

Untersuchungen zu COX/LOX-Inhibitoren mit Hydroxylradikalfängereigenschaften – Synthese, Testung und Modelling

Dissertation zur Erlangung des Grades
„Doktor der Naturwissenschaften“ (Dr. rer. nat.)

am Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften der
Johannes Gutenberg-Universität
in Mainz

Michael Scholz

geb. in Frankenthal (Pfalz)

Mainz, 2007

Vom Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften der Johannes
Gutenberg-Universität Mainz als Dissertation angenommen.

Datum der mündlichen Prüfung: 17. Juli 2007

Die Danksagung wurde aus Datenschutzgründen entfernt

1. Einleitung.....	11
1.1 Grundlagen der Entzündungsprozesse	11
1.2 Arachidonsäurekaskade	13
1.2.1 Cyclooxygenasen.....	13
1.2.1.1 Grundlagen	13
1.2.1.2 Funktionen der COX	17
1.2.1.3 Produkte des COX-Weges.....	18
1.2.1.4 Cyclooxygenaseinhibitoren	22
1.2.2 Lipoxygenasen	26
1.2.2.1 Grundlagen	26
1.2.2.2 Produkte des 5-LOX-Weges und deren Funktion	30
1.2.3 Duale COX/LOX-Inhibitoren	32
1.3 Reaktive Sauerstoffspezies (ROS).....	35
1.3.1 Einleitung	35
1.3.2 Entstehung der verschiedenen ROS.....	36
1.3.2.1 Mechanismen der Entstehung der weniger reaktiven ROS.....	36
1.3.2.2 Reaktion verschiedener ROS in das Hydroxylradikal.....	37
1.3.3 Einfluss von ROS auf Entzündungsvorgänge	38
2. Problemstellung.....	40
3. Chemischer Teil	42
3.1 Darstellung der Isothiazole.....	44
3.1.1 Darstellung der Diarylethanole und Diarylpropan-2-ole.....	45
3.1.1.1 Oxidation am Schwefel	47
3.1.2 Darstellung der Desoxybenzoinderivate.....	50
3.1.2.1 Oxidation der 1,2-Diarylethanole zu Desoxybenzoinderivaten.....	50
3.1.2.1.1 Lösungsmittelfreie Oxidation mit Kaliumpermanganat.....	50
3.1.2.1.2 Mikrowellengestützte Oxidation	50
3.1.2.1.3 Lösungsmittelfreie Oxidation mit Chromium(IV)-oxid.....	51
3.1.2.1.4 Oxidation mit Natriumdichromat.....	51
3.1.2.2 Alternative Darstellung von Desoxybenzoinderivaten	53
3.1.3 Synthese der β -Chloroformylstilbenderivate.....	54
3.1.4 Isothiazolringschluss	55
3.1.4.1 Ringschlussreaktion zum 4,5 disubstituierten Isothiazol	55
3.1.4.2 Etherspaltung mit Bortribromid.....	59

3.1.4.3	Bromierung von MSD4a.....	61
3.2	Synthese von Isoselenazolen.....	64
3.3	Darstellung von Isothiazoliumchloriden	66
3.3.1	Darstellung des β -Thiocyanatoformylstilbenderivats MSD6a	66
3.3.2	Ringschluss zu Isothiazoliumchloriden.....	67
3.3.3	Modifizierte Isothiazoliumringschlusssynthese.....	68
3.4	Darstellung von Pyrrolderivaten	69
3.4.1	Darstellung von Isothiazoliumbromiden	69
3.4.2	Ringmodifikation mit oder ohne Schwefeleextrusion.....	70
3.4.3	Verseifung des Pyrrolcarbonsäureester MSD8a	78
3.5	Synthese der Isothiazol-(2H)-3-on-1,1-dioxide.....	79
3.5.1	Oxidation von MSD4a	79
3.5.2	Strukturelle Modifikationen von MSD11a	80
3.5.2.1	Nukleophile Substitutionsreaktionen	80
3.5.2.2	Addition von Phenylisocyanat an MSD11a	81
3.5.2.3	Umsetzung von MSD11a mit Hexamethylphosphorsäuretriamid .	81
3.6	Reduktion von MSD11b	83
3.7	Darstellung der Dithiolthione	85
3.7.1	Darstellung der Diarylpropan-2-ole MSD13	85
3.7.2	Dehydratisierung zu den Stilbenderivaten MSD14.....	86
3.7.3	Ringschlussreaktion zu den Dithiol-3-thionen MSD15	86
3.8	Synthese der Dithiol-3-one MSD16.....	87
4.	Pharmakologischer Teil.....	89
4.1	Hemmung der Arachidonsäurekaskade	89
4.1.1	Hemmung der Cyclooxygenase-1	90
4.1.1.1	MDA-Test.....	90
4.1.1.2	12-HHT-Test	90
4.1.1.3	Äquivalenz der beiden Testsysteme	91
4.1.1.4	Interpretation der COX-1 Testergebnisse	95
4.1.1.4.1	Standardsubstanzen	95
4.1.1.4.2	Isothiazole.....	96
4.1.1.4.3	Isoselenazole	98
4.1.1.4.4	Isothiazoliumverbindungen	100
4.1.1.4.5	Pyrrolverbindungen.....	102

Inhaltsverzeichnis

4.1.1.4.6	Einfluss einer Oxidation innerhalb des Isothiazolringes	103
4.1.1.4.7	Derivate von MSD11a	104
4.1.1.4.8	Diarylpropensäureamid	107
4.1.1.4.9	Dithiol-3-thione und Dithiol-3-one	108
4.1.1.4.10	Übersicht der COX-1-Inhibition	110
4.1.2	Hemmung der Cyclooxygenase-2	112
4.1.2.1	COX-2-Assay	112
4.1.2.2	Interpretation der COX-2-Testergebnisse	112
4.1.2.2.1	Standardsubstanzen	112
4.1.2.2.2	Isothiazole	114
4.1.2.2.3	Isoselenazole	115
4.1.2.2.4	Isothiazoliumderivate	116
4.1.2.2.5	Pyrrolverbindungen	117
4.1.2.2.6	MSD4a und dessen Oxidationsderivate	118
4.1.2.2.7	Derivate von MSD11a	119
4.1.2.2.8	Diarylpropensäureamid	121
4.1.2.2.9	Dithiol-3-thione und Dithiol-3-one	122
4.1.2.2.10	Übersicht der COX-2-Hemmung	123
4.1.3	5-Lipoxygenase	124
4.1.3.1	5-LOX-Assay	124
4.1.3.2	Interpretation der 5-LOX-Testergebnisse	124
4.1.3.2.1	Standardsubstanzen	124
4.1.3.2.2	Isothiazole	126
4.1.3.2.3	Isoselenazole	127
4.1.3.2.4	Isothiazoliumderivate	128
4.1.3.2.5	Pyrrolverbindungen	129
4.1.3.2.6	MSD4a und dessen Oxidationsderivate:	130
4.1.3.2.7	Substitution an MSD11a	131
4.1.3.2.8	Diarylpropensäureamid MSD12a	132
4.1.3.2.9	Dithiol-3-thione und Dithiol-3-one	133
4.1.3.2.10	Übersicht der 5-LOX-Inhibition	133
4.1.4	Überblick der Arachidonsäurekaskadehemmung	135
4.2	Abfangen von Hydroxylradikalen im zellfreien Assay	136
4.2.1	Hydroxylradikalassay	136

Inhaltsverzeichnis

4.2.1.1	Grundlagen des Assays	136
4.2.1.2	Auswertung der Spektren.....	140
4.2.2	Interpretation der Testergebnisse	141
4.2.2.1	Standardsubstanz	141
4.2.2.2	Isothiazole	141
4.2.2.3	Isoselenazole	142
4.2.2.4	Methylsulfonylderivate, Dithiol-3-thione und Dithion-3-one	143
4.2.2.5	Betrachtung der restlichen Testergebnisse.....	145
4.2.2.6	Einfangen von OH-Radikalen durch Säuren	147
4.2.2.7	Diskussion zur Scavenging-Potenz der Carbonsäuren.....	149
4.2.2.7.1	Komplexierung und modifizierter Test.....	149
4.2.2.7.2	Interpretation der Ergebnisse.....	150
4.2.2.7.3	Mögliche Wirkungsmechanismen der Carbonsäuren	153
4.2.2.7.4	Identifizierung der Produkte im Hydroxylradikalassay	154
4.2.2.7.5	Interpretation der FD-Massenspektren	154
4.2.2.7.5.1	Ebselen	154
4.2.2.7.5.2	MSD8b und MSD11j.....	158
4.3	Bestimmung der Zytotoxizität	163
4.3.1	XTT-Test	163
4.3.2	Auswertung der Ergebnisse	163
5.	Molecular Modelling Studien	166
5.1	Docking-Studien	166
5.1.1	Durchführung der Docking-Studien	166
5.1.2	Ergebnisse der COX-2-Docking-Studie.....	168
5.1.3	Ergebnisse der COX-1-Docking-Studie.....	174
5.1.4	COX-2/COX-1 Mutationsversuche	177
5.1.5	Bewertung der Ergebnisse.....	183
5.2	Strukturvergleich von energieminierten Strukturen.....	184
5.3	Log P-Wert Berechnung	189
5.3.1	Methode der log P-Wertberechnung	189
5.3.2	Auswertung der log P-Wertberechnung	189
6.	Zusammenfassung	193
7.	Ausblick	195
7.1	Chemie.....	195

Inhaltsverzeichnis

7.2	Pharmakologie	195
7.2.1	COX/LOX-Hemmung	195
7.2.2	Abfangen von Hydroxylradikalen.....	195
8.	Experimenteller Teil.....	197
8.1	Allgemeine Angaben	197
8.1.1	Chromatographie	197
8.1.2	Elementaranalyse	197
8.1.3	IR-Spektroskopie.....	197
8.1.4	Kristallstrukturanalyse	197
8.1.5	Massenspektrometrie	197
8.1.6	NMR-Spektroskopie	198
8.1.7	Schmelzpunkte.....	198
8.1.8	Chemikalien	198
8.2	Synthesen	199
8.2.1	Methode (i)	199
8.2.2	Methode (ii)	200
8.2.3	Methode (iii)	201
8.2.4	Methode (iv)	201
8.2.5	Methode (v).....	202
8.2.6	Methode (vi)	203
8.2.7	Methode (vii)	203
8.2.8	Methode (viii).....	204
8.2.9	Methode (ix)	205
8.2.10	Methode (x).....	205
8.2.11	Methode (xi)	206
8.2.12	Methode (xii)	207
8.2.13	Methode (xiii).....	207
8.2.14	Methode (xiv)	208
8.2.15	Methode (xv)	209
8.2.16	Methode (xvi)	209
8.2.17	Methode (xvii).....	210
8.2.18	Methode (xviii).....	211
8.2.19	Methode (xix)	211
8.2.20	Methode (xx)	212

Inhaltsverzeichnis

8.2.21	Methode (xxi)	212
8.2.22	Methode (xxii).....	213
8.2.23	Methode (xxiii).....	213
8.2.24	Methode (xxiv).....	214
8.3	Analytische Daten der synthetisierten Verbindungen	215
8.3.1	Diarylethanole MSD1	215
8.3.2	Desoxybenzoinderivate MSD2	219
8.3.3	α -Chlorformylstilbenderivate MSD3	223
8.3.4	Isothiazole MSD4	229
8.3.5	Isoselenazole MSD5	239
8.3.6	α -Thiocyanatformylstilben MSD6a	247
8.3.7	Isothiazoliumionen MSD7	247
8.3.8	Pyrrrole MSD8 und MSD9	255
8.3.9	Isothiazol-1,1-dioxid MSD10a	258
8.3.10	Isothiazol-3(2H)-on-1,1-dioxide MSD11	259
8.3.11	Diarylpropensäureamid MSD12a	271
8.3.12	Diarylpropan-2-ole MSD13.....	272
8.3.13	Methylstilbenderivate MSD14.....	273
8.3.14	Dithiol-3-thione MSD15	274
8.3.15	Dithiol-3-one MSD16	276
8.3.16	Liponsäureester MSD17a	278
9.	Abkürzungsverzeichnis.....	279
10.	Anhang	281
10.1	Kristallstrukturdaten MSD5a.....	281
10.2	Struktursammlung	285
10.2.1	Diarylethanole MSD1	285
10.2.2	Desoxybenzoinderivate MSD2	285
10.2.3	α -Chloroformylstilbenderivate MSD3	286
10.2.4	Isothiazole MSD4	286
10.2.5	Isoselenazole MSD5	287
10.2.6	α -Thiocyanatoformylstilbenderivat MSD6a	287
10.2.7	Isothiazoliumionen MSD7	288
10.2.8	Pyrrolderivate MSD8 und MSD9	289
10.2.9	Isothiazol-1,1-dioxide MSD10a	289

Inhaltsverzeichnis

10.2.10	Isothiazol-(2H)-3-on-1,1-Dioxide MSD11.....	290
10.2.11	Acrylsäureamid MSD12a.....	292
10.2.12	Diarylpropan-2-ole MSD13.....	292
10.2.13	Methylstilbenderivate MSD14.....	292
10.2.14	Dithiol-3-thione MSD15.....	293
10.2.15	Dithiol-3-one MSD16.....	293
10.2.16	Liponsäureethylester MSD17a.....	293
11.	Lebenslauf.....	294
12.	Literaturverzeichnis.....	297

1. Einleitung

1.1 Grundlagen der Entzündungsprozesse

In diesem Abschnitt werden folgende Wege als Bestandteil von Entzündungsprozessen kurz betrachtet:

- Phospholipase A₂
- Kinine und Histamin
- Zytokine

Die Rolle der Arachidonsäurekaskade und der reaktiven Sauerstoffspezies werden separat in einem eigenen Kapitel betrachtet. In Abb. 1-1 ist eine nicht vollständige Übersicht der Entzündungsentstehung dargestellt.

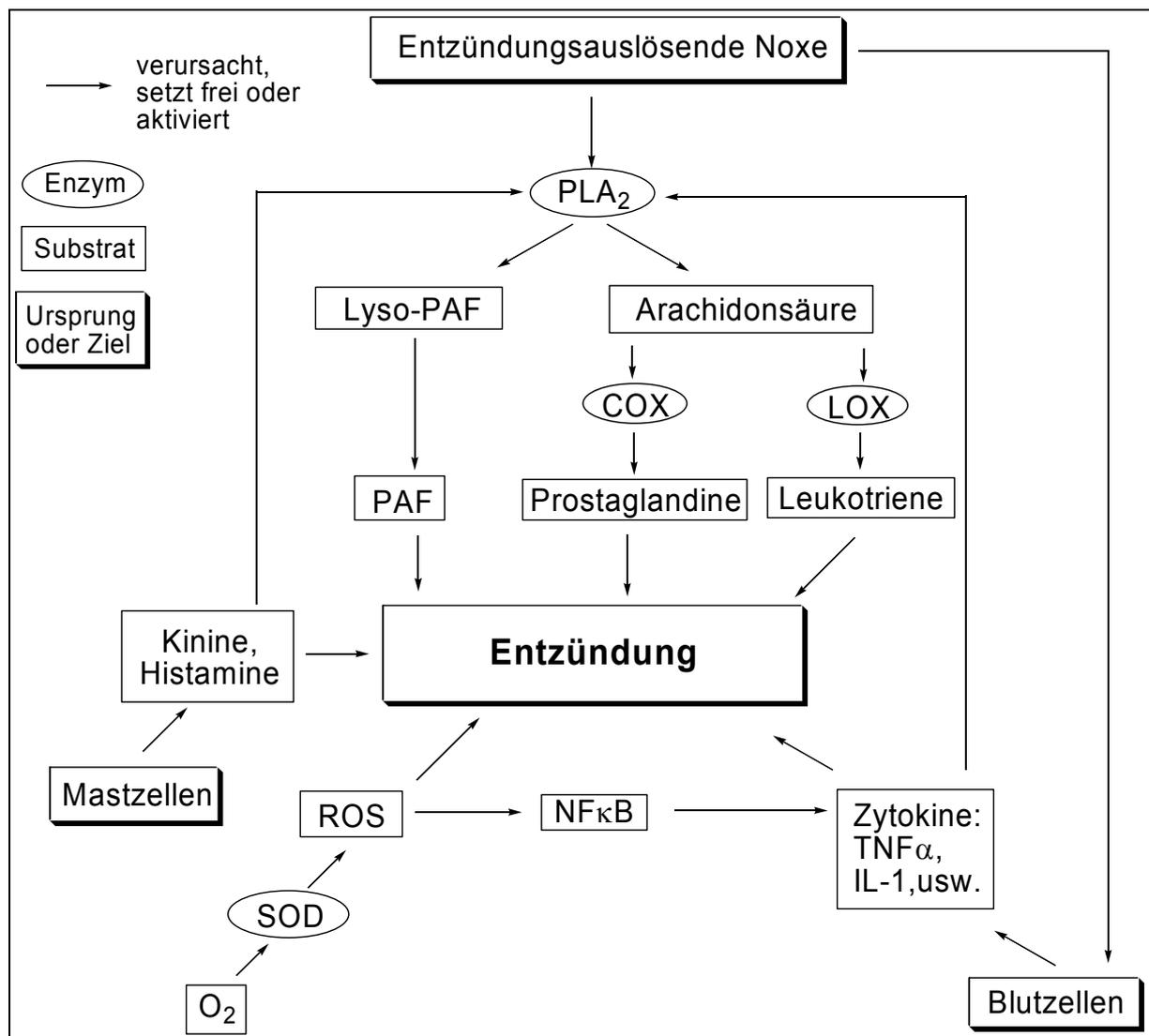


Abb.1-1: Vereinfachte Darstellung der Entzündungsentstehung [1]

Diese Abbildung geht auf verschiedene Mechanismen der Entzündungsentstehung ein. Entzündungsauslösende Noxen, wie zum Beispiel Immunkomplexe, bakterielle Antigene oder proinflammatorische Zytokine (IL-1, IL-6 oder $\text{TNF}\alpha$) aktivieren unter anderem die Enzymfamilie der Phospholipase A_2 . Man kann diese wiederum in sekretorische PLA_2 (s PLA_2), mit Histidin im aktiven Zentrum [2,3], und die Serin- PLA_2 , die wiederum in i PLA_2 , lipoproteinassoziierter PLA_2 (=PAF-Acetylhydrolase) [4] und cytosolische PLA_2 (c PLA_2) [3] unterteilt werden kann, aufteilen. Die Gruppe der c PLA_2 ist nach heutigem Wissensstand sehr wahrscheinlich das Schlüsselenzym der intrazellulären Freisetzung von Arachidonsäure [5,6,7,8]. Die PLA_2 hydrolysiert die als Ester an Membranphospholipide gebundene Arachidonsäure (AA). Diese wird im nächsten Schritt über die COX-1 und COX-2 zu Prostaglandinen oder über die LOX zu Leukotrienen oder Lipoxinen metabolisiert. Dies wird im nachfolgenden Kapitel noch näher betrachtet. Als weiteren Weg können bestimmte Lysophospholipide zum Platelet Activating Factor (PAF) umgesetzt werden, der wiederum als potenter Entzündungsmediator gilt [1].

Ein weiterer, in diesem Rahmen nur kurz beschriebener Mechanismus, ist auf die aus Mastzellen freigesetzten Kininen und Histamin zurückzuführen. Mastzellen sind die Effektorzellen der allergischen Sofortreaktion und setzen neben Histamin und Kininen auch Leukotriene und andere chemotaktische Stoffe frei. Ein Teil der Kinine wird zu Bradykinin abgebaut, welches über den Bradykinin-Rezeptor B_2 die Kapillarpermeabilität steigert und indirekt die PLA_2 aktiviert [9]. Histamin wirkt entzündungsfördernd über die vom Histamin-Rezeptor H_1 vermittelte erhöhte Kapillarpermeabilität, durch die vermehrt Plasmaproteine, Plasmawasser und zelluläre Bestandteile in das Gewebe übertreten, und über die erhöhte Leukozytenmigration, welche durch die gesteigerte Bildung von Adhäsionsproteinen an der Endothelzelloberfläche verursacht wird [9]. Weiterhin setzen Makrophagen, Monozyten, Fibroblasten und T-Zellen immunmodulierende Substanzen (unter anderem Interleukin-1 und Tumornekrosefaktor- α) frei, welche ebenfalls Entzündungsprozesse fördern. IL-1 und $\text{TNF}\alpha$ bewirken unter anderem eine Erhöhung der Bildung von Adhäsionsmolekülen (E-, P-Selektin und ICAM) an der Oberfläche von Endothelzellen, wodurch wiederum vermehrt Leukozyten durch Extravasation ins Gewebe wandern und auch vermehrt Plasmaproteine und Flüssigkeit aus Gefäßen ins umliegende Gewebe austreten [10], eine Aktivierung von Makrophagen und Granulozyten, eine Steigerung der Leukozytenproduktion und des Arachidonsäurestoffwechsels [1,10].

1.2 Arachidonsäurekaskade

Die durch PLA₂ aus Membranphospholipiden freigesetzte Arachidonsäure wird hauptsächlich von 2 Enzymfamilien, den Cyclooxygenasen und den Lipoxygenasen, metabolisiert.

1.2.1 Cyclooxygenasen

1.2.1.1 Grundlagen

In Säugerzellen existieren drei Isoformen der Cyclooxygenase (auch Prostaglandin-H-Synthase), wobei die so genannte COX-3 nur eine Splicingvariante von COX-1 darstellt [11] und nach heutigem Wissen eher von geringer Bedeutung ist. Wichtig sind hingegen die beiden Isoformen COX-1 und COX-2, welche sich in der Struktur ähneln und auch beide die jeweils aktiven Zentren der Peroxidase und Cyclooxygenase besitzen [12]. Beide Enzyme haben ein Molekulargewicht von ungefähr 71 kDa, bestehen aus ca. 600 Aminosäuren [13] (COX-1: 576 Aminosäuren, COX-2: 587 Aminosäuren) und haben eine Sequenzhomologie von ungefähr 60% [14].

Die Cyclooxygenase ist ein membranständiges Enzym mit zweifacher Funktion. Im ersten Schritt oxidiert und zyklisiert sie in Form einer Endoperoxidase die Arachidonsäure (AA) zum zyklischen Endoperoxid-Prostaglandin G (PGG₂) und im zweiten Schritt bildet sie aus PGG₂, durch eine Peroxidase, das Prostaglandin H (PGH₂). PGH₂ ist eine relativ instabile Verbindung und wird schnell in Prostacyclin (PGI), Thromboxan (TXA) und in die Prostaglandine E, F und D umgewandelt (Abb. 1-2).

1. Einleitung

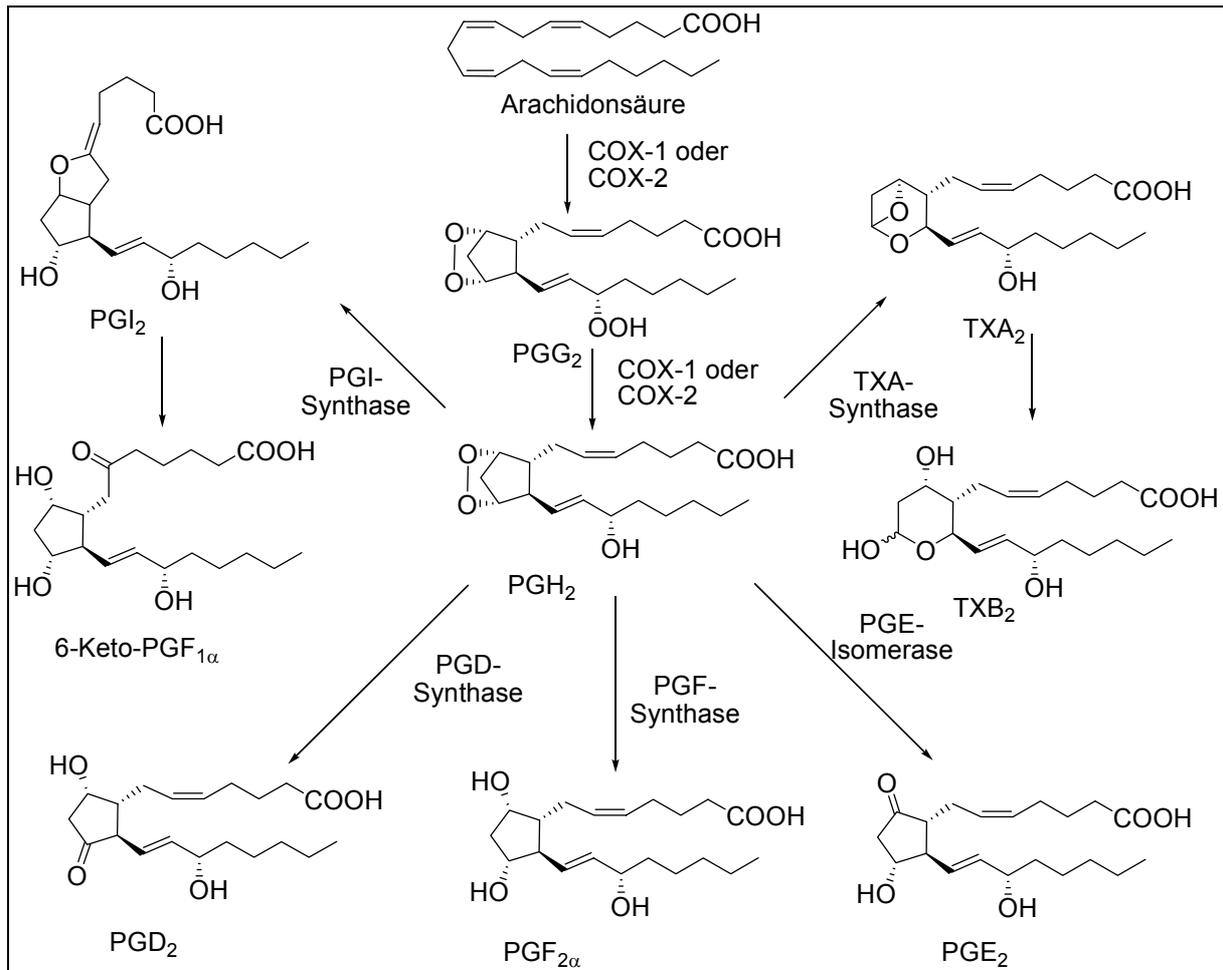


Abb. 1-2 COX-Weg der Arachidonsäurekaskade nach Vane [14]

Es ist gelungen von COX-1 und COX-2 jeweils Kristallstrukturdaten durch Röntgenstrukturanalyse zu erhalten [15,16]. Durch Kokristallisation mit einem bekannten Liganden konnte die Bindungstasche identifiziert werden. NSAR hemmen in der Regel die COX durch Versperrung des Zuganges der AA, indem sie über Wasserstoffbrückenbindungen und ionische Wechselwirkungen die Bindungstasche besetzen. In dieser Bindungstasche liegt der Unterschied zwischen COX-1 und COX-2. In der COX-1 ist an den Positionen 434 und 523 ein Isoleucin und an Position 513 ein Histidin positioniert, im Gegensatz zum etwas kleineren Valin an den Positionen 434 und 523 und dem Arginin an Position 513 bei der COX-2. Damit steht in der COX-1 in etwa 20% mehr Raum zur Verfügung [12,17,18,19,20] (Abb. 1-3).

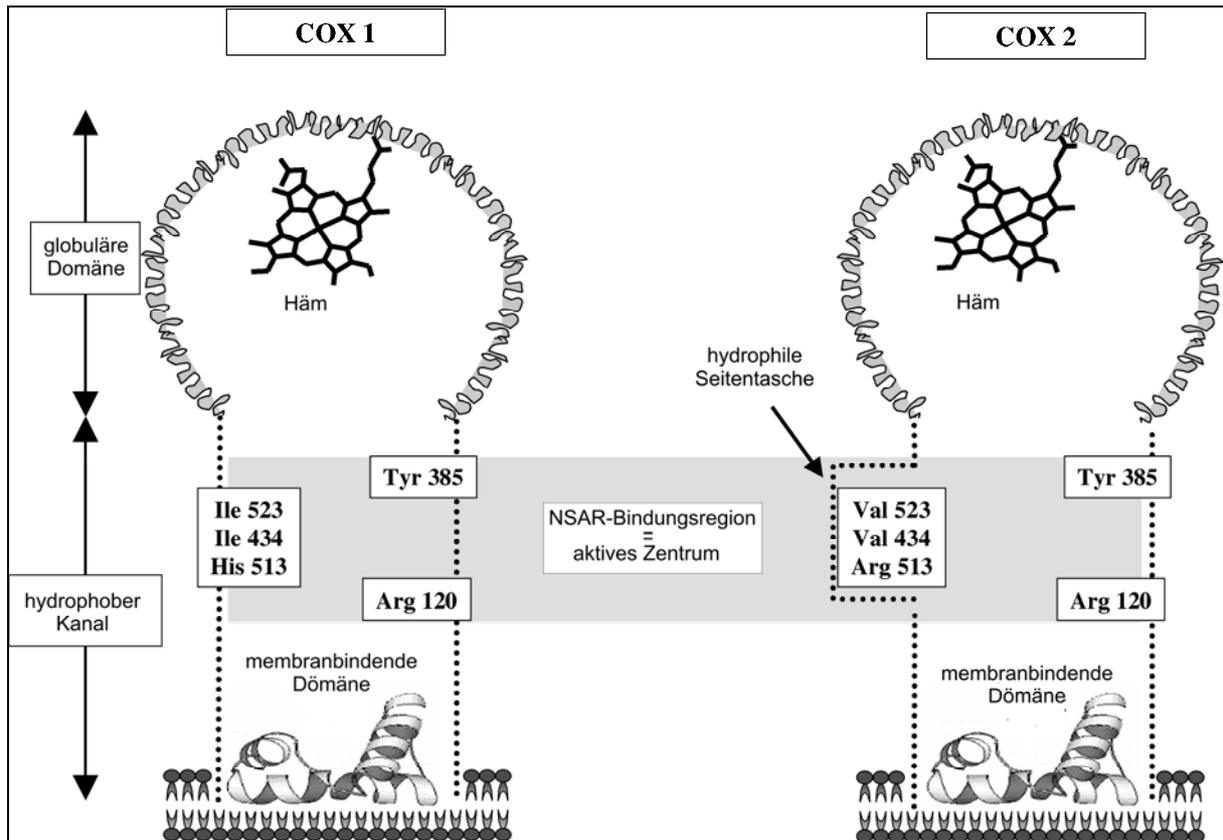


Abb.1-3: Schematische Gegenüberstellung der Bindungstasche von COX-1 und COX-2 (nach: Bertolini [17])

In Abb.1-4 ist die Bindung von Ibuprofen in der COX-1 und in Abb. 1-5 ist die Bindung von SC-558 in der COX-2 dargestellt. Während viele NSAR mit Carbonsäuregruppen mit dem Arginin 120 ionische Wechselwirkungen eingehen (Abb.1-4), bindet das SC-558, von der Struktur dem Celecoxib sehr ähnlich, über Wasserstoffbrücken an Histidin 90 und Arginin 513.

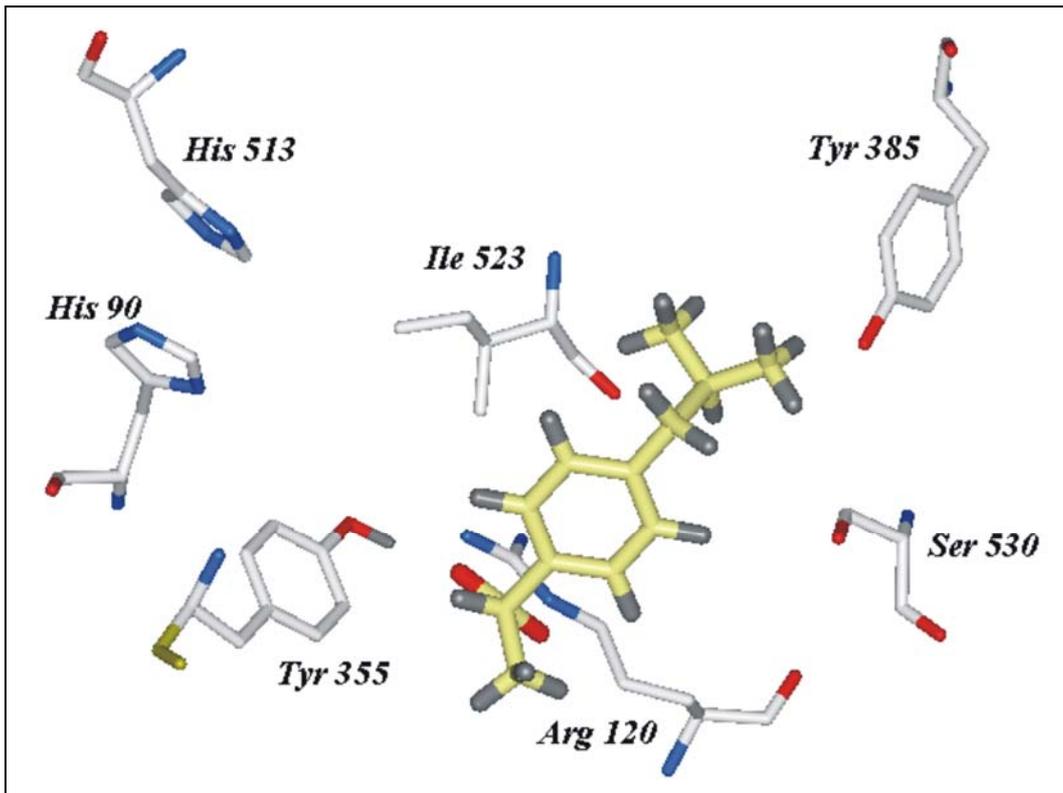


Abb.1-4: Darstellung von Ibuprofen in COX-1 (Pdb: 1eqg)

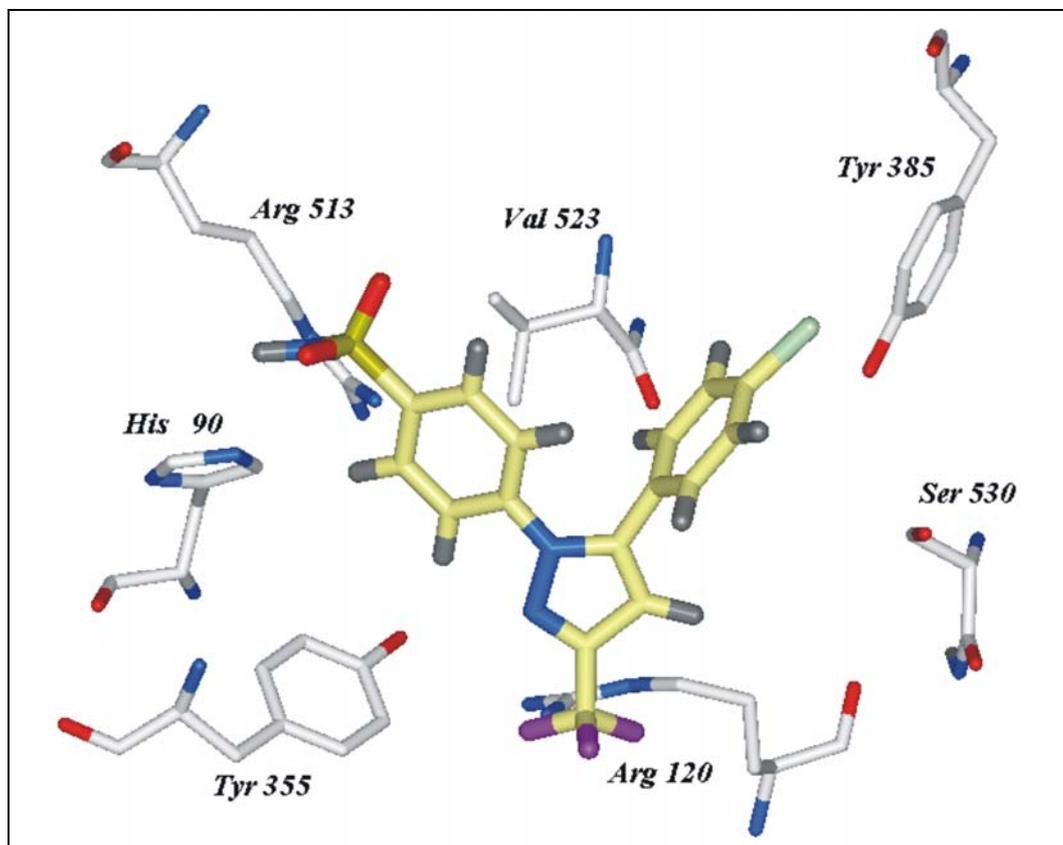


Abb.1-5: SC-558 in COX-2 kokristallisiert (Pdb: 1cx2) [15]

Die COX-1 und COX-2 unterscheiden sich auch in ihrer Expression. Während COX-1 nahezu in allen Geweben vorkommt [21], ist die COX-2 unter normalen Bedingungen nur im Gehirn und in den Nieren, in kleinen Mengen auch in Magen, Leber und Lunge zu finden [22].

In der Literatur wird die COX-1 deshalb als „konstitutives Enzym“ mit „Hausmeisterfunktion“ beschrieben, sie nimmt unter anderem eine wichtige Funktion bei der Blutgerinnungssteuerung (über die Thromboxansynthese), der Nierenfunktion und der Erhaltung dem Schutz der Magenschleimhaut ein.

Die COX-2 hingegen gilt als induzierbares Enzym, welches durch Hormone, Wachstumsfaktoren, proinflammatorische Zytokine, Tumorpromotoren oder bakterielle Endotoxine angeregt wird [1].

1.2.1.2 Funktionen der COX

Die COX-1 ist bei der Plättchenaggregation von entscheidender Bedeutung, da die für die TXA₂-Synthese verantwortlichen Thrombozyten nur COX-1 als Enzym zur Synthese der Vorstufe, dem PGH₂, exprimieren [23]. TXA₂ wird von den Thrombozyten freigesetzt, bindet an TXA₂-Rezeptoren und leitet dann die Plättchenaggregation ein [24]. Auch führt ein Mangel an COX-1 zu mehr Komplikationen und somit zu schwereren Geburten bei COX-1-Knock-out-Mäusen [25], wobei die COX-2 unter bestimmten Voraussetzungen die Funktion der COX-1 bei der Geburt übernehmen kann [26].

Mäuse mit COX-2-Mangel oder COX-2-Knock-out-Mäuse sind unfruchtbar, da die COX-2 das für die Ovulation wichtige PGE₂ herstellt. Die Fruchtbarkeit der Mäuse kann aber durch Injektion von PGE₂ wiederhergestellt werden [27]. Auch bei der neonatalen Entwicklung scheint COX-2 eine entscheidende Bedeutung zu haben, denn es kam bei COX-2-defizienten neugeborenen Mäusen zu schweren Nierenschäden [28]. Auch für die Schließung des Ductus arteriosus Botalli ist die Funktion der COX-2 sehr wichtig, da in einer Untersuchung 35 % von COX-2-defizienten neugeborenen Mäusen innerhalb der ersten 48 Stunden an einem offenen Ductus starben [29]. Die restlichen Mäuse überlebten, da bei diesen die COX-1 die Ersatzfunktion übernommen hatte [30].

Beide Enzyme sind an Entzündungsvorgängen und an der Wundheilung beteiligt. Die Bedeutung ist noch nicht restlos geklärt, doch weiß man, dass die COX-1 über

die Produktion von COX-1-abhängigen Eicosanoiden genauso an Entzündungsgeschehen beteiligt [25,31] ist, wie das von der COX-2 gebildete PGE₂. Außerdem ist die COX-2 auch an der Abklingphase der Entzündung über die Produktion von PGD₂ beteiligt [31,32].

Früher hat man den Schutz der Magenschleimhaut nur der COX-1 vermittelten Wirkung zugesprochen und hatte so eine gute Erklärung für die durch die COX-1-Inhibition verursachten gastrointestinalen Nebenwirkungen der NSAR. Diese Vorstellung konnte aber widerlegt werden, denn COX-1-Knock-out-Mäuse entwickelten keine spontanen Magengeschwüre, obwohl der Prostaglandinspiegel um 90% gesenkt war [25,28,33]. Weitere Tierexperimente zeigten, dass beide Isoenzyme unter Entzündungsbedingungen die Darmmukosa gleichwertig schützen [1,34].

Beide Isoenzyme spielen bei der Entstehung von Kolonkarzinomen [30], bei der Immunantwort, bei der Aktivierung [35,36] von T-Zellen und bei deren Reifung [35,36] eine wichtige Rolle.

1.2.1.3 Produkte des COX-Weges

Die Nomenklatur der Prostaglandine ist historisch bedingt. Die zuerst entdeckten Prostaglandine bekamen ihren Buchstaben durch das Extraktionsmittel (PGE = ether, PGF = „fosfate“-Puffer). Die Prostaglandine A, B und C sind bei der Extraktion entstanden und kommen natürlich nicht vor. Deren Nomenklatur hing von der Stabilität gegenüber Säuren (acid = PGA) oder Basen (PGB) ab [1].

In Tabelle 1-1 sind die verschiedenen Wirkungen der Prostaglandine auszugsweise dargestellt.

1. Einleitung

Prostaglandin	Pharmakologische Wirkung	Wirkort
PGE	<p>Hyperalgesie</p> <p>Zunahme der Schleimproduktion</p> <p>Verringerung von Sekretvolumen, Azidität und Pepsingehalt</p> <p>Zunahme von Diurese, Natriurese und Kaliurese</p> <p>Erhöhung der Reninsekretion</p> <p>Blutdrucksenkung</p> <p>Durchblutungssteigerung</p> <p>Erhöhung des Herzminutenvolumens</p> <p>Kontraktion</p>	<p>Nerven</p> <p>Magen</p> <p>Magen</p> <p>Nieren</p> <p>Nierenrinde</p> <p>Arterien</p> <p>Herz, Niere und Darm</p> <p>Herz</p> <p>schwangerer Uterus</p>
PGD	<p>Kontraktion</p> <p>Erhöhung der Reninsekretion</p> <p>somnogene Wirkung, Modulation der Nozizeption</p>	<p>Bronchien und Trachea</p> <p>Nierenrinde</p> <p>Nervensystem</p>
PGF _{2α}	<p>Vasokonstriktion</p> <p>Steigerung der kardialen Kontraktilität, Modulation des Herzrhythmus</p>	<p>Pulmonalarterien und -venen</p> <p>Herz</p>

1. Einleitung

Fortsetzung

Prostaglandin	Pharmakologische Wirkung	Wirkort
PGF	Erhöhung des Herzminutenvolumens Kontraktion der glatten Muskulatur	Herz Bronchien, Trachea, Uterus GI-Trakt
PGI	Hyperalgesie Zunahme der Schleimproduktion Verringerung von Sekretvolumen, Azidität und Pepsingehalt Zunahme von Diurese, Natriurese und Kaliurese Erhöhung der Reninsekretion Vasodilatation Aggregationshemmung Relaxation	Nerven Magen Magen Nieren Nierenrinde Gefäße, Bronchien Thrombozyten schwangerer Uterus
TXA	Vasokonstriktion Aggregation Abnahme der glomerulären Filtration	Gefäße, Lunge und Niere Thrombozyten Niere

Tabelle 1-1: Auszugsweise Darstellung der Wirkung von Prostaglandinen nach Laufer [1]

Die wichtigsten Wirkungen der Prostaglandine stellen, nach Laufer [1], die folgenden fünf Vorgänge dar:

- 1) Plättchenaggregation: Die Plättchenaggregation wird von Thromboxan gesteigert und vom Gegenspieler, dem PGI₂, gehemmt.
- 2) Reproduktion und Geburt: Die im Sperma enthaltenen Prostaglandine beeinflussen den Transport der Samenflüssigkeit nach dem Coitus in die Eileiter, was die männliche Infertilität bei niedrigen Prostaglandinspiegel im Sperma erklären könnte. Während der Menstruation führt ein Anstieg der Prostaglandinsynthese zu schmerzhaften Kontraktionen des Myometriums und zu einer Sensibilisierung der afferenten Nervenfasern. Die hervorragende Wirkung von NSAR bei dieser Problematik bestätigt dies. Auch während der Schwangerschaft steigen die Prostaglandinspiegel an, wobei noch nicht klar ist, inwiefern dies das Einsetzen der Wehen oder das Aufrechterhalten dieser beeinflusst.
- 3) Glatte Muskulatur von Gefäßen und Bronchien: PGE₂ und PGI₂ modulieren den Gefäßtonus und scheinen eine sehr wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung der Durchblutung von lebenswichtigen Organen zu haben. Auch werden Prostaglandine nach einer Reizung des Bronchialtraktes durch ein Antigen freigesetzt. PGE₂ wirkt als Bronchodilatator und PGF_{2 α} als Bronchokonstriktor.
- 4) Niere: Prostaglandine greifen sehr wahrscheinlich in die Regulation der Reninbildung ein. PGE₂ und PGI₂ werden bei verringertem renalem Blutfluss vermehrt gebildet.
- 5) Entzündungs- und Immunreaktionen: Prostaglandine tragen maßgeblich zu den durch mechanische, thermische, bakterielle Einflüsse hervorgerufenen Entzündungszeichen, wie Hyperämie und Schmerz, bei. Insbesondere verstärken sie die algetische Wirkung von den Entzündungsmediatoren Histamin und Bradykinin durch Sensibilisierung der afferenten C-Fasern.

1.2.1.4 Cyclooxygenaseinhibitoren

Bezogen auf die Cyclooxygenasehemmung gibt es eine große Strukturheterogenität. In Tabelle 1-2 wird in die folgenden 7 Substanzklassen differenziert:

Substanzklasse	Beispiele
a) Salicylsäurederivate:	Acetylsalicylsäure
b) Indol- und Indenessigsäurederivate	Indometacin, Sulindac
c) Heteroaryl- und Arylessigsäurederivate	Diclofenac, Tolmetin, Lumiracoxib
d) Arylpropionsäurederivate	Ibuprofen, Naproxen, Flurbiprofen
e) Anthranilsäurederivate	Mefenaminsäure, Meclofenaminsäure
f) Oxicame	Piroxicam, Meloxicam
g) Vicinale Diarylheterozyklen	Celecoxib, SC-558, Rofecoxib, Valdecoxib, Etoricoxib

Tabelle 1-2: Sieben Substanzklassen mit Cyclooxygenasehemmung

Auffällig ist, dass die verschiedenen Klassen oftmals saure Eigenschaften in Form von Carbonsäure-, konjugierte Enolsäure- oder Sulfonsäurefunktionen aufweisen. Nur Rofecoxib und Etoricoxib zeigen keine sauren Eigenschaften.

In Abb. 1-6 sind die Strukturen der ersten 5 Strukturklassen aufgeführt.

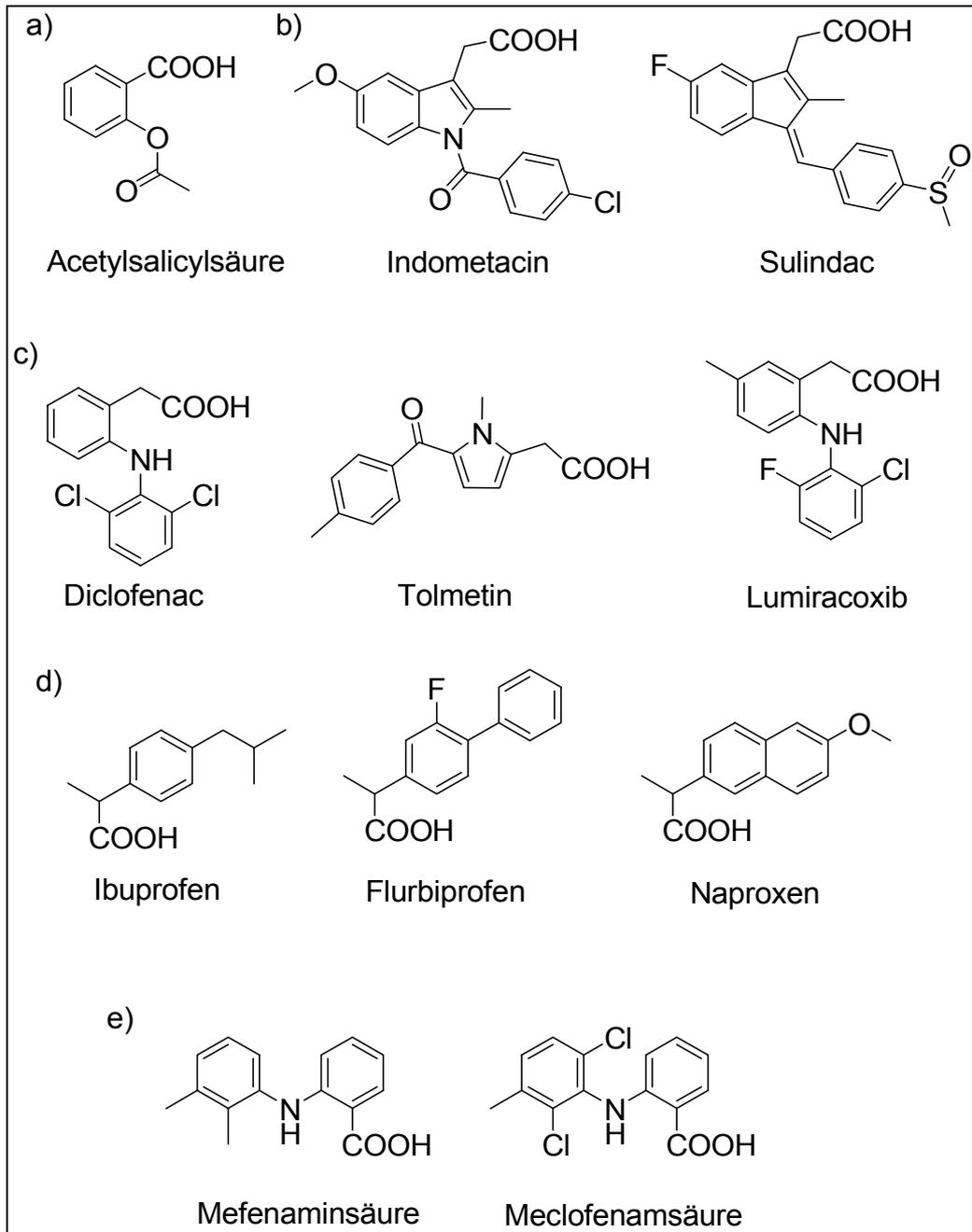


Abb. 1-6: COX-Inhibitoren aus 5 Strukturklassen

In dieser Abbildung sind einige freiverkäufliche Klassiker dabei, die Acetylsalicylsäure, das Ibuprofen, das Naproxen und inzwischen auch das niedrig dosierte Kaliumsalz des Diclofenacs. Das ebenfalls sehr häufig als Analgetikum verkaufte Paracetamol wirkt nicht, bzw. zu gering potent, auf die COX und wird deshalb im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter behandelt.

Gruppe a) Salicylsäurederivate: Die Salicylsäure an sich wirkt als relativ schwacher COX-Inhibitor und findet als Analgetikum eher keinen Einsatz mehr. Die Acetylsalicylsäure (ASS) ist zwar auch nur ein relativ schwacher COX-Hemmer, doch

hemmt diese die COX durch irreversible Acetylierung am Serin 530. Dies hat zur Folge, dass die Thromboxansynthese in Thrombozyten, welche nicht in der Lage sind die COX-1 nachzuproduzieren, irreversibel gehemmt wird. Aus diesem Grund wird niedrig dosiertes ASS sehr häufig als Thrombozytenaggregationshemmer verwendet.

Gruppe b) Indol- und Indenessigsäurederivate: In dieser Gruppe findet man hochpotente Wirkstoffe, wie Indometacin und Sulindac, wieder. Das Indometacin besitzt ein ungünstiges Nebenwirkungsprofil, da es eher stärker die COX-1 hemmt, und wird nur noch häufiger bei der Therapie des akuten Gichtanfalls eingesetzt.

Gruppe c) Heteroaryl- und Arylessigsäurederivate: In dieser Gruppe befindet sich der Klassiker Diclofenac, welches in Deutschland sehr häufig bei starken Schmerzzuständen, auch in der Dauertherapie, verschrieben wird. Zwar steht auch Diclofenac unter Verdacht, ähnlich wie die Coxibe, kardiovaskuläre Probleme zu verursachen [37], doch ist diese Problematik in der Ärzteschaft noch nicht ausreichend beachtet worden. Interessant ist das dem Diclofenac ähnliche Coxib Lumiracoxib, welches die erste COX-2-selektive Struktur mit Carbonsäurefunktion ist, die es zur Marktreife gebracht hat. In Studien scheint aber Lumiracoxib dem Diclofenac, bezogen auf die Wirksamkeit, unterlegen zu sein [38,39]. Meloxicam ist zwar schon länger auf dem Markt, aber ist eher als ein Wirkstoff mit einer leichten COX-2-Präferenz einzuordnen, die nicht mit der COX-2-Selektivität, wie sie die Coxibe aufweisen, zu vergleichen ist.

Gruppe d) Arylpropionsäurederivate: Zu dieser Gruppe gehören mit Ibuprofen und Naproxen zwei sehr häufig verkaufte Arzneistoffe. Besonders Ibuprofen wird im OTC-Verkauf in Apotheken sehr häufig abgegeben. Doch scheint auch Ibuprofen, welches neben Diclofenac sehr häufig in der Therapie von chronischen Schmerzen angewendet wird, in der Langzeittherapie vermehrt zu kardiovaskulären Ereignissen zu führen [40,37]. Im Gegensatz dazu wird der Wirkstoff Naproxen nach Graham wesentlich günstiger bewertet und als NSAR der Wahl, bei der Behandlung chronischer Schmerzen von kardiovaskulär vorbelasteten Patienten, bezeichnet [40]. Das Flurbiprofen ist ein eher COX-1 selektiver Inhibitor und fristet auf dem deutschen Markt eher ein Nieschendasein.

Gruppe e) Anthranilsäurederivate: Beide Arzneistoffe dieser Gruppe sind in Deutschland nicht mehr auf dem Markt, da sie neben den klassischen Nebenwirkungen zu Knochenmarksdepression führen und besonders nephrotoxische Eigenschaften besitzen. In der Schweiz und Österreich [41] wird besonders die Mefenaminsäure noch ziemlich häufig angewendet.

In Abb. 1-7 sind die restlichen Strukturen aufgeführt.

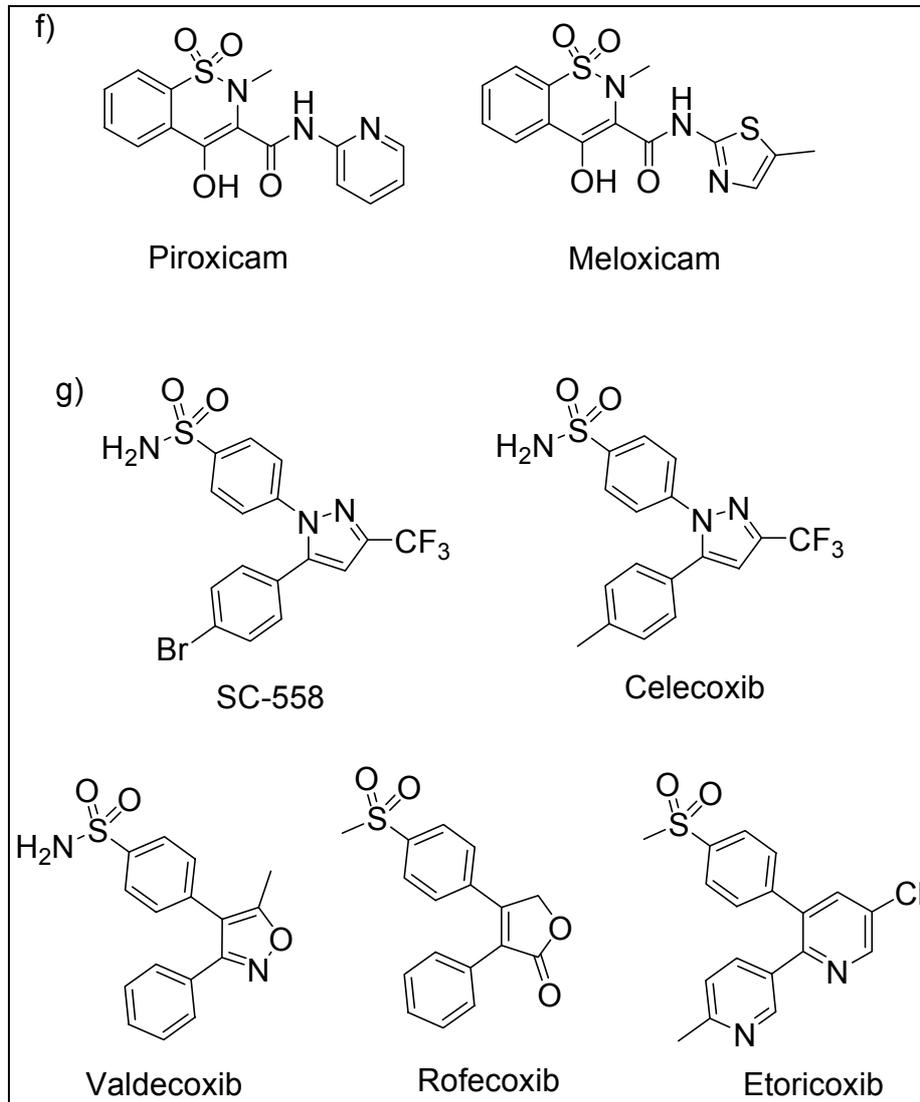


Abb. 1-7: COX-Inhibitoren aus 2 Strukturklassen

Gruppe f) Oxicame: Die Oxicame gehören zu den mittelpotenten COX-Inhibitoren, deren Hauptvorteil in den extrem langen Halbwertszeiten liegt (Piroxicam ~ 40h, Meloxicam ~ 20h). Meloxicam hemmt, ähnlich wie das Diclofenac, die COX-2 um Faktor 10 besser als die COX-1. Dies ist jedoch in der normalen therapeutischen Anwendung eher zu vernachlässigen, so dass Meloxicam nicht als COX-2-selektiv zu bezeichnen ist.

Gruppe g) vicinale Diarylheterozyklen: In diese Stoffklasse gehören bisher nur COX-2-selektive Inhibitoren, die Coxibe. Das SC-558 ist aufgeführt, da es für die Kokristallisation mit der COX-2 eingesetzt wurde [15].

Die COX-2-Inhibitoren Rofecoxib und Valdecoxib wurden, wegen des zu hohen Risikos kardiovaskuläre Ereignisse zu verursachen, freiwillig vom Markt genommen [42,43,44,45]. Auch Etoricoxib wird als nicht sicher eingestuft. Lumiracoxib hat nur für den europäischen Markt eine Zulassung, nicht aber für die USA. Insgesamt werden die COX-2-selektiven Inhibitoren sehr kritisch bewertet, denn den geringen Vorteilen bei gastrointestinalen Nebenwirkungen stehen kardiovaskuläre Probleme gegenüber, welche aber nicht nur ein Problem von COX-2-selektiven Inhibitoren sind, sondern auch von klassischen NSAR [40,37].

Strukturell interessant ist die Tatsache, dass die anfangs auf vicinale Diarylheterozyklen eingeschränkten Coxibe ebenfalls sehr heterogen in ihrer Struktur sind. Das Lumiracoxib ist ein Derivat von Diclofenac und zeigt ebenfalls COX-2-selektive Hemmeigenschaften. Auch ist es möglich im Umkehrschluss Substanzen zu entwickeln, die die Struktur der Diarylheterozyklen besitzen, aber eben eher unselektiv die COX hemmen (siehe Kapitel 4).

1.2.2 Lipoxygenasen

1.2.2.1 Grundlagen

Neben den Cyclooxygenasen verwenden auch die Lipoxygenasen die Arachidonsäure als Substrat. Die Lipoxygenasen gehören zu den zytosolischen Enzymen, die mehrfach ungesättigte Fettsäuren, wie die Arachidonsäure, zu Lipidhydroperoxiden oxidieren. Bei Säugetieren gibt es drei Lipoxygenasen, die 5-Lipoxygenase (5-LOX), die 12-Lipoxygenase (12-LOX) und die 15-Lipoxygenase (15-LOX), deren Nomenklatur auf der Position der Hydroperoxy-Gruppe beruht. Alle Lipoxygenasen bilden Hydroperoxyeicosatetraensäuren (HPETE), welche, ähnlich den Endoperoxiden PGG und PGH, instabile Zwischenprodukte darstellen und von verschiedenen Enzymen, unter anderem zu Hydroxyeicosatetraensäuren (HETE), weiter metabolisiert werden (Abb. 1-8).

1. Einleitung

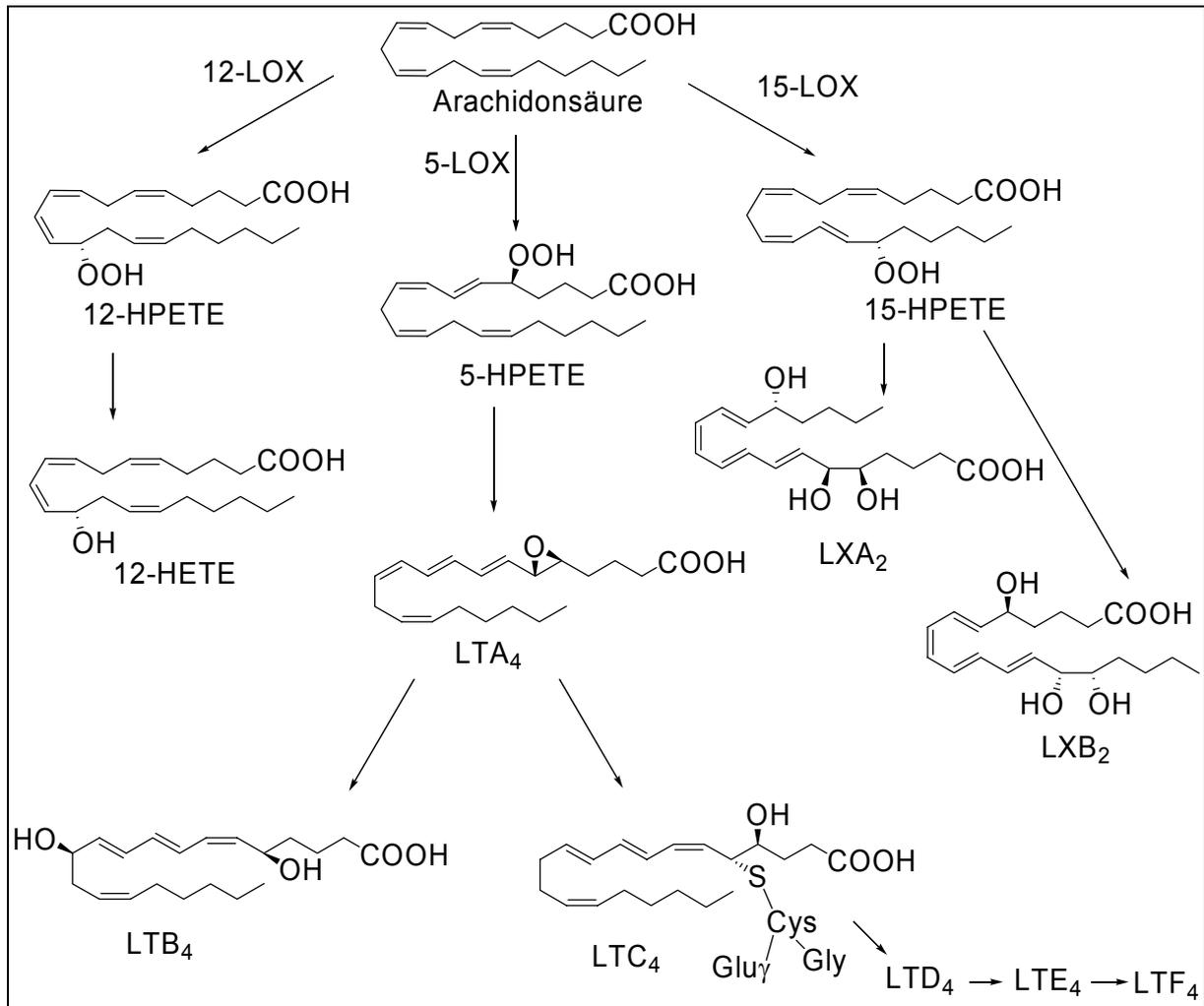


Abb. 1-8: LOX-Weg der Arachidonsäurekaskade

Von den Produkten der 12-LOX weiß man noch am wenigsten. 12-HPETE wird hauptsächlich über Peroxidasen zu 12-HETE umgebaut oder zerfällt nichtenzymatisch.

Über die 15-LOX entsteht 15-HPETE, welches in Leukozyten in Lipoxine, z.B. LXA₂ und LXB₂, umgewandelt wird. Die Stoffgruppe der Lipoxine sind wichtige entzündungshemmende Mediatoren. Das Enzym 15-LOX wird von negativen Regulatoren von Entzündungsprozessen, den Interleukinen IL-4 und IL-13, reguliert. Neuere Studien scheinen aber zu zeigen, dass der 15-LOX-Stoffwechsel für die Atherogenese, Förderung von arteriosklerotischen Gefäßveränderungen, eine Bedeutung hat. Eine Hemmung der 12/15-LOX-Genexpressierung bei Mäusen hat zur Folge, dass bei diesen, über die gesamte Lebenszeit gesehen, weniger arteriosklerotische Läsionen in den Gefäßen auftreten [46,47,48,49]. Mäuse, welche hingegen 15-LOX aus Endothelzellen überexprimieren, zeigen vergrößerte Läsionen, bei zusätzlichem Erhalt einer Atherogenese förderlichen Ernährung [50]. Weitere

Untersuchungen müssen zeigen, ob es sinnvoll ist die 15-LOX zu hemmen oder nicht.

Das wichtigste Enzym dieses Metabolisierungsstoffwechsels ist aber immer noch die 5-Lipoxygenase, deren Produkt, das 5-HPETE, unter anderem in LTA₄ umgewandelt wird. Das LTA₄ wird nur in myeloiden Leukozyten gebildet und kann dann entweder intrazellulär in die anderen Leukotriene umgewandelt werden oder aus den Leukozyten sezerniert [51] werden. Benachbarten Zellen, welche keine 5-LOX besitzen, nehmen das LTA₄ auf und können, über die LTA-Hydrolase LTB₄ oder über die LTC₄-Synthase LTC₄ herstellen. Dieser als „transzelluläre Biosynthese“ bezeichnete Vorgang [52,53,54] ermöglicht eine Intensivierung der Leukotrienbildung. Bei der Synthese von LTC₄ wird Glutathion an LTA₄ gekoppelt. Durch Elimination von Glutaminsäure entsteht LTD₄ und nach weiterer Elimination von Glycin entsteht das LTE₄. Wird dann wieder die Glutaminsäure eingeführt entsteht das LTF₄. Alle diese Leukotriene werden auch als Peptido- oder Cysteinyl-Leukotriene bezeichnet.

Die menschliche 5-LOX besteht aus 674 Aminosäuren, ist überwiegend hydrophob und kommt vor allem in Zellen vor, die an Entzündungsprozessen und Immunreaktionen beteiligt sind, wie z.B. polymorphkernige Leukozyten, Makrophagen, Mastzellen, Monozyten und B-Lymphozyten. In Abb. 1-9 ist ein Schema der 5-LOX dargestellt.

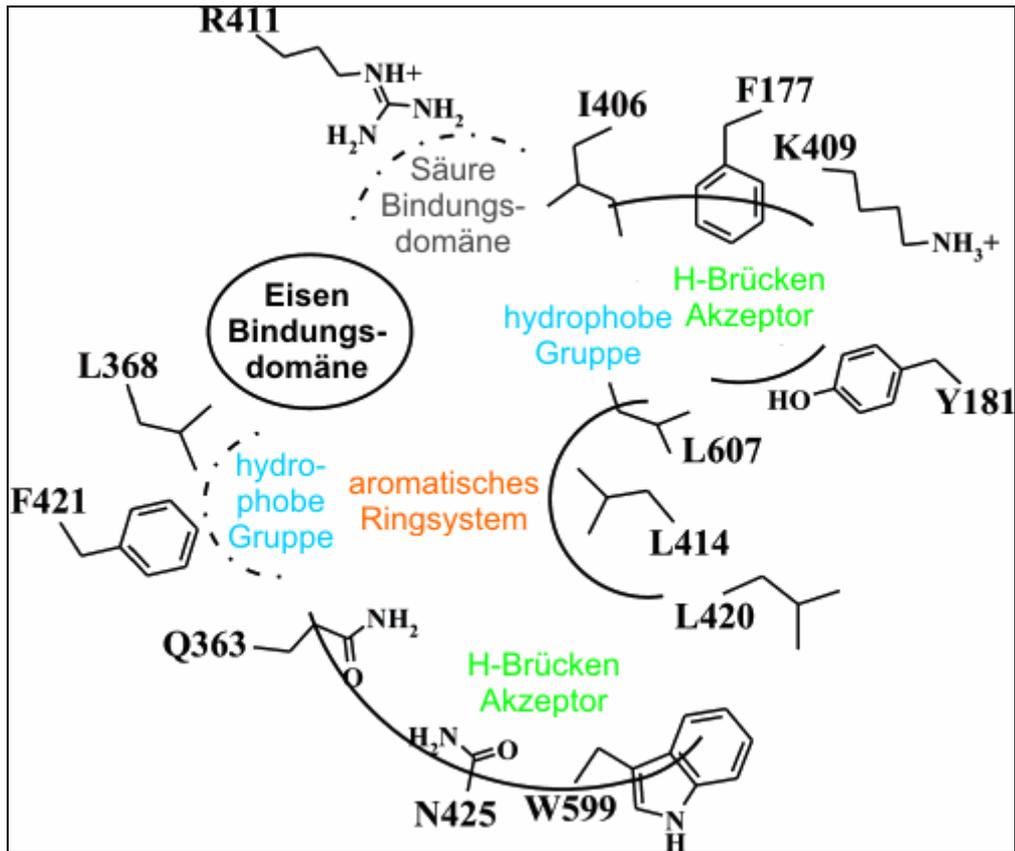


Abb. 1-9: Schema 5-LOX-Bindungstasche nach Charlier [55]

Im Gegensatz zur COX-1 und COX-2 war es noch nicht möglich die 5-LOX zu kristallisieren. Aus diesem Grund behilft man sich mit anderen Methoden. Rao et al. versuchen aus Dockingergebnissen in der 15-LOX auf eine Positionierung in der 5-LOX zu schließen [56]. Charlier et al. versuchen über eine 15-LOX-Kristallstruktur als Grundlage eine humane 5-LOX Sequenz zu legen und eine 5-LOX-Struktur zu berechnen [55]. In Abb. 1-10 ist dargestellt, wie die Unterschiede von 5-LOX zu 15-LOX sein könnten [55].

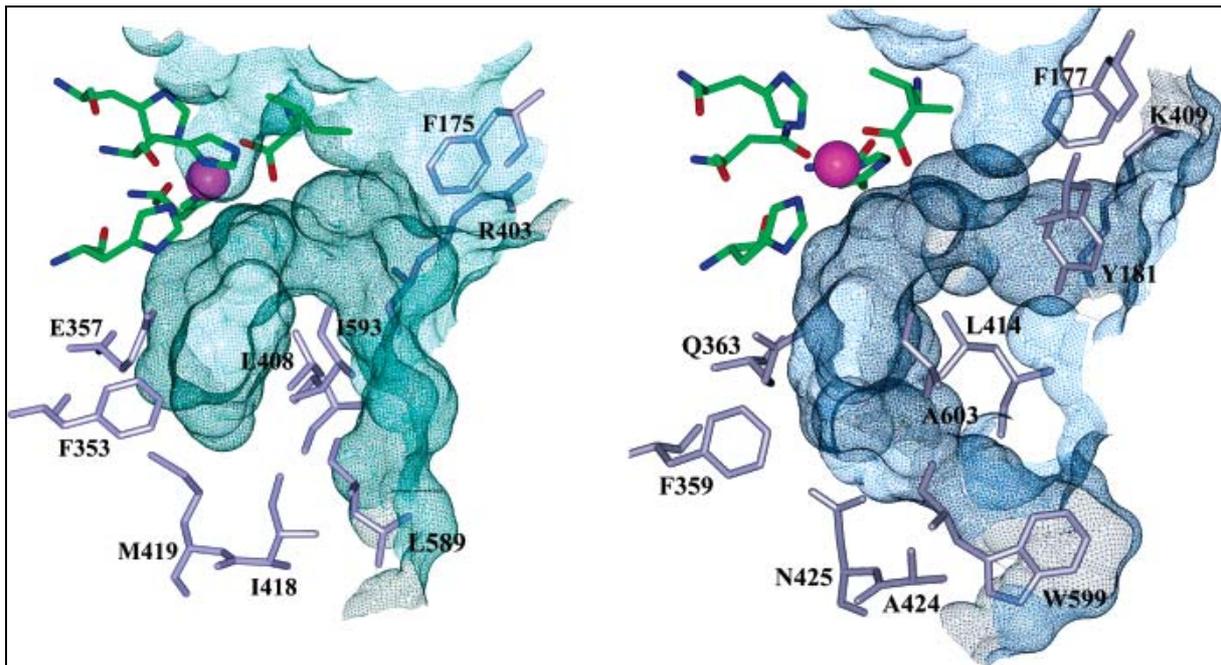


Abb. 1-10: links 15-LOX (Kaninchen), rechts gemodeltes 5-LOX (Bild von Charlier [55])

1.2.2.2 Produkte des 5-LOX-Weges und deren Funktion

In Tabelle 1-2 sind die pharmakologischen Wirkungen der Leukotriene nach Laufer [1] aufgeführt.

1. Einleitung

Leukotrien	Wirkung	Lokalisation
LTB ₄	<p>Chemotaxis</p> <p>Aggregation</p> <p>Rekrutierung, Migration, Adhäsion, Degranulierung unter Bildung von Superoxid und vermehrte Bildung und Freisetzung von Zytokinen</p> <p>Steigerung von Zytotoxizität und Zytokinbildung (IL-5, IL-6, IL-8)</p> <p>Hemmung von Transformation und Sekretion</p> <p>Vermehrte Proliferation, Aktivierung und Immunglobulinbildung</p> <p>Permeabilitätserhöhung</p> <p>Hyperalgesie</p>	<p>Neutrophile, Eosinophile, Lymphozyten und Monozyten</p> <p>Neutrophile und Eosinophile Granulozyten</p> <p>T-Zellen und Makrophagen</p> <p>T-Zellen</p> <p>B-Zellen</p> <p>kleinste Gefäße afferente Nerven</p>
LTC ₄ , LTD ₄ und LTE ₄	<p>Kontraktion</p> <p>Schleimsekretion und Ödembildung</p> <p>Permeabilitätserhöhung</p> <p>Rekrutierung von Entzündungszellen</p> <p>Umbau der Atemwege bei chronisch allergischer Entzündung</p>	<p>Glatte Muskulatur, Koronararterien, Bronchien</p> <p>Bronchien</p> <p>kleinste Gefäße</p> <p>Lymphozyten, Eosinophile</p> <p>Lunge</p>

Tabelle 1-2: Wirkung der Leukotriene nach Laufer [1]

Die Leukotriene wirken an Leukotrienrezeptoren, von denen bis heute drei bekannt sind, der LTB₄-, LTC₄- und der LTD₄/LTE₄-Rezeptor. Wie in Tabelle 1-2 erkennbar ist, sind die Leukotriene potente Entzündungsmediatoren. Innerhalb der Cysteinyl-Leukotriene (LTC₄, LTD₄ und LTE₄) sind LTC₄, LTD₄ pharmakologisch äquipotent und etwas wirksamer als das LTE₄.

LTB₄ ist wahrscheinlich an der Entstehung von entzündlichen Schleimhautläsionen im Darm bei Colitis ulcerosa und Morbus Crohn beteiligt. Bei Schleimhautbiopsien wurden erhöhte LTB₄-Spiegel gefunden. Auch gibt es Hinweise, dass LTB₄ zu einer Abnahme des renalen Blutflusses und der glomerulären Filtrationsrate führt [57].

Die Cysteinyl-Leukotriene werden bei Asthmaanfällen, rheumatoider Arthritis, Entzündung und bei allergischen Überempfindlichkeitsreaktionen freigesetzt und wirken stark spasmogen an der glatten Muskulatur und im Gefäßsystem. Zum Beispiel ist die bronchokonstriktorische Wirkung der Cysteinyl-Leukotriene, als Aerosol eingesetzt, um Faktor 100 stärker als beim Histamin [58]. Der vasokonstriktorische Effekt in der Magenschleimhaut wird für die ulzerogene Wirkung der Cysteinyl-Leukotriene verantwortlich gemacht [57].

1.2.3 Duale COX/LOX-Inhibitoren

Neben dem Ansatz COX-2-selektive Inhibitoren zu entwickeln, um ein bessere gastrointestinale Verträglichkeit zu erreichen, wurden duale COX/LOX-Inhibitoren entwickelt. Hintergrund dazu ist die so genannte „Shunt-Hypothese“ [59]. Diese besagt, dass die Arachidonsäure, nach Hemmung der COX, vermehrt über die Lipoxygenase biotransformiert wird. Durch gesteigerte Synthese von LTB₄ wird die Adhäsion von Leukozyten an postkapillare Mesenterialvenolen verstärkt. Zusammen mit der vasokonstriktorischen Wirkung von Cysteinyl-Leukotrienen LTC₄ und LTD₄ kommt es zu Mikrozirkulationsstörungen, welche zu ischämischen Zuständen in den Schleimhäuten und somit zu Schleimhautläsionen führen können. Diese Wirkung sollte mit einer zusätzlichen 5-LOX-Hemmung vermieden werden [1].

In Abb. 1-11 sind 3 Gruppen von COX/LOX-Inhibitoren aufgeführt.

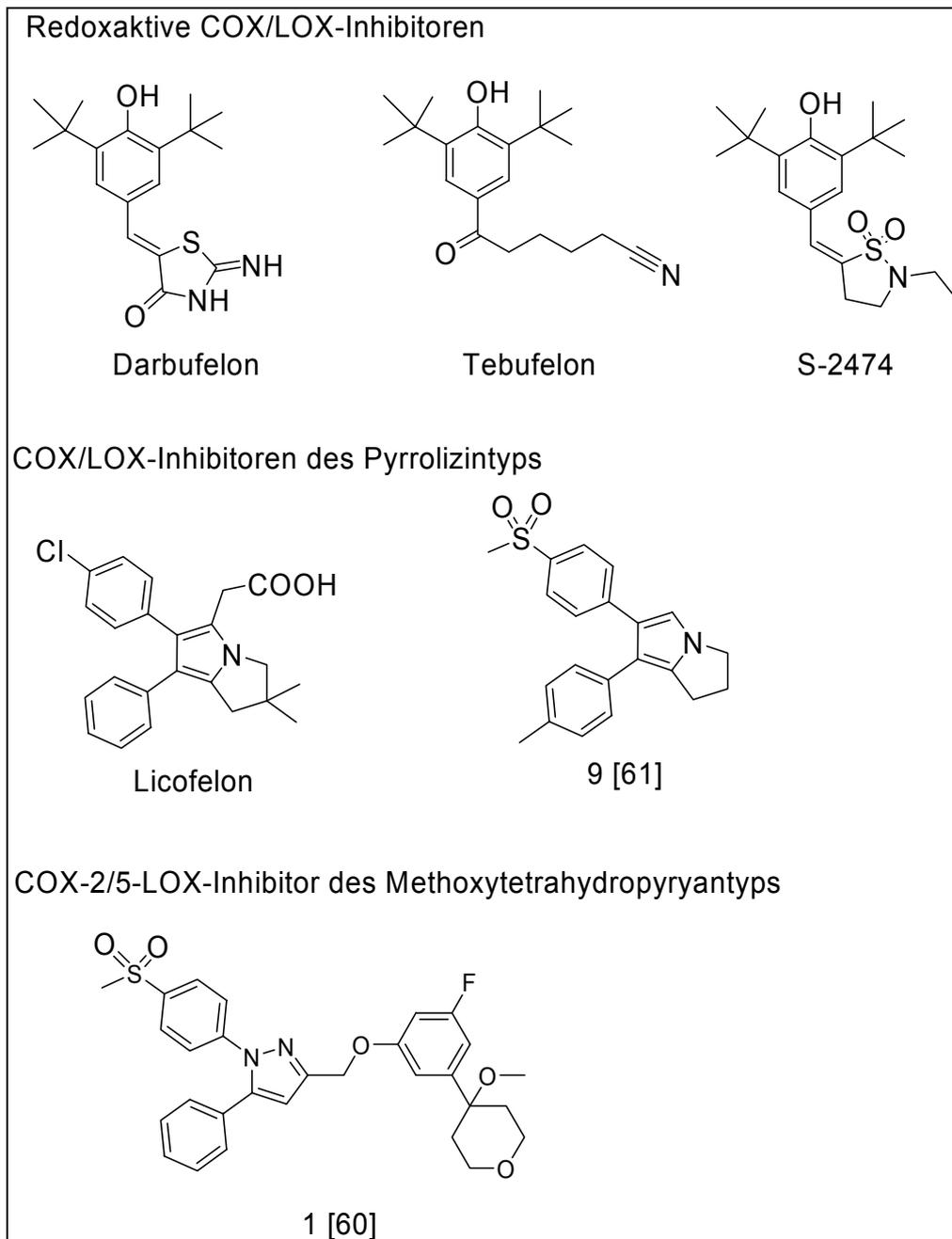


Abb. 1-11: COX/LOX-Inhibitoren: [60,61]

Die erste Gruppe besteht aus redoxaktiven COX/LOX-Inhibitoren. Darbufelon, Tebufelon und S-2474 [62] hemmen die Redoxenzyme COX und LOX ziemlich gut, doch ist der Wirkmechanismus das Problem dieser Klasse. Sie reagieren mit vielerlei Redoxenzymen in der Leber und sind nicht ausreichend spezifisch für die COX und die LOX. Aus diesem Grund sind alle klinischen Tests, außer denen von S-2474 abgebrochen worden [1].

Licofelon [63,64] und die Substanzen 9 [61] und 1 [60] stellen kompetitive COX/LOX-Inhibitoren dar, wobei im Falle von 1 ein COX-2/5-Lox-Inhibitor vorliegt.

Licofelon zeigt in präklinischen Untersuchungen die Überlegenheit gegenüber Indometacin bezüglich geringerer Magenschädigung. Dies wird durch den Kontrollen entsprechenden LTB₄-Spiegel in Magengeweben von Ratten, und durch wesentlich geringere LTB₄-induzierte Leukozytenadhäsion an Mesenterialvenolen (Ratte) [65], gezeigt. Die gastrointestinale Überlegenheit von Licofelon gegenüber Naproxen wurde in einer kleinen Studie mit 118 Probanden nachgewiesen. Nach 4 Wochen lagen in der Naproxengruppe bei 20% der Probanden in endoskopischen Untersuchungen Ulzerationen vor, im Gegensatz zur Licofelon- und Plazebogruppe, welche keine Ulzerationen aufwies. Nach Studienabschluss war nur bei 37% der Naproxengruppe die Magenmukosa in Ordnung, im Gegensatz zu der Plazebo- und Licofelongruppe, bei denen jeweils ca. 90% der Probanden intakte Magenschleimhäute aufwies [66]. In einer Wirkungsfindungsstudie konnte bei 404 Arthrosepatienten eine ähnliche Potenz bei einem stark verringertem Nebenwirkungsprofil von 2x200 mg Licofelon gegenüber 3x50mg Diclofenac nachgewiesen werden [66].

Somit spricht vieles für die 3. Generation von Schmerzmitteln, den Inhibitoren von COX-1, COX-2 und 5-LOX. Doch da bei der 2. Generation, den COX-2 selektiven Inhibitoren, die kardiovaskulären Nebenwirkungen erst nach der Zulassung entdeckt wurden (auch bei NSAR der ersten Generation), werden Neuzulassungen nun restriktiver gehandhabt. Sollten sich aber die Vorteile der 3. Generation in größeren Studien bestätigen, wäre dies ein großer Fortschritt auf dem Gebiet der Schmerztherapie.

1.3 Reaktive Sauerstoffspezies (ROS)

1.3.1 Einleitung

Die wichtigsten Vertreter der reaktiven Sauerstoffspezies (reactive oxygen species = ROS) sind chemisch aktive Moleküle, welche von Sauerstoff abgeleitet werden können [67,68,69,70]: das Superoxid Radikal $O_2^{\cdot-}$, das Wasserstoffperoxid H_2O_2 , die hypochlorige Säure HOCl, das Stickstoffmonoxid NO und das Hydroxylradikal $\cdot OH$.

In Tabelle 1-3 sind die einzelnen reaktiven Sauerstoffspezies und deren Metabolismus aufgeführt.

ROS-Molekül	Hauptquellen	Körpereigenes Abwehrsystem	mögliche Produkte
Superoxid ($O_2^{\cdot-}$)	Aktivierte Phagozyten Xanthinoxidase Flavoenzyme	Superoxiddismutase (SOD) (in Bakterien: Superoxidreduktase)	$H_2O_2 + O_2$ H_2O_2
Wasserstoffperoxid (H_2O_2)	Aus $O_2^{\cdot-}$ durch SOD NADPH-Oxidase Glucoseoxidase Xanthinoxidase	Glutathionperoxidase Katalase Peroxiredoxine (Prx)	H_2O und GSSG $H_2O + O_2$ H_2O
Hypochlorige Säure (HOCl)	Aus H_2O_2 und Cl^- und Myeloperoxidase		$\cdot OH$
Hydroxylradikal ($\cdot OH$)	Aus $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 und HOCl über Fe^{2+} oder Cu^+		
Stickstoffmonoxid (NO)	NO-Synthase	Glutathion/TrxR	GSNO $\cdot OH$

Tabelle 1-3: Quellen und Metabolismus von reaktiven Sauerstoffspezies

Die Aktivität bzw. die Toxizität von ROS ist sehr verschieden. Das Wasserstoffperoxid und das Superoxidradikalanion können die meisten biologischen Strukturen nicht direkt schädigen. Es gibt, im Folgenden beschrieben, diverse Mechanismen, durch welche diese in das extrem reaktive und schädliche Hydroxylradikal umgewandelt werden können.

1.3.2 Entstehung der verschiedenen ROS

1.3.2.1 Mechanismen der Entstehung der weniger reaktiven ROS

Das Superoxidradikalanion kann aus Sauerstoff durch die Addition von einem Elektron entstehen. Trotz seiner Radikaleigenschaften ist es nicht sonderlich reaktiv und ist auch nicht in der Lage Lipidmembranen zu durchqueren. Superoxid entsteht in der Regel spontan im elektronenreichen aeroben Milieu, in der Nähe der inneren Mitochondrienmembran, in der unter anderem die Reaktionen der Atmungskette stattfinden [71]. Weiterhin wird Superoxid endogen von Flavoenzymen, zum Beispiel Xanthinoxidase [72], NADPH-Oxidase [73,74,75], Lipoxygenasen und Cyclooxygenasen [76,77] produziert (siehe Abb. 1-12).

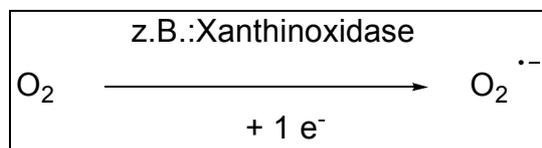


Abb. 1-12: Beispiel zur Superoxidradikalentstehung

Wasserstoffperoxid ist weder ein Radikal, noch besitzt es eine hohe Reaktivität. Es entsteht durch den Metabolismus von Superoxidradikalanionen über die Superoxiddismutase (Abb. 1-13).

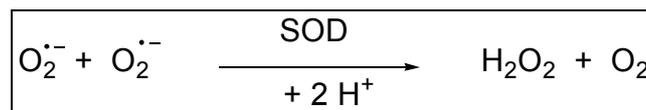


Abb. 1-13: Wasserstoffperoxidsynthese

Es ist aber ein wichtiges Mitglied der Gruppe der reaktiven Sauerstoffspezies, da es sehr gut Membranen durchqueren kann, wo es eine wichtige Funktion als

intrazelluläres Signalmolekül übernimmt [78,79] und zu weiteren sehr reaktiven Stoffen metabolisiert werden kann. Für Wasserstoffperoxid sind drei wichtige abbauende Enzymsysteme bekannt: die Katalase, die Glutathionperoxidase und das Peroxiredoxin. Es kann weiterhin über die Myeloperoxidase und Chlorid zur hypochlorigen Säure reagieren (Abb. 1-14) [71,80].



Abb. 1-14: Reaktion von H₂O₂ zu HOCl

1.3.2.2 Reaktion verschiedener ROS in das Hydroxylradikal

Die wichtigste Abbaureaktion von Wasserstoffperoxid ist der Abbau über die Fenton-Reaktion zum Hydroxylradikal, bei deren Verlauf Eisen(II)- oder Kupfer(I)-Ionen jeweils ein Elektron an das Wasserstoffperoxid abgeben, welches dadurch zum Hydroxylion und Hydroxylradikal zerfällt. Die Metallionen können aber durch die Reaktion mit einem Superoxidradikalanion wieder regeneriert werden, was dann in der Summe die Haber-Weis-Reaktion ergibt (Abb. 1-15) [71,80].

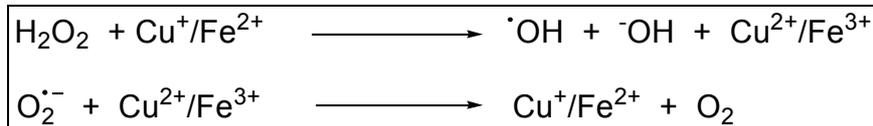


Abb. 1-15: obere Zeile: Fenton-Reaktion, gesamt: Haber-Weis-Reaktion

Eine weitere Möglichkeit der Hydroxylradikalgenerierung besteht über eine Reaktion mit hypochloriger Säure als Zwischenprodukt, welche mit Superoxidradikalanion oder Kupfer(I)- bzw. Eisen(II)-Ionen Hydroxylradikale bildet (Abb. 1-16) [71,81].

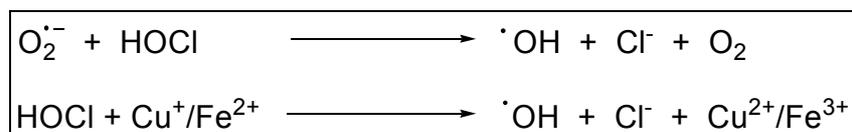


Abb. 1-16: Reaktionen von HOCl zum Hydroxylradikal

Selbst aus Stickstoffmonoxid kann bei der Reaktion mit dem Superoxidradikalanion über Zwischenprodukte, das Anion der peroxosalpetrigen Säure und dessen protonierter Form, das Hydroxylradikal neben einem Stickstoffdioxid-radikal entstehen (Abb. 1-17) [82].

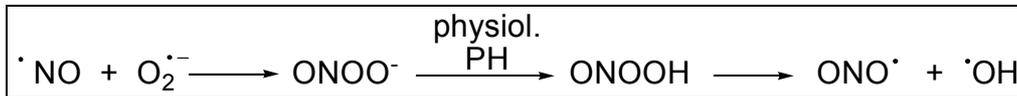


Abb. 1-17: Reaktion von NO mit O₂^{·-} zu ·OH und NO₂[·]

Das durch diese vier Reaktionen entstandene Hydroxylradikal ist in der Lage mit fast jeder Struktur in lebenden Zellen zu reagieren [68,82,83,84] und untermauert somit die publizierte These [71,82], dass das eigentliche schädliche Agens aus dem ROS-Metabolismus das Hydroxylradikal darstellt.

1.3.3 Einfluss von ROS auf Entzündungsvorgänge

Am Anfang eines Entzündungsprozesses entstehen große Mengen an Superoxidradikalanionen, welche meist nach Aktivierung von Mastzellen, Makrophagen, Eosinophilen und Neutrophilen frei gesetzt werden [73,74], die dann über die oben beschriebenen Mechanismen in Wasserstoffperoxid umgewandelt werden. Wasserstoffperoxid kann im Gegensatz zum Superoxidradikalanion leicht in das umliegende Gewebe diffundieren. Dort kann das H₂O₂ über die schon abgehandelten Mechanismen zum Hydroxylradikal reagieren.

Besonders Membranlipide sind anfällig durch Hydroxylradikale oxidiert zu werden, nicht nur weil sie einen hohen Anteil an ungesättigten Fettsäuren besitzen [85,86], sondern auch durch die räumliche Nähe zu den membrangebundenen enzymatischen und nicht-enzymatischen Systemen, welche ROS produzieren können [86]. Hydroxylradikale können zur Bildung von diversen Lipidhydroperoxiden in der Zellmembran führen, wodurch diese dann ihre Funktion verliert und es zum Zelltod durch Apoptose kommen kann. ROS können, über den Mechanismus der Lipidperoxidation, die Freisetzung von Arachidonsäure aus den Membranphospholipiden verursachen und somit indirekt zu gesteigerten Prostaglandin- und Leukotrienspiegel führen [87,88]. Durch Lipidperoxidation können die oxidierten Bestandteile der Zellmembran vom Körper als Antigene identifiziert werden und somit eine Immunantwort auslösen [73]. Die hypochlorige Säure hat eine

wichtige Funktion als Bakterizid [74]. Wenn aber diese im Überschuss produziert wird, kann auch sie große Schäden im umliegenden Gewebe verursachen [74,89], unter anderem auch deshalb, weil sie, über die oben beschriebenen Reaktionen, zum Hydroxylradikal reagieren kann.

ROS können die Konformation und Aktivität an allen Thiolgruppen enthaltenden (oder selenhaltigen) Molekülen, wie Proteine oder Glutathion, durch Oxidation der Thiol-/Selenolfunktion verändern. In der Gruppe der Proteine sind wichtige Mitglieder der Signaltransduktion und Karzinogenese, wie z.B. Proteinkinase C, Ca²⁺-ATPase, Kollagenase und Tyrosinkinase enthalten [90]. Es werden noch wesentlich mehr Enzyme und auch Rezeptoren geschädigt [91], doch wird in dieser Arbeit nicht weiter darauf eingegangen.

Weiterhin haben ROS auch physiologische Funktion als Vermittler der Transkriptionskontrolle [90,92,93]. Ein gut bekanntes Beispiel ist der Nuclear Factor- κ B (NF- κ B) [90,93,94,95]. NF- κ B wird vom Gegenspieler I- κ B als Komplex in der inaktiven Form gehalten. Dieses I- κ B kann zum Beispiel über die I- κ B-Kinase phosphoryliert und damit inaktiviert werden, so dass NF- κ B im Zellkern als Transkriptionsfaktor die Synthese von Zytokinen (IL-1, IL-6, IL-8 und TNF α), iNOS, von Adhäsionsmolekülen (E-Selektin und VCAM-1) und diversen anderen Strukturen anregt. ROS, besonders das Hydroxylradikal, können das I- κ B oxidieren und es somit inaktivieren, so dass es zu der beschriebenen verstärkten Immunantwort kommt [71].

2. Problemstellung

Das Ziel dieser Arbeit war es eine neue Generation von Antiinflammatorika zu entwickeln. Die erste Generation, die klassischen unselektiven COX-Hemmer, und die 2. Generation, die COX-2-selektiven Inhibitoren, weisen zu starke gastrointestinale und/oder kardiovaskuläre Nebenwirkung auf. Die 3. Generation, die dualen COX/LOX-Inhibitoren, wie z.B. das Licofelon, sind noch nicht auf dem Markt. Licofelon kann unter Umständen die gastrointestinale Verträglichkeit verbessern doch sind wegen fehlender Langzeitstudien, bezogen auf die kardiovaskuläre Verträglichkeit noch keine abschließenden Aussagen möglich (Abb. 2-1). Der Bedarf an entzündungshemmenden Substanzen mit ausgeprägter Analgesie korreliert direkt mit der sich verändernden Alterstruktur in der Bevölkerung.

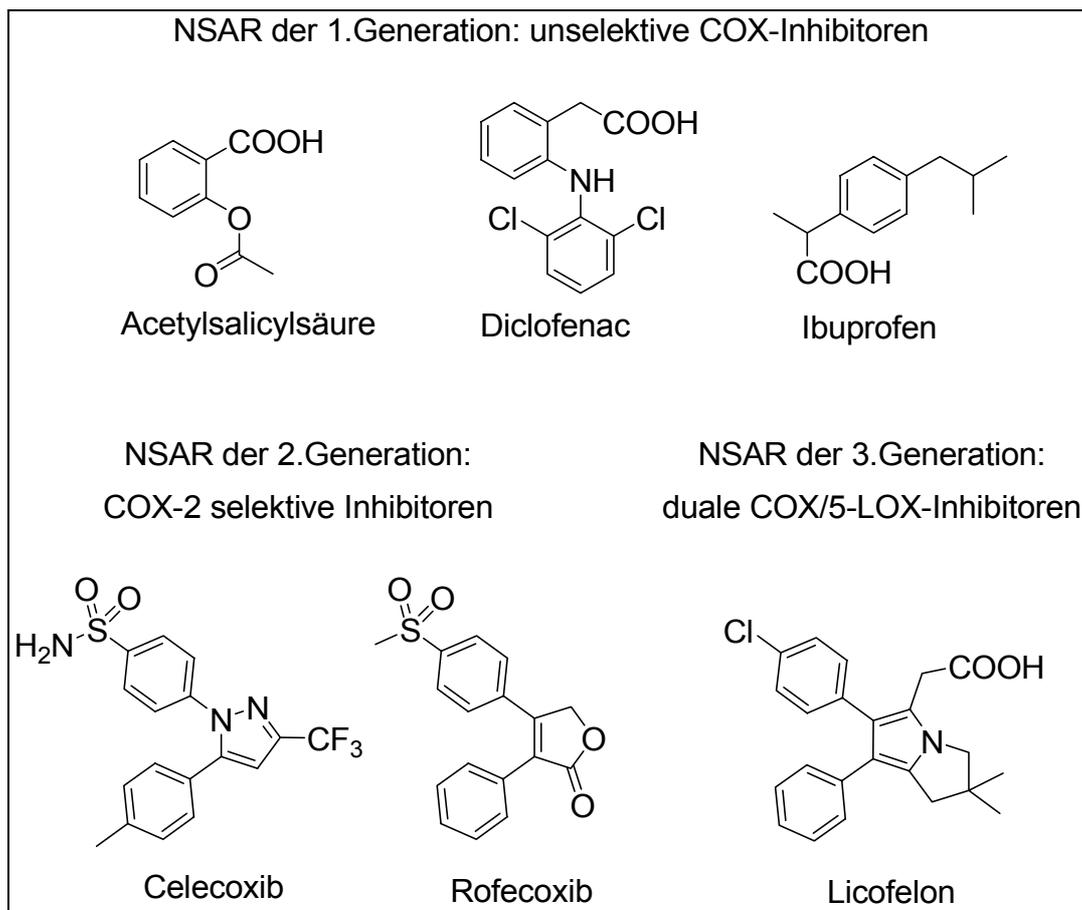


Abb. 2-1: 3 Generationen von NSAR

2. Problemstellung

Die 4. Generation muss klare Vorteile gegenüber den vorangehenden Generationen aufweisen. Dies sollte durch eine Kombination von COX-1-, COX-2-, 5-LOX-inhibitorischen Eigenschaften mit guten Hydroxylradikalfängereigenschaften erreicht werden, so dass zum einen entzündungsfördernden Metaboliten der Arachidonsäure und zum anderen die durch ROS (hauptsächlich durch das Hydroxylradikal) vermittelte Aktivierung von NF- κ B und die direkt verursachte Schädigung von Zellmembranen verhindert werden kann.

Erstmals sollten neben den Untersuchungen zur Enzyminhibierung der neuen Substanzen Struktur-Wirkungs-Beziehungen in Bezug zur Fähigkeit Hydroxylradikale zu inaktivieren ermittelt werden.

3. Chemischer Teil

In der vorliegenden Arbeit wurden folgende Grundkörper als potentielle Inhibitoren der COX-1, COX-2 und 5-LOX synthetisiert, welche auch auf eine zusätzliche Wirkung als Hydroxylradikalfänger untersucht wurden (Abb. 3-1):

- 3.1 4,5-substituierte Isothiazole MSD4a-4k und die Isothiazol-1,1-dioxide MSD10a und MSD11o
- 3.2 4,5-substituierte Isoselenazole MSD5a-5h
- 3.3 2,4,5-substituierte Isothiazoliumchloride MSD7a-7f
- 3.4 3,4-substituierte Pyrrole MSD8a-8b und MSD9a-9b
- 3.5 2,4,5-substituierte Isothiazol-(2H)-3-on-1,1-dioxide MSD11a-11n
- 3.6 N,2,3-substituiertes Acrylsäureamid MSD12a
- 3.7 4,5-substituierte 3H-1,2-Dithiol-3-thione MSD15a-15b
- 3.8 4,5-substituierte 3H-1,2-Dithiol-3-one MSD16a-16b

3. Chemischer Teil

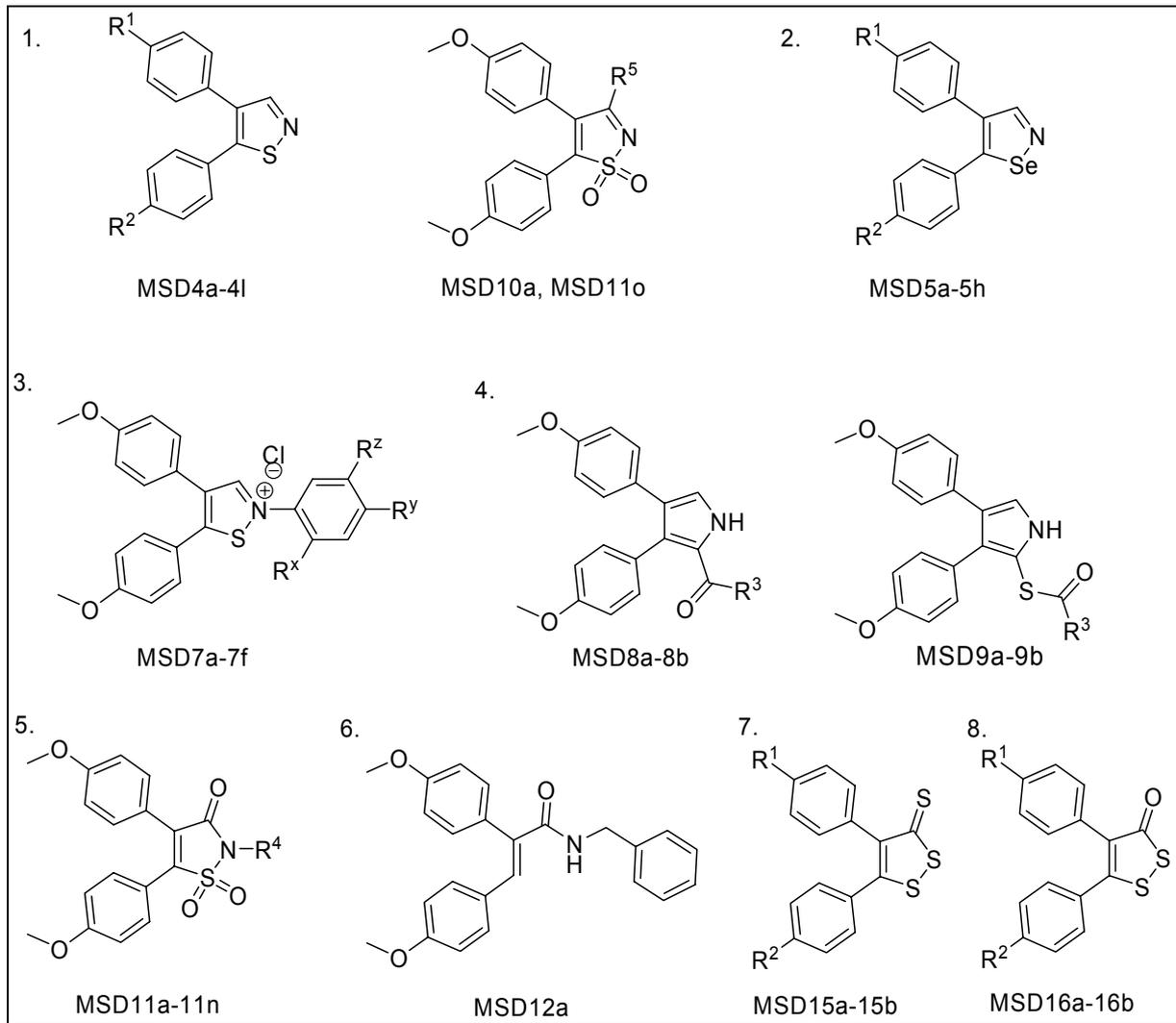


Abb. 3-1: synthetisierte Grundkörper

3.1 Darstellung der Isothiazole

Die Darstellung der 4,5-substituierten Isothiazole erfolgte in den meisten Fällen über die folgenden 4 Stufen (Abb. 3-2):

3.1.1 Darstellung der 1,2-Diarylethanole MSD1b-g,i durch Grignard-Reaktion: Methode(i)

3.1.1.1 Oxidation am Schwefel: Methode(ii)

3.1.2 Oxidation der Ethanolderivate MSD1b-h zum jeweiligen Desoxybenzoinderivat MSD2b-h: Methode(iii), alternativ Methode(iv)

3.1.3 Darstellung der 1-Chlor-2-formylstilbenderivate mit einer modifizierten Vilsmeier Reaktion: Methode(v)

3.1.4 Ringschluss zum Isothiazol mit Ammoniumthiocyanat: Methode(vi)

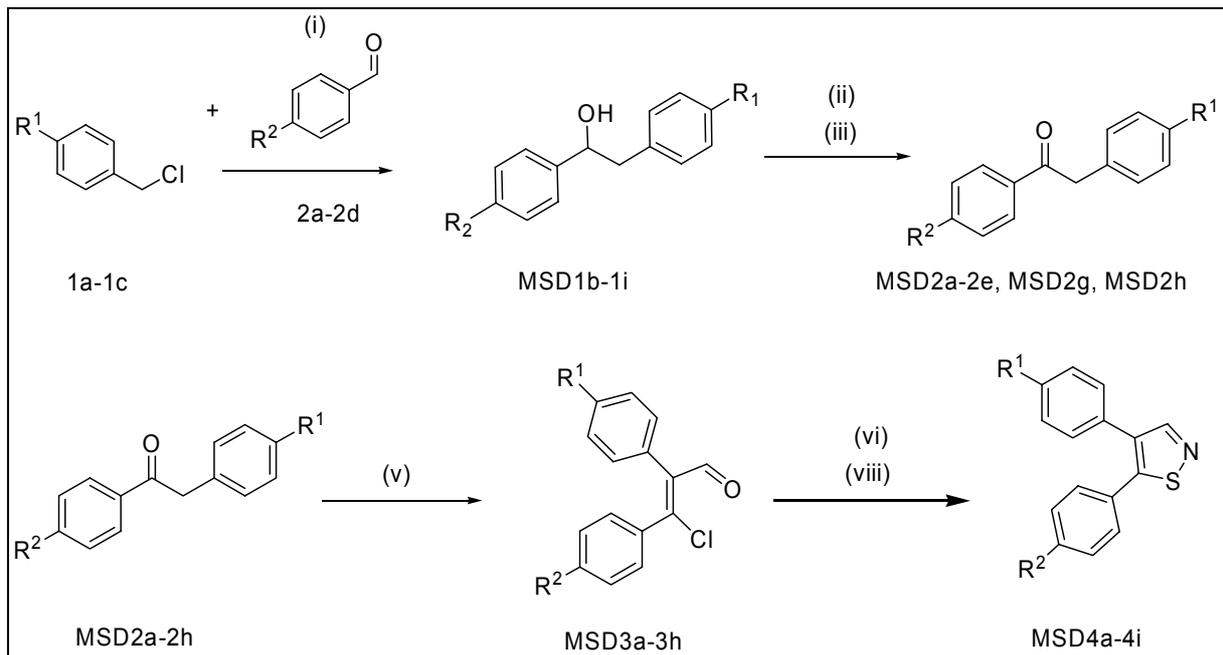


Abb. 3-2: Syntheschema der Isothiazole

3.1.1 Darstellung der Diarylethanoole und Diarylpropan-2-ole

Methode(i): Grignard-Reaktion: Darstellung von MSD1b-MSD1g, MSD1i, MSD13a und MSD13b:

Die Benzylchloride 1a-c werden mit Magnesium im wasserfreien Milieu, in absolutem Diethylether, zum entsprechenden Benzylmagnesiumchlorid umgesetzt. Im nächsten Schritt werden die Benzylmagnesiumchloride mit den Benzaldehyden 2a-2d oder Acetophenonen 3a und 3b zum jeweiligen sekundären Alkohol MSD1b-1g und MSD1i oder tertiären Alkohol MSD13a und MSD13b umgesetzt (vgl. Abb. 3-3) [96].

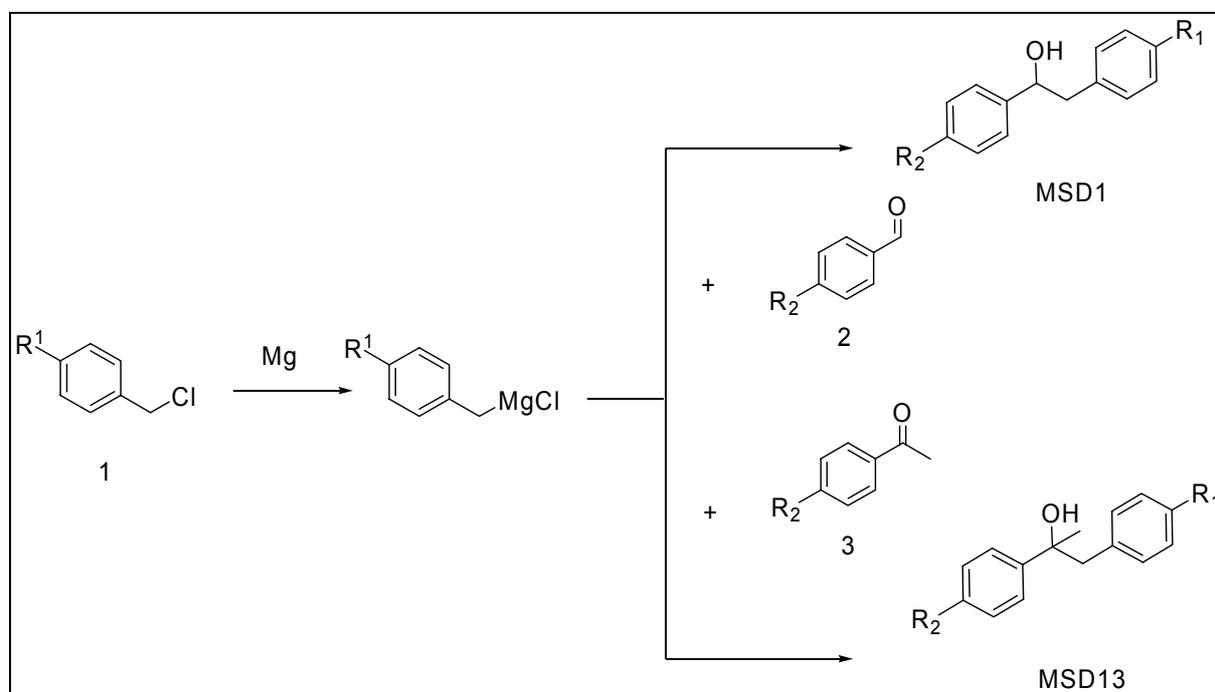


Abb. 3-3: Grignard-Reaktion zur Synthese von MSD1b-1i, MSD13a-13b

Die Struktur wurde mittels der ¹H-NMR-Spektroskopie gesichert (Bsp: MSD1d, Abb. 3-3). Als Beispiel wird das NMR-Spektrum von Substanz MSD1d herangezogen. Im tiefen Feld zwischen 7.3 und 7.0 ppm können 4 Signale den 2 AB-Systemen der 8 aromatischen H-Atomen zugeordnet werden, im hohen Feld ist die aromatische CH₃-Gruppe als Singulett bei 2.25 ppm zu finden. Charakteristisch für diese Verbindungsklasse sind die folgenden Signale: Das Dublett bei 5.23 ppm mit der Fläche entsprechend 1H wird der OH-Funktion zugeordnet, wobei das Signal durch die nachbarständige CH-Gruppe zusätzlich aufgesplittet. Die CH-Gruppe in Nachbarschaft ergibt ein Doppeldublett bei 4.68 ppm mit der Fläche von 1H, wobei

die Aufspaltung mit den beiden chemisch verschiedenen H-Atomen an der α -ständigen CH_2 -Gruppen zu erklären ist. Die CH_2 -Gruppe wird dem Dublett, mit einer 2H entsprechenden Fläche, bei 2.83 ppm zugeordnet (siehe Abb. 3-4).

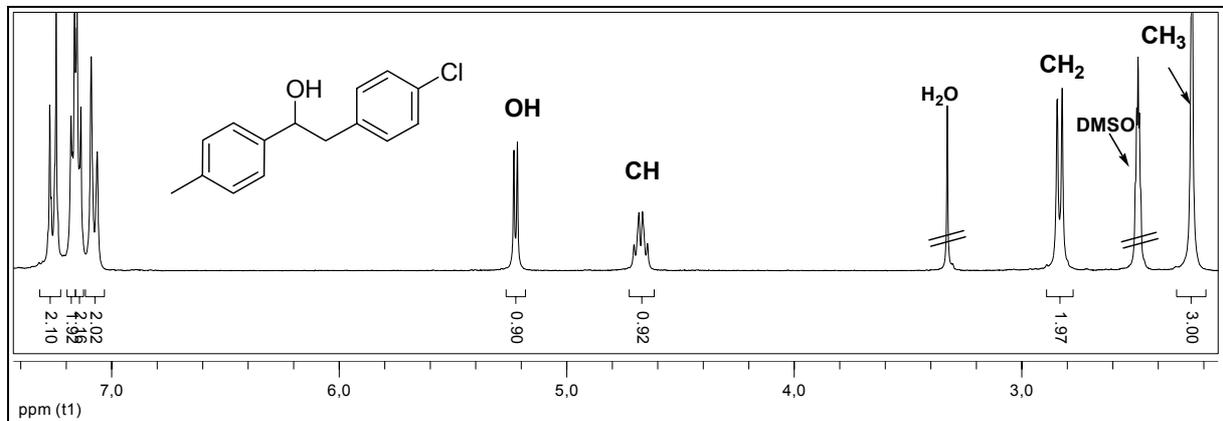


Abb. 3-4: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum von Substanz MSD1d

Interessanterweise ergibt die CH_2 -Gruppe das erwartete Dublett nur bei den Substanzen MSD1c-MSD1e und MSD1i. Bei den Substanzen MSD1b, MSD1g und MSD1h kommt es zu einer geminalen Kopplung der beiden H-Atome, die nur im Spektrum von MSD1h in Form zweier Dublette (Doppeldublett) ausgewertet werden konnten. Die Erklärung liegt im Einfluss des p-ständigen Substituenten am Arylrestes. Ist MSD1 an R_1 mit einer Methoxy- oder Methylsulfonylgruppe substituiert unterscheiden sich die Eigenschaften der beiden H-Atome stark genug, dass das Signal im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum in ein Doppeldublett aufgespalten wird.

In Tabelle 3-1 sind alle entsprechenden Produkte aufgeführt.

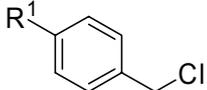
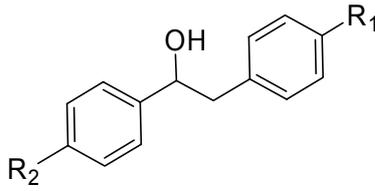
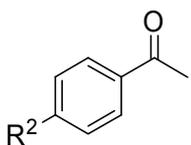
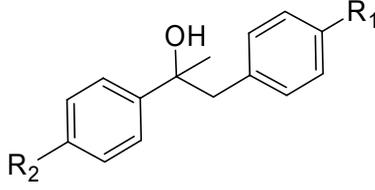
Strukturformel	R ¹	R ²	Verbindung
	CH ₃	-	1a
	Cl	-	1b
	F	-	1c
	-	OCH ₃	2a
	-	Cl	2b
	-	CH ₃	2c
	-	SCH ₃	2d
	CH ₃	OCH ₃	MSD1b
	CH ₃	Cl	MSD1c
	Cl	CH ₃	MSD1d
	Cl	Cl	MSD1e
	Cl	OCH ₃	MSD1g
	F	SO ₂ CH ₃	MSD1h
	F	SCH ₃	MSD1i
	-	Cl	3a
	-	CH ₃	3b
	CH ₃	Cl	MSD13a
	Cl	CH ₃	MSD13b

Tabelle 3-1: Sämtliche Edukte und Produkte von Grignard-Reaktionen

3.1.1.1 Oxidation am Schwefel

Methode(ii): Darstellung der Methylsulfonylderivate MSD1h, MSD11g und des Isothiazol-1,1-dioxids MSD10a durch Oxidation mit 3-Chlorperbenzoesäure:

3. Chemischer Teil

Das Thiomethylderivat MSD1i musste, bevor es zum Desoxyanisoinderivat weiter oxidiert werden konnte, zum Methylsulfonylderivat MSD1h oxidiert werden, da es ansonsten zu vielen Nebenprodukten kam. Dazu wurde der Thiomethylether MSD1i mit doppelt molarer Menge von 3-Chlorperbenzoesäure zum Methylsulfonylanalogon MSD1h umgesetzt. Weiterhin wurde mit dieser Methode auch der Thioether MSD11f zum Methylsulfonyl MSD11g und das Isothiazol MSD4a zum Isothiazol-1,1-dioxid MSD10a oxidiert (Tabelle 3-2).

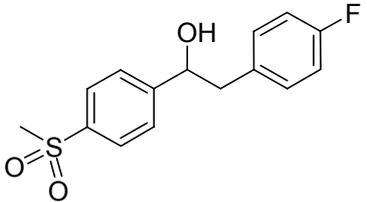
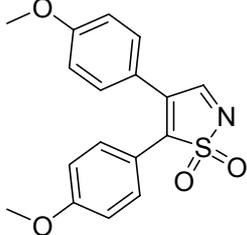
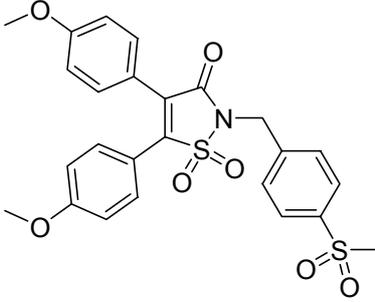
Struktur	Verbindung
	MSD1h
	MSD10a
	MSD11g

Tabelle 3-2: Verschiedene oxidierte schwefelhaltige Verbindungen

Die Ausbeuten waren bei den Oxidationen am nicht im Ring gebundenen Schwefel wesentlich höher, da bei der Oxidation des Isothiazolringsystem nicht nur der Schwefel, sondern auch der Kohlenstoff an Position 3 des Ringes oxidiert wurde und somit MSD11a erhalten werden konnte. Bei der Oxidation am Isothiazolringsystem scheint der 2. Schritt, die Oxidation vom Isothiazol-1,1-dioxid zum Isothiazol(2H)-3-on-1,1-dioxid, wesentlich schneller abzulaufen als der 1. Schritt. Die Tatsache, dass ein großer Teil des Eduktes nicht reagiert (50-80%) und nur ein

sehr kleiner Teil des erwünschten Produktes aus der Dichlormethanphase erhalten wird und eine recht beträchtliche Konzentration von MSD11a in der NaOH-Waschphase zu finden ist (MSD11a ist NH-acide und ist im wässrig neutralen oder alkalischen Milieu löslich), belegt diese These. So ist die Differenz zwischen den guten Ausbeuten bei der Synthese von MSD1h und MSD11g (95% bzw. 80%) gegenüber derjenigen von MSD10a (0,5%) zu erklären. Da bei dieser Methode das MSD11a nicht ausfällt und die Ausbeute mit der Methode(xvi) (Oxidation mit H_2O_2 in Eisessig) wesentlich größer ist, wurde diese zur Herstellung von MSD11a gewählt (vgl. Abb. 3-5).

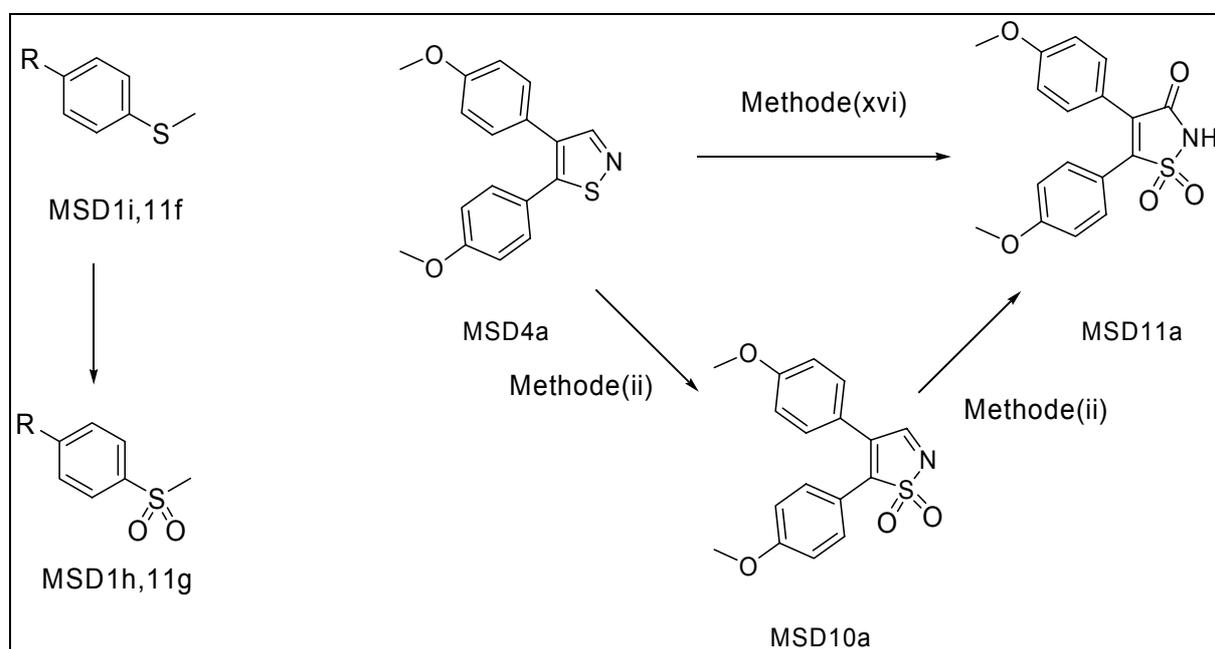


Abb. 3-5: Oxidationsreaktionen am Schwefel

Die Überprüfung der Reaktion erfolgt mit der 1H -NMR-Spektroskopie. Bei Substanz MSD1i ist das Signal der Thiomethylgruppe relativ weit im hohen Feld bei 2.43 ppm zu finden. Nach der Oxidation findet man das Signal für die Methylsulfonylgruppe bei 3.17 ppm, bedingt durch den elektronenziehenden Effekt der beiden zusätzlichen Sauerstoffatome ins tiefere Feld verschoben. Die Oxidation im Ringsystem erkennt man ebenfalls an den 1H -NMR-Spektren. Auch hier wird ein entschirmender Effekt der SO_2 -Gruppe beobachtet. Beim Isothiazol MSD4a befindet sich das CH-Singulett des Isothiazols bei 8.61 ppm, beim MSD10a im etwas tieferen Feld bei 9.22 ppm.

3.1.2 Darstellung der Desoxybenzoinderivate

3.1.2.1 Oxidation der 1,2-Diarylethanole zu Desoxybenzoinderivaten

Im nächsten Schritt stand eine problematische Oxidationsreaktion der aliphatischen OH-Gruppe zum Keton bevor. Problematisch ist diese Oxidation deshalb, weil die in die α -Position positionierte CH_2 -Gruppe ebenfalls leicht oxidiert werden kann und somit eine selektive Oxidationsreaktion gefunden werden musste.

3.1.2.1.1 Lösungsmittelfreie Oxidation mit Kaliumpermanganat

Oxidation von MSD1g zu MSD2g durch Verreiben mit Kaliumpermanganat und neutralem Aluminiumoxid.

Die veröffentlichten Ausbeuten [97] von 95-98% konnten nicht annähernd erreicht werden. Auch scheint die eigentliche Reaktion erst beim Aufnehmen des Ansatzes in Aceton zu erfolgen. Die Reaktion war nicht selektiv, da bei einem Versuch nur das Diketon als Produkt erhalten wurde. Sonst wurden nur zwischen 20 und 50% des gewünschten Produktes MSD2g erhalten. Die Reaktion brachte weder die gewünschte Reproduzierbarkeit noch die erhofften Ausbeuten.

3.1.2.1.2 Mikrowellengestützte Oxidation

Oxidation mit Benzyltriphenylphosphoniumbromochromat als mildes Oxidationsmittel:

Auch hier haben sich die Hoffnungen auf gute Ausbeuten entsprechend der Publikationen von Hajipour et al. [98] nicht erfüllt. Die Bedingungen erwiesen sich für unsere Versuche als zu mild und brachten leider nur Ausbeuten um 5% MSD2g.

3.1.2.1.3 Lösungsmittelfreie Oxidation mit Chromium(IV)-oxid

Die von den Autoren Varma und Saini [99] beschriebene Reaktion, bei der angefeuchtetes neutrales Aluminiumoxid, Chromium(IV)-oxid und der Alkohol, in diesem Fall MSD1g, verrieben werden, ergab nur 25-30% MSD2g und einen sehr großen Anteil an Diketonnebenprodukt. Somit ist auch diese Synthesevariante als suboptimal einzuschätzen.

3.1.2.1.4 Oxidation mit Natriumdichromat

Die 4. Variante war letztendlich die beste und ist als Methode(iii) im experimentellen Teil beschrieben. Der Alkohol wurde im Ether gelöst und eine Lösung aus Natriumdichromat mit Schwefelsäure in Wasser hinzugegeben. Folgender Reaktionsmechanismus wurde publiziert [100]. Der Alkohol lagert sich nukleophil an das Chrom(VI) an. Unter Wasserabspaltung entsteht ein Chromsäureester, der wahrscheinlich über einen zyklischen Übergangszustand reagiert. Danach wird der α -Wasserstoff des Alkohols auf den Chromatrest übertragen, wobei das Metall in den 4-wertigen Zustand übergeht. Das Chrom(IV) kann mit einem weiteren Alkohol reagieren, bis es zur dreiwertigen Stufe reduziert ist. Das gewählte 2-Phasen System ermöglicht, dass das Keton sich in der organischen Phase löst und so der wässrigen Phase, in der die Reaktion stattfindet, entzogen wird und vor weiterer Oxidation geschützt ist (Abb. 3-6).

3. Chemischer Teil

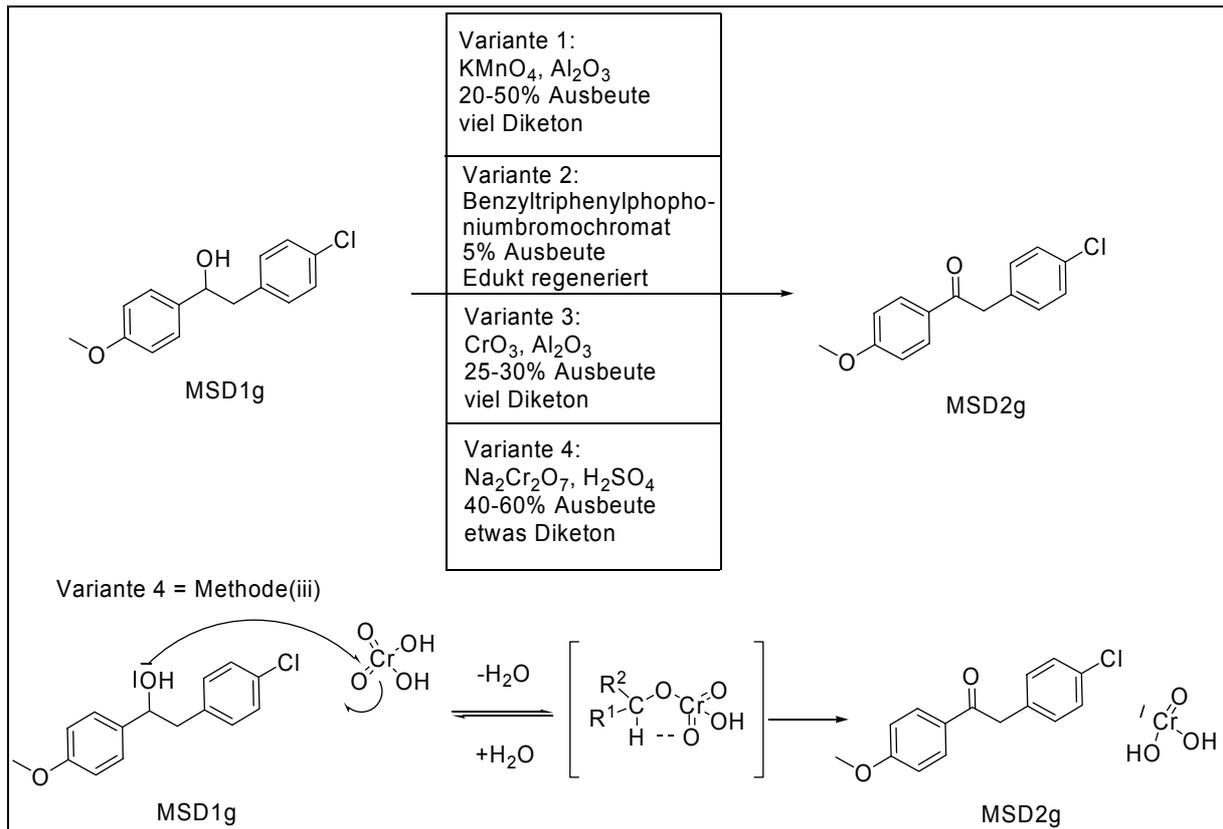


Abb. 3-6 oben: Ausbeuten der 4 Oxidationsvarianten; unten: Mechanismus Variante 4

Die Produkte werden anhand der $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopischen Daten charakterisiert: Anstatt der drei Signale der OH-, CH- und CH_2 -Gruppe bei MSD1g werden, neben den aromatischen Signalen und dem Signal für die Methoxygruppe, als charakteristisches Signal nun nur noch ein Singulettsignal, mit einer 2H entsprechenden, Fläche bei 4.33 ppm erhalten. Dieses steht für die zur Ketonfunktion α -ständige CH_2 -Gruppe. In Tabelle 3-3 werden alle Substanzen aufgeführt, die mit Methode(iii) dargestellt wurden.

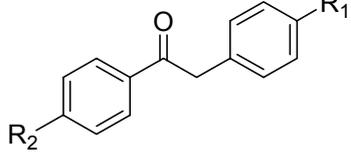
Struktur	R ¹	R ²	Verbindung
	CH ₃	OCH ₃	MSD2b
	CH ₃	Cl	MSD2c
	Cl	CH ₃	MSD2d
	Cl	Cl	MSD2e
	Cl	OCH ₃	MSD2g
	F	SO ₂ CH ₃	MSD2h

Tabelle 3-3: MSD2b-MS2e,MSD2g und MSD2h

3.1.2.2 Alternative Darstellung von Desoxybenzoinderivaten

Methode(iv):

Da es nicht möglich gewesen ist die Grignard-Reaktion mit dem 4-Methoxybenzylchlorid als Startreagenz durchzuführen, musste zur Synthese von MSD2f ein anderer Weg eingeschlagen werden. Hierzu wurde die Friedel-Crafts-Acylierung gewählt [101], weil mit dieser Methode viele aromatisch-aliphatische Ketone zugänglich sind. Als Säurechlorid diente das p-Methoxyphenylethylsäurechlorid, welches mit AlCl₃ zu einem Komplex reagiert. Dieser greift nun elektrophil das aromatische System des Chlorbenzols an. Man erhält bei dieser Reaktion ausschließlich das p-substituierte Carbeniumion, welches unter Protonenabgabe das aromatische System zurückbildet und nach Hydrolyse des entstandenen AlCl₃-Komplexes das erwünschte Keton MSD2f ergibt (Abb. 3-7). Als charakteristisches Signal ist ein Singulett bei 4.29 ppm im ¹H-NMR-Spektrum für die zur Ketongruppe α-ständige CH₂-Gruppe zu erkennen.

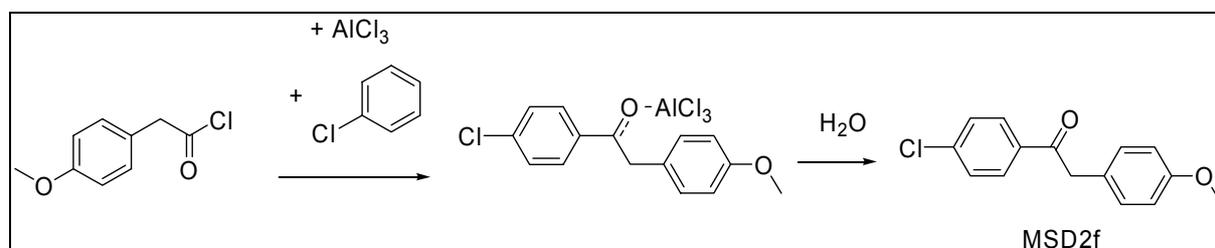


Abb. 3-7: Synthese von MSD2f

3.1.3 Synthese der β -Chloroformylstilbenderivate

Methode(v): Synthese von MSD3a-3i mit einer modifizierten Vilsmeiersynthese:

Ursprünglich wurde die Synthese von Vilsmeier entwickelt um aromatische Systeme zu formylieren. Arnold und Zemlicka [102] fanden eine Möglichkeit mit dem Vilsmeier-Reagenz auch Ketone mit α -ständigen CH_2 -Gruppen zu formylieren. Die genannten Autoren formulierten die Reaktion, die im folgenden Beispiel auf die Synthese von MSD3a, ausgehend vom Desoxyanisoin, angewendet wird. Das Dimethylformamid reagiert mit dem Phosphorylchlorid zum Vilsmeier-Haack-Komplex. Dieser greift in Form des Chlormethyleniminiumsalzes die Enolform des Desoxyanisoin elektrophil an. Das entstandene Addukt geht unter Umwandlung und Hydrolyse in das entsprechende α -Chloroformylstilben über (vgl. Abb. 3-8).

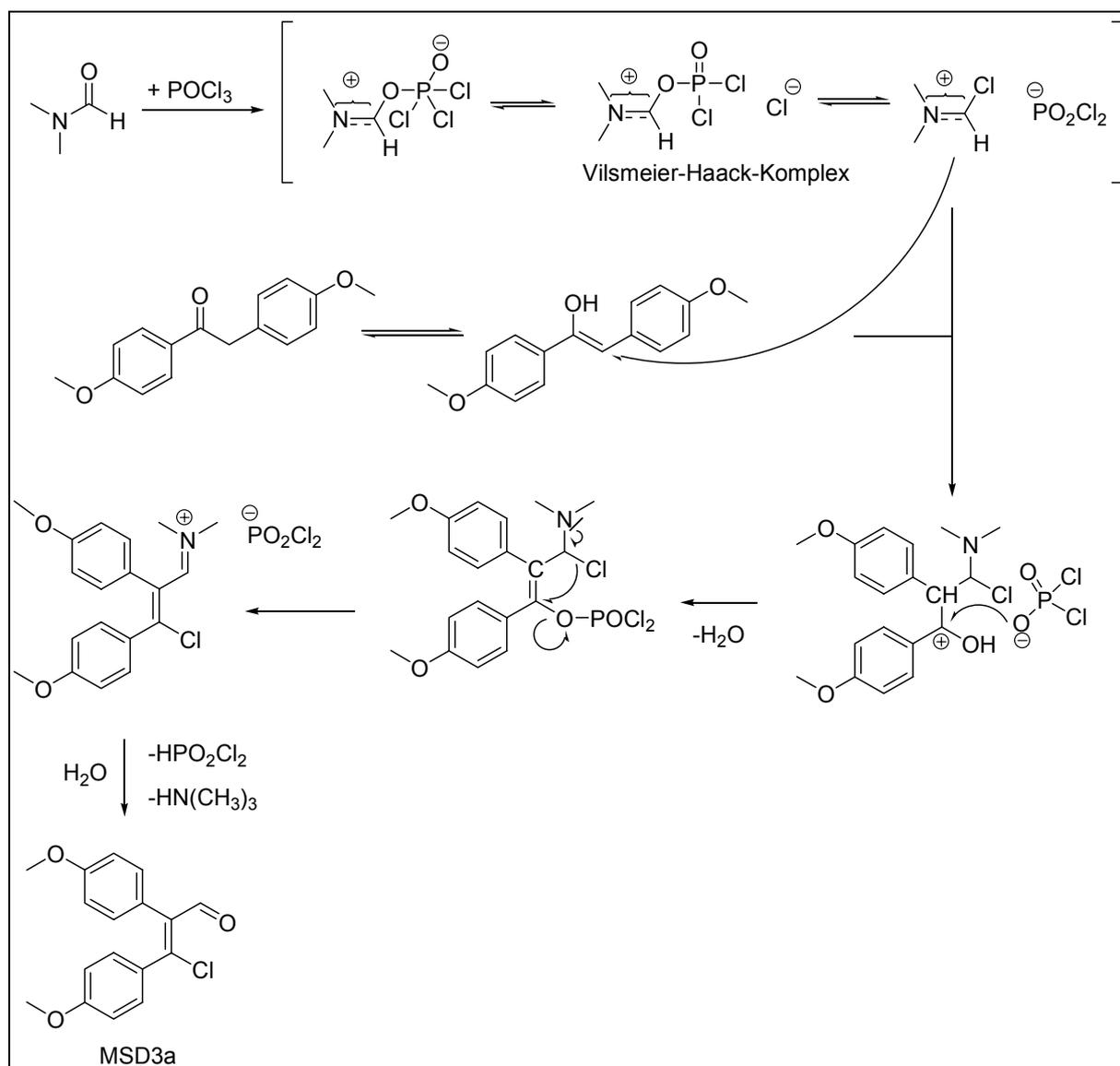


Abb. 3-8: Mechanismus der modifizierten Vilsmeier-Haack-Synthese [102]

Die Analytik erfolgte mit der $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie. Neben den aromatischen und den Methoxy-Signalen erhält man ein sehr stark entschirmtes Signal bei 9.48 ppm (Abb. 3-10), welches vom Formyl-H-Atom verursacht wird. Alle in Tabelle 3-4 aufgeführten Substanzen haben ebenfalls ein Singulettsignal in diesem Bereich.

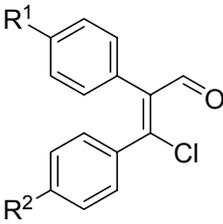
Struktur	R ¹	R ²	Verbindung
	OCH ₃	OCH ₃	MSD3a
	CH ₃	OCH ₃	MSD3b
	CH ₃	Cl	MSD3c
	Cl	CH ₃	MSD3d
	Cl	Cl	MSD3e
	OCH ₃	Cl	MSD3f
	Cl	OCH ₃	MSD3g
	F	SO ₂ CH ₃	MSD3h
	H	H	MSD3i

Tabelle 3-4: β -Chlorformylstilbenderivate MSD3a-MSD3i

3.1.4 Isothiazolringschluss

3.1.4.1 Ringschlussreaktion zum 4,5 disubstituierten Isothiazol

Methode(vi):

Die Ringschlussreaktion zum Isothiazol wurde mit einer von Mühlstädt, Brämer und Schulze [103] entwickelten Synthese durchgeführt. Dabei wurden die α -Chlorformylstilbenderivate MSD3a-MSD3i mit Ammoniumthiocyanat in siedendem Aceton umgesetzt. Die Autoren diskutieren dabei folgenden Mechanismus (siehe Abb. 3-9): Im ersten Schritt erfolgt eine Substitution des Chlor gegen den Thiocyanatrest zum β -Thiocyanatoformylstilbenderivat. Nach Addition von NH_3 an die Carbonylfunktion und anschließender Wasserabspaltung entsteht das nicht fassbare Aldimin. Der nukleophile Angriff des N-Atoms an den Schwefel der Thiocyanatgruppe verursacht unter Abspaltung von Blausäure den Ringschluss zum Isothiazol.

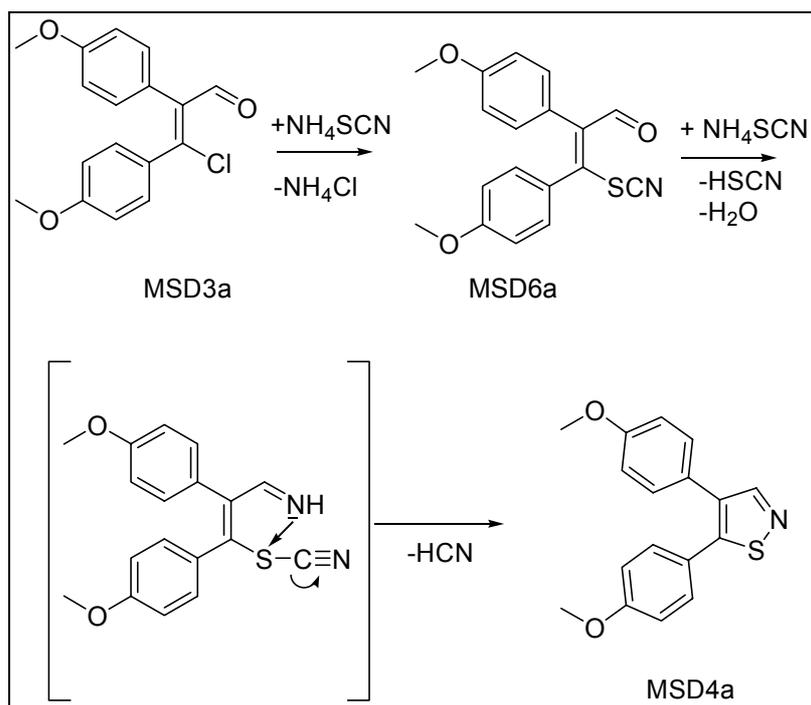


Abb. 3-9: Mechanismus des Isothiazolringschlusses am Beispiel von MSD4a

Dieser Mechanismus kann durch die Isolierung der Substanz MSD6a belegt werden, wenn das Aceton nicht über 30°C erwärmt wird. Im Gegensatz zu der Veröffentlichung zu dieser Synthese [103] wurden bei Bedingungen mit unter 30°C temperiertem Aceton zusätzlich zum Edukt MSD3a, das α -Thiocyanatoformylstilbenderivat MSD6a und das Isothiazol MSD4a in einem Verhältnis von 1 (MSD3a) zu 1 (MSD6a) zu 1 (MSD4a) erhalten.

3. Chemischer Teil

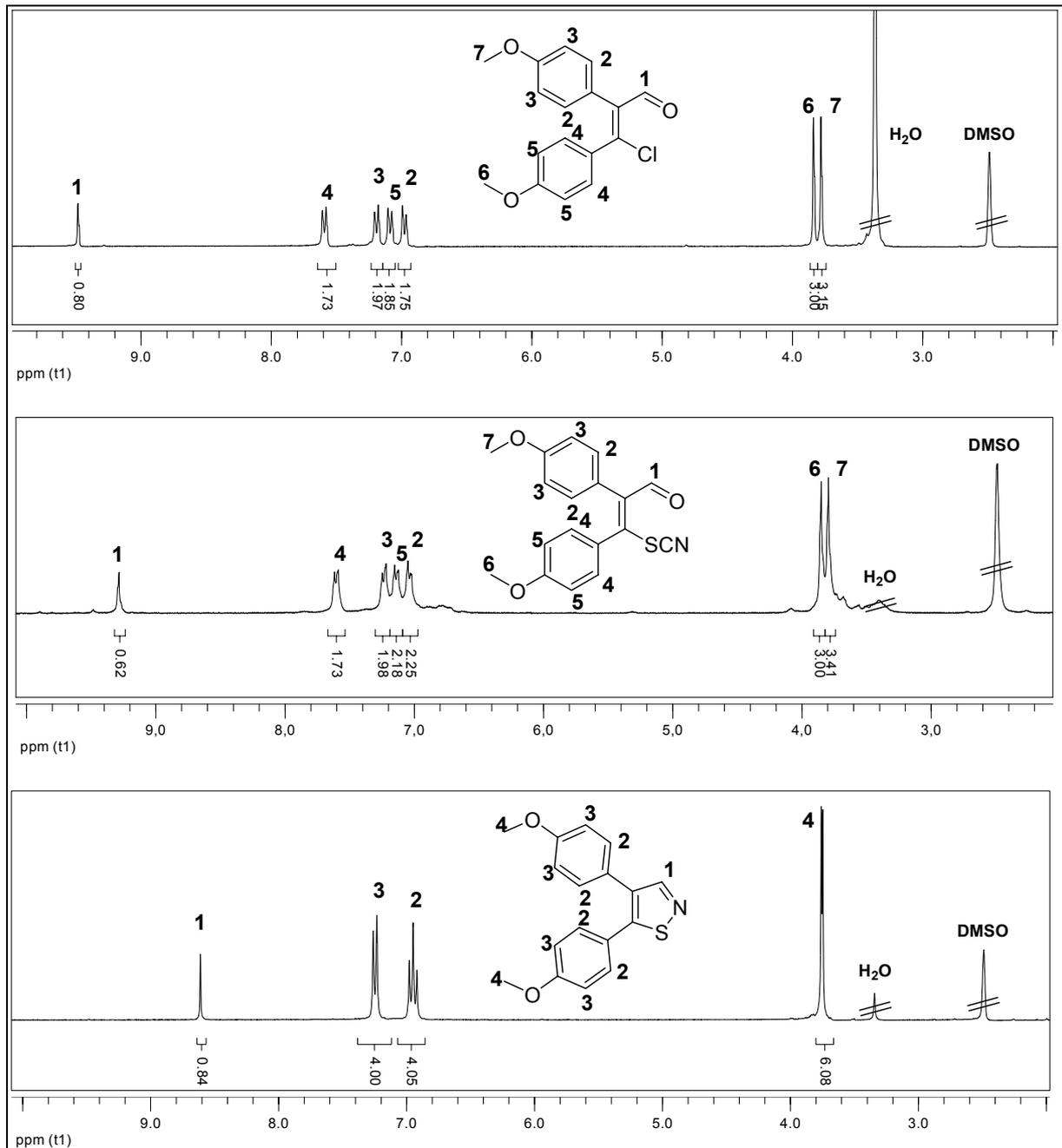


Abb. 3-10: ¹H-NMR Spektren von oben: MSD3a, MSD6a und MSD4a

Der Reaktionsablauf lässt sich anhand der ¹H-NMR-Spektren belegen. Wie in Abb. 3-10 dargestellt, ist der elektronenziehende Einfluss der verschiedenen Substituenten und die damit verbundene Tieffeldverschiebung gut nachvollziehbar. Am weitesten entschirmt ist das Vinyl-H-Atom des β-Chloroformylstilbenderivates MSD3a. Zusätzlich zur entschirmenden Wirkung des doppelt gebundenen Sauerstoffes kommt der elektronenziehende Effekt des β-Chloratoms, den man sehr gut im Vergleich zu MSD6a sehen kann, zur Geltung: Die Verschiebung liegt bei 9.48 ppm gegenüber 9.29 ppm des weniger elektronenziehenden Thiocyanatoestes

3. Chemischer Teil

in MDS6a. Beim Ringschluss zum Isothiazol wandert das Signal für das H-Atom etwas ins höhere Feld bei 8.61 ppm. Diese Verschiebung ist zum einen durch den geringeren elektronenziehenden Effekt des Stickstoffes im Vergleich zum Sauerstoff aber auch durch den geringeren elektronenziehenden Effekt des Restes in β -Stellung durch den Austausch des Chlor gegen einen Thiocyanat bzw. eines Schwefels des Isothiazols zu erklären.

In Tabelle 3-5 sind die auf diese Art und Weise synthetisierten Isothiazole dargestellt. Die Reinheit der Isothiazolverbindungen wurde mit Hilfe der Verbrennungsanalyse bestimmt.

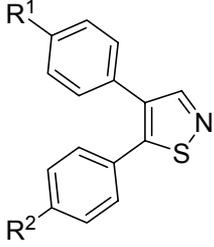
Struktur	R ¹	R ²	Verbindung
	OCH ₃	OCH ₃	MSD4a
	CH ₃	OCH ₃	MSD4b
	CH ₃	Cl	MSD4c
	Cl	CH ₃	MSD4d
	Cl	Cl	MSD4e
	OCH ₃	Cl	MSD4f
	Cl	OCH ₃	MSD4g
	F	SO ₂ CH ₃	MSD4h
	H	H	MSD4i

Tabelle 3-5: MSD4a-4i

3.1.4.2 Etherspaltung mit Bortribromid

Methode(vii):

Die Etherspaltung von MSD4a zu MSD4j bzw. MSD4k wurde mit Bortribromid in Dichlormethan bei -50°C , nach einer von McOmie, Watts und West entwickelten Methode durchgeführt [104]. Dabei greift das Bortribromid elektrophil am Arylmethylether an (Abb. 3-11) und bildet einen nicht fassbaren Komplex, der zu Methylbromid und einem Dibromboraryletherkomplex führt. Dieser geht unter Hydrolyse in das entsprechende Phenolderivat, Borsäure und Bromwasserstoff über.

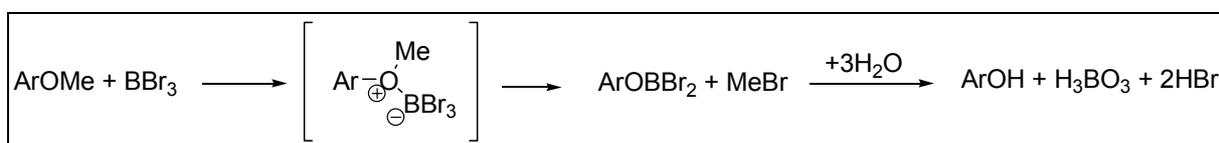


Abb. 3-11 Mechanismus der Etherspaltung

Bei dieser Reaktion wurden, von MSD4a ausgehend, zwei Verbindungen erhalten: als Hauptprodukt das Diphenol MSD4j und als Nebenprodukt das Monophenol MSD4k. Die Analytik erfolgte über $^1\text{H-NMR}$ Spektroskopie (vergleiche Abb. 3-12) und Massenspektrometrie. Beim Diphenol MSD4j sind beide Methoxysignale bei 3.76 ppm und 3.75 ppm verschwunden und es werden zwei Signale im sehr tiefen Feld bei 9.86 ppm und 9.59 ppm mit einer je 1H entsprechenden Fläche detektiert.

3. Chemischer Teil

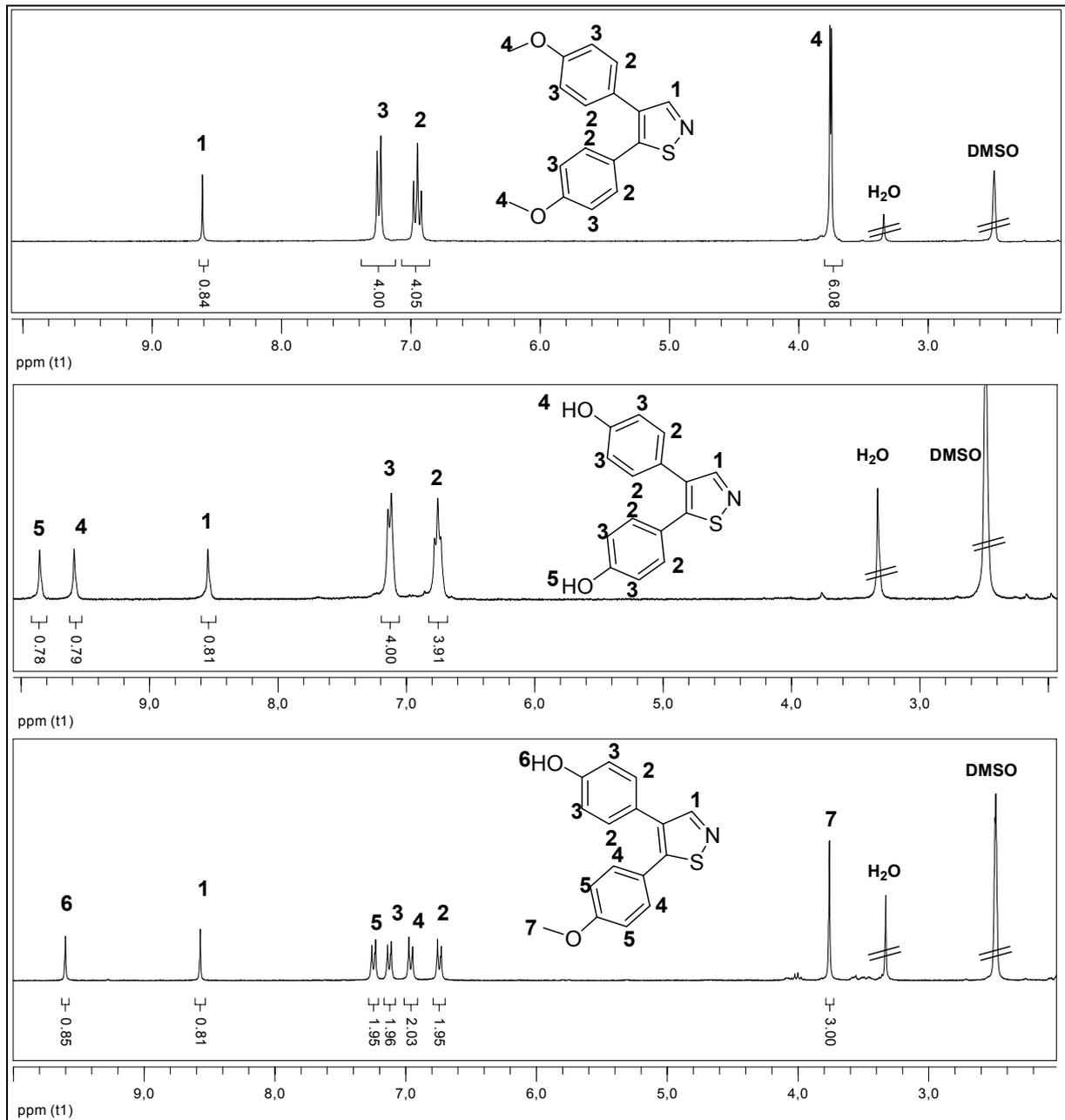


Abb. 3-12: ¹H-NMR-Spektren von oben: MSD4a, MSD4j und MSD4k

Etwas komplizierter wird die Analytik bei MSD4k. Über die Massenspektrometrie konnte sehr schnell herausgefunden werden, dass das Nebenprodukt 14 Da mehr wiegt, welches dem Unterschied von einer CH₂-Gruppe entspricht. Schwieriger ist es zu bestimmen, welche der beiden Methoxygruppen bevorzugt gespalten wird. Nach genauer Auswertung der Spektren von MSD4a, MSD4j und MSD4k (Abb. 3-12) kann gezeigt werden, dass die Methoxygruppe des Arylrestes an Position 4 des Isothiazolringes selektiv gespalten wurde. MSD4a hat zwei sich überlappende Signale für die Methoxygruppen im ¹H-NMR: eines bei 3.76 ppm und das andere bei 3.75 ppm. Die Erklärung, warum zwei Signale mit geringem Unterschied in der

chemischen Verschiebung zu sehen sind, lässt sich mit elektronenziehenden Wirkung des Schwefelatoms im Isothiazolring erklären. Der Methoxyrest des Arylrestes in Position 5 des Isothiazolringes liegt näher an diesem Schwefel, so dass der leicht verstärkte entschirmende Effekt im $^1\text{H-NMR}$ sichtbar wird. Deutlicher wird der Unterschied beim Diphenol MSD4j.

Es sind 2 OH-Signale entstanden: Eines bei 9.86 ppm und das andere bei 9.59 ppm. Durch mesomere Effekte ist hier der Unterschied stärker ausgeprägt. Die Phenolgruppe am Arylrest in Position 5 des Isothiazols liegt wiederum im tieferen Feld. Vergleicht man die chemische Verschiebung des Signals bei 9.60 ppm mit der des Diphenols lässt sich daraus die Zuordnung am Arylrest in Position 4 des Isothiazolringes ablesen. Das Signal bei 3.76 ppm wird einer Methoxygruppe, die an einem in Position 5 des Isothiazolrestes befindlichen Arylrest gebunden ist, zugeordnet.

3.1.4.3 Bromierung von MSD4a

Methode(viii):

Ziel der Bromierung war es, eine Ausgangssubstanz zu synthetisieren, welche es erlaubt weitere Substituenten in den Isothiazolring einzuführen. In der Literatur sind keine Bromierungs- oder andere Substitutionsreaktionen an Position 3 eines Isothiazolringes beschrieben. Ungeachtet dessen wurde ein Versuch nach einer modifizierten Vorschrift aus dem Organikum mit MSD4a und Brom in Tetrachlorkohlenstoff unternommen [105] (Abb. 3-13).

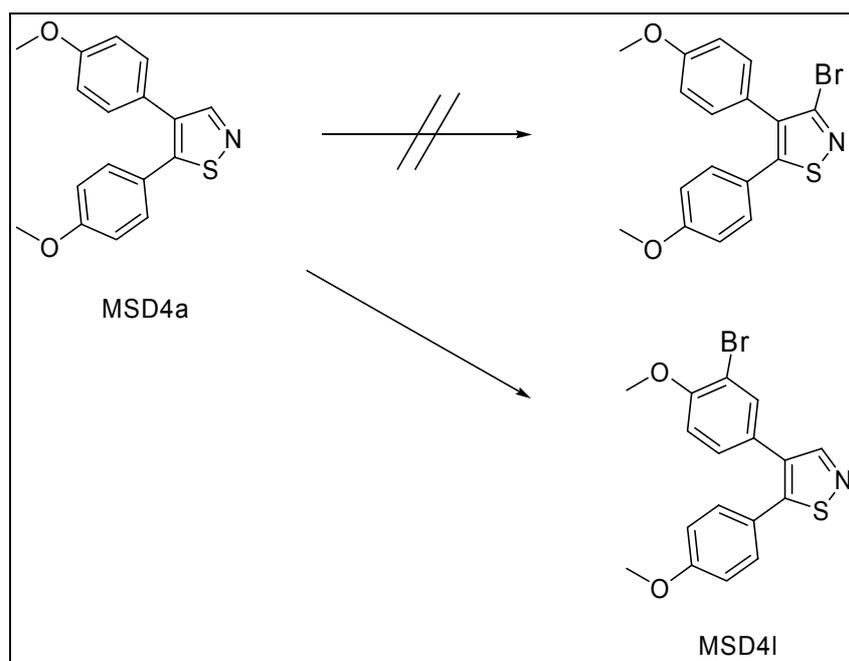


Abb. 3-13: Synthese von MSD4I

Per Massenspektrometrie konnte bewiesen werden, dass das Produkt einfach bromiert wurde. Anhand der $^1\text{H-NMR}$ Spektroskopie konnte sehr schnell bestimmt werden, dass nicht Position 3 des Isothiazolringes substituiert wurde, da das $\text{CH}=\text{N}$ Signal des Eduktes MSD4a bei 8.6 ppm noch vorhanden ist (Abb. 14 oben).

Man kann deshalb davon ausgehen, dass am Arylrest substituiert wurde. Da hier die para-Position schon besetzt ist, erfolgt die Bromierung in ortho-Position zur Methoxygruppe des Aromaten. Um sicherzustellen an welchem Aromaten substituiert wurde, wurde ein NOE-Spektrum aufgenommen und auf das H-Atom in Position 3 des Isothiazolringes bei 8.65 ppm eingestrahlt (Abb. 3-14 unten). Als „Antwortsignal“ wurde zum einen das dem einen H entsprechende Dublett mit einer Kopplungskonstante von 2.07 Hz, welche für eine Fernkopplung spricht und nicht für eine Kopplung im AB-System an Aromaten (normalerweise 7-9 Hz) erhalten, die dem H an C-Atom 1 zugeordnet wurde (Abb. 3-14). Zum anderen wurde ein Doppeldublett mit den Kopplungskonstanten von 8.5 Hz, für die AB-Kopplung im Aromaten, und der Kopplungskonstante 2.1 Hz für die Fernkopplung mit dem H des C-Atom 1 des Aromaten erhalten, welches dem H des C-Atom 2 zugeordnet wurde. Dass in diesem Fall zwei Antwortsignale erhalten wurden, ist wegen der Drehbarkeit des Aromaten am Isothiazolringssystem naheliegend. Wäre der Aromat an Position 5 bromiert worden, hätte man als Antwortsignal nur ein Dublett bei 7.2 ppm, einer Fläche von 2 H-Atomen entsprechend, mit einer Kopplungskonstante von ungefähr 8.6 Hz erwartet,

3. Chemischer Teil

da das Vinyl-H des Isothiazoles nur mit den beiden zur Methoxygruppe metaständigen H-Atomen des Aromaten an Position 4 des Isothiazols im NOE-Spektrum ein Signal ausbildet.

Die weiteren aromatischen Signale lassen sich leicht zuordnen. Das Signal für das H an C-Atom 3 (Abb. 3-14) entspricht einer Fläche von einem H-Atom und ist auch etwas weiter im höheren Feld anzutreffen, da es in ortho-Position zur Methoxygruppe steht, welche einen +M-Effekt ausübt, die Elektronendichte in ortho- (und para-) Position erhöht und somit das Signal in einem etwas höheren Feld erscheinen lässt. Die Signale der H-Atome an den C-Atomen 4 und 5 am nicht bromierten Aromaten wurden genauso zugeordnet: Die H-Atome an Position 5 in ortho-Position zur Methoxygruppe sind etwas weiter im höheren Feld anzusiedeln als die H-Atome in Position 4.

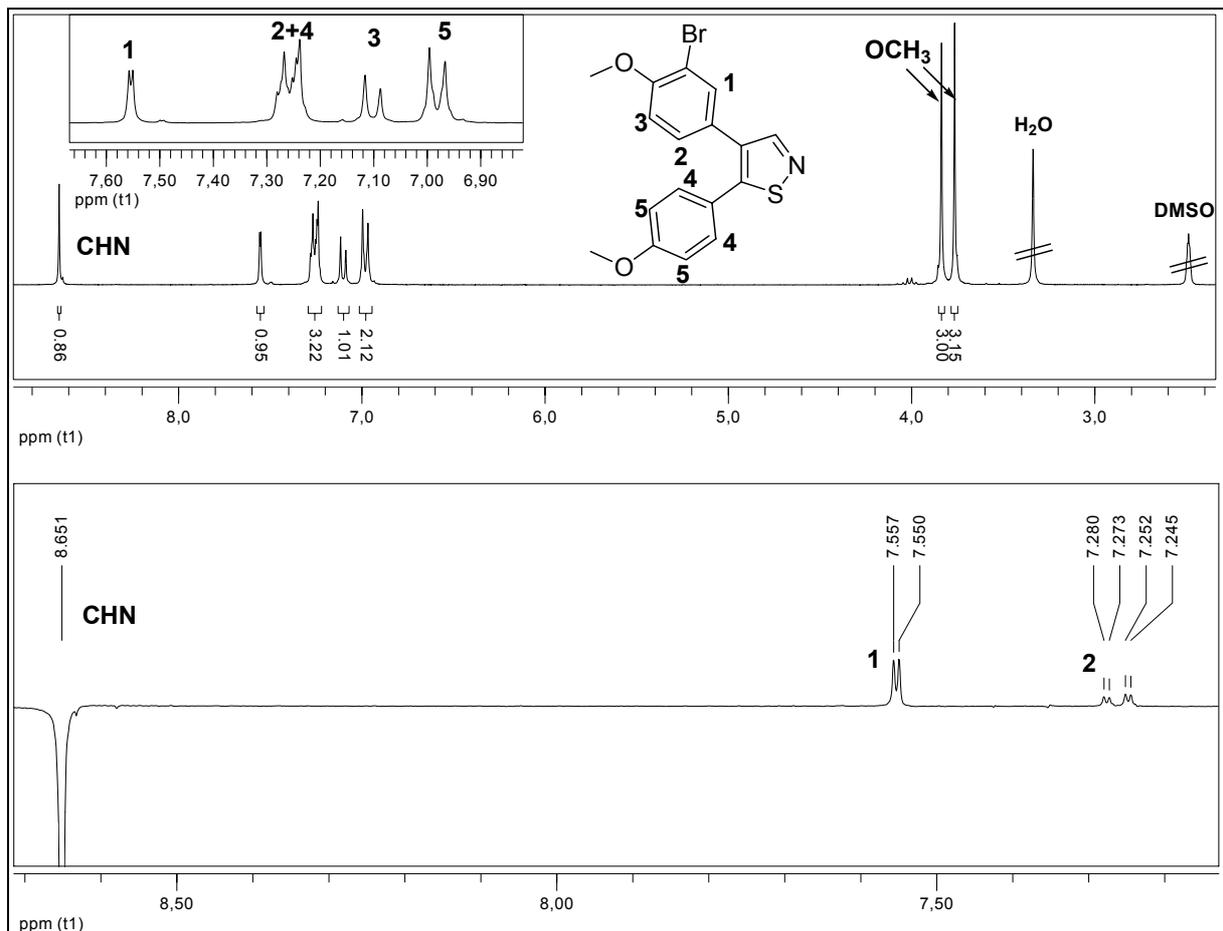


Abb. 3-14 MSD4I: oben ¹H-NMR Spektrum, unten NOE-Spektrum

3.2 Synthese von Isoselenazolen

Methode(ix):

Das Ziel der Arbeit war es Radikalfängereigenschaften mit COX/LOX-Hemmung zu verbinden. Die Synthese der Isoselenazole geht wie bei der Synthese von MSD4 (siehe S. 56 ff.) von den β -Chloroformylstilbenen aus. Insgesamt ist der Synthesemechanismus der Isothiazolsynthese sehr ähnlich (Abb. 3-15)., Der Unterschied liegt darin, dass statt Ammoniumthiocyanat, Kaliumselenocyanat und Ammoniumchlorid als Ringschlussreagenzien verwendet wurden. Da Ammoniumselenocyanat nicht käuflich ist, weil es sehr schnell unter anderem zu elementarem Selen zerfällt, wurde eine alternative Selenocyanatquelle gesucht und in Form des Kaliumsalzes auch gefunden. Das Selenocyanat substituiert, wie beim Isothiazolringschluss auch, das Chlor und bildet das β -Selenocyanatoformylstilbenderivat, welches im Gegensatz zu dem Schwefelanalogon MSD6a, nicht isoliert wurde. Im nächsten Schritt, wiederum nach Addition von NH_3 an die Carbonylfunktion und anschließender Wasserabspaltung, entsteht das nicht fassbare Aldimin. Der nukleophile Angriff des N-Atoms an das Selen der Selenocyanatgruppe verursacht, unter gleichzeitiger Abspaltung von Blausäure, den Ringschluss zum Isoselenazol.

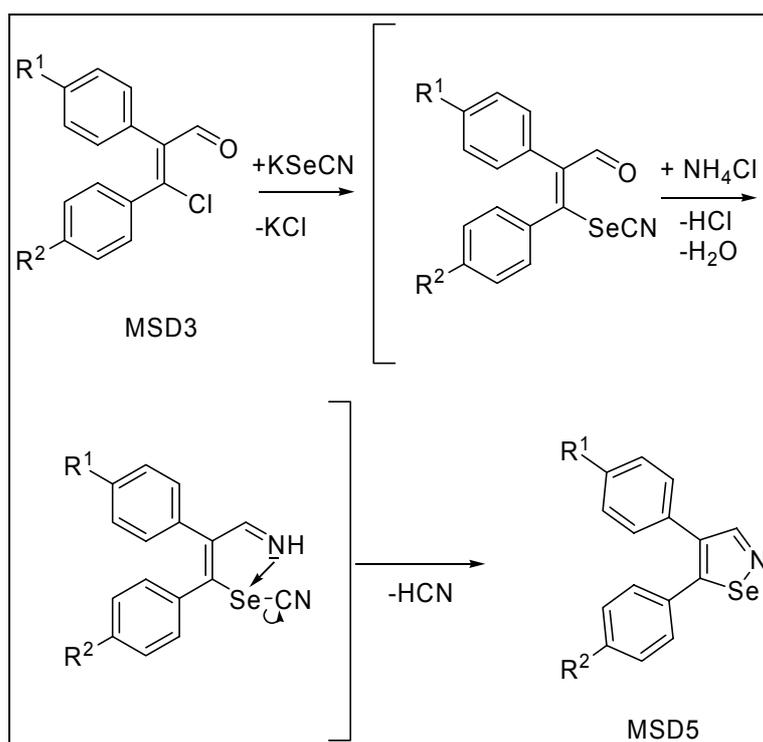


Abb. 3-15 Reaktionsmechanismus der Isoselenazolsynthese

Die Strukturaufklärung erfolgte mit Hilfe von drei Verfahren:

a) Massenspektrometrie: Im FD-Massenspektrum wurden die korrekten Massen, inklusive der für selenhaltige Verbindungen übliche Isotopenverteilungsmuster gefunden. Die relative Atommasse von Selenatomen beträgt 78,96. Dieser Wert setzt sich aus folgender Isotopenverteilung zusammen: m/e : 79,92 (100,0%), 77,92 (47,9%), 75,92 (18,9%), 81,92 (17,6%), 76,92 (15,4%), 73,92 (1,8%). Diese charakteristischen Isotopenmuster konnten in den Massenspektren der Isoselenazole wieder gefunden werden.

b) $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie: Die $^1\text{H-NMR}$ -Spektren von den Isoselenazolen sind denen der Isothiazolen sehr ähnlich. Je nach Phenylsubstitution wurden die jeweiligen Substituenten (Methoxy- ~ 3.8 ppm, Methyl- ~ 2.3 ppm, Methylsulfonylreste ~ 3.2 ppm) und auch die acht meist in AB-Systemen angeordneten aromatischen Signale gefunden. Interessant ist aber das Signal des Wasserstoffatoms in Position 3 des Isoselenazolringes. Dieses kommt als sehr weit ins Tieffeld verschobenes Singulett, bei ungefähr 9.2 - 9.5 ppm. Dieser Signalbereich entspricht dem in der Veröffentlichung von F. Lucchesini und V. Bertini, welche Isoselenazole mit einer anderen Synthesevariante dargestellt haben [106].

c) Röntgenstrukturanalyse: Es war schwierig geeignete Kristalle von MSD5a herzustellen. Nach vielen Versuchen konnten aus einer Lösung von MSD5a in Eisessig, durch Diffusion von Wasser, Kristalle isoliert werden.

Auch die Kristalldaten von MSD5a (Kapitel 11.1) bestätigen, dass der Ringschluss zum Isoselenazol erfolgt. Eingehende Literaturrecherche (Crossfire-Datenbank, Scifinder 2006 und CAS-Datenbank) ergaben keinen Hinweis auf eine bisher erfolgte Synthese der in Tabelle 3-6 aufgeführten Isoselenazole oder anderer 4,5-Diarylisoselenazole. Sämtliche Isoselenazole und ihre Strukturen sind in Tabelle 3-6 aufgeführt.

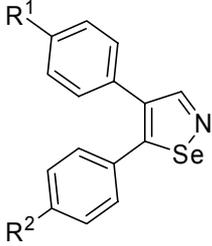
Struktur	R ¹	R ²	Verbindung
	OCH ₃	OCH ₃	MSD5a
	CH ₃	OCH ₃	MSD5b
	CH ₃	Cl	MSD5c
	Cl	CH ₃	MSD5d
	Cl	Cl	MSD5e
	OCH ₃	Cl	MSD5f
	Cl	OCH ₃	MSD5g
	F	SO ₂ CH ₃	MSD5h

Tabelle 3-6: Isoselenazole MSD5a-MSD5h

3.3 Darstellung von Isothiazoliumchloriden

3.3.1 Darstellung des β -Thiocyanatoformylstilbenderivats MSD6a

Methode(x):

Wie schon bei Methode(vii) beschrieben und in Abbildung 3-9 (S. 57) gezeigt, haben Mühlstädt et al. [103] bei der Isothiazolsynthese ein isolierbares Zwischenprodukt publiziert, bei welchem das Chlor gegen ein Thiocyanat substituiert wurde. Wir verwendeten diverse Bedingungen um die These, dass nur das β -Thiocyanatoformylstilbenderivat bei unter 30°C synthetisiert wird, zu bestätigen. Es war nicht möglich, durch Veränderung der Reaktionsdauer und Temperatur (< 30 °C), nur das erwünschte Produkt MSD6a und kein Isothiazol MSD4a zu erhalten. Es wurde immer eine Mischung aus dem Edukt MSD3a, dem Zwischenprodukt MSD6a und dem Endprodukt MSD4a erhalten, welche aber über Säulenchromatographie getrennt werden konnten. Ein Grund dafür könnte das unterschiedliche Substitutionsmuster sein.

3.3.2 Ringschluss zu Isothiazoliumchloriden

Methode(xi):

Von MSD6a ausgehend funktioniert die von Schulze et al. [107] beschriebene Ringschlussreaktion ähnlich der zum Isothiazol (Abb. 3-16). Nach Addition von den jeweiligen Anilinen 5a-5f an die Carbonylfunktion und anschließender Wasserabspaltung, entsteht ein nicht fassbares Aldimin. Der nukleophile Angriff des N-Atoms an den Schwefel der Thiocyanatgruppe verursacht, unter gleichzeitiger Abspaltung von Cyanid, welches als HCN aus dem Ansatz entweicht, den Ringschluss zum Isothiazoliumchlorid. Im Gegensatz zum Isothiazolringschluss ist es hier äußerst wichtig die Anilinkomponente äquimolar einzusetzen. Wurde dies nicht beachtet, konnten keine Isothiazoliumchloride erhalten werden. Das gleiche gilt für die Auswahl des Lösungsmittels, denn nur mit Ethanol an Stelle von Aceton war es möglich Isothiazoliumionen zu erhalten.

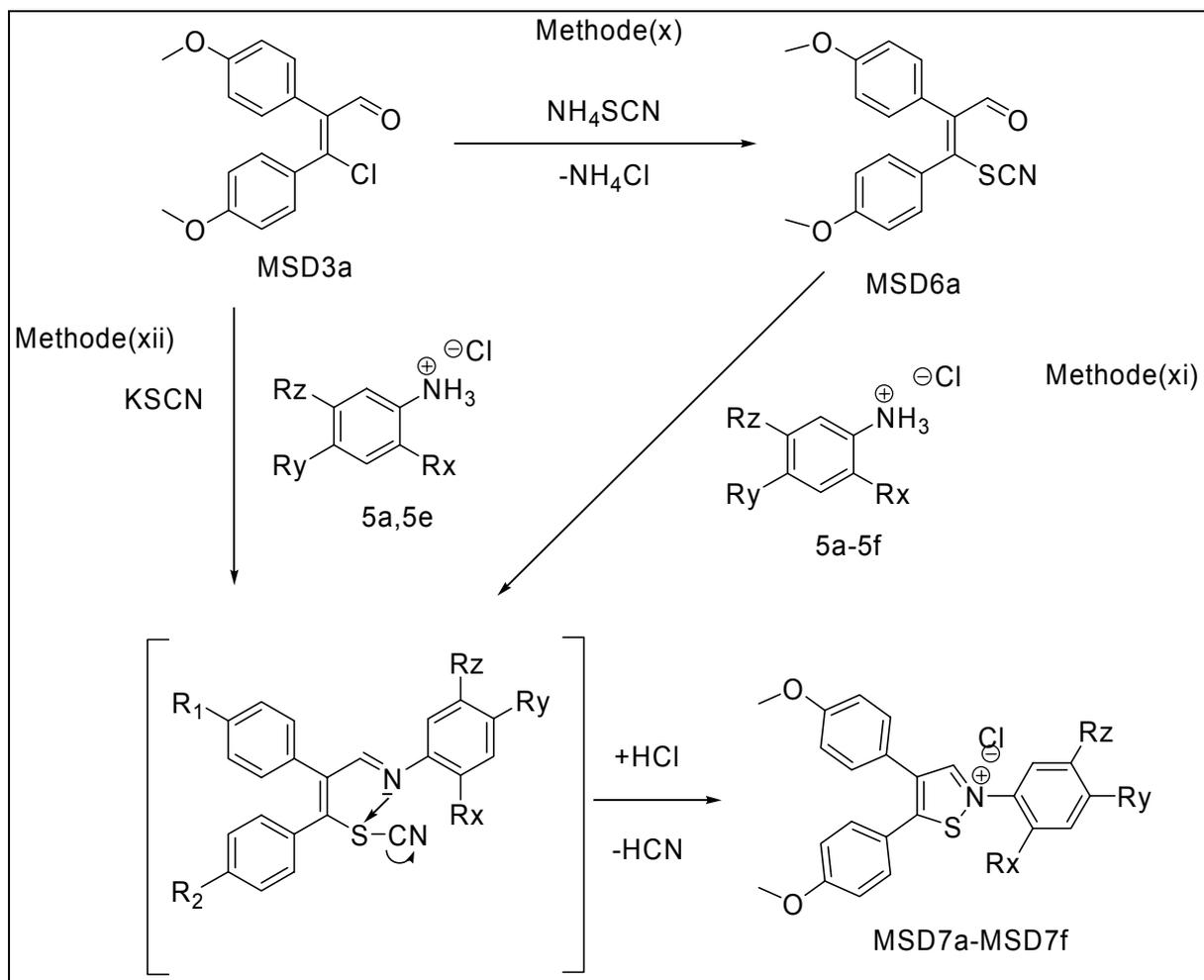


Abb. 3-16 Synthese von MSD7a-MSD7f

Bei der Aufreinigung wurden die Löslichkeitseigenschaften der Salze genutzt. Der Rohansatz wurde, nachdem er eingeeengt wurde, mit wenig Dichlormethan aufgenommen und die Isothiazoliumionen wurden dann durch Etherzugabe gefällt. Das Präzipitat wurde abgetrennt und je nach Reinigungszustand wieder in Dichlormethan gelöst. Dieser Vorgang wurde diverse Male wiederholt, damit die nicht gewünschten Bestandteile in der organischen Phase gelöst blieben und somit das Produkt immer reiner wurde. Wenn das Produkt rein genug war, wurde es über die Fritte abfiltrieren. Alle Isothiazoliumverbindungen sind sehr stark hygroskopisch.

Die Analytik erfolgte über $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie. Auch bei diesen Verbindungen ist das CH=N -Signal das entscheidende Signal. Im Vergleich zum Isothiazol MSD4a ist dieses Signal bei allen Isothiazoliumverbindungen durch den benachbarten quartären Stickstoff stärker entschirmt und das Signal kommt weiter im tiefen Feld bei 9.7-10.3 ppm.

3.3.3 Modifizierte Isothiazoliumringschlusssynthese

Methode(xii): Neu entwickelte Ringschlussreaktion zum Isothiazoliumchlorid von MSD3a ausgehend:

Durch die erhaltene Erfahrung aus der Isothiazol- und Isoselenazolsynthese war es möglich die Isothiazoliumsynthese ausgehend von MSD3a auf eine Stufe zu reduzieren. Es wurden die Erfahrungen der Methoden(vi) und (xi) verbunden und umgesetzt.

Bei Methode(vi) ist es für die Substitutionsreaktion egal, ob Ammoniumthiocyanat oder Kaliumthiocyanat und Ammoniumchlorid vorliegen. Bei beiden Reagenzien wird das Chlor gegen ein Thiocyanat substituiert. Entscheidend bei der Methode(xii) sind:

1. Aceton als Lösungsmittel für die Ringschlussreaktion ist ungeeignet und
2. die Aniliniumverbindung muss äquimolar zum Edukt vorliegen, da ansonsten keine Umsetzung zum Isothiazoliumprodukt erfolgt.

Aus diesen Gründen wurde MSD3a äquimolar mit dem jeweiligen Aniliniumsalz und Kaliumthiocyanat im Überschuss in Ethanol bei 45°C zum Isothiazoliumion umgesetzt. Die Aufarbeitung erfolgte wie bei Methode(xi).

Bei zwei Isothiazoliumverbindungen wurde dieses Verfahren mit großem Erfolg durchgeführt: bei MSD7a und MSD7e. Die Analytik beruht auf den identischen ^1H -

NMR-Spektren. Der große Vorteil ist, dass man sich die Synthese und Aufreinigung von MSD6a sparen kann, denn die Herstellung gelingt nur mit schlechten Ausbeuten. Die mit diesen Methoden hergestellten Isothiazoliumchloride MSD7a-MS7f sind in Tabelle 3-7 zusammengefasst.

Struktur	Rx	Ry	Rz	Verbindung
	H	H	H	MSD7a
	H	OCH ₃	H	MSD7b
	H	Cl	H	MSD7c
	OCH ₃	H	C ₆ H ₅	MSD7d
	OCH ₃	H	<i>tert</i> -butyl	MSD7e
	H	H	OC ₆ H ₅	MSD7f

Tabelle 3-7: Isothiazoliumchloride

3.4 Darstellung von Pyrrolderivaten

3.4.1 Darstellung von Isothiazoliumbromiden

Methode (xiii): Isothiazoliumbromidsynthese ausgehend von MSD4a:

Da sich mit Methode(xi) oder Methode(xii) nur Aniliniumverbindungen umsetzen ließen, wurde noch ein weiterer Ansatz zur Synthese von Isothiazoliumverbindungen verfolgt. Diese Verbindungen wurden, auf Grund der geringen Wirksamkeit von MSD7a-7f und der Tatsache, dass Isothiazoliumbromide wahrscheinlich zelltoxisch sind, nicht aufgereinigt, sondern lediglich als Zwischenprodukte zur Synthese von Pyrrolverbindungen [108,109] verwendet (Vergleiche Abb. 3-17).

Mit Methode (xiii) setzt man das Isothiazol MSD4a direkt mit diversen α -Bromocarbonylverbindungen in siedendem Ethanol um, zum Beispiel dem 2-Bromessigsäureethylester. Für diese Methode wird eine gute Abgangsgruppe, wie das Bromatom, benötigt. Diverse Chlorverbindungen wurden ausprobiert, wie z.B. der 2-Chloressigsäureethylester, doch es kam zu keiner Umsetzung. Bei der Reaktion greift der Stickstoff des Isothiazols das 2-Bromcarbonylderivat nukleophil an (Abb. 3-17), es kommt zum Abgang von Bromid und MSD7g-7k wird gebildet.

Die Aufarbeitung erfolgt wie bei Methode(xi). Analytisch wurde neben der Masse des Kations, wie immer bei den Isothiazoliumverbindungen, die $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie hinzugezogen. Neben der korrekten Anzahl an aromatischen Protonen und den charakteristischen Methoxysignalen, wurde das $\text{CH}=\text{N}$ Signal im Heteroring als Beweis für die Struktur gesehen. Dieses Signal befindet sich als Singulett mit der Fläche eines Protons entsprechend zwischen 9.4 und 9.5 ppm (Tabelle 3-8).

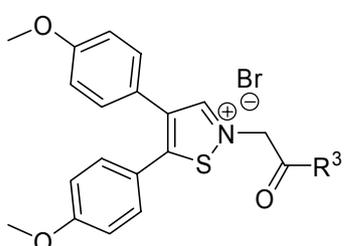
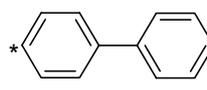
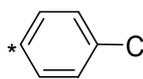
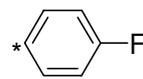
Struktur	R^3	Verbindung
	OC_2H_5	MSD7g
	C_6H_5	MSD7h
		MSD7i
		MSD7j
		MSD7k

Tabelle 3-8: Isothiazoliumbromide

3.4.2 Ringmodifikation mit oder ohne Schwefelextusion

Methode(xiv):

Grundsätzlich sind mit Isothiazoliumverbindungen auf Grund ihrer starken Reaktivität sehr viele Verbindungen zugänglich. Es reicht eine einfache Base (Pyridin oder Trimethylamin) aus, um ein Proton in α -Stellung zur Carbonylfunktion zu abstrahieren (Abb. 3-17). Das entstehende Zwitterion wird entweder über ein bei einer elektrozyklischen Ringöffnung entstehendes Enthion und Rezyklisierung zum 1,3-Thiazin reagieren [109] oder es reagiert in Form eines intramolekularen Angriffs des Carbanions an das Schwefelatom direkt zum 1,3-Thiazin [110]. Dieses reagiert danach unter Protonenabgabe zu einem Thiazinylanion [108], welches über die Bildung einer wenig stabilen Episulfidbrücke und Schwefelextusion zu den entsprechenden Pyrrolen reagiert.

3. Chemischer Teil

Laut Hassan [110] ist das Thiazin bei weniger elektronenziehenden Resten für R^3 stabil genug um gebildet zu werden. Auf Seite 70 und folgenden wird auf die Möglichkeit der Thiazinbildung näher eingegangen.

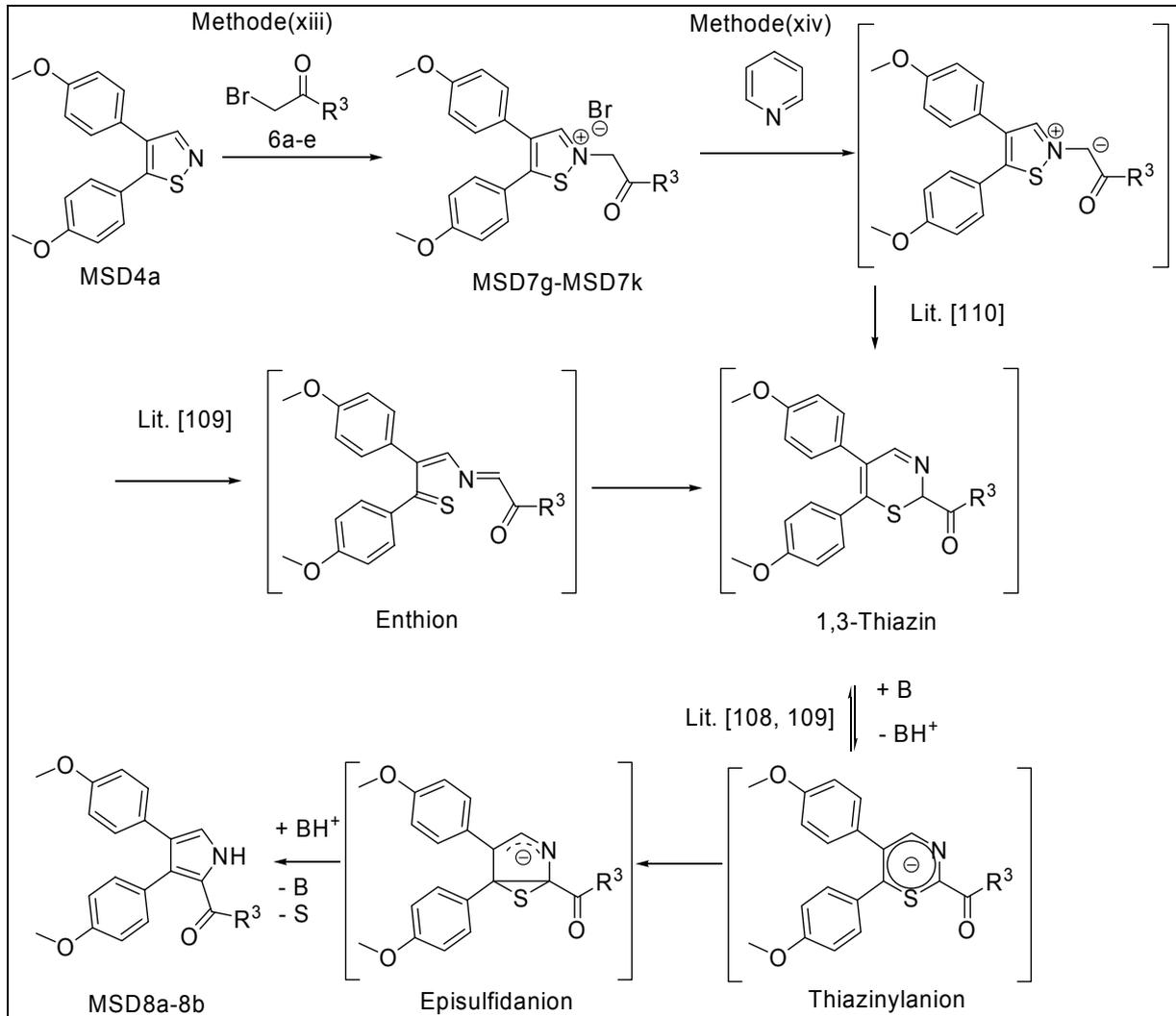


Abb. 3-17 Publizierter Syntheseweg des Pyrrolderivat nach [109]

Für die Analytik waren 1H -NMR-Spektroskopie (siehe Abb. 3-18) und FD-Massenspektrometrie ausschlaggebend. Für die Pyrrolverbindungen MSD8a und MSD8b sind folgende zwei Signale charakteristisch: Zum einen das NH-Singulettsignal bei ungefähr 11.9 ppm, zum anderen das Proton in α -Stellung zum Pyrrol-NH, welches ein Dublett bei einer Verschiebung von 7.1 ppm ergibt. Da dieses Dublett mit ungefähr 3 Hz koppelt, liegt die Vermutung nahe, dass es sich um eine Fernkopplung handelt. Rolfs und Liebscher beschreiben in ihrer Veröffentlichung für das N-CH=C-Signal bei Substanz 5d ebenfalls ein Dublett bei 6.84 ppm mit einer Kopplungskonstante von 3.55 Hz [109].

3. Chemischer Teil

Für die Analytik der erwarteten Thiazine wurden ebenfalls $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie und FD-MS-Verfahren verwendet.

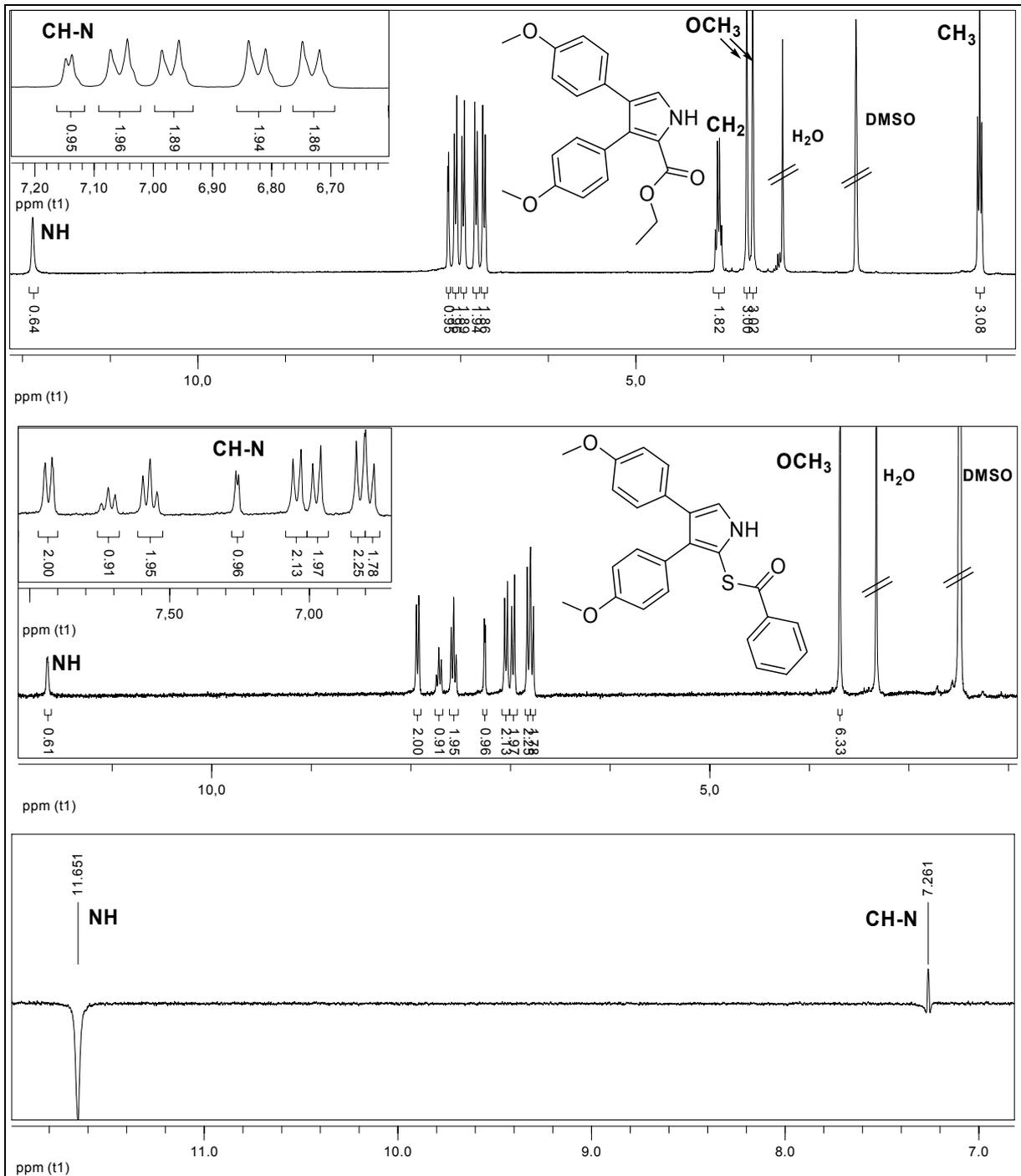


Abb. 3-18: oben $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von MSD8a, mitte: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von MSD9a, unten: NOE-Spektrum von MSD9a

Bei der Auswertung fiel folgendes schnell auf: Wenn man die Signale des Pyrrol-¹H-NMR mit dem vermeintlichen Thiazin-¹H-NMR vergleicht, sieht man die große Ähnlichkeit. Es wird jeweils ein Singulett bei 11.9 (Pyrrol), bzw. 11.6 ppm (Thiazin), und ein Dublett mit einer kleinen Kopplungskonstante von ca. 3Hz bei 7.1 ppm (Pyrrol) oder 7.25 ppm (Thiazin) gefunden.

Die ¹H-NMR-Signale sind zu ähnlich, um chemisch so verschieden zu sein. Das NOE-Spektrum passt ebenfalls nicht zur Thiazinthese. Deshalb soll hier eine These angeboten werden, die der Veröffentlichung von Hassan [110] entgegensteht. In Abbildung 3-19 sind vier Strukturen aufgelistet, die im folgenden Abschnitt diskutiert werden. Strukturen I und II würde man nach Hassan erhalten. Die Struktur III ist die erarbeitete Alternative dazu, welche von Struktur IV abgegrenzt wird

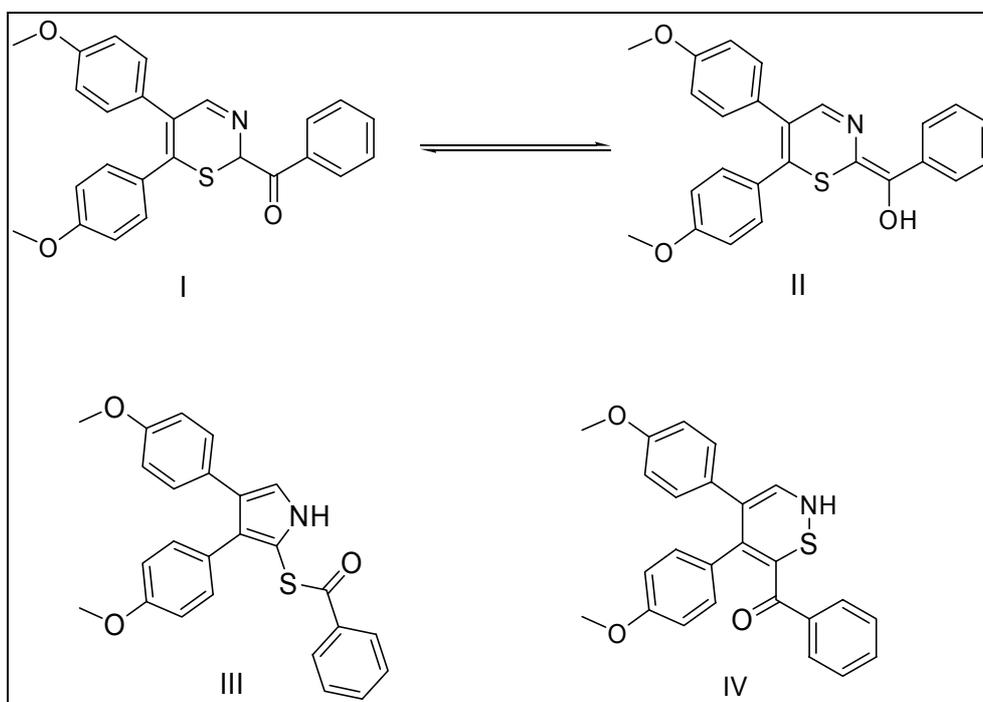


Abb. 3-19: Welche Struktur für MSD9a ist die Richtige?

Struktur I entspricht der von Hassan veröffentlichten Thiazinstruktur, die als Keton vorliegen soll. Diese Annahme stimmt nicht mit den gefundenen ¹H-NMR-Daten unserer Verbindungen überein. Würde es wirklich als Keton vorliegen, müsste neben einem CH=N-Singulettsignal im tieferen Feld bei ungefähr 8-9 ppm (bei Hassan [110] liegt es bei 8.24 ppm) ein S-CH-N-Singulett im Bereich von 3-5 ppm (bei Hassan [110] liegt dieses Signal bei 3.52 ppm), gefunden werden. Doch die gefundenen Signale entsprechen nicht dieser Struktur (ein Singulett bei 11.6 ppm und ein Dublett

bei 7.3 ppm). Auch findet man im IR-Spektrum bei 3373 cm^{-1} eine starke Bande, die entweder für eine NH- oder OH-Funktion sprechen würde. Somit kann Struktur I ausgeschlossen werden.

Struktur II, das Enolautomer von Struktur I, würde eher zu den gefundenen $^1\text{H-NMR}$ -Werten passen. Das Signal im tiefen Feld bei 11.6 ppm könnte man dem Enol-H zuordnen, doch wäre das Signal einer $\text{CH}=\text{N}$ -Gruppierung nicht bei 7.3 ppm sondern weiter im Tieffeld bei ungefähr 8.2 ppm zu erwarten. Was aber nicht zu Struktur II passt, ist das aufgenommene NOE-Spektrum von MSD9a (Abb. 3-18). Es wurde bei 11.65 ppm (wäre es Struktur II, wäre dies das Signal eines Enol-H) eingestrahlt und es wurde ein Antwortsignal bei 7.25 ppm erhalten. Dies bedeutet, dass das H-Atom, welches das „Antwortsignal“ verursacht, im Umkreis von 2-2,5 Å liegen sollte (Abb. 3-19). Dies ist aber nicht der Fall ist. Weiterhin passt nicht dazu, dass im IR-Spektrum bei 1657 cm^{-1} eine starke Bande zu sehen ist, die als $\text{C}=\text{O}$ Valenzschwingung eines konjugierten Ketons interpretiert werden kann.

Aus diesem Grund wird ein weiterer Mechanismus (Abb. 3-20) vorgeschlagen.

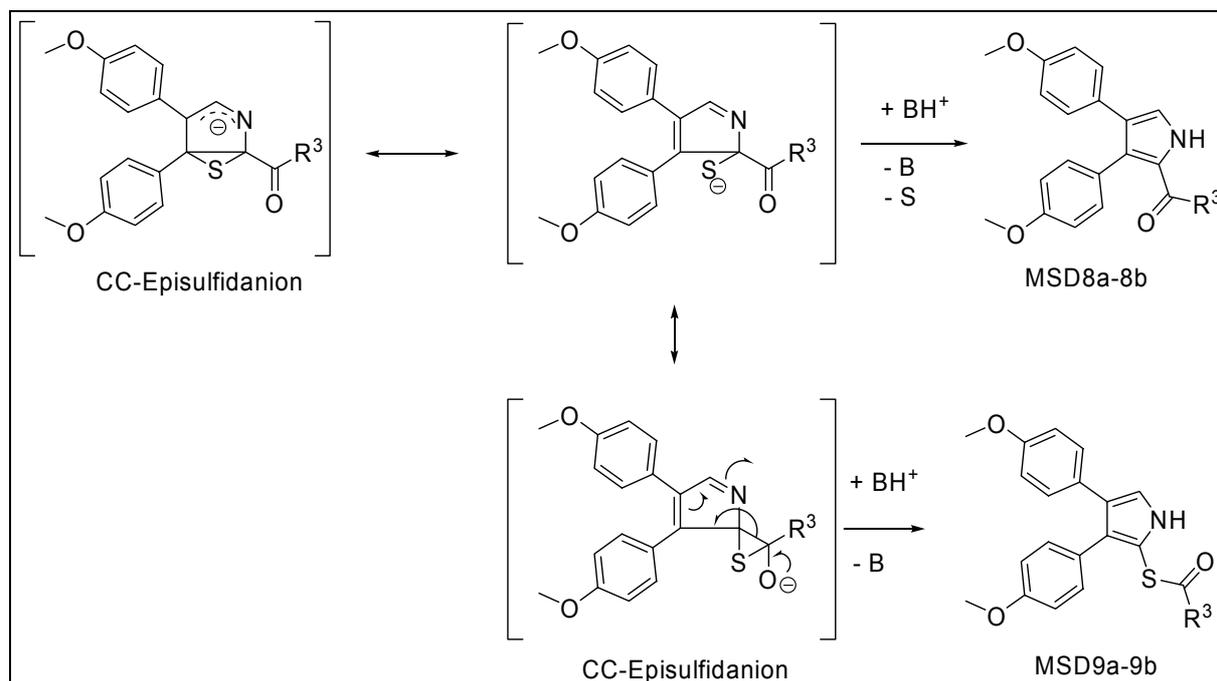


Abb. 3-20 Alternativer Synthesemechanismus

Dieser geht wiederum vom Episulfidanium aus, welches aber, anstatt einer Schwefeleextrusion zum Pyrrol, sich zu einem CC-Episulfidanium umgelagert, in welchem die Carbonylfunktion mit einbezogen ist. Im letzten Schritt lagert sich diese

Zwischenverbindung in das Benzoessäurepyrrol-2-thiolesterderivat bei gleichzeitiger Protonenaufnahme um (Struktur III).

Mit den analytischen Daten kann die Ähnlichkeit der $^1\text{H-NMR}$ -Daten zum Pyrrolgrundgerüst erklärt werden. Es hat eine NH-Funktion bei 11.6 ppm (beim Pyrrolcarbonsäureester MSD8a 11.9 ppm), ein C=CH-N-Signal bei 7.3 ppm mit einer Kopplungskonstante von 2.85 Hz (bei MSD8a 7.1 ppm und einer Kopplungskonstante von 3.03 Hz). Auch kann so das Antwortsignal im NOE-Spektrum erklärt werden, da die beiden Protonen in Nachbarschaft vorliegen. Weiterhin hat diese Struktur eine Thioestergruppe, welche im IR-Spektrum eine Carbonylbande bei 1657 cm^{-1} erzeugt und eine NH-Gruppe, die im IR-Spektrum ein entsprechendes Signal bei 3373 cm^{-1} ergibt.

Um Struktur III von Struktur IV, ein Isothiazinderivat, abzugrenzen, welche ebenfalls alle oben beschriebenen Daten erklären würde wurden noch 2 weitere Spektren aufgenommen (Abb. 3-21).

Es wurde ein NOE-Spektrum aufgenommen, bei welchem auf das Dublett bei 7.3 ppm eingestrahlt wurde. Als Antwortsignal wurde das aromatische Dublett bei 7.05 ppm erhalten. Diese steht für das zum Pyrrolring orthoständige H-Atom am p-Methoxyphenylrest an Position C-4 des Pyrrols.

Es wurde ein hmbc-Spektrum von MSD9a aufgenommen (Abb. 3-21 unten). In diesem Spektrum kann man J_2 und J_3 -Kopplungen von C-Atomen zu H-Atomen in β -, oder γ -Position erkennen. Das C-Atom C-2 im Pyrrolring liegt im $^{13}\text{C-NMR}$ bei einer Verschiebung von 108.5 ppm und koppelt über eine J_3 -Kopplung mit dem H-Atom an Position 5 des Pyrrolringes (rotes Signal links von grüner Ellipse). Es kann ausgeschlossen werden, dass dieses Signal von C-Atom C-4 oder C-3 verursacht wird, denn diese C-Atome ergeben zusätzlich eine Kopplung mit den ortho-H-Atomen der jeweiligen Phenylringe. Da aber in diesem Bereich keine Kopplung zu erkennen ist (grüne Ellipse in Abb. 3-21) kann dies als gesichert gelten. Bei Struktur IV wird das entsprechende C-Atom (C-6) keine Kopplung mit dem H-Atom an C-3 eingehen, so dass für diese Struktur das Signal, welches für die Kopplung des C-Atom mit einer Verschiebung von 108.5 ppm im $^{13}\text{C-NMR}$ mit dem Proton bei 7.3 ppm im $^1\text{H-NMR}$ steht (links der grünen Ellipse in Abb. 4-21), nicht vorhanden wäre.

3. Chemischer Teil

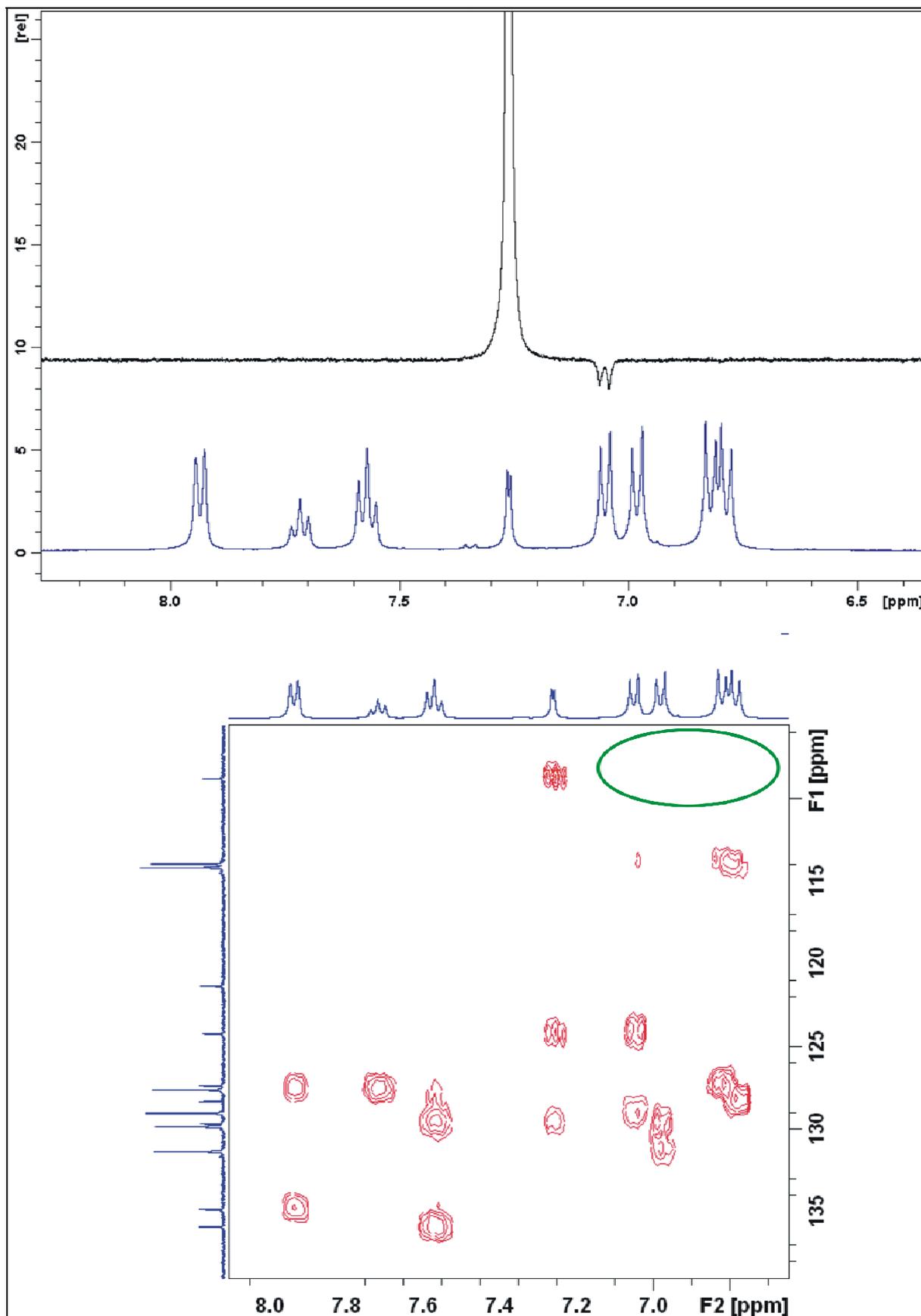
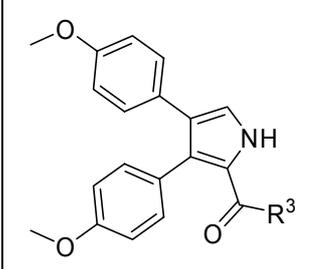
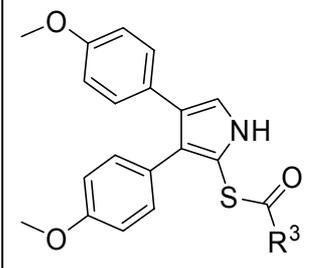
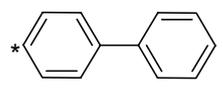


Abb. 3-21: oben NOE-Spektrum von MSD9a, unten hmbc-Spektrum von MSD9a

3. Chemischer Teil

Sämtliche Pyrrolderivate sind in Tabelle 3-9 aufgeführt.

Struktur	R ³	Verbindung
	OC ₂ H ₅	MSD8a
	OH	MSD8b
	C ₆ H ₅	MSD9a
		MSD9b

*= der Substituent ist an dieser Position kovalent an den Grundkörper gebunden, ^a Nein = Reinheit <95%

Tabelle 3-9: Pyrrolderivate

3.4.3 Verseifung des Pyrrolcarbonsäureester MSD8a

Methode(xv):

Die Verseifung des Pyrrolcarbonsäureesters MSD8a zur Pyrrolcarbonsäure MSD8b gelingt mit KOH und Kronenether (18-Krone-6) [111], wobei der Kronenether die Funktion hat, Kaliumionen durch Komplexbildung aus dem Gleichgewicht zu ziehen und damit für die Verseifung mehr Hydroxidionen zur Verfügung zu stellen.

Die Analytik erfolgte anhand der FD-MS-, $^1\text{H-NMR}$ - und IR-Daten. Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum sind die charakteristischen Ethylsignale, ein Quartett bei 4.06 ppm und ein Triplett bei 1.08 ppm verschwunden. Dazu gekommen ist ein Singulett, mit einer 1H entsprechenden Fläche bei 12.04 ppm, welches dem Proton der Carbonsäurefunktion zuzuordnen ist.

Im IR-Spektrum ist die Carbonylbande bathochrom verschoben (von 1275 cm^{-1} zu 1250 cm^{-1}) und es findet sich ein sehr breites OH-Valenzschwingungssignal der Carbonsäurefunktion zwischen $3000\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$.

3.5 Synthese der Isothiazol-(2H)-3-on-1,1-dioxide

3.5.1 Oxidation von MSD4a

Methode(xvi):

Die Oxidation erfolgt nach Schulze und Mühlstädt. MSD4a wird in Eisessig gelöst, auf 85°C erhitzt, die entsprechende Menge an 30%iger H₂O₂-Lösung wird hinzugetropft und der Ansatz weitere 20 Minuten zum Sieden erhitzt (Abb. 3-5). Zu beachten sind folgende Punkte:

- a) Die Siedezeit muss eingehalten und darf auf keinen Fall überschritten werden, da sonst bis zur p-Methoxybenzoesäure weiteroxidiert wird.
- b) Bei dieser Reaktion wird H₂O₂ im Überschuss eingesetzt, so dass der Ansatz nicht einrotiert werden darf, da unter Umständen eine explosionsartige Reaktion stattfindet.
- c) Der Peroxidtest der Firma Merck (Merckoquant (Messbereich 0,5-25mg/l H₂O₂)) entfärbt sich bei hohen Peroxidkonzentrationen wieder sehr schnell und lässt somit keine eindeutige Aussage zu.

Die Substanz löst sich wegen der stark ziehenden Sulfonyl- und Carbonylgruppen in Nachbarschaft zur NH-Funktion im wässrigen alkalischen Milieu. Die Aufreinigung erfolgt über Umkristallisation.

3.5.2 Strukturelle Modifikationen von MSD11a

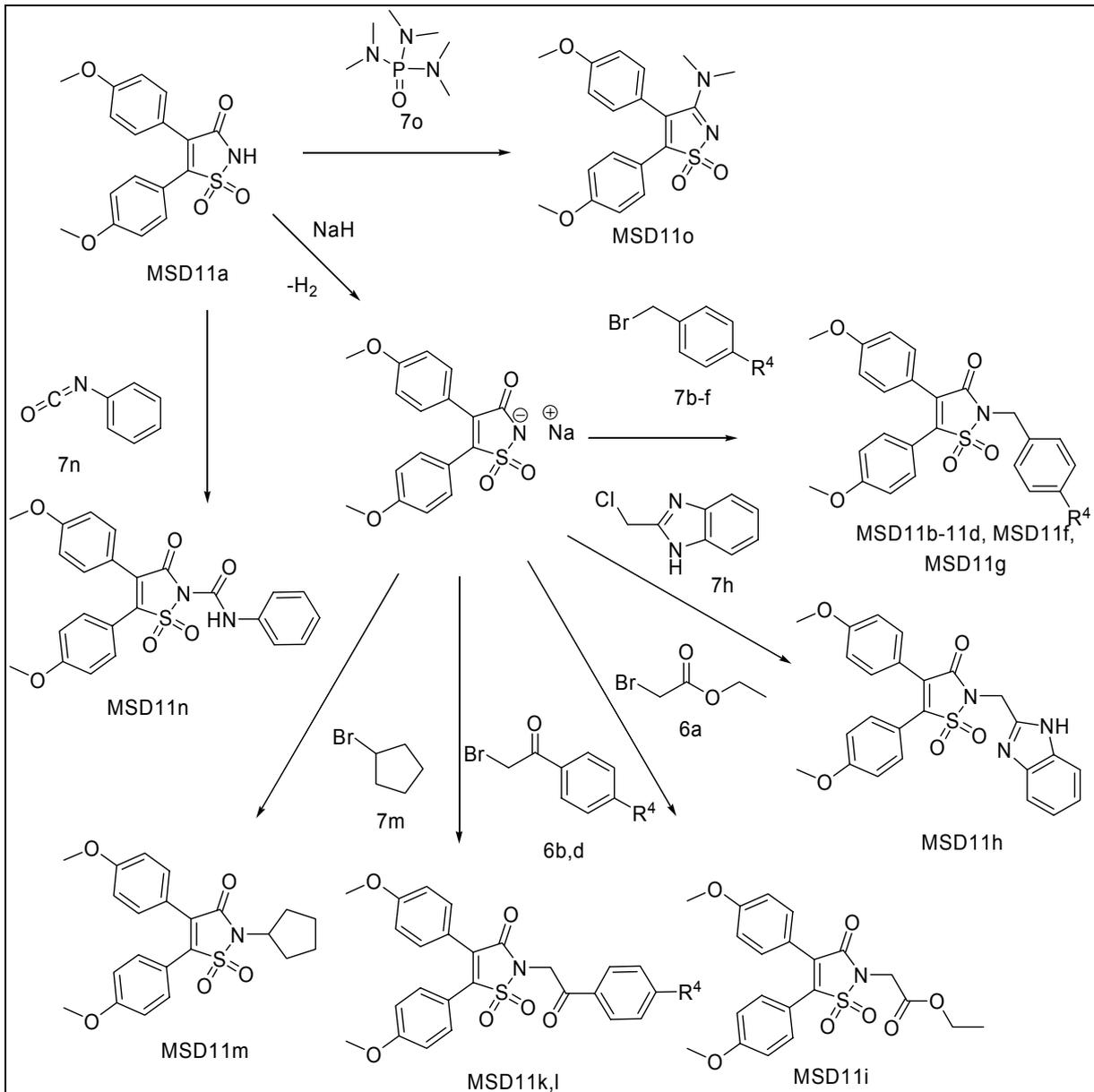


Abb. 3-22 Strukturelle Modifikationen von MSD11a

3.5.2.1 Nukleophile Substitutionsreaktionen

Methode (xvii): Substitution mit diversen Brom- und Chlorverbindungen:

Bei dieser Methode wird die NH-Azidität von MSD11a genutzt, um einen neuen Substituenten am N-Atom einzuführen. MSD11a wurde in absolutem DMF gelöst und mit Natriumhydrid versetzt (Abb. 3-22). Der Ansatz färbt sich rotbraun.

Im nächsten Schritt wird das Bromderivat (7h ist ein Chlorderivat) hinzu gegeben. Es wurden die Isothiazolderivate MSD11b-11f, MSD11h, MSD11i, MSD11k und MSD11l gebildet. Insgesamt war es möglich viele verschiedene Substituenten einzuführen, wobei die Ausbeuten sehr unterschiedlich waren. Das Cyclopentylbromid (Ausbeute < 10%) lies sich kaum umsetzen, die Benzylbromide hingegen ziemlich gut (bis zu 70% Ausbeute bei z.B. MSD11b).

Für die Produkte charakteristisch ist neben dem Molekülsignal im FD-Spektrum die neu entstandene CH₂-Gruppe in α -Position zum Stickstoff bei den Verbindungen MSD11b-11f liegt das Signal dieser CH₂-Gruppen als Singulett bei einer Verschiebung von 4.8-4.9 ppm vor. Auch nach Oxidation von MSD11f zum p-Methylsulfonylderivat (R⁴) MSD11g mit 3-Chlorperbenzoesäure (siehe Methode(ii), Tabelle 3-2, Abb. 3-5) ist dieses Signal bei 4.9 ppm zu finden. Durch den etwas stärkeren elektronenziehenden Effekt des Benzimidazolrestes in MSD11h wird das Signal nach 5.2 ppm verschoben, bei den Substanzen MSD11i und MSD11j, mit den aliphatischen Carbonylresten findet man das Signal bei 4.4-4.5 ppm, bei den Substanzen MSD11k und MSD11l mit den Phenacylresten bei 5.1-5.2 ppm und beim aliphatischen Cyclopentylrest von MSD11m überlagern sich das NCH-Doppeldoublett und die Methoxysignale bei 3.8 ppm.

3.5.2.2 Addition von Phenylisocyanat an MSD11a

Methode(xviii):

Eine weitere Möglichkeit an MSD11a zu modifizieren ist eine von Schulze [112] beschriebene Additionsreaktion von Phenylisocyanat. Da der Kohlenstoff vom Phenylisocyanat ausreichend aktiviert ist, muss in diesem Fall MSD11a nicht deprotoniert werden, sondern reagiert bei Raumtemperatur in Form einer Additionsreaktion. Die Struktur lässt sich ¹H-NMR-spektroskopisch nachvollziehen. Bei der Substanz MSD11n findet man neben den Methoxysignalen und den aromatischen Signalen das erwartete NH-Signal der Säureamidfunktion bei 10 ppm.

3.5.2.3 Umsetzung von MSD11a mit Hexamethylphosphorsäuretriamid

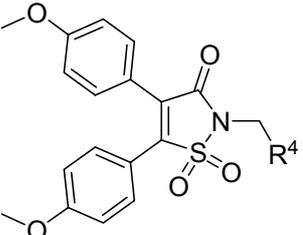
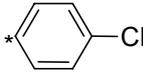
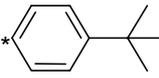
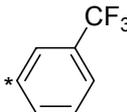
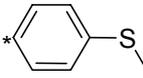
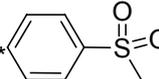
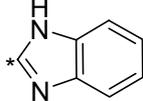
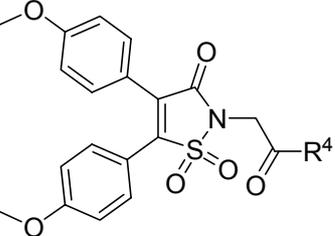
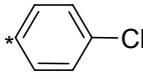
Methode (xix):

Auch diese Synthese wurde von Schulze et al. [112] beschrieben. Neben den üblichen Signalen des Grundkörpers finden sich zwei N-Methyl-Signale bei 3.17 ppm

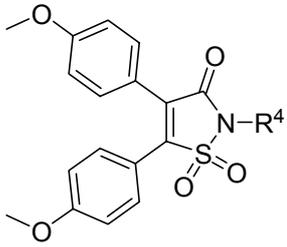
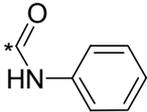
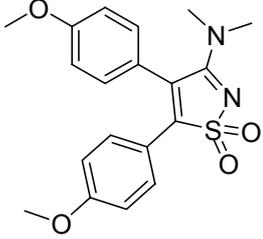
3. Chemischer Teil

und 2.65 ppm. Auch das Molekülsignal im FD-MS-Spektrum stimmt mit dem erwarteten Wert überein.

In Tabelle 3-10 werden sämtliche Isothiazol-(2h)-3-on-1,1-dioxid-Derivate und das 3-Dimethylaminoisothiazol-1,1-dioxid MSD11o aufgeführt.

Struktur	R ⁴	Verbindung
	C ₆ H ₅	MSD11b
		MSD11c
		MSD11d
		MSD11e
		MSD11f
		MSD11g
		MSD11h
	OC ₂ H ₅	MSD11i
	OH	MSD11j
	C ₆ H ₅	MSD11k
		MSD11l

Fortsetzung

Struktur	R ⁴	Verbindung
		MSD11m
		MSD11n
	-	MSD11o

*= der Substituent ist an dieser Position kovalent an den Grundkörper gebunden

Tabelle 3-10: Isothiazol-(2H)-3-on-1,1-dioxide und deren Derivate

3.6 Reduktion von MSD11b

Methode(xx):

Nach vielfältigen fehlgeschlagenen Versuchen die Isothiazol-(2H)-3-on-1,1-dioxide mit diversen Borhydriden zu einem Isothiazolin-1,1-dioxid oder einen Isothiazol-3-on zu reduzieren, wurde bei der Reaktion von MSD11b mit Natriumborhydrid das Acrylsäureamid MSD12a isoliert. In der Literatur wurde bisher keine Reduktion von Isothiazol-(2H)-3-on-1,1-dioxide unter Ringerhalt veröffentlicht. In diesem Fall führte der Versuch der Reduktion mit NABH_4 zu einer Eliminierung von Schwefeldioxid und damit zum Acrylsäureamid MSD12a (Abb. 3-23).

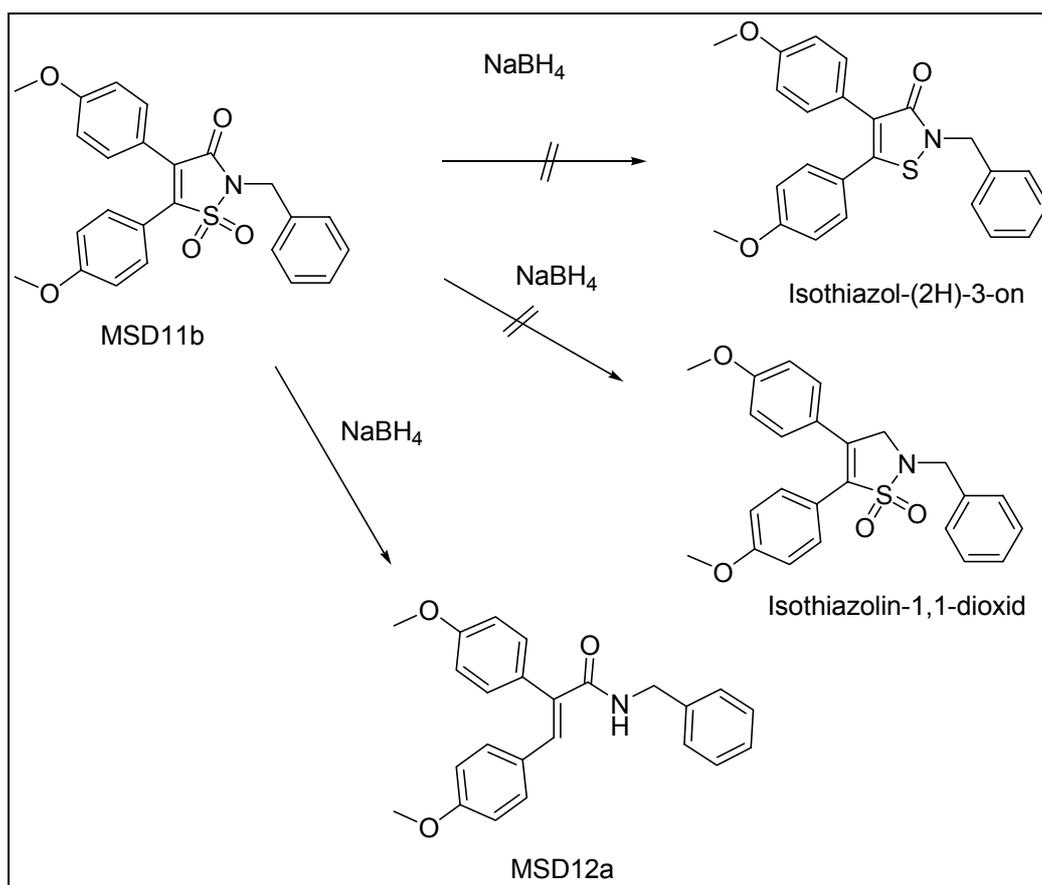


Abb. 3-23: Reduktion von Isothiazol-(2H)-3-on-1,1-dioxid mit Natriumborhydrid

Die Strukturanalytik erfolgte primär über ein FD-Massenspektrum, in welchem das Molekülsignal 62 Dalton leichter war als das Edukt. Wäre nur das Sulfox zum Sulfid reduziert worden, wäre die Differenz 32 Dalton gewesen. Wäre nur das Keton an C-3 reduziert worden, hätte man eine Differenz von 14 Dalton erwartet. Die Differenz von 62 Dalton spricht für die Eliminierung von SO₂ (64 Dalton), bei gleichzeitiger Absättigung der freien Valenzen (2H = + 2 Dalton).

Dies alleine kann aber nicht als Beweis angesehen werden. Bestätigt werden die Überlegungen durch die Daten des ¹H-NMR-Spektrums. Wenn die Reaktion wie in Abbildung 3-22 dargestellt abläuft, müssten zwei neue Signale gefunden werden. Zum einen ein Singulett im Bereich von 7 ppm, welches für das H-Atom an der Doppelbindung steht, und ein NH-Signal im tiefen Feld bei 9 ppm. Gefunden wurde das Singulettsignal bei 6.84 ppm und das NH-Signal bei 8.84 ppm. Auch kann das Signal, welches aus 2 überlappende Singulettsignalen besteht, einer für 2 H-Atome entsprechenden Fläche, bei 4.36 ppm der NCH₂-Gruppe zugeordnet werden. Bestätigt werden diese Daten von Kingsbury et al. [113]. In dieser Veröffentlichung

ordnen sie das Stilbensignal eines 2,3-Diphenylacrylsäureamids dem Singulett bei 6.62 ppm zu (Struktur 51 in [113]).

3.7 Darstellung der Dithiolthione

Der dreistufige Syntheseweg dieser Produkte wurde von Mattern [114] entwickelt und übernommen (Abb. 3-24):

- 3.7.1 Darstellung der 1,2-Diarylpropan-2-ole
- 3.7.2 Dehydratisierung zu den Stilbenderivaten
- 3.7.3 Ringschlussreaktion zu den Dithiolthionen

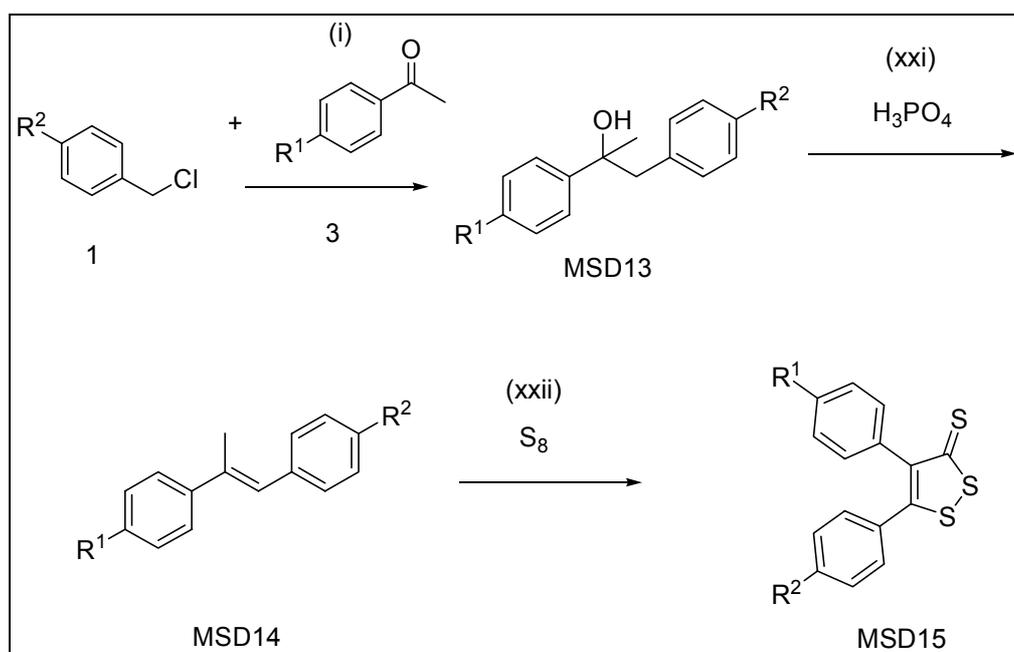


Abb. 3-24: Syntheschema der Dithiolthione nach Mattern [114]

3.7.1 Darstellung der Diarylpropan-2-ole MSD13

Methode(i): Grignard-Reaktion, siehe Kapitel 3.1.1.

3.7.2 Dehydratisierung zu den Stilbenderivaten MSD14

Methode(xxi): Dehydratisierung von MSD13a und MSD13b zu den entsprechenden Stilbenderivaten MSD14a und MSD14b:

Das Grignard-Produkt wurde grob aufgearbeitet und $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopisch charakterisiert. Es wurde dann zur H_2O -Eliminierung direkt mit 85%iger Phosphorsäure versetzt und erhitzt [114].

Den Reaktionsverlauf kann man gut im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum verfolgen. Bei den Alkoholen sehen wir neben den aromatischen CH-Signalen im Tieffeld und dem charakteristischen Singulett, für eine an einen Aromaten gebundene CH_3 -Gruppe (R^1 oder R^2), bei 2.3 ppm, ein Singulett für die aliphatische CH_3 -Gruppe im hohen Feld bei 1.35 ppm, ein Singulett für die CH_2 -Gruppe bei 2.9 ppm und ein Singulett für die Hydroxygruppe bei 5.0 ppm. Das Hydroxysignal verschwindet nach der Wassereliminierung und die beiden anderen Signale werden nach tieferem Feld verschoben. Das Signal der CH_3 -Gruppe ist nun als Singulett bei 2.2 ppm zu finden. Die olefinische CH-Gruppe ergibt ein Singulett bei 6.8 ppm.

3.7.3 Ringschlussreaktion zu den Dithiol-3-thionen MSD15

Methode(xxii): Ringschluss zu den Dithiol-3-thionen MSD15a und MSD15b:

Die Ringschlussreaktion nach Schmitt und Suquet [115] modifiziert nach Mattern [116] wird ohne Lösungsmittel bei 200-220°C mit ungefähr 4-fachem Überschuss an Schwefel durchgeführt. Die Aufreinigung erfolgte durch Filtrieren mittels Celite®, Säulenchromatographie und Umkristallisation.

Der Mechanismus ist noch nicht abschließend geklärt. Lüttringhaus et al. [117] veröffentlichten folgenden kurz wiedergegebenen Mechanismus (Abb. 3-25).

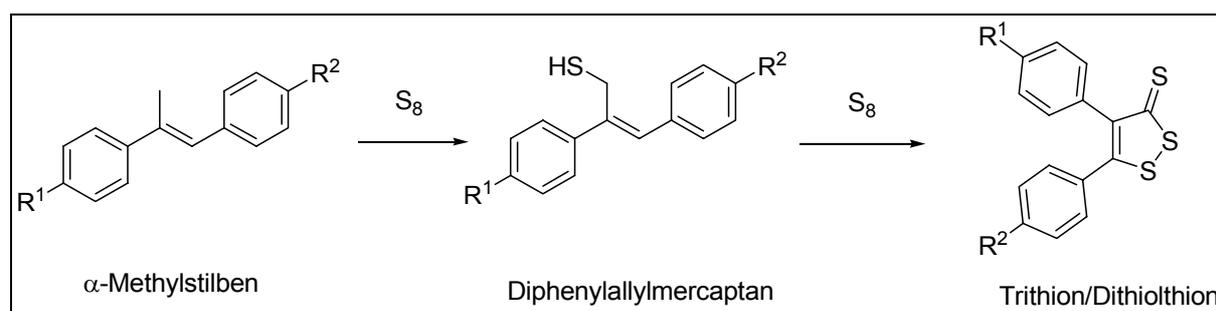


Abb. 3-25: Synthesemechanismus nach Lüttringhaus et al.

Sie postulierten, dass aus dem α -Methylstilben ein Diphenyl-allylmercaptan entsteht, welches unter weiterem Erhitzen zum Disulfid und schließlich über das Trisulfid zum Dithiolthion zyklisiert.

Neben dem passenden Molekülsignal im FD-Massenspektrum findet man im ^1H -NMR-Spektrum die aromatischen H-Atome und die an einem der Phenylreste gebundene CH_3 -Gruppe. Das Singulett im Tieffeld bei 6.8 ppm von MSD14 verschwindet genauso wie das Signal für die an die Doppelbindung gebundene CH_3 -Gruppe bei 2.2 ppm. Die Reinheit wurde durch Verbrennungsanalysen bestätigt.

In Tabelle 3-11 werden MSD15a und MSD15b und sämtliche Vorstufen aufgeführt.

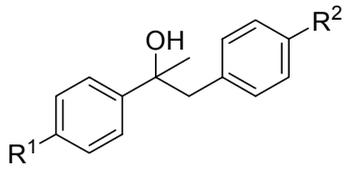
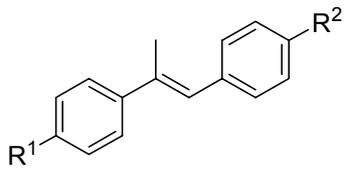
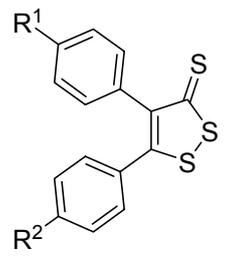
Struktur	R ¹	R ²	Verbindung
	Cl	CH ₃	MSD13a
	CH ₃	Cl	MSD13b
	Cl	CH ₃	MSD14a
	CH ₃	Cl	MSD14b
	Cl	CH ₃	MSD15a
	CH ₃	Cl	MSD15b

Tabelle 3-11: MSD15 und die Vorstufen MSD13 und MSD14

3.8 Synthese der Dithiol-3-one MSD16

Methode: (xxiii):

Die Synthese der Dithiol-3-one erfolgt mit Kaliumpermanganat und Dithiol-3-thion nach Mattern [118] (Abb. 3-26). Nach erfolgreicher Oxidation änderte sich die Kristallfarbe von tiefrot zu weiß und auch der stark schwefelige Geruch verschwindet.

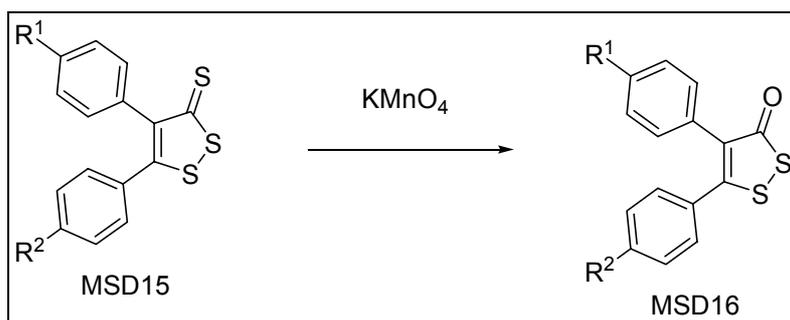


Abb. 3-26: Oxidation der Dithiol-3-thione zu den Dithiol-3-onen

Die $^1\text{H-NMR}$ -Spektren von MSD15a und MSD16a unterscheiden sich kaum, weshalb die $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie zur Identifikation der beiden Substanzen nicht geeignet ist.

Bestätigt wird die Synthese durch ein um 16 Da leichteres Molekülsignal im FD-Massenspektrum und durch die entsprechende Reinheit bei der Verbrennungsanalyse. In Tabelle 3-12 werden die Strukturen der synthetisierten Dithiol-3-one dargestellt.

Struktur	R ¹	R ²	Verbindung
	Cl	CH ₃	MSD16a
	CH ₃	Cl	MSD16b

Tabelle 3-12: Synthetisierte Dithiol-3-one

4. Pharmakologischer Teil

In diesem Kapitel werden die Testdaten folgender Untersuchungsmethoden aufgeführt und interpretiert:

- 4.1 Hemmung der Arachidonsäurekaskade
 - 4.1.1 Hemmung der Cyclooxygenase-1 (COX-1):
 - 4.2.1.1 MDA-Test
 - 4.2.1.2 12-HHT-Test
 - 4.1.2 Hemmung der Cyclooxygenase-2 (COX-2)
 - 4.1.3 Hemmung der 5-Lipoxygenase (5-LOX)
 - 4.1.4 Hemmergebnisse der 3 Enzyme im Überblick
- 4.2 Abfangen von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS)
 - 4.2.1 Abfangen von Hydroxylradikalen im zellfreien System
 - 4.2.1.1 Testung und Interpretation der eigenen Substanzen
 - 4.2.1.2 Testung und Validierung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen
- 4.3 Bestimmung der Zytotoxizität

4.1 Hemmung der Arachidonsäurekaskade

Die entwickelten Substanzen wurden hinsichtlich ihrer Potenz bezogen auf die Hemmung der Arachidonsäurekaskade untersucht. Ziel war es Substanzen zu synthetisieren, die die 3 Hauptarme der Arachidonsäurekaskade hemmen: Die COX-1, COX-2 und 5-LOX.

4.1.1 Hemmung der Cyclooxygenase-1

In unserem Arbeitskreis existieren 2 Testsysteme für die Bestimmung der COX-1-Inhibition:

1. MDA-Testsystem
2. 12-HHT-Testsystem

Die beiden Testsysteme unterscheiden sich in der Auswertung der Produkte der Cyclooxygenase-1-Kaskade. Trotzdem werden die Ergebnisse beider Testsysteme zusammen ausgewertet, denn in der Regel sind die Hemmwerte in einem ähnlichen Bereich zu finden (wie später bewiesen).

4.1.1.1 MDA-Test

Dieses Testsystem basiert auf der Quantifizierung des Cyclooxygenase-1-Endproduktes Malondialdehyd (MDA) [119]. Für das Testsystem werden Schweinethrombozyten verwendet, deren Arachidonsäurekaskade mit Calcium-Ionophor A23187 aktiviert wird. Dabei werden Thromboxan-2 (TXB₂), 12-Hydroxyheptadekatriensäure (12-HHT) und Malondialdehyd (MDA) produziert. Das Malondialdehyd wird mit Thiobarbitursäure zu einem roten Polymethinfarbstoff umgesetzt, der bei 550 nm fluoresziert. Die quantitative Bestimmung des Farbstoffes erfolgt mit einem Fluoreszenzspektrometer bei einer Detektionswellenlänge von 550 nm.

4.1.1.2 12-HHT-Test

Dieses Testsystem beruht auf einer von Dannhardt und Lehr [120] entwickelten HPLC-Methode. Als Enzymquelle verwendet man Rinderthrombozyten, welche mit Calcium-Ionophor aktiviert werden. Aus endogener Arachidonsäure werden über die COX-1 12-Hydroxyheptadekatriensäure (12-HHT) und, in Konkurrenz dazu, über die 12-Lipoxygenase 12-Hydroxyeikosatetraensäure (12-HETE) gebildet. 12-HHT wird durch HPLC abgetrennt und über den UV-Detektor bei 232 nm qualitativ und quantitativ bestimmt. Weitere Einzelheiten siehe [120].

4.1.1.3 Äquivalenz der beiden Testsysteme

Variante 1:

Um die annähernde Gleichwertigkeit zu bestimmen, wurden die COX-1-Datensätze von 27 Substanzen verglichen. Die Substanzen wurden ausgehend vom IC₅₀-Wert des 12-HHT-Testsystems in folgende 3 Klassen aufgeteilt:

- a) IC₅₀ < 0,05 µM: enthält 11 Verbindungen
- b) 0,05 < IC₅₀ < 0,25 µM: enthält 11 Verbindungen
- c) IC₅₀ > 0,25 µM: enthält 5 Verbindungen

IC ₅₀ -Bereich: (µM)	Verbindungen	IC ₅₀ -Ø 12-HHT [µM]	IC ₅₀ -Ø MDA [µM]	Faktor: 12- HHT/MDA
IC ₅₀ < 0,05	MSD4a*,4b,4c,4g, MSD5a*,5b,5d,5f,5g, MSD15a, MSD16a	0,0184	0,008	2,3
0,05 < IC ₅₀ < 0,25	MSD4d,4e4f, 4i, MSD5c,5e, MSD7a,7b, MSD8a, MSd9a, MSD11k, MSD16b	0,131	0,096	1,36
IC ₅₀ > 0,25	MSD4i,4j, MSD11a,o, MSD15b	0,830	0,394	2,11
Durchschnittsfaktor				1,92

Tabelle 4-1: Vergleich der COX-1-Testsysteme, Variante 1 (Anzahl der Messwerte pro Verbindung n = 2, *: n=6)

Wie aus Tabelle 4-1 zu entnehmen ist, liegen die COX-1 Hemmwerte bei beiden Testsystemen im ähnlichen Bereich. Wenn man einen Faktor aus 12-HHT Durchschnittswert geteilt durch den MDA-Durchschnittswert berechnet, bekommt man einen Wert, der aussagt, wie viel größer der 12-HHT Hemmwert im Vergleich zum MDA Testwert ist. Im Bereich von IC₅₀-Werten kleiner 0,05 µM kommt man zu

4. Pharmakologischer Teil

einem Faktor von 2,3, im Bereich von IC₅₀-Werten größer 0,05 µM und kleiner 0,25 µM zu einem Faktor von 1,36 und im Bereich für IC₅₀-Werte größer 0,25 µM zu einem Faktor von 2,11. Aus diesen Faktoren kann man wiederum einen Durchschnittsfaktor von 1,92 berechnen.

Variante 2:

Eine weitere Möglichkeit die Hemmwerte zu vergleichen ist, für jede Verbindung den Durchschnittsfaktor (Anzahl der Messwerte pro Substanz n = 2) zu berechnen und dann diese Faktoren wiederum zu mitteln (siehe Tabelle 4-2).

Verbindungen	12-HHT IC ₅₀ [µM]	MDA IC ₅₀ [µM]	Faktor: 12-HHT/MDA
MSD4a	0,0026	0,0029	0,90
MSD4b	0,01	0,00064	15,63
MSD4c	0,039	0,032	1,22
MSD4d	0,22	0,048	4,58
MSD4e	0,11	0,22	0,50
MSD4f	0,067	0,017	3,94
MSD4g	0,023	0,0016	14,38
MSD4i	0,31	0,26	1,19
MSD4j	0,96	0,76	1,26
MSD5a	0,0058	0,0025	2,32
MSD5b	0,023	0,0011	20,91
MSD5c	0,15	0,042	3,57
MSD5d	0,047	0,017	2,76
MSD5e	0,21	0,086	2,44

4. Pharmakologischer Teil

Fortsetzung

Verbindungen	12-HHT IC ₅₀ [µM]	MDA IC ₅₀ [µM]	Faktor: 12-HHT/MDA
MSD5f	0,01	0,017	0,59
MSD5g	0,022	0,0068	3,24
MSD7a	0,097	0,051	1,90
MSD7b	0,071	0,074	0,96
MSD8a	0,075	0,23	0,33
MSD9a	0,071	0,14	0,51
MSD11a	0,28	0,21	1,33
MSD11k	0,22	0,097	2,27
MSD11o	1,1	0,41	2,68
MSD15a	0,0063	0,0028	2,25
MSD15b	1,5	0,33	4,55
MSD16a	0,015	0,002	7,50
MSD16b	0,15	0,054	2,78
ASS	0,42	4,52	0,09
Indometacin	0,004	0,004	1,00
Diclofenac	0,0028	0,0012	2,33
Durchschnittsfaktor			3,66
Durchschnittsfaktor ohne die Ausreißer MSD4b, MSD4g, MSD5b und ASS			2,27

Tabelle 4-2: Vergleich der COX-1 Testsysteme, Variante 2 (Anzahl der Messwerte pro Verbindung n = 2)

Der Vorteil der 2. Variante ist, dass für jeden Testwert ein eigener Faktor berechnet wird, der dann gleichwertig in die Endberechnung eingeht. Bei der 1. Variante fallen Ausreißer nicht so sehr auf, besonders dann nicht, wenn bei sehr kleinen Hemmwerten ein großer Unterschied besteht (z.B. MSD5b). Berechnet man dies für alle 30 Substanzen, erhält man einen Durchschnittsfaktor von 3,66. Der Vorteil dieser Variante ist aber auch gleichzeitig ein Nachteil. Ausreißer verändern das Ergebnis überproportional. Lässt man bei der 2. Variante die Ausreißer MSD4b, MSD4g, MSD5b und ASS weg, kann man einen Durchschnittsfaktor von 2,27 berechnen, der dann dem Faktor von der 1. Variante recht nahe kommt.

Die Hemmwerte des MDA Testsystems sind ungefähr um Faktor 2 kleiner als die des 12-HHT-Test, was aber für unsere Betrachtung der COX-1-Hemmung keinen großen Unterschied macht. Relevant werden Abweichungen ab einem Faktor von 10, ansonsten reicht es näherungsweise den IC_{50} -Wert vom MDA Test zu verdoppeln oder vom 12-HHT Test zu halbieren, um Hemmwerte von Substanzen, bei denen nicht beide Werte bestimmt wurden, zu vergleichen.

Dies wurde in den folgenden Tabellen auch durchgeführt, wobei ein kleines b hinter der Zahl anzeigt, dass der Hemmwert des Testsystems aus dem experimentell bestimmten Wert des anderen Tests berechnet wurde.

4.1.1.4 Interpretation der COX-1 Testergebnisse

4.1.1.4.1 Standardsubstanzen

Um die Potenz der synthetisierten Verbindungen vergleichen zu können, werden diverse Vergleichssubstanzen als Standard mitbestimmt. In Tabelle 4-3 sind diese aufgeführt.

Name	^a COX-1 (12-HHT) IC ₅₀ [µM]	^a COX-1 (MDA) IC ₅₀ [µM]
Acetylsalicylsäure	0,42	4,5
Ibuprofen	0,8	0,4 ^b
Ketoprofen	0,012	0,006 ^b
Piroxicam	0,61	0,305 ^b
Indometacin	0,004	0,004
Diclofenac	0,0028	0,0012
Celecoxib	~7 / 6,7nach Lit. [1,121]	3,5 ^b
Licofelon	0,21	0,105 ^b

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 µM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen,

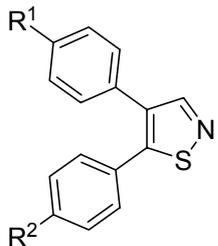
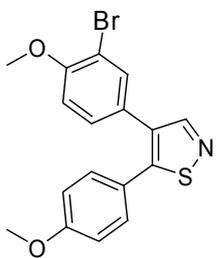
^b Hemmwert wurde mit dem Faktor aus Kapitel 4.1.1.3 berechnet,

Tabelle 4-3: Inhibitionswerte von Standardsubstanzen

Die potentesten Vertreter sind Diclofenac (12-HHT, IC₅₀: 0,0028 µM) und Indometacin (12-HHT, IC₅₀: 0,004 µM), die beide im einstelligen nanomolaren Bereich hemmen. Etwas schwächer ist das Ketoprofen (12-HHT, IC₅₀: 0,012 µM), welches aber potenter gegenüber Licofelon (12-HHT, IC₅₀: 0,15 µM), ein dualer COX/LOX-Inhibitor, ASS (12-HHT, IC₅₀: 0,42 µM), ein irreversibler COX-1-Inhibitor, Piroxicam (12-HHT, IC₅₀: 0,61µM), ein COX-1-Inhibitor mit sehr langer Halbwertszeit und Ibuprofen (12-HHT, IC₅₀: 0,8 µM) ist. Der COX-2-selektive Vertreter, das Celecoxib (12-HHT, 65% Hemmung bei einer Konzentration von 10 µM, IC₅₀ ~ 7 µM) ist, wie zu erwarten war, die Substanz mit der geringsten COX-1-Inhibitionspotenz.

4.1.1.4.2 Isothiazole

Es wurden insgesamt 12 Isothiazole mit sehr unterschiedlichen Substitutionsmustern dargestellt, die in ihrer COX-1-Inhibierung stark variieren (Tabelle 4-4).

Struktur	R ¹	R ²	Verbindung	^a COX-1 (12-HHT) IC ₅₀ [μM]	^a COX-1 (MDA) IC ₅₀ [μM]
	OCH ₃	OCH ₃	MSD4a	0,0026	0,0029
	CH ₃	OCH ₃	MSD4b	0,01	0,00064
	CH ₃	Cl	MSD4c	0,039	0,032
	Cl	CH ₃	MSD4d	0,22	0,048
	Cl	Cl	MSD4e	0,11	0,22
	OCH ₃	Cl	MSD4f	0,067	0,017
	Cl	OCH ₃	MSD4g	0,023	0,0016
	F	SO ₂ CH ₃	MSD4h	33%*	62%*
	H	H	MSD4i	0,31	0,26
	OH	OH	MSD4j	0,96	0,76
	OH	OCH ₃	MSD4k	0,22	0,23
	-	-	MSD4l	0,03 ^b	0,015

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 μM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen,

^b Hemmwert wurde mit dem Faktor aus Kapitel 4.1.1.3 berechnet

Tabelle 4-4: COX-1 Hemmwerte der Isothiazole

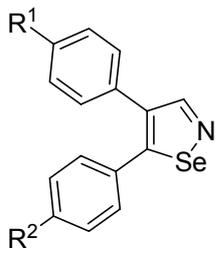
Es gibt sehr wirksame Vertreter, wie z.B. das MSD4a (COX-1, 12-HHT, IC_{50} : 0,0026 μ M), welches eine vergleichbare Wirkstärke wie Diclofenac und Indometacin besitzt. Es gibt aber auch eher unwirksame Vertreter, wie das MSD4h (COX-1, 12-HHT, 33% Hemmung bei einer Konzentration 10 μ M, $IC_{50} \sim 30 \mu$ M), welches mit Celecoxib verglichen werden kann.

Wenn man die Substitutionsmuster vergleicht, kann man sehr gute Struktur-Wirkungs-Beziehungen daraus ablesen. Grundsätzlich erhöhen Methoxygruppen die Hemmung der COX-1 am stärksten. MSD4a (12-HHT, IC_{50} : 0,0026 μ M), MSD4b (12-HHT, IC_{50} : 0,01 μ M), MSD4f (12-HHT, IC_{50} : 0,067 μ M), MSD4g (12-HHT, IC_{50} : 0,023 μ M), und MSD4l (12-HHT, IC_{50} : 0,03 μ M) gehören zu den potentesten Verbindungen. Vergleicht man die Hemmwerte der Verbindungen mit Methoxygruppen (12-HHT: MSD4a IC_{50} : 0,0026 μ M, MSD4b IC_{50} : 0,01 μ M, MSD4f IC_{50} : 0,067 μ M, MSD4g IC_{50} : 0,023 μ M und MSD4l IC_{50} : 0,03 μ M) mit Hemmwerten von Verbindungen ohne Methoxy-, aber mit Chlor- oder Methylsubstituenten (12-HHT: MSD4c IC_{50} : 0,039 μ M, MSD4d IC_{50} : 0,22 μ M und MSD4e IC_{50} : 0,11 μ M), dann entspricht dies in etwa einem Hemmverlust zwischen Faktor 2 und 80. Vergleicht man die Reihe MSD4a (zwei Methoxygruppen, 12-HHT, IC_{50} : 0,0026 μ M), MSD 4k (eine Hydroxy- und eine Methoxygruppe, 12-HHT, IC_{50} : 0,22 μ M) und MSD4j (zwei Hydroxygruppen, 12-HHT, IC_{50} : 0,96 μ M) miteinander, sieht man sehr gut den Einfluss der zu starken Polaritätszunahme bezogen auf die COX-1-Hemmung. MSD4a ist um knapp Faktor 100 potenter als MSD4k, welches wiederum um Faktor 5 potenter ist als MSD4j. Vergleicht man MSD4a (12-HHT IC_{50} : 0,0026 μ M) mit den Hemmwerten von Verbindungen mit einer Methoxygruppe (12-HHT MSD4b IC_{50} : 0,01 μ M, MSD4f IC_{50} : 0,067 μ M, MSD4g IC_{50} : 0,023 μ M), sieht man eine durch den Austausch einer Methoxygruppe verursachte Abnahme um Faktor 10 in der Hemmpotenz von COX-1. Anhand von Struktur MSD4h (COX-1, 12-HHT, 33% Hemmung bei einer Konzentration 10 μ M, $IC_{50} \sim 30 \mu$ M) kann man wiederum den Effekt einer Methylsulfonylgruppen auf die COX-1 Hemmung erkennen. So kann man die Substituenten in einer Rangliste nach schwächer werdenden COX-1-Hemmwerten einordnen:

Dimethoxyderivat (\sim Diclofenac, Indometacin) > Methoxyderivat (\sim Ketoprofen) > Chlorderivat = Methylderivat (\sim Licofelon, ASS) > Hydroxyderivat > Dihydroxyderivat > Methylsulfonylderivat (\sim Celecoxib).

4.1.1.4.3 Isoselenazole

Im Rahmen dieser Arbeit war es möglich 8 Substanzen aus der neuen Klasse der 4,5-Diarylisoselenazole darzustellen, die ähnlich potent wie die Isothiazolderivate die COX-1 hemmen (siehe Tabelle 4-5).

Struktur	R ¹	R ²	Verbindung	^a COX-1 (12-HHT) IC ₅₀ [µM]	^a COX-1 (MDA) IC ₅₀ [µM]
	OCH ₃	OCH ₃	MSD5a	0,0058	0,0025
	CH ₃	OCH ₃	MSD5b	0,023	0,0011
	CH ₃	Cl	MSD5c	0,15	0,042
	Cl	CH ₃	MSD5d	0,047	0,017
	Cl	Cl	MSD5e	0,21	0,086
	OCH ₃	Cl	MSD5f	0,01	0,017
	Cl	OCH ₃	MSD5g	0,022	0,0068
	F	SO ₂ CH ₃	MSD5h	38%*	0,81

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 µM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen

Tabelle 4-5: COX-1-Hemmdaten der Isoselenazolderivate

Auch bei den Isoselenazolen bestätigt sich die Rangliste der COX-1-Inhibition anhand der verschiedenen p-Substituenten. Vergleicht man die Hemmwerte der Verbindungen mit Methoxygruppen (12-HHT: MSD5a IC₅₀: 0,0058µM, MSD5b IC₅₀: 0,023µM, MSD5f IC₅₀: 0,01µM und MSD5g IC₅₀: 0,022µM) mit Hemmwerten von Verbindungen ohne Methoxy-, aber mit Chlor- oder Methylsubstituenten (12-HHT: MSD5c IC₅₀: 0,15µM, MSD5d IC₅₀: 0,047 µM und MSD5e IC₅₀: 0,21 µM), dann entspricht dies in etwa einem Hemmverlust zwischen Faktor 2 und 50. Die methylsulfonylsubstituierte Substanz, MSD5h, hat, wie zu erwarten, die geringste COX-1-Hemmpotenz.

Somit kann eine Reihenfolge mit abnehmender COX-1-Hemmwirkung für die verschiedenen p-Substituenten erstellt werden, welche die Reihenfolge der Isothiazole bestätigt: Dimethoxyderivat (~ Diclofenac, Indometacin) > Methoxyderivat (~ Ketoprofen) > Chlorderivat = Methylderivat (Licofelon, ASS) > Methylsulfonylderivat (~ Celecoxib).

Die beiden COX-1-Datensatzreihen der Isothiazole und Isoselenazole können untereinander verglichen werden. Folgende Erkenntnisse können gewonnen werden:

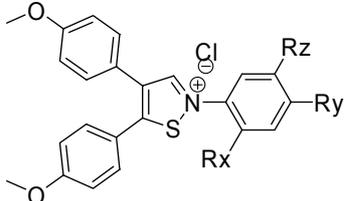
a) Die Isoselenazole mit Methoxysubstituenten (MSD5a, MSD5b, MSD5f und MSD5g) sind im Vergleich zu den Isothiazolen mit Methoxysubstituenten (MSD4a, MSD4b, MSD4f und MSD4g) um etwa den Faktor 2 überlegen.

b) Die Isoselenazolverbindungen mit Chlor- oder Methylsubstituenten (MSD5c-MSD5e, 12-HHT) sind in etwa gleichwertig mit den entsprechend substituierten Isothiazolen (MSD4c-MSD4e, 12-HHT).

Insgesamt sind beide Strukturklassen als gleich potent in Bezug auf die Hemmung der COX-1 zu bewerten.

4.1.1.4.4 Isothiazoliumverbindungen

Die Ergebnisse der Klasse der Isothiazoliumverbindungen sind in Tabelle 4-6 dargestellt.

Struktur	Rx	Ry	Rz	Ver- bindung	^a COX-1 (12-HHT) IC ₅₀ [µM]	^a COX-1 (MDA) IC ₅₀ [µM]
	H	H	H	MSD7a	0,097	0,051
	H	OCH ₃	H	MSD7b	0,071	0,074
	H	Cl	H	MSD7c	0,022 ^b	0,011
	OCH ₃	H	C ₆ H ₅	MSD7d	0,26 ^b	0,13
	OCH ₃	H	<i>tert</i> - butyl	MSD7e	1	0,2
	H	H	OC ₆ H ₅	MSD7f	0,042 ^b	0,021

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 µM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen,

^b Hemmwert wurde mit dem Faktor aus Kapitel 4.1.1.3 berechnet

Tabelle 4-6: COX-1-Hemmwerte der Isothiazoliumverbindungen

Allgemein kann folgende Aussage getroffen werden: Im Vergleich zum N-unsubstituierten Isothiazol MSD4a (12-HHT, IC₅₀: 0,0026 µM) verschlechtert sich die COX-1-Hemmung der Isothiazoliumverbindungen um Faktor 10 bei MSD7c (12-HHT, IC₅₀: 0,022^b µM) bis Faktor 400 bei MSD7e (12-HHT, IC₅₀: 1 µM). Vergleicht man die Struktur der Isothiazoliumionen mit dem Isothiazol MSD4a, kommt man zu zwei entscheidenden Unterschieden:

a) Durch den N-Substituenten wird die räumliche Ausdehnung der Isothiazoliumionen beträchtlich größer. Dieses wiederum ist entscheidend für die Orientierung im räumlich begrenzten COX-1-Kanal.

b) Durch die ionische Struktur der Isothiazoliumionen verändert sich die Löslichkeit und die Hydrophilie beträchtlich, was in einem Test mit intakten Zellen eine schlechtere Diffusion in die Zellen bedeutet.

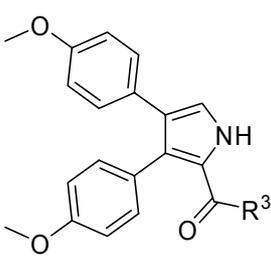
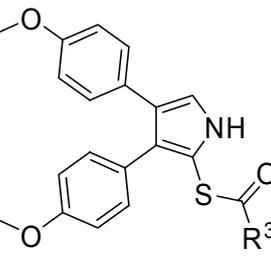
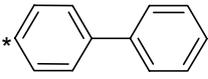
Nichtsdestotrotz ist der Unterschied um Faktor 10 von MSD7c im Vergleich zu MSD4a nicht sehr groß und weiterhin es ist ähnlich potent wie Ketoprofen (12-HHT, IC_{50} : 0,012 μ M), eine äußerst wertvolle Erkenntnis.

Vergleicht man die Hemmwirkungsunterschiede der Isothiazoliumionen untereinander, können ebenfalls interessante Schlüsse gezogen werden. MSD7a bis MSD7c sind strukturell sehr ähnlich und unterscheiden sich nur im Substituenten der p-Position des N-Arylrestes. Die Hemmwerte liegen in einem ähnlichen Bereich mit der Tendenz, dass der Chlorsubstituent leichte Vorteile bringt (12-HHT, MSD7c IC_{50} : 0,022^b μ M). Wird allerdings in ortho-Stellung eine Methoxygruppe und in meta-Stellung des N-Aromaten eine voluminöse unbewegliche Gruppe wie ein Phenyl- oder *tert*-Butylrest eingebracht, verschlechtert sich der IC_{50} -Wert im Vergleich zu MSD7a (12-HHT, IC_{50} : 0,097 μ M) um Faktor 2,5 (12-HHT, MSD7d IC_{50} : 0,26^b μ M) oder Faktor 10 (12-HHT, MSD7e IC_{50} : 1 μ M). Wird hingegen in meta-Stellung ein voluminöser, aber recht beweglicher Rest, wie eine Phenoxygruppe eingebracht, verbessert sich das Hemmpotential im Vergleich zum unsubstituierten MSD7a um ungefähr Faktor 2 (MSD7f, 12-HHT, IC_{50} : 0,042 μ M).

Grundsätzlich sind die Isothiazoliumverbindungen den Isothiazolen oder Isoselenazolen unterlegen, bieten aber mit MSD7c und MSD7f auch Vertreter, die ähnlich potent sind wie Ketoprofen.

4.1.1.4.5 Pyrrolverbindungen

In Tabelle 4-7 sind die Hemmwerte der Pyrrolverbindungen dargestellt.

Struktur	R ³	Verbindung	^a COX-1 (12-HHT) IC ₅₀ [μM]	^a COX-1 (MDA) IC ₅₀ [μM]
	OC ₂ H ₅	MSD8a	0,075	0,23
	OH	MSD8b	10,8 ^b	5,41
	C ₆ H ₅	MSD9a	0,071	0,14
		MSD9b	0,168 ^b	0,084

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 μM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen,

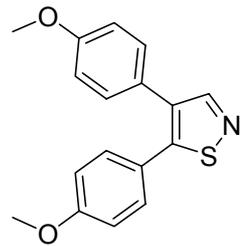
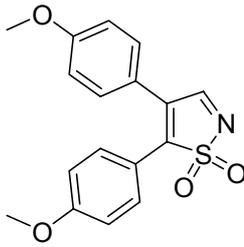
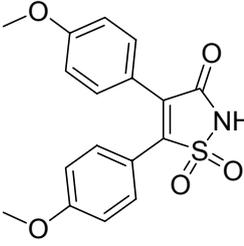
^b Hemmwert wurde mit dem Faktor aus Kapitel 4.1.1.3 berechnet

Tabelle 4-7: COX-1-Hemmung der Pyrrollderivate

Auch hier wurde versucht durch Veränderung des Heterozyklus MSD4a neue Derivate zu erschließen. Wie in Tabelle 4-7 ersichtlich ist, verlieren die beiden neuen Strukturtypen (MSD8a, 12-HHT, IC₅₀: 0,075 μM, MSD9a, 12-HHT, IC₅₀: 0,071 μM) gegenüber der Leitstruktur MSD4a (12-HHT, IC₅₀: 0,0026 μM) um ca. Faktor 30 an Potenz. Weiterhin kann man am Beispiel der Pyrrolverbindungen MSD8a und MSD8b den drastischen Verlust an Hemmpotential durch das Verseifen des Esters MSD8a (12-HHT, IC₅₀: 0,075 μM) zur schwach wirksamen Säure MSD8b (12-HHT, IC₅₀: 10,8 μM) deutlich machen. Je nach verwendetem Testsystem fällt der Unterschied drastisch (Faktor 20 im MDA-Test) oder sehr drastisch (Faktor 100 im 12-HHT-Test) aus. Bei MSD9b verändert der Ersatz des Phenylrestes durch den voluminösen Biphenylrest wenig an der Potenz. Die Hemmwerte sind vergleichbar.

4.1.1.4.6 Einfluss einer Oxidation innerhalb des Isothiazolringes

Von MSD4a konnten zwei oxidierte Varianten isoliert werden: MSD10a und MSD11a (Tabelle 4-8).

Struktur	Verbindung	^a COX-1 (12-HHT) IC ₅₀ [μM]	^a COX-1 (MDA) IC ₅₀ [μM]
	MSD4a	0,0026	0,0029
	MSD10a	0%*	0%*
	MSD11a	0,28	0,21

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 μM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen,

^b Hemmwert wurde mit dem Faktor aus Kapitel 4.1.1.3 berechnet

Tabelle 4-8: COX-1-Hemmwerte nach der Oxidation von Isothiazol MSD4a

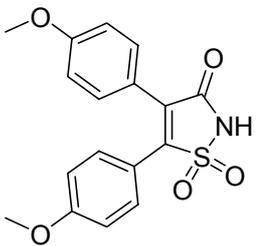
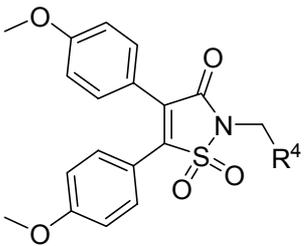
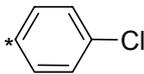
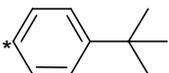
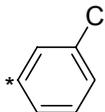
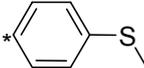
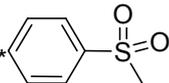
Es ist eindeutig zu erkennen, dass eine Oxidation am Schwefel von MSD4a der COX-1-Inhibition nicht zuträglich ist. Bei MDS10a verliert man die COX-1-Hemmung komplett. MSD11a hingegen, welches zusätzlich an C-3 oxidiert wurde, hemmt die COX-1 nur 1/100 so stark wie MSD4a. Warum die Struktur MSD10a keine Hemmung aufweist, lässt sich eventuell mit den veränderten elektronischen Eigenschaften erklären.

4. Pharmakologischer Teil

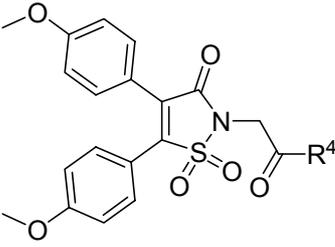
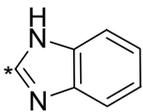
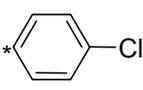
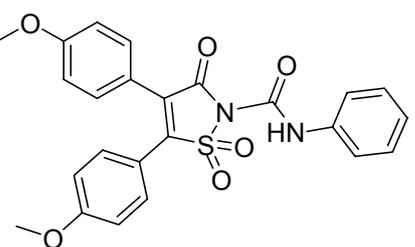
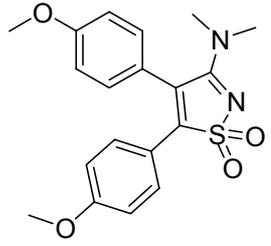
4.1.1.4.7 Derivate von MSD11a

N-substituierte Isothiazol-(2H)-3-on-1,1-Dioxide:

13 von 14 Derivaten wurden auf COX-1-Hemmung (dargestellt in Tabelle 4-9) getestet.

Struktur	R ⁴	Verbindung	^a COX-1 (12-HHT) IC ₅₀ [μM]	^a COX-1 (MDA) IC ₅₀ [μM]
	-	MSD11a	0,28	0,21
	C ₆ H ₅	MSD11b	0,012 ^b	0,0058
		MSD11c	0,036 ^b	0,018
		MSD11d	0,72 ^b	0,36
		MSD11e	0,013 ^b	0,0066
		MSD11f	0,008 ^b	0,004
		MSD11g	0,074 ^b	0,032

Fortsetzung

Struktur	R ⁴	Verbindung	^a COX-1 (12-HHT) IC ₅₀ [μM]	^a COX-1 (MDA) IC ₅₀ [μM]
		MSD11h	0,0074 ^b	0,0032
	OC ₂ H ₅	MSD11i	0,11 ^b	0,056
	OH	MSD11j	2,4 ^b	1,2
	C ₆ H ₅	MSD11k	0,22	0,097
		MSD11l	0,062 ^b	0,031
	-	MSD11n	1,4	1,55
	-	MSD11o	1,1	0,41

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 μM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen,

^b Hemmwert wurde mit dem Faktor aus Kapitel 4.1.1.3 berechnet

Tabelle 4-9: Derivate von MSD11a

Da bei diesen Strukturen hauptsächlich MDA-Testwerte vorliegen, erfolgt die Auswertung von Struktur-Wirkungsbeziehungen auf Grund dieser Daten. Grundsätzlich scheint die Substitution mit Benzylresten (MSD11b-MSD11g) die COX-1 Hemmung zu verbessern. Die einzige Ausnahme stellt der *p-tert*-Butyl substituierte Benzylrest von MSD11d dar. Diese Verbindung entspricht in etwa (MDA, IC₅₀: 0,36 μM) dem Edukt MSD11a. Die anderen sechs Substituenten verbessern teilweise die

COX-1-Hemmung drastisch, wie z.B. das MSD11f (MDA, IC_{50} : 0,004 μ M, Faktor 50) oder MSD11h (MDA, IC_{50} : 0,0032 μ M, Faktor 65).

Es scheint so zu sein, dass der Austausch des aziden Wasserstoffs von MSD11a gegen einen Substituenten, der in der Lage ist π,π -Interaktionen einzugehen, sehr günstig ist. MSD11f und MSD11h kommen fast in den Hemmbereich der Leitstruktur MSD4a. Wenn allerdings ein Substituent, wie z.B. die *tert*-Butylgruppe bei MSD11d (MDA, IC_{50} : 0,36 μ M) oder die Methylsulfonylgruppe bei MSD11g (MDA, IC_{50} : 0,032 μ M), aufgrund möglicher sterischer Behinderung eine Ausbildung eines π -Komplexes stören, verlieren die Substanzen beträchtlich an Hemmpotential.

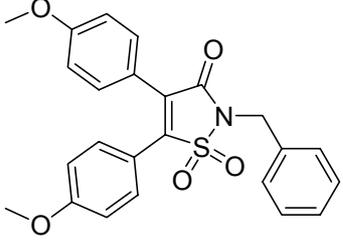
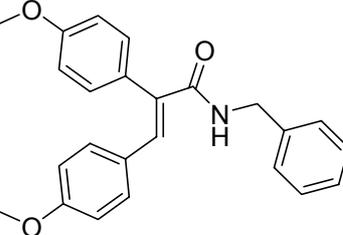
Werden an MSD11a allerdings β -ständige Carbonylfunktionen eingeführt, ist der Zugewinn an Hemmung wesentlich kleiner, bzw. die Inhibierung wird schwächer. Vergleicht man die benzylsubstituierten Derivate (MDA, MSD11b IC_{50} : 0,0058 μ M, MSD11c, IC_{50} : 0,018 μ M) mit den Phenacylderivaten (MDA, MSD11k IC_{50} : 0,097 μ M, MSD11l IC_{50} : 0,031 μ M), kann man eine Abnahme von ungefähr Faktor 5 für letztere feststellen.

Der Ester MSD11i (MDA, IC_{50} : 0,056 μ M) ist in einem ähnlichen Hemmbereich wie die Ketone anzutreffen, die Säure MSD11j (MDA, IC_{50} : 1,2 μ M) und das Säureamid MSD11n (MDA, IC_{50} : 1,55 μ M) sind in Bezug zur COX-1-Hemmung etwa um Faktor 20 schlechter. Wieder einmal zeigt sich eine Reduktion der Hemmung bei der Einführung einer aziden Gruppierung: MSD11j ist zwischen Faktor 3 (MSD11d) und Faktor 300 (MSD11f) schlechter als die Benzylderivate, zwischen Faktor 12 (MSD11k) und Faktor 38 (MSD11l) schlechter als die Ketone und um Faktor 5 schlechter wie das unsubstituierte, aber ebenfalls azide Derivat MSD11a.

In Summe bedeutet dies, dass die Einführung von Wasserstoffbrückenakzeptoren wie z.B. durch die Carbonylverbindungen, als ungünstig einzustufen ist. Günstig hingegen scheinen Phenylreste, z.B. in Form der Benzylderivate mit der Möglichkeit π,π -Wechselwirkungen auszubilden, zu sein.

4.1.1.4.8 Diarylpropensäureamid

Wie verändert die Reduktion von MSD11b zum ringoffenen MSD12a die COX-1-Hemmung (Tabelle 4-10)?

Struktur	Verbindung	^a COX-1 (12-HHT) IC ₅₀ [µM]	^a COX-1 (MDA) IC ₅₀ [µM]
	MSD11b	0,012 ^b	0,0058
	MSD12a	0,0046 ^b	0,0023

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 µM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen,

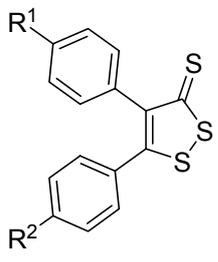
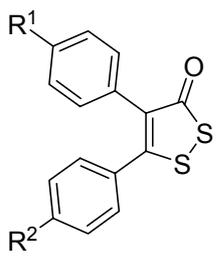
^b Hemmwert wurde mit dem Faktor aus Kapitel 4.1.1.3 berechnet

Tabelle 4-10: MSD12a

Strukturell ist durch die Ringöffnung ein N-substituiertes Diarylpropensäureamid-derivat entstanden. Diese Struktur ist wesentlich beweglicher, weil die Bindung der Carbonylgruppe an die Stilbenstruktur frei drehbar und der Stickstoff nicht mehr in einem Ringsystem gebunden ist. Sie besitzt zusätzlich zur Carbonylfunktion einen Wasserstoffbrückendonator in Form der NH-Gruppe des Säureamids. Interessanterweise verbessert sich die Hemmung der COX-1 im MDA-Test um Faktor 2 (MDA, MSD11b, IC₅₀: 0,0058 µM, MSD12a, IC₅₀: 0,0023 µM) und liegt damit auf dem Niveau der Leitstruktur MSD4a.

4.1.1.4.9 Dithiol-3-thione und Dithiol-3-one

Aus diesen beiden Substanzklassen wurden je zwei Derivate dargestellt, um das von Mattern [114] entwickelte Spektrum mit Substanzen ohne Mezhylsulfonyl-Einheit zu ergänzen (Tabelle 4-11).

Struktur	R ¹	R ²	Verbindung	^a COX-1 (12-HHT) IC ₅₀ [μM]	^a COX-1 (MDA) IC ₅₀ [μM]
	Cl	CH ₃	MSD15a	0,0063	0,0028
	CH ₃	Cl	MSD15b	1,5	0,33
	Cl	CH ₃	MSD16a	0,015	0,002
	CH ₃	Cl	MSD16b	0,15	0,054

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 μM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen,

^b Hemmwert wurde mit dem Faktor aus Kapitel 4.1.1.3 berechnet

Tabelle 4-11: Dithiol-3-thione und Dithiol-3-one

Die mit Chlor- und Methylgruppen substituierten Dithiol-3-thione und Dithiol-3-one sind, wie nach den Ergebnissen von Mattern [114] zu erwarten war, potente Hemmstoffe. Die Dithiol-3-thione und Dithiol-3-one scheinen, wenn man die Ergebnisse dieser beiden Substanzreihen vergleicht, recht ähnlich potent zu sein. Es fällt aber auf, dass in beiden Fällen die an C-4 mit p-Chlorophenyl-substituierten Derivate, um Faktor 100 bei den Dithiol-3-thionen bzw. um Faktor 10 bei den Dithiol-3-onen, gegenüber den Verbindungen, welche an C-5 mit einem p-Chlorophenylrest substituiert sind, überlegen sind. Dies ist ein Unterschied zu den Isothiazolen und Isoselenazolen mit dem gleichen Substitutionsmuster, denn diese zeigen keine signifikanten Unterschiede. Der Grund dafür ist wahrscheinlich im Heterozyklus zu finden. Die Dithiol-3-thione und Dithiol-3-one sind beide zum einen voluminöser als

die Isothiazole und Isoselenazole. Zum anderen scheint hier die Orientierung des Thion-Schwefels bei MSD15 in der COX-1-Bindungstasche wichtig zu sein. Wenn der Schwefel immer mit derselben Struktureinheit des Enzym wechselwirkt, dann wird bei unsymmetrisch substituierten Verbindungen (MSD15a 12-HHT: IC_{50} : 0,0063 μ M, MSD15b 12-HHT: IC_{50} : 1,5 μ M) die jeweiligen p-Substituenten der Regioisomere in verschiedenen Taschen der COX-1 dirigiert und können so verschieden starke Wechselwirkungen eingehen. Bei den Dithiol-3-onen verhält es sich ähnlich. Vergleicht man MSD16a (12-HHT IC_{50} : 0,015 μ M) mit MSD16b (12-HHT IC_{50} : 0,15 μ M) kann man ebenfalls erkennen, dass das Regioisomer MSD16a bevorzugt die COX-1 hemmt im Vergleich zum MSD16b.

4.1.1.4.10 Übersicht der COX-1-Inhibition

In Abb. 4-1 wird die COX-Hemmung der dargestellten Verbindungen in einem Schema dargestellt. Insgesamt sind der Isothiazolgrundkörper und der Isoselenazolgrundkörper als gleichwertig, eventuell mit einem leichten Vorteil für die Isoselenazole, einzuordnen. Das Propensäureamid wurde als weniger potent eingeordnet. Knapp dahinter folgen die benzylsubstituierten Isothiazol-(2H)-3-on-1,1-dioxide, im weiteren Abstand die Isothiazoliumverbindungen auf einem ähnlichen Niveau mit den Dithiol-3-thionen und Dithiol-3-onen. Wiederum etwas schwächer waren die Pyrrolderivate, vor den phenacylsubstituierten Isothiazol-(2H)-3-on-1,1-dioxiden und den unsubstituierten Isothiazol-(2H)-3-on-1,1-dioxiden.

Grundsätzlich sind die vicinalen Diarylheterozyklen vom Isothiazol-, Isoselenazol-, Dithiol-3-thion- und Dithiol-3-on-Typ wirksam. Wenn der MSD4a zum MSD11a oxidiert wird, geht die Hemmpotenz verloren. Durch Substitution von MSD1a mit Benzylchloriden an Position 2, wie zum Beispiel bei Substanz MSD11b oder MSD11h, steigt die Aktivität wieder. Durch den Benzylrest an MSD11b werden neue π,π -Wechselwirkungen möglich. Werden Phenacylreste oder Ester an MSD11a gebunden, ist zwar ein Anstieg der Hemmpotenz erkennbar, doch sind diese Verbindungen im Vergleich zu benzylsubstituierten Verbindungen geringer potent. Auch verliert die Isothiazolgrundstruktur bei der Überführung in Isothiazoliumsalze an Inhibitionsvermögen.

Bei der Betrachtung der verschiedenen p-Substituenten an den Arylresten der Isothiazole und Isoselenazole hat sich folgende Abstufung herauskristallisiert: Dimethoxyderivat > Methoxyderivat > Chlorderivat = Methylderivat > Hydroxyderivat > Dihydroxyderivat > Methylsulfonylderivat.

4. Pharmakologischer Teil

COX-1-Hemmung

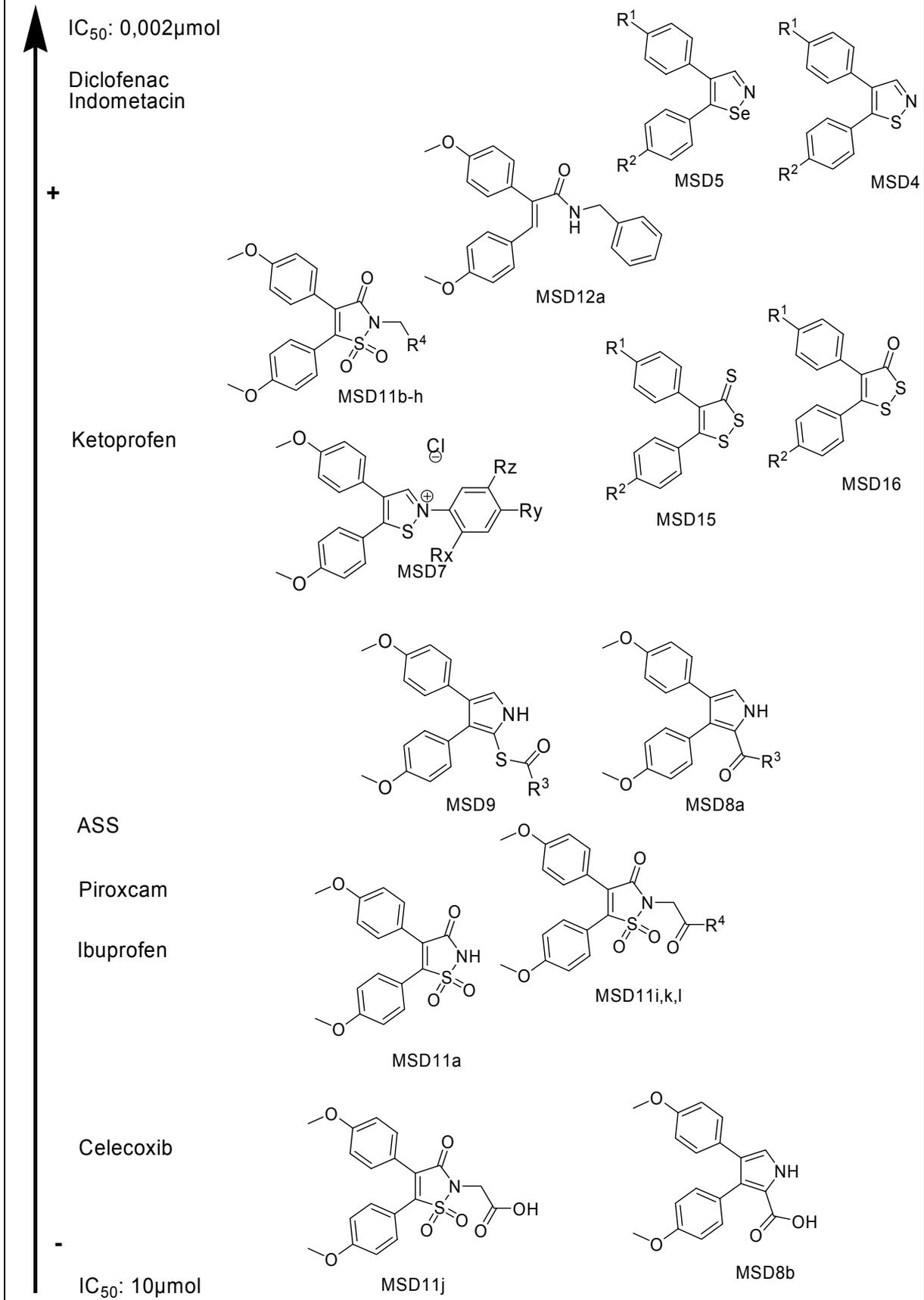


Abb. 4-1: Abstufung der COX-1 Potenz nach Strukturen

4.1.2 Hemmung der Cyclooxygenase-2

4.1.2.1 COX-2-Assay

Heparinhaltiges Humanblut wird mit einem Thromboxansynthase-Inhibitor (Isbogrel/CV-4151) und einem COX-1-Inhibitor (ASS) versetzt [23]. Die COX-2-Synthese wird mit Lipopolysaccharid (LPS) (außer beim Blindwert) aktiviert. Neben dem Blindwert (ohne LPS) werden die Stimulationskontrolle (mit LPS) und die Proben mit den Hemmstoffen angesetzt. Nach Inkubation wird ein ELISA durchgeführt. Die Platten sind mit einem Antikörper gegen PGE₂-Antikörper beschichtet. In die einzelnen Wells werden hintereinander die PGE₂-Lösung, eine definierten Menge an markiertem PGE₂ und PGE₂-Antikörper gegeben. Danach wird 18 h lang inkubiert, der Überstand entfernt und mit einer Waschlösung nachgespült. Es wird Ellmanns Reagenz dazugegeben und noch einmal eine Stunde lang inkubiert, bevor das Ganze im Elisaplattenlesegerät bei einer Absorptionswellenlänge von 405 nm ausgewertet wird.

4.1.2.2 Interpretation der COX-2-Testergebnisse

Im Gegensatz zu den sehr guten COX-1-Hemmungsergebnissen sind die COX-2-Hemmwerte um mehrere Zehnerpotenzen schlechter, was aber in der Natur des Testsystems liegt. Dieses Testsystem wird mit humanem Vollblut durchgeführt. Damit liegen zusätzliche Barrieren, Bindungs- und Metabolisierungsmöglichkeiten im Vergleich zum COX-1-Testsystem vor, bei dem mit isolierten Thrombozyten als Enzymquelle gearbeitet wurde.

4.1.2.2.1 Standardsubstanzen

Die COX-2-Hemmpotenzen sind bei den Standardsubstanzen in der Regel wesentlich schlechter als die COX-1-Hemmwerte. Celecoxib (IC₅₀: 0,8 µM) stellt hier eine Ausnahme dar, da es als COX-2-selektiver Inhibitor verstärkt die COX-2 hemmt. Diclofenac (IC₅₀: 0,013 µM) kommt als einzige Substanz in den zweistelligen nanomolaren Bereich, und das Indometacin (IC₅₀: 1 µM) ist ähnlich potent wie Celecoxib. ASS besitzt eine recht schwache Hemmung. Piroxicam und Ketoprofen liegen im IC₅₀-Bereich von 10 µM. Ibuprofen zeigte keine Wirkung, obwohl es nach Laufer [1,121] im COX-2-Vollblutassay bei einem IC₅₀-Wert von ungefähr 25µM liegen sollte (Tabelle 4-12).

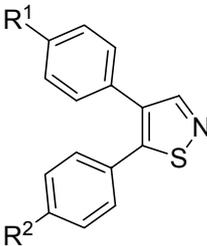
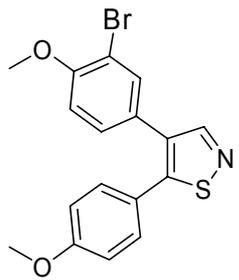
Name	^a COX-2 (Vollblut) IC ₅₀ [μM]
Acetylsalicylsäure	29%*
Ibuprofen	0%*/ 25 nach Lit. [1,121]
Ketoprofen	44%*
Piroxicam	47%*
Indometacin	1,2
Diclofenac	0,013
Celecoxib	0,8

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 μM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen

Tabelle 4-12: COX-2-Hemmwerte der Standardsubstanzen

4.1.2.2.2 Isothiazole

Die COX-2-Hemmdaten der Isothiazole werden in Tabelle 4-13 aufgeführt.

Struktur	R ¹	R ²	Verbindung	^a COX-2 (Vollblut) IC ₅₀ [μM]
	OCH ₃	OCH ₃	MSD4a	0,82
	CH ₃	OCH ₃	MSD4b	17%*
	CH ₃	Cl	MSD4c	14%*
	Cl	CH ₃	MSD4d	0%*
	Cl	Cl	MSD4e	4,2
	OCH ₃	Cl	MSD4f	0%*
	Cl	OCH ₃	MSD4g	15%*
	F	SO ₂ CH ₃	MSD4h	9,3
	H	H	MSD4i	0%
	OH	OH	MSD4j	16%**
	OH	OCH ₃	MSD4k	0%
	-	-	MSD4l	0%*

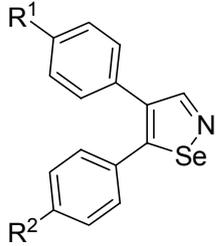
* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 μM, ** Hemmung in % bei einer Konzentration von 50 μM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen

Tabelle 4-13: COX-2-Hemmung der Isothiazole

Wie erwartet hemmt das methylsulfonylsubstituierte Derivat MSD4h (IC₅₀: 9,3 μM) potent die COX-2. Besser sind nur die beiden symmetrisch substituierten Verbindungen, das Dimethoxyderivat MSD4a (IC₅₀: 0,82 μM) und das Dichlorderivat

MSD4e (IC_{50} : 4,2 μ M), wobei MSD4a im selben Bereich wie Celecoxib liegt. Alle anderen Substanzen haben entweder eine sehr schwache oder keine Wirkung.

4.1.2.2.3 Isoselenazole

Struktur	R ¹	R ²	Verbindung	^a COX-2 (Vollblut) IC ₅₀ [μ M]
	OCH ₃	OCH ₃	MSD5a	8
	CH ₃	OCH ₃	MSD5b	0%*
	CH ₃	Cl	MSD5c	0%*
	Cl	CH ₃	MSD5d	0%*
	Cl	Cl	MSD5e	0%*
	OCH ₃	Cl	MSD5f	16%*
	Cl	OCH ₃	MSD5g	17%*
	F	SO ₂ CH ₃	MSD5h	0,6

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 μ M, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen

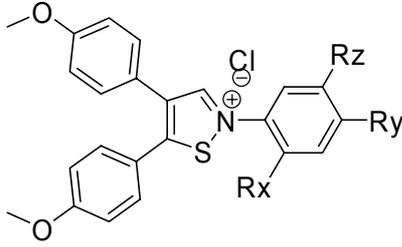
Tabelle 4-14: COX-2-Hemmwerte der Isoselenazole

Das Dimethoxyderivat MSD5a (IC_{50} : 8 μ M) und das Methylsulfonylderivat MSD5h (IC_{50} : 0,6 μ M), die korrespondierenden Selenvarianten der Isothiazole MSD4a und MSD4h, sind gute COX-2-Hemmer. MSD5h ist, wie MSD4a auch, ähnlich potent wie Celecoxib. Das Dichlorderivat MSD5e zeigte im Gegensatz zum gleich substituierten Isothiazolderivat MSD4e keine COX-2-Hemmung. Ebenfalls ohne COX-2-Hemmpotenz waren, wie bei den Isothiazolen auch, die Chlor- und Methyl-, die Methoxy- und Methyl- oder die Methoxy- und Chlorderivate.

Insgesamt erscheinen die Isoselenazole ähnlich potent zu sein, wie die Isothiazole, wobei es hier Unterschiede in der Potenz der einzelnen Derivate gibt. Bei den Isothiazolen ist das Dimethoxyderivat am wirksamsten, bei den Isoselenazolen das Methylsulfonylderivat.

4.1.2.2.4 Isothiazoliumderivate

Bei den Isothiazoliumchloriden stellte sich eine große Diskrepanz zwischen COX-1- und COX-2-Hemmung heraus (Tabelle 4-15).

Struktur	Rx	Ry	Rz	Verbindung	^a COX-2 (Vollblut) IC ₅₀ [μM]
	H	H	H	MSD7a	16%**
	H	OCH ₃	H	MSD7b	7%*
	H	Cl	H	MSD7c	28%*
	OCH ₃	H	C ₆ H ₅	MSD7d	11%**
	OCH ₃	H	<i>tert</i> -butyl	MSD7e	13%**
	H	H	OC ₆ H ₅	MSD7f	14%**

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 μM, ** Hemmung in % bei einer Konzentration von 50 μM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen

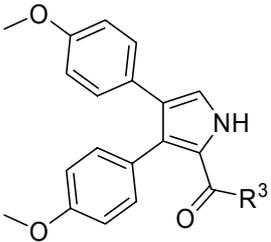
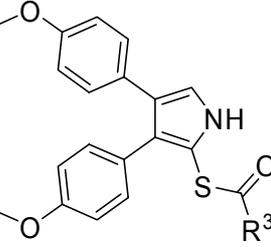
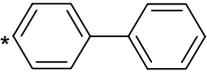
Tabelle 4-15: COX-2-Hemmdaten der Isothiazoliumchloride

Bei den Isothiazolen und Isoselenazolen gab es 3 bzw. 2 Substanzen, die eine gute bis sehr gute COX-2-Hemmung aufwiesen. Bei den Isothiazoliumchloriden ist dies nicht der Fall. Bei einer Substanz, MSD7c (29% Hemmung bei einer Konzentration von 10 μM, IC₅₀ ~ 50 μM), kann man von einer schwachen Hemmung sprechen. Die restlichen 5 Substanzen zeigten keine nennenswerte Hemmung.

Im COX-2-Assay scheint das positiv geladene Isothiazoliumion entweder nicht am Wirkort anzukommen, da es entweder vorher gebunden oder metabolisiert wird, oder die Struktur ist für die Diffusion in die Zellen zu polar.

4.1.2.2.5 Pyrrolverbindungen

Ähnlich wie bei den Isothiazoliumverbindungen fällt der Verlust der Hemmung beim Wechsel vom COX-1- auf den COX-2-Test bei den Pyrrolenverbindungen aus (Tabelle 4-16).

Struktur	R ³	Verbindung	^a COX-2 (Vollblut) IC ₅₀ [μM]
	OC ₂ H ₅	MSD8a	0%*
	OH	MSD8b	0%*
	C ₆ H ₅	MSD9a	0%*
		MSD9b	0%*

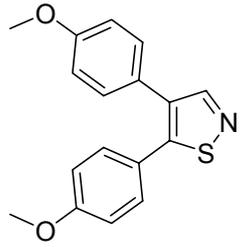
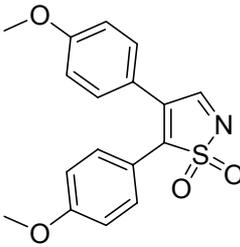
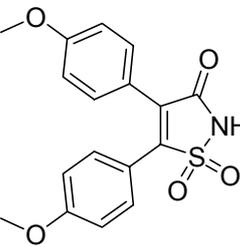
* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 μM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen

Tabelle 4-16: COX-2-Hemmwerte der Pyrrole

Bei den COX-1-Testergebnissen konnte man im Vergleich zum Isothiazol MSD4a einen Verlust an Hemmung auf ein Zwanzigstel (MSD9b) bis auf ein Zweitausendstel (MSD8b) beobachten, bei der COX-2 sind diese Derivate unwirksam.

4.1.2.2.6 MSD4a und dessen Oxidationsderivate

Von MSD4a konnten 2 oxidierte Varianten synthetisiert werden: MSD10a und MSD11a (Tabelle 4-17).

Struktur	Verbindung	^a COX-2 (Vollblut) IC ₅₀ [μM]
	MSD4a	0,82
	MSD10a	19%*
	MSD11a	0%*

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 μM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen

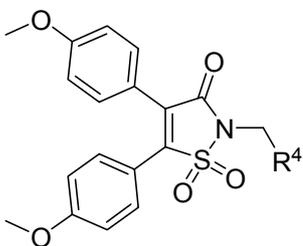
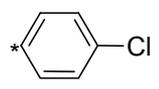
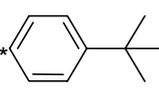
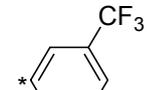
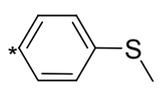
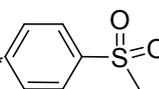
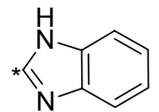
Tabelle 4-17: Hemmung nach Oxidation von MSD4a

Nach zweifacher Oxidation des Isothiazols MSD4a am Schwefelatom zu MSD10a verliert die Testsubstanz dramatisch an Hemmpotenz. Nach zusätzlicher Oxidation an Position 3 des Isothiazols verliert die Struktur jegliche Aktivität.

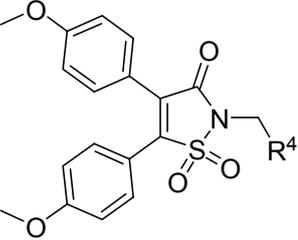
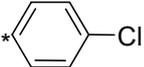
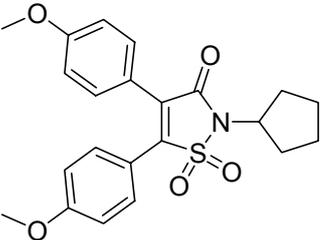
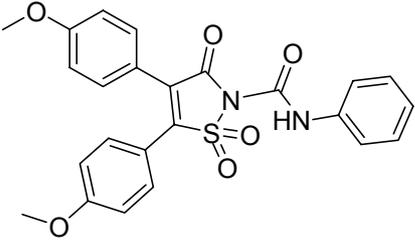
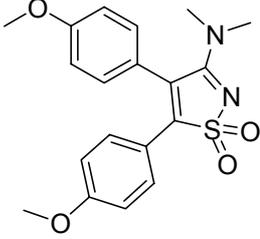
4.1.2.2.7 Derivate von MSD11a

N-substituierte Isothiazol-(2H)-3-on-1,1-Dioxide:

Neben MSD11a wurden auch sämtliche substituierten Isothiazol-(2H)-3-on-1,1-dioxide auf eine mögliche COX-2-Hemmung getestet. (Tabelle 4-18).

Struktur	R ⁴	Verbindung	^a COX-2 (Vollblut) IC ₅₀ [μM]
	C ₆ H ₅	MSD11b	0%*
		MSD11c	0%*
		MSD11d	0%*
		MSD11e	0%*
		MSD11f	0%*
		MSD11g	0%*
		MSD11h	0%*
	OC ₂ H ₅	MSD11i	0%*
	OH	MSD11j	0%*
	C ₆ H ₅	MSD11k	0%*

Fortsetzung:

Struktur	R ⁴	Verbindung	^a COX-2 (Vollblut) IC ₅₀ [μM]
		MSD11l	0%*
	-	MSD11m	0%*
	-	MSD11n	0%*
	-	MSD11o	8%**

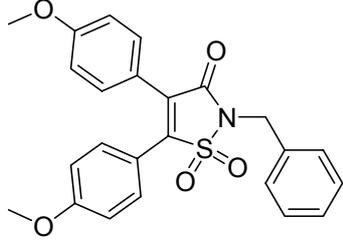
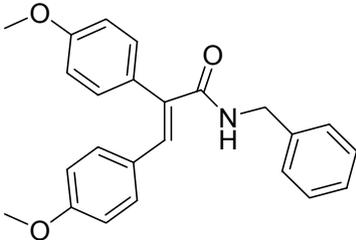
* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 μM, ** Hemmung in % bei einer Konzentration von 50 μM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen

Tabelle 4-18: COX-2-Hemmwerte der Isothiazol-(2H)-3-on-1,1-dioxidderivate

Sämtliche Derivate waren unwirksam.

4.1.2.2.8 Diarylpropensäureamid

MSD12a ist das ringoffene Reduktionsprodukt von MSD11b (Tabelle 4-19).

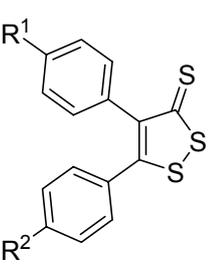
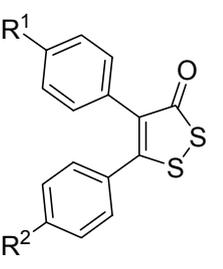
Struktur	Verbindung	^a COX-2 (Vollblut) IC ₅₀ [μM]
	MSD11b	0%*
	MSD12a	40%*

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 μM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen

Tabelle 4-19: MSD12a

Nach reduktiver Ringöffnung von MSD11b zu MSD12a (40% Hemmung bei einer Konzentration von 10 μM, IC₅₀ ~ 20 μM) steigt die Hemmpotenz von Null auf einen IC₅₀-Wert von ca. 20 μM an. Nicht der klassische Diarylheterozyklus ist hier die hemmende Struktur, sondern das ringoffene Diarylpropensäureamid. Um zu sichern, ob die Diarylacrylsäureamide eine interessante Struktur bezogen auf die COX-2-Hemmung sind, müssen weitere Derivate hergestellt werden.

4.1.2.2.9 Dithiol-3-thione und Dithiol-3-one

Struktur	R ¹	R ²	Verbindung	^a COX-2 (Vollblut) IC ₅₀ [μM]
	Cl	CH ₃	MSD15a	0%*
	CH ₃	Cl	MSD15b	19%*
	Cl	CH ₃	MSD16a	14%*
	CH ₃	Cl	MSD16b	0%*

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 μM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen

Tabelle 4-20: Dithiol-3-thione und Dithiol-3-one

Im Gegensatz zu den von Mattern [114] entwickelten dimethoxy- und methylsulfonylsubstituierten Derivaten sind die mit Chlor- und Methylresten substituierten Verbindungen nicht bis wenig wirksam. Damit passen diese Ergebnisse zu den COX-2-Hemmwerten der Isothiazole und Isoselenazole mit entsprechenden Derivatisierungsmuster.

4.1.2.2.10 Übersicht der COX-2-Hemmung

Insgesamt sind 6 Substanzen (siehe Abb. 4-2) im Vollbluttest wirksam, die Isothiazole MSD4a (IC_{50} : 0,8 μ M), MSD4e (IC_{50} : 4,2 μ M) und MSD4h (IC_{50} : 9,3 μ M), die Isoselenazole MSD5a (IC_{50} : 8 μ M) und MSD5h (IC_{50} : 0,6 μ M) und das Diarylpropensäureamid MSD12a (40% Hemmung bei einer Konzentration von 10 μ M, IC_{50} ~ 20 μ M). Von diesen sind zwei Verbindungen, MSD4a und MSD5h, ähnlich potent wie Celecoxib, wobei MSD4a als unselektiver COX-Hemmer einzustufen ist. MSD5h gehört, ähnlich wie das Celecoxib, in die Klasse der COX-2-selektiven Wirkstoffe.

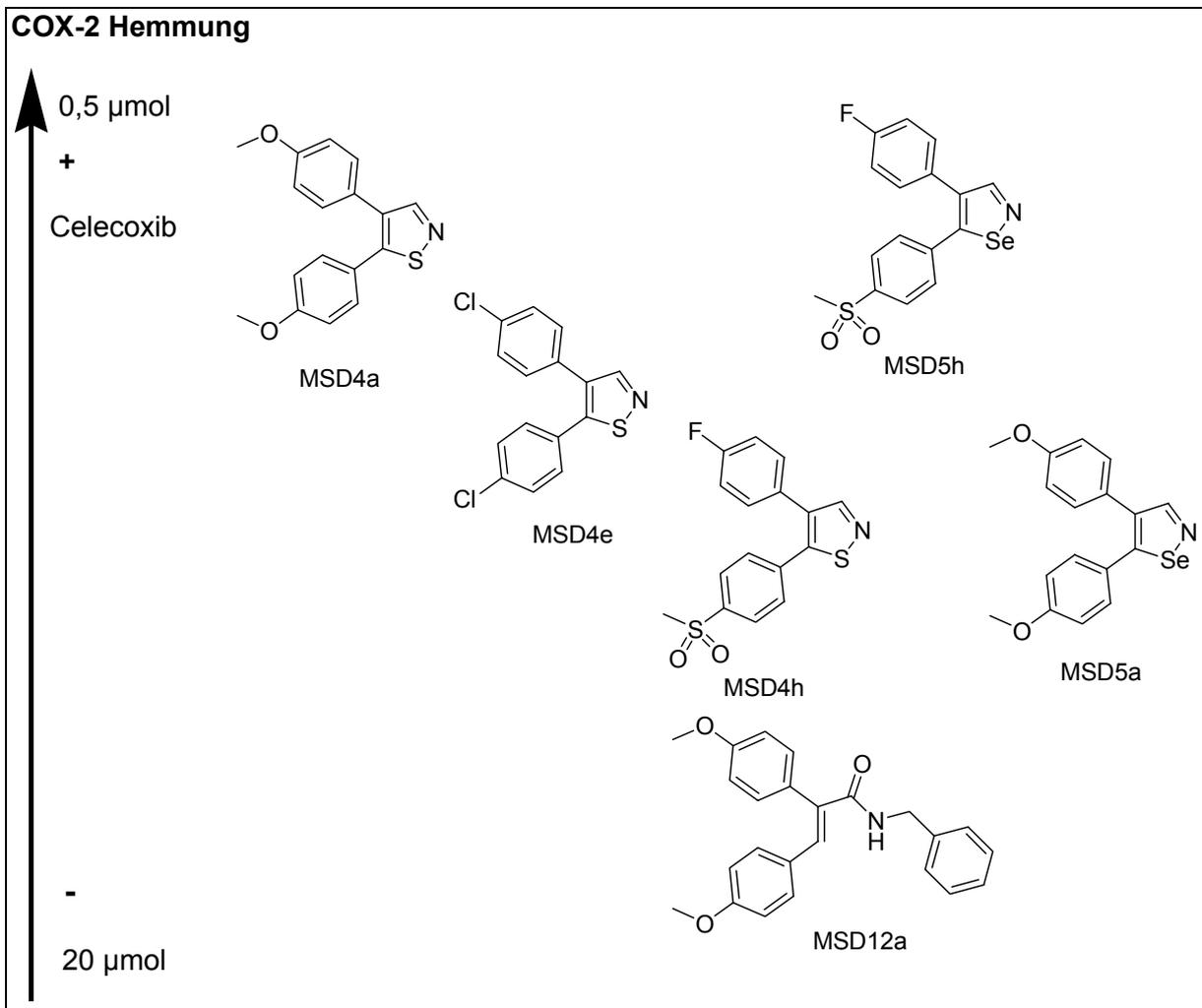


Abb. 4-2: COX-2-Hemmer im Überblick

4.1.3 5-Lipoxygenase

4.1.3.1 5-LOX-Assay

Dieses Testsystem beruht auf der von Dannhardt und Lehr [120] entwickelten HPLC Methode. In diesem Assay werden polymorphkernige Rinderleukozyten mit Calcium-Ionophor A23187 aktiviert. Die Arachidonsäurekaskade führt bei diesen Zellen (keine Cyclooxygenasen vorhanden) durch die 5-LOX unter anderem zu 5-HETE und LTB₄. Nach 5 Minuten wird zum Abbrechen der Reaktion NDGA und als interner Standard PGB₂ dazugegeben. Nach einem Verdünnungsschritt erfolgt die quantitative Bestimmung von LTB₄ bei einer Detektorwellenlänge von 270 nm. Weitere Einzelheiten siehe Quelle [120].

4.1.3.2 Interpretation der 5-LOX-Testergebnisse

4.1.3.2.1 Standardsubstanzen

Die klassischen NSAR wie ASS (0% Hemmung bei einer Konzentration von 10 µM), Ibuprofen (15% Hemmung bei einer Konzentration von 10 µM), Diclofenac (16% Hemmung bei einer Konzentration von 10 µM) usw. zeigen keine bzw. eine vernachlässigbare Hemmung. Nur der bekannte 5-LOX-Hemmer die Nordihydroguaretsäure (NDGA, IC₅₀: 1,2 µM) und der duale COX/LOX-Hemmer Licofelon (IC₅₀: 0,18 µM) zeigten gute Hemmwerte.

4. Pharmakologischer Teil

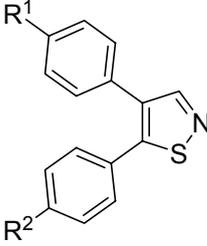
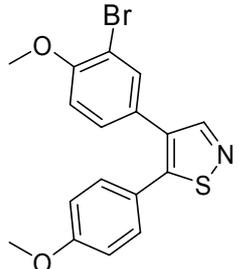
Name	^a 5-LOX μ M
Acetylsalicylsäure	0%*
Ibuprofen	15%*
Piroxicam	0%*
Indometacin	5%*
Diclofenac	16%*
Licofelon	0,18
NDGA	1,2
Ebselen	54%*

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 μ M, ** Hemmung in % bei einer Konzentration von 50 μ M, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen

Tabelle 4-21: 5-LOX-Hemmwerte der Standardsubstanzen

4.1.3.2.2 Isothiazole

In Tabelle 4-22 werden die Ergebnisse der 5-LOX-Hemmung für die Isothiazole aufgeführt.

Struktur	R ¹	R ²	Verbindung	^a 5-LOX
	OCH ₃	OCH ₃	MSD4a	37%*
	CH ₃	OCH ₃	MSD4b	65%*
	CH ₃	Cl	MSD4c	30%*
	Cl	CH ₃	MSD4d	12%*
	Cl	Cl	MSD4e	0%*
	OCH ₃	Cl	MSD4f	30%*
	Cl	OCH ₃	MSD4g	41%*
	F	SO ₂ CH ₃	MSD4h	45%*
	H	H	MSD4i	81%*
	OH	OH	MSD4j	40%**
OH	OCH ₃	MSD4k	47%*	
	-	-	MSD4l	0%*

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 µM, ** Hemmung in % bei einer Konzentration von 50µM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen

Tabelle 4-22: 5-LOX-Hemmwerte der Isothiazole

Allgemein sind die Isothiazole mittelpotent bis schwach wirksam. Alle Derivate scheinen ähnlich wirksam zu sein.

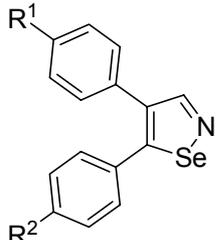
Zwei Merkmale fallen auf:

1. Durch eine p-Substitution mit Chloratomen verlieren die Isothiazole an Potenz.
2. Das unsubstituierte MSD4i (81% Hemmung bei einer Konzentration von 10 μM) hat den besten Hemmwert.

Das aktive Zentrum der 5-LOX ist eine lipophile längliche Bindungstasche [55], doch sind die bekannten 5-LOX-Hemmer [55] unterschiedlich lipophil. Bei den Isothiazolen ergeben sich auch bei den nicht mit Chlor substituierten Derivaten unterschiedliche berechnete clog P-Werte von 2,84 (MSD4h) bis 4,7 (MSD4b), so dass auch hier keine Proportionalität der Lipophilie der Substanz zu deren 5-LOX-Hemmung nachgewiesen werden kann (siehe Kapitel 6.3).

4.1.3.2.3 Isoselenazole

Im Vergleich zu den Isothiazolen sind die Isoselenazole im Durchschnitt potenter in Bezug auf die 5-LOX-Hemmung (vgl. Tabelle 4-23).

Struktur	R ¹	R ²	Verbindung	^a 5-LOX IC ₅₀ IC ₅₀ [μM]
	OCH ₃	OCH ₃	MSD5a	58%*
	CH ₃	OCH ₃	MSD5b	64%*
	CH ₃	Cl	MSD5c	67%*
	Cl	CH ₃	MSD5d	45%
	Cl	Cl	MSD5e	44%*
	OCH ₃	Cl	MSD5f	42%*
	Cl	OCH ₃	MSD5g	53%*
	F	SO ₂ CH ₃	MSD5h	60%*/ 8,4

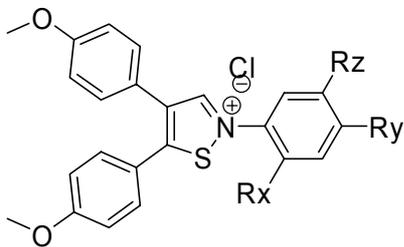
* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 μM , ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen

Tabelle 4-23: 5-LOX-Hemmwerte der Isoselenazole

Die Hemmung der Isoselenazole ist bei sieben verschiedenen p-Substitutionsmustern besser als die Hemmung der entsprechend substituierten Isothiazole (MSD5a, MSD5c-5h). MSD5b hingegen liegt in einem ähnlichen Niveau wie das entsprechend substituierte MSD4b. Die Isoselenazole hemmen die 5-LOX ähnlich potent wie das Ebselen (52% bei 10µM, IC₅₀ ~ 10 µM). Im Gegensatz zu den Isothiazolen verursacht eine Chlorsubstitution keine Minderung in der Hemmung der 5-LOX.

4.1.3.2.4 Isothiazoliumderivate

Bei den Isothiazoliumchloriden ist eine starke Schwankung der 5-LOX-Hemmung bezogen auf den N-Substituenten zu beobachten (Tabelle 4-24).

Struktur	Rx	Ry	Rz	Verbindung	^a 5-LOX
	H	H	H	MSD7a	0%**
	H	OCH ₃	H	MSD7b	0%*
	H	Cl	H	MSD7c	27%*
	OCH ₃	H	C ₆ H ₅	MSD7d	24%*
	OCH ₃	H	<i>tert</i> -butyl	MSD7e	46%*
	H	H	OC ₆ H ₅	MSD7f	44%*

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 µM, ** Hemmung in % bei einer Konzentration von 50µM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen

Tabelle 4-24: 5-LOX-Hemmdaten der Isothiazoliumchloride

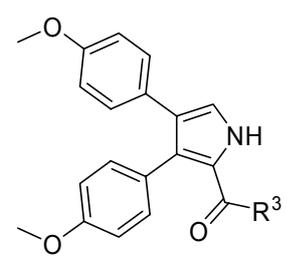
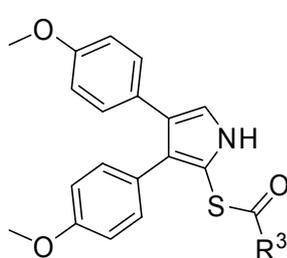
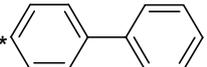
Grundsätzlich ist es überraschend, dass die polaren Isothiazoliumionen zum Teil mittelpotente 5-LOX-Hemmer sind. Auch sind die Struktur-Wirkungs-Beziehungen interessant, da hier große Schwankungen bei kleinen Strukturveränderungen ersichtlich werden. Die Reihe MSD7a, MSD7b und MSD7c unterscheiden sich nur im p-Substituenten und sind aber verschieden im Hemmpotential. Ohne p-Substituent oder mit Methoxygruppe als p-Substituenten des N-Phenylrestes ist keine Hemmung

zu beobachten. Tauscht man die Methoxygruppe hingegen gegen einen Chlorrest aus, wird die 5-LOX zu 27% bei einer Konzentration von 10 μM gehemmt.

Noch interessanter ist der Strukturansatz mit in Metaposition substituierten N-Phenylresten eine 5-LOX-Hemmung zu erreichen bzw. diese zu steigern (siehe Kapitel 5.2). MSD7f ist mit einem beweglichen Phenoxyrest in Metaposition des N-Benzylrestes substituiert. Das Hemmvermögen liegt bei 44% bei 10 μM und stellt im Vergleich zum unsubstituierten MSD7a (0% Hemmung bei einer Konzentration von 50 μM) eine sehr große Steigerung dar. Auch eine Substitution mit einem Methoxyrest und zusätzlicher Phenylgruppe in Metaposition bei MSD7d (24% Hemmung bei 10 μM) ergibt eine leichte Steigerung der Hemmung im Vergleich zum unsubstituierten MSD7a. Tauscht man bei MSD7d den Phenylrest in Metaposition gegen einen tert-Butylrest (MSD7e) aus, ist es möglich die Hemmung auf 46% bei 10 μM zu steigern.

4.1.3.2.5 Pyrrolverbindungen

Auch die Pyrrolderivate bringen hinsichtlich der 5-LOX-Hemmpotenz, ähnlich wie die Isothiazoliumionen, keine Verbesserung gegenüber MSD4a (Tabelle 4-25).

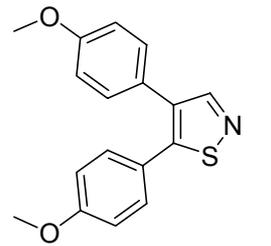
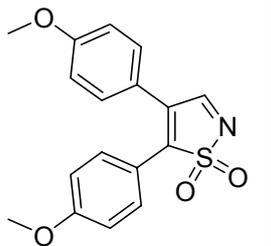
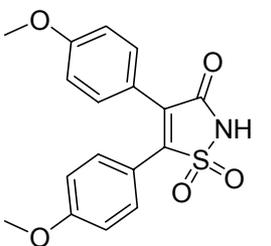
Struktur	R ³	Verbindung	^a 5-LOX
	OC ₂ H ₅	MSD8a	0%*
	OH	MSD8b	28%*
	C ₆ H ₅	MSD9a	39%*
		MSD9b	10%*

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 μM , ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen

Tabelle 4-25: 5-LOX-Hemmwerte der Pyrrolderivate

Interessant ist, dass der Ester MSD8b im Gegensatz zur Säure MSD8a eine schwache 5-LOX-Hemmung erkennen lässt. MSD9a und MSD9b wirken ähnlich schwach.

4.1.3.2.6 MSD4a und dessen Oxidationsderivate:

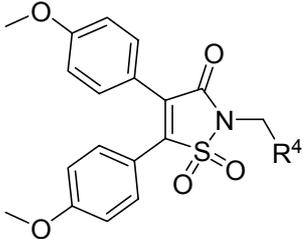
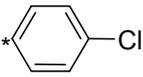
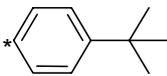
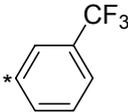
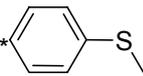
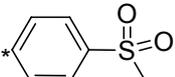
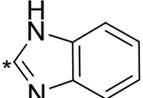
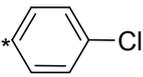
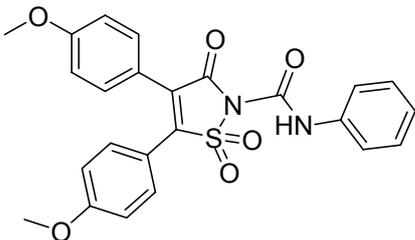
Struktur	Verbindung	^a 5-LOX IC ₅₀ [µM]
	MSD4a	37%*
	MSD10a	4
	MSD11a	0

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 µM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen

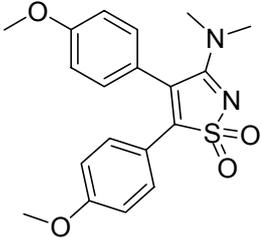
Tabelle 4-26: 5-LOX-Inhibition nach Oxidation von MSD4a

Nach Oxidation zum MSD10a wurde aus dem mäßig potenten MSD4a (37% Hemmung bei einer Konzentration von 10 µM, IC₅₀ ~ 30 µM) ein potenter 5-LOX-Inhibitor (MSD10a, IC₅₀: 4 µM). Nach zusätzlicher Oxidation an C-3 zum MSD11a geht hingegen die Potenz verloren. Diesen Verlust an Inhibition kann nicht mit der NH-Azidität von MSD11a erklärt werden, da nach Substitution am N-Atom inaktive Verbindungen resultieren (siehe nächstes Kapitel).

4.1.3.2.7 Substitution an MSD11a

Struktur	R ⁴	Verbindung	^a 5-LOX
	C ₆ H ₅	MSD11b	0%*
		MSD11c	0%*
		MSD11d	0%*
		MSD11e	0%*
		MSD11f	0%*
		MSD11g	0%*
		MSD11h	0%*
	OC ₂ H ₅	MSD11i	0%*
	OH	MSD11j	0%*
	C ₆ H ₅	MSD11k	0%*
		MSD11l	0%*
	-	MSD11n	0%*

Fortsetzung

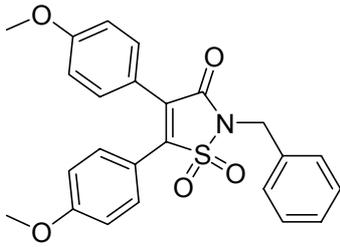
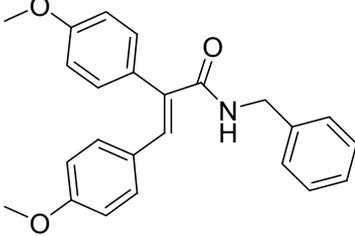
Struktur	R ⁴	Verbindung	^a 5-LOX
	-	MSD11o	14%**

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 µM, ** Hemmung in % bei einer Konzentration von 50µM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen

Tabelle 4-27: 5-LOX-Hemmwerte der Isothiazol-(2H)-3-on-1,1-dioxidderivate

Alle Verbindungen mit Ausnahme von 3-(Dimethylamin)isothiazol-1,1-dioxidderivat MSD11o sind inaktiv.

4.1.3.2.8 Diarylpropensäureamid MSD12a

Struktur	Verbindung	^a 5-LOX
	MSD11b	0%*
	MSD12a	0%*

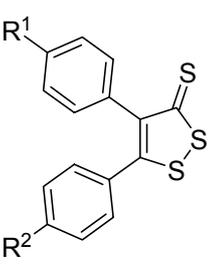
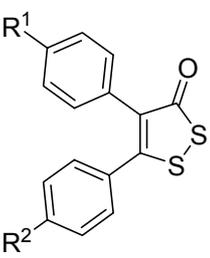
* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 µM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen

Tabelle 4-28: MSD12a

Beide Substanzen sind im 5-LOX-Test nicht wirksam.

4.1.3.2.9 Dithiol-3-thione und Dithiol-3-one

Wie schon in der Arbeit von Mattern [114] zu sehen, ist die Dithiol-3-thiongrundstruktur potenter im Vergleich zu den Dithiol-3-onen (vgl. Tabelle 4-29).

Struktur	R ¹	R ²	Verbindung	^a 5-LOX
	Cl	CH ₃	MSD15a	22%*
	CH ₃	Cl	MSD15b	36%*
	Cl	CH ₃	MSD16a	0%*
	CH ₃	Cl	MSD16b	0%*

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 µM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen

Tabelle 4-29: Dithiol-3-thione und Dithiol-3-one

Nach Substitution des Schwefels durch Sauerstoff geht die schwache Potenz von MSD15a (22% Hemmung bei einer Konzentration von 10 µM) und MSD15b (36% Hemmung bei einer Konzentration von 10 µM), IC₅₀ ~ 50 µM) zu MSD16a und MSD16b (0% Hemmung bei einer Konzentration von 10 µM) verloren.

4.1.3.2.10 Übersicht der 5-LOX-Inhibition

Im Rahmen dieser Arbeit war es möglich mehrere Grundstrukturen mit 5-LOX-Hemmung zu synthetisieren. Die 8 potentesten Verbindungen sind das MSD10a (IC₅₀: 4 µM), MSD4i (81% Hemmung bei einer Konzentration von 10 µM, IC₅₀ ~ 4-6 µM), MSD5c (67% Hemmung bei einer Konzentration von 10 µM, IC₅₀ ~ 6-8 µM), MSD4b (65% Hemmung bei einer Konzentration von 10 µM, IC₅₀ ~ 6-8 µM), MSD5b (64% Hemmung bei einer Konzentration von 10 µM, IC₅₀ ~ 6-8 µM), MSD5h (60% Hemmung bei einer Konzentration von 10 µM, IC₅₀: 8,2 µM), MSD5a (58% Hemmung

bei einer Konzentration von 10 μM , $\text{IC}_{50} \sim 8\text{-}10 \mu\text{M}$) und das MSD5g (53% Hemmung bei einer Konzentration von 10 μM , $\text{IC}_{50} \sim 10 \mu\text{M}$).

Grundsätzlich ist für die 5-LOX-Hemmung der heterocyclische Grundkörper von Bedeutung. Das Isoselenazol wird hier als bester Grundkörper angesehen, da alle 8 Isoselenazole gute Hemmpotenzen aufwiesen (Abb. 4-3).

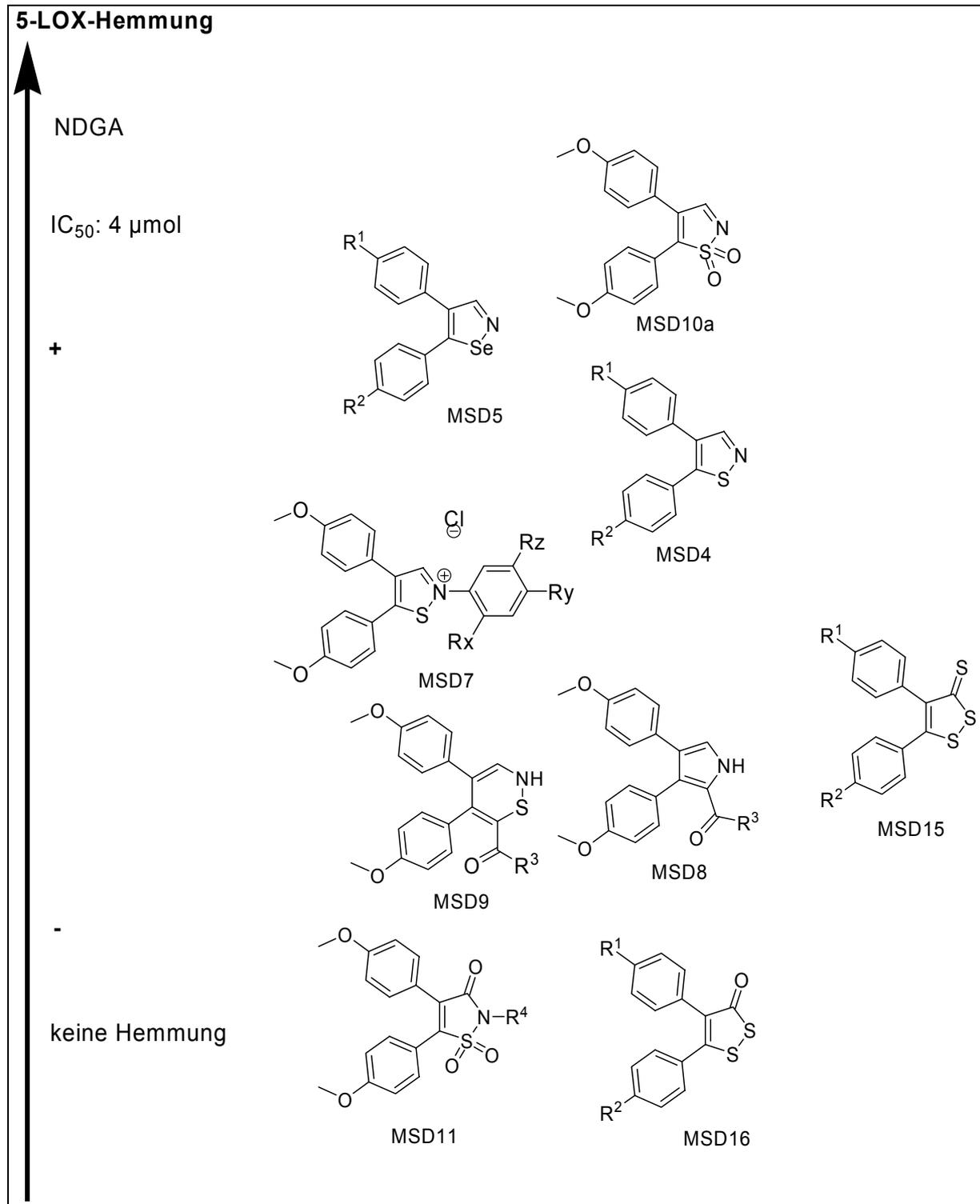


Abb. 4-3: Grundstrukturen nach 5-LOX-Inhibition geordnet

4.1.4 Überblick der Arachidonsäurekaskadehemmung

Ein Ziel dieser Arbeit war es, duale COX/LOX-Inhibitoren darzustellen (Abb. 4-4).

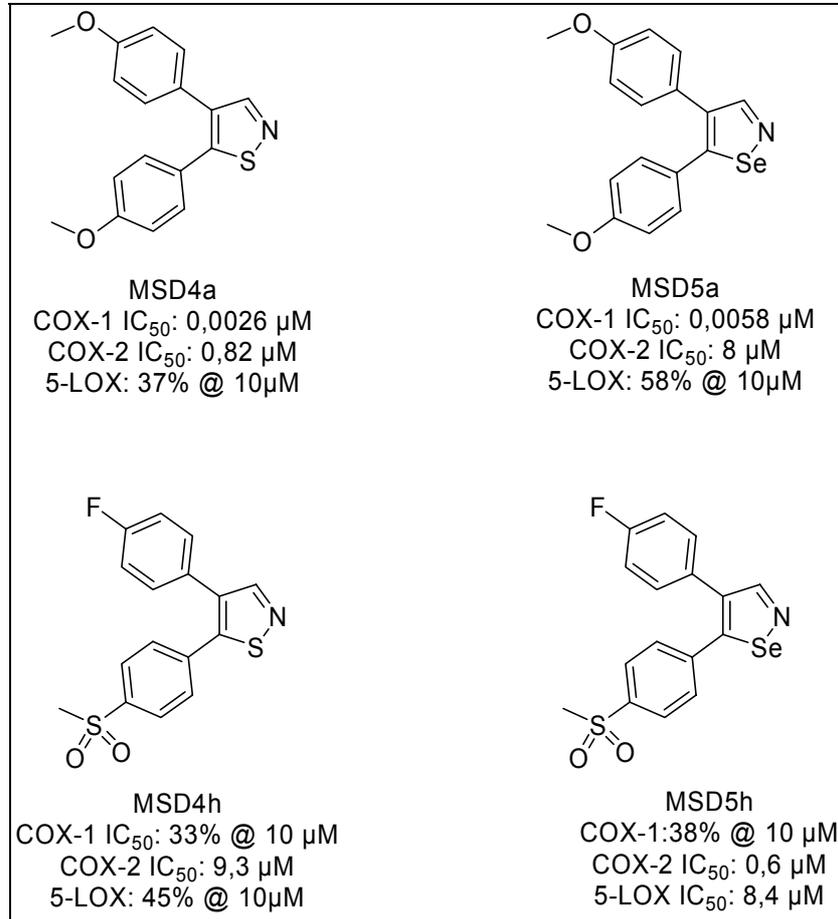


Abb. 4-4: Vier duale COX/LOX-Inhibitoren im Vergleich

Mit MSD4a und MSD5a wurden zwei duale Inhibitoren dargestellt, welche sehr potent die COX-1 und COX-2 hemmen, aber auch mittelpotente 5-LOX-Inhibitionseigenschaften aufweisen. MSD4h und MSD5h hemmen potent die COX-2, weniger stark die COX-1, was aufgrund der charakteristischen COX-2-selektiven Substitutionsmuster nicht verwunderlich ist, und mittelpotent die 5-LOX.

4.2 Abfangen von Hydroxylradikalen im zellfreien Assay

Wie in Kapitel 1.3 beschrieben wurde, konzentrierte sich die Bestimmung der Radikalfängereigenschaften auf das reaktivste Radikal, das Hydroxylradikal. Dieses wird hauptverantwortlich für oxidative Schäden an Enzymen, Proteinen und DNS gemacht [82] und es kann leicht aus H_2O_2 , O_2^- und HOCl entstehen.

Dieses Kapitel behandelt mehrere Punkte:

- 4.2.1 Beschreibung des Hydroxylradikalassays
- 4.2.2 Interpretation der Ergebnisse
- 4.2.3 Struktur-Wirkungs-Beziehungen

4.2.1 Hydroxylradikalassay

4.2.1.1 Grundlagen des Assays

Das Prinzip dieses Assays beruht auf einem Spintrapverfahren. Es werden Hydroxylradikale mit Hilfe der Fenton-Reaktion erzeugt, welche wiederum mit dem Spintrap DEPMPO zu DEPMPO-OH-Radikalen reagieren. Diese werden mit einer Halbwertszeit von 15 Minuten ESR-spektroskopisch vermessen (Abb. 4-5).

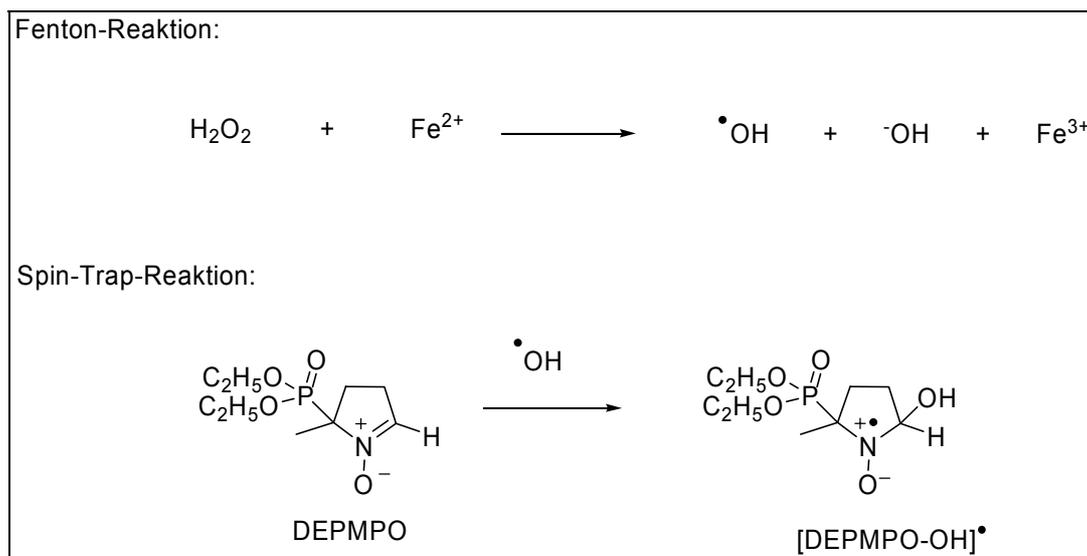


Abb. 4-5: Wichtige Reaktionen im ESR-Assay

4. Pharmakologischer Teil

Das DEPMPO-OH-Radikal ergibt ein charakteristisches ESR-Spektrum. Die Testsubstanzen reagieren nun in Konkurrenz zum DEPMPO mit den OH-Radikalen und schwächen die Signalamplitude des DEPMPO-OH-Signals entsprechend der Potenz ab. Sehr schön kann dies am Beispiel der Standardsubstanz α -Liponsäure gezeigt werden (Abb. 4-6). Bei einer Konzentration von 100 μM α -Liponsäure ist kein Signal, sondern nur noch Grundrauschen zu erkennen. Dies wurde als 100%ige Hemmung bei der Datenauswertung bewertet. Das Spektrum von 10 $\mu\text{molarer}$ α -Liponsäure zeigt ein stark gedämpftes Signal. Das Spektrum von 1 $\mu\text{molarer}$ α -Liponsäure sieht nahezu wie die Acetonitrilkontrolle aus und weist nur eine sehr geringfügige Hemmung auf.

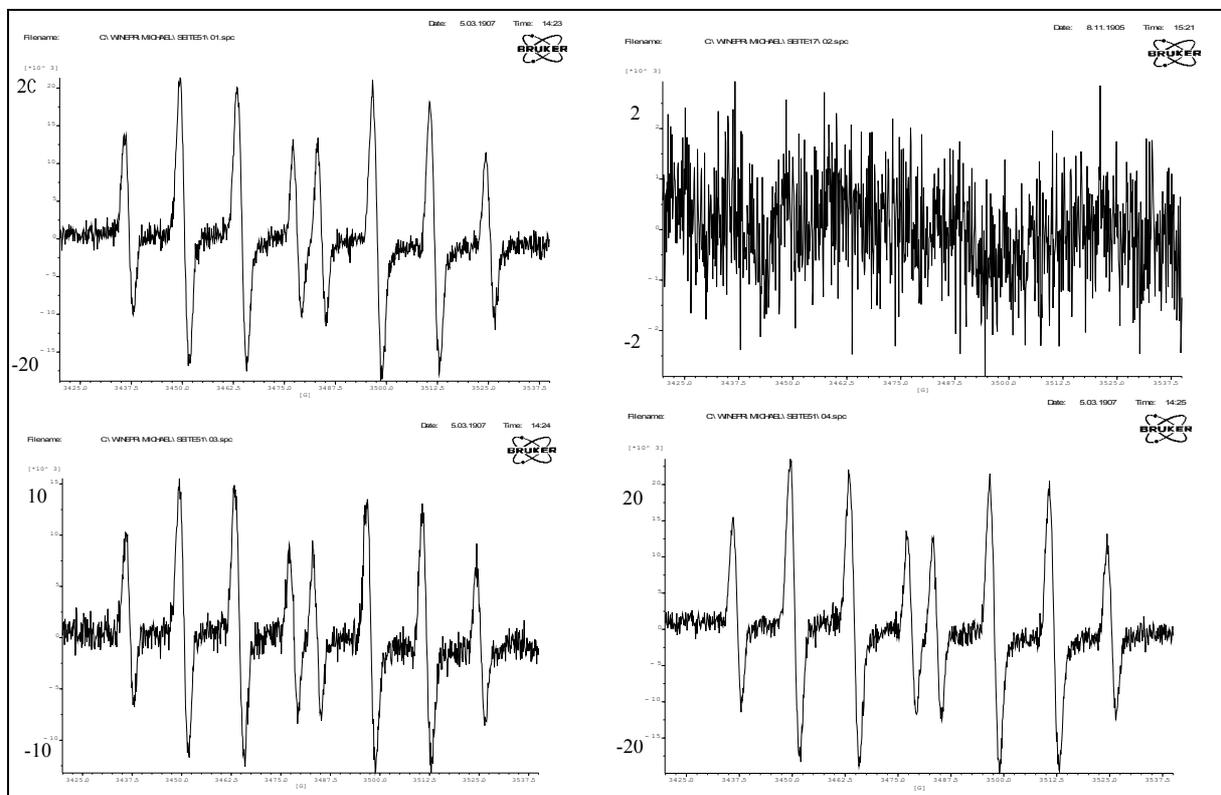


Abb. 4-6: ESR-Spektren: links oben: Acetonitril-Vergleich (0%-Hemmung), rechts oben: 100 μM α -Liponsäure (100%-Hemmung), links unten 10 μM α -Liponsäure (45% Hemmung), rechts unten: 1 μM α -Liponsäure (0%-Hemmung)

Die in dieser Arbeit verwendete Methode wurde von Frejaville et al. [122] entwickelt und von Mattern [123] modifiziert. In Tabelle 4-30 sind die Werte der Geräteparameter aufgeführt.

Parameter	Wert
Receiver Gain	$3,99 \cdot 10^5$
Modulation Amplitude	3,0 G
Time Constant	0,64 ms
Conversion Time	81,92 ms
Attenuation	4ms

Tabelle 4-30: Geräteparameter

Die Proben wurden folgendermaßen vorbereitet: In einem Eppendorfcap wurden 192 μl H_2O (Milliporqualität) vorgelegt. Als nächstes wurden 2 μl der Probenlösung (10 mmol, 1 mmol oder 0,1 mmol in Acetonitril gelöst) in die wässrige Phase pipettiert. Bei der Zugabe von 2 μl DEPMPO-Lösung (20 mmolar, gelöst in H_2O), 2 μl FeSO_4 -Lösung (5 mmolar, gelöst in H_2O) und 2 μl H_2O_2 -Lösung (2,5 mmolar, gelöst in H_2O) ist es äußerst wichtig diese als kleine Tropfen an die Wand des Eppendorfcaps zu pipetieren, um einen zu frühen Start der Reaktion und eine Reaktion der Testsubstanzen mit den einzelnen Reagenzien (z.B. Oxidation durch H_2O_2) zu vermeiden.

Die Reaktion wurde durch 15 Sekunden langes Vortexen gestartet. Dabei wird der Timer aktiviert, so dass nach exakt 90 Sekunden mit der Messung begonnen werden kann. Während dieser Zeit muss die Lösung in eine 100 μl Kapillare (Firma Hirschmann) luftblasenfrei aufgenommen (eine Füllhöhe von 1,5-2 cm reicht aus, um das Messsignal in dem Messraum (Cavity) des ESR-Spektrometers aufnehmen zu können), mit Wachs verschlossen und in die Messeinheit des ESR-Spektrometers gebracht werden.

Die Tuningoperation, die nötig ist, um den Messbereich des DEPMPO-OH-Signal zu finden und das Signal auch möglichst rauscharm darzustellen, muss ebenfalls innerhalb der 90 s abgeschlossen sein. In Tabelle 4-31 sind die Konzentrationen der Reagenzien aufgeführt.

Reagenz	Menge
Wasser	192 µl
Testsubstanz/Acetonitril	2 µl
DEPMPO 20mmol	2 µl
FeSO ₄ 5mmol	2 µl
H ₂ O ₂ 2,5mmol	2 µl
Inkubationszeit	90 s

Tabelle 4-31: Konzentrationen der Reagenzien

Die einzige Veränderung im Vergleich zu dem von Mattern [123] entwickelten System ist eine leichte Erhöhung der DEPMPO-Endkonzentration von 150 auf 200 µM, was ein etwas stärkeres Messsignal ergab, aber nur geringfügige Änderung in der Potenz der Substanzen zur Folge hatte (siehe Tabelle 4-32).

Substanz	IC ₅₀ Mattern ^{a,b}	IC ₅₀ Scholz ^a
	DEPMPO-Konzentration = 150 µM	DEPMPO-Konzentration = 200 µM
Liponsäure	5,5 µM	12 µM
AMD23 ^b	41%*	27%*
AMD26 ^b	5 µM	4,5 µM
AMD52 ^b	7 µM	3 µM

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 100µM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 3 Messungen,

^b Synthese und Hemmdaten sind in der Dissertation von Mattern aufgeführt [114]

Tabelle 4-32: Vergleich von Testergebnissen nach leichter Erhöhung der DEPMPO-Konzentration

4.2.1.2 Auswertung der Spektren

Ausgewertet wurden die Spektren mit der Software WIN-EPR (Version 921201.8). Es wurde das Integral des Spektrums berechnet und die Basislinie des 2. Signals korrigiert (Prozedur „baseline correction“), um eine annähernde Gaussform zu erreichen. Danach wurde dessen Signalintensität mit der Prozedur „peak picking“ berechnet (Abb. 4-7)[124].

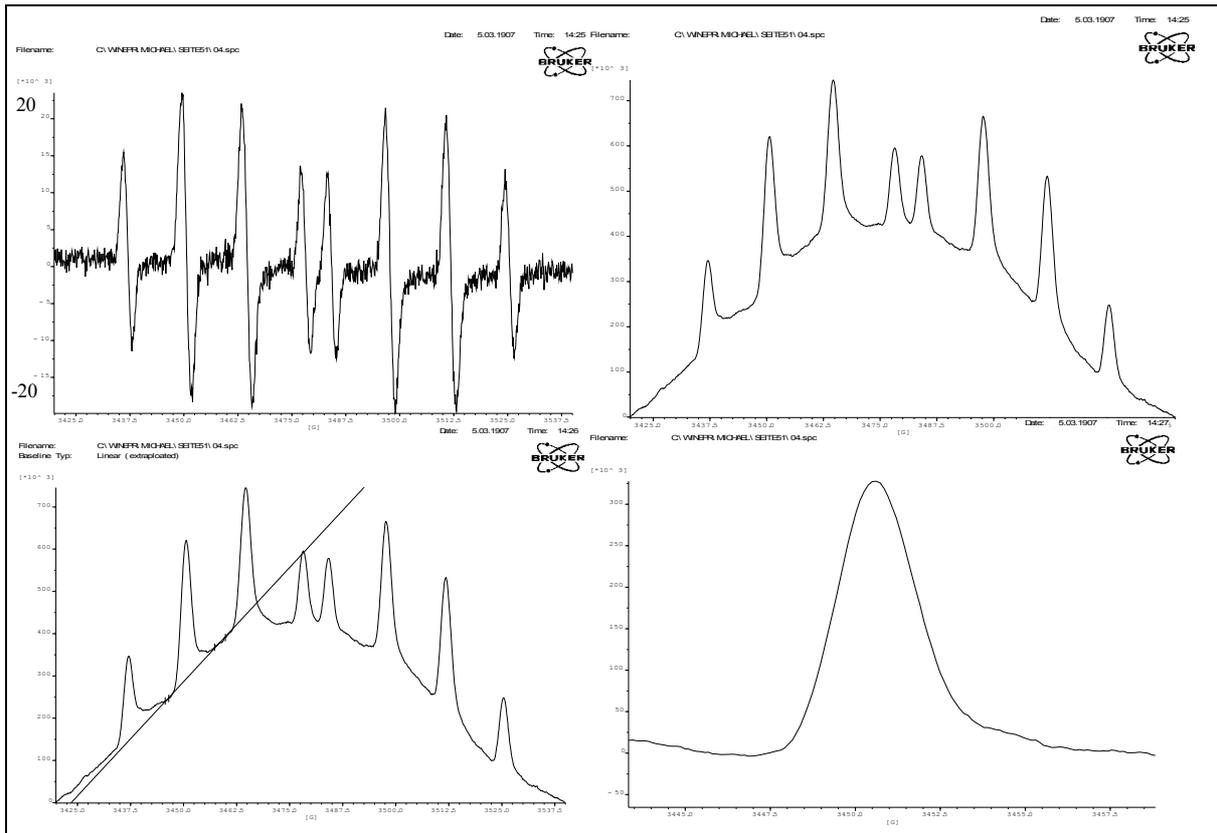


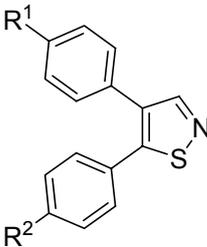
Abb. 4-7: ESR-Spektren: links oben: 1 μ M α -Liponsäure (0%-Hemmung), rechts oben: Integral des Spektrums, links unten: Basislinienkorrektur am 2. Signal, rechts unten: korrigiertes auswertbares Signal

4.2.2 Interpretation der Testergebnisse

4.2.2.1 Standardsubstanz

Bei jeder Messung wurden 3 Konzentrationen der α -Liponsäure (100 μ M, 10 μ M, 1 μ M) als Standard mit gemessen.

4.2.2.2 Isothiazole

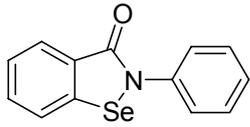
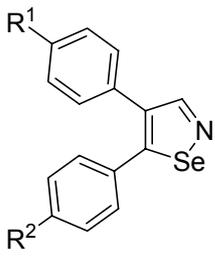
Struktur	R ¹	R ²	Verbindung	OH-Radikalassay ^a IC ₅₀ [μ M]
			Liponsäure	12
			Celecoxib	27%*
	OCH ₃	OCH ₃	MSD4a	0%*
	CH ₃	OCH ₃	MSD4b	0%*
	CH ₃	Cl	MSD4c	0%*
	Cl	CH ₃	MSD4d	0%*
	Cl	Cl	MSD4e	0%*
	OCH ₃	Cl	MSD4f	10%*
	Cl	OCH ₃	MSD4g	0%*
	F	SO ₂ CH ₃	MSD4h	0%*
	OH	OH	MSD4j	11%*

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 100 μ M, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 3 Messungen

Tabelle 4-33: Einfangen von OH-Radikalen durch Isothiazole

Das Isothiazolgrundgerüst fördert die Reaktion mit OH-Radikalen nicht. Die Hemmwerte bei MSD4f und MSD4j sind nicht als signifikant einzustufen.

4.2.2.3 Isoselenazole

Struktur	R ¹	R ²	Verbindung	OH-Radikalassay ^a IC ₅₀ [μM]
			Liponsäure	12
			Celecoxib	27%*
			Ebselen	6,6
	OCH ₃	OCH ₃	MSD5a	14%*
	CH ₃	OCH ₃	MSD5b	0%*
	CH ₃	Cl	MSD5c	0%*
	Cl	CH ₃	MSD5d	0%*
	Cl	Cl	MSD5e	0%*
	OCH ₃	Cl	MSD5f	0%*
	Cl	OCH ₃	MSD5g	0%*
	F	SO ₂ CH ₃	MSD5h	34%*

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 100μM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 3 Messungen

Tabelle 4-34: Einfangen von OH-Radikalen durch Isoselenazole

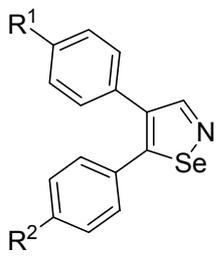
Obwohl der Isothiazolgrundkörper keine Potenz zeigte, wurde auf Grund gewisser struktureller Ähnlichkeit der Isoselenazole mit Ebselen angenommen, dass diese ähnlich potent die OH-Radikale abfangen können. Dies bestätigte sich leider nicht. Der Isoselenazolgrundkörper scheint ähnlich stabil zu sein wie der Isothiazolgrundkörper und reagiert nicht mit Hydroxylradikalen. Die einzige Ausnahme ist das MSD5h, dessen Potenz im nächsten Kapitel, zusammen mit Ergebnissen von Mattern [114], diskutiert werden soll. Um die gute Hemmung durch Ebselen zu erklären, wurde ein Radikalassay entwickelt, so dass Folgeprodukte der

Reaktion von Ebselen mit Hydroxylradikalen bestimmt werden konnten (Kapitel 4.2.2.7.4).

4.2.2.4 Methylsulfonylderivate, Dithiol-3-thione und Dithion-3-one

Struktur	R ¹	R ²	Verbindung	OH-Radikalassay ^a IC ₅₀ [μM]
	H	H	AMD19 ^b	55
	OCH ₃	H	AMD21 ^b	80
	OCH ₃	OCH ₃	AMD23 ^b	41%*
	Cl	CH ₃	MSD15a	47%*
	CH ₃	Cl	MSD15b	50%*
	SO ₂ CH ₃	OCH ₃	AMD29 ^b	6,5
	SO ₂ CH ₃	H	AMD26 ^b	5,0
	H	SO ₂ CH ₃	AMD52 ^b	7,0
	SO ₂ CH ₃	F	AMD27 ^b	4,5
	F	SO ₂ CH ₃	AMD53 ^b	10,5
	SO ₂ CH ₃	CH ₃	AMD28 ^b	9,0
	CH ₃	SO ₂ CH ₃	AMD54 ^b	9,0
	NO ₂	SO ₂ CH ₃	AMD57 ^b	5,5
	Cl	CH ₃	MSD16a	0%*
	CH ₃	Cl	MSD16b	0%*
	SO ₂ CH ₃	H	AMD63 ^b	26%*
	H	SO ₂ CH ₃	AMD64 ^b	22%*

Fortsetzung

Struktur	R ¹	R ²	Verbindung	OH-Radikalassay ^a IC ₅₀ [µM]
	OCH ₃	OCH ₃	MSD5a	0%*
	F	SO ₂ CH ₃	MSD5h	34%*
			Celecoxib	27%*

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 100µM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 3 Messungen,

^b Substanzen wurden von Mattern dargestellt [114]

Tabelle 4-35: Einfangen von OH-Radikalen

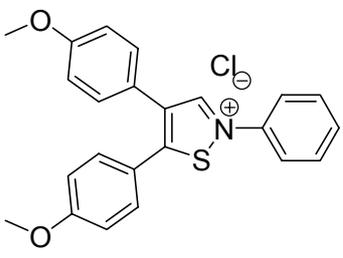
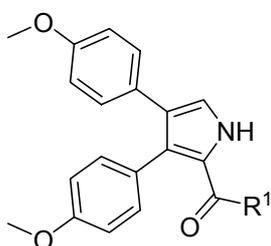
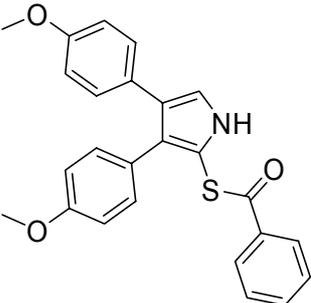
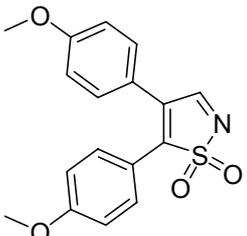
Es ist deutlich zu erkennen, dass nach Austausch des Schwefels (AMD26, AMD52, MSD15a, MSD15b) gegen Sauerstoff (AMD63, AMD64, MSD16a, MSD16b) ein großer Teil des Potentials Radikale abzufangen verloren geht. Für die Wirkung der Dithiolthione scheint der Thion-Schwefel essentiell zu sein.

Weiterhin ist es aufschlussreich, dass aromatisch gebundene Methylsulfonylgruppen die Radikalfängereigenschaften begünstigen. Die Dithiol-3-thione ohne Methylsulfonylsubstituenten (AMD19, AMD21, AMD23, MSD15a und MSD15b) fangen Hydroxylradikale mit einem IC₅₀-Wert von 55µM (AMD19) bis ungefähr 200 µM (AMD23) ab. Die Dithiol-3-thione mit aromatisch gebundenen Methylsulfonylsubstituenten (AMD26-29, AMD52-54 und AMD57) fangen die Hydroxylradikale mit einem IC₅₀-Wert in einem Bereich von 4,5 µM (AMD27) bis 10,5 µM (AMD53) ab und sind somit den nicht mit Methylsulfonyl-substituierten Derivaten um Faktor 10-50 überlegen.

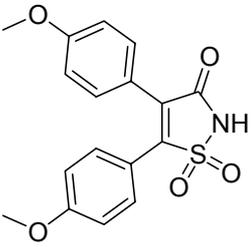
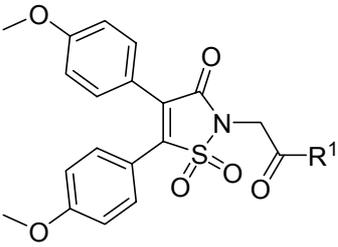
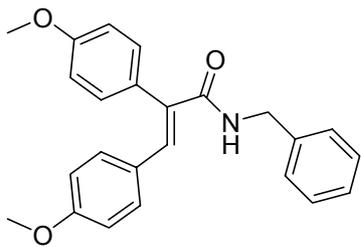
Auch bei den weniger wirksamen Dithiol-3-onen und Isoselenazolderivaten ist bei einer Substitution mit Methylsulfonylgruppen im Aromatenteil eine Steigerung der Abfangrate zu beobachten. Weiterhin zeigen Derivate ohne Methylsulfonyleinheit MSD5a, MSD16a und MSD16b bei einer Konzentration von 100 µM keine Wirkung. Die Methylsulfonylderivate MSD5h, AMD63 und AMD64 hingegen sind schwach potent.

4.2.2.5 Betrachtung der restlichen Testergebnisse

Wie in den vorherigen Kapiteln gezeigt wurde, bewirkt von den verschiedenen p-Substituenten nur der Methylsulfonylrest eine signifikante Steigerung beim Abfangen von Hydroxylradikalen. Aus diesem Grund wurden aus den anderen Substanzklassen jeweils nur einige Vertreter auf Hydroxylradikalabfangeigenschaften getestet (Tabelle 4-36).

Struktur	R ¹	Verbindung	OH-Radikalassay ^a IC ₅₀ [μM]
		MSD7a	0%*
	OC ₂ H ₅	MSD8a	10%*
	OH	MSD8b	14
		MSD9a	0%*
		MSD10a	20%*

Fortsetzung

Struktur	R ¹	Verbindung	OH-Radikalassay ^a IC ₅₀ [μM]
		MSD11a	0%*
	OC ₂ H ₅	MSD11i	0%*
	OH	MSD11j	71%*
		MSD12a	0%*

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 100μM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 3 Messungen

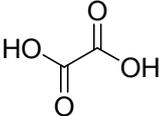
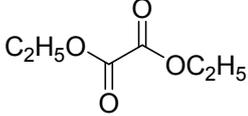
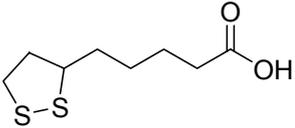
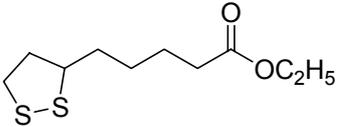
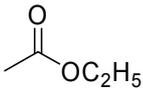
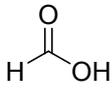
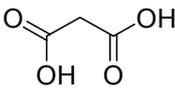
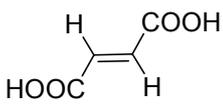
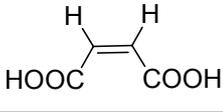
Tabelle 4-36: Einfangen von OH-Radikalen

Die guten Testergebnisse der beiden Carbonsäuren MSD8b und MSD11j (IC₅₀: 14μM, bzw. 71% Hemmung bei 100μM) im Vergleich zu den Estern MSD8a und MSD11i, die bei dieser Konzentration entweder gar keine oder nur eine sehr schwache Wirkung zeigten, sind überraschend.

Andere Verbindungen, wie z.B. Thioester (MSD9a), Isothiazoliumionen (MSD7a) oder Säureamide (MSD12a), zeigten keine Effekte. MSD10a zeigte eine schwache Hemmung (20% bei 100 μM).

4.2.2.6 Einfangen von OH-Radikalen durch Säuren

Die durch die Strukturen MSD8b und MSD11k gewonnene Information sollte mit anderen Säuren bestätigt werden. Es wurden verschiedene Säuren und Ester getestet, deren Ergebnisse in Tabelle 4-37 aufgeführt werden.

Struktur	Name	OH-Radikalassay ^a IC ₅₀ [μM]
	Oxalsäure	8,7
	Diethyloxalat	25%*
	α-Liponsäure	12
	α-Liponsäureethylester	57
	Essigsäure	54%*
	Ethylacetat	0%*
	Ameisensäure	83%*
	Malonsäure	8,6 (89%*)
	Fumarsäure	88%*
	Maleinsäure	88%*

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 100μM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 3 Messungen

Tabelle 4-37: OH-Radikalhemmung von verschiedenen Säuren und deren Ester

Die Arbeitshypothese, dass Carbonsäuren als OH-Scavenger sehr gut wirksam sein können, wird mit den Ergebnissen in Tabelle 4-38 bestätigt. Die Monocarbonsäuren Essigsäure (54% Hemmung bei 100 µM) und Ameisensäure (83% Hemmung bei 100 µM) zeigen etwa so eine starke Hemmung, wie die Bicarbonensäuren Oxalsäure (IC₅₀: 8,7 µM), Malonsäure (IC₅₀: 8,6 µM), Maleinsäure (88% Hemmung bei 100 µM) und Fumarsäure (88% Hemmung bei 100 µM). Die Ester der Essigsäure (0% Hemmung bei 100 µM) und der Oxalsäure (25% Hemmung bei 100 µM) zeigen entweder kein oder ein stark verringertes Hemmvermögen. Auch bei der Liponsäure (IC₅₀: 12 µM) ist der zugehörige Ester MSD17a (IC₅₀: 57 µM) um etwa Faktor 5 weniger wirksam. Die Erklärung für die Hemmung durch den Ester ist vermutlich mit der Dithiolgrundstruktur zu begründen. Auch macht es keinen Unterschied, ob bei den Bicarbonensäuren die Carboxylgruppen direkt aneinander gebunden, über CH₂ oder über eine Ethyleneinheit verknüpft sind. Alle 4 getesteten Verbindungen scheinen ähnlich potent zu sein.

Nach unveröffentlichten Ergebnissen von Mattern sind einige NSAR auf dem Markt, welche in Bezug auf Hydroxylradikalfängereigenschaften wirksam sind. Diese NSAR besitzen auch eine Carbonsäuregruppe und unterstützen somit die These, dass Carbonsäuren Hydroxylradikalfänger sein könnten (Tabelle 7-1).

Substanz	OH-Radikalassay ^a IC ₅₀ [µM]
Diclofenac	85
Aceclofenac	27
ASS	27
Indomethacin	13

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 100,µM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 3 Messungen

Tabelle 4-38: Hydroxylradikalscavenging von NSAR

Diese Ergebnisse zeigen, dass unter Umständen ein Teil der antientzündlichen Wirksamkeit von ASS oder Indometacin auf deren Radikalfängereigenschaften zurückzuführen ist. In der Literatur wurden weitere carbonsäurehaltige NSAR wie z.B. Ibuprofen und Diclofenac als Radikalfänger identifiziert [125].

Auch wurden Säuren, wie Kaffeesäure, Gallussäure, Chinasäure [126] und Trolox [127] in Hydroxylradikalfängerassays als wirksam erkannt. Ein weiteres Beispiel für die Potenz von Carbonsäuren ist die höhere Potenz der 5,6-Dihydroxyindol-carbonsäure gegenüber dem 5,6-Dihydroxyindol [128].

4.2.2.7 Diskussion zur Scavenging-Potenz der Carbonsäuren

Warum sind die Carbonsäuren als Radikalfänger wirksam? Um dies zu verstehen, wurde zum einen der Hydroxylradikalassay modifiziert und zum anderen ein Verfahren entwickelt, mit welchem es möglich war Substanzen Hydroxylradikalen auszusetzen und die Reaktionsprodukte zu analysieren.

4.2.2.7.1 Komplexierung und modifizierter Test

Die erste Theorie beruht darauf, dass Carbonsäuren das Fe^{2+} komplexieren, es so aus dem Reaktionsgleichgewicht entziehen und durch das Fehlen der Eisenionen keine Hydroxylradikale entstehen können. Um dies zu überprüfen, wurde der Hydroxylradikalassay abgewandelt. Es gibt die Möglichkeit Eisenionen mit EDTA zu komplexieren. Bei dieser Komplexierung entsteht ein äußerst stabiler Eisenionenkomplex, aus welchem das Eisenion nur sehr schwierig zu verdrängen ist, der aber trotzdem mit H_2O_2 reagieren kann. Weiterhin sinkt das Redoxpotential zwischen dem zweiwertigen und dem dreiwertigen Eisenion bei der Komplexierung mit EDTA, so dass die Fenton-Reaktion durch leichtere Oxidation der zweiwertigen Eisenionen einfacher abläuft und somit auch mehr Hydroxylradikale entstehen [126,129,130]. Dies gilt nur für frisch hergestellte EDTA/Eisenionenlösungen,. Denn man erhält stark streuende Ergebnisse [131], da Fe^{2+} beim Stehen bei Raumtemperatur zu Fe^{3+} oxidiert wird.

Aus diesem Grund ist es besonders wichtig die Eisensulfat-EDTA-Lösung für den EDTA-Hydroxylradikalassay frisch herzustellen. Eine gealterte Lösung verursacht je nach Alter sehr viel schwächere Signale und somit schlecht reproduzierbare Ergebnisse. In Tabelle 4-39 sind die Reagenzienmengen des modifizierten Assays dargestellt.

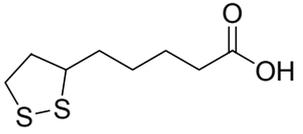
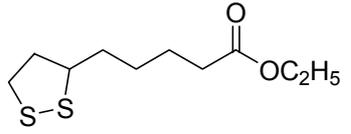
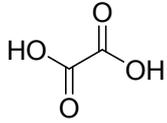
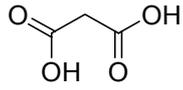
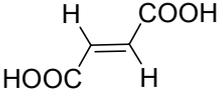
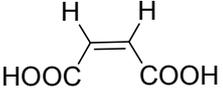
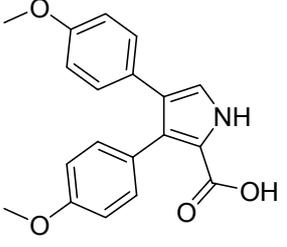
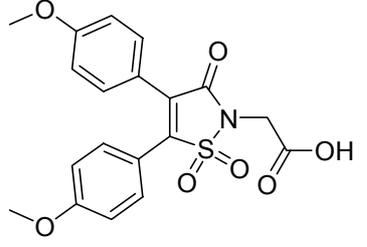
Reagenz	Menge
Wasser	192 µl
Testsubstanz/Acetonitril	2 µl
DEPMPO 20mmol	2 µl
FeSO ₄ /EDTA je 5mmol	2 µl
H ₂ O ₂ 2,5mmol	2 µl
Inkubationszeit	90 s

Tabelle 4-39: Reagenzienmengen für den modifizierten Hydroxylradikalassay

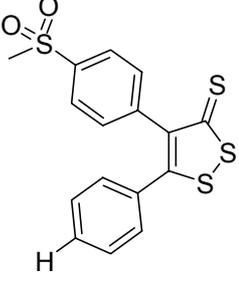
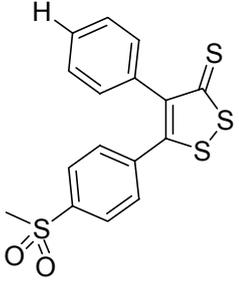
4.2.2.7.2 Interpretation der Ergebnisse

Wenn man nun die Hemmwerte der Säuren für den Hydroxylradikalassay mit Werten für den mit EDTA modifizierte Assay vergleicht, kommt man zu folgendem Ergebnis (Tabelle 4-40): Die Hemmung durch die Säuren wird nicht durch die Komplexierung von Eisenionen verursacht. Sämtliche Hemmwerte liegen im Assay mit EDTA auf dem gleichen Niveau (z.B. Oxalsäure ($IC_{50\text{mitEDTA}}$: 7,4 µM, $IC_{50\text{ohneEDTA}}$: 8,7 µM)), wie bei dem Assay ohne EDTA.

4. Pharmakologischer Teil

Struktur	Name	OH-Radikalassay ^a IC ₅₀ [μM]	EDTA-OH-Radikalassay ^a IC ₅₀ [μM]
	α-Liponsäure	12	10
	α-Liponsäureethylester	57	55
	Oxalsäure	8,7	7,4
	Malonsäure	8,6 (89%*)	90%*
	Fumarsäure	88%*	88%*
	Maleinsäure	88%*	93%*
	MSD8b	14	11
	MSD11j	71%*	79%*

Fortsetzung

Struktur	Name	OH-Radikalassay ^a IC ₅₀ [μM]	EDTA-OH-Radikalassay ^a IC ₅₀ [μM]
	AMD26 ^b	5,0	2,9
	AMD52 ^b	7,0	2,6

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 100μM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 3 Messungen,

^b Substanzen wurden von Mattern dargestellt [114]

Tabelle 4-40: OH-Radikalhemmung im Vergleich

Weiterhin konnte eine Annahme von Mattern widerlegt werden. Er schrieb in seiner Dissertation, dass die Dithiol-3-thione durch Komplexierung der Eisenionen wirken [132]. Durch die oben ausgeführten Ergebnisse wird dies widerlegt, da sich die Hemmwerte von AMD26 (IC_{50mitEDTA}: 2,9 μM, IC_{50ohneEDTA}: 5,0 μM) und AMD52 (IC_{50mitEDTA}: 2,6 μM, IC_{50ohneEDTA}: 7,0 μM) nur wenig unterscheiden.

Als Fazit kann festgehalten werden, dass weder die Carbonsäuren, noch die Stoffklasse der Dithiol-3-thione, über Komplexierung von Eisenionen wirken.

4.2.2.7.3 Mögliche Wirkungsmechanismen der Carbonsäuren

Für Ameisensäure hat Sutton folgende Theorie veröffentlicht [129]:

Er beschreibt die Reaktion von Ameisensäure mit einem Hydroxylradikal und einem Sauerstoffmolekül zu einem Molekül Wasser, einem Molekül CO₂ und einem Superoxidradikal in 2 Schritten (Abb. 4-8). Im ersten Schritt wird ein H-Atom vom Formiat auf das Hydroxylradikal übertragen und es entsteht ein CO₂-Radikalanion, welches mit einem Molekül Sauerstoff zum Superoxidanion und CO₂ reagiert. Dieses CO₂ kann volumetrisch bestimmt werden.

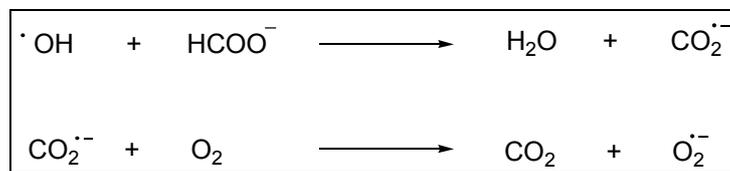


Abb. 4-8: Formiat reagiert mit Hydroxylradikal und Sauerstoff [129]

An diesen Mechanismus angelehnt könnte man auch die Wirkung der Oxalsäure erklären (Abb. 4-9). Das Oxalat reagiert mit einem Hydroxylradikal in Form eines 1-Elektronenüberganges zu OH⁻ und einem Oxalatradikalanion. Dieses wiederum zerfällt in CO₂ und ein CO₂-Radikalanion, welches dann, wie von Sutton beschrieben [129], mit Sauerstoff zu CO₂ und zum Superoxidanion reagiert.

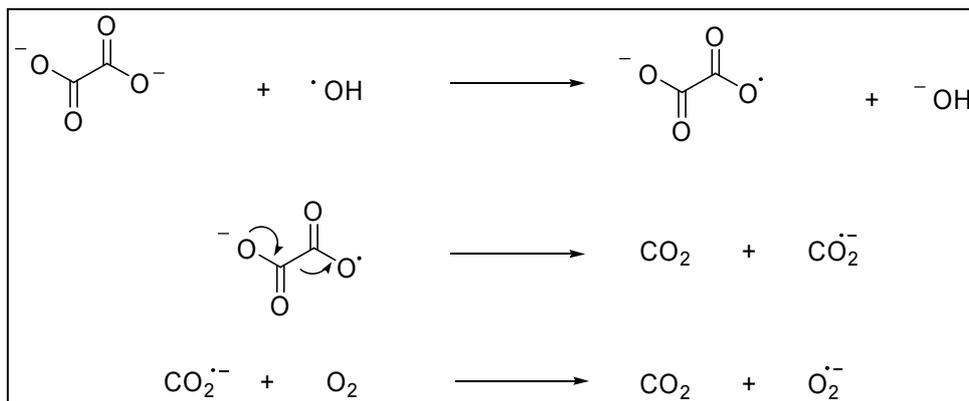


Abb. 4-9: Mögliche Reaktion von Oxalat mit Hydroxylradikal und Sauerstoff

Die Frage lautet: Lässt sich dieser Mechanismus auf die anderen Carbonsäuren übertragen. Zur Lösung dieser und anderer Fragestellungen wurde ein Radikalassay entwickelt, der im nächsten Kapitel beschrieben wird.

4.2.2.7.4 Identifizierung der Produkte im Hydroxylradikalassay

Es wurde ein Radikalassay mit dem Ziel der Identifizierung der Produkte der Fenton-Reaktion entwickelt. Bei diesem Test wurden die Reaktionsbedingungen des ESR-Assays auf größere Reaktionsmengen übertragen. Wichtig war, dass das Verhältnis der Reagenzien gleich blieb.

Somit wurde folgende Prozedur entwickelt:

Zu 194 ml Wasser (Milliporqualität) werden 2 ml einer 10 mmolaren Substanzlösung (in Acetonitril), 2 ml einer 5 mmolaren Eisen-(II)-Sulfatlösung und 2 ml einer 2,5 mmolaren H_2O_2 -Lösung gegeben. Der Ansatz wird exakt 90 Sekunden gerührt und dann in 100 ml einer gesättigten Natriumthiosulfatlösung gegeben, um Peroxide zu entfernen. Erst nachdem der Peroxidtest negativ ausgefallen ist, wird der Ansatz dreimal mit Dichlormethan ausgeschüttelt, die organischen Phasen einrotiert und der Rückstand mit FD-MS analysiert.

Ebselen, MSD8b und MSD11j wurden mit dieser Methode untersucht. Um auszuschließen, dass Ebselen nur deshalb als Radikalfänger wirksam ist, weil es ausschließlich mit Wasserstoffperoxid reagiert, wurde der Radikalassay einmal mit und einmal ohne Eisenionen durchgeführt.

4.2.2.7.5 Interpretation der FD-Massenspektren

4.2.2.7.5.1 Ebselen

Um die Reaktionsmöglichkeiten des Ebselens einschätzen zu können, muss man sich mit den dessen bekannten Reaktionsprodukten mit Wasserstoffperoxid [133] und unter Einfluss von UV-Strahlung beschäftigen [134] (Abb. 4-10).

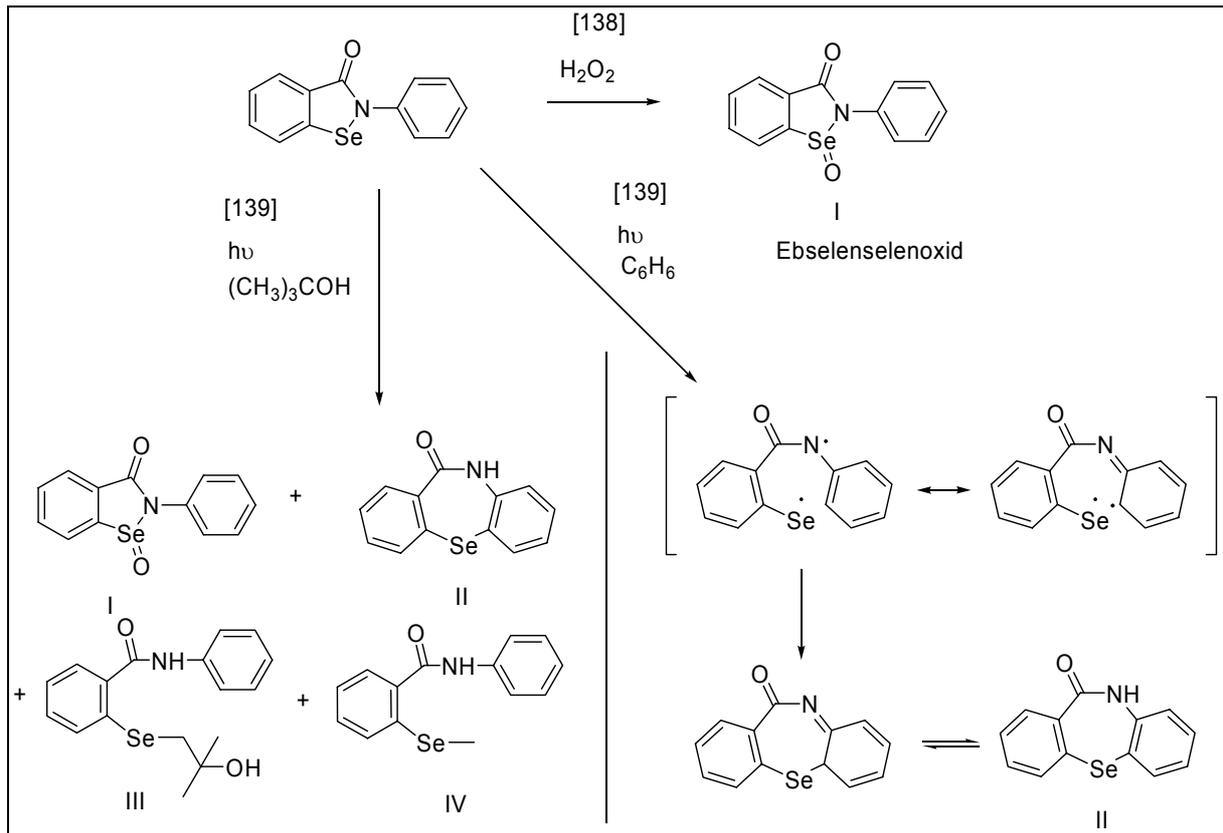


Abb. 4-10: Reaktionen von Ebselen mit H_2O_2 [133] und unter UV-Bestrahlung in verschiedenen Lösungsmitteln [134]

Schewe beschreibt, dass Ebselen mit Peroxiden zum Ebselenselenoxid I reagiert [133]. Weiterhin rechnet er die Potenz der Verbindung in diversen Lipidperoxidasehemmversuchen in Mikrosomen [135] und Mitochondrien [136], welche ebenfalls auf einer Fenton-Reaktion basieren, der Reaktion mit Wasserstoffperoxid zu und nicht der Reaktion von Ebselen mit Hydroxylradikalen. Da er für Ebselen eine Reaktion mit reaktiven Radikalen für möglich hält [137,138], widerspricht sich Schewe [133].

Kamigata beschreibt in seiner Veröffentlichung [134] Reaktionen von Ebselen unter UV-Bestrahlung in Benzol oder tert-Butylalkohol. In Benzol wird die schwächste Bindung im Molekül, die Stickstoff-Selen-Bindung, gespalten und es entsteht ein Se-N-Biradikal, welches über eine Mesomerie im Benzolring stabilisiert wird. Es erfolgt dann der Ringschluss zwischen dem Selen und dem Phenylrest, das in Tautomerie als trizyklische Struktur II vorliegt (Abb. 4-10). In tert-Butylalkohol entsteht neben der Struktur II auch Struktur I. Dies wird durch eine geringe Menge an gelöstem Sauerstoff im Alkohol, trotz Argonatmosphäre, erklärt.

Zwei weitere Strukturen konnten isoliert werden. Eine davon ist das Reaktionsprodukt von Ebselen mit dem Lösungsmittel (Struktur III), eine weitere das Methylderivat IV (Abb. 4-10). Für die Entstehung der beiden Verbindungen geben die Autoren keine Erklärung.

Diese Reaktionen sollen zum einen die Schwäche der Selen-Stickstoff-Bindung und zum anderen die Reaktivität des Ebselens zeigen.

Ebselen wurde zweimal unter den bei 4.2.2.7.4 beschriebenen Bedingungen umgesetzt. Zum einen mit Fe^{2+} -Ionen und zum anderen ohne Fe^{2+} -Ionen. In Tabelle 4-41 sind die intensiven Massensignale (nur Signale deren Signalstärke mindestens 10% der Intensität des Hauptsignals beträgt) aufgeführt.

Ebselen ohne Fe ²⁺ umgesetzt		Ebselen mit Fe ²⁺ umgesetzt	
Massensignal Da	Relative Intensität in %	Massensignal	Relative Intensität in %
		176	36
		226/227/228	12/66/21
273/274/276/277	30/22/100/22	274/276	92/100
367	11	378	31
394/395	13/13	394	85
424	12	425	15
		447	17
		482/483	12/19
		493	24
		551/554	25/15
		587	27
		616	12
669	10	632	17
		728	16

Interpretationshilfe am Beispiel der Umsetzung ohne Fe²⁺: Das Signal mit der Masse 395 Da hat eine relative Intensität von 13 % im Vergleich zum Hauptsignal (Masse: 276 Da).

Tabelle 4-39: Signalintensitäten der verschiedenen Massensignale nach der Umsetzung von Ebselen mit und ohne Fe²⁺

Die FD-Massenspektren der Ebselenumsetzungen sind schwer zu interpretieren. Es ist ersichtlich, dass bei der Umsetzung ohne Eisen(II)ionen wesentlich weniger Bruchstücke in wesentlich geringerer Intensität auftauchen: Außer dem Hauptsignal (m/z = 276), das für nicht umgesetztes Ebselen steht, findet man zwei weitere

Signale, die in beiden Massenspektren auftauchen: die Signale bei 394 Da/395 Da und 424 Da. Insgesamt ergibt die Umsetzung von Ebselen mit Eisenionen neun weitere Signale mit einer relativen Intensität von größer als 10%.

Folgende Informationen werden erhalten:

1. Bei der Umsetzung in Anwesenheit von Eisenionen und der damit stattfindenden Fenton-Reaktion entstehen wesentlich mehr Reaktionsprodukte und in Summe in größerer Menge relativ zum Ebselen. Dies bedeutet, dass Ebselen mit Hydroxylradikalen reagiert.
2. Weder bei der Umsetzung von Ebselen mit Hydroxylradikalen noch bei der Umsetzung mit Wasserstoffperoxid entsteht das von Schewe [133] publizierte Ebselenselenoxid ($m/z = 292$).

4.2.2.7.5.2 MSD8b und MSD11j

Da die Carbonsäuren MSD8b und MSD11j gute Radikalfängereigenschaften gezeigt haben, wurden sie ebenfalls untersucht. Als erster Reaktionsablauf wird diskutiert, ob MSD8b oder MSD11j zu mesomeriestabilisierten Radikalen decarboxylieren (Decarboxylierungsthese) und danach in Form von Zerfalls- oder Kopplungsreaktionen weiter reagieren (Abb. 4-11).

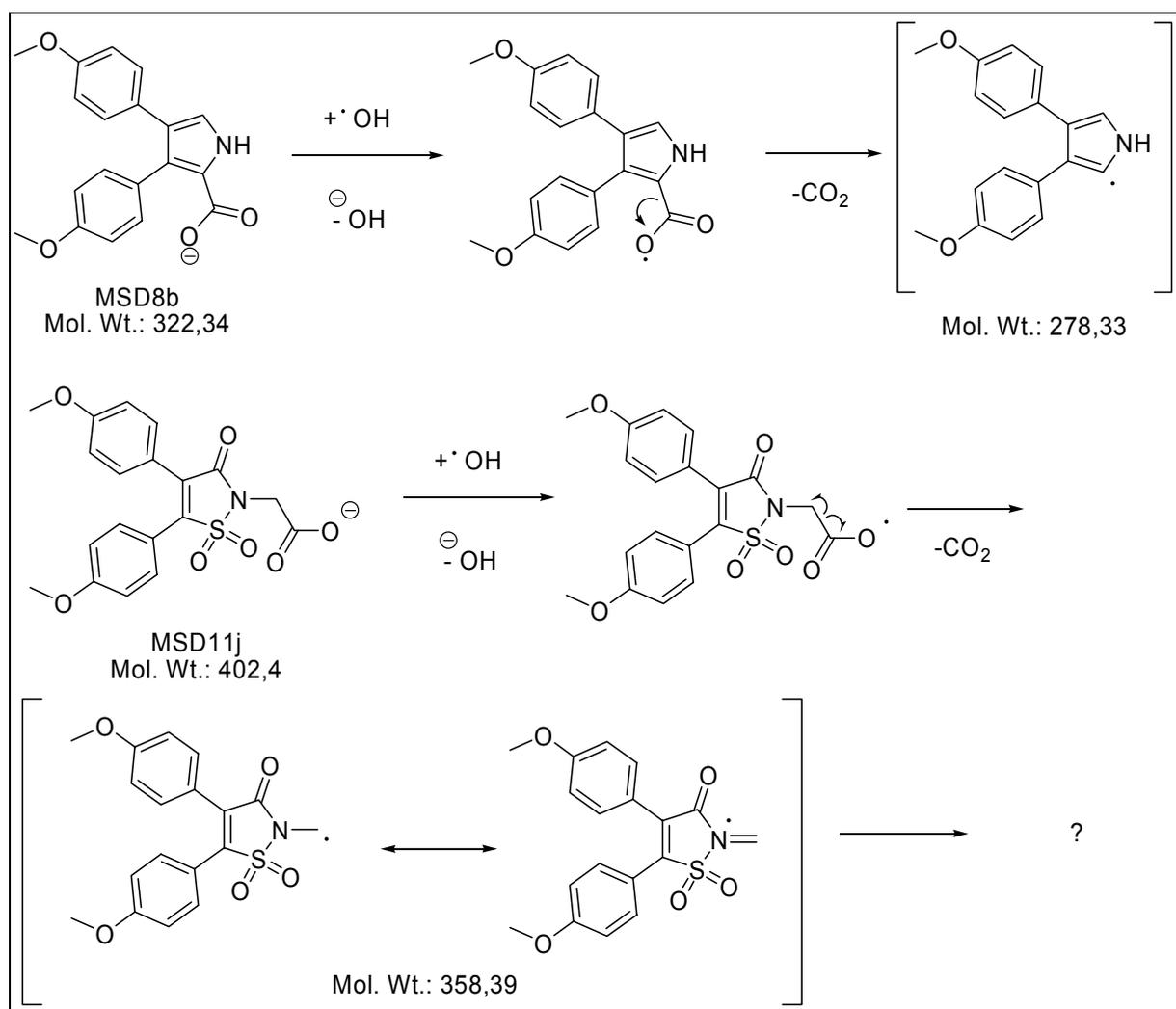


Abb. 4-11: Decarboxylierungsthese: Reaktion der Carbonsäuren MSD8b und MSD11j mit Hydroxylradikalen

Die Auswertung der FD-Massenspektren ergab ein überraschendes Ergebnis. Bei beiden Reaktionsansätzen wurde mit großer Wahrscheinlichkeit das Edukt, die jeweilige Carbonsäure, erhalten. Die Reaktionsmischung mit MSD8b ergab ein Spektrum mit einem Signal bei 323,7 Da und die Reaktionsmischung mit MSD11j ergab ein Spektrum, in dem kein anderes Signal 10% der relativen Signalintensität des Hauptsignals bei 403,5 Da erreichte. Im Spektrum von MSD11j lagen zwei Signale (100 Da: 9,8 % relative Intensität, 367 Da: 6,75 % relative Intensität) im Bereich von 5-10%.

Diese Ergebnisse sind ein Beweis dafür, dass der Reaktionsmechanismus der Carbonsäuren beim Abfangen von Hydroxylradikalen nicht über Decarboxylierung oder ähnliche strukturverändernde Reaktionen abläuft, sondern dass die ursprüngliche Struktur erhalten bleibt.

Die Frage, die übrig bleibt, ist nun aber: Wie wirken diese Carbonsäuren als Hydroxylradikalfänger?

Mit Sicherheit können anhand der Untersuchungen folgende Reaktionstypen für MSD8b und MSD11j ausgeschlossen werden:

1. Wirkung durch Komplexierung von Fe^{2+} -Ionen
2. Wirkung durch Decarboxylierung

Eine weitere Theorie für die Wirkung der Carbonsäuren ist die Bildung von Persäuren, die der Fenton-Reaktion Wasserstoffperoxid entzieht. Die Persäuren können in dem durchgeführten Radikalassay nicht im Massenspektrum nachgewiesen werden, da sie mit Natriumthiosulfatlösung bei der Aufarbeitung reduziert werden würden. Allerdings würden Persäuren, wie Peroxide im Allgemeinen, mit Eisen(II)-Ionen zum Hydroxidation und einem Carboxylradikal reagieren [133] (Abb. 4-12), welches aber nicht über Decarboxylierung, Zerfall oder Kopplung an andere Moleküle weiterreagieren kann, da diese als Reaktionsprodukte im FD-MS-Spektrum gefunden worden wären. Gegen die Persäurethese spricht aber der pH-Wert von 10,5 unter Reaktionsbedingungen der Fentonreaktion. Auch nach Zugabe der entsprechenden Säuremenge (MSD8b) änderte sich der pH-Wert auf 10,4. Somit kann die Persäurethese als Hauptmechanismus Hydroxylradikale einzufangen ausgeschlossen.

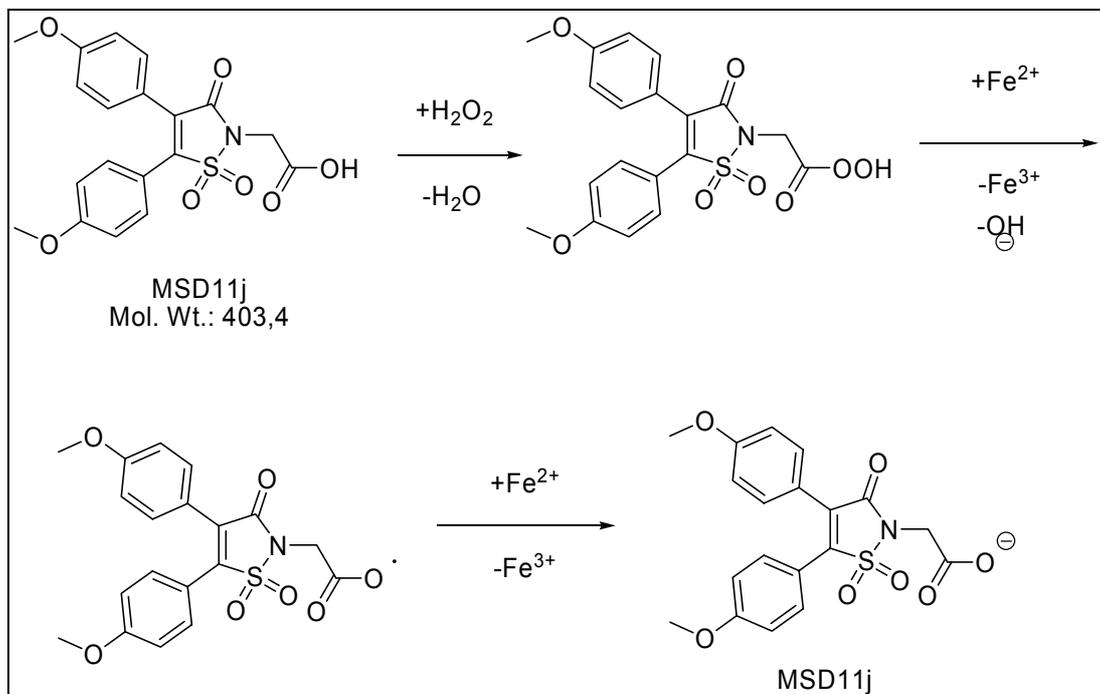


Abb. 4-12: Persäurethese: Mechanismus der Reaktion von MSD11j mit Wasserstoffperoxid zur Persäuren und deren Weiterreaktion

Als letzter Mechanismus soll die Regenerationsthese diskutiert werden:

Das Carboxylat, welches wie bei pH 10,4 vorliegt, reagiert mit dem Hydroxylradikal und bildet das mesomeriestabilisierte Carboxylradikal. Dieses ist wahrscheinlich langlebig und stabil genug, um von einem weiteren Eisen(II)-Ion zum Carboxylat reduziert zu werden (Abb. 4-13).

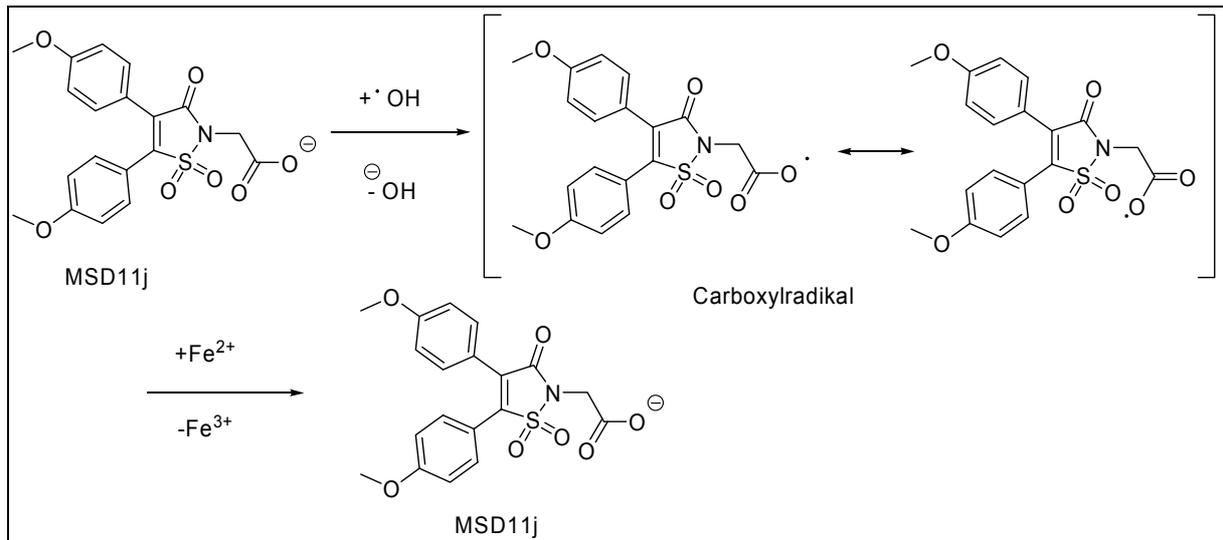


Abb. 4-13: Regenerationsthese: Reaktion von MSD11j mit Wasserstoffperoxid zum Carboxylradikal und dessen Regeneration zum Carboxylat

Folgende Punkte zum Assay müssen kritisch angemerkt werden:

1. Durch den Abbruch der Reaktion mit Natriumthiosulfatlösung werden Peroxide und andere leicht zu reduzierende Strukturen reduziert. Damit wird die Auswertung der Reaktionsprodukte erschwert, da z.B. Persäuren nicht mehr als solche im Massenspektrum zu erfassen sind, oder zusätzliche Reduktionsprodukte entstehen.

2. Die Strukturaufklärung der Produkte nur mit der FD-Massenspektrometrie ist in der Regel nicht ausreichend. Für einen endgültigen Beweis der Strukturen der Reaktionsprodukte des Ebselens müssten diese säulenchromatographisch aufgereinigt werden und jede Fraktion einzeln, zusätzlich zur Massenspektrometrie, über $^1\text{H-NMR}$ - und $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektroskopie ausgewertet werden. Allerdings war dies mit den oben genannten Stoffmengen nicht möglich. Hier könnte man für die Hauptprodukte mit einer Aufreinigung über präparative HPLC-Säulen zum Erfolg kommen.

Mit diesem Test ist es möglich nachzuweisen, ob am Radikalfänger strukturell etwas verändert wurde oder nicht. Dies trifft auf die Carbonsäuren MSD8b und

MSD11j zu, die im Gegensatz zum Ebselen, in der Lage sind Hydroxylradikale abzufangen, ohne in der Struktur verändert zu werden.

Es wurden insgesamt vier Thesen zum Wirkungsmechanismus von Carbonsäuren als Radikalfänger vorgestellt:

1. Komplexierungsthese
2. Decarboxylierungsthese
3. Persäurethese
4. Regenerationsthese

Im Rahmen dieser Arbeit war es möglich die Komplexierungsthese, die Decarboxylierungsthese und die Persäurethese zu widerlegen. Die im Rahmen dieser Arbeit ermittelten Daten sprechen für die Regenerationsthese.

4.3 Bestimmung der Zytotoxizität

Um sicher zu sein, dass die Wirkung der Testsubstanzen auf der Hemmung der Enzyme basiert und nicht auf einer Minderung der Hemmung durch Absterben der im Assay vorhandenen Zellen, und um abschätzen zu können, ob gewisse Strukturen toxische Eigenschaften besitzen, wurden die wirksamen Verbindungen einem in unserem Arbeitskreis etablierten Zytotoxizitätstest an MM6-Zellen unterzogen.

4.3.1 XTT-Test

Der XTT-Test beruht auf einer von Jost [139] entwickelten Methode. Die MM6-Zellsuspension werden in einem phenolrotfreiem RPMI-Medium in 96-Well-Mikrotiterplatten (100µml/Well) ausgesät.

Pro Platte stehen 12 Bahnen mit je acht Wells für die Testung von Substanzen zur Verfügung. Für jede Platte werden zwei Bahnen für den DMSO Vergleich benötigt, womit 10 Bahnen für jeweils 10 verschiedene Substanzlösungen übrig bleiben. In jedes Well der jeweiligen Bahn werden die entsprechenden Mengen an DMSO bzw. Testsubstanz gelöst in DMSO gegeben. Nach 12-stündiger Inkubation bei 37°C und einem CO₂-Gehalt von 5% werden 50 µml der Tetrazoliumsalzlösung hinzu gegeben und die Platte im Spektralphotometer (Mikrotiterplattenlesegerät) bei 492 nm ausgewertet. Das Tetrazoliumsalz wird in den Mitochondrien der stoffwechselaktiven Zellen zum orangenen Farbstoff Formazan (absorbiert bei einer Wellenlänge von 492 nm) reduziert. Danach wird die Platte wieder 30 Minuten lang in den Brutschrank gelegt und vermessen. Das Testende ist, je nach Zellviabilität und Zellwachstum, nach 1,5 bis 4 Stunden erreicht. Ausgewertet wird das Verhältnis der Umsetzung der stoffwechselaktiven Zellen von jeweils 8 Substanzwells zu der Umsetzung der stoffwechselaktiven Zellen in den 16 DMSO-Vergleichswells.

4.3.2 Auswertung der Ergebnisse

Die Substanzen MSD4a, MSD4h, MSD5a und MSD5h wurden bezüglich ihrer Zelltoxizität genauer untersucht und in drei Konzentrationen auf Zelltoxizität an MM6-Zellen geprüft.

In Abb. 4-14 sind die Ergebnisse dargestellt. Insgesamt sind die beiden Methylsulfonylvarianten das MSD4h und MSD5h mit einer Viabilitätsrate von über 80

% bei einer Konzentration von 100 μM weniger toxisch als die Dimethoxy-substituierten MSD4a und MSD5a, von denen das Isothiazol MSD4a mit einer Viabilitätsrate von 22 % bei 100 μM noch etwas toxischer ist als das Isoselenazol MSD5a mit einer Viabilitätsrate von 45 % bei 100 μM . Diese Toxizität geht bei einer Konzentration von 10 μM bei MSD4h, MSD5a und MSD5h komplett verloren. MSD4a hingegen ist mit einer Viabilitätsrate von 72 % noch leicht toxisch, bei einer Konzentration von 1 μM aber kaum noch.

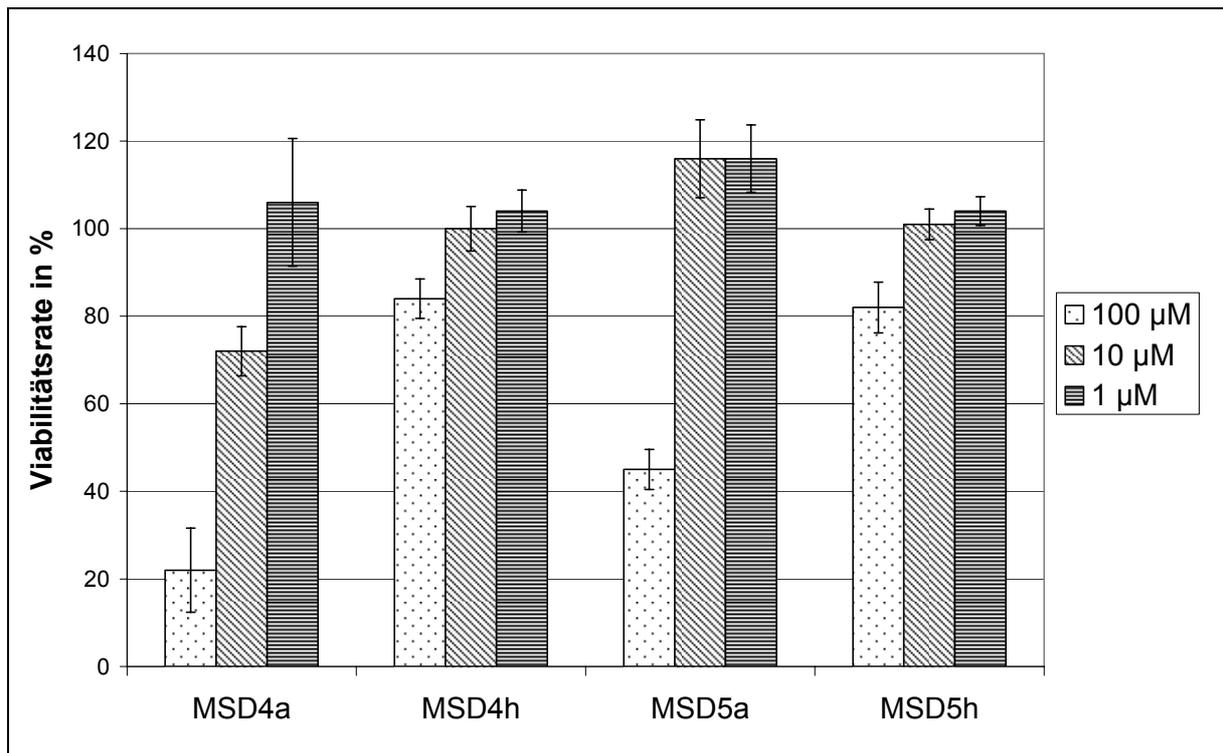


Abb. 4-14: Toxizität der Verbindungen MSD4a, MSD4h, MSD5a und MSD5h im XTT-Test

Weiterhin wurden MSD4e, MSD4j, MSD7e, MSD7f, MSD8a und MSD10a als Vertreter verschiedener Substanzklassen auf deren Zelltoxizität getestet (Abb. 4-15).

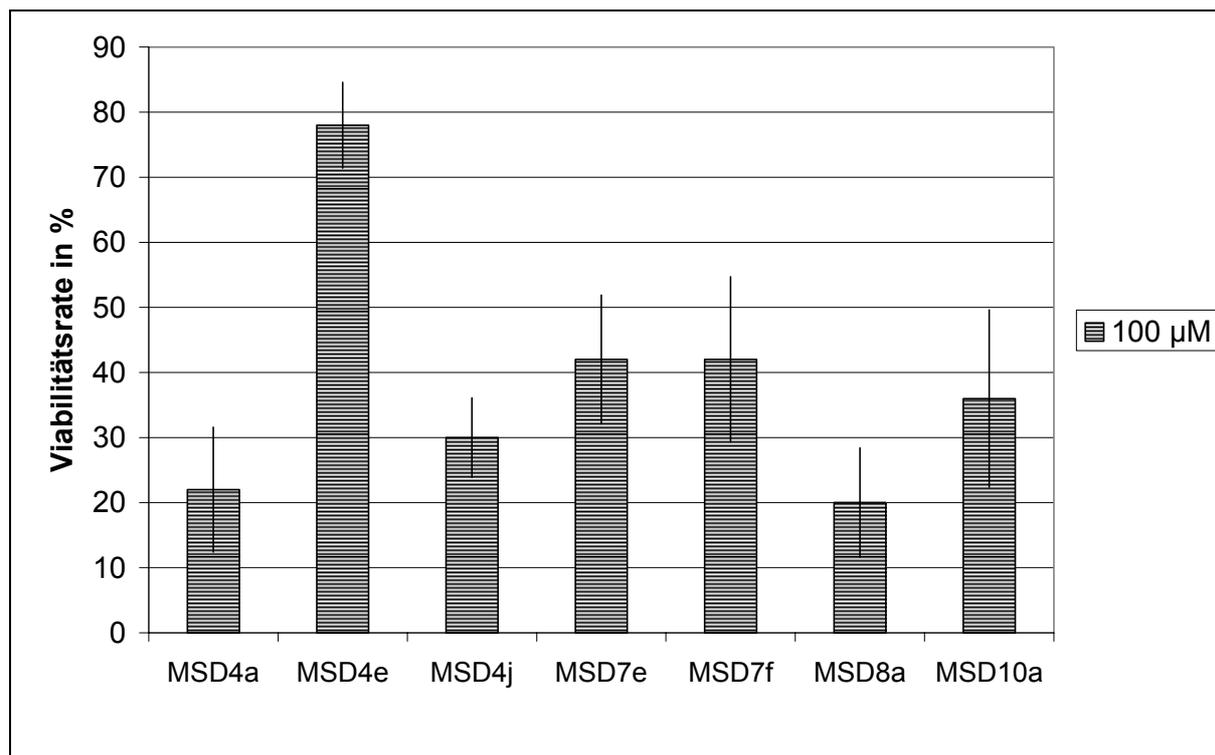


Abb. 4-15: Toxizität der Verbindungen MSD4e, MSD4j, MSD7e, MSD7f, MSD8a und MSD10a im XTT-Test

Aus Abb. 4-15 wird ersichtlich, dass im Vergleich zum dimethoxy-substituierten Isothiazol MSD4a (Viabilitätsrate bei 100 µM: 22%) das Dichlorisothiazol MSD4e (Viabilitätsrate bei 100 µM: 78%) wesentlich weniger toxisch ist. Das Dihydroxyderivat MSD4j (Viabilitätsrate bei 100 µM: 30%) liegt in der gleichen Größenordnung wie das MSD4a. Andere dimethoxy-substituierte Vertreter, die Isothiazoliumverbindungen MSD7e (Viabilitätsrate bei 100 µM: 42%) und MSD7f (Viabilitätsrate bei 100 µM: 42%) oder das Isothiazol-1,1-dioxid MSD10a (Viabilitätsrate bei 100 µM: 36%) sind tendenziell etwas weniger toxisch als das MSD4a. Nur der Pyrrolcarbonsäureester MSD8a (Viabilitätsrate bei 100 µM: 20%) liegt wiederum in der gleichen Größenordnung wie MSD4a.

Als Fazit kann man zusammenfassen, dass die wirksamen Verbindungen MSD4a, MSD4h, MSD5a und MSD5h bei einer Konzentration von 10 µM gar nicht oder wie das MSD4a nur gering zelltoxisch sind. MSD5a ist bei einer Konzentration von 100 µM nicht und MSD4h und MSD5h sind nur schwach toxisch.

5. Molecular Modelling Studien

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der einzelnen computerbasierten Berechnungen analysiert. Folgende Methoden wurden zur Erhaltung von substanzspezifischen Informationen durchgeführt:

- 5.1 Docking-Studien an durch Röntgenstrukturanalyse erhaltene COX-1- und COX-2-Kristallstrukturen mit der Software ICM Pro [140]
- 5.2 Strukturvergleich mit von der Software Spartan [141] energieminierten Strukturen
- 5.3 logP-Wertberechnung mit der Software ChemDraw [142]

5.1 Docking-Studien

Mit Docking Studien versucht man Informationen über den Bindungsmodus und somit indirekt über die Aktivität von Substanzen durch Interaktion mit dem Zielenzym zu erhalten. Letztendlich ist es das Ziel dieser Methode über Strukturen Aussagen zu machen, ob sie wirken können oder nicht, bevor sie synthetisiert und an einem Enzymassay getestet werden.

Weiterhin kann dieses Verfahren auch dazu verwendet werden, Substanzen, nachdem sie synthetisiert und getestet wurden, in das jeweilige Enzym zu docken, um Aussagen über den Bindungsmodus machen zu können. Diese Methode wurde im Rahmen dieser Arbeit verfolgt.

5.1.1 Durchführung der Docking-Studien

Um mit den Dockingoperationen starten zu können, müssen als erstes die Enzymkristallstrukturdaten vorbereitet werden. Aus der „Protein Data Base“ (PDB) werden die jeweiligen Grunddaten bezogen. Für die COX-1-Untersuchungen wurde eine Struktur mit Ibuprofen als kokristallisierter Ligand gewählt (PDB-Eintrag: 1eqg). Für die COX-2-Untersuchungen wurden Kristallstrukturdaten mit SC-558 [15], einem hochpotenten, dem Celecoxib ähnlichen COX-2-selektiver Inhibitor, als kokristallisierten Ligand gewählt (1cx2).

Die jeweiligen Rohdaten müssen erst noch bearbeitet werden. Den Aminosäuren Phenylalanin, Tryptophan und Tyrosin müssen die aromatischen Eigenschaften im Ringsystem hinzugefügt, bei den sauren Aminosäuren, Asparaginsäure und Glutaminsäure, und den basischen Aminosäuren Lysin, Arginin und Histidin, müssen fehlende Doppelbindungen und Ladungen hinzugefügt werden. Diese Ergänzungen werden nicht im ganzen Enzym durchgeführt, sondern nur an den in der Bindungstasche angesiedelten Aminosäuren.

Danach werden die bearbeiteten Rohdaten mit ICM Pro [140] in das ICM-Format umgewandelt. Bei diesem Prozess werden unter anderem Wasserstoffatome hinzugefügt und die Enzymoberfläche berechnet. Im nächsten Schritt wird die Umgebung des kokristallisierten Liganden als Bindungstasche definiert. Dabei legt das Programm einen großen Würfel als Rezeptortasche fest, dessen Seiten auf die eigentliche Bindungstasche verkleinert werden. Nach dieser Anpassung wird von der Software ein Rastergitter (Abstand der einzelnen Rasterpunkte beträgt 0,5 Å) für den definierten Rezeptorbereich berechnet. Diese Rezeptorrasterkarte (grid map) enthält Informationen über energetische Zustände, Polarität und räumliche Zugänglichkeit in der Rezeptortasche.

Im nächsten Schritt wird die gewünschte Struktur, die in die Rezeptortasche gedockt werden soll, als MDL-Sdf-Datei, welche die von Spartan berechnete, energieminierte Konformation der Struktur in einem 2D-Format enthält, importiert und in das 3D-Format umgewandelt. ICM Pro [140] führt ein so genanntes „flexible docking“ durch, was bedeutet, dass die Software den Liganden nicht nur in der energieminierten Konformation in das Enzym dockt, sondern viele Konformationen und Positionen des Liganden in der Rezeptortasche ausprobiert und einen ICM-Komplexbildungsenergiewert (ICM score) bestimmt, der auf den Wechselwirkungen des Liganden mit der Rezeptoroberfläche beruht. Am Ende der Berechnungen wird das Ergebnis in Form der 20-30 besten Rezeptor-Ligand-Komplexe, inklusive der ICM-Komplexbildungsenergiewerte, und der zwischen Ligand und Protein bestimmten Wasserstoffbrückenbindungen angegeben. Dieser ICM-Komplexbildungsenergiewert wird in kcal/mol angegeben. In der Regel ist diese Größe negativ und steht für die Menge an Energie (ΔE), die der Energiezustand des Ligand-Rezeptor-Komplexes (E_{Komplex}) niedriger ist als die Summe der jeweiligen einzelnen Grundzustände ($E_{\text{Protein}} + E_{\text{Ligand}}$):

$$\Delta E = E_{\text{Komplex}} - (E_{\text{Protein}} + E_{\text{Ligand}})$$

Da Strukturen immer den niedrigsten möglichen Energiezustand anstreben, ist ein Ligand-Rezeptor-Komplex umso stabiler, je mehr Energie aufgewendet werden muss, um die Komponenten wieder in die einzelnen Grundzustände zurückzuführen.

5.1.2 Ergebnisse der COX-2-Docking-Studie

Für die COX-2 Docking Studien stehen mehrere Kristallstrukturen zur Verfügung. Es wurde die mit SC-558 kokristallisierte COX-2 Kristallstruktur [15] gewählt, da das SC-558 (Strukturformel Abb. 1-7) ebenfalls der Stoffklasse der Diaryl-Heterozyklen angehört und dem Celecoxib (Strukturformel Abb. 1-7) sehr ähnlich ist. Ein Nachteil der gewählten Kristallstruktur ist aber die mittelmäßige Auflösung von 3 Å. In Tabelle 5-1 werden die COX-2-Dockingergebnisse mit den im humanen Vollblutassay bestimmten Hemmwerten verglichen.

In Abb. 5-1 werden die energieärmsten Ligand-Rezeptor-Komplexe von MSD4a (Strukturformel Tabelle 3-5), MSD5h (Strukturformel Tabelle 3-6), den beiden wirksamsten Verbindungen im COX-2-Assay und der Ligand SC-558 dargestellt.

Verbindung	^a COX-2 (Vollblut) IC ₅₀ [µM]	^b ICM- Komplexbildungsenergiewert COX-2 (PDB:1cx2) ΔE = kcal/mol
Celecoxib	0,8	-67,38
MSD4a	0,82	-46,7
MSD4b	17%*	-47,18
MSD4c	14%*	-40,34
MSD4d	0%*	-40,76
MSD4e	4,2	-36,48
MSD4f	0%*	-42,14
MSD4g	15%*	-42,34
MSD4h	9,3	-47,85
MSD4j	16%**	-43,37
MSD5a	8	-45,13
MSD5b	0%*	-45,97

Fortsetzung

Verbindung	^a COX-2 (Vollblut) IC ₅₀ [μM]	^b ICM- Komplexbildungsenergiewert COX-2 (PDB:1cx2) ΔE = kcal/mol
MSD5c	0%*	-39,93
MSD5d	0%*	-39,33
MSD5e	0%*	-39,94
MSD5f	16%*	-40,67
MSD5g	17%*	-41,68
MSD5h	0,6	-45,97
MSD8a	0%*	-50,18
MSD8b	0%*	-55,22
MSD11a	0%	-54,6
MSD11b	0%*	-39,06
MSD11c	0%*	-39,02
MSD11i	0%*	-44,19
MSD11j	0%*	-56,06
MSD11k	0%*	-39,49
MSD11l	0%*	-41,08
MSD12a	40%* (~20)	-49,00
MSD15a	2%*	-34,84
MSD15b	19%*	-36,26
MSD16a	14%*	-39,85
MSD16b	0%*	-38,63

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 μM, ** Hemmung in % bei einer Konzentration von 50 μM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen, ^b Energiewert des am besten bewerteten Ligand-Rezeptor-Komplexes

Tabelle 5-1: COX-2-Dockingergebnisse (PDB: 1cx2)

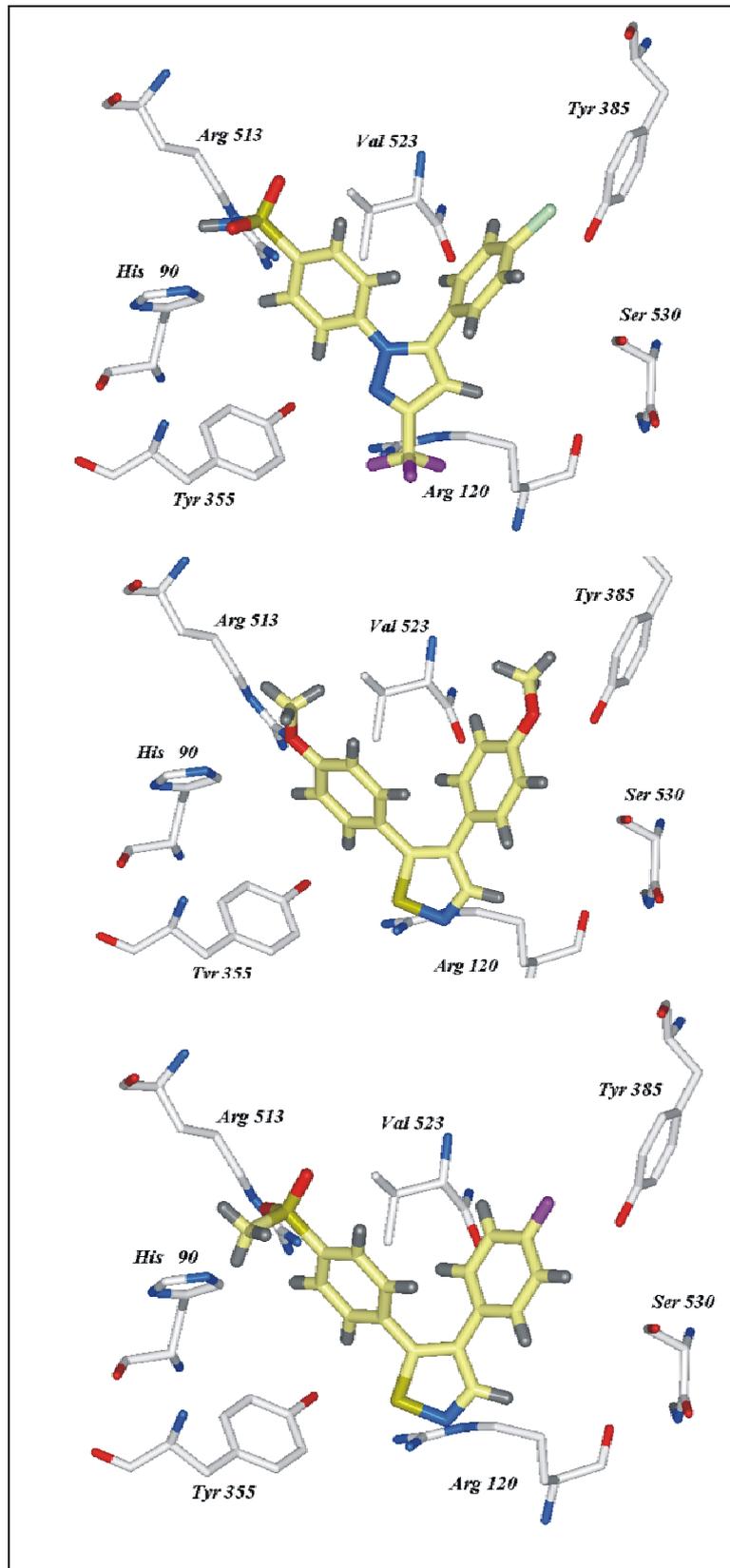


Abb.5-1: von oben nach unten: SC-558, MSD4a (IC_{50} : 0,82 μ M, ΔE = -46,7 kcal/mol) und MSD5h (IC_{50} : 0,6 μ M, ΔE = -45,97 kcal/mol) mit ICM-Pro [140] in COX-2 (1cx2) gedockt (die Wasserstoffatome der Aminosäuren werden aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht dargestellt)

Es ist nicht einfach aus dieser Gegenüberstellung von getesteten Hemmwerten und berechneten Ligand-Rezeptor-Komplexbildungsenergien eine sinnvolle Aussage zu ziehen. Man legt den Ergebnissen folgende Voraussetzung zugrunde: Ein einigermaßen stabiler Ligand-Rezeptor-Komplex sollte um mindestens 40 kcal/mol energieärmer sein als die Summe der jeweiligen Grundzustände, um von einer theoretischen Wirkung sprechen zu können. Eine Substanz wird als wirksam definiert, wenn der IC_{50} -Wert im Assay kleiner als 25 μ M beträgt.

Sechs von sieben im COX-2-Assay wirksamen Substanzen werden diesen Anforderungen gerecht: Celecoxib (IC_{50} : 0,8 μ M, ΔE = -67,38 kcal/mol), MSD4a (IC_{50} : 0,82 μ M, ΔE = -46,7 kcal/mol), MSD4h (IC_{50} : 9,3 μ M, ΔE = -47,85 kcal/mol), MSD5a (IC_{50} : 8 μ M, ΔE = -45,13 kcal/mol), MSD5h (IC_{50} : 0,6 μ M, ΔE = -45,97 kcal/mol) und MSD12a (IC_{50} ~ 20 μ M, ΔE = -49 kcal/mol) sind im COX-2-Assay und im Dockingassay wirksam. MSD4e (IC_{50} : 4,2 μ M, ΔE = -36,48 kcal/mol) ist im Assay wirksam, aber nicht in den Dockingberechnungen. Der Grund hierfür ist, dass durch die Dichlor-Substitution an den Aromaten dem Programm Möglichkeiten fehlen Wasserstoffbrückenbindungen zu diesen Strukturen zu berechnen. In Abb. 5-2 sind die Strukturen MSD4a, MSD4h, MSD5a, MSD5h und der Ligand SC-558 übereinander gelegt in der COX-2-Bindungstasche dargestellt. In dieser Abbildung kann man sehr schön die ähnlichen Konformationen der einzelnen Substanzen in der COX-2-Bindungstasche sehen.

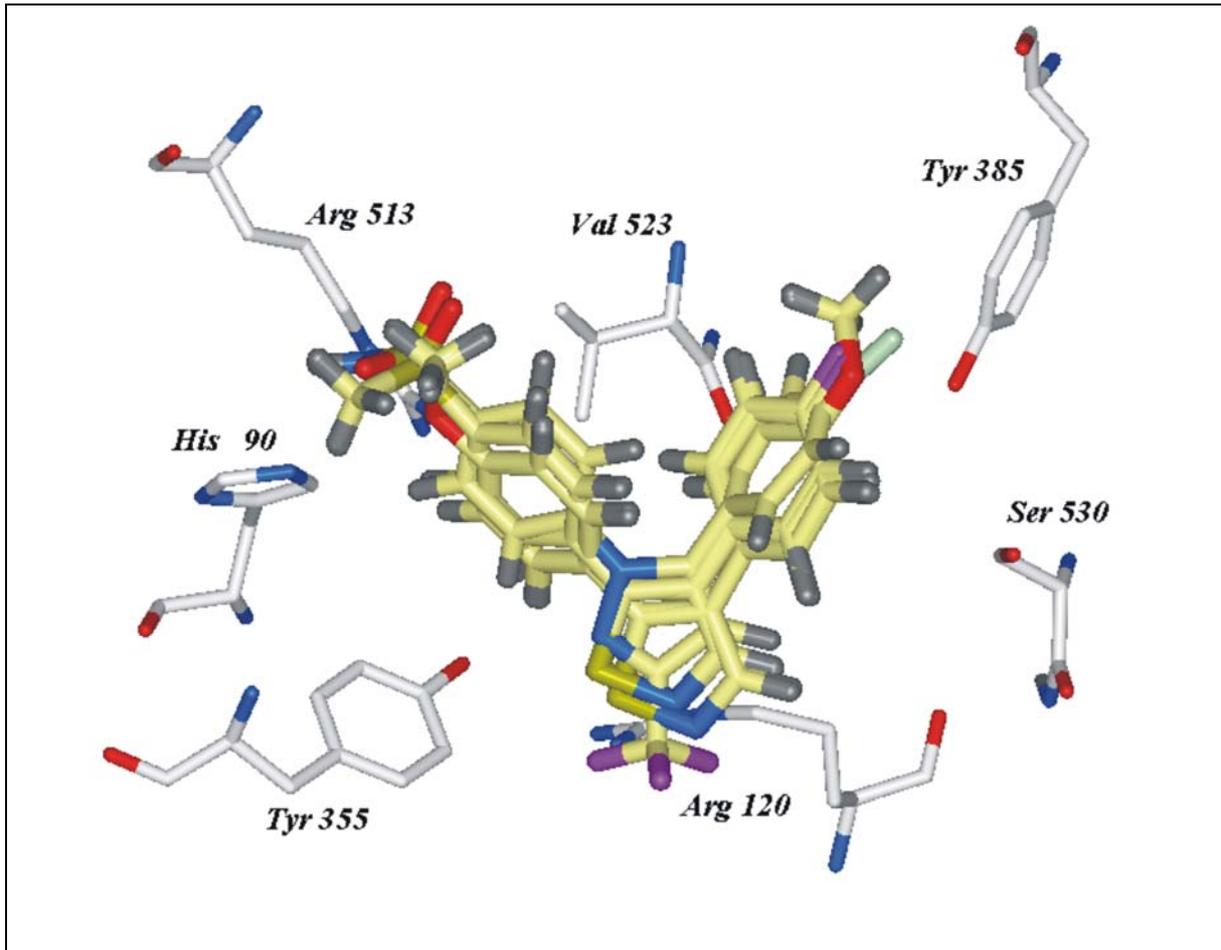


Abb. 5-2: MSD4a (IC_{50} : 0,82 μ M, ΔE = -46,7 kcal/mol), MSD4h (IC_{50} : 9,3 μ M, ΔE = -47,85kcal/mol), MSD5a (IC_{50} : 8 μ M, ΔE = -45,13 kcal/mol), MSD5h (IC_{50} : 0,6 μ M, ΔE =-45,97 kcal/mol) und SC-558 in der COX-2-Bindungstasche (1cx2) übereinander gelegt

Würde man nur das Verhältnis richtig/positiv (6 (Celecoxib, MSD4a, MSD4h, MSD5a, MSD5h und MSD12a) von 7) zu falsch/negativ (1 (MSD4e) von 7) beurteilen, käme man zu einem guten Ergebnis. Dagegen liegen 15 falsch/positive Ergebnisse, dass heißt 15 Substanzen (MSD4b-4d, MSD4f-4g, MSD4j, MSD5b, MSD5f-5g, MSD8a-8b, MSD11a, MSD11i-11j und MSD11l) werden als gut bindend gedockt und wirken im Assay nicht. 10 richtig/negative Ergebnisse, was wiederum bedeutet zehn Strukturen (MSD5c-5e, MSD11b-11c, MSD11k, MSD15a-15b, MSD16a-16b) wurden als schlecht bindend gedockt und sind auch im Test ohne Wirkung, stehen diesen gegenüber. In Wahrscheinlichkeiten ausgedrückt bedeutet es, dass wenn eine Substanz in unserem Docking-Versuch gut wirkt, in sechs (Celecoxib, MSD4a, MSD4h, MSD5a, MSD5h und MSD12a) von 21 Fällen (~29%) diese Struktur auch im biologischen Assay Wirkung zeigt. Umgekehrt betrachtet kann

in zehn (MSD5c-5e, MSD11b-11c, MSD11k, MSD15a-15b, MSD16a-16b) von elf Fällen (~91%) die Aussage, dass eine Substanz im Test nicht wirkt, bestätigt werden. Alles in allem ist diese Erfolgsquote durchaus mit Ergebnissen von Veröffentlichung [143] zu vergleichen.

5.1.3 Ergebnisse der COX-1-Docking-Studie

Wie im vorherigen Kapitel beschrieben, wurde für die COX-1 Dockingstudie eine Kristallstruktur mit Ibuprofen als Kokristall verwendet (PDB-Eintrag: 1eqg). Zurzeit gibt es noch keine COX-1-Kristallstruktur mit einem Diarylheterozyklus als kokristallisierten Ligand, deshalb wurde auf die Kristallstruktur mit dem Liganden Ibuprofen zurückgegriffen. In Tabelle 5-2 sind die Ergebnisse der COX-1 Dockingexperimente aufgeführt.

Auf den ersten Blick erkennt man, dass sich die ICM-Komplexbildungsenergiewerte drastisch von den Werten der COX-2 Experimente unterscheiden. Nur zwei Substanzen (Ibuprofen und Diclofenac) ergeben mit dieser Kristallstruktur einen Energiedifferenzwert von über 40 kcal/mol. Zwischen der Summe der Grundzustände der gedockten Substanz und des Proteins und dem Grundzustand des Ligand-Rezeptor-Komplexes beträgt die Differenz beim eigentlichen Liganden Ibuprofen -52,15 kcal/mol und beim Diclofenac -40,60 kcal/mol. Insgesamt wurden neben diesen beiden richtig/positiven Ergebnissen, zwei richtig/negative Ergebnisse (MSD4h, MSD5h) und 14 falsch/negative Aussagen erhalten. Auf den ersten Blick neigt man dazu den wissenschaftlichen Gehalt der Dockingexperimentreihe als negativ zu bewerten, denn hochpotente COX-1-Inhibitoren fallen hier als falsch/negative Ergebnisse aus dem Raster. Doch analysiert man die Gegebenheiten näher, sind diese Berechnungen nicht verständlich. Wenn man den Vorgang der Kokristallisation als Prozess versteht, bei dem in einem Enzym ein Abdruck der verwendeten Verbindung gemacht wird, dann ist dies dem Prozess einer Gussformherstellung nicht ganz unähnlich.

Angenommen, man möchte eine Gussform von einer Kugel mit einem Durchmesser von 1 cm herstellen, nimmt dafür ein Gefäß (Durchmesser: 8 cm, Volumen: 400 ml), gibt die Kugel in dieses Gefäß, füllt es mit Gips aus und lässt diesen erhärten. Dann nimmt man den erhärteten Abdruck raus, stellt einen sauberen Querschnitt her, entfernt die Kugel und testet ob eine Kugel mit einem Durchmesser von 3 cm in das Loch passt. Natürlich passt die größere Kugel nicht in den Abdruck der Kleineren, doch bedeutet dies dann auch, dass die große Kugel nicht in das Gefäß passt?

Angenommen, man möchte einen Abdruck von Ibuprofen in Form einer Kristallstruktur herstellen, nimmt dafür das COX-1-Enzym, gibt Ibuprofen dazu und lässt diesen Komplex auskristallisieren. Danach analysiert man über Röntgenspektroanalyse die Struktur des Enzyms mit Ibuprofen, gibt diese Daten als

PDB-File in das Programm ICM Pro [140] ein, blendet das Ibuprofen aus und testet (dockt), ob Diarylheterozyklen in die vom Ibuprofen hinterlassene Lücke passen. Die Ergebnisse der Dockingsoftware zeigen, dass sie nicht in die viel zu kleine Lücke passen, doch bedeutet das auch, dass sie nicht mit dem Enzym einen Komplex eingehen können?

Natürlich können die Diarylheterozyklen einen Komplex mit dem Rezeptor eingehen (siehe Ergebnisse der COX-1-Assays) und deshalb muss man die Ergebnisse der Dockingversuche kritisch betrachten, besonders dann, wenn ein sehr kleiner Ligand, wie das Ibuprofen als Kokristalliat verwendet wird. Die Kristallstrukturanalyse gibt uns nur den Abdruck wieder, den das Ibuprofen im Enzym hinterlässt. Die Software ist nicht in der Lage ist, die gegenseitige konformative Anpassung von Enzym und Ligand in einem dynamische Prozess zu simulieren Aus diesem Grund darf man sich nicht wundern, wenn hochpotente Substanzen als falsch/negative Ergebnisse erfasst werden.

Verbindung	^a COX-1 (12-HHT) IC ₅₀ [μM]	^b ICM- Komplexbildungsenergiewert COX-1 (PDB:1eqg) ΔE = kcal/mol
Ibuprofen	0,8	-52,15
Celecoxib	64%*	-27,55
Diclofenac	0,0028	-40,60
Licofelon	0,15	-14,74
MSD4a	0,0026	-27,45
MSD4b	0,01	-27,59
MSD4h	33%*	-27,63
MSD5a	0,0058	-27,08
MSD5b	0,023	-24,48
MSD5h	38%*	-27,63
MSD8a	0,075	-21,52
MSD8b	10,8 ^c	-28,02
MSD11a	0,28	-22,75
MSD11i	0,11 ^c	-25,52
MSD11j	2,4 ^c	-20,33
MSD11l	0,062	-20,34
MSD12a	0,0046	-24,35
MSD15a	0,0063	-16,58

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 μM, ** Hemmung in % bei einer Konzentration von 50 μM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen, ^b ΔE des am besten bewerteten Ligand-Rezeptor-Komplex, ^c Hemmwert wurde mit dem Faktor aus Kapitel 4.1.1.3 berechnet

Tabelle 5-2: COX-1-Dockingergebnisse (PDB: 1eqg) angegeben in kcal/mol

5.1.4 COX-2/COX-1 Mutationsversuche

Um die These zu bestätigen, dass die Dockingergebnisse sehr stark von dem ursprünglichen Liganden abhängen, wurde folgender Versuch unternommen:

Die Software ICM Pro erlaubt es, nachdem die Kristallstrukturrohdaten in das ICM-Format [140] übertragen wurden, einzelne Aminosäuren zu mutieren. Als Vorlage für die mutierte COX-1-Bindungstasche wurde die COX-2-Bindungstasche (PDB: 1cx2) verwendet, welche SC-558 als Ligand enthält, und die unterschiedlichen Aminosäuren zur „originalen“ COX-1-Bindungstasche (PDB: 1eqgf) mutiert. In Tabelle 5-3 sind 24 Aminosäuren von COX-1 und COX-2 aufgeführt, die sich in der Bindungstasche oder in deren Nähe befinden. Für den Versuch wurden 24 Aminosäuren der COX-2 in die entsprechenden Aminosäuren der COX-1-Sequenz mutiert. Zu beachten ist, dass die Seitenketten der mutierten Aminosäuren nicht mehr bearbeitet wurden. Diese blieben in der Ausrichtung, die das Programm als Standardeinstellung vorschlägt.

Nach der Mutation der Bindungstasche wurden die Dockingversuche an der COX-1-Bindungstasche wiederholt. In Tabelle 5-4 sind die Ergebnisse der Dockingversuche von COX-1 und mutierter COX-1 für eine Auswahl an Substanzen nebeneinander dargestellt.

Position	COX-1 Schaaf 1eqg	COX-2 Maus 1cx2	COX-2 1cx2 mutiert in COX-1	Position	COX-1 Schaaf 1eqg	COX-2 Maus 1cx2	COX-2 1cx2 mutiert in COX-1
83	R	K	R ^m	383	Q	T	Q ^m
89	I	V	I ^m	388	L	H	L ^m
112	C	I	C ^m	434	I	V	I ^m
114	R	K	R ^m	435	G	A	G ^m
115	L	Y	L ^m	472	M	L	M ^m
119	V	S	V ^m	503	F	L	F ^m
194	T	S	T ^m	513	H	R	H ^m
347	E	D	E ^m	516	S	A	S ^m
351	Q	H	Q ^m	521	S	T	S ^m
356	F	H	F ^m	523	I	V	I ^m
357	L	F	L ^m	525	M	L	M ^m
358	Q	K	Q ^m	535	L	M	L ^m

^m Aminosäure, mit ICM Pro mutiert

Tabelle 5-3: Auflistung der Aminosäuresequenzen in der Bindungstasche und der näheren Umgebung von COX-1 (Schaaf 1eqg), COX-2 (Maus 1cx2) und der von COX-2 (1cx2) in COX-1 mutierten Sequenz

5. Molecular Modelling Studien

Verbindung	^a COX-1 (12-HHT) IC ₅₀ [μM]	^b ICM- Komplexbildungs- energiewert COX-1 (PDB:1eqg) ΔE = kcal/mol	^b ICM- Komplexbildungs- energiewert mutierte COX-1 (PDB:1cx2 mutiert) ΔE = kcal/mol
Ibuprofen	0,8	-52,15	-46,31
Celecoxib	64%*	-27,55	-42,18
Diclofenac	0,0028	-40,60	-42,02
Licofelon	0,15	-14,74	-25,12
MSD4a	0,0026	-27,45	-42,17
MSD4b	0,01	-27,59	-45,24
MSD4h	33%*	-27,63	-32,12
MSD5a	0,0058	-27,08	-42,57
MSD5b	0,023	-24,48	-43,34
MSD5h	38%*	-27,63	-34,00
MSD8a	0,075	-21,52	-47,79
MSD8b	10,8 ^c	-28,02	-57,23
MSD11b	0,012 ^c	-23,72	-34,43
MSD11i	0,11 ^c	-25,52	-37,50
MSD11j	2,4 ^c	-20,33	-52,09
MSD12a	0,0046	-24,35	-41,76
MSD15a	0,0063	-16,58	-33,20

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 μM, ** Hemmung in % bei einer Konzentration von 50μM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen, ^b ΔE des am besten bewerteten Ligand-Rezeptor-Komplex, ^c Hemmwert wurde mit dem Faktor aus Kapitel 4.1.1.3 berechnet

Tabelle 5-4: Dockingergebnisse von COX-1 (PDB: 1eqg) verglichen mit mutierter COX-1 (mutierte Form von COX-2, ursprünglich PDB: 1cx2)

Trotz der Tatsache, dass 24 Aminosäuren mutiert und nicht weiter bearbeitet wurden, stimmen die Dockingergebnisse mit der mutierten COX-1-Tasche wesentlich besser mit den Enzymhemmungen überein als die Ergebnisse der COX-1-Bindungstasche, die Ibuprofen als Liganden enthielt. Die berechneten Komplexbildungsenergien waren bei einer größeren Anzahl von mehr Substanzen, die wirksam waren, tatsächlich auch größer als 40 kcal/mol. Es wurden 11 richtig/positive Ergebnisse erhalten. Für diese Verbindungen wurden im Dockingexperiment mehr als 40 kcal/mol Komplexbildungsenergie berechnet und im COX-1-Assay ein IC_{50} -Wert, der kleiner als 25 μ M ist, erhalten. Vier Ergebnisse sind als falsch/negativ einzuordnen, darunter fallen neben dem Licofelon, die Isothiazol-(2H)3-on-1,1-dioxide MSD11b, MSD11i (Strukturformel: Tabelle 3-10) und das Dithiol-3-thion MSD15a (Strukturformel: Tabelle 3-11). Es wurden 2 richtig/negative Ergebnisse erhalten und zwar bei den Methylsulfonylanaloga MSD4h (Strukturformel: Tabelle 3-5) und MSD5h (Strukturformel: Tabelle 3-6). Beide waren im biologischen Test schlecht wirksam und es wurden für diese Substanzen auch Komplexbildungsenergien kleiner als 40 kcal/mol berechnet.

Weitere interessante Informationen kann man aus dem Vergleich der Ergebnisse der COX-2-Bindungstudie mit den Dockingergebnissen der mutierten COX-1 erhalten (Tabelle 5-5). Exemplarisch sind dort die Ergebnisse von MSD4a, MSD4h, MSD5a, und MSD5h aufgeführt.

Verbindung	^a COX-1 (12-HHT) IC ₅₀ [μM]	^b ICM- Komplexbildungs- energiewert mutierte COX-1 (PDB:1cx2 mutiert) ΔE = kcal/mol	^a COX-2 (Vollblut) IC ₅₀ [μM]	^b ICM- Komplexbildungs- energiewert COX-2 (PDB:1cx2) ΔE = kcal/mol
Celecoxib	65%*	-42,18	0,8	-67,38
MSD4a	0,0026	-42,17	0,82	-46,7
MSD4h	33%*	-31,12	9,3	-47,85
MSD5a	0,0058	-42,57	8	-45,13
MSD5h	38%*	-34,00	0,6	-45,97

* Hemmung in % bei einer Konzentration von 10 μM, ^a IC₅₀ beruht auf mindestens 2 Messungen,

^b Energiewert des am besten bewerteten Ligand-Rezeptor-Komplexes

Tabelle 5-5: Darstellung der Dockingergebnisse von COX-2 und mutierter COX-1 und den jeweiligen Assayhemmwerten

MSD4a und MSD5a (dimethoxy-substituiertes Isothiazol bzw. Isoselenazol) sind beide bezogen auf COX-1 und COX-2, sowohl im Assay als auch nach der Dockingstudie, wirksam. Im Gegensatz dazu ist der Einfluss der Methylsulfonylgruppe auf die COX-1-Hemmung von MSD4h, MSD5h und Celecoxib, nicht nur in den Assays, sondern auch in den Dockingstudien, gut erkennbar. Die Verringerung des Komplex-Bildungsenergiewertes ΔE in den Dockingexperimenten (COX-2 versus COX-1) beträgt bei Celecoxib 25,2 kcal/mol, bei MSD4h 16,73 kcal/mol und bei MSD5h immerhin noch 11,97 kcal/mol. Damit ist, an einer zugegebenermaßen geringen Zahl von Methylsulfonylanaloga, der in Richtung COX-2-Selektivität gehende Einfluss der Methylsulfonylgruppe sowohl im biologischen Test als auch im Dockingexperiment bestätigt worden. In Abb. 5-3 sind jeweils 3 Konformationen von MSD4a in der COX-1- (1eqg), mutierter COX-1- (ursprünglich 1cx2) und COX-2-Bindungstasche (1cx2) dargestellt.

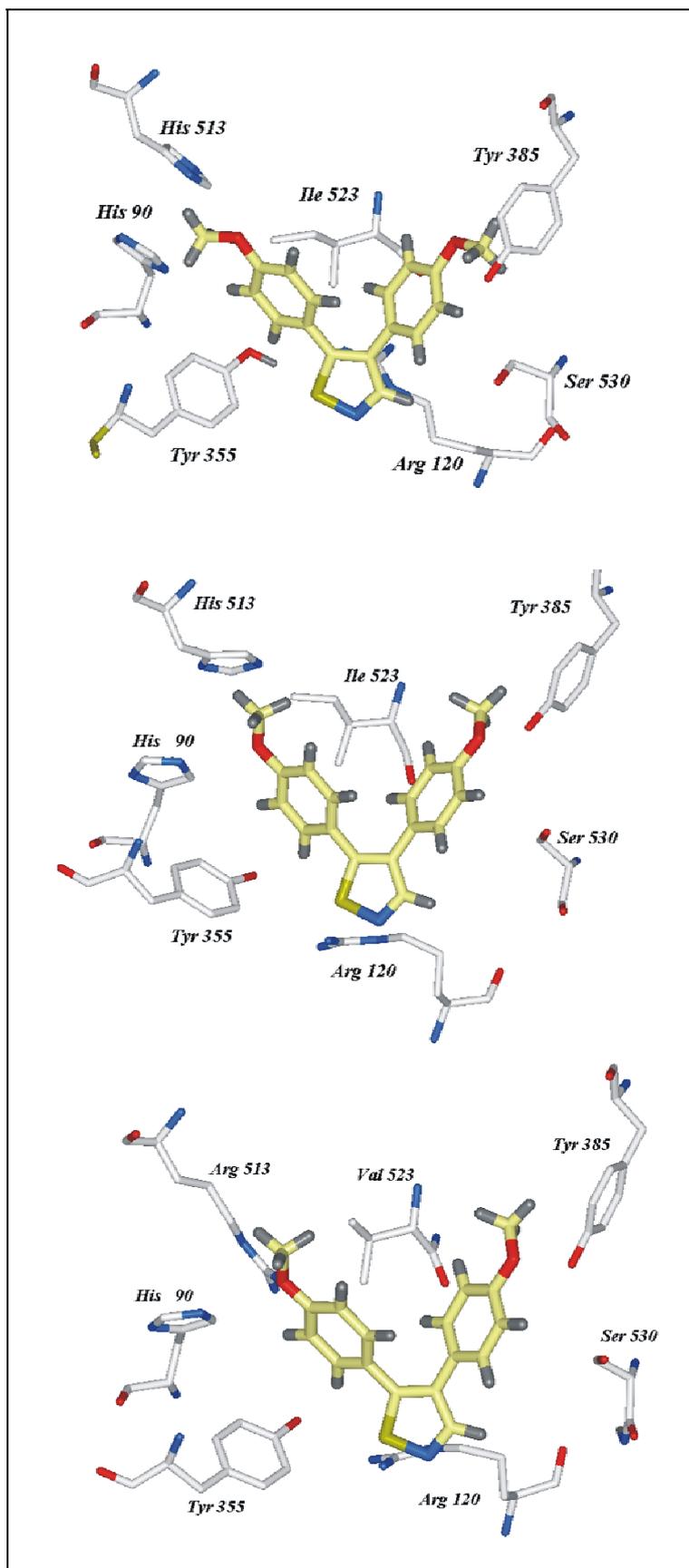


Abb. 5-3: von oben nach unten: MSD4a in COX-1 (1eqg, IC_{50} : 0,0026 μ M, ΔE = -27,45 kcal/mol), mutierter COX-1 (1cx2 mutiert, IC_{50} : 0,0026 μ M, ΔE = -42,17 kcal/mol) und COX-2 (1cx2, IC_{50} : 0,82 μ M, ΔE = -46,70 kcal/mol)

5.1.5 Bewertung der Ergebnisse

Um die Güte der Ergebnisse zu beurteilen muss beachtet werden, dass das Programm ICM Pro [140], aber auch andere Docking Programme auf dem Markt, fünf große Nachteile haben:

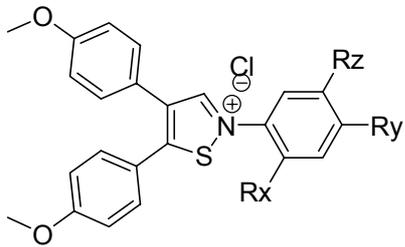
1. Die Qualität der Berechnungen ist sehr stark von dem kokristallisierten Liganden abhängig, da die Lage der einzelnen Aminosäuren, besonders die flexiblen Seitenketten, sich beim Kristallisationsprozess an den Liganden (aber auch umgekehrt, der Ligand an die Aminosäuren) anpassen.
2. Bei den Dockingberechnungen ist nur der Ligand flexibel, die Rezeptortasche bleibt starr. Dies entspricht nicht den Bedingungen in der Realität, da die entsprechenden Seitenketten der Aminosäuren durchaus flexibel sind und sich sogar ganze Rezeptorbereiche einem entsprechenden Liganden anpassen (induced fit) können.
3. Das auskristallisierte Enzym liegt nicht in seiner natürlichen Konformation vor, sondern in einer den Kristallisationsbedingungen entsprechenden energieärmeren Konformation.
4. Die Ligand-Rezeptor-Dockingberechnungen werden für ein System im Vakuum durchgeführt und nicht für ein wässriges System. ICM Pro berücksichtigt zum Teil Solvatationseffekte.
5. Die Dockingsoftware ist ebenfalls nicht in der Lage π,π -Wechselwirkungen zu berechnen und diese in die theoretische Bewertung einfließen zu lassen.

Ob sich damit alleine die falsch/positiven Ergebnisse der COX-2-Dockingstudie erklären lassen, ist fraglich. Weiterhin ist es schwierig zu beurteilen, welche Gründe die Unwirksamkeit einer Substanz hat, denn ob eine Verbindung in die Enzymbindungstasche passt, ist nur ein Aspekt. Viele pharmakokinetische Aspekte, wie z.B. Diffusionsfähigkeit durch Zellmembranen, Plasmaproteinbindung oder die Verteilung im Organismus, lassen sich nicht voraussagen. Theoretisch ist es möglich, dass das COX-2 unwirksame MSD8b (Strukturformel: Tabelle3-9), wie die Dockingstudie belegt, gut ins Enzym passt, nur dass es im verwendeten Vollblutassay nicht am Wirkort ankommt.

5.2 Strukturvergleich von energieminierten Strukturen

Mit dem Programm Spartan [141] ist es möglich die van der Waals-Oberfläche von Molekülen zu berechnen und deren Elektronendichte, Ionisierung und andere Parameter darzustellen. Um Aussagen über die Wirksamkeit von Substanzen auf das Enzym 5-Lipoxygenase zu machen, wurden Strukturen als Modifikationen von MSD4a entwickelt, welche der Oberflächenstruktur von verschiedenen 5-LOX-Inhibitoren, wie z.B. Licofelon, ZD-2138 oder dem von Barbey et al. [60] entwickelten COX-2/5-LOX-Inhibitor ähneln und sich so eventuell auch ähnlich im Enzym verhalten. Die energieminierten Strukturen wurden mit der quantenmechanisch semiempirischen Methode (AM1-Verfahren) berechnet und zum Vergleich über die bekannten 5-LOX-Inhibitoren gelegt, um Ähnlichkeiten in der Oberflächenladungsverteilung und räumlichen Anordnung darzustellen.

In Abb. 5-4 sind die Strukturen und in Abb. 5-5 sind die Elektronenverteilungen an den Oberflächen von MSD7a-MSD7e, Licofelon und der Verbindung von Barbey et al. [60] dargestellt.

 <p>MSD7a-MSD7f</p>	Rx	Ry	Rz	Verbindung
	H	H	H	MSD7a
	H	OCH ₃	H	MSD7b
	H	Cl	H	MSD7c
	OCH ₃	H	C ₆ H ₅	MSD7d
	OCH ₃	H	<i>tert</i> -butyl	MSD7e
	H	H	OC ₆ H ₅	MSD7f

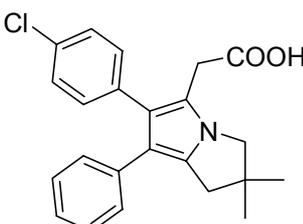
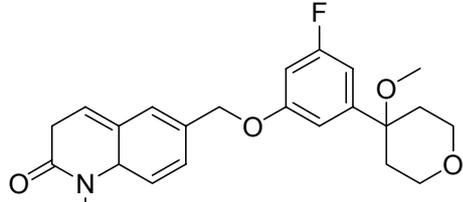
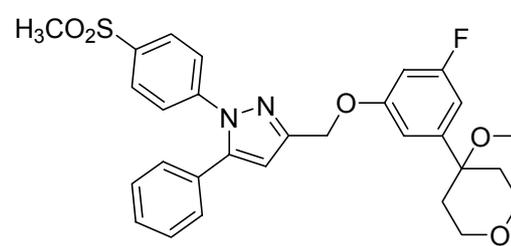
 <p>Licofelon</p>	 <p>ZD-2138</p>  <p>Barbey et al. [70]</p>
---	---

Abb. 5-4 Strukturen, der mit Spartan untersuchten Substanzen

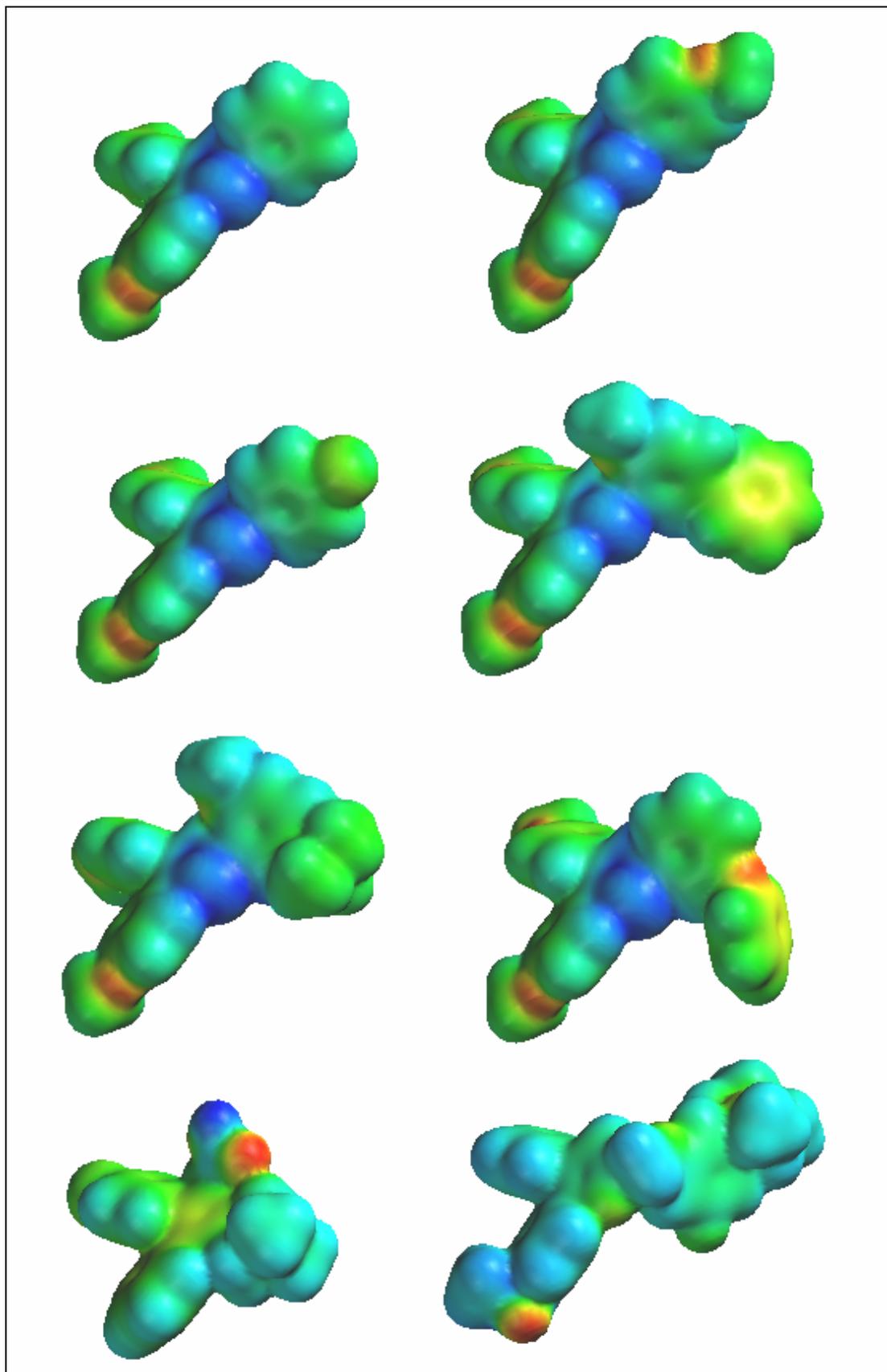


Abb.5-5: Oberflächendarstellung der Elektronenverteilung: von oben: 1.Reihe: MSD7a, MSD7b, 2. Reihe: MSD7c, MSD7d, 3.Reihe: MSD7e, MSD7f, 4.Reihe: Licofelon, Verbindung Barbey et al. [60] (rot = hohe Elektronendichte, blau = geringe Elektronendichte)

Die Verbindungen MSD7a wurde synthetisiert, um zu beweisen, dass der Ringschluss von MSD6a mit Aniliniumhydrochlorid zum Isothiazoliumchlorid gelingt. Entsprechend wurden MSD7b-7f synthetisiert.

Bei dem Übereinanderlegen der Strukturen, wurde versucht die räumliche Anordnung der als Vergleich dienenden 5-LOX-Inhibitoren zu simulieren. Sichtbar ist, dass die Substanzen einen lipophilen, nicht linearen Strukturbaustein besitzen (in der jeweiligen Struktur rechts dargestellt). Die Studien ergaben, dass, wenn an MSD7a in Metaposition lipophile Reste eingeführt wurden, z.B. ein Phenylrest (MSD7d), einen tert-Butylrest (MSD7e) oder eine Phenoxygruppe (MSD7f), die räumliche Ausdehnung des lipophilen Restes ähnlich war wie bei Licofelon und der Verbindung von Barbey (Abb. 5-6). Dargestellt sind die übereinander gelegten Elektronenverteilungsoberflächen.

Die Bereiche, die jeweils verschieden sind, wurden rot bzw. gelb eingekreist. Insgesamt ist eine relativ ähnliche Ausdehnung der Oberflächen zu beobachten. Damit wurde die Überlegungen zum Teil bestätigt, dass durch Anpassung der Oberflächen der Zielstruktur an Oberflächen bekannter 5-LOX-Hemmer mit ähnlicher Struktur, Erfolge zu erzielen sind. Die Verbindungen MSD7a und MSD7b sind in unserem 5-LOX-Assay unwirksam. Die Verbindungen MSD7c (27% Hemmung bei einer Konzentration 10 μM) und MSD7d (24% Hemmung bei einer Konzentration von 10 μM) zeigen ein relativ schwaches Hemmvermögen. MSD7e (46% Hemmung bei einer Konzentration von 10 μM), mit der tert. Bultylgruppe in Metaposition, und MSD7f (44% Hemmung bei einer Konzentration von 10 μM), mit der Phenoxygruppe in Metaposition, zeigen ein relativ starkes Hemmvermögen.

Kritisch zu dieser Studie anzumerken sind folgende Punkte:

Die Analyse bezog sich hauptsächlich auf die Oberflächenstruktur, weniger auf die Elektronenverteilung auf der Oberfläche. Weiterhin werden hier Strukturen verglichen, die grundsätzlich sehr verschiedene Eigenschaften besitzen. Zum Beispiel liegen die Isothiazoliumchloride geladen vor und sind damit polar. Licofelon hingegen ist eine Säure und ist unpolar.

Die ionischen Struktur der Isothiazoliumchloride ist auch deswegen ein Problem, weil der hydrophile Grundkörper schlecht in die lipophile 5-LOX-Tasche passt. Dies kann man durch den Vergleich der 5-LOX-Hemmung von MSD4a und MSD7a zeigen. MSD4a hemmt die 5-LOX immerhin zu 37% bei 10 μM , MSD7a zeigt keine Hemmung. Doch ist es mit dieser Studie möglich zu zeigen, dass eine Anpassung der lipophilen Strukturbausteine von Verbindungen zu einer Steigerung der 5-LOX-

Inhibition führen kann. In diesem Fall stieg die Fähigkeit der 5-LOX-Inhibition von 0% Hemmung bei einer Konzentration von 10 μM bei MSD7a, auf 46 % Hemmung bei einer Konzentration von 10 μM bei MSD7e. Neben der kaum verbesserten 5-LOX-Inhibition im Vergleich zu MSD4a verschlechterten sich die COX-2 Hemmwerte rapide, so dass dieser Strukturtyp nicht weiterentwickelt wurde. Auch sind die stark hygroskopischen Eigenschaften nachteilig.

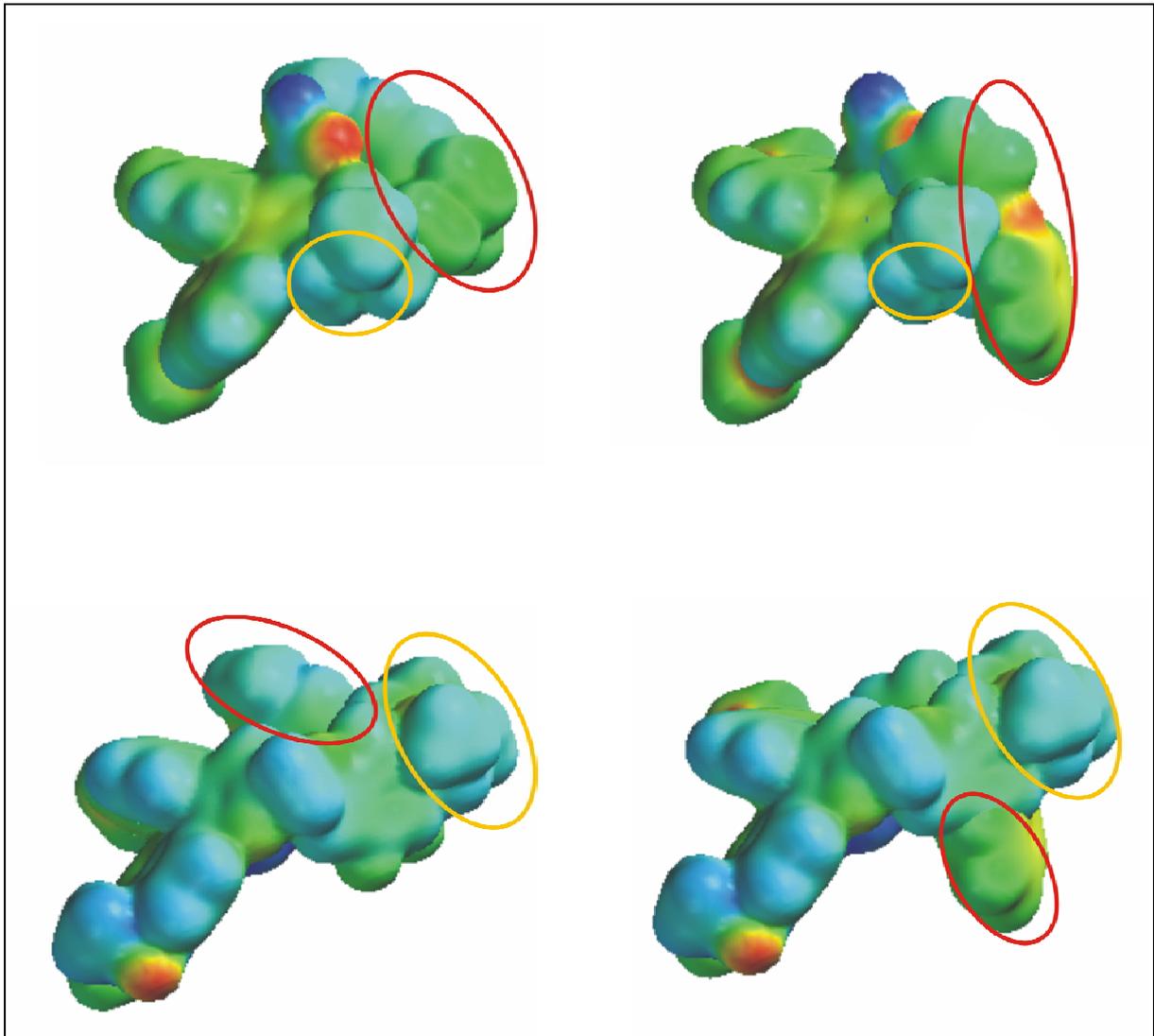


Abb. 5-6: oben Licofelon übereinander gelegt mit MSD7e (links) und MSD7f (rechts), unten: Verbindung Barbey et al. [60] übereinander gelegt mit MSD7e (links) und MSD7f (rechts), roter Bereich entspricht dem Bereich welcher nur von MSD7e oder MSD7f eingenommen wird, der gelbe Bereich entspricht dem Bereich der nur vom Licofelon oder der Verbindung Barbey et al. [60] eingenommen wird (rot = hohe Elektronendichte, blau = geringe Elektronendichte)

5.3 Log P-Wert Berechnung

Der log P-Wert stellt den dekadischen Logarithmus der Konzentration einer Substanz in der Oktanolphase geteilt durch die Konzentration in der Wasserphase in einem Verteilungsexperiment dar. Gebräuchliche Methoden sind die „shake-flask“- und HPLC-Methoden [144,145,146,147,148].

Die log P-Werte wurden aus 2 Gründen berechnet:

1. Das Enzym 5-Lipoxygenase hat eine längliche lipophile Bindungstasche [55]. Es soll eine Relation zwischen der Lipophilie einer Substanz in Form von dessen log P-Wertes und seiner 5-LOX-Inhibition hergestellt werden.
2. ZNS-gängige Strukturen haben oftmals einen log P-Wert von ungefähr 2 [149]. Da entzündungshemmende Substanzen auch zentral bei Krankheiten wie Alzheimer und Parkinson diskutiert werden, ist hierfür die Betrachtung des log P-Wertes von Bedeutung.

5.3.1 Methode der log P-Wertberechnung

Zur log P-Wertberechnung wurde die Software ChemDraw Version 8.0 verwendet. In ihr ist der Berechnungsalgorithmus für den sehr häufig verwendeten clogP-Wert [150,151,152,153,154,155] enthalten. Diese Methode basiert auf der von Corwin Hansch entwickelten C-QSAR-Methode, welche von der Firma Biobyte Corp. vertrieben wird, und basiert auf einer Datenbank mit 12600 Messungen von Vergleichsubstanzen. Sie bietet einen Bestimmtheitsgrad r^2 von 0,973 (Der Wert 1 würde einer perfekten Linearität entsprechen, alle Fehlerterme wären 0) und eine Standardabweichung s von 0,299 log P-Werteinheiten.

5.3.2 Auswertung der log P-Wertberechnung

Ziel dieser Methode war es durch Vergleich von berechneten log P-Werten einen Einfluss auf die 5-LOX-Hemmung ableiten zu können. Auf Grund der Tatsache, auf wie vielen Werten die clog P-Wertberechnungen basieren, kann man von einer guten Korrelation von berechneten Werten zu den experimentell bestimmten Werten ausgehen. Vorteilhaft sind weiterhin der geringe zeitliche Aufwand dieser

Berechnungen und die, im Gegensatz zum experimentellen Test, sehr geringe Anfälligkeit und die einfache, wenig fehlerbehaftete Durchführung. Um die Methode zu testen wurden 11 Standardsubstanzen aus der „OECD guideline“ Nr.117 [156] ausgewählt, deren angegebenen log P-Werte experimentell mit einer HPLC-Methode bestimmt wurden. Diese experimentell bestimmten Werte wurden mit den berechneten verglichen, um zu zeigen, dass die berechneten clog P-Werte den im klassischen Wasser/Oktanol-Gemisch experimentell bestimmten log P-Werten sehr nahe sind (Tabelle 5-6).

Verbindung	log P experimentell bestimmt	clog P berechnet
Benzonitril	1,6	1,58
Acetophenon	1,7	1,58
Toluol	2,7	2,64
Chlorbenzen	2,8	2,85
Benzophenon	3,2	3,18
Thymol	3,3	3,2
Napthalen	3,6	3,3
Benzoessäurebenzylhydroxidester	4,0	3,94
Biphenyl	4,0	4,03
Diphenylether	4,2	4,24
Triphenylamin	5,7	5,74

Tabelle 5-6: Auflistung von experimentell bestimmten logP Daten [156] und berechneten clog P-Daten von 11 Referenzsubstanzen

Wie zu sehen ist, passen die experimentell bestimmten Daten sehr gut mit den berechneten Daten überein. Bei zehn Berechnungen war der Unterschied kleiner als 0,1 log P-Werteinheiten und nur bei einem Beispiel beträgt die Differenz 0,3 log P-Werteinheiten. Selbst die Abweichung von 0,3 log P-Werteinheiten ist als relativ unbedeutend einzustufen. Von diesen Erkenntnissen ausgehend wurden clog P-Werte von fast allen Endstrukturen bestimmt (Tabelle 5-7). Die Isothiazoliumchloride MSD7a bis MSD7f konnten nicht berechnet werden.

5. Molecular Modelling Studien

Verbindung	clog P	Verbindung	clog P
MSD4a	4,2	MSD8a	4,7
MSD4b	4,73	MSD8b	2,91
MSD4c	5,48	MSD9a	5,8
MSD4d	5,48	MSD9b	7,68
MSD4e	5,70	MSD10a	2,52
MSD4f	4,95	MSD11a	2,15
MSD4g	4,95	MSD11b	4,73
MSD4h	2,84	MSD11c	5,45
MSD4i	4,26	MSD11d	6,56
MSD4j	3,14	MSD11e	5,62
MSD4k	3,67	MSD11f	5,29
MSD4l	4,94	MSD11g	3,09
MSD5a	3,99	MSD11h	4,16
MSD5b	4,57	MSD11i	2,71
MSD5c	5,36	MSD11j	1,86
MSD5d	5,36	MSD11k	3,46
MSD5e	5,58	MSD11l	4,25
MSD5f	4,78	MSD11m	3,36
MSD5g	4,78	MSD11n	3,97
MSD5h	2,65	MSD11o	3,46
MSD7a	n.b.	MSD12a	4,76
MSD7b	n.b.	MSD15a	5,85
MSD7c	n.b.	MSD15b	5,85
MSD7d	n.b.	MSD16a	5,61
MSD7e	n.b.	MSD16b	5,61
MSD7f	n.b.		

Tabelle 5-7: clog P-Werte der Endstrukturen

Von den clog P-Werte der potentesten Verbindungen MSD4a (clog P = 4,2), MSD4h (clog P = 2,84), MSD5a (clog P = 3,99) und MSD5h (clog P = 2,65) liegen nur die Methylsulfonylderivate MSD4h und MSD5h im Bereich um 2, und sollten somit in der Lage sein die Bluthirnschranke durch Diffusion zu passieren. Die Werte für MSD4a und MSD5a liegen um den Wert 4, was aber nicht bedeutet, dass die Substanzen die Blut-Hirn-Schranke auf keinen Fall passieren können. Ein in der „rule of five“ [157] definierte Ausschlussgröße ist unter anderem ein logP-Wert größer als 5. Auch sind keine Korrelationen bezüglich der Lipophilie der Substanzen und deren 5-LOX-Inhibition zu erkennen. MSD5h ist mit einer 5-LOX-Hemmung von 60% bei 10 μ M und einem clog P-Wert von 2,65 in etwa genauso potent wie MSD5c mit einer Hemmung von 67% bei 10 μ M und einem log P-Wert von 5,36. Weiterhin kann folgende Reihe mit steigender Lipophilie aufgestellt werden: Isoselenazole MSD5 < Isothiazole MSD4 < Dithiol-3-one MSD16 < Dithiol-3-thione MSD15.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit werden 52 Verbindungen beschrieben, welche auf COX/LOX-Inhibition mit zusätzlichen Hydroxylradikalfängereigenschaften getestet worden sind.

Es war möglich eine neue Synthesestrategie für noch nicht beschriebene 4,5-Diarylisoselenazole zu entwickeln und eine vorhandene Synthese für Isothiazoliumchloride von zwei Stufen, mit mäßigen Ausbeuten, auf eine Stufe, mit hoher Ausbeute, zu verkürzen.

Es wurden mehrere COX-Inhibitoren identifiziert. MSD4a, MSD4h, MSD5a und MSD5h konnten als COX-1-, COX-2- und 5-LOX-Hemmer identifiziert werden. Besonders hervorzuheben ist die Verbindung MSD5h, die zusätzlich zur COX-1-, COX-2- und 5-LOX-Inhibition eine leichte Hemmung im Hydroxylradikalfänger-Assay zeigt, für die ein clog P -Wert von 2,65 berechnet wurde und die im XTT-Zytotoxizitätstestsystem, selbst bei einer Konzentration von 100 μM , kaum toxische Eigenschaften besitzt.

Weiterhin war es möglich zu zeigen, dass Carbonsäuren gute Hydroxylradikalfängereigenschaften in unserem, auf der Fenton-Reaktion basierenden, Testsystem haben. Die Potenz der Carbonsäuren MSD8b und MSD11j im Vergleich zu den unwirksamen korrespondierenden Ester MSD8a und MSD11i führte zu Untersuchungen mit weiteren Carbonsäuren und deren Ester. Um den Wirkungsmechanismus zu erforschen wurde das Testsystem modifiziert, um eine Komplexierung der Eisenionen durch die Carbonsäuren auszuschließen. An Hand der Substanzen MSD8b und MSD11j wurde nachgewiesen, dass diese mit dem Hydroxylradikal reagieren, ohne zu decarboxylieren oder andere Zerfallsreaktionen einzugehen.

Zusätzlich zu den Untersuchungen der Enzym-Inhibition sowie des Hydroxylradikal-Scavenings wurden Molecular Modelling Studien durchgeführt. Die Ergebnisse der Dockingstudien in COX-1- (1egg), COX-2- (1cx2) und in COX-1 mutierte COX-2-Kristallstrukturen (1cx2) führen zu einer kritischen Bewertung des folgenden Ansatzes: Es ist nicht unbedingt sinnvoll zuerst Strukturen mit dem Computer zu entwerfen und zu modellieren und sie erst dann zu synthetisieren und in Enzym- oder Zellassays zu testen. Die Begründung dafür liegt in der Schwierigkeit einschätzen zu können, wie nah das gewählte Modell der Wirklichkeit ist. In den

durchgeführten Dockingstudien konnte der sehr große Einfluss des kokristallisierten Liganden in der als Grundlage dienenden Kristallstruktur auf die Dockingergebnisse gezeigt werden. Durch einen zu kleinen kokristallisierten Liganden in der COX-1-Bindungstasche wurden als Ergebnis der Dockingstudie alle Verbindungen als nicht potent eingestuft, obwohl diese zum Teil im Enzymtestsystem wirksam waren. Dies konnte mit den Mutationsversuchen ausgeglichen werden.

Deshalb kann man aus diesen Ergebnissen als Fazit ziehen, dass eine Strategie, Strukturen zu synthetisieren, in vitro zu testen und dabei die Strukturentwicklung mit Molecular Modelling Studien zu unterstützen, die Methode der Wahl darstellt.

7. Ausblick

7.1 Chemie

Diese Arbeit kann als Grundlage für die Synthese von weiteren 4,5-diarylsubstituierten Isoselenazolverbindungen dienen. Dass der gewählte Ringschluss unter Verwendung von aliphatischen Substituenten in Position 4 und 5 funktioniert, bedarf der Überprüfung. Auch sollte es möglich sein, die zu den beschriebenen Isothiazoliumverbindungen korrespondierende Isoselenazoliumverbindungen zu synthetisieren. Mit der im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Synthese von Isoselenazolen werden neue interessante Strukturen zugänglich.

7.2 Pharmakologie

7.2.1 COX/LOX-Hemmung

Die wirksamen Diaryldithiol-3-thione [114] (MSD15) und Diaryldithiol-3-one (MSD16), und die Substanzen dieser Arbeit, die Isothiazole (MSD4) und Isoselenazole (MSD5), haben den Nachteil, dass sie nur eine geringe Zahl von Modifikationen zulassen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden viele Versuche unternommen den Isothiazolzyklus zu modifizieren. Es war möglich Isothiazoliumchloride (MSD7), Isothiazol-(2H)-3-on-1,1-dioxide (MSD11), Pyrrolderivate (MSD8, MSD9) darzustellen. Keiner der neuen Grundkörper brachte eine Verbesserung in Bezug auf die COX1-, COX-2- oder 5-LOX-Inhibition.

Dagegen ist MSD12a ein potenter COX-1- und COX-2-Inhibitor mit der Möglichkeiten weiterer struktureller Modifikationen. Diese Strukturklasse könnte für weitere Untersuchungen interessant sein.

7.2.2 Abfangen von Hydroxylradikalen

Es konnte gezeigt werden, dass viele Carbonsäuren, im Gegensatz zu ihren Estern, gute Hydroxylradikalfänger sind und dass die Hydroxylradikalfängereigenschaften von am Aromaten gebundenen Methylsulfonylgruppen und von Dithiol-3-thionen additiv sind. Somit ist die Fragestellung interessant, ob die OH-Scavenging

7. Ausblick

Aktivität von Carbonsäuren in Verbindung mit am Aromaten gebundenen Methylsulfonylguppen und/oder Dithiol-3-thione additiv verstärkt werden kann. Weiterhin wäre die Identifikation von weiteren Hydroxylradikal abfangenden Strukturelementen bedeutsam.

8. Experimenteller Teil

8.1 Allgemeine Angaben

8.1.1 Chromatographie

Dünnschichtchromatographie (DC): DC-Plastikfolien, Kieselgel 60 F₂₅₄,
(Fa. Merck, Darmstadt/D, Art.-Nr. 1.05735)

Säulenchromatographie (SC): Kieselgel 60, Korngröße 0,063-0,200 mm
(Fa. Merck, Gernsheim/D, Art.-Nr. 1.07734)

Mischungsverhältnisse der angegebenen Fließmittel beziehen sich auf Volumenteile.

8.1.2 Elementaranalyse

Gerät: Haereus CHN rapid, Carlo Erba Strumentazione 1106

8.1.3 IR-Spektroskopie

Gerät: Thermo Nicolet Avatar 330 FT-IR

Medien: Die Spektren wurden direkt mit einem Wirkstoffkristall aufgenommen.

8.1.4 Kristallstrukturanalyse

Gerät: CAD4-Diffraktometer (Enraf-Nonius)

8.1.5 Massenspektrometrie

Geräte: Varian CH 7a (Anregungsenergie 90 eV) für EI-MS

Varian MAT 311A (Anregungsenergie 70 eV) für EI-MS

8.1.6 NMR-Spektroskopie

Geräte: Bruker AC 300 (300 MHz)

Bruker AM 400 (400 MHz)

Abkürzungen: s: Singulett;

d: Dublett

t: Triplett

q: Quartett

m: Multiplett

Cq: Quartäres C-Atom

Bei aromatischen Protonen wird aufgrund der Komplexität nicht die ursächlich begründbare Multiplizität angegeben. Statt dessen wird der Habitus genannt; „d“ bedeutet also, dass das Signal als Dublett erscheint, obwohl es sich auch um ein Signal höherer Multiplizität handeln kann. Die in diesem Zusammenhang angegebenen Kopplungskonstanten sind infolge dessen ebenso nur scheinbar.

Lösungsmittel: CDCl_3 bzw. DMSO-d_6 (Fa. Deutero, Kastellaun / D)

8.1.7 Schmelzpunkte

Gerät: Apparatur nach Dr. Tottoli (Fa. Büchi, Flawil / CH)

Angaben in °C (nicht korrigiert)

8.1.8 Chemikalien

Fa. Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim und Deisenhofen / D

Fa. Lancaster Synthesis, Mühlheim am Main / D

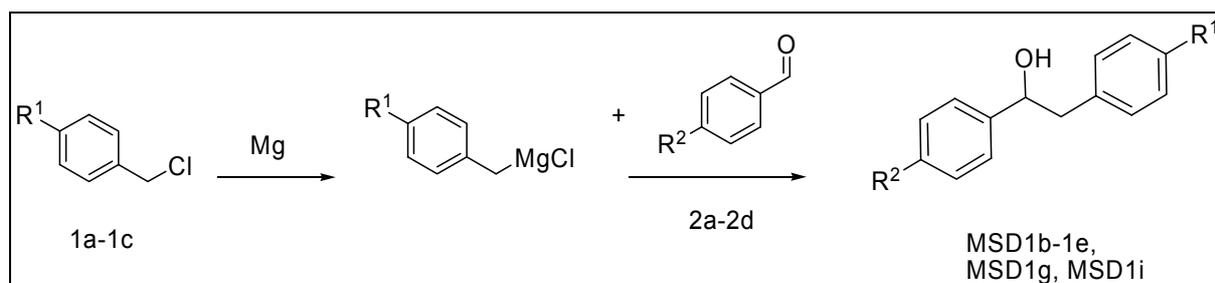
Fa. Acros (Fisher Scientific GmbH, Nidderau)

Fa. Avocado (ABCR GmbH & Co. Karlsruhe)

8.2 Synthesen

8.2.1 Methode (i)

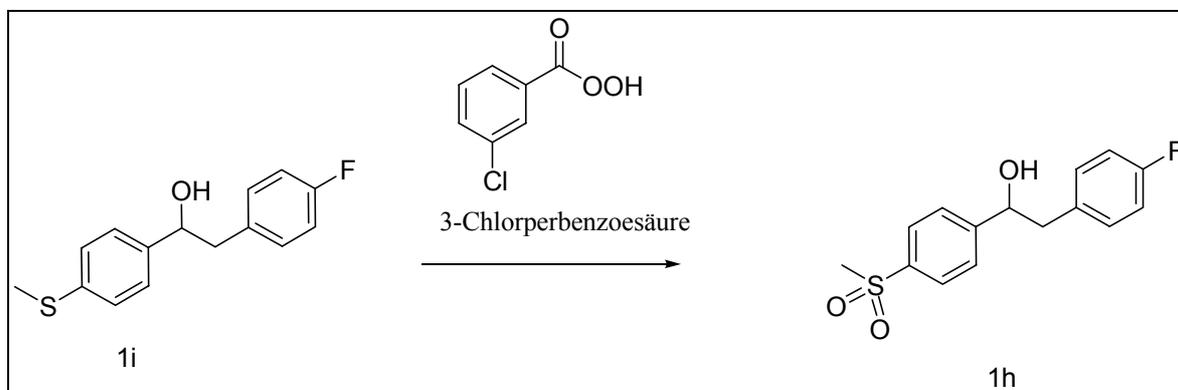
Darstellung von sekundären/tertiären Alkoholen mit der Grignard-Reaktion:



Magnesiumspäne (1,29 g, 50 mmol) werden mit ca. 5% des in absolutem Ether (20 ml) gelösten Benzylchlorids 1a-1c (50 mmol) versetzt. Es wird vorsichtig gerührt und zum Starten der Grignard-Reaktion leicht erhitzt. Bei zu stark exothermer Reaktion wird mit Etherzugabe gekühlt. Nach dem Anspringen der Reaktion wird das restliche, in absolutem Ether gelöste Benzylchlorid so zugetropft, dass der Ether schwach siedet. Gegen Ende des Zutropfens wird 30 Minuten lang auf einem Wasserbad zum Sieden erhitzt, um das ungelöste Magnesium in Lösung zu bringen. Nach Abkühlen auf RT tropft man das in wenig absolutem Ether gelöste Aldehyd 2a-2d oder Keton 3a, 3b (45 mmol) hinzu und erhitzt anschließend für 2 Stunden unter Rückfluss. Der auf RT abgekühlte Ansatz wird mit zerstoßenem Eis hydrolysiert und der dabei entstehende Niederschlag mit halbkonzentrierter HCl gelöst. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige noch zweimal mit Ether extrahiert. Die organische Phase wird über wasserfreiem NaSO₄ getrocknet und eingengt. Man erhält 25-95% des sekundären Alkohols MSD1b-MSD1g und MSD1i oder des tertiären Alkohols MSD14a oder MSD14b.

8.2.2 Methode (ii)

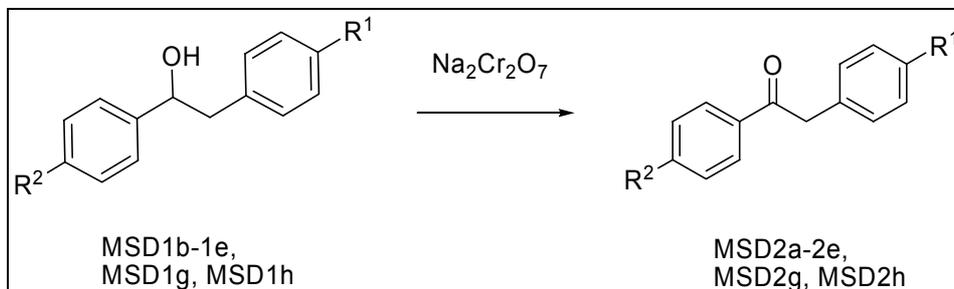
Oxidation von Thioethergruppen:



Das Thioetherderivat MSD1i oder MSD11f (10 mmol) oder das Isothiazolderivat MSD4a (10mmol) wird in Dichlormethan (20 ml) gelöst und auf 0°C gekühlt. Anschließend wird 3-Chlorperbenzoesäure (20 mmol) dazugegeben und rühren gelassen. Der Reaktionsverlauf wird mit DC-Kontrolle verfolgt und kann schon nach zwei Stunden beendet sein. Danach wird die überschüssige, ungelöste 3-Chlorperbenzoesäure abfiltriert, die organische Phase mit 5%-iger NaOH-Lösung und Wasser gewaschen. Nachdem der Test auf Peroxide negativ ausgefallen ist, wird über wasserfreiem NaSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck abrotiert. Sollten noch Peroxide vorhanden sein, wird die Dichlormethanphase in ein Becherglas mit gesättigter Natriumthiosulfatlösung gegeben, für etwa 20 Minuten gerührt und danach wiederum getestet. Dieser Vorgang wird so lange wiederholt bis der entsprechende Test negativ ausfällt. Je nach Reaktivität des Eduktes erhält man 80-95% der entsprechenden Sulfonylmethylanaloga MSD1h oder MSD11g oder 0,5% des Isothiazol-1,1-dioxiderivates MSD10a.

8.2.3 Methode (iii)

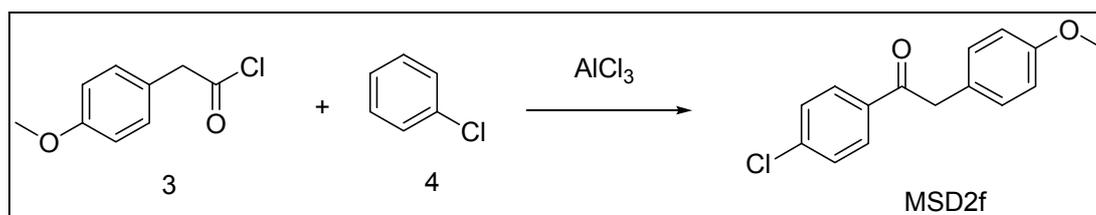
Oxidation von α -gesättigten sekundären Alkoholen zu Ketonen:



Der zu oxidierende Alkohol MSD1b-MSD1e, MSD1g oder MSD1h (20 mmol) wird in Dichlormethan (30 ml) gelöst. Innerhalb von 15 Minuten wird eine Lösung aus Natrium(di)chromat (6,7 mmol) und 1,5 ml konzentrierte Schwefelsäure in 10ml Wasser unter Rühren zugetropft. Die Temperatur sollte dabei 25°C betragen. Der Ansatz wird dann zwei Stunden gerührt. Die Dichlormethanphase wird abgetrennt und die Wasserphase zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Anschließend werden die vereinigten Dichlormethanphasen mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser nacheinander gewaschen und über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und eingengt. Nach Aufreinigung durch Säulenchromatographie (Kieselgel) erhält man 20-60 % des entsprechenden Ketons MSD2b-MSD2e, MSD2g oder MSD2h.

8.2.4 Methode (iv)

Alternativreaktion zu Methode (iii): Friedel-Crafts-Acylierung:

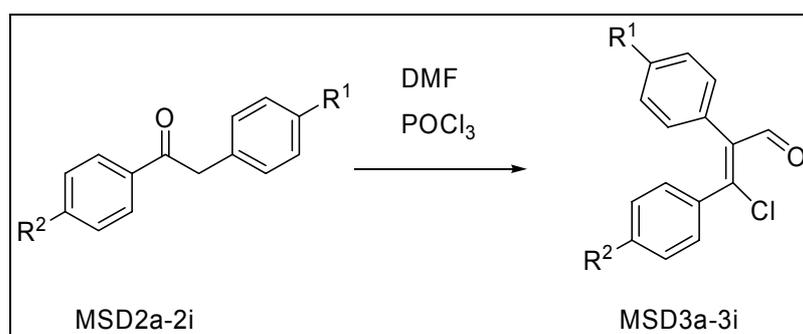


Zu einer gerührten Suspension aus 1,6 g Aluminiumchlorid in 50 ml Chlorbenzol 4 wird, unter Kühlen mit Eiswasser, das p-Methoxyphenyllessigsäurechlorid 3 (2 ml)

langsam so zugetropft, dass die Innentemperatur 20°C nicht überschreitet. Der Ansatz wird 5h lang bei 50°C gerührt und dann zur Hydrolyse des Keton-Aluminiumchlorid-Komplexes vorsichtig auf 50 ml zerstoßenes Eis gegossen. Eventuell ausfallendes Aluminiumchlorid wird mit konzentrierter Salzsäure in Lösung gebracht. Danach wird zweimal mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten Extrakte mit Wasser, 2%-iger Natronlauge und wieder mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet, eingeeengt und mit Hilfe der Säulenchromatographie (Kieselgel) aufgereinigt.

8.2.5 Methode (v)

Darstellung von Chlorformylstilbenen durch eine Vilsmeier-Reaktion:

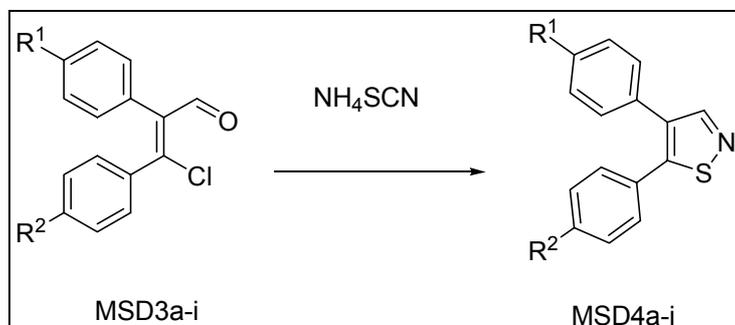


Einem Gemisch aus dem Desoxybenzoinderivat MSD2a-MSD2i (0,1 mol) und DMF (200 ml) wird langsam, unter Rühren und Eiswasserkühlung, Phosphorylchlorid (40 ml) so dazu gegeben, dass die Temperatur von 20°C nicht überschritten wird. Danach wird noch 1 Stunde lang bei 20°C gerührt (Ansatz wird gelb) und schließlich 4 Stunden auf 75°C erhitzt (Ansatz färbt sich von orange über rot zu rotbraun).

Zur Zersetzung des rotbraunen Vilsmeier-Komplexes wird der Ansatz vorsichtig zu 3-molarer Natriumacetatlösung (300 ml) gegeben. Das Produkt fällt weißlich grau aus, was durch Kühlung mit Eis beschleunigt werden kann, und wird abfiltriert. Die Ausbeuten an α -Chlorformylstilbenderivaten MSD3a-MSD3i betragen 20-95%. Falls nötig kann die Aufreinigung durch Säulenchromatographie erfolgen.

8.2.6 Methode (vi)

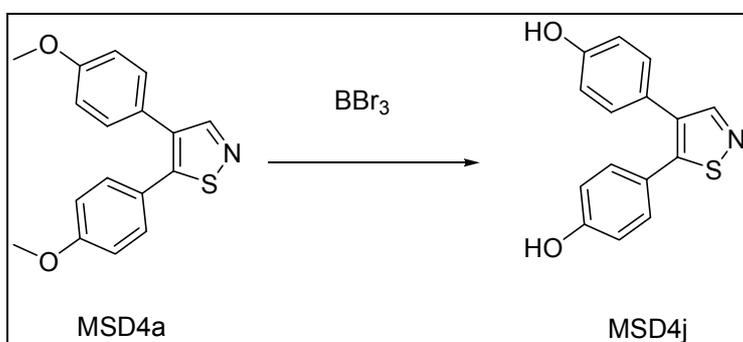
Ringschlussreaktion zum Isothiazol:



Das α -Chlorformylstilbenderivat MSD3a-i (0,2 mol) wird mit Ammoniumthiocyanat (0,6 mol) in Aceton (200 ml) 3,5 Stunden im Abzug (HCN-Entstehung!) unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Das erkaltete Reaktionsgemisch wird in eine gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung (500 ml) gegeben und danach mit Ether extrahiert. Die vereinigten Etherextrakte werden über wasserfreiem $NaSO_4$ getrocknet und einrotiert. Nach Aufreinigung durch Säulenchromatographie erhält man 30-80% der entsprechend substituierten Isothiazole MSD4a-MSD4i.

8.2.7 Methode (vii)

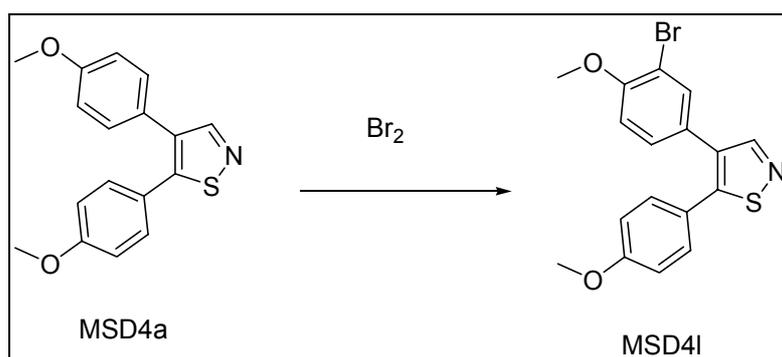
Etherspaltung mit Bortribromid:



Das in absolutem Dichlormethan gelöste Methylaryletherderivat MSD4a wird unter Argon-Atmosphäre auf -50°C abgekühlt. Man spritzt unter starkem Rühren die Bortribromidlösung (in Dichlormethan) durch ein Septum ein und lässt den Ansatz über Nacht rühren, währenddessen er sich langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Der Ansatz wird vorsichtig auf Eiswasser gegossen und die organische Phase abgetrennt. Die Dichlormethanphase wird dreimal mit 5%-iger NaOH extrahiert. Die gesammelten wässrigen Lösungen werden so lange mit halbkonzentrierter Salzsäure versetzt bis das Produkt MSD4j (als Nebenprodukt das einfach gespaltene MSD4k) ausfällt, welches nacheinander abfiltriert, in Dichlormethan gelöst, über wasserfreiem NaSO_4 getrocknet und einrotiert wird.

8.2.8 Methode (viii)

Bromierungsreaktion:

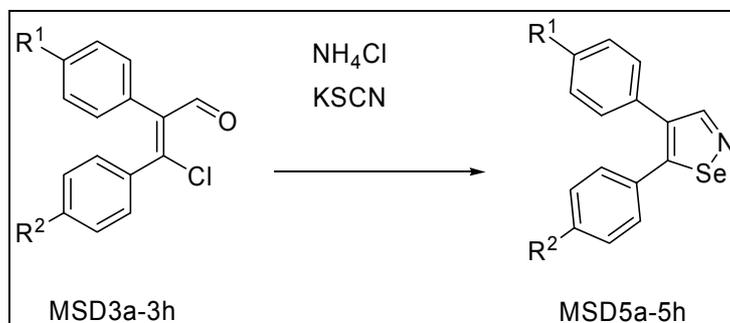


Zu einer Suspension von MSD4a (50 mmol) in Tetrachlorkohlenstoff (100 ml) wird bei 30°C langsam Brom (50 mmol) zugetropft. Anschließend lässt man 30 Minuten lang rühren und beschleunigt dann den Rührvorgang, um dem HBr eine bessere Entweichung zu ermöglichen.

Der Ansatz wird mehrfach mit Wasser gewaschen und die organische Phase wird über wasserfreiem NaSO_4 getrocknet und eingeengt. Die Aufreinigung erfolgt mit Säulenchromatographie (Kieselgel, Petrolether/Ethylacetat 9:1). Die Ausbeute des Bromderivates MSD4I liegt bei 10 %.

8.2.9 Methode (ix)

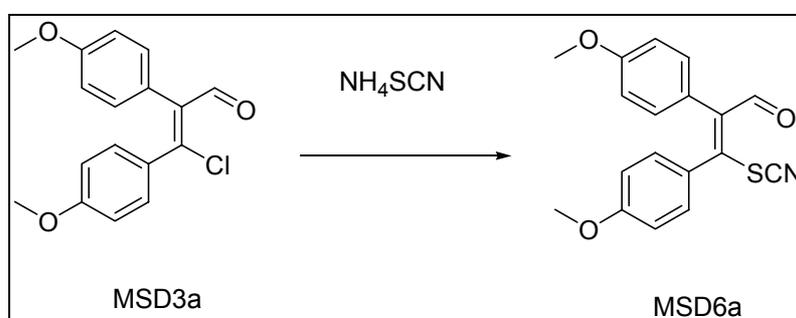
Ringschlussreaktion zum Isoselenazol:



Das α -Chlorformylstilbenderivat MSD3a-MSD3h (33,34 mmol) wird mit Ammoniumchlorid (100 mmol) und Kaliumselenocyanat (100 mmol) in Aceton (200 ml) 5 Stunden im Abzug (HCN-Entstehung!) unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Das erkaltete Reaktionsgemisch wird in eine gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung (500 ml) gegeben und danach mit Ether extrahiert. Die vereinigten Etherextrakte werden über wasserfreiem $NaSO_4$ getrocknet und einrotiert. Nach Aufreinigung durch Säulenchromatographie erhält man 20-60% der entsprechend substituierten Isoselenazole MSD5a-h.

8.2.10 Methode (x)

Substitution des Chlor gegen Thiocyanat:

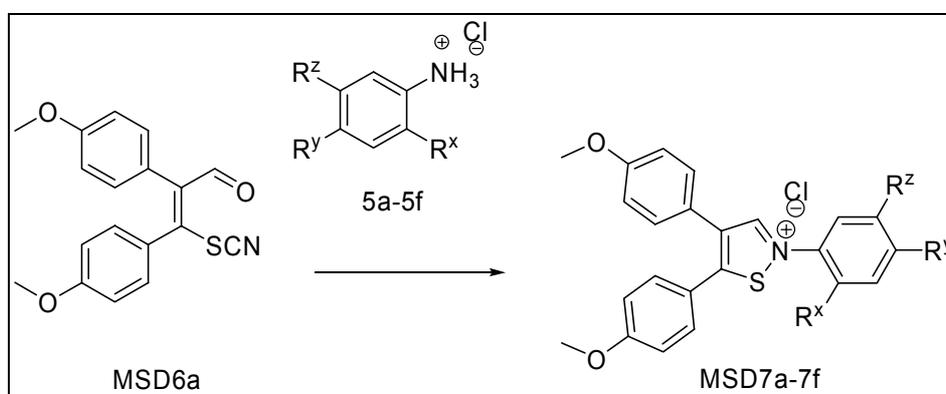


Eine Suspension von MSD3a (33,34 mmol) und Ammoniumthiocyanat (100 mmol) in Aceton (200 ml) wird 24 Stunden bei RT rühren gelassen. Das Reaktionsgemisch

wird in eine gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung (500 ml) gegeben und dreimal mit Ether extrahiert. Die vereinigten Etherextrakte werden über wasserfreiem NaSO_4 getrocknet und eingeeengt (Temperatur kleiner 30°C). Nach Aufreinigung durch Säulenchromatographie (Kieselgel, Petrolether/Ethylacetat 7:3) erhält man 20% des α -Thiocyanatoformylstilbenderivats MSD6a.

8.2.11 Methode (xi)

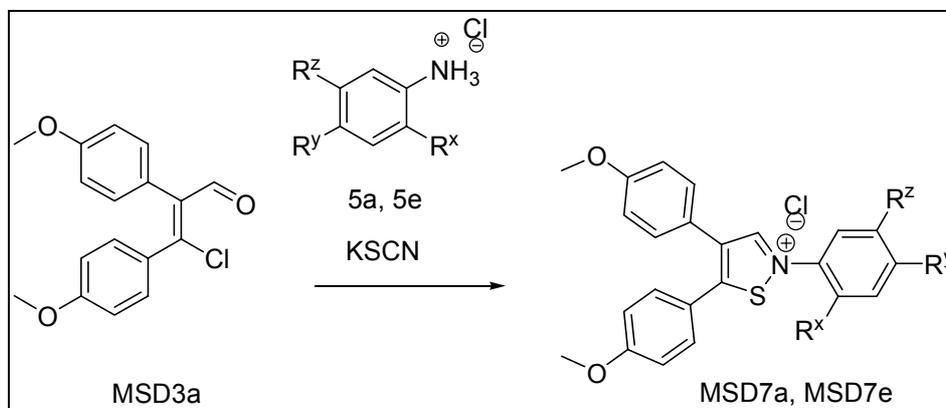
Darstellung von Isothiazoliumionen von MSD6a ausgehend:



Das α -Thiocyanatoformylstilbenderivat MSD6a (10 mmol) wird mit der äquimolaren Menge an Aniliniumchlorid 5a-5f (müssen eventuell noch aus dem entsprechenden Anilin und konzentrierter HCl hergestellt werden) in absolutem Ethanol gelöst. Der Ansatz wird 20 Minuten lang auf 45°C erwärmt. Die Reaktionslösung wird eingeeengt, der dabei entstehende braune klebrige Rest wird mit wenig Dichlormethan aufgenommen und mit Etherzugabe gefällt. Man lässt das Präzipitat absinken und dekantiert den Überstand und wiederholt die Prozedur bis das Präzipitat nach gelben Kristallen aussieht und sauber ist. Wenn die Kristalle in einem der letzten Schritte sauber zu sein scheinen, ist es möglich dieses mit einer Fritte abzufiltrieren. Macht man dies schon beim ersten oder zweiten Mal wird die Fritte verklebt. Aufgrund der Polarität der Isothiazoliumionen hat sich die Säulenchromatographie nicht bewährt. Am Ende der Reinigungsprozedur erhält man 40-80% der Isothiazoliumionen MSD7a-MSD7f.

8.2.12 Methode (xii)

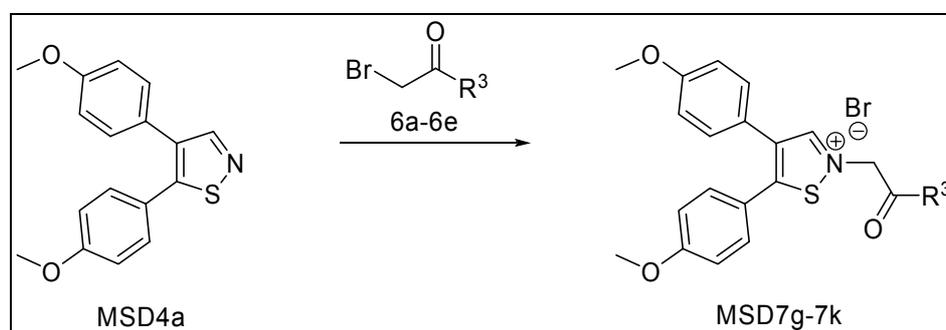
Darstellung von Isothiazoliumionen in einem Schritt von MSD3a ausgehend:



MSD3a (10 mmol) wird mit Kaliumthiocyanat (30 mmol) und den substituierten Aniliniumderivaten 5a oder 5e (10 mmol) in 50 ml absolutem Ethanol 3,5 Stunden auf 45°C erhitzt (Abzug HCN!). Die Reaktionslösung wird eingeeengt und analog der Methode (x) aufgearbeitet. Am Ende der Reinigungsprozedur erhält man 40-60% der Isothiazoliumderivate MSD7a oder MSD7e.

8.2.13 Methode (xiii)

Darstellung von Isothiazoliumionen von MSD4a ausgehend:

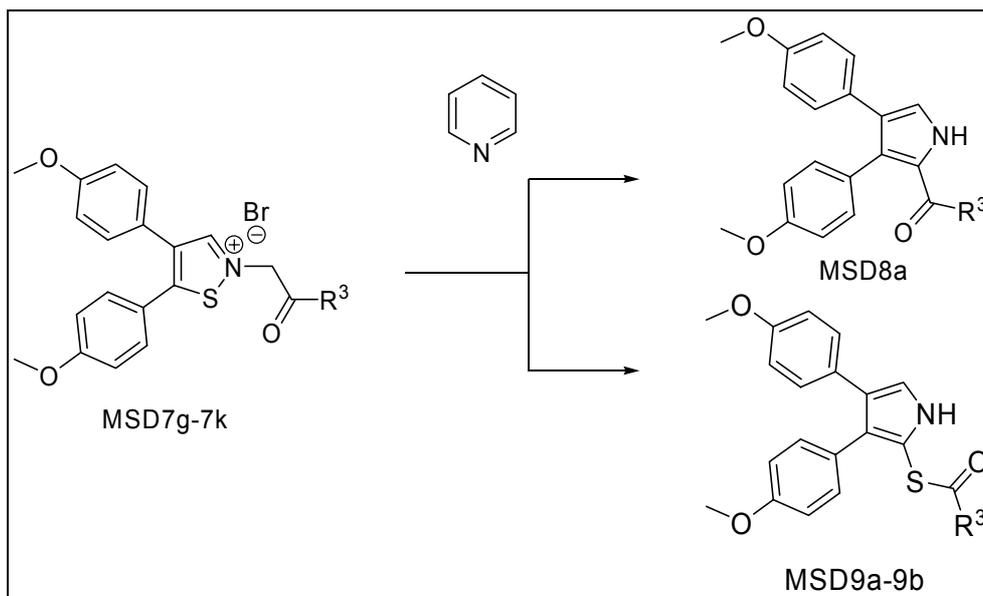


MSD4a (10 mmol) wird mit dem Bromessigsäureethylester 6a (30 mmol) oder einem Bromphenacylderivat 6b-6e (30 mmol) in 50 ml absolutem Ethanol für 6

Stunden unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionslösung wird einrotiert und analog der Methode (x) aufgearbeitet.

8.2.14 Methode (xiv)

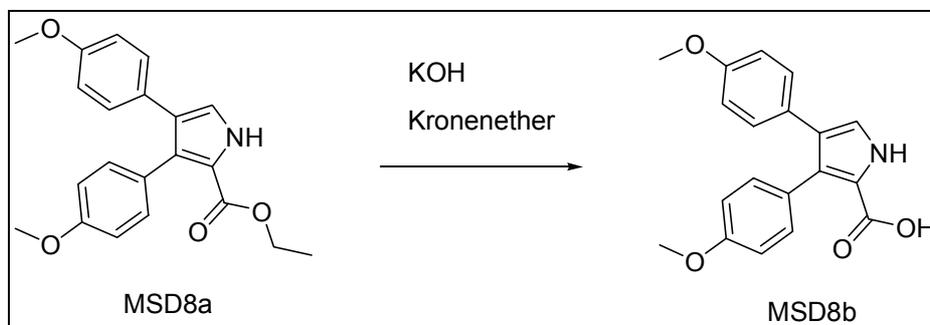
Schwefelextrusion bzw. Ringerweiterungsreaktion von den Isothiazoliumbromiden MSD7g-MSD7k:



Das Isothiazoliumbromidderivat MSD7g-MSD7k (2 mmol) wird in Pyridin (10 ml / Substitution mit Trimethylamin ist möglich) gegeben und unter Rückfluss erhitzt, bis eine homogene Lösung entstanden ist. Der Ansatz wird mit Wasser verdünnt, das Präzipitat wird abgetrennt, mit eiskaltem Ether gewaschen und mit Ethanol umkristallisiert. Als Produkt erhält man 10-50% der Pyrrolderivate MSD8a MSD9a oder MSD9b als weißen Feststoff (MSD8a) oder in feinen watteartigen weißen Nadeln, welche mit Hilfe der Säulenchromatographie (Kieselgel, Diisopropylether) aufgereinigt werden können.

8.2.15 Methode (xv)

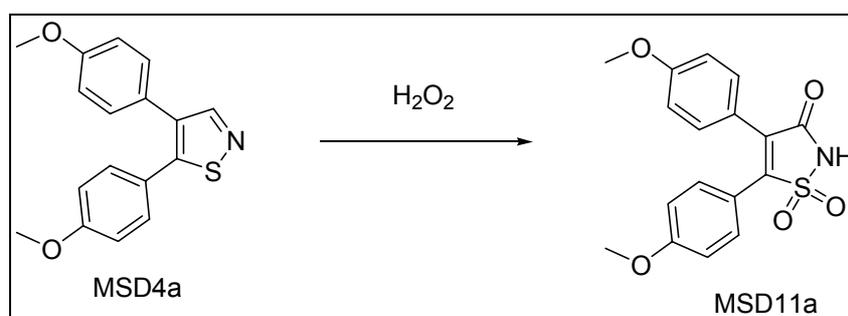
Verseifung mit KOH und Kronenether:



Der Ester MSD8a oder MSD11j wird mit 18-Krone-6 (Kronenether, 1 ml) in Ethanol (6 ml) gelöst. Zum Ansatz wird KOH-Lösung (20% m/m, 6 ml) dazu gegeben und für 14 h auf 60°C erhitzt. Anschließend wird die Lösung im Eisbad gekühlt und mit HCl (2 mol/l) angesäuert und mit Dichlormethan extrahiert. Zur Aufreinigung wird nach dem Einrotieren der Rückstand der organischen Phase in verdünnter KOH gelöst, filtriert, mit verdünnter HCl angesäuert und mit Dichlormethan extrahiert. Dieser Vorgang wird so lange wiederholt, bis das Endprodukt sauber ist. Die organischen Phasen werden zweimal mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über wasserfreiem NaSO₄ getrocknet und eingengt. Man erhält 80% der freien Säure MSD8b oder MSD11j.

8.2.16 Methode (xvi)

Oxidation des Isothiazolringes:

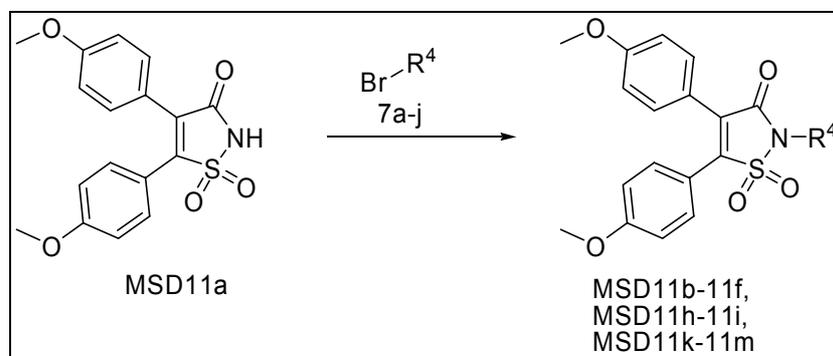


8. Experimenteller Teil

MSD4a (20 mmol) wird in Eisessig (20 ml) gelöst und bei 80°C langsam (innerhalb von zwei Minuten) mit H₂O₂ (30% V/V, 20 ml) versetzt. Anschließend wird 20 Minuten (diese Zeit auf keinen Fall um mehr als 5 Minuten überschreiten, da sonst der Abbau zu p-Methoxybenzoesäure verläuft) lang unter Rückfluss erhitzt. Beim Erkalten der Reaktionsmischung fällt MSD11a großvolumig aus. Der Rückstand wird über eine Fritte abfiltriert und mit essigsaurer gesättigter Natriumthiosulfatlösung (frisch hergestellt und abfiltriert) so lange gewaschen, bis, nachdem wenig Substanz in Wasser gelöst wurde, ein Peroxidtest negativ verläuft. Wenn Anschließend wird mit 40 ml Petrolether nachgespült und mit verdünnter Essigsäure umkristallisiert. Da bei dieser Reaktion die Umsetzung vom H₂O₂ nicht quantitativ verläuft, darf, wegen erhöhter Explosionsgefahr, der Reaktionsansatz nicht einrotiert werden. Die Ausbeute beträgt bei sicherer Aufarbeitung 50% von MSD11a.

8.2.17 Methode (xvii)

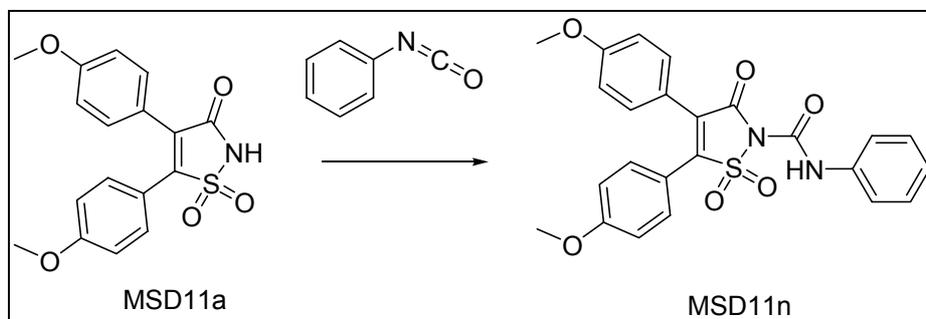
Substitution am Isothiazol-(2H)-3-on-1,1-dioxidringsystem:



Das Isothiazolid-3-on-1,1-dioxidderivat MSD11a (10 mmol) wird in absolutem DMF gelöst und mit Natriumhydrid (30 mmol) versetzt. Nach 10 Minuten wird langsam das Bromessigsäurederivat, das Benzylbromidderivat, das Phenacylbromidderivat oder das Bromcyclopentan (15 mmol) dazugegeben und je nach Reaktionsdauer 2-20 Stunden rühren gelassen (DC-Kontrolle). Die Reaktionslösung wird unter vermindertem Druck einrotiert und die Aufreinigung erfolgt mit Säulenchromatographie (Kieselgel, Petrolether/ Ethylacetat 2:1 oder 1:1). Man erhält 40-70% MSD11b-11m.

8.2.18 Methode (xviii)

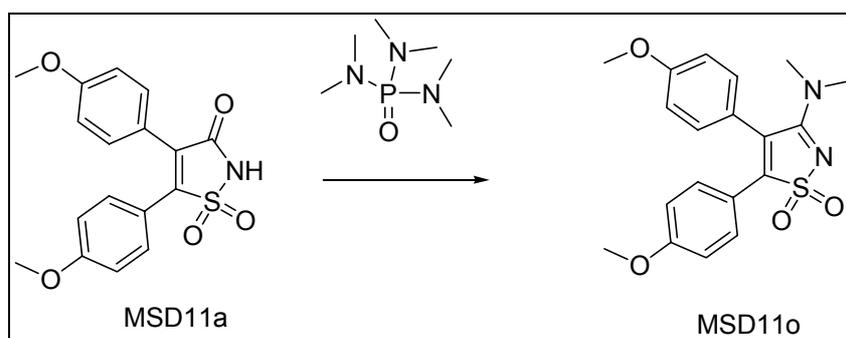
Kopplung von Phenylisocyanat an MSD11a:



Zu 5 mmol MS18 werden bei 20°C 5-20 mmol Phenylisocyanat dazugegeben und ca. 15h gerührt. Der gelbe Festkörper wird abgesaugt und aus Ethanol umkristallisiert.

8.2.19 Methode (xix)

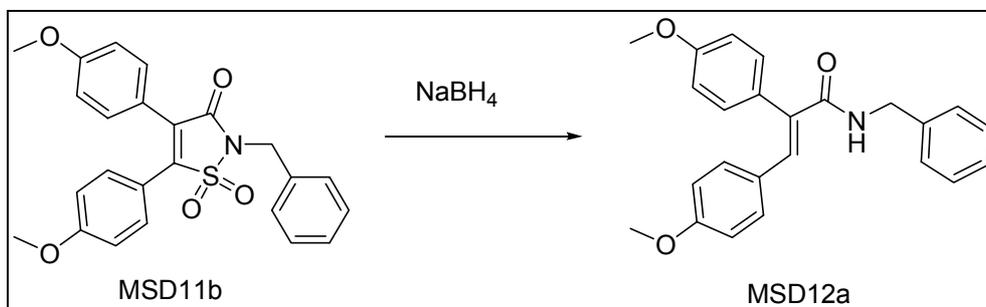
Umsetzung von MSD11a mit Hexamethylphosphortriamid (HMPT):



Eine Lösung aus 5 mmol MSD11a in 2,5 ml HMPT wird 2h auf 225-240°C erhitzt. Die Lösung färbt sich dunkel. Beim Abkühlen fällt ein gelber Feststoff aus, der aus Chloroform umkristallisiert wird.

8.2.20 Methode (xx)

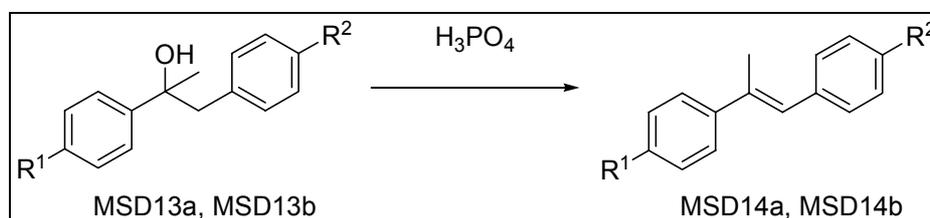
Reduktion von MSD11b unter Ringöffnung:



Zu einer Lösung des Isothiazolidon-1,1-dioxiderivates MSD11b (10 mmol) in Ethanol (20 ml) wird unter Rühren Natriumborhydrid (4 mmol) dazu gegeben. Durch stehen über Nacht wird die Reaktion vervollständigt (DC-Kontrolle). Dann wird vorsichtig so viel verdünnte Salzsäure zugesetzt, bis sich kein Wasserstoff mehr entwickelt. Die erhaltene Lösung wird fünfmal mit Ether extrahiert, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und einrotiert. Nach Aufreinigung durch Säulenchromatographie (Kieselgel, Petrolether/ Ethylacetat 2:1) erhält man 20% des ringgeöffnetem Säureamids MSD12a.

8.2.21 Methode (xxi)

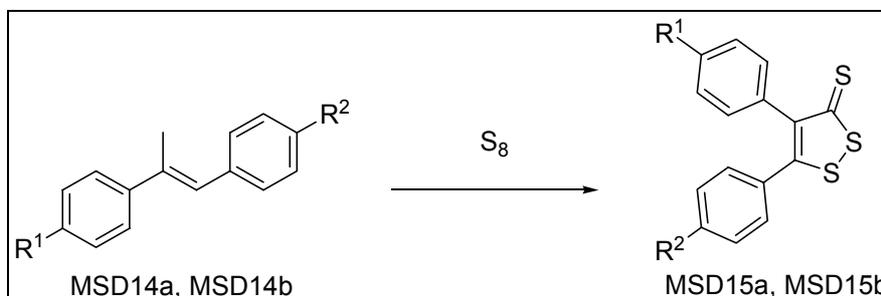
Dehydratisierung des tertiären Alkohols zum Stilbenderivat:



MSD13a oder MSD13b (10 g) wird mit 85%-iger Phosphorsäure (2 ml) versetzt, unter Rückfluss zwei Stunden lang erhitzt und mit wenig Ether aufgenommen. Nach Aufreinigung durch Säulenchromatographie (Kieselgel, Petrolether/ Ethylacetat 2:1) erhält man 40% des Methylstilbenderivates MSD14a oder MSD14b.

8.2.22 Methode (xxii)

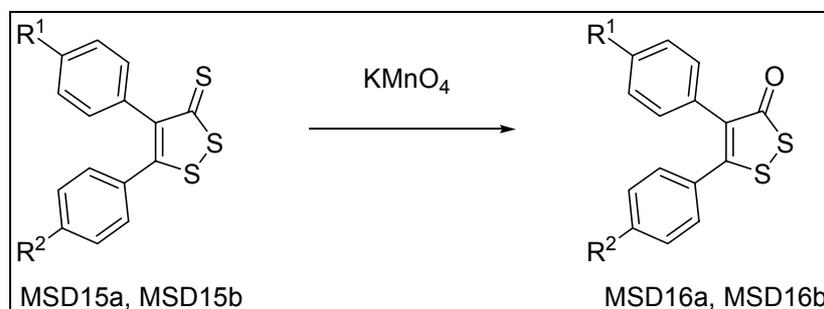
Ringschluss zum Dithiolthion:



Das Methylstilbenderivat MDS14a oder MSD14b (10 mmol) wird mit elementarem Schwefel (40 mmol) über einem Grafit-Bad bei 200-220°C bis zur Beendigung der H₂S-Entwicklung erhitzt (Ansatz wird tiefrot). Anschließend wird nach Zugabe von 25 ml Ethylacetat 30 Minuten lang refluxiert und nach Abkühlen über Cellite® filtriert (mit Ethylacetat nachspülen). Die vereinigten Ethylacetatphasen werden eingengt und für die Säulenaufgabe vorbereitet. Nach Aufreinigung durch Säulenchromatographie (Kieselgel, Petrolether/Ethylacetat 9:1) erhält man 10-15% des Dithiolthion MSD15a oder MSD15b.

8.2.23 Methode (xxiii)

Oxidation des Dithiol-3-thion zum Dithiol-3-on:

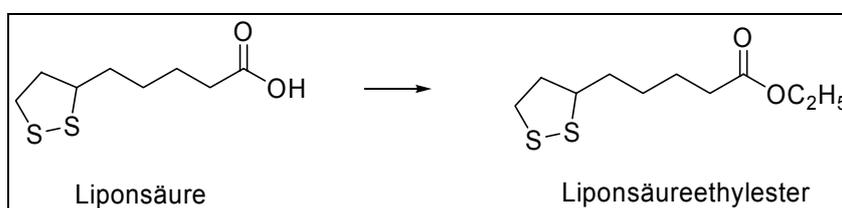


Das Dithiolthion MSD15a oder MSD15b (1 mmol) wird in Aceton (10 ml) gelöst und mit einer Kaliumpermanganatlösung (5 mmol in 10 ml Aceton) in kleinen Anteilen unter Rühren versetzt. Man erhält eine stark violette Lösung, die sich nach 12 h

Rühren bei Raumtemperatur entfärbt. Nach Abtrennen der ausgefallenen anorganischen Salze (Braunstein) wird das Lösungsmittel abdestilliert. Nach Aufreinigung durch Säulenchromatographie (Kieselgel, Petrolether/Ethylacetat 7:3) und Umkristallisation mit Ethanol erhält man 30-50% des Dithiol-3-on MSD16a oder MSD16b.

8.2.24 Methode (xxiv)

Veresterung der Liponsäure:

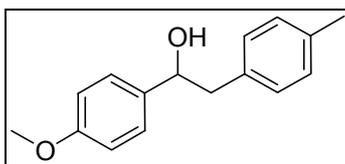


5 mmol Carbonsäure werden mit 10 mol trockenen Ethanols und 1 mmol konzentrierter Schwefelsäure versetzt und 5 h unter Feuchtigkeitsausschluss gekocht. Der Alkohol wird unter vermindertem Druck einrotiert und der Rückstand mit Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wird dreimal mit 1%-iger KOH-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und einrotiert. Am Ende erhält man 30% der klebrigen gummiartigen Masse Liponsäureethylester.

8.3 Analytische Daten der synthetisierten Verbindungen

8.3.1 Diarylethanole MSD1

1-(4-Methoxyphenyl)-2-p-tolylethanol (MSD1b).



$C_{16}H_{18}O_2$ $M_r = 242,3$

Vorschrift: Methode (i)

Reaktanten: 1a 4-Methylbenzylchlorid 50mmol
 2a 4-Methoxybenzaldehyd 45mmol

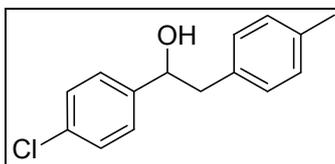
Ausbeute: 25%

Aussehen: weiße Kristalle

Smp:

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 7.18 (d, 8.62 Hz, 2H, Ar-H), 6.99 (s, 4H, Ar-H), 6.82 (d, 8.57 Hz, 2H, Ar-H), 5.12 (d, 4.55 Hz, 1H, OH), 4.63 (dd, 11.47 Hz, 6.38 Hz, 1H, CH), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 2.79 (dq, 13.42 Hz, 13.42 Hz, 13.39 Hz, 6.71 Hz, 2H, CH₂), 2.22 (s, 3H, CH₃)

1-(4-Chlorophenyl)-2-p-tolylethanol (MSD1c).



$C_{15}H_{15}ClO$ $M_r = 246,37$

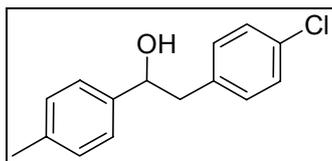
Vorschrift: Methode (i)

Reaktanten: 1a 4-Methylbenzylchlorid 50mmol
 2b 4-Chlorbenzaldehyd 45 mmol

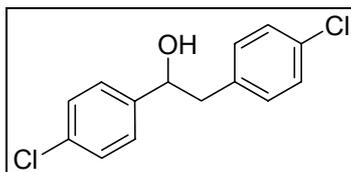
8. Experimenteller Teil

Ausbeute:	55%
Aussehen:	weiße Kristalle
Smp:	64-65°C
IR:	$\tilde{\nu}$ [cm ⁻¹] = 3300 ν (OH), 3030 & 3010 ν (CH aromatisch), 2980, 2970, 2920, 2900 & 2880 ν (CH aliphatisch)
MS:	FD: m/z (rel. Int.) = 246.3 (100%), 247.3 (15%), 248.3 (29%)
¹ H-NMR:	DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ [ppm] = 7.26 (d, 8.26 Hz, 2H, Ar-H), 7.18-7.12 überlappende Signale (7.16, d, 7.35 Hz, 2H, Ar-H) 7.15, d, 8.02 Hz, 2H, Ar-H), 7.08 (d, 7.73 Hz, 2H, Ar-H), 5.23 (d, 4.52 Hz, 1H, OH), 4.67 (q, H, CH), 2.83 (d, 6.54 Hz, 2H, CH ₂), 2.25 (s, 3H, CH ₃)

2-(4-Chlorophenyl)-1-p-tolylolethanol (MSD1d).



C ₁₅ H ₁₅ ClO	M _r = 246,73
Vorschrift:	Methode (i)
Reaktanten:	1b 4-Chlorbenzylchlorid 50 mmol 2c 4-Methylbenzaldehyd 45 mmol
Ausbeute:	50%
Aussehen:	weiße Kristalle
MS:	FD: m/z (rel. Int.) = 246.4 (100%), 247.4 (14%), 248.3 (33%), 249.4 (4%)
¹ H-NMR	DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ [ppm] = 7.26 (d, 8.41 Hz, 2H, Ar-H), 7.19-7.13 überlappende Signale (7.165, d, 7.92 Hz, 2H, Ar-H, 7.15, d, 8.34, 2H, Ar-H), 7.08 (d, 7.95 Hz, 2H, Ar-H), 5.22 (d, 4.62 Hz, 1H, OH), 4.68 (m, 1H, CH), 2.83 (d, 6.57 Hz, 2H, CH ₂), 2.25 (s, 3H, CH ₃)

1,2-Bis(4-chlorophenyl)ethanol (MSD1e).

$C_{14}H_{12}Cl_2O$ $M_r = 267,15$

Vorschrift: Methode (i)

Reaktanten: 1b 4-Chlorbenzylchlorid 50 mmol
2b 4-Chlorbenzaldehyd 45 mmol

Ausbeute: 24%

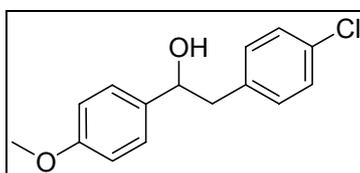
Aussehen: weiÙe Kristalle

Smp: 72-73°C

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3360 $\nu(OH)$, 3040 & 3020 $\nu(CH$ aromatisch), 2920 & 2900 $\nu(CH$ aliphatisch)

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 266.2 (100%), 267.3 (11%), 268.2 (53%), 269.3 (7%), 270.2 (8%)

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 7.32 (m, 4H, Ar-H), 7.26 (d, 8.30, 2H, Ar-H), 7.14 (d, 8.32 Hz, 2H, Ar-H), 5.41 (d, 4.55 Hz, 1H, OH), 4.74 (m, 1H, CH), 2.84 (d, 6.4 Hz, 2H, CH_2)

2-(4-Chlorophenyl)-1-(4-methoxyphenyl)ethanol (MSD1g).

$C_{15}H_{15}ClO_2$ $M_r = 262,7$

Vorschrift: Methode (i)

Reaktanten: 1b 4-Chlorbenzylchlorid 50 mmol
2a 4-Methoxybenzaldehyd 45 mmol

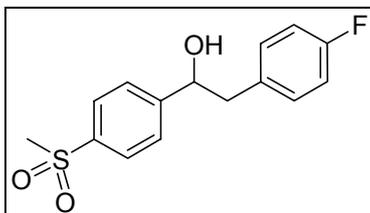
Ausbeute: 87%

Aussehen: weiÙe Kristalle

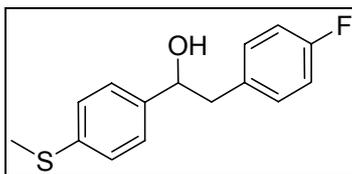
8. Experimenteller Teil

Smp:	81-82°C
IR:	$\tilde{\nu}$ [cm ⁻¹] = 3300 ν (OH), 3005 ν (CH aromatisch), 2940, 2920 & 2840 ν (CH aliphatisch)
MS:	El: m/z = 261.7 (M ⁺)
¹ H-NMR:	DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ [ppm] = 7.26 (d, 8.35 Hz, 2H, Ar-H), 7.19 (d, 8.6 Hz, 2H, Ar-H), 7.14 (d, 8.35 Hz, 2H, Ar-H), 6.83 (d, 8.6 Hz, 2H, Ar-H), 5.21 (d, 4.55, 1H, OH), 4.66 (m, 1H, CH), 3.7 (s, 3H, OCH ₃), 2.84 (m, 2H, CH ₂)

2-(4-Fluorophenyl)-1-(4-(methylsulfonyl)phenyl)ethanol (MSD1h).



C ₁₅ H ₁₅ FO ₃ S	M _r = 294,34
Vorschrift:	Methode (ii)
Reaktanten:	MSD1i 10 mmol
Ausbeute:	90%
Aussehen:	weiße Kristalle
¹ H-NMR:	DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ [ppm] = 7.84 (d, 8.33 Hz, 2H, Ar-H), 7.56 (d, 8.30 Hz, 2H, Ar-H), 7.20 (d, 8.50 Hz, 2H, Ar-H), 7.02 (d, 8.83 Hz, 2H, Ar-H), 5.74 (s, 1H, OH), 4.84 (dd, 7.38 Hz, 5.48 Hz, 1H, CH), 3.17 (s, 3H, SO ₂ CH ₃), 2.85 (dd, 12.49 Hz, 5.02 Hz, 2H, CH ₂)

2-(4-Fluorophenyl)-1-(4-(methylthio)phenyl)ethanol (MSD1i).

$C_{15}H_{15}FOS$ $M_r = 262,34$

Vorschrift: Methode (i)

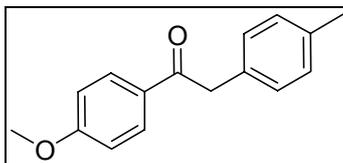
Reaktanten: 1c 4-Fluorbenzylchlorid 50 mmol
2d 4-Thiomethylbenzaldehyd 45 mmol

Ausbeute: 95%

Aussehen: weiße Kristalle

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 262.5 (100%), 263.5 (14%), 264.5 (5%)

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 7.22 (d, 8.36 Hz, 2H, Ar-H), 7.15 (m, 4H, Ar-H), 7.03 (t, 8.93 Hz, 2H, Ar-H), 5.27 (d, 4.53 Hz, 1H, OH), 4.67 (q, 6.31 Hz, 10.89 Hz, 1H, CH), 2.83 (d, 6.55 Hz, 2H, CH_2), 2.43 (s, 3H, SCH_3)

8.3.2 Desoxybenzoinderivate MSD2**1-(4-Methoxyphenyl)-2-p-tolyloethanon (MSD2b).**

$C_{16}H_{16}O_2$ $M_r = 240,3$

Vorschrift: Methode (iii)

Reaktanten: MSD1b 20mmol

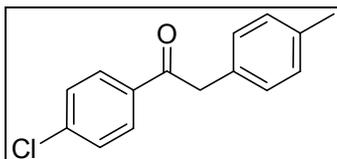
Ausbeute: 55%

Aussehen: weiße Kristalle

8. Experimenteller Teil

$^1\text{H-NMR}$: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 8.00 (d, 8.83 Hz, 2H, Ar-H), 7.13 (d, 8.02 Hz, 1H), 7.08 (d, 8.11 Hz, 2H), 7.02 (d, 8.93 Hz, 2H), 4.23 (s, 2H, CH_2), 3.82 (s, 3H, OCH_3), 2.24 (s, 3H, CH_3)

1-(4-Chlorophenyl)-2-p-tolyloethanone (MSD2c).



$\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{ClO}$ $M_r = 244,72$

Vorschrift: Methode (iii)

Reaktanten: MSD1c 20mmol

Ausbeute: 30%

Aussehen: weiÙe Kristalle

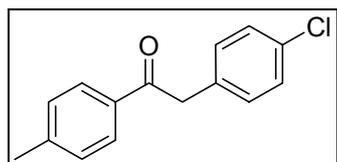
Smp: 100-101°C

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3060 & 3020 $\nu(\text{CH aromatisch})$, 2910& 2860 $\nu(\text{CH aliphatisch})$, 1685 $\nu(\text{C=O})$

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 244.3 (100%), 245.3 (15%), 246.3 (32%), 247.3 (5%)

$^1\text{H-NMR}$: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 8.03 (d, 8.55 Hz, 2H), 7.58 (d, 8.55 Hz, 2H), 7.11 (m, 4H), 4.31 (s, 2H), 2.25 (s, 3H)

2-(4-Chlorophenyl)-1-p-tolyloethanon (MSD2d).



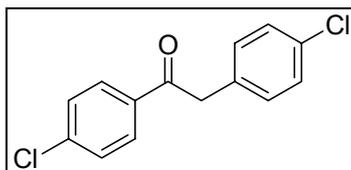
$\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{ClO}$ $M_r = 244,72$

Vorschrift: Methode (iii)

8. Experimenteller Teil

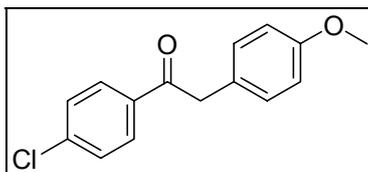
Reaktanten:	MSD1d 20mmol
Ausbeute:	28%
Aussehen:	weiße Kristalle
Smp:	108-109°C
IR:	$\tilde{\nu}$ [cm ⁻¹] = 3030 ν (CH aromatisch), 2990 & 2910 ν (CH aliphatisch), 1670 ν (C=O)
MS:	El: m/z = 243.7 (M ⁺)
¹ H-NMR:	DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ [ppm] = 7.93 (d, 8.1 Hz, 2H, Ar-H), 7.42-7.3 überlappende Signale (t, 7.73 Hz, 7.73 Hz, 4H, Ar-H), 4.37 (s, 2H, CH ₂), 2.36 (s, 3H, CH ₃)

1,2-Bis(4-chlorophenyl)ethanon (MSD2e).



C ₁₄ H ₁₀ Cl ₂ O	M _r = 265,1
Vorschrift:	Methode (iii)
Reaktanten:	MSD1e 20mmol
Ausbeute:	62%
Aussehen:	weiße Kristalle
IR:	$\tilde{\nu}$ [cm ⁻¹] = 3090 ν (CH aromatisch), 2990 & 2910 ν (CH aliphatisch), 1680 ν (C=O)
MS:	FD: m/z (rel. Int.) = 264.4 (100%), 265.4 (14%), 266.4 (58%), 267.4 (9%), 268.4 (6%)
¹ H-NMR:	DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ [ppm] = 8.04 (d, 8.62 Hz, 2H, Ar-H), 7.61 (d, 8.61 Hz, 2H, Ar-H), 7.37 (d, 8.47 Hz, 2H, Ar-H), 7.27 (d, 8.46 Hz, 2H, Ar-H), 4.42 (s, 2H, CH ₂)

1-(4-Chlorophenyl)-2-(4-methoxyphenyl)ethanon (MSD2f).



$C_{15}H_{13}ClO_2$ $M_r = 260,7$

Vorschrift: Methode (iv)

Reaktanten: 3 4-Methoxyphenylessigsäurechlorid 2ml

4 Chlorbenzol 50ml

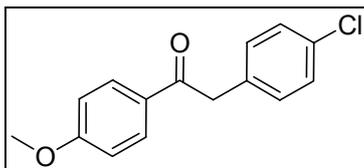
Ausbeute: 50%

Aussehen: weiße Kristalle

MS: EI: $m/z = 259.5 (M^+)$

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 8.03 (d, 7.0 Hz, 2H, Ar-H), 7.58 (d, 6.94 Hz, 2H, Ar-H), 7.155 (d, 6.86 Hz, 2H, Ar-H), 6.86 (d, 6.9 Hz, 2H, Ar-H), 4.29 (s, 2H, CH_2), 3.7 (s, 3H, OCH_3)

2-(4-Chlorophenyl)-1-(4-methoxyphenyl)ethanon (MSD2g).



$C_{15}H_{13}ClO_2S$ $M_r = 260,7$

Vorschrift: Methode (iii)

Reaktanten: MSD1g 20mmol

Ausbeute: 44%

Aussehen: weiße Kristalle

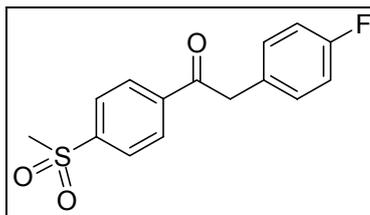
IR: $\tilde{\nu} [cm^{-1}] = 3010 \nu(CH \text{ aromatisch}), 2920 \& 2850 \nu(CH \text{ aliphatisch}), 1680 \nu(C=O)$

MS: EI: $m/z = 259.7 (M^+)$

8. Experimenteller Teil

$^1\text{H-NMR}$: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 8.01 (d, 8.59 Hz, 2H, Ar-H), 7.35 (d, 8.18 Hz, 2H, Ar-H), 7.26 (d, 7.89 Hz, 2H, Ar-H), 7.04 (d, 8.56 Hz, 2H, Ar-H), 4.33 (s, 2H, CH_2), 3.83 (s, 3H, COH_3)

2-(4-Fluorophenyl)-1-(4-(methylsulfonyl)phenyl)ethanone (MSD2h).



$\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{FO}_3\text{S}$ $M_r = 292,3$

Vorschrift: Methode (iii)

Reaktanten: MSD1h 20mmol

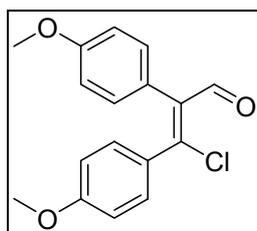
Ausbeute: 60%

Aussehen: weiÙe Kristalle

$^1\text{H-NMR}$: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 8.26 (d, 8.46 Hz, 2H, Ar-H), 8.08 (d, 8.47 Hz, 2H, Ar-H), 7.30 (dd, 8.43, 5.75 Hz, 2H, Ar-H), 7.15 (t, 8.89, 8.89 Hz, 2H, Ar-H), 4.49 (s, 2H, CH_2), 3.28 (s, 3H, SO_2CH_3)

8.3.3 α -Chlorformylstilbenderivate MSD3

(Z)-3-Chloro-2,3-bis(4-methoxyphenyl)acrylaldehyde (MSD3a).



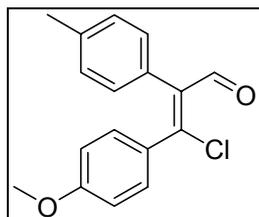
$\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{ClO}_3$ $M_r = 302,8$

Vorschrift: Methode (v)

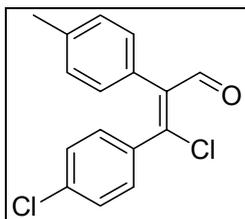
8. Experimenteller Teil

Reaktanten:	MSD2a 100mmol
Ausbeute:	95%
Aussehen:	weiße Kristalle
Smp:	128-129°C
IR:	$\tilde{\nu}$ [cm ⁻¹] = 3070 & 3010 ν (CH aromatisch), 2970, 2900 & 2830 ν (CH aliphatisch), 1670 ν (C=O)
MS:	FD: m/z (rel. Int.) = 302.6 (100%), 303.6 (17%), 304.6 (31%)
¹ H-NMR:	DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ [ppm] = 9.48 (s, 1H, CHO), 7.59 (d, 8.55 Hz, 2H, Ar-H), 7.19 (d, 8.5 Hz, 2H, Ar-H), 7.09 (d, 8.55 Hz, 2H, Ar-H), 6.98 (d, 8.5 Hz, 2Har-H), 3.84 (s, 3H, OCH ₃), 3.78 (s, 3H, OCH ₃)

(Z)-3-Chloro-3-(4-methoxyphenyl)-2-p-tolylacrylaldehyde (MSD3b).



C ₁₇ H ₁₅ ClO ₂	M _r = 286,8
Vorschrift:	Methode (v)
Reaktanten:	MSD2b 10mmol
Ausbeute:	64%
Aussehen:	weiße Kristalle
¹ H-NMR:	DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ [ppm] = 9.49 (s, 1H, CHO), 7.60 (d, 8.77 Hz, 2H, Ar-H), 7.23 (d, 7.84 Hz, 2H, Ar-H), 7.13 (d, 8.09 Hz, 2H, Ar-H), 7.09 (d, 8.78 Hz, 2H, Ar-H), 3.83 (s, 3H, OCH ₃), 2.33 (s, 3H, CH ₃)

(Z)-3-Chloro-3-(4-chlorophenyl)-2-p-tolylacrylaldehyde (MSD3c). $C_{16}H_{12}Cl_2O$ $M_r = 291,2$

Vorschrift: Methode (v)

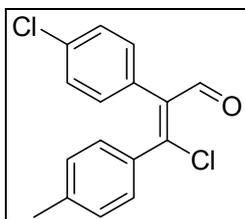
Reaktanten: MSD2c 10mmol

Ausbeute: 68%

Aussehen: weiße Kristalle

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3090 & 3030 ν (CH aromatisch), 2910 & 2865 ν (CH aliphatisch), 1675 ν (C=O)

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 290.4 (100%), 291.4 (13%), 292.4 (68%), 293.4 (8%), 294.4 (9%)

 1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 9.49 (s, 1H, CHO), 7.7 (d, 8.11 Hz, 2H, AR-H), 7.62 (d, 6.42 Hz, 2H, Ar-H), 7.24 (d, 7.34Hz, 2H, Ar-H), 7.18 (d, 7.09 Hz, 2H, Ar-H), 2.33 (s, 3H, CH₃)**(Z)-3-Chloro-2-(4-chlorophenyl)-3-p-tolylacrylaldehyde (MSD3d).** $C_{16}H_{12}Cl_2O$ $M_r = 291,2$

Vorschrift: Methode (v)

Reaktanten: MSD2d 10mmol

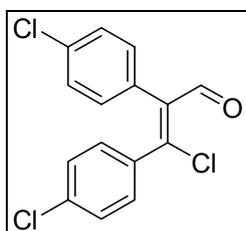
Ausbeute: 57%

Aussehen: weiße Kristalle

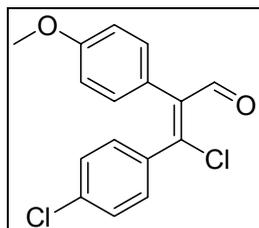
8. Experimenteller Teil

Smp:	132-133°C
MS:	FD: m/z (rel. Int.) = 290.4 (100%), 291.4 (14%), 292.4 (63%), 293.4 (10%), 294.4 (8%)
¹ H-NMR:	DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ [ppm] = 9.47 (s, 1H, CHO), 7.57 (d, 7.26 Hz, 2H, Ar-H), 7.5 (d, 6.84 Hz, 2H, Ar-H), 7.36 (d, 7.9 Hz, 2H, Ar-H), 7.3 (d, 8.24 Hz, 2H, Ar-H), 2.39 (s, 3H, CH ₃)

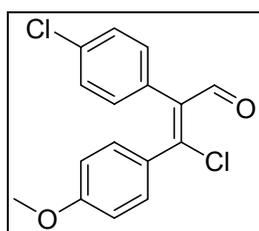
(Z)-3-Chloro-2,3-bis(4-chlorophenyl)acrylaldehyde (MSD3e).



C ₁₅ H ₉ Cl ₃ O	M _r = 311,6
Vorschrift:	Methode (v)
Reaktanten:	MSD2e 10mmol
Ausbeute:	90%
Aussehen:	weiße Kristalle
IR:	$\tilde{\nu}$ [cm ⁻¹] = 3080, 2880 & 2850 ν (CH), 1670 ν (C=O)
MS:	FD: m/z (rel. Int.) = 310.3 (100%), 311.3 (12%), 312.3 (94%), 313.3 (10%), 314.3 (26%), 315.4 (4%)
¹ H-NMR:	DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ [ppm] = 9.47 (s, 1H, CHO), 7.73 (d, 8.55 Hz, 2H, Ar-H), 7.63 (d, 8.42 Hz, 2H, Ar-H), 7.52 (d, 8.45 Hz, 2H, Ar-H), 7.32 (d, 8.47 Hz, 2H, Ar-H)

(Z)-3-Chloro-3-(4-chlorophenyl)-2-(4-methoxyphenyl)acrylaldehyde (MSD3f).

$C_{16}H_{12}Cl_2O_2$	$M_r = 307,2$
Vorschrift:	Methode (v)
Reaktanten:	MSD2f 10mmol
Ausbeute:	64%
Aussehen:	weiße Kristalle
MS:	FD: m/z (rel. Int.) = 306.4 (100%), 307.5 (16%), 308.4 (20%), 309.5 (10%), 310.5 (10%)
1H -NMR:	DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 9.49 (s, 1H, CHO), 7.69 (d, 8.56 Hz, 2H, Ar-H), 7,61 (d, 8.60, 2H, Ar-H), 7.22 (d, 8.69 Hz, 2H, Ar-H), 6.99 (d, 8.72 Hz, 2Har-H), 3.78 (s, 3H, OCH ₃)

(Z)-3-Chloro-2-(4-chlorophenyl)-3-(4-methoxyphenyl)acrylaldehyde (MSD3g).

$C_{16}H_{12}Cl_2O_2$	$M_r = 307,2$
Vorschrift:	Methode (v)
Reaktanten:	MSD2g 10mmol
Ausbeute:	64%
Aussehen:	weiße Kristalle
Smp:	104-105°C

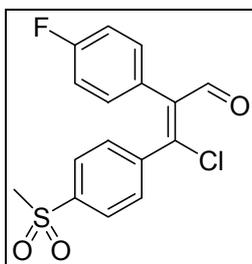
8. Experimenteller Teil

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3010 ν (CH aromatisch), 2920 & 2840 ν (CH aliphatisch), 1660 ν (C=O)

MS: EI: m/z (rel. Int.) = 305.9 (100%), 307.0 (25%), 307.7 (57%), 309.0 (11%), 309.9 (12%)

¹H-NMR: DMSO-d₆, 300 MHz, δ [ppm] = 9.48 (s, 1H, CHO), 7.63 (d, 8.69 Hz, 2H, Ar-H), 7.5 (d, 8.41, 2H, Ar-H), 7.3 (d, 8.41Hz, 2H, Ar-H), 7.1 (d, 8.73, 2H, Ar-H), 3.85 (s, 3H, OCH₃)

(Z)-3-Chloro-2-(4-fluorophenyl)-3-(4-(methylsulfonyl)phenyl)acrylaldehyd (MSD3h).



C₁₆H₁₂ClFO₂S M_r = 338,8

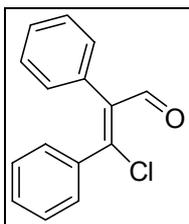
Vorschrift: Methode (v)

Reaktanten: MSD2h 10mmol

Ausbeute: 20%

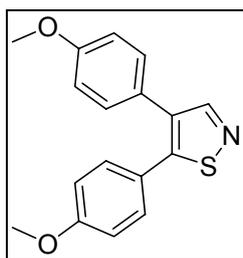
Aussehen: weiÙe Kristalle

¹H-NMR: DMSO-d₆, 300 MHz, δ [ppm] = 9.46 (s, 1H, CHO), 8.08 (d, 8.06 Hz, 2H, Ar-H), 7.96 (d, 8.13 Hz, 2H, Ar-H), 7.42-7.20 (m, 4H, Ar-H), 3.29 (s, 3H, SO₂CH₃)

(Z)-3-Chloro-2,3-bisphenylacrylaldehyde (MSD3i).

$C_{15}H_{11}NS$	$M_r = 242.7$
Vorschrift:	Methode (v);
Reaktanten:	Desoxybenzoin 100mmol
Ausbeute:	75%;
Aussehen:	weißer Feststoff
1H -NMR:	DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 9.50 (s, 1H, CHO), 7.94 (s, 1H, Ar-H), 7.67 (d, 7.71 Hz, 2H, Ar-H), 7.56 (d, 6.70 Hz, 2H, Ar-H), 7.48-7.37 (m, 3H, Ar-H), 7.28 (d, 8.59 Hz, 2H, Ar-H)

8.3.4 Isothiazole MSD4

4,5-Bis(4-methoxyphenyl)isothiazol (MSD4a).

$C_{17}H_{15}NO_2S$	$M_r = 297,4$
Vorschrift:	Methode (vi)
Reaktanten:	MSD3a 100mmol
Ausbeute:	60%
Aussehen:	weißlicher Feststoff
Smp:	81°C

8. Experimenteller Teil

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3070, 3040 & 3010 ν (CH aromatisch), 2940, 2910, 2880 & 2840 ν (CH aliphatisch), 1610 ν (C=N)

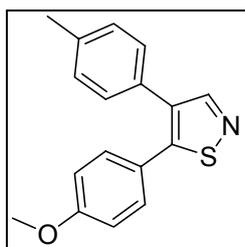
MS: FD: m/z (rel. Int.) = 297.6 (100%), 298.6 (19%), 299.6 (6%)

¹H-NMR: DMSO-d₆, 300 MHz, δ [ppm] = 8.61 (s, 1H, CHN), 7.245 (d, 8.69 Hz, 4H, Ar-H), 6.95 (t, 8.95 Hz, 4H, Ar-H), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 3.75 (s, 3H, OCH₃)

Elementaranalyse:

C ₁₇ H ₁₅ NO ₂ S	gefunden	C 69.01	H 5.00	N 4.64	S 10.62
	berechnet	(C 68.66)	(H 5.08)	(N 4.71)	(S 10.78)

5-(4-Methoxyphenyl)-4-p-tolylisothiazol (MSD4b).



C₁₇H₁₅NOS M_r = 281,4

Vorschrift: Methode (vi)

Reaktanten: MSD3b 10mmol

Ausbeute: 40%

Aussehen: weißlicher Feststoff

Smp: 94°C

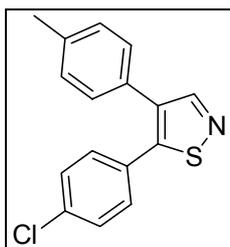
IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3070, 3060 & 3020 ν (CH aromatisch), 2,930, 2920 & 2850 ν (CH aliphatisch), 1605 ν (C=N)

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 281.2 (100%), 282.2 (20%), 283.2 (6%)

¹H-NMR: DMSO-d₆, 300 MHz, δ [ppm] = 8.62 (s, 1H, CHN), 7.24 (d, 8.65 Hz, 2H, Ar-H), 7.21-7.15 (m, 4H, Ar-H), 6.96 (d, 8.73 Hz, 2H, Ar-H), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 2.30 (s, 3H, CH₃)

Elementaranalyse:

$C_{17}H_{15}NOS$	gefunden	C 72.65	H 5.32	N 4.77	S 10.97
	berechnet	(C 72.57)	(H 5.37)	(N 4.98)	(S 11.40)

5-(4-Chlorophenyl)-4-p-tolylisothiazol (MSD4c).

$C_{16}H_{12}ClNS$ $M_r = 285,8$

Vorschrift: Methode (vi)

Reaktanten: MSD3c 10mmol

Ausbeute: 76%

Aussehen: weißer Feststoff

Smp: 79-80°C

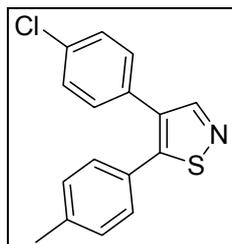
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3090 & 3030 ν (CH aromatisch), 2910 & 2865 ν (CH aliphatisch), 1605 ν (C=N)

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 285.4 (100%), 286.4 (6%), 287.4 (43%)

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 8.69 (s, 1H, CHN), 7.49 (d, 8.51 Hz, 2H, Ar-H), 7.33 (d, 8.51 Hz, 2H, Ar-H), 7.25-7.14 Signale überlappen (m, 4H, Ar-H), 2.3 (s, 3H, CH_3)

Elementaranalyse:

$C_{16}H_{12}ClNS$	gefunden	C 68.17	H 4.63	N 4.45	S 10.13
x 2/9 C_6H_{14}	berechnet	(C 68.27)	(H 4.99)	(N 4.59)	(S 10.52)

4-(4-Chlorophenyl)-5-p-tolylisothiazol (MSD4d).

$C_{16}H_{12}ClNS$ $M_r = 285,8$

Vorschrift: Methode (vi);

Reaktanten: MSD3d 10mmol

Ausbeute: 59%

Aussehen: weißer Feststoff

Smp: $108^{\circ}C$

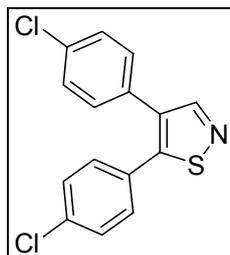
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3030 ν (CH aromatisch), 2970 & 2910 ν (CH aliphatisch),
1610 ν (C=N)

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 285.4 (100%), 286.4 (16%), 287.4 (39%), 288.4 (6%), 289.4 (4%)

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 8.7 (s, 1H, CHN), 7.45 (d, 8.42 Hz, 2H, Ar-H), 7.34 (d, 8.29 Hz, 2H, Ar-H), 7.27-7.17 überlappende Signale (7.24, d, 7.9 Hz, 2H, Ar-H, 7.2, d, 8.27 Hz, 2H, Ar-H), 2.31(s, 3H, CH_3)

Elementaranalyse:

$C_{16}H_{12}ClNS$	gefunden	C 67.86	H 4.45	N 4.55	S 10.53
x 1/7 C_6H_{14}	berechnet	(C 67.92)	(H 4.73)	(N 4.70)	(S 10.76)

4,5-Bis(4-chlorophenyl)isothiazol (MSD4e).

$C_{15}H_9Cl_2NS$ $M_r = 306,2$

Vorschrift: Methode (vi)

Reaktanten: MSD3e 10mmol

Ausbeute: 57%

Aussehen: weißer Feststoff

Smp: 94-95°C

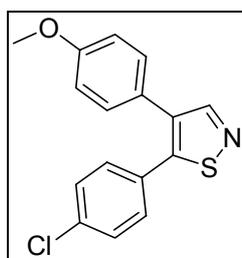
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3030, 2950, 2920 & 2840 ν (CH), 1590 ν (C=N)

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 305.4 (100%), 306.4 (11%), 307.4 (69%), 308.4 (10%), 309.4 (12%)

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 8.73 (s, 1H, CHN), 7.5 (d, 8.51Hz, 2H, Ar-H), 7.46 (d, 8.54 Hz, 2H, Ar-H), 7.34 (d, 8.44 Hz, 4H, Ar-H)

Elementaranalyse:

$C_{15}H_9Cl_2NS$	gefunden	C 59.57	H 3.44	N 3.99	S 9.23
x 2/3 C_3H_6O	berechnet	(C 59.20)	(H 3.80)	(N 4.06)	(S 9.30)

5-(4-Chlorophenyl)-4-(4-methoxyphenyl)isothiazol (MSD4f).

$C_{16}H_{12}ClNOS$ $M_r = 301,8$

Vorschrift: Methode (vi)

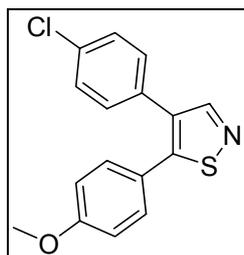
8. Experimenteller Teil

Reaktanten: MSD3f 10mmol
Ausbeute: 66%
Aussehen: weißer Feststoff
Smp: 78°C
MS: FD: m/z (rel. Int.) = 301.5 (100%), 302.5 (20%), 303.5 (38%)
¹H-NMR: DMSO-d₆, 300 MHz, δ [ppm] = 8.67 (s, 1H, CHN), 7.49 (d, 8.54 Hz, 2H, Ar-H), 7.33 (d, 8.54 Hz, 2H, Ar-H), 7.24 (d, 8.77 Hz, 2H, Ar-H), 6.94 (d, 8.78 Hz, 2H, Ar-H), 3.75 (s, 3H, OCH₃);

Elementaranalyse:

C ₁₆ H ₁₂ ClNOS	gefunden	C 63.73	H 4.08	N 4.44	S 10.41
	berechnet	(C 63.68)	(H 4.01)	(N 4.64)	(S 10.62)

4-(4-Chlorophenyl)-5-(4-methoxyphenyl)isothiazol (MSD4g).



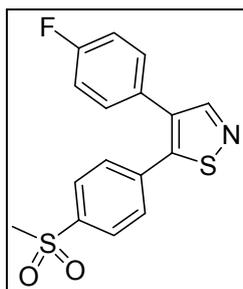
C₁₆H₁₂ClNOS M_r = 301,8
Vorschrift: Methode (vi)
Reaktanten: MSD3g 10mmol
Ausbeute: 70%
Aussehen: weißer Feststoff
Smp: 99-100°C
IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3040 & 3010 ν (CH aromatisch), 2980, 2960 & 2840 ν (CH aliphatisch), 1610 ν (C=N)
MS: EI: m/z (rel. Int.) = 300.8 (100%), 302.0 (20%), 302.8 (38%), 304.0 (7%)
¹H-NMR: DMSO-d₆, 300 MHz, δ [ppm] = 8.67 (s, 1H, CHN), 7.44 (d, 8.46 Hz, 2H, Ar-H), 7.34 (d, 8.51 Hz, 2H, Ar-H), 7.24 (d, 8.68 Hz, 2H, Ar-H), 6.98 (d, 8.71 Hz, 2H, Ar-H), 3.76 (s, 3H, OCH₃);

8. Experimenteller Teil

Elementaranalyse:

$C_{16}H_{12}ClNOS$	gefunden	C 63.68	H 4.11	N 4.55	S 10.58
	berechnet	(C 63.68)	(H 4.01)	(N 4.64)	(S 10.62)

4-(4-Fluorophenyl)-5-(4-(methylsulfonyl)phenyl)isothiazol (MSD4h) [158].



$C_{16}H_{12}FNO_2S_2$ $M_r = 333,4$

Vorschrift: Methode (vi)

Reaktanten: MSD3h 1mmol

Ausbeute: 48 %

Aussehen: weißer Feststoff

Smp: 104°C

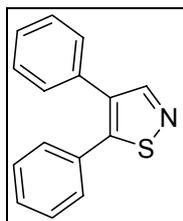
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3070 ν (CH aromatisch), 2980 & 2930 ν (CH aliphatisch), 1595 ν (C=N), 1310 & 1150 ν (SO₂)

MS: FD: $m/z = 333.1$ (M⁺)

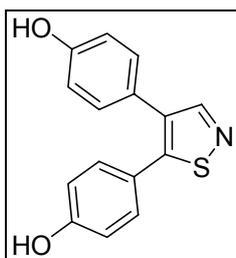
¹H-NMR: DMSO-d₆, 300 MHz, δ [ppm] = 8.77 (s, 1H, CHN), 7.96 (d, 8.23 Hz, 2H, Ar-H), 7.58 (d, 8.26 Hz, 2H, Ar-H), 7.39 (dd, 8.53 Hz, 5.52 Hz, 2H, Ar-H), 7.25 (t, 8.80 Hz, 8.80 Hz, 2H, Ar-H), 3.26 (s, 3H, SO₂CH₃);

Elementaranalyse:

$C_{16}H_{12}FNO_2S_2$	gefunden	C 57.87	H 4.05	N 3.37	S 17.10
x 2/3 C ₃ H ₆ O	berechnet	(C 58.10)	(H 4.33)	(N 3.76)	(S 17.23)

4,5-Bisphenylisothiazol (MSD4i) [103].

$C_{15}H_{11}NS$	$M_r = 237.3$
Vorschrift:	Methode (vi);
Reaktanten:	MSD3i 50mmol
Ausbeute:	60%;
Aussehen:	weißer Feststoff
MS:	FD: m/z (rel. Int.) = 237.2 (100%), 238.2 (17%), 239.2 (5%), 240.2 (1%)
1H -NMR:	DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 8.71 (s, 1H, CHN), 7.44-7.28 (m, 10H, Ar-H)

4-(5-(4-Hydroxyphenyl)isothiazol-4-yl)phenol (MSD4j).

$C_{15}H_{11}NO_2S$	$M_r = 269,3$
Vorschrift:	Methode (vii)
Reaktanten:	MSD4a
Ausbeute:	25%
Aussehen:	weißer Feststoff
Smp:	227-228°C
MS:	FD: m/z (rel. Int.) = 269.1 (100%), 270.1 (19%), 271.1 (4%)

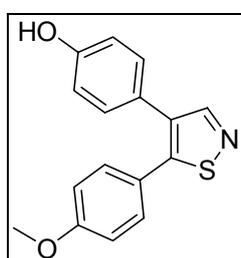
8. Experimenteller Teil

$^1\text{H-NMR}$: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 9.86 (s, 1H, OH), 9.59 (s, 1H, OH), 8.55 (s, 1H, CHN), 7.13 (d, 7.94 Hz, 4H, Ar-H), 6.76 (t, 7.2 Hz, 4H, Ar-H)

Elementaranalyse:

$\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{S}$	gefunden	C 66.43	H 4.94	N 4.25	S 10.13
x 2/3 $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$	berechnet	(C 66.28)	(H 4.91)	(N 4.55)	(S 10.41)

4-(5-(4-Methoxyphenyl)isothiazol-4-yl)phenol (MSD4k)



$\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{NO}_2\text{S}$ $M_r = 283,3$

Vorschrift: Methode (vii)

Reaktanten: MSD4a

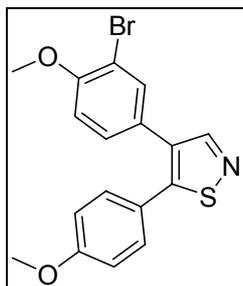
Ausbeute: <10%

Aussehen: weißer Feststoff

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 283.1 (100%), 284.1 (21%), 285.1 (5%)

$^1\text{H-NMR}$: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 9.6 (s, 1H, OH), 8.57 (s, 1H, CHN), 7.24 (d, 8.78 Hz, 2H, Ar-H), 7.12 (d, 8.53 Hz, 2H, Ar-H), 6.96 (d, 8.79 Hz, 2H, Ar-H), 6.74 (d, 8.58 Hz, 2H, Ar-H), 3.76 (s, 3H, OCH_3)

4-(3-Brom-4-methoxyphenyl)-5-(4-methoxyphenyl)isothiazol (MSD4I).



$C_{17}H_{14}BrNO_2S$ $M_r = 376,3$

Vorschrift: Methode (viii)

Reaktanten: MSD4a

Ausbeute: 40%

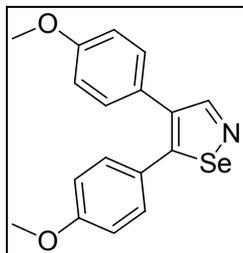
Aussehen: weiÙe Kristalle

Smp: 74-75°C

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 374.8 (94%), 375.8 (17%), 376.8 (100%), 377.8 (17%), 378.8 (5%)

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 8.55 (s, 1H); 8.65 (s, 1H, CHN), 7.55 (d, 2.07 Hz, 1H, -CH=CBr-), 7.29-7.22 (m, 3H, Ar-H), 7.10 (d, 8.59 Hz, 1H, Ar-H), 6.98 (d, 8.78 Hz, 2H, Ar-H) 3.84 (s, 3H, OCH₃), 3.76 (s, 3H, OCH₃)

8.3.5 Isoselenazole MSD5

4,5-Bis(4-methoxyphenyl)-1,2-selenazol (MSD5a).

$C_{17}H_{15}NO_2Se$ $M_r = 344,3$

Vorschrift: Methode (ix)

Reaktanten: MSD3a 100mmol

Ausbeute: 56%

Aussehen: gelblich weißer Feststoff

Smp: 79-80°C

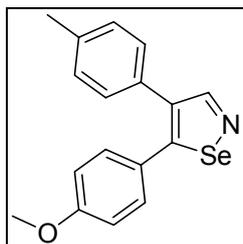
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3070, 3020 & 3010 ν (CH aromatisch), 2970, 2960, 2930 & 2840 ν (CH aliphatisch), 1606 ν (C=N)

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 341.6 (16%), 342.7 (18%), 343.6 (43%), 344.6 (9%), 345.6 (100%), 346.7 (17%), 347.6 (15%), 348.7 (2%)

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 9.48 (s, 1H, CHN), 7.59 (d, 8.69 Hz, 2H, Ar-H), 7.19 (d, 8.69 Hz, 2H, Ar-H), 7.09 (d, 8.72 Hz, 2H, Ar-H), 6.98 (d, 8.72 Hz, 2H, Ar-H), 3.84 (s, 3H, OCH_3), 3.78 (s, 3H, COH_3)

Elementaranalyse:

$C_{17}H_{15}NO_2Se$	gefunden	C 59.80	H 4.39	N 3.78	S 0
x 2/5 C_3H_6O	berechnet	(C 59.48)	(H 4.77)	(N 3.81)	(S 0)

5-(4-Methoxyphenyl)-4-p-tolyl-1,2-selenazol (MSD5b).

$C_{17}H_{15}NOSe$ $M_r = 328,3$

Vorschrift: Methode (ix)

Reaktanten: MSD3b 10mmol

Ausbeute: 21%

Aussehen: gelblich weißer Feststoff

Smp: $85^{\circ}C$

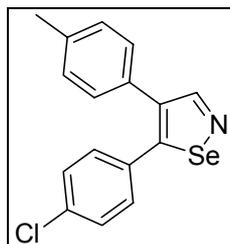
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 2960 & 2870 $\nu(CH)$, 1605 $\nu(C=N)$

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 325.2 (11%), 326.2 (15%), 327.2 (39%), 328.2 (6%), 329.2 (100%), 330.2 (12%), 331.2 (14%)

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 9.18 (s, 1H, CHN), 7.22-7.14 (m, 6H, Ar-H), 6.91 (d, 8.77 Hz, 2H, Ar-H), 3.74 (s, 3H, OCH_3), 2.29 (s, 3H, CH_3)

Elementaranalyse:

$C_{17}H_{15}NOSe$	gefunden	C 64.80	H 5.84	N 3.72	S 0
x 4/9 C_6H_{14}	berechnet	(C 64.44)	(H 5.49)	(N 3.82)	(S 0)

5-(4-Chlorophenyl)-4-p-tolyl-1,2-selenazol (MSD5c).

$C_{16}H_{12}ClNSe$ $M_r = 332,7$

Vorschrift: Methode (ix)

Reaktanten: MSD3c 10mmol

Ausbeute: 61%

Aussehen: gelblichweißer Feststoff

Smp: 91-92°C

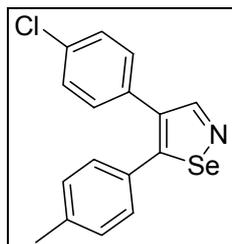
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3030 ν (CH aromatisch), 2960 & 2920 ν (CH aliphatisch)

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 329.5 (11%), 330.5 (15%), 331.5 (44%), 332.5 (11%), 333.52 (100%), 334.5 (15%), 335.5 (45%), 336.5 (8%), 337.5 (4%)

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 9.25 (s, 1H, CHN), 7.44 (d, 8.51 Hz, 2H, Ar-H), 7.28 (d, 8.52 Hz, 2H, Ar-H), 7.18 (s, 4H, Ar-H), 2.29 (s, 3H, CH_3)

Elementaranalyse:

$C_{16}H_{12}ClNSe$	gefunden	C 57.90	H 3.70	N 3.99	S 0
	berechnet	(C 57.76)	(H 3.64)	(N 4.21)	(S 0)

4-(4-Chlorophenyl)-5-p-tolyl-1,2-selenazol (MSD5d).

$C_{16}H_{12}ClNSe$ $M_r = 332,7$

Vorschrift: Methode (ix)

Reaktanten: MSD3d 10mmol

Ausbeute: 48%

Aussehen: gelblichweißer Feststoff

Smp: 108-109°C

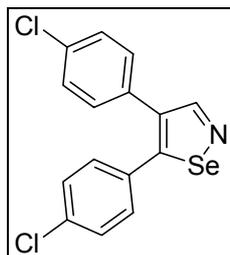
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3010 ν (CH aromatisch), 2920 ν (CH aliphatisch), 1595 ν (C=N)

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 329.4 (4%), 330.4 (6%), 331.4 (24%), 332.4 (4%), 333.4 (100%), 334.4 (9%), 335.3 (56%), 336.4 (3%), 337.5 (6%)

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 9.25 (s, 1H, CHN), 7.43 (d, 8.55 Hz, 2H, Ar-H), 7.31 (d, 8.54 Hz, 2H, Ar-H), 7.22-7.12 überlappende Signale (7.19, d, 8.29 Hz, 2H, Ar-H, 7.16, d, 8.07 Hz, 2H, ar-H), 2.29 (s, 3H, CH₃)

Elementaranalyse:

$C_{16}H_{12}ClNSe$	gefunden	C 58.97	H 3.89	N 3.60	S
x 1/5 C_6H_{14}	berechnet	(C 59.04)	(H 4.26)	(N 4.00)	(S 0)

4,5-Bis(4-chlorophenyl)-1,2-selenazol (MSD5e).

$C_{15}H_9Cl_2NSe$ $M_r = 353,1$

Vorschrift: Methode (ix)

Reaktanten: MSD3e 10mmol

Ausbeute: 58%

Aussehen: gelblich weißer Feststoff

Smp: 89-90°C

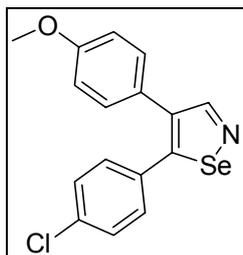
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 2990 & 2910 ν (CH), 1595 ν (C=N)

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 349.5 (6%), 350.5 (7%), 351.5 (51%), 352.5 (7%), 353.52 (100%), 354.5 (16%), 355.5 (57%), 356.5 (3%), 357.5 (8%)

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 9.29 (s, 1H, CHN), 7.48-7.41 überlappende Signale (7.46, d, 8.3 Hz, 2H, Ar-H, 7.44, d, 8.02 Hz, 2H, Ar-H), 7.35-7.25 überlappende Signale (7.31, d, 8.46 Hz, 2H, Ar-H 7.28, d, 8.47 Hz, 2H, Ar-H)

Elementaranalyse:

$C_{15}H_9Cl_2NSe$	gefunden	C 51.91	H 2.85	N 3.76	S 0
x 1/3 C_3H_6O	berechnet	(C 51.59)	(H 2.98)	(N 3.76)	(S 0)

5-(4-Chlorophenyl)-4-(4-methoxyphenyl)-1,2-selenazol (MSD5f).

$C_{16}H_{12}ClNOSe$ $M_r = 348,7$

Vorschrift: Methode (ix)

Reaktanten: MSD3f 10mmol

Ausbeute: 40%

Aussehen: gelblich, weiße Kristalle

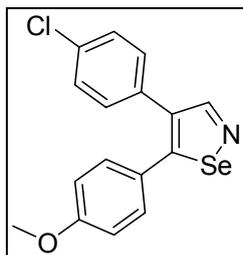
Smp: 78-79°C

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 345.5 (12%), 346.5 (12%), 347.5 (47%), 348.6 (14%), 349.5 (100%), 350.5 (16%), 351.5 (44%), 352.5 (8%), 353.5 (3%)

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 9.25 (s, 1H, CHN), 7.45 (d, 8.44 Hz, 2H, Ar-H), 7.29 (d, 8.51 Hz, 2H, Ar-H), 7.22 (d, 8.67 Hz, 2H, Ar-H), 6.93 (d, 8.44 Hz, 2H, Ar-H), 3.75 (s, 3H, OCH_3);

Elementaranalyse:

$C_{16}H_{12}ClNOSe$	gefunden	C 56.00	H 3.73	N 3.43	S 0
$x \frac{1}{2} C_3H_6O$	berechnet	(C 55.65)	(H 4.00)	(N 3.71)	(S 0)

4-(4-Chlorophenyl)-5-(4-methoxyphenyl)-1,2-selenazol (MSD5g).

$C_{16}H_{12}ClNOSe$ $M_r = 348,7$

Vorschrift: Methode (ix)

Reaktanten: MSD3g 10mmol

Ausbeute: 67%

Aussehen: gelblichweißer Feststoff

Smp: 80°C

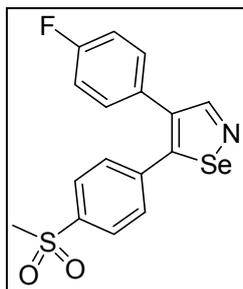
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3020 ν (CH aromatisch), 2960, 2910 & 2840 ν (CH aliphatisch), 1605 ν (C=N)

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 345.5 (10%), 346.5 (11%), 347.5 (46%), 348.6 (8%), 349.5 (100%), 350.5 (12%), 351.5 (36%), 352.5 (2%), 353.5 (4%)

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 9.22 (s, 1H, CHN), 7.43 (d, 8.33 Hz, 2H, Ar-H), 7.32 (d, 8.37 Hz, 2H, Ar-H), 7.2 (d, 8.55 Hz, 2H, Ar-H), 6.94 (d, 8.54 Hz, 2H, Ar-H), 3.75 (s, 3H, OCH_3)

Elementaranalyse:

$C_{16}H_{12}ClNOSe$	gefunden	C 54.98	H 3.59	N 3.82	S 0
	berechnet	(C 55.11)	(H 3.47)	(N 4.02)	(S 0)

4-(4-Fluorophenyl)-5-(4-(methylsulfonyl)phenyl)-1,2-selenazol (MSD5h).

$C_{16}H_{12}FNO_2SSe$ $M_r = 380,3$

Vorschrift: Methode (ix)

Reaktanten: MSD3h 1mmol

Ausbeute: 58%

Aussehen: gelblich weißer Feststoff

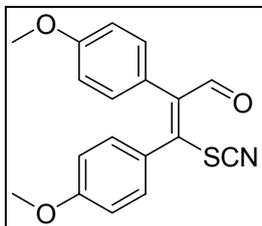
Smp: 150°C

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 377.1 (16%), 378.1 (16%), 379.1 (47%), 380.2 (8%), 381.1 (100%), 382.2 (17%), 383.1 (22%), 384.1 (4%)

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 9.33 (s, 1H, CHN), 7.91 (d, 8.52 Hz, 2H, Ar-H), 7.52 (d, 8.53 Hz, 2H, Ar-H), 7.35 (dd, 8.86 Hz, 5.49 Hz, 2H, Ar-H), 7.23 (t, 8.92 Hz, 8.92 Hz, 2H, Ar-H), 3.24 (s, 3H, SO_2CH_3)

Elementaranalyse:

$C_{16}H_{12}FNO_2SSe$	gefunden	C 52.82	H 3.84	N 3.01	S 10.97
	berechnet	(C 50.53)	(H 3.18)	(N 3.68)	(S 8.43)

8.3.6 α -Thiocyanatformylstilben MSD6a**(Z)-2,3-bis(4-methoxyphenyl)-3-thiocyanatoacrylaldehyd (MSD6a).**

$C_{18}H_{15}NO_3S$ $M_r = 325,4$

Vorschrift: Methode (x)

Reaktanten: MSD3a 10mmol

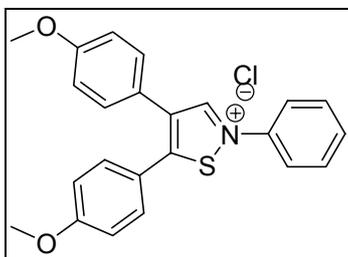
Ausbeute: 30%

Aussehen: gelber Feststoff

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 325.5 (100%), 326.5 (19%), 327.5 (6%)

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 9.29 (s, 1H, CHO), 7.6 (d, 8.58 Hz, 2H, Ar-H), 7.23 (d, 8.63 Hz, 2H, Ar-H), 7.14 (d, 8.64 Hz, 2H, Ar-H), 7.04 (d, 8.55 Hz, 2H, Ar-H), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.8 (s, 3H, OCH₃)

8.3.7 Isothiazoliumionen MSD7

2-Phenyl-4,5-Bis(4-methoxyphenyl)isothiazoliumchlorid (MSD7a).

$C_{23}H_{20}ClNO_2S$ $M_r = 410$, $M_{rKation} = 374.5$

Vorschrift: Methode (xi) oder (xii)

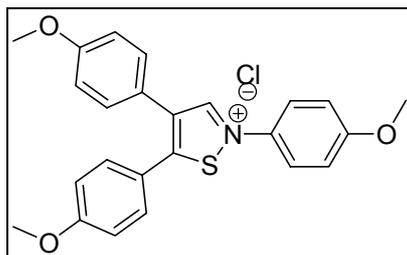
Reaktanten: Methode (xi): MSD6a 10mmol

5a Anilinhydrochlorid 10mmol

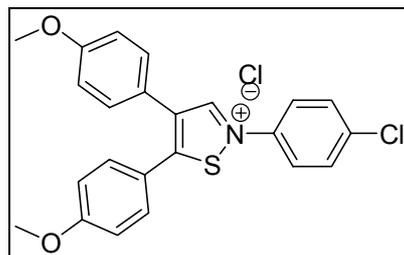
8. Experimenteller Teil

	Methode(xii): MSD3a	10mmol
	5a Anilinhydrochlorid	10mmol
Ausbeute:	Methode (xi): 80%	
	Methode (xii): 60%	
Aussehen:	gelbbrauner fast goldener hygroskopischer Feststoff	
MS:	FD: m/z (rel. Int.) = 373.6 (100%), 374.6 (23%), 375.6 (7%), 376.6 (1%) ,	
¹ H-NMR:	DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ [ppm] = 9.9 (s, 1H, CHN), 8.01 (d, 7.91 Hz, 2H, Ar-H), 7.74 (m, 3H, Ar-H), 7.47 (d, 8.37 Hz, 2H, Ar-H), 7.42 (d, 8.23 Hz, 2H, Ar-H), 7.13 (d, 8.74 Hz, 2H, Ar-H), 7.07 (d, 8.24 Hz, 2H, m Ar-H), 3.83 (s, 3H, OCH ₃), 3.8 (s, 3H, OCH ₃)	

2-(4-Methoxyphenyl)-4,5-Bis(4-methoxyphenyl)isothiazoliumchlorid (MSD7b).



C ₂₄ H ₂₂ ClNO ₃ S	M _r = 440, M _{rKation} : 404,5
Vorschrift:	Methode (xi)
Reaktanten:	MSD6a 10mmol
	5b 4-Methoxyanilinhydrochlorid 10mmol
Ausbeute:	55%
Aussehen:	gelbbrauner hygroskopischer Feststoff
Smp:	83°C
MS:	FD: m/z = 404.1 (M ⁺)
¹ H-NMR:	CDCl ₃ , 300 MHz, δ [ppm] = 10.3 (s, 1H, CHN), 8.28 (d, 7.75 Hz, 2H, Ar-H), 7.72 (d, 7.74 Hz, 2H, Ar-H), 7.43 (d, 8.23 Hz, 2H, Ar-H), 7.09 (d, 7.43 Hz, 2H, Ar-H) 6.93 (t, 7.68 Hz, 7.68 Hz, 4H, Ar-H) 3.85 (s, 6H, OCH ₃), 3.81 (s, 3H, OCH ₃)

2-(4-Chlorphenyl)-4,5-Bis(4-methoxyphenyl)isothiazoliumchlorid (MSD7c).

$C_{23}H_{19}Cl_2NO_2S$ $M_r = 444,4$, $M_{rKation} = 408,9$

Vorschrift: Methode (xi)

Reaktanten: MSD6a 10mmol

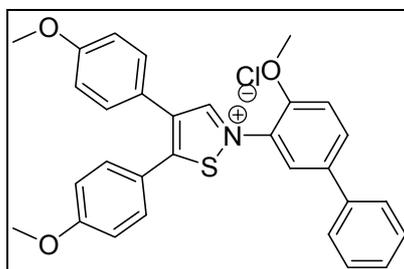
5c 4-Chloranilinhydrochlorid 10mmol

Ausbeute: 50%;

Aussehen: gelblichbrauner hygroskopischer Feststoff

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 408 (100%), 409 (45%), 410 (37%), 411 (8%)

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 9.92 (s, 1H, CHN), 8.26 (s, 1H, Ar-H), 7.97 (s, 1H, Ar-H), 7.8 (d, 7.53 Hz, 2H, Ar-H), 7.47 (d, 8.65 Hz, 2H, Ar-H), 7.41 (d, 8.45 Hz, 2H, Ar-H), 7.14 (d, 8.48 Hz, 2H, Ar-H), 7.07 (d, 8.35 Hz, 2H, Ar-H), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 3.8 (s, 3H, OCH₃)

2-(4-Methoxybiphen-3-yl)-4,5-bis(4-methoxyphenyl)isothiazoliumchlorid. (MSD7d)

$C_{30}H_{26}ClNO_3S$ $M_r = 516,1$, $M_{rKation} = 480,6$

Vorschrift: Methode (xi)

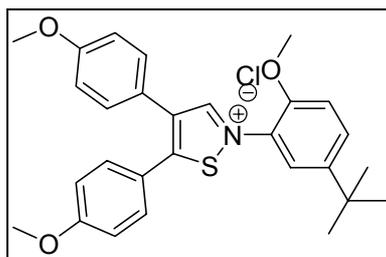
Reaktanten: MSD6a 10mmol

5d 2-Methoxy-4-phenylanilinhydrochlorid 10mmol

8. Experimenteller Teil

Ausbeute: 40%
Aussehen: gelber stark hygroskopischer Feststoff
Smp: 86°C
MS: FD: $m/z = 480 (M^+)$
 $^1\text{H-NMR}$: CDCl_3 , 300 MHz, δ [ppm] = 10.19 (s, 1H, CHN), 8.52 (s, 1H, Ar-H), 7.8 (d, 8.04 Hz, 2H, Ar-H), 7.74 (d, 8.55 Hz, 1H, Ar-H), 7.65 (d, 8.67 Hz, 2H, Ar-H), 7.49 (d, 8.66 Hz, 2H, Ar-H), 7.41 (t, 7.39 Hz, 7.39 Hz, 2H, Ar-H), 7.3 (d, 7.32 Hz, 1H, Ar-H), 7.23 (d, 8.74 Hz, 1H, Ar-H), 6.95 (t, 7.75 Hz, 7.75 Hz, 4H, Ar-H), 4.05 (s, 3H, OCH_3), 3.86 (s, 3H, OCH_3), 3.81 (s, 3H, OCH_3)

2-(2-Methoxy-5-tertbutylphenyl)-4,5-Bis(4-methoxyphenyl)isothiazoliumchlorid (MSD7e).

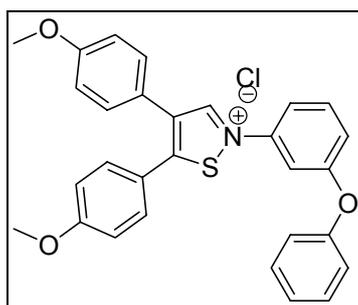


$\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{ClNO}_3\text{S}$ $M_r = 496,1$, $M_{r\text{Kation}}: 460.6$
Vorschrift: Methode (xi) oder (xii)
Reaktanten: Methode (xi):
MSD6a 10mmol
5e 2-Methoxy-4-*tert*-butylanilinhydrochlorid 10mmol
Methode (xii):
MSD3a 20mmol
5e 2-Methoxy-4-*tert*-butylanilinhydrochlorid 20mmol
Ausbeute: Methode (xi): 45%
Methode (xii): 40%
Aussehen: gelber stark hygroskopischer Feststoff
Smp: 120°C
MS: FD: $m/z = 460.1(M^+)$

8. Experimenteller Teil

$^1\text{H-NMR}$: CDCl_3 , 300 MHz, δ [ppm] = 9.74 (s, 1H, CHN), 8.28 (s, 1H, Ar-H), 7.56 (m, 5H, Ar-H), 7.06(d, 8.57 Hz, 1H, Ar-H), 6.96 (d, 4.96 Hz, 4H, AR-H), 3.97 (s, 3H, OCH_3), 3.85 (s, 3H, OCH_3), 3.83 (s, 3H, OCH_3), 1.4 (s, 9H, CH_3)

2-(3-Phenoxyphenyl)-4,5-Bis(4-methoxyphenyl)isothiazoliumchlorid (MSD7f).



$\text{C}_{29}\text{H}_{24}\text{ClNO}_3\text{S}$ $M_r = 502$, $M_{r\text{Kation}}: 460,6$

Vorschrift: Methode (xi)

Reaktanten: MDS6a 10mmol
5f 3-Phenoxyanilinhydrochlorid 10mmol

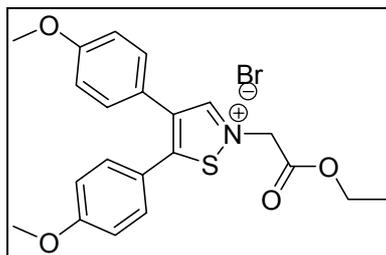
Ausbeute: 50%

Aussehen: gelber hygroskopischer Feststoff

Smp: 58°C

MS: FD: $m/z = 460.1$ (M^+)

$^1\text{H-NMR}$: DMSO-d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 9.86 (s, 1H, CHN), 7.78-7.68 überlappende Signale (m, 4H, Ar-H), 7.48-7.42 überlappende Signale (m, 3H, Ar-H), 7.38 (d, 8.33 Hz, 2H, Ar-H), 7.25 (m, 2H, Ar-H), 7.17-7.08 überlappende Signale (t, 8.69 Hz, 8.69 Hz, 4H, Ar-H), 7.05 (d, 8.34 Hz, 2H, Ar-H), 3.82 (s, 3H, OCH_3), 3.79 (s, 3H, OCH_3)

4,5-Bis(4-methoxyphenyl)isothiazoliumbromid-2-essigsäureethylester(MSD7g).

$C_{21}H_{22}BrNO_4S$ $M_r = 464,4$

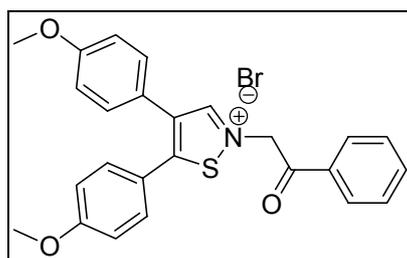
Vorschrift: Methode (xiii)

Reaktanten: MSD4a 10mmol
2-Bromessigsäureethylester (6a) 30mmol

Ausbeute: 60%

Aussehen: grüner hygroskopischer Feststoff

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 9.46 (s, 1H, CHN), 7.42 (d, 8.74 Hz, 2H, Ar-H), 7.29 (d, 8.71 Hz, 2H, Ar-H), 7.09 (d, 8.8 Hz, 2H, Ar-H), 7.04 (d, 8.75 Hz, 2H, Ar-H), 5.69 (s, 2H, NCH₂-COO), 4.38 (q, 7.11 Hz, 7.11 Hz, 7.14 Hz, 2H, OCH₂), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 1.28 (t, 7.11 Hz, 7.11 Hz, 3H, CH₃)

2-(1-Phenacyl)-4,5-Bis(4-methoxyphenyl)isothiazoliumbromid (MSD7h).

$C_{25}H_{22}BrNO_3S$ $M_r = 496,4$, $M_{rKation} = 416,5$

Vorschrift: Methode (xiii)

Reaktanten: MSD4a 10mmol
Phenacylbromid (6b) 30mmol

Ausbeute: 50%;

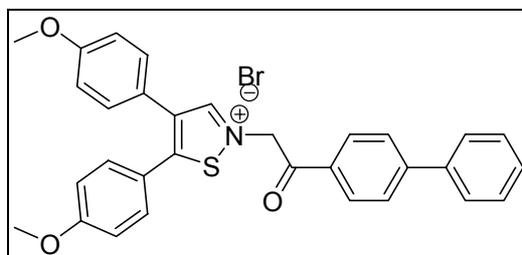
Aussehen: grüner hygroskopischer Feststoff

8. Experimenteller Teil

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 415.1 (100%), 416.1 (32%), 417.1 (9%), 418.1 (2%)

¹H-NMR: DMSO-d₆, 300 MHz, δ [ppm] = 9.45 (s, 1H, CHN), 8.09 (d, 8.16 Hz, 2H, Ar-H), 7.8 (t, 7.36 Hz, 7.36 Hz, 1H, Ar-H), 7.72-7.61 überlappende Signale (t, 7.56 Hz, 7.56 Hz, 2H, Ar-H), 7.46 (d, 8.72 Hz, 2H, Ar-H), 7.32 (d, 8.61 Hz, 2H, Ar-H), 7.1 (d, 8.76 Hz, 2H, Ar-H), 7.04 (d, 8.65 Hz, 2H, Ar-H), 6.54 (s, 2H, NCH₂-CO), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 3.79 (s, 3H, OCH₃)

2-(1-(4-Phenylphenacyl))-4,5-Bis(4-methoxyphenyl)isothiazoliumbromid (MSD7i).



C₃₁H₂₆BrNO₃S M_r = 572,5

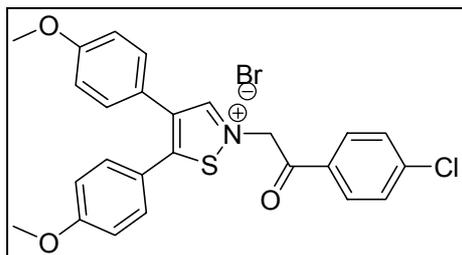
Vorschrift: Methode (xiii)

Reaktanten: MSD4a 10mmol
4-Phenylphenacylbromid (6c) 30mmol

Ausbeute: 55%

Aussehen: grüner, hygroskopischer Feststoff

¹H-NMR: DMSO-d₆, 300 MHz, δ [ppm] = 9.47 (s, 1H, CHN), 8.17 (d, 8.36 Hz, 2H, Ar-H), 7.99 (d, 8.38 Hz, 2H, Ar-H), 7.82 (d, 7.24 Hz, 2H, Ar-H), 7.53 (m, 3H, Ar-H), 7.47 (d, 8.77 Hz, 2H, Ar-H), 7.33 (d, 8.7 Hz, 2H, Ar-H), 7.1 (d, 8.71 Hz, 2H, Ar-H), 7.05 (d, 8.72 Hz, 2H, Ar-H), 6.57 (s, 2H, NCH₂-CO), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 3.79 (s, 3H, OCH₃)

2-(1-(p-Chlorphenacyl))-4,5-Bis(4-methoxyphenyl)isothiazoliumbromid (MSD7j).

$C_{25}H_{21}BrClNO_3S$ $M_r = 530,9$

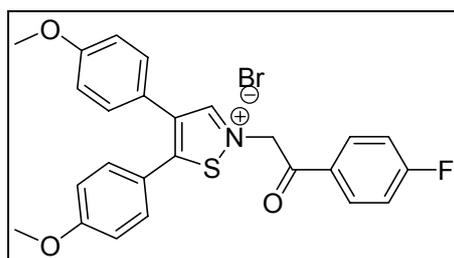
Vorschrift: Methode (xiii)

Reaktanten: MSD4a 10mmol
4-Chlorphenacylbromid (6d) 30mmol

Ausbeute: 42%

Aussehen: grüner, hygroskopischer Feststoff

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 9.41 (s, 1H, CHN), 8.1 (d, 8.53 Hz, 2H, Ar-H), 7.76 (d, 8.48 Hz, 2H, Ar-H), 7.45 (d, 8.69 Hz, 2H, Ar-H), 7.32 (d, 8.65 Hz, 2H, Ar-H), 7.1 (d, 8.74 Hz, 2H, Ar-H), 7.05 (d, 8.74 Hz, 2H, Ar-H), 6.49 (s, 2H, NCH₂-CO), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 3.79 (s, 3H, OCH₃)

2-(1-(p-Fluorphenacyl))-4,5-Bis(4-methoxyphenyl)isothiazoliumbromid (MSD7k).

$C_{25}H_{21}BrFNO_3S$ $M_r = 514,4$

Vorschrift: Methode (xiii)

Reaktanten: MSD4a 10 mmol
4-Fluorphenacylbromid (6e) 30 mmol

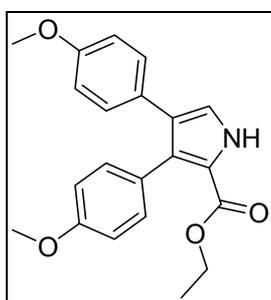
Ausbeute: 24%

Aussehen: grüner, hygroskopischer Feststoff

¹H-NMR: DMSO-d₆, 300 MHz, δ [ppm] = 9.43 (s, 1H, CHN), 7.52 (t, 8.69, 8.69 Hz, 4H, Ar-H), 7.45 (d, 8.70 Hz, 2H, Ar-H), 7.32 (d, 8.43 Hz, 2H, Ar-H), 7.10 (d, 8.74 Hz, 2H, Ar-H), 7.04 (d, 8.67 Hz, 2H, Ar-H), 6.51 (s, 2H, NCH₂-CO), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 3.79 (s, 3H, OCH₃)

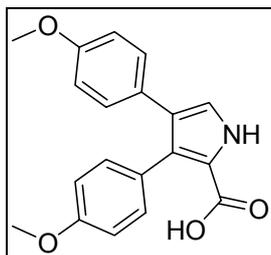
8.3.8 Pyrrole MSD8 und MSD9

3,4-Bis(4-methoxyphenyl)-1H-pyrrol-2-carbonsäureethylester (MSD8a).



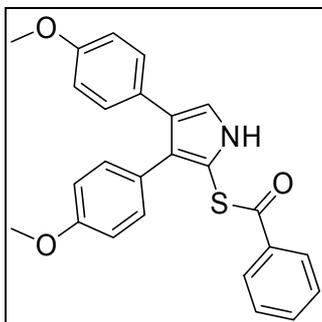
C₂₁H₂₁NO₄ M_r = 351,4
 Vorschrift: Methode (xiv)
 Reaktanten: MSD7g 5mmol
 Ausbeute: 50%
 Aussehen: hellbräunlich weißer Feststoff
 Smp: 136°C
 IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3305 & 3260. ν(NH), 2980 & 2890 ν(CH), 1675 ν(C=O)
 MS: FD: m/z (rel. Int.) = 351.2 (100%), 352.2 (21%), 353.2 (3%)
¹H-NMR: DMSO-d₆, 300 MHz, δ [ppm] = 11.88 (s, 1H, NH), 7.14 (d, 3.03 Hz, 1H, CHN), 7.06 (d, 8.51 Hz, 2H, Ar-H), 6.97 (d, 8.55 Hz, 2H, Ar-H), 6.83 (d, 8.57 Hz, 2H, Ar-H), 6.73 (d, 8.65 Hz, 2H, Ar-H), 4.06 (q, 7.05 Hz, 7.05 Hz, 7.05 Hz, 2H, OCH₂), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 3.67 (s, 3H, OCH₃), 1.08 (t, 7.04 Hz, 7.04 Hz, 3H, CH₃)

3,4-Bis(4-methoxyphenyl)-1H-pyrrol-2-carbonsäure (MSD8b).



$C_{19}H_{17}NO_4$	$M_r = 323,3$
Vorschrift:	Methode (xv)
Reaktanten:	MSD8a 3mmol
Ausbeute:	80%
Aussehen:	weiße Kristalle
Smp:	184°C
IR:	$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3240 $\nu(NH)$, 2980 $\nu(CH)$, 3000-2500 $\nu(COOH)$ breite Bande = „Säurebauch“ 1650 $\nu(C=O)$
MS:	FD: m/z (rel. Int.) = 323.2 (100%), 324.2 (20%), 325.2 (2%)
1H -NMR:	DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 12.04 (s, 1H, COOH), 11.76 (s, 1H, NH), 7.08 (d, 2.95 Hz, 1H, CHN), 7.05 (d, 8.58 Hz, 2Har-H), 6.94 (d, 8.44 Hz, 2H, Ar-H), 6.81 (d, 8.40 Hz, 2H, Ar-H), 6.72 (d, 8.48 Hz, 2H, Ar-H), 3.73 (s, 3H, OCH ₃), 3.66 (s, 3H, OCH ₃)

Benzoessäure(3,4-Bis(4-methoxyphenyl)pyrrol-2thiol)ester (MSD9a)

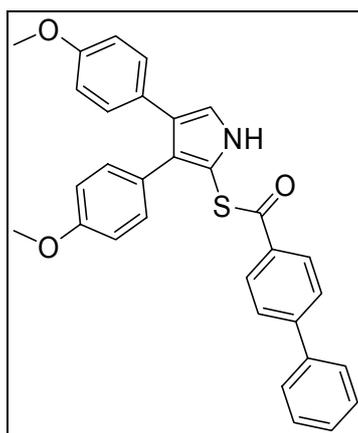


$C_{25}H_{21}NO_3S$	$M_r = 415,5$
Vorschrift:	Methode (xiv)
Reaktanten:	MSD7h 5mmol
Ausbeute:	30%

8. Experimenteller Teil

Aussehen:	feine weiße watteartige Nadeln
Smp:	232°C
IR:	$\tilde{\nu}$ [cm ⁻¹] = 3370 ν (NH), 2960 & 2830 ν (CH), 1655 ν (C=O)
MS:	FD: m/z (rel. Int.) = 415 (100%), 416 (25%), 417 (6%)
¹ H-NMR:	DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ [ppm] = 11.64 (s, 1H, NH), 7.93 (d, 7.27 Hz, 2H, Ar-H), 7.72 (t, 7.36 Hz, 7.36 Hz, 1, Ar-H), 7.61-7.52 überlappende Signale (7.57, t, 7.56 Hz, 7.56 Hz, 2H, Ar-H), 7.26 (d, 2.85 Hz, 1H, C=CH-N), 7.04 (d, 8.7 Hz, 2H, Ar-H), 6.97 (d, 8.71 Hz, 2H, Ar-H), 6.82 (d, 8.91 Hz, 2H, AR-H), 6.78 (d, 8.97 Hz, 2H, Ar-H), 3.69 (s, 6H, OCH ₃)

p-Phenylbenzoesäure(3,4-Bis(4-methoxyphenyl)pyrrol-2thiol)ester (MSD9b)

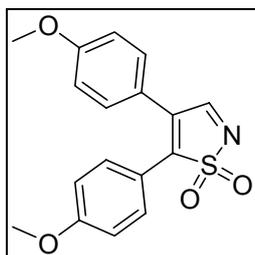


C ₃₁ H ₂₅ NO ₃ S	M _r = 491,6
Vorschrift:	Methode (xiv)
Reaktanten:	MSD7i 5mmol
Ausbeute:	40%
Aussehen:	feine watteartige weiße Nadeln
Smp:	213°C
IR:	$\tilde{\nu}$ [cm ⁻¹] = 3345 ν (NH), 2980 & 2835 ν (CH), 1670 ν (C=O)
MS:	FD: m/z (rel. Int.) = 491.2 (100%), 492.2 (30%), 493.2 (8%)
¹ H-NMR:	DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ [ppm] = 11.68 (s, 1H, NH), 8.02 (d, 8.25 Hz, 2H, Ar-H), 7.88 (d, 8.29 Hz, 2H, Ar-H), 7.75 (d, 7.24 Hz, 2H, Ar-H),

7.49 (m, 3H, Ar-H), 7.27 (d, 2.56 Hz, 1H, C=CH-N), 7.06 (d, 8.55 Hz, 2H, Ar-H), 7.0 (d, 8.45 Hz, 2H, Ar-H), 6.86-6.76 überlappende Signale (6.83, d, 8.8 Hz, 2H, Ar-H 6.8, d, 8.71 Hz, 2H, Ar-H), 3.7 (s, 6H, OCH₃)

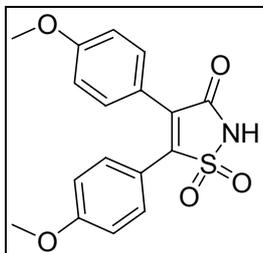
8.3.9 Isothiazol-1,1-dioxid MSD10a

4,5-Bis(4-methoxyphenyl)-isothiazol-1,1-dioxid (MSD10a).



C ₁₇ H ₁₅ NO ₄ S	M _r = 329,4
Vorschrift:	Methode (ii)
Reaktanten:	MSD4a
Ausbeute:	<10%
Aussehen:	gelber Feststoff
IR:	$\tilde{\nu}$ [cm ⁻¹] = 3060 ν (CH aromatisch), 2980, 2890 & 2850 ν (CH aliphatisch), 1595 ν (C=N), 1330, 1150 ν (SO ₂)
MS:	FD: m/z (rel. Int.) = 329.6 (100%), 330.5 (13%), 331.6 (4%)
¹ H-NMR:	DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ [ppm] = 9.22 (s, 1H, CHN), 7.56 (d, 8.63 Hz, 2H, Ar-H), 7.49 (d, 8.67 Hz, 2H, Ar-H), 7.08 (d, 8.95 Hz, 2H, Ar-H), 7.038 (d, 8.98 Hz, 2H, Ar-H), 3.8 (s, 6H, OCH ₃)

8.3.10 Isothiazol-3(2H)-on-1,1-dioxide MSD11

4,5-Bis(4-methoxyphenyl)-isothiazol-3(2H)-on-1,1-dioxid (MSD11a).

$C_{17}H_{15}NO_5S$ $M_r = 345,4$

Vorschrift: Methode (ii) oder (xvi)

Reaktanten: MSD4a 10mmol

Ausbeute: Methode (xvi): 50%

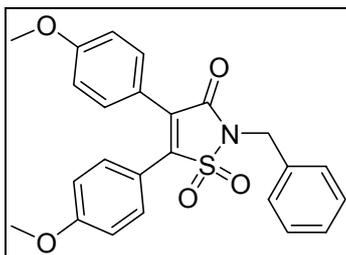
Aussehen: gelber Feststoff

Smp: 311-312°C

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 2980 & 2890 ν (CH), 1755 ν (C=O Ester), 1720 ν (C=O Amid)

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 345.6 (100%), 346.6 (19%), 347.6 (6%)

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 7.39 (d, 8.9 Hz, 2H, Ar-H), 7.3 (d, 8.85 Hz, 2H, Ar-H), 7.01 (d, 8.9 Hz, 2H, Ar-H), 6.95 (d, 8.85 Hz, 2H, Ar-H), 3.78- 3.76 überlappende Signale (3.77, s, 3H, OCH₃, 3.76, s, 3H, OCH₃)

2-Benzyl-4,5-bis(4-methoxyphenyl)-isothiazol-3(2H)-on-1,1-dioxid (MSD11b).

$C_{24}H_{21}NO_5S$ $M_r = 435,5$

Vorschrift: Methode (xvii)

Reaktanten: MSD11a 5 mmol
 Benzylbromid (7b) 7,5 mmol

Ausbeute: 70%

Aussehen: gelbe Nadeln

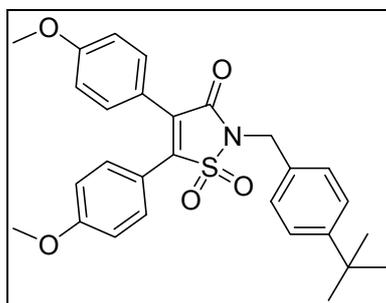
Smp: 131-132°C

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 434.9 (100%), 435.9 (25%), 436.9 (8%), 437.9 (1%)

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 7.47-7.40 (m, 4H, Ar-H), 7.40-7.30 (m, 5H), 7.05 (d, 8.93 Hz, 2H, Ar-H), 6.97 (d, 8.89 Hz, 2H, Ar-H), 4.88 (s, 2H, NCH_2), 3.78 (s, 3H, OCH_3), 3.77 (s, 3H, OCH_3)

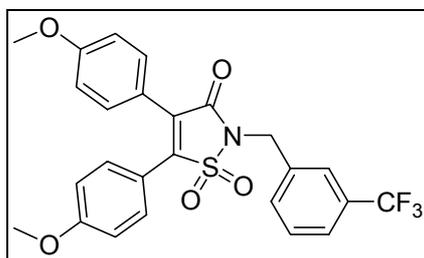
Elementaranalyse:

$C_{24}H_{21}NO_5S$	soll	66.19	4.86	3.22	7.36
	ist	66.08	4.79	3.19	7.41

2-(4-tert-Butylbenzyl)-4,5-bis(4-methoxyphenyl)-isothiazol-3(2H)-on-1,1-dioxid (MSD11d).

$C_{28}H_{29}NO_5S$	$M_r = 491,6$
Vorschrift:	Methode (xvii)
Reaktanten:	MSD11a 5 mmol <i>p</i> -tert-Butylbenzylbromid (7d) 7,5 mmol
Ausbeute:	50%
Aussehen:	gelbe Nadeln
Smp:	173°C
MS:	FD: m/z (rel. Int.) = 491.2 (100%), 492.2 (30%), 493.2 (10%), 494.2 (2%)
1H -NMR:	$CDCl_3$, 300 MHz, δ [ppm] = 7.50 (d, 9.02 Hz, 2H, Ar-H), 7.46 (d, 8.40 Hz, 2H, Ar-H), 7.38 (d, 8.15 Hz, 2H, Ar-H), 7.36 (d, 8.93 Hz, 2H, Ar-H), 6.88 (d, 9.01 Hz, 2H, Ar-H), 6.86 (d, 8.93 Hz, 2H, Ar-H), 4.85 (s, 2H, NCH_2), 3.82 (s, 3H, OCH ₃), 3.81 (s, 3H, OCH ₃), 1.30 (s, 9H, CH ₃)

2-(3-(Trifluormethyl)benzyl)-4,5-bis(4-methoxyphenyl)-isothiazol-3(2H)-on-1,1-dioxid (MSD11e).



$C_{25}H_{20}FNO_5S$ $M_r = 503,5$

Vorschrift: Methode (xvii)

Reaktanten: MSD11a 5 mmol
m-Trifluormethylbenzylbromid (7e) 7,5 mmol

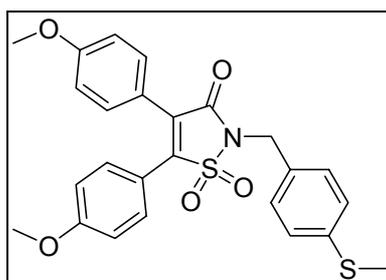
Ausbeute: 15%

Aussehen: gelbe Nadeln

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 502.9 (100%), 503.9 (25%), 504.9 (8%), 505.9 (1%)

1H -NMR: $CDCl_3$, 300 MHz, δ [ppm]= 7.78 (s, 1H, Ar-H), 7.72 (d, 7.75 Hz, 1H, Ar-H), 7.59 (d, 7.99 Hz, 1H, Ar-H), 7.51 (d, 9.04 Hz, 2H, Ar-H), 7.49 (t, 7.90 Hz, 7.90 Hz, 1H, Ar-H), 7.37 (d, 8.97 Hz, 2H, Ar-H), 6.89 (d, 9.03 Hz, 2H, Ar-H), 6.88 (d, 8.99 Hz, 2H, ArH), 4.92 (s, 2H, NCH_2), 3.83 (s, 3H, OCH_3), 3.82 (s, 3H, OCH_3)

2-(4-(Methylthio)benzyl)-4,5-bis(4-methoxyphenyl)-isothiazol-3(2H)-on-1,1-dioxid (MSD11f).

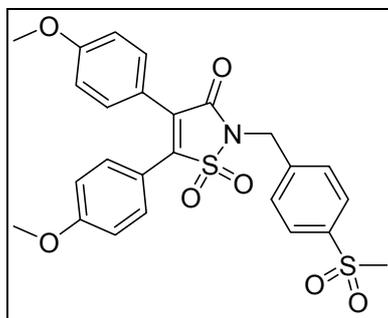


$C_{25}H_{23}NO_5S_2$ $M_r = 481,6$

8. Experimenteller Teil

Vorschrift:	Methode (xvii)	
Reaktanten:	MSD11a	5 mmol
	p-Thiomethylbenzylbromid (7f)	7,5 mmol
Ausbeute:	45%	
Aussehen:	gelber Feststoff	
MS:	FD: m/z (rel. Int.) = 480.9 (100%), 481.9 (30%), 482.9 (14%), 483.9 (3%)	
¹ H-NMR:	CDCl ₃ , 300 MHz, δ [ppm] = 7.50 (d, 8.70 Hz, 2H, Ar-H), 7.45 (d, 8.20 Hz, 2H, Ar-H), 7.35 (d, 8.49 Hz, 2H, Ar-H), 7.23 (d, 8.49 Hz, 2H, Ar-H), 6.88 (d, 8.55 Hz, 2H, Ar-H), 6.87 (d, 8.75 Hz, 2H, Ar-H), 4.83 (s, 2H, NCH ₂), 3.82 (s, 3H, OCH ₃), 3.82 (s, 3H, OCH ₃), 2.47 (s, 3H, SCH ₃)	

2-(4-(Methylsulfonyl)benzyl)-4,5-bis(4-methoxyphenyl)-isothiazol-3(2H)-on-1,1-dioxid (MSD11g).



C ₂₅ H ₂₃ NO ₇ S ₂	M _r = 513,6
Vorschrift:	Methode (ii)
Reaktanten:	MSD11f 2mmol
Ausbeute:	<10%
Aussehen:	gelbe Nadeln, Reinheit wegen Substanzmangel nur bei ~90%
Smp:	160-161°C
MS:	FD: m/z (rel. Int.) = 512.9 (100%), 513.9 (30%), 514.9 (13%), 515.9 (2%)
¹ H-NMR:	CDCl ₃ , 300 MHz, δ [ppm] = 7.95 (d, 8.40 Hz, 2H, Ar-H), 7.72 (d, 8.39 Hz, 2H, Ar-H), 7.51 (d, 8.96 Hz, 2H, Ar-H), 7.36 (d, 8.89 Hz,

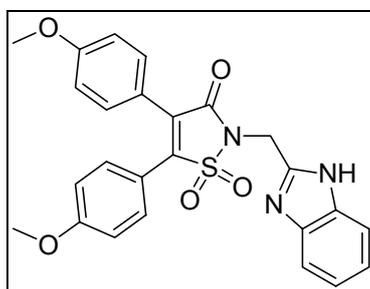
8. Experimenteller Teil

2H, Ar-H), 6.95-6.85 (m, 4H, Ar-H), 4.94 (s, 2H, NCH₂), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 3.04 (s, 3H, SO₂CH₃)

Elementaranalyse:

C ₂₅ H ₂₃ NO ₇ S ₂	gefunden	C 57.22	H 4.58	N 2.43	S 12.90
x ½ H ₂ O	berechnet	(C 57.46)	(H 4.63)	(N 2.68)	(S 12.27)

2-((1H-benz[d]imidazol-2-yl)methyl)-4,5-bis(4-methoxyphenyl)-isothiazol-3(2H)-on-1,1-dioxid (MSD11h).



C₂₅H₂₁N₃O₅S M_r = 475,5

Vorschrift: Methode (xvii)

Reaktanten: MSD11a 3,4 mmol
2-Chlormethyl-1h-benzimidazol (7h) 5,1 mmol

Ausbeute: <10%

Aussehen: gelbe Nadeln

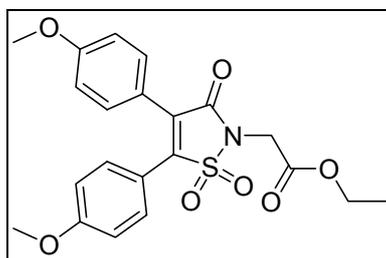
MS: FD: m/z (rel. Int.) = 474.9 (100%), 475.9 (22%), 477 (1%)

¹H-NMR: wegen Substanzmangel war ein 2. Spektrum nicht möglich. Peaks von 3 H überlappen mit dem überbreiten CDCl₃-Peak.

CDCl₃, 300 MHz, δ [ppm] = 7.53 (d, 8.92 Hz, 2H, Ar-H), 7.38 (d, 8.92 Hz, 2H, Ar-H), 7.28-7.26 (m, 1H, Ar-H), 7.25 überlappende Signale (Integration nicht möglich), 6.90 (t, 8.69, 8.69 Hz, 4H, Ar-H), 5.21 (s, 2H, NCH₂), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 3.83 (s, 3H, OCH₃)

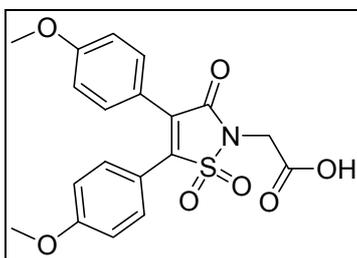
FD-MS-Spektrum wurde als Identitäts- und Reinheitsprüfung zusätzlich zur gesicherten Synthese genommen

2-(4,5-Bis(4-methoxyphenyl)-isothiazol-3(2H)-on-1,1-dioxid-2-yl)essigsäureethylester (MSD11i).



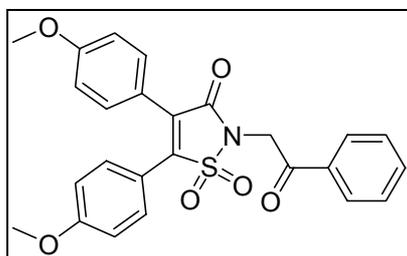
$C_{21}H_{21}NO_7S$	$M_r = 431,4$
Vorschrift:	Methode (xvii)
Reaktanten:	MSD11a 5 mmol Bromessigsäureethylester (6a) 7,5 mmol
Ausbeute:	45%
Aussehen:	gelbe Nadeln
Smp:	124°C
IR:	$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 2980 & 2890 ν (CH), 1755 ν (C=O Ester), 1720 ν (C=O Amid)
MS:	FD: m/z (rel. Int.) = 431.4 (100%), 432.1 (22%), 433.1 (8%), 434.1 (1%),
1H -NMR:	$CDCl_3$, 300 MHz, δ [ppm] = 7.52 (d, 8.99 Hz, 2H, Ar-H), 7.38 (d, 8.95 Hz, 2H, Ar-H), 6.92-6.85 überlappende Signale (6.89, d, 8.99 Hz, 2H, Ar-H, 6.88, d, 8.96 Hz, 2H, Ar-H), 4.42 (s, 2H, NCH_2), 4.27 (q, 7.11 Hz, 7.11 Hz, 7.09 Hz, 2H, OCH_2), 3.83 (s, 3H, OCH_3), 3.82 (s, 3H, OCH_3), 1.31 (t, 7.13 Hz, 7.13 Hz, 3H, CH_3)
Elementaranalyse:	
$C_{21}H_{21}NO_7S$	gefunden C 58.48 H 5.11 N 3.03 S 7.28 berechnet (C 58.46) (H 4.91) (N 3.25) (S 7.43)

2-(4,5-Bis(4-methoxyphenyl)-isothiazol-3(2H)-on-1,1-dioxid-2-yl)essigsäure (MSD11j).



$C_{19}H_{17}NO_7S$	$M_r = 403,4$
Vorschrift:	Methode (xv)
Reaktanten:	MSD11i 3mmol
Ausbeute:	60%
Aussehen:	gelbe Nadeln
Smp:	202°C
MS:	FD: m/z (rel. Int.) = 403 (100%), 404 (20%), 404.9 (8%)
1H -NMR:	$CDCl_3$, 300 MHz, δ [ppm] = 7.51 (d, 8.91 Hz, 2H, Ar-H), 7.38 (d, 8.85 Hz, 2H, Ar-H), 6.92-6.85 (m, 4H, Ar-H), 4.48 (s, 2H, NCH_2), 3.83 (s, 3H, OCH_3), 3.82 (s, 3H, OCH_3)

1-Phenyl-2-(4,5-bis(4-methoxyphenyl)-isothiazol-3(2H)-on-1,1-dioxid-2-yl)ethanon (MSD11k).

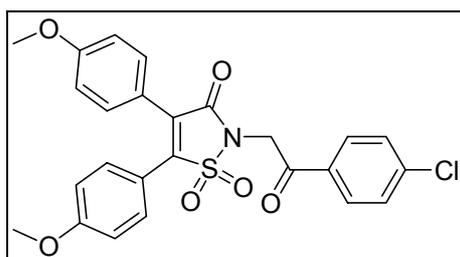


$C_{25}H_{21}NO_6S$	$M_r = 463,5$
Vorschrift:	Methode (xvii)
Reaktanten:	MSD11a 5 mmol
	Phenacylbromid (6b) 7,5 mmol

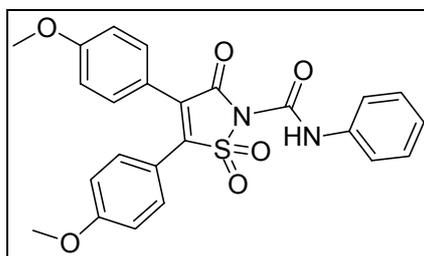
8. Experimenteller Teil

Ausbeute: 35%
Aussehen: gelbe Nadeln
Smp: 170°C
MS: FD: m/z (rel. Int.) = 463.2 (100%), 464.2 (26%), 465.1 (7%), 466.1 (1%),
¹H-NMR: CDCl₃, 300 MHz, δ [ppm] = 8.01 (d, 7.20 Hz, 1H, Ar-H), 7.65 (t, 7.40, 7.40 Hz, 1H, Ar-H), 7.57-7.49 (m, 4H, Ar-H), 7.42 (d, 8.91 Hz, 2H, Ar-H), 6.90 (d, 8.90 Hz, 2H, Ar-H), 6.88 (d, 8.86 Hz, 2H, Ar-H), 5.14 (s, 2H, NCH₂), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 3.83 (s, 3H, OCH₃)

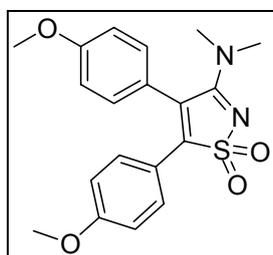
1-(4-Chlorphenyl)-2-(4,5-bis(4-methoxyphenyl)-isothiazol-3(2H)-on-1,1-dioxid-2-yl)ethanon (MSD11I).



C₂₅H₂₀ClNO₆S M_r = 498
Vorschrift: Methode (xvii)
Reaktanten: MSD11a 3 mmol
p-Chlorphenacylbromid (6d) 4,5 mmol
Ausbeute: <10%
Aussehen: gelbe Nadeln
Smp: 185°C
IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2980 & 2890 ν (CH), 1735 ν (C=O Amid), 1700 ν (C=O Keton)
MS: FD: m/z (rel. Int.) = 496.9 (100%), 498 (22%), 499 (31%), 500 (10%), 501 (3%),
¹H-NMR: CDCl₃, 300 MHz, δ [ppm] = 7.95 (d, 2H, Ar-H), 7.55-7.50 überlappende Signale(7,54, d, 2H, Ar-H, 7.51, d, „H, Ar-H), 7.41 (d,

2-(N-phenylcarbamoyl)-4,5-bis(4-methoxyphenyl)-isothiazol-3(2H)-on-1,1-dioxid (MSD11n).

$C_{20}H_{24}N_2O_6S$	$M_r = 464.5$
Vorschrift:	Methode (xviii);
Reaktanten:	MSD11a 3 mmol Phenylisocyanat (7n) 3 mmol
Ausbeute:	40%;
Aussehen:	gelbe Nadeln
Smp:	158°C
MS:	FD: $m/z = 464.9$ (M^+)
1H -NMR:	DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 9.99 (s, 1H, NH), 7.56 (m, 2H, Ar-H), 7.41 (m, 6H, Ar-H), 7.2 (s, 1H, Ar-H), 7.05 (m, 4H, Ar-H), 3.84-3.75 überlappende Signale (3.8, s, 3H, OCH ₃ , 3.79, s, 3H, OCH ₃)

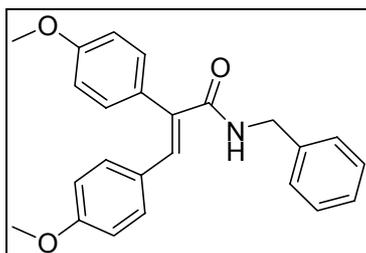
3-(Dimethylamino)-4,5-bis(4-methoxyphenyl)-isothiazol-1,1-dioxid (MSD11o).

$C_{19}H_{20}N_2O_4S$	$M_r = 372.4$
Vorschrift:	Methode (xix);
Reaktanten:	MSD11a 2,6 mmol HMPT (7o) 5 ml

Ausbeute: 30%;
 Aussehen: weißer Feststoff
 Smp: 170°C
 MS: FD: m/z (rel. Int.) = 372.8 (100%), 373.7 (20%), 374.7 (7%), 375.8 (1%)
¹H-NMR: DMSO-d₆, 300 MHz, δ [ppm] = 7.32 (d, 8.73 Hz, 2H, Ar-H), 7.25 (d, 8.99 Hz, 2H, Ar-H), 7.04 (d, 8.76 Hz, 2H, Ar-H), 6.91 (d, 9.00 Hz, 2H, Ar-H), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.17 (s, 3H, NCH₃), 2.65 (s, 3H, NCH₃)

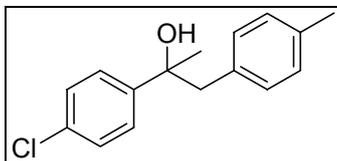
8.3.11 Diarylpropensäureamid MSD12a

(E)-N-Benzyl-2,3-bis(4-methoxyphenyl)acrylsäureamid (MSD12a).



C₂₄H₂₃NO₃ M_r = 373,4
 Vorschrift: Methode (xx)
 Reaktanten: MSD11b 5mmol
 Ausbeute: 15%
 Aussehen: weißer Feststoff
 MS: FD: m/z (rel. Int.) = 373.1 (100%), 374.1 (22%), 375.2 (1%)
¹H-NMR: DMSO-d₆, 300 MHz, δ [ppm] = 8.84 (s, 1H, NH), 7.40 (d, 8.94 Hz, 2H, Ar-H), 7.32 (d, 8.36 Hz, 2H, Ar-H), 7.30-7.21 (m, 5H, AR-H), 6.92 (d, 8.59 Hz, 2H, Ar-H), 6.84 (s, 1H, CH=C), 6.75 (d, 8.63 Hz, 2H, Ar-H), 4.36 (ds, 2H, NCH₂), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 3.73 (s, 3H, OCH₃)

8.3.12 Diarylpropan-2-ole MSD13

2-(4-Chlorphenyl)-1-p-tolylpropan-2-ol (MSD13a).C₁₆H₁₇ClO M_r = 260,8

Vorschrift: Methode (i)

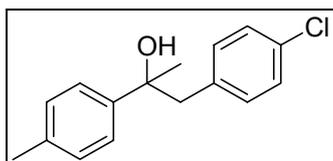
Reaktanten: 1a 4-Methylbenzylchlorid 50mmol

3a 4-Chloracetophenon 45mmol

Ausbeute: 80%

Aussehen: weiße Kristalle

Smp: 51-52°C

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3581 ν (OH), 3080 & 3040 ν (CH aromatisch), 2980 & 2900 ν (CH aliphatisch)MS: EI: m/z = 260,5 (M⁺)¹H-NMR: DMSO-d₆, 300 MHz, δ [ppm] = 7.36 (d, 8.6 Hz, 2H, Ar-H), 7.28 (d, 8.6 Hz, 2H, Ar-H), 6.94 (d, 7.9 Hz, 2H, Ar-H), 6.85 (d, 7.9 Hz, 2H, Ar-H), 5.1 (s, 1H, OH), 2.86 (s, 2H, CH₂), 2.19 (s, 3H, ArCH₃), 1.36 (s, 3H, CH₃)**1-(4-Chlorphenyl)-2-p-tolylpropan-2-ol (MSD13b).**C₁₆H₁₇ClO M_r = 260,8

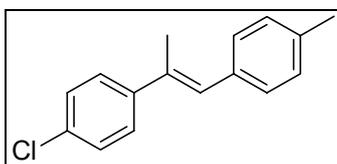
Vorschrift: Methode (i);

Reaktanten: 1b 4-Chlorbenzylchlorid 50mmol

	3b	4- Methylacetophenon	45mmol
Ausbeute:	76%;		
Aussehen:	weiße Kristalle		
IR:	$\tilde{\nu}$ [cm ⁻¹] = 3510 ν (OH), 3030 ν (CH aromatisch), 2980 & 2920 ν (CH aliphatisch)		
MS:	FD: m/z (rel. Int.) = 260.7 (100%), 261.7 (14%), 262.7 (29.6%)		
¹ H-NMR:	DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ [ppm] = 7.26 (d, 8.04, 2H, Ar-H), 7.19 (d, 8.3, 2H, Ar-H), 7.07-7.01 überlappende Signale (7.055, d, 8.3 Hz, 2H, Ar-H), 7.03, d, 8.4 Hz, 2H, Ar-H), 5.02 (s, 1H, OH), 2.91 (s, 2H, CH ₂), 2.25 (s, 3H, ArCH ₃), 1.35 (s, 3H, CH ₃)		

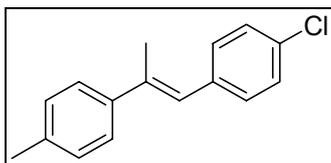
8.3.13 Methylstilbenderivate MSD14

1-((E)-2-(4-Chlorophenyl)prop-1-enyl)-4-methylbenzen (MSD14a).



C ₁₆ H ₁₅ Cl	M _r = 242,7
Vorschrift:	Methode (xxi)
Reaktanten:	MSD13a 30mmol
Ausbeute:	56%
Aussehen:	weißer Feststoff
Smp:	100-101°C
IR:	$\tilde{\nu}$ [cm ⁻¹] = 3070 ν (CH aromatisch), 2990, 2950, 2900 & 2830 ν (CH aliphatisch)
MS:	El: m/z = 241.8, 242.8, 243.8 (M ⁺)
¹ H-NMR:	DMSO-d ₆ , 300 MHz, δ [ppm] = 7.58 (d, 8.65Hz, 2H, Ar-H), 7.42 (d, 8.65 Hz, 2H, Ar-H), 7.29 (d, 8.05 Hz, 2H, Ar-H), 7.2 (d, 8.05Hz, 2H, Ar-H), 6.88 (s, 1H, C=CH), 2.3 (s, 3H, ArCH ₃), 2.19 (s, 3H, CH ₃)

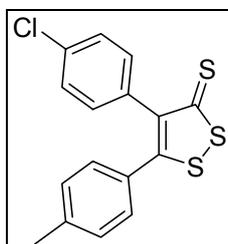
1-Chloro-4-((E)-2-p-tolylprop-1-enyl)benzene (MSD14b).



$C_{16}H_{15}Cl$	$M_r = 242,7$
Vorschrift:	Methode (xxi)
Reaktanten:	MSD13b 30mmol
Ausbeute:	39%
Aussehen:	weißer Feststoff
IR:	$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3030 ν (CH aromatisch), 2980, 2950, 2900 & 2830 ν (CH aliphatisch),
MS:	El: m/z (rel. Int.) = 241.9 (99.4%), 242.7 (34.75%), 243.9 (62,7%)
1H -NMR:	DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 7.45 (d, 8.05 Hz, 2H, Ar-H), 7.42-7.37 überlappende Signale (m, 4H, Ar-H), 7.18 (d, 8.05 Hz, 2H, Ar-H), 6.84 (s, 1H, C=CH), 2.3 (s, 3H, ArCH ₃), 2.185 (s, 3H, CH ₃)

8.3.14 Dithiol-3-thione MSD15

4-(4-Chlorophenyl)-5-p-tolyl-3H-1,2-dithiole-3-thione (MSD15a).



$C_{16}H_{11}ClS_3$	$M_r = 334,9$
Vorschrift:	Methode (xxii)
Reaktanten:	MSD14a 10mmol
Ausbeute:	19%
Aussehen:	rote Kristalle

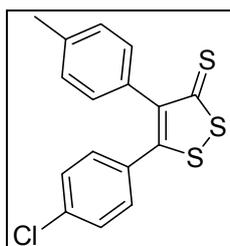
8. Experimenteller Teil

Smp: 156°C
IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3030 ν (CH aromatisch), 2950 & 2900 ν (CH aliphatisch), 1170 ν (C=S)
MS: FD: m/z (rel. Int.) = 334.6 (100%), 335.6 (17.5%), 336.6 (47%)
¹H-NMR: DMSO-d₆, 300 MHz, δ [ppm] = 7.39 (d, 8.35 Hz, 2H, Ar-H), 7.19 (s, 4H, Ar-H), 7.12 (d, 8.35 Hz, 2H, Ar-H), 2.27 (s, 3H, CH₃)

Elementaranalyse:

C ₁₆ H ₁₁ ClS ₃	gefunden	C 59.24	H 4.45	N 0	S 27.50
x 4/17 C ₆ H ₁₄	berechnet	(C58.88)	(H 4.06)	(N 0)	(S 27.08)

5-(4-Chlorphenyl)-4-p-tolyl-3H-1,2-dithiole-3-thione (MSD15b).



C₁₆H₁₁ClS₃ M_r = 334,9
Vorschrift: Methode (xxii)
Reaktanten: MSD14b 10mmol
Ausbeute: 16%
Aussehen: rote längliche Kristalle
Smp: 175 -176°C
IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3060 & 3030 ν (CH aromatisch), 2900 ν (CH aliphatisch), 1160 ν (C=S)
MS: EI: m/z = 333.8 (M⁺)
¹H-NMR: DMSO-d₆, 300 MHz, δ [ppm] = 7.45 (d, 8.5 Hz, 2H, ar-H), 7.32 (d, 8.5 Hz, 2H, Ar-H), 7.12 (d, 8.0 Hz, 2H, Ar-H), 6.97 (d, 8.0 Hz, 2H, Ar-H), 2.27 (s, 3H, CH₃)

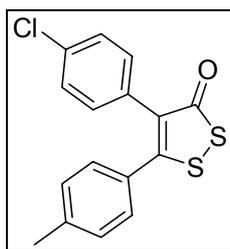
Elementaranalyse:

8. Experimenteller Teil

$C_{16}H_{11}ClS_3$	gefunden	C 57.36	H 3.34	N 0	S 28.81
	berechnet	(C 57.38)	(H 3.31)	(N 0)	(S 28.72)

8.3.15 Dithiol-3-one MSD16

4-(4-Chlorophenyl)-5-p-tolyl-3H-1,2-dithiol-3-one (MSD16a).



$C_{16}H_{11}ClOS_2$ $M_r = 318,8$

Vorschrift: Methode (xxiii);

Reaktanten: MSD15a 3mmol

Ausbeute: 59%;

Aussehen: weißer Feststoff

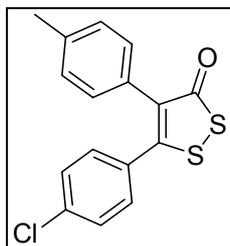
Smp: 110-111°C

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 318.5 (100%), 319.5 (13%), 320.5 (37%), 321.6 (6%), 322.6 (1%)

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 7.38 (d, 8.19 Hz, 2H, Ar-H), 7.2 (s, 4H, Ar-H), 7.13 (d, 8.26 Hz, 2H, Ar-H), 2.29 (s, 3H, CH_3)

Elementaranalyse:

$C_{16}H_{11}ClOS_2$	gefunden	C 60.27	H 3.52	N 0	S 19.77
	berechnet	(C 60.27)	(H 3.48)	(N 0)	(S 20.11)

5-(4-Chlorophenyl)-4-p-tolyl-3H-1,2-dithiol-3-one (MSD16b).

$C_{16}H_{11}ClOS_2$ $M_r = 318,8$

Vorschrift: Methode (xxiii)

Reaktanten: MSD15b 3mmol

Ausbeute: 83%

Aussehen: weißer Feststoff

Smp: 130-131°C

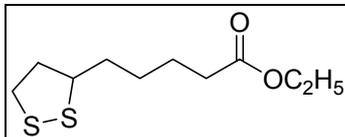
MS: FD: m/z (rel. Int.) = 318.5 (100%), 319.5 (13%), 320.5 (37%), 321.6 (7%), 322.5 (3%)

1H -NMR: DMSO- d_6 , 300 MHz, δ [ppm] = 7.47 (d, 8.53 Hz, 2H, Ar-H), 7.32 (d, 8.52 Hz, 2H, ar-H), 7.12 (d, 8.02 Hz, 2H, Ar-H), 6.99 (d, 7.96 Hz, 2H, Ar-H), 2.26 (s, 2H, CH_3)

Elementaranalyse:

$C_{16}H_{11}ClOS_2$	gefunden	C 59.89	H 3.58	N 0	S 20.90
x 1/80 S_8	berechnet	(C 59.67)	(H 3.44)	(N 0)	(S 20.91)
= 1% m/m					

8.3.16 Liponsäureester MSD17a

Liponsäureethylester (MSD17a).

$C_{10}H_{18}O_2S_2$ $M_r = 234.4$

Vorschrift: Methode (xxiv);

Reaktanten: Liponsäure 5mmol

Ausbeute: 30%;

Aussehen: weißlich klebrige Masse

MS: FD: m/z (rel. Int.) = 234.2 (100%), 235.2 (19%), 236.2 (9%), 237.2 (2%)

1H -NMR: $CDCl_3$, 300 MHz, δ [ppm] = 4.11 (q, 7.13 Hz, 7.13 Hz, 7.13 Hz, 2H, OCH_2), 2.77 (m, 3H, CHS, CH_2S), 2.31 (t, 7.33 Hz, 7.33 Hz, 2H, CH_2COO), 1.97 (t, 9.46 Hz, 9.46 Hz, 2H, SCH_2CH_2), 1.64 (m, 4H, $CH_2CH_2CH_2CH_2COO$), 1.51-1.38 (m, 2H, $CH_2CH_2CH_2COO$), 1.25 (t, 7.13 Hz, 7.13 Hz, 3H, CH_3)

9. Abkürzungsverzeichnis

Ala	Alanin
Arg	Arginin
COX	Cyclooxygenase
DC	Dünnschicht-Chromatographie
DEPMPO	5-Diethoxyphosphoryl-5-methyl-1-pyrrolin-N-oxid
DMF	Dimethylformamid
DMPO	5,5-Dimethylpyrrolin-N-oxid
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ESR	Electron Spin Resonance
FE	Flächeneinheiten
Gln	Glutamin
Gly	Glycin
HETE	Hydroxyeikosatetraensäure
HHT	Heptadekatriensäure
His	Histidin
HPETE	Hydroperoxyeikosatetraensäure
IL	Interleukin
Leu	Leucin
LOX	Lipoxygenase
LPS	Lipopolysaccharide
MPO	Myeloperoxidase
NDGA	Nordihydroguaretsäure
NF- κ B	Nuclear Factor- κ B
NSAR	Nichtsteroidale Antirheumatika
PBS	Isotonischer Phosphatpuffer
PDB	Protein Data Bank
PG	Prostaglandin
Phe	Phenylalanin

9. Abkürzungsverzeichniss

PMA	Phorbol-12-myristat-13-acetat
PMNs	Polymorphkernige Granulozyten (Neutrophile)
RA	Rheumatoide Arthritis
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
RT	Raumtemperatur
SC	Säulenchromatographie
Ser	Serin
Smp.	Schmelzpunkt
SOD	Superoxid-Dismutase
TNF	Tumornekrosefaktor
Trp	Tryptophan
TXS	Thromboxan A ₂ -Synthase
Tyr	Tyrosin
Val	Valin
ZNS	Zentrales Nervensystem

10. Anhang

10.1 Kristallstrukturdaten MSD5a

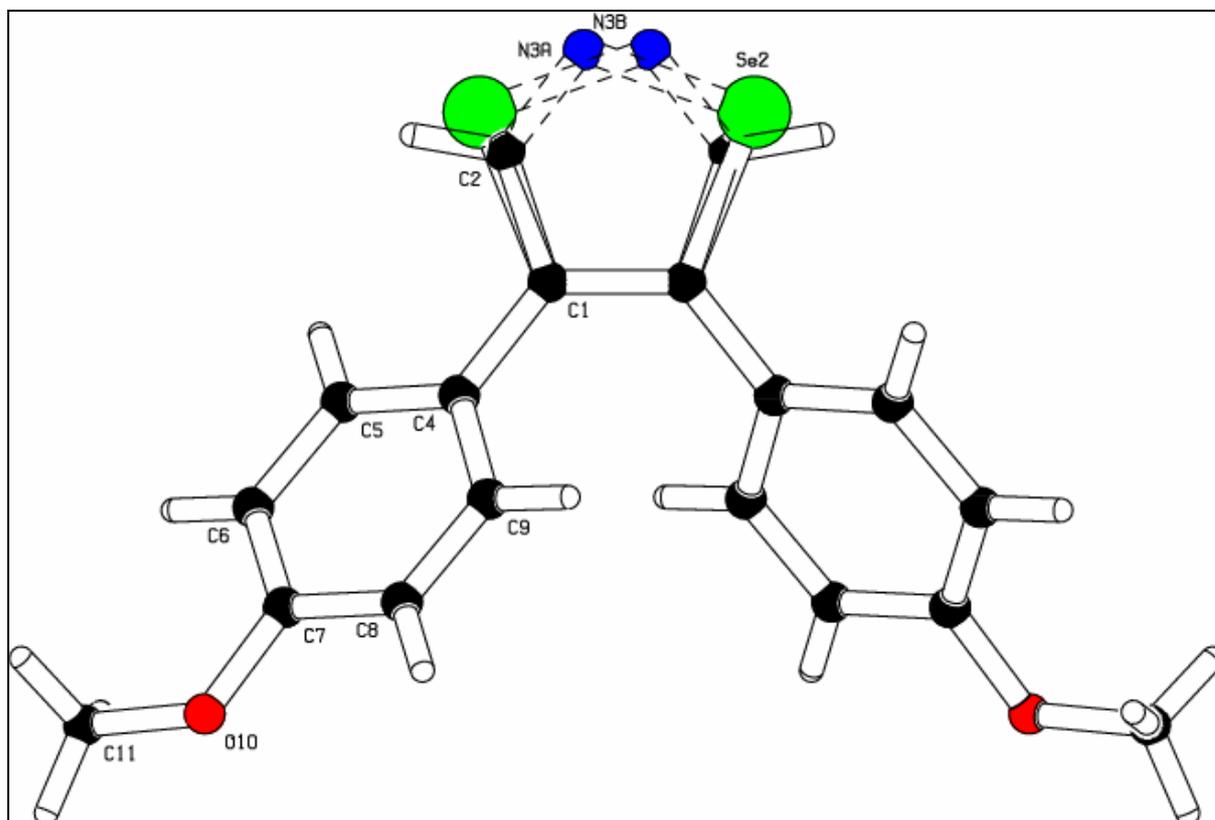


Abb. 10-1: Kristallstruktur von MSD5a

Summenformel	$C_{17}H_{15}N_1O_2Se$
Molgewicht	344.2 g mol^{-1}
Absorption	$\mu = 2.36 \text{ mm}^{-1}$
Kristallgröße	$0.17 \times 0.23 \times 0.25 \text{ mm}^3$ farbloser Block
Raumgruppe	I -42d (tetragonal)
Gitterkonstanten	$a = 13.3634(4) \text{ \AA}$
(berechnet aus	
6064 Reflexen mit	$c = 17.8668(7) \text{ \AA}$
$3^\circ < \Theta < 22.2^\circ$)	$V = 3190.7(3) \text{ \AA}^3$ $z = 8$ $F(000) = 1392$
Temperatur	-80°C
Dichte	$d_{\text{rön}} = 1.433 \text{ g cm}^{-3}$

Datensammlung

Diffraktometer	SMART CCD
Strahlung	Mo-K _α Graphitmonochromator
Scan – Typ	CCD scans
Scan – Breite	0.5°
Meßbereich	2° ≤ θ < 26° -17 ≤ h ≤ 17 -17 ≤ k ≤ 17 -23 ≤ l ≤ 23
Reflexzahl:	
gemessen	31482
unabhängige	1907 (R _σ = 0.0580)
beobachtete	1604 (F /σ (F) > 4.0)

Datenkorrektur, Strukturlösung und -verfeinerung

Korrekturen	Lorentz- und Polarisationskorrektur.
Lösung	Programm: SIR-97(Direkte Methoden)
Verfeinerung	Programm: SHELXL-97 (Vollmatrixverfahren). 106
verfeinerte Parameter, gewichtete Verfeinerung:	
	$w=1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0710*P)^2+3.08*P]$
wobei $P=(\text{Max}(F_o^2,0)+2*F_o^2)/3$.	Wasserstoffatome geometrisch eingefügt und reitend
verfeinert, Nichtwasserstoffatome	anisotrop verfeinert.
Diskrepanzfaktor	wR2 = 0.1604 (R1=0.0506 für beobachtete
Reflexe, 0.0624 für alle Reflexe)	
Fitgüte	S = 1.242
maximale Änderung	
der Parameter	0.001 * e.s.d
maximale Peakhöhe in	
diff. Fouriersynthese	0.86, -0.27 eÅ ⁻³
Bemerkung	Se2, C2 und N3
sind jeweils zu 50% fehlgeordnet	
Endkoordinaten und äquivalente Auslenkungsparameter (Å ²)	

$$U_{\text{äq}} = (1/3) * \sum_{ij} a_i^* a_j^* a_i a_j$$

10. Anhang

Atom	X	Y	Z	$U_{\text{äq}}$
C1	0.0411(3)	0.0316(3)	0.2190(2)	0.042(1)
SE2	-0.08547(9)	-0.05864(8)	0.31561(5)	0.0536(3)
C2	0.065(1)	0.056(1)	0.2937(6)	0.0536(3)
N3A	0.0158(7)	0.0210(6)	0.3511(4)	0.053(2)
N3B	-0.0158(7)	-0.0210(6)	0.3511(4)	0.053(2)
C4	0.0917(3)	0.0764(3)	0.1546(2)	0.039(1)
C5	0.1958(3)	0.0834(3)	0.1507(2)	0.043(1)
C6	0.2431(3)	0.1315(3)	0.0909(2)	0.043(1)
C7	0.1858(3)	0.1728(3)	0.0339(2)	0.039(1)
C8	0.0810(3)	0.1666(3)	0.0370(2)	0.039(1)
C9	0.0350(3)	0.1193(3)	0.0955(2)	0.040(1)
O10	0.2237(2)	0.2226(2)	-0.0266(2)	0.052(1)
C11	0.3289(4)	0.2314(5)	-0.0330(3)	0.064(2)

anisotrope Auslenkungsparameter

Atom	U_{11}	U_{22}	U_{33}	U_{12}	U_{13}	U_{23}
C1	0.052(2)	0.035(2)	0.039(2)	-0.002(2)	-0.004(2)	-0.002(2)
SE2	0.0738(7)	0.0514(5)	0.0356(5)	-0.0027(4)	0.0093(4)	0.0062(4)
C2	0.0738(7)	0.0514(5)	0.0356(5)	-0.0027(4)	0.0093(4)	0.0062(4)
N3A	0.057(3)	0.056(4)	0.046(3)	-0.005(3)	0.000(4)	0.000(4)
N3B	0.057(3)	0.056(4)	0.046(3)	-0.005(3)	0.000(4)	0.000(4)
C4	0.047(2)	0.033(2)	0.037(2)	-0.005(2)	-0.004(2)	-0.001(1)
C5	0.045(2)	0.035(2)	0.049(2)	0.001(2)	-0.011(2)	-0.003(2)
C6	0.037(2)	0.039(2)	0.052(2)	-0.001(2)	-0.004(2)	-0.002(2)
C7	0.045(2)	0.031(2)	0.041(2)	-0.001(1)	0.002(2)	-0.004(1)
C8	0.044(2)	0.035(2)	0.038(2)	0.004(2)	-0.001(2)	0.002(1)
C9	0.040(2)	0.038(2)	0.042(2)	-0.001(1)	-0.007(2)	-0.002(2)
O10	0.050(2)	0.059(2)	0.047(2)	0.001(1)	0.010(1)	0.012(1)
C11	0.051(3)	0.074(3)	0.067(3)	-0.001(2)	0.017(2)	0.004(3)

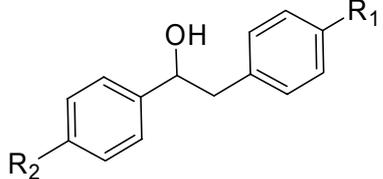
Endkoordinaten und isotrope Auslenkungsparameter der Wasserstoffatome(\AA^2)

Atom	X	Y	Z	U_{iso}
H2	0.11914	0.09941	0.30263	0.0643
H5	0.23522	0.05488	0.18942	0.052
H6	0.31404	0.13586	0.08921	0.051
H8	0.04179	0.19537	-0.00177	0.047
H9	-0.03597	0.11503	0.09669	0.048
H11A	0.35386	0.27799	0.00501	0.096
H11B	0.34599	0.25661	-0.08292	0.096
H11C	0.35985	0.16562	-0.02562	0.096

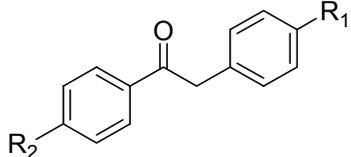
10.2 Struktursammlung

In dieser Arbeit wurden folgende Strukturen dargestellt:

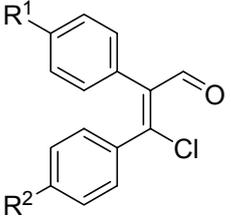
10.2.1 Diarylethanoole MSD1

Strukturformel	R ¹	R ²	Verbindung
	CH ₃	OCH ₃	MSD1b
	CH ₃	Cl	MSD1c
	Cl	CH ₃	MSD1d
	Cl	Cl	MSD1e
	Cl	OCH ₃	MSD1g
	F	SO ₂ CH ₃	MSD1h
	F	SCH ₃	MSD1i

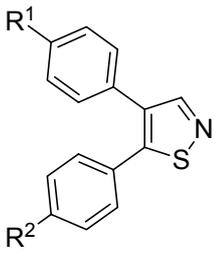
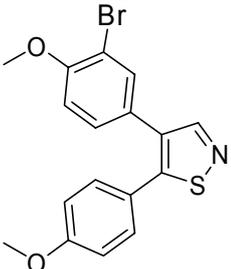
10.2.2 Desoxybenzoinderivate MSD2

Struktur	R ¹	R ²	Verbindung
	CH ₃	OCH ₃	MSD2b
	CH ₃	Cl	MSD2c
	Cl	CH ₃	MSD2d
	Cl	Cl	MSD2e
	OCH ₃	Cl	MSD2f
	Cl	OCH ₃	MSD2g
	F	SO ₂ CH ₃	MSD2h

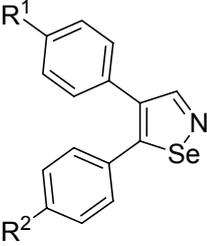
10.2.3 α -Chloroformylstilbenderivate MSD3

Struktur	R ¹	R ²	Verbindung
	OCH ₃	OCH ₃	MSD3a
	CH ₃	OCH ₃	MSD3b
	CH ₃	Cl	MSD3c
	Cl	CH ₃	MSD3d
	Cl	Cl	MSD3e
	OCH ₃	Cl	MSD3f
	Cl	OCH ₃	MSD3g
	F	SO ₂ CH ₃	MSD3h
	H	H	MSD3i

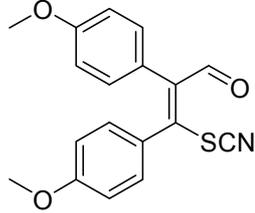
10.2.4 Isothiazole MSD4

Struktur	R ¹	R ²	Verbindung
	OCH ₃	OCH ₃	MSD4a
	CH ₃	OCH ₃	MSD4b
	CH ₃	Cl	MSD4c
	Cl	CH ₃	MSD4d
	Cl	Cl	MSD4e
	OCH ₃	Cl	MSD4f
	Cl	OCH ₃	MSD4g
	F	SO ₂ CH ₃	MSD4h
	H	H	MSD4i
	OH	OH	MSD4j
	OH	OCH ₃	MSD4k
	-	-	MSD4l

10.2.5 Isoselenazole MSD5

Struktur	R ¹	R ²	Verbindung
	OCH ₃	OCH ₃	MSD5a
	CH ₃	OCH ₃	MSD5b
	CH ₃	Cl	MSD5c
	Cl	CH ₃	MSD5d
	Cl	Cl	MSD5e
	OCH ₃	Cl	MSD5f
	Cl	OCH ₃	MSD5g
	F	SO ₂ CH ₃	MSD5h

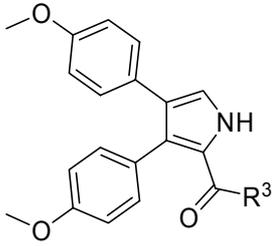
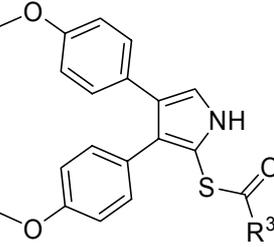
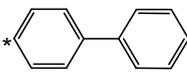
10.2.6 α -Thiocyanatoformylstilbenderivat MSD6a

Struktur	Verbindung
	MSD6a

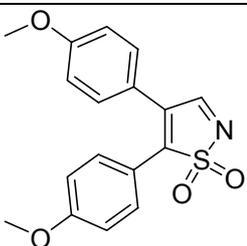
10.2.7 Isothiazoliumionen MSD7

Struktur	Rx	Ry	Rz	Verbindung	^a COX-2 (Vollblut) μM
	H	H	H	MSD7a	16%**
	H	OCH ₃	H	MSD7b	7%*
	H	Cl	H	MSD7c	28%*
	OCH ₃	H	C ₆ H ₅	MSD7d	11%**
	OCH ₃	H	<i>tert</i> -butyl	MSD7e	13%**
	H	H	OC ₆ H ₅	MSD7f	14%**
Struktur	R ³			Verbindung	
	OC ₂ H ₅			MSD7g	
	C ₆ H ₅			MSD7h	
				MSD7i	
				MSD7j	
				MSD7k	

10.2.8 Pyrrolderivate MSD8 und MSD9

Struktur	R ³	Verbindung
	OC ₂ H ₅	MSD8a
	OH	MSD8b
	C ₆ H ₅	MSD9a
		MSD9b

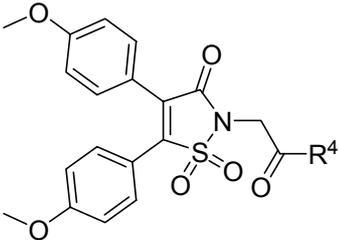
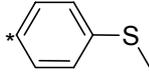
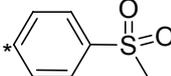
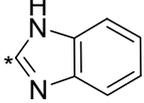
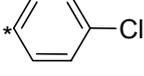
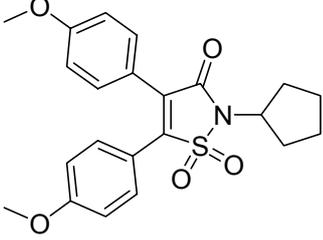
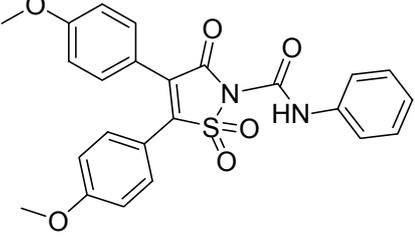
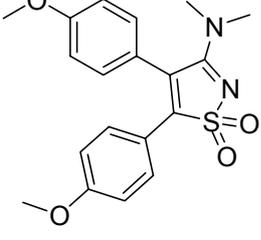
10.2.9 Isothiazol-1,1-dioxide MSD10a

Struktur	Verbindung
	MSD10a

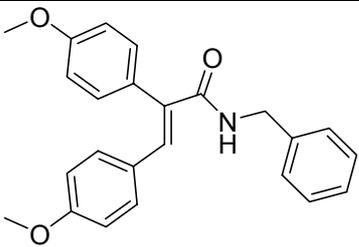
10.2.10 Isothiazol-(2H)-3-on-1,1-Dioxide MSD11

Struktur	R^4	Verbindung
	H	MSD11a
	C_6H_5	MSD11b
		MSD11c
		MSD11d
		MSD11e

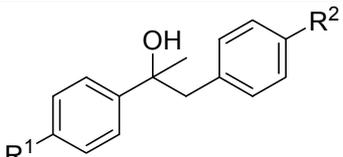
Fortsetzung

Struktur	R ⁴	Verbindung
		MSD11f
		MSD11g
		MSD11h
	OC ₂ H ₅	MSD11i
	OH	MSD11j
	C ₆ H ₅	MSD11k
		MSD11l
	-	MSD11m
	-	MSD11n
	-	MSD11o

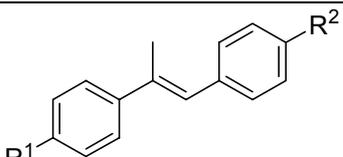
10.2.11 Acrylsäureamid MSD12a

Struktur	Verbindung
	MSD12a

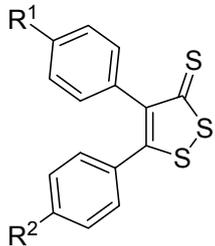
10.2.12 Diarylpropan-2-ole MSD13

Struktur	R ¹	R ²	Verbindung
	Cl	CH ₃	MSD13a
	CH ₃	Cl	MSD13b

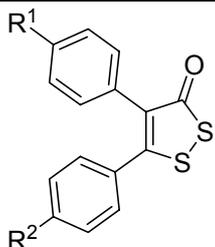
10.2.13 Methylstilbenderivate MSD14

Struktur	R ¹	R ²	Verbindung
	Cl	CH ₃	MSD14a
	CH ₃	Cl	MSD14b

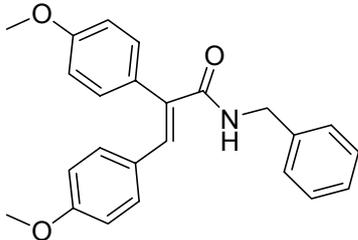
10.2.14 Dithiol-3-thione MSD15

Struktur	R ¹	R ²	Verbindung
	Cl	CH ₃	MSD15a
	CH ₃	Cl	MSD15b

10.2.15 Dithiol-3-one MSD16

Struktur	R ¹	R ²	Verbindung
	Cl	CH ₃	MSD16a
	CH ₃	Cl	MSD16b

10.2.16 Liponsäureethylester MSD17a

Struktur	Verbindung
	MSD17a

11. Lebenslauf

Der Lebenslauf wurde aus Datenschutzgründen entfernt

12. Literaturverzeichnis

- [1] Laufer S., Gay S., und Brune K., Rheumatische Erkrankungen und Entzündungen (2002) .
- [2] M. Lehr, *Expert. Opin. Ther. Patents* 11 (2007) 1123-1136.
- [3] D.A. Six und E.A. Dennis, *Biochim. Biophys. Acta* 1488 (31-10-2000) 1-19.
- [4] M.V. Winstead, J. Balsinde, und E.A. Dennis, *Biochim. Biophys. Acta* 1488 (31-10-2000) 28-39.
- [5] R.J. Mayer und L.A. Marshall, *FASEB J.* 7 (1-2-1993) 339-348.
- [6] L.L. Lin, A.Y. Lin, und J.L. Knopf, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 89 (1-7-1992) 6147-6151.
- [7] N. Uozumi, K. Kume, T. Nagase, N. Nakatani, S. Ishii, F. Tashiro, Y. Komagata, K. Maki, K. Ikuta, Y. Ouchi, J. Miyazaki, und T. Shimizu, *Nature* 390 (11-12-1997) 618-622.
- [8] J.V. Bonventre, Z. Huang, M.R. Taheri, E. O'Leary, E. Li, M.A. Moskowitz, und A. Saperstein, *Nature* 390 (11-12-1997) 622-625.
- [9] Mutschler E., Geisslinger G., Kroemer H.K., und Schäfer-Korting M., *Mutschler Arzneimittelwirkungen* 8. Auflage (2001) .
- [10] Vollmar A. und Dingermann T., *Immunologie* 1, Auflage (2005) .
- [11] N.V. Chandrasekharan, H. Dai, K.L. Roos, N.K. Evanson, J. Tomsik, T.S. Elton, und D.L. Simmons, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 99 (15-10-2002) 13926-13931.
- [12] C.J. Hawkey, *Lancet* 353 (23-1-1999) 307-314.
- [13] W.L. Smith, R.M. Garavito, und D.L. Dewitt, *J. Biol. Chem.* 271 (27-12-1996) 33157-33160.
- [14] J.R. Vane, Y.S. Bakhle, und R.M. Botting, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 38 (1998) 97-120.
- [15] R.G. Kurumbail, A.M. Stevens, J.K. Gierse, J.J. McDonald, R.A. Stegeman, J.Y. Pak, D. Gildehaus, J.M. Miyashiro, T.D. Penning, K. Seibert, P.C. Isakson, und W.C. Stallings, *Nature* 384 (19-12-1996) 644-648.
- [16] D. Picot, P.J. Loll, und R.M. Garavito, *Nature* 367 (20-1-1994) 243-249.
- [17] A. Bertolini, A. Ottani, und M. Sandrini, *Pharmacol. Res.* 44 (2001) 437-450.
- [18] C.A. Lanzo, J.M. Beechem, J. Talley, und L.J. Marnett, *Biochemistry* 37 (6-1-1998) 217-226.

- [19] L.J. Marnett und A.S. Kalgutkar, *Trends Pharmacol. Sci.* 20 (1999) 465-469.
- [20] E. Wong, C. Bayly, H.L. Waterman, D. Riendeau, und J.A. Mancini, *J. Biol. Chem.* 272 (4-4-1997) 9280-9286.
- [21] L.J. Crofford, *J. Rheumatol. Suppl* 49 (1997) 15-19.
- [22] P.E. Lipsky, *Am. J. Orthop.* 28 (1999) 8-12.
- [23] P. Patrignani, M.R. Panara, A. Greco, O. Fusco, C. Natoli, S. Iacobelli, F. Cipollone, A. Ganci, C. Creminon, J. Maclouf, und ., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 271 (1994) 1705-1712.
- [24] Y. Sugimoto, S. Narumiya, und A. Ichikawa, *Prog. Lipid Res.* 39 (2000) 289-314.
- [25] R. Langenbach, S.G. Morham, H.F. Tiano, C.D. Loftin, B.I. Ghanayem, P.C. Chulada, J.F. Mahler, C.A. Lee, E.H. Goulding, K.D. Kluckman, H.S. Kim, und O. Smithies, *Cell* 83 (3-11-1995) 483-492.
- [26] G. Gross, T. Imamura, S.K. Vogt, D.F. Wozniak, D.M. Nelson, Y. Sadovsky, und L.J. Muglia, *Am. J. Physiol Regul. Integr. Comp Physiol* 278 (2000) R1415-R1423.
- [27] J.E. Dinchuk, B.D. Car, R.J. Focht, J.J. Johnston, B.D. Jaffee, M.B. Covington, N.R. Contel, V.M. Eng, R.J. Collins, und P.M. Czerniak, *Nature* 378 (23-11-1995) 406-409.
- [28] S.G. Morham, R. Langenbach, C.D. Loftin, H.F. Tiano, N. Vouloumanos, J.C. Jennette, J.F. Mahler, K.D. Kluckman, A. Ledford, C.A. Lee, und O. Smithies, *Cell* 83 (3-11-1995) 473-482.
- [29] C.D. Loftin, D.B. Trivedi, H.F. Tiano, J.A. Clark, C.A. Lee, J.A. Epstein, S.G. Morham, M.D. Breyer, M. Nguyen, B.M. Hawkins, J.L. Goulet, O. Smithies, B.H. Koller, und R. Langenbach, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 98 (30-1-2001) 1059-1064.
- [30] W.L. Smith und R. Langenbach, *J. Clin. Invest* 107 (2001) 1491-1495.
- [31] J.L. Wallace, A. Bak, W. McKnight, S. Asfaha, K.A. Sharkey, und W.K. MacNaughton, *Gastroenterology* 115 (1998) 101-109.
- [32] D.W. Gilroy, P.R. Colville-Nash, D. Willis, J. Chivers, M.J. Paul-Clark, und D.A. Willoughby, *Nat. Med.* 5 (1999) 698-701.
- [33] R. Langenbach, C.D. Loftin, C. Lee, und H. Tiano, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 889 (1999) 52-61.
- [34] J.L. Wallace, W. McKnight, B.K. Reuter, und N. Vergnolle, *Gastroenterology* 119 (2000) 706-714.
- [35] A.G. Spencer, J.W. Woods, T. Arakawa, I.I. Singer, und W.L. Smith, *J. Biol. Chem.* 273 (17-4-1998) 9886-9893.

- [36] S.M. Prescott und R.L. White, *Cell* 87 (29-11-1996) 783-786.
- [37] E.M. Antman, D. DeMets, und J. Loscalzo, *Circulation* 112 (2005) 759-770.
- [38] T.J. Schnitzer, J. Beier, P. Geusens, P. Hasler, S.K. Patel, I. Senfleber, X. Gitton, A. Moore, V.S. Sloan, und G. Poor, *Arthritis Rheum.* 51 (15-8-2004) 549-557.
- [39] T.J. Schnitzer, X. Gitton, S. Jayawardene, und V.S. Sloan, *Curr. Med. Res. Opin.* 21 (2005) 151-161.
- [40] D.J. Graham, *Journal of the American Medical Association* 296 (2006) 1653-1656.
- [41] *Ärztemagazin* (2007) .
- [42] M.M. Bertagnolli, C.J. Eagle, A.G. Zauber, M. Redston, S.D. Solomon, K. Kim, J. Tang, R.B. Rosenstein, J. Wittes, D. Corle, T.M. Hess, G.M. Woloj, F. Boisserie, W.F. Anderson, J.L. Viner, D. Bagheri, J. Burn, D.C. Chung, T. Dewar, T.R. Foley, N. Hoffman, F. Macrae, R.E. Pruitt, J.R. Saltzman, B. Salzberg, T. Sylwestrowicz, G.B. Gordon, und E.T. Hawk, *N. Engl. J. Med.* 355 (31-8-2006) 873-884.
- [43] R.S. Bresalier, R.S. Sandler, H. Quan, J.A. Bolognese, B. Oxenius, K. Horgan, C. Lines, R. Riddell, D. Morton, A. Lanas, M.A. Konstam, und J.A. Baron, *N. Engl. J. Med.* 352 (17-3-2005) 1092-1102.
- [44] N.A. Nussmeier, A.A. Whelton, M.T. Brown, R.M. Langford, A. Hoefft, J.L. Parlow, S.W. Boyce, und K.M. Verburg, *N. Engl. J. Med.* 352 (17-3-2005) 1081-1091.
- [45] E. Ott, N.A. Nussmeier, P.C. Duke, R.O. Feneck, R.P. Alston, M.C. Snabes, R.C. Hubbard, P.H. Hsu, L.J. Saidman, und D.T. Mangano, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 125 (2003) 1481-1492.
- [46] T. Cyrus, J.L. Witztum, D.J. Rader, R. Tangirala, S. Fazio, M.F. Linton, und C.D. Funk, *J. Clin. Invest* 103 (1999) 1597-1604.
- [47] J. George, A. Afek, A. Shaish, H. Levkovitz, N. Bloom, T. Cyrus, L. Zhao, C.D. Funk, E. Sigal, und D. Harats, *Circulation* 104 (2-10-2001) 1646-1650.
- [48] L. Zhao, C.A. Cuff, E. Moss, U. Wille, T. Cyrus, E.A. Klein, D. Pratico, D.J. Rader, C.A. Hunter, E. Pure, und C.D. Funk, *J. Biol. Chem.* 277 (20-9-2002) 35350-35356.
- [49] L. Zhao und C.D. Funk, *Trends Cardiovasc. Med.* 14 (2004) 191-195.
- [50] D. Harats, A. Shaish, J. George, M. Mulkins, H. Kurihara, H. Levkovitz, und E. Sigal, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 20 (2000) 2100-2105.
- [51] A. Sala, T. Testa, und G. Folco, *FEBS Lett.* 388 (17-6-1996) 94-98.

- [52] S.J. Feinmark und P.J. Cannon, *J. Biol. Chem.* 261 (15-12-1986) 16466-16472.
- [53] C. Edenius, K. Heidvall, und J.A. Lindgren, *Eur. J. Biochem.* 178 (1-12-1988) 81-86.
- [54] H.R. Brady, A. Papayianni, und C.N. Serhan, *Kidney Int. Suppl* 45 (1994) S90-S97.
- [55] C. Charlier, J.P. Hénichart, F. Durant, und J. Wouters, *Journal of Medicinal Chemistry* 49 (2006) 186-195.
- [56] P.N. Rao, Q.H. Chen, und E.E. Knaus, *J. Med. Chem.* 49 (9-3-2006) 1668-1683.
- [57] A. Heller, T. Koch, J. Schmeck, und A.K. van, *Drugs* 55 (1998) 487-496.
- [58] R.M. McMillan und E.R. Walker, *Trends Pharmacol. Sci.* 13 (1992) 323-330.
- [59] S. Laufer, *Inflammopharmacology* 9 (2001) 101-112.
- [60] S. Barbey, L. Goossens, T. Taverne, J. Cornet, V. Choessel, C. Rouaud, G. Gimeno, S. Yannic-Arnoult, C. Michaux, C. Charlier, R. Houssin, und J.P. Henichart, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 12 (11-3-2002) 779-782.
- [61] H. Ulbrich, B. Fiebich, und G. Dannhardt, *Eur. J. Med. Chem.* 37 (2002) 953-959.
- [62] C. Charlier und C. Michaux, *Eur. J. Med. Chem.* 38 (2003) 645-659.
- [63] S. Laufer, S. Tries, J. Augustin, und G. Dannhardt, *Arzneim. Forsch. /Drug. Res.* 44 (1994) 629-636.
- [64] S.A. Laufer, J. Augustin, G. Dannhardt, und W. Kiefer, *J. Med. Chem.* 37 (1994) 1894-1897.
- [65] S. Tries und S. Laufer, *Inflammopharmacology* 9 (2001) 113-124.
- [66] J.Y. Reginster, *Eular Congress, Satellite Symposium Prag* (15-6-2001) .
- [67] I. Fridovich, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 893 (1999) 13-18.
- [68] D.J. Betteridge, *Metabolism* 49 (2000) 3-8.
- [69] B. Halliwell, *Free Radic. Res.* 31 (1999) 261-272.
- [70] B. Halliwell, *Annu. Rev. Nutr.* 16 (1996) 33-50.
- [71] J. Nordberg und E.S. Arner, *Free Radic. Biol. Med.* 31 (1-12-2001) 1287-1312.
- [72] P. Kuppusamy und J.L. Zweier, *J. Biol. Chem.* 264 (15-6-1989) 9880-9884.
- [73] P.J. Barnes, *Free Radic. Biol. Med.* 9 (1990) 235-243.

- [74] M.B. Hampton, A.J. Kettle, und C.C. Winterbourn, *Blood* 92 (1-11-1998) 3007-3017.
- [75] V.J. Thannickal und B.L. Fanburg, *Am. J. Physiol Lung Cell Mol. Physiol* 279 (2000) L1005-L1028.
- [76] H.A. Kontos, E.P. Wei, E.F. Ellis, L.W. Jenkins, J.T. Povlishock, G.T. Rowe, und M.L. Hess, *Circ. Res.* 57 (1985) 142-151.
- [77] M. McIntyre, D.F. Bohr, und A.F. Dominiczak, *Hypertension* 34 (1999) 539-545.
- [78] S.G. Rhee, *Exp. Mol. Med.* 31 (30-6-1999) 53-59.
- [79] M. Sundaresan, Z.X. Yu, V.J. Ferrans, K. Irani, und T. Finkel, *Science* 270 (13-10-1995) 296-299.
- [80] C.C. Winterbourn, *Biochim. Biophys. Acta* 840 (18-6-1985) 204-210.
- [81] B. Halliwell und J.M. Gutteridge, *Mol. Aspects Med.* 8 (1985) 89-193.
- [82] K. Bauerova und S. Bezek, *General Physiology and Biophysics* 18 (1999) 15-20.
- [83] D. Costa, A. Gomes, S. Reis, J.L. Lima, und E. Fernandes, *Life Sci.* 76 (29-4-2005) 2841-2848.
- [84] B. Halliwell, *FASEB J.* 1 (1987) 358-364.
- [85] G.H. de und T. Noll, *Chem. Phys. Lipids* 44 (1987) 209-226.
- [86] G.R. Schinella, H.A. Tournier, J.M. Prieto, B.P. Mordujovich de, und J.L. Rios, *Life Sci.* 70 (18-1-2002) 1023-1033.
- [87] M.E. Hemler, H.W. Cook, und W.E. Lands, *Arch. Biochem. Biophys.* 193 (1-4-1979) 340-345.
- [88] L. Taylor, M.J. Menconi, und P. Polgar, *J. Biol. Chem.* 258 (10-6-1983) 6855-6857.
- [89] J.M. Pullar, C.C. Winterbourn, und M.C. Vissers, *Am. J. Physiol* 277 (1999) H1505-H1512.
- [90] T.P. Dalton, H.G. Shertzer, und A. Puga, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 39 (1999) 67-101.
- [91] B.M. Babior, *Braz. J. Med. Biol. Res.* 30 (1997) 141-155.
- [92] A.P. Arrigo, *Free Radic. Biol. Med.* 27 (1999) 936-944.
- [93] Y. Morel und R. Barouki, *Biochem. J.* 342 Pt 3 (15-9-1999) 481-496.
- [94] H. Kamata und H. Hirata, *Cell Signal.* 11 (1999) 1-14.

- [95] H.E. Marshall, K. Merchant, und J.S. Stamler, *FASEB J.* 14 (2000) 1889-1900.
- [96] Becker H.G.O., Berger W., Domschke G., Fanghänel E., Faust J., Fischer M., Gentz F., Gewalt K., Gluch R., Mayer R., Müller K., Pavel D., Schmidt H., Schollberg K., Schwetlick K., Seiler E., und Zeppenfeld G., *Organikum* (1996) 543-545.
- [97] A.R. Hajipour, S.E. Mallakpour, und G. Imanzadeh, *Chemistry Letters* (1999) 99-100.
- [98] A.R. Hajipour, S.E. Mallakpour, und H. Backnejad, *Synthetic Communications* 30 (2000) 3855-3864.
- [99] R.S. Varma und R.K. Saini, *Tetrahedron Letters* 39 (1998) 1481-1482.
- [100] Becker H.G.O., Berger W., Domschke G., Fanghänel E., Faust J., Fischer M., Gentz F., Gewalt K., Gluch R., Mayer R., Müller K., Pavel D., Schmidt H., Schollberg K., Schwetlick K., Seiler E., und Zeppenfeld G., *Organikum* (1996) 395-396.
- [101] Becker H.G.O., Berger W., Domschke G., Fanghänel E., Faust J., Fischer M., Gentz F., Gewalt K., Gluch R., Mayer R., Müller K., Pavel D., Schmidt H., Schollberg K., Schwetlick K., Seiler E., und Zeppenfeld G., *Organikum* (1996) 359-362.
- [102] Z. Arnold und J. Zemlicka, *Collect. czech. chem. Commun.* 24 (1959) 2385-
- [103] M. Mühlstädt, R. Brämer, und B. Schulze, *J. Prakt. Chem.* 318 (1976) 507-518.
- [104] McOmie J.F.W., Watts M.L., und West D.E., *Tetrahedron* 24 (1968) 2289-2292
- [105] Becker H.G.O., Berger W., Domschke G., Fanghänel E., Faust J., Fischer M., Gentz F., Gewalt K., Gluch R., Mayer R., Müller K., Pavel D., Schmidt H., Schollberg K., Schwetlick K., Seiler E., und Zeppenfeld G., *Organikum* (1996) 351-351.
- [106] F. Lucchesini und V. Bertini, *Tetrahedron* 40 (1984) 931-933.
- [107] B. Schulze, K. Rosenbaum, J. Hilbig, und L. Weber, *Journal für Praktische Chemie* 334 (1992) 25-33.
- [108] R.R. Schmidt, *Angewandte Chemie (International ed. in English)* 14 (1975) 581-591.
- [109] A. Rolfs und J. Liebscher, *Angewandte Chemie (International Edition in English)* 32 (1993) 712-714.
- [110] M.E. Hassan, *Bulletin des Societes Chimiques Belges* 94 (1985) 149-154.
- [111] Y. Furusho, A. Tsunoda, und T. Aida, *Journal of the Chemical Society - Perkin Transactions* 1 (1996) 183-190.

- [112] B. Schulze, G. Kirsten, S. Kirrbach, A. Rahm, und H. Heimgartner, *Helvetica Chimica Acta* 74 (1991) 1059-1070.
- [113] C.A. Kingsburry, D. Draney, A. Sopchik, W. Rissler, und D. Durham, *J. Org. Chem* 41 (1976) 3863-3868.
- [114] A.Mattern, Dissertation (2003)
- [115] J. Schmitt und M. Suquet, *Bull. Soc. Chim. Fr.* (1955) 84-87.
- [116] A.Mattern, Dissertation (2003) 197-
- [117] A. Lüttringhaus, H.B. König, und B. Böttcher, *Justus Liebigs Ann. Chem.* (1948) 201-214.
- [118] A.Mattern, Dissertation (2003) 238-
- [119] G. Dannhardt, L. Flemmer, R.W. Hartmann, A. Kleber, und E. Schulze, *Archiv der Pharmazie* 331 (1998) 359-364.
- [120] G. Dannhardt und M. Lehr, *J. Pharm. Pharmacol.* 44 (1992) 419-424.
- [121] Prous Science Database, Barcelona, Spain (2001) .
- [122] C. Frejaville, H. Karoui, B. Tuccio, M.F. Le, M. Culcasi, S. Pietri, R. Lauricella, und P. Tordo, *J. Med. Chem.* 38 (20-1-1995) 258-265.
- [123] A.Mattern, Dissertation (2003) 103-112
- [124] H. Thiele, J. Erstling, P. Such, und P. Höfer, *Handbuch WIN-EPR Version 921291.* 8 (1992) .
- [125] A. Mouithys-Mickalad, G. by-Dupont, J.M. Dogne, L. de, X, S. Kohnen, R. Navet, F. Sluse, M. Hoebeke, B. Pirotte, und M. Lamy, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 325 (24-12-2004) 1122-1130.
- [126] H. Iwahashi, *Biochem. J.* 346 Pt 2 (1-3-2000) 265-273.
- [127] M.I. Rodriguez-Franco, M.I. Fernandez-Bachiller, C. Perez, B. Hernandez-Ledesma, und B. Bartolome, *J. Med. Chem.* 49 (26-1-2006) 459-462.
- [128] L. Novellino, A. Napolitano, und G. Protà, *Chem. Res. Toxicol.* 12 (1999) 985-992.
- [129] H.C. Sutton, *Journal of Free Radicals in Biology & Medicine* 1 (1985) 195-202.
- [130] V. Valavanidids, A. Salika, und A. Theodoropoulou, *Atmospheric Environment* 34 (2000) 2379-2386.
- [131] B. Halliwell und M.C. Gutteridge, *FEBS Letters* 128 (2007) 347-352.
- [132] A.Mattern, Dissertation (2003) 134-135
- [133] T. Schewe, *Gen. Pharmacol.* 26 (1995) 1153-1169.

- [134] N. Kamigata, H. Iizuka, A. Izuoka, und M. Kobayashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 59 (1986) 2179-2183.
- [135] A. Müller, E. Cadenas, P. Graf, und H. Sies, *Biochem. Pharmacol.* 33 (1984) 3235-3239.
- [136] V. Narayanaswami und H. Sies, *Biochem. Pharmacol.* 40 (1990) 1623-1629.
- [137] M. Maiorino, A. Roveri, und F. Ursini, *Arch. Biochem. Biophys* 295 (1992) 404-409.
- [138] C. Schöneich, V. Narayanaswami, K.-D. Asmus, und H. Sies, *Arch. Biochem. Biophys* 282 (1990) 18-25.
- [139] L.M. Jost, J.M. Kirkwood, und T.L. Whiteside, *J. Immunol. Methods* 147 (4-3-1992) 153-165.
- [140] ICM Pro, Molsoft Version 3.3-02a (2005) .
- [141] Spartan, Wavefunction inc. Version 1.0.3 (2005) .
- [142] ChemDraw Ultra, cambridgesoft Version 8.0 (2003) .
- [143] L. Franke, E. Byvatov, O. Werz, D. Steinhilber, P. Schneider, und G. Schneider, *Journal of Medicinal Chemistry* 48 (2005) 6997-7004.
- [144] C.V. Eadsforth und P. Moser, *Chemosphere* 12 (1983) 1459-.
- [145] C.V. Eadsforth, *Pestic. Sci.* 17 (1986) 311-.
- [146] H. Ellgehausen, C. D'Hondt, und R. Fuerer, *Pestic. Sci.* 12 (1981) 219-.
- [147] B. McDuffie, *Chemosphere* 10 (1981) 73-.
- [148] W. Klein, W. Koerdel, M. Weisz, und H.J. Poremski, *Chemosphere* 17 (1988) 361-.
- [149] C. Hansch, J.P. Bjorkroth, und A. Leo, *J. Pharm. Sci.* 76 (1987) 663-687.
- [150] C.J. Smith, T.A. Perfetti, R. Garg, P. Martin, und C. Hansch, *Food Chem. Toxicol.* 42 (2004) 9-15.
- [151] C. Hansch, B. Bonavida, A.R. Jazirehi, J.J. Cohen, C. Milliron, und A. Kurup, *Bioorg. Med. Chem.* 11 (20-2-2003) 617-620.
- [152] J.L. Hyatt, T. Moak, M.J. Hatfield, L. Tsurkan, C.C. Edwards, M. Wierdl, M.K. Danks, R.M. Wadkins, und P.M. Potter, *J. Med. Chem.* (23-3-2007) .
- [153] E.A. Amin und W.J. Welsh, *J. Chem. Inf. Model.* 46 (2006) 2104-2109.
- [154] D.C. Juvale, V.V. Kulkarni, H.S. Deokar, N.K. Wagh, S.B. Padhye, und V.M. Kulkarni, *Org. Biomol. Chem.* 4 (7-8-2006) 2858-2868.

- [155] J. Lameira, C.N. Alves, V. Moliner, und E. Silla, *Eur. J. Med. Chem.* 41 (2006) 616-623.
- [156] OECD guideline for testing of Chemicals (30-3-1989) 117-.
- [157] C.A. Lipinski, F. Lombardo, B.W. Dominy, und P.J. Feeney, *Advanced Drug Delivery Reviews* 23 (15-1-1997) 3-25.
- [158] J.Y. Gauthier, Y. Leblanc, W.C. Black, C.C. Chan, W.A. Cromlish, R. Gordon, B.P. Kennedy, C.K. Lau, S. ger, Z. Wang, D. Ethier, J. Guay, J. Mancini, D. Riendeau, P. Tagari, P. Vickers, E. Wong, L. Xu, und P. Prasit, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 6 (1996) 87-92.