



universität  
wien

# DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Strukturelle Profilierung von Malariawirkstoffen  
des Propafenontyps“

Verfasserin

Manuela Fuchs

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2012

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Diplomstudium Pharmazie

Betreuerin / Betreuer:

Prof. Dipl.-Ing. Mag. Dr. Christian Noe

„ So eine Arbeit wird eigentlich nie fertig, man muss sie für fertig erklären, wenn man nach der Zeit und den Umständen das Möglichste getan hat.“

Johann Wolfgang von Goethe



## **Danksagung**

Die vorliegende Diplomarbeit wurde am Departement für medizinisch-pharmazeutische Chemie an der Universität Wien von März bis Oktober 2009 erarbeitet.

Zuallererst möchte ich mich bei Univ.-Prof. Dr. Christian R. Noe für die Themenstellung und die Möglichkeit die Arbeit in seiner Arbeitsgruppe durchführen zu können bedanken.

Der Firma Pharmacon GmbH danke ich für materielle Unterstützung der Arbeit.

Bei Dr. Hubert Gstach möchte ich mich für die exzellente Betreuung und die vielen Anregungen während meiner Arbeit, sowie für die inspirierenden Gespräche bedanken.

Mein weiterer Dank richtet sich an Univ.-Prof. Dr. Ernst Urban für die ausgezeichnete Unterstützung und Arbeit im Bereich der NMR-Spektroskopie und Strukturaufklärung.

Vielen herzlichen Dank auch an DI Michael Zwickovits, der mich im Rahmen meines Praktikums bei ihm viel über die organische Chemie und die Laborarbeit gelehrt hat.

Bei Herrn Matthias Mastalir und Frau Elena Macoratti möchte ich mich für die technische und praktische Unterstützung in der Laborarbeit bedanken.

Vielen Dank auch an Fr. Barbara Frühbauer, die mich motiviert hat, diese Arbeit abzuschließen und mein Studium voranzutreiben.

Meinem Lebensgefährten, Ulrik Schremser, möchte ich einerseits für die persönliche Unterstützung während meiner Diplomarbeitszeit, andererseits aber auch für die technische Unterstützung bei der Verfassung der Arbeit danken.

Den größten Dank möchte ich allerdings an meine Eltern richten, die mich während meiner ganzen Ausbildungszeit nach all ihren Möglichkeiten gefördert und motiviert haben und die es mir dadurch ermöglicht haben, dieses Studium abzuschließen und meinen Traum zu erfüllen.



# Inhaltsverzeichnis

|            |                                                                                   |           |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b>   | <b><i>Einleitung und Problemstellung</i></b>                                      | <b>1</b>  |
| <b>1.1</b> | <b>Einleitung</b>                                                                 | <b>1</b>  |
| 1.1.1      | Vorkommen                                                                         | 1         |
| 1.1.2      | Erreger                                                                           | 1         |
| 1.1.3      | Entwicklung                                                                       | 2         |
| <b>1.2</b> | <b>Krankheitsbild</b>                                                             | <b>4</b>  |
| 1.2.1      | Pathogenese und Pathologie                                                        | 6         |
| <b>1.3</b> | <b>Chemotherapie</b>                                                              | <b>7</b>  |
| 1.3.1      | Aminochinoline                                                                    | 8         |
| 1.3.2      | Methanolchinoline                                                                 | 10        |
| 1.3.3      | Diaminopyrimidine                                                                 | 11        |
| 1.3.4      | Artemisinin und Derivate                                                          | 11        |
| 1.3.5      | Andere                                                                            | 13        |
| <b>1.4</b> | <b>Kombinationstherapien</b>                                                      | <b>14</b> |
| 1.4.1      | Definition der Kombinationstherapie                                               | 14        |
| 1.4.2      | Artemisinin-basierende Kombinationstherapien (ACT)                                | 14        |
| 1.4.3      | Nicht auf Artemisinin basierende Kombinationstherapien                            | 15        |
| 1.4.4      | Was nicht als Kombinationstherapie gilt                                           | 15        |
| <b>1.5</b> | <b>Resistenzentwicklung</b>                                                       | <b>16</b> |
| 1.5.1      | Definition                                                                        | 16        |
| 1.5.2      | Artemisinin-Resistenz                                                             | 17        |
| <b>1.6</b> | <b>Propafenon als neue Antimalaria-Wirkstoffklasse</b>                            | <b>17</b> |
| <b>1.7</b> | <b>Derivate des Propafenons</b>                                                   | <b>20</b> |
| <b>1.8</b> | <b>Ein Thiophenanalogen des Propafenons – Anwendung des Bioisosterie-Konzepts</b> | <b>21</b> |
| <b>1.9</b> | <b>Themenstellung</b>                                                             | <b>22</b> |
| <b>2</b>   | <b><i>Eigene Untersuchungen zur Synthese</i></b>                                  | <b>23</b> |
| <b>2.1</b> | <b>Synthese des Thiophengrundgerüsts:</b>                                         | <b>23</b> |
| 2.1.1      | Stufe I: Friedl-Crafts-Acylierung                                                 | 23        |
| 2.1.2      | Stufe II: Etherspaltung mit Aluminiumchlorid.                                     | 24        |
| 2.1.3      | Stufe III: Einführung eines Epoxids                                               | 25        |
| <b>2.2</b> | <b>Öffnung des Epoxides mit diversen Aminen</b>                                   | <b>25</b> |
| <b>2.3</b> | <b>Click Synthese</b>                                                             | <b>27</b> |
| 2.3.1      | Allgemeines                                                                       | 27        |
| 2.3.2      | Cu(I)-katalysierte Synthese von 1,4-disubstituierten 1,2,3-Triazolen              | 28        |
| <b>3</b>   | <b><i>Experimenteller Teil</i></b>                                                | <b>31</b> |
| <b>3.1</b> | <b>Synthese des zentralen Buildingblocks I + II</b>                               | <b>31</b> |
| <b>3.2</b> | <b>Derivate unter Verwendung des Building Block I</b>                             | <b>39</b> |
| <b>3.3</b> | <b>Derivate unter Verwendung des Building Blocks II</b>                           | <b>55</b> |
| <b>3.4</b> | <b>Anwendung der Click-Chemie</b>                                                 | <b>80</b> |
| <b>4</b>   | <b><i>Testergebnisse</i></b>                                                      | <b>85</b> |
| <b>4.1</b> | <b>Beschreibung des Test-Essays</b>                                               | <b>85</b> |
| <b>4.2</b> | <b>Ergebnisse des Assays (geordnet nach der Aktivität)</b>                        | <b>87</b> |

|            |                                  |            |
|------------|----------------------------------|------------|
| <b>4.3</b> | <b>Diskussion der Ergebnisse</b> | <b>92</b>  |
| <b>4.4</b> | <b>Literaturverzeichnis</b>      | <b>94</b>  |
| <b>5</b>   | <b><i>Anhang</i></b>             | <b>95</b>  |
| <b>5.1</b> | <b>Spektren</b>                  | <b>95</b>  |
| <b>5.2</b> | <b>Kurzfassung - Abstract</b>    | <b>136</b> |
| <b>5.3</b> | <b>Lebenslauf</b>                | <b>137</b> |

# **1 EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG**

## **1.1 Einleitung**

### **1.1.1 Vorkommen**

Malaria, auch Sumpffieber oder Wechselfieber genannt, ist eine der bedeutendsten Infektionskrankheiten des Menschen, die laut WHO in über 100 Ländern oder Territorien, vor allem aber in Subsahara-Afrika, Asien, Ozeanien und Zentral- und Südamerika vorkommt. Das klassische Hochrisikogebiet für Malaria ist das tropische Afrika, wo fast ausschließlich die bösartige Form der Malaria, die Malaria tropica vorkommt. In diesen Regionen findet die Malariaübertragung ganzjährig und auch in den Städten statt. Auch in Indien, Sri Lanka, in vielen Teilen des Fernen Ostens sowie im Amazonasgebiet ist ganzjährig eine Übertragung der Malaria zu beobachten. Die regionale Verbreitung der Malaria hängt unmittelbar mit dem Lebensraum der Anopheles-Mücke zusammen. Da sie ihre Eier im Wasser ablegt, sind feuchte Gebiete besonders betroffen. Generell gelten Gebiete ab einer Höhe von etwa 2.500m (Äquatornähe) bzw. 1.500m über dem Meeresspiegel (alle übrigen Gebiete) als malariafrei. Das Risiko einer Malariainfektion ist ebenfalls stark von Wetterveränderungen abhängig, z. B. ist es während der Regenzeiten häufig stark erhöht. In Mittelamerika und auch im Nahen Osten ist die Intensität der Malariaübertragung regional eher unterschiedlich und wird auch von jahreszeitlichen Faktoren beeinflusst. In Malariagebieten leben etwa 2,1 Milliarden Menschen. Jährlich treten etwa 300 Millionen Neuinfektionen auf, von denen zirka 90% in Subsahara-Afrika auftreten und meist durch Plasmodium falciparum hervorgerufen werden. Jährlich sterben etwa 1,2 Millionen Menschen an Malaria, darunter 1 Million Kinder im tropischen Afrika.

### **1.1.2 Erreger**

Malaria wird durch einzellige Parasiten der Gattung Plasmodium hervorgerufen. Sie gehören der Gruppe der Sporozoen an und sind obligat parasitische Organismen. Die Krankheit verbreitet sich durch den Stich der weiblichen Stechmücke der Gattung Anopheles. Gefährlich für den Menschen sind die Erreger Plasmodium falciparum,

*Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* und *Plasmodium knowlesi*, die verschiedene Formen der Malaria auslösen können. Bei Mehrfachinfektionen mit gleichen oder verschiedenen Plasmodien können die Fieberanfälle auch unregelmäßig sein. Das sonst typische Wechselfieber bleibt aus, es herrscht konstantes Fieber.<sup>1</sup>

### 1.1.3 Entwicklung

Der Entwicklungszyklus der Plasmodien ist mit einem Generationswechsel zwischen geschlechtlicher und ungeschlechtlicher Vermehrung, sowie mit einem obligaten Wirtswechsel, der sich zwischen Mensch und Anophelesmücke abspielt verbunden. Der geschlechtliche Entwicklungszyklus findet in der weiblichen Anopheles-Mücke, der ungeschlechtliche im Menschen statt.

Exoerythrozytäre Entwicklung im Menschen:

Die mit Plasmodien infizierte Anophelesmücke überträgt während des Blutsaugens am Menschen spindelförmige, infektiöse Sporozoiten in die Blutbahn oder Lymphspalten. Zur Infektion reichen wenige Sporozoiten aus, die innerhalb von 15-45 Minuten über die Blutbahn zur Leber gelangen und dort in die Hepatozyten eindringen. In den Hepatozyten findet die asexuelle Vermehrung statt, bei der sich die Sporozoiten zu vielkernigen, etwa 30-70µm großen Schizonten entwickeln, aus denen nach zytoplasmatischer Teilung je 2000 (*P. malariae*) bis 30000 (*P. falciparum*) Merozoiten hervorgehen. Diese Entwicklung dauert 6 (*P. falciparum*) bis 15 (*P. malariae*) Tage. Danach werden die Merozoiten aus den Gewebsschizonten freigesetzt und befallen die Erythrozyten. Während der Entwicklungsphase in der Leber gehen aus den Sporozoiten von *P. vivax* und *P. ovale* auch sogenannte Hypnozoiten hervor. Diese stellen kleine, einkernige Stadien dar, die in den Hepatozyten Monate bis Jahre persistieren und sich erst später in zeitlich verschiedenen Schüben zu Schizonten entwickeln. Die von diesen Schizonten gebildeten Merozoiten befallen Erythrozyten und sind für Malariarückfälle verantwortlich.

Erythrozytäre Entwicklung:

In den Erythrozyten erfolgt zunächst eine asexuelle Vermehrung. Merozoiten sind

etwa 1,5µm große, ovoide, bewegliche Gebilde, die sich an Rezeptormoleküle an der Oberfläche der Erythrozyten anheften und in diese eindringen. Im Zytoplasma werden die Erreger in eine membranbegrenzte, parasitophore Vakuole eingeschlossen.

Der Erreger erscheint im Lichtmikroskop ringförmig mit dünnem Zytoplasmasaum, einer zentralen Nahrungsvakuole und randständig gelegenen, dunkel gefärbten Kern. Dieses Stadium ist bei allen Plasmodium-Arten sehr ähnlich. Die Ringformen wachsen zu Schizonten heran, die als Nahrung Glucose und Hämoglobin aufnehmen. Aus dem Hämoglobin werden Aminosäuren aufgenommen und die Abbauprodukte als braunschwarzes Hämozin in der Nahrungsvakuole gelagert. Nach vielfacher Teilung geht aus dem Schizonten je nach Plasmodium-Art eine unterschiedliche Anzahl von Merozoiten hervor, die nach der Zerstörung des Erythrozyten in das Blutplasma gelangen und dort durch Neuinfektion weiterer Erythrozyten den asexuellen Zyklus neu beginnen. Die Schizogoniezyklen verlaufen nach einer kurzen Initialphase in regelmäßigen Abständen und dauern bei *P. vivax*, *P. ovale*, und *P. falciparum* 48 Stunden und bei *P. malariae* 72 Stunden. Nach einer oder mehreren Schizogoniegenerationen entwickeln sich einige Plasmodien zu den männlichen Mikrogamonten und den weiblichen Makrogamonten. Diese Geschlechtsformen persistieren dann einige Zeit lang im Blut und sterben ab, wenn sie nicht von der Anopheles-Mücke während des Blutsaugens aufgenommen werden.

Entwicklung in der Anopheles-Mücke:

Im Mitteldarm der Mücke entstehen aus den Mikrogamonten 4-8 einkernige, begeißelte Mikrogameten und aus den Makrogamonten Makrogameten. Diese verschmelzen zu einer beweglichen Zygote, dem sogenannten Ookineten. Der Ookinet siedelt sich zwischen Epithelschicht und Basalmembran des Mitteldarms an und durchläuft eine morphologische Umwandlung zur dünnwandigen Oozyste mit einer Größe von 40-60µm. In der Oozyste vermehren sich die Kerne und bilden tausende Sporozoiten aus, die in der Hämolymphe durch die Leibeshöhle der Mücke zu den Speicheldrüsen wandern. Von dort können sie dann auf einen neuen Wirt übertragen werden. Die Dauer des Zyklus in der Mücke ist von der Plasmodienart, sowie von der Außentemperatur abhängig und beträgt bei 20-24°C etwa 8-14 Tage. <sup>1</sup>

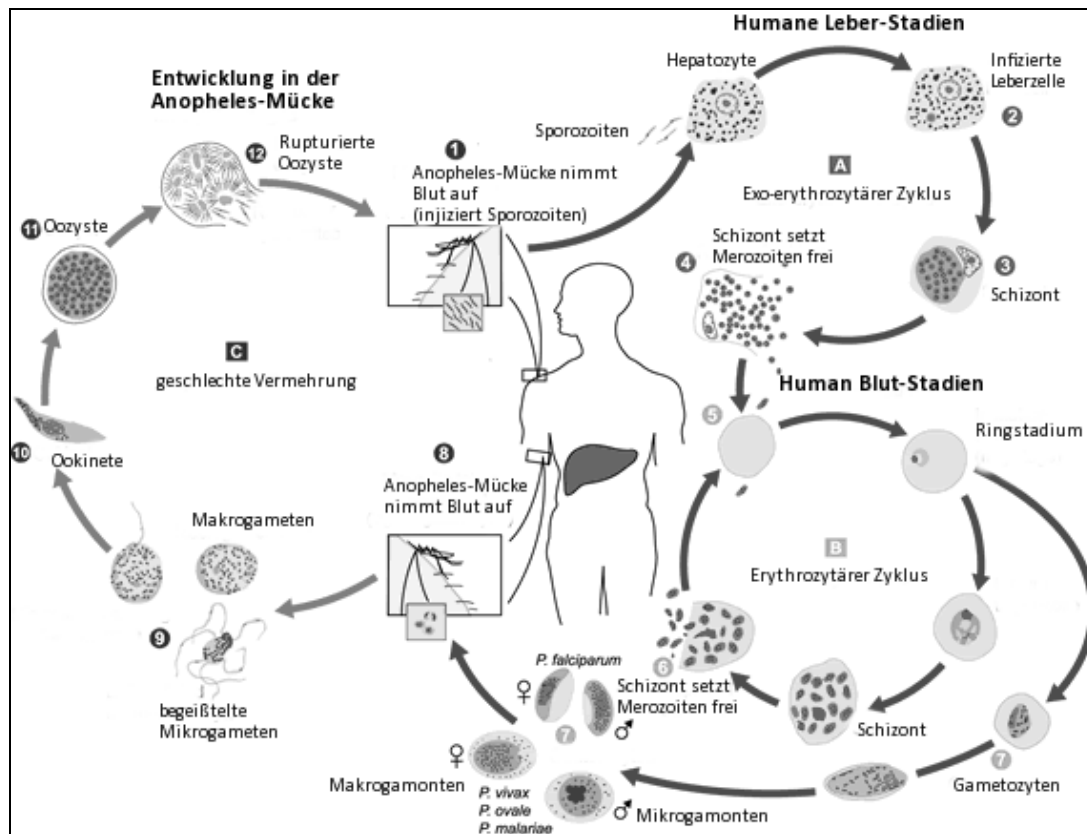


Abbildung 1: Entwicklungszyklus der Plasmodien<sup>2</sup>

## 1.2 Krankheitsbild

Das klinische Erscheinungsbild wird durch die asexuellen Stadien des Plasmodiums während der erythrozytären Stadien ausgelöst und setzt kurz nach Eindringen des Parasiten in die Blutbahn ein. Die Inkubationszeiten variieren je nach Plasmodium-Art zwischen 7 und 35 Tagen. Diese Zeiten können aber besonders bei Unterdrückung durch Prophylaxe um Wochen bis Monate verlängert sein. Die Manifestation hängt von verschiedenen Faktoren ab, vor allem aber von der Erregerart und vom Immunstatus des Infizierten. Die pathogenste Plasmodium-Art ist *P. falciparum*, der Erreger der bösartigen Malaria tropica, während die anderen Plasmodienarten mildere Formen der Malaria verursachen. Besonders anfällig sind nichtimmune Kinder und Erwachsene aus malariafreien Gebieten, wie Touristen, sowie in endemischen Gebieten Kinder im Alter von sechs Monaten bis 3 Jahren. 1932 gelang es Knowles und Da Gupta einen bereits beim Primaten bekannten Plasmodienstamm, auf den Menschen zu übertragen. Er wurde vor allem als fiebererzeugendes Agens zur Behandlung der Lähmungszustände bei Neurosyphilis angewandt. Sehr rasch wurde allerdings festgestellt, dass die Infektionen außer

Kontrolle gerieten und somit wurde ein neuer Vertreter bekannt, *Plasmodium knowlesi*.

Die Malaria beginnt mit unspezifischen, einige Tage anhaltenden Initialsymptomen (u.a. mit Kopf- und Gliederschmerzen, allgemeiner Abgeschlagenheit, Frösteln und gelegentlich Übelkeit sowie anfänglich kontinuierlichem oder unregelmäßig intermittierendem Fieber) und können daher leicht mit den Symptomen eines grippalen Infekts verwechselt werden.

Einige Tage bis eine Woche nach Beginn der Parasitämie erfolgt dann die Synchronisation des Schizogeniezyklus, der bei *P. vivax*, *P. ovale* und *P. falciparum* in 48 Stunden und bei *P. malariae* in 72 Stunde abläuft. Die Infektion mit *P. knowlesi* erscheint zuerst wie eine Malaria quartana, jedoch mit einer untypisch hohen Parasitenlast von 48000 – 66640 Parasiten/µl Blut. Der Nachweis erfolgt über einen nested-PCR-Malaria-Detektionsassay.

Die Desintegration der Schizonten und der Massenerfall der Erythrozyten führen zur Ausschüttung von Entzündungsmediatoren, die das Fieber auslösen. Dadurch kommt es zu bestimmten Verlaufsformen der Fieberkurven, dem sogenannten Wechselfieber. Es ist allerdings besonders zu beachten, dass bei *Malaria tropica* das Fieber häufig nicht einem typischen Rhythmus folgt.

| <b>Plasmodium</b>    | <b>Inkubationszeit</b>          | <b>Malariaform</b> | <b>Teilungsdauer/Fieberanfälle</b> |
|----------------------|---------------------------------|--------------------|------------------------------------|
| <i>P. falciparum</i> | 7-30 Tage (90%)<br>länger (10%) | Malaria tropica    | 48 Stunden/Unregelmäßig            |
| <i>P. malariae</i>   | 16-50 Tage                      | Malaria quartana   | 72 Stunden                         |
| <i>P. ovale</i>      | 12-18 Tage<br>länger (10%)      | Malaria tertiana   | 48 Stunden                         |
| <i>P. vivax</i>      | 12-18 Tage<br>länger (10%)      | Malaria tertiana   | 48 Stunden                         |
| <i>P. knowlesi</i>   | 5-6 Tage                        |                    | 24 Stunden                         |

**Tabelle 1: Verlaufsformen der Malaria**

Die Temperatur steigt anfänglich bis zirka 39°C an und tritt in Verbindung mit peripherer Konstriktion und Schüttelfrost auf (Dauer zirka zehn Minuten bis eine Stunde). Danach steigt das Fieber für etwa zwei bis sechs Stunden auf 40-41°C an,

worauf periphere Vasodilatation und Schweißausbrüche folgen. Die Anfälle ereignen sich meist in den Nachmittags- und Abendstunden. Nach Abklingen des Anfalls und Rückgang des Fiebers fühlt sich der Patient wieder wohl, bis der nächste Anfall einsetzt. Bei schwerer Malaria tropica kann es jedoch zu Kreislaufstörungen mit Kollaps sowie zu deliriösen Zuständen ohne Fieber kommen (=algide Malaria). Die Malariaanfälle wiederholen sich in Intervallen, bis die Erregervermehrung in den Erythrozyten durch Chemotherapie oder die Wirtsimmunität unterdrückt wird. Bei Persistenz von Erregern im Organismus sind längere Zeit nach der Infektion Rückfälle möglich. Diese können aus persistierenden erythrozytären Formen hervorgehen oder durch Reaktivierung von Hypnozoiten verursacht werden.<sup>1</sup>

### 1.2.1 Pathogenese und Pathologie

Rolle von Zytokinen und Prostaglandinen:

*P. falciparum* bildet Glykosylphosphatidyl-Inositol (GPI), eine toxinähnliche Substanz, die die Produktion von TNF $\alpha$  und anderen proinflammatorischen Zytokinen (IL-1, IL-6) durch Wirtszellen stimuliert. Mit GPI sind die Fieberanfälle, an deren Auslösung vermutlich auch Hämозoin beteiligt ist, assoziiert. GPI allein oder im Zusammenwirken mit IFN $\gamma$  regt über die entsprechenden Gene eine vermehrte Bildung von NO an, dem in der Pathogenese der cerebralen Malaria eine wichtige Rolle zugeschrieben wird. GPI erhöht weiters die Produktion intrazellulärer und vaskulärer Adhäsionsmoleküle, die für die Zytoadhärenz bedeutend sind. Die von *P. falciparum* gebildeten Prostaglandine D<sub>2</sub>, E<sub>2</sub>, und F<sub>2</sub> $\alpha$  haben unter anderem auch pyrogene und immunsupprimierende Wirkung.

Zytoadhärenz:

Während der Entwicklung des Schizonten von *P. falciparum* entstehen knopfförmige Vorwölbungen der Erythrozytenmembran, unter denen hochmolekulare Parasitenproteine in der Größe von 200-300kDa angereichert, und dann an der Oberfläche präsentiert werden. Diese Proteine binden an unterschiedliche endotheliale Rezeptoren und ermöglichen dadurch das Anheften eines von Parasiten befallenen Erythrozyten an das Endothel von Blutgefäßen, vor allem im Bereich postkapillärer Venulen. Es kommt ebenfalls zur Rosettenbildung, einer Zusammenballung von befallenen und nicht befallenen Zellen, die auf ähnlichen

Mechanismen der Zytoadhärenz beruht.

Diese Mechanismen haben für den Parasiten den Vorteil, dass ein Teil der Population abgesondert wird und dadurch der Elimination in der Milz entgeht. Für den Wirt kann dieser Mechanismus zur Behinderung der Mikrozirkulation der Gewebe führen, zur Hypoxie, die durch die Anämie noch verstärkt wird und schließlich zu Zell- und Organschädigungen, die sich vor allem im Gehirn gravierend auswirken.

Anämie:

Vor allem bei der Malaria tropica wird die Anämie durch den Zerfall der Erythrozyten bei der Schizogenie, vermehrte Elimination infizierter und nicht infizierter Erythrozyten in der Milz, Hemmung der Erythropoese durch TNF $\alpha$  und andere Faktoren verursacht.

Andere Vorgänge:

Durch TNF $\alpha$  werden phagozytierende Zellen des retikuloendothelialen Systems aktiviert. Zeichen dafür sind die auftretende Milzschwellung und die vermehrte Elimination der Erythrozyten. Durch Zytoadhärenz in den Kapillaren und tubuläre Nekrosen können auch Nierenschäden verursacht werden. Bei Malaria quartana sind diese auf die Ablagerung von Immunkomplexen in den Nierenkapillaren zurückzuführen.

### **1.3 Chemotherapie**

Die Chemotherapie der verschiedenen Malariaformen gründet auf mehreren Angriffsmöglichkeiten auf die sich vermehrenden Erreger-Zwischenstufen:

1. Gewebsschizonten (Pyrimethamin und Primaquin)
2. Blutschizonten (Chloroquin, Chinin, Halofantrin)
3. Gametocyten (Pyrimethamin, Primaquin)

Neben der Therapie spielt heute die Prophylaxe eine sehr große Rolle. Die dafür eingesetzten Therapeutika zielen auf die ersten Vermehrungsformen im Blut ab. Da die Inkubationszeiten der Plasmodienarten verschieden sind, müssen die Wirkstoffe

über längere Zeit in therapeutischen Konzentrationen im Blut vorhanden sein. Im Vordergrund der Prophylaxe steht allerdings die Vermeidung einer Infektion durch das Tragen langärmeliger Kleidung, das Verwenden von Repellentien wie Diethyltoluamid auf den freien Hautpartien und der Anwendung von Moskitonetzen.

### 1.3.1 Aminoquinoline

- Chloroquin (Chlorochin®, Nivaquin®)  
Das Grundgerüst des 4-Aminoquinolins lässt die Fortentwicklung aus Chinin erkennen. Es wurde Mitte der 30er Jahre in Deutschland anhand eines Infektionsmodells an Kanarienvögeln entwickelt.

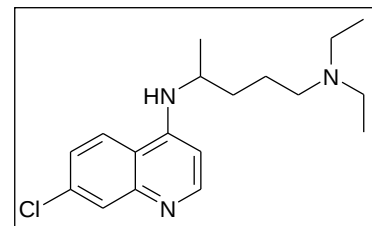


Abbildung 2: Chloroquin

Heute wird angenommen, der primäre Angriffspunkt ist die Hämpolymerase der Plasmodien. Durch die Hemmung dieses Enzyms kommt es zur Anreicherung von Hämmetaboliten, welche membranschädigende Wirkung auf die Erreger haben. Die für die Hemmung erforderlichen Konzentrationen von Chloroquin werden in der Nahrungsvakuole durch Anreicherung der Wirkstoffe erzielt. Resistente Stämme können die Wirkstoffe rasch eliminieren, so dass keine wirksamen Konzentrationen erreicht werden können.

- Hydroxychloroquin (Plaquenil®)  
Hydroxychloroquin ist ebenfalls von Chinin abgeleitet und wird gegen Malaria tropica und rheumatoide Arthritis eingesetzt. Es ist weniger schädlich für die Retina als Chloroquin.

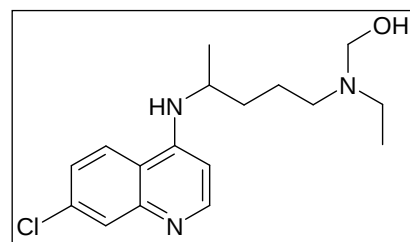


Abbildung 3: Hydroxychloroquin

- Primaquin  
Primaquin ist ein Arzneistoff, der zur Bekämpfung und zur Nachbehandlung von Malaria, speziell der Malaria tertiana, geeignet ist. Es wird seit 1926 verwendet und ist besonders gut gegen die erythrozytären

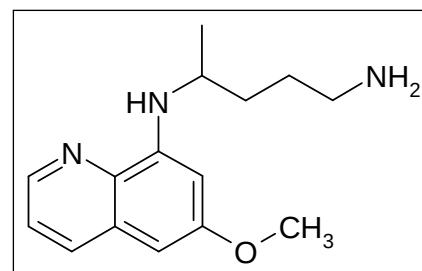


Abbildung 4: Primaquin

Parasitenstadien wirksam, speziell bei *Plasmodium vivax*. Primaquin interagiert mit der Doppelstrang-Plasmodien-DNA, wodurch es zu einer Proteinbiosynthesehemmung kommt. Die Einnahme ist auf 2 Wochen beschränkt, und es gibt sehr selten Nebenwirkungen. Gravierende Nebenwirkungen treten bei Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Mangel (G6PD-Mangel) auf. Des Weiteren kann die Einnahme von Primaquin zu Anämie oder Kopfschmerzen führen.<sup>3</sup>

- Amodiaquin

Amodiaquin ist in Struktur und Wirkungsweise dem Chloroquin ähnlich und mindestens genauso wirksam, hat aber eine längere Plasmahalbwertszeit als Chloroquin. Amodiaquin wirkt auch gegen viele Chloroquin-resistente

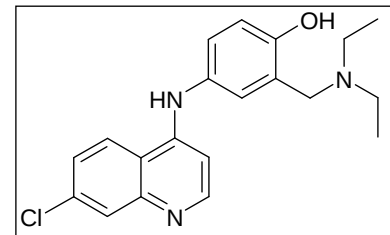


Abbildung 5: Amodiaquin

Plasmodien. Amodiaquin ist außerdem das von der FDA bevorzugte Substrat für die Markerreaktion von Cytochrom-P450-2C8 im in vitro-Metabolismus.<sup>3</sup>

- Biguanide

Proguanil

(Malarone® + Atovaquon)

Atovaquon-Proguanil ist ein prophylaktisches und

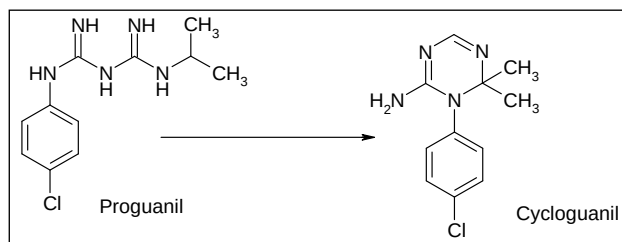


Abbildung 7: Proguanil

therapeutisches Arzneimittel gegen Malaria. Es

kann (wie Mefloquin) vorbeugend oder auch nach einer Infektion und dem

Eintreten der ersten Symptome angewandt werden. Proguanil ist ein Prodrug, das

in den 40er Jahren bekannt wurde. Resistenzen entwickelten sich schnell im

Bereich von Südostasien, wo es hauptsächlich angewendet wurde. Mitte der 90er

Jahre wurde es dann von der WHO in Kombination

mit Atovaquon als Prophylaktikum für Gebiete mit

mäßigem bis hohem Malariarisiko aufgeführt und

erfuhr dadurch eine Renaissance. Es ist Vorläuferstoff

von Pyrimethamin und ähnlichen Hemmstoffen

der Dihydrofolat-Reduktase.

Atovaquon wurde Anfang der 80er Jahre synthetisiert und ist chemisch gesehen

ein Hydroxynaphthochinon, dass eine Analogie zu Ubichinon aufweist. Der

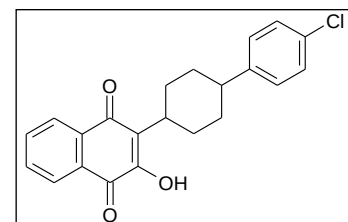


Abbildung 6: Atovaquone

Wirkmechanismus ist nicht genau geklärt. Durch Hemmung des Cytochrom-bc1-Komplexes in den Mitochondrien und damit des Elektronentransports in der Atmungskette wird wahrscheinlich die Nucleinsäure- und ATP-Synthese in den Protozoen blockiert. Es wird vermutet, dass dieses in die De-novo-Pyrimidinsynthese empfindlich eingreift. Da die primären Angriffspunkte dieser Substanz Reaktionen betreffen, die in den menschlichen Zellen nicht vorkommen, besteht eine selektive Toxizität für die Mikroorganismen. Atovaquon wirkt gegen die Erreger der Malaria und Toxoplasmose, aber auch gegen *Pneumocystis carinii*.

### 1.3.2 Methanolchinoline

- Chinin

Schon seit Beginn des 17. Jahrhunderts ist der Drogenauszug der Chinarinde als Mittel gegen Malaria und andere Fieberanfälle in Gebrauch.

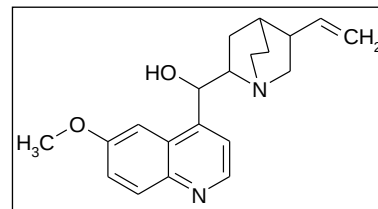


Abbildung 8: Chinin

1820 wurde es rein dargestellt und hat als dieses bis ungefähr 1950 Verwendung gefunden. Seit den 30er Jahren wurden synthetische Wirkstoffe entwickelt, die Chinin zunächst vollständig verdrängt haben. Mit Auftreten Chloroquin-resistenter Stämme um 1960 gewinnt Chinin wieder an Bedeutung. Chinin hemmt die Kristallisierung von Hämozoin. Kann das Hämozoin nicht mehr kristallisiert werden, führt dies zum Absterben des Parasiten. Chinin besitzt eine blutschizontozide Wirkung, d.h. es führt zu einer Hemmung im späteren erythrozytären Stadium des Erregers. Des Weiteren wirkt es ebenfalls auf Gametocyten von *P. malariae* und *P. vivax*.

- Mefloquin (Lariam®)

Die Wirkung von Mefloquin erfolgt wie bei Chinin und Chloroquin auf die erythrozytären Stadien der Malariaparasiten. Der genaue Wirkmechanismus ist unbekannt.

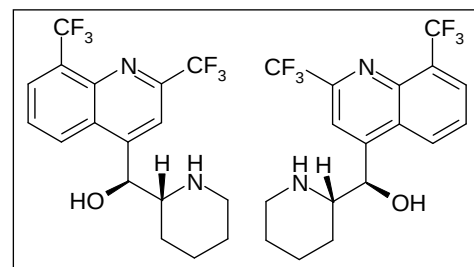


Abbildung 9: Mefloquin

Mefloquin wirkt gegen *Malaria tropica* und *Malaria tertiana* mit Chloroquinresistenz. Es wird generell dazu geraten, Mefloquin nicht zur Behandlung einzusetzen, wenn es bereits als Prophylaxe eingenommen

wurde. Von der Deutschen Gesellschaft für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit e.V. (DTG) wird das Medikament momentan neben Atovaquon-Proguanil oder Doxycyclin zur Prophylaxe der Malaria tropica in Gebieten mit hohem Übertragungsrisiko ohne mefloquinresistente Erreger empfohlen. Es kann auch für den Einsatz zur notfallmäßigen Selbstbehandlung in Gebieten mit mittlerem Risiko angewandt werden.

### 1.3.3 Diaminopyrimidine

- Pyrimethamin (Daraprim®, Fansidar®)

Dieser Wirkstoff unterscheidet sich sowohl durch die chemische Struktur als auch durch seinen Wirkmechanismus von anderen Malariamitteln. Es ist ein Hemmstoff der Dihydrofolsäure-Reduktase und greift in den C1-Stoffwechsel ein. Es ist auch als bakteriostatische Komponente mit Sulfonamiden im Einsatz und ebenfalls bei Toxoplasmose wirksam.

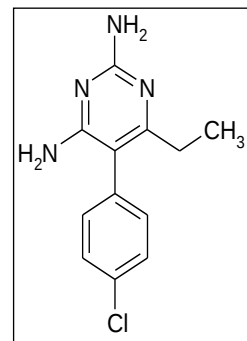


Abbildung 10:  
Pyrimethamin

Die Entwicklung von Resistenzen ist eher selten und beruht wahrscheinlich auf Ausbildung einer resistenten Dihydrofolsäure-Reduktase. Pyrimethamin schädigt Gewebsschizonten, Blutschizonten und Gametozyten. Es weist damit ein weites Wirkungsspektrum auf und kann daher zur Behandlung von allen Malariaformen, sowie zur Prophylaxe eingesetzt werden. Nach dem Aufsaugen des Blutes behandelter Patienten wird auch die Fortentwicklung der Gameten in der Anophelesmücke gehemmt.

### 1.3.4 Artemisinin und Derivate

- Artemisinin

Artemisinin wurde aus *Artemisia annua* isoliert. Die Struktur wurde 1979 aufgeklärt. Teezubereitungen werden in der chinesischen Volksmedizin bereits seit 2000 Jahren gegen Fieber verwendet.

Es wird angenommen, dass Häm oder Fe<sup>2+</sup> aus dem Hämoglobin freigesetzt wird, das mit der

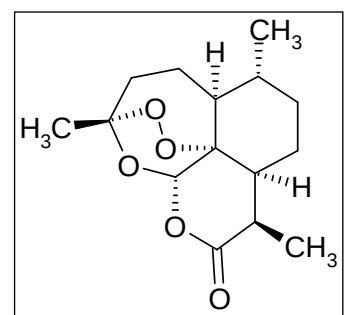


Abbildung 11: Artemisinin

Endoperoxidgruppe des Artemisinin reagiert und Radikale bildet, welche zu irreversiblen Veränderungen in Proteinen und Nukleinsäuren der Erreger führen. Artemisinin und seine Derivate wirken rasch gegen Blutschizonten und weisen auch gegen multiresistente Stämme von *P. falciparum* Aktivität auf.

- Artemether (Riamet® + Lumefantrin, Coartem®)

Artemether ist ein von Artemisinin abgeleiteter halbsynthetischer Wirkstoff. Artemether hat eine gegenüber Artemisinin deutlich verbesserte Bioverfügbarkeit. Wie alle Artemisinin-Derivate wirkt es über die Radikalbildung durch die endogene Peroxidgruppe. Die Resorption des lipidlöslichen Stoffes wird bei oraler Gabe durch eine möglichst fettreiche Mahlzeit erleichtert. Problematisch ist die relativ kurze Halbwertszeit von etwa zwei Stunden. Artemether wird in der Leber durch das Enzym CYP3A4 metabolisiert.

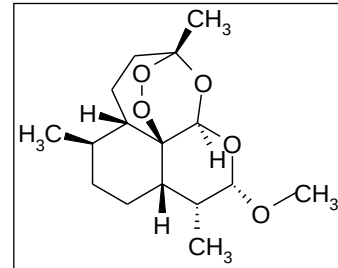


Abbildung 12: Artemether

Das Kombinationspräparat aus Lumefantrin und Artemether ist ausschließlich für die Therapie der Malaria geeignet; es kann aufgrund der pharmakologischen Eigenschaften der beiden Komponenten nicht zur Vorbeugung verwendet werden. Riamet® ist auch gegen multiresistente *Malaria tropica* Stämme außerordentlich gut wirksam.

- Artesunat

Artesunat hat im Vergleich zu Artemisinin eine verbesserte Bioverfügbarkeit. Es wirkt wie alle Artemisinin-Derivate über die endogene Peroxidgruppe. Es hat ebenfalls eine sehr kurze Halbwertszeit und wird in der Leber durch CYP3A4 metabolisiert.

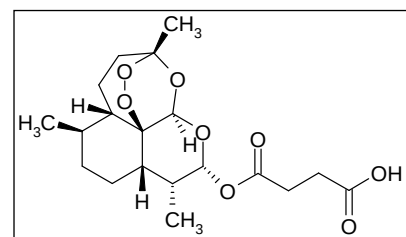


Abbildung 13: Artesunat

### 1.3.5 Andere

- Halofantrin (-)

Bei Halofantrin handelt es sich um ein Phenanthrenderivat, das bereits seit 1970 bekannt ist, aber erst 1991 wegen zunehmender Chloroquinresistenz in die Therapie eingeführt wurde. Halofantrin gilt als Notfallmedikament in Ländern mit hochgradiger Chloroquin-Resistenz oder Multiresistenz und wird zur Selbstbehandlung im Verdachtsfall verwendet. Durch die kurze Halbwertszeit und die hohe Kardiotoxizität ist es als Prophylaktikum nicht geeignet.

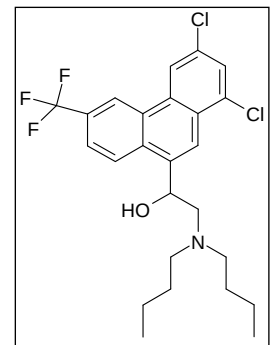


Abbildung 14:  
Halofantrin

- Lumefantrin (Riamet® + Lumefantrin)

Lumefantrin interferiert vermutlich in den Plasmodien mit dem Abbau des für die Parasiten toxischen Haemins zu Haemozin. Die Resorption des lipidlöslichen Stoffes wird bei oraler Gabe durch eine möglichst fettreiche Mahlzeit sehr erleichtert. Lumefantrin hat eine Halbwertszeit von vier bis sechs Tagen und wird in der Leber durch das Enzym CYP3A4 metabolisiert.

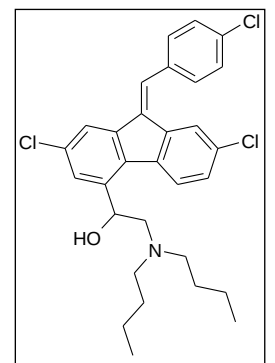


Abbildung 15:  
Lumefantrin

- Sulfadoxin

Sulfadoxin lässt sich - wie alle Sulfonamide - von Sulfanilamid ableiten. Die Sulfonamide zeichnen sich durch eine mehr oder minder vollständige Resorption nach oraler Gabe aus, die weitgehend unabhängig von der

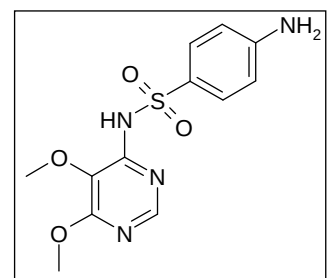


Abbildung 16:  
Sulfadoxin

Nahrungsaufnahme ist. Die Zeitspanne bis zum Erreichen maximaler Blutspiegel schwankt zwischen 2 und 8 Stunden. Mit einer Halbwertszeit von 8 bis 9 Tagen gehört Sulfadoxin zu den Langzeitsulfonamiden. Sulfadoxin wirkt vor allem auf die Blutschizonten bei Plasmodium falciparum. Die Sulfonamide sind Antimetabolite der p-Aminobenzoessäure, welche für Plasmodien essentiell ist. Sie verdrängen die p-Aminobenzoessäure an der Dihydropteroatsynthetase und blockieren kompetitiv die Folsäuresynthese. Somit ergibt sich eine relativ geringe Toxizität der Sulfonamide für den Menschen, da er

nicht selbst Folsäure synthetisieren kann und Sulfonamide in ihm keinen Angriffspunkt finden.<sup>4</sup>

## **1.4 Kombinationstherapien**

### **1.4.1 Definition der Kombinationstherapie**

Als Kombinationstherapie versteht man die simultane Anwendung von zwei oder mehr auf Blutschizonten wirkenden Arzneistoffen mit von einander unabhängig funktionierenden Wirkmechanismen und verschiedenen biochemischen Targets im Parasiten.

Das Grundprinzip ist zweifältig. Es werden Wirkstoffe mit zwei verschiedenen Wirkmechanismen angewandt. Die Kombination ist dadurch effektiver und im seltenen Fall einer Mutation des Parasiten und der damit verbundenen Resistenzentwicklung während der Anwendung kann der Erreger durch die zweite Komponente eliminiert werden. Dieser Schutz vor Mutationen ist dazu gedacht das Auftreten von Resistenzen zu verhindern oder zu verzögern. Ein möglicher Nachteil dieser Therapie ist das Potential für steigende Nebenwirkungen und die dadurch steigenden Behandlungskosten.

### **1.4.2 Artemisinin-basierende Kombinationstherapien (ACT)**

Artemisinin und die davon abgeleiteten Derivate Artesunat, Artemether, Artemotil und Dihydroartemisinin induzieren eine schnelle Parasiten Clearance und dadurch ein schnelles Nachlassen der Symptome. Sie reduzieren die Parazitenzahl zirka um den Faktor 10000 in jedem asexuellen Zyklus, was mehr ist, als bei allen anderen Antimalariawirkstoffen, bei denen sich die Reduktion im Bereich der Faktoren 100 bis 1000 bewegt. Artemisinin und seine Derivate eliminieren schnell. Wenn sie in Kombination mit anderen ebenfalls schnell eliminierenden Wirkstoffen wie Tetracyclinen oder Clindamycin verabreicht werden ist eine Behandlung über sieben Tage nötig. Wenn sie allerdings mit langsam eliminierenden Wirkstoffen verabreicht werden kann die Behandlung auf drei Tage verringert werden.<sup>5</sup>

#### 1.4.3 Nicht auf Artemisinin basierende Kombinationstherapien

Nicht auf Artemisinin basierende Kombinationstherapien inkludieren Sulfadoxin-Pyrimethamin mit Chloroquin (SP+CQ) oder Amodiaquin (SP+AQ). Die überwiegend hohen Grade an Resistenzentwicklung kompromittieren die Effizienz dieser Kombinationen. Es gibt keine überzeugende Evidenz, dass SP+CQ einen zusätzlichen Nutzen gegenüber SP allein hat, daher wird diese Kombination nicht empfohlen. SP+AQ ist zwar effektiver als beide der Wirkstoffe allein, allerdings im Vergleich mit Artemisininwirkstoffen wirkungsschwächer.

#### 1.4.4 Was nicht als Kombinationstherapie gilt

Kombinationen wie Sulfadoxin–Pyrimethamin, Sulfalen–Pyrimethamin, Proguanil-Dapson, Chlorproguanil-Dapson und Atovaquon-Proguanil basieren auf der Synergie zwischen den beiden Komponenten.

Die Drugtargets in den Plasmodien sind miteinander verbunden. Diese Kombinationen sind in der Anwendung betrachtet Einzelwirkstoffe und die Behandlung mit ihnen wird nicht als Kombinationstherapie angesehen. Ebenfalls nicht inkludiert sind Kombinationen von Antimalariawirkstoffen mit Nicht-Antimalariawirkstoffen um die Wirkung zu steigern (z.B. Chloroquine und Chlorpheniramin).

## 1.5 Resistenzentwicklung

### 1.5.1 Definition

Antimalaria-Resistenz definiert sich als die Fähigkeit eines Parasitenstammes, trotz richtiger Medikation, die in der empfohlenen Dosis angewendet wurde, zu überleben oder sich zu vermehren. Die Resistenz resultiert in einer Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungs-Beziehung.

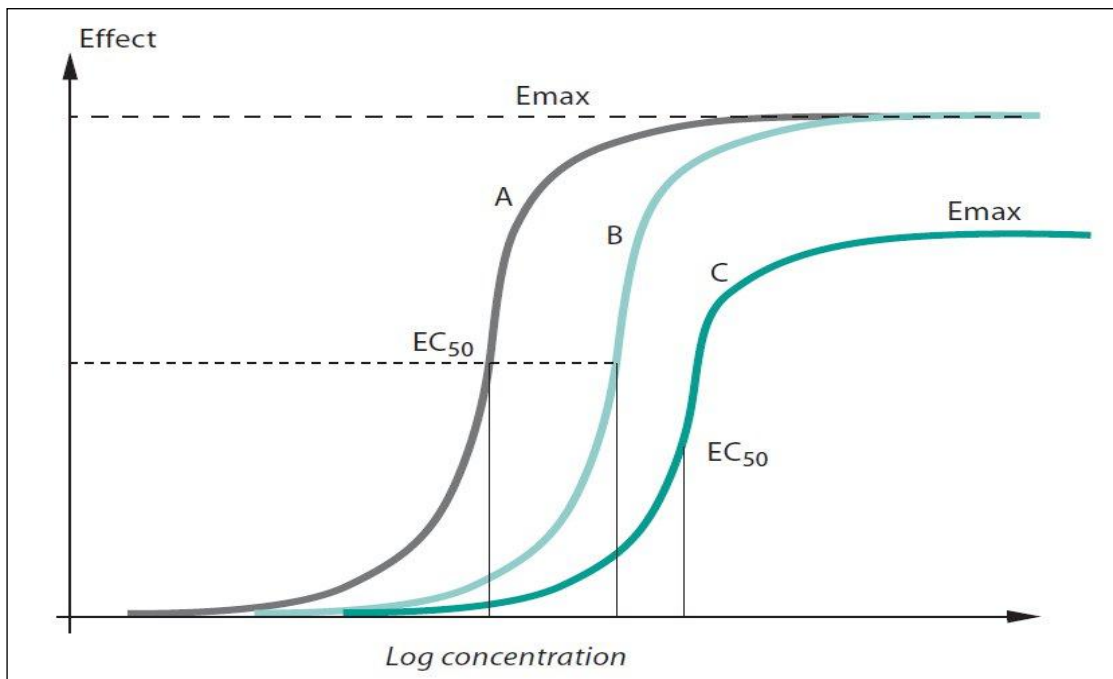


Abbildung 17: Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungs-Beziehung.<sup>5</sup>

Die pharmakologischen Eigenschaften der Antimalariawirkstoffe variieren sehr stark zwischen den Individuen, die Definition der Resistenz sollte deshalb ein als „normal“ angesehenes Plasmakonzentrationsprofil für die aktive Verbindung, oder bei Prodrugs für den biologisch aktiven Metaboliten enthalten. Ebenfalls sollte man zwischen einer Resistenz und einem Behandlungsmisserfolg unterscheiden, welche sich durch die Unfähigkeit, den Parasiten aus dem Blut zu entfernen oder die Symptome zum Abklingen zu bringen kennzeichnet. Eine Resistenz kann also zu einem Behandlungsmisserfolg führen, aber nicht jeder Behandlungsmisserfolg tritt durch eine Resistenz auf. Mögliche Ursachen sind ebenfalls eine unkorrekte Dosierung, ein Nichteinhalten der Therapievorschriften (möglicherweise durch

fehlende Compliance), eine schlechte Wirkstoffqualität, Wirkstoffinteraktionen mit anderen Medikamenten, gestörte Absorption im Patienten oder auch Falschdiagnosen.<sup>6</sup>

#### 1.5.2 Artemisinin-Resistenz

Kombinationstherapien, die auf Artemisininderivaten basieren, werden in allen Ländern mit endemischer Verbreitung der durch *Plasmodium falciparum* verursachten Malaria als Therapie erster Wahl eingesetzt. Es gibt allerdings Berichte über die sinkende Effizienz dieser Therapien im Bereich der Grenze zwischen Thailand und Kambodscha. Dazu wurde eine unverblindete, randomisierte Studie durchgeführt, wo die Efficacy von zwei Behandlungsmethoden verglichen wurde. Sie wurde in Pailin, in Westkambodscha, sowie in Wang Pha, in Nordwestthailand durchgeführt. Es wurden unkomplizierte Fälle der Malaria tropica behandelt und Artesunat für sieben Tage in einer Dosierung von 2mg/kg Körpergewicht, bzw. Artesunat mit 4mg/kg Körpergewicht für drei Tage und danach Mefloquin in zwei Dosen mit 25mg/kg Körpergewicht angewendet. Bewertet wurde die Empfindlichkeit von *P. falciparum* in vitro und in vivo, sowie die Pharmakokinetik des Artesunats und molekulare Resistenzmarker.

Durch die Studie konnte festgestellt werden, dass die in vivo Empfindlichkeit in Westkambodscha im Vergleich zu Nordwestthailand reduziert war. Diese Resistenz charakterisiert sich durch eine langsame parasitäre Clearance in vivo, ohne zugehörige Reduktion in konventionellen in vivo Empfindlichkeitstests.<sup>7</sup> Artemisinin-Derivate galten in der Resistenzentwicklung eher als unempfindlich, daher war diese frühzeitige Erscheinung unerwartet. Aufgrund dieser Resistenzen ist es nun notwendig, neue Stoffklassen zu entwickeln.

### 1.6 Propafenon als neue Antimalaria-Wirkstoffklasse

Die finanziellen Mittel von etwa 750 Millionen Dollar für die Entwicklung jeder neuen chemischen Entität liegen für endemische Krankheiten, die vor allem in der dritten Welt auftauchen, in weiter Ferne. Um dennoch zu neuen Substanzklassen zu kommen wurden daher 2006 von Weisman et al. bereits bekannte Substanzen, zusammengefasst in der MicroSource Spectrum and Killers Collection, gegen zwei repräsentative Laborstämme

von *P. falciparum* (3D7 und W2) getestet. Insgesamt handelte es sich um 2160 bekannte Wirkstoffe, bioaktive Verbindungen und Naturprodukte.

Aus diesem Substanzkatalog konnten 36 neue Inhibitoren für *P. falciparum* gefunden werden, unter denen sich 19 Therapeutika befanden. Fünf dieser Therapeutika wiesen einen EC50 Wert in ähnlichen Konzentrationen auf, wie sie für ihre eigentliche Indikation angewendet werden. Es handelte sich dabei um Propafenon, Thioridazin, Chlorprothixen, Perhexilin und Azlocillin.

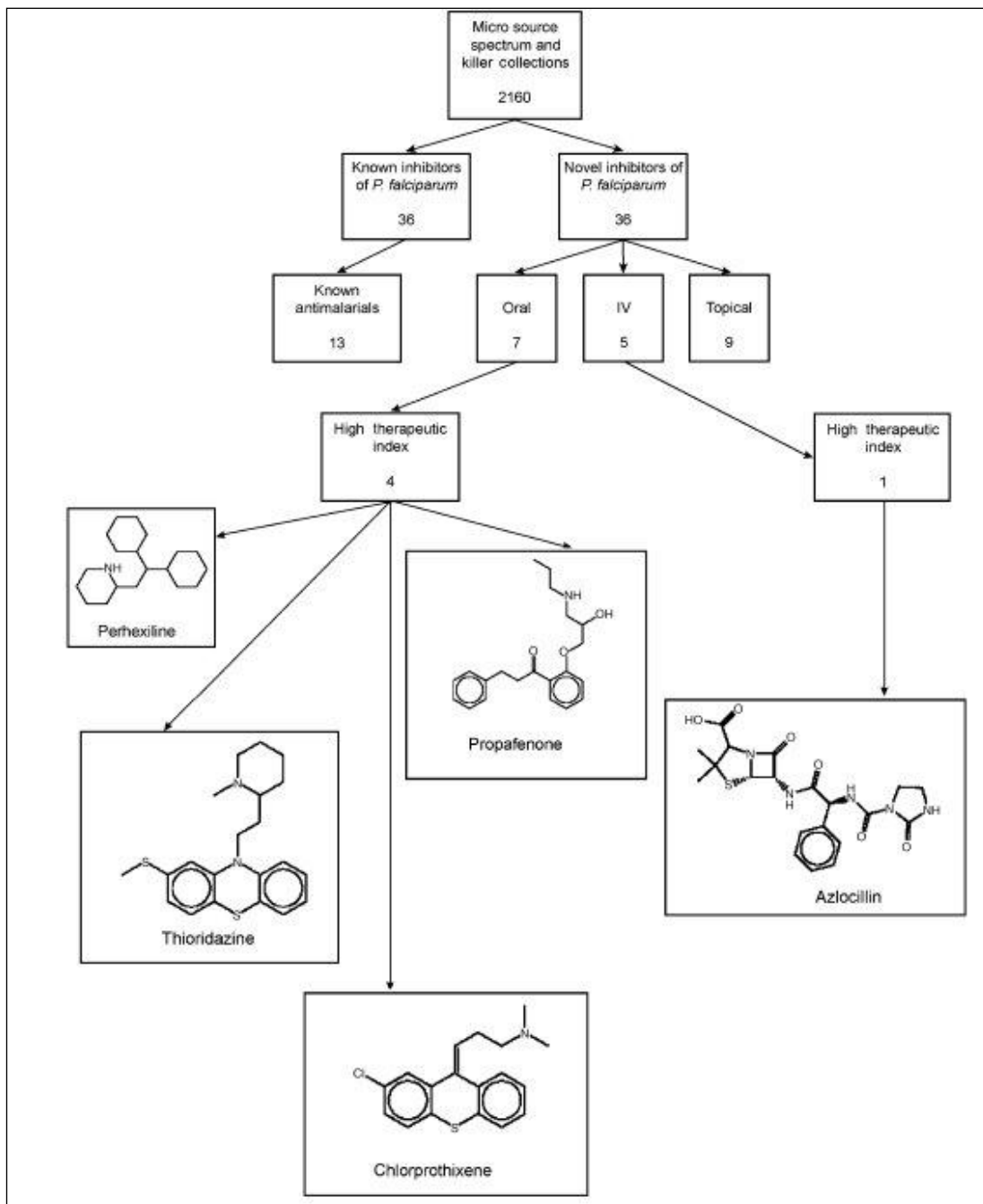


Abbildung 18: Neue gefundene aktive Antimalarials aus den MicroSource Spektrum and Killer Collections.<sup>7</sup>

Propafenon, welches bereits in einer oralen Formulierung erhältlich ist, erreichte einen submicromolaren  $EC_{50}$  Wert. Die therapeutischen Serumspegel sind allerdings zwischen den einzelnen Patienten extrem verschieden, und eine effektive Behandlung benötigt Konzentrationen zwischen 0,1 und 0,8  $\mu\text{M}$ . Mit der Gefahr der Kardiotoxizität und durch Überdosierung ausgelöster Anfälle ist diese Therapie nur mit einem Spitalsaufenthalt mit Beobachtung möglich.

Trotz der Nebenwirkungen hat diese Substanz Eigenschaften, die sie zu einem effektiven Malariatherapeutikum machen könnten, daher wird eine Optimierung empfohlen. Es wurden fünf Analoga des Propafenons getestet, die verschiedenste  $EC_{50}$  Werte ergaben, was zu der Schlussfolgerung geführt hat, dass es sich um eine spezifische Interaktion handeln muss.<sup>8</sup>

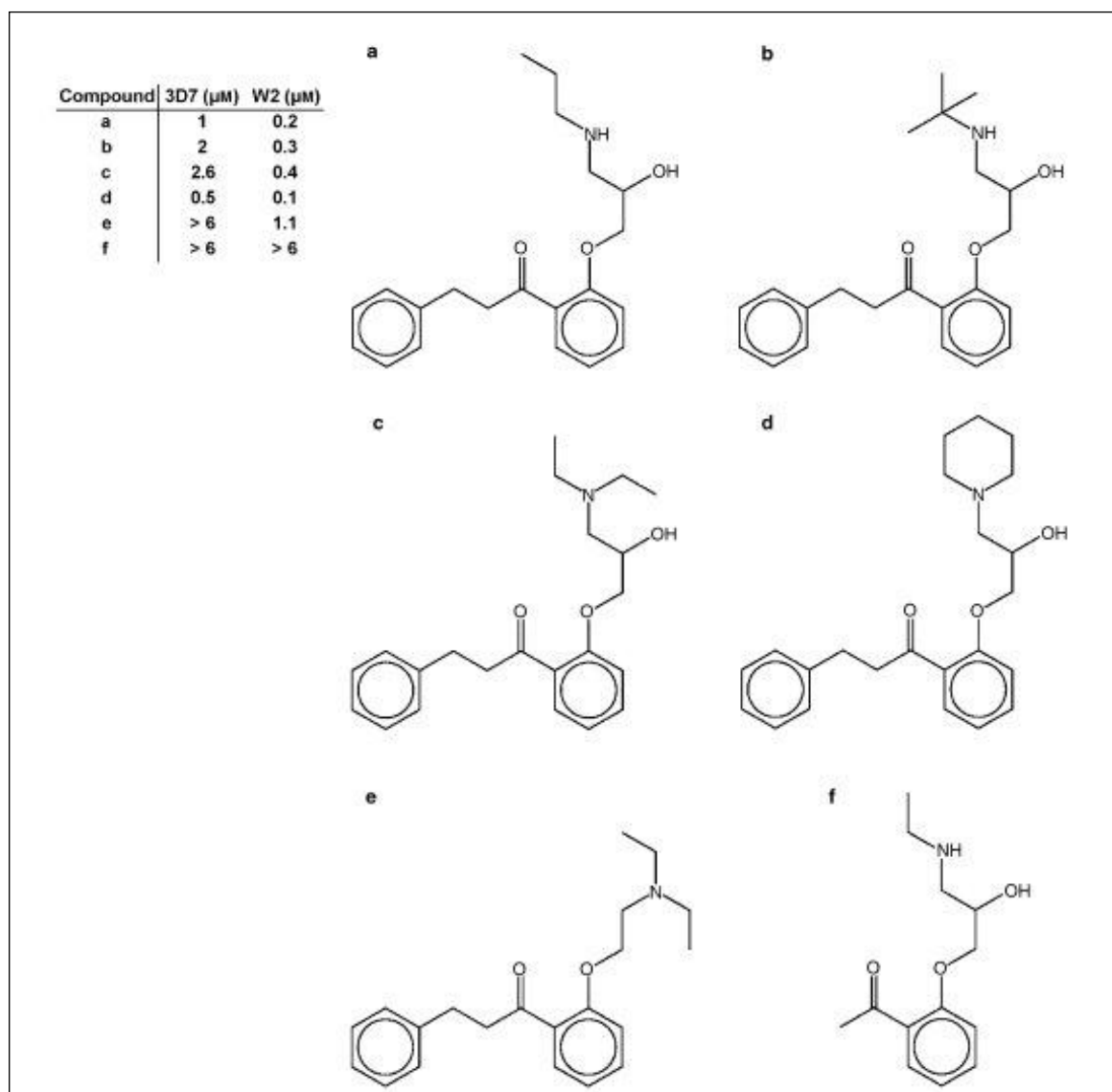


Abbildung 19: Propafenon und die fünf erzeugten Derivate

## 1.7 Derivate des Propafenons

Die der Leitstruktur des Propafenons anhaftenden Wirkungen brachten O. Tansanor et al. dazu, Derivate mit vergleichbarer Antimalariaaktivität, aber erhöhter kardialer Sicherheit zu entwickeln. Die Verfügbarkeit einer großen Anzahl von Strukturanaloga mit Modifikation an der Phenylpropiophenon-Kernstruktur und verschiedenen Substitutionen am Stickstoff war die Basis für erste Untersuchungen der Struktur-Wirkungs-Beziehungen. Diese Struktur eröffnet einen neuen Entwicklungspfad für Antimalariawirkstoffe, basierend auf einem neuen Grundgerüst, während sich gleichzeitig vielfältige Tools für molekulares Targeting anbieten, basierend auf der Fähigkeit der Verbindungen kovalente photoaktivierbare Bindungen mit den Proteintargets einzugehen.

Einige der Analoga waren aktiver als die Grundstruktur. Die höchste Aktivität wurde bei dem Xylylderivat GPV576 im 3D7 Stamm und für GPV005 im Dd2 Stamm mit  $IC_{50}$  Werten von  $77 \pm 6$  nM und  $66 \pm 22$  nM beobachtet (siehe Abbildung 20). Da die anhaftende kardiale Wirksamkeit jedoch einer klinischen Anwendung im Wege stehen könnte, wurden hier bereits von der Arbeitsgruppe Untersuchungen angestellt, die eine mangelnde kardiale Aktivität feststellten. Beispielsweise konnte bei Substanz GPV576 die mangelnde Aktivität an Cardiomyocyten von Ratten gemessen werden. Zusätzlich lagen die  $IC_{50}$  Werte im unteren nanomolaren Bereich, und sind somit den angestrebten Plasmakonzentration des Propafenons sehr ähnlich.

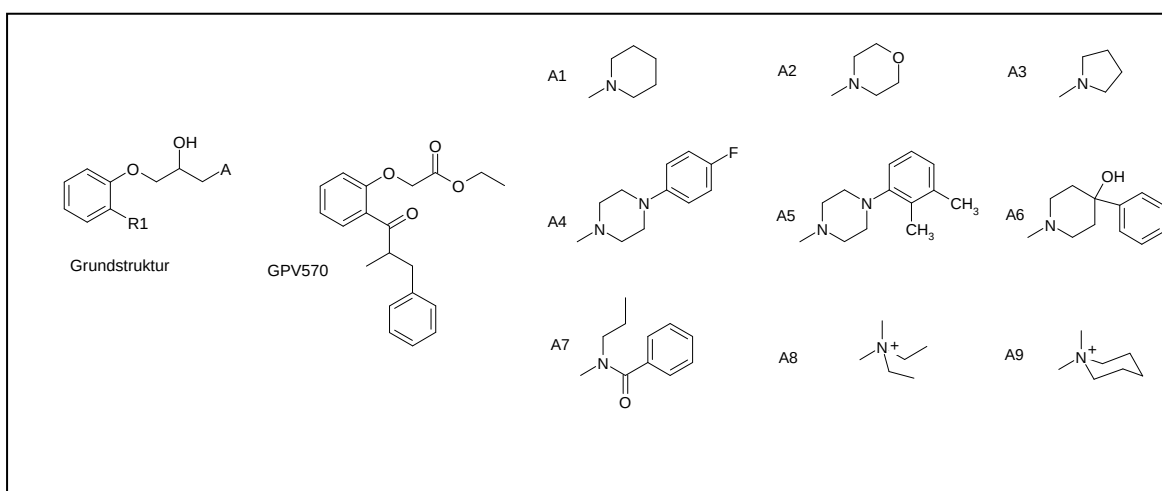


Abbildung 20: Chemische Strukturen der Propafenon-Derivate

| <b>Code</b> | <b>R1</b>                  | <b>A</b>            | <b>IC50 3D7</b> | <b>IC50 Dd2</b> |
|-------------|----------------------------|---------------------|-----------------|-----------------|
| GPV001      | R1<br>COCH2CH2Ph           | = -NH( <i>n</i> Pr) | 302 ± 90        | 471 ± 153       |
| GPV002      | R1<br>COCH2CH2Ph           | = -N(C2H5)2         | 455 ± 63        | 185 ± 42        |
| GPV003      | R1<br>COCH2CH2Ph           | = A8                | 10027 ± 5325    | 6696 ± 1241     |
| GPV005      | R1<br>COCH2CH2Ph           | = A1                | 101 ± 48        | 66 ± 22         |
| GPV006      | R1<br>COCH2CH2Ph           | = A9                | 900 ± 164       | 4231 ± 1350     |
| GPV009      | R1<br>COCH2CH2Ph           | = -N( <i>i</i> Pr)2 | 373 ± 63        | 155 ± 17        |
| GPV031      | R1<br>COCH2CH2Ph           | = A4                | 959 ± 187       | 485 ± 72        |
| GPV046      | R1 = COCH2CH3              | A2                  | 139159 ± 53691  | 29606 ± 2847    |
| GPV047      | R1<br>COCH2CH2Ph           | = A3                | 677 ± 346       | 235 ± 141       |
| GPV051      | R1 = COPh                  | -N(C2H5)2           | 34590 ± 4774    | 562 ± 200       |
| GPV057      | R1<br>COCH2CH2Ph           | = A2                | 3329 ± 1105     | 1959 ± 612      |
| GPV062      | R1<br>COCH2CH2Ph           | = A6                | 546 ± 332       | 464 ± 275       |
| GPV156      | R1<br>CH(OCH3)CH2CH<br>2Ph | = A4                | 2796 ± 316      | 1761 ± 146      |
| GPV240      | R1<br>COCH2CH2Ph           | = -NPh              | 5266 ± 820      | 6325 ± 1234     |
| GPV317      | R1 = COPh                  | A6                  | 2704 ± 1420     | 926 ± 157       |
| GPV319      | R1 = COPh                  | A4                  | 27587 ± 2167    | 4774 ± 735      |
| GPV366      | R1<br>COCH2CH2Ph           | = A7                | 14622 ± 6047    | 4934 ± 42       |
| GPV381      | R1 = COCH2CH3              | A6                  | 15986 ± 8354    | 4737 ± 2160     |
| GPV570      | R1<br>COCH2CH2Ph           | = -                 | 110627 ± 20644  | 60180 ± 20037   |
| GPV576      | R1<br>COCH2CH2Ph           | = A5                | 77 ± 6          | 391 ± 78        |
| GPV708      | R1 = COPh                  | A8                  | 13879 ± 221     | 18390 ± 42      |
| B 59        | R1 = COPh                  | A1                  | 34995 ± 12649   | 601 ± 114       |

**Tabelle 2: IC50 Werte der Propafenon-Derivate**

## **1.8 Ein Thiophenanalogon des Propafenons – Anwendung des Bioisosterie-Konzepts**

In der pharmazeutischen Forschung hat sich das Konzept der Bioisosterie aus dem Konzept der Isosterie entwickelt. Die Synthese immer neuer aromatischer Heterozyklen war daher jahrzehntelang die Triebkraft zur Synthese neuer „Wirkstoffkombinationen“. Es stellte sich jedoch bald heraus, dass die strukturellen

Übereinstimmungen, welche in der Isosterie verlangt werden, für die biologischen Eigenschaften einer Verbindung nur eingeschränkt von Bedeutung sind. So verändert etwa die Einführung eines basischen Stickstoffatoms in einen Aromaten dessen pharmakologisches Potential massiv, sodass Benzol und Pyridin wohl Isostere, aber keine Bioisostere sind.

Thiophen ist in dieser Hinsicht ein besonders gut geeignetes Bioisoster, da es etwas kleiner als Benzol ist, und daher gut an Bindungsstellen passt. Die leicht geänderten Ringwinkel, ebenso wie die durch das Schwefelatom erzeugte erhöhte Elektronendichte, lassen leicht geänderte pharmakologische Eigenschaften erwarten. Im Übrigen bietet die Modulation, das Schwefelatom an unterschiedlichen Ringstellen zu platzieren, eine weitere Möglichkeit, zu verbesserten Strukturen zu gelangen.

Ein wichtiger Schritt zur Popularisierung der Benzol-Thiophen-Isosterie wurde durch die Markteinführung von Tenoxicam und Lornoxicam geleistet. In der Arbeitsgruppe Noe wurde dieses Konzept später weitergeführt und anhand der Synthese hochaffiner Antagonisten verfeinert.

## **1.9 Themenstellung**

Da keine der bisher hergestellten Verbindungen als Kandidat für eine Wirkstoffentwicklung in Frage kamen, war mir die Aufgabe gestellt, ausgehend von den vorliegenden Testergebnissen im Sinne einer Ligandenoptimierung neue Wirkstoffe herzustellen. Das Verfahren sollte einen flexiblen und leichten Zugang zu einer kleinen Substanzbibliothek eröffnen.

Da die Benzol-Thiophen-Isosterie einen besonders breiten Zugang zur „Modulation“ von Wirkstoffeigenschaften bietet, sollte in allen Verbindungen der Benzolring der Leitverbindung „Propafenon“ durch einen Thiophenring ersetzt sein.

Die Strategie sah vor, dass in einem iterativen Ansatz jeweils vier Verbindungen synthetisiert und getestet wurden. Die Synthese der nächsten Substanzgruppen erfolgte dann unter Berücksichtigung der erhaltenen Ergebnisse.

## 2 EIGENE UNTERSUCHUNGEN ZUR SYNTHESE

### 2.1 Synthese des Thiophengrundgerüsts:

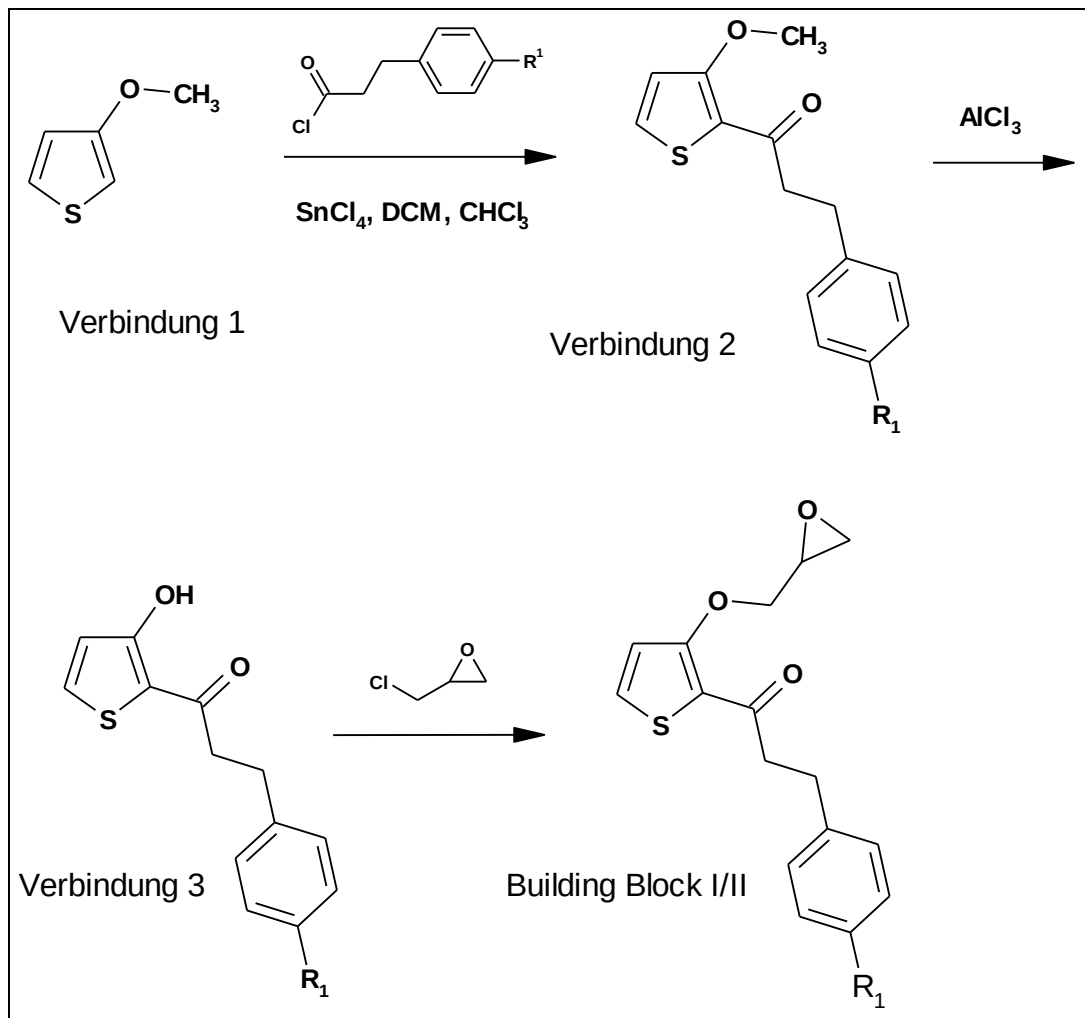


Abbildung 21: Synthese des zentralen Building Blocks

#### 2.1.1 Stufe I: Friedl-Crafts-Acylierung

Für den ersten Schritt der Grundkörpersynthese wird Methoxythiophen mit Phenylpropionsäurechlorid mittels einer Friedl-Crafts-Acylierung umgesetzt. Diese ermöglicht die Einführung von Alkyl-Ketten in Aromaten. Die Lewisäure koordiniert an den Carbonylkohlenstoff des Carbonsäurechlorids und positiviert ihn so. Er fungiert somit als Elektrophil. Der Methoxyrest am Thiophen dirigiert nun das Carbonsäurechlorid bevorzugt an die ortho-Position. Das Elektrophil reagiert nun im Sinne einer elektrophilen aromatischen Substitution ( $S_EAr$ ) mit Methoxythiophen.

Zunächst bildet sich ein  $\pi$ -Komplex, unter Aufhebung des aromatischen Charakters darauf folgend ein  $\sigma$ -Komplex der beiden Reaktanden aus, der unter Abspaltung eines Protons rearomatisiert und ein Arylketon bildet. Der Angriff auf den Aromaten kann durch den Komplex selbst oder durch ein resonanzstabilisiertes Acylium-Ion erfolgen, das durch Dissoziation aus ersterem entsteht. Die noch im Reaktionsgemisch vorhandene Lewisäure komplexiert den Carbonylsauerstoff und muss aus diesem Grund in überstöchiometrischer Menge eingesetzt werden. Durch Hydrolyse wird das Produkt danach isoliert.

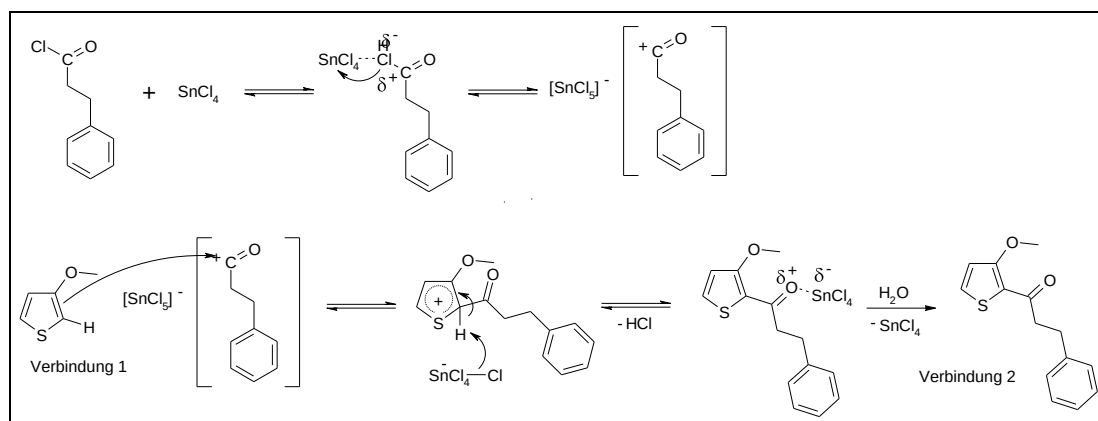


Abbildung 22: Friedl-Crafts-Acylierung von Methoxy-Thiophen

### 2.1.2 Stufe II: Etherspaltung mit Aluminiumchlorid.

Die Demethylierung erfolgt im Sinne einer  $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktion. Im ersten Schritt kommt es zur Bildung eines Adduktes mit Aluminiumchlorid. Es folgt die Übertragung eines Nukleophils auf den Methylkohlenstoff des Ethers mit Spaltung der C-O-Bindung.  $\text{AlCl}_2$  bindet dann an den Carbonylsauerstoff und  $\text{MeCl}$  bildet die Abgangsgruppe. Durch Hydrolyse bei der wässrigen Aufarbeitung wird dann die OH-Gruppe frei.

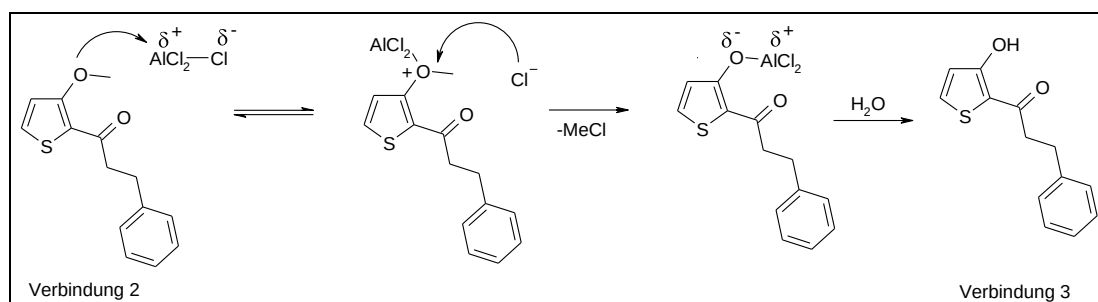


Abbildung 23: Demethylierung mit Aluminiumchlorid

### 2.1.3 Stufe III: Einführung eines Epoxids

Zu Beginn erfolgt eine Salzbildung an der Hydroxy-Gruppe mit Natriummetholat. Das entstehende Natriumsalz greift am positivierten Kohlenstoff des Epichlorohydrins an. Es entsteht dabei eine planare Grenzstruktur und die drei mit dem zentralen Kohlenstoff verknüpften Gruppen werden wie beim Umstülpen eines Regenschirms von innen nach außen gekehrt. Dabei kommt es zu einer Inversion der Konfiguration.

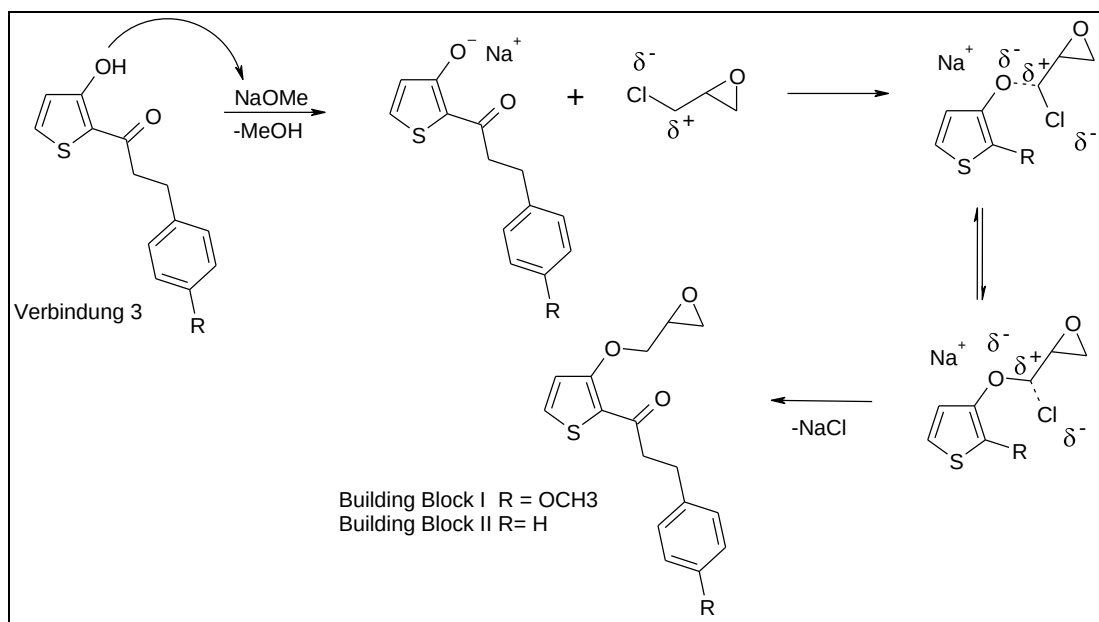


Abbildung 24: SN2-Reaktion mit Epichlorohydrin

## 2.2 Öffnung des Epoxides mit diversen Aminen

Das Ziel der synthetischen Arbeit war es nun, Thiophenderivate mit verschiedenen Modifikationen am Aminoteil der Verbindung herzustellen. Aus diesem Grund wurde der oben beschriebene Buildingblock mit verschiedensten Basen umgesetzt. Dazu wurde das Epoxid mit Hilfe der Basen geöffnet und daraus Aminoalkohole generiert. Durch Umsetzung mit Propargylamin entstand Building Block III, welcher einerseits selbst als Testsubstanz verwendet wurde, aber auch anschließend für die Click-Synthese herangezogen wurde.

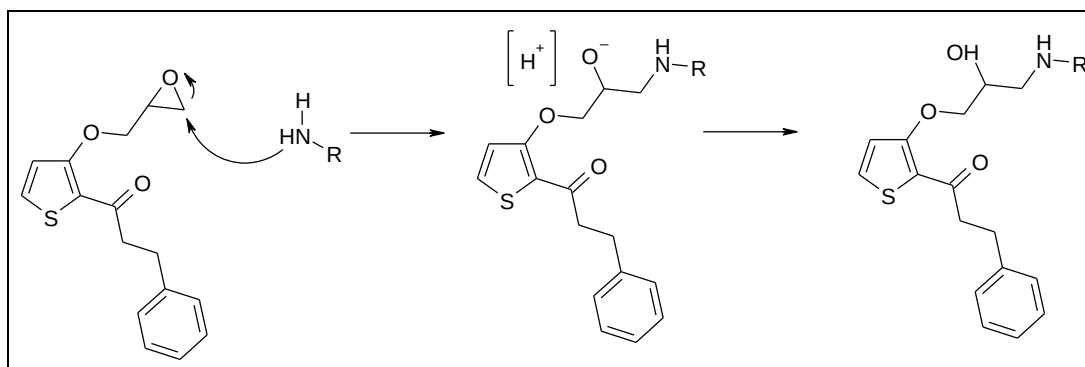


Abbildung 25: Epoxidöffnung mit verschiedenen Aminen

## 2.3 Click Synthese

### 2.3.1 Allgemeines

Im Jahr 2001 führte K.B. Sharpless einen neuen Begriff in der Chemie ein. Durch die von ihm so genannte “Click-Chemie” lassen sich schnell aus kleinen Untereinheiten große Verbindungen zusammensetzen – ganz nach dem Vorbild der Natur.<sup>9</sup> Die Kriterien, die eine Reaktion dabei zu erfüllen hat, wurden streng festgelegt:

- modular und breite Anwendungsmöglichkeit
- hohe Ausbeuten
- unbedenkliche und nicht störende Nebenprodukte
- stereospezifisch
- einfachste Reaktionsbedingungen
- leicht verfügbare und billige Reagenzien
- Lösungsmittel, die eine einfache Produktisolierung ermöglichen (vorzugsweise Wasser)
- einfache Aufarbeitung und Isolierung des Produkts mittels Kristallisation oder Destillation (keine chromatographische Aufreinigung)
- hohe thermodynamische Antriebskraft um eine schnelle Reaktion zu einem einzigen Reaktionsprodukt zu garantieren
- hohe Atomeffizienz

Chemische Reaktionen, die diese Kriterien erfüllen, sind demnach:

- Die Cycloadditionsreaktionen, besonders die Cu(I) katalysierte Huisgencycloaddition und die Diels-Alder-Reaktion
- Nucleophile Substitutionen, besonders solche an kleinen gespannten Ringen wie Epoxiden oder Aziridinen
- Carbonylähnliche Bildung von Carbamiden und Amiden, aufgrund der zu geringen Bildungsenthalpie nicht jedoch Aldolreaktionen
- Additionsreaktionen an Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungen, wie beispielsweise die Epoxidierungsreaktionen.

### 2.3.2 Cu(I)-katalysierte Synthese von 1,4-disubstituierten 1,2,3-Triazolen

Die Cycloaddition von Aziden und Alkinen zu Triazolen ist eine der wichtigsten Reaktionen in der Heterozyklenchemie. Trotz allem, und hauptsächlich wegen der Bedenken im sicheren Umgang mit organischen Aziden, wird sie in der Chemie vernachlässigt. In der Click-Chemie zeichnet sich diese Reaktion jedoch durch ihre Stabilität gegenüber Wasser und Sauerstoff aus. Normalerweise braucht es für Cycloaddition hohe Temperaturen und diese resultieren in einer Mischung der 1,4 und 1,5 Regioisomere.

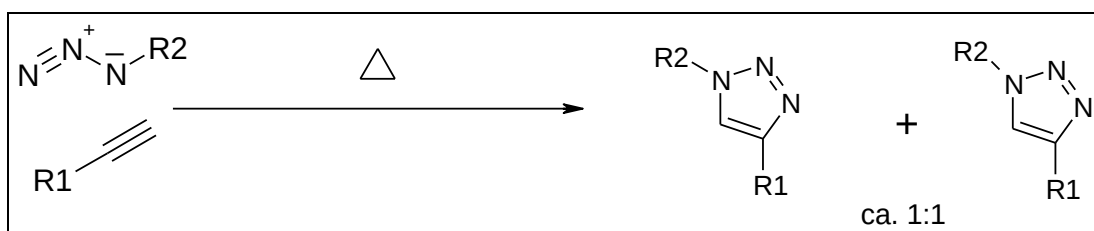


Abbildung 26: Synthese von Triazolen

Im Jahr 2002 veröffentlichte Sharpless eine Arbeit, in der die regioselektive Synthese ebendieser Triazole behandelt wurde.<sup>10</sup>

Er fand dabei heraus, dass die Cu(I)-katalysierte Reaktionssequenz von Aziden und terminalen Acetylenen hauptsächlich 1,4-disubstituierte-1,2,3-Triazole bildet. Dabei können verschiedenste Cu(I)-Quellen verwendet werden, wobei er diese bevorzugt in situ aus Cu(II)-Salzen herstellt. (Kupfersulfatpentahydrat ergab sich hierbei als sehr ergiebige Quelle.)

Als Reduktionsmittel fungiert hierbei Ascorbinsäure oder Natriumascorbinat. Die Reaktion scheint äußerst einfach handhabbar zu sein und findet nach 6 bis 36 Stunden in den verschiedensten Lösemitteln statt. Dazu gehören unter anderem auch Mischungen aus Wasser und tert.-Butanol oder Ethanol, bzw. Wasser ohne organische Co-Solventien. Die Experimente können dabei bei pH-Werten zwischen 4 und 12 ablaufen.

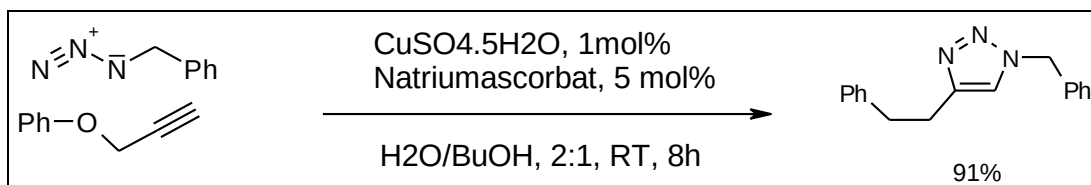


Abbildung 27: Regioselektive Synthese von Triazolen mit Hilfe von Cu(I)-Salzen

Seit der Entdeckung dieser Reaktion von Sharpless et al. gab es viele Versuche den Reaktionsmechanismus aufzuklären.

2006 wurde dieser durch V. Bock, H. Hiemstra und J. van Maarseveen folgendermaßen vorgeschlagen<sup>11</sup>:

Ihren quantenmechanischen Berechnungen zufolge beginnt ihrer Ansicht nach der schrittweise katalytische Zyklus mit der Formation einer Cu(I) Acetylid-Species via eines  $\pi$ -Komplexes. Berechnungen ließen vermuten, dass die Bildung des Kupferkomplexes eine Erniedrigung des pKa Wertes zufolge hat, wodurch in wässrigem Medium eine Deprotonierung ohne zusätzliche Addition einer Base erfolgen kann.

Die Rolle des zweiten Kupferatoms schien die Aktivierung der Azidfunktion, wobei auch eine  $\pi$ -Komplexierung der terminalen Acetylid-Gruppe zum proximalen Kupferatom aufgetreten sein kann.

Die Komplexierung führt zur Entstehung eines Metallocyclus, der das Azid so positioniert, dass die anschließende Ringkontraktion durch transannuläre Ausrichtung des freien Elektronenpaares am N1 mit den  $\pi$ -Orbitalen des Cu-C6 ermöglicht wird.

Die Protonierung des Triazol-Kupfer-Derivates, gefolgt von der Dissoziation des Produkts beendet danach die Reaktion und regeneriert den Katalysator.

2009 wurde dieser Mechanismus von M. Meldal und C. W. Tornøe allerdings in Frage gestellt<sup>12</sup>:

Ihrer Ansicht nach seien diese Berechnungen zwar informativ, aber möglicherweise inkorrekt, da kinetische Messungen zeigen, dass die Reaktion zumindest nach einer Kinetik 2. Ordnung abläuft, abhängig von der Konzentration des Kupferliganden. In mittleren Konzentrationen sogar in Abhängigkeit von den beiden Konzentrationen von Alkin und Kupferligand. Wie man nun von diesen Beobachtungen und den strukturellen Beweisen, die aus der Cambridge Crystal Database erhoben wurde folgern kann, ist es höchst unwahrscheinlich, dass ein einzelnes, an die Kohlenstoffdoppelbindung angelagertes Cu(I)-Atom, für die Katalyse verantwortlich ist. Sie schlugen daher eine weitere Variante des Mechanismus vor: Wie in Abbildung 29/3B ersichtlich, müssen das Acetylid und das Azid im Übergangszustand nicht notwendigerweise an das gleiche Kupferatom koordiniert

sein. Eine Möglichkeit, z.B. im Falle von Kupferiodid, bildet die Formierung von Clustern, wie in Figur 3A, oder aber wahrscheinlicher in Figur 3B abgebildet, in welcher die favorisierte Modifikation erhalten wird, indem ein sechsgliedriger, zyklischer Übergangszustand für die Reaktion zwischen dem terminalen Stickstoff des Azids und dem positiv geladenen sekundären Kohlenstoff des Acetylides eingenommen wird.

Das Intermediat 3B mit dem zyklischen Übergangszustand scheint vielversprechend, da es als einziges eindeutig die absolute Regioselektivität der Reaktion erklären kann.

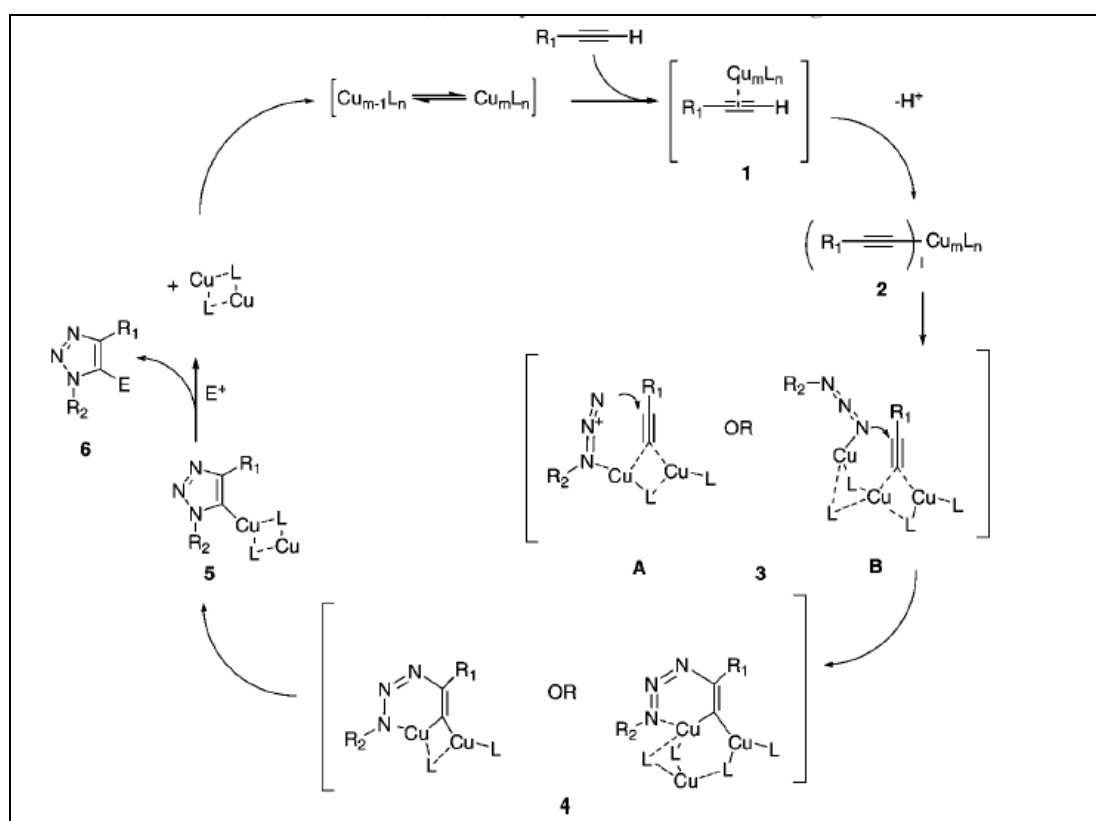
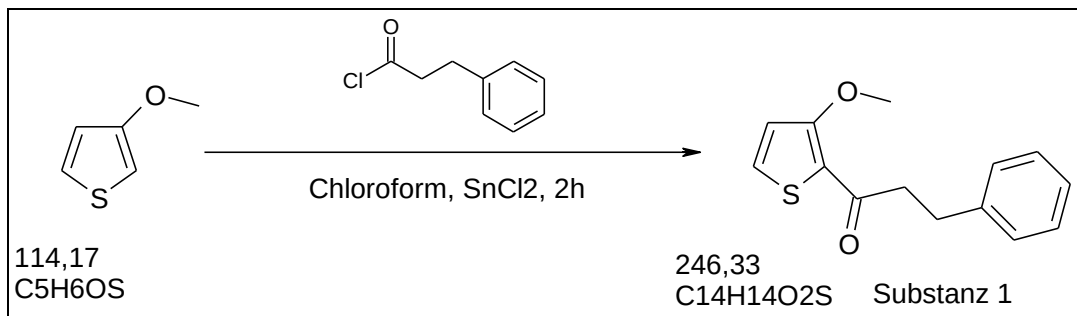


Abbildung 28: Mechanismus der "Click"-Reaktion

### 3 EXPERIMENTELLER TEIL

#### 3.1 Synthese des zentralen Buildingblocks I + II

##### 3.1.1 1-[3-Methoxy-thiophen-2-yl]-3-phenyl-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz                  | Masse [g] | Volumen [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|---------------------------|-----------|--------------|---------------|------------|------------------|----------|
| Methoxythiophen           | 3,500     |              |               | 114,17     | 0,030656039      | 1        |
| Phenylpropionsäurechlorid | 4,985     |              |               | 162,62     | 0,030656039      | 1        |
| SnCl <sub>4</sub>         | 6,393624  |              |               | 189,6      | 0,033721643      | 1,1      |
| Chloroform                |           | 140          |               |            |                  |          |
| 1N HCl                    |           | 140          |               |            |                  |          |
| Natriumsulfat             | 5         |              |               |            |                  |          |

#### Equipment:

250ml Dreihalskolben, Eisbad, Magnetrührer, Quickfit, Thermometer, Rückflusskühler, Argonballon, Tropftrichter, Scheidetrichter, Rotationsverdampfer,

#### Arbeitsvorschrift:

In einem 250ml Dreihalskolben wurden Methoxythiophen in Chloroform vorgelegt und auf 4°C am Eisbad gekühlt. Danach wurde das Säurechlorid langsam zugegeben. Zinntetrachlorid wurde mit getrocknetem Chloroform auf 20ml verdünnt und innerhalb von 30 Minuten über einen Tropftrichter zugegeben. Die Temperatur muss dabei unter 8°C bleiben. Danach wurde zwei Stunden lang gerührt und das Reaktionsgemisch erreichte Raumtemperatur.

Das Reaktionsgemisch wurde auf 140ml 1N Salzsäure gegossen und zehn Minuten

gerührt. Danach wurden die Phasen getrennt und die organische Phase nochmals mit Wasser gewaschen, bis die violette Farbe des Zinns in den wässrigen Phasen fast verschwunden war (vier bis fünfmal). Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abgedampft.

Zur Aufreinigung wurde das Rohprodukt über eine Tropfsäule chromatographiert. Es wurden 3,68g Produkt isoliert.

Ausbeute Theorie: 7,50g

Ausbeute Praxis: 3,68g (entspricht 49,1%)

### Analytik

DC-System:

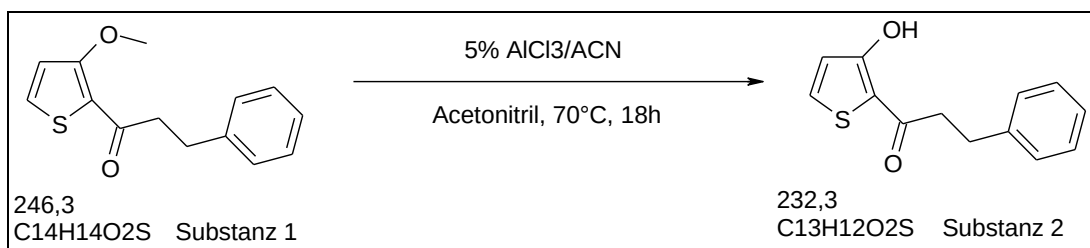
Laufmittel: Petrolether/ Ethylacetat 4+1

Auftragsvolumen: 5 µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und Tageslicht

Rf-Wert: 0,47

### 3.1.2 1-(3-Hydroxy-thiophen-2-yl)-3-phenyl-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz                  | Masse [g] | Volumen [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|---------------------------|-----------|--------------|---------------|------------|------------------|----------|
| Substanz 1                | 3,500     |              |               | 246,3      | 0,014210313      | 1        |
| 5% AlCl <sub>3</sub> /ACN | 9,474     | 195          |               | 133,34     | 0,071051563      | 5        |
| ACN                       |           | 40           |               |            |                  |          |
| Ethylacetat               |           | 750          |               |            |                  |          |
| 1N HCl                    |           | 250          |               |            |                  |          |
| Natriumsulfat             | 5         |              |               |            |                  |          |

#### Equipment:

250ml Dreihalskolben, Eisbad, Magnetrührer, Quickfit, Thermometer, Rückflusskühler, Argonballon, Tropftrichter, Scheidetrichter, Rotationsverdampfer,

#### Arbeitsvorschrift:

Substanz 1 wurde mit 40ml trockenem Acetonitril vorgelegt und die Aluminiumchloridlösung langsam zugegeben (Die wird zuvor durch portionsweise Zugabe von Aluminiumchlorid in Acetonitril hergestellt). Beim Zutropfen färbte sich das Reaktionsgemisch von grün nach rotviolett. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei 70°C Ölbadtemperatur gerührt. Danach wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und dann auf 1N HCl gegossen und 5 Minuten bei 50°C erhitzt. Danach wurde drei Mal mit Ethylacetat extrahiert, die organische Phase getrocknet und eingedampft.

Zur Aufreinigung wurde das Rohprodukt über eine Tropfsäule chromatographiert. Es wurden 2,1g Produkt isoliert.

Ausbeute Theorie: 3,39g  
Ausbeute Praxis: 2,10g (entspricht 62%)

### Analytik

DC-System:

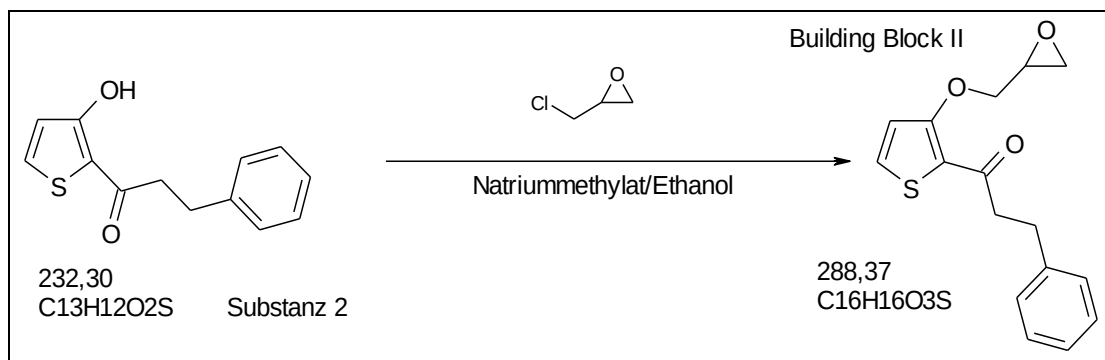
Laufmittel: Petrolether/ Ethylacetat 4+1

Auftragsvolumen: 5 µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und Tageslicht

Rf-Wert: 0,47

### 3.1.3 1-(3-Oxiranylmethoxy-thiophen-2-yl)-3-phenyl-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz                | Masse [g] | Volumen [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|-------------------------|-----------|--------------|---------------|------------|------------------|----------|
| Substanz 2              | 2,100     |              |               | 232,3      | 0,009040034      | 1        |
| Natriummethylat in EtOH | 0,537     |              |               | 54         | 0,009944038      | 1,1      |
| Epichlorohydrin         |           | 55ml         | 1,1812        | 92,52      |                  |          |

#### Equipment:

100ml Rundkolben, Magnetrührer, Ölbad, Rückflusskühler, Rotationsverdampfer, Fritte POR 4, Filterpapier

#### Arbeitsvorschrift:

Edukt und 2,5g einer 21%igen Lösung von Natriummethylat in Ethanol wurden zusammen für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und danach bis zur vollständigen Trockene eingedampft. Es entstand dabei ein gelbliches Schaumharz. Danach wurde das Reaktionsgemisch mit 55ml Epichlorohydrin versetzt und über Nacht bei 110°C Ölbadtemperatur gekocht. Zuerst löste sich das Harz und das Reaktionsgemisch wurde klar. Im Laufe der Zeit trübte es sich aber durch das entstehende Natriumchlorid.

Nach 18 Stunden wurde eine DC gemacht. Die Umsetzung war zufriedenstellend, daher wurde das Reaktionsgemisch eingedampft, der Rückstand in Toluol aufgenommen und das Natriumchlorid abfiltriert. Dazu wurde eine POR4 Fritte ausgelegt mit Filterpapier verwendet. Das Filtrat wurde eingedampft.

Zur Aufreinigung wurde das Rohprodukt über eine Tropfsäule chromatographiert. Es wurden 2,1g Produkt isoliert.

Ausbeute Theorie: 2,66g

Ausbeute Praxis: 2,10g (entspricht 80,77%)

#### Analytik

DC-System:

Laufmittel: Petrolether/ Ethylacetat 4+1

Auftragsvolumen: 5µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und Tageslicht

Rf-Wert: 0,62

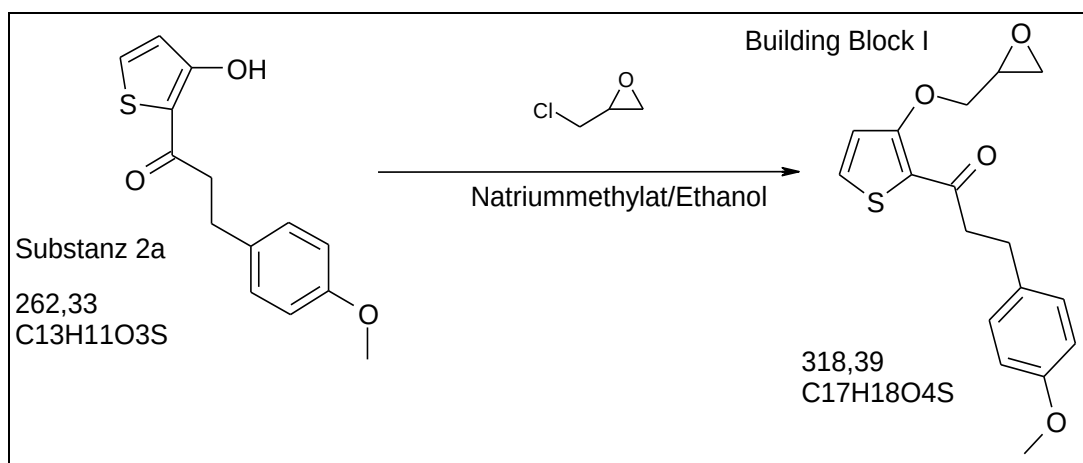
Schmelzpunkt: 96-99°C

NMR-Daten:

$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 7.50 (d, 1H,  $\text{C}_5''$ ), 7.22-7.14 (m, 7H,  $\text{CHCl}_3$  +  $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_4'$ ,  $\text{C}_5'$ ,  $\text{C}_6'$ ), 6.85 (m, 1H,  $\text{C}_4''$ ), 4.43 (dd,  $J_1 = 2.78$ ,  $J_2 = 8.58$ , 1H,  $\text{OCHH}$ ), 4.08 (dd,  $J_1 = 5.8$ ,  $J_2 = 5.56$ , 1H,  $\text{OCHH}$ ), 3.66 (m, 1H, Oxiren CH), 3.26-3.16 (m, 2H,  $\text{C}_2$ ), 3.11-2.99 (m,

2H,  $\text{C}_3$ ), 2.87 (dd,  $J_1 = 4.68$ ,  $J_2 = 4.3$ , 1H, Oxiren  $\text{CHH}$ ), 2.71 (dd,  $J_1 = 2.25$ ,  $J_2 = 2.16$ , 1H, Oxiren  $\text{CHH}$ );

### 3.1.4 3-Mercapto-10-methoxy-7-methyl-2-oxiranylmethoxy-undeca-2,7,9-trien-4-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz                    | Masse<br>[g] | Volumen<br>[ml] | Dichte<br>[g/ml] | MG<br>[g/mol] | Stoffmenge<br>[mol] | Äquival. |
|-----------------------------|--------------|-----------------|------------------|---------------|---------------------|----------|
| Substanz 2a                 | 1,110        |                 |                  | 262,33        | 0,004231312         | 1        |
| Na-methylat 0,5M Lsg/MeOH   | 0,251        | 9,2ml           |                  | 54            | 0,004654443         | 1,1      |
| Epichlorohydrin 21% in EtOH |              | 30              | 1,1812           | 92,52         |                     |          |

#### Equipment:

100ml Rundkolben, Magnetrührer, Ölbad, Rückflusskühler, Rotationsverdampfer, Fritte POR 4, Filterpapier

#### Arbeitsvorschrift:

Edukt und 9,2ml einer 0,5M Lösung von Natriummethylat in Methanol wurden zusammen für 25 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und danach bis zur vollständigen Trockene eingedampft. Danach wurde das Reaktionsgemisch mit 30ml Epichlorohydrin versetzt und über Nacht bei 110°C Ölbadtemperatur gekocht. Zuerst löste sich das Harz und das Reaktionsgemisch wurde klar. Im Laufe der Zeit trübte es sich aber durch das entstehende Natriumchlorid. Nach 18 Stunden wurde eine DC gemacht. Die Umsetzung war zufriedenstellend, daher wurde das Reaktionsgemisch eingedampft, der Rückstand in Toluol aufgenommen und das Natriumchlorid abfiltriert. Dazu wurde eine POR4 Fritte, ausgelegt mit Filterpapier verwendet. Das Filtrat wurde eingedampft.

Zur Aufreinigung wurde das Rohprodukt über eine Tropfsäule chromatographiert. Es wurden 1,22g Produkt isoliert.

Ausbeute Theorie: 1,34g

Ausbeute Praxis: 1,22g (entspricht 91,4%)

### Analytik

DC-System:

Laufmittel: Petrolether/ Ethylacetat 1+1

Auftragsvolumen: 5µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und Tageslicht

Rf-Wert: 0,42

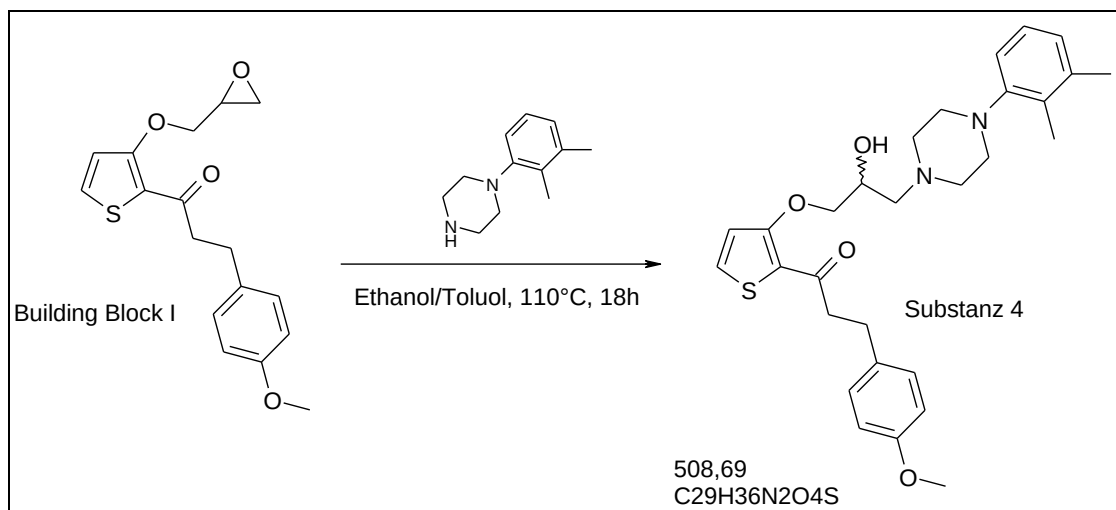
NMR-Daten:

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 7.50 (d,  $J=5.35$  Hz, 1H,  $\text{C}_5''$ ), 7.19 (d,  $J=5.55$  Hz, 2H,  $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_6'$ ), 6.84 (d,  $J=5.35$  Hz, 1H,  $\text{C}_4''$ ), 6.83 (d,  $J=8.5$  Hz, 2H,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_5'$ ), 4.44 (dd,  $J_1=2.85$ ,  $J_2=8.5$ , 1H,  $\text{OCHH}$ ), 4.07 (dd,  $J_1=5.7$ ,  $J_2=5.65$ , 1H,  $\text{OCHH}$ ), 3.78 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.33 (m, 1H, Oxiren CH), 3.23 (t, 2H,  $\text{C}_2$ ), 2.97 (t, 2H,  $\text{C}_3$ ), 2.88 (t, 1H, Oxiren  $\text{CHH}$ ), 2.72 (t, 1H, Oxiren  $\text{CHH}$ );

$^{13}\text{C}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ), 192.4 ( $\text{C}_1$ ), 158.4 ( $\text{C}_3''$ ), 157.8 ( $\text{C}_4'$ ), 133.7 ( $\text{C}_1'$ ), 132.7 ( $\text{C}_5''$ ), 129.4 ( $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_6'$ ), 123.6 ( $\text{C}_2''$ ), 116.8 ( $\text{C}_4''$ ), 113.8 ( $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_5'$ ), 72.1 ( $\text{OCH}_2$ ), 55.2 ( $\text{OCH}_3$ ), 49.9 (Oxiren CH), 44.3 (Oxiren  $\text{CH}_2$ ), 43.3 ( $\text{C}_2$ ), 29.3 ( $\text{C}_3$ );

## 3.2 Derivate unter Verwendung des Building Block I

### 3.2.1 1-(3-{3-[4-(2,3-Dimethyl-phenyl)-piperazin-1-yl]-2-hydroxy-propoxy}-thiophen-2-yl)-3-(4-methoxy-phenyl)-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz        | Masse [g] | Volumen [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|-----------------|-----------|--------------|---------------|------------|------------------|----------|
| Buildingblock I | 0,150     |              |               | 318,39     | 0,00047112       | 1        |
| Amin            | 0,099     |              |               | 190,29     | 0,00051823       | 1,1      |
| Ethanol         |           | 3            |               |            |                  |          |
| Toluol          |           | 9            |               |            |                  |          |

#### Equipment:

25ml Rundkolben, Rückflusskühler, Ölbad, Magnetrührer, Rotationsverdampfer, Chromatographiesäule (Länge 20cm, Durchmesser 2cm)

#### Arbeitsvorschrift:

In einem Rundkolben wurden 150mg von Buildingblock I, sowie 51mg Homopiperidin vorgelegt. Diese wurden mit 3ml Ethanol und 9ml Toluol in Lösung gebracht und bei 110°C Ölbadtemperatur für eine Stunde gekocht. Danach wurde das Lösemittel abgedampft.

Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie aufgetrennt (Laufmittel PE/Ethylacetat 1+1) und es wurden 30mg des gewünschten Produkts isoliert.

Ausbeute Theorie: 239,65  
Ausbeute Praxis: 30,00mg (entspricht 13%)

### Analytik

DC-System:

Laufmittel: Petrolether/ Ethylacetat 1+1

Auftragsvolumen: 5µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und Iodfärbung

Rf-Wert: 0,62

Schmelzpunkt: 83 - 84,5°C

NMR-Daten:

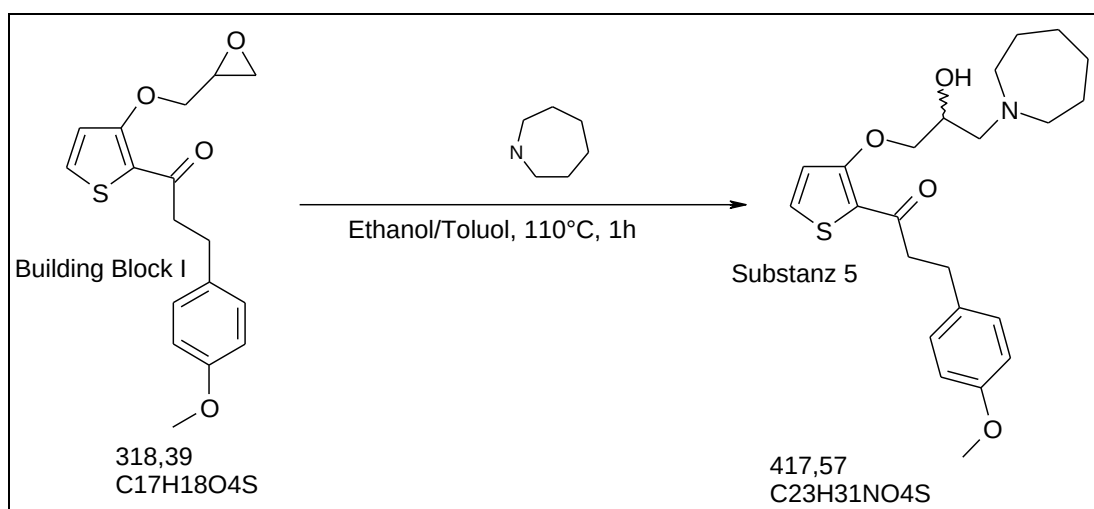
$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 7.51 (d,  $J = 5.7$  Hz, 1H,  $\text{C}_5''$ ), 7.18 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H,  $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_6'$ ), 7.09 (t, 1H,  $\text{C}_5'''$ ), 6.92 (dd, 2H,  $J_{AB} = 3.15$ ,  $J = 3.8$ ,  $\text{C}_4''' + \text{C}_6'''$ ), 6.87 (d,  $J = 5.35$  Hz, 1H,  $\text{C}_4''$ ), 6.82 (d,  $J = 8.85$  Hz, 4H,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_5'$ ), 4.21-4.15 (m, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 4.08-4.03 (m, 1H,  $\text{OCH}$ ), 3.73 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.30-3.15 (m, 2H,  $\text{C}_2$ ), 2.97 (t, 2H,  $\text{C}_3$ ), 2.86 (m, 4H, Piperazin  $\text{CH}_2$ ), 2.72 (br s, 2H, Piperazin  $\text{CH}_2$ ), 2.61-2.56 (m, 1H,  $\text{NCH}_2$ ), 2.50 (dd, 1H,  $J = 3.8$ ,  $J = 3.5$ ,  $\text{NCH}_2$ );

$^{13}\text{C}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 192.1 ( $\text{C}_1$ ), 159.0 ( $\text{C}_3''$ ), 157.8 ( $\text{C}_4'$ ), 151.3 ( $\text{C}_1'''$ ), 138.0 ( $\text{C}_3'''$ ), 133.7 ( $\text{C}_1'$ ), 132.7 ( $\text{C}_5''$ ), 131.2 ( $\text{C}_2'''$ ), 129.3 ( $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_6'$ ), 125.9 ( $\text{C}_5'''$ ), 125.1 ( $\text{C}_4'''$ ), 123.2 ( $\text{C}_2''$ ), 116.7 ( $\text{C}_4''$ ), 116.5 ( $\text{C}_6'''$ ), 113.8 ( $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_5'$ ), 73.5 ( $\text{OCH}_2$ ), 65.1 ( $\text{OCH}$ ), 60.4 ( $\text{NCH}_2$ ), 55.1 ( $\text{OCH}_3$ ), 52.1 (Piperazin  $\text{CH}_2$ ), 43.7 ( $\text{C}_2$ ), 29.3 ( $\text{C}_3$ ), 20.6 ( $\text{C}_3''' - \text{CH}_3$ ), 13.9 ( $\text{C}_2''' - \text{CH}_3$ );

Elementaranalyse:

| Element | Berechnet [w-%] | Gefunden [w-%] | Differenz [w-%] |
|---------|-----------------|----------------|-----------------|
| C       | 68,48           | 65,41          | 3,07            |
| H       | 7,13            | 7,04           | 0,09            |
| N       | 5,51            | 5,13           | 0,38            |
| S       | 6,3             | 4,05           | 2,25            |

### 3.2.2 1-[3-(3-Azepan-1-yl-2-hydroxy-propoxy)-thiophen-2-yl]-3-(4-methoxy-phenyl)-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz        | Masse [g] | Volumen [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|-----------------|-----------|--------------|---------------|------------|------------------|----------|
| Buildingblock I | 0,150     |              |               | 318,39     | 0,00047112       | 1        |
| Homopiperidin   | 0,051     |              |               | 99,17      | 0,00051823       | 1,1      |
| Ethanol         |           | 3            |               |            |                  |          |
| Toluol          |           | 9            |               |            |                  |          |

#### Equipment:

25ml Rundkolben, Rückflusskühler, Ölbad, Magnetrührer, Rotationsverdampfer, Chromatographiesäule (Länge 20cm, Durchmesser 2cm)

#### Arbeitsvorschrift:

In einem Rundkolben wurden 150mg von Buildingblock I, sowie 51mg Homopiperidin vorgelegt. Diese wurden mit 3ml Ethanol und 9ml Toluol in Lösung gebracht und bei 110°C Ölbadtemperatur für eine Stunde gekocht. Danach wurde das Lösemittel abgedampft.

Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie aufgetrennt (Laufmittel) und es wurden 100mg des gewünschten Produkts isoliert.

Ausbeute Theorie: 190,11

Ausbeute Praxis: 100,00mg (entspricht 53%)

### Analytik

DC-System:

Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak conc. 15+1+0,1

Auftragsvolumen: 5 µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und mittels Iodfärbung

Rf-Wert: 0,45

Schmelzpunkt: 68-70°C

NMR-Daten:

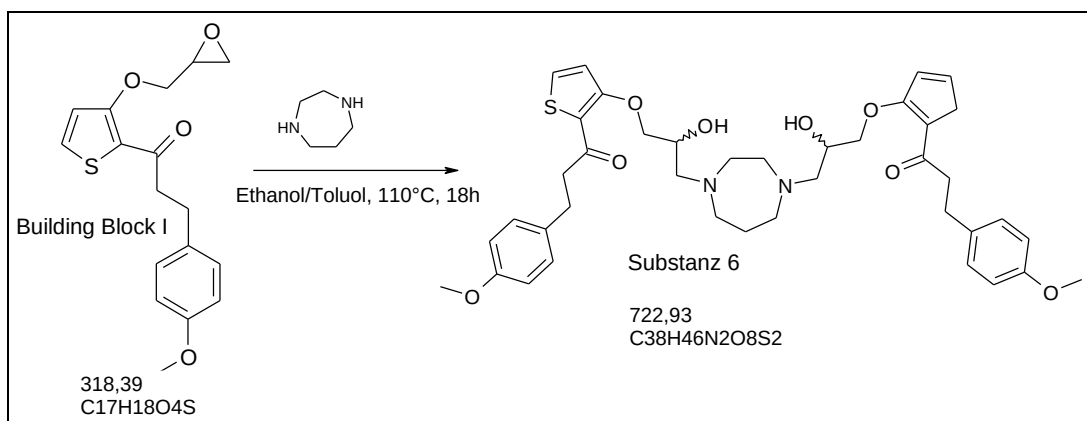
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ) 7.50 (d, J = 4.75 Hz, 1H, C<sub>5''</sub>), 7.17 (d, J = 7.6 Hz, 2H, C<sub>2'</sub> C<sub>6'</sub>), 6.85 (d, J = 5.35 Hz, C<sub>4''</sub>), 6.81 (d, J = 7.25 Hz, C<sub>3'</sub> C<sub>5'</sub>), 4.14 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), 3.95 (br s, 1H, OCH), 3.77 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.19 (m, 2H, C<sub>2</sub>), 2.96 (t, 2H, C<sub>3</sub>), 2.68 (m, 3H, NCH<sub>2</sub> + C<sub>2'''</sub> + C<sub>7'''</sub>), 2.50 (m, 3H, NCH<sub>2</sub> + C<sub>2'''</sub> + C<sub>7'''</sub>), 1.58 (s, 8H, C<sub>3'''</sub>-C<sub>6'''</sub>);

<sup>13</sup>C NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ) 192.4 (C<sub>1</sub>), 159.1 (C<sub>3''</sub>), 157.8 (C<sub>4'</sub>), 133.7 (C<sub>1'</sub>), 132.7 (C<sub>5''</sub>), 129.3 (C<sub>2'</sub> C<sub>6'</sub>), 123.1 (C<sub>2''</sub>), 116.7 (C<sub>4''</sub>), 113.8 (C<sub>3'</sub> C<sub>5'</sub>), 73.6 (OCH<sub>2</sub>), 65.6 (OCH), 60.5 (NCH<sub>2</sub>), 55.7 (C-N-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 55.2 (OCH<sub>3</sub>), 43.5 (C<sub>2</sub>), 29.2 (C<sub>3</sub>), 28.1 (C<sub>3'''</sub>+C<sub>6'''</sub>), 26.8 (C<sub>4'''</sub>+C<sub>5'''</sub>);

Elementaranalyse:

| Element | Berechnet [w-%] | Gefunden [w-%] | Differenz [w-%] |
|---------|-----------------|----------------|-----------------|
| C       | 66,16           | 65,94          | 0,22            |
| H       | 7,48            | 7,5            | -0,02           |
| N       | 3,35            | 3,51           | -0,16           |
| S       | 7,68            | 7,42           | 0,26            |

### 3.2.3 1-[3-(3-[1,4]Diazepan-1-yl-2-hydroxy-propoxy)-thiophen-2-yl]-3-(4-methoxy-phenyl)-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz        | Masse [g] | Volumen [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|-----------------|-----------|--------------|---------------|------------|------------------|----------|
| Buildingblock I | 0,100     |              |               | 318,39     | 0,00031408       | 1        |
| Homopiperazin   | 0,035     |              |               | 100,16     | 0,00034549       | 1,1      |
| Ethanol         |           | 3            |               |            |                  |          |
| Toluol          |           | 9            |               |            |                  |          |

#### Equipment:

25ml Rundkolben, Rückflusskühler, Ölbad, Magnetrührer, Rotationsverdampfer, Chromatographiesäule (Länge 20cm, Durchmesser 2cm)

#### Arbeitsvorschrift:

In einem Rundkolben wurden 100mg von Buildingblock I, sowie 35mg Homopiperazin vorgelegt. Diese wurden mit 3ml Ethanol und 9ml Toluol in Lösung gebracht und bei 110°C Ölbadtemperatur für 18 Stunden gekocht. Danach wurde das Lösemittel abgedampft.

Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie aufgetrennt (Laufmittel) und es wurden 35mg des gewünschten Produkts isoliert.

Ausbeute Theorie: 123,90mg

Ausbeute Praxis: 35,00mg (entspricht 96%)

## Analytik

### DC-System:

Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak conc. 15+1+0,1

Auftragsvolumen: 5 µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und mittels Iodfärbung

Rf-Wert: 0,48

Schmelzpunkt: 85-87°C

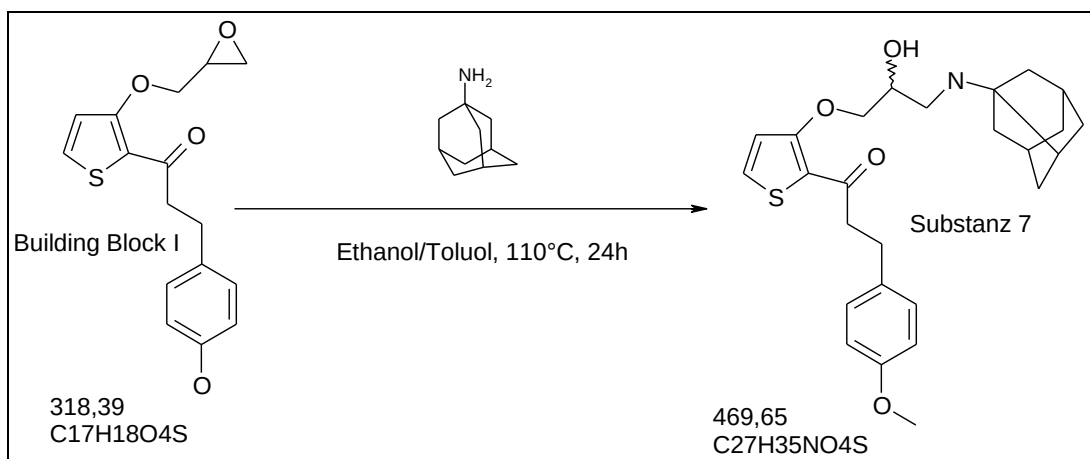
### NMR-Daten:

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 7.50 (d,  $J = 5,05$  Hz, 2H,  $\text{C}_5''$ ), 7.16 (d,  $J = 7.9$  Hz, 4H,  $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_6'$ ), 6.85 (d,  $J = 5.05$  Hz, 2H,  $\text{C}_4''$ ), 6.80 (d,  $J = 7.6$  Hz, 4H,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_5'$ ) 4.14 (m, 4H,  $\text{OCH}_2$ ), 4.00 (br s, 2H, OCH), 3.75 (s, 6H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.22-3.13 (m, 4H,  $\text{C}_2$ ), 2.95 (t, 4H,  $\text{C}_3$ ), 2.84-2.48 (m, 10 H,  $\text{C}_a$ - $\text{C}_e$ ), 1.77 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ );

$^{13}\text{C}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 192.1 ( $\text{C}_1$ ), 159.0 ( $\text{C}_3''$ ), 157.8 ( $\text{C}_4'$ ), 133.8 ( $\text{C}_1'$ ), 132.7 ( $\text{C}_5''$ ), 129.3 ( $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_6'$ ), 122.9 ( $\text{C}_2''$ ), 116.7 ( $\text{C}_4''$ ), 113.8 ( $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_5'$ ), 73.4 ( $\text{OCH}_2$ ), 65.7 (OCH), 60.9 ( $\text{NCH}_2$ ), 60.8 ( $\text{NCH}_2$ ), 55.2 ( $\text{OCH}_3$ ), 55.1 ( $\text{NCH}_2$ ), 54.4 ( $\text{NCH}_2$ ), 54.3 ( $\text{NCH}_2$ ), 43.7 ( $\text{C}_2$ ), 29.2 ( $\text{C}_3$ ), 27.1 ( $\text{CH}_2$ );

| Element | Berechnet [w-%] | Gefunden [w-%] | Differenz [w-%] |
|---------|-----------------|----------------|-----------------|
| C       | 63,56           | 65,94          | -2,38           |
| H       | 6,57            | 7,5            | -0,93           |
| N       | 3,8             | 3,51           | 0,29            |
| S       | 8,7             | 7,42           | 1,28            |

### 3.2.4 1-{3-[3-(Adamantan-1-ylamino)-2-hydroxy-propoxy]-thiophen-2-yl}-3-(4-methoxy-phenyl)-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz         | Masse [g] | Volumen [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|------------------|-----------|--------------|---------------|------------|------------------|----------|
| Buildingblock I  | 0,140     |              |               | 318,39     | 0,00043971       | 1        |
| 1-Aminoadamantan | 0,073     |              |               | 151,25     | 0,00048368       | 1,1      |
| Ethanol          |           | 3            |               |            |                  |          |
| Toluol           |           | 9            |               |            |                  |          |

#### Equipment:

25ml Rundkolben, Rückflusskühler, Ölbad, Magnetrührer, Rotationsverdampfer, Chromatographiesäule (Länge 20cm, Durchmesser 2cm)

#### Arbeitsvorschrift:

In einem Rundkolben wurden 140mg von Buildingblock I, sowie 73mg 1-Aminoadamantan vorgelegt. Diese wurden mit 3ml Ethanol und 9ml Toluol in Lösung gebracht und bei 110°C Ölbadtemperatur für 24 Stunden gekocht. Danach wurde das Lösemittel abgedampft.

Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie aufgetrennt (Laufmittel Dichlormethan/Methanol/Ammoniak conc. 19+1+0,1) und es wurden 60mg des gewünschten Produkts isoliert.

Ausbeute Theorie: 206,35mg  
 Ausbeute Praxis: 60,00mg (entspricht 30%)

### Analytik

DC-System:

Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak conc. 15+1+0,1

Auftragsvolumen: 5 µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und mittels Iodfärbung

Rf-Wert: 0,32

Schmelzpunkt: 95°C

NMR-Daten:

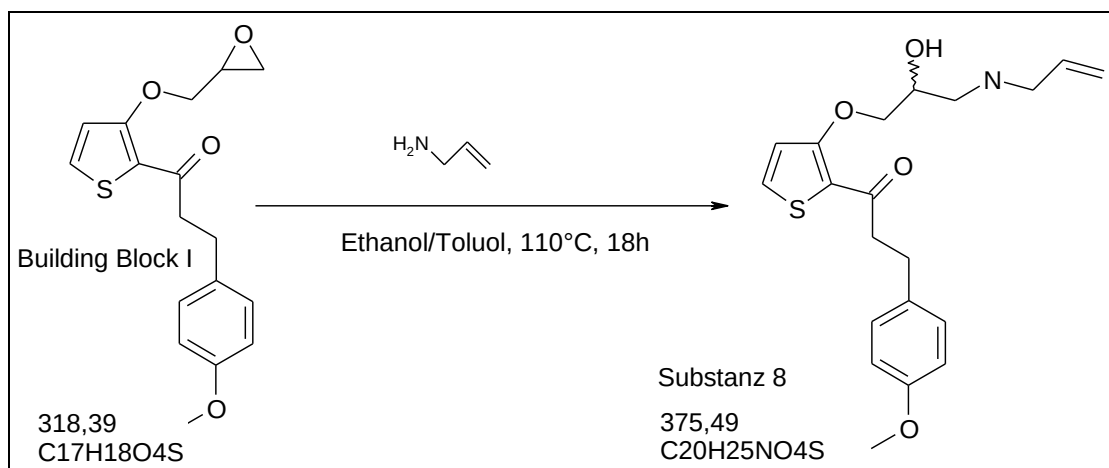
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ) 7.50 (d, J = 5,4 Hz, 1H, C<sub>5'</sub>), 7.16 (d, J = 8,85 Hz, 2H, C<sub>2'</sub>, C<sub>6'</sub>), 6.85 (d, J = 5.35 Hz, C<sub>4''</sub>), 6.81 (d, J = 8,85 Hz, C<sub>3'</sub>, C<sub>5'</sub>), 4.18 (dd, J<sub>ab</sub> = 4.7, J = 5.05, 1H, OCH<sub>HH</sub>-COH), 4.12 (dd, J<sub>ab</sub> = 4.4, J = 5.05, 1H, OCH<sub>HH</sub>-COH), 3.95 (m, 1H, OCH), 3.77 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.25-3.13 (m, 2H, C<sub>2</sub>), 2.96 (t, 5H, C<sub>3</sub>), 2.89 (dd, J<sub>ab</sub> = 4.1, J = 7.85, 1 H, NCH<sub>HH</sub>), 2.69 (dd, J<sub>ab</sub> = 4.45, J = 7,85, 1H, NCH<sub>HH</sub>), 2.06 (s, 3H, Adamantan: CH), 1.62 (m, 12H, Adamantan: CH<sub>2</sub>);

<sup>13</sup>C NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ) 192.1 (C<sub>1</sub>), 159.2 (C<sub>3''</sub>), 157.8 (C<sub>4'</sub>), 133.5 (C<sub>1'</sub>), 132.5 (C<sub>5''</sub>), 129.3 (C<sub>2'</sub>+C<sub>6'</sub>), 122.7 (C<sub>2''</sub>), 116. 8 (C<sub>4''</sub>), 116.4 (C<sub>3'</sub>+C<sub>5'</sub>), 73.9 (OCH<sub>2</sub>), 67.7 (OCH), 55.2 (OCH<sub>3</sub>), 51.4 (Adamantan C<sub>q</sub>), 43.3 (C<sub>2</sub>), 42.5 (NCH<sub>2</sub>), 42.2 (NH-C-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>), 36.4 (Adamantan CH<sub>2</sub>), 29.4 (Adamantan CH), 29.2 (C<sub>3</sub>);

Elementaranalyse:

| Element | Berechnet [w-%] | Gefunden [w-%] | Differenz [w-%] |
|---------|-----------------|----------------|-----------------|
| C       | 69,05           | 69,33          | -0,28           |
| H       | 7,51            | 7,46           | 0,05            |
| N       | 2,98            | 2,91           | 0,07            |
| S       | 6,83            | 6,81           | 0,02            |

### 3.2.5 1-[3-(-Allylamino-2-hydroxy-propoxy)-thiophen-2-yl]-3-(4-methoxy-phenyl)-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz        | Masse [g] | Volumen [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|-----------------|-----------|--------------|---------------|------------|------------------|----------|
| Buildingblock I | 0,140     |              |               | 318,39     | 0,00043971       | 1        |
| Allylamin       | 0,028     |              |               | 57,1       | 0,00048368       | 1,1      |
| Ethanol         |           | 3            |               |            |                  |          |
| Toluol          |           | 9            |               |            |                  |          |

#### Equipment:

25ml Rundkolben, Rückflusskühler, Ölbad, Magnetrührer, Rotationsverdampfer, Chromatographiesäule (Länge 20cm, Durchmesser 2cm)

#### Arbeitsvorschrift:

In einem Rundkolben wurden 140mg von Buildingblock I, sowie 28mg Allylamin vorgelegt. Diese wurden mit 3ml Ethanol und 9ml Toluol in Lösung gebracht und bei 110°C Ölbadtemperatur für 18 Stunden gekocht. Danach wurde das Lösemittel abgedampft.

Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie aufgetrennt (Laufmittel) und es wurden 130mg des gewünschten Produkts isoliert.

Ausbeute Theorie: 165,10mg  
Ausbeute Praxis: 130,00mg (entspricht 78,8%)

### Analytik

DC-System:

Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak conc. 15+1+0,1

Auftragsvolumen: 5 µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und mittels Iodfärbung

Rf-Wert: 0,37

Schmelzpunkt: 54-55°C

NMR-Daten:

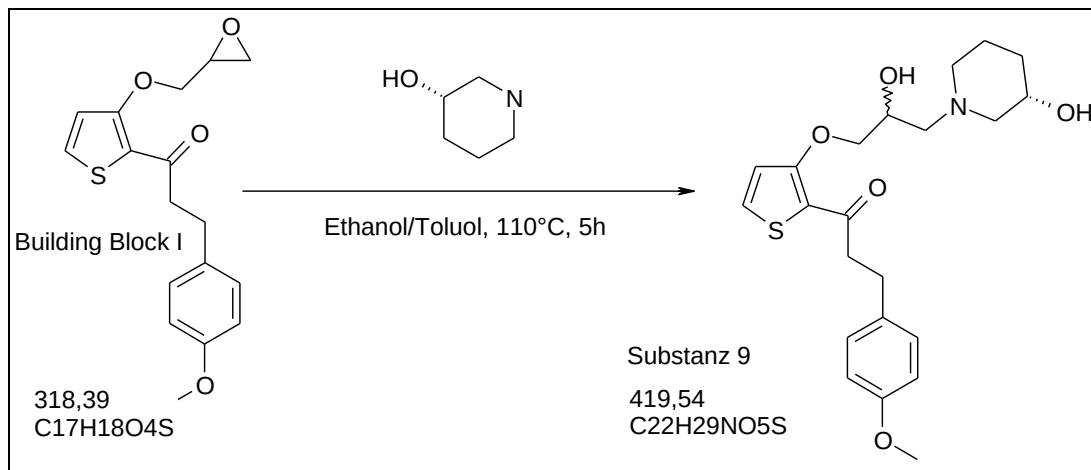
$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 7.49 (d,  $J = 5,4$  Hz, 1H,  $\text{C}_5''$ ), 7.16 (d,  $J = 8,55$  Hz, 2H,  $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_6'$ ), 6.85 (d,  $J = 5,35$  Hz,  $\text{C}_4''$ ), 6.82 (d,  $J = 8,55$  Hz,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_5'$ ), 5.87-5.79 (m, 1H,  $\text{C}_2'''$ ), 5.17-5.09 (m, 2H,  $\text{C}_3'''$ ), 4.14 (d, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 4.02-3.97 (m, 1H,  $\text{OCH}$ ), 3.77 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.21-3.16 (m, 2H,  $\text{C}_2 + \text{C}_1'''$ ), 2.96 (t, 2H,  $\text{C}_3$ ), 2.84 (dd,  $J_{\text{ab}} = 3,8$ ,  $J = 8,2$ , 1 H,  $\text{NCHH}$ ), 2.68 (dd,  $J_{\text{ab}} = 4,1$ ,  $J = 7,85$ , 1H,  $\text{NCHH}$ );

$^{13}\text{C}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 192.3 ( $\text{C}_1$ ), 159.2 ( $\text{C}_3''$ ), 157.8 ( $\text{C}_4'$ ), 136.2 ( $\text{C}_2'''$ ), 133.6 ( $\text{C}_1'$ ), 132.5 ( $\text{C}_5''$ ), 129.2 ( $\text{C}_2' + \text{C}_6'$ ), 122.9 ( $\text{C}_2''$ ), 116.8 ( $\text{C}_4''$ ), 116.4 ( $\text{C}_3'''$ ), 113.8 ( $\text{C}_3' + \text{C}_5'$ ), 73.9 ( $\text{OCH}_2$ ), 67.9 ( $\text{OCH}$ ), 55.2 ( $\text{OCH}_3$ ), 52.0 ( $\text{C}_1'''$ ), 50.8 ( $\text{NCH}_2$ ), 43.4 ( $\text{C}_2$ ), 29.3 ( $\text{C}_3$ );

Elementaranalyse:

| Element | Berechnet [w-%] | Gefunden [w-%] | Differenz [w-%] |
|---------|-----------------|----------------|-----------------|
| C       | 63,98           | 63,85          | 0,13            |
| H       | 6,71            | 6,73           | -0,02           |
| N       | 3,73            | 3,8            | -0,07           |
| S       | 8,54            | 8,37           | 0,17            |

### 3.2.6 1-{3-[2-Hydroxy-3-(3-hydroxy-piperidin-1-yl)-propoxy]-thiophen-2-yl}-3-(4-methoxy-phenyl)-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz         | Masse [g] | Volumen [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|------------------|-----------|--------------|---------------|------------|------------------|----------|
| Buildingblock I  | 0,150     |              |               | 318,39     | 0,00047112       | 1        |
| (3S)-Piperidinol | 0,052     |              |               | 101,15     | 0,00051823       | 1,1      |
| Ethanol          |           | 3            |               |            |                  |          |
| Toluol           |           | 9            |               |            |                  |          |

#### Equipment:

25ml Rundkolben, Rückflusskühler, Ölbad, Magnetrührer, Rotationsverdampfer, Chromatographiesäule (Länge 20cm, Durchmesser 2cm)

#### Arbeitsvorschrift:

In einem Rundkolben wurden 150mg von Buildingblock I, sowie 52mg (3S)-Piperidinol vorgelegt. Diese wurden mit 3ml Ethanol und 9ml Toluol in Lösung gebracht und bei 110°C Ölbadtemperatur für 5 Stunden gekocht. Danach wurde das Lösemittel abgedampft.

Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie aufgetrennt und aus Ethylacetat kristallisiert (Laufmittel Dichlormethan/Methanol 10:1) und es wurden 172mg des gewünschten Produkts isoliert.

Ausbeute Theorie: 197,6mg  
Ausbeute Praxis: 172,00mg (entspricht 87%)

### Analytik

DC-System:

Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 10+1

Auftragsvolumen: 5 µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und mittels Iodfärbung

Rf-Wert: 0,37

Schmelzpunkt: 75-77°C

NMR:

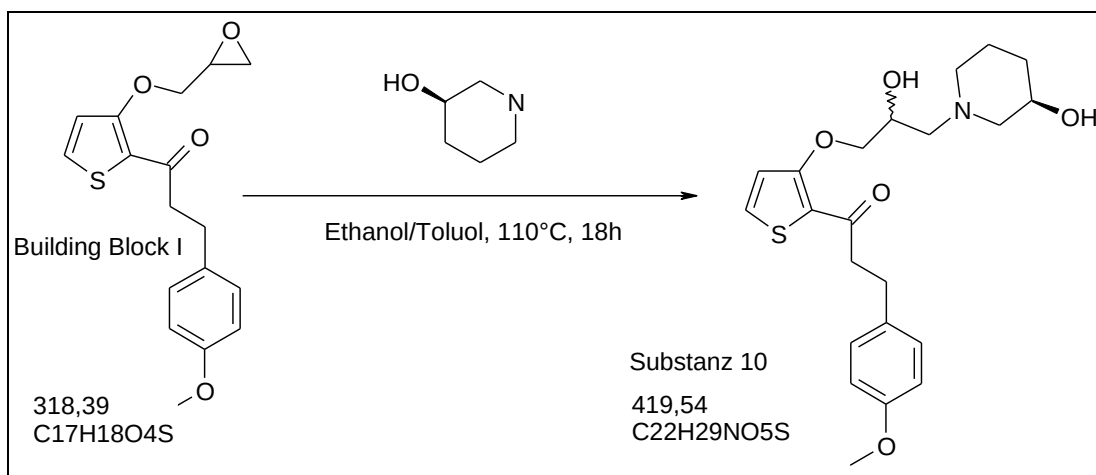
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ) 7.50 (d, J = 5.0 Hz, 1H, C5''), 7.17 (t, 2H, C2' C6'), 6.84 (d, J = 4.1Hz, C4''), 6.83 (d, J = 6.9 Hz, C3' C5'), 4.13 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), 4.01 (br s, 1H, OCH), 3.78 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.17(m, 2H, C2), 2.96 (7, 2H, C3), 2.67 (d, 1H, J=40Hz, C2'''H1), 2.53 (d, 1H, J=33.4Hz, C6'''H1), 2.44 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>), 2.10 (m, 2H, C2'''H2, C6'''H2), 1.74 (m, 2H, C4'''H1, C5'''H1), 1.56 (m, 1H, C5'''H2,), 1,32 (m, 1H, C4'''H2);

<sup>13</sup>C NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ) 192.23 (C<sub>1</sub>), 159.1 (C<sub>3''</sub>), 157.9 (C<sub>4'</sub>), 133.9 (C<sub>1'</sub>), 132.74 (C<sub>5''</sub>), 129.3 (C<sub>2'+C6'</sub>), 123.0 (C<sub>2''</sub>), 116.6 (C<sub>4''</sub>), 113.9 (C<sub>3'+C5'</sub>), 73.4 (OCH<sub>2</sub>), 66.7 (C<sub>3'''</sub>), 65.4 (OCH), 60.7 (NHCH<sub>2</sub>), 60.4 (C<sub>2'''</sub>), 55.3 (OCH<sub>3</sub>), 53.9 (C<sub>6'''</sub>), 32.1 (C<sub>4'''</sub>), 29.3 (C<sub>3</sub>), 22.4 (C<sub>5'''</sub>);

Elementaranalyse:

| Element | Berechnet [w-%] | Gefunden [w-%] | Differenz [w-%] |
|---------|-----------------|----------------|-----------------|
| C       | 62,98           | 62,03          | 0,95            |
| H       | 6,97            | 7,09           | -0,12           |
| N       | 3,34            | 3,29           | 0,05            |
| S       | 7,64            | 7,24           | 0,4             |

### 3.2.7 1-{3-[2-Hydroxy-3-(3-hydroxy-piperidin-1-yl)-propoxy]-thiophen-2-yl}-3-(4-hydroxy-phenyl)-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz         | Masse [g] | Volumen [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|------------------|-----------|--------------|---------------|------------|------------------|----------|
| Buildingblock I  | 0,150     |              |               | 318,39     | 0,00047112       | 1        |
| (3R)+Piperidinol | 0,052     |              |               | 101,15     | 0,00051823       | 1,1      |
| Ethanol          |           | 3            |               |            |                  |          |
| Toluol           |           | 9            |               |            |                  |          |

#### Equipment:

25ml Rundkolben, Rückflusskühler, Ölbad, Magnetrührer, Rotationsverdampfer, Chromatographiesäule (Länge 20cm, Durchmesser 2cm)

#### Arbeitsvorschrift:

In einem Rundkolben wurden 150mg von Buildingblock I, sowie 52mg (3S)-Piperidinol vorgelegt. Diese wurden mit 3ml Ethanol und 9ml Toluol in Lösung gebracht und bei 110°C Ölbadtemperatur für 5 Stunden gekocht. Danach wurde das Lösemittel abgedampft.

Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie aufgetrennt und aus Ethylacetat kristallisiert. (Laufmittel Dichlormethan/Methanol 10:1) und es wurden 136mg des gewünschten Produkts isoliert.

Ausbeute Theorie: 197,6mg  
Ausbeute Praxis: 136,00mg (entspricht 69%)

### Analytik

DC-System:

Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 10+1

Auftragsvolumen: 5 µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und mittels Iodfärbung

Rf-Wert: 0,37

Schmelzpunkt: 75-77°C

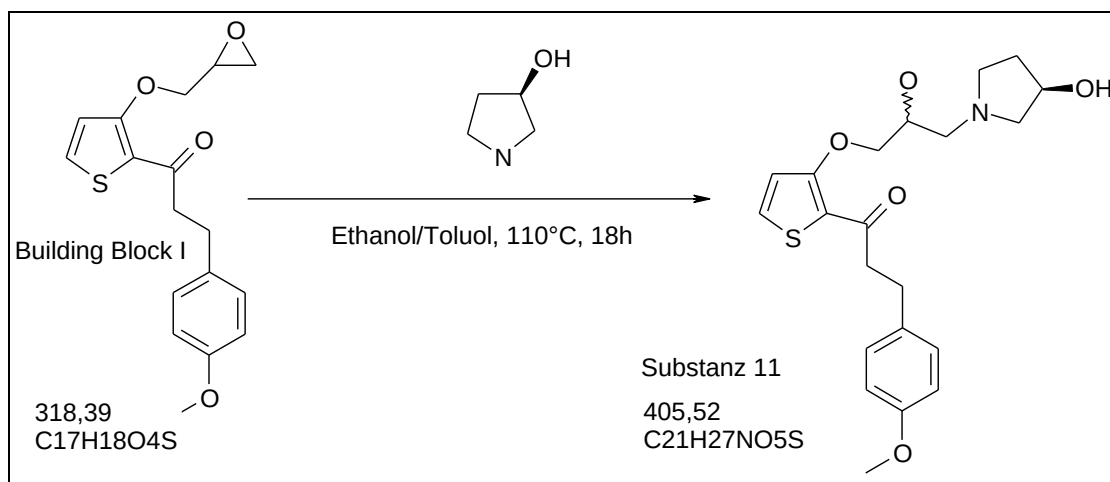
NMR:

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ) 7.51 (d, J = 5.43 Hz, 1H, C5''), 7.17 (d, J=8.3Hz, 2H, C2' C6'), 6.83 (d, J = 5.35Hz, 1H, C4''), 6.83 ( d, J = 8,25Hz, C3' C5'), 4.13 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), 4.01 (m, 1H, OCH), 3.78 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.18(m, 2H, C2), 2.95 (7, 2H, C3), 2.65 (m, 2H, NCHH), 2.32 (m, 2H, NCHH), 2.08 (m, 2H, C2'''), 1.75 (m, 2H, C4'''), 1.46 (m, 2H, C5);

Elementaranalyse:

| Element | Berechnet [w-%] | Gefunden [w-%] | Differenz [w-%] |
|---------|-----------------|----------------|-----------------|
| C       | 62,98           | 62,32          | 0,66            |
| H       | 6,97            | 7,18           | -0,21           |
| N       | 3,34            | 3,35           | -0,01           |
| S       | 7,64            | 7,21           | 0,43            |

### 3.2.8 1-{3-[2-Hydroxy-3-(3-hydroxy-pyrrolidin-1-yl)-propoxy]-thiophen-2-yl}-3-(4-methoxy-phenyl)-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz                            | Masse [g] | Volumen [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|-------------------------------------|-----------|--------------|---------------|------------|------------------|----------|
| Buildingblock I                     | 0,169     |              |               | 318,39     | 0,0005308        | 1        |
| (3R)-Hydroxy-pyrrolidinium- formiat | 0,186     |              |               | 133,15     | 0,00139692       | 2,63     |
| Ammoniumcarbonat                    |           | 2            |               |            |                  |          |
| Ethanol                             |           | 3            |               |            |                  |          |
| Toluol                              |           | 9            |               |            |                  |          |

#### Equipment:

25ml Rundkolben, Rückflusskühler, Ölbad, Magnetrührer, Rotationsverdampfer, Chromatographiesäule (Länge 20cm, Durchmesser 2cm)

#### Arbeitsvorschrift:

In einem Rundkolben wurden 186mg (3R)-Hydroxypyrrolidiniumformiat in Acetonitril/Methanol gelöst, mit 2ml Ammoniumcarbonatlösung versetzt und bis zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde in Ethanol gelöst, über 500mg PL-HCO<sub>3</sub>-Resin abfiltriert, eingedampft und getrocknet.

Die freie Base wurde nun mit einer Mischung aus Toluol und Methanol über Nacht bei 110°C refluxiert, eingedampft und aus Isopropanol kristallisiert.

Ausbeute Theorie: 215mg

Ausbeute Praxis: 137,00mg (entspricht 64%)

### Analytik

DC-System:

Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 10+1

Auftragsvolumen: 5 µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und mittels Iodfärbung

Rf-Wert: 0,37

Schmelzpunkt: 75-77°C

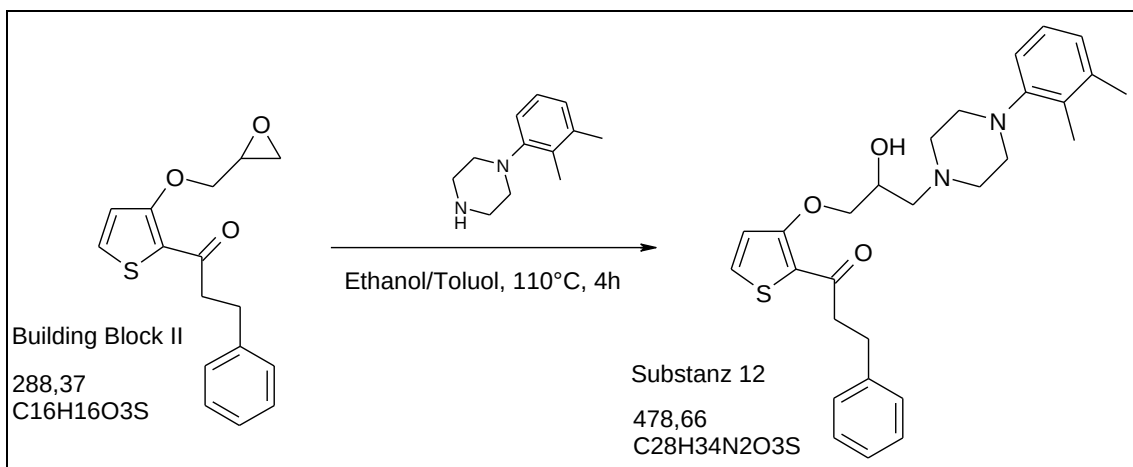
NMR:

Elementaranalyse:

| Element | Berechnet [w-%] | Gefunden [w-%] | Differenz [w-%] |
|---------|-----------------|----------------|-----------------|
| C       | 62,2            | 61,86          | 0,34            |
| H       | 6,71            | 6,89           | -0,18           |
| N       | 3,45            | 3,44           | 0,01            |
| S       | 7,91            | 7,83           | 0,08            |

### 3.3 Derivate unter Verwendung des Building Blocks II

#### 3.3.1 1-(3-{3-[4-(2,3-Dimethyl-phenyl)-piperazin-1-yl]-2-hydroxy-propoxy}-thiophen-1-yl)-3-phenyl-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz                        | Masse [g] | Vol [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|---------------------------------|-----------|----------|---------------|------------|------------------|----------|
| Buildingblock II                | 0,135     |          |               | 288,37     | 0,000468149      | 1        |
| 1-(2,3-Dimethylphenyl)piperazin | 0,098     |          |               | 190,29     | 0,000514963      | 1,1      |
| Ethanol                         |           | 2        |               |            |                  |          |
| Toluol                          |           | 7        |               |            |                  |          |

#### Equipment:

25ml Rundkolben, Rückflusskühler, Ölbad, Magnetrührer, Rotationsverdampfer, Chromatographiesäule (Länge 20cm, Durchmesser 2cm)

#### Arbeitsvorschrift:

In einem Rundkolben wurden 135mg von Buildingblock II, sowie 98mg 1-(2,3-Dimethylphenyl) -Piperazin vorgelegt. Diese wurden mit 2ml Ethanol und 7ml Toluol in Lösung gebracht und bei 110°C Ölbadtemperatur für vier Stunden gekocht. Danach wurde das Lösemittel abgedampft.

Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie aufgetrennt (Laufmittel Petrolether/Ethylacetat 1+1) und es wurden 81mg des gewünschten Produkts isoliert. Das Produkt wurde danach aus Methanol und Ethylacetat umkristallisiert.

Ausbeute Theorie: 165,98

Ausbeute Praxis: 81,00mg (entspricht 49%)

### Analytik

DC-System:

Laufmittel: Petrolether/ Ethylacetat 1+1

Auftragsvolumen: 5 µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und Tageslicht

Rf-Wert: 0,42

Schmelzpunkt: 107 - 108°C

NMR-Daten:

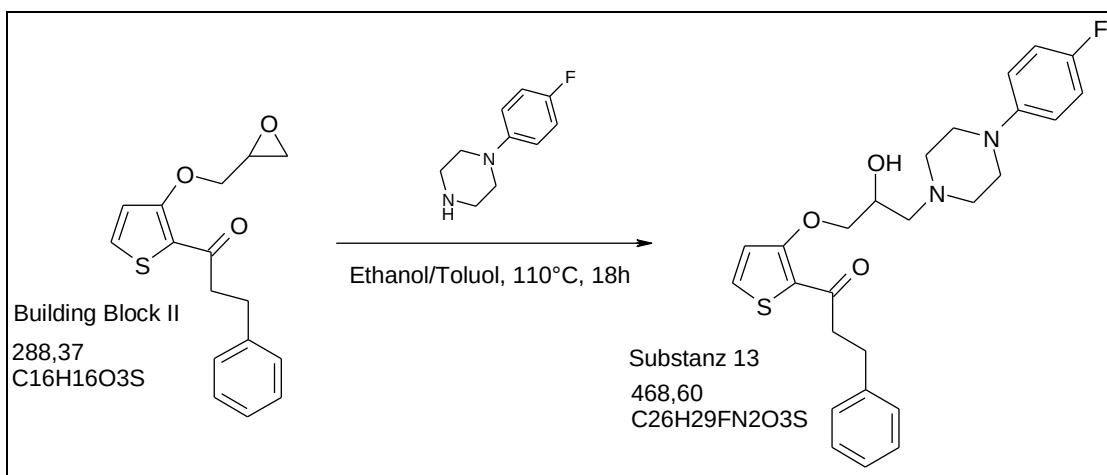
$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 7.51 (d,  $J = 5.35$  Hz, 1H,  $\text{C}_5''$ ), 7.28 (d, 1H,  $J = 2.2$ ,  $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_5'$ ,  $\text{C}_6'$ ), 7.27 (d, 2H,  $J = 2.2$ ,  $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_5'$ ,  $\text{C}_6'$ ), 7.24 (d, 1H,  $J = 2.2$ ,  $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_5'$ ,  $\text{C}_6'$ ), 7.18-7.13 (m, 1H,  $\text{C}_4'$ ), 7.08 (t, 1H,  $\text{C}_5'''$ ), 6.90 (t, 2H,  $\text{C}_4''' + \text{C}_6'''$ ), 6.85 (d,  $J = 5.35$  Hz, 1H,  $\text{C}_4''$ ), 4.17 (d, 2H,  $J = 4.75$ ,  $\text{OCH}_2$ ), 4.06-4.01 (m, 1H, OCH), 3.32-3.17 (m, 2H,  $\text{C}_2$ ), 3.02 (t, 2H,  $\text{C}_3$ ), 2.84 (m, 4H, Piperazin  $\text{CH}_2$ ), 2.6 (br s, 2H, Piperazin  $\text{CH}_2$ ), 2.57-2.53 (m, 1H,  $\text{NCH}_2$ ), 2.48 (dd, 1H,  $J = 3.45$ ,  $J = 8.85$ ,  $\text{NCH}_2$ ), 2.27 (s, 3H,  $\text{C}_3''' - \text{CH}_3$ ), 2.22 (s, 3H,  $\text{C}_2''' - \text{CH}_3$ );

$^{13}\text{C}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 192.1 ( $\text{C}_1$ ), 159.0 ( $\text{C}_3''$ ), 151.3 ( $\text{C}_1'''$ ), 141.7 ( $\text{C}_1'$ ), 138.0 ( $\text{C}_3'''$ ), 132.7 ( $\text{C}_5''$ ), 131.2 ( $\text{C}_2'''$ ), 128.4 ( $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_5'$ ,  $\text{C}_6'$ ), 125.9 ( $\text{C}_4'$ ), 125.8 ( $\text{C}_5'''$ ), 125.1 ( $\text{C}_4'''$ ), 123.0 ( $\text{C}_2''$ ), 116.6 ( $\text{C}_4''$ ), 166.5 ( $\text{C}_6'''$ ), 73.4 ( $\text{OCH}_2$ ), 65.0 (OCH), 60.5 ( $\text{NCH}_2$ ), 52.1 (Piperazin  $\text{CH}_2$ ), 43.7 ( $\text{C}_2$ ), 30.1 ( $\text{C}_3$ ), 20.6 ( $\text{C}_3''' - \text{CH}_3$ ), 13.9 ( $\text{C}_2''' - \text{CH}_3$ );

Elementaranalyse:

| Element | Berechnet [w-%] | Gefunden [w-%] | Differenz [w-%] |
|---------|-----------------|----------------|-----------------|
| C       | 70,26           | 65,94          | 4,32            |
| H       | 7,16            | 7,5            | -0,34           |
| N       | 5,85            | 3,51           | 2,34            |
| S       | 6,7             | 7,42           | -0,72           |

### 3.3.2 1-(3-{3-[4-(4-Fluoro-phenyl)-piperazin-1-yl]-2-hydroxy-propoxy}-thiophen-2-yl)-3-phenyl-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz         | Masse [g] | Volumen [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|------------------|-----------|--------------|---------------|------------|------------------|----------|
| Buildingblock II | 0,100     |              |               | 288,37     | 0,00034678       | 1        |
| Amin             | 0,069     |              |               | 180,23     | 0,00038145       | 1,1      |
| Ethanol          |           | 2            |               |            |                  |          |
| Toluol           |           | 7            |               |            |                  |          |

#### Equipment:

25ml Rundkolben, Rückflusskühler, Ölbad, Magnetrührer, Rotationsverdampfer, Chromatographiesäule (Länge 20cm, Durchmesser 2cm)

#### Arbeitsvorschrift:

In einem Rundkolben wurden 100mg von Buildingblock I, sowie 69mg Homopiperidin vorgelegt. Diese wurden mit 2ml Ethanol und 7ml Toluol in Lösung gebracht und bei 110°C Ölbadtemperatur über Nacht gekocht. Danach wurde das Lösemittel abgedampft.

Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie aufgetrennt (Laufmittel Ethylacetat/Isopropanol 9+1) und es wurden 70mg des gewünschten Produkts isoliert. Das Produkt wurde danach aus Methanol umkristallisiert.

Ausbeute Theorie: 165,98  
Ausbeute Praxis: 70,00mg (entspricht 42%)

### Analytik

DC-System:

Laufmittel: Ethylacetat/Isopropanol 9+1

Auftragsvolumen: 5 µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und mittel Iodfärbung

Rf-Wert: 0,45

Schmelzpunkt: 141 - 142°C

NMR-Daten:

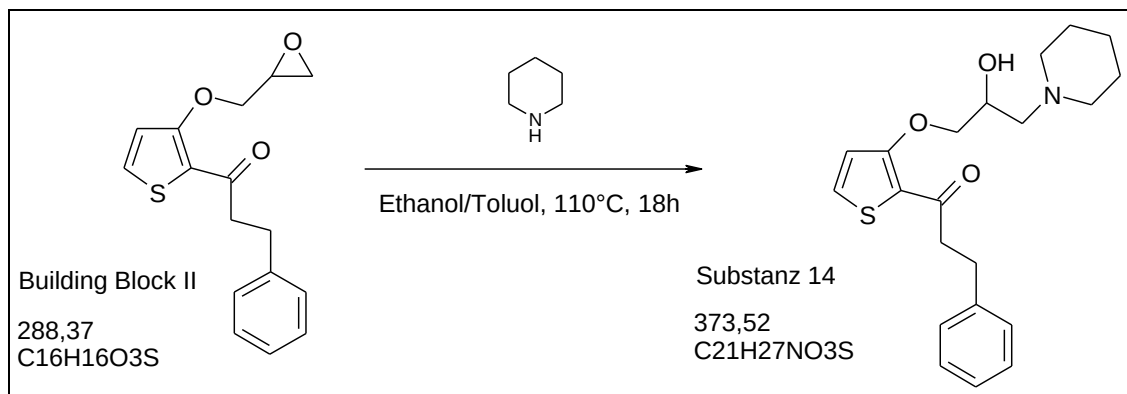
$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 7.21 (d,  $J = 6.65$  Hz, 1H,  $\text{C}_5''$ ), 7.21 (m, 4H,  $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_5'$ ,  $\text{C}_6'$ ,  $\text{CDCl}_3$ ), 7.10 (m, 1H,  $\text{C}_4'$ ), 6.91 (t, 2H,  $\text{C}_3''' + \text{C}_5'''$ ), 6.79 (d,  $J = 5.7$  Hz, 2H,  $\text{C}_2''' + \text{C}_6'''$ ), 6.80 (d,  $J = 4.4$  Hz, 1H,  $\text{C}_4''$ ), 4.14-4.07 (m, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 4.00-3.95 (m, 1H,  $\text{OCH}$ ), 3.26-3.13 (m, 2H,  $\text{C}_2'$ ), 3.00-2.94 (m, 6H, Piperazin  $\text{CH}_2$ ,  $\text{C}_3'$ ), 2.63-2.59 (m, 2H, Piperazin  $\text{CH}_2$ ), 2.53-2.39 (m, 1H,  $\text{NCH}_2$ ), 2.42-2.38 (m, 1H,  $\text{NCH}_2$ ), 2.30-2.26 (m, 2H, Piperazin  $\text{CH}_2$ );

$^{13}\text{C}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 192.1 ( $\text{C}_1$ ), 159.1 ( $\text{C}_2''$ ), 158.2+156.3 ( $\text{C}_4'''$ ), 147.7 ( $\text{C}_1'''$ ), 141.72 ( $\text{C}_1'$ ), 132.7 ( $\text{C}_5''$ ), 128.4 ( $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_5'$ ,  $\text{C}_6'$ ), 125.8 ( $\text{C}_4'$ ), 123.1 ( $\text{C}_3''$ ), 117.92 + 117.86 ( $\text{C}_2''' + \text{C}_6'''$ ), 116.6 ( $\text{C}_4''$ ), 115.65+115.47 ( $\text{C}_3''' + \text{C}_5'''$ ), 73.33 ( $\text{OCH}_2$ ), 65.2 ( $\text{OCH}$ ), 60.3 ( $\text{NCH}_2$ ), 53.0 (Piperazin  $\text{CH}_2$ ), 50.2 (Piperazin  $\text{CH}_2$ ), 43.4 ( $\text{C}_2$ ), 30.1 ( $\text{C}_3$ );

Elementaranalyse:

| Element | Berechnet [w-%] | Gefunden [w-%] | Differenz [w-%] |
|---------|-----------------|----------------|-----------------|
| C       | 66,64           | 65,94          | 0,7             |
| H       | 6,24            | 7,5            | -1,26           |
| N       | 5,98            | 3,51           | 2,47            |
| S       | 6,84            | 7,42           | -0,58           |

### 3.3.3 1[3-(2-Hydroxy-3-piperidin-1-yl-propoxy)-thiophen-2-yl]-3-phenyl-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz         | Masse [g] | Vol [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival . |
|------------------|-----------|----------|---------------|------------|------------------|-----------|
| Buildingblock II | 0,200     |          |               | 288,37     | 0,000693553      | 1         |
| Piperidin        | 0,065     |          |               | 85,15      | 0,000762909      | 1,1       |
| Ethanol          |           | 2        |               |            |                  |           |
| Toluol           |           | 7        |               |            |                  |           |

#### Equipment:

25ml Rundkolben, Rückflusskühler, Ölbad, Magnetrührer, Rotationsverdampfer, Chromatographiesäule (Länge 20cm, Durchmesser 2cm)

#### Arbeitsvorschrift:

In einem Rundkolben wurden 200mg von Buildingblock II, sowie 65mg Piperiedin vorgelegt. Diese wurden mit 2ml Ethanol und 7ml Toluol in Lösung gebracht und bei 110°C Ölbadtemperatur über Nacht gekocht. Danach wurde das Lösemittel abgedampft.

Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie aufgetrennt (Laufmittel Ethylacetat/Isopropanol 9+1) und es wurden 70mg des gewünschten Produkts isoliert. Das Produkt wurde danach aus Methanol und Ethylacetat umkristallisiert.

Ausbeute Theorie: 165,98

Ausbeute Praxis: 81,00mg (entspricht 49%)

## Analytik

### DC-System:

Laufmittel: Petrolether/ Ethylacetat 1+1

Auftragsvolumen: 5 µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und Tageslicht

Rf-Wert: 0,42

Schmelzpunkt: 107 - 108°C

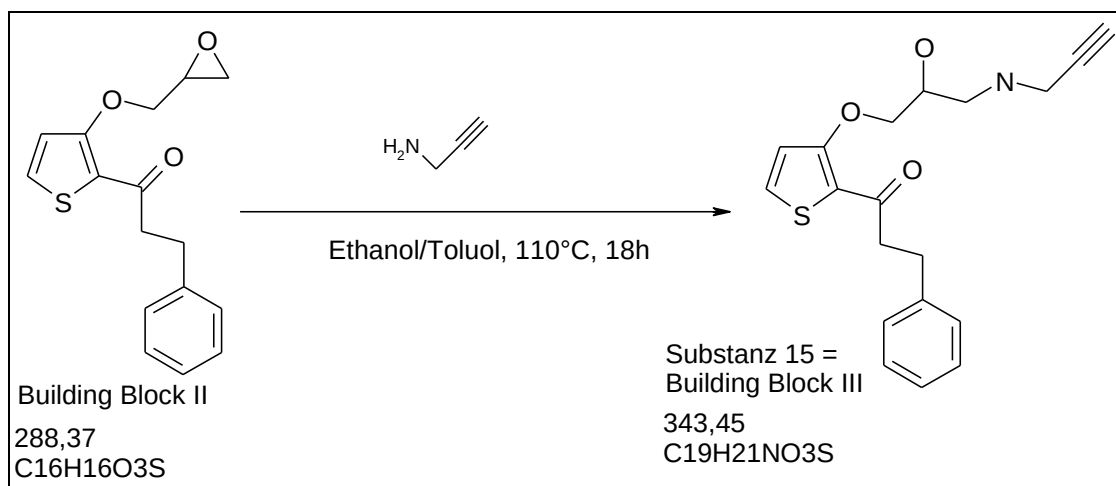
### NMR-Daten:

$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 7.58 (d,  $J=5.4$  Hz, 1H,  $\text{C}_5$ ), 7.30 (m, 5H,  $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_3$ ,  $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ ,  $\text{CDCl}_3$ ), 6.93 (d,  $J=5.3$  Hz, 1H,  $\text{C}_4$ ), 6.79 (d,  $J = 5.7$  Hz, 2H,  $\text{C}_2 + \text{C}_6$ ), 4.21 (m, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 4.06 (m, 1H,  $\text{OCH}$ ), 3.31 (m, 2H,  $\text{C}_2$ ), 3.07 ( $\text{C}_3$ ), 2.49 (m, 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2.21 (m, 4H,  $\text{C}_2 + \text{C}_6$ ), 1.60 (m, 6H,  $\text{C}_3 + \text{C}_4 + \text{C}_5$ );

### Elementaranalyse:

| Element | Berechnet [w-%] | Gefunden [w-%] | Differenz [w-%] |
|---------|-----------------|----------------|-----------------|
| C       | 67,53           | 65,94          | 1,59            |
| H       | 7,29            | 7,5            | -0,21           |
| N       | 3,75            | 3,51           | 0,24            |
| S       | 8,58            | 7,42           | 1,16            |

### 3.3.4 1-[3-(2-Hydroxy-3-prop-2-ynylamino-propoxy)-thiophen-2-yl]-3-phenyl-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz         | Masse [g] | Volumen [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|------------------|-----------|--------------|---------------|------------|------------------|----------|
| Buildingblock II | 0,200     |              |               | 288,37     | 0,00069355       | 1        |
| Propargylamin    | 0,042     |              |               | 55,08      | 0,00076291       | 1,1      |
| Ethanol          |           | 3            |               |            |                  |          |
| Toluol           |           | 9            |               |            |                  |          |

#### Equipment:

25ml Rundkolben, Rückflusskühler, Ölbad, Magnetrührer, Rotationsverdampfer, Chromatographiesäule (Länge 20cm, Durchmesser 2cm)

#### Arbeitsvorschrift:

In einem Rundkolben wurden 150mg von Buildingblock II, sowie 42mg Propargylamin vorgelegt. Diese wurden mit 3ml Ethanol und 9ml Toluol in Lösung gebracht und bei 110°C Ölbadtemperatur für 18 Stunden gekocht. Das Reaktionsgemisch färbte sich währenddessen rot. Danach wurde das Lösemittel eingengt und das Reaktionsgemisch mit Diethylether versetzt. Es zeigte sich eine Trübung und über Nacht kristallisierte die Substanz rosa aus.

Laut DC war die Substanz sauber, jedoch wurde wegen des großen Schmelzintervalls eine Säulenchromatographie durchgeführt. Die rote Färbung blieb als polare

Verunreinigung auf der Säule zurück und es konnten 230mg des farblosen Produkts isoliert werden.

Ausbeute Theorie: 238,2mg

Ausbeute Praxis: 230,00mg (entspricht 96%)

### Analytik

#### DC-System:

Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak conc. 15+1+0,1

Auftragsvolumen: 5 µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und mittels Iodfärbung

Rf-Wert: 0,53

Schmelzpunkt: 89-90°C

#### NMR-Daten:

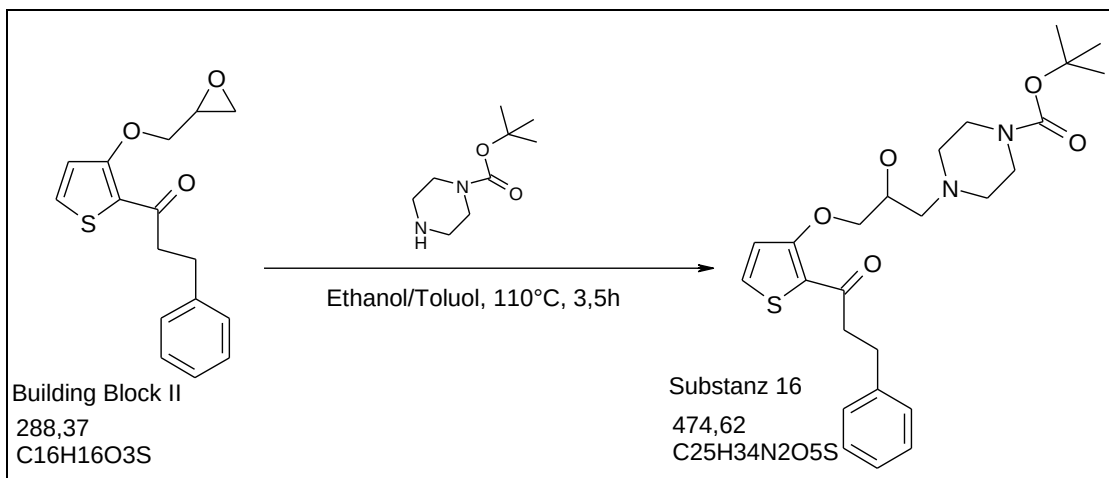
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ) 7.49 (d, J = 5.7 Hz, 1H, C<sub>5''</sub>), 7.3-7.17 (m, 5H, C<sub>2'</sub>, C<sub>3'</sub>, C<sub>5'</sub>, C<sub>6'</sub>, CDCl<sub>3</sub>), 6.85 (d, 1H, J=5.7, C<sub>4'</sub>), 4.16 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), 4.03-3.98 (m, 1H, OCH), 3.35 (t, 2H, CH<sub>2</sub>-C≡), 3.25-3.20 (m, 2H, C<sub>2</sub>), 3.03 (t, 2H, C<sub>3</sub>), 2.94 (dd, 1H, J<sub>1</sub>= 3.8Hz, J<sub>2</sub>=93 Hz, NCHH), 2.53 (dd, 1H, J<sub>1</sub>=8.2Hz, J<sub>2</sub>=93Hz, NCHH), 2.19 (t, 1H, ≡CH);

<sup>13</sup>C NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ) 192.1 (C<sub>1</sub>), 159.15 (C<sub>3''</sub>), 141.5 (C<sub>1'</sub>), 128.4 (C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>5'</sub>, C<sub>6'</sub>), 125.8 (C<sub>4'</sub>), 123.1 (C<sub>3''</sub>), 117.92 + 117.86 (C<sub>2'''</sub>+C<sub>6</sub>), 116.6 (C<sub>4''</sub>), 115.65+115.47 (C<sub>3'''</sub>+C<sub>5'''</sub>), 73.33 (OCH<sub>2</sub>), 65.2 (OCH), 60.3 (NCH<sub>2</sub>), 53.0 (Piperazin CH<sub>2</sub>), 50.2 (Piperazin CH<sub>2</sub>), 43.4 (C<sub>2</sub>), 30.1 (C<sub>3</sub>);

#### Elementaranalyse:

| Element | Berechnet [w-%] | Gefunden [w-%] | Differenz [w-%] |
|---------|-----------------|----------------|-----------------|
| C       | 66,45           | 66,25          | 0,2             |
| H       | 6,16            | 6,16           | 0               |
| N       | 4,08            | 4,14           | -0,06           |
| S       | 9,34            | 9,29           | 0,05            |

### 3.3.5 4-{2-Hydroxy-3-[2-(3-phenyl-propionyl)-thiophen-3-yloxy]-propyl}-piperazine-1-carboxylic acid tert-butylester



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz          | Masse [g] | Volumen [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|-------------------|-----------|--------------|---------------|------------|------------------|----------|
| Buildingblock II  | 0,220     |              |               | 288,37     | 0,00076291       | 1        |
| 1-N-Boc-Piperazin | 0,156     |              |               | 186,25     | 0,0008392        | 1,1      |
| Ethanol           |           | 3            |               |            |                  |          |
| Toluol            |           | 9            |               |            |                  |          |

#### Equipment:

25ml Rundkolben, Rückflusskühler, Ölbad, Magnetrührer, Rotationsverdampfer, Chromatographiesäule (Länge 20cm, Durchmesser 2cm)

#### Arbeitsvorschrift:

In einem Rundkolben wurden 220mg von Buildingblock II, sowie 156mg 1-N-Boc-Piperazin vorgelegt. Diese wurden mit 3ml Ethanol und 9ml Toluol in Lösung gebracht und bei 110°C Ölbadtemperatur für 3,5 Stunden gekocht. Danach wurde das Lösemittel abgedampft und das Reaktionsgemisch mit Diethylether versetzt.

Ausbeute Theorie:

Ausbeute Praxis:

## Analytik

### DC-System:

Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak conc. 15+1+0,1

Auftragsvolumen: 5 µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und mittels Iodfärbung

Rf-Wert: 0,54

### Schmelzpunkt:

### NMR-Daten:

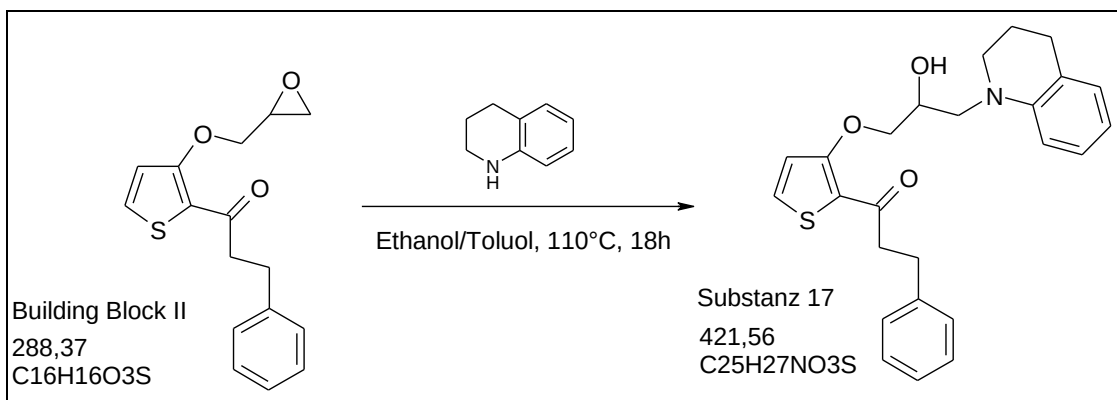
$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 7.5 (d,  $J = 5.35$  Hz, 1H,  $\text{C}_5''$ ), 7.26 (m, 5H,  $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_5'$ ,  $\text{C}_6'$ ,  $\text{CDCl}_3$ ), 7.19 (d, 1H,  $J=5.7$ ,  $\text{C}_4'$ ), 6.85 (d, 1H,  $J=5.35\text{Hz}$ ,  $\text{C}_4'$ ), 4.16 (m, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 4.03-3.98 (m, 1H, OCH), 3.37 (b s, 4H, Piperazin-Amid- $(\text{CH}_2)_2$ ), 3.29-3.15 (m, 2H,  $\text{C}_2$ ), 3.02 (t, 2H,  $\text{C}_3$ ), 2.49 (m, 2H, Piperazin  $\text{CH}_2$ ), 2.40 (m, 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2.10 (m, 2H, Piperazin  $\text{CH}_2$ ), 1.48 (s, 9H,  $\text{tBuCH}_3$ );

$^{13}\text{C}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 192.0 ( $\text{C}_1$ ), 159.0 ( $\text{C}_3''$ ), 154.6 (N-C=O-O), 141.7 ( $\text{C}_1'$ ), 132.7 ( $\text{C}_5''$ ), 128.42+128.38 ( $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_5'$ ,  $\text{C}_6'$ ), 125.9 ( $\text{C}_4'$ ), 123.1 ( $\text{C}_5''$ ), 116.6 ( $\text{C}_4''$ ), 79.8 ( $\text{C-tBU}$ ), 73.2 ( $\text{OCH}_2$ ), 65.1 (OCH), 52.8 (Piperazin  $\text{CH}_2$ ), 43.6 ( $\text{C}_2$  + Amid-Piperazin- $\text{CH}_2$ ), 43.6 ( $\text{C}_2$ ), 28.4 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ );

### Elementaranalyse:

| Element | Berechnet [w-%] | Gefunden [w-%] | Differenz [w-%] |
|---------|-----------------|----------------|-----------------|
| C       | 63,27           | 63,15          | 0,12            |
| H       | 7,22            | 7,33           | -0,11           |
| N       | 5,9             | 5,89           | 0,01            |
| S       | 6,76            | 6,47           | 0,29            |

### 3.3.6 1-{3-[3-(3,4-Dihydro-2H-quinolin-1-yl)-2-hydroxy-propoxy]-thiophen-2-yl}-3-phenyl-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösungsmittel:

| Substanz            | Masse [g] | Volumen [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|---------------------|-----------|--------------|---------------|------------|------------------|----------|
| Buildingblock II    | 0,150     |              |               | 288,37     | 0,00052017       | 1        |
| Tetrahydrochinoline | 0,076     |              |               | 133,19     | 0,00057218       | 1,1      |
| Ethanol             |           | 3            |               |            |                  |          |
| Toluol              |           | 9            |               |            |                  |          |

#### Equipment:

25ml Rundkolben, Rückflusskühler, Ölbad, Magnetrührer, Rotationsverdampfer, Chromatographiesäule (Länge 20cm, Durchmesser 2cm)

#### Arbeitsvorschrift:

In einem Rundkolben wurden 150mg von Buildingblock I, sowie 76mg Tetrahydrochinoline vorgelegt. Diese wurden mit 3ml Ethanol und 9ml Toluol in Lösung gebracht und bei 110°C Ölbadtemperatur für 18 Stunden gekocht. Danach wurde das Lösemittel abgedampft.

Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie aufgetrennt (Laufmittel) und es wurden 30mg des gewünschten Produkts isoliert, die sich aber über Nacht zersetzten und somit für eine weitere Testung nicht zur Verfügung standen.

Ausbeute Theorie: 219 mg

Ausbeute Praxis: 30 mg (entspricht 13% d. Theorie)

### Analytik

DC-System:

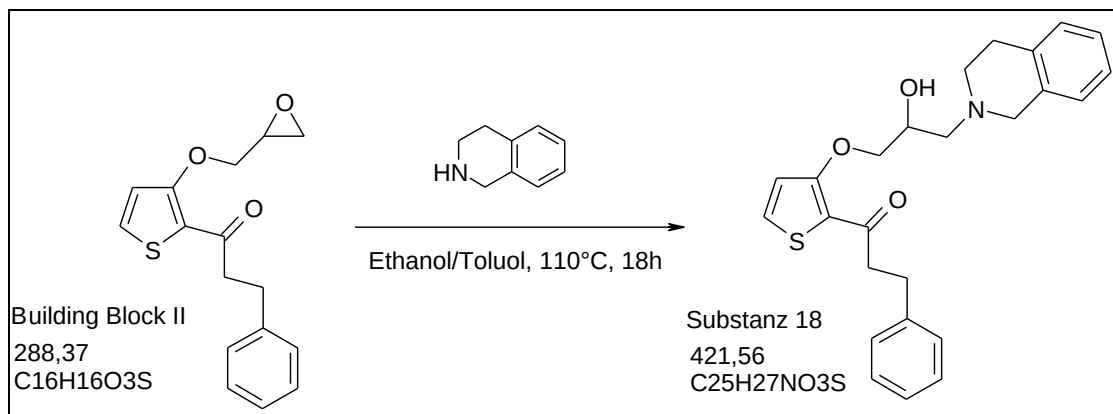
Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak conc. 15+1+0,1

Auftragsvolumen: 5

Detektion: UV Detektion bei 250nm und mittels Iodfärbung

Rf-Wert: 0,62

### 3.3.7 1-{3-[3-(3,4-Dihydro-2H-quinolin-1-yl)-2-hydroxy-propoxy]-thiophen-2-yl}-3-phenyl-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösungsmittel:

| Substanz               | Masse [g] | Volumen [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|------------------------|-----------|--------------|---------------|------------|------------------|----------|
| Buildingblock II       | 0,150     |              |               | 288,37     | 0,00052017       | 1        |
| Tetrahydroisochinoline | 0,076     |              |               | 133,19     | 0,00057218       | 1,1      |
| Ethanol                |           | 3            |               |            |                  |          |
| Toluol                 |           | 9            |               |            |                  |          |

#### Equipment:

25ml Rundkolben, Rückflusskühler, Ölbad, Magnetrührer, Rotationsverdampfer, Chromatographiesäule (Länge 20cm, Durchmesser 2cm)

#### Arbeitsvorschrift:

In einem Rundkolben wurden 150mg von Buildingblock I, sowie 76mg Tetrahydrochinoline vorgelegt. Diese wurden mit 3ml Ethanol und 9ml Toluol in Lösung gebracht und bei 110°C Ölbadtemperatur für 18 Stunden gekocht. Danach wurde das Reaktionsgemisch abgekühlt mit Ethylacetat verdünnt und gegen 2N Salzsäure ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft.

Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie aufgetrennt (Laufmittel Toluol/MTBE 3+1) und es wurden 40mg des gewünschten Produkts isoliert. Leider

zersetzte sich das Produkt über Nacht, daher stand es für Testungen nicht zur Verfügung.

Ausbeute Theorie: 219 mg

Ausbeute Praxis: 65mg (entspricht 29,6% der Theorie)

### Analytik

DC-System:

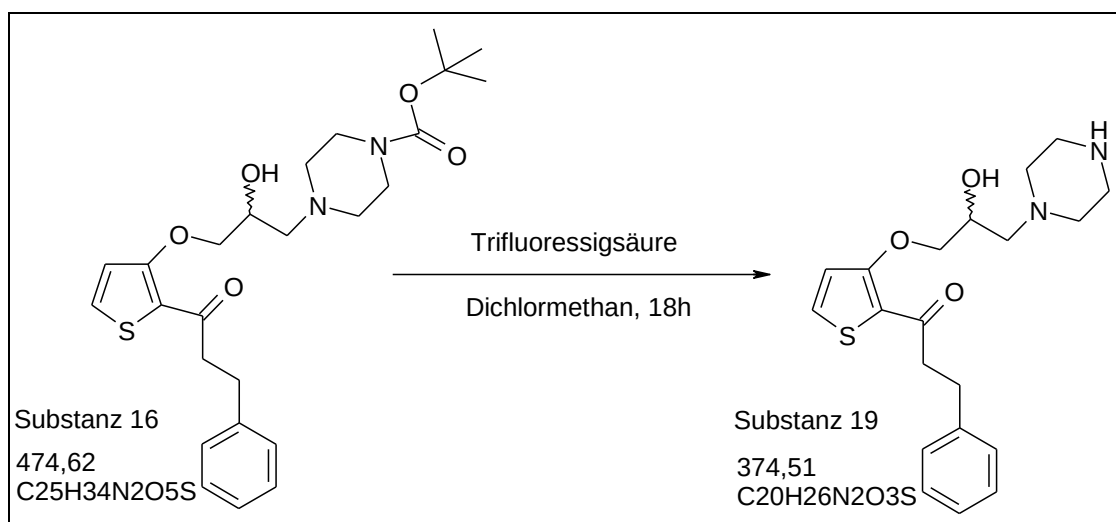
Laufmittel: Toluol/MTBE 3+1

Auftragsvolumen: 5

Detektion: UV Detektion bei 250nm und mittels Iodfärbung

Rf-Wert: 0,62

### 3.3.8 1-[3-(2-Hydroxy-3-piperazin-1-yl-propoxy)-thiophen-2-yl]-3-phenyl-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz           | Masse [g] | Volumen [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|--------------------|-----------|--------------|---------------|------------|------------------|----------|
| MFMA012B           | 0,120     |              |               | 474,62     | 0,00025283       | 1        |
| Dichlormethan      | 6,650     | 5            | 1,33          | 84,93      | 0,07829978       | 309      |
| Trifluoressigsäure | 2,96      | 2            | 1,48          | 114,02     | 0,02596036       | 102      |
| Natriumsulfat      | 10        |              |               |            |                  |          |

#### Equipment:

25ml Rundkolben, Magnetrührer, Rotationsverdampfer, Chromatographiesäule (Länge 20cm, Durchmesser 2cm)

#### Arbeitsvorschrift:

In einem Rundkolben wurden 120mg des Edukts in Dichlormethan gelöst und 2ml Trifluoressigsäure zugegeben. Danach wurde 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Edukt wurde entschützt und vollständig in das TFA-Salz übergeführt. Danach wurde mit Bicarbonatlösung gerührt, um die Base freizusetzen. Die organische Phase wurde mehrmals mit Bicarbonatlösung gewaschen und die vereinigten wässrigen Phasen nochmals mit Dichlormethan rückextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und am Rotavapor eingedampft.

Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie aufgetrennt (Laufmittel DCM/Methanol/Ammoniak conc. 19+1+0,1) und es wurden 80mg des gewünschten Produkts isoliert.

Ausbeute Theorie: 94,6mg

Ausbeute Praxis: 80mg (entspricht 84,5%)

### Analytik

DC-System:

Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak conc. 15+1+0,1

Auftragsvolumen: 5 µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und mittels Iodfärbung

Rf-Wert: 0,2

Schmelzpunkt: 117-119°C

NMR-Daten:

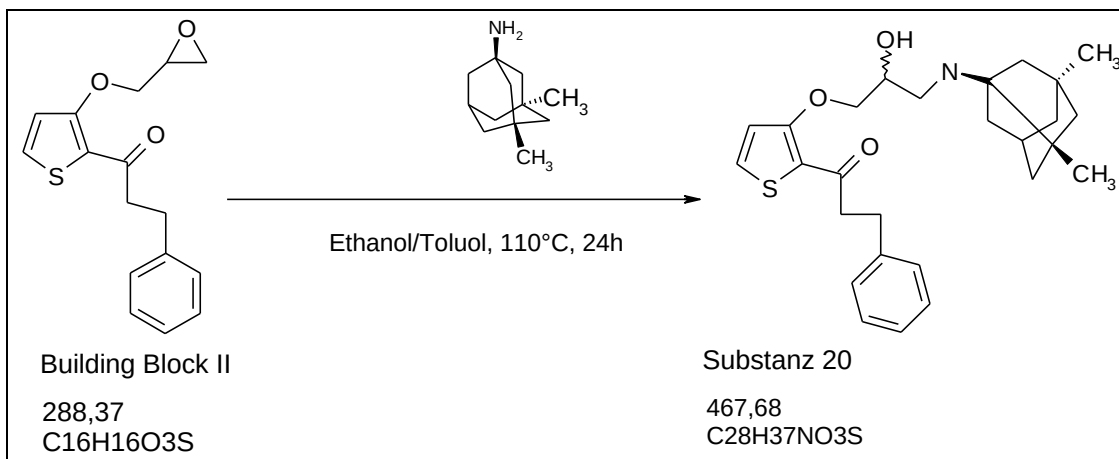
$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 7.5 (d,  $J = 3.75$  Hz, 1H,  $\text{C}_5''$ ), 7.18 (m, 5H,  $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_5'$ ,  $\text{C}_6'$ ,  $\text{CDCl}_3$ ), 7.12 (b s, 1H,  $\text{C}_4'$ ), 6.85 (d, 1H,  $J=5.35$ Hz,  $\text{C}_4''$ ), 4.15 (d, 2H,  $J=2.8$  Hz,  $\text{OCH}_2$ ), 4.01 (s, 1H, OCH), 3.27 (m, 2H,  $\text{C}_2$ ), 3.22 (t, 2H,  $\text{C}_3$ ), 3.02 (m, 2H, Piperazin  $\text{CH}_2$ ), 2.42 (m, 2H,  $\text{NCH}_2$ ), 2.49-2.17 (m, 2H, Piperazin  $\text{CH}_2$ ),

$^{13}\text{C}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 192.1 ( $\text{C}_1$ ), 159.1 ( $\text{C}_3''$ ), 141.7 ( $\text{C}_1'$ ), 132.7 ( $\text{C}_5''$ ), 128.4+128.3 ( $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_5'$ ,  $\text{C}_6'$ ), 125.9 ( $\text{C}_4'$ ), 123.1 ( $\text{C}_2''$ ), 116.7 ( $\text{C}_4''$ ), 73.5 ( $\text{OCH}_2$ ), 64.9 (OCH), 60.98 ( $\text{NCH}_2$ ), 54.4 (Piperazin  $\text{CH}_2$ ), 43.4. ( $\text{C}_2$ ), 30.1 ( $\text{C}_1$ );

Elementaranalyse:

| Element | Berechnet [w-%] | Gefunden [w-%] | Differenz [w-%] |
|---------|-----------------|----------------|-----------------|
| C       | 64,14           | 66,25          | -2,11           |
| H       | 7               | 6,16           | 0,84            |
| N       | 7,48            | 4,14           | 3,34            |
| S       | 8,56            | 9,29           | -0,73           |

### 3.3.9 1-{3-[3-(Adamantan-1-ylamino)-2-hydroxy-propoxy]-thiophen-2-yl}-3-(4-methoxy-phenyl)-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz         | Masse<br>[g] | Volumen<br>[ml] | Dichte<br>[g/ml] | MG<br>[g/mol] | Stoffmenge<br>[mol] | Äquival. |
|------------------|--------------|-----------------|------------------|---------------|---------------------|----------|
| Buildingblock II | 0,100        |                 |                  | 288,37        | 0,00034678          | 1        |
| Memantine . HCl  | 0,082        |                 |                  | 215,77        | 0,00038145          | 1,1      |
| Dichlormethan    |              | 5               |                  |               |                     |          |
| Bicarbonatlösung |              | 15              |                  |               |                     |          |
| Ethanol          |              | 3               |                  |               |                     |          |
| Toluol           |              | 9               |                  |               |                     |          |

#### Equipment:

25ml Rundkolben, Rückflusskühler, Ölbad, Magnetrührer, Rotationsverdampfer, Chromatographiesäule (Länge 20cm, Durchmesser 2cm)

#### Arbeitsvorschrift:

Memantin-Hydrochlorid wurde in Dichlormethan gelöst und solange mit Bicarbonatlösung geschüttelt (3 Mal), bis die Base vollständig freigesetzt war. Danach wurde die organische Phase mit Natriumsulfat getrocknet und einrotiert.

Dem Rundkolben wurden danach 100mg von Buildingblock I zugefügt. Diese wurden mit 3ml Ethanol und 9ml Toluol in Lösung gebracht und bei 110°C Ölbadtemperatur für 24 Stunden gekocht. Danach wurde das Lösemittel abgedampft.

Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie aufgetrennt (Laufmittel Dichlormethan/Methanol/Ammoniak conc. 19+1+0,1) und es wurden 60mg des gewünschten Produkts isoliert.

Ausbeute Theorie: 206,35mg

Ausbeute Praxis: 60,00mg (entspricht 30%)

### Analytik

DC-System:

Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak conc. 15+1+0,1

Auftragsvolumen: 5 µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und mittels Iodfärbung

Rf-Wert: 0,32

Schmelzpunkt: 86 – 87°C

NMR-Daten:

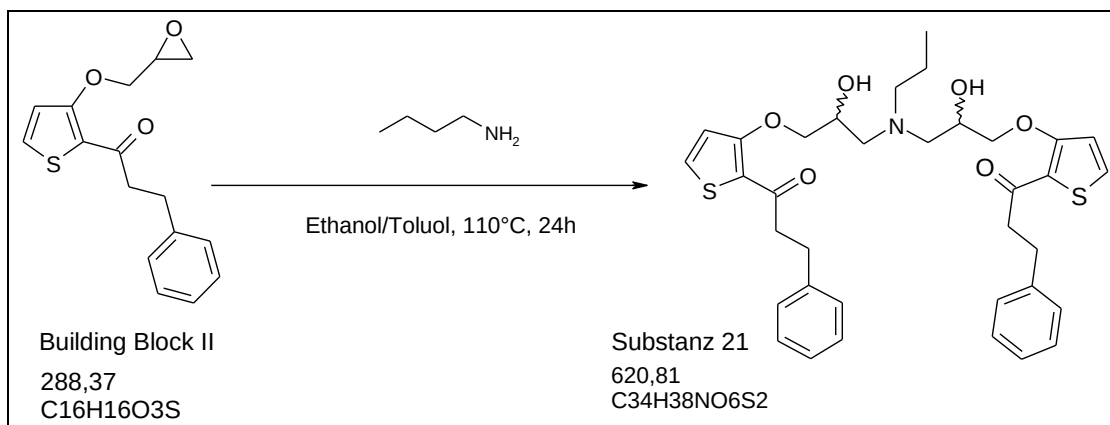
$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 7.49 (d,  $J = 5.35$  Hz, 1H,  $\text{C}_5''$ ), 7.25 (m, 5H,  $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_5'$ ,  $\text{C}_6'$ ,  $\text{CDCl}_3$ ), 7.18 (b s, 1H,  $\text{C}_4'$ ), 6.86 (d, 1H,  $J=5.35\text{Hz}$ ,  $\text{C}_4''$ ), 4.17-4.09 (m, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 3.85 (s, 1H, OCH), 3.29-3.17 (m, 2H,  $\text{C}_2$ ), 3.03 (t, 2H,  $\text{C}_3$ ), 2.84 (dd, 1H,  $J_1=12$ ,  $J_2=3.25$ ,  $J=102$ ,  $\text{NCHH}$ ), 2.63 (dd, 1H,  $J_1=12$ ,  $J_2=7.9$ ,  $J=102$ ,  $\text{NCHH}$ ), 2.12 (d, 1H,  $\text{Ad}_7$ ), 1.38 (m, 1H,  $\text{Ad}_8$ ), 1.27 (s, 2H,  $\text{Ad}_{6,7}$ ), 1.23 (d, 2H,  $J=12.6$ ,  $\text{Ad}_{2,9}$ ), 1.12 (m, 1H,  $\text{Ad}_4$ ), 0.82 (s, 6H,  $2\times\text{CH}_3$ );

$^{13}\text{C}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 192.1 ( $\text{C}_1$ ), 159.3 ( $\text{C}_3''$ ), 141.6 ( $\text{C}_1'$ ), 132.6 ( $\text{C}_5''$ ), 128.41+128.38 ( $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_5'$ ,  $\text{C}_6'$ ), 125.9 ( $\text{C}_4'$ ), 116.84 ( $\text{C}_4''$ ), 73.9 ( $\text{OCH}_2$ ), 68.1 (OCH), 52.3 ( $\text{Ad}_1$ ), 50.8 ( $\text{Ad}_8$ ), 48.9 ( $\text{Ad}_{2,9}$ ), 42.95. ( $\text{C}_2$ ), 42.84 ( $\text{Ad}_{6,10}$ ), 42.52 ( $\text{NCH}_2$ ), 41.27 ( $\text{Ad}_4$ ), 32.38 ( $\text{Ad}_{3,5}$ ), 30.1 ( $2\times\text{CH}_3 + \text{Ad}_7$ );

Elementaranalyse:

| Element | Berechnet [w-%] | Gefunden [w-%] | Differenz [w-%] |
|---------|-----------------|----------------|-----------------|
| C       | 69,05           | 69,33          | -0,28           |
| H       | 7,51            | 7,46           | 0,05            |
| N       | 2,98            | 2,91           | 0,07            |
| S       | 6,83            | 6,81           | 0,02            |

### 3.3.10 1-{3-[2-Hydroxy-3-({2-hydroxy-3-[2-(3-phenyl-propionyl)-thiophen-3-yloxy]-propyl}-propyl-amino)-propoxy]-thiophen-2-yl}-3-phenyl-propan-1-on



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz         | Masse [g] | Volumen [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|------------------|-----------|--------------|---------------|------------|------------------|----------|
| Buildingblock II | 0,100     |              |               | 288,37     | 0,00034678       | 1        |
| Propylamin       | 0,023     |              |               | 59,11      | 0,00038145       | 1,1      |
| Ethanol          |           | 3            |               |            |                  |          |
| Toluol           |           | 9            |               |            |                  |          |

#### Equipment:

25ml Rundkolben, Rückflusskühler, Ölbad, Magnetrührer, Rotationsverdampfer, Chromatographiesäule (Länge 20cm, Durchmesser 2cm)

#### Arbeitsvorschrift:

In einem Rundkolben wurden 100mg von Buildingblock II und Propylamin vorgelegt. Diese wurden mit 3ml Ethanol und 9ml Toluol in Lösung gebracht und bei 110°C Ölbadtemperatur für 24 Stunden gekocht. Danach wurde das Lösemittel abgedampft.

Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie aufgetrennt. Es wurden 10 Fraktionen mit dem Laufmittel Toluol 1: MTBE 5 gesammelt und 26 Fraktionen mit Toluol 3:Aceton 5 und es konnten 50mg des gewünschten Produkts isoliert werden.

Ausbeute Theorie: 215, 28mg  
Ausbeute Praxis: 60,00mg (entspricht 23%)

### Analytik

DC-System:

Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak conc. 15+1+0,1

Auftragsvolumen: 5 µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und mittels Iodfärbung

Rf-Wert: 0,54

Schmelzpunkt: 95°C

NMR-Daten:

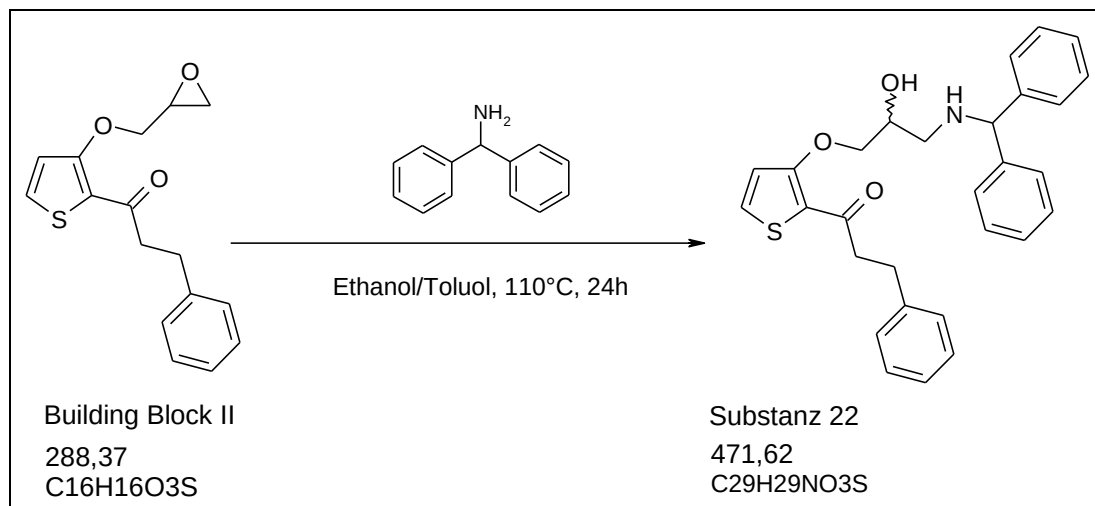
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ) 7.49 (7, 2H, C<sub>5''</sub>), 7.24 (s, 12H, C<sub>2'</sub>, C<sub>3'</sub>, C<sub>5'</sub>, C<sub>6'</sub>, CDCl<sub>3</sub>), 7.15 (t, 2H, C<sub>4'</sub>), 6.83 (d, 2H, J=5.35Hz, C<sub>4''</sub>), 4.07 (d, 4H, J=4.1 Hz, OCH<sub>2</sub>), 3.98-3.94 (m, 2H, OCH), 3.21-3.19 (m, 4H, C<sub>2</sub>), 3.02 (t, 2H, C<sub>3</sub>), 2.66 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>), 2.56 (m, 2H, C<sub>1'''</sub>), 1.37 (m, 2H, C<sub>2'''</sub>), 0.82 (m, 3H C<sub>3'''</sub>);

<sup>13</sup>C NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ) 192.02 (C<sub>1</sub>), 159.13 (d, J=24.5Hz, C<sub>3''</sub>), 141.53 (d, J=18.35Hz, C<sub>1'</sub>), 132.61 (d, J=30.65Hz, C<sub>5''</sub>), 128.39 (d, J= 12.25Hz, C<sub>2'</sub>, C<sub>3'</sub>, C<sub>5'</sub>, C<sub>6'</sub>), 125.96 (d, J=12.25Hz, C<sub>4'</sub>), 122.82 (C<sub>2''</sub>), 116.88 (d, J=49Hz, C<sub>4''</sub>), 73.85 (d, J=42.8Hz, OCH<sub>2</sub>), 67.50 (d, J=336.0Hz, OCH), 57.9 (d, J=190Hz, NCH<sub>2</sub>), 57.48 (d, J=24.5Hz, C<sub>1'''</sub>), 43.12 (C<sub>2</sub>), 30.07 (C<sub>1</sub>), 20.17 (d, J=30.65Hz, C<sub>2'''</sub>), 11.36 (C<sub>3'''</sub>);

Elementaranalyse:

Für eine Elementaranalyse stand nicht genug Substanz zur Verfügung.

### 3.3.11 1-{3-[3-(Benzhydryl-amino)-2-hydroxy-propoxy]-thiophen-2-yl}-3-phenyl-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz            | Masse [g] | Volumen [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|---------------------|-----------|--------------|---------------|------------|------------------|----------|
| Buildingblock II    | 0,100     |              |               | 288,37     | 0,00034678       | 1        |
| Aminodiphenylmethan | 0,070     |              |               | 183,25     | 0,00038145       | 1,1      |
| Ethanol             |           | 3            |               |            |                  |          |
| Toluol              |           | 9            |               |            |                  |          |

#### Equipment:

25ml Rundkolben, Rückflusskühler, Ölbad, Magnetrührer, Rotationsverdampfer, Chromatographiesäule (Länge 20cm, Durchmesser 2cm)

#### Arbeitsvorschrift:

Dem Rundkolben wurden danach 100mg von Buildingblock II zugefügt. Diese wurden mit 3ml Ethanol und 9ml Toluol in Lösung gebracht und bei 110°C Ölbadtemperatur für 24 Stunden gekocht. Danach wurde das Lösemittel abgedampft.

Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie aufgetrennt (Laufmittel Dichlormethan/Methanol/Ammoniak conc. 19+1+0,1) und es wurden 60mg eines entstandenen Produkts isoliert.

Ausbeute Theorie: 206,35mg  
Ausbeute Praxis: 60,00mg (entspricht 30%)

### Analytik

DC-System:

Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak conc. 15+1+0,1

Auftragsvolumen: 5 µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und mittels Iodfärbung

Rf-Wert: 0,32

Schmelzpunkt: 95°C

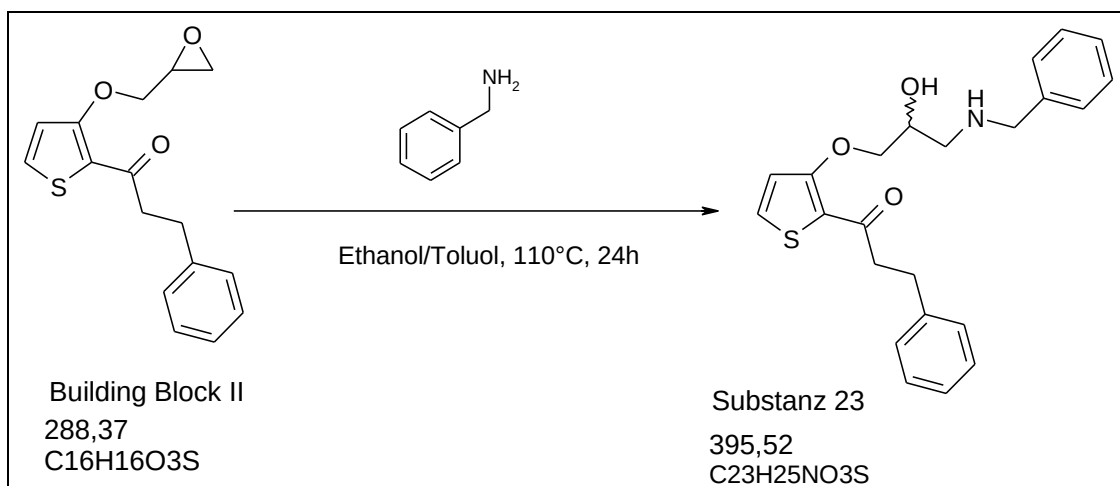
NMR-Daten:

Aufgrund von technischen Schwierigkeiten konnte kein NMR gemessen werden.

Elementaranalyse:

Für eine Elementaranalyse stand nicht genug Substanz zur Verfügung.

### 3.3.12 -{3-[3-(2-Ethylidene-pent-3-enylamino)-2-hydroxy-propoxy]-thiophen-2-yl}-3-phenyl-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz            | Masse [g] | Volumen [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|---------------------|-----------|--------------|---------------|------------|------------------|----------|
| Buildingblock II    | 0,100     |              |               | 288,37     | 0,00034678       | 1        |
| Aminodiphenylmethan | 0,070     |              |               | 183,25     | 0,00038145       | 1,1      |
| Ethanol             |           | 3            |               |            |                  |          |
| Toluol              |           | 9            |               |            |                  |          |

#### Equipment:

25ml Rundkolben, Rückflusskühler, Ölbad, Magnetrührer, Rotationsverdampfer, Chromatographiesäule (Länge 20cm, Durchmesser 2cm)

#### Arbeitsvorschrift:

Dem Rundkolben wurden danach 100mg von Buildingblock II zugefügt. Diese wurden mit 3ml Ethanol und 9ml Toluol in Lösung gebracht und bei 110°C Ölbadtemperatur für 24 Stunden gekocht. Danach wurde das Lösemittel abgedampft.

Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie aufgetrennt (Laufmittel Dichlormethan/Methanol/Ammoniak conc. 19+1+0,1) und es wurden 60mg des gewünschten Produkts isoliert.

Ausbeute Theorie: 206,35mg  
Ausbeute Praxis: 60,00mg (entspricht 30%)

### Analytik

DC-System:

Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak conc. 15+1+0,1

Auftragsvolumen: 5 µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und mittels Iodfärbung

Rf-Wert: 0,32

Schmelzpunkt: 95°C

NMR-Daten:

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 7.48 (d,  $J=5.35\text{Hz}$ , 1H,  $\text{C}_5''$ ), 7.33-7.23 (m, 5H,  $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_5'$ ,  $\text{C}_6'$ ,  $\text{CDCl}_3$ ), 7.17 (t, 5H,  $\text{C}_2'''$ ,  $\text{C}_3'''$ ,  $\text{C}_4'''$ ,  $\text{C}_5'''$ ,  $\text{C}_6'''$ ), 6.84 (d, 1H,  $J=5.35\text{Hz}$ ,  $\text{C}_4''$ ), 4.14 (d, 2H,  $J=5\text{Hz}$ ,  $\text{OCH}_2$ ), 3.99-3.95 (m, 1H, OCH), 3.71 (dd, 2H,  $J_1=13.25\text{Hz}$ ,  $J_2=12.9\text{Hz}$ , Bu- $\text{CH}_2$ ), 3.25-3.14 (m, 2H,  $\text{C}_2$ ), 3.01 (t, 2H,  $\text{C}_3$ ), 2.82 (dd, 1H,  $J_1=4.1\text{Hz}$ ,  $J_2=8.1\text{Hz}$ , NCHH), 2.70 (dd, 1H,  $J_1=8.2\text{Hz}$ ,  $J_2=4.1\text{Hz}$ , NCHH);

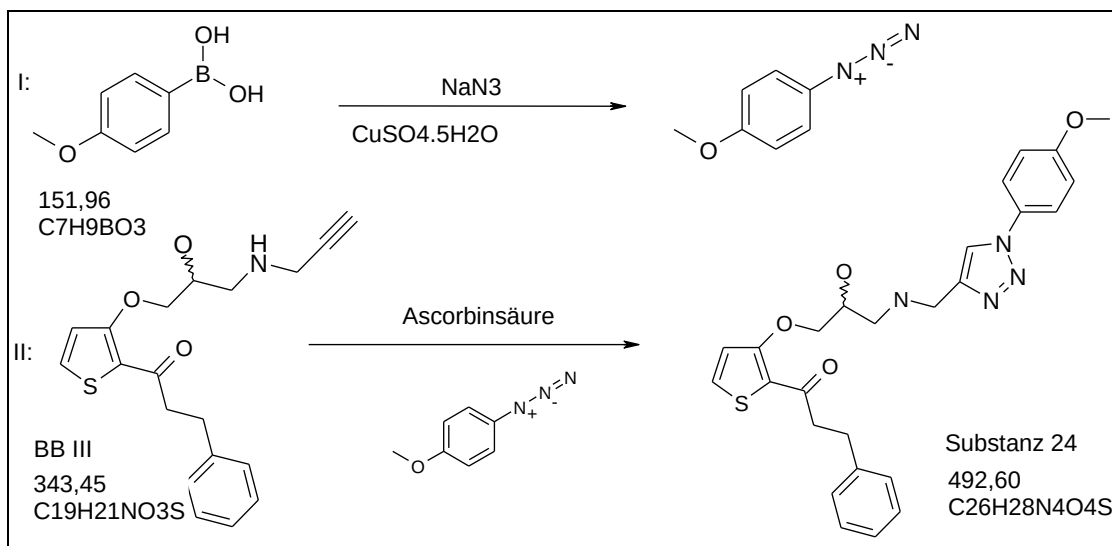
$^{13}\text{C}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 192.09 ( $\text{C}_1$ ), 159.16 ( $\text{C}_2''$ ), 141.56 ( $\text{C}_1'$ ), 139.68 ( $\text{C}_1'''$ ), 132.58 ( $\text{C}_5''$ ), 128.39 (q,  $\text{C}_2'$ ,  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_5'$ ,  $\text{C}_6'$ ), 126.5 (d,  $\text{C}_2'''$ ,  $\text{C}_3'''$ ,  $\text{C}_5'''$ ,  $\text{C}_6'''$ ), 122.83 ( $\text{C}_3''$ ), 116.83 ( $\text{C}_4''$ ), 73.88 ( $\text{OCH}_2$ ), 67.90 (OCH), 53.63 (Bn- $\text{CH}_2$ ), 50.94 (NCH $_2$ ), 43.12 ( $\text{C}_2$ ), 30.08 ( $\text{C}_1$ );

Elementaranalyse:

| Element | Berechnet [w-%] | Gefunden [w-%] | Differenz [w-%] |
|---------|-----------------|----------------|-----------------|
| C       | 69,85           | 69,56          | 0,29            |
| H       | 6,37            | 6,56           | -0,19           |
| N       | 3,54            | 3,56           | -0,02           |
| S       | 8,11            | 7,7            | 0,41            |

### 3.4 Anwendung der Click-Chemie

#### 3.4.1 1-[3-(2-Hydroxy-3-{[1-(4-methoxy-phenyl)-1H-[1,2,3]triazol-4-ylmethyl]-amino}-propoxy)-thiophen-2-yl]-3-phenyl-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz                             | Masse [g] | Volumen [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|--------------------------------------|-----------|--------------|---------------|------------|------------------|----------|
| I:                                   |           |              |               |            |                  |          |
| Methoxyphenylboronsäure              | 0,060     |              |               | 151,96     | 0,000394841      | 1        |
| Natriumazid                          | 0,067     |              |               | 142,04     | 0,000473809      | 1,2      |
| CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O | 0,010     |              |               | 249,69     | 3,94841E-05      | 0,1      |
| Methanol                             |           | 15           |               |            |                  |          |
| II:                                  |           |              |               |            |                  |          |
| Building Block III                   | 0,15      |              |               | 343,45     | 0,000436745      | 1,1      |
| Ascorbinsäure                        | 0,035     |              |               | 176,13     | 0,00019742       | 0,5      |
| Methanol                             |           | 5            |               |            |                  |          |

#### Equipment:

25ml Rundkolben, Rückflusskühler, Ölbad, Magnetrührer, Rotationsverdampfer, Chromatographiesäule (Länge 20cm, Durchmesser 2cm), Präparative DC-Platte

#### Arbeitsvorschrift:

Kupfersulfat und Natriumazid wurden in einem trockenen Kolben vorgelegt. Danach wurde die Methoxyphenylboronsäure in Methanol gelöst und zugesetzt. Die Lösung färbte sich augenblicklich orangerot-gründlich, allerdings ist die Umsetzung auch

nach zwei Stunden noch nicht vollständig, daher wird das Reaktionsgemisch über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und danach ist die Umsetzung vollständig.

Danach wird Ascorbinsäure zugesetzt. Die Lösung färbt sich von orangebraun nach gelb, später nach farblos. Building Block III wird teilweise in Methanol gelöst und zugegeben. Nach etwa einer Minute ist färbt sich das Reaktionsgemisch zitronengelb und wird trüb. Es wird für drei weitere Stunde gerührt, danach wird das der Ansatz eingedampft.

#### Aufarbeitung:

Es wird mit Dichlormethan 19 + Methanol 1+ Ammoniak 0,1 gesäult. Die Verunreinigungen konnten war abgereichert werden, allerdings wurde zur vollständigen Reinigung eine präparative Dünnschichtchromatographie angewendet. Anschließend wurde aus Dichlormethan: Ether 1+1 kristallisiert.

Ausbeute Theorie: 206,35mg

Ausbeute Praxis: 60,00mg (entspricht 30%)

#### Analytik

DC-System:

Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak conc. 19+1+0,1

Auftragsvolumen: 5 µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und mittels Iodfärbung

Rf-Wert: 0,32

Schmelzpunkt: 131-133°C

NMR-Daten:

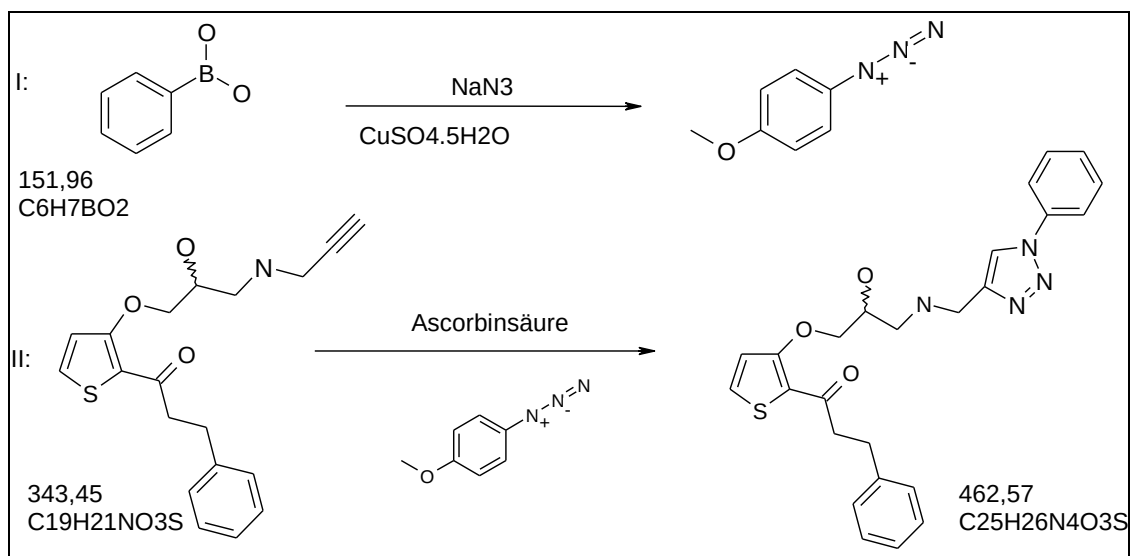
<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ) 7.79 (s, 1HCb), 7.59 (d, 2H, J=9.15, C2<sup>m</sup> C6<sup>m</sup>), 7.48 (d, J=5.35Hz, 1H, C5<sup>m</sup>), 7.19 (m, 5H, C2, C3, C5, C6, CDCl<sub>3</sub>), 7.15 (d, 1H, J=5.35Hz, C4<sup>r</sup>), 7.00 (d, 2H, J=8.85, C3<sup>m</sup>, C5<sup>m</sup>), 6.85 (d, 1H, J=5.35Hz, C4<sup>m</sup>), 4.16 (t, 2H, OCH<sub>2</sub>), 4.09 (br s, 1H, OCH), 3.93 (s, 2H, Triazol-CH<sub>2</sub>), 3.86 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.22-3.18 (m, 2H, C<sub>2</sub>), 3.02-2.92 (m, 2H, C<sub>3</sub>), 2.83 (d, 1H, J=8.2Hz, NCHH), 2.80 (d, 1H, J<sub>1</sub>=7.85Hz, NCHH);

$^{13}\text{C}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 192.04 ( $\text{C}_1$ ), 159.83 ( $\text{C}_{4''}$ ), 159.27 ( $\text{C}_{3''}$ ), 146.38 ( $\text{C}_a$ ), 141.52 ( $\text{C}_{1'}$ ), 132.48 ( $\text{C}_{5''}$ ), 130.42 ( $\text{C}_{1''}$ ), 128.43+128.36 ( $\text{C}_{2'}$ ,  $\text{C}_{3'}$ ,  $\text{C}_{5'}$ ,  $\text{C}_{6'}$ ), 125.52 ( $\text{C}_{4'}$ ), 122.51 ( $\text{C}_{2''}$ ), 122.11 ( $\text{C}_{2''}$ ,  $\text{C}_{6''}$ ), 120.17 ( $\text{C}_b$ ), 116.89 ( $\text{C}_{4''}$ ), 114.77 ( $\text{C}_{3''}$ ,  $\text{C}_{5''}$ ), 74.07 ( $\text{OCH}_2$ ), 67.94 ( $\text{OCH}$ ), 55.62 ( $\text{OCH}_3$ ), 55.60 ( $\text{NCH}_2$ ), 44.30 (Triazol- $\text{CH}_2$ ), 43.11 ( $\text{C}_2$ ), 30.12 ( $\text{C}_3$ );

Elementaranalyse:

| Element | Berechnet [w-%] | Gefunden [w-%] | Differenz [w-%] |
|---------|-----------------|----------------|-----------------|
| C       | 63,4            | 60,38          | 3,02            |
| H       | 5,73            | 5,88           | -0,15           |
| N       | 11,37           | 9,69           | 1,68            |
| S       | 6,51            | 6,04           | 0,47            |

### 3.4.2 1-(3-{2-Hydroxy-3-[(1-phenyl-1H-[1,2,3]triazol-4-ylmethyl)-amino]-propoxy}-thiophen-2-yl)-3-phenyl-propan-1-one



#### Verwendete Reagenzien und Lösemittel:

| Substanz                             | Masse [g] | Volumen [ml] | Dichte [g/ml] | MG [g/mol] | Stoffmenge [mol] | Äquival. |
|--------------------------------------|-----------|--------------|---------------|------------|------------------|----------|
| <b>I:</b>                            |           |              |               |            |                  |          |
| Phenylboronsäure                     | 0,048     |              |               | 120,16     | 0,000396971      | 1        |
| Natriumazid                          | 0,068     |              |               | 142,04     | 0,000476365      | 1,2      |
| CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O | 0,010     |              |               | 249,69     | 3,96971E-05      | 0,1      |
| Methanol                             |           | 15           |               |            |                  |          |
| <b>II:</b>                           |           |              |               |            |                  |          |
| Building Block III                   | 0,15      |              |               | 343,45     | 0,000436745      | 1,1      |
| Ascorbinsäure                        | 0,035     |              |               | 176,13     | 0,000198485      | 0,5      |
| Methanol                             |           | 5            |               |            |                  |          |

#### Equipment:

25ml Rundkolben, Rückflusskühler, Ölbad, Magnetrührer, Rotationsverdampfer, Chromatographiesäule (Länge 20cm, Durchmesser 2cm), Präparative DC-Platte

#### Arbeitsvorschrift:

Kupfersulfat und Natriumazid wurden in einem trockenen Kolben vorgelegt. Danach wurde die Phenylboronsäure in Methanol gelöst und zugesetzt. Die Lösung färbte sich augenblicklich orangerot und das Reaktionsgemisch wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt bis zur vollständigen Umsetzung.

Ascorbinsäure zugesetzt und die Lösung färbt sich gelb, später nach farblos. Building Block III wird danach teilweise in Methanol gelöst und zugegeben. Nach etwa einer Minute wird das Reaktionsgemisch trüb. Es wird für drei weitere Stunde gerührt, danach wird das der Ansatz eingedampft.

#### Aufarbeitung:

Es wird mit Dichlormethan 19 + Methanol 1+ Ammoniak 0,1 gesäult. Die Verunreinigungen konnten war abgereichert werden, allerdings wurde zur vollständigen Reinigung eine präparative Dünnschichtchromatographie angewendet. Anschließend wurde aus Dichlormethan: Ether 1+1 kristallisiert.

Ausbeute Theorie: 202mg

Ausbeute Praxis: 86,25mg (entspricht 42,7%)

#### Analytik

DC-System:

Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak conc. 20+1+0,1

Auftragsvolumen: 5 µl

Detektion: UV Detektion bei 250nm und mittels Iodfärbung

Rf-Wert: 0,32

Schmelzpunkt: 143°C

NMR-Daten:

Aufgrund der Instabilität der Substanz konnten keine zufriedenstellenden Meßdaten gesammelt werde.

Elementaranalyse:

Für eine Elementaranalyse stand nicht genug Substanz zur Verfügung.

## **4 TESTERGEBNISSE**

### **4.1 Beschreibung des Test-Essays**

Zur Testung der gewonnen Substanzen wurde eine HRP2 (histidine-rich protein 2) enzyme-linked immuno assay (ELISA) durchgeführt. Verwendet wurde dabei eine spezielle Methode, die 2005 von Harald Noedl et al. publiziert wurde<sup>13</sup>.

#### **Gewinnung der Samples:**

Es wurden hierfür Samples von 18 erwachsenen symptomatischen Patienten der Malariakliniken in Mae Sot, So Oh, und Chedi Koh in der Provinz Tak im westlichen Thailand verwendet. Die Parasitendichte der Samples variierte dabei zwischen 0.01 und 0,95% (0,27% im geometrischen Mittel). Die Kultivierung erfolgte nach einem bereits 2004 publizierten Protokoll<sup>14</sup>.

#### **Kulturplatten:**

Es wurden Stock-Lösungen der Testsubstanzen (1mg/ml) hergestellt, welche dann mit destilliertem Wasser auf die gewünschten Konzentrationen verdünnt wurden. Jeweils zwei Verdünnungsreihen (sieben Konzentrationen der Substanzen plus ein substanzfreies Well) wurden je Substanz angelegt und auf 96-Well-Platten mittels einer semiautomatisierten Mikrodilutionstechnik angelegt (25µl/well). Die Platten wurden danach über Nacht in einem Inkubator bei 37°C getrocknet und bei 4°C gelagert.

#### **Zellkultur:**

Zur Kultur wurden dann 200 µl Zellmedium mittels einer Multichannel-Pipette in jedes bereits mit Testsubstanz vorimprägnierte Well pipettiert. Dabei wurden je Platte etwa 10 Blindproben angelegt. Die Platten wurden dann, bei 37°C, für 72 Stunden in Gefäßen kultiviert. Nach den ersten 24 Stunden wurden die Inhalte von vier Kontrollwells geerntet und in ein Eppendorf-Gefäß übergeführt und bei -20°C gelagert. Diese Samples wurden im ELISA verwendet um den Background abzuziehen.

Am Ende der Inkubationszeit wurden dann aus einem der Kontrollwells dicke und dünne Ausstriche angefertigt um das Parasitenwachstum zu kontrollieren. Die

Platten wurden anschließend in einem einfachen Haushaltsgefrierschrank zweimal gefroren und aufgetaut.

Für die Durchführung des ELISAs wurde zwei kommerzielle monoklonale Antikörper verwendet, die gegen *P-falciparum*-spezifisches HRP2 gerichtet sind: MPFM-45M, ein Immunglobulin der Klasse IgM, welcher als primärer Antikörper verwendet wurde, und MPFG-45P, ein an eine Meerrettich-Peroxidase konjugierter IgG-Antikörper, welcher als sekundärer Antikörper verwendet wurde.

### **ELISA-Testung:**

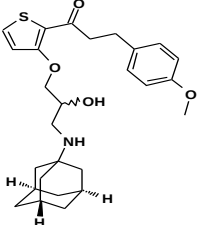
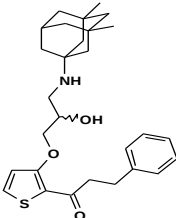
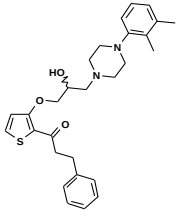
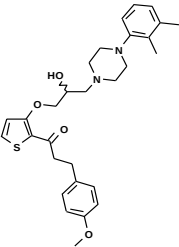
Zur Durchführung des ELISAs wurden nun 96-Well-Platten mit 100µl einer Lösung von MPFM-45A in PBS-Puffer (mit einer Konzentration von 1,0 µg/ml) imprägniert. Die Platten wurden nun verschlossen und über Nacht bei 4°C inkubiert. Der Überstand wurde daraufhin verworfen und die Platten drei Mal mit 200 µl einer PBS-Tween Waschlösung (0,05% Tween 20 in PBS) gewaschen. Danach wurden sie verschlossen und bei -20°C gelagert.

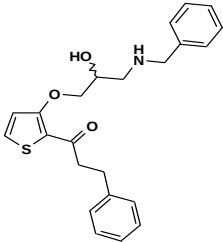
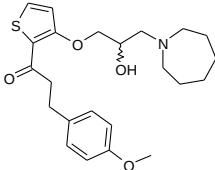
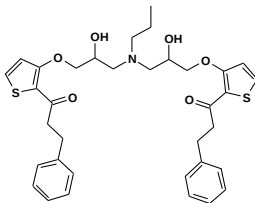
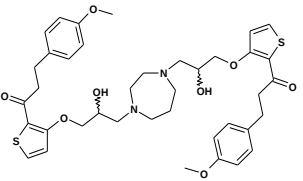
Die hämolysierten Samples, welche eine initiale Parasitendichte über 0,1% aufwiesen, wurden direkt auf den beschichteten Wells mit destilliertem Wasser verdünnt. Dazu wurde destilliertes Wasser auf die Platten pipettiert und dann die Proben überführt und vorsichtig gemischt. Danach wurden die Platten für eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert und dreimal mit PBS-Tween-Puffer gewaschen.

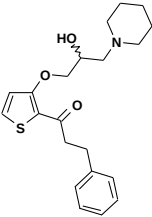
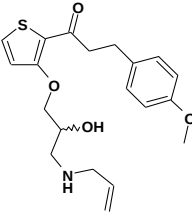
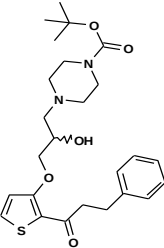
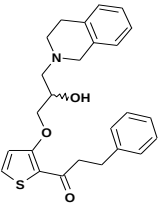
Der primäre Antikörper MPFG-45P wurde mit einer Lösung von 2% BSA und 1% Tween 20 in BPS auf eine Konzentration von 0,05 µg/ml verdünnt. Es wurden 100 µl der Verdünnung auf die Platten übertragen und nach einer Stunde Inkubationszeit drei Mal mit der PBS-Tween-Lösung gewaschen. Anschließend wurden jedem Well 100 µl 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin zugefügt und die Platten 5-10 Minuten unter Lichtschutz inkubiert. Die Reaktion wurde dann mit 50 µl 1M Schwefelsäure gestoppt und die Platten spektrophotometrisch bei 450nm mit einem ELISA Plattenleser vermessen.

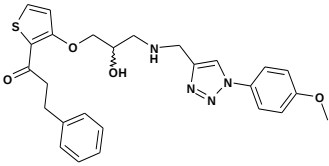
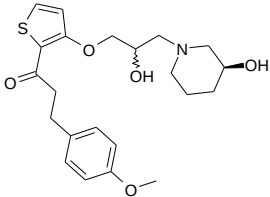
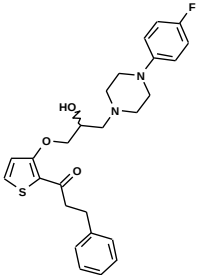
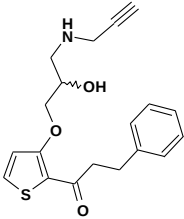
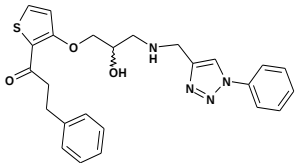
Anschließend wurden die individuellen Hemmkonzentrationen von 50 und 90% (IC<sub>50</sub>s und IC<sub>90</sub>s) über eine nicht-lineare Regressionsanalyse bestimmt, wobei der niedrigste Meßwert jedes Tests zum Hintergrundabgleich verwendet wurde.

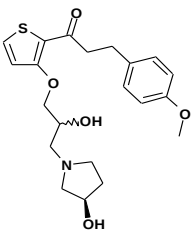
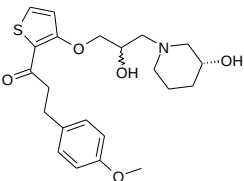
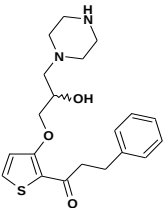
## 4.2 Ergebnisse des Assays (geordnet nach der Aktivität)

| Struktur                                                                            | Substanz<br>nummer | 3D7       | K1        | Dd2       |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|
|                                                                                     |                    | IC50 [nM] | IC50 [nM] | IC50 [nM] |
|    | Substanz 7         | 428       | 81        | k.A.      |
|   | Substanz 20        | 497       | k.A.      | k.A.      |
|  | Substanz 12        | 529       | 126       | 218       |
|  | Substanz 4         | 613       | 162       | 295       |

| Struktur                                                                            | Substanz nummer | 3D7  | K1  | Dd2  |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|------|-----|------|
|    | Substanz 23     | 849  | 82  | 258  |
|    | Substanz 5      | 1100 | 154 |      |
|  | Substanz 26     | 1148 | 317 | k.A. |
|  | Substanz 6      | 1529 | 901 | k.A. |

| Struktur                                                                            | Substanz nummer | 3D7  | K1  | Dd2  |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|------|-----|------|
|    | Substanz 14     | 2214 | 269 | 4581 |
|    | Substanz 8      | 2672 | 378 | k.A. |
|  | Substanz 16     | 6022 | 918 | k.A. |
|  | Substanz 18     | 6142 | 837 | k.A. |

| Struktur                                                                            | Substanz nummer | 3D7   | K1   | Dd2  |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-------|------|------|
|    | Substanz 24     | 7320  | 2662 | k.A. |
|    | Substanz 9      | 7915  | 2545 | 174  |
|   | Substanz 13     | 9536  | 2511 | 439  |
|  | Substanz 15     | 9847  | 1155 | k.A. |
|  | Substanz 25     | 13421 | k.A. | k.A. |

| Struktur                                                                            | Substanz nummer | 3D7   | K1    | Dd2  |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-------|-------|------|
|    | Substanz 11     | 16308 | 5260  | 4963 |
|    | Substanz 10     | 21203 | 2011  | 5564 |
|  | Substanz 19     | 26032 | 18129 | k.A. |

### 4.3 Diskussion der Ergebnisse

Die besten Ergebnisse lieferten das Memantinderivat (428nM) sowie das Aminoadamantanderivat (497nM), was die Theorie unterstützt, wonach ein besonders raumfüllender apolarer Rest die Aktivität steigert.

Nachfolgend in der Aktivität waren die beiden Dimethylphenol-Piperazin-Derivate, welche sich durch die Methoxygruppe am zweiten Phenylring unterscheiden. Mit einer Konzentration von 529nM bzw. 613nM unterscheiden sie sich in ihrer Aktivität kaum voneinander, was darauf schließen lässt, dass die Methoxygruppe für die Wirkung von untergeordneter Bedeutung ist. Im Vergleich zum Propafenonderivat GPV573 mit einer Konzentration von 77nM, ist somit allerdings eine deutlich geringere Aktivität des Thiophenrings zu beobachten.

Dieser Theorie nach wäre natürlich interessant, ein Propafenonderivat mit Memantin bzw. Aminoadamantan herzustellen und zu testen um diese Theorie zu untermauern. Substanz 23 und 5 mit IC50-Werten von 849 und 1100 zeigen ebenfalls den Trend zu größeren Resten.

Leider konnte mit Substanz 26 kein direkter Vergleich zum Propafenon hergestellt werden, da die Synthese nur ein Dimer des Propanaminderivates geliefert hat. Erstaunlich ist allerdings, dass sowohl Substanz 26, als auch Substanz 6, die beiden Dimere, immer noch eine im Vergleich relativ hohe Aktivität aufweisen, was die Schlussfolgerung zulässt, dass die Bindungstasche am Wirkort relativ exponiert sein könnte. Fehler bei der Testung im ELISA sind allerdings natürlich auch nicht auszuschließen.

Das Einführen von polaren Gruppen wie Fluor und ebenso auch Hydroxy-Gruppen führt in jedem Fall zu einem rapiden Abfall der Aktivität und sind daher nicht zu empfehlen.

Leider konnten auch die durch Click-Chemie gewonnenen Derivate in den Testungen nicht den gewünschten Erfolg erzielen.

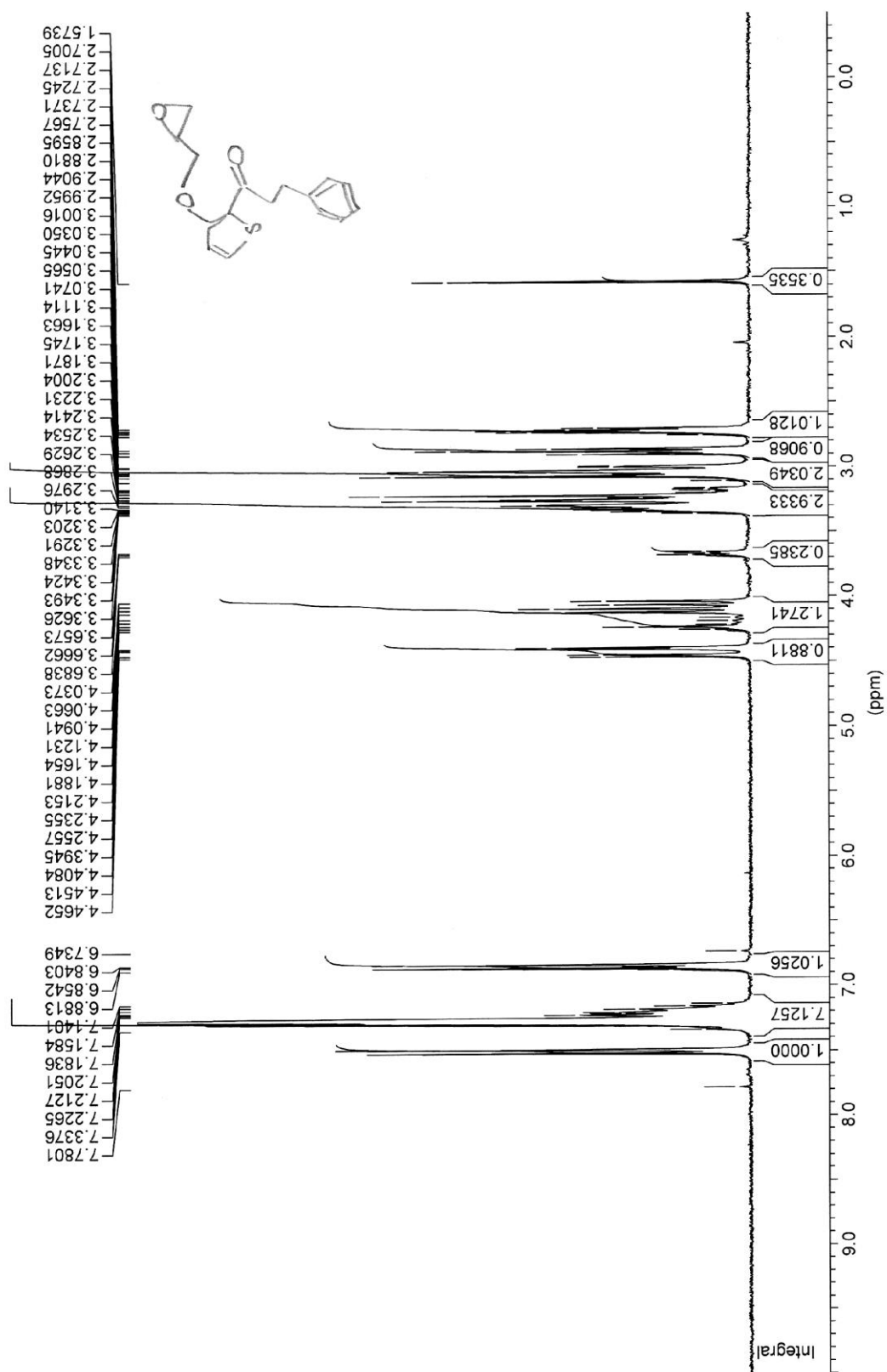
Allgemein kann man nun sagen, dass das Bioisosteriekonzept im Falle der Thiophenderivate des Propafenons nicht den gewünschten Erfolg gezeigt hat, sich aber durch die gewonnen Ergebnisse, besonders im Bereich der Amine Memantin und Aminoadamantan, neue Wege erschlossen haben, welche es sich zu erforschen lohnt.

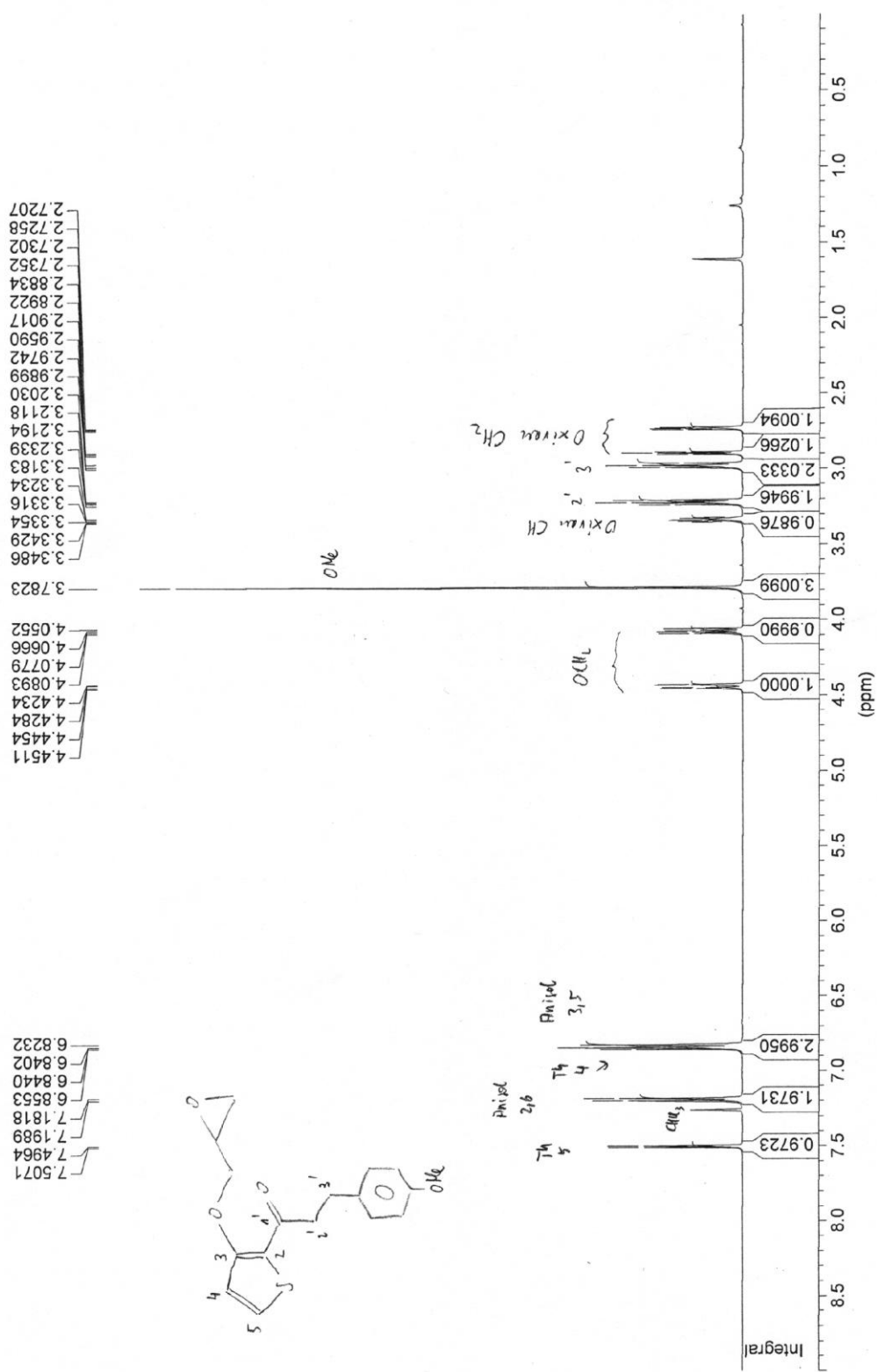
#### 4.4 Literaturverzeichnis

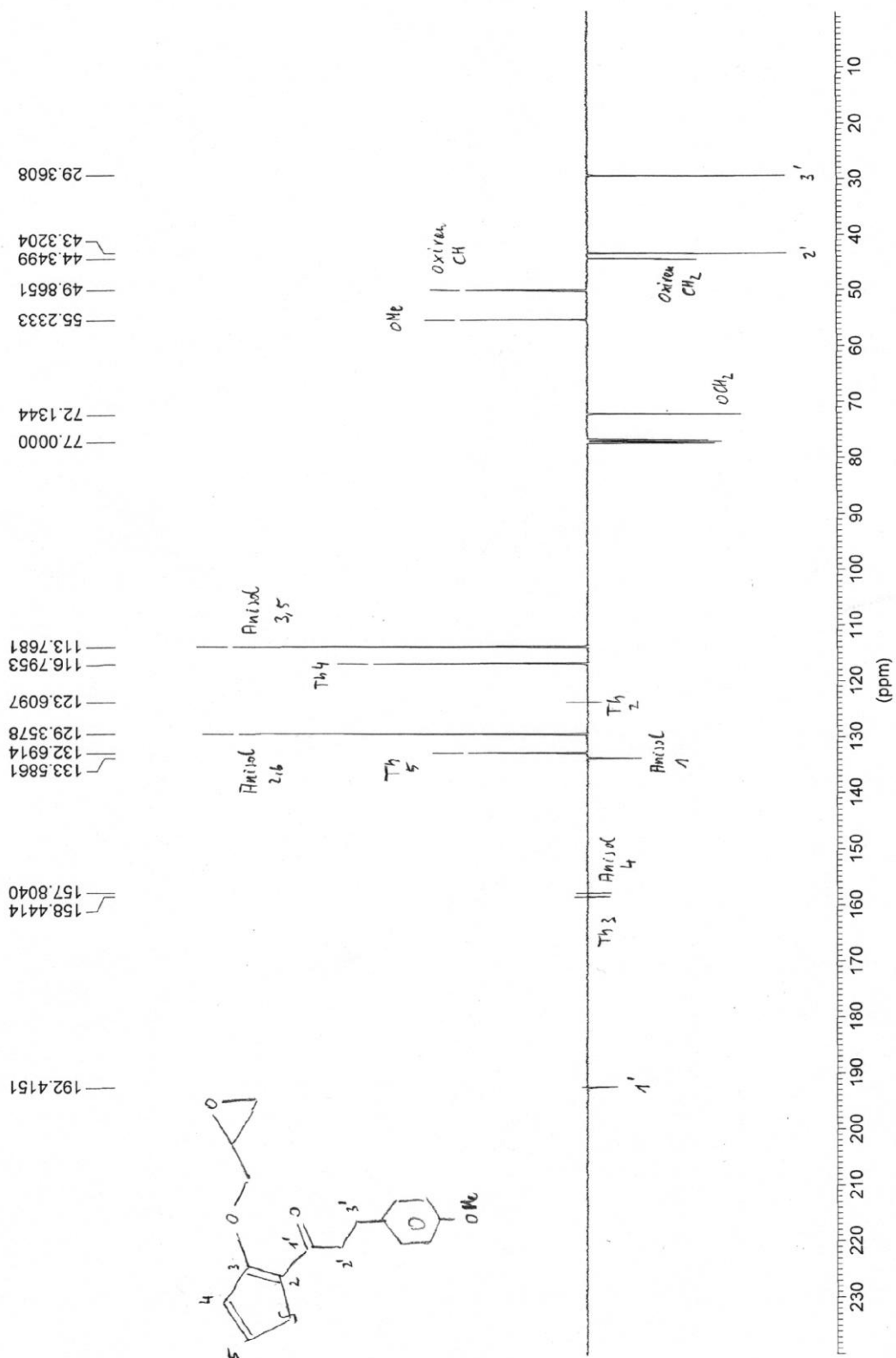
- 
- <sup>1</sup> F. Kayser, E. Böttger, R. Zinkernagel, O. Haller, J. Eckert, P. Deplazes; *Medizinische Mikrobiologie*; 11. Auflage, **2005**, 593ff
- <sup>2</sup> Modifiziert nach: [http://www.uni-tuebingen.de/modeling/Mod\\_Malaria\\_Cycle\\_de.html](http://www.uni-tuebingen.de/modeling/Mod_Malaria_Cycle_de.html)
- <sup>3</sup> Amodiaquine als Cyp Marker
- <sup>4</sup> <http://edoc.hu-berlin.de/dissertationen/knobloch-andreas-2005-08-02/HTML/chapter1.html#N10196>
- <sup>5</sup> WHO *Treatment Guidelines Malaria*, **2006**, Annex 7
- <sup>6</sup> WHO *Treatment Guidelines Malaria*, **2006**, 155-157
- <sup>7</sup> A. Dondorp, F. Nosten, *The New England Journal of Medicine*, **2009**, 361, 455-467
- <sup>8</sup> J.L. Weisman et al, *Chem Biol Drug Des*, **2006**, 67, 409-416
- <sup>9</sup> K.B. Sharpless et al, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, 40, 2004-2021
- <sup>10</sup> V. Rostovtsev, L. Green, V. Fokin, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, 41, 2596-2599
- <sup>11</sup> V. Bock, H. Hiemstra, J. van Maarseveen, *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**, 51-68
- <sup>12</sup> M. Meldal, C. W. Tornøe, *Chem. Rev.*, **2008**, 108, 2952 - 3015
- <sup>13</sup> H. Noedl et al, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **2005**, 3575-3577
- <sup>14</sup> H. Noedl et al, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **2004**, 711-714

## **5 ANHANG**

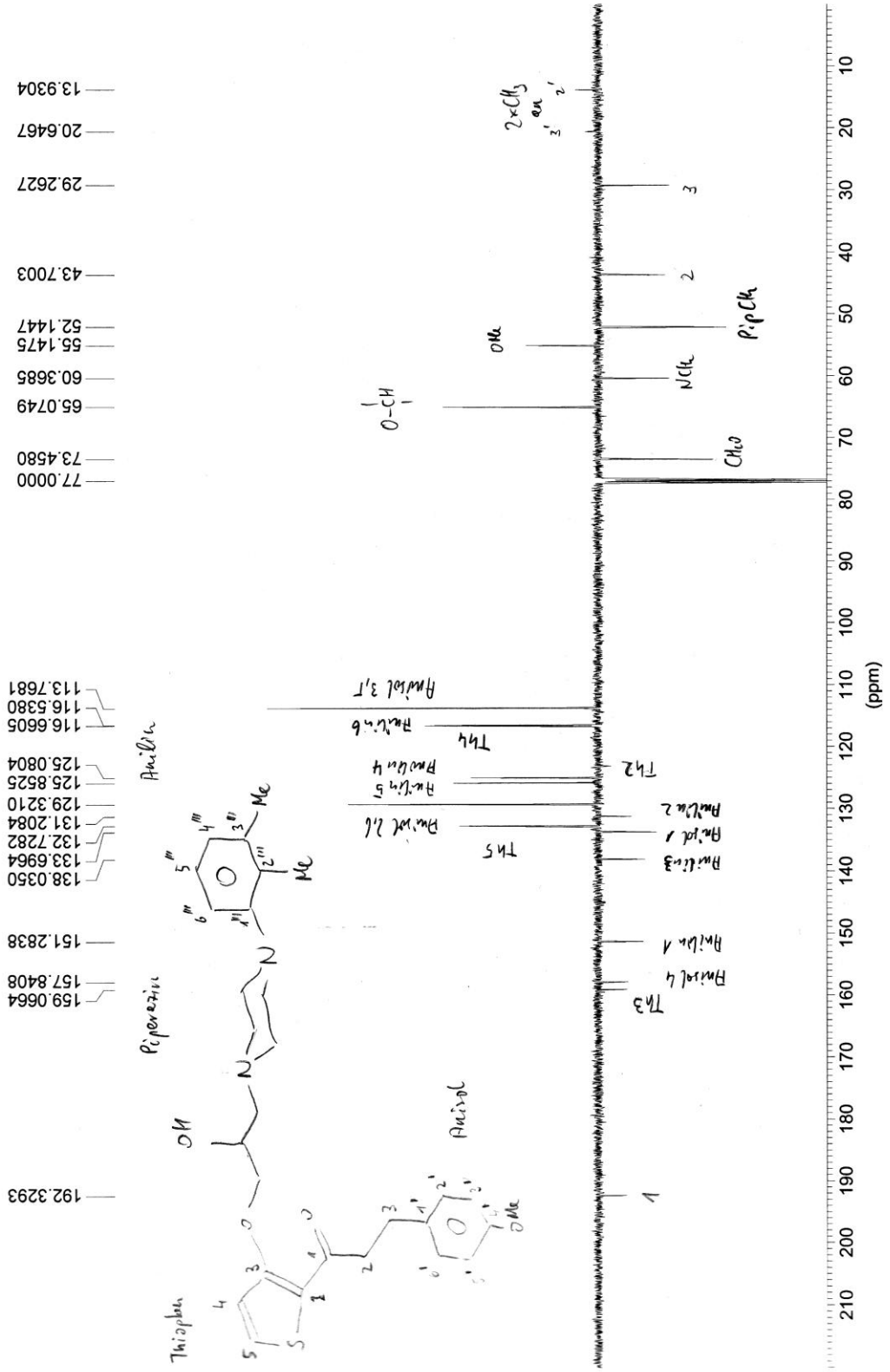
### **5.1 Spektren**

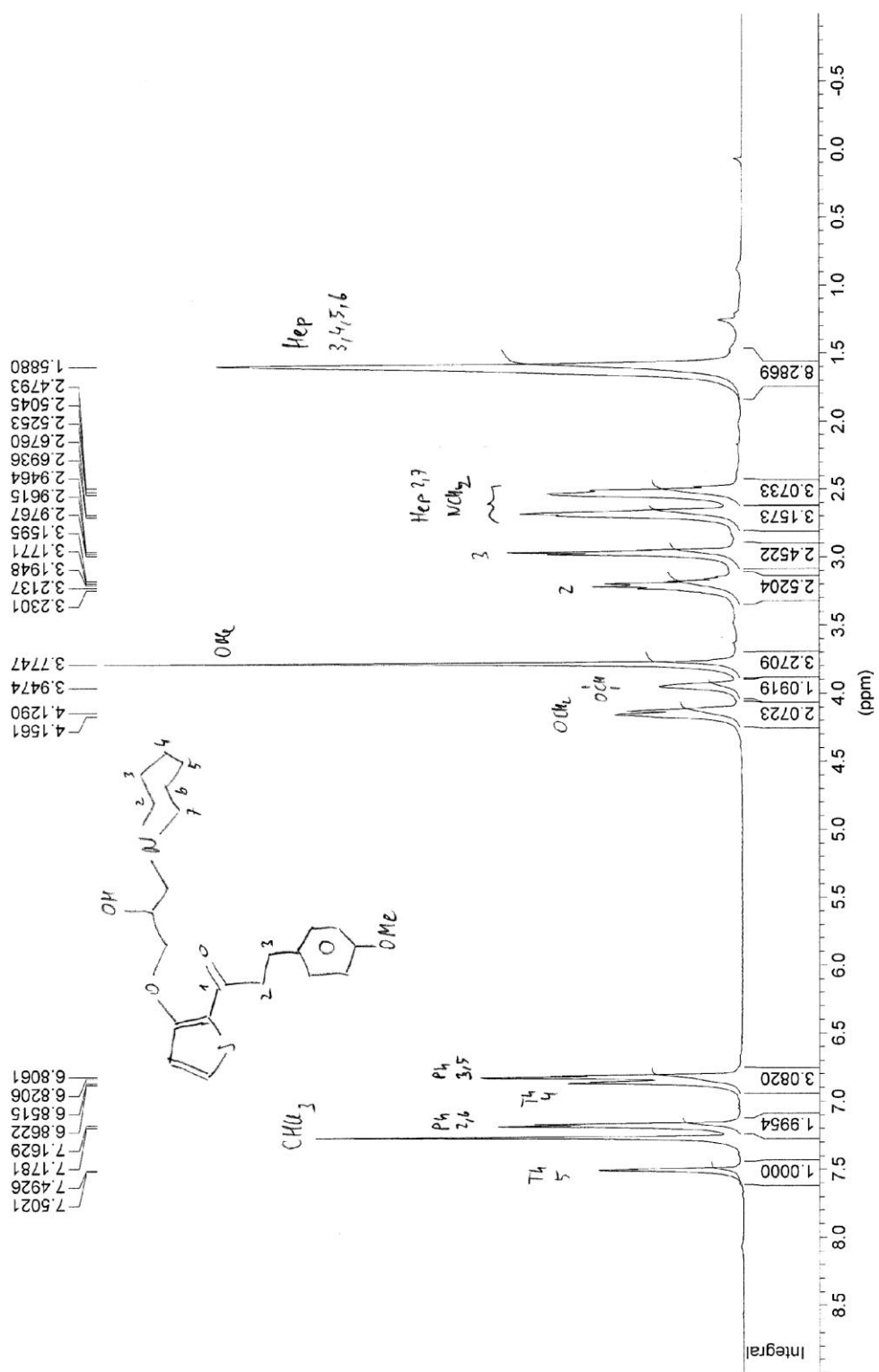


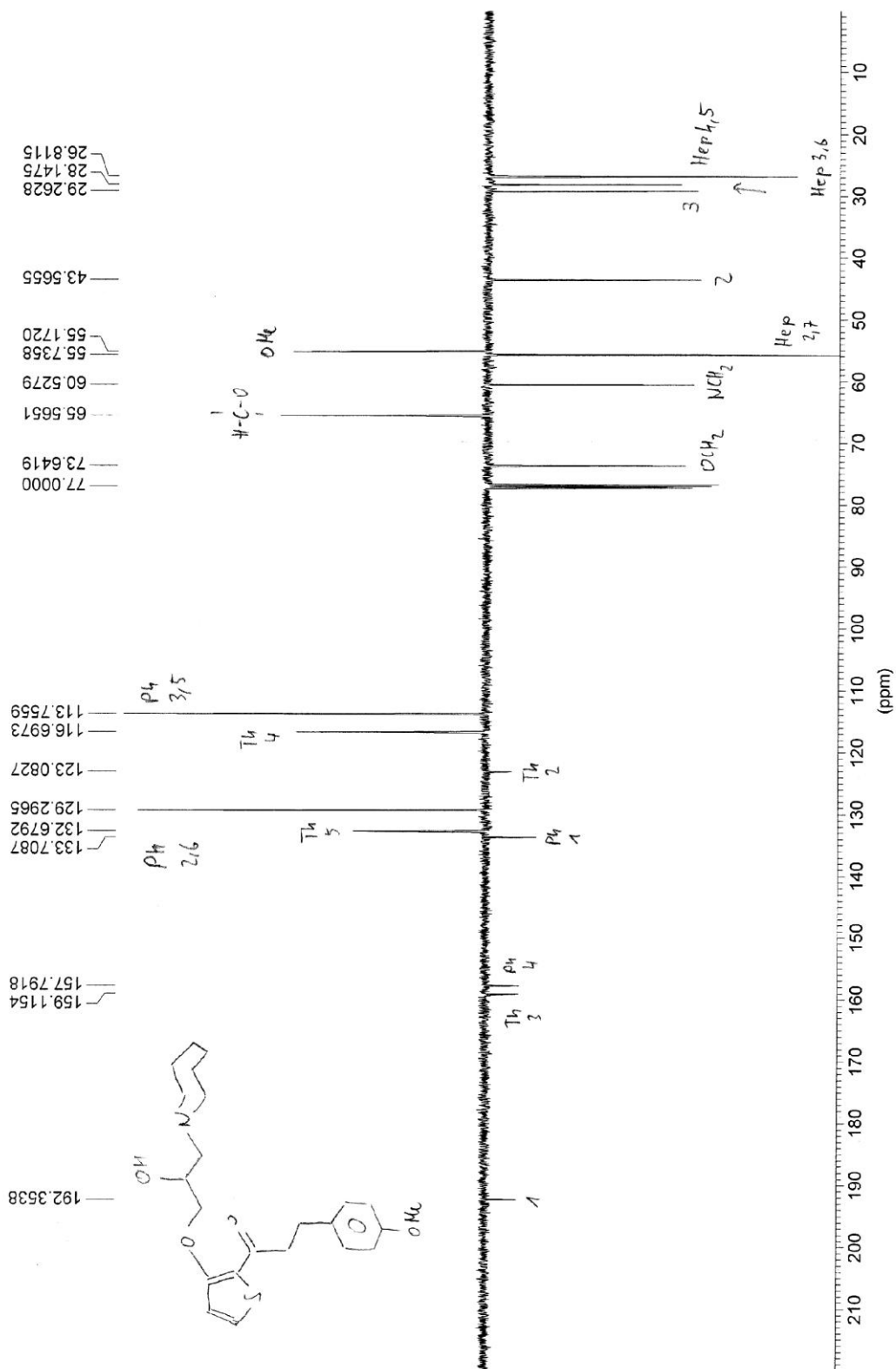


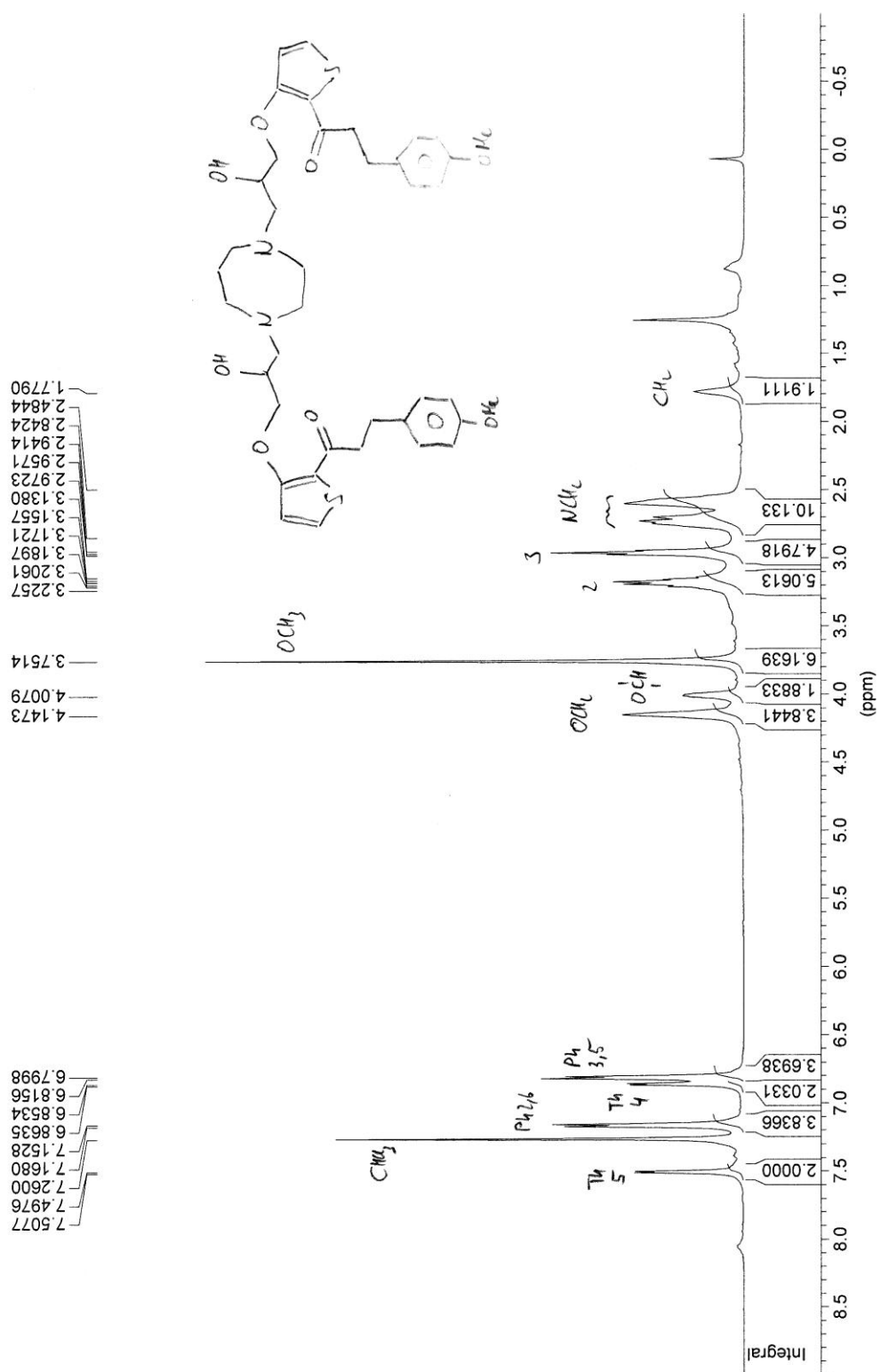




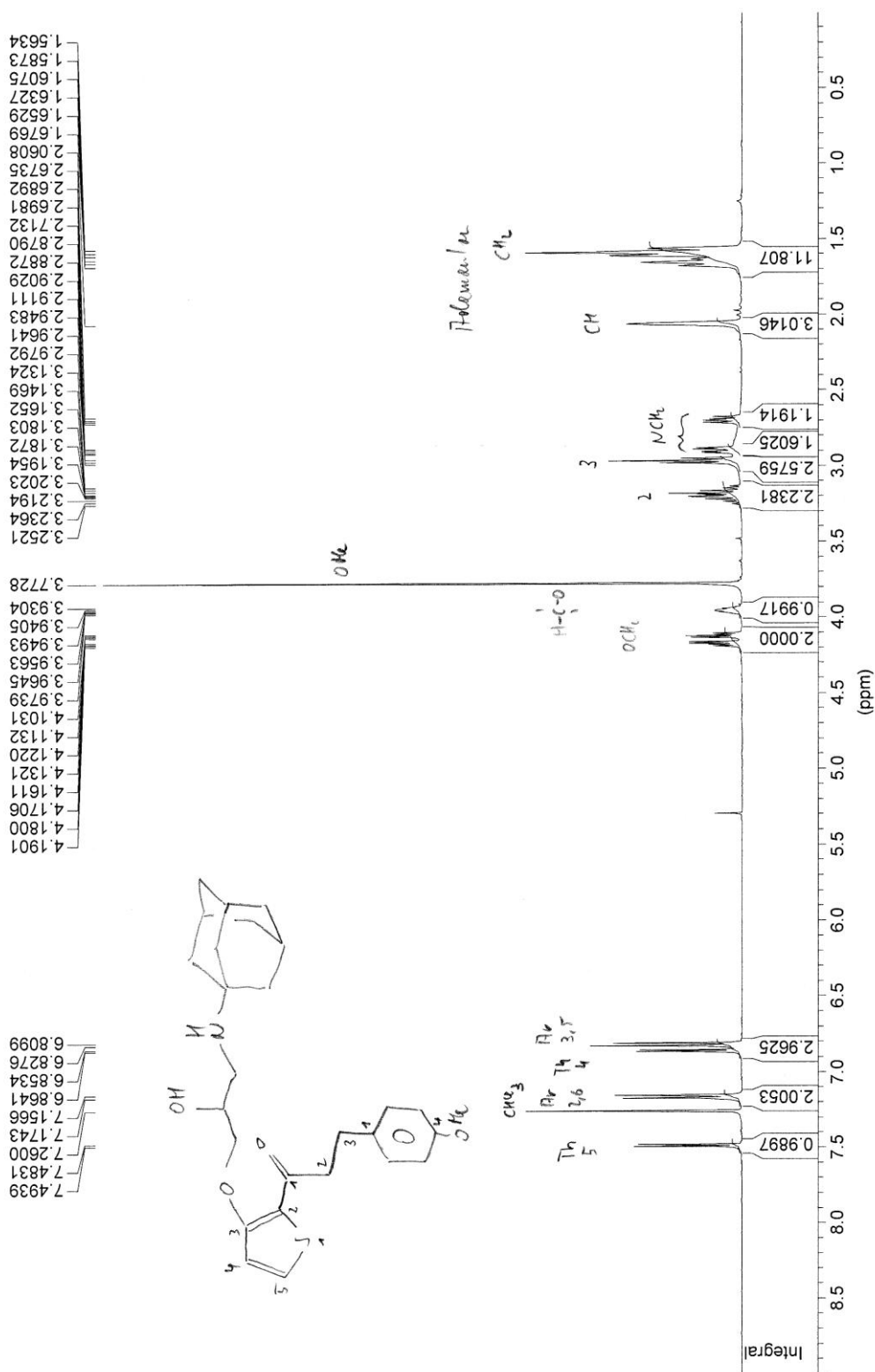






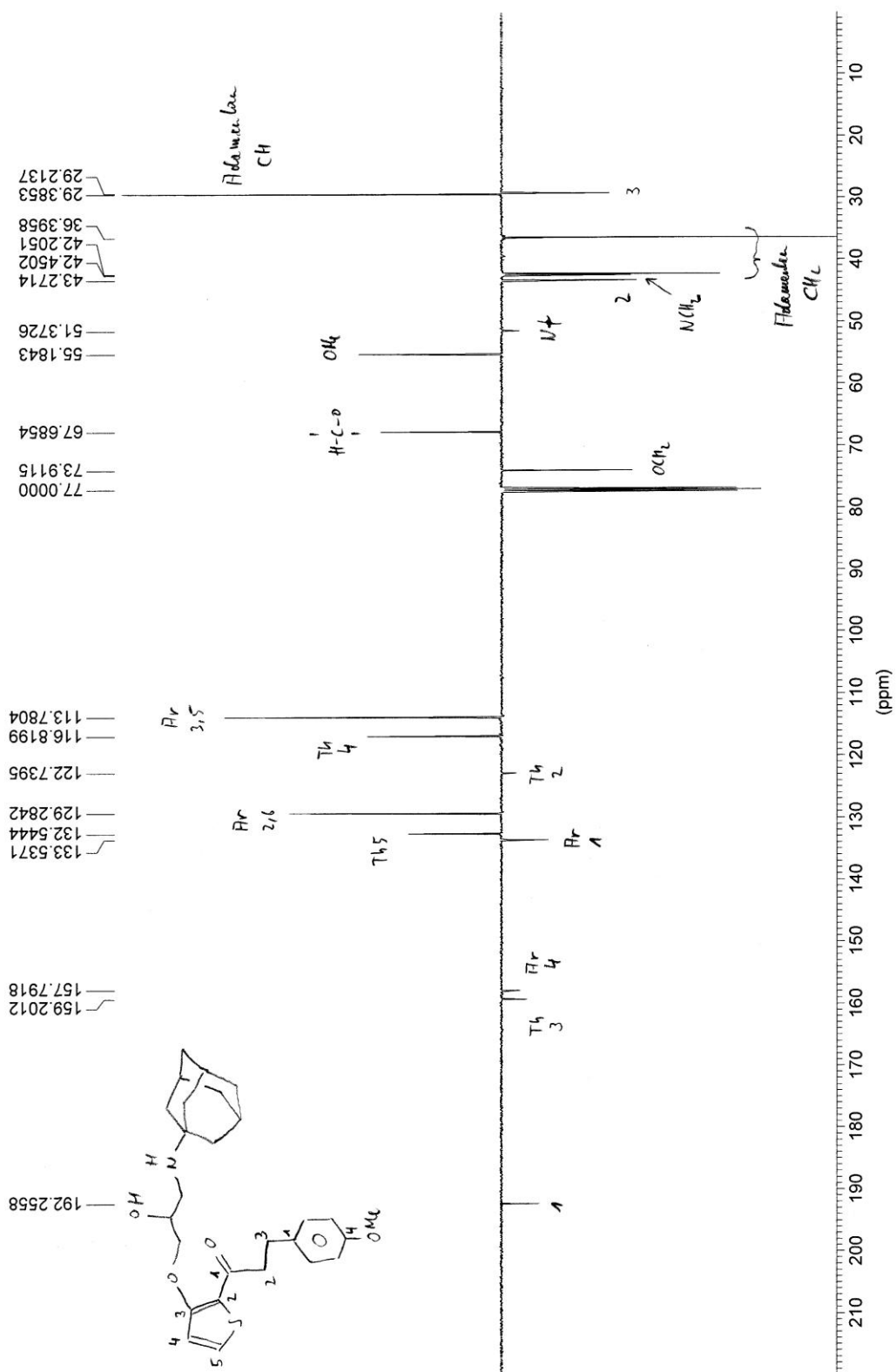


mfm06ak in cdcl3 (Proton), 15.6.2009

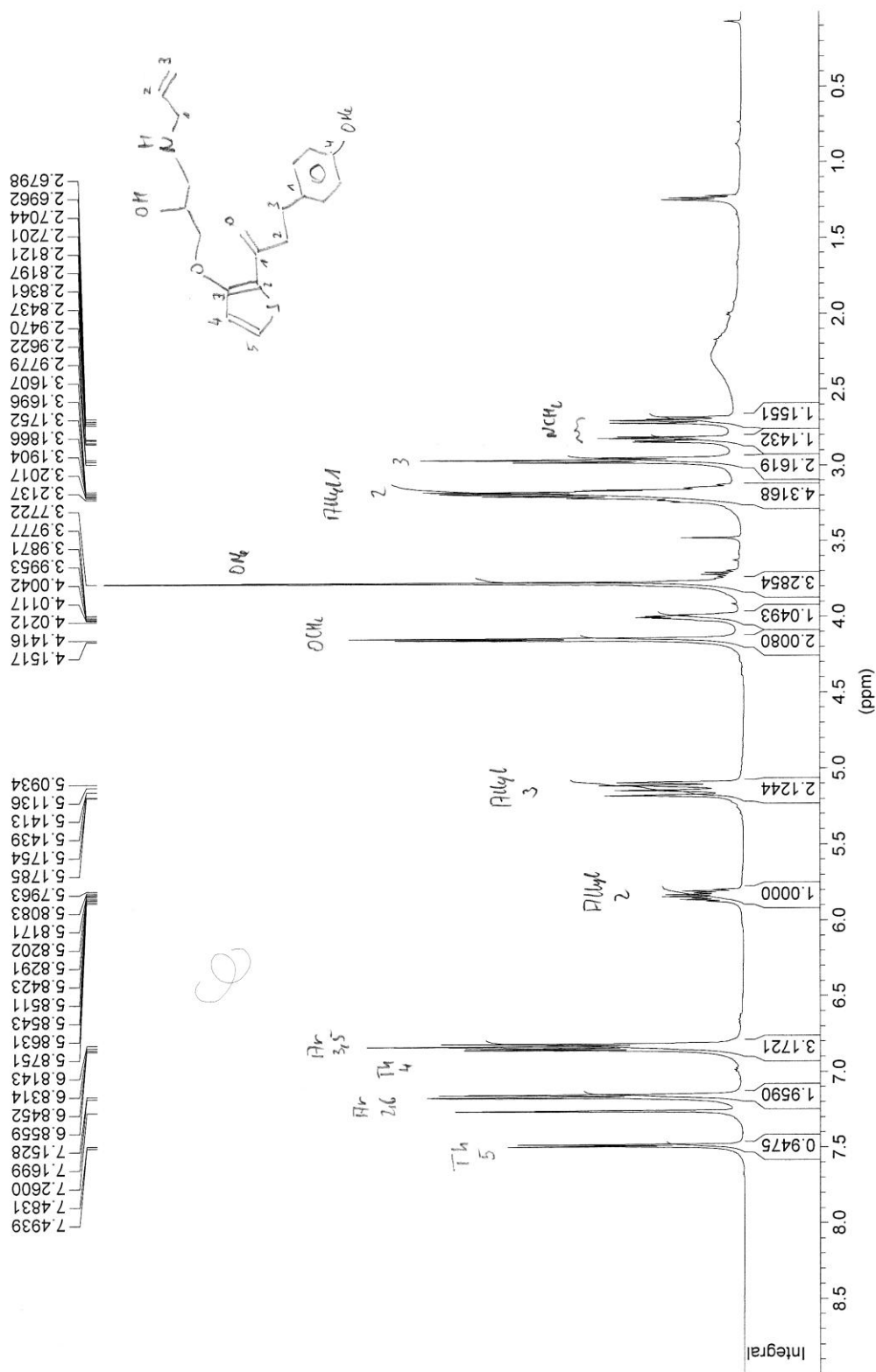


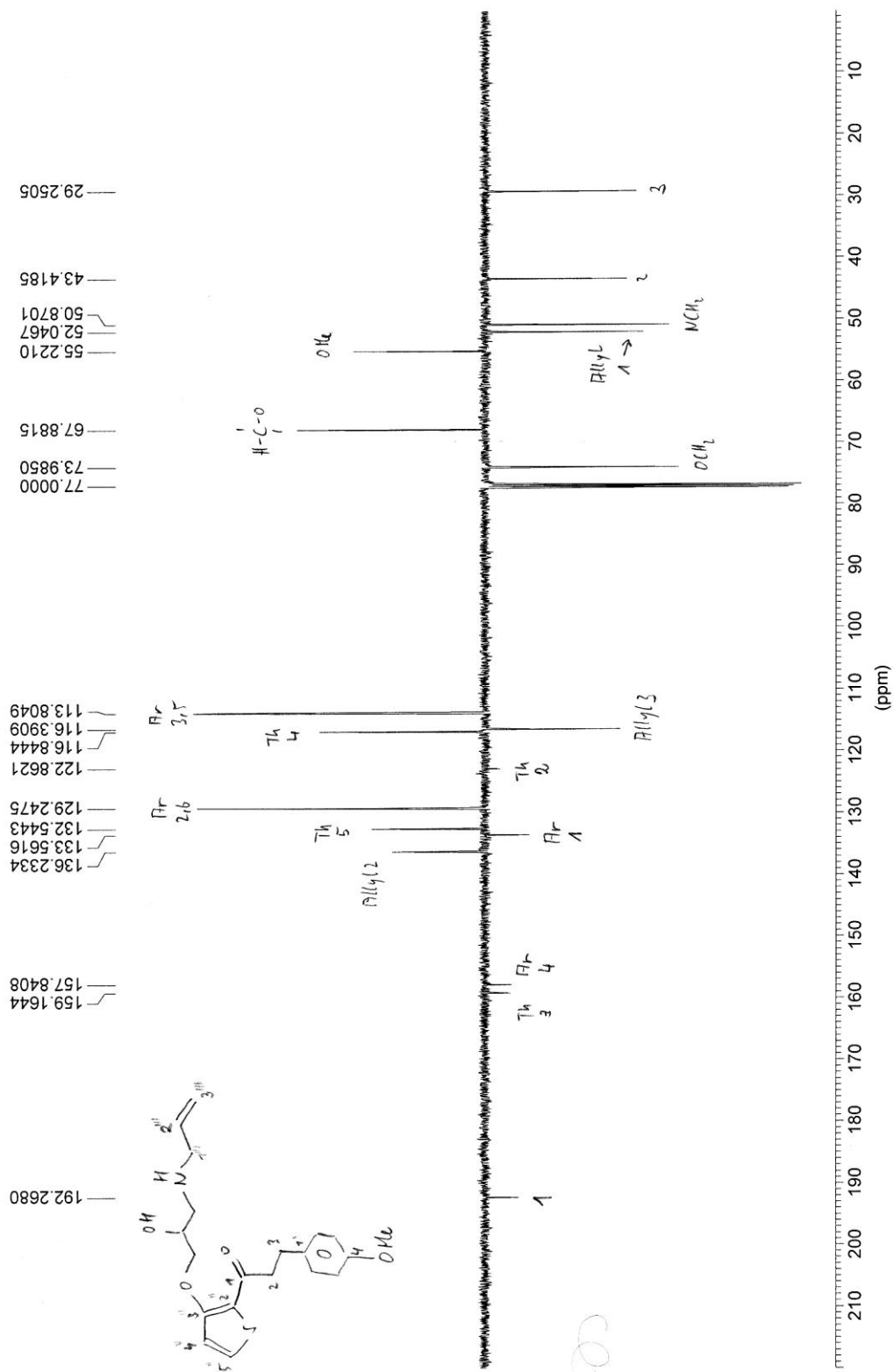
192.2558 —

Chemical structure of a complex organic molecule, likely a derivative of a natural product. The structure features a central benzene ring substituted with a carboxylic acid group (-COOH) and a propyl chain. The propyl chain is further substituted with a 1-adamantan-1-yl group. The atoms are numbered: 1 for the carbonyl carbon, 2 for the propyl carbon adjacent to the benzene, 3 for the next propyl carbon, 4 for the methoxy carbon, and 5 for the adamantane ring carbons.

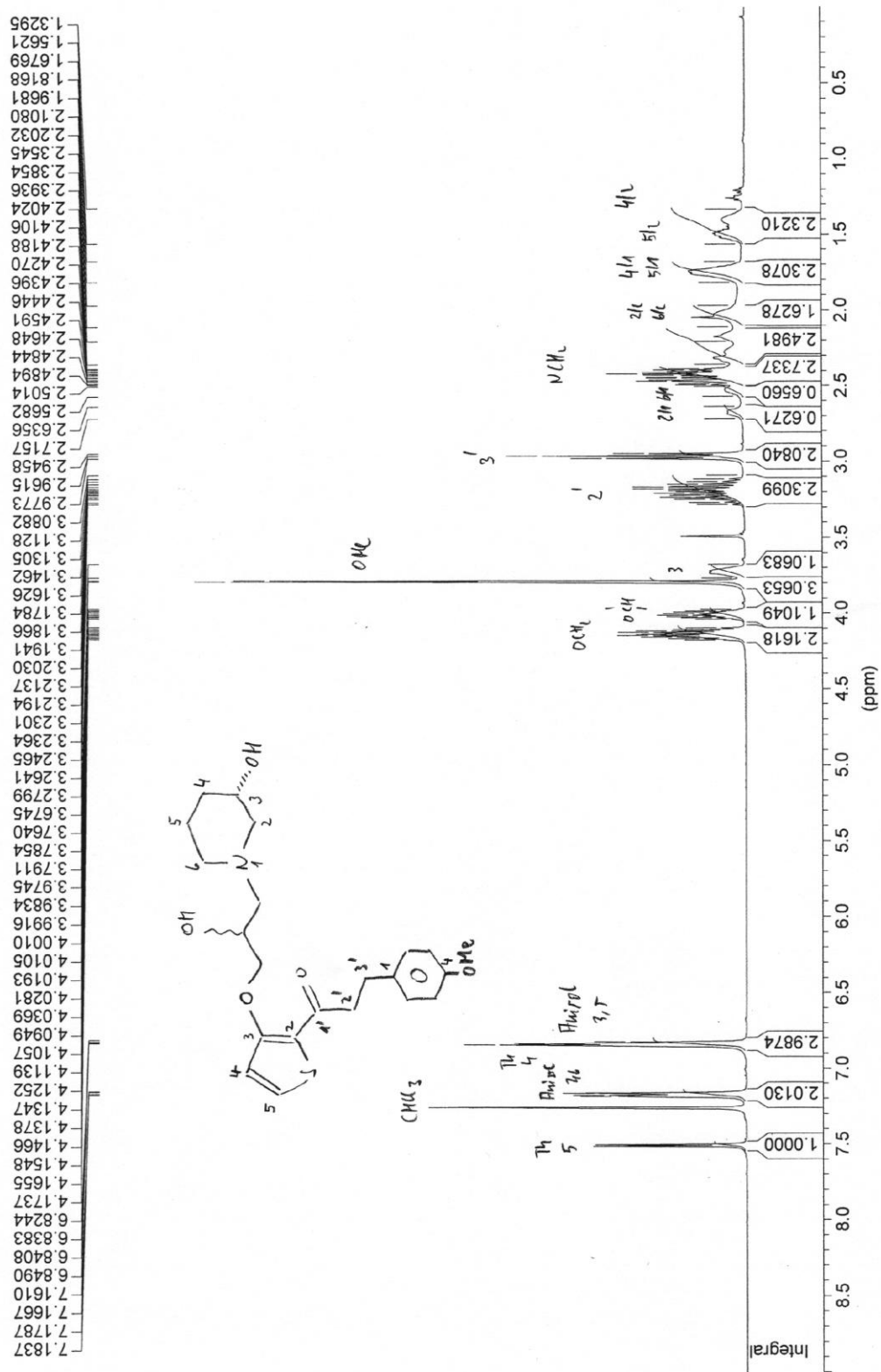


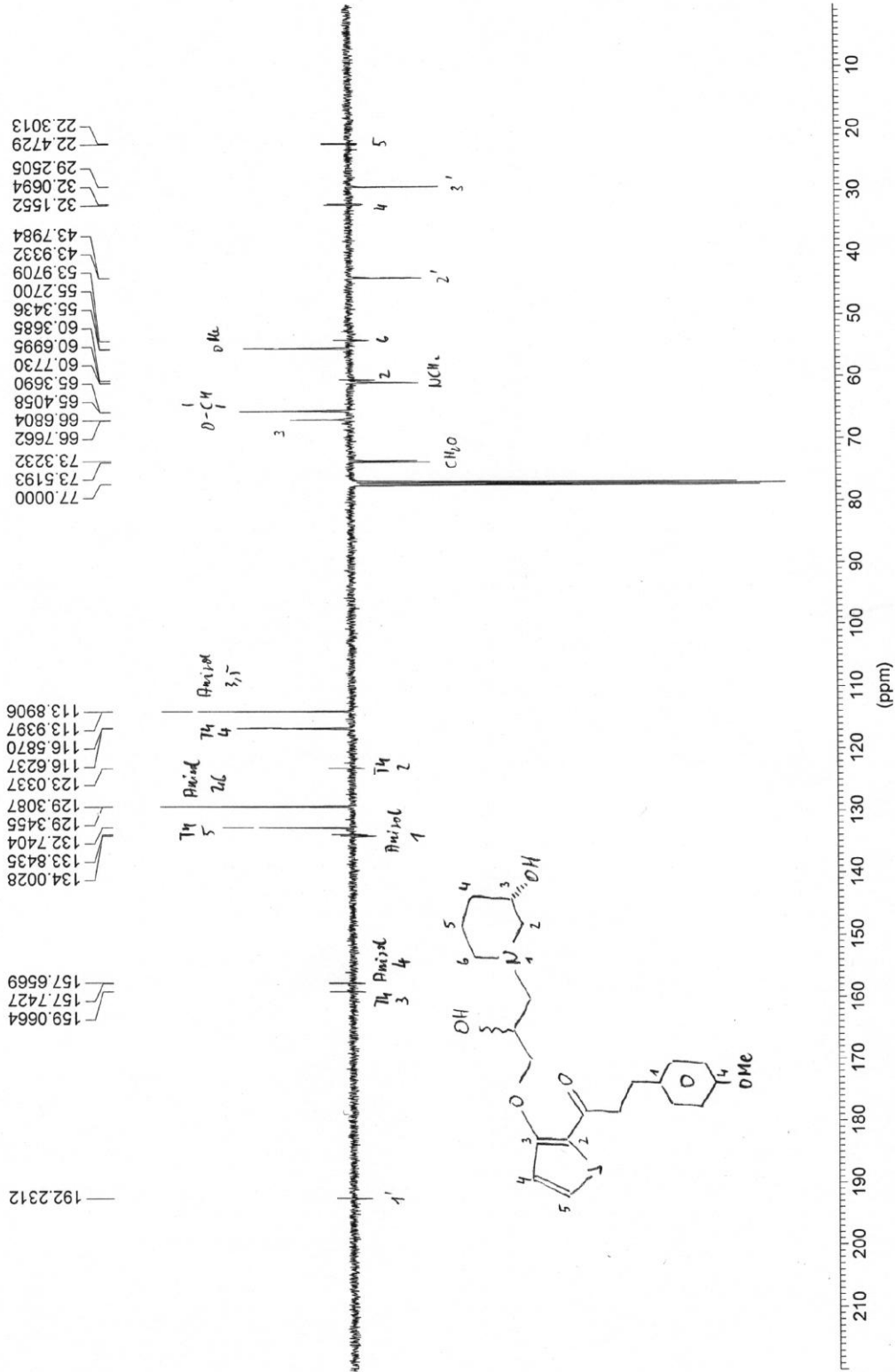
mfma07ak in cdd13 (Proton), 17.6.2009





mac 22770 in odd3 (Proton), 19.2.2009

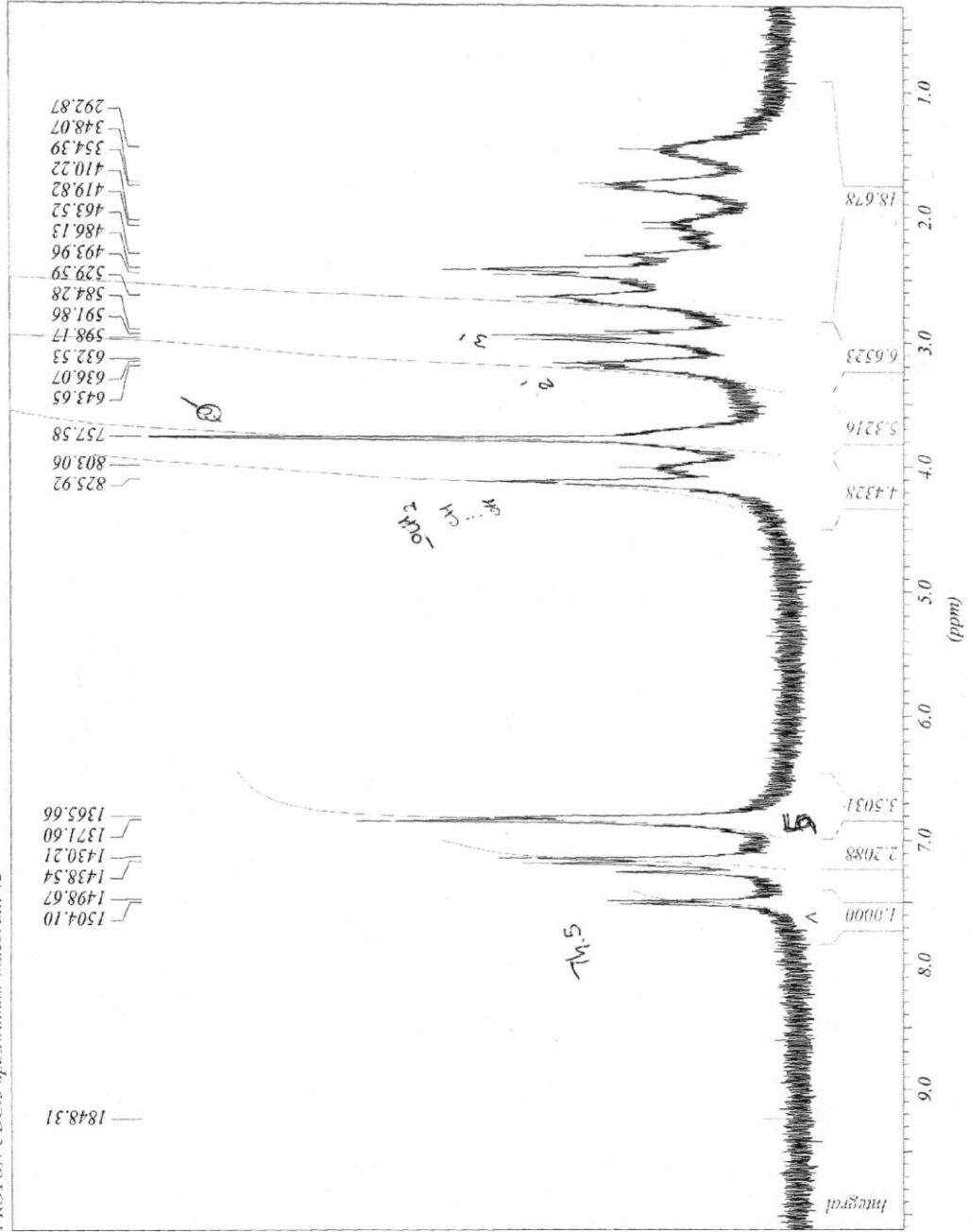




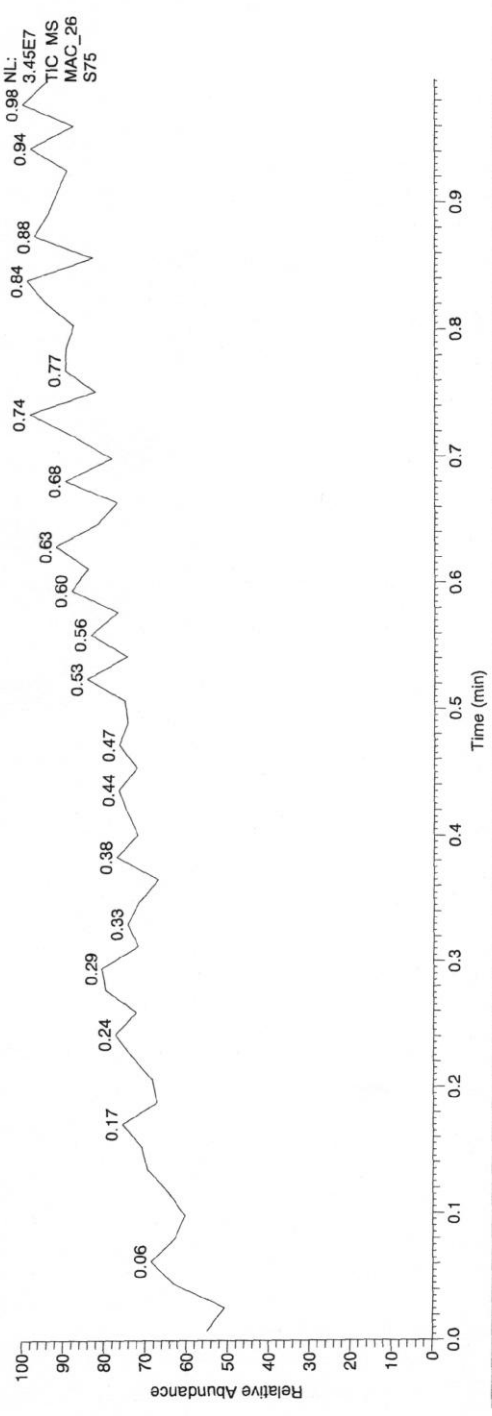
Mac23s71  
 PROTON CDCl3 opt/xwinmr macoratti 42

\*\*\* Current Data Parameters \*\*\*

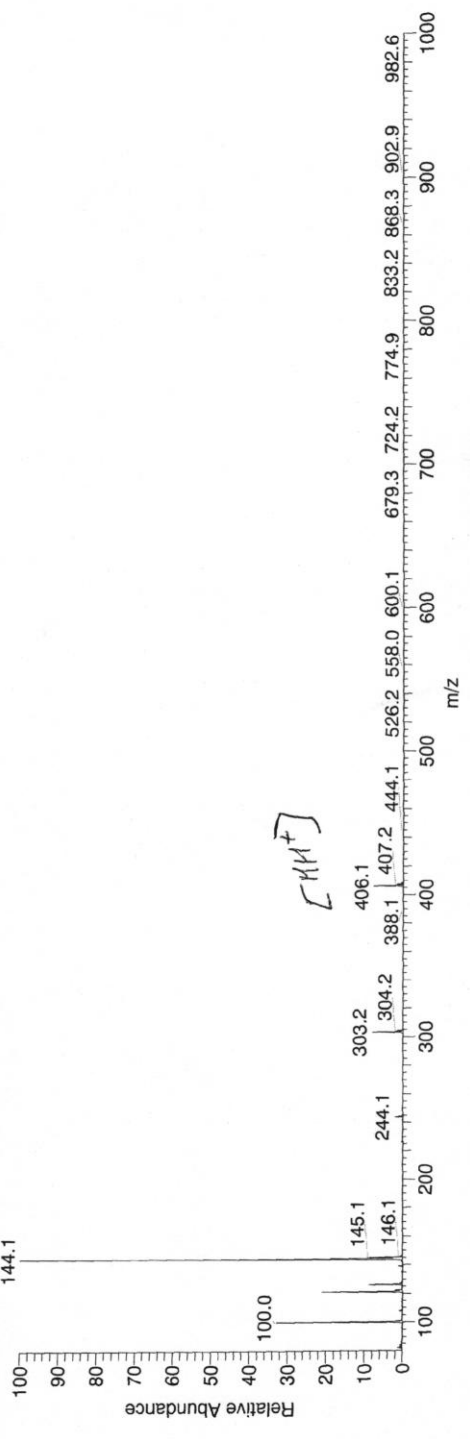
NAME : mac23s71  
 EXPNO : 10  
 PROCNO : 0

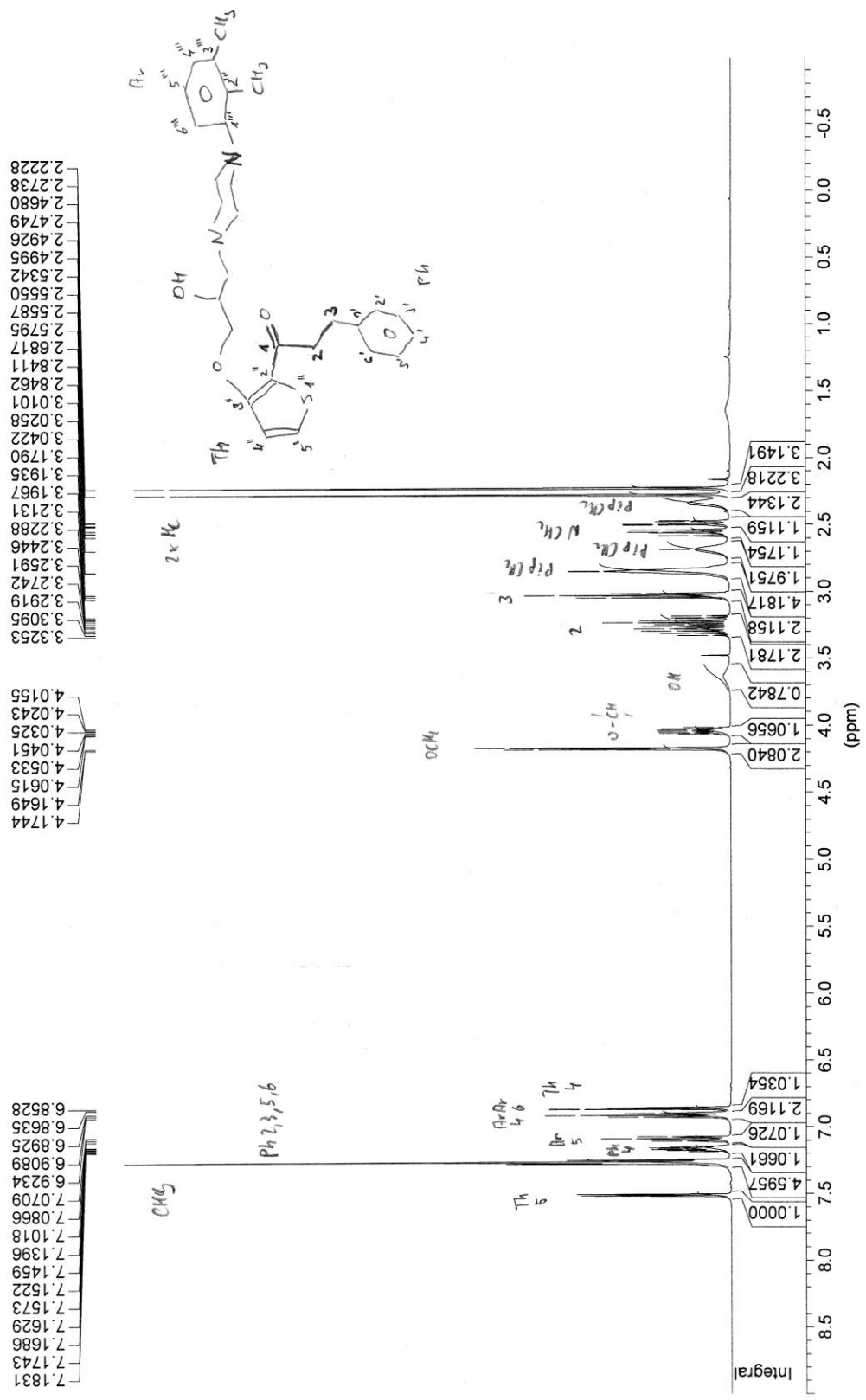


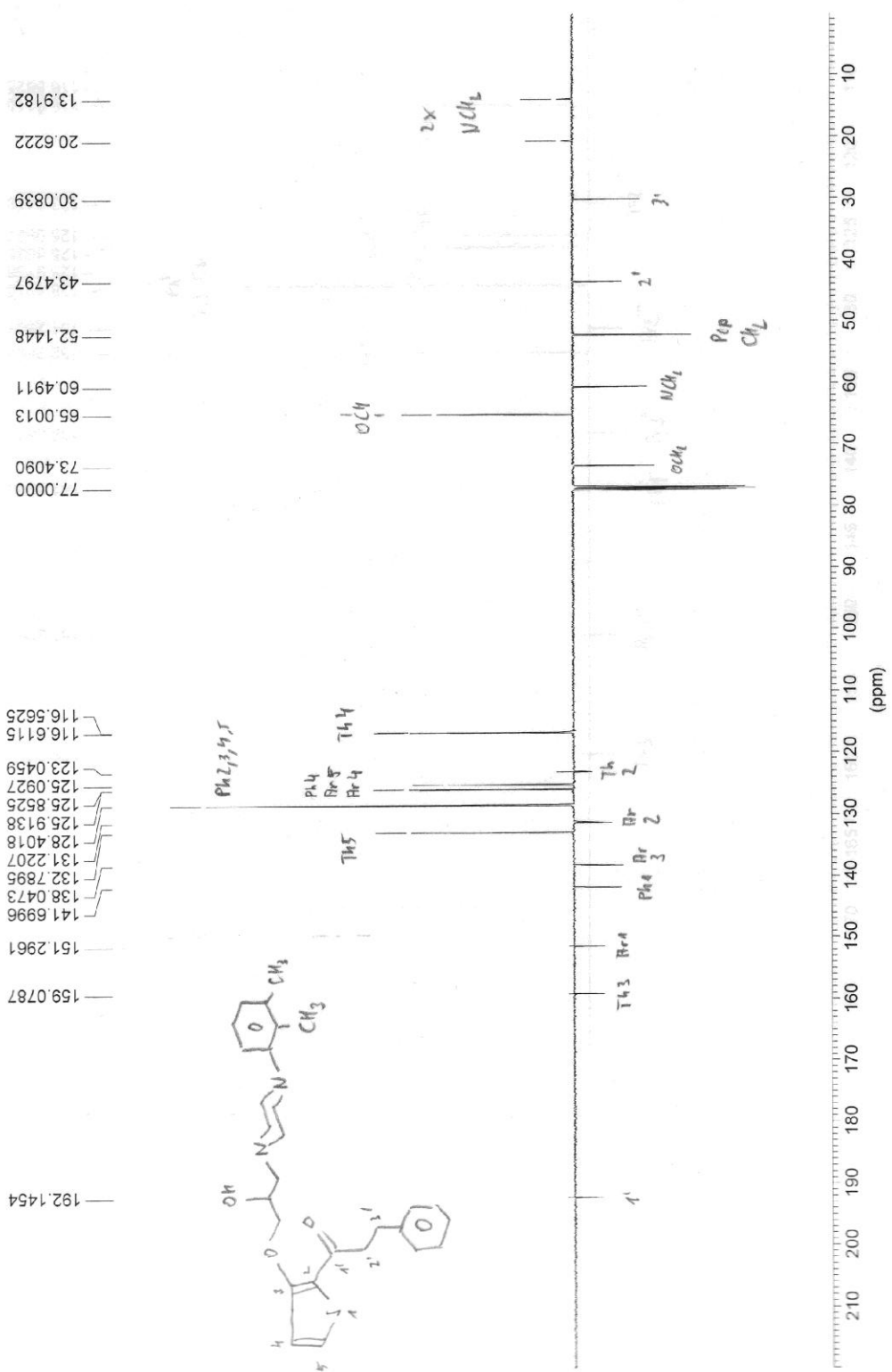
C:\Gemcitabin\Macoratti\MAC\_26 S75  
 C:\Gemcitabin\Macoratti\MAC\_26 S75.raw pos Mode  
 RT: 0.00 - 1.00  
 02/25/2009 05:02:19 PM  
 C:\Gemcitabin\Macoratti\MAC\_26 S75.raw

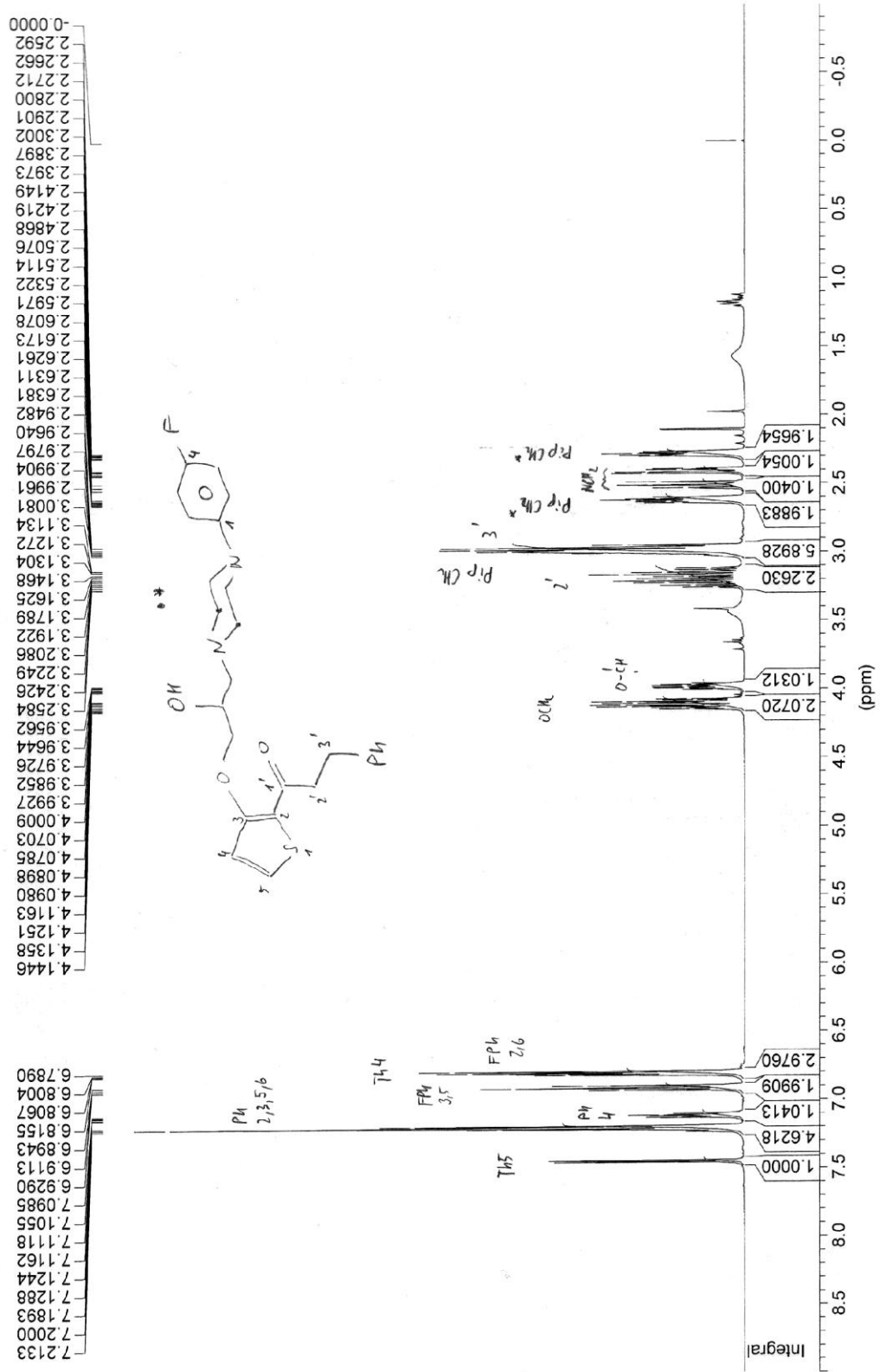


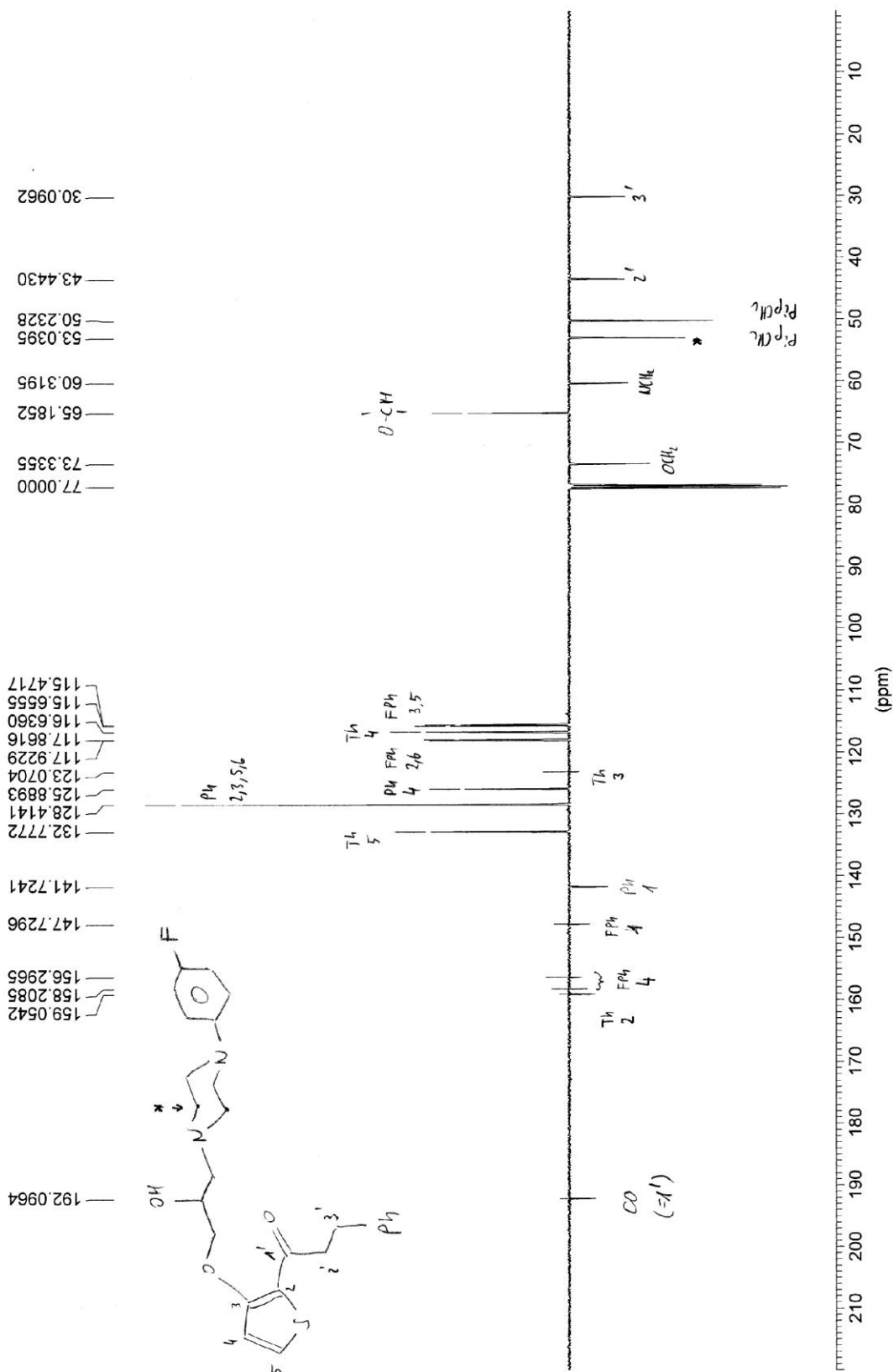
MAC\_26 S75 #2-56 RT: 0.03-0.98 AV: 55 NL: 2.02E6  
 T: + p ms [80.00-1000.00]













Current Data Parameters  
NAME mma05  
EXPNO 11  
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters

Date\_ 20090116  
Time 17.39  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm BBO BB-1H  
PULPROG zgpg30  
TD 65536  
SOLVENT CDCl3  
NS 64  
DS 0  
SWH 28248.588 Hz  
FIDRES 0.431039 Hz  
AQ 1.1600549 sec  
RG 456.1  
DW 17.700 usec  
DE 6.00 usec  
TE 293.4 K  
D1 5.00000000 sec

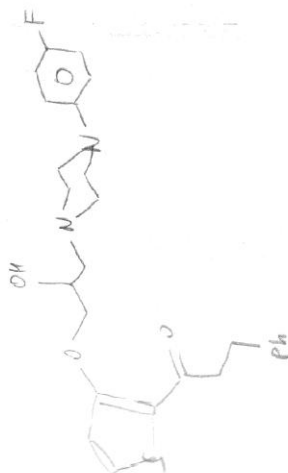
===== CHANNEL f1 =====

NUC1 19F  
P1 12.50 usec  
PL1 -3.00 dB  
SFO1 470.5358909 MHz

F2 - Processing parameters

SI 65536  
SF 470.5923620 MHz  
WDW nc  
SSB 0  
LB 0.00 Hz  
GB 0  
PC 1.00

-124.147  
-124.157  
-124.165  
-124.174  
-124.184  
-124.192  
-124.201

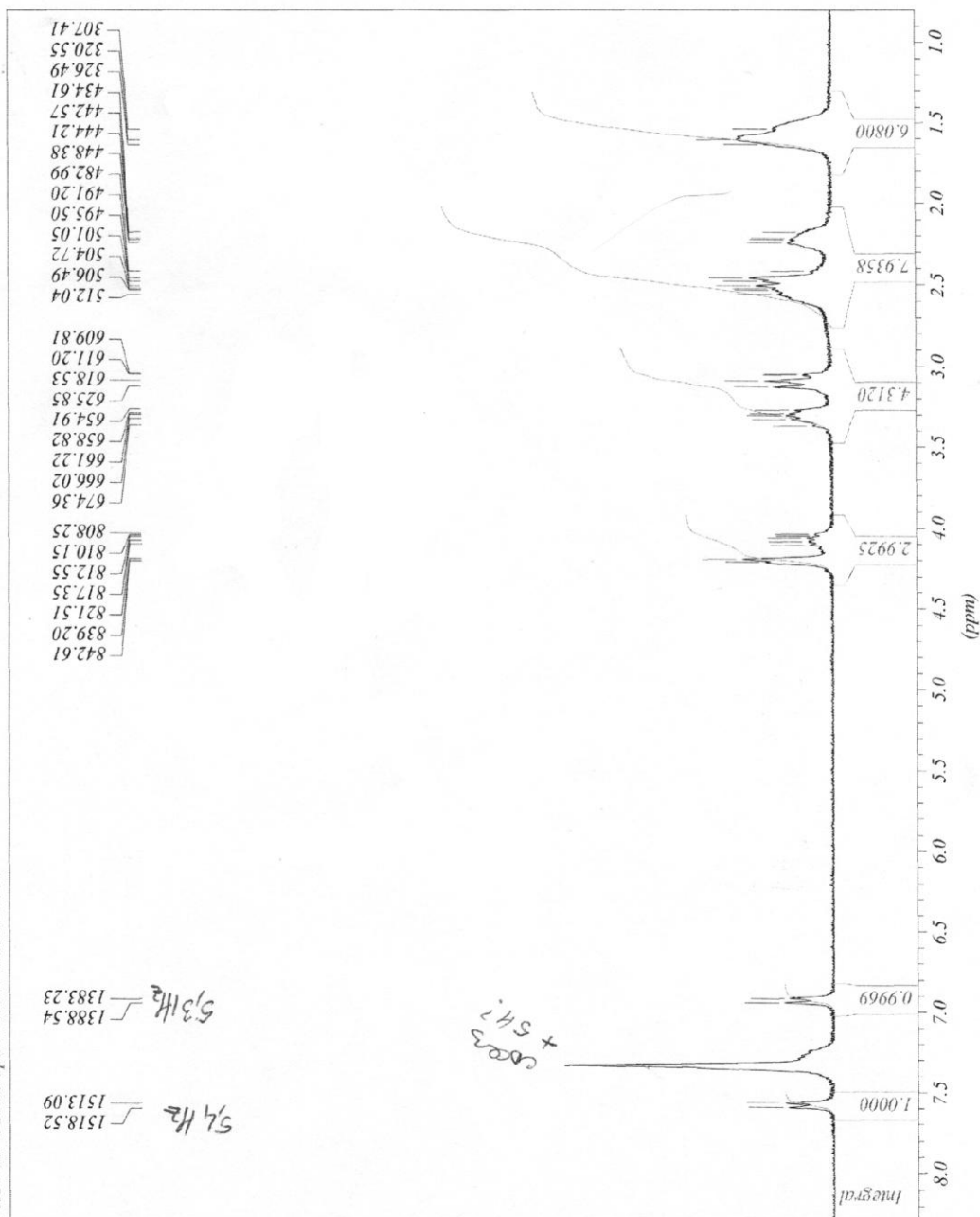


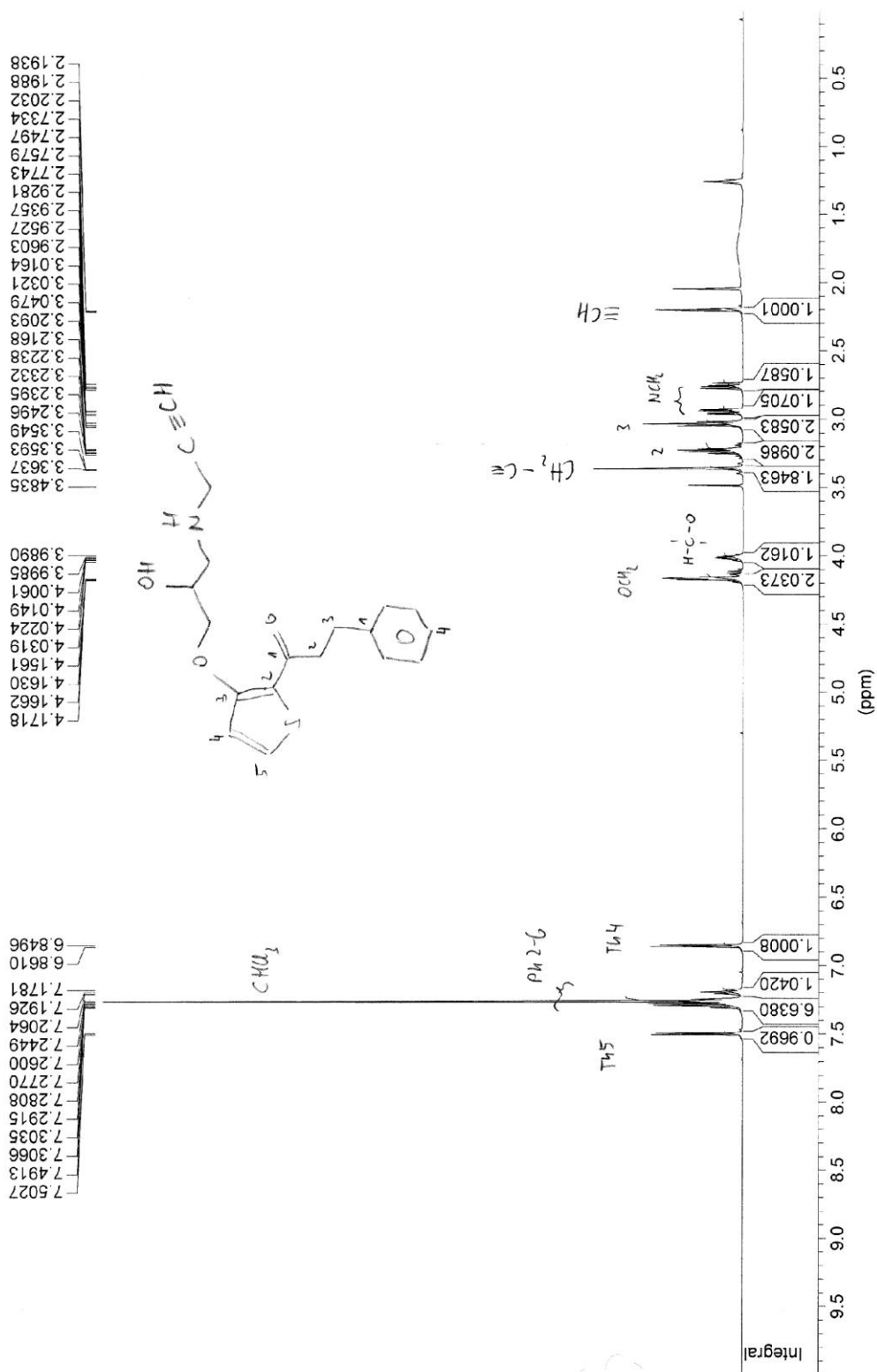
-95 -100 -105 -110 -115 -120 -125 -130 -135 -140 -145 ppm

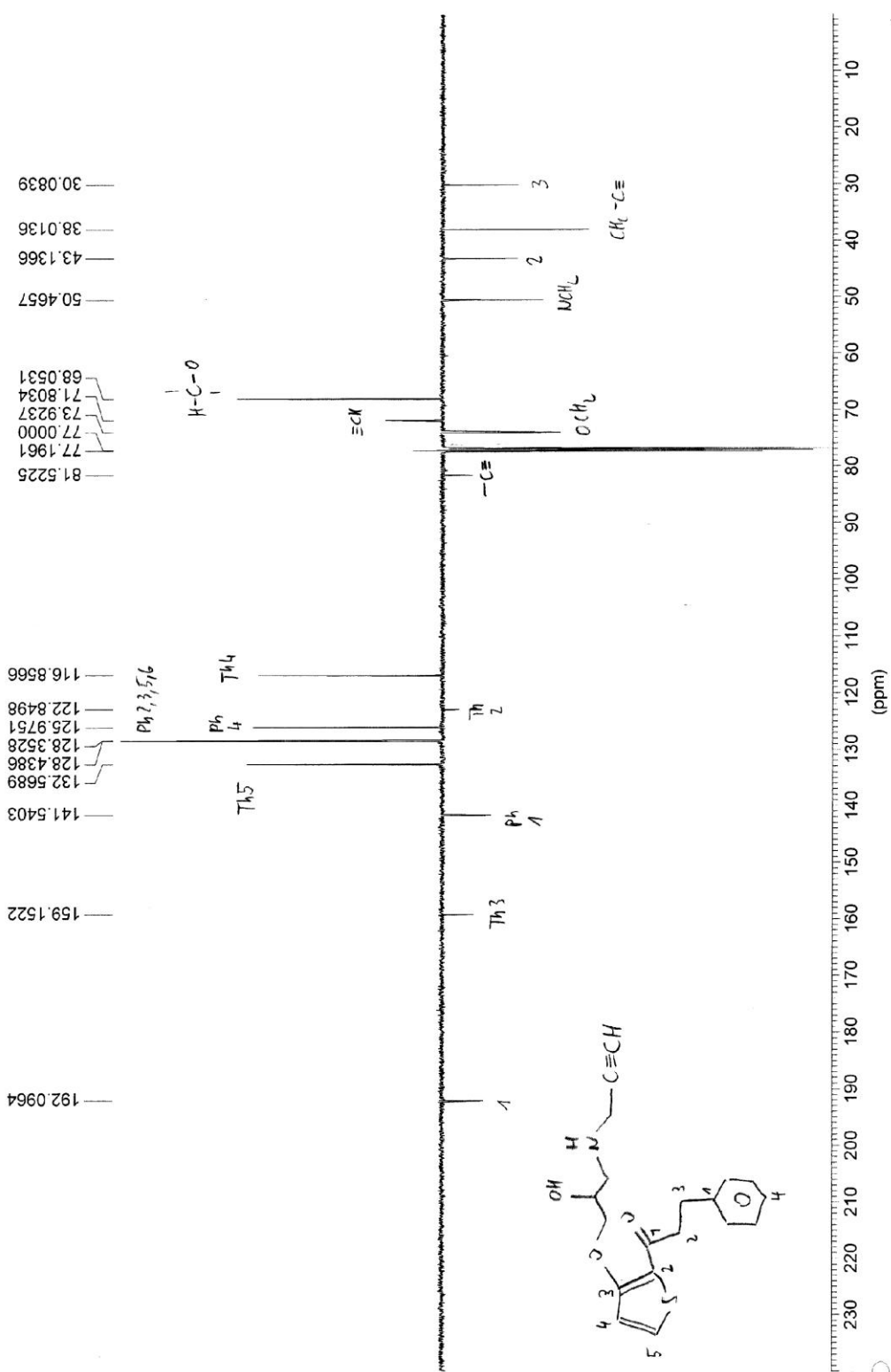
Mac13S.47 in CDCl3 ueber Alox  
 PROTON CDC13 opt/xwinmr macoratti 22

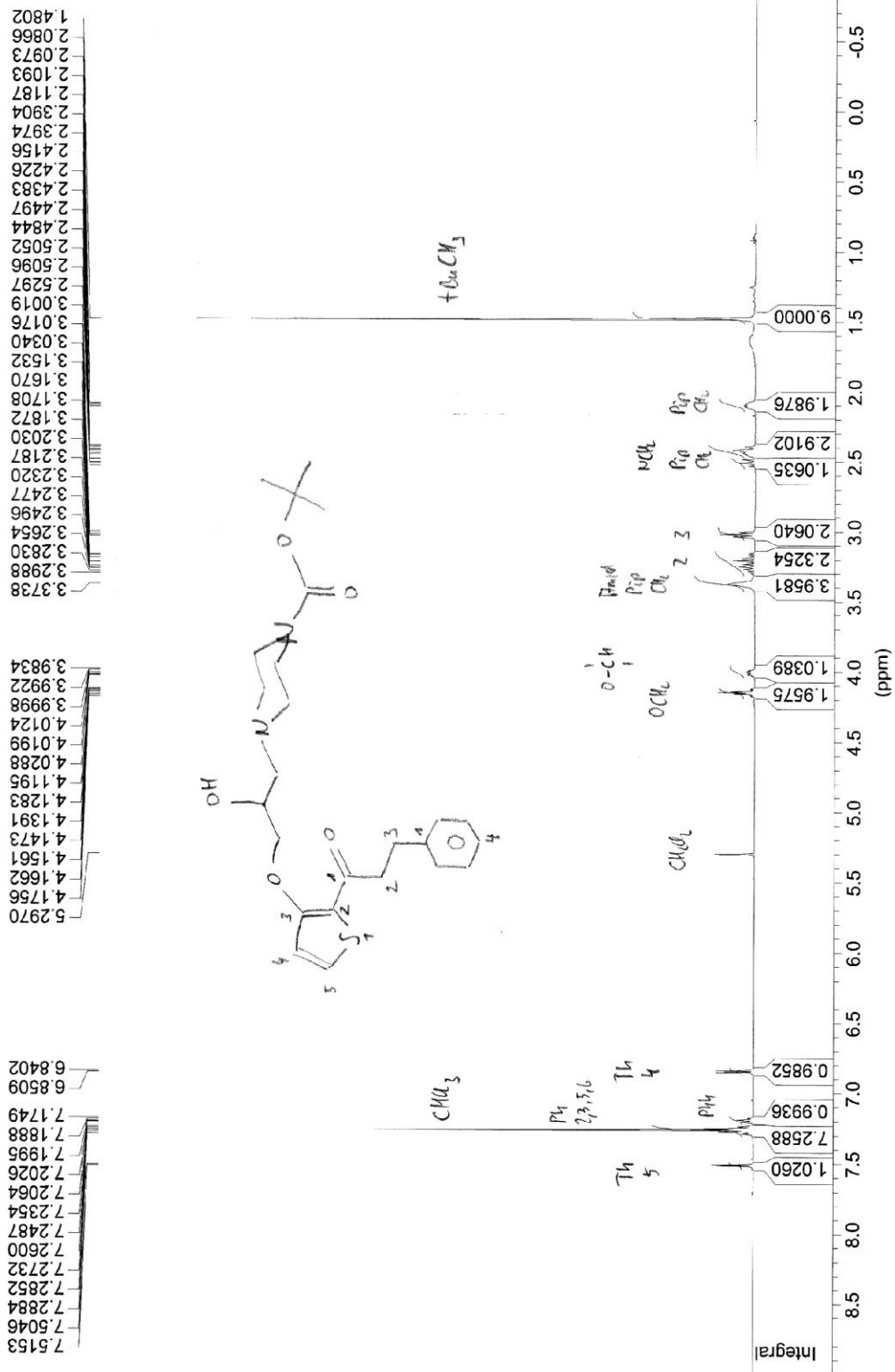
\*\*\* Current Data Parameters \*\*\*

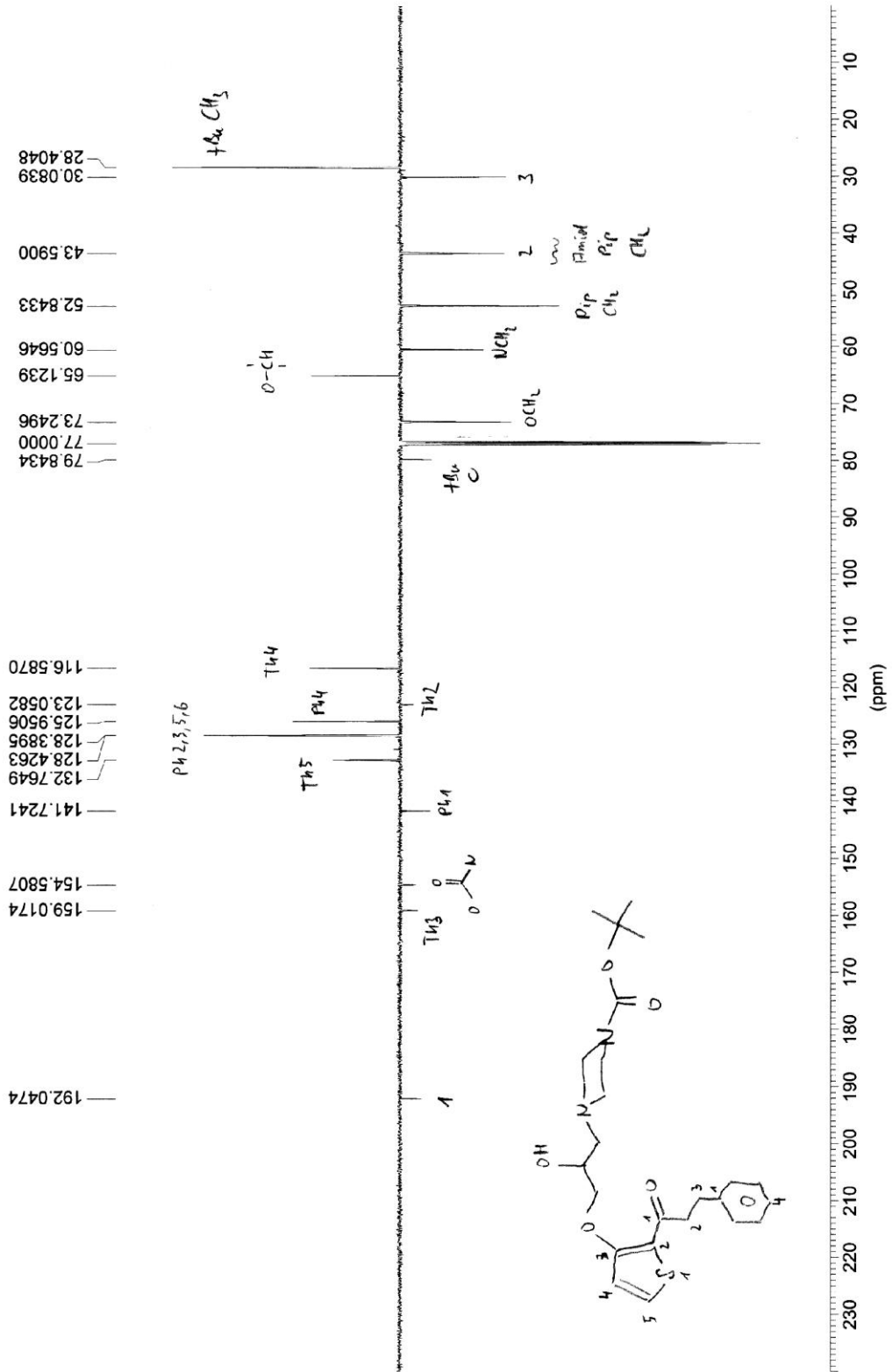
NAME : mac13s47  
 EXPNO : 10  
 PROCNO : 0







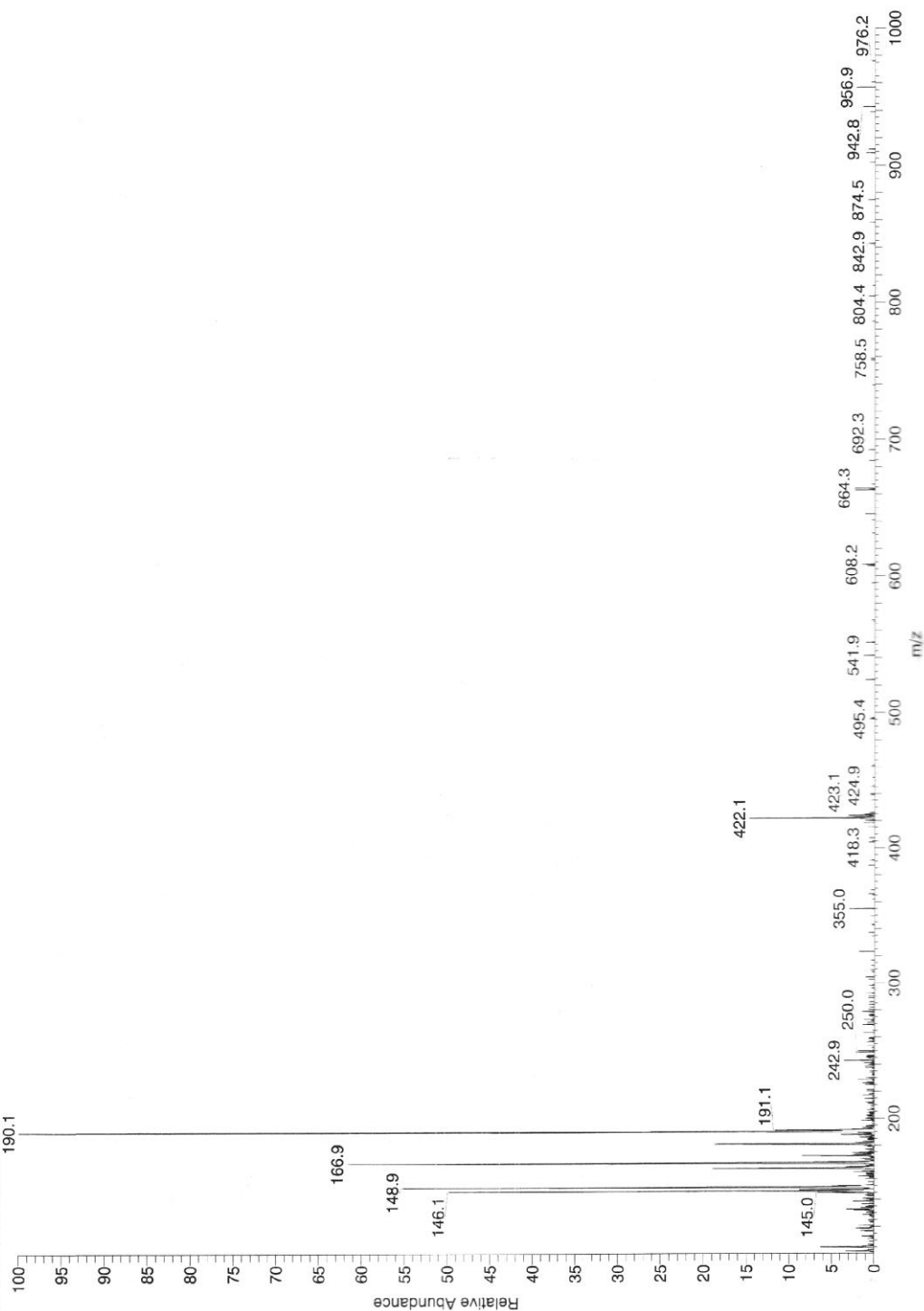




C:\Diverse\MF\_MAO18a.RAW

07/24/2009 02:20:24 PM

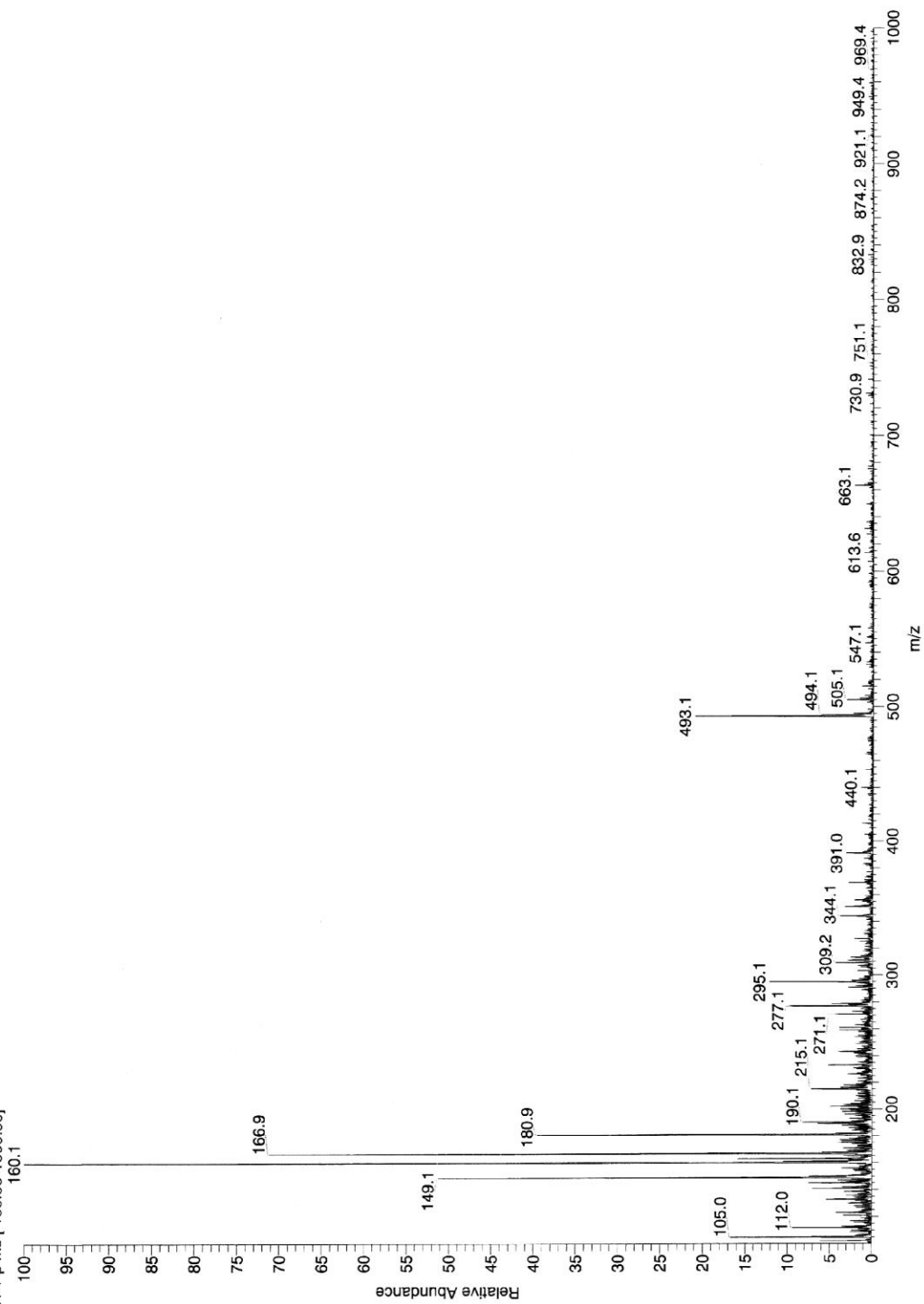
C:\Diverse\MF\_MAO18a  
C:\Diverse\MF\_MAO18a.RAW\pos  
MF\_MAO18a#1-29 RT: 0.00-0.51 AV: 29 NL: 2.52E4  
T: + p ms [ 100.00-1000.00]

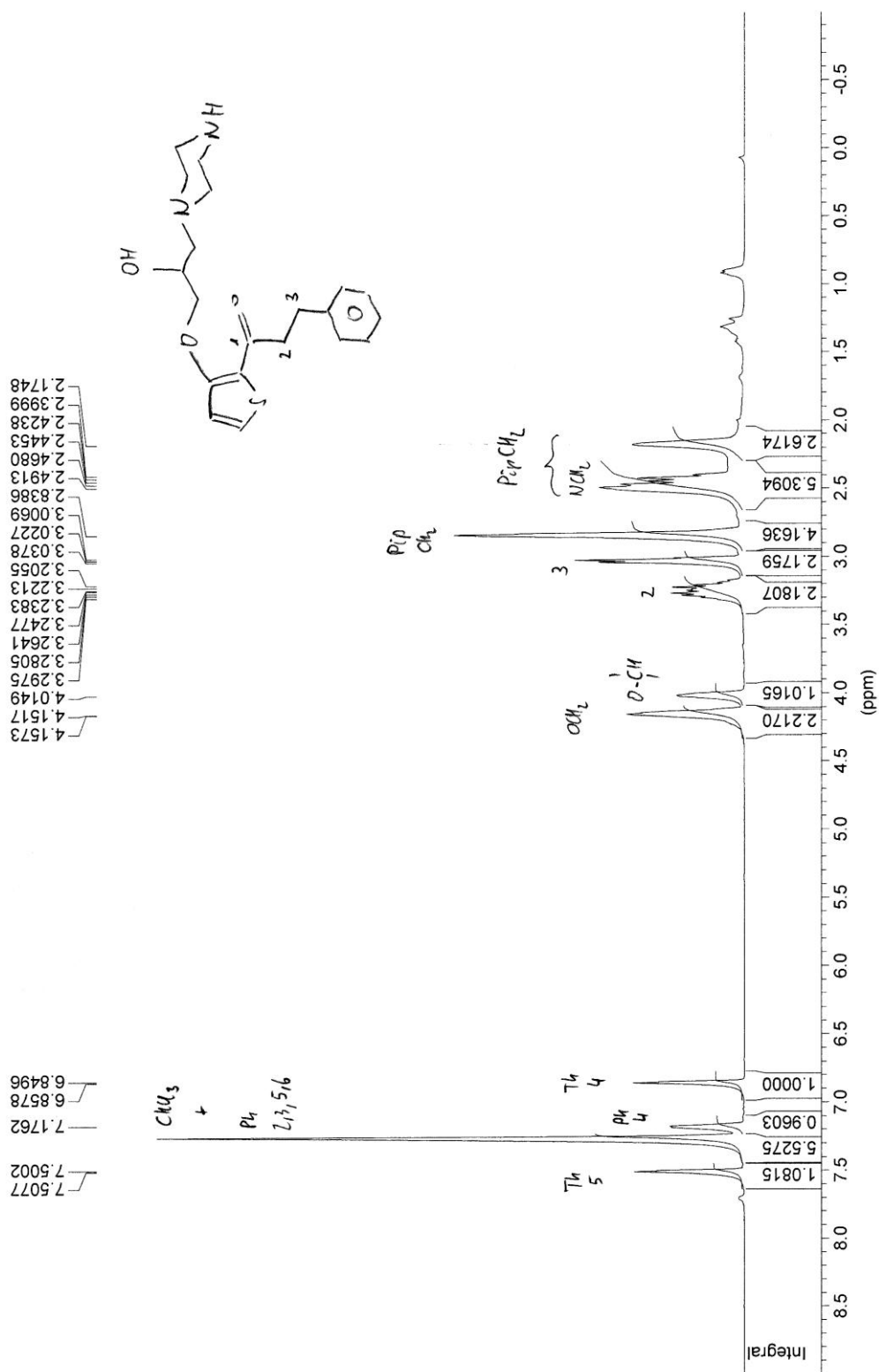


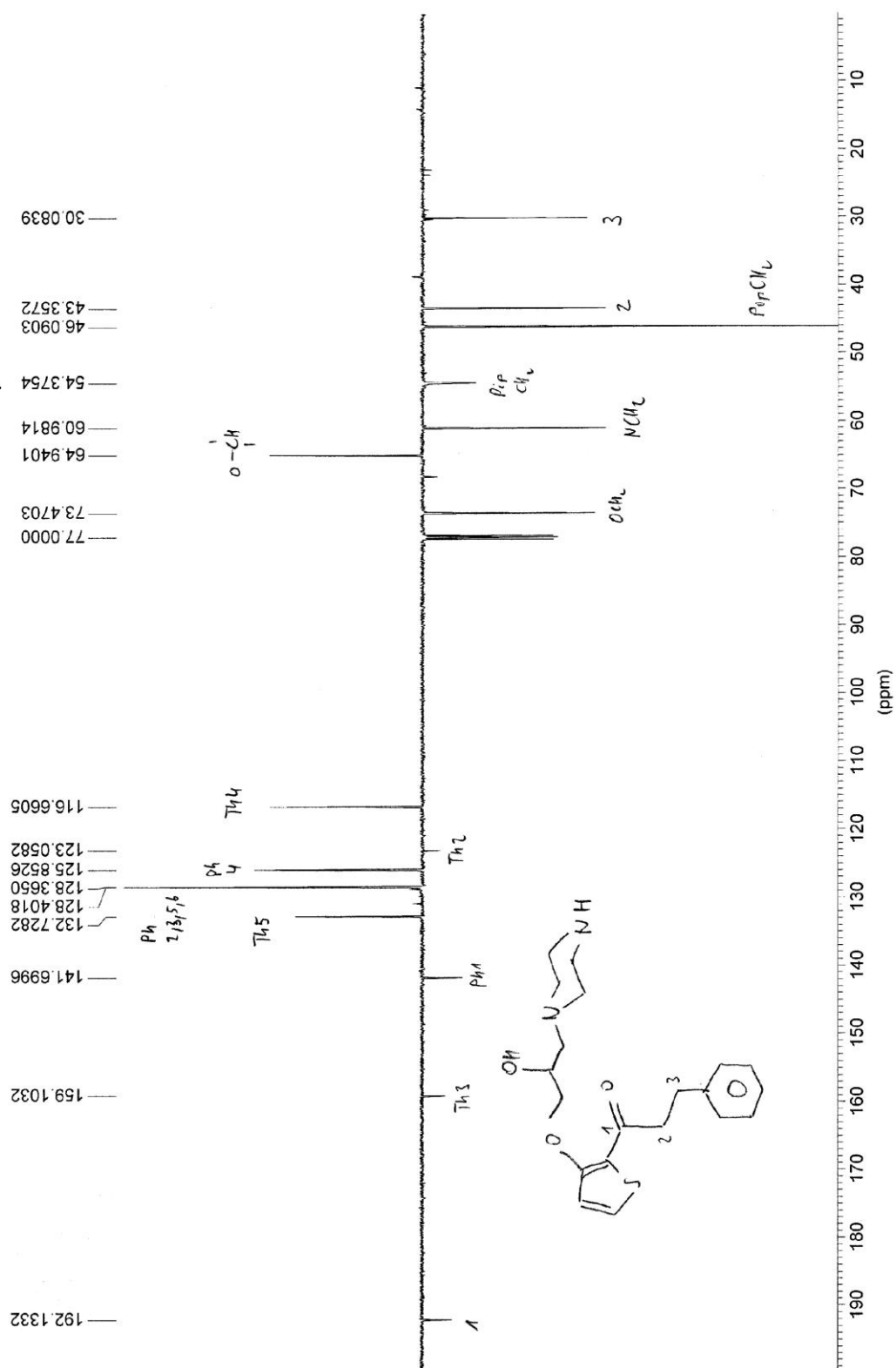
C:\Diverse\MF\_MAO19a.RAW

07/24/2009 02:22:16 PM

C:\Diverse\MF\_MAO19a  
C:\Diverse\MF\_MAO19a.RAW pos  
MF\_MAO19a #1-33 RT: 0.01-0.59 AV: 33 NL: 9.16E4  
T: + p ms [ 100.00-1000.00]



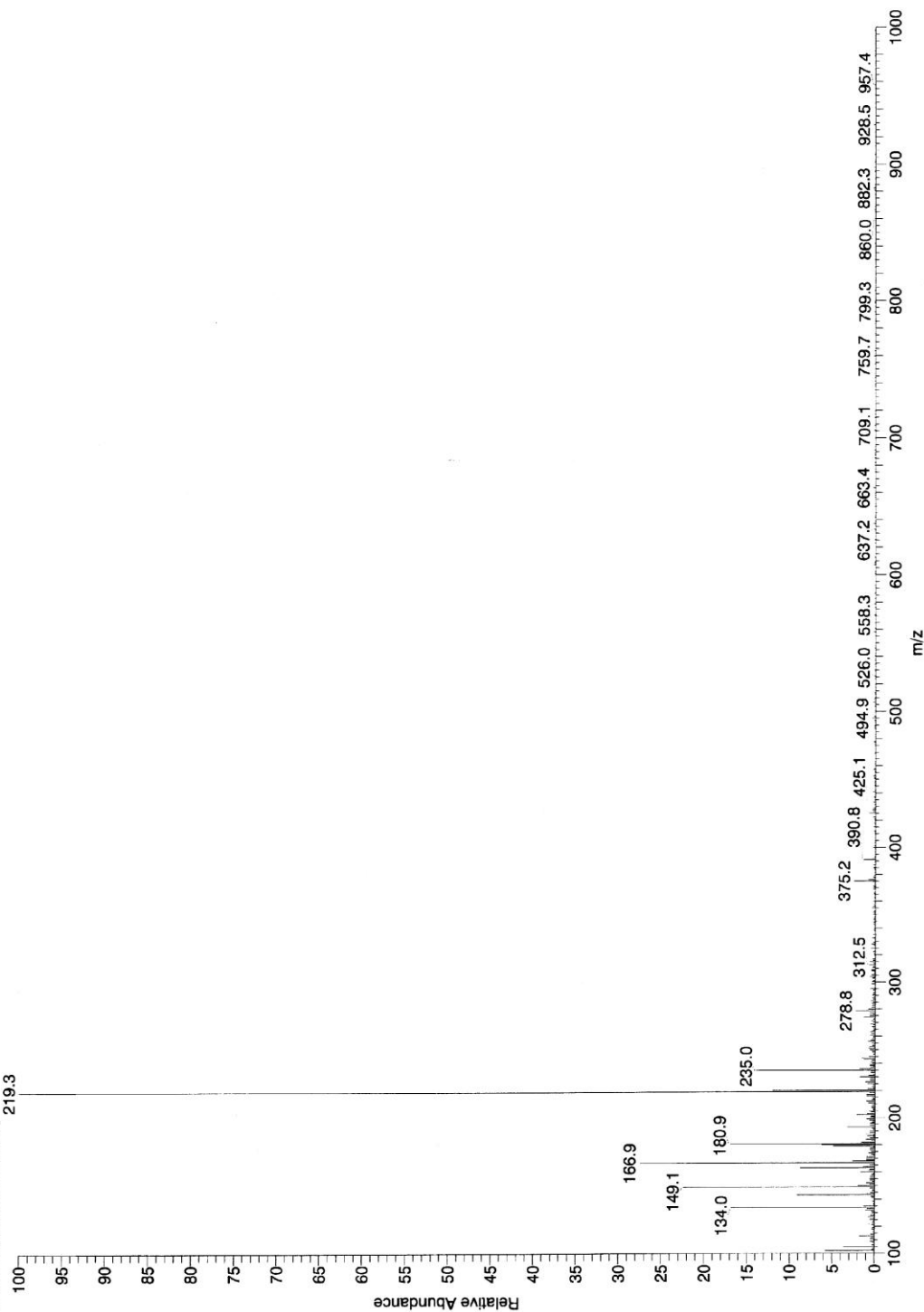


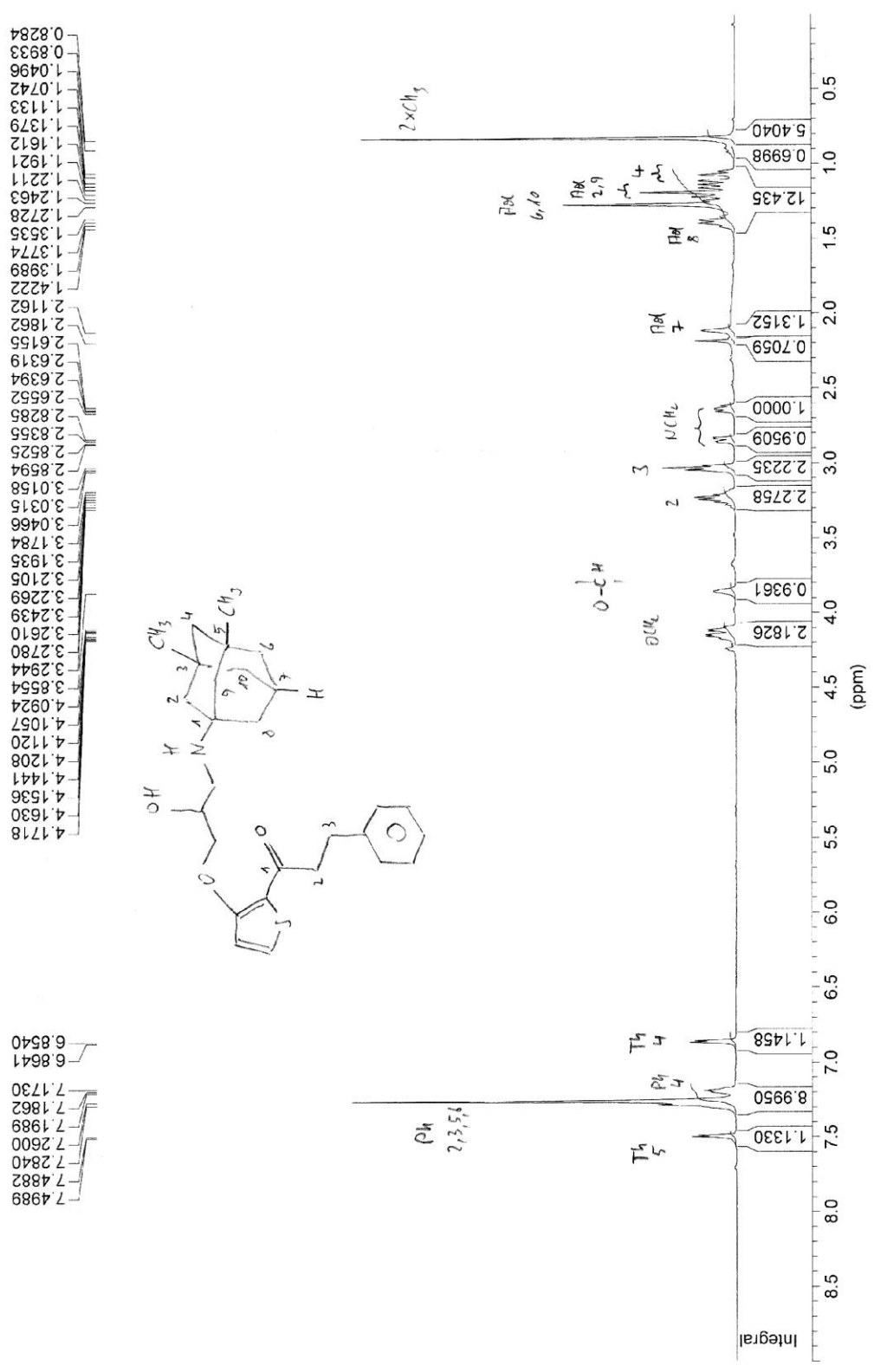


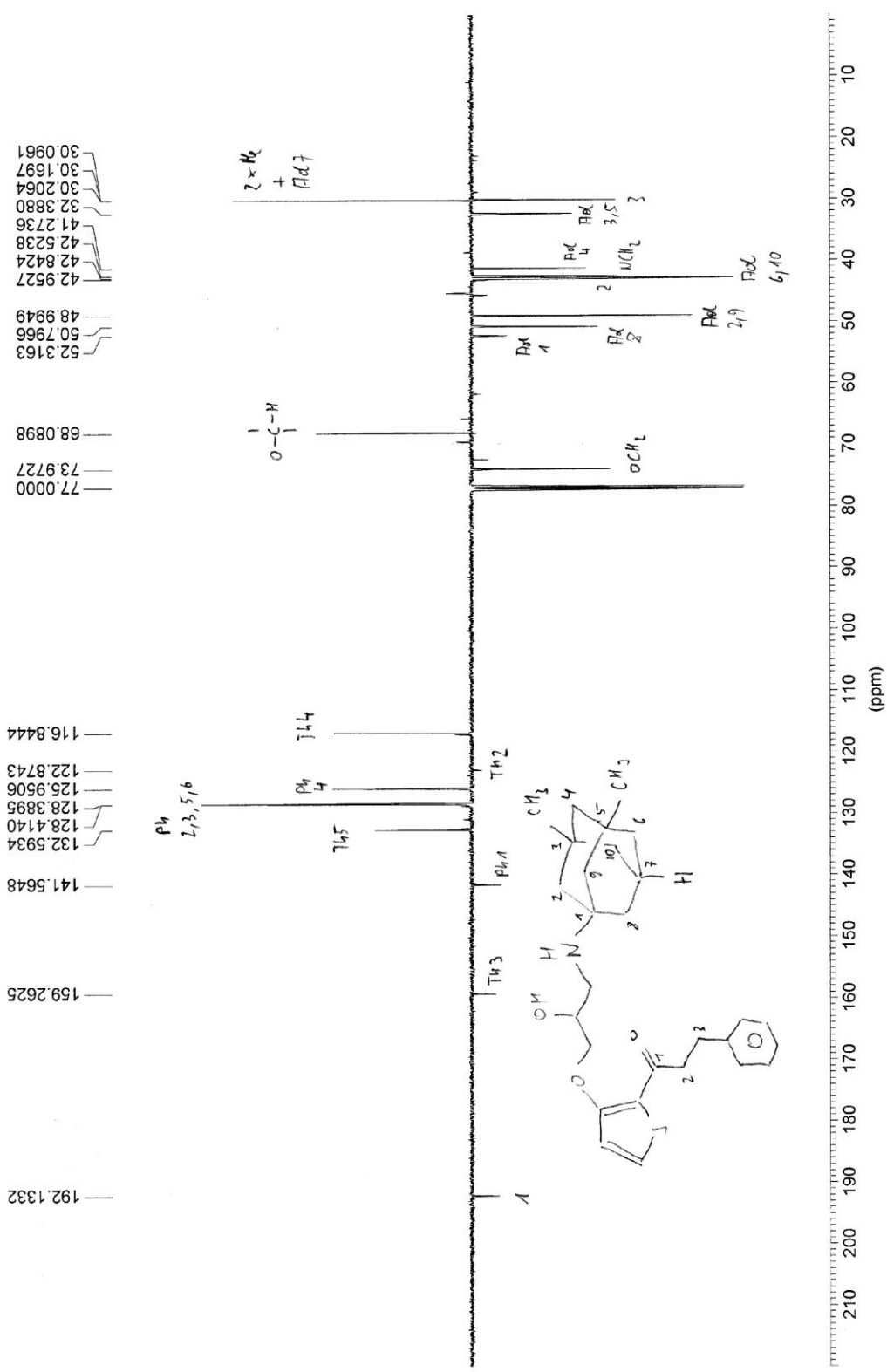
C:\Diverse\MF\_MA020.RAW

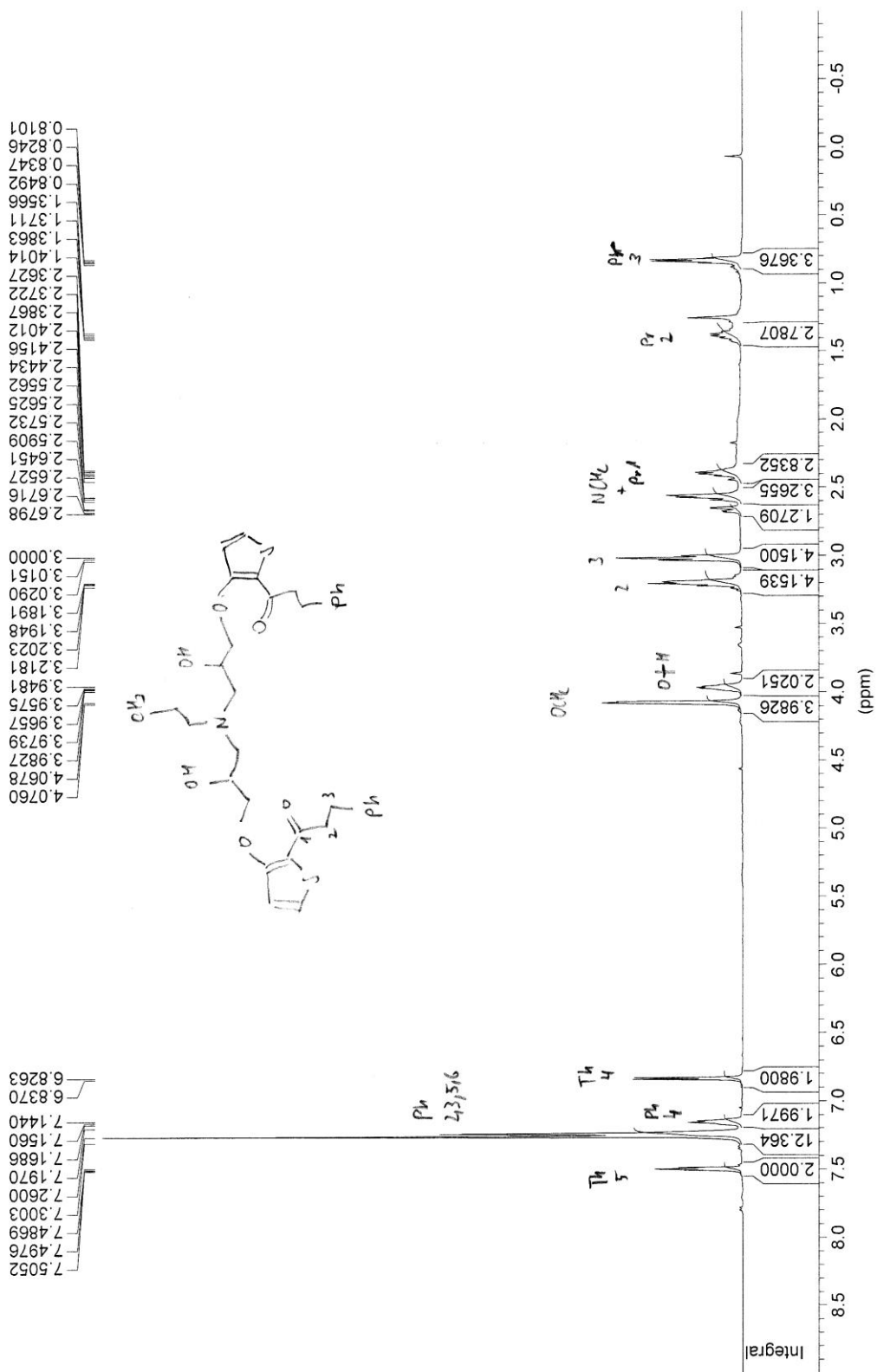
07/24/2009 02:23:48 PM

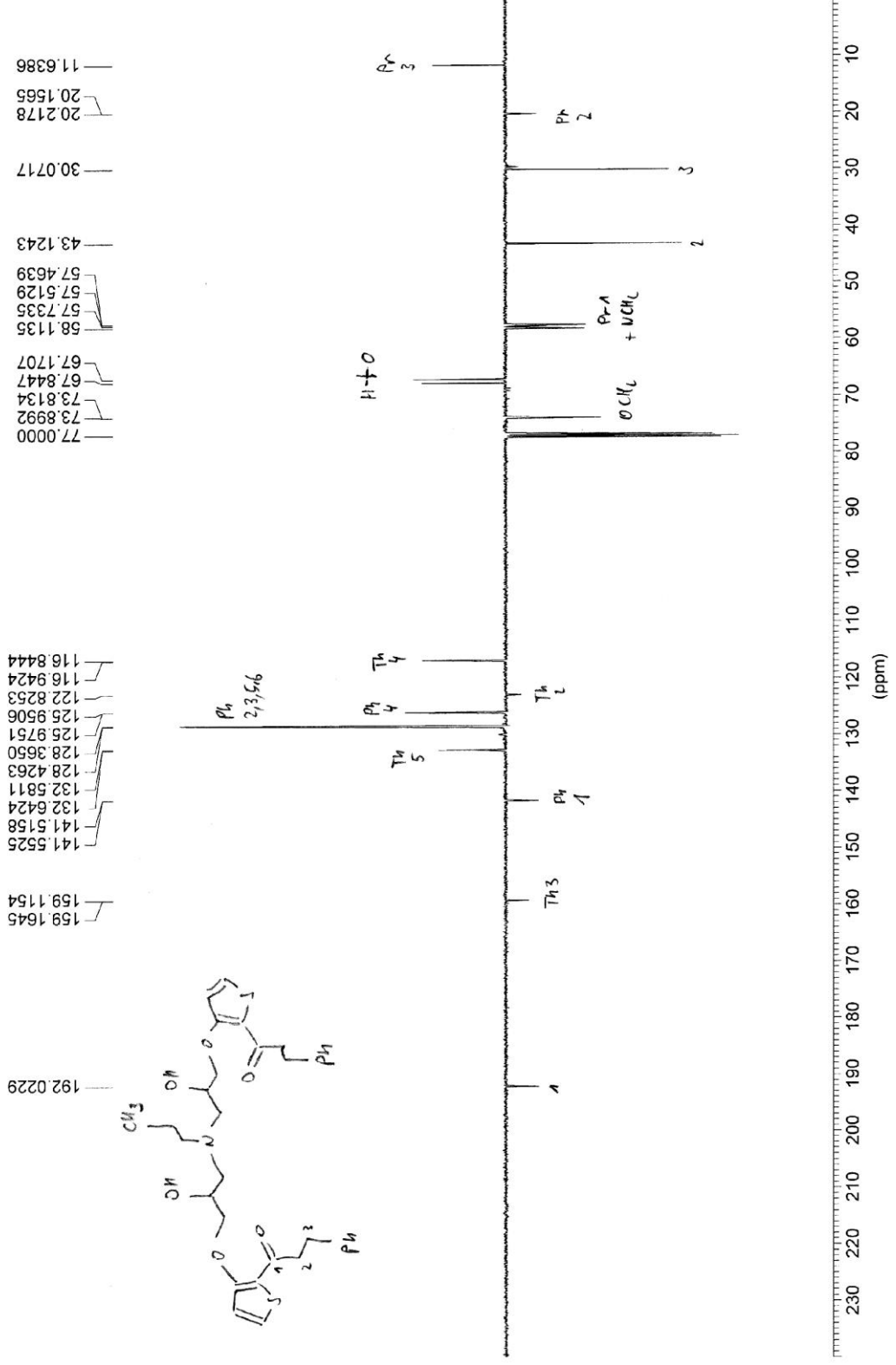
C:\Diverse\MF\_MA020  
C:\Diverse\MF\_MA020.RAW pos  
MF\_MA020 #1-30 RT: 0.17-0.50 AV: 21 NL: 9.65E5  
T: + c ms [ 100.00-1000.00]



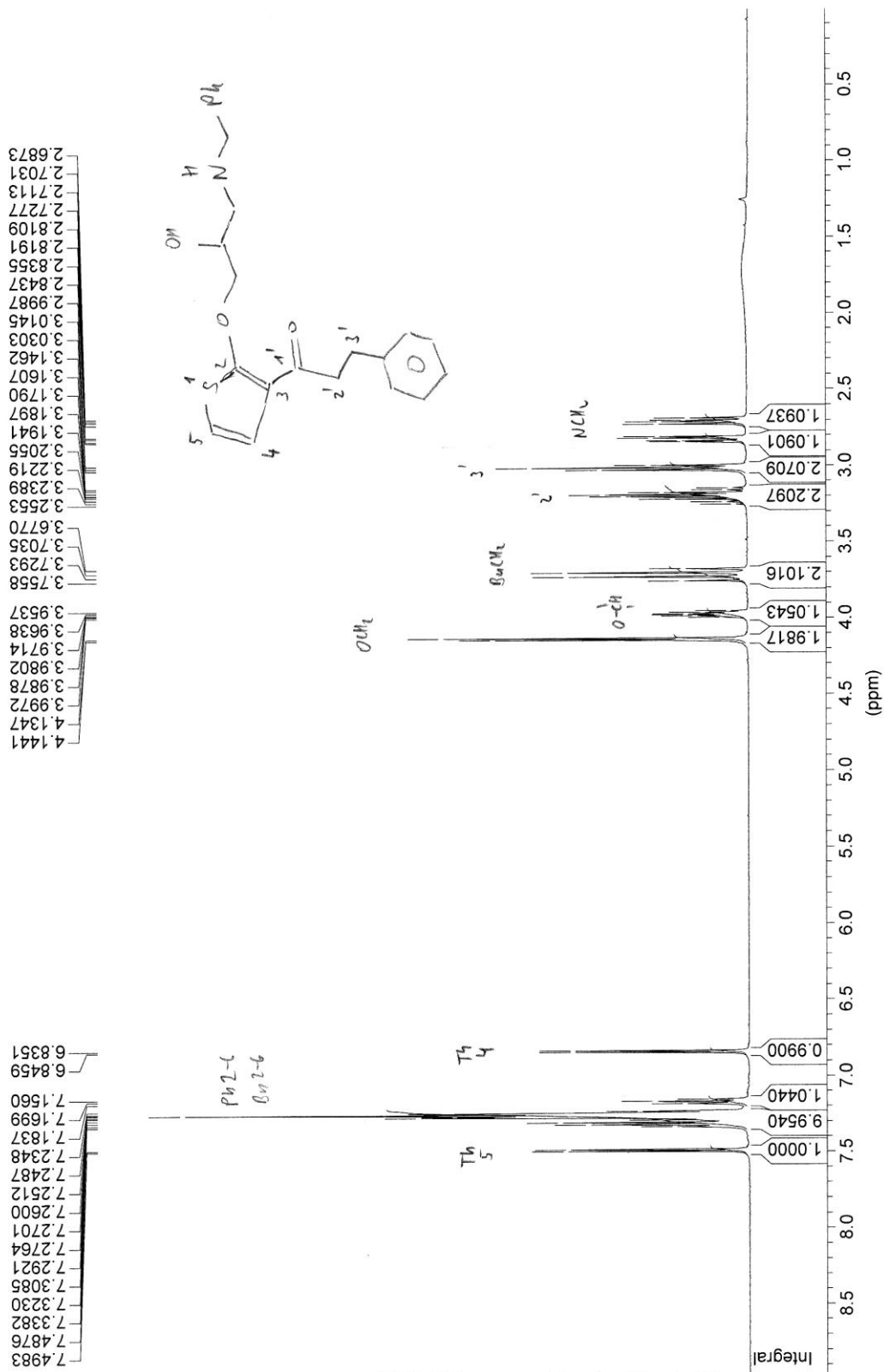




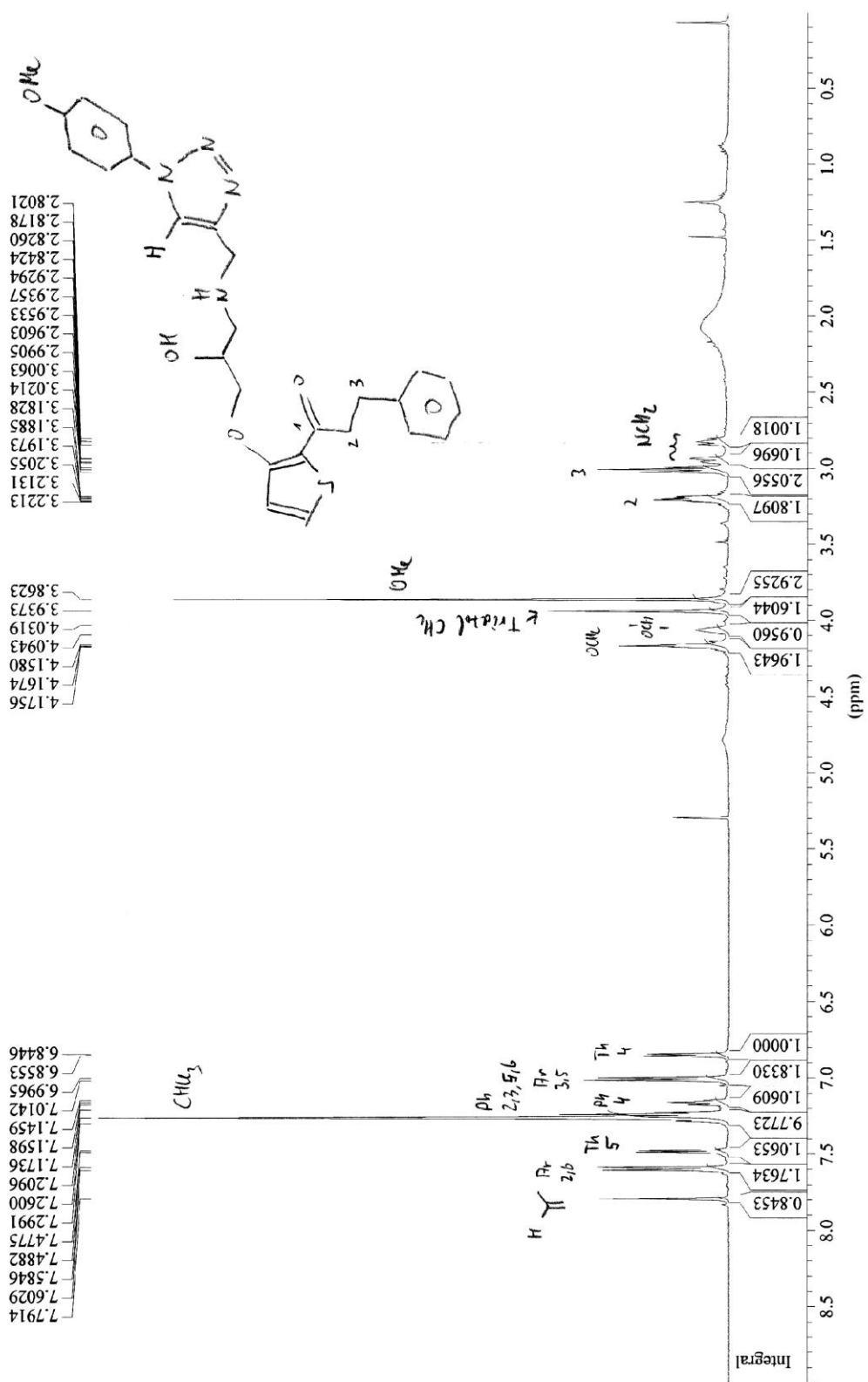


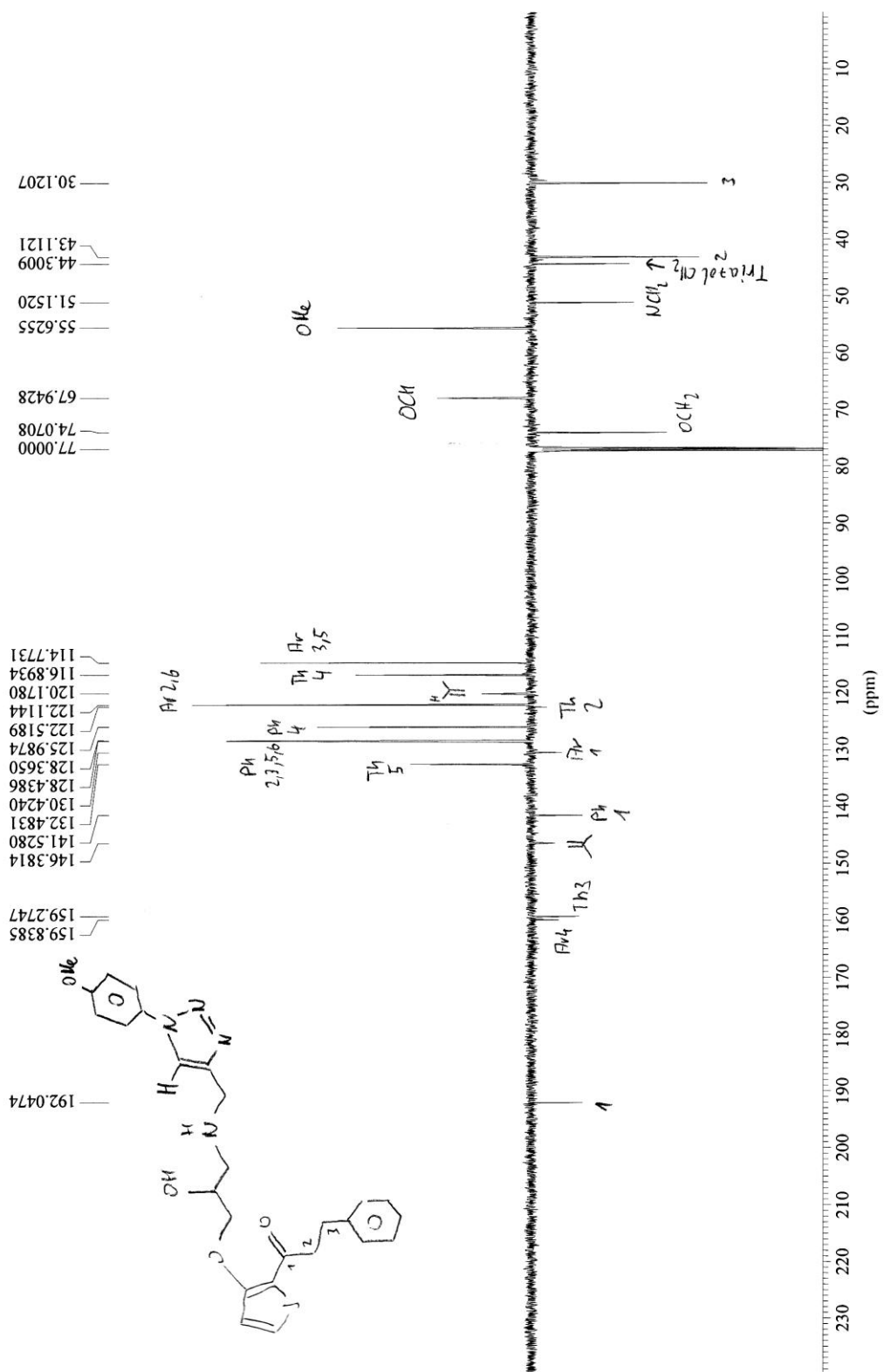


mma07 in cddi3 (Proton), 12.2.2009





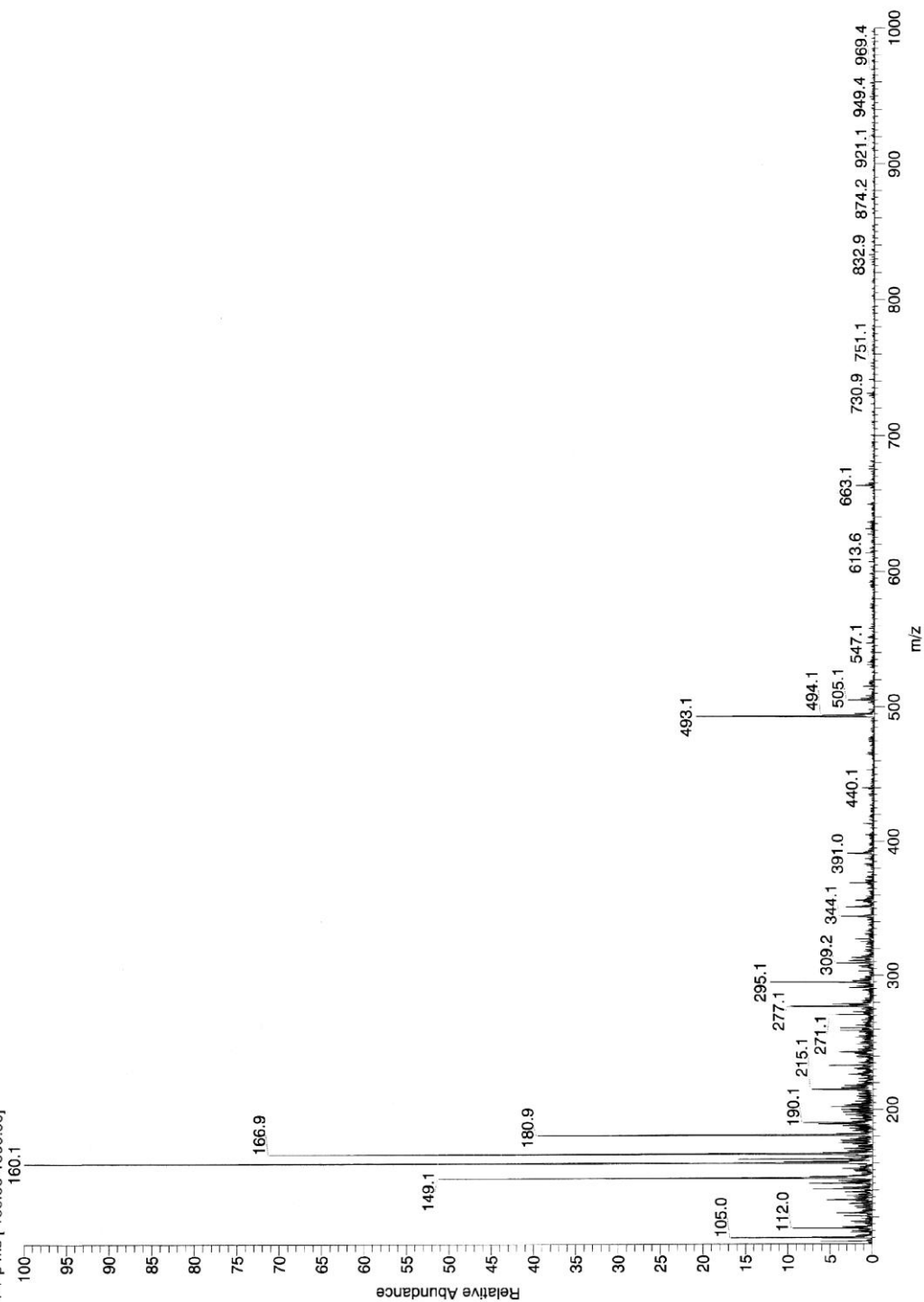




C:\Diverse\MF\_MAO19a.RAW

07/24/2009 02:22:16 PM

C:\Diverse\MF\_MAO19a  
C:\Diverse\MF\_MAO19a.RAW pos  
MF\_MAO19a #1-33 RT: 0.01-0.59 AV: 33 NL: 9.16E4  
T: + p ms [100.00-1000.00]



## 5.2 Kurzfassung - Abstract

Die Behandlung der Malaria wird aufgrund der Resistenzentwicklungen gegen die herkömmlich angewendeten Arzneistoffe immer schwieriger. In einem Screening, in dem bereits bekannte Substanzklassen auf eine Wirkung gegen die Malaria getestet wurden, zeigte sich Propaphenon, ein Klasse Ic-Antiarhythmikum, als vielversprechender Kandidat, der jedoch in therapeutischen Dosen ein hohes kardivaskuläres Risiko in sich birgt. Ziel dieser Diplomarbeit war es nun, im Sinne des Bioisosterie-Konzepts, Thiophenderivate des Propafenons mit verschiedensten Modifikationen besonders im Bereich der Aminofunktion zu generieren. Die Gründe dafür waren einerseits um Einblick in die komplexen Struktur-Wirkungsbeziehungen zu bekommen und andererseits um potente Wirkstoffe gegen die Malaria zu erhalten. Die Synthese der Verbindungen erfolgte hierbei durch Umsetzung eines zentralen Building-Blocks mit verschiedensten Aminen, beziehungsweise durch experimentelle Anwendung der Click-Chemie.

Die Wirkung der erlangten Substanzen wurde mittels eines HRP2-sandwich ELISAs ermittelt.

The treatment of malaria is getting more and more complicated due to the developed resistances against commonly used medications. Drugs, which are already in use for other indications, were screened for their ability as anti-malarial agents. Propafenon, a class Ic-antiarrhythmic was found as one of the most promising candidates, but the use in therapeutic concentrations is not recommended, because of the cardiovascular side effects. The intention of this diploma thesis was on the one hand, to generate thiophen-derivates on the basis of the bioisoteric concept, with several modifications of the amino-moiety to get an idea of the structure-activity-relationships. On the other hand the goal was also to gain new potent agents against malaria. The substances were made by the reaction of a central building-block with different amines, respectively by the utilisation of click-chemistry. The activities were tested with a HRP2-sandwich ELISA assay.

# Manuela Fuchs

---

## Curriculum Vitae

---

### Geburt und Ausbildung

- 23.08.1984 **geboren in Wien.**
- 90/91 – 93/94 **Volksschule Konstanziagasse,**  
1220 Wien.
- 94/95 – 97/98 **Realgymnasium Polgarstraße,**  
1220 Wien.
- 98/99 – 01/02 **Oberstufenrealgymnasium Polgarstraße,**  
1220 Wien.
- Jun. 02 **Reifeprüfung.**
- 02 – 12 **Studium Pharmazie.**

---

### Bisherige Beschäftigungen

- Jul. – Aug. 02 **Baxter Bioscience,**  
Konfektionierung.
- Jun. 03 **Labor Dr. Kosak,**  
Schreiben von Befunden, Krankenkassenabrechnungen.
- Aug. – Sep. 04 **Baxter Bioscience,**  
Quality Control and Complaints.
- Okt. 04 – Mär. 05 **Schütz Marketing Services,**  
Telemarketing im Pharmabereich.
- Jul. 07 – Mär. 09 **Pharmacon Molekulares Design,**  
Synthese von Arzneistoffen, HPLC-Analytik.
- Mär. 09 – Nov. 09 **Diplomarbeit,**  
Fachbereich: Pharmazeutische Chemie.