

Mit der Darstellung der 1,2,4-substituierten Pyrazolderivate **6a** und **6b** wurden Grundstrukturen untersucht, welche durch die „1,2,4-Zyklisierung“ eine andere Positionierung der Hydroxamsäurefunktion in Bezug auf die Phenylsubstituenten aufweisen. Eine Aktivitätssteigerung der Verbindungen **6a** und **6b** konnte im Vergleich zu den tertiären Aminen **2n** und **2o** festgestellt werden. Verglichen mit den 1,2,3-zyklisierten Grundstrukturen **5a-5j** fiel die Erhöhung der Aktivität der 1,2,4-zyklisierten Derivate jedoch in einem geringeren Ausmaß aus. Zudem wurde für das 1,2,4-substituierte Pyrazol **6b** mit einem C₂-Spacer annähernd die gleiche inhibitorische Aktivität wie für das Analogon **6a** mit kürzerer Spacergruppe bestimmt, während für die 1,2,3-zyklisierten Verbindungen **5a-5j** eine Verminderung der Aktivität zu beobachten war.

Tabelle 13: Inhibitorische Aktivitäten der monozyklischen Heteroaromaten gegenüber hMeprin α und β

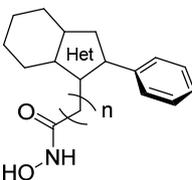
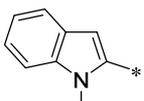
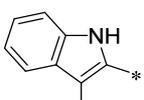
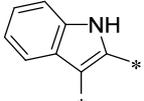
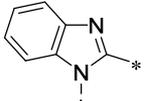
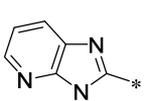
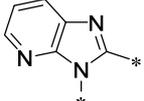
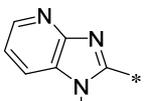
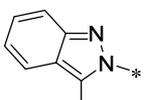
Grundkörper	Nr.	Het	n	$K_i^{(app)}$ [nM]		SF ^[c]	
				hMeprin α ^[a]	hMeprin β ^[b]		
	2n	-	1	7868 (1,04)	n.b. ^[d]	-	
	2o	-	2	1647 (1,04)	74361 (1,04)	45	
	5a		1	20 (1,25)	4311 (1,09)	216	
	5b		2	736 (1,07)	15026 (1,08)	20	
	5c		1	3 (1,04)	199 (1,05)	66	
	5d		2	76 (1,12)	8034 (1,07)	106	
	5e		1	4 (1,06)	813 (1,08)	203	
	5f		2	31 (1,09)	13491 (1,05)	435	
	5g		1	66 (1,02)	8680 (1,04)	132	
	5h		2	306 (1,12)	42320 (1,09)	138	
	5i		1	9 (1,01)	1448 (1,03)	161	
	5j		1	2 (1,15)	443 (1,22)	222	
		6a		1	256 (1,08)	10440 (1,06)	41
		6b		2	406 (1,09)	15411 (1,13)	38

[a] 40 mM HEPES, 100 mM NaCl, pH 7,4; [b] 40 mM Tris, pH 8; [c] SF: Selektivitätsfaktor ($K_i^{(app)}$ Meprin β / $K_i^{(app)}$ Meprin α); [d] nicht bestimmt; Restaktivität 82% bei einer Inhibitorkonzentration von 100 μ M

Die anellierte Heteroaromaten **7a-h** (Tabelle 14) besaßen ebenfalls eine erhöhte inhibitorische Aktivität im Vergleich zu den entsprechenden tertiären Aminen **2n** und **2o** (Tabelle 13). Für die Indolderivate **7a** und **7b** konnte eine vergleichbare Aktivitätssteigerung wie bei den Pyrrolen **5a** und **5b** verzeichnet werden. Des Weiteren führte die Verlängerung der Spacergruppe zu einer Aktivitätsverminderung gegenüber Meprin α und β , was mit den 1,2,3-zyklisierten Derivaten in Übereinstimmung ist. Ein verändertes Substitutionsmuster am Indolgerüst (**7c**) wirkte sich nur

geringfügig auf die Hemmaktivität gegenüber Meprin α und β aus. Für die anellierte Heteroaromaten mit einem weiteren Stickstoffatom wie das Indazol (**7h**) und Benzimidazol (**7d**) wurde eine geringe Aktivitätsverringerng um Faktor zwei bestimmt. Bei Letzterem führte die Verlängerung des Spacers (**7e**) auch zu einer Verminderung der inhibitorischen Aktivität. Die Imidazo[4,5-*b*]pyridine **7f** und **7g** wiesen Unterschiede in der Hemmaktivität gegenüber Meprin α in Abhängigkeit des Substitutionsmusters auf. So führte die Substitution bei dem *N1*-substituierten Imidazo[4,5-*b*]pyridin **7g** zu einer sechsfachen Verminderung der Meprin α -Aktivität im Vergleich zum *N3*-substituierten Analogon **7f**. Die Hemmaktivität gegenüber Meprin β blieb hingegen bei den beiden Isomeren **7f** und **7g** gleich.

Tabelle 14: Inhibitorische Aktivitäten der anellierten Heteroaromaten gegenüber hMeprin α und β

Grundkörper	Nr.	Het	n	$K_i^{(app)}$ [nM]		SF ^[c]
				hMeprin α ^[a]	hMeprin β ^[b]	
	7a		1	69 (1,08)	1076 (1,05)	16
	7b		2	414 (1,02)	16990 (1,21)	41
	7c		1	82 (1,20)	1184 (1,02)	14
	7d		1	163 (1,14)	1625 (1,08)	10
	7e		2	1031 (1,09)	27915 (1,05)	27
	7f		1	262 (1,01)	4556 (1,12)	17
	7g		1	1483 (1,35)	4170 (1,08)	3
	7h		1	273 (1,13)	3364 (1,08)	12

[a] 40 mM HEPES, 100 mM NaCl, pH 7,4; [b] 40 mM Tris, pH 8; [c] SF: Selektivitätsfaktor ($K_i^{(app)}$ Meprin β / $K_i^{(app)}$ Meprin α)

Ausgewählte Verbindungen der heteroaromatischen Grundkörper wurden ebenfalls hinsichtlich ihrer Aktivität gegenüber mOvastacin evaluiert (Tabelle 15). Für die untersuchten Verbindungen konnten mit der Ausnahme des 1,2,4-Triazolderivats **5h** inhibitorische Aktivitäten im unteren mikromolaren (**5d,g**; **6a,b**; **7b,d,e**) und auch nanomolaren Bereich (**5c,e** und **7a**) bestimmt werden.

Tabelle 15: Inhibitorische Aktivitäten der heteroaromatischen Grundstrukturen gegenüber mOvastacin

Nr.	$K_i^{(app)}$ [nM]	SF	
	mOvastacin ^[a]	hMeprin α ^[b]	hMeprin β ^[c]
5c	196 (1,19)	65	1,0
5d	2423 (1,04)	32	0,3
5e	66 (1,09)	17	0,1
5g	4877 (1,06)	74	0,6
5h	31799 (1,01)	104	0,8
6a	1045 (1,01)	4	0,1
6b	1096 (1,07)	3	0,1
7a	93 (1,19)	1	0,1
7b	1300 (1,09)	3	0,1
7d	2090 (1,02)	13	1,3
7e	9798 (1,06)	10	0,4

[a] 50 mM Tris/HCl, 150 mM NaCl, pH 7,4; [b] Selektivitätsfaktor ($K_i^{(app)}$ Ovastacin/ $K_i^{(app)}$ Meprin α); [c] Selektivitätsfaktor ($K_i^{(app)}$ Ovastacin/ $K_i^{(app)}$ Meprin β)

Verglichen mit den Hemmaktivitäten gegenüber Meprin α sind die heteroaromatischen Derivate gegenüber Ovastacin weniger aktiv. In Bezug auf die Inhibierung von Meprin β wiesen die Verbindungen Hemmaktivitäten im gleichen Bereich und auch teilweise erhöhte Aktivitäten gegenüber Ovastacin auf. Für die heteroaromatischen Derivate mit einem Isoxazol-, Pyrazol- und Indolgrundkörper (**5c,e** und **7a**) wurden höhere inhibitorische Aktivitäten bestimmt, als für die potentesten Verbindungen basierend auf der Amingrundstruktur (Abschnitt 5.1.1).¹

Die Untersuchung der Selektivität gegenüber den verwandten Metalloproteasen der Metzincin-Superfamilie erfolgte über die Bestimmung der Restaktivität von bestimmten MMPs und ADAMs in Gegenwart von ausgewählten heteroaromatischen Inhibitoren (Tabelle 16). Für die getesteten Verbindungen konnte keine nennenswerte Hemmung der *off-target*-Metalloproteasen (RA > 60%) bei einer Konzentration von 10 μ M festgestellt werden.

 Tabelle 16: Inhibierung der *off-target*-Metalloproteasen von ausgewählten heteroaromatischen Derivaten

RA @ 10 μ M [%] ^[a]	5a	5c	5d	5e	5f	5g	7a	7d
MMP2	83	87	98	104	97	95	85	89
MMP9	92	86	89	81	93	99	90	96
MMP13	79	80	79	75	93	93	77	102
ADAM10	82	80	75	73	66	89	89	87
ADAM17	82	62	75	61	76	90	88	92

[a] RA: Restaktivität in % bei einer Inhibitorkonzentration von 10 μ M

¹ Tan, K., Jäger, C., Körschgen, H., Geissler, S., Schlenzig, D., Buchholz, M., Stöcker, W., Ramsbeck, D., *ChemMedChem* **2021**, *16*, 976–988.

5.1.3 Inhibitoren basierend auf einer Pyrazolgrundstruktur

5.1.3.1 3,4,5-substituierte Pyrazolderivate mit struktureller Variation der Substituenten

Ausgehend vom Pyrazolgrundkörper wurden verschiedene strukturelle Variationen der Substituenten am Heteroaromaten untersucht. Diese Modifikationen der Reste wurden an Position 3 und 5 durchgeführt. Die ersten Untersuchungen befassten sich zunächst mit der Variation eines Restes in 3(5)-Position¹ des Pyrazolgrundkörpers (Tabelle 17). Das ursprüngliche 3,5-Diphenylpyrazolderivat **5c** erwies sich, auch ohne Modifikationen an den Phenylresten, bereits als sehr potente Verbindung gegenüber Meprin α mit einem $K_i^{(app)}$ -Wert von 1 nM und einer Selektivität von Faktor 100 gegenüber Meprin β . Die Einführung verschiedener lipophiler Substituenten (**100a-c**) zeigte, dass ein lipophiler zyklischer Rest direkt am Pyrazolgrundkörper für die Hemmung von Meprin α und β bevorzugt wurde. Sowohl die Einführung eines Methylsubstituenten (**100a**), als auch die Einführung eines Benzylsubstituenten (**100b**) führten zu einer deutlichen Verschlechterung der inhibitorischen Aktivität gegenüber Meprin α und β . Der Austausch des Phenylrestes gegen einen Cyclopentansubstituenten bewirkte dagegen keinen Unterschied in der Hemmaktivität. Demzufolge könnten nicht nur aromatische, sondern auch gesättigte ringförmige Substituenten, die direkt am Pyrazolgrundkörper gebunden sind, für die Inhibierung von Meprin α und β geeignet sein. Bei der Einführung von Resten (**100d-g**), die einen +M-Effekt aufweisen, wurden keine großen Unterschiede in der inhibitorischen Aktivität im Vergleich zum unsubstituierten Diphenylpyrazolderivat **5c** festgestellt. Eine Erhöhung der Elektronendichte mit der Einführung eines Benzodioxolan- (**100f**) und eines Dimethoxyrestes (**100g**) hatte keinen Einfluss auf die Inhibierung von Meprin α . Die Einführung von Benzonitrilsubstituenten (**100h,i**), welche einen -M-Effekt ausüben, wirkte sich wiederum negativ auf die Hemmaktivität gegenüber Meprin α und β aus. Der Elektronenentzug aus dem aromatischen System war mit einer bis zu zehnfachen Verschlechterung der inhibitorischen Aktivität im Vergleich zu **5c** verbunden. Für den Großteil der Verbindungen mit einem eingeführten aciden Substituenten konnte eine Verschiebung der Selektivität in Richtung Meprin β beobachtet werden. So wurde bei der Einführung von Carboxylgruppen (**100j,k**) eine Aktivitätssteigerung gegenüber Meprin β bzw. eine Aktivitätsverminderung gegenüber Meprin α verglichen mit **5c** verzeichnet. Für die Derivate wurden trotzdem höhere Hemmaktivitäten gegenüber Meprin α im Vergleich zu Meprin β bestimmt.

¹ Im prototropen Gleichgewicht kann sich die Position des Wasserstoffatoms von 1H-Pyrazolen zwischen den beiden Stickstoffatomen verändern. Dieser Wechsel des Protons führt auch zu einer Verschiebung der Nummerierung des Substituenten von C3 auf C5. Die isomere Substituentenstellung ist daher in Klammern gesetzt.

Tabelle 17: Inhibitorische Aktivitäten der 3,4,5-substituierten Pyrazolderivate gegenüber hMeprin α und β mit Variation eines Restes

	R	$K_i^{(app)}$ [nM] ^[a]		SF ^[b]
		hMeprin α	hMeprin β	
5c		1,3 (1,19)	115,8 (1,08)	116
100a	*-CH ₃	302,0 (1,12)	2110,8 (1,10)	7
100b		69,7 (1,05)	1733,4 (1,11)	25
100c		5,6 (1,11)	319,7 (1,06)	53
100d		1,1 (1,10)	116,0 (1,14)	105
100e		1,3 (1,14)	62,0 (1,04)	48
100f		1,1 (1,09)	109,1 (1,09)	99
100g		0,7 (1,31)	83,2 (1,05)	117
100h		4,8 (1,10)	334,7 (1,06)	67
100i		13,6 (1,04)	995,0 (1,14)	71
100j		7,5 (1,33)	47,5 (1,16)	6
100k		17,2 (1,16)	116,0 (1,15)	7
100l		2,2 (1,23)	60,6 (1,10)	31
100m		0,1 (1,62)	0,4 (1,14)	3



	R	$K_i^{(app)}$ [nM] ^[a]		SF ^[b]
		hMeprin α	hMeprin β	
100n		15,9 (1,26)	13,9 (1,08)	1
100o		1,6 (1,14)	88,4 (1,12)	55
100p		0,7 (1,09)	6,7 (1,15)	10
100q		0,3 (1,35)	32,6 (1,16)	127
100r		1,4 (1,25)	54,5 (1,15)	39
100s		11,6 (1,15)	97,7 (1,09)	8
100t		9,9 (1,18)	34,9 (1,15)	4

[a] 50 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH 7,4; [b] SF: Selektivitätsfaktor ($K_i^{(app)}$ Meprin β / $K_i^{(app)}$ Meprin α)

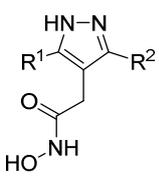
Mit der Darstellung von Carbonsäurebioisosteren wurden auch Veränderungen in der Selektivität innerhalb der zwei Isoformen beobachtet. Eine minimale Erhöhung der Hemmaktivität gegenüber Meprin β im Vergleich zu **5c** wurde bei der Einführung des Chlorfluorphenols (**100l**) und des Trifluoromethylpyrazols (**100o**) festgestellt. Im Vergleich dazu blieb die Aktivität von (**100l**) und (**100o**) gegenüber Meprin α im einstelligen nanomolaren Bereich, sodass sich die Selektivität innerhalb der Isoformen nur wenig veränderte. Eine weitere Erhöhung der Meprin β -Aktivität erfolgte mit der Einführung des Phenyltetrazols (**100p**). Die inhibitorische Aktivität gegenüber Meprin β konnte im Vergleich zum Diphenylpyrazol **5c** um das Sechszehnfache gesteigert werden, wodurch die Selektivität auf Faktor zehn reduziert wurde. Die Einführung des Halogenphenols (**100m**) und des Hydroxyisoxazols (**100n**) führte zu einer äquipotenten Inhibierung von Meprin α und Meprin β im zweistelligen nanomolaren Bereich. Im Fall des Bioisosters (**100m**) mit der Hydroxyfunktion in *para*-Position konnte eine inhibitorische Aktivität im picomolaren Bereich erzielt werden, während für das entsprechende Isomer (**100n**) mit der Hydroxyfunktion in

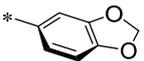
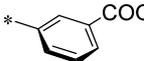
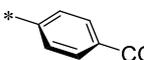
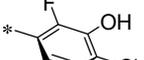
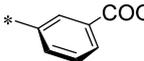
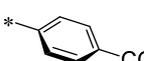
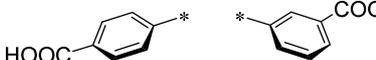
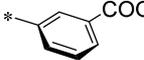
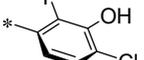
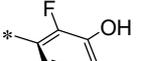
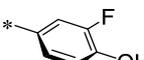
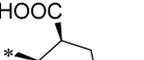
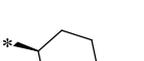
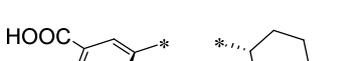
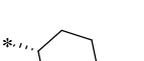
meta-Position Aktivitäten im nanomolaren Bereich bestimmt wurden. Eine Präferenz hinsichtlich des Substitutionsmusters zwischen *meta*- oder *para*-Position konnte innerhalb der Pyrazolderivate nicht festgestellt werden.

Da vergleichbare Hemmaktivitäten zwischen **5c** und **100c** mit einem gesättigten ringförmigen Substituenten vorlagen, wurde die Einführung von verschiedenen Cyclohexancarbonsäuren (**100q-t**) untersucht. Die inhibitorischen Aktivitäten gegenüber Meprin β liegen bei den Verbindungen mit Cyclohexancarbonsäuren im ähnlichen Bereich verglichen mit den aromatischen Carbonsäuren (**100j,k**). Dabei scheinen die 1,2- und 1,4-substituierten Cyclohexancarbonsäure in der *cis*-Form (**100q,t**) für die Hemmung von Meprin β bevorzugt zu sein. Da die Einführung der 1,2-substituierten Cyclohexancarbonsäure (**100q**) mit einer höheren Aktivitätssteigerung gegenüber Meprin α verbunden war, blieb die Selektivität für Meprin α noch um den Faktor 100 bestehen. Bei Verbindung **100t** konnte wiederum vergleichbare Hemmaktivitäten innerhalb der Isoformen beobachtet werden.

Neben der Variation eines Restes in 3(5)-Position des Pyrazols (Tabelle 17) wurden auch 3,4,5-substituierte Pyrazolderivate (**101a-m**, Tabelle 18) untersucht, welche an beiden Resten in 3- und 5-Position modifiziert sind. Diese Pyrazolderivate mit modifizierten Resten in 3- und 5-Position wiesen allerdings nur marginale Unterschiede in der inhibitorischen Aktivität im Vergleich zu den monosubstituierten Derivaten (**100a-t**) auf. Das Vorhandensein von zwei elektronenreichen Benzodioxolansubstituenten bei **101a** hatte keinen Einfluss auf die Aktivität gegenüber Meprin α und β verglichen mit dem monosubstituierten Analogon **100f** oder dem unsubstituierten Diphenylpyrazol **5c**. Die Einführung eines zweiten aciden Substituenten beeinflusste geringfügig die Selektivität innerhalb der Meprinisoformen. Eine äquipotente Inhibierung von Meprin α und β wurde für die symmetrisch substituierten Pyrazolderivate mit Carboxylgruppe in *meta*- und *para*-Position (**101b,c**) bestimmt. Eine Erhöhung der Meprin β -Selektivität konnte nicht festgestellt werden. Damit unterscheiden sich die Pyrazolderivate von den tertiären Aminen, bei denen die Einführung von sauren Carboxylgruppen zu Meprin β -selektiven Verbindungen führte. Auch das symmetrisch substituierte Pyrazolderivat **101d** mit zwei Halophenolresten wies im Vergleich zum monosubstituierten Analogon **100l** nur eine geringe Aktivitätssteigerung um Faktor vier gegenüber Meprin β auf. Neben den symmetrisch substituierten Pyrazolderivaten (**101a-d**) wurde auch eine Reihe von unsymmetrisch substituierten Pyrazolderivaten (**101e-m**) dargestellt. Eine Kombination von elektronenreichen Benzodioxolansubstituenten mit aciden Carboxylgruppen wie bei Verbindung **101e** und **101f** führte zu einer Verringerung der Meprin α -Selektivität um etwa Faktor zehn verglichen mit dem Pyrazolderivat **101a** mit zwei Benzodioxolanresten.

Tabelle 18: Inhibitorische Aktivitäten der 3,4,5-substituierten Pyrazolderivate gegenüber hMeprin α und β mit Variation von zwei Resten



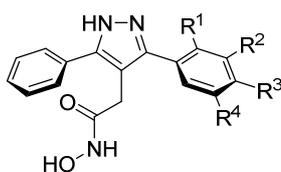
	R ¹	R ²	K _i ^(app) [nM] ^[a]		SF ^[b]
			hMeprin α	hMeprin β	
101a			0,6 (1,08)	112,9 (1,12)	177
101b			9,9 (1,00)	14,5 (1,22)	1
101c			55,8 (1,03)	116,3 (1,01)	2
101d			4,2 (1,08)	13,9 (1,12)	3
101e			3,1 (1,14)	44,4 (1,04)	15
101f			10,5 (1,05)	92,8 (1,02)	9
101g			20,3 (1,02)	32,5 (1,17)	2
101h			9,6 (1,05)	11,2 (1,06)	1
101i			5,1 (1,02)	4,0 (1,51)	1
101j			0,1 (1,35)	0,2 (1,13)	2
101k			0,4 (1,21)	5,2 (1,16)	13
101l			19,8 (1,10)	20,9 (1,16)	1
101m			21,0 (1,14)	14,5 (1,08)	1

[a] 50 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH 7,4; [b] SF: Selektivitätsfaktor ($K_i^{(app)}$ Meprin β / $K_i^{(app)}$ Meprin α)

Die Darstellung des unsymmetrisch substituierten Pyrazols mit aciden Carboxylgruppen (**101g**) und die Kombination von verschiedenen Carboxyl- mit Halogenphenolresten (**101h-j**) führte ebenfalls zu einem Angleichen der Hemmaktivitäten gegenüber beiden Isoformen. Für **101g** und **101h** wurden Aktivitäten im unteren zweistelligen nanomolaren Bereich bestimmt. Der Austausch der *para*-Carboxylgruppe in **101h** gegen die *meta*-Carboxylgruppe in **101i** war mit einer Aktivitätssteigerung um Faktor zwei verbunden. Ein stärkerer Einfluss des Substitutionsmusters wurde beim Halogenphenol festgestellt. Der Wechsel der Hydroxygruppe des Phenols in *meta*-Position (**101i**) auf die *para*-Position (**101j**) führte zu einer weiteren zwanzigfachen Steigerung der inhibitorischen Aktivität gegenüber Meprin α und β . Die für die Hemmung von Meprin bevorzugte *para*-Stellung des Phenols konnte auch schon bei dem monosubstituierten Analogon **100m** beobachtet werden. Die Kombination der Cyclohexancarbonsäurereste mit einer aromatischen Carbonsäure (**101k-m**) verhielt sich ähnlich zu den anderen Pyrazolen mit zwei aciden Substituenten. Die inhibitorische Aktivität gegenüber Meprin β wurde mit der zweiten aciden Funktionalität gesteigert, jedoch wurde auch in diesem Fall für **101l** und **101m** aufgrund der hohen Meprin α -Aktivität nur eine äquipotente Hemmung erzielt. Bei der Verbindung **101k** mit einem 1,2-substituierten Cyclohexancarbonsäurerest wurde für Meprin α eine zehnfach höhere Hemmaktivität im Vergleich zu Meprin β bestimmt. Die sehr hohe inhibitorische Aktivität von **101k** im picomolaren Bereich konnte bereits bei dem monosubstituierten Pyrazolderivat **100q** festgestellt werden.

Bei der Evaluierung der Inhibitoren mit verschiedenen heteroaromatischen Grundkörpern zeigte das Diphenylpyrazolderivats **5c** eine hohe Hemmaktivität gegenüber Ovastacin im nanomolaren Bereich (Abschnitt 5.1.2, Tabelle 15). Somit wurden auch ausgewählte 3,4,5-substituierte Pyrazolderivate mit variierenden Resten hinsichtlich der inhibitorischen Aktivität gegenüber Ovastacin untersucht (Tabelle 19). Verglichen mit der Ovastacinaktivität des Pyrazolgrundkörpers **5c** hatte die Einführung eines *para*-Methoxyphenyl- (**100e**) oder *para*-Carboxylphenyl-substituenten (**100k**) nur einen sehr geringen Einfluss auf die inhibitorische Aktivität gegenüber Ovastacin. Eine Steigerung der Hemmaktivität wurde mit der Einführung der Halogenphenolreste (**100l,m**) beobachtet. Insbesondere wurde die Hydroxyfunktion in *para*-Position (**100m**) mit einer hohen Aktivität im picomolaren Bereich gegenüber Ovastacin bevorzugt, was für die anderen zwei Astacinproteasen Meprin α und β in gleicher Weise beobachtet werden konnte. Die Verbindung **100m** zeigte gegenüber allen drei Astacinproteasen eine vergleichbare Inhibierung im picomolaren Bereich. Die anderen ausgewählten Verbindungen wiesen dagegen höhere Hemmaktivitäten gegenüber Meprin α als gegenüber Ovastacin auf, während die Inhibierung von Meprin β mit der von Ovastacin vergleichbar war.

Tabelle 19: Inhibitorische Aktivitäten der 3,4,5-substituierten Pyrazolderivate gegenüber mOvastacin



	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	K _i ^(app) [nM] mOvastacin ^[a]	SF	
						hMeprin α ^[b]	hMeprin β ^[c]
5c	H	H	H	H	196,1 (1,19)	196	2
100e	H	H	OCH ₃	H	123,6 (1,20)	95	2
100k	H	H	COOH	H	119,5 (1,09)	7	1
100l	F	OH	Cl	H	93,4 (1,08)	47	0,6
100m	H	F	OH	Cl	0,7 (1,03)	5	2

[a] 50 mM Tris/HCl, 150 mM NaCl, pH 7,4; [b] Selektivitätsfaktor (K_i^(app) Ovastacin/K_i^(app) Meprin α);
[c] Selektivitätsfaktor (K_i^(app) Ovastacin/K_i^(app) Meprin β)

Mit der strukturellen Variation der Phenylsubstituenten am Pyrazolgrundkörper wurden auch Untersuchungen von ausgewählten Derivaten auf mögliche Veränderungen in der *off-target*-Selektivität durchgeführt (Tabelle 20).

Tabelle 20: Inhibierung der *off-target*-Metalloproteasen von ausgewählten 3,4,5-substituierten Pyrazolderivaten

RA @ 10 μM ^[a]	5c	100d	100f	100g	100m	101a	101j
MMP2	87	78	41 5,3 (1,11) ^[b]	83	66	29 1,4 (1,34) ^[b]	95
MMP9	86	80	72	90	86	63	94
MMP13	80	85	71	101	88	56 15,7 (1,53) ^[b]	105
ADAM10	80	68	59 13,9 (1,00) ^[b]	87	104	62	90
ADAM17	62	52 11,6 (1,05) ^[b]	51 7,4 (1,10) ^[b]	65	68	57 9,6 (1,06) ^[b]	99

[a] RA: Restaktivität in % bei einer Inhibitorkonzentration von 10 μM; [b] IC₅₀-Wert in μM

Das Diphenylpyrazol **5c** zeigte bereits ein günstiges Selektivitätsprofil mit Restaktivitäten größer als 60% bei einer Inhibitorkonzentration von 10 μM. Die Einführung eines Methoxyphenyl- und Benzodioxolanrestes (**100d,f**) bewirkte eine erhöhte Inhibierung der MMPs und ADAMs, während ein acider Rest am Pyrazol (**100m**) zu einer geringen Inhibierung der *off-target*-

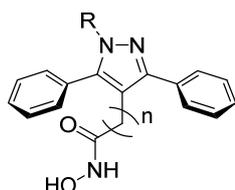
Metalloproteasen führte. In dem Zusammenhang stellt **100m** einen pan-spezifischen Inhibitor dar, da alle drei Astacinproteasen gleichermaßen im picomolaren Bereich inhibiert werden und eine hohe Selektivität gegenüber den *off-target*-Metalloproteasen vorliegt. Mit der Variation des zweiten Restes konnte beim Pyrazolderivat **101a** mit zwei Benzodioxolanresten im Vergleich zum monosubstituierten Derivat **100f** eine weitere Erhöhung der Hemmung gegenüber den MMP-Enzymen beobachtet werden. Im Hinblick auf die hohe inhibitorische Potenz der dargestellten Derivate gegenüber Meprin α besteht dennoch eine hohe Meprin α -Selektivität gegenüber den MMPs und ADAMs. Beim Vergleich der IC_{50} -Werte einzelner Verbindungen (Tabelle 20) konnten demnach Selektivitätsfaktoren größer als 2000 bestimmt werden. Die Einführung von zwei aciden Resten am Pyrazolgrundkörper (**101j**) führte zu einem sehr günstigen Selektivitätsprofil, bei dem keine Inhibierung der jeweiligen MMP- und ADAM-Proteasen beobachtet wurde.

5.1.3.2 *N*-substituierte 3,5-Diphenylpyrazolderivate

In Abschnitt 5.1.3.1 erfolgte die Charakterisierung von Pyrazolderivaten, die in 3- und 5-Position unterschiedlich modifiziert wurden. Des Weiteren wurden *N*-substituierte Pyrazolderivate über die Einführung verschiedener Substituenten an Position 1 des Pyrazols untersucht. Dabei blieben die Phenylreste in 3- und 5-Position unverändert. Ausgehend von der Verbindung **5c** wurden zunächst verschiedene lipophile Substituenten eingeführt (Tabelle 21). Die Substitution mit einem Methyl- (**126a**) und Phenylrest (**121**) führte jeweils zu einer vier- bis sechsfachen Aktivitätsverminderung gegenüber Meprin α und β verglichen mit dem unsubstituierten Diphenylpyrazolderivat **5c**. Beim *N*-benzylierten Pyrazol **126b** konnte hingegen keine Reduktion der Meprin α -Aktivität festgestellt werden. Eine Verminderung der Hemmaktivität gegenüber Meprin β wurde in einem geringeren Ausmaß bei **121** und **126a** verzeichnet. Für die *N*-substituierten Pyrazole wurde ebenfalls der Einfluss der Spacerlänge auf die inhibitorische Aktivität untersucht. In Abschnitt 5.1.2 konnte bereits bei der Untersuchung der heteroaromatischen Grundkörper gezeigt werden, dass die Verlängerung des Spacers zu einer Verringerung der Hemmaktivität gegenüber Meprin α und β führte. Das unsubstituierte Diphenylpyrazolderivat **5d** mit einem C_2 -Spacer wies bereits eine 80fache schlechtere Aktivität im Vergleich zum kürzeren Analogon **5c** auf. Für die *N*-substituierten Pyrazole **127a,b** und **123** wurde mit der Verlängerung des Spacers auch eine Verschlechterung der Bindungsaffinität beobachtet. Die Verringerung der Hemmaktivität aufgrund der Verlängerung des Spacers ist besonders bei der Phenylsubstitution (**123**) ausgeprägt mit einer Verschlechterung um Faktor 100

gegenüber Meprin α verglichen mit dem kürzeren Analogon **121**. Die Aktivitätsverminderung beim *N*-benzylierten Pyrazol **127b** mit C₂-Spacer fiel dagegen mit einem Faktor von 35 geringer aus. Dabei konnten für **127b** vergleichbare Hemmaktivitäten wie für das unsubstituierte Diphenylpyrazolderivat **5d** mit C₂-Spacer gegenüber Meprin α und β bestimmt werden.

Tabelle 21: Inhibitorische Aktivitäten der *N*-substituierten Diphenylpyrazole mit einfachen Substituenten und Alkylresten gegenüber hMeprin α und β



	R	n	$K_i^{(app)}$ [nM] ^[a]		SF ^[b]
			hMeprin α	hMeprin β	
5c	H _*	1	1 (1,19)	116 (1,08)	116
5d	H _*	2	78 (1,12)	9349 (1,02)	120
126a	H ₃ C _*	1	5 (1,02)	437 (1,08)	87
127a	H ₃ C _*	2	162 (1,17)	10827 (1,13)	67
121		1	4 (1,04)	667 (1,09)	167
123		2	402 (1,21)	9583 (1,05)	24
126b		1	1 (1,08)	291 (1,12)	291
127b		2	35 (1,08)	8007 (1,23)	229
131a		1	14 (1,10)	2634 (1,14)	188
132		2	528 (1,15)	26723 (1,29)	51

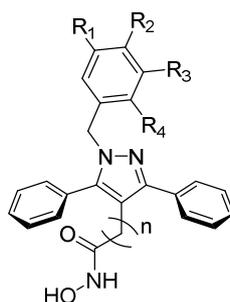
[a] 50 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH 7,4; [b] SF: Selektivitätsfaktor ($K_i^{(app)}$ Meprin β / $K_i^{(app)}$ Meprin α)

Neben dem methylsubstituierten Pyrazol **126a** wurde auch ein Dimethylaminoethanrest (**131a**) als aliphatischer Rest eingeführt (Tabelle 21). Die Einführung dieses basischen aliphatischen Restes (**131a**) war mit einer Verminderung der Aktivität verbunden. Die Reduktion der inhibitorischen Aktivität fiel bei Meprin β mit Faktor 25 im Vergleich zum unsubstituierten Pyrazol **5c** etwas höher aus als bei Meprin α mit Faktor vierzehn. Die Verlängerung der Spacergruppe dieser Verbindung (**132**) führte zu einer weiteren Verminderung der Hemmaktivität gegenüber beiden Isoformen.

Da die Einführung eines Benzylrestes (**126b**) im Gegensatz zu den anderen lipophilen Resten zu keiner Verschlechterung der Aktivität führte, wurde die Einführung einer Reihe von modifizierten Benzylsubstituenten untersucht (Tabelle 22). Für die *N*-substituierten Diphenylpyrazole (**126c-e**), welche am Benzylsubstituenten elektronendrückende Gruppen aufweisen, wurde nur eine marginale Erhöhung der Hemmaktivität gegenüber Meprin α im Vergleich zum unsubstituierten Diphenylpyrazol- **5c** und *N*-benzylierten Pyrazolderivat **126b** verzeichnet. Die Hemmaktivität gegenüber Meprin β wurde hingegen um Faktor drei bis vier verschlechtert, wodurch die Selektivität von Meprin α auf einen Faktor von 500-700 anstieg. Unterschiede in der Aktivität zwischen der *meta*- und *para*-Position der Methoxygruppe (**126c,d**) wurden nicht festgestellt. Auch eine Erhöhung der Elektronendichte über die Einführung des Benzodioxolans (**126e**) führte zu ähnlichen inhibitorischen Aktivitäten. Die Derivate mit verlängerter Spacergruppe wiesen mit der Einführung von elektronendrückenden Resten (**127c-e**) vergleichbare bzw. marginal erhöhte Hemmaktivitäten auf verglichen mit dem *N*-benzylierten Pyrazol **127b** mit C₂-Spacer. Mit der Einführung von Difluoromethylmethoxybenzylresten (**126f,g**) als lipophile Wasserstoffbrückendonatoren wurden die Hemmaktivitäten gegenüber Meprin α und β im Vergleich zum *N*-benzylierten Pyrazol **126b** minimal um den Faktor zwei vermindert. Die verlängerten Derivate (**127f,g**) zeigten ebenfalls eine Aktivitätsverringerng um den Faktor vier verglichen mit dem *N*-benzyliertem Pyrazol **127b**. Die Verringerung der Elektronendichte des Benzylrestes durch die Einführung von elektronenziehenden Gruppen wie beim Benzonitrilrest (**126h, 127h**) wirkte sich wenig auf die inhibitorische Aktivität gegenüber Meprin α und β aus, da vergleichbare Hemmaktivitäten wie bei den *N*-benzylierten Pyrazolen (**126b, 127b**) bestimmt wurden. Neben den substituierten Benzylresten wurde auch die Einführung von Pyridinsubstituenten (**126m,n**) als Elektronenmangelaromaten untersucht. Analog zum Benzonitrilrest (**126h**) wurde bei den Pyridinresten (**126m,n**) mit Verringerung der Elektronendichte am Aromaten keine Veränderung der Hemmaktivität gegenüber Meprin α und β im Vergleich zu **126b** verzeichnet. Während das Substitutionsmuster des Pyridinsubstituenten bei den Derivaten mit C₁-Spacer (**126m,n**) keinen Einfluss auf die inhibitorische Aktivität hatte, wurde für die Analoga mit einer C₂-Spacergruppe (**127m,n**) die *meta*-Positionierung (**127m**) für die Hemmung gegenüber Meprin α mit einem Unterschied von Faktor sechs bevorzugt im Vergleich zum *para*-Pyridinderivat (**127n**).

Mit der Einführung von aciden Resten (**126i-k**) konnte eine deutliche Veränderung in der Aktivität festgestellt werden. Die Einführung von aromatischen Carbonsäuren (**126i,j**) war mit einer dreifachen Aktivitätssteigerung gegenüber Meprin α verbunden. Gegenüber Meprin β wurde die inhibitorische Aktivität um Faktor 30 im Vergleich zu **126b** gesteigert, was zu einer verminderten Meprin α -Selektivität führte. Eine sehr hohe Steigerung der Aktivität gegenüber Meprin α und β

konnte mit der Einführung des Halogenphenols (**126k**) als Carbonsäurebioisoster erfasst werden. Mit einer dreizehnfachen Verbesserung der inhibitorischen Aktivität im Vergleich zum unsubstituierten Pyrazol **5c** wurde eine apparente Bindungskonstante von 80 pM gegenüber Meprin α und 9 nM gegenüber Meprin β bestimmt (Tabelle 22). Aufgrund der experimentellen Assay-Bedingungen kann die Verbindung **126k** den „*tight-binding*“-Inhibitoren zugeordnet werden. „*Tight-binding*“ liegt vor, wenn die im Assay eingesetzte Enzymkonzentration ($[E]=300$ pM) vergleichbar oder größer ist als die Bindungskonstante. Das entsprechende Isomer mit der Hydroxyfunktion in *para*-Position (**126l**) wies im Gegensatz dazu eine etwas geringere Hemmaktivität gegenüber Meprin α auf. Die *para*-Positionierung war mit einer Verringerung der Aktivität von Meprin α um den Faktor fünf im Vergleich zu **126k** verbunden. Für die Carboxybenzylpyrazole mit verlängerter Spacergruppe (**127i,j**) wurde ebenfalls eine Erhöhung der Hemmaktivität beobachtet. Im Vergleich zum *N*-benzylisiertem Diphenylpyrazol **127b** stieg die Aktivität gegenüber Meprin β jeweils um Faktor sieben bis in den unteren mikromolaren Bereich. Die Verlängerung der Spacergruppe beim *meta*-Carboxybenzylderivat **127i** hatte hinsichtlich der Aktivität gegenüber Meprin α verglichen mit dem Analogon **126i** mit C_1 -Spacer nur eine Verminderung von Faktor zwei zur Folge, sodass die Hemmaktivität noch im picomolaren Bereich lag und zu einer hohen Selektivität von Meprin α gegenüber Meprin β mit einem Faktor von 1700 führte. Eine weitere Ausnahme stellte die Verbindung **127k** mit einem eingeführten Halophenol dar. Im Gegensatz zu den anderen Derivaten mit einem C_2 -Spacer bleibt bei der Verbindung **127k** mit der Verlängerung der Spacerlänge die hohe Bindungsaffinität gegenüber Meprin α im picomolaren Bereich erhalten. Die Hemmung gegenüber Meprin β wurde hingegen um das 130fache vermindert. Dies führte zu einer sehr hohen Meprin α -Selektivität mit einem Selektivitätsfaktor von fast 8000.

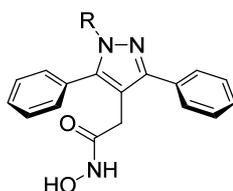
Tabelle 22: Inhibitorische Aktivitäten der *N*-benzylierten Diphenylpyrazole gegenüber hMeprin α und β


	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	n	K _i ^(app) [nM] ^[a]		SF ^[b]
						hMeprin α	hMeprin β	
126b					1	1,1 (1,08)	291,1 (1,12)	291
127b	H	H	H	H	2	35,3 (1,08)	8006,9 (1,23)	227
126c					1	0,5 (1,26)	344,9 (1,11)	690
127c	H	H	OCH ₃	H	2	31,1 (1,14)	8129,2 (1,04)	262
126d					1	0,7 (1,16)	494,1 (1,14)	706
127d	H	OCH ₃	H	H	2	18,3 (1,21)	7658,5 (1,19)	418
126e					1	0,6 (1,23)	305,0 (1,02)	508
127e	H	-OCH ₂ O-		H	2	15,1 (1,23)	6421,3 (1,14)	425
126f					1	1,5 (1,15)	685,0 (1,08)	457
127f	H	H	OCHF ₂	H	2	149,3 (1,27)	12701,0 (1,22)	85
126g					1	1,7 (1,13)	579,4 (1,03)	341
127g	H	OCHF ₂	H	H	2	132,6 (1,36)	25657,0 (1,11)	193
126h					1	0,7 (1,20)	140,2 (1,11)	200
127h	H	H	CN	H	2	13,2 (1,22)	4499,4 (1,29)	341
126i					1	0,3 (1,12)	10,6 (1,14)	35
127i	H	H	COOH	H	2	0,7 (1,21)	1209,5 (1,69)	1728
126j					1	0,4 (1,36)	9,4 (1,16)	24
127j	H	COOH	H	H	2	14,2 (1,15)	1050,1 (1,21)	74
126k					1	0,08 (1,30)	9,3 (1,04)	116
127k	H	Cl	OH	F	2	0,15 (1,26)	1183,8 (1,09)	7892
126l					1	0,4 (1,06)	17,0 (1,08)	43
127l	Cl	OH	F	H	2	8,0 (1,40)	1146,4 (1,36)	143
126m					1	1,3 (1,12)	160,2 (1,17)	123
127m	H	H	N _{Pyridin}	H	2	13,0 (1,25)	5408,8 (1,07)	416
126n					1	1,3 (1,16)	143,6 (1,14)	110
127n	H	N _{Pyridin}	H	H	2	78,6 (1,16)	5473,8 (1,40)	70

[a] 50 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH 7,4; [b] SF: Selektivitätsfaktor (K_i^(app) Meprin β /K_i^(app) Meprin α)

Ausgehend vom *N*-benzilylierten **126b** und *N*-methoxybenzilylierten Pyrazol **126c** wurden Derivate untersucht, die anstelle des Methylenlinkers zwischen Aromat und Stickstoffatom des Pyrazols einen Cyclobutyl- (**131b,c**), Oxetan- (**131d,e**) und *iso*-Propyllinker (**131f**) aufweisen. Bei allen Derivaten wurde eine etwa zehnfach schlechtere Hemmaktivität im Vergleich zu den entsprechenden Analoga **126b** und **126c** festgestellt. Die inhibitorischen Aktivitäten gegenüber Meprin α liegen jedoch noch im ein- bis unteren zweistelligen nanomolaren Bereich.

Tabelle 23: Inhibitorische Aktivitäten der *N*-benzilylierten Diphenylpyrazole mit alternativen Linker gegenüber hMeprin α und β



	R	$K_i^{(app)}$ [nM] ^[a]		SF ^[b]
		hMeprin α	hMeprin β	
131b		13 (1,11)	1086 (1,11)	84
131c		6 (1,17)	3047 (1,16)	508
131d		6 (1,12)	1047 (1,11)	175
131e		15 (1,23)	3548 (1,09)	237
131f		7 (1,09)	1919 (1,11)	274

[a] 50 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH 7,4; [b] SF: Selektivitätsfaktor ($K_i^{(app)}$ Meprin β / $K_i^{(app)}$ Meprin α)

Einige *N*-substituierte Pyrazolderivate wurden auch auf die Aktivität gegenüber mOvastacin evaluiert (Tabelle 24). Generell führte die Einführung verschiedener Substituenten zu einer Steigerung der Aktivität gegenüber Ovastacin. Es wurden höhere inhibitorische Aktivitäten im nanomolaren Bereich im Vergleich zum unsubstituierten Pyrazol **5c** erfasst. Sowohl die Einführung des Phenyl- (**121**) als auch des Benzylsubstituenten (**126b**) war mit einer Erhöhung der Hemmaktivität gegenüber Ovastacin verbunden. Damit ist die *N*-phenylierte Verbindung

deutlich aktiver gegenüber Ovastacin als gegenüber Meprin β . Die Pyrazolderivate mit einem Benzodioxolan- (**126e**) und *meta*-Carboxybenzylrest (**126i**) unterschieden sich hinsichtlich der Ovastacinaktivität nur geringfügig von dem *N*-benzylisiertem Pyrazol **126b**. Eine Steigerung der Aktivität bis in den einstelligen nanomolaren Bereich erfolgte mit der Einführung eines *para*-Carboxybenzyl- (**126j**) und Chlorfluorphenolrestes (**126k**). Die Aktivität gegenüber Ovastacin ist dabei vergleichbar mit der von Meprin β .

 Tabelle 24: Inhibitorische Aktivitäten der *N*-substituierten Diphenylpyrazolderivate gegenüber mOvastacin


	R	$K_i^{(app)}$ [nM] mOvastacin ^[a]	SF	
			hMeprin α ^[b]	hMeprin β ^[c]
5c	H _*	196 (1,19)	196	2
121		33 (1,15)	8	0,04
126b		48 (1,02)	48	6
126e		27 (1,18)	46	7
126i		47 (1,06)	142	5
126j		9 (1,00)	24	1
126k		9 (1,00)	113	1

[a] 50 mM Tris/HCl, 150 mM NaCl, pH 7,4; [b] Selektivitätsfaktor ($K_i^{(app)}$ Ovastacin/ $K_i^{(app)}$ Meprin α);
 [c] Selektivitätsfaktor ($K_i^{(app)}$ Ovastacin/ $K_i^{(app)}$ Meprin β)

Anhand von ausgewählten Derivaten wurde ebenfalls der Einfluss der unterschiedlichen Substituenten an Position 1 des Pyrazols auf die Aktivität der *off-target*-Metalloproteasen evaluiert (Tabelle 25). Bei Betrachtung der Restaktivitäten der MMP- und ADAM-Proteasen konnten Übereinstimmungen zu den Ergebnissen der 3,4,5-substituierten Pyrazolen (Abschnitt 5.1.3.1, Tabelle 20) gefunden werden. Die Einführung von verschiedenen Alkoxybenzylresten (**126c-f**) führte zu einer erhöhten Inhibierung der *off-target*-Metalloproteasen. Insbesondere ADAM17 zeigte Restaktivitäten zwischen 20-30%. Mit einer weiteren Charakterisierung konnte ein IC₅₀-Wert im mikromolaren Bereich gegenüber ADAM17 bestimmt werden (**126e**: IC₅₀=2,3 (1,22) μM). Aufgrund der hohen inhibitorischen Potenz der Verbindungen gegenüber Meprin α liegt dennoch eine hohe Meprin α-Selektivität mit einem Faktor von mindestens 4000 vor. Der Austausch des Methylenlinkers (**126c**) am Methoxybenzylrest mit einem Cyclobutyl linker (**131c**) hatte wenig Einfluss auf die Restaktivitäten. Mit der Einführung von Benzylresten mit aciden funktionellen Gruppen (**126i-k**, **127i,k**) wurde nahezu keine inhibitorische Aktivität gegenüber den MMPs und ADAMs bestimmt. Besonders die Derivate mit einer verlängerten Spacergruppe (**127i,k**) wiesen keine Inhibierung der verwandten Metalloproteasen auf. Somit stellt die Verbindung **127k** einen sehr selektiven Meprin α-Inhibitor dar, da auch eine hohe Selektivität gegenüber der anderen Isoform Meprin β nachgewiesen werden konnte.

Tabelle 25: Inhibierung der *off-target*-Metalloproteasen von ausgewählten *N*-substituierten Pyrazolderivaten

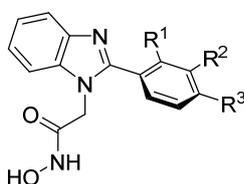
RA@10 μM ^[a]	126c	126d	126e	126f	126i	126j	126k	127i	127k	131c
MMP2	88	92	77	88	89	85	69	102	97	90
MMP9	47	57	74	52	83	80	70	100	89	70
MMP13	77	83	78	75	83	86	84	98	98	49
ADAM10	86	84	69	86	92	91	85	117	102	92
ADAM17	34	33	21	26	84	67	72	90	93	41

[a] RA: Restaktivität in % bei einer Inhibitorkonzentration von 10 μM

5.1.4 Inhibitoren basierend auf einer Benzimidazolgrundstruktur

Ausgehend von dem 2-Phenylbenzimidazolderivat **7d** wurden Modifikationen am Phenylrest vorgenommen (Tabelle 26). Die *para*-Methoxysubstitution (**137a**) hatte einen positiven Effekt auf die Hemmaktivität gegenüber Meprin β mit einer Steigerung von Faktor fünf, während die inhibitorische Aktivität gegenüber Meprin α im Vergleich zu der unsubstituierten Verbindung **7d** geringfügig gesteigert wurde. Die Einführung eines aciden Halogenphenols (**137b**) führte ebenfalls zu einer Aktivitätssteigerung gegenüber Meprin β und das im gleichen Ausmaß wie bei der Verbindung **137a**. Gegensätzlich zeigte sich die Aktivität gegenüber Meprin α mit einer Verringerung um Faktor zwei, sodass bei **137b** eine äquipotente Hemmung vorlag.

Tabelle 26: Inhibitorische Aktivitäten der substituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate mit Phenylvariationen



	R ¹	R ²	R ³	K _i ^(app) [nM] ^[a]		SF ^[b]
				hMeprin α	hMeprin β	
7d	H	H	H	128 (1,23)	1134 (1,05)	9
137a	H	H	OCH ₃	94 (1,06)	252 (1,11)	3
137b	F	OH	Cl	263 (1,01)	254 (1,15)	1
137c	COOH	H	H	1390 (1,16)	13219 (1,18)	10
137d	H	COOH	H	62 (1,16)	160 (1,14)	3
137e	H	H	COOH	71 (1,23)	119 (1,15)	2

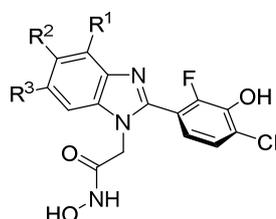
[a] 50 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH 7,4; [b] SF: Selektivitätsfaktor (K_i^(app) Meprin β /K_i^(app) Meprin α)

Die Einführung der Carboxylgruppe erfolgte an verschiedenen Positionen des Aromaten. Die Substitution in *ortho*-Position bei **137c** erwies sich mit einer elffachen Aktivitätsverminderung als ungünstig für die Hemmung von Meprin α und β . Die Einführung der Carboxylgruppe in *meta*- und *para*-Position (**137d,e**) führte bei beiden Verbindungen zu einer Aktivitätssteigerung. Gegenüber Meprin α konnte eine Steigerung um Faktor zwei beobachtet werden. Die inhibitorische Aktivität gegenüber Meprin β wurde bei der in *meta*-substituierten Verbindung **137d** um Faktor sieben gesteigert. Beim *para*-Carboxyphenylbenzimidazol **137e** konnte eine zehnfache Erhöhung der Meprin β -Aktivität im Vergleich zu **7d** beobachtet werden.

Da die Einführung des Halogenphenols (**137b**) den größten Effekt auf die Selektivität innerhalb der zwei Isoformen bewirkte, wurde ausgehend von **137b** untersucht, in wie weit ein zweiter acider Rest direkt am Benzimidazolgrundkörper die Aktivität gegenüber Meprin α und β beeinflusst

(Tabelle 27). Eine Carboxygruppe in 4-Position des Benzimidazols (**144a**) führte zu einer drei- bzw. vierfachen Verringerung der Hemmaktivität gegenüber Meprin α und β . Es wurde auch keine Veränderung der Selektivität zwischen Meprin α und β beobachtet. Die äquipotente Hemmung blieb auch mit der Einführung der Carboxygruppe in 6-Position (**144c**) erhalten. Im Gegensatz zu **144a** wurde bei diesem Regioisomer (**144c**) die inhibitorische Aktivität bis auf den einstelligen nanomolaren Bereich gesteigert. Ein Einfluss auf die Meprin β -Selektivität konnte nur bei der Verbindung **144b** festgestellt werden. Die Einführung der Carboxygruppe in 5-Position des Benzimidazols führte zu einer dreifach höheren Aktivität gegenüber Meprin β im Vergleich zu Meprin α . Mit einer Hemmaktivität im unteren dreistelligen nanomolaren Bereich wies **144b** eine ähnliche Aktivität auf wie das monosubstituierte Halogenphenolderivat **137b**.

Tabelle 27: Inhibitorische Aktivitäten der disubstituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate



	R ¹	R ²	R ³	K _i ^(app) [nM] ^[a]		SF ^[b]
				hMeprin α	hMeprin β	
137b	H	H	H	263 (1,01)	254 (1,15)	1
144a	COOH	H	H	903 (1,11)	1159 (1,15)	1
144b	H	COOH	H	435 (1,19)	131 (1,05)	0,3
144c	H	H	COOH	6 (1,14)	7 (1,20)	1

[a] 50 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH 7,4; [b] SF: Selektivitätsfaktor (K_i^(app) Meprin β /K_i^(app) Meprin α)

Die Phenylvariation des 2-Phenylbenzimidazols mit der Einführung eines Halogenphenols (**137b**) bewirkte keine Veränderungen in der Selektivität gegenüber der *off-target*-Metalloproteasen verglichen mit dem 2-Phenylbenzimidazolderivat **7d**. Die Evaluierung der Restaktivitäten der MMPs und ADAMs in Gegenwart von **137b** zeigte keine Inhibierung bei einer Inhibitorkonzentration von 10 μ M (Tabelle 28).

Tabelle 28: Inhibierung der *off-target*-Metalloproteasen des substituierten 2-Phenylbenzimidazolderivats

RA@10 μ M ^[a]	MMP2	MMP9	MMP13	ADAM10	ADAM17
7d	89	96	102	87	92
137b	93	94	105	86	92

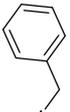
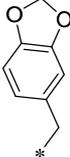
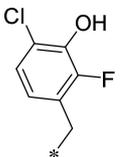
[a] RA: Restaktivität in % bei einer Inhibitorkonzentration von 10 μ M

5.1.5 Inhibitoren basierend auf einer Indolgrundstruktur

Innerhalb der anellierten Heteroaromaten wurden auch ausgehend vom 2-Phenylindolderivat **7c** verschiedene Substituenten eingeführt und dessen Einfluss auf die Aktivität gegenüber Meprin α und β untersucht (Tabelle 29). Dabei konnten zum Teil ähnliche Zusammenhänge wie bei den *N*-substituierten Diphenylpyrazolderivaten (Abschnitt 5.1.3.2) hinsichtlich des Einflusses der *N*-Substitution auf die inhibitorische Aktivität beobachtet werden.

Tabelle 29: Inhibitorische Aktivitäten der *N*-substituierten 2-Phenylindolderivate



	R	$K_i^{(app)}$ [nM] ^[a]		SF ^[b]
		hMeprin α	hMeprin β	
7c ^[c]		82 (1,20)	1184 (1,02)	14
149		24 (1,12)	16086 (1,03)	670
151a		2 (1,12)	3487 (1,12)	1744
151b		1 (1,33)	3430 (1,06)	3430
151c		0,04 (1,27)	245 (1,12)	6124

[a] 50 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH 7,4; [b] SF: Selektivitätsfaktor ($K_i^{(app)}$ Meprin β / $K_i^{(app)}$ Meprin α); [c] Mep α : 40 mM HEPES, 100 mM NaCl, pH 7,4; Mep β : 40 mM Tris, pH 8

Die Einführung von lipophilen Substituenten (**149**, **151a**) führte generell zu einer Steigerung der Aktivität gegenüber Meprin α und einer Aktivitätsverminderung gegenüber Meprin β , was eine Erhöhung der Selektivität von Meprin α zur Folge hatte. Die Phenylsubstitution (**149**) war mit

einer dreifachen Steigerung der Meprin α -Aktivität verbunden, während die Hemmung von Meprin β um Faktor vierzehn vermindert wurde. Im Vergleich zum unsubstituierten Indol **7c** wies das *N*-benzylierte Indolderivat (**151a**) sogar eine 40fache Verbesserung der Hemmaktivität gegenüber Meprin α auf. Die inhibitorische Aktivität gegenüber Meprin β wurde dagegen nur um Faktor drei reduziert. Mit der Einführung eines Benzodioxolanrestes (**151b**) konnte keine Veränderung der inhibitorischen Aktivität gegenüber Meprin α und β im Vergleich zum *N*-Benzy lindol **151a** festgestellt werden. Die Einführung des Halogenphenols (**151c**) führte dagegen zu einer Aktivitätssteigerung. Während die inhibitorische Aktivität gegenüber Meprin β um Faktor fünf gesteigert wurde, konnte gegenüber Meprin α eine hohe Aktivitätssteigerung um den Faktor 2000 im Vergleich zum unsubstituierten 2-Phenylindol **7c** verzeichnet werden. Die erhebliche Verbesserung der Aktivität in den picomolaren Bereich bewirkte eine sehr hohe Selektivitätserhöhung von Meprin α mit einem Faktor von 6000 gegenüber der anderen Isoform. Der positive Einfluss auf die Aktivität gegenüber Meprin α durch die Einführung des Halogenphenols wurde ebenfalls bei den *N*-substituierten Diphenylpyrazolderivaten beobachtet (Abschnitt 5.1.3.2).

Bei der Evaluierung der *off-target*-Selektivitäten konnten gewisse Parallelen zu den Ergebnissen der *N*-substituierten Diphenylpyrazolen gezogen werden. Während die Einführung eines Benzodioxolanrestes am Indolgerüst (**151b**) insbesondere bei MMP13 zu einer erhöhten Inhibierung führte, wurden bei der Einführung eines aciden Halogenphenolrestes (**151c**) hohe Restaktivitäten der MMPs und ADAMs bestimmt (Tabelle 30).

Tabelle 30: Inhibierung der *off-target*-Metalloproteasen von ausgewählten *N*-substituierten 2-Phenylindolderivaten

RA@10 μM ^[a]	MMP2	MMP9	MMP13	ADAM10	ADAM17
151b	79	74	49	96	85
151c	79	93	75	97	92

[a] RA: Restaktivität in % bei einer Inhibitorkonzentration von 10 μM

5.2 Diskussion der Struktur-Wirkungsbeziehungen unter Zuhilfenahme von computerchemischen Methoden

5.2.1 Einfluss der strukturellen Variation der Inhibitoren mit Amingrundstruktur auf die inhibitorische Aktivität

In vorherigen Arbeiten wurden die tertiären Amine bereits hinsichtlich ihrer Struktur-Wirkungsbeziehungen in Meprin α und β untersucht.^[16,57,58] Weitere unsymmetrisch substituierte Derivate dieser Strukturklasse wurden im Rahmen dieser Arbeit dargestellt, um die Selektivität innerhalb der zwei Meprinisoformen zu modulieren. Mit der Einführung eines basischen Substituenten wie Pyridin (**3b,c** und **4e,f**), Benzimidazol (**3d**), sowie ein aromatisches tertiäres Amin (**4h**) in Kombination mit einem Benzodioxolanrest sollte eine Erhöhung der Selektivität gegenüber Meprin α erzielt werden (Abschnitt 5.1.1). Aufgrund der hohen Dichte an basischen Argininresten innerhalb des aktiven Zentrums von Meprin β wurde vermutet, dass mit der

Einführung von basischen Substituenten die Hemmaktivität gegenüber Meprin β wegen des repulsiven Effektes verringert und damit die Meprin α -Selektivität verbessert werden könnte (Abbildung 10). Die Kombination aus einem Benzodioxolanrest und einem basischen Substituenten (**3b,c** und **4e,f**) führte zur schlechteren Inhibierung von Meprin β

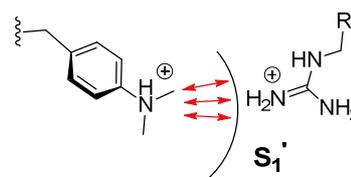


Abbildung 10: Schematische Darstellung der vermuteten repulsiven Wechselwirkung zwischen einem basischen Substituenten und einem Argininrest (R) im aktiven Zentrum.

vergleichen mit dem symmetrisch substituierten Benzodioxolanderivaten **2b** und **2i** (zum Beispiel **2i**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta} = 6545$ nM, **3b**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta} = 26773$ nM), sodass eine Selektivitätserhöhung bei den unsymmetrisch substituierten Aminen vorlag (**2i**: SF=3, **3b**: SF=9). Für Derivate mit einem C₂-Spacer (**4e,f**) wurden höhere Selektivitätsfaktoren erzielt (SF \approx 20), da die Verlängerung der Spacergruppe sich positiv auf die Meprin α -Aktivität auswirkt. Die Selektivitätsfaktoren der Derivate sind jedoch vergleichbar mit dem zuvor beschriebenen Benzodioxolanderivat **2b** mit C₂-Spacer (**2b**: SF=19). Eine marginale Erhöhung der Selektivität mit einem Selektivitätsfaktor von 30 ist bei der Einführung des aromatischen tertiärenamins (**4h**) zu beobachten, was allerdings wesentlich weniger ausgeprägt ist als die bei den Meprin β -Inhibitoren vorliegende Meprin β -Selektivität (SF \approx 300).^[58] Die Verbindungen mit einem basischen Substituenten weisen neben der Verschlechterung der Hemmaktivität gegenüber Meprin β auch eine Aktivitätsverringering gegenüber Meprin α auf. Dies könnte auch durch abstoßende Wechselwirkungen im aktiven Zentrum von Meprin α begründet sein, da die S₁'-Bindetasche von Meprin α ebenfalls durch einen basischen Argininrest Arg²⁴² geformt ist. Die Kombination des Halogenphenols mit einem

basischen Substituenten (**3a,e** und **4a,g**) führte zu einer Verringerung der Hemmaktivität gegenüber Meprin β im Vergleich zu den entsprechenden Halogenphenolderivaten **2c** und **2h**, was überwiegend auf die fehlende zweite ionische Wechselwirkung zwischen dem aciden Phenol- und dem basischen Argininrest zurückgeführt werden könnte. Zusammen mit dem basischen Substituenten, welcher auch die Aktivität gegenüber Meprin α verringert, ist ein Angleichen der inhibitorischen Aktivitäten von Meprin α und β zu beobachten (Beispiel **4a**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=645$ nM, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=702$ nM). Die Kombination eines Benzodioxolanrestes mit einem lipophilen Halogenarylrest (**4d**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=185$ nM, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=960$ nM) sollte mögliche polare Wechselwirkungen mit den Argininresten in den Bindetaschen von Meprin β durch den Austausch des zweiten Benzodioxolanrestes in **2b** mit einem lipophilen Halogenarylrest ausschließen und somit zur Meprin α -Selektivität beitragen. Jedoch wurde bei gleichbleibender Aktivität gegenüber Meprin α eine Erhöhung der Hemmaktivität gegenüber Meprin β bestimmt, was die Selektivität von Meprin α (**4d**: SF=5) hingegen erniedrigt. Eine äquipotente Inhibierung im unteren mehrstelligen nanomolaren Bereich wurde bei der Kombination eines Halogenphenols mit einem Halogenarylrest (**4b**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=215$ nM, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=273$ nM) und einem Benzodioxolanrest (**4c**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=158$ nM, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=146$ nM) als lipophile Substituenten erzielt. Der acide Halogenphenolrest von **4c** könnte sowohl in Meprin α als auch in Meprin β eine ladungsunterstützte Wasserstoffbrücke zum jeweiligen Argininrest (α : Arg²⁴²; β : Arg²³⁸) in der S_1' -Bindetasche ausbilden. Der Benzodioxolanrest des Aminderivats **4c** zeigt dagegen in den Dockinglösungen in Richtung S_1 -Bindetasche und könnte somit π - π -Wechselwirkungen mit Tyr¹⁸⁷ in Meprin α und Phe²¹⁶ in Meprin β ermöglichen (Abbildung 11).

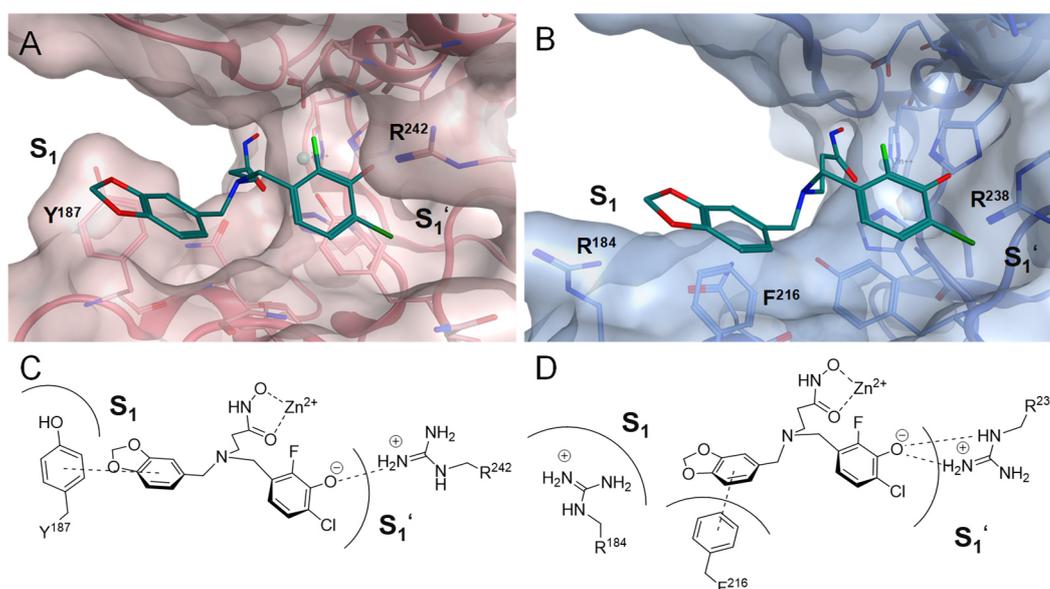


Abbildung 11: Dockinglösung von **4c** in A) hMeprin α (1/20, Homologie Modell) und in B) hMeprin β (3/20, PDB: 7AQ1); schematische 2D-Darstellung der möglichen Bindungsmodi von **4c** in C) Meprin α und D) Meprin β .

Die Kombination des aciden Halogenphenols mit einem lipophilen Benzodioxolan- und auch einem Halogenarylrest könnte Interaktionen sowohl für Meprin α als auch für Meprin β begünstigen. Der Austausch des Benzodioxolanrestes (**4c**) gegen einen Halogenarylrest (**4b**) könnte aufgrund der Verringerung der Elektronendichte die π - π -Interaktionen vermindern und somit zu einer etwas geringeren Hemmaktivität gegenüber Meprin α und β führen.

Da das aktive Zentrum von Ovastacin sowohl mit Meprin α als auch mit Meprin β gemeinsame strukturelle Eigenschaften aufweist (Abschnitt 1.1.3), wurde vermutet, dass die Meprininhibitoren basierend auf einer Amingrundstruktur auch Ovastacin inhibieren könnten. Demzufolge wurden Derivate mit strukturell unterschiedlichen Substituenten ausgewählt und hinsichtlich der Aktivität gegenüber Ovastacin untersucht.¹ Die Ergebnisse der biochemischen Charakterisierung (Abschnitt 5.1.1, Tabelle 12) ähneln den Struktur-Wirkungsbeziehungen, welche für Meprin α festgestellt wurde. Ähnlich wie bei Meprin α wurden Verbindungen mit einem verlängerten C₂-Spacer (**2b-d**) für die Hemmung von Ovastacin bevorzugt. Zudem liegt eine Präferenz für lipophile Substituenten, sowie Substituenten mit einer reduzierten Acidität für Ovastacin vor, was auch mehr in Übereinstimmung mit Meprin α als mit Meprin β steht. Obwohl die S₁'- und S₂'-Bindetaschen in Ovastacin durch Argininreste (Arg²⁶³ und Arg¹⁷⁷) geformt sind, werden Verbindungen mit mindestens einer aciden Carboxylgruppe (**2a, 2d-g**) weniger für die Hemmung von Ovastacin präferiert im Vergleich zu Verbindungen, welche Substituenten mit einer reduzierten Acidität aufweisen. Dies könnte auf einen ähnlichen Bindungsmodus hindeuten, der für Meprin α und β postuliert wird und von Interaktionen der Inhibitoren mit der S₁- und S₁'-Bindetasche ausgeht. Ovastacin weist innerhalb der jeweiligen Bindungstaschen eine höhere Ähnlichkeit zu Meprin α auf als zu Meprin β . Während die S₂'-Bindetasche von Ovastacin mit einem basischen Argininrest Arg²⁶³ sich mit dem Arginin Arg¹⁴⁶ in Meprin β deckt, wird die S₁-Bindetasche durch zwei Phenylreste Phe²¹⁴ und Phe²⁴³ geformt und bildet damit eine lipophile Umgebung. Dies ist ähnlich zum Tyrosinrest Tyr¹⁸⁷ in Meprin α und entspricht weniger den polaren geladenen Argininrest Arg¹⁸⁴ in Meprin β . Die S₁'-Bindetasche liegt bei allen humanen Astacinproteasen mit einem Argininrest konserviert vor. Dennoch ist die S₁'-Bindetasche in Ovastacin durch das Fehlen eines zusätzlichen Wasserstoffbrückendonators hydrophober aufgebaut als in Meprin β mit einem Serinrest Ser²¹². Die lipophile Umgebung in S₁ und S₁' im aktiven Zentrum von Ovastacin reduziert die Möglichkeit der Ausbildung von polaren Wechselwirkungen und begründet die schlechte Hemmung von Derivaten mit Carbonsäureresten (**2a, 2d-g**). Die Verringerung der Acidität zusammen mit einer bestimmten Lipophilie bei den

¹ Korschgen, H., Jäger, C., Tan, K., Buchholz, M., Stöcker, W., Ramsbeck, D., *ChemMedChem* **2020**, *15*, 1499–1504.

Halophenolsubstituenten von Verbindung **2c** ($K_i^{(app)}_{mOva}=490$ nM) ermöglicht zum einen π - π -Interaktionen mit Phe²¹⁴ und Phe²⁴³ in der S₁-Bindetasche, sowie ionische Wechselwirkungen oder ladungsunterstützte Wasserstoffbrücken des deprotonierten Phenols mit dem kationischen Argininrest Arg²⁶⁴ in der S₁'-Bindetasche von Ovastacin (Abbildung 12).

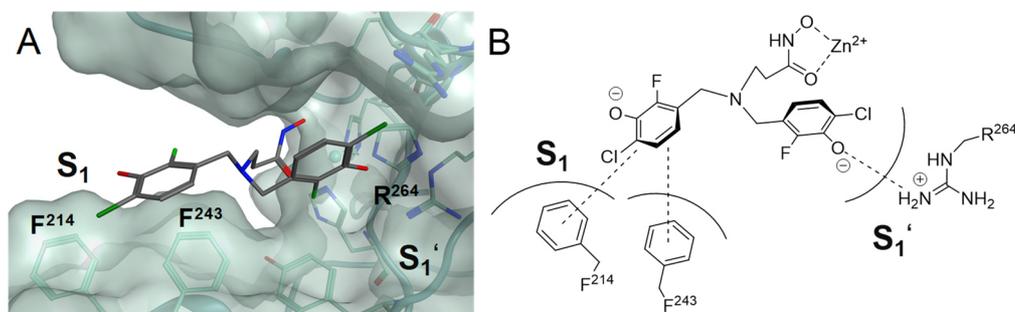


Abbildung 12: A) Dockinglösung von **2c** (1/20) in mOvastacin (Homologie Modell) dargestellt in der Seitenansicht; B) schematische 2D-Darstellung des möglichen Bindungsmodus von **2c**.

Die π - π -Wechselwirkungen mit den beiden Phenylalaninresten Phe²¹⁴ und Phe²⁴³ in S₁ könnten durch elektronenreiche Substituenten verstärkt werden, während elektronenarme Substituenten weniger bevorzugt werden. Eine Aktivitätsverringering mit der Einführung von elektronenarmen Resten wie bei **2j** ($K_i^{(app)}_{mOva}=2164$ nM) mit zwei Halogenarylsubstituenten durch den $-I$ -Effekt der Halogenatome oder bei **2l** ($K_i^{(app)}_{mOva}=27335$ nM) mit zwei Pyridinsubstituenten als Elektronenmangelaromaten untermauern diese Hypothese. Unterschiedliche Kombinationen der jeweiligen Substituenten mit der Darstellung von unsymmetrisch substituierten tertiären Aminen (**4a**, **4d-g**) zeigten in den meisten Fällen auch schlechtere Hemmaktivitäten gegenüber Ovastacin auf. Die Kombination des Halogenphenols mit einem elektronenarmen Chlor-Fluorarylrest (**4b**: $K_i^{(app)}_{mOva}=760$ nM) oder einem elektronenreichen Benzodioxolanrest (**4c**: $K_i^{(app)}_{mOva}=764$ nM) steigerte wiederum die inhibitorische Aktivität, was auch auf die Relevanz der verringerten Acidität des Halophenolsubstituenten für eine mögliche Interaktion mit der S₁'-Bindetasche hinweist. Angesichts der Tatsache, dass die aktivste Verbindung **2c** innerhalb der tertiären Amine auch Meprin α und β inhibiert ($K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=186$ nM, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=28$ nM), könnten die Halogenphenole aufgrund der Lipophilie zusammen mit einer geringen Acidität Interaktionen mit den lipophilen oder basischen Bindetaschen sowohl in Ovastacin als auch Meprin α und β eingehen. Das tertiäre Amin **2c** stellt somit einen äquipotenten Astacininhibitor dar.

5.2.2 Inhibitoren mit heteroaromatischer Grundstruktur

5.2.2.1 Design neuer heteroaromatischer Grundkörper

Die hohe Flexibilität der Inhibitoren mit einer Amingrundstruktur und der damit verbundene Entropieverlust bei einer Bindung des Inhibitors am Targetenzym könnte sich ungünstig auf die Bindungsaffinität auswirken (Abschnitt 1.4). Somit wurde als Ziel angestrebt, neuartige rigide Grundkörper (**5-7**) zu untersuchen. Entsprechend dieser Strategie wurde ein Ansatz verfolgt, bei dem die zentrale Grundstruktur des tertiären Amins durch heteroaromatische Grundkörper als potentielle Isostere ersetzt wurde. Ein bioisosterer Austausch der Kernstruktur eines Moleküls, bekannt als *Scaffold Hopping*, wird als Strategie genutzt, um strukturell neuartige Verbindungen zu finden.^[132] Im Vergleich zu einer einfachen aliphatischen Zyklisierung und Fixierung des Amins, ist der Austausch des tertiären Amins durch die heteroaromatischen Grundstrukturen mit größeren Veränderungen der chemischen und auch physikochemischen Eigenschaften verbunden. Für das rationale Design wurden drei mögliche heteroaromatische Zyklisierungen für die Konformationseinschränkung des tertiären Amins durchgeführt (Abbildung 13).¹

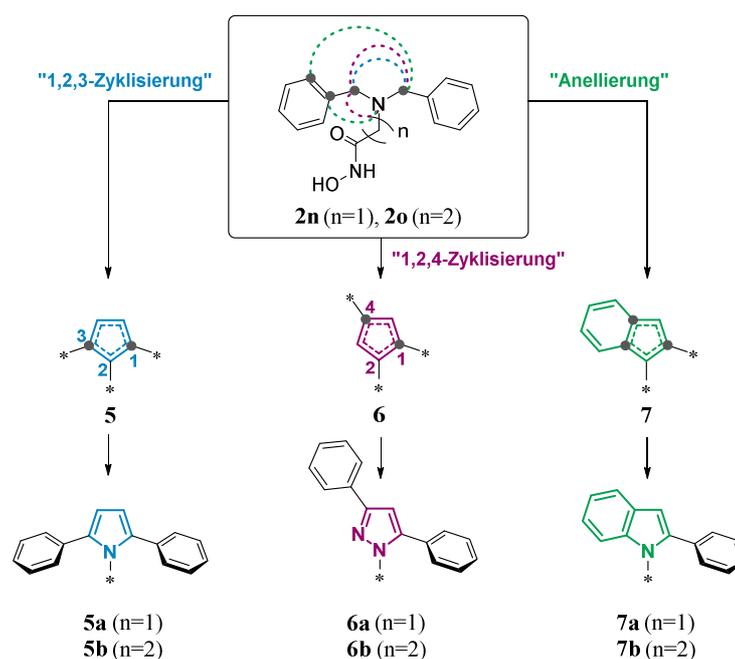


Abbildung 13: Mögliche Zyklisierungsstrategien des tertiären Amingrundgerüsts zu prototypischen Pyrrolen **5a** und **5b** über „1,2,3-Zyklisierung“, zu prototypischen Pyrazolen **6a** und **6b** über „1,2,4-Zyklisierung“ und zu prototypischen Indolen **7a** und **7b** über Anellierung.

Über eine „1,2,3“- und „1,2,4-Zyklisierung“ wurden die monozyklischen Grundkörper **5** und **6** erhalten. Eine Anellierung bzw. Ringkondensation führte zum benzokondensierten Grundgerüst **7**. Da der Abstand innerhalb der Inhibitoren mit Amingrundstruktur einen Einfluss auf die

¹ Tan, K., Jäger, C., Körschgen, H., Geissler, S., Schlenzig, D., Buchholz, M., Stöcker, W., Ramsbeck, D., *ChemMedChem* **2021**, *16*, 976–988.

inhibitorische Aktivität gegenüber Meprin α oder β und auch Ovastacin ausübt, wurden auch beide Spacerlängen berücksichtigt. Ausgehend von den drei möglichen Zyklisierungen können 2,5-Diphenyl-1-yl-pyrrol- (**5a** und **5b**), 3,5-Diphenyl-1-yl-pyrazol- (**6a** und **6b**) und 2-Phenyl-1-yl-indolderivate (**7a** und **7b**) als prototypische und synthetisch zugängliche Verbindungen dargestellt werden. Ähnlich wie beim tertiären Amin, sind die heteroaromatischen Derivate ebenfalls über ein Stickstoffatom mit der Spacergruppe verbunden. Mit Hilfe eines flexiblen *Alignments* sollte untersucht werden, ob die neuartigen heteroaromatischen Grundkörper die bioaktive Konformation des tertiärenamins nachbilden können. In den Arbeiten von LINNERT *et al.* wurde humanes Meprin β mit der Leitstruktur **2a** kokristallisiert und die Struktur dieses Komplexes mittels Kristallstrukturanalyse aufgeklärt.^[61] Die Konformation des im aktiven Zentrum von Meprin β gebundenen Inhibitors **2a** konnte somit als aktive Konformation für das flexible *Alignment* der prototypischen Grundkörper genutzt werden. Die Untersuchung der Kristallstruktur von Meprin β im Komplex mit der Verbindung **2a** und auch Molekulardynamik-Simulationen ergaben, dass einer der beiden Benzylsubstituenten des tertiärenamins **2a** eine hohe Flexibilität aufweist. In den zwei Monomeren A und B des Meprin β Homodimers (Abbildung 14) wurden zwei verschiedene Konformationen von **2a** gefunden.

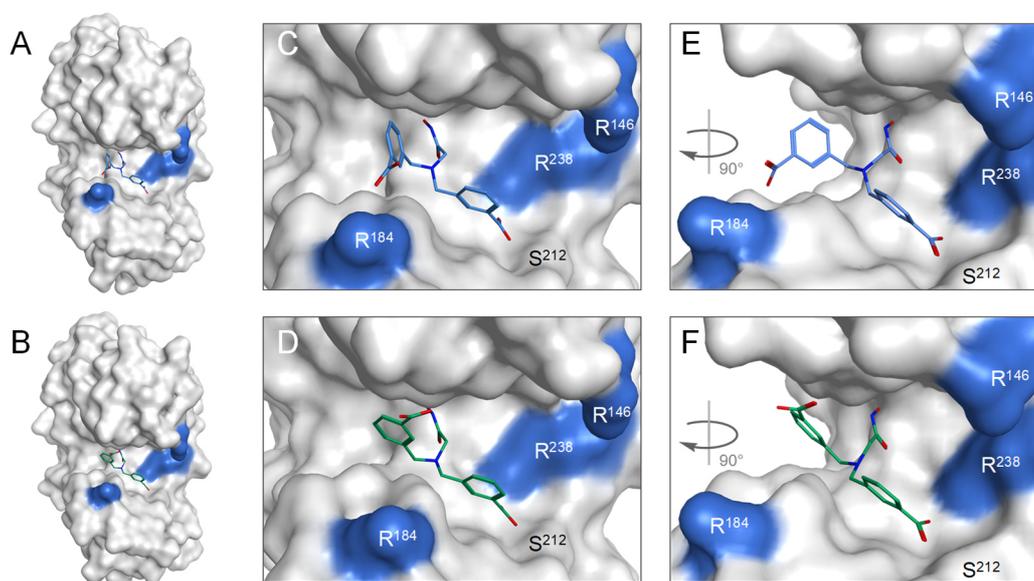


Abbildung 14: Meprin β in Komplex mit Verbindung **2a** mit den Argininresten in blau dargestellt (PDB: 7AQ1). A) Monomer A der Proteasedomäne in der Standardorientierung; B) Monomer B der Proteasedomäne in der Standardorientierung; C) aktives Zentrum von Monomer A; D) aktives Zentrum von Monomer B; E) Seitenansicht des aktiven Zentrums von Monomer A; F) Seitenansicht des aktiven Zentrums von Monomer B.

Während in diesem Komplex die Hydroxamsäure und der Benzylrest, welcher Ser²¹² in der S₁'-Bindetasche adressiert, fixiert waren, war die Elektronendichte des Benzylrestes in Richtung S₁-Bindetasche schwach definiert. Darüber hinaus ist die gesamte Schleife, die den unteren Rand des aktiven Zentrums bildet, nicht vollständig gelöst. Besonders die fehlende Elektronendichte des

in der S_1 -Bindetasche vorliegenden Argininrestes Arg¹⁸⁴ in Monomer B und das schwach definierte Arg¹⁸⁴ in Monomer A deutet auf eine hohe Flexibilität hin, die zu unterschiedlichen Konformationen des Inhibitors führen könnte. Aufgrund der flexiblen Positionierung des zur S_1 -Bindetasche gerichteten Benzylrestes (Abbildung 15A), wurde dieser Substituent (Abbildung 15B, rot) bei der Simulation des flexiblen *Alignments* nicht fixiert. Nur bestimmte

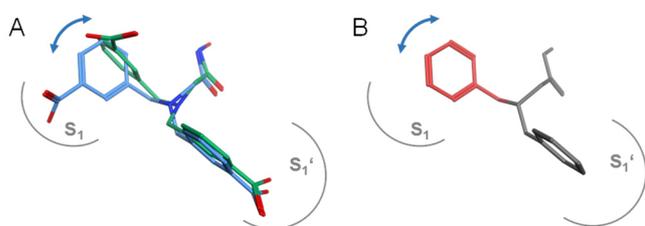


Abbildung 15: A) Konformationen von **2a** aus Monomer A und B von Meprin β (PDB: 7AQ1); B) Templat für flexibles *Alignment* mit fixierten Atomen (dunkelgrau) und frei beweglichen Atomen (rot).

Substrukturen (Abbildung 15B, grau) wurden in der Konformation von **2a** für das flexible *Alignment* fixiert. Die Ergebnisse des *Alignments* zeigten, dass alle Verbindungen hinsichtlich der Hydroxamsäuresubstruktur und des zur S_1' -Bindetasche gerichteten Benzylrestes

mit der bioaktiven Konformation **2a** übereinstimmen, was zum einen auf die Fixierung des Templats zurückzuführen ist (Abbildung 16A-F). Dagegen wurden Unterschiede in der Ausrichtung der zur S_1 -Bindetasche gerichteten Benzylreste nach dem *Alignment* (dunkelgrau) im Vergleich zur Ausgangskonformation **2a** (hellgrau) festgestellt. Die Spacerlänge der Derivate hatte keinen großen Einfluss auf die konformative Ausrichtung des zweiten Benzylsubstituenten. In Bezug auf die verschiedenen Zyklisierungsmethoden wiesen die *Alignments* der Pyrrol- (**5a,b**, Abbildung 16A und D) und Indolderivate (**7a,b**, Abbildung 16C und F) eine bessere Übereinstimmung mit der Konformation von **2a** auf als die *Alignments* der Pyrazolderivate (**6a,b**, Abbildung 16B und E). Damit können erste Rückschlüsse gezogen werden, dass die „1,2,3-zyklisierten“ sowie die anellierte Verbindungen geeignete Isostere darstellen, um das Amingerüst ersetzen.

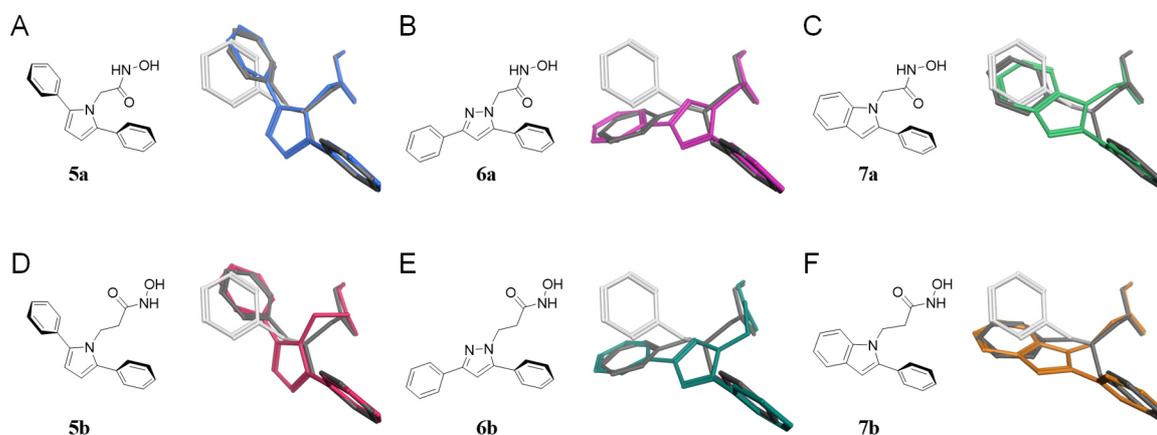


Abbildung 16: Flexibles *Alignment* der heteroaromatischen Grundkörper **5a**, **5b**, **6a**, **6b**, **7a** und **7b** (farbig) mit der bioaktiven Konformation von Verbindung **2a**. Templat der Ausgangskonformation (hellgrau), Templat nach *Alignment* mit den jeweiligen Verbindungen (dunkelgrau).

Um die Erkenntnisse für das rationale Design zu untermauern, wurden Dockinguntersuchungen der drei prototypischen Grundkörper durchgeführt. Damit sollte auch untersucht werden, in welchem Ausmaß die neuen Grundstrukturen in die Umgebung des Zielproteins passen. Im Vergleich zum kokristallisierten Inhibitor **2a** in Meprin β wurden für die heteroaromatischen Verbindungen **5-7** innerhalb des aktiven Zentrums von Meprin β abweichende Positionierungen in den Dockinglösungen gefunden (Abbildung 17A, D, G). Dabei könnte die fehlende Carboxylgruppe an den Arylresten der heteroaromatischen Grundkörper die Konformation beeinflussen und für die andere Orientierung im aktiven Zentrum verantwortlich sein, da bestimmte Wechselwirkungen wie mit Arg¹⁸⁴ in der S₁-Bindetasche oder Arg²³⁸ in der S₁'-Bindetasche nicht gebildet werden.

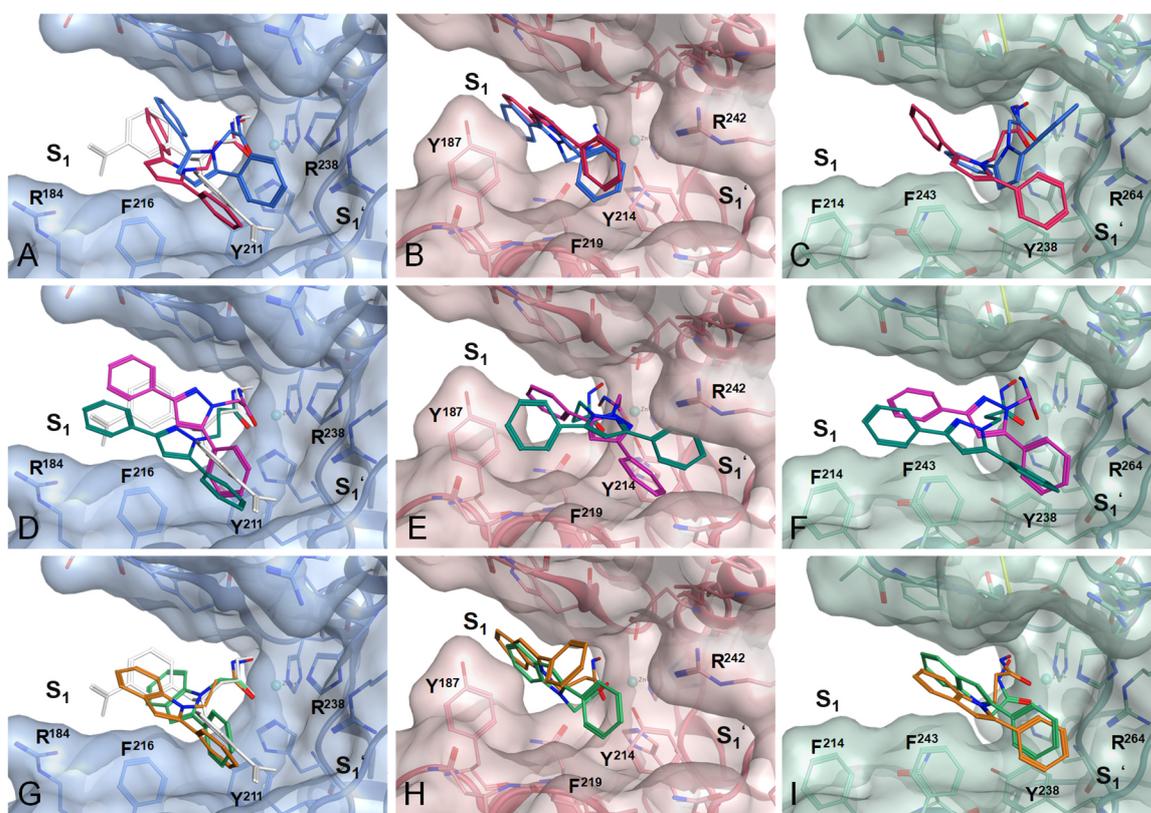


Abbildung 17: Top gerante Dockinglösungen innerhalb des aktiven Zentrums von Meprin β (PDB: 7AQ1): A) **5a** (blau) und **5b** (rot), D) **6a** (magenta) und **6b** (dunkelgrün), G) **7a** (grün) und **7b** (orange), Konformation von **2a** aus Kristallstruktur in hellgrau; Meprin α (Homologie Modell): B) **5a** (blau) und **5b** (rot), E) **6a** (magenta) und **6b** (dunkelgrün), H) **7a** (grün) und **7b** (orange); mOvastacin (Homologie Modell): C) **5a** (blau) und **5b** (rot), F) **6a** (magenta) und **6b** (dunkelgrün), I) **7a** (grün) und **7b** (orange).

Hinsichtlich der heteroaromatischen Verbindungen **5a** (Abbildung 17A, blau) und **7a** (Abbildung 17G, grün) mit einem C₁-Spacer wies der Arylrest in Richtung S₁-Bindetasche eine ähnliche Orientierung auf wie die bei **2a**. Die Entfernung zum entsprechenden Arg¹⁸⁴ in der S₁-Bindetasche ist zwar größer als bei dem tertiären Amin **2a**, jedoch könnten Interaktionen mit Arg¹⁸⁴ mit Hilfe einer entsprechenden Modifikation und Einführung von bestimmten funktionellen Gruppen möglich sein. Im Gegensatz dazu wird beim Pyrazolderivat **6a** (Abbildung 17D,

magenta) eine andere Orientierung des Arylrestes erhalten, die in der Dockinglösung keine Interaktion mit der S₁-Bindetasche von Meprin β eingeht. Die S₁'-Bindetasche wird von allen drei heteroaromatischen Derivaten **5a**, **6a** und **7a** (Abbildung 17A, D, G) adressiert. Im Vergleich zu **2a** ist der Arylrest des Pyrrolderivats **5a** sogar ein wenig tiefer zur S₁'-Bindetasche gerichtet (Abbildung 17A, blau). Die Positionierungen der heteroaromatischen Grundkörper im Dockingexperiment könnten auch auf mögliche π - π -Interaktionen mit Tyr²¹¹ und auch mit der Seitenkette des Phe²¹⁶ hindeuten, die den unteren Rand des aktiven Zentrums formen. Weitere Dockingversuche wurden auch an den Targetenzymen Meprin α und Ovastacin durchgeführt. Die Dockinglösungen der Verbindungen **5a**, **6a** und **7a** innerhalb des aktiven Zentrums von Meprin α weisen teilweise eine etwas andere Orientierung auf (Abbildung 17B, E und H). Aufgrund der raumfüllenden Seitenkette des Tyr¹⁸⁷ innerhalb der S₁-Bindetasche ist das aktive Zentrum von Meprin α im Vergleich zu Meprin β schmaler geformt, welches zu den verschiedenen Positionierungen führen könnte. Die Dockinglösungen deuten auf eine Ausbildung von π - π -Interaktionen zwischen Tyr¹⁸⁷ und dem Arylrest oder auch den Heteroaromaten von **5a**, **6a** und **7a** hin. Der zweite Arylrest ist in Richtung S₁'-Bindetasche orientiert, was vergleichbar mit den Dockingergebnissen von Meprin β ist. In den Dockingexperimenten mit Ovastacin lässt die Positionierung der heteroaromatischen Grundkörper von **5a**, **6a** und **7a** auch auf π - π -Wechselwirkungen vermuten (Abbildung 17C, F und I). Dabei könnten die Verbindungen mit Phe²⁴³ im aktiven Zentrum eine Interaktion eingehen und weniger mit der Seitenkette des Phe²¹⁴ in der S₁-Bindetasche. Ähnlich wie bei den Positionierungen in Meprin α und β zeigt ein Arylrest in Richtung S₁'-Bindetasche. Die Dockinglösungen der Verbindungen **5b** (rot), **6b** (dunkelgrün), und **7b** (orange), die einen C₂-Spacer aufweisen, zeigten grundsätzlich vergleichbare Positionierungen wie die C₁-Analoge. Die Verlängerung des Spacers führte beim Pyrazolderivat **6b** sogar zu einer Positionierung, bei der die Bindetaschen in Meprin β besser adressiert werden als bei dem entsprechenden Derivat **6a** mit C₁-Spacer (Abbildung 17D, dunkelgrün). Keine der prototypischen Grundkörper konnte die bioaktive Konformation des tertiären Amins **2a** in den Dockingexperimenten exakt nachbilden. Die Dockinglösungen weisen aber auf die Ausbildung von möglichen Wechselwirkungen mit dem heteroaromatischen Grundkörper im aktiven Zentrum auf, was zur Erhöhung der Bindungsaffinität beitragen könnte. Aufgrund dieser möglichen Wechselwirkungen zwischen den Heteroaromaten selbst und dem aktiven Zentrum, wurden neben diesen drei prototypischen Verbindungen weitere heteroaromatische Grundkörper dargestellt, um auch den Einfluss der elektrostatischen Eigenschaften auf die inhibitorische Aktivität zu untersuchen. Während der gesamte Heterozyklus über Van-der-Waals- und π - π -Wechselwirkungen interagieren kann, können einzelne Heteroatome zusätzlich auch Wasserstoffbrücken-

bindungen oder auch ionische Wechselwirkungen eingehen. Die Einführung von Stickstoffatomen an verschiedenen Positionen des heteroaromatischen Rings hat somit einen großen Einfluss auf die physikochemischen Eigenschaften der Verbindung sowie auf die intra- und intermolekularen Interaktionen, was zu verbesserten pharmakologischen Profilen führen kann.^[133]

5.2.2.2 Einfluss der heteroaromatischen Grundkörper auf die inhibitorische Aktivität

Die Reduzierung der Flexibilität durch den Austausch der flexiblen Grundstruktur des tertiären Amins durch die konformativ eingeschränkten Grundkörper führte im Allgemeinen zu einer Erhöhung der inhibitorischen Aktivität gegenüber Meprin α und β . Zudem könnte die Möglichkeit von elektrostatischen Interaktionen zwischen den heteroaromatischen Kernen und dem aktiven Zentrum zu einer Aktivitätssteigerung der neuartigen Grundkörper beigetragen haben. Besonders die Hemmaktivität gegenüber Meprin α wurde im Vergleich zum tertiären Aminanalogon bis zu einem Faktor von 4000 gesteigert. Die Aktivitätssteigerung gegenüber Meprin β ist hingegen weniger ausgeprägt. Die Hemmaktivitäten gegenüber Ovastacin von einigen ausgewählten Verbindungen sind vergleichbar oder zum Teil besser als die von Meprin β . Die verringerte Aktivität der Verbindungen gegenüber Meprin β im Vergleich zu Meprin α könnte mit der hohen Polarität der Bindetaschen im aktiven Zentrum aufgrund der vorhandenen Argininreste (Arg¹⁸⁴, Arg²³⁸, Arg¹⁴⁷) begründet werden. Diese könnten die Möglichkeit von Interaktionen mit den lipophilen Arylresten der heteroaromatischen Verbindungen ausschließen. Ausgenommen von der S₁'-Bindetasche, die in allen humanen Astacinen konserviert vorliegt und durch einen Argininrest geformt wird, bilden die Aminosäuren der S₁-Bindetasche in Meprin α durch Tyr¹⁸⁷ und in Ovastacin durch Phe²¹⁴ eine lipophile Umgebung, welche durch die unpolaren Reste der Derivate potenziell besetzt werden kann.

Innerhalb der monozyklischen heteroaromatischen Derivate zeigten die Verbindungen **5a-j** ausgehend von der „1,2,3-Zyklisierung“ eine höhere Bindungsaffinität gegenüber Meprin α und β als im Vergleich zu den Verbindungen **6a** und **6b**, welche über die „1,2,4-Zyklisierung“ generiert wurden. Dies deckt sich mit den Ergebnissen der *in silico*-Experimente (Abschnitt 5.2.2.1), die ebenfalls gezeigt haben, dass die Pyrazole **6a** und **6b** weniger wahrscheinlich die aktive Konformation des tertiären Amins **2a** nachbilden und damit die S₁- und S₁'-Bindetasche innerhalb des aktiven Zentrums weniger adressieren. Der Austausch des zentralen Pyrrolgrundkörpers **5a** durch weitere Fünfringheteroaromaten führte zu Unterschieden in der inhibitorischen Aktivität gegenüber den Astacinproteasen. Der visuelle Vergleich der Dockinglösungen der unterschiedlichen monozyklischen Derivate mit den prototypischen Pyrrolen **5a** und **5b** lässt auf annähernd gleiche Bindungsmodi schließen (Abbildung 18). Die Phenylreste der Verbindungen

weisen eine ähnliche Orientierung auf und zeigen in Richtung S_1' -Bindetasche. Die Positionierung der heteroaromatischen Grundkörper ist ebenfalls vergleichbar mit dem Pyrrolgrundkörper der Derivate **5a** und **5b** und könnte auf mögliche π - π -Wechselwirkungen zwischen Tyr¹⁸⁷ und den Heteroaromaten schließen. Die Unterschiede in den inhibitorischen Aktivitäten der einzelnen Verbindungen sind beim Vergleich der Dockinglösungen nicht ersichtlich. Für die heteroaromatischen Verbindungen mit einem C_2 -Spacer (**5b**: $K_i^{(app)}_{hMep\alpha} = 736$ nM) wurde eine Verringerung der inhibitorischen Aktivität im Vergleich zu den Verbindungen mit kürzerem Spacer festgestellt (**5a**: $K_i^{(app)}_{hMep\alpha} = 20$ nM). Die Verlängerung des Spacers könnte zu einer stärkeren Kollision des Liganden mit der Proteinoberfläche führen, die in

Meprin α besonders durch den raumfüllenden Tyrosinrest Tyr¹⁸⁷ in der S_1 -Bindetasche verstärkt wird. Die Dockingexperimente, die für die monozyklischen heteroaromatischen Derivate in der Meprin β Kristallstruktur 7AQ1 durchgeführt wurden, zeigen ebenfalls fast deckungsgleiche Konformationen wie die prototypischen Pyrrollderivate **5a** und **5b** (Abbildung 19). Die Positionierungen der verschiedenen monozyklischen Heteroaromaten deuten ebenfalls auf π - π -Wechselwirkungen mit entweder Phe²¹⁶ oder Tyr²¹¹ im aktiven Zentrum von Meprin β hin.

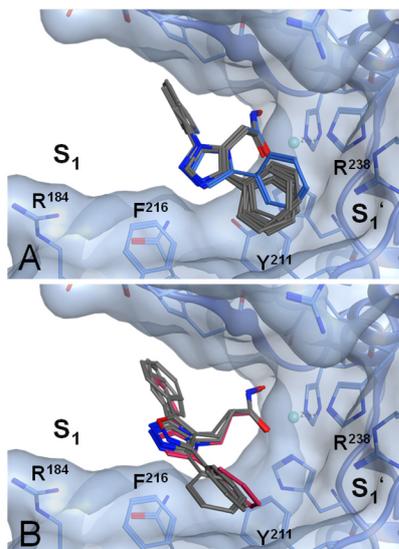


Abbildung 19: Vergleich der Dockinglösungen der monozyklischen heteroaromatischen Derivate **5a-j** mit C_1 -Spacer (A) und C_2 -Spacer (B) in Meprin β (PDB: 7AQ1), **5a** – blau (A), **5b** – rot (B).

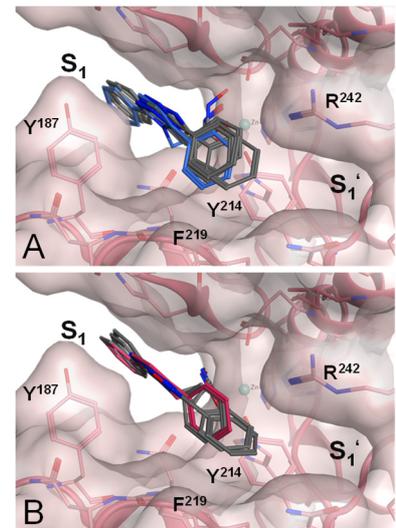


Abbildung 18: Vergleich der Dockinglösungen der monozyklischen heteroaromatischen Derivate **5a-j** mit C_1 -Spacer (A) und C_2 -Spacer (B) in Meprin α (Homologie Modell), **5a** – blau (A), **5b** – rot (B).

Die unterschiedlichen Hemmaktivitäten der monozyklischen Derivate konnten auch beim Vergleich der Dockinglösungen in Meprin β nicht aufgeklärt werden. Da sowohl bei Meprin α als auch bei Meprin β in den Dockinglösungen π - π -Wechselwirkungen der heteroaromatischen Grundkörper vermutet werden, könnte die Untersuchung der elektrostatischen Eigenschaften der Verbindungen eine bessere Abbildung der Struktur-Wirkungsbeziehungen zulassen. Neben der sterischen Passfähigkeit des Liganden zum Protein ist die elektrostatische Komplementarität für die Bindung ebenfalls entscheidend. Die elektrostatischen Eigenschaften der heteroaromatischen Grundkörper könnten demzufolge die Bindungsaffinität unterschiedlich beeinflussen.^[134] Für den Vergleich der Ladungsverteilung wurden die molekularen elektrostatischen

Potentiale quantenmechanisch (Turbomole V7.3, BP86/def-SV(P), DFT-D3 (BJ)^[135]) berechnet und auf die Isooberfläche der Elektronendichte abgebildet. Um den Fokus auf die Heteroaromaten zu legen, wurden Derivate ohne die Hydroxamsäureeinheit bei den Berechnungen betrachtet. Innerhalb der monozyklischen heteroaromatischen Derivate zählen das Pyrazol- (**5c**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=3\text{ nM}$) und das Imidazolderivat (**5j**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=2\text{ nM}$) mit einer inhibitorischen Aktivität im einstelligen nanomolaren Bereich zu den aktivsten Verbindungen gegenüber Meprin α . Beide Heteroaromaten weisen punktuell an einem Ringatom ein negatives elektrostatisches Potential auf (Abbildung 20B und F). Die negative Ladung konzentriert sich dabei auf ein Stickstoffatom des Pyrazols (**5c**) und das unsubstituierte Stickstoffatom des Imidazols (**5j**). Des Weiteren weisen die jeweiligen angrenzenden Phenylreste einen Bereich negativen elektrostatischen Potentials auf mit einer Elektronendichte im Zentrum des Aromaten. Eine hohe Elektronendichte des Phenylrestes könnte sich positiv auf mögliche Kationen- π -Interaktionen innerhalb der S_1' -Bindetasche mit dem jeweiligen Argininrest auswirken.

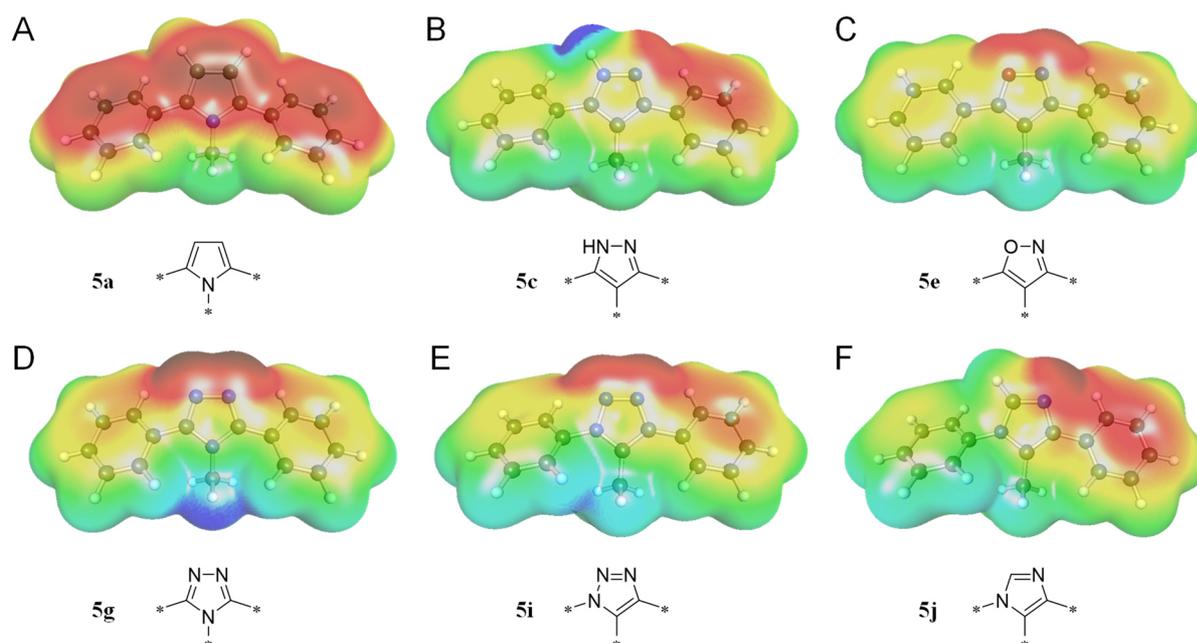


Abbildung 20: Elektrostatischen Potentiale der Derivate **5a**, **5c**, **5e**, **5g**, **5i** und **5j** (als Modell ohne Hydroxamsäurefunktion) dargestellt über die Einfärbung der Isooberfläche der Elektronendichte (Isowert=0,001); rot: negatives elektrostatisches Potential (Elektronenüberschuss); blau: positives elektrostatisches Potential (Elektronendefizit).

Die molekularen elektrostatischen Potentiale des Isoxazol- (**5e**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=4\text{ nM}$) und 1,2,3-Triazolderivats (**5i**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=9\text{ nM}$) sind miteinander vergleichbar. Beide unsubstituierten Ringatome weisen ein negatives elektronisches Potential (Abbildung 20C und E) auf. Die Rotfärbung ist beim Isoxazol (**5e**) für das Stickstoffatom jedoch etwas stärker ausgeprägt als das benachbarte Sauerstoffatom, während die Ladungsdichte beim 1,2,3-Triazol (**5i**) gleichmäßiger verteilt ist. Die gleichmäßige Ladungsverteilung innerhalb der zwei Ringatome

könnte einen Einfluss auf die verminderte Aktivität des 1,2,3-Triazols (**5i**) haben. Am wenigsten werden das 1,2,4-Triazol- (**5g**: $K_i^{(app)}_{hMep\alpha}=66$ nM) und das Pyrrolderivat (**5a**: $K_i^{(app)}_{hMep\alpha}=20$ nM) für die Hemmung von Meprin α bevorzugt. Beide Heteroaromaten weisen an den unsubstituierten Ringatomen eine gleichmäßige Ladungsverteilung auf (Abbildung 20A und D). Mit dem Pyrrol (**5a**) als Grundkörper sind sogar über den gesamten Heteroaromaten und den beiden Phenylresten negative elektrostatische Potentiale festzustellen, die fast die komplette Isooberfläche rot anfärben lassen. Die hohe Elektronendichte am Phenylrest könnte sich wiederum positiv auf mögliche Interaktionen mit der S_1' -Bindetasche auswirken und die höhere Aktivität des Pyrrols (**5a**) im Vergleich zum 1,2,4-Triazol (**5g**) erklären. Die negativen elektrostatischen Potentiale konzentrieren sich im Gegensatz dazu beim 1,2,4-Triazol (**5g**) auf die beiden elektronenziehenden Stickstoffatome in Position 1 und 2, während die Methylgruppe hingegen eine sehr elektronenarme Region bildet. Die Untersuchung der elektrostatischen Potentiale der monozyklischen Derivate haben gezeigt, dass besonders ein punktueller Elektronenüberschuss innerhalb des Heteroaromaten sich positiv auf die Hemmaktivität gegenüber Meprin α auswirkt und die π - π -Interaktion mit Tyr¹⁸⁷ in der S_1 -Bindetasche begünstigen könnte. Auf Meprin β lässt sich die Hypothese auch übertragen, da die Verbindungen **5c**, **5e** und **5j** (z. B. **5c**: $K_i^{(app)}_{hMep\beta}=199$ nM) höhere inhibitorische Aktivitäten im mehrstelligen nanomolaren Bereich aufweisen als die heteroaromatischen Derivate **5a**, **5g** und **5i** (z. B. **5a**: $K_i^{(app)}_{hMep\beta}=4311$ nM) mit einer gleichmäßigeren Ladungsverteilung. Demnach könnten die möglichen π - π -Wechselwirkungen zu Phe²¹⁶ oder Tyr²¹¹ im unteren Bereich des aktiven Zentrums von Meprin β durch die einseitige negative Polarisierung positiv beeinflusst werden. Zudem wurde gezeigt, dass in Abhängigkeit des heteroaromatischen Kerns auch die elektrostatischen Eigenschaften der Substituenten beeinflusst werden. Die hohe Elektronendichte des Phenylrestes (z. B. **5c**, **5j**) könnte somit zur Bindungsaffinität beitragen. Dagegen scheinen elektronenarme Bereiche an der Spacergruppe (z. B. **5g**) sich ungünstig auf die Aktivität auszuwirken.

Im Vergleich zu den monozyklischen Derivaten (**5a-j**) besaßen die anellierte Derivate (**7a-h**) eine geringere Hemmaktivität. Da die Positionierung des Arylrestes durch die Ringkondensation im Vergleich zu den monozyklischen Derivaten verändert ist, könnten die jeweiligen Bindetaschen (S_1 und S_1') schlechter adressiert werden. In den Dockinglösungen von Meprin α und β weisen die anellierte Derivate mit C_1 -Spacer auch ähnliche Positionierungen auf wie das prototypischen Indol **7a** (Abbildung 21A und B), sodass anhand der visuellen Analyse der Dockingergebnisse keine Rückschlüsse auf die inhibitorischen Aktivitäten gezogen werden können. In Meprin β wurde in den Dockinglösungen zusätzlich noch eine weitere Positionierung (Abbildung 21C) bei einigen Derivaten dargestellt, bei der π - π -Interaktionen auch mit dem Heteroaromaten selbst und

Phe²¹⁶ bzw. Tyr²¹¹ in Betracht gezogen werden können. In Meprin α lässt sich eine T-förmige Wechselwirkung zwischen Tyr¹⁸⁷ und dem anellierten Heteroaromaten vermuten. Neben dem Indolderivat **7b** mit C₂-Spacer wurde auch für den Benzimidazolgrundkörper ein Analogon (**7e**) mit verlängerter Spacergruppe dargestellt. Analog zu den monozyklischen Derivaten wurde mit der Verlängerung der Spacerlänge eine Verringerung der Aktivität gegenüber Meprin α und β beobachtet, was auf die sterische Hinderung der Derivate mit dem Enzym zurückzuführen lässt.

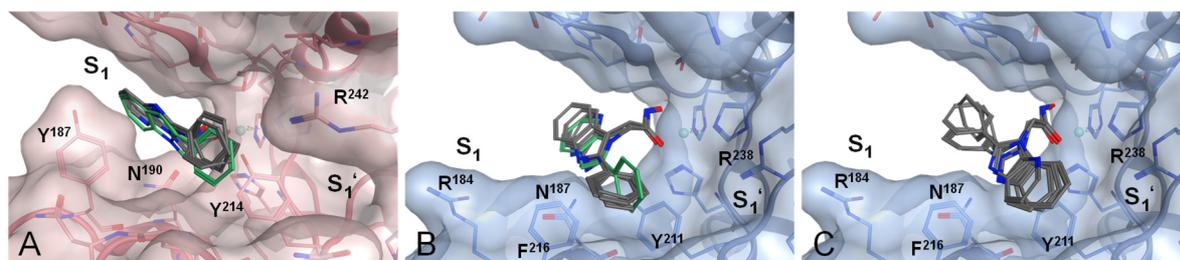


Abbildung 21: Vergleich der Dockinglösungen der anellierten Verbindungen **7a**, **7c**, **7d**, **7f-h** mit C₁-Spacer in Meprin α (A, Homologie Modell) und Meprin β (B, C, PDB: 7AQ1), **7a** – grün.

Die Möglichkeit von π - π -Wechselwirkungen lässt erneut darauf schließen, dass elektrostatische Eigenschaften der einzelnen anellierten Grundkörper die inhibitorischen Aktivitäten modulieren könnten. Für die Untersuchung der elektrostatischen Eigenschaften wurden ebenfalls die molekularen elektrostatischen Potentiale berechnet (Abbildung 22). Das 1-yl-Indolderivat (**7a**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=69$ nM, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=1076$ nM) sowie das 3-yl-Indolderivat (**7c**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=82$ nM, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=1184$ nM) zeigten innerhalb der anellierten Derivate die höchste Hemmaktivität. Die Einführung eines Stickstoffatoms bei den zwei Indolgrundkörpern **7a** und **7c** führt zu elektronenreichen Heteroaromaten, bei denen das freie Elektronenpaar des Stickstoffatoms in das aromatische System eingebaut ist und somit die Elektronendichte erhöht wird. Beide Phenylreste weisen ebenfalls eine hohe Elektronendichte auf, sodass für **7a** und **7c** eine gleichmäßig stark rot eingefärbte Fläche des aromatischen Systems zu erkennen ist (Abbildung 22A und B). Die Erhöhung der Elektronendichte innerhalb des Heteroaromaten könnte sich demzufolge positiv auf π - π -Interaktion mit Tyr¹⁸⁷ in Meprin α und Tyr²¹¹ in Meprin β auswirken. Zudem könnte auch die Interaktion innerhalb der S₁'-Bindetasche durch den elektronenreichen Phenylrest positiv beeinflusst werden. Mit dem Benzimidazol- und Indazolderivat (**7d** und **7h**) wird ein zweites Stickstoffatom eingeführt, wodurch eine Reduzierung der Elektronendichte und eine Verschiebung der negativen Ladung auf das jeweilige Stickstoffatom im Bereich des Fünfringheteroaromaten festzustellen ist (Abbildung 22C und F). Die verminderte Elektronendichte innerhalb des aromatischen Systems ist mit einer Verringerung der inhibitorischen Aktivität verbunden (**7d**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=163$ nM, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=1625$ nM; **7h**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=273$ nM, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=3364$ nM).

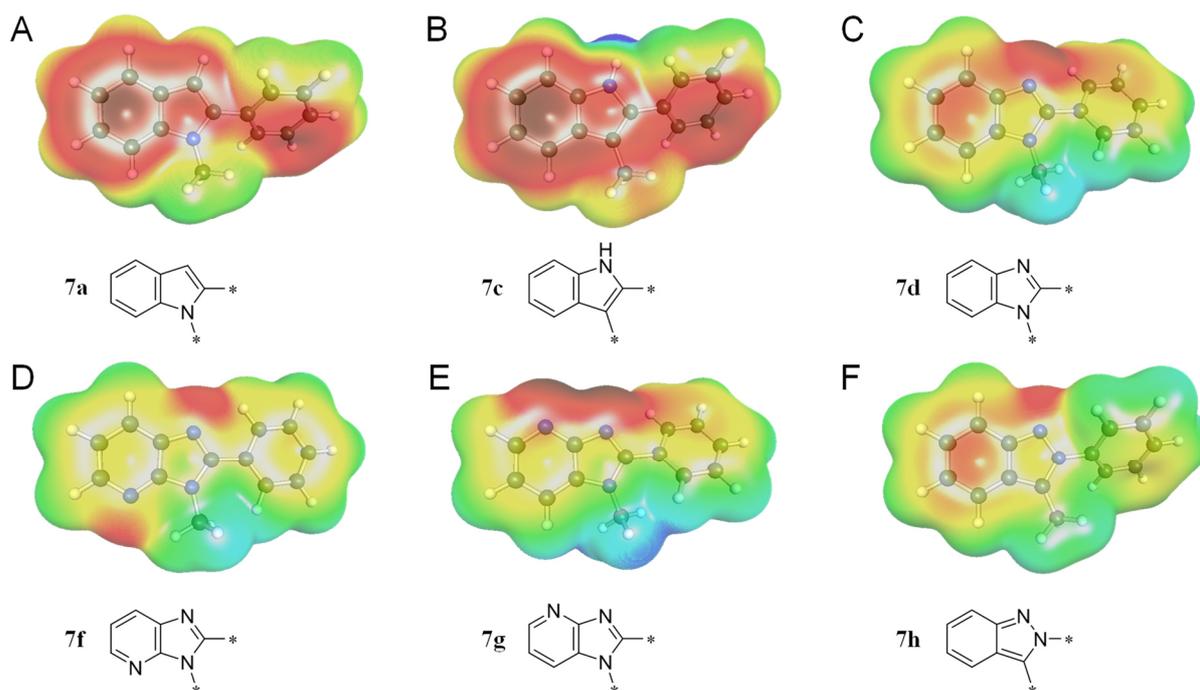


Abbildung 22: Elektrostatischen Potentiale der Derivate **7a**, **7c**, **7d**, **7f**, **7g** und **7h** (als Modell ohne Hydroxamsäurefunktion) dargestellt über die Einfärbung der Isooberfläche der Elektronendichte (Isowert=0,001); rot: negatives elektrostatisches Potential (Elektronenüberschuss); blau: positives elektrostatisches Potential (Elektronenmangel).

Mit der Darstellung der Imidazopyridine **7f** und **7g** wird ein weiteres Stickstoffatom in den Sechsring des anellierten Heteroaromaten eingebaut, was zu einer weiteren Reduktion der Elektronendichte führt (Abbildung 22D und E). Die negative Polarisierung konzentriert sich je nach Position auf das entsprechende Stickstoffatom. So führt die punktuelle Polarisierung des *N*1-Imidazo[4,5-*b*]pyridins (**7g**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=1483\text{ nM}$) zu einer zehnfachen Verminderung der Aktivität im Vergleich zum Benzimidazol (**7d**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=163\text{ nM}$) mit einer gleichmäßigeren Ladungsverteilung im Sechsring. Des Weiteren weist die Methylgruppe von **7g** ein positives elektronisches Potenzial auf, was in Analogie zum 1,2,4-Triazol (**5g**) sich negativ auf die Hemmaktivität auswirken könnte. Eine andere Position des Stickstoffs des *N*3-Imidazo[4,5-*b*]pyridins (**7f**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=262\text{ nM}$) zeigte wiederum keine Reduktion der Hemmaktivität gegenüber Meprin α . Ein Grund könnte die Ausbildung einer möglichen Wasserstoffbrücke zwischen Asn^{190} und dem Stickstoffatom *N*4 des Imidazo[4,5-*b*]pyridins **7f** darstellen, welche die Hemmaktivität positiv beeinflussen könnte. In Bezug auf Meprin β hat das unterschiedliche Substitutionsmuster der Imidazo[4,5-*b*]pyridine keinen Einfluss auf die Hemmaktivität (**7f**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=4556\text{ nM}$, **7g**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=4170\text{ nM}$). Die inhibitorischen Aktivitäten sind nur um Faktor vier schlechter als beim Benzimidazol (**7d**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=1625\text{ nM}$). Dies könnte bedeuten, dass die Aktivität gegenüber Meprin β nicht nur auf die π - π -Wechselwirkungen des Sechsrings des

anellierten Heteroaromaten mit Tyr²¹¹ beruhen, sondern auch durch potenzielle Interaktionen ausgehend vom Fünfring moduliert werden könnte.

Mittels der Untersuchung der molekularen elektrostatischen Potentiale konnte ein möglicher Zusammenhang zwischen der Ladungsverteilung und der Aktivität der Verbindungen festgestellt werden, während die Dockingexperimente zu keiner eindeutigen Abbildung der Struktur-Wirkungsbeziehungen führte. Ausgewählte Verbindungen, die hinsichtlich der Aktivität gegenüber Ovastacin evaluiert wurden, zeigten teilweise einen ähnlichen Trend, welcher auch bei Meprin α und β festgestellt wurde. Demnach könnte ebenfalls davon ausgegangen werden, dass die in den Dockingergebnissen gezeigte π - π -Interaktionen mit Phe²⁴³ und Tyr²³⁸ durch die elektrostatischen Eigenschaften des Heteroaromaten maßgeblich beeinflusst werden. Die formale Zyklisierung des Grundkörpers sowie das anschließende Austauschen der Heteroatome innerhalb des Heteroaromaten im Zusammenhang des *Scaffold Hoppings* ermöglichte die Identifizierung von vielen neuartigen Grundkörpern. Die Anwendung dieser beiden Konzepte führte zu einer beeindruckenden Aktivitätssteigerung gegenüber Meprin α und β . Da keine ausgeprägte Inhibierung der *off-target*-Metalloproteasen und keine Zytotoxizität (Anhang 9.3) festgestellt wurde, eignen sich die neuartigen heteroaromatischen Grundkörper als Ausgangspunkte für weitere Optimierungen. Zudem zeigten einige Derivate auch ohne jegliche Funktionalisierungen bereits eine hohe inhibitorische Potenz gegenüber Meprin α sowie eine gute Selektivität gegenüber Meprin β .

5.2.3 Einfluss der Substituenten in 3- und 5-Position der 3,4,5-substituierten Pyrazole auf die inhibitorische Aktivität

Aufgrund der guten synthetischen Zugänglichkeit wurde der Pyrazolgrundkörper (**5c**) für die weitere Derivatisierungen ausgewählt. Durch die systematische Variation der Substituenten sollte die Modulation der Hemmaktivitäten gegenüber Meprin α , β und Ovastacin sowie die Veränderung der Selektivität innerhalb der Meprinisoformen untersucht werden.

5.2.3.1 Modulation der inhibitorischen Aktivität durch die Variation eines Arylrestes

Die Einführung von verschiedenen lipophilen Resten wurde hinsichtlich der Aktivität gegenüber Meprin α und β evaluiert und mit dem Diphenylpyrazolderivat **5c** verglichen. Eine Abnahme der Aktivität wurde bei Resten (**100a,b**) beobachtet, die nicht der Länge und Größe des Phenylrestes von **5c** ($K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=1\text{ nM}$, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=116\text{ nM}$) entsprechen. Ein Methylsubstituent (**100a**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=302\text{ nM}$, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=2111\text{ nM}$) am Pyrazolgrundkörper könnte als Rest zu kurz sein, um die S_1' -Bindetasche im aktiven Zentrum zu adressieren, sodass die fehlenden Interaktionen zu

einer Reduktion der Hemmaktivität gegenüber Meprin α und β führen. Im Gegensatz dazu könnte die Aktivitätsverringering bei Einführung eines Benzylsubstituenten (**100b**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=70$ nM, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=1733$ nM) durch eine ungünstigere Positionierung des Restes oder durch eine sterische Behinderung im aktiven Zentrum erklärt werden. Mit dem Austausch des Phenylrestes gegen einen gesättigten Cyclopentanrest (**100c**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=6$ nM, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=320$ nM) wurden vergleichbare Aktivitäten bestimmt, was auf eine ähnliche Positionierung des Cyclopentanrestes in S_1' wie des Phenylrestes bei **5c** hinweisen könnte. Die Positionierung eines lipophilen Restes direkt am Pyrazolgrundgerüst wird demzufolge für die Hemmung von Meprin α und β bevorzugt.

Die Einführung von substituierten Phenylresten (**100d-g**), die einen +M-Effekt aufweisen und Wasserstoffbrückenakzeptoren darstellen, hatte keinen großen Einfluss auf die inhibitorischen Aktivitäten gegenüber Meprin α und β . Die Hemmaktivitäten dieser Derivate sind im Vergleich zum Diphenylpyrazolderivat **5c** unverändert, was gegensätzlich zu den tertiären Aminen ist, bei denen die Einführung von Wasserstoffbrückenakzeptoren sich positiv auf die Meprin α -Aktivität auswirkte.^[16] Die Dockinglösung von **100e** ($K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=1$ nM) lässt eine Orientierung des *para*-Methoxyphenylrestes in Richtung S_1' -Bindetasche vermuten, wodurch die Ausbildung einer Wasserstoffbrücke zwischen dem Methoxyrest und dem Argininrest Arg²⁴² oder einer Kation- π -Wechselwirkungen zwischen dem elektronenreichen Aromaten und dem Argininrest Arg²⁴² in Meprin α möglich wäre (Abbildung 23).

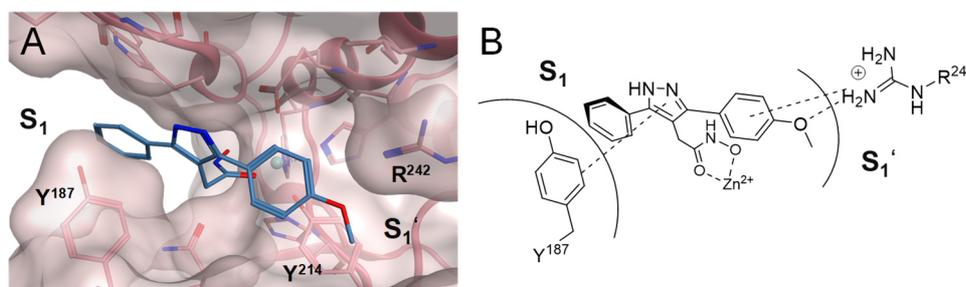


Abbildung 23: A) Dockinglösung des monosubstituierten Pyrazolderivats **100e** (1/20, blau) in Meprin α (Homologie Modell); B) schematische 2D-Darstellung des möglichen Bindungsmodus von **100e** in Meprin α .

In Abhängigkeit von Solvationseffekten kann der Beitrag einer Wasserstoffbrücke die Bindungsaffinität unterschiedlich verändern. Die gleichbleibenden Hemmaktivitäten dieser monosubstituierten Pyrazole (**100d-g**) könnten auf ungünstige Solvationseffekte und andere Faktoren wie enthalpische und entropische Einflüsse hinweisen, bei der eine zusätzliche Wasserstoffbrückenbindung nicht zur Aktivitätserhöhung beiträgt.^[62,136] Ein positiver mesomerer Effekt ist dennoch bestimmend für die Aktivität gegenüber Meprin α und β , da im Gegensatz dazu die Substitution durch Benzonitrilresten (**100h**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=5$ nM, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=335$ nM, **100i**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=14$ nM, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=995$ nM), die einen -M-Effekt aufweisen, zu einer

Aktivitätsverringerng führte. Diese Ergebnisse unterstützen die Hypothese einer möglichen Ausbildung von Kation- π -Wechselwirkungen zwischen den elektronenreichen Phenylresten und den Argininresten Arg²⁴² in Meprin α und Arg²³⁸ in Meprin β .

Mit der Erhöhung der Acidität durch Einführung von aciden funktionellen Gruppen (**100j-100p**) konnte eine Verschiebung der Selektivität in Richtung Meprin β verzeichnet werden, die zum Teil zu einer äquipotenten Hemmung von Meprin α und β führte. Der Austausch des Phenylrestes (**5c**) gegen einen Chlor-Fluorphenolrest (**100m**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=0,1\text{ nM}$, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=0,4\text{ nM}$) mit der phenolischen Funktion in *para*-Position führte sowohl für Meprin α als auch Meprin β zu einer deutlichen Aktivitätssteigerung in den picomolaren Bereich. Durch die elektronenziehenden Halogenatome wird der pK_S -Wert des sonst schwach aciden Phenols abgesenkt, sodass Halogenphenole als lipophile Carbonsäurebioisostere eingesetzt werden können.^[137] Der Einsatz von Carbonsäurebioisosteren findet häufig Anwendung in der medizinischen Chemie, um Nachteile der Carbonsäure als funktionelle Gruppe wie z.B. begrenzte passive Diffusion durch biologische Membranen oder metabolische Instabilität, zu vermeiden.^[137,138] Die Positionierung der aciden Funktion von **100m** in den Dockingergebnissen könnte auf eine ionische Wechselwirkungen oder eine ladungsunterstützte Wasserstoffbrücke mit dem Argininrest in der S_1' -Bindetasche von Meprin α (Arg²⁴²) hindeuten (Abbildung 24A und B).

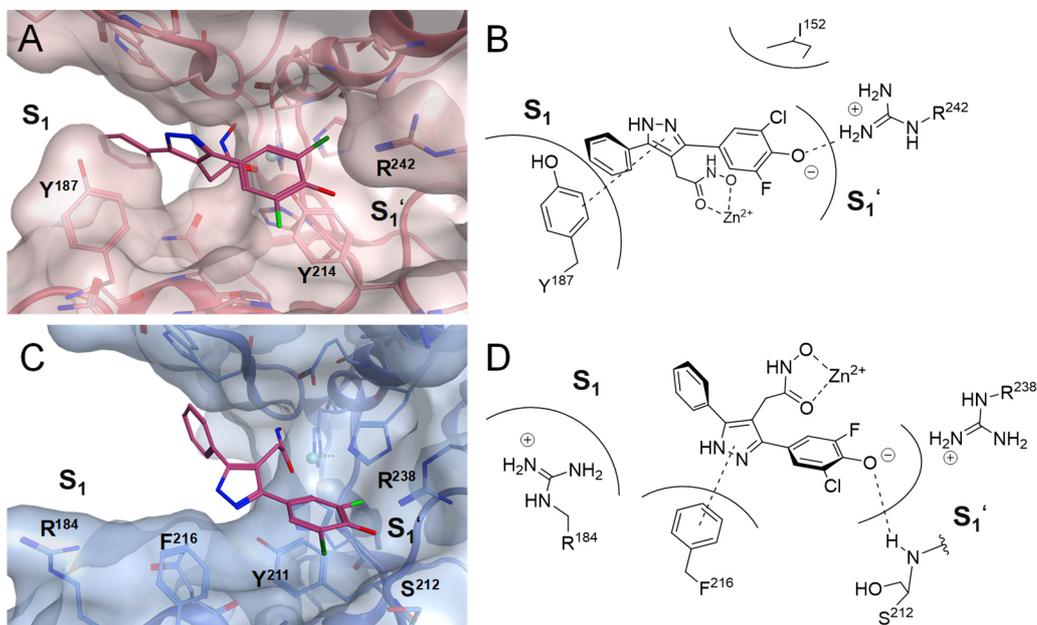


Abbildung 24: Dockinglösung des monosubstituierten Pyrazolderivats **100m** in A) Meprin α (1/20) und in C) Meprin β (3/20, PDB: 7AQ1); schematische 2D-Darstellung des möglichen Bindungsmodus von **100m** in B) Meprin α und D) Meprin β .

In Meprin β kann ebenfalls eine ionische Wechselwirkung zwischen dem Phenolat und dem Argininrest (Arg²³⁸) diskutiert werden. Eine Wasserstoffbrückenbindung mit dem Rückgrat der benachbarten Aminosäure Ser²¹² in Meprin β ist ebenfalls nicht auszuschließen. Zudem könnte die

Reduktion der Acidität und die gesteigerte Lipophilie durch die Halogenatome des Halophenols auch zu der Aktivitätssteigerung gegenüber Meprin α beitragen. Die *meta*-Position der aciden Phenolfunktion (**100l**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=2\ \text{nM}$, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=61\ \text{nM}$) wurde hingegen weniger für die Hemmung von Meprin α und β bevorzugt, was auf eine ungünstigere Positionierung der aciden Funktion für die Ausbildung von Wechselwirkungen vermuten lässt. Die Einführung von aciden Carboxyphenylresten (**100j**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=8\ \text{nM}$, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=48\ \text{nM}$; **100k**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=17\ \text{nM}$, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=116\ \text{nM}$) hatte auf die Inhibierung von Meprin β einen marginalen positiven Effekt. Die andere Positionierung der Carboxylgruppe im Vergleich zur Hydroxyfunktion des Halogenphenols könnte für die Ausbildung der oben beschriebenen Wechselwirkungen ungünstig sein. Die beiden Derivate **100j** und **100k** wurden für die Hemmung von Meprin α im Vergleich zum Diphenylpyrazolderivat **5c** weniger bevorzugt, was den Struktur-Wirkungsbeziehungen der tertiären Amine ähnelt.

In Analogie zu Meprin α und β konnte bei der Evaluierung von ausgewählten monosubstituierten Pyrazolen gegenüber murinem Ovastacin für die Derivate mit einem *para*-Methoxyphenyl- (**100e**) und *para*-Carboxyphenylrest (**100k**) nur ein marginaler Einfluss auf die inhibitorische Aktivität beobachtet werden. Im Gegensatz dazu wurde wiederholt bei der Einführung des Halophenols (**100m**: $K_i^{(app)}_{mOva}=0,7\ \text{nM}$) eine deutliche Aktivitätssteigerung in den picomolaren Bereich erzielt. Die Wechselwirkung des Phenolats mit der NH-Funktion der benachbarten Aminosäure Gly²³⁹ könnte zur hohen Bindungsaffinität der Verbindung **100m** beitragen (Abbildung 25). Zudem könnten ionische Wechselwirkungen des Phenolats mit dem positiv geladenen Arg²⁶⁴ in der S₁'-Bindetasche diskutiert werden. Mit der Chlor-Fluorphenolsubstitution des Pyrazolderivats (**100m**) wurde ein pan-spezifischer Astacininhibitor dargestellt, welcher aufgrund der Lipophilie und reduzierten Acidität des Substituenten Interaktionen mit der S₁'-Bindetasche in Meprin α und β sowie Ovastacin ausbilden könnte.

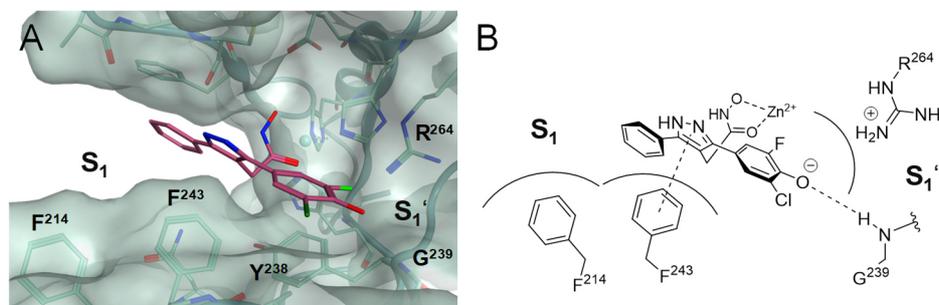


Abbildung 25: A) Dockinglösung des monosubstituierten Pyrazolderivats **100m** in mOvastacin (1/20, Homologie Modell); B) schematische 2D-Darstellung des möglichen Bindungsmodus von **100m** in mOvastacin.

Die Untersuchung weiterer Carbonsäurebioisostere (**100n-p**) zeigte grundsätzlich auch eine Verschiebung der Selektivität in Richtung Meprin β (Abschnitt 5.1.3.1, Tabelle 17). Innerhalb der

dargestellten Carbonsäurebioisostere stellt das Tetrazol (**100p**) die acideste Gruppe dar (Abbildung 26C). Aufgrund der Stabilisierung der negativen Ladung durch Elektronendelokalisation weist das Tetrazol einen vergleichbaren pK_S -Wert auf wie die Carbonsäure und ist aber im Unterschied dazu lipophiler als das korrespondierende Carboxylat.^[139] Dieser Unterschied geht mit einer zehnfach höheren Inhibierung von Meprin α und β durch Phenyltetrazolderivat **100p** im Vergleich zum Carboxyphenylanalogon **100j** einher (**100j**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=8\text{ nM}$, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=48\text{ nM}$; **100p**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=0,7\text{ nM}$, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=7\text{ nM}$). Mit den Dockingexperimenten in Meprin β könnte für das Pyrazol mit einem Phenyltetrazolrest (**100p**) ein Bindungsmodus vermutet werden, die eine Interaktion mit Arg¹⁴⁶ in der S_2' -Bindetasche aufweist (Abbildung 26B). Durch die Größe des Tetrazols wird der Abstand zwischen dem Phenylrest und der aciden Funktionalität im Vergleich zum Carbonsäureanalogon verlängert.^[139,140] Dadurch könnte die Adressierung der S_2' -Bindetasche für das Phenyltetrazolderivat (**100p**) möglich sein. Die S_2' -Bindetasche wird in Meprin α durch einen Tyrosinrest (Tyr¹⁴⁹) geformt, und wird in der Dockinglösung nicht vom Tetrazolrest adressiert. Das Docking lässt auf Wechselwirkungen mit Arg²⁴² in der S_1' -Bindetasche vermuten (Abbildung 26A).

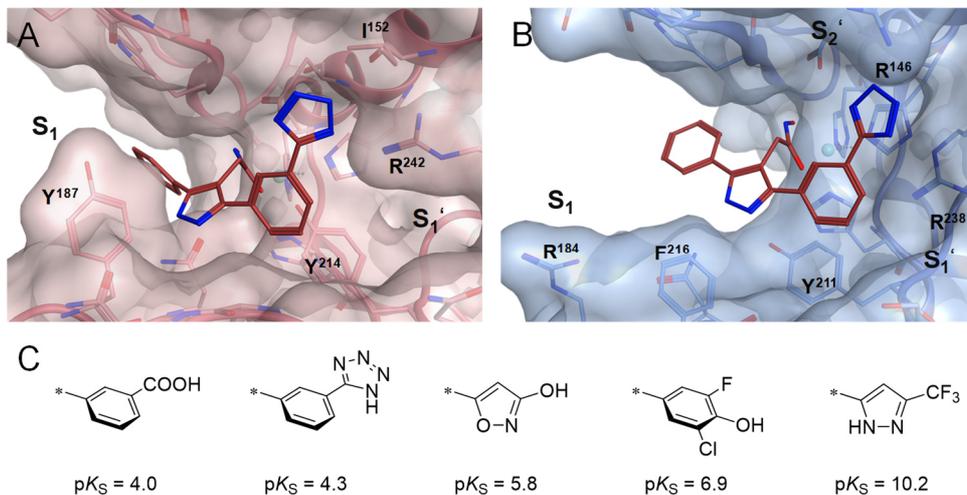


Abbildung 26: Dockinglösung des monosubstituierten Pyrazolderivats **100p** in Meprin α (A, 1/20) und Meprin β (B, 1/20); C) Berechnete pK_S -Werte der aciden Funktionalitäten (mittels MarvinSketch 6.2.2 der Firma ChemAxon).

Die äquipotente Hemmung des 3-Hydroxyisoxazolderivats (**100n**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=16\text{ nM}$, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=14\text{ nM}$) im nanomolaren Bereich könnte auf eine ähnliche Positionierung in der S_1' -Bindetasche wie beim Halophenolderivat **100m** hindeuten, bei der Wechselwirkungen mit den jeweiligen Argininresten in Meprin α (Arg²⁴²) und β (Arg¹⁴⁶) möglich sind. Mit einem pK_S -Wert von 6 (Abbildung 26C) ist die Hydroxyfunktionalität des 3-Hydroxyisoxazols etwas acider im Vergleich zum Halogenphenol. Die gesteigerte Polarität des 3-Hydroxyisoxazols (**100n**) durch die Einführung von Heteroatomen und das Fehlen der Halogenatome im Vergleich zum

Halogenphenol könnten Einfluss auf die inhibitorische Aktivität haben und zu einer verringerten Inhibition im Vergleich zu **100m** führen. Die Hemmaktivitäten des Pyrazolderivats mit einem Trifluoromethylpyrazolrest (**100o**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=2$ nM, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=88$ nM) liegen im ähnlichen Bereich wie die des Diphenylpyrazols **5c**. Die Einführung einer elektronenziehenden Trifluoromethylgruppe am Pyrazol erhöht die Acidität der NH-Funktion des Pyrazols auf einen pK_S -Wert von ca. zehn (Abbildung 26C). Die verminderte Aktivität von **100o** gegenüber Meprin β könnte auf die geringere Acidität verglichen mit den anderen Bioisosteren zurückzuführen sein, sodass die basischen Bindetaschen im aktiven Zentrum von Meprin β nicht adressiert werden.

5.2.3.2 Modulation der inhibitorischen Aktivität durch die Variation beider Arylreste

Die Modifizierung des Diphenylpyrazols an beiden Phenylresten in 3- und 5-Position zeigte, dass die Einführung eines zweiten Substituenten nur einen marginalen Einfluss auf die inhibitorische Aktivität gegenüber Meprin α und β aufwies. Die Trends, die schon bei den monosubstituierten Pyrazolderivaten (Abschnitt 5.2.3.1) beobachtet wurden, konnten auf die disubstituierten Pyrazole übertragen werden. Um die Aktivität gegenüber Meprin β und die Meprin β -Selektivität zu verbessern, wurden unter anderem Pyrazolderivate mit zwei aciden Resten kombiniert (**101b-d**, **101g-j**). Jedoch konnte bei der Einführung eines zweiten aciden Restes kein deutlicher Aktivitätsunterschied im Vergleich zu den korrespondierenden monosubstituierten Pyrazolen (**100j-m**) und damit auch keine Verbesserung der Meprin β -Selektivität festgestellt werden (z. B. **100m**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=0,1$ nM, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=0,4$ nM; **101j**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=0,1$ nM, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=0,2$ nM). Dies ist gegensätzlich zu der Struktur-Wirkungsbeziehung, welche bei den tertiären Aminen und besonders beim Aminderivat **2a** mit zwei Carboxybenzylresten beobachtet wurde.^[58] Die Dockingergebnisse am Beispiel der disubstituierten Verbindung **101j** verdeutlichen, dass der zweite Substituent am Phenylrest an der S_1 -Bindetasche vorbeiführt und aufgrund der Planarität des aromatischen Rings die S_1 -Bindetasche nicht adressieren kann (Abbildung 27).

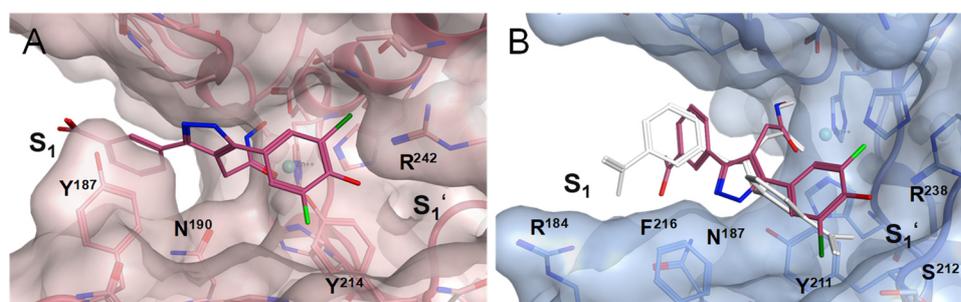


Abbildung 27: Dockinglösung des disubstituierten Pyrazolderivats **101j** in Meprin α (A, 5/20) und in Meprin β (B, 2/20); S_1 -Bindetasche wird im Vergleich dazu von **2a** (weiß, kokristallisierter Ligand in Meprin β) adressiert.

In Meprin α interagiert vorrangig der heteroaromatische Kern mit dem Tyrosinrest Tyr¹⁸⁷ in der S₁-Bindetasche (Abbildung 27A), während der Argininrest Arg¹⁸⁴ in Meprin β keinen Interaktionspartner aufweist (Abbildung 27B). Stattdessen könnte die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den substituierten Phenylresten und Asn¹⁸⁷ in S₂ des aktiven Zentrums anhand der Dockingergebnisse in Betracht gezogen werden. Die Substitution des zweiten Phenylrestes trägt aufgrund der fehlenden Interaktion mit der S₁-Bindetasche somit im Wesentlichen nicht zur Modulation der inhibitorischen Aktivität und Selektivität bei. Für die Modulation der Selektivität innerhalb der humanen Astacinproteasen ist allerdings die Interaktion mit der S₁-Bindetasche entscheidend, da die S₁-Bindetasche bei allen Astacinproteasen unterschiedlich ist (Abschnitt 1.1.3).

5.2.3.3 Vergleich zwischen aromatischen und gesättigten Substituenten

Da die Einführung eines zweiten aromatischen Substituenten im Wesentlichen keinen Einfluss auf die Hemmaktivität gegenüber Meprin α und β hatte, wurden Pyrazolderivate untersucht, die anstelle des aromatischen Phenylrestes einen gesättigten Cycloalkanrest aufweisen. Das Ziel bestand darin, die S₁-Bindetasche mit diesen Derivaten besser adressieren zu können. In den vorherigen Abschnitten konnte bereits gezeigt werden, dass die Einführung eines Cycloalkanrestes in 3(5)-Position (Abschnitt 5.1.3.1) für die Inhibierung von Meprin α und β geeignet ist. Bei der Konformation des gesättigten Rings können die Substituenten über eine äquatoriale oder axiale Stellung andere Positionierungen einnehmen, während die Substituenten am aromatischen Phenylrest in der Ringebene ausgerichtet sind. Mit der Einführung von Cyclohexancarbonsäuren sollte eine Verbesserung der Meprin β -Selektivität erzielt werden, da die Carboxylgruppe am Cyclohexylsubstituenten durch den anderen Bindungswinkel den Argininrest Arg¹⁸⁴ in der S₁-Bindetasche besser adressieren könnte. Mit der Einführung der Cyclohexancarbonsäuren konnte eine Erhöhung der inhibitorischen Aktivität gegenüber Meprin β im Vergleich zum unsubstituierten Diphenylpyrazolderivat (**5c**: $K_i^{(app)}_{hMep\beta}=116$ nM) beobachtet werden. Dabei bewegen sich die Hemmaktivitäten im ähnlichen unteren nanomolaren Bereich wie die Pyrazolderivate mit Carboxyphenylresten (**100j,k** und **101b,c,g**). Die Einführung der Cyclohexancarbonsäuren führte jedoch nicht zu einer Verbesserung der Selektivität von Meprin β gegenüber Meprin α . Gleichmaßen wie bei den Pyrazolderivaten mit zwei aromatischen Carbonsäuren (z. B. **101b**: $K_i^{(app)}_{hMep\alpha}=10$ nM, $K_i^{(app)}_{hMep\beta}=15$ nM) wurde bei den Pyrazolen mit einer Cyclohexancarbonsäure und einer aromatischer Carbonsäure in Kombination (z. B. **101m**: $K_i^{(app)}_{hMep\alpha}=21$ nM, $K_i^{(app)}_{hMep\beta}=15$ nM) nur eine äquipotente Inhibierung der beiden

Meprinisoformen bestimmt. Die Dockingergebnisse zeigen, dass die Carboxylgruppe des gesättigten Cyclohexylrestes von **101m** einen anderen Bindungswinkel aufweist im Vergleich zur planar gerichteten Carboxylgruppe der aromatischen Carbonsäure von **101b** (Abbildung 28A). Allerdings wird Arg¹⁸⁴ in der S₁-Bindetasche von Meprin β auch nicht vom Pyrazolderivat mit einem Cyclohexancarbonsäurerest adressiert. Da im Bereich der S₁-Bindetasche von Meprin β eine hohe Flexibilität^[61] vorliegt, sind Interpretationen von möglichen Interaktionen und Wechselwirkungen mit der S₁-Bindetasche mittels Dockinguntersuchungen unter Verwendung eines rigiden Proteins jedoch nur begrenzt möglich. Im Zusammenspiel mit den *in vitro* Ergebnissen dieser Verbindungen könnte jedoch vermutet werden, dass keine Wechselwirkung zwischen dem Argininrest Arg¹⁸⁴ und den jeweiligen Carboxylresten ausgebildet wird. Während der 1,4-Cyclohexancarbonsäuresubstituent des Pyrazolderivats **101m** im Dockingexperiment vorrangig dem Lösungsmittel ausgesetzt ist, könnte die *cis*-1,2-Cyclohexancarbonsäure der Verbindung **101k** eine Interaktion mit Asn¹⁸⁷ in S₂ des aktiven Zentrums von Meprin β eingehen (Abbildung 28B). Die drei- bis vierfach höhere inhibitorische Aktivität dieser Verbindung (**101k**: K_i^(app)_{hMep α}=0,4 nM, K_i^(app)_{hMep β}=5 nM) gegenüber Meprin β im Vergleich zu den 1,4-Cyclohexancarbonsäureisomeren (**101l**: K_i^(app)_{hMep α}=20 nM, K_i^(app)_{hMep β}=21 nM; **101m**: K_i^(app)_{hMep α}=21 nM, K_i^(app)_{hMep β}=15 nM) untermauert den vermuteten Bindungsmodus des Dockings. Trotz des zweiten aciden Restes weist die Verbindung **101k** jedoch eine höhere Hemmaktivität im picomolaren Bereich gegenüber Meprin α auf. Dabei könnte die *cis*-1,2-Cyclohexancarbonsäure ebenfalls mit dem in Meprin α korrespondierenden Asparaginrest Asn¹⁹⁰ in Wechselwirkung treten.

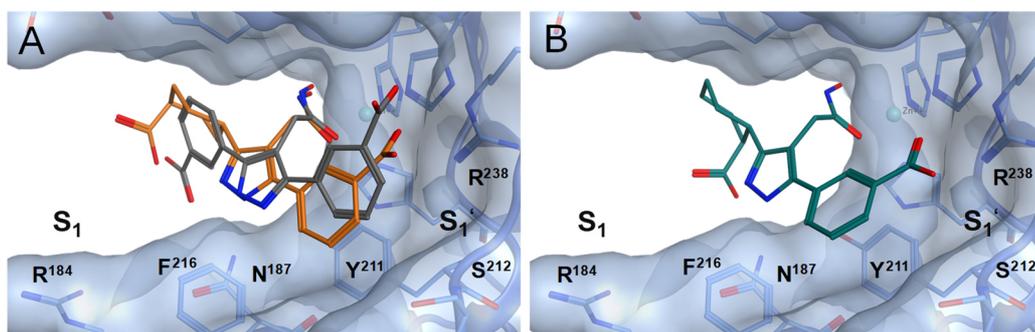


Abbildung 28: A) Vergleich der Dockinglösungen des disubstituierten Pyrazolderivats **101m** mit 1,4-Cyclohexancarbonsäurerest (orange, 8/20) und **101b** mit Carboxyphenylrest (grau, 3/20) in Meprin β; B) Dockinglösung des disubstituierten Pyrazolderivats **101k** mit 1,2-Cyclohexancarbonsäurerest (dunkelgrün, 1/20) in Meprin β.

5.2.4 Modulation der inhibitorischen Aktivität durch die Einführung von *N*-Substituenten am Diphenylpyrazolgrundkörper

Neben der Variation der Phenylreste an Position 3 und 5 des Pyrazolgrundkörpers wurde auch der Einfluss der Einführung von unterschiedlichen Substituenten an Position 1 auf die Hemmaktivität gegenüber den Astacinproteasen untersucht. Beim Vergleich der inhibitorischen Aktivitäten zwischen Methyl- (**126a**), Phenyl- (**121**) und Benzylsubstitution (**126b**) wurde das benzylierte Pyrazolderivat (**126b**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=1\text{ nM}$, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=291\text{ nM}$) am meisten für die Hemmung von Meprin α und β bevorzugt. Ausgehend vom benzylierten Pyrazolderivat (**126b**) wurden unterschiedliche substituierte Benzylsubstituenten (**126c-n**) eingeführt und hinsichtlich der inhibitorischen Aktivität evaluiert. Eine weitere Modifizierung der Benzylreste durch den Austausch des Methylenlinkers gegen einen Cyclobutyl- (**131b,c**), Oxetan- (**131d,e**) und *iso*-Propyl-Linker (**131f**) wurde zudem durchgeführt, um auch Derivate darzustellen, die weniger anfällig für eine mögliche Spaltung durch oxidative Dealkylierung sein könnten. Diese Einheiten führten jedoch zu einer zehnfachen Verschlechterung der inhibitorischen Aktivität (z. B. **131b**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=13\text{ nM}$, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=1086\text{ nM}$), welche auf sterischen Gründen oder eingeschränkte Flexibilität des Linkers beruhen könnten. Generell zeigte die Variation der Benzylsubstituenten am Pyrazol für den Großteil der Verbindungen nur marginale Veränderungen in der inhibitorischen Aktivität. Auffällig war jedoch die Aktivitätssteigerung gegenüber Meprin α und β mit der Einführung von Benzylresten mit aciden funktionellen Gruppen (**126i-l**). Um den möglichen Bindungsmodus dieser Verbindungen vorhersagen zu können, wurde ein Docking mit flexiblen Seitenketten durchgeführt. Da die Pyrazolderivate im Verhältnis zu den anderen Derivaten durch die Einführung der verschiedenen substituierten Benzylreste ein größeres Molekül abbilden, führte die Durchführung der Dockingexperimente in das rigide Protein besonders bei Meprin α zu Kollisionen mit der Proteinoberfläche. Um die induzierte Anpassung (*induced fit*) bei der Bildung des Ligand-Protein-Komplexes zu berücksichtigen, waren die jeweiligen Aminosäuren in der S_1 - und S_1' -Bindetasche von Meprin α und β während des Dockings flexibel, da diese für die Bindung des Liganden relevant sein könnten. Die aktivste Verbindung gegenüber Meprin α in dieser Klasse war das Derivat **126k** ($K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=0,08\text{ nM}$) mit einem Halogenphenolrest. In den Dockinglösungen in Meprin α ist der Benzylsubstituent von **126k** zum Argininrest Arg²⁴² in der S_1' -Bindetasche orientiert, was auf ionische Interaktionen hindeuten könnte (Abbildung 29). Auch innerhalb der 3,4,5-substituierten Pyrazole wurde bei der Substitution mit einem Halogenphenolrest (**100m**, siehe Abschnitt 5.2.3.1) vergleichbare Ergebnisse beobachtet, die ebenfalls auf eine Interaktion mit der S_1' -Bindetasche zurückgeführt werden könnte. Die Positionierung der Verbindung **126k** in der Dockinglösung unterscheidet sich

jedoch von **100m**, da das *N*-substituierte Pyrazol **126k** mehr zur S_1' - und S_2' -Bindetasche orientiert ist. Dies könnte die Bildung von hydrophoben Kontakten zwischen dem Phenylrest und unpolaren Aminosäureseitenketten wie Ile¹⁵² ermöglichen. Aufgrund der lipophilen Umgebung der S_2' -Bindetasche durch Ile¹⁵² und Tyr¹⁴⁹ könnte auch das Chloratom des Halogenphenols einen Beitrag zur Bindungsaffinität liefern. Zusätzlich könnte eine mögliche Cl- π -Interaktion mit Tyr¹⁴⁹ in der S_2' -Bindetasche in Betracht gezogen werden.^[141] Außerdem könnten π - π -Interaktionen des Phenylrestes mit dem Tyrosinrest Tyr¹⁸⁷ der S_1 -Bindetasche einen positiven Einfluss auf die Bindung haben (Abbildung 29B).

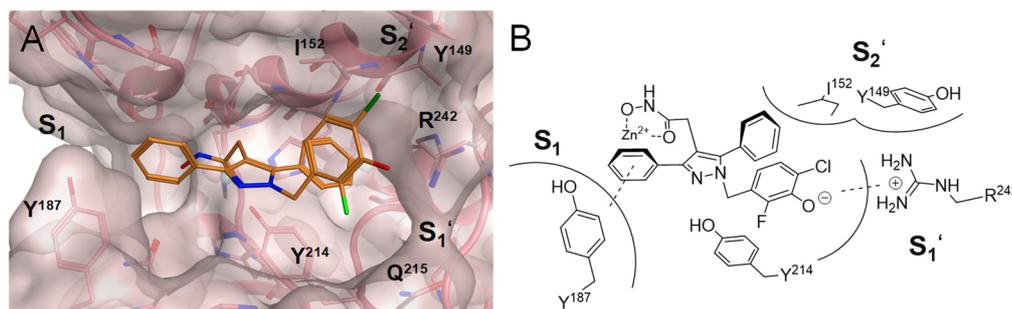


Abbildung 29: A) Dockinglösung des *N*-substituierten Pyrazolderivats **126k** (1/20, Docking mit flexiblen Seitenketten Y¹⁸⁷ und R²⁴²) in Meprin α ; B) schematische 2D-Darstellung des möglichen Bindungsmodus von **126k** in Meprin α .

Eine Veränderung der Hydroxyfunktion in die *para*-Position (**126l**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha} = 0,4\ \text{nM}$) führte zu einer fünffachen Verschlechterung der Aktivität, da die Positionierung der aciden Funktion ungünstiger für die Ausbildung einer Wechselwirkung mit Arg²⁴² in S_1' sein könnte. Vergleichbare Aktivitäten wurden auch für Derivate mit aromatischen Carbonsäuren (**126i**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha} = 0,3\ \text{nM}$, **126j**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha} = 0,4\ \text{nM}$) erzielt. Die verringerte inhibitorische Aktivität der Pyrazole mit Carboxybenzylresten (**126i,j**) könnte auf die Relevanz der erhöhten Lipophilie des Halogenphenolrestes für eine hohe Bindungsaffinität hindeuten.

Die Einführung der aciden Reste hatte einen größeren Effekt auf die Hemmung von Meprin β , bei der eine Aktivitätssteigerung mit bis zu Faktor 30 bestimmt wurde (**126i**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta} = 11\ \text{nM}$, **126k**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta} = 9\ \text{nM}$). Eine Interaktion mit einem Argininrest im aktiven Zentrum von Meprin β könnte demzufolge auch vermutet werden. Jedoch wird in der Dockinglösung der Verbindung **126i** keine Wechselwirkung mit dem entsprechenden Argininrest Arg²³⁸ in der S_1' -Bindetasche gezeigt (Abbildung 30). Der Carboxybenzylsubstituent von **126i** ist stattdessen zu den Seitenketten der Aminosäuren Ser²¹² und Thr²¹⁴ benachbart zur S_1' -Bindetasche gerichtet und könnte somit an Wasserstoffbrückenbindungen beteiligt sein. Ähnliche Interaktionen konnten auch bei der Kokristallisation des Aminderivats **2a** im aktivem Zentrum von Meprin β festgestellt werden.^[61] Weitere Interaktionen wie Kationen- π -Wechselwirkungen zwischen Arg²³⁸ und dem

Phenylrest oder π - π -Interaktionen zwischen Tyr²¹¹ und dem Heteroaromaten sowie zwischen Phe²¹⁶ und dem anderen Phenylrest können auch aus der Dockinglösung geschlussfolgert werden.

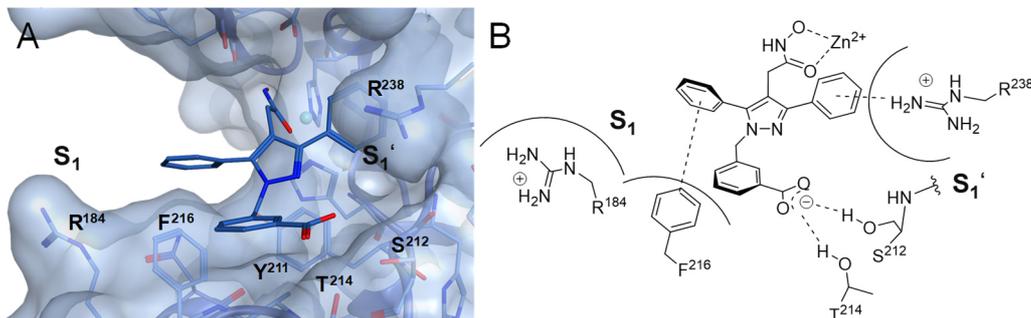


Abbildung 30: A) Dockinglösung des *N*-substituierten Pyrazolderivats **126i** (1/20, Docking mit flexiblen Seitenketten R¹⁸⁴ und R²³⁸) in Meprin β ; B) schematische 2D-Darstellung des möglichen Bindungsmodus von **126i** in Meprin β .

Der unterschiedliche Bindungsmodus der *N*-substituierten Pyrazole in Meprin β im Vergleich zu Meprin α könnte aus den voluminösen Seitenketten des Tyrosinrestes Tyr¹⁸⁷ in der S₁-Bindetasche und auch des Glutaminrestes Gln²¹⁵ benachbart zur S_{1'}-Bindetasche in Meprin α resultieren, die den Benzylrest in Richtung S_{1'}-Bindetasche lenken. Eine ionische Wechselwirkung zu einem basischen Argininrest im aktiven Zentrum ist dennoch nicht auszuschließen, da bei Einführung der aciden Benzylsubstituenten (**126i-l**) eindeutig eine Erhöhung der Hemmaktivität gegenüber Meprin β festzustellen ist.

Ausgewählte Verbindungen wurden auch hinsichtlich der Hemmaktivität gegenüber Ovastacin evaluiert. Für die Hemmung von Ovastacin wird sowohl die Einführung eines Phenyl- (**121**: K_i^(app)_{mOva}=33 nM) als auch Benzylrestes (**126b**: K_i^(app)_{mOva}=48 nM) als lipophile Substituenten bevorzugt. Dies könnte durch die lipophile Umgebung im aktiven Zentrum von Ovastacin begründet sein, die durch die Seitenketten der Aminosäuren Phe²¹⁴ und Phe²⁴³ in der S₁-Bindetasche und durch Gly²³⁹ benachbart zu S_{1'} gebildet wird. Die Einführung von aciden Substituenten bewirkte ebenfalls eine Aktivitätssteigerung und ist vergleichbar mit der Aktivität gegenüber Meprin β . Bei Betrachtung der Dockingergebnisse ist der Halophenolsubstituent von **126k** (K_i^(app)_{mOva}=9 nM) zur S_{1'}-Bindetasche orientiert. Ähnlich wie bei Meprin α könnte eine ionische Wechselwirkung mit dem Argininrest Arg²⁶⁴ in der S_{1'}-Bindetasche diskutiert werden (Abbildung 31). Des Weiteren lassen sich ähnlich wie bei Meprin β π - π -Interaktionen zwischen Tyr²³⁸ und dem Heteroaromaten sowie zwischen Phe²⁴³ und dem Phenylrest vermuten, die ebenfalls zur inhibitorischen Aktivität beitragen könnten. Die Seitenkette des zweiten Phenylalanins Phe²¹⁴, die die S₁-Bindetasche formt, weist eine zu große Distanz zu den Derivaten auf und ist wohlmöglich nicht mit an der Bindung beteiligt.

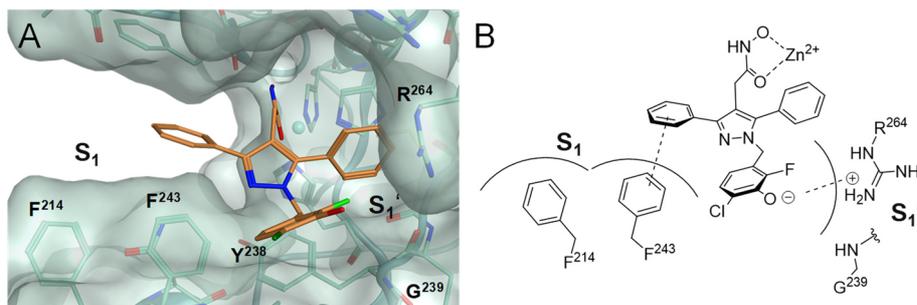


Abbildung 31: A) Dockinglösung des *N*-substituierten Pyrazolderivats **126k** (2/20, Docking mit flexiblen Seitenketten F²¹⁴ und R²⁶⁴) in murinen Ovastacin; B) schematische 2D-Darstellung des möglichen Bindungsmodus von **126k** in Ovastacin.

Die Verlängerung der Spacerlänge hatte für die meisten *N*-substituierten Pyrazolderivate eine Aktivitätsverringering zur Folge. Eine Ausnahme bildeten jedoch die Diphenylpyrazolderivate mit einer aromatischen Carbonsäure (**127i**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha} = 0,7\ \text{nM}$, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta} = 1210\ \text{nM}$) und mit einem Halogenphenolrest (**127k**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha} = 0,15\ \text{nM}$, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta} = 1184\ \text{nM}$), die mit der Verlängerung des Spacers zwar eine deutliche Abnahme der Bindungsaffinität gegenüber Meprin β aufwiesen, aber in der Meprin α -Aktivität vergleichsweise konstant blieben. Dies führte in beiden Fällen zu einer außerordentlichen Steigerung der Selektivität von Meprin α gegenüber Meprin β mit einem Faktor von 1700 für **127i** und einem Faktor von 8000 für **127k**. Mit einem Selektivitätsfaktor von 8000 gegenüber Meprin β stellt die Verbindung **127k** bislang den selektivsten bekannten Meprin α -Inhibitor dar. Die erst kürzlich beschriebenen Verbindungen von WANG *et al.* weisen eine deutlich geringere Meprin α -Selektivität von Faktor 100 auf.^[142] Die Dockinglösung von **127k** in Meprin α zeigt, dass der entsprechende acide Substituent des verlängerten Pyrazolderivats auch noch in der Lage ist, den Argininrest Arg²⁴² der S₁'-Bindetasche zu adressieren (Abbildung 32).

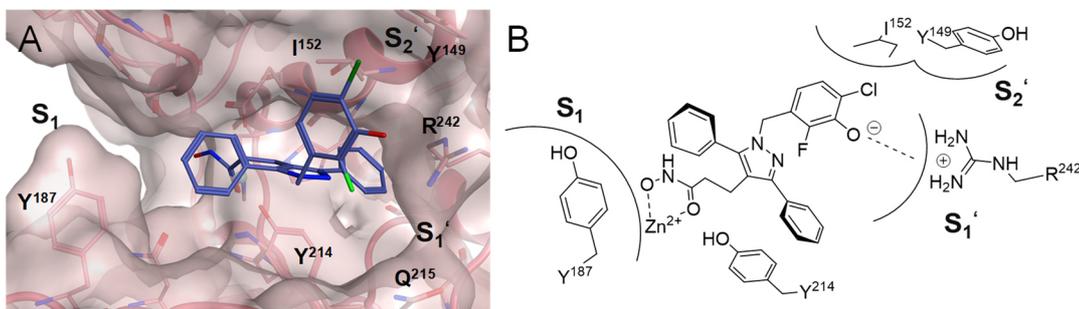


Abbildung 32: Dockinglösung des *N*-substituierten Pyrazolderivats **127k** (1/20, Docking mit flexiblen Seitenketten Y¹⁸⁷ und R²⁴²) in Meprin α ; B) schematische 2D-Darstellung des möglichen Bindungsmodus von **127k** in Meprin α .

Aufgrund der Verlängerung des Spacers ist die Diphenylpyrazolgrundstruktur im aktiven Zentrum anders positioniert als bei den Derivaten mit C₁-Spacer. Die zuvor beschriebenen π - π -Interaktionen könnten somit nicht mehr ausgebildet werden. Entscheidend scheint aber die

ionische Wechselwirkung mit Arg²⁴² zu sein, die für die hohe Hemmaktivität bestimmend ist. Die *meta*-Position der aciden Funktionalität wird für die Hemmung bevorzugt. Die entsprechende *para*-Stellung der aciden Funktionalität der Verbindungen (**127j**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=14\text{ nM}$, **127l**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=8\text{ nM}$) ist wie bei den anderen Derivaten mit einer Abnahme der Aktivität verbunden, die auf eine fehlende Interaktion mit Arg²⁴² oder sogar ungünstige Wechselwirkungen mit Tyr¹⁴⁹ in der S₂'-Bindetasche hindeuten könnten. Im Gegensatz zu Meprin α war die Verlängerung der Spacerlänge bei den *N*-substituierten Pyrazolderivaten mit aciden Resten (**127i,k**) gegenüber Meprin β mit einer 100fachen Aktivitätsverringern verbunden. Somit könnte vermutet werden, dass die bei den C₁-Analoga (**126i,k**) postulierten Wasserstoffbrücken mit Ser²¹² und Thr²¹⁴ (Abbildung 30) mit der Verlängerung des Spacers aufgrund einer anderen Positionierung des Benzylrestes nicht mehr gebildet werden. Aufgrund der erniedrigten Hemmaktivität könnte ebenfalls die Ausbildung einer Wechselwirkung mit den Argininresten Arg¹⁸⁴ in der S₁- oder Arg²³⁸ in der S₁'-Bindetasche ausgeschlossen werden.

5.2.5 Modulation der inhibitorischen Aktivität durch die Modifikation der Substituenten am 2-Phenylbenzimidazolgrundkörper

Innerhalb der anellierten Heteroaromaten wurden ausgehend vom Phenylbenzimidazolderivat (**7d**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=128\text{ nM}$, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=1134\text{ nM}$) Modifikationen am Phenylrest vorgenommen, um den Einfluss auf die inhibitorische Aktivität gegenüber Meprin α und β zu untersuchen. Die Einführung von aciden Resten (**137b,d,e**; **137b**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=263\text{ nM}$, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=254\text{ nM}$) aber auch einer Methoxyfunktion (**137a**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=94\text{ nM}$, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=252\text{ nM}$) führte besonders gegenüber Meprin β zu einer Erhöhung der Aktivität. Im Gegensatz dazu wirkte sich die Modifikation des Phenylrestes für die meisten substituierten Pyrazolderivate vergleichsweise nur marginal auf inhibitorische Aktivität gegenüber Meprin β aus (Abschnitt 5.1.3.1). Der Phenylbenzimidazolgrundkörper ist im Vergleich zum Diphenylpyrazol kürzer und könnte somit andere Positionierungen des Phenylrestes im aktiven Zentrum zulassen. Da bereits die Modifizierung des Phenylrestes durch eine acide Funktionalität eine Steigerung der Aktivität von Meprin β und damit zu vergleichbaren Hemmaktivitäten von Meprin α und β führte, wurde ausgehend von dem Benzimidazolderivat **137b** mit einem Chlor-Fluorphenolrest ein zweiter acider Rest direkt am Benzimidazolgrundkörper zur Steigerung der Meprin β -Aktivität eingeführt. Das Ziel bestand darin, die S₁-Bindetasche von Meprin β mit der Einführung des aciden Restes zu adressieren, da aufgrund des anellierten Grundkörpers andere Positionierungen der Substituenten möglich wären. Die Hemmaktivität gegenüber Meprin α und β wurde über die Positionierung der Carboxylgruppe am Benzimidazol auf unterschiedliche Weise dirigiert. Eine Carboxylgruppe in

Position 4 am Benzimidazol (**144a**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=903\text{ nM}$, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=1159\text{ nM}$) wurde weder für die Hemmung von Meprin α noch von Meprin β bevorzugt, während Position 6 (**144c**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=6\text{ nM}$, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=7\text{ nM}$) gegenüber beiden Isoformen zu einer Inhibierung im einstelligen nanomolaren Bereich führte. Die Dockinglösung des substituierten Phenylbenzimidazols **144c** in Meprin α weist auf eine Positionierung des Halogenphenols in Richtung S_1' -Bindetasche hin, die eine Interaktion mit dem Argininrest Arg²⁴² vermuten lassen (Abbildung 33). Die Carboxyfunktion von **144c** zeigt im Docking an der S_1 -Bindetasche von Meprin α vorbei. Somit stellt die Verbindung **144c** mit der Carboxylgruppe in Position 6 ein Regioisomer dar, welches für das aktive Zentrum von Meprin α sterisch am günstigsten ist. Im Gegensatz dazu könnte die Positionierung der Carboxylgruppe der anderen Isomere in 4- (**144a**) und 5-Position (**144b**) des Benzimidazols aufgrund des geringeren Abstands zum Tyr¹⁸⁷ in der S_1 -Bindetasche zu repulsiven Effekten führen.

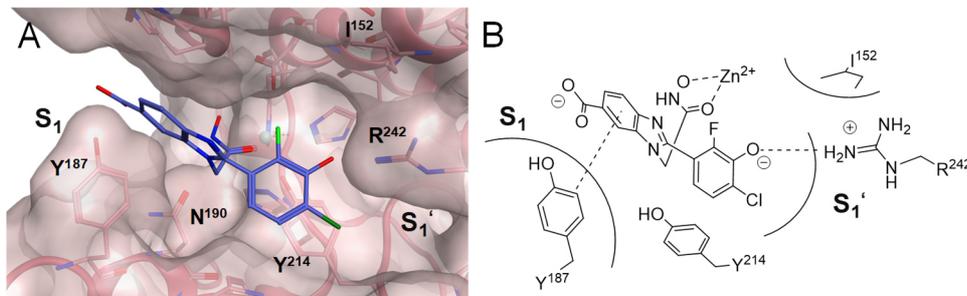


Abbildung 33: A) Dockinglösung des substituierten 2-Phenylbenzimidazols **144c** (1/20) in Meprin α ; B) schematische 2D-Darstellung des möglichen Bindungsmodus von **144c** in Meprin α .

Eine Aktivitätssteigerung gegenüber Meprin β ist auch in Abhängigkeit der Position der Carboxylgruppe zu beobachten. Für die hohe Hemmaktivität von **144c** gegenüber Meprin β könnte die Ausbildung von ionischen Wechselwirkungen mit Arg²³⁸ in der S_1' -Bindetasche durch eine optimale Positionierung der Carboxyfunktion ausschlaggebend sein. Im Gegensatz zu der Dockinglösung in Meprin α ist der Halogenphenolrest von **144c** in Meprin β zur S_2 -Bindetasche orientiert (Abbildung 34). Die Ausbildung einer Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem Asparaginrest Asn¹⁸⁷ und dem Halogenphenolrest, sowie einer π - π -Wechselwirkung zwischen dem Benzimidazolgrundkörper und Tyr²¹¹ könnten zu einer Steigerung der Aktivität gegenüber Meprin β beitragen. Der Argininrest Arg¹⁸⁴ in der S_1 -Bindetasche wird aufgrund des zu großen Abstands nicht durch die acide Funktionalität des Halogenphenols adressiert. Eine Verschiebung der Carboxylgruppe auf die 5- und 4-Position des Benzimidazols führte zu einer weiteren Aktivitätsverminderung gegenüber Meprin β , die auf eine ungünstige Ausrichtung des aciden Restes und damit auf ausbleibende Interaktionen hindeuten könnte.

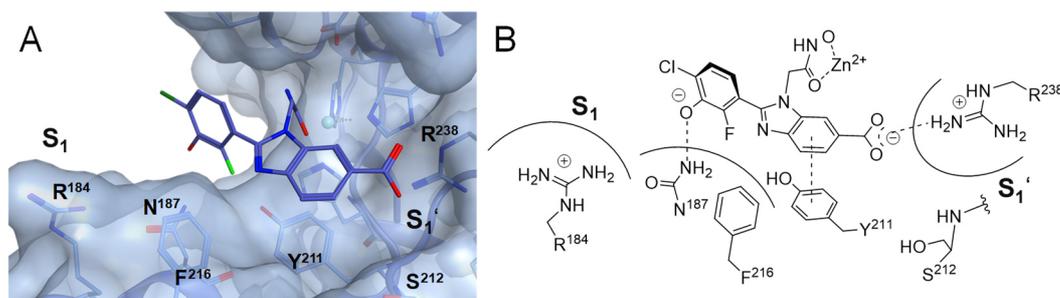


Abbildung 34: A) Dockinglösung des substituierten 2-Phenylbenzimidazols **144c** (1/20) in Meprin β; B) schematische 2D-Darstellung des möglichen Bindungsmodus von **144c** in Meprin β.

Mit der Einführung eines zweiten aciden Restes konnte die Hemmaktivität gegenüber Meprin β in Abhängigkeit der Position am Benzimidazol erhöht werden. Die fehlende Interaktion der aciden Reste mit der S₁-Bindetasche in Meprin β könnte einen Grund darstellen, warum keine Verbesserung der Selektivität von Meprin β gegenüber Meprin α erzielt wurde. Die Ausbildung anderer Wechselwirkungen könnten jedoch zu der äquipotenten Inhibierung beitragen.

5.2.6 Modulation der inhibitorischen Aktivität durch die Einführung von Substituenten am 2-Phenylindolgrundkörper

Innerhalb der anellierten heteroaromatischen Grundstrukturen war es ausgehend vom 2-Phenylindolderivat (**7c**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=82\text{ nM}$, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=1184\text{ nM}$) möglich, verschiedene Substituenten an Position 1 des Indolgrundkörpers (**149**, **151a-c**) einzuführen. Ähnlich wie bei den *N*-substituierten Diphenylpyrazolderivaten wurde die Einführung eines Benzylsubstituenten (**151a**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=2\text{ nM}$, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=3487\text{ nM}$) für die Hemmung von Meprin α bevorzugt. Die Aktivitätssteigerung war mit Faktor 40 deutlich höher im Vergleich zu den Pyrazolderivaten, wodurch die Meprin α-Selektivität positiv beeinflusst wurde. Die Einführung eines Halogenphenols (**151c**) als acider Substituent bewirkte eine deutliche Erhöhung der Hemmaktivität gegenüber Meprin α in den picomolaren Bereich (**151c**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=0,04\text{ nM}$) und folgt dementsprechend auch dem Trend, der bei den *N*-substituierten Diphenylpyrazolderivaten beobachtet wurde. Die Dockinglösung der Verbindung **151c** in Meprin α zeigt in Analogie zu den *N*-substituierten Pyrazolderivaten eine Positionierung des Benzylrestes in Richtung S₁′-Bindetasche (Abbildung 35). Der Bindungsmodus von **151c** ist somit mit dem *N*-substituierten Pyrazolanalogon **126k** vergleichbar (Abschnitt 5.2.4). Dabei könnte hauptsächlich die ionische Wechselwirkung zwischen der aciden Funktionalität des Halophenols (**151c**) und dem Argininrest Arg²⁴² zur hohen Bindungsaffinität beitragen. Die zusätzliche Cl-π-Interaktion mit Tyr¹⁴⁹ in der

S_2' -Bindetasche und Erhöhung der Lipophile durch die Halogenatome könnte die Hemmung gegenüber Meprin α begünstigen.

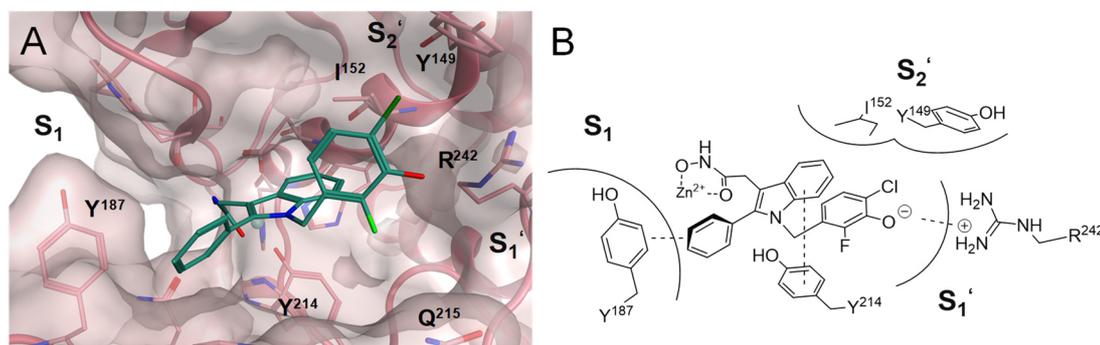


Abbildung 35: A) Dockinglösung des N-substituierten Indolderivats **151c** (6/20, Docking mit flexiblen Seitenketten Y^{187} und R^{242}) in Meprin α ; B) schematische 2D-Darstellung des möglichen Bindungsmodus von **152c** in Meprin α .

Bei Einführung eines nicht aciden Restes wie ein Benzodioxolanrest (**151b**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \alpha}=1$ nM, $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=3430$ nM) ist keine Veränderung in der Aktivität im Vergleich zum Indol mit einem unsubstituierten Benzylrest (**151a**) festzustellen, wodurch die Relevanz eines aciden Restes am Benzylsubstituenten für die Hemmung von Meprin α bekräftigt wird. Eine Erhöhung der Meprin β -Aktivität konnte auch bei Einführung des Halogenphenols (**151c**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=245$ nM) beobachtet werden. Trotz der Aktivitätssteigerung durch die Einführung des Halogenphenols am Indolgrundgerüst fällt die Meprin β -Aktivität des substituierten Indolderivats (**151c**) schlechter aus im Vergleich zum substituierten Pyrazolanalogon (**126k**: $K_i^{(app)}_{hMep\ \beta}=9$ nM). Die sterische Abwandlung der anellierten Grundkörper durch die Kondensation des Benzolrings an den Heteroaromaten könnte zu anderen Positionierungen im aktiven Zentrum von Meprin β führen, wodurch der Benzylrest eine andere Orientierung im Vergleich zu den *N*-benzylierten Pyrazolderivaten einnehmen könnte. Diese verminderte Hemmaktivität des Indolderivats **151c** gegenüber Meprin β ist jedoch mit einer sehr hohen Meprin α -Selektivität mit einem Faktor von 6000 gegenüber Meprin β verbunden.

5.3 Diskussion der Selektivität gegenüber den *off-target*-Metalloproteasen

Die verschiedenen heteroaromatischen Grundkörper waren durch eine hohe Selektivität gegenüber den verwandten Metalloproteasen gekennzeichnet. Mit der strukturellen Modifikation der heteroaromatischen Derivate konnten jedoch Veränderungen in der Inhibierung der *off-target*-Metalloproteasen bestimmt werden. So wurde bei der Evaluierung der Selektivität der 3,5-Diphenylpyrazole (Abschnitt 5.1.3.1, Tabelle 20) mit der Einführung eines Methoxyphenyl- und Benzodioxolanrestes (**100d,f**) an Position 3(5) eine erhöhte Inhibierung der MMP- und ADAM-Proteasen festgestellt. Im Gegensatz dazu wurde die Einführung eines aciden Halogenphenolrestes (**100m**) weniger von den MMPs und ADAMs toleriert, wodurch ein günstiges Selektivitätsprofil ($RA \geq 66\%$) erzielt wurde. Ein größerer Einfluss auf die *off-target*-Selektivität erfolgte durch die strukturelle Modifikation von beiden Substituenten in 3- und 5-Position des Pyrazols, wohingegen die Hemmaktivität gegenüber Meprin α und β bei der Modifikation des zweiten Substituenten am Pyrazol unverändert blieb. Die Einführung von zwei Benzodioxolanresten (**101a**: z.B. $IC_{50}(MMP2)=1,4 \mu M$) führte zu einer stärkeren Inhibierung der MMPs und ADAMs, verglichen mit dem monosubstituierten Analogon (**100f**: z.B. $IC_{50}(MMP2)=5,3 \mu M$). Dagegen wurde mit der Einführung von zwei aciden Resten (**101j**: $RA \geq 90\%$) eine Hemmung der MMPs und ADAMs verhindert, sodass eine sehr hohe Selektivität erzielt werden konnte. Die erhöhte Inhibierung der MMPs und ADAMs könnte auf die Alkoxyreste der Verbindungen (**100d,f**, und **101a**) beruhen, welche die hydrophobe S_1' -Bindetasche der MMP- und ADAM-Proteasen adressieren könnten. Viele MMP-Inhibitoren

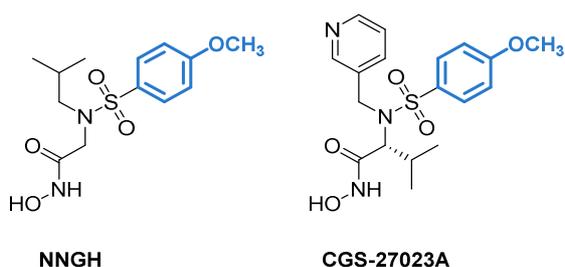


Abbildung 36: Chemische Struktur der nicht-selektiven MMP-Inhibitoren NNGH und CGS-27023A.

wie beispielsweise NNGH und CGS-27023A (Abbildung 36) besitzen ähnliche strukturelle Eigenschaften, die neben der Metallbindegruppe auch einen zur S_1' -Bindetasche gerichteten hydrophoben Substituenten aufweisen.^[59] Auch die *N*-substituierten 3,5-Diphenylpyrazolderivate (Abschnitt 5.1.3.2, Tabelle 25) zeigten mit der

Einführung von lipophilen Methoxybenzylresten (**126c-f**) eine erhöhte Inhibierung gegenüber den *off-target*-Metalloproteasen. Insbesondere für ADAM17 konnten verminderte Restaktivitäten ($RA \sim 20-30\%$) bestimmt werden. Im Gegensatz zu den MMPs weist ADAM17 eine tiefe S_3' -Bindetasche auf, die mit der S_1' -Bindetasche verbunden ist.^[143] Dieser Zugang könnte demnach Interaktionen der verschiedenen Methoxybenzylreste von **126c-f** mit der hydrophoben S_3' -Bindetasche ermöglichen. Die Einführung von polaren aciden Resten (**126i-k** und **127i,k**) führte wiederum zur Verbesserung der Selektivität und könnte Wechselwirkungen in den

hydrophoben Bindetaschen der MMPs und ADAMs ausschließen. Insbesondere die Derivate mit einem verlängerten Spacer (**127i,k**: RA \geq 90%) wiesen keine Hemmung der *off-target*-Metalloproteasen auf, was auf mögliche sterische Gründe zurückführen lässt. Trotz der verminderten Restaktivitäten der MMPs und ADAMs in Gegenwart einiger Pyrazolderivate (**100d,f**, **101a**, **126c-f**) sind die Verbindungen dennoch mit einem Faktor über 2000 selektiv gegenüber den verwandten Metalloproteasen, da die Derivate besonders gegenüber Meprin α eine hohe inhibitorische Aktivität im nanomolaren und picomolaren Bereich aufweisen. Zudem ist die Einführung von mindestens einem aciden Rest am Pyrazolkern nicht nur mit einer Selektivitätssteigerung gegenüber den MMPs und ADAMs verbunden, sondern auch mit einer Aktivitätssteigerung gegenüber einzelner Astacinproteasen. In diesem Zusammenhang konnten hochpotente pan-spezifische Astacininhibitoren (**100m**, **101j**), sowie hochpotente und selektive Meprin α -Inhibitoren (**127i**, **127k**) dargestellt werden.

6 ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

Proteasen der Astacinfamilie rücken zunehmend in den Fokus der Arzneimittelforschung. Insbesondere die Inhibierung von Meprin α und Meprin β sowie Ovastacin bietet neue Behandlungsmöglichkeiten für zahlreiche Erkrankungen wie Fibrose, akutes Nierenversagen, Krebs oder Unfruchtbarkeit. Ausgehend von den ersten potenten Meprininhibitoren auf der Basis eines tertiären Amins war es Ziel dieser Arbeit, neuartige Inhibitoren darzustellen, die in ihrer Bindungsaffinität und Selektivität weiter optimiert werden. Für Ovastacin war mit Ausnahme des endogenen Inhibitors Fetuin-B bislang kein weiterer Inhibitor bekannt. Aufgrund der gemeinsamen strukturellen Eigenschaften im aktiven Zentrum von Ovastacin im Vergleich zu Meprin α und β erfolgte im Rahmen dieser Arbeit erstmalig die Evaluierung von ausgewählten Verbindungen hinsichtlich der Aktivität von Ovastacin.

Die strukturelle Variation der Substituenten der tertiären Amine führte zu weiteren Inhibitoren mit einer Aktivität im nanomolaren Bereich gegenüber Meprin α und β , sowie Ovastacin. Jedoch konnten innerhalb dieser Strukturklasse keine Verbesserungen hinsichtlich der Aktivität und Selektivität erzielt werden. Für die weitere Optimierung der Leitstruktur wurden neuartige heteroaromatische Grundkörper untersucht, die in ihrer Flexibilität konformativ eingeschränkt sind. Die Synthese von 13 verschiedenen heteroaromatischen Grundstrukturen mit C₁- und C₂-Spacer und deren biochemische Charakterisierung zeigte eine bemerkenswerte Steigerung der inhibitorischen Aktivität gegenüber Meprin α und β . Für ausgewählte Verbindungen wurden vergleichbare Hemmaktivitäten gegenüber Ovastacin bestimmt. Darüber hinaus überzeugten die heteroaromatischen Derivate mit einem sehr günstigen Selektivitätsprofil gegenüber den verwandten Metalloproteasen MMPs und ADAMs, sodass sich die neuartigen Grundkörper ideal als Ausgangspunkte für weitere Optimierungen eignen.

Ausgehend vom Pyrazol-, Benzimidazol- und Indolgrundkörper wurden weitere Modifikationen und Strukturvariationen durchgeführt, um die Aktivität gegenüber Meprin α und β , sowie die Selektivität innerhalb der Meprinisofomen zu modulieren (Abbildung 37). Durch die Modifikation und Variation des Phenylrestes in 3(5)-Position des Pyrazols konnte die inhibitorische Aktivität gegenüber Meprin α und β bis in den unteren picomolaren Bereich gesteigert werden. Die Untersuchung der weiteren Modifikation des zweiten Phenylrestes erfolgte durch Darstellung von symmetrisch und asymmetrisch substituierten Pyrazolderivaten. Zwar hatte die Einführung des zweiten Restes keinen Einfluss auf die Bindungsaffinität gegenüber den Meprinen, jedoch konnten Veränderungen in den *off-target*-Selektivitäten in Abhängigkeit der Substituenten festgestellt werden. Mit der Variation der Substituenten an Position 1 des

Pyrazolgrundkörpers wurde auch eine Steigerung der Hemmaktivitäten im picomolaren Bereich gegenüber Meprin α erzielt. Die Verlängerung der Spacerlänge der *N*-substituierten Pyrazolderivate von C₁ auf C₂ war mit einer Verringerung der Aktivität verbunden. Jedoch konnte bei einzelnen Verbindungen aufgrund der gleichbleibend hohen Hemmaktivität gegenüber Meprin α eine deutliche Selektivitätserhöhung gegenüber Meprin β beobachtet werden. Die Modifikation des 2-Phenylbenzimidazols zeigte eine heterogene Verteilung der Aktivität unter den verschiedenen Verbindungen und war abhängig vom Substitutionsmuster. Im Vergleich zu den Pyrazolderivaten fällt die Bindungsaffinität jedoch etwas geringer aus. Die Einführung verschiedener Substituenten an das Indolgerüst ermöglichte eine Steigerung der inhibitorischen Aktivität in den picomolaren Bereich für Meprin α . Dabei konnte ebenfalls durch die Modifikation der Substituenten eine hohe Selektivität gegenüber Meprin β erzielt werden.

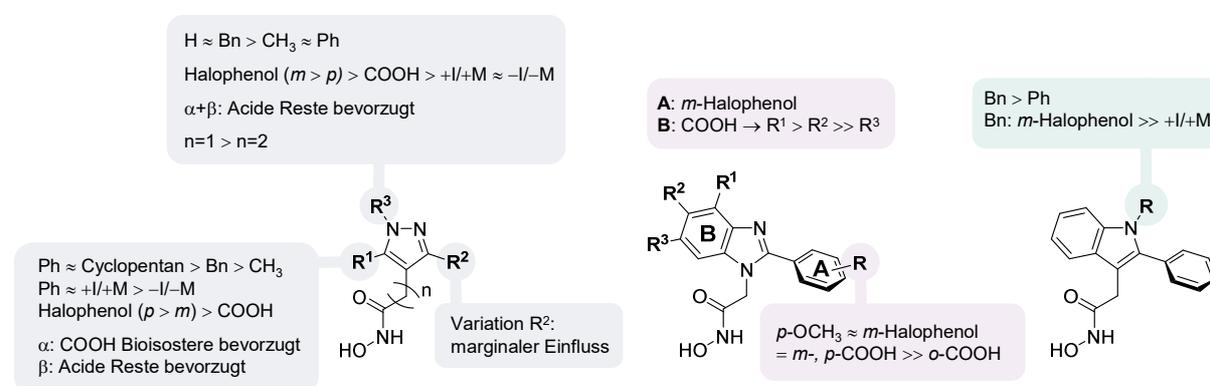


Abbildung 37: Zusammenfassung der Struktur-Wirkungsbeziehungen der heteroaromatischen Derivate hinsichtlich der Inhibition von Meprin α und β .

Infolge der weiteren Modifikation der heteroaromatischen Derivate konnten Verbindungen dargestellt werden, die Hemmaktivitäten im picomolaren Bereich aufweisen und somit bislang die potentesten bekannten Meprininhibitoren darstellen. Die Evaluierung ausgewählter Verbindungen gegenüber Ovastacin (Abbildung 38) zeigte vergleichbare und teilweise bessere Hemmaktivitäten als gegenüber Meprin β , welche ebenfalls im pico- bis nanomolaren Bereich liegen. Diese Derivate stellen somit die potentesten bekannten Ovastacininhibitoren dar. Im Rahmen dieser Arbeit konnten insgesamt 115 Verbindungen dargestellt werden. Mit der Entdeckung von neuartigen Grundkörpern und der weiteren Modifizierung resultierten Verbindungen, die sich nicht nur durch eine hohe inhibitorische Potenz, sondern auch durch eine hohe Selektivität gegenüber den *off-target*-Metalloproteasen MMPs und ADAMs auszeichnen. Es konnten zum einen potente pan-spezifische Astacininhibitoren

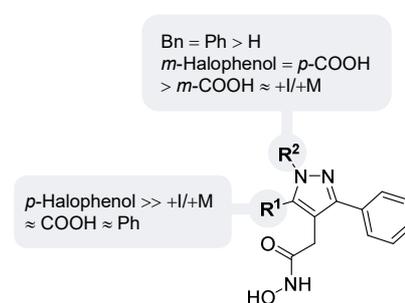


Abbildung 38: Zusammenfassung der Struktur-Wirkungsbeziehung der Pyrazol-derivate hinsichtlich der Inhibition von Ovastacin.

(z.B. **100m**), sowie hochselektive Meprin α -Inhibitoren (z.B. **127k**, **151c**) dargestellt werden (Abbildung 39).

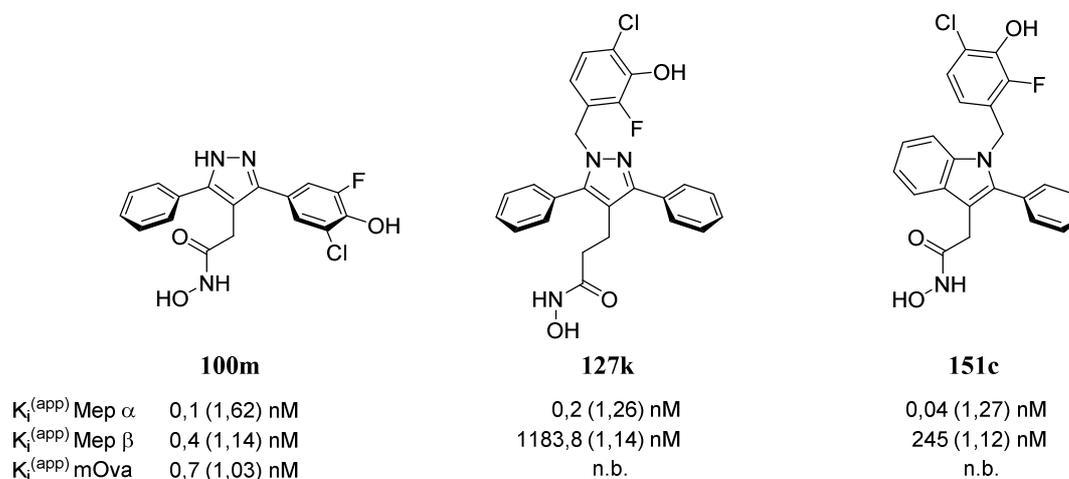


Abbildung 39: Highlightverbindungen der dargestellten Derivate mit den inhibitorischen Aktivitäten (n.b. – nicht bestimmt).

Mittels Dockinguntersuchungen wurde ein Einblick in mögliche Bindungsmodi gegeben, welche die Unterschiede der inhibitorischen Aktivitäten innerhalb der Astacine erklären könnten. Für weitere Untersuchungen könnten Kristallstrukturen von Meprin α und β , sowie Ovastacin, im Komplex mit einem Inhibitor generiert werden, um eine genauere Aussage zu potenziellen Wechselwirkungen innerhalb der Bindetasche zu treffen und weitere strukturbasierte Optimierung zu ermöglichen. Ausgehend von den dargestellten Derivaten könnten weitere strukturelle Modifikationen vom Indolgrundgerüst untersucht werden oder am Pyrazolgrundkörper alle drei Substituenten in 1-, 3- und 5-Position variiert werden, um die Struktur-Wirkungsbeziehung näher zu beleuchten.

Die bemerkenswerte hohe Selektivität der Meprin α -Inhibitoren gegenüber der anderen Isoform Meprin β und gegenüber den *off-target*-Metalloproteasen ermöglicht den Einsatz dieser Derivate als chemische Sonden für die Targetvalidierung von Meprin α . Für die Untersuchungen am Target zur Inhibierung der Meprine wurde bislang in der Regel der unselektive Breitspektrum-Metalloproteaseinhibitor Actinonin verwendet. Da besonders Meprin α mit verschiedenen Krebserkrankungen in Verbindung gebracht wird, könnten die Inhibitoren für die Validierung der Rolle von Meprin α bei der Migration von Krebszellen verwendet werden.

7 EXPERIMENTELLER TEIL

7.1 Allgemeine experimentelle Angaben

Chemikalien und Lösungsmittel

Bei den eingesetzten Reagenzien handelt es sich um kommerziell erhältliche Chemikalien der Firmen Acros Organics, Alfa Aesar, Bachem, ChemPUR, Merck, Sigma-Aldrich, Carl Roth, TCI, Th. Geyer, Activate Scientific. Die Lösungsmittel wurden in der Regel wie erworben verwendet. Bei Bedarf wurden sie nach literaturbekannten Verfahren getrocknet und vor Gebrauch destilliert. Reinstwasser vom Typ 1 für die Chromatographie wurde mittels Milli-Q Gradient System aus demineralisiertem Wasser der Firma Merck Millipore erzeugt.

Chromatographie

Dünnschichtchromatographie

Zur Kontrolle des Reaktionsverlaufes sowie der Reinheit diente die Dünnschichtchromatographie. Es wurden Kieselgelplatten aus Kieselgel 60 F254 auf Aluminiumträgerfolie mit einer Schichtdicke von 0,2 mm der Firma Macherey-Nagel und Merck verwendet. Als mobile Phasen wurden folgende Laufmittelgemische verwendet: Dichlormethan/Methanol, Heptan/Ethylacetat, Heptan/Diethylether. Die Detektion erfolgte über die Fluoreszenzlöschung bei einer Wellenlänge von 254 nm. Zudem wurden zusätzlich Tauch- und Sprühreagenzien zur Charakterisierung der Substanzflecke verwendet (gesättigte, wässrige FeCl_3 -Lösung; Phosphormolybdänsäure-Lösung).

Säulenchromatographie

Bei der Aufreinigung der Rohprodukte wurde entweder auf die manuelle oder automatisierte Säulenchromatographie zurückgegriffen. Für die manuelle Säulenchromatographie fand das Kieselgel der Firma Macherey-Nagel Verwendung. Die Säulenlänge und die Menge an Kieselgel wurden je nach Trennproblem individuell angepasst. Der Lösungsmittelgradient wurde in Abhängigkeit des jeweiligen Trennproblems variiert. Dabei wurde die Polarität der mobilen Phase langsam erhöht. Die automatisierte Flashchromatographie erfolgte über das Trennsystem puriFlash® 5.250 der Firma Interchim X Advion. Je nach Probenmenge und Trennproblem standen Trennsäulen mit 4 g, 15 g, 25 g und 40 g Kieselgel zur Auswahl. Als mobile Phase wurden Lösungsmittelgradienten aus Dichlormethan/Methanol und Heptan/Ethylacetat verwendet. Dabei wurde die Polarität der mobilen Phase durch eine kontinuierliche Zunahme des Anteils des polaren Lösungsmittels (Methanol: 0–20%, Ethylacetat: 0–100%) erhöht.

Analytische Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Als HPLC-Anlage wurde ein LaChrom-System der Firma Merck Hitachi mit folgenden Komponenten verwendet: Interface D-7000, Autosampler L-7250, Pumpe L-7100, Diode Array Detektor L-7455. Für die Umkehrphasenchromatographie (RP-HPLC) wurde eine C₁₈-Säule der Firma Phenomenex (Luna 5 µM, 125 x 4 mm) verwendet. Die Detektion erfolgte bei einer Wellenlänge von 214 nm. Zur Elution diente ein Gradient aus Acetonitril/Wasser mit 0,04% TFA bei einer Flussrate von 1 ml/min. Dabei kamen folgende Gradienten zum Einsatz:

Gradient A 0–15 min: 5–60% MeCN; 15–20 min: 60–95% MeCN; 20–30 min: 95% MeCN; 30–31 min: 95–5% MeCN; MeCN; 31–35 min: 5% MeCN

Gradient B 0–5 min: 1% MeCN; 5–20 min: 1–20% MeCN; 20–30 min: 20–95% MeCN; 30–34 min: 95% MeCN; 34–35 min: 95–5% MeCN; 35–37 min: 1% MeCN

Semi-präparative Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Die Endprodukte wurden mittels semi-präparativer HPLC der Firma Varian mit folgender Ausstattung getrennt: Fraktionssammler Varian Pro Star, Detektor Varian Pro Star, Pumpe Varian Prep Star. Eine C₁₈-Säule der Firma Phenomenex (Luna 10 µM; 250 x 21,2 mm) wurde verwendet. Die Detektion erfolgte bei einer Wellenlänge von 214 nm.

Zur Elution diente ein Gradient aus Acetonitril/Wasser mit 0,04% TFA bei einer Flussrate von 21 ml/min. Dabei kamen folgende Gradienten zum Einsatz:

Gradient C 0–3 min: 5% MeCN; 3–20 min: 5–95% MeCN; 20–22 min: 95% MeCN; 22–23 min: 95–5% MeCN; 23–24 min: 5% MeCN

Gradient D 0–5 min: 5% MeCN; 5–21 min: 5–30% MeCN; 21–25 min: 30–95% MeCN; 25–27 min: 95% MeCN; 27–28 min: 95–5% MeCN; 28–29 min: 5%

Gradient E 0–5 min: 5% MeCN; 5–21 min: 5–50% MeCN; 21–25 min: 50–95% MeCN; 25–27 min: 95% MeCN; 27–28 min: 95–5% MeCN; 28–29 min: 5%

Gradient F	0–5 min: 5% MeCN; 5–22 min: 5–60% MeCN; 21–25 min: 50–95% MeCN; 25–27 min: 95% MeCN; 27–28 min: 95–5% MeCN; 28–29 min: 5%
Gradient G	0–0,01 min: 20% MeCN; 0,01–20 min: 20–95% MeCN; 20–22 min: 95% MeCN; 22–23 min: 95–5% MeCN; 23–24 min: 5% MeCN
Gradient H	0–5 min: 1% MeCN; 5–21 min: 1–20% MeCN; 21–25 min: 20–95% MeCN; 25–27 min: 95% MeCN; 27–28 min: 95–5% MeCN

Massenspektrometrie

Die ESI- und APCI-Massenspektren wurden mit einem Expression L CMS der Firma Advion aufgenommen. Die Aufnahme der hochauflösenden Massenspektren erfolgte durch Dr. Christian Ihling (Universität Halle) mit Hilfe von einem LTQ-Orbitrap XL Massenspektrometer der Firma Thermo Fisher Scientific. Als Ionisationsquelle diente ein nano-Elektrospray (Proxeon). Die Auflösung war $R = 100000$ bei m/z 400.

¹H-NMR-Spektroskopie

Die ¹H-NMR-Spektren wurden von Mitarbeitern der Abteilung Natur- und Wirkstoffchemie des Leibniz-Instituts in Halle mit dem NMR-Spektrometer DD2 400 der Firma Agilent Technologies und von der Arbeitsgruppe Bordusa (Universität Halle) mit einem Bruker Avance III-System aufgenommen. Die Messfrequenz beträgt ca. 400 MHz bzw. 700 MHz. Als Lösungsmittel wurden DMSO-d₆, MeCN-d₃ und CD₃OD verwendet, die zeitgleich auch als interner Standard dienen. Die Signallage wird als chemische Verschiebung δ in ppm angegeben, die Kopplungskonstanten nJ über n Bindungen in Hz. Folgende Abkürzungen sind für die Multiplizitäten geltend: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplet), m (Multiplett), br s (breites Signal), dd (Dublett vom Dublett). Die Auswertung der Spektren erfolgte mit der Software MestReNova (Version v14.1.0) und TopSpin 4.0.6.

Mikrowellenchemie

Die Reaktionen mit Mikrowellen wurden mit der Mikrowelle Initiator⁺ der Firma Biotage durchgeführt.

7.2 Synthese der Verbindungen

7.2.1 Synthese der tertiären Amine

Darstellung der tertiären Amine 3a-e und 4a-h entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 1

Allgemeine Arbeitsvorschrift 1: *Darstellung Hydroxamsäurederivate nach Abspaltung der Tritylschutzgruppe*

Methode A: TFA/DCM

Das jeweilige tritylgeschützte Hydroxamsäurederivat (1 Äq.) wird in einem Gemisch aus TFA/DCM (1:1 v/v; 5 ml) gelöst, mit Triisopropylsilan (1,5 Äq.) versetzt und bei RT für 3 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wird unter Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wird mit Wasser/MeCN aufgenommen, filtriert und über semi-präparative HPLC gereinigt (Gradient D, E und H).

Methode B: BBr₃ in DCM

Das jeweilige tritylgeschützte Hydroxamsäurederivat (1 Äq.) in DCM (5 ml) gelöst. Unter Eiskühlung und Argonatmosphäre wird zum Reaktionsgemisch BBr₃ (1 M in DCM; 4-6 Äq.) zugetropft. Anschließend wird das Reaktionsgemisch langsam auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Unter Eiskühlung wird das Reaktionsgemisch mit Wasser versetzt und das Lösungsmittel im Vakuum abrotiert. Die restliche wässrige Phase wird lyophilisiert. Das Lyophilisat wird mit Wasser/MeCN aufgenommen, filtriert und über semi-präparative HPLC gereinigt (Gradient D und E).

Darstellung der Zwischenprodukte

Allgemeine Arbeitsvorschrift 2: *Darstellung der Tritylaminohydroxamsäure*

Die entsprechende Fmoc-geschützte Aminosäure (10 mmol; 1 Äq.) wird in DMF (40 ml) gelöst. Anschließend werden O-Tritylhydroxylamin (2753 mg; 10 mmol; 1 Äq.), TBTU (3210 mg; 10 mmol; 1 Äq.) und DIPEA (3,5 ml; 20 mmol, 2 Äq.) zugegeben und bei RT für 3 h gerührt. Unter Eiskühlung wird Wasser zur Reaktion zugegeben und der entstandene weiße Niederschlag wird abgesaugt. Dieser Rückstand wird in THF (60 ml) gelöst und nach Zugabe von DBU (2,24 ml; 15 mmol; 1,5 Äq.) für 30 min bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wird im Vakuum bis zur Trockne eingeeengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Chloroform/Methanol) gereinigt.

2-Amino-*N*-(trityloxy)acetamid (10)

Die Verbindung wird ausgehend von Fmoc-Gly-OH (**8**; 2973 mg) dargestellt. Ausbeute: 1699 mg (51%); ESI-MS: m/z 243,1 Trityl-Fragment, 333,2 $[M+H]^+$; HPLC (Gradient A): rt 12,56 min (>99%).

3-Amino-*N*-(trityloxy)propanamid (11)

Die Verbindung wird ausgehend von Fmoc-Ala- β -OH (**9**, 3113 mg) dargestellt. Ausbeute: 1467 mg (42%); ESI-MS m/z : 243,0 Trityl-Fragment, 347,1 $[M+H]^+$; HPLC (Gradient A): rt 12,56 min (>99%).

Allgemeine Arbeitsvorschrift 3: Darstellung der tritylgeschützten sekundären Amine 13a-c und 14a-d über reduktive Aminierung

Die entsprechende Tritylaminohydroxamsäure (**10** bzw. **11**; 1 Äq.) wird in MeOH (trocken) gelöst, mit dem jeweiligen Aldehyd (**12a-e**; 1,1 Äq.) versetzt und anschließend für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird vorsichtig mit NaBH₄ (1,2 Äq.) versetzt und für weitere 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird im Anschluss im Vakuum eingengt. Der eingengte Rückstand wird mit wenig Wasser aufgenommen und mit NaHCO₃-Lösung auf pH > 8 eingestellt. Die wässrige Phase wird mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird über Flash-Chromatographie (Kieselgel, Chloroform/Methanol) gereinigt.

Darstellung der Ausgangsstoffe**1,3-Benzodioxole-5-carbaldehyd (12b)**

Eine Lösung aus Piperonylalkohol (609 mg; 4 mmol; 1 Äq.) in DCM (20 ml) wird mit aktiviertem Mangandioxid (3478 mg; 40 mmol; 10 Äq.) versetzt und bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Anschließend wird das Gemisch über Celite filtriert und mit Ethylacetat gewaschen. Das Filtrat wird unter Vakuum bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet. Ausbeute: 539 mg (90%); ESI-MS: 150,9 $[M+H]^+$; HPLC (Gradient A): rt 11,25 min (98,5%).

***tert*-Butyl 5-formyl-1H-benzo[*d*]imidazol-1-carboxylat (12c)**

1H-Benzo[*d*]imidazol-5-carbaldehyd (365 mg; 2,5 mmol; 1 Äq.) wird in DMF (10 ml) gelöst. Das Reaktionsgemisch wird mit Natriumhydrid (60% in Öl; 120 mg; 3 mmol) versetzt und für 30 min gerührt. Anschließend wird Di-*tert*-butyl-dicarbonat (655 mg; 3 mmol; 1,2 Äq.) zugegeben und

das Gemisch wird bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Anschließend wird Wasser zugegeben und mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und unter Vakuum bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet. Ausbeute: 615 mg (99%); HPLC (Gradient A): rt 15,33 min (70,1%).

Allgemeine Arbeitsvorschrift 4: Darstellung der tritylgeschützten tertiären Amine **16a-e und **17a-h** über N-Alkylierung**

Das jeweilige tritylgeschützte sekundäre Amin (1 Äq.) oder die tritylgeschützte Aminohydroxamsäure (1 Äq.) wird in DMF gelöst. Unter Rühren werden das jeweilige Arylhalogenid (**15a-f**; 1,1-2,2 Äq.) und Triethylamin (2,5-5Äq.) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird bei 140 °C für 20 min unter Mikrowellenstrahlung erhitzt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch mit Wasser versetzt und ggf. wird zur wässrigen Phase gesättigte NaHCO₃-Lösung zur Erhöhung des pH-Werts zugegeben. Die Extraktion erfolgt mit Ethylacetat (3x25 ml). Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und filtriert. Das Filtrat wird im Vakuum bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat) gereinigt.

7.2.2 Synthese der Derivate mit heteroaromatischem Grundkörper

Darstellung der heteroaromatischen Grundkörper 5a und 5b entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 5

Allgemeine Arbeitsvorschrift 5: *Entschützung der Hydroxamsäurederivate durch Hydrierung*

Das jeweilige benzylgeschützte Hydroxamsäurederivat (1 Äq.) wird in einem Gemisch aus MeOH/THF (1:1 v/v; 10 ml) gelöst und mit Pd/C (10%; 0,05 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgefäß wird mit Wasserstoff gespült und für 4 h bei 4 bar gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch durch Celite gefiltert und das Filtrat bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird mittels semi-präparativer HPLC (Gradient C und G) gereinigt.

Darstellung der heteroaromatischen Grundkörper 5c-i, 6a, 6b, 7a-h entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6

Allgemeine Arbeitsvorschrift 6: *Darstellung der Hydroxamsäurederivate durch Aminolyse von Carbonsäureestern*

Das entsprechende Esterderivat (1 Äq.) wird in MeOH (trocken; 5 ml) gelöst und mit NaOCH₃ (5 N, 6 Äq.) sowie Hydroxylaminhydrochlorid (3 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird unter Mikrowellenstrahlung auf 80 °C für 10 min erhitzt. Nach Erkalten des Gemischs wird das Lösungsmittel im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird in wenig Wasser aufgenommen und die wässrige Phase mit Hilfe von verdünnter HCl angesäuert. Es wird mit Ethylacetat extrahiert (3x25 ml), die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingengt. Der Rückstand wird mittels semi-präparativer HPLC (Gradient C, D, E, G).

Darstellung der Zwischenprodukte und Ausgangsstoffe der monocyclischen Heteroaromaten

Synthese von 2,5-Diphenylpyrrolderivaten

Darstellung von benzylgeschützten Aminohydroxamsäurederivaten

Die jeweilige Boc-geschützte Aminosäure (5 mmol; 1 Äq.) wird in DMF (5 ml) gelöst und mit TBTU (1927 mg; 6 mmol; 1,2 Äq.) und DIPEA (1 ml; 6 mmol; 1,2 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird für einige Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend werden *O*-Benzylhydroxylamin Hydrochlorid (**21**; 798 mg; 5 mmol; 1 Äq.) und DIPEA (1,7 ml; 10 mmol; 2 Äq.) zum Gemisch zugegeben und für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wird mit Wasser gestoppt und der pH-Wert mit Hilfe gesättigter NaHCO₃-Lösung alkalisiert. Die wässrige Phase wird mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen

werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat) gereinigt. Der Rückstand wird in DCM (5 ml) gelöst und mit TFA (5 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird für 3 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wird in wenig Wasser aufgenommen. Unter Eiskühlung wird NaOH zugegeben bis eine gesättigte NaOH-Lösung entsteht und mit THF (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Aluminiumoxid, Chloroform/MeOH, 10:1 v/v) gereinigt.

2-Amino-*N*-benzyloxy-acetamid (24)

Die Verbindung wird ausgehend von Boc-Glycin (**22**; 876 mg) dargestellt. Ausbeute: 729 mg (81%); ESI-MS m/z: 203,1 [M+Na]⁺; HPLC (Gradient A): rt 5,95 min und rt 5,76 min (94,3%).

3-Amino-*N*-benzyloxy-propanamid (25)

Die Verbindung wird ausgehend von Boc-β-Alanin (**23**; 946 mg) dargestellt. Ausbeute: 955 mg (98%); ESI-MS m/z: 217,1 [M+Na]⁺; HPLC (Gradient A): rt 5,95 und rt 6,19 min (71,9%).

Darstellung von benzylgeschützten 2,5-Diphenylpyrrol-1-hydroxamsäurederivaten

Analog der Vorschrift von COLE *et al.*^[67] werden das benzylgeschützte Aminosäurehydroxamsäurederivat (**24** bzw. **25**; 1,5 mmol; 1,5 Äq.) und 1,4-Diphenyl-1,4-butandion (**19**; 238 mg; 1 mmol; 1 Äq.) in einem Gemisch aus THF/Toluol (1:1 v/v; 10 ml) gelöst. Das Reaktionsgemisch wird mit *p*-Toluolsulfonsäure (12 mg; 0,07 mmol; 0,07 Äq.) versetzt und unter Rückfluss für 48 h erhitzt. Die Lösungsmittel werden im Vakuum eingeengt, der Rückstand wird in wenig Wasser aufgenommen und mit gesättigter NaHCO₃-Lösung verdünnt. Die wässrige Phase wird mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat) gereinigt.

***N*-Benzyloxy-2-(2,5-diphenylpyrrol-1-yl)acetamid (26)**

Die Verbindung wird ausgehend von 2-Amino-*N*-benzyloxy-acetamid (**24**; 270 mg) dargestellt. Ausbeute: 90 mg (24%); APCI-MS m/z: 383,3 [M+H]⁺.

***N*-(Benzyloxy)-3-(2,5-diphenyl-1H-pyrrol-1-yl)propanamid (27)**

Die Verbindung wird ausgehend von 3-Amino-*N*-benzyloxy-propanamid (**25**; 291 mg) dargestellt. Der Rückstand wurde ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet. Ausbeute: 300 mg (50%); APCI-MS m/z: 397,5 [M+H]⁺.

Synthese von 3,5-Diphenylisoxazol-4-yl- und 3,5-Diphenylpyrazol-4-yl-derivaten*Darstellung der 1,3-Diphenyl-1,3-propandionderivate***Methyl-3-benzoyl-4-oxo-4-phenylbutanoat (31)**

1,3-Diphenyl-1,3-propandion (**28**; 1121 mg; 5 mmol; 1 Äq.) wird in DMF (10 ml) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit Natriumhydrid (60% in Öl; 240 mg; 6 mmol; 1,2 Äq.) versetzt. Nach 30 min wird Bromessigsäuremethylester (**29**; 506 µl; 5,5 mmol; 1,1 Äq.) tropfenweise zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird anschließend langsam auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wird mit Wasser gestoppt und mit Ethylacetat (3x30 ml) extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt, über Na₂SO₄ getrocknet und bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat) gereinigt. Ausbeute: 1080 mg (73%); ESI-MS m/z: 319,2 [M+Na]⁺; HPLC (Gradient A): rt 17,55 min (97,1%).

Methyl-4-benzoyl-5-oxo-5-phenylpentanoat (32)

Entsprechend der Vorschrift nach TABER *et al.*^[71] wird 1,3-Diphenyl-1,3-propandion (**28**; 673 mg; 3 mmol; 1 Äq.) in DCM (10 ml) gelöst. Unter Eiskühlung wird DBU (90 µl; 0,6 mmol; 0,2 Äq.) zugegeben und für 15 min gerührt. Methylacrylat (**30**, 544 µl; 6 mmol; 2 Äq.) in DCM (5 ml) wird langsam tropfenweise zum Reaktionsgemisch zugegeben. Das Gemisch wird langsam von 0 °C auf Raumtemperatur erwärmt und bei Raumtemperatur für 48 h gerührt. Anschließend wird die Reaktion mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gestoppt. Die organische Phase wird getrennt und die wässrige Phase mit Ethylacetat extrahiert (3x30 ml). Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat) gereinigt. Ausbeute: 323 mg (35%); ESI-MS m/z: 333,4 [M+Na]⁺; HPLC (Gradient A): rt 17,92 min (>99%).

Darstellung von 3,5-Diphenylpyrazol-4-carbonsäuremethylestern

Das entsprechende 1,3-Diphenyl-1,3-propandionderivat (1 Äq.) wird in einem Gemisch aus EtOH/THF (2:1 v/v; 15 ml) gelöst. Hydrazin Monohydrat (248 µl; 5,1 mmol; 5 Äq.) wird zugetropft und das Reaktionsgemisch wird bei Raumtemperatur gerührt. Nach der vollständigen Umsetzung des Ausgangsstoffs (4-5 h) wird das Lösungsmittel im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird in wenig Wasser aufgenommen und mit Hilfe von verdünnter HCl angesäuert. Die wässrige Phase wird mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt, über Na₂SO₄ getrocknet und bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat) gereinigt.

Methyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (33)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-benzoyl-4-oxo-4-phenylbutanoat (**31**; 302 mg; 1,02 mmol) und Hydrazin Monohydrat (248 μ l; 5,1 mmol) dargestellt. Ausbeute: 173 mg (58%); ESI-MS m/z: 293,3 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 16,39 min (>99%).

Methyl-3-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)propanoat (34)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-4-benzoyl-5-oxo-5-phenylpentanoat (**32**; 310 mg; 1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (243 μ l; 5 mmol) dargestellt. Der Rückstand wird ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet. Ausbeute: 306 mg (99%); ESI-MS m/z: 307,4 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 16,21 min (79,8%).

Darstellung von 3,5-Diphenylisoxazol-4-carbonsäuremethylestern

Entsprechend der Vorschrift nach GRIESBECK *et al.*^[72] wird das entsprechende 1,3-Diphenyl-1,3-propandionderivat (1 Äq.) in einem Gemisch aus H₂O/EtOH (3:2 v/v; 2,5 ml) gelöst. Hydroxylaminhydrochlorid (1 Äq.) wird zugegeben und das Reaktionsgemisch unter Mikrowellenstrahlung auf 110 °C für 20 min erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch in Eiswasser gegossen und anschließend mit DCM (2x25 ml) extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt, über Na₂SO₄ getrocknet und bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat) gereinigt.

Methyl-2-(3,5-diphenylisoxazol-4-yl)acetat (35)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-benzoyl-4-oxo-4-phenylbutanoat (**31**; 296 mg; 1 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (69 mg; 1 mmol) dargestellt. Ausbeute: 92 mg (31%); ESI-MS m/z: 294,1 [M+H]⁺.

Methyl-3-(3,5-diphenylisoxazol-4-yl)propanoat (36)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-4-benzoyl-5-oxo-5-phenyl-pentanoat (**32**; 323 mg; 1,04 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (72 mg; 1,04 mmol) dargestellt. Ausbeute: 49 mg (15%); ESI-MS m/z: 308,4 [M+H]⁺, 347,5 [M+K]⁺.

Synthese von 3,5-Diphenyl-1,2,4-triazolderivaten*Darstellung der N-Benzoylaminosäuremethylester*

Das jeweilige Aminosäuremethylester Hydrochlorid (2 mmol; 1 Äq.) wird in THF (10 ml) suspendiert. Das Gemisch wird mit Triethylamin (554 μ l; 4 mmol; 2 Äq.) versetzt und auf 0 °C gekühlt. Benzoylchlorid (230 μ l; 2 mmol; 1 Äq.) wird langsam tropfenweise zugegeben. Anschließend wird das Reaktionsgemisch langsam auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht

gerührt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum eingeengt, der Rückstand wird in Wasser aufgenommen und die wässrige Phase mit Ethylacetat (3x30 ml) extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt, über Na₂SO₄ getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat) gereinigt.

***N*-Benzoylglycinmethylester (38)**

Die Verbindung wird ausgehend von Glycinmethylester Hydrochlorid (**18a**; 251 mg) dargestellt. Ausbeute: 378 mg (75%); ESI-MS m/z: 105,1 [M-C₃H₆NO₂]⁺, 216,1 [M+Na]⁺; HPLC (GradientA): rt 8,88 min (>99%).

***N*-Benzoyl-β-alaninmethylester (39)**

Die Verbindung wird ausgehend von β-Alaninmethylester Hydrochlorid (**18b**; 279 mg) dargestellt. Ausbeute: 284 mg (69%); ESI-MS m/z: 105,1 [M-C₃H₆NO₂]⁺, 230,2 [M+Na]⁺; HPLC (Gradient A): rt 9,79 min (>99%).

Darstellung von 3,5-Diphenyl-1,2,4-triazol-4-carbonsäuremethylestern

Entsprechend der Vorschrift nach BECHARA *et al.*^[74] werden das jeweilige *N*-Benzoyl-Aminosäuremethylesterderivat (1 mmol; 1 Äq.) und 2-Fluorpyridin (95 µl; 1,1 mmol; 1,1 Äq.) in einem Vial in DCM (10 ml) unter Argonatmosphäre gelöst. Das Reaktionsgefäß wird dicht verschlossen und auf 0 °C gekühlt. Trifluoromethansulfonsäureanhydrid (185 µl; 1,1 mmol; 1,1 Äq.) wird langsam mit Hilfe einer Spritze zugegeben und das Gemisch wird für weitere 45 min bei 0 °C gerührt. Anschließend wird das Gemisch mit Benzhydrazid (150 mg; 1,1 mmol; 1,1 Äq.) versetzt. Nachdem das Gemisch für weitere 45 min bei Raumtemperatur gerührt wird, folgt eine Mikrowellensynthese bei 140 °C für 2 h. Nach Abkühlen wird das Reaktionsgemisch mit gesättigter NaHCO₃-Lösung versetzt und mit DCM (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Chloroform/Methanol) gereinigt.

Methyl-2-(3,5-diphenyl-4H-1,2,4-triazol-4-yl)acetat (42)

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzoylglycinmethylester (**38**; 193 mg) dargestellt. Ausbeute: 86 mg (29%); ESI-MS m/z: 294,2 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 12,56 min (89,2%).

Methyl-3-(3,5-diphenyl-4H-1,2,4-triazol-4-yl)propanoat (43)

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzoyl-β-alaninmethylester (**39**; 207 mg) dargestellt. Ausbeute: 105 mg (34%); ESI-MS m/z: 308,5 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 12,32 min (73,6%).

Synthese des 1,4-Diphenyl-1,2,3-triazolderivats

Darstellung des 1,4-Diphenyl-1,2,3-triazol-5-ethansäuremethylesters

Methyl-2-(1,4-diphenyl-1H-1,2,3-triazol-5-yl)acetat (46)

Entsprechend der Vorschrift nach CHEN *et al.*^[75] wird 4-Oxo-4-phenyl-butansäuremethylester (**44**; 192 mg; 1 mmol; 1 Äq.) wird in Toluol (5 ml) gelöst. Anschließend wird das Gemisch mit *p*-Toluenesulfonylhydrazid versetzt und für 2 h bei 80 °C gerührt. Anilin (182 µl; 2 mmol; 2 Äq.), Cu(OAc)₂ (182 mg; 1 mmol; 1 Äq.) und Pivalinsäure (204 mg; 2 mmol; 2 Äq.) werden zugegeben und das Reaktionsgemisch wird bei 100 °C über Nacht gerührt. Das Reaktionsgemisch wird im Vakuum eingengt und der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Diethylether) gereinigt. Ausbeute: 70 mg (24%); ESI-MS *m/z*: 294,2 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): *rt* 16,40 min (74,6%).

Synthese des 3,5-Diphenylimidazolderivats

Darstellung des β-Keto-γ-Aminoesterderivats

Ethyl 4-amino-3-oxo-4-phenyl-butanoathydrochlorid (49)

Entsprechend einer Vorschrift von SATOH *et al.*^[78] wird eine Suspension aus Kaliumsalz des Malonsäuremonoethylesters (**47**; 1021 mg; 6 mmol; 1,5 Äq.) und MgCl₂ (wasserfrei; 381 mg; 4 mmol; 1 Äq.) in THF (10 ml) bei 50 °C für 6 h unter Argonatmosphäre gerührt. In einem separaten Kolben wird Boc-Phenylglycin (**48**; 1005 mg; 4 mmol; 1 Äq.) in THF (5 ml) gelöst. Anschließend wird das Gemisch auf 0 °C gekühlt und unter Argon mit 1,1'-Carbonyldiimidazol (973 mg; 6 mmol; 1,5 Äq.) versetzt. Das Gemisch wird langsam von 0 °C auf Raumtemperatur erwärmt und für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Zu der Suspension wird die oben genannte Boc-Phenylglycinlösung mittels Spritze zugeben und das Reaktionsgemisch wird bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum eingengt, der Rückstand wird mit wenig Wasser aufgenommen und mit Hilfe verdünnter HCl angesäuert. Die wässrige Phase wird mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat) gereinigt. Das gereinigte Produkt wird mit 1M HCl in Ethylacetat versetzt (20 ml) und bei Raumtemperatur gerührt, bis die vollständige Umsetzung des Ausgangsstoffes mittels Dünnschichtchromatographie beobachtet werden konnte. Anschließend wird das Reaktionsgemisch bis zur Trockne eingengt und ohne weitere Reinigung weiterverwendet. Ausbeute: 750 mg (73%); APCI-MS *m/z*: 222,1 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): *rt* 7,60 min (86,4%)

*Darstellung des zyklisierten Harnstoffderivates***Ethyl 2-(3,5-diphenyl-2-thioxo-1H-imidazol-4-yl)acetat (50)**

Entsprechend der Vorschrift nach XI *et al.*^[76] wird der Rückstand (**49**; 750 mg; 2,9 mmol; 1 Äq.) in EtOH (7 ml) gelöst. Die Lösung wird mit Triethylamin (605 µl; 4,4 mmol; 1,5 Äq.) und Phenylisothiocyanat (418 µl; 3,5 mmol; 1,2 Äq.) versetzt und bei 50 °C für 4 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wird im Vakuum bis zur Trockne eingeeengt. Der eingeeengte Rückstand wird in Toluol suspendiert und mit PPTS (73 mg; 0,3 mmol; 0,1 Äq.) versetzt. Das Gemisch wird auf 120 °C erhitzt und für 4 h gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Lösungsmittel eingeeengt und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Die wässrige Phase wird mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat) gereinigt. Ausbeute: 473 mg (48%); ESI-MS m/z: 339,3 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 15,71 min (93,5%).

*Darstellung des 3,5-Diphenylimidazoethansäureethylesterderivats***Ethyl 2-(3,5-diphenylimidazol-4-yl)acetat (52)**

Das zyklisierte Harnstoffderivat (**50**; 473 mg; 1,4 mmol; 1 Äq.) wird in Eisessig (5 ml) suspendiert. H₂O₂ (30%; 170 µl; 5,6 mmol; 4 Äq.) wird tropfenweise zugegeben.^[79] Nach 5 min Rühren bei Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch unter Eiskühlung mit einer 10%igen K₂CO₃-Lösung (10 ml) gequenchet. Der pH-Wert des Gemischs wird anschließend mit Hilfe von 1 N NaOH auf 9 eingestellt. Es wird mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat) gereinigt. Ausbeute: 89 mg (42%); ESI-MS m/z: 307,2 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 11,87 min (88,0%).

Synthese von 3,5-Diphenylpyrazol-1-yl-derivaten*Darstellung der Zwischenprodukte***3,5-Diphenyl-1H-pyrazol (53)**

Die Verbindung wird ausgehend von 1,3-Diphenyl-1,3-propanedion (**28**; 449 mg; 2 mmol) und Hydrazin Monohydrat (485 µl; 10 mmol) analog der Arbeitsvorschrift zur Darstellung von 3,5-Diphenylpyrazol-4-carbonsäuremethylestern dargestellt. Ausbeute: 372 mg (84%); APCI-MS m/z: 221,1 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 17,01 min (>99%).

Allgemeine Arbeitsvorschrift 7: N-Alkylierung von stickstoffhaltigen Heteroaromaten*Methode A*

Das entsprechende stickstoffhaltige Heteroaromatderivat (1 Äq.) wird in DMF (5 ml) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit Natriumhydrid (60% in Öl; 1,2-1,5 Äq.) versetzt. Nach 30 min wird jeweilige Halogenkohlenwasserstoff (1,1 Äq.) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird anschließend langsam auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wird mit Wasser gestoppt und mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt, über Na₂SO₄ getrocknet und bis zur Trockne eingeengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat oder Chloroform/MeOH) gereinigt.

Methode B

Das entsprechende stickstoffhaltige Heteroaromatderivat (1 Äq.) wird in DMF (5 ml) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit Natriumhydrid (60% in Öl; 1,2-1,5 Äq.) versetzt. Nach 30 min wird das jeweilige Halogenkohlenwasserstoff (3,5 Äq.) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird anschließend über Nacht bei 80 °C gerührt. Die Reaktion wird mit Wasser gestoppt und mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt, über Na₂SO₄ getrocknet und bis zur Trockne eingeengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat) gereinigt.

Methyl-2-(3,5-diphenylpyrazol-1-yl)acetat (54)

Die Verbindung wird ausgehend von 3,5-Diphenyl-1H-pyrazol (**53**; 186 mg; 0,84 mmol), Natriumhydrid (41 mg; 1 mmol) und Bromessigsäuremethylester (**29**; 85 µl; 0,93 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Ausbeute: 247 mg (99%); ESI-MS m/z: 293,3 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 18,75 min (87,1%).

Allgemeine Arbeitsvorschrift 8: Aza-Michael-Addition von stickstoffhaltigen Heteroaromaten

Entsprechend der Vorschrift nach YEOM *et al.*^[80] wird das entsprechende stickstoffhaltige Heteroaromatderivat (1 Äq.) in MeCN (0,5 ml) gelöst und mit DBU (0,5 Äq.) sowie Methylacrylat (1,5 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum eingeengt und der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen. Wasser wird zugegeben und die wässrige Phase wird mit Ethylacetat extrahiert (3x25 ml). Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wird ohne weitere Reinigung weiterverwendet.

Methyl-3-(3,5-diphenylpyrazol-1-yl)propanoat (55)

Die Verbindung wird ausgehend von 3,5-Diphenyl-1H-pyrazol (**53**; 186 mg; 0,84 mmol), DBU (63 μ l; 0,42 mmol) und Methylacrylat (**30**; 115 μ l; 1,3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 8 dargestellt. Ausbeute: 259 mg (99%); ESI-MS m/z: 307,3 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 19,49 min (>99%).

*Darstellung der Zwischenprodukte und Ausgangsstoffe der anellierten Heteroaromaten*Synthese der N-substituierten 2-Phenylindolderivate*Darstellung der Zwischenprodukte***Methyl-2-(2-phenylindol-1-yl)acetat (57)**

Die Verbindung wird ausgehend von 2-Phenylindol (**56**; 193 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (24 mg; 1,2 mmol) und Bromessigsäuremethylester (**29**, 101 μ l; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Der Rückstand wird ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet. Ausbeute: 265 mg (99%); ESI-MS m/z: 266,3 [M+H]⁺.

Methyl-3-(2-phenylindol-1-yl)propanoat (58)

Die Verbindung wird ausgehend von 2-Phenylindol (**56**; 193 mg; 1 mmol), DBU (75 μ l; 0,05 mmol) und Methylacrylat (**30**, 136 μ l; 1,5 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 8 dargestellt. Der Rückstand wird ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet. Ausbeute: 188 mg (67%); ESI-MS m/z: 280,2 [M+H]⁺.

Synthese des 3-substituierten 2-Phenylindolderivats*Darstellung der Zwischenprodukte***2-(2-Phenyl-1H-indol-3-yl)ethansäure (61)**

Die Darstellung von 2-(2-Phenyl-1H-indol-3-yl)ethansäure erfolgte entsprechend des Patents von HARRIS *et al.*^[84]: 3-Benzoylpropionsäure (**59**; 178 mg; 1 mmol; 1 Äq.) wird in Eisessig (3 ml) gelöst. Anschließend wird das Gemisch mit *p*-Toluolsulfonsäure (189 mg; 1,1 mmol; 1,1 Äq.), Phenylhydrazin (**60**, 118 μ l; 1,2 mmol; 1,2 Äq.) und ZnCl₂ (136 mg; 1 mmol; 1 Äq.) versetzt und unter Mikrowellenstrahlung bei 180 °C für 40 min erhitzt. Nach Abkühlen des Gemisches wird mit Wasser verdünnt und mit Ethylacetat extrahiert (3x25 ml). Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand

wird mittel Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat) gereinigt. Ausbeute: 118 mg (47%); ESI-MS m/z: 252,2 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 15,36 min (83,2%).

Allgemeine Arbeitsvorschrift 9: Veresterung von Carbonsäurederivaten

Das entsprechende Carbonsäurederivat (1 Äq.) wird in MeOH (trocken, c=0,5 M) gelöst und unter Eiskühlung mit konz. H₂SO₄ (0,5 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird unter für 4 h Rückfluss erhitzt. Anschließend wird das Lösungsmittel im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wird in DCM aufgenommen und vorsichtig mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wird ohne weitere Reinigung weiterverwendet.

Methyl 2-(2-phenyl-1H-indol-3-yl)acetat (62)

Die Verbindung wird ausgehend von 2-(2-Phenyl-1H-indol-3-yl)ethansäure (**61**; 118 mg; 0,47 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 9 dargestellt. Ausbeute: 89 mg (71%); ESI-MS m/z: 266,1 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 18,35 min (89,6%).

Allgemeine Arbeitsvorschrift 10: Darstellung der 2-Phenylbenzimidazol-1-carbonsäuremethylester

Entsprechend der Vorschrift nach BAHRAMI *et al.*^[89] wird *o*-Phenylendiamin (1 Äq.) in Acetonitril (5 ml) gelöst. Das Gemisch wird mit dem jeweiligen Aldehydderivat (1 Äq.), H₂O₂ (30%; 4 Äq.) und Ammoniumcer(IV)-nitrat (0,1 Äq.) versetzt und unter Mikrowellenstrahlung auf 50 °C für 12 min erhitzt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird mittel Flash-Chromatographie (Kieselgel, Chloroform/MeOH und Heptan/Ethylacetat) gereinigt.

2-Phenyl-1H-benzimidazol (65)

Die Verbindung wird ausgehend von *o*-Phenylendiamin (**63**, 108 mg; 1 mmol), Benzaldehyd (**64**; 102 µl; 1 mmol), H₂O₂ (30%; 405 µl; 4 mmol), Ammoniumcer(IV)-nitrat (55 mg; 0,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 10 dargestellt. Ausbeute: 102 mg (53%); ESI-MS m/z: 195,1 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 8,40 min (94,7%).

Darstellung der 2-Phenylbenzimidazol-1-carbonsäuremethylester

Methyl-2-(2-phenylbenzimidazol-1-yl)acetat (66)

Die Verbindung wird ausgehend von 2-Phenyl-1H-benzimidazol (**65**; 102 mg; 0,53 mmol), Natriumhydrid (25 mg; 0,63 mmol) und Bromessigsäuremethylester (**29**, 53 µl; 0,58 mmol) entsprechend der Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Ausbeute: 134 mg (96%); ESI-MS m/z: 267,3 [M+H]⁺.

Methyl 3-(2-phenylbenzimidazol-1-yl)propanoat (67)

Entsprechend der Vorschrift nach GHANDI *et al.*^[90] wird 2-Phenyl-1H-benzimidazol (**65**; 93 mg; 0,48 mmol; 1 Äq.) in MeCN (2 ml) gelöst. Anschließend wird das Gemisch mit Methylacrylat (**30**, 48 µl; 0,53 mmol; 1,1 Äq.) und K₂CO₃ (66 mg; 0,48 mmol; 1 Äq.) versetzt und für 6 h unter Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum eingengt und der Rückstand wird mit wenig Ethylacetat aufgenommen. Wasser wird zum Gemisch zugegeben und anschließend wird mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird mittel Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat) gereinigt. Ausbeute: 88 mg (65,6%); ESI-MS m/z: 281,3 [M+H]⁺.

Synthese des 2-(2-Phenylimidazo[4,5-*b*]pyridin-3-yl)-derivats*Darstellung der Zwischenprodukte***Methyl-2-[(3-nitro-2-pyridyl)amino]acetat (70)**

Analog einer Synthesevorschrift nach MIKAMI *et al.*^[95] wird in einem Vial Glycinmethylester Hydrochlorid (**18a**, 126 mg; 1 mmol; 1 Äq.) in DMF (1 ml) suspendiert. Triethylamin (348 µl; 2,5 mmol; 2,5 Äq.) und 2-Chloro-3-nitropyridin (**68**; 159 mg; 1 mmol, 1 Äq.) wird zugegeben und das Reaktionsgemisch wird unter Mikrowellenstrahlung auf 120 °C für 20 min erhitzt. Anschließend wird das Gemisch mit Wasser versetzt und mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingengt. Der Rückstand wird ohne weitere Reinigung weiterverwendet. Ausbeute: 199 mg (94%); ESI-MS m/z: 212,1 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 12,45 min (86,8%).

Methyl-2-(2-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridin-3-yl)acetat (71)

Methyl-2-[(3-nitro-2-pyridyl)amino]acetat (**70**; 199 mg; 0,9 mmol; 1 Äq.) wird in einem Gemisch aus DMF/EtOH (1:1 v/v; 6 ml) gelöst. Die Lösung wird mit Benzaldehyd (**64**; 96 µl; 0,9 mmol; 1 Äq.) und Na₂S₂O₄ (492 mg; 2,8 mmol; 3 Äq.) versetzt und bei 80 °C für 22 h gerührt. Das Gemisch wird im Vakuum eingengt, der Rückstand wird in Wasser aufgenommen und mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingengt. Der Rückstand wird mittel Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat 1:1, isokratisch) gereinigt. Ausbeute: 90 mg (36%); ESI-MS m/z: 268,1 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 11,01 min (>99%).

Synthese des 2-(2-Phenylimidazo[4,5-*b*]pyridin-1-yl)-derivats

Darstellung der Zwischenprodukte

2,3-Diaminopyridin (74)

2-Amino-3-nitropyridin (696 mg; 5 mmol; 1 Äq.) wird in einem Gemisch aus EtOH/H₂O (5:2 v/v; 3,5 ml) gelöst. Eisen (838 mg; 15 mmol; 3 Äq.) und NH₄Cl (535 mg; 10 mmol; 2 Äq.) werden zugegeben und das Reaktionsgemisch wird für 3 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Gemisch über Celite gefiltert und mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Das Filtrat wird bis zur Trockne eingeengt und der verbleibende Rückstand wird ohne Reinigung weiterverwendet. Ausbeute: 530 mg (97%); ESI-MS m/z: 110,0 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 1,41 min (80,8%).

2-Phenyl-1H-imidazo[4,5-*b*]pyridine (75)

Analog der Vorschrift von KALE *et al.*^[96] wird 2,3-Diaminopyridin (**74**; 530 mg; 4,9 mmol; 1 Äq.) in H₂O (5 ml) gelöst und mit Benzaldehyd (**64**; 496 µl; 4,9 mmol; 1 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird über Nacht unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Gemisch mit gesättigter NaHCO₃-Lösung alkalisiert. Die wässrige Phase wird mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt, über Na₂SO₄ getrocknet und filtriert. Das Filtrat wird unter Vakuum eingeengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Chloroform/MeOH) gereinigt. Ausbeute: 243 mg (26%); ESI-MS m/z: 196,0 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 7,39 min (83,4%).

Methyl-2-(2-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridin-1-yl)acetat (76)

Die Verbindung wird ausgehend von 2-Phenylimidazo-1H-[4,5-*b*]pyridin (**75**; 243 mg; 1,24 mmol), Natriumhydrid (36 mg; 1,49 mmol) und Bromessigsäuremethylester (**29**, 129 µl; 1,37 mmol) entsprechend der Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Ausbeute: 185 mg (56%); APCI-MS m/z: 268,1 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 9,07 min (85,7%).

Synthese des Indazolderivats

Darstellung des Ausgangsstoffes

Azobenzol (77)

Entsprechend der Vorschrift nach CAI *et al.*^[97] werden Anilin (183 µl; 2 mmol; 1 Äq.), CuBr (17 mg; 0,12 mmol; 0,06 Äq.) und Pyridin (29 µL; 0,36 mmol; 0,18 Äq.) in Toluol gelöst. Das Reaktionsgemisch wird bei 60 °C für 20 h gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und verbleibende Rückstand mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan)

gereinigt. Ausbeute: 163 mg (45%); ESI-MS m/z: 182,9 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 20,85 min (95,7%).

Methyl-2-(2-phenylindazol-3-yl)acetat (78)

Analog der Vorschrift nach CAI *et al.*^[97] werden Azobenzol (**76**; 163 mg; 0,89 mmol; 1 Äq.), [Cp*RhCl₂]₂ (28 mg; 0,04 mmol; 0,05 Äq.) und Cu(OAc)₂ (325 mg; 1,79 mmol; 2 Äq.) in einem Kolben vorgelegt. Dieser wird mit Argon gespült und mit einem Septum dicht verschlossen. Unter Argon wird das Gemisch in DMF (5 ml) gelöst und mit Methylacrylat (**30**, 97 µl; 1,1 mmol; 1,2 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird auf 130 °C erhitzt und über Nacht gerührt. Nach dem Abkühlen wird die Reaktion mit Wasser gequench und mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingengt. Der Reinigung des Rückstands erfolgte über Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat). Ausbeute: 32 mg (13%); ESI-MS m/z: 267,1 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 15,65 min (92,3%).

7.2.3 Synthese der Pyrazolderivate mit Strukturvariationen der Substituenten

Synthese der Ausgangsstoffe

Methyl-3-acetylbenzoat (80b)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-Acetylbenzoesäure (3283 mg; 20 mmol) und konz. H₂SO₄ (536 µl; 10 mmol) entsprechend der Arbeitsvorschrift 9 dargestellt. Ausbeute: 2112 mg (59%); ESI-MS m/z: 178,9 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 13,12 min (89,0%).

Methyl-4-acetylbenzoat (80c)

Die Verbindung wird ausgehend von 4-Acetylbenzoesäure (1642 mg; 10 mmol) und konz. H₂SO₄ (267 µl; 5 mmol) entsprechend der Arbeitsvorschrift 9 dargestellt. Ausbeute: 1560 mg (88%); HPLC (Gradient A): rt 13,35 min (92,7%).

Allgemeine Arbeitsvorschrift 11: Darstellung der 3-Benzoylpropionsäureesterderivate 94a-d

Die Synthese der 3-Benzoylpropionsäureesters erfolgt nach der Vorschrift von CHEN *et al.*^[102]: Das entsprechende Acetophenonderivat (1 Äq.) wird in Toluol (trocken; c=1 M) gelöst. Die Lösung wird auf -60 °C gekühlt und unter Argonatmosphäre werden DMPU (3,6 Äq.) und LiHMDS (1 M in THF; 1,2 Äq.) mittels einer Spritze zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird für 30 min bei -60 °C gerührt, anschließend wird Bromessigsäuremethylester (1,5 Äq.) oder Bromessigsäure-*tert*-butylester (1,5 Äq.) tropfenweise zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird für weitere 10 min bei -60 °C gerührt, anschließend wird langsam auf Raumtemperatur erwärmt und für weitere 5 h gerührt. Die Lösungsmittel werden im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird mit

wenig Wasser aufgenommen und die wässrige Phase etwas mit verdünnter HCl angesäuert. Die wässrige Phase wird mit Ethylacetat extrahiert (3x25 ml). Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Diethylether oder Heptan/Ethylacetat) gereinigt.

Allgemeine Arbeitsvorschrift 12: Entschützung der 3-Benzoylpropionsäureester 95a-d

Methode A

Das entsprechende Methylesterderivat wird in einem Gemisch aus THF/H₂O (3:1 v/v; 12 ml) gelöst und mit Lithiumhydroxid Monohydrat (2 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wird eingeengt und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Die wässrige Phase wird mit Hilfe von verdünnter HCl angesäuert und anschließend mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wird ohne weitere Reinigung weiterverwendet.

Methode B

Das entsprechende *tert*-Butylesterderivat wird mit TFA/DCM (1:1 v/v; 10 ml) versetzt und bei 0 °C für 2-4 h gerührt. Das Gemisch wird im Vakuum bis zur Trockne eingeengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat) gereinigt.

Darstellung der O-Benzylhydroxamsäurederivate 96a-e entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 13

Allgemeine Arbeitsvorschrift 13: Darstellung der O-Benzylhydroxamsäurederivate über Kupplungsreaktion

Die entsprechende freie Carbonsäure (1 Äq.) wird in DMF (c=0,5 M) gelöst. Das Reaktionsgemisch wird mit TBTU (1 Äq.) und DIPEA (1 Äq.) versetzt und für einige Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend werden *O*-Benzylhydroxylamin Hydrochlorid (1 Äq.) und DIPEA (3,2-4 Äq.) zugegeben und für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wird mit Wasser gequench und mit Ethylacetat extrahiert (3x25 ml). Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat) gereinigt.

Allgemeine Arbeitsvorschrift 14: Darstellung der 3,4,5-substituierten Pyrazolderivate 98a-t und 99a-m

Die Synthese der 3,4,5-substituierten Pyrazolderivate erfolgen entsprechend einer Vorschrift von HELLER und NATARAJAN^[103]:

Methode A

Das entsprechende *N*-Benzyloxy-4-oxo-phenylbutanamidderivat (1 Äq.) erhalten aus der Arbeitsvorschrift 13 wird in Toluol (trocken; 5 ml) in einem Kolben gelöst und mit einem Septum dicht verschlossen. Das Gemisch wird auf 0 °C unter Argon gekühlt und mit LiHMDS (1 M in THF; 2,1 Äq.) versetzt. Anschließend wird das Gemisch für 5 min bei 0 °C gerührt. Das entsprechend substituierte Carbonsäurechlorid (0,5 Äq.) wird zugegeben, das Reaktionsgemisch wird langsam von 0 °C auf Raumtemperatur erwärmt. Die vollständige Umsetzung des Carbonsäurechlorids wird über Dünnschichtchromatographie beobachtet. Anschließend wird das Reaktionsgemisch mit AcOH (2 ml) versetzt. Für ein homogenes Gemisch wird mit EtOH (10 ml) und THF (5 ml) verdünnt, danach wird Hydrazin Monohydrat (34,4 Äq.) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird auf 50 °C erhitzt und die Umsetzung wird mittels Dünnschichtchromatographie beobachtet. Die Lösungsmittel werden im Vakuum eingeeengt, der Rückstand mit wenig Wasser versetzt und mit Hilfe verdünnter HCl angesäuert. Die wässrige Phase wird mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Chloroform/Methanol) gereinigt.

Methode B

Das entsprechende Carbonsäurederivat (0,5 Äq.) wird in THF (trocken; 3 ml) gelöst. Unter Argonatmosphäre wird das Gemisch mit 1,1'-Carbonyldiimidazol versetzt. Das Reaktionsgemisch wird für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. In einem separaten Kolben wird das entsprechende *N*-Benzyloxy-4-oxo-phenylbutanamidderivat (1 Äq.) erhalten aus der Arbeitsvorschrift 13 in Toluol (trocken; 5 ml) in einem Kolben gelöst und mit einem Septum dicht verschlossen. Das Gemisch wird unter Argon auf 0 °C gekühlt und mit LiHMDS (1 M in THF; 2,1 Äq.) versetzt. Anschließend wird das Gemisch für 5 min bei 0 °C gerührt. Das entsprechend aktivierte Carbonsäurederivat (0,5 Äq.) wird mittels Spritze dem Reaktionsgemisch zugeführt, anschließend wird langsam von 0 °C auf Raumtemperatur erwärmt. Die vollständige Umsetzung des Carbonsäurederivats wird über Dünnschichtchromatographie beobachtet. Anschließend wird das Reaktionsgemisch mit AcOH (2 ml) versetzt. Für ein homogenes Gemisch wird mit EtOH (10 ml) und THF (5 ml) verdünnt, danach wird Hydrazin Monohydrat (34,4 Äq.) zugegeben. Das

Reaktionsgemisch wird auf 50 °C erhitzt und die Umsetzung wird mittels Dünnschichtchromatographie beobachtet. Die Lösungsmittel werden im Vakuum eingeeengt, der Rückstand mit wenig Wasser versetzt und mit Hilfe verdünnter HCl angesäuert. Die wässrige Phase wird mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Chloroform/Methanol) gereinigt.

Darstellung der Ausgangsstoffe 97n-p

3-Benzoyloxyisoxazol-5-carbonsäure (97n)

Analog einer Vorschrift von CAROFF *et al.*^[144] werden 3-Hydroxy-5-isoxazolmethylester (286 mg; 2 mmol; 1 Äq.) und K₂CO₃ (553 mg; 4 mmol; 2 Äq.) in Aceton (6 ml) suspendiert und unter Mikrowellenstrahlung bei 100 °C für 8 min erhitzt. Nach dem Abkühlen aus Raumtemperatur wird Benzylbromid (**103**; 356 µl; 3 mmol; 1,5 Äq.) zugegeben und das Gemisch wird erneut unter Mikrowellenstrahlung bei 100 °C für 25 min erhitzt. Anschließend wird das Gemisch bei Raumtemperatur für weitere 2 h gerührt. Das Gemisch wird filtriert und das Filtrat im Vakuum bis zur Trockne eingeeengt. Der Rückstand wird in THF (3 ml) aufgenommen und wässrige 1 N NaOH (4 ml) wird zugetropft. Das Gemisch wird für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird mit verdünnter HCl versetzt bis der pH-Wert auf 3 eingestellt wird. Die wässrige Phase wird mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Chloroform/MeOH) gereinigt. Ausbeute: 290 mg (66%); ESI-MS m/z: 218,0 [M-H]⁻; HPLC (Gradient A): rt 13,60 min (>99%).

Darstellung von 1-tert-Butyl-3-(trifluoromethyl)pyrazol-4-carbonsäure 97o

Ethyl-(2Z)-2-(dimethylaminomethylen)-4,4,4-trifluoro-3-oxo-butanoat (106)

Ethyl 3-(*N,N*-dimethylamino)acrylat (283 mg; 2 mmol; 1 Äq.) wird in DCM (3 ml) gelöst und eisgekühlt. Die Lösung wird mit Triethylamin (293 µl; 2,1 mmol; 1,05 Äq.). Anschließend wird Trifluoressigsäureanhydrid (292 µl; 2,1 mmol; 1,05 Äq.) in DCM (2 ml) langsam tropfenweise zugegeben. Das Gemisch wird bei 0 °C gerührt, bis eine vollständige Umsetzung der Ausgangsstoffe mittels Dünnschichtchromatographie detektiert wird. Das Reaktionsgemisch wird mit Wasser versetzt und mit DCM (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wird ohne weitere Reinigung weiterverwendet. Ausbeute: 440 mg (88%); ESI-MS m/z: 194,1 [M-C₂H₅O]⁺, 262,2 [M+Na]⁺, HPLC (Gradient A): rt 13,36 min (>99%).

Ethyl-1-*tert*-butyl-5-(trifluoromethyl)pyrazol-4-carboxylat (107)

Ethyl-(2*Z*)-2-(dimethylaminomethylen)-4,4,4-trifluoro-3-oxo-butanoat (**106**; 440 mg; 1,8 mmol; 1 Äq.) wird in EtOH (4 ml) gelöst. Das Gemisch wird mit *tert*-Butylhydrazin Hydrochlorid (298 mg; 2,4 mmol; 1,3 Äq.) sowie DIPEA (1,1 mol; 6,4 mmol; 3,5 Äq.) versetzt und bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt, der Rückstand wird in DCM aufgenommen und mit gesättigter NH₄Cl-Lösung versetzt. Die wässrige Phase wird mit DCM (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Chloroform, isokratisch) gereinigt. Ausbeute: 320 mg (66%); HPLC (Gradient A): rt 20,03 min (>99%).

1-*tert*-Butyl-3-(trifluoromethyl)pyrazol-4-carbonsäure (97o)

Ethyl-1-*tert*-butyl-5-(trifluoromethyl)pyrazol-4-carboxylat (**107**; 110; 320 mg; 1,2 mmol) wird in EtOH (3 ml) gelöst und mit 8 N wässrige NaOH-Lösung (0,5 ml) versetzt. Anschließend wird das Gemisch für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum eingeeengt und der Rückstand wird in Ethylacetat aufgenommen. Wasser wird zugegeben und mit verdünnter HCl angesäuert. Die wässrige Phase wird mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wird ohne weitere Reinigung weiterverwendet. Ausbeute: 261 mg (91%); ESI-MS m/z: 235,1 [M-H]⁻; HPLC (Gradient A): rt 15,07 min (>99%).

*Darstellung von 3-[1(2)-[(4-Methoxyphenyl)methyl]tetrazol-5-yl]benzoesäure 97p***3-(1(2)H-Tetrazol-5-yl)benzoesäuremethylester (113)**

Analog der Vorschrift von RÜGER *et al.*^[109] wird 3-Cyanobenzoesäure (883 mg; 6 mmol; 1 Äq.) in DMF (10 ml) gelöst und mit Natriumazid (819 mg; 12,6 mmol; 2,1 Äq.) und NH₄Cl (32 mg; 0,6 mmol; 0,1 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird für 48 h bei 100 °C gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wird mit Wasser versetzt und mit Hilfe von verdünnter HCl angesäuert. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert, in EtOH aufgenommen und bis zur Trockne eingeeengt. Der Rückstand (775 mg; 4 mmol; 1 Äq.) wird ohne weitere Reinigung weiterverwendet und in MeOH (20 ml) gelöst. Unter Eiskühlung wird konz. H₂SO₄ (109 µl; 2 mmol; 0,5 Äq.) zugetropft. Das Gemisch wird für einige Minuten bei dieser Temperatur gerührt und anschließend unter Rückfluss für 4 h erhitzt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Die wässrige Phase wird mit Ethylacetat (3x30 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wird ohne weitere Reinigung weiterverwendet.

Methyl-3-[1(2)-[(4-methoxyphenyl)methyl]tetrazol-5-yl]benzoat (111)

3-(1(2)H-Tetrazol-5-yl)benzoesäuremethylester (**113**; 650 mg; 3,2 mmol; 1 Äq.) wird in MeCN (5 ml) gelöst und mit Triethylamin (532 µl; 3,8 mmol; 1,2 Äq.) versetzt. Nachdem 5 min bei Raumtemperatur gerührt wird, wird 4-Methoxybenzylchlorid (475 µl; 3,5 mmol; 1,1 Äq.) tropfenweise zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird auf 130 °C für 20 min unter Mikrowellenstrahlung erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Gemisch mit Wasser verdünnt und mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingeengt. Die Reinigung des Rückstandes und Trennung der zwei Isomere erfolgt mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat) Ausbeute: 828 mg (87%); ESI-MS m/z: 121,0 *p*-Methoxybenzyl-Fragment, 325,1 [M+H]⁺.

3-[1(2)-[(4-Methoxyphenyl)methyl]tetrazol-5-yl]benzoesäure (97p)

Methyl-3-[1(2)-[(4-methoxyphenyl)methyl]tetrazol-5-yl]benzoat (**111**; 610 mg; 1,88 mmol; 1 Äq.) wird in einem Gemisch aus THF/H₂O (3:1 v/v; 12 ml) gelöst und mit Lithiumhydroxid Monohydrat (237 mg; 5,64 mmol; 2 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wird eingeengt und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Die wässrige Phase wird mit Hilfe von verdünnter HCl angesäuert und anschließend mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wird ohne weitere Reinigung weiterverwendet. Ausbeute: 545 mg (93%); ESI-MS m/z: 121,0 *p*-Methoxybenzyl-Fragment, 349,2 [M+K]⁺; HPLC (Gradient A): rt 15,89 min (98,3%).

Darstellung der Pyrazolderivate 100a-t und 101a-m entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15

Allgemeine Arbeitsvorschrift 15: Darstellung der Pyrazolhydroxamsäurederivate*Methode A – Abspaltung der Benzyl-, Ether- und Methylesterschutzgruppe mittels BBr₃^[105,106]*

Das entsprechende benzylgeschützte Hydroxamsäurederivat wird in DCM (5 ml) in einem Kolben gelöst und mit einem Septum dicht verschlossen. Die Lösung wird unter Argonatmosphäre auf 0 °C gekühlt und mit BBr₃ (1 M in DCM, 3-19 Äq.) versetzt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch langsam von 0 °C auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Die Reaktion wird mit Wasser unter Eiskühlung gestoppt. Die wässrige Phase wird mit Ethylacetat extrahiert (3x25 ml). Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wird über semi-präparative HPLC (Gradient C-F) gereinigt.

Methode B – Hydrolyse des Esters mit Lithiumhydroxid Monohydrat

Das entsprechende Esterderivat wird in einem Gemisch aus THF/H₂O (3:1 v/v; c=0,4 M) gelöst und mit Lithiumhydroxid Monohydrat (2 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wird eingengt und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Die wässrige Phase wird mit Hilfe von verdünnter HCl angesäuert und anschließend mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und eingengt. Der Rückstand wird ohne weitere Reinigung weiterverwendet.

Methode C – Abspaltung der Benzylschutzgruppe durch katalytische Hydrierung

Das entsprechende benzylgeschützte Hydroxamsäurederivat wird in einem Gemisch aus MeOH/THF (1:1 v/v; 10 ml) gelöst und mit Pd/C (10%; 0,05 Äq.) versetzt. Das Reaktionsgefäß wird mit Wasserstoff gespült und für 4-5 h bei 4 bar gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch durch Celite gefiltert und das Filtrat bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird über semi-präparative HPLC (Gradient E) gereinigt.

7.2.4 Synthese der N-substituierten 3,5-Diphenylpyrazolderivate*Darstellung der Ausgangsstoffe**Darstellung von 3,5-Diphenylpyrazol-4-carbonsäuremethylestern (großer Ansatz) mit Hydrazin Dihydrochlorid*

Entsprechend der Vorschrift von KAMAL et al.^[113] wird das jeweilige Diphenyldiketonderivat (1 Äq.) in MeOH¹ (50 ml, trocken) gelöst. Anschließend wird Hydrazin Dihydrochlorid (1,5 Äq.) zugegeben und das Reaktionsgemisch wird über Nacht unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen des Reaktionsgemischs wird das Lösungsmittel unter Vakuum reduziert. Der Rückstand wird mit Wasser versetzt und die wässrige Phase wird mit Ethylacetat (3x35 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet.

Methyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (33)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-benzoyl-4-oxo-4-phenyl-butanoat (**31**; 2000 mg; 6,75 mmol) und Hydrazin Dihydrochlorid (1063 mg; 10,12 mmol) in MeOH dargestellt. Ausbeute: 1670 mg (85%); ESI-MS m/z: 293,0 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 15,87 min (92,1%).

¹ Reaktion wurde auch mit EtOH durchgeführt.

Ethyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (33*)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-benzoyl-4-oxo-4-phenyl-butanoat (**31**; 2120 mg; 7,15 mmol) und Hydrazin Dihydrochlorid (1127 mg; 10,73 mmol) in EtOH dargestellt. Ausbeute: 2000 mg (91,3%); ESI-MS m/z: 307,3 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 17,15 min (86,0%).

Methyl-3-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)propanoat (34)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-4-benzoyl-5-oxo-5-phenylpentanoat (**32**; 3100 mg; 9,99 mmol) und Hydrazin Dihydrochlorid (1573 mg; 14,98 mmol) dargestellt. Ausbeute: 2778 mg (91%); ESI-MS m/z: 306,8 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 16,21 min (94,0%).

*Darstellung des tritylgeschützten Diphenylpyrazolderivats***2-(3,5-Diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)-N-trityloxy-acetamid (118)**

Die Verbindung wird ausgehend von 2-(3,5-Diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)ethansäure (**117**; 1600 mg; 5,75 mmol; 1 Äq.), TBTU (1846 mg; 5,75 mmol; 1 Äq.), O-Tritylhydroxylamin (1583 mg; 5,75 mmol; 1 Äq.) und DIPEA (2 ml; 11,50 mmol; 2 Äq.) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 13 dargestellt. Ausbeute: 3000 mg (97%); ESI-MS m/z: 536,3 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 20,19 min (84,4%).

Synthese von N-substituierten Pyrazolderivaten via CHAN-LAM-Kupplung**Allgemeine Arbeitsvorschrift 16: Darstellung der N-substituierten Pyrazolderivate 120 und 122 durch Chan-Lam-Kupplung^[114]**

Das jeweilige Diphenylpyrazolderivat (1 Äq.) wird in Dichlormethan gelöst (c=0,1 M). Die entsprechende Boronsäure (2 Äq.), Triethylamin (2 Äq.), Cu(OAc)₂ (1,5 Äq.) und Molekularsieb (3 Å) werden zugegeben und das Reaktionsgemisch wird bei Raumtemperatur unter Luftsauerstoff für 72 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wird anschließend über Celite gefiltert und das Filtrat unter Vakuum bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird über Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat) gereinigt.

Synthese von N-substituierte Pyrazolderivaten via N-Alkylierung und MICHAEL-Addition

Die Darstellung der N-substituierten Pyrazolderivate **124a-n** und **125a-n** erfolgt entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 und 8.

Synthese von *N*-substituierte Pyrazolderivaten via MITSUNOBU-Reaktion

Darstellung der Ausgangsstoffe

Allgemeine Arbeitsvorschrift 17: Darstellung der Benzylalkoholderivate^[145]

Ein ausgeheiztes Reaktionsgefäß wird mehrmals evakuiert und mit Argon gespült. Das jeweilige Keton (4 mmol; 1 Äq.) wird vorgelegt und mit THF (3 ml) verdünnt. Anschließend wird unter Argonatmosphäre und bei 0 °C die jeweilige Phenylmagnesiumbromid-Lösung (1 M in THF; 6 ml; 6 mmol; 1,5 Äq.) zutropft. Das Reaktionsgemisch wird langsam von 0 °C auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Anschließend wird mit gesättigter NH₄Cl-Lösung gequenchet. Die wässrige Phase wird mit Ethylacetat (3x25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird mittels Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat) gereinigt.

1-Phenylcyclobutanol (128b)

Diese Verbindung wird ausgehend von Cyclobutanon (301 µl) und Phenylmagnesiumbromid-Lösung (1 M in THF; 6 ml) dargestellt. Ausbeute: 220 mg (37%); HPLC (Gradient A): rt 12,75 min (79,2%).

1-(3-Methoxyphenyl)cyclobutanol (128c)

Diese Verbindung wird ausgehend von Cyclobutanon (301 µl) und 3-Methoxyphenylmagnesiumbromid-Lösung (1 M in THF; 6 ml) dargestellt. Ausbeute: 260 mg (36%); HPLC (Gradient A): rt 12,93 min (95,7%).

3-Phenyloxetan-3-ol (128d)

Diese Verbindung wird ausgehend von 3-Oxetanon (256 µl) und Phenylmagnesiumchlorid-Lösung (1 M in THF; 6 ml) dargestellt. Ausbeute: 380 mg (63%); HPLC (Gradient A): rt 8,67 min (74,3%).

3-(3-Methoxyphenyl)oxetan-3-ol (128e)

Diese Verbindung wird ausgehend von 3-Oxetanon (256 µl) und 3-Methoxyphenylmagnesiumbromid-Lösung (1 M in THF; 6 ml) dargestellt. Ausbeute: 350 mg (49%); HPLC (Gradient A): rt 9,41 min (>99%).

2-(3-Methoxyphenyl)propan-2-ol (128f)

Diese Verbindung wird ausgehend von Aceton (296 µl) und 3-Methoxyphenylmagnesiumbromid-Lösung (1 M in THF; 6 ml) dargestellt. Ausbeute: 260 mg (39%); HPLC (Gradient A): rt 11,92 min (94,8%).

Allgemeine Arbeitsvorschrift 18: Darstellung von *N*-substituierten Pyrazolderivaten **129a-f** und **130** via MITSUNOBU-Reaktion

In einen Kolben werden das entsprechende Diphenylpyrazolderivat (1 Äq.), der entsprechende Alkohol (1,5 Äq.) und Triphenylphosphin (3 Äq.) vorgelegt und unter Argonatmosphäre in THF (trocken, $c=0,2$ M) gelöst. Unter Argonatmosphäre wird anschließend DIAD (3 Äq.) zum Reaktionsgemisch zugetropft und bei Raumtemperatur 12-48 h gerührt. Das Lösungsmittel wird etwas eingengt und der Rückstand wird mit Wasser versetzt. Die wässrige Phase wird 3x mit je 25 ml Ethylacetat extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt, über Na_2SO_4 getrocknet und unter Vakuum bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird mittels Flashchromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat) gereinigt.

Darstellung der Triphenylpyrazolzielverbindung 121 durch Abspaltung der Tritylschutzgruppe

Die Darstellung des Triphenylpyrazols **121** erfolgt entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 1 Methode A.

Darstellung der N-substituierten Pyrazolzielverbindungen 123, 126a-n, 127a-n, 131a-f und 132 durch Aminolyse von Carbonsäureestern

Die Darstellung der *N*-substituierten Pyrazolderivate **123, 126a-n, 127a-n, 131a-f und 132** erfolgt entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6.

7.2.5 Synthese der substituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate

Darstellung der substituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate 133a-e

Die Darstellung der substituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate **133a-e** erfolgt entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 10 nach BAHRAMI *et al.*^[89].

Darstellung der Phenylbenzimidazol-Carbonsäureester 134a-e über N-Alkylierung

Die Darstellung der substituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate **134a-e** erfolgt entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A.

Darstellung der Phenylbenzimidazol-Carbonsäureester 141a-c über reduktive Zyklisierung

Allgemeine Arbeitsvorschrift 19: Darstellung der substituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate **141a-c** durch reduktive Zyklisierung

Die Synthese der substituierten Phenylbenzimidazolderivate erfolgt entsprechend den Vorschriften von YUE und WANG^[116] und YANG *et al.*^[93]: Das jeweilige *o*-Fluornitrobenzolderivat (1 Äq.), sowie Glycin-*tert*-butylester Hydrochlorid (1 Äq.) und NaHCO_3 (2 Äq.) in einem Vial in

EtOH (3 ml) suspendiert und unter Mikrowellenstrahlung auf 120 °C für 20 min erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch in einen Kolben überführt und mit EtOH (5 ml) verdünnt. Anschließend wird das Gemisch mit dem entsprechend substituierten Aldehyd (1 Äq.) und Na₂S₂O₄ (3 Äq.) versetzt und über Nacht unter Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum eingengt, der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen und mit gesättigter NaHCO₃-Lösung verdünnt. Die wässrige Phase wird mit Ethylacetat (3x2 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird mittel Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat) gereinigt.

Darstellung der Ausgangsstoffe

Methyl-3-fluoro-2-nitro-benzoat (138a)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-Fluoro-2-nitrobenzoesäure (555 mg; 3 mmol) und konz. H₂SO₄ (80 µl; 1,5 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 9 dargestellt. Ausbeute: 435 mg (73%); HPLC (Gradient A): rt 15,52 min (>99%).

Methyl-4-fluoro-3-nitro-benzoat (138b)

Die Verbindung wird ausgehend von 4-Fluoro-3-nitrobenzoesäure (370 mg; 2 mmol) und konz. H₂SO₄ (54 µl; 1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 9 dargestellt. Ausbeute: 333 mg (84%); HPLC (Gradient A): rt 15,39 min (>99%).

Methyl-3-fluoro-4-nitro-benzoat (138c)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-Fluoro-4-nitrobenzoesäure (370 mg; 2 mmol) und konz. H₂SO₄ (54 µl; 1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 9 dargestellt. Ausbeute: 333 mg (84%); HPLC (Gradient A): rt 15,65 min (>99%).

Allgemeine Arbeitsvorschrift 20: Darstellung der 2-Phenylbenzimidazolethansäurederivate 135c-e und 142a-c durch Abspaltung der tert-Butylschutzgruppe

Das jeweilige *tert*-Butylderivat (1 Äq.) wird unter Eiskühlung mit HCl in Dioxan/MeOH (5 M; 50 Äq.) versetzt. Das Gemisch wird langsam von 0 °C auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Das Reaktionsgemisch wird im Vakuum bis zur Trockne eingengt und ohne weitere Reinigung weiterverwendet.

Darstellung der N-Benzylhydroxamsäurederivate 136c-e und 143a-c via Kupplungsreaktion

Die Darstellung der substituierten *N*-Benzylhydroxamsäurederivate **136c-e** und **143a-c** erfolgt entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 13.

Darstellung der substituierten 2-Phenylbenzimidazolzielverbindungen 137a-e und 144a-c

Die Darstellung der substituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate **137a** und **137b** erfolgt durch Aminolyse des Carbonsäureesters entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6. Die Darstellung der substituierten 2-Phenylbenzimidazolderivate **137c-e** und **144a-c** erfolgt durch die Abspaltung der Schutzgruppe mittels BBr₃ entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A.

7.2.6 Synthese der 1,3-substituierten 2-Phenylindolderivate*Darstellung des N-substituierten 2-Phenylindolmethylesterderivats 148 durch N-Arylierung***Methyl-2-(1,2-diphenylindol-3-yl)acetat (148)**

Entsprechend einer Vorschrift von ANTILLA et al.^[119] werden Methyl-2-(2-phenyl-1H-indol-3-yl)acetat (**62**; 265 mg; 1 mmol, 1 Äq.), CuI (19 mg; 0,1 mmol, 0,1 Äq.) und K₃PO₄ (431 mg; 2 mmol, 2 Äq.) in einem Kolben vorgelegt, anschließend mehrmals entgast und mit Argon gespült. Unter Argonatmosphäre werden DMEDA (22 µl; 0,2 mmol; 0,2 Äq.), Iodbenzen (167 µl; 1,5 mmol; 1,5 Äq.) und Toluol (1 ml) zugegeben und das Reaktionsgemisch wird bei 135 °C über Nacht erhitzt. Nach Abkühlen wird das Reaktionsgemisch über Celite gefiltert und mit Ethylacetat gewaschen. Das Filtrat wird unter Vakuum bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird über Flash-Chromatographie (Kieselgel, Heptan/Ethylacetat) gereinigt. Ausbeute: 118 mg (35%); ESI-MS m/z: 342,4 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 21,28 min (93,3%).

Darstellung der N-substituierte 2-Phenylindolmethylesterderivate 150a-c durch N-Alkylierung

Die Darstellung der N-substituierte 2-Phenylindolmethylesterderivate **150a-c** erfolgt durch N-Alkylierung entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A.

Darstellung der N-substituierten 2-Phenylindolzielverbindungen 149 und 151a-c

Die Darstellung der N-substituierten 2-Phenylindolzielverbindungen **149** und **151a-c** erfolgt durch Aminolyse der Carbonsäureester entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6.

7.3 Durchführung der Assays

7.3.1 Enzymaktivitätsassay

Die Bestimmung der biologischen Aktivität gegenüber Meprin α und β wurde für einen Teil der Verbindungen von Mercedes Scharfe und Christian Pfennig (Fraunhofer IZI-MWT) durchgeführt. Die biochemische Charakterisierung der Verbindungen gegenüber Ovastacin erfolgte durch Dr. Hagen Körschgen und Prof. Dr. Walter Stöcker (Universität Mainz).

Die inhibitorischen Aktivitäten der Verbindungen gegenüber Meprin α , β und Ovastacin wurden *in vitro* mit Hilfe eines Fluoreszenz-basierten Enzymassays bestimmt. Als Enzyme wurden rekombinantes humanes Meprin α und β verwendet. Für die Evaluierung der Inhibitoren wurde murines Ovastacin¹ verwendet, da die Expression und Aufreinigung von humanem Ovastacin aufgrund der ungenügenden Reinheit und geringen Aktivität ungeeignet ist. Die Assays basierten auf der Spaltung von intern gequenchten Peptidsubstraten (Tabelle 31). Die in 96-Well-Mikrotiterplatten (Polystyrol, schwarz, transparenter Boden) durchgeführte Assays umfassten pro Well ein Gesamtvolumen von 250 μl , bestehend aus 100 μl Puffer, 50 μl Enzym, 50 μl Substrat und 50 μl Inhibitor. Im Fall von 96-Well Halbfächenplatten wurde das Testvolumen auf 100 μl reduziert, sodass sich das Gesamtvolumen aus 40 μl Puffer, 20 μl Enzym, 20 μl Substrat und 20 μl Inhibitor zusammensetzt. Die enzymatische Aktivität von ADAMs wurde in 384-Well-Platten mit einem Gesamtvolumen von 50 μl pro Well, bestehend aus 30 μl Enzym in Puffer, 10 μl Substrat und 10 μl Inhibitor, bestimmt. Für die Reproduzierbarkeit wurden alle Messungen mindestens in Doppelbestimmung unabhängig voneinander an drei verschiedenen Tagen bestimmt. Die Inhibitorverdünnungen wurden ausgehend von einer 0,01 M Stammlösung des jeweiligen Inhibitors in 100% DMSO durch eine serielle Verdünnung mit DMSO hergestellt. Zu den Inhibitorverdünnungen wurde anschließend die Pufferlösung zugegeben (im Ansatz 2% DMSO). Für die IC_{50} -Bestimmungen von Meprin α und β wurden in Abhängigkeit der Potenz des Inhibitors 11 oder 14 Inhibitorkonzentrationen im Bereich von 1×10^{-4} M bis 1×10^{-10} M hergestellt. Die Enzymaktivität wurde in Gegenwart des jeweiligen Inhibitors und des Substrats untersucht. Dafür wurden die Inhibitorlösungen in Puffer, die Enzyme Meprin α bzw. Meprin β mit einer Endkonzentration im Bereich von 1×10^{-9} M bis 3×10^{-10} (abhängig von der Aktivität der jeweiligen Enzymecharge) in der Mikrotiterplatte vorgelegt und zusammen mit dem Substrat bei 30 °C für 10 min (Meprin α) bzw. 60 min (Meprin β) inkubiert. Die Messungen wurden anschließend durch

¹ Murines und humanes Ovastacin besitzen eine Sequenzidentität von ca. 68%. Werden nur die Aminosäurereste der Bindetaschen im aktiven Zentrum betrachtet, welche bei der Bindung des Inhibitors beteiligt sein könnten, besitzen murines und humanes Ovastacin eine Sequenzidentität von ca. 97%.

Zugabe des Substrats gestartet. Die initialen Reaktionsgeschwindigkeiten wurden unter Verwendung des Fluoreszenz-Plattenreaders (CLARIOstar, BMG Labtech, Auswertesoftware MARS 4.00 R2) bei einer Temperatur von 30 °C bestimmt. Die Anregungs- und Emissionswellenlängen waren für die Abz/Dnp-Substrate 340/410 nm und für das Edans/Dabcyl-Substrat 340/490 nm. Aus den kinetischen Daten wurden die IC₅₀-Werte mittels GraphPad Prism (Version 5.04) durch nichtlineare Regression ausgewertet. Die K_i^(app)-Werte wurden unter Verwendung der Morrison-Gleichung bestimmt.^[121]

Tabelle 31: Übersicht der eingesetzten Substrate, Puffer, Assayvolumina

	Substrat	[S] μM	Puffer	Assay- volumen
hMep α	Abz-YVAEAPK(Dnp)G-OH	10	40 mM TRIS pH 8.0	250 μl
	Ac-RE(Edans)-DR-Nle- VGDDPYK(Dabcyl)-NH ₂	8	50 mM HEPES 150 mM NaCl pH 7.4	100 μl
hMep β	Abz-YVADAPK(Dnp)G-OH	10	40 mM HEPES pH 7.4	250 μl
	Ac-RE(Edans)-DR-Nle- VGDDPYK(Dabcyl)-NH ₂	20	50 mM HEPES 150 mM NaCl pH 7.4	100 μl
mOva	Ac-RE(Edans)-DR-Nle- VGDDPYK(Dabcyl)-NH ₂	25	50 mM TRIS/HCl 150 mM NaCl pH 7.4	100 μl
hMMP2 (1 μg/ml) hMMP9 (2 μg/ml) hMMP13 (1 μg/ml) (R&D systems)	Mca-PLGL-(DapDnp)-AR- NH ₂	10	25 mM TRIS 2 μM ZnCl ₂ 150 mM NaCl pH 7.5	100 μl
hADAM10 (1 μg/ml) hADAM17 (0,8 μg/ml) (R&D systems)	Abz-LANAVRSSSR- (DapDnp)-NH ₂	20	25 mM TRIS 2 μM ZnCl ₂ 150 mM NaCl pH 9.0	50 μl

In den Assays von Ovastacin wurde eine Ovastacinkonzentration von 1×10^{-9} M verwendet. Die Messungen der Enzymaktivität erfolgten bei 37 °C und wurden mit der Zugabe von 25 μM Substrat gestartet. Die initialen Reaktionsgeschwindigkeiten wurden für mindestens 1000 s aufgezeichnet (50×100 ms in Intervallen von 20 s). Danach wurde 1,5 μl Proteinase K (20 mg/ml) zugegeben, um einen vollständigen Substratumsatz zu erreichen. Dieser wurde überwacht und anschließend nach folgender Formel $v = [S] \times m/\Delta F$ berechnet, wobei [S] die Substratkonzentration, m die [F/t]-Steigung des anfänglichen linearen Substratumsatzes und ΔF

die maximale Fluoreszenzintensität ist, die dem vollständigen Umsatz entspricht. Die $K_i^{(app)}$ -Werte wurden unter Verwendung der Morrison-Gleichung bestimmt.^[121] Die Bestimmung der Restaktivitäten von MMP-2, -9, -13 und ADAM10/17 erfolgte bei Inhibitorkonzentrationen von 200 μM und 10 μM . Zusätzlich wurde eine IC_{50} -Bestimmung bei einer Reihe von Verbindungen durchgeführt, wenn eine Restaktivität unter 60% bei 10 μM Inhibitorkonzentration resultierte.

7.3.2 Zellviabilitätsassay

Die Zellviabilität wurde von Stefanie Geißler (Fraunhofer IZI-MWT) bestimmt. Die Evaluierung wurde in der humanen hepatozellulären Karzinom-Zelllinie Hep-G2 und in der humanen Neuroblastom-Zelllinie SH-SY5Y durchgeführt. Nach dem Standard-Zellkulturverfahren wurden Hep-G2-Zellen in RPMI1640 (angereichert mit 10% FBS) und SH-SY5Y-Zellen in DMEM (hochglucosehaltig, pyruvathaltig; angereichert mit 10% FBS) in einer befeuchteten Atmosphäre von 37 °C und 5% CO_2 (Hep-G2) bzw. 10% CO_2 (SH-SY5Y) kultiviert. Für den Assay wurden die Zellen in 96-Well-Mikrotiterplatten in Dichten von 50000 Zellen/Well (Hep-G2) und 60000 Zellen/Well (SH-SY5Y) beschichtet. Nach 24 h wurden die in DMSO gelösten Verbindungen dem frischem Medium ohne FBS zu einer Konzentration von 30 μM (1% DMSO, v/v) zugeführt und für weitere 24 h auf die Zellen gegeben. Die Lebensfähigkeit der Zellen wurde am nächsten Tag mit dem CytoTox-ONE-Kit (Promega) basierend auf der Lebensfähigkeit in den Kontroll-Well bestimmt, die mit Kulturmedium und 1% DMSO inkubiert waren. Die Zellen wurden zweimal mit PBS gewaschen, gefolgt von einer Zellyse für 10 min (PBS+9%w/v Triton-X 100). Die Substratmischung wurde zugegeben und 10 min im Dunkeln inkubiert. Nach Beendigung der Reaktion wurde die Fluoreszenzintensität bei einer Anregungs- und Emissionswellenlänge von 544/595 nm gemessen.

7.4 Computergestützte Methoden

Für die verschiedenen Berechnungen wurde als Software Molecular Operating Environment (MOE, Version 2019.0102, Chemical Computing Group)^[146], Genetic Optimization for Ligand Docking (GOLD, Version 2020.1, CCDC Software Ltd.) und Turbomole (V7.3, 2018, TURBOMOLE GmbH) verwendet. MOE diente zur Durchführung von Flexiblen Alignments, Energieminimierung (Amber 10:EHT Kraftfeld) von Verbindungen, Vorbereitung der Proteine bzw. der Liganden für die Dockingexperimente und Visualisierung der Dockingergebnisse.

Die quantenmechanischen Berechnungen wurden durch Christian Jäger (Vivoryon Therapeutics) mit Turbomole durchgeführt. Dafür wurde als DFT-Funktional BP86 und als Basissatz def-SV(P), sowie zusätzlich die DFT-D3 (BJ)-Korrektur verwendet. Die elektrostatischen Potentiale wurden anschließend in TmoleX 4.4.1 (COSMOlogic GmbH & Co. KG) auf der Isooberfläche (Isowert=0,001) der Elektronendichte visualisiert.

Die Dockinguntersuchungen wurden mit der Software GOLD in Kombination mit dem HERMES Visualizer (Version 2020.1, CCDC Software Ltd.) durchgeführt. Für hMeprin β wurde als Protein die Proteasedomäne der Kette A der Kristallstruktur 7AQ1^[61] eingesetzt. Für hMeprin α und mOvastacin wurden die jeweiligen Homologie Modelle^[16] verwendet. Das Protein wurde in MOE durch die Addition von Wasserstoffatomen vorbereitet und als *.mol2 Datei in GOLD geladen. Die Wassermoleküle und der kokristallisierte Ligand in der Meprin β -Kristallstruktur wurden entfernt. Die Bindetasche des Proteins wurde über das Zinkatom und einem Radius von 15 Å definiert. Die Liganden wurden im Zeichenprogramm ChemDraw (Version 13.0.2.3021, CambridgeSoft) in ihrer deprotonierten Form erstellt. Anschließend wurden in MOE die 3D-Koordinaten der Liganden dargestellt und auf angemessene Bindungslängen skaliert. Die Liganden wurden als *.sdf Datei in GOLD geladen. Für jeden Liganden wurden 20 Dockingläufe durchgeführt, dabei wurde kein vorzeitiger Abbruch (*early termination*) zugelassen und die Effizienz der Suche (*search efficacy*) auf 100% festgelegt. Als Scoringfunktion wurde ChemScore gewählt. Es wurde ein Docking mit *Scaffold-Match-Constraint* durchgeführt. Die Hydroxamsäuresubstruktur des kokristallisierten Liganden in der 7AQ1-Kristallstruktur wurde als *Scaffold* festgelegt, um eine plausible Positionierung am Zinkatom beim Docking zu forcieren. Das *Scaffold Constraint* wurde für das Docking in den Homologie Modellen von hMeprin α und mOvastacin auch platziert, nachdem ein strukturelles Alignment der Homologie Modelle mit der Kristallstruktur 7AQ1 in MOE durchgeführt wurde. Die Dockingexperimente wurden hauptsächlich mit rigidem Protein durchgeführt. In einigen Fällen wurden flexible Seitenketten einzelner Aminosäuren innerhalb des aktiven Zentrums festgelegt. Die möglichen Seitenkettenkonformationen wurden durch eine Rotamerbibliothek^[147] definiert.

8 LITERATURVERZEICHNIS

- [1] López-Otín, C., Bond, J. S., *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 30433.
- [2] Sterchi, E. E., Stocker, W., Bond, J. S., *Mol. Asp. Med.* **2008**, *29*, 309–328.
- [3] Gomis-Rüth, F. X., Trillo-Muyo, S., Stöcker, W., *Biol. Chem.* **2012**, *393*, 1027–1041.
- [4] Bond, J. S., *J. Biol. Chem.* **2019**, *294*, 1643–1651.
- [5] Beynon, R. J., Shannon, J. D., Bond, J. S., *Biochem. J.* **1981**, *199*, 591–598.
- [6] Broder, C., Becker-Pauly, C., *Biochem. J.* **2013**, *450*, 253–264.
- [7] Bertenshaw, G. P., Norcum, M. T., Bond, J. S., *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 2522–2532.
- [8] Herzog, C., Haun, R. S., Ludwig, A., Shah, S. V., Kaushal, G. P., *J. Biol. Chem.* **2014**, *289*, 13308–13322.
- [9] Jefferson, T., Keller, U. auf dem, Bellac, C., Metz, V. V., Broder, C., Hedrich, J., Ohler, A., Maier, W., Magdolen, V., Sterchi, E., Bond, J. S., Jayakumar, A., Traupe, H., Chalaris, A., Rose-John, S., Pietrzik, C. U., Postina, R., Overall, C. M., Becker-Pauly, C., *Cell. Mol. Life Sci.* **2013**, *70*, 309–333.
- [10] Wichert, R., Ermund, A., Schmidt, S., Schweinlin, M., Ksiazek, M., Arnold, P., Knittler, K., Wilkens, F., Potempa, B., Rabe, B., Stirnberg, M., Lucius, R., Bartsch, J. W., Nikolaus, S., Falk-Paulsen, M., Rosenstiel, P., Metzger, M., Rose-John, S., Potempa, J., Hansson, G. C., Dempsey, P. J., Becker-Pauly, C., *Cell Rep.* **2017**, *21*, 2090–2103.
- [11] Peters, F., Scharfenberg, F., Colmorgen, C., Armbrust, F., Wichert, R., Arnold, P., Potempa, B., Potempa, J., Pietrzik, C. U., Häslér, R., Rosenstiel, P., Becker-Pauly, C., *FASEB J.* **2019**, *33*, 7490–7504.
- [12] Kaushal, G. P., Haun, R. S., Herzog, C., Shah, S. V., *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* **2013**, *304*, F1150–F1158.
- [13] Becker-Pauly, C., Barré, O., Schilling, O., dem Keller, U. auf, Ohler, A., Broder, C., Schütte, A., Kappelhoff, R., Stöcker, W., Overall, C. M., *Mol. Cell. Proteomics* **2011**, *10*, M111.009233, 1–19.
- [14] Bertenshaw, G. P., Turk, B. E., Hubbard, S. J., Matters, G. L., Bylander, J. E., Crisman, J. M., Cantley, L. C., Bond, J. S., *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 13248–13255.
- [15] Villa, J. P., Bertenshaw, G. P., Bond, J. S., *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 42545–42550.
- [16] Tan, K., Jager, C., Schlenzig, D., Schilling, S., Buchholz, M., Ramsbeck, D., *ChemMedChem* **2018**, *13*, 1619–1624.
- [17] Quesada, V., Sánchez, L. M., Alvarez, J., López-Otín, C., *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 26627–26634.

- [18] Sachdev, M., Mandal, A., Mulders, S., Digilio, L. C., Panneerdoss, S., Suryavathi, V., Pires, E., Klotz, K. L., Hermens, L., Herrero, M. B., Flickinger, C. J., van, D. M., Herr, J. C., *Dev. Biol.* **2012**, *363*, 40–51.
- [19] Pires, E. S., Hlavin, C., Macnamara, E., Ishola-Gbenla, K., Doerwaldt, C., Chamberlain, C., Klotz, K., Herr, A. K., Khole, A., Chertihin, O., Curnow, E., Feldman, S. H., Mandal, A., Shetty, J., Flickinger, C., Herr, J. C., *Dev. Dyn.* **2013**, *242*, 1405–1426.
- [20] Burkart, A. D., Xiong, B., Baibakov, B., Jiménez-Movilla, M., Dean, J., *J. Cell. Biol.* **2012**, *197*, 37–44.
- [21] Körschgen, H., Kuske, M., Karmilin, K., Yiallourous, I., Balbach, M., Floehr, J., Wachten, D., Jahnen-Dechent, W., Stöcker, W., *Mol. Hum. Reprod.* **2017**, *23*, 607–616.
- [22] a) Overall, C. M., Kleinfeld, O., *Br. J. Cancer* **2006**, *94*, 941–946; b) Roosmarijn E. Vandenbroucke, Claude Libert, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2014**, *13*, 904–927;
- [23] a) Turtle, E., Chow, N., Yang, C., Sosa, S., Bauer, U., Brenner, M., Solow-Cordero, D., Ho, W.-B., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 7397–7401; b) Turtle, E. D., Ho, W.-B., *Expert Opin. Ther. Pat.* **2004**, *14*, 1185–1197;
- [24] Schütte, A., Hedrich, J., Stöcker, W., Becker-Pauly, C., *PLOS ONE* **2010**, *5*, e8835.
- [25] Lottaz, D., Maurer, C. A., Noël, A., Blacher, S., Huguenin, M., Nievergelt, A., Niggli, V., Kern, A., Müller, S., Seibold, F., Friess, H., Becker-Pauly, C., Stöcker, W., Sterchi, E. E., *PLOS ONE* **2011**, *6*, e26450.
- [26] Minder, P., Bayha, E., Becker-Pauly, C., Sterchi, E. E., *J. Biol. Chem.* **2012**, *287*, 35201–35211.
- [27] Wang, X., Chen, J., Wang, J., Yu, F., Zhao, S., Zhang, Y., Tang, H., Peng, Z., *BMC Cancer* **2016**, *16*, 1–12.
- [28] OuYang, H.-Y., Xu, J., Luo, J., Zou, R.-H., Chen, K., Le, Y., Zhang, Y.-F., Wei, W., Guo, R.-P., Shi, M., *Hepatology* **2016**, *63*, 1227–1239.
- [29] Breig, O., Yates, M., Neaud, V., Couchy, G., Grigoletto, A., Lucchesi, C., Prox, J., Zucman-Rossi, J., Becker-Pauly, C., Rosenbaum, J., *Oncotarget* **2017**, *8*, 7839–7851.
- [30] Ge, W., Hou, C., Zhang, W., Guo, X., Gao, P., Song, X., Gao, R., Liu, Y., Guo, W., Li, B., Zhao, H., Wang, J., *J. Mol. Cell. Cardiol.* **2021**, *152*, 52–68.
- [31] Becker-Pauly, C., Pietrzik, C. U., *Front. Mol. Neurosci.* **2016**, *9*, 159.
- [32] Bien, J., Jefferson, T., Čaušević, M., Jumpertz, T., Munter, L., Multhaup, G., Weggen, S., Becker-Pauly, C., Pietrzik, C. U., *J. Biol. Chem.* **2012**, *287*, 33304–33313.

- [33] Jefferson, T., Čaušević, M., dem Keller, U. auf, Schilling, O., Isbert, S., Geyer, R., Maier, W., Tschickardt, S., Jumpertz, T., Weggen, S., Bond, J. S., Overall, C. M., Pietrzik, C. U., Becker-Pauly, C., *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 27741–27750.
- [34] Schütte, A., Ermund, A., Becker-Pauly, C., Johansson, M. E. V., Rodriguez-Pineiro, A. M., Bäckhed, F., Müller, S., Lottaz, D., Bond, J. S., Hansson, G. C., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2014**, *111*, 12396–12401.
- [35] a) Schäffler, H., Li, W., Helm, O., Krüger, S., Böger, C., Peters, F., Röcken, C., Sebens, S., Lucius, R., Becker-Pauly, C., Arnold, P., *J. Cell Sci.* **2019**, *132*; b) Gellrich, A., Scharfenberg, F., Peters, F., Sammel, M., Helm, O., Armbrust, F., Schmidt, F., Lokau, J., Garbers, C., Sebens, S., Arnold, P., Becker-Pauly, C., *Front. Mol. Biosci.* **2021**, *8*, 702341;
- [36] Peters, F., Becker-Pauly, C., *Cancer Metastasis Rev.* **2019**, *38*, 347–356.
- [37] Broder, C., Arnold, P., Vadon-Le Goff, S., Konerding, M. A., Bahr, K., Muller, S., Overall, C. M., Bond, J. S., Koudelka, T., Tholey, A., Hulmes, D. J. S., Moali, C., Becker-Pauly, C., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2013**, *110*, 14219–14224.
- [38] Prox, J., Arnold, P., Becker-Pauly, C., *Matrix Biol.* **2015**, *44-46*, 7–13.
- [39] Kronenberg, D., Bruns, B. C., Moali, C., Vadon-Le Goff, S., Sterchi, E. E., Traupe, H., Böhm, M., Hulmes, D. J. S., Stöcker, W., Becker-Pauly, C., *J. Investig. Dermatol.* **2010**, *130*, 2727–2735.
- [40] Arnold, P., Otte, A., Becker-Pauly, C., *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.* **2017**, *1864*, 2096–2104.
- [41] Biasin, V., Wygrecka, M., Marsh, L. M., Becker-Pauly, C., Brcic, L., Ghanim, B., Klepetko, W., Olschewski, A., Kwapiszewska, G., *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 39969.
- [42] Herzog, C., Haun, R. S., Kaushal, G. P., *Cytokine* **2019**, *114*, 18–25.
- [43] Banerjee, S., Jin, G., Bradley, S. G., Matters, G. L., Gailey, R. D., Crisman, J. M., Bond, J. S., *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **2011**, *300*, G273-G282.
- [44] Banerjee, S., Oneda, B., Yap, L. M., Jewell, D. P., Matters, G. L., Fitzpatrick, L. R., Seibold, F., Sterchi, E. E., Ahmad, T., Lottaz, D., Bond, J. S., *Mucosal Immunol.* **2009**, *2*, 220–231.
- [45] Stöcker, W., Karmilin, K., Hildebrand, A., Westphal, H., Yiallourous, I., Weiskirchen, R., Dietzel, E., Floehr, J., Jahnen-Dechent, W., *Biol. Chem.* **2014**, *395*, 1195–1199.
- [46] Karmilin, K., Schmitz, C., Kuske, M., Körschgen, H., Olf, M., Meyer, K., Hildebrand, A., Felten, M., Fridrich, S., Yiallourous, I., Becker-Pauly, C., Weiskirchen, R., Jahnen-Dechent, W., Floehr, J., Stöcker, W., *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 546.

- [47] Cuppari, A., Körschgen, H., Fahrenkamp, D., Schmitz, C., Guevara, T., Karmilin, K., Kuske, M., Olf, M., Dietzel, E., Yiallourous, I., Sanctis, D. de, Goulas, T., Weiskirchen, R., Jahnen-Dechent, W., Floehr, J., Stoecker, W., Jovine, L., Gomis-Rüth, F. X., *IUCrJ* **2019**, *6*, 317–330.
- [48] Dietzel, E., Floehr, J., van de Leur, E., Weiskirchen, R., Jahnen-Dechent, W., *Mol. Hum. Reprod.* **2017**, *23*, 25–33.
- [49] Schiewe, M. C., Araujo, E., Asch, R. H., Balmaceda, J. P., *J. Assist. Reprod. Genet.* **1995**, *12*, 2–7.
- [50] Pires, E. S., D'Souza, R. S., Needham, M. A., Herr, A. K., Jazaeri, A. A., Li, H., Stoler, M. H., Anderson-Knapp, K. L., Thomas, T., Mandal, A., Gougeon, A., Flickinger, C. J., Bruns, D. E., Pollok, B. A., Herr, J. C., *Oncotarget* **2015**, *6*, 30194–30211.
- [51] Knapp, K. A., Pires, E. S., Adair, S. J., Mandal, A., Mills, A. M., Olson, W. C., Slingluff, C. L., Parsons, J. T., Bauer, T. W., Bullock, T. N., Herr, J. C., *Oncotarget* **2018**, *9*, 8972–8984.
- [52] Yang, H. X., Yang, Y., Li, X. D., Miao, X. M., Yang, C., Zhi, D. F., Su, H., Yang, G., Gao, J., Du, C. G., Li, H. J., Song, Y. L., Cao, G. F., *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* **2021**, *25*, 1410–1424.
- [53] Hedrich, J., Lottaz, D., Meyer, K., Yiallourous, I., Jahnen-Dechent, W., Stöcker, W., Becker-Pauly, C., *Biochemistry* **2010**, *49*, 8599–8607.
- [54] Dietzel, E., Wessling, J., Floehr, J., Schäfer, C., Ensslen, S., Denecke, B., Rösing, B., Neulen, J., Veitinger, T., Spehr, M., Tropartz, T., Tolba, R., Renné, T., Egert, A., Schorle, H., Gottenbusch, Y., Hildebrand, A., Yiallourous, I., Stöcker, W., Weiskirchen, R., Jahnen-Dechent, W., *Dev. Cell* **2013**, *25*, 106–112.
- [55] Kruse, M.-N., Becker, C., Lottaz, D., Köhler, D., Yiallourous, I., Krell, H.-W., Sterchi, E. E., Stöcker, W., *Biochem. J.* **2004**, *378*, 383–389.
- [56] Madoux, F., Tredup Claudia, Spicer, T. P., Scampavia, L., Chase, P. S., Hodder, P. S., Fields, G. B., Becker-Pauly, C., Minond, D., *Biopolymers* **2014**, *102*, 396–406.
- [57] Ramsbeck, D., Hamann, A., Schlenzig, D., Schilling, S., Buchholz, M., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2017**, *27*, 2428–2431.
- [58] Ramsbeck, D., Hamann, A., Richter, G., Schlenzig, D., Geissler, S., Nykiel, V., Cynis, H., Schilling, S., Buchholz, M., *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 4578–4592.
- [59] Jain, P., Saravanan, C., Singh, S. K., *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *60*, 89–100.
- [60] Stöcker, W., Grams, F., Baumann, U., Reinemer, P., Gomis-Rüth, F. X., McKay, D. B., Bode, W., *Protein Sci.* **1995**, *4*, 823–840.

- [61] Linnert, M., Fritz, C., Jäger, C., Schlenzig, D., Ramsbeck, D., Kleinschmidt, M., Wermann, M., Demuth, H.-U., Parthier, C., Schilling, S., *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 5651.
- [62] Klebe, G., *Wirkstoffdesign. Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen*, 2nd ed., Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **2009**.
- [63] Patrick, G. L., *An Introduction to Medicinal Chemistry*, 6th ed., Oxford University Press, Oxford, **2017**.
- [64] Swinney, D. C., Keserü, G. M. (Eds.) *Thermodynamics and Kinetics of Drug Binding*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, **2015**.
- [65] a) Fang, Z., Song, Y.'n., Zhan, P., Zhang, Q., Liu, X., *Future Med. Chem.* **2014**, *6*, 885–901; b) Pinheiro, Pedro de Sena M., Rodrigues, D. A., Maia, R. d. C., Thota, S., Fraga, C. A.M., *Curr. Top. Med. Chem.* **2019**, *19*, 1712–1733;
- [66] Paal, C., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1885**, *18*, 367–371.
- [67] Cole, D. C., Manas, E. S., Stock, J. R., Condon, J. S., Jennings, L. D., Aulabaugh, A., Chopra, R., Cowling, R., Ellingboe, J. W., Fan, K. Y., Harrison, B. L., Hu, Y., Jacobsen, S., Jin, G., Lin, L., Lovering, F. E., Malamas, M. S., Stahl, M. L., Strand, J., Sukhdeo, M. N., Svenson, K., Turner, M. J., Wagner, E., Wu, J., Zhou, P., Bard, J., *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 6158–6161.
- [68] Ryzhkov, I. O., Andreev, I. A., Belov, G. M., Kurkin, A. V., Yurovskaya, M. A., *Chem. Heterocycl. Compd.* **2011**, *47*, 182–193.
- [69] Knorr, L., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1883**, *16*, 2597–2599.
- [70] Claisen, L., Lowman, O., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1888**, *21*, 1149–1157.
- [71] Taber, D. F., Teng, D., *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 1607–1612.
- [72] Griesbeck, A. G., Franke, M., Neudörfl, J., Kotaka, H., *Beilstein J. Org. Chem.* **2011**, *7*, 127–134.
- [73] Moulin, A., Bibian, M., Blayo, A.-L., El Habnoui, S., Martinez, J., Fehrentz, J.-A., *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 1809–1827.
- [74] Bechara, W. S., Khazhieva, I. S., Rodriguez, E., Charette, A. B., *Org. Lett.* **2015**, *17*, 1184–1187.
- [75] Chen, Z., Yan, Q., Liu, Z., Xu, Y., Zhang, Y., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 13324–13328.
- [76] Xi, N., Xu, S., Cheng, Y., Tasker, A. S., Hungate, R. W., Reider, P. J., *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 7315–7319.
- [77] Marckwald, W., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1892**, *25*, 2354–2373.

- [78] Satoh, K., Imura, A., Miyadera, A., Kanai, K., Yukimoto, Y., *Chem. Pharm. Bull.* **1998**, *46*, 587–590.
- [79] Grivas, S., Ronne, E., *Acta Chem. Scand.* **1995**, *49*, 225–229.
- [80] Yeom, C.-E., Kim, M. J., Kim, B. M., *Tetrahedron* **2007**, *63*, 904–909.
- [81] a) Fischer, E., Hess, O., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1884**, *17*, 559–568; b) Gribble, G. W., *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **2000**, 1045–1075;
- [82] Yeung, C. S., Ziegler, R. E., Porco, J. A., Jacobsen, E. N., *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 13614–13617.
- [83] Gore, S., Baskaran, S., König, B., *Org. Lett.* **2012**, *14*, 4568–4571.
- [84] Harris, K. J., Lang, H.-J., Mathew, R. M., Shimshock, S. J., Nieduzak, T. R., Jackson, S., Yang, Z., Bordeau, K. J., **2006**.
- [85] Vidaillac, C., Guillon, J., Arpin, C., Forfar-Bares, I., Ba, B. B., Grellet, J., Moreau, S., Caignard, D.-H., Jarry, C., Quentin, C., *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, *51*, 831–838.
- [86] Navarrete-Vázquez, G., Yépez, L., Hernández-Campos, A., Tapia, A., Hernández-Luis, F., Cedillo, R., González, J., Martínez-Fernández, A., Martínez-Grueiro, M., Castillo, R., *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 4615–4622.
- [87] Carvalho, L. C. R., Fernandes, E., Marques, M. M. B., *Chemistry* **2011**, *17*, 12544–12555.
- [88] Alaqeel, S. I., *J. Saudi Chem. Soc.* **2017**, *21*, 229–237.
- [89] Bahrami, K., Khodaei, M. M., Naali, F., *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 6835–6837.
- [90] Ghandi, M., Zarezadeh, N., Taheri, A., *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 1228–1232.
- [91] Krause, M., Foks, H., Gobis, K., *Molecules* **2017**, *22*, 399.
- [92] Khanna, I. K., Weier, R. M., Lentz, K. T., Swenton, L., Lankin, D. C., *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 960–965.
- [93] Yang, D., Fokas, D., Li, J., Yu, L., Baldino, C. M., *Synthesis* **2005**, *36*, 47–56.
- [94] Padmaja, R. D., Devi C., V., Mukku, N., Chanda, K., Maiti, B., *ACS Omega* **2018**, *3*, 4583–4590.
- [95] Mikami, S., Nakamura, S., Ashizawa, T., Nomura, I., Kawasaki, M., Sasaki, S., Oki, H., Kokubo, H., Hoffman, I. D., Zou, H., Uchiyama, N., Nakashima, K., Kamiguchi, N., Imada, H., Suzuki, N., Iwashita, H., Taniguchi, T., *J. Med. Chem.* **2017**, *60*, 7677–7702.
- [96] Kale, R. P., Shaikh, M. U., Jadhav, G. R., Gill, C. H., *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 1780–1782.
- [97] Cai, S., Lin, S., Yi, X., Xi, C., *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 512–520.

- [98] Zawadiak, J., Mrzyczek, M., Piotrowski, T., Jan Zawadiak, Marek Mrzyczek, Tomasz Piotrowski, *Eur. J. Chem.* **2011**, *2*, 289–294.
- [99] Srinivas, C., Haricharan Raju, C. M., Acharyulu, P. V. R., *Org. Process Res. Dev.* **2004**, *8*, 291–292.
- [100] Gooßen, L. J., Ghosh, K., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3458–3460.
- [101] Gooßen, L. J., Ghosh, K., *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, *2002*, 3254–3267.
- [102] Chen, L.-Y., Chen, J.-R., Cheng, H.-G., Lu, L.-Q., Xiao, W.-J., *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, *2014*, 4714–4719.
- [103] Heller, S. T., Natarajan, S. R., *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2675–2678.
- [104] Wapenaar, H., van der Wouden, P. E., Groves, M. R., Rotili, D., Mai, A., Dekker, F. J., *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *105*, 289–296.
- [105] Yu, C.-W., Hung, P.-Y., Yang, H.-T., Ho, Y.-H., Lai, H.-Y., Cheng, Y.-S., Chern, J.-W., *J. Med. Chem.* **2019**, *62*, 857–874.
- [106] Punna, S., Meunier, S., Finn, M. G., *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2777–2779.
- [107] Wittenberger, S. J., *Org. Prep. Proced. Int.* **1994**, *26*, 499–531.
- [108] Bosch, L., Vilarrasa, J., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 3926–3930.
- [109] Rüger, N., Fassauer, G. M., Bock, C., Emmrich, T., Bodtke, A., Link, A., *Mol. Divers.* **2017**, *21*, 9–27.
- [110] Finnegan, W. G., Henry, R. A., Lofquist, R., *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 3908–3911.
- [111] Inglis, S. R., Zervosen, A., Woon, E. C., Gerards, T., Teller, N., Fischer, D. S., Luxen, A., Schofield, C. J., *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 6097–6106.
- [112] Walter, M. W., Felici, A., Galleni, M., Soto, R. P., Adlington, R. M., Baldwin, J. E., Frère, J.-M., Gololobov, M., Schofield, C. J., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 2455–2458.
- [113] Kamal, A., Shaik, A. B., Polepalli, S., Reddy, V. S., Kumar, G. B., Gupta, S., Krishna, K. V. S. R., Nagabhushana, A., Mishra, R. K., Jain, N., *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 7993–8007.
- [114] Lam, P. Y. S., Clark, C. G., Saubern, S., Adams, J., Winters, M. P., Chan, D. M. T., Combs, A., *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2941–2944.
- [115] Swamy, K. C. K., Kumar, N. N. B., Balaraman, E., Kumar, K. V. P. P., *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 2551–2651.
- [116] Yue, W., Wang, H., *Monatsh. Chem.* **2015**, *146*, 2079–2086.
- [117] Shintre, S. A., Ramjugernath, D., Singh, P., Koorbanally, N. A., *Magn. Reson. Chem.* **2016**, *54*, 921–929.

- [118] Chen, S., Huang, H., Liu, X., Shen, J., Jiang, H., Liu, H., *J. Comb. Chem.* **2008**, *10*, 358–360.
- [119] Antilla, J. C., Klapars, A., Buchwald, S. L., *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11684–11688.
- [120] Carmona, A. K., Juliano, M. A., Juliano, L., *An. Acad. Bras. Ciênc.* **2009**, *81*, 381–392.
- [121] Morrison, J. F., *Biochim. Biophys. Acta* **1969**, *185*, 269–286.
- [122] a) Gupta, M., Sharma, R., Kumar, A., *Comput. Biol. Chem.* **2018**, *76*, 210–217; b) Halperin, I., Ma, B., Wolfson, H., Nussinov, R., *Proteins* **2002**, *47*, 409–443;
- [123] Jones, G., Willett, P., Glen, R. C., Leach, A. R., Taylor, R., *J. Mol. Biol.* **1997**, *267*, 727–748.
- [124] Whitley, D., *Stat. Comput.* **1994**, *4*, 65–85.
- [125] Eldridge, M. D., Murray, C. W., Auton, T. R., Paolini, G. V., Mee, R. P., *J. Comput. Aided Mol. Des.* **1997**, *11*, 425–445.
- [126] Korb, O., Stützle, T., Exner, T. E., *J. Chem. Inf. Model.* **2009**, *49*, 84–96.
- [127] Mooij, W. T. M., Verdonk, M. L., *Proteins* **2005**, *61*, 272–287.
- [128] Arolas, J. L., Broder, C., Jefferson, T., Guevara, T., Sterchi, E. E., Bode, W., Stocker, W., Becker-Pauly, C., Gomis-Ruth, F. X., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2012**, *109*, 16131–16136.
- [129] McGovern, S. L., Shoichet, B. K., *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 2895–2907.
- [130] a) Plewczynski, D., Łażniewski, M., Augustyniak, R., Ginalski, K., *J. Comput. Chem.* **2011**, *32*, 742–755; b) Warren, G. L., Andrews, C. W., Capelli, A.-M., Clarke, B., LaLonde, J., Lambert, M. H., Lindvall, M., Nevins, N., Semus, S. F., Senger, S., Tedesco, G., Wall, I. D., Woolven, J. M., Peishoff, C. E., Head, M. S., *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 5912–5931; c) Lexa, K. W., Carlson, H. A., *Q. Rev. Biophys.* **2012**, *45*, 301–343;
- [131] a) Coupez, B., Lewis, R. A., *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13*, 2995–3003; b) Kokh, D. B., Wade, R. C., Wenzel, W., *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* **2011**, *1*, 298–314;
- [132] a) Böhm, H.-J., Flohr, A., Stahl, M., *Drug Discov. Today* **2004**, *1*, 217–224; b) Sun, H., Tawa, G., Wallqvist, A., *Drug Discov. Today* **2012**, *17*, 310–324;
- [133] Pennington, L. D., Moustakas, D. T., *J. Med. Chem.* **2017**, *60*, 3552–3579.
- [134] Cons, B. D., Twigg, D. G., Kumar, R., Chessari, G., *J. Med. Chem.* **2022**, *65*, 7476–7488.
- [135] Grimme, S., Ehrlich, S., Goerigk, L., *J. Comput. Chem.* **2011**, *32*, 1456–1465.
- [136] Gohlke, H., Klebe, G., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2644–2676.
- [137] Ballatore, C., Huryn, D. M., Smith, A. B., *ChemMedChem* **2013**, *8*, 385–395.
- [138] Meanwell, N. A., *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 2529–2591.
- [139] Herr, R.J., *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 3379–3393.

- [140] Costantino, G., Maltoni, K., Marinozzi, M., Camaioni, E., Prezeau, L., Pin, J.-P., Pellicciari, R., *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 221–227.
- [141] Imai, Y. N., Inoue, Y., Nakanishi, I., Kitaura, K., *Protein Sci.* **2008**, *17*, 1129–1137.
- [142] Wang, C., Diez, J., Park, H., Becker-Pauly, C., Fields, G. B., Spicer, T. P., Scampavia, L. D., Minond, D., Bannister, T. D., *Pharmaceuticals* **2021**, *14*, 197.
- [143] a) Maskos, K., Fernandez-Catalan, C., Huber, R., Bourenkov, G. P., Bartunik, H., Ellestad, G. A., Reddy, P., Wolfson, M. F., Rauch, C. T., Castner, B. J., Davis, R., Clarke, H. R., Petersen, M., Fitzner, J. N., Cerretti, D. P., March, C. J., Paxton, R. J., Black, R. A., Bode, W., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1998**, *95*, 3408–3412; b) Lukacova, V., Zhang, Y., Kroll, D. M., Raha, S., Comez, D., Balaz, S., *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 2361–2370; c) Mazzola, R. D., Zhu, Z., Sinning, L., McKittrick, B., Lavey, B., Spitler, J., Kozlowski, J., Neng-Yang, S., Zhou, G., Guo, Z., Orth, P., Madison, V., Sun, J., Lundell, D., Niu, X., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 5809–5814;
- [144] Caroff, E., Hubler, F., Meyer, E., Renneberg, D., Gnerre, C., Treiber, A., Rey, M., Hess, P., Steiner, B., Hilpert, K., Riederer, M. A., *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 9133–9153.
- [145] Sun, Y., Huang, X., Li, X., Luo, F., Zhang, L., Chen, M., Zheng, S., Peng, B., *Adv. Synth. Catal.* **2018**, *360*, 1082–1087.
- [146] Chemical Computing Group ULC, Molecular Operating Environment (MOE), 1010 Sherbrooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7, **2019**.
- [147] Lovell, S. C., Word, J. M., Richardson, J. S., Richardson, D. C., *Proteins* **2000**, *40*, 389–408.

9 ANHANG

9.1 Analytische Daten der Verbindungen

9.1.1 Tertiäre Amine

2-[(4-Chloro-2-fluoro-3-hydroxy-phenyl)methyl-(4-pyridylmethyl)amino]ethanhydroxamsäure (3a)

Die Verbindung wird ausgehend von 2-[(4-Chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)methyl-(4-pyridylmethyl)amino]-*N*-trityloxy-acetamid (**16a**; 48 mg; 0,08 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 322 µl; 0,32 mmol) entsprechend der allgemeinen Abreitsvorschrift 1 Methode B dargestellt. Ausbeute: 19 mg (69%); Aussehen: hellbraunes viskoses Öl; ESI-MS *m/z*: 181,0 [M-C₇H₅ClFO*]⁺, 340,2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, MeCN-d₃): δ 3,18 (s, 2H, -CO-CH₂-N-); 3,78 (s, 2H, -N-CH₂-Ar); 4,01 (s, 2H, -N-CH₂-Ar); 6,89-6,93 (m, 1H, Ar-H); 7,10-7,12 (m, 1H, Ar-H); 7,97 (d, 2H, ³J=5,9 Hz, Pyridin: 2x CH); 8,62 (d, 2H, ³J=5,9 Hz, Pyridin: 2x CH); HRMS *m/z*: 340,0872 [M+H]⁺; berechnet für C₁₅H₁₆ClFN₃O₃⁺: 340,0859; HPLC (Gradient A): rt 7,31 min (>99%).

2-[1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl(4-pyridylmethyl)amino]ethanhydroxamsäure (3b)

Die Verbindung wird ausgehend von 2-[1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl(4-pyridylmethyl)amino]-*N*-trityloxy-acetamid (**16b**; 108 mg; 0,19 mmol) entsprechend der allgemeinen Abreitsvorschrift 1 Methode A dargestellt. Ausbeute: 15 mg (24%); Aussehen: braunes viskoses Öl; ESI-MS *m/z*: 316,0 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, MeCN-d₃): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,15 (s, 1,7H, -CO-CH₂-N-); 3,38 (s, 0,3H, -CO-CH₂-N-); 3,65-3,67 (m, 1,7H, -N-CH₂-Ar); 3,72 (s, 0,3H, -N-CH₂-Ar); 3,97 (s, 1,7H, -N-CH₂-Ar); 4,06 (s, 0,3H, -N-CH₂-Ar); 5,92-5,93 (m, 2H, -O-CH₂-O-); 6,73-6,82 (m, 2H, 2x Ar-H); 6,88-6,94 (m, 1H, Ar-H); 7,97-7,99 (m, 2H, Pyridin: 2x CH); 8,61-8,65 (m, 2H, Pyridin: 2x CH); HRMS *m/z*: 316,1307 [M+H]⁺; berechnet für C₁₆H₁₈N₃O₄⁺: 316,1292; HPLC (Gradient B): rt 19,63 min (>99%).

2-[1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl(3-pyridylmethyl)amino]ethanhydroxamsäure (3c)

Die Verbindung wird ausgehend von 2-[1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl(3-pyridylmethyl)amino]-*N*-trityloxy-acetamid (**16c**; 100 mg; 0,18 mmol) entsprechend der allgemeinen Abreitsvorschrift 1 Methode A dargestellt. Ausbeute: 17 mg (30%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS *m/z*: 315,9 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, MeCN-d₃): δ 3,20 (s, 2H, -CO-CH₂-N-); 3,75 (s, 2H, -N-CH₂-Ar); 3,97 (s, 2H, -N-CH₂-Ar); 5,94 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 6,77-6,83 (m, 3H, 3x Ar-H), 6,92 (s, 1H, CH_{Pyridin}), 7,83-7,87 (m, 1H, Pyridin: CH), 8,40-8,42 (m, 1H, Pyridin: CH); 8,64-8,65 (m, 1H,

Pyridin: CH), 8,81 (s, 1H, Pyridin: CH); HRMS m/z: 316,1304 [M+H]⁺; berechnet für C₁₆H₁₈N₃O₄⁺: 316,1292; HPLC (Gradient B): rt 18,11 min (>99%).

2-[1H-Benzimidazol-5-ylmethyl(1,3-benzodioxol-5-ylmethyl)amino]ethanhydroxamsäure (3d)

Die Verbindung wird ausgehend von *tert*-Butyl-5-[[benzo[*d*][1,3]dioxol-5-yl)methyl-[2-oxo-2-(trityloxyamino)ethyl]amino]methyl]benzimidazol-1-carboxylat (**16d**; 336 mg; 0,48 mmol) entsprechend der allgemeinen Abreitsvorschrift 1 Methode A dargestellt. Ausbeute: 42 mg (25%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 135,0 [M-C₁₀H₁₁N₄O₂]⁺, 355,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 3,28 (s, 2H, -CO-CH₂-N-); 3,84-3,97 (m, 2H, -N-CH₂-Ar); 4,19-4,32 (s, 2H, -N-CH₂-Bim); 6,00-6,09 (m, 2H, -O-CH₂-O-); 6,93-7,00 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,08-7,12 (m, 1H, Ar-H); 7,58-7,60 (m, 1H, Bim: C₇H); 7,80-7,82 (m, 1H, Bim: C₆H); 7,90-7,96 (m, 1H, Bim: C₄H); 9,25 (br s, 1H, Bim: C₂H); 10,71 (br s, 1H, -NH-OH); HRMS m/z: 355,1413 [M+H]⁺; berechnet für C₁₈H₁₉N₄O₄⁺: 355,1401; HPLC (Gradient A): rt 6,03 min (98,1%).

2-[1H-Benzimidazol-5-ylmethyl-[(4-chloro-2-fluoro-3-hydroxy-phenyl)methyl]amino]-ethanhydroxamsäure (3e)

Die Verbindung wird ausgehend von *tert*-Butyl-5-[[4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl]-methyl-[2-oxo-2-(trityloxyamino)ethyl]amino]methyl]benzimidazol-1-carboxylat (**16e**; 232 mg; 0,32 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 1,9 ml; 1,89 mmol) allgemeinen Abreitsvorschrift 1 Methode B dargestellt. Ausbeute: 45 mg (38%); Aussehen: gelber Feststoff; ESI-MS m/z: 379,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 3,10 (s, 2H, -CO-CH₂-N-); 3,85 (s, 2H, -N-CH₂-Ar); 3,99 (s, 2H, -N-CH₂-Bim); 6,99-7,03 (m, 1H, Ar-H); 7,19 (d, 1H, ³J=8,5 Hz, Ar-H); 7,59 (d, 1H, ³J=8,6 Hz, Bim: C₇H); 7,78-7,84 (m, 2H, Bim: C₄H + C₆H); 9,40 (s, 1H, Bim: C₂H); 10,31 (br s, 1H, Ar-OH); 10,49 (br s, 1H, -NH-OH); HRMS m/z: 379,098 [M+H]⁺; berechnet für C₁₇H₁₇ClFN₄O₃⁺: 379,0968; HPLC (Gradient A): rt 7,01 min (98,1%).

3-[(4-Chloro-2-fluoro-3-hydroxy-phenyl)methyl-(4-pyridylmethyl)amino]propanhydroxamsäure (4a)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-[(4-Chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)methyl-(4-pyridylmethyl)amino]-*N*-trityloxy-propanamid (**17a**; 120 mg; 0,20 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 787 µl; 0,79 mmol) allgemeinen Abreitsvorschrift 1 Methode B dargestellt. Ausbeute: 27 mg (38%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 354,1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, MeCN-*d*₃): (*cis-trans*-Isomere) δ 2,33 (t, 1,8H, ³J=6,6 Hz, -CO-CH₂-CH₂-N-); 2,50-2,54 (m, 0,2H, -CO-CH₂-CH₂-N-); 2,89 (t, 1,8H, ³J=6,5 Hz, -CO-CH₂-CH₂-N-); 3,27-3,34 (m, 0,2H, -CO-CH₂-CH₂-N-); 3,78 (s, 2H, -N-CH₂-Ar); 3,95 (m, 2H, -N-CH₂-Ar); 6,88-6,92 (m, 1H, Ar-H); 7,10-7,12 (m, 1H,

Ar-H); 7,86 (d, 2H, $^3J=6,0$ Hz, Pyridin: 2x CH); 8,60 (d, 2H, $^3J=6,2$ Hz, Pyridin: 2x CH); HRMS m/z: 354,1028 [M+H]⁺; berechnet für C₁₆H₁₈ClFN₃O₃⁺: 354,1015; HPLC (Gradient A): rt 7,55 min (>99%).

3-[(4-Chloro-2-fluoro-3-hydroxy-phenyl)methyl-[(4-chloro-2-fluoro-phenyl)methyl]-amino]propanhydroxamsäure (4b)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-[(4-Chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)methyl-[(4-chloro-2-fluoro-phenyl)methyl]amino]-N-trityloxy-propanamid (**17b**; 365 mg; 0,55 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 3,31 ml) allgemeinen Abreitsvorschrift 1 Methode B dargestellt. Ausbeute: 39 mg (18%); Aussehen: helles viskoses Öl; ESI-MS m/z: 404,9 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, MeCN-d₃): (*cis-trans*-Isomere) δ 2,51 (t, 1,7H, $^3J=6,3$ Hz, -CO-CH₂-CH₂-N-); 2,93-2,96 (m, 0,3H, -CO-CH₂-CH₂-N-); 3,20-3,24 (m, 1,7H, -CO-CH₂-CH₂-N-); 3,36-3,39 (m, 0,3H, -CO-CH₂-CH₂-N-); 4,15-4,31 (m, 4H, 2x -N-CH₂-Ar); 6,91-6,95 (m, 1H, Ar-H); 7,19-7,24 (m, 1H, Ar-H); 7,27-7,32 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,46-7,50 (m, 1H, Ar-H); 9,64 (br s, 1H, -NH-OH); HRMS m/z: 405,0596 [M+H]⁺; berechnet für C₁₇H₁₇Cl₂F₂N₂O₃⁺: 405,0579; HPLC (Gradient A): rt 10,69 min (>99%).

3-[1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl-[(4-chloro-2-fluoro-3-hydroxy-phenyl)methyl]amino]-propanhydroxamsäure (4c)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-[1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl-[(4-chloro-2-fluoro-3-hydroxy-phenyl)methyl]amino]-N-trityloxy-propanamid (**17c**; 114 mg; 0,18 mmol) entsprechend der allgemeinen Abreitsvorschrift 1 Methode A dargestellt. Ausbeute: 58 mg (85%); Aussehen: helles viskoses Öl; ESI-MS m/z: 379,1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, MeCN-d₃): (*cis-trans*-Isomere) δ 2,56 (t, 1,6H, $^3J=6,6$ Hz, -CO-CH₂-CH₂-N-); 2,93-2,96 (m, 0,4H, -CO-CH₂-CH₂-N-); 3,30-3,37 (m, 2H, -CO-CH₂-CH₂-N-); 4,21-4,30 (m, 4H, 2x -N-CH₂-Ar); 6,01 (s, 2H, -O-CH₂-O-); 6,88-6,95 (m, 4H, 2x Ar-H + -O-CH₂-O-); 7,21-7,23 (m, 1H, Ar-H); 9,84 (br s, 1H, -NH-OH); HRMS m/z: 397,0976 [M+H]⁺; berechnet für C₁₈H₁₉ClFN₂O₅⁺: 397,0961; HPLC (Gradient A): rt 9,73min (>99%).

3-[1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl-[(4-chloro-2-fluoro-phenyl)methyl]amino]propanhydroxamsäure (4d)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-[1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl-[(4-chloro-2-fluoro-phenyl)methyl]amino]-N-trityloxy-propanamid (**17d**; 215 mg; 0,35 mmol) entsprechend der allgemeinen Abreitsvorschrift 1 Methode A dargestellt. Ausbeute: 70 mg (53%); Aussehen: helles viskoses Öl; ESI-MS m/z: 381,1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, MeCN-d₃): (*cis-trans*-Isomere) δ 2,55 (t, 1,7H, $^3J=6,6$ Hz, -CO-CH₂-CH₂-N-); 2,95-2,98 (m, 0,3H, -CO-CH₂-CH₂-N-); 3,29 (t, 1,4H, $^3J=6,5$ Hz, -CO-CH₂-CH₂-N-); 3,33-3,37 (m, 0,6H, -CO-CH₂-CH₂-N-); 4,18-4,30 (m, 4H,

2x -N-CH₂-Ar); 6,01 (s, 2H, -O-CH₂-O-); 6,87-6,96 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,29-7,31 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,47-7,51 (m, 1H, Ar-H); 9,81 (br s, 1H, -NH-OH); HRMS m/z: 381,1026 [M+H]⁺; berechnet für C₁₈H₁₉ClFN₂O₄⁺: 381,1012; HPLC (Gradient A): rt 10,67 min (>99%).

3-[1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl(4-pyridylmethyl)amino]propanhydroxamsäure (4e)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-[1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl(4-pyridylmethyl)amino]-N-trityloxy-propanamid (**17e**; 128 mg; 0,22 mmol) entsprechend der allgemeinen Abreitsvorschrift 1 Methode A dargestellt. Ausbeute: 19 mg (26%); Aussehen: braunes viskoses Öl; ESI-MS m/z: 330,2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, MeCN-d₃): (*cis-trans*-Isomere) δ 2,40 (t, 1,6H, ³J=6,6 Hz, -CO-CH₂-CH₂-N-); 2,48-2,51 (m, 0,4H, -CO-CH₂-CH₂-N-); 3,02 (t, 1,6H, ³J=6,5 Hz, CO-CH₂-CH₂-N-); 3,17-3,22 (m, 0,4H, -CO-CH₂-CH₂-N-); 3,85 (s, 2H, -N-CH₂-Ar); 4,03-4,10 (m, 2H, -N-CH₂-Ar); 5,96-6,00 (m, 2H, -O-CH₂-O-); 6,80-6,97 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,77-7,78 (m, 2H, Pyridin: 2x CH); 8,64-8,66 (m, 2H, Pyridin: 2x CH); HRMS m/z: 330,1462 [M+H]⁺; berechnet für C₁₇H₂₀N₃O₄⁺: 330,1448; HPLC (Gradient A): rt 6,45 min (96,7%).

3-[1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl(3-pyridylmethyl)amino]propanhydroxamsäure (4f)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-[1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl(3-pyridylmethyl)amino]-N-trityloxy-propanamid (**17f**; 125 mg; 0,22 mmol) entsprechend der allgemeinen Abreitsvorschrift 1 Methode A dargestellt. Ausbeute: 13 mg (18%); Aussehen: helles dünnflüssiges Öl; ESI-MS m/z: 74,0 [M- C₁₅H₁₅N₂O₂]⁺, 330,0 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, MeCN-d₃): (*cis-trans*-Isomere) δ 2,46 (t, 1,6H, ³J=6,4 Hz, -CO-CH₂-CH₂-N-); 2,67 (t, 0,4H, ³J= 6,9 Hz, *cis-trans*-Isomere); 3,06 (t, 0,4H, ³J=6,9 Hz, -CO-CH₂-CH₂-N-); 3,19 (t, 1,6 H, ³J=6,3 Hz, *cis-trans*-Isomere); 3,97 (s, 0,3H, -N-CH₂-Ar); 4,08-4,10 (m, 1,7H, *cis-trans*-Isomere); 4,20 (s, 1,7H, -N-CH₂-Pyr); 4,34 (s, 0,3H, *cis-trans*-Isomere); 5,97-6,01 (m, 2H, Benzodioxol: -O-CH₂-O-); 6,82-6,94 (m, 3H, Benzodioxol: 3x Ar-H); 7,65-7,73 (m, 1H, CH_{Pyridin}); 8,10-8,22 (m, 1H, CH_{Pyridin}); 8,64-8,75 (m, 2H, 2xCH_{Pyridin}); HRMS m/z: 330,1462 [M+H]⁺; berechnet für C₁₇H₂₀N₃O₄⁺: 330,1448; HPLC (Gradient A): rt 5,97 min und rt 6,53 min (>99%; Doppelpeak aufgrund unterschiedlicher Protonierungszustände).

3-[(4-Chloro-2-fluoro-3-hydroxy-phenyl)methyl-(3-pyridylmethyl)amino]propanhydroxamsäure (4g)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-[(4-Chloro-2-fluoro-3-hydroxy-phenyl)methyl-(3-pyridylmethyl)amino]-N-trityloxy-propanamid (**17g**; 80 mg; 0,13 mmol) entsprechend der allgemeinen Abreitsvorschrift 1 Methode A dargestellt. Ausbeute: 11 mg (23%); Aussehen: braunes viskoses Öl; ESI-MS m/z: 354,0 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, MeCN-d₃): (*cis-trans*-Isomere) δ 2,38 (t, 1H, ³J= 6,6 Hz, -CO-CH₂-CH₂-N-); 2,56 (t, 1H, ³J=6,2 Hz, -CO-CH₂-CH₂-N-

); 2,90 (t, 1H, $^3J=6,6$ Hz, -CO-CH₂-CH₂-N-); 3,02 (t, 1H, $^3J=6,2$ Hz, -CO-CH₂-CH₂-N-); 3,83-3,99 (m, 4H, 2x -N-CH₂-Ar); 6,88-6,93 (m, 1H, Ar-H); 7,10-7,14 (m, 1H, Ar-H); 7,73-7,80 (m, 1H, Pyridin: CH); 8,20-8,29 (m, 1H, Pyridin: CH); 8,59-8,60 (m, 1H, Pyridin: CH); 8,72-8,78 (m, 1H, Pyridin: CH); HRMS m/z: 354,1031 [M+H]⁺; berechnet für C₁₆H₁₈ClFN₃O₃⁺: 354,1015; HPLC (Gradient A): rt 7,63 min und 7,17 min (>99%; Doppelpeak aufgrund unterschiedlicher Protonierungszustände).

3-[1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl-[[4-(dimethylamino)phenyl]methyl]amino]propanhydroxamsäure (4h)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-[1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl-[[4-(dimethylamino)phenyl]methyl]amino]-*N*-trityloxy-acetamid (**17h**; 498 mg; 0,81 mmol) entsprechend der allgemeinen Abreitsvorschrift 1 Methode A dargestellt. Ausbeute: 5 mg (2%); Aussehen: rotbraunes viskoses Öl; ESI-MS m/z: 134,0 [M-C₁₁H₁₃N₂O₄]⁺, 394,2 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, MeCN-d₃): δ 2,51 (t, 2H, $^3J=6,3$ Hz, -CO-CH₂-CH₂-N-); 2,97 (s, 6H, Ar-N-(CH₃)₂); 3,29 (t, 2H, $^3J=6,3$ Hz, -CO-CH₂-CH₂-N-); 4,18-4,19 (m, 4H, 2x -N-CH₂-Ar); 6,00-6,02 (m, 2H, -O-CH₂-O); 6,81-6,84 (m, 2H, 2x Ar-H); 6,91 (s, 3H, 3x Ar-H); 7,24-7,26 (m, 2H, 2x Ar-H); 9,61 (br s, 1H, -NH-OH); HPLC (Gradient A): rt 8,16 min (>99%).

Zwischenprodukte

2-[(4-Chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)methylamino]-*N*-trityloxy-acetamid (13a)

Die Verbindung wird ausgehend von 2-Amino-*N*-trityloxy-acetamid (**10**; 665 mg; 2 mmol), 1,3-4-Chloro-2-fluoro-3-methoxybenzaldehyd (**12a**; 415 mg; 2,2 mmol) und NaBH₄ (91 mg; 2,4 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 3 dargestellt. Ausbeute: 439 mg (43%); ESI-MS m/z: 243,1 Trityl-Fragment, 505,2 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 16,13 min (>99%).

3-(1,3-Benzodioxol-5-ylmethylamino)-*N*-trityloxy-propanamid (13b)

Die Verbindung wird ausgehend von 2-Amino-*N*-trityloxy-acetamid (**10**; 665 mg; 2 mmol), 1,3-Benzodioxole-5-carbaldehyd (**12b**; 330 mg; 2,2 mmol) und NaBH₄ (91 mg; 2,4 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 3 dargestellt. Ausbeute: 683 mg (67%); ESI-MS m/z: 243,0 Trityl-Fragment, 467,0 [M+H]⁺.

***tert*-Butyl 5-[[[2-oxo-2-(trityloxyamino)ethyl]amino]methyl]benzimidazole-1-carboxylat (13c)**

Die Verbindung wird ausgehend von 2-Amino-*N*-trityloxy-acetamid (**10**; 665 mg; 2 mmol), *tert*-Butyl-5-formylbenzimidazol-1-carboxylat (**12c**; 542 mg; 2,2 mmol) und NaBH₄ (91 mg;

2,4 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 3 dargestellt. Ausbeute: 544 mg (48%); ESI-MS m/z: 243,3 Trityl-Fragment, 565,6 [M+H]⁺.

3-[(4-Chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)methylamino]-*N*-trityloxy-propanamid (14a)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-Amino-*N*-trityloxy-propanamid (**11**; 346 mg; 1 mmol), 4-Chloro-2-fluoro-3-methoxybenzaldehyd (**12a**; 207 mg; 1,1 mmol) und NaBH₄ (45 mg; 1,2 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 3 dargestellt. Ausbeute: 400 mg (77%); ESI-MS m/z: 243,0 Trityl-Fragment, 519,0 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 16,11 min (>99%).

3-(1,3-Benzodioxol-5-ylmethylamino)-*N*-trityloxy-propanamid (14b)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-Amino-*N*-trityloxy-propanamid (**11**; 434 mg; 1,25 mmol), 1,3-Benzodioxole-5-carbaldehyd (**12b**; 207 mg; 1,38 mmol) und NaBH₄ (57 mg; 1,52 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 3 dargestellt. Ausbeute: 360 mg (54%); ESI-MS m/z: 243,1 Trityl-Fragment, 481,2 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 14,99 min (>99%).

3-(3-Pyridylmethylamino)-*N*-trityloxy-propanamid (14c)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-Amino-*N*-trityloxy-propanamid (**11**; 693 mg; 2 mmol), 3-Pyridincarboxaldehyd (**12d**; 236 mg; 2,2 mmol) und NaBH₄ (91 mg; 2,4 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 3 dargestellt. Ausbeute: 811 mg (82%); ESI-MS m/z: 243,0 Trityl-Fragment, 438,0 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 11,89 min (88,8%).

3-[[4-(Dimethylamino)phenyl]methylamino]-*N*-trityloxy-propanamid (14d)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-Amino-*N*-trityloxy-propanamid (**11**; 693 mg; 2 mmol), 4-(Dimethylamino)-benzaldehyd (**12e**; 328 mg; 2,2 mmol) und NaBH₄ (91 mg; 2,4 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 3 dargestellt. Ausbeute: 780 mg (81%); ESI-MS m/z: 134,0 [M-C₃₀H₂₇N₂O₄]⁺, 480,2 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 13,65 min (96,7%).

2-[(4-Chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)methyl-(4-pyridylmethyl)amino]-*N*-trityloxy-acetamid (16a)

Die Verbindung wird ausgehend von 2-[(4-Chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)methylamino]-*N*-trityloxy-acetamid (**13a**; 70 mg; 0,14 mmol), 4-(Chlormethyl)pyridin Hydrochlorid (19 mg; 0,15 mmol) und TEA (48 µl; 0,35 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 4 dargestellt. Ausbeute: 48 mg (58%); ESI-MS m/z: 243,1 Trityl-Fragment, 596,2 [M+H]⁺.

2-[1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl(4-pyridylmethyl)amino]-*N*-trityloxy-acetamid (16b)

Die Verbindung wird ausgehend von 2-(1,3-Benzodioxol-5-ylmethylamino)-*N*-trityloxy-acetamid (**13b**, 333 mg; 0,71 mmol), 4-(Chlormethyl)pyridin Hydrochlorid (100 mg; 0,79 mmol) und TEA (247 μ l; 1,78 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 4 dargestellt. Ausbeute: 108 mg (27%); ESI-MS m/z: 242,9 Trityl-Fragment, 557,9 [M+H]⁺.

2-[1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl(3-pyridylmethyl)amino]-*N*-trityloxy-acetamid (16c)

Die Verbindung wird ausgehend von 2-(1,3-Benzodioxol-5-ylmethylamino)-*N*-trityloxy-acetamid (**13b**; 320 mg; 0,69 mmol), 3-(Chlormethyl)pyridin (96 mg; 0,75 mmol) und TEA (238 μ l; 1,71 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 4 dargestellt. Ausbeute: 100 mg (27%); ESI-MS m/z: 242,8 Trityl-Fragment, 557,8 [M+H]⁺.

***tert*-Butyl-5-(((benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ylmethyl)(2-oxo-2-((trityloxy)amino)ethyl)amino)-methyl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-1-carboxylat (16d)**

Die Verbindung wird ausgehend von *tert*-Butyl-5-[[[2-oxo-2-(trityloxyamino)ethyl]amino]-methyl]benzimidazol-1-carboxylat (**13c**; 272 mg; 0,48 mmol), 5-(Brommethyl)-1,3-benzodioxol (114 mg; 0,53 mmol) und TEA (168 μ l; 1,21 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 4 dargestellt und wird ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet. Ausbeute: 336 mg (99%); ESI-MS m/z: 243,2 Trityl-Fragment, 597,5 [M-Boc+H]⁺.

***tert*-Butyl-5-[[[4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)methyl]-2-oxo-2-(trityloxyamino)-ethyl]amino]methyl]benzimidazol-1-carboxylat (16e)**

Die Verbindung wird ausgehend von *tert*-Butyl-5-[[[2-oxo-2-(trityloxyamino)ethyl]amino]-methyl]benzimidazol-1-carboxylat (**13c**; 272 mg; 0,48 mmol), 4-Chloro-2-fluoro-3-methoxybenzylbromid (135 mg; 0,53 mmol) und TEA (168 μ l; 1,21 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 4 dargestellt und wird ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet. Ausbeute: 232 mg (65%); ESI-MS m/z: 243,2 Trityl-Fragment, 635,5 [M-Boc+H]⁺.

3-[(4-Chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)methyl(4-pyridylmethyl)amino]-*N*-trityloxy-propanamid (17a)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-[(4-Chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)methylamino]-*N*-trityloxy-propanamid (**14a**; 282 mg; 0,54 mmol), 4-(Chlormethyl)pyridin Hydrochlorid (76 mg; 0,60 mmol) und TEA (188 μ l; 1,36 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 4 dargestellt. Ausbeute: 120 mg (36%); ESI-MS m/z: 243,1 Trityl-Fragment, 610,2 [M+H]⁺.

3-[(4-Chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)methyl-[(4-chloro-2-fluoro-phenyl)methyl]-amino]-*N*-trityloxy-propanamid (17b)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-[(4-Chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)methylamino]-*N*-trityloxy-propanamid (**14a**; 400 mg; 0,77 mmol), 1-(Bromomethyl)-4-chloro-2-fluorobenzen (189 mg; 0,85 mmol) und TEA (267 μ l; 1,93 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 4 dargestellt und ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet. Ausbeute: 365 mg (72%); ESI-MS m/z: 243,0 Trityl-Fragment, 661,0 [M+H]⁺.

3-[1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl-[(4-chloro-2-fluoro-3-hydroxy-phenyl)methyl]amino]-*N*-trityloxy-propanamid (17c)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-(1,3-Benzodioxol-5-ylmethylamino)-*N*-trityloxy-propanamid (**14b**; 315 mg; 0,66 mmol), 3-(Bromomethyl)-6-chloro-2-fluoro-phenol (173 mg; 0,72 mmol) und TEA (227 μ l; 1,64 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 4 dargestellt. Ausbeute: 114 mg (27%); ESI-MS m/z: 243,0 Trityl-Fragment, 639,0 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 16,85 min (>99%).

3-[1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl-[(4-chloro-2-fluoro-phenyl)methyl]amino]-*N*-trityloxy-propanamid (17d)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-(1,3-Benzodioxol-5-ylmethylamino)-*N*-trityloxy-propanamid (**14b**; 315 mg; 0,66 mmol), 1-(Bromomethyl)-4-chloro-2-fluorobenzen (161 mg; 0,72 mmol) und TEA (227 μ l; 1,64 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 4 dargestellt. Ausbeute: 215 mg (53%); ESI-MS m/z: 243,1 Trityl-Fragment, 623,2 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 18,19 min (>99%).

3-[1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl(4-pyridylmethyl)amino] -*N*-trityloxy-propanamid (17e)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-(1,3-Benzodioxol-5-ylmethylamino)-*N*-trityloxy-propanamid (**14b**; 526 mg; 1,09 mmol), 4-(Chlormethyl)pyridin Hydrochlorid (154 mg; 1,20 mmol) und TEA (379 μ l; 2,74 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 4 dargestellt. Ausbeute: 128 mg (20%); ESI-MS m/z: 243,0 Trityl-Fragment, 572,1 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 14,96 min (88,5%).

3-[1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl(3-pyridylmethyl)amino]-*N*-trityloxy-propanamid (17f)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-(3-Pyridylmethylamino)-*N*-trityloxy-propanamid (**14d**; 405 mg; 0,93 mmol), 5-(Brommethyl)-1,3-benzodioxol (219 mg; 1,02 mmol) und TEA (321 μ l; 2,31 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 4 dargestellt. Ausbeute: 125 mg

(24%); ESI-MS m/z: 243,0 Trityl-Fragment, 572,0 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 14,77 min (>99%).

3-[(4-Chloro-2-fluoro-3-hydroxy-phenyl)methyl-(3-pyridylmethyl)amino]-*N*-trityloxy-propanamid (17g)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-(3-Pyridylmethylamino)-*N*-trityloxy-propanamid (**14d**; 405 mg; 0,93 mmol), 3-(Bromomethyl)-6-chloro-2-fluoro-phenol (244 mg; 1,02 mmol) und TEA (321 µl; 2,31 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 4 dargestellt. Ausbeute: 80 mg (15%); ESI-MS m/z: 243,0 Trityl-Fragment, 595,9 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 15,07 min (91,9%).

3-[1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl-[[4-(dimethylamino)-phenyl]methyl]amino]-*N*-trityloxy-acetamid (17h)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-[[4-(Dimethylamino)phenyl]methylamino]-*N*-trityloxy-propanamid (**14e**; 390 mg; 0,81 mmol), 5-(Brommethyl)-1,3-benzodioxol (192 mg; 0,89 mmol) und TEA (282 µl; 2,03 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 4 dargestellt und ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet. Ausbeute: 498 mg (99%); ESI-MS m/z: 134,0 [M-C₃₀H₂₇N₂O₄]⁺, 614,3 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 17,17 min (90,5%).

9.1.2 Derivate mit heteroaromatischem Grundkörper

2-(2,5-Diphenylpyrrol-1-yl)ethanhydroxamsäure (5a)

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-2-(2,5-diphenylpyrrol-1-yl)acetamid (**26**; 90 mg; 0,24 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 5 dargestellt. Ausbeute: 25 mg (37%); Aussehen: rosafarbiger Feststoff; ESI-MS m/z: 293,2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 4,34 (s, 1,5H, -CO-CH₂-); 4,65 (s, 0,5H, -CO-CH₂-); 6,27 (s, 2H, Pyrrol: 2x CH); 7,33-7,36 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,41-7,47 (m, 8H, 8x Ar-H); 8,99 (br s, 0,6H, -NH-OH); 9,19 (br s, 0,2H, -NH-OH); 10,26 (s, 0,2H, -NH-OH); 10,54 (s, 0,8H, -NH-OH); HRMS m/z: 315,1114 [M+Na]⁺; berechnet für C₁₈H₁₆N₂NaO₂⁺: 315,1104; HPLC (Gradient A): rt 15,84 min (97,7%).

3-(2,5-Diphenylpyrrol-1-yl)propanhydroxamsäure (5b)

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-benzyloxy-3-(2,5-diphenylpyrrol-1-yl)propanamid (**27**; 300 mg; 0,76 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 5 dargestellt. Ausbeute: 9 mg (4%); Aussehen: hellrosafarbiger Feststoff; ESI-MS m/z: 307,4 [M+H]⁺, 329,4 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,83-1,87 (m, 1,8H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,09-

2,13 (m, 0,2H, -CO-CH₂-CH₂-); 4,28-4,32 (m, 2H, -CO-CH₂-CH₂-); 6,23 (s, 2H, Pyrrol: 2x CH); 7,34-7,38 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,44-7,51 (m, 8H, 8x Ar-H); 8,57 (br s, 0,6H, -NH-OH); 8,81 (br s, 0,1H, -NH-OH); 9,76 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,16 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 329,1273 [M+Na]⁺; C₁₉H₁₈N₂NaO₂⁺: 329,1260; HPLC (Gradient A): rt 16,27 min (>99%).

2-(3,5-Diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)ethanhydroxamsäure (5c)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (**33**; 173 mg, 0,59 mmol), NaOCH₃ (5 N; 708 µl; 3,5 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (123 mg; 1,8 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 83 mg (40%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 294,5 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,32 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,63 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 7,38-7,42 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,46-7,49 (m, 4H, 4x Ar-H); 7,64-7,66 (m, 4H, 4x Ar-H); 10,09 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,62 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 294,1251 [M+H]⁺; berechnet für C₁₇H₁₆N₃O₂⁺: 294,1237; HPLC (Gradient A): rt 12,03 min (>99%).

3-(3,5-Diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)propanhydroxamsäure (5d)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)propanoat (**34**; 306 mg, 1 mmol), NaOCH₃ (5 N; 1,2 ml; 6 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (208 mg; 3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 58 mg (19%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 308,4 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 2,06-2,11 (m, 2H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,93-2,97 (m, 2H, -CO-CH₂-CH₂-); 7,41 (t, 2H, ³J=7,3 Hz, 2x Ar-H); 7,50 (t, 4H, ³J=7,6 Hz, 4x Ar-H); 7,64 (d, 4H, ³J=7,8 Hz, 4x Ar-H); 10,33 (br s, 1H, -NH-OH); HRMS m/z: 308,1409 [M+H]⁺; berechnet für C₁₈H₁₈N₃O₂⁺: 308,1394; HPLC (Gradient A): 15,52 min (96,8%).

2-(3,5-Diphenylisoxazol-4-yl)ethanhydroxamsäure (5e)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(3,5-diphenylisoxazol-4-yl)acetat (**35**; 92 mg, 0,31 mmol), NaOCH₃ (5 N; 376 µl; 1,9 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (65 mg; 0,94 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 42 mg (35%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 295,1 [M+H]⁺, 317,2 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 3,41 (s, 2H, -CO-CH₂-); 7,55-7,62 (m, 6H, 6x Ar-H); 7,68-7,70 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,79-7,82 (m, 2H, 2x Ar-H); 10,77 (s, 1H, -NH-OH); HRMS m/z: 317,0907 [M+Na]⁺; berechnet für C₁₇H₁₄N₂NaO₃⁺: 317,0897; HPLC (Gradient A): rt 14,56 min (>99%).

3-(3,5-Diphenylisoxazol-4-yl)propanhydroxamsäure (5f)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(3,5-diphenylisoxazol-4-yl)propanoat (**36**; 49 mg, 0,16 mmol), NaOCH₃ (5 N; 191 µl; 0,96 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (52 mg; 0,48 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 11 mg (22%); Aussehen: hellgelber Feststoff; ESI-MS m/z: 309,4 [M+H]⁺, 331,4 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 2,09-2,13 (m, 2H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,95-2,99 (m, 2H, -CO-CH₂-CH₂-); 7,57-7,63 (m, 6H, 6x Ar-H); 7,69-7,71 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,81-7,84 (m, 2H, 2x Ar-H); 9,86 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,36 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 309,1250 [M+H]⁺; berechnet für C₁₈H₁₇N₂O₃⁺: 309,1234; HPLC (Gradient A): rt 14,93 min (>99%).

2-(3,5-Diphenyl-1,2,4-triazol-4-yl)ethanhydroxamsäure (5g)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(3,5-diphenyl-4H-1,2,4-triazol-4-yl)acetat (**42**; 86 mg, 0,29 mmol), NaOCH₃ (5 N; 352 µl; 1,8 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (61 mg; 0,88 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 45 mg (52%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 350,4 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 4,56 (s, 1,5H, -CO-CH₂-); 4,85 (s, 0,5H, -CO-CH₂-); 7,58-7,70 (m, 10H, 10x Ar-H); 10,50 (s, 0,3H, -NH-OH); 10,81 (s, 0,7H, -NH-OH); HRMS m/z: 295,1204 [M+H]⁺; berechnet für C₁₆H₁₅N₄O₂⁺: 295,1190; HPLC (Gradient A): rt 7,73 min (98,2%).

3-(3,5-Diphenyl-1,2,4-triazol-4-yl)propanhydroxamsäure (5h)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(3,5-diphenyl-4H-1,2,4-triazol-4-yl)propanoat (**43**; 105 mg, 0,34 mmol), NaOCH₃ (5 N; 410 µl; 2,0 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (71 mg; 1,0 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 40 mg (37%); Aussehen: helles viskoses Öl; ESI-MS m/z: 309,4 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 2,10 (t, 2H, ³J=7,6 Hz, -CO-CH₂-CH₂-); 4,39 (t, 2H, ³J=7,5 Hz, -CO-CH₂-CH₂-); 7,61-7,63 (m, 6H, 6x Ar-H); 7,75-7,78 (m, 4H, 4x Ar-H); 9,89 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,28 (br s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 309,1358 [M+H]⁺; C₁₇H₁₇N₄O₂⁺: 309,1346; berechnet für HPLC (Gradient A): rt 8,59 min (97,0%).

2-(3,5-Diphenyltriazol-4-yl)ethanhydroxamsäure (5i)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(1,4-diphenyl-1H-1,2,3-triazol-5-yl)acetat (**46**; 70 mg, 0,24 mmol), NaOCH₃ (5 N; 286 µl; 1,4 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (50 mg; 0,72 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 22 mg (32%); Aussehen: hellgelber Feststoff; ESI-MS m/z: 295,1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,63 (s, 1,7H, -CO-CH₂-); 3,92 (s, 0,3H, -CO-CH₂-); 7,42-7,45 (m, 1H, Ar-H); 7,52 (t, 2H, ³J=7,8 Hz, 2x Ar-H); 7,57-7,69 (m, 5H, 5x Ar-H); 7,75-7,77 (m, 2H, 2x Ar-H);

9,04 (br s, 0,6H, -NH-OH); 9,39 (br s, 0,2H, -NH-OH); 10,33 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,76 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 295,1207 [M+H]⁺; berechnet für C₁₆H₁₅N₄O₂⁺: 295,1190; HPLC (Gradient A): rt 10,43 min (>99%).

2-(3,5-Diphenylimidazol-4-yl)ethanhydroxamsäure (5j)¹

Die Verbindung wird ausgehend von Ethyl-2-(3,5-diphenylimidazol-4-yl)acetat (**52**; 89 mg, 0,29 mmol), NaOCH₃ (5 N; 349 µl; 1,7 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (61 mg; 0,87 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 34 mg (40%); Aussehen: hellrosafarbiger Feststoff; ESI-MS m/z: 294,1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,47 (s, 1,7H, -CO-CH₂-); 3,77 (s, 0,3H, -CO-CH₂-); 7,44-7,47 (m, 1H, Imidazol: CH); 7,51-7,69 (m, 10x Ar-H); 8,88 (br s, 0,9H, -NH-OH); 9,32 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,25 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,61 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 294,1231 [M+H]⁺; berechnet für C₁₇H₁₆N₃O₂⁺: 294,1237; HPLC (Gradient A): rt 6,51 min (>99%).

2-(3,5-Diphenylpyrazol-1-yl)ethanhydroxamsäure (6a)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(3,5-diphenylpyrazol-1-yl)acetat (**54**; 247 mg; 0,84 mmol), NaOCH₃ (5 N; 1 ml; 5,1 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (176 mg; 2,5 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 141 mg (57%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 294,4 [M+H]⁺, 316,4 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 4,68 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 5,04 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 6,91 (s, 1H, Pyrazol: CH); 7,31-7,35 (m, 1H, Ar-H); 7,41-7,55 (m, 5H, 5x Ar-H); 7,65-7,68 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,83-7,85 (m, 2H, 2x Ar-H); 9,12 (br s, 0,9H, -NH-OH); 9,36 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,35 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,93 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 294,1251 [M+H]⁺; berechnet für C₁₇H₁₆N₃O₂⁺: 294,1237; HPLC (Gradient A): rt 15,63 min (97,5%).

3-(3,5-Diphenylpyrazol-1-yl)propanhydroxamsäure (6b)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(3,5-Diphenylpyrazol-1-yl)propanoat (**55**; 259 mg; 0,84 mmol), NaOCH₃ (5 N; 1 ml; 5,1 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (176 mg; 2,5 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 171 mg (66%); Aussehen: hellgelber Feststoff; ESI-MS m/z: 308,4 [M+H]⁺, 330,4 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 2,66 (t, 2H, ³J=7,2 Hz, -CO-CH₂-CH₂-); 4,32 (t, 2H, ³J=7,2 Hz, -CO-CH₂-CH₂-); 6,84 (s, 1H, Pyrazol: CH); 7,30-7,34 (m, 1H, Ar-H); 7,41-7,45 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,47-7,57 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,60-7,63 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,84-7,86 (m, 2H, 2x Ar-H); 9,97 (s,

¹ Die Verbindung liegt als einfaches TFA-Salz vor.

0,1H, -NH-OH); 10,53 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 330,1223 [M+Na]⁺; berechnet für C₁₈H₁₇N₃NaO₂⁺: 330,1213; HPLC (Gradient A): rt 17,68 min (>99%).

2-(2-Phenylindol-1-yl)ethanhydroxamsäure (7a)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(2-phenylindol-1-yl)acetat (**57**; 265 mg; 1 mmol), NaOCH₃ (5 N; 1,2 ml; 6 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (208 mg; 3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 91 mg (34%); Aussehen: hellgelber Feststoff; ESI-MS m/z: 267,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 4,66 (s, 1,7H, -CO-CH₂-); 4,99 (s, 0,3H, -CO-CH₂-); 6,58 (s, 1H, Indol: C₃H); 7,08-7,12 (m, 1H, Indol: C₅H); 7,16-7,20 (m, 1H, Indol: C₆H); 7,36-7,38 (m, 1H, Ar-H); 7,43-7,47 (m, 1H, Indol: C₄H); 7,49-7,53 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,58-7,64 (m, 3H, Indol: C₇H + 2x Ar-H); 10,34 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,93 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 289,0960 [M+Na]⁺; berechnet für C₁₆H₁₄N₂NaO₂⁺: 289,0947; HPLC (Gradient A): rt 15,81 (>99%).

3-(2-Phenylindol-1-yl)propanhydroxamsäure (7b)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(2-phenylindol-1-yl)propanoat (**58**; 188 mg; 0,67 mmol), NaOCH₃ (5 N; 808 µl; 4,0 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (140 mg; 2,0 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 33 mg (18%); Aussehen: hellgelber Feststoff; ESI-MS m/z: 281,2 [M+H]⁺, 303,2 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 2,34-2,38 (m, 2H, -CO-CH₂-CH₂-); 4,36-4,40 (m, 2H, -CO-CH₂-CH₂-); 6,54 (s, 1H, Indol: C₃H); 7,07-7,10 (m, 1H, Indol: C₅H); 7,18-7,22 (m, 1H, Indol: C₆H); 7,45-7,49 (m, 1H, Ar-H); 7,51-7,58 (m, 6H, 4x Ar-H + Indol: C₄H + C₇H); 9,97 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,46 (br s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 281,1301 [M+H]⁺; berechnet für C₁₇H₁₇N₂O₂⁺: 281,1285; HPLC (Gradient A): rt 15,22 (>99%).

2-(2-Phenyl-1H-indol-3-yl)ethanhydroxamsäure (7c)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(2-phenyl-1H-indol-3-yl)acetat (**62**; 89 mg; 0,34 mmol), NaOCH₃ (5 N; 403 µl; 2,0 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (70 mg; 1,0 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 14 mg (15%); Aussehen: hellgelber Feststoff; ESI-MS m/z: 206,1 [M-CH₂NO₂]⁺, 267,2 [M+H]⁺, 289,2 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,51 (s, 1,9H, -CO-CH₂-); 3,85 (s, 0,1H, -CO-CH₂-); 7,02 (t, 1H, ³J=7,6 Hz, Indol: C₅H); 7,12 (t, 1H, ³J=7,5 Hz, Indol: C₆H); 7,36-7,42 (m, 2H, Ar-H + Indol: C₇H); 7,51 (t, 2H, ³J=7,7 Hz, 2x Ar-H); 7,61 (d, 1H, ³J=7,8 Hz, Indol: C₄H); 7,87 (d, 2H, ³J=7,8 Hz, 2x Ar-H); 10,77 (s, 1H, -NH-OH); 11,26 (s, 1H, Indol: NH); HRMS m/z: 289,0959 [M+Na]⁺; berechnet für C₁₆H₁₄N₂NaO₂⁺: 289,0947; HPLC (Gradient A): rt 11,97 min (>99%).

2-(2-Phenylbenzimidazol-1-yl)ethanhydroxamsäure (7d)¹

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(2-phenylbenzimidazol-1-yl)acetat (**66**; 134 mg; 0,5 mmol), NaOCH₃ (5 N; 604 µl; 3,0 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (105 mg; 1,5 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 88 mg (66%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 268,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 4,95 (s, 1,6H, -CO-CH₂-); 5,29 (s, 0,4H, -CO-CH₂-); 7,44-7,51 (m, 2H, Bim: C₅H + C₆H); 7,64-7,71 (m, 4H, Bim: C₄H + C₇H + 2x Ar-H); 7,78-7,84 (m, 1H, Ar-H); 7,88-7,90 (m, 2H, 2x Ar-H); 10,62 (s, 0,2H, -NH-OH); 11,10 (s, 0,8H, -NH-OH); HRMS m/z: 268,1092; berechnet für C₁₅H₁₄N₃O₂⁺: 268,1081 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 5,96 min (>99%).

3-(2-Phenylbenzimidazol-1-yl)propanhydroxamsäure (7e)¹

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(2-phenylbenzimidazol-1-yl)propanoat (**67**; 88 mg; 0,31 mmol), NaOCH₃ (5 N; 377 µl; 1,9 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (65 mg; 0,94 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 33 mg (37%); Aussehen: hellgelber Feststoff; ESI-MS m/z: 282,4 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 2,59 (t, 1,8H, ³J=7,4 Hz, -CO-CH₂-CH₂-); 2,88 (t, 0,2H, ³J=7,4 Hz, -CO-CH₂-CH₂-); 4,60 (t, 2H, ³J=7,7 Hz, -CO-CH₂-CH₂-); 7,49-7,57 (m, 2H, Bim: C₅H + C₆H); 7,67-7,74 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,80-7,83 (m, 1H, Bim: C₇H); 7,87-7,89 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,93-7,95 (m, 1H, Bim: C₄H); 10,05 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,50 (br s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 282,1248 [M+H]⁺; berechnet für C₁₆H₁₆N₃O₂⁺: 282,1237; HPLC (Gradient A): rt 6,61 min (95,7%).

2-(2-Phenylimidazo[4,5-*b*]pyridin-3-yl)ethanhydroxamsäure (7f)¹

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(2-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridin-3-yl)acetat (**71**; 90 mg; 0,34 mmol), NaOCH₃ (5 N; 404 µl; 2,0 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (70 mg; 1,0 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 35 mg (39%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 269,1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 4,92 (s, 1,6H, -CO-CH₂-); 5,26 (s, 0,4H, -CO-CH₂-); 7,36-7,39 (m, 1H, Imidazo[4,5-*b*]pyridin: CH); 7,58-7,61 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,78-7,80 (m, 0,5H, Imidazo[4,5-*b*]pyridin: CH); 7,87-7,89 (m, 1,5H, Imidazo[4,5-*b*]pyridin: CH); 8,14-8,16 (dd, 1H, ³J=7,8 Hz, ⁴J=1,2 Hz, Ar-H); 8,38-8,89 (m, 1H, Ar-H); 10,45 (s, 0,2H, -NH-OH); 11,01 (s, 0,8H, -NH-OH); HRMS m/z: 269,1046 [M+H]⁺; berechnet für C₁₄H₁₃N₄O₂⁺: 269,1033; HPLC (Gradient A): rt 6,75 min (>99%).

¹ Die Verbindung liegt als einfaches TFA-Salz vor.

2-(2-Phenylimidazo[4,5-*b*]pyridin-1-yl)ethanhydroxamsäure (7g)¹

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(2-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridin-1-yl)acetat (**76**; 185 mg; 0,69 mmol), NaOCH₃ (5 N; 831 µl; 4,2 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (144 mg; 2,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 38 mg (20%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS *m/z*: 269,1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 5,54 (s, 1,4H, -CO-CH₂-); 5,86 (s, 0,6H, -CO-CH₂-); 7,69-7,71 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,83 (t, 1H, ³J=7,1 Hz, Imidazo[4,5-*b*]pyridin: CH); 8,32-8,34 (m, 2H, Imidazo[4,5-*b*]pyridin: 2x CH); 8,73-8,79 (m, 2H, 2x Ar-H); 9,32 (br s, 0,7H, -NH-OH); 9,84 (br s, 0,3H, -NH-OH); 10,80 (s, 0,3H, -NH-OH); 11,27 (s, 0,7H, -NH-OH); HRMS *m/z*: 269,1028 [M+H]⁺; berechnet für C₁₄H₁₃N₄O₂⁺: 269,1033; HPLC (Gradient A): rt 6,61 min (>99%).

2-(2-Phenylindazol-3-yl)ethanhydroxamsäure (7h)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(2-phenylindazol-3-yl)acetat (**78**; 32 mg; 0,12 mmol), NaOCH₃ (5 N; 144 µl; 0,72 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (25 mg; 0,36 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 18 mg (56%); Aussehen: hellgelber Feststoff; ESI-MS *m/z*: 268,1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,83 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 4,15 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 7,08-7,11 (m, 1H, Indazol: CH); 7,30-7,34 (m, 1H, Ar-H); 7,55-7,66 (m, 4H, 4x Ar-H); 7,72-7,78 (m, 3H, Indazol: 3x CH); 10,21 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,86 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS *m/z*: 268,1097 [M+H]⁺; berechnet für C₁₅H₁₄N₃O₂⁺: 268,1081; HPLC (Gradient A): rt 9,49 min (>99%).

9.1.3 3,4,5-substituierte PyrazolderivateZwischenprodukte**Methyl-4-(1,3-benzodioxol-5-yl)-4-oxo-butanoat (94a)**

Die Verbindung wird ausgehend von 3,4-(Methylenedioxy)acetophenon (**80a**; 1642 mg; 19 mmol), DMPU (4,4 ml; 36 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 12ml; 12 mmol) und Bromessigsäuremethylester (1,4 ml; 15 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 11 dargestellt. Ausbeute: 1420 mg (60%); ESI-MS *m/z*: 205,1 [M-CH₃O]⁺, 259,2 [M+Na]⁺; HPLC (Gradient A): rt 13,92 min (>99%).

¹ Die Verbindung liegt als einfaches TFA-Salz vor.

Methyl-3-(4-*tert*-butoxy-4-oxo-butanoyl)benzoat (94b)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-acetylbenzoat (**80b**; 2112 mg; 11,85 mmol), DMPU (5,2 ml; 42,67 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 14,2 ml; 14,22 mmol) und Bromessigsäure-*tert*-butylester (2,6 ml; 17,78 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 11 dargestellt. Ausbeute: 2800 mg (81%); ESI-MS m/z: 219,0 [M-C₄H₉O]⁺, 315,1 [M+Na]⁺.

Methyl-4-(4-*tert*-butoxy-4-oxo-butanoyl)benzoat (94c)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-4-acetylbenzoat (**80c**; 1580 mg; 8,87 mmol), DMPU (3,9 ml; 31,92 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 10,6 ml; 10,64 mmol) und Bromessigsäure-*tert*-butylester (2,0 ml; 13,30 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 11 dargestellt und ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet. Ausbeute: 2593 mg (100%); ESI-MS m/z: 129,1 DMPU, 192,0 [M-C₅H₉O₂]⁺.

***tert*-Butyl-4-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxyphenyl)-4-oxobutanoat (94d)**

Die Verbindung wird ausgehend von 4-Chloro-2-fluoro-3-methoxyacetophenon (**80d**; 1013 mg; 5 mmol), DMPU (2,2 ml; 18 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 6 ml; 6 mmol) und Bromessigsäure-*tert*-butylester (1,1 ml; 7,5 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 11 dargestellt und weitere Aufreinigung weiterverwendet. Ausbeute: 1584 mg (100%); ESI-MS m/z: 129,1 DMPU, 301,1 [M-CH₃]⁺.

4-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-4-oxo-butansäure (95a)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-4-(1,3-benzodioxol-5-yl)-4-oxo-butanoat (**94a**; 1420 mg; 6 mmol) und Lithiumhydroxid Monohydrate (504 mg; 12 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 12 Methode A dargestellt. Ausbeute: 1320 mg (99%); ESI-MS m/z: 205 [M-OH]⁺, 245,1 [M+Na]⁺.

4-(3-Methoxycarbonylphenyl)-4-oxo-butansäure (95b)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(4-*tert*-butoxy-4-oxo-butanoyl)benzoat (**94b**; 2800 mg; 9,58 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 12 Methode B dargestellt. Ausbeute: 2240 mg (99%); APCI-MS m/z: 219,1 [M-OH]⁺, 259,1 [M+Na]⁺.

4-(4-Methoxycarbonylphenyl)-4-oxo-butansäure (95c)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-4-(4-*tert*-butoxy-4-oxo-butanoyl)benzoat (**94c**; 2593 mg; 8,87 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 12 Methode B dargestellt. Ausbeute: 1780 mg (85%); APCI-MS m/z: 219,3 [M-OH]⁺, 237,3 [M+H]⁺.

4-(4-Chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-4-oxo-butansäure (95d)

Die Verbindung wird ausgehend von *tert*-Butyl-4-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxyphenyl)-4-oxobutanoat (**94d**; 1584 mg; 5 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 12 Methode B dargestellt. Ausbeute: 930 mg (71%); APCI-MS *m/z*: 245,2 [M-CH₃]⁺.

***N*-(Benzyloxy)-4-oxo-4-phenyl-butanamid (96a)**

Die Verbindung wird ausgehend von 3-Benzoylpropionsäure (**59**; 2673 mg; 15 mmol), TBTU (4816 mg; 15 mmol), DIPEA (8,4 ml; 48 mmol) und *O*-Benzyloxyhydroxylamin Hydrochlorid (2394 mg; 15 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 13 dargestellt. Ausbeute: 2800 mg (66%); ESI-MS *m/z*: 161,1 [M-C₇H₈NO]⁺, 306,2 [M+Na]⁺; HPLC (Gradient A): *rt* 14,59 min und 14,64 min (>99%).

4-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-*N*-benzyloxy-4-oxo-butanamid (96b)

Die Verbindung wird ausgehend von 4-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-4-oxo-butansäure (**95a**; 1320 mg; 5,9 mmol), TBTU (1907 mg; 5,9 mmol), DIPEA (3,2 ml; 19,0 mmol) und *O*-Benzyloxyhydroxylamin Hydrochlorid (948 mg; 5,9 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 13 dargestellt. Ausbeute: 1486 mg (76%); ESI-MS *m/z*: 350,3 [M+Na]⁺; HPLC (Gradient A): *rt* 14,16 min und 14,37 min (77,8%).

Methyl-3-[4-(benzyloxyamino)-4-oxo-butanoyl]benzoat (96c)

Die Verbindung wird ausgehend von 4-(3-Methoxycarbonylphenyl)-4-oxobutansäure (**95b**; 2240 mg; 9,5 mmol), TBTU (3047 mg; 9,5 mmol), DIPEA (5,3 ml; 30,4 mmol) und *O*-Benzyloxyhydroxylamin Hydrochlorid (1516 mg; 9,5 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 13 dargestellt. Ausbeute: 2545 mg (78%); ESI-MS *m/z*: 364,3 [M+Na]⁺; HPLC (Gradient A): *rt* 14,51 und 14,77 min (79,9%).

Methyl-4-[4-(benzyloxyamino)-4-oxo-butanoyl]benzoat (96d)

Die Verbindung wird ausgehend von 4-(4-Methoxycarbonylphenyl)-4-oxobutansäure (**95c**; 1780 mg; 7,5 mmol), TBTU (2420 mg; 7,5 mmol), DIPEA (4,2 ml; 24,1 mmol) und *O*-Benzyloxyhydroxylamin Hydrochlorid (1203 mg; 7,5 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 13 dargestellt. Ausbeute: 1240 mg (48%); ESI-MS *m/z*: 364,1 [M+Na]⁺; HPLC (Gradient A): *rt* 14,51 min und 14,96 min (78,9%).

***N*-Benzyloxy-4-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-4-oxo-butanamid (96e)**

Die Verbindung wird ausgehend von 4-(4-Chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-4-oxo-butansäure (**95d**; 930 mg; 3,6 mmol), TBTU (1146 mg; 3,6 mmol), DIPEA (2 ml; 11,4 mmol) und

O-Benzyloxyamin Hydrochlorid (569 mg; 3,6 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 13 dargestellt. Ausbeute: 650 mg (50%); ESI-MS *m/z*: 388,3 [M+Na]⁺; HPLC (Gradient A): *rt* 16,61 min und 16,99 min (76,4%).

***N*-Benzyloxy-2-(3-methyl-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetamid (98a)**

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-4-oxo-4-phenyl-butanamid (**96a**; 567 mg; 2 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,2 ml; 4,2 mmol), Acetylchlorid (**97a**; 122 µl; 1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,7 ml; 34,3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode A dargestellt. Ausbeute: 112 mg (34%); ESI-MS *m/z*: 322,3 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): *rt* 11,97 min (80,1%).

***N*-Benzyloxy-2-(3-benzyl-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetamid (98b)**

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-4-oxo-4-phenyl-butanamid (**96a**; 567 mg; 2 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,2 ml; 4,2 mmol), Phenylacetylchlorid (**97b**; 132 µl; 1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,7 ml; 34,3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode A dargestellt. Ausbeute: 102 mg (26%); ESI-MS *m/z*: 398,2 [M+H]⁺.

***N*-Benzyloxy-2-(3-cyclopentyl-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetamid (98c)**

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-4-oxo-4-phenyl-butanamid (**96a**; 567 mg; 2 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,2 ml; 4,2 mmol), Cyclopentancarbonsäurechlorid (**97c**; 122 µl; 1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,7 ml; 34,3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode A dargestellt. Ausbeute: 205 mg (54%); ESI-MS *m/z*: 376,4 [M+H]⁺.

***N*-Benzyloxy-2-[3-(3-methoxyphenyl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]acetamid (98d)**

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-4-oxo-4-phenyl-butanamid (**96a**; 567 mg; 2 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,2 ml; 4,2 mmol), 3-Methoxybenzoylchlorid (**97d**; 135 µl; 1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,7 ml; 34,3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode A dargestellt. Ausbeute: 226 mg (55%); ESI-MS *m/z*: 414,2 [M+H]⁺.

***N*-Benzyloxy-2-[3-(4-methoxyphenyl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]acetamid (98e)**

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-4-oxo-4-phenyl-butanamid (**96a**; 567 mg; 2 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,2 ml; 4,2 mmol), 4-Methoxybenzoylchlorid (**97e**; 135 µl; 1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,7 ml; 34,3 mmol) entsprechend der allgemeinen

Arbeitsvorschrift 14 Methode A dargestellt. Ausbeute: 305 mg (74%); ESI-MS m/z: 414,2 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 15,57 min (>99%).

2-[3-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]-N-benzyloxy-acetamid (98f)

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-4-oxo-4-phenyl-butanamid (**96a**; 567 mg; 2 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,2 ml; 4,2 mmol), Piperonylchlorid (**97f**; 185 mg; 1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,7 ml; 34,3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode A dargestellt. Ausbeute: 139 mg (32%); ESI-MS m/z: 426,3 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 15,60 min (98,4%).

***N*-Benzyloxy-2-[3-(3,4-dimethoxyphenyl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]acetamid (98g)**

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-4-oxo-4-phenyl-butanamid (**96a**; 567 mg; 2 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,2 ml; 4,2 mmol), 3,4-Dimethoxybenzoesäure (**97g**; 182 mg; 1 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (178 mg; 1,1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,7 ml; 34,3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 170 mg (38%); ESI-MS m/z: 444,3 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 14,93 min (92,5%).

***N*-Benzyloxy-2-[3-(3-cyanophenyl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]acetamid (98h)**

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-4-oxo-4-phenyl-butanamid (**96a**; 567 mg; 2 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,2 ml; 4,2 mmol), 3-Cyanobenzoesäure (**97h**; 147 mg; 1 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (178 mg; 1,1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,7 ml; 34,3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 83 mg (20%); ESI-MS m/z: 91,1 Benzyl-Fragment, 409,2 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 15,76 min (90,1%).

***N*-Benzyloxy-2-[3-(4-cyanophenyl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]acetamid (98i)**

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-4-oxo-4-phenyl-butanamid (**96a**; 567 mg; 2 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,2 ml; 4,2 mmol), 4-Cyanobenzoesäure (**97i**; 147 mg; 1 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (178 mg; 1,1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,7 ml; 34,3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 84 mg (21%); ESI-MS m/z: 409,4 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 15,71 min (93,4%).

Methyl-3-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-phenyl-1H-pyrazol-3-yl]benzoat (98j)

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-4-oxo-4-phenyl-butanamid (**96a**; 567 mg; 2 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,2 ml; 4,2 mmol), Methylhydrogenisophthalat (**97j**; 180 mg; 1 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (178 mg; 1,1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,7 ml; 34,3

mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 117 mg (27%); ESI-MS m/z: 442,3 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 15,97 min (81,5%).

Methyl-4-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-phenyl-1H-pyrazol-3-yl]benzoat (98k)

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-4-oxo-4-phenyl-butanamid (**96a**; 567 mg; 2 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,2 ml; 4,2 mmol), Methylhydrogenterephthalat (**97k**; 180 mg; 1 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (178 mg; 1,1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,7 ml; 34,3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 396 mg (90%); ESI-MS m/z: 91,1 Benzyl-Fragment, 442,2 [M+H]⁺.

***N*-Benzyloxy-2-[3-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]-acetamid (98l)**

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-4-oxo-4-phenyl-butanamid (**96a**; 567 mg; 2 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,2 ml; 4,2 mmol), 4-Chloro-2-fluoro-3-methoxybenzoesäure (**97l**; 205 mg; 1 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (178 mg; 1,1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,7 ml; 34,3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 80 mg (17%); ESI-MS m/z: 466,4 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 17,15 min (85,6%).

***N*-Benzyloxy-2-[3-(3-chloro-5-fluoro-4-methoxy-phenyl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]-acetamid (98m)**

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-4-oxo-4-phenyl-butanamid (**96a**; 567 mg; 2 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,2 ml; 4,2 mmol), 3-Chloro-5-fluoro-4-methoxybenzoesäure (**97m**; 205 mg; 1 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (178 mg; 1,1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,7 ml; 34,3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 100 mg (22%); ESI-MS m/z: 466,4 [M+H]⁺.

***N*-Benzyloxy-2-[3-(3-benzyloxyisoxazol-5-yl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]acetamid (98n)**

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-4-oxo-4-phenyl-butanamid (**96a**; 742 mg; 2,62 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 5,5 ml; 5,5 mmol), 3-Benzyloxyisoxazol-5-carbonsäure (**97n**; 290 mg; 1,32 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (234 mg; 1,44 mmol) und Hydrazin Monohydrat (2,2 ml; 44,78 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 100 mg (16%); APCI-MS m/z: 91,8 Benzyl-Fragment, 482,9 [M+H]⁺.

***N*-Benzyloxy-2-[3-[1-*tert*-butyl-3-(trifluoromethyl)pyrazol-4-yl]-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]acetamid (98o)**

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-4-oxo-4-phenyl-butanamid (**96a**; 626 mg; 2,21 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,6 ml; 4,64 mmol), 1-*tert*-Butyl-3-(trifluoromethyl)pyrazol-4-carbonsäure (**97o**; 261 mg; 1,11 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (197 mg; 1,22 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,8 ml; 37,90 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 120 mg (22%); ESI-MS *m/z*: 498,4 [M+H]⁺.

***N*-Benzyloxy-2-[3-[3-[1-[(4-methoxyphenyl)methyl]tetrazol-5-yl]phenyl]-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]acetamid (98p)**

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-4-oxo-4-phenyl-butanamid (**96a**; 567 mg; 2 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,2 ml; 4,2 mmol), 3-[1-[(4-Methoxyphenyl)methyl]tetrazol-5-yl]benzoesäure (**97p**; 310 mg; 1 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (178 mg; 1,1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,7 ml; 34,3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 188 mg (33%); ESI-MS *m/z*: 572,2 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): *rt* 18,32 min (94,1%).

***cis*-2-[4-[2-(Benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-phenyl-1H-pyrazol-3-yl]cyclohexancarbonsäure (98q)**

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-4-oxo-4-phenyl-butanamid (**96a**; 567 mg; 2 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,2 ml; 4,2 mmol), *cis*-1,2-Cyclohexandicarbonsäureanhydrid (**97q**; 154 mg; 1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,7 ml; 34,3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode A dargestellt. Ausbeute: 147 mg (34%); ESI-MS *m/z*: 434,2 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): *rt* 14,43 min (89,7%).

Methyl-3-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-phenyl-1H-pyrazol-3-yl]cyclohexancarboxylat (98r)

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-4-oxo-4-phenyl-butanamid (**96a**; 567 mg; 2 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,2 ml; 4,2 mmol), 3-(Methoxycarbonyl)-cyclohexancarbonsäure (**97r**; 186 mg; 1 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (178 mg; 1,1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,7 ml; 34,3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 175 mg (39%); ESI-MS *m/z*: 448,4 [M+H]⁺.

***trans*-Methyl-4-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-phenyl-1H-pyrazol-3-yl]cyclohexancarboxylat (98s)**

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-4-oxo-4-phenyl-butanamid (**96a**; 567 mg; 2 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,2 ml; 4,2 mmol), *trans*-4-Methoxycarbonylcyclohexancarbonsäure (**97s**; 186 mg; 1 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (178 mg; 1,1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,7 ml; 34,3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 85 mg (19%); ESI-MS *m/z*: 448,2 [M+H]⁺.

***cis*-Methyl-4-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-phenyl-1H-pyrazol-3-yl]cyclohexancarboxylat (98t)**

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-4-oxo-4-phenyl-butanamid (**96a**; 567 mg; 2 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,2 ml; 4,2 mmol), *cis*-4-Methoxycarbonylcyclohexancarbonsäure (**97t**; 186 mg; 1 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (178 mg; 1,1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,7 ml; 34,3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 103 mg (23%); ESI-MS *m/z*: 448,3 [M+H]⁺.

***N*-Benzyloxy-2-[3,5-bis(1,3-benzodioxol-5-yl)-1H-pyrazol-4-yl]acetamid (99a)**

Die Verbindung wird ausgehend von 4-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-*N*-benzyloxy-4-oxo-butanamid (**96b**; 715 mg; 2,18 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,6 ml; 4,58 mmol), Piperonylchlorid (**97f**; 202 mg; 1,09 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,8 ml; 37,46 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode A dargestellt. Ausbeute: 290 mg (56%); ESI-MS *m/z*: 472,3 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): *rt* 15,52 min (81,7%).

Methyl-3-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-3-(3-methoxycarbonylphenyl)-1H-pyrazol-5-yl]benzoat (99b)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[4-(benzyloxyamino)-4-oxo-butanoyl]benzoat (**96c**; 650 mg; 1,91 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4 ml; 4 mmol), Methylhydrogenisophthalat (**97j**; 172 mg; 0,95 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (170 mg; 1,05 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,6 ml; 32,7 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 150 mg (16%); ESI-MS *m/z*: 500,6 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): *rt* 16,19 min (78,7%).

Methyl-4-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-3-(4-methoxycarbonylphenyl)-1H-pyrazol-5-yl]benzoat (99c)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-4-[4-(benzyloxyamino)-4-oxo-butanoyl]benzoat (**96d**; 400 mg; 1,17 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 2,5 ml; 2,46 mmol), Methylhydrogenterephthalat (**97k**; 106 mg; 0,59 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (105 mg; 0,64 mmol) und Hydrazin Monohydrat (0,98 ml; 20,10 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 100 mg (34%); ESI-MS m/z: 500,2 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 16,08 min (>99%).

N-Benzyloxy-2-[3,5-bis(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-1H-pyrazol-4-yl]acetamid (99d)

Die Verbindung wird ausgehend von N-Benzyloxy-4-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-4-oxo-butanamid (**96e**; 650 mg; 1,78 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 3,7 ml; 3,73 mmol), 4-Chloro-2-fluoro-3-methoxybenzoesäure (**97l**; 182 mg; 0,89 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (158 mg; 0,98 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,5 ml; 30,48 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 50 mg (10%); ESI-MS m/z: 549,0 [M+H]⁺.

Methyl-3-[3-(1,3-benzodioxol-5-yl)-4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-1H-pyrazol-5-yl]benzoat (99e)

Die Verbindung wird ausgehend von 4-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-N-benzyloxy-4-oxo-butanamid (**96b**; 740 mg; 2,26 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,8 ml; 4,81 mmol), Methylhydrogenisophthalat (**97j**; 206 mg; 1,15 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (204 mg; 1,26 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,9 ml; 39,29 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 180 mg (37%); ESI-MS m/z: 91,2 Benzyl-Fragment, 486,5 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 15,84 min (96,7%).

Methyl-4-[3-(1,3-benzodioxol-5-yl)-4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-1H-pyrazol-5-yl]benzoat (99f)

Die Verbindung wird ausgehend von 4-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-N-benzyloxy-4-oxo-butanamid (**96b**; 740 mg; 2,26 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,8 ml; 4,81 mmol), Methylhydrogenterephthalat (**97k**; 206 mg; 1,15 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (204 mg; 1,26 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,9 ml; 39,29 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 160 mg (33%); ESI-MS m/z: 486,6 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 15,81 min (92,5%).

Methyl-3-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-3-(4-methoxycarbonylphenyl)-1H-pyrazol-5-yl]benzoat (99g)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-4-[4-(benzyloxyamino)-4-oxo-butanoyl]benzoat (**96d**; 620 mg; 1,82 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 3,8 ml; 3,81 mmol), Methylhydrogenisophthalate (**97j**; 164 mg; 0,91 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (162 mg; 1mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,5 ml; 31,15 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 50 mg (11%); ESI-MS m/z: 500,3 [M+H]⁺, 522,3 [M+Na]⁺; HPLC (Gradient A): rt 16,16 min (85,1%).

Methyl-4-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-1H-pyrazol-3-yl]benzoat (99h)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-4-[4-(benzyloxyamino)-4-oxo-butanoyl]benzoat (**96d**; 620 mg; 1,82 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 3,8 ml; 3,81 mmol), 4-Chloro-2-fluoro-3-methoxybenzoesäure (**97l**; 186 mg; 0,91 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (162 mg; 1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,5 ml; 31,15 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 60 mg (13%); ESI-MS m/z: 91,1 Benzyl-Fragment, 524,3 [M+H]⁺.

Methyl-3-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-1H-pyrazol-3-yl]benzoat (99i)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[4-(benzyloxyamino)-4-oxo-butanoyl]benzoat (**96c**; 540 mg; 1,58 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 3,3 ml; 3,32 mmol), 4-Chloro-2-fluoro-3-methoxybenzoesäure (**97l**; 162 mg; 0,79 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (141 mg; 0,87 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,3 ml; 27,13 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 30 mg (7%); ESI-MS m/z: 524,5 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 17,36 min (72,8%).

Methyl-3-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-(3-chloro-5-fluoro-4-methoxy-phenyl)-1H-pyrazol-3-yl]benzoat (99j)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[4-(benzyloxyamino)-4-oxo-butanoyl]benzoat (**96c**; 540 mg; 1,58 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 3,3 ml; 3,32 mmol), 3-Chloro-5-fluoro-4-methoxybenzoesäure (**97m**; 162 mg; 0,79 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (141 mg; 0,87 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,3 ml; 27,13 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 90 mg (22%); ESI-MS m/z: 91,2 Benzyl-Fragment, 524,6 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 17,92 min (96,3%).

***cis*-2-[4-[2-(Benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-(3-methoxycarbonylphenyl)-1H-pyrazol-3-yl]cyclohexancarbonsäure (99k)**

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[4-(benzyloxyamino)-4-oxo-butanoyl]benzoat (**96c**; 683 mg; 2 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,2 ml; 4,2 mmol), *cis*-1,2-Cyclohexandicarbonsäureanhydrid (**97q**; 154 mg; 1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,7 ml; 34,3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode A dargestellt. Ausbeute: 154 mg (21%); ESI-MS *m/z*: 492,6 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): *rt* 14,85 min (79,4%).

Methyl-3-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-3-(*trans*-4-methoxycarbonylcyclohexyl)-1H-pyrazol-5-yl]benzoat (99l)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[4-(benzyloxyamino)-4-oxo-butanoyl]benzoat (**96c**; 683 mg; 2 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,2 ml; 4,2 mmol), *trans*-4-Methoxycarbonylcyclohexancarbonsäure (**97s**; 186 mg; 1 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (178 mg; 1,1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,7 ml; 34,3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 216 mg (43%); ESI-MS *m/z*: 506,4 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): *rt* 15,31 min (81,6%).

Methyl-3-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-3-(*cis*-4-methoxycarbonylcyclohexyl)-1H-pyrazol-5-yl]benzoat (99m)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[4-(benzyloxyamino)-4-oxo-butanoyl]benzoat (**96c**; 683 mg; 2 mmol), LiHMDS (1 M in THF; 4,2 ml; 4,2 mmol), *cis*-4-Methoxycarbonylcyclohexancarbonsäure (**97t**; 186 mg; 1 mmol), 1,1'-Carbonyldiimidazol (178 mg; 1,1 mmol) und Hydrazin Monohydrat (1,7 ml; 34,3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 14 Methode B dargestellt. Ausbeute: 185 mg (37%); ESI-MS *m/z*: 506,4 [M+H]⁺.

Endverbindungen**2-(3-Methyl-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl)ethanhydroxamsäure (100a)**

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-2-(3-methyl-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetamid (**98a**; 112 mg; 0,35 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 697 µl; 0,7 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 22 mg (27%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS *m/z*: 232,2 [M+H]⁺, 171,1 C₁₁H₁₁N₂⁺-Fragment, 254,3 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 2,20 (s, 3H, -CH₃); 3,21 (s, 1,9H, -CO-CH₂-); 3,55 (br s, 0,1 H, -CO-CH₂-); 7,34-7,38 (m, 1H, Ar-H); 7,44 (t, 2H, ³J=7,3 Hz, 2x Ar-H); 7,65-7,67 (m, 2H, 2x Ar-H); 10,58 (br s, 1H, -NH-OH); HRMS *m/z*: 232,1076 [M+H]⁺; berechnet für C₁₂H₁₄N₃O₂⁺: 232,1081; HPLC (Gradient A): *rt* 6,56 min (>99%).

2-(3-Benzyl-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl)ethanhydroxamsäure (100b)

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-2-(3-benzyl-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetamid (**98b**; 102 mg; 0,26 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 770 µl; 0,77 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 24 mg (30%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS *m/z*: 308,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,21 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,54 (br s, 0,2H, *cis-trans*-Isomere); 3,96 (s, 2H, -CH₂-Ar); 7,17-7,22 (m, 1H, Ar-H); 7,26-7,29 (m, 4H, 4x Ar-H); 7,34-7,37 (m, 1H, Ar-H); 7,43 (t, 2H, ³J=7,6 Hz, 2x Ar-H); 7,66-7,68 (m, 2H, 2x Ar-H); 9,98 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,61 (br s, 0,9H, -NH-OH); HRMS *m/z*: 308,1389 [M+H]⁺; berechnet für C₁₈H₁₈N₃O₂⁺: 308,1394; HPLC (Gradient A): rt 10,43 min (>99%).

2-(3-Cyclopentyl-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl)ethanhydroxamsäure (100c)

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-2-(3-cyclopentyl-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetamid (**98c**; 205 mg; 0,55 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 1,6 ml; 1,64 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 49 mg (31%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS *m/z*: 286,2 [M+H]⁺, 308,2 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,60-1,71 (m, 4H, Cyclopentan: 4x CH); 1,74-1,78 (m, 2H, Cyclopentan: 2x CH); 1,93-2,00 (m, 2H, Cyclopentan: 2x CH); 3,05-3,13 (m, 1H, Cyclopentan: CH); 3,22 (s, 1,9H, -CO-CH₂-); 3,56 (br s, 0,1H, -CO-CH₂-); 7,34-7,38 (m, 1H, Ar-H); 7,43 (t, 2H, ³J=7,3 Hz, 2x Ar-H); 7,67 (d, 2H, ³J=7,3 Hz, 2x Ar-H); 9,96 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,56 (br s, 0,9H, -NH-OH); HRMS *m/z*: 286,1545 [M+H]⁺; berechnet für C₁₆H₂₀N₃O₂⁺: 286,1550; HPLC (Gradient A): rt 9,07 min (>99%).

2-[3-(3-Methoxyphenyl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (100d)

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-2-[3-(3-methoxyphenyl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]acetamid (**98d**; 226 mg; 0,55 mmol) und Pd/C (10%; 30 mg; 0,03 mmol) entsprechend allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 der Methode C dargestellt. Ausbeute: 145 mg (82%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS *m/z*: 324,3 [M+H]⁺, 346,3 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,32 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,63 (br s, 0,2H, -CO-CH₂-); 3,81 (s, 3H, -OCH₃); 6,95-6,98 (m, 1H, Ar-H); 7,20-7,22 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,36-7,42 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,47 (t, 2H, ³J=7,5 Hz, 2x Ar-H); 7,64-7,65 (m, 2H, 2x Ar-H); 10,12 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,63 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS *m/z*: 324,1341 [M+H]⁺; berechnet für C₁₈H₁₈N₃O₃⁺: 324,1343; HPLC (Gradient A): rt 10,69 min (97,9%).

2-[3-(4-Methoxyphenyl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (100e)

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-2-[3-(4-methoxyphenyl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]acetamid (**98e**; 305 mg; 0,74 mmol) und Pd/C (10%; 40 mg; 0,04 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode C dargestellt. Ausbeute: 114 mg (48%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS *m/z*: 324,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,29 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,60 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 3,81 (s, 3H, -OCH₃); 7,03 (d, 2H, ³J=8,7 Hz, 2x Ar-H); 7,37-7,41 (m, 1H, Ar-H); 7,46 (t, 2H, ³J=7,6 Hz, 2x Ar-H); 7,57 (d, 2H, ³J=8,7 Hz, 2x Ar-H); 7,63-7,65 (m, 2H, 2x Ar-H); 10,08 (br, 0,1H, -NH-OH); 10,60 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS *m/z*: 324,1340 [M+H]⁺; berechnet für C₁₈H₁₈N₃O₃⁺: 324,1343; HPLC (Gradient A): *rt* 10,37 min (97,8%).

2-[3-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (100f)

Die Verbindung wird ausgehend von 2-[3-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]-*N*-benzyloxy-acetamid (**98f**; 139 mg; 0,33 mmol) und Pd/C (10%; 17 mg; 0,02 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode C dargestellt. Ausbeute: 45 mg (41%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS *m/z*: 338,2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,29 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,59 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 6,08 (s, 2H, -O-CH₂-O-); 7,00-7,02 (m, 1H, Ar-H); 7,11-7,14 (m, 1H, Ar-H); 7,20-7,21 (m, 1H, Ar-H); 7,37-7,41 (m, 1H, Ar-H); 7,47 (t, 2H, ³J=7,6 Hz, 2x Ar-H); 7,61-7,63 (m, 2H, 2x Ar-H); 10,11 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,62 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS *m/z*: 338,1133 [M+H]⁺; berechnet für C₁₈H₁₆N₃O₄⁺: 338,1135; HPLC (Gradient A): *rt* 10,40 min (98,1%).

2-[3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (100g)

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-2-[3-(3,4-dimethoxyphenyl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]acetamid (**98g**; 120 mg; 0,27 mmol) und Pd/C (10%; 14 mg; 0,01 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode C dargestellt. Ausbeute: 49 mg (52%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS *m/z*: 354,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,30 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,61 (br s, 0,2H, -CO-CH₂-); 3,80-3,81 (m, 6H, 2x -OCH₃); 7,03-7,06 (m, 1H, Ar-H); 7,15-7,17 (m, 1H, Ar-H); 7,23-7,24 (m, 1H, Ar-H); 7,37-7,41 (m, 1H, Ar-H); 7,47 (t, 2H, ³J=7,7 Hz, 2x Ar-H); 7,66 (d, 2H, ³J=7,6 Hz, 2x Ar-H); 10,13 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,63 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS *m/z*: 354,1444 [M+H]⁺; berechnet für C₁₉H₂₀N₃O₄⁺: 354,1448; HPLC (Gradient A): *rt* 9,95 min (98,6%).

2-[3-(3-Cyanophenyl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (100h)

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-2-[3-(3-cyanophenyl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]acetamid (**98h**; 83 mg; 0,20 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 610 μl; 0,61 mmol) entsprechend

der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 25 mg (39%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z : 319,2 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,36 (s, 1,8H, -CO- CH_2 -); 3,66 (br s, 0,2H, -CO- CH_2 -); 7,42-7,45 (m, 1H, Ar-H); 7,50 (t, 2H, $^3J=7,6$ Hz, 2x Ar-H); 7,61-7,64 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,66-7,71 (m, 1H, Ar-H); 7,86 (d, 1H, $^3J=7,7$ Hz, Ar-H); 8,02 (d, 1H, $^3J=7,8$ Hz, Ar-H); 8,12 (s, Ar-H); 10,18 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,69 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z : 319,1186 $[M+H]^+$; berechnet für $C_{18}H_{15}N_4O_2^+$: 319,1190; HPLC (Gradient A): rt 10,48 min (95,6%).

2-[3-(4-Cyanophenyl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (100i)

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-2-[3-(4-cyanophenyl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]acetamid (**98i**; 84 mg; 0,21 mmol) und BBr_3 (1 M in DCM; 617 μ l; 0,62 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 27 mg (42%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z : 319,2 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,36 (s, 1,8H, -CO- CH_2 -); 3,67 (br s, 0,2H, -CO- CH_2 -); 7,42-7,45 (m, 1H, Ar-H); 7,50 (t, 2H, $^3J=7,6$ Hz, 2x Ar-H); 7,62 (d, 2H, $^3J=7,7$ Hz, 2x Ar-H); 7,88-7,94 (m, 4H, 4x Ar-H); 10,15 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,68 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z : 319,1185 $[M+H]^+$; berechnet für $C_{18}H_{15}N_4O_2^+$: 319,1190; HPLC (Gradient A): rt 10,56 min (>99%).

3-[4-[2-(Hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-phenyl-1H-pyrazol-3-yl]benzoesäure (100k)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-phenyl-1H-pyrazol-3-yl]benzoat (**98k**; 117 mg; 0,27 mmol) und BBr_3 (1 M in DCM; 2,7 ml; 2,66 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 5 mg (6%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z : 338,2 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,35 (s, 1,7H, -CO- CH_2 -); 3,65 (br s, 0,3H, -CO- CH_2 -); 7,40-7,43 (m, 1H, Ar-H); 7,49 (t, 2H, $^3J=7,6$ Hz, 2x Ar-H); 7,57-7,65 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,89 (d, 1H, $^3J=7,8$ Hz, Ar-H); 7,96 (d, 1H, $^3J=7,8$ Hz, Ar-H); 8,27 (s, 1H, Ar-H); 10,12 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,61 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z : 338,1134 $[M+H]^+$; berechnet für $C_{18}H_{16}N_3O_4^+$: 338,1135; HPLC (Gradient A): rt 9,39 min (95,8%).

4-[4-[2-(Hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-phenyl-1H-pyrazol-3-yl]benzoesäure (100l)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-4-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-phenyl-1H-pyrazol-3-yl]benzoat (**98l**; 396 mg; 0,90 mmol) und BBr_3 (1 M in DCM; 9 ml; 8,97 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 16 mg (5%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z : 338,3 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,36 (1,8H, -CO- CH_2 -); 3,67 (0,2H, -CO- CH_2 -); 7,41-7,44 (m, 1H, Ar-H); 7,49 (t, 2H, $^3J=7,5$ Hz, 2x Ar-H); 7,65 (d, 2H, $^3J=7,6$ Hz, 2x Ar-H); 7,79 (d, 2H, $^3J=8,1$ Hz, 2x Ar-H);

8,01-8,05 (m, 2H, 2x Ar-H); 8,91 (br s, 0,7H, -NH-OH); 9,26 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,13 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,66 (s, 0,9H, -NH-OH); 13,16 (br s, 1H, -COOH); HRMS m/z: 338,1134 [M+H]⁺; berechnet für C₁₈H₁₆N₃O₄⁺: 338,1135; HPLC (Gradient A): rt 9,41 min (95,5%).

2-[3-(4-Chloro-2-fluoro-3-hydroxyphenyl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (100m)

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-2-[3-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]acetamid (**98m**; 80 mg; 0,17 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 1 ml; 1,03 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 28 mg (45%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 362,2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,24 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,55 (br s, 0,2H, -CO-CH₂-); 7,00 (t, 1H, ³J=7,8 Hz, Ar-H); 7,26-7,29 (m, 1H, Ar-H); 7,38-7,42 (m, 1H, Ar-H); 7,47 (t, 2H, ³J=7,3 Hz, 2x Ar-H); 7,66 (d, 2H, ³J=7,3 Hz, 2x Ar-H); 9,92 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,45 (br s, 1,9H, Ar-OH + -NH-OH); HRMS m/z: 362,0699 [M+H]⁺; berechnet für C₁₇H₁₄ClFN₃O₃⁺: 362,0702; HPLC (Gradient A): rt 10,32 min (97,0%).

2-[3-(3-Chloro-5-fluoro-4-hydroxyphenyl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (100n)

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-2-[3-(3-chloro-5-fluoro-4-methoxy-phenyl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]acetamid (**98n**; 100 mg; 0,21 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 1,3 ml; 1,29 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 13 mg (17%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 362,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,30 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,61 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 7,39-7,44 (m, 1H, Ar-H); 7,46-7,52 (m, 4H, 4x Ar-H); 7,60 (d, 2H, ³J=7,3 Hz, 2x Ar-H); 10,18 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,57 (br s, 1H, Ar-OH); 10,69 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 362,0699 [M+H]⁺; berechnet für C₁₇H₁₄ClFN₃O₃⁺: 362,0702; HPLC (Gradient A): rt 10,51 min (95,9%).

2-[3-(3-Hydroxyisoxazol-5-yl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (100o)

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-2-[3-(3-benzyloxyisoxazol-5-yl)-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]acetamid (**98o**; 100 mg; 0,21 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 1,2 ml; 1,25 mmol) entsprechend der Methode A dargestellt. Ausbeute: 10 mg (16%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 301,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 3,44 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,76 (s, 0,2H, *cis-trans*-Isomere); 6,16-6,25 (m, 1H, Hydroxyisoxazol: CH); 7,43-7,47 (m, 1H, Ar-H); 7,49-7,53 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,61-7,63 (m, 2H, 2x Ar-H); 10,08 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,63 (s, 0,9H, -NH-OH); 11,37 (br s, 0,1H, Hydroxyisoxazol: OH); HRMS m/z: 301,0929 [M+H]⁺; berechnet für C₁₄H₁₃N₄O₄⁺: 301,0931; HPLC (Gradient A): rt 8,37 min (>99%).

2-[5-Phenyl-3-[3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-4-yl]-1H-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (100p)

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-2-[3-[1-*tert*-butyl-3-(trifluoromethyl)-pyrazol-4-yl]-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]acetamid (**98p**; 120 mg; 0,24 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 965 µl; 0,96 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 26 mg (30%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS *m/z*: 352,2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,21 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,52 (br s, 0,2H, -CO-CH₂-); 7,39-7,42 (m, 1H, Ar-H); 7,48 (t, 2H, ³J=7,7 Hz, 2x Ar-H); 7,64-7,66 (m, 2H, 2x Ar-H); 8,07 (s, 1H, Pyrazol: CH); 10,00 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,55 (s, 0,9H, -NH-OH); 13,77 (br s, 0,7H, Pyrazol: NH); HRMS *m/z*: 352,1013 [M+H]⁺; berechnet für C₁₅H₁₃F₃N₅O₂⁺: 352,1016; HPLC (Gradient A): *rt* 9,84 min (97,9%).

2-[5-Phenyl-3-[3-(1H-tetrazol-5-yl)phenyl]-1H-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (100r)

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-2-[3-[3-[1-[(4-methoxyphenyl)methyl]-tetrazol-5-yl]phenyl]-5-phenyl-1H-pyrazol-4-yl]acetamid (**98r**; 188 mg; 0,33 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 1,3 ml; 1,32 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 38 mg (32%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS: *m/z* 362,1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,40 (s, 1,7H, -CO-CH₂-); 3,66 (br s, 0,3H, -CO-CH₂-); 7,41-7,45 (m, 1H, Ar-H); 7,51 (t, 2H, ³J=7,5 Hz, 2x Ar-H); 7,64-7,72 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,86-7,88 (m, 1H, Ar-H); 8,04-8,06 (m, 1H, Ar-H); 8,37 (s, 1H, Ar-H); 10,11 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,62 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS *m/z*: 362,1356 [M+H]⁺; berechnet für C₁₈H₁₆N₇O₂⁺: 362,1360; HPLC (Gradient A): *rt* 9,47 min (>99%).

***cis*-2-[4-[2-(Hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-phenyl-1H-pyrazol-3-yl]cyclohexancarbonsäure (100t)**

Die Verbindung wird ausgehend von *cis*-2-[4-[2-(Benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-phenyl-1H-pyrazol-3-yl]cyclohexancarbonsäure (**98t**; 147 mg; 0,34 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 3,4 ml; 3,39 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 2 mg (2%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS: *m/z* 344,2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,35-1,40 (m, 3H, Cyclohexan: 3x CH); 1,60-1,63 (m, 1H, Cyclohexan: CH); 1,70-1,75 (m, 2,5H, Cyclohexan: 3x CH); 1,78-1,87 (m, 0,5H); 1,99-2,07 (m, 1H, Cyclohexan: CH); 2,18 (br s, 1H, Cyclohexan: CH); 2,67-2,74 (m, 1H, Cyclohexan: CH); 3,17-3,30 (m, 2H, -CO-CH₂-); 7,33-7,37 (m, 1H, Ar-H); 7,41-7,45 (m, 2H, Ar-H); 7,48-7,50 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 7,61-7,62 (m, 1,8H, 2x Ar-H); 10,53 (br s, 0,2H, -NH-OH); 10,59 (s,

0,8H, -NH-OH); HRMS m/z: 344,1599 [M+H]⁺; berechnet für C₁₈H₂₂N₃O₄⁺: 344,1605; HPLC (Gradient A): rt 9,01 min (95,6%).

3-[4-[2-(Hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-phenyl-1H-pyrazol-3-yl]cyclohexancarbonsäure (100v)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-phenyl-1H-pyrazol-3-yl]cyclohexancarboxylat (**98v**; 175 mg; 0,39 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 3,9 ml; 3,91 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 11 mg (8%); Aussehen: hellgelber Feststoff; ESI-MS: m/z 344,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,26-1,49 (m, 3H, Cyclohexan: 3x CH); 1,55-1,64 (m, 1H, Cyclohexan: CH); 1,79-1,85 (m, 2H, Cyclohexan: 2x CH); 1,92-2,01 (m, 2H, Cyclohexan: 2x CH); 2,32-2,38 (m, 1H, Cyclohexan: CH); 2,74-2,78 (m, Cyclohexan: CH); 3,22 (s, 2H, -CO-CH₂-); 7,33-7,37 (m, 1H, Ar-H); 7,43 (t, 2H, ³J=7,4 Hz, 2x Ar-H); 7,65-7,67 (m, 2H, 2x Ar-H); 9,99 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,67 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 344,1598 [M+H]⁺; berechnet für C₁₈H₂₂N₃O₄⁺: 344,1605; HPLC (Gradient A): rt 8,64 min (96,5%).

***trans*-4-[4-[2-(Hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-phenyl-1H-pyrazol-3-yl]cyclohexancarbonsäure (100w)**

Die Verbindung wird ausgehend von *trans*-Methyl-4-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-phenyl-1H-pyrazol-3-yl]cyclohexancarboxylat (**98w**; 85 mg; 0,19 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 1,9 ml; 1,90 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 8 mg (12%); Aussehen: hellbraunes viskoses Öl; ESI-MS: m/z 344,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,52-1,73 (m, 4H, Cyclohexan: 4x CH); 2,07-2,17 (m, 4H, Cyclohexan: 4x CH); 2,39-2,45 (m, 1H, Cyclohexan: -CH-COOH); 2,81-2,87 (m, 1H, Cyclohexan: CH); 3,42 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,79 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 7,45-7,54 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,58-7,59 (m, 0,2H, Ar-H); 7,63-7,66 (m, 1,8H, Ar-H); HRMS m/z: 344,1600 [M+H]⁺; berechnet für C₁₈H₂₂N₃O₄⁺: 344,1605; HPLC (Gradient A): rt 8,69 min (>99%).

***cis*-4-[4-[2-(Hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-phenyl-1H-pyrazol-3-yl]cyclohexancarbonsäure (100x)**

Die Verbindung wird ausgehend von *cis*-Methyl-4-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-phenyl-1H-pyrazol-3-yl]cyclohexancarboxylat (**98x**; 103 mg; 0,23 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 2,3 ml; 2,30 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 10 mg (13%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS: m/z 344,2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,40-1,66 (m, 5H, Cyclohexan: 5x CH); 1,83-1,87 (m, 1H, Cyclohexan: CH); 1,95-2,01 (m, 1H, Cyclohexan: CH); 2,10-2,13 (m, 1H, Cyclohexan: CH); 2,19-

2,25 (m, 0,5H, Cyclohexan: 2x CH); 2,60-2,71 (m, 1,5H, Cyclohexan: 2x CH); 3,19 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,53 (br s, 0,2H, -CO-CH₂-); 7,33-7,36 (m, 1H, Ar-H); 7,40-7,44 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,50-7,53 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 7,64-7,68 (m, 1,8H, 2x Ar-H); 9,98 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,59-10,62 (m, 1H, -NH-OH); HRMS m/z: 344,1598 [M+H]⁺; berechnet für C₁₈H₂₂N₃O₄⁺: 344,1605; HPLC (Gradient A): rt 8,80 min (>99%).

2-[3,5-Bis(1,3-benzodioxol-5-yl)-1H-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (101a)

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-2-[3,5-bis(1,3-benzodioxol-5-yl)-1H-pyrazol-4-yl]acetamid (**99a**; 290 mg; 0,62 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode C dargestellt. Ausbeute: 30 mg (13%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 382,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,26 (s, 1,9H, -CO-CH₂-); 3,56 (br s, 0,1H, -CO-CH₂-); 6,08 (s, 4H, 2x -O-CH₂-O-); 6,99-7,01 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,08-7,10 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,16-7,17 (m, 2H, 2x Ar-H); 10,12 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,63 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 382,1028 [M+H]⁺; berechnet für C₁₉H₁₆N₃O₆⁺: 382,1034; HPLC (Gradient A): rt 10,72 min (95,4%).

3-[3-(3-Carboxyphenyl)-4-[2-(hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]-1H-pyrazol-5-yl]benzoesäure (101b)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-3-(3-methoxycarbonylphenyl)-1H-pyrazol-5-yl]benzoat (**99b**; 150 mg; 0,30 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 4,5 ml; 4,50 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 3 mg (3%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS: m/z 382,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,37 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,66 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 7,61 (t, 2H, ³J=7,8 Hz, 2x Ar-H); 7,87-7,89 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,96-7,98 (m, 2H, 2x Ar-H); 8,20-8,25 (m, 2H, 2x Ar-H); 10,13 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,61 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 382,1036 [M+H]⁺; berechnet für C₁₉H₁₆N₃O₆⁺: 382,1034; HPLC (Gradient A): rt 8,72 min (>99%).

4-[3-(4-Carboxyphenyl)-4-[2-(hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]-1H-pyrazol-5-yl]benzoesäure (101c)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-4-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-3-(4-methoxycarbonylphenyl)-1H-pyrazol-5-yl]benzoat (**99c**; 100 mg; 0,20 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 2 ml; 2 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 3 mg (3%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 382,2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 3,49 (s, 2H, -CO-CH₂-); 7,74-7,76 (m, 4H, 4x Ar-H); 8,09-8,14 (m, 4H, 4x

Ar-H); HRMS m/z : 382,1030 $[M+H]^+$; berechnet für $C_{19}H_{16}N_3O_6^+$: 382,1034; HPLC (Gradient A): rt 8,43 min (96,4%).

2-[3,5-Bis(4-chloro-2-fluoro-3-hydroxyphenyl)-1H-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (101d)

Die Verbindung wird ausgehend von *N*-Benzyloxy-2-[3,5-bis(4-chloro-2-fluoro-3-methoxyphenyl)-1H-pyrazol-4-yl]acetamid (**99d**; 50 mg; 0,09 mmol) und BBr_3 (1 M in DCM; 912 μ l; 0,91 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 4 mg (11%); Aussehen: hellgelber Feststoff; ESI-MS: m/z 430,3 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,15 (s, 1,8H, $-CO-CH_2-$); 3,47 (br s, 0,2H, $-CO-CH_2-$); 6,99-7,03 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,26-7,29 (m, 2H, 2x Ar-H); 9,76 (br s, 0,1H, $-NH-OH$); 10,31 (s, 0,9H, $-NH-OH$); 10,50 (br s, 2H, 2x Ar-OH); HRMS m/z : 430,0164 $[M+H]^+$; berechnet für $C_{17}H_{12}Cl_2F_2N_3O_4^+$: 430,0167; HPLC (Gradient A): rt 10,40 min (96,8%).

3-[3-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-4-[2-(hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]-1H-pyrazol-5-yl]-benzoesäure (101e)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[3-(1,3-benzodioxol-5-yl)-4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-1H-pyrazol-5-yl]benzoat (**99e**; 180 mg; 0,37 mmol) und Lithiumhydroxid Monohydrate (31 mg; 0,74 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode B. Die anschließende Abspaltung der Benzylschutzgruppe erfolgt nach Methode C. Ausbeute: 90 mg (69%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS: m/z 382,3 $[M+H]^+$, 404,3 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,32 (s, 1,8H, $-CO-CH_2-$); 3,61 (br s, 0,2H, $-CO-CH_2-$); 6,09 (s, 2H, $-O-CH_2-O-$); 7,02-7,04 (m, 1H, Ar-H); 7,10-7,13 (m, 1H, Ar-H); 7,19-7,20 (m, 1H, Ar-H); 7,58 (t, 1H, $^3J=7,7$ Hz, Ar-H); 7,84-7,86 (m, 1H, Ar-H); 7,94-7,96 (m, 1H, Ar-H); 8,18-8,24 (m, 1H, Ar-H); 10,13 (br s, 0,1H, $-NH-OH$); 10,62 (s, 0,9H, $-NH-OH$); HRMS m/z : 382,1029 $[M+H]^+$; berechnet für $C_{19}H_{16}N_3O_6^+$: 382,1034; HPLC (Gradient A): rt 9,63 min (>99%).

4-[3-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-4-[2-(hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]-1H-pyrazol-5-yl]-benzoesäure (101f)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-4-[3-(1,3-benzodioxol-5-yl)-4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-1H-pyrazol-5-yl]benzoat (**99f**; 160 mg; 0,33 mmol) und Lithiumhydroxid Monohydrate (28 mg; 0,66 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode B. Die anschließende Abspaltung der Benzylschutzgruppe erfolgt nach Methode C. Ausbeute: 8 mg (10%); Aussehen: hellrosa farbiger Feststoff; ESI-MS: m/z 382,2 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,33 (s, 1,7H, $-CO-CH_2-$);

3,63 (br s, 0,3H, -CO-CH₂-); 6,09 (s, 2H, -O-CH₂-O-); 7,02-7,04 (m, 1H, Ar-H); 7,12-7,14 (m, 1H, Ar-H); 7,21-7,22 (m, 1H, Ar-H); 7,75-7,77 (m, 2H, 2x Ar-H); 8,00-8,02 (m, 2H, 2x Ar-H); 10,14 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,66 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 382,1030 [M+H]⁺; berechnet für C₁₉H₁₆N₃O₆⁺: 382,1034; HPLC (Gradient A): rt 9,68 min (>99%).

3-[3-(4-Carboxyphenyl)-4-[2-(hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]-1H-pyrazol-5-yl]benzoesäure (101g)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-3-(4-methoxycarbonylphenyl)-1H-pyrazol-5-yl]benzoat (**99g**; 50 mg; 0,10 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 1,5 ml; 1,50 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 3 mg (7%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS: m/z 382,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,49 (s, 1,9H, -CO-CH₂-); 3,82 (br s, 0,1H, -CO-CH₂-); 7,60 (t, 1H, ³J=7,8 Hz, Ar-H); 7,75-7,77 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,87-7,89 (m, 1H, Ar-H); 8,07-8,14 (m, 3H, 3x Ar-H); 8,30 (s, 1H, Ar-H); HRMS m/z: 382,1033 [M+H]⁺; berechnet für C₁₉H₁₆N₃O₆⁺: 382,1034; HPLC (Gradient A): rt 8,64 min (>99%).

4-[5-(4-Chloro-2-fluoro-3-hydroxy-phenyl)-4-[2-(hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]-1H-pyrazol-3-yl]benzoesäure (101h)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-4-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-1H-pyrazol-3-yl]benzoat (**99h**; 90 mg; 0,17 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 2,1 ml; 2,06 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 4 mg (5%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS: m/z 406,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, MeCN-d₃): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,40 (s, 1,9H, -CO-CH₂-); 3,74 (br s, 0,1H, -CO-CH₂-); 6,97-7,01 (m, 1H, Ar-H); 7,21-7,24 (m, 1H, Ar-H); 7,76-7,78 (m, 2H, 2x Ar-H); 8,11-7,13 (m, 2H, 2x Ar-H); HRMS m/z: 406,0597 [M+H]⁺; berechnet für C₁₈H₁₄ClFN₃O₅⁺: 406,0601; HPLC (Gradient A): rt 9,63 min (>99%).

3-[5-(4-Chloro-2-fluoro-3-hydroxy-phenyl)-4-[2-(hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]-1H-pyrazol-3-yl]benzoesäure (101i)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-1H-pyrazol-3-yl]benzoat (**99i**; 30 mg; 0,06 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 687 µl; 0,69 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 4 mg (16%); Aussehen: hellgelber Feststoff; ESI-MS: m/z 406,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,26 (s, 2H, -CO-CH₂-); 6,97-7,01 (m, 1H, Ar-H); 7,28-7,30 (m, 1H, Ar-H); 7,57-7,61 (m, 1H, Ar-H); 7,90-7,92 (m, 1H, Ar-H); 7,95-7,97 (m, 1H, Ar-H); 8,21-8,27 (m, 1H, Ar-H); 9,95 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,45 (s, 0,9H, -NH-OH);

10,53 (br s, 0,8H, Ar-OH); HRMS m/z: 406,0597 [M+H]⁺; berechnet für C₁₈H₁₄ClFN₃O₅⁺: 406,0601; HPLC (Gradient A): rt 9,55 min (95,3%).

3-[5-(3-Chloro-5-fluoro-4-hydroxy-phenyl)-4-[2-(hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]-1H-pyrazol-3-yl]benzoesäure (101j)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-(3-chloro-5-fluoro-4-methoxy-phenyl)-1H-pyrazol-3-yl]benzoat (**99j**; 90 mg; 0,17 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 2,1 ml; 2,06 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 18 mg (26%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS: m/z 406,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,33 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,63 (br s, 0,2H, -CO-CH₂-); 7,47-7,52 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,60 (t, 1H, ³J=7,8 Hz, Ar-H); 7,83-7,84 (m, 1H, Ar-H); 7,96-7,98 (m, 1H, Ar-H); 8,16-8,22 (m, 1H, Ar-H); 10,19 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,62-10,68 (m, 2H, -NH-OH + Ar-OH); HRMS m/z: 406,0593 [M+H]⁺; berechnet für C₁₈H₁₄ClFN₃O₅⁺: 406,0601; HPLC (Gradient A): rt 9,55 min (97,6%).

3-[4-[2-(Hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]-3-[*cis*-2-carboxycyclohexyl]-1H-pyrazol-5-yl]benzoesäure (101k)

Die Verbindung wird ausgehend von *cis*-2-[4-[2-(Benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-5-(3-methoxycarbonylphenyl)-1H-pyrazol-3-yl]cyclohexancarbonsäure (**99k**; 154 mg; 0,31 mmol) und Lithiumhydroxid Monohydrate (26 mg; 0,63 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode B. Die anschließende Abspaltung der Benzylschutzgruppe erfolgt nach Methode C. Ausbeute: 37 mg (36%); Aussehen: hellrosafarbiger Feststoff; ESI-MS: m/z 388,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,37-1,39 (m, 2H, Cyclohexan: 2x CH); 1,63-1,73 (m, 4H, Cyclohexan: 4x CH); 2,08-2,18 (m, 2H, Cyclohexan: 2x CH); 2,68-2,76 (m, 1 H, Cyclohexan: CH); 3,20-3,29 (m, 3H, -CO-CH₂- + Cyclohexan: CH); 7,56 (t, 1H, ³J=7,7 Hz, Ar-H); 7,89-7,93 (m, 2H, 2x Ar-H); 8,23 (s, 1H, Ar-H); 10,03 (br s, 0,2H, -NH-OH); 10,62 (s, 0,8H, -NH-OH); HRMS m/z: 388,1499 [M+H]⁺; berechnet für C₁₉H₂₂N₃O₆⁺: 388,1503; HPLC (Gradient A): rt 8,77 min (96,5%).

3-[3-(*trans*-4-Carboxycyclohexyl)-4-[2-(hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]-1H-pyrazol-5-yl]benzoesäure (101l)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-3-(*trans*-4-methoxycarbonylcyclohexyl)-1H-pyrazol-5-yl]benzoat (**99l**; 216 mg; 0,43 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 8,1 ml; 8,11 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 2 mg (1%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS: m/z 388,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,43-1,73 (m, 4H, Cyclohexan: 4x CH); 2,04-

2,16 (m, 4H, Cyclohexan: 4x CH); 2,38-2,44 (m, 1H, Cyclohexan: CH); 2,78-2,83 (m, 1H, Cyclohexan: CH); 3,41 (s, 1,4H, -CO-CH₂-); 3,67 (s, 0,6H, -CO-CH₂-); 7,59 (t, 1H, ³J=7,6 Hz, Ar-H); 7,88-7,93 (m, 1H, Ar-H); 8,07-8,09 (m, 1H, Ar-H); 8,29 (s, 1H, Ar-H); HRMS m/z: 388,1501 [M+H]⁺; berechnet für C₁₉H₂₂N₃O₆⁺: 388,1503; HPLC (Gradient A): rt 7,95 min (>99%).

3-[3-(*cis*-4-Carboxycyclohexyl)-4-[2-(hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]-1H-pyrazol-5-yl]benzoesäure (101m)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[4-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-3-(*cis*-4-methoxycarbonylcyclohexyl)-1H-pyrazol-5-yl]benzoat (**98m**; 185 mg; 0,37 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 7,0 ml; 6,95 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 2 mg (2%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS: m/z 388,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,57-1,73 (m, 4H, Cyclohexan: 4x CH); 2,04-2,15 (m, 4H, Cyclohexan: 4x CH); 2,38-2,48 (m, 1H, Cyclohexan: CH); 2,77-2,83 (m, 1H, Cyclohexan: CH); 3,41 (s, 1,7H, -CO-CH₂-); 3,66 (s, 0,3H, -CO-CH₂-); 7,58 (t, 1H, ³J=7,6 Hz, Ar-H); 7,88-7,90 (m, 1H, Ar-H); 8,06-8,08 (m, 1H, Ar-H); 8,29 (s, 1H, Ar-H); HRMS m/z: 388,1502 [M+H]⁺; berechnet für C₁₉H₂₂N₃O₆⁺: 388,1503; HPLC (Gradient A): rt 8,00 min (95,2%).

9.1.4 N-substituierte 3,5-Diphenylpyrazolderivate

Zwischenprodukte

2-(1,3,5-Triphenylpyrazol-4-yl)-N-trityloxy-acetamid (120)

Die Verbindung wird ausgehend von 2-(3,5-Diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)-N-trityloxy-acetamid (**118**; 536 mg; 1 mmol), Phenylboronsäure (**119**; 244 mg; 2 mmol), Triethylamin (279 µl; 2 mmol) und Cu(OAc)₂ (272 mg; 1,5 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 16 dargestellt. Ausbeute: 150 mg (25%); ESI-MS m/z: 243,2 Trityl-Fragment, 612,5 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 22,80 min (>99%).

Methyl-3-(1,3,5-triphenylpyrazol-4-yl)propanoat (122)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)propanoat (**34**; 306 mg; 1 mmol), Phenylboronsäure (**119**; 244 mg; 2 mmol), Triethylamin (279 µl; 2 mmol) und Cu(OAc)₂ (272 mg; 1,5 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 16 dargestellt. Ausbeute: 300 mg (78%); ESI-MS m/z: 383,2 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 20,77 min (>99%).

Methyl-2-(1-methyl-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl)acetat (124a)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (**33**; 230 mg; 0,79 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 38 mg; 0,94 mmol) und Methyljodid (85 µl; 0,87 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Ausbeute: 210 mg (87%); ESI-MS m/z: 307,1 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 17,89 min (96,2%).

Methyl-2-(1-benzyl-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl)acetat (124b)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (**33**; 230 mg; 0,79 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 38 mg; 0,94 mmol) und Benzylbromid (103 µl; 0,87 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Ausbeute: 230 mg (76%); ESI-MS m/z: 383,2 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 20,51 min (98,6%).

Methyl-2-[1-[(3-methoxyphenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (124c)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (**33**; 292 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 48 mg; 1,2 mmol) und 3-Methoxybenzylbromid (154 µl; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Ausbeute: 240 mg (58%); APCI-MS m/z: 413,4 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 20,27 min (77,2%).

Ethyl-2-[1-[(4-methoxyphenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (124d)

Die Verbindung wird ausgehend von Ethyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (306 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 48 mg; 1,2 mmol) und 4-Methoxybenzylchlorid (172 mg; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt und ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet. Ausbeute: 426 mg (99%); ESI-MS m/z: 427,2 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 20,96 min (>99%).

Methyl-2-[1-(1,3-benzodioxol-5-yl-methyl)-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (124e)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (**33**; 213 mg; 0,73 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 35 mg; 0,88 mmol) und 5-(Brommethyl)-1,3-benzodioxol (173 mg; 0,80 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Ausbeute: 305 mg (98%); ESI-MS m/z: 427,2 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 20,24 min (97,5%).

Methyl-2-[1-[[3-(difluoromethoxy)phenyl]methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (124f)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (**33**; 292 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 48 mg; 1,2 mmol) und 3-(Difluoromethoxy)-benzylbromid (261 mg; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt.

Ausbeute: 100 mg (22%); APCI-MS m/z : 449,5 $[M+H]^+$; HPLC (Gradient A): rt 20,48 min (94,4%).

Methyl-2-[1-[4-(difluoromethoxy)phenyl]methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (124g)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (**33**; 292 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 48 mg; 1,2 mmol) und 4-(Difluoromethoxy)-benzylbromid (261 mg; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Ausbeute: 211 mg (47%); APCI-MS m/z : 449,6 $[M+H]^+$; HPLC (Gradient A): rt 20,51 min (>99%).

Ethyl-2-[1-[(3-cyanophenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (124h)

Die Verbindung wird ausgehend von Ethyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (306 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 48 mg; 1,2 mmol) und 3-Brommethylbenzonnitril (216 mg; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Ausbeute: 230 mg (55%); ESI-MS m/z : 422,3 $[M+H]^+$; HPLC (Gradient A): rt 20,32 min (84,5%).

3-[[4-(2-Methoxy-2-oxo-ethyl)-3,5-diphenyl-pyrazol-1-yl]methyl]benzoesäure (124i)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (**33**; 213 mg; 0,73 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 35 mg; 0,88 mmol) und *tert*-Butyl-3-(chlormethyl)benzoat (182 mg; 0,80 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Für die anschließende Abspaltung der *tert*-Butyl-Schutzgruppe wird der Rückstand mit einem Gemisch aus TFA/DCM (1:1 v/v; 6 ml) versetzt, bei Raumtemperatur für 2 h gerührt und unter Vakuum eingengt. Ausbeute: 311 mg (99%); ESI-MS m/z : 427,3 $[M+H]^+$; HPLC (Gradient A): rt 17,95 min (90,7%).

4-[[4-(2-Methoxy-2-oxo-ethyl)-3,5-diphenyl-pyrazol-1-yl]methyl]benzoesäure (124j)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (**33**; 292 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 48 mg; 1,2 mmol) und 4-Bromomethyl-benzoesäure-*tert*-butylester (298 mg; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Für die anschließende Abspaltung der *tert*-Butyl-Schutzgruppe wird der Rückstand mit einem Gemisch aus TFA/DCM (1:1 v/v; 6 ml) versetzt, bei Raumtemperatur für 2 h gerührt und unter Vakuum eingengt. Ausbeute: 400 mg (94%); ESI-MS m/z : 427,3 $[M+H]^+$; HPLC (Gradient A): rt 17,92 min (92,6%).

Methyl-2-[1-[(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (124k)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (**33**; 292 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 48 mg; 1,2 mmol) und 4-Chloro-2-fluoro-3-methoxybenzylbromid (279 mg; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Ausbeute: 300 mg (71%); ESI-MS m/z: 465,3 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 21,60 min (95,6%).

Ethyl-2-[1-[(3-chloro-5-fluoro-4-methoxy-phenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (124l)

Die Verbindung wird ausgehend von Ethyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (306 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 48 mg; 1,2 mmol) und 3-Chloro-5-fluoro-4-methoxybenzylbromid (279 mg; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Ausbeute: 330 mg (69%); ESI-MS m/z: 479,2 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 21,89 min (84,1%).

Ethyl-2-[3,5-diphenyl-1-(3-pyridylmethyl)pyrazol-4-yl]acetat (124m)

Die Verbindung wird ausgehend von Ethyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (306 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 140 mg; 3,5 mmol) und 3-(Chloromethyl)pyridin Hydrochlorid (140 mg; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode B dargestellt. Ausbeute: 397 mg (99%); ESI-MS m/z: 398,2 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 13,49 min (87,8%).

Ethyl-2-[3,5-diphenyl-1-(4-pyridylmethyl)pyrazol-4-yl]acetat (124n)

Die Verbindung wird ausgehend von Ethyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (306 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 140 mg; 3,5 mmol) und 4-(Chloromethyl)pyridin Hydrochlorid (140 mg; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode B dargestellt. Ausbeute: 397 mg (99%); APCI-MS m/z: 398,3 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 13,25 min (88,6%).

Methyl-3-(1-methyl-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl)propanoat (125a)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)propanoat (**34**; 306 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 60 mg; 1,5 mmol) und Methyljodid (68 µl; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Ausbeute: 227 mg (71%); ESI-MS m/z: 320,9 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 18,16 min (97,6%).

Methyl-3-(1-benzyl-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl)propanoat (125b)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)propanoat (**34**; 306 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 60 mg; 1,5 mmol) und Benzylbromid (131 µl; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Ausbeute: 301 mg (76%); ESI-MS m/z: 396,9 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 20,72 min (88,2%).

Methyl-3-[1-[(3-methoxyphenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanoat (125c)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)propanoat (**34**; 306 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 60 mg; 1,5 mmol) und 3-Methoxybenzylbromid (154 µl; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Ausbeute: 350 mg (82%); ESI-MS m/z: 427,0 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 20,51 min (91,0%).

Methyl-3-[1-[(4-methoxyphenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanoat (125d)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)propanoat (**34**; 306 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 60 mg; 1,5 mmol) und 4-Methoxybenzylchlorid (149 µl; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Ausbeute: 283 mg (66%); ESI-MS m/z: 426,8 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 20,48 min (>99%).

Methyl-3-[1-(1,3-benzodioxol-5-ylmethyl)-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanoat (125e)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)propanoat (**34**; 306 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 60 mg; 1,5 mmol) und 5-(Brommethyl)-1,3-benzodioxol (237 mg; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Ausbeute: 300 mg (68%); ESI-MS m/z: 440,7 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 20,27 min (91,4%).

Methyl-3-[1-[[3-(difluoromethoxy)phenyl]methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanoat (125f)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)propanoat (**34**; 306 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 60 mg; 1,5 mmol) und 3-(Difluoromethoxy)-benzylbromid (170 µl; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Ausbeute: 355 mg (77%); ESI-MS m/z: 463,3 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 20,69 min (82,9%).

Methyl-3-[1-[[4-(difluoromethoxy)phenyl]methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanoat (125g)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)propanoat (**34**; 306 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 60 mg; 1,5 mmol) und 4-(Difluoromethoxy)-benzylbromid (170 µl; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Ausbeute: 366 mg (79%); ESI-MS m/z: 463,3 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 20,69 min (85,0%).

Methyl-3-[1-[(3-cyanophenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanoat (125h)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)propanoat (**34**; 306 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 60 mg; 1,5 mmol) und 3-Brommethylbenzonnitril (216 mg; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Ausbeute: 270 mg (64%); ESI-MS m/z: 422,2 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 19,84 min (91,1%).

3-[[4-(3-Methoxy-3-oxo-propyl)-3,5-diphenyl-pyrazol-1-yl]methyl]benzoesäure (125i)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)propanoat (**34**; 306 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 60 mg; 1,5 mmol) und *tert*-Butyl-3-(Chlormethyl)benzoat (249 mg; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Für die anschließende Abspaltung der *tert*-Butyl-Schutzgruppe wird der Rückstand mit einem Gemisch aus TFA/DCM (1:1 v/v; 6 ml) versetzt, bei Raumtemperatur für 2 h gerührt und unter Vakuum eingeengt. Ausbeute: 300 mg (68%); ESI-MS m/z: 441,3 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 18,08 min (74,1%).

4-[[4-(3-Methoxy-3-oxo-propyl)-3,5-diphenyl-pyrazol-1-yl]methyl]benzoesäure (125j)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)propanoat (**34**; 306 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 60 mg; 1,5 mmol) und 4-Bromomethylbenzoesäure-*tert*-butylester (298 mg; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Für die anschließende Abspaltung der *tert*-Butylschutzgruppe wird der Rückstand mit einem Gemisch aus TFA/DCM (1:1 v/v; 6 ml) versetzt, bei Raumtemperatur für 2 h gerührt und unter Vakuum eingeengt. Ausbeute: 360 mg (82%); ESI-MS m/z: 441,3 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 18,03 min (95,0%).

Methyl-3-[1-[(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanoat (125k)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)propanoat (**34**; 460 mg; 1,5 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 72 mg; 1,8 mmol) und 4-Chloro-2-fluoro-3-

methoxybenzylbromid (418 mg; 1,65 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Ausbeute: 520 mg (72%); ESI-MS m/z : 479,1 $[M+H]^+$; HPLC (Gradient A): rt 22,00 min (85,1%).

Methyl-3-[1-[(3-chloro-5-fluoro-4-methoxy-phenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanoat (125l)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)propanoat (**34**; 306 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 60 mg; 1,5 mmol) und 3-Chloro-5-fluoro-4-methoxybenzylbromid (279 mg; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Ausbeute: 290 mg (61%); ESI-MS m/z : 479,2 $[M+H]^+$; HPLC (Gradient A): rt 21,55 min (>99%).

Methyl-3-[3,5-diphenyl-1-(3-pyridylmethyl)pyrazol-4-yl]propanoat (125m)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)propanoat (**34**; 306 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 140 mg; 3,5 mmol) und 3-(Chloromethyl)pyridin Hydrochlorid (140 mg; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode B dargestellt. Ausbeute: 115 mg (29%); ESI-MS m/z : 387,8 $[M+H]^+$; HPLC (Gradient A): rt 12,96 min (99,0%).

Methyl-3-[3,5-diphenyl-1-(4-pyridylmethyl)pyrazol-4-yl]propanoat (125n)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)propanoat (**34**; 306 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 60 mg; 1,5 mmol) und 4-(Chloromethyl)pyridin Hydrochlorid (140 mg; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode B dargestellt. Ausbeute: 120 mg (30%); ESI-MS m/z : 398,3 $[M+H]^+$; HPLC (Gradient A): rt 12,69 min (96,3%).

Methyl-2-[1-[2-(dimethylamino)ethyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (129a)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (**33**; 292 mg; 1 mmol), 2-(Dimethylamino)ethanol (151 μ l; 1,5 mmol) und Triphenylphosphin (787 mg; 3 mmol) und DIAD (591 μ l; 3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 18 dargestellt. Ausbeute: 240 mg (66%); ESI-MS m/z : 364,1 $[M+H]^+$.

Methyl-2-[3,5-diphenyl-1-(1-phenylcyclobutyl)pyrazol-4-yl]acetat (129b)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (**33**; 289 mg; 0,99 mmol), 1-Phenylcyclobutanol (220 mg; 1,48 mmol) und Triphenylphosphin (779 mg; 2,97 mmol) und DIAD (585 μ l; 2,97 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 18

dargestellt. Ausbeute: 110 mg (26%); APCI-MS m/z: $[M-C_{10}H_{11}]^+$, 423,3 $[M+H]^+$; HPLC (Gradient A): rt 22,53 min (80,8%).

Methyl-2-[1-[1-(3-methoxyphenyl)cyclobutyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (129c)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (**33**; 284 mg; 0,97 mmol), 1-(3-Methoxyphenyl)cyclobutanol (260 mg; 1,46 mmol) und Triphenylphosphin (765 mg; 2,92 mmol) und DIAD (575 μ l; 2,92 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 18 dargestellt. Ausbeute: 240 mg (55%); APCI-MS m/z: 161,1 $[M-C_{18}H_{15}N_2O_2]^+$, 453,2 $[M+H]^+$.

Methyl-2-[3,5-diphenyl-1-(3-phenyloxetan-3-yl)pyrazol-4-yl]acetat (129d)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (**33**; 493 mg; 1,69 mmol), 3-Phenyloxetan-3-ol (380 mg; 2,53 mmol) und Triphenylphosphin (1327 mg; 5,06 mmol) und DIAD (996 μ l; 5,06 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 18 dargestellt. Ausbeute: 85 mg (12%); ESI-MS m/z: 292,8 $[M-C_9H_9O]^+$, 424,7 $[M+H]^+$.

Methyl-2-[1-[3-(3-methoxyphenyl)oxetan-3-yl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (129e)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (**33**; 379 mg; 1,29 mmol), 3-(3-Methoxyphenyl)oxetan-3-ol (350 mg; 1,94 mmol) und Triphenylphosphin (1019 mg; 3,88 mmol) und DIAD (765 μ l; 3,88 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 18 dargestellt. Ausbeute: 190 mg (32%); ESI-MS m/z: 292,8 $[M-C_{10}H_{11}O_2]^+$, 454,7 $[M+H]^+$.

Methyl-2-[1-[1-(3-methoxyphenyl)-1-methyl-ethyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (129f)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)acetat (**33**; 305 mg; 1,04 mmol), 2-(3-Methoxyphenyl)propan-2-ol (260 mg; 1,56 mmol) und Triphenylphosphin (821 mg; 3,13 mmol) und DIAD (616 μ l; 3,13 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 18 dargestellt. Ausbeute: 240 mg (55%); APCI-MS m/z: 293,0 $[M-C_{10}H_{13}O]^+$, 441,1 $[M+H]^+$.

Methyl-3-[1-[2-(dimethylamino)ethyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanoat (130)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(3,5-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)propanoat (**34**; 306 mg; 1 mmol), 2-(Dimethylamino)ethanol (151 μ l; 1,5 mmol) und Triphenylphosphin (787 mg; 3 mmol) und DIAD (591 μ l; 3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 18 dargestellt. Ausbeute: 370 mg (98%); ESI-MS m/z: 378,2 $[M+H]^+$.

Endverbindungen**2-(1,3,5-Triphenylpyrazol-4-yl)ethanhydroxamsäure (121)**

Die Verbindung wird ausgehend von 2-(1,3,5-Triphenylpyrazol-4-yl)-*N*-trityloxy-acetamid (**120**; 150 mg; 0,25 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 1 Methode A dargestellt. Ausbeute: 50 mg (55%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS: m/z 370,3 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,24 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,54 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 7,28-7,42 (m, 11H, 11x Ar-H); 7,45-7,49 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,66-7,68 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 7,74-7,76 (m, 1,8H, 2x Ar-H); 10,06 (s, 0,1H, -NH-OH), 10,53 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z : 370,1569 $[M+H]^+$; berechnet für C₂₃H₂₀N₃O₂⁺: 370,1550; HPLC (Gradient A): rt 15,49 min (>99%).

3-(1,3,5-Triphenylpyrazol-4-yl)propanhydroxamsäure (123)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(1,3,5-triphenylpyrazol-4-yl)propanoat (**122**; 300 mg; 0,78 mmol), NaOCH₃ (5 N; 941 μ l; 4,71 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (164 mg; 2,35 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 146 mg (49%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z : 384,1 $[M+H]^+$; 1H -NMR (700 MHz, DMSO- d_6): (*cis-trans*-Isomere) δ 2,02-2,04 (m, 1,8H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,31-2,33 (m, 0,2H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,81-2,83 (m, 2H, -CO-CH₂-CH₂-); 7,23-7,25 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,27-7,35 (m, 5H, 5x Ar-H); 7,40-7,45 (m, 4H, 4x Ar-H); 7,48-7,50 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,77 (d, 2H, ³J=7,3 Hz, 2x Ar-H); 9,78 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,31 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z : 384,1707 $[M+H]^+$; berechnet für C₂₄H₂₂N₃O₂⁺: 384,1707; HPLC (Gradient A): rt 16,00 min (>99%).

2-(1-Methyl-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl)ethanhydroxamsäure (126a)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(1-methyl-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl)acetat (**124a**; 210 mg; 0,69 mmol), NaOCH₃ (5 N; 823 μ l; 4,11 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (143 mg; 2,06 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 96 mg (45%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z : 308,2 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,14 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,45 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 3,77 (s, 3H, -CH₃); 7,33-7,37 (m, 1H, Ar-H); 7,42 (t, 2H, ³J=7,5 Hz); 7,47-7,57 (m, 5H, 5x Ar-H); 7,64-7,67 (m, 2H, 2x Ar-H); 10,00 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,45 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z : 308,1407 $[M+H]^+$; berechnet für C₁₈H₁₈N₃O₂⁺: 308,1394; HPLC (Gradient A): rt 11,55 min (>99%).

2-(1-Benzyl-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl)ethanhydroxamsäure (126b)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(1-benzyl-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl)acetat (**124b**; 230 mg; 0,60 mmol), NaOCH₃ (5 N; 722 µl; 3,61 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (125 mg; 1,80 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 81 mg (35%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 384,3 [M+H]⁺, 406,2 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,18 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,47 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 5,28 (s, 2H, -CH₂-Ar); 7,01-7,04 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,22-7,31 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,34-7,44 (m, 5H, 5x Ar-H); 7,47-7,51 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,58-7,70 (m, 2H, 2x Ar-H); 9,97 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,45 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 384,1726 [M+H]⁺; berechnet für C₂₄H₂₂N₃O₂⁺: 384,1707; HPLC (Gradient A): rt 15,63 min (>99%).

2-[1-[(3-Methoxyphenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (126c)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-[1-[(3-methoxyphenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (**124c**; 240 mg; 0,58 mmol), NaOCH₃ (5 N; 698 µl; 3,49 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (121 mg; 1,75 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 54 mg (22%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 414,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,15 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,46 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 3,66 (s, 3H, -OCH₃); 5,24 (s, 2H, -CH₂-Ar); 6,51 (s, 1H, Ar-H); 6,58-6,59 (m, 1H, Ar-H); 6,78-6,80 (m, 1H, Ar-H); 7,19 (t, 1H, ³J=7,9 Hz, Ar-H); 7,34-7,38 (m, 1H, Ar-H); 7,41-7,44 (m, 4H, 4x Ar-H); 7,47-7,50 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,58-7,59 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 7,67-7,68 (m, 1,8H, 2x Ar-H); 9,99 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,47 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 436,1628 [M+Na]⁺; berechnet für C₂₅H₂₃N₃NaO₃⁺: 436,1632; HPLC (Gradient A): rt 15,52 min (97,7%).

2-[1-[(4-Methoxyphenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (126d)

Die Verbindung wird ausgehend von Ethyl-2-[1-[(4-methoxyphenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (**124d**; 426 mg; 1 mmol), NaOCH₃ (5 N; 1,2 ml; 6 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (208 mg; 3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 115 mg (28%); Aussehen: weißer Feststoff; APCI-MS m/z: 121,0 [M-C₁₇H₁₄N₃O₂]⁺, 414,1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,14 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,44 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 5,18 (s, 2H, -CH₂-Ar); 6,82-6,83 (m, 2H, 2x Ar-H); 6,95-6,96 (m, 2H, Ar-H); 7,34-7,36 (m, 1H, Ar-H); 7,41-7,43 (m, 4H, 4x Ar-H); 7,47-7,51 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,57-7,58 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 7,66-7,67 (m, 1,8H, 2x Ar-H); 8,83 (br s, 0,7H, -NH-OH); 9,11 (s, 0,1H, -NH-OH); 9,97 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,45 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS

m/z: 436,1628 [M+Na]⁺; berechnet für C₂₅H₂₃N₃NaO₃⁺: 436,1632; HPLC (Gradient A): rt 15,55 min (>99%).

2-[1-(1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl)-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (126e)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-[1-(1,3-benzodioxol-5-yl-methyl)-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (**124e**; 305 mg; 0,72 mmol), NaOCH₃ (5 N; 858 µl; 4,29 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (149 mg; 2,15 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 161 mg (53%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 428,4 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,15 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,46 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 5,17 (s, 2H, -CH₂-Ar); 5,97 (s, 2H, -O-CH₂-O-); 6,47-6,49 (m, 1H, Ar-H); 6,56-6,57 (m, 1H, Ar-H); 6,79-6,81 (m, 1H, Ar-H); 7,34-7,44 (m, 5H, 5x Ar-H); 7,48-7,53 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,58-7,59 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 7,66-7,69 (m, 1,8H, 2x Ar-H); 9,96 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,44 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 428,1601 [M+H]⁺; berechnet für C₂₅H₂₂N₃O₄⁺: 428,1605; HPLC (Gradient A): rt 15,33 min (>99%).

2-[1-[[3-(Difluoromethoxy)phenyl]methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (126f)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-[1-[[3-(difluoromethoxy)phenyl]methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (**124f**; 100 mg; 0,22 mmol), NaOCH₃ (5 N; 268 µl; 1,34 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (46 mg; 0,67 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 16 mg (16%); Aussehen: weißer Feststoff; APCI-MS m/z: 450,6 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,16 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,46 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 5,29 (s, 2H, -CH₂-Ar); 6,80-6,88 (m, 1H, Ar-H); 6,87-6,88 (m, 1H, Ar-H); 7,05-7,06 (m, 1H, Ar-H); 7,17 (t, 1H, ²J_(H,F)=73,7 Hz); 7,33-7,37 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,41-7,44 (m, 4H, 4x Ar-H); 7,48-7,51 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,58-7,59 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 7,67-7,68 (m, 1,8H, 2x Ar-H); 10,00 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,47 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 472,1442 [M+Na]⁺; berechnet für C₂₅H₂₁F₂N₃NaO₃⁺: 472,1443; HPLC (Gradient A): rt 16,32 min (>99%).

2-[1-[[4-(Difluoromethoxy)phenyl]methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (126g)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-[1-[[4-(difluoromethoxy)phenyl]methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (**124g**; 211 mg; 0,47 mmol), NaOCH₃ (5 N; 565 µl; 2,82 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (98 mg; 1,41 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 78 mg (37%); Aussehen: weißer Feststoff; APCI-MS m/z: 450,6 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,15 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,48 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 5,25 (s, 2H, -CH₂-Ar); 7,07-7,10 (m, 4H, 4x Ar-H); 7,19 (t, 1H, ²J_(H,F)=74,1 Hz,

-CHF₂); 7,34-7,37 (m, 1H, Ar-H); 7,41-7,43 (m, 4H, 4x Ar-H); 7,48-7,51 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,58-7,59 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 7,67-7,68 (m, 1,8H, 2x Ar-H); 9,98 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,46 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 472,1449 [M+Na]⁺; berechnet für C₂₅H₂₁F₂N₃NaO₃⁺: 472,1443; HPLC (Gradient A): rt 16,37 min (>99%).

2-[1-[(3-Cyanophenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (126h)

Die Verbindung wird ausgehend von Ethyl-2-[1-[(3-cyanophenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (**124h**; 230 mg; 0,55 mmol), NaOCH₃ (5 N; 655 µl; 3,27 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (114 mg; 1,64 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt.¹ Ausbeute: 6 mg (3%); Aussehen: hellgelber Feststoff; APCI-MS m/z: 409,2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,16 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,47 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 5,34 (s, 2H, -CH₂-Ar); 7,33-7,37 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,40-7,44 (m, 5H, 5x Ar-H); 7,48-7,52 (m, 4H, 4x Ar-H); 7,58-7,59 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 7,67-7,68 (m, 1,8H, 2x Ar-H); 7,72-7,73 (m, 1H, Ar-H); 9,99 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,47 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 431,1474 [M+Na]⁺; berechnet für C₂₅H₂₀N₄NaO₂⁺: 431,1478; HPLC (Gradient A): rt 14,67 min (98,8%).

3-[[4-[2-(Hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-1-yl]methyl]benzoesäure (126i)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-[[4-(2-Methoxy-2-oxo-ethyl)-3,5-diphenyl-pyrazol-1-yl]methyl]benzoesäure (**124i**; 311 mg; 0,73 mmol), NaOCH₃ (5 N; 876 µl; 4,38 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (152 mg; 2,19 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 16 mg (5%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 428,2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,17 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,47 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 5,34 (s, 2H, -CH₂-Ar); 7,23-7,25 (m, 1H, Ar-H); 7,35-7,50 (m, 9H, 9x Ar-H); 7,58-7,60 (m, 0,3H, 3x Ar-H); 7,67-7,69 (m, 2,7H, 3x Ar-H); 7,81-7,83 (m, 1H, Ar-H); 9,96 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,45 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 428,1599 [M+H]⁺; berechnet für C₂₅H₂₂N₃O₄⁺: 428,1605; HPLC (Gradient A): rt 12,88 min (>99%)

4-[[4-[2-(Hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-1-yl]methyl]benzoesäure (126j)

Die Verbindung wird ausgehend von 4-[[4-(2-Methoxy-2-oxo-ethyl)-3,5-diphenyl-pyrazol-1-yl]methyl]benzoesäure (**124j**; 400 mg; 0,94 mmol), NaOCH₃ (5 N; 1,1 ml; 5,63 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (196 mg; 2,81 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 130 mg (32%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 428,2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,18 (s, 1,8H, -CO-

¹ Die Umsetzung der Hydroxamsäure erfolgt bei Raumtemperatur über Nacht.

CH_2 -); 3,48 (s, 0,2H, -CO- CH_2 -); 5,35 (s, 2H, - CH_2 -Ar); 7,14 (d, 2H, $^3J=8,1$ Hz, 2x Ar-H); 7,35-7,49 (m, 8H, 8x Ar-H); 7,59-7,61 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 7,68-7,69 (m, 1,8H, 2x Ar-H); 7,85 (t, 2H, $^3J=8,2$ Hz, 2x Ar-H); 9,98 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,45 (s, 0,9H, -NH-OH); 12,90 (br s, 1H, -COOH); HRMS m/z: 428,1600 [M+H]⁺; berechnet für C₂₅H₂₂N₃O₄⁺: 428,1605; HPLC (Gradient A): rt 12,69 min (>99%).

2-[1-[(4-Chloro-2-fluoro-3-hydroxy-phenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (126k)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-[1-[(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (**124k**; 300 mg; 0,65 mmol), NaOCH₃ (5 N; 774 µl; 3,87 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (135 mg; 1,94 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Die anschließende Entschützung des Phenols erfolgt mit BBr₃ (1 M in DCM; 3 Äq.). Ausbeute: 142 mg (54%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 452,2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,15 (s, 1,8H, -CO- CH_2 -); 3,46 (s, 0,2H, -CO- CH_2 -); 5,27 (s, 2H, - CH_2 -Ar); 6,42-6,46 (m, 1H, Ar-H); 7,11-7,13 (m, 1H, Ar-H); 7,34-7,44 (m, 5H, 5x Ar-H); 7,49-7,53 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,57-7,58 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 7,65-7,67 (m, 1,8H, 2x Ar-H); 9,97 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,36 (br s, 1H, Ar-OH); 10,44 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 452,1165 [M+H]⁺; berechnet für C₂₄H₂₀ClFN₃O₃⁺: 452,1172; HPLC (Gradient A): rt 14,75 min (98,4%).

2-[1-[(3-Chloro-5-fluoro-4-hydroxy-phenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (126l)

Die Verbindung wird ausgehend von Ethyl-2-[1-[(3-chloro-5-fluoro-4-methoxy-phenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (**124l**; 330 mg; 0,71 mmol), NaOCH₃ (5 N; 827 µl; 4,13 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (144 mg; 2,07 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Die anschließende Entschützung des Phenols erfolgt mit BBr₃ (1 M in DCM; 3 Äq.). Ausbeute: 101 mg (35%); Aussehen: hellgelber Feststoff; ESI-MS m/z: 452,0 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,15 (s, 1,8H, -CO- CH_2 -); 3,45 (s, 0,2H, -CO- CH_2 -); 5,18 (s, 2H, - CH_2 -Ar); 6,76-6,77 (m, 1H, Ar-H); 6,82 (s, Ar-H); 7,34-7,37 (m, 1H, Ar-H); 7,41-7,44 (m, 4H, 4x Ar-H); 7,50-7,51 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,58-7,59 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 7,67-7,68 (m, 1,8H, 2x Ar-H); 8,81 (br s, 0,9H, -NH-OH); 9,13 (s, 0,1H, -NH-OH); 9,99 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,39 (s, 1H, Ar-OH); 10,46 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 474,0988 [M+Na]⁺; berechnet für C₂₄H₁₉ClFN₃NaO₃⁺: 474,0991; HPLC (Gradient A): rt 14,32 min (98,9%).

2-[3,5-Diphenyl-1-(3-pyridylmethyl)pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (126m)¹

Die Verbindung wird ausgehend von Ethyl-2-[3,5-diphenyl-1-(3-pyridylmethyl)pyrazol-4-yl]acetat (**124m**; 397 mg; 0,99 mmol), NaOCH₃ (5 N; 1,2 ml; 6 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (208 mg; 3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 170 mg (44%); Aussehen: hellgelber Feststoff; APCI-MS m/z: 385,2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,16 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,46 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 5,38 (s, 2H, -CH₂-Ar); 7,35-7,38 (m, 1H, Ar-H); 7,42-7,44 (m, 4H, 4x Ar-H); 7,50-7,51 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,55-7,58 (m, 1H, Pyridin: CH); 7,66-7,67 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,71-7,72 (m, 1H, Pyridin: CH); 8,38 (s, 1H, Pyridin: CH); 8,58-8,59 (m, 1H, Pyridin: CH); 10,00 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,46 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 385,1655 [M+H]⁺; berechnet für C₂₃H₂₁N₄O₂⁺: 385,1659; HPLC (Gradient A): rt 8,53 min (96,4%).

2-[3,5-Diphenyl-1-(4-pyridylmethyl)pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (126n)¹

Die Verbindung wird ausgehend von Ethyl-2-[3,5-diphenyl-1-(4-pyridylmethyl)pyrazol-4-yl]acetat (**124n**; 397 mg; 0,99 mmol), NaOCH₃ (5 N; 1,2 ml; 6 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (208 mg; 3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 183 mg (48%); Aussehen: weißer Feststoff; APCI-MS m/z: 385,1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,19 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,49 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 5,47 (s, 2H, -CH₂-Ar); 7,32-7,33 (m, 2H, Pyridin: 2x CH); 7,37-7,39 (m, 1H, Ar-H); 7,40-7,45 (m, 4H, 4x Ar-H); 7,47-7,48 (m, 3H, Ar-H); 7,59-7,61 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 7,68-7,69 (m, 1,8H, 2x Ar-H); 8,66-8,67 (m, 2H, Pyridin: 2x CH); 10,03 (m, 0,1H, -NH-OH); 10,50 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 385,1658 [M+H]⁺; berechnet für C₂₃H₂₁N₄O₂⁺: 385,1659; HPLC (Gradient A): rt 8,43 min (>99%).

3-(1-Methyl-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl)propanhydroxamsäure (127a)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(1-methyl-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl)propanoat (**125a**; 227 mg; 0,71 mmol), NaOCH₃ (5 N; 850 µl; 4,25 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (148 mg; 2,13 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 136 mg (60%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 322,0 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,93-1,98 (m, 1,8H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,23-2,27 (m, 0,2H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,71-2,76 (m, 2H, -CO-CH₂-CH₂-); 3,69 (s, 3H, -CH₃); 7,35 (t, 1H, ³J=7,4 Hz, Ar-H); 7,42-7,46 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,46-7,49 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,49-7,53 (m, 1H, Ar-H); 7,53-7,58 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,65-7,68 (m, 2H, 2x Ar-H); 9,74 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,27 (s, 0,9H, -NH-OH);

¹ Die Verbindung liegt als einfaches TFA-Salz vor.

HRMS m/z : 322,1546 $[M+H]^+$; berechnet für $C_{19}H_{20}N_3O_2^+$: 322,1550; HPLC (Gradient A): rt 12,13 min (98,4%).

3-(1-Benzyl-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl)propanhydroxamsäure (127b)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(1-benzyl-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl)propanoat (**125b**; 301 mg; 0,76 mmol), $NaOCH_3$ (5 N; 911 μ l; 4,56 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (158 mg; 2,28 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 66 mg (22%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z : 398,0 $[M+H]^+$; 1H -NMR (700 MHz, $DMSO-d_6$): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,95-1,98 (m, 1,8H, $-CO-CH_2-CH_2-$); 2,08 (s, 0,2H, $-CO-CH_2-CH_2-$); 2,73-2,75 (m, 2H, $-CO-CH_2-CH_2-$); 5,20 (s, 2H, $-CH_2-Ar$); 6,96 (d, 2H, $^3J=7,5$ Hz, 2x Ar-H); 7,21-7,23 (m, 1H, Ar-H); 7,25-7,27 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,36-7,37 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,45 (t, 2H, $^3J=7,6$ Hz, 2x Ar-H); 7,50-7,51 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,69 (d, 2H, $^3J=7,3$ Hz, 2x Ar-H); 9,75 (s, 0,1H, $-NH-OH$); 10,26 (s, 0,9H, $-NH-OH$); HRMS m/z : 398,1858 $[M+H]^+$; berechnet für $C_{25}H_{24}N_3O_2^+$: 398,1863; HPLC (Gradient A): rt 16,11 min (>99%).

3-[1-[(3-Methoxyphenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanhydroxamsäure (127c)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[1-[(3-methoxyphenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanoat (**125c**; 350 mg; 0,82 mmol), $NaOCH_3$ (5 N; 985 μ l; 4,92 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (171 mg; 2,46 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 120 mg (34%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z : 427,7 $[M+H]^+$; 1H -NMR (700 MHz, $DMSO-d_6$): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,95-1,98 (m, 1,8H, $-CO-CH_2-CH_2-$); 2,24-2,27 (m, 0,2H, $-CO-CH_2-CH_2-$); 2,73-2,75 (m, 2H, $-CO-CH_2-CH_2-$); 3,65 (s, 3H, $-OCH_3$); 5,17 (s, 2H, $-CH_2-Ar$); 6,47 (s, 1H, Ar-H); 6,53 (d, 1H, $^3J=7,6$ Hz, Ar-H); 6,78-6,89 (m, 1H, Ar-H); 7,18 (t, 1H, $^3J=7,9$ Hz, Ar-H); 7,35-7,37 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,45 (t, 2H, $^3J=7,6$ Hz, 2x Ar-H); 7,49-7,52 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,70 (d, 2H, $^3J=7,3$ Hz, 2x Ar-H); 9,75 (s, 0,1H, $-NH-OH$); 10,26 (s, 0,9H, $-NH-OH$); HRMS m/z : 428,1963 $[M+H]^+$; berechnet für $C_{26}H_{26}N_3O_3^+$: 428,1969; HPLC (Gradient A): rt 15,89 min (>99%).

3-[1-[(4-Methoxyphenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanhydroxamsäure (127d)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[1-[(4-methoxyphenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanoat (**125d**; 283 mg; 0,66 mmol), $NaOCH_3$ (5 N; 796 μ l; 3,98 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (138 mg; 1,99 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 21 mg (7%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z : 427,7 $[M+H]^+$; 1H -NMR (700 MHz, $DMSO-d_6$): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,93-1,97 (m, 1,7H, $-CO-CH_2-CH_2-$); 2,07 (s, 0,3H, $-CO-CH_2-CH_2-$); 2,71-2,74 (m, 2H, $-CO-CH_2-CH_2-$); 3,69 (m, 3H, $-OCH_3$); 5,12 (s, 2H, $-CH_2-Ar$); 6,80-6,82 (m, 2H, 2x Ar-H); 6,89-6,90 (m, 2H, 2x Ar-H);

7,35-7,37 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,45 (t, 2H, $^3J=7,5$ Hz, 2x Ar-H); 7,48-7,54 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,69 (d, 2H, $^3J=7,7$ Hz, 2x Ar-H); 9,74 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,26 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 450,1784 [M+Na]⁺; berechnet für C₂₆H₂₅N₃NaO₃⁺: 450,1788; HPLC (Gradient A): rt 15,87 min (97,5%).

3-[1-(1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl)-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanhydroxamsäure (127e)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[1-(1,3-benzodioxol-5-ylmethyl)-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanoat (**125e**; 300 mg; 0,68 mmol), NaOCH₃ (5 N; 817 µl; 4,09 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (142 mg; 2,04 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 150 mg (50%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 442,2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,94-1,97 (m, 1,8H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,23-2,26 (m, 0,2H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,72-2,74 (m, 2H, -CO-CH₂-CH₂-); 5,09 (s, 2H, -CH₂-Ar); 5,95 (s, 2H, -O-CH₂-O-); 6,40 (d, 1H, $^3J=8,0$ Hz, Ar-H); 6,51 (s, 1H, Ar-H); 6,78 (d, 1H, $^3J=8,0$ Hz, Ar-H); 7,35-7,37 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,44-7,46 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,49-7,53 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,70 (d, 2H, $^3J=7,6$ Hz, 2x Ar-H); 9,74 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,26 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 464,1579 [M+Na]⁺; berechnet für C₂₆H₂₃N₃NaO₄⁺: 464,1581; HPLC (Gradient A): rt 15,76 min (>99%).

3-[1-[[3-(Difluoromethoxy)phenyl]methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanhydroxamsäure (127f)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[1-[[3-(difluoromethoxy)phenyl]methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanoat (**125f**; 355 mg; 0,77 mmol), NaOCH₃ (5 N; 921 µl; 4,61 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (160 mg; 2,30 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 154 mg (43%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 464,2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,95-1,98 (m, 1,8H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,25-2,27 (m, 0,2H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,73-2,75 (m, 2H, -CO-CH₂-CH₂-); 5,22 (s, 2H, -CH₂-Ar); 6,75 (s, 1H, Ar-H); 6,82 (d, 1H, $^3J=7,7$ Hz, Ar-H); 7,03-7,04 (m, 1H, Ar-H); 7,15 (t, 1H, $^2J_{(H,F)}=73,3$ Hz, -CHF₂); 7,31-7,38 (m, 4H, 4x Ar-H); 7,45 (t, 2H, $^3J=7,6$ Hz, 2x Ar-H); 7,48-7,52 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,70 (d, 2H, $^3J=7,7$ Hz, 2x Ar-H); 9,75 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,27 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 464,1781 [M+H]⁺; berechnet für C₂₆H₂₄F₂N₃O₃⁺: 464,1780; HPLC (Gradient A): rt 17,07 min (98,8%).

3-[1-[[4-(Difluoromethoxy)phenyl]methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanhydroxamsäure (127g)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[1-[[4-(difluoromethoxy)phenyl]methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanoat (**125g**; 366 mg; 0,79 mmol), NaOCH₃ (5 N; 950 µl; 4,75 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (165 mg; 2,37 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 171 mg (47%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 464,2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,95-1,98 (m, 1,8H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,25-2,27 (m, 0,2H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,73-2,75 (m, 2H, -CO-CH₂-CH₂-); 5,20 (s, 2H, -CH₂-Ar); 7,02-7,03 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,07-7,08 (m, 2H, 2x Ar-H), 7,18 (t, 1H, ²J_(H,F)=71,4 Hz, -CHF₂); 7,36-7,38 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,46 (t, 2H, ³J=7,5 Hz, 2x Ar-H); 7,49-7,53 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,70 (d, 2H, ³J=7,7 Hz, 2x Ar-H); 9,75 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,27 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 464,1781 [M+H]⁺; berechnet für C₂₆H₂₄F₂N₃O₃⁺: 464,1780; HPLC (Gradient A): rt 16,99 min (>99%).

3-[1-[(3-Cyanophenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanhydroxamsäure (127h)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[1-[(3-cyanophenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanoat (**125h**; 270 mg; 0,64 mmol), NaOCH₃ (5 N; 769 µl; 3,84 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (134 mg; 1,92 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt.¹ Ausbeute: 63 mg (23%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 423,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,96-1,98 (m, 1,8H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,25-2,27 (m, 0,2H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,73-2,75 (m, 2H, -CO-CH₂-CH₂-); 5,28 (s, 2H, -CH₂-Ar); 7,27 (d, 1H, ³J=7,9 Hz, Ar-H); 7,34-7,38 (m, 4H, 4x Ar-H); 7,45-7,51 (m, 6H, 6x Ar-H); 7,69-7,72 (m, 3H, 3x Ar-H); 9,75 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,27 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 445,1635 [M+Na]⁺; berechnet für C₂₆H₂₂N₄NaO₂⁺: 445,1635; HPLC (Gradient A): rt 15,23 min (>99%).

3-[[4-[3-(Hydroxyamino)-3-oxo-propyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-1-yl]methyl]benzoesäure (127i)

Die Verbindung wird ausgehend von 3-[[4-(3-Methoxy-3-oxo-propyl)-3,5-diphenyl-pyrazol-1-yl]methyl]benzoesäure (**125i**; 300 mg; 0,68 mmol), NaOCH₃ (5 N; 817 µl; 4,09 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (142 mg; 2,04 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 47 mg (16%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 442,1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,96-1,98 (m, 1,8H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,25-2,27 (m, 0,2H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,73-2,75 (m, 2H, -CO-CH₂-CH₂-); 5,27 (s, 2H, -CH₂-Ar); 7,18

¹ Die Umsetzung der Hydroxamsäure erfolgt bei Raumtemperatur über Nacht.

(d, 1H, $^3J=7,7$ Hz, Ar-H); 7,34-7,40 (m, 4H, 4x Ar-H); 7,44-7,51 (m, 5H, 5x Ar-H); 7,60 (s, 1H, Ar-H); 7,70 (d, 2H, $^3J=7,7$ Hz, 2x Ar-H); 7,80 (d, 1H, $^3J=7,7$ Hz, Ar-H); 9,75 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,27 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 442,1761 [M+H]⁺; berechnet für C₂₆H₂₄N₃O₄⁺: 442,1761; HPLC (Gradient A): rt 13,87 min (>99%).

4-[[4-[3-(Hydroxyamino)-3-oxo-propyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-1-yl]methyl]benzoesäure (127j)

Die Verbindung wird ausgehend von 4-[[4-(3-Methoxy-3-oxo-propyl)-3,5-diphenyl-pyrazol-1-yl]methyl]benzoesäure (**125j**; 360 mg; 2,01 mmol), NaOCH₃ (5 N; 981 µl; 4,90 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (170 mg; 2,45 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 6 mg (8%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 442,1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,96-1,99 (m, 1,8H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,24-2,31 (m, 0,2H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,71-2,76 (m, 2H, -CO-CH₂-CH₂-); 5,28 (s, 2H, -CH₂-Ar); 7,05-7,08 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,34-7,38 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,34-7,38 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,43-7,51 (m, 5H, 5x Ar-H); 7,71 (d, 2H, $^3J=7,3$ Hz, 2x Ar-H); 7,84 (d, 2H, $^3J=8,1$ Hz, 2x Ar-H); 9,75 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,27 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 442,1762 [M+H]⁺; berechnet für C₂₆H₂₄N₃O₄⁺: 442,1761; HPLC (Gradient A): rt 13,41 min (>99%).

3-[1-[(4-Chloro-2-fluoro-3-hydroxy-phenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanhydroxamsäure (127k)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[1-[(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanoat (**125k**; 250 mg; 0,52 mmol), NaOCH₃ (5 N; 626 µl; 3,13 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (109 mg; 1,57 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Die anschließende Entschützung des Phenols erfolgt mit BBr₃ (1 M in DCM; 3 Äq.). Ausbeute: 56 mg (23%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 466,2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,95-1,97 (m, 1,8H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,23-2,27 (m, 0,2H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,72-2,75 (m, 2H, -CO-CH₂-CH₂-); 5,21 (s, 2H, -CH₂-Ar); 6,36 (t, 1H, $^3J=7,9$ Hz, Ar-H); 7,10 (d, 1H, $^3J=8,6$ Hz, Ar-H); 7,36-7,38 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,45 (t, 2H, $^3J=7,5$ Hz, 2x Ar-H); 7,49-7,53 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,68 (d, 2H, $^3J=7,5$ Hz, 2x Ar-H); 9,75 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,26 (s, 0,9H, -NH-OH); 10,36 (s, 1H, Ar-OH); HRMS m/z: 466,1325 [M+H]⁺; berechnet für C₂₅H₂₂ClFN₃O₃⁺: 466,1328; HPLC (Gradient A): rt 15,28 min (>99%).

3-[1-[(3-Chloro-5-fluoro-4-hydroxy-phenyl)methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanhydroxamsäure (127l)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[1-[(3-chloro-5-fluoro-4-methoxy-phenyl)-methyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanoat (**125l**; 290 mg; 0,61 mmol), NaOCH₃ (5 N; 727 µl; 3,63 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (126 mg; 1,82 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Die anschließende Entschützung des Phenols erfolgt mit BBr₃ (1 M in DCM; 3 Äq.). Ausbeute: 60 mg (20%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 466,1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,94-1,97 (m, 1,8H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,23-2,26 (m, 0,2H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,72-2,74 (m, 2H, -CO-CH₂-CH₂-); 5,11 (s, 2H, -CH₂-Ar); 6,69-6,71 (m, 1H, Ar-H); 6,75 (s, 1H, Ar-H); 7,35-7,38 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,45-7,47 (t, 2H, ³J=7,6 Hz, 2x Ar-H); 7,50-7,54 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,70 (d, 2H, ³J=7,3 Hz, 2x Ar-H); 9,74 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,26 (s, 0,9H, -NH-OH); 10,39 (s, 1H, Ar-OH); HRMS m/z: 466,1330 [M+H]⁺; berechnet für C₂₅H₂₂ClFN₃O₃⁺: 466,1328; HPLC (Gradient A): rt 15,81 min (>99%).

3-[3,5-Diphenyl-1-(3-pyridylmethyl)pyrazol-4-yl]propanhydroxamsäure (127m)¹

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[3,5-diphenyl-1-(3-pyridylmethyl)pyrazol-4-yl]propanoat (**125m**; 115 mg; 0,29 mmol), NaOCH₃ (5 N; 347 µl; 1,74 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (60 mg; 0,87 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 69 mg (60%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 399,2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,95-1,97 (m, 1,8H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,25-2,27 (m, 0,2H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,73-2,75 (m, 2H, -CO-CH₂-CH₂-); 5,31 (s, 2H, -CH₂-Ar); 7,36-7,40 (m, 3H, 2x Ar-H + Pyridin: CH); 7,44-7,46 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,50-7,53 (m, 4H, 4x Ar-H); 7,64 (d, 1H, ³J=8,0 Hz, Pyridin: CH); 7,69 (d, 2H, ³J=8,0 Hz, 2x Ar-H); 8,31 (s, 1H, Pyridin: CH); 8,56 (d, 1H, ³J=5,1 Hz, Pyridin: CH); 9,75 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,27 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 399,1816 [M+H]⁺; berechnet für C₂₄H₂₃N₄O₂⁺: 399,1816; HPLC (Gradient A): rt 8,99 min (>99%).

3-[3,5-Diphenyl-1-(4-pyridylmethyl)pyrazol-4-yl]propanhydroxamsäure (127n)¹

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[3,5-diphenyl-1-(4-pyridylmethyl)pyrazol-4-yl]propanoat (**125n**; 120 mg; 0,30 mmol), NaOCH₃ (5 N; 362 µl; 1,81 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (63 mg; 0,91 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 49 mg (41%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 399,2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,98-2,00 (m, 1,8H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,28-2,30 (m, 0,2H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,76-2,78 (m, 2H, -CO-CH₂-CH₂-); 5,42-5,43 (m, 2H, -CH₂-Ar);

¹ Die Verbindung liegt als einfaches TFA-Salz vor.

7,28-7,31 (m, 2H, Pyridin: 2x CH); 7,36-7,40 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,45-7,51 (m, 5H, 5x Ar-H); 7,71-7,72 (m, 2H, 2x Ar-H); 8,65 (d, 2H, $^3J=5,6$ Hz, Pyridin: 2x CH); 9,77 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,29 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 399,1816 [M+H]⁺; berechnet für C₂₄H₂₃N₄O₂⁺: 399,1816; HPLC (Gradient A): rt 9,57 min (>99%).

2-[1-[2-(Dimethylamino)ethyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (131a)¹

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-[1-[2-(dimethylamino)ethyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (**129a**; 240 mg; 0,66 mmol), NaOCH₃ (5 N; 792 µl; 3,96 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (138 mg; 1,98 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 106 mg (44%); Aussehen: hellbraunes viskoses Öl; ESI-MS m/z: 365,1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 2,81-2,82 (m, 6H, -NH⁺-(CH₃)₂); 3,14 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,45 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 3,60-3,62 (m, 2H, -CH₂-CH₂-NH⁺-(CH₃)₂); 4,37-4,39 (m, 2H, -CH₂-CH₂-NH⁺-(CH₃)₂); 7,38-7,40 (m, 1H, Ar-H); 7,44-7,46 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,54-7,58 (m, 5H, 5x Ar-H); 7,60-7,61 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 7,68-7,70 (m, 1,8H, 2x Ar-H); 8,85 (br s, 0,8H, -NH-OH); 9,17 (br s, 0,1H, -NH-OH); 9,47 (br s, 1H, -NH⁺(CH₃)₂); 10,02 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,46 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 365,1968 [M+H]⁺; berechnet für C₂₁H₂₅N₄O₂⁺: 365,1972; HPLC (Gradient A): rt 8,75 min (>99%).

2-[3,5-Diphenyl-1-(1-phenylcyclobutyl)pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (131b)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-[3,5-diphenyl-1-(1-phenylcyclobutyl)pyrazol-4-yl]acetat (**129b**; 110 mg; 0,26 mmol), NaOCH₃ (5 N; 312 µl; 1,56 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (54 mg; 0,78 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 16 mg (15%); Aussehen: weißer Feststoff; APCI-MS m/z: 424,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,85-1,90 (m, 2H, Cyclobutan: 2x CH); 2,26-2,29 (m, 2H, Cyclobutan: 2x CH); 2,92-2,97 (m, 2H, Cyclobutan: 2x CH); 3,03 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,34 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 6,85-6,86 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 6,89-6,90 (m, 1,8H, 2x Ar-H); 7,15-7,18 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,26-7,30 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,33-7,39 (m, 4H, 4x Ar-H); 7,45-7,47 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,66-7,67 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 7,75-7,76 (m, 1,8H, 2x Ar-H); 9,91 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,36 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 446,1838 [M+Na]⁺; berechnet für C₂₇H₂₅N₃NaO₂⁺: 446,1839; HPLC (Gradient A): rt 18,56 min (96,1%).

¹ Die Verbindung liegt als einfaches TFA-Salz vor.

2-[1-[1-(3-Methoxyphenyl)cyclobutyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (131c)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-[1-[1-(3-methoxyphenyl)cyclobutyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (**129c**; 240 mg; 0,53 mmol), NaOCH₃ (5 N; 636 µl; 3,18 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (111 mg; 1,59 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 8 mg (3%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 454,1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,84-1,89 (m, 2H, Cyclobutan: 2x CH); 2,25-2,29 (m, 2H, Cyclobutan: 2x CH); 2,90-2,94 (m, 2H, Cyclobutan: 2x CH); 3,02 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,33 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 3,70 (s, 3H, -OCH₃); 6,61-6,62 (m, 1H, Ar-H); 6,76-6,77 (m, 1H, Ar-H); 6,85-6,86 (m, 1H, Ar-H); 6,89-6,91 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 6,92-6,93 (m, 1,8H, 2x Ar-H); 7,25-7,29 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,35-7,38 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,44-7,46 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,64-7,65 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 7,73-7,74 (m, 1,8H, 2x Ar-H); 9,91 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,35 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 476,1943 [M+Na]⁺; berechnet für C₂₈H₂₇N₃NaO₃⁺: 476,1945; HPLC (Gradient A): rt 18,29 min (>99%).

2-[3,5-Diphenyl-1-(3-phenyloxetan-3-yl)pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (131d)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-[3,5-diphenyl-1-(3-phenyloxetan-3-yl)pyrazol-4-yl]acetat (**129d**; 85 mg; 0,20 mmol), NaOCH₃ (5 N; 240 µl; 1,20 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (42 mg; 0,60 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 3 mg (3%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 426,2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, CD₃OD): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,30 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,63 (br s, 0,2H, -CO-CH₂-); 4,53-4,54 (m, 2H, Oxetan: 2x CH); 5,27-5,28 (m, 2H, Oxetan: 2x CH); 7,09-7,10 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 7,12 (d, 1,8H, ³J=7,6 Hz, 2x Ar-H); 7,27 (d, 2H, ³J=7,9 Hz, 2x Ar-H); 7,30 (t, 2H, ³J=7,6 Hz, 2x Ar-H); 7,38-7,41 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,44-7,48 (m, 4H, 4x Ar-H); 7,66-7,68 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 7,72 (d, 1,8H, ³J=7,6 Hz, 2x Ar-H); HRMS m/z: 426,1808 [M+H]⁺; berechnet für C₂₆H₂₄N₃O₃⁺: 426,1812; HPLC (Gradient A): rt 15,97 min (98,6%).

2-[1-[3-(3-Methoxyphenyl)oxetan-3-yl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (131e)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-[1-[3-(3-methoxyphenyl)oxetan-3-yl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (**129e**; 190 mg; 0,42 mmol), NaOCH₃ (5 N; 502 µl; 2,51 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (87 mg; 1,25 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 24 mg (12%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 293,8 [M-C₁₀H₁₁O₂]⁺, 455,7 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,16 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,46 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 3,74 (s, 3H, -OCH₃); 4,53-4,55 (m, 2H, Oxetan: 2x

CH); 5,15-5,16 (m, 2H, Oxetan: 2x CH); 6,62-6,64 (m, 1H, Ar-H); 6,75 (d, 0,9H, $^3J=7,8$ Hz, Ar-H); 6,77-6,79 (m, 0,1H, Ar-H); 6,95-6,97 (m, 1H, Ar-H); 7,03-7,04 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 7,08 (d, 1,8H, $^3J=7,6$ Hz); 7,33-7,41 (m, 5H, 5x Ar-H); 7,46 (t, 2H, $^3J=7,6$ Hz, 2x Ar-H); 7,62-7,63 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 7,71 (d, 1,8H, $^3J=7,3$ Hz); 9,98 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,44 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 478,1728 [M+Na]⁺; berechnet für C₂₇H₂₅N₃NaO₄⁺: 478,1737; HPLC (Gradient A): rt 15,84 min (>99%).

2-[1-[1-(3-Methoxyphenyl)-1-methyl-ethyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]ethanhydroxamsäure (131f)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-[1-[1-(3-methoxyphenyl)-1-methyl-ethyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]acetat (**129f**; 40 mg; 0,09 mmol), NaOCH₃ (5 N; 109 µl; 0,54 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (19 mg; 0,27 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 7 mg (18%); Aussehen: weißer Feststoff; APCI-MS m/z: 442,0 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,73 (s, 6H, -C(CH₃)₂); 2,92 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,23 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 3,67 (s, 3H, -OCH₃); 6,40-6,41 (m, 1H, Ar-H); 6,53-6,54 (m, 1H, Ar-H); 6,72-6,76 (m, 2H, 2x Ar-H); 6,81-6,82 (m, 1H, Ar-H); 7,17-7,20 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,29-7,31 (m, 1H, Ar-H); 7,34-7,36 (m, 1H, Ar-H); 7,42-7,45 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,63-7,64 (m, 0,2H, 2x Ar-H); 7,72-7,73 (m, 1,8H, 2x Ar-H); 9,82 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,25 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 464,1938 [M+Na]⁺; berechnet für C₂₇H₂₇N₃NaO₃⁺: 464,1945; HPLC (Gradient A): rt 18,19 min (96,1%).

3-[1-[2-(Dimethylamino)ethyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanhydroxamsäure (132)¹

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[1-[2-(dimethylamino)ethyl]-3,5-diphenyl-pyrazol-4-yl]propanoat (**130**; 370 mg; 0,98 mmol), NaOCH₃ (5 N; 1,2 ml; 5,88 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (204 mg; 2,94 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 63 mg (17%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 379,2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (700 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 1,95-1,97 (m, 1,8H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,25-2,27 (m, 0,2H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,73-2,76 (m, 2H, -CO-CH₂-CH₂-); 2,80-2,82 (m, 6H, -NH⁺-(CH₃)₂); 3,56 (s, 2H, -CH₂-CH₂-NH⁺-(CH₃)₂); 4,31-4,33 (m, 2H, -CH₂-CH₂-NH⁺-(CH₃)₂); 7,39-7,41 (m, 1H, Ar-H); 7,47-7,52 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,56-7,61 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,70-7,73 (m, 2H, 2x Ar-H); 8,91 (s, 0,1H); 9,42 (s, 1H, -NH⁺(CH₃)₂); 9,78 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,30 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 379,2129 [M+H]⁺; berechnet für C₂₂H₂₇N₄O₂⁺: 379,2129; HPLC (Gradient A): rt 8,96 min (>99%).

¹ Die Verbindung liegt als einfaches TFA-Salz vor.

9.1.5 Substituierte 2-Phenylbenzimidazolderivate

Zwischenprodukte

2-(4-Methoxyphenyl)-1H-benzimidazol (133a)

Die Verbindung wird ausgehend von *o*-Phenylendiamin (**63**; 108 mg; 1 mmol), *p*-Anisaldehyd (121 μ l; 1 mmol), H₂O₂ (30%; 405 μ l; 4 mmol) und Ammoniumcer(IV)-nitrat (55 mg; 0,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 10 dargestellt. Ausbeute: 117 mg (52%); ESI-MS m/z: 225,1 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 9,31 min (>99%).

2-(4-Chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-1H-benzimidazol (133b)

Die Verbindung wird ausgehend von *o*-Phenylendiamin (**63**; 108 mg; 1 mmol), 4-Chloro-2-fluoro-3-methoxybenzaldehyd (189 mg; 1 mmol), H₂O₂ (30%; 405 μ l; 4 mmol) und Ammoniumcer(IV)-nitrat (55 mg; 0,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 10 dargestellt. Ausbeute: 195 mg (70%); ESI-MS m/z: 277,4 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 11,01 min (88,7%).

Methyl-2-(1H-benzimidazol-2-yl)benzoat (133c)

Die Verbindung wird ausgehend von *o*-Phenylendiamin (**63**; 324 mg; 3 mmol), Methyl-2-formylbenzoat (492 mg; 3 mmol), H₂O₂ (30%; 1,2 ml; 12 mmol) und Ammoniumcer(IV)-nitrat (164 mg; 0,3 mmol) entsprechend der allgemeinen 10 dargestellt. Ausbeute: 310 mg (41%); ESI-MS m/z: 253,0 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 8,61 min (91,7%).

Methyl-3-(1H-benzimidazol-2-yl)benzoat (133d)

Die Verbindung wird ausgehend von *o*-Phenylendiamin (**63**; 186 mg; 1,72 mmol), Methyl-3-formylbenzoat (282 mg; 1,72 mmol), H₂O₂ (30%; 696 μ l; 6,87 mmol) und Ammoniumcer(IV)-nitrat (94 mg; 0,17 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 10 dargestellt. Ausbeute: 360 mg (83%); ESI-MS m/z: 253,0 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 9,81 min (80,5%).

Methyl-4-(1H-benzimidazol-2-yl)benzoat (133e)

Die Verbindung wird ausgehend von *o*-Phenylendiamin (**63**; 171 mg; 1,58 mmol), Methyl-4-formylbenzoat (259 mg; 1,58 mmol), H₂O₂ (30%; 639 μ l; 6,31 mmol) und Ammoniumcer(IV)-nitrat (86 mg; 0,2 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 10 dargestellt. Ausbeute: 163 mg (41%); ESI-MS m/z: 253,1 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 9,84 min (98,0%).

Methyl-2-[2-(4-methoxyphenyl)benzimidazol-1-yl]acetat (134a)

Die Verbindung wird ausgehend von 2-(4-Methoxyphenyl)-1H-benzimidazol (**133a**; 117 mg; 0,52 mmol), Natriumhydrid (25 mg; 0,63 mmol) und Bromessigsäuremethylester (**29**; 53 μ l;

0,57 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt und ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet. Ausbeute: 154 mg (99%); ESI-MS m/z: 297,2 [M+H]⁺.

Methyl-2-[2-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)benzimidazol-1-yl]acetat (134b)

Die Verbindung wird ausgehend von 2-(4-Chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-1H-benzimidazol (**133b**; 195 mg; 0,70 mmol), Natriumhydrid (34 mg; 0,85 mmol) und Bromessigsäuremethylester (**29**; 71 µl; 0,78 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt und ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet. Ausbeute: 209 mg (85%); ESI-MS m/z: 349,4 [M+H]⁺.

Methyl-2-[1-(2-*tert*-butoxy-2-oxo-ethyl)benzimidazol-2-yl]benzoat (134c)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(1H-benzimidazol-2-yl)benzoat (**133c**; 310 mg; 1,23 mmol), Natriumhydrid (74 mg; 1,84 mmol) und Bromessigsäure-*tert*-butylester (**93**; 198 µl; 1,35 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt und ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet. Ausbeute: 450 mg (99%); ESI-MS m/z: 311,0 [M-*t*-Bu]⁺, 367,1 [M+H]⁺.

Methyl-3-[1-(2-*tert*-butoxy-2-oxo-ethyl)benzimidazol-2-yl]benzoat (134d)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(1H-benzimidazol-2-yl)benzoat (**133d**; 360 mg; 1,43 mmol), Natriumhydrid (86 mg; 2,14 mmol) und Bromessigsäure-*tert*-butylester (**93**; 230 µl; 1,57 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt und ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet. Ausbeute: 390 mg (75%); ESI-MS m/z: 311,2 [M-*t*-Bu]⁺, 367,3 [M+H]⁺.

Methyl-4-[1-(2-*tert*-butoxy-2-oxo-ethyl)benzimidazol-2-yl]benzoat (134e)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-4-(1H-benzimidazol-2-yl)benzoat (**133e**; 163 mg; 0,65 mmol), Natriumhydrid (39 mg; 0,97 mmol) und Bromessigsäure-*tert*-butylester (**93**; 104 µl; 0,71 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt und ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet. Ausbeute: 236 mg (99%); ESI-MS m/z: 311,1 [M-*t*-Bu]⁺, 367,2 [M+H]⁺.

2-[2-(3-Methoxycarbonylphenyl)benzimidazol-1-yl]ethansäure (135c)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-[1-(2-*tert*-butoxy-2-oxo-ethyl)benzimidazol-2-yl]benzoat (**134c**; 450 mg; 1,23 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 20 dargestellt. Ausbeute: 381 mg (99%); ESI-MS m/z: 311,0 [M+H]⁺.

2-[2-(3-Methoxycarbonylphenyl)benzimidazol-1-yl]ethansäure (135d)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[1-(2-*tert*-butoxy-2-oxo-ethyl)benzimidazol-2-yl]benzoat (**134d**; 390 mg; 1,06 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 20 dargestellt. Ausbeute: 240 mg (73%); ESI-MS *m/z*: 311,3 [M+H]⁺.

2-[2-(4-Methoxycarbonylphenyl)benzimidazol-1-yl]ethansäure (135e)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-4-[1-(2-*tert*-butoxy-2-oxo-ethyl)benzimidazol-2-yl]benzoat (**134e**; 236 mg; 0,64 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 20 dargestellt. Ausbeute: 190 mg (95%); ESI-MS *m/z*: 311,0 [M+H]⁺.

Methyl-2-[1-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]benzimidazol-2-yl]benzoat (136c)

Die Verbindung wird ausgehend von 2-[2-(2-Methoxycarbonylphenyl)benzimidazol-1-yl]ethansäure (**135c**; 381 mg; 1,23 mmol), TBTU (394 mg; 1,23 mmol), *O*-Benzylhydroxylamin Hydrochlorid (**21**; 196 mg; 1,23 mmol) und DIPEA (859 μ l; 4,92 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung der *N*-Benzylhydroxamsäure-derivate dargestellt. Ausbeute: 80 mg (23%); ESI-MS *m/z*: 416,1 [M+H]⁺.

Methyl-3-[1-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]benzimidazol-2-yl]benzoat (136d)

Die Verbindung wird ausgehend von 2-[2-(3-Methoxycarbonylphenyl)benzimidazol-1-yl]ethansäure (**135d**; 240 mg; 0,77 mmol), TBTU (248 mg; 0,77 mmol), *O*-Benzylhydroxylamin Hydrochlorid (**21**; 123 mg; 0,77 mmol) und DIPEA (540 μ l; 3,09 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 13 dargestellt. Ausbeute: 240 mg (75%); ESI-MS *m/z*: 416,1 [M+H]⁺.

Methyl-4-[1-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]benzimidazol-2-yl]benzoat (136e)

Die Verbindung wird ausgehend von 2-[2-(4-Methoxycarbonylphenyl)benzimidazol-1-yl]ethansäure (**135e**; 190 mg; 0,61 mmol), TBTU (197 mg; 0,61 mmol), *O*-Benzylhydroxylamin Hydrochlorid (**21**; 98 mg; 0,61 mmol) und DIPEA (427 μ l; 2,45 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 13 dargestellt. Ausbeute: 130 mg (51%); ESI-MS *m/z*: 416,1 [M+H]⁺.

Methyl-1-(2-*tert*-butoxy-2-oxo-ethyl)-2-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-benzimidazol-4-carboxylat (141a)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-fluoro-2-nitro-benzoat (**138a**; 435 mg; 2,18 mmol), Glycin-*tert*-butylester Hydrochlorid (366 mg; 2,18 mmol), NaHCO₃ (367 mg; 4,37 mmol), 4-Chloro-2-fluoro-3-methoxybenzaldehyd (**12a**; 412 mg; 2,18 mmol) und Na₂S₂O₄

(1141 mg; 6,55 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 19 dargestellt. Ausbeute: 130 mg (13%); ESI-MS m/z: 449,0 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 16,88 min (88,3%).

Methyl-1-(2-*tert*-butoxy-2-oxo-ethyl)-2-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-benzimidazol-5-carboxylat (141b)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-4-fluoro-3-nitro-benzoat (**138b**; 333 mg; 1,67 mmol), Glycin-*tert*-butylester Hydrochlorid (280 mg; 1,67 mmol), NaHCO₃ (281 mg; 3,34 mmol), 4-Chloro-2-fluoro-3-methoxybenzaldehyd (**12a**; 315 mg; 1,67 mmol) und Na₂S₂O₄ (873 mg; 5,02 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 19 dargestellt. Ausbeute: 232 mg (31%); ESI-MS m/z: 449,1 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 19,52 min (92,7%).

Methyl-3-(2-*tert*-butoxy-2-oxo-ethyl)-2-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-benzimidazol-5-carboxylat (141c)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-fluoro-4-nitro-benzoat (**138c**; 333 mg; 1,67 mmol), Glycin-*tert*-butylester Hydrochlorid (280 mg; 1,67 mmol), NaHCO₃ (281 mg; 3,34 mmol), 4-Chloro-2-fluoro-3-methoxybenzaldehyd (**12a**; 315 mg; 1,67 mmol) und Na₂S₂O₄ (873 mg; 5,02 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 19 dargestellt. Ausbeute: 190 mg (25%); ESI-MS m/z: 393,0 [M-t-Bu]⁺, 449,0 [M+H]⁺; HPLC (Gradient A): rt 19,28 min (87,9%).

2-[2-(4-Chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-4-methoxycarbonyl-benzimidazol-1-yl]ethansäure (142a)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-1-(2-*tert*-butoxy-2-oxo-ethyl)-2-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)benzimidazol-4-carboxylat (**141a**; 130 mg; 0,29 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 20 dargestellt. Ausbeute: 113 mg (99%); ESI-MS m/z: 393,0 [M+H]⁺.

2-[2-(4-Chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-5-methoxycarbonyl-benzimidazol-1-yl]ethansäure (142b)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-1-(2-*tert*-butoxy-2-oxo-ethyl)-2-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)benzimidazol-5-carboxylat (**141b**; 232 mg; 0,52 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 20 dargestellt. Ausbeute: 210 mg (99%); ESI-MS m/z: 393,2 [M+H]⁺.

2-[2-(4-Chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-6-methoxycarbonyl-benzimidazol-1-yl]ethansäure (142c)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-(2-*tert*-butoxy-2-oxo-ethyl)-2-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)benzimidazol-5-carboxylat (**141c**; 190 mg; 0,42 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 20 dargestellt. Ausbeute: 165 mg (99%); ESI-MS m/z : 393,0 $[M+H]^+$.

Methyl-1-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-2-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-benzimidazol-4-carboxylat (143a)

Die Verbindung wird ausgehend von 2-[2-(4-Chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-4-methoxycarbonyl-benzimidazol-1-yl]ethansäure (**142a**; 113 mg; 0,29 mmol), TBTU (92 mg; 0,29 mmol), *O*-Benzyloxyamin Hydrochlorid (**21**; 46 mg; 0,29 mmol) und DIPEA (200 μ l; 1,15 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 13 dargestellt. Ausbeute: 105 mg (73%); ESI-MS m/z : 498,0 $[M+H]^+$.

Methyl-1-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-2-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-benzimidazol-5-carboxylat (143b)

Die Verbindung wird ausgehend von 2-[2-(4-Chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-5-methoxycarbonyl-benzimidazol-1-yl]ethansäure (**142b**; 210 mg; 0,53 mmol), TBTU (172 mg; 0,53 mmol), *O*-Benzyloxyamin Hydrochlorid (**21**; 85 mg; 0,53 mmol) und DIPEA (373 μ l; 2,14 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 13 dargestellt. Ausbeute: 177 mg (66%); ESI-MS m/z : 498,4 $[M+H]^+$.

Methyl-3-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-2-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-benzimidazol-5-carboxylat (143c)

Die Verbindung wird ausgehend von 2-[2-(4-Chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)-6-methoxycarbonyl-benzimidazol-1-yl]ethansäure (**142c**; 165 mg; 0,42 mmol), TBTU (135 mg; 0,42 mmol), *O*-Benzyloxyamin Hydrochlorid (**21**; 67 mg; 0,42 mmol) und DIPEA (293 μ l; 1,68 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 13 dargestellt. Ausbeute: 150 mg (71%); ESI-MS m/z : 498,1 $[M+H]^+$.

Endverbindungen**2-[2-(4-Methoxyphenyl)benzimidazol-1-yl]ethanhydroxamsäure (137a)¹**

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-[2-(4-methoxyphenyl)benzimidazol-1-yl]acetat (**136a**; 155 mg; 0,52 mmol), NaOCH₃ (5 N; 626 µl; 3,13 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (109 mg; 1,57 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 55 mg (36%); Aussehen: hellgelber Feststoff; ESI-MS m/z: 298,1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,90 (s, 3H, -OCH₃); 4,97 (s, 1,6H, -CO-CH₂-); 5,32 (s, 0,4H, -CO-CH₂-); 7,22-7,26 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,48-7,54 (m, 2H, Bim: C₆H + C₇H); 7,72-7,87 (m, 4H, 2x Ar-H + Bim: C₄H + C₇H); 10,67 (s, 0,2H, -NH-OH); 11,15 (s, 0,8H, -NH-OH); HPLC (Gradient A): rt 6,88 min (98,2 %).

2-[2-(4-Chloro-2-fluoro-3-hydroxyphenyl)benzimidazol-1-yl]ethanhydroxamsäure (137b)¹

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-[2-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxyphenyl)benzimidazol-1-yl]acetat (**136b**; 205 mg; 0,59 mmol), NaOCH₃ (5 N; 705 µl; 3,53 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (123 mg; 1,76 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Anschließende Entschützung des Phenols erfolgt mit BBr₃ (1 M in DCM; 5 Äq.). Ausbeute: 24 mg (51%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 336,5 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 4,80 (s, 1,6H, -CO-CH₂-); 5,13 (s, 0,4H, -CO-CH₂-); 7,06-7,19 (m, 1H, Ar-H); 7,35-7,46 (m, 3H, Ar-H, Bim: C₅H + C₆H); 7,62 (d, 1H, ³J=7,7 Hz, Bim: C₇H); 7,77 (d, 1H, ³J=7,7 Hz, Bim: C₄H); 10,43 (br s, 0,2H, -NH-OH); 10,91 (br s, 0,8H, -NH-OH); HRMS m/z: 336,0562 [M+H]⁺; berechnet für C₁₅H₁₂ClFN₃O₃⁺: 336,0546; HPLC (Gradient A): rt 9,23 min (>99%).

2-[1-[2-(Hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]benzimidazol-2-yl]benzoesäure (137c)¹

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-[1-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]benzimidazol-2-yl]benzoat (**136c**; 80 mg; 0,19 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 1,9 ml; 1,93 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 2 mg (2%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS: m/z 312,1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): (*cis-trans*-Isomere) δ 4,85 (s, 1,6H, -CO-CH₂-); 5,21 (br s, 0,4H, -CO-CH₂-); 7,61-7,67 (m, 2H, Bim: C₅H + C₆H); 7,72-7,82 (m, 3H, Bim: C₄H + C₇H + Ar-H); 7,86-7,92 (m, 2H, 2x Ar-H); 8,34-8,37 (m, 1H, Ar-H); HRMS m/z: 312,0977 [M+H]⁺; berechnet für C₁₆H₁₄N₃O₄⁺: 312,0979; HPLC (Gradient A): rt 5,17 min (>99%).

¹ Die Verbindung liegt als einfaches TFA-Salz vor.

3-[1-[2-(Hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]benzimidazol-2-yl]benzoesäure (137d)¹

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[1-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-benzimidazol-2-yl]benzoat (**136d**; 240 mg; 0,58 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 5,8 ml; 5,77 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 5 mg (3%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS: m/z 312,0 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 4,92 (s, 1,6H, -CO-CH₂-); 5,25 (s, 0,4H, -CO-CH₂-); 7,39-7,46 (m, 2H, Bim: C₅H + C₆H); 7,63-7,66 (m, 1H, Bim: C₇H); 7,74-7,80 (m, 2H, Bim: C₄H + Ar-H); 7,99-8,01 (m, 0,2H, Ar-H); 8,11-8,13 (m, 0,8H, Ar-H); 8,17-8,19 (m, 1H, Ar-H); 8,35 (s, 0,2H, Ar-H); 8,46 (s, 0,8H, Ar-H); 10,60 (s, 0,2H, -NH-OH); 11,05 (s, 0,8H, -NH-OH); 13,31 (br s, 1H, -COOH); HRMS m/z: 312,0974 [M+H]⁺; berechnet für C₁₆H₁₄N₃O₄⁺: 312,0979; HPLC (Gradient A): rt 6,13 min (>99%).

4-[1-[2-(Hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]benzimidazol-2-yl]benzoesäure (137e)¹

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-4-[1-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-benzimidazol-2-yl]benzoat (**136e**; 130 mg; 0,31 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 3,1 ml; 3,13 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 4 mg (4%). Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS: m/z 312,0 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): (*cis-trans*-Isomere) δ 5,09 (s, 1,5H, -CO-CH₂-); 5,47 (s, 0,5H, -CO-CH₂-); 7,61-7,66 (m, 2H, Bim: C₅H + C₆H); 7,76-7,78 (m, 1H, Bim: C₇H); 7,84-7,86 (m, 1H, Bim: C₄H); 7,92-7,94 (m, 0,4H, 2x Ar-H); 7,99-8,01 (m, 1,6H, 2x Ar-H); 8,29-8,33 (m, 2H, 2x Ar-H); HRMS m/z: 312,0975 [M+H]⁺; berechnet für C₁₆H₁₄N₃O₄⁺: 312,0979; HPLC (Gradient A): rt 6,37 min (>99%).

2-(4-Chloro-2-fluoro-3-hydroxyphenyl)-1-[2-(hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]benzimidazol-4-carbonsäure (144a)¹

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-1-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-2-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)benzimidazol-4-carboxylat (**143a**; 105 mg; 0,21 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 2,7 ml; 2,74 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 32 mg (39%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS: m/z 380,0 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 4,88 (s, 1,6H, -CO-CH₂-); 5,20 (br s, 0,4H, -CO-CH₂-); 7,08-7,11 (m, 0,2H, Ar-H); 7,15-7,19 (m, 0,8H, Ar-H); 7,43-7,45 (m, 1H, Ar-H); 7,53 (t, 1H, ³J=7,5 Hz, Bim: C₆H); 7,91-7,95 (m, 2H, Bim: C₅H + C₇H); 10,48 (br s, 0,2H, -NH-OH); 10,90 (s, 0,8H, -NH-OH); 10,95 (br s, 1H, Ar-OH); HRMS m/z: 380,0438 [M+H]⁺; berechnet für C₁₆H₁₂ClFN₃O₅⁺: 380,0444; HPLC (Gradient A): rt 7,44 min (91,4%).

¹ Die Verbindung liegt als einfaches TFA-Salz vor.

2-(4-Chloro-2-fluoro-3-hydroxyphenyl)-1-[2-(hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]benzimidazol-5-carbonsäure (144b)¹

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-1-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-2-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)benzimidazol-5-carboxylat (**143b**; 177 mg; 0,36 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 4,6 ml; 4,62 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 35 mg (26%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS: m/z 380,0 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 4,79 (s, 1,6H, -CO-CH₂-); 5,10 (s, 0,4H, -CO-CH₂-); 7,02-7,06 (m, 0,2H, Halogenphenol: -CH); 7,10-7,14 (m, 0,8H, *cis-trans*-Isomere); 7,40-7,42 (m, 1H, Ar-H); 7,58-7,60 (m, 0,2H, Bim: C₇H); 7,63-7,65 (m, 0,8H, Bim: C₇H); 7,93-7,97 (m, 1H, Bim: C₆H); 8,29 (s, 1H, Bim: C₄H); 10,39 (br s, 0,2H, -NH-OH); 10,83 (br s, 1H, Ar-OH); 10,87 (s, 0,8H, -NH-OH); 12,83 (br s, 1H, -COOH); HRMS m/z: 380,0440 [M+H]⁺; berechnet für C₁₆H₁₂ClFN₃O₅⁺: 380,0444; HPLC (Gradient A): rt 8,48 min (>99%).

2-(4-Chloro-2-fluoro-3-hydroxyphenyl)-3-[2-(hydroxyamino)-2-oxo-ethyl]benzimidazol-5-carbonsäure (144c)¹

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-3-[2-(benzyloxyamino)-2-oxo-ethyl]-2-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)benzimidazol-5-carboxylat (**143c**; 150 mg; 0,30 mmol) und BBr₃ (1 M in DCM; 3,9 ml; 3,92 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 15 Methode A dargestellt. Ausbeute: 49 mg (43%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS: m/z 379,9 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 4,83 (s, 1,6H, -CO-CH₂-); 5,14 (s, 0,4H, -CO-CH₂-); 7,03-7,06 (m, 0,2H, Ar-H); 7,12-7,16 (m, 0,8H, Ar-H); 7,40-7,43 (m, 1H, Ar-H); 7,78-7,81 (m, 1H, Bim: C₅H); 7,90-7,93 (m, 1H, Bim: C₄H); 8,12 (s, 0,2H, Bim: C₇H); 8,21 (s, 0,8H, Bim: C₇H); 10,42 (s, 0,2H, -NH-OH); 10,84 (br s, 1H, Ar-OH); 10,90 (s, 0,8H, -NH-OH); HRMS m/z: 380,0438 [M+H]⁺; berechnet für C₁₆H₁₂ClFN₃O₅⁺: 380,0444; HPLC (Gradient A): rt 8,75 min (>99%).

9.1.6 1,3-substituierte 2-PhenylindolderivateZwischenprodukte**Methyl-2-(1-benzyl-2-phenyl-indol-3-yl)acetat (150a)**

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(2-phenyl-1H-indol-3-yl)acetat (**62**; 265 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 60 mg; 1,5 mmol) und Benzylbromid (131 µl; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt. Ausbeute: 300 mg (84%); ESI-MS m/z: 356,4 [M+H]⁺.

¹ Die Verbindung liegt als einfaches TFA-Salz vor.

Methyl-2-[1-(1,3-benzodioxol-5-yl-methyl)-2-phenyl-indol-3-yl]acetat (150b)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(2-phenyl-1H-indol-3-yl)acetat (**62**; 265 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 60 mg; 1,5 mmol) und 5-(Brommethyl)-1,3-benzodioxol (237 mg; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt und ohne weitere Aufreinigung weiter verwendet. Ausbeute: 400 mg (100%); ESI-MS m/z: 400,6 [M+H]⁺.

Methyl-2-[1-[(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)methyl]-2-phenyl-indol-3-yl]acetat (150c)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(2-phenyl-1H-indol-3-yl)acetat (**62**; 265 mg; 1 mmol), Natriumhydrid (60% in Öl; 60 mg; 1,5 mmol) und 4-Chloro-2-fluoro-3-methoxybenzylbromid (279 mg; 1,1 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 7 Methode A dargestellt und ohne weitere Aufreinigung weiter verwendet. Ausbeute: 340 mg (78%); ESI-MS m/z: 438,3 [M+H]⁺.

Endverbindungen**2-(1,2-Diphenylindol-3-yl)ethanhydroxamsäure (149)**

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(1,2-diphenylindol-3-yl)acetat (**148**; 118 mg; 0,35 mmol), NaOCH₃ (5 N; 415 µl; 2,07 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (72 mg; 1,04 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 34 mg (29%); Aussehen: weißer Feststoff; ESI-MS m/z: 343,3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,43 (s, 1,8H, -CO-CH₂-); 3,75 (s, 0,2H, -CO-CH₂-); 7,15-7,22 (m, 5H, Indol: CH + Ar-H); 7,29-7,35 (m, 4H, Indol: CH + Ar-H); 7,40-7,44 (m, 4H, Indol: CH + Ar-H), 7,70-7,71 (m, 1H, Indol: C₄H); 10,05 (s, 0,1H, -NH-OH); 10,74 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 365,1261 [M+Na]⁺; berechnet für C₂₂H₁₈N₂NaO₂⁺: 365,1260; HPLC (Gradient A): rt 16,56 min (96,7%).

2-(1-Benzyl-2-phenyl-indol-3-yl)ethanhydroxamsäure (151a)

Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-(1-benzyl-2-phenyl-indol-3-yl)acetat (**150a**; 300 mg; 0,84 mmol), NaOCH₃ (5 N; 1 ml; 5,06 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (176 mg; 2,53 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 55 mg (18%); Aussehen: hellgelber Feststoff; ESI-MS: m/z 357,4 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,33 (s, 1,9H, -CO-CH₂-); 3,65 (s, 0,1H, -CO-CH₂-); 5,32 (s, 2H, -CH₂-Ar); 6,85-6,87 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,05-7,22 (m, 5H, 3x Ar-H, Indol: C₅H + C₆H); 7,31-7,33 (m, 1H,

Indol: C_7H); 7,42-7,50 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,57-7,59 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,63-7,65 (m, 1H, Indol: C_4H); 9,95 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,69 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 357,1592 $[M+H]^+$; berechnet für $C_{23}H_{21}N_2O_2^+$: 357,1598; HPLC (Gradient A): rt 17,31 min (99,0%).

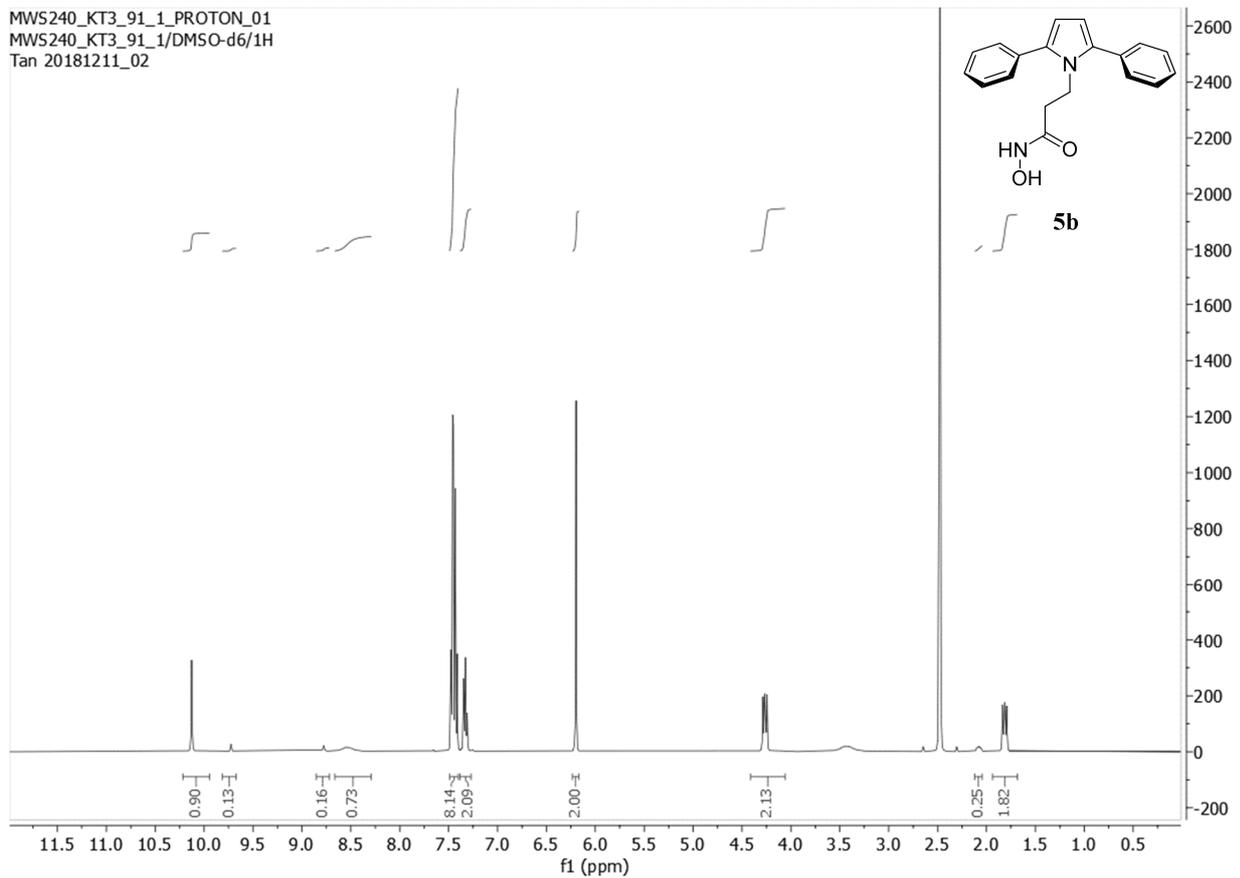
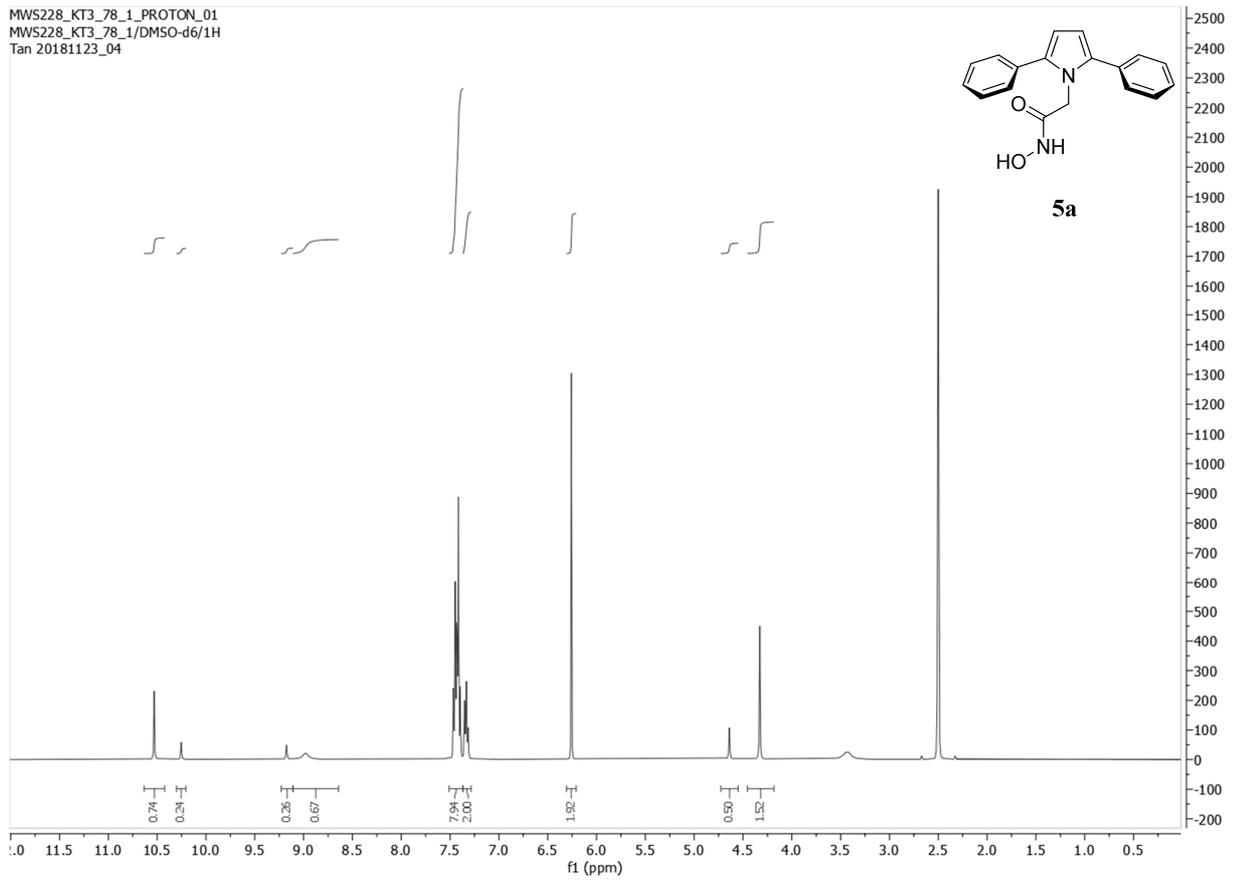
2-[1-(1,3-Benzodioxol-5-ylmethyl)-2-phenyl-indol-3-yl]ethanhydroxamsäure (151b)

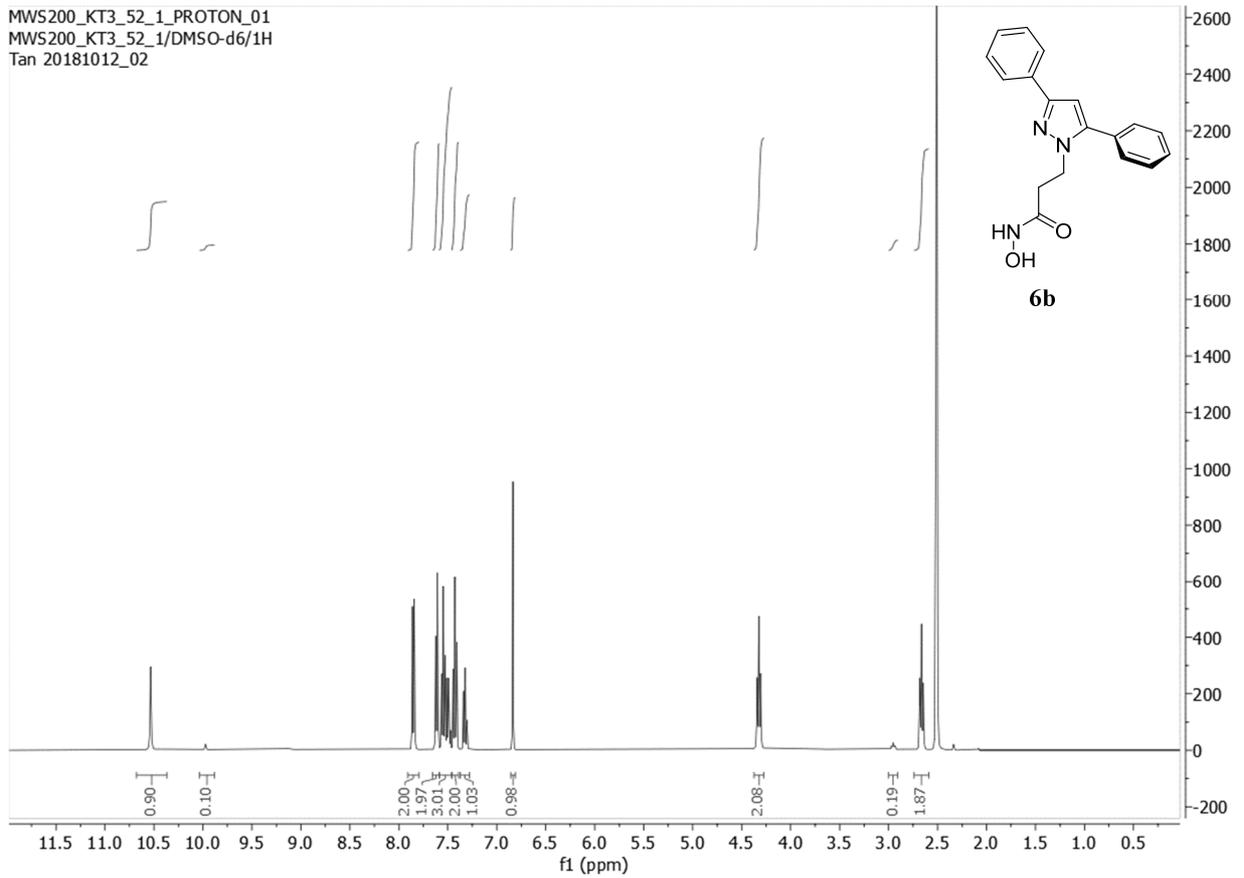
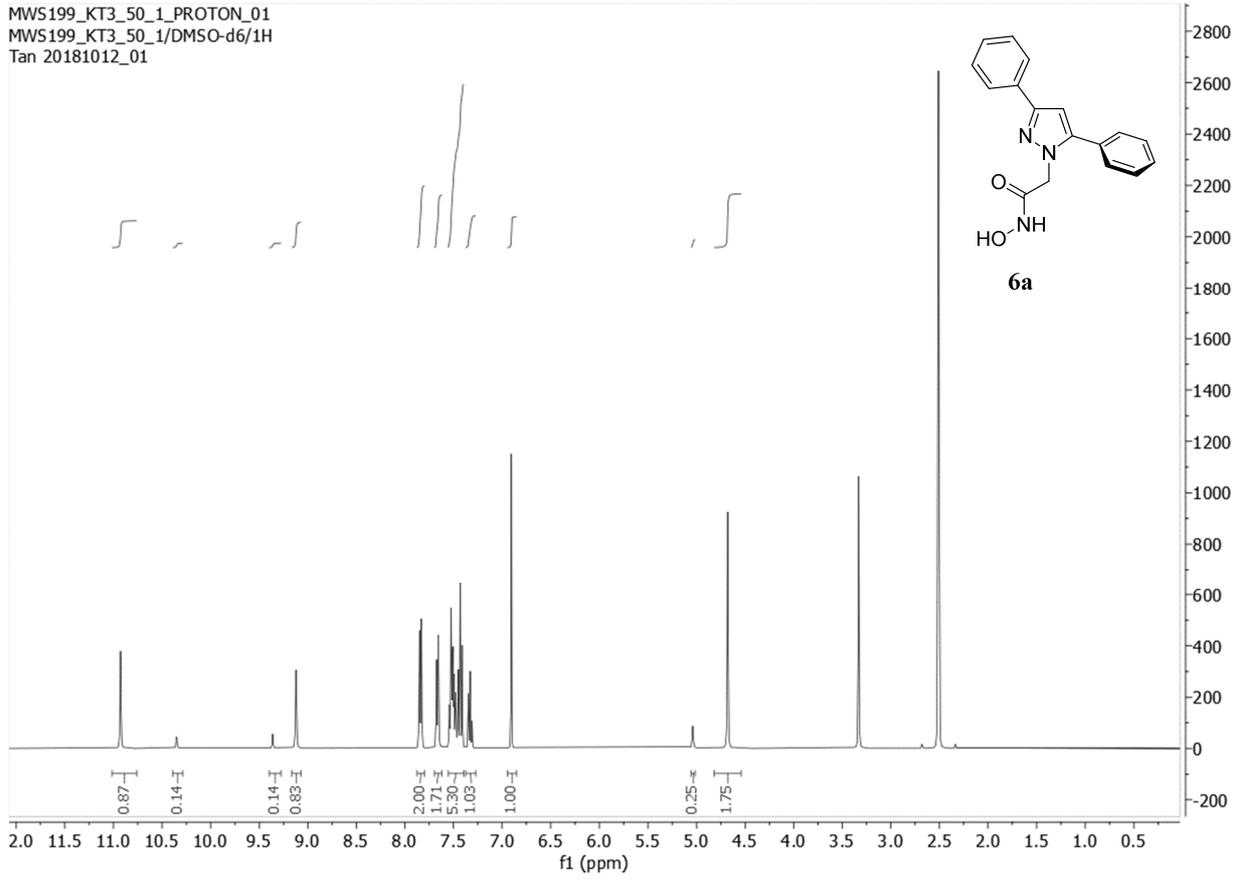
Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-[1-(1,3-benzodioxol-5-yl-methyl)-2-phenyl-indol-3-yl]acetat (**150b**; 400 mg; 1 mmol), $NaOCH_3$ (5 N; 1,2 ml; 6 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (209 mg; 3 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Ausbeute: 97 mg (24%); Aussehen: hellgelber Feststoff; ESI-MS m/z: 401,1 $[M+H]^+$, 423,3 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,32 (s, 1,8H, -CO- CH_2 -); 3,65 (br s, 0,2H, -CO- CH_2 -); 5,23 (s, 2H, - CH_2 -Ar); 5,92-5,98 (m, 2H, -O- CH_2 -O-); 6,34-6,38 (m, 2H, 2x Ar-H); 6,73-3,75 (m, 1H, Ar-H); 7,06-7,15 (m, 2H, Indol: $C_5H + C_6H$); 7,35-7,40 (m, 1H, Indol: C_7H); 7,45-7,53 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,60-7,65 (m, 3H, 2x Ar-H + Indol: C_4H); 9,92 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,69 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 423,1313 $[M+Na]^+$; berechnet für $C_{24}H_{20}N_2NaO_4^+$: 423,1315; HPLC (Gradient A): rt 16,35 min (96,4%).

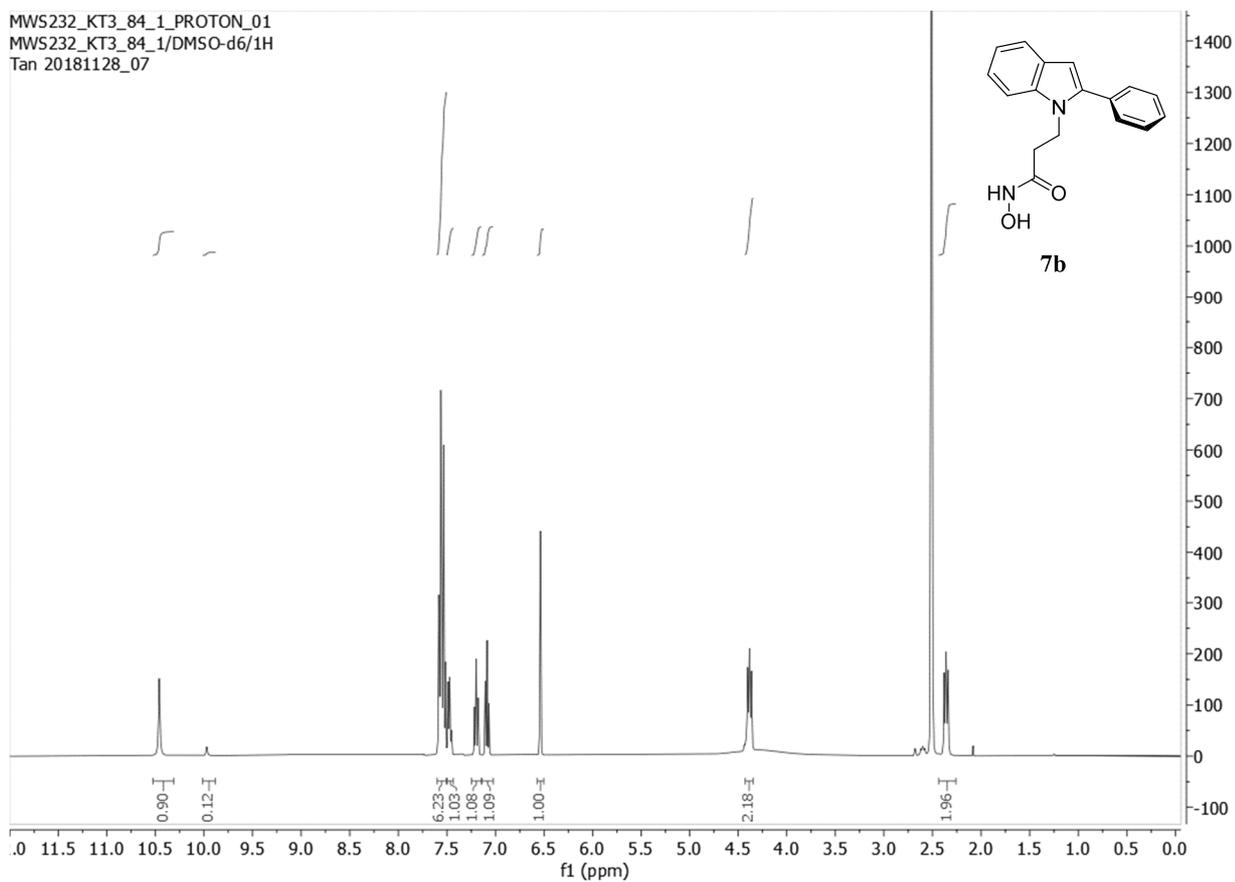
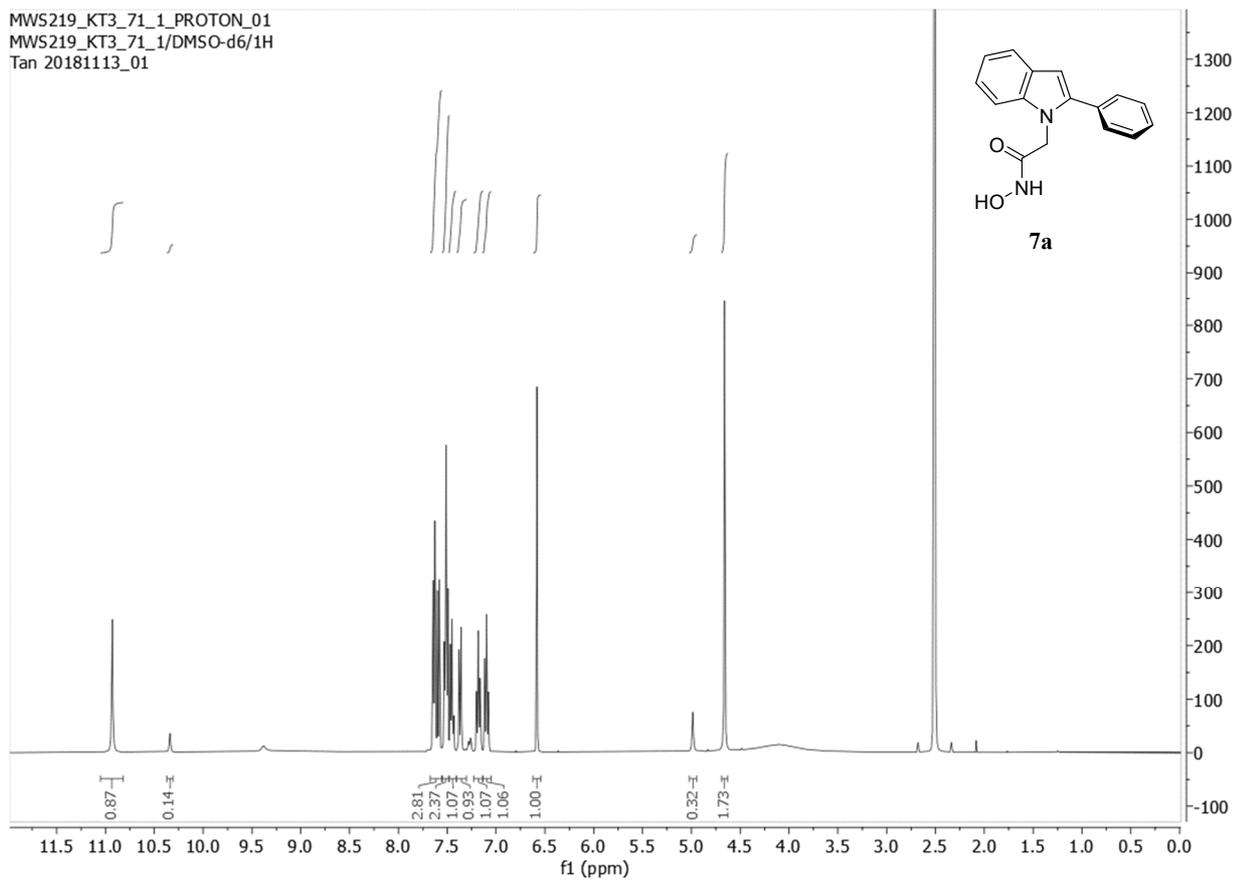
2-[1-[(4-Chloro-2-fluoro-3-hydroxy-phenyl)methyl]-2-phenyl-indol-3-yl]ethanhydroxamsäure (151c)

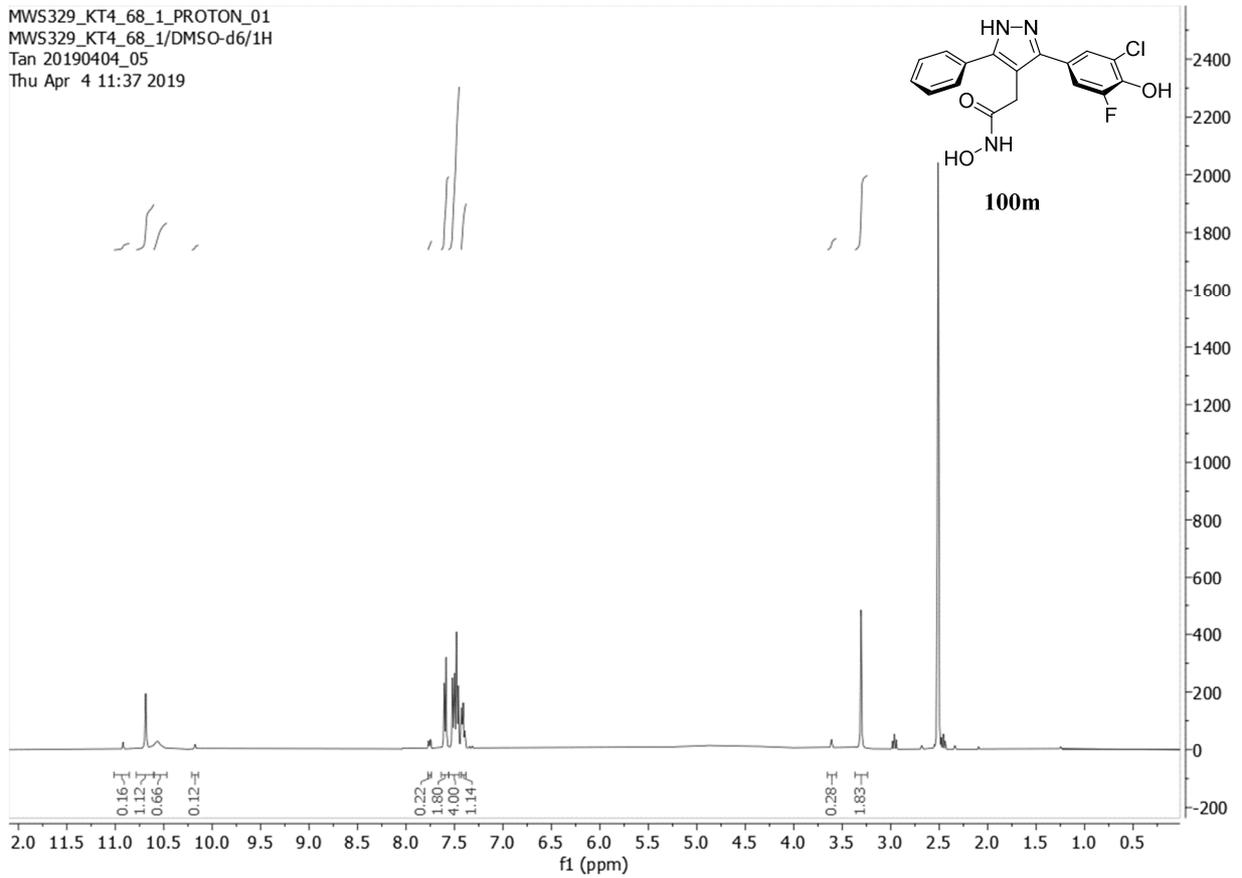
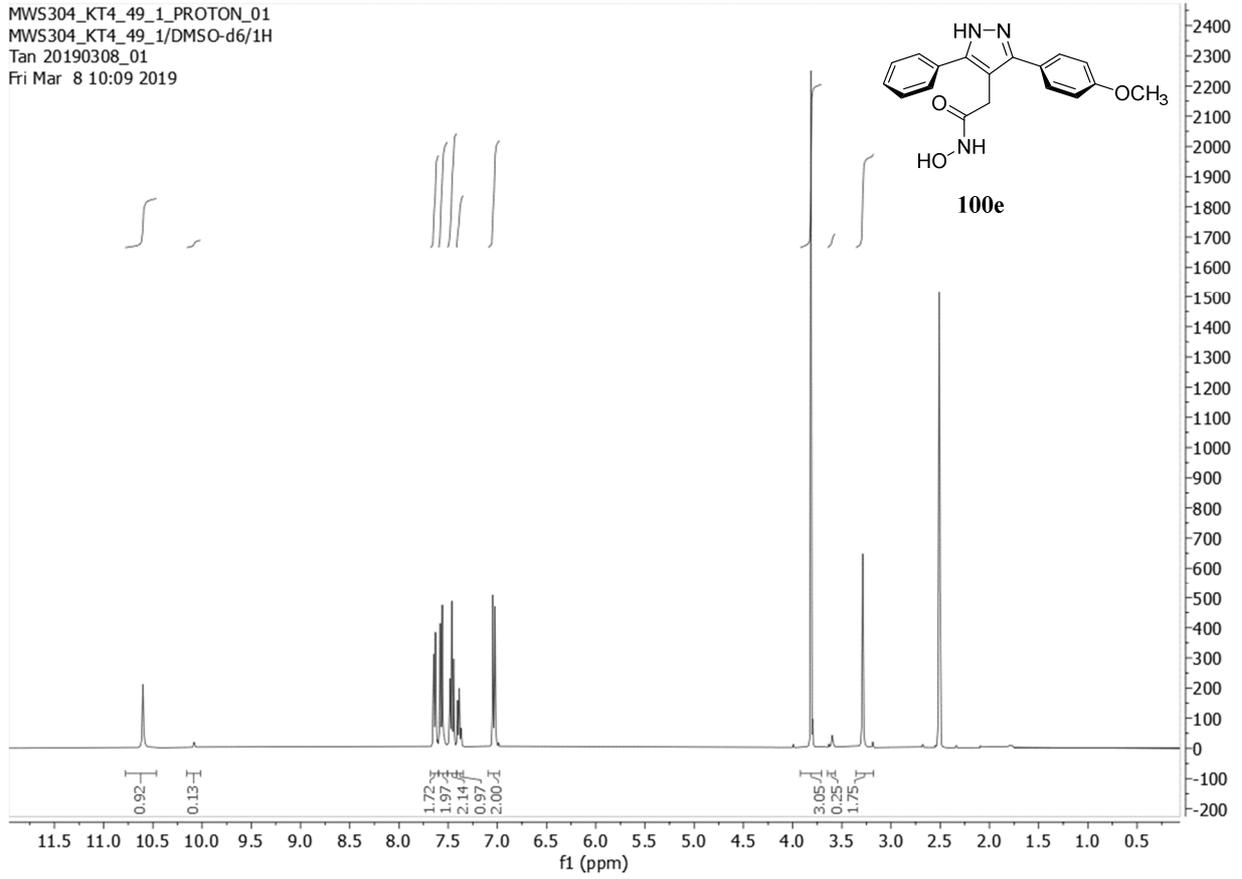
Die Verbindung wird ausgehend von Methyl-2-[1-[(4-chloro-2-fluoro-3-methoxy-phenyl)methyl]-2-phenyl-indol-3-yl]acetat (**150c**; 340 mg; 0,78 mmol), $NaOCH_3$ (5 N; 932 μ l; 4,66 mmol) und Hydroxylaminhydrochlorid (162 mg; 2,33 mmol) entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6 dargestellt. Anschließende Entschützung des Phenols erfolgt mit BBr_3 (1 M in DCM; 3 Äq.). Ausbeute: 84 mg (29%); Aussehen: hellbrauner Feststoff; APCI-MS m/z: 425,4 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6): (*cis-trans*-Isomere) δ 3,31 (s, 2H, -CO- CH_2 -); 5,31 (s, 2H, - CH_2 -Ar); 5,84-5,88 (m, 1H, Ar-H); 6,96-6,98 (m, 1H, Ar-H); 7,07-7,17 (m, 2H, Indol: $C_5H + C_6H$); 7,35-7,37 (m, 1H, Indol: C_7H); 7,43-7,49 (m, 3H, 3x Ar-H); 7,51-7,53 (m, 2H, 2x Ar-H); 7,64-7,66 (m, 1H, Indol: C_4H); 9,94 (br s, 0,1H, -NH-OH); 10,42 (br s, 1H, Ar-OH); 10,68 (s, 0,9H, -NH-OH); HRMS m/z: 447,0881 $[M+Na]^+$; berechnet für $C_{23}H_{18}ClFN_2NaO_3^+$: 447,0882; HPLC (Gradient A): rt 15,63 min (98,5%).

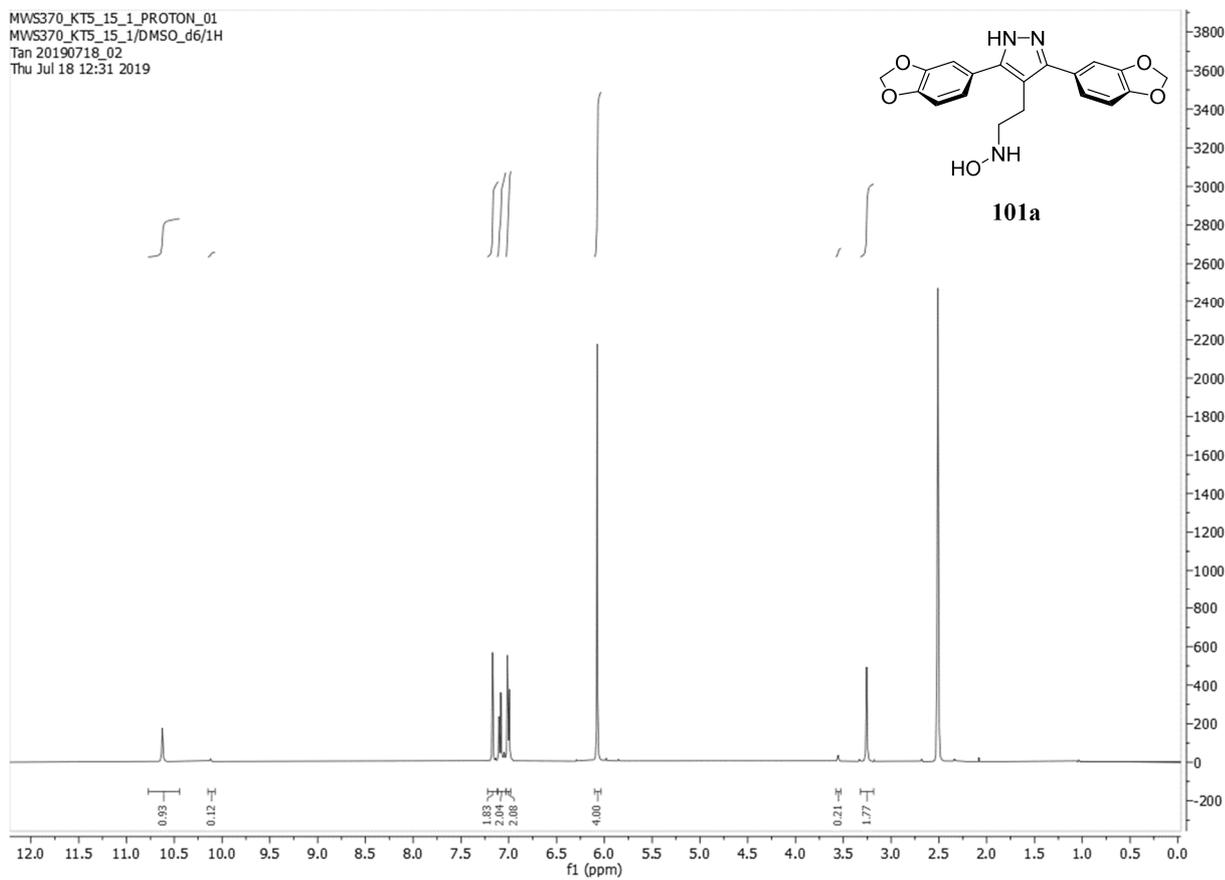
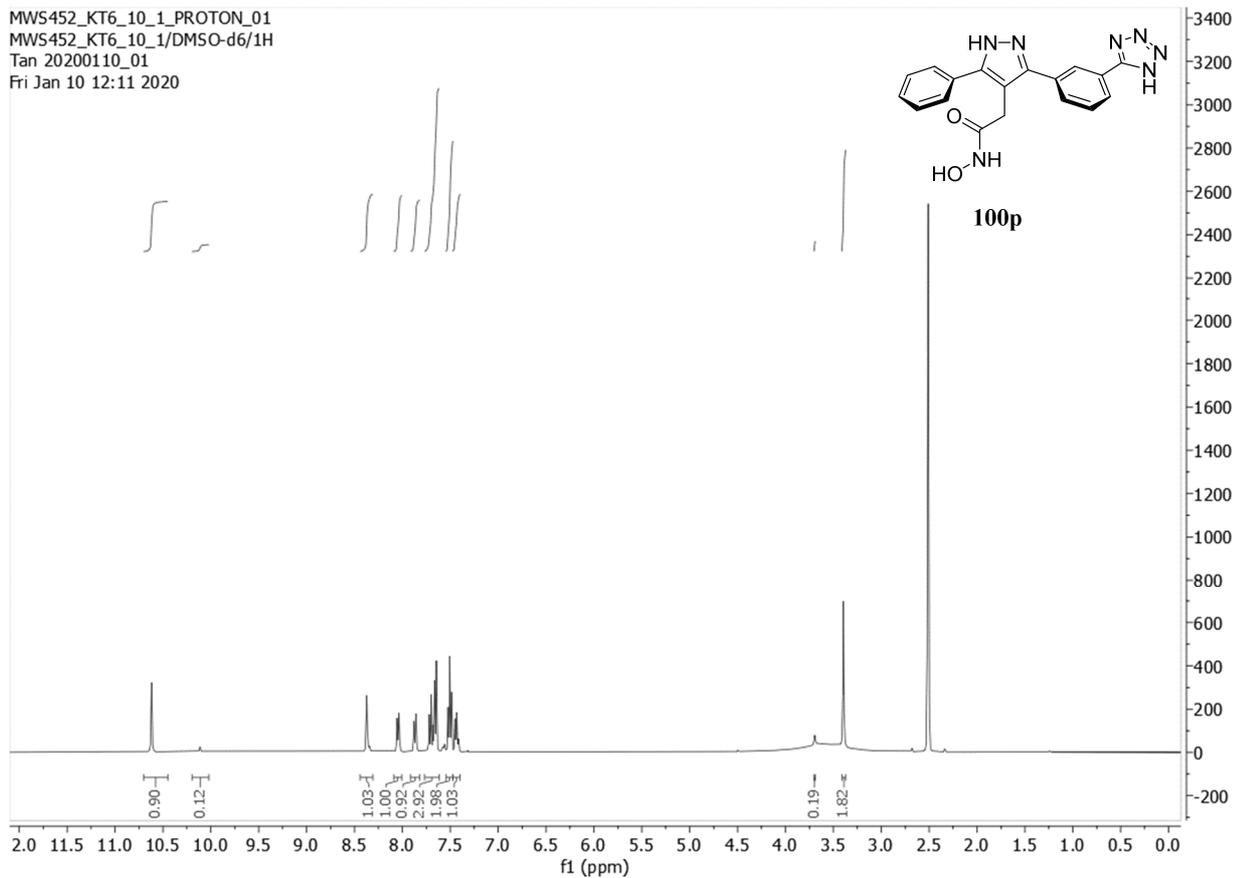
9.2 ¹H-NMR-Spektren von ausgewählten Zielverbindungen

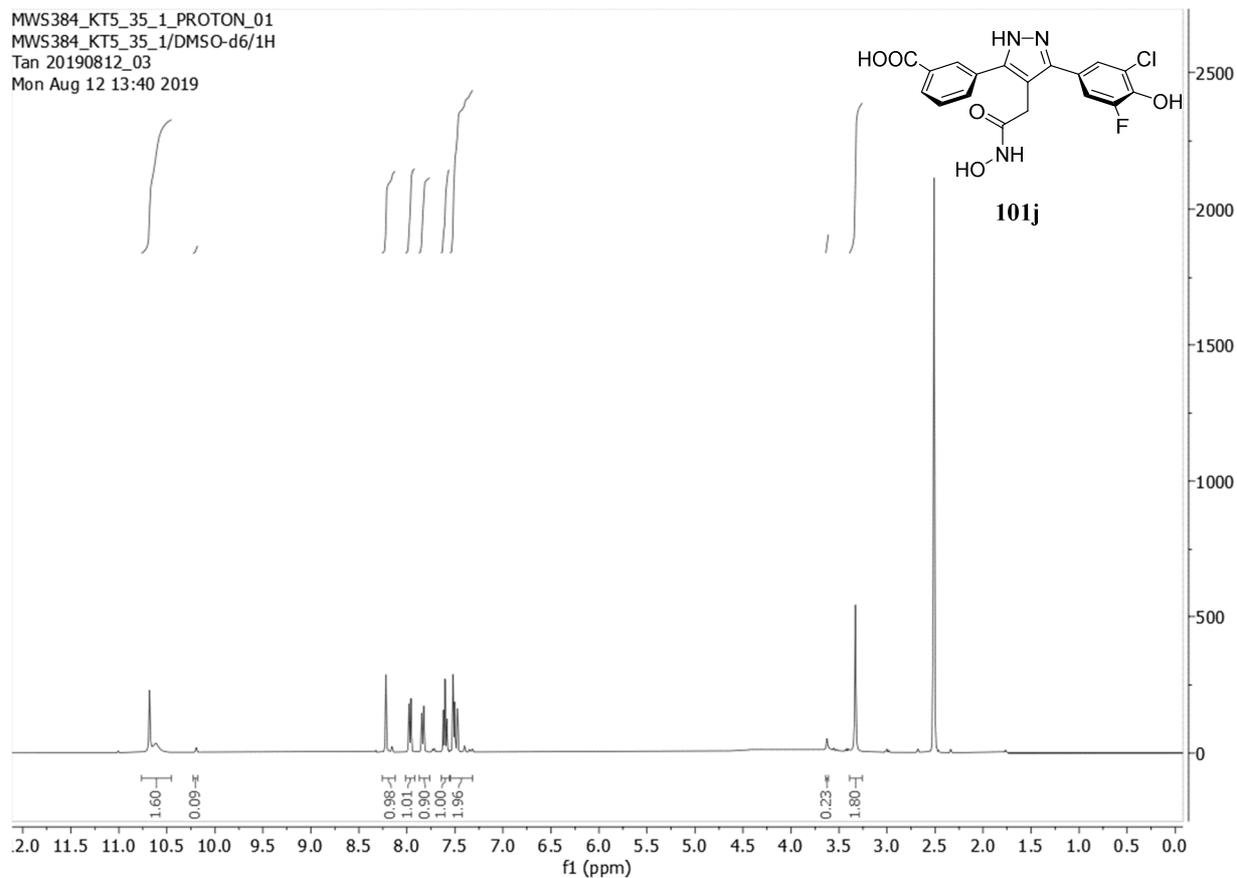
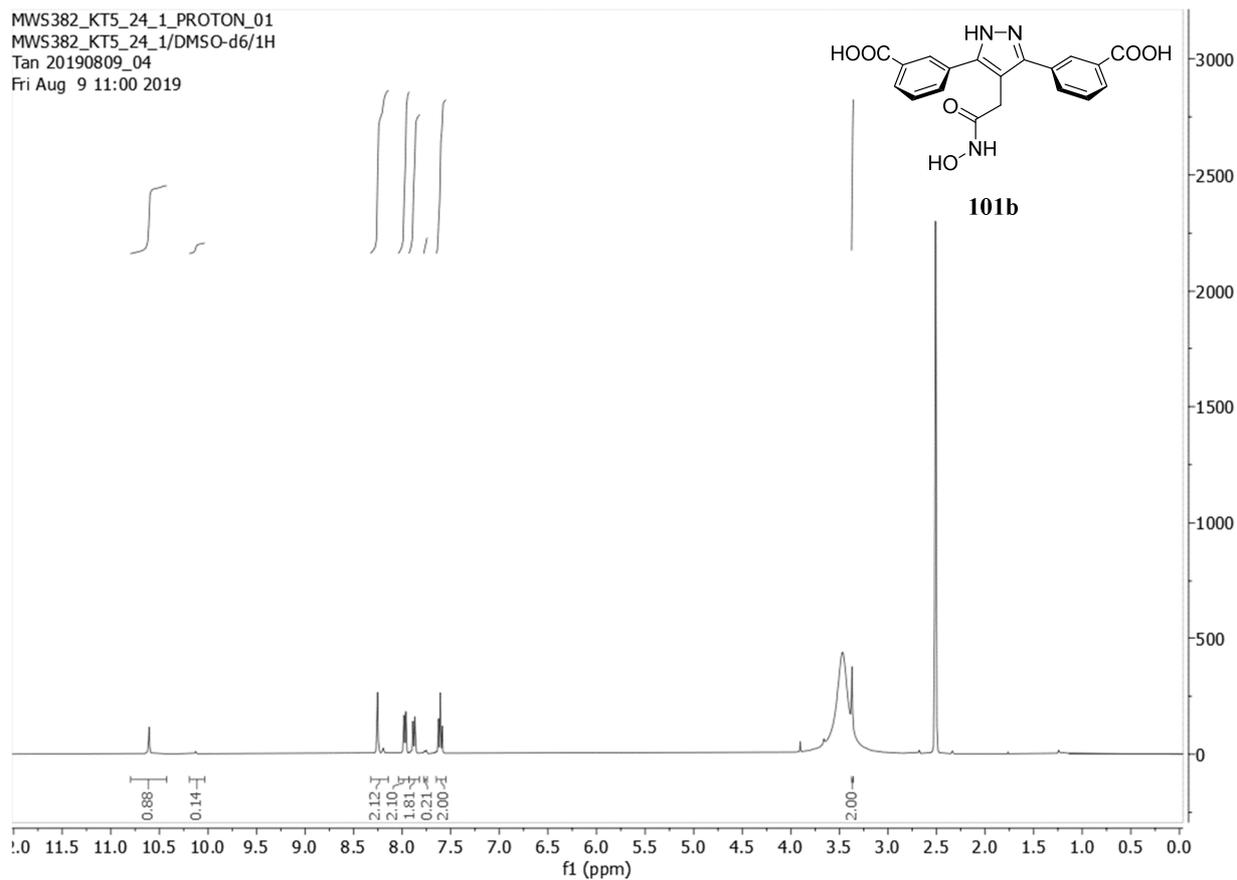


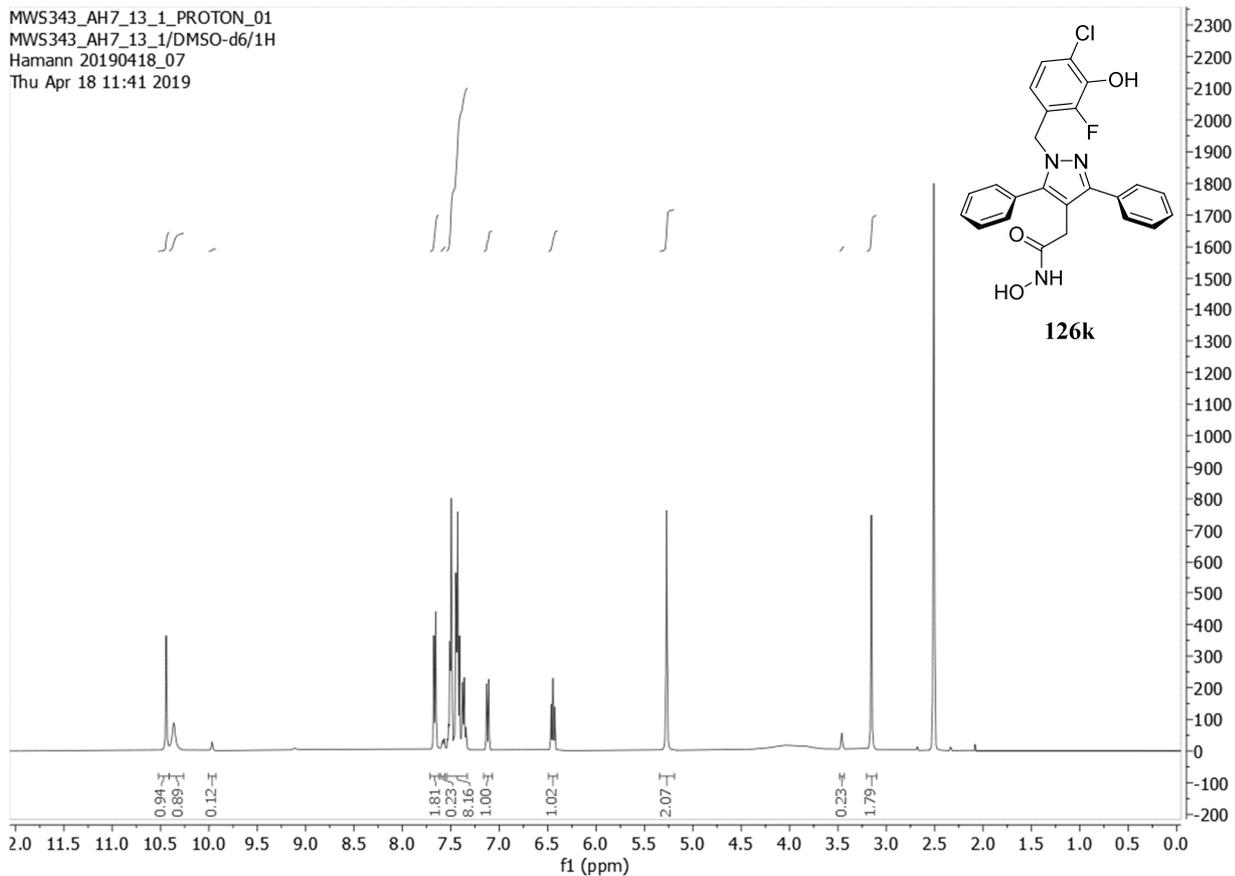
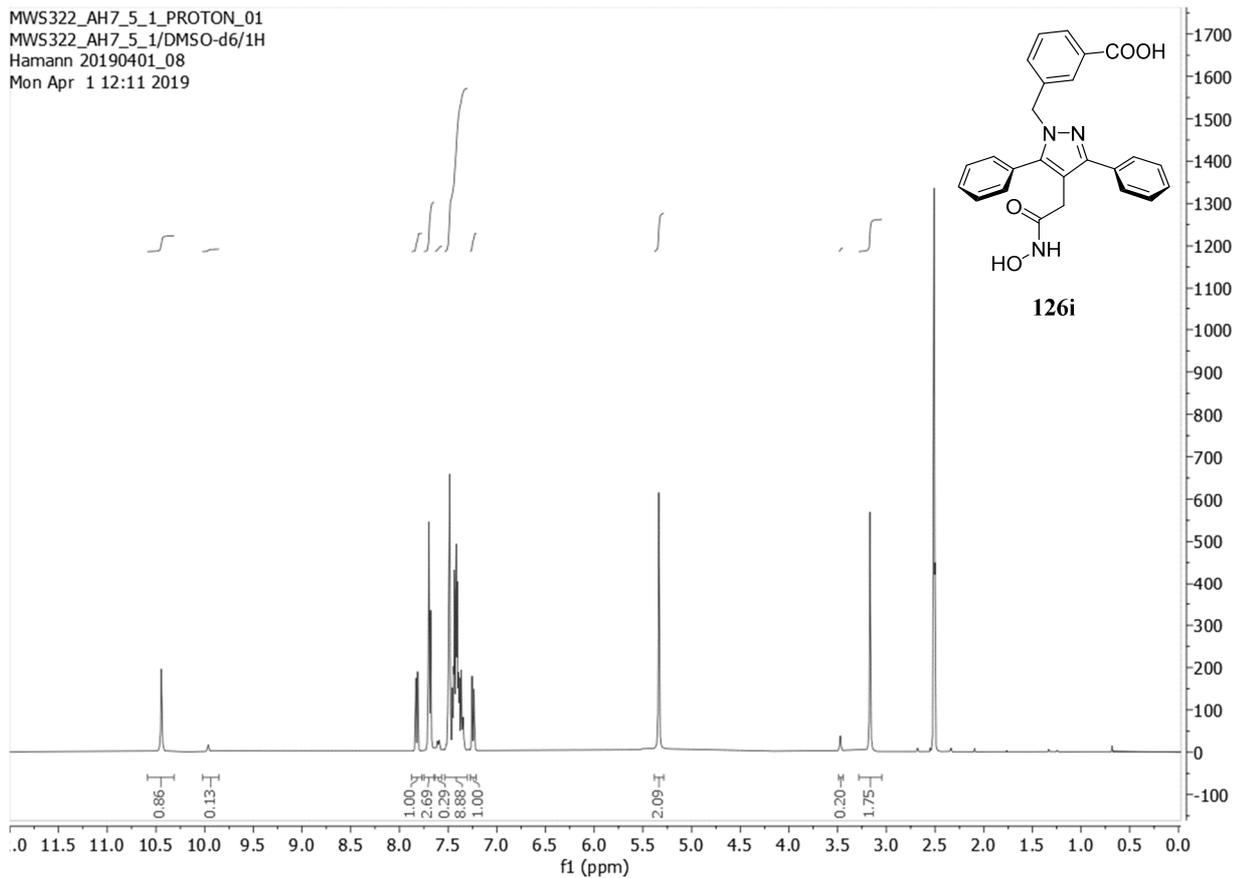


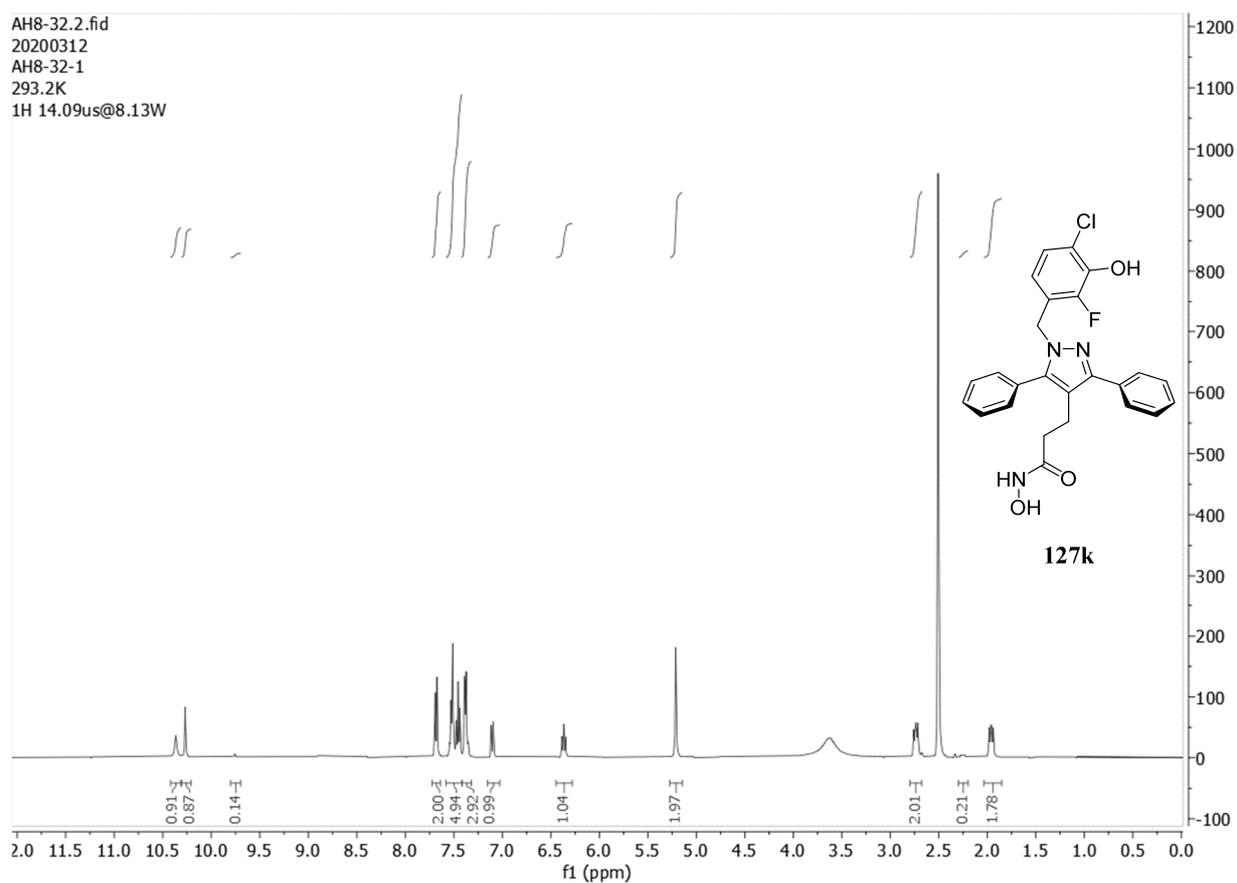
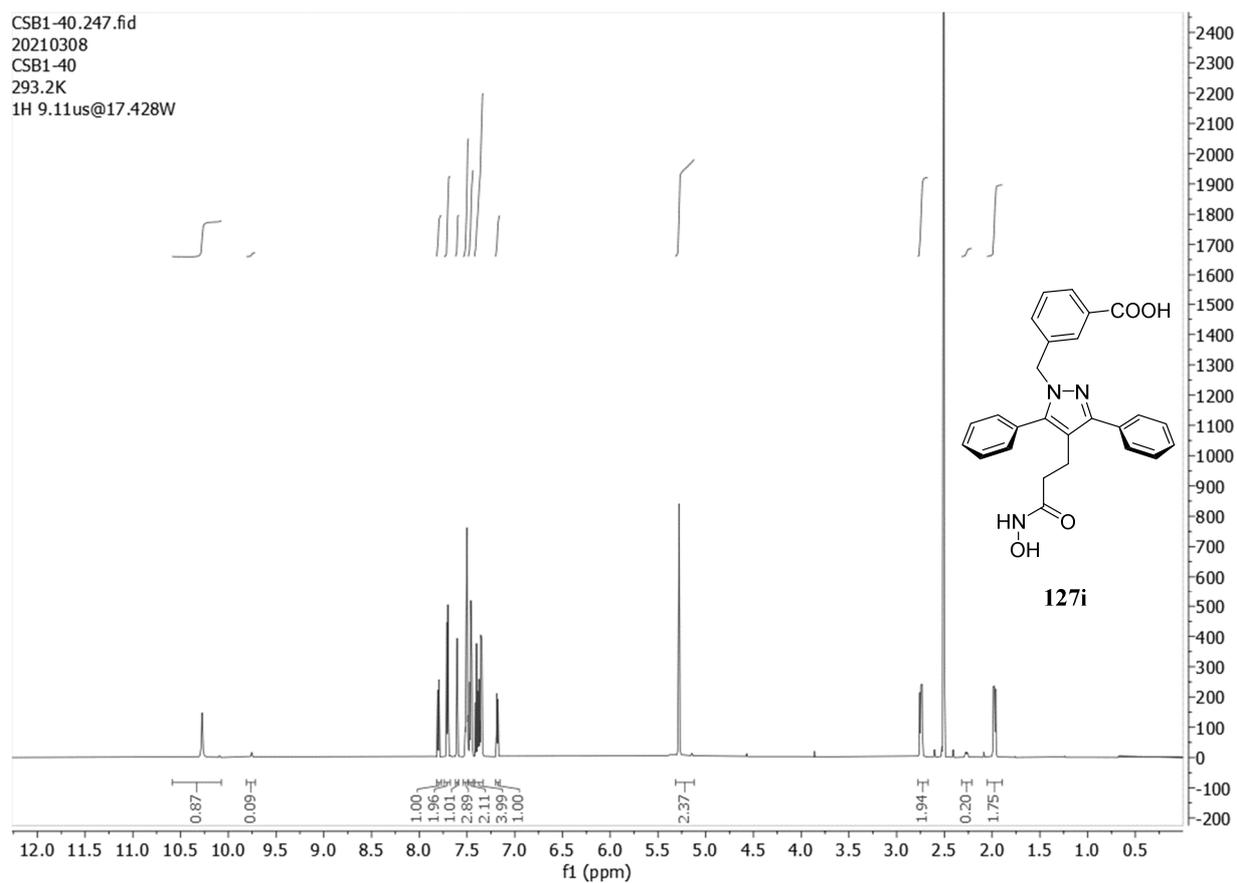




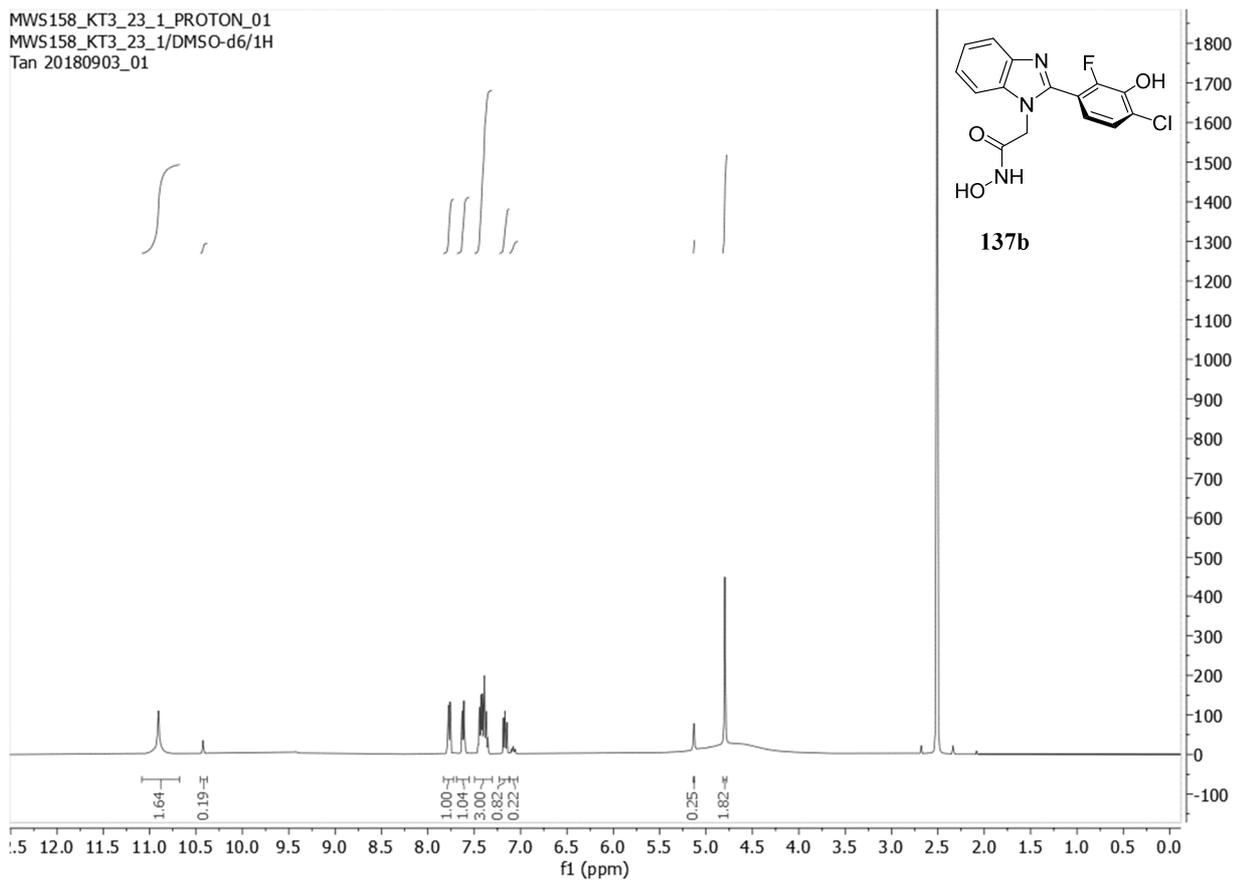




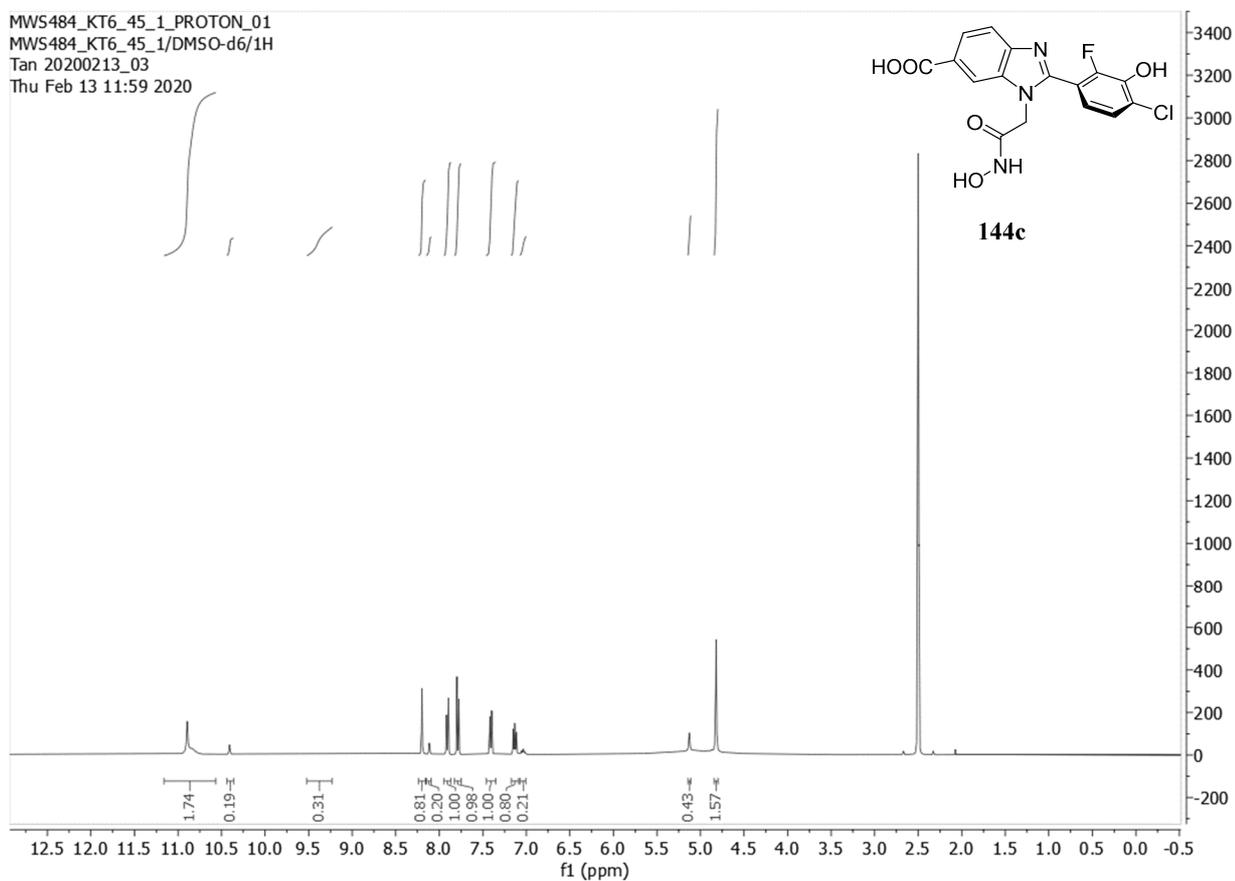




MWS158_KT3_23_1_PROTON_01
MWS158_KT3_23_1/DMSO-d6/1H
Tan 20180903_01



MWS484_KT6_45_1_PROTON_01
MWS484_KT6_45_1/DMSO-d6/1H
Tan 20200213_03
Thu Feb 13 11:59 2020



9.3 Inhibierung der *off-target*-Metalloproteasen und *in vitro* Toxizität

Für die Untersuchung der Selektivität der heteroaromatischen Verbindungen gegenüber den verwandten Metalloproteasen der Metzincin-Superfamilie wurden die Restaktivitäten von bestimmten MMPs und ADAMs ebenfalls bei einer höheren Inhibitorkonzentration von 200 μM bestimmt (Tabelle 32).

Tabelle 32: Inhibierung der *off-target*-Metalloproteasen bei einer Inhibitorkonzentration von 200 μM

RA@200 μM ^[a]	MMP2	MMP9	MMP13	ADAM10	ADAM17
5a	1	1	5	29	25
5c	34	16	31	22	9
5d	74	39	66	21	24
5e	61	27	67	23	7
5f	77	65	68	12	27
5g	70	54	76	83	56
7a	41	53	54	68	56
7d	46	68	72	76	56
100d	17	33	28	8	6
100f	8	16	10	5	5
100g	26	44	18	13	6
100m	17	39	28	61	5
101a	3	10	6	1	4
101j	81	71	73	74	91
126e	60	60	51	39	4
126i	34	36	34	66	25
126j	24	30	22	43	9
126k	18	14	9	34	14
137b	83	50	84	78	82

[a] RA: Restaktivität in % bei einer Inhibitorkonzentration von 200 μM

Für die Untersuchung der *in vitro* Toxizität wurde die Zellviabilität von Leber- und neuronalen Zelllinien (Hep-G2, SY5Y) nach Zugabe der Inhibitoren bestimmt. Keine der getesteten Verbindungen wies *in vitro* Zytotoxizität auf (Tabelle 33).

Tabelle 33: *In vitro* Toxizität von ausgewählten Verbindungen

	Zellviabilität [%]											
	5c	5d	5e	5f	5g	7d	100d	100f	100g	100m	101j	126c
Hep-G2	85	90	100	93	94	85	104	96	99	103	98	92
SY5Y	96	123	92	93	99	94	84	90	85	86	110	100
	126d	126e	126f	126i	126j	126k	127i	127k	131c	137a	151b	151c
Hep-G2	92	103	91	99	103	107	100	93	91	105	95	90
SY5Y	80	88	110	85	88	79	98	105	114	87	82	93

Inhibitorkonzentration: 30 μM

9.4 Einfluss der verschiedenen Assaybedingungen

Im Zuge der Umstellung und Optimierung der enzymatischen Assays wurden ausgewählte heteroaromatische Derivate (Tabelle 34) unter veränderten Assaybedingungen (B) erneut untersucht. Während die Enzymaktivität der jeweiligen Meprinisoformen bei vorherigen Untersuchungen (A) unter verschiedenen Bedingungen (Puffer, pH-Wert, Substrat, etc.) bestimmt wurde, wurden in nachfolgenden biochemischen Charakterisierungen für Meprin α und β Vereinheitlichungen hinsichtlich der Assaybedingungen durchgeführt. Die bei Methode B eingesetzte Salzkonzentration hatte sowohl gegenüber Meprin α als auch Meprin β keinen wesentlichen Einfluss auf die inhibitorische Aktivität.

Tabelle 34: Inhibitorische Aktivitäten von ausgewählten heteroaromatischen Derivaten unter verschiedenen Assaybedingungen

Nr.	A			B		
	$K_i^{(app)}$ [nM]		SF ^[a]	$K_i^{(app)}$ [nM]		SF ^[a]
	hMeprin α	hMeprin β		hMeprin α	hMeprin β	
5c	3 (1,04)	199 (1,05)	66	1 (1,19)	116 (1,08)	116
5d	76 (1,12)	8034 (1,07)	106	78 (1,12)	9349 (1,02)	120
5e	4 (1,06)	813 (1,08)	203	4 (1,08)	584 (1,06)	146
5f	31 (1,09)	13491 (1,05)	435	16 (1,49)	n.b. ^[b]	-
7d	163 (1,14)	1625 (1,08)	10	128 (1,23)	1134 (1,05)	9
7e	1031 (1,09)	27915 (1,05)	27	701 (1,00)	29462 (1,04)	42

A: 40 mM HEPES, 100 mM NaCl, pH 7,4 (Meprin α); 40 mM Tris, pH 8 (Meprin β)

B: 50 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH 7,4 (Meprin α und β)

[a] SF: Selektivitätsfaktor ($K_i^{(app)}$ Meprin β / $K_i^{(app)}$ Meprin α), [b] n.b. - nicht bestimmt

9.5 Dockingexperimente

9.5.1 Scoringwerte der Inhibitoren aus Dockingexperimenten

Tabelle 35: Vergleich der Scoringwerte aus Dockingexperimenten in Meprin α

	Nr.	Score	ΔG	S_{hbond}	S_{metal}	S_{lipo}	H_{rot}	DE_{clash}	DE_{int}
4c	1	29.21	-35.74	2.61	1.90	155.60	3.16	5.88	0.65
5a	1	30.63	-33.64	0.34	1.89	164.70	1.42	1.69	1.32
5b	1	24.52	-34.43	1.00	1.90	158.96	1.72	8.85	1.06
5c	1	30.82	-32.86	0.44	1.97	151.90	1.46	1.10	1.10
5d	1	24.64	-34.67	1.09	1.84	162.68	1.79	8.91	1.13
5e	1	31.10	-33.99	0.46	1.93	162.86	1.44	1.57	1.32
5f	1	25.48	-34.67	1.00	1.90	161.77	1.76	8.69	0.50
5g	1	26.30	-28.48	0.47	1.84	120.98	1.49	0.96	1.21
5h	1	21.33	-31.51	0.98	1.97	133.64	1.86	8.94	1.23
5i	1	29.93	-33.64	0.71	2.00	149.47	1.46	3.15	0.56
5j	1	28.76	-31.93	0.60	1.99	138.79	1.47	2.44	0.73
6a	1	28.69	-38.25	1.00	1.99	179.99	1.44	8.73	0.83
6b	1	29.91	-36.32	1.50	1.96	158.46	1.76	5.51	0.90
7a	1	28.20	-33.35	0.80	1.99	143.72	1.43	4.84	0.31
7b	1	23.56	-31.72	0.98	1.99	131.01	1.45	6.70	1.73
7c	2	25.09	-31.85	0.58	1.99	137.43	1.44	6.21	0.55
7d	1	25.09	-27.44	0.00	1.85	125.00	1.47	1.71	0.63
7f	1	22.91	-26.80	0.50	2.00	97.77	1.51	3.16	0.72
7g	1	24.63	-31.51	0.91	1.94	129.43	0.51	6.37	0.50
7h	4	24.67	-29.22	0.00	1.85	139.70	1.45	3.94	0.61
100e	1	30.31	-33.55	0.41	1.99	164.06	1.76	2.10	1.14
100m	1	21.78	-34.21	0.60	1.99	158.08	1.49	11.20	1.23
100p	1	20.20	-35.77	0.82	2.00	165.83	1.53	2.22	0.57
101j	5	19.49	-35.38	1.01	2.00	157.30	1.53	14.68	1.21
126k	1	29.04	-41.22	0.80	1.99	222.34	1.95	10.68	1.50
127k	1	28.54	-39.69	0.95	1.94	213.60	2.21	10.13	1.01
144c	1	19.34	-30.39	0.01	2.00	143.74	1.55	10.34	0.72
151c	6	31.15	-38.24	0.92	1.97	194.31	1.92	6.66	0.43

Tabelle 36: Vergleich der Scoringwerte aus Dockingexperimenten in Meprin β

	Nr.	Score	ΔG	S_{hbond}	S_{metal}	S_{lipo}	H_{rot}	DE_{clash}	DE_{int}
4c	3	26.86	-29.85	2.27	1.98	110.76	3.16	1.12	1.87
5a	1	29.13	-31.59	0.98	1.99	123.72	1.42	0.72	1.75
5b	1	30.74	-32.40	0.90	1.99	139.47	1.72	0.75	0.90
5c	1	29.11	-31.48	0.97	1.97	125.70	1.46	1.00	1.37
5d	1	29.63	-30.49	0.85	1.97	127.25	1.79	0.75	0.11
5e	1	28.63	-30.55	0.93	1.99	116.66	1.44	0.54	1.38
5f	1	29.78	-31.62	0.94	1.99	132.26	1.76	1.76	0.09
5g	1	26.03	-28.61	0.95	1.97	101.65	1.49	0.86	1.73
5h	1	27.90	-29.28	0.98	2.00	113.26	1.86	0.96	0.42
5i	1	28.52	-30.73	0.96	1.99	117.47	1.46	1.18	1.03
5j	1	28.13	-30.22	0.93	1.96	116.42	1.47	1.18	0.91
6a	1	30.63	-31.50	0.93	1.99	124.42	1.44	0.67	0.20
6b	1	29.34	-31.61	0.94	1.94	134.90	1.76	1.65	0.62
7a	1	29.57	-31.48	0.97	1.99	122.96	1.43	1.41	0.68
7b	1	27.55	-30.32	0.90	2.00	121.48	1.73	2.54	0.70
7c	2	28.77	-29.88	0.96	1.98	110.66	1.44	0.59	0.23
7d	1	28.09	-29.24	0.98	1.99	104.20	1.47	0.57	0.76
7f	1	25.74	-26.65	0.96	1.99	83.50	1.51	0.54	0.66
7g	3	24.51	-25.98	0.98	1.96	78.98	1.51	0.58	0.76
7h	2	28.74	-29.66	0.96	1.99	108.12	1.45	0.54	0.86
100m	3	26.71	-28.57	0.97	1.98	100.12	1.49	0.53	1.33
100p	1	31.84	-35.74	3.46	1.99	208.49	1.53	3.44	0.46
101b	3	33.60	-40.40	6.21	2.00	86.01	1.54	3.48	3.32
101j	2	20.85	-37.50	1.74	1.97	156.14	1.53	14.59	2.06
101k	1	30.12	-33.07	2.64	1.99	112.01	2.46	1.18	1.78
101m	8	27.89	-33.10	2.33	1.97	121.91	2.46	4.14	1.07
126i	1	39.55	-44.71	2.66	2.00	199.96	1.99	4.32	0.85
127k	1	33.46	-34.98	0.90	1.96	173.79	2.21	0.53	0.99
144c	1	27.57	-30.44	2.20	1.99	81.52	1.55	2.21	0.66

Tabelle 37: Vergleich der Scoringwerte aus Dockingexperimenten in Ovastacin

	Nr.	Score	ΔG	S_{hbond}	S_{metal}	S_{lipo}	H_{rot}	DE_{clash}	DE_{int}
5a	1	29.89	-31.27	0.00	1.98	149.16	1.42	0.35	1.03
5b	1	30.35	-31.58	0.00	1.97	159.32	1.72	0.40	0.83
6a	1	37.96	-28.91	0.00	1.96	130.50	1.44	0.19	0.75
6b	1	29.90	-30.96	0.68	1.89	139.33	1.76	0.72	0.34
7a	1	28.42	-30.48	0.00	1.99	142.49	1.43	1.06	0.99
7b	1	30.12	-30.86	0.62	1.99	134.73	1.73	0.40	0.34
100m	1	30.76	-34.26	0.97	1.87	154.94	2.49	3.21	0.29
126k	2	33.47	-35.12	0.80	1.99	193.55	1.95	0.53	1.12

9.5.2 Dockingprotokoll (Beispiel)

 --- GOLD DOCKING RUN (GOLD v2020.1) ---

GOLD is Genetic Optimisation for Ligand Docking.

GOLD is the result of a collaborative project between Sheffield University, the CCDC and Glaxo Wellcome. GOLD is a proprietary product for which the copyright is held by the Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC)

Please forward any comments, bugs, or queries to CCDC Software Support:

Cambridge Crystallographic Data Centre
 12 Union Road
 Cambridge CB2 1EZ
 tel: (44) (1223) 336022
 email: support@ccdc.cam.ac.uk

 User : kathrin
 Invocation Time : Fri Jul 2 17:12:04 2021

 --- Parameter setting overview (user-defined or automatic) ---

maxops	automatic setting
popsiz	automatic setting
select_pressure	automatic setting
n_islands	automatic setting
niche_siz	automatic setting
pt_crosswt	automatic setting
allele_mutatewt	automatic setting
migratewt	automatic setting
start_vdw_linear_cutoff	defined by user
initial_virtual_pt_match_max	defined by user

 --- ChemScore parameters ---

* ChemScore coefficients

ZERO_COEFFICIENT	: -5.480
HBOND_COEFFICIENT	: -3.340
INTERNAL_HBOND_COEFFICIENT	: -3.340
METAL_COEFFICIENT	: -6.030
LIPO_COEFFICIENT	: -0.117
ROT_COEFFICIENT	: 2.560

INTRA_COEFFICIENT : 1.000
 LINK_BEND_COEFFICIENT : 0.250
 PROTEIN_ENERGY_COEFFICIENT : 1.000

* Hydrogen-bond term

HBOND_FUNCTION : CHEMSCORE_DOCKING
 R_IDEAL : 1.850
 DELTA_R_IDEAL : 0.250
 DELTA_R_MAX : 0.650
 HBOND_R_SIGMA : 0.100
 ALPHA_IDEAL : 180.000
 DELTA_ALPHA_IDEAL : 30.000
 DELTA_ALPHA_MAX : 80.000
 HBOND_ALPHA_SIGMA : 10.000
 BETA_IDEAL : 180.000
 DELTA_BETA_IDEAL : 70.000
 DELTA_BETA_MAX : 80.000
 HBOND_BETA_SIGMA : 10.000
 USE_HBOND_STRENGTHS = OFF

CH...O term : OFF

Sulfur...acceptor term:

* Metal term

METAL_R1 : 2.600
 METAL_R2 : 3.000
 METAL_R_SIGMA : 0.100

* Specific metal-coordination types

* Lipophilic term

MAKE_PLANAR_N_LIPO : 0
 LIPO_R1 : 4.100
 LIPO_R2 : 7.100
 LIPO_R_SIGMA : 0.100

* Clash term

CLASH_FUNCTION : CHEMSCORE_DOCKING
 CLASH_RADIUS_GENERAL : 3.100
 CLASH_RADIUS_SULPHUR : 3.350
 CLASH_RADIUS_HBOND : 1.600
 CLASH_RADIUS_METAL : 1.380
 CLASH_RADIUS_SIGMA : 0.100

* Torsion term

SP3_SP3_BOND A = 0.18750 (kJ/mol); n = 3.0; f0 = 3.14159 (rad)

SP3_SP2_BOND A = 0.09375 (kJ/mol); n = 6.0; f0 = 0.00000 (rad)
 SP2_SP2_BOND A = 0.18750 (kJ/mol); n = 2.0; f0 = 0.00000 (rad)
 UNKNOWN_BOND A = 0.00000 (kJ/mol); n = 0.0; f0 = 0.00000 (rad)
 EXOCYCLIC_BOND A = 0.50000 (kJ/mol); n = 1.0; f0 = 3.14159 (rad)
 USE_EXOCYCLIC_TORSION_TERM = 1

* Scaling

HBOND_SCALING : 1
 HBOND_SCALING_SAMPLES : 1
 HBOND_SCALING_END : 75.000
 DELTA_R_MAX_START : 1.150
 DELTA_ALPHA_MAX_START (deg) : 110.000

--- Parameter settings

* Population settings

maxops : auto
 popsiz : auto
 select_pressure : auto
 n_islands : auto
 niche_siz : auto

* GA settings

pt_crosswt : auto
 allele_mutatewt : auto
 migratewt : auto

* Search settings

start_vdw_linear_cutoff : 4.000
 initial_virtual_pt_match_max : 3.000

* Cavity detection

Cavity detection algorithm : Ligsite
 Cavity radius : 10.000
 Cavity origin : 5.78 42.34 14.56

* Solvent Accessibility

Solvate all H bond donors and acceptors : on

* Ligand treatment

Internal ligand hydrogen bonds : ignored
 Flexible ligand ring corners : fixed
 Ligand carboxylic OH groups : flip
 Ligand amide bonds : fixed
 Ligand pyramidal nitrogen groups : fixed

Ligand bond to planar nitrogen groups	: allow 180 degrees flip
Ligand planar nitrogen bonds (Ring-NH-R)	: can flip
Ligand planar nitrogen bonds (Ring-NRR')	: can flip
Flatten amide and trigonal nitrogens	: yes
Torsional distributions	: are used
Calculating torsional energy of ligand	: yes
Ligand energy	: relative wrt best tors+vdw+hbond
	: reported fitness is adjusted
Post-process ligand bonds	: yes
* Protein treatment:	
Protein carboxylic OH groups	: flip
* Algorithm Settings (from parameter file):	
VDW potential (external)	: 4-8 LJ potential (no. 1)
VDW potential (external)	: 4-8 2-4 split potential (no. 2)
VDW potential (external)	: 4-8 1-2 split potential (no. 3)
VDW potential (internal)	: 6-12 LJ potential (no. 1)
VDW potential (internal)	: 4-8 LJ potential (no. 2)
VDW potential (internal)	: slot 3 not used
Weighting for distance matching	: squared
Weighting for angle matching	: squared
Mapping, second pass results	: taking best three
Internal energy	: on absolute scale
External energy weight	: 1.375
Internal energy weight	: 1.000
Length of H bond	: 2.900
Angle coding	: binary coded
Angle bit length	: 8 bits
Allow duplicates in chromosome mappings	: yes
Parameter scaling	: on
Simplex minimisation after every GA run	: yes
Infer hetatm types from residue names	: yes
Ligand relaxation	: on
Maximum relax distance	: 2.000
Maximum relax angle	: 60.000
Ionisation dispersion term	: external
* Geometric parameters for Fitness Function (from parameter file)	
Initial Virtual pt dist max	: 3.000
Final Virtual pt dist max	: 2.000
Virtual point distance min	: 0.500
Virtual point angle min	: 60.000
Virtual point angle max	: 160.000
Cone virtual point angle min	: 120.000
Cone virtual point angle max	: 160.000
Contact distance	: 10.000
D/A vdw contact weighting	: 1.000
Minimum neighbour weighting	: 0.200
Mapping second pass distance	: 2.000

* Lone pair parameters
Planar LP: minimum angle with plane : 20.000
Planar LP: maximum angle with plane : 90.000
Protein planar acceptors : need only one lp solvated
Solvated point distance : -0.200

* VDW parameters
Border round vdw grid : 4.000
VDW cutoff fraction : 1.500
VDW cutoff distance : 20.000
Number of bins in VDW lookup : 10000

* Specific metal-coordination types

* Other settings
Write statistics : off
Current parameters file :
/home/software/CCDC/Discovery_2020/GOLD/gold/gold.params

Processing protein 1 :
/home/kathrin/ownCloud/Linux/test/7AQ1_protein.mol2 DE(Protein): 0.00

--- Loading protein ---

Protein file :
/home/kathrin/ownCloud/Linux/test/7AQ1_protein.mol2
Substructure list check (mol2 format) : ok

N.plc donors :
arg: 138 arg: 140 arg: 143 arg: 575 arg: 577 arg: 580
arg: 620 arg: 622 arg: 625 arg: 1107 arg: 1109
arg: 1112 arg: 1131 arg: 1133 arg: 1136 arg: 1334
arg: 1336 arg: 1339 arg: 1662 arg: 1664 arg: 1667
arg: 1709 arg: 1711 arg: 1714 arg: 1794 arg: 1796
arg: 1799 arg: 1890 arg: 1892 arg: 1895 arg: 1970
arg: 1972 arg: 1975 arg: 2631 arg: 2633 arg: 2636
arg: 2803 arg: 2805 arg: 2808

Acidic nitrogen acceptors :
none found

--- Active site ---

Atom number used for centre : 3142
Coordinates : 5.78 42.34 14.56
Cavity radius : 10.000
Ligsite cavity detection, MIN_PSP : 4

* Cavity atoms

1589 2101 1608 1649 1650 1602 1610 1590 2090 2093
 2059 2092 1601 1577 1587 1508 1509 1600 2022 1605
 1069 1076 1077 1504 1505 1606 2063 2396 2808 2809
 2810 2804 2021 2030 2393 1078 1503 1510 2005 2020
 2394 1438 2401 1437 2026 2388 2390 2399 2387 1514
 1502 1506 1439 1607 3142 1433 2389 2391 2392 1044
 1432 1435 1431 1443 1389 2819 2817 1060 1063 1070
 1507 2025 2803 2802 2478 1393 1381 1385 1386 2816
 1048 1450 1451 1452 2027 1384 2024 1053 1033 1387
 2469 2470 2479 1034 1018 1010 2013 2014 1043 1021
 1041 1052 1035 1011 1012 1015 1028 1037 1013 1008
 1009 1036 1007 1023 1006 1001

Number of active atoms : 116

--- Metals ---

Metal coordination spheres : initialised
 Processing metal ion no. : 3142 (name ZN type Zn)
 Coordinating residues :
 HIS152 (atom 1439) HIS156 (atom 1510) HIS162 (atom 1607)

(tetrahedral) RMSd 0.397
 (trigonal_bipyramid) RMSd 0.213
 (octahedral) RMSd 0.260

Matched coordination geometry : trigonal_bipyramid
 RMSd of matched geometry : 0.213

--- Fitting points summary ---

Protein donor atoms : 16
 1649 2092 1601 1504 2808 2393 1433 1063 2025 2803
 1385 1041 1052 1007 1595 2053

Protein acceptor atoms : 14
 1649 2059 2092 2022 2393 1510 2005 1439 1607 1044
 1385 1451 1452 1010

Hydrogens : (n = 18)
 1650 2093 1602 1505 2809 2810 2394 1434 1070 2026
 2027 2819 1386 1048 1059 1013 1608 2063

Lone pairs added to molecule : 25
 Numbering : from 3143 to 3167

Protein TRP residues : TRP161 TRP125

Protein rotatable bonds : [1649 1648]
[2092 2091]
[2393 2392]
[1385 1384]

Metal fitting points added : 3176 3177

--- Shape grid ---

Maximum length of gridpt list : 134
Average list length : 69

--- Receptor Density Scaling ---

Minimum Protein Density : 0
Maximum Protein Density : 135
Receptor density scaling is OFF

Length of shape fitting list : 4027

--- Interaction Motif ---

Number of interactions : 0
Number of motifs : 0
Weight : 50.000
Minimum Include Score : 0.000001
Ignore Zero Bits? : 0

calculating chemscore clash map
calculating chemscore lipo map

* Protein initialisation time :
total 2.4673 user 2.3782 sys 0.0891

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen meinen großen Dank aussprechen, die mich bei der Bearbeitung meiner Dissertation unterstützt haben.

Mein Dank gilt zunächst Herrn PD Dr. habil. Matthias Schmidt für die Übernahme der Betreuung seitens der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Herr Prof. Dr. Stephan Schilling, sowie Herr Prof. Dr. Hans-Ulrich Demuth danke ich für die Möglichkeit, am Fraunhofer IZI-MWT das Dissertationsvorhaben bearbeiten zu können.

Dr. Mirko Buchholz danke ich sehr für die Aufnahme in die Arbeitsgruppe „Wirkstoffdesign und Analytische Chemie“, sowie für seine wertvolle Unterstützung in den letzten Jahren.

Mein besonderer Dank gilt auch an Dr. Daniel Ramsbeck, der meine Promotion durch seine fachliche und persönliche Betreuung begleitet hat. Ohne die wertvolle Unterstützung von seiner Seite wäre die Arbeit nicht zustande gekommen.

Ebenfalls möchte ich mich bei Christian Jäger für die Generierung der Homologie Modelle und für die Durchführung der quantenmechanischen Berechnungen bedanken, sowie für die große Hilfsbereitschaft bei allen computerchemischen Fragen.

Des Weiteren danke ich Mercedes Scharfe und Dr. Dagmar Schlenzig für die Einarbeitung und Durchführung eines Teils der biochemischen Charakterisierung der Verbindungen gegenüber Meprin α und β . Für die Bestimmung der inhibitorischen Aktivität gegenüber Ovastacin bin ich Dr. Hagen Körschgen und Prof. Dr. Walter Stöcker sehr dankbar. Außerdem danke ich Dr. Stefanie Geißler für die Bestimmung der *in vitro* Toxizität der Verbindungen.

Für die Durchführung der NMR-Messungen danke ich Dr. Andrea Porzel, sowie Dr. Christoph Wiedemann und Prof. Dr. Frank Bordusa. Weiterer Dank geht an Herr Dr. Christian Ihling für die Aufnahme der hochauflösenden Massen.

Zudem möchte ich mich bei allen aktuellen und ehemaligen Kollegen des Fraunhofer IZI-MWT für die angenehme Arbeitsatmosphäre, sowie die interessanten Gespräche und Denkanstöße danken. Besonders danke ich Antje Hamann für die Unterstützung im Laboralltag. Auch danke ich Stefan Saretz, Christin Brankatschk und Kevin Böhm für die schöne gemeinsame Zeit im Labor.

Meinen Eltern und Elli möchte ich besonders für die jahrelange Unterstützung und Motivation danken. Danke, dass ihr immer für mich da seid.

Liste der Veröffentlichungen

Tan, K.; Jäger, C.; Schlenzig, D.; Schilling, S.; Buchholz, M.; Ramsbeck, D.

Tertiary-Amine-Based Inhibitors of the Astacin Protease Meprin alpha.

ChemMedChem **2018**, *13*, 1619–1624.

DOI: 10.1002/cmdc.201800300.

Körschgen, H.; Jäger, C.; Tan, K.; Buchholz, M.; Stöcker, W.; Ramsbeck, D.

A Primary Evaluation of Potential Small-Molecule Inhibitors of the Astacin Metalloproteinase Ovastacin, a Novel Drug Target in Female Infertility Treatment.

ChemMedChem **2020**, *15*, 1499–1504.

DOI: 10.1002/cmdc.202000397.

Tan, K.; Jäger, C.; Körschgen, H.; Geissler, S.; Schlenzig, D.; Buchholz, M.; Stöcker, W.; Ramsbeck, D.

Heteroaromatic Inhibitors of the Astacin Proteinases Meprin α , Meprin β and Ovastacin Discovered by a Scaffold-Hopping Approach.

ChemMedChem **2021**, *16*, 976–988.

DOI: 10.1002/cmdc.202000822.

Lebenslauf

Angaben zur Person

Familienname: Tan
Vorname: Kathrin
Geburtsdatum:
Geburtsort:
Wohnsitz:
Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulische Ausbildung

2000-2004 Grundschule am Kirchplatz, Bad Döben
2004-2012 Martin-Rinckart-Gymnasium, Eilenburg (Abitur)

Studium und akademische Ausbildung

10/2012-09/2016 Studium Pharmazie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Abschluss 2. Staatsexamen
11/2016-04/2017 Pharmaziepraktikum, Fraunhofer Institut für Zelltherapie und Immunologie, Außenstelle Molekulare Wirkstoffbiochemie und Therapieentwicklung (IZI-MWT) in Halle
„Synthese und Charakterisierung von neuartigen Meprin α -Inhibitoren“ (Diplom Abschluss 04/2018)
05/2017-10/2017 Pharmaziepraktikum, Apotheke am Franckeplatz in Halle
10/2017 Abschluss 3. Staatsexamen Pharmazie (Approbation)
Seit 01/2018 Promotionsstudentin, Fraunhofer IZI-MWT
„Synthese und Struktur-Wirkungsbeziehungsuntersuchungen von neuartigen Inhibitoren humaner Astacinproteasen“

Berufliche Erfahrungen

11/2017-06/2022 Apothekerin, Apotheke am Franckeplatz in Halle (Teilzeit)
Seit 02/2021 wissenschaftliche Mitarbeiterin am Fraunhofer IZI-MWT

Ort, Datum

Unterschrift

Eidstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass die vorliegende Dissertationsschrift selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Es wurden ausschließlich die angegebenen Hilfsmittel und Quellen verwendet. Die den Werken wörtlich und inhaltlich entnommenen Stellen wurden als solche kenntlich gemacht. Ich versichere, dass ich mich mit der vorliegenden Arbeit erstmals um die Erlangung des Doktorgrades bewerbe und diese Dissertationsschrift ausschließlich der Naturwissenschaftlichen Fakultät I der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg und keiner anderen universitären Einrichtung vorgelegt habe.

Halle (Saale),

Kathrin Tan