

DISSERTATION

Titel der Dissertation

„Synthese von Thienothiazinen und –pyrazinen
und deren biologische Aktivität“

Verfasserin

Dipl.-Ing. (FH) Claudia Mayer

angestrebter akademischer Grad

Doktorin der Naturwissenschaften (Dr.rer.nat.)

Wien, 2015

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 791 449

Dissertationsgebiet lt.
Studienblatt: Pharmazie

Betreuer: Ao. Univ-Prof. Dr. Thomas Erker

Diese Arbeit ist
meinem Großvater († 2012) gewidmet,
der an Morbus Alzheimer litt.

Danksagung

Zu Beginn möchte ich mich bei Ao. Univ.-Prof. Dr. Thomas Erker für die Ermöglichung sowie Betreuung meiner Dissertation und die Aufnahme in die Arbeitsgruppe herzlich bedanken.

Mein Dank gilt Frau Prof. Pia Vuorela und Adyary Fallarero, PhD für die Durchführung der enzymatischen Untersuchungen.

Weiters geht mein herzlicher Dank an Ao. Univ.-Prof. Dr. Christian Studenik für die Ermöglichung der pharmakologischen Untersuchungen an isolierten Präparaten von Meerschweinchen.

Meinen Arbeitskollegen am Department für Pharmazeutische Chemie möchte ich für die gute Zusammenarbeit, die angenehme Arbeitsatmosphäre sowie für so manches Gespräch in schwierigen Zeiten danken. Besonderen Dank möchte ich meinem ehemaligen Kollegen Dr. Przemyslaw Guzik für die gute Organisation im Labor sowie Dr. Florian Bauer und DI(FH) Severin Mairinger für ihre Unterstützung bei chemischen Fragen aussprechen.

Bei Herrn Dr. Leopold Jirovetz und Frau Ing. Sandra Auernigg-Haselmaier bedanke ich mich für die Aufnahme der Massenspektren und Bestimmung der hochauflösenden Massen. Mag. Johannes Theiner danke ich für die Durchführung der Elementaranalysen.

Ein großes Dankeschön geht an meine Familie und Freunde, die mir in dieser Zeit eine große Stütze waren. Im Besonderen möchte ich meiner Mutter danken, die mich mit ihren Worten immer wieder aufmuntern und zum Weitermachen animieren konnte.

Abstract (Deutsch / Englisch)

Bei Morbus Alzheimer handelt es sich um eine neurodegenerative Erkrankung, die die häufigste Form von Demenz darstellt.

Der Fokus dieser Arbeit richtet sich auf das Enzym Butyrylcholinesterase (BChE), das bei Morbus Alzheimer-Erkrankten eine besondere Rolle spielt. Die selektive Inhibition der BChE zeigte bereits in Tierversuchen einen Anstieg des Neurotransmitters Acetylcholin im synaptischen Spalt sowie eine Abnahme der Konzentration des Amyloid- β -Peptids, aus dem die neuritischen Plaques aufgebaut sind.

Bei den bereits am Markt befindlichen und zur Therapie von Morbus Alzheimer eingesetzten Substanzen handelt es sich zum einen um selektive Acetylcholinesterase (AChE)-Inhibitoren (Galantamin, Donepezil) und andererseits um einen unselektiven Inhibitor (Rivastigmin), der sowohl die AChE als auch die BChE inhibiert. Zurzeit gibt es noch keinen selektiven Inhibitor der BChE, der therapeutischen Einsatz findet.

Somit war das primäre Ziel dieser Dissertation, die Entwicklung und Synthese von selektiven BChE-Inhibitoren. Im Vorfeld konnten durch ein *in vitro* Randomscreening bereits Thienothiazinderivate identifiziert werden, die eine solche Wirkung besitzen und die somit als Leitstrukturen für die Synthese neuer und wirksamerer Verbindungen dienten.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden sowohl Thienothiazine als auch Thienopyrazine entwickelt, die eine selektiv inhibierende Wirkung der BChE im mikro- bis dreistelligen nanomolaren Bereich erzielten. Dabei zeigte der wirksamste Vertreter, das (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazin-Derivat **57hox**, einen IC₅₀-Wert von 0,40 μ M.

Da Morbus Alzheimer mit einem reduzierten cerebralen Blutfluss assoziiert wird, beschäftigte sich ein weiterer Teil dieser Arbeit mit der Untersuchung ausgewählter Verbindungen auf ihre relaxierende Wirkung auf die glatte Muskulatur von isolierten Präparaten des Meerschweinchens. Hierbei war die vasodilatierende Wirkung der Testsubstanzen an Aorta und Arteria pulmonalis von besonderem Interesse.

Zwei der Verbindungen zeigten gefäßerweiternde Eigenschaften im zweistelligen mikromolaren Bereich an der Arteria pulmonalis. Die ebenso gewünschte vasodilatierende Wirkung an der Aorta konnte bei den getesteten Verbindungen nicht festgestellt werden.

Mit dieser Arbeit soll ein Beitrag zur Suche und Entwicklung weiterer und effizienterer Verbindungen im Bereich der Therapie von Morbus Alzheimer geleistet werden.

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder, which represents the most common form of dementia.

This work focuses on the enzyme butyrylcholinesterase (BChE), which plays an important role in AD patients. The selective inhibition of BChE already showed an increase of the neurotransmitter acetylcholine in the synaptic cleft and a reduction of β -amyloid peptide levels, which accumulates in neuritic plaques.

On the one hand, selective acetylcholinesterase (AChE)-inhibitors (galanthamine, donepezil) are available on the market and used for the treatment of AD. On the other hand, rivastigmine, an unselective inhibitor, inhibits AChE as well as BChE. Currently, there exists no selective BChE-inhibitor, which is used therapeutically.

Therefore, primary aim of this thesis was the development and synthesis of selective BChE-inhibitors. Beforehand, an *in vitro* random screening has identified thienothiazines, which show such an activity and act as lead structures for the synthesis of new and more active compounds.

Within this work, thienothiazines as well as thienopyrazines were developed, which gained a selective inhibiting activity of BChE in a micro- to middle nanomolar range. The most active compound, the (3*R*)-isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine derivative **57hox**, showed an IC_{50} -value of 0,40 μ M.

Since, AD is associated with a decreased cerebral blood flow (CBF), a further part of this work addressed the investigation of the relaxing effects of selected compounds on smooth muscle preparations of the guinea pig. Here, the vasodilating activity of the substances on aorta and pulmonary artery was of peculiar interest.

Two of the compounds showed vasodilating properties in the middle micromolar range on the pulmonary artery. The additional desired vasodilating activity of the tested compounds on the aorta could not be detected.

This work should make a contribution to the search and development of further and more efficient compounds in the field of AD therapy.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1.	Problemstellung.....	1
1.1.1.	Das Krankheitsbild Morbus Alzheimer	1
1.1.2.	Bisherige Therapiemöglichkeiten.....	2
1.1.3.	Die Rolle der BChE bei Morbus Alzheimer	3
1.2.	Voruntersuchungen und Identifizierung der Leitstrukturen	5
2	Zielsetzung.....	10
3	Entwicklung und Synthese der Testsubstanzen.....	12
3.1.	Darstellung der Verbindungsklassen der 1. Generation	12
3.1.1.	Synthese der Thieno[3,2- <i>b</i>][1,4]thiazine	15
3.1.2.	Synthese der Thieno[2,3- <i>b</i>]pyrazine	18
3.1.3.	Ergebnisse der Untersuchungen der inhibitorischen Wirkung auf Cholinesterasen – Verbindungsklasse der 1. Generation	22
3.2.	Darstellung der Verbindungsklassen der 2. Generation	26
3.2.1.	Syntheseveruche zur Reduktion der Carbonylteilstruktur.....	29
3.2.2.	Synthese der (3 <i>R</i>)-Isopropyl-thieno[2,3- <i>b</i>]pyrazine und (3 <i>R</i>)-Phenethyl- thieno[2,3- <i>b</i>]pyrazine	33
3.2.3.	Synthese der (3 <i>S</i>)-Isopropyl-thieno[2,3- <i>b</i>]pyrazine und (3 <i>S</i>)-Phenethyl- thieno[2,3- <i>b</i>]pyrazine	37
3.2.4.	Nachweis der Enantiomerenreinheit	41
3.2.5.	Ergebnisse der Untersuchungen der inhibitorischen Wirkung auf Cholinesterasen – Verbindungsklasse der 2. Generation	44
4	Untersuchungen an der glatten Muskulatur von isolierten Präparaten des Meerschweinchens.....	51
4.1.	Biologische Ergebnisse der Verbindung 57hox	52
4.2.	Biologische Ergebnisse der Verbindung 78hox	59

5	Diskussion.....	68
5.1.	Verbindungsklassen der 1. Generation	69
5.2.	Verbindungsklassen der 2. Generation	74
5.3.	Diskussion der Ergebnisse der Untersuchungen an isolierten Präparaten des Meerschweinchens.....	82
6	Experimenteller Teil.....	88
6.1.	Chemischer Teil.....	88
6.2.	Biologischer Teil	192
6.2.1.	Untersuchungen der inhibitorischen Aktivität auf die Enzyme BChE und AChE	192
6.2.2.	Untersuchungen an der glatten Muskulatur von isolierten Organpräparaten des Meerschweinchens	193
7	Literaturverzeichnis	200
8	Abkürzungen.....	207
9	Spektren (¹H-NMR, ¹³C-NMR, Masse, HR-MS)	208
10	HPLC-Chromatogramme	311
10.1.	Chromatogramme der Reinverbindungen.....	312
10.2.	Chromatogramme der Enantiomerenpaare.....	340
11	Curriculum Vitae	354

1 Einleitung

1.1. Problemstellung

1.1.1. Das Krankheitsbild Morbus Alzheimer

Bei Morbus Alzheimer handelt es sich um eine neurodegenerative Erkrankung, die zu den häufigsten demenziellen Erkrankungen zählt (Onor *et al*, 2007). Diese Erkrankung wurde erstmals im Jahre 1907 durch ihren Entdecker sowie Namensgeber Alois Alzheimer beschrieben (Toda *et al*, 2010).

Morbus Alzheimer ist ein fortschreitender Prozess, bei dem die Symptome im Laufe der Jahre stark zunehmen. Die betroffenen Patienten leiden an einem stetigen Verlust des Gedächtnisses. Zu Beginn ist nur das Kurzzeitgedächtnis betroffen und im weiteren Verlauf der Erkrankung ebenso das Langzeitgedächtnis. Als weitere Merkmale treten unter anderem eine Verminderung der kognitiven Leistungsfähigkeit, Beeinträchtigungen in der Alltagsbewältigung sowie im Urteilsvermögen, Orientierungslosigkeit und psychische Probleme wie Halluzinationen und Depressionen auf (Law *et al*, 2001; Onor *et al*, 2007).

Zu den neuropathologischen Kennzeichen der Erkrankung zählen vorwiegend die Bildung von amyloiden Ablagerungen (β -Amyloidplaques), die Anlagerung von Neurofibrillen (*Neurofibrillary Tangles* (NFTs)), die sich aus hyperphosphoryliertem Tau-Protein zusammensetzen, ein niedriges Level des Neurotransmitters Acetylcholin (ACh) sowie schlussendlich das Absterben von cholinergen Neuronen in Hippocampus und Cortex (LaFerla *et al*, 2007; Ballatore *et al*, 2007; Onor *et al*, 2007). Die Neurofibrillen sind intraneuronal, also innerhalb der Neuronen, zu finden. β -Amyloidplaques bestehen aus Aggregaten des sogenannten Amyloid- β -Peptids (A β), das durch die Proteolyse des Amyloid-Precursor-Proteins (APP) durch die Enzyme β -Secretase und γ -Secretase entsteht. Bei den β -Amyloidplaques handelt es sich vorwiegend um extrazelluläre Ablagerungen (LaFerla *et al*, 2007; Konrath *et al*, 2013). Studien an Down Syndrom-Patienten zeigten jedoch, dass eine Anhäufung von intrazellulärem A β -Peptid möglicherweise einer extrazellulären Bildung von Plaques vorausgeht (Gyure *et al*, 2001). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass der intrazelluläre A β -Spiegel abnimmt, sobald es zur Plaqueentstehung im extrazellulären Raum kommt (Mori *et al*, 2002).

Im Zusammenhang mit Morbus Alzheimer spricht man auch von einer entzündlichen Erkrankung des Gehirns, da mit dem Neurotransmitter Acetylcholin eine antiinflammatorische Wirkung in Verbindung gebracht wird. Diese ist jedoch

durch den geringen Spiegel an ACh in Morbus Alzheimer-Erkrankten nicht mehr vollständig gegeben (Das, 2007; Konrath *et al*, 2013).

Des Weiteren besteht eine Korrelation zwischen einem reduzierten cerebralen Blutfluss und Morbus Alzheimer (Goldsmith, 2007; Mazza *et al*, 2011; Hunter *et al*, 2012). Hierbei liegt eine Störung der regulatorischen Mechanismen vor, die für den cerebralen Blutfluss verantwortlich sind und somit in einer cerebralen Hypoperfusion resultieren (Hunter *et al*, 2012). Dies führt im weiteren Verlauf zur Degeneration von Neuronen (Goldsmith, 2007).

Einer Vorhersage nach sollen sich die Morbus Alzheimer-Fälle im Vergleich zum Jahr 2006 bis 2050 vervierfachen. Dies würde einen Anstieg auf über 106 Millionen Erkrankte bedeuten (Brookmeyer *et al*, 2007).

1.1.2. Bisherige Therapiemöglichkeiten

Bisherige Therapieansätze zeigen nur eine Verbesserung der Symptome, jedoch keine Heilung der Krankheit. Der Mangel an Acetylcholin und die daraus resultierenden negativen Auswirkungen auf die cholinerge Neurotransmission in Morbus Alzheimer-Patienten rückten das Enzym Acetylcholinesterase (AChE) als Target in den Mittelpunkt der Forschung. Man nahm an, dass die AChE das einzige Enzym ist, welches für die Hydrolyse von Acetylcholin in Acetat und Cholin und somit für das Beenden der cholinergen Signalübertragung im synaptischen Spalt verantwortlich ist (Lane *et al*, 2006).

Um eine Verbesserung der kognitiven Funktionen von Morbus Alzheimer-Patienten zu erzielen, kommen heutzutage Cholinesterase-Inhibitoren zum Einsatz. Dazu zählen Galantamin, Donepezil und Rivastigmin (siehe Abb. 1). Bei Galantamin und Donepezil handelt es sich um selektive AChE-Inhibitoren. Rivastigmin ist ein unselektiver Inhibitor, der sowohl die AChE als auch die Butyrylcholinesterase (BChE) inhibiert. Der AChE-Inhibitor Tacrin (Abb. 1) wird aufgrund seiner Hepatotoxizität nicht mehr verwendet (Farlow *et al*, 2008).

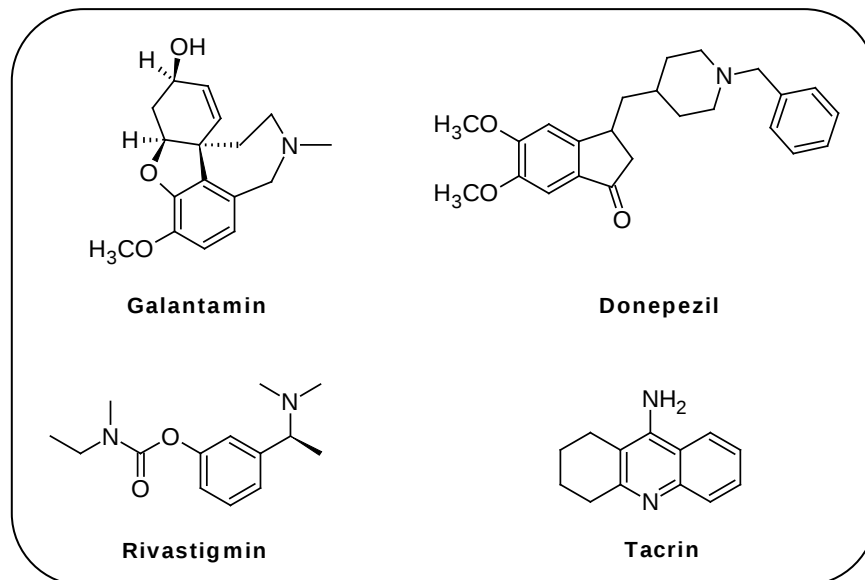


Abb. 1: Chemische Strukturen wichtiger Cholinesterase-Inhibitoren.

Neben den Cholinesterase-Inhibitoren findet auch Memantin als nicht-kompetitiver NMDA-Antagonist in der Alzheimertherapie Anwendung. Die Wirkung von Memantin beruht auf dem glutamatergen System, indem Memantin an die NMDA-Rezeptoren bindet und somit den permanenten Einstrom von Calciumionen verhindert. Ein auf Dauer erhöhter Calciumspiegel in den Neuronen würde zu deren Absterben führen (Farlow *et al*, 2008; Mutschler *et al*, 2008).

1.1.3. Die Rolle der BChE bei Morbus Alzheimer

Der Rolle der Butyrylcholinesterase (BChE) schenkte man zu Beginn der Entwicklung von Therapeutika zur Anwendung bei Morbus Alzheimer nur wenig Beachtung.

Die Forschung der letzten Jahre lieferte jedoch eine Vielzahl an Aspekten, die verdeutlichen, dass eine Inhibition der BChE bei der Behandlung von Morbus Alzheimer von Vorteil ist.

Die BChE, auch nicht spezifische Cholinesterase oder Pseudocholinesterase genannt, ist in der Lage, nicht nur Acetylcholin, sondern auch Succinylcholin und Butyrylcholin zu hydrolysieren, wobei Butyrylcholin im humanen ZNS nicht vorkommt (Darvesh *et al*, 2003).

Bei gesunden Menschen ist vorwiegend die AChE für die Hydrolyse des Acetylcholins in Neuronen verantwortlich. Bei zu hohen Konzentrationen an Acetylcholin wird die AChE beim Abbau des Neurotransmitters durch die BChE unterstützt. Liegt ein Mangel an AChE vor bzw. wird die AChE inhibiert, kann die

BChE die AChE-Funktion übernehmen (Xie *et al*, 2000; Mesulam *et al*, 2002). In Morbus Alzheimer-Patienten ist die Aktivität der AChE auf etwa 55 % bis 65 % reduziert, wohingegen die Aktivität der BChE unverändert bleibt oder sogar ansteigt. Wird nun das Enzym AChE inhibiert, übernimmt die BChE die Hydrolyse des in Morbus Alzheimer-Patienten bereits reduzierten Acetylcholins (Giacobini, 2004; Onor *et al*, 2007).

Dabei sollte auch erwähnt werden, dass hohe Konzentrationen an ACh eine inhibierende Wirkung auf die AChE, aber eine aktivierende Wirkung auf die BChE ausüben (Giacobini, 2004; Das, 2007).

Neben dem Ungleichgewicht von AChE und BChE in Morbus Alzheimer-Erkrankten konnte gezeigt werden, dass beide Cholinesterasen in amyloiden Plaques und Neurofibrillen zu finden sind (Mesulam *et al*, 1987). Man geht davon aus, dass die BChE, bei der Entstehung von β -Amyloidplaques, am Übergang von der diffusen in die kompakte Form beteiligt ist (Darvesh *et al*, 2003). In einer Studie konnte hingegen gezeigt werden, dass die BChE die Bildung von A β -Fibrillen *in vitro* reduziert, wobei diese Wirkung dem C-Terminus der BChE zugeschrieben wird (Diamant *et al*, 2006).

Die Vorteile der selektiven Inhibition der BChE konnten bereits *in vivo* nachgewiesen werden. So führt die selektive Inhibition der BChE unter anderem zu einer Steigerung der AcetylcholinKonzentration, einer Abnahme der amyloiden Plaques und einer Verbesserung der kognitiven Funktionen in Ratten (Greig *et al*, 2005).

AChE-defiziente Mäuse zeigten, dass eine selektive AChE-Inhibition keine Zunahme des ACh-Spiegels hervorruft. Andererseits verursachte eine selektive Inhibition der BChE dieser Mäuse eine Erhöhung der AcetylcholinKonzentration (Hartmann *et al*, 2007).

Aufgrund der oben beschriebenen Aspekte bieten BChE-Inhibitoren einen neuen Ansatzpunkt in der Behandlung von Morbus Alzheimer. Zurzeit gibt es noch keinen selektiven Inhibitor der BChE, der therapeutischen Einsatz findet. Bei der Suche nach neuen selektiven BChE-Inhibitoren stieß man in den letzten Jahren auf eine Vielzahl von Verbindungen unterschiedlichster chemischer Struktur. Dazu zählen Tacrinderivate (Elsinghorst *et al*, 2006; Chen *et al*, 2013), Phenothiazine (Darvesh *et al*, 2007, 2010; González-Muñoz *et al*, 2011), Benzofurane (Rizzo *et al*, 2008), Chinazolinimine (Decker *et al*, 2008), Isosorbid basierende Derivate (Carolan *et al*, 2008, 2010; Dillon *et al*, 2010), diarylierte Imidazolderivate (Karlsson *et al*,

2012a), substituierte 2-Aminobenzimidazole (Zhu *et al*, 2013) sowie Indazolether-Derivate (González-Naranjo *et al*, 2014).

Bei dem bisher potentesten und höchstselektiven BChE-Inhibitor handelt es sich um ein Isosorbid-Derivat, das einen IC_{50} -Wert von 0,15 nM und eine etwa 60 000-mal höhere Selektivität gegenüber der BChE als der AChE erzielen konnte (Carolan *et al*, 2010). Es konnte jedoch festgestellt werden, dass Carboxylesterasen, die im Plasma von Mäusen zu finden sind, zum Abbau einiger Isosorbid-Derivate führen, was diese Derivate für weitere Untersuchungen an Mäusen unbrauchbar macht (Dillon *et al*, 2010).

Im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit wurden neu synthetisierte Thienothiazin- sowie Thienopyrazinderivate auf ihr Potenzial als selektive BChE-Inhibitoren getestet. Zudem wurden einige ausgewählte Verbindungen auf ihre gefäßerweiternde Wirkung an der Aorta sowie der Arteria pulmonalis von Meerschweinchen untersucht.

1.2. Voruntersuchungen und Identifizierung der Leitstrukturen

Im Vorfeld der vorliegenden Arbeit wurden zwei in house-Substanzbibliotheken in Kooperation mit dem Department of Biosciences, Pharmaceutical Sciences der Åbo Akademi University in Turku, Finnland unter der Leitung von Prof. Pia Vuorela auf ihre inhibitorische Wirkung auf die Enzyme Butyrylcholinesterase (BChE) und Acetylcholinesterase (AChE) untersucht.

Die erste Substanzbibliothek beinhaltete 697 Verbindungen unterschiedlicher chemischer Struktur wie beispielsweise Benzanilide, Flavonoide, Imidazole, Cumarine, Chalkone, Curcumine und Thiophene.

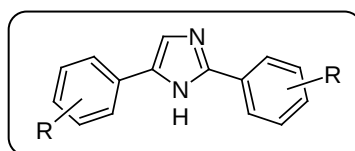


Abb. 2: Allgemeine Struktur der 2,4(5)-diarylierten Imidazolderivate.

Drei 2,4(5)-diarylierte Imidazolderivate (siehe Abb. 2) dieser Bibliothek erwiesen sich als selektive BChE-Inhibitoren. Das Potenzial dieser Substanzklasse wurde bereits im Rahmen einer Dissertation (Guzik, 2013) in unserer Arbeitsgruppe näher untersucht und die Ergebnisse zum Teil publiziert (Karlsson *et al*, 2012a). Als

Beispiel sind drei Imidazolderivate der genannten Dissertation und deren erzielte IC_{50} -Werte an der BChE in Abbildung 3 dargestellt.

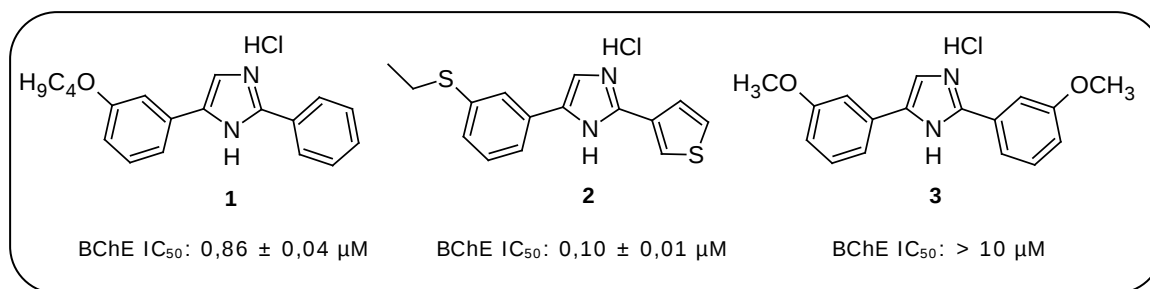
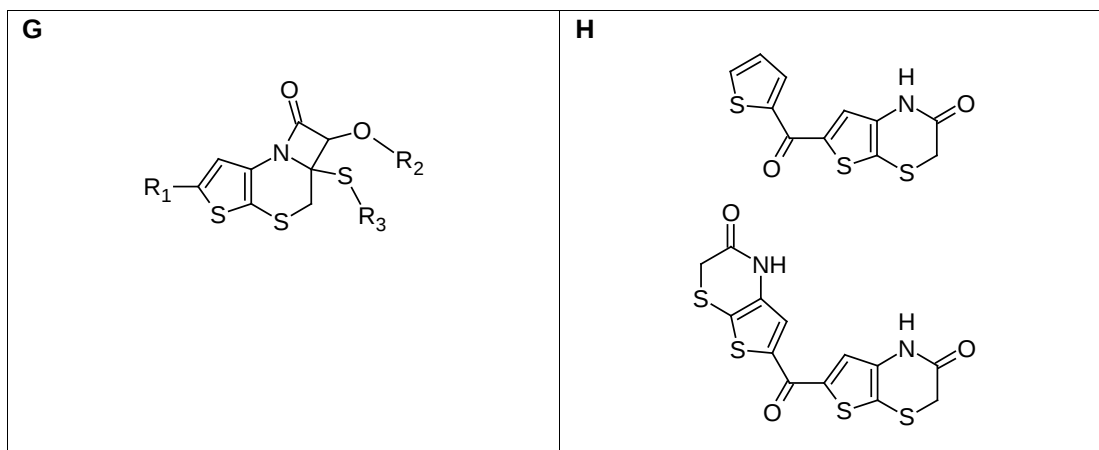


Abb. 3: Beispiele von 2,4(5)-diarylierten Imidazolderivaten und deren erzielte IC_{50} -Werte an der equinen BChE (Guzik, 2013).

Die zweite Substanzbibliothek setzte sich aus 45 Verbindungen zusammen und enthielt vorwiegend Thienothiazine, aber auch Benzothiazine sowie Benzoxaxine. Die Verbindungen wurden hinsichtlich ihres Substitutionsmusters an der Thienothiazin-Ringstruktur in acht verschiedene Gruppen eingeteilt. Die Einteilung ist der Tabelle 1 zu entnehmen. Je nach Substanzgruppe handelt es sich bei den Resten (R_1 , R_2 und R_3) um unterschiedliche chemische Strukturen, die hier im Detail nicht angeführt werden.

A $X = O, S$	B
C $X = O, NCN$	D
E	F $X = O, S$



Tab. 1: Einteilung der Substanzbibliothek in acht Gruppen (Karlsson *et al*, 2012b).

Es konnte festgestellt werden, dass alle wirksamen Derivate in der Substanzgruppe C zu finden waren (Karlsson *et al*, 2012b). Sechs Verbindungen dieser Gruppe zeigten eine selektive Inhibierung der BChE mit IC_{50} -Werten, die vorwiegend im nanomolaren Bereich liegen. Diese Verbindungen konnten bei einer Testkonzentration von 10 μM die BChE-Aktivität um mindestens 74 % inhibieren, wobei die AChE-Funktion um nur maximal 14 % reduziert werden konnte. Diese Derivate (siehe Abb. 4) sollten der vorliegenden Dissertation als Leitstrukturen dienen.

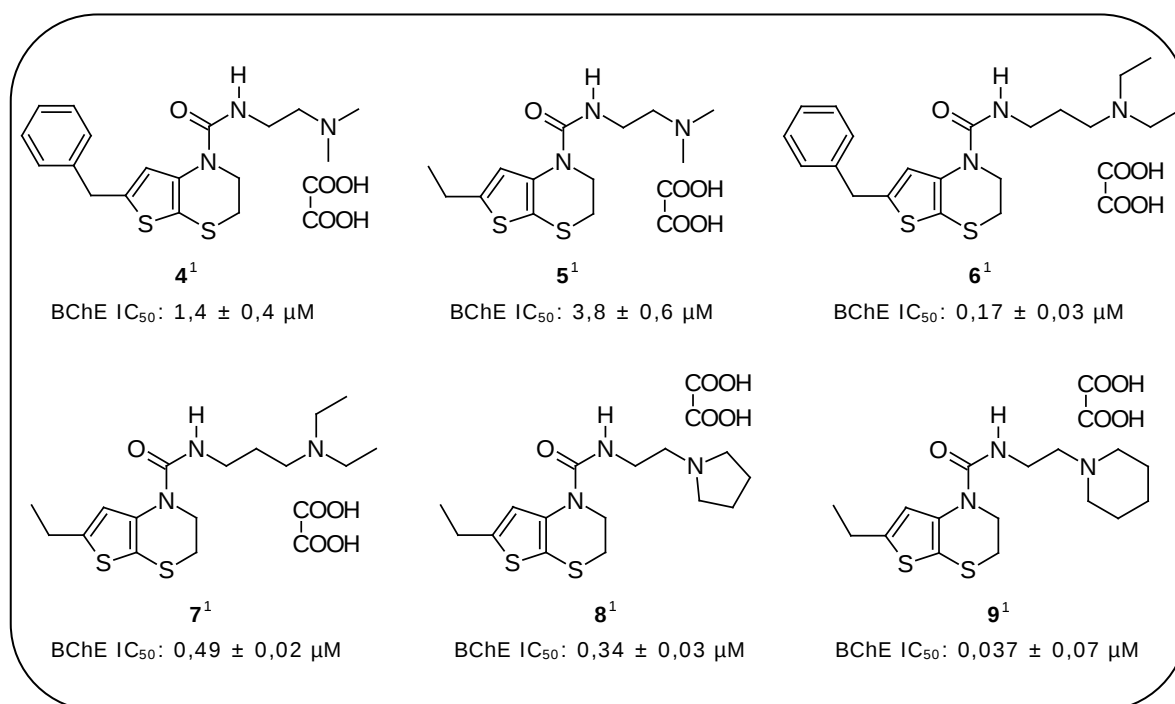


Abb. 4: Chemische Strukturen der Leitverbindungen und ihre Wirkung auf die equine BChE (Karlsson *et al*, 2012b). Chemische Darstellung der Leitverbindungen: ¹ Erker *et al*, 1998.

Vergleicht man die chemischen Strukturen der wirksamen Thienothiazinderivate miteinander, so charakterisieren sich alle diese Verbindungen durch eine Harnstofffunktion, die über einen Alkanlinker mit einem basischen Stickstoff verbunden ist. Die Länge des Linkers beträgt mindestens zwei C-Atome. Darüber hinaus zeichnen sich diese Derivate durch zwei hydrophobe Bereiche aus. Die erste hydrophobe Partialstruktur befindet sich am Thiophenring. Der zweite Bereich am Ende der Seitenkette ist durch offenkettige sowie ringförmige Reste, die an den basischen Stickstoff des Linkers gebunden sind, gekennzeichnet.

Anhand dieser gemeinsamen chemischen Strukturelemente der wirksamen Thienothiazinverbindungen war es möglich, ein Pharmakophormodell für selektive BChE-Inhibitoren dieser Substanzgruppe abzuleiten (siehe Abb. 5) (Karlsson *et al*, 2012b).

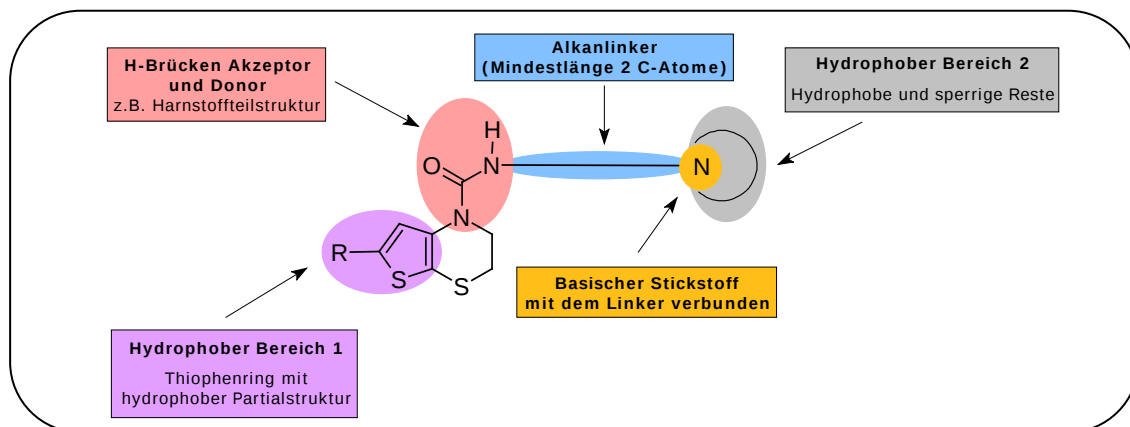
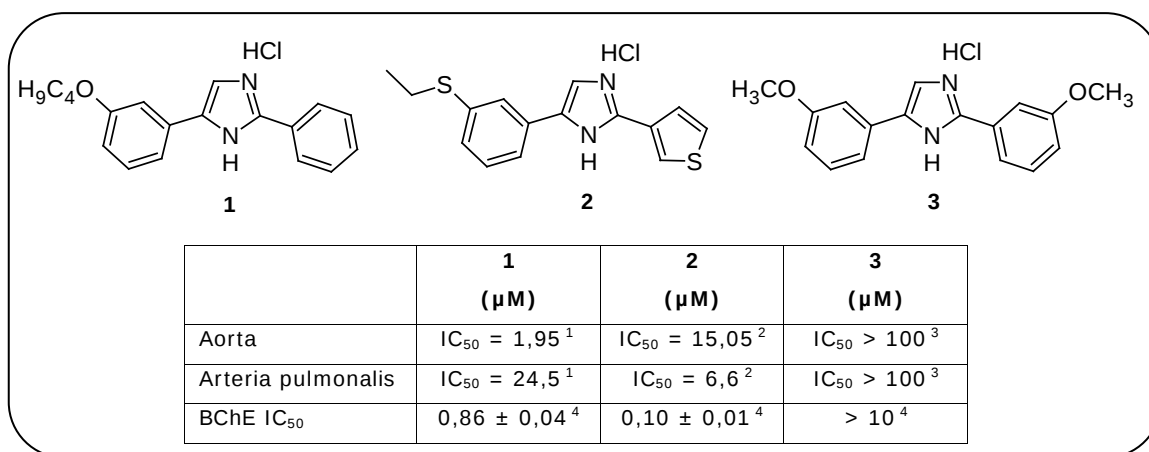


Abb. 5: Pharmakophormodell (adaptiert von: Karlsson *et al*, 2012b).

Die Informationen aus diesem Pharmakophormodell sollten in der vorliegenden Arbeit bei der Entwicklung und Synthese neuer Derivate mit selektiv inhibitorischer Aktivität auf die BChE hilfreich sein.

Ein weiterer Fokus der hier vorliegenden Arbeit richtet sich auf die vasodilatierende Wirkung ausgewählter Verbindungen auf die glatte Gefäßmuskulatur.

Bei den bereits erwähnten 2,4(5)-diaryliten Imidazolderivaten konnte eine Korrelation zwischen einer selektiven BChE-Inhibition und einer gefäßerweiternden Wirkung an der Aorta und der Arteria pulmonalis von Meerschweinchen durch Zufall beobachtet werden (siehe Abb. 6) (Guzik, 2013).



¹ Andic, *in Prep.*.

² Koch, 2012.

³ Hager, 2011.

⁴ Guzik, 2013.

Abb. 6: Chemische Strukturen der 2,4(5)-Diarylimidazole **1**, **2** und **3** sowie deren biologische Daten.

Wies eine Verbindung eine BChE-inhibierende Aktivität auf, so konnte in der Regel in Versuchen an isolierten Organen des Meerschweinchens auch eine vasodilatierende Wirkung an Präparaten der Aorta descendens und der Arteria pulmonalis gemessen werden. Betrachtet man die Abbildung 6, so konnten die beiden Diarylimidazole **1** und **2** an der equinen BChE IC_{50} -Werte im dreistelligen nanomolaren Bereich erzielen. Zusätzlich weisen diese Verbindungen eine starke vasodilatierende Wirkung an der Aorta descendens sowie der Arteria pulmonalis auf. Bei dem Imidazolderivat **3** hingegen liegt der IC_{50} -Wert an der BChE über 10 μM . Darüber hinaus konnte keine gefäßerweiternde Wirkung dieser Verbindung an der Aorta sowie Arteria pulmonalis festgestellt werden ($\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{M}$) (siehe Abb. 6).

Der Zusammenhang zwischen einer selektiven BChE-Inhibition und einer vasodilatierenden Wirkung sollte mit den im Rahmen dieser Arbeit neu synthetisierten Verbindungen weiter untersucht und verifiziert werden.

2 Zielsetzung

Wie bereits in der Einleitung beschrieben, konnten in Voruntersuchungen einige Thienothiazinderivate als selektive Butyrylcholinesteraseinhibitoren identifiziert werden. Im Rahmen dieser Dissertation sollte das Potenzial dieser Substanzklasse näher untersucht werden.

Primäres Ziel dieser Arbeit war es, neue Derivate mit selektiv inhibitorischer Wirkung auf die BChE zu synthetisieren. In Anlehnung an das in Kapitel 1.2. vorgestellte Pharmakophormodell sollte eine Reihe gezielter struktureller Modifikationen vorgenommen werden. Dadurch sollte eine Grundlage geschaffen werden, um in Zukunft genauere Aussagen zu Struktur-Wirkungsbeziehungen treffen zu können. Insbesondere sollten die folgenden strukturellen Variationen untersucht werden:

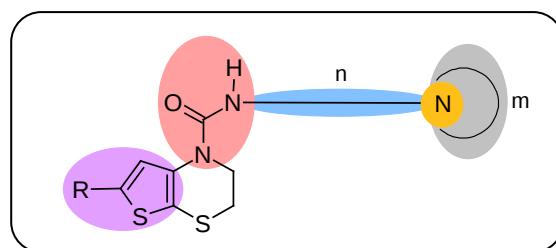


Abb. 7: Pharmakophormodell (adaptiert von: Karlsson *et al*, 2012b).

1. Hydrophober Bereich 1 (violett): In diesem Bereich sollten die Auswirkungen von Änderungen der hydrophoben Seitenkette am Thiophenring auf das Wirkprofil untersucht werden. Dazu sollte eruiert werden wie sich ein Weglassen der Seitenkette auf die Wirksamkeit der resultierenden Verbindungen auswirkt. Zum anderen sollten Derivate mit Benzylseitenkette dargestellt werden, um deren Einfluss auf die Wirkung genauer zu charakterisieren.
2. Hydrophober Bereich 2 (grau): Um den Einfluss dieser Teilstruktur auf die Wirkung genauer zu analysieren, sollte eine Auswahl verschiedener aliphatischer Ketten (z.B.: Dimethyl-, Diethyl-, Diisopropyl- oder Dibutylseitenketten) beziehungsweise aliphatische Ringe unterschiedlicher Größe ($m = 4$ bis 6 C-Atome) am basischen Stickstoff des Linkers eingeführt werden.
3. Aliphatischer Linker (blau): Da die Leitstrukturen Variationen in der Länge des aliphatischen Linkers aufweisen, sollten die Auswirkungen der Linkerlänge auf die Wirkstärke der Verbindungen untersucht werden. Dazu

sollte eine Reihe von Derivaten mit variierender Kettenlänge ($n = 2$ bis 5 C-Atome) synthetisiert werden.

4. Thienothiazinring: Ebenso sollten die Auswirkungen von Modifikationen des Thienothiazinringes auf die Wirksamkeit der Verbindungen eruiert werden. So sollte der Thiazinring durch einen Pyrazinring ersetzt werden und somit die Wirkung von Thienopyrazinen auf die BChE untersucht werden.

Zu Beginn dieser Arbeit sollte eine Substanzbibliothek neuer Verbindungen synthetisiert und diese in Zusammenarbeit mit dem Department of Biosciences der Åbo Akademi University unter der Leitung von Prof. Pia Vuorela auf ihre inhibitorische Wirkung auf die Enzyme BChE und AChE hin untersucht werden.

Anhand dieser ersten Testergebnisse sollten Struktur-Wirkungsbeziehungen abgeleitet werden. In weiterer Folge war es das Ziel, neue Derivate mittels aktivitätsgeleiteter Synthese herzustellen, um Verbindungen mit verbesserter, selektiv inhibitorischer Wirkung auf die BChE zu erzielen. Vorzugsweise sollten IC_{50} -Werte für die BChE-Inhibition im nanomolaren Bereich erreicht werden.

Darüber hinaus sollten, wie bereits in Kapitel 1.2. erwähnt, im Zuge dieser Arbeit ausgewählte Verbindungen auf ihre vasodilatierende Wirkung auf die glatte Gefäßmuskulatur von Meerschweinchen untersucht werden, wobei die mögliche gefäßerweiternde Wirkung der Testsubstanzen an der Aorta descendens und der Arteria pulmonalis von besonderem Interesse war. Die Hypothese, dass eine Korrelation zwischen einer selektiven BChE-Inhibition und einer vasodilatierenden Wirkung besteht, sollte im Rahmen dieser Arbeit weiter untersucht werden.

Da bei an Morbus Alzheimer Erkrankten ebenso von einer reduzierten Hirndurchblutung auszugehen ist (Goldsmith, 2007; Hunter *et al*, 2012), würden dual wirkende Substanzen in Bezug auf eine BChE-inhibitorische und vasodilatierende Wirkung möglicherweise Vorteile bei der Behandlung von Morbus Alzheimer mit sich bringen.

Die Untersuchungen an der glatten Gefäßmuskulatur sowie an Herzpräparaten des Meerschweinchens sollten in Kooperation mit dem Department für Pharmakologie und Toxikologie der Universität Wien unter Leitung von Ao. Univ.-Prof. Dr. Christian Studenik durchgeführt werden.

Die Optimierung der Synthesen sowie deren Ausbeuten war nicht Ziel der hier vorliegenden Arbeit.

3 Entwicklung und Synthese der Testsubstanzen

Primäres Ziel dieser Arbeit war es, Verbindungen mit einer selektiv inhibitorischen Wirkung auf die BChE herzustellen. Dazu wurden in Anlehnung an die bereits in Kapitel 1.2. vorgestellten Leitstrukturen neue Verbindungen synthetisiert. Die neuen Substanzen lassen sich in zwei unterschiedliche Generationen einteilen, wobei die zweite Generation auf Basis von Erkenntnissen aus der Testung der ersten Generation entwickelt wurde.

Das folgende Kapitel widmet sich der Entwicklung und Darstellung der im Rahmen dieser Dissertation neu synthetisierten Verbindungen und soll auch einen Einblick in die zugrunde liegenden Überlegungen bieten.

3.1. Darstellung der Verbindungsklassen der 1. Generation

Im folgenden Abschnitt soll die Entwicklung und Synthese der Verbindungsklassen der ersten Generation näher behandelt werden.

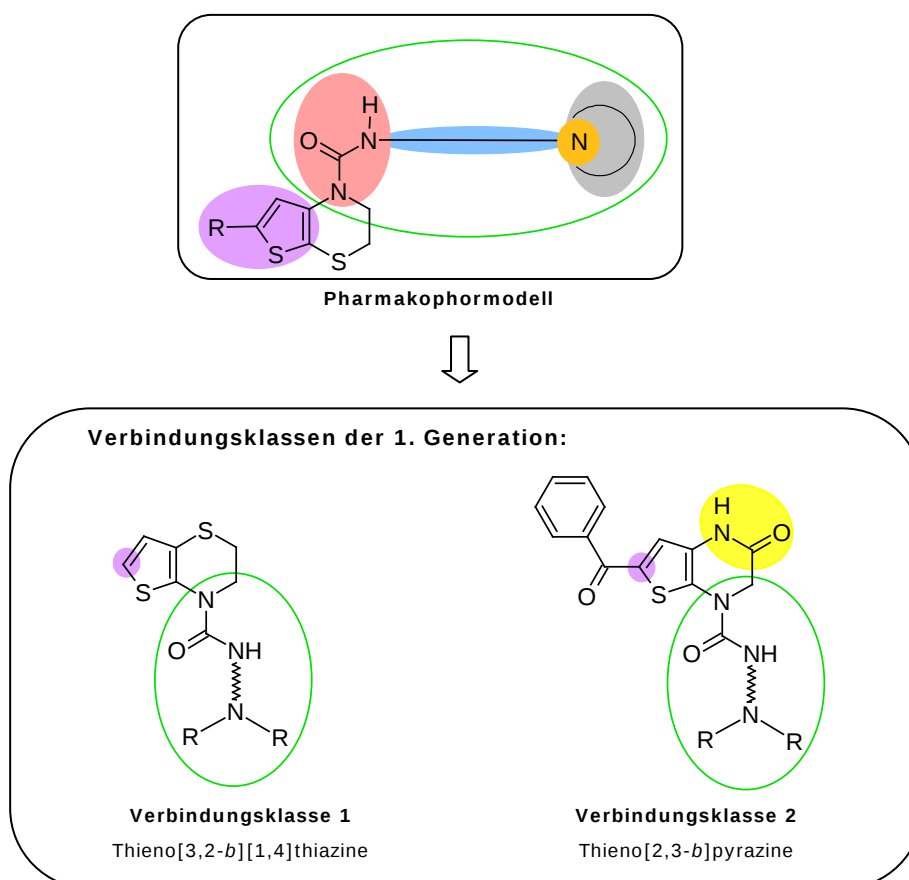


Abb. 8: Pharmakophormodell (adaptiert von: Karlsson *et al*, 2012b) und Übersicht über die Verbindungsklassen der 1. Generation.

Wie in der Einleitung schon erwähnt wurde, konnte anhand von Thienothiazinen mit bereits BChE-inhibierenden Eigenschaften ein Pharmakophormodell abgeleitet werden. Dieses Modell ist zum einen durch eine Harnstofffunktion, die über einen aliphatischen Linker mit einem basischen Stickstoff verbunden ist, gekennzeichnet. Zum anderen charakterisiert sich dieses Modell durch zwei hydrophobe Bereiche, wobei eine hydrophobe Partialstruktur am Thiophenring und die andere am Ende des Linkers an den Stickstoff gebunden ist (siehe Abb. 8). Die aus dem Pharmakophormodell gewonnenen Informationen sollten eine unterstützende Funktion bei der Entwicklung neuer Derivate mit BChE-inhibierender Wirkung bieten.

Alle, sowohl wirksame als auch unwirksame, Thienothiazine der in Kapitel 1.2. vorgestellten, getesteten Substanzbibliothek weisen einen hydrophoben Rest am Thiophenring des Thienothiazinkerns auf (vgl. Tab. 1). Es lassen sich daher keine näheren Aussagen über die tatsächliche Relevanz dieses Restes für die Wirksamkeit der Verbindungen ableiten. Aus diesem Grund sollten Verbindungen hergestellt werden, die zwar eine ThienothiazinGrundstruktur aufweisen, jedoch keinen hydrophoben Rest am Thiophenring tragen. Somit charakterisieren sich die Derivate der ersten Verbindungsklasse dieser Arbeit ausschließlich durch einen Thienothiazinring sowie in Anlehnung an das beschriebene Pharmakophormodell durch eine Harnstofffunktion, die über einen Alkanlinker mit einem basischen Stickstoff verbunden ist (siehe Abb. 8).

Bei der zweiten Verbindungsklasse dieser Arbeit handelt es sich um Thieno[2,3-*b*]-pyrazine. Da laut Pharmakophormodell der Schwefel des Thiazinringes kein essentielles Strukturelement für die Wirkung darzustellen scheint, wurde hier die Überlegung angestellt, den Schwefel des Thieno[3,2-*b*][1,4]thiazin-Systems durch eine Amidfunktion zu ersetzen und somit die Bildung eines Thienopyrazinringes zu ermöglichen (siehe Abb. 8). Neben der Harnstoffteilstruktur dieser Klasse sollte so eine zusätzliche Möglichkeit für Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Verbindungen und der BChE geschaffen werden, um somit eine mögliche Steigerung der inhibitorischen Wirkung der Verbindungen zu erzielen.

Zusätzlich sollten die angestrebten Derivate wie auch die Leitstrukturen, die dieser Arbeit zugrunde liegen, einen hydrophoben Rest am Thiophenring der Thieno[2,3-*b*]pyrazin-Struktur tragen.

Betrachtet man die Leitstrukturen **4** und **5** sowie **6** und **7** und deren IC₅₀-Werte an der BChE kann darauf geschlossen werden, dass ein Benzylrest gegenüber einem

Ethylrest bezüglich der inhibitorischen Wirkung an der BChE bevorzugt wird (siehe Abb. 9).

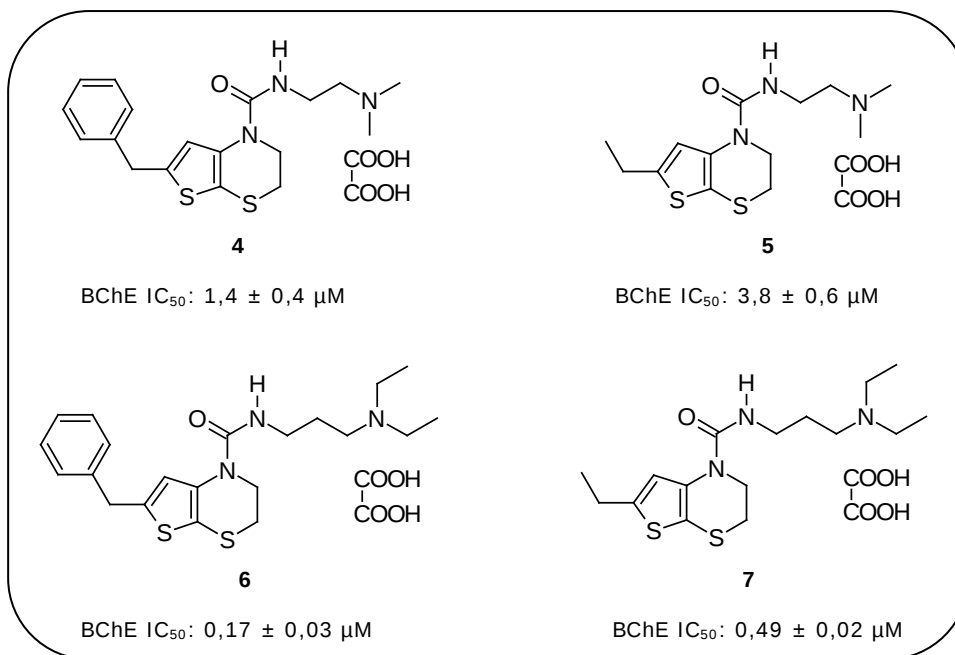


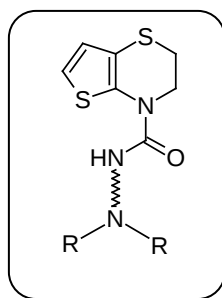
Abb. 9: Vergleich der Leitstrukturen **4** und **5** sowie **6** und **7** und deren Wirkung auf die equine BChE (Karlsson *et al*, 2012b).

Aus diesem Grund sollte ein Benzylrest als hydrophobe Partialstruktur am Thiophenring eingeführt werden. Jedoch konnte bei der Reduktion des Benzoylrestes zum Benzylrest bei der geplanten Syntheseroute keine Umsetzung beobachtet werden (siehe Kapitel 3.1.2., Abb. 13). Aufgrund der ausbleibenden Umsetzung wurde die Benzoylstruktur als Rest beibehalten.

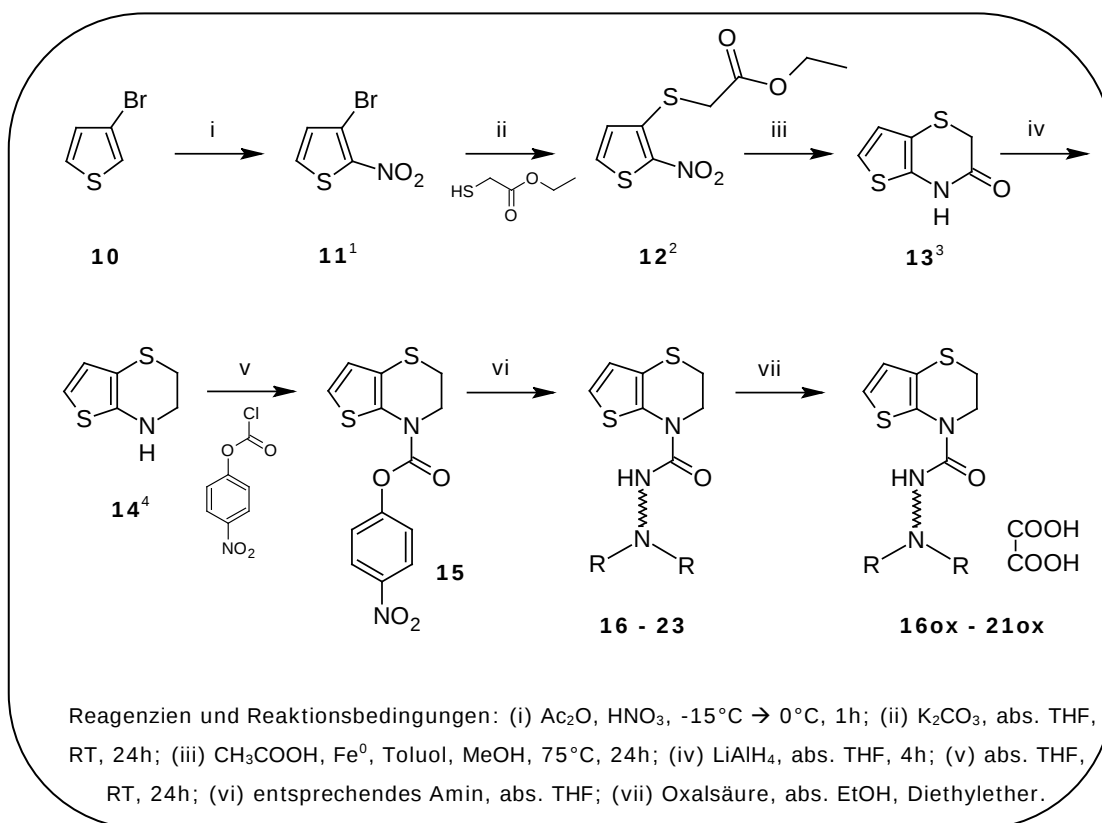
Darüber hinaus ist diese Substanzklasse – wie auch schon das beschriebene Pharmakophormodell und Verbindungsklasse 1 – durch eine Harnstofffunktion, einen aliphatischen Linker sowie einen basischen Stickstoff, der hydrophobe Reste trägt, gekennzeichnet.

Wie bereits in der Zielsetzung erwähnt, sollten bei beiden Verbindungsklassen Variationen in Bezug auf die Linkerlänge vorgenommen sowie unterschiedliche aliphatische Seitenketten bzw. Ringe unterschiedlicher Größe an den Stickstoff am Ende des Linkers gebunden werden.

Im Folgenden soll nun auf die Synthese der einzelnen Verbindungsklassen der ersten Generation näher eingegangen werden.

3.1.1. Synthese der Thieno[3,2-*b*][1,4]thiazineAbb. 10: Schematische Darstellung der angepeilten Thieno[3,2-*b*][1,4]thiazine.

Bei der ersten Verbindungsklasse dieser Arbeit handelt es sich um Thieno[3,2-*b*][1,4]thiazine. Die Synthese dieser Klasse erfolgte nach der in Abbildung 11 dargestellten Syntheseroute.

¹ Steinkopf *et al*, 1934.² Paulmier *et* Outurquin, 1983; Laimer *et* Erker, 1994.³ Paulmier *et* Outurquin, 1983; Erker, 1998.⁴ Galanski *et al*, 2005.Abb. 11: Reaktionsschema zur Darstellung von Thieno[3,2-*b*][1,4]thiazinen.

In unserer Arbeitsgruppe wird bereits seit langem an der Chemie von Thieno[3,2-*b*][1,4]thiazinen sowie Thieno[2,3-*b*]pyrazinen geforscht (Laimer *et* Erker, 1994;

Puschmann *et al.*, 1995; Erker *et al.*, 1998; Erker *et al.*, 2002; Galanski *et al.*, 2005; etc.). Die beiden Verbindungsklassen der ersten Generation basieren auf bereits literaturbekannten Grundkörpern (Galanski *et al.*, 2005; Erker *et al.*, 2002). Diese wurden wie bereits am Anfang des Kapitels beschrieben mit Informationen aus dem Pharmakophormodell (siehe Kapitel 1.2.) kombiniert.

Für die Herstellung der Thieno[3,2-*b*][1,4]thiazine dieser Arbeit (siehe Abb. 11) fungierte 3-Bromthiophen (**10**) als Ausgangsverbindung, welche im ersten Schritt unter Verwendung von Essigsäureanhydrid und 65%iger Salpetersäure an Position 2 nitriert wurde (Steinkopf *et al.*, 1934).

Das so erhaltene 3-Brom-2-nitrothiophen (**11**) wurde einer nucleophilen Substitutionsreaktion mit Ethylthioglycolat unterzogen (Laimer *et al.*, 1994).

Beim nächsten Syntheseschritt handelte es sich um eine reduktive Zyklisierung. Dabei werden in einem Reaktionsschritt die Nitrogruppe reduziert und der Thiazinring geschlossen. Die in der Literatur (Erker, 1998) angegebene Reaktionszeit von zwei Stunden bei 75°C wurde in dieser Arbeit auf 24 Stunden erhöht. Es konnte festgestellt werden, dass eine Reaktionsdauer von zwei Stunden für eine vollständige Umsetzung von Verbindung **12** zu Verbindung **13** nicht ausreichend ist. Bei einem frühzeitigen Abbrechen der Reaktion liegt vorwiegend das freie Amin vor, das in dieser Synthese eine Zwischenstufe darstellt und daher die Aufarbeitung kaum möglich macht.

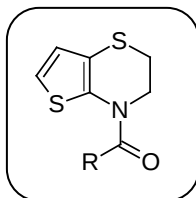
Nach erfolgtem Ringschluss erfolgte unter Verwendung von Lithiumaluminiumhydrid als Reduktionsmittel und absolutem THF als Lösungsmittel die Reduktion der Amidfunktion der Verbindung **13** zum entsprechenden Amin (Galanski *et al.*, 2005). Nach dem Entfernen von überschüssigem LiAlH₄ mit Ethylacetat und ohne weiteres Aufarbeiten wurde 4-Nitrophenylchloroformat zur Reaktionslösung zugesetzt, um so Verbindung **15** zu erhalten.

Die folgenden Syntheseschritte wurden in Anlehnung an die Arbeitsvorschrift Erker *et al.* 1998 durchgeführt.

Um die gewünschten Harnstoffderivate herzustellen, wurde Verbindung **15** mit den entsprechenden Aminen unter Abspaltung von 4-Nitrophenol umgesetzt, wobei je nach verwendetem Amin unterschiedliche Reaktionsbedingungen notwendig waren (siehe Kapitel 6.1.). Bezug nehmend auf die bereits biologisch getesteten Verbindungen handelt es sich bei den eingesetzten Aminen um Strukturen mit unterschiedlich langen, aliphatischen Ketten als Linker, der am Ende einen tertiären Stickstoff mit aliphatischen bzw. zyklischen Resten trägt. Für eine bessere Löslichkeit der Verbindungen in den biologischen Untersuchungen wurden die

meisten Endverbindungen in die entsprechenden Oxalate übergeführt. Die Bildung der Oxalate bzw. anderer Salze von Verbindung **22** und **23** war nicht erfolgreich.

Der folgenden Tabelle sind die neu synthetisierten Thieno[3,2-*b*][1,4]thiazine-Derivate zu entnehmen.



Verbindung	R	Verbindung	Salz
16		16ox	Oxalat
17		17ox	Oxalat
18		18ox	Oxalat
19		19ox	Oxalat
20		20ox	Oxalat
21		21ox	Oxalat
22			
23			

Tab. 2: Übersicht über die neu synthetisierten Thieno[3,2-*b*][1,4]thiazin-Derivate.

3.1.2. Synthese der Thieno[2,3-*b*]pyrazine

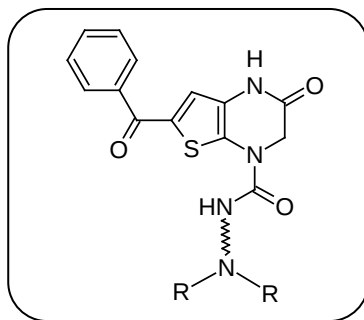
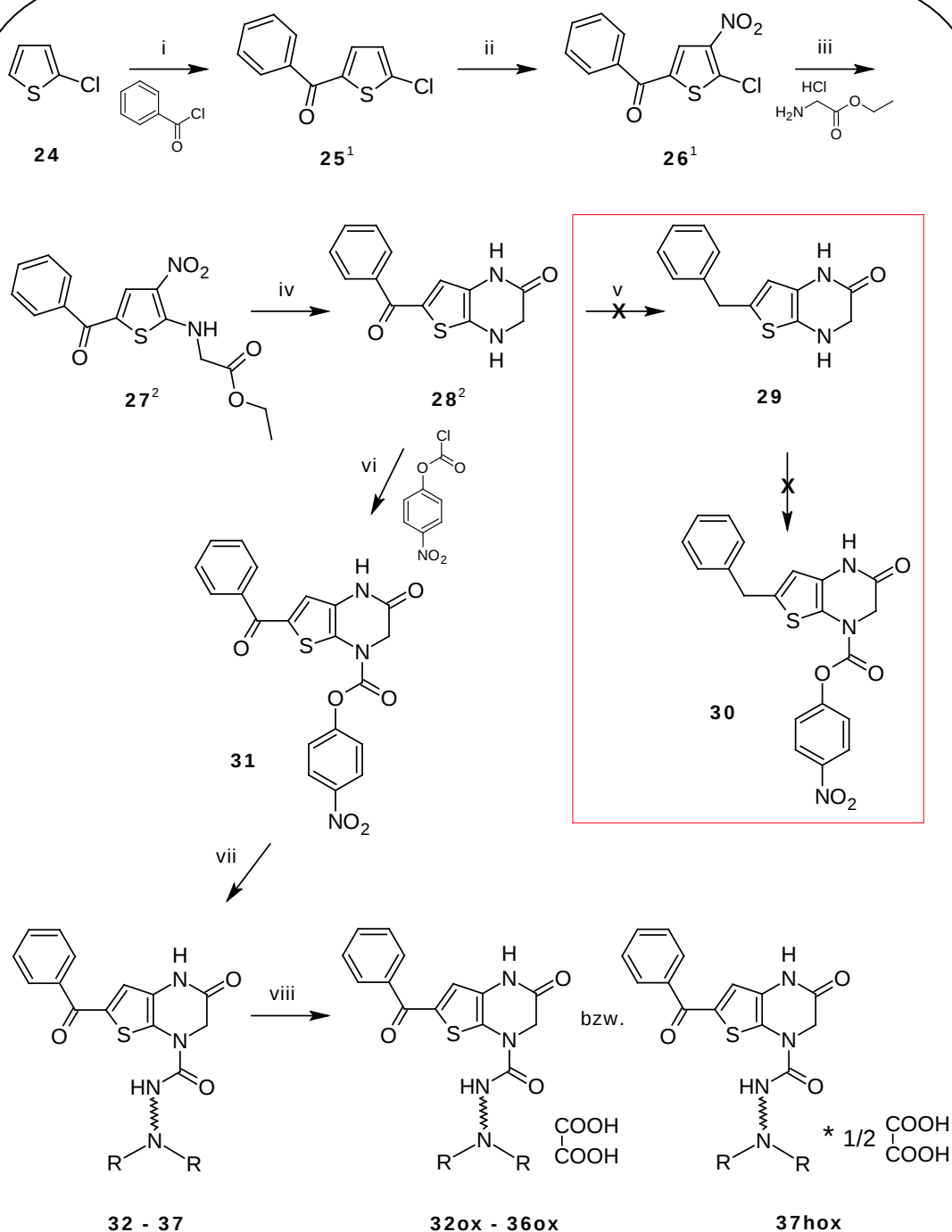


Abb. 12: Schematische Darstellung der Thieno[2,3-*b*]pyrazine der 1. Generation.

Bei der zweiten Verbindungsklasse dieser Arbeit handelt es sich um Thieno[2,3-*b*]pyrazine. Die Synthese der einzelnen Verbindungen dieser Substanzklasse erfolgte nach dem in Abbildung 13 dargestellten Syntheschema.



Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (i) AlCl_3 , CH_2Cl_2 , 15°C , 1h; (ii) H_2SO_4 , HNO_3 , 0°C , 30 min.; (iii) K_2CO_3 , CH_3CN , 40°C , 4h; (iv) CH_3COOH , H_2O , Fe^0 , 75°C , 1h; (v) TFA, $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{SiH}$, 50°C , 3d; (vi) TEA, 1,4-Dioxan, 70°C , 3d; (vii) entsprechendes Amin, abs. THF, RT, 3h; (viii) Oxalsäure, EtOH bzw. MeOH, Diethylether.

¹ Puschmann *et* Erker, 1995.

² Erker *et* Trinkl, 2002.

Abb. 13: Reaktionsschema zur Darstellung von Thieno[2,3-*b*]pyrazinen.

Bei der Darstellung der Thieno[2,3-*b*]pyrazine (siehe Abb. 13) wurde von 2-Chlorthiophen (**24**) ausgegangen. Mittels Friedel-Crafts-Acylierung wurde die Position 5 des 2-Chlorthiophens unter Verwendung von Benzoylchlorid und AlCl_3 als Lewis-Säure acyliert. Das so erhaltene 2-Benzoyl-5-chlorthiophen (**25**) (Puschmann *et al.*, 1995) wurde im nächsten Reaktionsschritt mittels konzentrierter Schwefelsäure und 65%iger Salpetersäure an Position 3 nitriert (Puschmann *et al.*, 1995). Im Anschluss erfolgte die Substitutionsreaktion mit Glycinethylester Hydrochlorid (Erker *et al.*, 2002). Dabei fanden K_2CO_3 als Base und Acetonitril (HPLC-rein) als Lösungsmittel Einsatz.

Im folgenden Schritt wurde unter Zuhilfenahme von konzentrierter Essigsäure, Wasser und elementarem Eisen die reduktive Zyklisierung zu Verbindung **28** durchgeführt (Erker *et al.*, 2002).

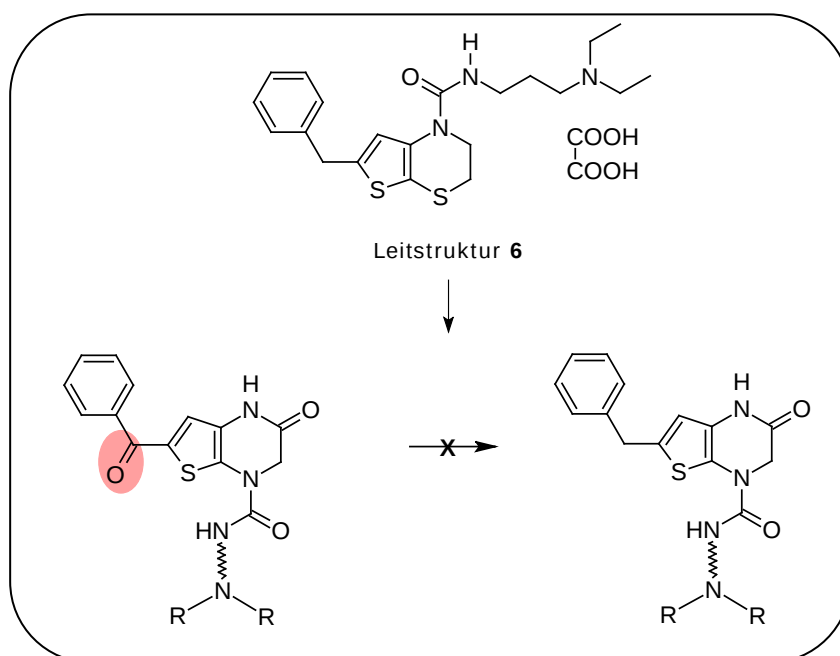


Abb. 14: Chemische Struktur der Leitstruktur **6** und die geplante Struktur der Thieno[2,3-*b*]pyrazine mit Benzylstruktur als Rest.

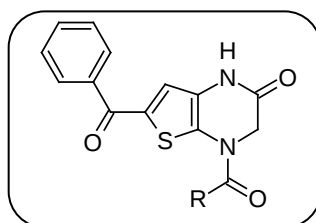
Um eine bessere Vergleichbarkeit der biologischen Daten zwischen den neu synthetisierten Derivaten und den identifizierten Leitstrukturen ableiten zu können, sollte, wie bereits erwähnt, der Benzoylrest zum Benzylrest reduziert werden (siehe Abb. 14). Daher wurde Verbindung **28** für 3 Tage in Trifluoressigsäure und Triethylsilan bei 50°C unter Argonatmosphäre erhitzt (Arbeitsvorschrift nach Puschmann *et al.*, 1995). Mit dieser Methode konnte leider keine Umsetzung zu Verbindung **29** beobachtet werden. Möglicherweise liegt die Ursache hierfür im basischen Charakter des Amins des Pyrazinringes und dem somit störenden Einfluss auf die Reaktion.

Da Verbindung **29** nicht dargestellt werden konnte, wurde Verbindung **28** sofort in einer Substitutionsreaktion mit 4-Nitrophenylchloroformat zu Verbindung **31** umgesetzt.

Die Herstellung der entsprechenden Harnstoffderivate und deren Oxalate erfolgte analog zur Darstellung der Thieno[3,2-*b*][1,4]thiazine (Kapitel 3.1.1.).

Im Gegensatz zu den anderen Verbindungen dieser Gruppe zeigt die Elementaranalyse der Verbindung **37hox**, dass Verbindung **37** mit Oxalsäure die Bildung eines Hemioxalates eingeht.

In der folgenden Tabelle werden die neu synthetisierten Thieno[2,3-*b*]pyrazin-Derivate angeführt.



Verbindung	R	Verbindung	Salz
32		32ox	Oxalat
33		33ox	Oxalat
34		34ox	Oxalat
35		35ox	Oxalat
36		36ox	Oxalat
37		37hox	Hemioxalat

Tab. 3: Übersicht über die neu synthetisierten Thieno[2,3-*b*]pyrazin-Derivate.

3.1.3. Ergebnisse der Untersuchungen der inhibitorischen Wirkung auf Cholinesterasen – Verbindungsklassen der 1. Generation

Das Hauptziel der vorliegenden Arbeit war die Synthese von Verbindungen mit einer selektiv BChE-inhibitorischen Wirkung. Um off-target-Effekte auszuschließen, wurden die Verbindungen auch auf eine mögliche Inhibition der AChE untersucht. Die pharmakologischen Testungen wurden in Zusammenarbeit mit dem Department of Biosciences der Abo Akademi University unter der Leitung von Prof. Pia Vuorela durchgeführt.

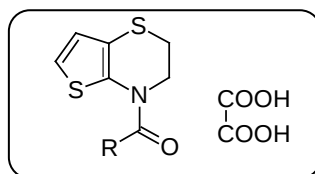
Zur Bestimmung der Inhibition der BChE bediente man sich der Ellman-Reaktion (Ellman et al., 1961). Bei diesem Assay wird das sogenannte Ellman-Reagenz, 5,5'-Dithio-bis-(2-nitro-benzoesäure) (DTNB), verwendet. Dieses bildet ein gefärbtes Dianion (5-Thio-2-nitro-benzoesäure), indem DTNB mit Thiocholin, welches durch enzymatische Hydrolyse des Substrates entsteht, reagiert. Das gefärbte Anion kann anschließend bei 412 nm spektrophotometrisch vermessen werden.

Die Untersuchungen an der AChE wurden analog zum BChE-Assay durchgeführt mit der Ausnahme, dass Acetylthiocholiniodid als Substrat und AChE als Enzym verwendet werden.

Zu Beginn der Untersuchungen wurden alle Verbindungen einem Screening bei einer Testkonzentration von 10 μm unterzogen. Verbindungen, die bei dem Screening zu keiner Reduktion der BChE-Aktivität von mindestens 50 % führten, wurden als „unwirksam“ eingestuft.

In den Untersuchungsreihen wurden die IC_{50} -Werte von jenen Verbindungen bestimmt, die bei einer Konzentration von 10 μm eine Reduktion der BChE-Aktivität von mindestens 50 % erzielten. Die IC_{50} -Werte wurden vorwiegend aus drei voneinander unabhängigen Experimenten ermittelt.

In den folgenden Tabellen werden die Ergebnisse geordnet nach den in dieser Arbeit bisher vorgestellten Verbindungsklassen präsentiert, wobei die Werte für Physostigmin und Galantamin als Referenz gelten.

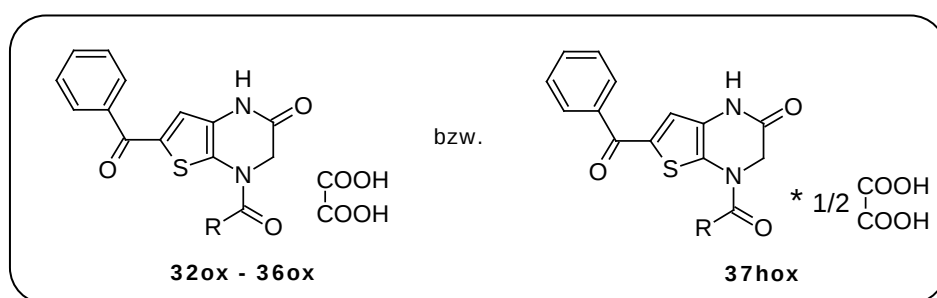
3.1.3.1. Ergebnisse der Thieno[3,2-*b*][1,4]thiazine

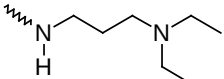
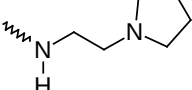
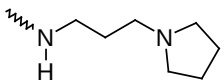
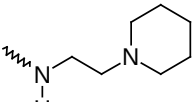
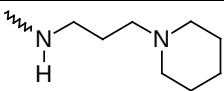
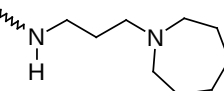
Verbindung	R	BChE ^a Inhibition 10 μ M (%)	BChE ^a IC ₅₀ (μ M)	AChE ^b Inhibition 10 μ M (%)
16ox		38	-	8,7
17ox		82	2,71 $\pm$ 0,17	8,3
18ox		79	2,81 $\pm$ 0,10	7,7
19ox		15	-	1,9
20ox		24	-	6,2
21ox		38	-	10
22		84	2,84 $\pm$ 0,02	3,5
23		47	-	4,7
Physostigmin ^c			2,1 $\pm$ 0,5	
Galantamin ^d		39 $\pm$ 5	16,9 $\pm$ 1,0	92 $\pm$ 1

^a BChE (EC 3.1.1.8; BChE aus Pferdeserum, Sigma Aldrich, USA)^b AChE (EC 3.1.1.7; AChE vom Zitteraal, Sigma Aldrich, USA)^c Karlsson *et al*, 2012a^d Karlsson *et al*, 2012b**Tab. 4:** Ergebnisse der Thieno[3,2-*b*][1,4]thiazine auf die Aktivität der BChE und AChE.

Von den acht in dieser Substanzklasse synthetisierten Derivaten erwiesen sich drei als selektive BChE-Inhibitoren. Dabei handelt es sich um die Verbindungen **17ox**, **18ox** und **22**, wobei IC_{50} -Werte zwischen 2,71 μM und 2,84 μM gemessen werden konnten. Somit liegen die IC_{50} -Werte weit über denen der Leitstrukturen. Aus diesem Grund wurde diese Verbindungsklasse als äußerst gering wirksam eingestuft und somit der Synthese weiterer Derivate nicht nachgegangen.

3.1.3.2. Ergebnisse der Thieno[2,3-*b*]pyrazine



Verbindung	R	BChE ^a Inhibition 10 μM (%)	BChE ^a IC_{50} (μM)	AChE ^b Inhibition 10 μM (%)	AChE ^b IC_{50} (μM)
32ox		88	1,66 $\pm$ 0,05	100	0,14 $\pm$ 0,002
33ox		69	4,54 $\pm$ 0,75	96	0,28 $\pm$ 0,01
34ox		86	1,74 $\pm$ 0,22	98	0,21 $\pm$ 0,04
35ox		92	1,57 $\pm$ 0,32	100	0,08 $\pm$ 0
36ox		98	0,53 $\pm$ 0,06	98	0,21 $\pm$ 0,02
37hox		100	0,28 $\pm$ 0,03	96	0,29 $\pm$ 0,01

Physostigmin ^c			2,1 ± 0,5		
Galantamin ^d		39 ± 5	16,9 ± 1,0	92 ± 1	1,62 ± 0,01

^a BChE (EC 3.1.1.8; BChE aus Pferdeserum, Sigma Aldrich, USA)

^b AChE (EC 3.1.1.7; AChE vom Zitteraal, Sigma Aldrich, USA)

^c Werte für Physostigmin: Karlsson *et al*, 2012a

^d Werte für Galantamin: Karlsson *et al*, 2012b

Tab. 5: Ergebnisse der Thieno[2,3-*b*]pyrazine auf die Aktivität der BChE und AChE.

Alle Vertreter der Substanzklasse der Thieno[2,3-*b*]pyrazine zeigten ein durchaus interessantes biologisches Profil. Zusätzlich zur Inhibition der BChE konnte auch eine inhibierende Wirkung dieser Derivate auf die AChE beobachtet werden, wobei die Wirkung auf die AChE stärker ausfiel. So konnten bei der Inhibition der BChE IC₅₀-Werte bis zu 4,54 µM gemessen werden. Bei der Inhibition der AChE lagen die IC₅₀-Werte hingegen zwischen 0,08 µM und maximal 0,29 µM. Im Hinblick auf die BChE-inhibierende Wirkung verzeichnete das Derivat **37hox** als wirksamste Verbindung dieser Substanzklasse einen IC₅₀-Wert von 0,28 µM, wobei an der AChE ein IC₅₀-Wert von 0,29 µM erreicht werden konnte. In Bezug auf die Inhibition der AChE konnte Verbindung **35ox** mit einem IC₅₀-Wert von 0,08 µM (BChE: IC₅₀-Wert von 1,57 µM) als wirksamster Vertreter der Thieno[2,3-*b*]pyrazine identifiziert werden.

Aufgrund der hier beschriebenen dualen Wirkung der Thieno[2,3-*b*]pyrazine sollten die Derivate dieser Substanzklasse den Verbindungsklassen der zweiten Generation als Ausgangsverbindungen dienen. Durch strukturelle Modifikationen des Grundkörpers soll die Selektivität der Verbindungen gegenüber der BChE verbessert werden (siehe Kapitel 3.2.).

3.2. Darstellung der Verbindungsklassen der 2. Generation

Der folgende Abschnitt widmet sich der Entwicklung und Synthese der Verbindungsklassen der zweiten Generation. Die in Kapitel 3.1.2. vorgestellten Thieno[2,3-*b*]pyrazinderivate zeigten durchaus das Potenzial, das Enzym BChE zu inhibieren. Zusätzlich konnten diesen Verbindungen auch AChE-inhibierende Eigenschaften zugeschrieben werden. Wie bereits erwähnt, sollen die Thieno[2,3-*b*]pyrazine der ersten Generation in diesem Abschnitt der Arbeit als Leitverbindungen fungieren.

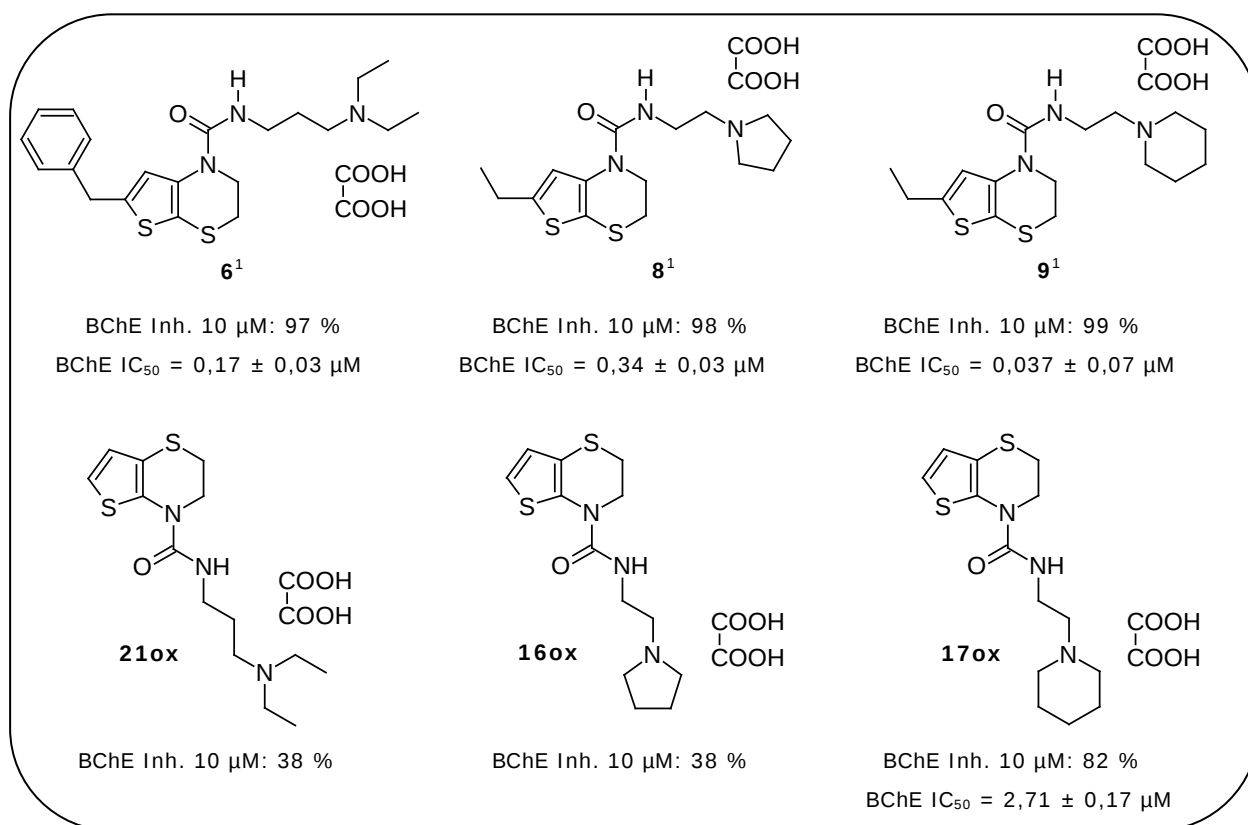


Abb. 15: Gegenüberstellung der biologischen Ergebnisse der Leitstrukturen und der Thieno[3,2-*b*][1,4]-thiazine der 1. Generation an der equinen BChE. ¹ Karlsson *et al*, 2012b.

Betrachtet man die biologischen Ergebnisse der Leitstrukturen, die dieser Dissertation als Ausgangsverbindungen zugrunde liegen, und die der Thieno[3,2-*b*][1,4]thiazine der ersten Generation kann darauf geschlossen werden, dass hydrophobe Partialstrukturen möglicherweise ein wichtiges Strukturmerkmal für die Wirkstärke der Verbindungen darstellen.

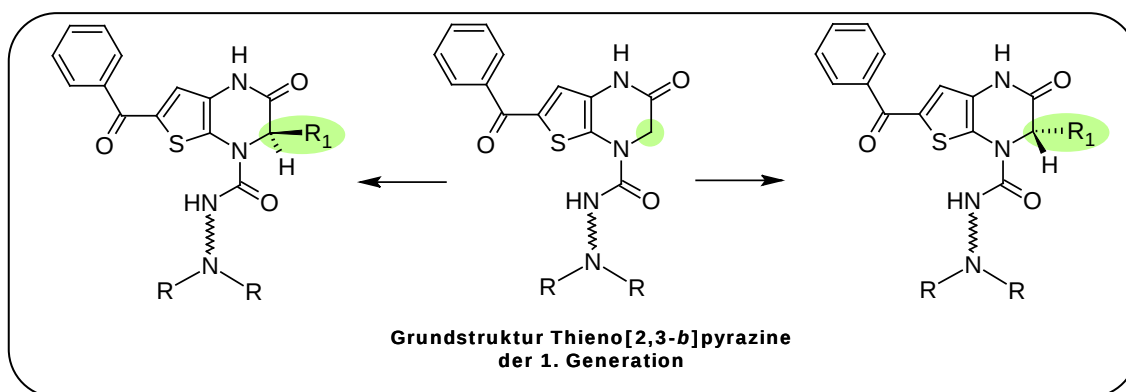


Abb. 16: Struktureller Vergleich der Thieno[2,3-*b*]pyrazine der 1. Generation mit den Thieno[2,3-*b*]pyrazinen der 2. Generation.

Um die Wirkung der neu synthetisierten Thieno[2,3-*b*]pyrazine wieder in Richtung einer BChE-Selektivität zu lenken, wurde die Überlegung angestellt, hydrophobe Reste am Pyrazinring der Thieno[2,3-*b*]pyrazinderivate einzuführen (siehe Abb. 16). Durch das Einfügen eines Restes am Pyrazinring kommt es zur Bildung eines Chiralitätszentrums. Wie bereits von chiralen Arzneistoffen bzw. Naturstoffen bekannt ist, besitzen die enantiomeren Formen meist ein unterschiedliches pharmakologisches Wirkungsprofil. Aus diesem Grund war neben der Selektivität der Verbindungen gegenüber der BChE auch der Einfluss des hydrophoben Restes in Bezug auf seine Konfiguration sowie Größe auf die biologische Wirkung von besonderem Interesse.

Dabei sollten die Auswirkungen eines kleinen, aliphatischen Restes sowie die eines großen, aromatischen Restes auf die biologische Aktivität gegenüber der BChE und AChE eruiert werden. Die Verwendung von D- bzw. L-Valinmethylester Hydrochlorid als Synthesebaustein ermöglicht das Einführen eines kleinen, aliphatischen Restes, einer Isopropylteilstruktur. Zum anderen fiel die Wahl auf D- und L-Homophenylalaninethylester Hydrochlorid, um eine große, aromatische Teilstruktur zu erzielen (siehe Abb. 17).

Folgende Zielverbindungen sollten dargestellt werden:

- (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine
- (3*R*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine
- (3*S*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine
- (3*S*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine.

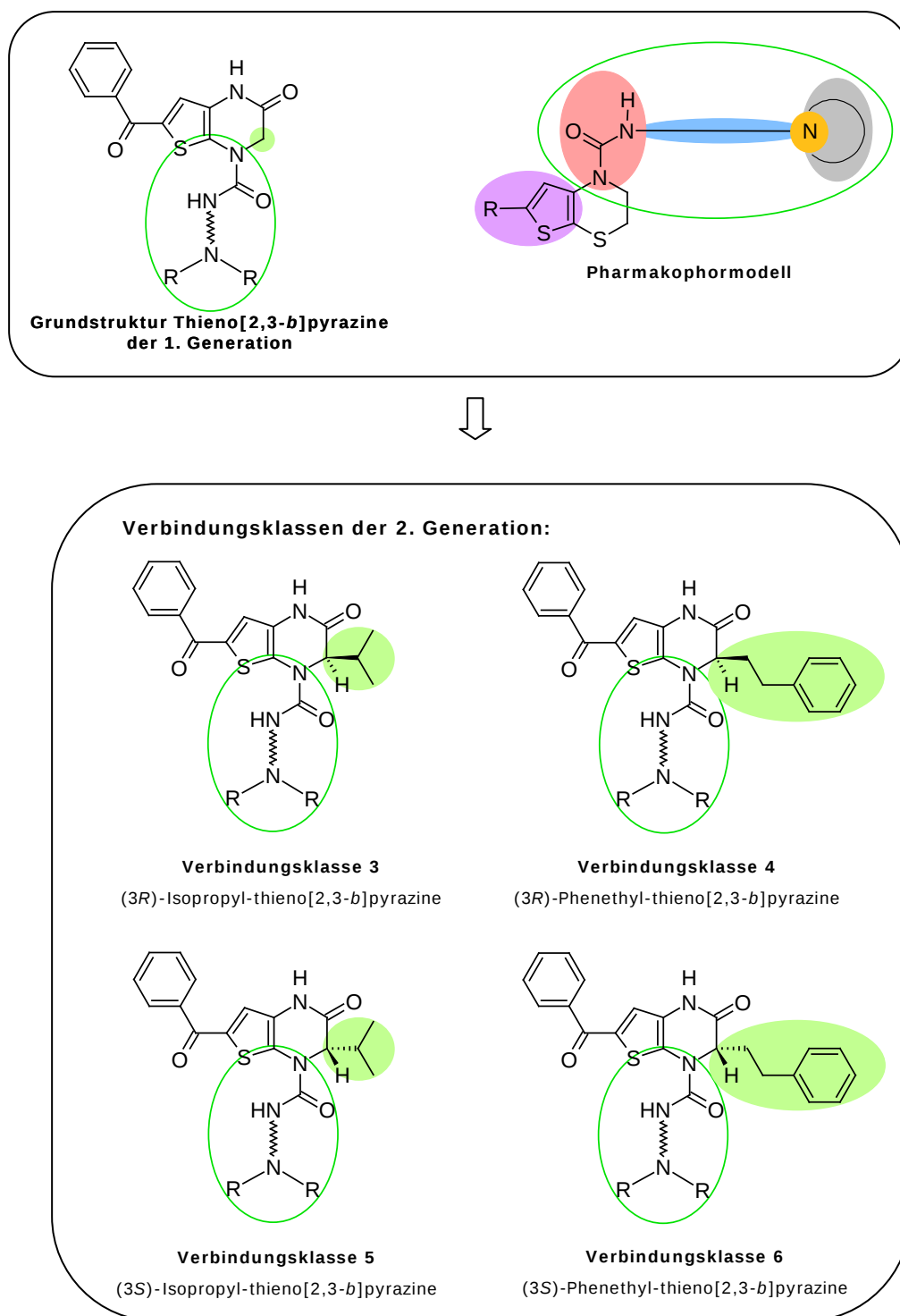


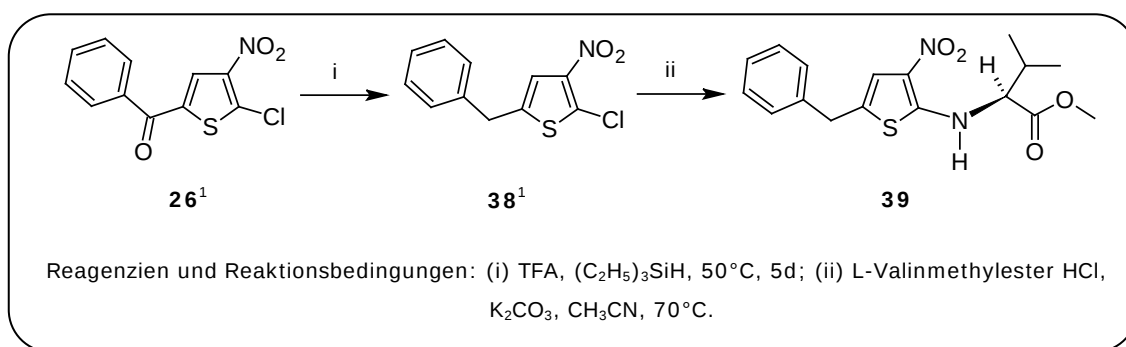
Abb. 17: Grundstruktur der Thieno[2,3-*b*]pyrazine der 1. Generation, Pharmakophormodell (adaptiert von: Karlsson *et al*, 2012b) und Übersicht über die Verbindungsklassen der 2. Generation.

Die bereits im Pharmakophormodell dargestellten und für eine BChE-inhibitorische Wirkung essentiellen Strukturelemente sollten auch bei der Darstellung der Verbindungsklassen der zweiten Generation berücksichtigt werden. Somit charakterisieren sich diese Substanzklassen ebenso durch eine Harnstofffunktion,

die über einen aliphatischen Linker mit einem basischen Stickstoff verbunden ist, der wiederum aliphatische bzw. zyklische Reste trägt.

3.2.1. Syntheseveruche zur Reduktion der Carbonylteilstruktur

Wie bereits bei der Darstellung der Thieno[2,3-*b*]pyrazine der ersten Generation erwähnt, sollte die Carbonylfunktion des Restes am Thiophenring reduziert werden, um eine bessere Vergleichbarkeit der biologischen Daten zwischen den neu synthetisierten Derivaten und den identifizierten Leitstrukturen zu ermöglichen. Da die Reduktion der Carbonylgruppe nach erfolgter Zyklisierung zum Thieno[2,3-*b*]pyrazinring nicht erfolgreich war, sollte diese nun bereits vor der Substitutionsreaktion mit den entsprechenden Aminosäureestern durchgeführt werden.



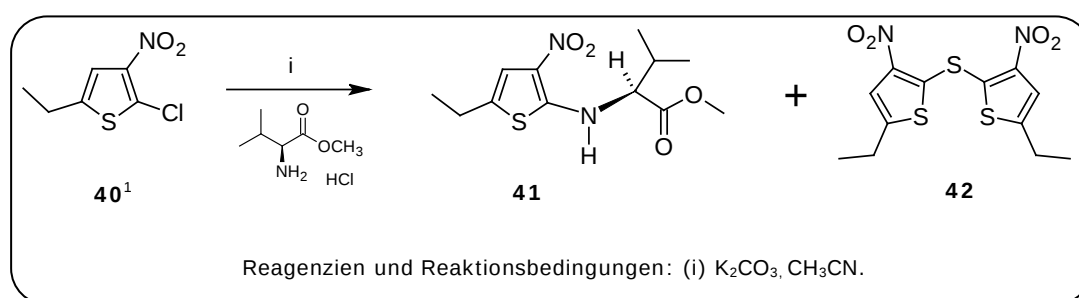
¹ Puschmann et Erker, 1995.

Abb. 18: Chemische Darstellung der Verbindung **39** mit reduzierter Carbonylfunktion.

Verbindung **26** wurde unter Verwendung von Trifluoressigsäure und Triethylsilan zu Verbindung **38** reduziert (Puschmann et Erker, 1995). Die Darstellung von Verbindung **39** erfolgte in einer Substitutionsreaktion zwischen Verbindung **38** und L-Valinmethylester Hydrochlorid. Hierfür fungierte Acetonitril als Lösungsmittel und K₂CO₃ als Base. Eine Reaktionstemperatur von 40°C war für diese Synthese nicht ausreichend. Erst die Erhöhung der Temperatur auf 70°C führte zu einer Umsetzung, wobei die Reaktionsdauer bis zum vollständigen Verbrauch der Ausgangsverbindung **38** bei 4 Tagen lag. Bei diesem Reaktionsansatz konnte mittels DC das Entstehen einer Produktmischung beobachtet werden. Das gewünschte Produkt **39** konnte zwar erhalten werden, jedoch in einer Ausbeute von nur etwa 12 %.

Der Einsatz einer Synthesemikrowelle sollte zur Verkürzung der Reaktionszeit und zur Erhöhung der Ausbeute beitragen. Jedoch konnte nach einer Reaktionsdauer von 2,5 Stunden bei 70°C noch reichlich nicht umgesetztes Edukt festgestellt werden.

Aufgrund der sehr geringen Ausbeute von Verbindung **39** sollten weitere Syntheseveruche mit 2-Chlor-5-ethyl-3-nitrothiophen (**40**) (Trinkl, 1999) durchgeführt werden, um zum einen möglicherweise mit dieser Verbindung bessere Ausbeuten zu erzielen. Andererseits sollten mögliche störende Effekte des Benzylrestes ausgeschlossen werden.



¹ Trinkl, 1999.

Abb. 19: Syntheseversuch zur Darstellung von Verbindung **41**.

Der Versuch zur Darstellung von Verbindung **41** wurde in einer Synthesemikrowelle unter der Verwendung von Acetonitril als Lösungsmittel und K₂CO₃ als Base durchgeführt. Bereits nach 20 Minuten Reaktionszeit bei 70°C konnte eine Umsetzung detektiert werden, jedoch war ebenso noch reichlich Edukt zu beobachten. Die Umsetzungsrate konnte auch durch die Steigerung der Temperatur auf 90°C sowie die Verlängerung der Reaktionsdauer auf 2,5 Stunden nicht verbessert werden. Aufgrund der für eine mikrowellenunterstützten Synthese langen Reaktionszeit wurde diese Synthesemethode nicht weiter verfolgt.

Das bis dahin entstandene Produkt wurde säulenchromatographisch isoliert. Das ¹H-NMR lieferte das Spektrum einer Produktmischung, wobei es sich unter anderem um das gewünschte Kondensationsprodukt **41** handelt. Die zweite Verbindung stellt das Dimerisierungsprodukt **42** dar.

Auch die Wiederholung der Reaktion im Dreihalskolben unter normalen Bedingungen (70°C, 4 Tage) führte zum Erhalt der gleichen Produktmischung bestehend aus Verbindung **41** und **42**.

Leider war es nicht möglich Verbindung **41** und das Thiophendimer **42** chromatographisch voneinander zu trennen.

In einem weiteren Syntheseversuch wurde L-Valinmethylester Hydrochlorid gegen L-Phenylalaninmethylester Hydrochlorid ausgetauscht. Erst bei dieser Reaktion konnte das Thiophendimer **42** rein isoliert werden. Die durchgeführten Analysen (siehe Kapitel 6.1.) lassen auf die hier angegebene Struktur der Verbindung **42** schließen.

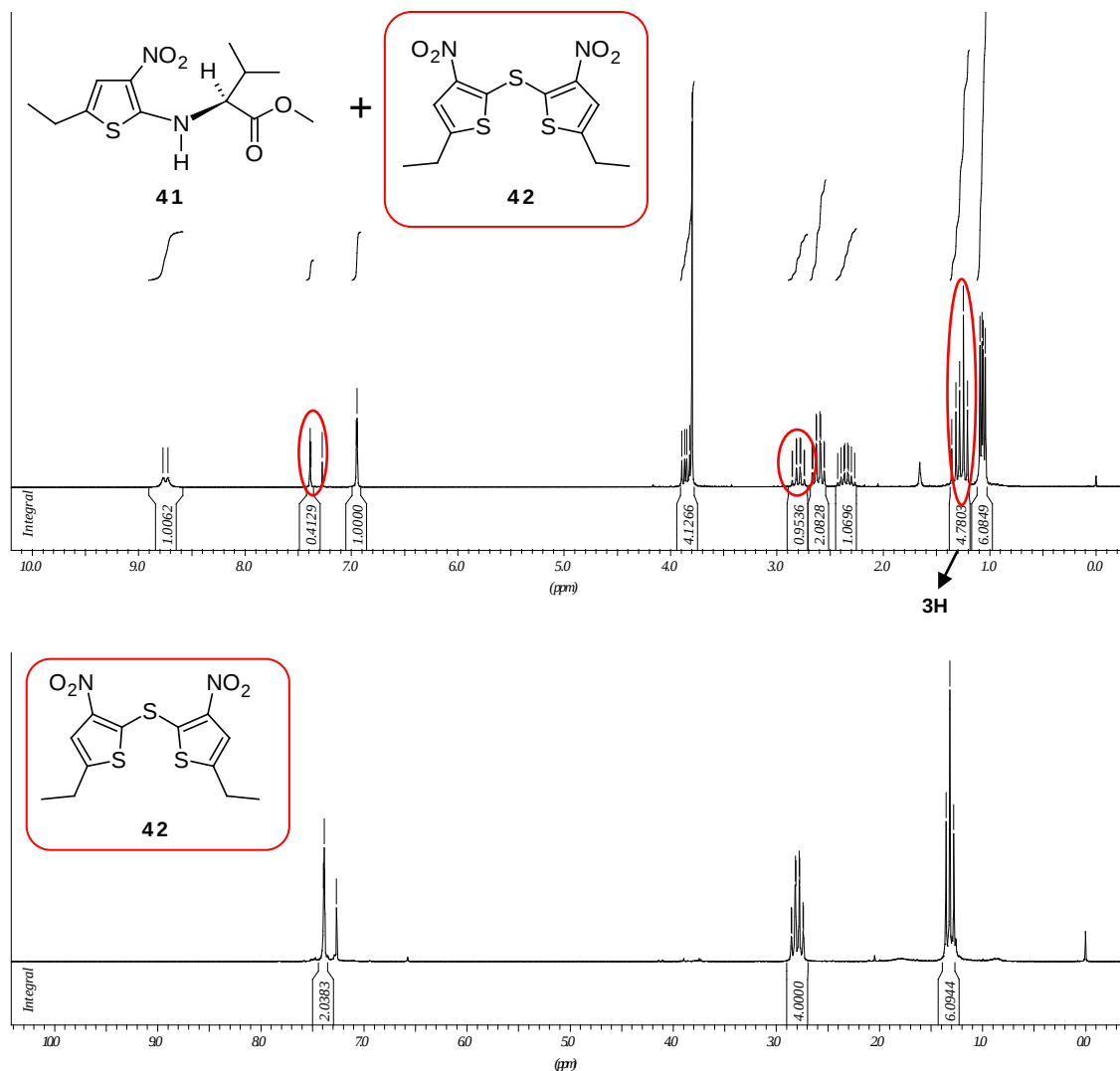
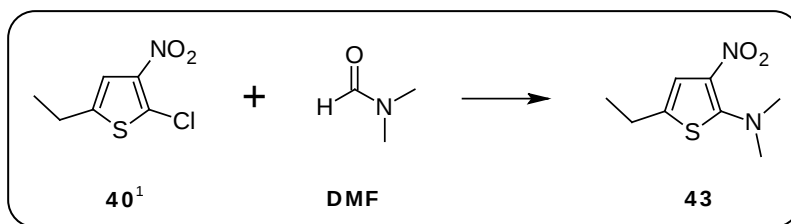


Abb. 20: Gegenüberstellung der ¹H-Spektren der Produktmischung (bestehend aus Verbindung **41** und **42**) und der Verbindung **42**.

In einem weiteren Versuch wurde Acetonitril durch *N,N*-Dimethylformamid (DMF) als Lösungsmittel ersetzt. Bei der Reaktion von Verbindung **40** und L-Valinmethylester Hydrochlorid in DMF bei einer Reaktionstemperatur von 50°C bzw. 100°C konnte kein eindeutiges Produkt detektiert werden. Es konnte ausschließlich eine Produktmischung in geringer Ausbeute isoliert werden.



¹ Trinkl, 1999.

Abb. 21: Mögliche Reaktion zwischen Verbindung **40** und DMF unter Bildung von Verbindung **43**.

Das erhaltene ¹H-Spektrum der Produktmischung lässt darauf schließen, dass DMF selbst mit Verbindung **40** unter Bildung von Verbindung **43** reagiert. Für einen Spektrenvergleich wurde Verbindung **43** aus Verbindung **40** und Dimethylamin (2M Lösung in THF) in absolutem THF hergestellt. Weiters lassen die Signale im aromatischen Bereich des Spektrums der Produktmischung wieder die Entstehung des gewünschten Produktes sowie des Thiophendimers **42** vermuten.

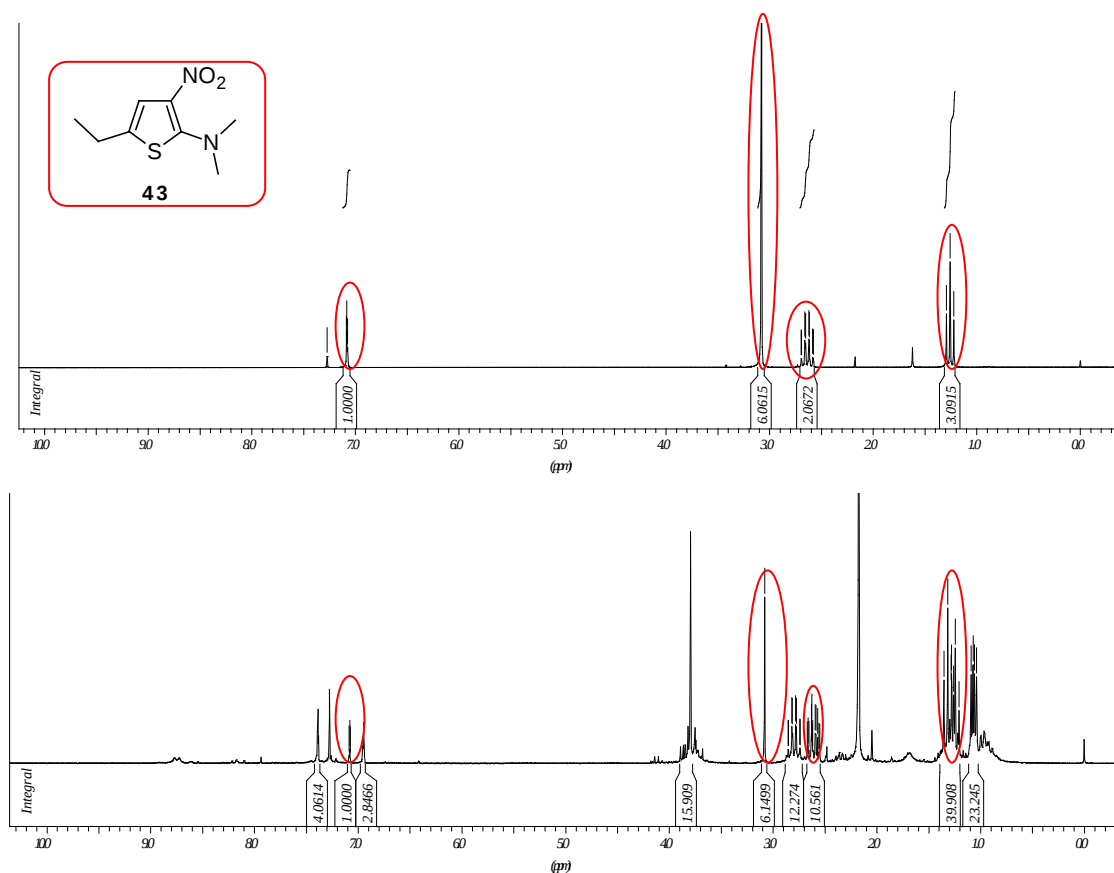


Abb. 22: Vergleich der ¹H-Spektren der Verbindung **43** und der erhaltenen Produktmischung.

Aufgrund der erhaltenen Produktmischungen sowie der langen Reaktionszeiten wurde diese Syntheseroute nicht weiterverfolgt. Ebenso stellt die Bildung des Dimerisierungsproduktes **42** einen limitierenden Faktor in Bezug auf die Ausbeute dar.

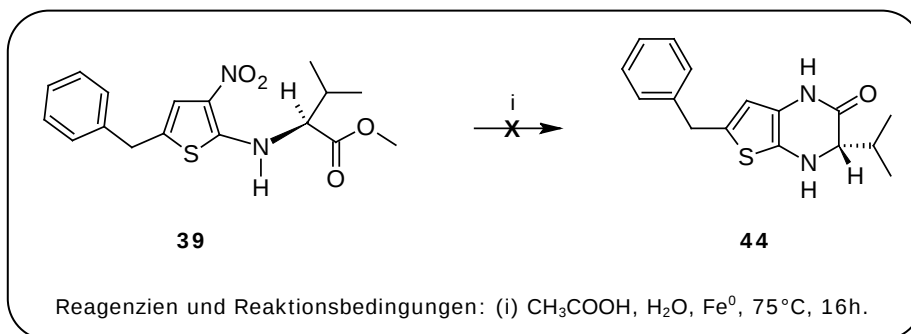


Abb. 23: Syntheseversuch zur Darstellung von Verbindung **44**.

Darüber hinaus konnte bei der reduktiven Zyklisierung von Verbindung **39** zu Verbindung **44** mit den bisher angewandten Bedingungen ebenso keine Umsetzung detektiert werden.

3.2.2. Synthese der (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine und (3*R*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine

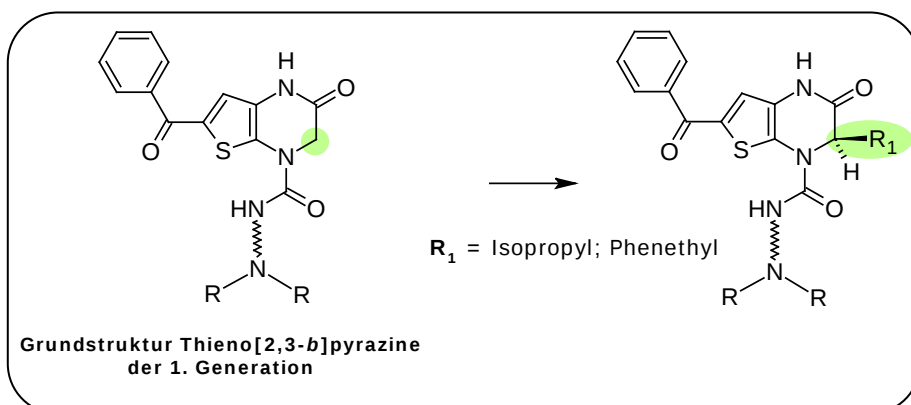
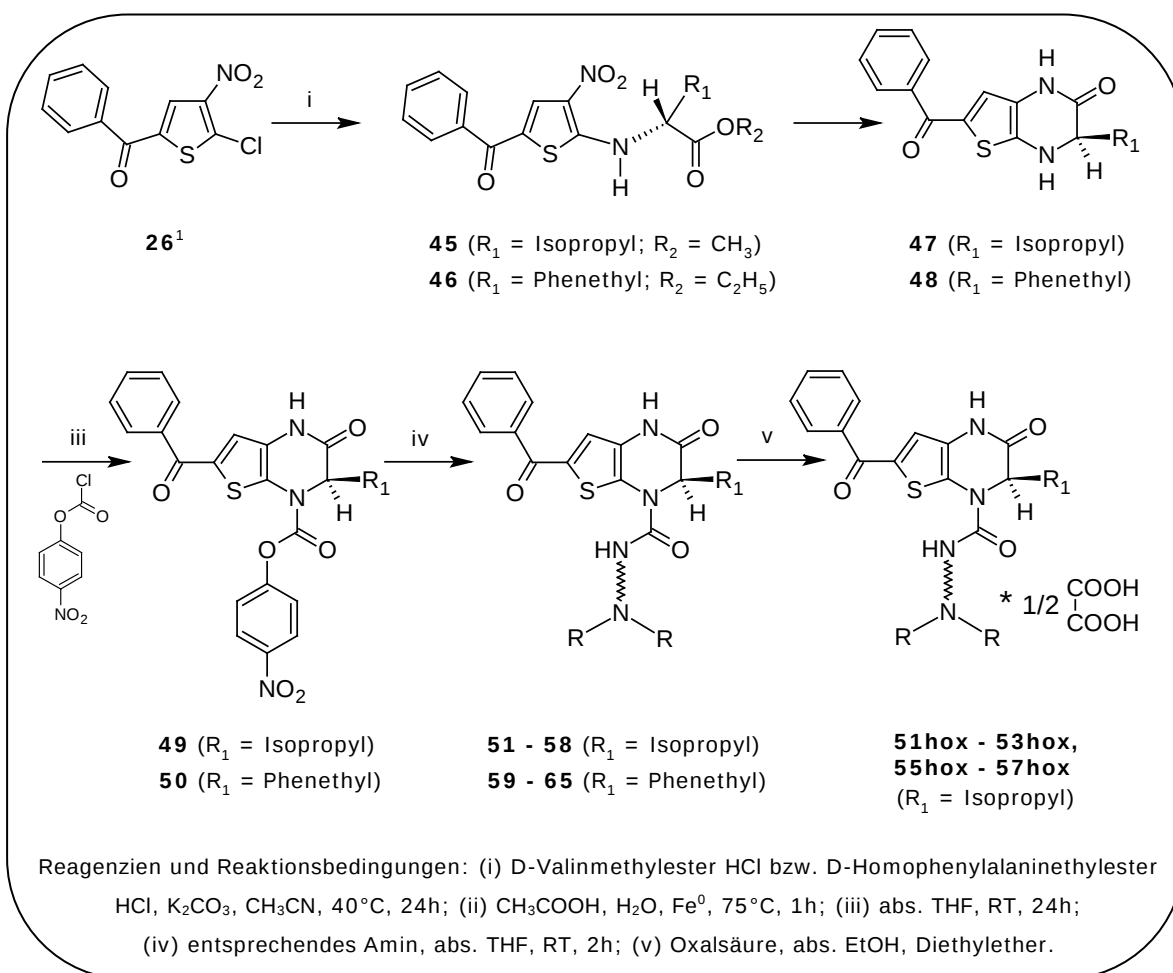


Abb. 24: Strukturelle Unterschiede zwischen der Grundstruktur der Thieno[2,3-*b*]pyrazine der 1. Generation und den (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazinen sowie (3*R*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazinen.

Bei den in diesem Kapitel vorgestellten Verbindungen handelt es sich zum einen um (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine und zum anderen um (3*R*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine. Diese Substanzklassen unterscheiden sich im Vergleich zur Grundstruktur der Thieno[2,3-*b*]pyrazine der ersten Generation ausschließlich durch die zusätzlichen hydrophoben Reste (Isopropyl- bzw. Phenethyl-) am Thieno[2,3-*b*]pyrazinring, die bei den in diesem Abschnitt dargestellten Derivaten *R*-konfiguriert vorliegen. Durch die Einführung des Isopropyl- bzw. Phenethylrestes soll wieder eine selektive Inhibition der BChE durch die Verbindungen erzielt

werden. Ebenso ist die *R*-Konfiguration der Reste von Wichtigkeit, um in späterer Folge diese Verbindungen mit den entsprechenden *S*-konfigurierten Analoga in Bezug auf Unterschiede in der inhibitorischen Wirkstärke der Verbindungen vergleichen zu können.

Auch die Substanzklassen der (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine und (3*R*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine zeichnen sich durch strukturelle Motive des Pharmakophormodells, wie durch eine Harnstofffunktion, einen Alkanlinker sowie einem tertiären Stickstoff mit aliphatischen bzw. zyklischen Resten, aus.



¹ Puschmann et Erker, 1995.

Abb. 25: Reaktionsschema zur Darstellung von (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazinen sowie (3*R*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazinen.

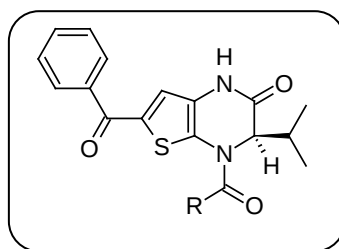
Die Herstellung der hier angeführten Verbindungsklassen (siehe Abb. 25) erfolgte analog nach dem Reaktionsschema der Thieno[2,3-*b*]pyrazine der ersten Generation (siehe Kapitel 3.1.2.), mit dem Unterschied, dass für die Darstellung der (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine D-Valinmethylester Hydrochlorid und für die

Darstellung der (3*R*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine D-Homophenylalanin-ethylester Hydrochlorid als Aminosäureester verwendet wurden.

Die Bildung der Salze gelang bei der Verbindungsklasse der (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine größtenteils ohne weitere Probleme. Die Elementaranalysen zeigten, dass die Verbindungen als Hemioxalat vorliegen. Der Versuch, Verbindung **58** in ein Salz überzuführen, war ohne Erfolg.

Auch das Überführen der (3*R*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazin-Derivate in die entsprechenden Salze konnte nicht erfolgreich durchgeführt werden, da die Salze zum Ausölen neigten. Folglich wurden die freien Amine für die biologischen Untersuchungen herangezogen.

In der folgenden Tabelle sind die neu synthetisierten Derivate der (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine angeführt. Die Verbindungen **51-53** und **55-58** konnten in der Regel mit sehr guten Ausbeuten gewonnen werden. Verbindung **54** konnte zwar dargestellt werden, jedoch auch nach mehrmaligen Aufreinigungsversuchen nicht rein erhalten werden.

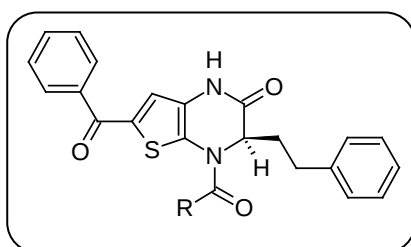


Verbindung	R	Verbindung	Salz
51		51hox	Hemioxalat
52		52hox	Hemioxalat
53		53hox	Hemioxalat
54		-	-
55		55hox	Hemioxalat
56		56hox	Hemioxalat

57		57hox	Hemioxalat
58		-	-

Tab. 6: Übersicht über die neu synthetisierten (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazin-Derivate.

Der folgenden Tabelle sind die neu synthetisierten (3*R*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine zu entnehmen.



Verbindung	R
59	
60	
61	
62	
63	
64	
65	

Tab. 7: Übersicht über die neu synthetisierten (3*R*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazin-Derivate.

3.2.3. Synthese der (3S)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine und (3S)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine

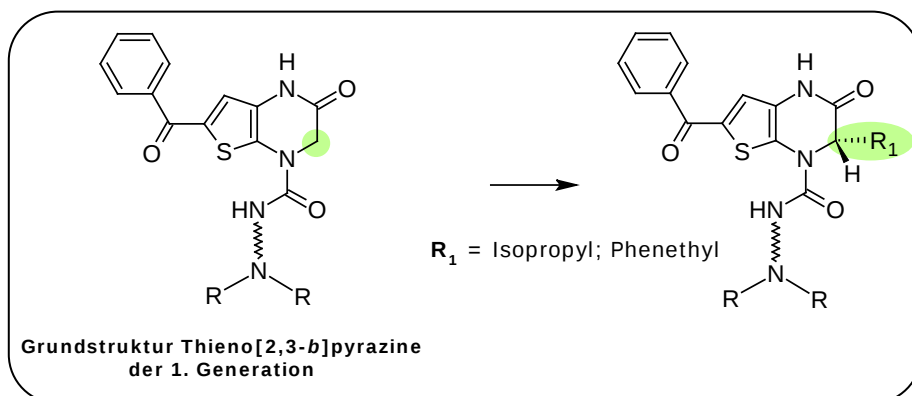
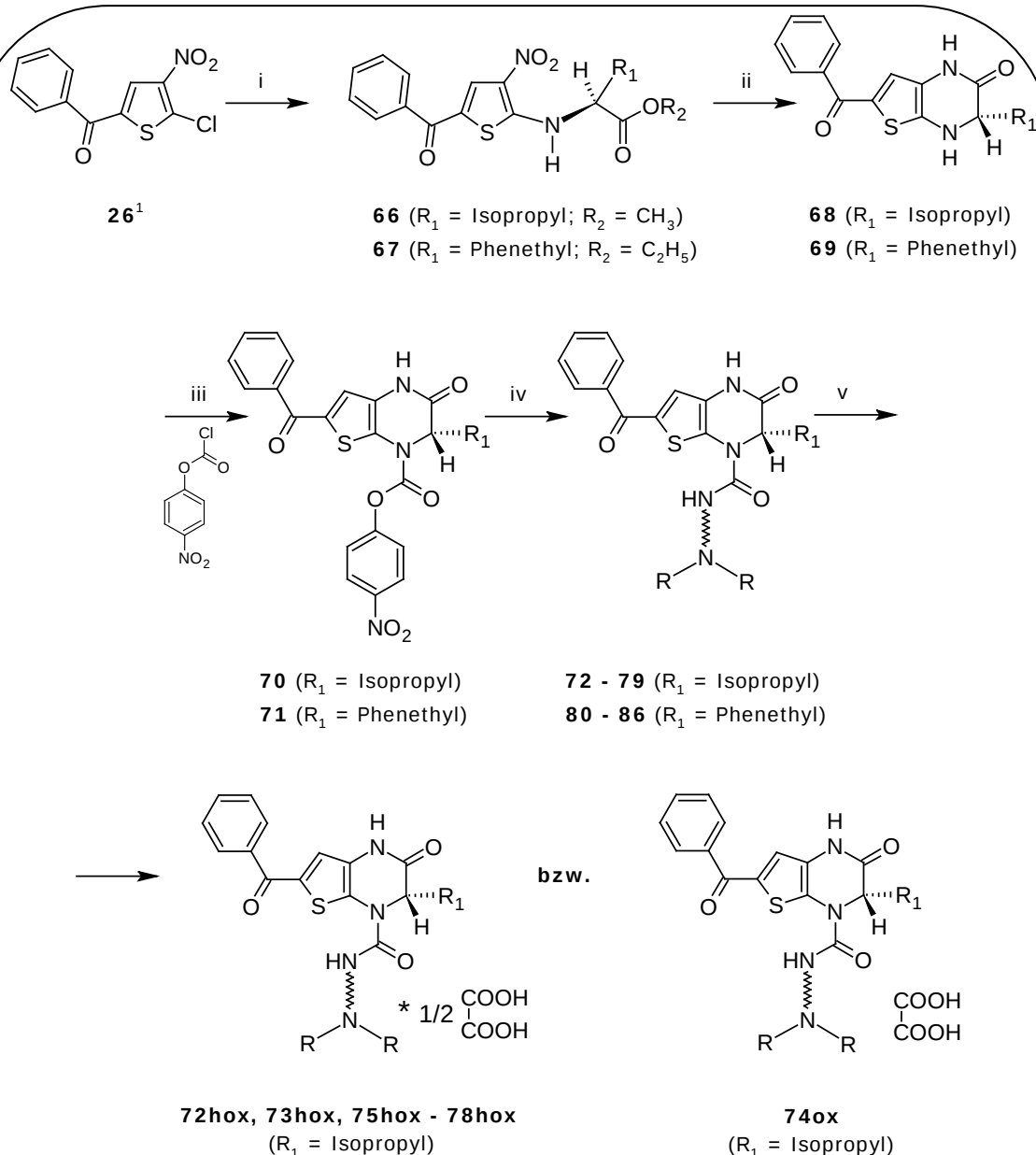


Abb. 26: Strukturelle Unterschiede zwischen der Grundstruktur der Thieno[2,3-*b*]pyrazine der 1. Generation und den (3S)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazinen sowie (3S)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazinen.

In diesem Abschnitt der Arbeit werden die neu synthetisierten Derivate der (3S)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine sowie der (3S)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine präsentiert. Diese charakterisieren sich, wie auch die *R*-konfigurierten Analoga, durch zusätzliche hydrophobe Reste (Isopropyl- bzw. Phenethyl-) am Thieno[2,3-*b*]pyrazinring. Die Synthese der entsprechenden *S*-konfigurierten Verbindungen sollte dazu dienen, um den Einfluss der Konfiguration auf die biologische Wirkung im Vergleich zu den *R*-konfigurierten Derivaten ermitteln zu können.

Ebenso sollten die hydrophoben Reste am Thieno[2,3-*b*]pyrazinring der Substanzklassen der (3S)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine und der (3S)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine die Selektivität der Verbindungen gegenüber der BChE verbessern.



Reagenzien und Reaktionsbedingungen: (i) L-Valinmethylester HCl, K_2CO_3 , CH_3CN , 40°C , 24h bzw. L-Homophenylalaninethylester HCl, K_2CO_3 , CH_3CN , 55°C , 36h; (ii) CH_3COOH , H_2O , Fe^0 , 75°C , 1h; (iii) abs. THF, RT, 24h; (iv) entsprechendes Amin, abs. THF, RT, 2h; (v) Oxalsäure, abs. EtOH, Diethylether.

¹ Puschmann *et* Erker, 1995.

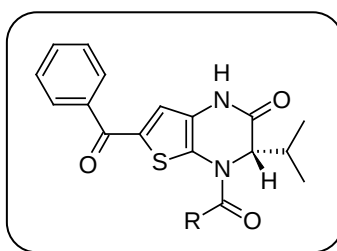
Abb. 27: Reaktionsschema zur Darstellung von (3S)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazinen sowie (3S)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazinen.

Die hier angeführten Verbindungsklassen wurden ebenfalls nach der in Kapitel 3.1.2. beschriebenen Methode zur Darstellung der Thieno[2,3-*b*]pyrazine hergestellt. Für die Synthese der (3S)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine kam L-Valinmethylester Hydrochlorid und für die Herstellung der (3S)-Phenethyl-

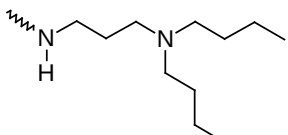
thieno[2,3-*b*]pyrazine L-Homophenylalaninethylester Hydrochlorid zum Einsatz (siehe Abb. 27).

Die Umsetzung der (3*S*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazin-Derivate mit Oxalsäure lieferte größtenteils die entsprechenden Hemioxalate. Interessanterweise lässt die Elementaranalyse der Verbindung **74ox** auf das Vorliegen eines Oxalates schließen. Wie bereits schon in Kapitel 3.2.2. erwähnt, zeigte sich auch hier die Überführung der Verbindung **79** sowie der (3*S*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazin-Derivate in entsprechende Salze als schwierig.

In der folgenden Tabelle sind die Derivate der (3*S*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine dargestellt. Die Umsetzung von Verbindung **70** zu Verbindung **75** konnte zwar festgestellt werden, jedoch konnte diese, wie auch die entsprechende *R*-konfigurierte Verbindung **54**, nicht rein isoliert werden.

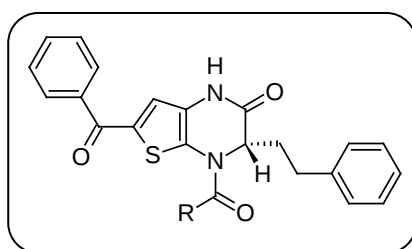


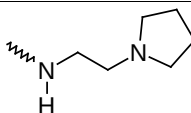
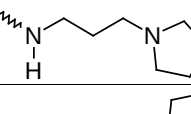
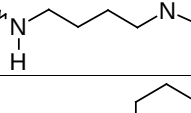
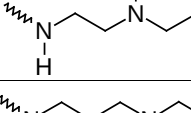
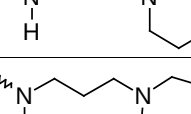
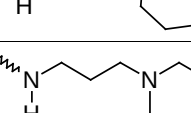
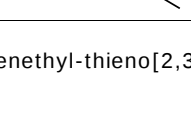
Verbindung	R	Verbindung	Salz
72		72hox	Hemioxalat
73		73hox	Hemioxalat
74		74ox	Oxalat
75		-	-
76		76hox	Hemioxalat
77		77hox	Hemioxalat
78		78hox	Hemioxalat

79		-	-
----	---	---	---

Tab. 8: Übersicht über die neu synthetisierten (3S)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazin-Derivate.

Die Tabelle 7 gibt einen Überblick über die neu dargestellten (3S)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazin-Derivate.



Verbindung	R
80	
81	
82	
83	
84	
85	
86	

Tab. 9: Übersicht über die neu synthetisierten (3S)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazin-Derivate.

3.2.4. Nachweis der Enantiomerenreinheit

Die Verwendung von sogenannten chiralen Derivatisierungsreagenzien ermöglicht die Darstellung von Diastereomeren, die sich anhand ihrer physikalischen und somit auch spektroskopischen Eigenschaften unterscheiden.

Zur Derivatisierung von chiralen Alkoholen und Aminen empfiehlt sich unter anderem der Einsatz von Mosher's-Säurechlorid ((*R*)-(-)- bzw. (*S*)-(+)- α -Methoxy- α -trifluormethylphenylessigsäurechlorid (MTPA-Cl)).

Um die Enantiomerenreinheit der Verbindungen nachzuweisen, sollte zunächst exemplarisch Verbindung **68** mit (*S*)-(+)-MTPA-Chlorid unter Verwendung von absolutem THF und Triethylamin erwartungsgemäß zum entsprechenden Amid **87** umgesetzt werden. Jedoch konnte keine Umsetzung der Ausgangsverbindung **68** beobachtet werden.

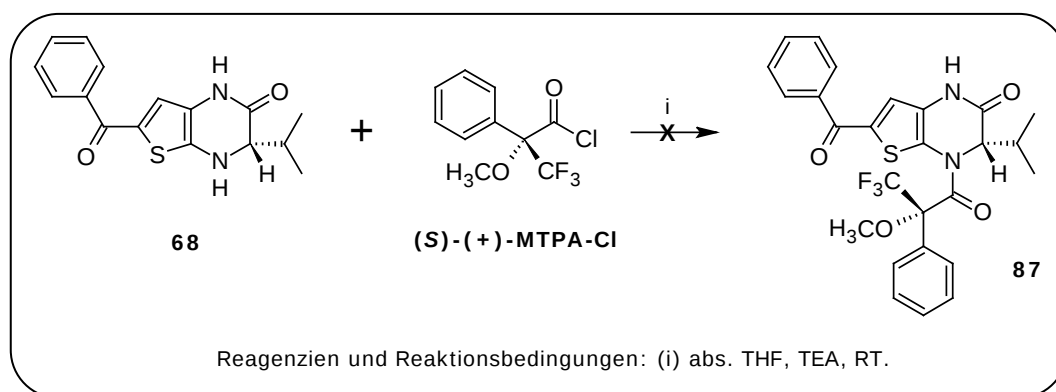


Abb. 28: Syntheseversuch zur Darstellung von Verbindung **87**.

In einem weiteren Syntheseversuch wurde die Reaktion in Abwesenheit von Triethylamin als Base durchgeführt. Hierbei zeigte sich zwar eine vollständige Umsetzung der Verbindung **68**, jedoch handelte es sich bei der isolierten Endverbindung nicht um das gewünschte Produkt. Die folgende Abbildung zeigt die beiden möglichen Strukturvarianten des entstandenen Produktes.

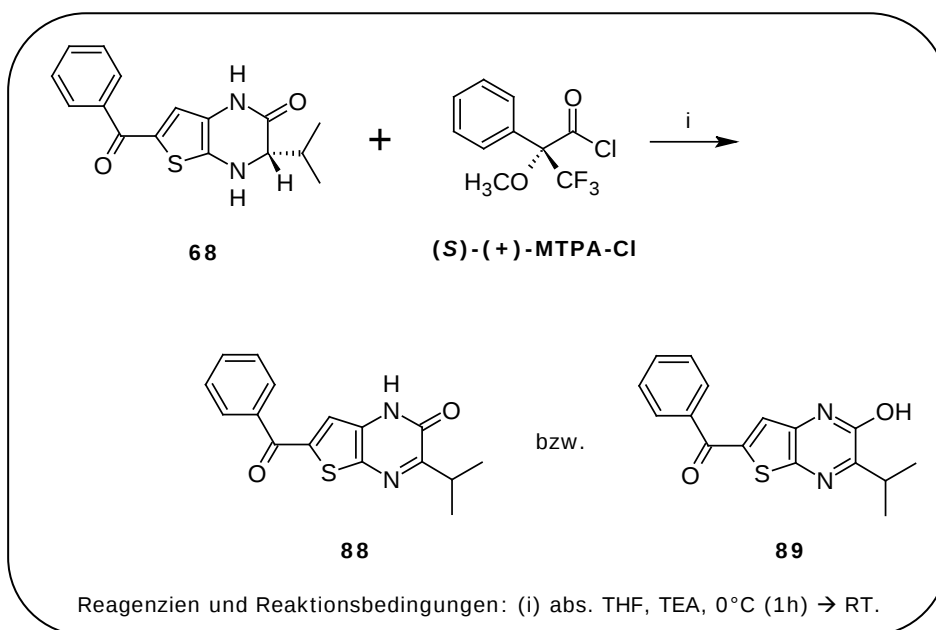


Abb. 29: Synthese von Verbindung **88** bzw. **89**.

Eine weitere Möglichkeit zur Reinheitsbestimmung von Enantiomeren stellt die HPLC-Analytik dar, indem Säulen mit chiraler stationärer Phase eingesetzt werden. Da die Derivatisierung mit MTPA-Chlorid nicht zum gewünschten Produkt führte, wurden im Rahmen dieser Dissertation chirale Endverbindungen mittels HPLC-Analytik auf ihre Enantiomerenreinheit überprüft. Als Säule wurde eine ChiraDex® (5 µM) der Firma Merck verwendet.

Im Folgenden sind die HPLC-Chromatogramme der Verbindung **57** und **78** als Beispiel angeführt. Dabei handelt es sich sowohl um die Chromatogramme der Reinverbindungen **57** und **78**, als auch um das Chromatogramm der enantiomeren Mischung der beiden Verbindungen.

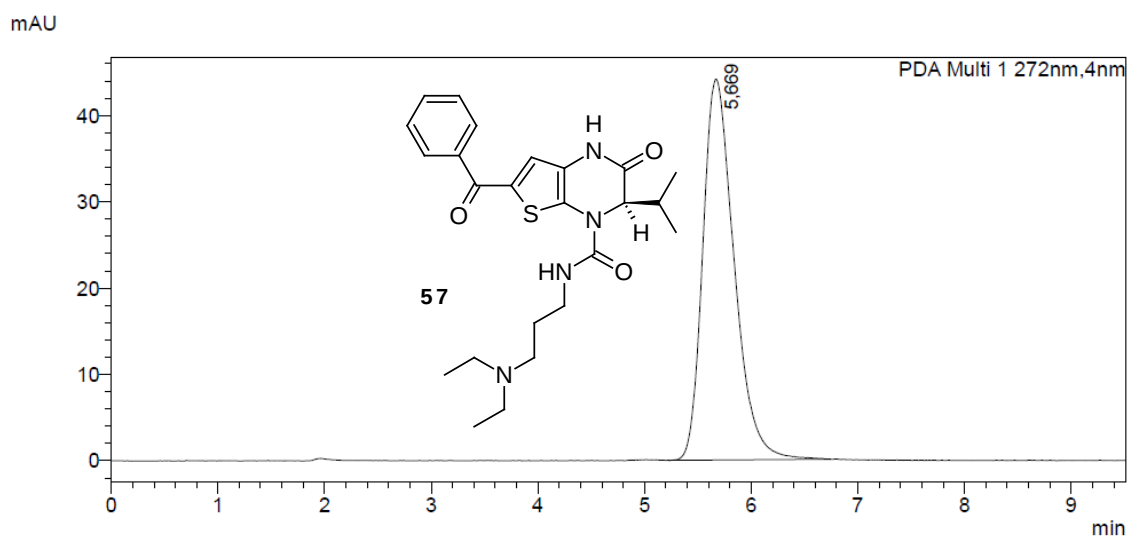


Abb. 30: HPLC-Chromatogramm der Verbindung **57**. Elutionsmittel: 85:15 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH; Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 1 mg/1 ml); Flussrate: 0,8 ml/1 min.

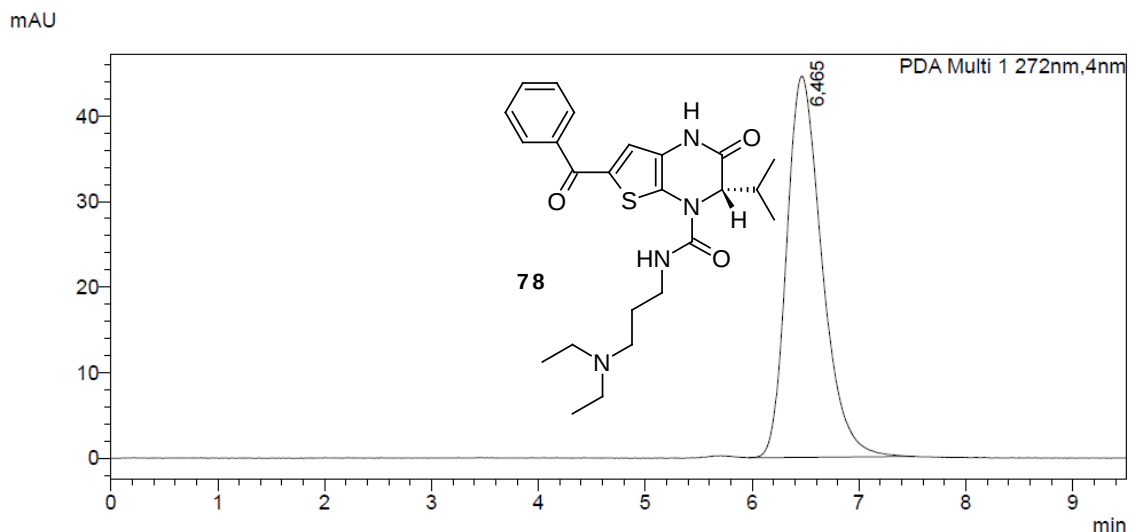


Abb. 31: HPLC-Chromatogramm der Verbindung **78**. Elutionsmittel: 85:15 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH; Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 1 mg/1 ml); Flussrate: 0,8 ml/1 min.

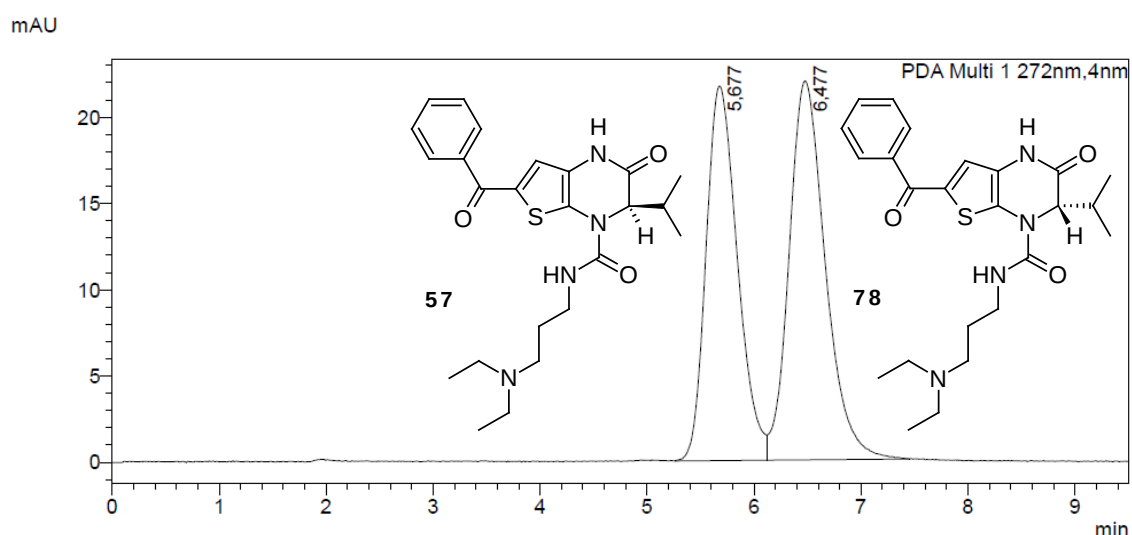


Abb. 32: HPLC-Chromatogramm der Verbindung **57** und **78**. Elutionsmittel: 85:15 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH; Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 1 mg/1 ml); Flussrate: 0,8 ml/1 min.

Alle weiteren HPLC-Chromatogramme sind dem Kapitel 10 dieser Arbeit und die dazugehörigen HPLC-Bedingungen dem experimentellen Teil (siehe Kapitel 6) zu entnehmen.

Alle Chromatogramme zeigen eine enantiomere Reinheit der Endverbindungen von über 95 %. Bei der Verbindungsklasse der (3*R*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine lassen sich minimale Verunreinigungen mit den entsprechenden (3*S*)-Derivaten beobachten, jedoch liegen diese Verunreinigungen bei allen Verbindungen unter 5 % (siehe Kapitel 10.2.).

3.2.5. Ergebnisse der Untersuchungen der inhibitorischen Wirkung auf Cholinesterasen – Verbindungsklassen der 2. Generation

Die Untersuchungen der inhibitorischen Wirkung der Substanzklassen der zweiten Generation auf die BChE und AChE erfolgte analog zur Testung der Verbindungsklassen der ersten Generation unter Verwendung eines Ellman-Assays.

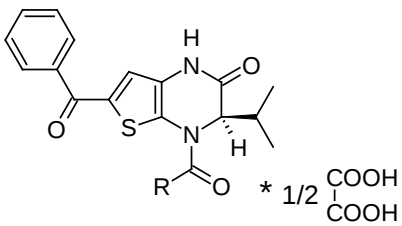
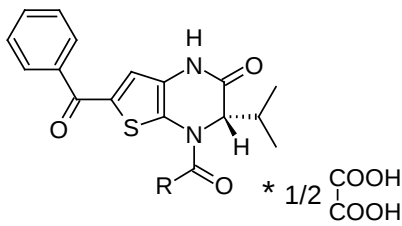
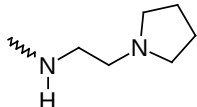
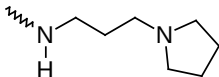
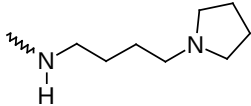
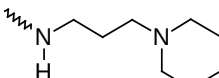
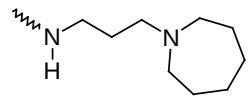
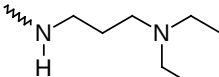
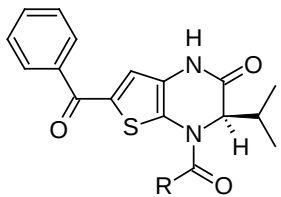
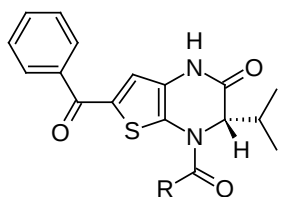
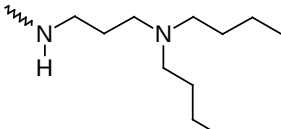
Um einen besseren Überblick und somit eine Vergleichbarkeit der biologischen Ergebnisse zu ermöglichen, werden in den nun angeführten Tabellen die Daten der (3*R*)- und (3*S*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine einander gegenübergestellt und jene der (3*R*)- sowie (3*S*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine in einer Tabelle zusammengefasst. In Bezug auf die Substanzpaare (d.h. Verbindungen mit gleicher Seitenkette an der Harnstofffunktion und gleichem, aber unterschiedlich ausgerichteten Rest am Pyrazinring) sind die biologischen Werte jener Verbindung rot markiert, die das wirksamere Derivat der beiden darstellt.

Bei den (3*R*)- sowie (3*S*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazinen wurden die IC₅₀-Werte von jenen Verbindungen bestimmt, die bei einer Konzentration von 10 µm eine Reduktion der BChE-Aktivität von mindestens 80 % erzielten.

Des Weiteren muss hier angeführt werden, dass einige Verbindungen von unserem Kooperationspartner noch nicht vollständig auf ihre inhibierende Aktivität untersucht wurden. Daher liegen einige IC₅₀-Werte noch nicht bzw. nur als Ergebnisse von Einzelexperimenten vor.

Physostigmin und Galantamin gelten wiederum als Referenzsubstanzen.

3.2.5.1. Ergebnisse der (3R)-Isopropyl-thieno[2,3-b]pyrazine und (3S)-Isopropyl-thieno[2,3-b]pyrazine

								
R	Verb.	BChE ^a Inh. 10 µM (%)	BChE ^a IC ₅₀ (µM)	AChE ^b Inh. 10 µM (%)	Verb.	BChE ^a Inh. 10 µM (%)	BChE ^a IC ₅₀ (µM)	AChE ^b Inh. 10 µM (%)
	51 hox	61	6,24 ± 0,14	4,8	72 hox	85	1,92 ± 0,04	24
	52 hox	77	3,24 ± 0,04	11	73 hox	90	0,62 ± 0,19	24
	53 hox	68	4,94 ± 0,35	11	74 ox ^c	68	n.b.	9,0
	55 hox	89	1,55 ± 0	15	76 hox	96	0,61 ± 0,13	42
	56 hox	98	0,53 ± 0,03	15	77 hox	97	0,75 ± 0,08*	45
	57 hox	98	0,40 ± 0	18	78 hox	74	4,18 ± 0,25	9,4
								
	58	85	3,13 ± 0,83	8,5	79	70	n.b.	5,3

R	Verb.	BChE ^a	BChE ^a	AChE ^b	Verb.	BChE ^a	BChE ^a	AChE ^b
		Inh. 10 μ M (%)	IC ₅₀ (μ M)	Inh. 10 μ M (%)		Inh. 10 μ M (%)	IC ₅₀ (μ M)	Inh. 10 μ M (%)
Physostigmin ^d			2,1 $\pm$ 0,5					
Galantamin ^e		39 $\pm$ 5	16,9 $\pm$ 1,0	92 $\pm$ 1				

^a BChE (EC 3.1.1.8; BChE aus Pferdeserum, Sigma Aldrich, USA)

^b AChE (EC 3.1.1.7; AChE vom Zitteraal, Sigma Aldrich, USA)

^c Verbindung **74ox** liegt als Oxalat vor

^d Werte für Physostigmin: Karlsson *et al*, 2012a

^e Werte für Galantamin: Karlsson *et al*, 2012b

n.b. – nicht bestimmt

* IC₅₀-Wert bisher nur durch ein Experiment ermittelt (8 verschiedene Konzentrationen mit 8 Replikaten pro Konzentration)

Tab. 10: Ergebnisse der (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine und (3*S*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine auf die Aktivität der BChE und AChE.

Vergleicht man die biologischen Ergebnisse der (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine mit denen der (3*S*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine so lassen sich eindeutige Unterschiede in der Wirkstärke zwischen den einzelnen Enantiomerenpaaren beobachten. Alle im Rahmen dieser Dissertation getesteten (3*R*)- bzw. (3*S*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazin-Derivate konnten an der BChE IC₅₀-Werte im mikro- bis dreistelligen nanomolaren Bereich erzielen, jedoch unterscheiden sich die IC₅₀-Werte von Substanzpaaren stark voneinander. Beispielsweise erwies sich Verbindung **57hox** mit einem IC₅₀-Wert von 0,40 μ M an der BChE als wirksamster Vertreter der (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine und somit als wirksamstes Derivat des gesamten Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazin-Pools. Die Verbindung **57hox** zeichnet sich durch einen 3-(Diethylamino)propyl-Rest an der Harnstoffteilstruktur aus. Das entsprechende *S*-konfigurierte Analogon **78hox** war mit einem IC₅₀-Wert von 4,18 μ M an der BChE deutlich schwächer wirksam. In Bezug auf die Wirkstärke der Verbindungen der beiden Substanzklassen lässt sich keine eindeutige Aussage über die bevorzugte Konfiguration des Isopropylrestes treffen.

Darüber hinaus zeigte die Substanzklasse der (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine an der AChE ein geringes inhibitorisches Potenzial. Die Aktivität der AChE konnte bei einer Testkonzentration von 10 μ M lediglich um maximal 18 % reduziert werden.

Anders als bei den (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazinen, stellte sich bei der Substanzklasse der (3*S*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine das 3-Piperidinopropyl-Derivat **76hox** als wirksamste Verbindung mit einem IC₅₀-Wert von 0,61 µM an der BChE heraus. Einen nahezu identen Wert lieferte Verbindung **73hox** mit einem IC₅₀-Wert von 0,62 µM.

Die biologischen Ergebnisse der (3*S*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine lassen ebenso auf eine geringe AChE-inhibierende Aktivität schließen. Es konnten bei einer Testkonzentration von 10 µM lediglich Werte unter 50 % Inhibition gemessen werden.

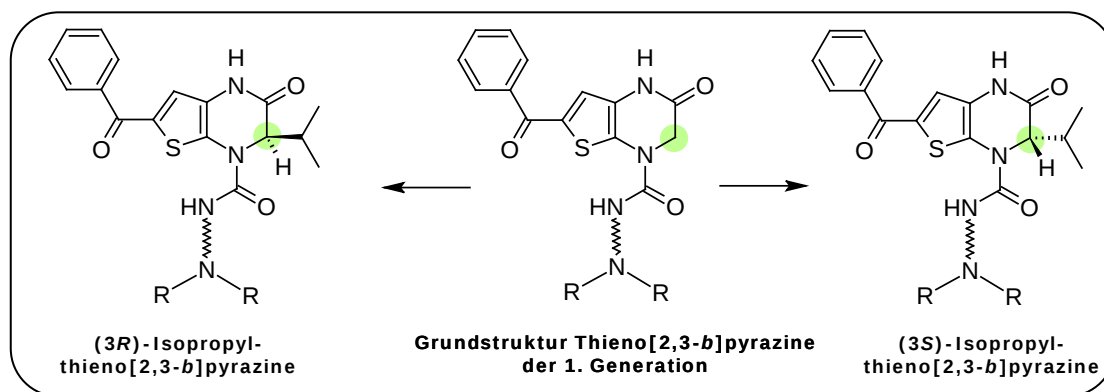
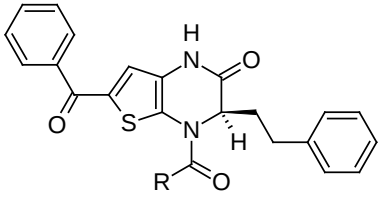
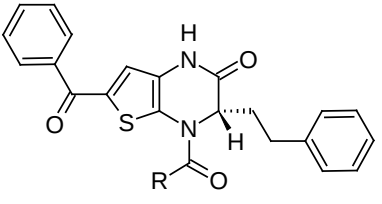
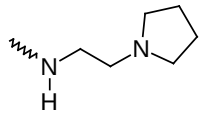
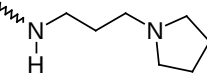
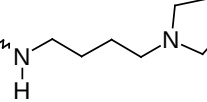
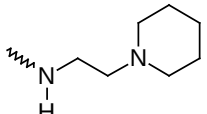
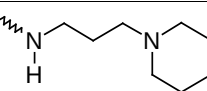
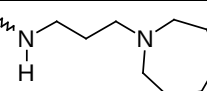
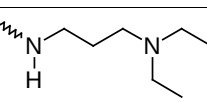


Abb. 33: Struktureller Vergleich der Thieno[2,3-*b*]pyrazine der 1. Generation mit den (3*R*)- und (3*S*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazinen der 2. Generation.

Somit konnte die aufgestellte Hypothese, dass durch das Einführen von hydrophoben Resten am Thieno[2,3-*b*]pyrazinring (siehe Abb. 33) die Selektivität der Verbindungen im Vergleich zu den Thieno[2,3-*b*]pyrazinen der ersten Generation wieder auf die BChE gelenkt werden kann, mit den (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazinen sowie (3*S*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazinen bestätigt werden.

3.2.5.2. Ergebnisse der (3R)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine und (3S)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine

								
R	Verb.	BChE ^a Inh. 10 µM (%)	BChE ^a IC ₅₀ (µM)	AChE ^b Inh. 10 µM (%)	Verb.	BChE ^a Inh. 10 µM (%)	BChE ^a IC ₅₀ (µM)	AChE ^b Inh. 10 µM (%)
	59	70	n.b.	9,7	80	86	i.T.	1,8
	60	78	n.b.	21	81	94	i.T.	17
	61	97	0,81 ± 0,04	23	82	94	i.T.	27
	62	77	n.b.	9,4	83	95	i.T.	6,4
	63	92	2,35 ± 0,22*	18	84	99	0,69 ± 0,14*	16
	64	97	1,57 ± 0,16	27	85	99	0,54 ± 0,23	31
	65	84	2,90 ± 1,11*	21	86	89	1,45 ± 0,33*	13
Physostigmin^c			2,1 ± 0,5					
Galantamin^d		39 ± 5	16,9 ± 1,0	92 ± 1				

^a BChE (EC 3.1.1.8; BChE aus Pferdeserum, Sigma Aldrich, USA)

^b AChE (EC 3.1.1.7; AChE vom Zitteraal, Sigma Aldrich, USA)

^c Werte für Physostigmin: Karlsson *et al*, 2012a

^d Werte für Galantamin: Karlsson *et al*, 2012b

n.b. – nicht bestimmt; i.T. – in Testung

* IC₅₀-Wert bisher nur durch ein Experiment ermittelt (8 verschiedene Konzentrationen mit 8 Replikaten pro Konzentration)

Tab. 11: Ergebnisse der (3R)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine und (3S)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine auf die Aktivität der BChE und AChE.

Wie auch schon bei den (3*R*)- und (3*S*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazinen beobachtet werden konnte, lassen sich ebenso bei den (3*R*)- und (3*S*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazinen in Bezug auf die Konfiguration des Phenethylrestes Unterschiede in der Wirkstärke der Verbindungen feststellen. Betrachtet man die biologischen Ergebnisse in Tabelle 11, so zeigen die (3*S*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine eine höhere Wirkstärke an der BChE als die entsprechenden *R*-konfigurierten Analoga.

Als am stärksten wirksame Verbindung der (3*R*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine geht das Derivat **61** mit einem IC₅₀-Wert von 0,81 µM hervor. Dieses ist durch eine 4-Pyrrolidinobutyl-Teilstruktur gekennzeichnet. Bei Verbindung **65**, die - wie auch das wirksamste (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazin-Derivat **57hox** - einen 3-(Diethylamino)propyl-Rest trägt, konnte lediglich ein IC₅₀-Wert von 2,90 µM gemessen werden.

Auch dieser Substanzklasse konnte nur eine geringe Affinität gegenüber der AChE nachgewiesen werden.

Ebenso lassen die Daten der (3*S*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine eine deutlich höhere Affinität der Verbindungen gegenüber der BChE als im Vergleich zur AChE feststellen. Die IC₅₀-Werte der Verbindungen **80**, **81**, **82** und **83** können leider zurzeit noch nicht präsentiert werden, da sich diese bei unserem Kooperationspartner noch in Testung befinden. Die Verbindungen **81**, **82** und **83** zeigten im Screening bei einer Konzentration von 10 µM eine Hemmung der BChE von 94 bzw. 95 %. Als bisher wirksamstes Derivat führte Verbindung **85** zu einer 99%igen Inhibition der BChE-Aktivität mit einem IC₅₀-Wert von 0,54 µM.

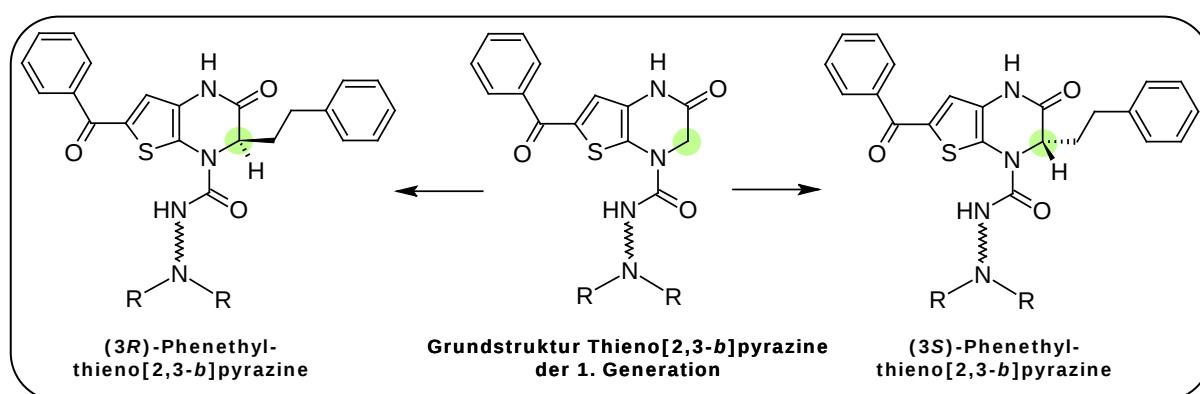


Abb. 34: Struktureller Vergleich der Thieno[2,3-*b*]pyrazine der 1. Generation mit den (3*R*)- und (3*S*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazinen der 2. Generation.

Zusätzlich konnte auch mit den (3*R*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazinen sowie (3*S*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazinen die Hypothese, dass ein hydrophober Rest am

Thieno[2,3-*b*]pyrazinring die Affinität der Verbindungen gegenüber der BChE erhöht, untermauert werden.

4 Untersuchungen an der glatten Muskulatur von isolierten Präparaten des Meerschweinchens

Wie bereits in der Zielsetzung erwähnt, sollten einige Verbindungen auf ihre relaxierende Wirkung an der glatten Muskulatur von isolierten Präparaten des Meerschweinchens untersucht werden. Folgende Präparate wurden für die Untersuchungen herangezogen: Aorta descendens, Arteria pulmonalis, terminales Ileum, Atrium cordis dextrum und Musculus papillaris. Hierbei war die mögliche vasodilatierende Wirkung der Testsubstanzen an der Aorta descendens und der Arteria pulmonalis von besonderem Interesse. Die gefäßerweiternden Eigenschaften der Testsubstanzen an der Aorta und Arteria pulmonalis könnten möglicherweise auch zur Vasodilatation von cerebralen Blutgefäßen führen und somit zu einer eventuell besseren Hirndurchblutung bei Morbus Alzheimer Patienten beitragen. Dies bedarf jedoch weiterer Untersuchungen.

Die Untersuchungen an den isolierten Präparaten des Meerschweinchens wurden in Kooperation mit dem Department für Pharmakologie und Toxikologie der Universität Wien unter Leitung von Ao. Univ.-Prof. Dr. Christian Studenik durchgeführt.

Die Testung der Verbindungen **57hox** und **78hox** wurde von der Dissertatin durchgeführt. Die Verbindung **55hox** (Koberger, 2013), **36ox** und **76hox** (Windisch, 2014) wurden in Rahmen von Diplomarbeiten untersucht.

Dabei richtete sich die Auswahl nach der Aktivität auf die BChE sowie nach gemeinsamen strukturellen Motiven der Verbindungen. In Bezug auf die Inhibition der BChE wurde Verbindung **36ox** als zweitwirksamstes Derivat der Thieno[2,3-*b*]pyrazine der ersten Generation für die Testung an isolierten Meerschweinchenpräparaten ausgewählt. Das wirksamere Derivat **37hox** konnte aufgrund seiner schlechten Löslichkeit in DMSO nicht herangezogen werden.

Da bei diesen Untersuchungen, wie auch schon bei den Aktivitätstestungen an der BChE und AChE, die Auswirkungen des hydrophoben Restes am Pyrazinring bezüglich seiner Ausrichtung auf die biologische Wirkung von Interesse waren, wurden zusätzlich die Verbindungen **55hox** und **76hox** getestet. Diese zeigen wie Verbindung **36ox** eine Piperidinopropylteilstruktur an der Harnstofffunktion. Ebenso fiel die Wahl auf die Verbindungen **57hox** und **78hox**, wobei Verbindung **57hox** mit einem IC_{50} -Wert von $0,40 \pm 0 \mu M$ an der BChE eine der wirksamsten Verbindungen dieser Arbeit darstellt.

Die Präparation der isolierten Organe sowie der Versuchsaufbau werden im Detail in Kapitel 6.2.2. beschrieben.

4.1. Biologische Ergebnisse der Verbindung 57hox

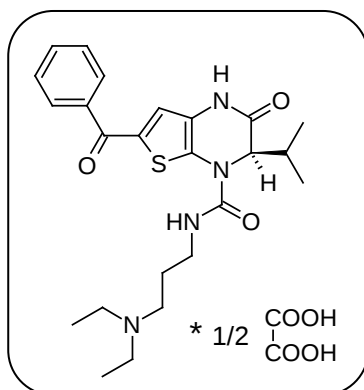


Abb. 35: Chemische Struktur der Verbindung **57hox**.

• Wirkung von Verbindung **57hox** auf die Aorta descendens

Zur Bestimmung der vasodilatierenden Wirkung an der Aorta wurde das Präparat mit einer 90 mM KCl-Lösung maximal vorkontrahiert. Somit wurde ein Kontrollwert von $10,55 \pm 0,72$ mN ermittelt, der mit einer Kontraktionskraft von 0 % gleichzusetzen ist.

Im Anschluss erfolgte die Zugabe der Testsubstanz in steigender Konzentration von 3, 10, 30 und 100 $\mu\text{mol/l}$, wobei für jede Konzentration eine 45-minütige Einwirkdauer gewählt wurde. Die Abnahme der Kontraktionskraft der Aorta unter dem Einfluss von Verbindung **57hox** konnte in geringem Ausmaß beobachtet werden. Ein IC_{50} -Wert konnte jedoch im getesteten Konzentrationsbereich nicht erreicht werden.

57hox ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Versuche (n)	Irrtumswahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	$10,55 \pm 0,72$	0 ± 0	5	---
3	$10,06 \pm 0,64$	$-4,50 \pm 0,94$	5	n.s.
10	$9,13 \pm 0,48$	$-12,97 \pm 2,59$	5	0,05
30	$7,70 \pm 0,26$	$-26,03 \pm 4,10$	5	0,05
100	$6,23 \pm 0,21$	$-39,79 \pm 4,75$	5	0,05

Tab. 12: Arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft (f_c) inklusive Standardfehler der Aorta angegeben in mN und in Prozent sowie die Anzahl der durchgeführten Versuche.

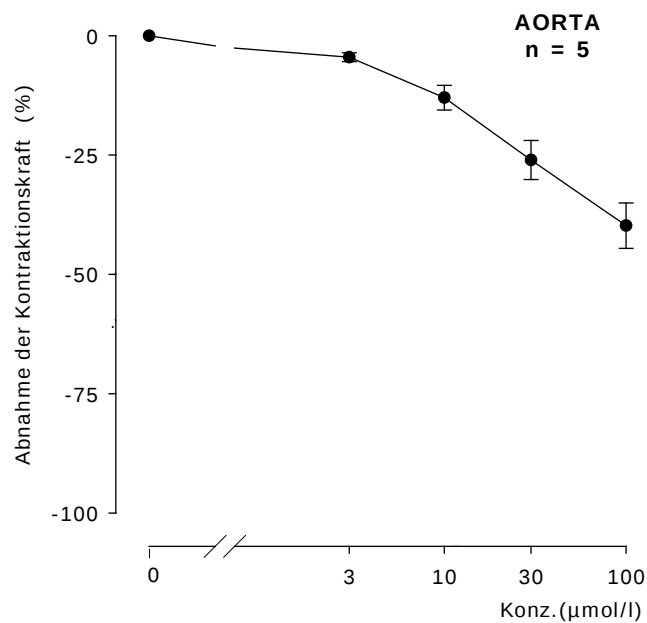


Abb. 36: Konzentrations-Wirkungskurve der Verbindung **57hox** an der Aorta. Auf der Abszisse sind die Konzentrationen der Testsubstanz in $\mu\text{mol/l}$ semilogarithmisch und auf der Ordinate die Abnahme der Kontraktionskraft in Prozent angegeben. Die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft sind als schwarze Punkte und deren Standardfehler (SEM) als senkrechte Balken dargestellt.

Abbildung 36 zeigt die konzentrationsabhängige Wirkung der Verbindung **57hox** auf die Kontraktionskraft der Aorta.

- Wirkung von Verbindung **57hox** auf die Arteria pulmonalis

Durch Zugabe einer 90 mM KCl-Lösung konnte eine maximale Vorkontraktion der Lungenarterie mit einem Kontrollwert von $11,94 \pm 0,88$ mN erzielt werden. Durch die kumulative Zugabe der Testsubstanzkonzentrationen konnte eine dilatierende Wirkung auf die Lungenarterie beobachtet werden. Bereits bei einer Konzentration von 3 μM konnte eine leichte Reduktion der Kontraktionskraft verzeichnet werden. Bei einer Konzentration von 100 μM konnte nur mehr ein Wert von $5,51 \pm 0,72$ mN gemessen werden. Somit wurde ein IC_{50} -Wert von 78 μM ermittelt.

57hox ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Versuche (n)	Irrtumswahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	11,94 $\pm$ 0,88	0 $\pm$ 0	5	---
3	11,30 $\pm$ 0,89	-5,43 $\pm$ 1,40	5	n.s.
10	10,03 $\pm$ 0,84	-16,12 $\pm$ 2,57	5	0,05
30	8,02 $\pm$ 0,85	-33,12 $\pm$ 3,95	5	0,05
100	5,51 $\pm$ 0,72	-54,08 $\pm$ 4,13	5	0,01

Tab. 13: Arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft (f_c) inklusive Standardfehler der Arteria pulmonalis angegeben in mN und in Prozent sowie die Anzahl der durchgeführten Versuche.

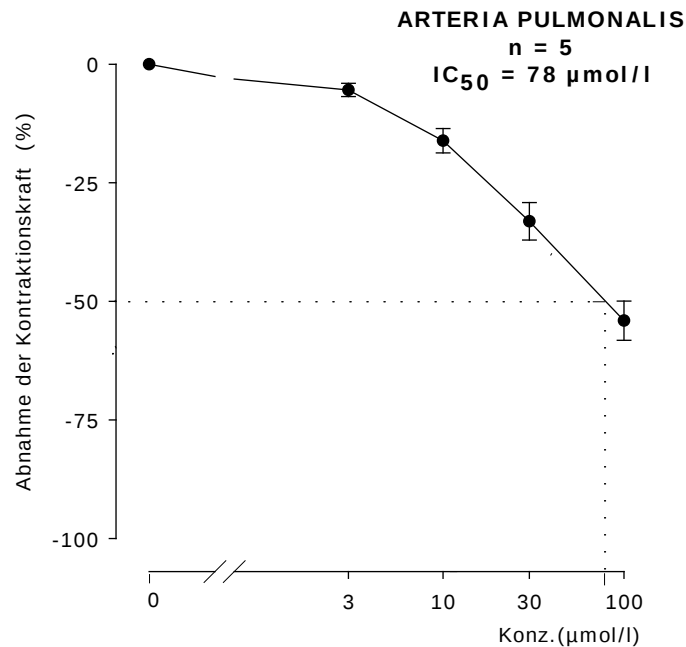


Abb. 37: Konzentrations-Wirkungskurve der Verbindung **57hox** an der Arteria pulmonalis. Auf der Abszisse sind die Substanzkonzentrationen in $\mu\text{mol/l}$ in semilogarithmischer Form und auf der Ordinate die Abnahme der Kontraktionskraft in Prozent aufgetragen. Die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft sind als schwarze Punkte und deren Standardfehler (SEM) in Form von senkrechten Balken dargestellt. Die IC₅₀ wird durch das Anlegen einer unterbrochenen Linie grafisch ermittelt.

Die Grafik zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft der Arteria pulmonalis unter Einfluss der Testsubstanz **57hox**.

• Wirkung von Verbindung **57hox** auf das terminale Ileum

Eine 60 mM KCl-Lösung führte zur maximalen Darmkontraktion von $6,76 \pm 1,02$ mN, gleichzusetzen mit einer Kontraktionskraft von 100 %.

Die spasmolytische Wirkung von Verbindung **57hox** konnte bereits bei einer Konzentration von 3 μ M mit einem Wert $4,88 \pm 0,80$ mN beobachtet werden. Bei einer Testsubstanzkonzentration von 10 μ M sank die Kontraktionskraft auf $1,88 \pm 0,16$ mN. Bereits bei einer Konzentration von 30 μ M war eine hundertprozentige Abnahme der Kontraktionskraft im Vergleich zum Kontrollwert erreicht.

Es wurde ein IC_{50} -Wert von 5,6 μ M erzielt.

57hox (μ mol/l)	$f_c \pm SEM$ (mN)	$f_c \pm SEM$ (%)	Versuche (n)	Irrtumswahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	$6,76 \pm 1,02$	0 ± 0	5	---
3	$4,88 \pm 0,80$	$-28,19 \pm 1,14$	5	0,05
10	$1,88 \pm 0,16$	$-71,03 \pm 2,61$	5	0,01
30	0 ± 0	$-100,00 \pm 0$	5	0,001

Tab. 14: Arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft (f_c) inklusive Standardfehler des terminalen Ileums angegeben in mN und in Prozent sowie die Anzahl der durchgeführten Versuche.

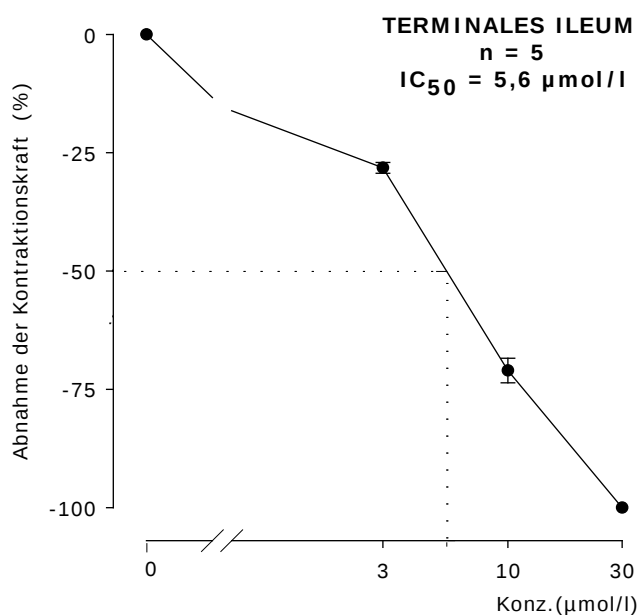


Abb. 38: Konzentrations-Wirkungskurve der Verbindung **57hox** am terminalen Ileum. Dabei sind auf der Abszisse die Konzentrationen der Testsubstanz in μ mol/l in semilogarithmischer Form und auf der Ordinate die Abnahme der Kontraktionskraft in Prozent dargestellt. Die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft sind als schwarze Punkte und deren Standardfehler (SEM) als senkrechte Balken gekennzeichnet. Die IC_{50} wird durch das Anlegen einer unterbrochenen Linie grafisch ermittelt.

Abbildung 38 zeigt die konzentrationsabhängige Wirkung der Verbindung **57hox** auf die Kontraktionskraft des terminalen Ileums.

- Wirkung von Verbindung **57hox** am Atrium cordis dextrum

Nach einer etwa 45-minütigen Anpassungsphase des rechten Vorhofes an die Nährlösung, konnten reproduzierbare Bedingungen erreicht werden. Somit lag der Kontrollwert der Schlagfrequenz bei etwa 194 Schlägen. Durch Zugabe der Testsubstanz in steigender Konzentration sank die Schlagfrequenz signifikant. Bei einer Konzentration von 10 μM konnte nur mehr eine Frequenz von ca. 69 Schlägen gemessen werden. Eine Konzentration von 30 μM führte sogar zur hundertprozentigen Abnahme der Schlagfrequenz und somit zum Herzstillstand.

Verbindung **57hox** zeigte mit einem IC_{50} -Wert von 6,7 μM eine stark negativ chronotrope Wirkung am rechten Vorhof.

57hox ($\mu\text{mol/l}$)	f $\pm$ SEM	f $\pm$ SEM (%)	Versuche (n)	Irrtumswahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	193,75 $\pm$ 17,84	0 $\pm$ 0	4	---
3	153,75 $\pm$ 16,63	-20,95 $\pm$ 2,27	4	0,05
10	68,75 $\pm$ 12,14	-64,29 $\pm$ 5,76	4	0,01
30	0 $\pm$ 0	-100,00 $\pm$ 0	4	0,001

Tab. 15: Arithmetische Mittelwerte der Schlagfrequenz (f) inklusive Standardfehler des rechten Vorhofes und die Abnahme in Prozent sowie die Anzahl der durchgeführten Versuche.

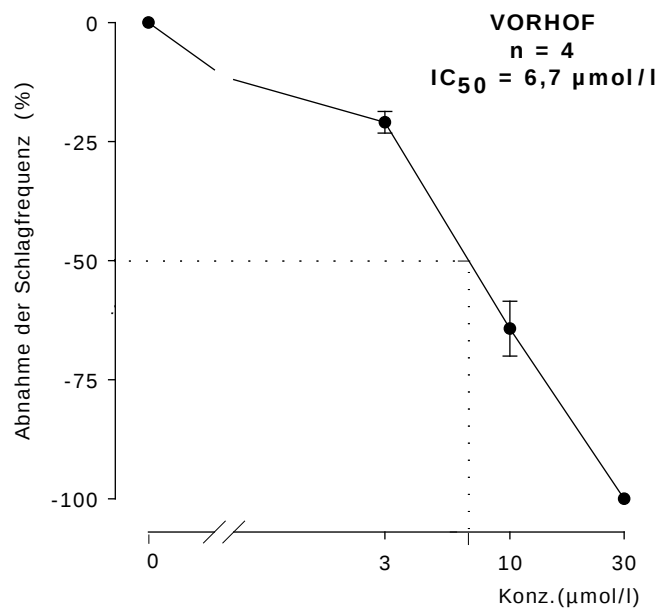


Abb. 39: Konzentrations-Wirkungskurve der Verbindung **57hox** am rechten Vorhof. Dabei sind auf der Abszisse die Konzentrationen der Testsubstanz in µmol/l semilogarithmisch und auf der Ordinate die Abnahme der Schlagfrequenz in Prozent aufgetragen. Die arithmetischen Mittelwerte der Schlagfrequenz sind als schwarze Punkte und deren Standardfehler (SEM) als senkrechte Balken dargestellt. Die IC₅₀ wird durch das Anlegen einer unterbrochenen Linie grafisch ermittelt.

Abbildung 39 zeigt die konzentrationsabhängige Abnahme der Schlagfrequenz des rechten Vorhofes.

- Wirkung von Verbindung **57hox** auf den Musculus papillaris

Die maximale Kontraktilität des Papillarmuskels lag bei $0,94 \pm 0,07$ mN. Durch Zugabe der Testsubstanz in steigender Konzentration konnte eine stetige und auch signifikante Abnahme der Kontraktionskraft beobachtet werden. Bei einer Endkonzentration von 100 µM sank der Wert bis auf $0,35 \pm 0,09$ mN. Damit war die negativ inotrope Wirkung der Verbindung **57hox** bestätigt. Es konnte ein IC₅₀-Wert von 24 µM ermittelt werden.

57hox ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Versuche (n)	Irrtumswahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	0,94 $\pm$ 0,07	0 $\pm$ 0	5	---
3	0,75 $\pm$ 0,10	-20,65 $\pm$ 7,65	5	0,05
10	0,58 $\pm$ 0,13	-40,05 $\pm$ 9,64	5	0,01
30	0,46 $\pm$ 0,12	-52,50 $\pm$ 8,80	5	0,01
100	0,35 $\pm$ 0,09	-64,21 $\pm$ 6,98	5	0,01

Tab. 16: Arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft (f_c) inklusive Standardfehler des Papillarmuskels angegeben in mN und in Prozent sowie die Anzahl der durchgeführten Versuche.

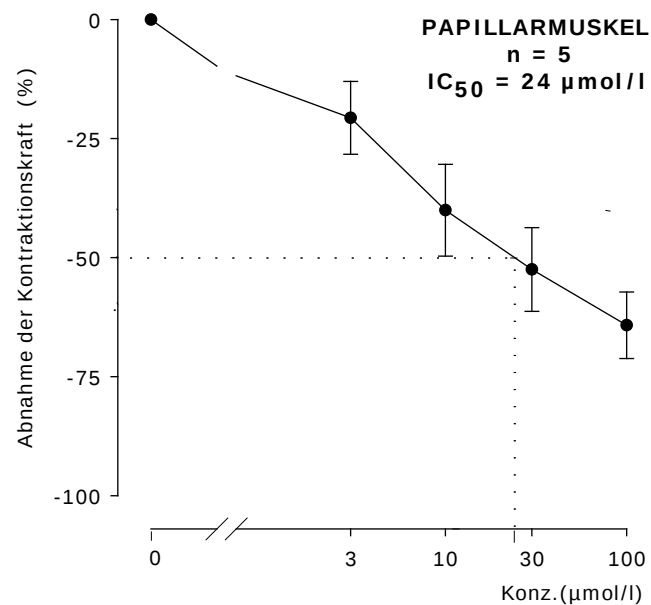


Abb. 40: Konzentrations-Wirkungskurve der Verbindung **57hox** am Papillarmuskel. Auf der Abszisse sind die Substanzkonzentrationen in $\mu\text{mol/l}$ semilogarithmisch angegeben und auf der Ordinate die Änderung der Kontraktionskraft in Prozent. Die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft sind als schwarze Punkte und deren Standardfehler (SEM) als senkrechte Balken dargestellt. Die Ermittlung der IC₅₀ erfolgt mit Hilfe der Grafik.

Der Einfluss von Verbindung **57hox** auf die Kontraktionskraft des Papillarmuskels wird in Abbildung 40 dargestellt.

4.2. Biologische Ergebnisse der Verbindung 78hox

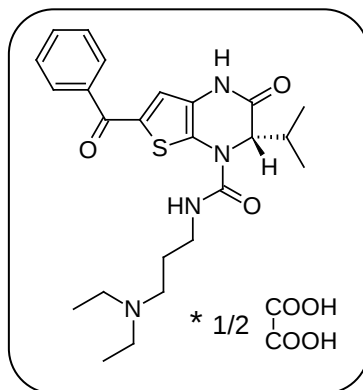


Abb. 41: Chemische Struktur der Verbindung **78hox**.

- Wirkung von Verbindung **78hox** auf die Aorta descendens

Um eine vollständige Vorkontraktion der Aorta zu erreichen, wurde die Nährlösung gegen eine 90 mM KCl-Lösung getauscht. Die dadurch erreichte maximale Kontraktionskraft von $6,84 \pm 0,90$ mN wurde als Kontrollwert gleich 0 % gesetzt. Durch die kumulative Zugabe der Verbindung **78hox** konnte nur eine geringe Abnahme der Kontraktionskraft der Aorta verzeichnet werden. Bei der maximalen Konzentration von 100 μM befand sich die Kontraktilität bei $4,28 \pm 1,11$ mN. Der IC_{50} -Wert konnte somit nicht ermittelt werden.

78hox ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Versuche (n)	Irrtumswahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	$6,84 \pm 0,90$	0 ± 0	4	---
3	$6,60 \pm 0,87$	$-3,35 \pm 1,99$	4	n.s.
10	$6,15 \pm 0,90$	$-10,34 \pm 3,11$	4	0,05
30	$5,45 \pm 1,03$	$-21,56 \pm 6,07$	4	0,05
100	$4,28 \pm 1,11$	$-39,68 \pm 8,68$	4	0,01

Tab. 17: Arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft (f_c) inklusive Standardfehler der Aorta angegeben in mN und in Prozent sowie die Anzahl der durchgeführten Versuche.

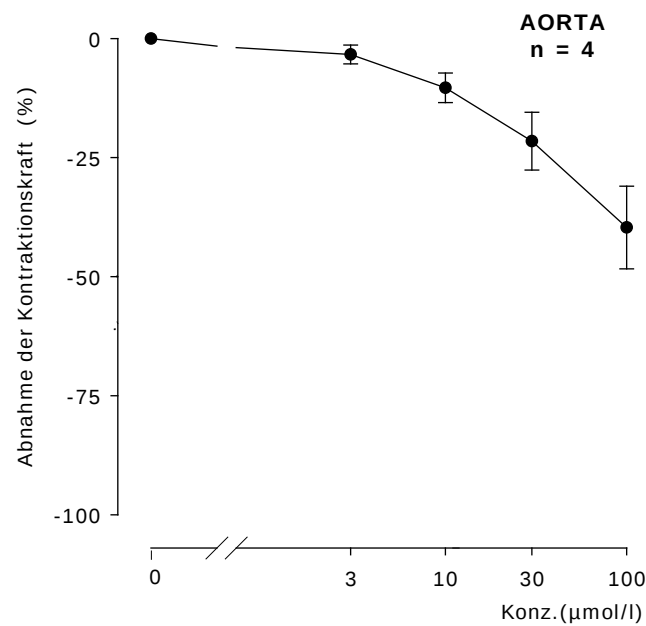


Abb. 42: Konzentrations-Wirkungskurve der Verbindung **78hox** an der Aorta. Auf der Abszisse sind die Substanzkonzentrationen in µmol/l in semilogarithmischer Form und auf der Ordinate die Abnahme der Kontraktionskraft in Prozent aufgetragen. Die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft sind als schwarze Punkte und deren Standardfehler (SEM) in Form von Balken dargestellt.

Abbildung 42 beinhaltet die grafische Darstellung der Abnahme der Kontraktionskraft der Aorta unter dem Einfluss von Verbindung **78hox**.

- Wirkung von Verbindung **78hox** auf die Arteria pulmonalis

Zur Bestimmung der dilatierenden Wirkung an der Lungenarterie wurde das Präparat mit einer 90 mM KCl-Lösung maximal vorkontrahiert. Somit wurde ein Kontrollwert von $9,37 \pm 1,45$ mN ermittelt.

Die Wirkung von Verbindung **78hox** auf die Lungenarterie war von sehr geringem Ausmaß. Die Arteria pulmonalis dilatierte bei einer Konzentration von 100 µM im Vergleich zum Kontrollwert nur um 21,78 %.

78hox ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Versuche (n)	Irrtumswahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	9,37 $\pm$ 1,45	0 $\pm$ 0	4	---
3	9,22 $\pm$ 1,50	-1,93 $\pm$ 0,95	4	n.s.
10	8,88 $\pm$ 1,47	-5,48 $\pm$ 2,12	4	n.s.
30	8,54 $\pm$ 1,46	-9,44 $\pm$ 3,66	4	n.s.
100	7,42 $\pm$ 1,42	-21,78 $\pm$ 5,87	4	0,05

Tab. 18: Arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft (f_c) inklusive Standardfehler der Arteria pulmonalis angegeben in mN und in Prozent sowie die Anzahl der durchgeführten Versuche.

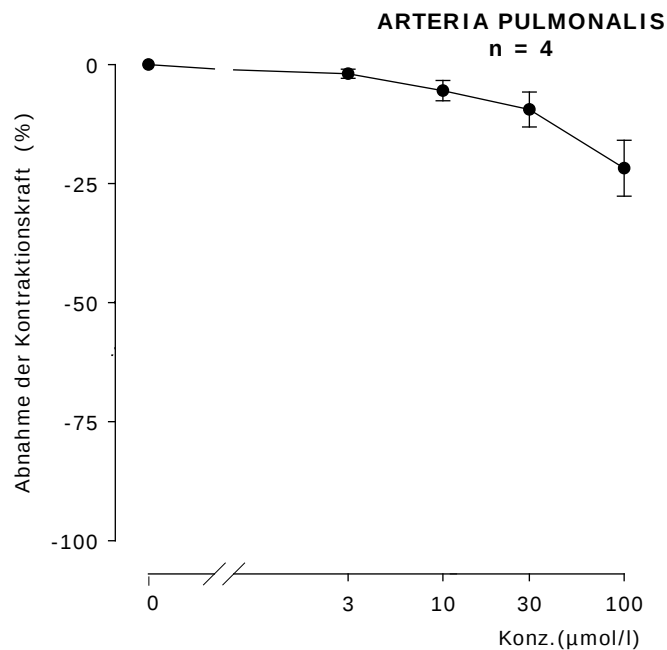


Abb. 43: Konzentrations-Wirkungskurve der Verbindung **78hox** an der Arteria pulmonalis. Auf der Abszisse sind die Konzentrationen der Tests substanz in $\mu\text{mol/l}$ in semilogarithmischer Form und auf der Ordinate die Abnahme der Kontraktionskraft in Prozent dargestellt. Die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft sind durch schwarze Punkte und deren Standardfehler (SEM) als Balken gekennzeichnet.

Abbildung 43 zeigt die Änderung der Kontraktionskraft der Arteria pulmonalis bei einer Zugabe von Verbindung **78hox**.

• Wirkung von Verbindung **78hox** auf das terminale Ileum

Die maximale Kontraktionskraft des Darms wurde mittels einer 60 mM KCl-Lösung erzielt und lieferte einen Kontrollwert von $7,29 \pm 1,16$ mN. Das durch die Testsubstanz verursachte Absinken der Kontraktionskraft war bereits ab einer Konzentration von $3 \mu\text{M}$ signifikant zu sehen. Bei der maximalen Konzentration von $100 \mu\text{M}$ war eine Reduktion der Kontraktionskraft bezogen auf den Kontrollwert von $99,34 \%$ zu beobachten. Der IC_{50} -Wert am terminalen Ileum beträgt $12,5 \mu\text{M}$.

78hox ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Versuche (n)	Irrtumswahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	$7,29 \pm 1,16$	0 ± 0	5	---
3	$6,11 \pm 1,05$	$-16,70 \pm 1,87$	5	0,05
10	$4,11 \pm 0,61$	$-42,97 \pm 4,00$	5	0,01
30	$1,29 \pm 0,34$	$-80,93 \pm 5,63$	5	0,01
100	$0,04 \pm 0,04$	$-99,34 \pm 0,66$	5	0,001

Tab. 19: Arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft (f_c) inklusive Standardfehler des terminalen Ileums angegeben in mN und in Prozent sowie die Anzahl der durchgeführten Versuche.

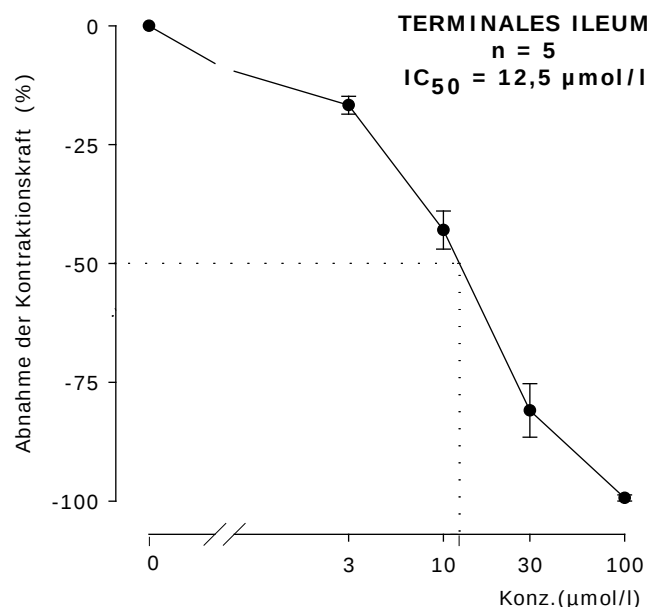


Abb. 44: Konzentrations-Wirkungskurve der Verbindung **78hox** am terminalen Ileum. Dabei sind auf der Abszisse die Konzentrationen der Testsubstanz in $\mu\text{mol/l}$ in semilogarithmischer Form und auf der Ordinate die Abnahme der Kontraktionskraft in Prozent dargestellt. Die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft sind als schwarze Punkte und deren Standardfehler (SEM) als senkrechte Balken gekennzeichnet. Die IC_{50} wird durch das Anlegen einer unterbrochenen Linie grafisch ermittelt.

Abbildung 44 zeigt die Abnahme der Kontraktionskraft des terminalen Ileums unter dem Einfluss von Verbindung **78hox**.

- Wirkung von Verbindung **78hox** am Atrium cordis dextrum

Die Verbindung **78hox** zeigte am rechten Vorhof eine stark negativ chronotrope Wirkung. Die Abnahme der Schlagfrequenz war signifikant. Darüber hinaus trat bei einer Konzentration von 100 μM sogar der Herzstillstand ein. Der IC_{50} -Wert wurde bei 21 μM ermittelt.

78hox ($\mu\text{mol/l}$)	$f \pm \text{SEM}$	$f \pm \text{SEM}$ (%)	Versuche (n)	Irrtumswahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	212,50 $\pm$ 5,95	0 $\pm$ 0	4	---
3	168,75 $\pm$ 13,29	-20,73 $\pm$ 5,09	4	0,05
10	140,00 $\pm$ 12,42	-34,29 $\pm$ 4,70	4	0,05
30	92,50 $\pm$ 14,93	-56,89 $\pm$ 5,83	4	0,01
100	0 $\pm$ 0	-100,00 $\pm$ 0	4	0,001

Tab. 20: Arithmetische Mittelwerte der Schlagfrequenz (f) inklusive Standardfehler des rechten Vorhofes und die Abnahme in Prozent sowie die Anzahl der durchgeführten Versuche.

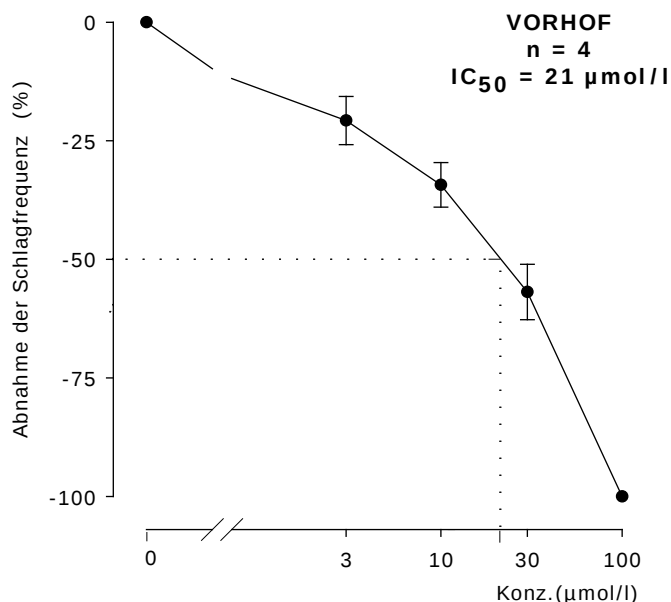


Abb. 45: Konzentrations-Wirkungskurve der Verbindung **78hox** am rechten Vorhof. Auf der Abszisse sind die Konzentrationen der Testsubstanz in $\mu\text{mol/l}$ semilogarithmisch und auf der Ordinate die Abnahme der Schlagfrequenz in Prozent aufgetragen. Die arithmetischen Mittelwerte der Schlagfrequenz sind als schwarze Punkte und deren Standardfehler (SEM) als senkrechte Balken dargestellt. Die IC_{50} wird mittels unterbrochener Linie grafisch ermittelt.

Abbildung 45 zeigt die konzentrationsabhängige Abnahme der Schlagfrequenz am rechten Vorhof unter dem Einfluss von Verbindung **78hox**.

- Wirkung von Verbindung **78hox** auf den Musculus papillaris

Als maximale Kontraktionskraft des Papillarmuskels wurde ein Wert von $1,01 \pm 0,09$ mN eruiert. Bei den Testsubstanzkonzentrationen 3, 10 und 30 μM konnte eine stetige Abnahme der Kontraktionskraft bis zu $0,64 \pm 0,06$ mN vermerkt werden. Bei der Endkonzentration von 100 μM war eine positiv inotrope Wirkung zu beobachten. Dabei stieg die Kontraktionskraft auf $0,94 \pm 0,14$ mN. Ein IC_{50} -Wert konnte nicht ermittelt werden.

78hox ($\mu\text{mol/l}$)	$f_c \pm \text{SEM}$ (mN)	$f_c \pm \text{SEM}$ (%)	Versuche (n)	Irrtumswahrscheinlichkeit (P)
Kontrolle	$1,01 \pm 0,09$	0 ± 0	6	---
3	$0,83 \pm 0,03$	$-15,00 \pm 5,89$	6	n.s.
10	$0,72 \pm 0,05$	$-25,66 \pm 7,78$	6	0,05
30	$0,64 \pm 0,06$	$-33,63 \pm 8,23$	6	0,01
100	$0,94 \pm 0,14$	$-8,18 \pm 8,84$	6	0,05

Tab. 21: Arithmetische Mittelwerte der Kontraktionskraft (f_c) inklusive Standardfehler des Papillarmuskels angegeben in mN und in Prozent sowie die Anzahl der durchgeführten Versuche.

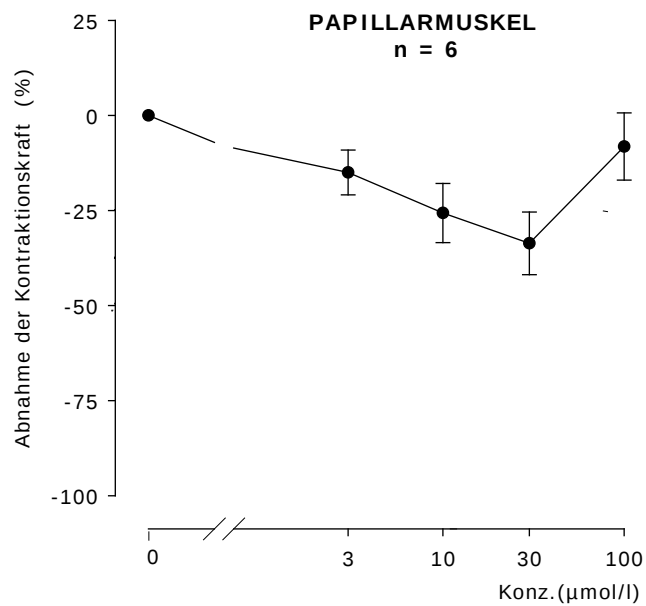
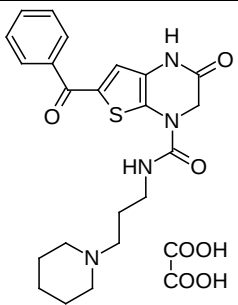
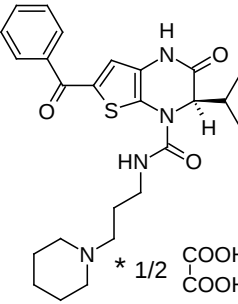
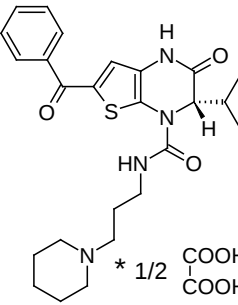
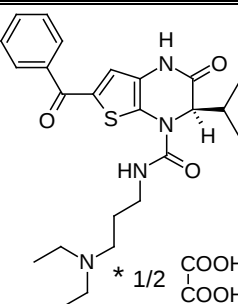
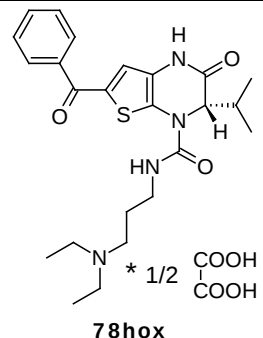


Abb. 46: Konzentrations-Wirkungskurve der Verbindung **78hox** am Papillarmuskel. Auf der Abszisse sind die Substanzkonzentrationen in $\mu\text{mol/l}$ semilogarithmisch und auf der Ordinate die Änderung der Kontraktionskraft in Prozent aufgetragen. Die arithmetischen Mittelwerte der Kontraktionskraft sind als schwarze Punkte und deren Standardfehler (SEM) als Balken dargestellt.

Die Wirkung von Verbindung **78hox** auf die Kontraktionskraft des Papillarmuskels wird in Abbildung 46 dargestellt.

In der folgenden Tabelle werden sowohl die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen als auch die Ergebnisse, die in Form von Diplomarbeiten ermittelt wurden, zusammengefasst. Die biologischen Werte sind in μM angegeben.

Verbindung	Aorta	Arteria pulmonalis	terminales Ileum	Atrium cordis dextrum	Musculus papillaris	BChE ^a IC ₅₀ (μM)
 36ox^b	> 100	> 100	30	100	> 100	0,53 $\pm$ 0,06
 55hox^c	> 100	60	12	21,5	> 100	1,55 $\pm$ 0
 76hox^b	> 100	> 100	30	13,5	> 100	0,61 $\pm$ 0,13
 57hox	> 100	78	5,6	6,7	24	0,40 $\pm$ 0

 78hox	> 100	> 100	12,5	21	> 100	4,18 ± 0,25
---	-------	-------	------	----	-------	-------------------

^a BChE (EC 3.1.1.8; BChE aus Pferdeserum, Sigma Aldrich, USA).

^b Windisch, P. Diplomarbeit, Universität Wien 2014.

^c Koberger, S. Diplomarbeit, Universität Wien 2013.

Tab. 22: Übersicht über die biologische Aktivität der getesteten Verbindung an den isolierten Präparaten des Meerschweinchens sowie die erreichten IC₅₀-Werte an der BChE.

5 Diskussion

Primäres Ziel der hier vorliegenden Arbeit war das Design und die Synthese von Verbindungen mit selektiv BChE-inhibitorischer Aktivität. Die Literatur beschreibt bereits eine Vielzahl von Ansatzpunkten (siehe Kapitel 1.1.), die verdeutlichen, dass eine selektive Inhibierung der BChE bei Morbus Alzheimer zu einer Verbesserung des Krankheitsbildes und vor allem der kognitiven Funktionen beitragen kann. Bis heute gibt es noch keinen selektiven BChE-Inhibitor am Markt, der therapeutisch zur Behandlung von Morbus Alzheimer eingesetzt wird. Im Rahmen dieser Dissertation konnten eine Reihe von Verbindungen identifiziert werden, die eine hohe Affinität gegenüber der BChE aufweisen und diese bei einer Testkonzentration von 10 μM um mehr als 80 % inhibieren konnten. Von den hier beschriebenen Substanzen erzielten die meisten IC_{50} -Werte an der BChE im mikro- bis dreistelligen nanomolaren Bereich. Als wirksamster Vertreter dieser Arbeit geht Verbindung **57hox**, ein (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazin-Derivat, mit einem IC_{50} -Wert von $0,40 \pm 0 \mu\text{M}$ an der BChE hervor.

Im Gegensatz dazu zeigt Physostigmin, welches jedoch bei Morbus Alzheimer aufgrund von starken Nebenwirkungen nicht mehr eingesetzt wird, einen IC_{50} -Wert von $2,1 \pm 0,5 \mu\text{M}$ an der BChE. Rivastigmin, ein unselektiver Cholinesterase-Inhibitor, der bei der Behandlung von Morbus Alzheimer Anwendung findet, weist an der AChE des Zitteraals einen IC_{50} -Wert von $5,60 \pm 1,50 \mu\text{M}$ und an der equinen BChE eine IC_{50} von $1,65 \pm 0,05 \mu\text{M}$ auf (Luo *et al*, 2014). Die Wirkstärke der Verbindung **57hox** entspricht somit einer mehr als 5-fachen Steigerung des inhibitorischen Potenzials im Vergleich zu Physostigmin sowie einer mehr als 4-fachen Wirkungssteigerung gegenüber Rivastigmin.

5.1. Verbindungsklassen der 1. Generation

Im Rahmen der Entwicklungen von Verbindungen mit selektiv BChE-inhibitorischen Potenzial wurden zu Beginn dieser Arbeit Thieno[3,2-*b*][1,4]thiazine und Thieno[2,3-*b*]pyrazine hergestellt.

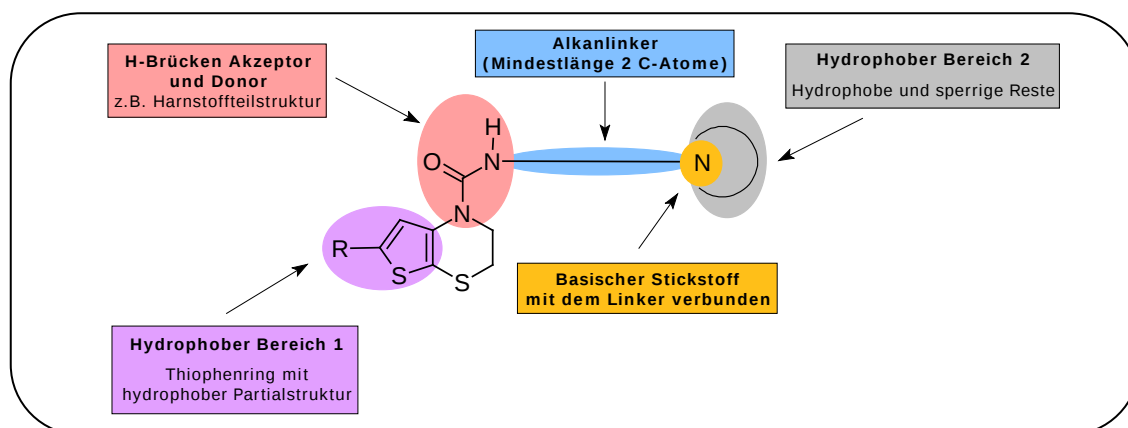


Abb. 47: Pharmakophormodell (adaptiert von: Karlsson *et al*, 2012b).

Informationen eines Pharmakophormodells (siehe Abb. 47), das von Thieno[2,3-*b*][1,4]thiazinen mit bereits selektiv BChE-inhibitorischer Wirkung abgeleitet wurde, sollten bei der Synthese neuer wirksamer Derivate hilfreich sein. Unter Berücksichtigung des Pharmakophormodells charakterisieren sich alle in dieser Arbeit dargestellten Substanzklassen durch eine Harnstofffunktion, die über einen aliphatischen Linker mit einem Stickstoff verbunden ist. Bei den an den Stickstoff gebundenen Resten handelt es sich um offenkettige bzw. ringförmige Strukturen. Die genannten Elemente erwiesen sich bereits bei Phenothiazinen als wichtige strukturelle Motive für die BChE-inhibitorische Wirkung (siehe Abb. 48) (Darvesh *et al*, 2010).

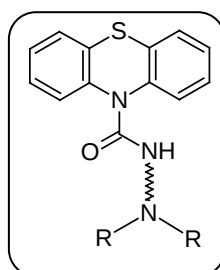


Abb. 48: Allgemeine Struktur der Phenothiazine (Darvesh *et al*, 2010).

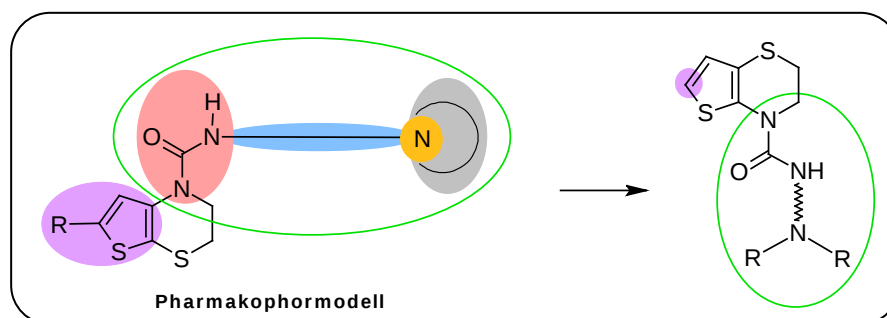


Abb. 49: Pharmakophormodell (adaptiert von: Karlsson *et al*, 2012b) und schematische Darstellung der Thieno[3,2-*b*][1,4]thiazine.

Bei der ersten Verbindungsklasse dieser Arbeit handelt es sich um Thieno[3,2-*b*][1,4]thiazin-Derivate. Mit dieser Substanzklasse sollten die Auswirkungen eines um den hydrophoben Rest verkleinerten Grundkörpers auf das BChE-inhibitorische Potenzial der Verbindungen untersucht werden.

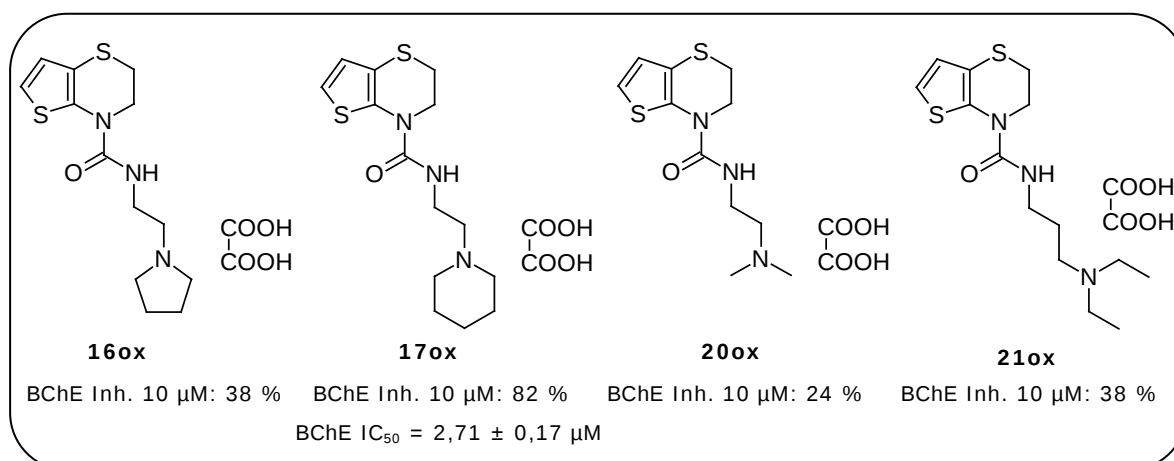


Abb. 50: Chemische Strukturen und prozentuale Inhibition der BChE bei einer Konzentration von 10 μ M der Verbindung **16ox**, **17ox**, **20ox** und **21ox** sowie IC_{50} der Verbindung **17ox**.

Die Verbindungen **16ox**, **17ox**, **20ox** und **21ox** tragen, wie auch die präsentierten Leitverbindungen dieser Arbeit, einen 2-Pyrrolidinoethyl-, 2-Piperidinoethyl-, 2-(Dimethylamino)ethyl- sowie 3-(Diethylamino)propyl-Rest an der Harnstoffteilstruktur. Eine im Vergleich zu den Leitstrukturen verstärkte inhibitorische Wirkung dieser Verbindungen konnte nicht nachgewiesen werden. So zeigen die Verbindungen **16ox** und **21ox** bei einer Testkonzentration von 10 μ M eine Hemmung der BChE von 38 % und Verbindung **20ox** eine Inhibition der BChE von nur 24 %. Lediglich Verbindung **17ox** inhibiert die Aktivität der BChE mit einem IC_{50} -Wert von 2,71 μ M zu 82 %. Der ermittelte IC_{50} -Wert liegt somit weit über dem Wert der entsprechenden Leitverbindung **9** (IC_{50} 0,037 μ M). Folglich wurde diese Substanzklasse als wenig wirksam eingestuft. Die strukturellen

Unterschiede der Thieno[3,2-*b*][1,4]thiazine der ersten Generation im Vergleich zu den Leitstrukturen führen zu einer deutlichen Abschwächung bzw. zu einem Verlust der Wirkung. Dies kann auf den fehlenden hydrophoben Rest am Thiophenring und/oder auf den Positionswechsel des Schwefels und Stickstoffes im Thiazinring zurückgeführt werden. Diese Feststellung bedarf weiterer Untersuchungen und wurde im Rahmen dieser Dissertation noch nicht geklärt.

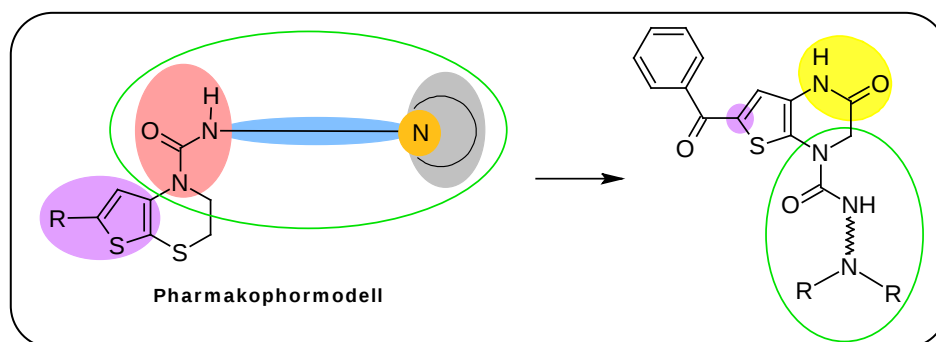


Abb. 51: Pharmakophormodell (adaptiert von: Karlsson *et al*, 2012b) und schematische Darstellung der Thieno[2,3-*b*]pyrazine.

Bei der zweiten Substanzklasse der ersten Generation handelt es sich um Thieno[2,3-*b*]pyrazine. Der Hauptunterschied in der Struktur zu den Leitverbindungen liegt im Austausch des Thiazin-Schwefels gegen eine Amidfunktion und somit zur Bildung eines Thieno[2,3-*b*]pyrazinringes. Hier sollte untersucht werden, ob sich neben der Harnstoffteilstruktur eine weitere Möglichkeit zur Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Substanz und Enzym positiv auf das inhibitorische Potenzial dieser Verbindungen auswirkt.

Die Vertreter der Thieno[2,3-*b*]pyrazine zeigten ein von den anderen, in dieser Arbeit präsentierten Substanzklassen abweichendes biologisches Profil. Neben der Inhibition der BChE konnte auch eine inhibierende Wirkung dieser Derivate auf die AChE beobachtet werden, wobei die Wirkung auf die AChE vorwiegend stärker ausfällt. An der BChE konnten IC_{50} -Werte im mikro- bis dreistelligen nanomolaren Bereich gemessen werden, wobei die IC_{50} an der AChE im drei- bis zweistelligen nanomolaren Bereich liegen.

Angeichts der erzielten biologischen Werte an der BChE lassen sich in Bezug auf Struktur-Wirkungsbeziehungen zwei eindeutige Punkte ableiten.

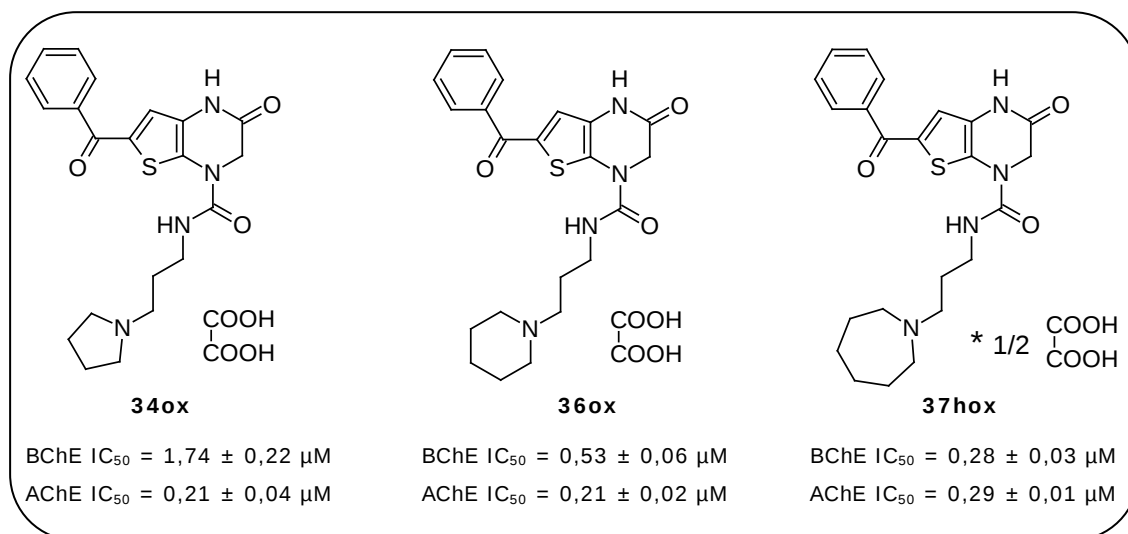


Abb. 52: Chemische Strukturen und IC_{50} -Werte der Verbindungen **34ox**, **36ox** und **37hox**.

Betrachtet man die IC_{50} -Werte der Verbindungen **34ox**, **36ox** und **37hox** kann darauf geschlossen werden, dass eine Vergrößerung des Ringes am tertiären Stickstoff der Seitenkette zu einer Steigerung der inhibitorischen Aktivität an der BChE führt. Hingegen zeigen diese Verbindungen nahezu idente Werte an der AChE. Der Effekt der Wirkungssteigerung durch eine Vergrößerung des Ringes lässt sich ebenso bei Verbindung **33ox** und **35ox** sowie bei Verbindung **34ox** und **36ox** beobachten (siehe Abb. 53).

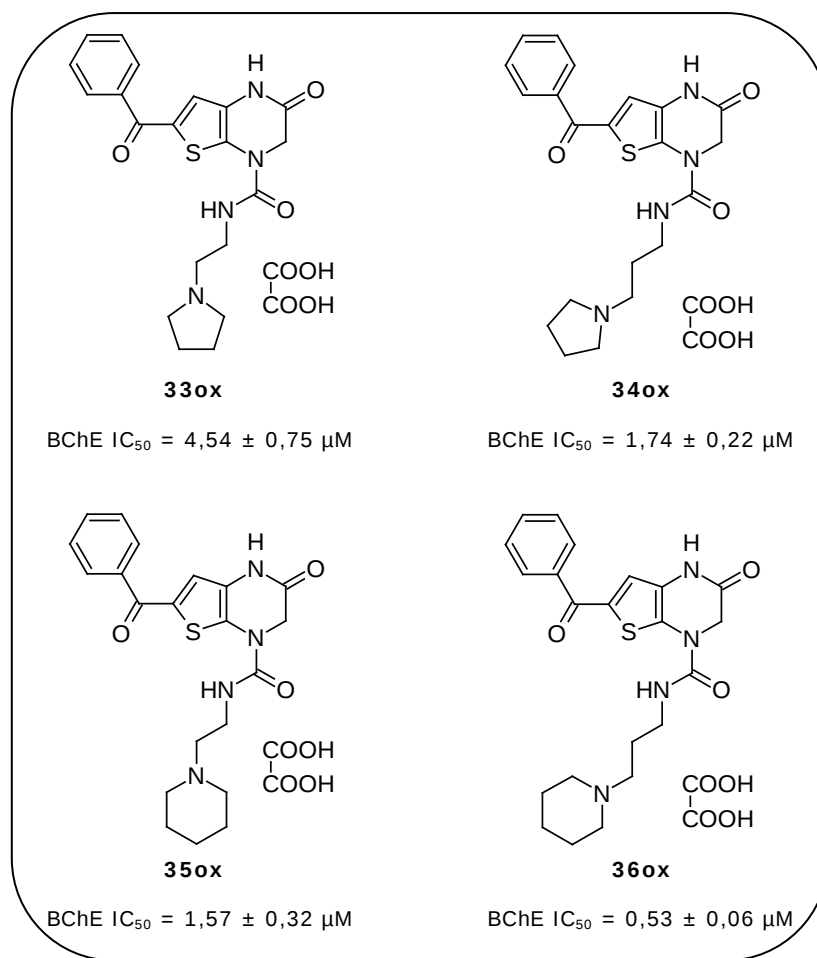


Abb. 53: Chemische Strukturen und IC_{50} -Werte der Verbindungen **33ox** - **36ox**.

Darüber hinaus führt eine Verlängerung des Linkers von zwei CH_2 -Gruppen auf drei CH_2 -Gruppen ebenfalls zu einer Wirkungsverstärkung an der BChE.

5.2. Verbindungsklassen der 2. Generation

Neben den AChE-inhibierenden Eigenschaften zeigen die Thieno[2,3-*b*]pyrazine der ersten Generation durchaus das Potenzial, die BChE zu inhibieren und dienten somit bei der Entwicklung der Verbindungsklassen der zweiten Generation als Leitstrukturen.

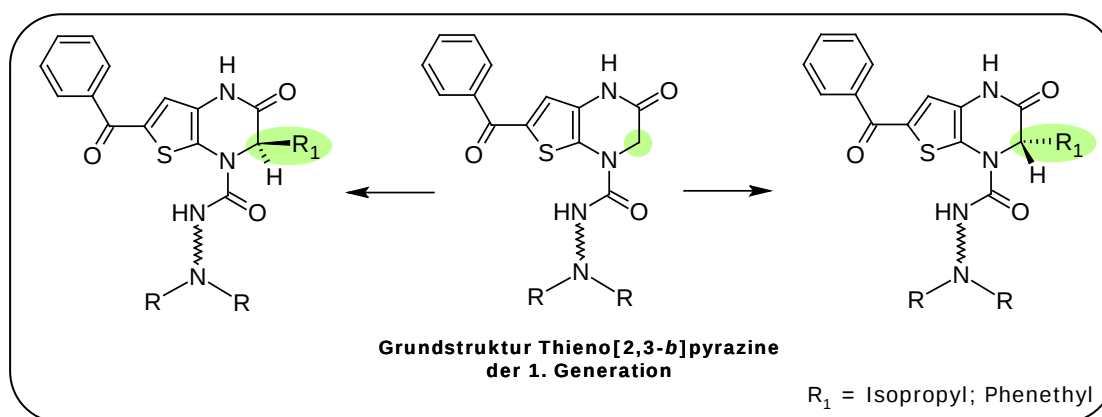


Abb. 54: Grundstruktur der Thieno[2,3-*b*]pyrazine der 1. Generation und schematische Darstellung der Thieno[2,3-*b*]pyrazine der 2. Generation.

Bei diesen Substanzklassen konnte durch das Einführen von hydrophoben Resten am Thieno[2,3-*b*]pyrazinring die inhibierende Wirkung der Verbindungen wieder selektiv auf die BChE gelenkt werden (siehe Abb. 54). Das Einfügen eines Restes war durch die Verwendung der entsprechenden D- bzw. L-Aminosäuremethyl- bzw. -ethylester möglich. Dabei sollte der Einfluss von einem kleinen, aliphatischen sowie einem großen, aromatischen Rest untersucht werden. Durch das entstandene Chiralitätszentrum am Thieno[2,3-*b*]pyrazinring richtete sich auch ein besonderes Augenmerk auf die Auswirkungen der Konfiguration des Restes auf die biologische Wirkung.

Betrachtet man die Ergebnisse der inhibitorischen Wirkung der (3*R*)- sowie (3*S*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine und der (3*R*)- sowie (3*S*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine auf die BChE (siehe Kapitel 3.2., Tab. 10 und Tab. 11) so lassen sich eindeutige Unterschiede in der Wirkstärke zwischen den einzelnen Enantiomerenpaaren erkennen. Diese Tatsache wird vor allem bei den Verbindungen **57hox** und **78hox** deutlich.

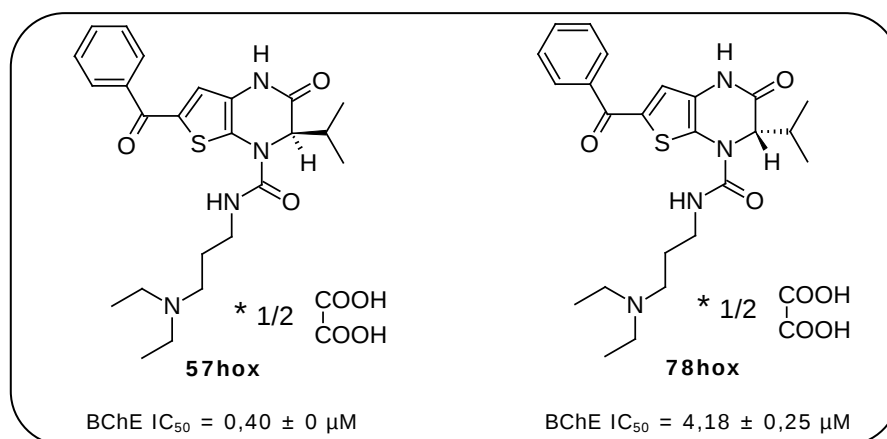


Abb. 55: Chemische Strukturen und IC_{50} -Werte der Verbindungen **57hox** und **78hox**.

Verbindung **57hox** stellt mit einem IC_{50} -Wert von $0,40 \mu M$ an der BChE die Substanz mit der höchsten inhibitorischen Aktivität im Rahmen dieser Arbeit dar. Das entsprechende *S*-konfigurierte Analogon **78hox** erzielte einen IC_{50} -Wert von $4,18 \mu M$ und ist somit um mehr als das 10-Fache schwächer wirksam als Verbindung **57hox**.

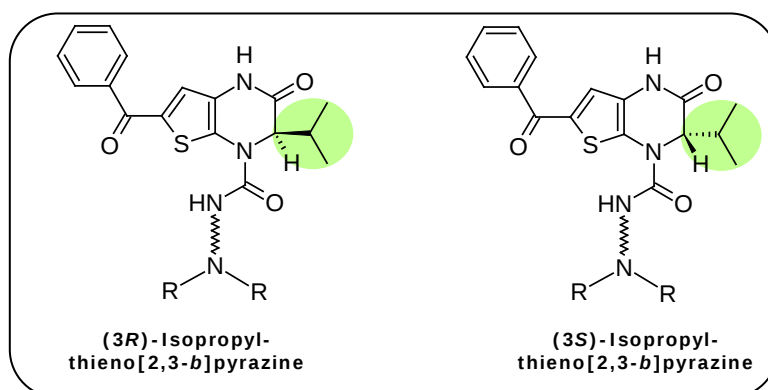


Abb. 56: Allgemeine Struktur der (3*R*)- und (3*S*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine.

Vergleicht man die biologischen Ergebnisse der (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine mit denen der (3*S*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazinen in Tabelle 10 (siehe Kapitel 3.2., Tab. 10), kann jedoch anhand der vorhandenen Daten keine eindeutige Aussage über die bevorzugte Konfiguration des Isopropylrestes getroffen werden.

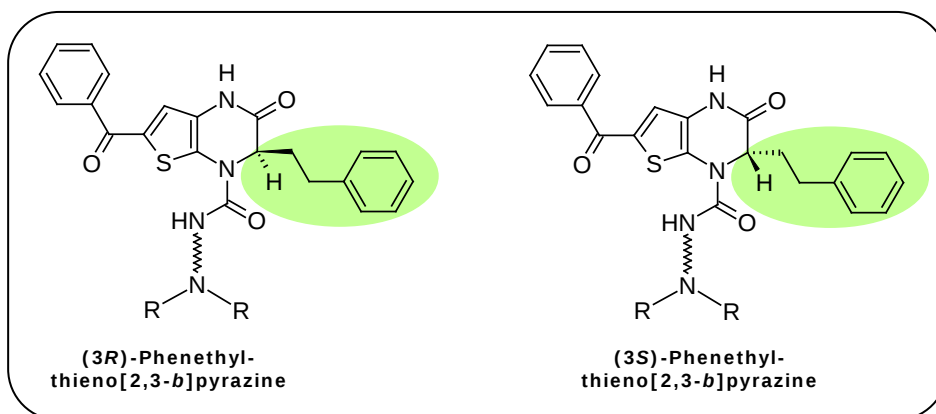
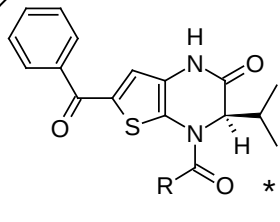


Abb. 57: Allgemeine Struktur der (3R)- und (3S)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine.

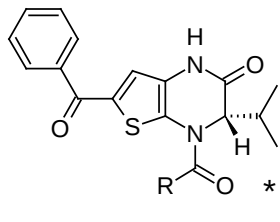
Auch bei den (3R)- sowie (3S)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazinen konnten Unterschiede in der prozentualen Hemmung der BChE bei einer Konzentration von 10 μ M und den bisher vorliegenden IC_{50} -Werten zwischen den *R*- und *S*-konfigurierten Verbindungen festgestellt werden (siehe Kapitel 3.2, Tab. 11). Dabei zeigen die *S*-konfigurierten Derivate, mit Ausnahme von Verbindung **61**, eine deutlich höhere Wirkstärke an der BChE als deren *R*-konfigurierte Analoga.

Dies lässt vermuten, dass bei kleineren Seitenketten, wie beispielsweise einer Isopropylstruktur, die Konfiguration eine untergeordnete Rolle spielt, jedoch bei zunehmender Komplexität der Substituenten am chiralen Zentrum die Stereochemie von zunehmender Bedeutung ist und somit aufgrund der Größe des Restes eine Konfiguration bevorzugt wird.

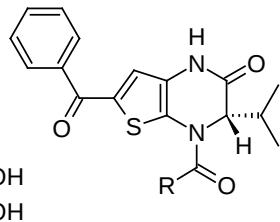
Im Folgenden soll nun der Fokus auf die Linkerlänge sowie auf die hydrophoben Reste am tertiären Stickstoff der Seitenkette gerichtet werden.



51hox - 53hox



72hox, 73hox



74ox

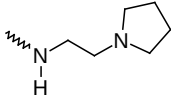
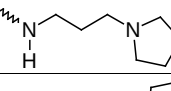
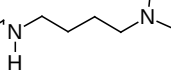
R	Verb.	BChE Inh. 10 µM (%)	BChE IC ₅₀ (µM)	Verb.	BChE Inh. 10 µM (%)	BChE IC ₅₀ (µM)
	51hox	61	6,24 ± 0,14	72hox	85	1,92 ± 0,04
	52hox	77	3,24 ± 0,04	73hox	90	0,62 ± 0,19
	53hox	68	4,94 ± 0,35	74ox	68	n.b.

Abb. 58: Chemische Strukturen, prozentuale Hemmung der BChE bei 10 µM und IC₅₀-Werte der Verbindungen **51hox** – **53hox**, **72hox**, **73hox** und **74ox**.

Betrachtet man die (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine **51hox**, **52hox** und **53hox** sowie die (3*S*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine **72hox**, **73hox** und **74ox** zeigt sich, wie bereits bei der Gruppe der Thieno[2,3-*b*]pyrazine der ersten Generation, eine verbesserte Wirkung, wenn die Länge des Linkers von zwei auf drei CH₂-Gruppen erhöht wird. Weiters lässt sich bei einer weiteren Ausdehnung des Linkers auf vier CH₂-Gruppen ein tendenzieller Wirkverlust feststellen. Daher scheint ein Linker mit der Länge von drei CH₂-Gruppen bei den getesteten Verbindungen ein Optimum für die inhibitorische Wirkung darzustellen.

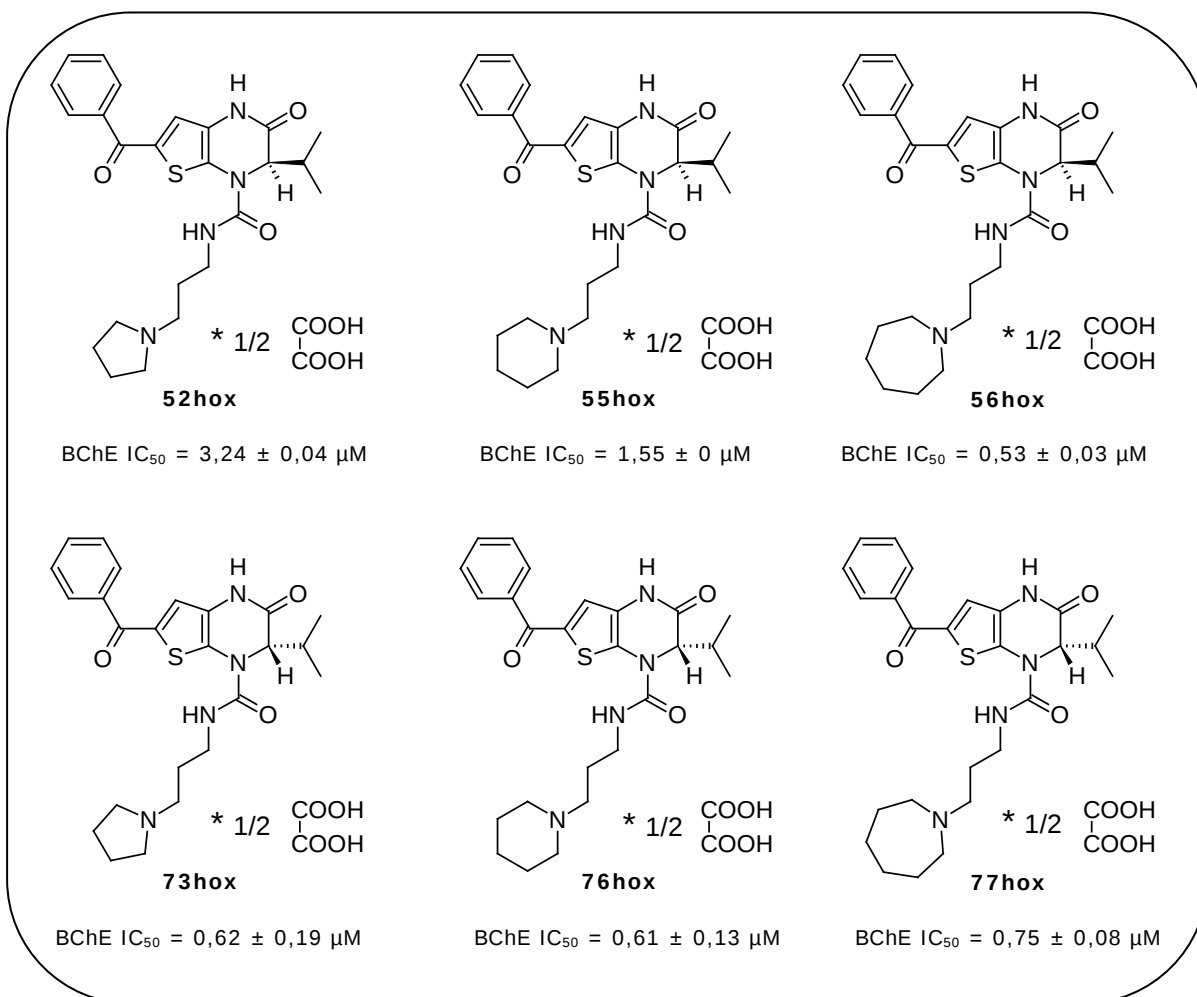
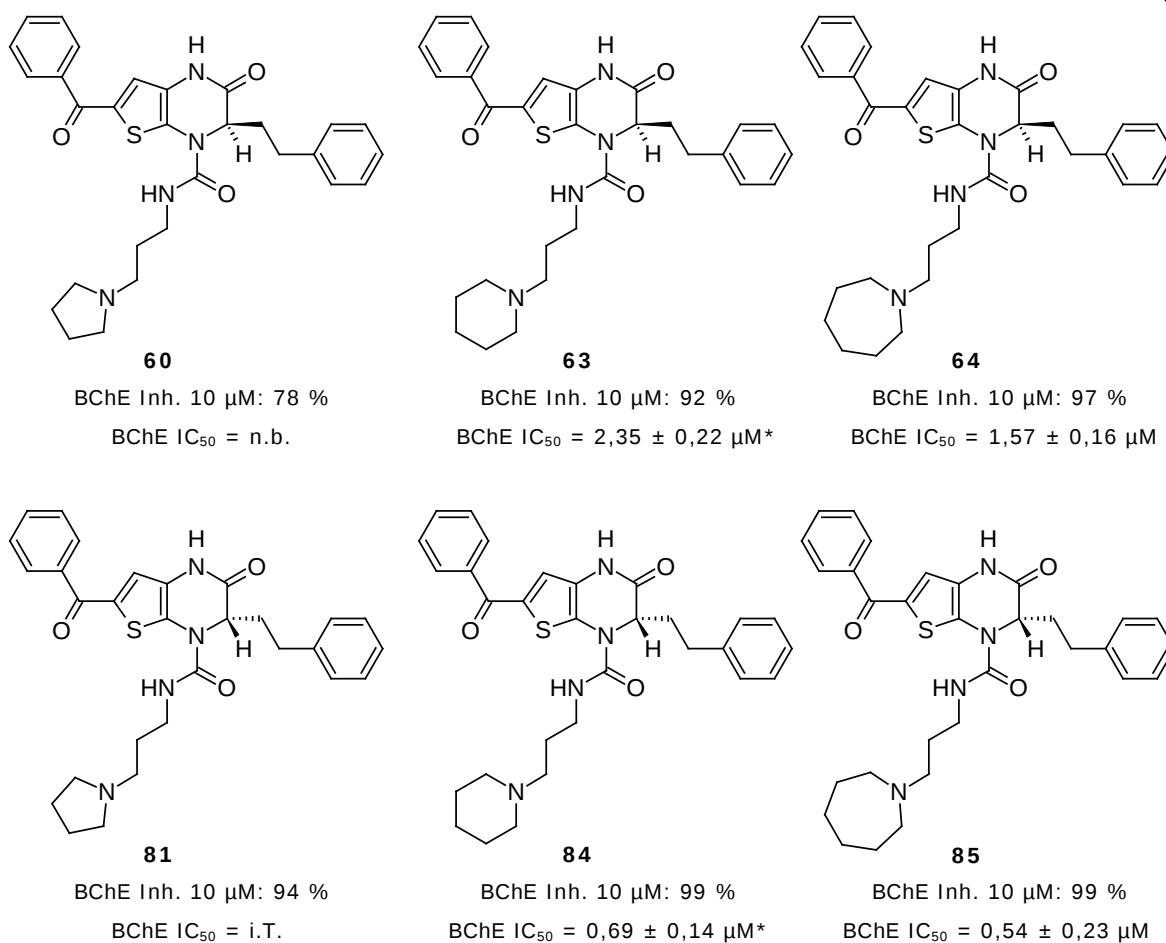


Abb. 59: Chemische Strukturen und IC_{50} -Werte der Verbindungen **52hox**, **55hox**, **56hox**, **73hox**, **76hox** und **77hox**.

Wie auch schon bei den Thieno[2,3-*b*]pyrazinen der ersten Generation festgestellt werden konnte, lässt sich auch bei der Substanzklasse der (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine ein Zusammenhang zwischen der Steigerung der inhibitorischen Aktivität an der BChE und einer Ringvergrößerung an der Seitenkette beobachten. Die entsprechenden (3*S*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazin-Derivate zeigen hingegen annähernd idente Werte im dreistelligen nanomolaren Bereich (siehe Abb. 59).



n.b. – nicht bestimmt; i.T. – in Testung

* IC₅₀-Wert bisher nur durch ein Experiment ermittelt (8 verschiedene Konzentrationen mit 8 Replikaten pro Konzentration)

Abb. 60: Chemische Strukturen, prozentuale BChE-Inhibition bei einer Konzentration von 10 μ M und IC₅₀-Werte der Verbindungen **60**, **63**, **64**, **81**, **84** und **85**.

Anhand der vorliegenden biologischen Daten der (3*R*)- sowie (3*S*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine lässt sich auch bei diesen beiden Substanzklassen das Prinzip der Wirkungssteigerung durch die Vergrößerung des Ringes am tertiären Stickstoff der Seitenkette feststellen (siehe Abb. 60).

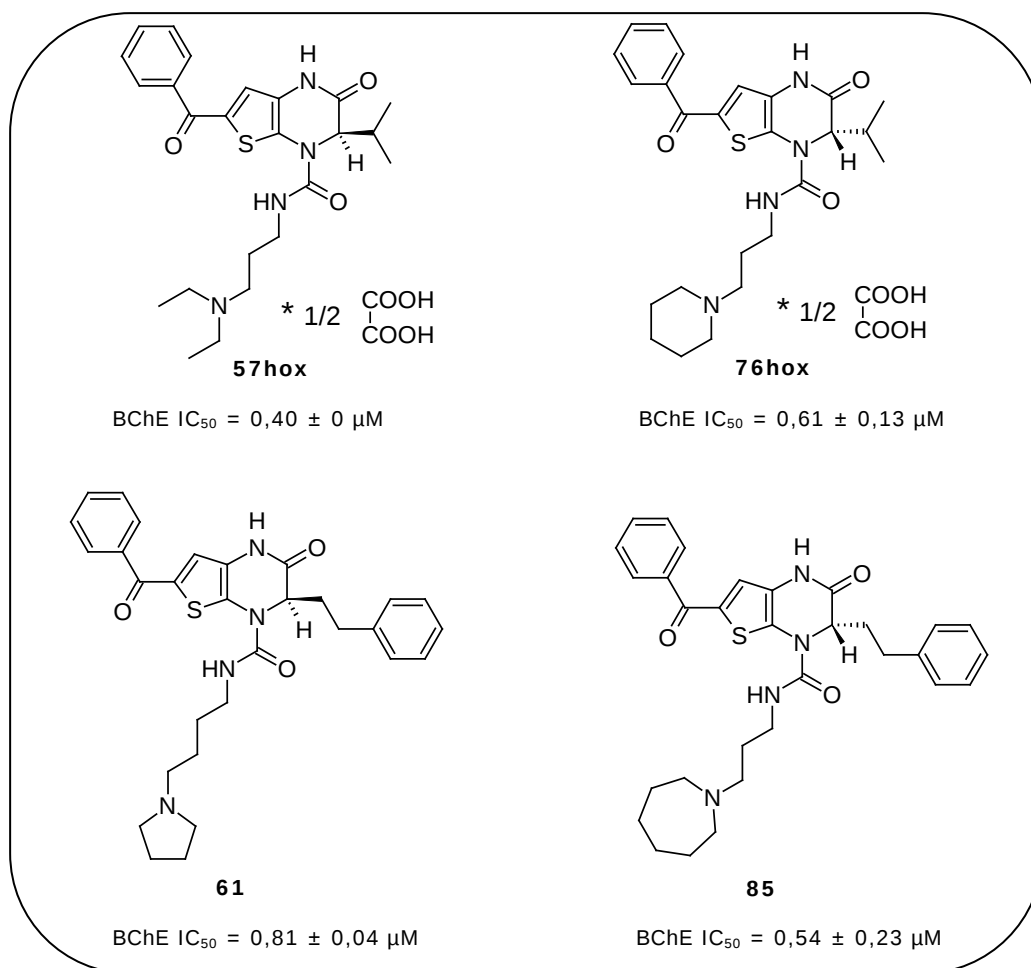


Abb. 61: Chemische Strukturen und IC_{50} -Werte der Verbindungen **57hox**, **76hox**, **61** und **85**.

Die Abbildung 61 zeigt die wirksamsten Derivate der einzelnen Substanzgruppen der zweiten Generation.

Verbindung **57hox** stellt mit einem IC_{50} -Wert von $0,40 \mu M$ an der BChE den wirksamsten Vertreter der (3*R*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine dar.

Als wirksamste Verbindung der (3*S*)-Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine geht Verbindung **76hox** mit einem IC_{50} -Wert von $0,61 \mu M$ hervor.

Verbindung **61** überraschte als wirksamstes Derivat der (3*R*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine mit einer IC_{50} von $0,81 \mu M$ an der BChE. Verbindung **85** stellt mit einem IC_{50} -Wert von $0,54 \mu M$ die wirksamste Substanz im Pool der (3*S*)-Phenethyl-thieno[2,3-*b*]pyrazine dar.

Betrachtet man die einzelnen Verbindungen der Abbildung 61, so weisen die wirksamsten Vertreter der verschiedenen Substanzklassen unterschiedliche Reste an der Harnstofffunktion auf. Folglich kann keine Aussage darüber getroffen werden, ob ein ringförmiger bzw. offenkettiger Rest für eine selektiv BChE-

inhibierende Wirkung bevorzugt wird. Dies lässt vermuten, dass ein Zusammenhang zwischen Grundkörper und basischem Rest bezüglich der Wirkstärke an der BChE besteht.

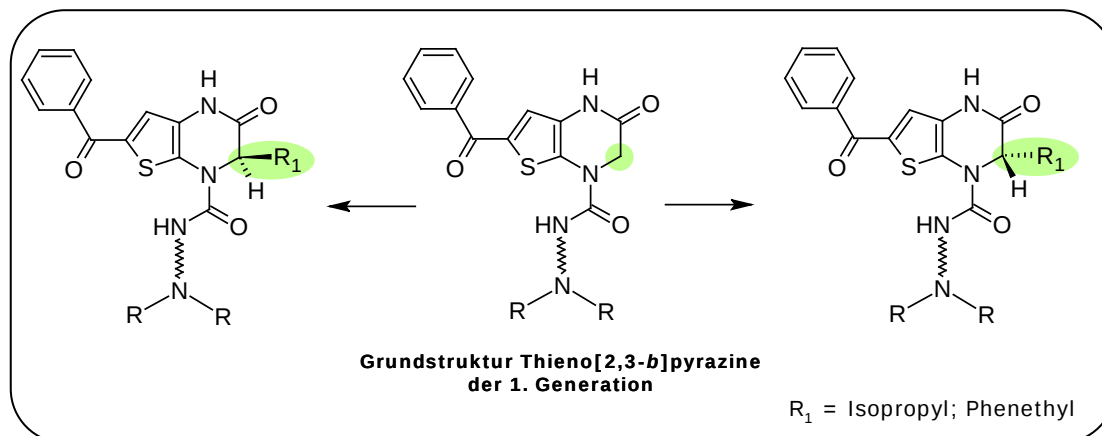


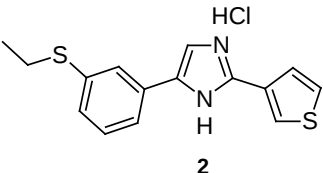
Abb. 62: Grundstruktur der Thieno[2,3-*b*]pyrazine der 1. Generation und schematische Darstellung der Thieno[2,3-*b*]pyrazine der 2. Generation.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass ausgehend von den Thieno[2,3-*b*]pyrazinen der ersten Generation durch das Einfügen von hydrophoben Resten am Thieno[2,3-*b*]pyrazinring eine Selektivität der Verbindungen gegenüber der BChE erzielt werden konnte. Zudem konnten deutliche Unterschiede in der Wirkstärke der Enantiomerenpaare der einzelnen Substanzgruppen beobachtet werden.

5.3. Diskussion der Ergebnisse der Untersuchungen an isolierten Präparaten des Meerschweinchens

Ein weiterer Teil dieser Arbeit beschäftigte sich mit der Untersuchung ausgewählter Verbindungen an isolierten Präparaten des Meerschweinchens. Von besonderem Interesse war hier die vasodilatierende Wirkung an der Aorta descendens und der Arteria pulmonalis. Des Weiteren wurden die Verbindungen auf eine mögliche spasmolytische Aktivität am terminalen Ileum sowie auf ihre chronotrope und inotrope Wirkung an Herzpräparaten (Atrium cordis dextrum und Musculus papillaris) untersucht.

Wie bereits erwähnt, wird Morbus Alzheimer ebenso mit einem reduzierten cerebralen Blutfluss in Verbindung gebracht (Goldsmith, 2007; Mazza *et al*, 2011; Hunter *et al*, 2012). Somit würde eine duale Wirkung der Verbindungen in Bezug auf eine selektive Inhibition der BChE und eine gefäßerweiternde Wirkung positiv zur Therapie von Morbus Alzheimer beitragen. In unserer Arbeitsgruppe konnte bereits eine Korrelation zwischen einer selektiven BChE-Inhibition und einer vasodilatierenden Wirkung an der Aorta und der Arteria pulmonalis von Meerschweinchen anhand von 2,4(5)-diarylierten Imidazolderivaten festgestellt werden (Guzik, 2013).



2

	2 (μM)
Aorta ¹	IC ₅₀ = 15,05
Arteria pulmonalis ¹	IC ₅₀ = 6,6
Terminales Ileum ¹	IC ₅₀ = 1,21
Atrium cordis dextrum ¹	IC ₅₀ = 6,7
Musculus papillaris ¹	IC ₅₀ = 38
BChE IC ₅₀ ²	0,10 ± 0,01

¹ Koch, 2012.

² Guzik, 2013.

Abb. 63: Chemische Struktur des 2,4(5)-Diarylimidazols **2** und dessen biologischen Daten.

Als wirksamster selektiver BChE-Inhibitor der 2,4(5)-diarylierten Imidazole ging Verbindung **2** mit einem IC₅₀-Wert von 0,10 ± 0,01 μM hervor. Diese Verbindung

konnte an der Aorta eine IC_{50} von 15,05 μM und an der Arteria pulmonalis eine IC_{50} von 6,6 μM erzielen (Koch, 2012; Guzik, 2013).

Anhand der erhaltenen biologischen Daten der 2,4(5)-Diarylimidazole konnten Zusammenhänge zwischen dem BChE-inhibitorischen Potenzial und den vasodilatierenden Eigenschaften dieser Verbindungen festgestellt werden.

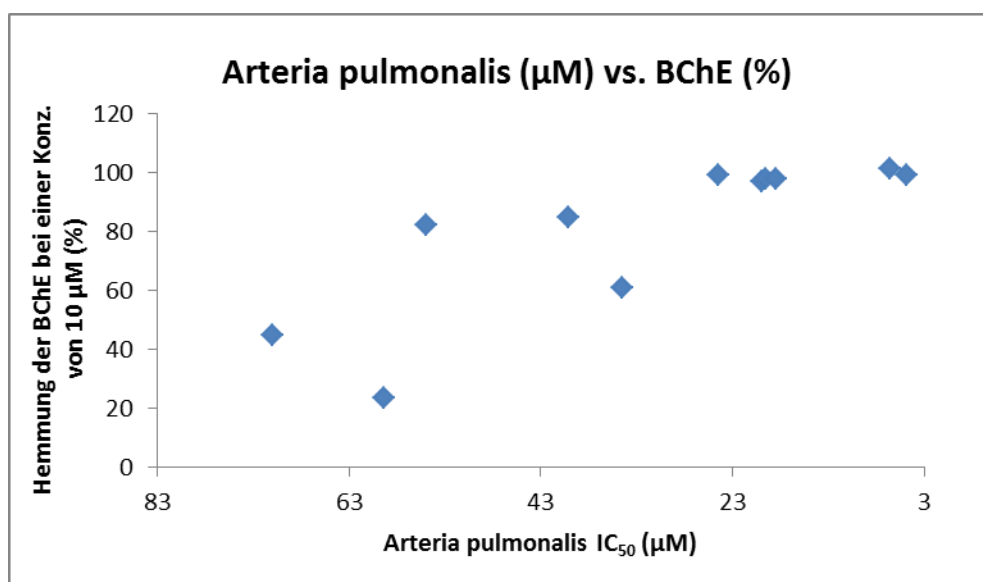
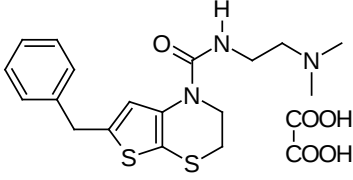
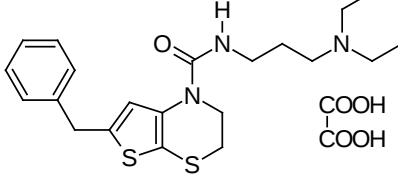


Abb. 64: Zusammenhang der prozentualen Hemmung der BChE bei einer Konzentration von 10 μM und der vasodilatierenden Wirkung an der Arteria pulmonalis einiger 2,4(5)-Diarylimidazole (biologische Daten von Guzik, 2013 entnommen).

In Abbildung 64 werden die prozentuale Inhibition der BChE bei einer Testkonzentration von 10 μM und die vasodilatierende Wirkung an der Arteria pulmonalis in μM einiger 2,4(5)-diarylierten Imidazolderivate miteinander verknüpft. Die Abbildung zeigt, dass Verbindungen, die die BChE mit nahezu 100 % inhibieren konnten, ebenso einen starken vasodilatierenden Effekt an der Arteria pulmonalis ausübten. Im Gegensatz dazu zeigten Verbindungen mit einem geringeren BChE-inhibitorischen Potenzial auch eine schwächere gefäßerweiternde Wirkung.

An der Aorta descendens konnte unter Berücksichtigung der inhibitorischen Wirkstärke der 2,4(5)-Diarylimidazole an der BChE ein ähnliches Verhalten beobachtet werden.

Zusätzlich führten die Leitverbindungen **4** und **6** dieser Arbeit in Untersuchungen an isolierten Organen des Meerschweinchens zu einer starken Vasodilatation der Aorta descendens (Erker *et al*, 2000).

 4  6		
	4 (μM)	6 (μM)
Aorta ¹	IC ₅₀ = 15,5	IC ₅₀ = 4,2
Terminales Ileum ¹	IC ₅₀ = 6,4	IC ₅₀ = 2,2
Atrium cordis dextrum ¹	IC ₅₀ = 6,4	IC ₅₀ = 5,2
Musculus papillaris ¹	IC ₅₀ = 1,5	IC ₅₀ = 2,5
BChE IC ₅₀ ²	1,4 ± 0,4	0,17 ± 0,03

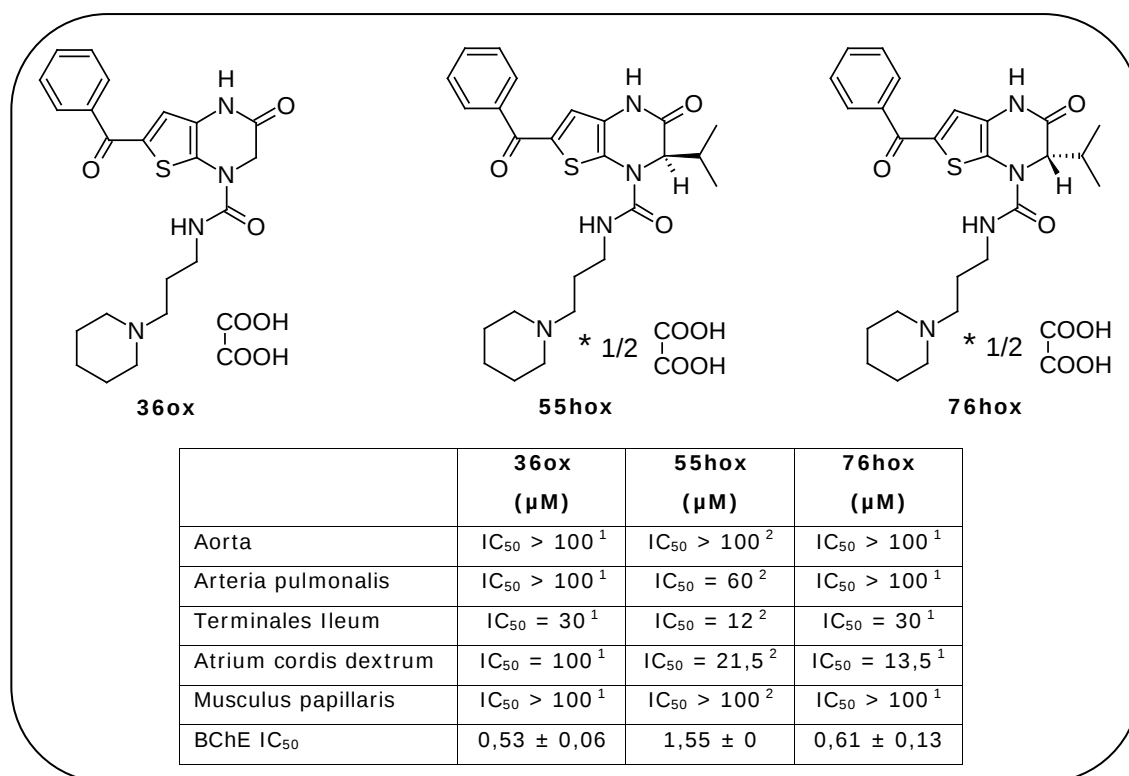
¹ Erker *et al*, 2000.

² Karlsson *et al*, 2012b.

Abb. 65: Chemische Strukturen und IC₅₀-Werte der Leitverbindungen **4** und **6**.

Leitverbindung **4** konnte einen IC₅₀-Wert von 15,5 μM und Verbindung **6** mit einer IC₅₀ von 4,2 μM einen um das 3,7-Fache stärker wirksamen Wert an der Aorta descendens erzielen. Jedoch zeigen beide Verbindungen eine stark spasmolytische sowie stark negative chronotrope und inotrope Aktivität (Erker *et al*, 2000).

Das Phänomen der Korrelation zwischen BChE-inhibitorischer und vasodilatierender Wirkung der Verbindungen konnte in der hier vorliegenden Arbeit nur bedingt beobachtet werden. Darüber hinaus wären Untersuchungen ebenso an cerebralen Gefäßen von Vorteil.



¹ Windisch, 2014.

² Koberger, 2013.

Abb. 66: Chemische Strukturen und IC_{50} -Werte der Verbindungen **36ox**, **55hox** und **76hox**.

Wie bereits bei den enzymatischen Untersuchungen an der BChE und an der AChE beobachtet werden konnte, weisen die getesteten Enantiomerenpaare ebenso an den isolierten Präparaten des Meerschweinchens ein unterschiedliches Wirkungsprofil auf.

Die in Abbildung 66 dargestellten Verbindungen charakterisieren sich durch eine 3-Piperidinopropylstruktur an der Harnstofffunktion, unterscheiden sich jedoch durch das Vorhandensein bzw. die Konfiguration des Isopropylrestes am Thieno[2,3-*b*]pyrazinring. Betrachtet man die Ergebnisse der Verbindung **55hox** ist diese mit einem IC_{50} -Wert von $1,55 \mu\text{M}$ an der BChE annähernd um den Faktor 3 schwächer wirksam als die Verbindung **36ox** und als das entsprechende S-konfigurierte Analogon **76hox**. Dennoch konnte Verbindung **55hox** im Gegensatz zu den Derivaten **36ox** und **76hox** mit einem IC_{50} -Wert von $60 \mu\text{M}$ eine mäßig vasodilatierende Wirkung an der Arteria pulmonalis erzielen. Eine gefäßerweiternde Wirkung an der Aorta konnte bei keiner dieser Verbindungen festgestellt werden. Ebenso zeigt Verbindung **55hox** mit einem IC_{50} -Wert von $12 \mu\text{M}$ eine 2,5-fach stärkere spasmolytische Wirkung am terminalen Ileum als die Verbindungen **36ox** und **76hox** ($\text{IC}_{50} = 30 \mu\text{M}$).

Betrachtet man die Werte am Atrium cordis dextrum, so lässt sich bei den Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazinderivaten eine um mehr als 4-fache (Verbindung **55hox**) bzw. eine mehr als 7-fache (Verbindung **76hox**) stärkere negativ chronotrope Aktivität als im Vergleich zu Verbindung **36ox** beobachten. Dieses Ergebnis lässt vermuten, dass eine Insertierung eines hydrophoben Restes am Thieno[2,3-*b*]pyrazinring zu einer drastischen Verstärkung der unerwünschten negativ chronotropen Wirkung führt. Ein inotroper Effekt dieser Verbindungen konnte im getesteten Konzentrationsbereich nicht beobachtet werden.

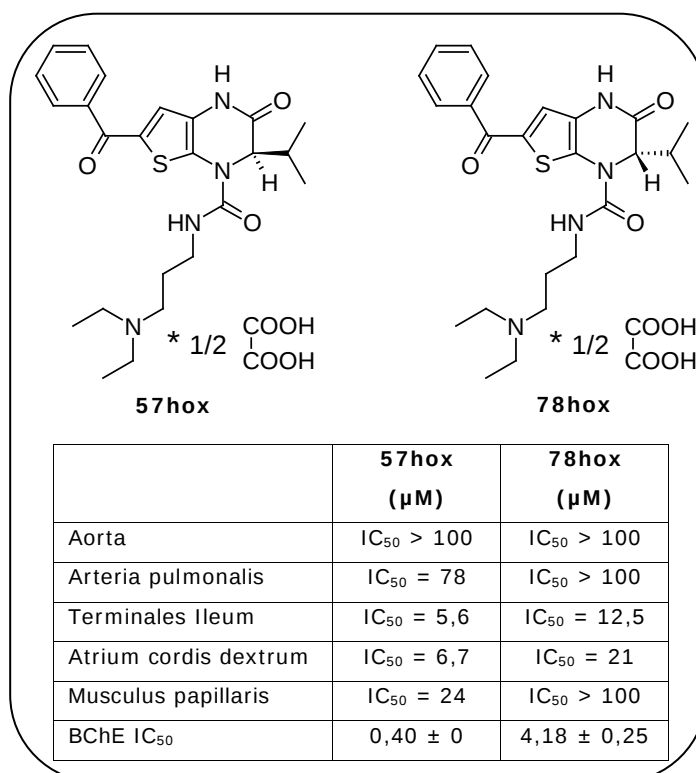


Abb. 67: Chemische Strukturen und IC_{50} -Werte der Verbindungen **57hox** und **78hox**.

Die getestete Verbindung **57hox** zählt mit einem IC_{50} -Wert von $0,40 \mu\text{M}$ an der BChE zu den wirksamsten Vertretern dieser Arbeit und zeigt jedoch an den isolierten Präparaten des Meerschweinchens ein unselektives Wirkungsspektrum. Die Verbindung **57hox** zeigt im Gegensatz zum *S*-konfigurierten Analogon **78hox** eine mäßig vasodilatierende Wirkung an der Arteria pulmonalis ($\text{IC}_{50} = 78 \mu\text{M}$). Zudem besitzt Verbindung **57hox** mit einem IC_{50} -Wert von $5,6 \mu\text{M}$ eine um das 2,2-Fache stärkere spasmolytische Wirkung als Verbindung **78hox** ($\text{IC}_{50} = 12,5 \mu\text{M}$).

Darüber hinaus lässt sich bei beiden Isopropyl-thieno[2,3-*b*]pyrazinderivaten ein unerwünschter negativ chronotroper Effekt beobachten. Auch hier zeigt das *R*-konfigurierte Derivat **57hox** eine um mehr als 3-fache stärkere negativ

chronotrope Wirkung ($IC_{50} = 6,7 \mu M$) im Gegensatz zum entsprechenden S-konfigurierten Verbindung **78hox** ($IC_{50} = 21 \mu M$).

Überraschender Weise konnte ausschließlich bei Verbindung **57hox** von den getesteten Derivaten eine negativ inotrope Aktivität ($IC_{50} = 24 \mu M$) am Papillarmuskel gemessen werden.

Im Hinblick auf die vasodilatierende Wirkung der getesteten Verbindungen an der Arteria pulmonalis kann darauf geschlossen werden, dass die R-konfigurierten Derivate bevorzugt werden. Ebenso zeigen diese eine stärkere spasmolytische Wirkung am terminalen Ileum als deren S-konfigurierte Analoga.

Bezüglich einer Korrelation zwischen vasodilatierenden und BChE-inhibierenden Eigenschaften der Verbindungen kann bis jetzt noch keine eindeutige Aussage getroffen werden. So zeigt die Verbindung **55hox** eine gefäßerweiternde Wirkung an der Arteria pulmonalis und einen IC_{50} -Wert von $1,55 \mu M$ an der BChE, wobei Verbindung **76hox** keine Wirkung an der Arteria pulmonalis, aber an der BChE einen um das 2,5-Fache niedrigeren IC_{50} -Wert aufweist. Im Gegensatz dazu zeigt Verbindung **57hox** eine vasodilatierende Wirkung an der Arteria pulmonalis und ist an der BChE mit einer IC_{50} von $0,40 \mu M$ jedoch stärker wirksam als Verbindung **78hox**.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass das Ziel dieser Dissertation, Verbindungen mit einer selektiv inhibitorischen Aktivität an der BChE herzustellen, erreicht werden konnte. Zum einen konnte eine Vielzahl von Derivaten mit IC_{50} -Werten im dreistelligen nanomolaren Bereich synthetisiert werden und somit die Wirksamkeit der Verbindungen im Vergleich zu den Leitverbindungen **4** ($IC_{50} = 1,4 \pm 0,4 \mu M$) und **5** ($IC_{50} = 3,8 \pm 0,6 \mu M$) verbessert werden.

Zum anderen konnten jedoch IC_{50} -Werte im zweistelligen nanomolaren Bereich nicht erzielt werden und somit die Wirkstärke der Leitstruktur **9** ($IC_{50} = 0,037 \pm 0,07 \mu M$), nicht übertroffen werden.

Darüber hinaus konnte die gewünschte vasodilatierende Wirkung bei den getesteten Verbindungen nur in geringem Ausmaß beobachtet werden, wobei hier Untersuchungen weiterer Verbindungen von Vorteil wären, um gezielter Aussagen bezüglich Struktur-Wirkungsbeziehungen treffen zu können.

Dennoch bieten die in dieser Arbeit beschriebenen Substanzen eine ideale Basis für die Entwicklung weiterer und noch stärker wirksamer Verbindungen in Bezug auf eine selektive Inhibition der BChE.

6 Experimenteller Teil

6.1. Chemischer Teil

6.1.1. Allgemeine experimentelle Methoden

Die verwendeten Chemikalien und Lösungsmittel wurden kommerziell erworben (Sigma Aldrich, Fluka, ABCR, Merck) und waren von entsprechender Reinheit.

Für die Dünnschichtchromatographie wurden mit Kieselgel beschichtete Aluminiumfolien (KG60F₂₅₄, Merck) verwendet. Zur Durchführung der Säulenchromatographie wurde Kieselgel 60, 70-230 mesh ASTM (Merck) verwendet.

Schmelzpunkte wurden mit einem Kofler-Heiztischmikroskop bestimmt und sind nicht korrigiert.

Drehwerte wurden mit einem Perkin Elmer 341LC Polarimeter bestimmt.

¹H- und ¹³C-NMR-Spektren wurden mit einem Bruker Avance DPx200 (200 und 50 MHz) aufgenommen. Als Lösungsmittel wurden CDCl₃, d₆-DMSO und d₄-MeOH verwendet. Die chemischen Verschiebungen sind in δ Einheiten (ppm) angegeben und auf Tetramethylsilan als internem Standard kalibriert. Die Kopplungskonstanten *J* sind in Hertz angegeben.

Massenspektren wurden mit einem Shimadzu (GC-17A; QP5050A) Massenspektrometer aufgenommen. Bei chiralen Endverbindungen wurde das Massenspektrum nur eines Enantiomers aufgenommen.

Zur Bestimmung der hochauflösenden Masse wurde ein Bruker Daltonik microTOF-Q II Massenspektrometer verwendet. Die gefundenen Werte der hochauflösenden Masse befanden sich innerhalb des Toleranzbereiches von ± 5 ppm des berechneten Wertes.

Die gefundenen Werte der Elementaranalyse befanden sich innerhalb von $\pm 0,4$ % der berechneten Werte.

HPLC-Analytik wurde auf einer Shimadzu Prominence-Anlage unter Verwendung einer ChiraDex[®] (5 μ M)-Säule (Merck) durchgeführt. Die Säulenofentemperatur betrug 40°C. Die Chromatogramme wurden bei einer Detektionswellenlänge von 272 nm sowie in einem Wellenlängenbereich von 390 $\pm$ 2 nm aufgenommen und zeigen eine Reinheit von > 95 %. Die im experimentellen Teil angegebenen Retentionszeiten beziehen sich auf die Retentionszeiten der Chromatogramme der Reinsubstanzen.

Tetrahydrofuran und Diethylether wurden über metallischem Natrium getrocknet. Ethanol wurde mittels Molekularsieb 3 Å und 1,4-Dioxan mittels Molekularsieb 4 Å getrocknet.

6.1.2. Allgemeine Synthesemethoden

Methode A

In einem ausgeheizten Dreihalskolben wird 1 mmol der Verbindung **15** unter Argonatmosphäre in 5 ml absolutem THF gelöst. Anschließend werden 2 mmol des entsprechenden Amins zugetropft. Die Reaktionslösung wird bis zur vollständigen Umsetzung* (DC-Kontrolle) gerührt. Danach wird das Lösungsmittel abrotiert und der Rückstand mittels Säulenchromatographie gereinigt. Gegebenenfalls muss noch überschüssiges Amin mittels Kugelrohrdestillation abgetrennt werden.

* Die genauen Reaktionsbedingungen zur Darstellung der jeweiligen Endverbindungen werden bei den einzelnen Verbindungen angeführt.

Methode B

0,5 mmol der entsprechenden Endverbindung und 0,5 mmol Oxalsäure werden getrennt voneinander in so wenig trockenem Ethanol wie möglich gelöst. Anschließend werden die Lösungen vereinigt und die Reaktionsmischung für ein bis zwei Minuten gerührt. Danach wird solange trockener Diethylether zugesetzt, bis eine leichte Trübung erkennbar ist. Zur vollständigen Ausfällung des Salzes wird die Lösung für einige Stunden gekühlt. Im Anschluss wird das so erhaltene Salz abgenutscht.

Methode C

In einem ausgeheizten Dreihalskolben werden 30 mmol des entsprechenden Aminosäuremethyl- bzw. Aminosäureethylester Hydrochlorids und 40 mmol frisch geglühtes K_2CO_3 in 50 ml Acetonitril (HPLC-rein) suspendiert. Nach 10-minütigem Rühren werden 20 mmol 5-Benzoyl-2-chlor-3-nitrothiophen (**26**) zugesetzt und die Reaktionsmischung für 24 Stunden bei 40°C unter Argonatmosphäre gerührt. Anschließend wird überschüssiges K_2CO_3 abfiltriert und das Filtrat eingeeengt. Der verbleibende Rückstand wird in CH_2Cl_2 aufgenommen und mit H_2O und gesättigter NaCl-Lösung ausgeschüttelt. Die organische Phase wird getrocknet, einrotiert und mittels Säulenchromatographie aufgereinigt.

Methode D

15 mmol der entsprechenden Ausgangsverbindung werden in 75 ml konzentrierter Essigsäure und 7,5 ml H_2O gelöst und auf 75°C erhitzt. Anschließend werden 5,85 g Fe^0 -Pulver portionsweise zugegeben und die Reaktionslösung für weitere 30-60 Minuten bei 75°C gerührt. Nach dem Abkühlen wird die Lösung auf Eiswasser gegossen und der so entstehende Niederschlag abgenutscht. Um gegebenenfalls überschüssiges Eisen bzw. Eisensalze zu entfernen, wird der Niederschlag in THF gelöst, über Celite filtriert und das Filtrat wieder einrotiert. Der resultierende Feststoff wird in Ethanol umkristallisiert.

Methode E

In einem ausgeheizten Dreihalskolben wird 1 mmol der Verbindung **31** unter Argonatmosphäre in 10 ml absolutem THF suspendiert. Im Anschluss werden 1,5 mmol des entsprechenden Amins zugetropft und die Reaktionsmischung für drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird abrotiert und der so entstandene Rückstand im Bedarfsfall mittels Säulenchromatographie und durch Umkristallisation aufgereinigt.

Methode F

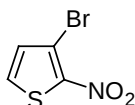
10 mmol der entsprechenden Ausgangsverbindung und 13 mmol 4-Nitrophenylchloroformat werden in 30 ml absolutem THF gelöst und für 24 Stunden bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel abrotiert, der Rückstand in CH_2Cl_2 aufgenommen und mit H_2O und gesättigter NaCl-Lösung extrahiert. Die organische Phase wird getrocknet und einrotiert. Der erhaltene Rückstand wird grob mittels Flashchromatographie aufgereinigt.

Methode G

In einem ausgeheizten Dreihalskolben wird 1 mmol des entsprechenden Thieno[2,3-*b*]pyrazin-4-carbonsäure-4-nitrophenylester-Derivates unter Argonatmosphäre in 5 ml absolutem THF gelöst. Im Anschluss werden 1,2 mmol des entsprechenden Amins zugetropft und die Reaktionsmischung für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird abrotiert und der Rückstand mittels Säulenchromatographie aufgereinigt. Das so erhaltene ölige Produkt wird im Hochvakuum bis zur Kristallisation getrocknet.

6.1.3. Substanzcharakterisierung

3-Brom-2-nitrothiophen (11) (Steinkopf *et al*, 1934)



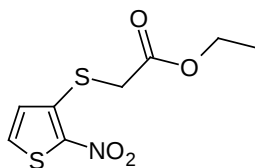
Molekulargewicht: 208,03 g/mol
Schmelzpunkt: 80-81°C (Lit.: 81-83°C)
Farbe: beige

Summenformel: $\text{C}_4\text{H}_2\text{BrNO}_2\text{S}$
Physikal. Form: kristallin
Ausbeute: 13,3 g; 63,9 %

Synthese

In einem 500 ml Dreihalskolben werden 100 mmol (16,3 g; 9,4 ml) 3-Bromthiophen in 30 ml Essigsäureanhydrid gelöst und auf -20°C bis -15°C gekühlt. Für die Nitriersäure wird eine Mischung, bestehend aus 20 ml 65%iger Salpetersäure und 30 ml Essigsäureanhydrid, hergestellt. Die Nitriersäure (gekühlt auf 0°C) wird so zugetropft, dass die Temperatur der Reaktionslösung zwischen -15°C und -10°C liegt. Nach vollständigem Zutropfen wird für eine weitere Stunde bei 0°C gerührt. Im Anschluss wird die Suspension auf Eiswasser gegossen, der entstandene Niederschlag abgenußt und in Ethanol umkristallisiert.

2-(2-Nitro-3-thienylthio)essigsäureethylester (12) (Paulmier *et al.* Outurquin, 1983; Laimer *et al.* Erker, 1994*)



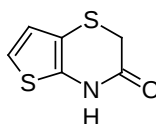
Molekulargewicht: 247,29 g/mol
Schmelzpunkt: 95-96°C (Lit.: 94-96°C)*
Farbe: gelb

Summenformel: C₈H₉NO₄S₂
Physikal. Form: kristallin
Ausbeute: 89,2 %

Synthese

Die Substanz wird nach der literaturbekannten Synthesevorschrift (Laimer *et al.* Erker, 1994) synthetisiert.

2H-Thieno[3,2-b][1,4]thiazin-3(4H)-on (13) (Paulmier *et al.* Outurquin, 1983; Erker, 1998*)



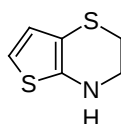
Molekulargewicht: 171,24 g/mol
Schmelzpunkt: 172-175°C (Lit.: 175-176°C)*
Farbe: weiß

Summenformel: C₆H₅NOS₂
Physikal. Form: kristallin
Ausbeute: 74,9 %

Synthese

Die Substanz wird nach der literaturbekannten Synthesevorschrift (Erker, 1998) synthetisiert, wobei die Reaktionsdauer von zwei Stunden auf 24 Stunden verlängert wird.

3,4-Dihydro-2H-thieno[3,2-b][1,4]thiazin (14) (Galanski *et al.*, 2005)



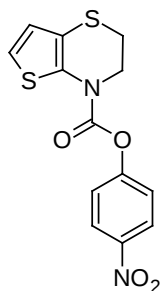
Molekulargewicht: 157,26 g/mol

Summenformel: C₆H₇NS₂

Synthese

Die Substanz wird nach der literaturbekannten Synthesevorschrift (Galanski *et al.*, 2005) synthetisiert.

Nach der Entfernung von überschüssigem LiAlH₄ mit EtOAc wird die Reaktionslösung ohne weitere Aufarbeitung weiterverwendet.

3,4-Dihydro-2H-thieno[3,2-b][1,4]thiazin-4-carbonsäure-4-nitrophenyl-ester (15)

Molekulargewicht: 322,36 g/mol
 Schmelzpunkt: 160-163°C
 Farbe: gelb-braun

Summenformel: C₁₃H₁₀N₂O₄S₂
 Physikal. Form: kristallin
 Ausbeute: 1,7 g; 53,1 %

Synthese

Zur Reaktionslösung von Verbindung **14** (Ansatzgröße 10 mmol) werden 10 mmol (1,0 g; 1,4 ml) TEA und 10 mmol (2,0 g) 4-Nitrophenylchloroformat zugegeben. Anschließend wird der Ansatz für 16 Stunden bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre gerührt. Danach wird das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand mittels Säulenchromatographie (PE/EtOAc 7+3) aufgereinigt. Das erhaltene Produkt wird in EtOAc umkristallisiert.

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 8,23-8,39 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,31-7,52 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 6,90-7,09 ppm	m, CH (aromatisch)	1H
δ = 6,62-6,80 ppm	m, CH (aromatisch)	1H
δ = 4,10-4,51 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 3,18-3,33 ppm	m, CH ₂	2H

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 155,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 150,1 ppm	NCOOR	1C
δ = 145,4 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 125,2 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 124,0 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 122,3 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 118,7 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 46,2 ppm	CH ₂	1C
δ = 25,6 ppm	CH ₂	1C

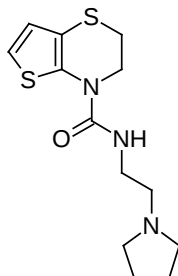
2 Cq nicht detektierbar

MS

m/z =	322 (M ⁺ ; 36 %)
	156 (100 %)
	123 (19 %)
	69 (15 %)

CHN-Analyse

Berechnet:	C 48,44 %; H 3,13 %; N 8,69 %
Gefunden:	C 48,23 %; H 2,98 %; N 8,40 %

N4-(2-Pyrrolidinoethyl)-3,4-dihydro-2H-thieno[3,2-b][1,4]thiazin-4-carboxamid (16)

Molekulargewicht: 297,44 g/mol
 Schmelzpunkt: -
 Farbe: gelb

Summenformel: C₁₃H₁₉N₃OS₂
 Physikal. Form: Öl
 Ausbeute: 0,17 g; 57,2 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode A aus 1 mmol (0,32 g) der Verbindung **15** und 2 mmol (0,23 g; 0,26 ml) 1-(2-Aminoethyl)pyrrolidin. Reaktionsbedingungen: 50°C für sechs Stunden. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 6,90 ppm	AB-System, A-Teil (J_{AB} = 5,8 Hz)	1H
δ = 6,68 ppm	AB-System, B-Teil (J_{AB} = 5,8 Hz)	1H
δ = 6,12 ppm	s, br, NH	1H
δ = 3,92-4,09 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 3,30-3,49 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 3,05-3,21 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,41-2,73 ppm	m, CH ₂	6H
δ = 1,62-1,87 ppm	m, CH ₂	4H

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 155,1 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 131,0 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 124,5 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 118,1 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 116,0 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 54,4 ppm	CH ₂	1C
δ = 53,7 ppm	CH ₂	2C
δ = 43,3 ppm	CH ₂	1C
δ = 39,7 ppm	CH ₂	1C
δ = 26,5 ppm	CH ₂	1C
δ = 23,5 ppm	CH ₂	2C

MS

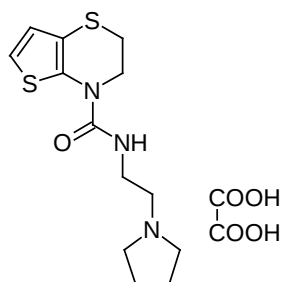
m/z =	297 (M ⁺ ; < 0,1 %)
	157 (45 %)

141 (100 %)
84 (63 %)

CHN-Analyse

Berechnet: C 52,49 %; H 6,44 %; N 14,13 %
Gefunden: C 52,56 %; H 6,32 %; N 13,99 %

N4-(2-Pyrrolidinoethyl)-3,4-dihydro-2H-thieno[3,2-b][1,4]thiazin-4-carboxamid Oxalat (16ox)



Molekulargewicht: 387,47 g/mol
Schmelzpunkt: 105-109°C
Farbe: weiß

Summenformel: C₁₅H₂₁N₃O₅S₂
Physikal. Form: amorph
Ausbeute: 0,12 g; 61,8 %

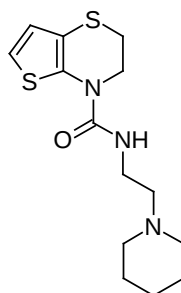
Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,15 g) der Verbindung **16** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet: C 46,50 %; H 5,46 %; N 10,84 %
Gefunden: C 46,73 %; H 5,53 %; N 10,60 %

N4-(2-Piperidinoethyl)-3,4-dihydro-2H-thieno[3,2-b][1,4]thiazin-4-carboxamid (17)



Molekulargewicht: 311,47 g/mol
Schmelzpunkt: -
Farbe: gelb

Summenformel: C₁₄H₂₁N₃OS₂
Physikal. Form: Öl
Ausbeute: 0,22 g; 70,7 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode A aus 1 mmol (0,32 g) der Verbindung **15** und 2 mmol (0,26 g; 0,29 ml) 1-(2-Aminoethyl)piperidin. Reaktionsbedingungen: Raumtemperatur für 24 Stunden. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 6,92 ppm	AB-System, A-Teil ($J_{AB} = 5,7$ Hz)	1H
δ = 6,69 ppm	AB-System, B-Teil ($J_{AB} = 5,7$ Hz)	1H
δ = 6,28 ppm	s, br, NH	1H
δ = 3,92-4,11 ppm	m, CH₂	2H
δ = 3,29-3,47 ppm	m, CH₂	2H
δ = 3,05-3,22 ppm	m, CH₂	2H
δ = 2,28-2,58 ppm	m, CH₂	6H
δ = 1,33-1,62 ppm	m, CH₂	6H

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 155,1 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 131,0 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 124,5 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 118,1 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 116,3 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 56,9 ppm	CH₂	1C
δ = 54,1 ppm	CH₂	2C
δ = 43,1 ppm	CH₂	1C
δ = 37,7 ppm	CH₂	1C
δ = 26,4 ppm	CH₂	1C
δ = 26,1 ppm	CH₂	2C
δ = 24,3 ppm	CH₂	1C

MS

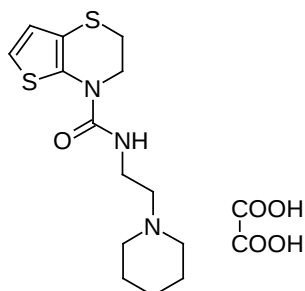
m/z =	311 (M^+ ; nicht detektierbar)
	157 (24 %)
	155 (100 %)
	98 (74 %)
	55 (16 %)
	41 (17 %)

HR-MS

Berechnet für C ₁₄ H ₂₁ N ₃ OS ₂ + H ⁺ :	312,1204
Gefunden:	312,1207

CHN-Analyse

Berechnet:	C 53,99 %; H 6,80 %; N 13,49 %
Gefunden:	C 54,18 %; H 6,70 %; N 13,41 %

N4-(2-Piperidinoethyl)-3,4-dihydro-2H-thieno[3,2-b][1,4]thiazin-4-carboxamid Oxalat (17ox)

Molekulargewicht: 401,50 g/mol

Schmelzpunkt: 118-122°C

Farbe: weiß

Summenformel: C₁₆H₂₃N₃O₅S₂

Physikal. Form: amorph

Ausbeute: 0,13 g; 65,0%

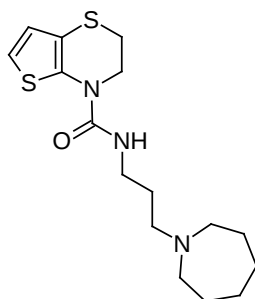
Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,16 g) der Verbindung **17** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet: C 47,86 %; H 5,77 %; N 10,47 %

Gefunden: C 48,08 %; H 5,76 %; N 10,37 %

N4-[3-(1-Azepanyl)propyl]-3,4-dihydro-2H-thieno[3,2-b][1,4]thiazin-4-carboxamid (18)

Molekulargewicht: 339,52 g/mol

Schmelzpunkt: -

Farbe: orange

Summenformel: C₁₆H₂₅N₃OS₂

Physikal. Form: Öl

Ausbeute: 0,31 g; 91,2 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode A aus 1 mmol (0,32 g) der Verbindung **15** und 2 mmol (0,31 g; 0,34 ml) 3-(1-Azepanyl)-1-propanamin. Reaktionsbedingungen: 50°C für drei Stunden. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,08 ppm

s, br, NH

1H

δ = 6,87 ppm

AB-System, A-Teil (*J*_{AB} = 5,7 Hz)

1H

δ = 6,65 ppm

AB-System, B-Teil (*J*_{AB} = 5,7 Hz)

1H

$\delta = 3,89\text{-}4,08$ ppm	m, CH ₂	2H
$\delta = 3,31\text{-}3,49$ ppm	m, CH ₂	2H
$\delta = 3,04\text{-}3,19$ ppm	m, CH ₂	2H
$\delta = 2,49\text{-}2,70$ ppm	m, CH ₂	6H
$\delta = 1,48\text{-}1,79$ ppm	m, CH ₂	10H

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

$\delta = 155,3$ ppm	R ₂ NCONHR	1C
$\delta = 131,5$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 124,2$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 117,9$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 114,4$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 57,0$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 55,6$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 43,8$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 41,7$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 27,2$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 26,9$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 26,4$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 25,7$ ppm	CH ₂	1C

MS

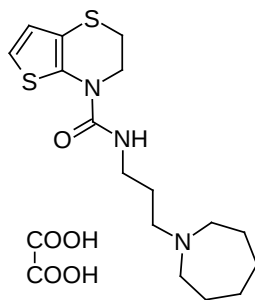
m/z =	339 (M ⁺ ; nicht detektierbar)
	183 (100 %)
	157 (12 %)
	112 (17 %)

HR-MS

Berechnet für C ₁₆ H ₂₅ N ₃ OS ₂ + H ⁺ :	340,1517
Gefunden:	340,1517

CHN-Analyse

Berechnet:	C 56,60 %; H 7,42 %; N 12,38 %
Gefunden:	C 56,69 %; H 7,16 %; N 12,14 %

N4-[3-(1-Azepanyl)propyl]-3,4-dihydro-2H-thieno[3,2-b][1,4]thiazin-4-carboxamid Oxalat (18ox)

Molekulargewicht: 429,55 g/mol
 Schmelzpunkt: 125-129°C
 Farbe: weiß

Summenformel: C₁₈H₂₇N₃O₅S₂
 Physikal. Form: amorph
 Ausbeute: 0,17 g; 79,1 %

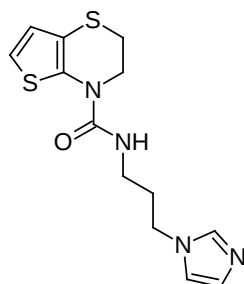
Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,17 g) der Verbindung **18** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet: C 50,33 %; H 6,34 %; N 9,78 %
 Gefunden: C 50,63 %; H 6,51 %; N 9,80 %

N4-[3-(1H-1-Imidazolyl)propyl]-3,4-dihydro-2H-thieno[3,2-b][1,4]thiazin-4-carboxamid (**19**)



Molekulargewicht: 308,42 g/mol
 Schmelzpunkt: 157-159°C
 Farbe: gelb

Summenformel: C₁₃H₁₆N₄OS₂
 Physikal. Form: kristallin
 Ausbeute: 0,20 g; 64,9 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode A aus 1 mmol (0,32 g) der Verbindung **15** und 2 mmol (0,25 g; 0,24 ml) N-(3-Aminopropyl)imidazol. Reaktionsbedingungen: 55°C für sechs Stunden. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (6+2+2) verwendet. Umkristallisation der Verbindung **19** in Ethanol.

¹H-NMR (CDCl₃ + d₄-MeOH, 200 MHz)

δ = 7,56 ppm	s, CH (aromatisch)	1H
δ = 7,01 ppm	d, CH (aromatisch) (J = 7,9 Hz)	2H
δ = 6,92 ppm	AB-System, A-Teil (J _{AB} = 5,7 Hz)	1H
δ = 6,67 ppm	AB-System, B-Teil (J _{AB} = 5,7 Hz)	1H
δ = 4,06 ppm	t, CH ₂ (J = 6,9 Hz)	2H
δ = 3,89-3,99 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 3,27 ppm	t, CH ₂ (J = 6,8 Hz)	2H
δ = 3,02-3,20 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 1,97-2,18 ppm	m, CH ₂	2H

1 NH nicht detektierbar

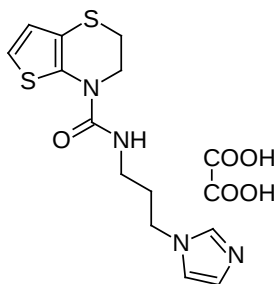
¹³C-NMR (CDCl₃ + d₄-MeOH, 50 MHz)

δ = 155,5 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 136,5 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 130,5 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 128,1 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 123,8 ppm	CH (aromatisch)	1C

$\delta = 118,8$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 117,7$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 114,3$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 44,4$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 43,9$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 37,7$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 30,8$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 25,7$ ppm	CH ₂	1C

MS

m/z =	308 (M ⁺ ; 19 %)
	157 (85 %)
	152 (100 %)
	142 (63 %)
	71 (58 %)
	69 (99,8 %)
	57 (82 %)
	43 (61 %)
	41 (58 %)

N4-[3-(1H-1-Imidazolyl)propyl]-3,4-dihydro-2H-thieno[3,2-b][1,4]thiazin-4-carboxamid Oxalat (19ox)

Molekulargewicht: 398,46 g/mol
 Schmelzpunkt: 164-166°C
 Farbe: weiß

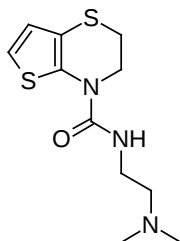
Summenformel: C₁₅H₁₈N₄O₅S₂
 Physikal. Form: amorph
 Ausbeute: 0,16 g; 80,4 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,15 g) der Verbindung **19** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet:	C 45,21 %; H 4,55 %; N 14,06 %
Gefunden:	C 45,12 %; H 4,33 %; N 13,90 %

N4-[2-(Dimethylamino)ethyl]-3,4-dihydro-2H-thieno[3,2-b][1,4]thiazin-4-carboxamid (20)

Molekulargewicht: 271,40 g/mol
 Schmelzpunkt: -
 Farbe: gelb

Summenformel: C₁₁H₁₇N₃OS₂
 Physikal. Form: Öl
 Ausbeute: 0,25 g; 92,3 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode A aus 1 mmol (0,32 g) der Verbindung **15** und 2 mmol (0,18 g; 0,22 ml) N,N-Dimethylethylendiamin. Reaktionsbedingungen: Raumtemperatur für 24 Stunden. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (6+2+2) verwendet.

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 6,90 ppm	AB-System, A-Teil (J_{AB} = 5,7 Hz)	1H
δ = 6,68 ppm	AB-System, B-Teil (J_{AB} = 5,7 Hz)	1H
δ = 6,02 ppm	s, br, NH	1H
δ = 3,94-4,09 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 3,29-3,42 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 3,07-3,19 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,39-2,50 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,23 ppm	s, CH ₃	6H

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

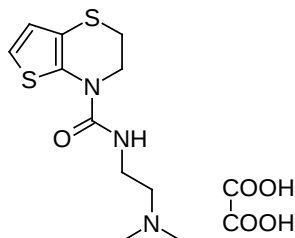
δ = 155,0 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 131,1 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 124,4 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 118,1 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 115,8 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 57,8 ppm	CH ₂	1C
δ = 45,1 ppm	CH ₃	2C
δ = 43,4 ppm	CH ₂	1C
δ = 38,5 ppm	CH ₂	1C
δ = 26,5 ppm	CH ₂	1C

MS

m/z =	271 (M ⁺ ; 0,17 %)
	157 (59 %)
	115 (36 %)
	72 (19 %)
	58 (100 %)

CHN-Analyse

Berechnet: C 48,68 %; H 6,31 %; N 15,48 %
 Gefunden: C 48,86 %; H 6,20 %; N 15,35 %

N4-[2-(Dimethylamino)ethyl]-3,4-dihydro-2H-thieno[3,2-b][1,4]thiazin-4-carboxamid Oxalat (20ox)


Molekulargewicht: 361,44 g/mol
 Schmelzpunkt: 140-143°C
 Farbe: weiß

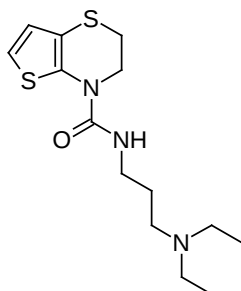
Summenformel: C₁₃H₁₉N₃O₅S₂
 Physikal. Form: amorph
 Ausbeute: 0,08 g; 44,2 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,14 g) der Verbindung **20** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet: C 43,20 %; H 5,30 %; N 11,63 %
 Gefunden: C 43,44 %; H 5,35 %; N 11,46 %

N4-[3-(Diethylamino)propyl]-3,4-dihydro-2H-thieno[3,2-b][1,4]thiazin-4-carboxamid (21)


Molekulargewicht: 313,48 g/mol
 Schmelzpunkt: -
 Farbe: gelb

Summenformel: C₁₄H₂₃N₃OS₂
 Physikal. Form: Öl
 Ausbeute: 0,20 g; 63,9 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode A aus 1 mmol (0,32 g) der Verbindung **15** und 2 mmol (0,26 g; 0,31 ml) N,N-Diethyl-1,3-propandiamin. Reaktionsbedingungen: Raumtemperatur für 24 Stunden. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (7+2+1) verwendet.

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,32 ppm	s, br, NH	1H
δ = 6,86 ppm	AB-System, A-Teil ($J_{AB} = 5,7$ Hz)	1H
δ = 6,65 ppm	AB-System, B-Teil ($J_{AB} = 5,7$ Hz)	1H
δ = 3,89-4,03 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 3,32-3,48 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 3,03-3,17 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,41-2,61 ppm	m, CH ₂	6H
δ = 1,59-1,78 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 0,97 ppm	t, CH ₃ ($J = 7,2$ Hz)	6H

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

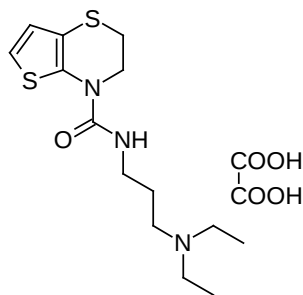
δ = 155,3 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 131,6 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 124,0 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 117,8 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 114,0 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 52,6 ppm	CH ₂	1C
δ = 46,7 ppm	CH ₂	2C
δ = 44,0 ppm	CH ₂	1C
δ = 41,9 ppm	CH ₂	1C
δ = 26,3 ppm	CH ₂	1C
δ = 25,3 ppm	CH ₂	1C
δ = 11,2 ppm	CH ₃	2C

MS

m/z =	313 (M ⁺ ; nicht detektierbar)
	157 (100 %)
	86 (23 %)
	72 (10 %)
	58 (14 %)

HR-MS

Berechnet für C ₁₄ H ₂₃ N ₃ OS ₂ + H ⁺ :	314,1361
Gefunden:	314,1361

N4-[3-(Diethylamino)propyl]-3,4-dihydro-2H-thieno[3,2-b][1,4]thiazin-4-carboxamid Oxalat (21ox)

Molekulargewicht: 403,52 g/mol
 Schmelzpunkt: 129-132°C
 Farbe: weiß

Summenformel: C₁₆H₂₅N₃O₅S₂
 Physikal. Form: amorph
 Ausbeute: 0,14 g; 69,3 %

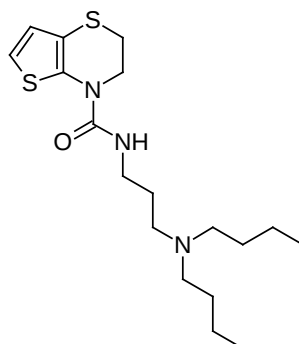
Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,16 g) der Verbindung **21** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet: C 47,62 %; H 6,24 %; N 10,41 %
 Gefunden: C 47,73 %; H 6,12 %; N 10,20 %

N4-[3-(Dibutylamino)propyl]-3,4-dihydro-2H-thieno[3,2-b][1,4]thiazin-4-carboxamid (22)



Molekulargewicht: 369,59 g/mol
 Schmelzpunkt: -
 Farbe: gelb

Summenformel: C₁₈H₃₁N₃OS₂
 Physikal. Form: Öl
 Ausbeute: 0,33 g; 89,2 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode A aus 1 mmol (0,32 g) der Verbindung **15** und 2 mmol (0,37 g; 0,45 ml) N,N-Di-n-butyl-1,3-propandiamin. Reaktionsbedingungen: 60°C für fünf Stunden. Als Laufmittel wird EtOAc/TEA (9,5 + 0,5) verwendet.

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,09 ppm	s, br, NH	1H
δ = 6,87 ppm	AB-System, A-Teil (<i>J</i> _{AB} = 5,7 Hz)	1H
δ = 6,65 ppm	AB-System, B-Teil (<i>J</i> _{AB} = 5,7 Hz)	1H
δ = 3,89-4,07 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 3,31-3,49 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 3,03-3,19 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,46-2,60 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,28-2,45 ppm	m, CH ₂	4H
δ = 1,58-1,77 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 1,15-1,46 ppm	m, CH ₂	8H
δ = 0,81-1,00 ppm	m, CH ₃	6H

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 155,3 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 131,4 ppm	C _q (aromatisch)	1C
δ = 124,1 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 117,9 ppm	CH (aromatisch)	1C

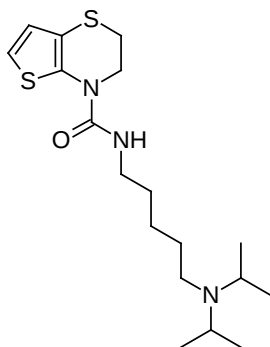
$\delta = 114,5$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 53,9$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 53,6$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 43,8$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 41,8$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 28,7$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 26,3$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 25,6$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 20,8$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 14,1$ ppm	CH ₃	2C

MS

m/z =	369 (M ⁺ ; < 0,1 %)
	213 (100 %)
	157 (21 %)
	142 (19 %)
	114 (13 %)
	44 (10 %)

CHN-Analyse

Berechnet:	C 58,50 %; H 8,45 %; N 11,37 %
Gefunden:	C 58,36 %; H 8,40 %; N 11,30 %

***N*4-[5-(Diisopropylamino)pentyl]-3,4-dihydro-2H-thieno[3,2-][1,4]thiazin-4-carboxamid (23)**

Molekulargewicht: 369,59 g/mol
 Schmelzpunkt: -
 Farbe: gelb

Summenformel: C₁₈H₃₁N₃OS₂
 Physikal. Form: Öl
 Ausbeute: 0,34 g; 91,9 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode A aus 1 mmol (0,32 g) der Verbindung **15** und 2 mmol (0,37 g; 0,44 ml) 5-(Diisopropylamino)amylamin. Reaktionsbedingungen: 60°C für 3,5 Stunden. Als Laufmittel wird EtOAc/TEA (9,5 + 0,5) verwendet.

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

$\delta = 6,94$ ppm	AB-System, A-Teil ($J_{AB} = 5,7$ Hz)	1H
$\delta = 6,70$ ppm	AB-System, B-Teil ($J_{AB} = 5,7$ Hz)	1H
$\delta = 5,23-6,82$ ppm	m, NH	1H

$\delta = 3,92-4,09$ ppm	m, CH_2	2H
$\delta = 3,21-3,38$ ppm	m, CH_2	2H
$\delta = 3,07-3,18$ ppm	m, CH_2	2H
$\delta = 2,88-3,07$ ppm	m, CH_2	2H
$\delta = 2,29-2,48$ ppm	m, CH_2	2H
$\delta = 1,22-1,66$ ppm	m, CH_2	6H
$\delta = 0,99$ ppm	d, CH_3 ($J = 6,4$ Hz)	12H

 ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 50 MHz)

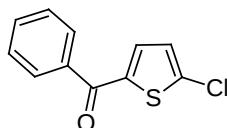
$\delta = 155,1$ ppm	R_2NCONHR	1C
$\delta = 130,5$ ppm	C_q (aromatisch)	1C
$\delta = 124,9$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 118,6$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 117,7$ ppm	C_q (aromatisch)	1C
$\delta = 48,4$ ppm	CH	2C
$\delta = 45,1$ ppm	CH_2	1C
$\delta = 42,7$ ppm	CH_2	1C
$\delta = 41,2$ ppm	CH_2	1C
$\delta = 31,1$ ppm	CH_2	1C
$\delta = 29,8$ ppm	CH_2	1C
$\delta = 26,6$ ppm	CH_2	1C
$\delta = 24,7$ ppm	CH_2	1C
$\delta = 20,6$ ppm	CH_3	4C

MS

m/z =	369 (M^+ ; 0,13 %)
	354 (13 %)
	213 (80 %)
	157 (13 %)
	114 (100 %)
	72 (19 %)
	43 (20 %)

CHN-Analyse

Berechnet:	C 58,50 %; H 8,45 %; N 11,37 %
Gefunden:	C 58,56 %; H 8,34 %; N 11,26 %

2-Benzoyl-5-chlorthiophen (25) (Puschmann *et* Erker, 1995)

Molekulargewicht: 222,69 g/mol
 Schmelzpunkt: 56-59°C (Lit.: 55-56,5°C)
 Farbe: weiß

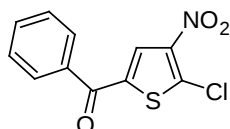
Summenformel: $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{ClOS}$
 Physikal. Form: kristallin
 Ausbeute: 8,8 g; 79,3 %

Synthese

52 mmol (6,9 g) AlCl_3 werden in 25 ml CH_2Cl_2 suspendiert und auf etwa 10°C gekühlt. Anschließend werden 52 mmol (7,3 g; 6,0 ml) Benzoylchlorid zugegeben.

Nach 10-minütigem Rühren wird die Reaktionslösung auf 0° - 5°C abgekühlt und 50 mmol (5,9 g; 4,6 ml) 2-Chlorthiophen zugesetzt. Der Ansatz wird für zwei Stunden bei etwa 15°C gerührt. Danach wird auf Eiswasser gegossen und anschließend mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert. Der erhaltene Rückstand wird durch Umkristallisation in Ethanol aufgereinigt.

5-Benzoyl-2-chlor-3-nitrothiophen (26) (Puschmann et Erker, 1995)



Molekulargewicht: 267,69 g/mol

Schmelzpunkt: 111-115°C (Lit.: 110-112°C)

Farbe: weiß

Summenformel: C₁₁H₆ClNO₃S

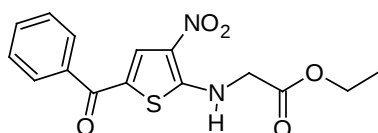
Physikal. Form: kristallin

Ausbeute: 6,7 g; 62,6 %

Synthese

Zu 40 mmol (8,9 g) der Verbindung **25** wird eine Mischung (gekühlt auf 0°C), bestehend aus 6 ml 65%iger Salpetersäure und 12 ml konzentrierter Schwefelsäure, unter Kühlung so zugetropft, dass die Innentemperatur 10°C nicht überschreitet. Das Rühren muss bei diesem Nitrierungsansatz händisch erfolgen, da die Substanz mit Nitriersäure eine feste Paste ergibt. Nach vollständigem Zutropfen wird für eine halbe Stunde unter Kühlung weitergerührt. Anschließend werden 300 ml Eiswasser zugesetzt. Nach 30 Minuten Rühren wird der entstandene Niederschlag abgenutscht und in Ethanol umkristallisiert.

(5-Benzoyl-3-nitro-2-thienyl)aminoessigsäureethylester (27) (Erker et Trinkl, 2002)



Molekulargewicht: 334,35 g/mol

Schmelzpunkt: 133-135°C (Lit.: 127°C)

Farbe: gelb

Summenformel: C₁₅H₁₄N₂O₅S

Physikal. Form: kristallin

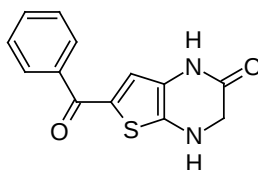
Ausbeute: 4,5 g; 67,2 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode C unter Verwendung von 30 mmol (4,2 g) Glycinethylester Hydrochlorid.

In Bezug auf die allgemeine Synthesemethoden C gibt es zur Darstellung von Verbindung **27** Änderungen bei der Reaktionsdauer und Aufarbeitung. Die Reaktionsdauer beträgt vier Stunden. Die Reaktionslösung wird auf Eiswasser gegossen, der entstandene Niederschlag abgenutscht und in Ethanol umkristallisiert.

6-Benzoyl-3,4-dihydrothieno[2,3-b]-pyrazin-2(1H)-on (28) (Erker et Trinkl, 2002)



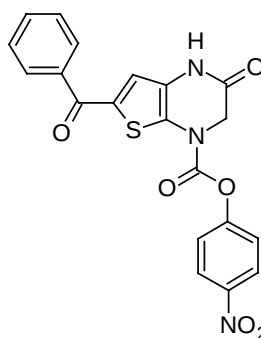
Molekulargewicht: 258,30 g/mol
Schmelzpunkt: 215-217°C (Lit.: 215°C)
Farbe: gelb

Summenformel: C₁₃H₁₀N₂O₂S
Physikal. Form: amorph
Ausbeute: 3,6 g; 92,3 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode D unter Verwendung von 15 mmol (5,0 g) der Verbindung **27**.

6-Benzoyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carbonsäure-4-nitrophenylester (31)



Molekulargewicht: 423,40 g/mol
Schmelzpunkt: 249-251°C
Farbe: gelb

Summenformel: C₂₀H₁₃N₃O₆S
Physikal. Form: amorph
Ausbeute: 3,8 g; 64,4 %

Synthese

14 mmol (3,6 g) der Verbindung **28** und 14 mmol (1,4 g; 1,9 ml) TEA werden in 50 ml trockenem 1,4-Dioxan suspendiert. Nach 10-minütigem Rühren werden 16 mmol (3,2 g) 4-Nitrophenylchloroformat zugesetzt. Die Reaktionsmischung wird für drei Tage bei 50°C unter Argonatmosphäre gerührt. Anschließend wird der in der Reaktionslösung entstandene Niederschlag abgenutscht und in Methanol umkristallisiert.

¹H-NMR (d₆-DMSO, 200 MHz)

δ = 10,83 ppm	s, br, NH	1H
δ = 8,27-8,52 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,51-7,89 ppm	m, CH (aromatisch)	7H
δ = 7,18 ppm	s, CH (Thiophen)	1H
δ = 4,74 ppm	s, CH ₂	2H

¹³C-NMR (d₆-DMSO, 50 MHz)

δ = 186,9 ppm	C=O	1C
δ = 162,6 ppm	CONHR	1C
δ = 154,9 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 150,0 ppm	NCOOR	1C
δ = 145,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 137,5 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,8 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 131,8 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 128,7 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,4 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 125,4 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 125,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 123,3 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 122,9 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 48,2 ppm	CH ₂	1C

1 Cq nicht detektierbar

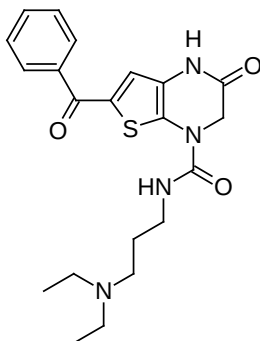
MS

m/z =	423 (M ⁺ , 11 %)
	256 (21 %)
	157 (22 %)
	105 (100 %)
	86 (93 %)
	77 (82 %)
	57 (47 %)
	43 (39 %)

CHN-Analyse

Berechnet:	C 56,73 %; H 3,09 %; N 9,92 %
Gefunden:	C 56,38 %; H 3,04 %; N 9,69 %

***N*4-[3-(Diethylamino)propyl]-6-benzoyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno [2,3-*b*]pyrazin-4-carboxamid (32)**



Molekulargewicht: 414,52 g/mol
 Schmelzpunkt: 94-97°C (Ethanol)
 Farbe: rot

Summenformel: C₂₁H₂₆N₄O₃S
 Physikal. Form: kristallin
 Ausbeute: 0,28 g; 67,5 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode E aus 1 mmol (0,42 g) der Verbindung **31** und 1,5 mmol (0,20 g; 0,24 ml) N,N-Diethyl-1,3-propandiamin. Die Reinigung erfolgt mittels Säulenchromatographie (EtOAc/MeOH/TEA 8+1+1) und Umkristallisation der Verbindung **32** in Ethanol.

Die Verbindung enthält nach der Umkristallisation 1 mol Ethanol.

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 8,52 ppm	s, br, NH	1H
δ = 7,72-7,91 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,38-7,61 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,23 ppm	s, CH (Thiophen)	1H
δ = 4,32 ppm	s, CH ₂	2H
δ = 3,72 ppm	q, CH ₂ (Ethanol) (J = 7,0 Hz)	2H
δ = 3,39-3,60 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,50-2,77 ppm	m, CH ₂	6H
δ = 1,65-1,85 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 1,24 ppm	t, CH ₃ (Ethanol) (J = 7,0 Hz)	3H
δ = 1,07 ppm	t, CH ₃ (J = 7,1 Hz)	6H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,6 ppm	C=O	1C
δ = 163,0 ppm	CONHR	1C
δ = 153,7 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 138,5 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,7 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 131,1 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 128,8 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,3 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 122,1 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 121,7 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 58,4 ppm	CH ₂ (Ethanol)	1C
δ = 53,3 ppm	CH ₂	1C
δ = 47,8 ppm	CH ₂	1C
δ = 46,5 ppm	CH ₂	2C
δ = 42,8 ppm	CH ₂	1C
δ = 24,1 ppm	CH ₂	1C
δ = 18,4 ppm	CH ₃ (Ethanol)	1C
δ = 10,9 ppm	CH ₃	2C

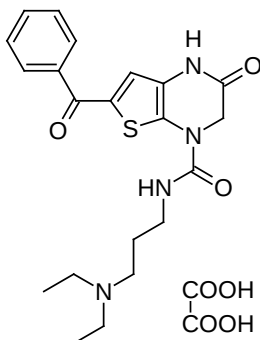
MS

m/z =	414 (M ⁺ ; 0,1 %)
	258 (53 %)
	229 (26 %)
	157 (36 %)
	105 (40 %)
	86 (100 %)
	77 (42 %)

CHN-Analyse

Berechnet (x 1 mol C₂H₆O): C 59,98 %; H 7,00 %; N 12,16 %
 Gefunden: C 60,01 %; H 6,65 %; N 12,32 %

N4-[3-(Diethylamino)propyl]-6-benzoyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid Oxalat (32ox)



Molekulargewicht: 504,56 g/mol
 Schmelzpunkt: 208-210°C
 Farbe: gelb

Summenformel: C₂₃H₂₈N₄O₇S
 Physikal. Form: amorph
 Ausbeute: 0,23 g; 91,3 %

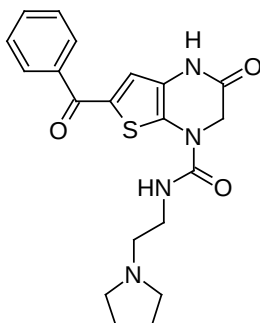
Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,21 g) der Verbindung **32** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet: C 54,75 %; H 5,59 %; N 11,10 %
 Gefunden: C 54,46 %; H 5,54 %; N 10,87 %

N4-(2-Pyrrolidinoethyl)-6-benzoyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (33)



Molekulargewicht: 398,48 g/mol
 Schmelzpunkt: 217-219°C
 Farbe: gelb

Summenformel: C₂₀H₂₂N₄O₃S
 Physikal. Form: kristallin
 Ausbeute: 0,20 g; 50,3 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode E aus 1 mmol (0,42 g) der Verbindung **31** und 1,5 mmol (0,17 g; 0,19 ml) 1-(2-Aminoethyl)pyrrolidin. Umkristallisation der Verbindung **33** in Methanol.

¹H-NMR (d₆-DMSO, 200 MHz)

δ = 10,62 ppm	s, br, NH	1H
δ = 7,63-7,80 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,48-7,63 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,29-7,48 ppm	m, NH	1H
δ = 7,07 ppm	s, CH (Thiophen)	1H
δ = 4,42 ppm	s, CH ₂	2H
δ = 3,13-3,32 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 1,47-1,87 ppm	m, CH ₂	4H

3 CH₂-Gruppen nicht erkennbar; werden von LM-Peak überlagert.

¹³C-NMR (d₆-DMSO, 50 MHz)

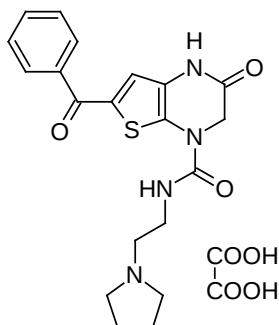
δ = 186,7 ppm	C=O	1C
δ = 162,5 ppm	CONHR	1C
δ = 153,7 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 138,3 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,9 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,7 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 129,3 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 128,5 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,2 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 122,8 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 122,7 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 55,0 ppm	CH ₂	1C
δ = 53,7 ppm	CH ₂	2C
δ = 47,6 ppm	CH ₂	1C
δ = 39,8 ppm	CH ₂	1C
δ = 23,2 ppm	CH ₂	2C

MS

m/z =	398 (M ⁺ ; nicht detektierbar)
	258 (15 %)
	141 (100 %)
	84 (44 %)
	77 (14 %)

HR-MS

Berechnet für C ₂₀ H ₂₂ N ₄ O ₃ S + H ⁺ :	399,1491
Gefunden:	399,1511

N4-(2-Pyrrolidinoethyl)-6-benzoyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid Oxalat (33ox)

Molekulargewicht: 488,51 g/mol
 Schmelzpunkt: 174-177°C
 Farbe: gelb

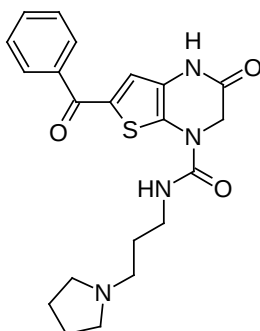
Summenformel: $C_{22}H_{24}N_4O_7S$
 Physikal. Form: amorph
 Ausbeute: 0,16 g; 65,6 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,15 g) der Verbindung **33** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet:	C 54,09 %; H 4,95 %; N 11,47 %
Gefunden:	C 53,99 %; H 4,92 %; N 11,52 %

N4-(3-Pyrrolidinopropyl)-6-benzoyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (34)

Molekulargewicht: 412,51 g/mol
 Schmelzpunkt: 166-168°C
 Farbe: gelb

Summenformel: $C_{21}H_{24}N_4O_3S$
 Physikal. Form: kristallin
 Ausbeute: 0,25 g; 60,5 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode E aus 1 mmol (0,42 g) der Verbindung **31** und 1,5 mmol (0,19 g; 0,19 ml) 1-(3-Aminopropyl)pyrrolidin. Die Reinigung erfolgt mittels Säulenchromatographie (EtOAc/MeOH/TEA 6+2+2) und Umkristallisation der Verbindung **34** in Ethanol.

¹H-NMR (d₆-DMSO, 200 MHz)

δ = 10,61 ppm	s, br, NH	1H
δ = 7,47-7,89 ppm	m, CH (aromatisch) + NH	6H
δ = 7,06 ppm	s, CH (Thiophen)	1H
δ = 4,39 ppm	s, CH₂	2H
δ = 3,11-3,32 ppm	m, CH₂	2H
δ = 2,31-2,47 ppm	m, CH₂	4H
δ = 1,56-1,90 ppm	m, CH₂	6H

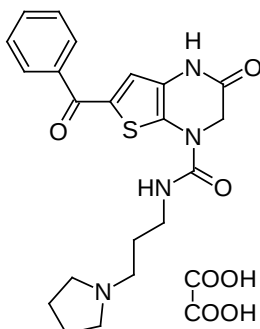
1 **CH₂**-Gruppe nicht erkennbar; wird von LM-Peak überlagert.

¹³C-NMR (d₆-DMSO, 50 MHz)

δ = 186,7 ppm	C=O	1C
δ = 162,5 ppm	CONHR	1C
δ = 153,6 ppm	R₂NCONHR	1C
δ = 138,4 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,9 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,6 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 129,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 128,5 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,2 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 122,8 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 122,6 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 53,6 ppm	CH₂	1C
δ = 53,6 ppm	CH₂	2C
δ = 47,5 ppm	CH₂	1C
δ = 39,6 ppm	CH₂	1C
δ = 27,8 ppm	CH₂	1C
δ = 23,0 ppm	CH₂	2C

MS

m/z =	412 (M⁺ ; nicht detektierbar)
	258 (97 %)
	229 (43 %)
	155 (19 %)
	105 (27 %)
	84 (100 %)
	77 (38 %)

N4-(3-Pyrrolidinopropyl)-6-benzoyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid Oxalat (34ox)

Molekulargewicht: 502,54 g/mol
 Schmelzpunkt: 192-196°C
 Farbe: gelb

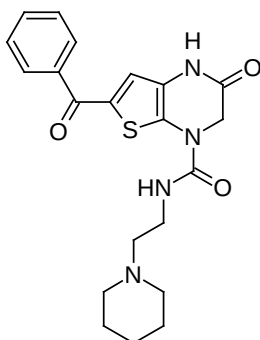
Summenformel: C₂₃H₂₆N₄O₇S
 Physikal. Form: amorph
 Ausbeute: 0,19 g; 75,7 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,21 g) der Verbindung **34** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet:	C 54,97 %; H 5,21 %; N 11,15 %
Gefunden:	C 55,15 %; H 5,27 %; N 11,25 %

N4-(2-Piperidinoethyl)-6-benzoyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (35)

Molekulargewicht: 412,51 g/mol
 Schmelzpunkt: 194-197°C
 Farbe: gelb

Summenformel: C₂₁H₂₄N₄O₃S
 Physikal. Form: kristallin
 Ausbeute: 0,30 g; 72,6 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode E aus 1 mmol (0,42 g) der Verbindung **31** und 1,5 mmol (0,19 g; 0,21 ml) 1-(2-Aminoethyl)piperidin. Umkristallisation der Verbindung **35** in Ethanol.

¹H-NMR (d₆-DMSO, 200 MHz)

δ = 10,60 ppm	s, br, NH	1H
δ = 7,63-7,79 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,46-7,63 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,23-7,42 ppm	m, NH	1H
δ = 7,07 ppm	s, CH (Thiophen)	1H
δ = 4,41 ppm	s, CH ₂	2H
δ = 3,12-3,31 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,21-2,44 ppm	m, CH ₂	6H
δ = 1,28-1,59 ppm	m, CH ₂	6H

¹³C-NMR (d₆-DMSO, 50 MHz)

δ = 186,7 ppm	C=O	1C
δ = 162,5 ppm	CONHR	1C
δ = 153,7 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 138,3 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,8 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,6 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 129,3 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 128,5 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,2 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 122,8 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 122,7 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 57,8 ppm	CH ₂	1C
δ = 54,1 ppm	CH ₂	2C
δ = 47,6 ppm	CH ₂	1C
δ = 38,1 ppm	CH ₂	1C
δ = 25,6 ppm	CH ₂	2C
δ = 24,0 ppm	CH ₂	1C

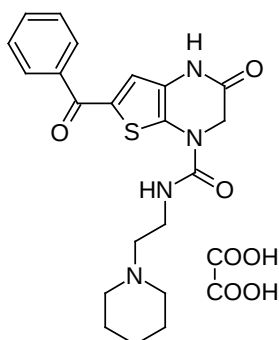
MS

m/z =	412 (M ⁺ ; nicht detektierbar)
	258 (25 %)
	229 (12 %)
	155 (33 %)
	98 (100 %)
	77 (16 %)

HR-MS

Berechnet für C ₂₁ H ₂₄ N ₄ O ₃ S + H ⁺ :	413,1647
Gefunden:	413,1659

N4-(2-Piperidinoethyl)-6-benzoyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid Oxalat (35ox)



Molekulargewicht: 502,54 g/mol
Schmelzpunkt: 188-192°C
Farbe: gelb

Summenformel: C₂₃H₂₆N₄O₇S
Physikal. Form: amorph
Ausbeute: 0,17 g; 67,7 %

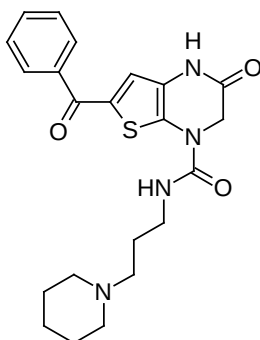
Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,21 g) der Verbindung **35** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet: C 54,97 %; H 5,21 %; N 11,15 %
Gefunden: C 55,09 %; H 5,31 %; N 11,22 %

N4-(3-Piperidinopropyl)-6-benzoyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (36)



Molekulargewicht: 426,53 g/mol
Schmelzpunkt: 114-118°C (Ethanol)
Farbe: gelb

Summenformel: C₂₂H₂₆N₄O₃S
Physikal. Form: kristallin
Ausbeute: 0,24 g; 56,2 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode E aus 1 mmol (0,42 g) der Verbindung **31** und 1,5 mmol (0,21 g; 0,23 ml) 1-(3-Aminopropyl)piperidin. Die Reinigung erfolgt mittels Säulenchromatographie (EtOAc/MeOH/TEA 8+1+1) und Umkristallisation der Verbindung **36** in Ethanol.

Die Verbindung enthält nach der Umkristallisation 1 mol Ethanol.

¹H-NMR (d₆-DMSO, 200 MHz)

δ = 10,62 ppm	s, br, NH	1H
δ = 7,42-7,85 ppm	m, CH (aromatisch) + NH	6H
δ = 7,07 ppm	s, CH (Thiophen)	1H
δ = 4,42 ppm	s, CH₂	2H
δ = 3,37-3,59 ppm	m, CH₂ (Ethanol)	2H
δ = 3,08-3,29 ppm	m, CH₂	2H
δ = 2,15-2,43 ppm	m, CH₂	6H
δ = 1,29-1,77 ppm	m, CH₂	8H
δ = 0,08-1,20 ppm	m, CH₃ (Ethanol)	3H

¹³C-NMR (d₆-DMSO, 50 MHz)

δ = 186,7 ppm	C=O	1C
δ = 162,5 ppm	CONHR	1C
δ = 153,7 ppm	R₂NCONHR	1C
δ = 138,4 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,9 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,6 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 129,1 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 128,5 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,2 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 122,8 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 122,6 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 56,5 ppm	CH₂	1C
δ = 56,0 ppm	CH₂ (Ethanol)	1C
δ = 54,1 ppm	CH₂	2C
δ = 47,7 ppm	CH₂	1C
δ = 26,1 ppm	CH₂	1C
δ = 25,6 ppm	CH₂	2C
δ = 24,2 ppm	CH₂	1C
δ = 18,6 ppm	CH₃ (Ethanol)	1C

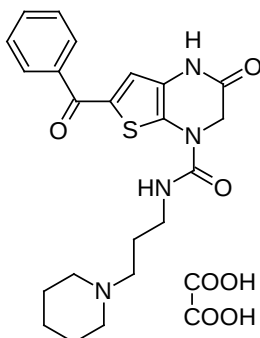
1 CH₂-Gruppe nicht detektierbar

MS

m/z =	426 (M ⁺ ; nicht detektierbar)
	258 (95 %)
	229 (44 %)
	169 (19 %)
	105 (32 %)
	98 (100 %)
	84 (25 %)
	77 (48 %)

HR-MS

Berechnet für C ₂₂ H ₂₆ N ₄ O ₃ S + H ⁺ :	427,1804
Gefunden:	427,1803

N4-(3-Piperidinopropyl)-6-benzoyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid Oxalat (36ox)

Molekulargewicht: 516,57 g/mol
 Schmelzpunkt: 163-167°C
 Farbe: gelb

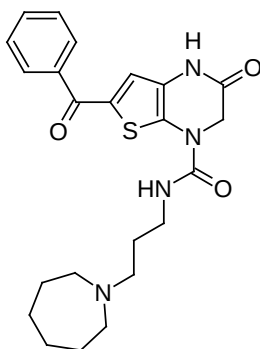
Summenformel: C₂₄H₂₈N₄O₇S
 Physikal. Form: amorph
 Ausbeute: 0,21 g; 81,4 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,21 g) der Verbindung **36** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet: C 55,80 %; H 5,46 %; N 10,85 %
 Gefunden: C 55,44 %; H 5,49 %; N 10,64 %

N4-[3-(1-Azepanyl)propyl]-6-benzoyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (37)

Molekulargewicht: 440,56 g/mol
 Schmelzpunkt: 166-169°C
 Farbe: gelb

Summenformel: C₂₃H₂₈N₄O₃S
 Physikal. Form: kristallin
 Ausbeute: 0,35 g; 79,4 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode E aus 1 mmol (0,42 g) der Verbindung **31** und 1,5 mmol (0,23 g; 0,25 ml) 3-(1-Azepanyl)-1-propanamin. Die Reinigung erfolgt mittels Säulenchromatographie (EtOAc/MeOH/TEA 8+1+1) und Umkristallisation der Verbindung **37** in Ethanol.

¹H-NMR (d₆-DMSO, 200 MHz)

δ = 10,61 ppm	s, br, NH	1H
δ = 7,66-7,80 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,31-7,66 ppm	m, CH (aromatisch) + NH	4H
δ = 7,07 ppm	s, CH (Thiophen)	1H
δ = 4,42 ppm	s, CH ₂	2H
δ = 3,07-3,29 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,33-2,69 ppm	m, CH ₂	6H
δ = 1,42-1,74 ppm	m, CH ₂	10H

¹³C-NMR (d₆-DMSO, 50 MHz)

δ = 186,7 ppm	C=O	1C
δ = 162,5 ppm	CONHR	1C
δ = 153,7 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 138,3 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,0 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,6 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 129,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 128,5 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,2 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 122,8 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 122,6 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 55,1 ppm	CH ₂	1C
δ = 54,9 ppm	CH ₂	2C
δ = 47,6 ppm	CH ₂	1C
δ = 39,2 ppm	CH ₂	1C
δ = 27,9 ppm	CH ₂	2C
δ = 27,2 ppm	CH ₂	1C
δ = 26,6 ppm	CH ₂	2C

MS

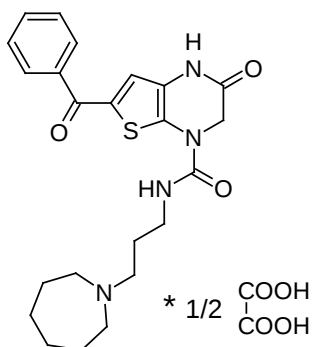
m/z =	440 (M ⁺ ; nicht detektierbar)
	258 (94 %)
	229 (43 %)
	112 (100 %)
	105 (23 %)
	84 (32 %)
	77 (40 %)

HR-MS

Berechnet für C ₂₃ H ₂₈ N ₄ O ₃ S+ H ⁺ :	441,1960
Gefunden:	441,1965

CHN-Analyse

Berechnet:	C 62,70 %; H 6,41 %; N 12,72 %
Gefunden:	C 62,51 %; H 6,18 %; N 12,51 %

N4-[3-(1-Azepanyl)propyl]-6-benzoyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid Hemioxalat (37hox)

Molekulargewicht: 485,58 g/mol
 Schmelzpunkt: 205-208°C
 Farbe: gelb

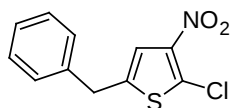
Summenformel: C₂₄H₂₉N₄O₅S
 Physikal. Form: amorph
 Ausbeute: 0,20 g; 82,3 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,22 g) der Verbindung **37** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet (x 0,5 mol H₂O): C 58,28 %; H 6,11 %; N 11,33 %
 Gefunden: C 58,29 %; H 5,78 %; N 11,13 %

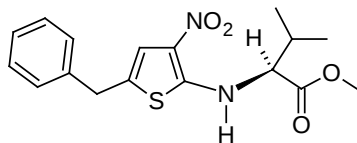
5-Benzyl-2-chlor-3-nitrothiophen (38) (Puschmann et Erker, 1995)

Molekulargewicht: 253,71 g/mol
 Schmelzpunkt: 41-43°C (Lit.: 41,5-42°C)
 Farbe: gelb

Summenformel: C₁₁H₈ClNO₂S
 Physikal. Form: kristallin
 Ausbeute: 72,9 %

Synthese

Die Substanz wird nach der literaturbekannten Synthesevorschrift (Puschmann et Erker, 1995) synthetisiert.

(2S)-2-[(5-Benzyl-3-nitro-2-thienyl)-amino]-3-methylbuttersäure-methylester (39)

Molekulargewicht: 348,42 g/mol

Schmelzpunkt: -

Farbe: gelb

Summenformel: C₁₇H₂₀N₂O₄S

Physikal. Form: Öl

Ausbeute: 0,11 g; 12,6 %

Synthese

In einem ausgeheizten Dreihalskolben werden 5 mmol (0,84 g) L-Valinmethylester Hydrochlorid und 10 mmol (1,4 g) frisch geglühtes K₂CO₃ in 20 ml Acetonitril (HPLC-rein) suspendiert. Nach 10-minütigem Rühren werden 2,5 mmol (0,63 g) der Verbindung **38** zugesetzt und die Reaktionsmischung für vier Tage bei 70°C unter Argonatmosphäre gerührt. Anschließend wird das überschüssige K₂CO₃ abfiltriert und das Filtrat einrotiert. Der verbleibende Rückstand wird in CH₂Cl₂ aufgenommen und mit H₂O und gesättigter NaCl-Lösung ausgeschüttelt. Die organische Phase wird getrocknet, einrotiert und mittels Säulenchromatographie (PE/EtOAc (9+1)) aufgereinigt.

Der Drehwert dieser Verbindung wurde nicht bestimmt.

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 8,74 ppm	d, br, NH (J = 9,0 Hz)	1H
δ = 7,15-7,43 ppm	m, CH (aromatisch)	5H
δ = 6,94-7,03 ppm	m, CH (aromatisch)	1H
δ = 3,89 ppm	s, CH ₂	2H
δ = 3,78-3,85 ppm	m, CH	1H
δ = 3,76 ppm	s, CH ₃	3H
δ = 2,20-2,42 ppm	m, CH	1H
δ = 1,05 ppm	d, CH ₃ (J = 4,2 Hz)	3H
δ = 1,01 ppm	d, CH ₃ (J = 4,2 Hz)	3H

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 170,2 ppm	COOR	1C
δ = 160,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 138,1 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 128,8 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,6 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 127,1 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 125,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 119,0 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 66,5 ppm	CH	1C
δ = 52,6 ppm	CH ₃	1C
δ = 36,1 ppm	CH ₂	1C
δ = 31,7 ppm	CH	1C
δ = 19,0 ppm	CH ₃	1C
δ = 18,0 ppm	CH ₃	1C

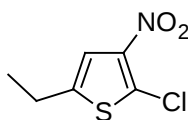
1 Cq nicht detektierbar

MS

m/z =	348 (M ⁺ ; 100 %)
	289 (40 %)
	254 (35 %)
	140 (32 %)
	115 (36 %)
	91 (30 %)

CHN-Analyse

Berechnet:	C 58,60 %; H 5,79 %; N 8,04 %
Gefunden:	C 58,87 %; H 5,55 %; N 7,90 %

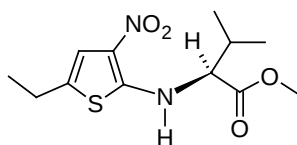
2-Chlor-5-ethyl-3-nitrothiophen (40) (Trinkl, 1999)

Molekulargewicht: 191,64 g/mol
 Schmelzpunkt: -
 Farbe: gelb

Summenformel: C₆H₆ClNO₂S
 Physikal. Form: Öl
 Ausbeute: 76,4 %

Synthese

Die Substanz wird nach der literaturbekannten Synthesevorschrift (Trinkl, 1999) synthetisiert.

(2S)-2-[(5-Ethyl-3-nitro-2-thienyl)-amino]-3-methylbuttersäure-methylester (41)

Molekulargewicht: 286,35 g/mol
 Schmelzpunkt: -
 Farbe: gelb

Summenformel: C₁₂H₁₈N₂O₄S
 Physikal. Form: Öl
 Ausbeute: 0,10 g *

* Es konnte nur eine Produktmischung bestehend aus Verbindung **41** und Verbindung **42** erhalten werden (Verhältnis ca. 1:4).

Synthese

Die Darstellung erfolgt analog zur Synthese von Verbindung **39** aus 5 mmol (0,84 g) L-Valinmethylester Hydrochlorid und 2,5 mmol (0,48 g) der Verbindung **40**.

Die fett gedruckten Werte geben die Signale der Verunreinigung mit Verbindung **42** an. Die Anzahl der H-Atome sowie C-Atome werden entsprechend der Verbindung **42** aufgerundet.

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

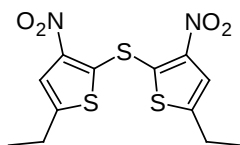
δ = 8,75 ppm	d, br, NH (J = 9,0 Hz)	1H
δ = 7,37-7,43 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 6,89-7,01 ppm	m, CH (aromatisch)	1H
δ = 3,86 ppm	dd, CH (J = 9,0 Hz; J = 9,0 Hz)	1H
δ = 3,80 ppm	s, CH ₃	3H
δ = 2,71-2,90 ppm	m, CH ₂	4H
δ = 2,50-2,70 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,22-2,48 ppm	m, CH	1H
δ = 1,18-1,43 ppm	m, CH ₃	3H
	m, CH ₃	6H
δ = 1,08 ppm	d, CH ₃ (J = 3,9 Hz)	3H
δ = 1,05 ppm	d, CH ₃ (J = 3,9 Hz)	3H

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 170,3 ppm	COOR	1C
δ = 159,7 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 149,0 ppm	Cq (aromatisch)	2C
δ = 127,9 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 125,7 ppm	Cq (aromatisch)	2C
δ = 120,7 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 117,1 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 66,5 ppm	CH	1C
δ = 52,6 ppm	CH ₃	1C
δ = 31,7 ppm	CH	1C
δ = 23,8 ppm	CH ₂	2C
δ = 23,1 ppm	CH ₂	1C
δ = 19,0 ppm	CH ₃	1C
δ = 18,0 ppm	CH ₃	1C
δ = 14,8 ppm	CH ₃	2C
δ = 14,5 ppm	CH ₃	1C

1 Cq nicht detektierbar

2 Cq (1 Signal) nicht detektierbar

2,2'-Sulfandiylbis(5-ethyl-3-nitrothiophen) (42)

Molekulargewicht: 344,43 g/mol

Schmelzpunkt: -

Farbe: gelb

Summenformel: C₁₂H₁₂N₂O₄S₃

Physikal. Form: Öl

Ausbeute: 0,08 g; 18,6 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt analog zur Synthese von Verbindung **39** aus 5 mmol (1,1 g) L-Phenylalaninmethylester Hydrochlorid und 2,5 mmol (0,48 g) der Verbindung **40**. Verkürzung der Reaktionsdauer auf drei Tage.

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,32-7,45 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 2,69-2,90 ppm	m, CH ₂	4H
δ = 1,31 ppm	t, CH ₃ (J = 7,5 Hz)	6H

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 149,0 ppm	Cq (aromatisch)	2C
δ = 120,7 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 23,8 ppm	CH ₂	2C
δ = 14,8 ppm	CH ₃	2C

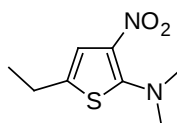
4 Cq (2 Signale) nicht detektierbar

MS

m/z =	344 (M ⁺ ; 24 %)
	172 (100 %)
	97 (23 %)
	73 (45 %)
	69 (35 %)
	53 (26 %)

HR-MS

Berechnet für C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₄ S ₃ + H ⁺ :	345,0037
Gefunden:	345,0027

5-Ethyl-N,N-dimethyl-3-nitrothiophen-2-amin (43)

Molekulargewicht: 200,26 g/mol
Schmelzpunkt: -
Farbe: gelb

Summenformel: C₈H₁₂N₂O₂S
Physikal. Form: Öl
Ausbeute: 0,20 g; 100 %

Synthese

1 mmol (0,19 g) der Verbindung **40** und 0,5 ml einer 2M Dimethylamin-Lösung (in THF) werden bei Raumtemperatur für zwei Stunden in absolutem THF unter Argonatmosphäre gerührt. Im Anschluss wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,05-7,12 ppm	m, CH (aromatisch)	1H
-------------------	--------------------	----

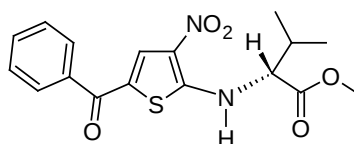
$\delta = 3,08$ ppm	s, CH_3	6H
$\delta = 2,56\text{-}2,74$ ppm	m, CH_2	2H
$\delta = 1,26$ ppm	t, CH_3 ($J = 7,5$ Hz)	3H

 ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 50 MHz)

$\delta = 161,3$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 129,9$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 119,7$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 45,3$ ppm	CH₃	2C
$\delta = 23,3$ ppm	CH₂	1C
$\delta = 14,7$ ppm	CH₃	1C

1 **Cq** nicht detektierbar**MS**

m/z =	200 (M^+ ; 42 %)
	176 (41 %)
	124 (92 %)
	74 (36 %)
	69 (74 %)
	53 (68 %)
	45 (55 %)
	42 (74 %)

(2R)-2-[(5-Benzoyl-3-nitro-2-thienyl)-amino]-3-methylbuttersäure-methylester (45)

Molekulargewicht: 362,40 g/mol
 Schmelzpunkt: -
 Farbe: gelb

Summenformel: $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$
 Physikal. Form: Öl
 Ausbeute: 5,5 g; 76,4 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode C unter Verwendung von 30 mmol (5,0 g) D-Valinmethylester Hydrochlorid. Als Laufmittel wird PE/EtOAc (7+3) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = + 26,0^\circ$ ($c = 0,5$; Chloroform)

 ^1H -NMR (CDCl_3 , 200 MHz)

$\delta = 8,97$ ppm	d, br, NH ($J = 9,0$ Hz)	1H
$\delta = 7,87$ ppm	s, CH (aromatisch)	1H
$\delta = 7,71\text{-}7,86$ ppm	m, CH (aromatisch)	2H
$\delta = 7,43\text{-}7,69$ ppm	m, CH (aromatisch)	3H
$\delta = 4,04$ ppm	dd, CH ($J = 9,0$ Hz; $J = 9,0$ Hz)	1H
$\delta = 3,84$ ppm	s, CH₃	3H
$\delta = 2,30\text{-}2,61$ ppm	m, CH	1H

$\delta = 1,00-1,29$ ppm m, CH₃ 6H

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

$\delta = 187,1$ ppm	C=O	1C
$\delta = 169,6$ ppm	COOR	1C
$\delta = 163,3$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 136,5$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 132,5$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 130,8$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 128,7$ ppm	CH (aromatisch)	2C
$\delta = 128,7$ ppm	CH (aromatisch)	2C
$\delta = 127,4$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 123,9$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 66,4$ ppm	CH	1C
$\delta = 52,9$ ppm	CH ₃	1C
$\delta = 31,6$ ppm	CH	1C
$\delta = 19,0$ ppm	CH ₃	1C
$\delta = 18,0$ ppm	CH ₃	1C

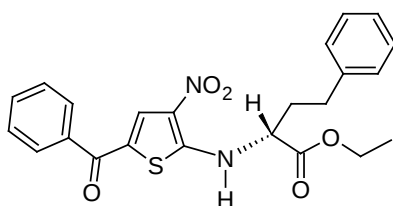
MS

m/z =	362 (M ⁺ ; 100 %)
	303 (88 %)
	268 (49 %)
	105 (79 %)
	77 (64 %)

CHN-Analyse

Berechnet:	C 56,34 %; H 5,01 %; N 7,73 %
Gefunden:	C 56,25 %; H 4,75 %; N 7,49 %

(2R)-2-[(5-Benzoyl-3-nitro-2-thienyl)-amino]-4-phenylbuttersäure-ethylester (46)



Molekulargewicht: 438,50 g/mol
Schmelzpunkt: -
Farbe: gelb

Summenformel: C₂₃H₂₂N₂O₅S
Physikal. Form: Öl
Ausbeute: 7,6 g; 86,4 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode C unter Verwendung von 30 mmol (7,3 g) D-Homophenylalaninethylester Hydrochlorid. Als Laufmittel wird PE/EtOAc (7,5+2,5) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = +14,5^\circ$ (c = 1; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 8,78-9,10 ppm	m, NH	1H
δ = 7,86 ppm	s, CH (aromatisch)	1H
δ = 7,71-7,82 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,41-7,69 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,09-7,40 ppm	m, CH (aromatisch)	5H
δ = 4,28 ppm	q, CH ₂ (J = 7,1 Hz)	2H
δ = 4,05-4,21 ppm	m, CH	1H
δ = 2,70-2,90 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,17-2,60 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 1,34 ppm	t, CH ₃ (J = 7,1 Hz)	3H

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

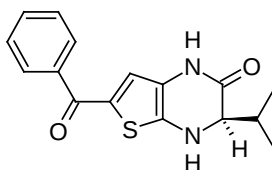
δ = 186,9 ppm	C=O	1C
δ = 169,5 ppm	COOR	1C
δ = 162,5 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 139,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 136,5 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,5 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 130,7 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,7 ppm	CH (aromatisch)	6C
δ = 128,4 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 127,4 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 126,6 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 124,1 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 62,5 ppm	CH ₂	1C
δ = 59,9 ppm	CH	1C
δ = 33,1 ppm	CH ₂	1C
δ = 31,4 ppm	CH ₂	1C
δ = 14,1 ppm	CH ₃	1C

MS

m/z =	438 (M ⁺ ; 27 %)
	365 (40 %)
	117 (14 %)
	105 (37 %)
	91 (100 %)
	77 (24 %)

HR-MS

Berechnet für C ₂₃ H ₂₂ N ₂ O ₅ S + H ⁺ :	439,1328
Gefunden:	439,1345

(3R)-6-Benzoyl-3-isopropyl-3,4-dihydrothieno[2,3-b]pyrazin-2(1H)-on (47)

Molekulargewicht: 300,38 g/mol
 Schmelzpunkt: 244-247°C
 Farbe: orange

Summenformel: C₁₆H₁₆N₂O₂S
 Physikal. Form: amorph
 Ausbeute: 4,2 g; 93,3 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode D aus 15 mmol (5,4 g) der Verbindung **45**.

$[\alpha]_D^{20} = -176,0^\circ$ (c = 0,25; DMSO)

¹H-NMR (d₆-DMSO, 200 MHz)

δ = 10,27 ppm	s, br, CONHR	1H
δ = 7,99 ppm	s, br, NH	1H
δ = 7,40-7,79 ppm	m, CH (aromatisch)	5H
δ = 6,88 ppm	s, CH (aromatisch)	1H
δ = 3,82-4,08 ppm	m, CH	1H
δ = 2,05-2,33 ppm	m, CH	1H
δ = 0,96 ppm	d, CH ₃ (J = 6,8 Hz)	3H
δ = 0,86 ppm	d, CH ₃ (J = 6,8 Hz)	3H

¹³C-NMR (d₆-DMSO, 50 MHz)

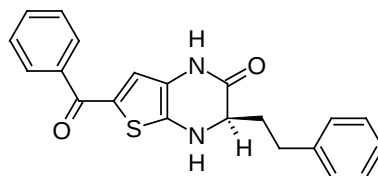
δ = 184,0 ppm	C=O	1C
δ = 164,1 ppm	CONHR	1C
δ = 145,8 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 138,9 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 130,8 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,4 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 127,9 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 124,3 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 121,3 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 119,8 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 61,8 ppm	CH	1C
δ = 31,9 ppm	CH	1C
δ = 18,6 ppm	CH ₃	1C
δ = 17,0 ppm	CH ₃	1C

MS

m/z =	300 (M ⁺ ; 24 %)
	257 (100 %)
	105 (30 %)
	77 (40 %)

CHN-Analyse

Berechnet:	C 63,98 %; H 5,37 %; N 9,33 %
Gefunden:	C 63,74 %; H 5,22 %; N 9,41 %

(3R)-6-Benzoyl-3-phenethyl-3,4-dihydrothieno[2,3-b]pyrazin-2(1H)-on (48)

Molekulargewicht: 362,44 g/mol
 Schmelzpunkt: 229-233°C
 Farbe: orange

Summenformel: C₂₁H₁₈N₂O₂S
 Physikal. Form: kristallin
 Ausbeute: 4,9 g; 90,7 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode D aus 15 mmol (6,6 g) der Verbindung **46**.

$$[\alpha]_D^{20} = -37,0^\circ \text{ (c = 0,5; DMSO)}$$

¹H-NMR (d₆-DMSO, 200 MHz)

δ = 10,28 ppm	s, br, CONHR	1H
δ = 8,05 ppm	s, br, NH	1H
δ = 7,39-7,85 ppm	m, CH (aromatisch)	5H
δ = 7,22 ppm	s, CH (aromatisch)	5H
δ = 6,93 ppm	s, CH (aromatisch)	1H
δ = 4,02 ppm	s, CH	1H
δ = 2,69 ppm	s, CH ₂	2H
δ = 1,97 ppm	s, CH ₂	2H

Aufgrund einer unzureichenden Auflösung sind keine Kopplungsmuster erkennbar.

¹³C-NMR (d₆-DMSO, 50 MHz)

δ = 184,3 ppm	C=O	1C
δ = 164,6 ppm	CONHR	1C
δ = 144,9 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 141,1 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 138,8 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,0 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,4 ppm	CH (aromatisch)	4C
δ = 128,3 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,0 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 126,0 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 124,5 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 122,3 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 120,6 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 55,9 ppm	CH	1C
δ = 34,3 ppm	CH ₂	1C

$\delta = 30,4$ ppm CH_2

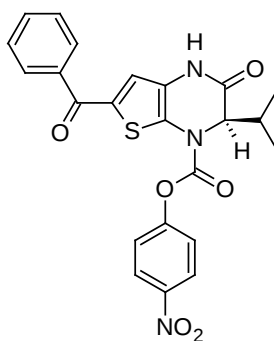
1C

MS

m/z =	362	(M^+ ; 42 %)
	257	(100 %)
	105	(34 %)
	91	(27 %)
	77	(35 %)

HR-MS

Berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2\text{S} + \text{H}^+$:	363,1167
Gefunden:	363,1185

(3R)-6-Benzoyl-3-isopropyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carbonsäure-4-nitrophenylester (49)

Molekulargewicht: 465,48 g/mol
 Schmelzpunkt: 110-113°C
 Farbe: gelb

Summenformel: $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$
 Physikal. Form: kristallin
 Ausbeute: 2,8 g; 59,6 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode F unter Verwendung von 10 mmol (3,0 g) der Verbindung **47**. Für die Flashchromatographie wird EtOAc/PE (5,5+4,5) als Laufmittel verwendet.

 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 200 MHz)

$\delta = 9,14$ - $9,69$ ppm	m, NH	1H
$\delta = 8,22$ - $8,48$ ppm	m, CH (aromatisch)	2H
$\delta = 7,75$ - $7,99$ ppm	m, CH (aromatisch)	2H
$\delta = 7,33$ - $7,72$ ppm	m, CH (aromatisch)	5H
$\delta = 7,27$ ppm	s, CH (aromatisch)	1H
$\delta = 4,74$ - $5,01$ ppm	m, CH	1H
$\delta = 1,97$ - $2,38$ ppm	m, CH	1H
$\delta = 0,90$ - $1,25$ ppm	m, CH_3	6H

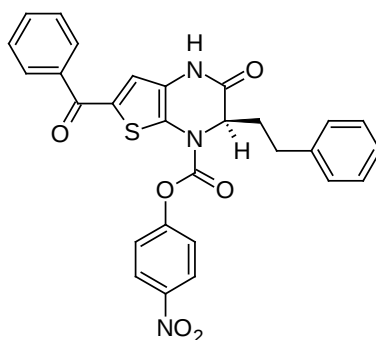
MS

m/z =	465	(M^+ ; 38 %)
	257	(78 %)
	122	(50 %)

105	(100 %)
77	(82 %)
55	(35 %)

Da diese Verbindung mittels Flashchromatographie nur grob aufgereinigt wurde, wurden die Bestimmung des Drehwertes sowie weitere Analysen nicht durchgeführt.

(3R)-6-Benzoyl-3-phenethyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carbonsäure-4-nitrophenylester (50)



Molekulargewicht: 527,55 g/mol
Schmelzpunkt: 98-101°C
Farbe: gelb

Summenformel: C₂₈H₂₁N₃O₆S
Physikal. Form: kristallin
Ausbeute: 3,4 g; 64,2 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode F unter Verwendung von 10 mmol (3,6 g) der Verbindung **48**. Für die Flashchromatographie wird PE/EtOAc (5,5+4,5) als Laufmittel verwendet.

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

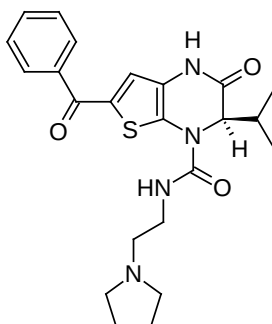
δ = 8,82-9,70 ppm	m, NH	1H
δ = 8,19-8,46 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,76-7,99 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,38-7,73 ppm	m, CH (aromatisch)	4H
δ = 7,05-7,38 ppm	m, CH (aromatisch)	7H
δ = 5,07-5,38 ppm	m, CH	1H
δ = 2,68-3,00 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 1,98-2,52 ppm	m, CH ₂	2H

MS

m/z =	527 (M ⁺ ; 21 %)
	257 (68 %)
	105 (86 %)
	91 (100 %)
	77 (62 %)
	65 (37 %)
	55 (28 %)

Da diese Verbindung mittels Flashchromatographie nur grob aufgereinigt wurde, wurden die Bestimmung des Drehwertes sowie weitere Analysen nicht durchgeführt.

N4-(2-Pyrrolidinoethyl)-(3R)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (51)



Molekulargewicht: 440,56 g/mol
Schmelzpunkt: 111-114°C
Farbe: gelb

Summenformel: C₂₃H₂₈N₄O₃S
Physikal. Form: kristallin
Ausbeute: 0,22 g; 49,9 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,47 g) der Verbindung **49** und 1,2 mmol (0,14 g; 0,15 ml) 1-(2-Aminoethyl)pyrrolidin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = -25,0^\circ$ (c = 0,5; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,70-7,93 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,33-7,62 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 6,91-7,24 ppm	m, CH (aromatisch) + NH	2H
δ = 4,48 ppm	d, CH (J = 8,2 Hz)	1H
δ = 3,61-3,89 ppm	m, CH ₂	1H
δ = 3,20-3,47 ppm	m, CH ₂	1H
δ = 2,90-3,12 ppm	m, CH ₂	1H
δ = 2,51-2,90 ppm	m, CH ₂	5H
δ = 1,63-2,14 ppm	m, CH + CH ₂	5H
δ = 0,75-1,18 ppm	m, CH ₃	6H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,5 ppm	C=O	1C
δ = 166,7 ppm	CONHR	1C
δ = 155,4 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 138,4 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,8 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,6 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,7 ppm	CH (aromatisch)	1C

$\delta = 128,7$ ppm	CH (aromatisch)	2C
$\delta = 128,3$ ppm	CH (aromatisch)	2C
$\delta = 123,5$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 122,1$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 65,1$ ppm	CH	1C
$\delta = 55,4$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 53,5$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 39,5$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 31,1$ ppm	CH	1C
$\delta = 23,3$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 18,9$ ppm	CH ₃	1C
$\delta = 18,6$ ppm	CH ₃	1C

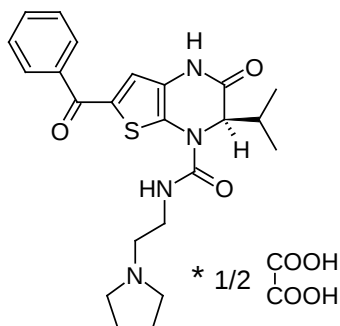
HR-MS

Berechnet für C₂₃H₂₈N₄O₃S + H⁺: 441,1960
 Gefunden: 441,1979

HPLC

Elutionsmittel: 50:50 – MeOH:H₂O
 Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)
 Flussrate: 0,8 ml/1 min.
 Retentionszeit: 8,32 min.

N4-(2-Pyrrolidinoethyl)-(3R)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid Hemioxalat (51hox)



Molekulargewicht: 485,58 g/mol
 Schmelzpunkt: 182-185°C
 Farbe: gelb

Summenformel: C₂₄H₂₉N₄O₅S
 Physikal. Form: amorph
 Ausbeute: 0,13 g; 53,5 %

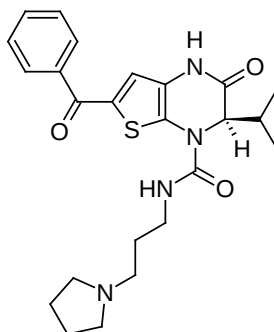
Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,22 g) der Verbindung **51** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet (x 1 mol H₂O): C 57,24 %; H 6,20 %; N 11,13 %
 Gefunden: C 57,31 %; H 5,87 %; N 11,02 %

N4-(3-Pyrrolidinopropyl)-(3R)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (52)



Molekulargewicht: 454,59 g/mol
Schmelzpunkt: 100-102°C
Farbe: gelb

Summenformel: C₂₄H₃₀N₄O₃S
Physikal. Form: kristallin
Ausbeute: 0,38 g; 83,5 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,47 g) der Verbindung **49** und 1,2 mmol (0,15 g; 0,15 ml) 1-(3-Aminopropyl)pyrrolidin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = -189,0^\circ$ (c = 0,5; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,93 ppm	s, br, NH	1H
δ = 7,73-7,88 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,39-7,67 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,23 ppm	s, CH (aromatisch)	1H
δ = 4,47 ppm	d, CH (J = 8,6 Hz)	1H
δ = 3,24-3,71 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,37-3,00 ppm	m, CH ₂	6H
δ = 1,62-2,18 ppm	m, CH + CH ₂	7H
δ = 1,04 ppm	d, CH ₃ (J = 6,8 Hz)	3H
δ = 0,97 ppm	d, CH ₃ (J = 6,8 Hz)	3H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,6 ppm	C=O	1C
δ = 165,9 ppm	CONHR	1C
δ = 154,6 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 138,3 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 133,1 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 133,0 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,8 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,7 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,4 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 124,1 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 122,1 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 64,3 ppm	CH	1C
δ = 56,2 ppm	CH ₂	1C

$\delta = 54,2$ ppm	CH_2	2C
$\delta = 42,0$ ppm	CH_2	1C
$\delta = 30,7$ ppm	CH	1C
$\delta = 25,9$ ppm	CH_2	1C
$\delta = 23,3$ ppm	CH_2	2C
$\delta = 19,0$ ppm	CH_3	1C
$\delta = 18,7$ ppm	CH_3	1C

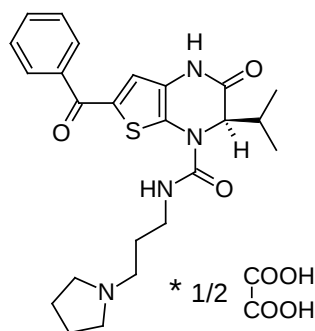
HR-MS

Berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_3\text{S} + \text{H}^+$: 455,2117
 Gefunden: 455,2111

HPLC

Elutionsmittel: 80:20 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
 Injektionsvolumen: 1 μl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)
 Flussrate: 0,8 ml/1 min.
 Retentionszeit: 4,73 min.

N4-(3-Pyrrolidinopropyl)-(3R)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid Hemioxalat (52hox)



Molekulargewicht: 499,60 g/mol
 Schmelzpunkt: 203-206°C
 Farbe: gelb

Summenformel: $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$
 Physikal. Form: amorph
 Ausbeute: 0,16 g; 64,0 %

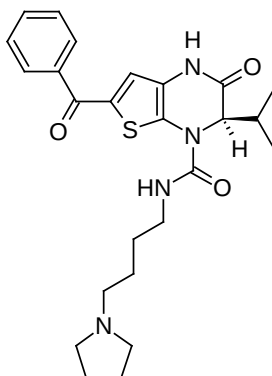
Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,23 g) der Verbindung **52** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet (x 0,1 mol H_2O): C 59,89 %; H 6,27 %; N 11,17 %
 Gefunden: C 59,72 %; H 6,09 %; N 11,08 %

N4-(4-Pyrrolidinobutyl)-(3R)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (53)



Molekulargewicht: 468,61 g/mol
Schmelzpunkt: 95-98°C
Farbe: gelb

Summenformel: C₂₅H₃₂N₄O₃S
Physikal. Form: kristallin
Ausbeute: 0,45 g; 95,9 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,47 g) der Verbindung **49** und 1,2 mmol (0,17 g; 0,18 ml) 4-Pyrrolidinobutylamin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (6+2+2) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = -63,0^\circ$ (c = 0,5; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,72-7,98 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,37-7,68 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,20 ppm	s, CH (aromatisch)	1H
δ = 6,88-7,16 ppm	m, NH	1H
δ = 4,87 ppm	d, CH (J = 7,8 Hz)	1H
δ = 3,46-3,74 ppm	m, CH ₂	1H
δ = 3,10-3,39 ppm	m, CH ₂	1H
δ = 2,85-3,08 ppm	m, CH ₂	1H
δ = 2,58-2,85 ppm	m, CH ₂	4H
δ = 2,29-2,56 ppm	m, CH ₂	1H
δ = 1,99-2,12 ppm	m, CH	1H
δ = 1,42-1,95 ppm	m, CH ₂	8H
δ = 0,80-1,20 ppm	m, CH ₃	6H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,6 ppm	C=O	1C
δ = 166,3 ppm	CONHR	1C
δ = 154,9 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 138,5 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 133,5 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,5 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,7 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,6 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,3 ppm	CH (aromatisch)	2C

$\delta = 124,0$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 121,9$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 63,9$ ppm	CH	1C
$\delta = 56,2$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 54,1$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 39,6$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 31,8$ ppm	CH	1C
$\delta = 27,2$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 24,6$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 23,6$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 19,1$ ppm	CH ₃	1C
$\delta = 18,8$ ppm	CH ₃	1C

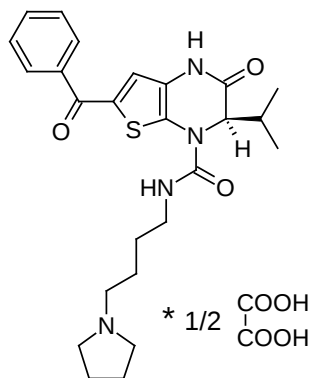
HR-MS

Berechnet für C₂₅H₃₂N₄O₃S + H⁺: 469,2273
 Gefunden: 469,2284

HPLC

Elutionsmittel: 80:20 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
 Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)
 Flussrate: 0,8 ml/1 min.
 Retentionszeit: 4,74 min.

N4-(4-Pyrrolidinobutyl)-(3R)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid Hemioxalat (53hox)



Molekulargewicht: 513,63 g/mol
 Schmelzpunkt: 205-207°C
 Farbe: gelb

Summenformel: C₂₆H₃₃N₄O₅S
 Physikal. Form: amorph
 Ausbeute: 0,17 g; 66,1 %

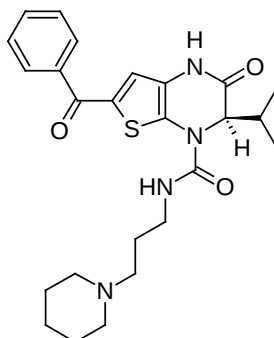
Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,23 g) der Verbindung **53** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet (x 0,5 mol H₂O): C 59,75 %; H 6,56 %; N 10,72 %
 Gefunden: C 59,46 %; H 6,23 %; N 10,57 %

N4-(3-Piperidinopropyl)-(3R)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (55)



Molekulargewicht: 468,61 g/mol
Schmelzpunkt: 101-102°C
Farbe: gelb

Summenformel: C₂₅H₃₂N₄O₃S
Physikal. Form: kristallin
Ausbeute: 0,43 g; 91,7 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,47 g) der Verbindung **49** und 1,2 mmol (0,17 g; 0,19 ml) 1-(3-Aminopropyl)piperidin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = -186,0^\circ$ (c = 0,5; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,74-7,97 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,37-7,74 ppm	m, CH (aromatisch) + NH	4H
δ = 7,25 ppm	s, CH (aromatisch)	1H
δ = 4,60 ppm	d, CH (J = 8,5 Hz)	1H
δ = 3,20-3,64 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,20-2,72 ppm	m, CH ₂	6H
δ = 1,92-2,19 ppm	m, CH	1H
δ = 1,30-1,91 ppm	m, CH ₂	8H
δ = 1,04 ppm	d, CH ₃ (J = 6,8 Hz)	3H
δ = 0,97 ppm	d, CH ₃ (J = 6,8 Hz)	3H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,6 ppm	C=O	1C
δ = 166,1 ppm	CONHR	1C
δ = 154,6 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 138,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 133,3 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,9 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,8 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,7 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,4 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 124,3 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 122,3 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 64,1 ppm	CH	1C
δ = 59,1 ppm	CH ₂	1C

$\delta = 54,8$ ppm	CH_2	2C
$\delta = 42,1$ ppm	CH_2	1C
$\delta = 30,7$ ppm	CH	1C
$\delta = 25,6$ ppm	CH_2	2C
$\delta = 24,2$ ppm	CH_2	1C
$\delta = 24,1$ ppm	CH_2	1C
$\delta = 18,9$ ppm	CH_3	1C
$\delta = 18,8$ ppm	CH_3	1C

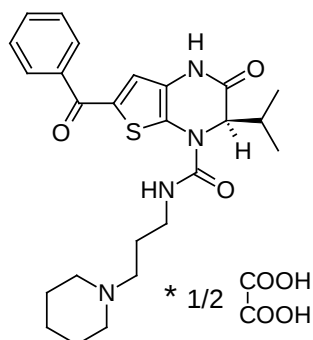
HR-MS

Berechnet für $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_3\text{S} + \text{H}^+$: 469,2273
 Gefunden: 469,2295

HPLC

Elutionsmittel: 77,5:22,5 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
 Injektionsvolumen: 1 μl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)
 Flussrate: 0,8 ml/1 min.
 Retentionszeit: 4,42 min.

N4-(3-Piperidinopropyl)-(3R)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid Hemioxalat (55hox)



Molekulargewicht: 513,63 g/mol
 Schmelzpunkt: 208-210°C
 Farbe: gelb

Summenformel: $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$
 Physikal. Form: amorph
 Ausbeute: 0,16 g; 62,3 %

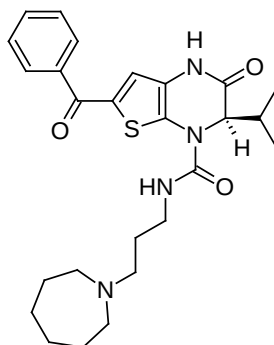
Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,23 g) der Verbindung **55** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet (x 0,5 mol H_2O): C 59,75 %; H 6,56 %; N 10,72 %
 Gefunden: C 59,90 %; H 6,47 %; N 10,62 %

N4-[3-(1-Azepanyl)propyl]-(3R)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (56)



Molekulargewicht: 482,64 g/mol

Schmelzpunkt: 96-99°C

Farbe: gelb

Summenformel: C₂₆H₃₄N₄O₃S

Physikal. Form: kristallin

Ausbeute: 0,38 g; 78,7 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,47 g) der Verbindung **49** und 1,2 mmol (0,19 g; 0,21 ml) 3-(1-Azepanyl)-1-propanamin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = -172,0^\circ$ (c = 0,5; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,67-7,96 ppm	m, CH (aromatisch) + NH	3H
δ = 7,39-7,62 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,21 ppm	s, CH (aromatisch)	1H
δ = 4,47 ppm	d, CH (J = 8,6 Hz)	1H
δ = 3,20-3,59 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,44-2,82 ppm	m, CH ₂	6H
δ = 1,89-2,13 ppm	m, CH	1H
δ = 1,39-1,88 ppm	m, CH ₂	10H
δ = 1,03 ppm	d, CH ₃ (J = 6,8 Hz)	3H
δ = 0,97 ppm	d, CH ₃ (J = 6,8 Hz)	3H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,5 ppm	C=O	1C
δ = 166,0 ppm	CONHR	1C
δ = 154,6 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 138,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 133,3 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,8 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,9 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,7 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,4 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 124,5 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 122,3 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 64,1 ppm	CH	1C
δ = 56,3 ppm	CH ₂	1C

$\delta = 55,3$ ppm	CH_2	2C
$\delta = 42,0$ ppm	CH_2	1C
$\delta = 30,6$ ppm	CH	1C
$\delta = 27,1$ ppm	CH_2	2C
$\delta = 26,3$ ppm	CH_2	2C
$\delta = 25,0$ ppm	CH_2	1C
$\delta = 18,9$ ppm	CH_3	1C
$\delta = 18,7$ ppm	CH_3	1C

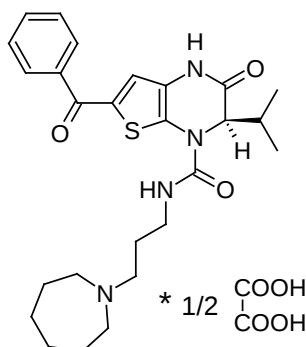
HR-MS

Berechnet für $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_3\text{S} + \text{H}^+$: 483,2430
 Gefunden: 483,2436

HPLC

Elutionsmittel: 77,5:22,5 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
 Injektionsvolumen: 1 μl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)
 Flussrate: 0,8 ml/1 min.
 Retentionszeit: 4,81 min.

N4-[3-(1-Azepanyl)propyl]-(3R)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid Hemioxalat (56hox)



Molekulargewicht: 527,66 g/mol
 Schmelzpunkt: 204-205°C
 Farbe: gelb

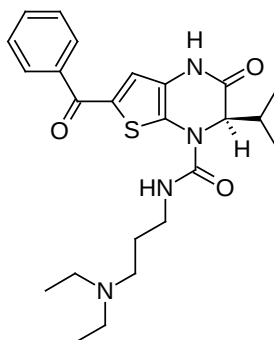
Summenformel: $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$
 Physikal. Form: amorph
 Ausbeute: 0,21 g; 79,5 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,24 g) der Verbindung **56** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet (x 0,33 mol H_2O): C 60,77 %; H 6,74 %; N 10,50 %
 Gefunden: C 60,66 %; H 6,49 %; N 10,32 %

N4-[3-(Diethylamino)propyl]-(3R)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (57)

Molekulargewicht: 456,60 g/mol
 Schmelzpunkt: 82-84°C
 Farbe: gelb

Summenformel: C₂₄H₃₂N₄O₃S
 Physikal. Form: kristallin
 Ausbeute: 0,37 g; 81,0 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,47 g) der Verbindung **49** und 1,2 mmol (0,16 g; 0,19 ml) N,N-Diethyl-1,3-propandiamin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = -204,0^\circ$ (c = 0,5; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,90-8,17 ppm	m, NH	1H
δ = 7,73-7,89 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,38-7,63 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,22 ppm	s, CH (aromatisch)	1H
δ = 4,43 ppm	d, CH (J = 8,6 Hz)	1H
δ = 3,29-3,61 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,42-2,73 ppm	m, CH ₂	6H
δ = 1,89-2,12 ppm	m, CH	1H
δ = 1,58-1,83 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 0,85-1,18 ppm	m, CH ₃	12H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,5 ppm	C=O	1C
δ = 165,7 ppm	CONHR	1C
δ = 154,5 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 138,3 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 133,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,8 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,9 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,8 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,4 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 124,4 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 122,1 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 64,2 ppm	CH	1C
δ = 52,6 ppm	CH ₂	1C

$\delta = 46,5$ ppm	CH_2	2C
$\delta = 42,2$ ppm	CH_2	1C
$\delta = 30,6$ ppm	CH	1C
$\delta = 24,7$ ppm	CH_2	1C
$\delta = 18,9$ ppm	CH_3	1C
$\delta = 18,6$ ppm	CH_3	1C
$\delta = 10,7$ ppm	CH_3	2C

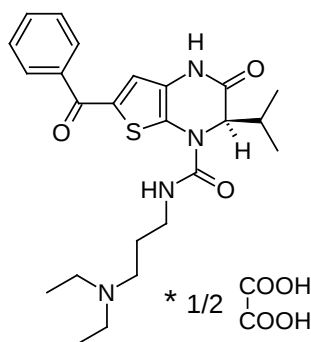
HR-MS

Berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_3\text{S} + \text{H}^+$: 457,2273
 Gefunden: 457,2293

HPLC

Elutionsmittel: 85:15 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
 Injektionsvolumen: 1 μl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)
 Flussrate: 0,8 ml/1 min.
 Retentionszeit: 5,67 min.

N4-[3-(Diethylamino)propyl]-(3R)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid Hemioxalat (57hox)



Molekulargewicht: 501,62 g/mol
 Schmelzpunkt: 186-189°C
 Farbe: gelb

Summenformel: $\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$
 Physikal. Form: amorph
 Ausbeute: 0,18 g; 71,7 %

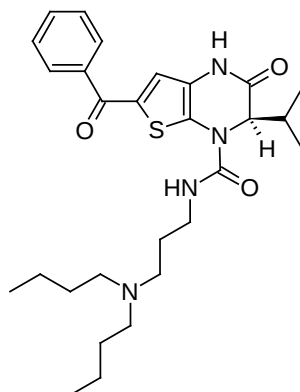
Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,23 g) der Verbindung **57** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet (x 0,25 mol H_2O): C 59,33 %; H 6,67 %; N 11,07 %
 Gefunden: C 59,39 %; H 6,51 %; N 10,97 %

N4-[3-(Dibutylamino)propyl]-(3R)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (58)



Molekulargewicht: 512,71 g/mol

Schmelzpunkt: 55-58°C

Farbe: gelb

Summenformel: C₂₈H₄₀N₄O₃S

Physikal. Form: kristallin

Ausbeute: 0,47 g; 91,6 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,47 g) der Verbindung **49** und 1,2 mmol (0,22 g; 0,27 ml) N,N-Di-n-butyl-1,3-propandiamin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = -175,0^\circ$ (c = 0,5; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,75-7,99 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,69 ppm	s, br, NH	1H
δ = 7,36-7,61 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,26 ppm	s, CH (aromatisch)	1H
δ = 4,53 ppm	d, CH (J = 8,5 Hz)	1H
δ = 3,23-3,67 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,25-2,88 ppm	m, CH ₂	6H
δ = 1,92-2,15 ppm	m, CH	1H
δ = 1,63-1,92 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 1,13-1,59 ppm	m, CH ₂	8H
δ = 1,03 ppm	d, CH ₃ (J = 6,8 Hz)	3H
δ = 0,97 ppm	d, CH ₃ (J = 6,8 Hz)	3H
δ = 0,88 ppm	t, CH ₃ (J = 7,1 Hz)	6H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,6 ppm	C=O	1C
δ = 165,8 ppm	CONHR	1C
δ = 154,7 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 138,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 133,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,7 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,8 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,8 ppm	CH (aromatisch)	2C

$\delta = 128,4$ ppm	CH (aromatisch)	2C
$\delta = 124,4$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 122,4$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 64,2$ ppm	CH	1C
$\delta = 53,6$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 53,1$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 41,4$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 30,6$ ppm	CH	1C
$\delta = 27,8$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 25,0$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 20,7$ ppm	CH ₂	3C
$\delta = 18,9$ ppm	CH ₃	1C
$\delta = 18,7$ ppm	CH ₃	1C
$\delta = 13,9$ ppm	CH ₃	2C

HR-MS

Berechnet für C₂₈H₄₀N₄O₃S + H⁺: 513,2899
 Gefunden: 513,2896

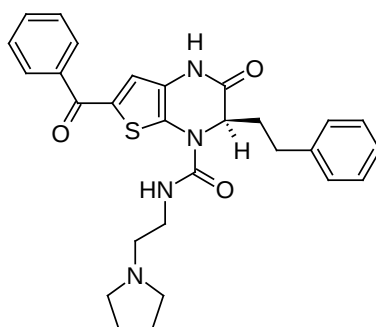
CHN-Analyse

Berechnet: C 65,59 %; H 7,86 %; N 10,93 %
 Gefunden: C 65,31 %; H 7,79 %; N 10,81 %

HPLC

Elutionsmittel: 80:20 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
 Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 0,25 mg/1 ml)
 Flussrate: 0,8 ml/1 min.
 Retentionszeit: 4,33 min.

N4-(2-Pyrrolidinoethyl)-(3R)-6-benzoyl-2-oxo-3-phenethyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (59)



Molekulargewicht: 502,63 g/mol
 Schmelzpunkt: 100-103°C
 Farbe: gelb

Summenformel: C₂₈H₃₀N₄O₃S
 Physikal. Form: kristallin
 Ausbeute: 0,27 g; 53,7 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,53 g) der Verbindung **50** und 1,2 mmol (0,14 g; 0,15 ml) 1-(2-Aminoethyl)pyrrolidin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$$[\alpha]_D^{20} = -22,0^\circ \text{ (c = 0,5; Chloroform)}$$

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,66-7,95 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,32-7,62 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,08-7,32 ppm	m, CH (aromatisch)	5H
δ = 6,99 ppm	s, CH (aromatisch)	1H
δ = 6,35 ppm	s, br, NH	1H
δ = 4,68-4,82 ppm	m, CH	1H
δ = 3,62-3,89 ppm	m, CH ₂	1H
δ = 3,01-3,27 ppm	m, CH ₂	1H
δ = 2,48-2,99 ppm	m, CH ₂	8H
δ = 1,61-2,20 ppm	m, CH ₂	6H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,4 ppm	C=O	1C
δ = 166,8 ppm	CONHR	1C
δ = 154,4 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 140,1 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 138,3 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,8 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,6 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 131,5 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 128,8 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,6 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,4 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,2 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 126,3 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 123,0 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 122,2 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 58,6 ppm	CH	1C
δ = 55,4 ppm	CH ₂	1C
δ = 53,5 ppm	CH ₂	2C
δ = 39,5 ppm	CH ₂	1C
δ = 33,4 ppm	CH ₂	1C
δ = 31,2 ppm	CH ₂	1C
δ = 23,4 ppm	CH ₂	2C

MS

m/z =	502 (M ⁺ ; nicht detektierbar)
	362 (17 %)
	257 (44 %)
	105 (12 %)
	91 (15 %)
	84 (100 %)
	77 (14 %)
	42 (17 %)

HR-MS

Berechnet für C ₂₈ H ₃₀ N ₄ O ₃ S + H ⁺ :	503,2117
Gefunden:	503,2125

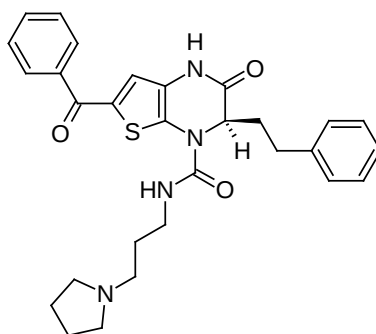
CHN-Analyse

Berechnet (x 0,5 mol H₂O): C 65,73 %; H 6,11 %; N 10,95 %
 Gefunden: C 65,59 %; H 5,90 %; N 10,97 %

HPLC

Elutionsmittel: 72,5:27,5 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
 Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)
 Flussrate: 0,8 ml/1 min.
 Retentionszeit: 6,99 min.

N4-(3-Pyrrolidinopropyl)-(3R)-6-benzoyl-2-oxo-3-phenethyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (60)



Molekulargewicht: 516,65 g/mol
 Schmelzpunkt: 94-96°C
 Farbe: gelb

Summenformel: C₂₉H₃₂N₄O₃S
 Physikal. Form: kristallin
 Ausbeute: 0,47 g; 90,9 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,53 g) der Verbindung **50** und 1,2 mmol (0,15 g; 0,15 ml) 1-(3-Aminopropyl)pyrrolidin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = -170,0^\circ$ (c = 0,5; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 8,04 ppm	s, br, NH	1H
δ = 7,72-7,90 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,35-7,62 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,02-7,35 ppm	m, CH (aromatisch)	6H
δ = 4,61-4,86 ppm	m, CH	1H
δ = 3,22-3,63 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,33-2,82 ppm	m, CH ₂	8H
δ = 1,93-2,22 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 1,54-1,92 ppm	m, CH ₂	6H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,6 ppm	C=O	1C
δ = 166,5 ppm	CONHR	1C
δ = 154,0 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 140,0 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 138,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,9 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,8 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,7 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,5 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,3 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,2 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 126,3 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 123,4 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 122,3 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 58,3 ppm	CH	1C
δ = 55,9 ppm	CH ₂	1C
δ = 54,1 ppm	CH ₂	2C
δ = 41,9 ppm	CH ₂	1C
δ = 32,8 ppm	CH ₂	1C
δ = 31,0 ppm	CH ₂	1C
δ = 25,8 ppm	CH ₂	1C
δ = 23,3 ppm	CH ₂	2C

MS

m/z =	516 (M ⁺ ; nicht detektierbar)
	362 (54 %)
	269 (27 %)
	257 (100 %)
	105 (39 %)
	91 (52 %)
	84 (46 %)
	77 (40 %)

HR-MS

Berechnet für C ₂₉ H ₃₂ N ₄ O ₃ S + H ⁺ :	517,2273
Gefunden:	517,2298

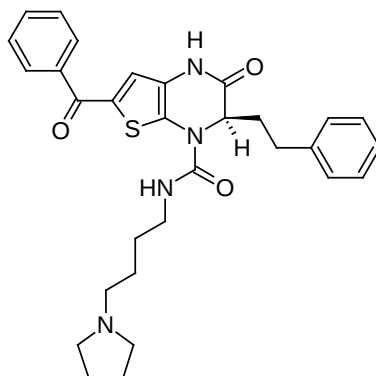
CHN-Analyse

Berechnet (x 0,125 mol H ₂ O):	C 67,12 %; H 6,26 %; N 10,80 %
Gefunden:	C 66,77 %; H 5,88 %; N 10,62 %

HPLC

Elutionsmittel: 75:25 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
 Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)
 Flussrate: 0,8 ml/1 min.
 Retentionszeit: 7,95 min.

N4-(4-Pyrrolidinobutyl)-(3R)-6-benzoyl-2-oxo-3-phenethyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (61)



Molekulargewicht: 530,68 g/mol
Schmelzpunkt: 90-93°C
Farbe: gelb

Summenformel: C₃₀H₃₄N₄O₃S
Physikal. Form: kristallin
Ausbeute: 0,44 g; 82,9 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,53 g) der Verbindung **50** und 1,2 mmol (0,17 g; 0,18 ml) 4-Pyrrolidinobutylamin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = -92,5^\circ$ (c = 1; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,73-7,96 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,38-7,67 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,06-7,38 ppm	m, CH (aromatisch)	6H
δ = 6,70-7,05 ppm	m, NH	1H
δ = 5,09-5,40 ppm	m, CH	1H
δ = 3,48-3,82 ppm	m, CH ₂	1H
δ = 3,07-3,36 ppm	m, CH ₂	1H
δ = 2,48-3,06 ppm	m, CH ₂	7H
δ = 2,01-2,43 ppm	m, CH ₂	3H
δ = 1,41-1,93 ppm	m, CH ₂	8H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,6 ppm	C=O	1C
δ = 166,9 ppm	CONHR	1C
δ = 154,2 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 140,1 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 138,5 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,7 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,5 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,7 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,7 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,5 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,3 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,2 ppm	CH (aromatisch)	2C

$\delta = 126,3$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 123,4$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 122,1$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 58,3$ ppm	CH	1C
$\delta = 56,1$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 54,0$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 39,7$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 33,4$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 31,2$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 27,2$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 24,6$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 23,6$ ppm	CH ₂	2C

MS

m/z =	530 (M ⁺ ; nicht detektierbar)
	362 (63 %)
	360 (29 %)
	269 (27 %)
	257 (100 %)
	105 (46 %)
	91 (58 %)
	84 (51 %)
	77 (44 %)

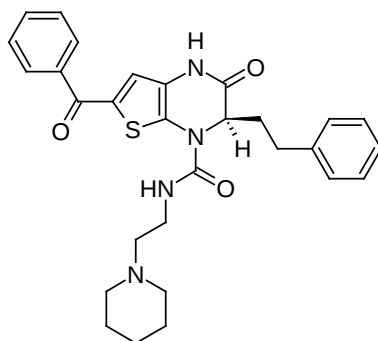
HR-MS

Berechnet für C ₃₀ H ₃₄ N ₄ O ₃ S + H ⁺ :	531,2430
Gefunden:	531,2443

HPLC

Elutionsmittel: 80:20 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
 Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)
 Flussrate: 0,8 ml/1 min.
 Retentionszeit: 11,04 min.

***N*4-(2-Piperidinoethyl)-(3*R*)-6-benzoyl-2-oxo-3-phenethyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-*b*]pyrazin-4-carboxamid (62)**



Molekulargewicht: 516,65 g/mol
 Schmelzpunkt: 90-93°C
 Farbe: gelb

Summenformel: C₂₉H₃₂N₄O₃S
 Physikal. Form: kristallin
 Ausbeute: 0,35 g; 67,7 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,53 g) der Verbindung **50** und 1,2 mmol (0,15 g; 0,17 ml) 1-(2-Aminoethyl)piperidin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$$[\alpha]_D^{20} = -131,0^\circ \quad (c = 0,5; \text{Chloroform})$$

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,66-7,98 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,34-7,65 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,05-7,33 ppm	m, CH (aromatisch)	6H
δ = 6,43 ppm	s, br, NH	1H
δ = 4,62-5,06 ppm	m, CH	1H
δ = 3,20-3,65 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,29-2,87 ppm	m, CH ₂	8H
δ = 1,80-2,22 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 1,30-1,73 ppm	m, CH ₂	6H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,5 ppm	C=O	1C
δ = 166,5 ppm	CONHR	1C
δ = 153,9 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 140,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 138,1 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 133,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,9 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 131,3 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 128,8 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,5 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,4 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,2 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 126,3 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 123,9 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 122,6 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 58,3 ppm	CH	1C
δ = 57,1 ppm	CH ₂	1C
δ = 54,1 ppm	CH ₂	2C
δ = 37,3 ppm	CH ₂	1C
δ = 33,1 ppm	CH ₂	1C
δ = 31,3 ppm	CH ₂	1C
δ = 25,2 ppm	CH ₂	2C
δ = 23,8 ppm	CH ₂	1C

MS

m/z =	516 (M ⁺ ; nicht detektierbar)
	362 (56 %)
	271 (17 %)
	257 (100 %)
	155 (14 %)
	105 (33 %)
	98 (75 %)

91 (36 %)
77 (31 %)

HR-MS

Berechnet für $C_{29}H_{32}N_4O_3S + H^+$: 517,2273
Gefunden: 517,2299

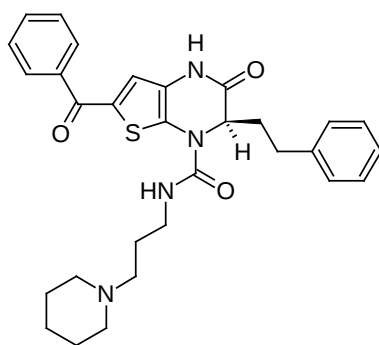
CHN-Analyse

Berechnet (x 0,1 mol H_2O): C 67,18 %; H 6,26 %; N 10,81 %
Gefunden: C 66,94 %; H 6,35 %; N 11,12 %

HPLC

Elutionsmittel: 72,5:27,5 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
Injektionsvolumen: 1 μ l (Stocklösung: 1 mg/1 ml)
Flussrate: 0,8 ml/1 min.
Retentionszeit: 6,96 min.

N4-(3-Piperidinopropyl)-(3R)-6-benzoyl-2-oxo-3-phenethyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (63)



Molekulargewicht: 530,68 g/mol
Schmelzpunkt: 89-91 °C
Farbe: gelb

Summenformel: $C_{30}H_{34}N_4O_3S$
Physikal. Form: kristallin
Ausbeute: 0,45 g; 84,7 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,53 g) der Verbindung **50** und 1,2 mmol (0,17 g; 0,19 ml) 1-(3-Aminopropyl)piperidin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = -169,0^\circ$ (c = 0,5; Chloroform)

 1H -NMR (CDCl₃, 200 MHz)

$\delta = 7,66-8,02$ ppm	m, CH (aromatisch) + NH	3H
$\delta = 7,39-7,62$ ppm	m, CH (aromatisch)	3H
$\delta = 7,07-7,39$ ppm	m, CH (aromatisch)	6H
$\delta = 4,69-5,05$ ppm	m, CH	1H
$\delta = 3,20-3,61$ ppm	m, CH ₂	2H
$\delta = 2,58-2,89$ ppm	m, CH ₂	2H

$\delta = 2,24\text{--}2,58$ ppm	m, CH_2	6H
$\delta = 1,97\text{--}2,23$ ppm	m, CH_2	2H
$\delta = 1,28\text{--}1,87$ ppm	m, CH_2	8H

1 NH nicht detektierbar

^{13}C -NMR (CDCl_3 , 50 MHz)

$\delta = 187,6$ ppm	$\text{C}=\text{O}$	1C
$\delta = 166,6$ ppm	CONHR	1C
$\delta = 154,0$ ppm	R_2NCONHR	1C
$\delta = 140,0$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 138,2$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 133,2$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 132,0$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 131,8$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 128,7$ ppm	CH (aromatisch)	2C
$\delta = 128,5$ ppm	CH (aromatisch)	2C
$\delta = 128,4$ ppm	CH (aromatisch)	2C
$\delta = 128,2$ ppm	CH (aromatisch)	2C
$\delta = 126,3$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 123,6$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 122,3$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 59,2$ ppm	CH_2	1C
$\delta = 58,3$ ppm	CH	1C
$\delta = 54,7$ ppm	CH_2	2C
$\delta = 42,2$ ppm	CH_2	1C
$\delta = 32,6$ ppm	CH_2	1C
$\delta = 31,0$ ppm	CH_2	1C
$\delta = 25,6$ ppm	CH_2	2C
$\delta = 24,1$ ppm	CH_2	1C
$\delta = 23,8$ ppm	CH_2	1C

MS

m/z =	530 (M^+ ; nicht detektierbar)
	362 (9 %)
	257 (22 %)
	98 (100 %)
	84 (9 %)
	70 (11 %)
	55 (18 %)

HR-MS

Berechnet für $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_3\text{S} + \text{H}^+$:	531,2430
Gefunden:	531,2454

CHN-Analyse

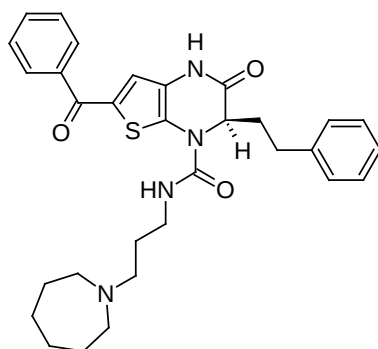
Berechnet (x 0,33 mol H_2O):	C 67,15 %; H 6,51 %; N 10,44 %
Gefunden:	C 66,96 %; H 6,31 %; N 10,55 %

HPLC

Elutionsmittel: 75:25 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
 Injektionsvolumen: 1 μl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)

Flussrate: 0,8 ml/1 min.
Retentionszeit: 8,80 min.

N4-[3-(1-Azepanyl)propyl]-(3R)-6-benzoyl-2-oxo-3-phenethyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (64)



Molekulargewicht: 544,71 g/mol
Schmelzpunkt: 84-87°C
Farbe: gelb

Summenformel: C₃₁H₃₆N₄O₃S
Physikal. Form: kristallin
Ausbeute: 0,50 g; 91,7 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,53 g) der Verbindung **50** und 1,2 mmol (0,19 g; 0,21 ml) 3-(1-Azepanyl)-1-propanamin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = -162,0^\circ$ (c = 1; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,65-7,98 ppm	m, CH (aromatisch) + NH	3H
δ = 7,39-7,62 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,07-7,34 ppm	m, CH (aromatisch)	6H
δ = 4,65-4,93 ppm	m, CH	1H
δ = 3,22-3,61 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,36-2,95 ppm	m, CH ₂	8H
δ = 1,89-2,28 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 1,42-1,81 ppm	m, CH ₂	10H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,5 ppm	C=O	1C
δ = 166,6 ppm	CONHR	1C
δ = 154,0 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 140,1 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 138,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 133,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,0 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,9 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,7 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,5 ppm	CH (aromatisch)	2C

$\delta = 128,4$ ppm	CH (aromatisch)	2C
$\delta = 128,3$ ppm	CH (aromatisch)	2C
$\delta = 126,3$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 123,7$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 122,3$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 58,3$ ppm	CH	1C
$\delta = 56,7$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 55,4$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 42,1$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 32,7$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 31,1$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 27,1$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 26,4$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 24,8$ ppm	CH ₂	1C

MS

m/z =	544 (M ⁺ ; nicht detektierbar)
	362 (40 %)
	269 (17 %)
	257 (78 %)
	112 (100 %)
	105 (62 %)
	91 (64 %)
	84 (21 %)
	77 (46 %)
	58 (22 %)
	55 (20 %)
	41 (16 %)

HR-MS

Berechnet für C ₃₁ H ₃₆ N ₄ O ₃ S + H ⁺ :	545,2586
Gefunden:	545,2597

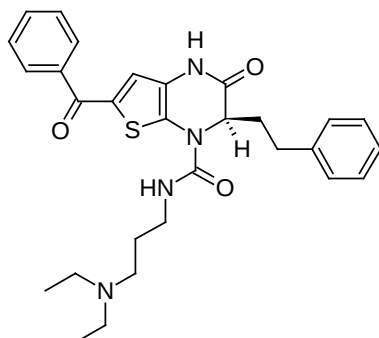
CHN-Analyse

Berechnet:	C 68,35 %; H 6,66 %; N 10,29 %
Gefunden:	C 67,97 %; H 6,58 %; N 10,25 %

HPLC

Elutionsmittel: 75:25 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
 Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)
 Flussrate: 0,8 ml/1 min.
 Retentionszeit: 9,42 min.

N4-[3-(Diethylamino)propyl]-(3R)-6-benzoyl-2-oxo-3-phenethyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (65)



Molekulargewicht: 518,67 g/mol
Schmelzpunkt: 71-74°C
Farbe: gelb

Summenformel: C₂₉H₃₄N₄O₃S
Physikal. Form: kristallin
Ausbeute: 0,39 g; 75,1 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,53 g) der Verbindung **50** und 1,2 mmol (0,16 g; 0,19 ml) N,N-Diethyl-1,3-propandiamin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = -188,0^\circ$ (c = 1; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,95 ppm	s, br, NH	1H
δ = 7,71-7,88 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,39-7,62 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,02-7,33 ppm	m, CH (aromatisch)	6H
δ = 4,62-4,90 ppm	m, CH	1H
δ = 3,22-3,60 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,39-2,82 ppm	m, CH ₂	8H
δ = 1,92-2,22 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 1,59-1,81 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 0,97 ppm	t, CH ₃ (J = 7,1 Hz)	6H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,5 ppm	C=O	1C
δ = 166,5 ppm	CONHR	1C
δ = 153,9 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 140,0 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 138,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 133,1 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,0 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,9 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,8 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,5 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,4 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,2 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 126,3 ppm	CH (aromatisch)	1C

$\delta = 123,8$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 122,3$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 58,3$ ppm	CH	1C
$\delta = 52,6$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 46,4$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 42,2$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 32,7$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 31,0$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 24,6$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 10,7$ ppm	CH ₃	2C

MS

m/z =	518 (M ⁺ ; nicht detektierbar)
	362 (32 %)
	257 (66 %)
	157 (25 %)
	105 (22 %)
	91 (27 %)
	86 (100 %)
	72 (28 %)

HR-MS

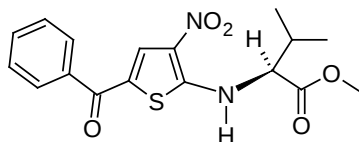
Berechnet für C ₂₉ H ₃₄ N ₄ O ₃ S + H ⁺ :	519,2430
Gefunden:	519,2455

CHN-Analyse

Berechnet (x 0,125 mol H ₂ O):	C 66,86 %; H 6,63 %; N 10,76 %
Gefunden:	C 66,49 %; H 6,32 %; N 10,65 %

HPLC

Elutionsmittel: 75:25 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
 Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)
 Flussrate: 0,8 ml/1 min.
 Retentionszeit: 7,49 min.

(2S)-2-[(5-Benzoyl-3-nitro-2-thienyl)-amino]-3-methylbuttersäure-methylester (66)

Molekulargewicht: 362,40 g/mol
 Schmelzpunkt: -
 Farbe: gelb

Summenformel: C₁₇H₁₈N₂O₅S
 Physikal. Form: Öl
 Ausbeute: 4,0 g; 55,6 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode C unter Verwendung von 30 mmol (5,0 g) L-Valinmethylester Hydrochlorid. Als Laufmittel wird PE/EtOAc (7+3) verwendet.

$$[\alpha]_D^{20} = -26,0^\circ \text{ (c = 0,5; Chloroform)}$$

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 8,97 ppm	d, br, NH (J = 9,0 Hz)	1H
δ = 7,88 ppm	s, CH (aromatisch)	1H
δ = 7,72-7,86 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,43-7,70 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 4,04 ppm	dd, CH (J = 9,0 Hz; J = 9,0 Hz)	1H
δ = 3,84 ppm	s, CH ₃	3H
δ = 2,31-2,58 ppm	m, CH	1H
δ = 1,00-1,26 ppm	m, CH ₃	6H

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

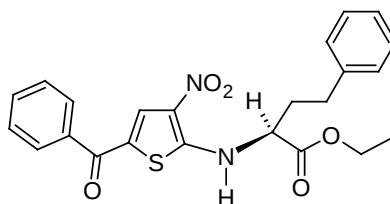
δ = 187,0 ppm	C=O	1C
δ = 169,6 ppm	COOR	1C
δ = 163,3 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 136,5 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,6 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 130,8 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,7 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,7 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 127,4 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 123,9 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 66,4 ppm	CH	1C
δ = 52,9 ppm	CH ₃	1C
δ = 31,6 ppm	CH	1C
δ = 19,0 ppm	CH ₃	1C
δ = 18,0 ppm	CH ₃	1C

MS

m/z =	362 (M ⁺ ; 62 %)
	303 (56 %)
	268 (21 %)
	105 (100 %)
	77 (90 %)
	43 (37 %)

HR-MS

Berechnet für C ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₅ S + H ⁺ :	363,1015
Gefunden:	363,1019

(2S)-2-[(5-Benzoyl-3-nitro-2-thienyl)-amino]-4-phenylbuttersäure-ethylester (67)

Molekulargewicht: 438,50 g/mol
 Schmelzpunkt: -
 Farbe: gelb

Summenformel: C₂₃H₂₂N₂O₅S
 Physikal. Form: Öl
 Ausbeute: 6,7 g; 76,1 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode C unter Verwendung von 30 mmol (7,3 g) L-Homophenylalaninethylester Hydrochlorid. In Bezug auf die allgemeine Synthesemethode C wurden die Reaktionsbedingungen zur Darstellung der Verbindung **67** auf 55°C für 36 Stunden geändert. Als Laufmittel wird PE/EtOAc (7,5+2,5) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = -14,5^\circ$ (c = 1; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 8,74-9,16 ppm	m, NH	1H
δ = 7,87 ppm	s, CH (aromatisch)	1H
δ = 7,72-7,85 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,44-7,71 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,10-7,43 ppm	m, CH (aromatisch)	5H
δ = 4,28 ppm	q, CH₂ (J = 7,1 Hz)	2H
δ = 4,06-4,20 ppm	m, CH	1H
δ = 2,69-2,97 ppm	m, CH₂	2H
δ = 2,15-2,59 ppm	m, CH₂	2H
δ = 1,34 ppm	t, CH₃ (J = 7,1 Hz)	3H

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

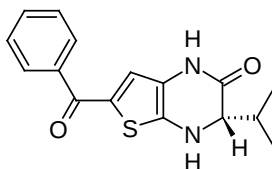
δ = 187,0 ppm	C=O	1C
δ = 169,5 ppm	COOR	1C
δ = 162,5 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 139,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 136,5 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,6 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 130,7 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,7 ppm	CH (aromatisch)	6C
δ = 128,4 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 127,4 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 126,7 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 124,1 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 62,6 ppm	CH₂	1C
δ = 59,9 ppm	CH	1C
δ = 33,1 ppm	CH₂	1C
δ = 31,4 ppm	CH₂	1C
δ = 14,1 ppm	CH₃	1C

MS

m/z =	438 (M ⁺ ; 8 %)
	365 (12 %)
	117 (14 %)
	105 (33 %)
	91 (100 %)
	77 (24 %)

HR-MS

Berechnet für C ₂₃ H ₂₂ N ₂ O ₅ S + H ⁺ :	439,1328
Gefunden:	439,1345

(3S)-6-Benzoyl-3-isopropyl-3,4-dihydrothieno[2,3-b]pyrazin-2(1H)-on (68)

Molekulargewicht: 300,38 g/mol
 Schmelzpunkt: 244-246°C
 Farbe: orange

Summenformel: C₁₆H₁₆N₂O₂S
 Physikal. Form: amorph
 Ausbeute: 4,2 g; 93,3 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode D aus 15 mmol (5,4 g) der Verbindung **66**.

$$[\alpha]_D^{20} = + 176,0^\circ \text{ (c = 0,25; DMSO)}$$

¹H-NMR (d₆-DMSO, 200 MHz)

δ = 10,25 ppm	s, br, CONHR	1H
δ = 7,99 ppm	s, br, NH	1H
δ = 7,40-7,80 ppm	m, CH (aromatisch)	5H
δ = 6,88 ppm	s, CH (aromatisch)	1H
δ = 3,80-4,10 ppm	m, CH	1H
δ = 2,04-2,35 ppm	m, CH	1H
δ = 0,95 ppm	d, CH ₃ (J = 6,8 Hz)	3H
δ = 0,85 ppm	d, CH ₃ (J = 6,8 Hz)	3H

¹³C-NMR (d₆-DMSO, 50 MHz)

δ = 183,9 ppm	C=O	1C
δ = 164,1 ppm	CONHR	1C
δ = 145,8 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 138,9 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 130,8 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,3 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 127,9 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 124,3 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 121,3 ppm	Cq (aromatisch)	1C

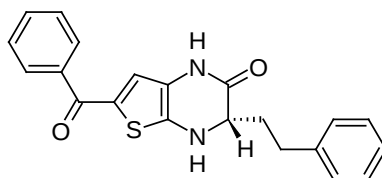
$\delta = 119,8$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 61,8$ ppm	CH	1C
$\delta = 31,8$ ppm	CH	1C
$\delta = 18,6$ ppm	CH₃	1C
$\delta = 16,9$ ppm	CH₃	1C

MS

m/z =	300 (M^+ ; 17 %)
	257 (88 %)
	105 (54 %)
	77 (100 %)

CHN-Analyse

Berechnet:	C 63,98 %; H 5,37 %; N 9,33 %
Gefunden:	C 63,72 %; H 5,31 %; N 9,22 %

(3S)-6-Benzoyl-3-phenethyl-3,4-dihydrothieno[2,3-b]pyrazin-2(1H)-on (69)

Molekulargewicht: 362,44 g/mol
 Schmelzpunkt: 229-232°C
 Farbe: orange

Summenformel: C₂₁H₁₈N₂O₂S
 Physikal. Form: kristallin
 Ausbeute: 5,3 g; 98,1 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode D aus 15 mmol (6,6 g) der Verbindung **67**.

$$[\alpha]_D^{20} = + 37,0^\circ \text{ (c = 0,5; DMSO)}$$

¹H-NMR (d₆-DMSO, 200 MHz)

$\delta = 10,29$ ppm	s, br, CONHR	1H
$\delta = 8,06$ ppm	s, br, NH	1H
$\delta = 7,41$ -7,83 ppm	m, CH (aromatisch)	5H
$\delta = 7,06$ -7,41 ppm	m, CH (aromatisch)	5H
$\delta = 6,94$ ppm	s, CH (aromatisch)	1H
$\delta = 3,86$ -4,21 ppm	m, CH	1H
$\delta = 2,61$ -2,93 ppm	m, CH ₂	2H
$\delta = 1,76$ -2,20 ppm	m, CH ₂	2H

¹³C-NMR (d₆-DMSO, 50 MHz)

$\delta = 184,3$ ppm	C=O	1C
$\delta = 164,5$ ppm	CONHR	1C
$\delta = 144,9$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 141,1$ ppm	Cq (aromatisch)	1C

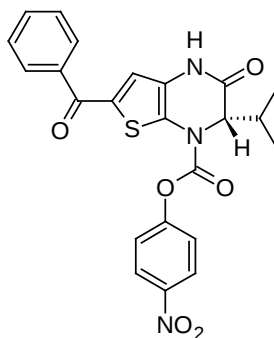
$\delta = 138,8$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 131,0$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 128,4$ ppm	CH (aromatisch)	4C
$\delta = 128,3$ ppm	CH (aromatisch)	2C
$\delta = 128,0$ ppm	CH (aromatisch)	2C
$\delta = 126,0$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 124,5$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 122,3$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 120,6$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 55,9$ ppm	CH	1C
$\delta = 34,3$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 30,4$ ppm	CH ₂	1C

MS

m/z =	362 (M ⁺ ; 43 %)
	257 (100 %)
	105 (48 %)
	91 (39 %)
	77 (59 %)
	55 (26 %)

HR-MS

Berechnet für C ₂₁ H ₁₈ N ₂ O ₂ S + H ⁺ :	363,1167
Gefunden:	363,1182

(3S)-6-Benzoyl-3-isopropyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carbonsäure-4-nitrophenylester (70)

Molekulargewicht: 465,48 g/mol
 Schmelzpunkt: 110-113°C
 Farbe: gelb

Summenformel: C₂₃H₁₉N₃O₆S
 Physikal. Form: kristallin
 Ausbeute: 3,4 g; 72,3 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode F unter Verwendung von 10 mmol (3,0 g) der Verbindung **68**. Für die Flashchromatographie wird EtOAc/PE (5,5+4,5) als Laufmittel verwendet.

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

$\delta = 9,13-9,72$ ppm	m, NH	1H
$\delta = 8,22-8,49$ ppm	m, CH (aromatisch)	2H

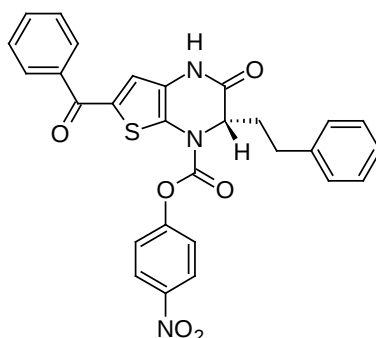
$\delta = 7,75-7,99$ ppm	m, CH (aromatisch)	2H
$\delta = 7,34-7,72$ ppm	m, CH (aromatisch)	5H
$\delta = 7,27$ ppm	s, CH (aromatisch)	1H
$\delta = 4,75-5,00$ ppm	m, CH	1H
$\delta = 1,98-2,34$ ppm	m, CH	1H
$\delta = 0,98-1,23$ ppm	m, CH ₃	6H

MS

m/z =	465 (M ⁺ ; 24 %)
	257 (53 %)
	122 (47 %)
	105 (100 %)
	77 (87 %)
	55 (51 %)
	43 (64 %)

Da diese Verbindung mittels Flashchromatographie nur grob aufgereinigt wurde, wurden die Bestimmung des Drehwertes sowie weitere Analysen nicht durchgeführt.

(3S)-6-Benzoyl-3-phenethyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carbonsäure-4-nitrophenylester (71)



Molekulargewicht: 527,55 g/mol
Schmelzpunkt: 98-100°C
Farbe: gelb

Summenformel: C₂₈H₂₁N₃O₆S
Physikal. Form: kristallin
Ausbeute: 3,6 g; 67,9 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode F unter Verwendung von 10 mmol (3,6 g) der Verbindung **69**. Für die Flashchromatographie wird PE/EtOAc (5,5+4,5) als Laufmittel verwendet.

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

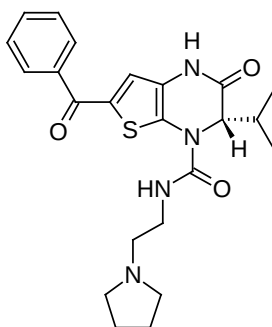
$\delta = 9,04-9,55$ ppm	m, NH	1H
$\delta = 8,19-8,45$ ppm	m, CH (aromatisch)	2H
$\delta = 7,74-7,99$ ppm	m, CH (aromatisch)	2H
$\delta = 7,39-7,73$ ppm	m, CH (aromatisch)	4H
$\delta = 7,00-7,39$ ppm	m, CH (aromatisch)	7H
$\delta = 5,08-5,38$ ppm	m, CH	1H
$\delta = 2,68-3,00$ ppm	m, CH ₂	2H
$\delta = 1,99-2,50$ ppm	m, CH ₂	2H

MS

m/z =	527 (M ⁺ ; 20 %)
	257 (87 %)
	105 (100 %)
	91 (93 %)
	77 (64 %)
	65 (36 %)
	55 (39 %)

Da diese Verbindung mittels Flashchromatographie nur grob aufgereinigt wurde, wurden die Bestimmung des Drehwertes sowie weitere Analysen nicht durchgeführt.

N4-(2-Pyrrolidinoethyl)-(3S)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (72)



Molekulargewicht: 440,56 g/mol
Schmelzpunkt: 111-114°C
Farbe: gelb

Summenformel: C₂₃H₂₈N₄O₃S
Physikal. Form: kristallin
Ausbeute: 0,34 g; 77,1 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,47 g) der Verbindung **70** und 1,2 mmol (0,14 g; 0,15 ml) 1-(2-Aminoethyl)pyrrolidin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = + 25,0^\circ$ (c = 0,5; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,69-7,90 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,35-7,60 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 6,92-7,25 ppm	m, CH (aromatisch) + NH	2H
δ = 4,50 ppm	d, CH (J = 8,1 Hz)	1H
δ = 3,63-3,88 ppm	m, CH ₂	1H
δ = 3,22-3,50 ppm	m, CH ₂	1H
δ = 2,92-3,14 ppm	m, CH ₂	1H
δ = 2,56-2,92 ppm	m, CH ₂	5H
δ = 1,67-2,13 ppm	m, CH + CH ₂	5H
δ = 0,75-1,12 ppm	m, CH ₃	6H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,5 ppm	C=O	1C
δ = 166,6 ppm	CONHR	1C
δ = 155,4 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 138,4 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,7 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,6 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,6 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,7 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,2 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 123,5 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 122,1 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 65,1 ppm	CH	1C
δ = 55,4 ppm	CH ₂	1C
δ = 53,5 ppm	CH ₂	2C
δ = 39,5 ppm	CH ₂	1C
δ = 31,1 ppm	CH	1C
δ = 23,3 ppm	CH ₂	2C
δ = 18,9 ppm	CH ₃	1C
δ = 18,5 ppm	CH ₃	1C

MS

m/z =	440 (M ⁺ ; nicht detektierbar)
	300 (31 %)
	257 (100 %)
	141 (71 %)
	105 (23 %)
	84 (73 %)
	77 (27 %)

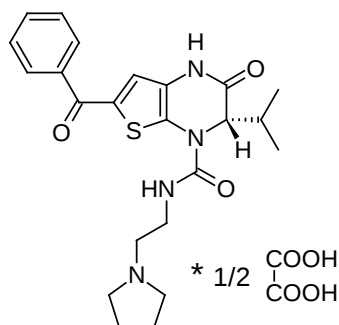
HR-MS

Berechnet für C ₂₃ H ₂₈ N ₄ O ₃ S + H ⁺ :	441,1960
Gefunden:	441,1940

HPLC

Elutionsmittel: 50:50 – MeOH:H₂O
 Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)
 Flussrate: 0,8 ml/1 min.
 Retentionszeit: 9,40 min./9,41 min.

N4-(2-Pyrrolidinoethyl)-(3S)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid Hemioxalat (72hox)



Molekulargewicht: 485,58 g/mol
Schmelzpunkt: 182-185°C
Farbe: gelb

Summenformel: C₂₄H₂₉N₄O₅S
Physikal. Form: amorph
Ausbeute: 0,14 g; 57,6 %

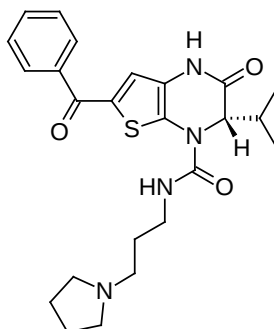
Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,22 g) der Verbindung **72** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet (x 0,5 mol H₂O): C 58,28 %; H 6,11 %; N 11,33 %
Gefunden: C 57,93 %; H 5,96 %; N 11,04 %

N4-(3-Pyrrolidinopropyl)-(3S)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (73)



Molekulargewicht: 454,59 g/mol
Schmelzpunkt: 100-102°C
Farbe: gelb

Summenformel: C₂₄H₃₀N₄O₃S
Physikal. Form: kristallin
Ausbeute: 0,37 g; 81,3 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,47 g) der Verbindung **70** und 1,2 mmol (0,15 g; 0,15 ml) 1-(3-Aminopropyl)pyrrolidin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = + 189,0^\circ$ (c = 0,5; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 8,00 ppm	s, br, NH	1H
δ = 7,73-7,92 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,38-7,67 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,21 ppm	s, CH (aromatisch)	1H
δ = 4,42 ppm	d, CH (J = 8,6 Hz)	1H
δ = 3,20-3,68 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,40-2,88 ppm	m, CH ₂	6H
δ = 1,59-2,08 ppm	m, CH + CH ₂	7H
δ = 1,03 ppm	d, CH ₃ (J = 6,8 Hz)	3H
δ = 0,97 ppm	d, CH ₃ (J = 6,8 Hz)	3H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,6 ppm	C=O	1C
δ = 165,8 ppm	CONHR	1C
δ = 154,6 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 138,3 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 133,0 ppm	Cq (aromatisch)	2C
δ = 131,8 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,7 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,3 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 124,1 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 122,1 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 64,2 ppm	CH	1C
δ = 55,9 ppm	CH ₂	1C
δ = 54,1 ppm	CH ₂	2C
δ = 41,7 ppm	CH ₂	1C
δ = 30,7 ppm	CH	1C
δ = 26,0 ppm	CH ₂	1C
δ = 23,3 ppm	CH ₂	2C
δ = 18,9 ppm	CH ₃	1C
δ = 18,7 ppm	CH ₃	1C

MS

m/z =	454 (M ⁺ ; nicht detektierbar)
	300 (35 %)
	257 (100 %)
	155 (34 %)
	105 (20 %)
	84 (66 %)
	77 (21 %)

HR-MS

Berechnet für C ₂₄ H ₃₀ N ₄ O ₃ S + H ⁺ :	455,2117
Gefunden:	455,2127

HPLC

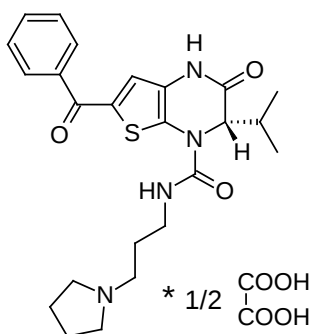
Elutionsmittel: 80:20 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH

Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)

Flussrate: 0,8 ml/1 min.

Retentionszeit: 5,40 min.

N4-(3-Pyrrolidinopropyl)-(3S)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid Hemioxalat (73hox)



Molekulargewicht: 499,60 g/mol

Schmelzpunkt: 203-206°C

Farbe: gelb

Summenformel: C₂₅H₃₁N₄O₅S

Physikal. Form: amorph

Ausbeute: 0,17 g; 68,0 %

Synthese

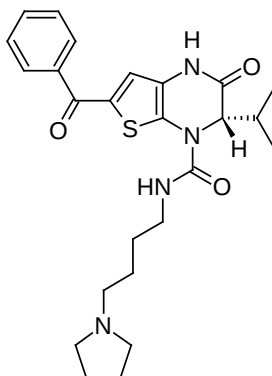
Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,23 g) der Verbindung **73** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet (x 0,25 mol H₂O): C 59,56 %; H 6,30 %; N 11,11 %

Gefunden: C 59,63 %; H 6,21 %; N 10,96 %

N4-(4-Pyrrolidinobutyl)-(3S)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (74)



Molekulargewicht: 468,61 g/mol

Schmelzpunkt: 95-98°C

Farbe: gelb

Summenformel: C₂₅H₃₂N₄O₃S

Physikal. Form: kristallin

Ausbeute: 0,35 g; 74,6 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,47 g) der Verbindung **70** und 1,2 mmol (0,17 g; 0,18 ml) 4-Pyrrolidinobutylamin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (6+2+2) verwendet.

$$[\alpha]_D^{20} = + 63,0^\circ \text{ (c = 0,5; Chloroform)}$$

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,72-7,95 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,37-7,64 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,15 ppm	s, CH (aromatisch)	1H
δ = 6,87-7,11 ppm	m, NH	1H
δ = 4,86 ppm	d, CH (J = 7,8 Hz)	1H
δ = 3,49-3,73 ppm	m, CH ₂	1H
δ = 3,09-3,33 ppm	m, CH ₂	1H
δ = 2,82-3,06 ppm	m, CH ₂	1H
δ = 2,48-2,82 ppm	m, CH ₂	4H
δ = 2,21-2,42 ppm	m, CH ₂	1H
δ = 2,00-2,21 ppm	m, CH	1H
δ = 1,41-1,93 ppm	m, CH ₂	8H
δ = 0,84-1,18 ppm	m, CH ₃	6H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,6 ppm	C=O	1C
δ = 166,3 ppm	CONHR	1C
δ = 154,9 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 138,5 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 133,5 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,5 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,7 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,7 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,3 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 124,1 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 122,0 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 63,9 ppm	CH	1C
δ = 56,1 ppm	CH ₂	1C
δ = 54,0 ppm	CH ₂	2C
δ = 39,8 ppm	CH ₂	1C
δ = 31,7 ppm	CH	1C
δ = 27,2 ppm	CH ₂	1C
δ = 24,7 ppm	CH ₂	1C
δ = 23,6 ppm	CH ₂	2C
δ = 19,0 ppm	CH ₃	1C
δ = 18,8 ppm	CH ₃	1C

MS

m/z =	468 (M ⁺ ; nicht detektierbar)
	300 (21 %)
	257 (73 %)
	145 (57 %)
	105 (13 %)

84 (100 %)
77 (15 %)

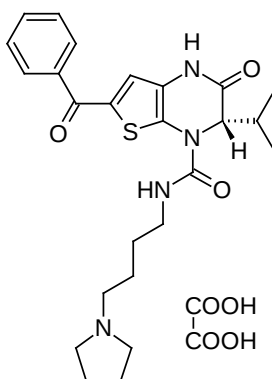
HR-MS

Berechnet für $C_{25}H_{32}N_4O_3S + H^+$: 469,2273
Gefunden: 469,2280

HPLC

Elutionsmittel: 80:20 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
Injektionsvolumen: 1 μ l (Stocklösung: 1 mg/1 ml)
Flussrate: 0,8 ml/1 min.
Retentionszeit: 5,60 min.

*N*4-(4-Pyrrolidinobutyl)-(3*S*)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-*b*]pyrazin-4-carboxamid Oxalat (**74ox**)



Molekulargewicht: 558,65 g/mol
Schmelzpunkt: 203-205°C
Farbe: gelb

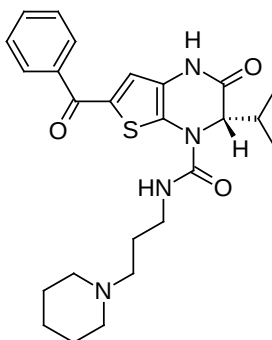
Summenformel: $C_{27}H_{34}N_4O_7S$
Physikal. Form: amorph
Ausbeute: 0,17 g; 60,9 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,23 g) der Verbindung **74** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet: C 58,05 %; H 6,13 %; N 10,03 %
Gefunden: C 58,01 %; H 6,05 %; N 10,20 %

N4-(3-Piperidinopropyl)-(3S)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (76)

Molekulargewicht: 468,61 g/mol
 Schmelzpunkt: 101-103°C
 Farbe: gelb

Summenformel: C₂₅H₃₂N₄O₃S
 Physikal. Form: kristallin
 Ausbeute: 0,44 g; 93,8 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,47 g) der Verbindung **70** und 1,2 mmol (0,17 g; 0,19 ml) 1-(3-Aminopropyl)piperidin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = + 186,0^\circ$ (c = 0,5; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,74-7,98 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,67 ppm	s, br, NH	1H
δ = 7,38-7,61 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,24 ppm	s, CH (aromatisch)	1H
δ = 4,57 ppm	d, CH (J = 8,5 Hz)	1H
δ = 3,20-3,64 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,20-2,72 ppm	m, CH ₂	6H
δ = 1,92-2,17 ppm	m, CH	1H
δ = 1,67-1,90 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 1,29-1,67 ppm	m, CH ₂	6H
δ = 1,04 ppm	d, CH ₃ (J = 6,8 Hz)	3H
δ = 0,97 ppm	d, CH ₃ (J = 6,8 Hz)	3H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,6 ppm	C=O	1C
δ = 166,1 ppm	CONHR	1C
δ = 154,6 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 138,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 133,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 133,0 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,8 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,7 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,4 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 124,4 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 122,3 ppm	CH (aromatisch)	1C

$\delta = 64,1$ ppm	CH	1C
$\delta = 58,8$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 54,7$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 41,8$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 30,7$ ppm	CH	1C
$\delta = 25,5$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 24,3$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 24,1$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 18,9$ ppm	CH ₃	1C
$\delta = 18,8$ ppm	CH ₃	1C

MS

m/z =	468 (M ⁺ ; nicht detektierbar)
	300 (34 %)
	257 (100 %)
	169 (40 %)
	105 (21 %)
	98 (63 %)
	77 (20 %)

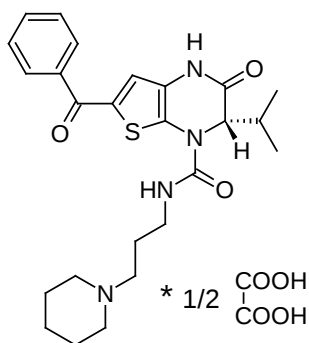
HR-MS

Berechnet für C ₂₅ H ₃₂ N ₄ O ₃ S + H ⁺ :	469,2273
Gefunden:	469,2291

HPLC

Elutionsmittel: 77,5:22,5 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
 Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)
 Flussrate: 0,8 ml/1 min.
 Retentionszeit: 5,02 min.

N4-(3-Piperidinopropyl)-(3S)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid Hemioxalat (76hox)



Molekulargewicht: 513,63 g/mol
 Schmelzpunkt: 208-210°C
 Farbe: gelb

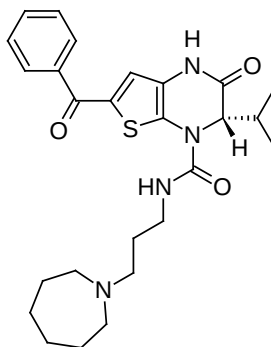
Summenformel: C₂₆H₃₃N₄O₅S
 Physikal. Form: amorph
 Ausbeute: 0,18 g; 70,0 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,23 g) der Verbindung **76** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-AnalyseBerechnet (x 0,5 mol H₂O): C 59,75 %; H 6,56 %; N 10,72 %

Gefunden: C 59,84 %; H 6,36 %; N 10,68 %

N4-[3-(1-Azepanyl)propyl]-(3S)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (77)

Molekulargewicht: 482,64 g/mol

Schmelzpunkt: 96-99°C

Farbe: gelb

Summenformel: C₂₆H₃₄N₄O₃S

Physikal. Form: kristallin

Ausbeute: 0,43 g; 89,0 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,47 g) der Verbindung **70** und 1,2 mmol (0,19 g; 0,21 ml) 3-(1-Azepanyl)-1-propanamin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$$[\alpha]_D^{20} = + 172,0^\circ \text{ (c = 0,5; Chloroform)}$$
¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,76-7,95 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,69 ppm	s, br, NH	1H
δ = 7,39-7,62 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,23 ppm	s, CH (aromatisch)	1H
δ = 4,52 ppm	d, CH (J = 8,6 Hz)	1H
δ = 3,22-3,62 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,45-2,90 ppm	m, CH ₂	6H
δ = 1,90-2,15 ppm	m, CH	1H
δ = 1,39-1,88 ppm	m, CH ₂	10H
δ = 1,03 ppm	d, CH ₃ (J = 6,8 Hz)	3H
δ = 0,97 ppm	d, CH ₃ (J = 6,8 Hz)	3H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,6 ppm	C=O	1C
δ = 166,1 ppm	CONHR	1C
δ = 154,6 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 138,2 ppm	C _q (aromatisch)	1C
δ = 133,2 ppm	C _q (aromatisch)	1C

$\delta = 132,9$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 131,8$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 128,7$ ppm	CH (aromatisch)	2C
$\delta = 128,4$ ppm	CH (aromatisch)	2C
$\delta = 124,5$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 122,3$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 64,1$ ppm	CH	1C
$\delta = 56,1$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 55,3$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 41,7$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 30,6$ ppm	CH	1C
$\delta = 27,1$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 26,2$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 25,1$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 18,9$ ppm	CH ₃	1C
$\delta = 18,7$ ppm	CH ₃	1C

MS

m/z =	482 (M ⁺ ; nicht detektierbar)
	300 (36 %)
	257 (100 %)
	112 (27 %)
	105 (20 %)
	84 (10 %)
	77 (19 %)

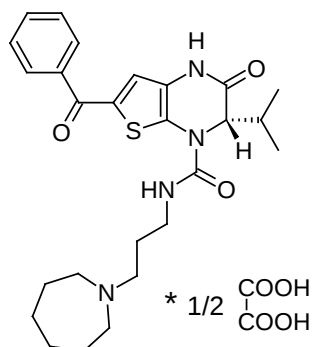
HR-MS

Berechnet für C ₂₆ H ₃₄ N ₄ O ₃ S + H ⁺ :	483,2430
Gefunden:	483,2452

HPLC

Elutionsmittel: 77,5:22,5 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
 Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)
 Flussrate: 0,8 ml/1 min.
 Retentionszeit: 5,53 min.

N4-[3-(1-Azepanyl)propyl]-(3S)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid Hemioxalat (77hox)



Molekulargewicht: 527,66 g/mol
 Schmelzpunkt: 204-205°C
 Farbe: gelb

Summenformel: C₂₇H₃₅N₄O₅S
 Physikal. Form: amorph
 Ausbeute: 0,19 g; 72,0 %

Synthese

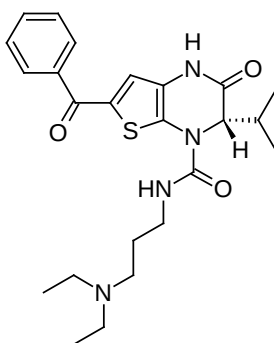
Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,24 g) der Verbindung **77** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet (x 0,5 mol H₂O): C 60,43 %; H 6,76 %; N 10,44 %

Gefunden: C 60,48 %; H 6,53 %; N 10,35 %

N4-[3-(Diethylamino)propyl]-(3S)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (78)



Molekulargewicht: 456,60 g/mol

Schmelzpunkt: 82-84°C

Farbe: gelb

Summenformel: C₂₄H₃₂N₄O₃S

Physikal. Form: kristallin

Ausbeute: 0,22 g; 48,1 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,47 g) der Verbindung **70** und 1,2 mmol (0,16 g; 0,19 ml) N,N-Diethyl-1,3-propandiamin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = + 204,0^\circ$ (c = 0,5; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,90-8,17 ppm	m, NH	1H
δ = 7,72-7,89 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,38-7,63 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,22 ppm	s, CH (aromatisch)	1H
δ = 4,44 ppm	d, CH (J = 8,6 Hz)	1H
δ = 3,29-3,62 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,42-2,73 ppm	m, CH ₂	6H
δ = 1,90-2,13 ppm	m, CH	1H
δ = 1,60-1,85 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 0,81-1,16 ppm	m, CH ₃	12H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,5 ppm	C=O	1C
δ = 166,0 ppm	CONHR	1C
δ = 154,5 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 138,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 133,0 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,8 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,8 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,7 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,3 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 124,5 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 122,3 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 64,1 ppm	CH	1C
δ = 52,4 ppm	CH ₂	1C
δ = 46,4 ppm	CH ₂	2C
δ = 42,0 ppm	CH ₂	1C
δ = 30,5 ppm	CH	1C
δ = 24,8 ppm	CH ₂	1C
δ = 18,9 ppm	CH ₃	1C
δ = 18,6 ppm	CH ₃	1C
δ = 10,7 ppm	CH ₃	2C

MS

m/z =	456 (M ⁺ ; nicht detektierbar)
	300 (15 %)
	257 (50 %)
	157 (100 %)
	105 (14 %)
	86 (22 %)
	77 (15 %)

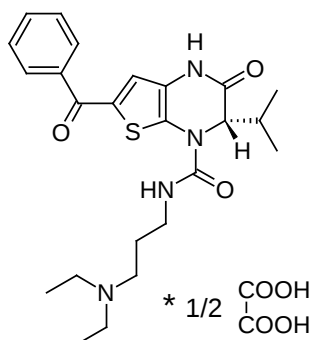
HR-MS

Berechnet für C ₂₄ H ₃₂ N ₄ O ₃ S + H ⁺ :	457,2273
Gefunden:	457,2286

HPLC

Elutionsmittel: 85:15 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
 Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)
 Flussrate: 0,8 ml/1 min.
 Retentionszeit: 6,47 min.

N4-[3-(Diethylamino)propyl]-(3S)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid Hemioxalat (78hox)



Molekulargewicht: 501,62 g/mol
Schmelzpunkt: 186-189°C
Farbe: gelb

Summenformel: C₂₅H₃₃N₄O₅S
Physikal. Form: kristallin
Ausbeute: 0,18 g; 71,7 %

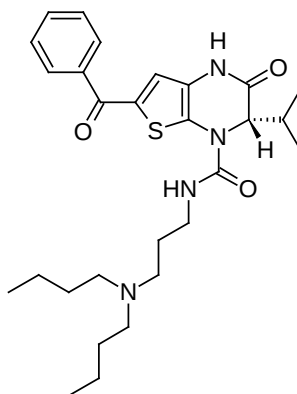
Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode B aus 0,5 mmol (0,23 g) der Verbindung **78** und 0,5 mmol (0,045 g) Oxalsäure.

CHN-Analyse

Berechnet:	C 59,86 %; H 6,63 %; N 11,17 %
Gefunden:	C 59,60 %; H 6,49 %; N 11,04 %

N4-[3-(Dibutylamino)propyl]-(3S)-6-benzoyl-2-oxo-3-isopropyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (79)



Molekulargewicht: 512,71 g/mol
Schmelzpunkt: 55-58°C
Farbe: gelb

Summenformel: C₂₈H₄₀N₄O₃S
Physikal. Form: kristallin
Ausbeute: 0,50 g; 97,5 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,47 g) der Verbindung **70** und 1,2 mmol (0,22 g; 0,27 ml) N,N-Di-n-butyl-1,3-propandiamin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$$[\alpha]_D^{20} = + 175,0^\circ \text{ (c = 0,5; Chloroform)}$$

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,75-7,93 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,66 ppm	s, br, NH	1H
δ = 7,39-7,61 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,26 ppm	s, CH (aromatisch)	1H
δ = 4,54 ppm	d, CH (J = 8,5 Hz)	1H
δ = 3,25-3,65 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,32-2,80 ppm	m, CH ₂	6H
δ = 1,90-2,15 ppm	m, CH	1H
δ = 1,65-1,90 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 1,14-1,59 ppm	m, CH ₂	8H
δ = 1,03 ppm	d, CH ₃ (J = 6,8 Hz)	3H
δ = 0,97 ppm	d, CH ₃ (J = 6,8 Hz)	3H
δ = 0,88 ppm	t, CH ₃ (J = 7,1 Hz)	6H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,6 ppm	C=O	1C
δ = 165,8 ppm	CONHR	1C
δ = 154,7 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 138,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 133,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,8 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,8 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,8 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,4 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 124,4 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 122,4 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 64,2 ppm	CH	1C
δ = 53,6 ppm	CH ₂	2C
δ = 53,1 ppm	CH ₂	1C
δ = 41,4 ppm	CH ₂	1C
δ = 30,6 ppm	CH	1C
δ = 27,8 ppm	CH ₂	1C
δ = 25,1 ppm	CH ₂	1C
δ = 20,7 ppm	CH ₂	3C
δ = 18,9 ppm	CH ₃	1C
δ = 18,7 ppm	CH ₃	1C
δ = 13,9 ppm	CH ₃	2C

MS

m/z =	512 (M ⁺ ; nicht detektierbar)
	300 (32 %)
	257 (100 %)
	213 (51 %)
	169 (42 %)
	105 (17 %)
	77 (18 %)

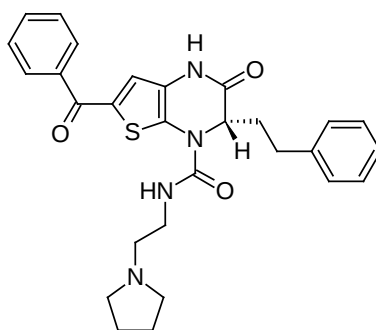
CHN-Analyse

Berechnet: C 65,59 %; H 7,86 %; N 10,93 %
 Gefunden: C 65,27 %; H 7,69 %; N 10,73 %

HPLC

Elutionsmittel: 80:20 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
 Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 0,25 mg/1 ml)
 Flussrate: 0,8 ml/1 min.
 Retentionszeit: 5,20 min.

N4-(2-Pyrrolidinoethyl)-(3S)-6-benzoyl-2-oxo-3-phenethyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (80)



Molekulargewicht: 502,63 g/mol
 Schmelzpunkt: 100-102°C
 Farbe: gelb

Summenformel: C₂₈H₃₀N₄O₃S
 Physikal. Form: kristallin
 Ausbeute: 0,32 g; 63,6 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,53 g) der Verbindung **71** und 1,2 mmol (0,14 g; 0,15 ml) 1-(2-Aminoethyl)pyrrolidin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = + 22,0^\circ$ (c = 0,5; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,71-7,93 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,35-7,62 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,09-7,35 ppm	m, CH (aromatisch)	5H
δ = 7,05 ppm	s, CH (aromatisch)	1H
δ = 6,59 ppm	s, br, NH	1H
δ = 4,66-4,98 ppm	m, CH	1H
δ = 3,60-3,89 ppm	m, CH ₂	1H
δ = 3,11-3,37 ppm	m, CH ₂	1H
δ = 2,50-3,03 ppm	m, CH ₂	8H
δ = 1,62-2,20 ppm	m, CH ₂	6H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,5 ppm	C=O	1C
δ = 166,7 ppm	CONHR	1C
δ = 154,4 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 140,1 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 138,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,9 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,7 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 131,5 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 128,8 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,5 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,4 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,3 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 126,3 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 123,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 122,3 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 58,5 ppm	CH	1C
δ = 55,3 ppm	CH ₂	1C
δ = 53,6 ppm	CH ₂	2C
δ = 39,2 ppm	CH ₂	1C
δ = 33,4 ppm	CH ₂	1C
δ = 31,2 ppm	CH ₂	1C
δ = 23,4 ppm	CH ₂	2C

HR-MS

Berechnet für C₂₈H₃₀N₄O₃S + H⁺: 503,2117
 Gefunden: 503,2121

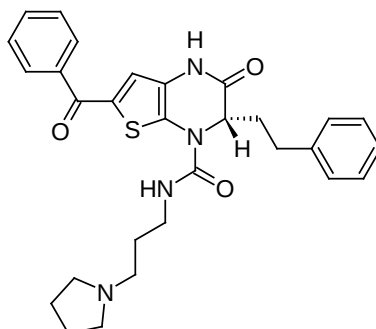
CHN-Analyse

Berechnet (x 0,33 mol H₂O): C 66,13 %; H 6,08 %; N 11,02 %
 Gefunden: C 65,81 %; H 5,73 %; N 10,89 %

HPLC

Elutionsmittel: 72,5:27,5 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
 Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)
 Flussrate: 0,8 ml/1 min.
 Retentionszeit: 5,48 min.

N4-(3-Pyrrolidinopropyl)-(3S)-6-benzoyl-2-oxo-3-phenethyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (81)



Molekulargewicht: 516,65 g/mol
Schmelzpunkt: 94-96°C
Farbe: gelb

Summenformel: C₂₉H₃₂N₄O₃S
Physikal. Form: kristallin
Ausbeute: 0,32 g; 61,9 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,53 g) der Verbindung **71** und 1,2 mmol (0,15 g; 0,15 ml) 1-(3-Aminopropyl)pyrrolidin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = + 170,0^\circ$ (c = 0,5; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,90 ppm	s, br, NH	1H
δ = 7,74-7,88 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,39-7,78 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,03-7,39 ppm	m, CH (aromatisch)	6H
δ = 4,70-4,97 ppm	m, CH	1H
δ = 3,26-3,69 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,44-2,91 ppm	m, CH ₂	8H
δ = 2,00-2,25 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 1,68-1,98 ppm	m, CH ₂	6H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,6 ppm	C=O	1C
δ = 166,3 ppm	CONHR	1C
δ = 154,1 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 140,0 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 138,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 133,0 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,1 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,8 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,8 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,5 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,4 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,2 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 126,3 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 123,4 ppm	Cq (aromatisch)	1C

$\delta = 122,3$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 58,4$ ppm	CH	1C
$\delta = 55,6$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 54,1$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 41,4$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 32,9$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 31,0$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 25,8$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 23,3$ ppm	CH ₂	2C

HR-MS

Berechnet für C₂₉H₃₂N₄O₃S + H⁺: 517,2273
 Gefunden: 517,2273

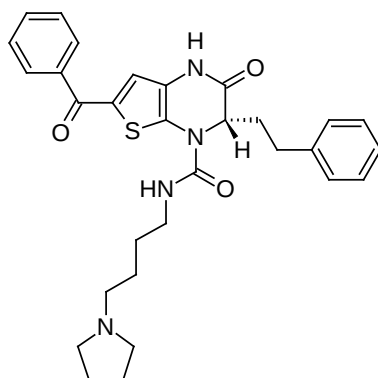
CHN-Analyse

Berechnet (x 0,05 mol H₂O): C 67,30 %; H 6,25 %; N 10,83 %
 Gefunden: C 66,93 %; H 5,83 %; N 10,62 %

HPLC

Elutionsmittel: 75:25 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
 Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)
 Flussrate: 0,8 ml/1 min.
 Retentionszeit: 6,40 min.

N4-(4-Pyrrolidinobutyl)-(3S)-6-benzoyl-2-oxo-3-phenethyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (82)



Molekulargewicht: 530,68 g/mol
 Schmelzpunkt: 90-93°C
 Farbe: gelb

Summenformel: C₃₀H₃₄N₄O₃S
 Physikal. Form: kristallin
 Ausbeute: 0,52 g; 97,9 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,53 g) der Verbindung **71** und 1,2 mmol (0,17 g; 0,18 ml) 4-Pyrrolidinobutylamin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = + 92,5^\circ$ (c = 1; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,73-7,96 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,39-7,67 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,06-7,39 ppm	m, CH (aromatisch)	6H
δ = 6,80-7,06 ppm	m, NH	1H
δ = 5,08-5,41 ppm	m, CH	1H
δ = 3,46-3,79 ppm	m, CH₂	1H
δ = 3,08-3,35 ppm	m, CH₂	1H
δ = 2,60-3,07 ppm	m, CH₂	7H
δ = 2,34-2,60 ppm	m, CH₂	1H
δ = 2,00-2,31 ppm	m, CH₂	2H
δ = 1,33-2,00 ppm	m, CH₂	8H

1 **NH** nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,6 ppm	C=O	1C
δ = 166,9 ppm	CONHR	1C
δ = 154,2 ppm	R₂NCONHR	1C
δ = 140,1 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 138,4 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,6 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,5 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,7 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,7 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,5 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,3 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,2 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 126,3 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 123,3 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 122,2 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 58,3 ppm	CH	1C
δ = 56,1 ppm	CH₂	1C
δ = 54,0 ppm	CH₂	2C
δ = 39,8 ppm	CH₂	1C
δ = 33,4 ppm	CH₂	1C
δ = 31,2 ppm	CH₂	1C
δ = 27,1 ppm	CH₂	1C
δ = 24,5 ppm	CH₂	1C
δ = 23,5 ppm	CH₂	2C

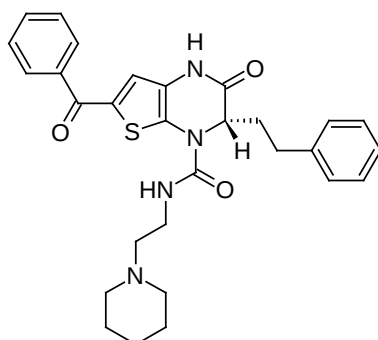
HR-MS

Berechnet für C₃₀H₃₄N₄O₃S + H⁺: 531,2430
 Gefunden: 531,2434

HPLC

Elutionsmittel: 80:20 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
 Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)
 Flussrate: 0,8 ml/1 min.
 Retentionszeit: 9,30 min.

N4-(2-Piperidinoethyl)-(3S)-6-benzoyl-2-oxo-3-phenethyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (83)



Molekulargewicht: 516,65 g/mol
Schmelzpunkt: 91-93°C
Farbe: gelb

Summenformel: C₂₉H₃₂N₄O₃S
Physikal. Form: kristallin
Ausbeute: 0,34 g; 65,8 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,53 g) der Verbindung **71** und 1,2 mmol (0,15 g; 0,17 ml) 1-(2-Aminoethyl)piperidin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = + 131,0^\circ$ (c = 0,5; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,69-7,99 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,35-7,65 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,05-7,35 ppm	m, CH (aromatisch)	6H
δ = 6,50 ppm	s, br, NH	1H
δ = 4,62-5,08 ppm	m, CH	1H
δ = 3,22-3,68 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,29-2,87 ppm	m, CH ₂	8H
δ = 1,82-2,21 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 1,32-1,76 ppm	m, CH ₂	6H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,5 ppm	C=O	1C
δ = 166,5 ppm	CONHR	1C
δ = 153,9 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 140,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 138,1 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 133,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,9 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 131,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 128,8 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,5 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,4 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,3 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 126,3 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 123,8 ppm	Cq (aromatisch)	1C

$\delta = 122,6$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 58,3$ ppm	CH	1C
$\delta = 57,1$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 54,1$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 37,3$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 33,1$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 31,3$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 25,2$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 23,8$ ppm	CH ₂	1C

HR-MS

Berechnet für C₂₉H₃₂N₄O₃S + H⁺: 517,2273
 Gefunden: 517,2282

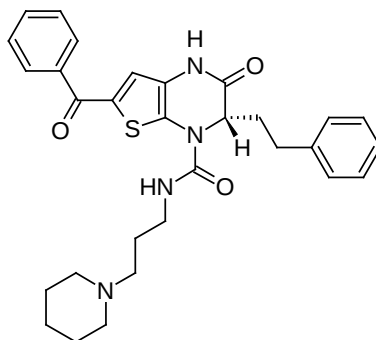
CHN-Analyse

Berechnet (x 0,2 mol H₂O): C 66,95 %; H 6,28 %; N 10,77 %
 Gefunden: C 66,75 %; H 6,38 %; N 11,04 %

HPLC

Elutionsmittel: 72,5:27,5 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
 Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)
 Flussrate: 0,8 ml/1 min.
 Retentionszeit: 5,49 min.

N4-(3-Piperidinopropyl)-(3S)-6-benzoyl-2-oxo-3-phenethyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (84)



Molekulargewicht: 530,68 g/mol
 Schmelzpunkt: 89-91°C
 Farbe: gelb

Summenformel: C₃₀H₃₄N₄O₃S
 Physikal. Form: kristallin
 Ausbeute: 0,50 g; 94,2 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,53 g) der Verbindung **71** und 1,2 mmol (0,17 g; 0,19 ml) 1-(3-Aminopropyl)piperidin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = + 169,0^\circ$ (c = 0,5; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,74-7,93 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,67 ppm	s, br, NH	1H
δ = 7,39-7,62 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,07-7,39 ppm	m, CH (aromatisch)	6H
δ = 4,78-5,01 ppm	m, CH	1H
δ = 3,22-3,64 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,63-2,89 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,28-2,63 ppm	m, CH ₂	6H
δ = 1,97-2,27 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 1,71-1,92 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 1,29-1,71 ppm	m, CH ₂	6H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,6 ppm	C=O	1C
δ = 166,5 ppm	CONHR	1C
δ = 154,1 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 140,0 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 138,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 133,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,0 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,8 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,8 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,5 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,4 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,2 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 126,3 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 123,6 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 122,4 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 58,5 ppm	CH ₂	1C
δ = 58,3 ppm	CH	1C
δ = 54,6 ppm	CH ₂	2C
δ = 41,6 ppm	CH ₂	1C
δ = 32,7 ppm	CH ₂	1C
δ = 31,0 ppm	CH ₂	1C
δ = 25,2 ppm	CH ₂	2C
δ = 23,9 ppm	CH ₂	1C
δ = 23,8 ppm	CH ₂	1C

HR-MS

Berechnet für C₃₀H₃₄N₄O₃S + H⁺: 531,2430
 Gefunden: 531,2449

CHN-Analyse

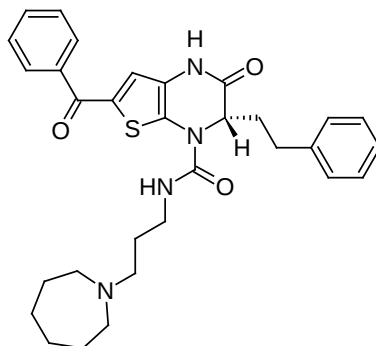
Berechnet: C 67,90 %; H 6,46 %; N 10,56 %
 Gefunden: C 67,83 %; H 6,35 %; N 10,65 %

HPLC

Elutionsmittel: 75:25 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
 Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)

Flussrate: 0,8 ml/1 min.
Retentionszeit: 6,87 min.

N4-[3-(1-Azepanyl)propyl]-(3S)-6-benzoyl-2-oxo-3-phenethyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (85)



Molekulargewicht: 544,71 g/mol
Schmelzpunkt: 84-87°C
Farbe: gelb

Summenformel: C₃₁H₃₆N₄O₃S
Physikal. Form: kristallin
Ausbeute: 0,50 g; 91,7 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,53 g) der Verbindung **71** und 1,2 mmol (0,19 g; 0,21 ml) 3-(1-Azepanyl)-1-propanamin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$[\alpha]_D^{20} = + 162,0^\circ$ (c = 1; Chloroform)

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,75-7,94 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,39-7,75 ppm	m, CH (aromatisch) + NH	4H
δ = 7,08-7,38 ppm	m, CH (aromatisch)	6H
δ = 4,70-5,11 ppm	m, CH	1H
δ = 3,22-3,65 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 2,51-2,96 ppm	m, CH ₂	8H
δ = 1,95-2,23 ppm	m, CH ₂	2H
δ = 1,41-1,90 ppm	m, CH ₂	10H

1 NH nicht detektierbar

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,6 ppm	C=O	1C
δ = 166,5 ppm	CONHR	1C
δ = 154,1 ppm	R ₂ NCONHR	1C
δ = 140,1 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 138,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 133,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,0 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,9 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,8 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,5 ppm	CH (aromatisch)	2C

$\delta = 128,4$ ppm	CH (aromatisch)	2C
$\delta = 128,2$ ppm	CH (aromatisch)	2C
$\delta = 126,3$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 123,7$ ppm	Cq (aromatisch)	1C
$\delta = 122,5$ ppm	CH (aromatisch)	1C
$\delta = 58,3$ ppm	CH	1C
$\delta = 56,3$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 55,3$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 41,3$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 32,8$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 31,1$ ppm	CH ₂	1C
$\delta = 27,0$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 25,9$ ppm	CH ₂	2C
$\delta = 24,9$ ppm	CH ₂	1C

HR-MS

Berechnet für C₃₁H₃₆N₄O₃S + H⁺: 545,2586
 Gefunden: 545,2604

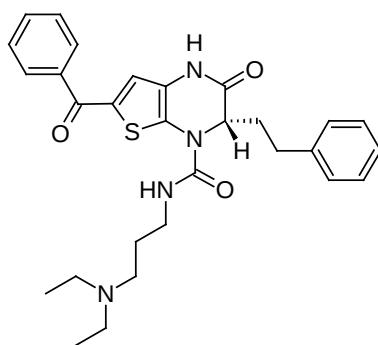
CHN-Analyse

Berechnet (x 0,25 H₂O): C 67,79 %; H 6,70 %; N 10,20 %
 Gefunden: C 67,54 %; H 6,43 %; N 10,16 %

HPLC

Elutionsmittel: 75:25 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH
 Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)
 Flussrate: 0,8 ml/1 min.
 Retentionszeit: 7,30 min.

N4-[3-(Diethylamino)propyl]-(3S)-6-benzoyl-2-oxo-3-phenethyl-1,2,3,4-tetrahydrothieno[2,3-b]pyrazin-4-carboxamid (86)



Molekulargewicht: 518,67 g/mol
 Schmelzpunkt: 72-74 °C
 Farbe: gelb

Summenformel: C₂₉H₃₄N₄O₃S
 Physikal. Form: kristallin
 Ausbeute: 0,41 g; 79,0 %

Synthese

Die Darstellung erfolgt nach Methode G aus 1 mmol (0,53 g) der Verbindung **71** und 1,2 mmol (0,16 g; 0,19 ml) N,N-Diethyl-1,3-propandiamin. Als Laufmittel wird EtOAc/MeOH/TEA (8+1+1) verwendet.

$$[\alpha]_D^{20} = + 188,0^\circ \text{ (c = 1; Chloroform)}$$

¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz)

δ = 7,71-8,01 ppm	m, CH (aromatisch) + NH	3H
δ = 7,39-7,66 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,00-7,38 ppm	m, CH (aromatisch)	6H
δ = 4,66-5,02 ppm	m, CH	1H
δ = 3,25-3,68 ppm	m, CH₂	2H
δ = 2,39-2,90 ppm	m, CH₂	8H
δ = 1,92-2,22 ppm	m, CH₂	2H
δ = 1,59-1,90 ppm	m, CH₂	2H
δ = 1,03 ppm	t, CH₃ (J = 7,1 Hz)	6H

1 **NH** nicht detektierbar**¹³C-NMR** (CDCl₃, 50 MHz)

δ = 187,6 ppm	C=O	1C
δ = 166,4 ppm	CONHR	1C
δ = 154,0 ppm	R₂NCONHR	1C
δ = 140,0 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 138,2 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 133,1 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 132,0 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 131,9 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,8 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,5 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,4 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,2 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 126,3 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 123,7 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 122,4 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 58,4 ppm	CH	1C
δ = 52,2 ppm	CH₂	1C
δ = 46,4 ppm	CH₂	2C
δ = 41,7 ppm	CH₂	1C
δ = 32,8 ppm	CH₂	1C
δ = 31,1 ppm	CH₂	1C
δ = 24,6 ppm	CH₂	1C
δ = 10,5 ppm	CH₃	2C

HR-MS

Berechnet für C₂₉H₃₄N₄O₃S + H⁺: 519,2430
 Gefunden: 519,2450

CHN-Analyse

Berechnet (x 0,125 mol H₂O): C 66,86 %; H 6,63 %; N 10,76 %
 Gefunden: C 66,56 %; H 6,29 %; N 10,85 %

HPLC

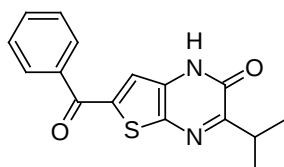
Elutionsmittel: 75:25 – 0,1 % Triethylaminacetat (pH 4,1):MeOH

Injektionsvolumen: 1 µl (Stocklösung: 1 mg/1 ml)

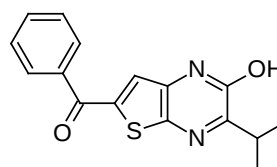
Flussrate: 0,8 ml/1 min.

Retentionszeit: 6,10 min.

6-Benzoyl-3-isopropyl-1,2-dihydrothieno[2,3-b]pyrazin-2-on (88) bzw. (2-Hydroxy-3-isopropylthieno[2,3-b]pyrazin-6-yl)(phenyl)methanon (89)

**88**

bzw.

**89**

Molekulargewicht: 298,36 g/mol

Schmelzpunkt: 230-233°C

Farbe: gelb

Summenformel: C₁₆H₁₄N₂O₂S

Physikal. Form: kristallin

Ausbeute: 0,04 g; 88,9%

Synthese

In einem ausgeheizten Dreihalskolben werden 0,15 mmol (0,045 g) der Verbindung **68** unter Argonatmosphäre in 2 ml absolutem THF gelöst. Weiters werden 0,22 mmol (0,056 g) (S)-(+)-MTPA-Chlorid zugesetzt. Die Reaktionslösung wird für eine Stunde bei 0°C und für weitere 18 Stunden bei Raumtemperatur bis zur vollständigen Umsetzung gerührt. Anschließend wird auf Eiswasser gegossen, der entstandene Niederschlag abgesaugt und in Ethanol umkristallisiert.

¹H-NMR (d₆-DMSO, 200 MHz)

δ = 12,65 ppm	s, br, OH bzw. NH	1H
δ = 7,79-8,08 ppm	m, CH (aromatisch)	2H
δ = 7,50-7,79 ppm	m, CH (aromatisch)	3H
δ = 7,35 ppm	s, CH (aromatisch)	1H
δ = 3,20-3,64 ppm	m, CH	1H
δ = 1,00-1,41 ppm	m, CH ₃	6H

¹³C-NMR (d₆-DMSO, 50 MHz)

δ = 187,9 ppm	C=O	1C
δ = 154,4 ppm	Cq	1C
δ = 141,0 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 136,6 ppm	Cq (aromatisch)	1C
δ = 133,0 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 128,9 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 128,8 ppm	CH (aromatisch)	2C
δ = 122,6 ppm	CH (aromatisch)	1C
δ = 30,4 ppm	CH	1C
δ = 20,0 ppm	CH ₃	2C

3 Cq nicht detektierbar

MS

m/z =	298 (M ⁺ ; 100 %)
	283 (80 %)
	270 (42 %)
	255 (17 %)
	105 (31 %)
	77 (53 %)

CHN-Analyse

Berechnet:	C 64,41 %; H 4,73 %; N 9,39 %
Gefunden:	C 63,99 %; H 4,53 %; N 9,15 %

6.2. Biologischer Teil

6.2.1. Untersuchungen der inhibitorischen Aktivität auf die Enzyme Butyrylcholinesterase (BChE) und Acetylcholinesterase (AChE)

Die praktische Durchführung der enzymatischen Untersuchungen wurde in Zusammenarbeit mit dem Department of Biosciences der Abo Akademi University, BioCity, Turku, Finnland unter der Leitung von Prof. Pia Vuorela durchgeführt.

6.2.1.1. Bestimmung der BChE-Inhibition

Der Assay zur Bestimmung der BChE-Inhibition basiert auf der Ellman-Reaktion (Ellman *et al.*, 1961). Hierfür wird das sogenannte Ellman-Reagenz, 5,5'-Dithio-bis-(2-nitro-benzoesäure) (DTNB), verwendet. Dieses bildet ein gefärbtes Dianion (5-Thio-2-nitro-benzoesäure), indem DTNB mit Thiocholin, welches durch enzymatische Hydrolyse des Substrates entsteht, reagiert. Das gefärbte Anion kann bei 412 nm spektrophotometrisch vermessen werden.

Zu Beginn wird ein Screening bei einer Testsubstanzkonzentration von 10 μ M durchgeführt. Dafür werden die Testsubstanzen in höheren Konzentrationen in trockenem DMSO vorgelöst. Die Reaktion selbst wird in 96-well Mikrotiterplatten durchgeführt. Hierfür werden die Testsubstanzen entsprechend mit 50 mM Tris-HCl Puffer (pH 8) verdünnt, um eine Endkonzentration von 10 μ M im Assay zu erhalten. Anschließend werden 1,5 mM S-Butyrylthiocholinchlorid in H₂O, 3 mM DTNB in 50 mM Tris-HCl Puffer (pH 8), welcher zusätzlich 0,1 M NaCl und 0,02 M MgCl₂ x 6 H₂O enthält, und 0,1 % BSA in 50 mM Tris-HCl Puffer (pH 8) zugegeben. Die enzymatische Reaktion wird durch die Zugabe des Enzyms BChE mit einer Konzentration von 0,350 U/ml (EC 3.1.1.8, aus Pferdeserum, Sigma Aldrich, USA) in 50 mM Tris-HCl Puffer (pH 8) mit 0,1 % BSA gestartet. Die Reaktion findet bei Raumtemperatur statt und wird jeweils 10 Mal innerhalb von 10 Minuten vor und nach der Enzymzugabe mit einem Varioskan Flash multimode plate reader (Thermo Fisher Scientific, Finnland) bei 412 nm gemessen.

Physostigmin, gelöst in Methanol, und Galantamin, gelöst in Wasser, werden als Referenzsubstanzen und DMSO in 50 mM Tris-HCl Puffer (pH 8) als Lösungsmittelkontrolle verwendet.

6.2.1.2 Bestimmung der AChE-Inhibition

Die Durchführung des AChE-Assays erfolgt analog zum BChE-Assay. Hiefür wird als Substrat Acetylthiocholiniodid in einer Konzentration von 1,5 mM in H₂O und als Enzym AChE (EC 3.1.1.7, vom Zitteraal, Sigma Aldrich, USA) mit einer Konzentration von 0,224 U/ml verwendet.

Zur **Bestimmung der IC₅₀-Werte** wurden mindestens acht verschiedene Konzentrationen pro Testsubstanz in acht Wiederholungen getestet. Es wurden drei voneinander unabhängige Messungen durchgeführt.

6.2.2. Untersuchungen an der glatten Muskulatur von isolierten Organpräparaten des Meerschweinchens

Der Versuchsablauf erfolgt nach folgendem Schema:

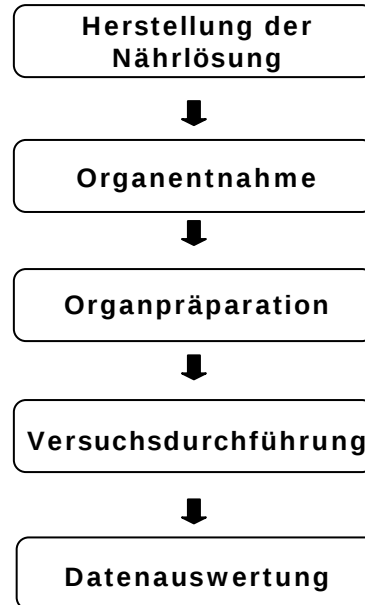


Abb. 68: Schema des Versuchsablaufes.

Bei den Versuchstieren handelt es sich um männliche und weibliche Meerschweinchen des Auszuchtstammes TRIK mit einem Körpergewicht zwischen 300 und 500 g. Die Tötung des Tieres erfolgt durch einen gezielten Genickschlag. Für die Versuche werden folgende Organe herangezogen: Aorta descendens, Arteria pulmonalis, terminales Ileum, Atrium cordis dextrum und Musculus papillaris.

6.2.2.1. Herstellung der Nährlösung

Zu Beginn jedes Versuchstages werden zwei Liter einer physiologischen Nährlösung hergestellt. Hierbei handelt es sich um eine modifizierte Krebs-Henseleit-Lösung (Reiter, 1967). Nach Entnahme der Organe müssen diese während der Präparation, Lagerung und Versuchsdurchführung in dieser Lösung aufbewahrt werden.

Für die Herstellung der Nährlösung werden die Stocklösungen von NaCl, KCl, NaHCO₃, MgSO₄ und KH₂PO₄ in einem 2-Liter-Messkolben vorgelegt und anschließend die benötigte Menge an Glucose zugesetzt. Der Messkolben wird etwa bis zu drei Vierteln mit bidestilliertem Wasser befüllt und für 20 Minuten mit dem Gasmisch Oxymix[®], bestehend aus 95 % O₂ und 5 % CO₂, begast. Im Anschluss erfolgt die tropfenweise Zugabe von CaCl₂, um somit ein Ausfallen von schwerlöslichen Calciumsalzen und in weiterer Folge einer Trübung der Nährlösung zu vermeiden. Zuletzt wird der Kolben mit bidestilliertem Wasser bis zur Markierung aufgefüllt.

	Konzentration (mmol/l)
NaCl	115,02
KCl	4,73
NaHCO₃	24,91
KH₂PO₄	2,15
MgSO₄	0,29
Glucose	10,99
CaCl₂	3,92

Tab. 23: Zusammensetzung der physiologischen Nährlösung.

6.2.2.2. Organentnahme

Nach Tötung des Versuchstieres durch einen Genickschlag wird der Thoraxraum oberflächennah geöffnet und das Herz mit der Arteria pulmonalis entnommen. Anschließend erfolgen die Entnahme und das Abbinden des terminalen Ileums. Zuletzt wird die Aorta descendens am oberen Ende nahe dem Herzen durchtrennt und entlang der Wirbelsäule von Bindegewebe freipräpariert. Alle Präparate werden nach deren Entnahme sofort in Bechergläser mit Nährlösung übergeführt, um deren Absterben zu vermeiden.

6.2.2.3. Organpräparation

Die Präparation der Organe erfolgt in mit Nährlösung befüllten Petrischalen mit Korkeinsatz am Boden, um eine Befestigung der Organe zu ermöglichen. Nach Bedarf wird die Präparation unter einem Mikroskop durchgeführt. Bis zum Versuchsstart werden alle Präparate in Nährlösung unter Begasung aufbewahrt.

Aorta descendens:

Die Aorta wird in der Petrischale an beiden Enden, ohne diese zu überdehnen, mit Präpariernadeln fixiert. Im ersten Schritt werden anhaftende Gewebereste mittels Federschere entfernt, um somit vergleichbare Ergebnisse erzielen zu können. Anschließend wird die Aorta in 2-3 mm breite Ringe geschnitten.

Arteria pulmonalis:

Die Entnahme der Pulmonalarterie erfolgt möglichst nahe am Herzen. Für die Versuchsdurchführung wird nur jenes Stück verwendet, das sich direkt am Herzen bis zur Bifurcatio trunci pulmonalis befindet. Die Pulmonalarterie wird von der anliegenden Aorta und anhaftendem Bindegewebe befreit und in 3-4 mm breite Ringe geschnitten. Je nach Versuchstier können ein bis zwei Präparate erhalten werden.

Terminales Ileum:

Vom entnommenen Darm werden 1 bis 1,5 cm lange Teilstücke durch diagonale Schnitte abgetrennt und diese mittels Präpariernadeln an beiden Enden in der Petrischale fixiert. Die so erhaltenen Stücke werden mit Hilfe einer Pipette mit Nährlösung vorsichtig durchspült. Anschließend werden zwei Silberhäkchen mit Bindefaden an beiden Enden unter Erhalt der Öffnungen, um ein Durchfließen der Nährlösung zu ermöglichen, angebracht.

Atrium cordis dextrum:

Nach Entfernung von noch anhaftendem Binde- und Fettgewebe wird das Herz mit Präpariernadeln an Basis und Spitze fixiert. Der Vorhof wird anschließend durch einen Schnitt entlang des Sulcus coronarius vom Ventrikel abgetrennt. Weiters werden zwei S-förmige Haken, bestehend aus Silberdraht, an den beiden Spitzen des Vorhofes mit einem Faden angebracht, um somit ein Einspannen in die Versuchsanordnung zu ermöglichen.

Musculus papillaris:

Für die Präparation der Papillarmuskeln wird vorerst der rechte Ventrikel entlang des Septums, über die Arteria pulmonalis bis zur Herzspitze geöffnet und die aufgeklappte Herzkammer mit Präpariernadeln fixiert. Anschließend wird am Ansatz der Papillarmuskelsehne ein Silberhäkchen mit Hilfe eines Bindefadens angebracht und die Sehne durchtrennt.

Um die Papillarmuskelpräparate für einen Versuch verwenden zu können, muss darauf geachtet werden, dass diese frei von Purkinjefasern sind. Purkinjefasern sind für die Reizweiterleitung im Ventrikel verantwortlich und zeichnen sich durch ihre Spontanaktivität aus, die zu einer Verfälschung des Versuches führen könnte.

Da auch Papillarmuskeln aus der linken Kammer verwendet werden, können somit drei bis vier Präparate pro Versuchstag hergestellt werden.

6.2.2.4. Versuchsanordnungen

Im Rahmen der biologischen Untersuchungen werden zwei verschiedene Versuchsanordnungen verwendet. Die beiden Anordnungen unterscheiden sich im Bau des Organbades sowie in der Aufhängevorrichtung für die Präparate.

In Anordnung 1 werden das Atrium cordis dextrum, die Arteria pulmonalis, die Aorta descendens und das terminale Ileum eingespannt. Anordnung 2 wird für die Testung am Musculus papillaris herangezogen.

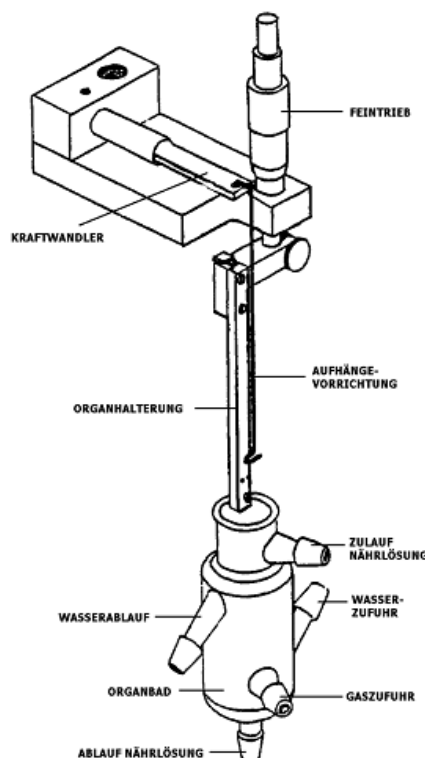


Abb. 69: Skizze der Versuchsanordnung 1.

Apparatur 1 besteht aus einem doppelwandigen Organbad, das mit destilliertem Wasser, welches mit Hilfe von einem Wasserbad auf $37 \pm 1^\circ\text{C}$ temperiert wird, durchspült wird. Die Gaszufuhr wird durch eine kleine Glasfritte unten im Organbad ermöglicht. Somit können eine physiologische Temperatur, eine gleichmäßige Sauerstoffversorgung sowie ein optimaler pH-Wert von 7,2 – 7,4 gewährleistet werden.

Weiters verfügt Apparatur 1 über einen Kraftwandler, der über einen Silberdraht mit den Präparaten verbunden ist. Dadurch kann die Kontraktionskraft der Organe in ein elektrisches Signal umgewandelt und an einen Verstärker (Transbridge TM, 4-Channel Transducer Amplifier, WPI®, USA) weitergeleitet werden. Die Ergebnisse werden mittels Schreiber (Flatbed Recorder BD-112, Dual Channel, Kipp & Zonen®, Niederlande) auf Millimeterpapier aufgezeichnet.

Zur Befestigung der Organe kommen zwei Techniken zur Anwendung. Die Ringpräparate der Aorta und der Pulmonalarterie werden direkt zwischen dem Silberdraht, der mit dem Kraftwandler verbunden ist, und dem Drahtstück am unteren Ende der Organhalterung eingespannt.

Der rechte Vorhof und das terminale Ileum werden mit Hilfe der zuvor angebrachten Silberhäkchen an der Apparatur befestigt.

Wichtig hierbei ist eine Überdehnung der Präparate zu vermeiden.

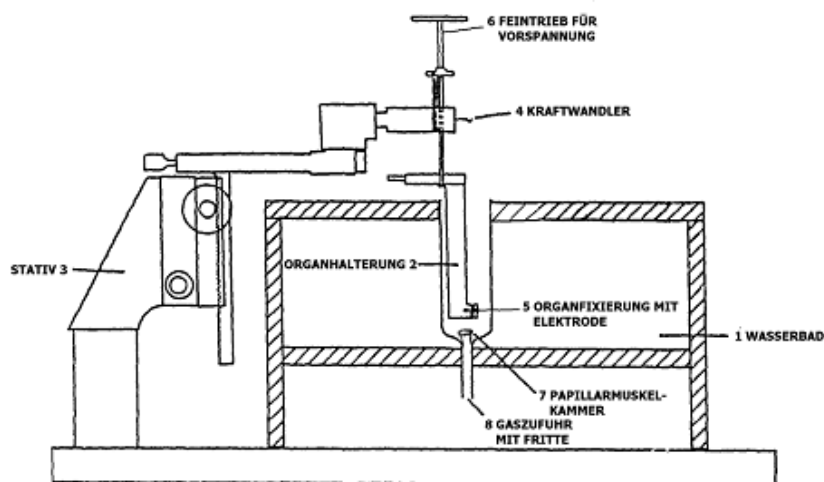


Abb. 70: Skizze der Versuchsanordnung 2.

Für die Testung am Papillarmuskel wird Apparatur 2 verwendet. Diese Apparatur verfügt ebenfalls über ein Wasserbad und ein einwandiges Organbad, das in das auf $35 \pm 1^\circ\text{C}$ temperierte Wasserbad getaucht wird. Auch dieses Organbad wird über eine Glasfritte am Boden mit Gas versorgt.

Der Papillarmuskel wird durch das Einhängen des Häkchens am Silberdraht der Apparatur mit dem Kraftwandler verbunden. Der untere Teil des Muskels wird an einem Plexiglassteg zwischen einer Plexiglasscheibe und einer Platinelektrode (entspricht der Kathode) eingespannt und mittels Feststellschraube fixiert. Mit Hilfe der Platinelektrode kann der Papillarmuskel unter Verwendung eines Reizgerätes (Accupulser A310, WPI®, USA) elektrisch stimuliert werden, da der Papillarmuskel keine Spontanerregung aufweist, sondern extern gereizt werden muss.

Bei allen Organen und bei beiden Apparaturen wird die benötigte Vorspannung, um eine maximale Kontraktionskraft und reproduzierbare Versuchsbedingungen zu erreichen, über den Feintrieb genau eingestellt.

6.2.2.5. Versuchsablauf

Vor jedem Versuch wird eine Stammlösung der zu testenden Verbindung hergestellt. Hierfür werden die Substanzen entsprechend den Volumina der Organbäder (8 und 25 ml) eingewogen und in bidestilliertem Wasser gelöst.

Die Testverbindungen werden in den Konzentrationen 3, 10, 30 und 100 μM getestet. Die Substanzzugabe erfolgt kumulativ und pro Konzentration wird eine Einwirkdauer von 45 Minuten gewählt.

Zeitpunkt der Zugabe	Zugegebenes Volumen	Konzentration im Organbad
0 min.	3 μl	3 $\mu\text{mol/l}$
45 min.	7 μl	10 $\mu\text{mol/l}$
90 min.	20 μl	30 $\mu\text{mol/l}$
135 min.	70 μl	100 $\mu\text{mol/l}$

Tab. 24: Pipettierschema der kumulativen Substanzzugabe.

Die Organbäder werden nach jedem Versuch mit 2 M Salzsäure und bidestilliertem Wasser gereinigt. Vor Beginn der Versuche werden diese einmal mit bidestilliertem Wasser und in Folge mit physiologischer Nährlösung gespült. Anschließend werden die Organbäder mit Nährlösung befüllt und begast.

Versuch an der Aorta descendens:

Das ringförmige Aortenstück wird in Apparatur 1 eingespannt und in das Organbad abgesenkt. Der Schreiber wird auf eine Spannung von 10 mV eingestellt und eine Vorspannung von 19,6 mN angelegt. Nach einer 20-minütigen Anpassungsphase wird der Schreiber auf 5 mV umgestellt und eine mögliche Abweichung von der definierten Nulllinie korrigiert. Anschließend wird die Nährlösung abgelassen und durch eine 90 mM KCl-Lösung (0,67 g KCl in 100 ml Nährlösung) ersetzt.

Nach dem Erreichen der maximalen Kontraktion (entspricht der Plateaubildung der Aufzeichnungskurve) kann mit der kumulativen Substanzzugabe gestartet werden. Der gesamte Versuchsverlauf wird mittels Schreiber aufgezeichnet.

Versuch an der Arteria pulmonalis:

Das ringförmige Präparat wird in die Apparatur 1 eingespannt und in das Organbad abgesenkt. Anschließend wird eine Vorspannung von 9,81 mN bei einer Schreiberspannung von 5 mV angelegt. Nach einer Anpassungsphase von 20 Minuten wird die Vorspannung gegebenenfalls mittels Feintrieb nachjustiert, die Nährlösung abgelassen und durch eine 90 mM KCl-Lösung (0,67 g KCl in 100 ml Nährlösung) ersetzt. Hierdurch kann eine Vorkontraktion des Präparates erzielt werden. Die maximale Kontraktion kann durch die Plateaubildung des Kurvenverlaufes beobachtet werden und wird mit 0 % festgelegt. Sobald die maximale Kontraktion erreicht wird, kann mit der Zugabe der Testverbindung begonnen werden.

Der gesamte Versuchsverlauf wird mittels Schreiber aufgezeichnet.

Versuch am terminalen Ileum:

Das vorpräparierte Darmstück wird mit Hilfe der Silberhäkchen in die Versuchsapparatur 1 eingespannt. Der Schreiber wird auf 5 mV und die Vorspannung mittels Feintrieb auf 4,92 mN eingestellt. Nach einer Anpassungsphase von 20 Minuten wird die Nährlösung durch eine 60 mM KCl-Lösung (0,45 g KCl in 100 ml Nährlösung) ersetzt.

Nach dem Erreichen eines konstanten Kurvenverlaufes kann wiederum mit der Substanzzugabe begonnen werden.

Versuch am Atrium cordis dextrum:

Am rechten Vorhof wird die Schlagfrequenz untersucht. Das Präparat wird entsprechend der Aufhängevorrichtung mittels Silberhäkchen in die Versuchsschale 1 eingespannt und in das Organbad mit Nährlösung abgesenkt. Anschließend wird der Schreiber auf eine Spannung von 5 mV eingestellt und auf Position 0 gebracht. Mittels Feintrieb wird eine Vorspannung von 10,4 mN angelegt. Nach einer Anpassungsphase von etwa 45 Minuten wird alle fünf Minuten die Schlagfrequenz gemessen. Nach fünf konstanten Werten wird mit der kumulativen Substanzzugabe begonnen.

Während der gesamten Testdauer wird die Schlagfrequenz alle fünf Minuten aufgezeichnet.

Versuch am Musculus papillaris:

Der Papillarmuskel wird wie in Kapitel 6.2.2.4. beschrieben in die Apparatur 2 eingespannt und in das Organbad mit Nährlösung eingetaucht. Es wird eine Vorspannung von 3,92 mN bei einer Schreiberspannung von 5 mV eingestellt.

Da der Papillarmuskel keine Spontanaktivität aufweist, muss dieser elektrisch gereizt werden. Dies wird mittels eines Reizgerätes (Accupulser A310, WPI®, USA) erzielt. Die Reizung erfolgt mit Rechtecksimpulsen von 3 ms^{-1} mit einer Frequenz von 1 Hz. Die Stromstärke sollte maximal 10 % über der muskulären Reizschwelle liegen, um eine frühzeitige Entleerung der Catecholaminspeicher und somit eine Verfälschung der Messergebnisse zu verhindern.

Nach dem Erreichen von konstanten Kontraktionsamplituden über einen Zeitraum von 20 Minuten kann mit der Zugabe der Testsubstanz begonnen werden. Während des Versuchsverlaufes werden die Kontraktionsamplituden über sechs Peaks alle fünf Minuten aufgezeichnet.

6.2.2.6. Datenauswertung und Statistik

Datenauswertung:

Am rechten Vorhof wird die Änderung der Schlagfrequenz (f = frequency) gemessen. Der Schreiber wird auf eine Papiervorschubgeschwindigkeit von 5 mm/sec gestellt. Alle fünf Minuten wird eine Strecke von 6 cm aufgezeichnet. Anschließend werden die Schläge abgezählt und mit dem Faktor 5 multipliziert, um somit die Anzahl der Schläge pro Minute zu erhalten. Die Anzahl der Schläge vor der ersten Substanzzugabe wird als Kontrollwert herangezogen und mit 0 % festgelegt. Für die Auswertung der einzelnen Testkonzentrationen wird die Schlagfrequenz nach 45-minütiger Einwirkzeit der jeweiligen Konzentration herangezogen.

Beim Papillarmuskel wird die Wirkung der Testsubstanzen auf die Kontraktionskraft (f_c = force of contraction) in mN gemessen. Hierfür wird die aufgezeichnete Amplitude abgemessen und der in cm erhaltene Wert mit dem Kalibrierfaktor des Kraftwandlers multipliziert. Auch hier fungierte jener Wert vor der ersten Substanzzugabe als Kontrollwert und wird mit 0 % festgelegt.

Bei den Versuchspräparaten Arteria pulmonalis, Aorta descendens und terminales Ileum wird die Änderung der Kontraktionskraft (f_c) in mN ausgewertet. Als Kontrollwert fungiert jeweils der Abstand von der Kontraktionskurve nach Erreichen des Plateaus bis zur definierten Nulllinie. Dieser Wert stellt die maximale Kontraktionskraft vor der ersten Substanzzugabe dar. Für die einzelnen Testkonzentrationen wird der Abstand zwischen der Kontraktionskurve und der

definierten Nulllinie nach 45-minütiger Einwirkdauer der jeweiligen Konzentration vermessen. Die so erhaltenen Werte werden wieder mit dem Kalibrierfaktor des Kraftwandlers multipliziert. Bei einer Verstärkung von 5 mV entspricht 1 cm 0,98 mN.

Statistik:

Die von Diplomanden getesteten Verbindungen wurden in Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöst. Da dieses eine Eigenwirkung auf die isolierten Organe zeigt, muss der Eigeneffekt von DMSO von den erhaltenen Messdaten der einzelnen Testverbindungen subtrahiert werden.

Bei den in den Tabellen dargestellten Messwerten handelt es sich um die arithmetischen Mittelwerte unter Berücksichtigung der Standardfehler (SEM) aller durchgeführten Versuche (n). Die Schlagfrequenz (f) und die Kontraktionskraft (f_c) sind in Millinewton (mN) sowie in Prozent (%) angegeben.

Zur Bestimmung der Signifikanz der Messdaten wird der Student-t-Test, durchgeführt an gepaarten Beobachtungen, unter Verwendung der mN-Werte herangezogen und die Irrtumswahrscheinlichkeit P berechnet. Versuchswerte mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\leq 5\%$ ($P \leq 0,05$) bzw. $\leq 1\%$ ($P \leq 0,01$) gelten als signifikant, wobei Werte mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\leq 0,1\%$ ($P \leq 0,001$) als hoch signifikant gelten.

Die arithmetischen Mittelwerte und deren Standardfehler (SEM) werden mit Hilfe des Programmes „Sigma Plot 9.0“ grafisch als Konzentrations-Wirkungskurven dargestellt. Auf der Abszisse sind semilogarithmisch die Testkonzentrationen in $\mu\text{mol/l}$ und auf der Ordinate die Änderung der Schlagfrequenz bzw. Kontraktionskraft in % aufgetragen. Die jeweiligen IC_{50} -Werte werden anhand der Konzentrations-Wirkungskurven grafisch ermittelt und stellen jene Konzentration in $\mu\text{mol/l}$ dar, bei der die Kontraktionskraft bzw. die Schlagfrequenz auf 50 % des Kontrollwertes absinkt.

7 Literaturverzeichnis

Andic, M. Diplomarbeit, Universität Wien *in Prep.*

Ballatore, C.; Lee, V.; Trojanowski, J. Tau-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and related disorders. *Nat. Rev. Neurosci.* **2007**, 8, 663-672.

Brookmeyer, R.; Johnson, E.; Ziegler-Graham, K.; Arrighi, H.M. Forecasting the global burden of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* **2007**, 3, 186-191.

Carolan, C.; Dillon, G.; Gaynor, J.; Reidy, S.; Ryder, S.; Khan, D.; Marquez, J.; Gilmer, J. Isosorbide-2-carbamate esters: potent and selective butyrylcholinesterase inhibitors. *J. Med. Chem.* **2008**, 51, 6400-6409.

Carolan, C.; Dillon, G.; Khan, D.; Ryder, S.; Gaynor, J.; Reidy, S.; Marquez, J.; Jones, M.; Holland, V.; Gilmer, J. Isosorbide-2-benzyl carbamate-5-salicylate, a peripheral anionic site binding subnanomolar selective butyrylcholinesterase inhibitor. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 1190-1199.

Chen, Y.; Sun, J.; Huang, Z.; Liao, H.; Peng, S.; Lehmann, J.; Zhang, Y. NO-donating tacrine derivatives as potential butyrylcholinesterase inhibitors with vasorelaxation activity. *Bioorg. Med. Chem. Let.* **2013**, 23, 3162-3165.

Darvesh, S.; Hopkins, D.; Geula, C. Neurobiology of butyrylcholinesterase. *Nat. Rev. Neurosci.* **2003**, 4, 131-138.

Darvesh, S.; McDonald, R.; Darvesh, K.; Mataija, D.; Conrad, S.; Gomez, G.; Walsh, R.; Martin, E. Selective reversible inhibition of human butyrylcholinesterase by aryl amide derivatives of phenothiazine. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 6367-6378.

Darvesh, S.; Pottie, I.; Darvesh, K.; McDonald, R.; Walsh, R.; Conrad, S.; Penwell, A.; Mataija, D.; Martin, E. Differential binding of phenothiazine urea derivatives to wild-type human cholinesterase and butyrylcholinesterase mutants. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 2232-2244.

Das, U.N. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as possible markers of low-grade systemic inflammation. *Med. Sci. Monit.* **2007**, 13(12), RA214-221.

Decker, M.; Kraus, B.; Heilmann, J. Design, synthesis and pharmacological evaluation of hybrid molecules out of quinazolinimines and lipoic acid lead to highly potent and selective butyrylcholinesterase inhibitors with antioxidant properties. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 4252-4261.

Diamant, S.; Podoly, E.; Friedler, A.; Ligumsky, H.; Livnah, O.; Soreq, H. Butyrylcholinesterase attenuates amyloid fibril formation *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, 103(23), 8628-8633.

Dillon, G.; Gaynor, J.; Khan, D.; Carolan, C.; Ryder, S.; Marquez, J.; Reidy, S.; Gilmer, J. Isosorbide-based cholinesterase inhibitors; replacement of 5-ester groups leading to increased stability. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 1045-1053.

Ellman, G.; Courtney, K.; Andres, V.J.; Feather-Stone, R. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* **1961**, 7, 88-95.

Elsinghorst, P.; Tanarro, C.; Gütschow, M. Novel heterobivalent tacrine derivatives as cholinesterase inhibitors with notable selectivity toward butyrylcholinesterase. *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 7540-7544.

Erker, T. Studies on the chemistry of thienoanellated O,N- and S,N-containing heterocycles. Part 14. Syntheses of thieno[2,3-*b*][1,4]thiazepine derivatives with calcium antagonistic activity. *Sci. Pharm.* **1996**, 64, 345-352.

Erker, T. Studies on the chemistry of thienoanellated O,N- and S,N-containing heterocycles. Part 15. An access to the thieno[3,2-*b*][1,4]oxazine, thieno[3,2-*b*][1,4]thiazine and thienodithiazepine ring system. *Monatshefte für Chemie* **1998**, 129, 679-687.

Erker, T.; Heistracher, P.; Lemmens-Gruber, R.; Lexer, A.; Schreder, M. 1-Substituted thieno[2,3-*b*][1,4]thiazine derivatives, and 4-substituted 1,4-benzothiazine and 1,4-benzoxazine derivatives with tissue-specific effect on contractility. *Patentschrift AT 403918 (B)*, **1998**.

Erker, T.; Schreder, M.; Studenik, C. Studies on the chemistry of thienoanellated O,N- and S,N-containing heterocycles. Part 19. Thieno[2,3-*b*][1,4]thiazines with calcium antagonistic and potassium opening activities. Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem. **2000**, 333, 58-62.

Erker, T.; Trinkl, K. Studies on the chemistry of thienoanellated O,N- and S,N-containing heterocycles. Part 26. Preparation of thieno[2,3-*b*]pyrazines as bioisosteres for quinoxaline derivatives with reverse transcriptase inhibition. Heterocycles **2002**, 57, 97-110.

Farlow, M.; Miller, M.; Pejovic, V. Treatment options in Alzheimer's disease: maximizing benefit, managing expectations. Dement Geriatr. Cogn. Disord. **2008**, 25, 408-422.

Galanski, M.; Erker, T.; Studenik, C.; Kamyar, M.; Rawnduzi, P.; Pabstova, M.; Lemmens-Gruber, R. Synthesis and pharmacological profile of non-peptide vasopressin antagonists. Eur. J. Pharm. Sci. **2005**, 24, 421-431.

Giacobini, E. Cholinesterase inhibitors: new roles and therapeutic alternatives. Pharmacol. Res. **2004**, 50, 433-440.

Goldsmith, H. Omental Transposition in treatment of Alzheimer's disease. J. Am. Coll. Surg. **2007**, 205, 800-804.

González-Muñoz, G.; Arce, M.; López, B.; Pérez, C.; Romero, A.; del Barrio, L.; Martín-de-Saavedra, M.; Egea, J.; León, R.; Villarroya, M.; López, M.; García, A.; Conde, S.; Rodríguez-Franco, M. *N*-Acylaminophenothiazines: neuroprotective agents displaying multifunctional activities for a potential treatment of Alzheimer's disease. Eur. J. Med. Chem. **2011**, 46, 2224-2235.

González-Naranjo, P.; Pérez-Macias, N.; Campillo, N.; Pérez, C.; Arán, V.; Girón, R.; Sánchez-Robles, E.; Martín, M.; Gómez-Cañas, M.; García-Arencibia, M.; Fernández-Ruiz, J.; Páez, J. Cannabinoid agonists showing BuChE inhibition as potential therapeutic agents for Alzheimer's disease. Eur. J. Med. Chem. **2014**, 73, 56-72.

Greig, N.; Utsuki, T.; Ingram, D.; Wang, Y.; Pepeu, G.; Scali, C.; Yu, Q.-S.; Mamczarz, J.; Holloway, H.; Giordano, T.; Chen, D.; Furukawa, K.; Sambamurti, K.; Brossi, A.; Lahiri, D. Selective butyrylcholinesterase inhibition elevates brain acetylcholine, augments learning and lowers Alzheimer β -amyloid peptide in rodent. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, 102(47), 17213-17218.

Guzik, P. Synthese von diarylierten Imidazol-Derivaten und Untersuchungen zur biologischen Aktivität. Dissertation, Universität Wien **2013**.

Gyure, K.; Durham, R.; Stewart, W.; Smialek, J.; Troncoso, J. Intraneuronal A β -amyloid precedes development of amyloid plaques in Down syndrome. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **2001**, 125, 489-492.

Hager, S. Pharmakologisches Profil von zwei diarylierten Imidazolderivaten (PGU81 HCl und PGU127) an isolierten Präparaten des Meerschweinchens. Diplomarbeit, Universität Wien **2011**.

Hartmann, J.; Kiewert, C.; Duysen, E.; Lockridge, O.; Greig, N.; Klein, J. Excessive hippocampal acetylcholine levels in acetylcholinesterase-deficient mice are moderated by butyrylcholinesterase activity. *J. Neurochem.* **2007**, 100, 1421-1429.

Hunter, J.; Kwan, J.; Malek-Ahmadi, M.; Maarouf, C.; Kokjohn, T.; Belden, C.; Sabbagh, M.; Beach, T.; Roher, A. Morphological and pathological evolution of the brain microcirculation in aging and Alzheimer's disease. *PLoS ONE*. **2012**, 7(5), e36893.

Karlsson, D.; Fallarero, A.; Brunhofer, G.; Guzik, P.; Prinz, M.; Holzgrabe, U.; Erker, T.; Vuorela, P. Identification and characterization of diarylimidazoles as hybrid inhibitors of butyrylcholinesterase and amyloid beta fibril formation. *J. Pharm. Sci.* **2012a**, 45, 169-183.

Karlsson, D.; Fallarero, A.; Brunhofer, G.; Mayer, C.; Prakash, O.; Mohan, C.G.; Vuorela, P.; Erker, T. The exploration of thienothiazines as selective butyrylcholinesterase inhibitors. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2012b**, 47, 190-205.

Koberger, S. Pharmakologisches Profil eines neu synthetisierten Butyrylcholinesterasehemmers (BDV7ox) an isolierten Meerschweinchenorganen. Diplomarbeit, Universität Wien **2013**.

Koch, K. Pharmakologisches Profil eines disubstituierten Imidazolderivats (PGU186 HCl) an isolierten Meerschweinchenorganen. Diplomarbeit, Universität Wien **2012**.

Konrath, E.; dos Santos Passos, C.; Klein-Júnior, L.; Henriques, A. Alkaloids as a source of potential anticholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *J. Pharm. Pharmacol.* **2013**, 65, 1701-1725.

LaFerla, F.M.; Green, K.N.; Oddo, S. Intracellular amyloid- β in Alzheimer's disease. *Nat. Rev. Neurosci.* **2007**, 8, 499-509.

Laimer, I.; Erker, T. Studies on the chemistry of thienoanellated O,N- and S,N-containing heterocycles. Part 4. Nucleophilic substitution reactions on 3-bromo-2-nitrothiophene. *Sci. Pharm.* **1994**, 62, 39-49.

Lane, R.; Potkin, S.; Enz, A. Targeting acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in dementia. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **2006**, 9, 101-124.

Law, A.; Gauthier, S.; Quirion, R. Say NO to Alzheimer's disease: the putative links between nitric oxide and dementia of the Alzheimer's type. *Brain Res. Rev.* **2001**, 35, 73-96.

Luo, W.; Wang, J.; Zhang, X.; Hong, C.; Wang, C.-J. Design, synthesis and evaluation of genistein-polyamine conjugates as multi-functional anti-Alzheimer agents. *Med chem* **2014**, 4, 617-622.

Mazza, M.; Marano, G.; Traversi, G.; Bria, P.; Mazza, S. Primary cerebral blood flow deficiency and Alzheimer's disease: Shadows and lights. *J. Alzheimer's Disease* **2011**, 23, 375-389.

Mesulam, M.; Geula, C.; Morán, M. Anatomy of cholinesterase inhibition in Alzheimer's disease: effect of physostigmine and tetrahydroaminoacridine on plaques and tangles. *Ann. Neurol.* **1987**, 22, 683-691.

Mesulam, M.; Guillozet, A.; Shaw, P.; Levey, A.; Duysen, E.; Lockridge, O. Acetylcholinesterase knockouts establish central cholinergic pathways and can use butyrylcholinesterase to hydrolyze acetylcholine. *Neurosci.* **2002**, 110, 627-639.

Mori, C.; Spooner, E.; Wisniewsky, K.; Wisniewsky, T.; Yamaguchi, H.; Saido, T.; Tolan, D.; Selkoe, D.; Lemere, C. Interneuronal A β 42 accumulation in Down syndrome brain. *Amyloid*. **2002**, 9, 88-102.

Mutschler, E.; Geisslinger, G.; Kroemer, H.; Schäfer-Korting, M. Arzneimittelwirkungen – Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft. **2008**, 9. Auflage.

Onor, M.L.; Trevisiol, M.; Aguglia, E. Rivastigmine in the treatment of Alzheimer's disease: an update. *Clin. Interv. in Aging*. **2007**, 2(1), 17-32.

Paulmier, C.; Outurquin, F. Thienyl- and selenienylthiocyanates and selenocyanates. 4. Synthesis of thieno[2,3-*d*]thiazoles, thieno[2,3-*e*]thiazines and several selenophene analogs. *J. Heterocycl. Chem.* **1983**, 20, 113-119.

Puschmann, I.; Erker, T. Studies on the chemistry of thienoanellated O,N- and S,N-containing heterocycles. Part 10. Synthesis of 2-substituted thieno-diltiazem derivatives. *Monatshefte für Chemie* **1995**, 126, 569-578.

Reiter, M. Die Wertbestimmung inotrop wirkender Arzneimittel am isolierten Papillarmuskel. *Arzneim. Forsch.* **1967**, 17, 1249-1253.

Rizzo, S.; Rivière, C.; Piazzzi, L.; Bisi, A.; Gobbi, S.; Bartolini, M.; Andrisano, V.; Morroni, F.; Tarozzi, A.; Monti, J.-P.; Rampa, A. Benzofuran-based hybrid compounds for the inhibition of cholinesterase activity, β amyloid aggregation, and A β neurotoxicity. *J. Med. Chem.* **2008**, 51, 2883-2886.

Steinkopf, W.; Jacob, H.; Penz, H. Studien in der Thiophenreihe. XXVI. Isomere Bromthiophene und die Konstitution der Thiophendisulfonsäuren. *Ann. Chem.* **1934**, 512, 136-164.

Toda, N.; Kaneko, T.; Kogen, H. Development of an efficient therapeutic agent for Alzheimer's disease: design and synthesis of dual inhibitors of acetylcholinesterase and serotonin transporter. *Chem. Pharm. Bull.* **2010**, 58(3), 273-287.

Trinkl, K. Studien zur Synthese von Thieno[2,3-*b*][1,4]diazin- und Thieno[2,3-*b*][1,4]thiazin-Derivaten. Dissertation, Universität Wien **1999**.

Windisch, P. Biologische Aktivität zweier neu synthetisierter Hemmstoffe der Butyrylcholinesterase (BLV10ox und CMC44ox) an isolierten Organen von Meerschweinchen. Diplomarbeit, Universität Wien **2014**.

Xie, W.; Stribley, J.; Chatonnet, A.; Wilder, P.; Rizzino, A.; McComb, R.; Taylor, P.; Hinrichs, S.; Lockridge, O. Postnatal developmental delay and supersensitivity to organophosphate in gene-targeted mice lacking Acetylcholinesterase. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2000**, 293, 896-902.

Zhu, J.; Wu, C.-F.; Li, X.; Wu G.-S.; Xie, S.; Hu, Q.-N.; Deng, Z.; Zhu, M.; Luo, H.-R.; Hong, X. Synthesis, biological evaluation and molecular modelling of substituted 2-aminobenzimidazoles as novel inhibitors of Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 21, 4218-4224.

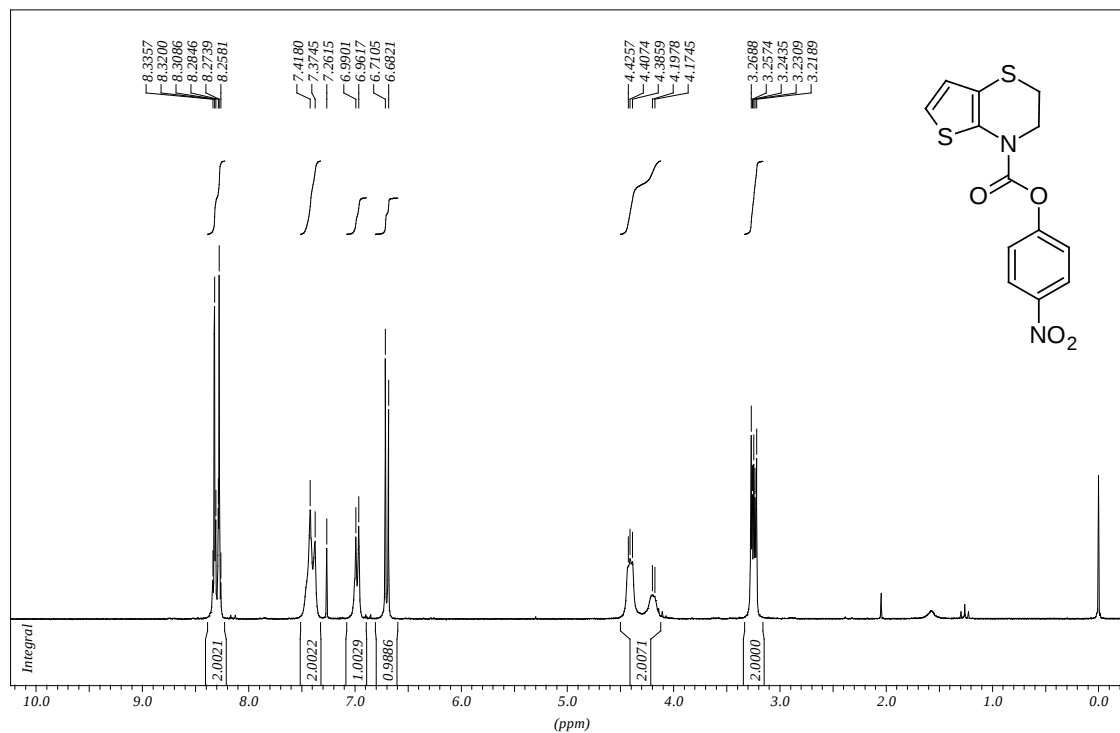
8 Abkürzungen

AD	Alzheimer's disease
ACh	Acetylcholin
AChE	Acetylcholinesterase
BChE	Butyrylcholinesterase
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DTNB	5,5'-Dithio-bis-(2-nitro-benzoesäure)
EtOAc	Ethylacetat
EtOH	Ethanol
f	frequency; Schlagfrequenz
f _c	force of contraction; Kontraktionskraft
HR-MS	high-resolution mass; hochauflösende Masse
MeOH	Methanol
MTPA-Cl	α -Methoxy- α -trifluormethylphenyllessigsäurechlorid
PE	Petrolether
SEM	standard error of the mean; Standardfehler des Mittelwerts
TEA	Triethylamin
THF	Tetrahydrofuran
ZNS	Zentralnervensystem

9 Spektren (^1H -NMR, ^{13}C -NMR, Masse, HR-MS)

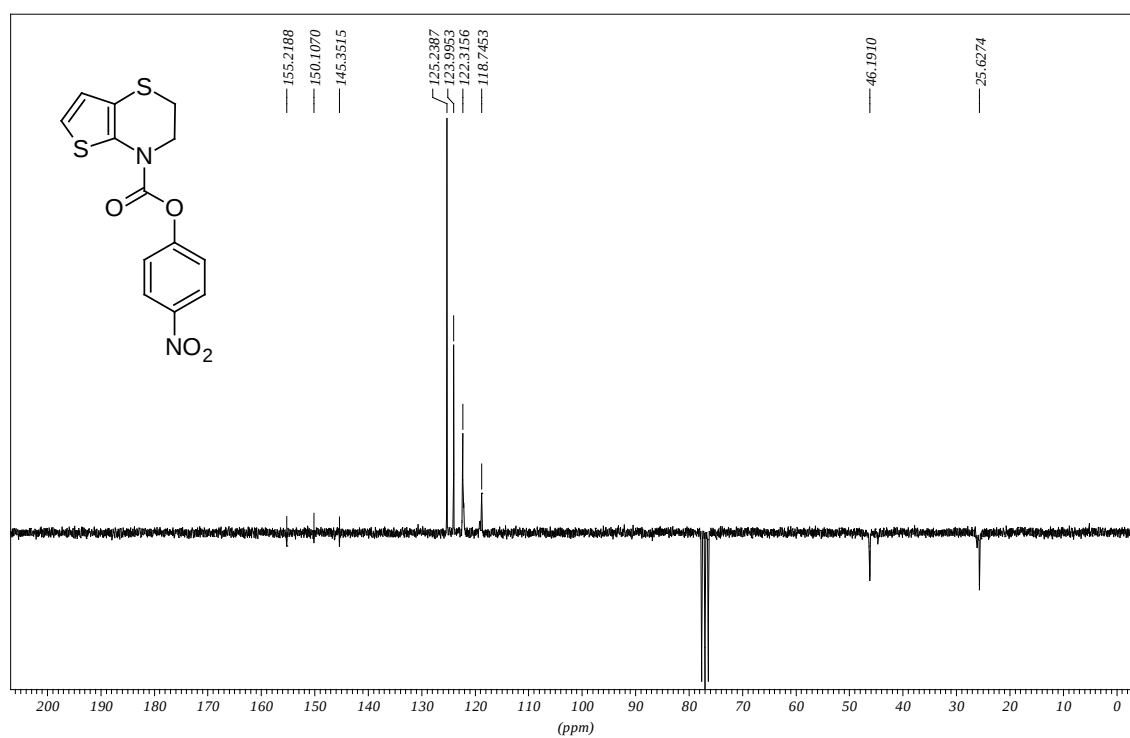
Verbindung **15**, ^1H -NMR, CDCl_3

CME6PROTON CDCl_3 opt/swinnmr mayer 55

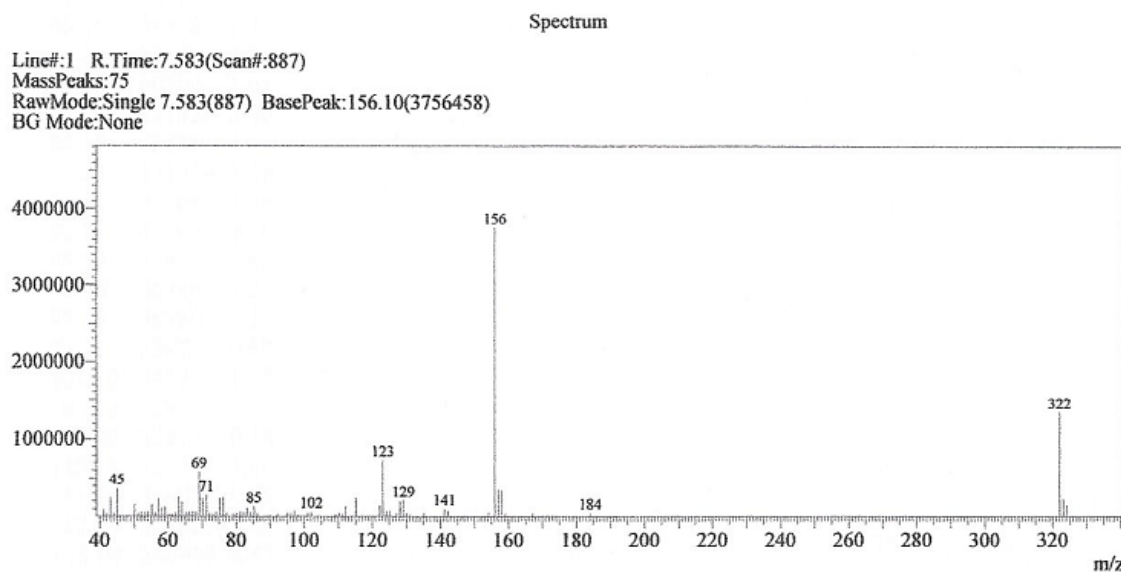


Verbindung **15**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

CME6C13APT CDCl_3 opt/swinnmr mayer 24

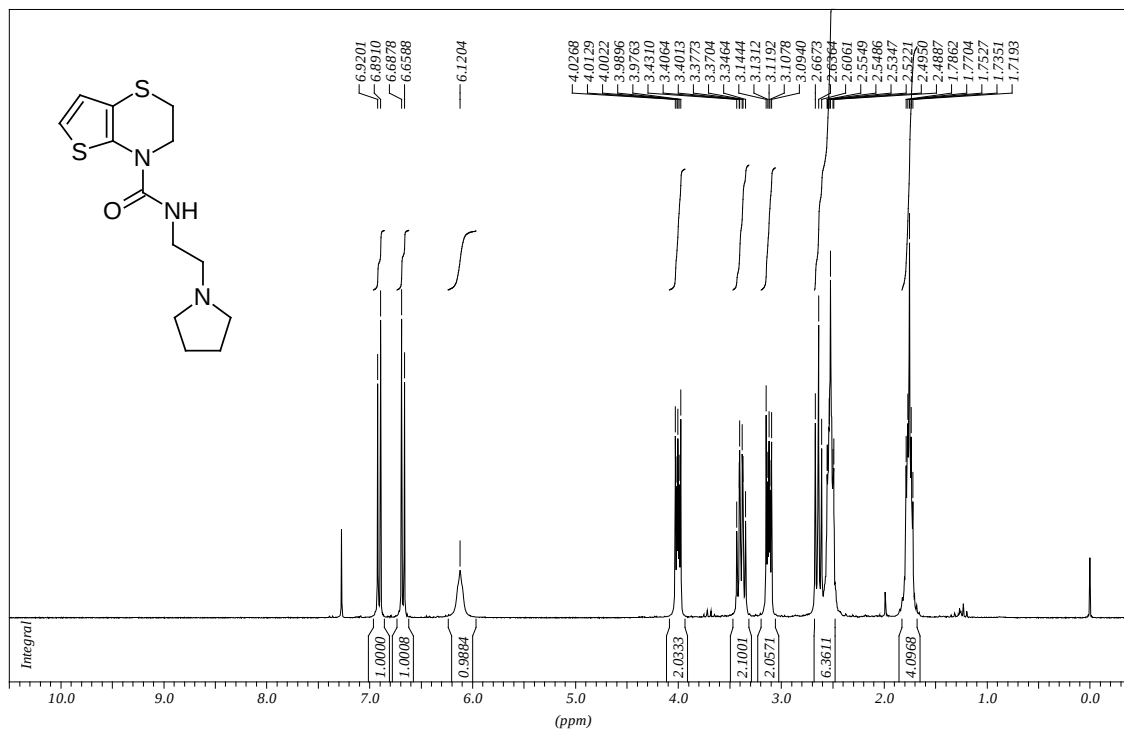


Verbindung **15**, Massenspektrum



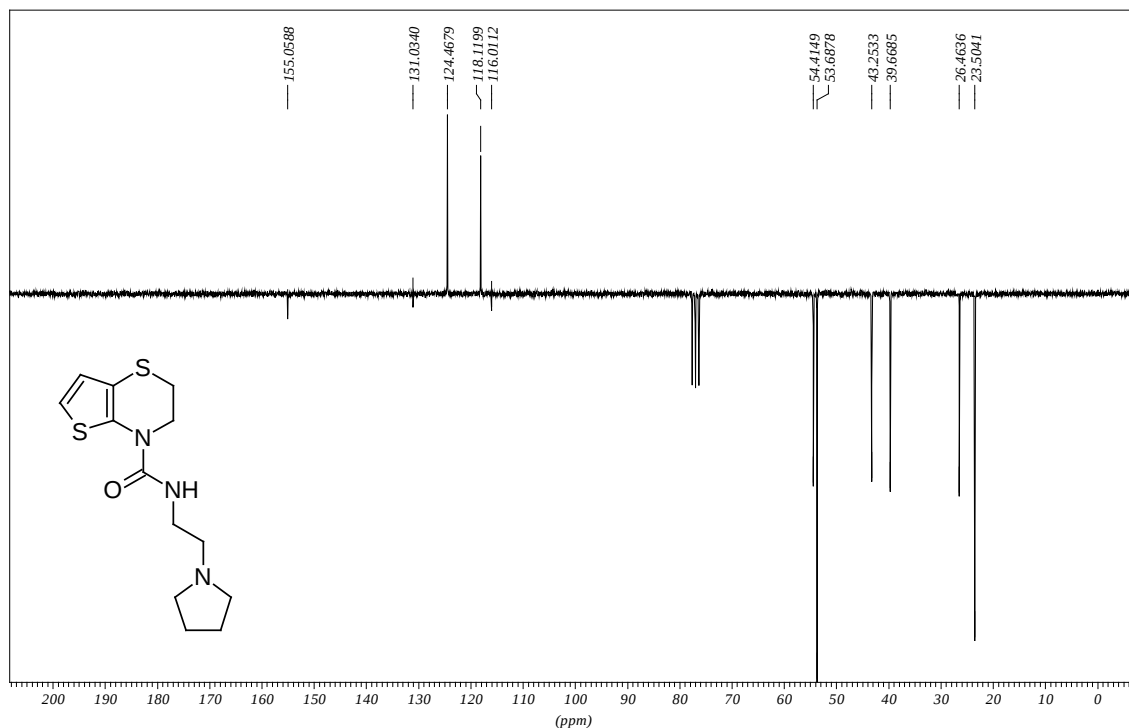
Verbindung **16**, ^1H -NMR, CDCl_3

CME63PROTON CDCl_3 opt/vsinnmr mayer 38



Verbindung **16**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

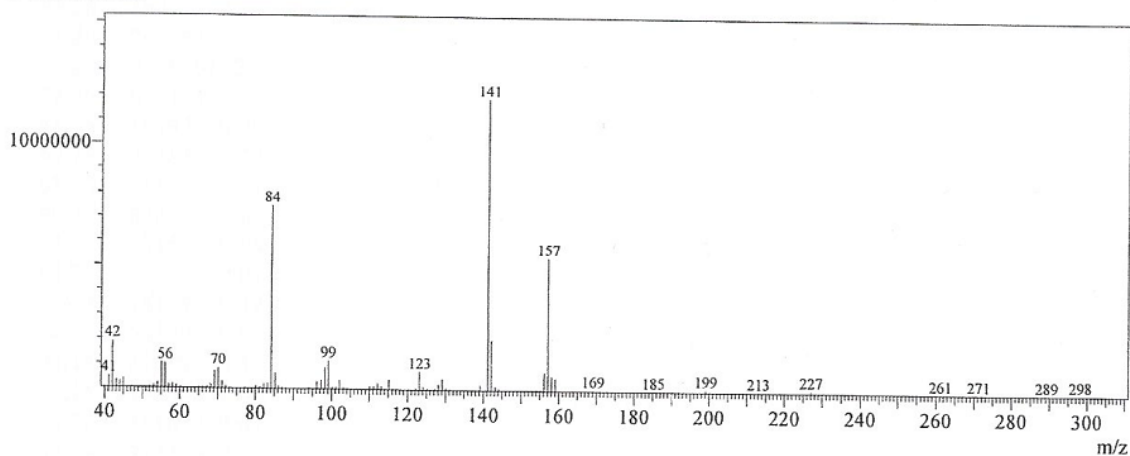
CME63C13APT CDCl3 opt/xviummr mayer 38



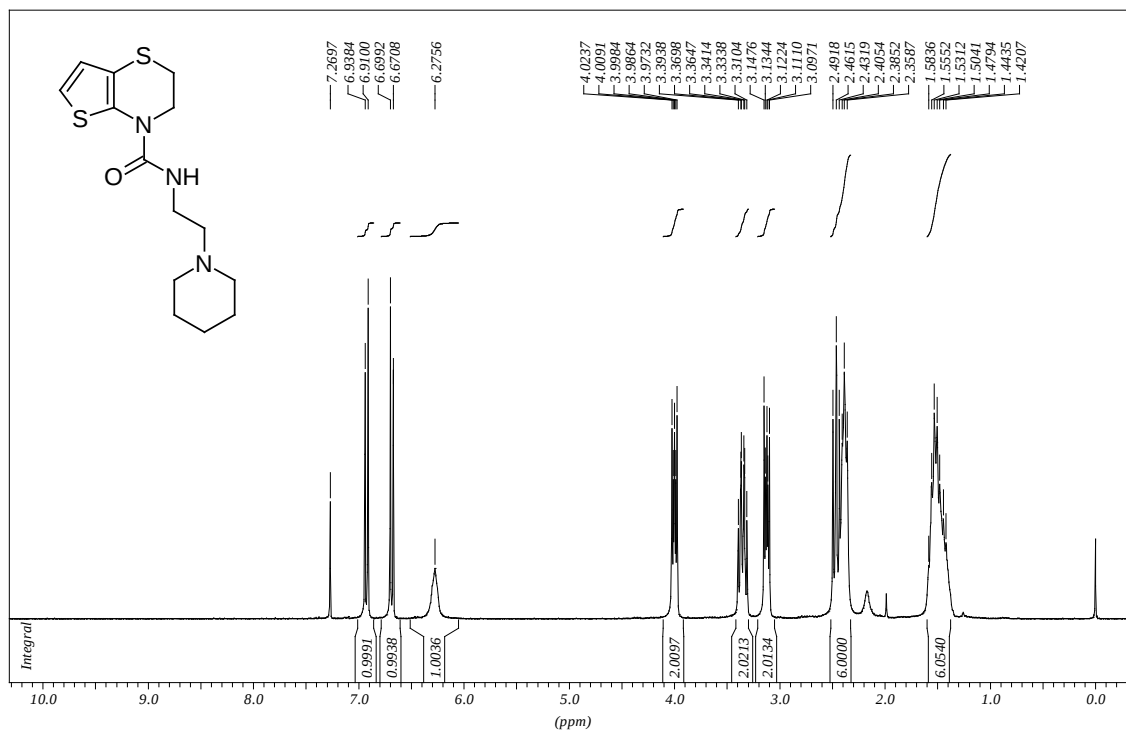
Verbindung **16**, Massenspektrum

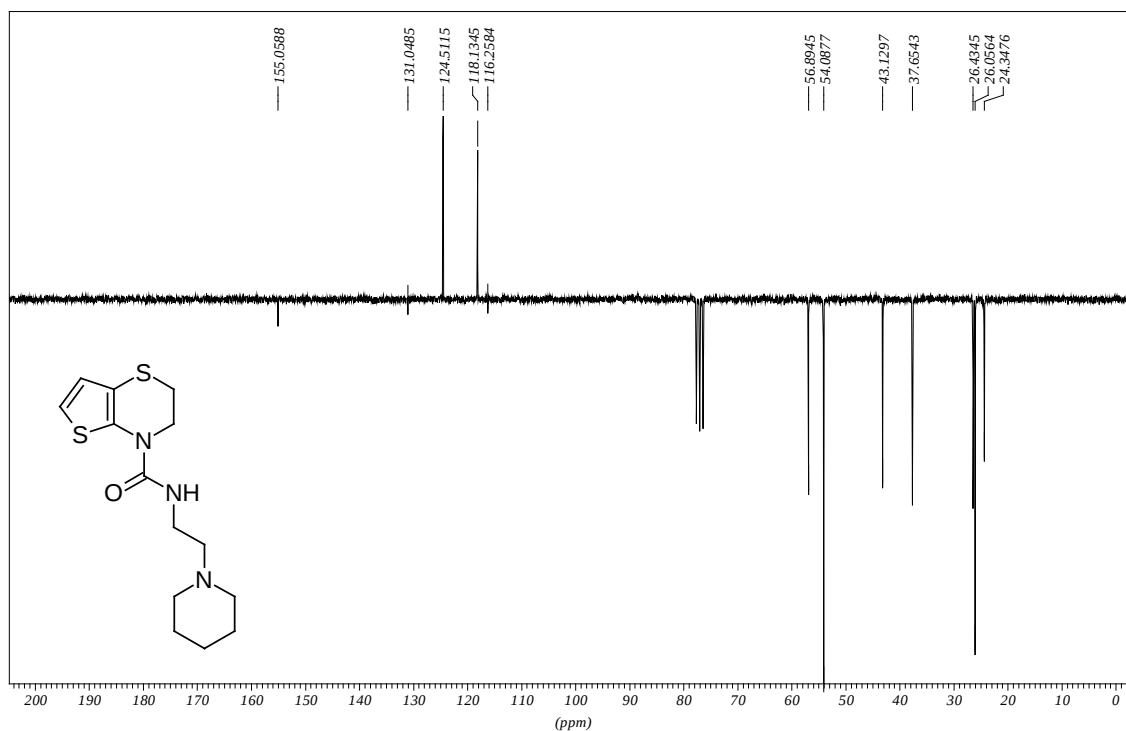
Spectrum

Line#:1 R.Time:4.900(Scan#:565)
 MassPeaks:138
 RawMode:Single 4.900(565) BasePeak:141.25(11921058)
 BG Mode:None

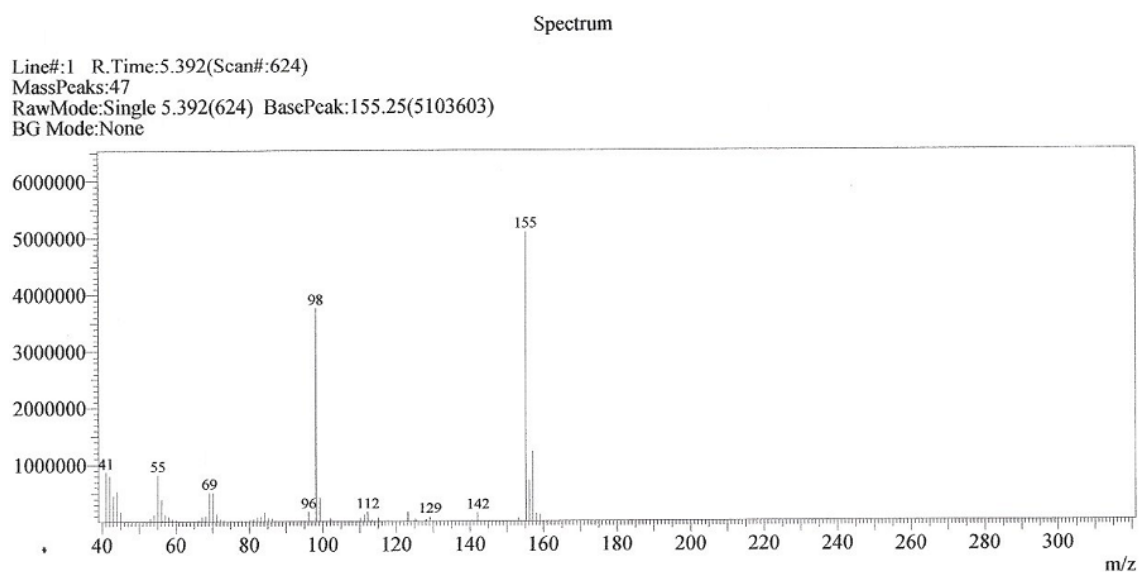


Verbindung **17**, ^1H -NMR, CDCl_3

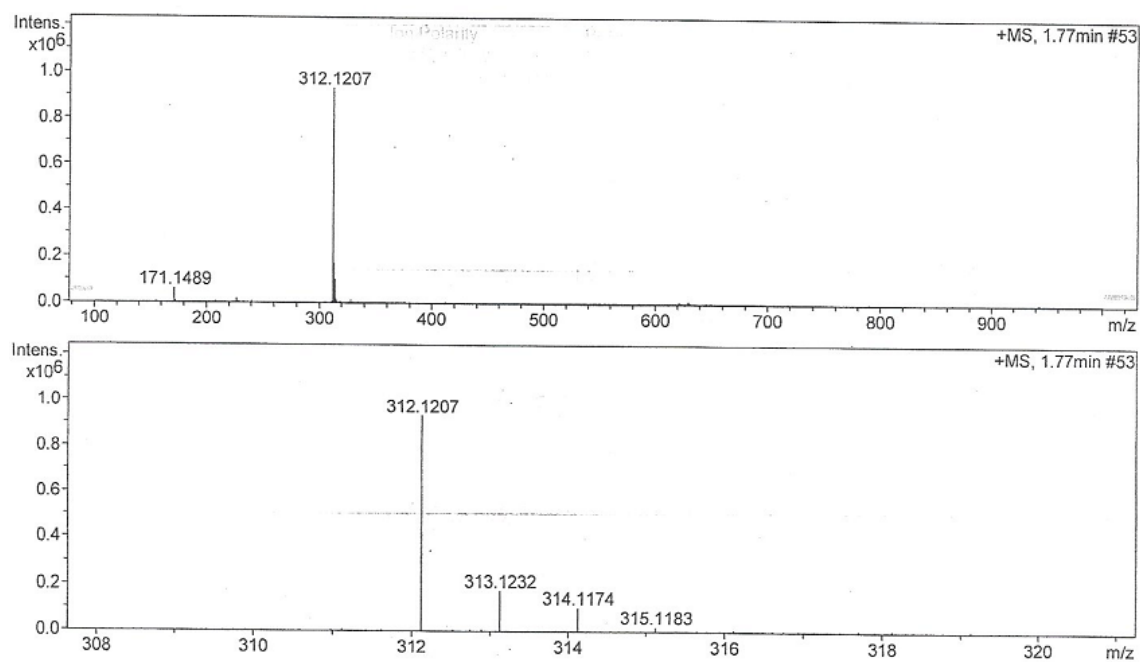
CME61PROTON CDCl_3 opt/xvinnmr mayer 36

Verbindung **17**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

CME61C13APT CDCl_3 opt/xvinnmr mayer 39


Verbindung **17**, Massenspektrum

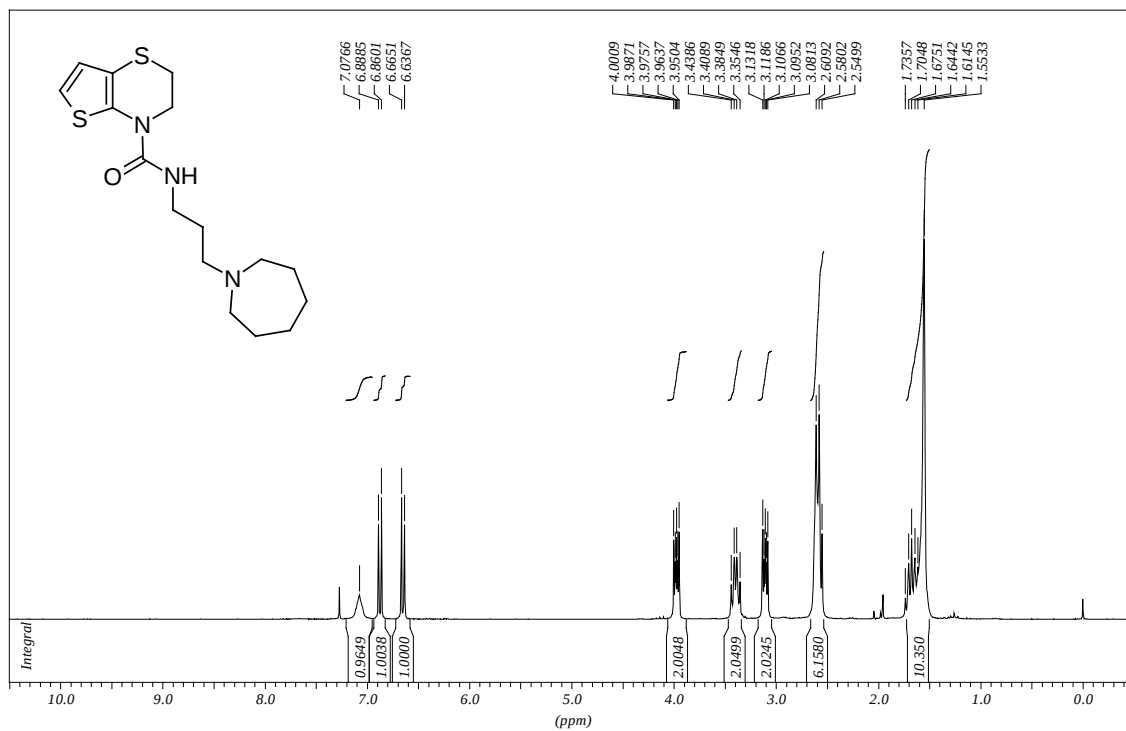


Verbindung **17**, HR-MS

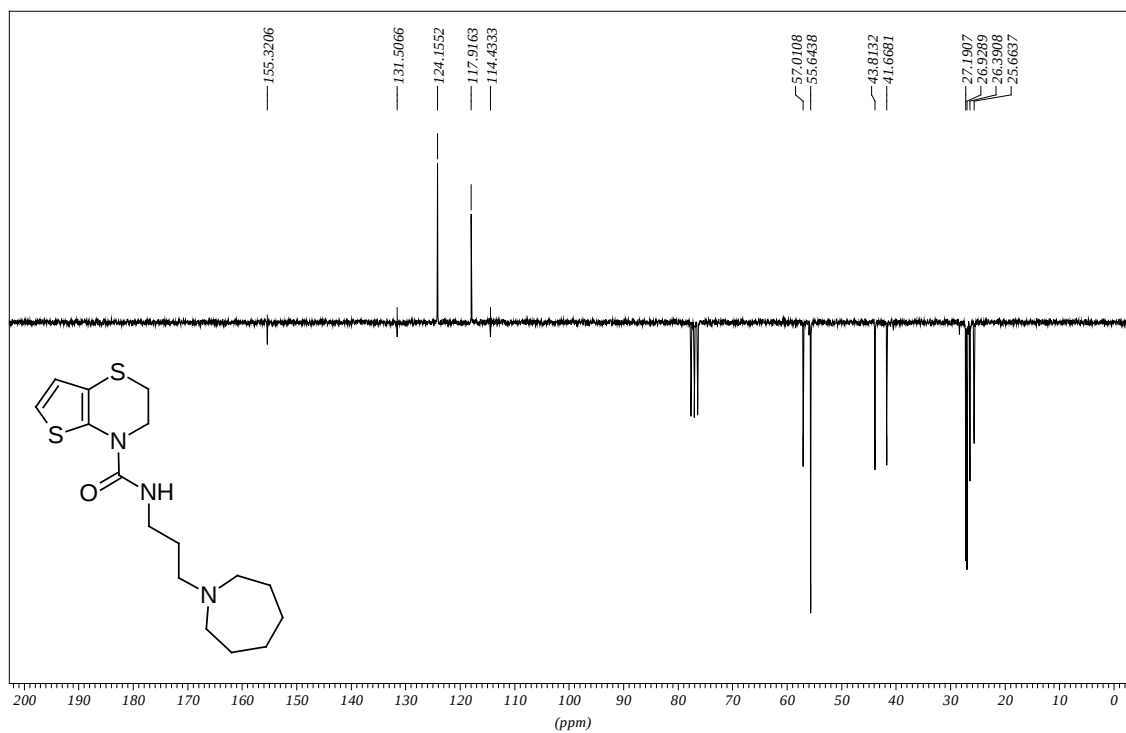


Verbindung **18**, ^1H -NMR, CDCl_3

CME65PROTON CDCl3 opt/xxvnmr mayer 58


Verbindung **18**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

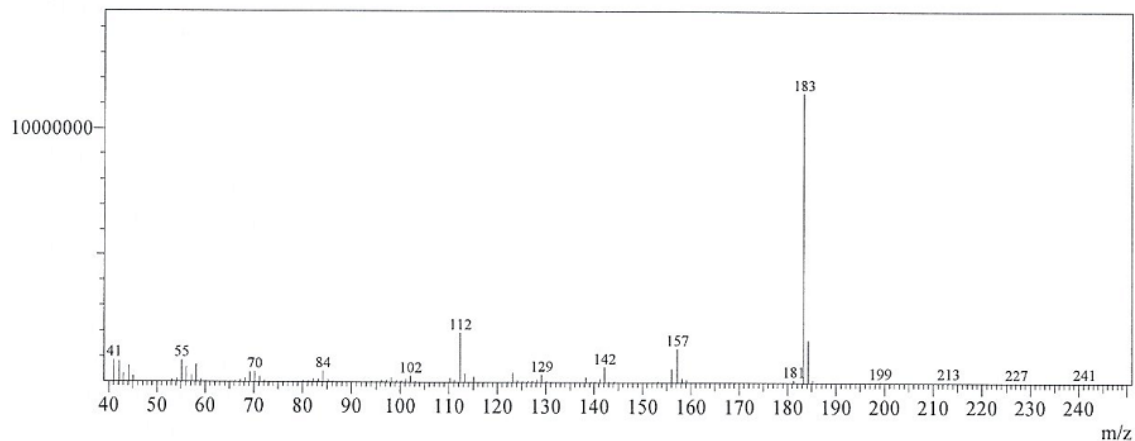
CME65Cl3APT CDCl3 opt/xxvnmr mayer 43



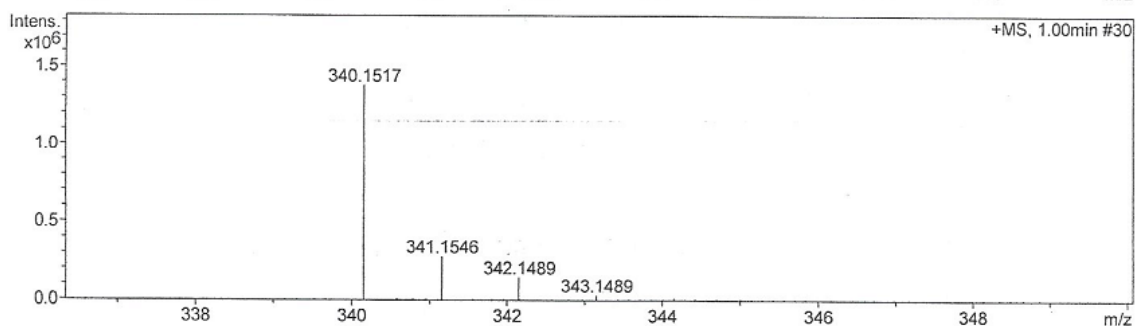
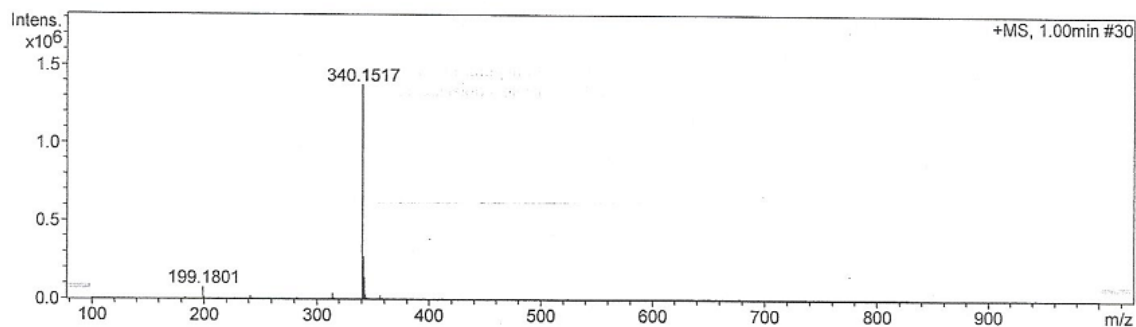
Verbindung **18**, Massenspektrum

Spectrum

Line#:1 R.Time:6.142(Scan#:714)
MassPeaks:134
RawMode:Single 6.142(714) BasePeak:183.30(11439934)
BG Mode:None

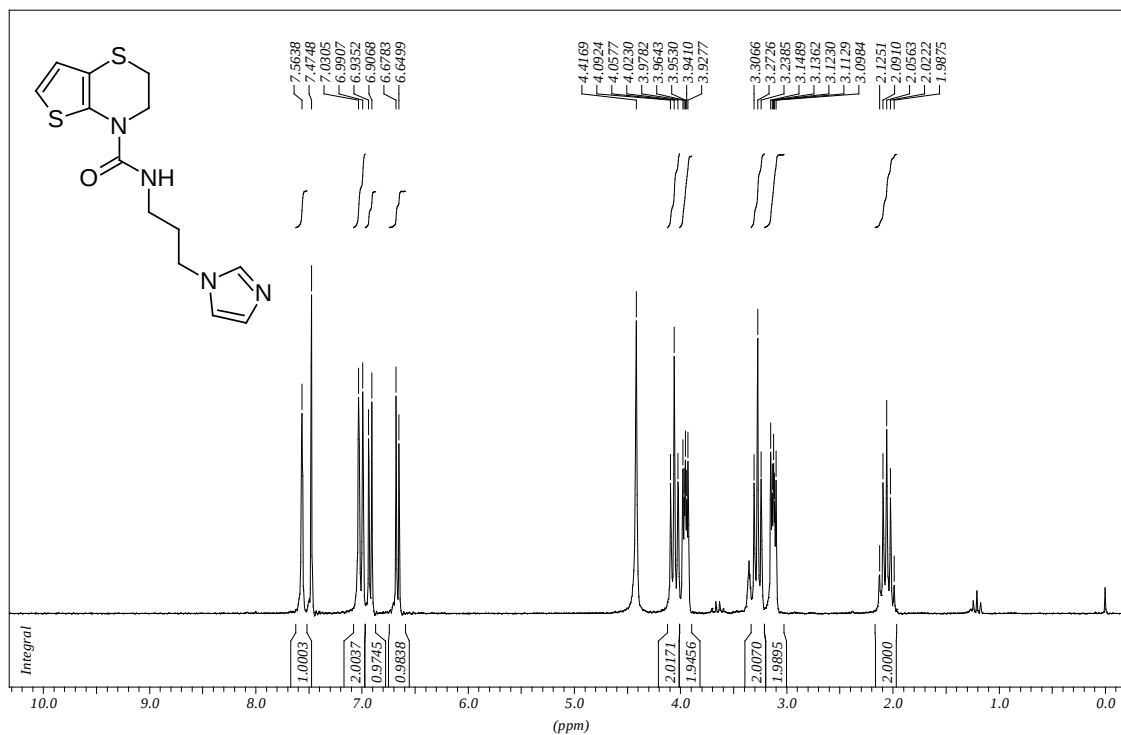


Verbindung **18**, HR-MS

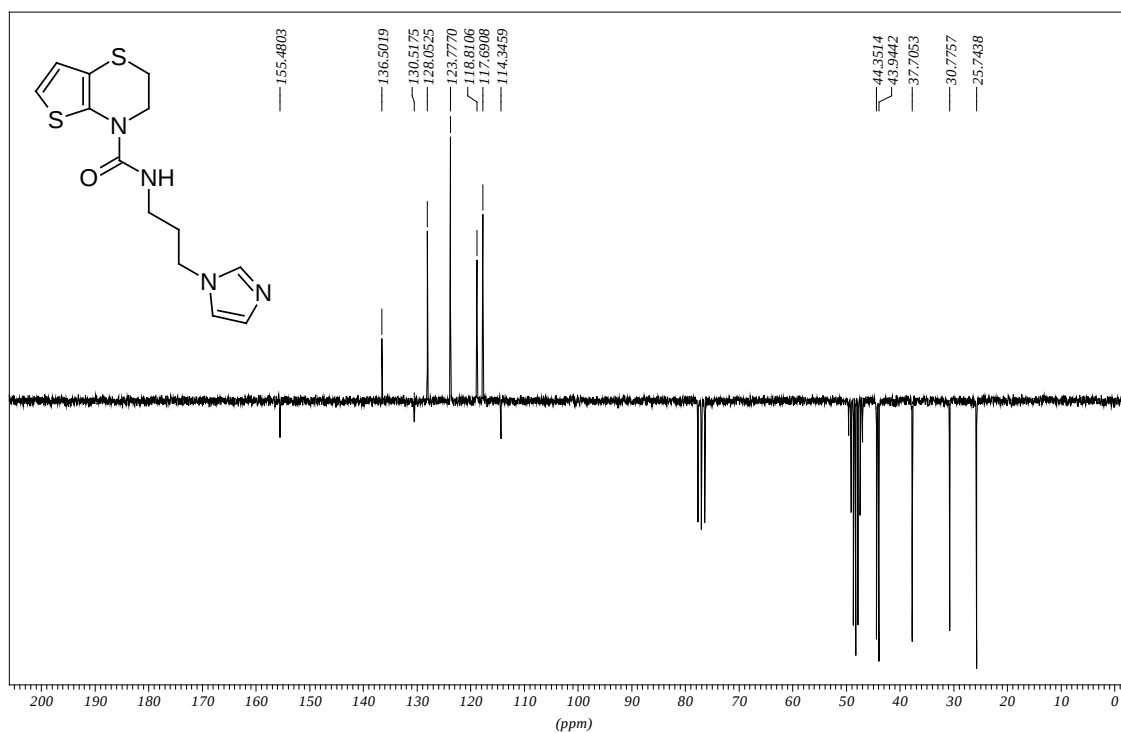


Verbindung **19**, ^1H -NMR, $\text{CDCl}_3 + \text{d}_4\text{-MeOH}$

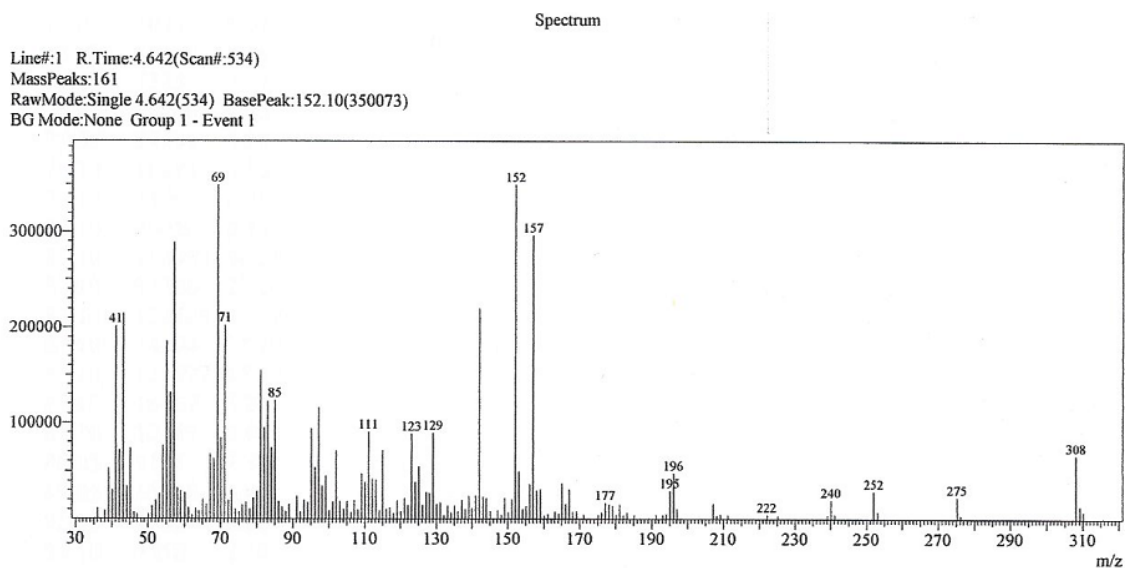
CME68PROTON CDC13 opt/xwinnmr mayer 37


Verbindung **19**, ^{13}C -NMR, $\text{CDCl}_3 + \text{d}_4\text{-MeOH}$

CME68C13APT CDC13 opt/xwinnmr mayer 37

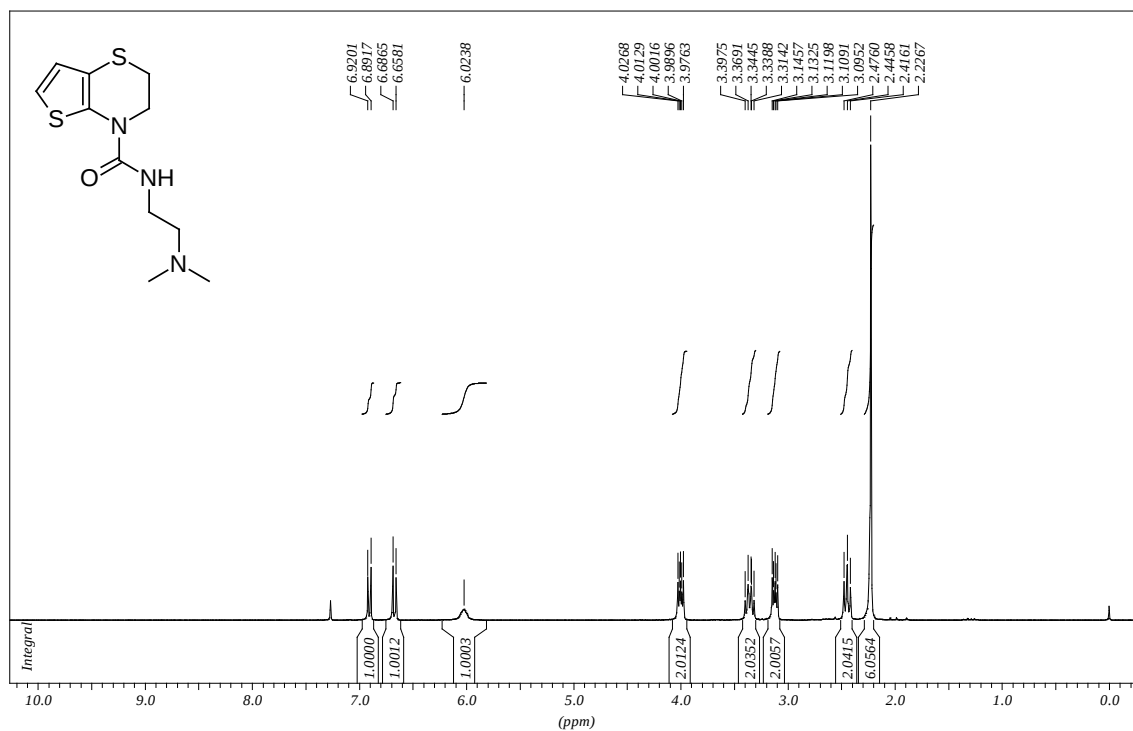


Verbindung **19**, Massenspektrum



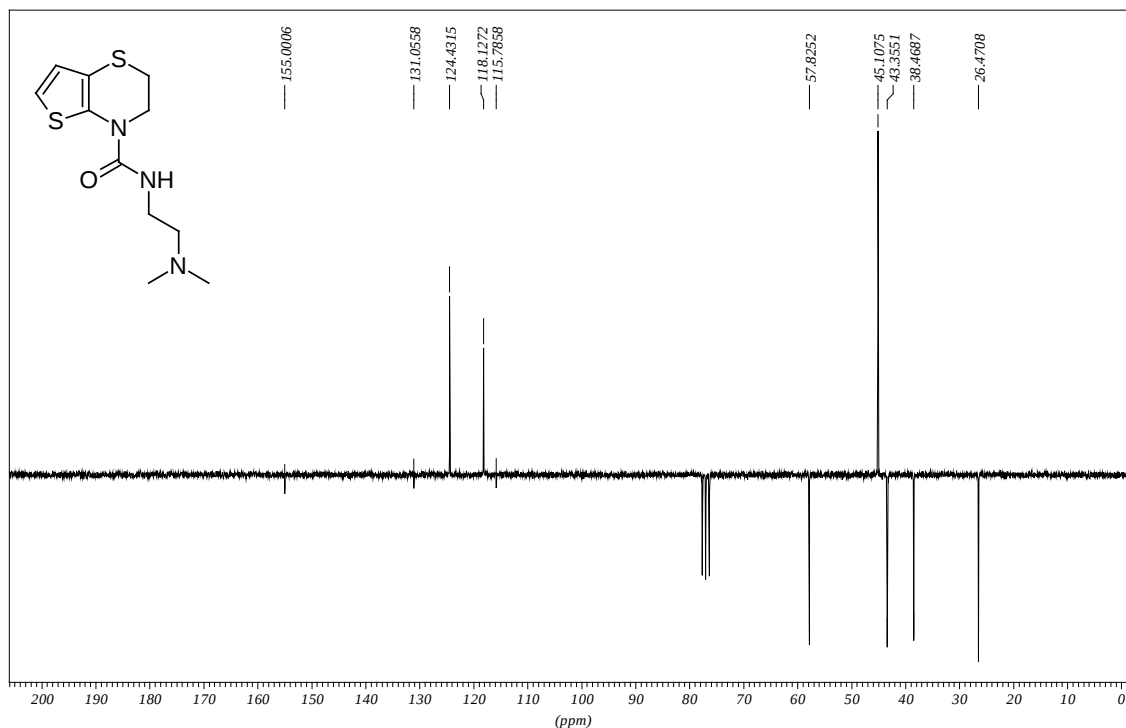
Verbindung **20**, ^1H -NMR, CDCl_3

CME64PROTON CDCl3 opt/sovinumr mayer 36



Verbindung **20**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

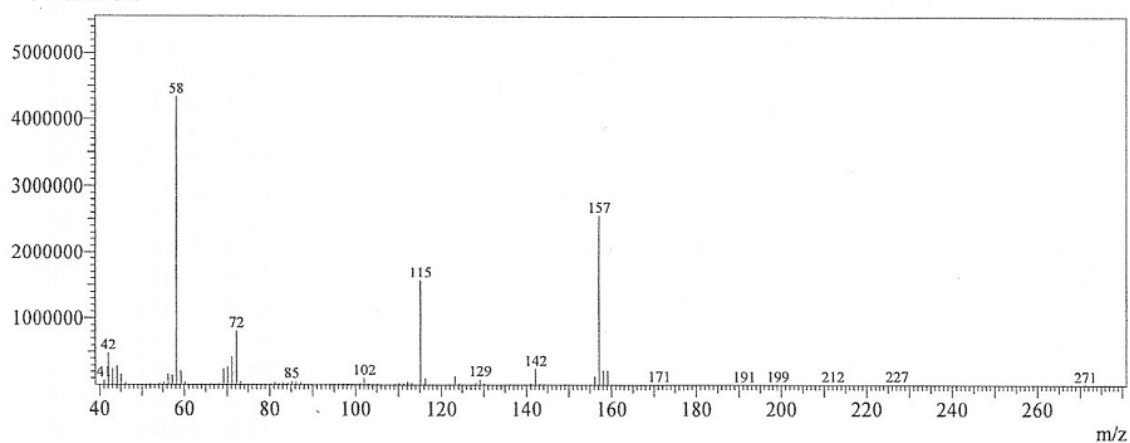
CME64Cl3.APT.CDC13 opt/swinnur mayer 36



Verbindung **20**, Massenspektrum

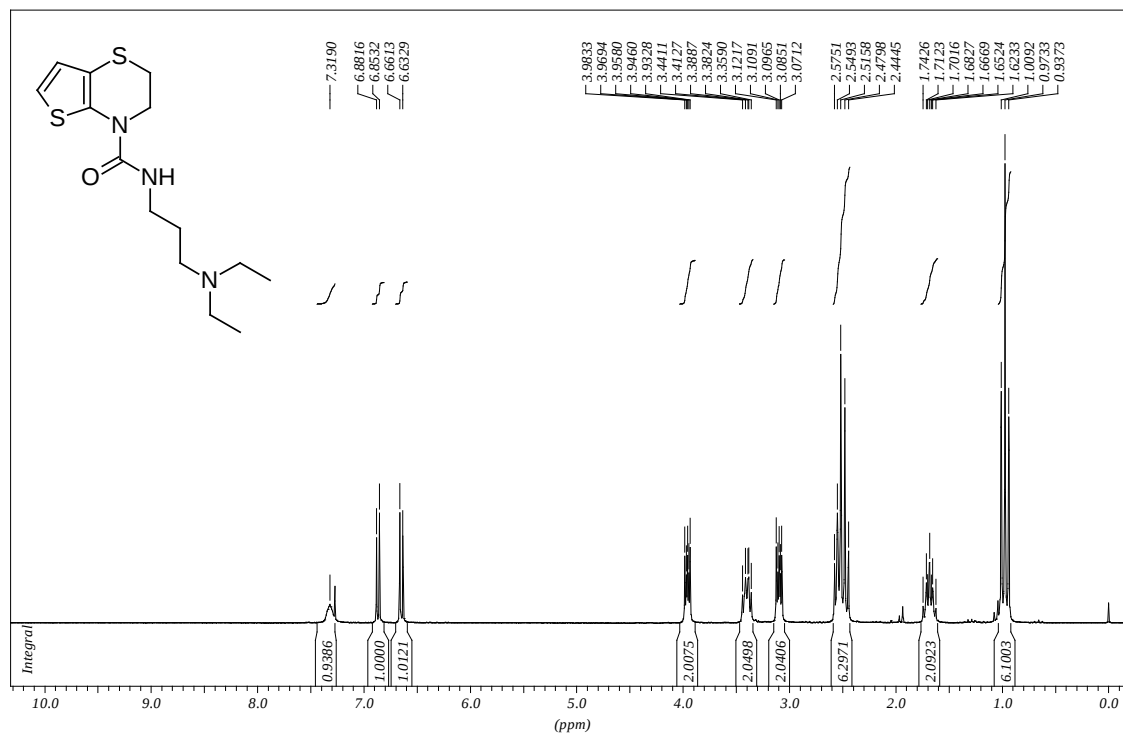
Spectrum

Line#:1 R.Time:2.925(Scan#:328)
MassPeaks:142
RawMode:Single 2.925(328) BasePeak:58.20(4338404)
BG Mode:None

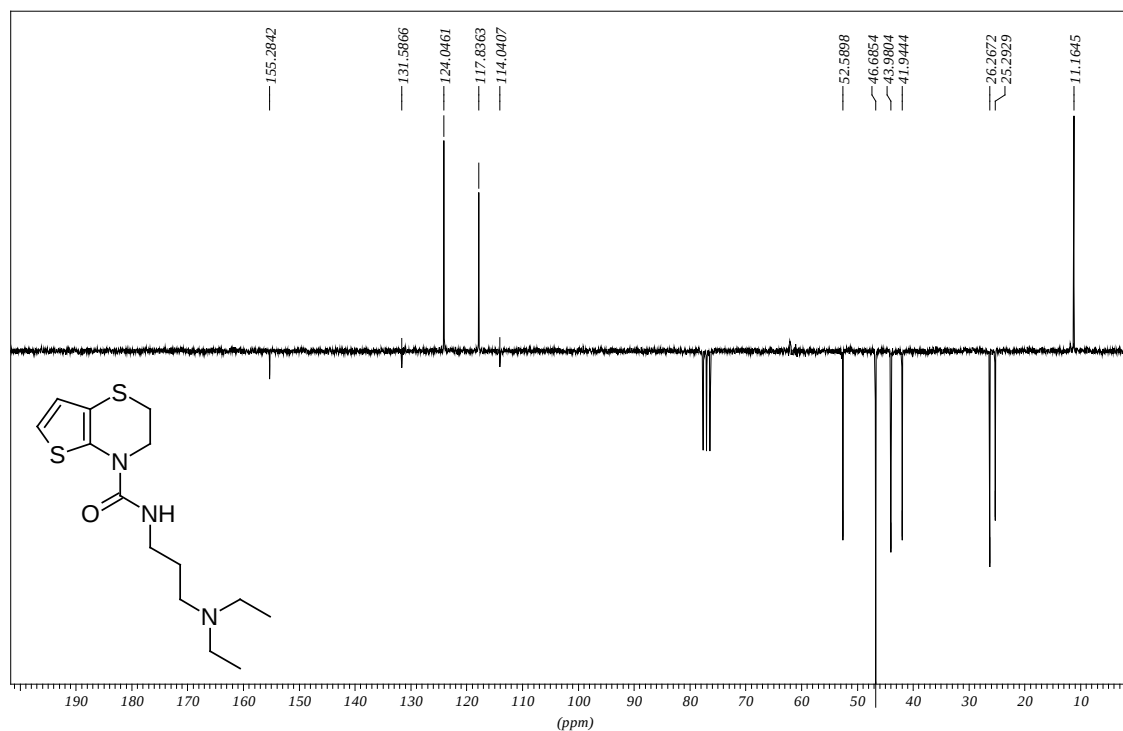


Verbindung **21**, ^1H -NMR, CDCl_3

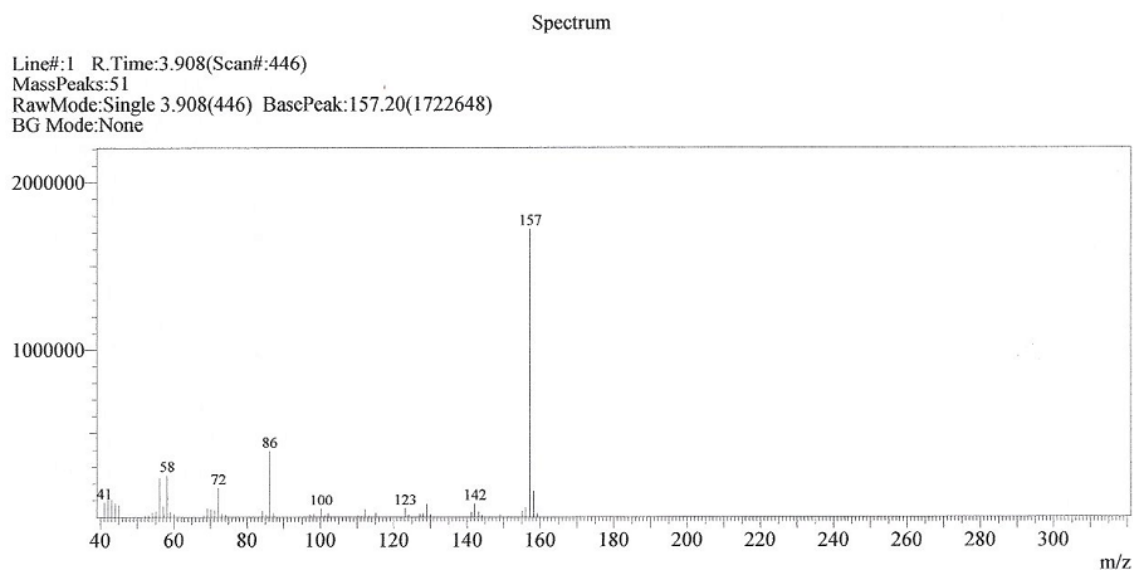
CME62PROTON CDCl3 opt/xwinnmr mayer 52


Verbindung **21**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

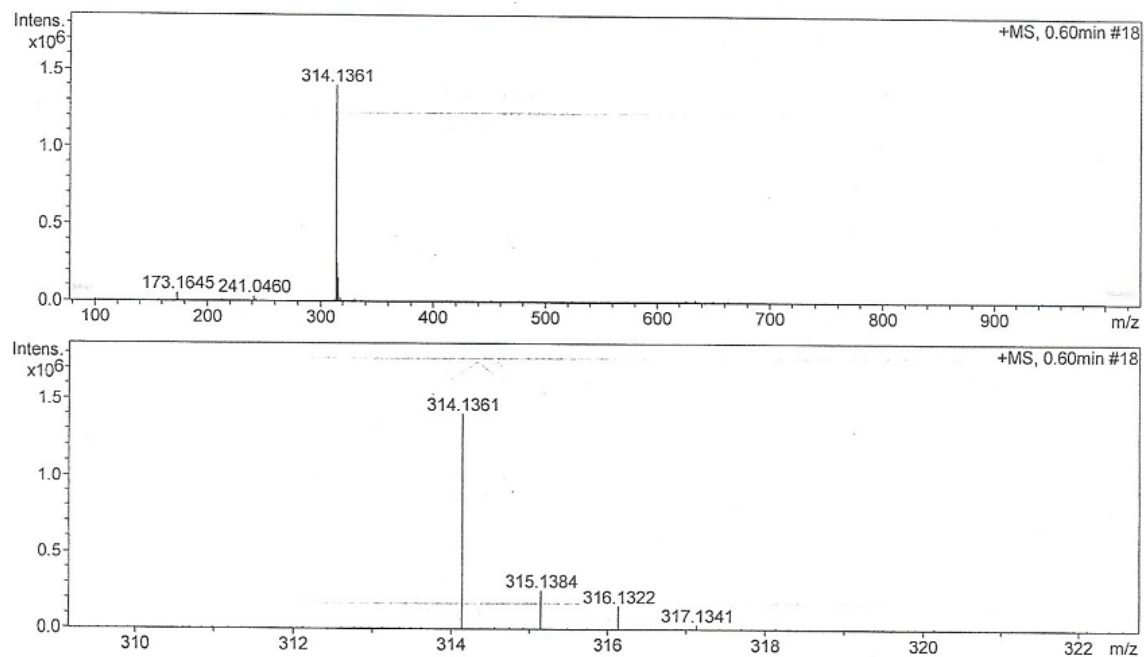
CME62, CDCl3, 05.03.2012Cl3APT CDCl3 opt/xwinnmr foxer 57



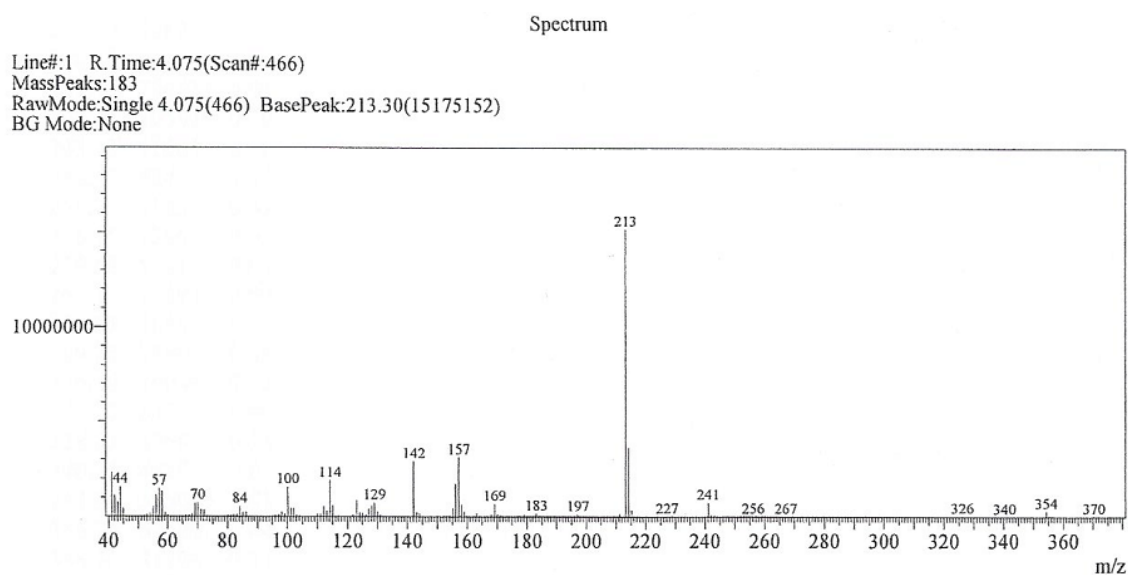
Verbindung **21**, Massenspektrum



Verbindung **21**, HR-MS

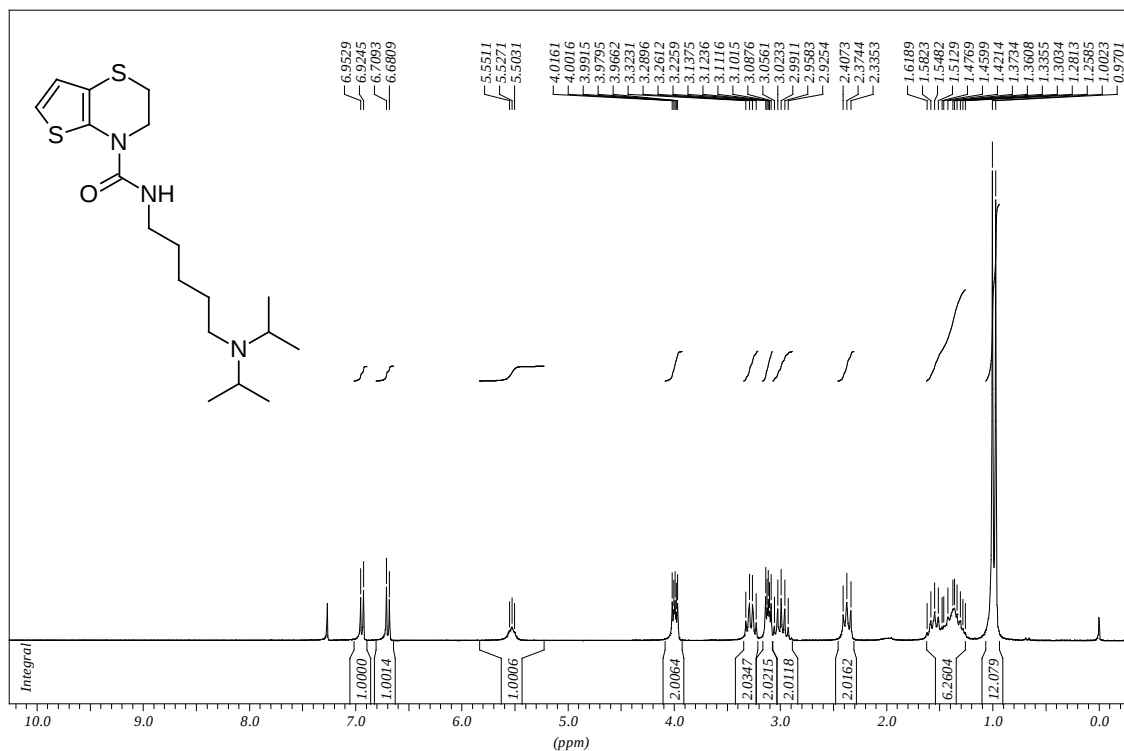


Verbindung 22, Massenspektrum



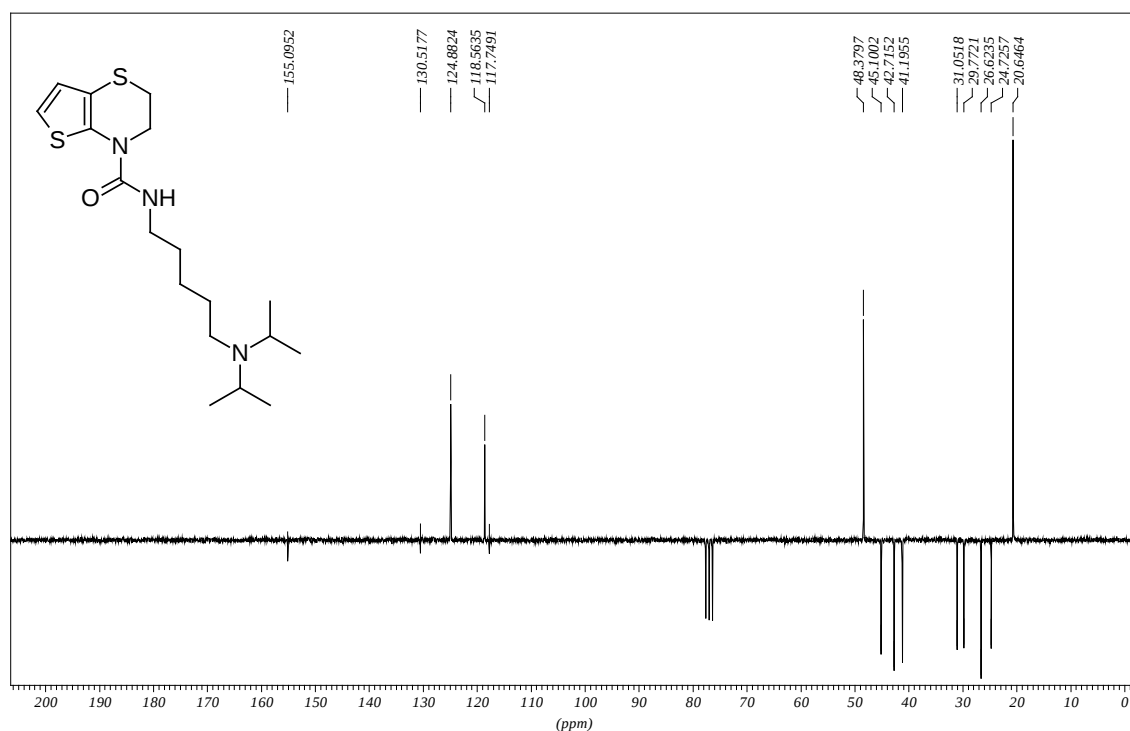
Verbindung 23, ^1H -NMR, CDCl_3

PROTON CDCl_3 opt/swimmr mayer II



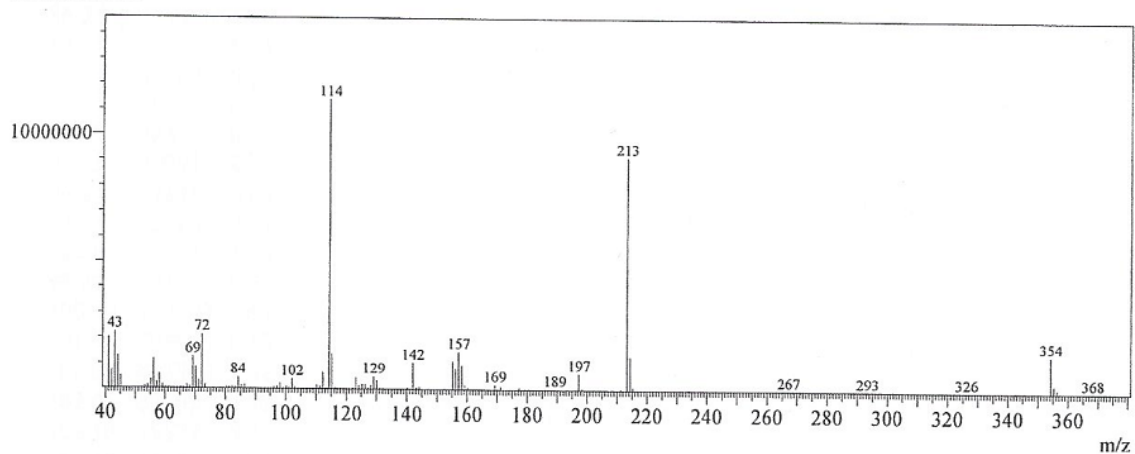
Verbindung **23**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

CME69C13APT CDCl3 opt/xvinnmr mayer 24


Verbindung **23**, Massenspektrum

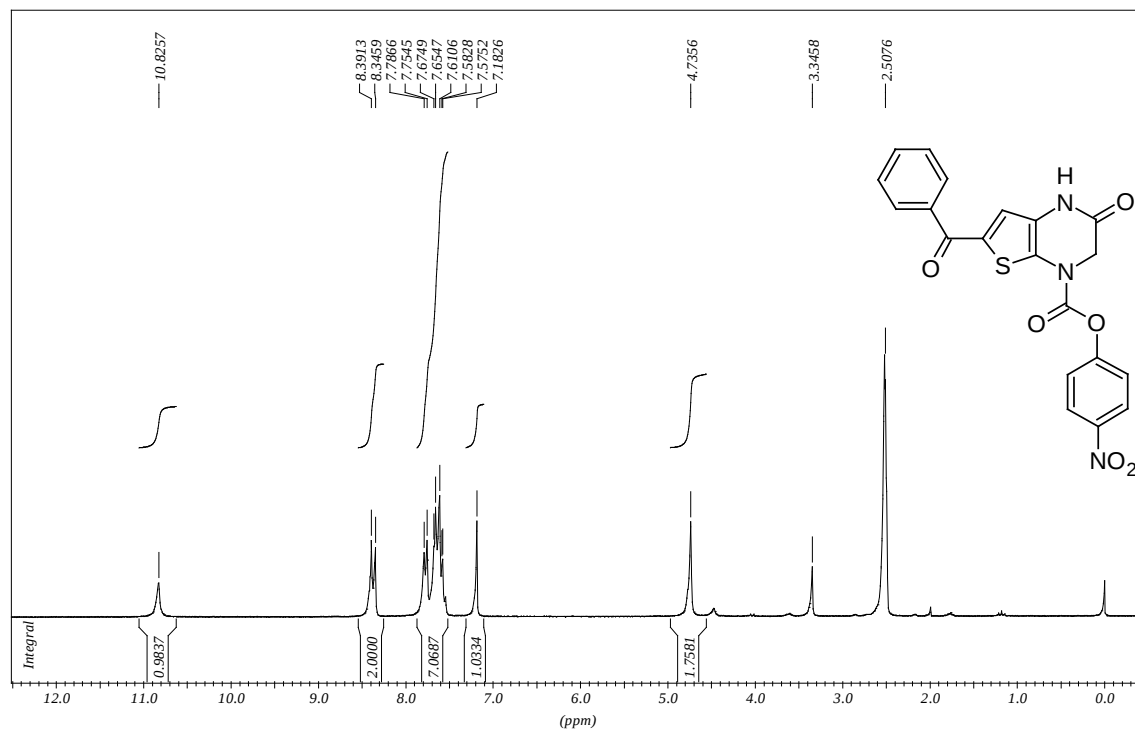
Spectrum

Line#:1 R.Time:0.233(Scan#:5)
 MassPeaks:126
 RawMode:Single 0.233(5) BasePeak:114.25(11409344)
 BG Mode:None

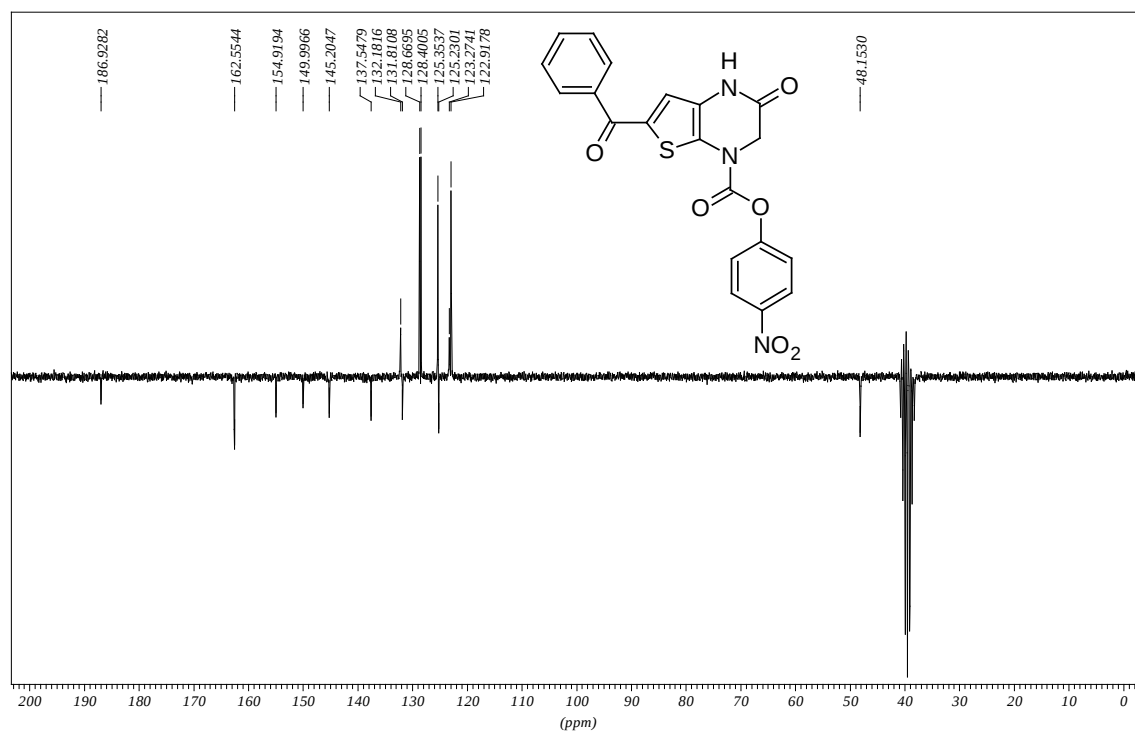


Verbindung **31**, ^1H -NMR, d_6 -DMSO

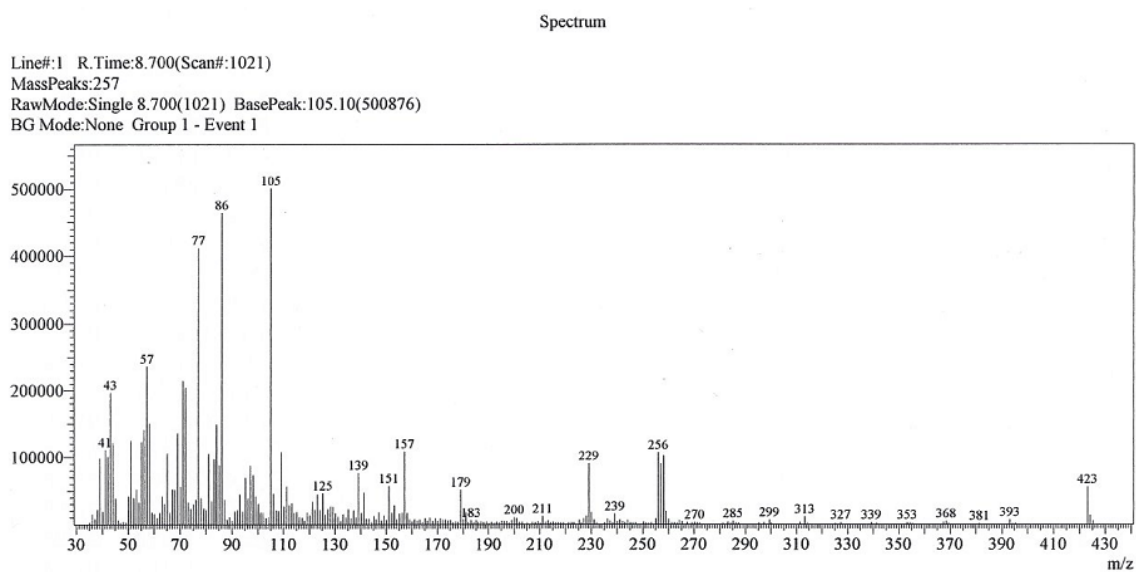
CMC4PROTON DMSO opt/swinnur mayer 44


Verbindung **31**, ^{13}C -NMR, d_6 -DMSO

CMC4C13APT DMSO opt/swinnur mayer 44

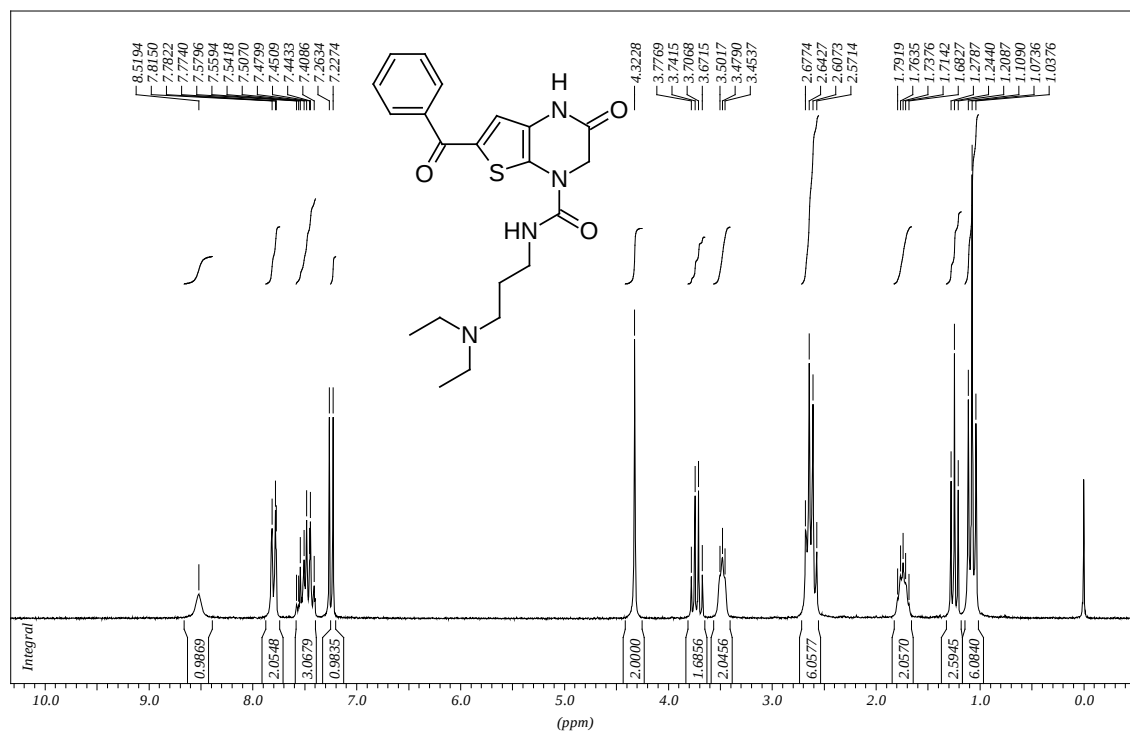


Verbindung **31**, Massenspektrum



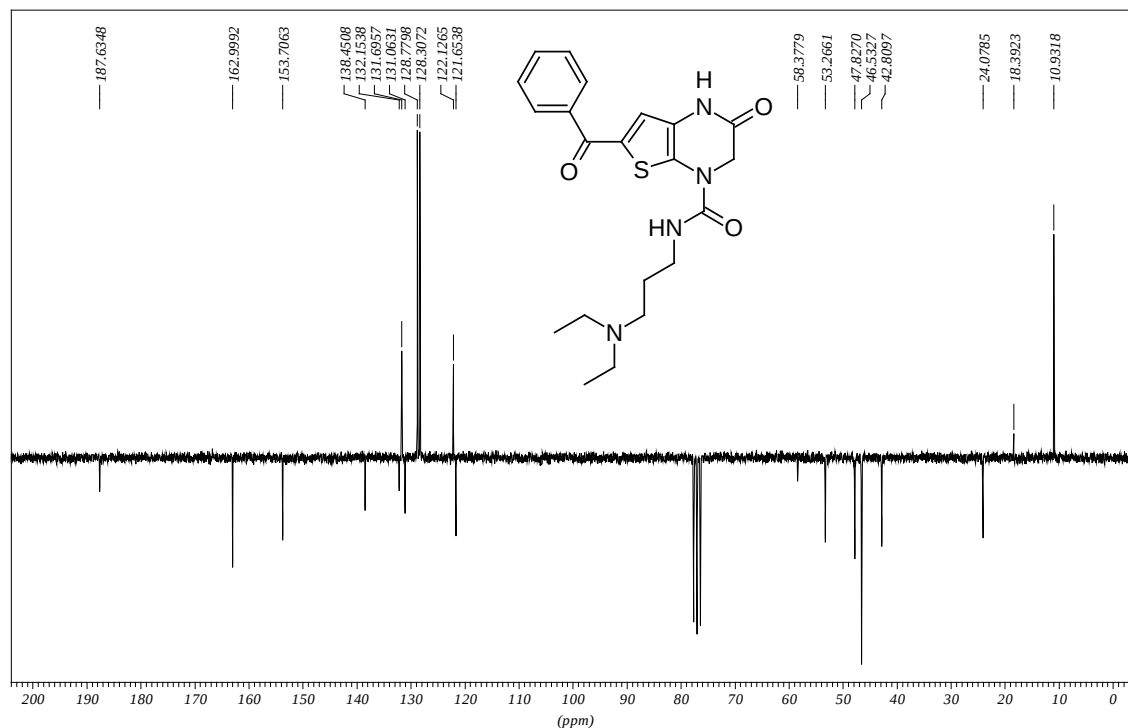
Verbindung **32**, ^1H -NMR, CDCl_3

CMC41PROTON CDCl3 opt/sovinmr meyer I □



Verbindung **32**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

CMC41C13APT CDCl3 opt/zwinnur-meyer 18



Verbindung **32**, Massenspektrum

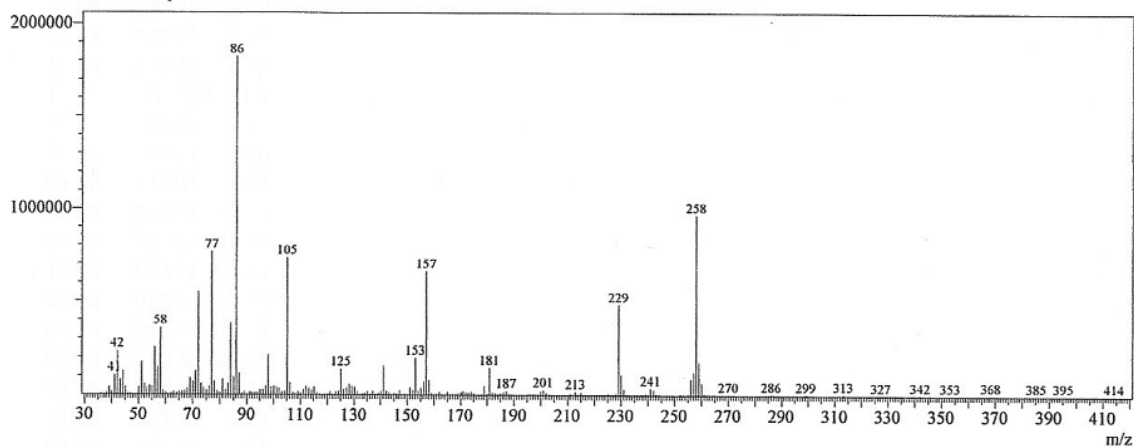
Spectrum

Line#:1 R.Time:9.400(Scan#:1105)

MassPeaks:274

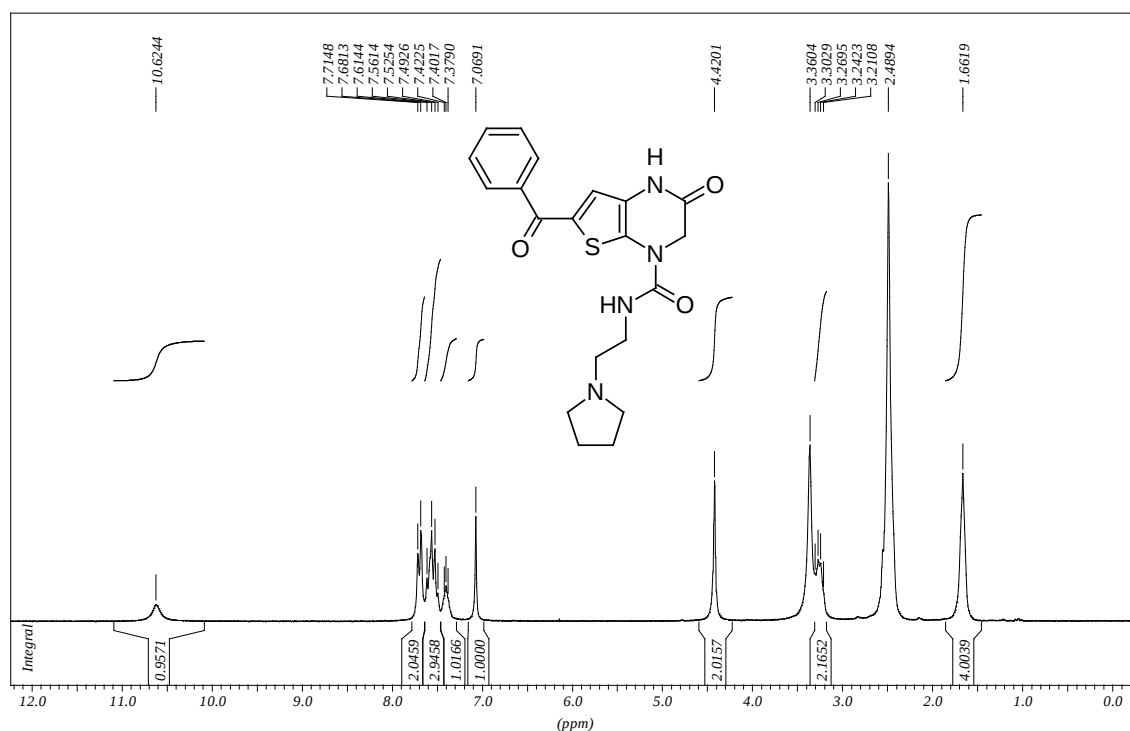
RawMode:Single 9.400(1105) BasePeak:86.10(1822663)

BG Mode:None Group 1 - Event 1



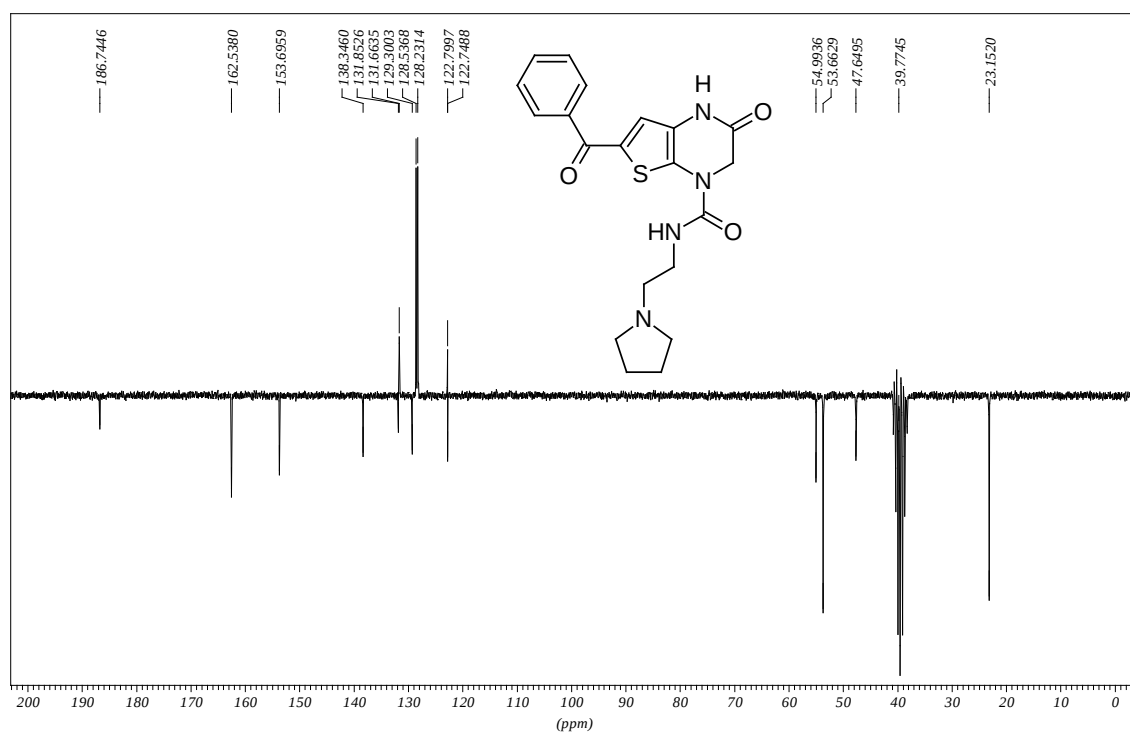
Verbindung **33**, ^1H -NMR, d_6 -DMSO

CMC43PROTON DMSO opt/xwinnmr mayer 40



Verbindung **33**, ^{13}C -NMR, d_6 -DMSO

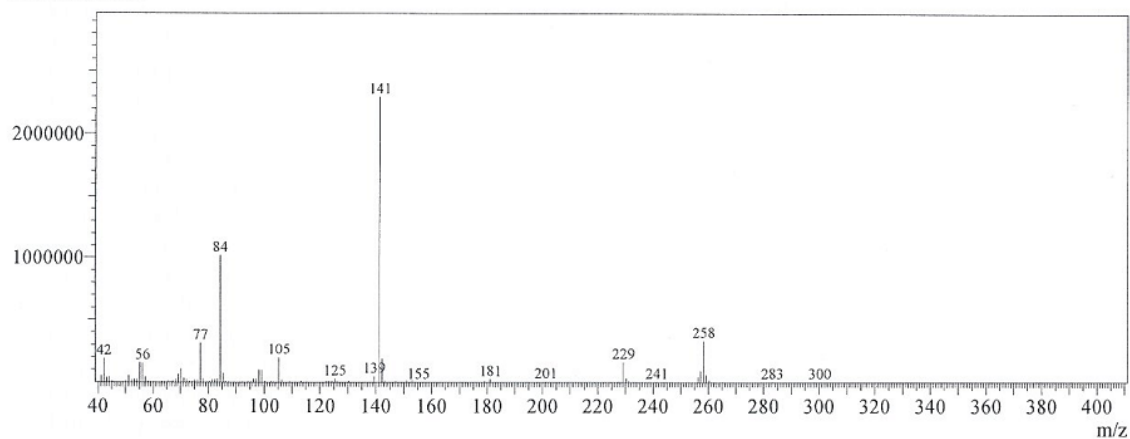
CMC43C13APT DMSO opt/xwinnmr mayer 40



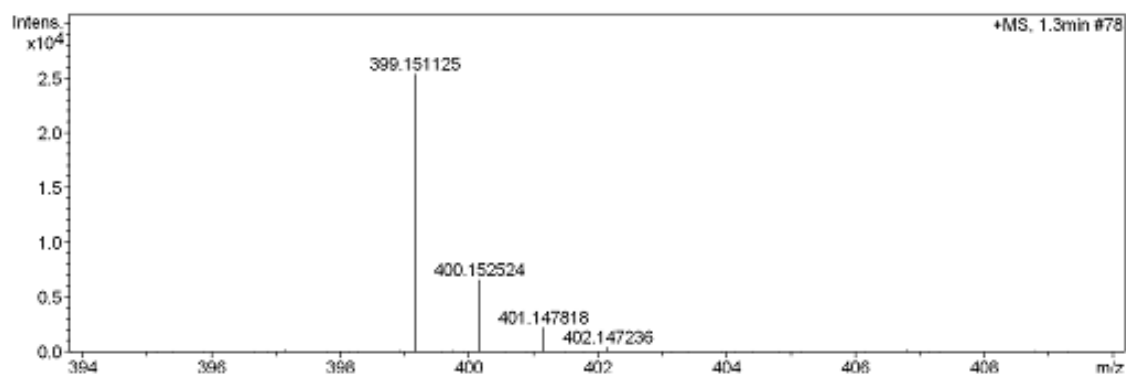
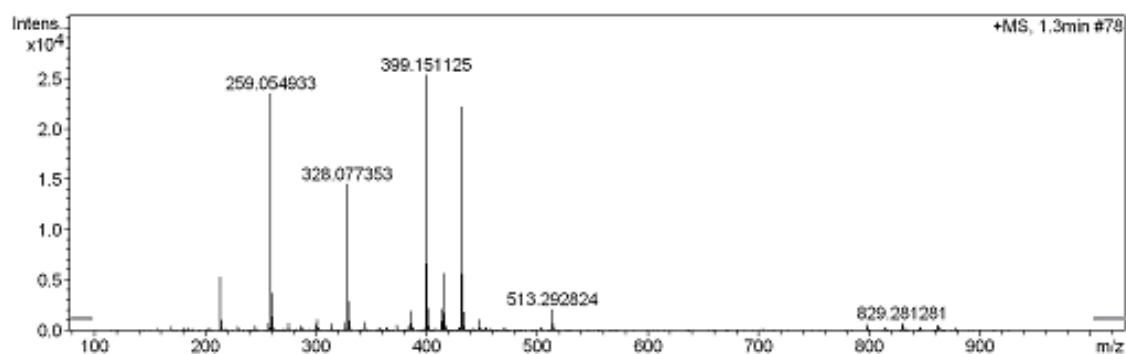
Verbindung **33**, Massenspektrum

Spectrum

Line#:1 R.Time:12.442(Scan#:1470)
MassPeaks:120
RawMode:Single 12.442(1470) BasePeak:141.30(2297318)
BG Mode:None

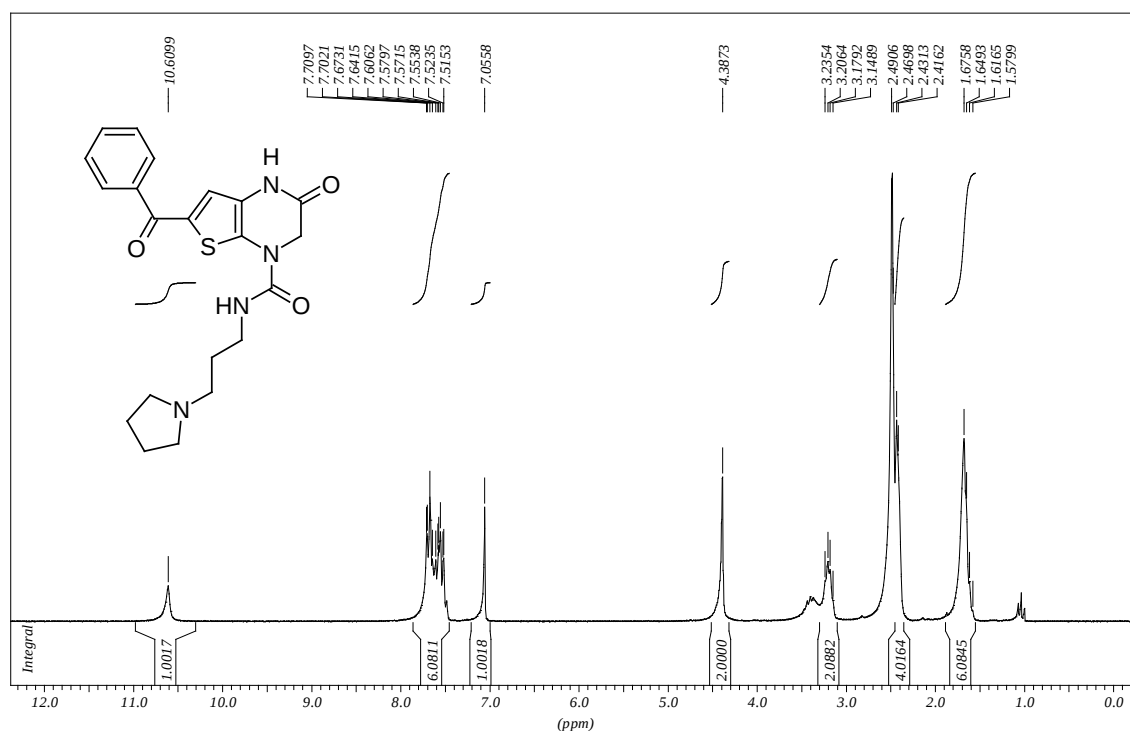


Verbindung **33**, HR-MS

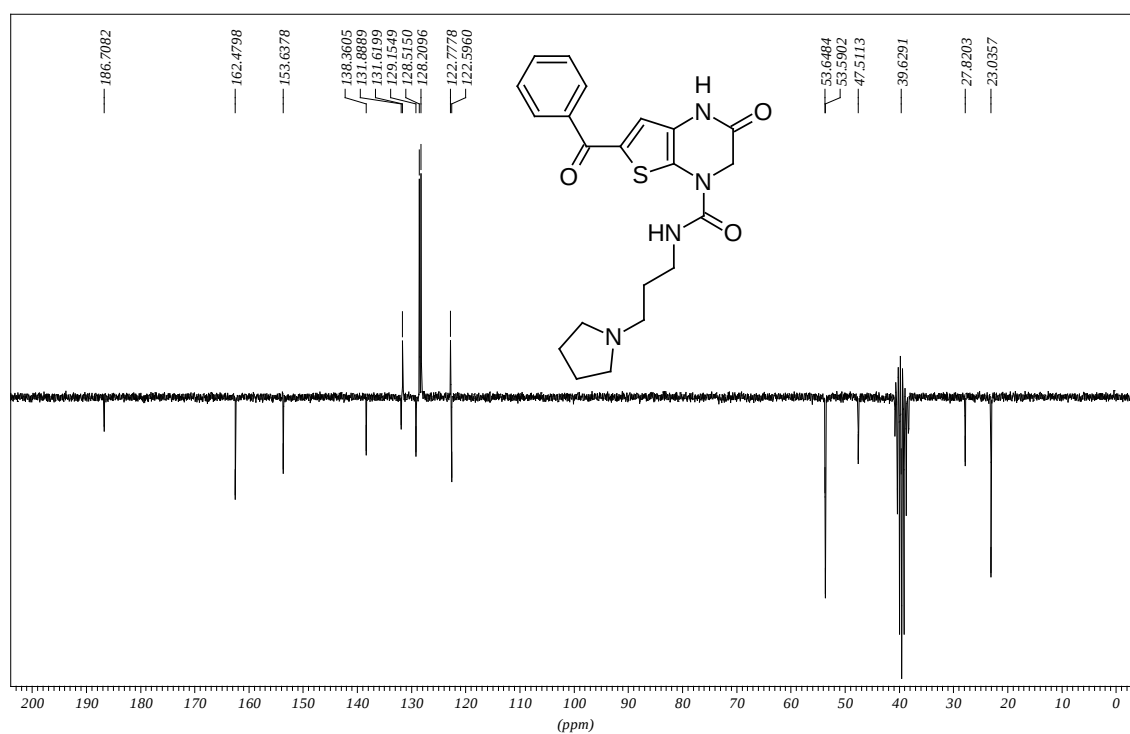


Verbindung **34**, ^1H -NMR, d_6 -DMSO

CMC46PROTON DMSO opt/xvnmr mayer 45


Verbindung **34**, ^{13}C -NMR, d_6 -DMSO

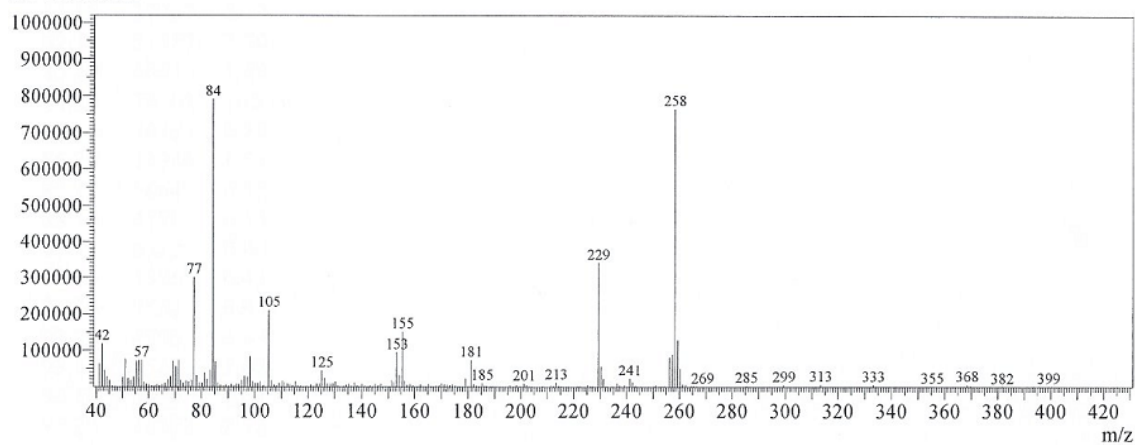
CMC46CI3APT DMSO opt/xvnmr mayer 45



Verbindung **34**, Massenspektrum

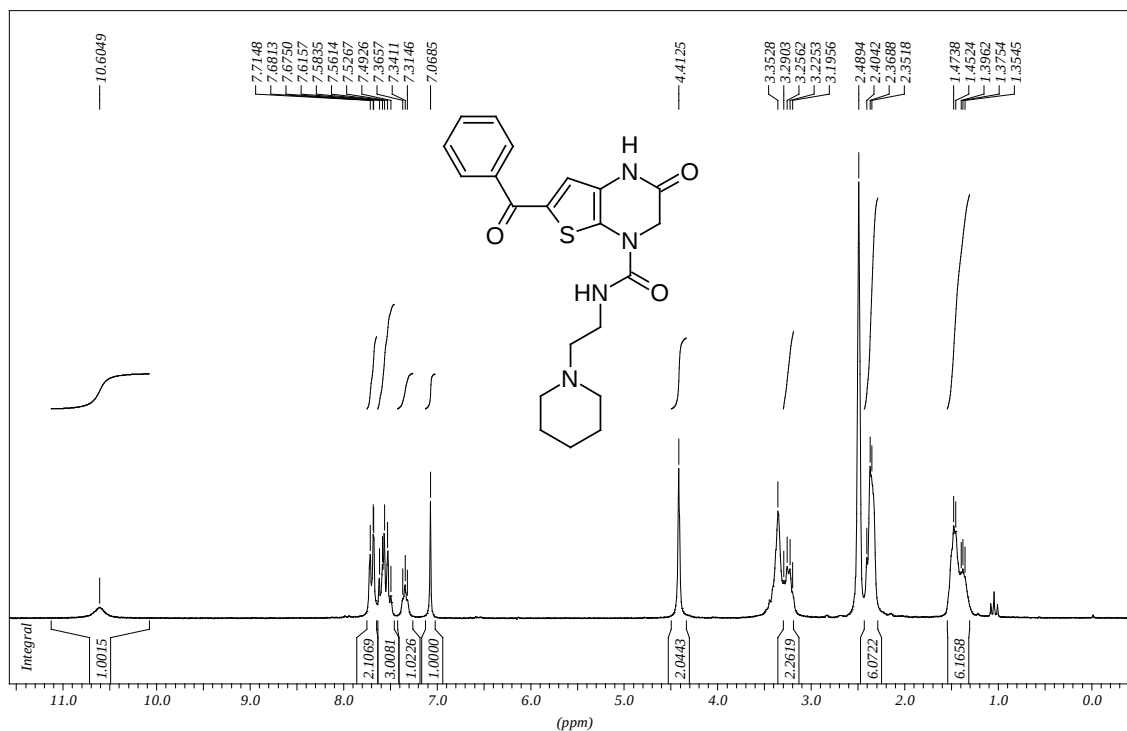
Spectrum

Line#:1 R.Time:11.283(Scan#:1331)
 MassPeaks:228
 RawMode:Single 11.283(1331) BasePeak:84.20(792021)
 BG Mode:None



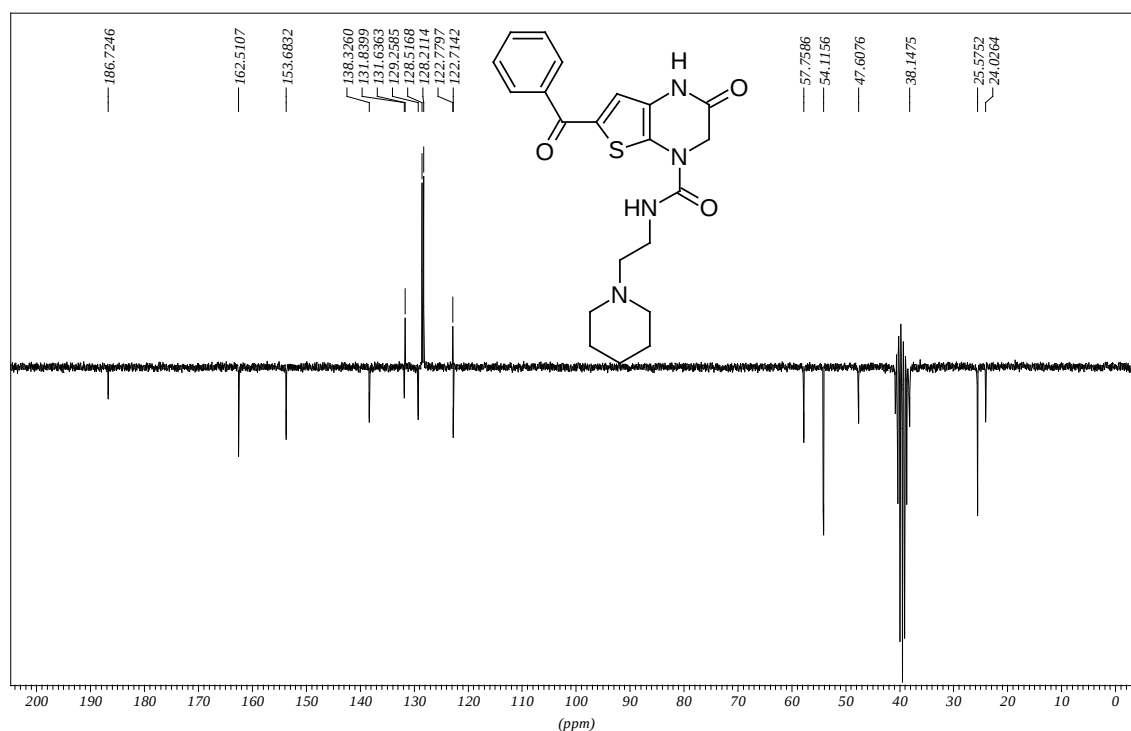
Verbindung **35**, ^1H -NMR, d_6 -DMSO

CMC42PROTON DMSO opt/ssvinnur mayr 12



Verbindung **35**, ^{13}C -NMR, d_6 -DMSO

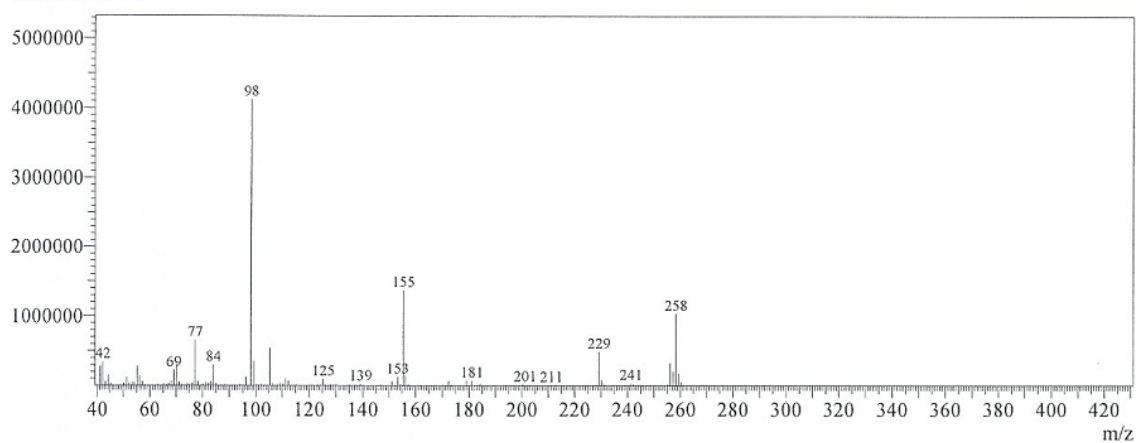
CMC42C13APT DMSO opt/ssinnmr mayer 17

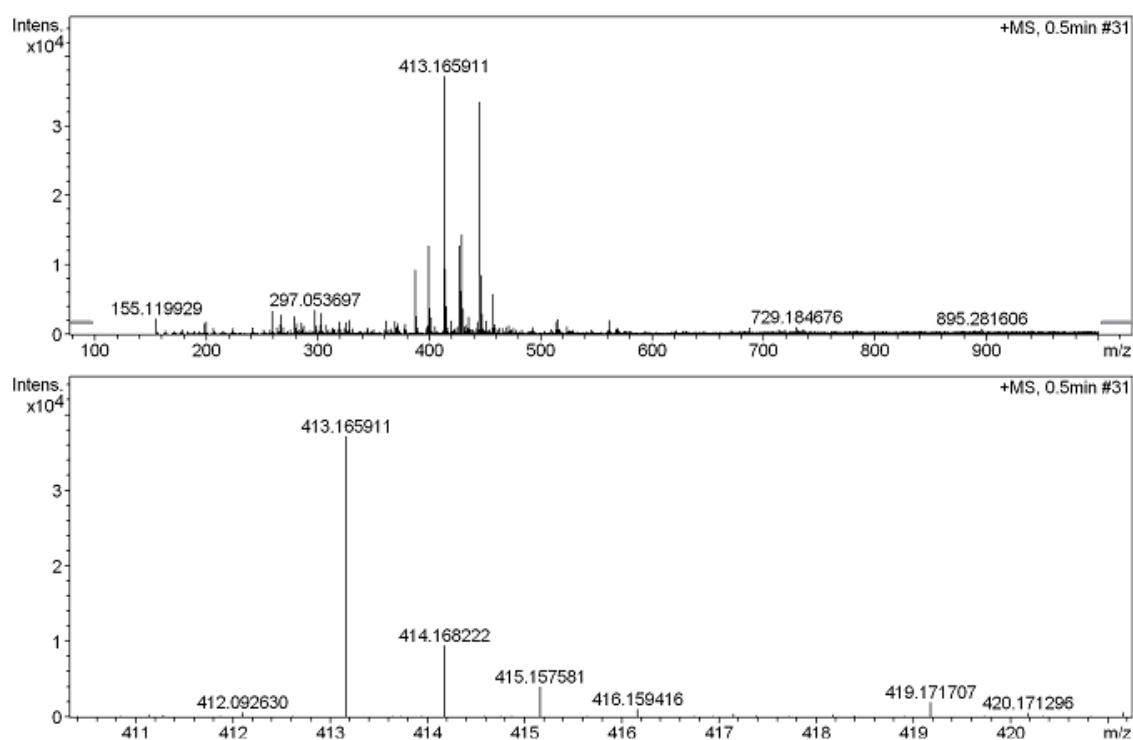


Verbindung **35**, Massenspektrum

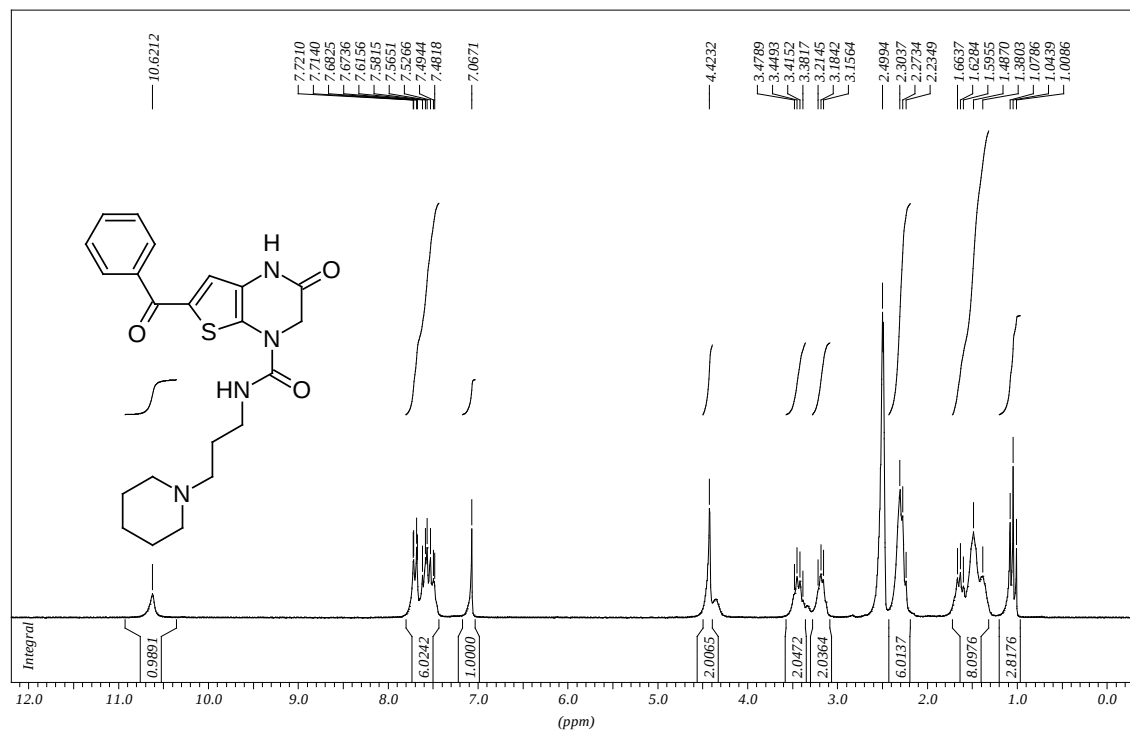
Spectrum

Line#:1 R.Time:10.808(Scan#:1274)
MassPeaks:117
RawMode:Single 10.808(1274) BasePeak:98.20(4128738)
BG Mode:None



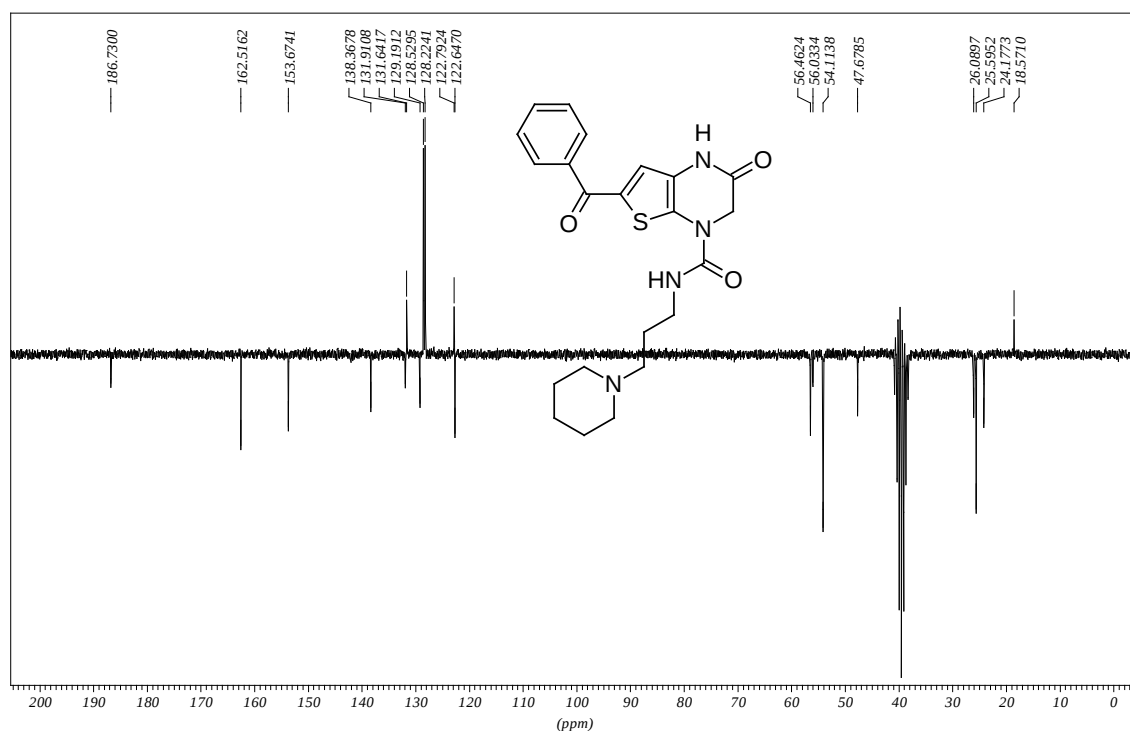
Verbindung **35**, HR-MS

 Verbindung **36**, ^1H -NMR, d_6 -DMSO

CMC4PROTON DMSO opt/zwinnmr mayer 12



Verbindung **36**, ^{13}C -NMR, d_6 -DMSO

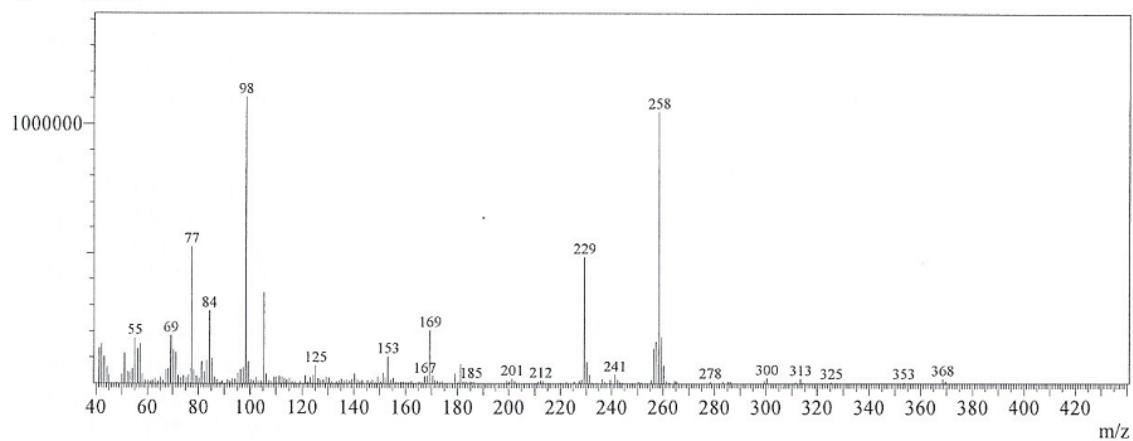
CMC44C13APT DMSO opt/xvnmr mayer 12



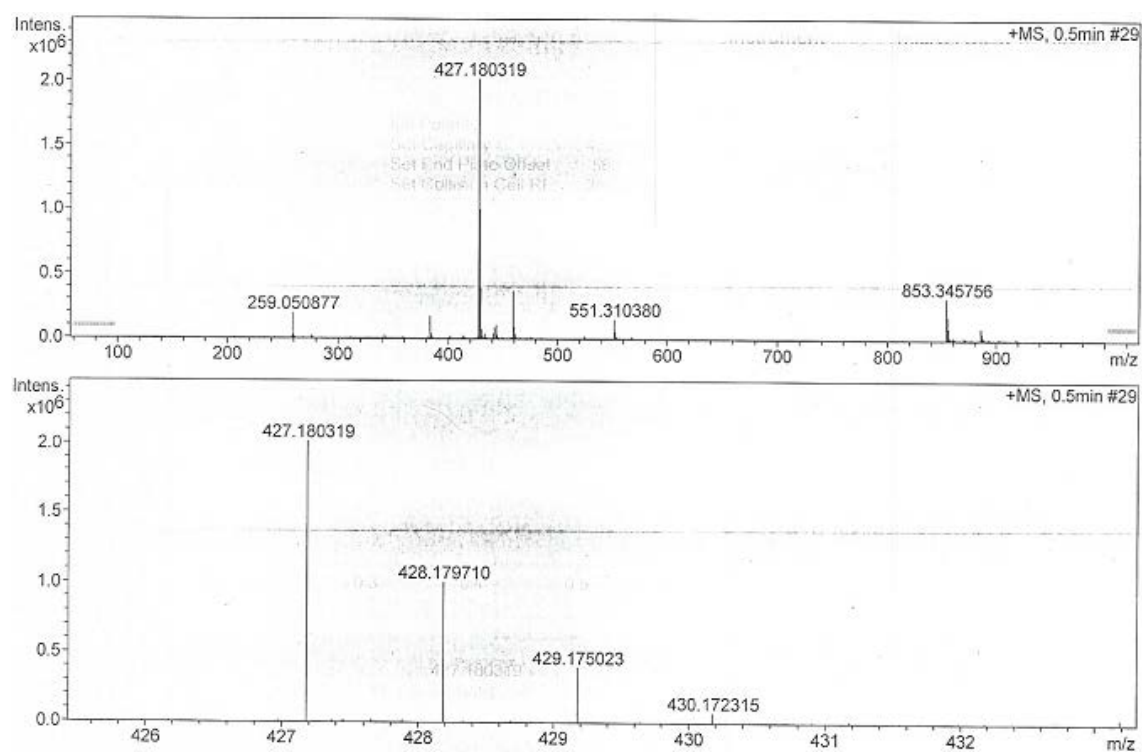
Verbindung **36**, Massenspektrum

Spectrum

Line#:1 R.Time:10.200(Scan#:1201)
MassPeaks:179
RawMode:Single 10.200(1201) BasePeak:98.25(1104592)
BG Mode:None

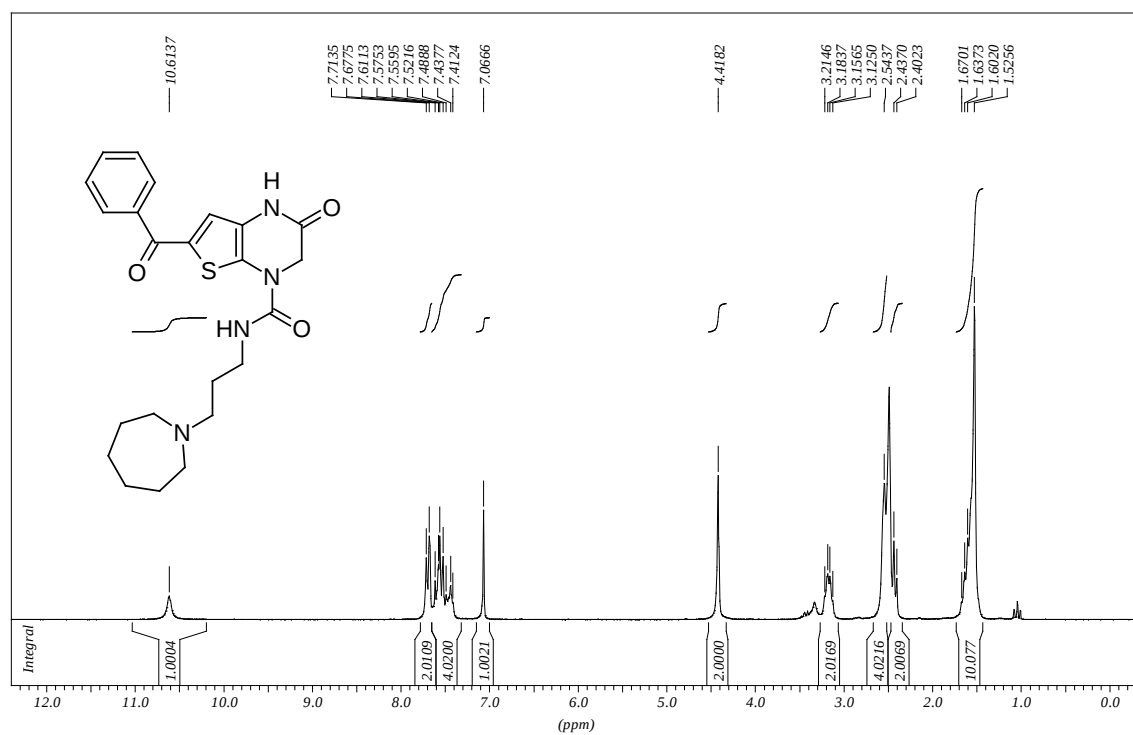


Verbindung **36**, HR-MS



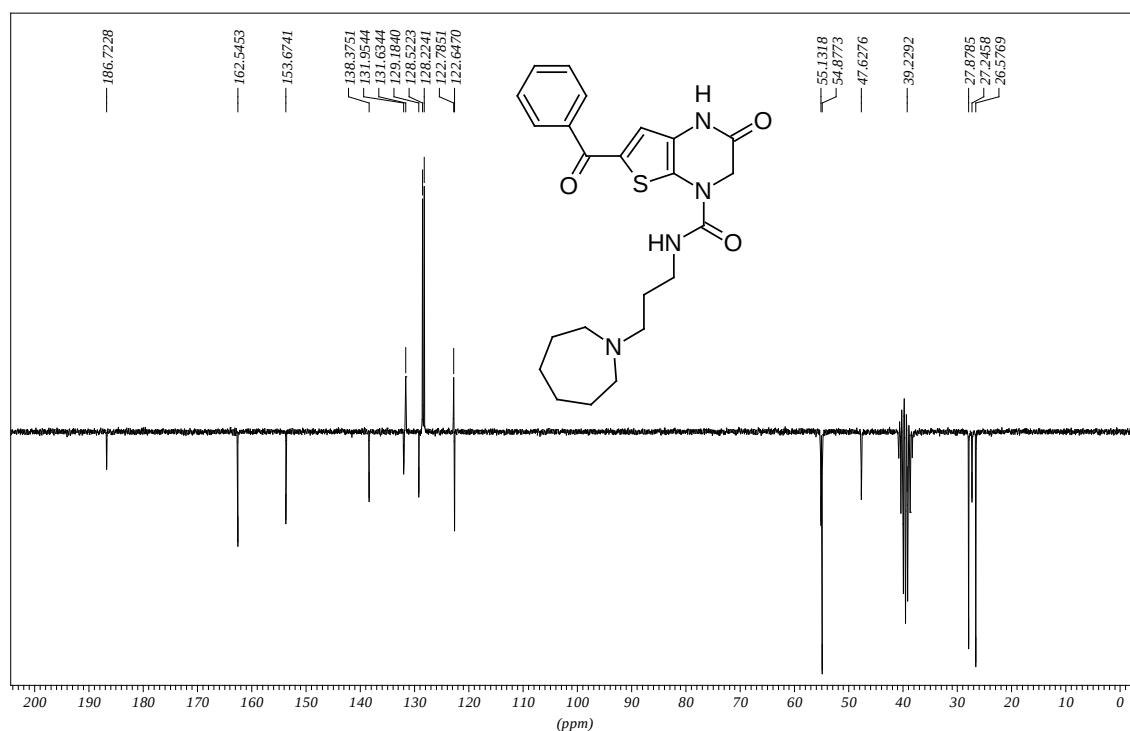
Verbindung **37**, ^1H -NMR, d_6 -DMSO

CMC45PROTON DMSO opt/swinnmr mayer 51



Verbindung **37**, ^{13}C -NMR, d_6 -DMSO

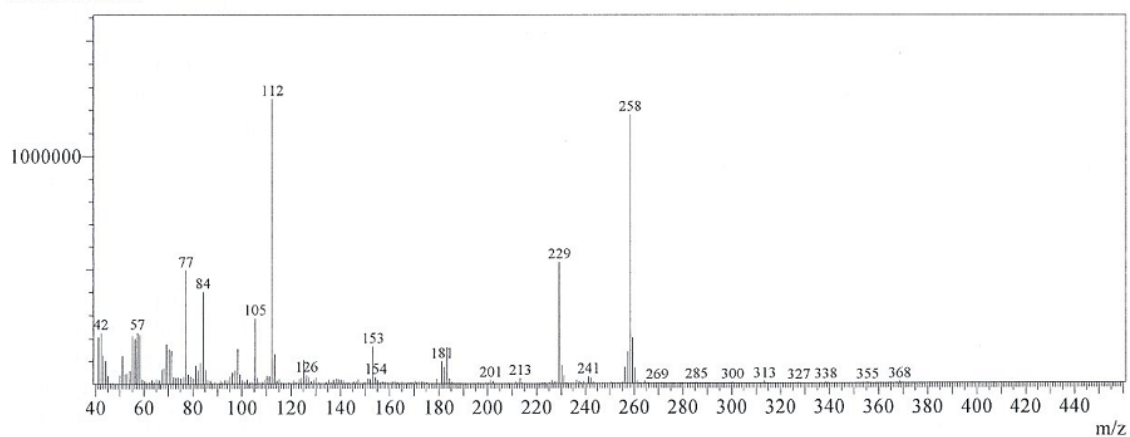
CMC45Cl3APT DMSO opt/xvinnmr mayer 51/□

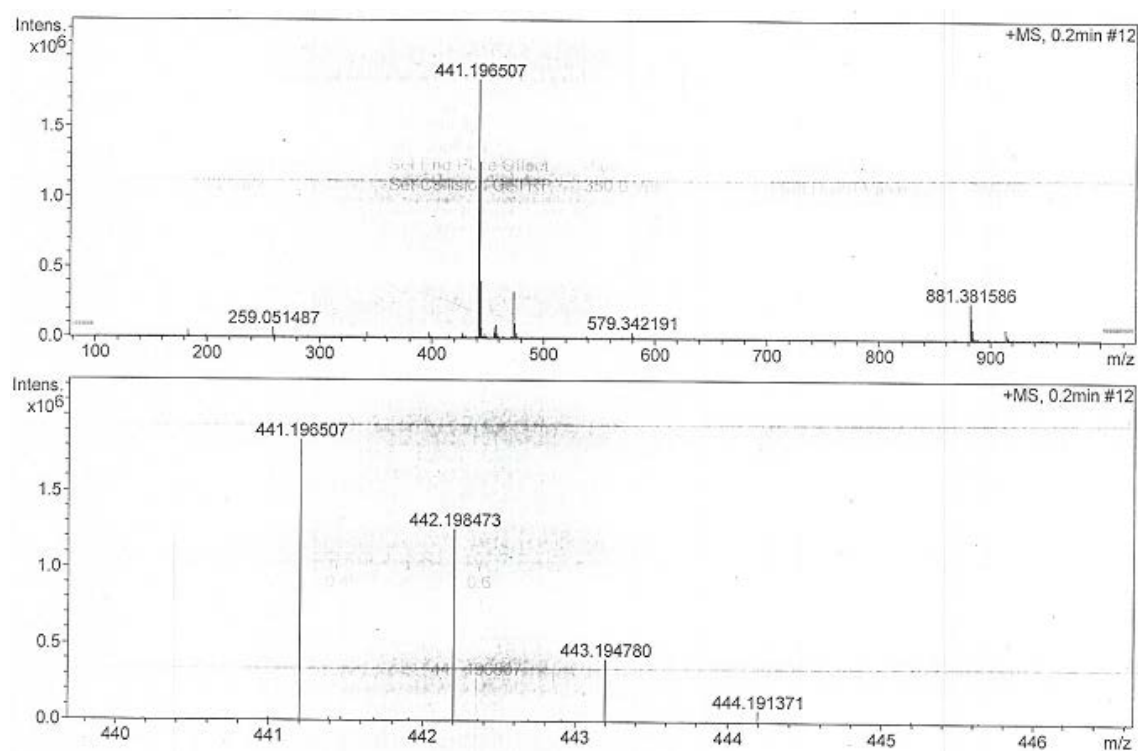


Verbindung **37**, Massenspektrum

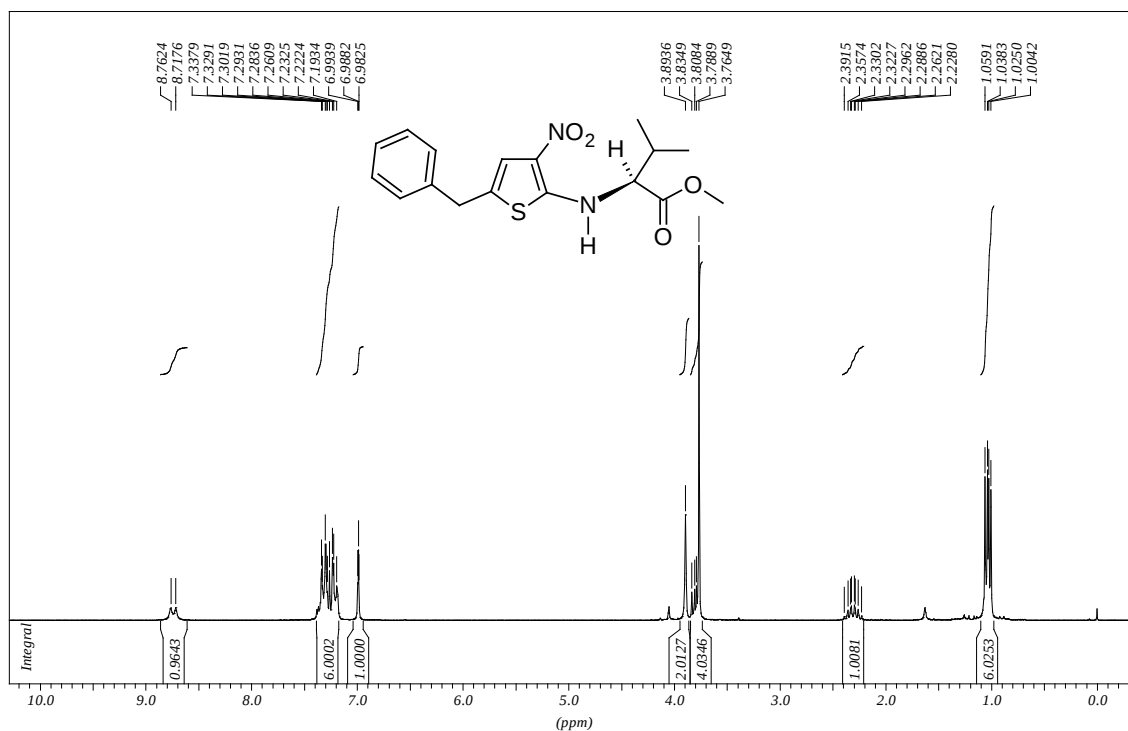
Spectrum

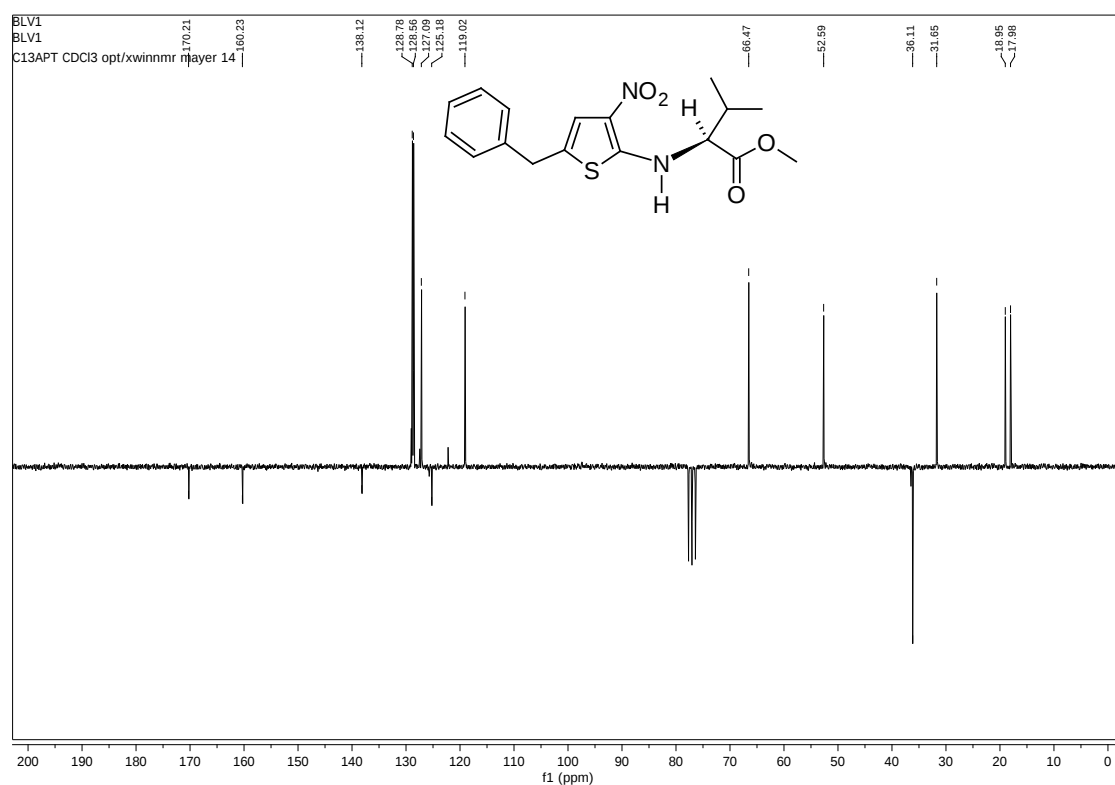
Line#:1 R.Time:9.667(Scan#:1137)
MassPeaks:203
RawMode:Single 9.667(1137) BasePeak:112.25(1250953)
BG Mode:None



Verbindung **37**, HR-MS

 Verbindung **39**, ^1H -NMR, CDCl_3

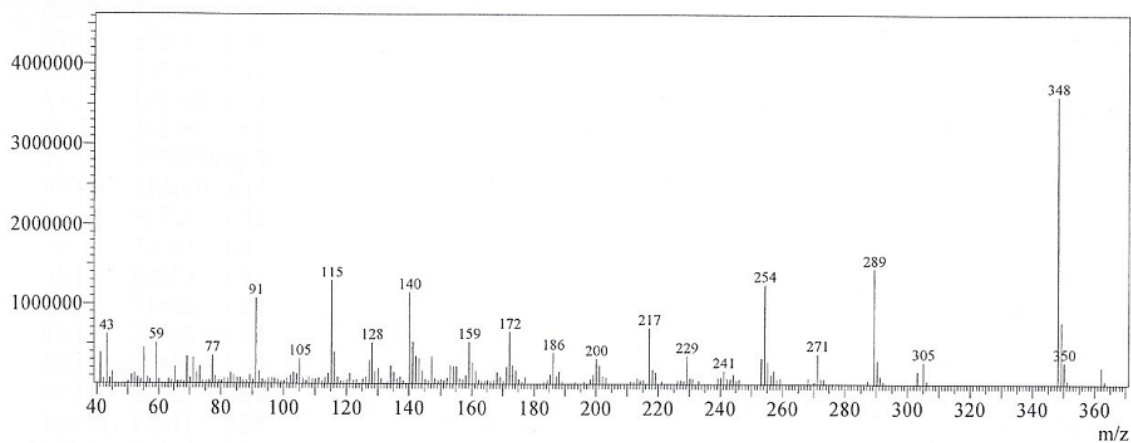
BLV1PROTON CDCl3 opt/xxvmmr mayer 14



Verbindung **39**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

Verbindung **39**, Massenspektrum

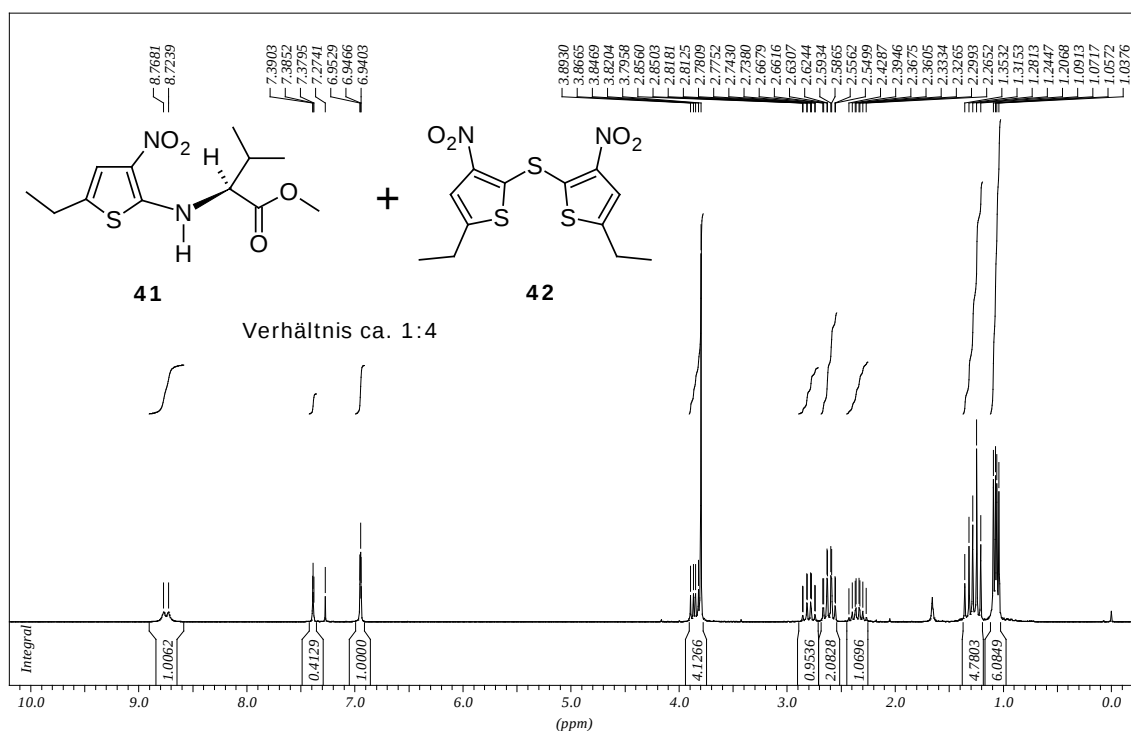
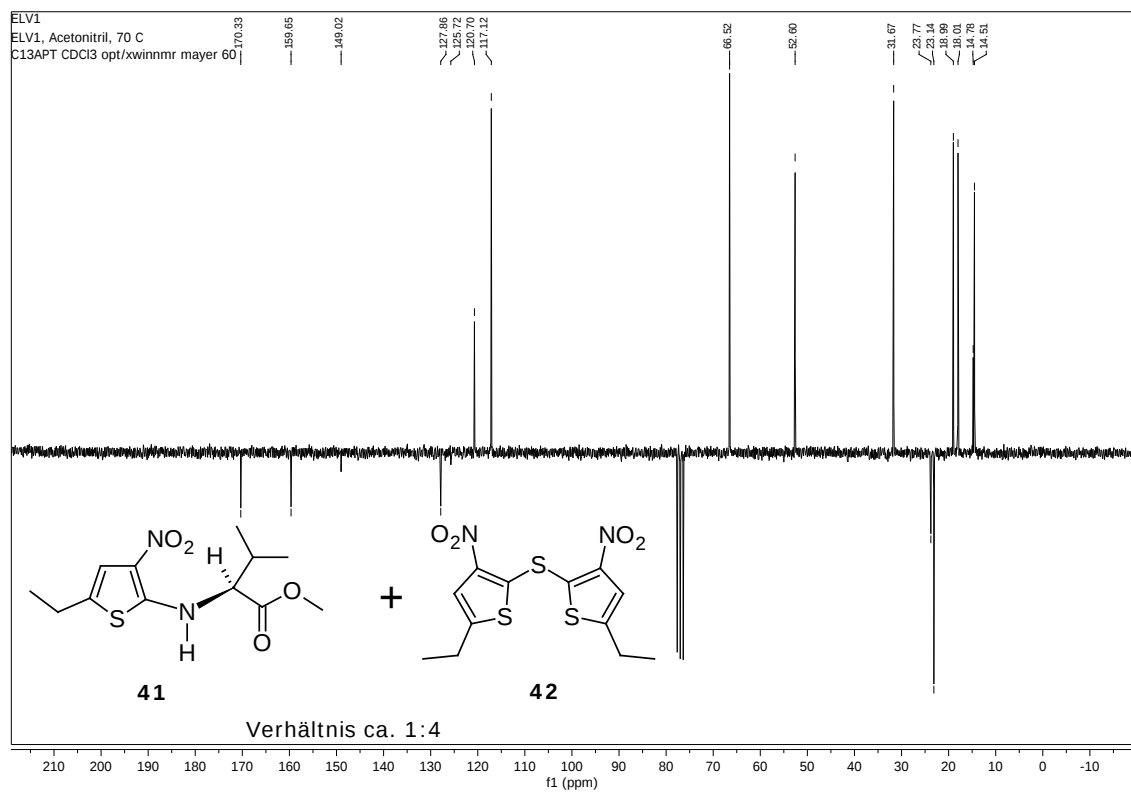
Spectrum

Line#:1 R.Time:7.017(Scan#:819)
MassPeaks:192
RawMode:Single 7.017(819) BasePeak:348.20(3612322)
BG Mode:None

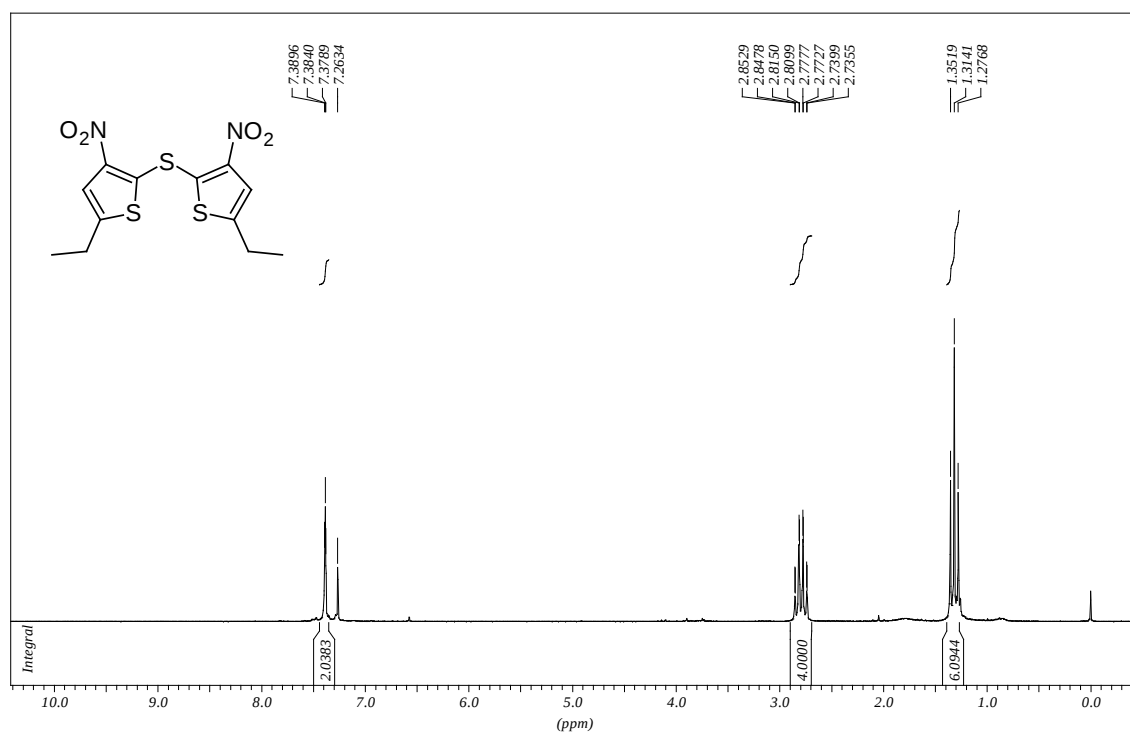


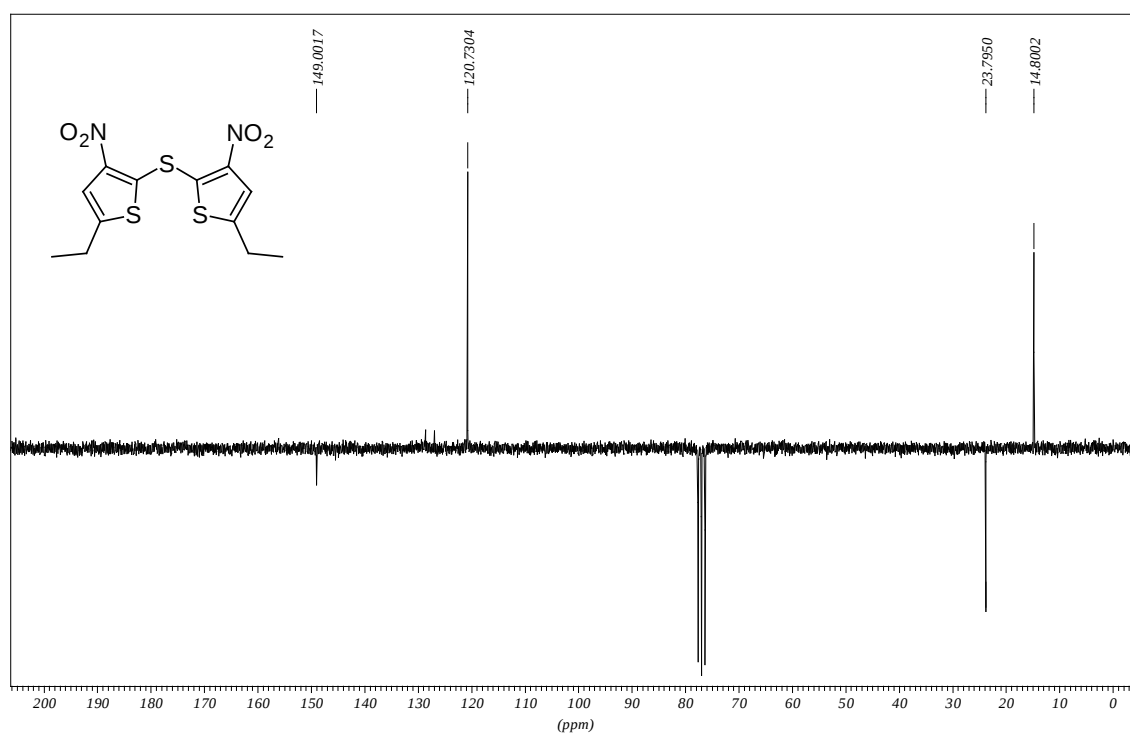
Verbindung **41** und **42** (Produktmischung), ^1H -NMR, CDCl_3

ELV1, Acetonitril, 70 CPROTON CDC13 opt/xwinnmr mayer 60

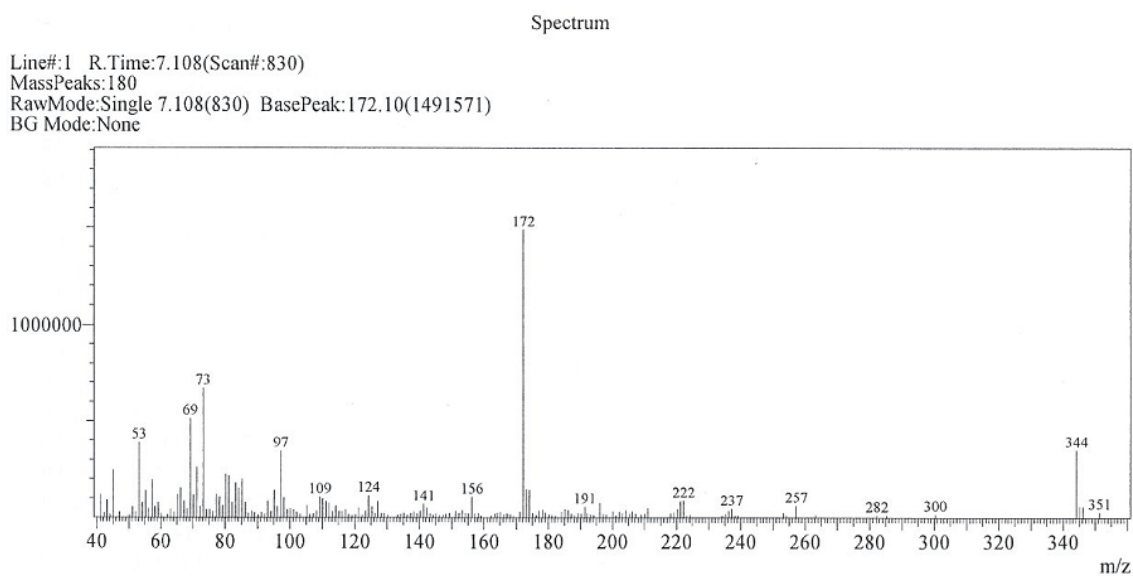

 Verbindung **41** und **42** (Produktmischung), ^{13}C -NMR, CDCl_3


Verbindung **42**, ^1H -NMR, CDCl_3

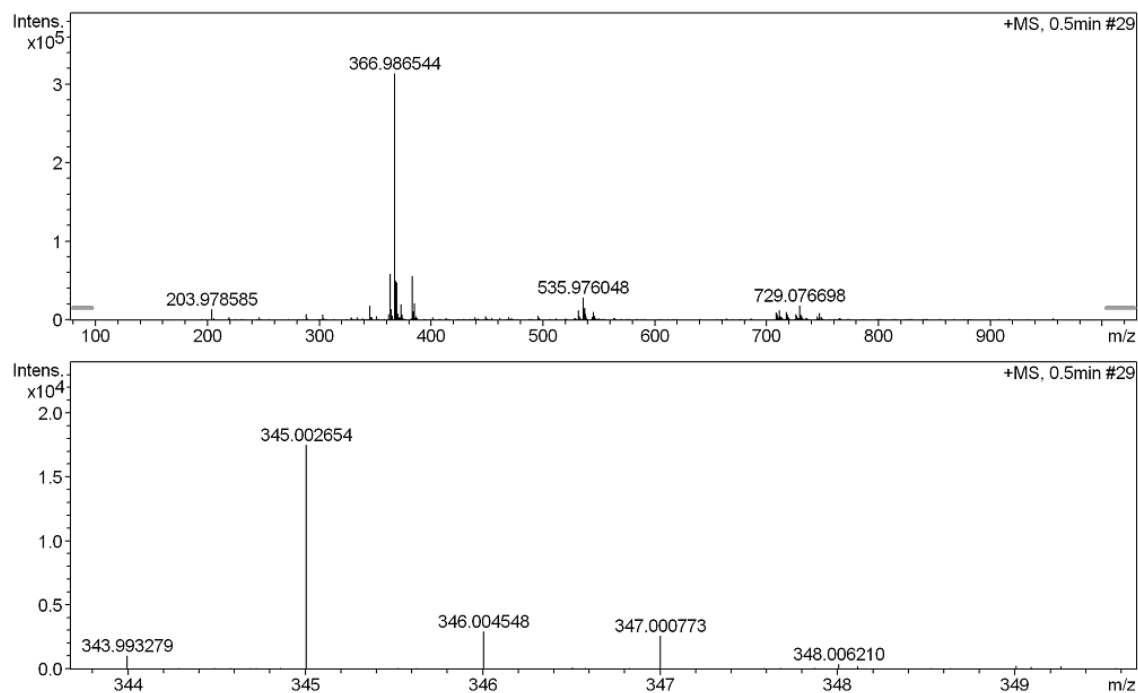
ELPI, Fr. 1PROTON CDCl_3 opt./swinnmr mayer 4

Verbindung **42**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

ELPI, Fr. 1C13APT CDCl_3 opt./swinnmr mayer 4


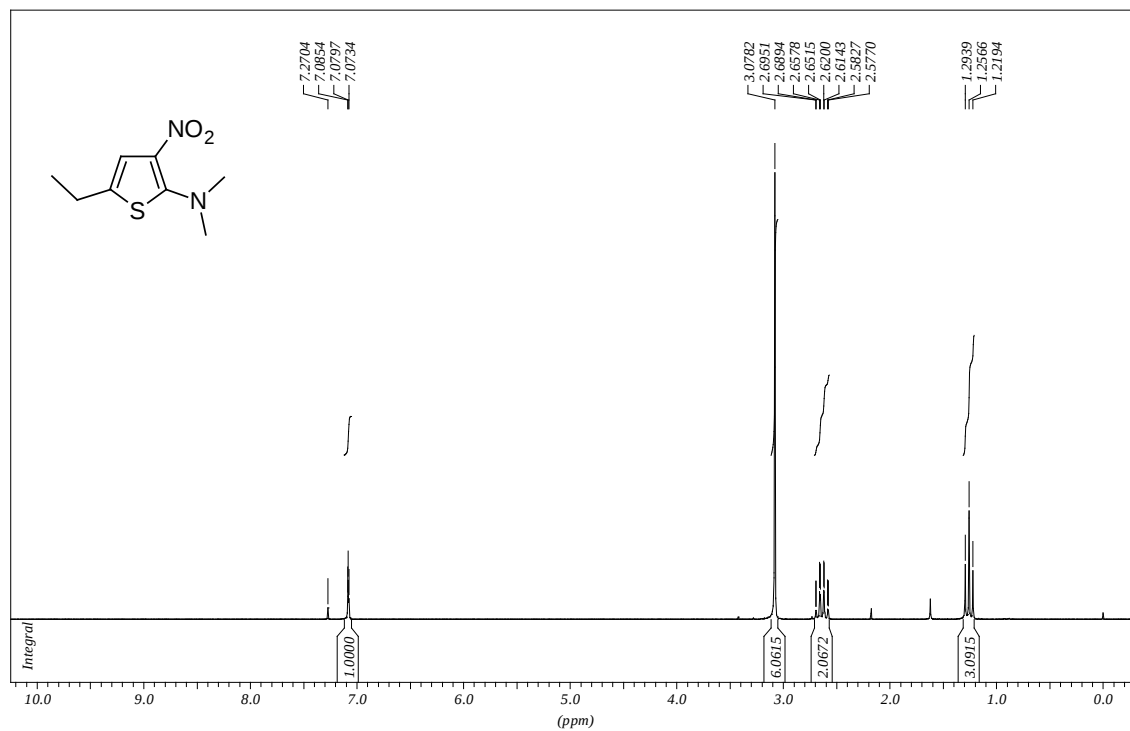
Verbindung **42**, Massenspektrum

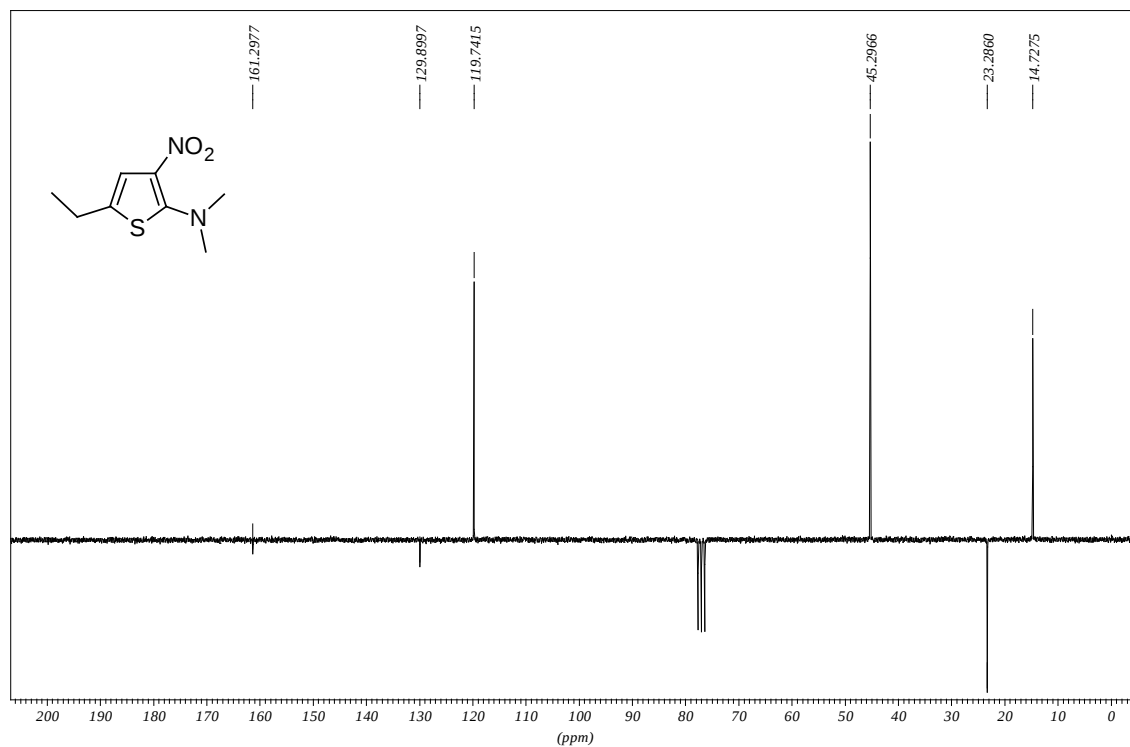


Verbindung **42**, HR-MS



Verbindung **43**, ^1H -NMR, CDCl_3

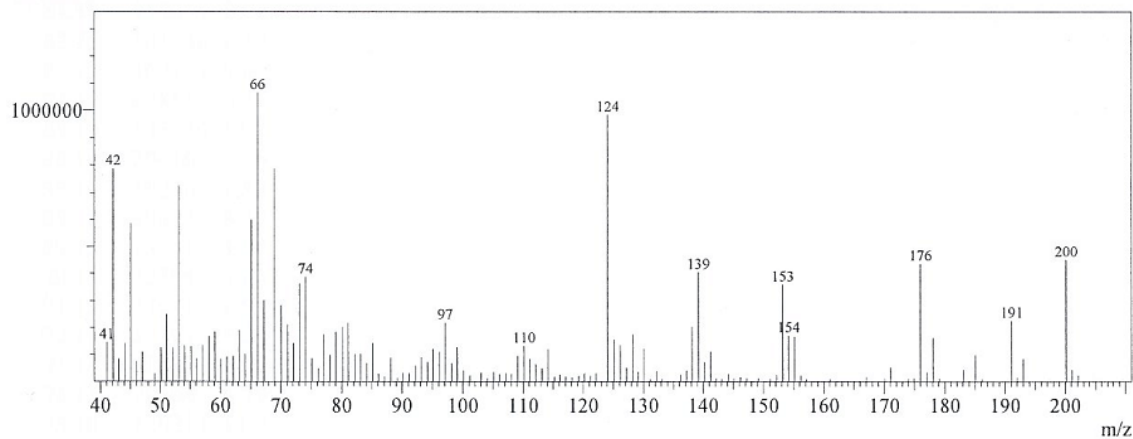
Dimethylamin-ThiophenPROTON CDCl_3 opt/swinnur meyer 42

Verbindung **43**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

C13APT CDCl_3 opt/swinnur meyer 14


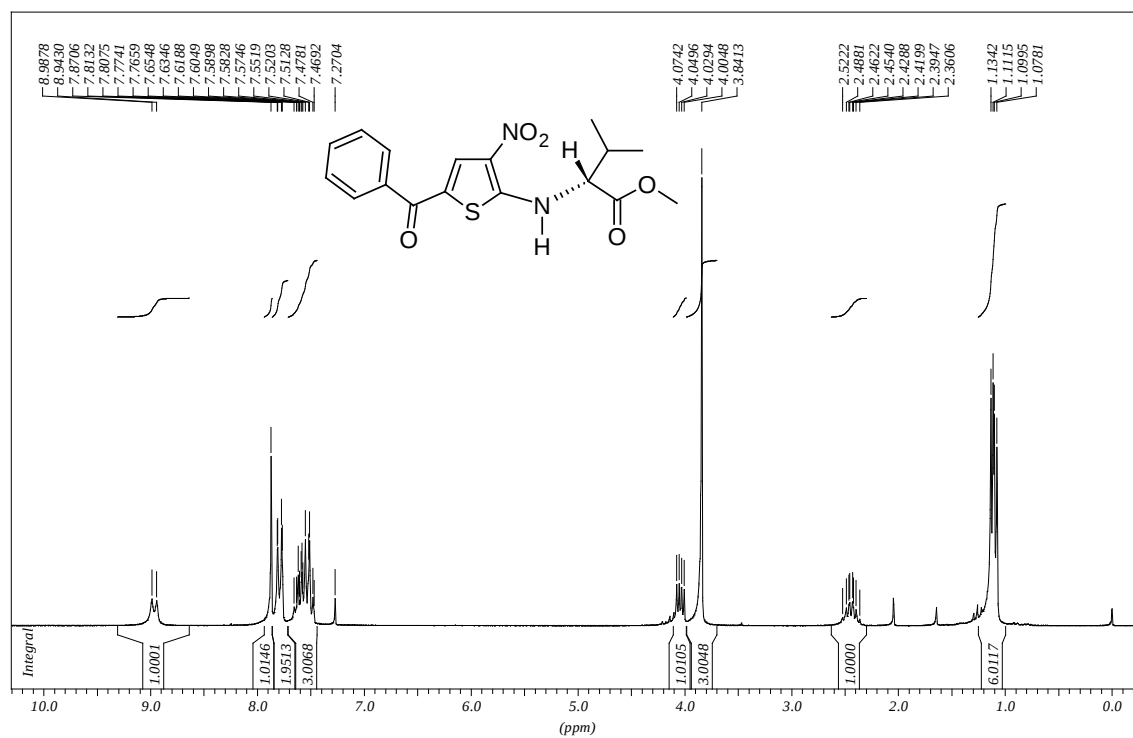
Verbindung **43**, Massenspektrum

Spectrum

Line#:1 R.Time:0.250(Scan#:7)
 MassPeaks:128
 RawMode:Single 0.250(7) BasePeak:66.15(1066391)
 BG Mode:None

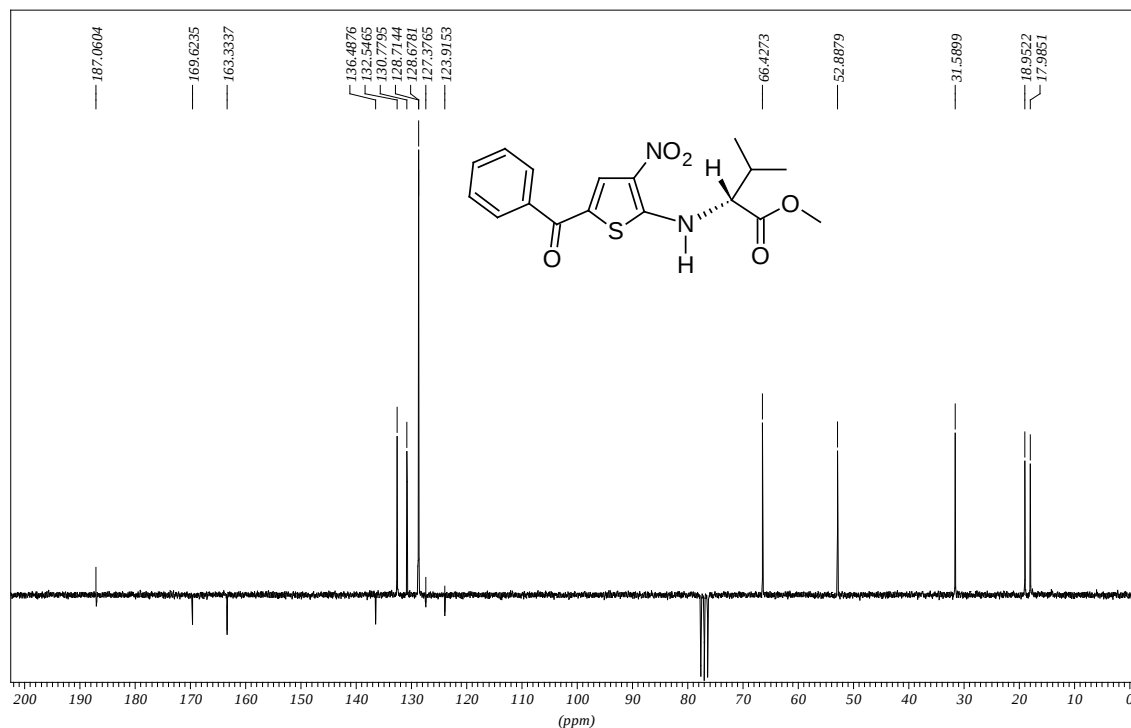
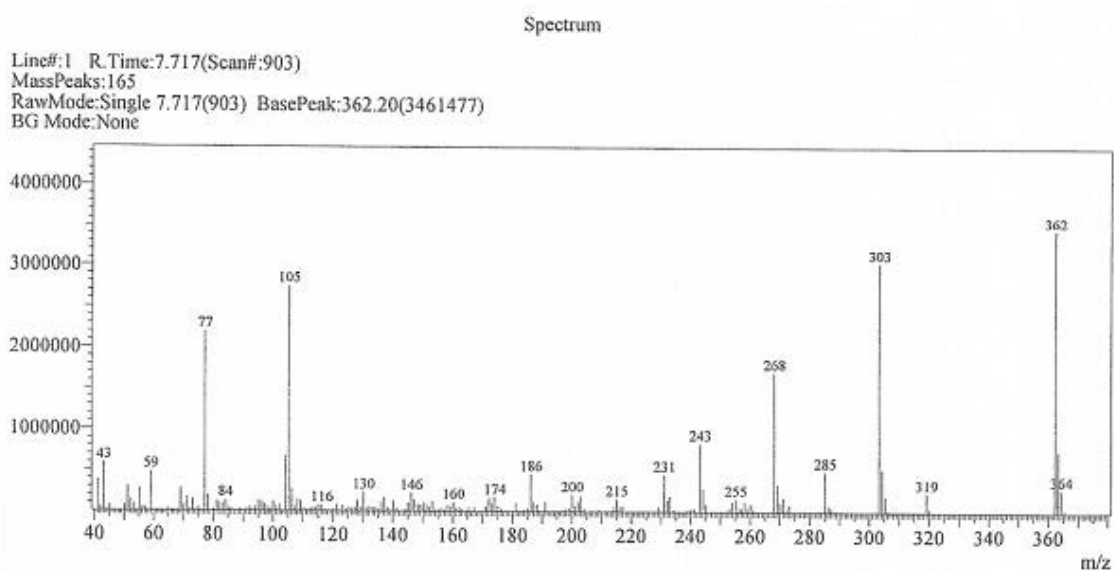

 Verbindung **45**, ^1H -NMR, CDCl_3

BDV1PROTON CDCl3 opt/swinnmr mayer 40



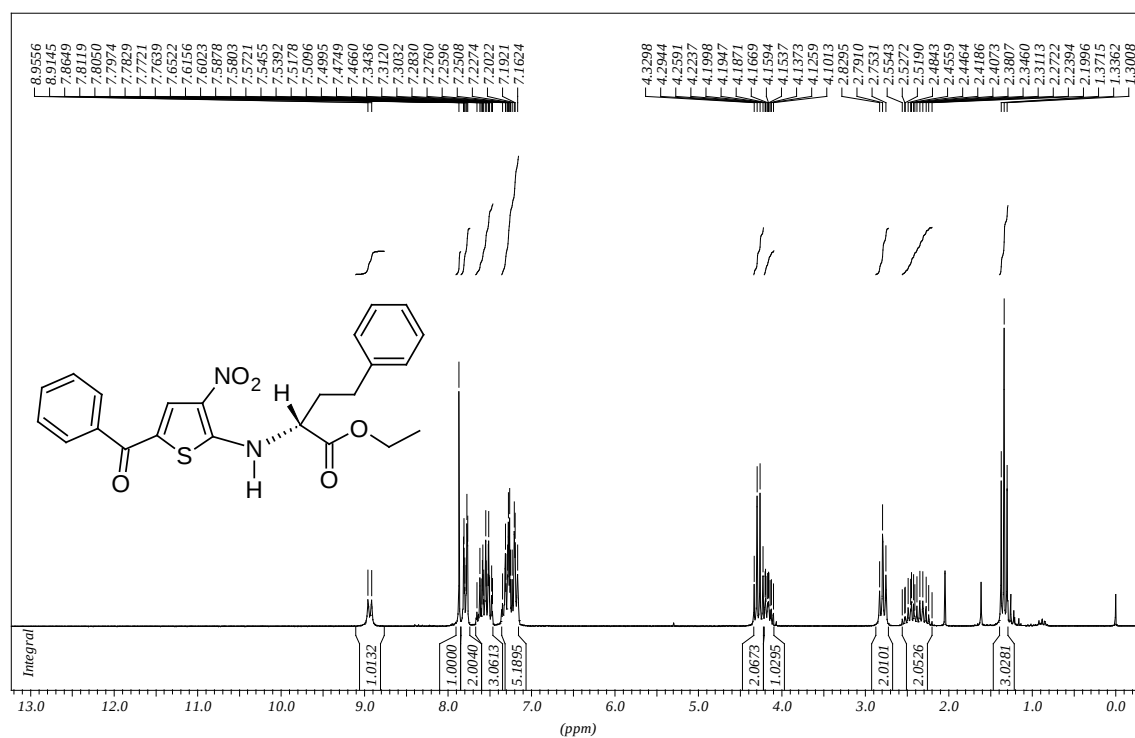
Verbindung **45**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

BDV1C13APT CDCl3 opt/cvinnmr meyer 40

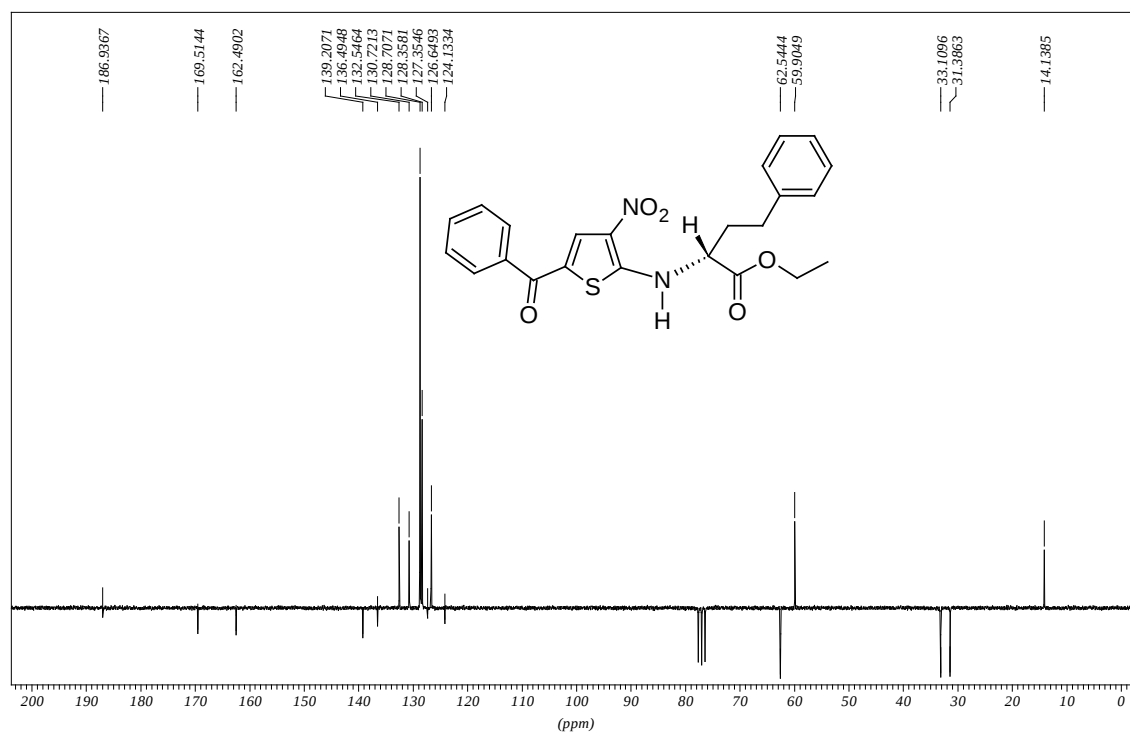

Verbindung **45**, Massenspektrum


Verbindung **46**, ^1H -NMR, CDCl_3

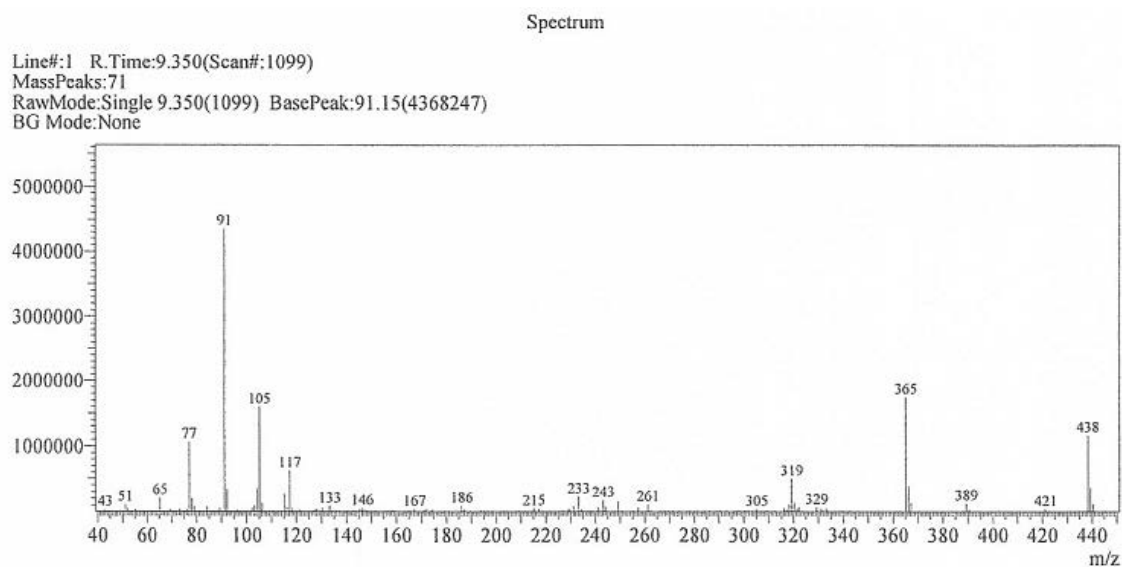
BDH1PROTON CDC13 opt/swinnur mayer 20


 Verbindung **46**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

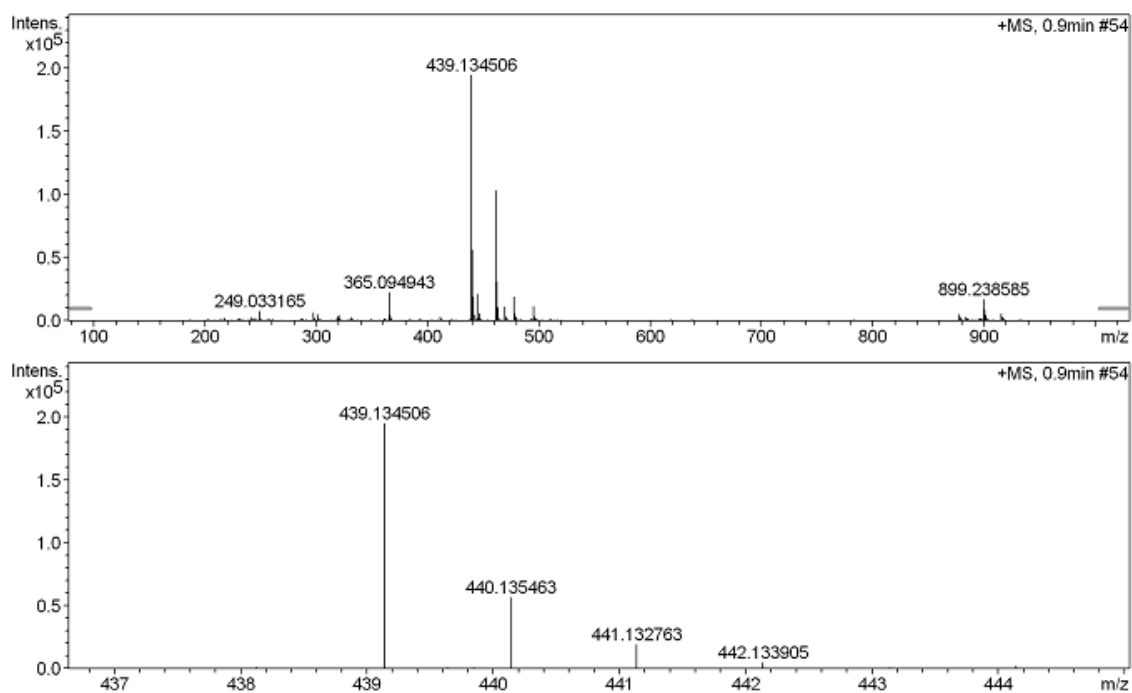
BDH1C13APT CDC13 opt/swinnur mayer 20



Verbindung **46**, Massenspektrum

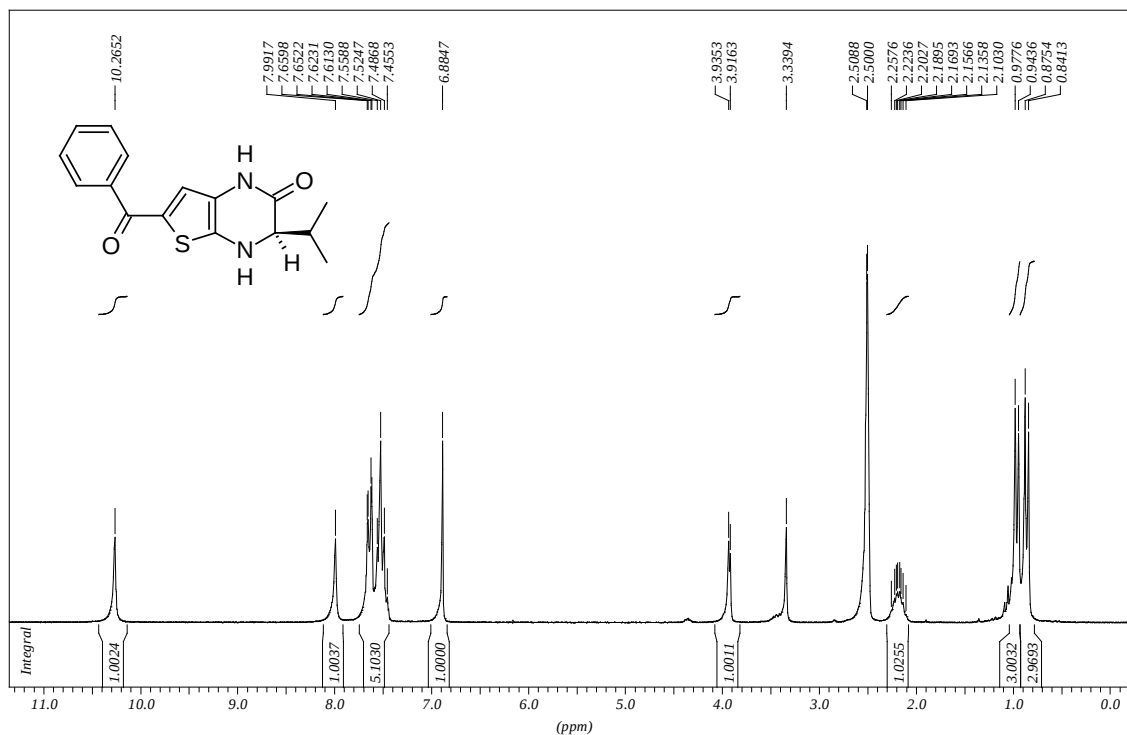


Verbindung **46**, HR-MS

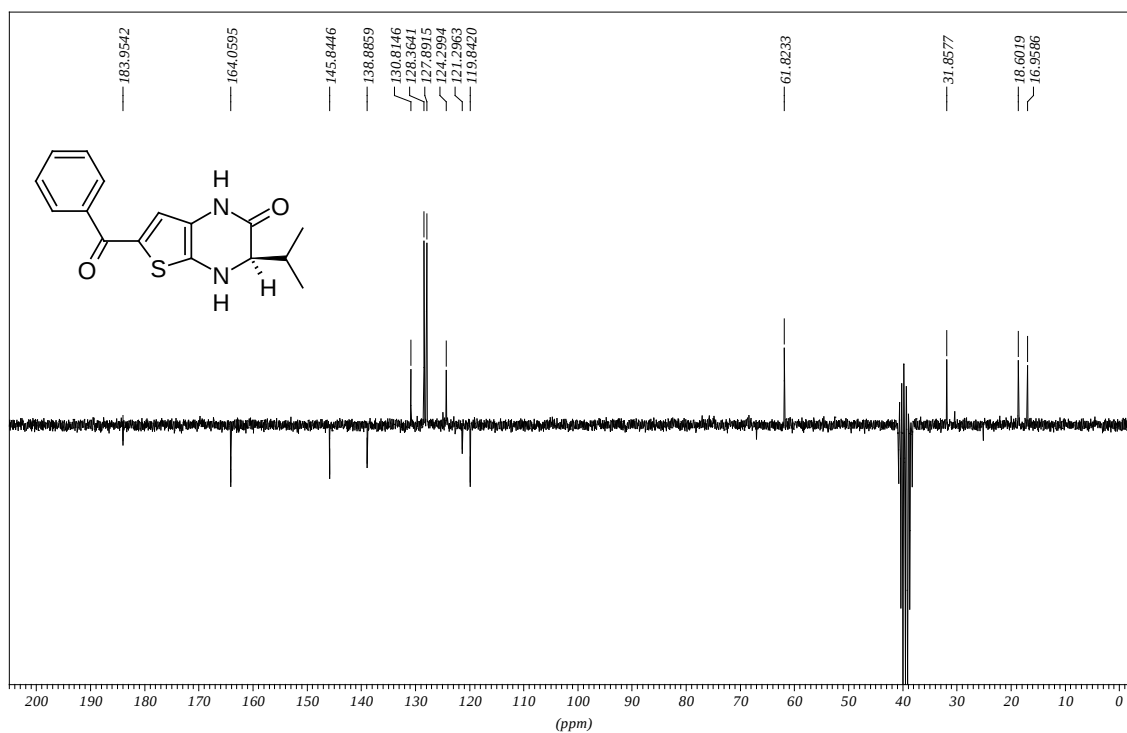


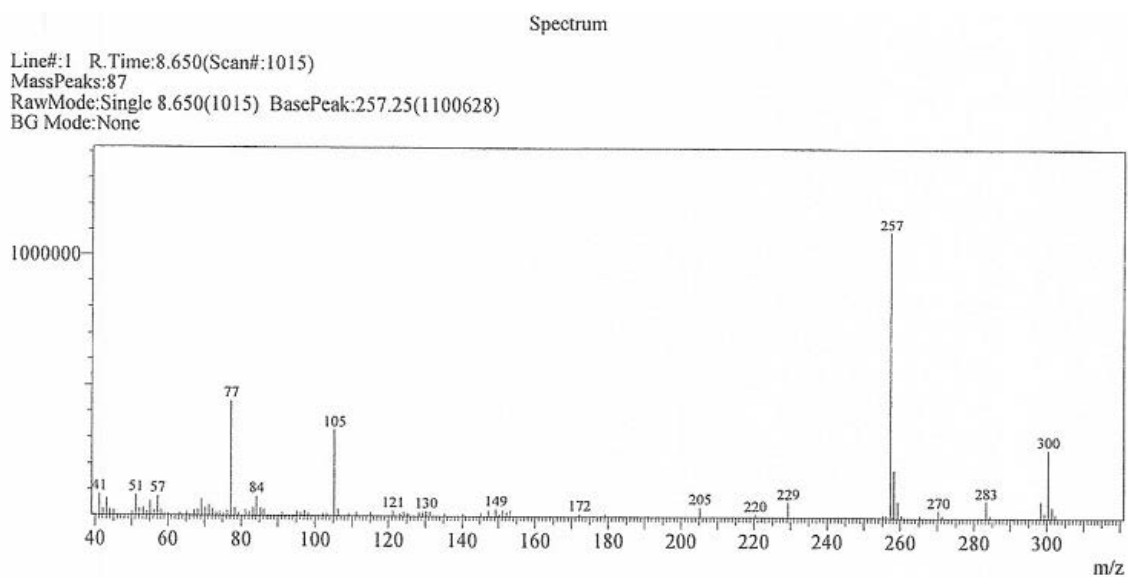
Verbindung **47**, ^1H -NMR, d_6 -DMSO

BDV2PROTON DMSO opt/swinnmr mayer 44

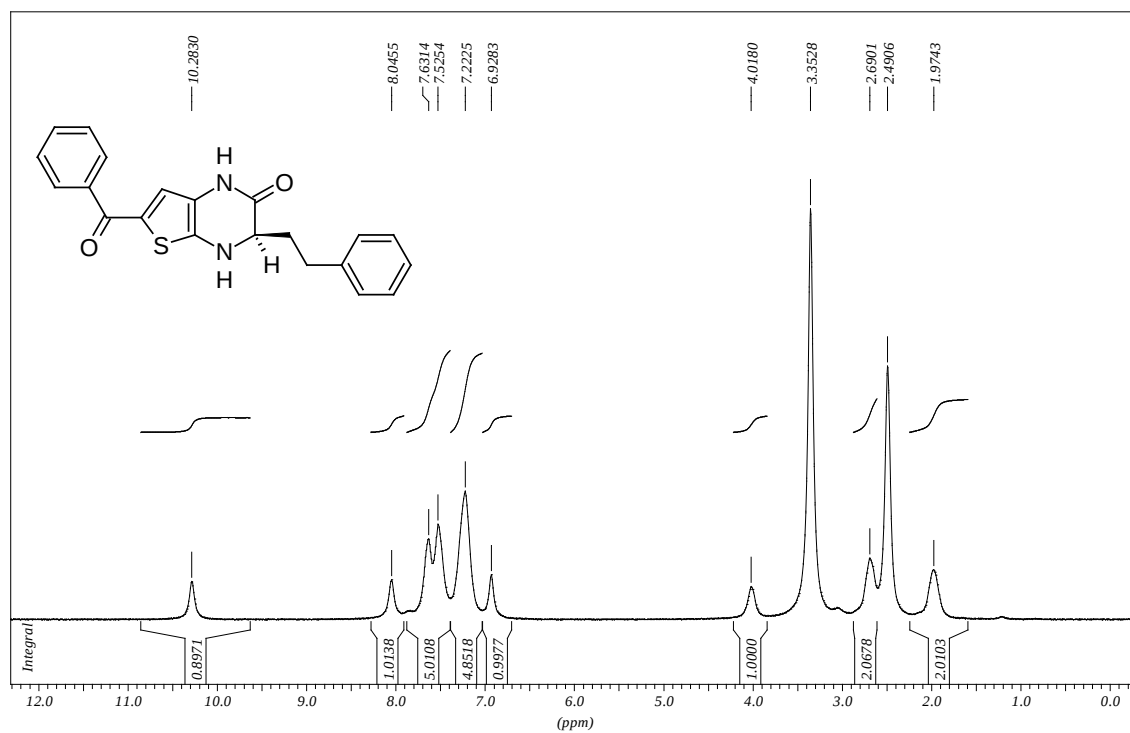

Verbindung **47**, ^{13}C -NMR, d_6 -DMSO

BDV2C13APT DMSO opt/swinnmr mayer 59



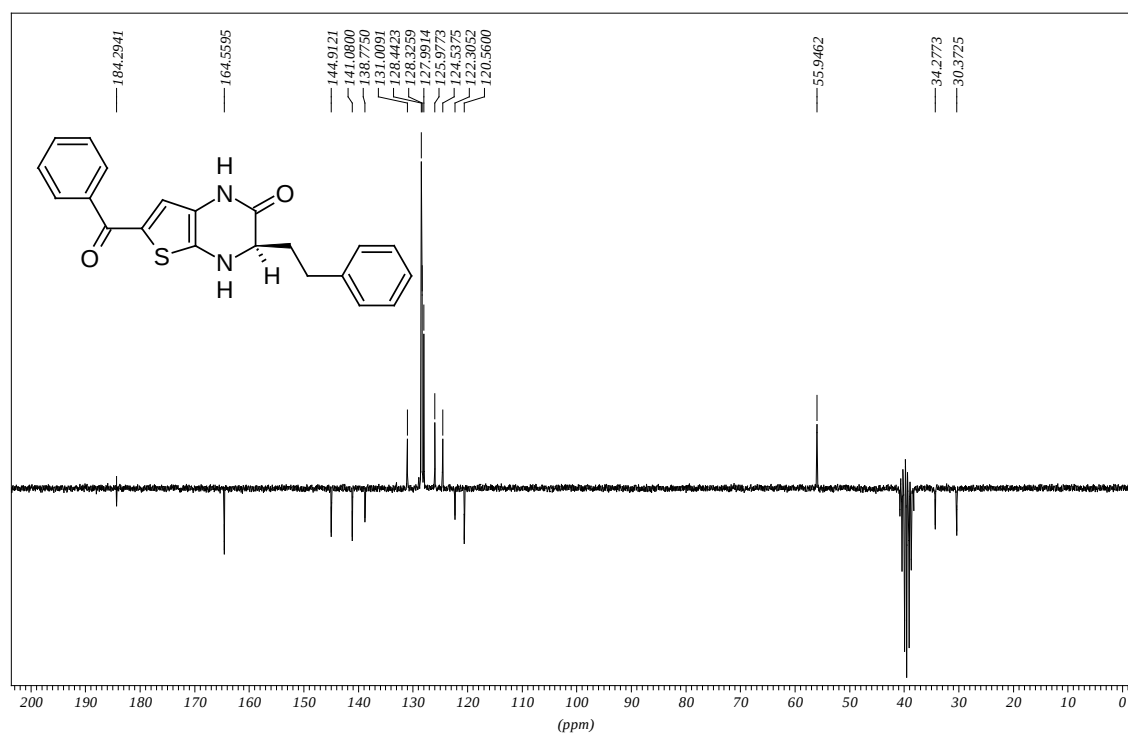
Verbindung **47**, Massenspektrum

Verbindung **48**, ^1H -NMR, d_6 -DMSO

BDH2PROTON DMSO opt/xvinnmr-mayer 2

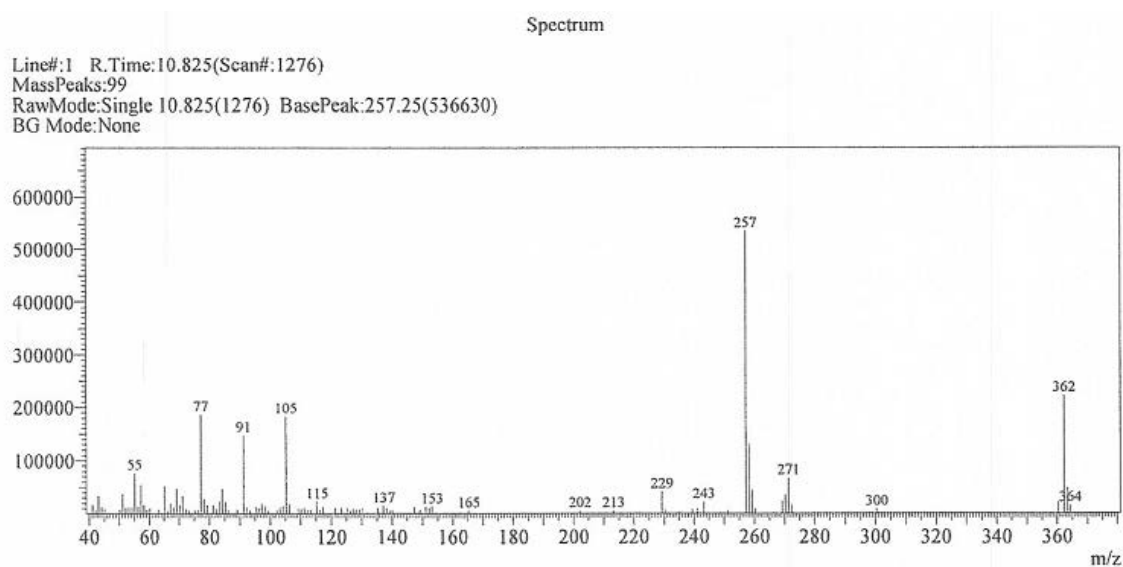


Verbindung **48**, ^{13}C -NMR, d_6 -DMSO

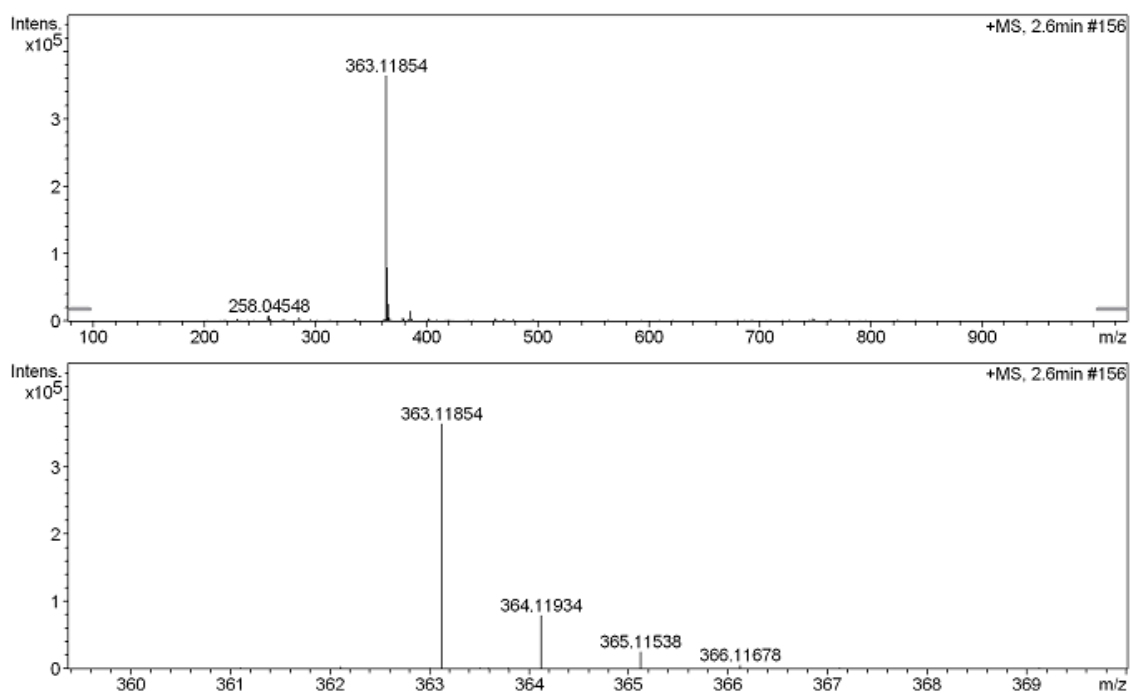
BDH2Cl3APT DMSO opt/swinnmr mayer 4



Verbindung **48**, Massenspektrum

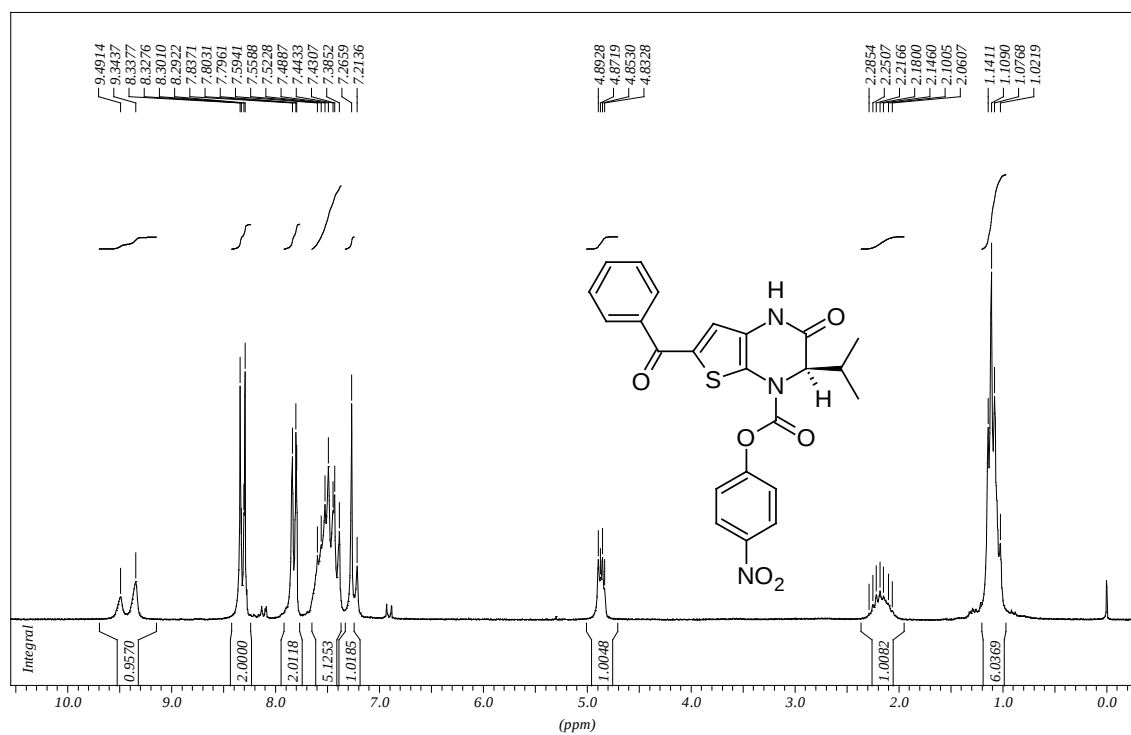


Verbindung **48**, HR-MS

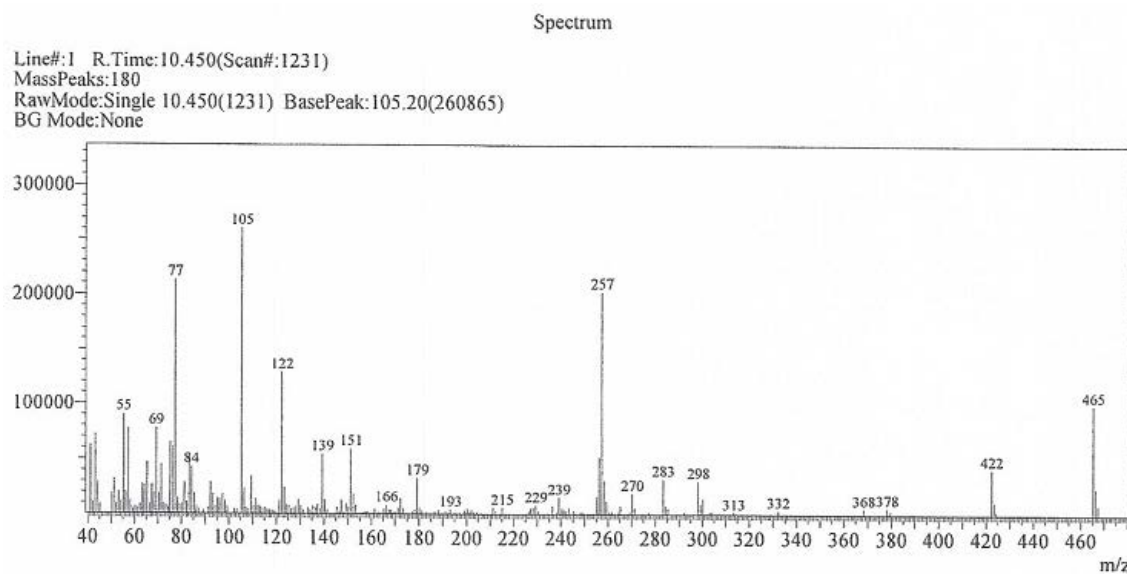


Verbindung **49**, ^1H -NMR, CDCl_3

BDI3PROTON CDCl_3 optwinmr mayer 24

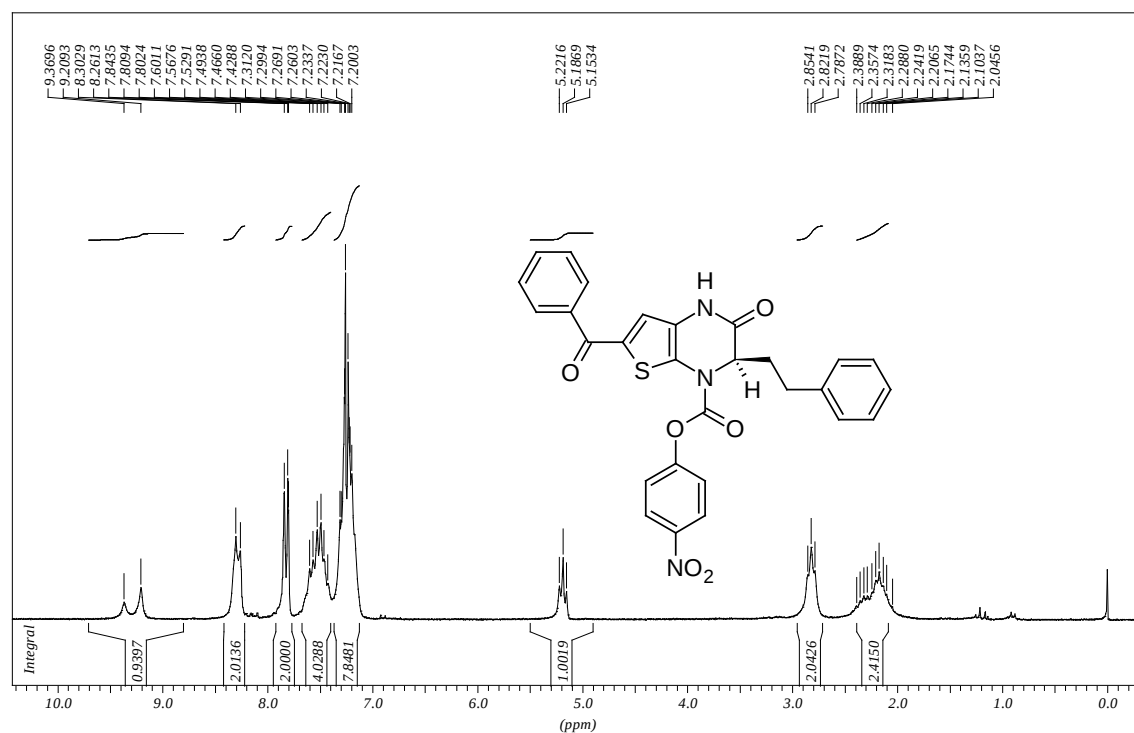


Verbindung **49**, Massenspektrum

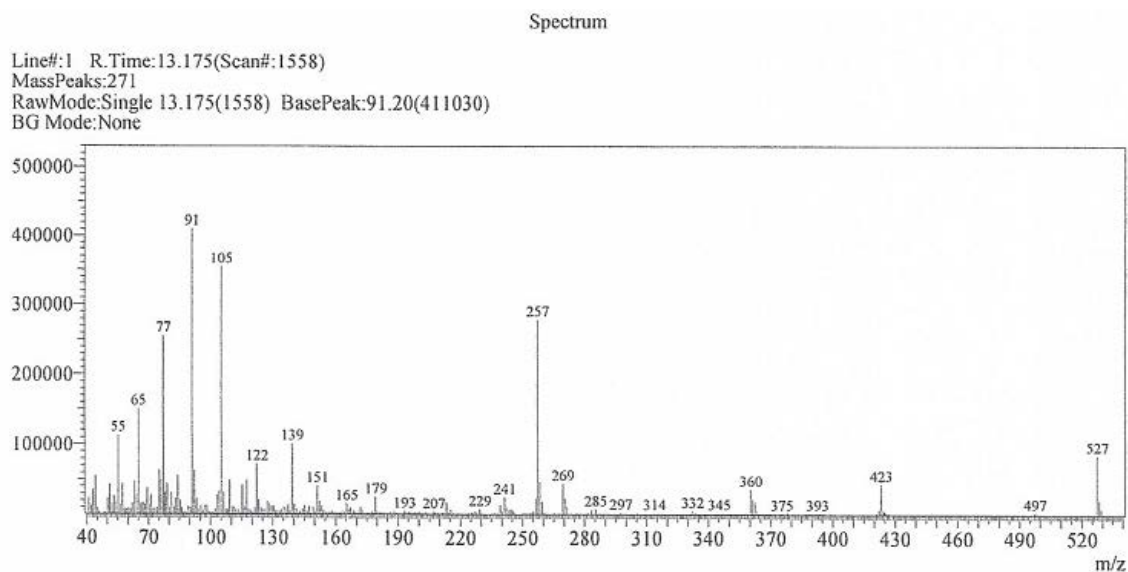


Verbindung **50**, ^1H -NMR, CDCl_3

BDH3PROTON CDCl_3 opt/xwinnmr mayer 20

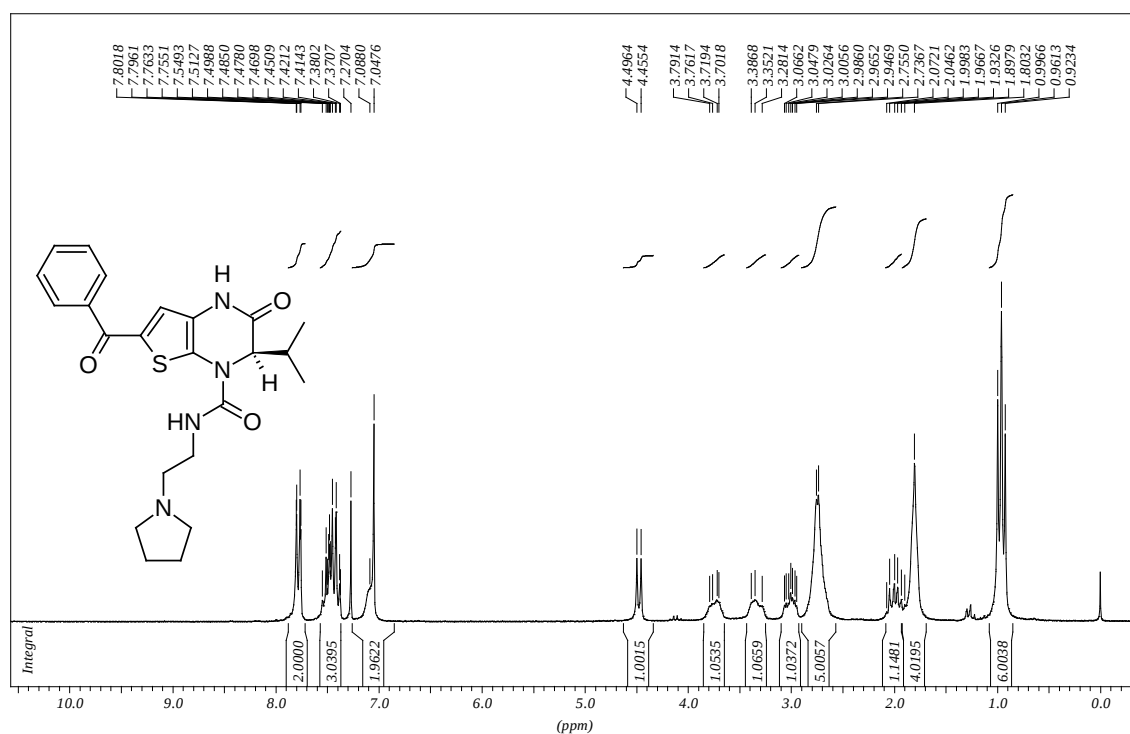


Verbindung **50**, Massenspektrum



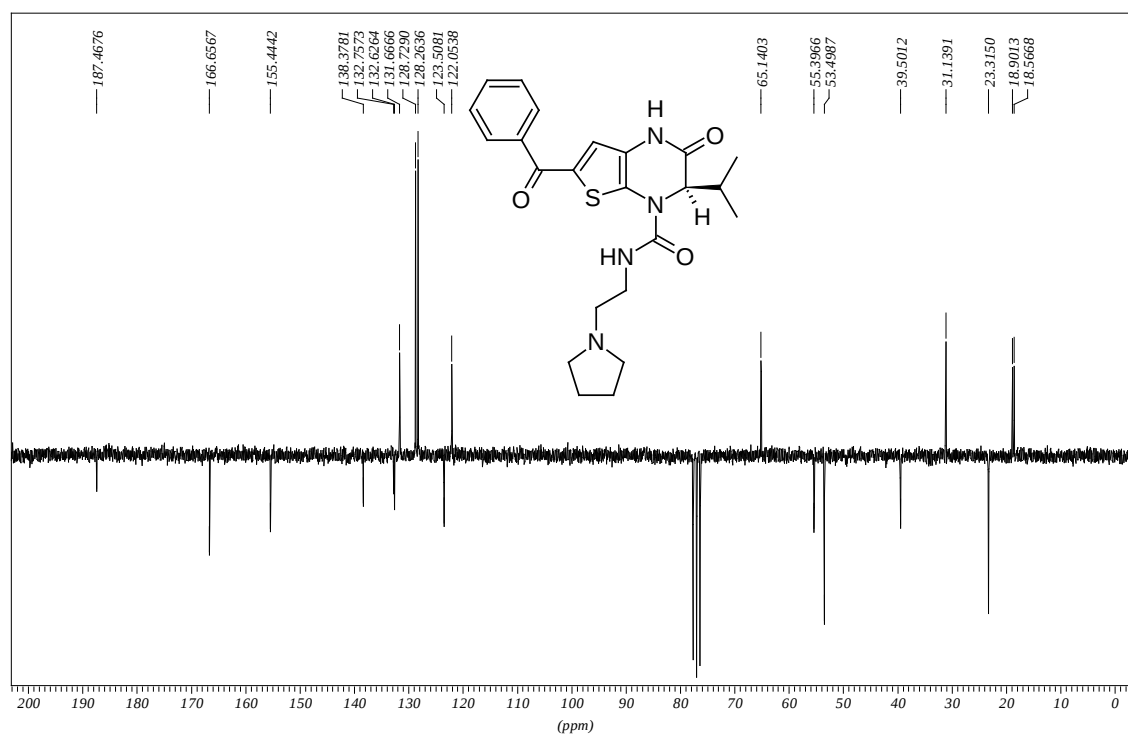
Verbindung **51**, ^1H -NMR, CDCl_3

BDV5PROTON CDCl3 opt/swinnur mayer 53

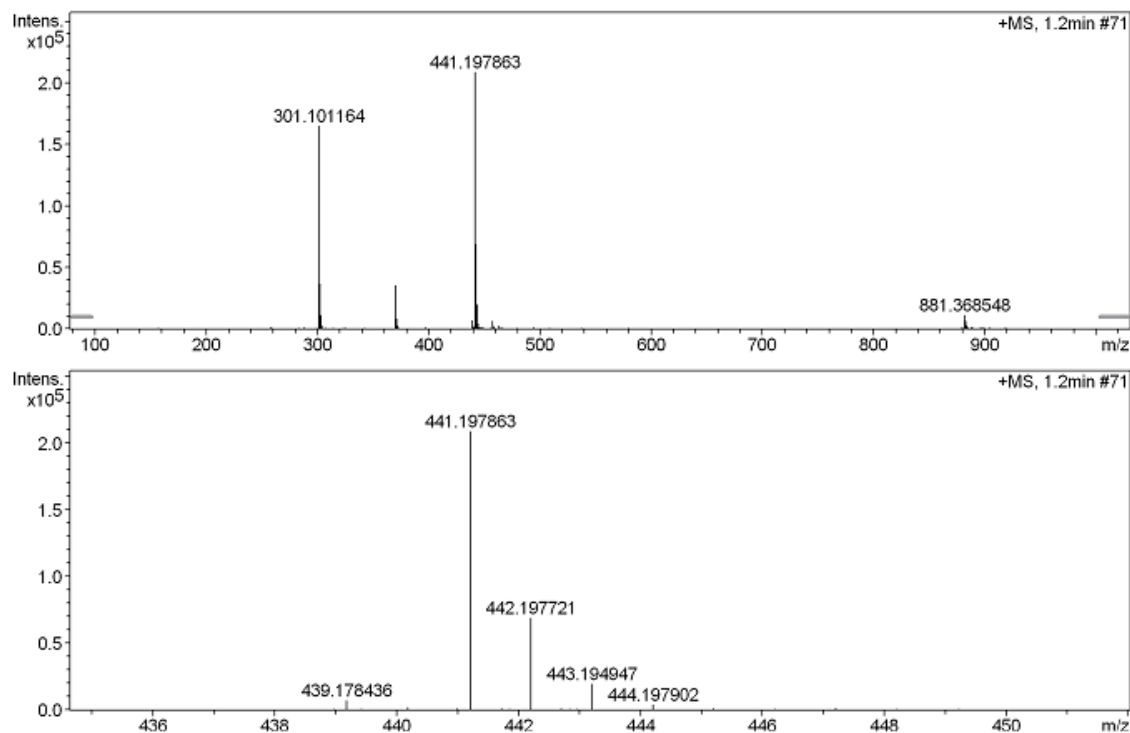


Verbindung **51**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

BDV5C13APT CDCl3 opt/xwinnmr mayer 54

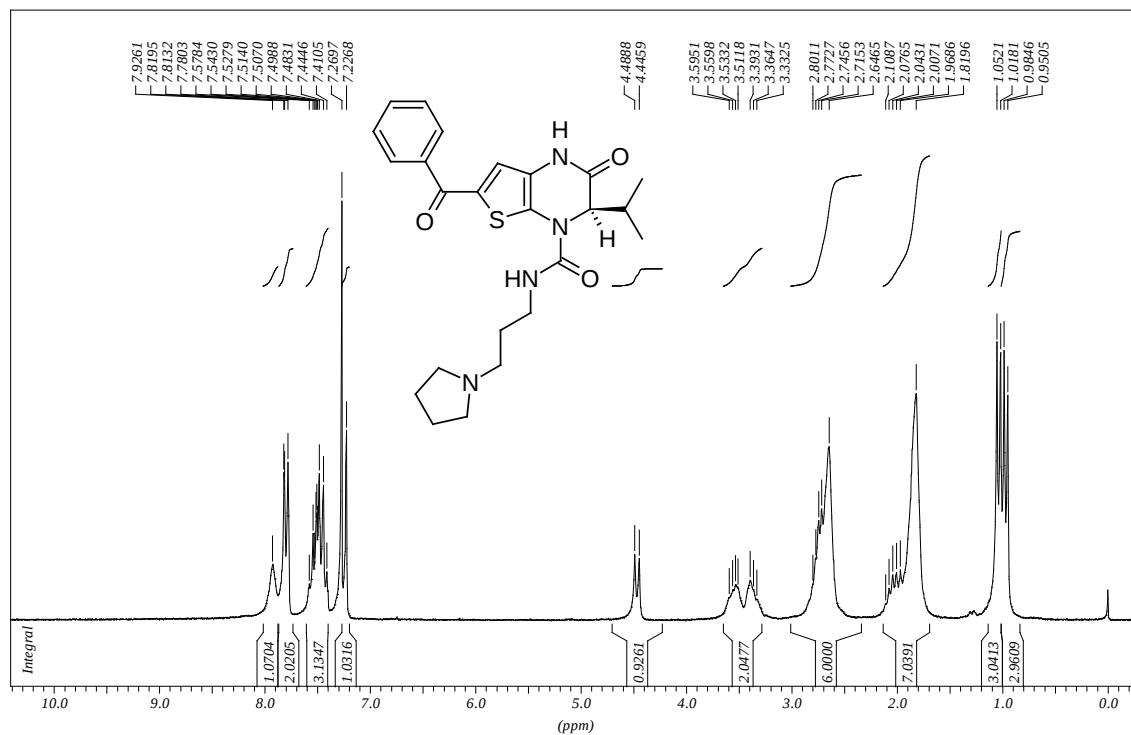


Verbindung **51**, HR-MS

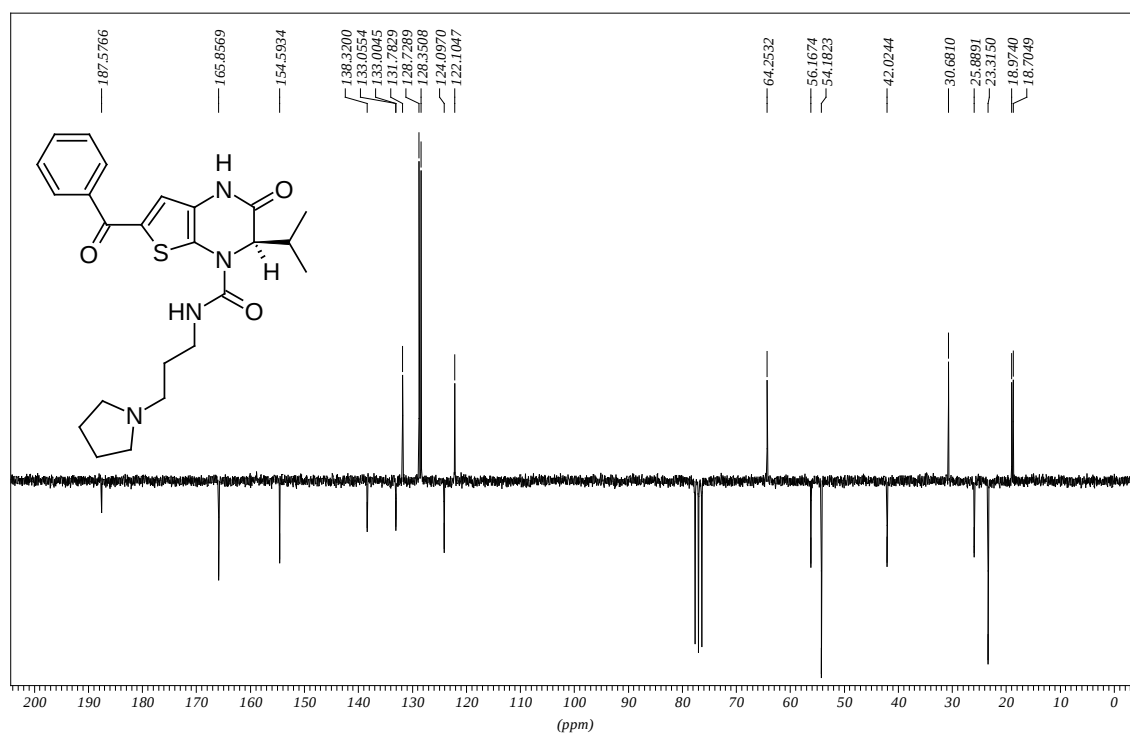


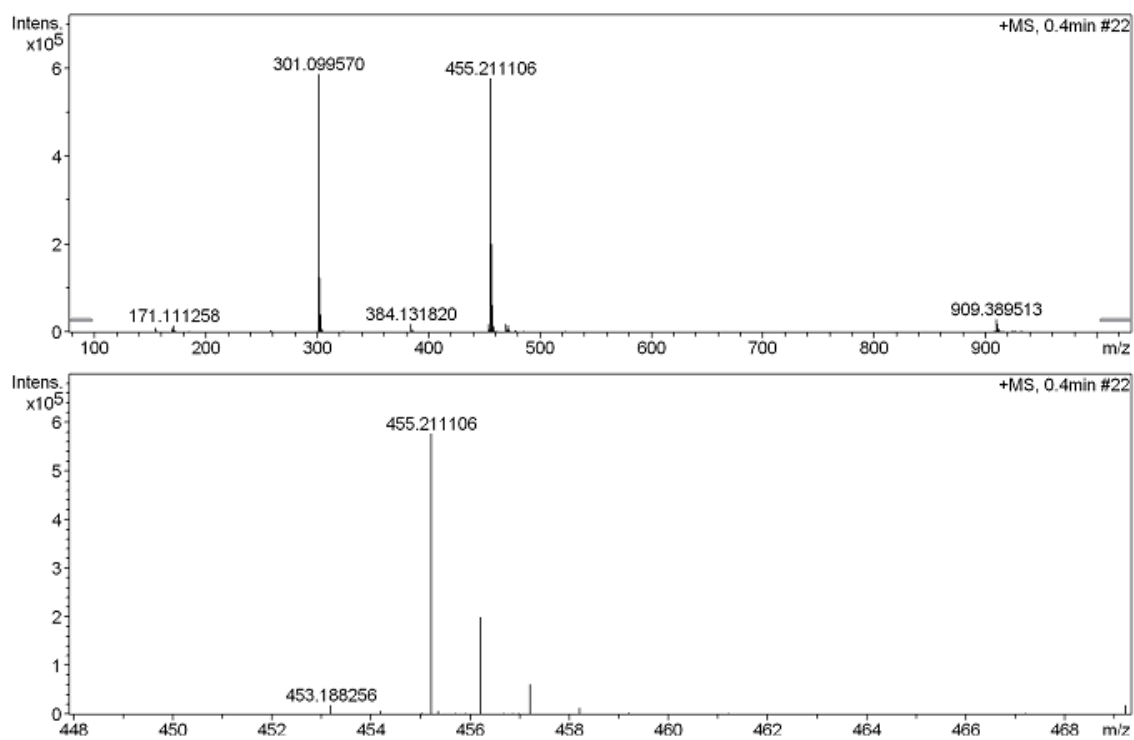
Verbindung **52**, ^1H -NMR, CDCl_3

BDV10PROTON CDCl3 opt/zwinnmr mayer II

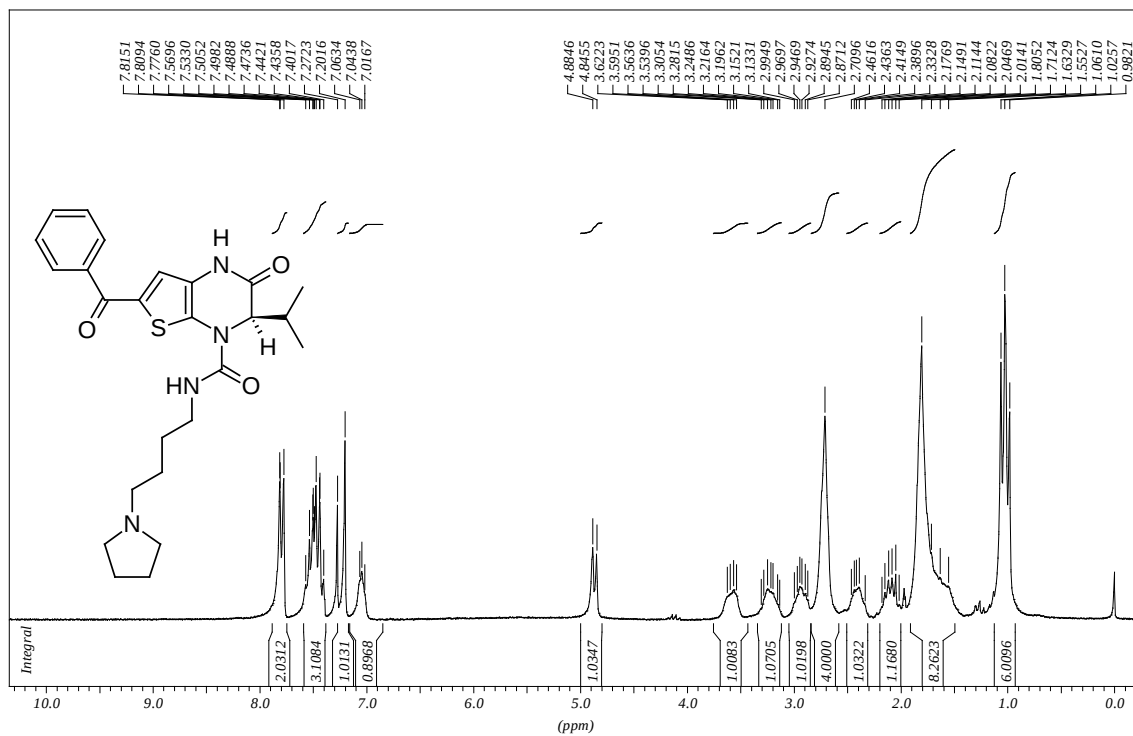

 Verbindung **52**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

BDV10C13APT CDCl3 opt/zwinnmr mayer 10



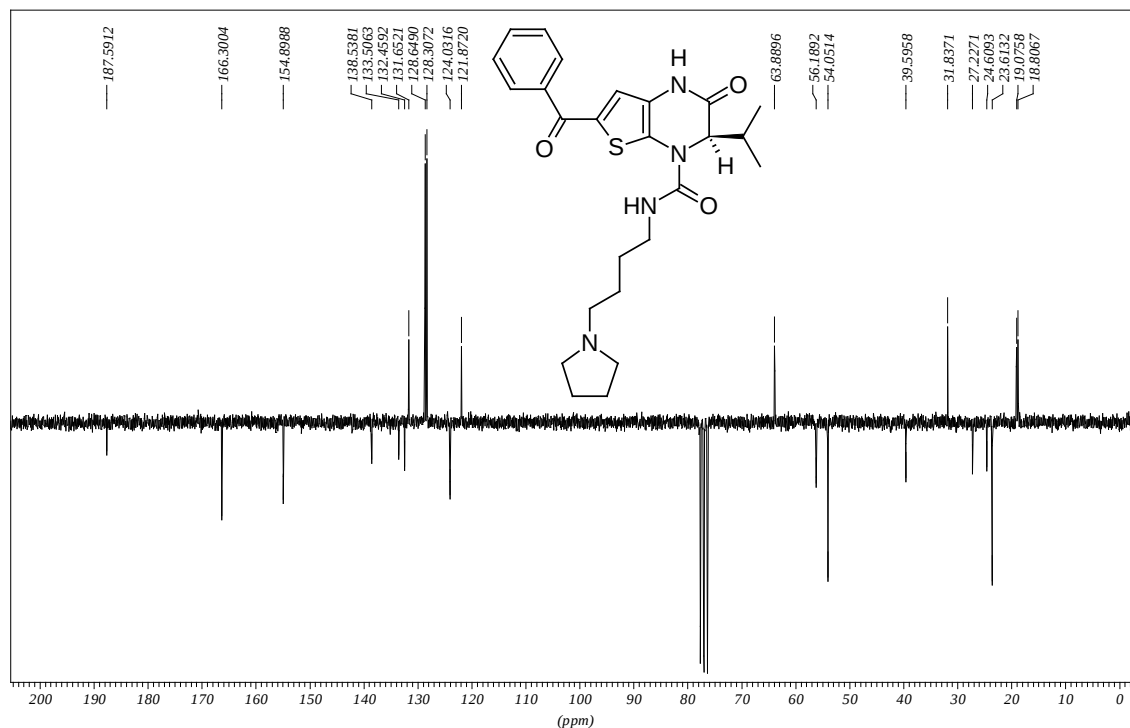
Verbindung **52**, HR-MS

 Verbindung **53**, ^1H -NMR, CDCl_3

BD19PROTON CDCl3 opt/cwinnmr mayer 5

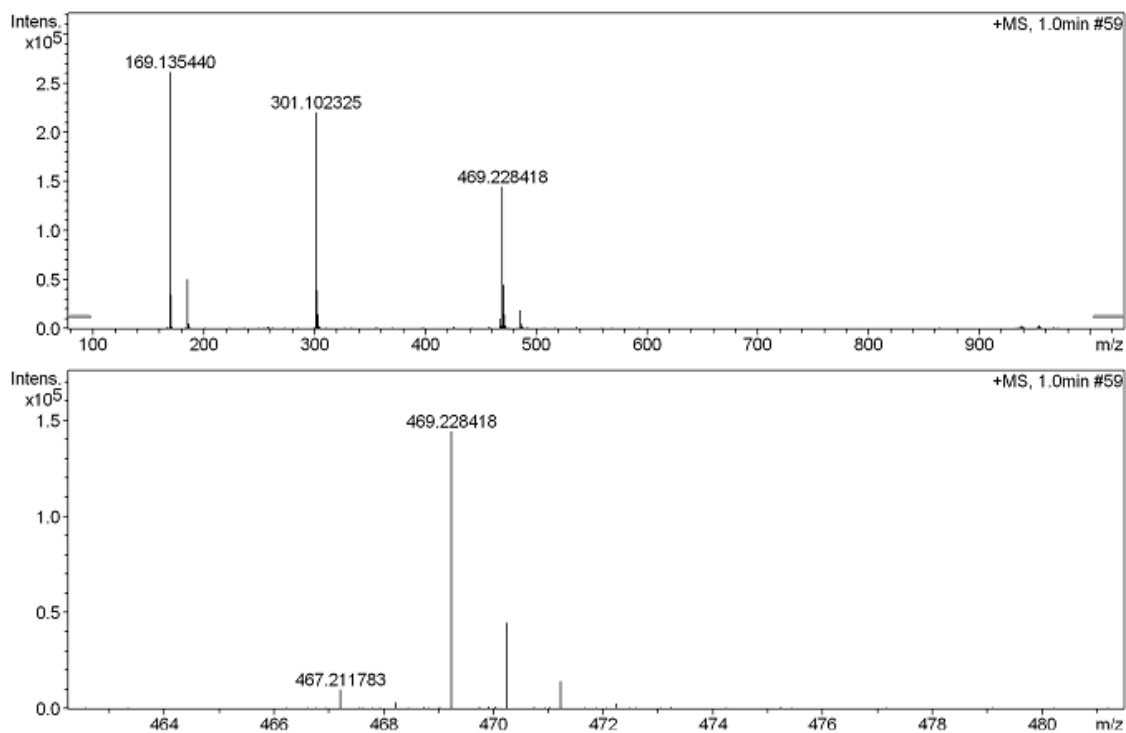


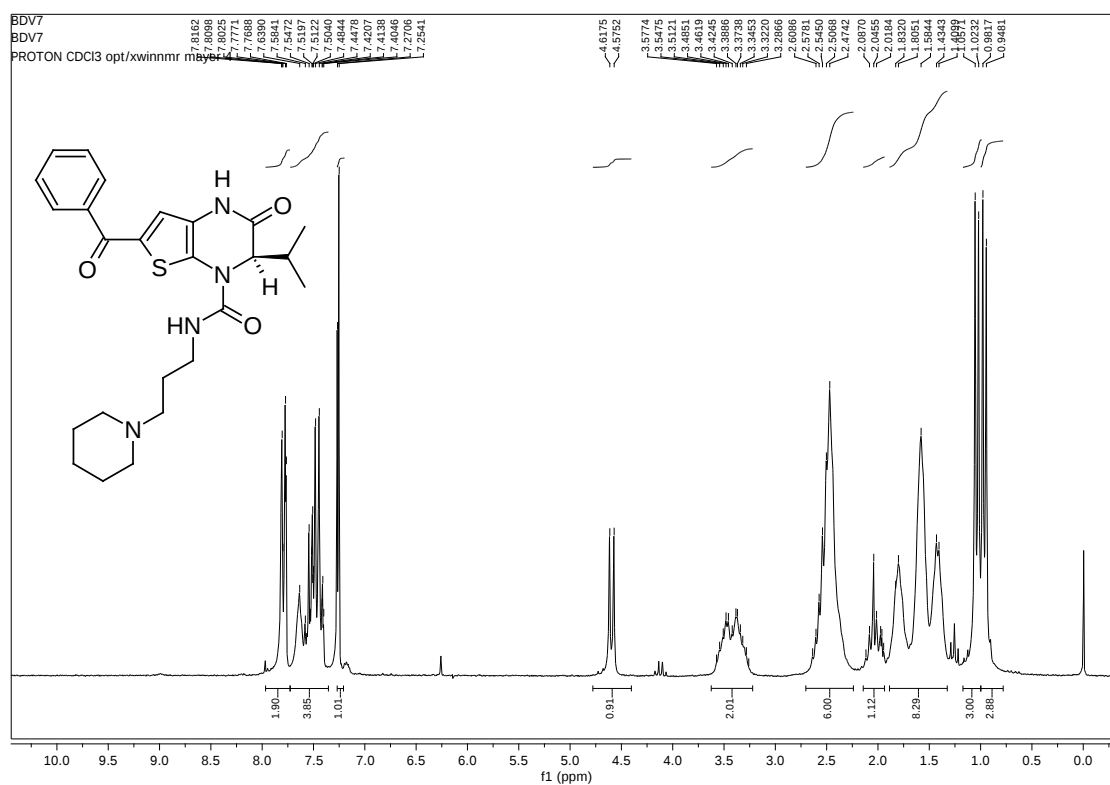
Verbindung **53**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

BDI9CI3APT CDCl3 opt/ovinnmr meyer-4

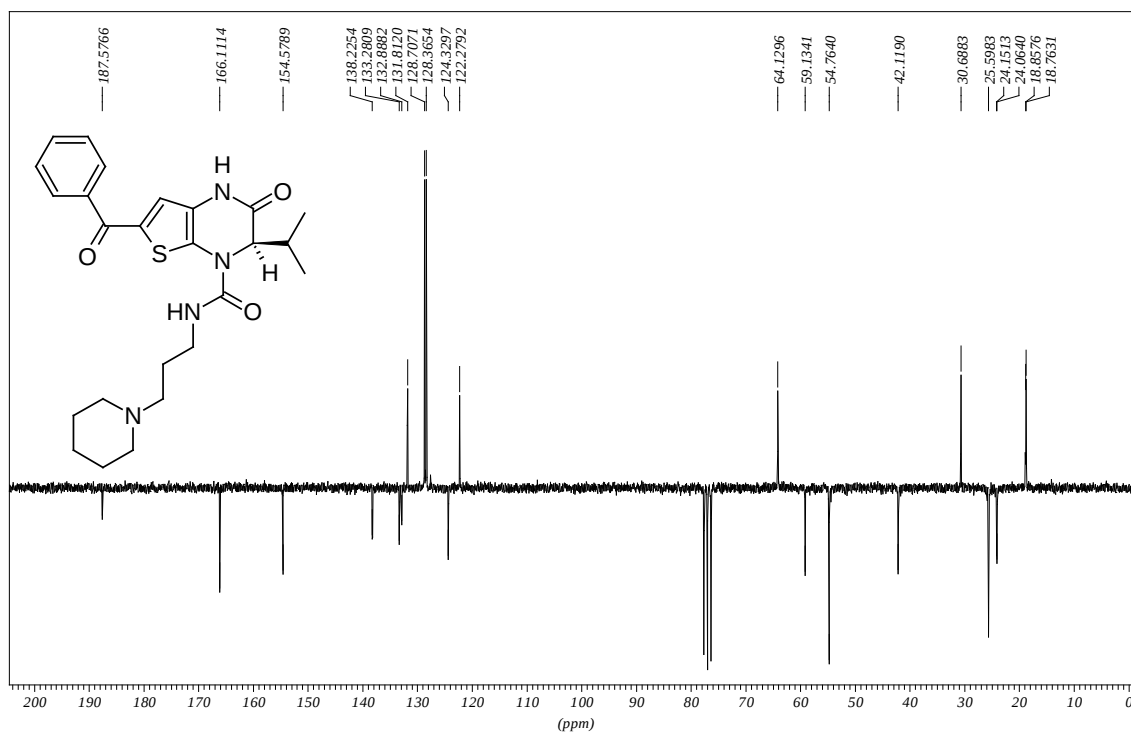


Verbindung **53**, HR-MS

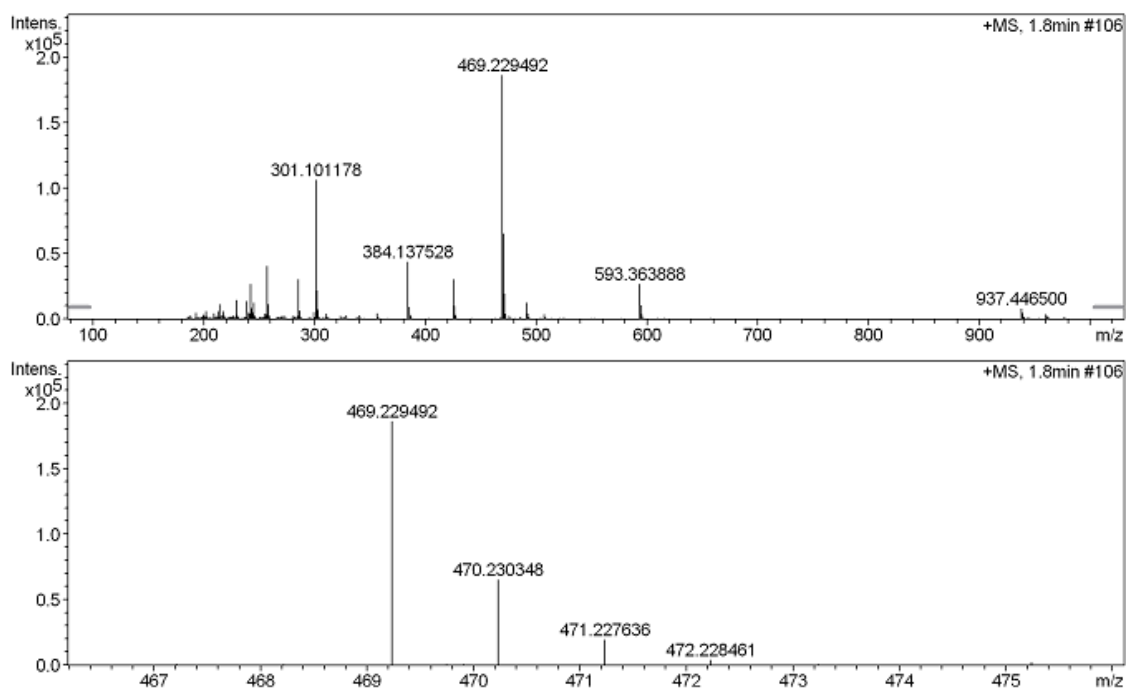


Verbindung **55**, ^1H -NMR, CDCl_3

Verbindung **55**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

BDV7C13APT CDCl3 opt/xwinnmr mayer 24

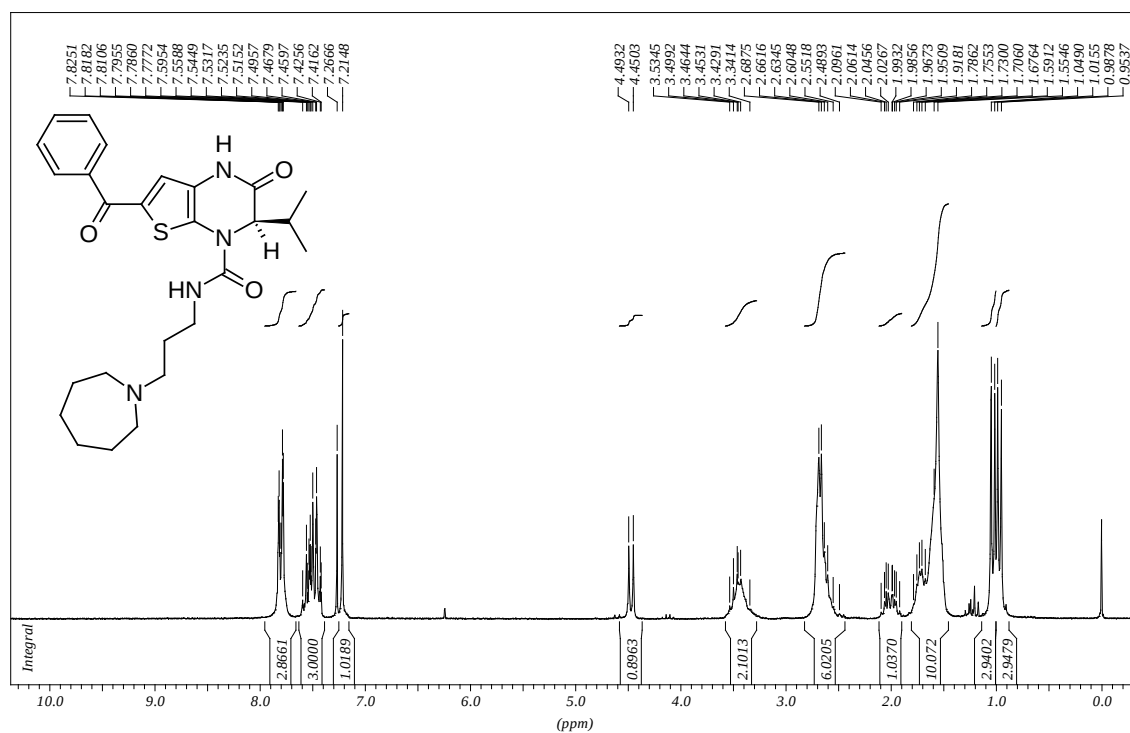


Verbindung **55**, HR-MS



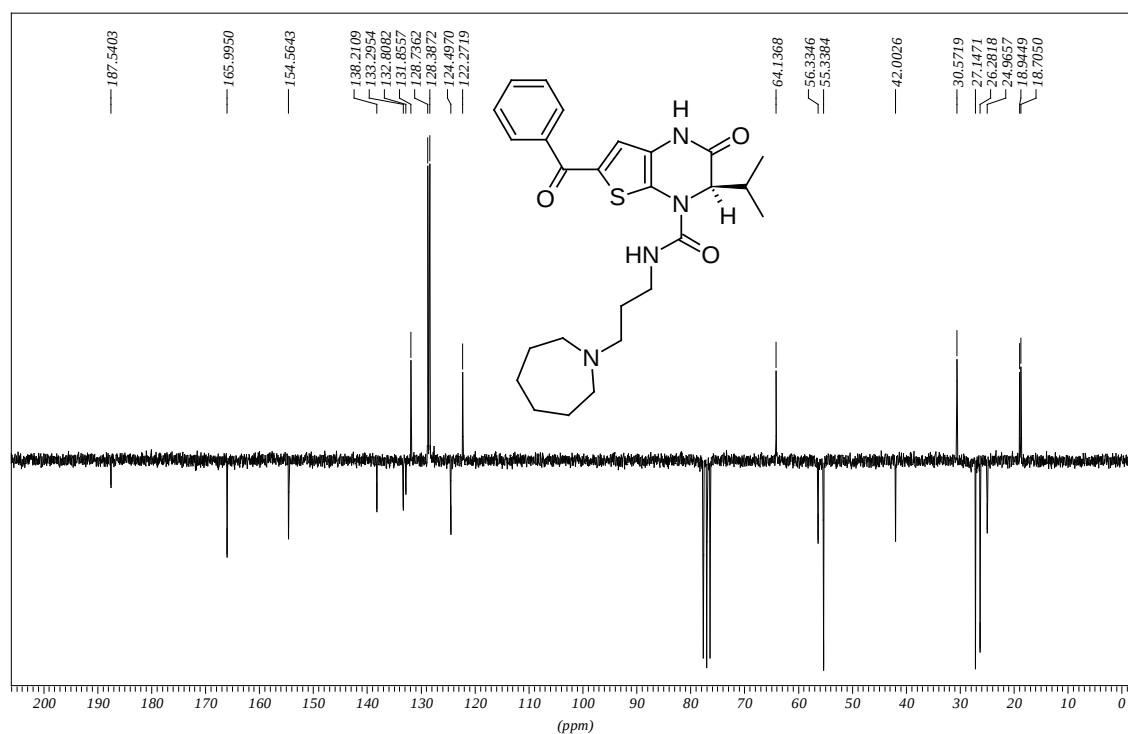
Verbindung **56**, ^1H -NMR, CDCl_3

BDV\SPROTON CDCl3 opt\winnmr.mayr 9

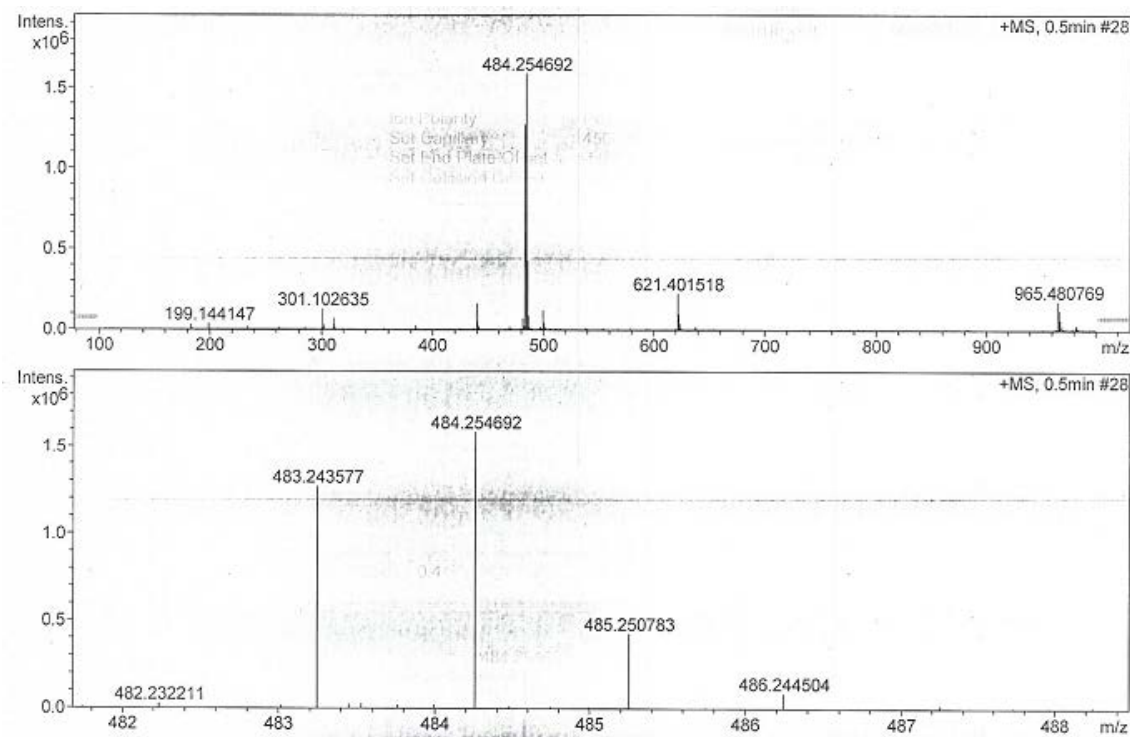


Verbindung **56**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

BDI/8CI3APT/CDCl3 opt/zwinnmr mayer 9

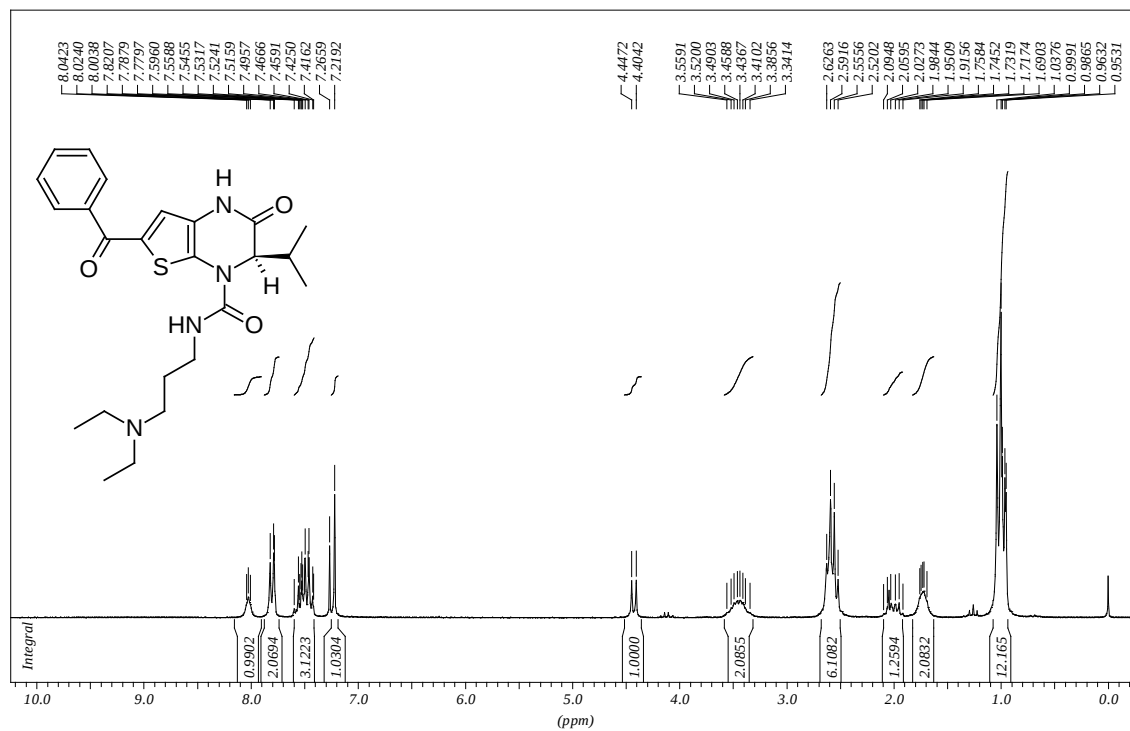


Verbindung **56**, HR-MS



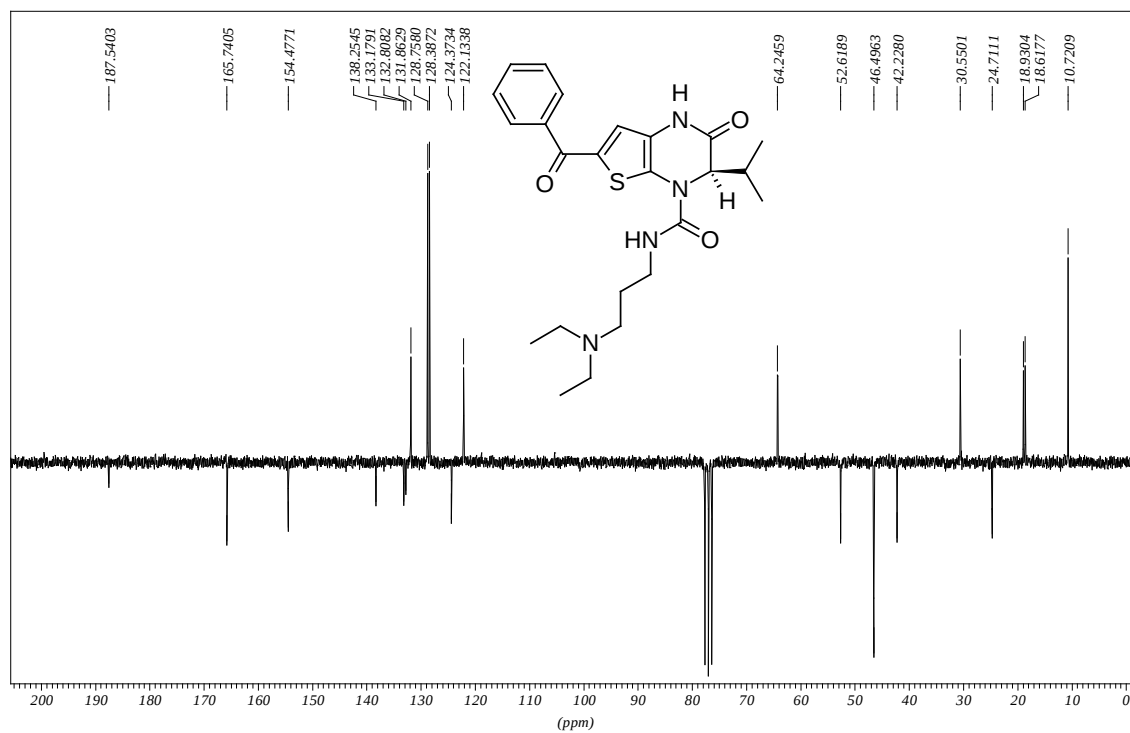
Verbindung **57**, ^1H -NMR, CDCl_3

BDV4PROTON CDCl3 opt/xximnr mayer 2

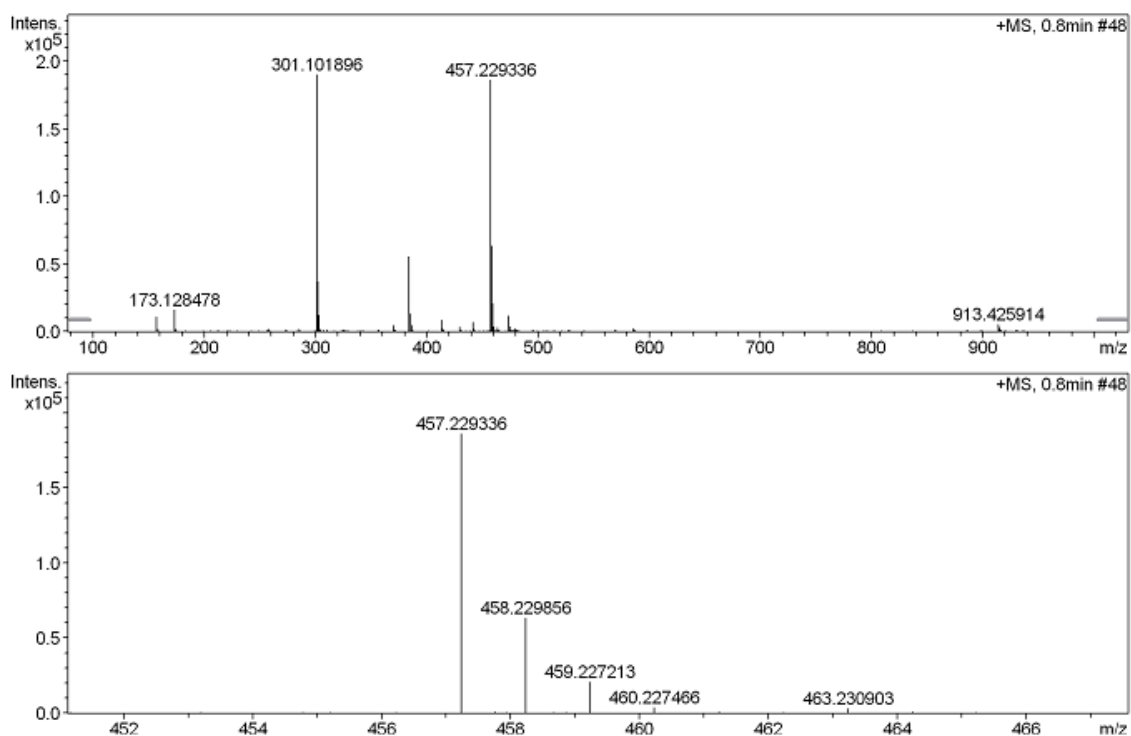


Verbindung **57**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

BDV4CI3APT CDCl3 opt/xximnr mayer 2

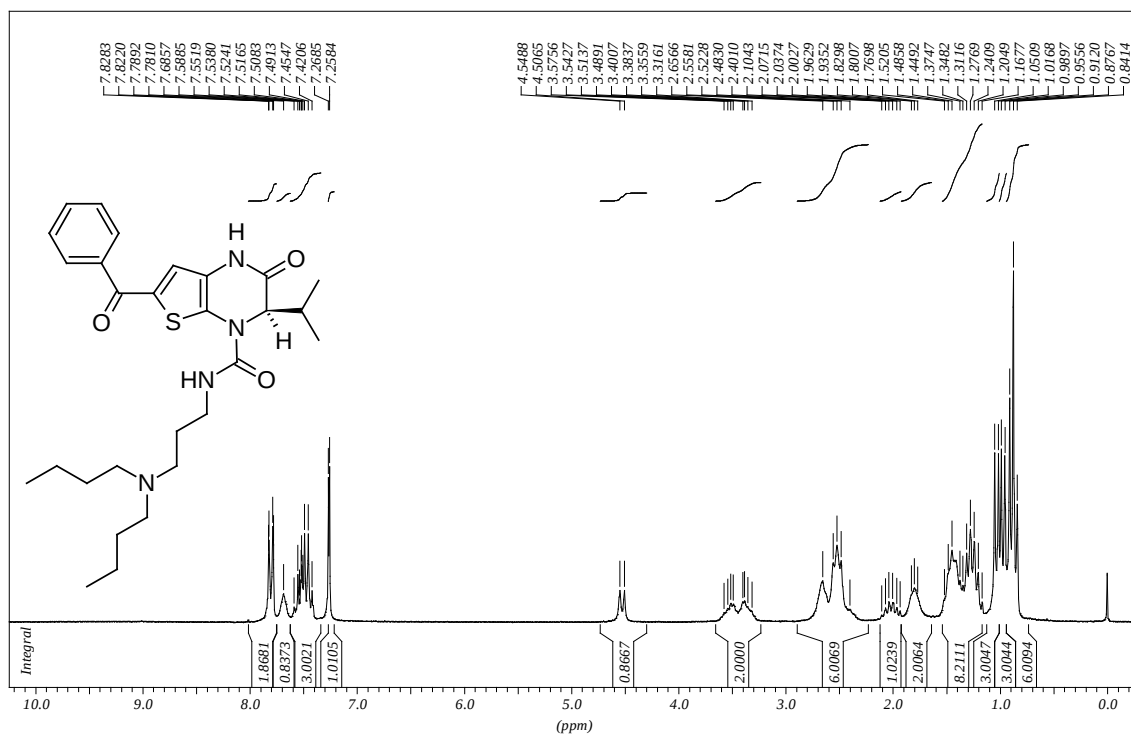


Verbindung **57**, HR-MS



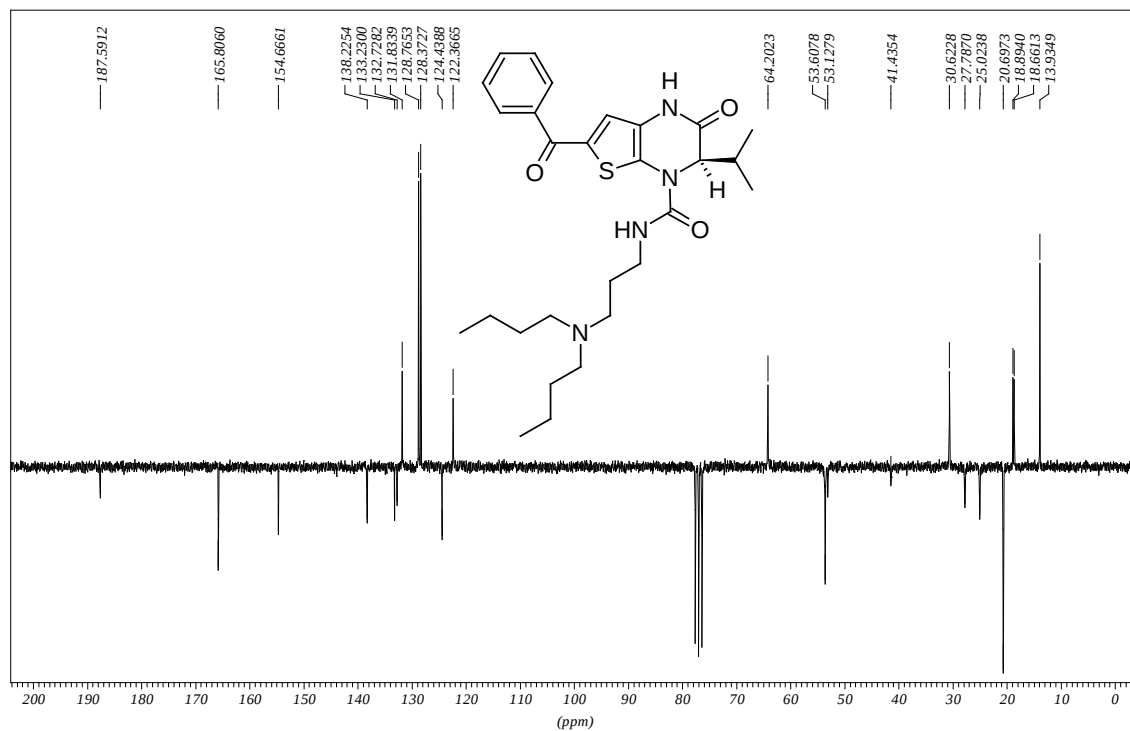
Verbindung **58**, ^1H -NMR, CDCl_3

BDI'nPROTON CDCl₃ opt/swinnmr mayer 38

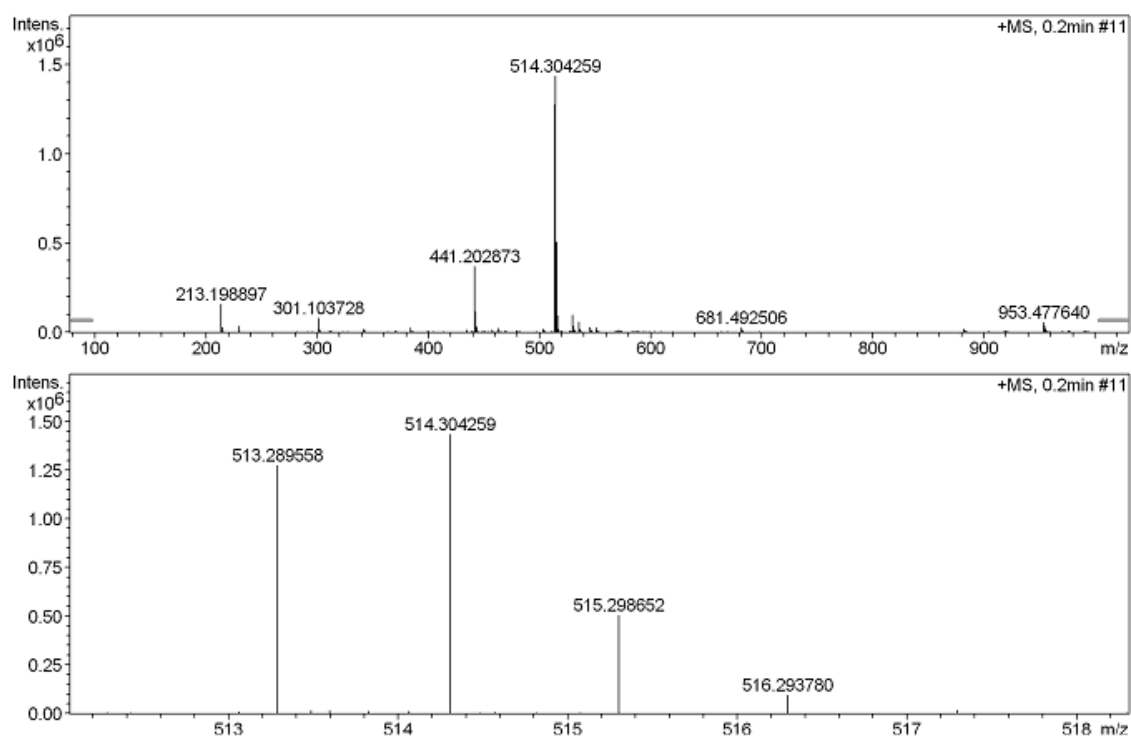


Verbindung **58**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

BDVhCl3APT CDCl3 opt/sovinmr meyer-38

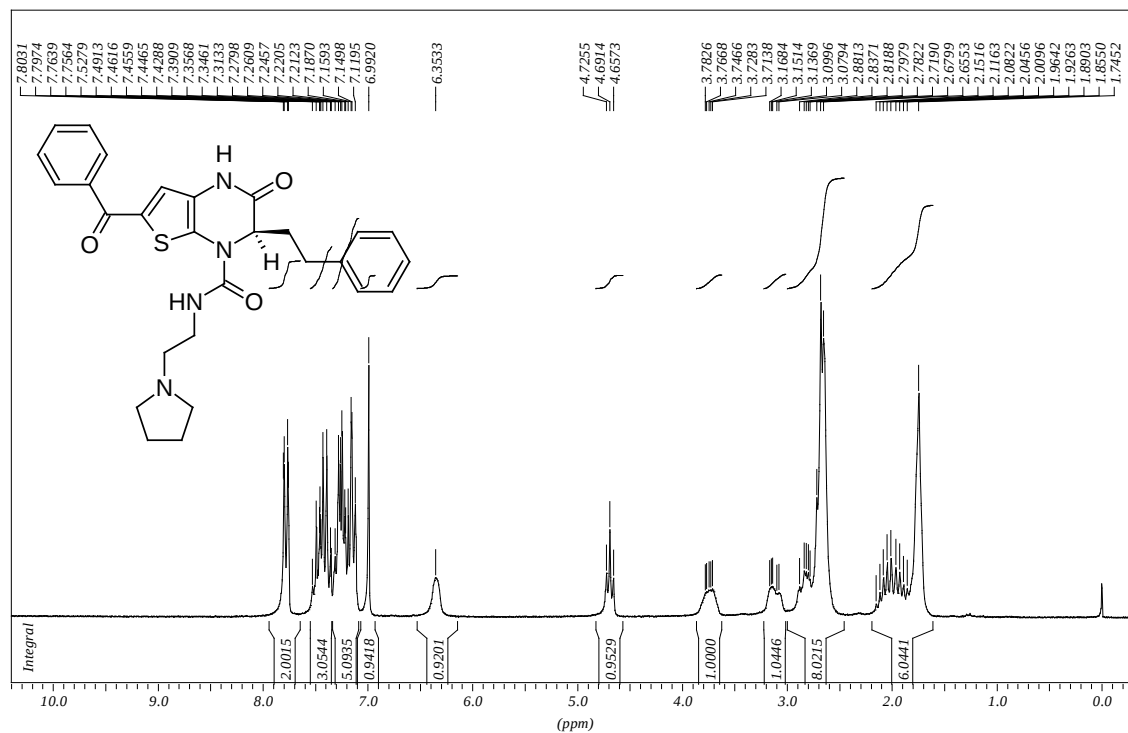


Verbindung **58**, HR-MS

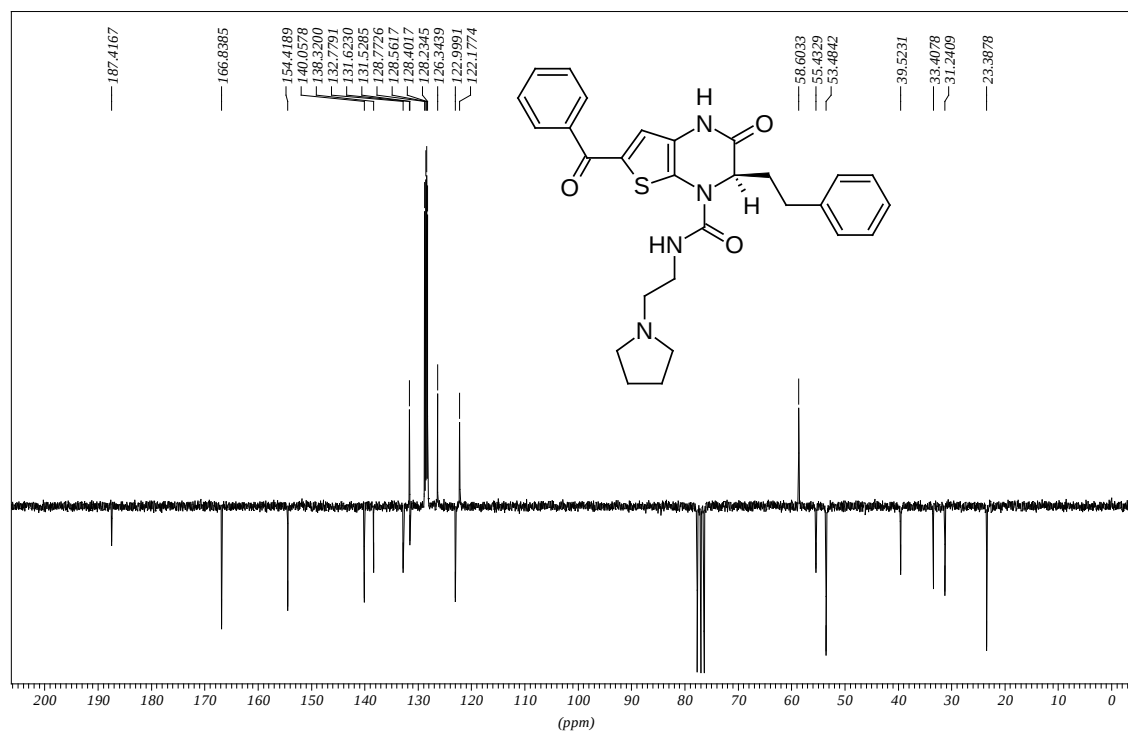


Verbindung **59**, ^1H -NMR, CDCl_3

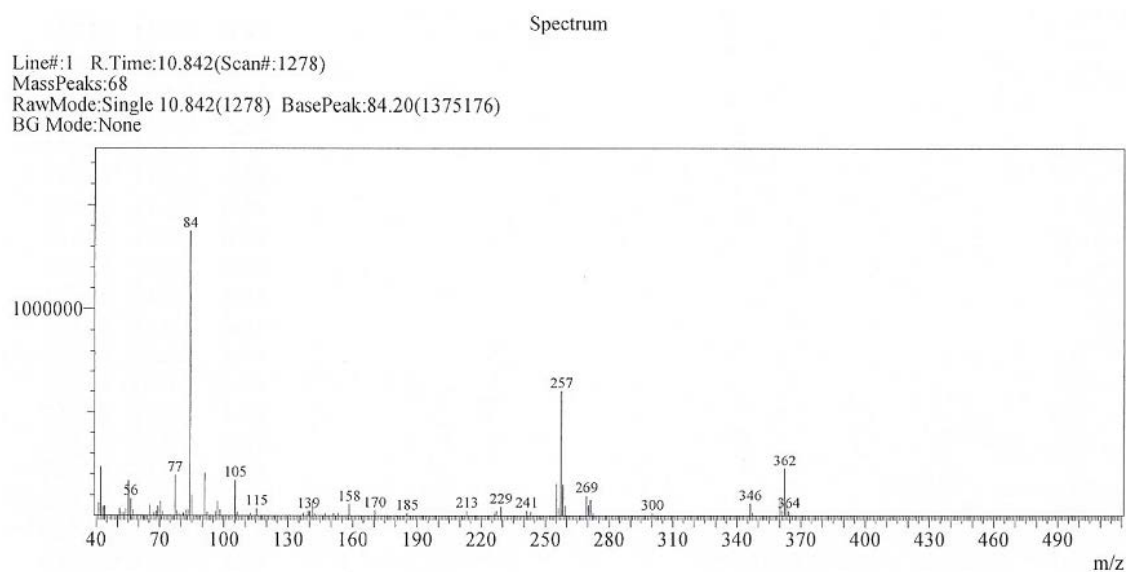
BDH7PROTON CDCl3 opt/swinnmr mayer 52


 Verbindung **59**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

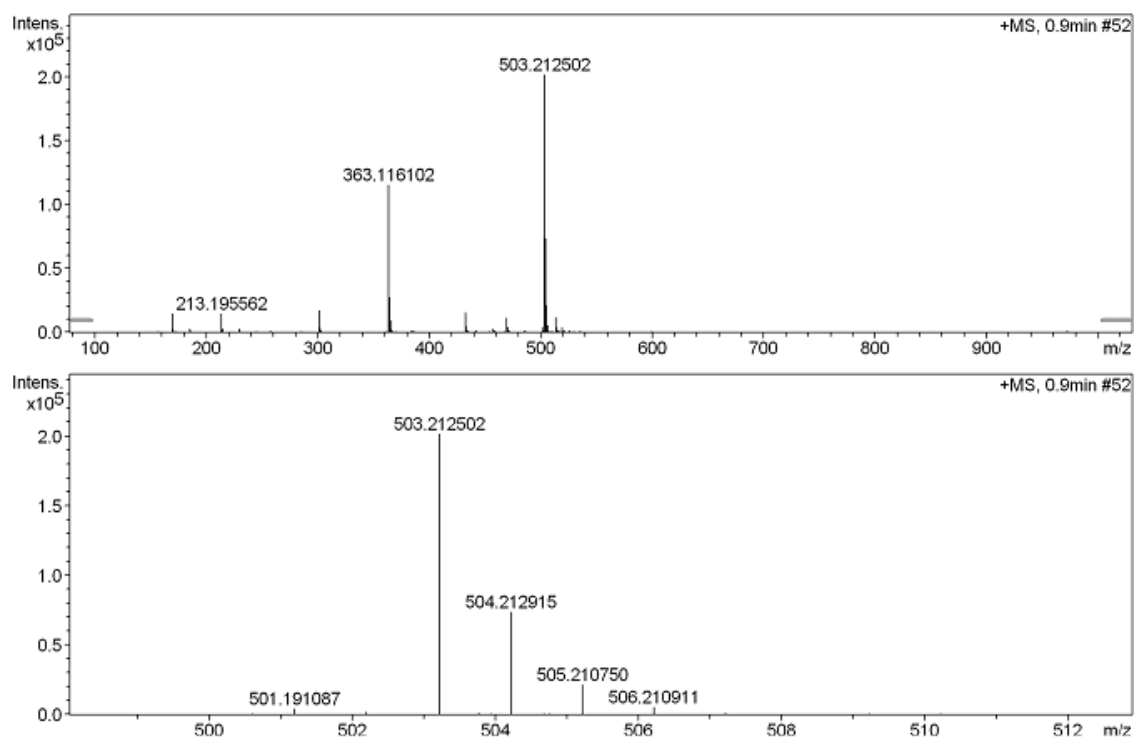
BDH7C13APT CDCl3 opt/swinnmr mayer 12



Verbindung **59**, Massenspektrum

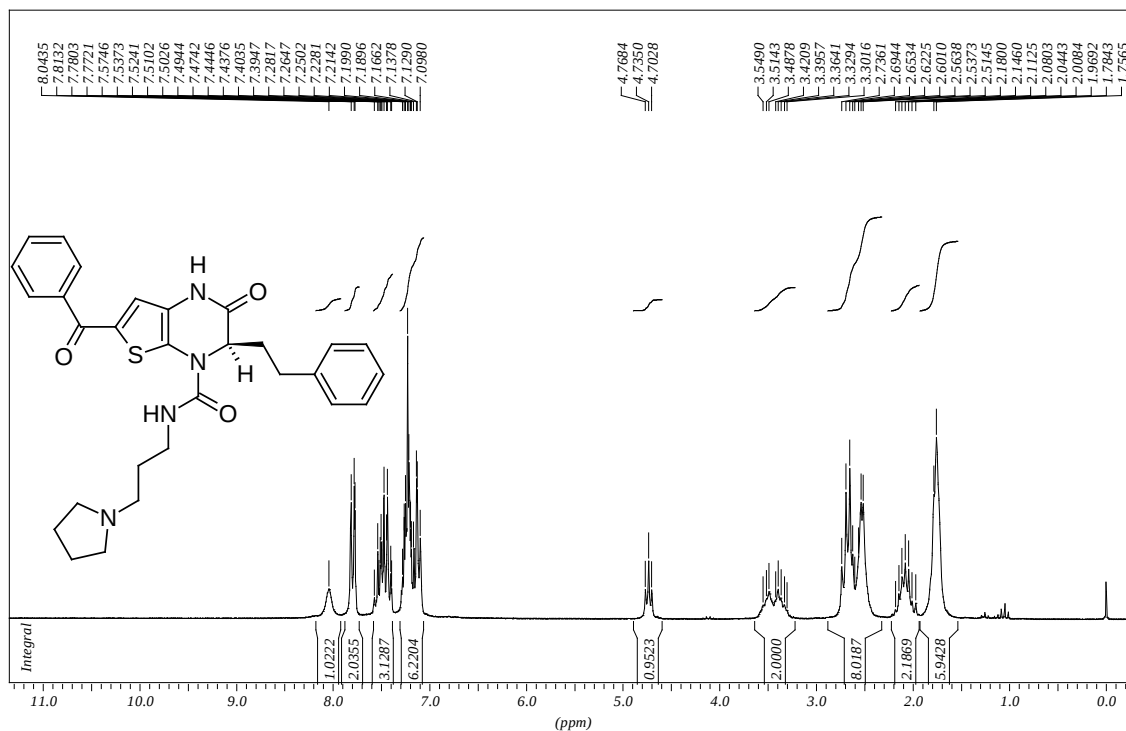


Verbindung **59**, HR-MS

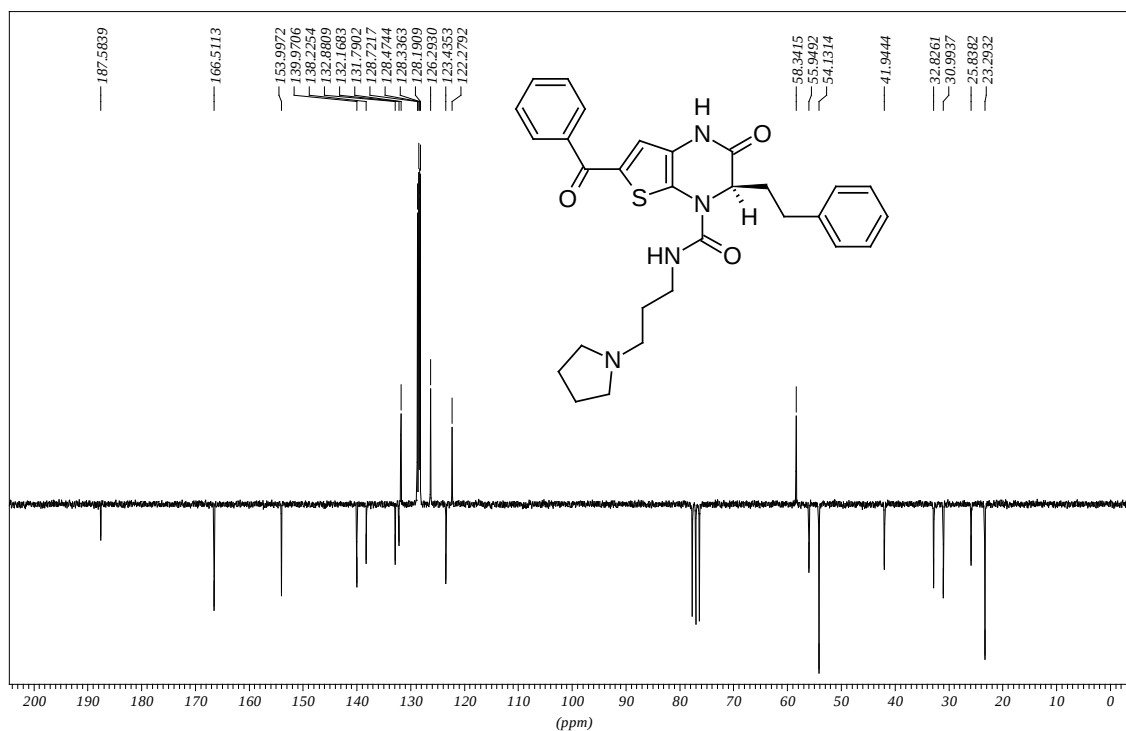


Verbindung **60**, ^1H -NMR, CDCl_3

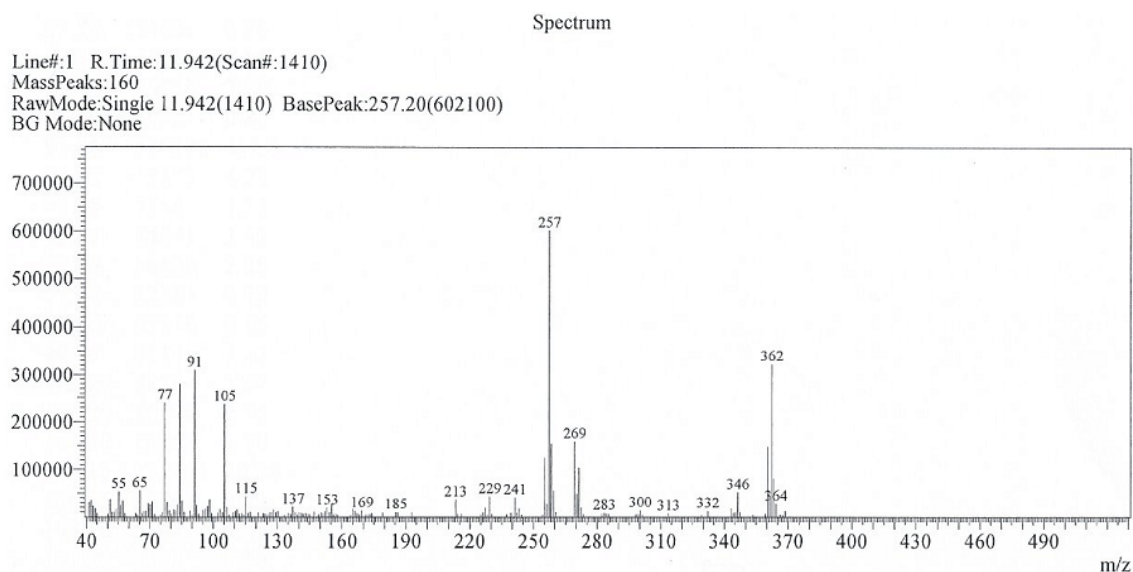
BDH8PROTON CDCl3 opt/swinnmr mayer 18


 Verbindung **60**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

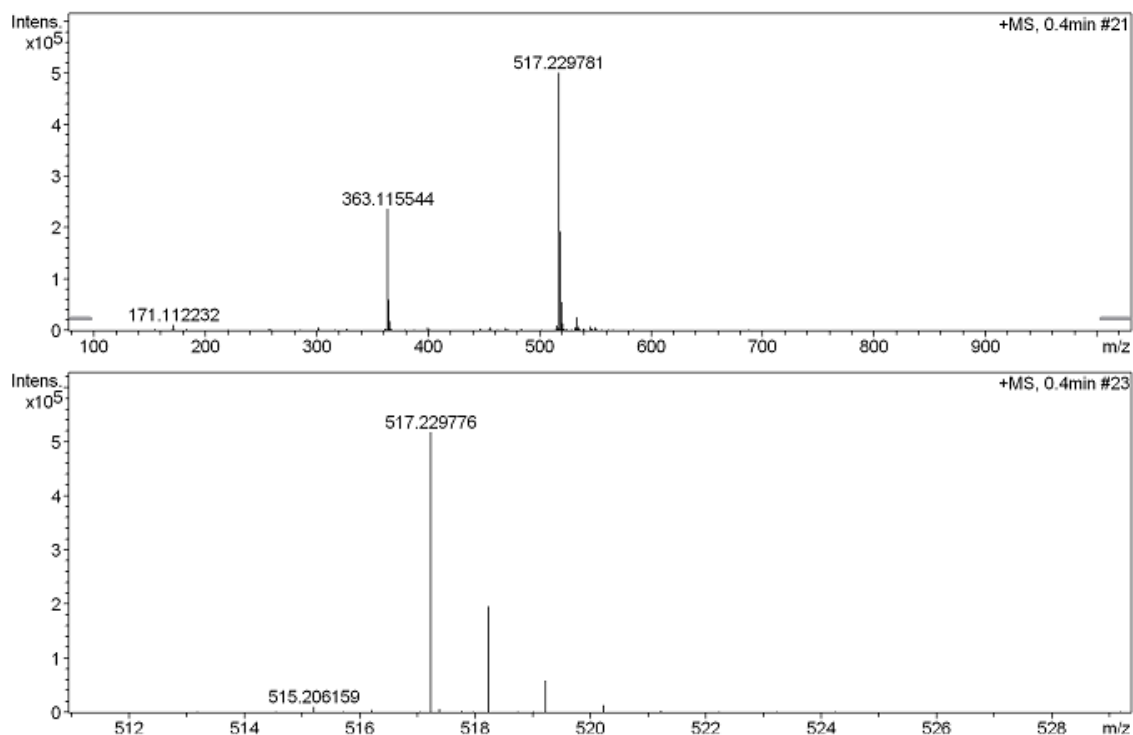
BDH8C13APT CDCl3 opt/swinnmr mayer 18



Verbindung **60**, Massenspektrum

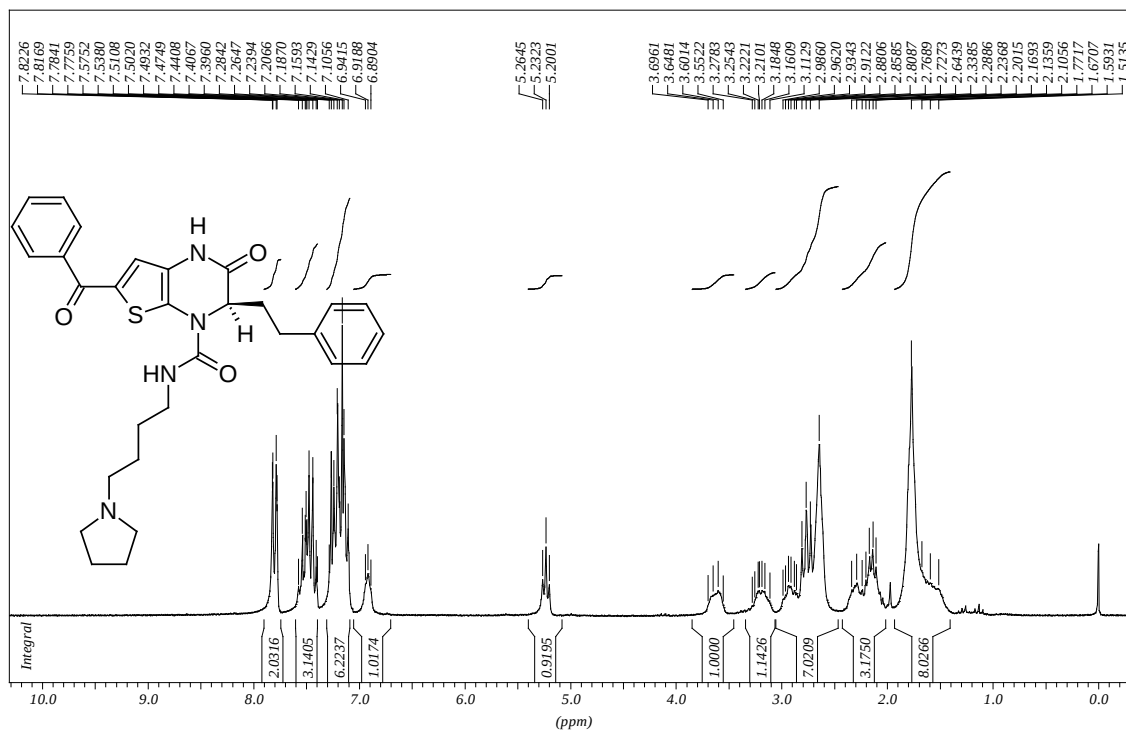


Verbindung **60**, HR-MS

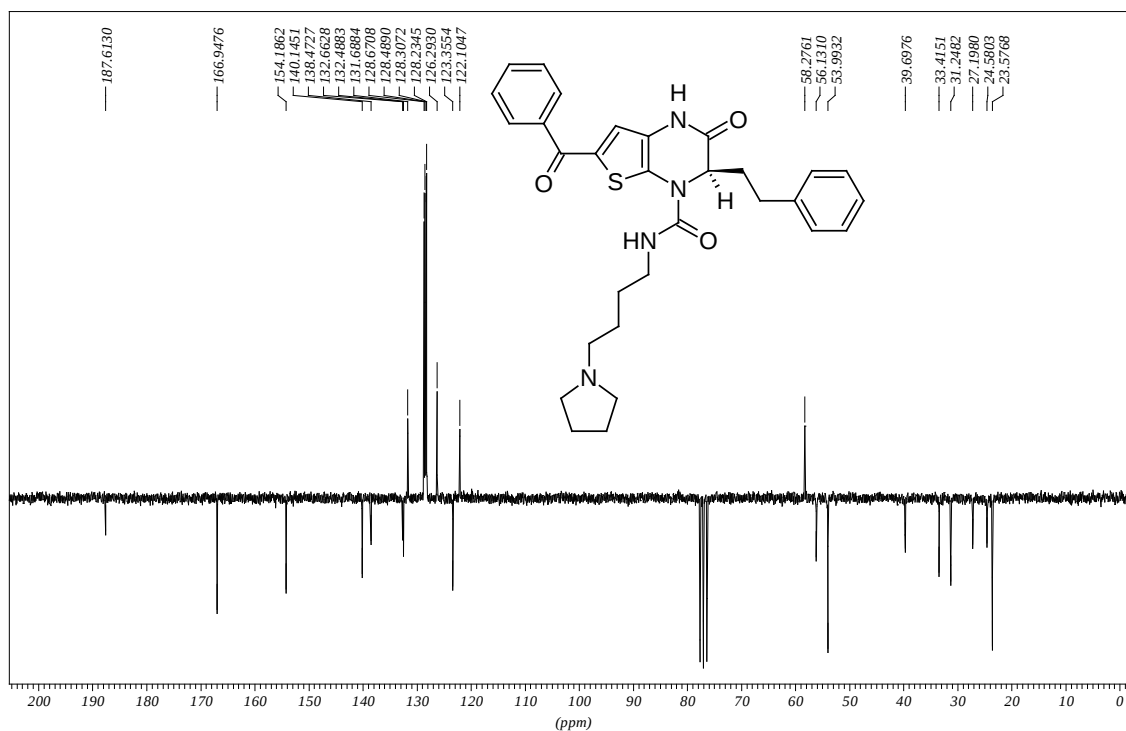


Verbindung **61**, ^1H -NMR, CDCl_3

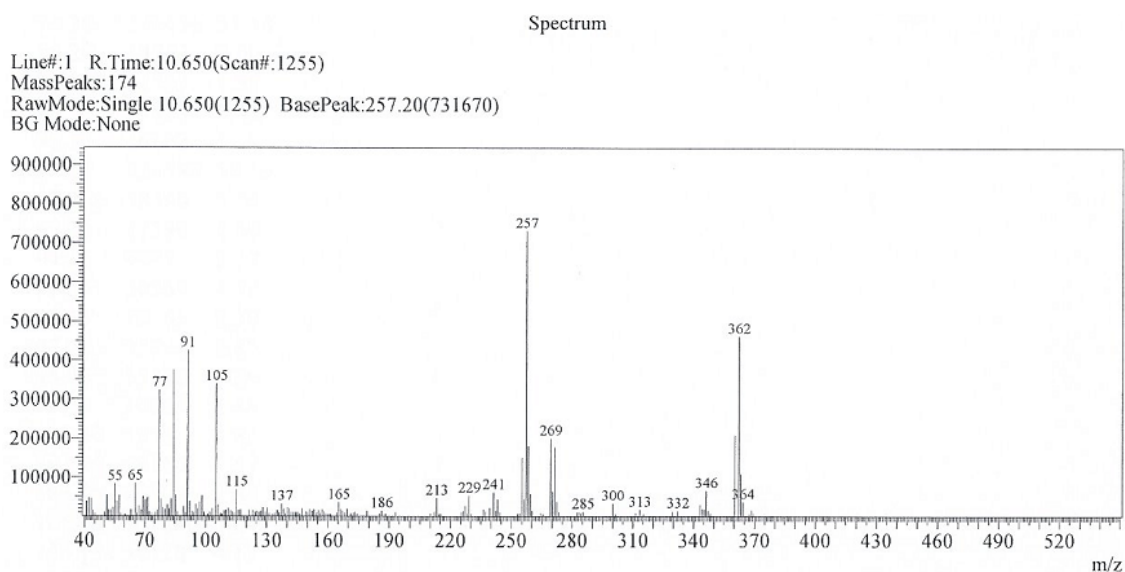
BDH9PROTON CDCl3 opt/swinnmr mayer 49


 Verbindung **61**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

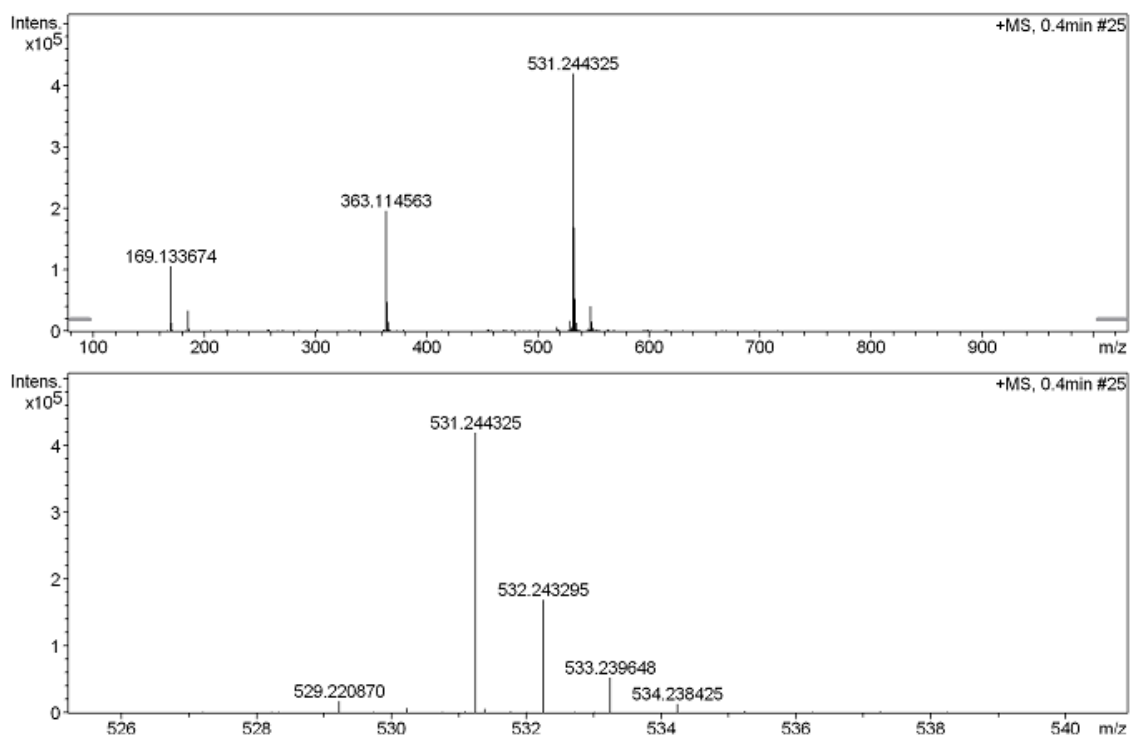
BDH9C13APT CDCl3 opt/swinnmr mayer 49



Verbindung **61**, Massenspektrum

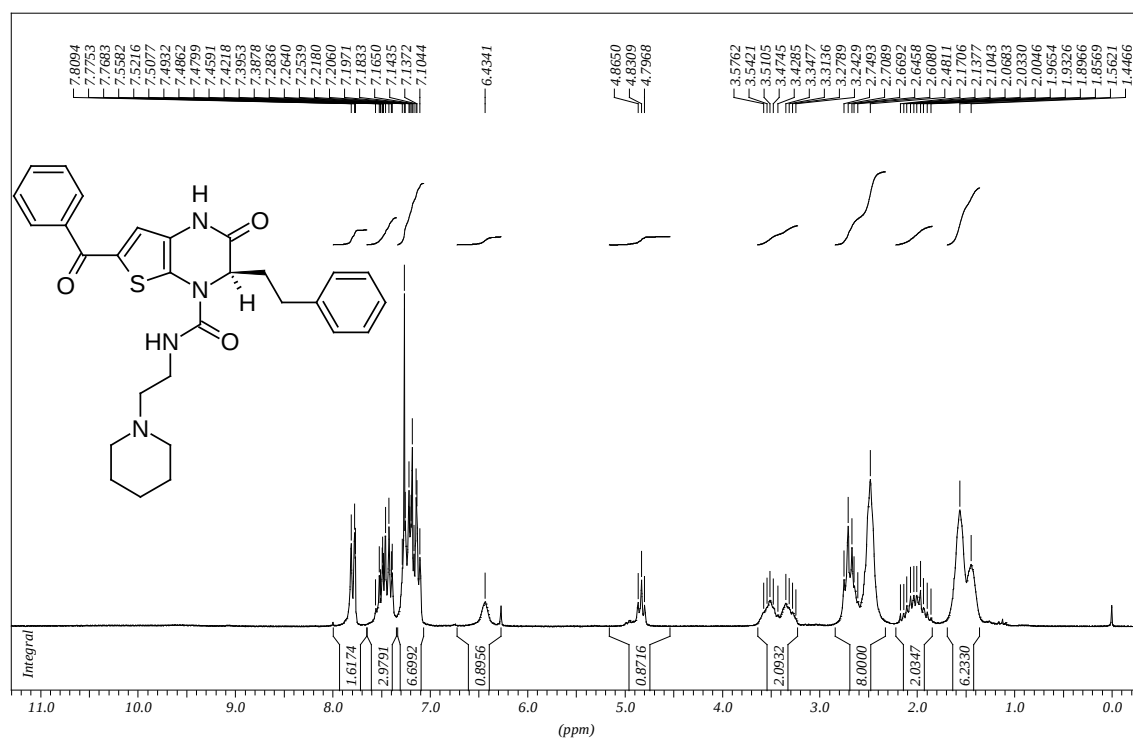


Verbindung **61**, HR-MS

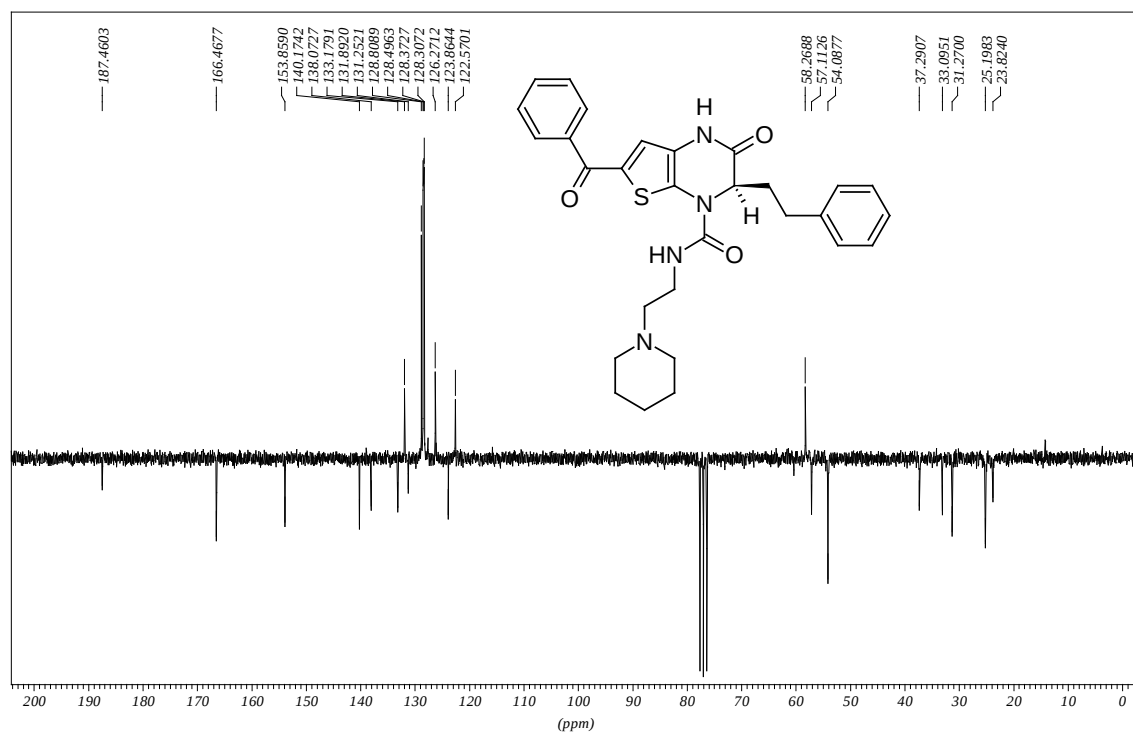


Verbindung **62**, ^1H -NMR, CDCl_3

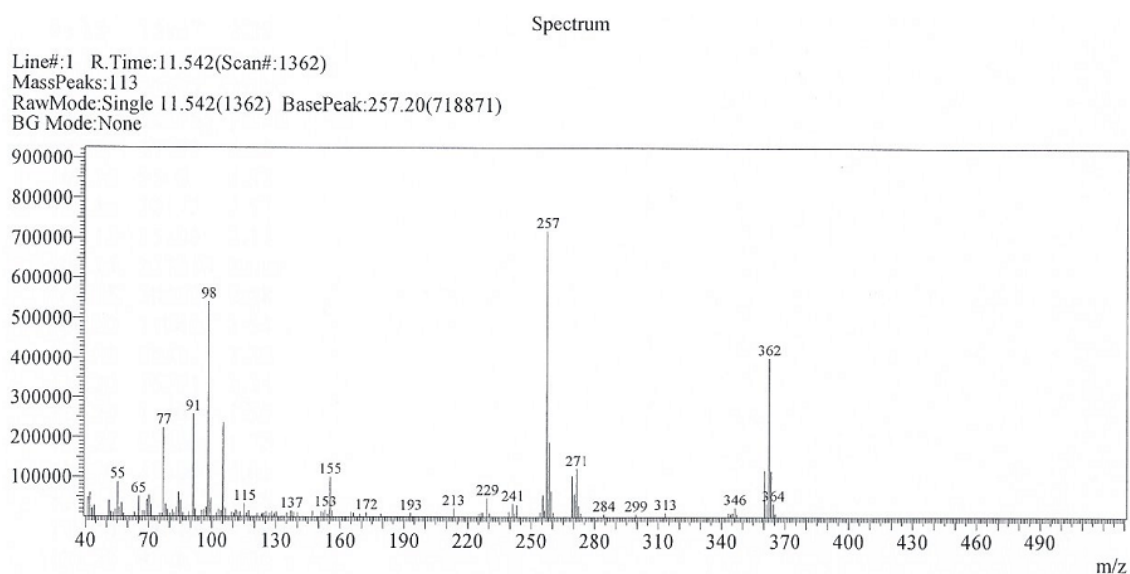
BDH10PROTON CDC13 opt/swinnur mayer 32


 Verbindung **62**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

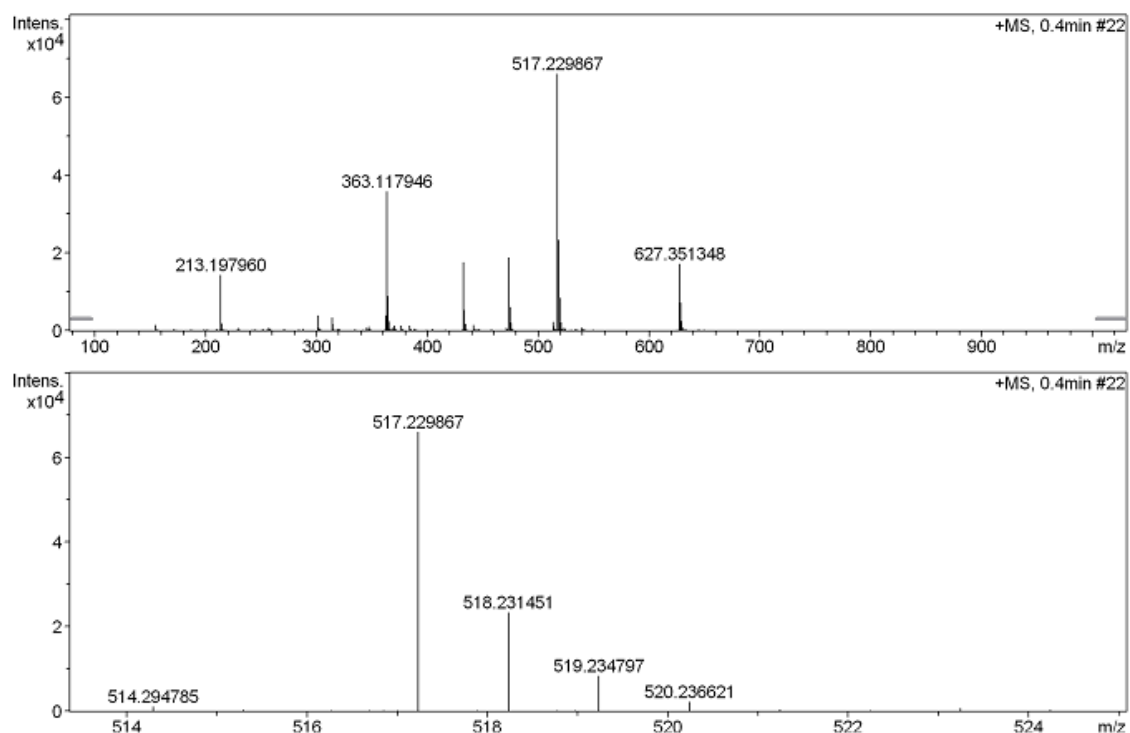
BDH10C13APT CDC13 opt/swinnur mayer 52

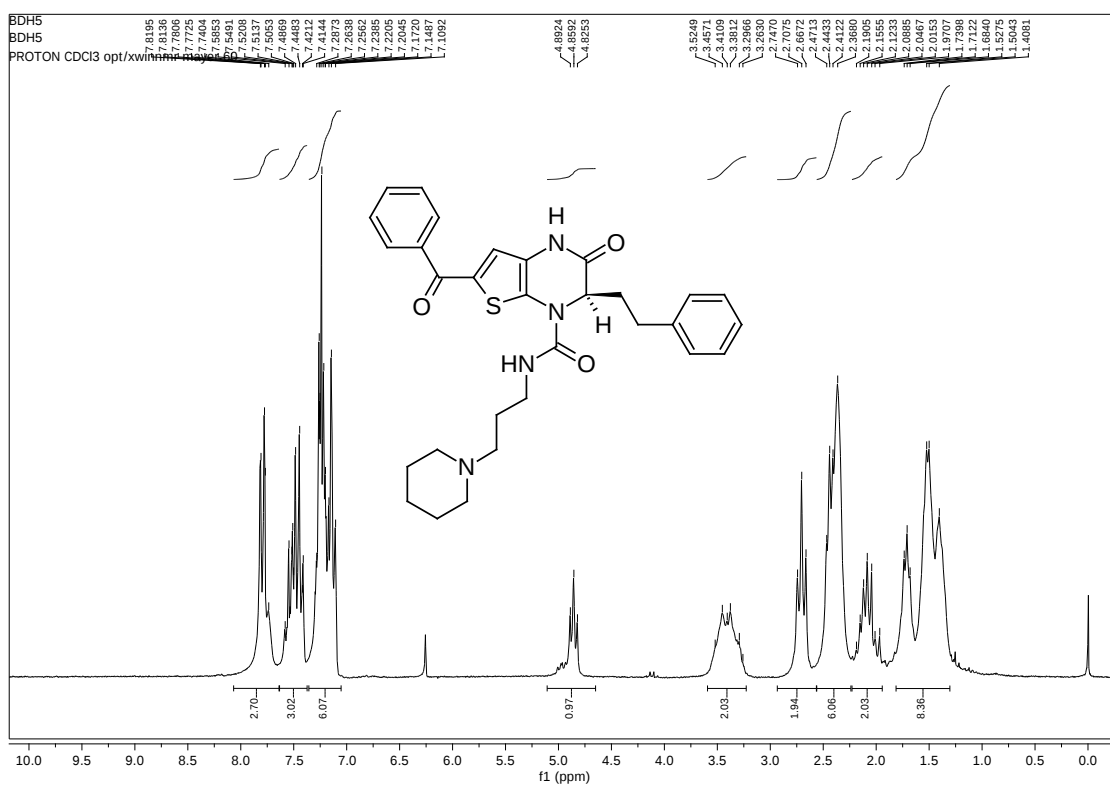


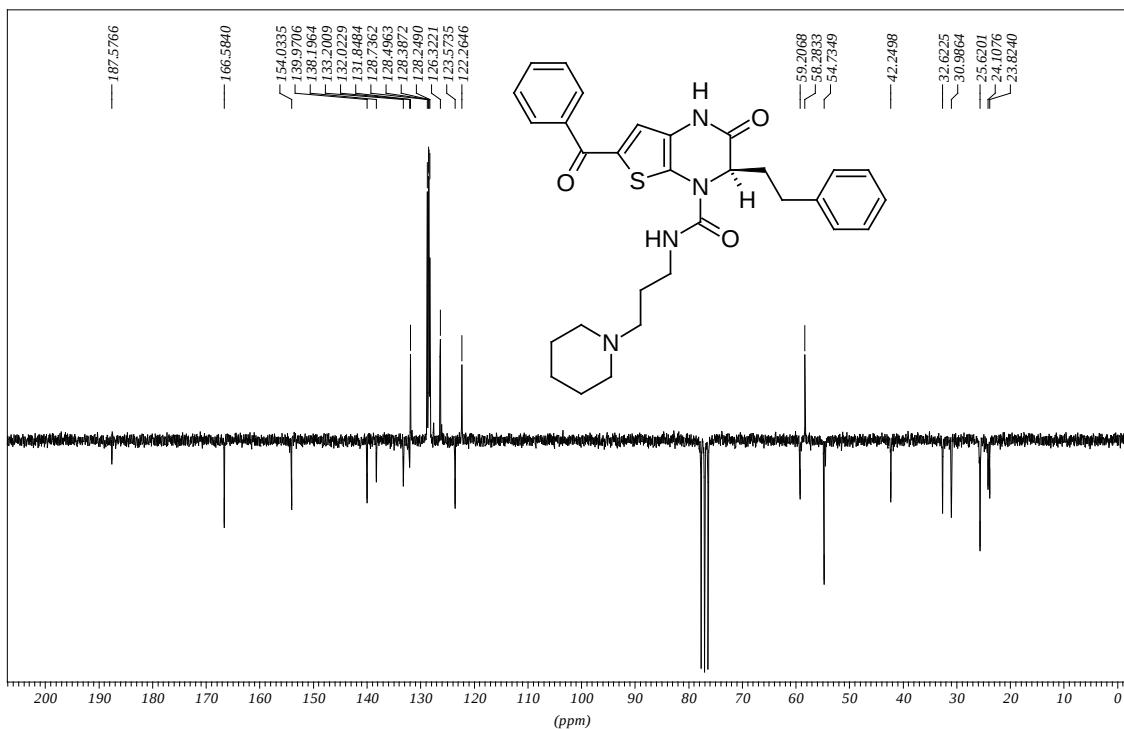
Verbindung **62**, Massenspektrum



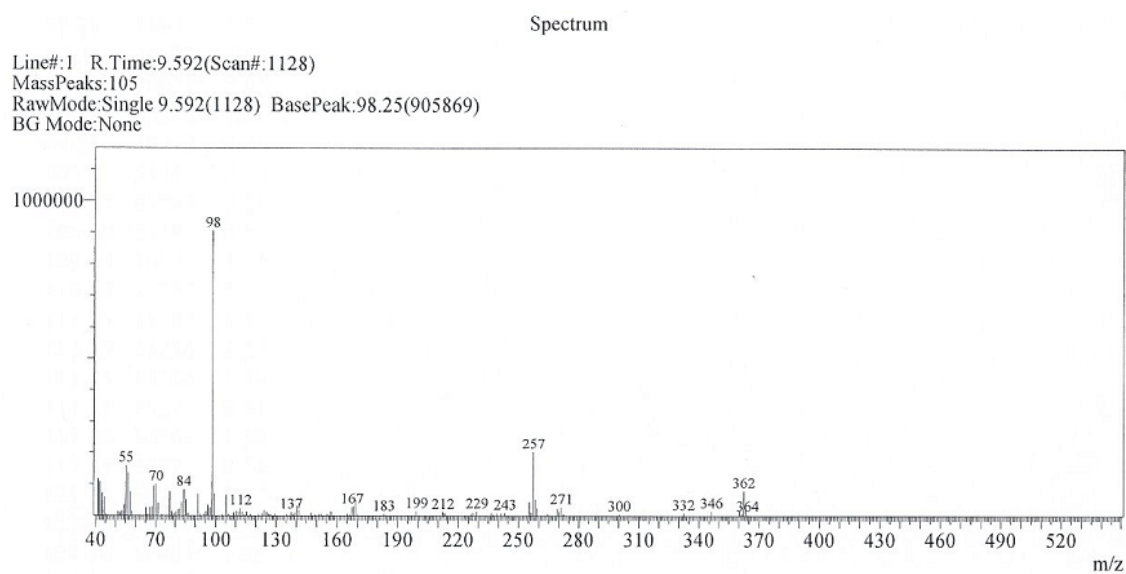
Verbindung **62**, HR-MS



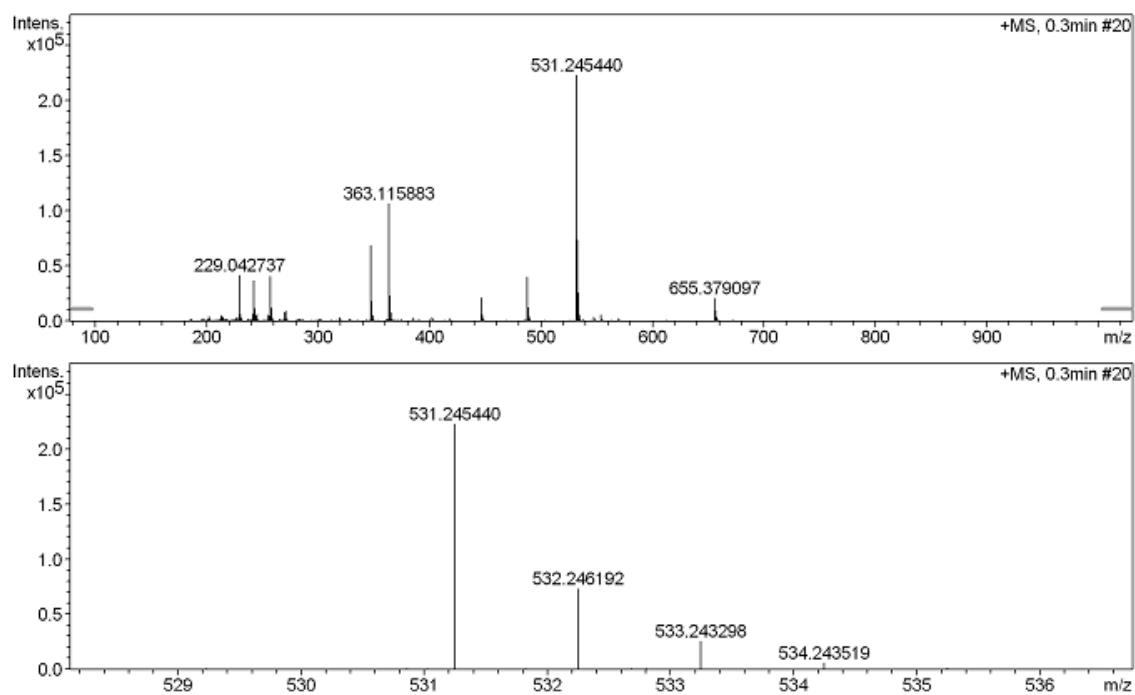
Verbindung **63**, ^1H -NMR, CDCl_3

 Verbindung **63**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

 BDH5C13APT CDCl_3 opt/xwinnmr 170550


Verbindung **63**, Massenspektrum

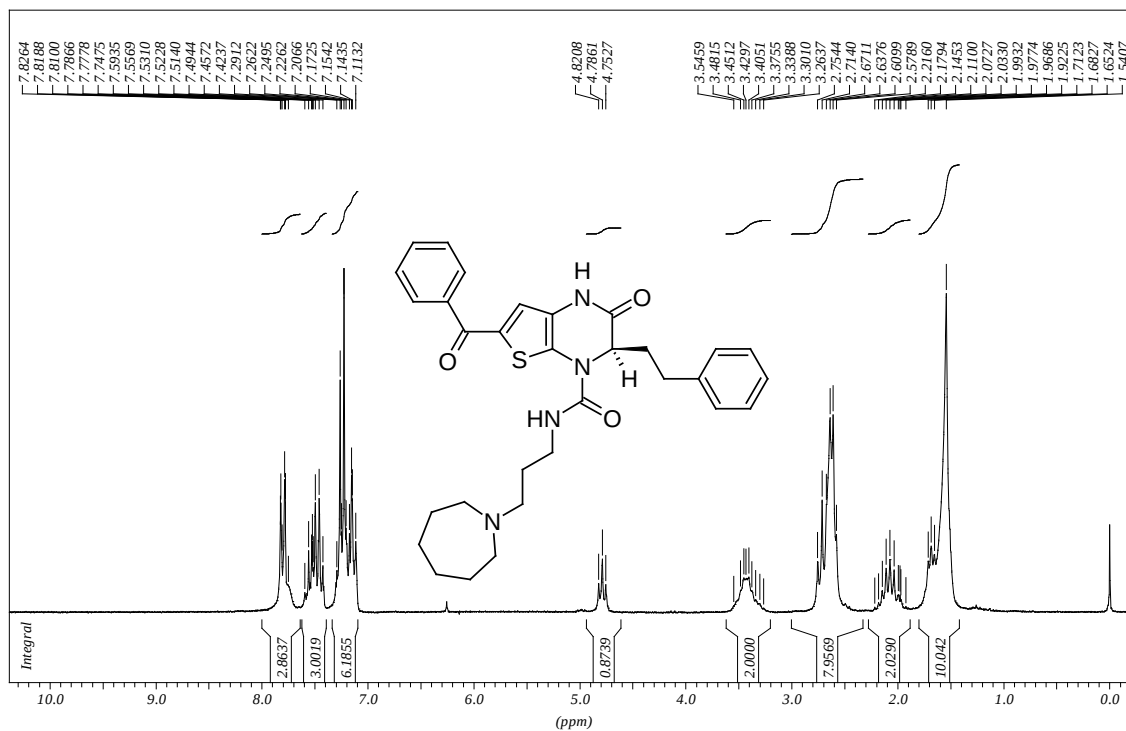


Verbindung **63**, HR-MS

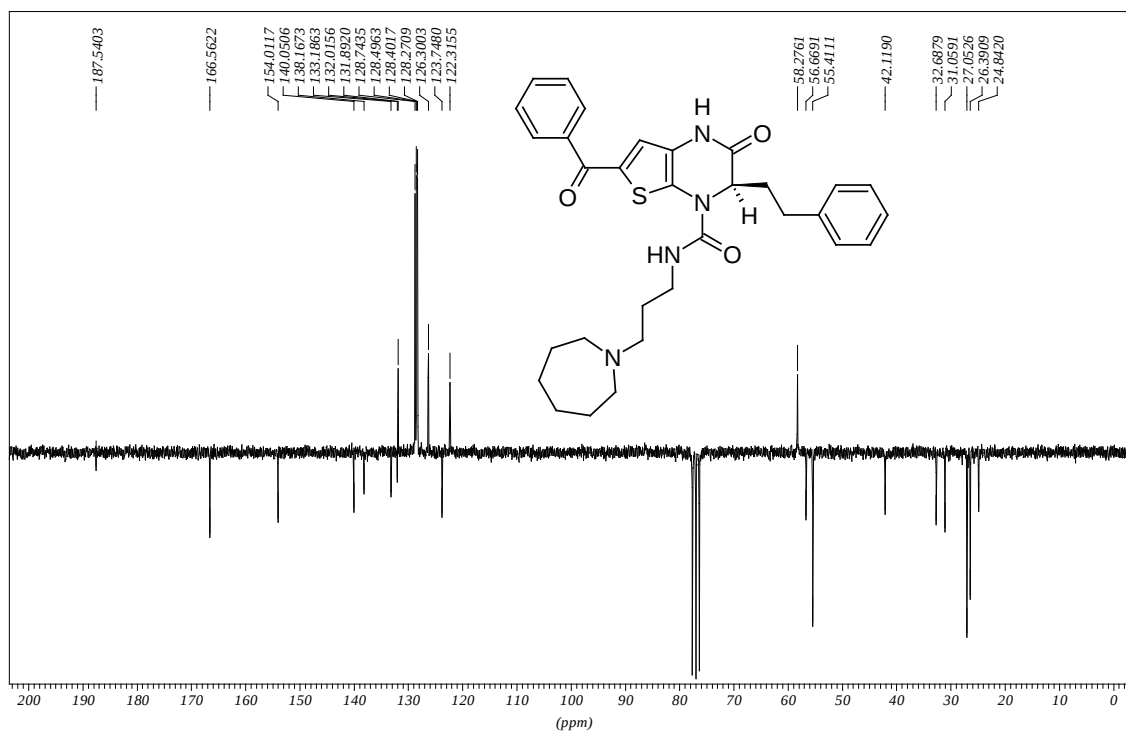


Verbindung **64**, ^1H -NMR, CDCl_3

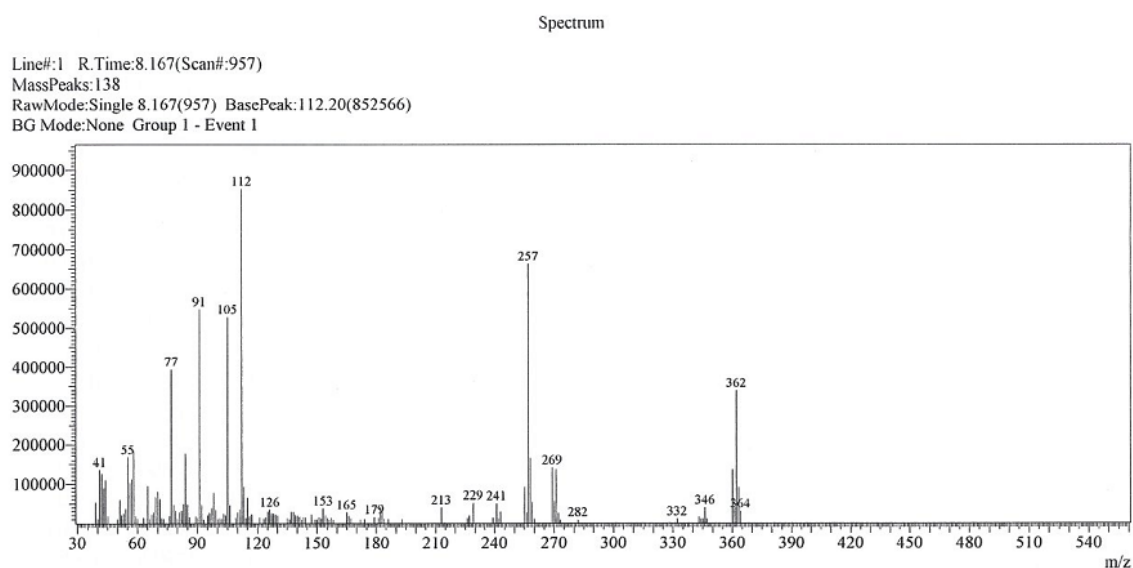
BDH6PROTON CDCl3 opt/swinnmr mayer 31


 Verbindung **64**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

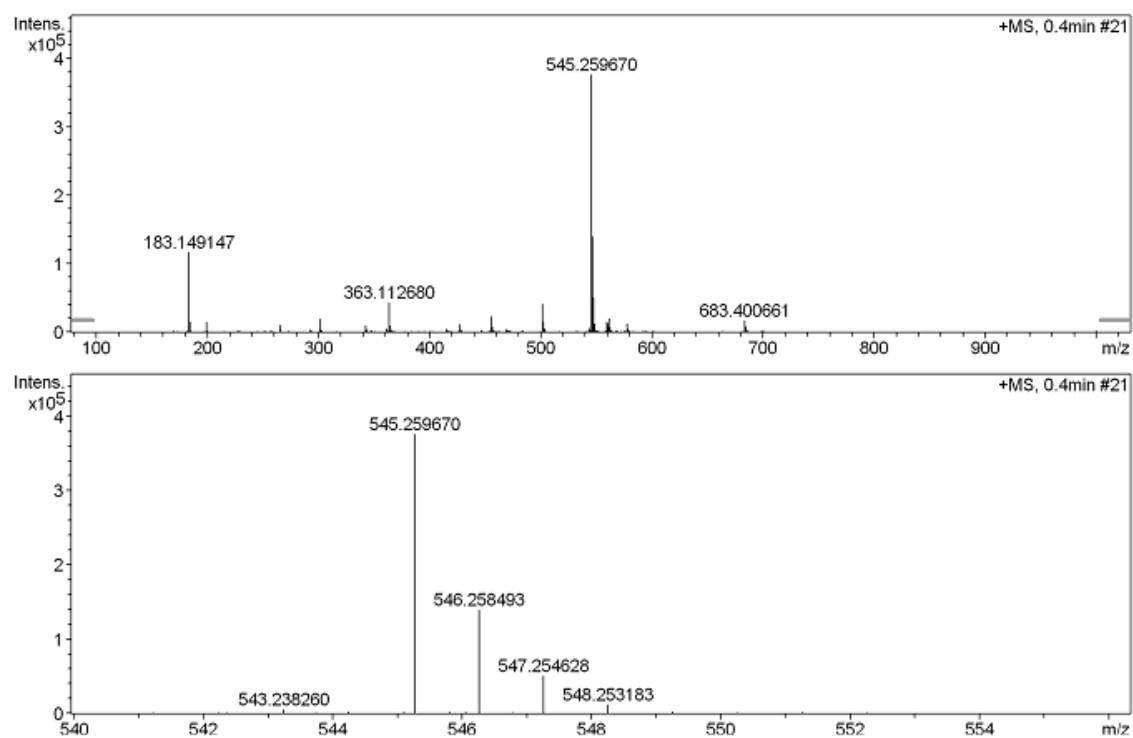
BDH6C13APT CDCl3 opt/swinnmr mayer 31



Verbindung **64**, Massenspektrum

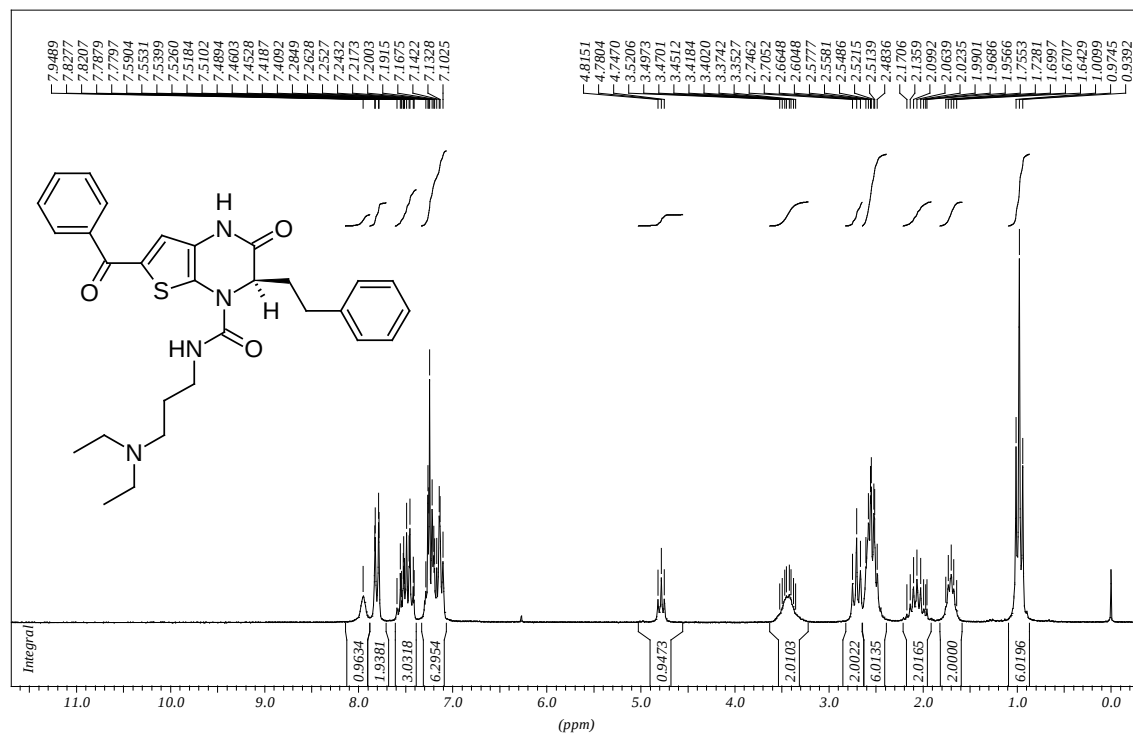


Verbindung **64**, HR-MS

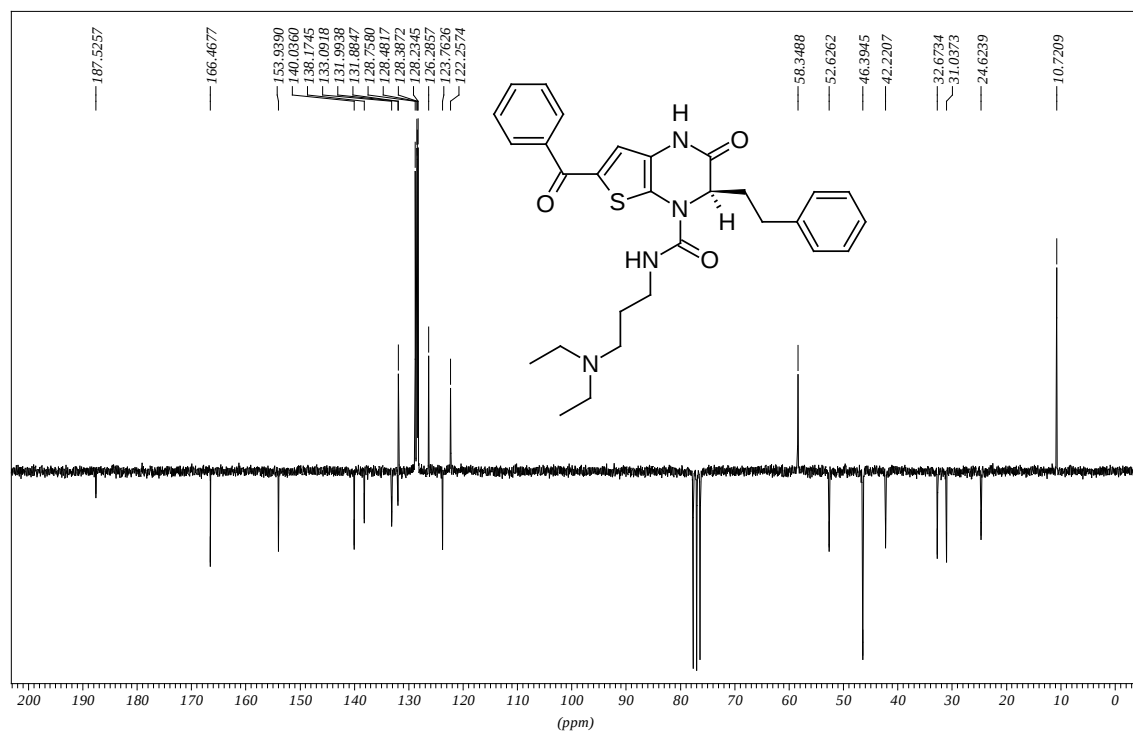


Verbindung **65**, ^1H -NMR, CDCl_3

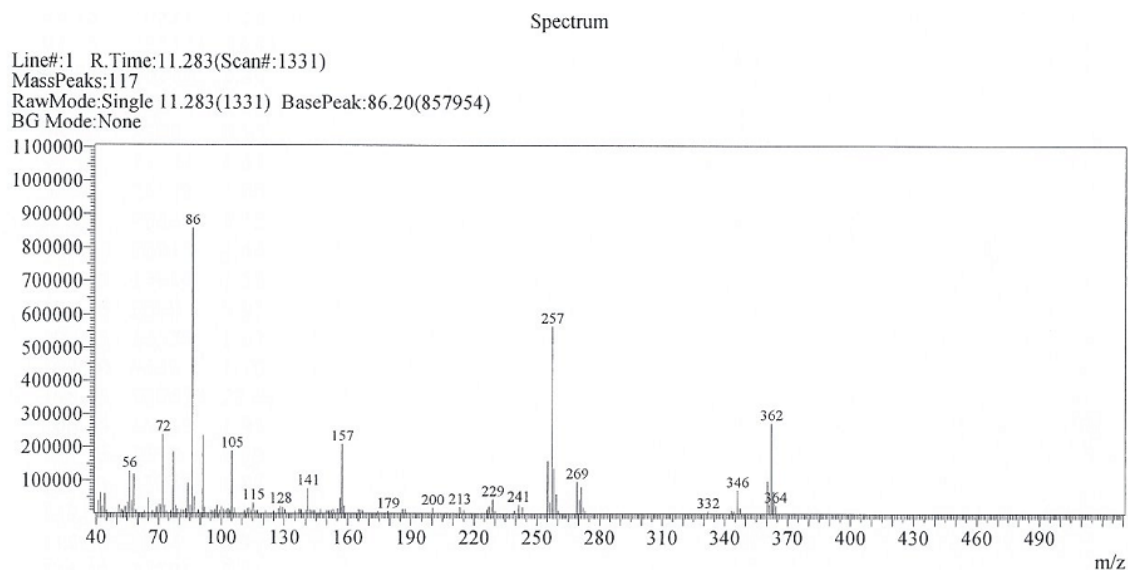
BDH4PROTON CDC13 opt/xwinnmr mayer 36


 Verbindung **65**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

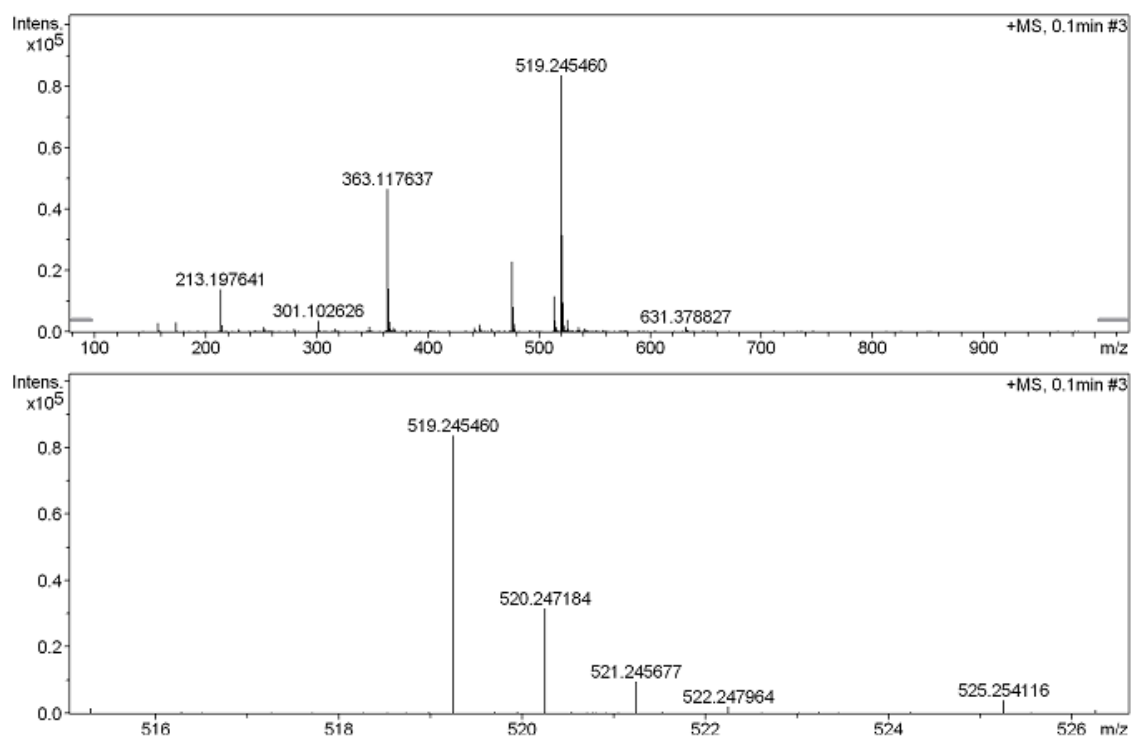
BDH4C13APT CDC13 opt/xwinnmr mayer 36



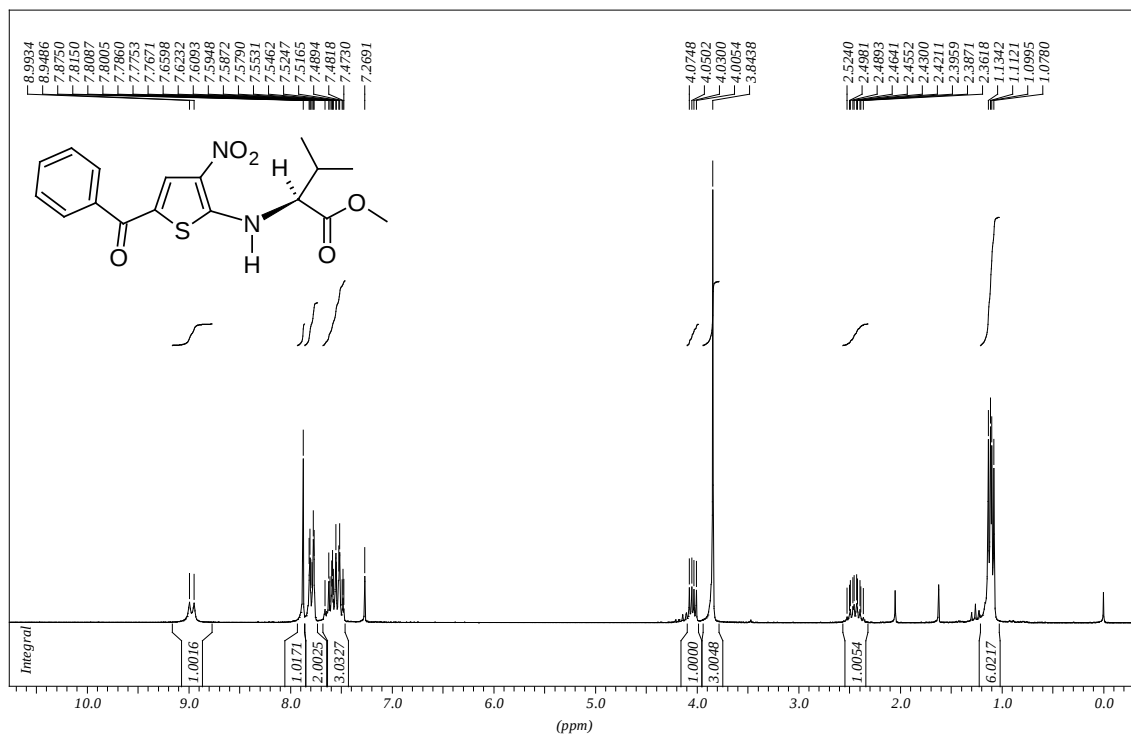
Verbindung **65**, Massenspektrum

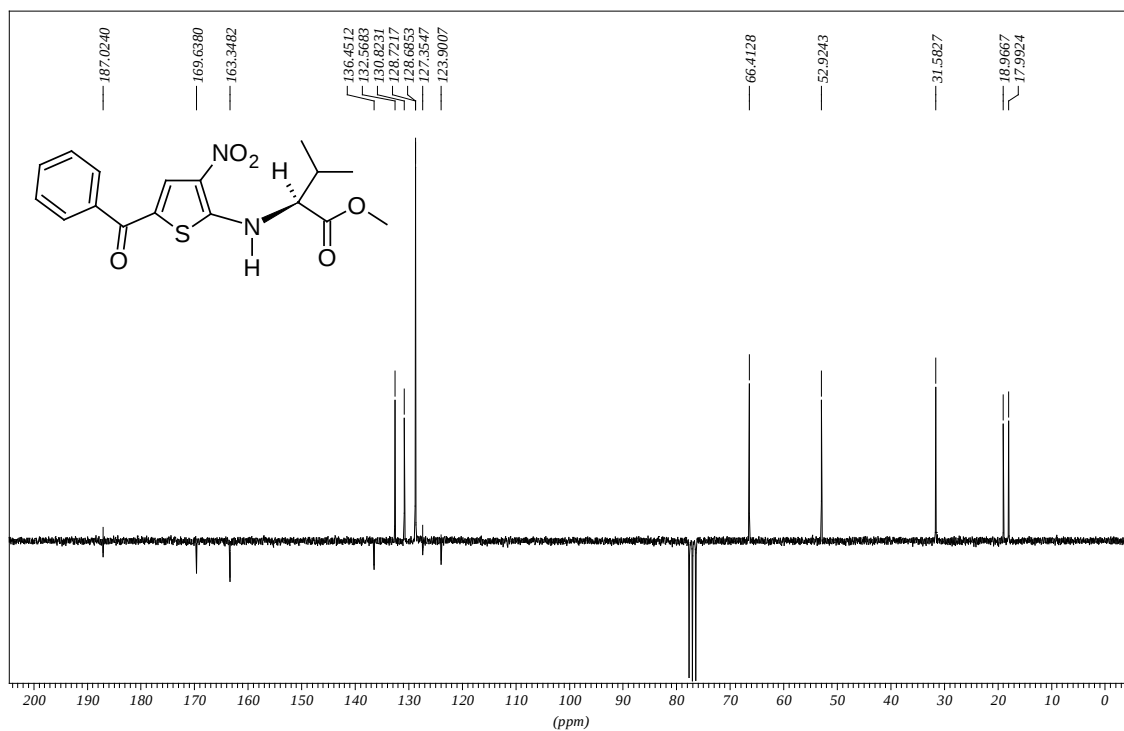


Verbindung **65**, HR-MS

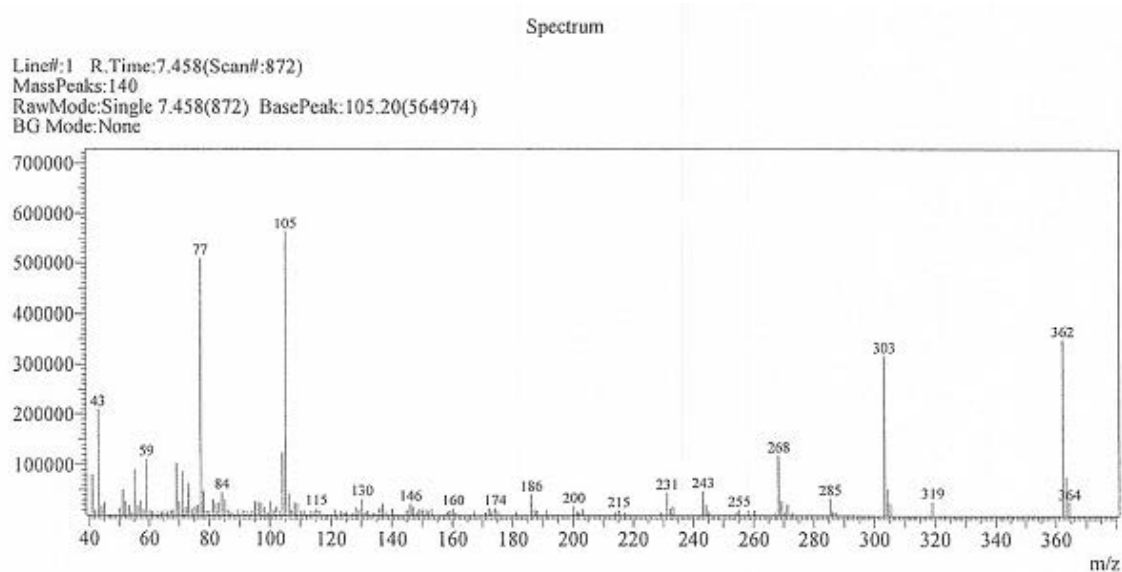


Verbindung **66**, ^1H -NMR, CDCl_3

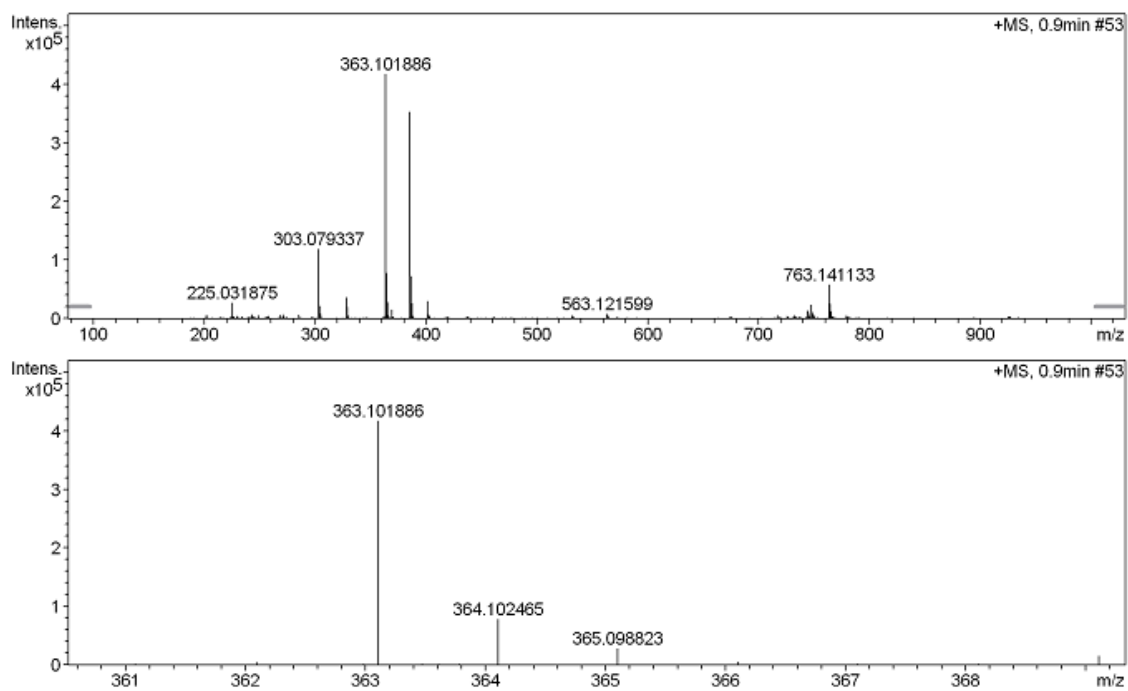
 BLV2 nach SaeulePROTON CDCl_3 opt/xwinnmr meyer-44

 Verbindung **66**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

 BLV2 nach SaeuleC13APT CDCl_3 opt/xwinnmr meyer-49


Verbindung **66**, Massenspektrum

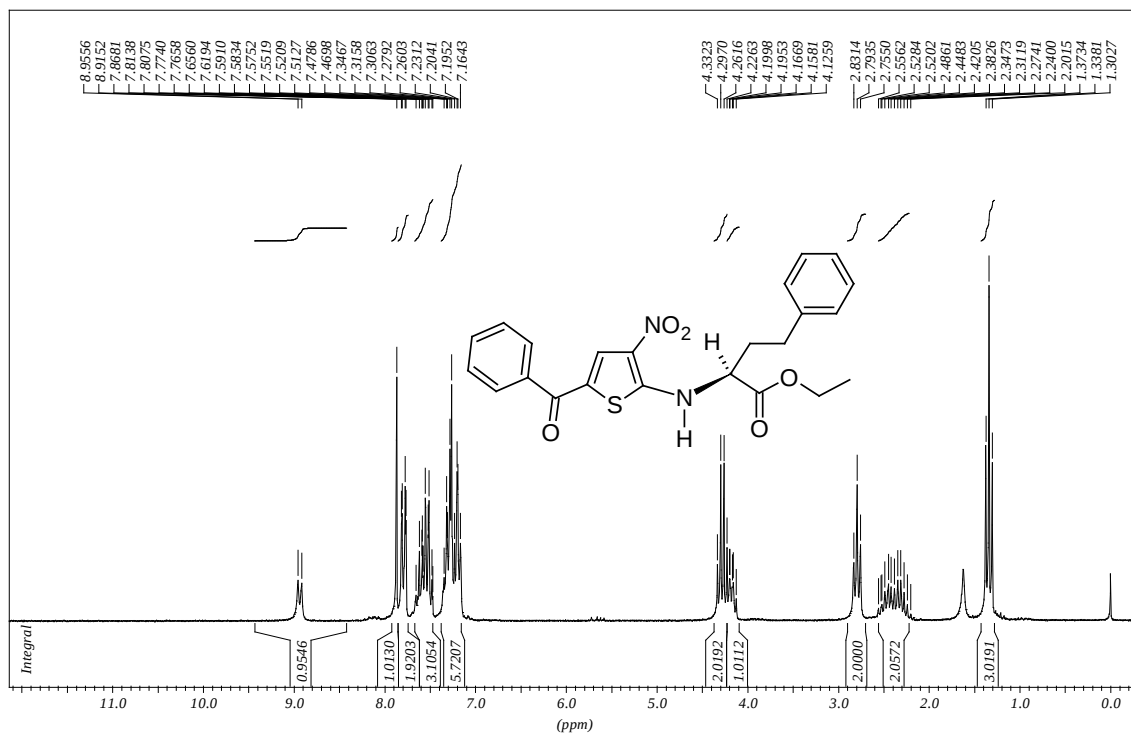


Verbindung **66**, HR-MS

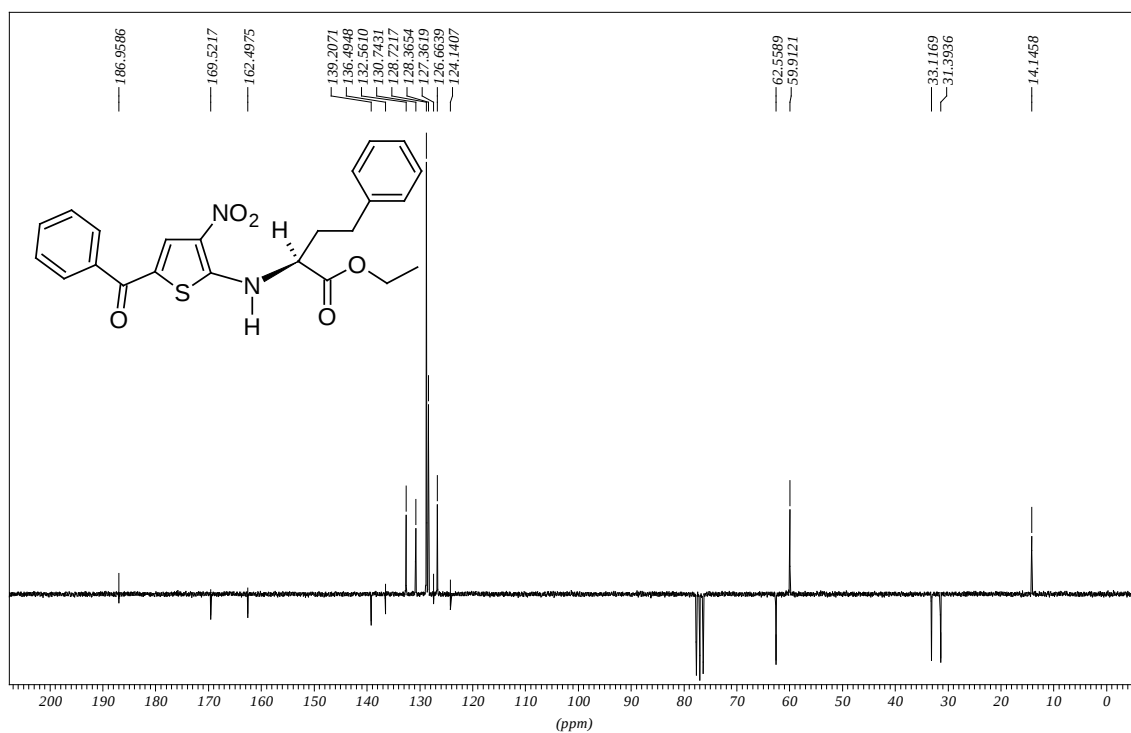


Verbindung **67**, ^1H -NMR, CDCl_3

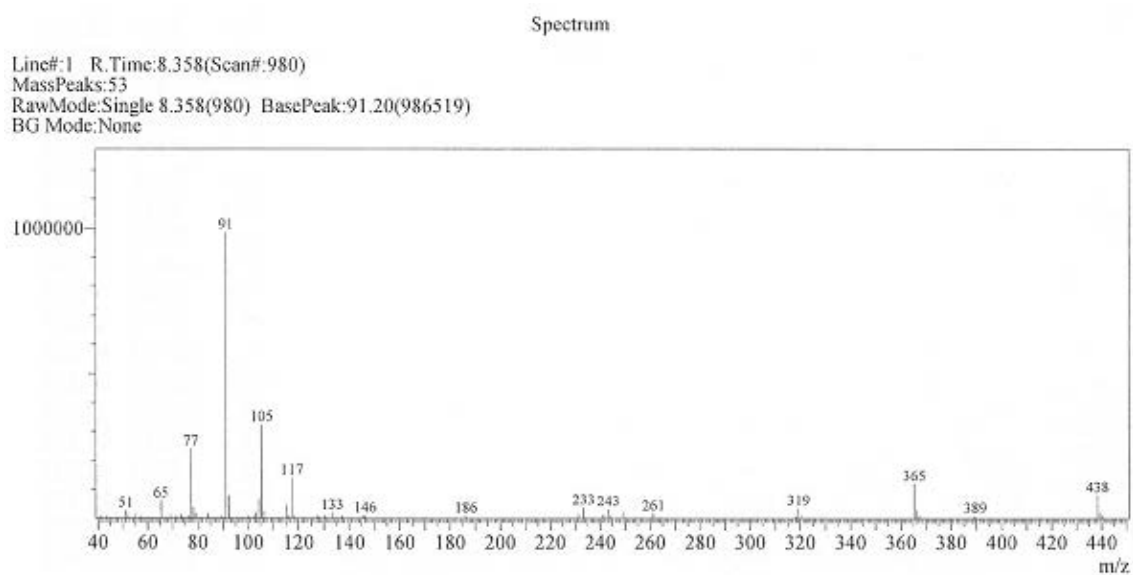
BLH1PROTON CDCl3 opt/swinnmr mayer 40


 Verbindung **67**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

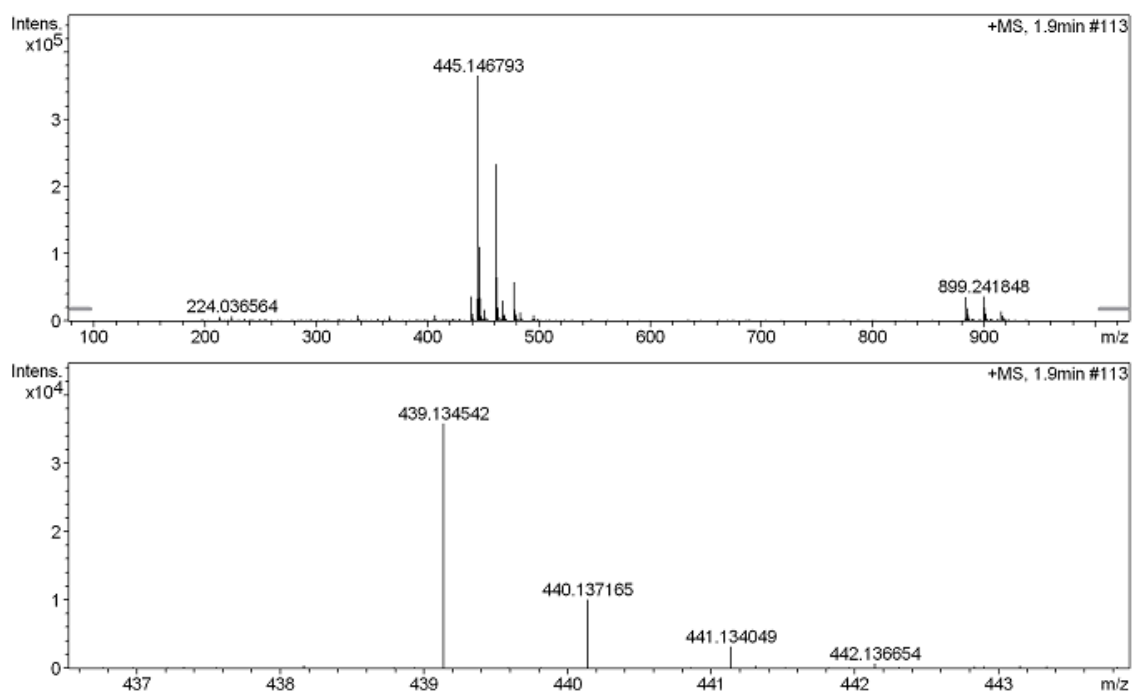
BLH1, 20.09.2013Cl3APT CDCl3 opt/swinnmr mayer 36



Verbindung **67**, Massenspektrum

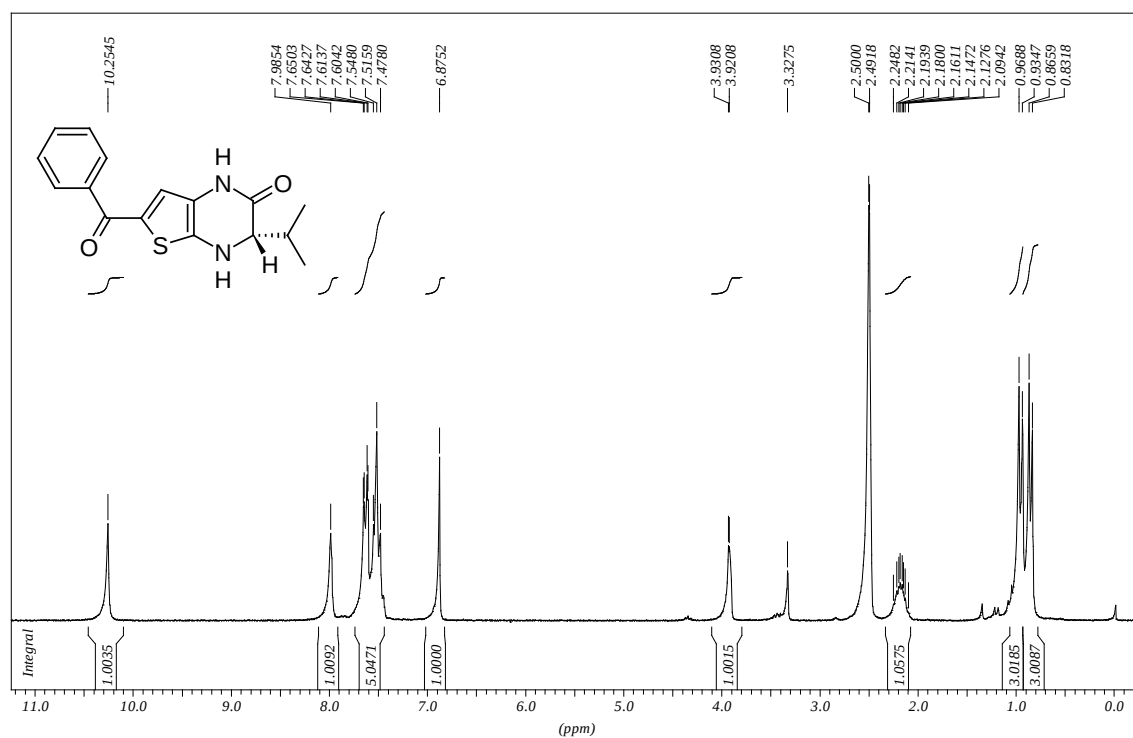


Verbindung **67**, HR-MS

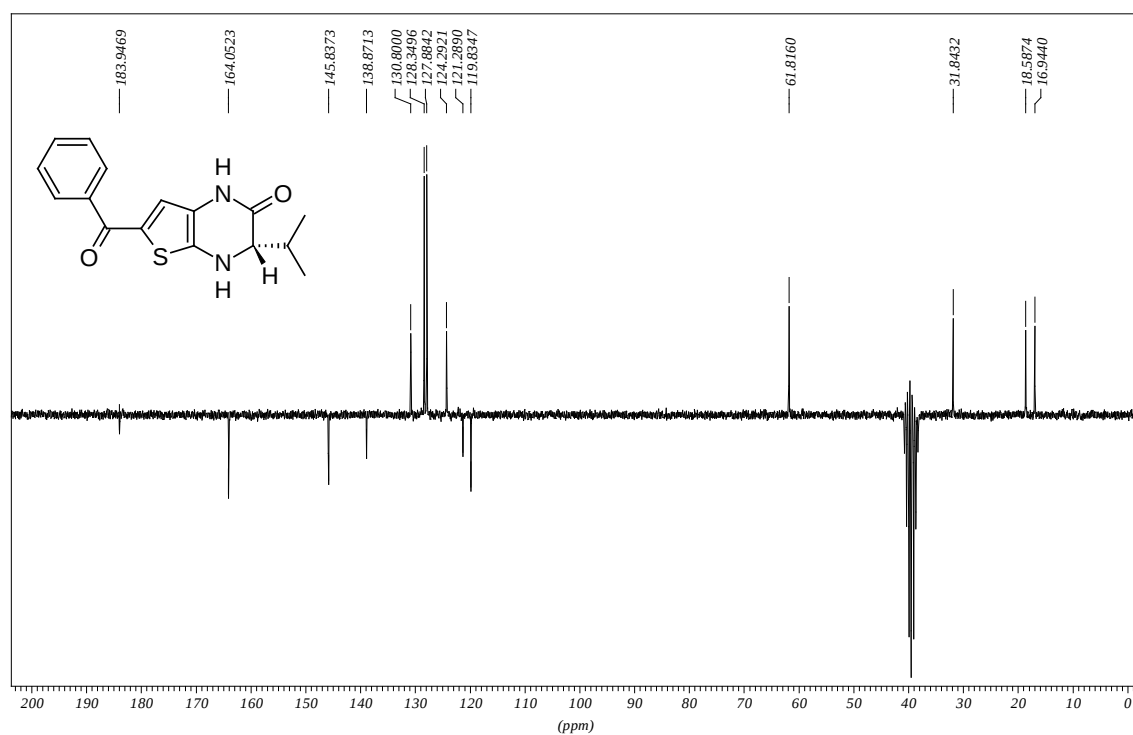


Verbindung **68**, ^1H -NMR, d_6 -DMSO

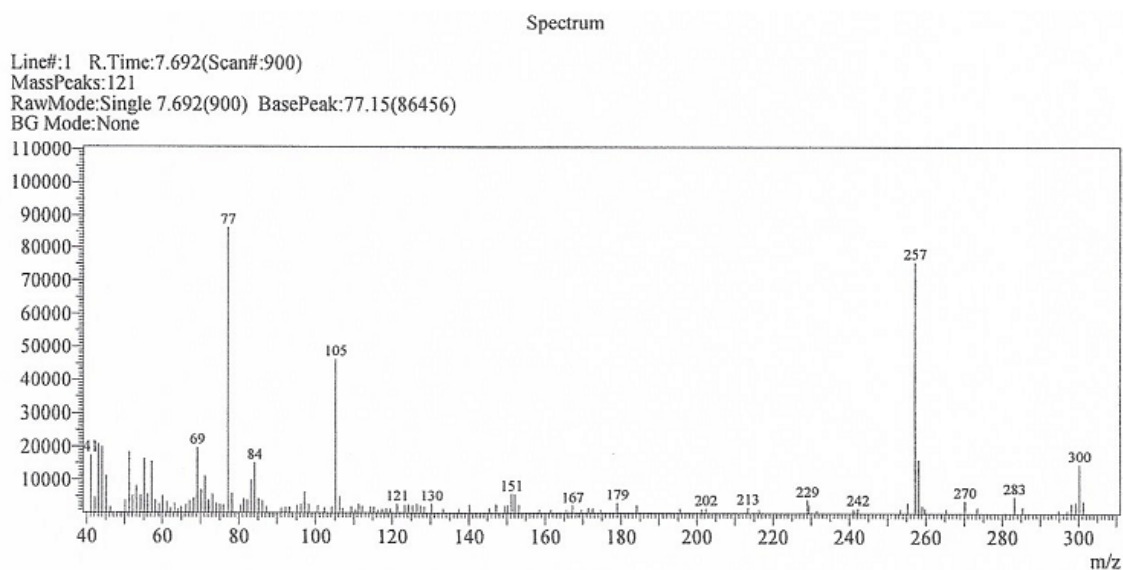
BLV3PROTON DMSO opt/xvinnur meyer 59


Verbindung **68**, ^{13}C -NMR, d_6 -DMSO

BLV3C13APT DMSO opt/xvinnur meyer 59

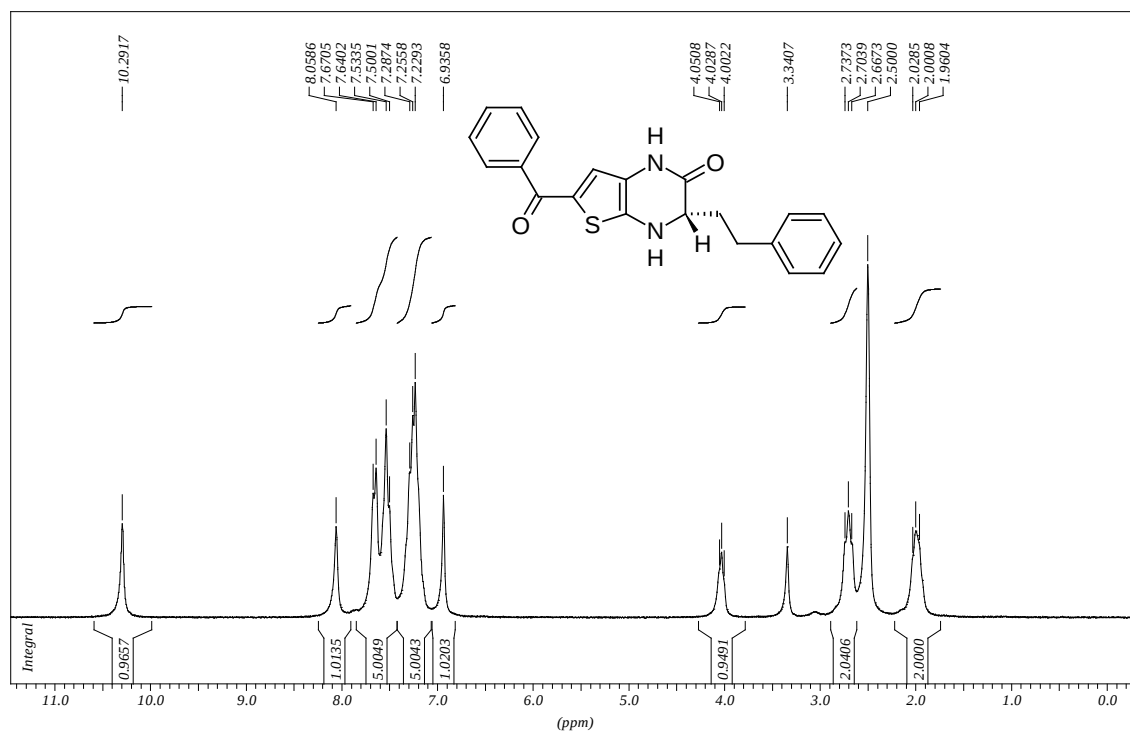


Verbindung **68**, Massenspektrum



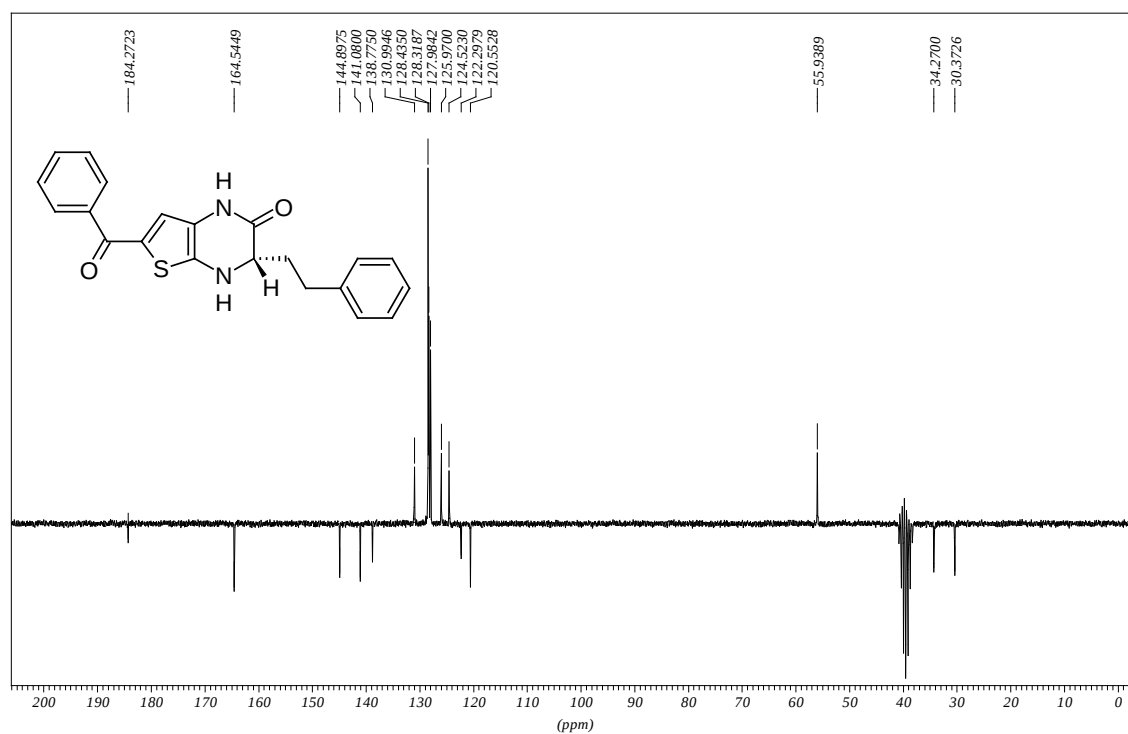
Verbindung **69**, ^1H -NMR, d_6 -DMSO

BLH2PROTON DMSO opt/swinnmr mayer 10



Verbindung **69**, ^{13}C -NMR, d_6 -DMSO

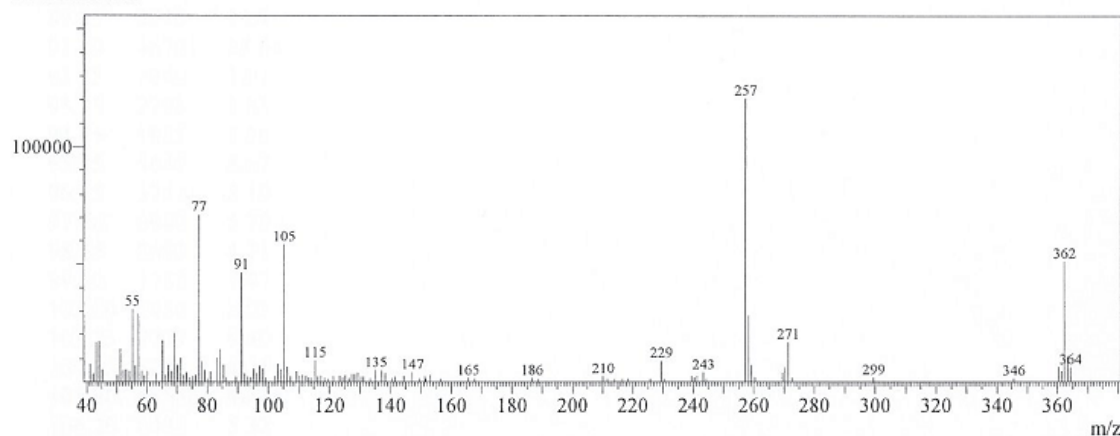
BLH2C13APT DMSO opt/xvimmr mayer 10



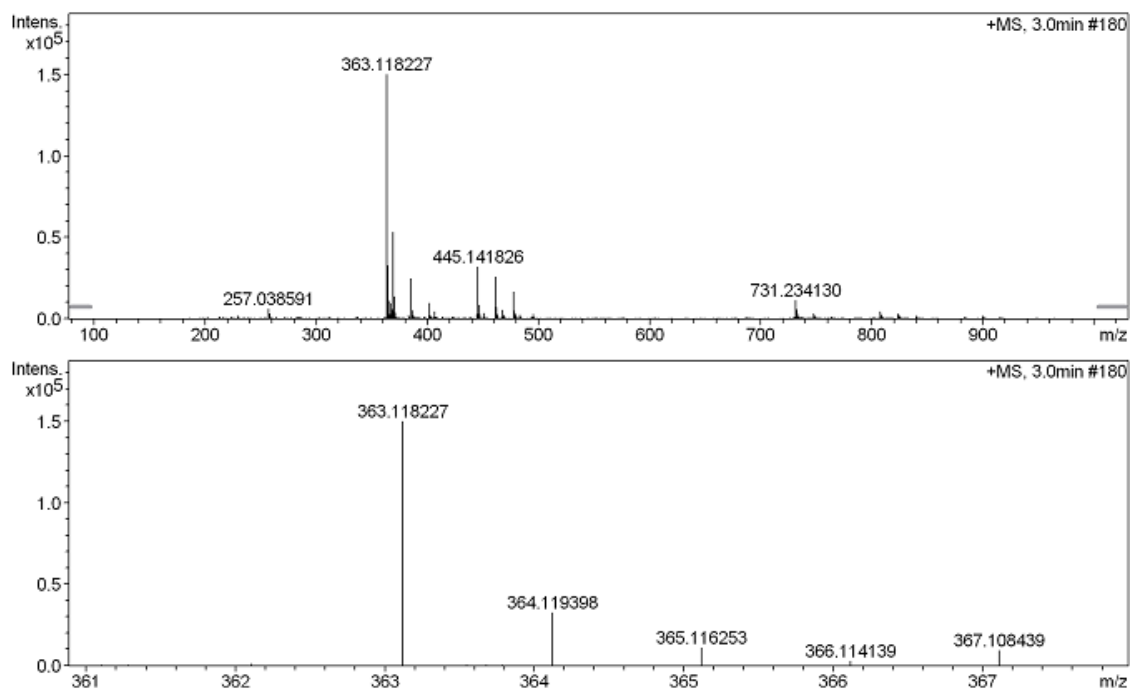
Verbindung **69**, Massenspektrum

Spectrum

Line#:1 R.Time:10.742(Scan#:1266)
MassPeaks:120
RawMode:Single 10.742(1266) BasePeak:257.20(120847)
BG Mode:None

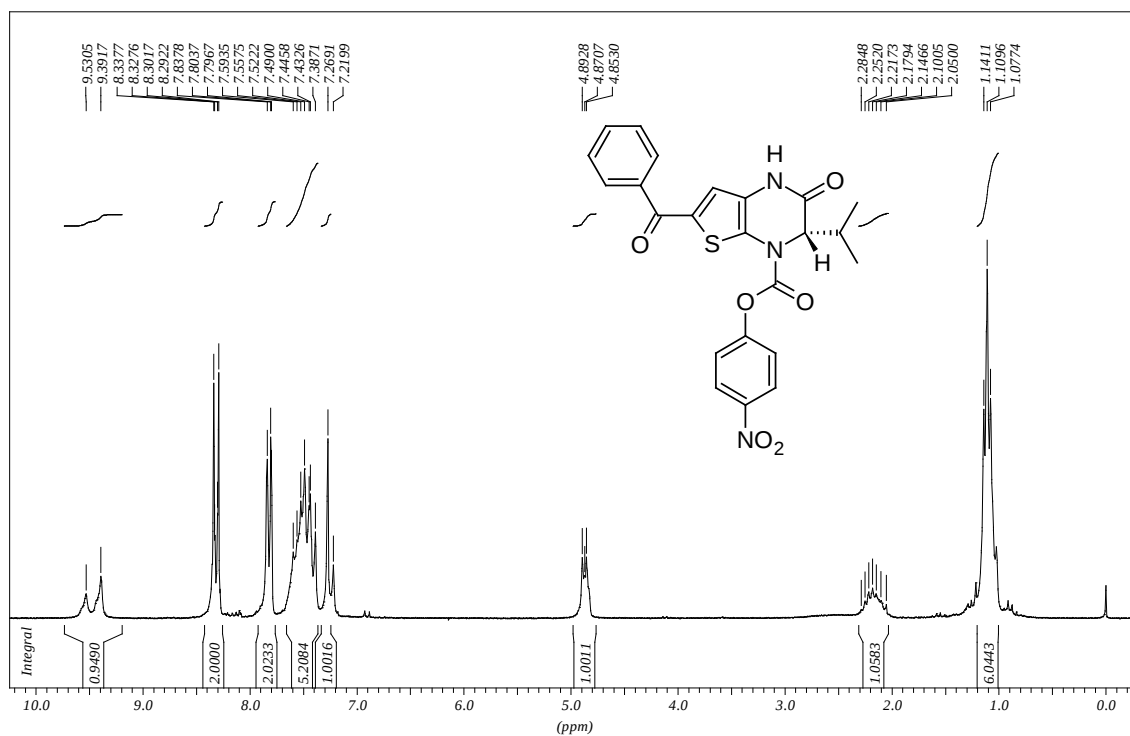


Verbindung **69**, HR-MS

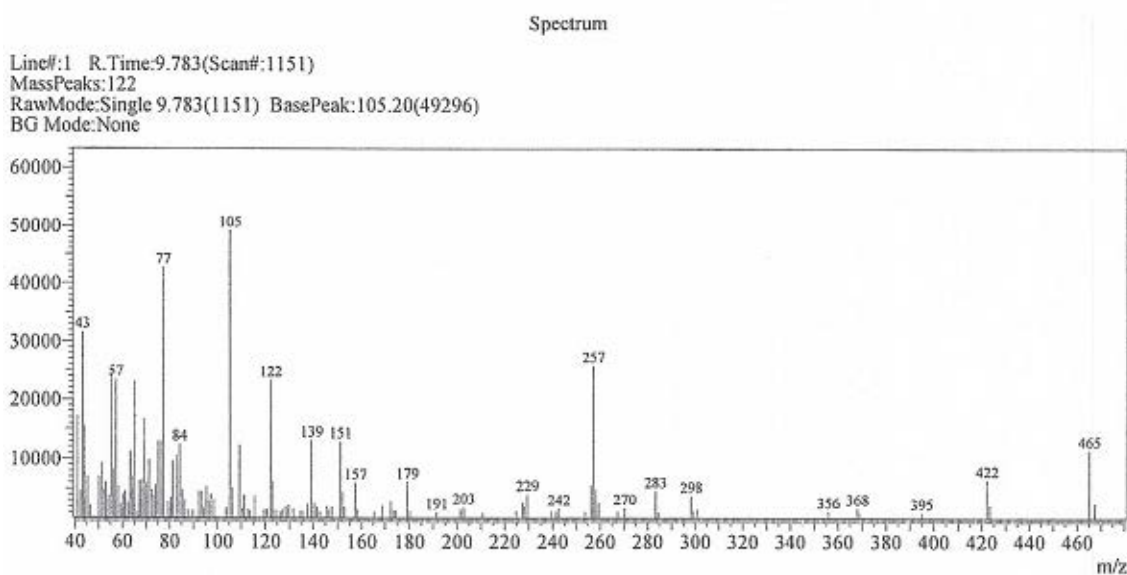


Verbindung **70**, ^1H -NMR, CDCl_3

BLV4PROTON CDCl3 opt/svinnmr-mayer-25

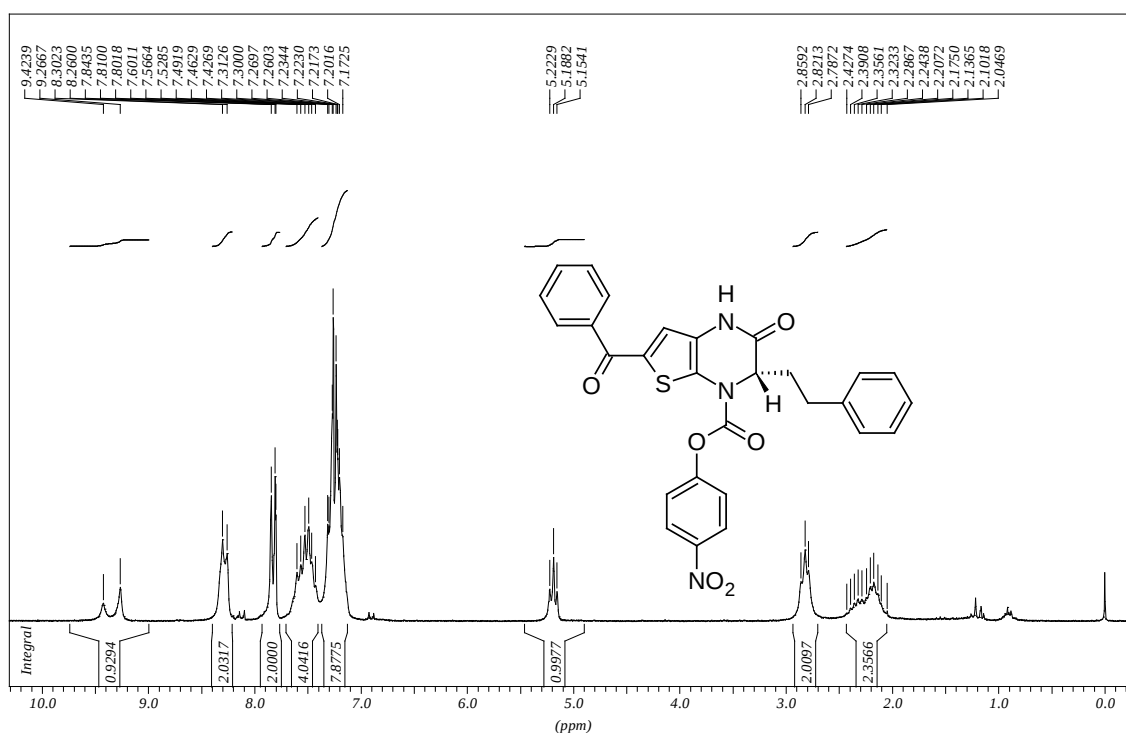


Verbindung **70**, Massenspektrum

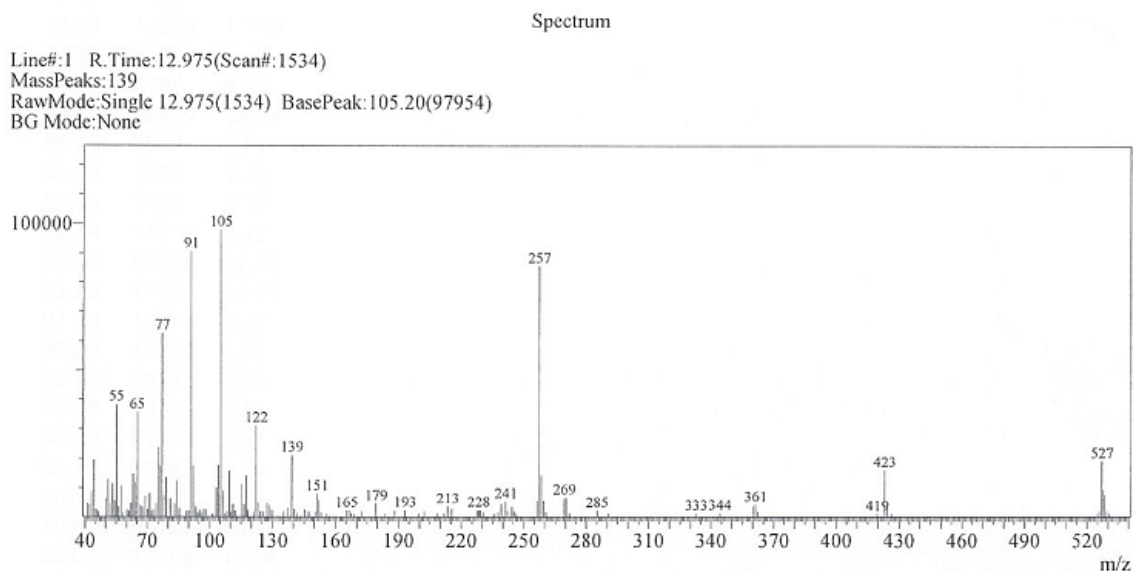


Verbindung **71**, ^1H -NMR, CDCl_3

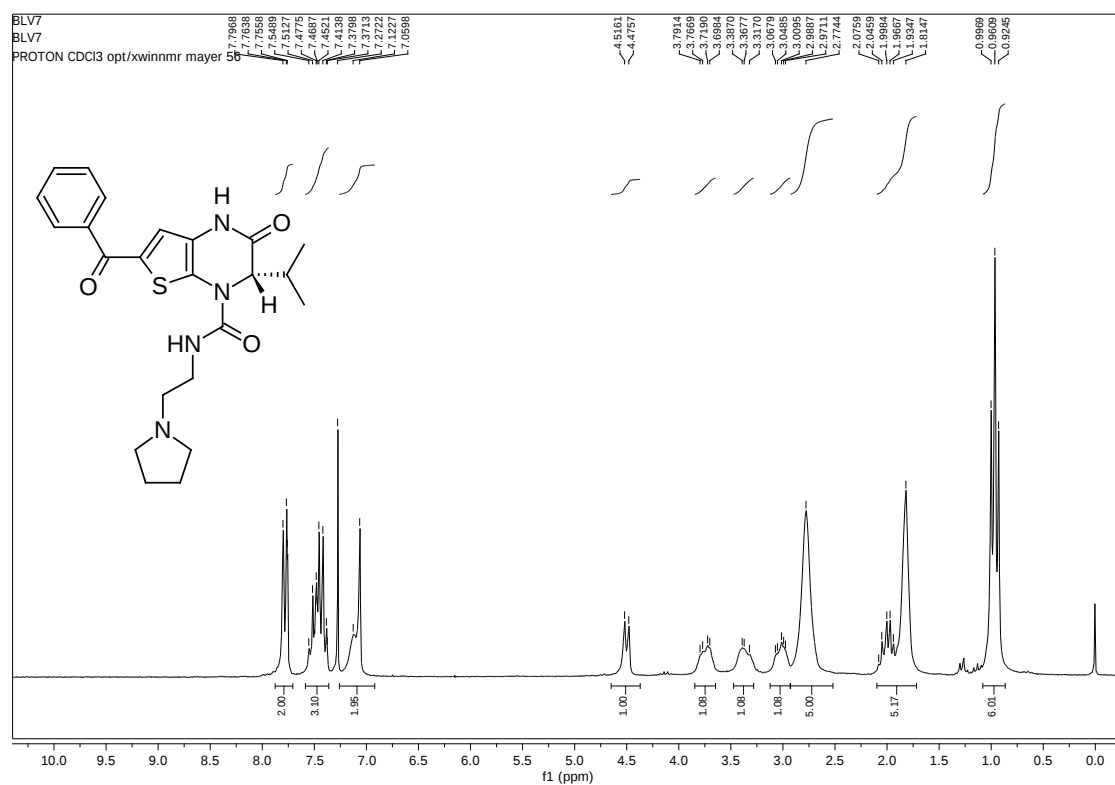
BLH3PROTON CDCl3 opt/swinnmr mayer 39



Verbindung **71**, Massenspektrum

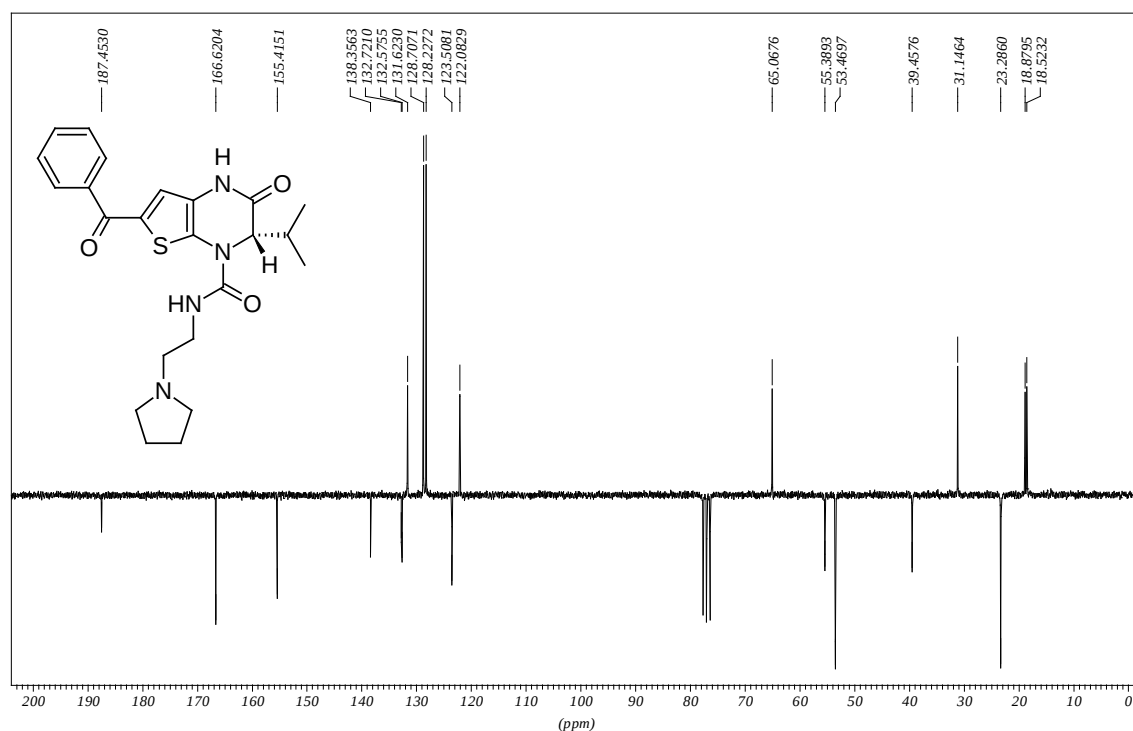


Verbindung **72**, ^1H -NMR, CDCl_3



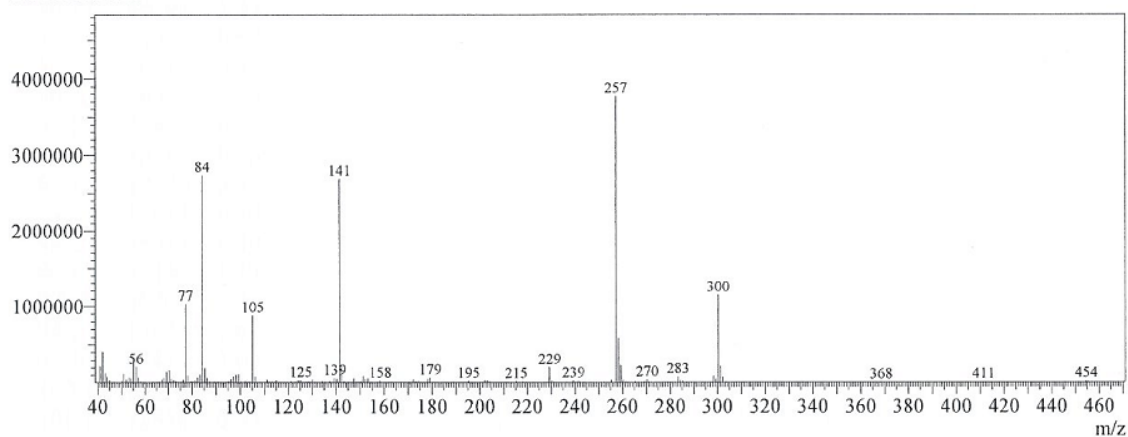
Verbindung **72**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

BLV7C13APT CDCl3 opt/xsinnmr mayer 25

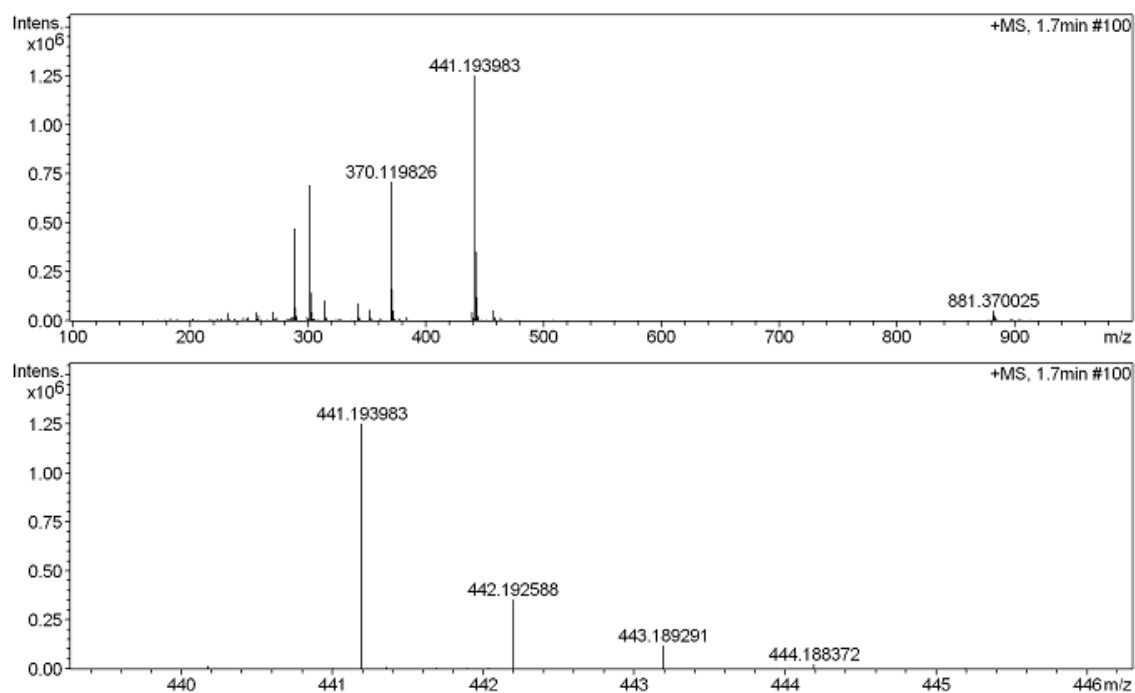

Verbindung **72**, Massenspektrum

Spectrum

Line#:1 R.Time:10.083(Scan#:1187)
MassPeaks:176
RawMode:Single 10.083(1187) BasePeak:257.20(3774496)
BG Mode:None

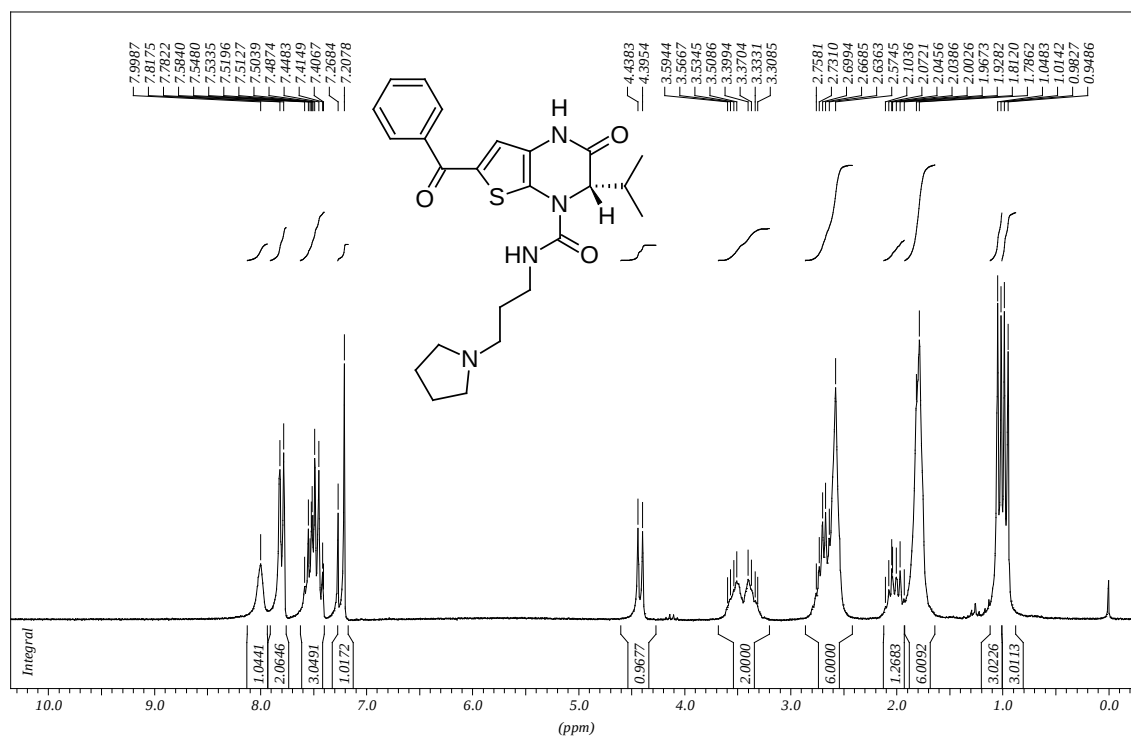


Verbindung **72**, HR-MS



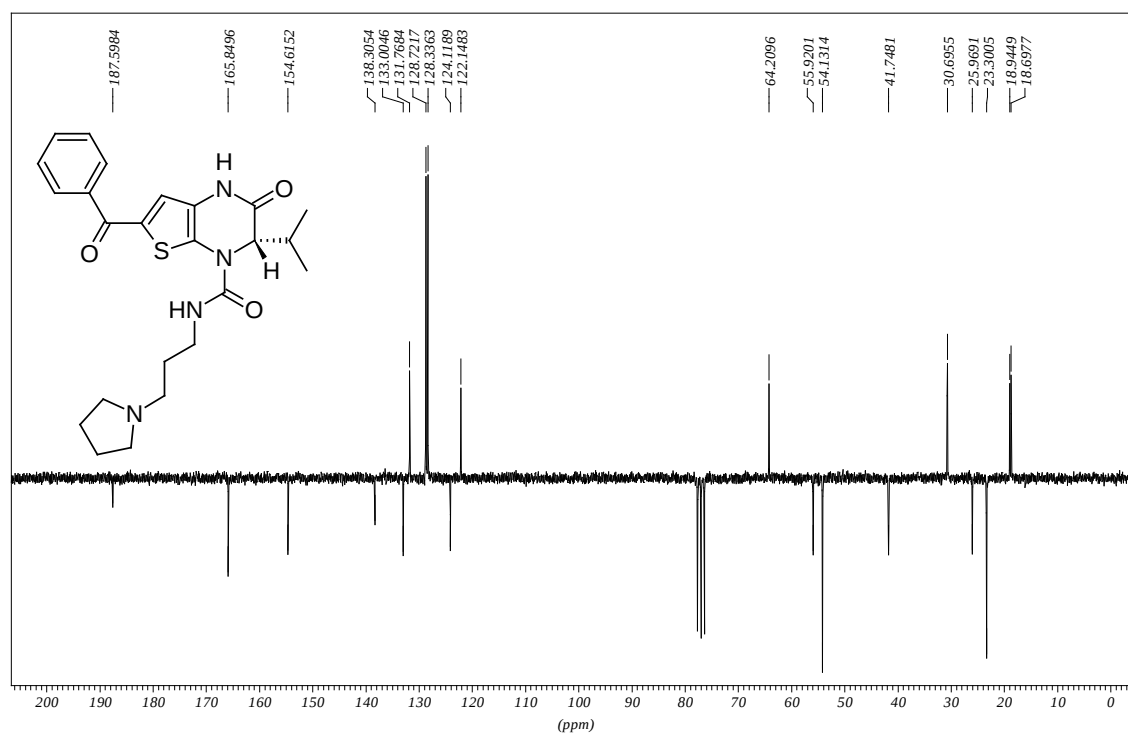
Verbindung **73**, ^1H -NMR, CDCl_3

BLV12PROTON CDCl_3 opt/swinnmr mayer 35



Verbindung **73**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

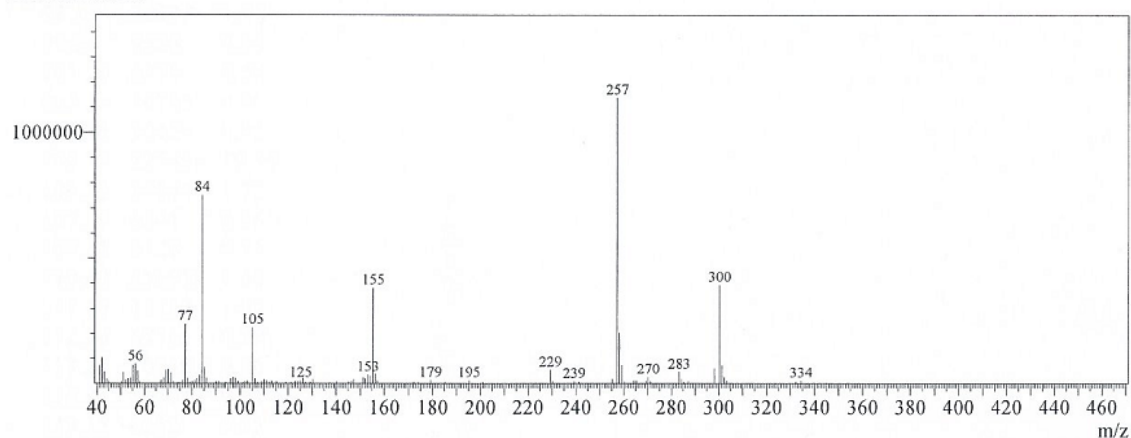
BLV12C13APT CDCl3 opt/svinnur meyer 35

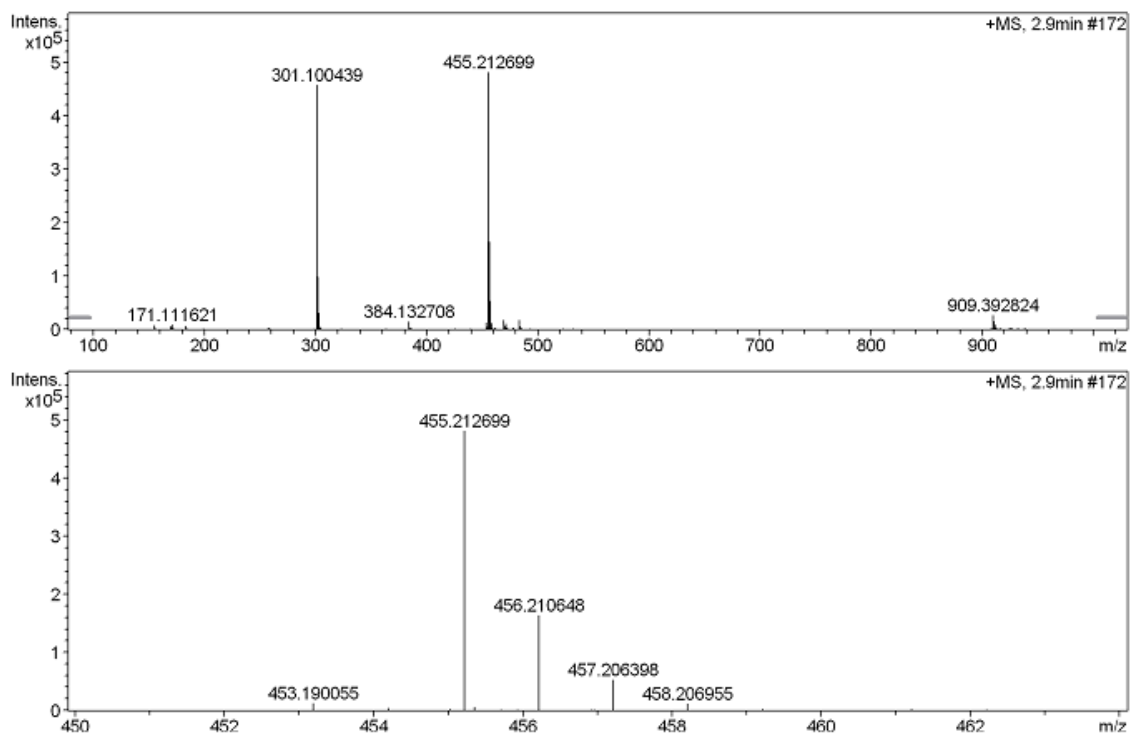


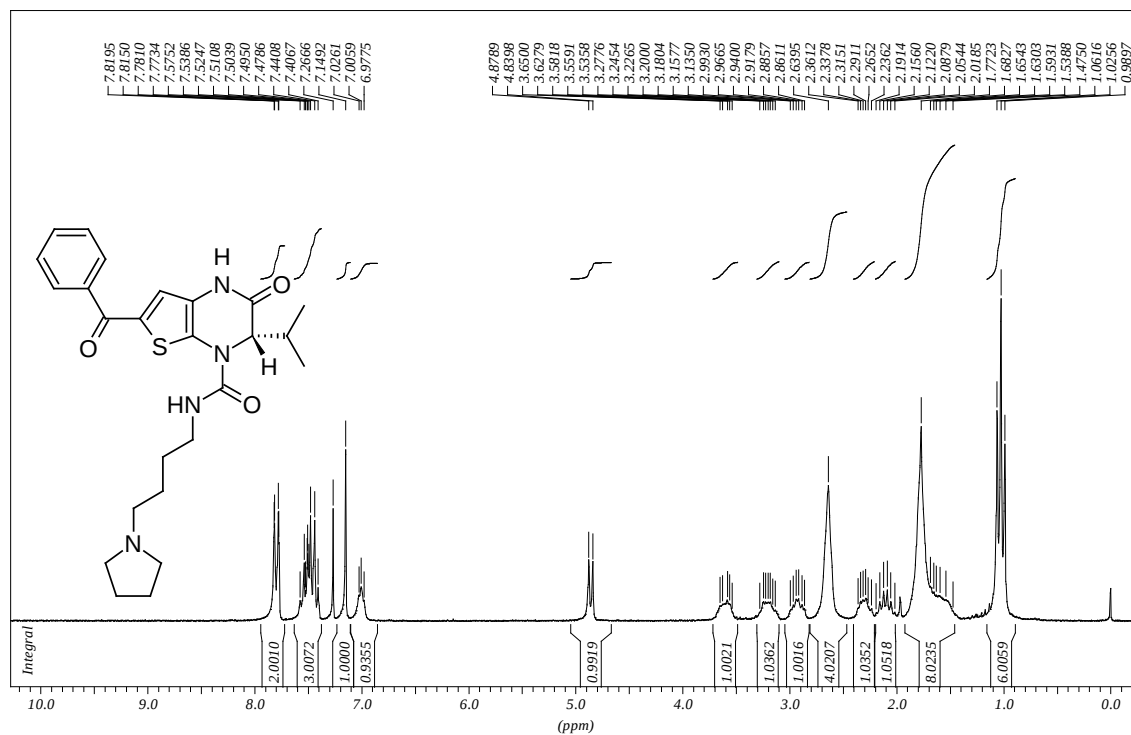
Verbindung **73**, Massenspektrum

Spectrum

Line#:1 R.Time:9.683(Scan#:1139)
 MassPeaks:104
 RawMode:Single 9.683(1139) BasePeak:257.20(1138929)
 BG Mode:None

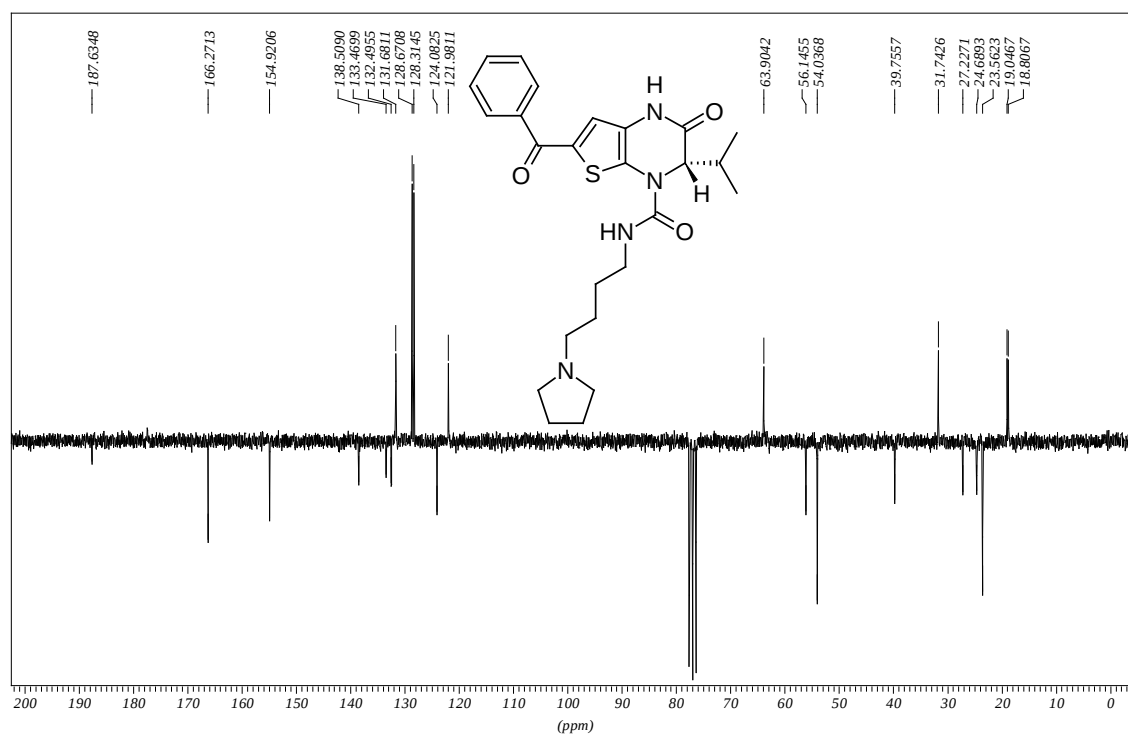


Verbindung **73**, HR-MS

 Verbindung **74**, ^1H -NMR, CDCl_3

 BLV13PROTON CDCl_3 opt/ovimmr mayer 49


Verbindung **74**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

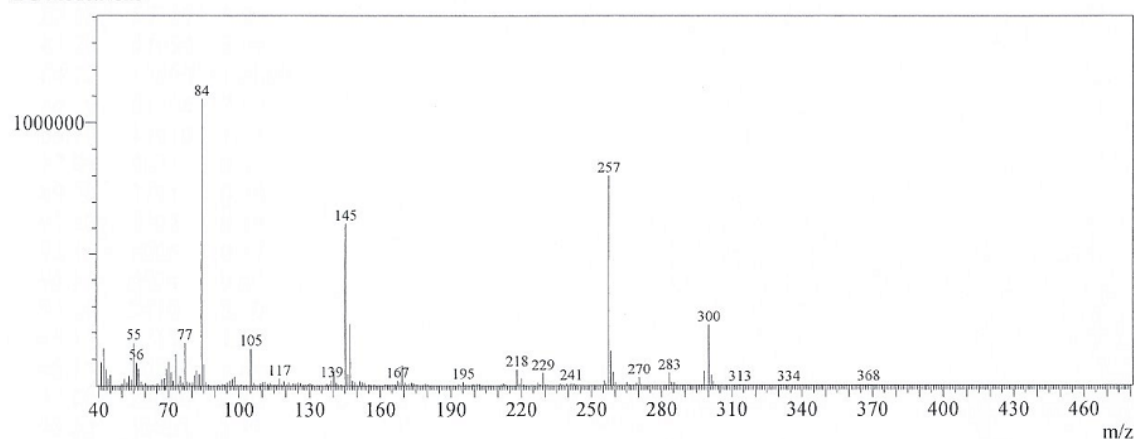
BLV13C13APT CDCl3 opt/sovinmr mayer 45



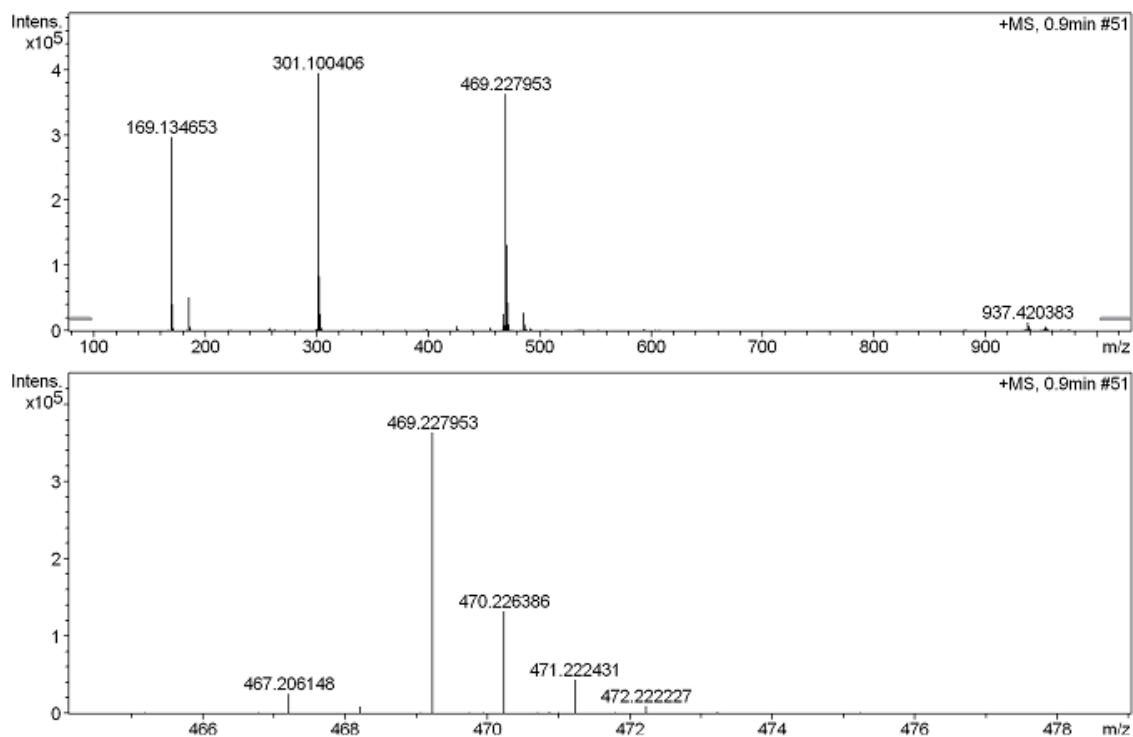
Verbindung **74**, Massenspektrum

Spectrum

Line#:1 R.Time:8.942(Scan#:1050)
MassPeaks:178
RawMode:Single 8.942(1050) BasePeak:84.20(1089035)
BG Mode:None

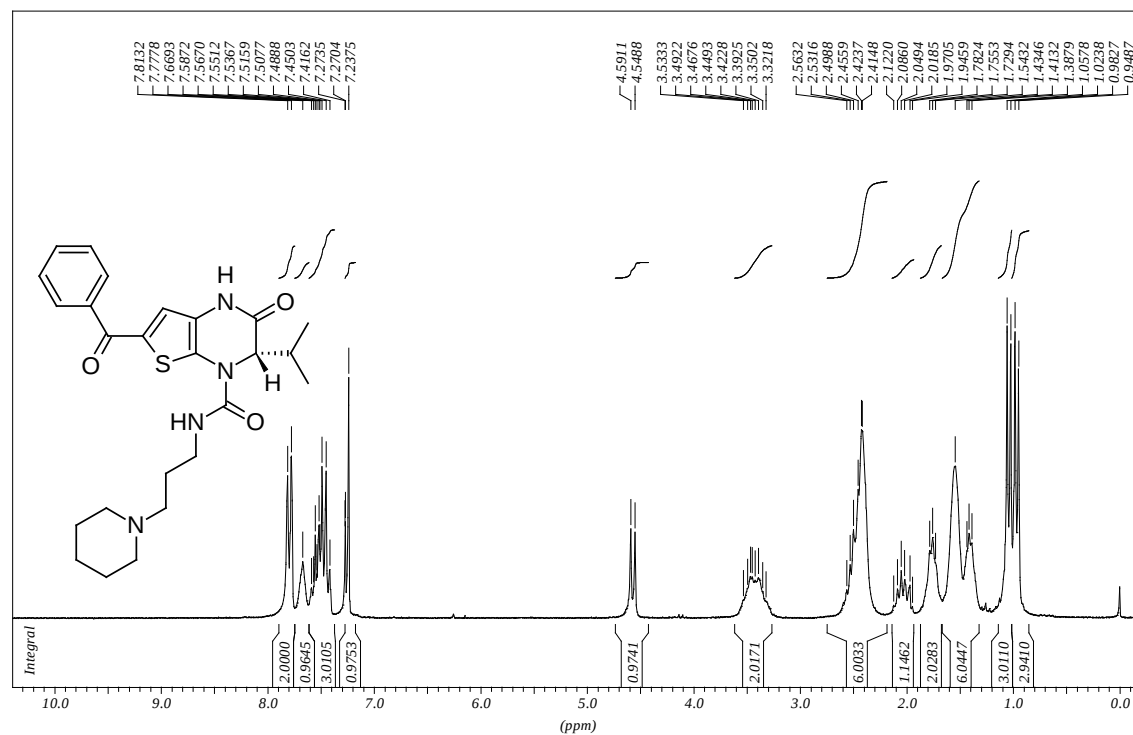


Verbindung **74**, HR-MS



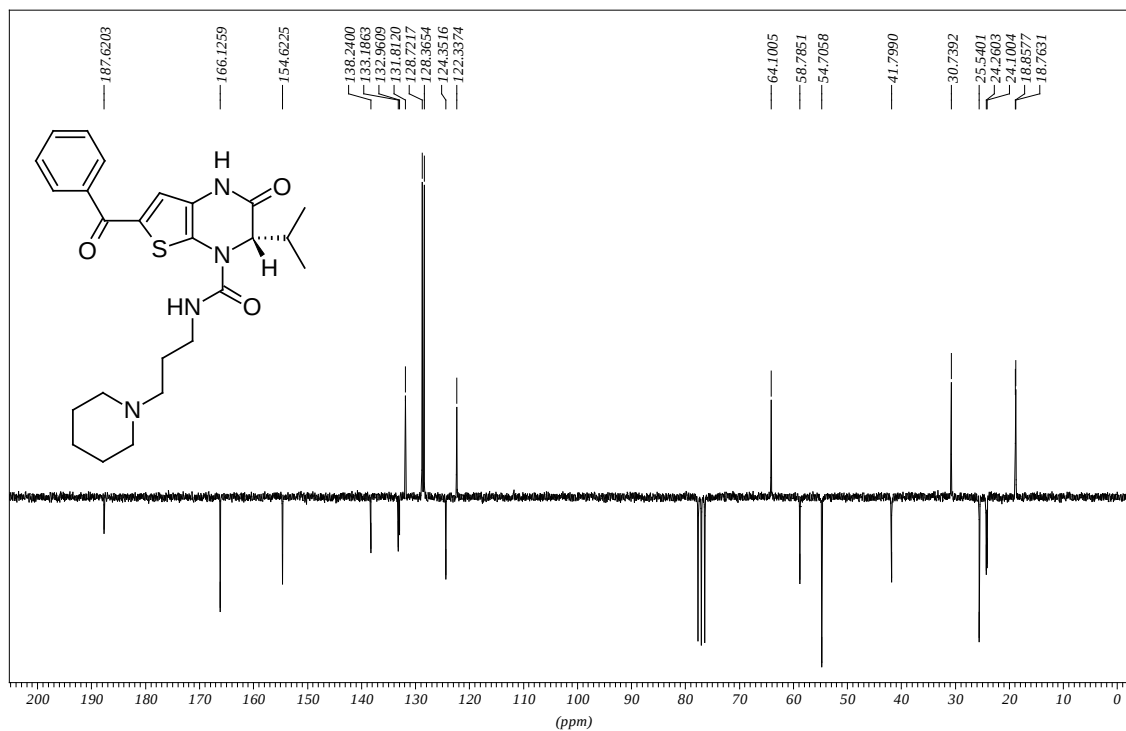
Verbindung **76**, ^1H -NMR, CDCl_3

BLV10PROTON CDCl_3 opt/ovimmr mayer 33



Verbindung **76**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

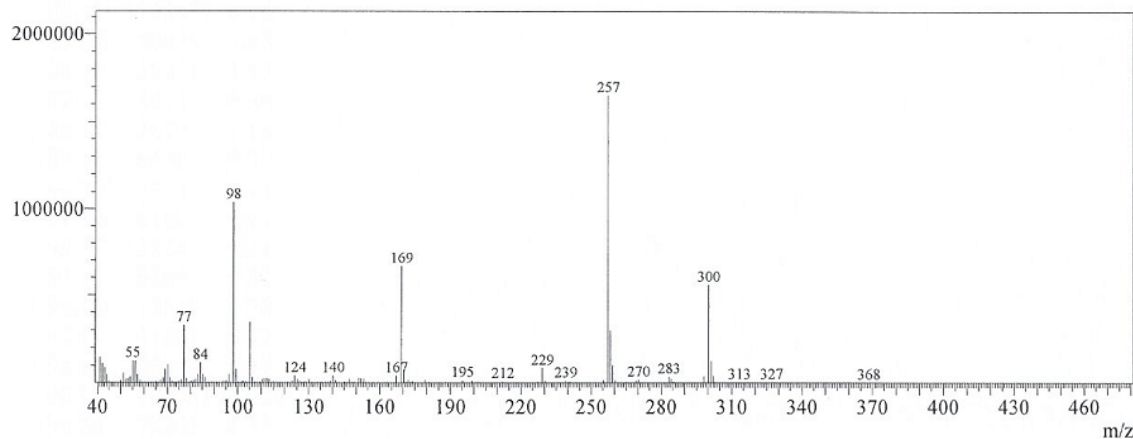
BLV10C13APT CDCl3 opt/svinnur meyer 33



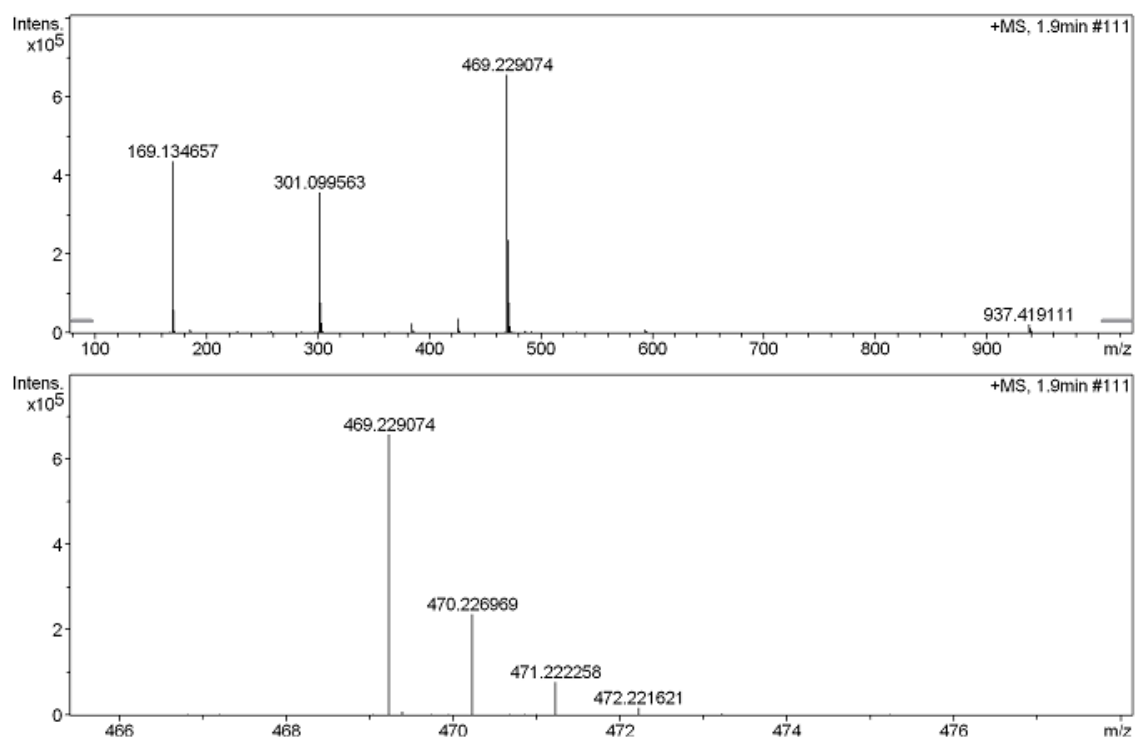
Verbindung **76**, Massenspektrum

Spectrum

Line#:1 R.Time:10.675(Scan#:1258)
MassPeaks:196
RawMode:Single 10.675(1258) BasePeak:257.15(1653686)
BG Mode:None

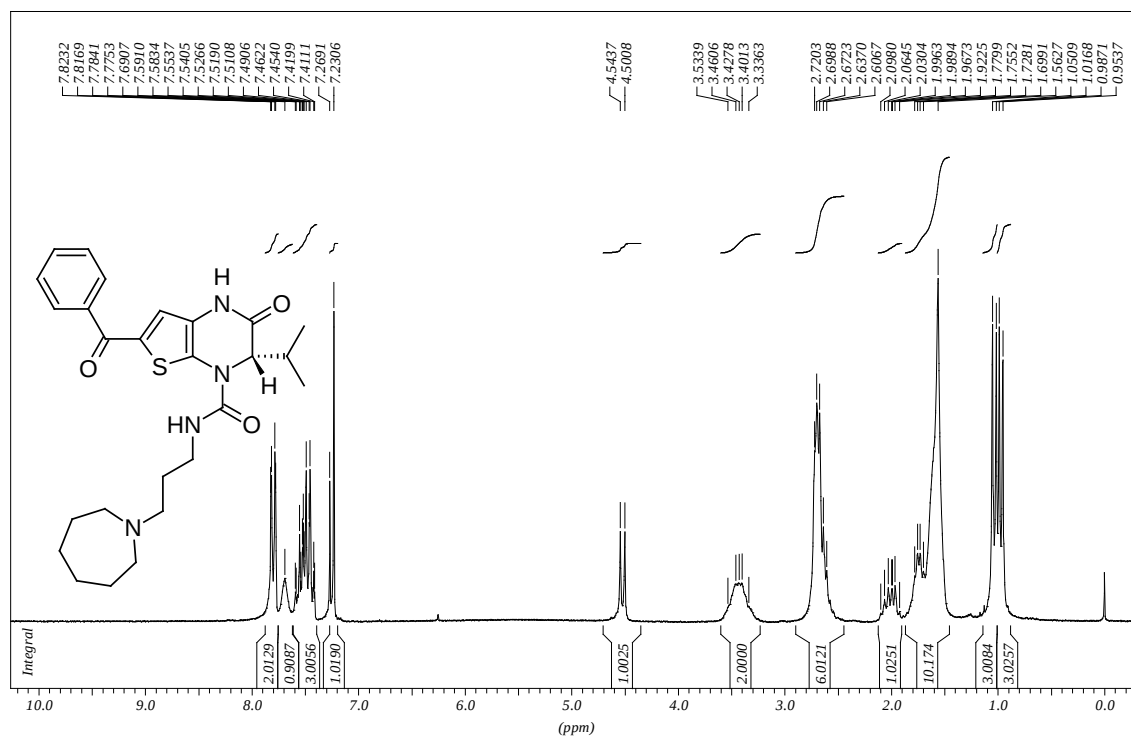


Verbindung **76**, HR-MS



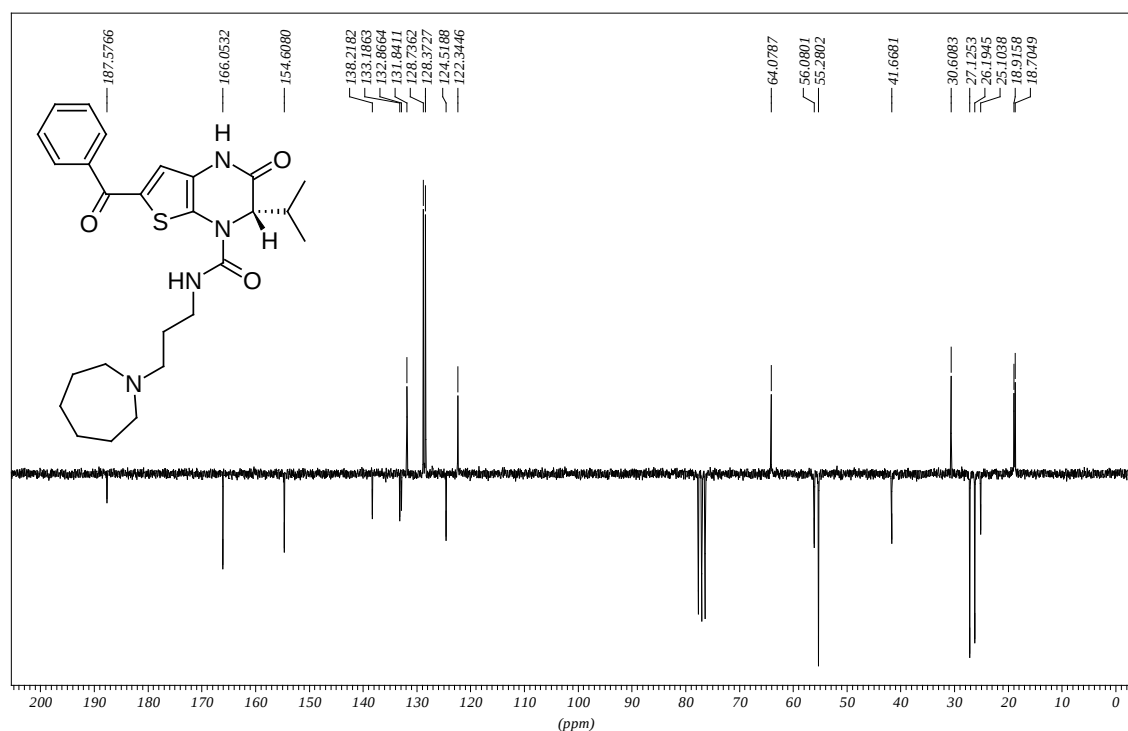
Verbindung **77**, ^1H -NMR, CDCl_3

BLV11PROTON CDCl3 opt/xwinmr mayer 34



Verbindung **77**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

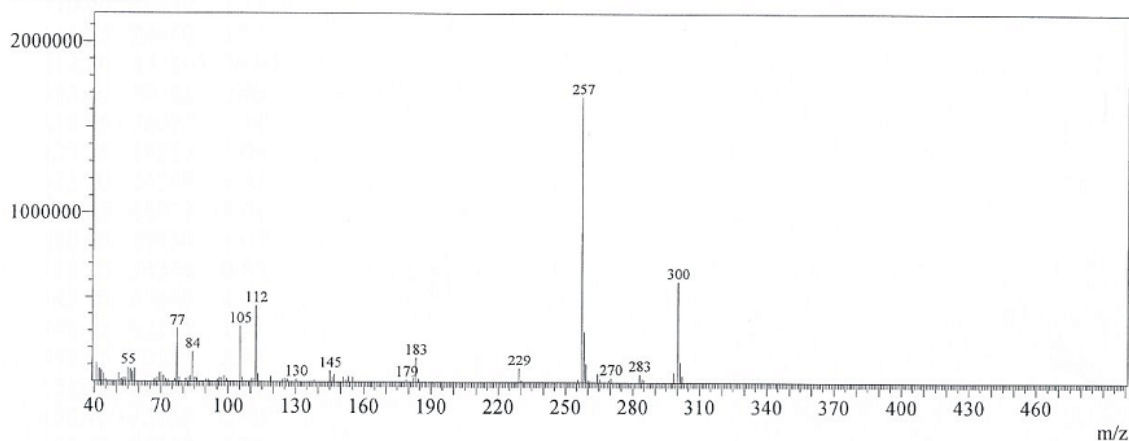
BLV11C13APT CDCl3 opt/sovinur mayer 34



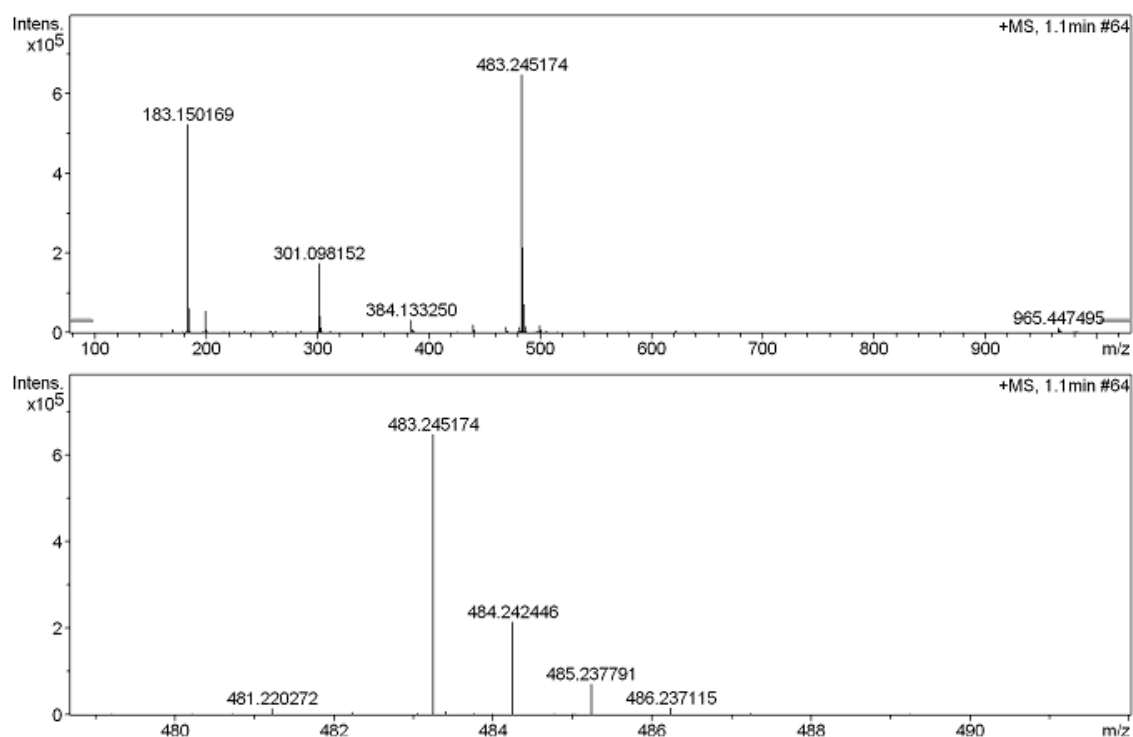
Verbindung **77**, Massenspektrum

Spectrum

Line#:1 R.Time:10.342(Scan#:1218)
 MassPeaks:77
 RawMode:Single 10.342(1218) BasePeak:257.20(1683448)
 BG Mode:None

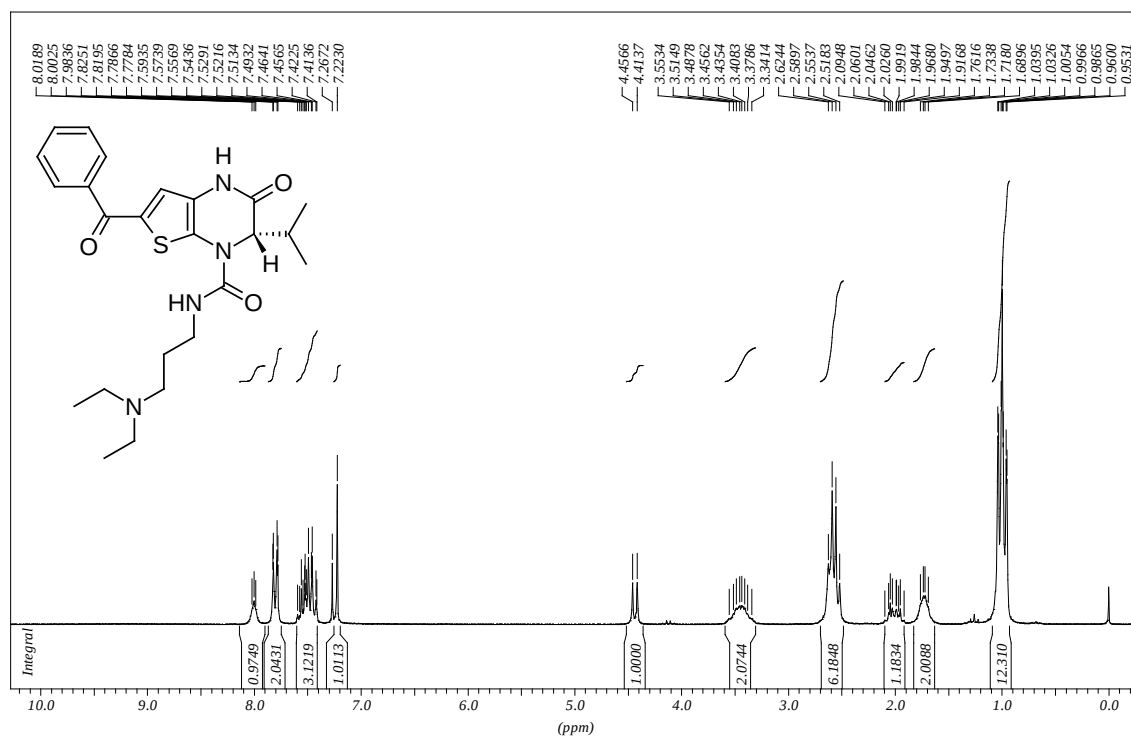


Verbindung **77**, HR-MS



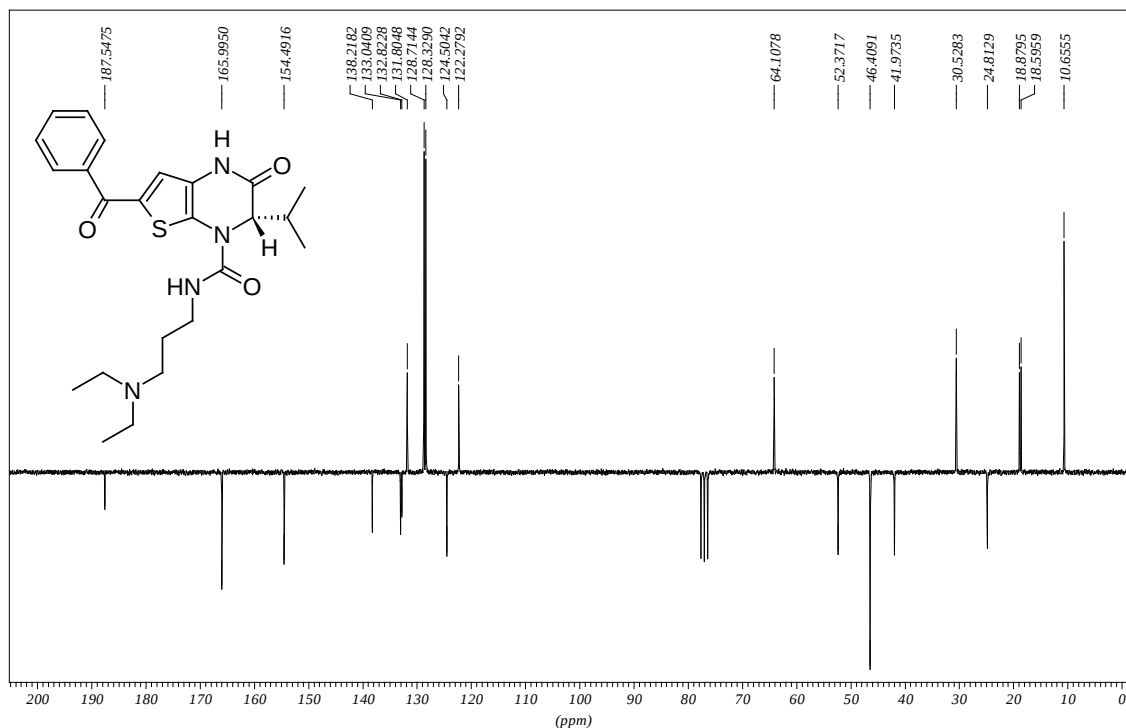
Verbindung **78**, ^1H -NMR, CDCl_3

BLV3PROTON CDCl3 opt/swinnmr mayer 10



Verbindung **78**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

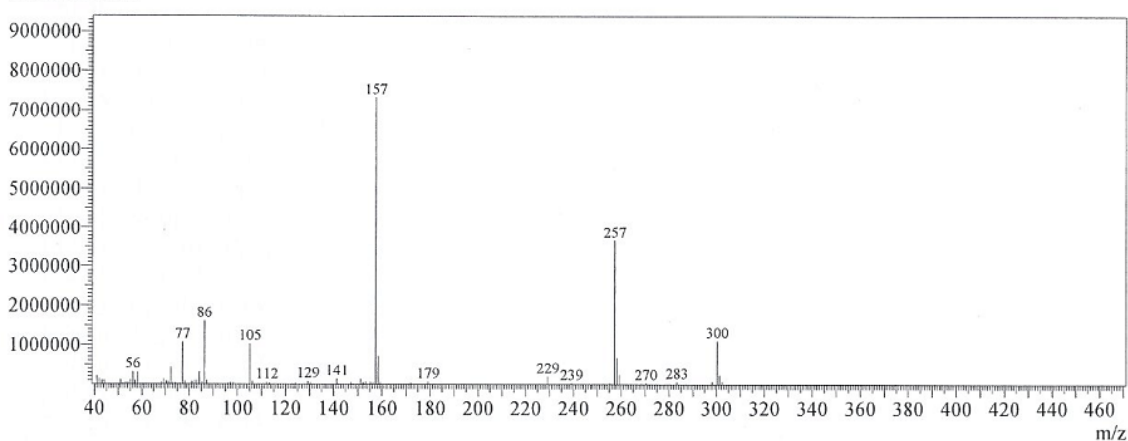
BLV5, CDCl_3 , 20.12.2012 C13APT CDCl_3 opt/xxvmmv-fbxwer 30



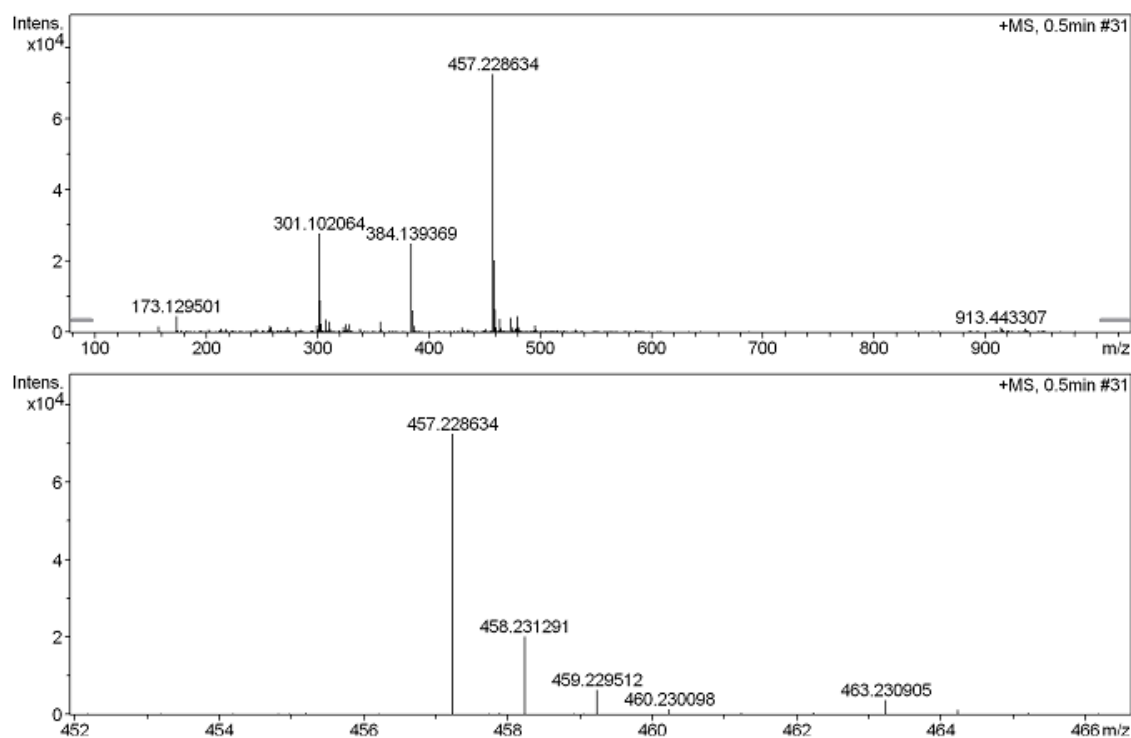
Verbindung **78**, Massenspektrum

Spectrum

Line#:1 R.Time:10.350(Scan#:1219)
MassPeaks:63
RawMode:Single 10.350(1219) BasePeak:157.25(7333054)
BG Mode:None

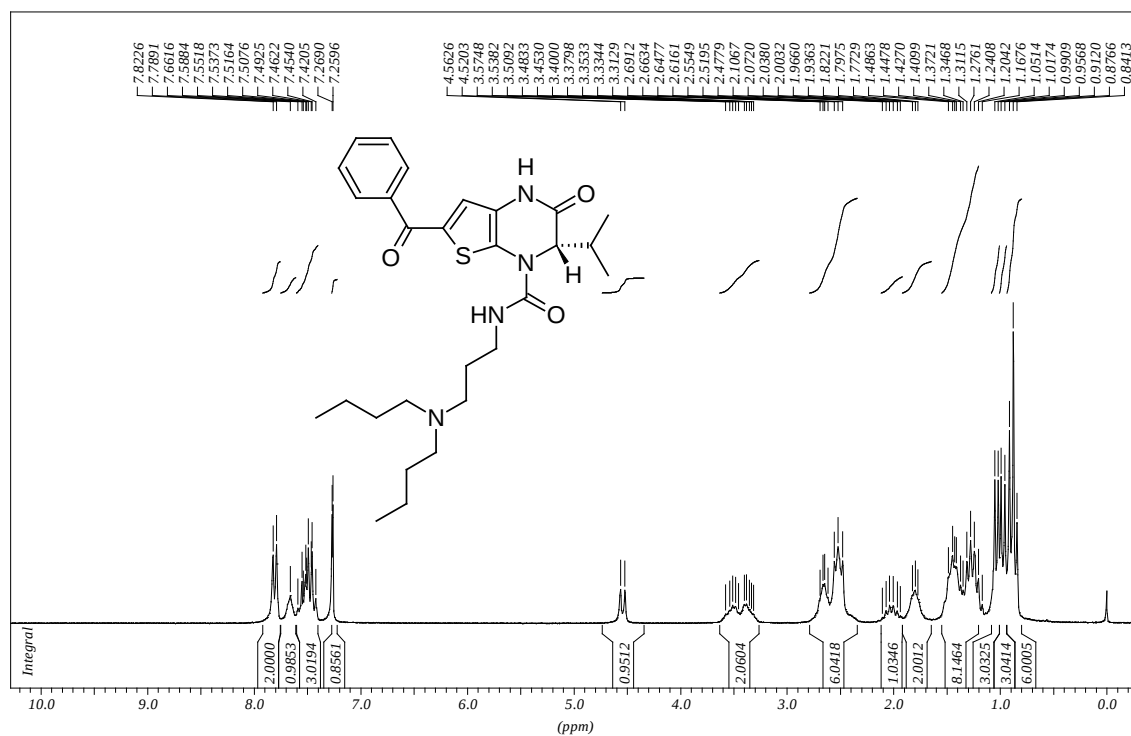


Verbindung **78**, HR-MS



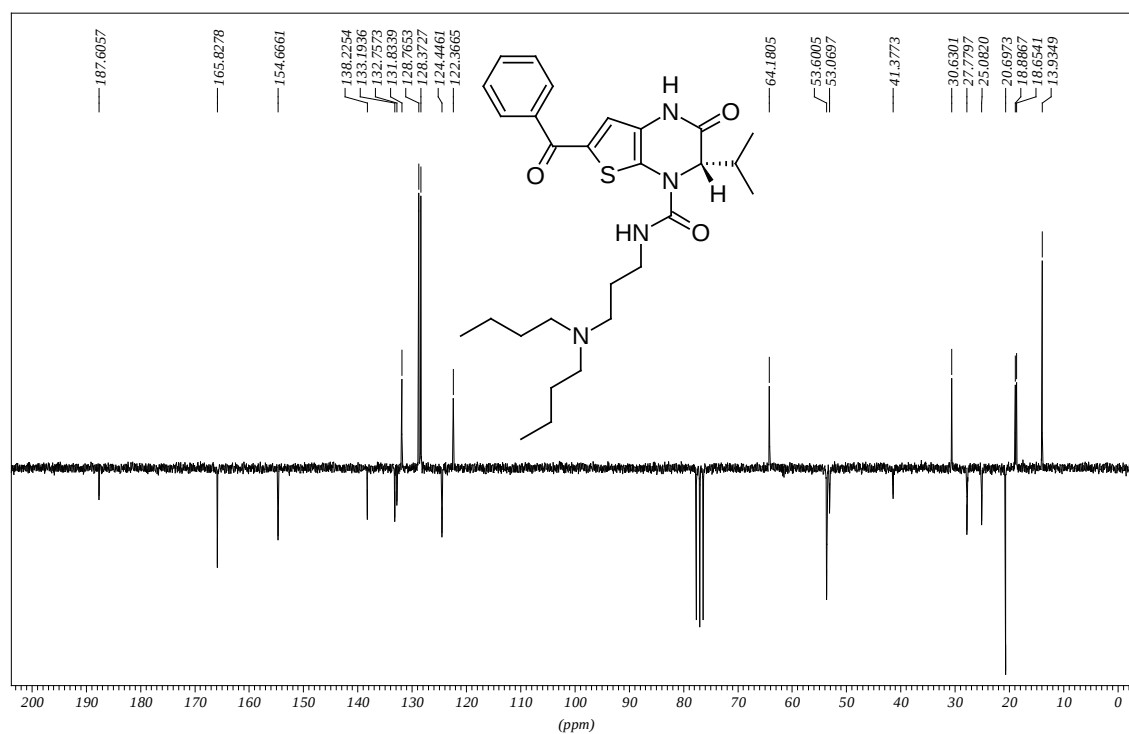
Verbindung **79**, ^1H -NMR, CDCl_3

BLV14PROTON CDCl₃ opt/cvimmr mayer 29



Verbindung **79**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

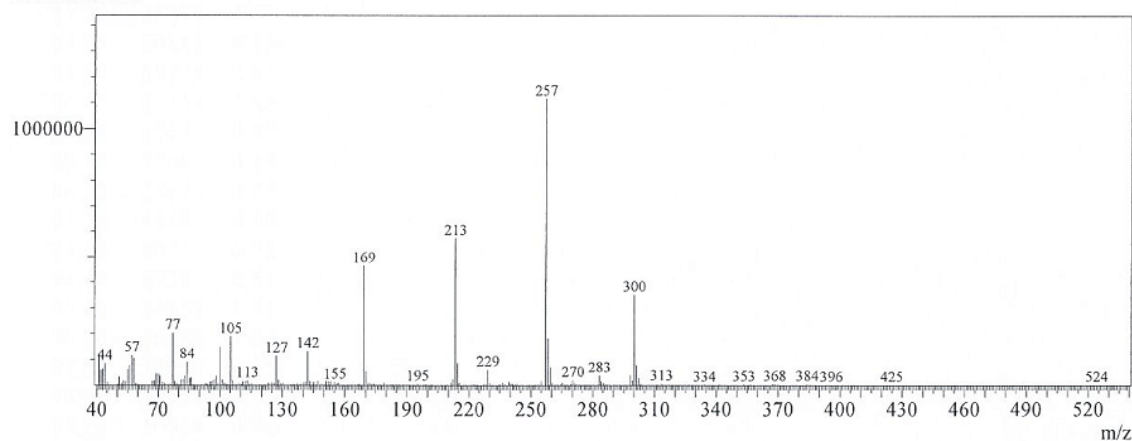
BLV14Cl3APT CDCl3 opt/svinnur meyer 29

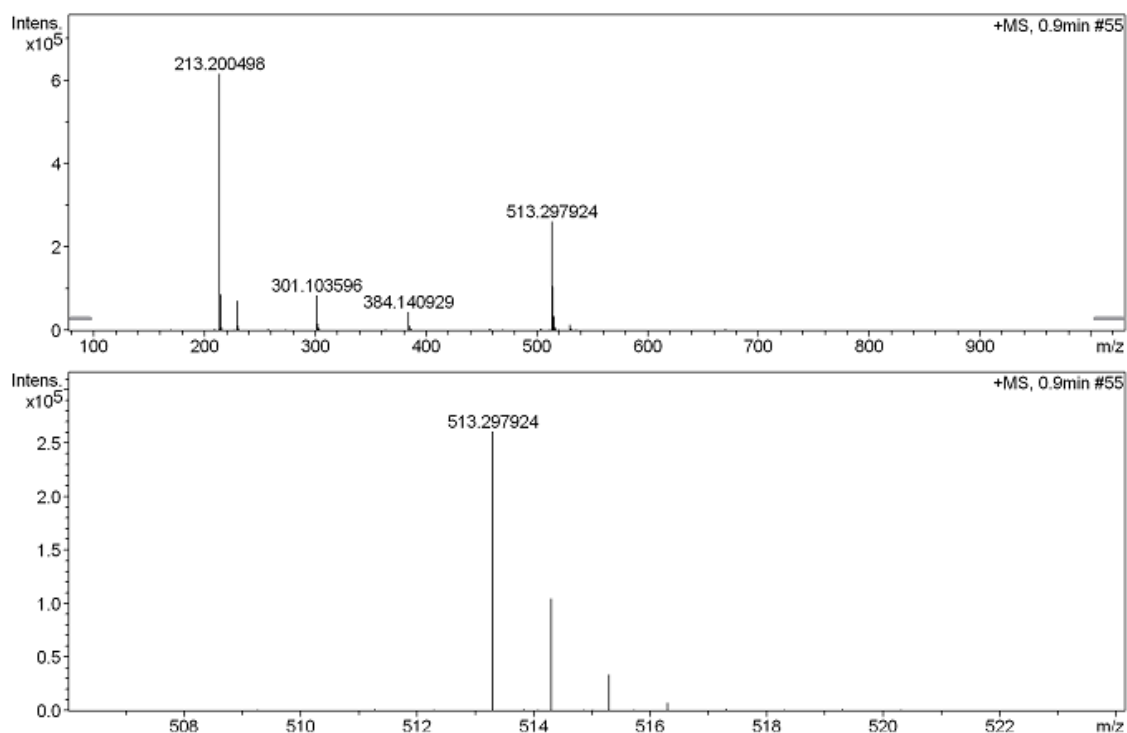


Verbindung **79**, Massenspektrum

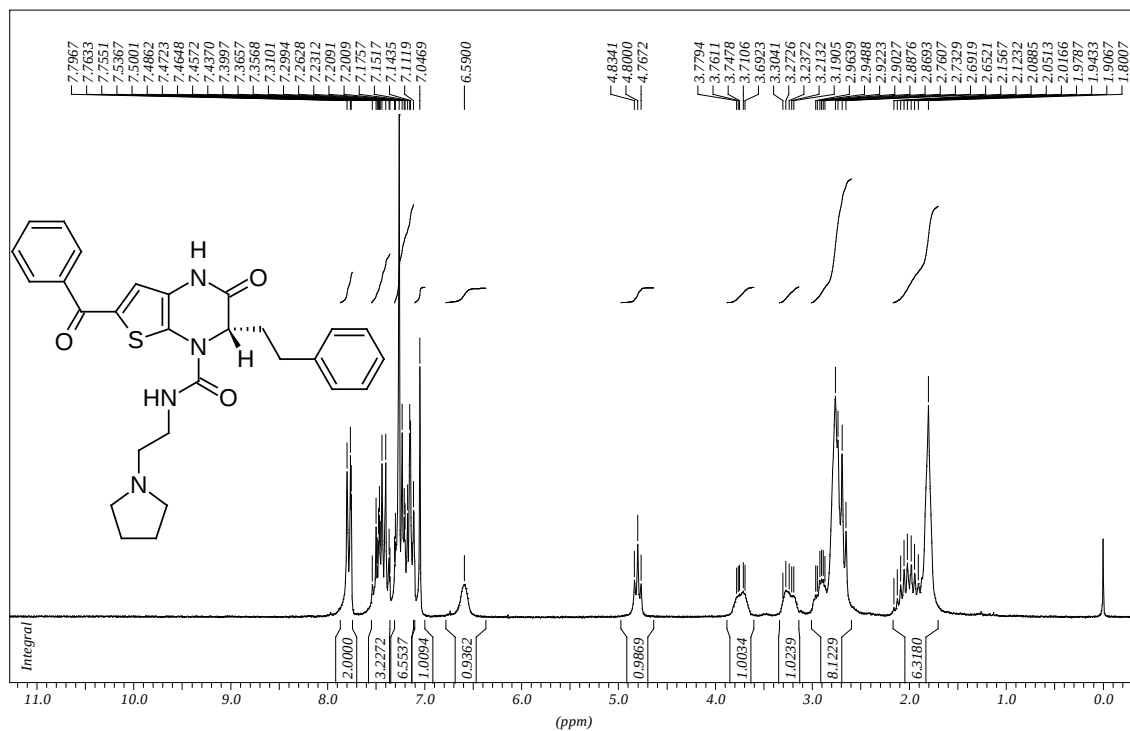
Spectrum

Line#:1 R.Time:10.250(Scan#:1207)
MassPeaks:229
RawMode:Single 10.250(1207) BasePeak:257.20(1117510)
BG Mode:None



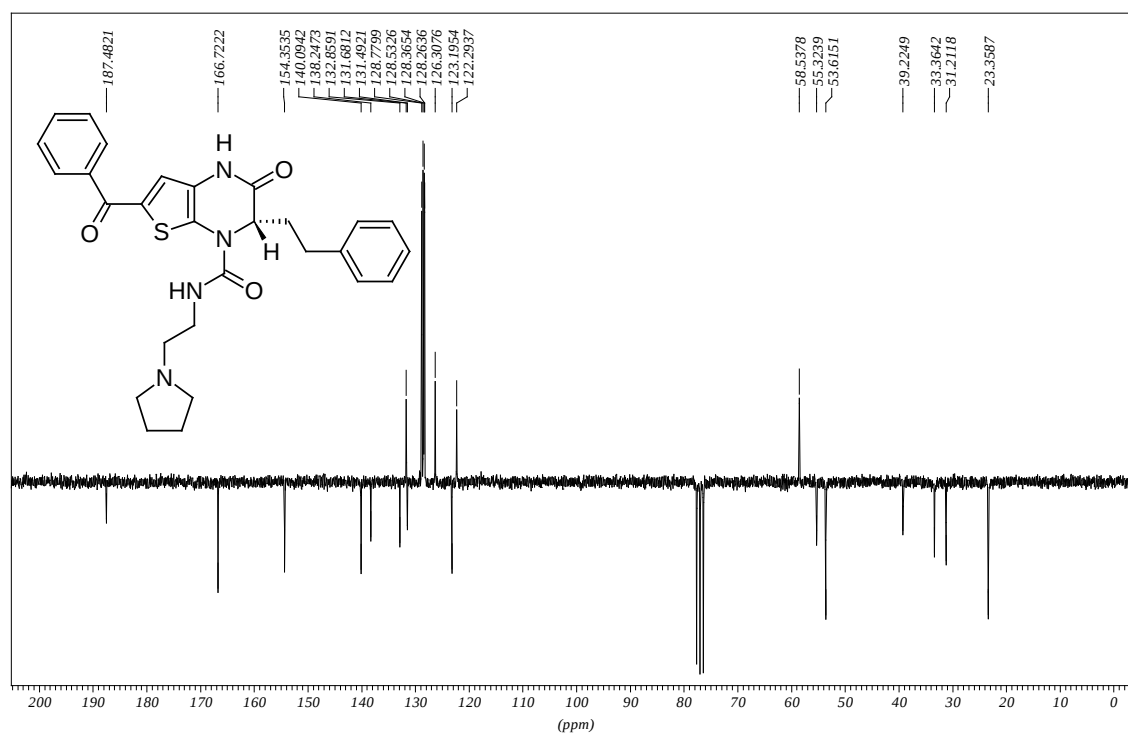
Verbindung **79**, HR-MS

 Verbindung **80**, ^1H -NMR, CDCl_3

BLH77PROTON CDCl3 opt/zwinnmr-meyer 16

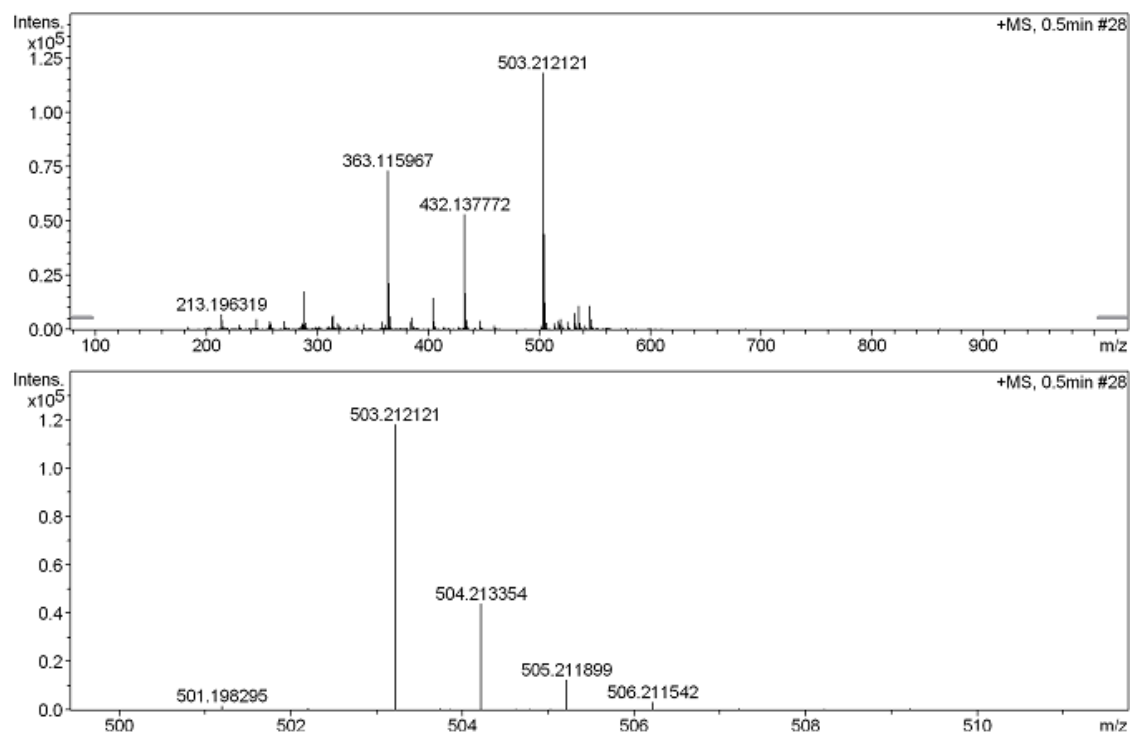


Verbindung **80**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

BLH7C13APT CDCl3 opt/xvnmr mayer 16

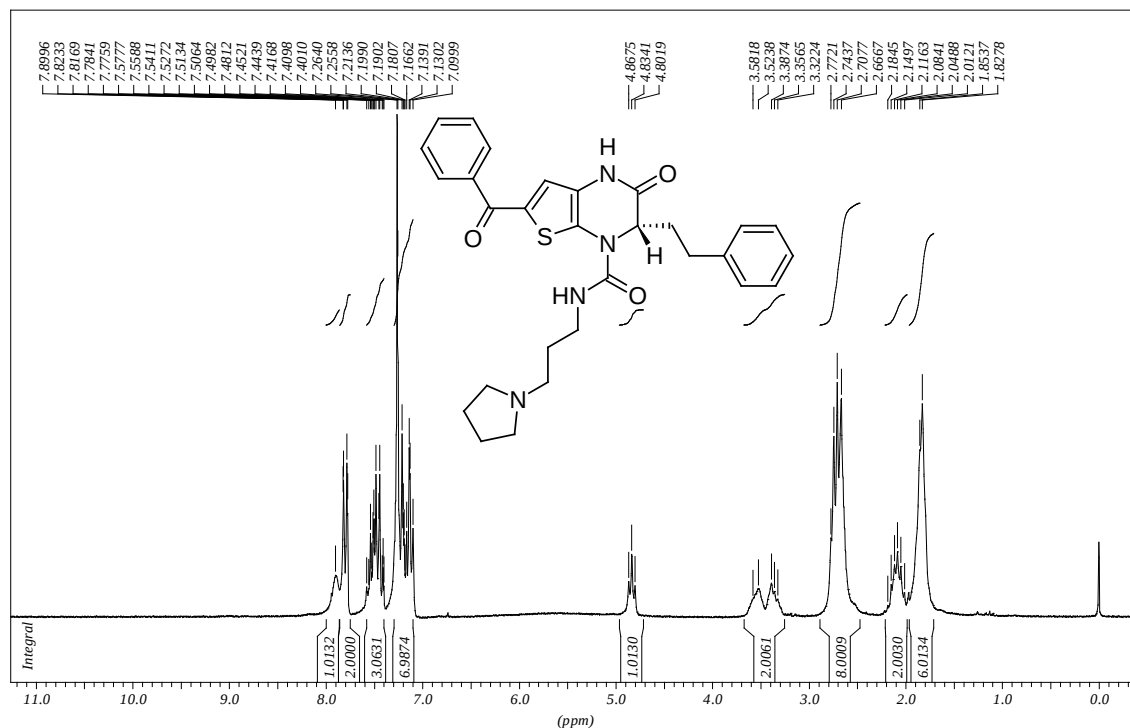


Verbindung **80**, HR-MS

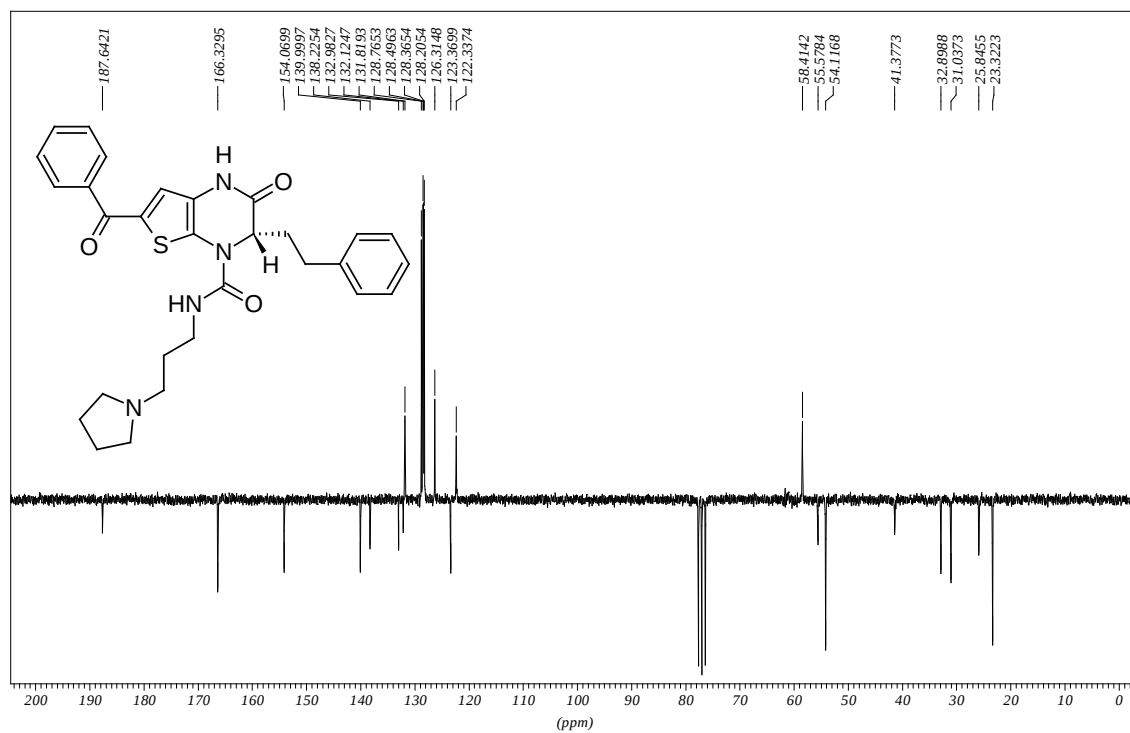


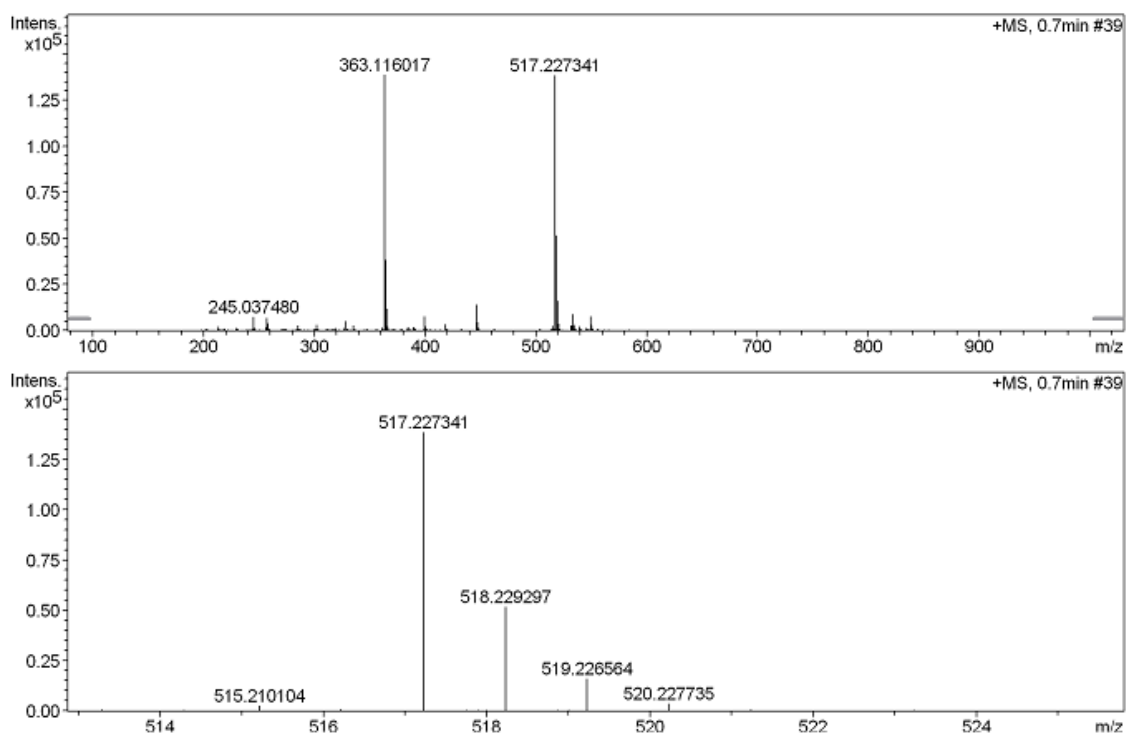
Verbindung **81**, ^1H -NMR, CDCl_3

BLHS-PROTON CDCl3 opt./swinnmr-mayer 5

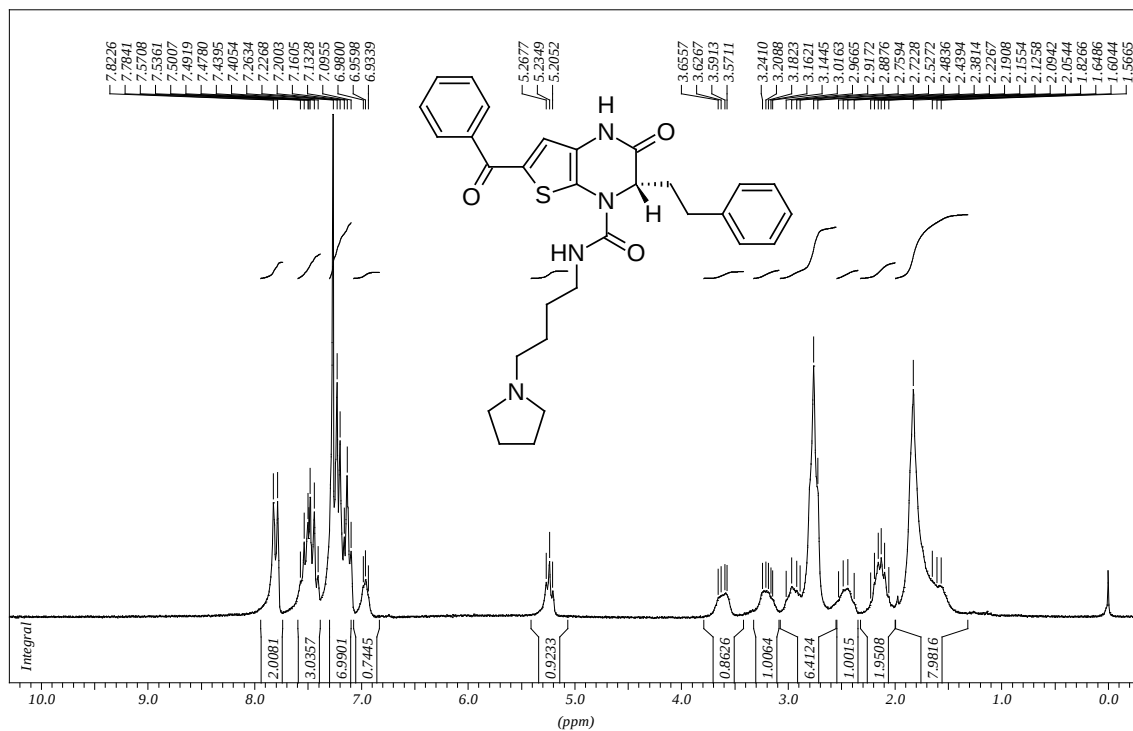

 Verbindung **81**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

BLHS-13APT CDCl3 opt./swinnmr-mayer 1



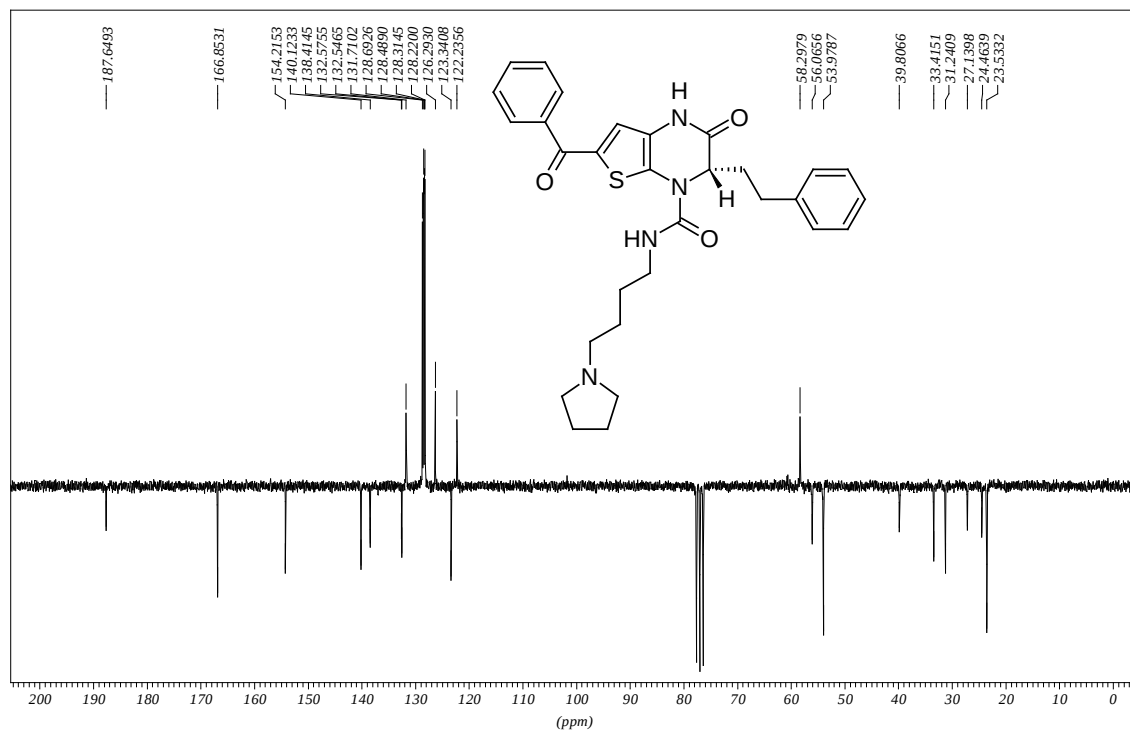
Verbindung **81**, HR-MS

 Verbindung **82**, ^1H -NMR, CDCl_3

BLH9PROTON CDC13 opt/xwinnmr mayer 4

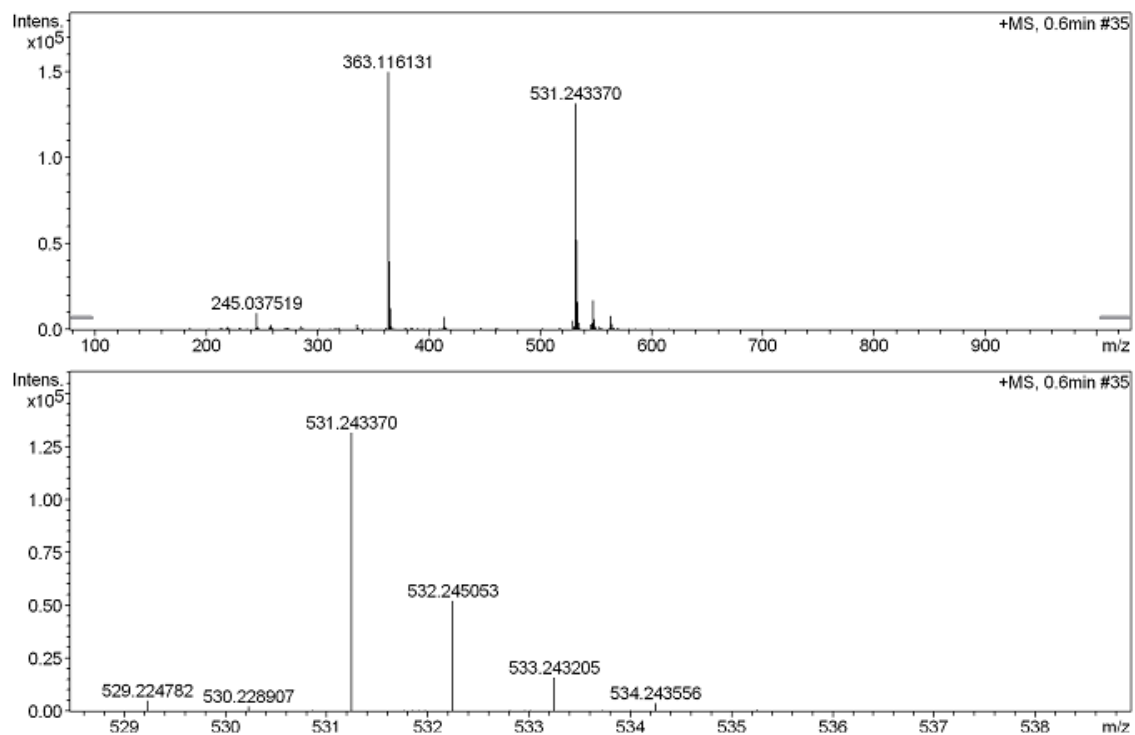


Verbindung **82**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

BLH9C13APT CDCl3 opt/sovinumr mayer 2

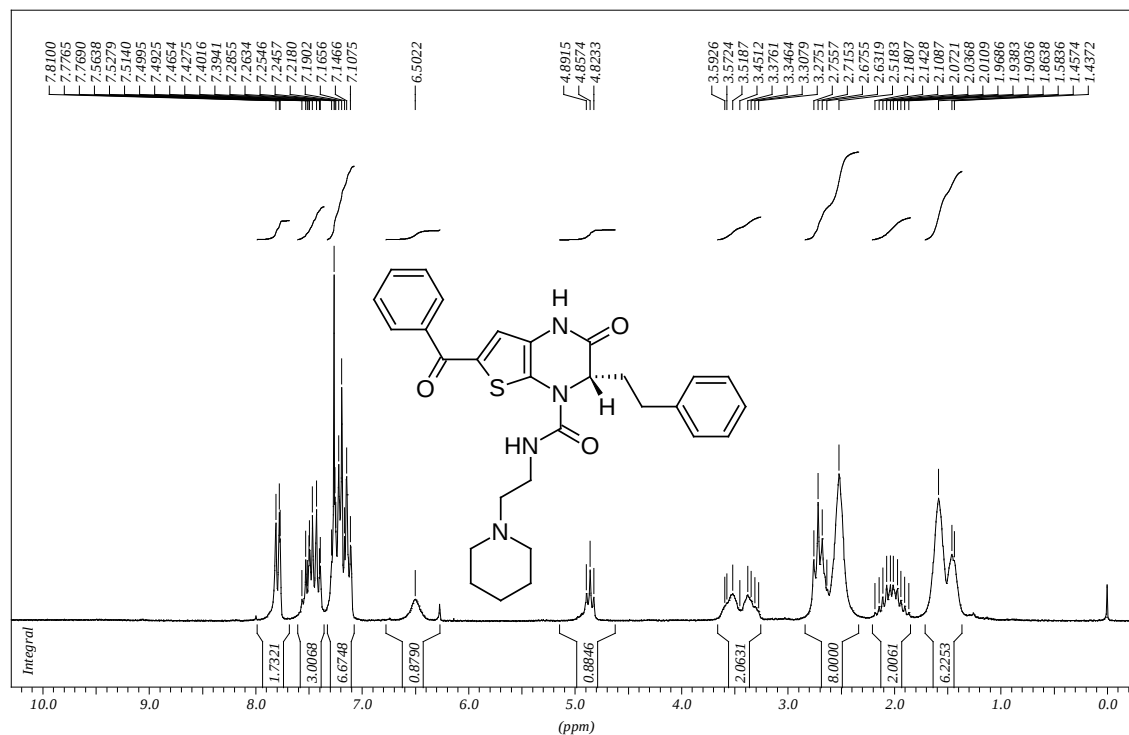


Verbindung **82**, HR-MS

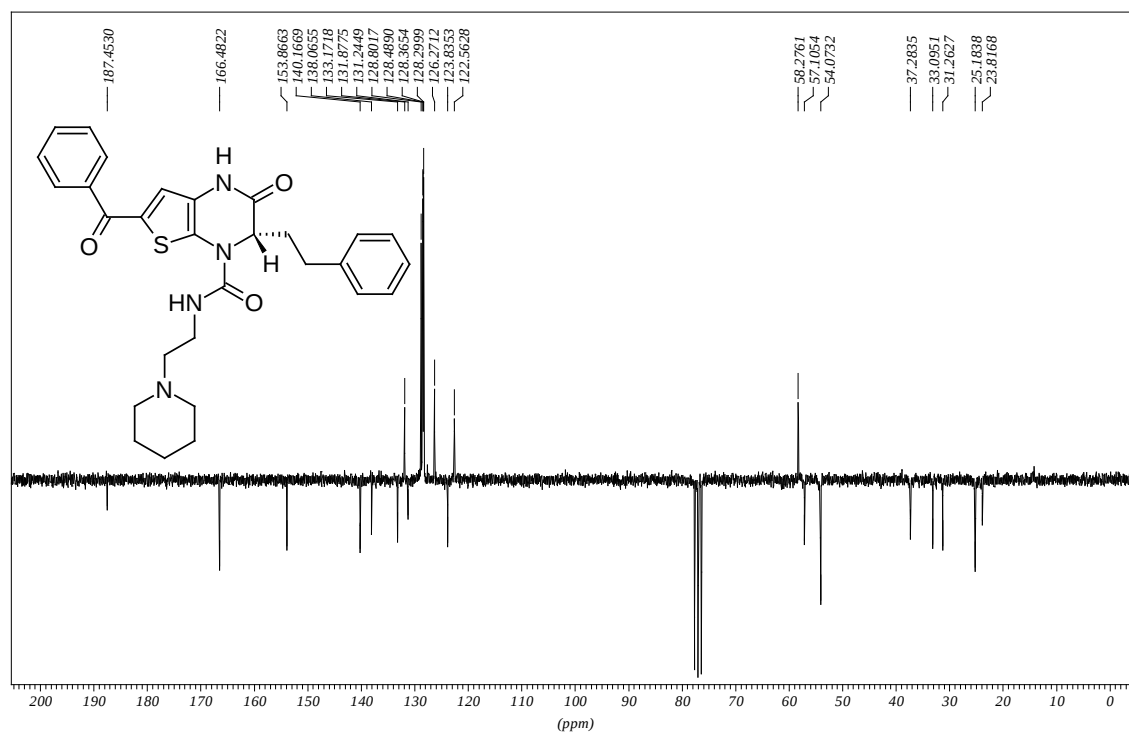


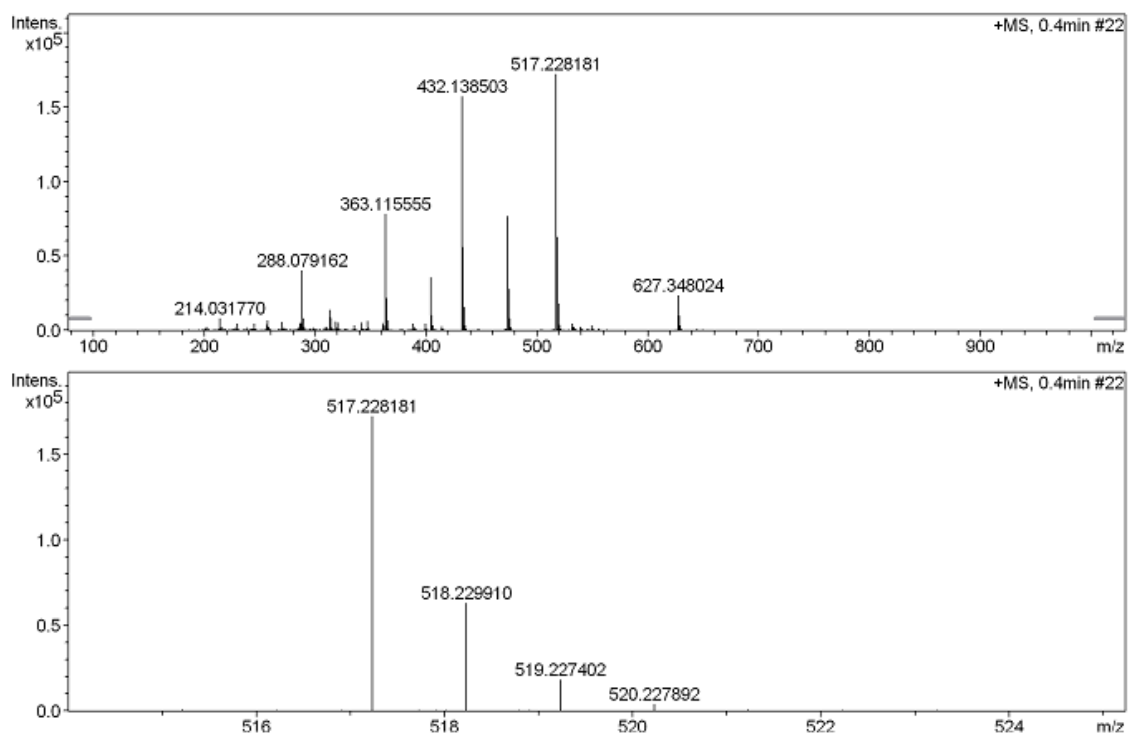
Verbindung **83**, ^1H -NMR, CDCl_3

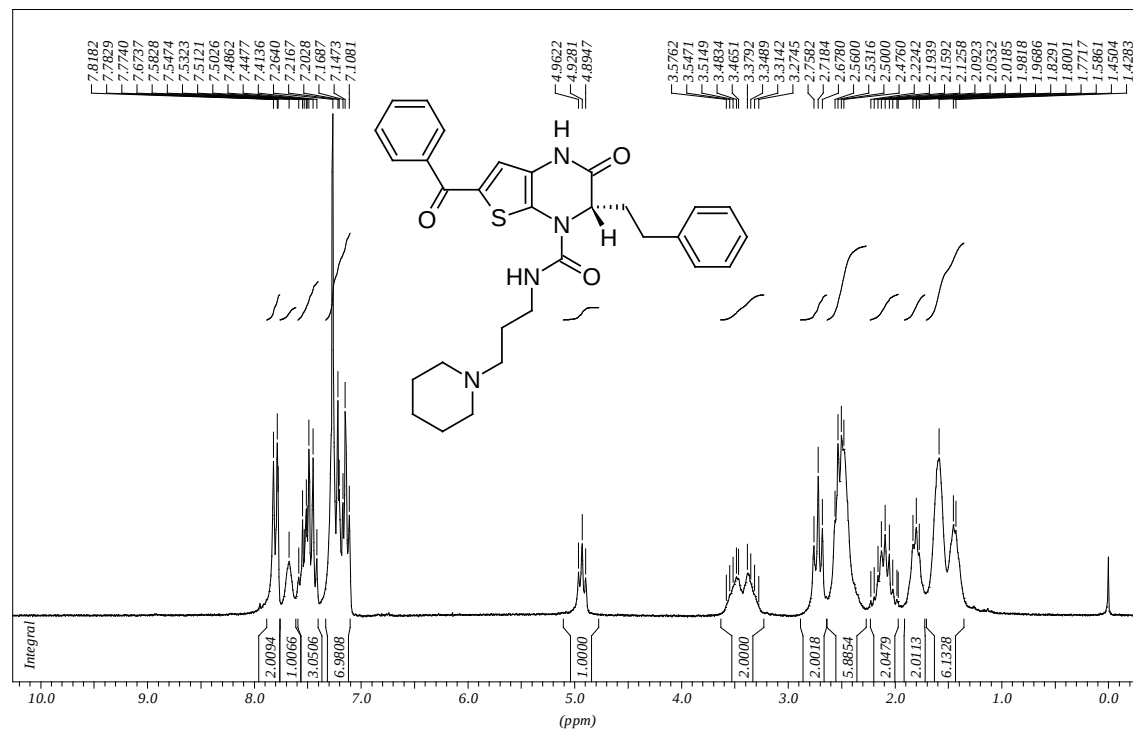
BLH10PROTON CDCl3 opt/swinnur mayer 15


Verbindung **83**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

BLH10C13APT CDCl3 opt/swinnur mayer 17

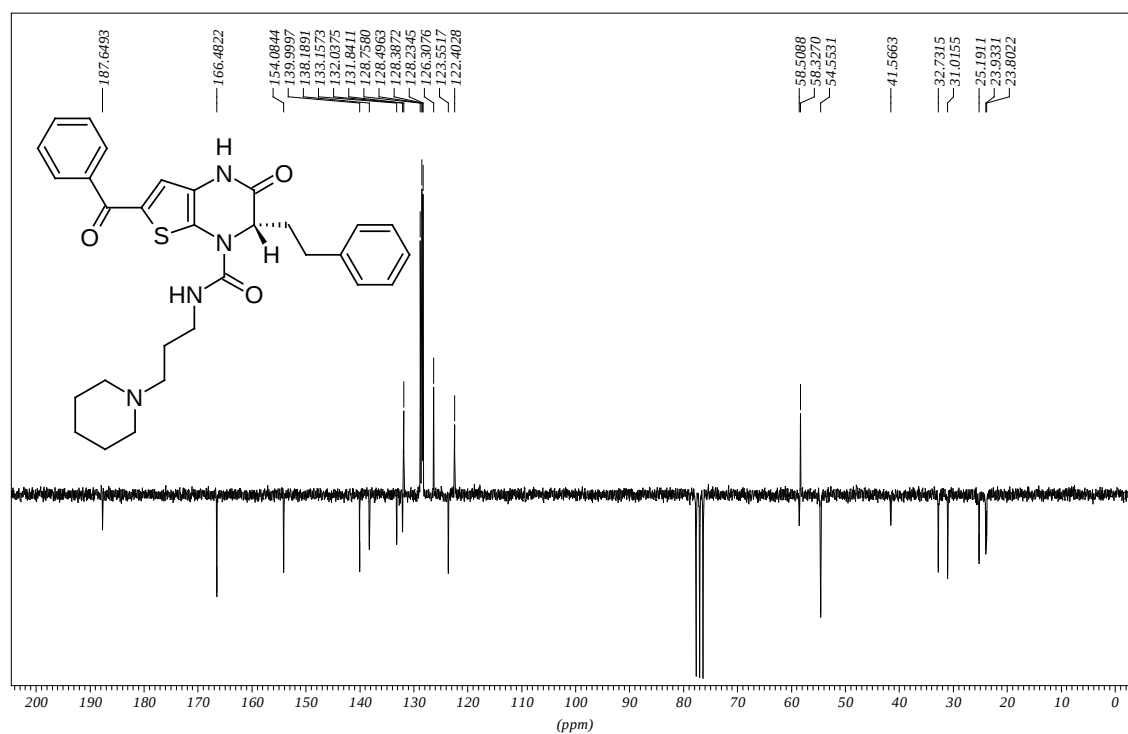


Verbindung **83**, HR-MS

 Verbindung **84**, ^1H -NMR, CDCl_3

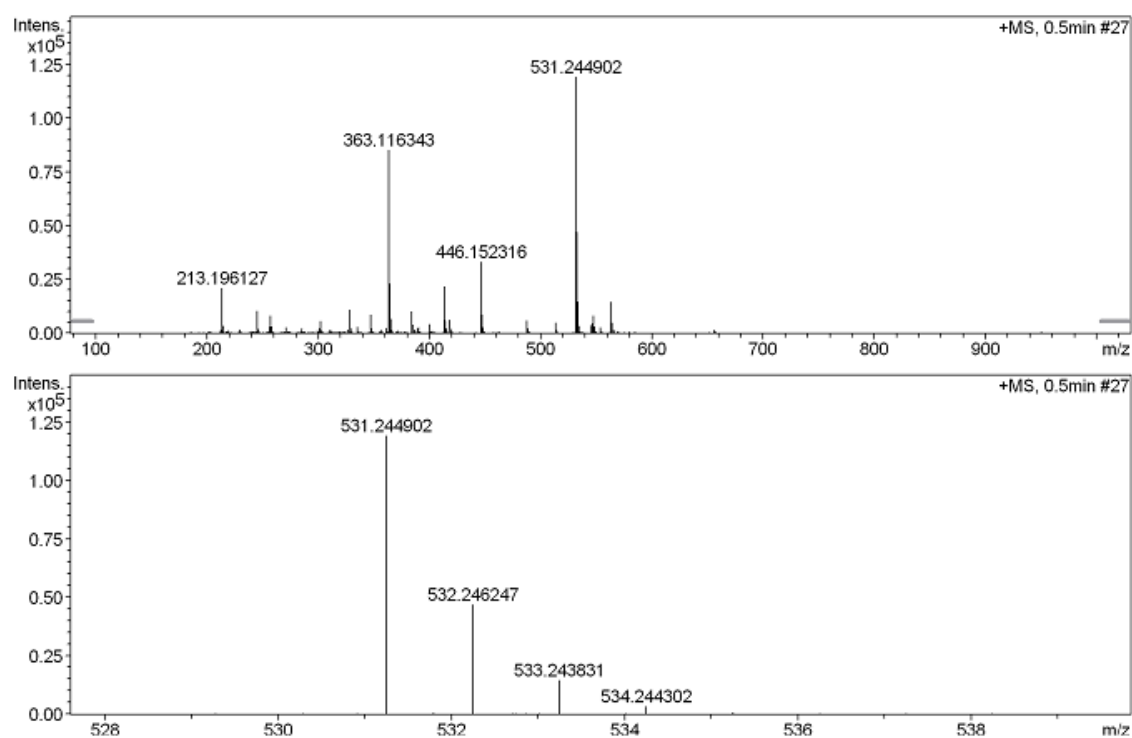
 BLH5PROTON CDCl_3 opt/oximmm mayer 15


Verbindung **84**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

BLH5C13APT CDCl3 opt/xvimmr mayer 15

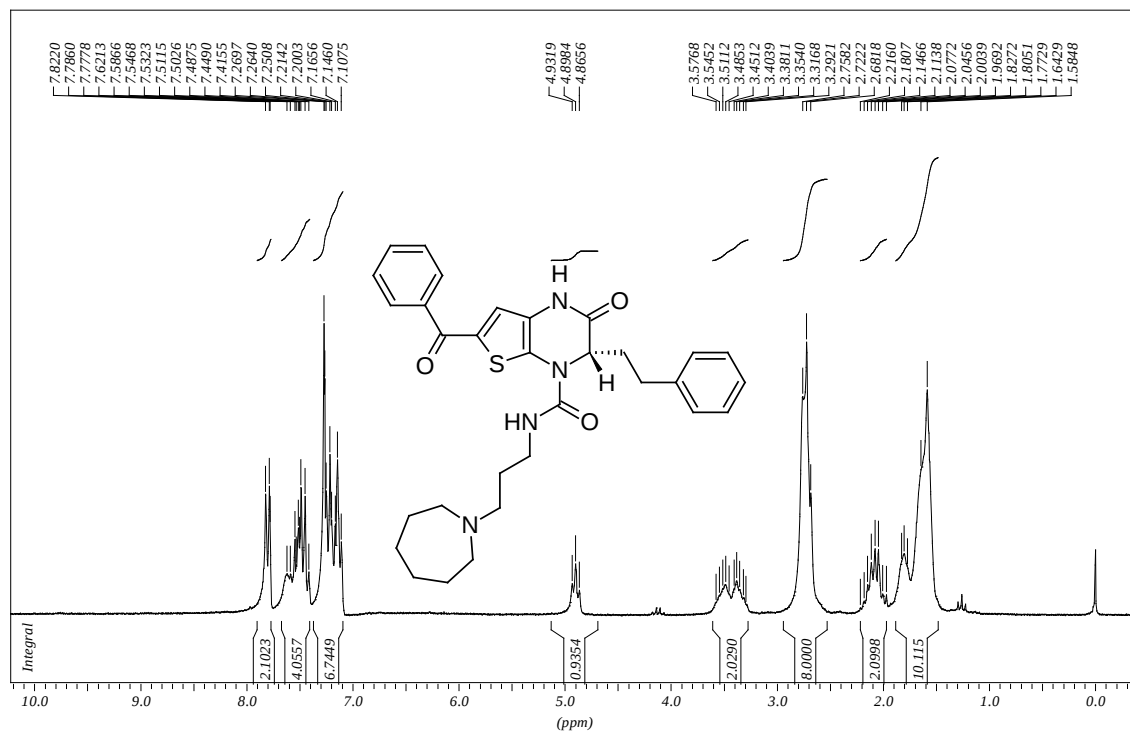


Verbindung **84**, HR-MS

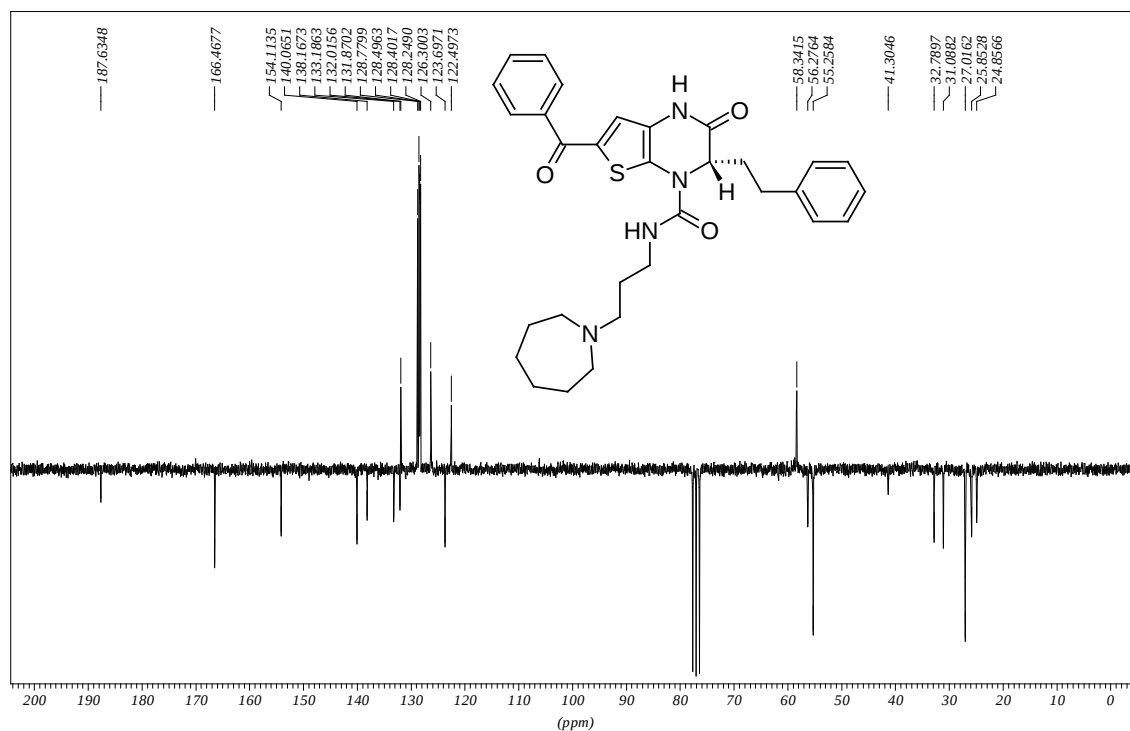


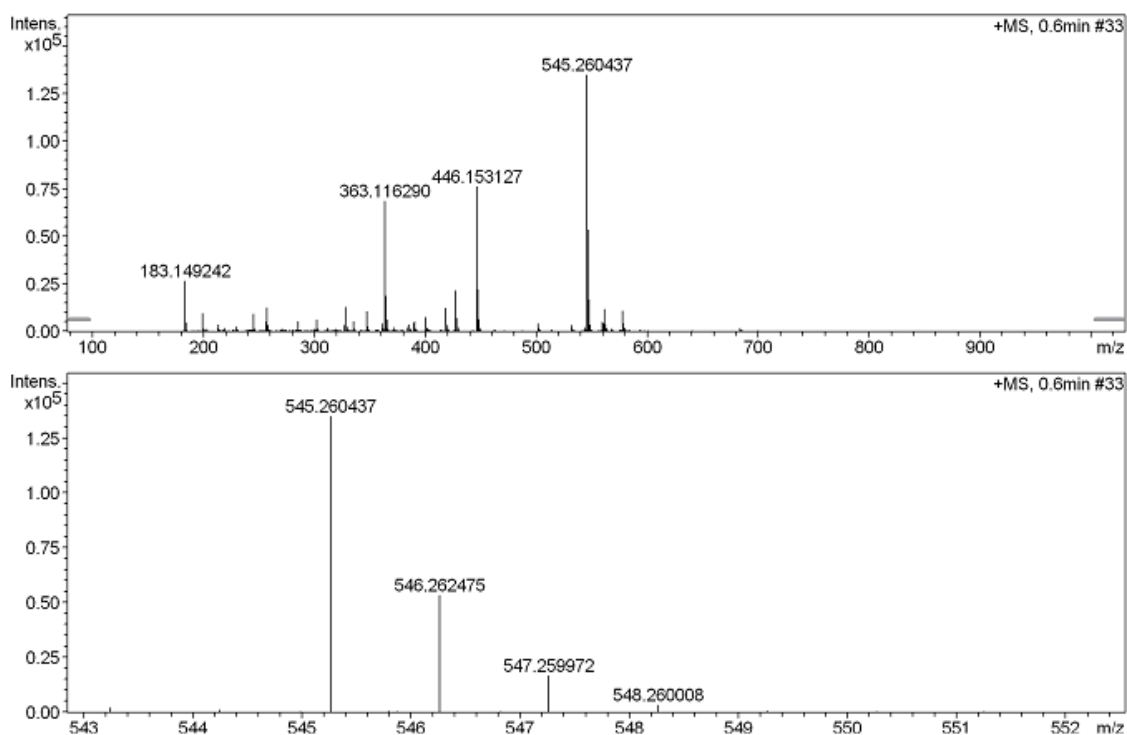
Verbindung **85**, ^1H -NMR, CDCl_3

BLH6PROTON CDCl3 opt/zwinnmr mayer 39

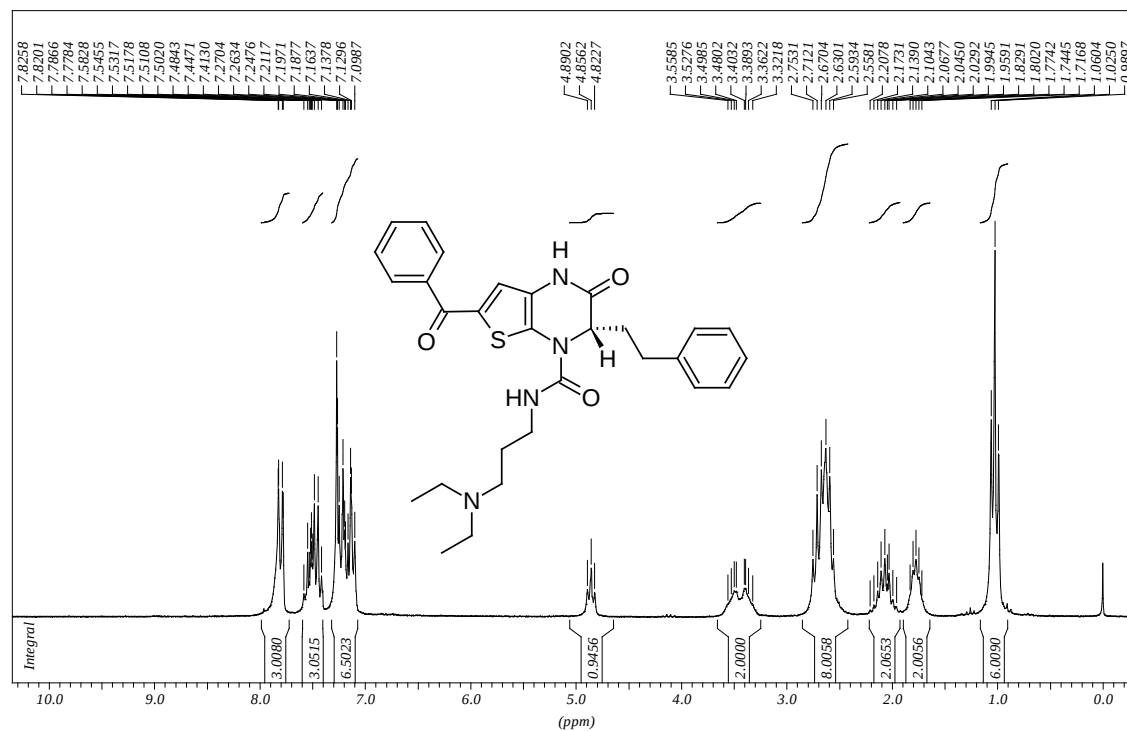

 Verbindung **85**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

BLH6C13APT CDCl3 opt/zwinnmr mayer 37



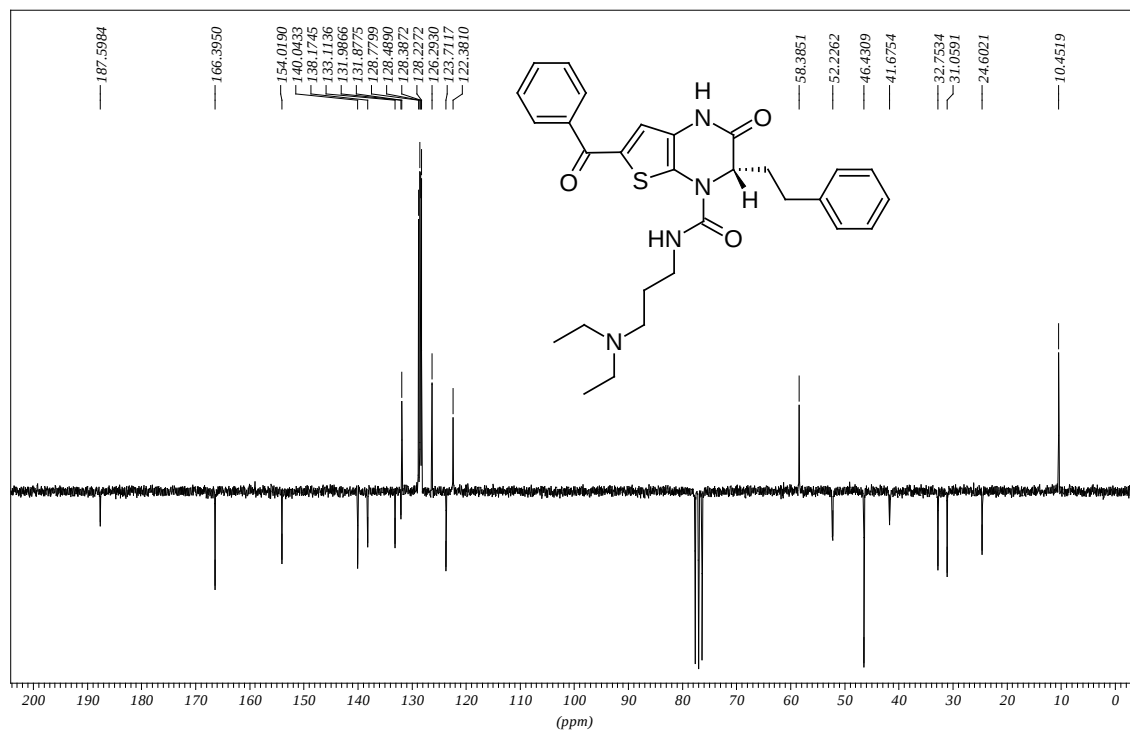
Verbindung **85**, HR-MS

 Verbindung **86**, ^1H -NMR, CDCl_3

BLH4PROTON CDC13 opt/swinnmr mayer 50

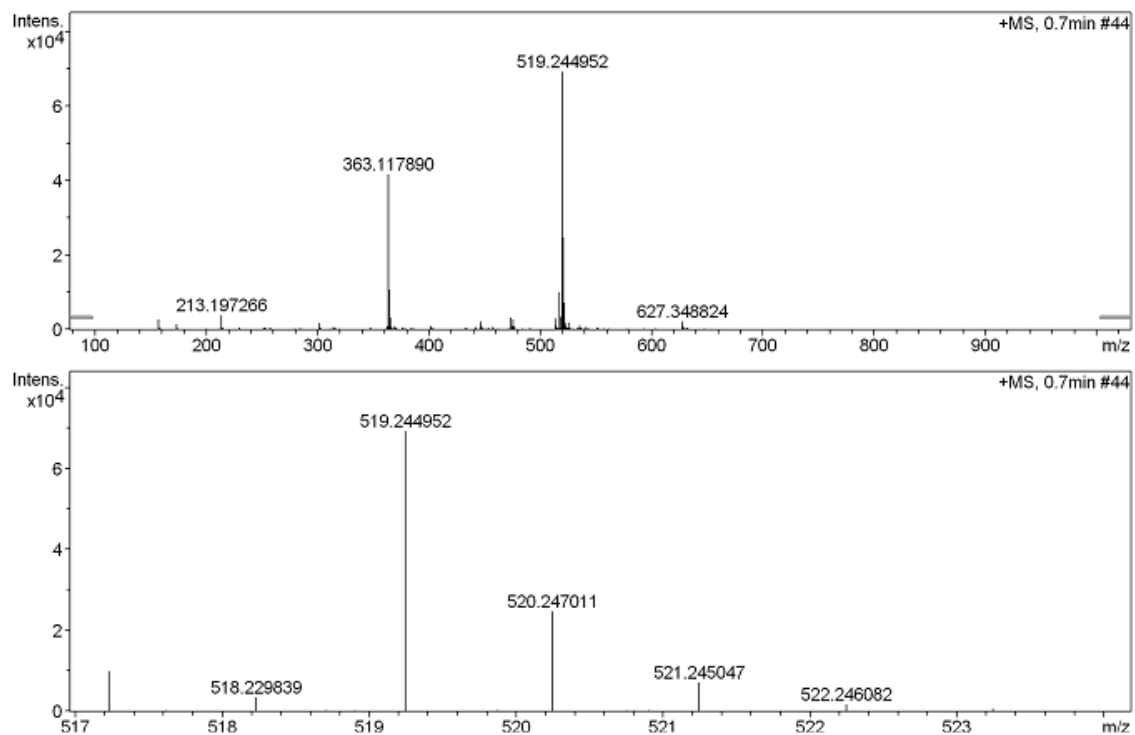


Verbindung **86**, ^{13}C -NMR, CDCl_3

BLH4C13APT CDCl3 opt./swinnur mayer 50

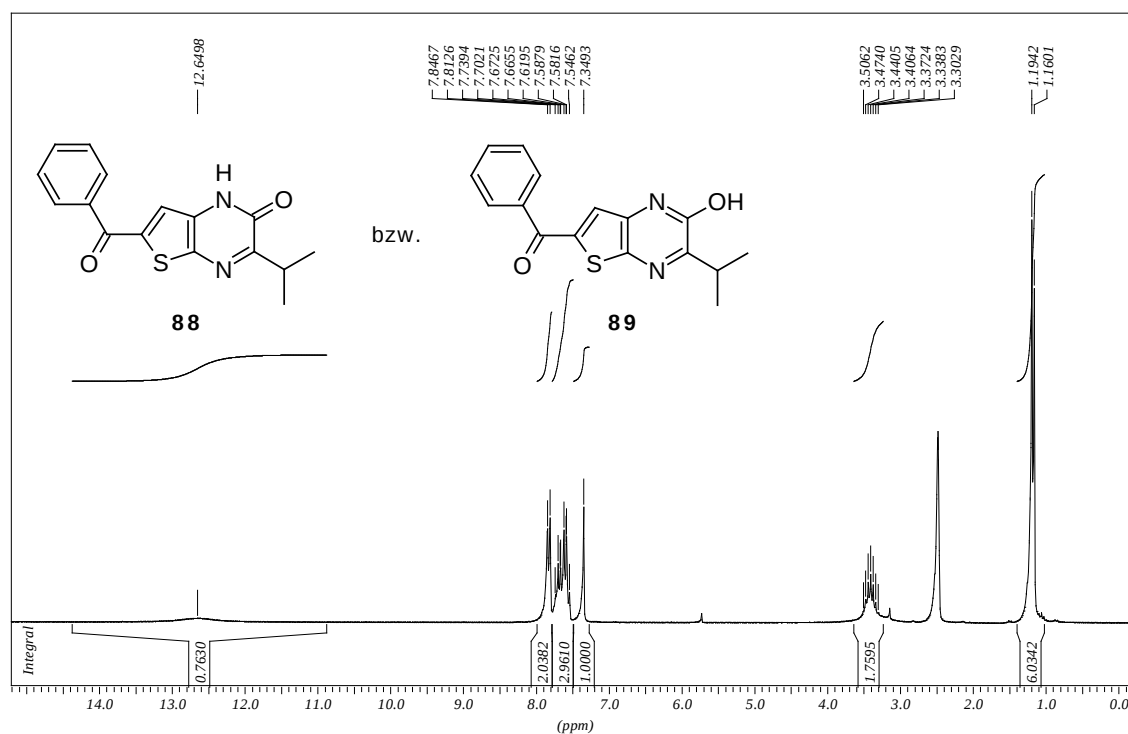


Verbindung **86**, HR-MS

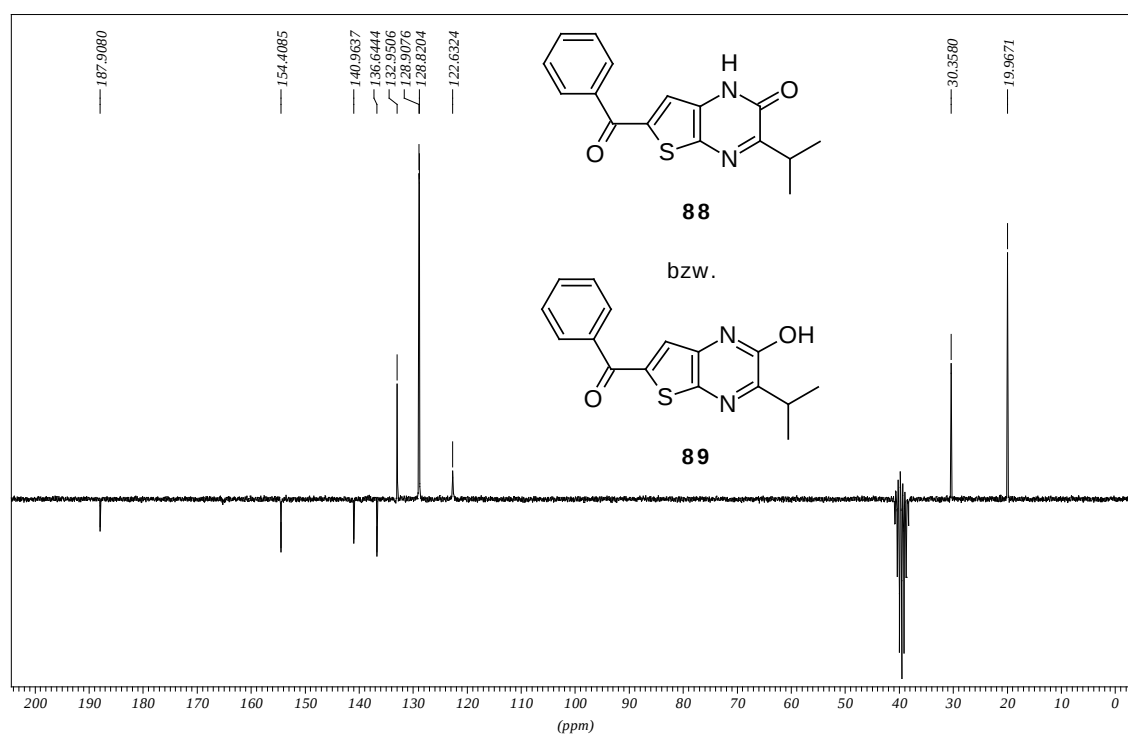


Verbindung **88** bzw. **89**, ^1H -NMR, d_6 -DMSO

BLV-Mosher (S)PROTON DMSO opt/zwinnmr mayer 33


 Verbindung **88** bzw. **89**, ^{13}C -NMR, d_6 -DMSO

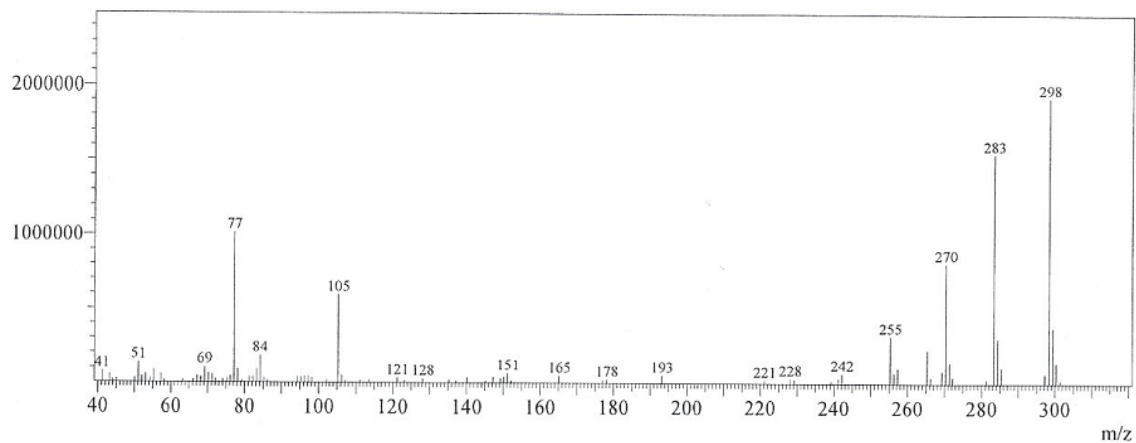
BLV-Mosher (S)CI3APT DMSO opt/zwinnmr mayer 33



Verbindung **88** bzw. **89**, Massenspektrum

Spectrum

Line#:1 R.Time:9.850(Scan#:1159)
 MassPeaks:83
 RawMode:Single 9.850(1159) BasePeak:298.25(1927884)
 BG Mode:None



10 HPLC-Chromatogramme

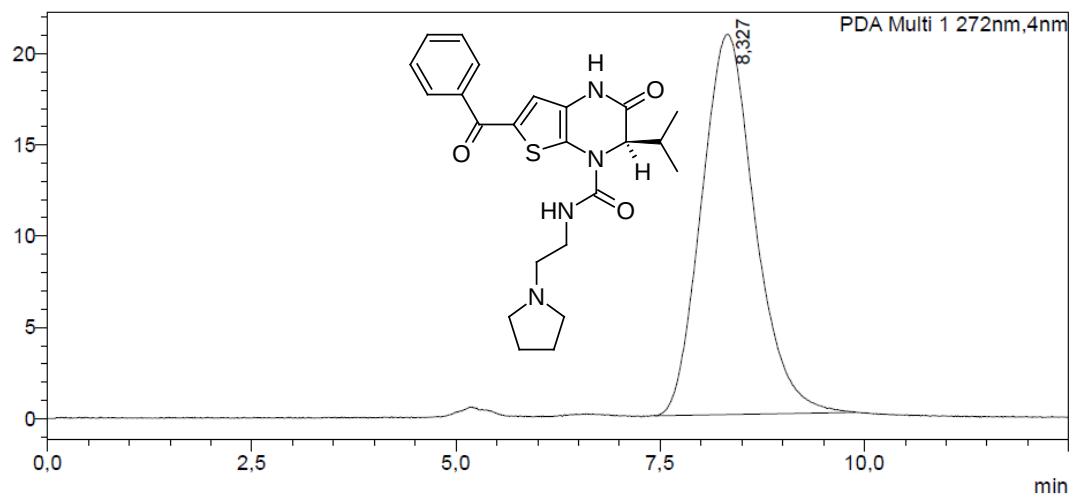
Im folgenden Abschnitt werden die HPLC-Chromatogramme dargestellt. Im ersten Teil werden die Chromatogramme der Reinverbindungen und im zweiten Teil die Chromatogramme von Mischungen der Enantiomerenpaare angeführt. Die HPLC-Bedingungen der einzelnen Verbindungen sind dem experimentellen Teil dieser Arbeit (Kapitel 6) zu entnehmen. Zur Darstellung der Enantiomerenpaare wurden die gleichen Bedingungen wie bei den Reinverbindungen gewählt.

10.1. Chromatogramme der Reinverbindungen

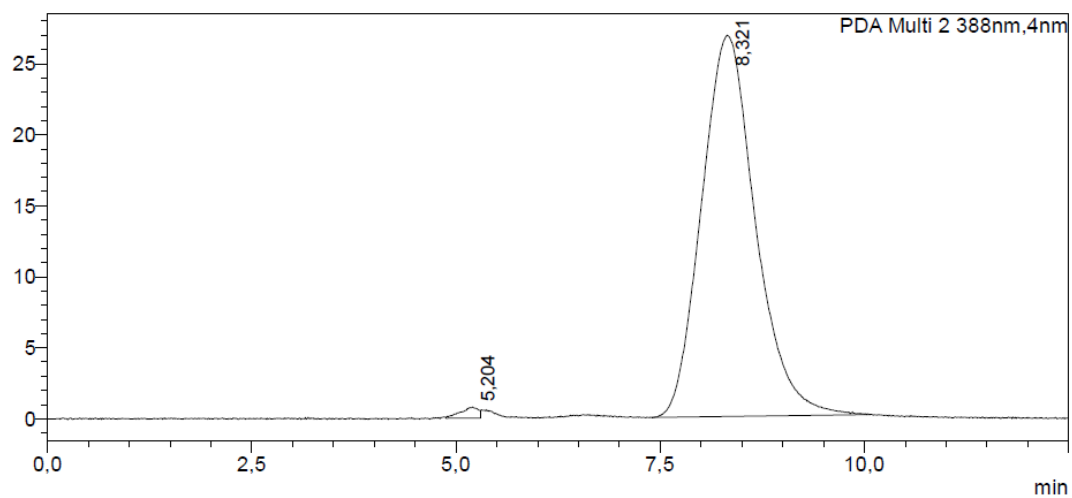
Verbindung 51

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	8,327	951432	20854	100,000
Total		951432	20854	

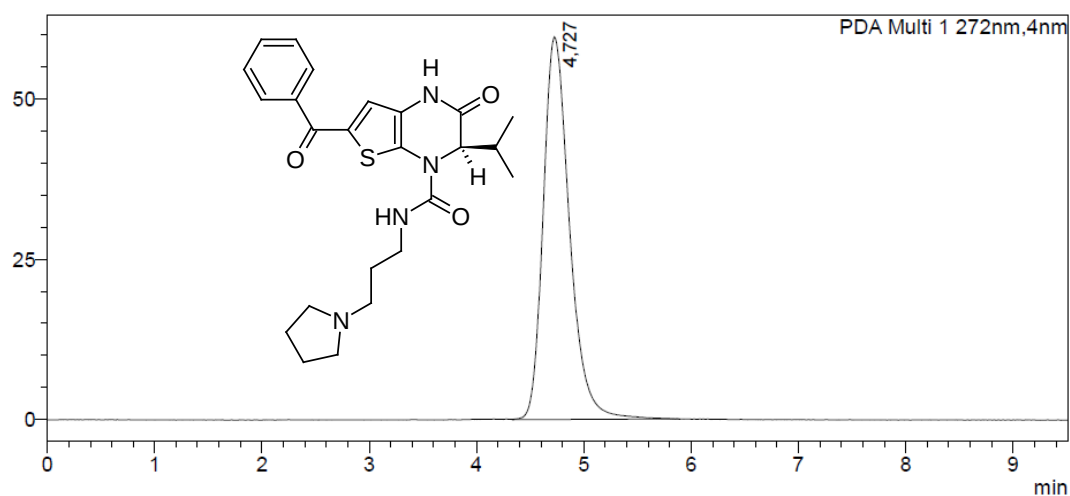
PDA Ch2 388nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,204	11854	770	0,953
2	8,321	1232347	26848	99,047
Total		1244201	27617	

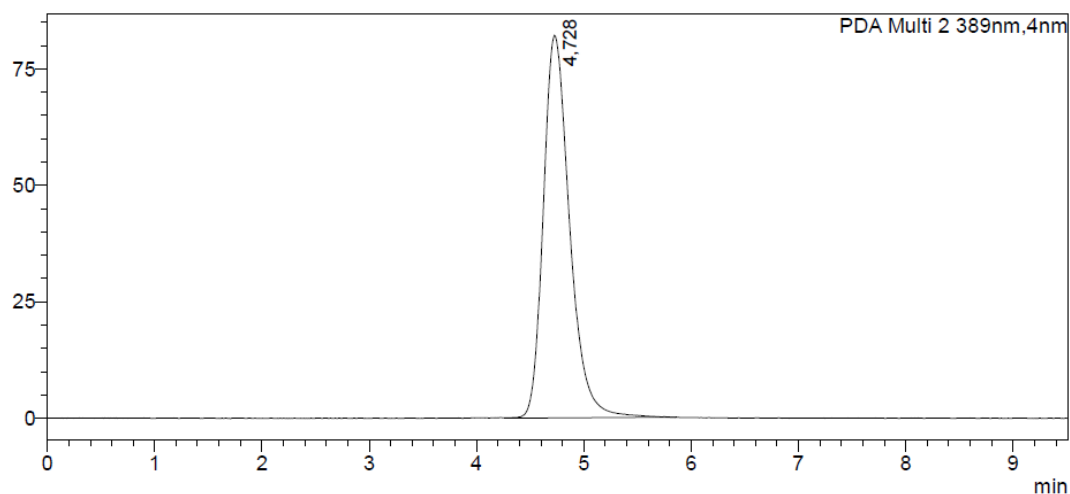
Verbindung 52

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	4,727	1019705	59670	100,000
Total		1019705	59670	

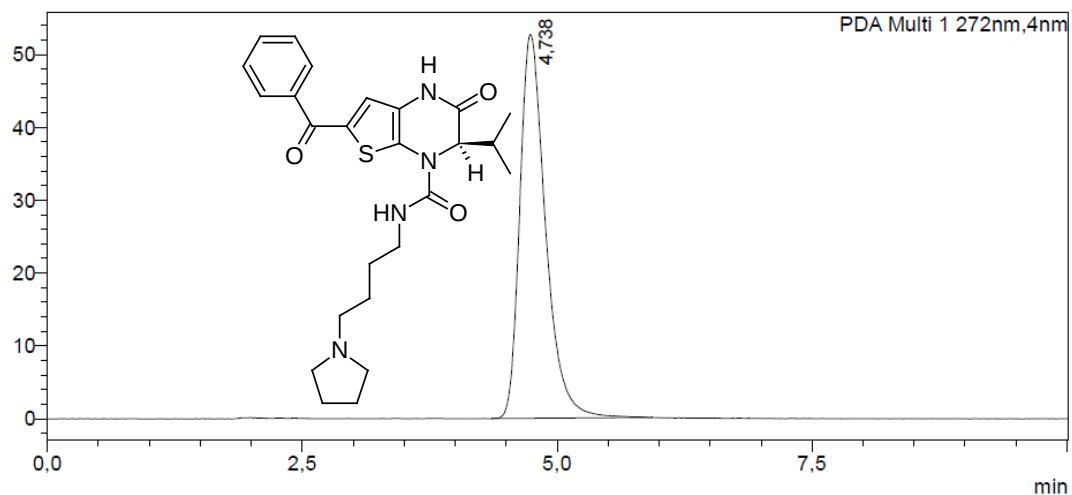
PDA Ch2 389nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	4,728	1401825	82164	100,000
Total		1401825	82164	

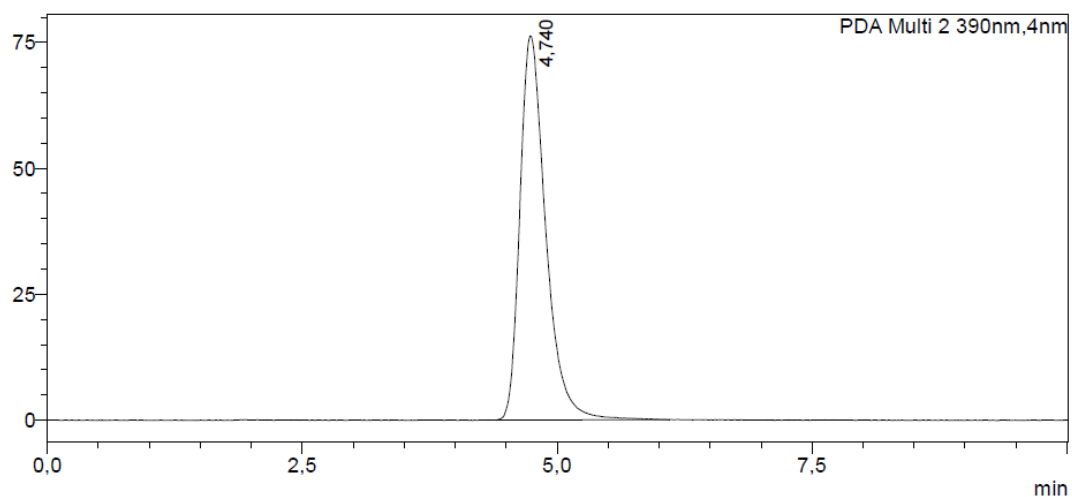
Verbindung 53

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

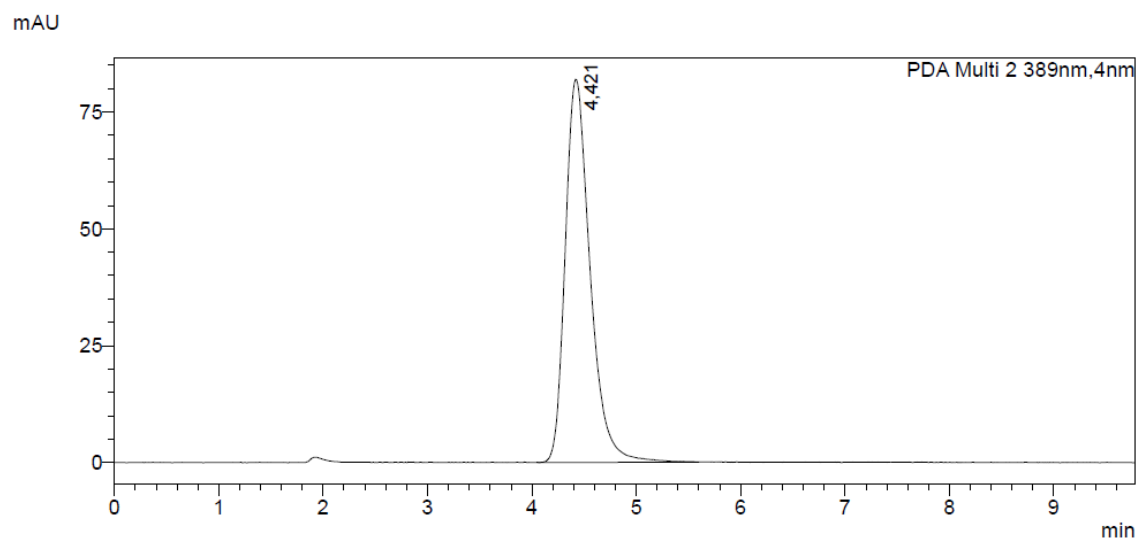
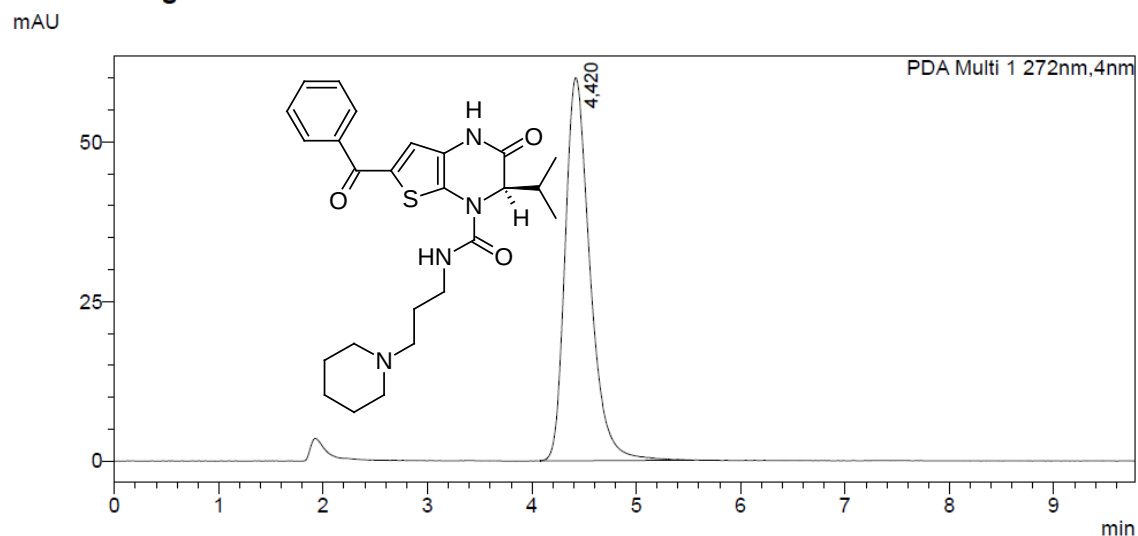
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	4,738	926148	52713	100,000
Total		926148	52713	

PDA Ch2 390nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	4,740	1344048	76248	100,000
Total		1344048	76248	

Verbindung 55

<Chromatogram>



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	4,420	994091	60036	100,000
Total		994091	60036	

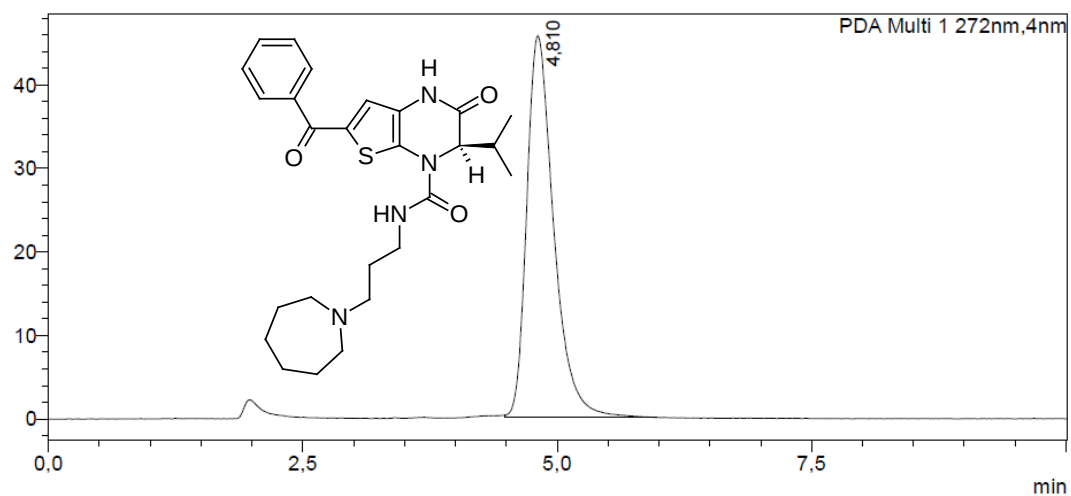
PDA Ch2 389nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	4,421	1359106	81953	100,000
Total		1359106	81953	

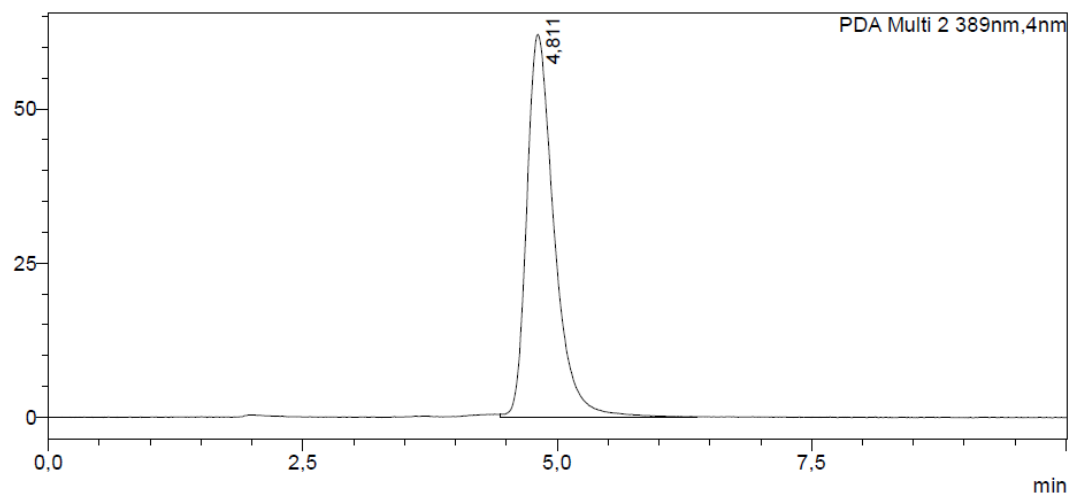
Verbindung 56

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	4,810	846722	45696	100,000
Total		846722	45696	

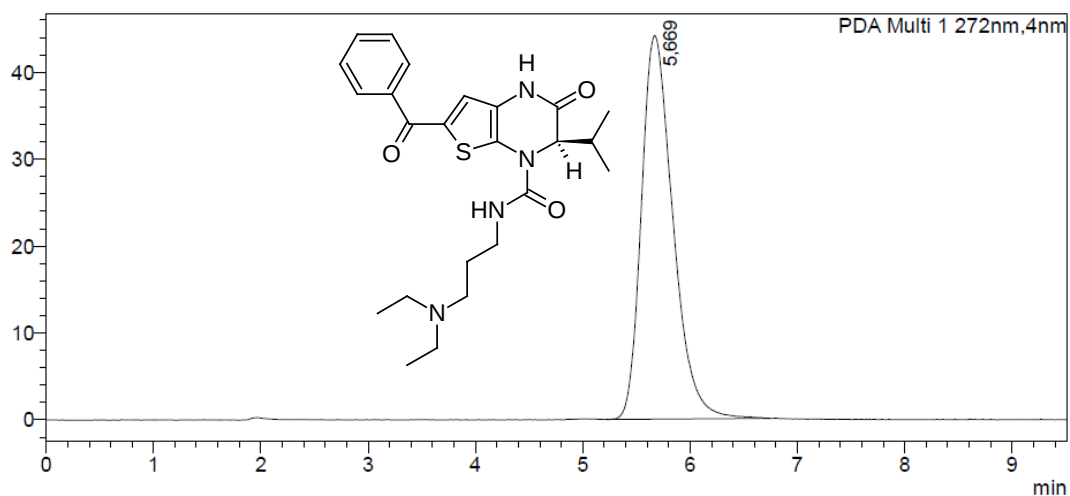
PDA Ch2 389nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	4,811	1157151	61940	100,000
Total		1157151	61940	

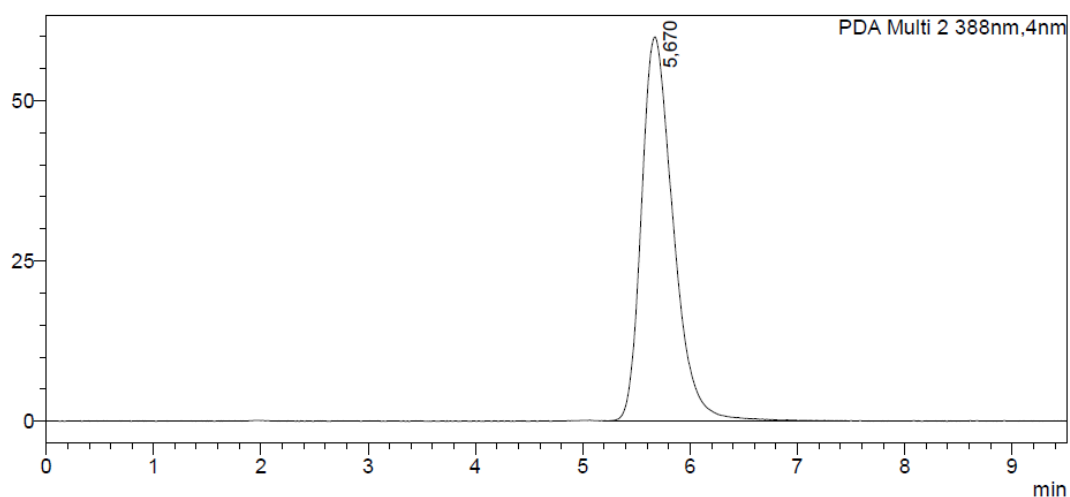
Verbindung 57

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,669	902258	44129	100,000
Total		902258	44129	

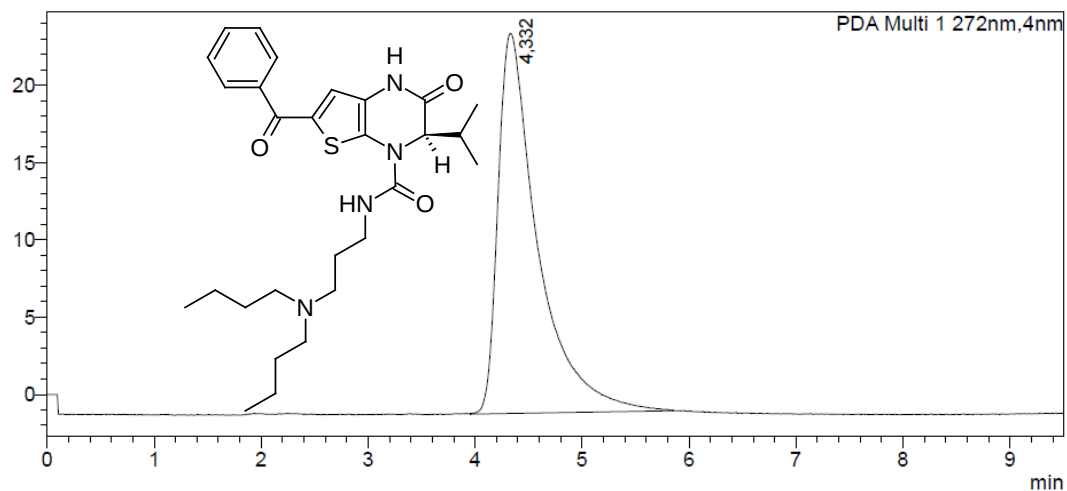
PDA Ch2 388nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,670	1235975	59861	100,000
Total		1235975	59861	

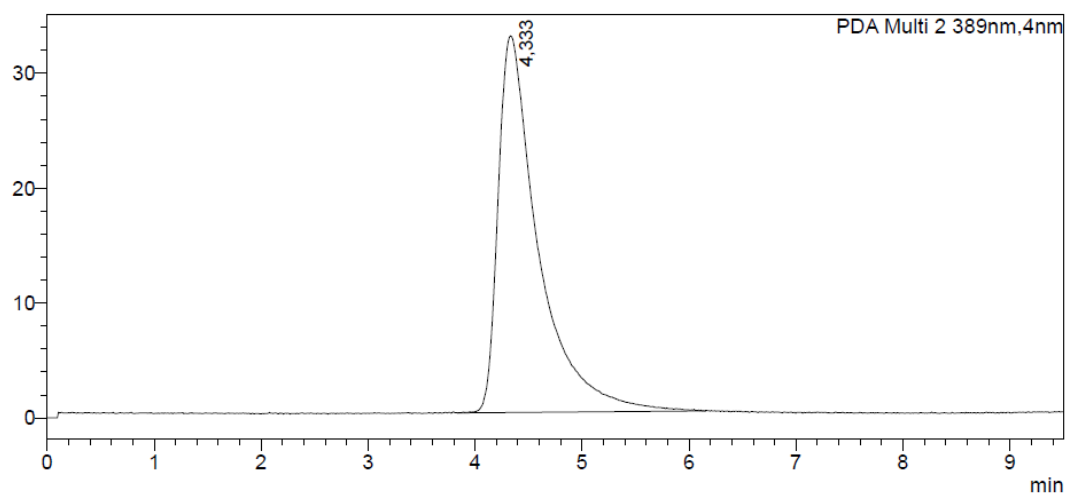
Verbindung 58

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	4,332	633453	24559	100,000
Total		633453	24559	

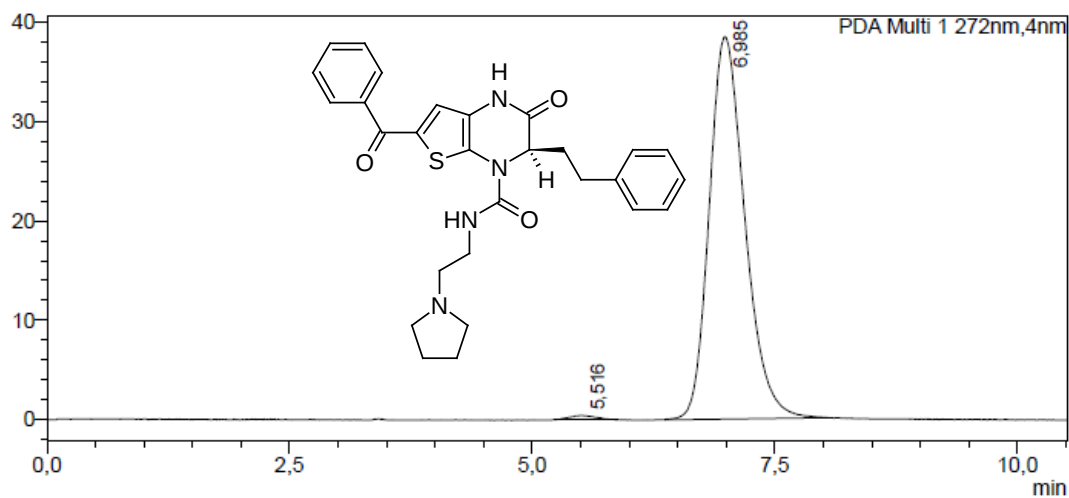
PDA Ch2 389nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	4,333	856287	32771	100,000
Total		856287	32771	

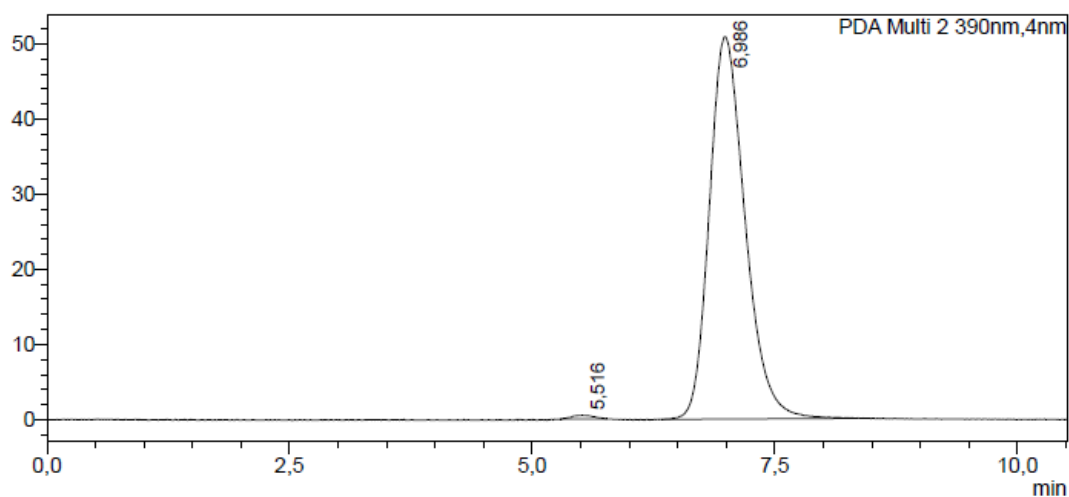
Verbindung 59

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,516	8143	443	0,820
2	6,985	985010	38510	99,180
Total		993154	38952	

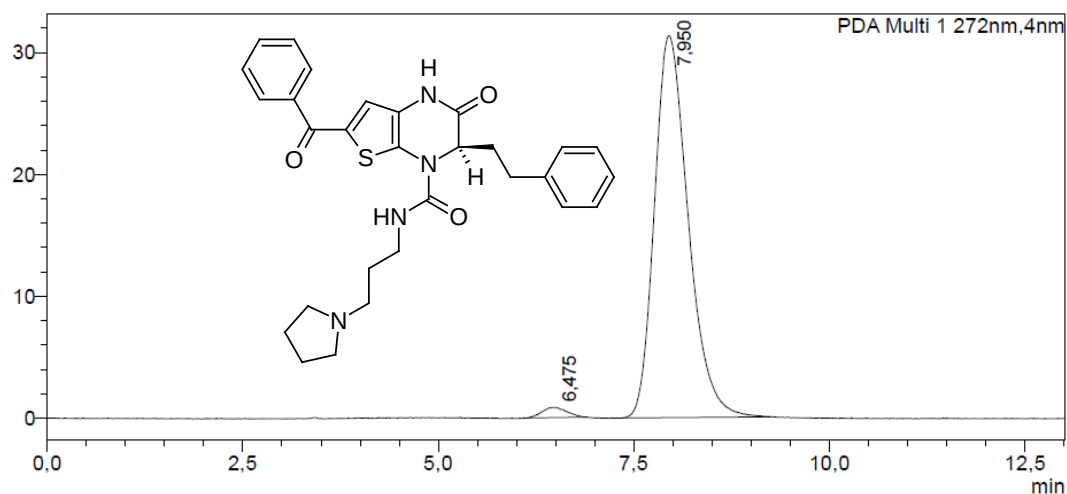
PDA Ch2 390nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,516	7697	506	0,586
2	6,986	1306592	50888	99,414
Total		1314289	51394	

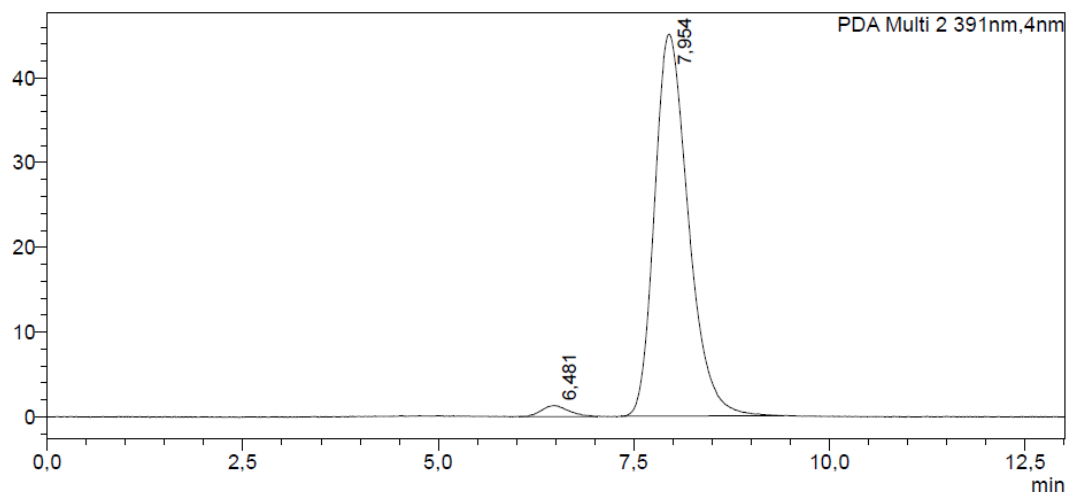
Verbindung 60

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	6,475	18569	846	1,936
2	7,950	940723	31323	98,064
Total		959292	32169	

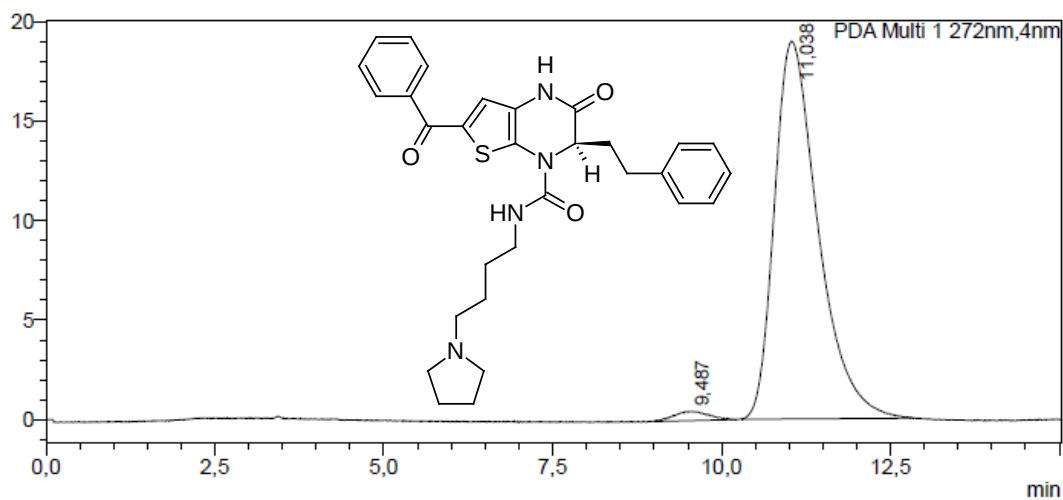
PDA Ch2 391nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	6,481	31821	1297	2,290
2	7,954	1357599	45087	97,710
Total		1389420	46384	

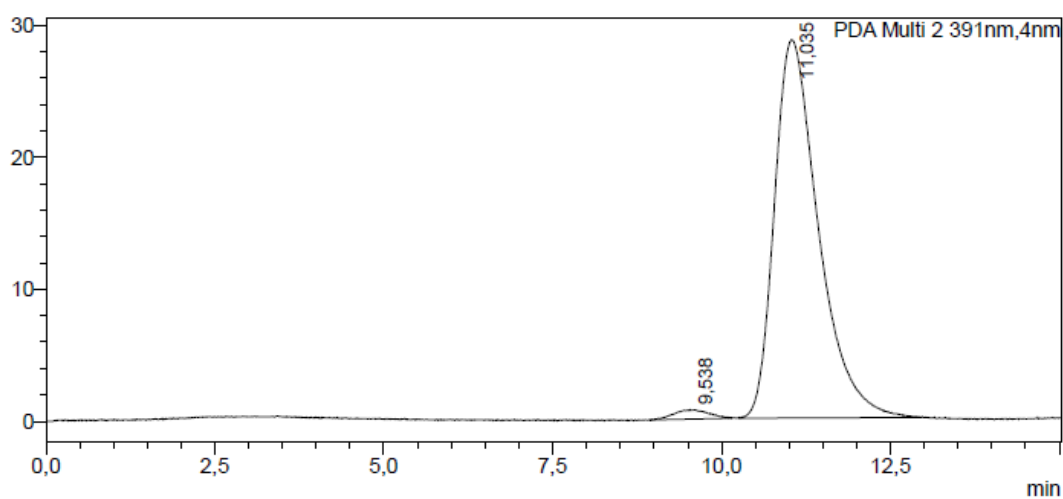
Verbindung **61**

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	9,487	17215	475	1,967
2	11,038	857854	19009	98,033
Total		875069	19485	

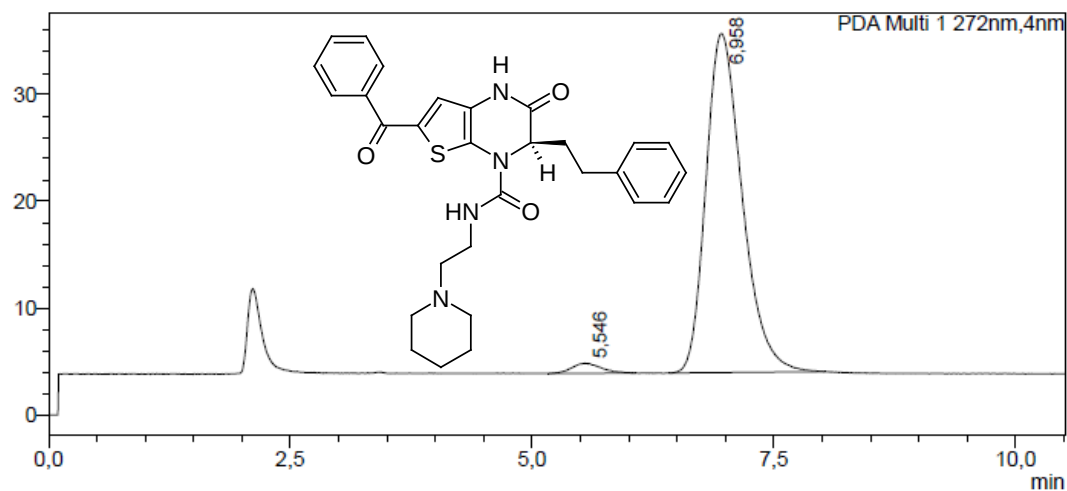
PDA Ch2 391nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	9,538	25916	732	1,954
2	11,035	1300466	28660	98,046
Total		1326382	29392	

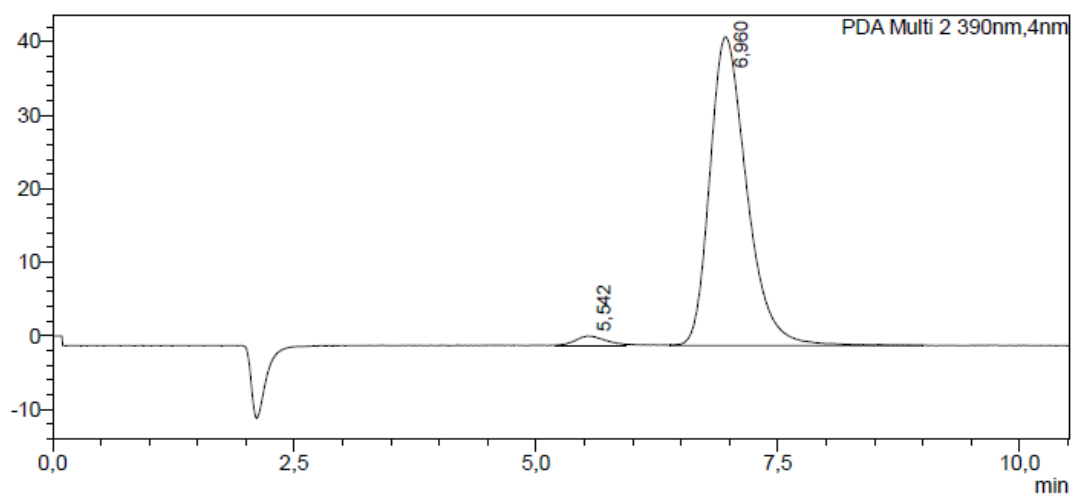
Verbindung 62

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,546	20045	943	2,352
2	6,958	832156	31750	97,648
Total		852201	32692	

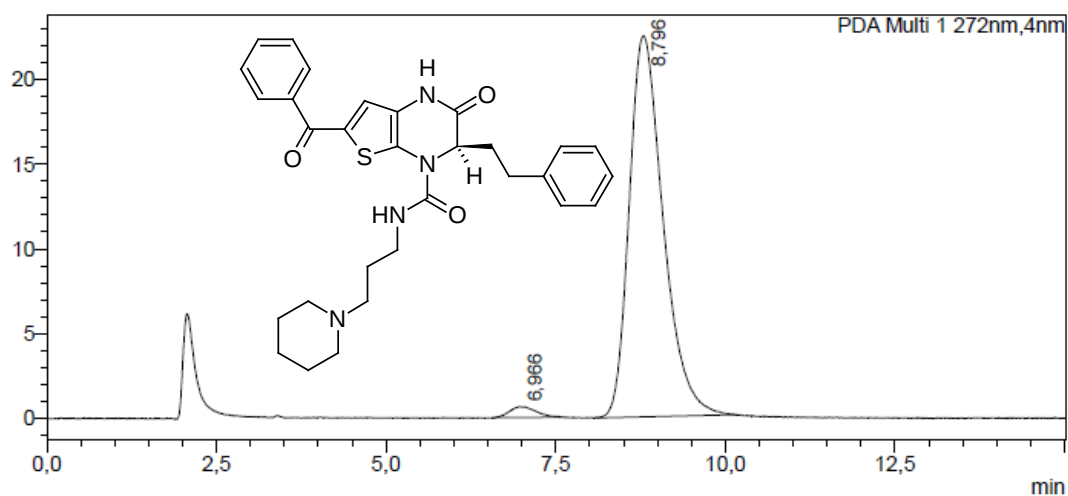
PDA Ch2 390nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,542	28201	1292	2,466
2	6,960	1115291	41919	97,534
Total		1143492	43211	

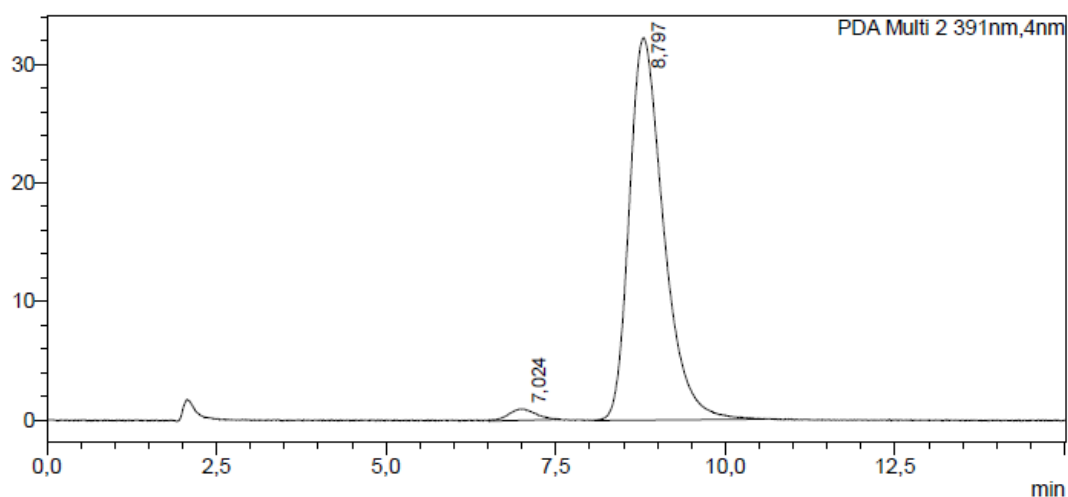
Verbindung 63

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	6,966	17104	649	2,137
2	8,796	783223	22472	97,863
Total		800327	23122	

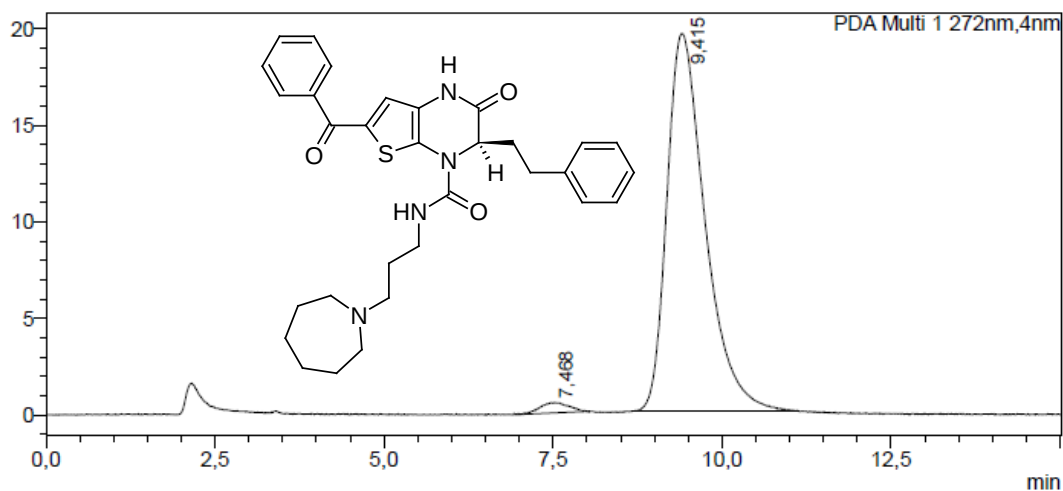
PDA Ch2 391nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	7,024	27242	961	2,344
2	8,797	1135078	32272	97,656
Total		1162320	33233	

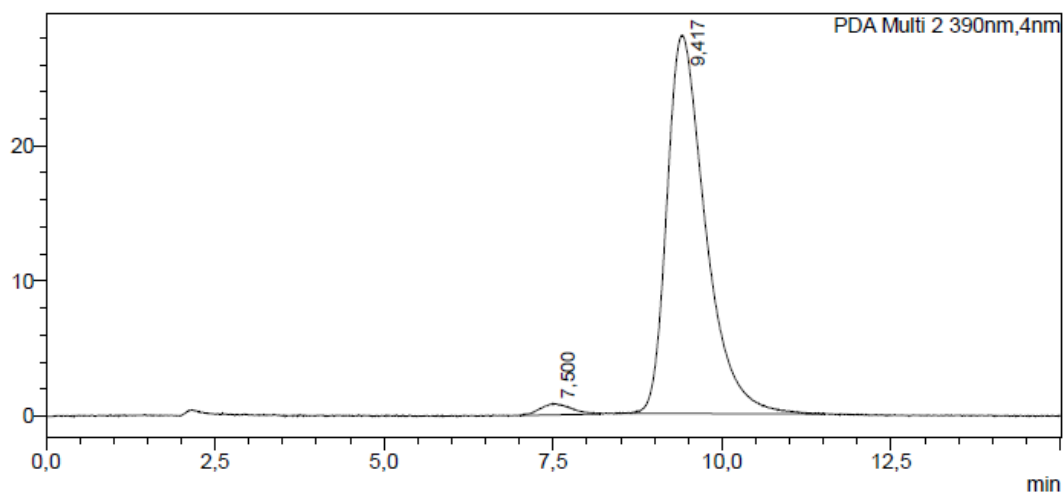
Verbindung 64

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	7,468	15829	536	2,012
2	9,415	771039	19561	97,988
Total		786869	20097	

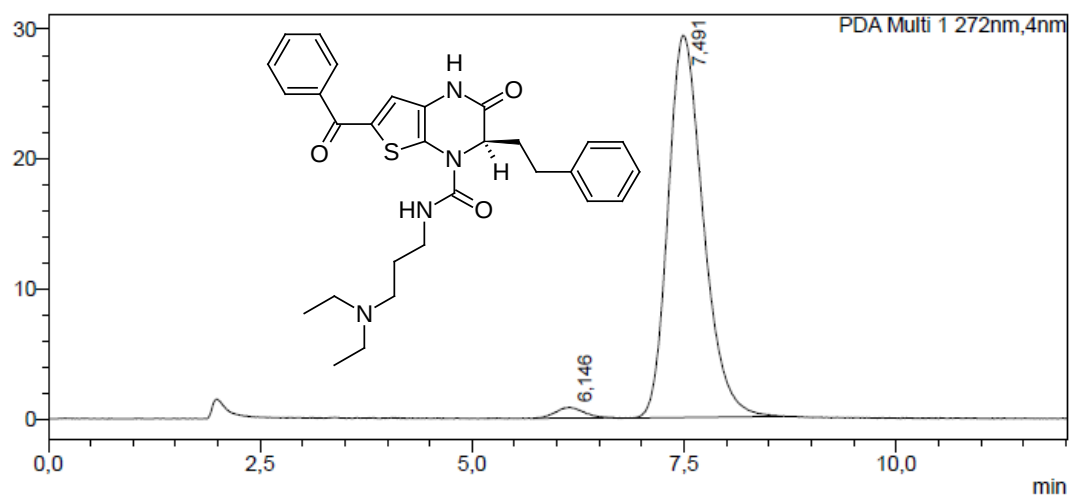
PDA Ch2 390nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	7,500	26878	845	2,358
2	9,417	1113087	27954	97,642
Total		1139964	28799	

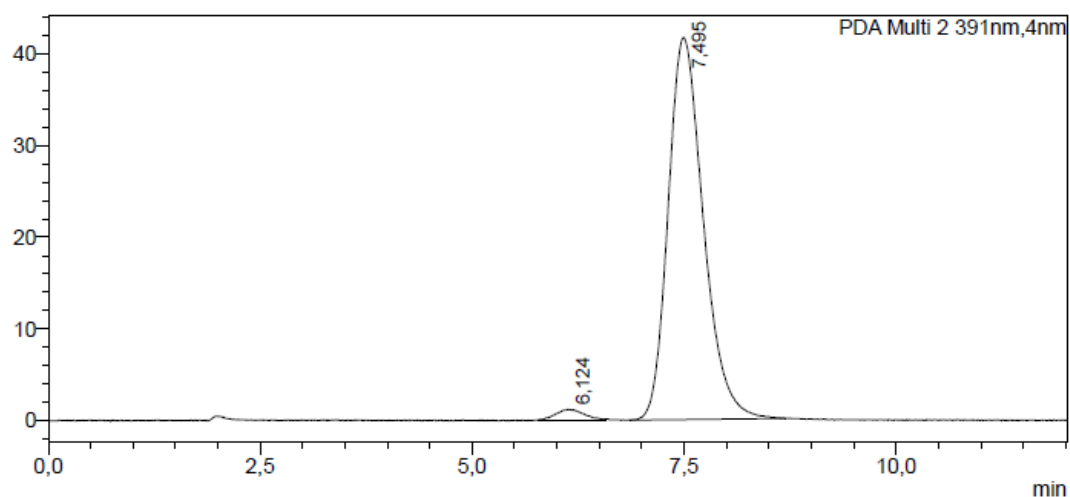
Verbindung 65

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	6,146	19220	820	2,213
2	7,491	849451	29413	97,787
Total		868671	30233	

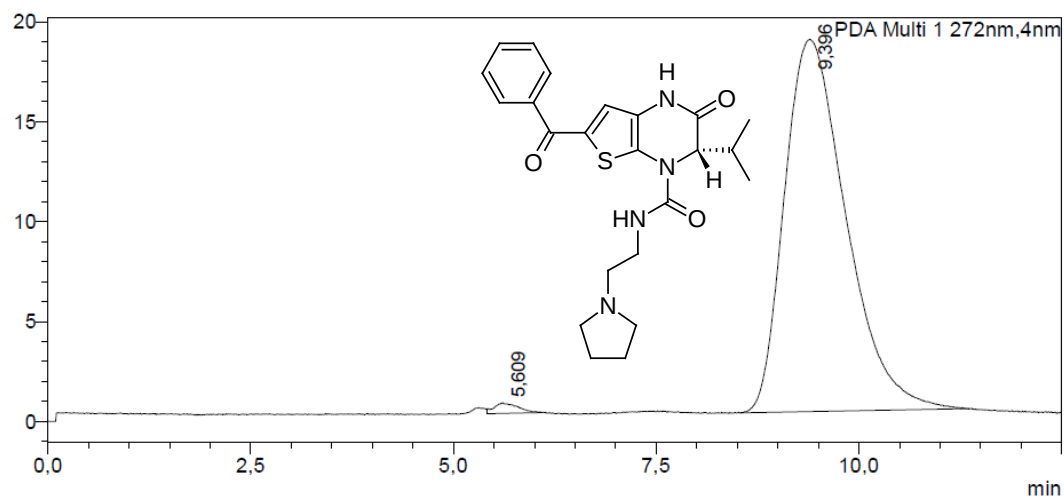
PDA Ch2 391nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	6,124	27452	1171	2,230
2	7,495	1203633	41640	97,770
Total		1231085	42810	

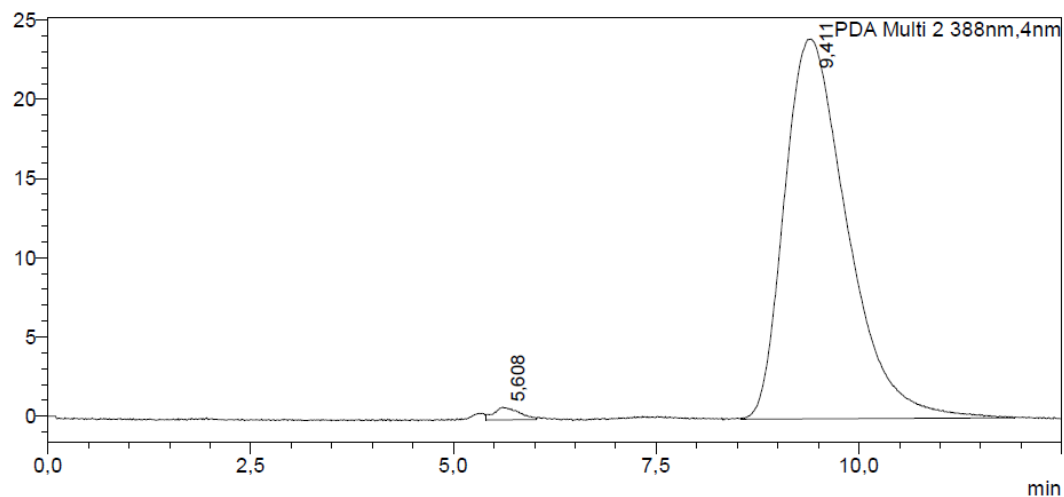
Verbindung 72

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,609	10444	532	1,051
2	9,396	983470	18610	98,949
Total		993914	19141	

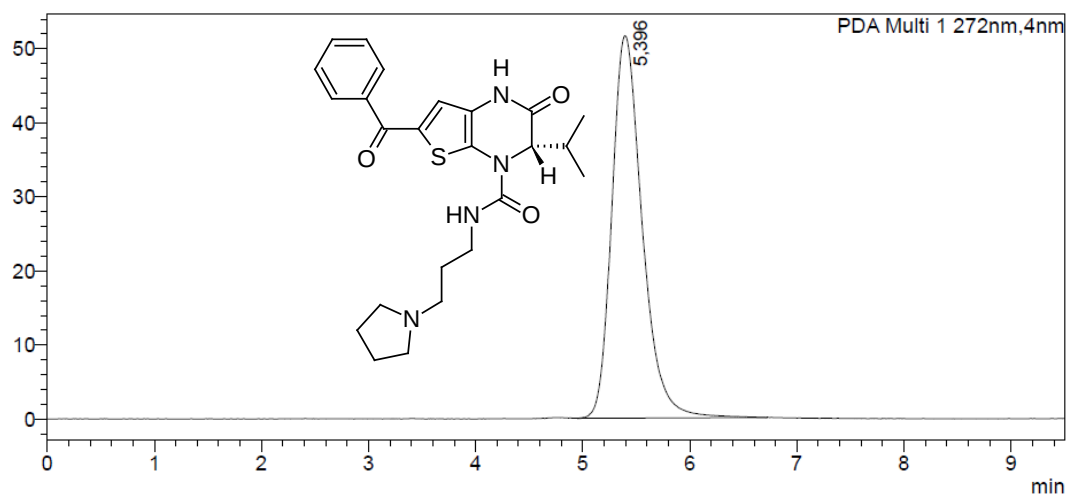
PDA Ch2 388nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,608	17016	796	1,300
2	9,411	1291673	23987	98,700
Total		1308689	24782	

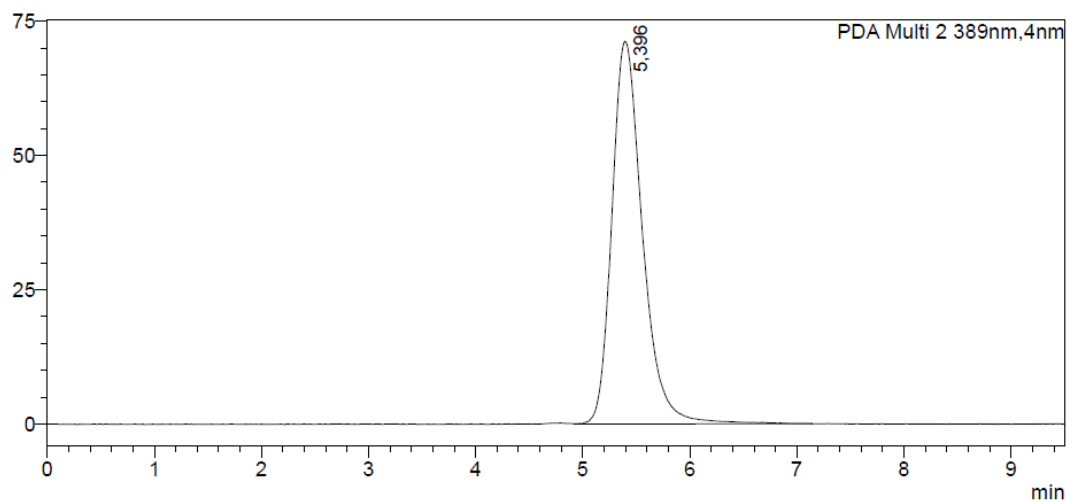
Verbindung 73

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,396	1019815	51641	100,000
Total		1019815	51641	

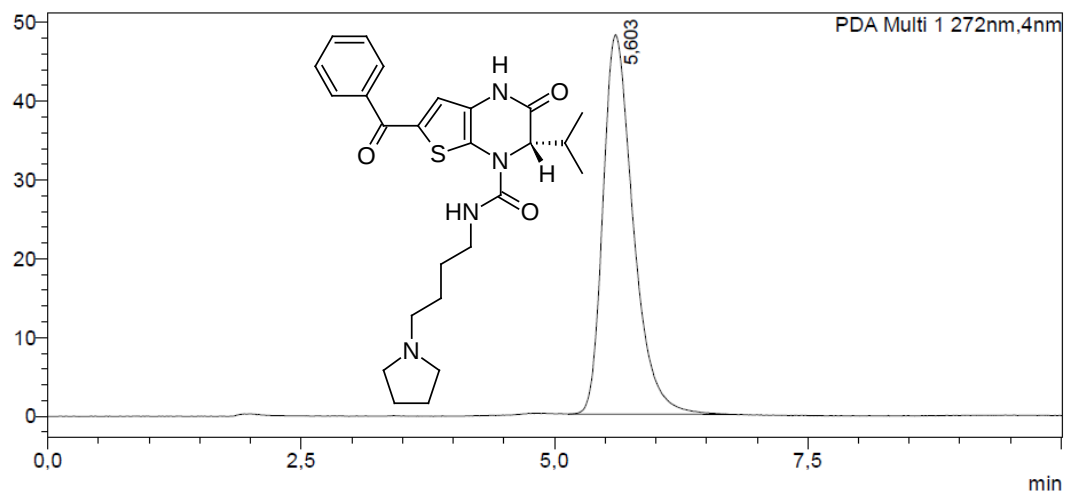
PDA Ch2 389nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,396	1417091	71234	100,000
Total		1417091	71234	

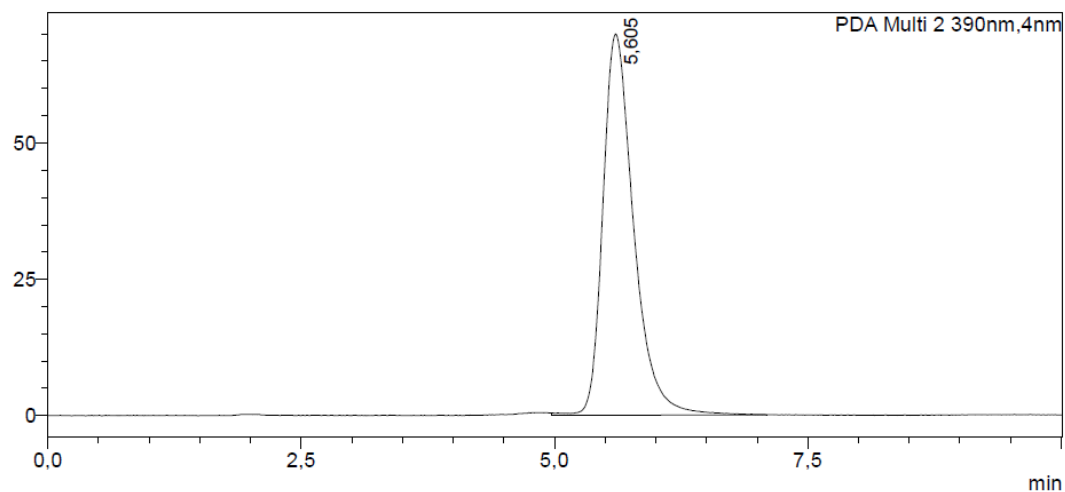
Verbindung 74

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,603	1001029	48152	100,000
Total		1001029	48152	

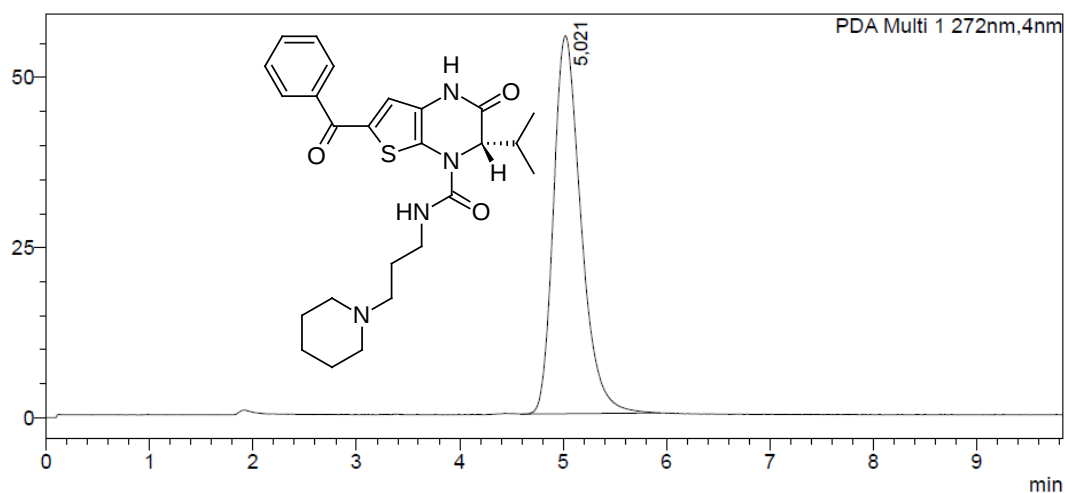
PDA Ch2 390nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,605	1482732	69902	100,000
Total		1482732	69902	

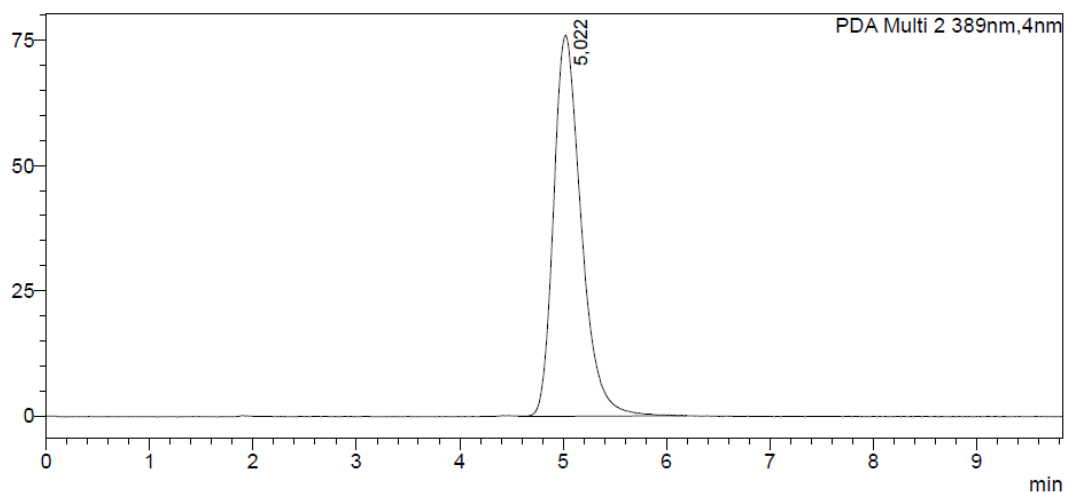
Verbindung 76

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,021	1029930	55575	100,000
Total		1029930	55575	

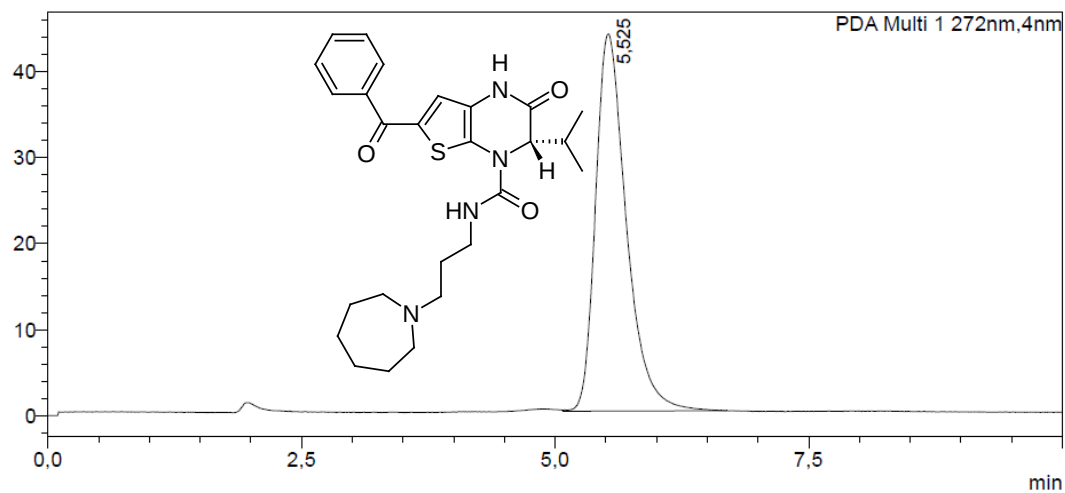
PDA Ch2 389nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,022	1417695	76071	100,000
Total		1417695	76071	

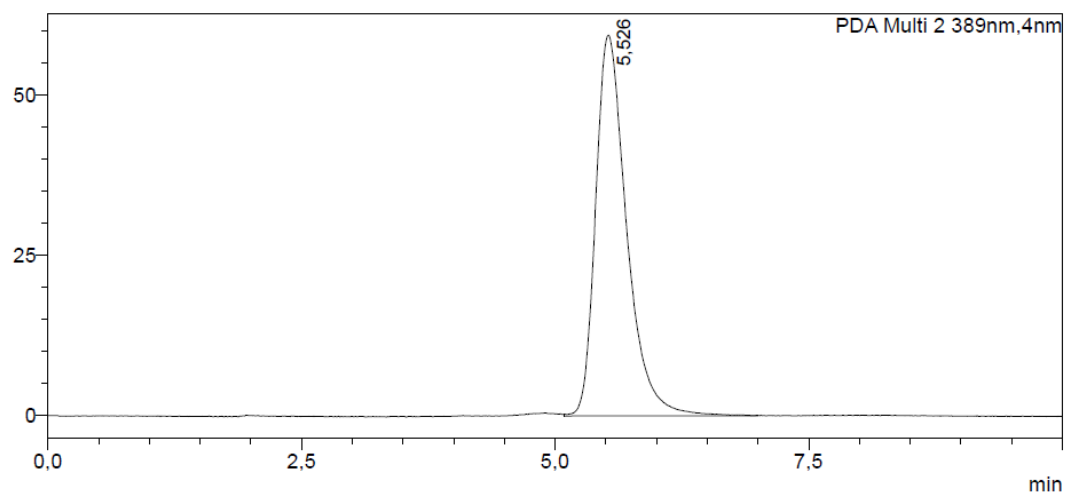
Verbindung 77

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,525	925957	43876	100,000
Total		925957	43876	

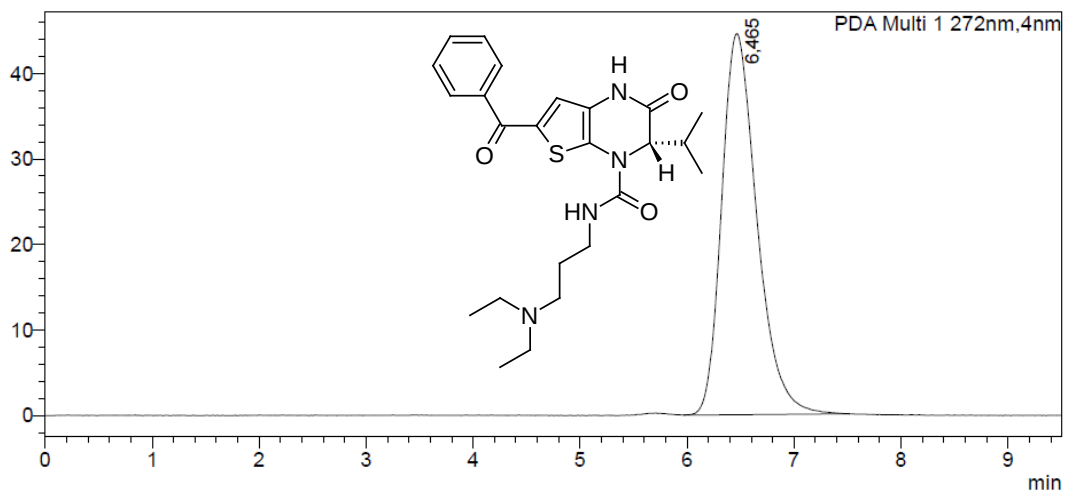
PDA Ch2 389nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,526	1262520	59419	100,000
Total		1262520	59419	

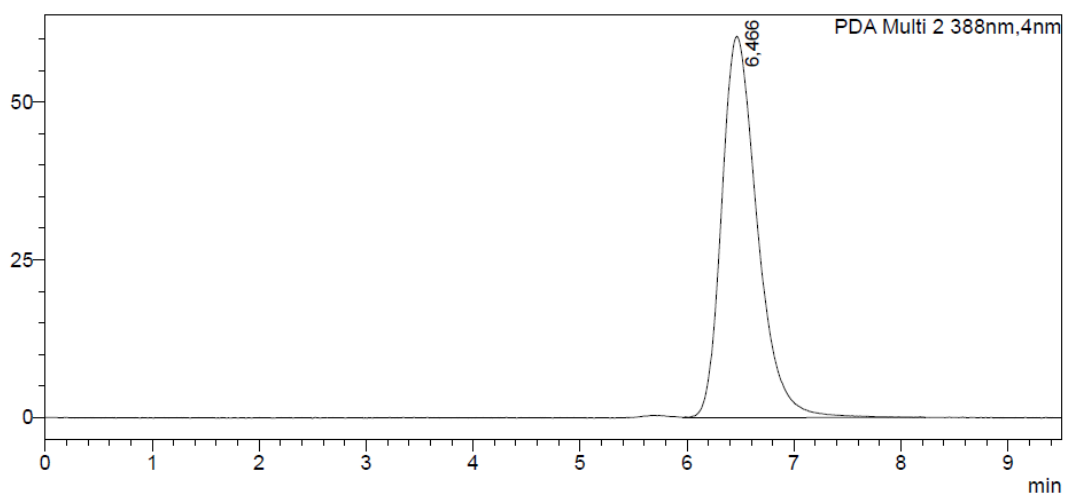
Verbindung 78

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	6,465	1021650	44550	100,000
Total		1021650	44550	

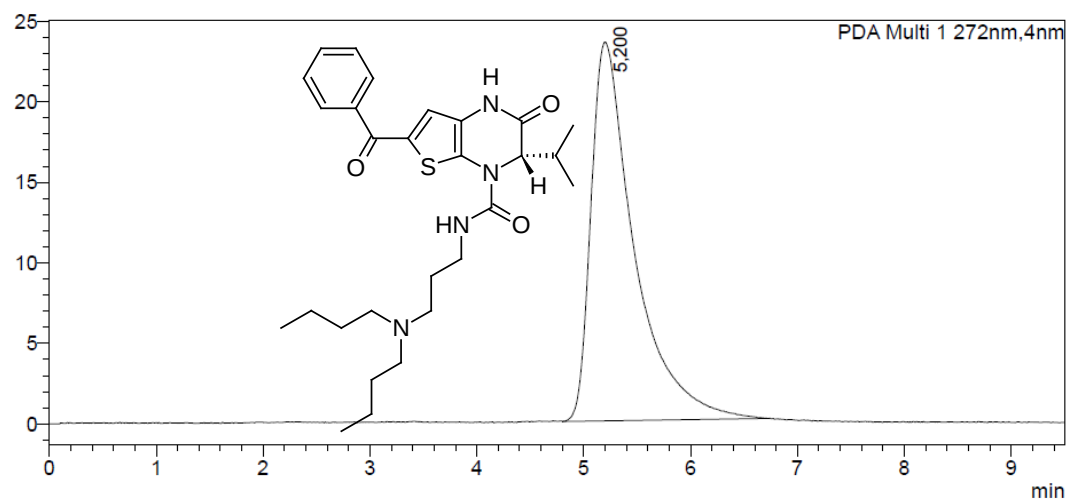
PDA Ch2 388nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	6,466	1403604	60488	100,000
Total		1403604	60488	

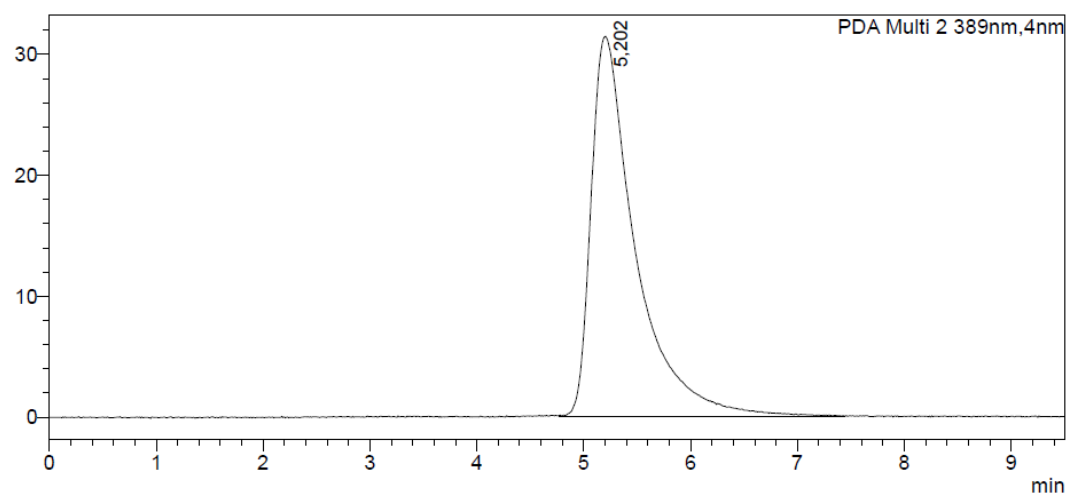
Verbindung 79

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,200	660634	23507	100,000
Total		660634	23507	

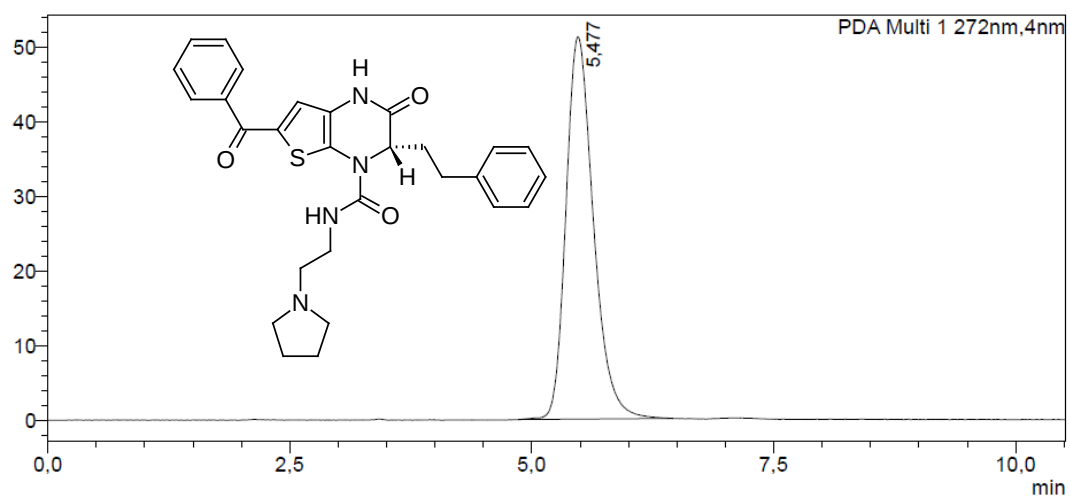
PDA Ch2 389nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,202	902561	31402	100,000
Total		902561	31402	

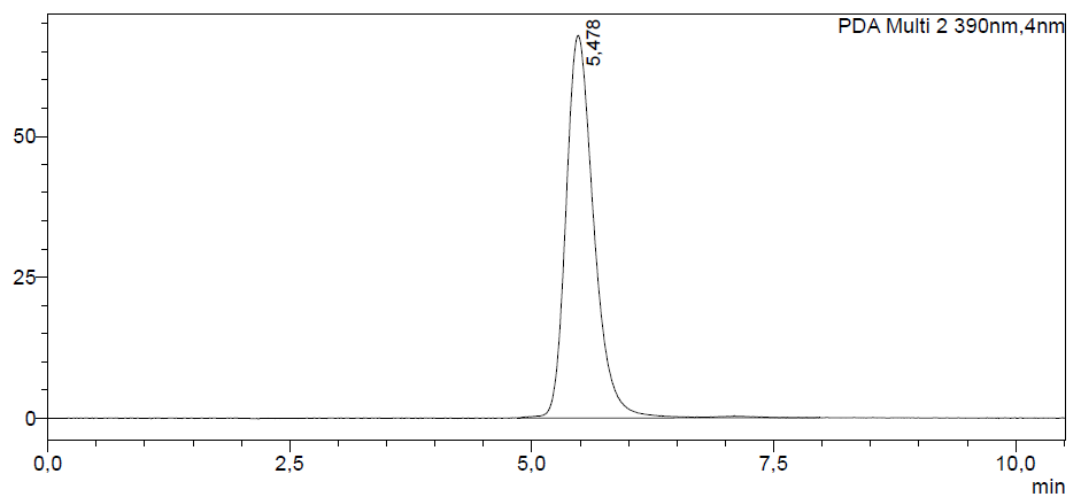
Verbindung **80**

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,477	1016419	51269	100,000
Total		1016419	51269	

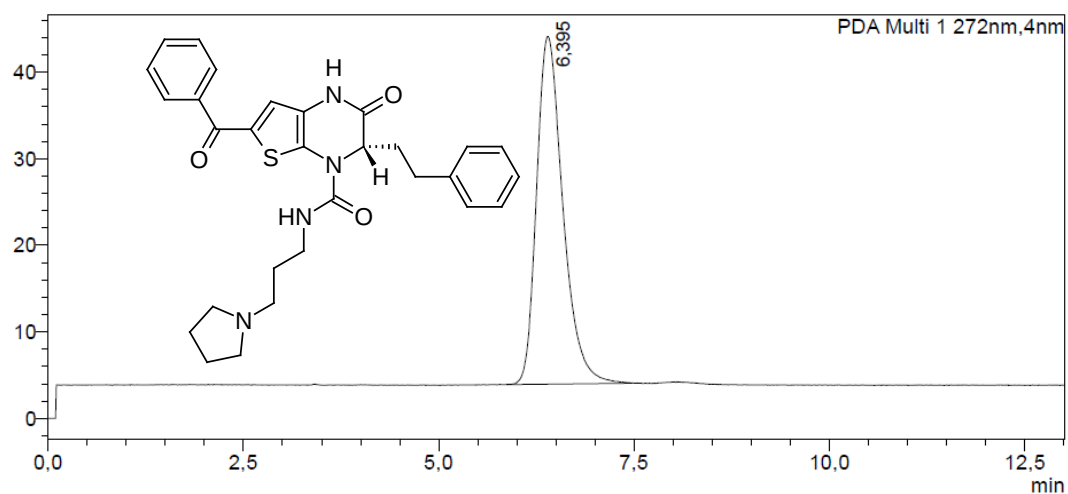
PDA Ch2 390nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,478	1361159	67834	100,000
Total		1361159	67834	

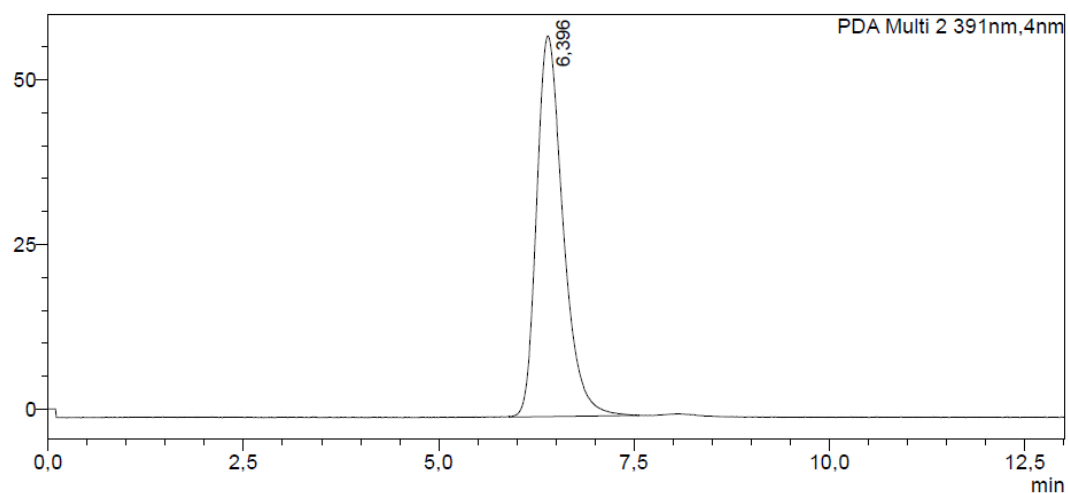
Verbindung 81

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

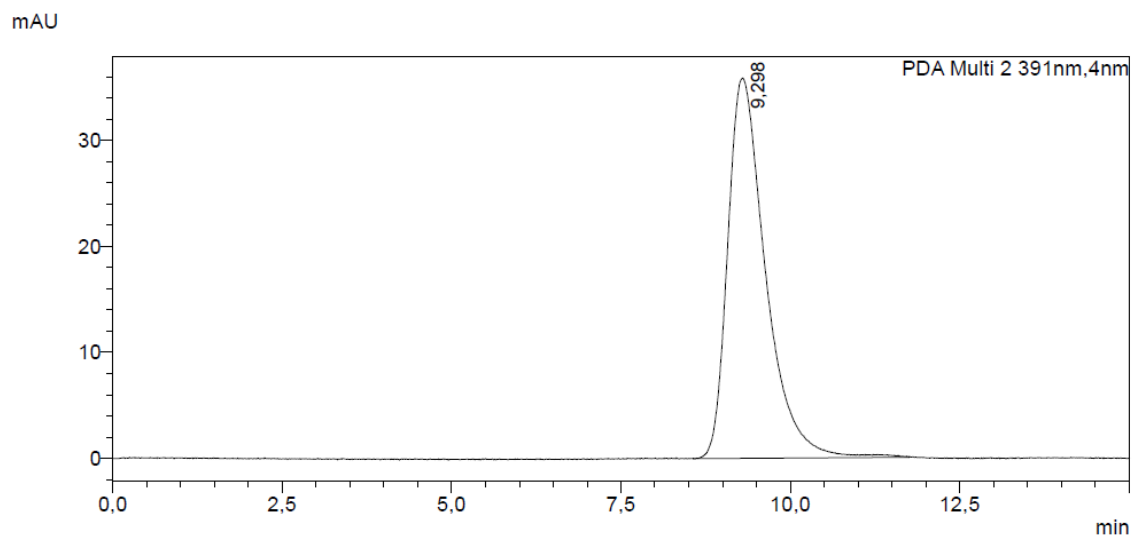
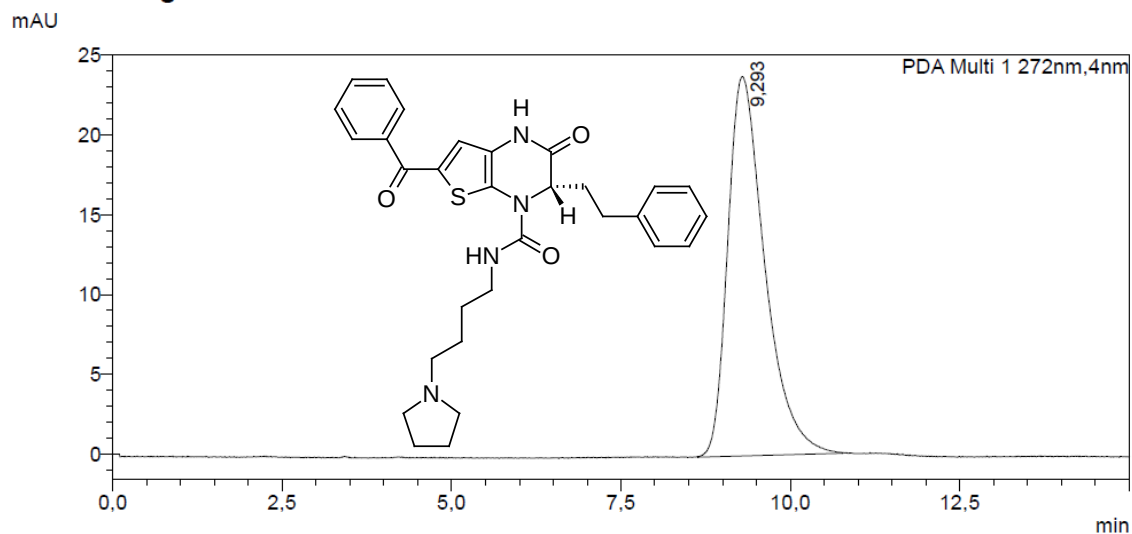
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	6,395	940996	40149	100,000
Total		940996	40149	

PDA Ch2 391nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	6,396	1360629	57822	100,000
Total		1360629	57822	

Verbindung 82

<Chromatogram>



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	9,293	905647	23772	100,000
Total		905647	23772	

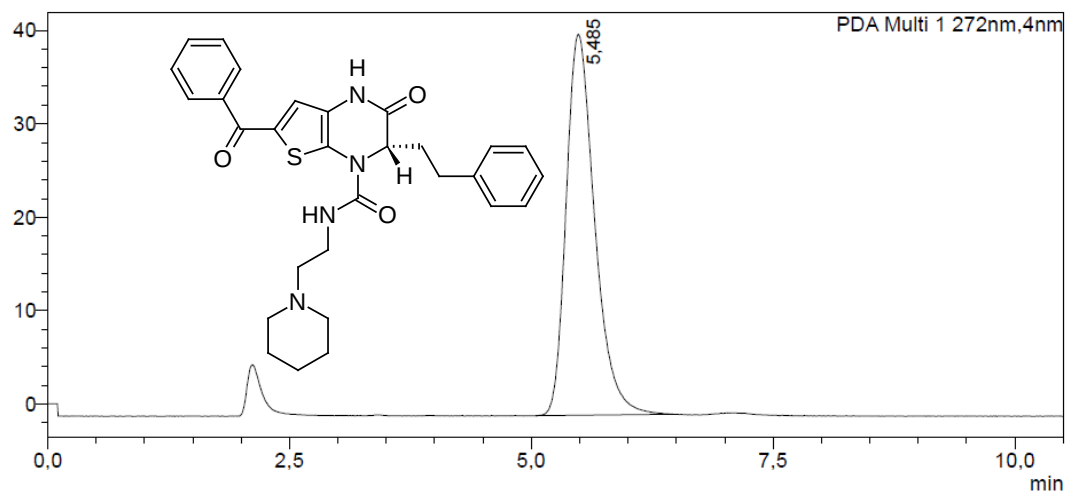
PDA Ch2 391nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	9,298	1391359	35880	100,000
Total		1391359	35880	

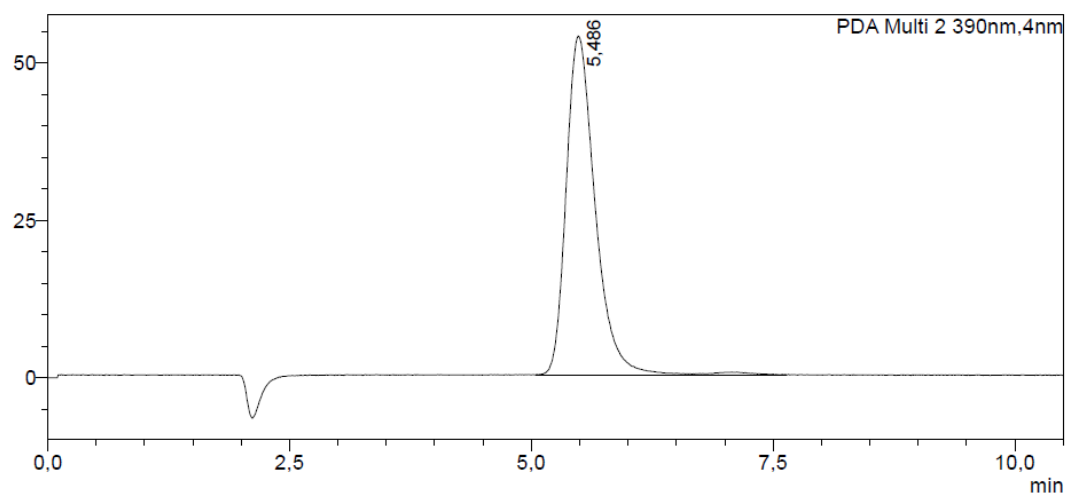
Verbindung 83

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,485	838474	40786	100,000
Total		838474	40786	

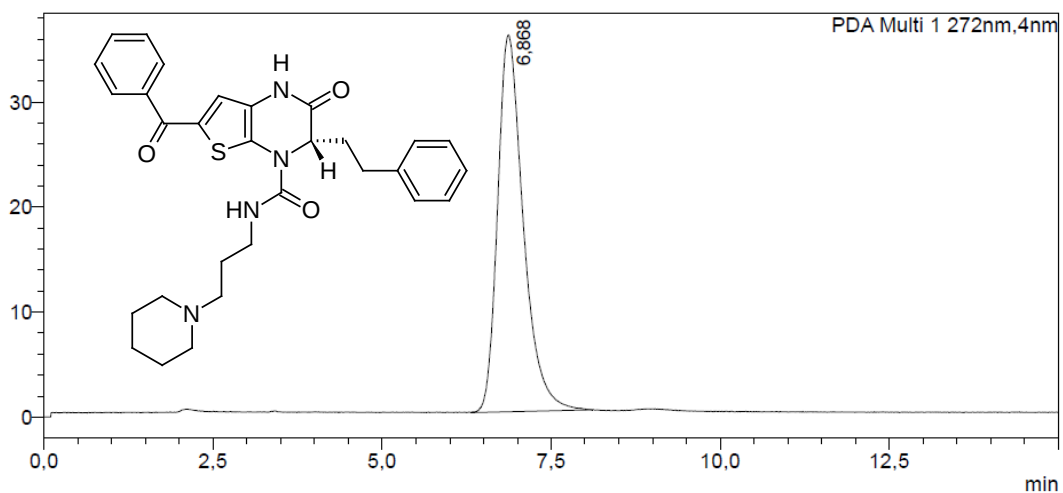
PDA Ch2 390nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,486	1119649	53750	100,000
Total		1119649	53750	

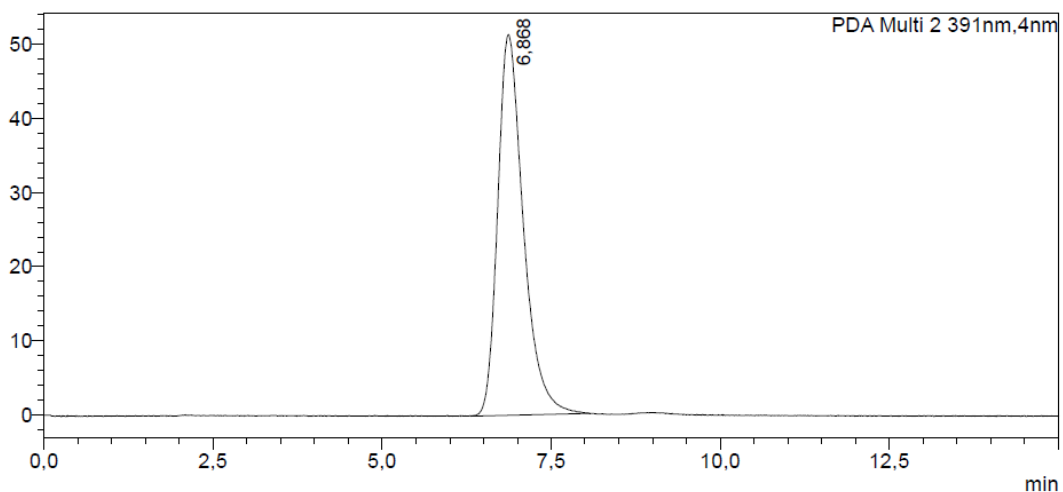
Verbindung **84**

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	6,868	949503	35896	100,000
Total		949503	35896	

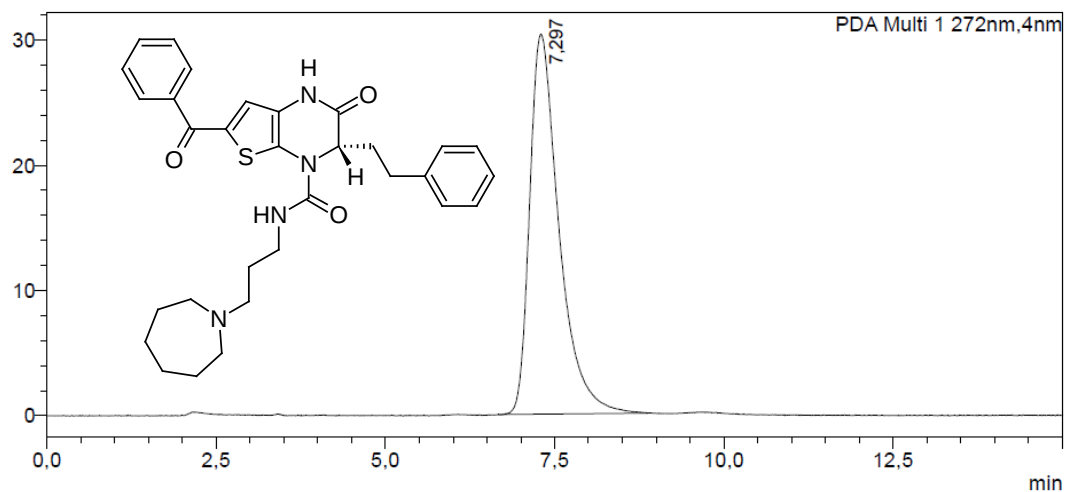
PDA Ch2 391nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	6,868	1355997	51330	100,000
Total		1355997	51330	

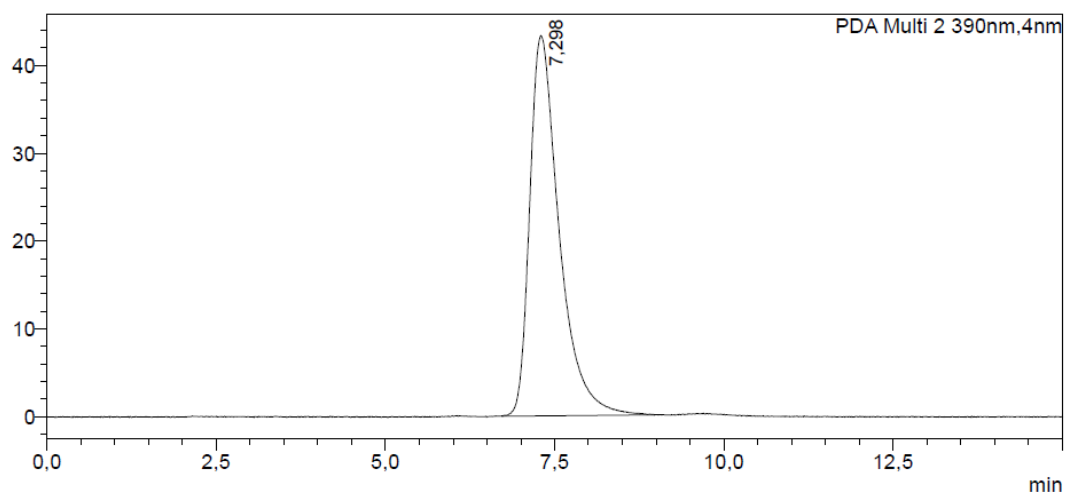
Verbindung 85

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	7.297	917707	30369	100,000
Total		917707	30369	

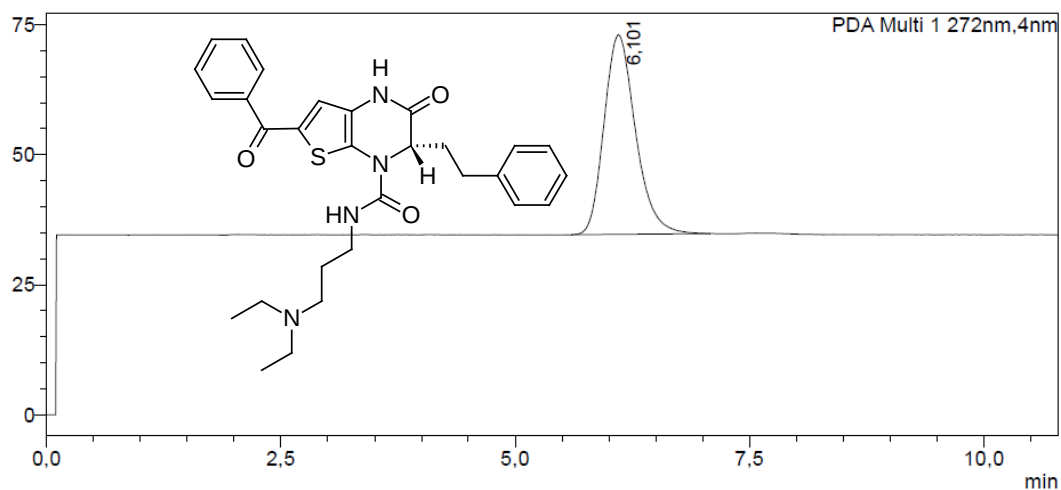
PDA Ch2 390nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	7.298	1313022	43296	100,000
Total		1313022	43296	

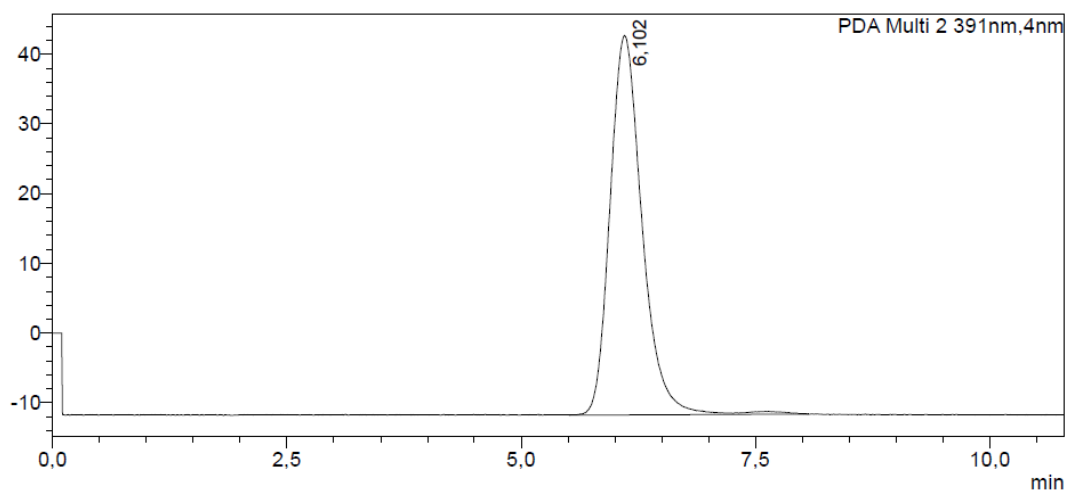
Verbindung **86**

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	6,101	897424	38349	100,000
Total		897424	38349	

PDA Ch2 391nm

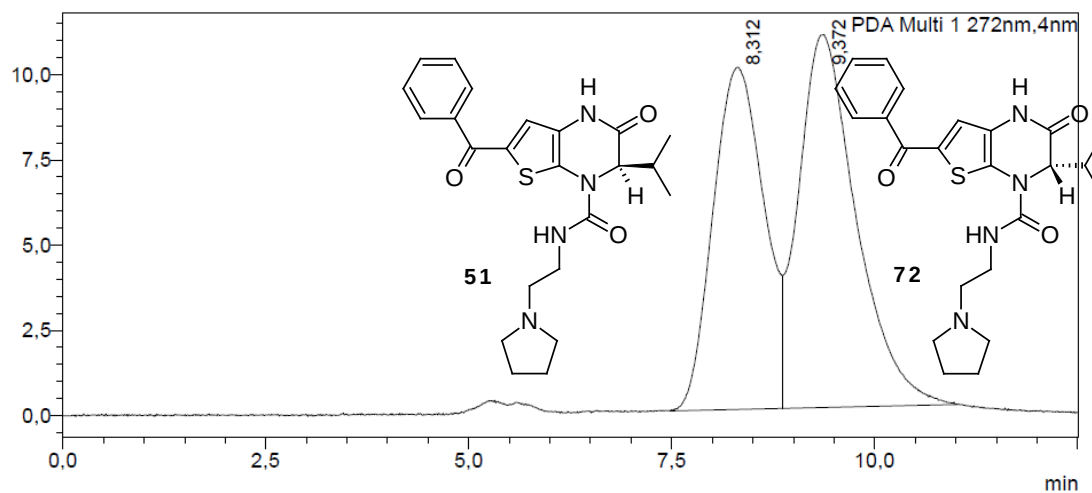
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	6,102	1293931	54413	100,000
Total		1293931	54413	

10.2. Chromatogramme der Enantiomerenpaare

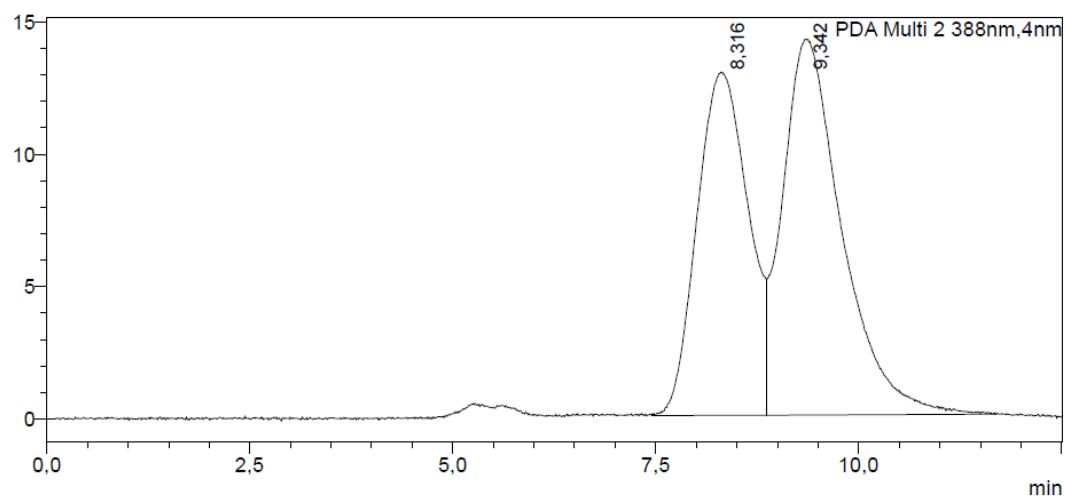
Verbindung 51 und 72

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	8,312	438764	10033	44,774
2	9,372	541195	10933	55,226
Total		979959	20967	

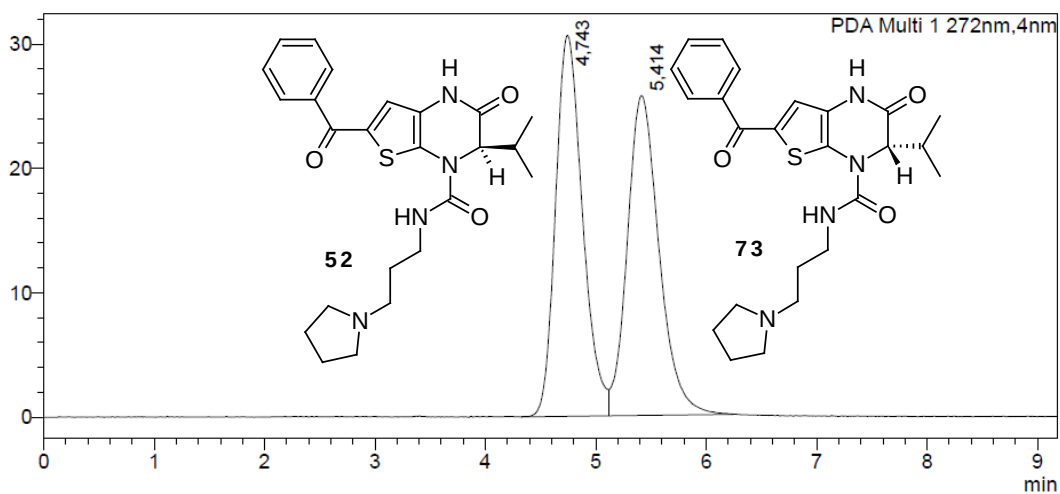
PDA Ch2 388nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	8,316	569603	12966	44,115
2	9,342	721572	14195	55,885
Total		1291175	27161	

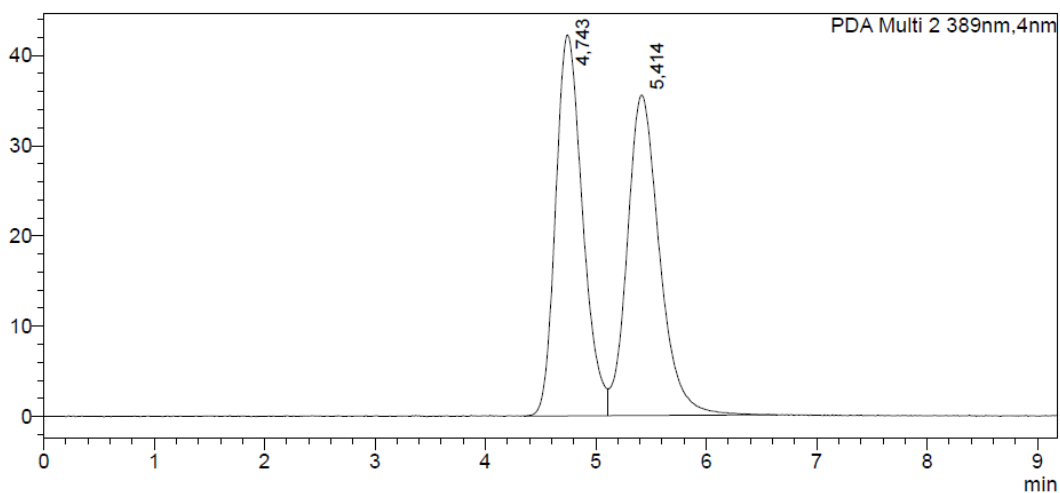
Verbindung 52 und 73

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	4,743	522132	30636	50,325
2	5,414	515397	25704	49,675
Total		1037529	56340	

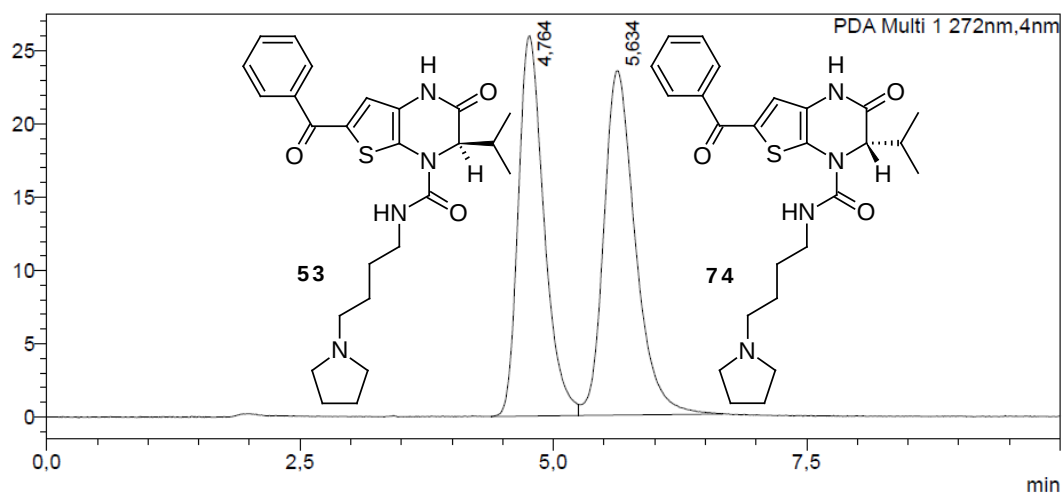
PDA Ch2 389nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	4,743	718049	42198	49,876
2	5,414	721631	35485	50,124
Total		1439681	77684	

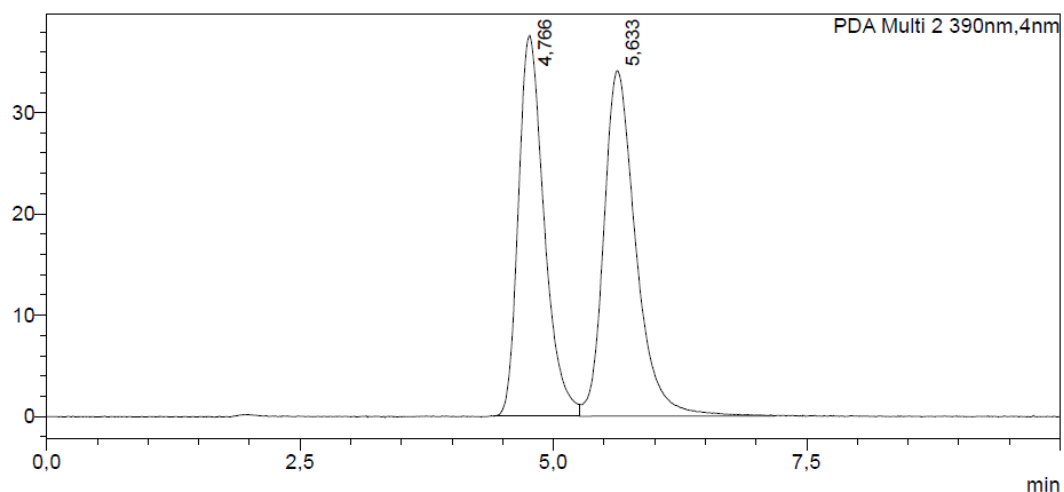
Verbindung **53** und **74**

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	4,764	458875	25960	47,354
2	5,634	510155	23513	52,646
Total		969029	49473	

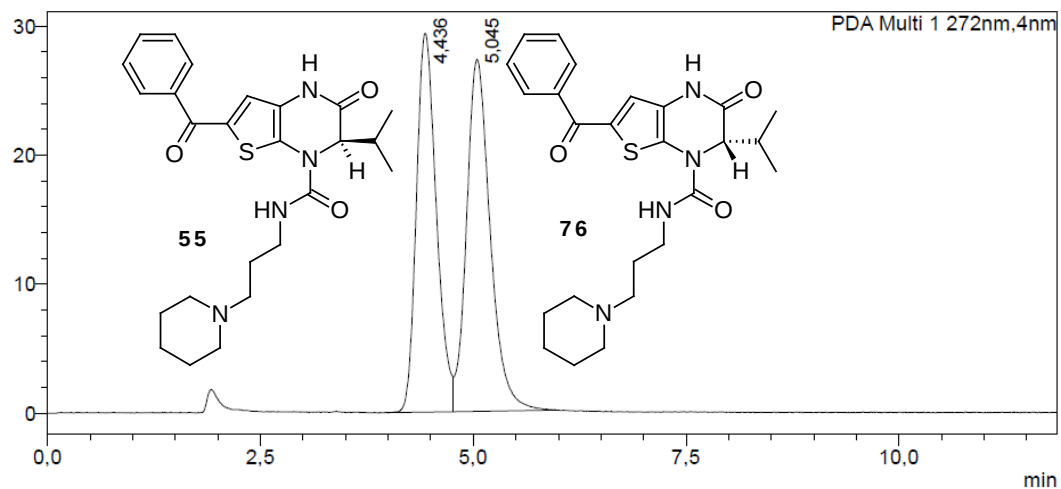
PDA Ch2 390nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	4,766	665075	37592	47,012
2	5,633	749609	34105	52,988
Total		1414684	71697	

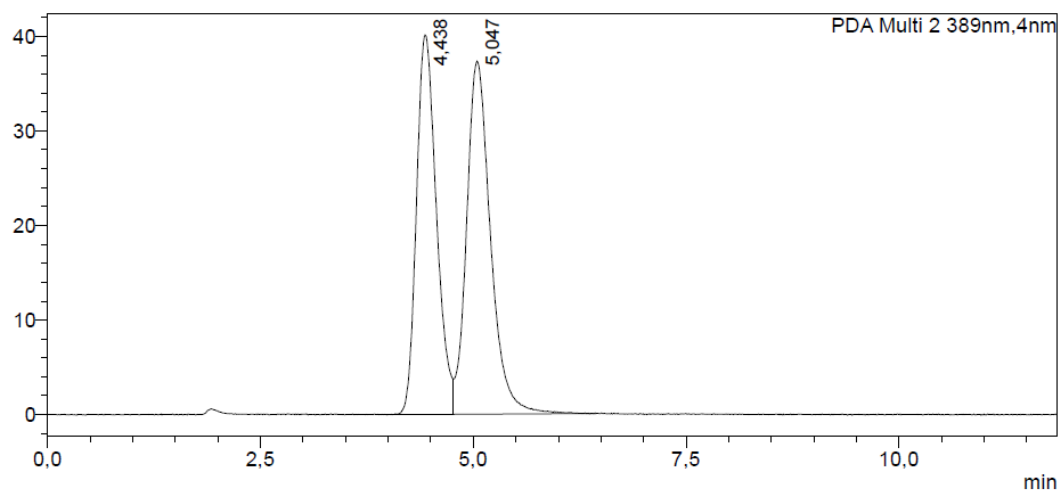
Verbindung 55 und 76

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	4,436	479658	29344	47,599
2	5,045	528048	27263	52,401
Total		1007707	56607	

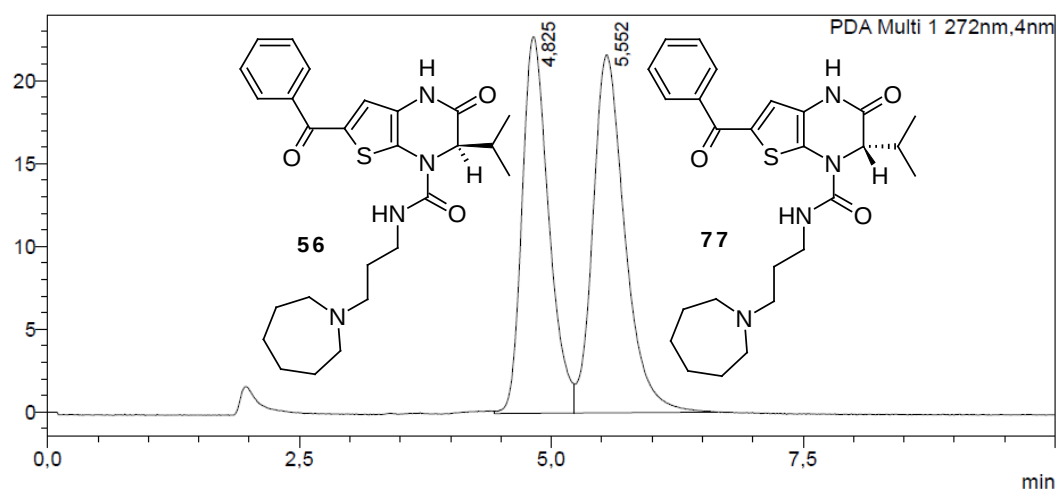
PDA Ch2 389nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	4,438	655441	40114	47,350
2	5,047	728798	37308	52,650
Total		1384238	77422	

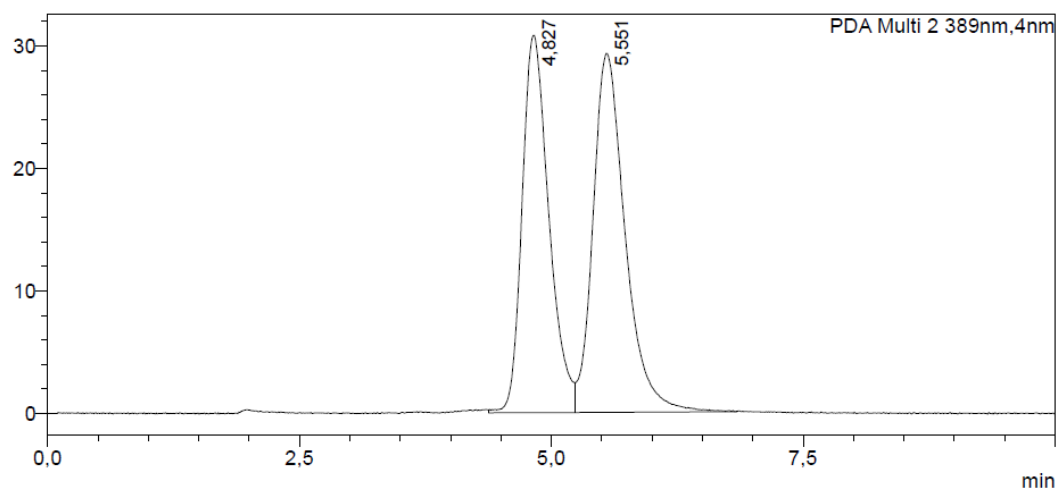
Verbindung **56** und **77**

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	4,825	418592	22721	46,735
2	5,552	477077	21593	53,265
Total		895669	44314	

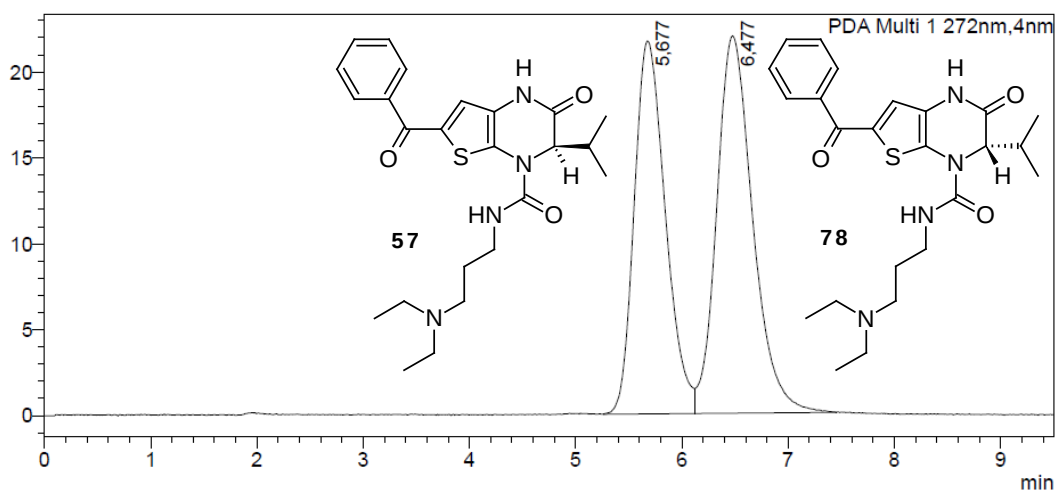
PDA Ch2 389nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	4,827	571440	30781	46,796
2	5,551	649701	29284	53,204
Total		1221141	60065	

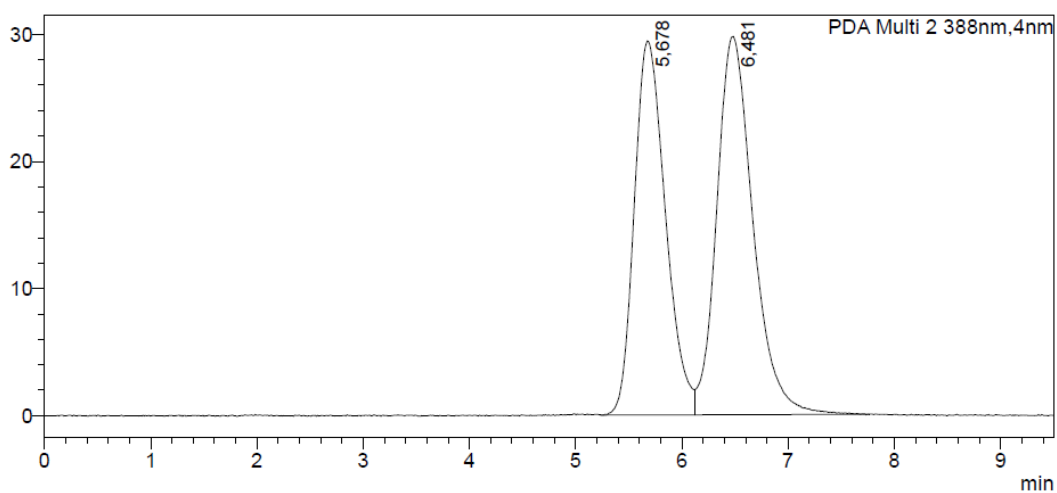
Verbindung 57 und 78

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,677	443169	21708	46,166
2	6,477	516780	21953	53,834
Total		959948	43661	

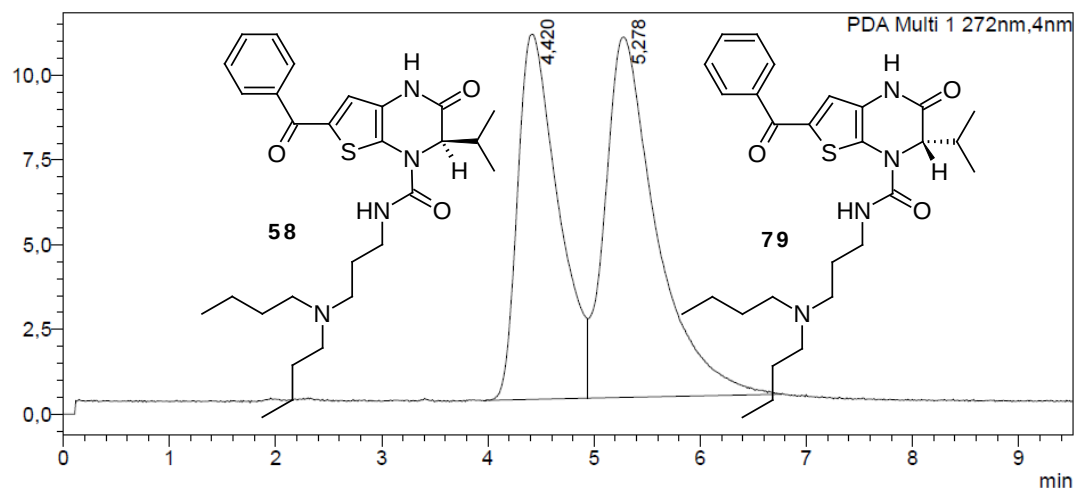
PDA Ch2 388nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,678	601773	29427	46,039
2	6,481	705313	29756	53,961
Total		1307086	59183	

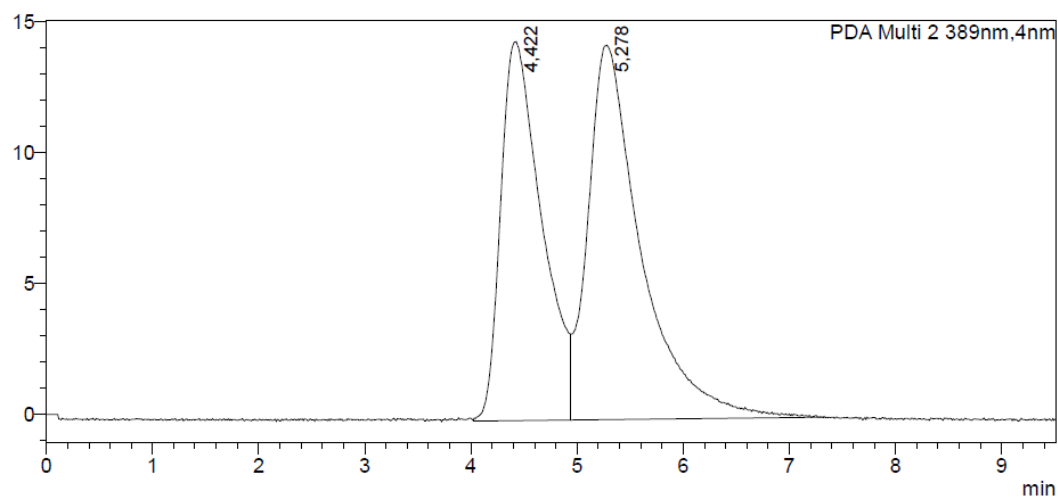
Verbindung **58** und **79**

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	4,420	288064	10767	44,636
2	5,278	357303	10644	55,364
Total		645367	21411	

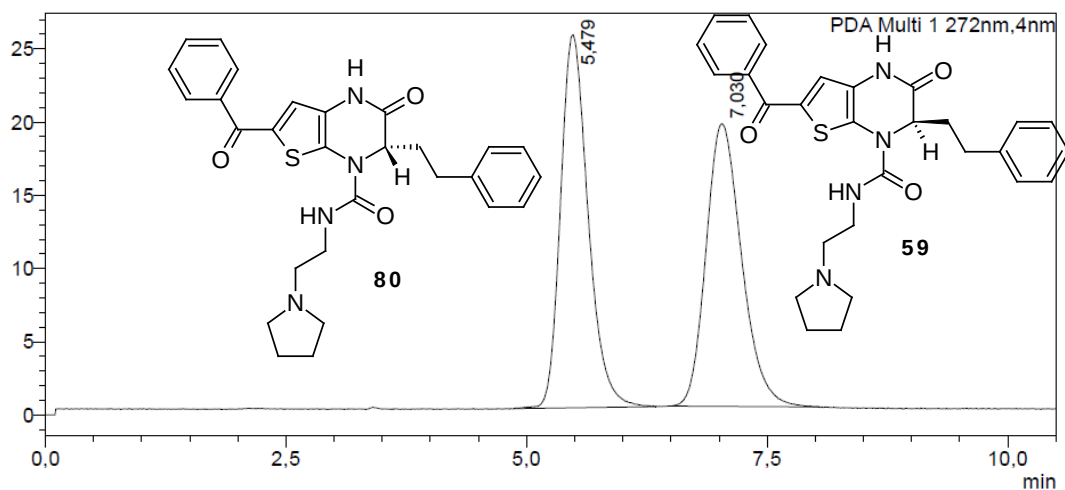
PDA Ch2 389nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	4,422	389801	14486	43,955
2	5,278	497019	14320	56,045
Total		886820	28807	

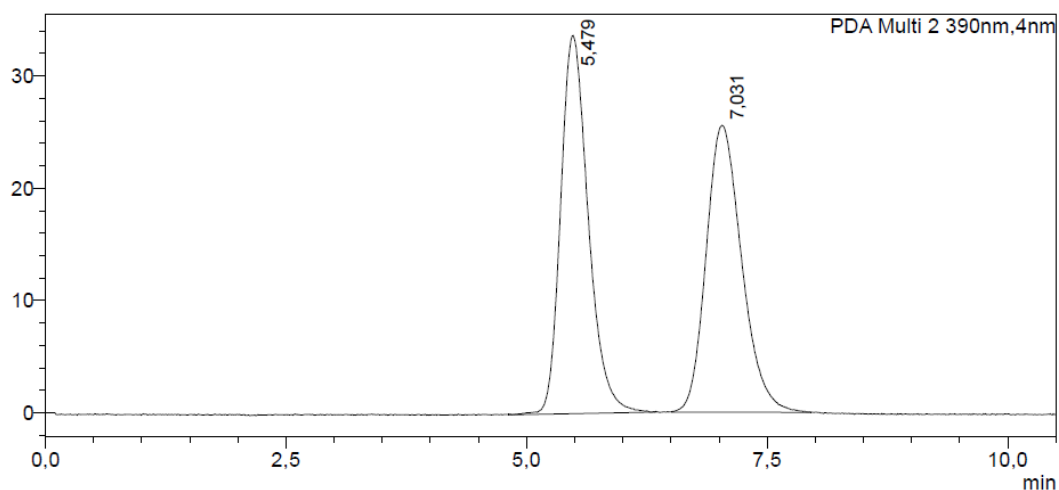
Verbindung **59** und **80**

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,479	507923	25471	50,514
2	7,030	497580	19319	49,486
Total		1005504	44791	

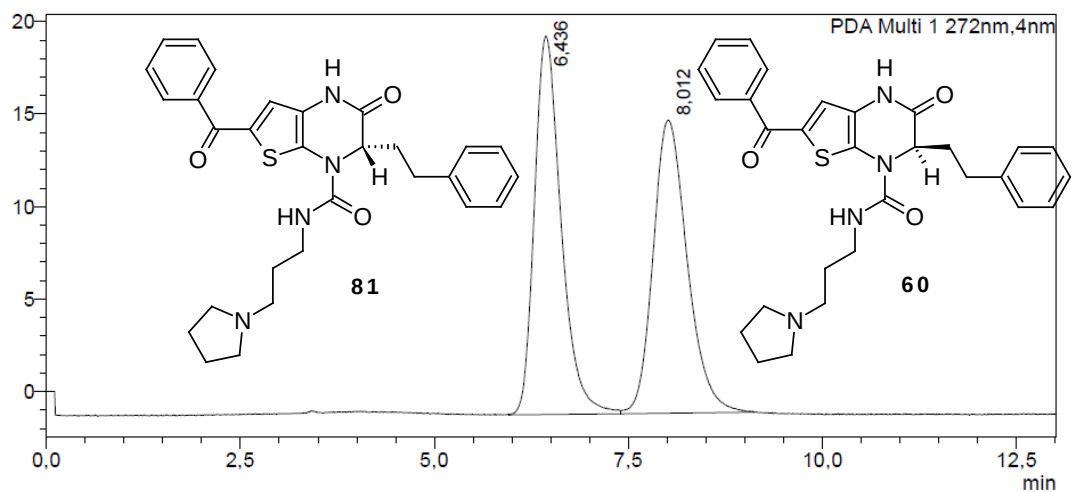
PDA Ch2 390nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,479	673069	33659	50,580
2	7,031	657624	25546	49,420
Total		1330693	59205	

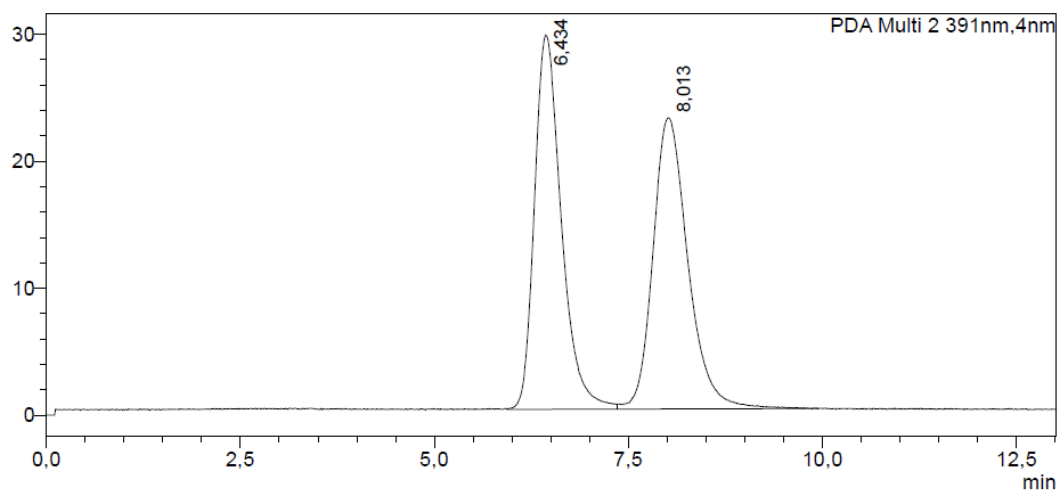
Verbindung **60** und **81**

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	6,436	489622	20458	50,195
2	8,012	485826	15848	49,805
Total		975448	36305	

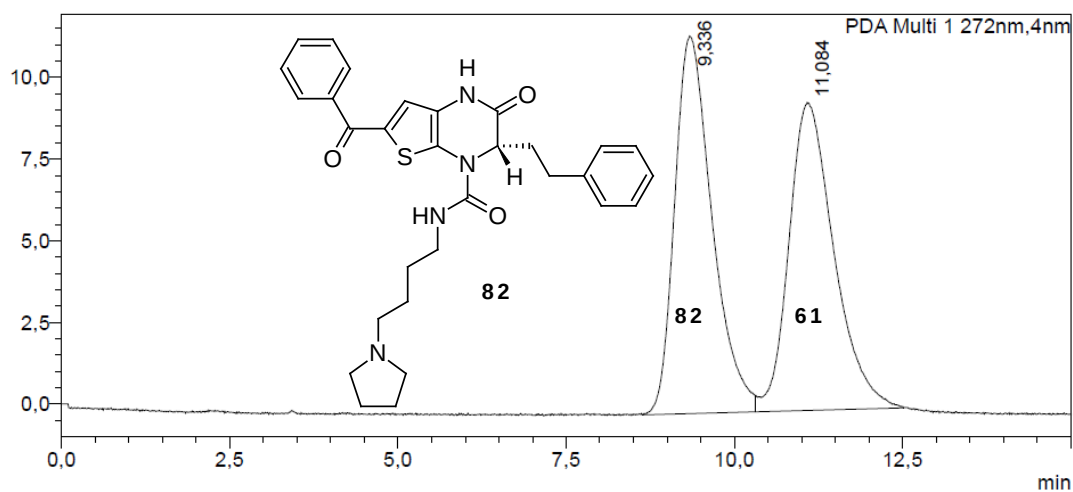
PDA Ch2 391nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	6,434	710295	29481	49,660
2	8,013	720032	22936	50,340
Total		1430327	52417	

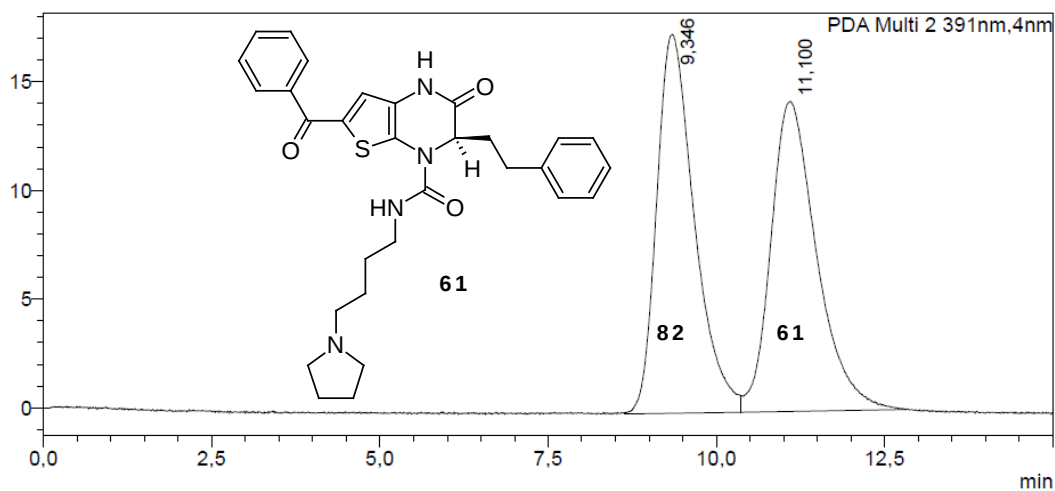
Verbindung **61** und **82**

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	9,336	446338	11554	50,426
2	11,084	438797	9423	49,574
Total		885135	20977	

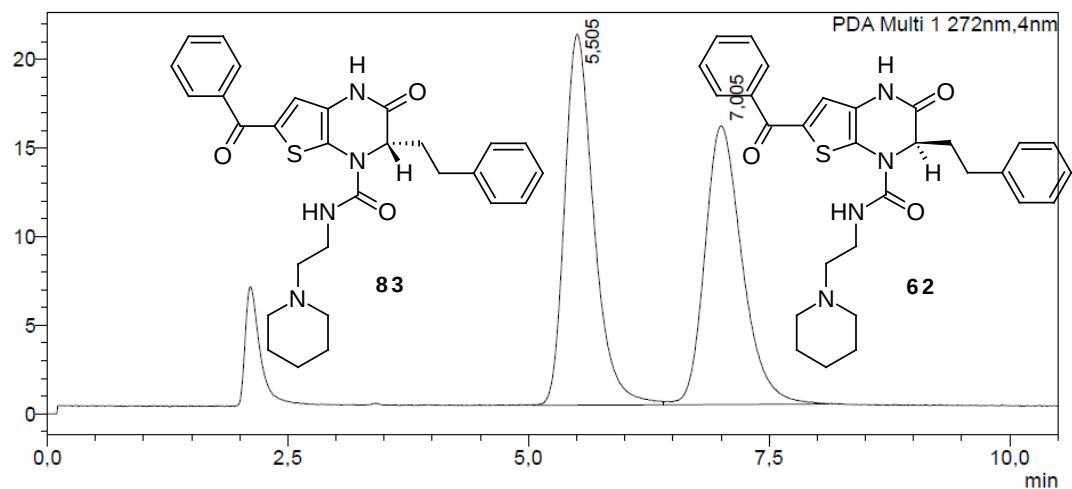
PDA Ch2 391nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	9,346	679853	17420	50,207
2	11,100	674244	14261	49,793
Total		1354096	31681	

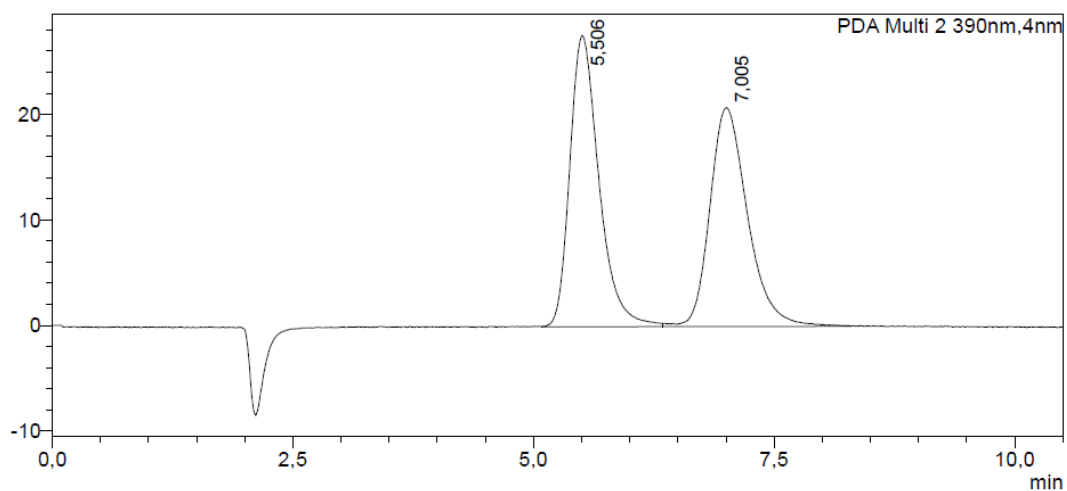
Verbindung **62** und **83**

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,505	442099	20937	50,991
2	7,005	424920	15723	49,009
Total		867020	36660	

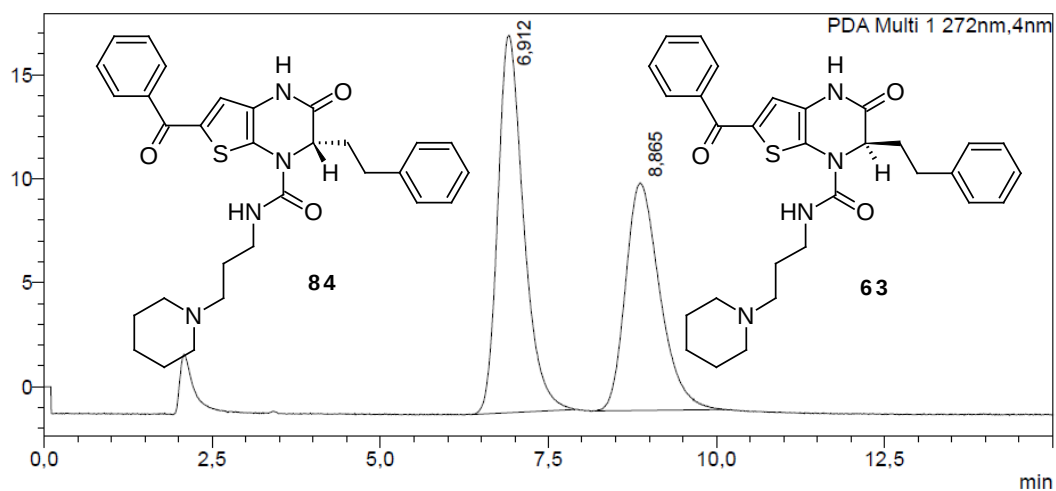
PDA Ch2 390nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	5,506	581809	27585	50,772
2	7,005	564110	20726	49,228
Total		1145919	48311	

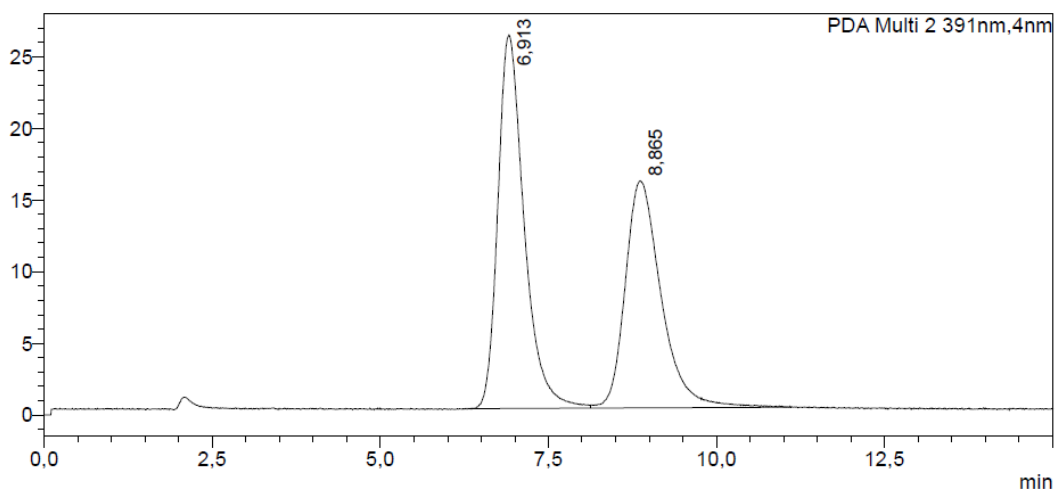
Verbindung **63** und **84**

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	6,912	483851	18143	55,456
2	8,865	388647	10946	44,544
Total		872498	29089	

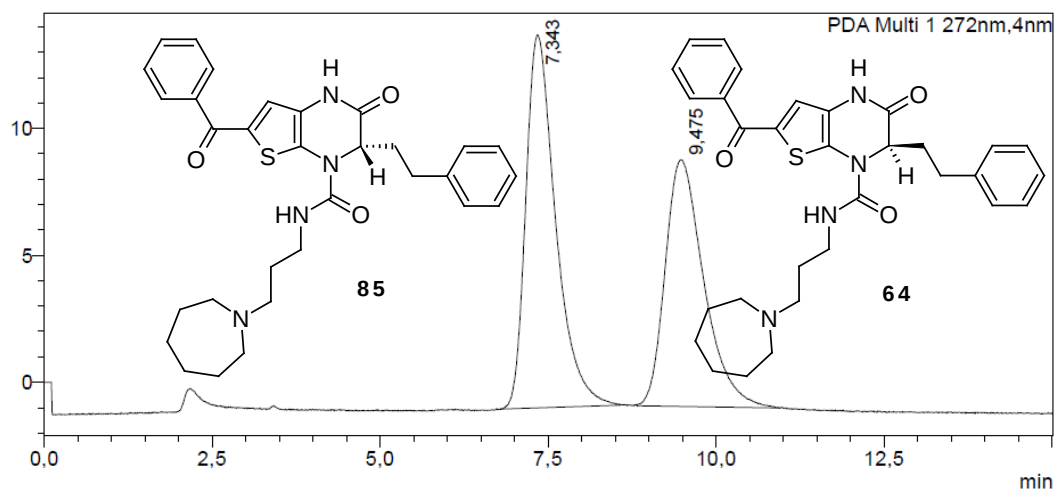
PDA Ch2 391nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	6,913	710025	26079	54,607
2	8,865	590230	15863	45,393
Total		1300255	41942	

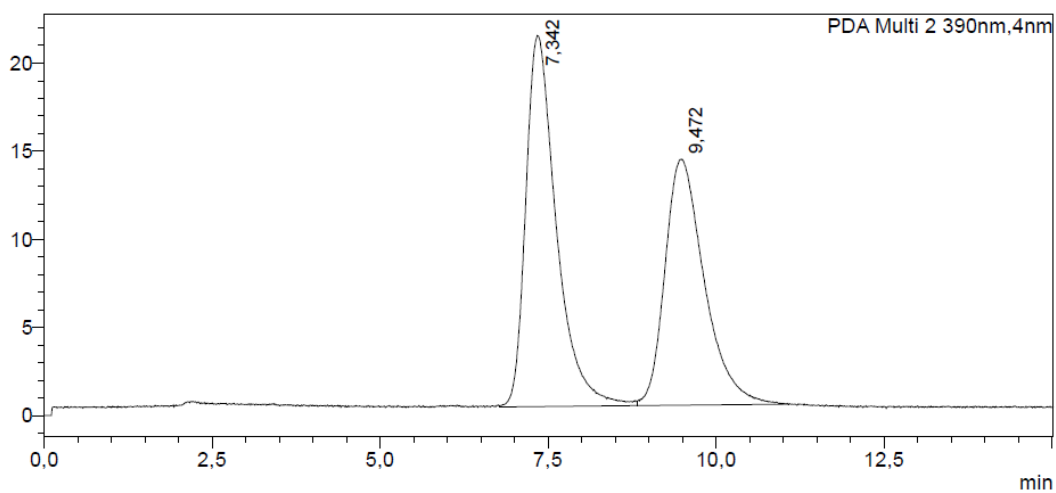
Verbindung **64** und **85**

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	7,343	453857	14689	53,817
2	9,475	389484	9716	46,183
Total		843341	24405	

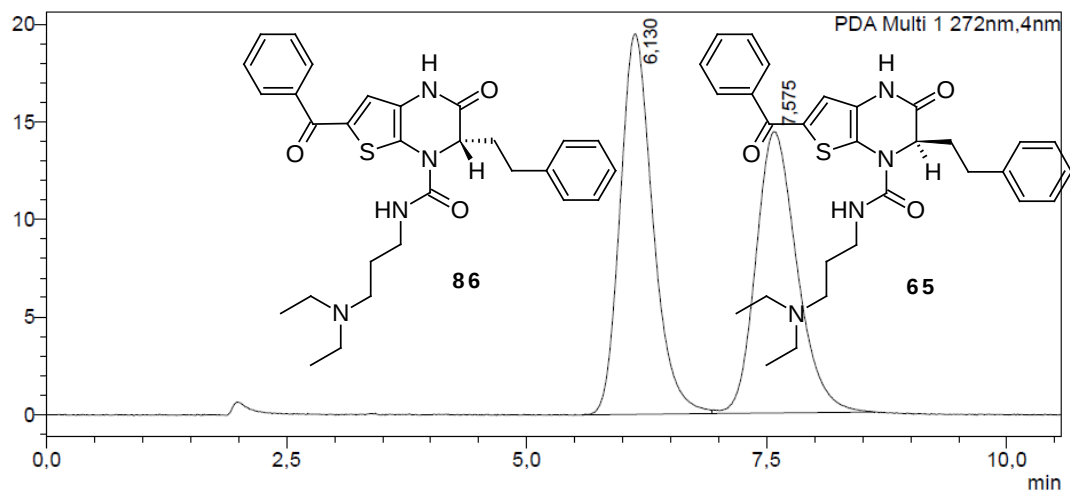
PDA Ch2 390nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	7,342	668247	21062	53,993
2	9,472	569414	13956	46,007
Total		1237661	35018	

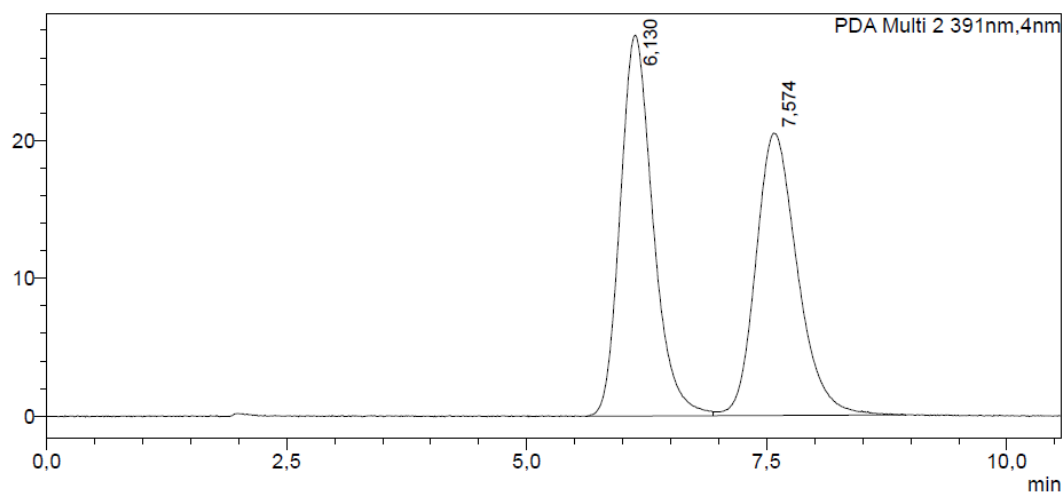
Verbindung **65** und **86**

<Chromatogram>

mAU



mAU



<Peak Table>

Detector A Ex:259nm,Em:460nm

PDA Ch1 272nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	6,130	462499	19489	51,844
2	7,575	429597	14407	48,156
Total		892096	33895	

PDA Ch2 391nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	6,130	658189	27630	51,560
2	7,574	618367	20487	48,440
Total		1276557	48117	

11 Curriculum Vitae

Name: Dipl.-Ing. (FH) Claudia Mayer

Geburtsdatum: 05.03.1987

Geburtsort: Wien

Staatsangehörigkeit: Österreich

Ausbildung

- seit SS 2011:** Doktoratsstudium der Naturwissenschaften an der Universität Wien (Dissertationsgebiet: Pharmazie)
- WS 2008/SS 2009:** Diplomarbeit an der Universität Wien, Department für Pharmazeutische Chemie
- 2005 – 2009:** Diplomstudium der Biotechnologie am FH Campus Wien mit Spezialisierung auf Wirkstoffchemie
- 1997 – 2005:** Besuch des Gymnasiums der Schulschwestern Notre Dame; 1150 Wien, Friesgasse 4

Berufstätigkeit

- seit WS 2013:** Externe Lehrbeauftragte an der Universität Wien
- 08/2009 – 08/2013:** Universitätsassistentin am Department für Pharmazeutische Chemie, Universität Wien
- SS 2013:** Lektorin am FH Campus Wien
- SS 2011, SS 2012:** Tutorin am FH Campus Wien

Publikationen

Karlsson, D.; Fallarero, A.; Brunhofer, G.; Mayer, C.; Prakash, O.; Mohan, C. G.; Vuorela, P.; Erker, T. The exploration of thienothiazines as selective butyrylcholinesterase inhibitors. *Eur J Pharm Sci* **2012**, 47, 190-205.