

**Entwicklung von anti-parasitär wirksamen  
Farnesyltransferaseinhibitoren  
mit Benzophenon-Grundstruktur**

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

dem  
Fachbereich Pharmazie  
der Philipps-Universität Marburg  
vorgelegt

von

**Katja Kettler**  
aus Vechta

Marburg / Lahn 2005

Vom Fachbereich Pharmazie der Philipps-Universität Marburg als Dissertation am  
23.05.2005 angenommen.

Erstgutachter:

Prof. Dr. W. Hanefeld

Zweitgutachter:

Prof. Dr. M. Schlitzer

Tag der mündlichen Prüfung:

24.05.2005

Die vorliegende Arbeit entstand am  
Institut für Pharmazeutische Chemie des Fachbereichs Pharmazie  
der Philipps-Universität Marburg / Lahn  
und dem  
Department Pharmazie – Zentrum für Pharmaforschung  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
auf Anregung und unter Leitung von

**Herrn Prof. Dr. Martin Schlitzer**

Für die mir stets erwiesene großzügige Unterstützung und seinen  
in allen Fällen wertvollen Rat danke ich  
Herrn Prof. Schlitzer sehr herzlich.

Außerdem gilt mein Dank allen Mitarbeitern des Institutes für Pharmazeutische Chemie und des Departments Pharmazie für die gute Zusammenarbeit und die stete Hilfsbereitschaft.

Allen Mitarbeitern des Arbeitskreises danke ich im Besonderen für die angenehme und freundschaftliche Arbeitsatmosphäre.

Frau Kerstin Burk, Frau Doris Dobrin und Frau Helene Unger danke ich für die Unterstützung im Labor, Frau Dr. Regina Ortmann und Herrn Dr. Andreas Mitsch für die zahlreichen Gespräche und Anregungen.

Mein besonders herzlicher Dank gilt Frau Dr. Regina Ortmann, Frau Silke Walzer, Herrn Torben Kohring, Herrn Mirko Altenkämper und Herrn Dr. Andreas Mitsch für das überaus sorgfältige und zuverlässige Korrekturlesen des Manuskriptes sowie allen, die, in welcher Form auch immer, zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Für die Mitarbeit im Rahmen Ihrer Literaturarbeiten danke ich folgenden Studentinnen und Studenten: Frau Daniela Faber, Frau Tanja Groftschick, Frau Maja Bigalke, Herrn Sascha Brass, Herrn Mirko Altenkämper, Herrn André Schmittner und Herrn Carsten Faber. Weiterhin danke ich Herrn Maximilian Peters und Frau Sabine Lindner für Mitarbeit als Hilfskräfte in unserem Arbeitskreis.

Frau Dr. Isabel Sattler und Frau Susanne Egner vom Hans-Knöll-Institut für Naturstoff-Forschung e.V. in Jena danke ich für die Einführung in die Proteinisolierung der Farnesyltransferase. Ebenso gilt mein Dank Herrn Dr. Jochen Wiesner vom Labor Infektiologie, Biochemisches Institut der Justus-Liebig-Universität Gießen (Leiter: Dr. Hassan Jomaa) für die zuverlässige und schnelle Bestimmung der Hemmstoffaktivitäten gegen *Plasmodium falciparum* und die Durchführung der *in vivo*-Testung im Mausmodell. Frau Dr. Mónica I. Esteva, Frau Christina Maidana und Herrn Dr. Esteban José Bontempi vom Instituto Nacional de Parasitología Dr. M. Fátala Chabén, A.N.L.I.S. Dr. Carlos G. Malbrán in Buenos Aires, Argentinien danke ich für die Bestimmung der Inhibitoraktivität gegen *Trypanosoma cruzi* und die Testung auf Aktivität gegen *Leishmania amazonensis* und *Leishmania brasiliensis*. Frau Dr. E. A. Kimura und Herrn Prof. Dr. A. M. Katzin vom Department für Parasitologie der Universität Sao Paulo danke ich für die Durchführung weiterer Untersuchungen zum Wirkmechanismus unserer Farnesyltransferaseinhibitoren.

Weiterhin möchte ich Herrn Dr. Hans-Martin Dahse vom Hans-Knöll-Institut für Naturstoff-Forschung e.V. in Jena für die Durchführung der Zytotoxizitätstests danken.

Frau Katrin Silber, Herrn Dr. Markus Böhm und Herrn Dr. Peter Haebel danke ich für die Durchführung der Docking-Studien und die Erstellung der Homologiemodelle der Farnesyltransferase.

Ein ganz besonderer Dank gilt der Jomaa Pharmaka GmbH und Herrn Prof. Dr. Wolfgang Hanefeld für die großzügige Unterstützung.

---

## Inhaltsverzeichnis

<b>Theoretischer Teil</b> .....	1
<b>1. Einleitung</b> .....	2
1.1. Krebs.....	2
1.1.1. Tumorgenese und auslösende Faktoren.....	2
1.1.2. Therapie.....	3
1.2. Malaria.....	4
1.2.1. Erreger.....	5
1.2.2. Entwicklungszyklus der Malariaparasiten.....	5
1.2.3. Symptome.....	6
1.2.4. Bekämpfung der Malaria.....	7
1.2.4.1. Prophylaxe.....	8
1.2.4.2. Therapie.....	9
1.2.4.3. Resistenz.....	9
1.3. Trypanosomenerkrankungen.....	10
1.3.1. Afrikanische Trypanosomiasis.....	10
1.3.2. Amerikanische Trypanosomiasis.....	11
1.3.2.1. Lebenszyklus von <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	12
1.3.2.2. Symptome und Krankheitsverlauf.....	13
1.3.3.3. Therapie.....	14
1.4. Leishmaniasis.....	15
1.4.1. Lebenszyklus.....	15
1.4.2. Formen der Leishmaniasis.....	15
1.4.3. Epidemiologie.....	16
1.4.4. Therapie.....	17
<b>2. Farnesyltransferase</b> .....	18
2.1. Aufbau der Farnesyltransferase.....	20
2.2. Reaktionsmechanismus der Proteinfarnesylierung.....	23
2.3. Effekte der Farnesyltransferase-Hemmung auf Tumorzellen.....	25
2.3.1. Hemmung des verankerungsunabhängigen Wachstums.....	26
2.3.2. Einfluss auf Zytoskelett und Zellmorphologie.....	27
2.3.3. Einfluss auf den Zellzyklus.....	27

---

2.3.4.	Apoptoseinduktion .....	28
2.4.	Farnesylierte Proteine als Zielstrukturen der Farnesyltransferase- inhibitoren .....	30
2.4.1.	Ras .....	31
2.4.2.	Rho .....	34
2.4.3.	Rheb .....	36
2.4.4.	CENP-E und CENP-F .....	36
2.4.5.	Problematik der Zielstrukturen .....	37
2.5.	Farnesyltransferaseinhibitoren .....	37
2.5.1.	Naturstoffe als Inhibitoren der Farnesyltransferase .....	38
2.5.2.	Farnesylpyrophosphat-Analoga .....	39
2.5.3.	Bisubstratanaloga .....	39
2.5.4.	CAAX-Peptidomimetika .....	39
2.6.	Farnesyltransferaseinhibitoren in der klinischen Testung .....	40
2.7.	Resistenz gegenüber Farnesyltransferaseinhibitoren .....	41
2.8.	Farnesyltransferase in <i>Plasmodium falciparum</i> .....	42
2.9.	Farnesyltransferaseinhibitoren als Malariatherapeutika .....	44
2.10.	Farnesyltransferase in <i>Trypanosoma brucei</i> und <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	48
2.11.	Farnesyltransferaseinhibitoren als Wirkstoffe gegen Trypanosomiasis .....	52
2.12.	Farnesyltransferase in <i>Leishmania mexicana</i> und <i>Leishmania major</i> .....	57
2.13.	Farnesyltransferaseinhibitoren als Therapeutika gegen Leishmaniasis .....	58
<b>3.</b>	<b>Situation zu Beginn dieser Arbeit und Aufgabenstellung .....</b>	<b>59</b>
<b>4.</b>	<b>Untersuchung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen .....</b>	<b>66</b>
4.1.	Untersuchung der 4-Propoxyzimtsäurederivate .....	66
4.1.1.	Synthese .....	66
4.1.2.	Testung der Aktivität .....	68
4.1.2.1.	Testung auf Aktivität gegen Farnesyltransferase .....	69
4.1.2.2.	Wirksamkeit gegenüber <i>Plasmodium falciparum</i> .....	70
4.2.	Untersuchung der 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäurederivate .....	71
4.2.1.	Notwendigkeit bestimmter Strukturelemente .....	71
4.2.2.	Variationen des Acylsubstituenten .....	74
4.2.3.	Synthese .....	74
4.2.4.	Testung auf Aktivität .....	76
4.2.3.1.	Testung auf Aktivität gegen Farnesyltransferase .....	77

---

4.2.3.2.	Wirksamkeit gegenüber <i>Plasmodium falciparum</i> .....	82
4.2.4.	Prüfung auf Zytotoxizität.....	84
4.3.	Untersuchung von Aminosäurederivaten.....	85
4.3.1.	Synthese .....	85
4.3.2.	Bestimmung der Löslichkeit.....	86
4.3.3.	Testung der Aktivität.....	87
4.3.3.1.	Testung auf Aktivität gegen Farnesyltransferase.....	91
4.3.3.2.	Wirksamkeit gegenüber <i>Plasmodium falciparum</i> .....	94
4.3.3.3.	Wirksamkeit gegen <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	97
4.4.	Untersuchung von heterozyklischen Derivaten .....	99
4.4.1.	Synthese .....	100
4.4.2.	Testung der Aktivität.....	101
4.4.2.1.	Testung auf Aktivität gegen Farnesyltransferase.....	103
4.4.2.2.	Wirksamkeit gegenüber <i>Plasmodium falciparum</i> .....	104
4.4.2.3.	Wirksamkeit gegen <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	105
4.4.3.	Bestimmung der Löslichkeit.....	106
4.4.4.	Testung auf <i>in vivo</i> -Wirksamkeit gegen <i>Plasmodium falciparum</i> .....	107
4.5.	Optimierung der Wirkung der heterozyklischen Derivate durch strukturbasiertes Design.....	108
4.5.1.	Substitution am Phenylrest der Phenylelessigsäurestruktur.....	108
4.5.1.1.	Synthese .....	109
4.5.1.2.	Bestimmung der Löslichkeit.....	110
4.5.1.3.	Testung auf Aktivität gegen FTase, <i>Plasmodium falciparum</i> und <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	110
4.5.1.4.	Testung auf <i>in vivo</i> -Aktivität gegen <i>Plasmodium falciparum</i> .....	115
4.5.1.5.	Sicherung des Wirkmechanismus als Farnesyltransferaseinhibitor.....	116
4.5.2.	Variation der Phenylelessigsäurestruktur .....	118
4.5.2.1.	Synthese .....	119
4.5.2.2.	Testung auf Aktivität .....	120
4.5.3.	Variation des <i>N</i> -Methylpiperazinrestes .....	121
4.5.3.1.	Synthese .....	123
4.5.3.2.	Testung auf Aktivität .....	124
4.5.3.3.	Bestimmung der Löslichkeit.....	125
4.5.3.4.	Testung auf <i>in vivo</i> -Aktivität gegen <i>Plasmodium falciparum</i> .....	126



---

4.6.	Untersuchung der Aktivität verschiedener 3-(5-Aryl-2-furyl)acrylsäurederivate gegen Farnesyltransferase und gegen <i>Plasmodium falciparum</i> .....	127
4.6.1.	Synthese .....	128
4.6.2.	Testung auf Aktivität .....	130
4.7.	Untersuchung der 4-Aminobenzolsulfonamidderivate .....	132
4.7.1.	Synthese .....	134
4.7.2.	Testung auf Aktivität .....	134
4.8.	Untersuchung verschiedener Inhibitoren gegen <i>Leishmania amazonensis</i> und <i>Leishmania brasiliensis</i> .....	136
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>140</b>
<b>Experimenteller Teil</b> .....		<b>150</b>
<b>6.</b>	<b>Experimentelle Daten</b> .....	<b>151</b>
6.1.	Allgemeine Bemerkungen .....	151
6.2.	Allgemeine Arbeitsvorschriften zur Synthese .....	154
	A: Darstellung von Acrylsäuren aus aromatischen Aldehyden .....	154
	B: Aktivierung von Carbonsäuren als Säurechloride mit Oxalylchlorid ...	154
	C: Umsetzung von Carbonsäurechloriden mit Aminen .....	154
	D: Reduktion von Nitrobenzenderivaten mit Zinn(II)-chlorid-Dihydrat.....	155
	E: Schützen von freien Aminosäuren mit der Boc-Schutzgruppe .....	155
	F: Umsetzung von Boc-geschützten Aminosäuren mit Aminen unter Aktivierung mit Phosphoroxychlorid.....	155
	G: Entschützen einer Boc-geschützten Aminosäure .....	156
	H: Substitution des Halogens von 2-Chlor- und 2-Brom-2-phenyl-carbonsäurederivaten mit sekundären Aminen .....	156
	I: Darstellung von Nitrobenzensulfonamiden .....	157
6.3.	Allgemeine Arbeitsvorschriften zur biologischen Testung .....	158
	A: Proteinisolierung von Farnesyltransferase .....	158
	B: Bestimmung der Farnesyltransferaseinhibition .....	159
	C: Bestimmung der Löslichkeit in Wasser und 0.1 M Natriumphosphatpuffer.....	160

---

D: Bestimmung der Aktivität von Farnesyltransferaseinhibitoren gegen <i>Plasmodium falciparum</i> .....	160
E: Bestimmung der <i>in vivo</i> -Aktivität von Farnesyltransferaseinhibitoren gegen <i>Plasmodium falciparum</i> .....	160
F: Bestimmung der Aktivität von Farnesyltransferaseinhibitoren gegen <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	161
G: Bestimmung der <i>in vivo</i> -Aktivität von Farnesyltransferaseinhibitoren gegen <i>Plasmodium falciparum</i> .....	161
H: Bestimmung der Aktivität von Farnesyltransferaseinhibitoren auf <i>Leishmania amazonensis</i> und <i>Leishmania brasiliensis</i> .....	162
I: Prüfung auf Zytotoxizität .....	162
6.4. Verbindungsdaten .....	164
(E)-4-Propoxyzimtsäure (37) .....	164
(E)- <i>N</i> -[3-Benzoyl-4-(benzoylamino)phenyl]-4-propoxyzimtsäureamid (41) .....	165
(E)- <i>N</i> -[3-Benzoyl-4-(1-naphthoylamino)phenyl]-4-propoxyzimtsäureamid (42) .....	166
(E)- <i>N</i> -[3-Benzoyl-4-(phenylacetylamino)phenyl]-4-propoxyzimtsäureamid (43) .....	167
(E)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[(2-methylphenyl)acetylamino]phenyl}-4-propoxyzimtsäureamid (44) .....	168
(E)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[(4-methoxyphenyl)acetylamino]phenyl}-4-propoxyzimtsäureamid (45) .....	169
(E)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[(4-chlorphenyl)acetylamino]phenyl}-4-propoxyzimtsäureamid (46) .....	171
(E)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[(2-bromphenyl)acetylamino]phenyl}-4-propoxyzimtsäureamid (47) .....	172
(E)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[(4-bromphenyl)acetylamino]phenyl}-4-propoxyzimtsäureamid (48) .....	173
(E)- <i>N</i> -[3-Benzoyl-4-(trifluoracetylamino)phenyl]-4-propoxyzimtsäureamid (52) .....	174
(E)- <i>N</i> -(4-Amino-3-benzoylphenyl)-4-propoxyzimtsäureamid (53) .....	175
(E)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[(4-trifluormethylphenyl)acetylamino]phenyl}-4-propoxyzimtsäureamid (55) .....	176

---

(E)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[(4-biphenyl)acetylamino]phenyl}-4-propoxymizimsäureamid (49) .....	177
(E)- <i>N</i> -[3-Benzoyl-4-(3-phenylpropionylamino)phenyl]-4-propoxymizimsäureamid (50) .....	179
<i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-4-propoxymizimsäureamid (39) .....	180
<i>N</i> -(4-Amino-2-benzoylphenyl)-4-propoxymizimsäureamid (40) .....	181
(E)- <i>N</i> -[3-Benzoyl-4-(4-propoxycinnamoylamino)phenyl]-4-propoxymizimsäureamid (51) .....	182
(E)-3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure (57) .....	184
(E)- <i>N</i> -[3-Benzoyl-4-(benzoylamino)phenyl]-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (67) .....	185
<i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-4-chlorbenzoesäureamid (63) .....	186
<i>N</i> -(4-Amino-2-benzoylphenyl)-4-chlorbenzoesäureamid (65) .....	187
(E)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[(4-chlorbenzoyl)amino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (68) .....	188
(E)- <i>N</i> -[3-Benzoyl-4-(2-naphthoylamino)phenyl]-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (69) .....	189
(E)- <i>N</i> -[3-Benzoyl-4-(phenylacetylamino)phenyl]-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (70) .....	190
(E)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[(2-methylphenyl)acetylamino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (71) .....	192
(E)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[(3-methylphenyl)acetylamino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (72) .....	193
(E)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[(4-fluorphenyl)acetylamino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (81) .....	194
(E)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[(4-chlorphenyl)acetylamino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (73) .....	195
(E)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[(4-nitrophenyl)acetylamino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (82) .....	197
(E)- <i>N</i> -[3-Benzoyl-4-(1-naphthylacetylamino)phenyl]-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (74) .....	198
(E)- <i>N</i> -[3-Benzoyl-4-(2-naphthylacetylamino)phenyl]-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (75) .....	199

---

(E)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[(3-phenylpropionyl)amino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (76).....	201
<i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)zimtsäureamid (64).....	202
<i>N</i> -(4-Amino-2-benzoylphenyl)zimtsäureamid (66).....	203
(E)- <i>N</i> -[3-Benzoyl-4-(cinnamoylamino)phenyl]-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (77).....	204
(E- <i>S</i> )- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)- <i>N</i> -tert.-butoxycarbonylphenylglycinamid (93).....	206
(E- <i>S</i> )- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}-phenyl)phenylglycinamidhydrochlorid (106).....	207
(E- <i>R</i> )- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)- <i>N</i> -tert.-butoxycarbonylphenylglycinamid (94).....	209
(E- <i>R</i> )- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}-phenyl)phenylglycinamidhydrochlorid (107).....	210
( <i>R,S</i> )-tert.-Butoxycarbonyl-4-fluorphenylglycin (91).....	211
(E- <i>R,S</i> )- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}-phenyl)- <i>N</i> -tert.-butoxycarbonyl-4-fluorphenylglycinamid (95).....	212
(E- <i>R,S</i> )- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}-phenyl)-4-fluorphenylglycinamidhydrochlorid (108).....	213
( <i>R,S</i> )-tert.-Butoxycarbonyl-4-trifluormethylphenylglycin (92).....	215
(E- <i>R,S</i> )- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}-phenyl)- <i>N</i> -tert.-butoxycarbonyl-4-trifluormethylphenylglycinamid (96)....	216
(E- <i>R,S</i> )- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}-phenyl)-4-trifluormethylphenylglycinamidhydrochlorid (109).....	217
(E- <i>R</i> )- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)- <i>N</i> -tert.-butoxycarbonylphenylalaninamid (97).....	219
(E- <i>R</i> )- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}-phenyl)phenylalaninamidhydrochlorid (110).....	220
(E- <i>S</i> )- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)- <i>N</i> -tert.-butoxycarbonyl-4-chlorphenylalaninamid (98).....	222
(E- <i>S</i> )- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-4-chlorphenylalaninamidhydrochlorid (111).....	223
(E- <i>R</i> )- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)- <i>N</i> -tert.-butoxycarbonyl-4-chlorphenylalaninamid (99).....	225

---

(E-R)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-4-chlorophenylalaninamidhydrochlorid (112) .....	226
(E-S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)- <i>N</i> -tert.-butoxycarbonyltryptophanamid (100) .....	228
(E-S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-tryptophanamidhydrochlorid (113) .....	229
(E-S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)- <i>N</i> -tert.-butoxycarbonylleucinamid (101) .....	230
(E-S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-leucinamidhydrochlorid (114) .....	231
(E-R)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)- <i>N</i> -tert.-butoxycarbonylleucinamid (102) .....	233
(E-R)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-leucinamidhydrochlorid (115) .....	234
(E-S,S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)- <i>N</i> -tert.-butoxycarbonylisoleucinamid (103) .....	235
(E-S,S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}-phenyl)isoleucinamidhydrochlorid (116) .....	236
(E-S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)- <i>N</i> -tert.-butoxycarbonylmethioninamid (104) .....	238
(E-S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-methioninamidhydrochlorid (117) .....	239
(E-R)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)- <i>N</i> -tert.-butoxycarbonylmethioninamid (105) .....	241
(E-R)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-methioninamidhydrochlorid (118) .....	242
(R,S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-chlor-2-phenylacetamid (124) .....	244
(R,S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-ethyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (125) .....	245
(R,S)- <i>N</i> -(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-ethyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (137) .....	246
(E-R,S)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[2-(4-ethyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetyl-amino]-phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (149) .....	247

---

(R,S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl]-2-phenylacetamid (126) .....	248
(R,S)- <i>N</i> -(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl]-2-phenylacetamid (138) .....	249
(E-R,S)- <i>N</i> -(3-Benzoyl-4-{2-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl]-2-phenylacetyl-amino}phenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (150) .....	250
(R,S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-phenyl-2-(4-propyl-1-piperazinyl)acetamid (127) .....	252
(R,S)- <i>N</i> -(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-phenyl-2-(4-propyl-1-piperazinyl)acetamid (139) .....	253
(E-R,S)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[2-phenyl-2-(4-propyl-1-piperazinyl)acetyl-amino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (151) .....	254
(R,S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-cyclohexyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (128) .....	255
(R,S)- <i>N</i> -(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-cyclohexyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (140) .....	256
(E-R,S)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[2-(4-cyclohexyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetyl-amino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (152) .....	257
(R,S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-phenyl-2-(4-phenyl-1-piperazinyl)acetamid (129) .....	259
(R,S)- <i>N</i> -(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-phenyl-2-(4-phenyl-1-piperazinyl)acetamid (141) .....	260
(E-R,S)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[2-phenyl-2-(4-phenyl-1-piperazinyl)acetylamino]-phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (153) .....	261
(R,S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-benzyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (130) .....	262
(R,S)- <i>N</i> -(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-benzyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (142) .....	263
(E-R,S)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[2-(4-benzyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetylamino]-phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (154) .....	264
(R,S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-formyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (131) .....	265

---

(R,S)- <i>N</i> -(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-formyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (143) .....	266
(E-R,S)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[2-(4-formyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetylamino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (155) .....	267
(R,S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-acetyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (132) .....	268
(R,S)- <i>N</i> -(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-acetyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (144) .....	269
(E-R,S)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[2-(4-acetyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetylamino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (156) .....	270
(R,S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-[4-( <i>N</i> -isopropylaminocarbonylmethyl)-1-piperazinyl]-2-phenylacetamid (133) .....	271
(R,S)- <i>N</i> -(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-[4-( <i>N</i> -isopropylaminocarbonylmethyl)-1-piperazinyl]-2-phenylacetamid (145) .....	272
(E-R,S)- <i>N</i> -(3-Benzoyl-4-[2-[4-( <i>N</i> -isopropylaminocarbonylmethyl)-1-piperazinyl]-2-phenylacetylamino]phenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (157) .....	273
(R,S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-phenyl-2-(1-piperidyl)acetamid (134) .....	274
(R,S)- <i>N</i> -(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-phenyl-2-(1-piperidyl)acetamid (146) .....	275
(E-R,S)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[2-phenyl-2-(1-piperidyl)acetylamino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (158) .....	276
(R,S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-morpholinyl)-2-phenylacetamid (135) .....	277
(R,S)- <i>N</i> -(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-morpholinyl)-2-phenylacetamid (147) .....	278
(E-R,S)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[2-(4-morpholinyl)-2-phenylacetylamino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (159) .....	279
(R,S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-oxo-1-piperidinyl)-2-phenylacetamid (136) .....	280
(R,S)- <i>N</i> -(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-oxo-1-piperidinyl)-2-phenylacetamid (148) .....	281

---

(E-R,S)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[2-(4-oxo-1-piperidinyl)-2-phenylacetyl-amino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (160).....	282
(R,S)-2-Brom-(4-chlorphenyl)essigsäure (162) .....	283
(R,S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-brom-2-(4-chlorphenyl)acetamid (163) .....	284
(R,S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-chlorphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)acetamid (164) .....	284
(R,S)- <i>N</i> -(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-chlorphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)acetamid (165) .....	285
(E-R,S)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[2-(4-chlorphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)acetyl-amino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (166).....	286
(R,S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-[(2-dimethylaminoethyl)methylamino]-2-phenylacetamid (173).....	288
(R,S)- <i>N</i> -(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-[(2-dimethylaminoethyl)methylamino]-2-phenylacetamid (174).....	289
(E-R,S)- <i>N</i> -(3-Benzoyl-4-{2-[(2-dimethylaminoethyl)methylamino]-2-phenyl-acetylamino}phenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (175) ..	290
(R,S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-chlorphenyl)-2-[(2-dimethylaminoethyl)-methylamino]acetamid (176) .....	291
(R,S)- <i>N</i> -(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-chlorphenyl)-2-[(2-dimethylaminoethyl)-methylamino]acetamid (177) .....	292
(E-R,S)- <i>N</i> -(3-Benzoyl-4-{2-(4-chlorphenyl)-2-[(2-dimethylaminoethyl)-methylamino]-acetylamino}phenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (178) .....	293
(R,S)-2-Brom-3-(4-chlorphenyl)propionsäure (168).....	295
(R,S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-brom-3-(4-chlorphenyl)propionamid (169).....	295
(R,S)- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-3-(4-chlorphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)-propionamid (170).....	296
(R,S)- <i>N</i> -(4-Amino-2-benzoylphenyl)-3-(4-chlorphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)-propionamid (171).....	297
(E-R,S)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[3-(4-chlorphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)-propionylamino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (172) .....	298



---

(E)- <i>N</i> -(2-Benzoylphenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (58)	300
(E)- <i>N</i> -(3-Benzoylphenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (59)	301
<i>N</i> -(4-Nitrophenyl)-(4-methylphenyl)acetamid (60)	302
<i>N</i> -(4-Aminophenyl)-(4-methylphenyl)acetamid (61)	303
(E)- <i>N</i> -{4-[(4-Methylphenyl)acetylamino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryl-säureamid (62)	304
<i>N</i> -1-Naphthyl-4-nitrobenzensulfonamid (197)	306
4-Amino- <i>N</i> -1-naphthylbenzensulfonamid (201)	306
(E)- <i>N</i> -[4-(1-Naphthylaminosulfonyl)phenyl]-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (205)	307
<i>N</i> -2-Naphthyl-4-nitrobenzensulfonamid (198)	308
4-Amino- <i>N</i> -2-naphthylbenzensulfonamid (202)	309
(E)- <i>N</i> -[4-(2-Naphthylaminosulfonyl)phenyl]-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (206)	309
<i>N</i> -Benzyl-4-nitrobenzensulfonamid (199)	310
4-Amino- <i>N</i> -benzylbenzensulfonamid (203)	311
(E)- <i>N</i> -[4-(Benzylaminosulfonyl)phenyl]-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (207)	311
4-Nitro- <i>N</i> -phenethylbenzensulfonamid (200)	312
4-Amino- <i>N</i> -phenethylbenzensulfonamid (204)	313
(E)- <i>N</i> -[4-(Phenethylaminosulfonyl)phenyl]-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (208)	314
(E)- <i>N</i> -[3-Benzoyl-4-(trifluoracetylamino)phenyl]-3-[5-(4-trifluormethylphenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (180)	316
(E)- <i>N</i> -(4-Amino-3-benzoylphenyl)-3-[5-(4-trifluormethylphenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (181)	317
(E)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[(4-trifluormethylphenyl)acetylamino]phenyl}-3-[5-(4-trifluormethylphenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (182)	318
(E)-3-[5-(4-Chlorphenyl)-2-furyl]acrylsäure (185)	320
( <i>R,S</i> )- <i>N</i> -(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (183)	321

---

(R,S)- <i>N</i> -(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (184) .....	322
(E-R,S)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[2-(4-methyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetyl-amino]-phenyl}-3-[5-(4-chlorphenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (186).....	323
(E)-3-[5-(4-Methylsulfonylphenyl)-2-furyl]acrylsäure (188) .....	325
(E)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[(4-chlorphenyl)acetyl-amino]phenyl}-3-[5-(4-methylsulfonylphenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (192) .....	326
(E-R,S)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[2-(4-methyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetyl-amino]-phenyl}-3-[5-(4-methylsulfonylphenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (189).....	327
(E-R,S)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[2-(4-chlorphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)acetyl-amino]phenyl}-3-[5-(4-methylsulfonylphenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (191) .....	328
(E-R,S)- <i>N</i> -{3-Benzoyl-4-[2-(4-chlorphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)acetyl-amino]phenyl}-3-[5-(4-methylsulfonylphenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (190) .....	330
Abkürzungsverzeichnis.....	332
Literaturverzeichnis .....	334

## **Theoretischer Teil**

## **1. Einleitung**

### **1.1. Krebs**

Jährlich erhalten etwa 10 Millionen Menschen weltweit die Diagnose Krebs, wobei in den nächsten Jahren noch mit einem Anstieg dieser Zahl gerechnet wird. Schätzungsweise 22 Millionen Menschen leben zurzeit mit der Krankheit und ungefähr 6 Millionen Menschen sterben pro Jahr daran. Somit werden 12% aller Todesfälle weltweit durch Krebs verursacht. Allein in Deutschland erkranken jährlich 400 000 Personen und ungefähr 200 000 Menschen sterben. [1, 2]

Auslöser der Krankheit ist das Auftreten bösartiger Tumore, die in umliegendes Gewebe hineinwachsen, wobei dieses Wachstum das umliegende Gewebe zerstört. Kommt es zu einer Verbreitung der Tumorzellen durch das Blut- oder Lymphsystem können sich Metastasen ausbilden. Es handelt sich also um infiltrierende, destruierende und metastasierende Tumore, die durch schnelles Wachstum mit unscharfer Begrenzung zu charakterisieren sind. Die Zellmorphologie der Tumorzellen unterscheidet sich von normalen Zellen. Während normale gesunde Zellen in einer Zellkultur an die Gefäßoberfläche anheften und eine flache, lang gestreckte Form einnehmen, sind Tumorzellen in der Lage, ohne Verankerung zu wachsen und erscheinen häufig runder als normale Zellen. Als wichtigster Unterschied ist allerdings das völlig autonome und progressive Wachstum zu betrachten. Normale Zellen sterben nach einer bestimmten Anzahl von Zellteilungen ab, Tumorzellen dagegen teilen sich immer weiter und zwar völlig unabhängig davon, ob ein auslösender Reiz vorhanden oder bereits beendet ist. [3, 4, 5]

#### **1.1.1. Tumorgenese und auslösende Faktoren**

Der Prozess der Krebsentstehung kann in mindestens zwei Stufen eingeteilt werden: In der ersten Stufe, der so genannten Initiierungsphase, erfolgt die Umwandlung von gesunden Zellen in Tumorzellen, die mit einer Änderung der genetischen Information der Zelle verbunden ist. Im Anschluss daran folgt nach einer oft längeren Latenzzeit die Promotions- oder Realisationsphase, in der sich der eigentliche Tumor bildet.

Die Umwandlung von normalen Zellen in Tumorzellen kann durch verschiedene Faktoren ausgelöst werden. Man unterscheidet hierbei zwischen endogenen Faktoren, z.B. erblicher Disposition oder endokrinen Fehlsteuerungen, und exogenen

Faktoren. Als exogene Faktoren betrachtet man ionisierende Strahlung, chemische Karzinogene und onkogene Viren. Neben diesen auslösenden Faktoren gibt es auch so genannte Promotoren, die selbst keine genetischen Veränderungen in Zellen auslösen, die aber die Proliferation der Tumorzellen fördern können und damit die Entstehung von Tumoren begünstigen. [4, 5]

### **1.1.2. Therapie**

Das Ziel einer Krebstherapie ist entweder die Vernichtung eines Tumors oder die Hemmung seines Wachstums, da eine Rückverwandlung von Tumorzellen in normale Zellen nicht möglich ist. Die wichtigsten therapeutischen Maßnahmen zum Erreichen dieses Ziel sind Operation, Bestrahlung oder die Therapie mit Zytostatika. Während Operation und Bestrahlung hauptsächlich bei soliden Tumoren indiziert sind, wird die zytostatische Chemotherapie angewendet, wenn Operation und Bestrahlung nicht oder nicht mehr möglich sind, wie z. B. bei Systemtumoren oder bei metastasierenden Tumoren. Die Wirkung von Zytostatika ist allerdings wenig spezifisch, so dass gleichzeitig schwere Schäden an gesunden Zellen auftreten können. Besonders betroffen sind hierbei schnell wachsende Zellen, wie das blutbildende System, Haare oder Keimdrüsen. Weiterhin problematisch ist die Entwicklung von Resistenzen, insbesondere bei längerer Anwendung von Zytostatika, neben der möglichen Entwicklung von Sekundärtumoren als Folge der Therapie.

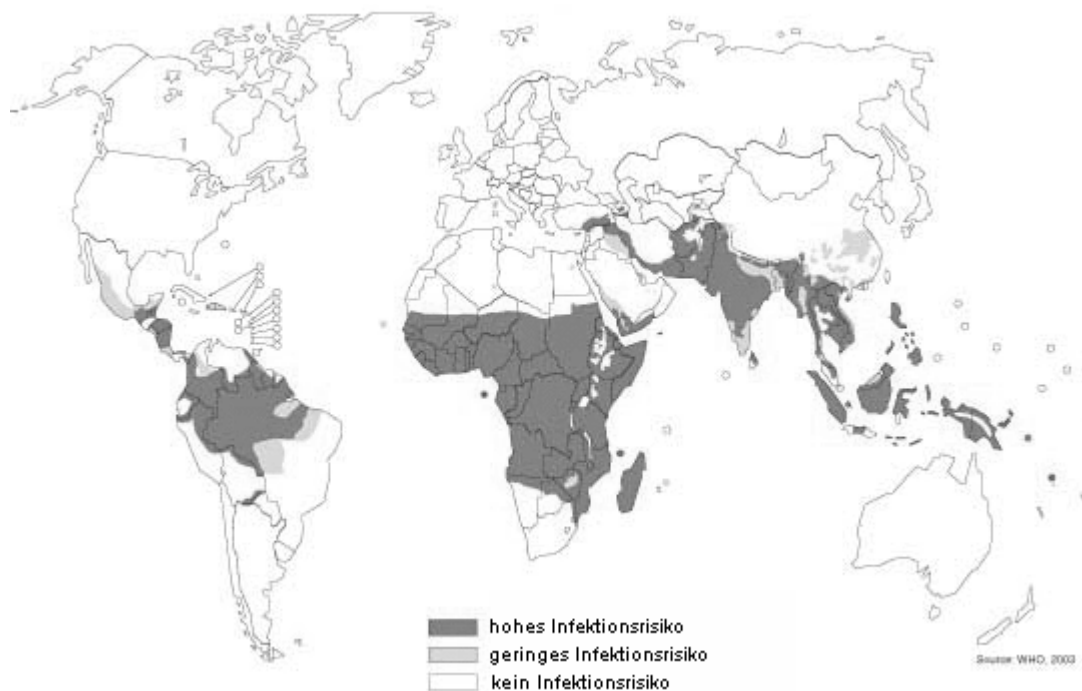
Zytostatika haben die Funktion, die Zellteilung von Tumorzellen zu unterbinden. Während normale ausdifferenzierte Zellen oft hauptsächlich in der  $G_0$ -Phase der Zellteilung ruhen, befinden sich die schnell proliferierenden Tumorzellen vorwiegend in den Wachstumsphasen ( $G_1$ -Phase,  $G_2$ -Phase) oder in der Synthesephase (S-Phase). In diesen Phasen erfolgt der Angriff der Zytostatika, mit der Absicht die Zellteilung der Tumorzellen zu verhindern. Verwendet werden Mitosehemmstoffe, die den Aufbau des Spindelapparates stören, alkylierende Zytostatika, die die Nucleinsäure-Reduplikation unterbinden, Antimetabolite, die funktionsuntüchtige Makromoleküle bilden oder Enzyme blockieren, zytostatisch wirksame Antibiotika und in einigen Fällen auch Hormone oder Hormonantagonisten. [6]

Nebenwirkungen und Resistenzentwicklung der Zytostatika führen dazu, dass neue Therapieansätze zurzeit intensiv erforscht werden. Insbesondere die Entwicklung

von Farnesyltransferaseinhibitoren, mit dem Ziel onkogene Produkte zu deaktivieren, stellt einen viel versprechenden und gut untersuchten Ansatz dar. [7]

## 1.2. Malaria

Malaria ist die bedeutendste Infektionskrankheit der Welt. Jährlich erkranken etwa 300 – 500 Millionen Menschen an Malaria, rund 2 Millionen Menschen sterben an der Infektion allein oder an deren Kombination mit anderen Krankheiten, die meisten von ihnen sind Kinder unter 5 Jahren. Rund 40% der Weltbevölkerung leben in malariagefährdeten Gebieten. In etwa 100 Ländern weltweit kommt Malaria vor, hauptsächlich betroffen sind ärmere tropische Regionen in Afrika, Asien und Lateinamerika, wobei 90% aller Malariafälle in Afrika auftreten (Abb. 1). Ebenso findet sich in Afrika die größte Zahl an Todesfällen, die auf eine Malariaerkrankung zurückzuführen sind. [8, 9]



**Abb. 1:** Verbreitung der Malaria im Jahr 2003 [10]

Der Begriff Malaria, auch als Sumpf- oder Wechselfieber bekannt, stammt aus dem italienischen und leitet sich aus der Vorstellung von krankmachender „schlechter Luft“ („mal aria“) in Sumpfgebieten ab, Verhältnisse in denen sich die Anopheles-Mücke, der Überträger von Malaria, besonders gut vermehren kann.



Durch den Stich einer weiblichen malariainfizierten Anopheles-Mücke gelangen Sporozoiten in den Blutkreislauf des Menschen (1). Die injizierten Sporozoiten befallen innerhalb von wenigen Minuten die Hepatozyten der Leber (2) und entwickeln sich zur nächsten Zwischenstufe, den Schizonten (3). Die Entstehung dieser Schizonten oder auch Gewebsschizonten wird als exoerythrozytärer Zyklus bezeichnet. Innerhalb der Leberzellen entwickeln sich die Schizonten zu reifen Zellen, welche die so genannten Merozoiten enthalten. Nach Zerstörung der Leberzellen (4) befallen die Merozoiten die Erythrozyten (5) und der erythrozytäre Zyklus der Entwicklung beginnt. Innerhalb der Erythrozyten erfolgt über das Zwischenstadium der Trophozoiten die Entwicklung zu Blutschizonten, die nach ihrer Reifung unter Zerstörung der Erythrozytenmembran zur erneuten Freisetzung von Merozoiten führen (6). Durch diese Freisetzung der Merozoiten kommt es zu Fieberschüben, die ein charakteristisches Symptom der Malariaerkrankung darstellen. Im Gegensatz zu *P. falciparum* entwickeln sich bei *P. vivax*, *P. ovale* und *P. malariae* nur einige Schizonten zu reifen Zellen (Merozoiten), die übrigen Schizonten verbleiben als Hypnozoite Monate oder Jahre in einer Art Ruhephase in der Leber, wodurch es immer wieder zu Rückfällen der Erkrankung kommen kann. Die weitere Entwicklung der Merozoiten verläuft bei allen Malariaparasiten wieder gleich, es können erneut Erythrozyten infiziert werden oder es entwickeln sich in einigen Fällen männliche und weibliche Gametozyten (7). Bei einem erneuten Stich durch eine Anopheles-Mücke werden die weiblichen Gametozyten (Makrogametozyten) und die männlichen Gametozyten (Mikrogametozyten) aufgenommen (8), wobei im Magen der Mücke die Weiterentwicklung zu Gameten erfolgt und anschließend die Vereinigung der Gameten zur Zygote (9). Die Zygote entwickelt sich zum Ookineten (10), der die Magen- und Darmwand der Anopheles-Mücke durchdringt, sich einkapselt und damit zur Oozyste wird (11). Die Oozyste wächst heran und setzt schließlich unter Zerstörung Sporozoiten frei (12), die in die Speicheldrüse der Anopheles-Mücke wandern. Beim Stich der Anopheles-Mücke wird der Entwicklungskreislauf des Malariaerregers geschlossen. [6, 11]

### 1.2.3. Symptome

Malaria beginnt mit grippeähnlichen Symptomen wie Kopf- und Muskelschmerzen, Schwächegefühl, Frösteln und Hitzegefühl, Husten, Erbrechen, Diarrhö und vor allem deutlichen Fieberschüben, wobei Dauer und Abstände der Fieberschübe für die

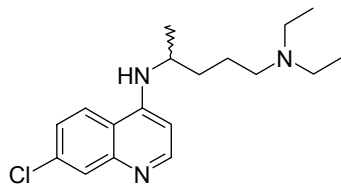
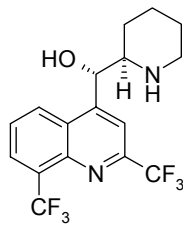
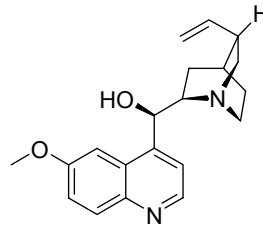
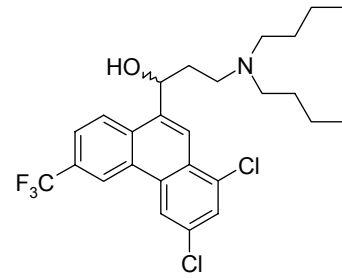
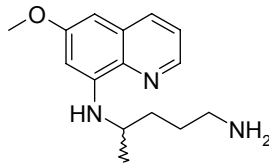
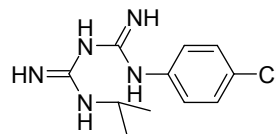
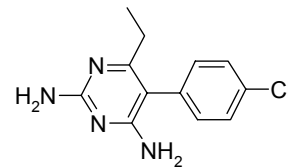


einzelnen Erreger charakteristisch sind: *P. vivax* und *P. ovale* (Malaria tertiana) führen zu Fieberschüben im 48-Stunden-Rhythmus, während *P. malariae* (Malaria quartana) zum Auftritt von Fieberschüben alle 72 Stunden führt. Die Infektion mit *P. falciparum* (Malaria tropica) zeigt im Gegensatz hierzu ein völlig unregelmäßiges Auftreten von Fieberschüben, was die Diagnostik dieses Malariaerregers erschwert. Unbehandelt können beim Auftreten von Malaria tropica schnell schwere Komplikationen auftreten, die meist tödlich enden. [6, 11]

#### 1.2.4. Bekämpfung der Malaria

Am Ende der 60er Jahre des letzten Jahrhunderts glaubte man, mit dem Einsatz des hochwirksamen Insektizids DDT (1,1,1-Trichlor-2,2-bis(4-chlorphenyl)ethan, Clofenaton<sup>®</sup>) die Verbreitung der Malaria wirksam bekämpft zu haben, und tatsächlich sank die Zahl der Malariatoten von zuvor mehreren Millionen Menschen auf unter 200 000 pro Jahr. Allerdings kam es zunehmend zur Entwicklung von Resistenzen gegen das Insektizid. Weiterhin erwies sich DDT aufgrund seiner Anreicherung in der Nahrungskette als toxisch und wurde daraufhin in den 70er Jahren verboten. Seitdem steigt die Verbreitung der Anopheles-Mücke und somit die Anzahl an Malariainfektionen wieder stetig an. [13]

Neben der Bekämpfung des Überträgers der Malaria steht natürlich die Bekämpfung der Krankheit an sich im Vordergrund der Überlegungen. Es gibt inzwischen viele Malariamedikamente, die an verschiedenen Stellen des Vermehrungszyklus des Erregers angreifen (Abb. 3). Chloroquin **1**, Mefloquin **2**, Chinin **3** und Halofantrin **4** sind so genannte Blutschizontozide, die die Vermehrung der Plasmodien in den Erythrozyten unterdrücken. Primaquin **5**, Proguanil **6** und Pyrimethamin **7** dienen als gewebsschizontozide Stoffe und hemmen die Entwicklung der präerythrozytären Gewebeschizonten. Sie wirken also in einem frühen Stadium und sollen den Befall der Erythrozyten verhindern. Primaquin **5** wirkt darüber hinaus ebenfalls als Hypnozoitozid und tötet damit die Ruheformen der Parasiten in der Leber ab, so wie als Gametozid, womit die Übertragung der Malaria vom Menschen auf die Anopheles-Mücke verhindert wird. [6]

**Blutschizontozide**Chloroquin **1**Mefloquin **2**Chinin **3**Halofantrin **4****Gewebeschantozide**Primaquin **5**Proguanil **6**Pyrimethamin **7****Abb. 3:** Strukturformeln einiger Malariawirkstoffe**1.2.4.1. Prophylaxe**

Da die zur Verfügung stehenden Malariamedikamente nicht die Sporoziten in der Blutbahn angreifen, ist eine Malariaprophylaxe im strengen Sinne nicht möglich. Dennoch kann eine so genannte suppressive Prophylaxe durchgeführt werden, bei der durch Gabe von Blutschizontoziden das Auftreten von klinischen Symptomen der Malaria verhindert werden soll. Außerdem ist eine kausale Prophylaxe durch die Anwendung von Gewebsschizontoziden möglich, hier wird der erythrozytäre Zyklus verhindert indem die exoerythrozytären Stadien in der Leber angegriffen werden.

Die zur Zeit zur Malariaprophylaxe empfohlenen Therapeutika sind Chloroquin (**1**) (Resochin<sup>®</sup>, Weimerquin<sup>®</sup>, Chlorochin<sup>®</sup>), Proguanil **6** (Paludrine<sup>®</sup>) meistens kombiniert mit Chloroquin **1**, Doxycyclin, Mefloquin **2** (Lariam<sup>®</sup>) und die Kombination von Atovaquon mit Proguanil **6** (Malarone<sup>®</sup>). Zur notfallmäßigen Selbstmedikation, der so genannten Stand by-Medikation, dienen Chloroquin **1**, Mefloquin **2**, die Kombination von Atovaquon mit Proguanil **6** und der aus Artemisia-Arten gewonnene Artemether in der Wirkstoffkombination Artemether / Lumefantrin (Riamet<sup>®</sup>). [6, 14]

### 1.2.4.2. Therapie

Die Therapie der Malaria richtet sich danach, welche Form der Malaria vorliegt. Des Weiteren unterscheidet man zwischen der Therapie des akuten Malariaanfalls (Suppressionsbehandlung) und einer rezidivfreien Ausheilung (Rezidivprophylaxe bzw. Radikalkur). Die Suppressionsbehandlung richtet sich nur gegen erythrozytäre Formen, bei der Rezidivprophylaxe werden Medikamente gegen sämtliche Stadien der Plasmodien im Menschen eingesetzt.

Die Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit (DTG) sehen für die Behandlung der Malaria tertiana und der Malaria quaterna Chloroquin **1** oder Mefloquin **2** vor, zur Rezidivprophylaxe wird bei Malaria tertiana eine Nachbehandlung mit Primaquin **5** angeschlossen. Die Therapie der Malaria tropica unterscheidet sich nach dem Schweregrad der Erkrankung. Die unkomplizierte Malaria tropica wird mit Mefloquin **2**, Atovaquon / Proguanil **6** oder Artemether / Lumefantrin behandelt, während die komplizierte Malaria tropica mit Chinin **3** therapiert wird, wobei evtl. zusätzlich Doxycyclin oder auch Clindamycin (besonders bei Kindern) gegeben wird. [6, 15]

### 1.2.4.3. Resistenz

Ein zunehmendes Problem bei der Prophylaxe und auch der Therapie der Malaria ist die wachsende Resistenzentwicklung gegen die gängigen Malariamedikamente. Insbesondere *P. falciparum* weist vielfach Resistenzen auf. Die Weltgesundheitsorganisation hat die einzelnen Länder in Kategorien eingeteilt und gibt damit eine grobe Auskunft über die Resistenzlage von *P. falciparum* gegen Chloroquin **1**. In Zone A existieren entweder keine Plasmodien des Typs falciparum oder sie sind nicht gegen Chloroquin **1** resistent, in Zone B kann die Prophylaxe mit Chloroquin **1** versagen, aber eine eventuelle Linderung der Beschwerden ist mit der Gabe von Chloroquin **1** möglich, und in Zone C ist *P. falciparum* hochgradig chloroquinresistent, zusätzlich treten häufig auch Resistenzen gegen andere Malariamittel auf. Beispiele für Zone C sind alle tropischen Länder Afrikas, Teile Asiens und Teile Südamerikas, somit also die Länder, in denen Malaria hauptsächlich auftritt.

Aufgrund einer ständigen Zunahme der Resistenzen sind die zurzeit benutzten Medikamente nicht ausreichend, um Malaria langfristig unter Kontrolle zu

bekommen. Die WHO hat daher die Initiative „Roll Back Malaria“ ins Leben gerufen, mit dem Ziel, die Anzahl der Malariainfektionen bis zum Jahr 2010 zu halbieren. [16] Hierzu werden die unterschiedlichsten Ansätze verfolgt: In den betroffenen Gebieten werden mit Insektiziden behandelte Moskitonetze verteilt und die Bevölkerung wird geschult, die Symptome einer Malariainfektion zu erkennen, um eine möglichst schnelle Therapie zu gewährleisten. Mit der Absicht weitere Resistenzen zu vermeiden, soll zur Therapie möglichst eine Kombination eingesetzt werden, nämlich Artemisinin, isoliert aus *Artemisia annua*, zusammen mit einem geeigneten synthetisch hergestellten Medikament.

Weiterhin steht die Suche nach neuen Targets, so wie die Entwicklung neuer Wirkstoffe zur Malariatherapie im Vordergrund. Die Entschlüsselung des Plasmodiengenoms ermöglicht ein besseres Verständnis der Stoffwechselwege der Parasiten und die Identifikation neuer Zielstrukturen. Mögliche Ansatzpunkte, die zurzeit intensiv auf ihr Potential als Antimalaria-Wirkstoffe getestet werden, sind Hemmstoffe für die Enzyme DXR (Desoxy-D-Xylose-5-Phosphat-Reduktoisomerase) und Farnesyltransferase. [16, 17]

### **1.3. Trypanosomenerkrankungen**

#### **1.3.1. Afrikanische Trypanosomiasis**

Die Afrikanische Trypanosomiasis wird auch als Schlafkrankheit bezeichnet. Jährlich werden ca. 300 000 bis 500 000 Fälle registriert, die Zahl der Todesfälle beläuft sich auf etwa 66 000 Personen und ungefähr 60 Millionen Menschen leben in gefährdeten Gebieten. Die Krankheit tritt endemisch in afrikanischen Ländern auf, in denen sich auch der Überträger der Krankheit, die Tsetsefliege, findet. Verursacht wird die Erkrankung durch Protozoen der Gattung *Trypanosoma*. Hier unterscheidet man zwei verschiedene Varianten, die Ost- und die Westafrikanische Trypanosomiasis: Die ostafrikanische Form wird durch *Trypanosoma brucei rhodensis* hervorgerufen und tritt hauptsächlich in Ost- und Südafrika auf, beim Erreger der westafrikanischen Form handelt es sich um *Trypanosoma brucei gambiense*, diese Form findet sich hauptsächlich in West- und Zentralafrika. [18, 19]

Durch den Stich der Tsetsefliege gelangen die Trypanosomen in die Blutbahn. An der Einstichstelle entsteht nach ca. 3 – 10 Tagen eine Schwellung, die auch als Trypanosomenschanter bezeichnet wird. Nach der Vermehrung der Parasiten

werden diese sowohl auf dem Blut- als auch auf dem Lymphweg im Körper verschleppt. Bei der westafrikanischen Form kommt es erst nach Wochen, Monaten oder sogar Jahren zu diesem Fall, während es bei der ostafrikanischen Form schon nach wenigen Tagen auftreten kann. Es beginnt das 1. Stadium der Krankheit, das hauptsächlich durch Fieber, Kopf- und Gliederschmerzen gekennzeichnet ist, häufig kommt es auch zu Schwellungen der Lymphknoten, insbesondere im Halsbereich, auch als „Winterbottom-Zeichen“ bekannt. Das 2. Stadium der Krankheit ist der Übergang auf das zentrale Nervensystem, bei der westafrikanischen Form oft frühestens nach 6 Monaten, bei der ostafrikanischen Form eventuell schon nach wenigen Wochen. Es treten schwere Schlafstörungen mit Schlaflosigkeit in der Nacht und einem erhöhtem Schlafbedürfnis am Tag auf, die für den Namen der Infektion verantwortlich sind. Weiterhin kommt es zu Verwirrungszuständen, Koordinationsschwierigkeiten und einem schlechten Allgemeinzustand, schließlich folgt völlige Apathie, Koma und der Tod. Ohne Behandlung endet die Krankheit auf jeden Fall tödlich. Werden Patienten erst nach dem Eintritt in das 2. Stadium der Erkrankung behandelt, sind die neurologischen Schäden trotz Behandlung irreversibel. [19, 20, 21, 22]

Die Behandlung der Afrikanischen Trypanosomiasis unterscheidet sich nach dem Stadium, in dem sich der Patient befindet. Im 1. Stadium der Krankheit werden die Arzneistoffe Suramin (Germanin<sup>®</sup>) und Pentamidin (Pentacarinat<sup>®</sup>) eingesetzt, im 2. Stadium der Krankheit finden Melarsoprol (Arsobal<sup>®</sup>, Mel B<sup>®</sup>), Eflornithin und Nifurtimox (Lampit<sup>®</sup>) Anwendung. Pentamidin und Eflornithin sind im Gegensatz zu den anderen Wirkstoffen nur für die Behandlung von *T. brucei gambiense*, der ostafrikanischen Form, zugelassen. [19, 22, 23]

### **1.3.2. Amerikanische Trypanosomiasis**

Die Amerikanische Trypanosomiasis ist auch unter dem Namen Chagas-Krankheit bekannt. Zurzeit sind ca. 16 – 20 Millionen Menschen mit der Krankheit infiziert und jedes Jahr kommen rund 300 000 – 500 000 neu erkrankte Personen dazu, während 120 Millionen Menschen vom Risiko einer Infektion bedroht sind. Es wird geschätzt, dass ungefähr 2 – 3 Millionen Erkrankte bereits das chronische Stadium der Krankheit erreicht haben. Die Zahl der Todesfälle liegt jährlich bei ca. 50 000 Personen, wobei Säuglinge und Kleinkinder, so wie Erkrankte im chronischen Stadium den größten Anteil der Todesfälle ausmachen. [24, 25, 26]

Bei der Chagas-Krankheit handelt es sich um eine Zoonose, die durch blutsaugende Raubwanzen (*Triatoma infestans* oder auch andere Arten) auf den Menschen übertragen werden kann. Hervorgerufen wird die Krankheit durch *Trypanosoma cruzi*, einem Protozoen der Gattung Trypanosoma.

### 1.3.2.1. Lebenszyklus von *Trypanosoma cruzi*

Raubwanzen, die die Chagas-Krankheit übertragen, sind vorwiegend nachts aktiv. Die Trypanosomen befinden sich im Verdauungstrakt der Tiere. Zu einer Übertragung kann es daher nur kommen, wenn die Raubwanze während des Bisses gleichzeitig infizierten Kot absetzt. Neben der Infektion durch die Bisswunde kann *T. cruzi* aber auch durch Schleimhäute in den menschlichen Körper gelangen.

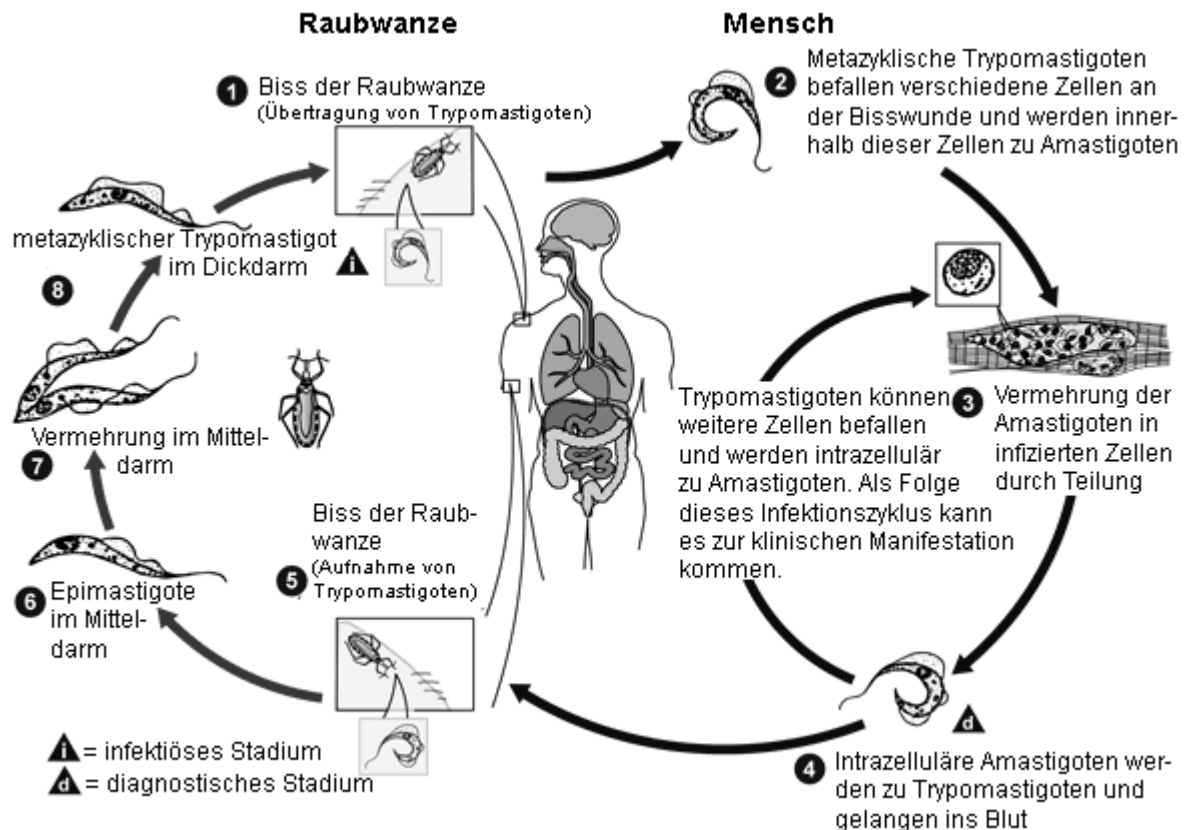


Abb. 4: Lebenszyklus von *Trypanosoma cruzi*, dem Erreger der Chagas-Krankheit [27]

Nach dem Biss der Raubwanzen (1) befallen die metazyklischen Trypomastigoten verschiedene Zellen im Bereich der Bisswunde und entwickeln sich zu einer intrazellulären Form, den so genannten Amastigoten. (2) (Abb. 4). Die Amastigoten

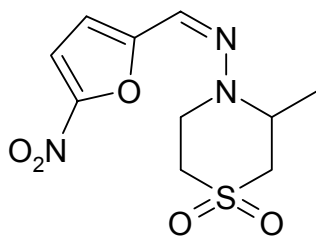
vermehren sich innerhalb der einzelnen Zellen durch Teilung (3) und werden zu Trypomastigoten, die in das Blut übergehen und so im Körper zirkulieren können (4). Im Gegensatz zu den Amastigoten sind die Trypomastigoten im Blutstrom nicht in der Lage sich zu teilen, sie können jedoch weitere Zellen im Körper befallen und erneut zu Amastigoten werden. Als Folge dieses Infektionszyklus kommt es zur klinischen Manifestation der Krankheit. Die Inkubationszeit liegt bei ca. 1 – 2 Wochen. Beißt eine Raubwanze eine infizierte Person, nimmt sie Trypomastigoten aus dem Blut auf (5), die sich im Mitteldarm des Tieres zu Epimastigoten (6) verwandeln. Nach Vermehrung im Mitteldarm (7) differenzieren die Epimastigoten zu infektiösen metazyklischen Trypomastigoten und wandern in den Dickdarm (8). Beim erneuten Biss der Raubwanzen mit gleichzeitiger Kotabgabe wiederholt sich der Infektionszyklus. Eine einmal infizierte Raubwanze kann während ihres gesamten Lebens Trypanosomen übertragen. [28]

#### **1.3.2.2. Symptome und Krankheitsverlauf**

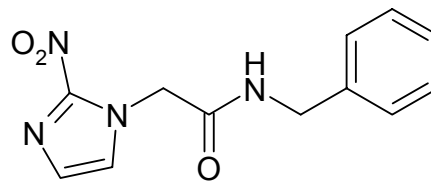
Der Verlauf der Chagas-Krankheit lässt sich in eine akute und in eine chronische Phase unterteilen. Beide gehen meistens mit einer Latenzphase ineinander über. An der Einstichstelle der Erreger kann sich eine Schwellung ausbilden, die als Chagom bezeichnet wird. Insbesondere bei einer Infektion in der Nähe des Auges kommt es zu einem starken Anschwellen des Augenlids und der regionalen Lymphknoten („Romana-Syndrom“). Einige Tage nach der Infektion beginnt die akute Phase der Krankheit mit Symptomen wie Fieber, Durchfall und geschwollenen Lymphknoten, wobei nur ungefähr 30% aller Infizierten die Symptome der akuten Phase aufweisen, insbesondere Säuglinge und Kinder, die auch oft in diesem Stadium an der Krankheit sterben. Der größte Teil der Patienten tritt ohne die Entwicklung jeglicher Anzeichen der Krankheit in die Latenzphase ein, in der die Parasiten die meisten inneren Organe des Körpers befallen. In dieser mitunter mehrere Jahre andauernden Phase sind die Patienten symptomfrei. Es schließt sich die chronische Phase der Krankheit an. Erneut treten Symptome der akuten Phase auf und es kommt weiterhin zu Herzmuskelentzündungen, Veränderungen des Herzmuskels, Herzvergrößerung, Störung der Darmbewegung und Schädigung der Speiseröhre. Die meisten Patienten sterben durch plötzlichen Herztod oder die Entstehung eines Megakolons, das zum Darmdurchbruch führt. [24, 29]

### 1.3.3.3. Therapie

Für die Therapie der Amerikanischen Trypanosomiasis stehen nur zwei Wirkstoffe zur Verfügung: Nifurtimox **8** (Lampit<sup>®</sup>) und Benznidazol **9** (Radonil<sup>®</sup>) (Abb. 5). Beide Arzneistoffe werden sowohl für die Therapie der akuten Phase als auch für die Anfänge der chronischen Phase eingesetzt, wobei die Wirksamkeit stark von der geographischen Lage abhängig ist, was vermutlich mit unterschiedlichen *T. cruzi*-Stämmen zusammenhängt. Generell lassen sich mit diesen beiden Wirkstoffen nur ungefähr 50% der Erkrankten heilen. [25, 26]



Nifurtimox **8**



Benznidazol **9**

**Abb. 5:** Strukturformeln von Nifurtimox und Benznidazol

Betrachtet man die Arzneistoffe, die gegen die Schlafkrankheit und insbesondere gegen die Chagas-Krankheit zur Verfügung stehen, zeigt sich ein dringender Bedarf an neuen wirksamen Therapiemöglichkeiten. Die zurzeit eingesetzten Arzneimittel weisen eine hohe Toxizität mit schweren Nebenwirkungen auf. Es haben sich Resistenzen entwickelt und auf Grund der Herstellungskosten der Arzneimittel ist vielerorts keine ausreichende Versorgung möglich, da die betroffenen Länder zu den ärmsten der Welt zählen. Aus diesem Grund besteht bei vielen Pharmakonzernen auch kein Interesse an der Erforschung neuer Wirkstoffe gegen Trypanosomeninfektionen. Allerdings ermöglicht die nahe Verwandtschaft von *T. cruzi* und *T. brucei* untereinander ebenso wie die Verwandtschaft mit anderen Protozoen mögliche Ansatzpunkte für die Entwicklung neuer Therapeutika. Ein möglicher Ansatzpunkt ist hier, wie auch bei der Malaria, das Enzym Farnesyltransferase. [22, 25]



## 1.4. Leishmaniasis

Ebenso wie Malaria und Trypanosomiasis zählt die Leishmaniasis zu den Protozoeninfektionen. Überträger der Krankheit sind Sand- bzw. Schmetterlingsmücken der Gattung *Phlebotomus* in Europa, Asien und Afrika (Alte Welt) oder der Gattung *Lutzomyia* in Nord- und Südamerika (Neue Welt). Ungefähr 21 von 30 bekannten *Leishmania*-Arten sind in der Lage Menschen zu befallen: Es handelt sich hierbei neben anderen um *L. donovani* – Arten (*L. donovani*, *L. infantum*, *L. chagasi*), *L. mexicana* – Arten (*L. mexicana*, *L. amazonensis*, *L. venezuelensis*), *L. tropica*, *L. major*, *L. aethiopica* und 4 Arten von *L. Vianna* (*L. V. brasiliensis*, *L. V. guyanensis*, *L. V. panamensis*, *L. V. peruviana*). [30, 31]

Allerdings werden nicht nur Menschen befallen, sondern in vielen Regionen der Erde gibt es auch ein Erregerreservoir unter Wild- und Haustieren (nur Wirbeltiere), so dass man bei der Leishmaniasis von einer Zoonose sprechen kann. [30]

### 1.4.1. Lebenszyklus

Beim Stich einer Sandmücke wird die promastigote Form des Erregers übertragen und von Phagozyten (z.B. Makrophagen, dendritische Zellen, Langerhans-Zellen) aufgenommen. Die Promastigoten werden dabei nicht zerstört, sondern wandeln sich innerhalb der Phagozyten in die amastigote Form um und vermehren sich dort, bis die Wirtszellen platzen. Die freigesetzten Amastigoten können nun erneut Phagozyten und auch andere Zellen befallen. Erfolgt wiederum ein Biss durch eine Sandmücke, werden befallene Phagozyten aufgenommen und die enthaltenen Amastigoten im Darm des Tieres zu begeißelten Promastigoten umgewandelt. Es folgt die Vermehrung der Promastigoten im Darm mit anschließender Wanderung in den Stechrüssel der Sandmücke, die beim nächsten Blutmahl die Parasiten übertragen kann. [30, 31]

### 1.4.2. Formen der Leishmaniasis

Die Leishmaniosen lassen sich in 4 Formen unterteilen:

1. viszerale Leishmaniasis (z.B. *L. donovani*, *L. infantum*, *L. chagasi*)
2. kutane Leishmaniasis (z.B. *L. tropica*, *L. major*, *L. aethiopica*, *L. infantum*, *L. mexicana*, *L. amazonensis*, *L. venezuelensis*, *L. V. brasiliensis*)

3. mukokutane Leishmaniasis (z.B. *L. V. brasiliensis*)
4. diffuse kutane Leishmaniasis

Die einzelnen Formen unterscheiden sich sowohl in ihren Symptomen als auch in der Schwere der Erkrankung, wobei die viszerale Leishmaniasis die gefährlichste Form ist, da sie ohne Behandlung tödlich verläuft. Sie ist durch Fieber, Unwohlsein, Gewichtsverlust und Blutarmut gekennzeichnet, die zu den allgemeinen Symptomen aller Leishmaniosen zählen, aber auch durch Schwellung von Milz, Leber und Lymphknoten. Die Formen der kutanen Leishmaniasis sind nicht so gefährlich, können aber auch schwere Schädigungen auslösen. Die kutane Leishmaniasis ist die am weitesten verbreitete Form, sie ist durch das Auftreten von Hautläsionen gekennzeichnet, die aber oft nach mehreren Monaten von selbst heilen. Die mukokutane Leishmaniasis startet ähnlich wie die kutane Leishmaniasis mit Läsionen der Haut, die sich ausbreiten und starke Schädigungen der Schleimhäute zur Folge haben, insbesondere im Bereich von Mund und Nase. Auch die diffuse kutane Leishmaniasis erinnert an die kutane Leishmaniasis, allerdings ist der Krankheitsverlauf chronisch und nur schwer zu behandeln. Gemeinsam ist allen kutanen Formen, dass sie schlimme Narben hinterlassen, die im Fall der diffusen kutanen Leishmaniasis an Lepra erinnern. [32, 33]

### **1.4.3. Epidemiologie**

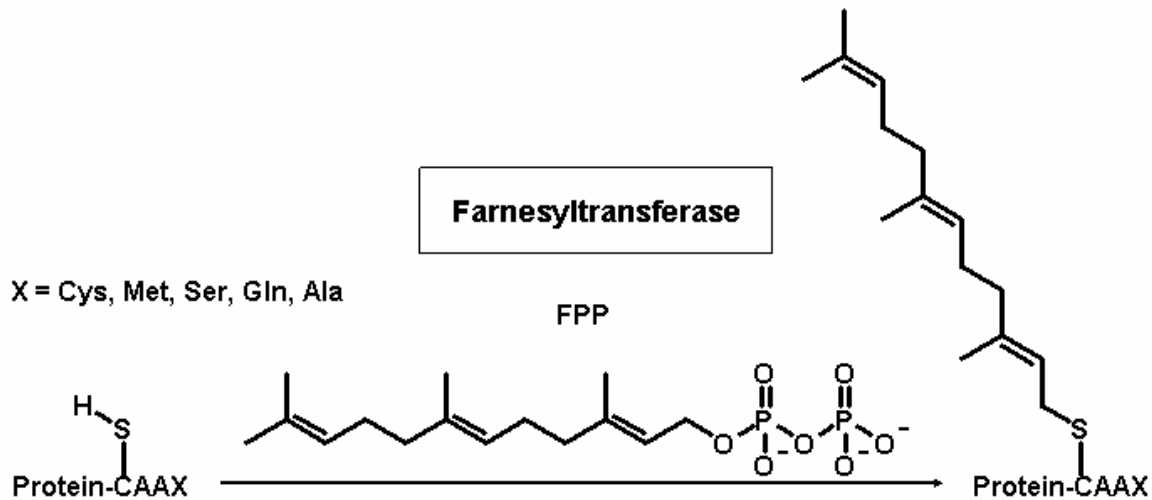
Leishmaniasis tritt in über 88 Länder der Welt auf, allerdings finden sich 90% der Fälle in Ländern wie Brasilien, Bangladesh, Indien und dem Sudan. Insgesamt geht man weltweit von 12 Millionen Erkrankungen aus, während 350 Millionen Menschen in Risikogebieten leben. Die Zahl der Neuerkrankungen wird auf 2 Millionen pro Jahr geschätzt, wobei ca. 1,5 Millionen Fälle auf kutane Leishmaniosen entfallen und ca. 500 000 Personen an viszeraler Leishmaniasis erkranken. Die Zahl der Todesfälle liegt laut der WHO bei 57 000 Personen jährlich. Von besonderer Bedeutung ist allerdings eine steigende Zahl von Leishmania / HIV – Koinfektionen weltweit. In Spanien, Italien, Frankreich und Portugal leiden ca. 9% der AIDS-Patienten unter viszeraler Leishmaniasis. [32, 34]

#### 1.4.4. Therapie

Die Therapiemöglichkeiten der Leishmaniasis sind gering, ein Impfstoff steht nicht zur Verfügung. Als Standardtherapeutika dienen fünfwertige Antimonderivate, Pentamidin oder Amphotericin B: Natrium-Stibogluconat (Pentostam<sup>®</sup>) und Megluminantimonat (Glucantime<sup>®</sup>) werden intramuskulär oder intravenös verabreicht und werden als Mittel der ersten Wahl zur Behandlung von viszeraler Leishmaniasis und einigen Formen der kutanen Leishmaniosen eingesetzt. Allerdings treten unter der Therapie oft Nebenwirkungen auf, unter anderem Myalgie, Pankreatitis, Herzrhythmusstörungen und Hepatitis. Eine alternative Therapiemöglichkeit ist Amphotericin B, das durch die Entwicklung von Resistenzen gegen die Antimonderivate an Bedeutung gewonnen hat, allerdings treten auch hier bei der Therapie Nebenwirkungen wie Kardio- und Nephrotoxizität auf. Mittlerweile sind zwar spezielle Formulierungen von Amphotericin B auf dem Markt, die diese Nebenwirkungen reduzieren, aber die Kosten der Therapie mit diesen Formulierungen machen einen breiten Einsatz in ärmeren Ländern unmöglich. Eine weitere Möglichkeit der Behandlung ist Pentamidin (Pentacarinat<sup>®</sup>), das ebenfalls zur Therapie von *T. brucei gambiense* zugelassen ist, aber auch hier können schwere Nebenwirkungen wie z.B. Nephro- und Hämotoxizität auftreten. Diese eng eingegrenzten Therapiemöglichkeiten der Leishmaniasis weisen den dringenden Bedarf nach neuen Therapeutika auf. Da die Leishmania-Parasiten eine nahe Verwandtschaft mit *T. brucei* und *T. cruzi* zeigen, könnte auch hier die Farnesyltransferase als ein möglicher Ansatzpunkt für die Entwicklung neuer Arzneistoffe gegen Leishmaniosen dienen. [23, 35]

## 2. Farnesyltransferase

Die Farnesyltransferase (FTase) zählt neben der Geranylgeranyltransferase I (GGTase I) und der Geranylgeranyltransferase II (GGTase II, Rab-Geranylgeranyltransferase) zu den Proteinprenyltransferasen, die einen Isoprenrest von Isoprenpyrophosphat auf ein Protein bzw. auf ein Peptid übertragen.



**Abb. 6:** Schema der Proteinfarnesylierung

Während die FTase einen Farnesylrest (C15-Isoprensubstrat) von Farnesylpyrophosphat (FPP) auf ein Cystein in der Nähe des C-Terminus eines Proteins überträgt (Abb. 6), katalysieren GGTase I und GGTase II die Übertragung von Geranylgeranylresten (C20-Isoprensubstrat) von Geranylgeranylpyrophosphat (GGPP) ebenfalls auf C-terminale Cysteinseitenketten. Im Fall der GGTase II werden zwei Geranylgeranylreste auf Rab-Proteine übertragen, zur Erkennung der Substrate dienen C-terminale CC-, CXC-, CCX-, CCXX-, CCXXXX- oder CXXX-Sequenzen (C = Cystein, X = variable Aminosäure). Die Substrate der FTase und der GGTase I sind dagegen durch eine C-terminale CAAX-Sequenz gekennzeichnet, wobei C für Cystein, A für eine aliphatische Aminosäure und X für Cystein, Methionin, Serin, Alanin, Glutamin oder Leucin steht. Die endständige Aminosäure entscheidet, ob es sich um ein Substrat der FTase oder GGTase I handelt: Proteine, die Cystein, Methionin, Serin, Alanin oder Glutamin als C-terminale Aminosäure aufweisen, werden farnesyliert, Proteine mit Leucin am C-Terminus werden geranylgeranyliert,

wobei die Substratspezifität nicht unbedingt zwingend festgelegt ist, da einige Proteine sowohl farnesyliert als auch geranylgeranyliert werden können. [36, 37, 38] Proteinprenyltransferasen haben eine wichtige Funktion in der posttranslationalen Modifikation von Proteinen. Die Farnesyl- und Geranylgeranylreste ermöglichen direkte Protein-Protein-Wechselwirkungen ebenso wie die Wechselwirkung von Proteinen mit Membranen, außerdem dienen sie als Ausgangspunkt für weitere Modifikationen. Die letzten drei Aminosäuren des C-Terminus, die AAX-Sequenz, werden durch eine Endoprotease abgespalten und die resultierende Carboxylgruppe des Prenylcysteinyrestes wird anschließend durch eine Methyltransferase methyliert. Es entsteht ein hydrophobes Protein mit hoher Membranaffinität, dessen C-Terminus ebenfalls für Protein-Protein-Interaktionen von Bedeutung ist. [38, 39]

Mittlerweile sind viele Substrate der Prenyltransferasen identifiziert worden. Typische Substrate, die durch FTase farnesyliert werden, sind unter anderem Ras, Rho, Rab, weitere Ras-verwandte G-Proteine, die  $\gamma$ -Untereinheit verschiedener G-Proteine, Lamin A und B, Centromer-Proteine und einige Proteine, die am Signaltransduktionsweg des Sehorgans beteiligt sind. Bei den Substraten der GGTase I handelt es sich ebenfalls um Ras-verwandte G-Proteine, RhoB (das auch farnesyliert wird) und  $\gamma$ -Untereinheiten verschiedener G-Proteine. [38, 39]

Die Aufgaben der prenylierten Proteine sind vielfältig, so ermöglicht die Prenylierung die Verankerung von Proteinen in der Zellmembran. Sie dienen außerdem dem Aufbau des Zytoskeletts und spielen eine besondere Rolle in der Signaltransduktion sowie der Regelung des Zellzyklus. Abhängig von der Art der Prenylierung variiert die Lokalisation der Proteine innerhalb der Zelle. [39]

Neben den beschriebenen physiologischen Funktionen haben die prenylierten Proteine auch in pathophysiologischen Prozessen eine Bedeutung, so z.B. bei der Entstehung von Krebs, aber auch möglicherweise bei weiteren Erkrankungen wie diabetischer Retinopathie oder Makuladegeneration. [38, 40]

Das Vorkommen der Proteinprenyltransferasen ist bis jetzt nur in Eukaryoten bekannt, allerdings sind sie hier weit verbreitet. So findet man sie neben dem menschlichen Organismus auch in anderen Wirbeltieren, Insekten, Fadenwürmern, Pflanzen, Pilzen, Protozoen und dem Hefestamm *Saccharomyces cerevisiae*. [38, 41]

## 2.1. Aufbau der Farnesyltransferase

Die Farnesyltransferase ist ein Zink-Metalloenzym, das aus zwei Untereinheiten besteht. Die 48 kDa große  $\alpha$ -Untereinheit (379 Aminosäuren) und die 46 kDa große  $\beta$ -Untereinheit (437 Aminosäuren) bilden zusammen das heterodimere Enzym, das pro Proteindimer ein Zinkatom enthält. Beide Untereinheiten sind zum größten Teil aus  $\alpha$ -Helices aufgebaut. Die Helices der  $\alpha$ -Untereinheit bilden eine halbmondförmige Struktur und umschließen damit einen Teil der  $\beta$ -Untereinheit, die wiederum eine eher kompakte kesselförmige Form annimmt (Abb. 7, Seite 21). Wasserstoffbrücken zwischen der  $\alpha$ - und der  $\beta$ -Untereinheit ermöglichen eine hohe Stabilität des Enzyms. Eine Trennung der beiden Untereinheiten ist ohne die Denaturierung des Proteins nicht möglich, parallel dazu sind nicht vereinigte Untereinheiten sehr instabil.

Das Proteinsubstrat und das FPP binden in einer Lücke zwischen der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Untereinheit des Enzyms. Eine mit einer Reihe von hydrophoben Aminosäuren ausgefüllte Spalte der  $\beta$ -Untereinheit dient dabei als Bindetasche für FPP. An der Schnittstelle dieser hydrophoben Spalte mit einem hydrophilen Spalt der  $\alpha$ -Untereinheit wird ein Zink-Ion gebunden. Ist kein Substrat gebunden, weist das Zink-Ion einen pentakoordinierten Zustand auf. Als Liganden dienen Asp 297 $\beta$  (zweifach), Cys 299 $\beta$ , His 362 $\beta$  und ein Wassermolekül. [36, 37, 42, 43, 44, 45]

Eine Aussage über den Aufbau des Enzyms ermöglichen die seit einigen Jahren existierenden Kristallstrukturen, die in der *RCSB Protein Data Base* zur Verfügung stehen. Mittlerweile existieren Strukturen des Apoenzyms (FTase ohne FPP und Peptidsubstrat), des Holoenzym (FTase und FPP, binärer Komplex) und mehrerer ternärer Komplexe (z.B. FTase mit FPP-Analogon und Peptidsubstrat) ebenso wie Kristallstrukturen der FTase mit verschiedenen Inhibitoren. Verwendet wird häufig das Enzym der Ratte (*RnFTase*), um die entsprechenden Strukturen zu erhalten, da es einfacher kristallisiert und die Kristallisation wesentlich reproduzierbarer ist als bei der humanen FTase. Ein Vergleich der Struktur der beiden Enzyme zeigt, dass zwar strukturelle Unterschiede vorliegen, diese aber nicht das aktive Zentrum des Enzyms betreffen. Alle Aminosäuren, die mit FPP, dem Peptidsubstrat und Inhibitoren interagieren, sind identisch und weisen die gleiche Konformation auf. [46, 47, 48, 49, 50]

Anhand der Kristallstruktur des Holoenzym bestätigt sich, dass FPP zwischen der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Untereinheit des Enzyms gebunden wird. Die hydrophoben Aminosäuren Trp 303 $\beta$ , Tyr 251 $\beta$ , Trp 102 $\beta$ , Tyr 205 $\beta$  und Tyr 200 $\alpha$  gehen hierbei Wechselwirkungen mit dem hydrophoben Isoprenoidrest des FPP ein, ebenso wie Arg 202 $\beta$ , das allerdings im Vergleich zum Apoenzym eine andere Konformation der Seitenkette aufweist. Das Arg 202 $\beta$  wird weiterhin durch Asp 200 $\beta$  und Met 193 $\beta$  stabilisiert, wobei Met 193 $\beta$  ebenfalls eine andere Orientierung annimmt, um sich der neuen Position des Arg 202 $\beta$  anzupassen. Cys 254 $\beta$  und Gly 250 $\beta$  tragen ebenfalls zur Bindung des Isoprenoidrestes bei. Der Pyrophosphatrest des FPP bindet in eine positiv geladene Spalte an der Berührungsfläche der beiden Untereinheiten, benachbart zum katalytischen Zink-Ion, dessen Lage im binären Komplex der des Apoenzym entspricht. His 248 $\beta$ , Arg 291 $\beta$ , Tyr 300 $\beta$  und möglicherweise auch Lys 164 $\alpha$  und Lys 294 $\beta$  bilden hierbei Wasserstoffbrücken zur Phosphatstruktur aus. [48]

Ein Vergleich der aktiven Zentren von FTase und GGTase I zeigt, dass bei beiden Proteinprenyltransferasen die prenylpyrophosphat-bindenden Aminosäureseitenketten weitgehend übereinstimmen. Der Unterschied liegt allein im Bereich der isoprenoid-bindenden Aminosäuren, während die Aminosäuren, die den Pyrophosphatrest binden, komplett identisch sind. Beide verwandten Enzyme sind in der Lage, sowohl FPP als auch GGPP zu binden, sie setzen jedoch jeweils nur ihr spezifisches Substrat um. Der Grund hierfür liegt in den unterschiedlichen Aminosäuren. Während bei der FTase am Fuß der Bindetasche für das FPP die Aminosäuren Trp 102 $\beta$  und Tyr 205 $\beta$  zu finden sind, deren Seitenketten einen eher großen Raum einnehmen, zeigt sich bei der GGTase I an der Position 48 $\beta$ , die der des Trp 102 $\beta$  in der FTase entspricht, eine eher kleine Aminosäureseitenkette. Es handelt sich je nach Spezies um Threonin, Serin, Valin oder Alanin. Ebenso wird Tyr 205 $\beta$  der FTase durch die kleinere Aminosäure Leu 99 $\beta$  bei GGTase I ersetzt. Die großen Aminosäurereste der FTase verhindern hierbei, dass GGPP weit genug in die Bindetasche hineinreicht, um mit dem freien Thiol des Peptidsubstrates zu reagieren. [48, 51, 52]

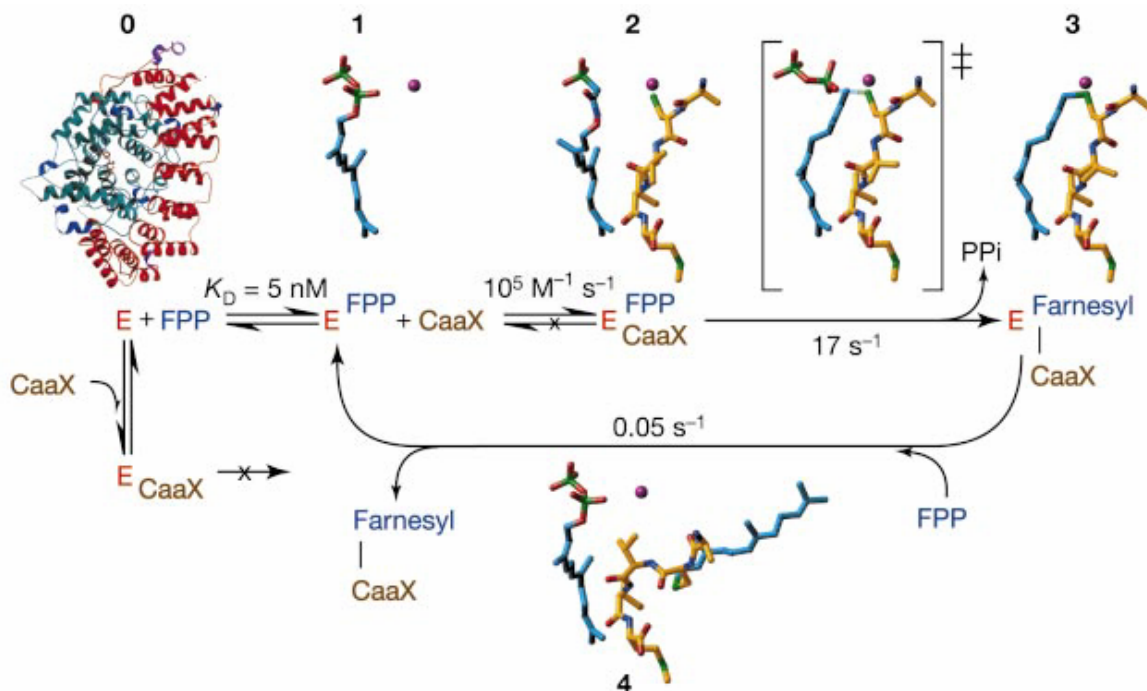




Analog der Bindung von GGPP bei der GGTase I gegenüber der Bindung von FPP bei der FTase, zeigt sich auch ein Unterschied bei der Bindung des Peptidsubstrats. Einige der gleichen strukturellen Unterschiede, die die Bindung von GGPP ermöglichen, spielen auch in diesem Fall eine Rolle. So kann die Aminosäure Leucin, die am C-Terminus des Peptidsubstrats für eine Umsetzung mit GGTase I sorgt, durch Thr 49 $\beta$  (statt Trp 102 $\beta$  bei FTase) ebenso wie durch Ala 123 $\beta$  (statt Ala 151 $\beta$  bei FTase) im aktiven Zentrum mit dem Enzym und dem Isoprenoidrest in Wechselwirkung treten. [49, 52]

## 2.2. Reaktionsmechanismus der Proteinfarnesylierung

Eine der ersten Aussagen zum Reaktionsmechanismus der Proteinfarnesylierung beruht auf kinetischen Analysen des Reaktionsablaufes. Diese Analysen zeigen, dass zuerst ein FTase-FPP-Komplex gebildet wird an den anschließend das Peptidsubstrat bindet. [37]

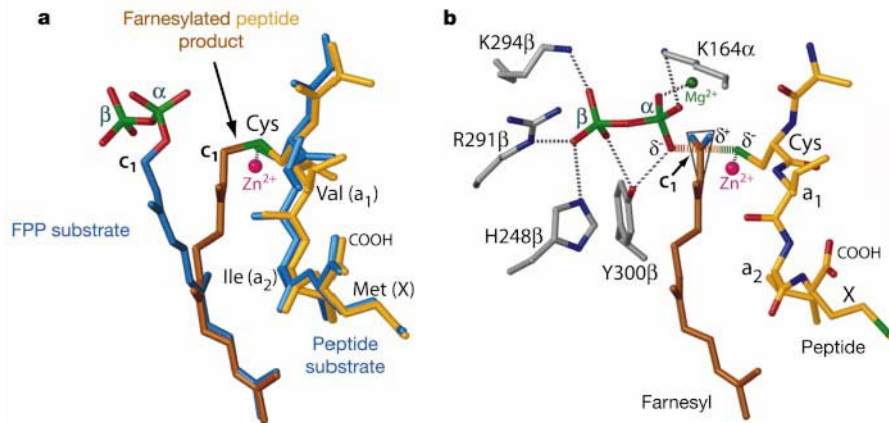


**Abb. 9: Reaktionsmechanismus der Proteinfarnesylierung**

**0:** Apoenzym: ( $\alpha$ -Untereinheit: rot,  $\beta$ -Untereinheit: blau-grün), **1:** Konformation des gebundenen FPP im aktiven Zentrum der FTase (FPP-FTase-Komplex), **2:** Peptidsubstrat (gelb) und FPP (blau) im ternären FTase-Komplex vor und während der Reaktion, **3:** farnesyliertes Produkt am Ende der Reaktion, **4:** Konformationsänderung des farnesylierten Produktes durch Bindung von neuem FPP ( $\text{Zn}^{2+}$ -Ion: magentafarbene Kugel) [36]

Mit der Aufklärung zweier neuer zusätzlicher Kristallstrukturen neben dem Apo- und dem Holoenzym wird auch die Erklärung des Reaktionsmechanismus auf atomarer Ebene möglich. Diese neuen Kristallstrukturen zeigen zum einen ein farnesyliertes Ras-Peptid im aktiven Zentrum des Enzyms und zum anderen einen Komplex, der sowohl das Reaktionsprodukt als auch zusätzliches FPP enthält. [53]

Nach der Bindung des FPP in das aktive Zentrum der FTase (**1**, Abb. 9) wird das CAAX-Peptidsubstrat gebunden. Der Thiolrest der Cysteinseitenkette interagiert dabei mit dem Zink-Ion im aktiven Zentrum und übernimmt die Position des Wassermoleküls, das neben Asp 297 $\beta$ , Cys 299 $\beta$  und His 362 $\beta$  im Holoenzym als Ligand des pentakoordinierten Zink-Ions dient (**2**, Abb. 9). Diese Koordination ändert den  $pK_S$ -Wert des Thiolschwefels von 8,1 auf 6,4 und ermöglicht die Bildung eines reaktiven Thiolat-Ions zum Angriff auf das C<sub>1</sub>-Atom des FPP. Zu diesem Zeitpunkt ist der Thiolschwefel allerdings noch 7,3 Å vom C<sub>1</sub>-Atom des Farnesylrestes entfernt (Abb. 10a). Durch Rotation der ersten beiden Isopreneneinheiten des FPP (C<sub>1</sub> – C<sub>10</sub>) in Richtung des Cysteinrestes, wird diese Distanz um 5,7 Å verkürzt. Eine weitere Rotation, diesmal der Phosphodiesterbindung des FPP, ermöglicht die Interaktion des C<sub>1</sub>-Atom mit dem Cysteinthiolat und unter Ausbildung der S-C<sub>1</sub>-Bindung wird gleichzeitig die Bindung zwischen dem C<sub>1</sub>-Atom und dem Brückensauerstoff des Pyrophosphats gelöst (Abb. 10b). Die Spaltung der Pyrophosphat-Farnesyl-Bindung wird durch Interaktion mit Tyr 300 $\beta$  erleichtert, das vermutlich die negative Ladung, die am Brückensauerstoffatom des Pyrophosphatrestes entsteht, stabilisiert. Lys 164 $\alpha$  und ein für die Katalyse notwendiges Magnesium-Ion stabilisieren weiterhin die entstehende negative Ladung am Sauerstoff des  $\alpha$ -Phosphats. Bestätigt wird dies durch Mutationen an Lys 164 $\alpha$  und Tyr 300 $\beta$ , die zu einer starken Reduktion der Enzymaktivität führen. Die Aminosäuren Arg 291 $\beta$  und Lys 294 $\beta$  spielen als Teil der Bindetasche für FPP ebenfalls eine Rolle. Arg 291 $\beta$  geht eine zweifache Wechselwirkung mit zwei weiteren Sauerstoffatomen des Pyrophosphats ein und Lys 294 $\beta$  stabilisiert das terminale Sauerstoffatom des  $\beta$ -Phosphats. Auch hier bestätigen Mutationsstudien den Effekt, auch wenn der Aktivitätsverlust der FTase bei Mutationen an diesen Positionen lange nicht so stark ist wie bei Mutationen der Positionen Lys 164 $\alpha$  und Tyr 300 $\beta$ . [53, 54, 55]



**Abb. 10a:** Vergleich der Strukturen von Substrat und Produkt im aktiven Zentrum der FTase: Konformation von FPP (dunkelblau), Peptidsubstrat (hellblau) und farnesyliertem Produkt (Isoprenrest: braun, Peptid: gelb), **b:** Modell des Übergangszustandes der Proteinfarnesylierung (Isoprenrest: braun, Peptid: gelb, Cysteinthiolat: grün, Liganden des FPP-Pyrophosphats: grau) [53]

Die Übertragung des Farnesylrestes ist allerdings nicht der letzte Schritt des Reaktionsmechanismus. Kinetische Studien haben gezeigt, dass die Freisetzung des farnesylierten Peptids aus dem Enzym nur sehr langsam erfolgt und ein zusätzliches Molekül FPP erfordert. Durch Bindung des zusätzlichen Substrates wandert die Farnesylgruppe des farnesylierten Peptids an eine neue Position, die so genannte *exit groove*. Gleichzeitig ändert sich die Konformation des Peptids von einer gestreckten Form, die während der kompletten Reaktion vorliegt, zu einer  $\beta$ -Schleife (4, Abb. 9). Die drei C-terminalen Aminosäuren des farnesylierten Peptids werden über van der Waals-Kräfte an FPP gebunden, was vermutlich die Freisetzung des Produktes beeinflusst. Aus dem Mechanismus der Produktfreisetzung lässt sich weiterhin schließen, dass das Apoenzym *in vivo* nicht am Reaktionsmechanismus beteiligt ist, da durch die Anlagerung von FPP und der folgenden Freisetzung des farnesylierten Peptids erneut der Zustand des Holoenzym vorliegt. [36, 53]

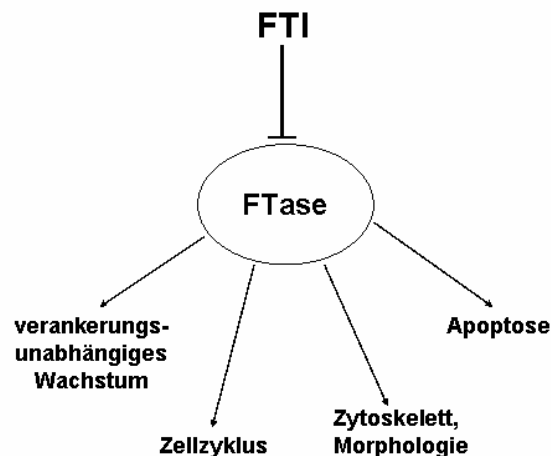
### 2.3. Effekte der Farnesyltransferase-Hemmung auf Tumorzellen

Grundlage für den Einsatz der Farnesyltransferase-Hemmung als Krebstherapie ist die Entdeckung, dass bei ca. 30% aller menschlichen Tumore mutierte Ras-Proteine vorkommen. Ras-Proteine funktionieren als molekularer Schalter in der Signaltransduktion von Zellen und beeinflussen damit Zellwachstum, Zelldifferenzierung und weitere zelluläre Ereignisse. Mutationen der Ras-Proteine

verhindern die Möglichkeit, als Schalter zu wirken, und führen zu einem konstanten Senden von Signalen.

Um ihre biologische Funktion im normalen und auch im transformierten Zustand ausüben zu können, müssen sich Ras-Proteine an der Plasmamembran befinden, wobei die Übertragung eines Farnesylrestes von FTase auf biologisch inaktive zytosolische Vorstufen von Ras-Proteinen ein essentieller Schritt ist, so dass die Hemmung der Proteinfarnesylierung einen interessanten Ansatzpunkt für die Entwicklung von Krebstherapeutika darstellt. [56]

Mittlerweile sind die Effekte der Hemmung von FTase auf Krebszellen an verschiedenen Zelllinien untersucht worden. Generell lassen sie sich in vier verschiedene Arten einteilen (Abb. 11): [57, 58]



**Abb. 11:** Effekte der FTase-Hemmung auf Tumorzellen

### 2.3.1. Hemmung des verankerungsunabhängigen Wachstums

Im Gegensatz zu normalen Zellen besitzen Tumorzellen die Fähigkeit ohne Verankerung zu wachsen, d. h. sie wachsen in Suspension ohne an der Gefäßwand zu haften. FTI sind in der Lage, dieses verankerungsunabhängige Wachstum zu unterbinden, was zuerst an H-Ras-transformierten Zellen entdeckt wurde. Auch das Wachstum von K-Ras-transformierten Zellen kann unter FTase-Hemmung unterbunden werden, es sind allerdings weit höhere Konzentration von Farnesyltransferaseinhibitoren erforderlich. Ebenso werden Zellen mit geranylgeranylierten oder myristylierten Ras-Proteinen nur bei hohen FTI-Konzentrationen gehemmt.

Die Fähigkeit von FTI das verankerungsunabhängige Wachstum zu begrenzen gilt jedoch nicht nur für Ras-transformierte Zellen, sondern auch für Zellen mit normalen Ras-Proteinen, wie eine Untersuchung an unterschiedlichen menschlichen Tumorzelllinien von Sepp-Lorenzino et al. zeigte. Zwischen dem Ansprechen der Zellen auf FTase-Hemmung und dem Ursprung der Tumorzellen konnte keine Korrelation festgestellt werden, ebenso wenig wie für den Ras-Mutationsstatus. Lediglich das Auftreten von Wildtyp p53-Proteinen war mit einer erhöhten FTI-Sensitivität der Zellen verbunden. [58]

### **2.3.2. Einfluss auf Zytoskelett und Zellmorphologie**

Veränderungen der Zellmorphologie sind bisher hauptsächlich bei H-Ras-transformierten Zellen nachgewiesen worden. Nach Behandlung mit FTI zeigen diese Zellen die Morphologie von normalen Zellen mit einer länglichen gestreckten Form im Gegensatz zur eher runden Zellform bei Tumorzellen. Gleichzeitig bilden sich intrazelluläre Aktin-Stressfasern aus. Es wird vermutet, dass die Hemmung der Farnesylierung von onkogenem H-Ras Ursache dieser Zellveränderung ist, zumal K-Ras-transformierte Zellen keinen dieser Effekte zeigen. Allerdings macht die Verwendung von unterschiedlichen Zelllinien und unterschiedlichen FTI die genauere Untersuchung schwierig. [58]

### **2.3.3. Einfluss auf den Zellzyklus**

Tumorzellen zeigen im Gegensatz zu normalen Zellen eine gesteigerte Zellteilungsrate, die völlig unabhängig von äußeren Reizen ist, außerdem sterben Krebszellen nicht wie normale Zellen nach einer bestimmten Anzahl von Zellteilungen ab.

Unter dem Einfluss von Farnesyltransferaseinhibitoren kommt es zu Veränderungen des Zellzyklus. Abhängig von der untersuchten Zelllinie führt die Hemmung der FTase zu einer Anreicherung von Zellen, die sich in der  $G_0/G_1$ -Phase oder in der  $G_2/M$ -Phase der Zellteilung befinden. Der Anstieg von Zellen in der  $G_0/G_1$ -Phase ist gekoppelt mit einer Abnahme von Zellen in der S-Phase des Zellzyklus. Weiterhin zeigen einige Zelllinien das komplette Ausbleiben von Veränderungen des Zellzyklus. [57, 58]

Ein möglicher Mechanismus der G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>-Anreicherung ist die Hypophosphorylierung des Retinoblastomproteins (pRb), ein Schlüsselprotein für den Übergang in die S-Phase des Zellzyklus, ebenso wurde ein Anstieg von p21<sup>Waf1/Cip1</sup> beobachtet, ein weiteres Protein, das für die Regulierung des Zellzyklus von Bedeutung ist. [59]

Insbesondere die Akkumulation von Zellen in der G<sub>2</sub>/M-Phase ist interessant. Im normalen Zellzyklus beginnt die M-Phase mit der Prophase, in der die Kernhülle zerfällt, die DNA kondensiert und Spindelfasern beginnen, sich zu organisieren. Es folgen die Metaphase mit der äquatorialen Ausrichtung der Chromosomen und die Anaphase mit dem Beginn der Wanderung von Chromosomen zu den Zellpolen. Zellen, die mit FTI behandelt worden sind, bleiben in der Mitosephase. Die Chromosomen bilden dabei eine rosettenförmige Struktur aus, während die Mikrotubuli radial von der Mitte ausgehen. Eine Kombination von FTI mit Stoffen, die Mikrotubuli angreifen, zeigt synergistische Effekte. Ein möglicher Angriffspunkt sind die centromer-assoziierten Proteine CENP-E und CENP-F, die für den Verlauf der M-Phase des Zellzyklus von Bedeutung sind. [58, 60, 61]

#### **2.3.4. Apoptoseinduktion**

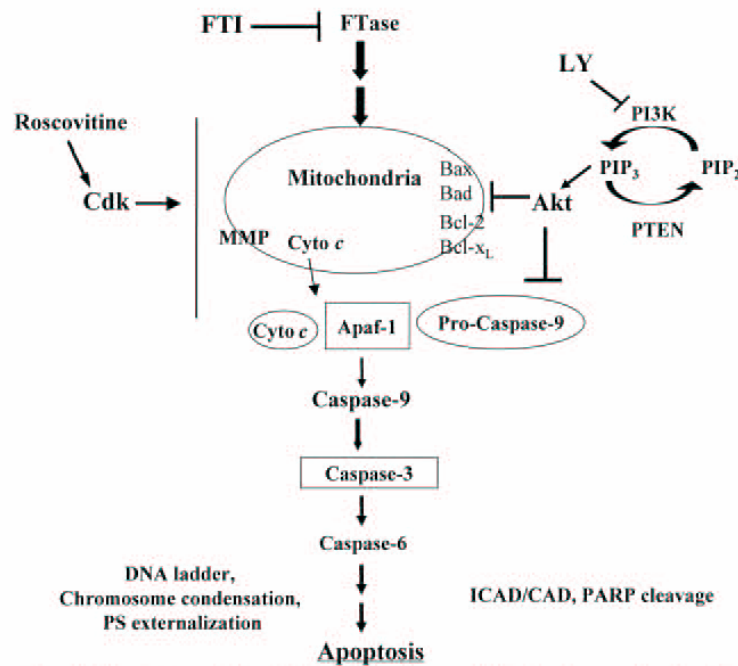
Viele Zelllinien zeigen unter der Behandlung mit Farnesyltransferaseinhibitoren Apoptose, die durch charakteristische Merkmale gekennzeichnet ist: Auftreten apoptotischer Zellmorphologie, DNA-Fragmentierung und Chromatinkondensation. Besonders wichtig ist, dass nur onkogen-transformierte Zellen und Tumorzellen aber keine normalen Zellen von diesem Phänomen betroffen sind.

Möglicherweise ist das Auftreten von Apoptose einer der Gründe, warum in präklinischen Studien eine Tumorregression nachgewiesen werden konnte und nicht nur eine Verhinderung des weiteren Tumorwachstums. Allerdings zeigt sich Tumorregression auch bei Zellen, die unter der Behandlung keine Apoptose aufweisen. [58, 60]

Die Behandlung von 30 verschiedenen Krebszelllinien mit FTI führte bei mehr als 50% zur Apoptose. Unter anderem zeigten auch Tumorzellen mit mutiertem p53-Protein und untransformiertem Ras Apoptose, so dass die FTI-induzierte Apoptose p53-unabhängig ist. [58]

Vermutlich wird die FTI-induzierte Apoptose durch die Caspase-Kaskade reguliert. Analysen des Apoptose-Weges haben gezeigt, dass die Freisetzung von Cytochrom C aus den Mitochondrien der auslösende Faktor ist, möglicherweise über

Proteine der Bcl-2-Familie oder eine Änderung des Membranpotentials der Mitochondrien, in Leukämiezellen z.B. ausgelöst durch eine erhöhte Stickoxid (NO) Produktion in der Zelle. Durch die Cytochrom C-Freisetzung werden Apaf-1 und Caspase 9 aktiviert, die wiederum Caspase 3 aktivieren. Caspase 3 ist ein wichtiger Regulator der FTI-induzierten Apoptose, sie führt zur Aktivierung von Caspase 6 und anderen wichtigen Effektoren, die an der apoptotischen Veränderung von Zellen beteiligt sind (Abb. 12). [58, 62, 63]



**Abb. 12:** Schema für die Apoptoseinduktion durch Farnesyltransferaseinhibitoren [58]

Hinzuzufügen ist allerdings, dass die induzierte Apoptose durch FTI nur dann effektiv stattfindet, wenn die Zellen niedrigen Serumkonzentrationen ausgesetzt sind oder die Verbindung mit extrazellulären Substraten verhindert wird. Unter normalen Wachstumsbedingungen wird die Apoptoseinduktion verdeckt, was zu der Annahme führt, dass es einen Überlebensweg für Zellen gibt, um Apoptose zu umgehen. Ein möglicher Überlebensmechanismus ist die Aktivierung des Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3-Kinase)/Akt-Signalweges, der das Überleben von transformierten Zellen ermöglicht, aber keinen Einfluss auf normale Zellen hat. Der Einsatz von FTI in Kombination mit Hemmstoffen dieses Signalwegs verstärkt die Apoptoseinduktion und die Einführung von aktivem Akt in H-Ras-transformierte Rattenzellen verhindert die FTI-induzierte Apoptose. Im Gegensatz dazu wird jedoch von Jiang et al.

publiziert, dass FTI den PI3-Kinase/Akt-Signalweg direkt hemmen und Apoptose auch unter hohen Serumkonzentrationen und Anhaftung an ein Substrat stattfindet [64]. Allerdings beschränkt sich die Studie auf einen einzigen Farnesyltransferaseinhibitor (FTI-277) und die Ergebnisse gelten nur für bestimmte Zelllinien. [58, 65]

Doch nicht nur die Caspase-Kaskade stellt eine mögliche Ursache für die Apoptoseinduktion dar. DuHadaway et. al haben herausgefunden, dass die FTI-Apoptoseinduktion das Tumorsupressorgen Bin1 benötigt. Das Fehlen von Bin1 gefährdet die Aktivität von FTI *in vivo*. [66] Weiterhin zeigt eine Studie von Kamasini et al., dass die Hemmung von Cyclin B1 durch FTI eine Voraussetzung für die Apoptose von transformierten Zellen ist. Eine Überexpression von Cyclin B1 ist in der Lage, FTI-induzierte Apoptose zu unterbinden. [67]

Möglicherweise sollte man in Betracht ziehen, dass ähnlich wie beim Einfluss von FTI auf den Zellzyklus unterschiedliche Zelllinien verschiedene Möglichkeiten der Apoptoseinduktion aufweisen.

Die Effekte von Farnesyltransferaseinhibitoren auf Krebszellen sind schon lange bekannt, unklar ist allerdings in vielen Fällen noch der genaue Mechanismus, der diese Effekte verursacht. Im Laufe der Zeit sind mehr und mehr farnesylierte Proteine identifiziert worden und werden evtl. noch identifiziert werden. Ob tatsächlich die Hemmung der Farnesylierung eines einzelnen Proteins oder die einer Kombination von Proteinen für die Effekte der FTI verantwortlich ist, ist zurzeit noch nicht komplett aufgeklärt.

#### **2.4. Farnesylierte Proteine als Zielstrukturen der Farnesyltransferaseinhibitoren**

Die Funktion farnesylierter Proteine in der menschlichen Zelle erlaubt Diskussionen über die Bedeutung der FTase für den menschlichen Organismus ebenso wie Überlegungen, welche dieser Proteine am Wirkmechanismus der FTI beteiligt sein könnten. Da die Substraterkennung der FTase durch die C-terminale CAAX-Sequenz ermöglicht wird, können potentiell farnesylierte Proteine über diese Endsequenz ausfindig gemacht werden, entweder durch direkte Testung der Fähigkeit als Substrate der FTase zu dienen oder auch durch die Suche in Datenbanken.



Tabelle 1 zeigt bisher charakterisierte farnesylierte Proteine in Säugetierzellen mit ihrer CAAX-Sequenz und ihren zurzeit bekannten Funktionen. [57, 58, 68]

**Tab. 1:** Farnesylierte Proteine in Säugetieren mit CAAX-Endsequenz und Funktion [57]

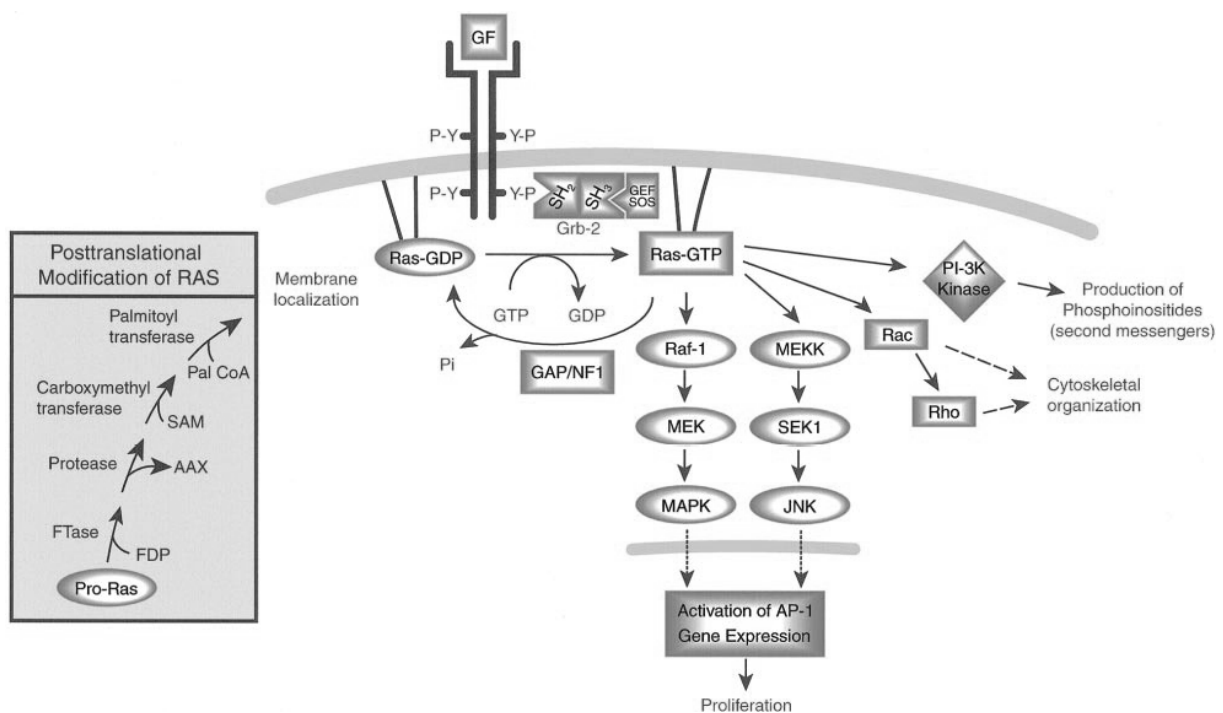
<b>Farnesylierte Proteine in Säugetierzellen</b>		
Protein	C-Terminus	Funktion
H-Ras	CVLS	Proliferation, Differenzierung
K-Ras4A	CIIM	Proliferation, Differenzierung
K-Ras4B	CVIM	Proliferation, Differenzierung
N-Ras	CVVM	Proliferation, Differenzierung
RheB	CSVM	vermutlich Zellzyklus (G1/S)
Rap2A	CNIQ	
RhoB	CKVL	Endozytose, Transkriptionsregelung, Apoptose
RhoD	CVVT	Zytoskelett und Endozytose
Rho6/Rnd1	CSIM	Zytoskelett und Adhäsion
Rho7/Rnd2	CNLM	Zytoskelett
RhoE/Rho8/Rnd3	CTVM	Zytoskelett und Adhäsion
TC10	CLIT	Zytoskelett und Transformation
CENP-E	CKTQ	Zellzyklus (M), Centromer-Bindung
CENP-F	CKVQ	Centromerprotein (G <sub>2</sub> /M)
PTPCAAX1/hPRL1	CCIQ	
PTPCAAX2/hPRL2/OV-1	CCVQ	
hPRL3	CCVM	Tyrosinphosphatase
InsP <sub>3</sub> 5phosph.I	CVVQ	
InsP <sub>3</sub> 5phosph.IV	CSVS	Inositol-Signalweg
HDJ2	CQTS	Chaperon
Lamin A	CSIM	Zellkernlamina
Lamin B	CAIM	Zellkernlamina

### 2.4.1. Ras

Im menschlichen Organismus sind vier verschiedene Ras-Proteine bekannt: H-Ras, N-Ras, K-Ras4A und K-Ras4B. Sie sind wichtige Bestandteile der

Signaltransduktionskaskade und vermitteln proliferative und andere Signale von Rezeptor-Tyrosin-Kinasen auf unterschiedliche Effektoren, die wiederum verschiedene Prozesse in der Zelle regulieren, unter anderem Wachstum, Differenzierung, Apoptose, Organisation des Zytoskeletts und Kommunikation zwischen Zellen und Zellkompartimenten. Ihre Funktion ist die eines molekularen Schalters.

Ras-Proteine zählen zur Gruppe der G-Proteine, deren Aktivität durch die Bindung von GDP und GTP bestimmt wird. Befinden sich die Ras-Proteine im Ruhezustand, sind sie an GDP gebunden. Wird die Signalkaskade aktiviert, z.B. durch Bindung von Wachstumsfaktoren an ihre Liganden in der Zellmembran, dissoziiert das GDP und wird durch GTP ersetzt. Katalysiert wird der Austausch des GDP durch so genannte *Guanin Nucleotide Exchange Factors* (GEFs). Die aktivierte an GTP gebundene Form des Ras-Proteins kann nun verschiedene nachgeschaltete Proteine aktivieren (Abb. 13). Um die Signalkaskade zu beenden, müssen die Ras-Proteine wieder in ihren GDP-gebundenen inaktiven Zustand zurückkehren. Ras selbst weist eine geringe GTPase-Aktivität auf, die durch GTPase-aktivierende Proteine (GAPs) unterstützt wird. Diese Kombination von GTPase-Aktivität mit den GTPase-aktivierenden Proteinen führt zur Hydrolyse von GTP und Bindung von GDP, so dass der inaktive Ausgangszustand wiederhergestellt wird. [56, 69, 70]



**Abb. 13:** Darstellung des Ras-Signaltransduktionsweges [70]

Die Lebensdauer eines von Ras weitergeleiteten Signals wird somit durch die Zeit bestimmt, die die Ras-Proteine in ihrer GTP-gebundenen aktiven Form vorliegen. Mutierten Ras-Proteinen fehlt die Möglichkeit GTP zu hydrolysieren und sie verbleiben in ihrer aktiven Form, mit der Konsequenz, dass es zu einer unkontrollierten Signalweiterleitung und daraus resultierendem unkontrollierten Wachstum kommt. Ursache des Verlustes der GTPase-Aktivität sind Punktmutationen an den Positionen 12, 13 und 61 des Ras-Proteins, die die entscheidende Wechselwirkung mit den GTPase-aktivierenden Proteinen verhindern. Bei ungefähr 30% aller menschlichen Krebszelllinien können diese Mutationen nachgewiesen werden, wobei die Mutation an Position 12 am häufigsten auftritt. Auch die verschiedenen Ras-Arten sind unterschiedlich stark von den Mutationen betroffen, wobei K-Ras am häufigsten mutiert ist, gefolgt von N-Ras und H-Ras. [56, 69, 70, 71]

Aufgrund dieses hohen Mutationsstatus von Ras stellt die Unterbrechung des Ras-Signaltransduktionsweges eine gute Möglichkeit der Krebstherapie dar. [72]

Um ihre Funktion innerhalb der Signalkaskade überhaupt ausüben zu können, müssen die Ras-Proteine in der Zellmembran verankert sein. Dies geschieht über verschiedene posttranslationale Modifikationen der Ras-Proteine, die im Zytoplasma als inaktive Vorstufen vorliegen (Pro-Ras). Der erste entscheidende Schritt dieser posttranslationalen Modifikation ist die Proteinfarnesylierung, also die Übertragung von einem Farnesylrest durch FTase auf das Ras-Protein (Abb. 13). Alle Ras-Proteine weisen die für die Farnesylierung charakteristische CAAX-Endsequenz auf und obwohl diese Endsequenz sehr spezifisch ist, können N-Ras und K-Ras4B auch durch die GGTase I umgesetzt werden. Die Hemmung der FTase führt somit nicht zu einer vollständigen Hemmung der Proteinprenylierung. Es liegt dennoch der Versuch nahe, die Prenylierung von H-Ras zu hemmen. [39, 70, 71]

Tatsächlich bestätigen klinische Studien, dass die Funktion von H-Ras durch den Einsatz von Farnesyltransferaseinhibitoren blockiert wird, allerdings zeigt sich ebenfalls, dass es sich bei der Hemmung der Proteinfarnesylierung von Ras-Proteinen nicht um die einzige oder hauptsächliche Zielstruktur von FTI handelt. Obwohl N-Ras und K-Ras4B bei Hemmung der Proteinfarnesylierung als Substrate der GGTase I dienen und damit dem Einsatz von FTI entkommen, zeigen sie die typischen Effekte des Einsatzes von FTI. Gleichzeitig reagieren viele verschiedene Krebszelllinien, die keine mutierten Ras-Proteine aufweisen, ebenfalls auf Hemmung

der FTase, ebenso wie Zelllinien, die myristylierte Ras-Proteine enthalten und damit nicht auf die Proteinprenylierung angewiesen sind.

Die Entdeckung, dass H-Ras-transformierte Zellen bereits 24 Stunden nach der Behandlung mit FTI eine komplette Reversion aufweisen, bestätigt ebenfalls, dass Ras nicht die einzige Zielstruktur der Therapie sein kann, da in der Membran verankerte Ras-Proteine eine ungefähre Halbwertszeit von 24 Stunden aufweisen. Zu diesem Zeitpunkt sind also noch mindestens 50% der Ras-Proteine in der Lage die extrazellulären Reize in der Signalkaskade zu verarbeiten. [73, 74, 75]

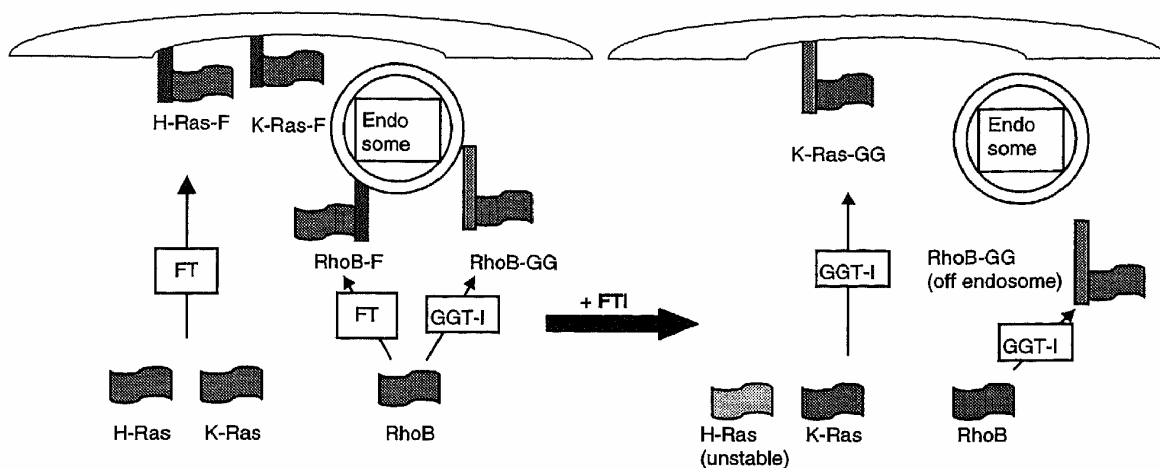
#### **2.4.2. Rho**

Rho-Proteine sind nahe Verwandte der Ras-Proteine, sie zählen ebenfalls zu den G-Proteinen und werden durch GTP aktiviert. Zurzeit sind 13 verschiedene humane Rho-Proteine bekannt, die in 8 Unterfamilien eingeteilt werden: Rho (3 Isoformen: RhoA, RhoB und RhoC), Rac (3 Isoformen: Rac1, Rac2 und Rac3), CDC24Hs/G25K (2 Isoformen), RhoE/Rnd3 (3 Isoformen: RhoE/Rnd3, Rnd1/Rho6 und Rnd2/Rho7), RhoG, RhoD, RhoH/TTF und TC10. Diese Rho-Proteine sind an der Regelung vieler verschiedener zellulärer Prozesse beteiligt, unter anderem an Veränderungen der Zellmorphologie (z.B. Bildung von Stressfasern), der Signaltransduktion (z.B. Aktivierung der Genexpression) und der Regulierung des Zellzyklus (z.B. G<sub>1</sub>-Progression im Zellzyklus, Initiierung der DNA-Synthese). [76]

Nachdem sich gezeigt hat, dass Ras nicht die einzige Zielstruktur der FTase-Hemmung sein kann, rückt das Rho-Protein RhoB in die Rolle eines potentiellen Targets. Interessanterweise besitzt RhoB mit der CAAX-Sequenz CKVL die Möglichkeit bei der posttranslationalen Modifikation sowohl farnesyliert als auch geranylgeranyliert zu werden, obwohl die Endsequenz CKVL eigentlich auf ein Substrat der GGTase I hinweist. Ähnlich wie K-Ras und im Gegensatz zu H-Ras, das unter Hemmung der FTase einen völligen Verlust der Funktion aufweist, zeigt sich daher bei RhoB unter dem Einsatz von FTI kein Funktionsverlust. Es kommt sogar zu völlig neuen Funktionen wie der Bildung von Aktin-Stressfasern, Wachstumshemmung und Apoptose. [40, 73, 77, 78]

Einen möglichen Erklärungsansatz liefert die so genannte RhoB-Hypothese von Prendergast et al. nach der der Einsatz von FTI zu einer Abnahme von farnesyliertem RhoB (RhoB-F) und gleichzeitiger Zunahme von geranylgeranyliertem RhoB (RhoB-GG) führt und dieser Anstieg von RhoB-GG unter anderem zur

Apoptose führt. Unterstützt wird die Erhöhung von RhoB-GG in der Zelle vermutlich auch durch die Tatsache, dass die Autoregulation des RhoB-Gens zu einer vermehrten Transkription von RhoB führt. Zusammen mit der Verschiebung der Proteinprenylierung kommt es zu einer Veränderung der Lokalisation von RhoB (Abb. 14), das sich normalerweise als RhoB-F und RhoB-GG an den Endosomen der Zelle findet. [40, 75, 77, 79]



**Abb. 14:** Einfluss von FTI auf H-Ras, K-Ras und RhoB [40]

Als Unterstützung für die Annahme, dass RhoB die Zielstruktur der FTase-Hemmung ist, dient die Tatsache, dass RhoB im Gegensatz zu anderen G-Proteinen eine sehr kurze Halbwertszeit von etwa 2 Stunden aufweist. So kann RhoB-F schon innerhalb kurzer Zeit unter dem Einsatz von FTI aus den Zellen verschwinden, auf jeden Fall innerhalb des 24-Stunden-Zeitraums in dem FTI eine Reversion von Tumorzellen verursachen. Weiterhin zeigen Zellen, die myristyliertes RhoB enthalten, Resistenz gegenüber FTI, ebenso wie Zellen, die keinerlei RhoB enthalten. Wird nur RhoB-GG in transformierten Zellen exprimiert, zeigen sich Veränderung der Zellmorphologie, Bildung von Aktin-Stressfasern und Wachstumshemmung, allerdings keine Apoptose. Allerdings ist RhoB für die Apoptose von großer Bedeutung, denn Zellen, die kein RhoB enthalten, begehen unter FTI auch keine Apoptose. Möglicherweise ist RhoB daher ähnlich wie Ras nicht die einzige Zielstruktur der FTI. [73, 79, 80, 81, 82]

### 2.4.3. Rheb

Wie bei den Rho-Proteinen handelt es sich bei Rheb ebenfalls um ein G-Protein, das eng mit Ras verwandt ist. Es kommt im menschlichen Organismus ubiquitär vor. Interessanterweise ist Rheb in transformierten Zellen stark erhöht, was auf eine Funktion bei der Zellproliferation oder auch der Transformation hinweist. [83]

Rheb-Homologe sind in vielen verschiedenen Organismen identifiziert worden, wobei sich herausstellt, dass humanes Rheb die Funktion von Rheb in *Schizosaccharomyces pombe* ersetzen kann, was auf eine starke Konservierung der Funktion hindeutet. Mittlerweile ist nachgewiesen, dass Rheb in *S. pombe*, *Saccharomyces cerevisiae* und im menschlichen Körper farnesyliert wird, die Farnesylierung dient wie bei Ras der Verankerung in der Zellmembran. Die Hauptfunktionen von Rheb scheinen in der Beteiligung am Zellwachstum und der Regulierung des Zellzyklus zu liegen, insbesondere beim Übergang von der G<sub>1</sub>-Phase in die S-Phase, vermutlich über eine Beteiligung am Insulin/TOR/S6K-Signalweg. [84]

Auswirkungen der Hemmung der Proteinfarnesylierung von Rheb sind am Beispiel von *S. pombe* untersucht worden. Es hat sich dabei herausgestellt, dass die Farnesylierung ein wichtiger Schritt für die Funktion von Rheb ist, insbesondere bei der Regulierung des Zellzyklus. Wird Rheb nicht farnesyliert, verbleiben die Zellen in der G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>-Phase des Zellzyklus. Diese Unterbrechung des Zellzyklus ist einer der Effekte von FTI und macht daher Rheb zu einer möglichen Zielstruktur. Allerdings sind hier noch genauere Untersuchungen erforderlich. [85]

### 2.4.4. CENP-E und CENP-F

Auf der Suche nach weiteren möglichen Targets für FTI wurden bei einer Datenbanksuche CENP-E und CENP-F identifiziert. Trotz der ungewöhnlichen CAAX-Endsequenzen von CKTQ für CENP-E und CKVQ für CENP-F konnte ihre Farnesylierung mit radioaktiv markierter Mevalonsäure nachgewiesen werden. Ihre Funktion liegt hauptsächlich in der Regulation des Zellzyklus und hier insbesondere bei der Regulation der Mitose. [86]

Der Einsatz von FTI blockiert die Farnesylierung sowohl von CENP-E als auch von CENP-F. CENP-E ist ein centromer-assoziiertes Kinesin-Motor, der vermutlich am Aufbau der Verbindung zwischen Kinetochor und Mikrotubuli beteiligt ist und für die

normale Trennung der Chromatiden während der Mitose verantwortlich ist. Die Beobachtung, dass sich unter Behandlung mit FTI nur wenige Zellen in der späten Phase der Mitose befinden, ist möglicherweise die Folge einer Disregulation von der Kinetochor-Mikrotubuli-Verbindung durch fehlendes farnesyliertes CENP-E. CENP-F ist eines der ersten Proteine, das sich an die Kinetochore anlagert, wenn der Aufbau der Centromere beginnt. Die Hemmung der FTase verhindert diese Anlagerung und führt zu einer Verzögerung des Zellzyklus mit dem Verbleiben der Zellen in der G<sub>2</sub>/M-Phase. Möglicherweise sind also CENP-E und CENP-F die Auslöser für die Beeinflussung des Zellzyklus unter FTI-Gabe. [87, 88]

#### **2.4.5. Problematik der Zielstrukturen**

Die möglichen Zielstrukturen der FTI sind vielfältig aber leider wenig eindeutig. Ras, RhoB, CENP-E und CENP-F sind die zurzeit am besten diskutierten Zielstrukturen, aber auch hier sind keine unmissverständlichen Aussagen möglich. Neben diesen Proteinen wird auch die Möglichkeit in Erwägung gezogen, dass Farnesyltransferaseinhibitoren den MAPK-Signalweg beeinflussen, aber auch hier korreliert die Hemmung des Signalwegs nicht mit der Empfindlichkeit gegenüber FTI. Als Ursachen für die Unklarheiten kommen verschiedene Punkte in Frage, so werden z.B. unterschiedliche Zelllinien und auch unterschiedliche experimentelle Bedingungen bei Untersuchungen verwendet. Die Betrachtung von überexprimierten Proteinen in Zellen kann ebenfalls zu falschen Schlüssen führen: Hier werden evtl. Funktionen vorgegeben, die mit physiologischen Konzentrationen niemals erreicht werden können. Werden dominant-negative Mutanten als Kontrollen verwendet besteht auch hier die Möglichkeit eine falsche Aussage zu treffen, denn vielleicht ist das mutierte Protein eigentlich gar nicht an der Reaktion beteiligt. [89, 90]

#### **2.5. Farnesyltransferaseinhibitoren**

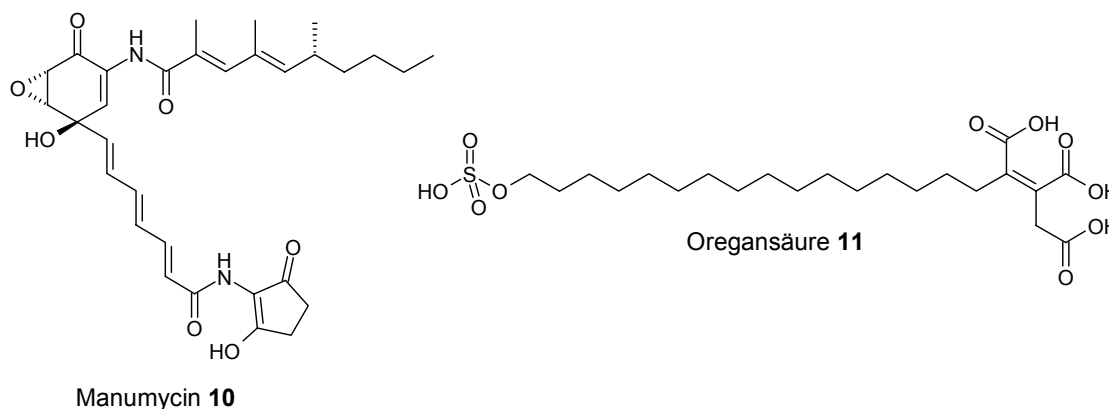
Seit der Feststellung, dass viele humane Tumorzelllinien mutierte Ras-Proteine enthalten, die in der posttranslationalen Modifikation auf die Übertragung eines Farnesylrestes angewiesen sind, sind zahlreiche FTI entdeckt und entwickelt worden. Die Ansatzpunkte für diese Entwicklung sind jedoch völlig unterschiedlich. Zum einen besteht die Möglichkeit mittels Screening aus Naturstoffbibliotheken oder sonstigen Substanzbibliotheken potente Hemmstoffen der FTase zu erhalten, zum

anderen bietet strukturbasiertes Design verschiedene Ansatzpunkte: Es besteht die Möglichkeit Farnesylpyrophosphat-Analoga zu entwickeln, Mimetika der C-terminalen CAAX-Sequenz oder auch Bissubstratanaloga, die eine Kombination von FPP-Analogen und CAAX-Mimetikum in einem Wirkstoff vereinen. Ziel beider Ansatzpunkte ist die Entwicklung von FTI, die in der Lage sind in menschliche Zellen einzudringen und ausreichende Absorption, Verteilung im Gewebe, Metabolismus und Elimination zeigen. [71, 91]

Die Identifizierung von FTI beginnt mit dem *in vitro*-Screening am isolierten Enzym. Nachdem dort eine entsprechende Wirksamkeit nachgewiesen worden ist, wird im nächsten Schritt die Fähigkeit des Inhibitors getestet, die Proteinprenylierung in Zellen zu blockieren. Eine weitere Evaluierung des Potentials erfolgt dann in kultivierten humanen Tumorzellen. [71]

### 2.5.1. Naturstoffe als Inhibitoren der Farnesyltransferase

Das Screening von isolierten Naturstoffen aus Mikroorganismen und Pflanzen führte zu einer Reihe von potentiellen Farnesyltransferaseinhibitoren. Sie sind zwar meist nicht so stark wirksam wie einige der synthetischen FTI, allerdings besteht die Möglichkeit, dass sie als neue Grundstrukturen für die Entwicklung von FTI dienen können. Einer der ersten Inhibitoren, die so entdeckt wurden, ist das Manumycin **10** ( $IC_{50} = 5 \mu M$ ) (Abb. 15). Es gehört zu einer Familie von Antibiotika die aus einer Streptomyces-Kultur isoliert worden sind. Der Wirkmechanismus des Manumycins ist nicht bekannt. Andere Naturstoffe wie Oregansäure **11** ( $IC_{50} = 14 nM$ ), der zurzeit potenteste natürliche Farnesyltransferaseinhibitor, wirken als Farnesylpyrophosphat-Analoga. [71, 92]



**Abb. 15:** Beispiele für natürliche FTI



### **2.5.2. Farnesylpyrophosphat-Analoga**

Die Entwicklung von FPP-Analoga ist in vieler Hinsicht nicht ganz unproblematisch. Um die Struktur des FPP nachzuahmen, müssen die Inhibitoren eine starke negative Ladung aufweisen, was dazu führt, dass die Verbindungen nur schlecht membrangängig sind und die gewünschte Wirkung kaum erreichen. Weiterhin wird FPP von mehreren Enzymen im Zellstoffwechsel benutzt, so z.B. auch in der Cholesterolsynthese. Das Risiko von Nebenwirkungen steigt dadurch stark an. Trotzdem wurden einige FTI entwickelt, die die Funktion des FPP nachahmen. Diese lassen sich in 2 Kategorien einteilen: Substanzen mit Variationen des Pyrophosphatrestes und FTI, die keine Isoprenoid-Grundstruktur aufweisen. [71]

### **2.5.3. Bisubstratanaloga**

Bisubstratanaloga haben das Ziel sowohl die strukturellen Eigenschaften des FPP als auch die des Peptidsubstrats in einem Molekül zu vereinen. Voraussetzung hierfür ist ein relativ großes Molekül mit einem Molekulargewicht von mehr als 800 g/mol. Weiterhin ist die Bindetasche für das FPP reich an kationischen Aminosäureresten, die bevorzugt anionische Liganden binden, so dass die meisten Bisubstratanaloga eine negative Ladung aufweisen. Sehr große und auch geladene Moleküle werden aber nur schlecht in Zellen aufgenommen, da ihre Membranpermeabilität äußerst gering ist. Aus diesem Grund wurde die Entwicklung von Bisubstratanaloga zum größten Teil aufgegeben. [93]

### **2.5.4. CAAX-Peptidomimetika**

Die Erkenntnis, dass die C-terminale CAAX-Sequenz die grundlegende Zielstruktur für die Proteinfarnesylierung durch die FTase ist, hat zum Design vieler CAAX-Peptide als Farnesyltransferaseinhibitoren geführt. Obwohl diese Peptide eine gute Hemmung der FTase aufgewiesen haben, führt ihre chemische Struktur doch zu Problemen bei einem Einsatz als Arzneistoff. Der C-terminale Rest der CAAX-Peptide weist eine negative Ladung auf, die die Aufnahme in Zellen nahezu unmöglich macht. Versuche, diese negative Funktion durch Schutzgruppen zu maskieren, können durch verschiedene proteolytische Enzyme im Zellplasma umgangen werden. Daher konzentriert sich die Suche nach Wirkstoffen hauptsächlich auf die Nachahmung der CAAX-Peptidstruktur. Tatsächlich hat dieser



Beschwerden. Die hauptsächlichen Einsatzgebiete in der klinischen Testung sind solide Tumore und Leukämien.

SCH-66336 **13** ist der erste Farnesyltransferaseinhibitor überhaupt, der in die klinische Testung gelangt ist. Wie bei R115777 **12** handelt es sich um einen oral wirksamen Farnesyltransferaseinhibitor, der als kompetitiver Inhibitor um die Bindestelle des Peptidsubstrats konkurriert. Dosislimitierende Nebenwirkungen treten ab einer kontinuierlichen Gabe von mehr als 300 mg der Substanz auf, es zeigt sich ein ähnliches Spektrum an Nebenwirkungen wie bei R115777 **12**. Einsatzgebiet des Wirkstoffs sind hauptsächlich solide Tumore.

BMS-214662 **14** befindet sich noch in der Phase I der klinischen Testung. Die Verbindung ist ebenfalls ein kompetitiver Inhibitor des Peptidsubstrats und wird parenteral oder auch oral verabreicht. Problematisch ist allerdings das Auftreten schwerer gastrointestinaler Nebenwirkungen und eine hohe Hepatotoxizität bei der oralen Verabreichung. Im Gegensatz zu den anderen beiden FTI weist BMS-214662 **14** eine eher zytotoxische als zytostatische Wirkung auf, tatsächlich scheint die Substanz in der Lage zu sein, Apoptose zu induzieren und zwar unabhängig von der Serumkonzentration. Eine genaue Therapiedosis steht noch nicht fest. Die bis jetzt beobachteten Nebenwirkungen scheinen hauptsächlich auf gastrointestinale Effekte hinzudeuten. Obwohl die Verbindung bis jetzt die beste Substanz in der klinischen Testung zu sein scheint, bleibt abzuwarten, ob Phase II-Studien dies bestätigen. [90, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100]

## **2.7. Resistenz gegenüber Farnesyltransferaseinhibitoren**

Bei den meisten zur Tumorthherapie eingesetzten Chemotherapeutika kommt es im Laufe des Einsatzes zur Ausbildung von Resistenzen. Auch bei der Anwendung von FTI besteht diese Möglichkeit. So existiert eine mutierte humane Form der Farnesyltransferase (Y361L), bei der eine Veränderung an Position 361 der  $\beta$ -Untereinheit zu einer erhöhten Resistenz gegenüber Farnesyltransferaseinhibitoren führt. Eine weitere Möglichkeit der Resistenzentwicklung ist die Anpassung von Zellen an FTI. Bisher wurde nur bei intakten Zellen einer einzelnen Zelllinie, nicht aber bei deren Zelllysaten eine solche Anpassung entdeckt. Eine mögliche Ursache für die Resistenz könnte daher eine geringere Aufnahme von FTI in die entsprechende Zelllinie sein. Einen anderen Resistenzmechanismus liefert die

Aktivierung des PI3-Kinase/Akt-Signalwegs, der anscheinend die Möglichkeit besitzt, die Apoptose von Zellen zu verhindern, was unter der Behandlung mit FTI eine Rolle spielen kann. Da dieser Signalweg aber auch die apoptotischen Signale anderer Chemotherapeutika umgehen kann, lässt sich vermuten, dass Zellen, die aus diesem Grund gegen FTI resistent sind, auch gegen viele weitere Tumorthapeutika Resistenzen aufweisen. Ob solche Resistenzen aber tatsächlich in der klinischen Testung der Inhibitoren zu finden sind oder dort eine starke Bedeutung haben lässt sich zurzeit noch nicht feststellen. [101]

## **2.8. Farnesyltransferase in *Plasmodium falciparum***

1998 berichteten Chakrabarti et al. über das Vorkommen von Proteinprenyltransferaseaktivität in *P. falciparum*. Isolierte Proteine des Ringstadiums, des Trophozytenstadiums und des Schizontenstadiums wurden auf ihre FTase- und GGTase I-Aktivität untersucht, die sich in allen Stadien zeigt, während nicht infizierte Erythrozyten keinerlei Aktivität aufweisen. Die FTase-Aktivität tritt hauptsächlich im Ring- und Trophozytenstadium auf, während die GGTase I-Aktivität hauptsächlich im Ringstadium zu finden ist. Eine partielle Aufreinigung der FTase aus *P. falciparum* mit nachfolgender Größenausschlusschromatographie führte zu einem Protein mit einem Molekulargewicht von 90 kDa. Hier zeigt sich Ähnlichkeit mit der humanen FTase, deren Untereinheiten ein Molekulargewicht von 49 kDa ( $\alpha$ -Untereinheit) und 46 kDa ( $\beta$ -Untereinheit) aufweisen. Zeitgleich ist von Chakrabarti et al. nachgewiesen worden, dass die Farnesyltransferaseinhibitoren L-745,631 und L-744,832 in der Lage sind, das Wachstum von *P. falciparum* zu hemmen. [102]

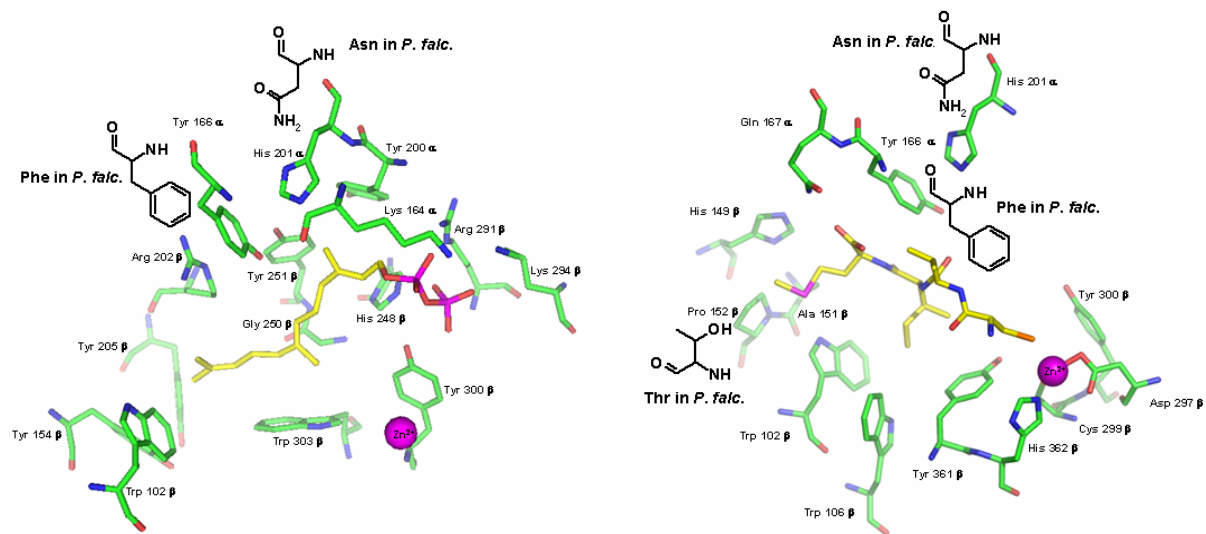
Weitere Untersuchungen der Proteinprenylierung von *P. falciparum* bestätigen, dass die Prenylierung der Proteine abhängig vom Entwicklungsstadium der Parasiten ist. Behandelt man die verschiedenen Stadien mit  $^3\text{H}$ -Farnesol oder  $^3\text{H}$ -Geranylgeraniol zeigen sich verschiedene farnesylierte bzw. geranylgeranylierte Proteine mit unterschiedlichen Anteilen in den einzelnen Entwicklungsstadien. Die Markierung mit  $^3\text{H}$ -Farnesol zeigt prenylierte Proteine im Bereich von 22 – 28 kDa, bei 50 kDa und auch in geringem Maße bei 7 kDa und 10 kDa. Die Proteine finden sich hauptsächlich am Ende des Trophozoitenstadiums bzw. zu Beginn des Schizontenstadiums, obwohl auch im Übergang des Schizontenstadiums zum Ringstadium einige prenylierte Proteine zu finden sind. Wird statt  $^3\text{H}$ -Farnesol  $^3\text{H}$ -

Geranylgeraniol verwendet, finden sich hauptsächlich prenylierte Proteine im Bereich von 22 – 28 kDa, nicht jedoch bei 50 kDa in allen intraerythrozytären Stadien. Ein nicht näher bestimmtes Protein der 22 – 28 kDa-Gruppe konnte bis jetzt nur im Schizontenstadium nachgewiesen werden. Der Einbau von  $^3\text{H}$ -Farnesol und  $^3\text{H}$ -Geranylgeraniol zeigt, dass beide Substanzen in den Parasiten zum Diphosphat phosphoryliert werden und zur Prenylierung genutzt werden. Interessanterweise führt die Behandlung mit  $^3\text{H}$ -Farnesol auch zu geranylgeranylierten Proteinen, was vermuten lässt, das  $^3\text{H}$ -FPP in den Plasmodien zu  $^3\text{H}$ -GGPP verlängert wird. Eine Umsetzung in nicht infizierten Erythrozyten konnte für keine von beiden Substanzen nachgewiesen werden. Besonders interessant ist die Beobachtung, dass spezielle prenylierte Proteine in unterschiedlichen Stadien des Lebenszyklus auftreten. [103, 104]

In der Zwischenzeit sind verschiedene weitere FTI auf ihre Wirksamkeit gegen *P. falciparum* getestet worden, hauptsächlich CAAX-Peptidomimetika und Limonen, der Hauptinhaltsstoff des Öls von Orangenschalen. Limonen zeigt bei einer Konzentration von 0.5 mM eine deutliche Verminderung von Parasiten, die das Trophozoitenstadium erreichen, vermutlich durch Unterbindung der Prenylierung eines Ras-ähnlichen Proteins, das aus Zelllysaten mit einem anti-Ras-Antikörper ausgefällt werden konnte. Ein Absterben von 50% der Parasiten konnte in Kultur mit einer Konzentration von 1.22 mM Limonen erreicht werden. [104, 105, 106, 107]

Leider ist bis zum heutigen Zeitpunkt noch keine komplette Isolierung der *Pf*FTase gelungen. Somit stehen auch keine Kristallstrukturen des Enzyms zur Verfügung, wodurch ein strukturbasiertes Design, wie es z.B. bei der Entwicklung von FTI gegen menschliche Tumorzelllinien angewendet wird, erschwert wird. Bei der Analyse des Genoms von *P. falciparum* sind beide Untereinheiten der *Pf*FTase identifiziert worden. Ein Sequenzabgleich zwischen der *Rn*FTase bzw. der humanen FTase, die beide in der Aminosäuresequenz des aktiven Zentrums identisch sind, mit der *Pf*FTase zeigt deutliche Unterschiede. Das Plasmodienenzym ist mit 472 Aminosäuren in der  $\alpha$ -Untereinheit und 621 Aminosäuren in der  $\beta$ -Untereinheit deutlich größer als die *Rn*FTase ( $\alpha$ -Untereinheit: 379 Aminosäuren,  $\beta$ -Untereinheit: 437 Aminosäuren), verursacht durch große Einschübe von Aminosäuren in die Sequenz der *Pf*FTase. Abbildungen 17 und 18 zeigen Unterschiede in den Bereichen des Enzyms, die das FPP und das Peptidsubstrat binden: Tyr 166 $\alpha$ , His 201 $\alpha$  und Pro 152 $\beta$  sind durch Phenylalanin, Asparagin und Threonin ersetzt. Dieser

Austausch hat wahrscheinlich nur einen geringen Einfluss auf die Bindung der natürlichen Substrate. [108]



**Abb. 17** (links): Unterschiede der Aminosäureseitenketten in *RnFTase* / humaner FTase und *PfFTase* bei der Interaktion mit FPP (PDB-Code: 1KZO). Die Aminosäuresequenz der *RnFTase* ist in grün dargestellt, Änderungen der *PfFTase* in schwarz (FPP: gelb, Zink-Ion: magentafarbene Kugel).

**Abb. 18** (rechts): Unterschiede der Aminosäureseitenketten in *RnFTase* / humaner FTase und *PfFTase* bei der Interaktion mit dem CVIM-Tetrapeptid (PDB-Code: 1QBQ). Die Aminosäuresequenz der *RnFTase* ist in grün dargestellt, Änderungen der *PfFTase* in schwarz (Peptid: gelb, Zink-Ion: magentafarbene Kugel).

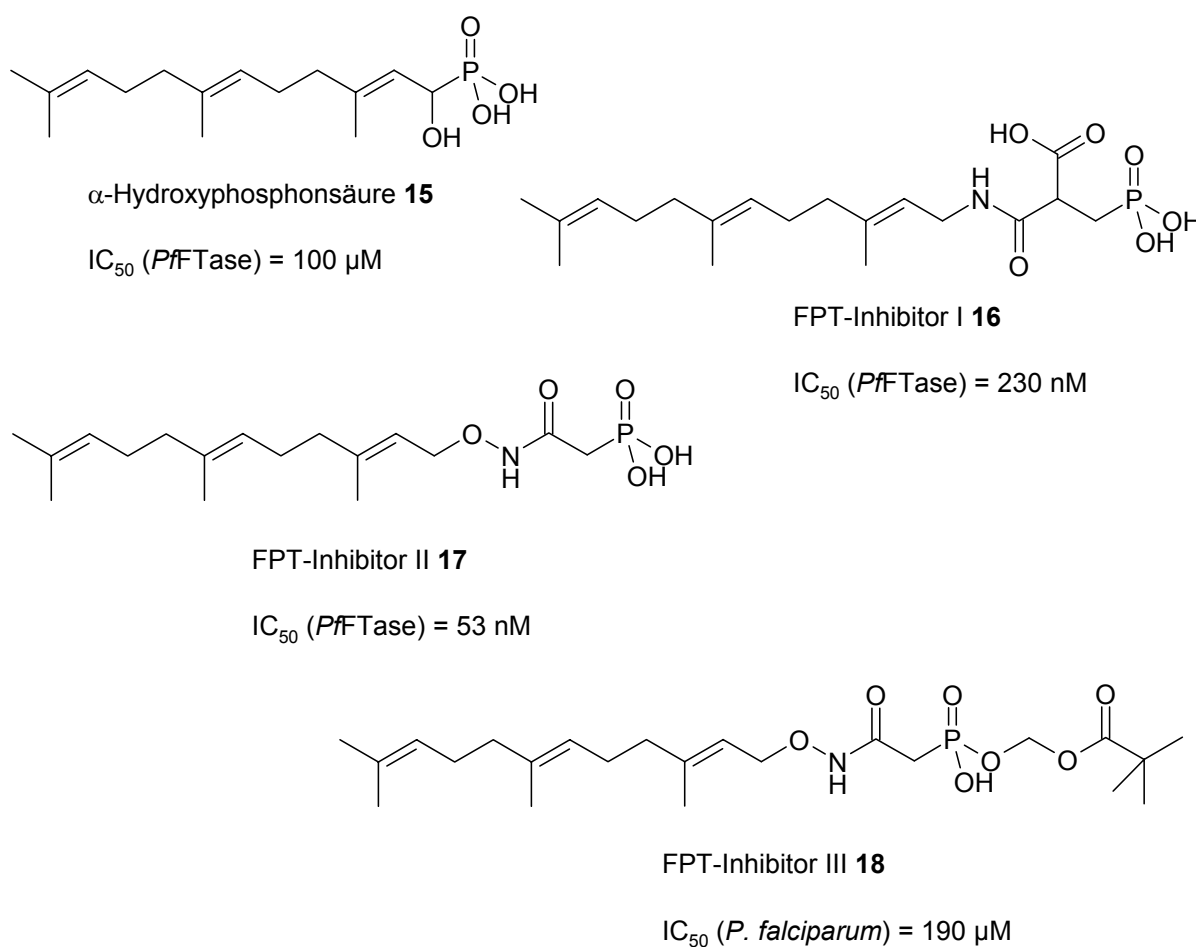
## 2.9. Farnesyltransferaseinhibitoren als Malariatherapeutika

Sämtliche FTI, die auf ihre Wirksamkeit gegen den Malariaparasiten untersucht worden sind, gehören entweder zu den FPP-Analoga oder zu den CAAX-Peptidomimetika, wobei die CAAX-Peptidomimetika die deutlich bedeutendere Gruppe darstellen.

Zurzeit steht noch keine rekombinante *PfFTase* zur Verfügung, um die Aktivität aller Farnesyltransferaseinhibitoren am isolierten Enzym zu untersuchen, daher hat nur die Arbeitsgruppe von Chakrabarti, der eine partielle Aufreinigung des Enzyms gelungen ist, einige meist käuflich zu erwerbende FTI gegen *PfFTase* getestet.

Einer dieser getesteten Inhibitoren ist ein repräsentatives FPP-Analogon, das oft in biologischen Experimenten benutzt wird. Es handelt sich um die  $\alpha$ -Hydroxyfarnesylposphonsäure **15**, die aber nur eine sehr schwache Aktivität gegen partiell gereinigte *PfFTase* ( $IC_{50} = 100 \mu M$ ) und keinerlei Wirkung gegen kultivierte

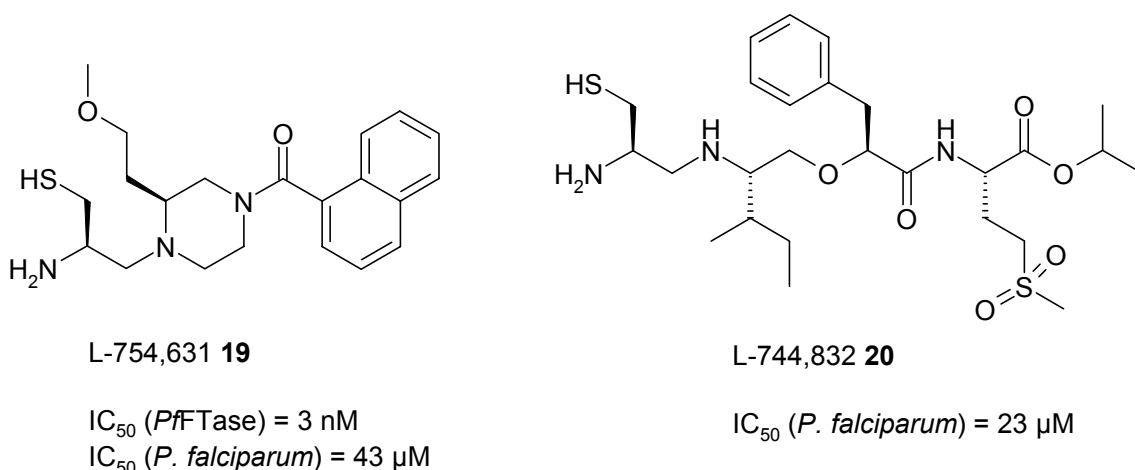
Parasiten zeigt (Abb. 19). Eine verbesserte Aktivität erreicht der FPT-Inhibitor I **16** ( $IC_{50} = 230 \text{ nM}$ ), der gegen *Pf*FTase nur eine um den Faktor 3 schlechtere Aktivität aufweist als gegen humane FTase ( $IC_{50} = 75 \text{ nM}$ ), während der FPT-Inhibitor II **17** sogar eine fast gleichwertige Wirksamkeit gegen das Enzym aus *P. falciparum* ( $IC_{50} = 53 \text{ nM}$ ) und gegen die humane FTase ( $IC_{50} = 75 \text{ nM}$ ) zeigt. Allerdings sind auch diese beiden Verbindungen bei der Testung an kultivierten Parasiten inaktiv. Nur der FPT-Inhibitor III **18**, ein zellpermeables Prodrug von FPT-Inhibitor II **17**, hemmt bei einer sehr hohen Konzentration ( $IC_{50} = 190 \mu\text{M}$ ) das Wachstum der intraerythrozytären Form des Parasiten. [102, 104]



**Abb. 19:** FPP-Analoga

Eine etwas bessere Wirksamkeit bezüglich der intraerythrozytären Form von *P. falciparum* zeigen zwei Inhibitoren der Firma Merck, L-745,631 **19** und L-744,832 **20** (Abb. 20). Bei beiden Substanzen handelt es sich um CAAX-Peptidomimetika, die allerdings starke Unterschiede in ihrer Struktur aufweisen.

L-745,631 **19** zeigt eine gute Aktivität gegen partiell gereinigte *Pf*FTase ( $IC_{50} = 3 \text{ nM}$ ) und auch gegen humane FTase ( $IC_{50} = 3.6 \text{ nM}$ ), erfolgt die Testung jedoch gegen die intraerythrozytäre Form von *P. falciparum*, sinkt die Aktivität auf einen  $IC_{50}$ -Wert von  $43 \text{ }\mu\text{M}$  ab. L-744,832 **20** ist bei der Testung gegen kultivierte Parasiten um etwa den Faktor 2 aktiver ( $IC_{50} = 23 \text{ }\mu\text{M}$ ). [102]



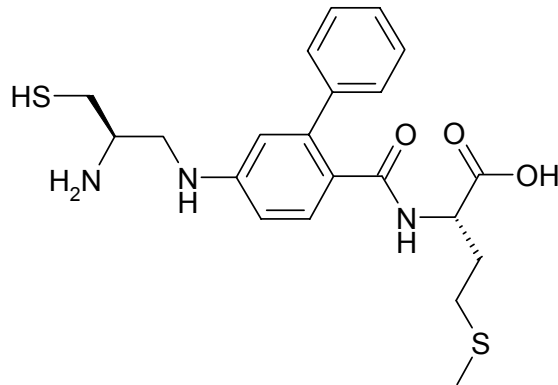
**Abb. 20:** Strukturformeln von L-745,631 **19** und L-744,832 **20**

Die getesteten Inhibitoren der Arbeitsgruppen von Hamilton und Sebti sind ebenfalls CAAX-Peptidomimetika, bei denen das AA-Dipeptid durch einen 4-Aminobenzoessäurerest ersetzt wurde. Die Weiterentwicklung dieses Ansatzes mit 4-Amino-2-phenylbenzoessäure als Dipeptidersatz führte zu FTI-276 **21**, der mit  $IC_{50}$ -Werten von  $0.5 \text{ nM}$  und  $0.9 \text{ nM}$  eine exzellente subnanomolare Wirksamkeit sowohl gegen die humane FTase als auch gegen die *Pf*FTase aufweist (Abb. 21). Allerdings ist die Substanz gegenüber einer Blutkultur der Parasiten ( $IC_{50} > 69 \text{ }\mu\text{M}$ ) als inaktiv zu bezeichnen, was vermutlich auf die unter physiologischen Bedingungen geladene Carboxylgruppe zurückzuführen ist. Das Methylester Prodrug von FTI-276 **21**, FTI-277 **22**, ist mit einem  $IC_{50}$ -Wert von  $5 \text{ }\mu\text{M}$  gegen die intraerythrozytäre Form von *P. falciparum* schon deutlich aktiver, aber immer noch sehr schwach im Vergleich mit der exzellenten Aktivität der Ausgangsverbindung gegen das isolierte Enzym. Der Ersatz des Cysteinyrestes der beiden Verbindungen durch einen Imidazolrest führt zu den Inhibitoren FTI-2148 **23** und FTI-2153 **24**. FTI-2148 **23** ist wie die Ausgangsverbindung FTI-276 **21** ein sehr guter Inhibitor der humanen FTase ( $IC_{50} = 1 \text{ nM}$ ) aber inaktiv gegen die kultivierten Parasiten ( $IC_{50} > 66 \text{ }\mu\text{M}$ ), vermutlich ebenfalls auf Grund der geladenen Carboxylgruppe. Vergleichbar mit der Aktivität der

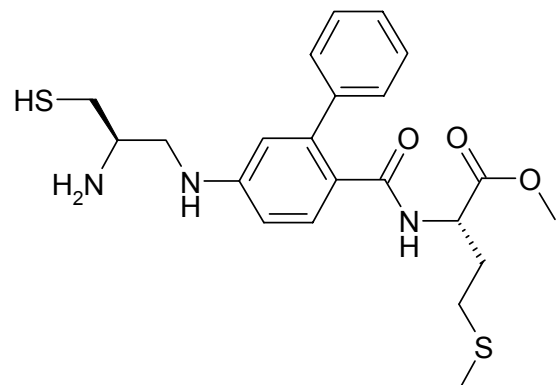


Ausgangsverbindung FTI-277 **22** gegen die intraerythrozytäre Form ist das Derivat FTI-2153 **24** ( $IC_{50} = 4.4 \mu M$ ).

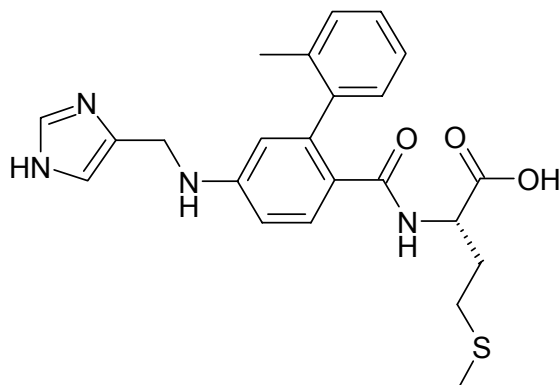
Weitere Variationen von FTI-2148 **23** führten zum Benzylester dieses Inhibitors als bestes Derivat der Arbeitsgruppen. Der FTI-2148-Benzylester zeigt einen  $IC_{50}$ -Wert von 150 nM gegen kultivierte Parasiten und bei einer *in vivo*-Gabe (Maus) von 50 mg / kg Körpergewicht (KG) eine Reduktion der Parasitämie um 46.1%. [105, 106]

FTI-276 **21**

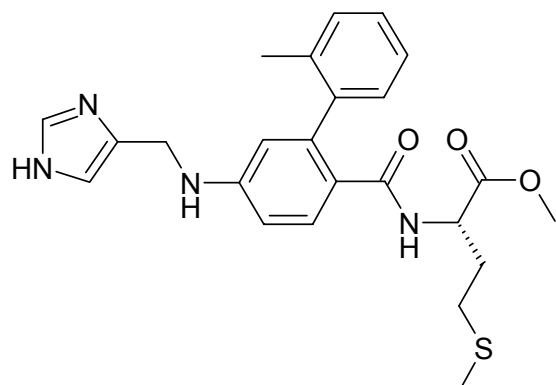
$IC_{50}$  (PfFTase) = 0.9 nM  
 $IC_{50}$  (*P. falciparum*) > 69  $\mu M$

FTI-277 **22**

$IC_{50}$  (*P. falciparum*) = 5  $\mu M$

FTI-2148 **23**

$IC_{50}$  (*P. falciparum*) > 66  $\mu M$

FTI-2153 **24**

$IC_{50}$  (*P. falciparum*) = 4.4  $\mu M$

**Abb. 21:** CAAX-Peptidomimetika der Arbeitsgruppen von Hamilton und Sebti

R115777 **12** (Tipifarnib), Sch-66336 **13** (Lonafarnib) und BMS-214662 **14**, FTI in der klinischen Testung gegen humane Tumore, sind ebenfalls auf ihre Wirksamkeit gegen *P. falciparum* getestet worden. Sie bieten sich als potentielle

Malariatherapeutika besonders an, da auf Grund der klinischen Testung schon Erfahrungswerte zu Toxizität, Dosierung und auch Nebenwirkungen vorliegen. R15577 **12** zeigt bei der *in vitro*-Testung an kultivierten Parasiten einen IC<sub>50</sub>-Wert von 0.5 µM und Sch-66336 **13** einen IC<sub>50</sub>-Wert von 3 µM, während der IC<sub>50</sub>-Wert für BMS-214662 angeblich 50 – 200 nM beträgt. [109]

Die Ergebnisse der Testungen gegen humane FTase und gegen partiell gereinigte isolierte *Pf*FTase zeigen zwei Hauptpunkte auf: Zum einen lässt sich nur eine eher unerwünschte Selektivität gegenüber beiden Enzymen beobachten und zwar in der Hinsicht, dass Inhibitoren, die eine gute Wirksamkeit gegen die humane FTase zeigen, gegenüber dem Enzym aus *P. falciparum* wesentlich schlechter wirksam sind. Zum anderen zeigen Inhibitoren, die eine gute Aktivität gegen die *Pf*FTase aufweisen, fast keinerlei Selektivität. Außerdem konnte die gute Wirksamkeit gegen das isolierte Enzym nicht zu hoher Aktivität gegen die intraerythrozytären Formen des Parasiten führen.

Ähnliches gilt für FTI, die sich bereits in der klinischen Testung befinden. Sie zeigen ebenfalls eine eher schlechte Aktivität gegen die Parasiten, was besonders im Hinblick auf die Möglichkeit, bei der Entwicklung von neuen Antimalariamedikamenten auf Erfahrungswerte der klinischen Testung zurückzugreifen, eher enttäuschend ist.

Es zeigt sich also, dass hochpotente FTI nicht unbedingt gleichzeitig auch potente Wirkstoffe gegen Malaria sein müssen. Anders ausgedrückt bedeutet dies, dass ein potentieller neuer Wirkstoff mehr als nur eine hohe Aktivität gegen FTase zeigen muss. Insbesondere zeigt sich hier, dass der Aktivitätsbestimmung an kultivierten Malariaparasiten eine größere Bedeutung zukommt als der Testung an der isolierten *Pf*FTase.

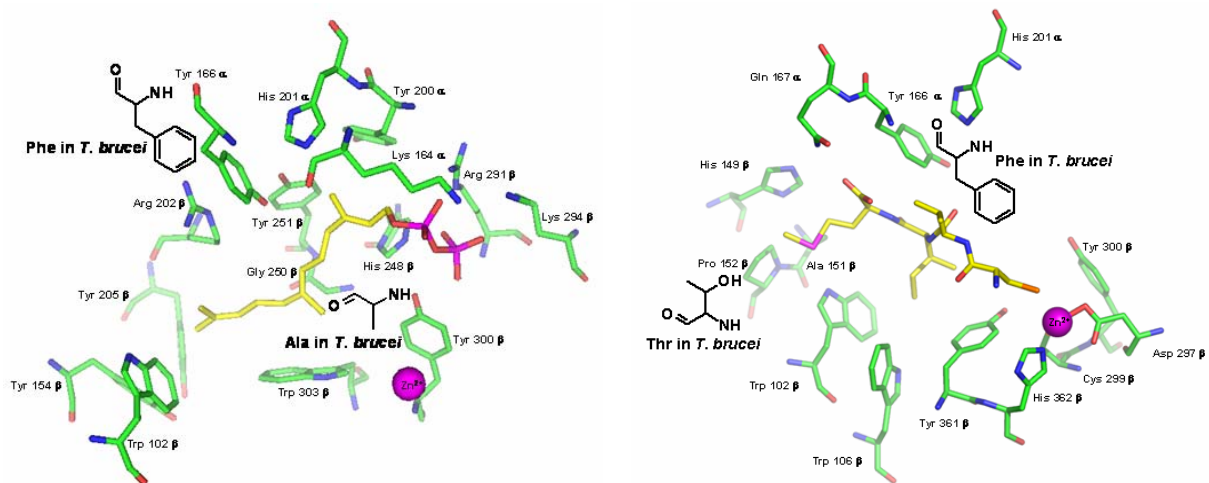
## **2.10. Farnesyltransferase in *Trypanosoma brucei* und *Trypanosoma cruzi***

Schon vor dem Nachweis der Proteinprenylierung in *P. falciparum* ist 1997 die Proteinprenylierung in *T. brucei* nachgewiesen worden. Beim Versetzen der Kulturmedien für *T. brucei* mit <sup>3</sup>H-Farnesol und <sup>3</sup>H-Geranylgeraniol können nach einiger Zeit radioaktiv markierte prenylierte Proteine detektiert werden. [110]

Im Gegensatz zur *Pf*FTase ist die Aufreinigung ebenso wie die Expression der FTase von *T. brucei* (*Tb*FTase) und auch von *T. cruzi* (*Tc*FTase) möglich. Die erste

Isolierung von *Tb*FTase gelingt aus der prozyclischen Form (Insektenstadium) von *T. brucei*.

Nähere Untersuchungen des isolierten Enzyms zeigen zwei Untereinheiten mit einer Größe von je 61 kDa und 65 kDa. Sehr wahrscheinlich handelt es sich bei dem Protein von 61 kDa um die  $\beta$ -Untereinheit, während die  $\alpha$ -Untereinheit die Größe von 65 kDa aufweist. Beide Untereinheiten sind damit um ca. 30% größer als die Untereinheiten der humanen FTase. Parallel zur Isolierung des Enzyms sind verschiedene CAAX-Mimetika auf ihre Wirksamkeit gegen die *Tb*FTase getestet worden. Tatsächlich zeigen die getesteten Substanzen (z.B. L-745,631 und FTI-277) eine gute *in vitro*-Wirksamkeit gegen *T. brucei*, allerdings gibt es Unterschiede in der Wirksamkeit gegenüber *Tb*FTase und humaner FTase, was auf unterschiedliche Struktur-Wirkungs-Beziehungen hindeutet. Interessanterweise sprechen die Trypomastigoten in der Blutbahn stärker auf die Behandlung an als die Epimastigoten im Insekt. [111]



**Abb. 22** (links): Unterschiede der Aminosäureseitenketten von *Rn*FTase / humaner FTase mit *Tb*FTase bei der Bindung von FPP (PDB-Code: 1KZO). Die Aminosäuresequenz der *Rn*FTase ist in grün dargestellt, Änderungen der *Tb*FTase in schwarz (FPP: gelb, Zink-Ion: magentafarbene Kugel).

**Abb. 23** (rechts): Unterschiede der Aminosäureseitenketten von *Rn*FTase / humaner FTase mit *Tb*FTase bei der Bindung des CVIM-Peptidsubstrats (PDB-Code: 1QBQ). Die Aminosäuresequenz der *Rn*FTase ist in grün dargestellt, Änderungen der *Tb*FTase in schwarz (Peptid: gelb, Zink-Ion: magentafarbene Kugel).

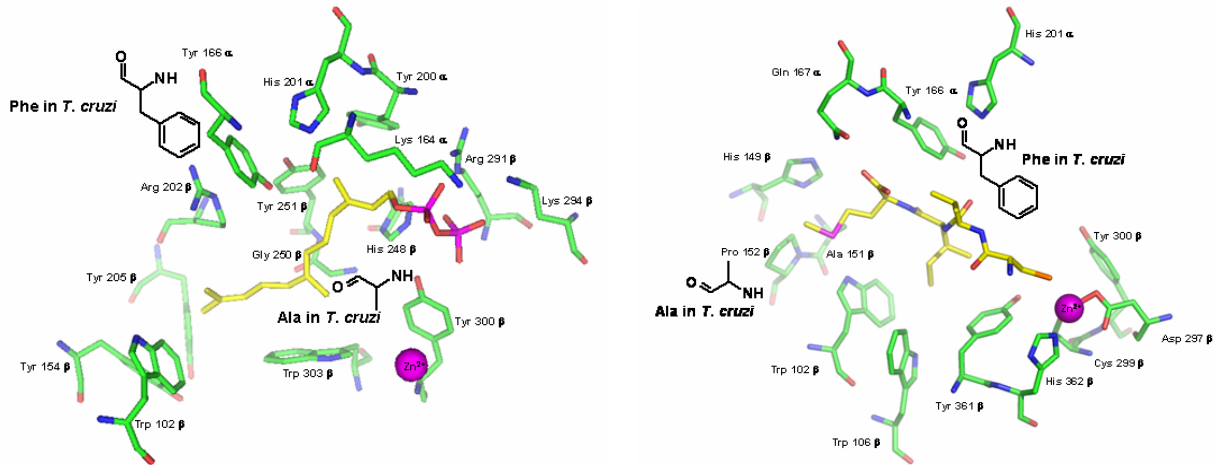
Der Sequenzvergleich von *Tb*FTase mit *Rn*FTase und damit auch der humanen FTase zeigt, dass im Enzym von *T. brucei* zusätzliche Aminosäuresequenzen

vorhanden sind. Die  $\alpha$ -Untereinheit zeigt 5 zusätzliche Sequenzen mit 26 bis 75 Aminosäuren, die  $\beta$ -Untereinheit zeigt drei zusätzliche Sequenzen mit 39 bis 85 Aminosäuren. Alle diese zusätzlich eingefügten Aminosäuren finden sich als Schleifen an der Oberfläche des Enzyms, nicht aber an den Kontaktflächen der beiden Untereinheiten oder am aktiven Zentrum. Die Aminosäurereste, die für die Peptidbindung verantwortlich sind, unterschieden sich durch die Veränderung von Tyr 166 $\alpha$  zu Phenylalanin, Ala 129 $\alpha$  zu Serin, Ser 99 $\beta$  zu Alanin, Pro 152 $\beta$  zu Threonin und Gly 250 $\beta$  zu Alanin. Die größte Veränderung scheint dabei die Veränderung von Ser 99 $\beta$  zu Alanin zu sein, da damit der Raum für den Rest X der CAAX-Sequenz vergrößert wird. Abbildungen 22 und 23 zeigen die Veränderungen der Aminosäureseitenketten, die bei der Bindung der natürlichen Substrate eine Rolle spielen, wobei der Einfluss der meisten dieser Variationen auf die Substratbindung nur minimal ist. [112]

Die Untersuchung der Substratspezifität der *TbFTase* ist über eine Variation des Restes X der CAAX-Endsequenz eines SSCALX-Proteins durchgeführt worden, wobei für X alle 20 natürlich vorkommenden Aminosäuren eingesetzt worden sind. Es zeigt sich, dass die Aminosäuren Methionin und Glutamin bevorzugt von *TbFTase* umgesetzt werden, während die Aminosäuren Cystein, Phenylalanin und Prolin ebenfalls umgesetzt worden sind, allerdings nur geringfügig höher als die Negativkontrolle. Besonders interessant ist, dass Leucin in der A<sub>2</sub>-Position der CA<sub>1</sub>A<sub>2</sub>X-Sequenz umgesetzt wird. Die humane Farnesyltransferase zeigt hier nur eine schlechte Umsetzung. Ursache für die unterschiedliche Substratspezifität könnte der Austausch von Ser 99 $\beta$  gegen Alanin sein, der nicht nur die Bindung von sterisch voluminöseren Aminosäuren zulässt, sondern auch die Hydrophobizität der Bindetasche in diesem Bereich erhöht. [110]

Analog der *TbFTase* ist auch die *TcFTase* exprimiert worden. Sie besteht aus einer  $\alpha$ -Untereinheit von 628 Aminosäuren mit einem Molekulargewicht von ca. 72 – 73 kDa und einer  $\beta$ -Untereinheit mit 588 Aminosäuren und einem Molekulargewicht von ca. 66 kDa und ist damit noch größer als die *TbFTase*. Beide Enzyme zeigen untereinander eine Sequenzhomologie von 47%. Auch die *TcFTase* weist wie die *TbFTase* zusätzliche Aminosäureschleifen an der Enzymoberfläche auf und ist hauptsächlich in den Epimastigoten und Trypomastigoten zu finden. Ein Vergleich der Aminosäuresequenzen im aktiven Zentrum der *RnFTase* bzw. humaner FTase mit *TcFTase* zeigt folgende Unterschiede: Ala 129 $\alpha$  ist durch Glycin ersetzt, Ala 98 $\beta$

durch Serin und Pro 152 $\beta$  durch Alanin (Abb. 24 und 25), analog der *Tb*FTase zeigt auch hier die Veränderung der Aminosäuren wenig Auswirkung auf die Substratbindung. Die Substratspezifität stimmt mit der der *Tb*FTase überein. [113]



**Abb. 24** (links): Unterschiede der Aminosäureseitenketten von *Rn*FTase / humaner FTase mit *Tc*FTase bei der Bindung von FPP (PDB-Code: 1KZO). Die Aminosäuresequenz der *Rn*FTase ist in grün dargestellt, Änderungen der *Tc*FTase in schwarz (FPP: gelb, Zink-Ion: magentafarbene Kugel).

**Abb. 25** (rechts): Unterschiede der Aminosäureseitenketten von *Rn*FTase / humaner FTase mit *Tb*FTase bei der Bindung des CVIM-Peptidsubstrats (PDB-Code: 1QBQ). Die Aminosäuresequenz der *Rn*FTase ist in grün dargestellt, Änderungen der *Tc*FTase in schwarz (Peptid: gelb, Zink-Ion: magentafarbene Kugel).

Die Testung verschiedener FTI gegen *Tb*FTase und *Tc*FTase zeigt deutliche Effekte auf die Parasiten. FTI-277, ein CAAX-Peptidomimetikum, wirkt zytotoxisch gegen die Trypomastigoten von *T. brucei*. Es zeigt sich außerdem, dass FTI für die Trypanosomen wesentlich toxischer sind als für humane Zellen. Gelb et al. vertreten die Hypothese, dass dies an fehlender GGTase I in den Parasiten liegen könnte. In Zelllysaten von *T. brucei* und *T. cruzi* kann keine GGTase I-Aktivität nachgewiesen werden und auch im Genom der Trypanosomen können keine Homologien zu bekannten GGTase I- $\beta$ -Untereinheiten entdeckt werden. Allerdings steht in den Datenbanken, die zur Suche verwendet werden, nicht immer das komplette Genom zur Verfügung, so dass das Fehlen von Homologien nicht unbedingt bedeutet, dass die entsprechende Struktur nicht vorhanden ist. Eventuell ist der Teil des Genoms, der die entsprechende Homologie enthält, noch nicht entschlüsselt worden. Der zuvor beobachtete Einbau von  $^3\text{H}$ -Geranylgeraniol kann jedenfalls ein Nachweis der

GGTase II-Aktivität in den Parasiten sein, die vermutlich zur Doppelgeranylgeranylierung von Rab-Proteinen führt. Sollten auf Grund der fehlenden GGTase I in den Trypanosomen Proteine farnesyliert werden, die in humanen Zellen geranylgeranyliert werden, könnte dies die selektive Toxizität von FTI gegenüber *T. brucei* und *T. cruzi* erklären. Bestätigt wird diese Hypothese durch eine vor kurzem identifizierte Rho-GTPase TcRho1 aus *T. cruzi*, die farnesyliert wird, während Rho-GTPasen in menschlichen Zellen geranylgeranyliert werden. Besonders interessant ist die Tatsache, dass die C-terminale CAAX-Sequenz von TcRho1, CQLF, in humanen Zellen eher eine Zielstruktur der GGTase I darstellt. Diese Unterschiede von humanen Zellen und Trypanosomen können den Einsatz von FTI als Wirkstoffe gegen Trypanosomeninfektionen ermöglichen. [114, 115, 116, 117]

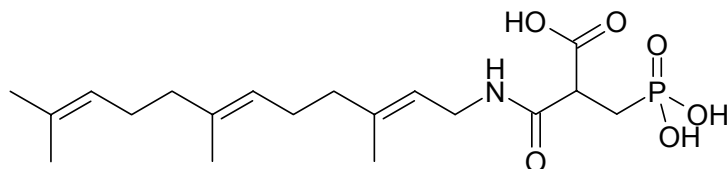
## 2.11. Farnesyltransferaseinhibitoren als Wirkstoffe gegen Trypanosomiasis

Analog der Testung von FTI gegen *P. falciparum* zählen auch sämtliche Inhibitoren, die auf ihre Wirksamkeit gegen *T. brucei* und *T. cruzi* getestet worden sind, zu den FPP-Analoga oder zu den CAAX-Peptidomimetika.

Bei den getesteten FPP-Analoga handelt es sich um die  $\alpha$ -Hydroxyphosphonsäure **15** und die FPT-Inhibitoren I – III (**16** – **18**), die ebenfalls auf Aktivität gegen *P. falciparum* getestet worden sind, und um zwei weitere Verbindungen, Farnesyl-NH-PMM **25** und Farnesyl-O-NH-PA **26** (Abb. 26)

Sowohl bei Farnesyl-NH-PMM **25** als auch bei Farnesyl-O-NH-PA **26** wurde die Aktivität gegen isolierte TbFTase getestet. Farnesyl-NH-PMM **25** zeigt gegen das isolierte Enzym eine  $IC_{50}$ -Wert von 10  $\mu$ M und damit eine bessere Wirksamkeit als gegen RnFTase ( $IC_{50}$  = 30  $\mu$ M), während Farnesyl-O-NH-PA **26** gegen beide Enzyme etwa die gleiche Aktivität aufweist (TbFTase:  $IC_{50}$  = 0.6  $\mu$ M, RnFTase:  $IC_{50}$  = 0.5  $\mu$ M). Testet man beide Verbindungen gegen Blutkulturen von *T. brucei* und *T. cruzi* sinkt die Aktivität deutlich. Farnesyl-NH-PMM **25** zeigt gegen beide Parasiten einen  $IC_{50}$ -Wert von 50  $\mu$ M und Farnesyl-O-NH-PA **26** zeigt gegen *T. brucei* einen  $IC_{50}$ -Wert von 7  $\mu$ M und gegen *T. cruzi* einen  $IC_{50}$ -Wert von 10  $\mu$ M. Ursache des Wirkungsverlustes ist vermutlich eine schlechte Aufnahme beider Verbindungen in die infizierten Zellen bzw. in die Trypomastigoten. Verwendet man anstelle von

Farnesyl-O-NH-PA **26** einen Ester der Substanz, verbessert sich zwar die Aktivität gegen *T. brucei* geringfügig ( $IC_{50} = 5 \mu\text{M}$ ), aber die Wirksamkeit gegen *T. cruzi* sinkt um den Faktor 2 ( $IC_{50} = 20 \mu\text{M}$ ).

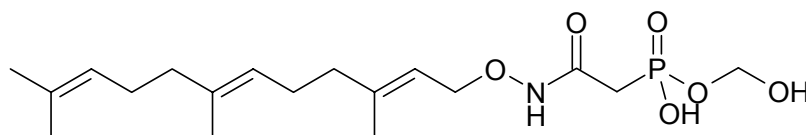


Farnesyl-NH-PMM **25**

$IC_{50}$  (*TbFTase*) = 10  $\mu\text{M}$

$IC_{50}$  (*T. brucei*) = 50  $\mu\text{M}$

$IC_{50}$  (*T. cruzi*) = 50  $\mu\text{M}$



Farnesyl-O-NH-PA **26**

$IC_{50}$  (*TbFTase*) = 0.6  $\mu\text{M}$

$IC_{50}$  (*T. brucei*) = 7  $\mu\text{M}$

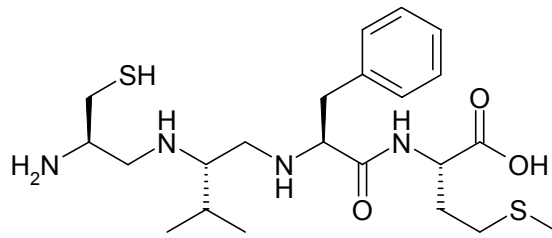
$IC_{50}$  (*T. cruzi*) = 20  $\mu\text{M}$

**Abb. 26:** Strukturformeln von Farnesyl-NH-PMM **25** und Farnesyl-O-NH-PA **26**

Die Aktivitäten gegen Blutkulturen von *T. brucei* der  $\alpha$ -Hydroxyphosphonsäure **15** und der FPT-Inhibitoren I – III (**16** – **18**) liegen sogar noch deutlich niedriger mit einer minimalen Hemmkonzentration von 80  $\mu\text{M}$  oder mehr, so dass diese Inhibitoren als vollkommen inaktiv zu bezeichnen sind. [118, 119]

Deutlich aktiver gegen isolierte *TbFTase* ist das CAAX-Mimetikum rCrVFM **27** mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 0.07  $\mu\text{M}$  (Abb. 27).

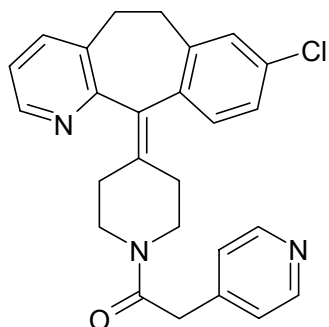
Betrachtet man hier die Testwerte gegen die kultivierten Parasiten zeigt sich ebenfalls ein starker Aktivitätsverlust (*T. brucei*:  $IC_{50} = 50 \mu\text{M}$ , *T. cruzi*:  $IC_{50} = 20 \mu\text{M}$ ), vermutlich auf Grund der gleichen Ursache, einer zu geringen Zellpermeabilität der Verbindung, hier allerdings durch eine unter physiologischen Bedingungen negativ geladene Carboxylfunktion. [118]

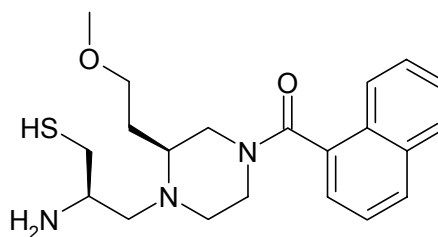
rCrVFM **27**
 $IC_{50} (TbFTase) = 0.07 \mu M$ 
 $IC_{50} (T. brucei) = 50 \mu M$ 
 $IC_{50} (T. cruzi) = 20 \mu M$ 
**Abb. 27:** Strukturformel rCrVFM **27**

Ein ähnliches Verhalten, bei allerdings besserer Wirksamkeit, lassen die Verbindungen FTI-276 **21**, FTI-277 **22**, L-745,631 **19** und SCH4432 **28** erkennen (Abb. 28). Gegen die isolierte *TbFTase* zeigt SCH-44342 **28** einen  $IC_{50}$ -Wert von 158 nM (*RnFTase*:  $IC_{50} = 250$  nM), L745,631 **19** zeigt einen  $IC_{50}$ -Wert von 52 nM (humane FTase:  $IC_{50} = 3.6$  nM), FTI-277 **22** zeigt einen  $IC_{50}$ -Wert von 40 nM (*RnFTase*:  $IC_{50} = 450$  nM) und FTI-276 **21** zeigt die beste Aktivität dieser Reihe mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 1.7 nM (humane FTase:  $IC_{50} = 0.5$  nM).

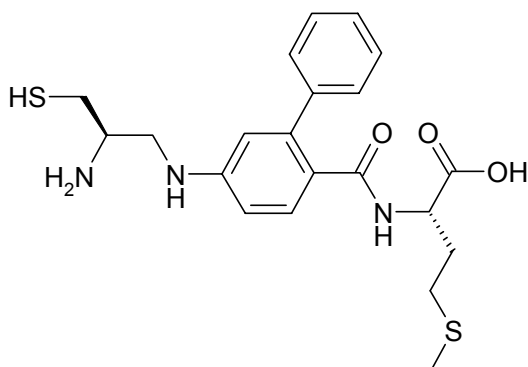
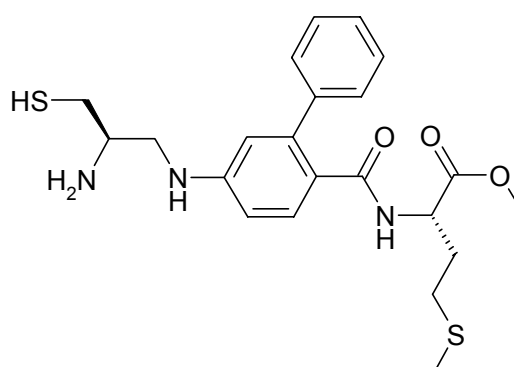
Für die Testung gegen Parasitenkulturen ist wiederum eine höhere Inhibitorkonzentration erforderlich, um eine Wachstumshemmung zu erreichen. Auf die Testung von FTI-276 **21** wurde hierbei verzichtet und nur die Wirksamkeit für dessen Prodrug FTI-277 **22** bestimmt. Die schlechteste Aktivität der drei getesteten Verbindungen zeigt wie beim isolierten Enzym der Inhibitor SCH-44342 **28** (*T. brucei*:  $IC_{50} = 30 \mu M$ , *T. cruzi*: nicht bestimmt). Ähnlich aktiv ist L-754,631 **19** mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 25  $\mu M$  gegen *T. brucei* (*T. cruzi*:  $IC_{50} = 11 \mu M$ ), während FTI-277 **22** gegen *TbFTase* am besten wirksam ist (*TbFTase*: 0.7  $\mu M$ , *TcFTase*:  $IC_{50} = 11 \mu M$ ). [111]



SCH-44342 **28**
 $IC_{50}$  (*TbFTase*) = 158 nM

 $IC_{50}$  (*T. brucei*) = 30  $\mu$ M
L-754,631 **19**
 $IC_{50}$  (*TbFTase*) = 52 nM

 $IC_{50}$  (*T. brucei*) = 25  $\mu$ M

 $IC_{50}$  (*T. cruzi*) = 11  $\mu$ M
FTI-276 **21**
 $IC_{50}$  (*TbFTase*) = 1.7 nM
FTI-277 **22**
 $IC_{50}$  (*TbFTase*) = 40 nM

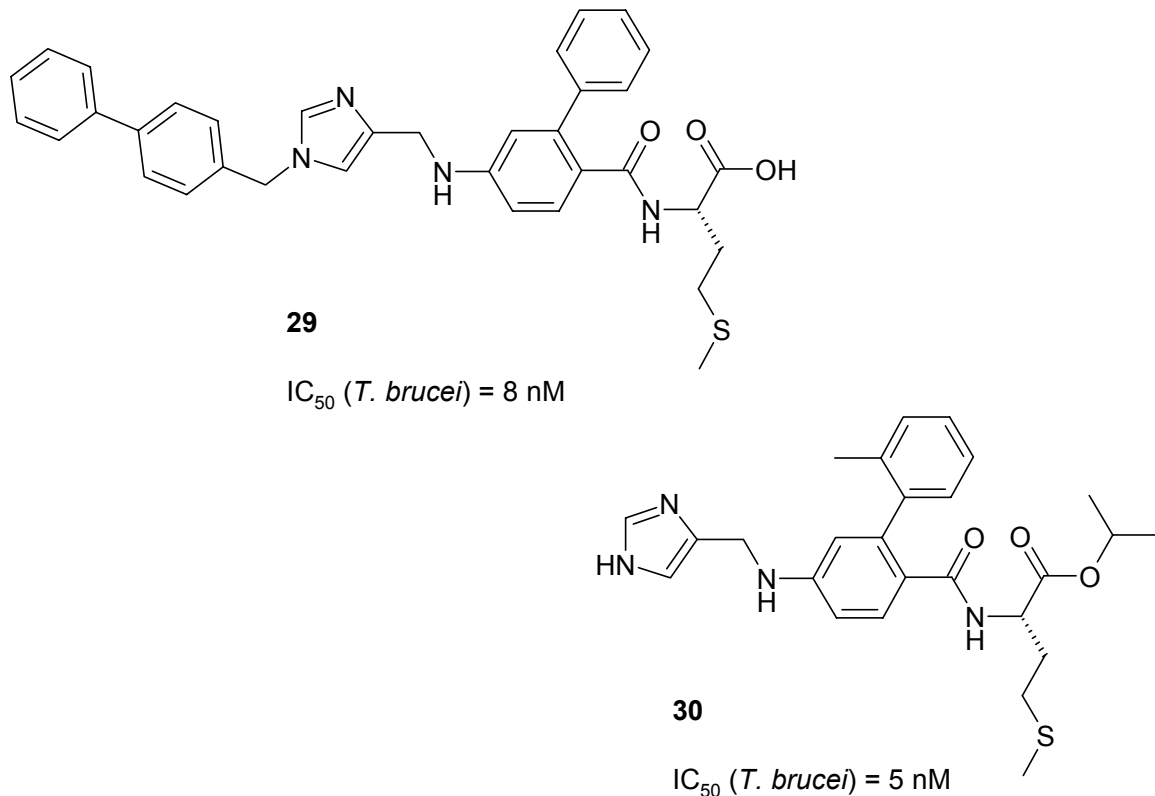
 $IC_{50}$  (*T. brucei*) = 0.7  $\mu$ M

 $IC_{50}$  (*T. cruzi*) = 11  $\mu$ M

**Abb. 28:** Strukturformeln des Inhibitors SCH-44342 **28** und der Verbindungen **19** - **22**

Ein optimiertes Struktur analogon von FTI-276 **21**, bei dem der Cysteinylrest durch einen substituierten Imidazolrest ersetzt worden ist und der auf Grund einer fehlenden Bezeichnung in der Literatur hier nur als **29** bezeichnet wird (Abb. 29), ist bei der Testung gegen eine *T. brucei*-Blutkultur mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 8 nM sogar noch um beinahe den Faktor 100 wirksamer als FTI-277 **22**. Ebenfalls eine Aktivität im nanomolaren Bereich zeigen Derivate des FTI-2148 **23**, die einen unsubstituierten Imidazolrest als Cysteinylersatz enthalten, dafür aber wie FTI-277 **22** eine Veresterung der Carbonylfunktion aufweisen: FTI-2153 **24** hat einen  $IC_{50}$ -Wert von 25 nM und die aktivste Verbindung **30** einen  $IC_{50}$ -Wert von nur 5 nM. FTI-2148 **23** selbst besitzt mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 1  $\mu$ M eine deutlich schlechtere Aktivität.

IC<sub>50</sub>-Werte von FTI-2153 **24** und Inhibitor **30** gegen isolierte FTase aus *T. brucei* liegen nicht vor. Hier wurde nur die prozentuale Inhibition bei einer Konzentration von 50 nM bestimmt, wobei keine der beiden Verbindungen den Wert von 50% erreichen konnte. Diese Ergebnisse sind insofern bemerkenswert, da die Verbindungen eine bessere Aktivität gegen kultivierten Parasiten zeigen als gegen das isolierten Enzym. [120]

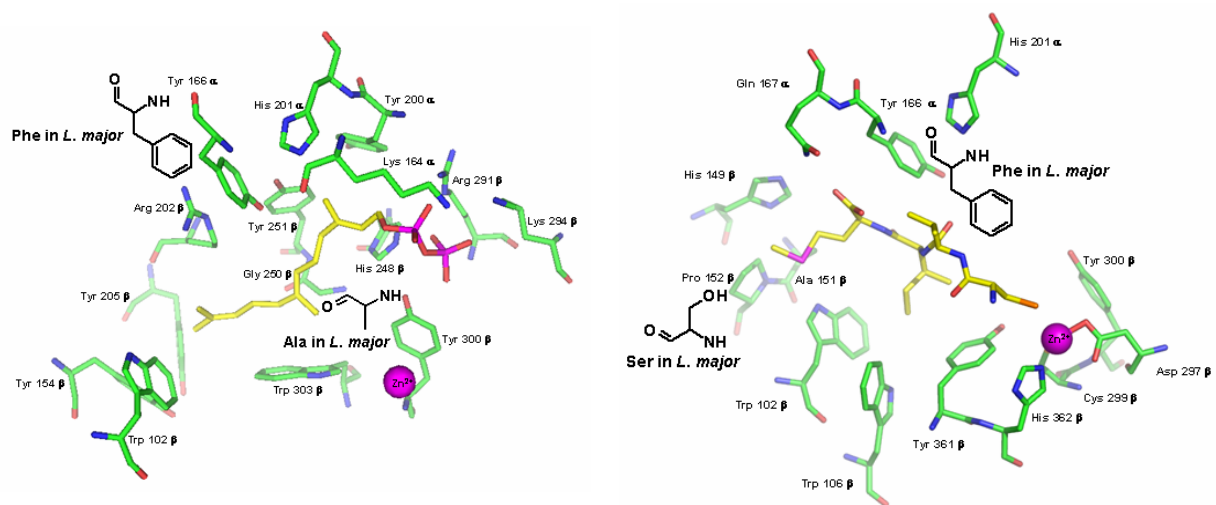


**Abb. 29:** Strukturformeln der Verbindungen **29** und **30**

Zusammengefasst zeigen sich bei der Testung von FTI gegen *T. brucei* und *T. cruzi* ähnliche Ergebnisse wie bei der Testung gegen *P. falciparum*. Inhibitoren, die eine gute Aktivität gegen das Enzym der Trypanosomen aufweisen, zeigen oftmals auch eine gute Aktivität gegen humane FTase oder gegen RnFTase, eine wirkliche Ausnahme ist nur der FTI-277 **22**, dessen Aktivität gegen isolierte TbFTase etwa um den Faktor 10 höher ist als gegen das humane Enzym.

## 2.12. Farnesyltransferase in *Leishmania mexicana* und *Leishmania major*

Wird die Promastigote (Insektenform) von *L. mexicana* in Gegenwart von Simvastatin, einem Hemmstoff der Cholesterolsynthese, der die Bildung von Mevalonsäure unterbindet, und radioaktiv markierter Mevalonsäure umgesetzt, zeigen sich radioaktiv markierte Proteine. Zusätzlich ist zumindest ein Farnesyltransferaseinhibitor in der Lage, dass Wachstum der Promastigote zu unterbinden. Dies zeigt, dass in *L. mexicana* Proteinfarnesylierung durch FTase stattfindet. [118]



**Abb. 30** (links): Unterschiede der Aminosäureseitenketten von *RnFTase* / humaner FTase mit *LmjFTase* bei der Bindung von FPP (PDB-Code: 1KZO). Die Aminosäuresequenz der *RnFTase* ist in grün dargestellt, Änderungen der *LmjFTase* in schwarz (FPP: gelb, Zink-Ion: magentafarbene Kugel).

**Abb. 31** (rechts): Unterschiede der Aminosäureseitenketten von *RnFTase* / humaner FTase mit *LmjFTase* bei der Bindung des CVIM-Peptidsubstrats (PDB-Code: 1QBQ). Die Aminosäuresequenz der *RnFTase* ist in grün dargestellt, Änderungen der *LmjFTase* in schwarz (Peptid: gelb, Zink-Ion: magentafarbene Kugel).

Zeitgleich mit der Expression der *TcFTase* ist auch die Expression der FTase aus *L. major* (*LmjFTase*) gelungen, die sich sowohl im Insektenstadium des Parasiten als auch im humanen Stadium findet. Die  $\alpha$ -Untereinheit des Enzyms besteht aus 764 Aminosäuren mit einem Molekulargewicht von ca. 86 kDa, die  $\beta$ -Untereinheit aus 725 Aminosäuren mit einem Molekulargewicht von ca. 78 kDa. Ein Vergleich mit der *RnFTase* bzw. der humanen FTase zeigt, ähnlich wie bei der FTase der Trypanosomen, Aminosäureschleifen an der Enzymoberfläche. Die  $\alpha$ -Untereinheit weist 8 dieser Schleifen auf, jede mit mindestens 25 Aminosäuren, während die  $\beta$ -

Untereinheit 5 Schleifen aufweist, ebenfalls mit mindestens 25 Aminosäuren pro Schleife. Auch die Aminosäuresequenz des aktiven Zentrums variiert, für Ala 98 $\alpha$  findet sich Prolin, Pro 152 $\beta$  wird zu Serin und Ala 129 $\beta$  wird ebenfalls zu Serin (Abb. 30 und 31). [113]

Über die Substratspezifität der terminalen CAAX-Sequenz ist sowohl bei *L. mexicana* als auch bei *L. major* noch nichts bekannt, die Substratspezifität von *L. amazonensis* ähnelt jedoch der von *T. brucei* und *T. cruzi*. Generell lässt sich also auch im Fall der Leishmaniosen auf eine Etablierung von FTI als Therapeutika hoffen. [113]

### **2.13. Farnesyltransferaseinhibitoren als Therapeutika gegen Leishmaniasis**

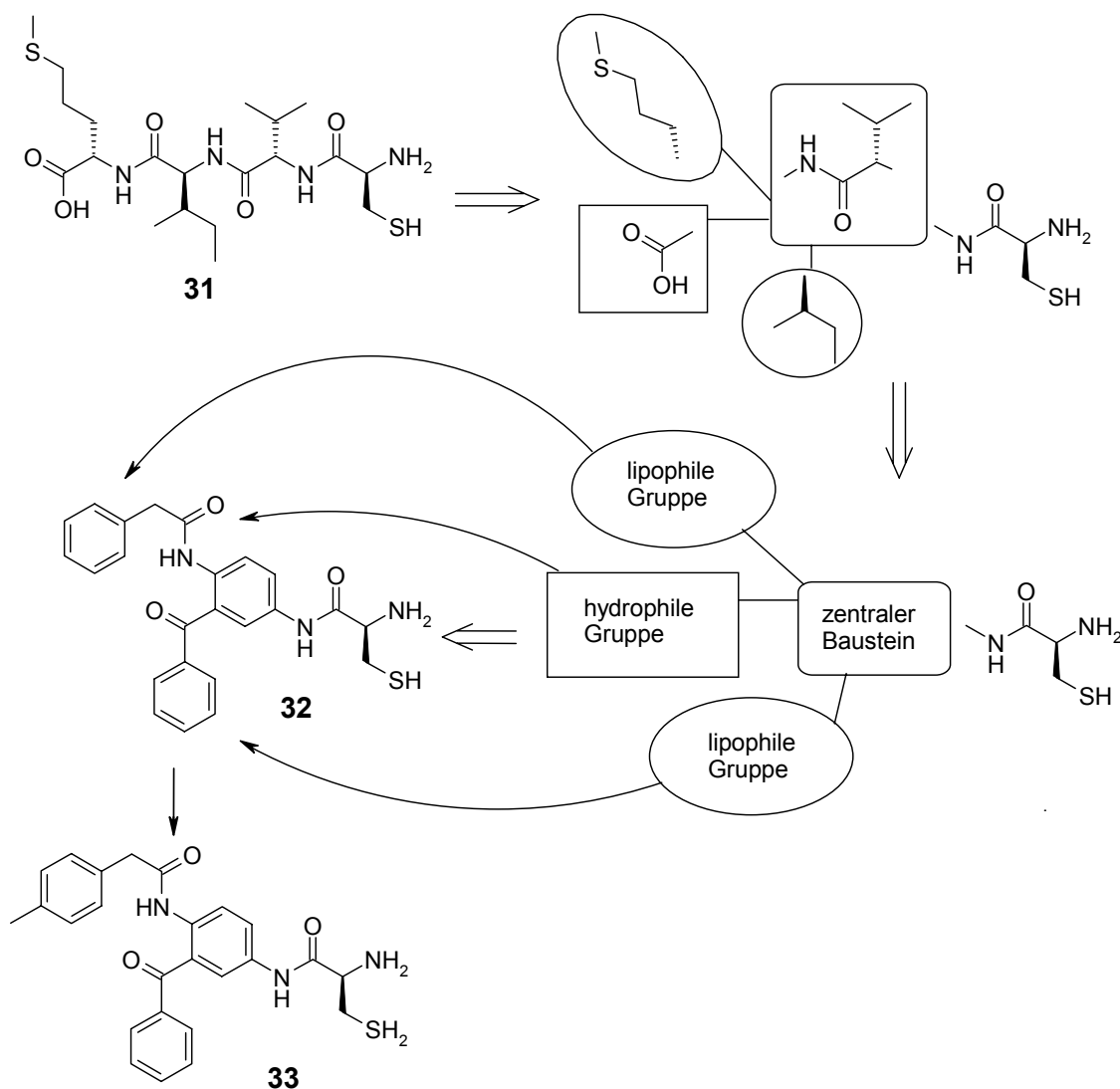
Die Testung von FTI gegen Leishmania-Arten befindet sich noch in den Anfängen. Erst wenige Substanzen sind gegen die promastigote Form von *L. mexicana* getestet worden, nämlich die FPP-Analoga Farnesyl-NH-PMM **25**, Farnesyl-O-NH-PA **26** und dessen Esterprodrug sowie das CAAX-Mimetikum rCrVFM **27**. Die FPP-Analoga zeigen dabei IC<sub>50</sub>-Werte von mehr als 100  $\mu$ M, aktiver ist rCrVFM-Peptid **27** mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 30  $\mu$ M. [118]

Ähnlich wie die bei der Testung gegen Blutkulturen der Trypanosomen ist die schlechte Aktivität der Verbindungen vermutlich die Folge einer unzureichenden Membranpermeabilität der Substanzen. Interessant wären hier Testwerte am isolierten Enzym, ebenso wie Testergebnisse von Inhibitoren die an Blutkulturen von *P. falciparum*, *T. brucei* oder *T. cruzi* eine gute Wirksamkeit zeigen.

### 3. Situation zu Beginn dieser Arbeit und Aufgabenstellung

Schon seit einigen Jahren beschäftigt sich der Arbeitskreis Schlitzer mit der Entwicklung von CAAX-peptidomimetischen Farnesyltransferaseinhibitoren.

Der erste Schritt des Designs dieser CAAX-Peptidomimetika war die Entwicklung einer eigenen peptidomimetischen Struktur, die die Eigenschaften des CAAX-Peptids nachahmt und als Ausgangspunkt für die weitere Entwicklung von Inhibitoren dienen sollte. Zu Beginn dieses Projektes stand noch keine Kristallstruktur der Farnesyltransferase zur Verfügung, so dass ein Pharmakophormodell erstellt wurde, das die physikochemischen Eigenschaften der natürlichen Peptidsubstrate beschreibt. Grundlage dieses Pharmakophormodells ist die CVIM-Tetrapeptidsequenz von K-Ras4B **31**.

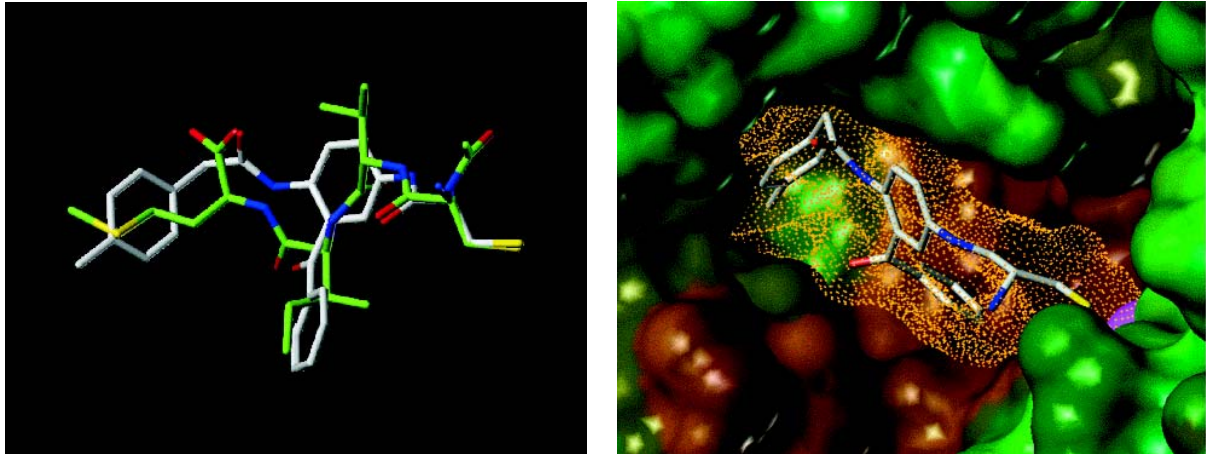


**Abb. 32:** Entwicklung des Pharmakophormodells für neue CAAX-Peptidomimetika

Das CVIM-Tetrapeptid wurde in verschiedene Teilstrukturen zerlegt, denen bestimmte molekulare Eigenschaften zugeordnet wurden. Im Anschluss daran wurden diese Eigenschaften wiederum in chemische Strukturen überführt (Abb. 32). Das auf diese Weise konstruierte 2-Acylamino-5-cysteinylaminobenzophenon **32** ( $IC_{50} = 650 \text{ nM}$ ) stellte die Leitstruktur für eine neue Klasse von CAAX-peptidomimetischen FTI dar. Variationen des 2-Acylaminorestes führten zum Inhibitor **33**, einem para-Tolylessigsäurederivat der Leitstruktur, der mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 77 nM um etwa den Faktor 10 besser ist als die ursprüngliche Ausgangsstruktur. [121]

Die Veröffentlichung der FTase-Kristallstruktur mit *N*-Acetyl-Cys-Val-Ile-selenoMetOH und  $\alpha$ -Hydroxyfarnesylphosphonsäure, einem FPP-Analogon, (PDB-Code: 1QBQ) zeigt, dass das Peptidsubstrat in einer gestreckten Konformation vorliegt und der Cysteinschwefel vom Zink-Ion koordiniert wird. In Zusammenarbeit mit dem Arbeitskreis von Prof. Dr. Klebe in Marburg wurden die enzym-gebundenen Konformationen von *N*-Acetyl-Cys-Val-Ile-selenoMetOH und Inhibitor **33** mittels des Programms SEAL überlagert, wobei die physikochemischen Eigenschaften beider Substanzen möglichst gut übereinstimmen sollten. Hierbei lagen die beiden Cysteinseitenketten exakt übereinander, aber auch die übrigen Strukturen zeigten eine ähnliche räumliche Anordnung relevanter Eigenschaften: Die Seitenkette des Isoleucins wird durch den terminalen Phenylrest des Benzophenons ersetzt, der Ketocarbonylsauerstoff stimmt mit der Position des C-terminalen Amidrestes des CAAX-Peptids überein und das Stickstoffatom der Amidbindung wird durch den amidischen Stickstoff in der Position 2 der Benzophenonstruktur ersetzt, während die Lage des Sauerstoffatoms dieser Benzophenonamidstruktur mit der der Carbonylgruppe des Methions übereinstimmt. Die Seitenkette des Methionins wird durch den Tolyrest ersetzt (Abb. 33). [122]

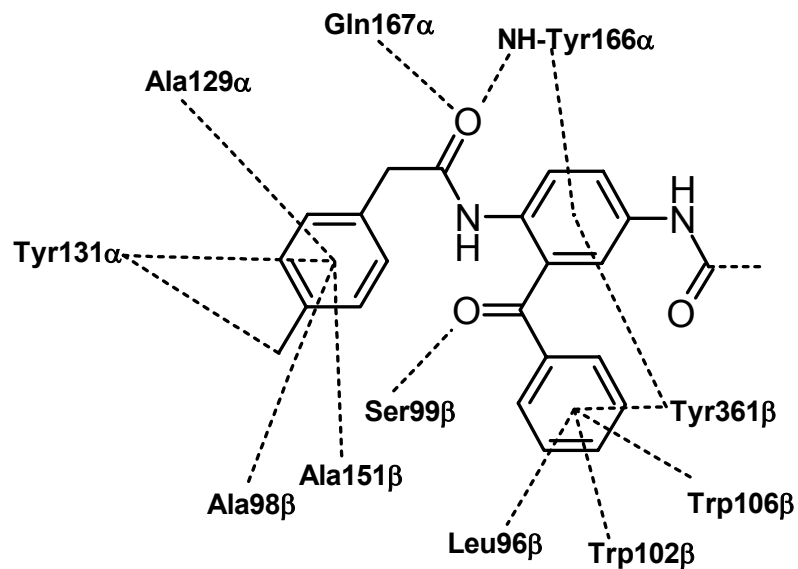
Parallel dazu erfolgte das Docking dieses Benzophenonderivates (Inhibitor **33**) mittels des Programms FlexX in das aktive Zentrum der FTase. Die Position des Zink-koordinierten Cysteinrestes wurde dabei beibehalten, während das Programm die Lage des Liganden unter schrittweisem Aufbau der Struktur bestimmte, wobei die jeweils energetisch günstigste Position berücksichtigt wurde. Dabei wurden die bevorzugten Interaktionen zwischen dem Benzophenonderivat und dem Enzym beachtet, während sterische Überlappungen verhindert werden sollen (Abb. 34). [122]



**Abb. 33** (links): SEAL-Überlagerung der Konfiguration des N-Acetyl-Cys-Val-Ile-selenoMet mit Inhibitor **33** (Kohlenstoff: grün (N-Acetyl-Cys-Val-Ile-selenoMet) und weiß (Inhibitor **33**), Stickstoff: blau, Sauerstoff: rot, Schwefel: gelb) [122]

**Abb. 34** (rechts): Räumliche Ausdehnung des Inhibitors **33** mit Darstellung der Conolly-Oberfläche (gelbe Punkte) im aktiven Zentrum der FTase. [122]

Die Wechselwirkungsmöglichkeiten des Benzophenonderivats mit den Aminosäuren des aktiven Zentrums sind in der Abbildung 35 zusammengefasst:



**Abb. 35:** Mögliche Wechselwirkungen des peptidomimetischen Benzophenons mit Aminosäureseitenketten des aktiven Zentrums der FTase [122]

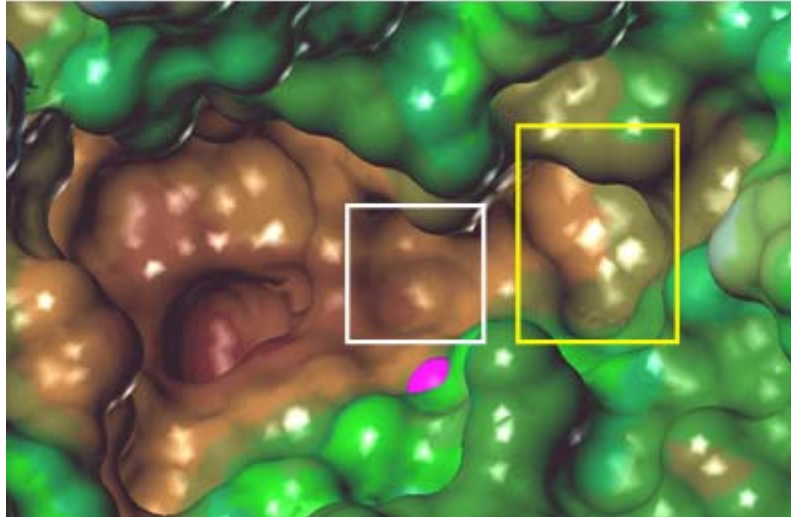
Viele der in der Literatur beschriebenen CAAX-Peptidomimetika enthalten, wie der Inhibitor **33**, eine Cysteinstruktur. Die freie Thiofunktion des Cysteins kann jedoch

bedeutende Nebenwirkungen verursachen, zu denen unter anderem Störungen des Geschmacksempfindens und Hautreaktionen zählen. [123]

Daher lag das nächste Ziel unseres Arbeitskreises in der Entwicklung thioffreier CAAX-Peptidomimetika. Es ist bekannt, dass stickstoffhaltige Heterozyklen in der Lage sind, eine Wechselwirkung mit dem Zink-Ion der FTase einzugehen, so dass FTI entwickelt wurden, die anstelle der Thiofunktion z.B. Imidazol als Ersatzstruktur enthielten. Breslin et al. haben 1998 festgestellt, dass auch ein Phenylrest an die Stelle des Heterozyklus treten kann, ohne dass ein Wirkverlust der Inhibitoren auftritt, und haben auf das mögliche Vorkommen einer Arylbindestelle im Enzym hingewiesen. [124, 125]

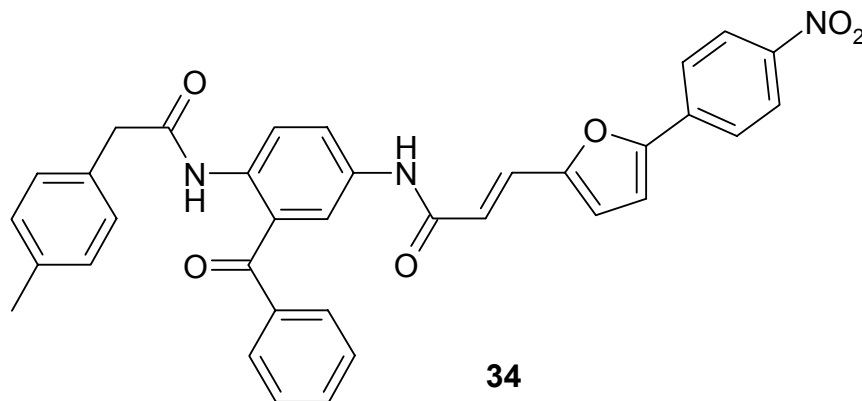
Um das Vorkommen dieser Bindetasche näher zu untersuchen, wurden von unserem Arbeitskreis verschiedene aus der Literatur bekannte Inhibitoren und eigene Inhibitoren mittels flexiblen Dockings in die Bindetasche der FTase eingefügt. Zusätzlich wurde eine GRID-Analyse durchgeführt, um mögliche Regionen zu finden, die bevorzugt Arylsubstituenten binden. Für die GRID-Analyse wurde ein dreidimensionales Gitter über alle Bereiche des Enzyms gelegt, die für die Bindung der Substrate von Bedeutung sind. An jedem Knotenpunkt dieses Gitters wurden die physikochemischen Eigenschaften für die einzelnen Inhibitoren und die Atome des aktiven Zentrums der FTase bestimmt. Da GRID verschiedene chemische Eigenschaften verarbeiten kann, wurde eine Funktion gewählt, die Punkte entdeckt an die aromatische Strukturen bevorzugt binden. Die Kombination aus flexiblem Docking und der GRID-Analyse zeigte dabei zwei potentielle hydrophobe Bindungsregionen, eine nahe und eine ferne Arylbindetasche (Abb. 36). Die nahe Bindetasche wird durch die Aminosäuren Tyr 300 $\beta$ , Trp 303 $\beta$ , Tyr 361 $\beta$  und Tyr 365 $\beta$  gebildet, während die ferne Arylbindetasche aus den Aminosäuren Tyr 300 $\beta$ , Leu 295 $\beta$ , Lys 294 $\beta$ , Lys 353 $\beta$  und Lys 356 $\beta$  besteht. Das Design der neuen Inhibitorgeneration konzentrierte sich auf die Besetzung der fernen Arylbindetasche. [126]





**Abb. 36:** Lage der zwei postulierten Arylbindetaschen im aktiven Zentrum der FTase (weiß: nahe Arylbindetasche, gelb: ferne Arylbindetasche, magenta: Zink-Ion) [127]

Dazu wurde eine Biarylstruktur, die aus einem fünfatomigen und aus einem sechsatomigen aromatischen Ring besteht, gewählt. Als Verbindung zum Benzophenonrest wurde eine Acrylsäurestruktur verwendet, die zum einen die benötigte Distanz zwischen beiden Strukturen schafft und zum anderen den Biarylrest durch die transkonfigurierte Doppelbindung in die gewünschte Richtung dirigiert. Von mehreren hergestellten Biarylen erwies sich das 5-(4-Nitrophenyl)-2-furylderivat **34** als bester Inhibitor mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 35 nM (Abb. 37). [126]

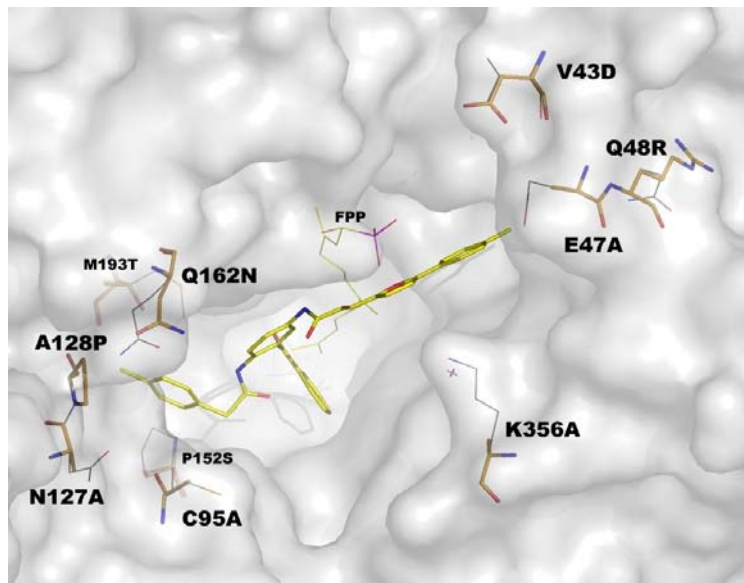


**Abb. 37:** Leitstruktur **34**

Im Rahmen dieser Arbeit dient dieser Inhibitor (**34**) als Leitstruktur. Durch Strukturvariationen des Phenylacetylaminorestes an der Position 4 der

Benzophenongrundstruktur sollen die Struktur-Wirkungs-Beziehungen dieser Derivate untersucht werden, um die Wirkung als FTI zu optimieren.

Die Testung sämtlicher Inhibitoren, die im Rahmen dieser Arbeit hergestellt worden sind, erfolgte an isolierter FTase aus *S. cerevisiae* (ScFTase) mittels eines Fluoreszenz-Essays.

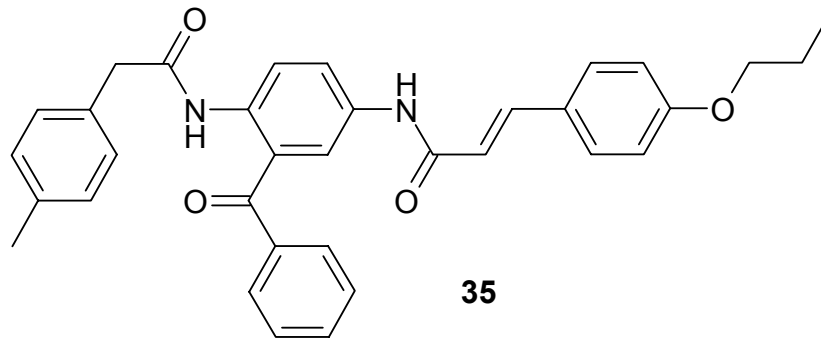


**Abb. 38:** Homologiemodell für FTase aus der Ratte und aus *S. cerevisiae* mit hineingedocktem Inhibitor (hier: 5-(4-Methylphenyl)-2-furylderivat). Die Aminosäureseitenketten der RnFTase sind als dünne Linien dargestellt, die Aminosäureseitenketten der ScFTase als dicke Linien. [128]

Zwar stimmen von 53 Aminosäuren im aktiven Zentrum der humanen FTase nur 43 mit dem Enzym der Hefe überein (81% Identität), doch die 10 unterschiedlichen Aminosäuren werden vermutlich die Bindung des Inhibitors nicht signifikant beeinflussen, da sie die Eigenschaften der Bindetasche nicht entscheidend verändern oder eher in der Peripherie der vermuteten Bindungsstelle unserer Inhibitoren zu finden sind und damit die Protein-Inhibitor-Wechselwirkungen kaum beeinflussen dürften (Abb. 38). [128]

Nach der Entdeckung von FTase-Aktivität in *P. falciparum* wurden auch zahlreiche Inhibitoren unseres Arbeitskreises auf ihre Wirksamkeit gegenüber den intraerythrozytären Formen des Parasiten getestet. Die Bestimmung der  $IC_{50}$ -Werte erfolgte von Herrn Dr. Jochen Wiesner vom Labor Infektiologie, Biochemisches Institut der Justus-Liebig-Universität Gießen (Leiter: Dr. Hassan Jomaa). Es wird der

Effekt der Inhibitoren auf die Viabilität der Parasiten über die Inkorporation von  $^3\text{H}$ -Hypoxanthin ermittelt. [129]



**Abb. 39:** Leitstruktur **35**

Ähnlich wie bei der Testung von Inhibitoren gegen isolierte FTase zeigten einige unserer Inhibitoren bei der Testung gegen *P. falciparum* gute Wirksamkeit. Zwei der besten Inhibitoren wurden im Rahmen dieser Arbeit als neue Leitstrukturen gewählt, um Struktur-Wirkungs-Beziehungen zu untersuchen: Zum einen das 4-Propoxyzimtsäurederivat **35** (Abb. 39) mit einem  $\text{IC}_{50}$ -Wert von 340 nM und zum anderen das bereits vorgestellte 5-(4-Nitrophenyl)-2-furylderivat **34** mit einem  $\text{IC}_{50}$ -Wert von 75 nM. [130, 131]

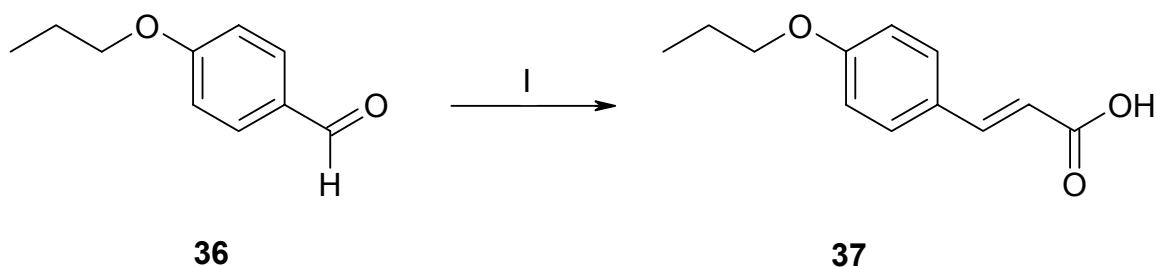
## 4. Untersuchung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen

### 4.1. Untersuchung der 4-Propoxyzimtsäurederivate

Vorangegangene Untersuchungen zu den Struktur-Wirkungs-Beziehungen von 5-Cinnamoylaminobenzophenonen haben zum 4-Propoxyzimtsäurederivat **35** (Abb. 39, S. 65) als Leitstruktur für die Entwicklung von FTI gegen *P. falciparum* geführt. Zur weiteren Untersuchung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen wird der para-Tolylessigsäurerest an der 2-Aminogruppe der Leitstruktur durch verschiedene Acylsubstituenten ersetzt. Untersucht wird dabei der Einfluss der unterschiedlichen Substituenten auf die Antimalariaaktivität.

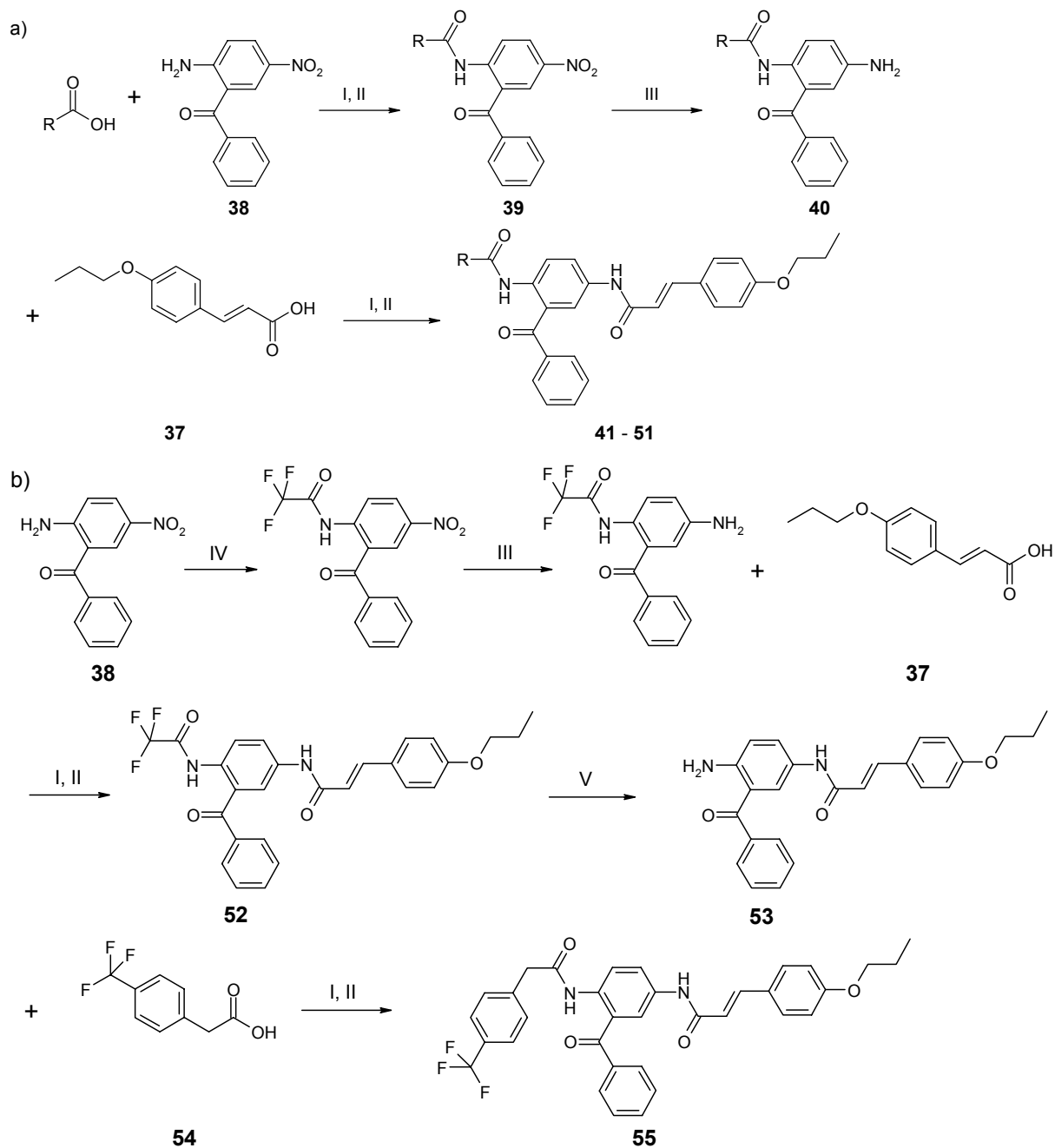
#### 4.1.1. Synthese

Die Darstellung der 4-Propoxyzimtsäure **37** erfolgt mittels Knoevenagel-Kondensation aus 4-Propoxybenzaldehyd **36** und Malonsäure unter den in Schema 1 dargestellten Reaktionsbedingungen. Die Reaktion verläuft unproblematisch und in guter Ausbeute.



**Schema 1:** Darstellung der 4-Propoxyzimtsäure. (I) Malonsäure, Pyridin, Piperidin, 2 h Rückfluss (RF)

Zur Synthese der 4-Propoxyzimtsäurederivate **41** – **51** wurden verschiedene Carbonsäuren als Säurechloride aktiviert und mit 2-Amino-5-nitrobenzophenon **38** umgesetzt. Die entstandenen Nitroverbindungen (Beispiel: **39**) wurden mit Zinn(II)-chlorid zu Aminen (Beispiel: **40**) reduziert und mit 4-Propoxyzimtsäure **37**, die zuvor als Säurechlorid aktiviert wurde, zu den gewünschten Produkten umgesetzt (Schema 2a).



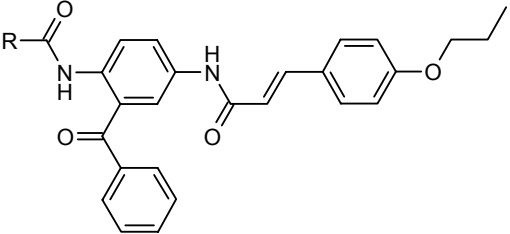
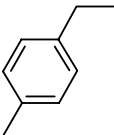
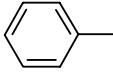
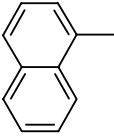
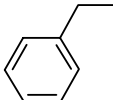
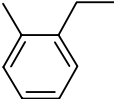
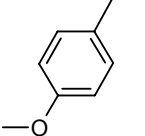
Problematisch erweist sich dieser Syntheseweg bei der Herstellung des para-Trifluormethylphenylelessigsäurederivates **55**. Die Umsetzung der para-Trifluormethylelessigsäure **54** mit dem Benzophenon **38** führte zu einer Ausbeute von weniger als 5%. Daher wurde auf einem alternativen Herstellungsweg (Schema 2b) die Aminfunktion des Benzophenons **38** mit einer Trifluoracetyl-Schutzgruppe

versehen. Die Nitrogruppe wurde mit Zinn(II)-chlorid reduziert und das entstandene Amin mit 4-Propoxyzimtsäurechlorid umgesetzt (**52**). Anschließend wurde die Schutzgruppe durch Kochen mit Dioxan / gesättigter Kaliumcarbonatlösung entfernt und das resultierende Amin **53** mit 4-Trifluormethylphenylelessigsäurechlorid zur Verbindung **55** umgesetzt. Das Fehlen der Nitrogruppe an der Benzophenonstruktur erhöht die Nukleophilie der Aminogruppe und ermöglicht dadurch eine bessere Umsetzung mit dem 4-Trifluormethylphenylelessigsäurechlorid.

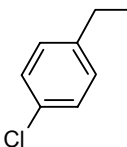
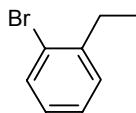
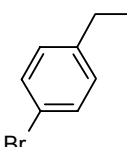
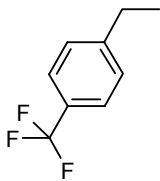
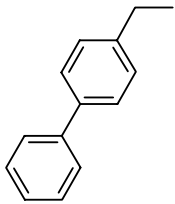
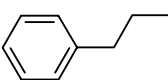
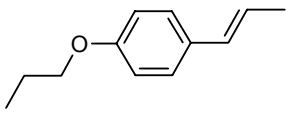
#### 4.1.2. Testung der Aktivität

Die Testergebnisse der 4-Propoxyzimtsäurederivate gegen FTase aus *S. cerevisiae* und *P. falciparum* sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

**Tab. 2:** 4-Propoxyzimtsäurederivate

							
	R	IC <sub>50</sub> FTase [nM]	IC <sub>50</sub> <i>P. falc.</i> [nM]		R	IC <sub>50</sub> FTase [nM]	IC <sub>50</sub> <i>P. falc.</i> [nM]
<b>35</b>		154	340	<b>41</b>		1700	9000
<b>42</b>		633	3400	<b>43</b>		1170	2500
<b>44</b>		2490	2500	<b>45</b>		7680	1300

Tab. 2: 4-Propoxyzimtsäurederivate (Fortsetzung)

	R	IC <sub>50</sub> FTase [nM]	IC <sub>50</sub> <i>P. falc.</i> [nM]		R	IC <sub>50</sub> FTase [nM]	IC <sub>50</sub> <i>P. falc.</i> [nM]
46		583	350	47		1700	2800
48		633	310	55		340	120
49		2760	24000	50		870	450
51		2690	23000				

#### 4.1.2.1. Testung auf Aktivität gegen Farnesyltransferase

Obwohl die hergestellten Derivate hauptsächlich Auskunft über die Struktur-Wirkungs-Beziehungen gegenüber *P. falciparum* geben sollten, sind sämtliche Verbindungen auch gegen FTase aus *S. cerevisiae* getestet worden. Die Leitstruktur **35** zeigt dabei einen IC<sub>50</sub>-Wert von 154 nM. Betrachtet man die Messwerte der Verbindungen **41** – **51** und **55** wird deutlich, dass nicht einmal annähernd die Aktivität der Leitstruktur erreicht wird. Das para-Trifluormethylphenyllessigsäurederivat **55** (IC<sub>50</sub> = 340 nM) ist etwa um den Faktor 2 schlechter, während das para-Chlorphenyllessigsäurederivat **46**, das para-Bromphenyllessigsäurederivat **48** und das 1-Naphthoylderivat **42** jeweils um etwa den Faktor 4 schlechter sind. Die restlichen IC<sub>50</sub>-Messwerte erreichen nicht einmal den nanomolaren Bereich. Generell deuten die Ergebnisse darauf hin, dass para-substituierte Phenyllessigsäurederivate die beste Wirkung in dieser Serie aufweisen, allerdings dürfen die Substituenten an der Phenyllessigsäurestruktur nicht zu voluminös sein. Die einzige Ausnahme bildet das 1-Naphthoylderivat **42**.

#### 4.1.2.2. Wirksamkeit gegenüber *Plasmodium falciparum*

Ausgehend vom 4-Tolylessigsäurederivat **35** ist als erster Schritt der strukturellen Modifikation die para-Methylgruppe entfernt worden. Das entstandene Phenylelessigsäurederivat **43** ist dabei mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 2500 nM deutlich weniger aktiv als die Leitstruktur **35** ( $IC_{50} = 340$  nM). Das Entfernen des Methylenspacers dieser Verbindung führt zum Benzoessäurederivat **41**, das mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 9000 nM fast als inaktiv zu bezeichnen ist. Verwendet man anstelle des Phenylrestes einen 1-Naphthoylrest **42**, verbessert sich zwar die Wirksamkeit ( $IC_{50} = 3400$  nM), aber die Aktivität gegen die Malariaparasiten ist immer noch um den Faktor 10 schlechter als die der Leitstruktur **35**. Ebenfalls einen Wirkverlust, allerdings nur einen minimalen, bringt das Einfügen eines zusätzlichen Methylenspacers: Das Propionsäurederivat **50** zeigt einen  $IC_{50}$ -Wert von 450 nM.

Da die ursprüngliche Ausgangsverbindung **35** zu diesem Zeitpunkt immer noch die beste Wirksamkeit aufwies, bot sich eine weitere Untersuchung para-substituierter Phenylelessigsäurederivate an.

Das Einführen einer Methoxygruppe als para-Substituent (**45**) führt ebenso wie das völlige Entfernen des Substituenten zu einem Wirkungsverlust. Der  $IC_{50}$ -Wert dieses Derivates ist mit 1300 nM immer noch um den Faktor 4 höher als der des para-Tolylessigsäurederivates **35**. Im Gegensatz dazu führt das Ersetzen der Methylgruppe durch Halogensubstituenten zu etwa äquipotenten Inhibitoren. Das para-Chlorderivat **46** zeigt einen  $IC_{50}$ -Wert von 350 nM, das para-Bromderivat **48** einen Wert von 310 nM. Verschiebt man den Methyl- und den Bromsubstituenten in die ortho-Position der Phenylelessigsäurestruktur, zeigt sich wiederum ein deutlicher Verlust der Aktivität (ortho-Methylderivat **44**:  $IC_{50} = 2500$  nM, ortho-Bromderivat **47**:  $IC_{50} = 2800$  nM). Erst das Einbringen einer Trifluormethylgruppe in die para-Position führt zu einer Verbesserung der Antimalariaaktivität um etwa den Faktor 3, mit einem  $IC_{50}$ -Wert für das para-Trifluormethylphenylelessigsäurederivat **55** von 120 nM.

Erfolgt die Acylierung der Aminogruppe an Position 2 des Benzophenons mit sterisch voluminöseren Substituenten wie beim Biphenylylessigsäurederivat **49** und beim 4-Propoxyzimtsäurederivat **51**, kommt es zum totalen Verlust der Wirksamkeit (**49**:  $IC_{50} = 24000$  nM, **51**:  $IC_{50} = 23000$  nM).

Zusammenfassend zeigt sich, dass mit dem Einfügen eines para-Trifluormethylsubstituenten in die Ausgangsverbindung **35** eine deutliche Verbesserung der Wirksamkeit erreicht werden konnte. Die Verbindung **55**



repräsentiert damit einen wichtigen Schritt der Entwicklung neuer potentieller Antimalariawirkstoffe.

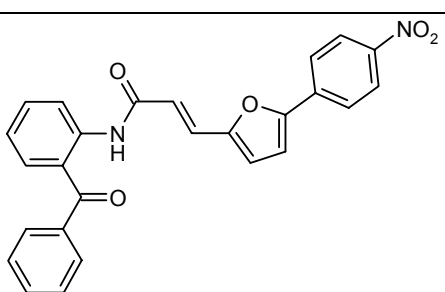
## 4.2. Untersuchung der 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure-derivate

Analog zum 4-Propoxyzimtsäurederivat **35** ist auch das 5-(4-Nitrophenyl)-2-furylderivat **34** (Abb. 37, S. 63) mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 35 nM gegen isolierte FTase und einem  $IC_{50}$ -Wert von 75 nM gegen *P. falciparum* eine Leitstruktur für die Entwicklung von Farnesyltransferaseinhibitoren gegen *P. falciparum*.

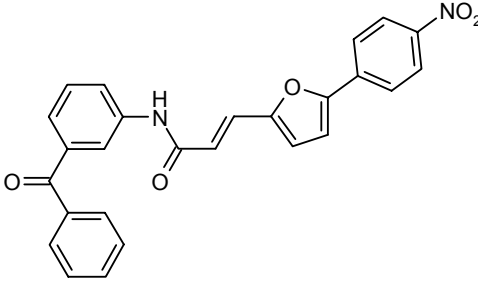
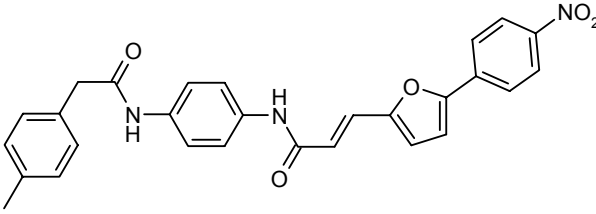
### 4.2.1. Notwendigkeit bestimmter Strukturelemente

Um zu testen, ob sämtliche Strukturelemente dieser Leitstruktur für die Wirksamkeit von Bedeutung sind, haben wir zunächst 3 Inhibitoren synthetisiert, denen jeweils ein bestimmtes Strukturelement fehlt. Tabelle 3 enthält die Strukturformeln dieser Derivate zusammen mit den Ergebnissen der Testung gegen isolierte FTase und gegen *P. falciparum*.

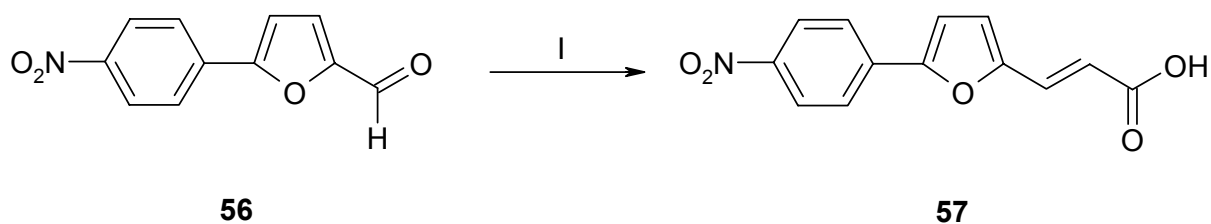
**Tab. 3:** 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamidderivate zur Untersuchung der Notwendigkeit bestimmter Strukturelemente

		$IC_{50}$ FTase [nM]	$IC_{50}$ <i>P. falc.</i> [nM]
<b>58</b>		400	50000

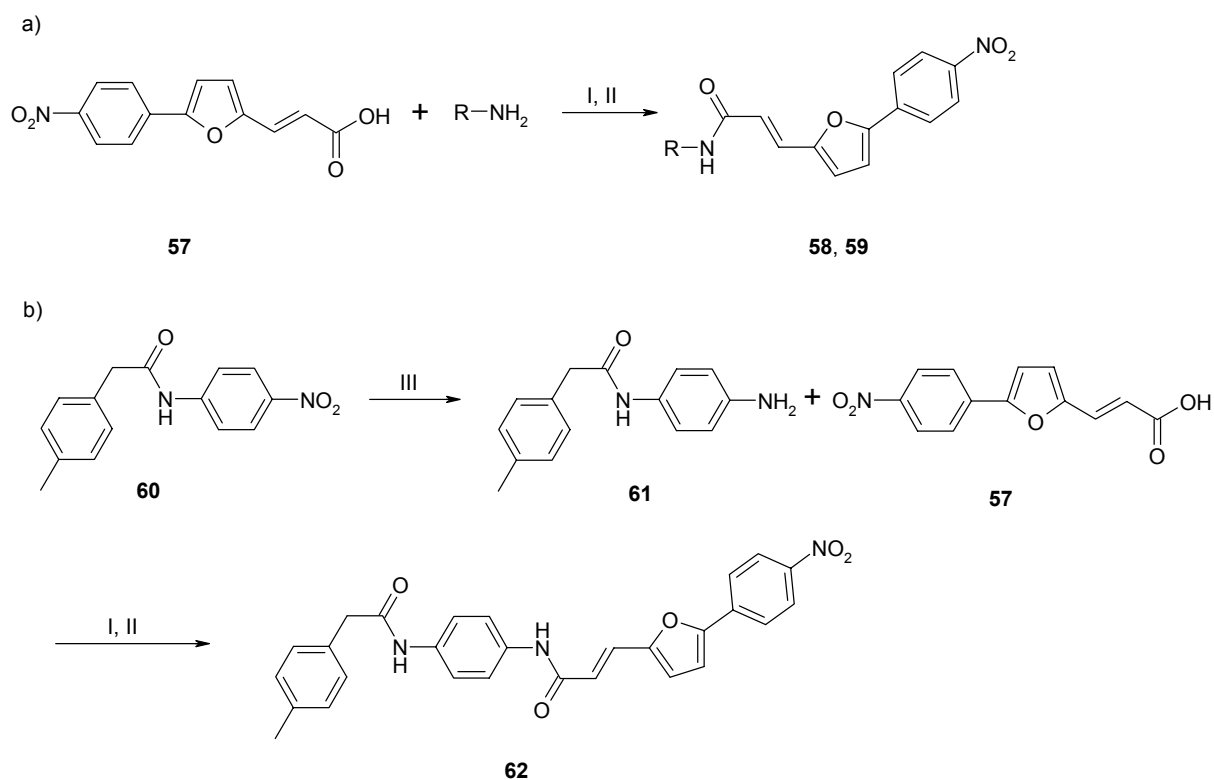
**Tab. 3:** 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäurederivate zur Untersuchung der Notwendigkeit bestimmter Strukturelemente (Fortsetzung)

		IC <sub>50</sub> FTase [nM]	IC <sub>50</sub> <i>P. falc.</i> [nM]
<b>59</b>		1000	6000
<b>62</b>		680	> 100000

Die Synthese der Verbindungen erfolgte durch Umsetzung von 5-(4-Nitrophenyl)furfural **56** mit Malonsäure unter den in Schema 3 angegebenen Bedingungen zu 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57**, die als Säurechlorid aktiviert und mit verschiedenen Aminen umgesetzt wurde. Die Inhibitoren **58** und **59** benötigten nur die Umsetzung des Acrylsäurechlorids (**57**) mit 2-Aminobenzophenon bzw. 3-Aminobenzophenon (Schema 4a), Inhibitor **62** wurde über die Zwischenstufen **60** und **61** hergestellt (Schema 4b).



**Schema 3:** Darstellung der 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure. (I) Malonsäure, Pyridin, Piperidin, 2 h Rückfluss (RF)



**Schema 4:** Darstellung der Inhibitoren **58**, **59** und **62**. (I) Oxalylchlorid, Dichlormethan, Dimethylformamid, 2 h Rühren, RT; (II) Toluol / Dioxan, 2 h RF; (III) Zinn(II)-chlorid-Dihydrat, Ethylacetat, 2 h RF

Betrachtet man die verschiedenen Inhibitoren, erhält man folgende Variationen: Der Verbindung **59** fehlt die 2-Aminogruppe an der Benzophenongrundstruktur und damit der *para*-Tolylessigsäureamidrest des 5-(4-Nitrophenyl)-2-furylderivates **34**, das Derivat **62** enthält keine Benzophenongrundstruktur, es fehlt der 3-Benzoylrest, und in der Verbindung **58** wurde aus dem 3-Benzoylrest des Benzophenons ein 2-Benzoylrest.

Die Testergebnisse zeigen sowohl bei der Untersuchung der Wirksamkeit gegen FTase als auch bei der Bestimmung der Aktivität gegen *P. falciparum*, dass die Inhibitoren **58**, **59** und **62** gegenüber der Ausgangsverbindung **34** deutlich an Aktivität verlieren. Man kann daher schlussfolgern, dass alle Strukturelemente der Leitstruktur **34** für die Wirkung essentiell sind.

### 4.2.2. Variationen des Acylsubstituenten

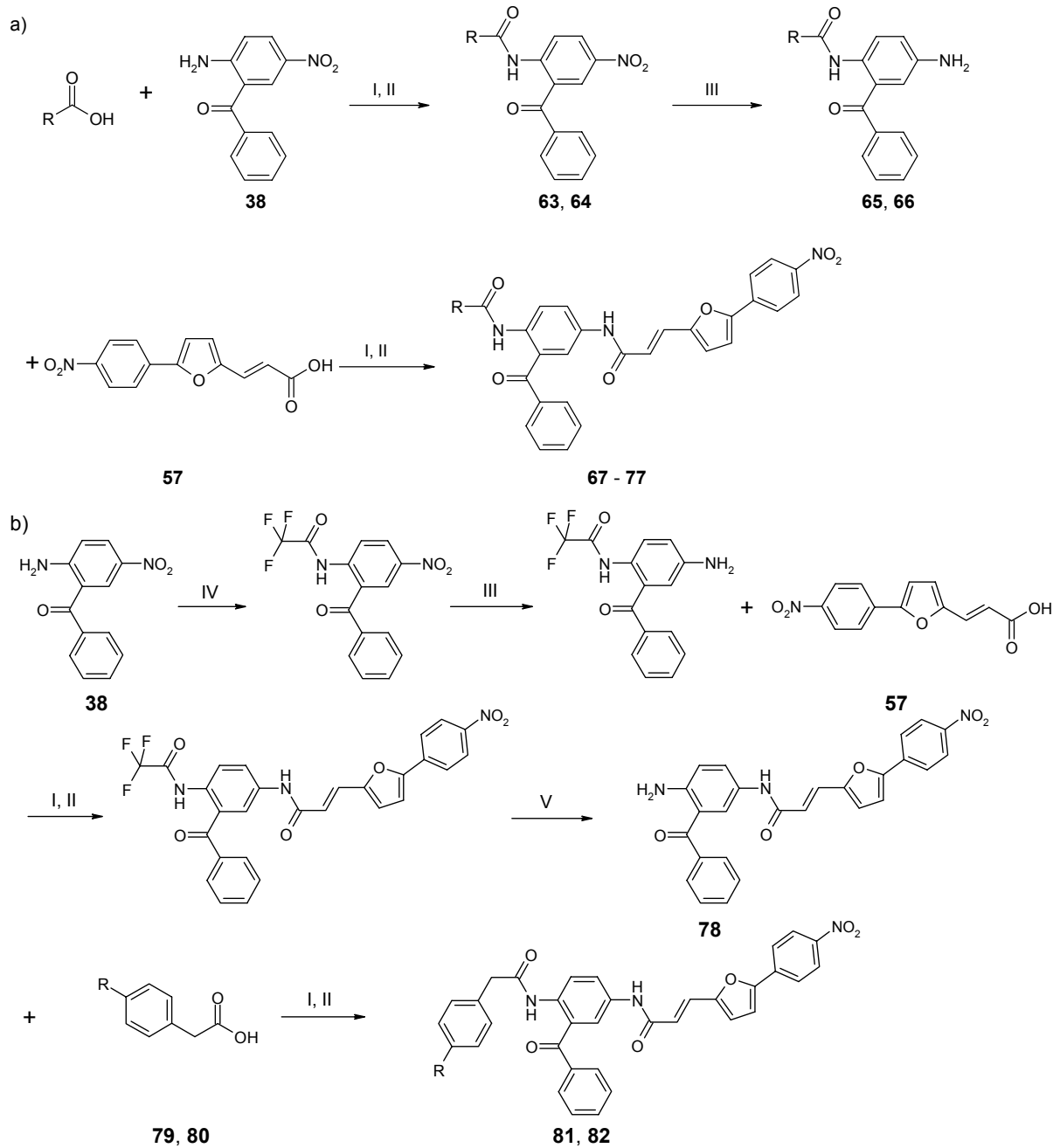
Da sowohl die Veränderung der Benzophenongrundstruktur als auch das Entfernen des Acylsubstituenten zu einem Anstieg der  $IC_{50}$ -Werte und damit zu einer Verminderung der Aktivität führten, haben wir beschlossen, die Untersuchung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen mit Variationen des Acylsubstituenten fortzusetzen. Getestet wird die Veränderung der Aktivität gegen FTase und der Einfluss auf die Wirksamkeit gegen *P. falciparum*, wenn der para-Tolylessigsäurerest an der 2-Aminogruppe des Benzophenons gegen andere Acylsubstituenten ausgetauscht wird.

### 4.2.3. Synthese

Zur Synthese der 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäurederivate **67** – **77** wurden verschiedene Carbonsäuren als Säurechloride aktiviert und mit 2-Amino-5-nitrobenzophenon **38** umgesetzt. Die resultierenden Nitroverbindungen (Bsp.: **63** und **64**) wurden mit Zinn(II)-chlorid zu Aminen reduziert (Bsp.: **65** und **66**) und an das Acrylsäurechlorid (**57**) gekoppelt (Schema 5a).

Als unmöglich erwies sich dieses Vorgehen bei der Herstellung des para-Nitrophenylderivates **82**, da die Reduktion zum Amin ebenfalls zur Reduktion der Nitrogruppe an der Phenylelessigsäurestruktur geführt hätte.

Daher wurde auf einem alternativen Syntheseweg (Schema 5b) die Aminfunktion des Benzophenons **38** mit einer Trifluoracetyl-Schutzgruppe versehen. Die Nitrogruppe wurde mit Zinn(II)-chlorid reduziert und das entstandene Amin mit der als Säurechlorid aktivierten Acrylsäure **57** umgesetzt. Nach Abspaltung der Schutzgruppe durch Kochen in Dioxan / gesättigter Kaliumcarbonatlösung wurde das entstandene Amin **78** mit 4-Nitrophenylelessigsäure **80** und auch mit 4-Fluorphenylelessigsäure **79** zu den Inhibitoren **81** und **82** umgesetzt.

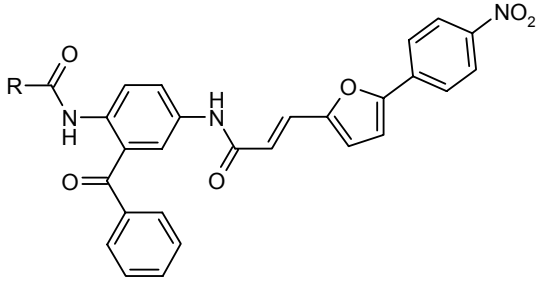
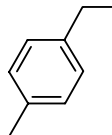
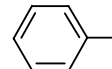
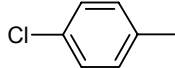
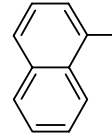
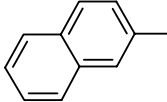
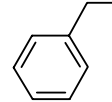
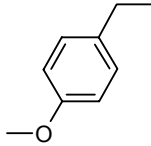
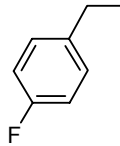
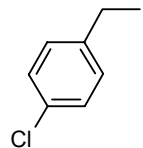
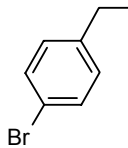


**Schema 5:** Darstellung der 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäurederivate. (I) Oxalylchlorid, Dichlormethan, Dimethylformamid, 2 h Rühren, RT; (II) Toluol / Dioxan, 2 h RF; (III) Zinn(II)-chlorid-Dihydrat, Ethylacetat, 2 h RF; (IV) Trifluoressigsäureanhydrid, Dichlormethan, Pyridin, 1 h Rühren RT; (V) Kaliumcarbonat / Wasser, 3 h RF

#### 4.2.4. Testung auf Aktivität

Eine Übersicht über die synthetisierten Derivate mit den ermittelten IC<sub>50</sub>-Werten gibt Tabelle 4.

**Tab. 4:** 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäurederivate <sup>1</sup>

							
	R	IC <sub>50</sub> FTase [nM]	IC <sub>50</sub> <i>P. falc.</i> [nM]		R	IC <sub>50</sub> FTase [nM]	IC <sub>50</sub> <i>P. falc.</i> [nM]
<b>34</b>		35	75	<b>67</b>		123	3000
<b>68</b>		117	2500	<b>83</b>		465	770
<b>69</b>		185	2500	<b>70</b>		6	270
<b>84</b>		35	320	<b>81</b>		15	230
<b>73</b>		102	64	<b>85</b>		50	70

<sup>1</sup> Die Verbindungen **83** – **90** stammen aus der Dissertation von Dr. J. J. Sakowski (Marburg, 2001).

Tab. 4: 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäurederivate (Fortsetzung)

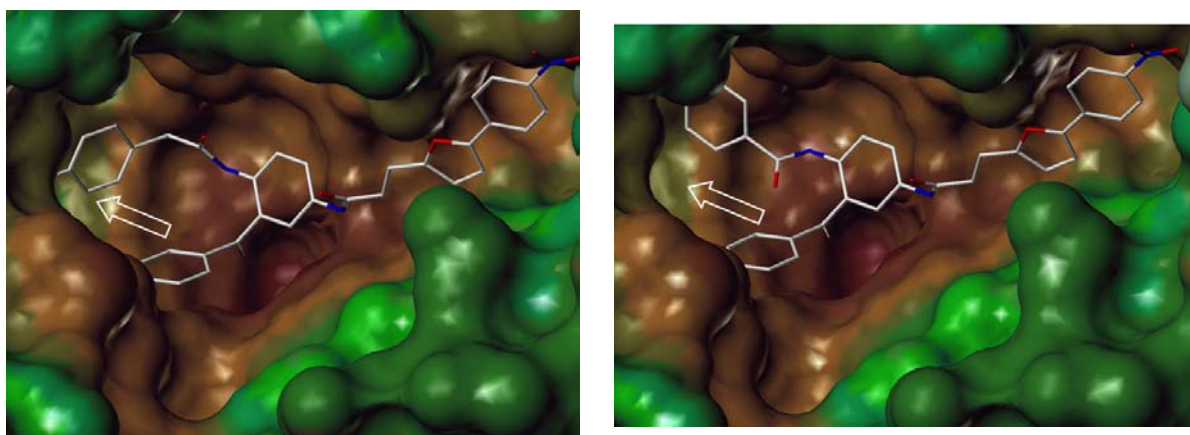
	R	IC <sub>50</sub> FTase [nM]	IC <sub>50</sub> <i>P. falc.</i> [nM]		R	IC <sub>50</sub> FTase [nM]	IC <sub>50</sub> <i>P. falc.</i> [nM]
86		26	47	82		136	1400
71		206	650	72		58	150
87		15	1000	88		14	1000
74		6	250	75		8	210
89		7	1000	90		660	5500
76		40	310	77		5	2300

#### 4.2.3.1. Testung auf Aktivität gegen Farnesyltransferase

Ausgehend vom para-Tolylessigsäurederivat **34** (IC<sub>50</sub> = 35 nM) sind zuerst unsubstituierte Phenylreste als Substituenten untersucht worden, wobei die Entfernung zwischen der Säureamidstruktur und dem Phenylrest variiert wurde. Hierbei wird deutlich, dass das Abweichen von der ursprünglich verwendeten Distanz mit einem Verlust der Inhibitorwirkung einhergeht. Während das unsubstituierte Phenylelessigsäurederivat **70** etwa sechsmal aktiver ist (IC<sub>50</sub> = 6 nM) als die ursprüngliche Leitstruktur, ist das kürzere Benzoesäurederivat **67** merkbar weniger aktiv (IC<sub>50</sub> = 123 nM). Auch das Einfügen eines para-Chlorsubstituenten in dieses Derivat kann die Inhibitorwirkung nicht steigern. Mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 117 nM ist

das resultierende para-Chlorbenzoesäurederivat **68** ebenso wirksam wie die entsprechende Ausgangsverbindung **67**.

Die unterschiedliche Aktivität der Derivate mit einer Phenyllessigsäurestruktur gegenüber dem unsubstituierten Benzoesäurederivat lässt sich möglicherweise mittels flexiblen Dockings erklären. Ein direkter Vergleich der Dockinglösungen für das Benzoesäurederivat **67** und das para-Tolylessigsäurederivat **34** zeigt, dass der Arylrest der Verbindung **34** in einen Spalt der Bindetasche, markiert durch einen weißen Pfeil, hineinreicht, den der Phenylrest der Verbindung **67** nicht erreicht (Abb. 40).



**Abb. 40:** Dockinglösungen des para-Tolylessigsäurederivates **34** (links) und des Benzoesäurederivates **67** (rechts). Die Lösung von Verbindung **34** zeigt, dass der endständige Arylrest in einen Bereich der Bindetasche hineinreicht, der vom Phenylrest der Verbindung **67** nicht erreicht wird. Die entsprechende Bindetasche ist durch den weißen Pfeil gekennzeichnet.

Ebenso wie das Benzoesäurederivat **67** ist auch das längere Phenylpropionsäurederivat **76** mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 40 nM nicht so aktiv wie die Leitstruktur **34**. Verwandelt man jedoch den Ethylenspacer des Derivates **76** in eine trans-konfigurierte Doppelbindung, erhält man mit dem Zimtsäurederivat **77** einen zum Phenyllessigsäurederivat **70** äquipotenten Inhibitor (**77**:  $IC_{50} = 5$  nM).

Der nächste Schritt in der Untersuchung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen war die Addition von Substituenten an den terminalen Arylrest der Phenyllessigsäurestruktur **70**.<sup>2</sup>

<sup>2</sup> Die Untersuchung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen durch Variation der Zimtsäurestruktur **77** ist Gegenstand der Diplomarbeit von K. Fucik (München, 2002)

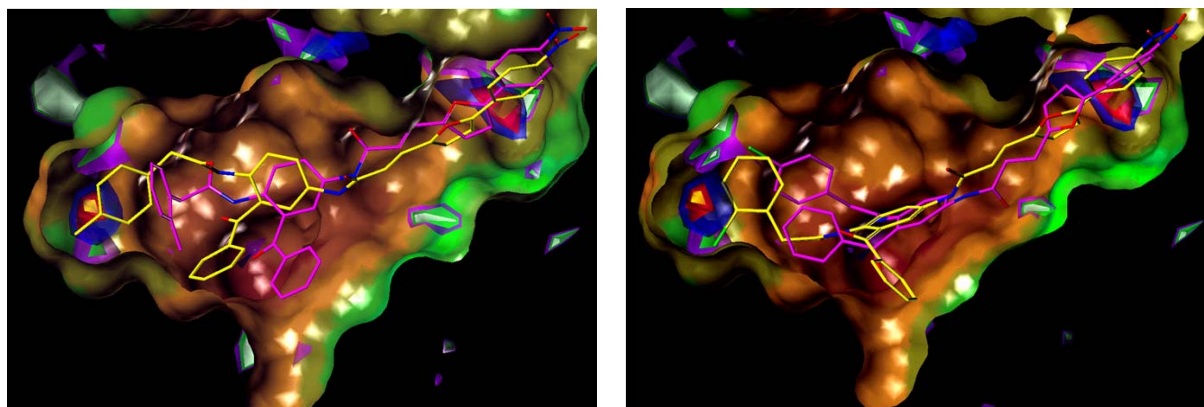


Die Einführung eines para-Methoxysubstituenten **84** führt zu einem Derivat mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 35 nM. Die Verbindung zeigt damit die gleiche Wirkung wie die ursprüngliche Leitstruktur **34**, aber eine Verringerung der Aktivität um etwa den Faktor 6 gegenüber der unsubstituierten Phenylelessigsäurestruktur **70**. Verschiebt man den Methylrest des para-Tolylessigsäuresubstituenten in die meta- oder in die ortho-Position, findet sich eine weitere Abnahme der Wirksamkeit gegenüber FTase, die beim ortho-Tolylessigsäuresubstituenten **71** ( $IC_{50} = 206$  nM) sogar noch stärker ausgeprägt ist als beim meta-Tolylessigsäuresubstituenten **72** mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 58 nM.

Das Einbringen eines Halogens in die para-Position des unsubstituierten Phenylelessigsäurederivates **70** führt in allen Fällen zu einer verminderten Effektivität des Inhibitors. Dieser Effekt ist beim para-Fluorsubstituenten (**81**) weniger ausgeprägt ( $IC_{50} = 15$  nM) als bei den anderen Halogensubstituenten, was dadurch erklärt werden kann, dass das Fluoratom zumindest sterisch eine größere Ähnlichkeit mit einem Wasserstoffatom aufweist als Chlor- oder Bromatome. Sowohl das para-Chlorphenylelessigsäurederivat **73** ( $IC_{50} = 102$  nM) als auch das para-Bromphenylelessigsäurederivat **85** ( $IC_{50} = 50$  nM) sind in ihrer Wirksamkeit deutlich schwächer. Interessanterweise führt der Transfer des Bromsubstituenten von der para- in die ortho-Position zum aktiveren Inhibitor **87** mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 15 nM. Dieses Ergebnis steht im deutlichen Gegensatz zur Beobachtung bei der Variation des Methylsubstituenten, dessen Verlagerung von der para- zur ortho-Position ein Absinken der Aktivität nach sich zieht.

Ersetzt man den para-Tolylessigsäurerest der Leitstruktur **34** durch einen para-Trifluormethylphenylelessigsäurerest **86**, erhält man mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 26 nM ein geringfügig aktiveres Derivat. Erneut bewirkt die Veränderung der Position des Substituenten eine Verbesserung der Aktivität, das ortho-Trifluormethylderivat **88** weist einen  $IC_{50}$ -Wert von 14 nM auf und ist damit genauso aktiv wie das ortho-Bromderivat **87**.

Diese Struktur-Wirkungs-Beziehungen sind nur schwer zu verstehen, insbesondere der unterschiedliche Einfluss der ortho-Position auf die Aktivität der Inhibitoren führt zu einem Problem. Während der Methylsubstituent in dieser Position eindeutig eine reduzierte Aktivität nach sich zieht, sind die ortho-Brom- und ortho-Trifluormethylderivate aktiver als ihre para-substituierten Analoga. Modellierungstudien können hier ein wenig Einblick schaffen (Abb. 41 und 42).



**Abb. 41** (links): Vergleich der Dockinglösungen für das para-Tolylessigsäurederivat **34** (gelb) und das ortho-Tolylessigsäurederivat **71** (magenta). Regionen, in denen laut DrugScore bevorzugt Methylgruppen binden, sind durch eine blau-gelb-rote Wolke dargestellt (rot: größte Prävalenz). Die para-Methylgruppe der Verbindung **34** findet sich in diesem Bereich, während die ortho-Methylgruppe der Verbindung **71** außerhalb dieser Region liegt.

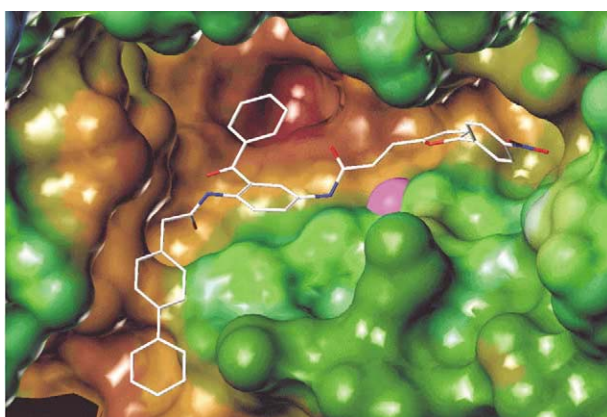
**Abb. 42** (rechts): Vergleich der Dockinglösungen für den para-bromsubstituierten Inhibitor **85** (magenta) und den ortho-bromsubstituierten Inhibitor **87** (gelb). Regionen, die laut DrugScore bevorzugt Wasserstoffbrückenakzeptoren binden, werden durch eine violett-grün-weiße Wolke dargestellt (weiß: größte Prävalenz). Der ortho-Bromsubstituent zeigt in einen solchen Bereich, während der para-Bromsubstituent keine dieser Regionen erreichen kann.

Untersuchungen der Bindetasche der FTase mit dem Programm DrugScore haben Bereiche aufgezeigt, die bevorzugt Methylgruppen oder Wasserstoffbrückenakzeptoren binden. Der para-Methylsubstituent des Inhibitors **34** erreicht im aktiven Zentrum einen Punkt, der bevorzugt Methylgruppen bindet, während diese Stelle vom ortho-Methylsubstituenten des Inhibitors **71** nicht erreicht werden kann. Im Fall der bromsubstituierten Derivate **85** und **87** erreicht der ortho-Bromsubstituent eine Region, die bevorzugt Wasserstoffbrückenakzeptoren bindet, während der para-Bromsubstituent nicht in einen solchen Bereich der Bindetasche dirigiert wird. Da sowohl die Bromsubstituenten als auch die Trifluormethylsubstituenten schwache Wasserstoffbrückenakzeptoren sind, ist das Erreichen dieser wasserstoffbrückenakzeptoren-bindenden Regionen eine mögliche Erklärung für die verbesserte Aktivität der ortho-substituierten Derivate.

Fügt man in die para-Position der Phenylelessigsäurestruktur eine Nitrogruppe ein, zeigt sich eine Verschlechterung der Wirksamkeit. Mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 136 nM ist das para-Nitrophenylelessigsäurederivat **82** der bis hier schlechteste para-substituierte Inhibitor.

Im Anschluss an die Untersuchung der Phenylelessigsäurestruktur wurde die 2-Aminogruppe der Benzophenongrundstruktur mit größeren aromatischen Resten acyliert. Naphthylreste, die mit der 1- oder 2-Position direkt an das Säureamid gebunden sind, zeigen nur eine mittlere Aktivität (**83** (1-Naphthoylderivat):  $IC_{50} = 465$  nM, **69** (2-Naphthoylderivat):  $IC_{50} = 185$  nM). Analog zu den Inhibitoren **67** und **70** führt das Einfügen eines zusätzlichen Methylenspacers zu einer Verbesserung der Aktivität. Das 1-Naphthylelessigsäurederivat **74** hat einen  $IC_{50}$ -Wert von 6 nM und das 2-Naphthylelessigsäurederivat **75** einen  $IC_{50}$ -Wert von 8 nM. Beide Derivate sind genauso aktiv wie das Phenylelessigsäurederivat **70**.

Die gleiche Aktivität zeigt sich auch für das Biphenylylessigsäurederivat **79** ( $IC_{50} = 7$  nM), während das Diphenylelessigsäurederivat **90** einen deutlichen Aktivitätsverlust aufweist ( $IC_{50} = 660$  nM).



**Abb. 43:** Dockinglösung für den biphenylylsubstituierten Inhibitor **89**

Das flexible Docking von Inhibitor **89** liefert eine interessante Lösung, in der der Biarylrest in einen lipophilen Kanal bindet, die so genannte Austrittsfurche, in den normalerweise der Farnesylrest des farnesylierten Proteins bindet (Abb. 43).

Obwohl die Struktur-Wirkungs-Beziehungen dieser Serie von FTI nicht leicht zu interpretieren sind, haben die Variationen der Leitstruktur **34** zu einigen Inhibitoren mit verbesserter Aktivität geführt. Diese Verbindungen zeigen Aktivität im niedrigen nanomolaren Bereich. Ein weiteres Ziel der Entwicklung ist jetzt die Verbesserung der physikochemischen Eigenschaften dieser Inhibitoren.

#### 4.2.3.2. Wirksamkeit gegenüber *Plasmodium falciparum*

Neben der Funktion als Leitstruktur für die Untersuchung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen von FTI dient das 5-(4-Nitrophenyl)-2-furylderivat **34** mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 75 nM gegen *P. falciparum* ebenfalls als Ausgangsubstanz für die Betrachtung des Einflusses der Strukturvariationen auf die Antimalariaktivität der FTI. Die Verkürzung der Distanz zwischen der Säureamidstruktur und dem Phenylrest führt analog zu den Struktur-Wirkungs-Beziehungen bei der FTase-Testung zu einer Verschlechterung der Antimalariaaktivität. Das Benzoesäurederivat **67** zeigt einen  $IC_{50}$ -Wert von 3000 nM und ist damit deutlich schlechter als die Leitstruktur **34**. Die Einführung eines Chlorsubstituenten in die para-Position des Benzoylrestes **68** verbessert die Aktivität kaum ( $IC_{50} = 2500$  nM). Eine äquivalente Wirksamkeit zeigt das 2-Naphthoylderivat **69** mit einem  $IC_{50}$ -Wert von ebenfalls 2500 nM. Die Einführung des 1-Naphthoylrestes an die 2-Aminogruppe der Benzophenonstruktur **83** verbessert zwar die Aktivität auf einen  $IC_{50}$ -Wert von 770 nM, allerdings ist dieses Derivat immer noch um den Faktor 10 schlechter als die Leitstruktur **34**.

Gegenüber diesen Derivaten zeigen das unsubstituierte Phenylelessigsäurederivat **70** und das para-Methoxyphenylelessigsäurederivat **84** eine bessere Aktivität (**70**:  $IC_{50} = 270$  nM, **84**:  $IC_{50} = 370$  nM), allerdings sind sie ebenfalls noch um den Faktor 3 – 4 schlechter als die Ausgangsverbindung **34**. Auch die Verschiebung der Methylgruppe der para-Tolylessigsäurestruktur verbessert die Wirksamkeit nicht: Das ortho-Tolylessigsäurederivat **71** zeigt einen  $IC_{50}$ -Wert von 650 nM, das meta-Tolylessigsäurederivat **72** ist zwar aktiver als das ortho-Derivat, zeigt aber mit 150 nM wiederum einen zweifach schlechteren Wert als das para-Tolylessigsäurederivat **34**.

Bessere Ergebnisse erzielt die para-Substitution der Phenylelessigsäurestruktur **70** durch Halogene. Während das para-fluorsubstituierte Derivat **81** auf Grund der Ähnlichkeit der Fluoratome zu Wasserstoffatomen mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 230 nM etwa die gleiche Aktivität wie das unsubstituiert Derivat **70** aufweist, zeigen das para-chlorsubstituierte Derivat **73** ( $IC_{50} = 64$  nM) und das para-bromsubstituierte Derivat **85** ( $IC_{50} = 70$  nM) eine leicht verbesserte Wirksamkeit gegenüber der Leitstruktur **34**. Möglicherweise liegt dies an der ähnlichen Größe des Methyl-, des Chlor- und des Bromsubstituenten. Das Verschieben des Bromsubstituenten in die ortho-Position **87** verschlechtert den  $IC_{50}$ -Wert auf 1000 nM.

Das Ersetzen des para-Methylsubstituenten der Leitstruktur **34** durch einen para-Trifluormethylphenylsubstituenten **86** führt zum besten Inhibitor dieser Serie mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 47 nM. Analog zum Bromsubstituenten führt auch hier das Verschieben des Trifluormethylsubstituenten in die ortho-Position **88** zu einer Verschlechterung ( $IC_{50} = 1000$  nM) der Wirksamkeit.

Der Austausch der Methylgruppe des p-Tolylessigsäurederivates **34** gegen die polare und stark elektronenziehende Nitrogruppe führt wiederum zu einem deutlichen Aktivitätsverlust (**82**:  $IC_{50} = 1400$  nM).

Die beiden Inhibitoren dieser Serie mit größeren Arylsubstituenten in der para-Position des Derivates **70** zeigen ebenfalls eine deutliche Verschlechterung der Wirksamkeit, die beim Diphenylessigsäurederivat **90** ( $IC_{50} = 5500$  nM) sogar noch um den Faktor 5 schlechter ist als beim Biphenylessigsäurederivat **89** ( $IC_{50} = 1000$  nM). Geringer ist der Aktivitätsverlust bei der Acylierung der 2-Aminogruppe der Benzophenonstruktur durch 1-Naphthylcarbonsäure **74** und 2-Naphthylcarbonsäure **75** (**74**:  $IC_{50} = 250$  nM, **75**:  $IC_{50} = 210$  nM). Beide Inhibitoren sind etwa genauso wirksam wie das unsubstituierte Phenylelessigsäurederivat **70** oder auch das para-Fluorphenylelessigsäurederivat **81** und somit ebenfalls um den Faktor 2 weniger aktiv als die Leitstruktur **34**. Eine ähnliche Wirksamkeit zeigt die Kettenverlängerung der Essigsäurestruktur um ein C-Atom, die zum Phenylpropionsäurederivat **76** führt. Der  $IC_{50}$ -Wert dieser Verbindung liegt bei 310 nM. Führt man in dieses Derivat ein trans-konfigurierte Doppelbindung ein (Zimtsäurederivat **77**), verschlechtert sich die Aktivität deutlich ( $IC_{50} = 2300$  nM).

Zusammenfassend zeigt sich, dass der Acylrest der 2-Aminogruppe an der Benzophenongrundstruktur dieser Serie eine para-substituierte Phenylelessigsäurestruktur sein sollte, wobei die para-Position einen Methylrest oder Substituenten ähnlicher Größe für die optimale Wirksamkeit benötigt. Ähnliche Struktur-Wirkungs-Beziehungen zeigen die 4-Propoxyzimtsäurederivate im Hinblick auf ihre Wirksamkeit gegen *P. falciparum*.

Interessanterweise zeigt sich kaum Ähnlichkeit bei der Wirksamkeit der 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furylacrylsäurederivate gegenüber FTase und *P. falciparum*: Verbindungen, die eine gute Aktivität gegen FTase aufweisen, zeigen nicht unbedingt eine gute Wirksamkeit gegen die Malariaparasiten. Eine mögliche Ursache ist die Tatsache, dass die Inhibitoren bei der Testung gegen *P. falciparum* gegen die intraerythrozytäre Form eines kompletten Organismus wirken müssen, d.h. sie

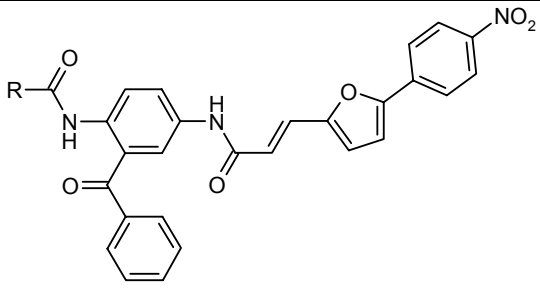
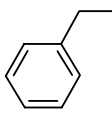
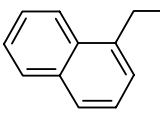
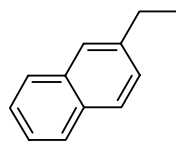
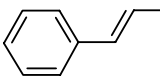
müssen auch entsprechend zunächst in die Erythrozyten und dann noch in die Parasiten aufgenommen werden. Allerdings besteht ebenfalls die Möglichkeit, dass die unterschiedliche Wirksamkeit zum Teil auch durch die Differenzen im aktiven Zentrum der FTase und der *Pf*FTase zustande kommt, womit sich die Chancen erhöhen, selektive FTI gegen *Pf*FTase zu entwickeln.

#### 4.2.4. Prüfung auf Zytotoxizität

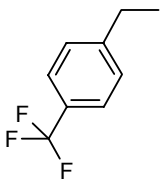
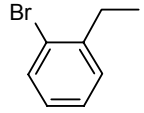
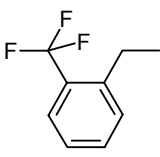
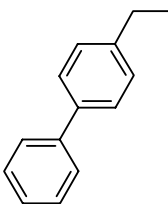
Um auszuschließen, dass die Inhibitorwirkung der aktiveren Derivate auf einer unselektiven Toxizität beruht, wurden einige Inhibitoren auf Zytotoxizität untersucht. Die Testung erfolgte durch Herrn Dr. Hans-Martin Dahse am Hans-Knöll-Institut für Naturstoff-Forschung, Jena. Bestimmt wird die Viabilität von HeLa-Zellen unter dem Einfluss der Inhibitoren im Bezug auf eine Kontrollprobe.

Die erhaltenen Testwerte sind in Tabelle 5 zusammengefasst. Dabei zeigt sich deutlich, dass die  $CC_{50}$ -Werte alle im hohen mikromolaren Bereich liegen. Man kann daher schlussfolgern, dass die Wirkung der FTI gegen *P. falciparum* nicht die Folge einer allgemeinen Zytotoxizität der Inhibitoren ist.

**Tab. 5:** Ergebnisse der Testung auf Zytotoxizität

					
	R	$CC_{50}$ HeLa [ $\mu$ M]		R	$CC_{50}$ HeLa [ $\mu$ M]
<b>70</b>		> 88	<b>74</b>		> 80
<b>75</b>		> 80	<b>77</b>		> 86

**Tab. 5:** Ergebnisse der Testung auf Zytotoxizität (Fortsetzung)

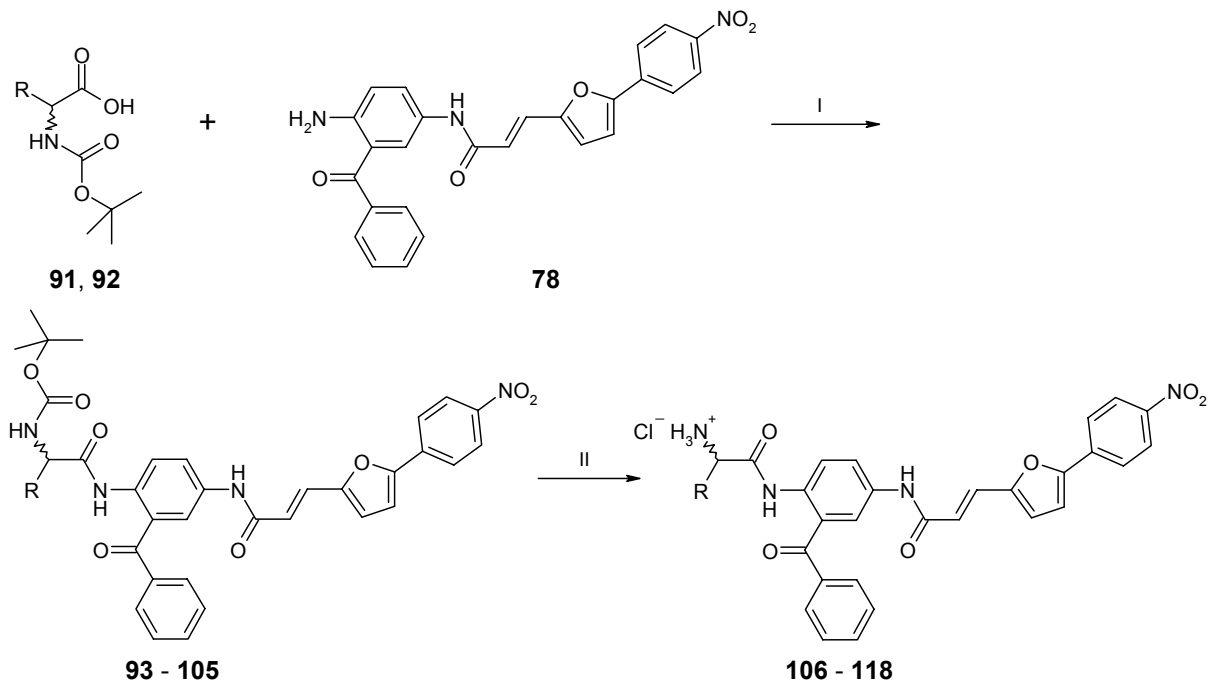
	R	CC <sub>50</sub> HeLa [μM]		R	CC <sub>50</sub> HeLa [μM]
<b>86</b>		> 57	<b>87</b>		> 77
<b>88</b>		> 78	<b>89</b>		> 77

### 4.3. Untersuchung von Aminosäurederivaten

Die 4-Propoxyzimtsäurederivate und die 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäurederivate weisen trotz guter *in vitro*-Testwerte keine Aktivität in einem murinen Malaria-Modell auf. Das Fehlen der *in vivo*-Wirksamkeit ist vermutlich auf die geringe Wasserlöslichkeit der Inhibitoren zurückzuführen. Daher ist versucht worden, durch das Einführen einer protonierbaren Aminogruppe in die Struktur der Inhibitoren die Wasserlöslichkeit zu erhöhen, wobei verschiedene Aminosäuren als Acylsubstituenten verwendet wurden.

#### 4.3.1. Synthese

Als Ausgangspunkt der Synthese dienten Boc-geschützte Aminosäuren, die zum größten Teil im Handel erhältlich sind. 4-Fluorphenylglycin und 4-Trifluormethylphenylglycin wurden mittels Di-tert.-Butylpyrocarbonat geschützt (**91**, **92**). Die Boc-Aminosäuren und die Verbindung **78** (s. S. 75) wurden in Pyridin gelöst oder suspendiert und reagierten nach Zugabe von Phosphoroxychlorid zu den Boc-geschützten Aminosäurederivaten **93** – **105**. [132] Anschließend wurde in einer Lösung von Chlorwasserstoff in Dioxan die Schutzgruppe abgespalten und man erhielt die entsprechenden Aminosäurederivate **106** – **118** (Schema 6)



**Schema 6:** Synthese der Aminosäurederivate. (I) Phosphoroxchlorid, Pyridin,  $-15^{\circ}\text{C}$ , 30 min Rühren; (II) Chlorwasserstoff / Dioxan, 2 h Rühren, RT

#### 4.3.2. Bestimmung der Löslichkeit

Wie die Werte in Tabelle 6 beweisen, lässt sich durch das Einführen der Aminogruppe in die  $\alpha$ -Position des Phenylacetylrestes die Löslichkeit sowohl in Wasser als auch in Phosphatpuffer pH 7.2 erhöhen, wobei die Wasserlöslichkeit um den Faktor 25 steigt, während die Zunahme der Löslichkeit in der Pufferlösung deutlich geringer ausgeprägt ist.



**Tab. 6:** Löslichkeiten einiger ausgewählter Verbindung in Wasser und in Phosphatpuffer pH 7.2

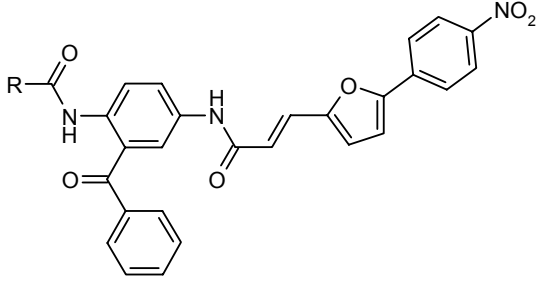
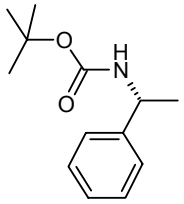
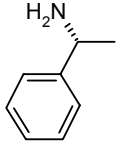
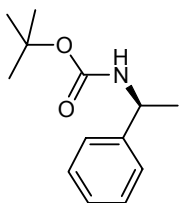
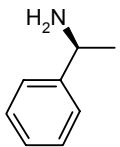
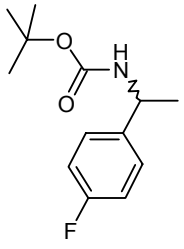
	R	Löslichkeit in Wasser	Löslichkeit in Phosphatpuffer pH 7.2		R	Löslichkeit in Wasser	Löslichkeit in Phosphatpuffer pH 7.2
<b>70</b>		< 0.06 mM	< 0.04 mM	<b>106</b>		> 1.5 mM	0.2 mM
<b>107</b>		> 1.5 mM	0.2 mM	<b>108</b>		> 1.5 mM	0.2 mM
<b>109</b>		> 1.5 mM	0.08 mM				

### 4.3.3. Testung der Aktivität

Neben der Testung auf Wirksamkeit gegen *P. falciparum* wurde bei diesen Aminosäurederivaten ebenfalls die Aktivität gegen Farnesyltransferase bestimmt. Weiterhin wurden einige ausgewählte Inhibitoren auf ihre Aktivität gegenüber *T. cruzi* getestet (Tab. 7).

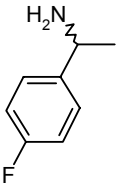
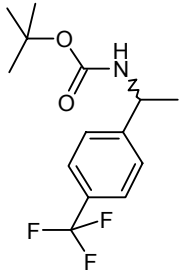
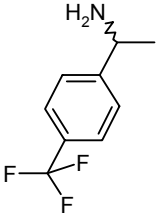
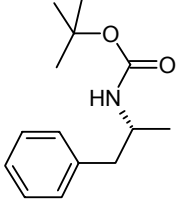
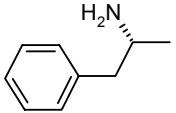
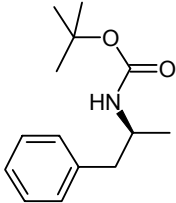
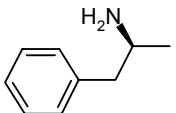
Ebenso wie bei den  $\alpha$ -unsubstituierten Derivaten sind auch bei den Aminosäurederivaten Testungen auf Zytotoxizität durchgeführt worden. Die Ergebnisse in Tabelle 7 zeigen analog zu denen der 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäurederivate, dass die  $CC_{50}$ -Werte im mikromolaren Bereich liegen und somit die Wirksamkeit gegen *P. falciparum* nicht auf unselektiver Toxizität beruht.

Tab. 7: Aminosäurederivate<sup>3</sup>

		IC <sub>50</sub>	IC <sub>50</sub>	IC <sub>50</sub>	CC <sub>50</sub>
R		FTase [nM]	<i>P. falc.</i> [nM]	<i>T. cruzi</i> [nM]	HeLa [μM]
<b>93</b>		8	150	-	> 73
<b>106</b>		46	3200	> 50000	> 80.0
<b>94</b>		10	230	-	> 73.0
<b>107</b>		8	560	> 50000	> 80.0
<b>95</b>		100	200	-	> 73.0

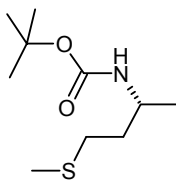
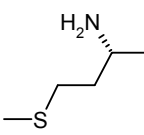
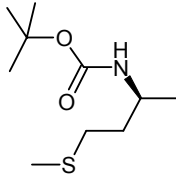
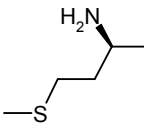
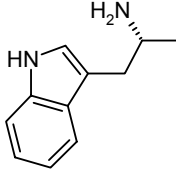
<sup>3</sup> Die Verbindungen **119** und **120** stammen aus der Dissertation von Dr. J. J. Sakowski (Marburg, 2001) und die Verbindungen **121** und **122** stammen aus der Diplomarbeit von K. Fucik (München, 2002)

Tab. 7: Aminosäurederivate (Fortsetzung)

	R	IC <sub>50</sub> FTase [nM]	IC <sub>50</sub> <i>P. falc.</i> [nM]	IC <sub>50</sub> <i>T. cruzi</i> [nM]	CC <sub>50</sub> HeLa [μM]
108		25	950	50000	> 78.0
96		8	625	50000	-
109		17	525	10000	-
119		10	900	-	> 71.0
120		210	1200	> 10000	> 79.0
97		68	425	-	> 71.0
110		116	580	1	> 78.0



Tab. 7: Aminosäurederivate (Fortsetzung)

	R	IC <sub>50</sub>	IC <sub>50</sub>	IC <sub>50</sub>	CC <sub>50</sub>
		FTase [nM]	<i>P. falc.</i> [nM]	<i>T. cruzi</i> [nM]	HeLa [μM]
104		391	1700	-	-
117		1776	2800	> 10000	> 81.0
105		330	350	-	-
118		496	1800	> 10000	> 81.0
113		582	1800	10000	-

#### 4.3.3.1. Testung auf Aktivität gegen Farnesyltransferase

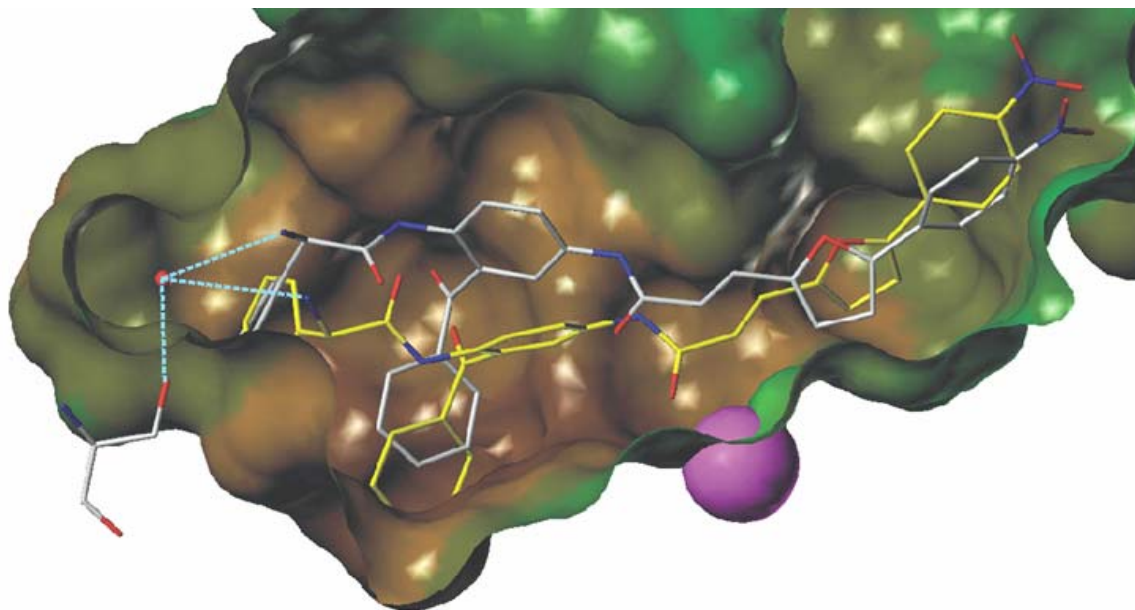
Ausgehend von dem Ergebnis, dass Phenylessigsäurederivate als Acylrest an der 2-Aminogruppe der Benzophenongrundstruktur bei den 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäurederivaten eine gute Wirksamkeit zeigen, ist der Phenylacetylrest, mit dem Ziel, die Wasserlöslichkeit der Inhibitoren zu erhöhen, durch S- und R-Phenylglycin ersetzt worden. Dabei zeigt sich, dass die beiden Boc-geschützten Phenylglycinderivate **93** und **94** mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 8 nM für das Boc-S-Phenylglycinderivat **93** und einem IC<sub>50</sub>-Wert von 10 nM für das Boc-R-Phenylglycinderivat **94** etwa die gleiche Aktivität zeigen wie die besten Inhibitoren der  $\alpha$ -unsubstituierten Serie. Durch Abspaltung der Boc-Schutzgruppe erhält man das S-Phenylglycinderivat **106** (IC<sub>50</sub> = 46 nM) und das R-Phenylglycinderivat **107** (IC<sub>50</sub> = 8 nM). Während die Stereochemie bei den Boc-geschützten Derivaten

keinerlei Einfluss zu haben scheint, zeigt im Falle der *N*-unsubstituierten Phenylglycinderivate das R-Enantiomer **107** die gleiche Aktivität wie die Boc-geschützten Derivate, während das S-Enantiomer **106** eine etwa um den Faktor 6 schlechtere Wirksamkeit hat.

Im nächsten Schritt haben wir *para*-Substituenten in den Phenylglycinrest eingeführt, was allerdings keine Verbesserung der Wirksamkeit brachte. Die Acylierung der 2-Aminogruppe mit Boc-R,S-*para*-Trifluormethylphenylglycin ergibt den Inhibitor **96** ( $IC_{50} = 8$  nM), der den unsubstituierten Boc-Derivaten gegenüber äquipotent ist. Durch Abspalten der Boc-Schutzgruppe erhält man das R,S-*para*-Trifluormethylphenylglycinderivat **109** mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 17 nM. Es ist nur geringfügig schlechter wirksam als das Boc-Derivat. Völlig gegensätzlich verhält sich das Boc-R,S-*para*-Fluorphenylglycinderivat **95**. Mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 100 nM ist diese Verbindung um den Faktor 10 schlechter als sämtliche hergestellte Boc-Phenylglycinderivate. Zum ersten Mal ist auch das ungeschützte R,S-*para*-Fluorphenylglycinderivat **108** ( $IC_{50} = 25$  nM) besser wirksam als die entsprechende geschützte Verbindung.

Flexibles Docking der Aminosäurederivate liefert keine eindeutigen Ergebnisse zur Erklärung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen. Für fast alle Inhibitoren werden deutlich unterschiedliche räumliche Orientierungen im aktiven Zentrum erhalten, die sich jedoch kaum in ihrer Energie unterscheiden. Daher sind kaum zuverlässige Aussagen möglich. Die Ursache dieser Problematik liegt vermutlich in der großen Zahl von frei drehbaren Bindungen in der Struktur der Aminosäurederivate.

Lediglich die beiden ungeschützten Phenylglycinderivate ermöglichen etwas Einsicht in den Bindungsmodus: Hauptmerkmal für die Bindung dieser Inhibitoren ist eine Wasserstoffbrücke zwischen der  $\alpha$ -Aminogruppe beider Derivate und der Hydroxylgruppe von Ser 99 $\beta$ , die über ein Wassermolekül in der Bindetasche vermittelt wird. Im Fall des aktiveren R-Enantiomers **107** ist die Wasserstoffbrücke mit 3.3 Å geringfügig kürzer als beim S-Enantiomer **106** mit 3.6 Å (Abb. 44). Dies ist der einzige Unterschied, der durch flexibles Docking entdeckt werden kann, allerdings ist fraglich ob das Docking alle Faktoren, die zur Wirkung der Inhibitoren beitragen, beschreiben kann.



**Abb. 44:** Dockinglösung für das S-Phenylglycinderivat **106** (gelb) und das R-Phenylglycinderivat **107** (weiß). Beide Aminosäurederivate zeigen eine Wasserstoffbrücke (gepunktete Linie) zu Serin 99 $\beta$ , die über ein Wassermolekül (rote Kugel) vermittelt wird.

Anschließend ist wie bereits bei vorangegangenen Derivaten auch hier die Länge des Methylenspacers zwischen der Säureamidstruktur und dem Phenylrest variiert worden. In diesem Fall haben wir den Spacer um ein C-Atom verlängert, was zu Phenylalaninderivaten führt. Analog zu den Phenylglycinderivaten haben wir die 2-Aminogruppe mit Boc-S-Phenylalanin und Boc-R-Phenylalanin acyliert. Das Boc-S-Phenylalaninderivat **119** weist mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 10 nM die gleiche Wirksamkeit auf wie das Boc-R-Phenylglycinderivat **94**. Anders allerdings verhält sich das R-Enantiomer. Mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 68 nM ist das Boc-R-Phenylalaninderivat **97** schlechter als das S-Enantiomer **119**. Die Abspaltung der Boc-Schutzgruppe führt wiederum zu einer Verringerung der Aktivität. Das R-Phenylalaninderivat **110** zeigt einen  $IC_{50}$ -Wert von 116 nM, das S-Phenylalaninderivat **120** sogar nur einen  $IC_{50}$ -Wert von 210 nM.

Erneut ist der Phenylrest para-substituiert worden. Sowohl das Einbringen eines para-Chlor- als auch das Einbringen eines para-Trifluormethylsubstituenten in die Boc-Phenylalaninstruktur zeigten eine Verschlechterung der Wirksamkeit. Das Boc-S-para-Chlorphenylalaninderivat **98** ( $IC_{50}$  = 148 nM), das Boc-R-para-Chlorphenylalaninderivat **99** ( $IC_{50}$  = 106 nM) und das Boc-R,S-para-Trifluormethylphenylalaninderivat **121** ( $IC_{50}$  = 283 nM) sind deutlich schlechter als ihre unsubstituierten Analoga. Verbessert wird die Aktivität durch das Abspalten der

Boc-Schutzgruppe. Die S-para-Chlorphenylalaninverbindung **112** ist mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 70 nM etwas aktiver als der entsprechende para-unsubstituierte Inhibitor **110** und zeigt etwa die gleiche Inhibition wie das R-para-Chlorphenylalaninderivat **111** ( $IC_{50} = 60$  nM). Die Konfiguration hat in diesem Fall kaum eine Auswirkung auf die Aktivität. Betrachtet man die R,S-para-Trifluormethylphenylverbindung **122** ( $IC_{50} = 95$  nM), sieht man auch hier eine ähnliche Wirksamkeit.

Zusammengefasst sind die Phenylglycinderivate deutlich aktiver als die Phenylalaninderivate. Beide Aminosäurereste sollten möglichst unsubstituiert vorliegen, da das Einbringen von para-Substituenten die Wirksamkeit verschlechtert. Besonders interessant ist die Tatsache, dass die unsubstituierten Boc-geschützten Phenylglycinderivate und auch die unsubstituierte R-Phenylglycinverbindung genauso aktiv sind wie das Phenylelessigsäurederivat **70** und das bei verbesserter Wasserlöslichkeit.

Um weitere Struktur-Wirkungs-Beziehungen zu untersuchen, haben wir die Arylamino-säuren durch aliphatische Aminosäuren und durch Tryptophan ersetzt, wobei die Aktivität der Arylamino-säurederivate aber nicht erreicht werden konnte: Handelt es sich bei der Aminosäure um S-Leucin, erhält man den Inhibitor **114** mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 360 nM, handelt es sich um R-Leucin, erhält man Inhibitor **115** mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 503 nM. Das S-Isoleucinderivat **115** ( $IC_{50} = 151$  nM) zeigt dagegen schon wieder eine bessere Aktivität. Etwa im gleichen Wirkungsbereich wie die Leucinderivate liegen das Boc-S-Methioninderivat **104** ( $IC_{50} = 391$  nM), das Boc-R-Methioninderivat **105** ( $IC_{50} = 330$  nM) und das ungeschützte R-Methioninderivat **118** ( $IC_{50} = 496$  nM). Einen deutlichen Aktivitätsverlust zeigt dagegen die ungeschützte S-Methioninverbindung **117** mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 1776 nM. Verwendet man S-Tryptophan als Aminosäure, erhält man mit der Verbindung **113** einen Inhibitor, der einen  $IC_{50}$ -Wert von 582 nM aufweist.

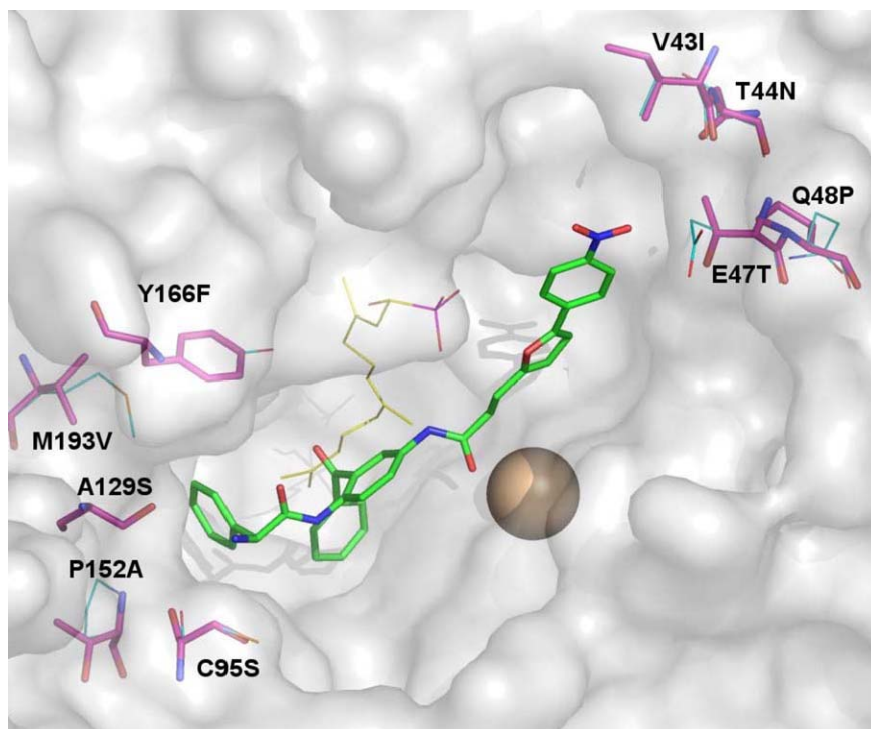
#### 4.3.3.2. Wirksamkeit gegenüber *Plasmodium falciparum*

Zur Interpretation der Struktur-Wirkungs-Beziehungen der Aminosäurederivate ist ein Homologiemodell der PfFTase mit dem hineingedockten Phenylglycinderivat **106** erstellt worden (Abb. 45).

Die Veränderungen der Aminosäurereste von Tyr 166 $\alpha$  zu Phenylalanin, Met 193 $\beta$  zu Valin, Ala 129 $\alpha$  zu Serin, Pro 152 $\beta$  zu Threonin und Cys 95 $\beta$  zu Serin sind in der



Region zu finden, in die der Phenylrest des Phenylglycinderivates **106** bindet. Keiner der Aminosäurereste steht dabei in direktem Kontakt zum Inhibitor, so dass ähnliche Enzym-Inhibitor-Wechselwirkungen im Enzym der Ratte und in der *Pf*Tase wahrscheinlich sind. Gleiches gilt auch für die gegenüberliegende Region der Bindetasche. Die Veränderungen von Val 43 $\beta$  zu Isoleucin, von Thr 44 $\beta$  zu Asparagin und von Gln 48 $\beta$  zu Prolin sind ebenfalls zu weit entfernt vom Inhibitor, um dessen Wechselwirkungen mit dem Enzym stark zu beeinflussen. Nur der Ersatz des Wasserstoffbrückenakzeptors Glu 47 $\beta$  durch den Wasserstoffbrückendonator Threonin beeinflusst möglicherweise die Bindung von Inhibitoren, die eine terminale Nitrogruppe tragen, in der Art, dass die Nitrogruppe als schwacher Wasserstoffbrückenakzeptor eine zusätzliche Wasserstoffbrücke zum Threonin ausbilden kann und damit die Wechselwirkung zwischen Enzym und Inhibitor verstärkt wird.



**Abb. 45:** Homologiemodell der *Pf*Tase mit Inhibitor **106** (grün). Aminosäurereste des aktiven Zentrums, die im Enzym von *P. falciparum* und dem Enzym der Ratte unterschiedlich sind, werden hervorgehoben (hellblau: Enzym aus *R. norvegicus*, magenta: Enzym aus *P. falciparum*).

Im Gegensatz zur Aktivität gegen isolierte FTase zeigen die Phenylglycinderivate **106 – 109** (**106**:  $IC_{50} = 3200$  nM, **107**:  $IC_{50} = 560$  nM, **108**:  $IC_{50} = 950$  nM und **109**:  $IC_{50} = 525$  nM) eine deutlich schlechtere Aktivität als das  $\alpha$ -unsubstituierte

Phenyllessigsäurederivat **70** ( $IC_{50} = 270$  nM). Interessanterweise sind die entsprechenden Boc-geschützten Vorstufen mit Ausnahme des Boc-Trifluormethylphenylglycinderivates **96** ( $IC_{50} = 625$  nM) deutlich aktiver als die ungeschützten Phenylglycinderivate. Die S-Boc-Phenylglycinverbindung **93** zeigt einen  $IC_{50}$ -Wert von 150 nM, das R-Boc-Phenylglycinderivat **94** einen  $IC_{50}$ -Wert von 230 nM und die Boc-para-Fluorphenylglycinverbindung **95** ein  $IC_{50}$ -Wert von 200 nM. Möglicherweise können diese etwas lipophileren Boc-geschützten Derivate besser Zellmembranen durchdringen als die entsprechenden polareren ungeschützten Aminosäurederivate.

Im gleichen Aktivitätsbereich wie die ungeschützten Phenylglycinderivate liegen sowohl das Boc-geschützte S-Phenylalaninderivat **119** ( $IC_{50} = 900$  nM) als auch das Boc-geschützte R-Phenylalaninderivat **97** ( $IC_{50} = 425$  nM) und die beiden ungeschützten Enantiomere (S-Enantiomer **120**:  $IC_{50} = 1200$  nM, R-Enantiomer **110**:  $IC_{50} = 580$  nM). Das Einbringen eines para-Substituenten in die Phenylalaninstruktur bewirkt ebenfalls keine Verbesserung. Während das para-Chlorphenylpropionsäurederivat und das para-Trifluormethylphenylpropionsäurederivat  $IC_{50}$ -Werte von 125 nM und 61 nM aufweisen, sind die  $\alpha$ -aminosubstituierten Analoga deutlich schlechter wirksam. [133] Das Boc-geschützte para-Trifluormethylphenylalaninderivat **121** ist mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 3150 nM sogar erheblich schlechter, während die entsprechende ungeschützte Verbindung **122** ( $IC_{50} = 710$  nM) zwar deutlich besser wirksam ist als das Boc-geschützte Derivat, aber immer noch deutlich weniger aktiv ist als die  $\alpha$ -unsubstituierte Verbindung. Diese Verhältnisse spiegeln sich auch bei den para-chlorsubstituierten Phenylalaninverbindungen wider. Das Boc-geschützte S-Enantiomer **98** zeigt einen  $IC_{50}$ -Wert von 7000 nM, das Boc-geschützte R-Enantiomer **99** einen  $IC_{50}$ -Wert von 2600 nM. Etwas aktiver sind die entsprechenden ungeschützten Verbindungen (S-Enantiomer **111**:  $IC_{50} = 1900$  nM, R-Enantiomer **112**:  $IC_{50} = 650$  nM).

Weitere Veränderungen des Aminosäurerestes an der 2-Aminogruppe der Benzophenonstruktur zeigten ebenfalls keine Aktivitätsverbesserung. Das S-Leucinderivat **114** ( $IC_{50} = 1700$  nM), das R-Leucinderivat **115** ( $IC_{50} = 1800$ ) und das S-Isoleucinderivat **116** ( $IC_{50} = 1900$  nM) sind genauso wenig wirksam wie das S-Tryptophanderivat **113** ( $IC_{50} = 1800$  nM). Eine ähnliche Aktivität zeigen die Boc-S-Methioninverbindung **104** ( $IC_{50} = 1700$  nM) und das R-Methioninderivat **118** ( $IC_{50} = 1800$  nM), während das S-Methioninderivat **117** mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 2800 nm

noch etwas schlechter wirksam ist. Interessant ist dagegen der  $IC_{50}$ -Wert von 350 nM für das Boc-R-Methioninderivat **105**.

Ingesamt gesehen konnte trotz der Verbesserung der Wasserlöslichkeit der Aminosäureverbindungen keine Aktivitätsverbesserung gegenüber den  $\alpha$ -unsubstituierten Derivaten verzeichnet werden, so dass auf die *in vivo*-Testung der Inhibitoren verzichtet wurde.

#### 4.3.3.3. Wirksamkeit gegen *Trypanosoma cruzi*

Aus der Literatur ist bereits bekannt, dass einige FTI Aktivitäten im nanomolaren Bereich gegen Kulturen von *T. brucei* aufweisen, während nur wenige Ergebnisse bezüglich *T. cruzi* vorliegen. Allerdings ist der Bedarf an neuen Therapeutika gegen *T. cruzi* womöglich noch größer als gegen *T. brucei*, da nur zwei Wirkstoffe überhaupt zur Behandlung von Infektionen mit diesem Erreger zur Verfügung stehen, mit denen nur etwa die Hälfte der Erkrankten geheilt werden kann. Mit 120 Millionen Menschen sind außerdem doppelt so viele Personen dem Risiko einer Infektion durch *T. cruzi* ausgesetzt wie einer Infektion durch *T. brucei* (60 Millionen Menschen). Wir haben daher beschlossen, unsere Forschungen an FTI bezüglich der Wirkung gegen *T. cruzi* auszuweiten.

Die Testung einiger unserer Inhibitoren erfolgte durch Frau Dr. Mónica I. Esteva und Herrn Dr. Esteban José Bontempi vom Instituto Nacional de Parasitología Dr. M. Fatała Chabén, A.N.L.I.S. Dr. Carlos G. Malbrán in Buenos Aires, Argentinien. Bestimmt wurde der Effekt der Farnesyltransferaseinhibitoren auf die Viabilität der Trypanosomen, bezogen auf eine Kontrollprobe.

Von den getesteten Aminosäurederivaten **96**, **106** – **118** und **120** – **122** liegt ein großer Teil bei einem  $IC_{50}$ -Wert von 50000 nM oder sogar höher. Hierzu zählen die Verbindungen **96**, **106** – **108**, **121** und **122**. Etwa um den Faktor 5 aktiver mit einem  $IC_{50}$ -Wert von ca. 10000 nM sind die Inhibitoren **109**, **112**, **113**, **117**, **118** und **120**.

Eine weitere Verbesserung der Aktivität um den Faktor 10 gegenüber den ersten Verbindungen zeigen das S-para-Chlorphenylalaninderivat **111** ( $IC_{50}$  = 1000 nM) und das S-Leucinderivat **114** ( $IC_{50}$  > 1000 nM).

Die 3 besten Inhibitoren der Testserie zeigen Aktivitäten im nanomolaren Bereich: Während das R-Leucinderivat **115** und das S-Isoleucinderivat **116**  $IC_{50}$ -Werte von 100 nM aufweisen, liegt die Aktivität des besten Inhibitors, des R-Phenylalaninderivates **110**, bei einem  $IC_{50}$ -Wert von nur 1 nM. Damit gehört diese Verbindung

(**110**) zu den besten in der Literatur beschriebenen Farnesyltransferaseinhibitoren gegen Trypanosomen. Besonders interessant ist dieses Ergebnis in der Kombination mit dem Testwert des Zytotoxizitätstest. Der  $CC_{50}$ -Wert von 78  $\mu\text{M}$  gegen HeLa-Zellen zeigt deutlich, dass die Wirkung nicht das Resultat einer allgemeinen Toxizität der Verbindung ist. Obwohl der Nachweis der Hemmung der Proteinfarnesylierung in Trypanosomen durch Inhibitor **110** auf Grund technischer Schwierigkeiten bisher nicht gelungen ist, gehen wir davon aus, dass auch die Wirkung gegen *T. cruzi* auf Hemmung der Farnesyltransferase beruht.

Die niedrigen  $IC_{50}$ -Werte der drei letztgenannten Inhibitoren und besonders das R-Phenylalaninderivat **110** zeigen einen viel versprechenden Ausblick für die weitere Entwicklung von FTI als Therapeutika gegen *T. cruzi*.

Aus diesem Grund wurde die Verbindung **110** *in vivo* in einem Mausmodell getestet. Durchgeführt wurde die Untersuchung, bei der verschiedene Konzentrationen des Inhibitors oral verabreicht wurden, ebenfalls von Frau Dr. Mónica I. Esteva und Herrn Dr. Esteban José Bontempi. Während eine Konzentration von 10  $\mu\text{M}$ , 20  $\mu\text{M}$  und 50  $\mu\text{M}$  des Inhibitors die Parasitämie der Mäuse kaum beeinflusste, konnte mit einer Konzentration von 100  $\mu\text{M}$  der Verbindung **110** ein deutlich besseres Ergebnis erzielt werden (Tab. 8).

**Tab. 8:** Ergebnisse der *in vivo*-Testung gegen *T. cruzi* des Inhibitors **110**

Inhibitorkonzentration (Anzahl der Einzeldosen)	Parasitämie [durchschnittliche Zahl der Parasiten $\cdot 10^4\text{ml}^{-1}$ ] (Tage nach der Infektion)	Überlebensrate [%] 120 Tage nach der Infektion (lebende Mäuse / Gesamtzahl der Tiere)
50 $\mu\text{M}$ <b>110</b> (21)	1997 (27)	0% (0 / 5)
100 $\mu\text{M}$ <b>110</b> (39)	952.5 (27)	80% (4 / 5)
Kontrolle mit DMSO (39)	841.4 (27)	16% (1 / 6)

Betrachtet man die Testwerte der *in vivo*-Testung, zeigt sich, dass bei einer oralen Verabreichung des Inhibitors **110** mit einer Dosis, die zu einer Blutkonzentration von 100  $\mu\text{M}$  führen soll, zwar die Parasitämie der Mäuse 27 Tage nach der Infektion mit Trypomastigoten von *T. cruzi* noch über der der Kontrollprobe liegt. Nach einem

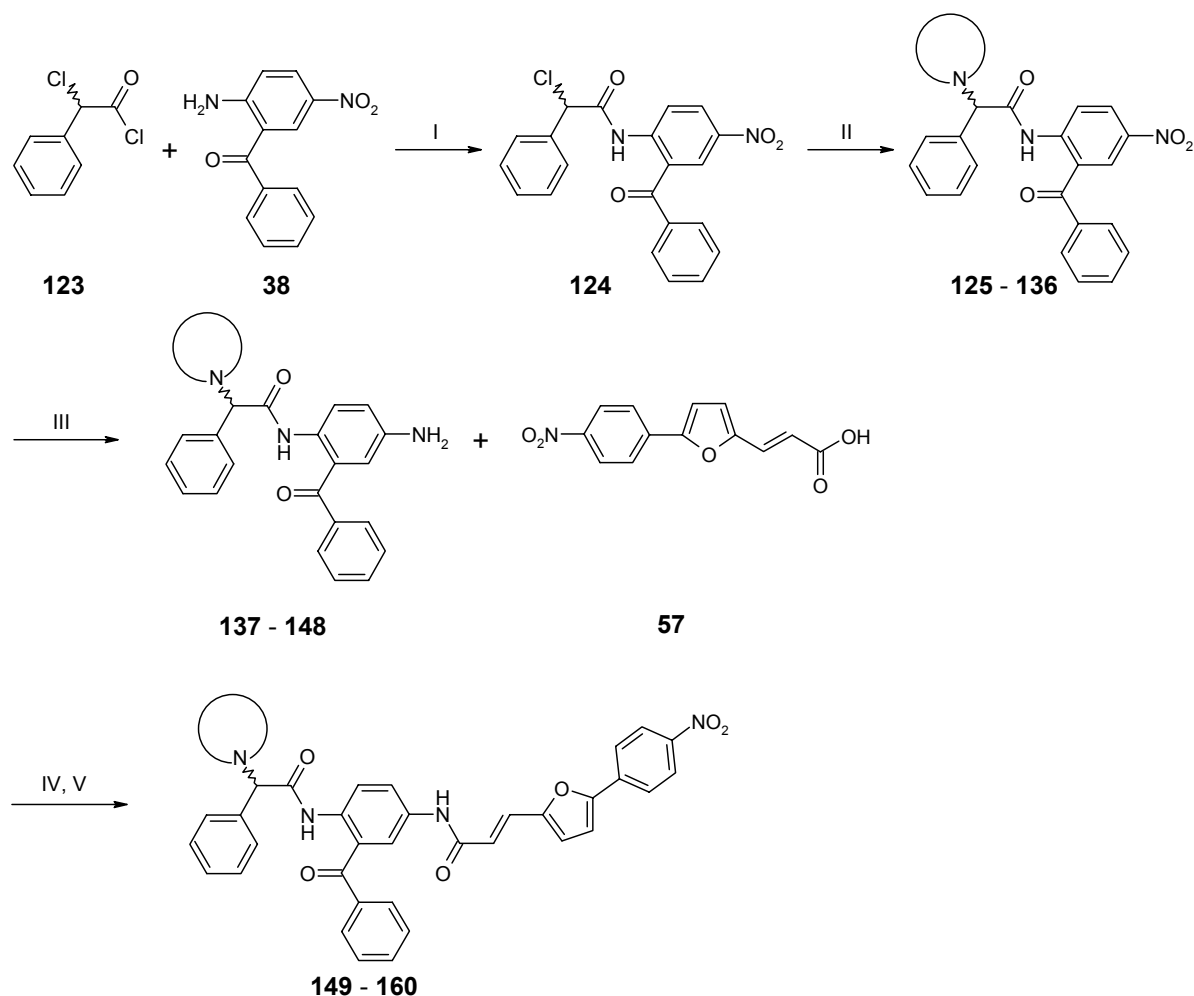
Zeitraum von 120 Tagen ist allerdings die Überlebensrate der mit 100  $\mu\text{M}$  Verbindung **110** behandelten Tiere deutlich höher (Faktor 5) als die der Kontrollgruppe. Aus der so therapierten Versuchgruppe starb nur eine einzige Maus, während 5 Tiere der Kontrollgruppe starben. Neben der *in vitro*-Aktivität zeigt dieser Inhibitor auch *in vivo*-Wirksamkeit und bestätigt die Möglichkeit, Farnesyltransferaseinhibitoren als neue Wirkstoffe gegen Trypanosomeninfektionen zu entwickeln.

#### 4.4. Untersuchung von heterozyklischen Derivaten

Durch Einführung einer Aminogruppe in die  $\alpha$ -Position des Phenyllessigsäuresubstituenten der 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäurederivate konnte zwar die Wasserlöslichkeit unserer Inhibitoren verbessert werden, aber die Aktivität gegen *P. falciparum* hat sich nicht so wie erhofft gesteigert. Daher haben wir nach möglichen Alternativen gesucht, um bei gleicher oder weiter verbesserter Wasserlöslichkeit Inhibitoren zu erhalten, die ebenfalls eine Verbesserung der Wirksamkeit zeigen.

Auffälligerweise waren bei den Phenylglycinverbindungen die Boc-geschützten Inhibitoren wirksamer als die freien Aminosäurederivate. Zwar sind die Boc-geschützten Verbindungen nicht mehr basisch, zeigen aber noch polare Strukturelemente (Carbamatgruppe). Zusätzlich weisen sie auch lipophile Elemente auf (tert.-Butylgruppe). Daher hat eine Kombination der ursprünglich angestrebten protonierbaren Funktion mit lipophilen Strukturelementen möglicherweise Vorteile, was uns zum Einbringen verschiedener Piperazinderivate in die  $\alpha$ -Position der Phenyllessigsäurestruktur des Inhibitors **70** veranlasste.

## 4.4.1. Synthese



**Schema 7:** Darstellung der heterozyklischen Derivate. (I) Toluol, 2 h RF; (II) sekundäres Amin, Acetonitril, 48 h RF; (III) Zinn(II)-chlorid-Dihydrat, Ethylacetat, 2 h RF; (IV) Oxalylchlorid, Dichlormethan, Dimethylformamid, 2 h Rühren, RT; (V) Toluol / Dioxan, 2 h RF

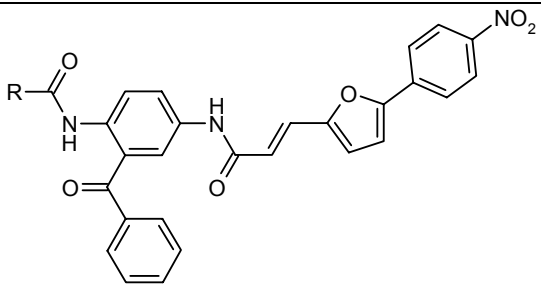
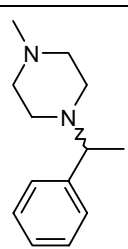
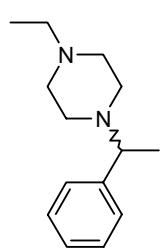
Grundlage der Synthese war 2-Chlor-2-phenylacetylchlorid **123**, das im Handel erhältlich ist. Durch die Umsetzung mit dem Benzophenon **38** entstand die Nitroverbindung **124**, bei der im nächsten Schritt das Halogen durch einen Heterozyklus ersetzt wurde. Man erhielt die Zwischenstufen **125 – 136**, deren Reduktion mit Zinn(II)-chlorid die Amine **137 – 148** ergab. Erneut folgte eine Umsetzung mit einem Säurechlorid (Acrylsäure **57**) zu den gewünschten Produkten **149 – 160**.

Die genauen Reaktionsbedingungen für die einzelnen Syntheseschritte sind in Schema 7 wiedergegeben.

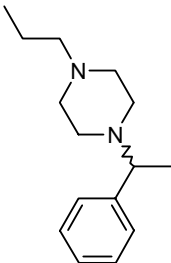
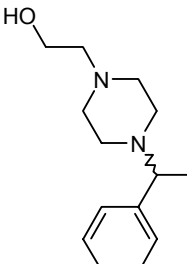
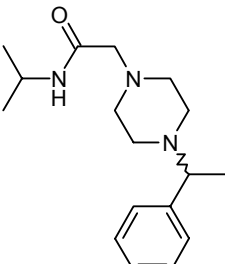
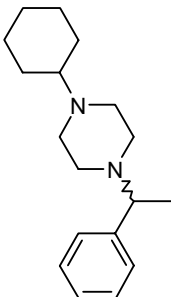
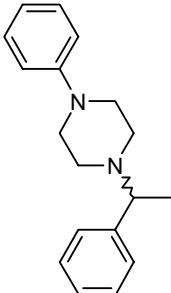
#### 4.4.2. Testung der Aktivität

Ähnlich der Aminosäurederivate wurden die heterozyklischen Derivate mit dem Ziel entwickelt, wirksame FTI gegen *P. falciparum* zu erhalten. Trotzdem wurden auch sie auf ihre Aktivität gegen FTase getestet, um Aussagen über die Struktur-Wirkungs-Beziehungen am isolierten Enzym treffen zu können. Weiterhin wurde nach der guten bis sehr guten Wirksamkeit von drei Inhibitoren der vorangegangenen Serie beschlossen, auch mit dieser Inhibitorgeneration eine Testung gegen *T. cruzi* durchzuführen. Zusammen mit den Ergebnissen der Messung der Zytotoxizitätstests sind die Testwerte in Tabelle 9 zusammengefasst.

**Tab. 9:** Heterozyklische Derivate

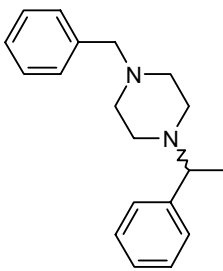
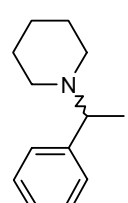
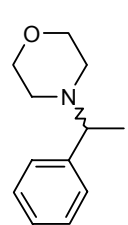
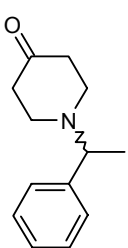
						
R	IC <sub>50</sub> FTase [nM]	IC <sub>50</sub> <i>P. falc.</i> [nM]	IC <sub>50</sub> <i>T. cruzi</i> [nM]	CC <sub>50</sub> HeLa [μM]	CC <sub>50</sub> / IC <sub>50</sub> <i>P. falc.</i>	
<b>179</b> 	10	270	10000	37.0	160	
<b>149</b> 	> 10000	3000	> 50000	-	-	

Tab. 9: Heterozyklische Derivate (Fortsetzung)

	R	IC <sub>50</sub> FTase [nM]	IC <sub>50</sub> <i>P. falc.</i> [nM]	IC <sub>50</sub> <i>T. cruzi</i> [nM]	CC <sub>50</sub> HeLa [μM]	CC <sub>50</sub> / IC <sub>50</sub> <i>P. falc.</i>
151		123	630	10	68.0	108
150		430	270	10000	71.0	263
157		338	490	> 50000	-	-
152		339	200	1000	42.0	210
153		297	3100	> 50000	-	-



Tab. 9: Heterozyklische Derivate (Fortsetzung)

	R	IC <sub>50</sub> FTase [nM]	IC <sub>50</sub> <i>P. falc.</i> [nM]	IC <sub>50</sub> <i>T. cruzi</i> [nM]	CC <sub>50</sub> HeLa [μM]	CC <sub>50</sub> / IC <sub>50</sub> <i>P. falc.</i>
154		660	670	50000	-	-
158		453	1500	50000	-	-
159		660	340	50000	76.0	223
160		1093	2000	1000	-	-

#### 4.4.2.1. Testung auf Aktivität gegen Farnesyltransferase

Ausgangspunkt der Derivatisierung ist wie bei den Aminosäurederivaten das Phenyllessigsäurederivat **70**. Durch Einfügen eines *N*-Methylpiperazinrestes in die  $\alpha$ -Position der Phenyllessigsäurestruktur erhält man Inhibitor **179**, der mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 10 nM nur geringfügig über der Aktivität der Ausgangsverbindung **70** liegt. Eine Verlängerung des Alkylrestes am Piperazin führt zu einem Verlust der Aktivität. Das *N*-Ethylpiperazinderivat **149** ist mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von > 10000 nM als inaktiv zu bezeichnen. Das *N*-Propylpiperazinderivat **151** (IC<sub>50</sub> = 123 nM) ist zwar achtzigmal wirksamer als das *N*-Ethylpiperazinderivat **149**, aber immer noch um etwa den Faktor 10 schwächer als das Methylderivat **179**. Ebenfalls keine Verbesserung

zeigt die Variation der Alkylseitenketten durch Einbringen eines *N*-Hydroxyethylpiperazinrestes **150** ( $IC_{50} = 430$  nM) oder eines *N*-Isopropylaminocarbonylmethylpiperazinrestes **157** ( $IC_{50} = 338$  nM) in die  $\alpha$ -Position oder das Einfügen eines *N*-Cyclohexylpiperazinrestes **152** ( $IC_{50} = 339$  nM).

Da weder durch eine Kettenverlängerung noch durch eine andere Variation der Alkylseitenketten des Piperazinrestes die Aktivität gesteigert werden konnte, haben wir eine Substitution mit Arylresten versucht. Ähnlich wie bei den vorherigen Derivaten zeigen das *N*-Phenylpiperazinderivat **153** ( $IC_{50} = 297$  nM) und das *N*-Benzylpiperazinderivat **154** ( $IC_{50} = 660$  nM) keine Aktivitätsverbesserung.

Um zu bestimmen, ob die Piperazinstruktur für die Wirksamkeit der heterozyklischen Derivate zwingend notwendig ist, haben wir im nächsten Schritt drei Inhibitoren hergestellt, die auf dieses Strukturmerkmal verzichten. Dabei zeigen das Piperidinderivat **158** ( $IC_{50} = 453$  nM), das Morpholinderivat **159** ( $IC_{50} = 660$  nM) und das 4-Oxopiperidinderivat **160** ( $IC_{50} = 1093$  nM) mit dem Abnehmen der Aktivität deutlich, dass die Piperazinstruktur als essentiell zu betrachten ist. Als Substituent an der 4-Position dieser Struktur zeigt eine Methylgruppe die beste Wirksamkeit.

#### 4.4.2.2. Wirksamkeit gegenüber *Plasmodium falciparum*

Hauptziel der Synthese der heterozyklischen Derivate war die Entwicklung eines oder besser mehrerer Inhibitoren mit guter Aktivität gegen *P. falciparum*. Das *N*-Methylpiperazinderivat **179** zeigt hier einen  $IC_{50}$ -Wert von 270 nM und ist damit gegenüber dem zu Grunde liegenden Phenylelessigsäurederivat **70** äquipotent. Während das *N*-Ethylpiperazinderivat **149** mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 3000 nM wieder deutlich schlechter wirksam ist als das Methylderivat **179**, ist das *N*-Hydroxyethylpiperazinderivat **150** gegenüber dem Malariaparasiten ein äquipotenter Inhibitor. Die Kettenverlängerung zum *N*-Propylpiperazinderivat **151** ( $IC_{50} = 630$  nM) führt erneut zu einem Abfall der Aktivität, ebenso wie das Einbringen des verzweigten *N*-Isopropylaminocarbonylmethylpiperazinrestes (**157**:  $IC_{50} = 490$  nM).

Betrachtet man die zyklischen Substituenten an der 4-Position des Piperazinrestes, zeigt sich, dass der Phenylrest (**153**:  $IC_{50} = 3100$  nM) genauso wenig die Aktivität steigert wie der Benzylrest (**154**:  $IC_{50} = 670$  nM). Im Gegensatz dazu ist die cycloaliphatische *N*-Cyclohexylpiperazinverbindung **152** mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 200 nM geringfügig aktiver als die Inhibitoren **150** und **179**.

Interessant ist, dass im Gegensatz zur isolierten FTase die Piperazinstruktur nicht zwingend notwendig zu sein scheint, denn das Morpholinderivat **159** zeigt mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 340 nM keine allzu starke Verringerung der Aktivität. Verzichtet man allerdings völlig auf ein Heteroatom in der Position 4 der Ringstruktur, kommt es auch hier zu einem Verlust der Wirksamkeit. Das Piperidinderivat **158** und das 4-Oxopiperidinderivat **160** zählen mit  $IC_{50}$ -Werten von 1500 nM und 2000 nM eher zu den schlechteren Inhibitoren dieser Serie.

#### 4.4.2.3. Wirksamkeit gegen *Trypanosoma cruzi*

Ähnlich wie bei den getesteten Aminosäurederivaten variiert die Wirksamkeit der getesteten Inhibitoren auch in der Serie der heterozyklischen Derivate stark.

Die Derivate **149**, **153**, **154** und **157** - **159** sind mit  $IC_{50}$ -Werten von 50000 nM oder sogar darüber eher als unwirksam zu bezeichnen, ähnlich wie die Inhibitoren **150** und **179** mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 10000 nM. Schon eher im wirksamen Bereich liegen die Verbindungen **152** und **160** (**152**:  $IC_{50}$  = 1000 nM, **160**:  $IC_{50}$  = 1000 nM).

Ein guter Inhibitor gegen *T. cruzi* ist dagegen das *N*-Propylpiperazinderivat **151** mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 10 nM. Betrachtet man die Ergebnisse des Zytotoxizitätstestes, zeigt sich ein  $CC_{50}$ -Wert von 68  $\mu$ M gegen HeLa-Zellen, so dass man davon ausgehen kann, dass keine allgemeine Toxizität vorhanden ist. Trotzdem kann die Aktivität der heterozyklischen Derivate nicht die Wirksamkeit des Aminosäurederivates **110** erreichen.

Obwohl der Inhibitor **110** aber eine stärkere *in vitro*-Aktivität aufweist, scheint das *N*-Propylpiperazinderivat **151** *in vivo* deutlich aktiver zu sein: Während bei einer oralen Verabreichung von 10  $\mu$ M des Inhibitors **151** und DMSO als Kontrolle 20 Tage nach der Infektion durch *T. cruzi* sämtliche Mäuse der unbehandelten Kontrollgruppe gestorben waren, lebten zu diesem Zeitpunkt noch zwei Tiere der Gruppe, die mit 10  $\mu$ M **151** therapiert wurden (30%). Nach 42 Tagen lebte noch eines der beiden Tiere, Parasiten konnten nicht mehr entdeckt werden. Insgesamt gesehen ist die Verbindung **151** mit einer Überlebensrate von 30% bei einer Therapie mit 10  $\mu$ M sehr viel versprechend. Trotzdem wurde die Therapie mit 50  $\mu$ M und 100  $\mu$ M des Inhibitors **151** wiederholt (Tab. 10).

**Tab. 10:** Ergebnisse der *in vivo*-Testung gegen *T. cruzi* des Inhibitors **151**

Inhibitorkonzentration (Anzahl der Einzeldosen)	Parasitämie [durchschnittliche Zahl der Parasiten · 10 <sup>4</sup> ml <sup>-1</sup> ] (Tage nach der Infektion)	Überlebensrate [%] 120 Tage nach der Infektion (lebende Mäuse / Gesamtzahl der Tiere)
50 µM <b>151</b> (39)	1321 (27)	20% (1 / 5)
100 µM <b>151</b> (39)	810 (27)	60% (3 / 5)
Kontrolle mit DMSO (39)	841.4 (27)	16% (1 / 6)

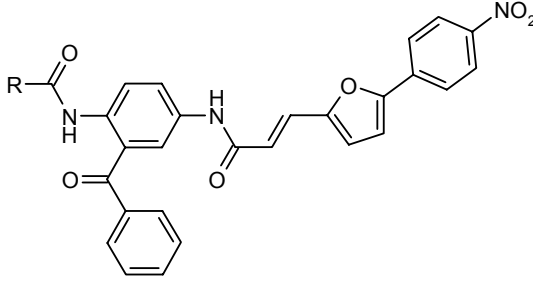
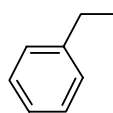
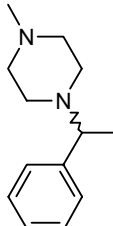
Hier zeigt sich, dass 120 Tage nach der Infektion mit *T. cruzi* 20% der Mäuse überlebt haben, die mit 50 µM **151** behandelt wurden, und 60% der Mäuse, die mit 100 µM **151** therapiert wurden. Bei der Therapie mit Verbindung **110** überlebten bei einer Inhibitorkonzentration von 100 µM zwar 80% der Versuchstiere, aber kein Tier bei den niedrigeren Konzentrationen von 20 µM und 50 µM. Zusammenfassend scheint Inhibitor **151** momentan der bessere der beiden Inhibitoren zu sein, allerdings können vermutlich erst Ergebnisse einer größeren Testgruppe weiteren Aufschluss geben.

#### 4.4.3. Bestimmung der Löslichkeit

Die Ergebnisse der Testung gegen *P. falciparum*, die die gleiche Aktivität für das  $\alpha$ -unsubstituierte Phenyllessigsäurederivat **70** und das  $\alpha$ -*N*-methylpiperazinyl-substituierte Phenyllessigsäurederivat **179** zeigen, veranlasste uns, ähnlich der Aminosäurederivate die Löslichkeit beider Verbindungen in Wasser und Phosphatpuffer pH 7.2 zu betrachten.

Wie Tabelle 11 zeigt, konnte das Einbringen der *N*-Methylpiperazinstruktur die Löslichkeit in beiden Medien sogar noch stärker verbessern als das Einbringen einer einfachen Aminfunktion bei den entsprechenden Aminosäurederivaten. Die Wasserlöslichkeit steigt gegenüber dem unsubstituierten Inhibitor um mehr als das fünfzigfache an (Aminosäurederivate: fünfundzwanzigfache Verbesserung) und auch die Löslichkeit im Phosphatpuffer steigt mit einem Faktor von etwa 9 auf ungefähr die doppelte Größe der Löslichkeit der getesteten Aminosäurederivate an.

Tab. 11: Vergleich der Löslichkeit der Inhibitoren **70** und **179**

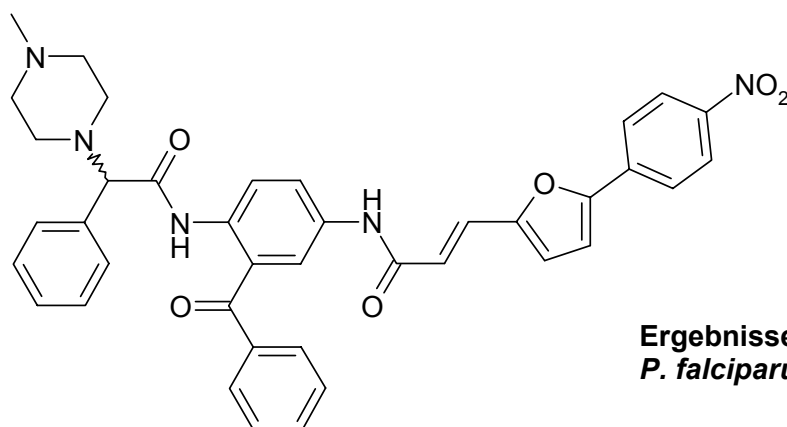
			
	R	Löslichkeit in Wasser	Löslichkeit in Phosphatpuffer pH 7.2
<b>70</b>		< 0.06 mM	< 0.04 mM
<b>179</b>		> 3.33 mM	0.35 mM

#### 4.4.4. Testung auf *in vivo*-Wirksamkeit gegen *Plasmodium falciparum*

Die Kombination der deutlich verbesserten Wasserlöslichkeit des *N*-Methylpiperazinderivates **179** mit einer guten *in vitro*-Wirksamkeit gegen kultivierte Malariaparasiten veranlasste uns zur *in vivo*-Testung des Inhibitors in einem Mausmodell.

Diese *in vivo*-Testung erfolgte wie die *in vitro*-Bestimmung durch Herrn Dr. Jochen Wiesner. Ermittelt wurde die Parasitämie als prozentualer Anteil der infizierten Erythrozyten nach Behandlung der Mäuse mit verschiedenen Konzentrationen unseres Farnesyltransferaseinhibitors.

Die Ergebnisse dieser Testung sind in der Abbildung 46 zusammengefasst. Die Verbindung zeigt einen ED<sub>50</sub>-Wert von 30 mg / kg KG (44.8 μmol / kg KG) und einen ED<sub>90</sub>-Wert von 40 mg / kg KG (59.7 μmol / kg KG).



179

Ergebnisse der *in vivo*-Testung gegen  
*P. falciparum*

ED<sub>50</sub> = 30 mg / kg KG (44.8 μmol / kg KG)

ED<sub>90</sub> = 40 mg / kg KG (59.7 μmol / kg KG)

Abb. 46: Testergebnisse des Inhibitors 179

*In vivo*-Toxizität zeigte sich erst bei einer Dosis von mehr als 100 mg / kg KG. Besonders erwähnenswert ist, dass es sich bei diesem Inhibitor um den ersten *in vivo* gegen Malaria wirksamen Farnesyltransferaseinhibitor überhaupt handelt, der in der Literatur veröffentlicht worden ist. Zudem übertrifft er die Wirksamkeit eines erst viel später veröffentlichten Derivates, des Benzylesters von FTI-2148, da hier bei einer Dosis von 50 mg / kg KG nur eine Reduktion der Parasitämie um 46.1% erreicht werden konnte. [106, 134]

## 4.5. Optimierung der Wirkung der heterozyklischen Derivate durch strukturbasiertes Design

### 4.5.1. Substitution am Phenylrest der Phenylelessigsäurestruktur

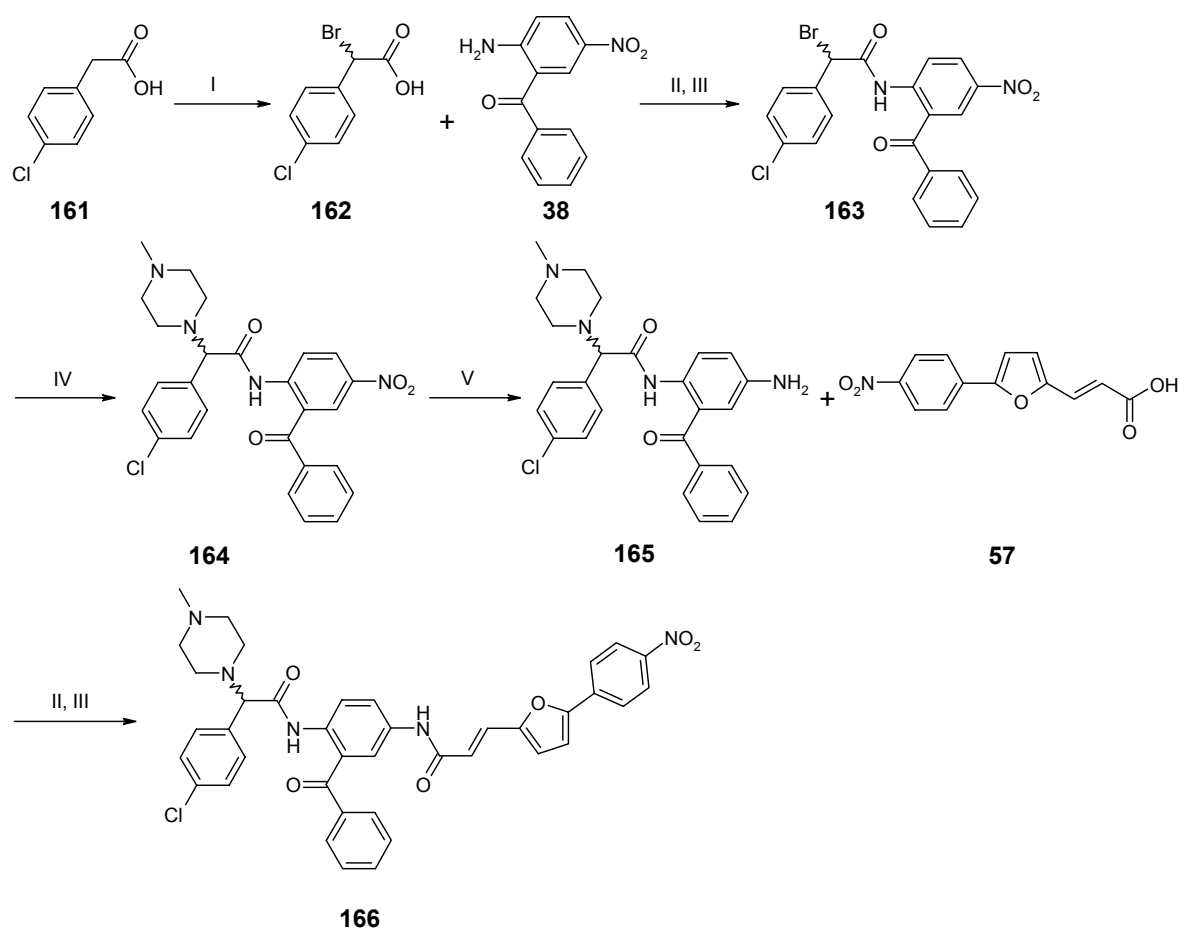
Nachdem wir mit der Verbindung **179** einen Farnesyltransferaseinhibitor entwickelt haben, der als erster überhaupt *in vivo*-Wirksamkeit gegen *P. falciparum* zeigte, haben wir nach Strukturelementen gesucht, die diese Wirksamkeit weiter steigern können.

Als Ansatzpunkt dienten dabei die Struktur-Wirkungs-Beziehungen der  $\alpha$ -unsubstituierten 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäurederivate. Hier zeigt sich, dass das para-chlorsubstituierte Phenylelessigsäurederivat **73** gegen *P. falciparum* um etwa den Faktor 4 aktiver ist (IC<sub>50</sub> = 64 nM) als das para-unsubstituierte Phenylelessigsäurederivat **70** (IC<sub>50</sub> = 270 nM), so dass das Einbringen eines para-

Chlorsubstituenten in die *N*-Methylpiperazinphenylacetylstruktur des Inhibitors **179** möglicherweise ebenfalls zu einer verbesserten *in vitro*- und *in vivo*-Aktivität gegen *P. falciparum* führen könnte.

#### 4.5.1.1. Synthese

Zur Synthese des para-chlorsubstituierten Phenylpiperazinderivates **166** wurde 4-Chlorphenyllessigsäure **161** zunächst in der  $\alpha$ -Position bromiert (**162**), als Säurechlorid aktiviert und mit dem Benzophenon **38** umgesetzt. Bei der daraus resultierenden Nitroverbindung **163** wurde im nächsten Schritt das Halogen gegen einen *N*-Methylpiperazinrest ausgetauscht (**164**) und die entstandene Nitroverbindung zum Amin **165** reduziert, welches dann mit als Säurechlorid aktivierter Acrylsäure **57** zum gewünschten Produkt umgesetzt wurde (Schema 8).

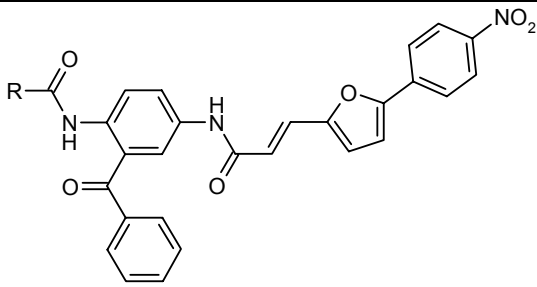
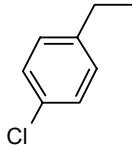
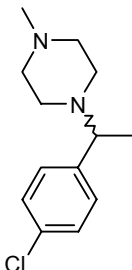


**Schema 8:** Darstellung der para-chlorsubstituierten Derivates. (I) Brom, Phosphortrichlorid, Benzol, 3 h Erhitzen; (II) Oxalylchlorid, Dichlormethan, Dimethylformamid, 2 h Rühren, RT; (III) Toluol / Dioxan, 2 h RF; (IV) sekundäres Amin, Acetonitril, 48 h RF; (V) Zinn(II)-chlorid-Dihydrat, Ethylacetat, 2 h RF

#### 4.5.1.2. Bestimmung der Löslichkeit

Vergleicht man analog zu den Inhibitoren **70** und **179** die Löslichkeit des  $\alpha$ -unsubstituierten Derivates **73** mit der des  $\alpha$ -methylpiperazinsubstituierten Derivates **166**, zeigt sich ebenfalls eine deutliche Verbesserung der Wasserlöslichkeit und der Löslichkeit in Phosphatpuffer, allerdings in einem geringeren Ausmaß als bei den beiden para-unsubstituierten Inhibitoren (Tab. 12).

Tab. 12: Vergleich der Löslichkeit der Inhibitoren **73** und **166**

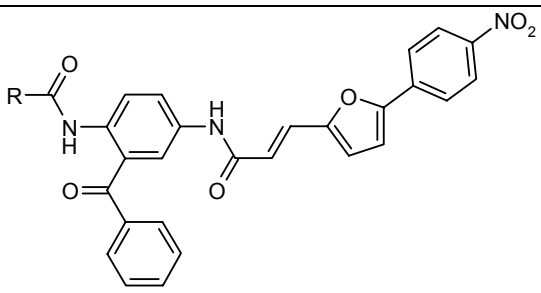
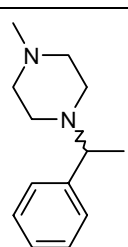
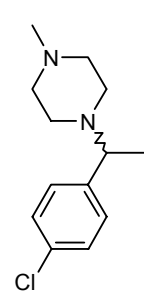
			
R	Löslichkeit in Wasser	Löslichkeit in Phosphatpuffer pH 7.2	
<b>73</b> 	< 0.06 mM	< 0.04 mM	
<b>166</b> 	1.25 mM	0.25 mM	

#### 4.5.1.3. Testung auf Aktivität gegen FTase, *Plasmodium falciparum* und *Trypanosoma cruzi*

Wie alle anderen heterozyklischen Derivate ist auch die Verbindung **166** auf ihre Aktivität gegen isolierte FTase aus *S. cerevisiae*, gegen *P. falciparum* und gegen *T. cruzi* getestet worden. Die Testergebnisse sind in Tabelle 13 zusammen mit den Testwerten der para-unsubstituierten Ausgangsverbindung **179** dargestellt.



Tab. 13: Vergleich der Testergebnisse der Inhibitoren **166** und **179**

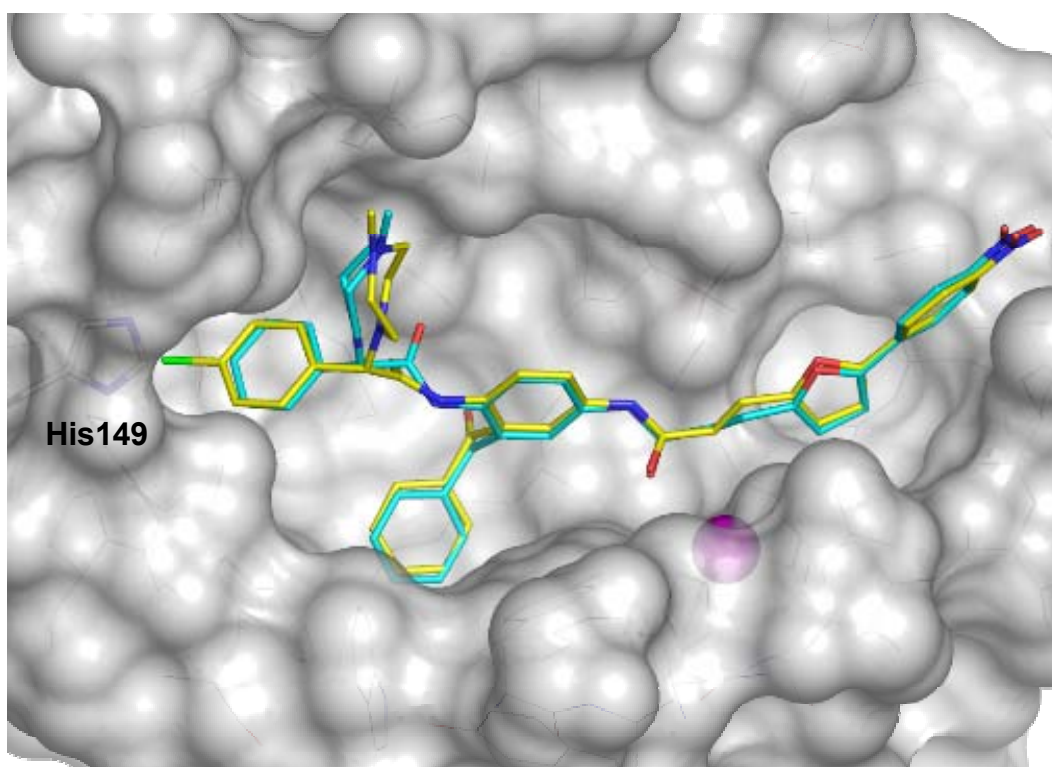
		IC <sub>50</sub>	IC <sub>50</sub>	IC <sub>50</sub>	CC <sub>50</sub>	CC <sub>50</sub> / IC <sub>50</sub>
R	FTase	<i>P. falc.</i>	<i>T. cruzi</i>	HeLa	<i>P. falc.</i>	
	[nM]	[nM]	[nM]	[μM]		
<b>179</b> 	10	270	10000	37.0	137	
<b>166</b> 	4	230	10000	38.6	160	

Betrachtet man das Ergebnis der Testung des Inhibitor **166** (IC<sub>50</sub> = 4 nM) gegen FTase zusammen mit dem Ergebnis der entsprechenden  $\alpha$ -unsubstituierten Grundstruktur **73** (IC<sub>50</sub> = 102 nM), zeigt sich eine deutliche Steigerung der Aktivität durch das Einbringen des *N*-Methylpiperazinrestes. Gegenüber dem para-unsubstituierten *N*-Methylpiperazinderivat **179** konnte durch das Einbringen des para-Chlorsubstituenten eine Wirkungssteigerung um den Faktor 2.5 erreicht werden.

Da sich der Schwerpunkt unserer Forschung über Farnesyltransferaseinhibitoren hauptsächlich in Richtung der Wirksamkeit von FTI gegen Protozoenerkrankungen konzentriert, sind die Testwerte gegen *P. falciparum* und *T. cruzi* allerdings noch von weitaus größerer Bedeutung als die Testwerte gegen ScFTase.

Betrachtet man die Aktivität des Inhibitors **166** gegen *P. falciparum* (IC<sub>50</sub> = 230 nM), zeigt sich eine geringfügige Verbesserung der Wirksamkeit im Vergleich mit der der

para-unsubstituierten Verbindung **179**, allerdings ist diese Verbesserung nicht so deutlich, wie wir uns auf Grund des Vergleichs der Testergebnisse dieses Derivates (**179**) mit denen seiner Ausgangssubstanz **70** erhofft hatten: Der Vergleich hatte gezeigt, dass die Einführung eines *N*-Methylpiperazinrestes in die  $\alpha$ -Position keinerlei Verlust der Wirksamkeit gegenüber den kultivierten Malariaparasiten bedeutete (**70** und **179**:  $IC_{50} = 270$  nM), dies konnte im Fall der para-chlorsubstituierten Inhibitoren **73** ( $IC_{50} = 64$  nM) und **166** nicht wiederholt werden.



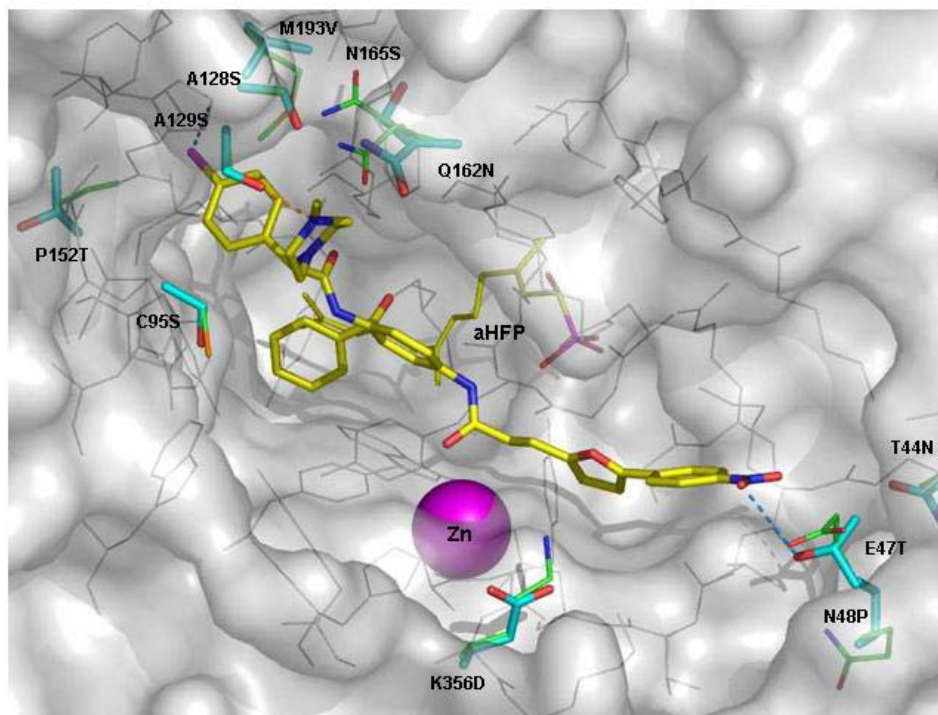
**Abb. 47:** Dockinglösungen des Inhibitors **179** (cyan) und **166** (gelb). Beide Inhibitoren zeigen einen ähnlichen Bindungsmodus. Die bessere Aktivität des Inhibitors **166** kann durch eine zusätzliche Interaktion zwischen His 149 (verdeckt durch die Oberfläche) und dem para-Chlorsubstituenten des Inhibitors **166** erklärt werden.

Abbildung 47 zeigt die Lösungen dieses flexiblen Dockings für die Inhibitoren **166** und **179**. Beide Verbindungen haben eine ähnliche Orientierung, aber im Gegensatz zur para-unsubstituierten Phenylessigsäurestruktur des Derivates **179** kann der para-Chlorsubstituent des Inhibitors **166** mit Histidin 149 interagieren. Diese zusätzliche Interaktion liefert eine Erklärung für die bessere Wirksamkeit des Inhibitors **166**.

Im Gegensatz zur  $\alpha$ -unsubstituierten Verbindung **73** verhindert der Piperazinrest des Inhibitors **166** jedoch, dass der para-Chlorsubstituent noch weiter in die Bindetasche

hineinreicht und eine bessere Interaktion mit His 149 eingeht, was zu einem Aktivitätsverlust der Verbindung **166** gegenüber der Verbindung **73** führt.

Ähnlich der Aminosäurederivate haben wir auch für die heterozyklischen Derivate zum besseren Verständnis der Struktur-Wirkungs-Beziehungen ein Homologiemodell der *Pf*FTase erstellt, diesmal mit dem 2-(4-Chlorphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)essigsäurederivat **166** (Abb. 48).



**Abb. 48:** Homologiemodell der *Pf*FTase (cyan) im Vergleich mit *Rn*FTase / humaner FTase (grün). Dargestellt sind Unterschiede der Aminosäuren in beiden Enzymen, die die Bindung des Inhibitors **166** beeinflussen könnten.

Analog zu den Aminosäurederivaten beeinflusst die Veränderung der Aminosäuren bei *P. falciparum* die Bindung des 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäurerestes kaum. Im Bereich der Bindetasche, in die der Phenylpiperazinylessigsäurerest bindet, sind die Unterschiede beider Enzyme eher von Bedeutung. Während der Austausch von Cys 97 $\beta$  zu Serin, Pro 152 $\beta$  zu Threonin und Ala 128 $\alpha$  zu Serin eher keinen Einfluss auf die Bindung des Inhibitors hat, ermöglicht der Ersatz von Ala 129 $\alpha$  durch Serin die Ausbildung einer Wasserstoffbrücke der Hydroxylgruppe des Serins zum Stickstoffatom in der Position 4 des Piperazinrestes, unabhängig davon, ob das

Stickstoffatom protoniert vorliegt oder nicht. Met 193 $\beta$ , Asn 165 $\alpha$  und Gln 162 $\alpha$  sind durch Valin, Serin und Asparagin ersetzt und auch wenn sie die Bindung des Inhibitors **166** möglicherweise kaum beeinflussen, können die räumlich weniger großen Seitenketten von Valin, Serin und Asparagin mehr Platz im Bindungsbereich des Piperazinrestes ermöglichen und so eine Perspektive für die Entwicklung von Inhibitoren mit einer höheren Selektivität eröffnen.

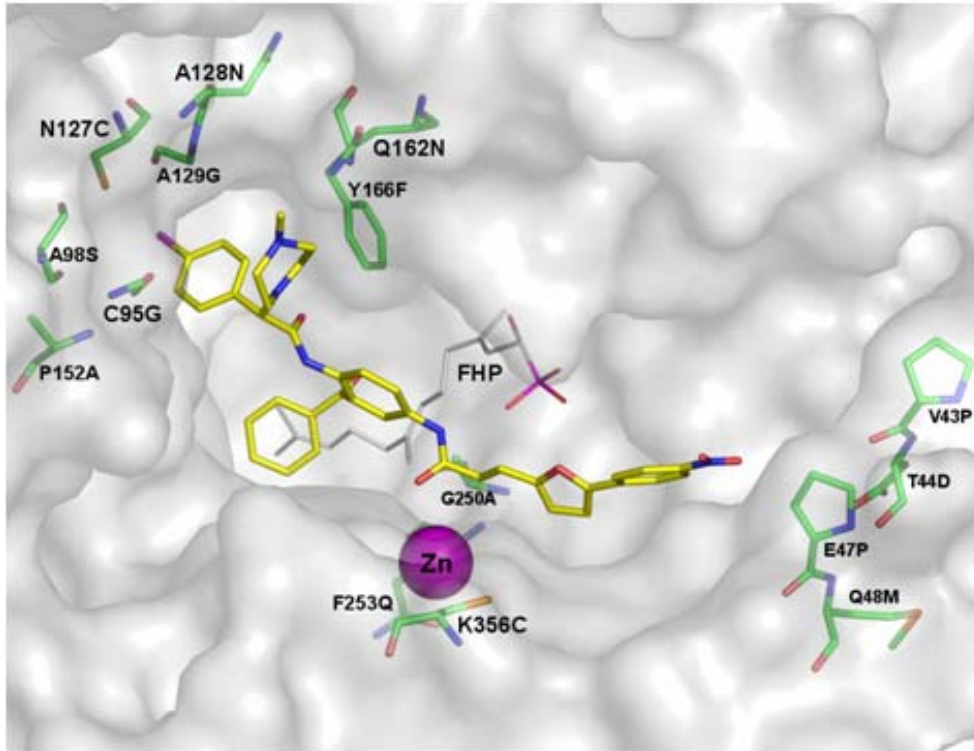
Trotz dieser Unterschiede behalten Dockingstudien der Inhibitoren, die mit der Kristallstruktur der *RnFTase* durchgeführt wurden, ihre Aussagekraft.

Weiterhin wurde ein Homologiemodell für die *TcFTase* erstellt (Abb. 49), verwendet wurde ebenfalls der Inhibitor **166**.

Es zeigt sich, dass wie bei der *PfFTase* kaum eine Veränderung der Wechselwirkungen zwischen dem 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäurerest und dem Enzym zu erwarten ist. Zwar bestehen hinsichtlich dieser Region der Bindetasche noch Unsicherheiten bezüglich der Sequenzüberlagerung beider Enzyme, doch der Austausch von Lys 356 $\beta$  gegen Cystein, Gln 48 $\beta$  gegen Methionin, Glu 47 $\beta$  gegen Prolin und Thr 44 $\beta$  gegen Asparaginsäure betrifft nur Aminosäuren, die räumlich zu weit entfernt sind, um die Inhibitorbindung in diesem Bereich zu beeinflussen.

Der Großteil an veränderten Aminosäuren findet sich in dem Teil der Bindetasche, in dem der 2-(Methylpiperazinyl)-2-phenylacetylrest gebunden wird. Während die meisten Veränderungen die Bindung der einzelnen Inhibitoren kaum beeinflussen dürften, resultiert der Ersatz der Aminosäuren Ala 129 $\alpha$  und Gln 162 $\alpha$  durch Glycin und Asparagin in einem größeren Raumangebot im Bereich des Stickstoffatoms des Piperazins, das den Methylrest trägt.

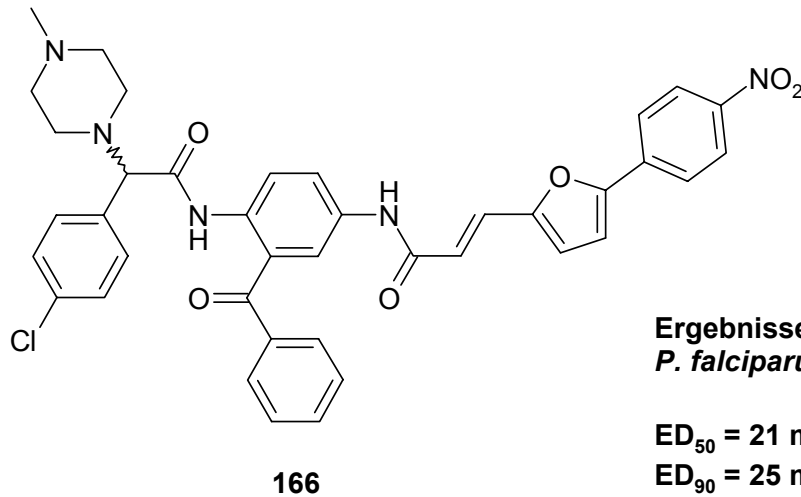
Mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 10000 nM gegen *T. cruzi* ist der Inhibitor **166** allerdings als eher weniger aktiv zu bezeichnen.



**Abb. 49:** Homologiemodell der FTase aus *T. cruzi* basierend auf der Kristallstruktur der *RnFTase* (PDB-Code: 1QBQ). Der gedockte Inhibitor **166** liegt über dem FPP-Analogon FHP (weiß) und dem Zink-Ion (magenta). Aminosäureseitenketten des aktiven Zentrums der *TcFTase*, die sich von der *RnFTase* unterscheiden, sind in grün dargestellt.

#### 4.5.1.4. Testung auf *in vivo*-Aktivität gegen *Plasmodium falciparum*

Die Testung des *N*-Methylpiperazinderivates **166** an *P. vinckei*-infizierten Mäusen spiegelt die Ergebnisse der Testung an den kultivierten Parasiten wider (Abb. 50). Durch das Einführen des para-Chlorsubstituenten konnte die *in vivo*-Wirksamkeit im Vergleich mit dem para-unsubstituierten Derivat **179** um etwa den Faktor 1.5 verbessert werden. Der ED<sub>50</sub>-Wert des Inhibitors **166** liegt bei 21 mg / kg KG (30.4 μmol / kg KG) und der ED<sub>90</sub>-Wert liegt bei 25 mg / kg KG (36.2 μmol / kg KG). Mit strukturbasiertem Design konnten wir somit an die Entwicklung des Inhibitors **179** anschließen und den zweiten Farnesyltransferaseinhibitor überhaupt präsentieren, der *in vivo*-Aktivität gegen *P. falciparum* zeigt, und ebenfalls eine deutliche Verbesserung der Aktivität erzielen.



**Ergebnisse der *in vivo*-Testung gegen  
*P. falciparum***

**ED<sub>50</sub> = 21 mg / kg KG (30.4 μmol / kg KG)**

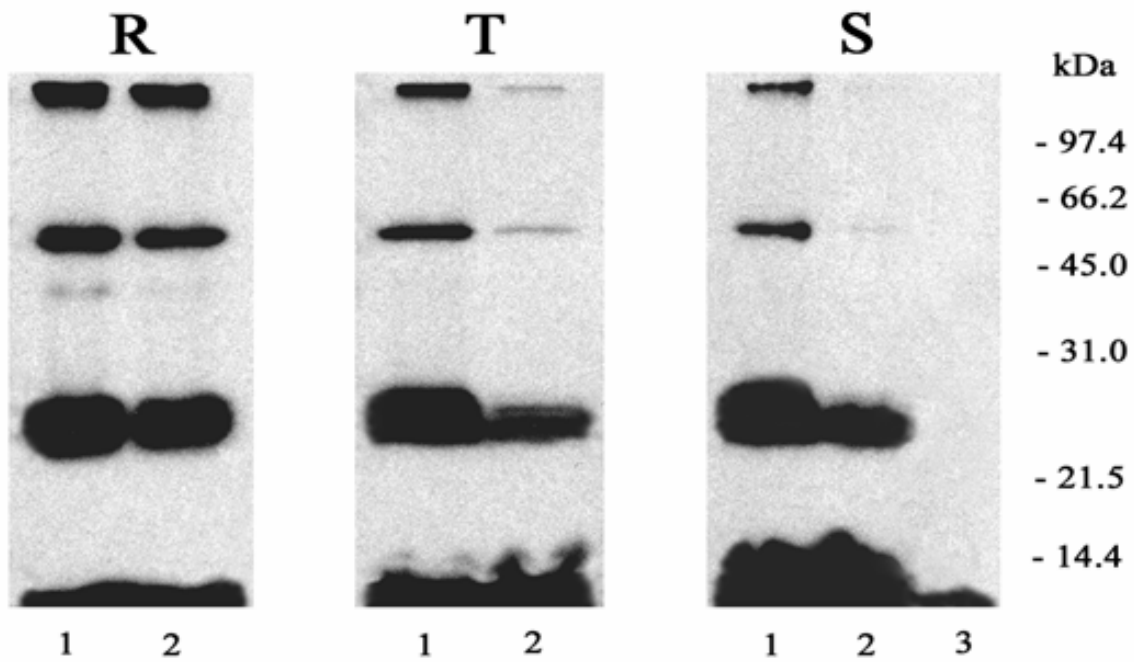
**ED<sub>90</sub> = 25 mg / kg KG (36.2 μmol / kg KG)**

**Abb. 50:** Testergebnisse des Inhibitors **166**

#### 4.5.1.5. Sicherung des Wirkmechanismus als Farnesyltransferaseinhibitor

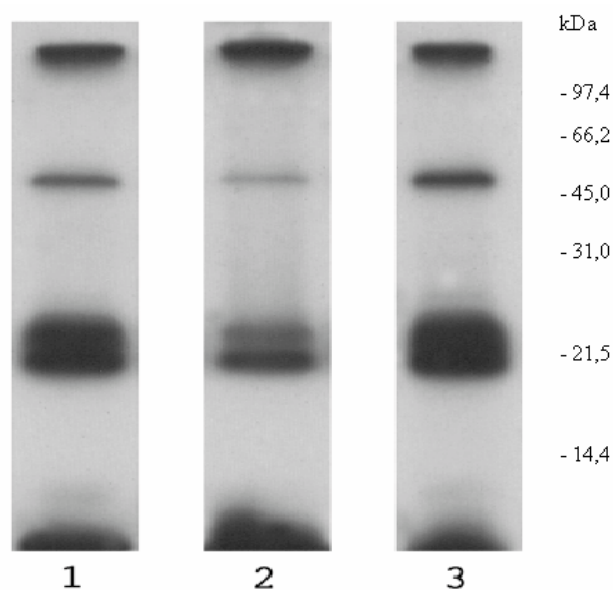
Zur Sicherung des Wirkmechanismus wurde von Prof. Dr. A. M. Katzin und Dr. E. A. Kimura vom Department für Parasitologie der Universität Sao Paulo ein Versuch durchgeführt, mit dem der Einfluss der Testsubstanz auf die Farnesylierung der Parasitenproteine direkt beobachtet werden kann.

Hierzu wurde eine *P. falciparum*-Kultur 48 Stunden einer subtoxischen Konzentration des Inhibitors **166** ausgesetzt, wobei nach einer Inkubationszeit von 30 Stunden <sup>3</sup>H-FPP zugesetzt wurde. Parallel wurde ein Kontrollansatz ohne Inhibitor kultiviert. Unter diesen Bedingungen war mikroskopisch kein Unterschied im Wachstum beider Kulturen zu beobachten. Verlängerte man jedoch die Inkubationszeit über den Zeitraum von 48 Stunden, so dass die Parasiten in einen zweiten Replikationszyklus eintreten konnten, war die Anzahl der Ringstadien unter dem Einfluss von Inhibitor **166** verringert. Die verschiedenen Parasitenstadien wurden im nächsten Schritt durch Dichtegradienten-Zentrifugation getrennt und Proteinextrakte hergestellt. Anschließend wurden jeweils vergleichbare Mengen der Versuchs- und der Kontrollfraktion gelelektrophoretisch aufgetrennt und die farnesylierten Proteine durch Autoradiographie detektiert. Im Kontrollansatz war bei allen Parasitenstadien ein charakteristisches Muster von farnesylierten Proteinen zu beobachten, wie es bereits früher von Chakrabarti et al. und Katzin et al. beschrieben worden war. [103, 104] Unter dem Einfluss der Verbindung **166** war die Intensität der Farnesylierung signifikant reduziert (Abb. 51). Dieser Effekt war im Trophozoiten- und im Schizontenstadium besonders ausgeprägt.



**Abb. 51:** Inhibition der Proteinfarnesylierung in Kulturen von *P. falciparum* durch Inhibitor **166** (R = Ringstadium, T = Trophozitenstadium, S = Schizontenstadium). Spur 1 zeigt unbehandelte Kontrollparasiten, Spur 2 zeigt die farnesylierten Proteine einer Parasitenkultur, die mit 10 nM der Verbindung **166** behandelt wurde, und Spur 3 zeigt eine Kontrolle mit nicht infizierten Erythrozyten. Molekülmassen-Standards sind in kDa angegeben.

In einem weiteren Kontrollexperiment wurde der Effekt der Verbindung **166** auf die Proteinfarnesylierung mit dem des bekannten Inhibitors FTI-277 **22** verglichen. [104]



**Abb. 52:** Vergleich der Inhibition der Proteinfarnesylierung durch FTI-277 **22** (Spur 1, 5 μM) und Inhibitor **166** (Spur 2, 10 nM). Spur 3 zeigt eine unbehandelte Kontrolle.

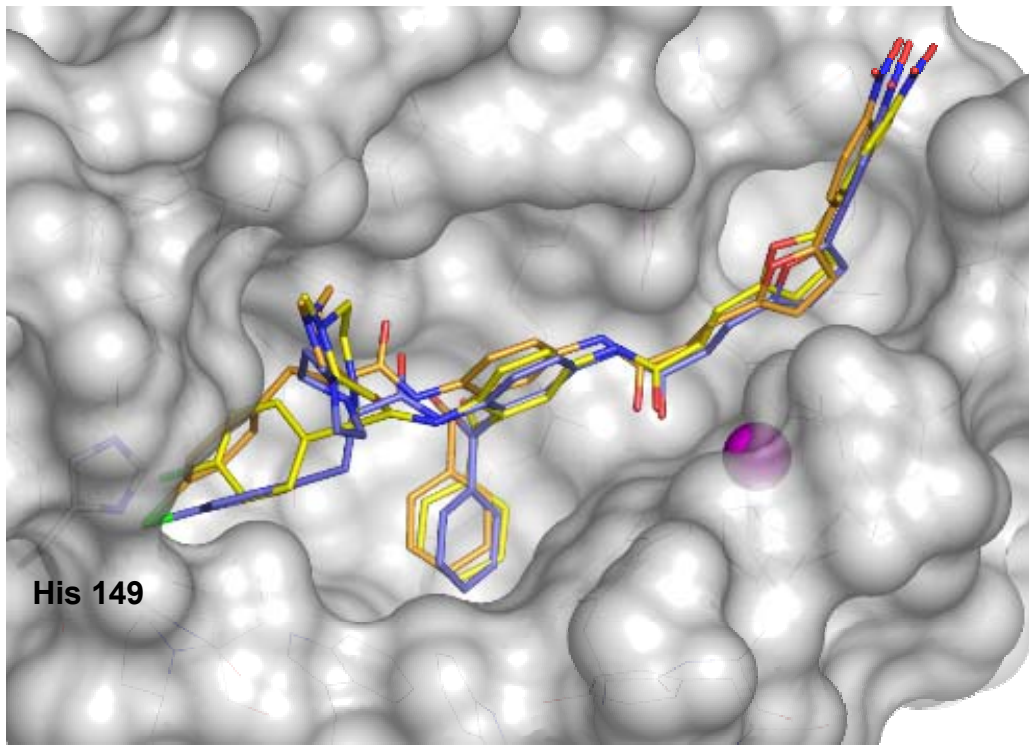
Die Proteinfarnesylierung wird durch beide Substanzen prinzipiell ähnlich gehemmt, wobei der Effekt des Inhibitors **166** bei einer Konzentration von 10 nM deutlich stärker ausgeprägt ist als der Effekt von FTI-277 bei einer Konzentration von 5  $\mu$ M (Abb. 52). Beide Kontrollexperimente zeigen damit, dass die Antimalariaktivität der Verbindung **166** und damit auch die Antimalariaaktivität der strukturverwandten Verbindung **179** auf der Hemmung der Proteinfarnesylierung der Parasiten beruht. Zusammenfassend haben wir damit nachgewiesen, dass die Hemmung der Farnesyltransferase ein tragfähiges Konzept für die Entwicklung neuer Chemotherapeutika zur Behandlung von Malaria ist. Insbesondere der Nachweis der Hemmung der Proteinfarnesylierung und die *in vivo*-Wirksamkeit der vorgestellten Inhibitoren tragen dazu bei.

#### 4.5.2. Variation der Phenyllessigsäurestruktur

Die Lösungen des flexiblen Dockings für den Inhibitor **166** haben gezeigt, dass der sterisch voluminöse Piperazinrest in der  $\alpha$ -Position der Phenyllessigsäurestruktur der Verbindung verhindert, dass der para-Chlorrest weit genug in die Bindetasche hineinreicht, um eine gute Interaktion mit Histidin 149 einzugehen und so die Wirksamkeit gegenüber dem para-unsubstituierten *N*-Methylpiperazinderivat noch weiter zu steigern. Ein möglicher Ansatzpunkt, dieses sterische Problem, das der Piperazinrest verursacht, zu umgehen, ist die Verlängerung der Phenyllessigsäurestruktur um einen Methylenspacer zur Phenylpropionsäurestruktur. Diese Kettenverlängerung sollte in der Lage sein, den para-Chlorsubstituenten weiter in Richtung des Histidins 149 zu dirigieren.

Bevor wir jedoch das aus diesen Überlegungen resultierende  $\alpha$ -*N*-methylpiperazinsubstituierte 4-Chlorphenylpropionsäurederivat **172** synthetisierten, haben wir zuerst das Ergebnis eines flexiblen Dockings der Verbindung im Vergleich mit dem  $\alpha$ -substituierten 4-Chlorphenyllessigsäurederivat **166** betrachtet (Abb. 53)



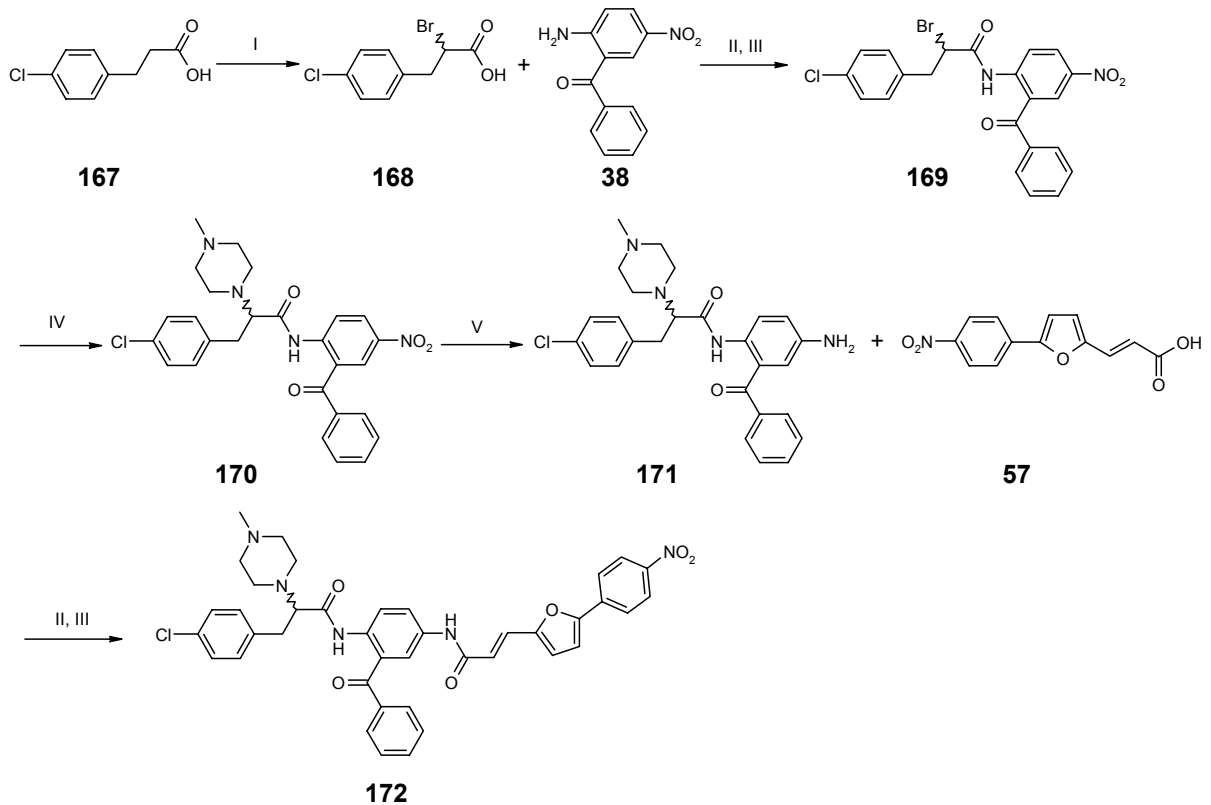


**Abb. 53:** Dockinglösungen des Inhibitors **166** (gelb) und beider Enantiomere des Inhibitors **172** (orange und blau). Die Phenylpropionsäurestruktur des Inhibitors **172** ermöglicht eine bessere Interaktion mit His 149 als die Phenylelessigsäurestruktur des Inhibitors **166**.

Das Docking der Inhibitoren zeigt dabei deutlich, dass die Phenylpropionsäurestruktur des Inhibitors **172** eine bessere Interaktion mit dem Histidin 149 ermöglicht, daher haben wir im nächsten Schritt der Entwicklung die Verbindung zur Testung an isolierter FTase, *P. falciparum* und *T. cruzi* synthetisiert.

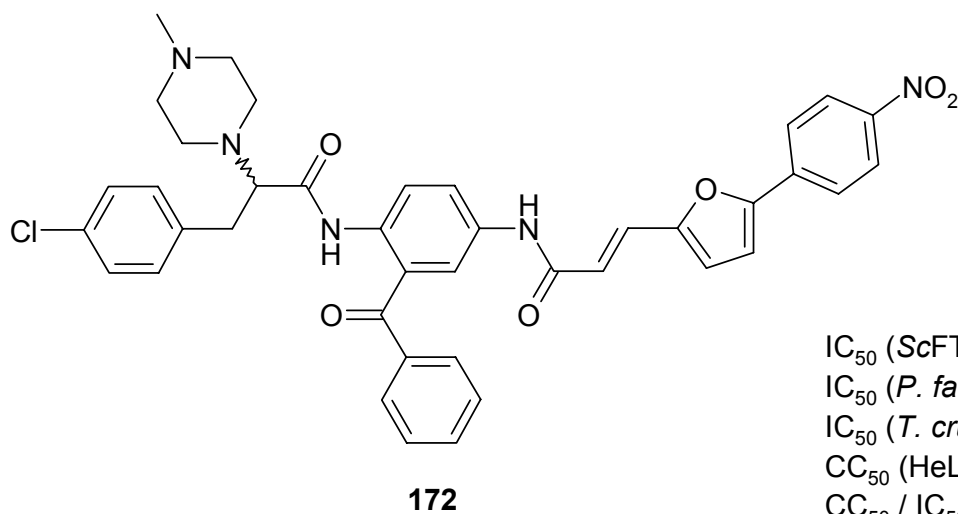
#### 4.5.2.1. Synthese

Die Synthese erfolgte analog der des Inhibitors **166**. Zunächst wurde 3-(4-Chlorphenyl)propionsäure **167** in der  $\alpha$ -Position bromiert (**168**), als Säurechlorid aktiviert und mit 2-Amino-5-nitrobenzophenon **38** zum Säureamid **169** umgesetzt. Anschließend wurde der Bromsubstituent durch *N*-Methylpiperazin ersetzt (**170**) und die Nitrogruppe der Verbindung mit Zinn(II)-chlorid reduziert (**171**). Das resultierende Amin wurde zur Herstellung des gewünschten Produktes **172** mit der als Säurechlorid aktivierten Acrylsäure **57** umgesetzt (Schema 9).



**Schema 9:** Darstellung des para-Chlorphenylpropionsäurederivates. (I) Brom, Phosphortrichlorid, Benzol, 3 h Erhitzen; (II) Oxalylchlorid, Dichlormethan, Dimethylformamid, 2 h Rühren, RT; (III) Toluol / Dioxan, 2 h RF; (IV) sekundäres Amin, Acetonitril, 48 h RF; (V) Zinn(II)-chlorid-Dihydrat, Ethylacetat, 2 h RF

#### 4.5.2.2. Testung auf Aktivität



$IC_{50}$  (ScFTase) = 124 nM  
 $IC_{50}$  (*P. falciparum*) = 210 nM  
 $IC_{50}$  (*T. cruzi*) = 1 nM  
 $CC_{50}$  (HeLa-Zellen) = 18  $\mu$ M  
 $CC_{50} / IC_{50}$  (*P. falciparum*) = 86

**Abb. 54:** Testergebnisse des Inhibitors **172**

Die Ergebnisse der Testung auf Aktivität sind in der Abbildung 54 zusammengefasst. Während die Aktivität gegen isolierte ScFTase gegenüber der Verbindung **166** deutlich sinkt, konnte die Aktivität gegen *P. falciparum* tatsächlich leicht gesteigert werden (**172**: IC<sub>50</sub> = 210 nM, **166**: IC<sub>50</sub> = 230 nM). Problematisch ist allerdings die hohe Toxizität der Verbindung **172**. Betrachtet man den Zytotoxizitätsindex, d. h. den Quotienten aus CC<sub>50</sub>-Wert und IC<sub>50</sub>-Wert (*P. falciparum*), zeigt sich mit einem Verhältnis von 86 ein eher schlechter Wert. Aus diesem Grund wurde auf eine *in vivo*-Testung gegen *P. falciparum* verzichtet.

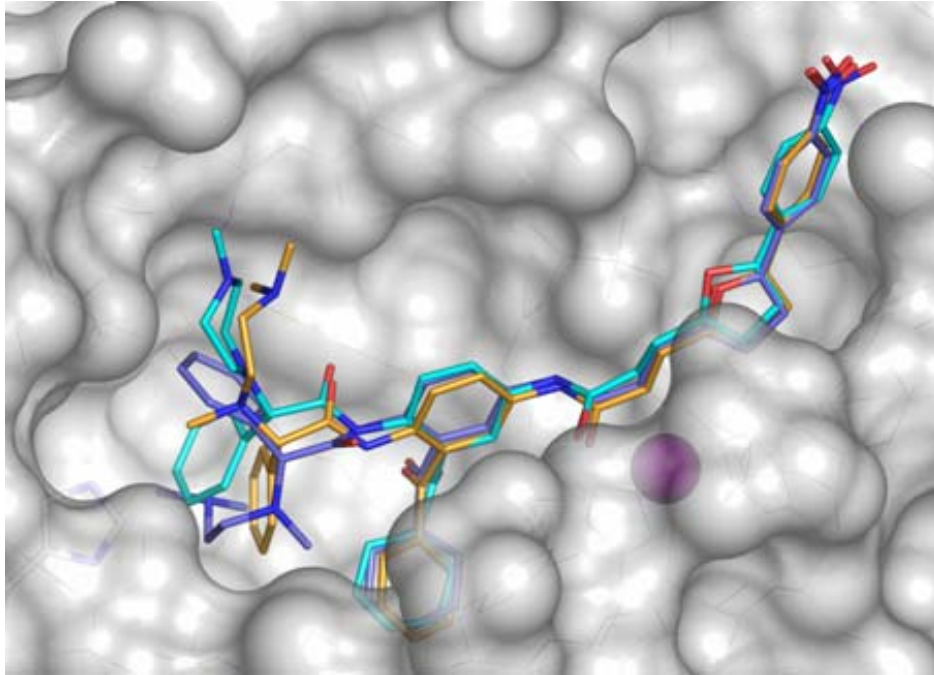
Weitaus besser ist dagegen die Wirksamkeit des Inhibitors **172** gegen *T. cruzi*, mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von nur 1 nM. Damit ist uns neben dem Aminosäurederivat **110** die Entwicklung eines weiteren Inhibitors gegen *T. cruzi* gelungen, der zu den besten in der Literatur beschriebenen Farnesyltransferaseinhibitoren gegen diesen Parasiten überhaupt zählt. Die Problematik der hohen Zytotoxizität verliert bei der Betrachtung des Zytotoxizitätsindexes eher an Bedeutung: Das CC<sub>50</sub> / IC<sub>50</sub>-Verhältnis (*T. cruzi*) mit einem Wert von 18000 sollte keine Bedenken für weitere Untersuchungen aufwerfen.

Betrachtet man das Homologiemodell der TcFTase, kann die Vergrößerung der Bindetasche im Bereich des 2-(Methylpiperazinyl)-2-phenylacetylrestes möglicherweise die sehr hohe Aktivität des Phenylpiperazinpropionsäurederivates **172** erklären.

#### 4.5.3. Variation des *N*-Methylpiperazinrestes

Parallel zur Verlängerung der Phenyllessigsäurestruktur um einen Methylenspacer haben wir den *N*-Methylpiperazinrest als Ansatzpunkt für die Optimierung der Wirkung gewählt. Der sterisch voluminöse Piperazinrest verhindert möglicherweise beim Inhibitor **166** eine optimale Wechselwirkung mit His 149 der FTase, was uns veranlasst hat, über Inhibitoren nachzudenken, bei denen dieser Rest durch den flexibleren Ethylendiaminrest ersetzt werden sollte.

Bevor wir mit der Synthese der Verbindungen begannen, haben wir auch hier wieder ein Dockingmodell erstellt, in der Hoffnung, für ein para-unsubstituiertes und ein para-chlorsubstituiertes Ethylendiaminderivat eine bessere Interaktion mit His 149 zu erreichen als mit den entsprechenden *N*-Methylpiperazinderivaten **166** und **179**.



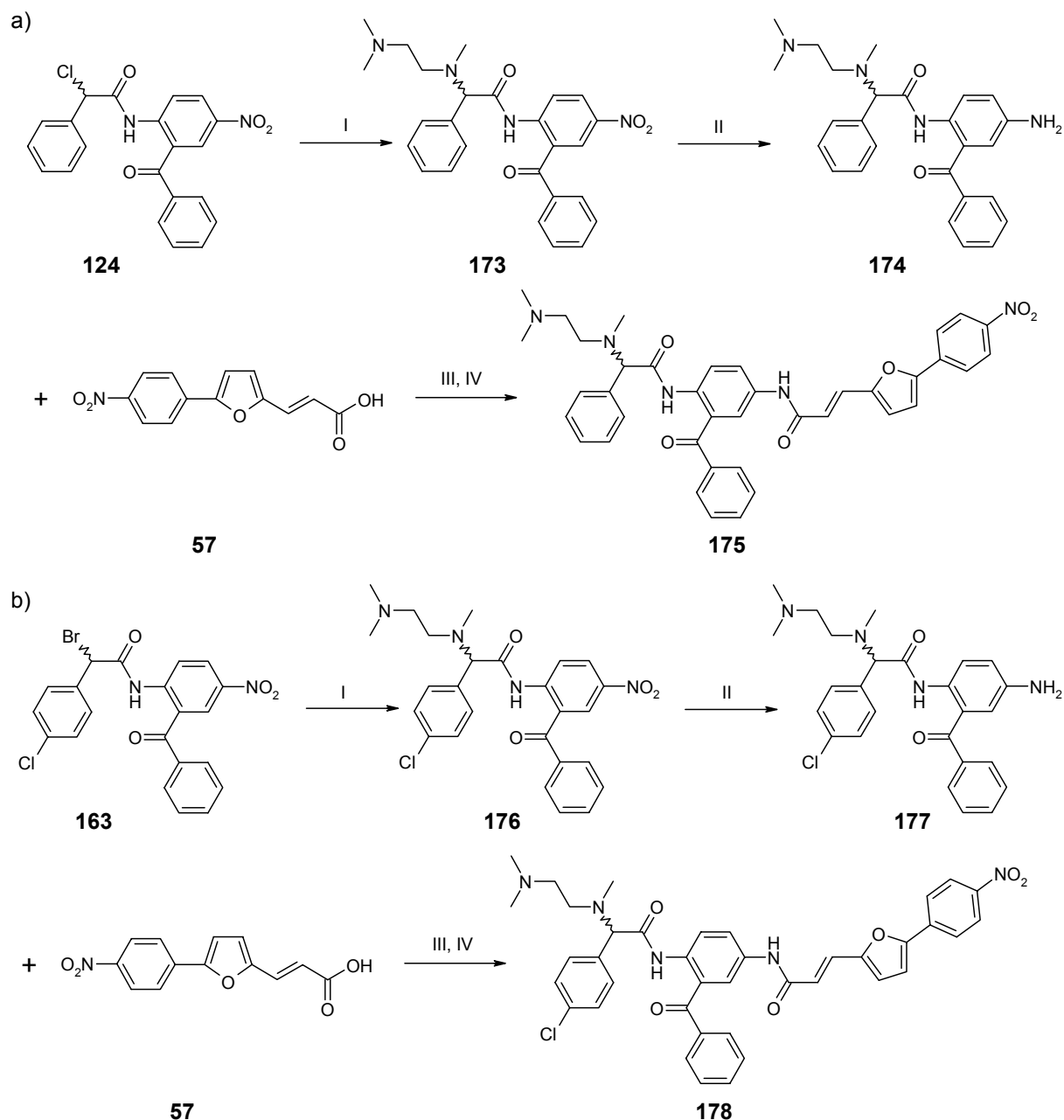
**Abb. 55:** Dockinglösung der Verbindung **179** (cyan), sowie zwei verschiedene Dockinglösungen des para-unsubstituierten Ethylendiaminderivates **175**. In einer Lösung (orange) zeigt der Ethylendiaminrest annähernd in die Richtung des Piperazinrestes, während der Phenylrest deutlich nach unten verschoben ist und mit Trp 102 interagieren kann. In der anderen Lösung sind der Phenylrest und der Ethylendiaminrest vertauscht.

Das Ergebnis des flexiblen Dockings weicht jedoch von der vermuteten Lösung ab: Eine Dockinglösung dirigiert den Ethylendiaminrest in die Richtung des Piperazinrestes, während der Phenylrest nicht in Richtung des His 149 zeigt, sondern eher in Richtung des Trp 102 weist. Die zweite Dockinglösung zeigt einen Tausch in der Orientierung des Phenyl- und des Ethylendiaminrestes. Welcher Bindungsmodus tatsächlich vorliegt, ist nicht zu klären (Abb. 55).

Trotzdem haben wir mit der Synthese beider Ethylendiaminderivate begonnen, da auch durch die Interaktion mit Trp 102 im aktiven Zentrum eine Möglichkeit der Wirksamkeitsverbesserung bestand.

### 4.5.3.1. Synthese

Die Synthese der Verbindungen erfolgte wie die Darstellung der heterozyklischen Derivate. Die Ausgangsverbindungen **124** und **163** wurden mit *N,N,N'*-Trimethylethan-1,2-diamin umgesetzt (**173**, **176**), mit Zinn(II)-chlorid zum Amin reduziert (**174**, **177**) und anschließend mit dem Säurechlorid der Acrylsäure **57** zu den gewünschten Endprodukten **175** und **178** umgesetzt. (Schema 10a und 10b).

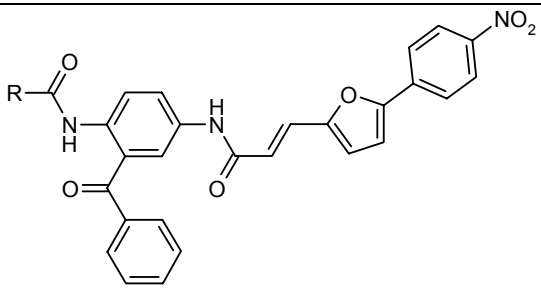
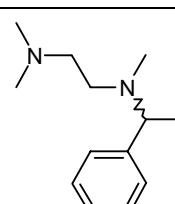
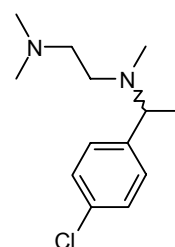


**Schema 10:** Darstellung der Ethylendiaminderivate. (I) sekundäres Amin, Acetonitril, 48 h RF; (II) Zinn(II)-chlorid-Dihydrat, Ethylacetat, 2 h RF; (III) Oxalylchlorid, Dichlormethan, Dimethylformamid, 2 h Rühren, RT; (IV) Toluol / Dioxan, 2 h RF

### 4.5.3.2. Testung auf Aktivität

Die Ergebnisse der Testung gegen isolierte FTase, *P. falciparum* und *T. cruzi* für beide Ethylendiaminderivate sind in der Tabelle 14 zusammengefasst.

**Tab. 14:** Testergebnisse der Ethylendiaminderivate

		IC <sub>50</sub> FTase [nM]	IC <sub>50</sub> <i>P. falc.</i> [nM]	IC <sub>50</sub> <i>T. cruzi</i> [nM]	CC <sub>50</sub> HeLa [μM]	CC <sub>50</sub> / IC <sub>50</sub> <i>P. falc.</i>
<b>175</b>		21	32	> 1000	14.4	450
<b>178</b>		28	30	1000	6.6	220

Bezüglich der Testung gegen isolierte FTase sind die beiden Verbindungen **175** (IC<sub>50</sub> = 21 nM) und **178** (IC<sub>50</sub> = 28 nM) nur unwesentlich schlechter wirksam als die Inhibitoren **166** und **179**.

Das Ersetzen des *N*-Methylpiperazinrestes der Ausgangsverbindungen **166** und **179** durch die Ethylendiaminstruktur führt allerdings zu einer deutlichen Verbesserung der Aktivität gegen die Malaria Parasiten. Mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 32 nM für den Inhibitor **175** und einem IC<sub>50</sub>-Wert von 30 nM für den Inhibitor **178** sind die beiden Substanzen nicht nur um den Faktor 9 wirksamer als das *N*-Methylpiperazinderivat **179**, sondern auch doppelt so aktiv wie die ursprüngliche Leitstruktur **34**, das 5-(4-Nitrophenyl)-2-furylderivat. Vergleicht man diese Ergebnisse mit veröffentlichten Werten, zeigt sich,

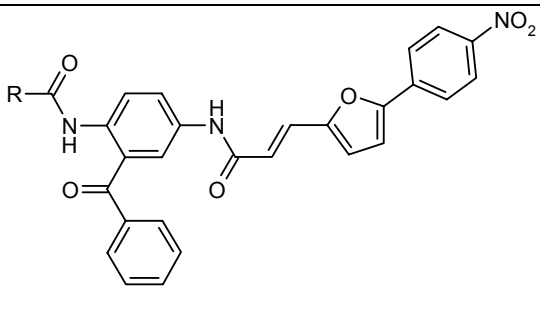
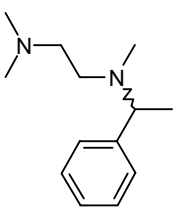
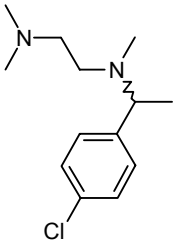
dass die beiden Verbindungen **175** und **178** die zurzeit besten *in vitro*-Testergebnisse von Farnesyltransferaseinhibitoren gegen mit *P. falciparum* infizierte Erythrozyten aufweisen. Sie sind um den Faktor 5 aktiver als der Benzylester von FTI-2148, der mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 150 nM den besten veröffentlichten Farnesyltransferaseinhibitor abweichender Struktur darstellt. [106]

Weiterhin hervorzuheben ist die Selektivität der Verbindungen gegen *P. falciparum*. Gegen *T. cruzi* gehören sie mit IC<sub>50</sub>-Werten um 1 µM eher zu den schwächeren Verbindungen.

#### 4.5.3.3. Bestimmung der Löslichkeit

Bevor wir beide Ethylendiaminderivate im Mausmodell testen konnten, haben wir zuerst deren Löslichkeiten ermittelt (Tab. 15).

**Tab. 15:** Löslichkeit der Inhibitoren **175** und **178** in Wasser und Phosphatpuffer pH 7.2

		Löslichkeit	
R	Löslichkeit in Wasser	in Phosphatpuffer pH 7.2	
<b>175</b> 	> 5.0 mM	0.6 mM	
<b>178</b> 	> 5.0 mM	0.4 mM	

Hierbei stellte sich heraus, dass beide Derivate nicht nur eine bessere Wirksamkeit als die Piperazinderivate **166** und **179** aufweisen, sondern auch noch eine deutliche Verbesserung der Wasserlöslichkeit und eine verbesserte Löslichkeit in Phosphatpuffer zeigen.

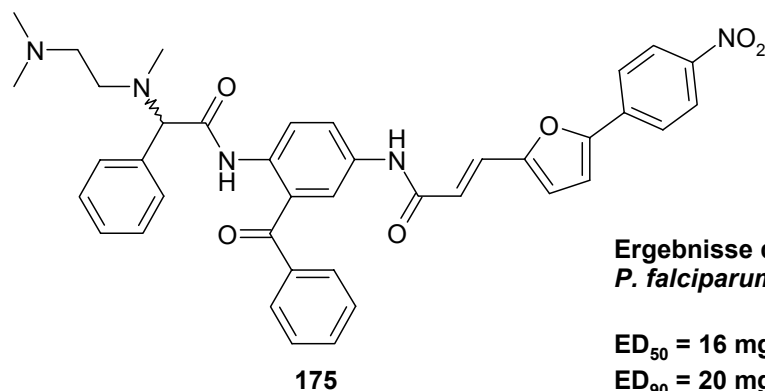
#### **4.5.3.4. Testung auf *in vivo*-Aktivität gegen *Plasmodium falciparum***

Ebenso wie die Inhibitoren **166** und **179** zeigen auch die Verbindungen **175** und **178** *in vivo*-Aktivität gegen *P. falciparum* (Abb. 56). Während das para-chlorsubstituierte Ethylendiaminphenylelessigsäurederivat **178** mit einem ED<sub>50</sub>-Wert von 26 mg / kg KG (36.8 µmol / kg KG) und einem ED<sub>90</sub>-Wert von 30 mg / kg KG (42.5 µmol / kg KG) bezüglich seiner Wirksamkeit zwischen den Derivaten **166** und **179** einzuordnen ist, zeigt das para-unsubstituierte Ethylendiaminphenylelessigsäurederivat **175** eine deutliche Verbesserung der *in vivo*-Aktivität mit einem ED<sub>50</sub>-Wert von 16 mg / kg KG (23.8 µmol / kg KG) und einem ED<sub>90</sub>-Wert von 20 mg / kg KG (29.8 µmol / kg KG).

Und obwohl die Ergebnisse des Zytotoxizitätstestes für die Ethylendiaminphenylelessigsäurederivate schlechter sind als die der Phenylpiperazinessigsäurederivate, weisen beide Verbindungen auf Grund der verbesserten Wirksamkeit gegen die Malariaparasiten auch einen besseren Zytotoxizitätsindex (CC<sub>50</sub> / IC<sub>50</sub>-Verhältnis) von 450 für Verbindung **175** und 220 für Verbindung **178** auf.

Erneut ist damit eine Weiterentwicklung unserer ersten veröffentlichten *in vivo*-wirksamen Verbindung gelungen.

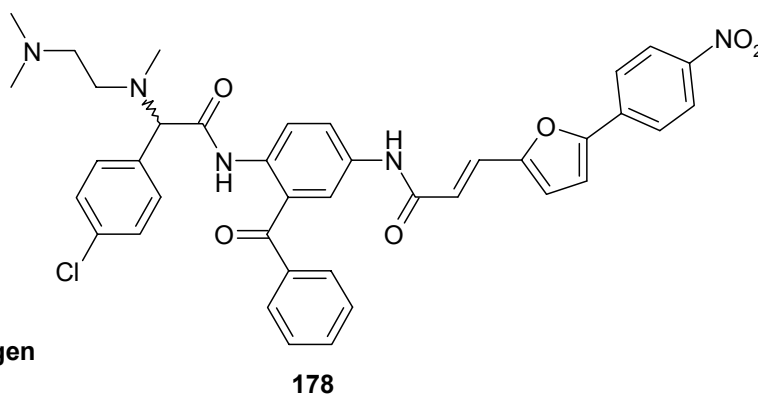




Ergebnisse der *in vivo*-Testung gegen  
*P. falciparum*

ED<sub>50</sub> = 16 mg / kg KG (23.8 μmol / kg KG)

ED<sub>90</sub> = 20 mg / kg KG (29.8 μmol / kg KG)



Ergebnisse der *in vivo*-Testung gegen  
*P. falciparum*

ED<sub>50</sub> = 26 mg / kg KG (36.8 μmol / kg KG)

ED<sub>90</sub> = 30 mg / kg KG (42.5 μmol / kg KG)

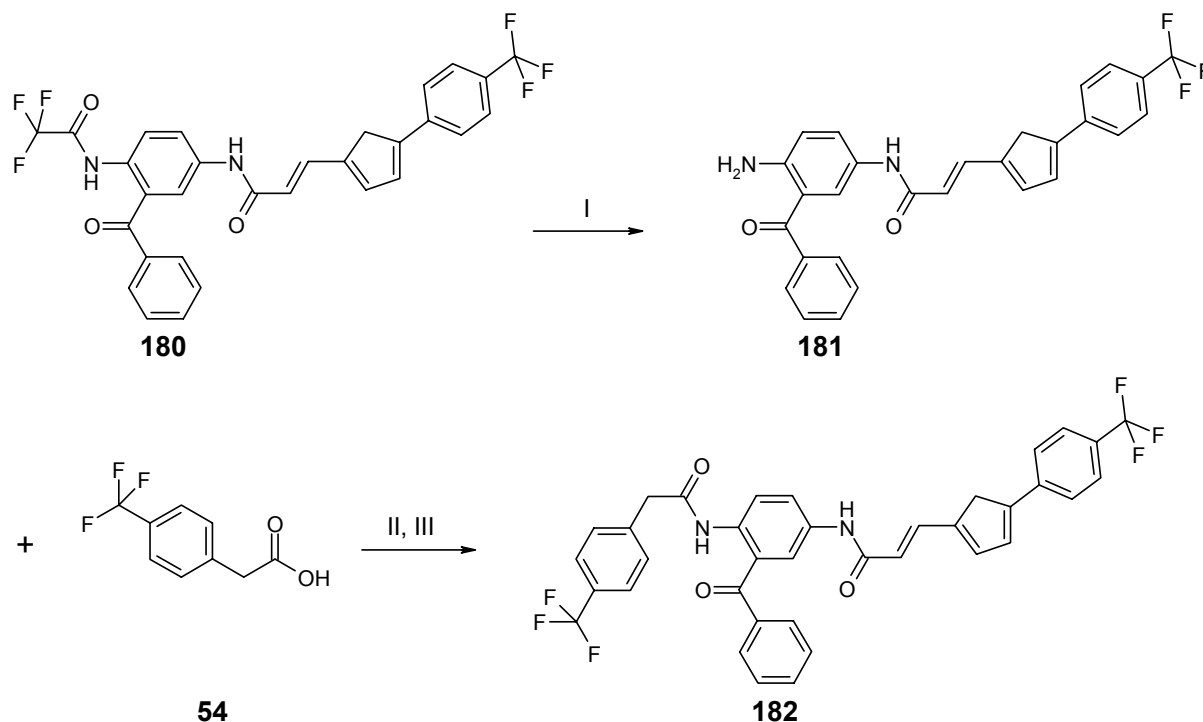
Abb. 56: Ergebnisse der *in vivo*-Testung gegen *P. falciparum* der Verbindungen 175 und 178

#### 4.6. Untersuchung der Aktivität verschiedener 3-(5-Aryl-2-furyl)acrylsäurederivate gegen Farnesyltransferase und gegen *Plasmodium falciparum*

Da durch Reduktion einer Nitrogruppe potentiell zytotoxische Metabolite entstehen können und Nitrogruppen eher Lichtempfindlichkeit zeigen, werden sie nicht unbedingt als optimal für die Entwicklung eines neuen Arzneistoffes angesehen. Deshalb haben wir einige Verbindungen hergestellt, in denen die Nitrogruppe an der 4-Phenylposition der Arylacrylsäurestruktur durch andere Substituenten ersetzt wurde.

### 4.6.1. Synthese

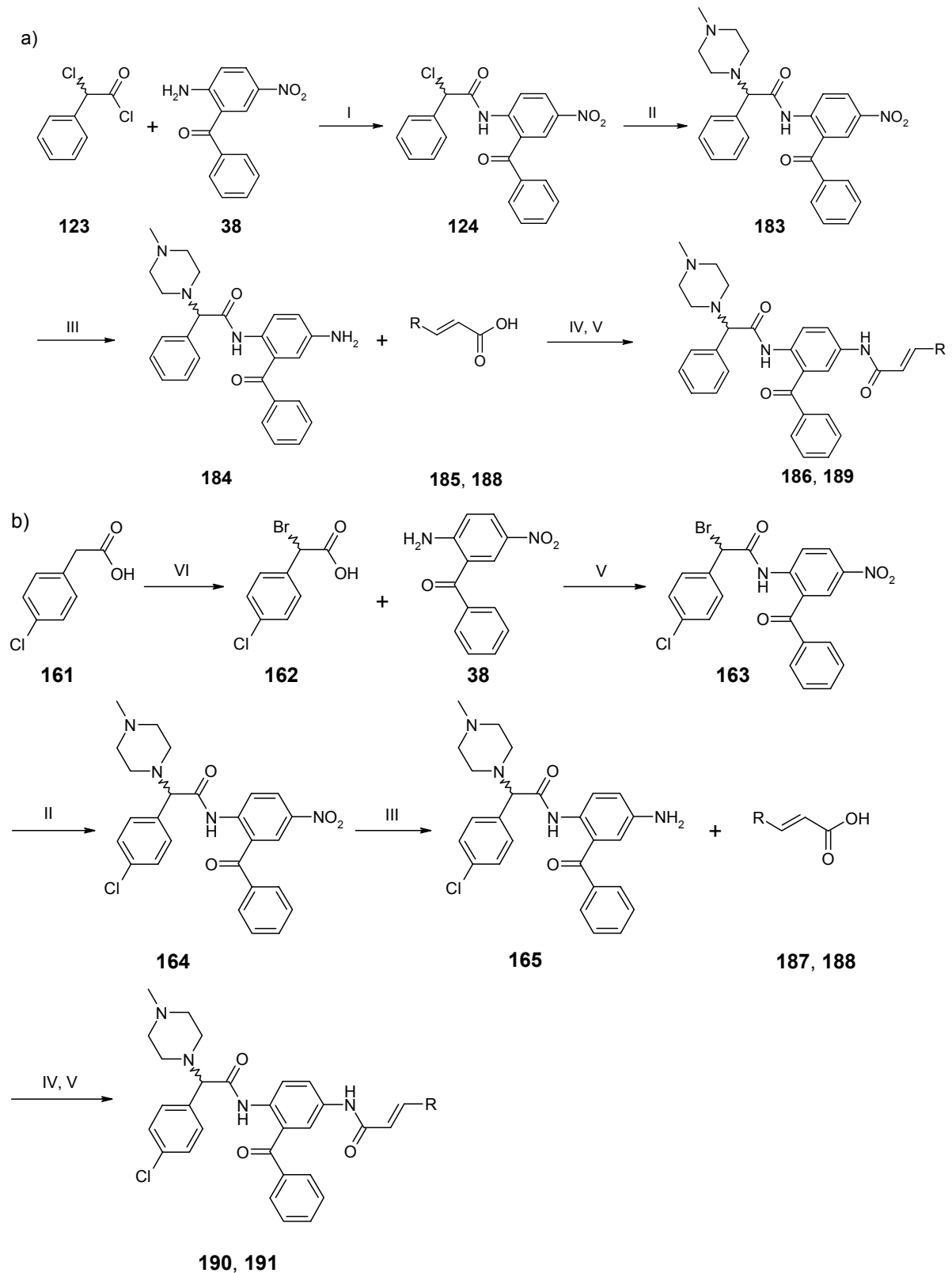
Die Synthese des Inhibitors **182** erfolgte analog der Darstellung der Verbindungen **81** und **82** über **180** und **181** als Zwischenstufen (Schema 11).



**Schema 11:** Synthese des Inhibitors **182**. (I) Zinn(II)-chlorid-Dihydrat, Ethylacetat, 2 h RF; (II) Oxalylchlorid, Dichlormethan, Dimethylformamid, 2 h Rühren, RT; (III) Toluol / Dioxan, 2 h RF

Auch der Syntheseweg der Verbindungen **186**, **189**, **190** und **191** ist teilweise aus der Darstellung der heterozyklischen Derivate bekannt. Die Zwischenprodukte **124** und **163** werden mit *N*-Methylpiperazin umgesetzt, die entstandenen Verbindungen **165** und **183** mit Zinn(II)chlorid reduziert (**166**, **184**) und an die als Säurechlorid aktivierten Acrylsäuren (**185**, **187**, **188**) gekoppelt (Schema 12a und 12b).

Die Herstellung des  $\alpha$ -unsubstituierten Analogons der Verbindung **191** (**192**) erfolgt analog der Darstellung der 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäurederivate (Schema 5a, S. 75) und wird nicht abgebildet.

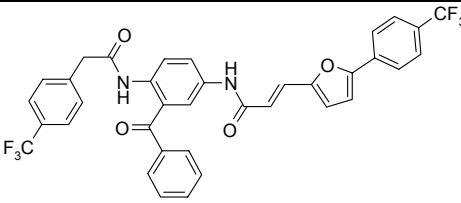
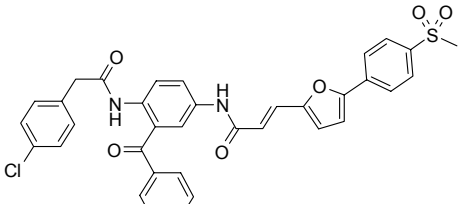
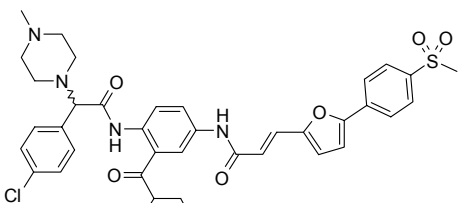
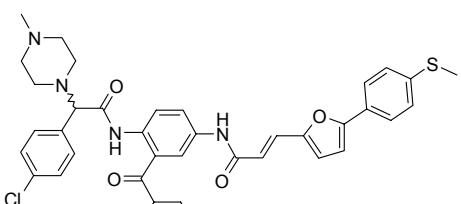
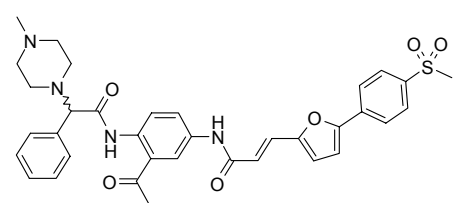


**Schema 12:** Darstellung verschiedener Derivate. (I) Toluol, 2 h RF; (II) sekundäres Amin, Acetonitril, 48 h RF; (III) Zinn(II)-chlorid-Dihydrat, Ethylacetat, 2 h RF; (IV) Oxalylchlorid, Dichlormethan, Dimethylformamid, 2 h Rühren, RT; (V) Toluol / Dioxan, 2 h RF; (VI) Brom, Phosphortrichlorid, Benzol, 3 h Erhitzen

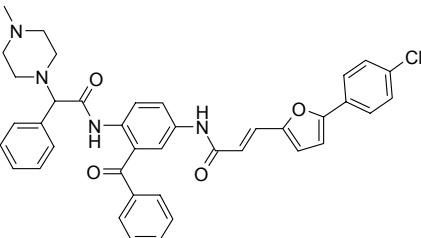
### 4.6.2. Testung auf Aktivität

Die Testergebnisse der so erhaltenen Inhibitoren sind in Tabelle 16 dargestellt.

**Tab. 16:** verschiedene 3-[5-(4-Aryl)-2-furyl]acrylsäurederivate

		IC <sub>50</sub> FTase [nM]	IC <sub>50</sub> <i>P. falc.</i> [nM]	CC <sub>50</sub> HeLa [μM]	CC <sub>50</sub> / IC <sub>50</sub> <i>P. falc.</i>
<b>182</b>		117	8000	-	-
<b>192</b>		39	60	-	-
<b>191</b>		290	2600	22.0	8
<b>190</b>		> 10000	1800	39.0	22
<b>189</b>		594	1000	57.3	57

Tab. 16: verschiedene 3-[5-(4-Aryl)-2-furyl]acrylsäurederivate

	IC <sub>50</sub> FTase [nM]	IC <sub>50</sub> <i>P. falc.</i> [nM]	CC <sub>50</sub> HeLa [μM]	CC <sub>50</sub> / IC <sub>50</sub> <i>P. falc.</i>
<b>186</b> 	318	460	6.8	15

Ausgangspunkt der Überlegungen war ein 3-[5-(4-Trifluormethylphenyl)-2-furyl]acrylsäurederivat aus der Dissertation von Herrn Dr. A. Mitsch (Marburg, 2003), das einen IC<sub>50</sub>-Wert von 4 nM gegen isolierte FTase und einen IC<sub>50</sub>-Wert von 77 nM gegen *P. falciparum* aufweist und damit durchaus die Leitstruktur **34** dieser Arbeit ersetzen kann. Für die Synthese eines weiteren Farnesyltransferaseinhibitors mit diesem Acryloylrest wurde auf Grund der Ergebnisse der Testung der 4-Propoxyzimtsäurederivate und der 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäurederivate gegen *P. falciparum* Trifluormethylphenyl-essigsäure als Acylsubstituent für die 2-Aminoposition der Benzophenon-grundstruktur gewählt. Die Testung des resultierenden Inhibitors **182** zeigte jedoch eine Verschlechterung der Wirksamkeit gegenüber dem isolierten Enzym (IC<sub>50</sub> = 117 nM) und auch gegenüber *P. falciparum* (IC<sub>50</sub> = 8000 nM). Leider erwies sich gerade bei höheren Konzentrationen auch die Löslichkeit der Substanz in DMSO als nur unzureichend.

Aus diesem Grund wurde im nächsten Schritt der Trifluormethylrest an der 4-Phenylposition der Arylacrylsäurestruktur durch einen Methylsulfonylrest ersetzt. Ebenfalls aus der Dissertation von Herrn Dr. A. Mitsch stammend, zeigt das dieser Entscheidung zu Grunde liegende 3-[5-(4-Methylsulfonylphenyl)-2-furyl]acrylsäurederivat einen IC<sub>50</sub>-Wert von 37 nM gegen *P. falciparum* und einen IC<sub>50</sub>-Wert von 30 nM gegen das isolierte Enzym. Als Acylsubstituent der 2-Aminoposition des Benzophenons wurde diesmal para-Chlorphenylessigsäure verwendet. Der entstandene Inhibitor **192** zeigt mit IC<sub>50</sub>-Werten von 39 nM gegen isolierte FTase und 60 nM gegen den Malariaparasiten durchaus gute Aktivität. Zur Erhöhung der Wasserlöslichkeit wurde analog zu den beschriebenen heterozyklischen Derivaten ein Piperazinrest in die α-Position des para-Chlorphenylessigsäurerestes eingefügt (Inhibitor **191**). Mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 290

nM gegen ScFTase und einem  $IC_{50}$ -Wert von 2600 nM gegen *P. falciparum* ist der erhaltene Inhibitor **191** deutlich weniger wirksam als die analoge Verbindung **166**.

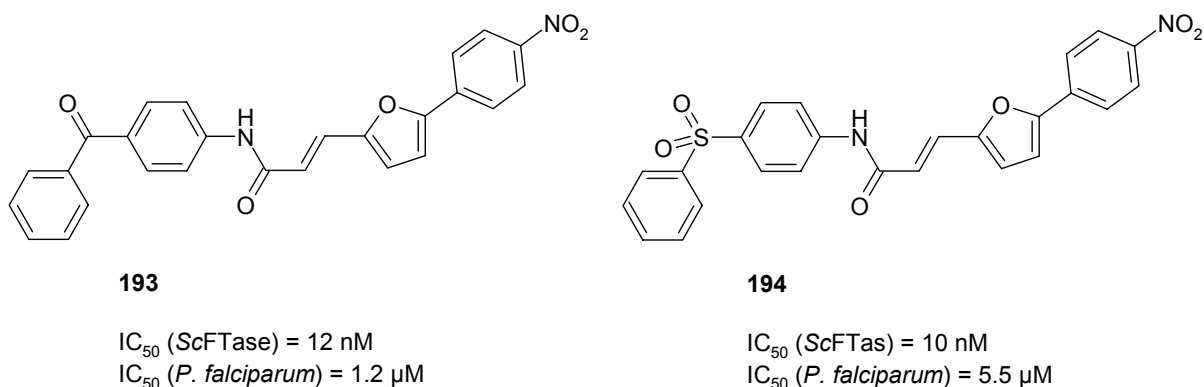
Zur weiteren Untersuchung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen wurde zum einen der Methylsulfonylrest durch einen Methylsulfanylrest ersetzt (**190**:  $IC_{50} > 10000$  nM gegen ScFTase,  $IC_{50} = 1800$  nM gegen *P. falciparum*) und zum anderen wurde der para-Chlorsubstituent der Phenyllessigsäurestruktur entfernt (**189**:  $IC_{50} = 594$  nM gegen ScFTase,  $IC_{50} = 1000$  nM gegen *P. falciparum*). Beide Derivate zeigen jedoch keine Verbesserung der Wirksamkeit, nur Inhibitor **189** ist etwas aktiver gegen die Malariaparasiten und auch weniger zytotoxisch als die Verbindungen **191** und **190**.

Ersetzt man den para-Methylsulfonylrest der 3-[5-(4-Aryl)-2-furyl]acrylsäurestruktur durch Chlor, erhält man mit der Verbindung **186** ( $IC_{50} = 318$  nM gegen das isolierte Enzym,  $IC_{50} = 460$  nM gegen *P. falciparum*) zwar das wirksamste der hier diskutierten Piperazinderivate, aber gleichzeitig auch das mit der höchsten Zytotoxizität.

Zusammenfassend zeigt sich, dass der 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäurerest an der 5-Aminoposition der Benzophenonstruktur zurzeit die besten Ergebnisse liefert.

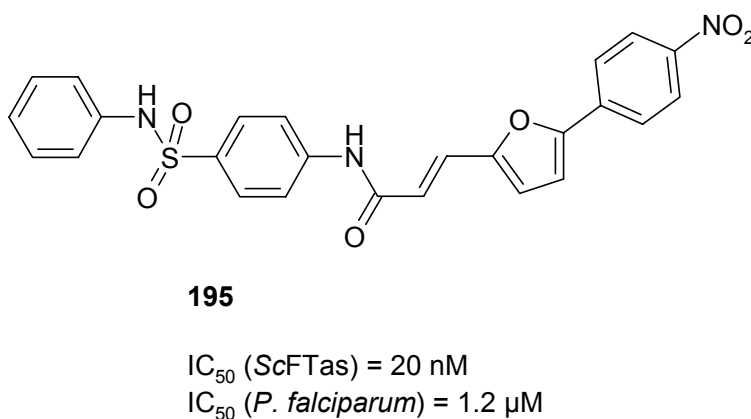
#### 4.7. Untersuchung der 4-Aminobenzolsulfonamidderivate

Um das Molekulargewicht unserer Inhibitoren etwas zu senken und um eine neue Leitstruktur zu entwickeln, wurde in der Dissertation von Herrn Dr. J. J. Sakowski (Marburg, 2001) der 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäurerest mit verschiedenen anderen aus der Literatur bekannten AA(X)-peptidomimetischen Strukturen umgesetzt. Die aktivsten Derivate erhielt er dabei durch Umsetzung mit 4-Aminobenzophenon (**193**:  $IC_{50} = 12$  nM gegen ScFTase) und mit 4-Aminodiphenylsulfon (**194**:  $IC_{50} = 10$  nM gegen ScFTase,  $IC_{50} = 5.5$   $\mu$ M gegen *P. falciparum*, Abb. 57). [135]



**Abb. 57:** Inhibitoren **193** und **194**

Um einen einfacheren Zugang zu einer größeren Zahl von Derivaten der Inhibitoren **193** und **194** zu erhalten, wurde zunächst die Carbonylgruppe durch eine Carbonsäureamidstruktur und die Sulfonylgruppe durch eine Sulfonamidstruktur ersetzt. Während die resultierenden Säureamidderivate mit  $IC_{50}$ -Werten von 60  $\mu$ M und 90  $\mu$ M gegen *P. falciparum* unwirksam waren, erhält man mit dem Sulfonamid **195** (Abb. 58) einen Inhibitor, der bezüglich der Wirksamkeit gegen FTase aus *S. cerevisiae* nur geringfügig an Aktivität verliert ( $IC_{50}$  = 20 nM), aber eine beinahe um den Faktor 5 bessere Wirksamkeit gegen kultivierte Malariaparasiten aufweist ( $IC_{50}$  = 1.2  $\mu$ M). [136]

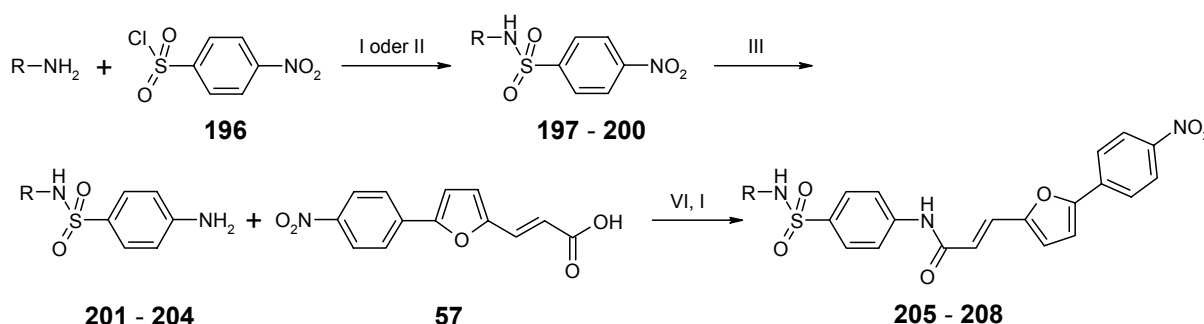


**Abb. 58:** Inhibitor **195**

Im nächsten Schritt haben wir den Arylsubstituenten an der Sulfonamidstruktur variiert.

### 4.7.1. Synthese

Verschiedene primäre Amine wurden mit 4-Nitrobenzonsulfonylchlorid **196** auf zwei verschiedenen Wegen zu Benzensulfonamiden (**197 - 200**) umgesetzt: Zum einen wurde das Amin mit dem Säurechlorid in Toluol / Dioxan 2 Stunden unter Rückfluß erhitzt, zum anderen wurden Amin und Säurechlorid in trockenem Dichlormethan gelöst, bei 0°C mit Triethylamin oder *N*-Methylmorpholin versetzt und über Nacht gerührt. Der zweite Weg wurde als Alternative gewählt, falls die Ausbeute der Umsetzung in Toluol / Dioxan zu gering war. Im Anschluß erfolgte die Reduktion der Nitrogruppe zum Amin (**201 - 204**) und die Umsetzung mit dem Säurechlorid der Verbindung **57** zu den 4-Aminobenzolsulfonamidderivaten **205 - 208** (Schema 13).



**Schema 13:** Darstellung der 4-Aminobenzolsulfonamidderivate. (I) Toluol / Dioxan, 2 h RF; (II) Dichlormethan, Triethylamin bzw. *N*-Methylmorpholin, 0°C, Rühren über Nacht; (III) Zinn(II)-chlorid-Dihydrat, Ethylacetat, 2 h RF; (IV) Oxalylchlorid, Dichlormethan, Dimethylformamid, 2 h Rühren

### 4.7.2. Testung auf Aktivität

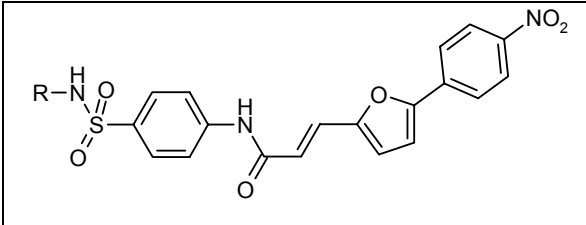
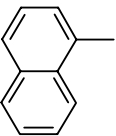
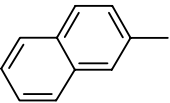
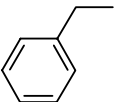
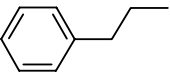
Die Testergebnisse der 4-Aminobenzolsulfonamidderivate sind in Tabelle 17 dargestellt.

Im ersten Schritt wurde der Phenylrest an der Aminosulfonylstruktur durch einen 1-Naphthylrest (**205**) ersetzt. Während die FTase-Aktivität deutlich sinkt ( $\text{IC}_{50} = 233 \text{ nM}$ ), ist der Inhibitor **205** um ca. den Faktor 3 wirksamer gegen *P. falciparum* ( $\text{IC}_{50} = 480 \text{ nM}$ ) als die Ausgangsverbindung. Verwendet man anstelle des 1-Naphthylrestes einen 2-Naphthylrest (**206**), erhöht sich zwar die Aktivität gegen das isolierte Enzym aus *S. cerevisiae* auf einen  $\text{IC}_{50}$ -Wert von 144 nM, aber gleichzeitig verschlechtert sich die Wirksamkeit gegen den Malariaparasiten auf einen  $\text{IC}_{50}$ -Wert von 700 nM.



Verlängert man den Substituenten an der Aminosulfonylstruktur durch Einfügen eines Benzylrestes (**207**:  $IC_{50} = 972$  nM gegen ScFTase,  $IC_{50} = 410$  nM gegen *P. falciparum*) oder eines Phenethylrestes (**208**:  $IC_{50} = 1035$  nM gegen ScFTase,  $IC_{50} = 520$  nM gegen *P. falciparum*), zeigt sich eine deutliche Verschlechterung der Wirksamkeit gegen ScFTase, während die Aktivität gegen *P. falciparum* mit der des 1-Naphthylderivates **205** zu vergleichen ist.

Tab. 17: 4-Aminobenzolsulfonamidderivate

			
	R	$IC_{50}$ FTase [nM]	$IC_{50}$ <i>P. falc.</i> [nM]
<b>205</b>		233	480
<b>206</b>		144	700
<b>207</b>		972	410
<b>208</b>		1035	520

Mit den Variationen der Ausgangsstruktur konnte zwar die Aktivität gegen ScFTase nicht gesteigert werden, dafür wurde aber die Wirksamkeit gegen *P. falciparum* um etwa den Faktor 3 verbessert. Da wir uns auch bei unseren anderen Inhibitoren eher auf eine Optimierung der Wirkung für deren Einsatz als Antiinfektiva gegen *P. falciparum* und *T. cruzi* konzentriert haben, bieten sich sowohl die Verbindung **207** als auch die Verbindungen **205** und **208** als neue Leitstrukturen für die Optimierung der Wirksamkeit gegen Parasiten an. Insbesondere die Verbindung **207** ist von Interesse, denn dieser Inhibitor weist eine der geringsten Aktivitäten gegen ScFTase

sowie die beste Aktivität gegen *P. falciparum* dieser Inhibitorgeneration auf und ermöglicht damit eventuell die Entwicklung eines Farnesyltransferaseinhibitors, der für die Wirksamkeit gegen Malariaparasiten spezifisch ist. Eine ähnliche Tendenz zeigt der Inhibitor **208**. Inhibitor **207** dient zurzeit als Leitstruktur für die Entwicklung einer neuen Klasse von FTI gegen *P. falciparum*.

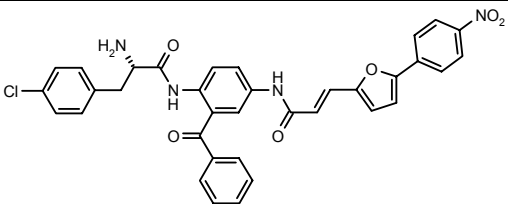
#### 4.8. Untersuchung verschiedener Inhibitoren gegen *Leishmania amazonensis* und *Leishmania brasiliensis*

Das Vorkommen von Farnesyltransferase in *Leishmania*-Arten veranlasste uns zur Bestimmung der Aktivität der von uns synthetisierten Inhibitoren gegen diese Parasiten.

Die Testung erfolgt durch Frau Dr. Mónica I. Esteva und Frau Christina Maidana vom Instituto Nacional de Parasitología Dr. M. Fatała Chabén, A.N.L.I.S. Dr. Carlos G. Malbrán in Buenos Aires, Argentinien. Bestimmt wird dabei die Wachstumshemmung der promastigoten Form von *L. amazonensis* und *L. brasiliensis* unter dem Einfluss von FTI im Vergleich zu einer unbehandelten Kontrollprobe.

Leider sind die Testreihen zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht abgeschlossen und die Testergebnisse daher nur als vorläufig zu betrachten. Geplant war die Untersuchung der Aminosäurederivate, der heterozyklischen Derivate und der Ethylendiaminderivate, allerdings wurde bisher nur ein Teil der Inhibitoren einem kurzen Screening unterzogen, bei dem zwei Konzentrationen der FTI getestet wurden (1  $\mu\text{M}$  und 10  $\mu\text{M}$ ). Diese Testergebnisse sind in Tabelle 18 zusammengefasst.

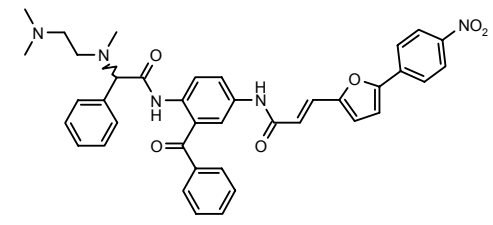
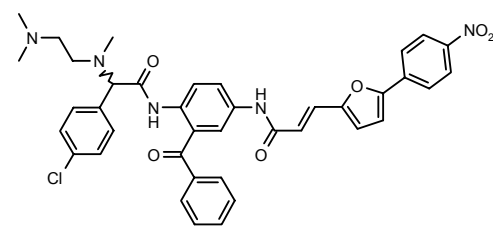
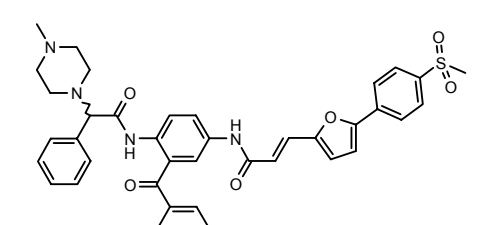
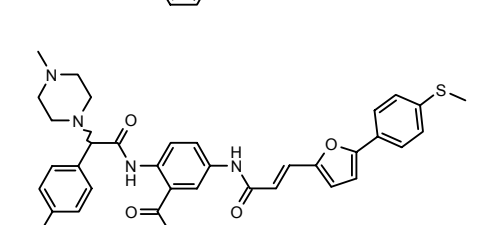
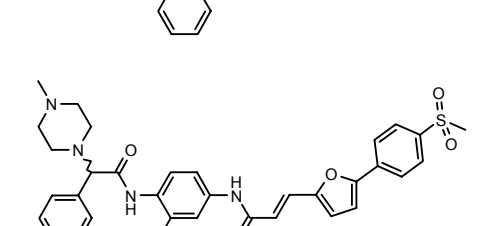
**Tab. 18:** Testergebnisse gegen *L. amazonensis* und *L. brasiliensis*

	IC <sub>50</sub> <i>L. amazonensis</i> [ $\mu\text{M}$ ]	IC <sub>50</sub> <i>L. brasiliensis</i> [ $\mu\text{M}$ ]
<b>111</b> 	> 10	> 10

Tab. 18: Testergebnisse gegen *L. amazonensis* und *L. brasiliensis* (Fortsetzung)

		IC <sub>50</sub> <i>L. amazonensis</i> [μM]	IC <sub>50</sub> <i>L. brasiliensis</i> [μM]
112		> 10	> 10
114		> 10	> 10
115		1 < IC <sub>50</sub> < 10 (99% Wachstums- hemmung bei 10 μM)	1 < IC <sub>50</sub> < 10 (99% Wachstums- hemmung bei 10 μM)
116		> 10	> 10
117		> 10	> 10
118		> 10	> 10
160		> 10	> 10

Tab. 17: Testergebnisse gegen *L. amazonensis* und *L. brasiliensis* (Fortsetzung)

	IC <sub>50</sub> <i>L. amazonensis</i> [μM]	IC <sub>50</sub> <i>L. brasiliensis</i> [μM]
<b>175</b> 	> 10	1 < IC <sub>50</sub> < 10
<b>176</b> 	1 < IC <sub>50</sub> < 10	1 < IC <sub>50</sub> < 10
<b>189</b> 	> 10	> 10
<b>190</b> 	> 10	> 10
<b>191</b> 	> 10	> 10

Betrachtet man die vorläufigen Testergebnisse, zeigt sich, dass der größte Teil der bisher untersuchten Inhibitoren IC<sub>50</sub>-Werte von über 10 μM aufweist. Aussagen, wie weit der Wert über diesen 10 μM liegt, können nicht getroffen werden.

Eine bessere Abschätzung der Aktivität ist beim Isoleucinderivat **115** und den beiden Ethylendiaminderivaten **175** und **178** möglich. Das Isoleucinderivat **115** und das para-chlorsubstituierte Ethylendiaminphenyllessigsäurederivat **178** zeigen sowohl für

*L. amazonensis* als auch *L. brasiliensis* einen IC<sub>50</sub>-Wert, der zwischen 1 µM und 10 µM liegt. Für das Ethylendiaminderivat **175** ist dies nur gegenüber *L. brasiliensis* der Fall. Die IC<sub>50</sub>-Werte der Inhibitoren liegen somit im einstelligen mikromolaren Bereich. Damit sind diese Farnesyltransferaseinhibitoren deutlich aktiver als bisher in der Literatur veröffentlichte FTI.

Leider liegen für die Inhibitoren, die die beste Wirksamkeit gegen *T. cruzi* aufweisen, zurzeit noch keine Testergebnisse vor. Interessant ist hier sicherlich, ob sich bezüglich der Aktivität Gemeinsamkeiten zeigen, insbesondere da *L. amazonensis* und *T. cruzi* eine ähnliche Substratspezifität aufweisen.

Es könnte ebenfalls von Bedeutung sein, dass die Testung gegen die promastigote Form der Parasiten erfolgt ist. Die Aktivitätsbestimmung an der amastigoten Form führt möglicherweise zu vollkommen anderen Ergebnissen.

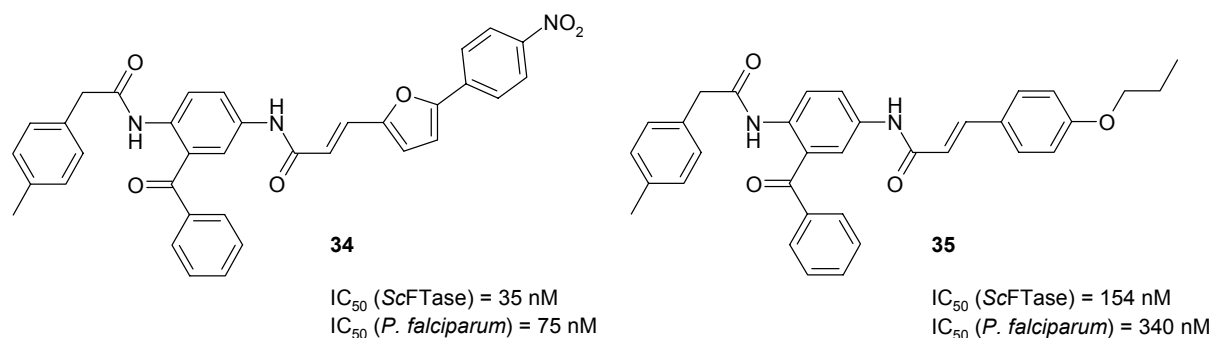
Zusammenfassend zeigt sich, dass die Beurteilung von Struktur-Wirkungs-Beziehungen mit den bisherigen Testresultaten kaum möglich ist, so dass weitere und genauere Testungen notwendig sind. Jedoch lässt sich zum jetzigen Zeitpunkt bereits erahnen, dass diese Farnesyltransferaseinhibitoren auch ein interessantes Potential gegen *Leishmania* aufweisen könnten.

## 5. Zusammenfassung

Das Enzym Farnesyltransferase katalysiert den ersten und entscheidenden Schritt in der posttranslationalen Modifikation vieler Proteine. Erst die Übertragung eines Farnesylrestes und nachfolgende weitere Modifikationsschritte ermöglichen die Verankerung von Proteinen in Zellmembranen, wo sie ihre eigentliche Funktion ausüben können. Besondere Bedeutung erhält die Proteinfarnesylierung im Ras-Signaltransduktionsweg, dessen Aktivierung über Wachstumsfaktoren zu Zellproliferation, Genexpression, Veränderungen des Zytoskeletts und zur Produktion von Botenstoffen führt. Mutierte Ras-Proteine senden konstant Wachstumssignale und sind in ca. 30% aller menschlichen Tumore zu finden. Aus diesem Grund ist die Deaktivierung dieses Signaltransduktionsweges ein Ansatzpunkt für die Entwicklung neuer Chemotherapeutika gegen Krebs. Durch die Hemmung der Proteinfarnesylierung, die den ersten Schritt der posttranslationalen Modifikation darstellt, sollte die Aktivierung von Ras-Proteinen unterbunden werden.

Mittlerweile beschäftigen sich viele Arbeitsgruppen mit der Entwicklung von Farnesyltransferaseinhibitoren. Allerdings liegt der Schwerpunkt der Forschung nicht mehr nur allein bei der Entwicklung von Medikamenten gegen maligne Tumore, sondern erweiterte sich mit dem Nachweis der Proteinfarnesylierung in *Plasmodium falciparum* (Erreger der Malaria tropica), *Trypanosoma brucei* (Schlafkrankheit), *Trypanosoma cruzi* (Chagas-Krankheit) und verschiedenen *Leishmania*-Arten (Leishmaniose) auf die Entwicklung neuer Antiinfektiva.

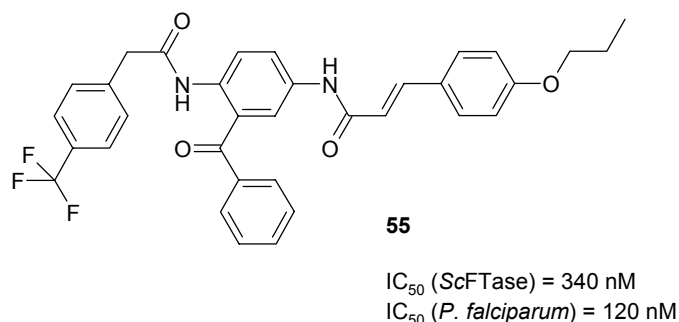
Im Arbeitskreis Schlitzer wurden verschiedene Farnesyltransferaseinhibitoren entwickelt, die die Struktur des natürlichen Peptidsubstrats, die so genannte CAAX-Sequenz, nachahmen: Ziel dieser Arbeit ist die Untersuchung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen dieser CAAX-Peptidomimetika. Ausgegangen wurde dabei von zwei Leitstrukturen, dem 5-(4-Nitrophenyl)-2-furylacrylsäurederivat **34** und dem 4-Propoxyzimtsäurederivat **35**, wobei die Wirkung gegen *Plasmodium falciparum* im Vordergrund stand (Abb. 59).



**Abb. 59:** Strukturformeln und Testergebnisse gegen isolierte FTase aus *Saccharomyces cerevisiae* sowie kultivierte Parasiten von *Plasmodium falciparum* der Leitstrukturen **34** und **35**.

Bei beiden Leitstrukturen erfolgte jeweils die Variation des Acylsubstituenten an der 2-Aminoposition der Benzophenongrundstruktur.

Im Falle der Leitstruktur **35** konnte durch das Einbringen eines para-Trifluormethylphenylsubstituenten in dieser Position die Wirksamkeit gegen kultivierte Malaria Parasiten um etwa den Faktor 3 verbessert werden (Abb. 60).



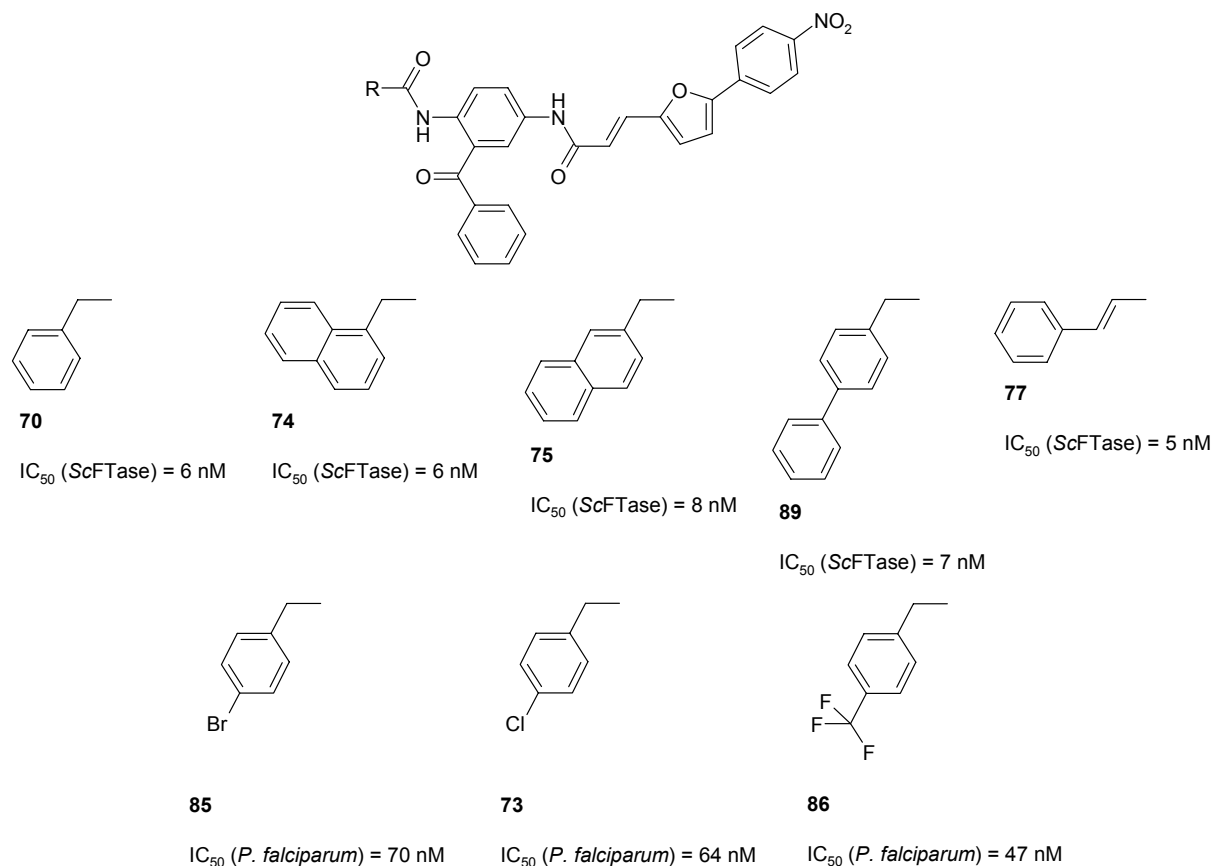
**Abb. 60:** Testergebnisse des 4-Propoxyzimtsäurederivates **55**

Die Variationen der Leitstruktur **34** führten sowohl zu einer Verbesserung der Wirksamkeit gegen isolierte FTase aus *Saccharomyces cerevisiae* als auch zu einer Verbesserung der Wirkung gegen *Plasmodium falciparum* (Abb. 61).

So konnte für Phenylelessigsäure (**70**), 1-Naphtylelessigsäure (**74**), 2-Naphtylelessigsäure (**74**), Biphenylelessigsäure (**89**) und Zimtsäure (**77**) als Acylsubstituent jeweils eine Wirksamkeitsverbesserung um den Faktor 4 – 7 gegen isolierte FTase erreicht werden.

Für die Aktivität gegen *Plasmodium falciparum* führte der Austausch des para-Tolylessigsäurerestes der Leitstruktur durch 4-Bromphenylelessigsäure (**85**) und 4-Chlorphenylelessigsäure (**73**) zu etwa äquipotenten Inhibitoren. Eine Verbesserung,

ähnlich wie beim 4-Propoxyzimtsäurederivat **55**, konnte hier ebenfalls mit dem Einbringen eines para-Trifluormethylphenyllessigsäurerestes (**86**) erreicht werden. Dieser Inhibitor ist etwa um den Faktor 1.5 aktiver als die ursprüngliche Leitstruktur.



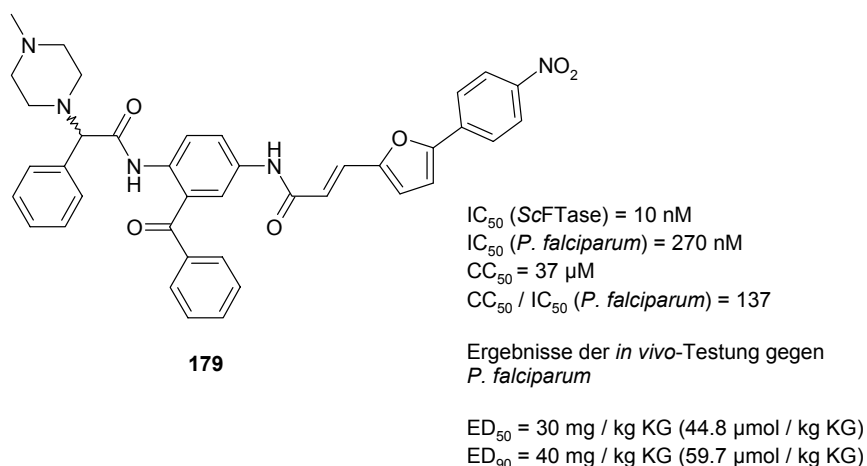
**Abb. 61:** Ergebnisse der Untersuchung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen der 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäurederivate

Mit den 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäurederivaten (**73**, **85** und **86**) hatten wir bereits gute *in vitro*-wirksame Inhibitoren entwickelt. Allerdings zeigten diese Verbindungen keine Aktivität bei einer *in vivo*-Testung an *Plasmodium vinckeii*-infizierten Mäusen. Die Ursache der fehlenden *in vivo*-Wirksamkeit vermuteten wir in der schlechten Wasserlöslichkeit der Verbindungen. Aus diesem Grund haben wir versucht, durch das Einbringen einer protonierbaren Aminogruppe in die Struktur unserer Inhibitoren die Wasserlöslichkeit zu verbessern. Hierfür wurden verschiedene Aminosäuren als Acylsubstituenten in der 2-Aminoposition der Benzophenongrundstruktur verwendet. Tatsächlich steigt die Wasserlöslichkeit dieser Inhibitorgeneration um etwa den Faktor 25 an. Die Testung gegen isolierte FTase, die trotz des Forschungsschwerpunktes gegen *Plasmodium falciparum* noch



weiter durchgeführt wurde, ergab einige Inhibitoren, die mit der Aktivität der besten 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäurederivate vergleichbar sind, während die Wirksamkeit gegen kultivierte Malariaparasiten nicht erreicht werden konnte.

Auf der Suche nach Alternativen, um weiterhin wasserlösliche Verbindungen mit einer besseren Aktivität gegen *Plasmodium falciparum* zu erhalten, haben wir in  $\alpha$ -Position der Phenylessigsäurestruktur des 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäurederivates **70** verschiedene heterozyklische Reste eingefügt. Eine der besten Wirksamkeiten mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 270 nM gegen kultivierte Parasiten erreichte das *N*-Methylpiperazinderivat **179** (Abb. 62). Der Inhibitor zeigt damit die gleiche Aktivität wie die  $\alpha$ -unsubstituierte Ausgangssubstanz **70**.



**Abb. 62:** Inhibitor **179**

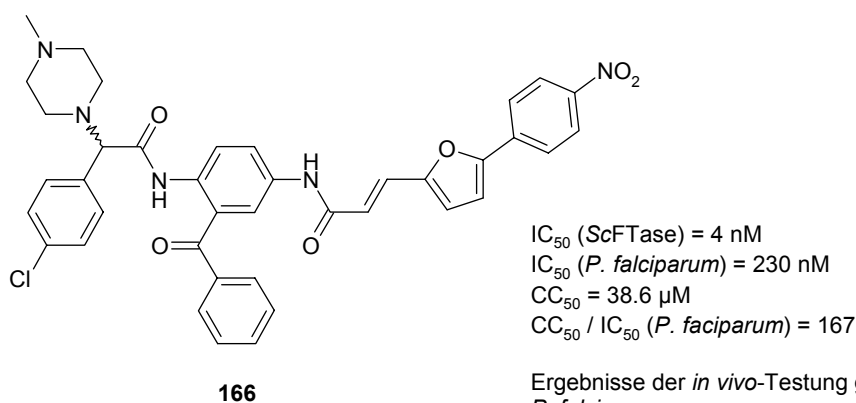
Weiterhin konnte mit dem Einbringen des Piperazinrestes die Wasserlöslichkeit gegenüber der Ausgangsverbindung um den Faktor 50 erhöht werden, womit die Löslichkeit ungefähr doppelt so hoch ist wie die der Aminosäurederivate.

Die *in vivo*-Testung der Verbindung gegen mit *Plasmodium vinckei*-infizierte Mäuse ergab einen  $ED_{50}$ -Wert von 30 mg / kg Körpergewicht (44.8  $\mu$ mol / kg KG) und einen  $ED_{90}$ -Wert von 40 mg / kg Körpergewicht (59.7  $\mu$ mol / kg KG). *In vivo*-Toxizität zeigte sich erst bei einer Dosis von mehr als 100 mg / kg Körpergewicht. Damit handelt es sich bei diesem Inhibitor (**179**) um den ersten *in vivo*-wirksamen Farnesyltransferaseinhibitor gegen *Plasmodium falciparum* überhaupt, der in der Literatur veröffentlicht worden ist.

Das nächste Ziel war eine weitere Verbesserung der *in vivo*-Aktivität dieses Derivates: Als Ansatzpunkt dienten dabei die Struktur-Wirkungs-Beziehungen der  $\alpha$ -

unsubstituierten 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäurederivate. Hier zeigt sich, dass das para-chlorsubstituierte Phenylessigsäurederivat **73** gegen *Plasmodium falciparum* um etwa den Faktor 4 aktiver ist ( $IC_{50} = 64$  nM) als das para-unsubstituierte Phenylessigsäurederivat **70** ( $IC_{50} = 270$  nM), so dass das Einbringen eines para-Chlorsubstituenten in die *N*-Methylpiperazinphenylacetylstruktur des Inhibitors **179** möglicherweise ebenfalls zu einer verbesserten *in vitro*- und *in vivo*-Aktivität gegen *Plasmodium falciparum* führen könnte.

Tatsächlich zeigt sich bei der Testung des aus diesen Überlegungen resultierenden Inhibitors **166** mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 230 nM eine Verbesserung der Aktivität gegen kultivierte Malariaparasiten, allerdings entspricht diese nicht der Wirksamkeit der entsprechenden  $\alpha$ -unsubstituierten Ausgangsverbindung (Abb. 63)



$IC_{50}$  (ScFTase) = 4 nM  
 $IC_{50}$  (*P. falciparum*) = 230 nM  
 $CC_{50} = 38.6$   $\mu$ M  
 $CC_{50} / IC_{50}$  (*P. falciparum*) = 167

Ergebnisse der *in vivo*-Testung gegen  
*P. falciparum*

$ED_{50} = 21$  mg / kg KG (30.4  $\mu$ mol / kg KG)  
 $ED_{90} = 25$  mg / kg KG (36.2  $\mu$ mol / kg KG)

**Abb. 63:** Inhibitor **166**

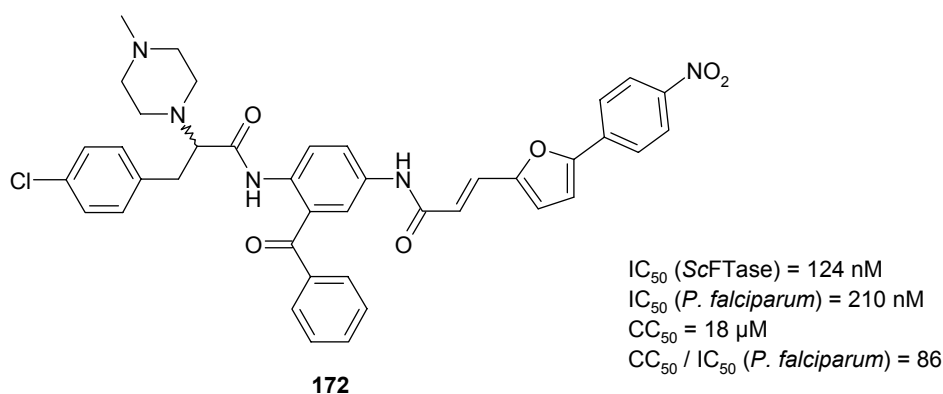
Das Einführen des para-Chlorsubstituenten konnte aber die *in vivo*-Wirksamkeit im Vergleich mit dem para-unsubstituierten Derivat **179** um etwa den Faktor 1.5 verbessern. Der  $ED_{50}$ -Wert des Inhibitors **166** liegt bei 21 mg / kg Körpergewicht (30.4  $\mu$ mol / kg KG) und der  $ED_{90}$ -Wert liegt bei 25 mg / kg Körpergewicht (36.2  $\mu$ mol / kg KG). Somit konnten wir den zweiten Farnesyltransferaseinhibitor überhaupt präsentieren, der *in vivo*-Aktivität gegen *P. falciparum* zeigt, und dazu eine deutliche Verbesserung der Aktivität erzielen.

Für beide Inhibitoren (**166** und **179**) wurde ein flexibles Docking durchgeführt. Es zeigte sich dabei nicht nur eine Erklärung für die bessere Wirksamkeit des Inhibitors **166**, der im Vergleich mit der Verbindung **179** etwas besser mit Histidin 149 des

aktiven Zentrums der Farnesyltransferase interagieren kann, sondern auch, dass der sterisch voluminöse Piperazinsubstituent eine noch bessere Interaktion zwischen diesen beiden Strukturen verhindert.

Um diese Problematik zu vermeiden, haben wir zwei verschiedene Ansätze für die Synthese neuer Inhibitoren in Erwägung gezogen.

Die erste Überlegung bestand in der Verlängerung der Phenyllessigsäurestruktur des Inhibitors **166** um einen zusätzlichen Methylenspacer. Flexibles Docking zeigt dabei, dass die resultierende para-chlorsubstituierte Phenylpropionsäurestruktur tatsächlich näher an Histidin 149 heranreichen und damit eine bessere Interaktion ermöglichen kann. Die Synthese der entsprechenden Verbindung führte zum Inhibitor **172** (Abb. 64).

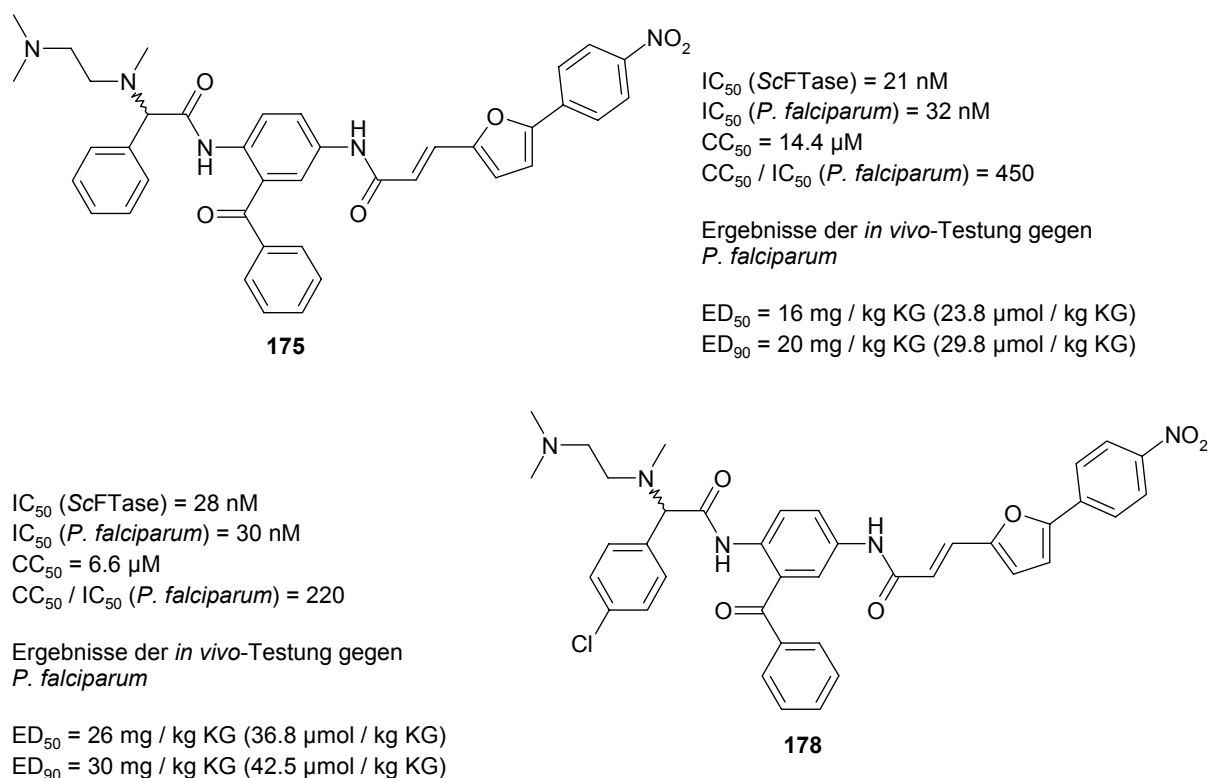


**Abb. 64:** Inhibitor **172**

Der Inhibitor zeigt tatsächlich eine leichte Aktivitätsverbesserung (IC<sub>50</sub> = 210 nM) gegen *Plasmodium falciparum*, allerdings zeigten sich bei Testung auf Zytotoxizität deutlich niedrigere CC<sub>50</sub>-Werte als bei beiden Piperazinphenyllessigsäurederivaten. Auf Grund dieser höheren Zytotoxizität wurde auf die *in vivo*-Testung des Derivates **172** verzichtet.

Als zweiter Ansatzpunkt sollte auf die starre Struktur des Piperazinrestes verzichtet werden. Um diesen zu ersetzen, wurde ein Ethylendiaminrest gewählt, ebenfalls in der Absicht, die Interaktion mit Histidin 149 zu verbessern. Wiederum wurde ein flexibles Docking durchgeführt, dessen Ergebnisse eher überraschend waren. Für die Ethylendiaminderivate erfolgt keine Orientierung des Arylrestes in Richtung des Histidin 149 im aktiven Zentrum der Farnesyltransferase, sondern in Richtung des Tryptophan 102.

Die Synthese beider Derivate führte zu den Inhibitoren **175** und **178** (Abb. 65).



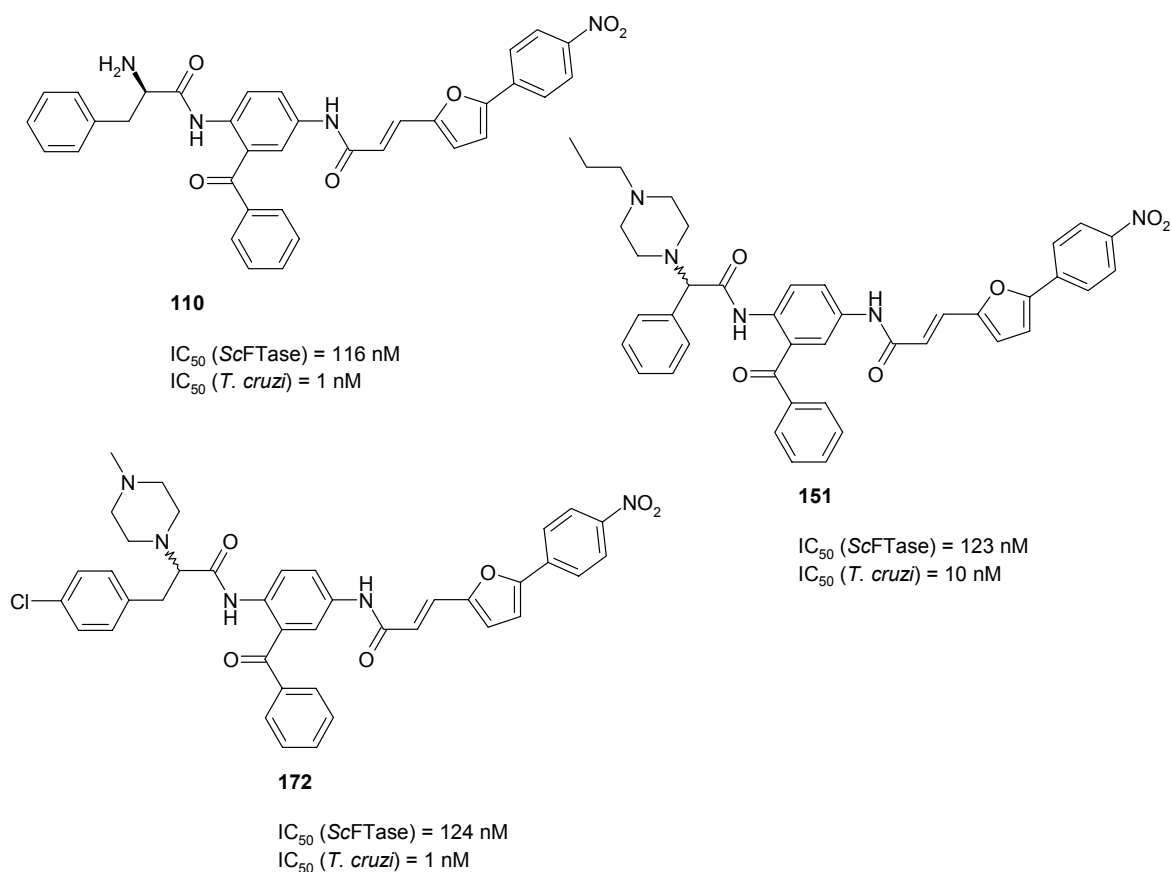
**Abb. 65:** Inhibitoren **175** und **178**

Bei der *in vitro*-Testung gegen *Plasmodium falciparum* zeigen beide Derivate IC<sub>50</sub>-Werte im Bereich von 30 nM und damit die zurzeit besten *in vitro*-Testergebnisse von Farnesyltransferaseinhibitoren gegen mit *Plasmodium falciparum* infizierte Erythrozyten. Sie sind um den Faktor 5 aktiver als der Benzylester von FTI-2148, der mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 150 nM den besten veröffentlichten Farnesyltransferaseinhibitor alternativer Struktur darstellt. [106]

Ebenso wie die Inhibitoren **166** und **179** zeigen beide Verbindungen auch *in vivo*-Aktivität gegen *Plasmodium falciparum*. Während das para-chlorsubstituierte Ethylendiaminphenyllessigsäurederivat **178** mit einem ED<sub>50</sub>-Wert von 26 mg / kg Körpergewicht (36.8 μmol / kg KG) und einem ED<sub>90</sub>-Wert von 30 mg / kg Körpergewicht (42.5 μmol / kg KG) bezüglich seiner Wirksamkeit zwischen den Derivaten **166** und **179** einzuordnen ist, zeigt das para-unsubstituierte Ethylendiaminphenyllessigsäurederivat **175** eine deutliche Verbesserung der *in vivo*-Aktivität mit einem ED<sub>50</sub>-Wert von 16 mg / kg Körpergewicht (23.8 μmol / kg KG) und einem ED<sub>90</sub>-Wert von 20 mg / kg Körpergewicht (29.8 μmol / kg KG). Erneut ist damit

eine Weiterentwicklung unserer ersten veröffentlichten *in vivo*-wirksamen Verbindung gelungen.

Zeitgleich mit der Optimierung unserer *in vivo* gegen *Plasmodium falciparum* wirksamen Farnesyltransferaseinhibitoren wurden auch die Aktivitäten der hergestellten Verbindungen gegen *Trypanosoma cruzi* getestet. Die Verbindungen liegen in einem weiten Aktivitätsbereich mit  $IC_{50}$ -Werten von mehr als 50  $\mu$ M bis hin zu Testwerten im niedrigen nanomolaren Bereich. Besonders interessant ist dabei, dass Verbindungen, die eine gute Aktivität gegen *Plasmodium falciparum* zeigen, eine eher schlechte Wirksamkeit gegen *Trypanosoma cruzi* haben. Hiermit sollte eine Entwicklung von selektiven Arzneistoffen gegen jeden der beiden Parasiten möglich sein.



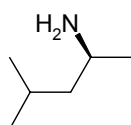
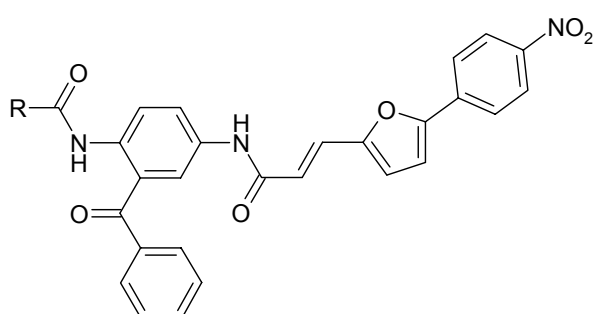
**Abb. 66:** Farnesyltransferaseinhibitoren gegen *Trypanosoma cruzi*

Die drei besten Inhibitoren unseres Arbeitskreises gegen *Trypanosoma cruzi* sind in der Abbildung 66 zusammengefasst: Mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 1 nM gegen Kulturen von *Trypanosoma cruzi* zählen das R-Phenylalaninderivat **110** und das Piperazinphenylpropionsäurederivat **172** zu den besten in der Literatur

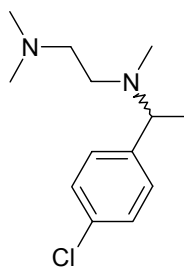
beschriebenen Farnesyltransferaseinhibitoren gegen diesen Parasiten. Ähnlich aktiv ist das *N*-Propylpiperazinderivat **151** mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 10 nM.

Die Inhibitoren **110** und **151** wurden außerdem *in vivo* gegen *T. cruzi*-infizierte Mäuse getestet. Ergebnisse einer Überlebensrate von 80% bzw. 60% bei der oralen Verabreichung von 100  $\mu$ M **110** und 100  $\mu$ M **151**, im Vergleich zu einer Überlebensrate von 16% bei einer unbehandelten Kontrollgruppe, sind sehr viel versprechend. Beide Inhibitoren sind damit nicht nur *in vitro* sehr aktiv, sondern zeigen auch eine Wirksamkeit *in vivo*.

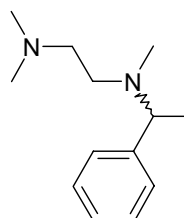
Besonders bedeutend sind diese Ergebnisse im Hinblick auf die momentanen Therapiesituationen gegen *Plasmodium falciparum* und *Trypanosoma cruzi*. Während gegen *Plasmodium falciparum* einige Arzneistoffe zur Verfügung stehen, die auf Grund von Resistenzen an Effektivität verloren haben, stehen gegen *Trypanosoma cruzi* nur zwei Therapeutika überhaupt zur Verfügung, mit denen nur etwa 50% der Erkrankungen geheilt werden können. Es zeigt sich somit für beide Infektionskrankheiten ein dringender Bedarf an neuen Therapeutika.

**115**

$IC_{50}$  (*L. amazonensis*): 1  $\mu$ M <  $IC_{50}$  < 10  $\mu$ M  
 $IC_{50}$  (*L. brasiliensis*): 1  $\mu$ M <  $IC_{50}$  < 10  $\mu$ M

**178**

$IC_{50}$  (*L. amazonensis*): 1  $\mu$ M <  $IC_{50}$  < 10  $\mu$ M  
 $IC_{50}$  (*L. brasiliensis*): 1  $\mu$ M <  $IC_{50}$  < 10  $\mu$ M

**175**

$IC_{50}$  (*L. brasiliensis*): 1  $\mu$ M <  $IC_{50}$  < 10  $\mu$ M

**Abb. 67:** Vorläufige Testergebnisse gegen *Leishmania amazonensis* und *Leishmania brasiliensis*

Weiterhin wurden einige der Inhibitoren auf Aktivität gegen kultivierte Formen von *Leishmania amazonensis* und *Leishmania brasiliensis* getestet (Abb. 67). Obwohl die Testung noch nicht komplett abgeschlossen ist, sind erste Ergebnisse sehr ermutigend. Mit einem vorläufigen Ergebnis von einem IC<sub>50</sub>-Wert zwischen 1 µM und 10 µM gegen *Leishmania amazonensis* und *Leishmania brasiliensis*, sind das Isoleucinderivat **115** und das para-chlorsubstituierte Ethylendiaminderivat **178** deutlich aktiver als der beste bisher in der Literatur veröffentlichte Farnesyltransferaseinhibitor mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 30 µM. Für das Ethylendiaminderivat **175** ist dies nur gegenüber *Leishmania brasiliensis* der Fall.

Die zukünftige Forschung unseres Arbeitskreises wird sich aus diesem Grund zum einen weiter auf die Entwicklung von Farnesyltransferaseinhibitoren gegen *Plasmodium falciparum* konzentrieren. Insbesondere ist hier die weitere Verbesserung der *in vivo*-Wirksamkeit und auch die Entwicklung von oral applizierbaren Inhibitoren angestrebt. Zum anderen liegt der Forschungsschwerpunkt bei der Entwicklung von Farnesyltransferaseinhibitoren gegen *Trypanosoma cruzi*.

## **Experimenteller Teil**



## 6. Experimentelle Daten

### 6.1. Allgemeine Bemerkungen

Es wurden handelsübliche **Lösungsmittel** verwendet. Falls erforderlich erfolgte die Reinigung und Trocknung nach Standardverfahren. [137]

**Feuchtigkeitsempfindliche Reagenzien** wurden mittels Spritzen über Septen zugegeben.

Für **Reaktionen unter Inertgas** wurden die Reaktionsgefäße im Argonstrom ausgeheizt. Als Inertgas diente Argon in handelsüblicher Qualität ohne weitere Behandlung.

Zur **Dünnschichtchromatographie** wurden DC-Fertigfolien Alugram SIL G/UV 254 der Firma Macherey-Nagel und DC-Alufolien Kieselgel 60 F<sub>254</sub> der Firma Merck verwendet. Die Detektion erfolgte unter UV-Licht bei 254 nm sowie bei tertiären Aminen und quartären Ammoniumsalzen zusätzlich mit Dragendorffs-Reagenz.

**Säulenchromatographie** erfolgte an Kieselgel 60, Korngröße 0.063 – 0.200 mm, der Firma Macherey-Nagel und Kieselgel 60, Korngröße 0.040 – 0.063 mm der Firma Merck. Es wurden Glassäulen mit 3 bis 6 cm Außendurchmesser bei Füllhöhen von 10 bis 30 cm verwendet.

**Ausbeuteangaben** beziehen sich auf die ausgefallten, säulenchromatographisch gereinigten und / oder umkristallisierten Produkte.

**Schmelzpunkte** wurden mit Heitzischmikroskopen der Firma Leitz bzw. der Firma Reichert ermittelt und sind unkorrigiert wiedergegeben.

**NMR-Spektren** wurden mit den Geräten Jeol Lambda 500 delta (500 MHz,  $^1\text{H}$  bzw. 125 MHz,  $^{13}\text{C}$ ), Jeol JNM-GX-400 (400 MHz,  $^1\text{H}$  bzw. 100 MHz,  $^{13}\text{C}$ ), Jeol Eclipse 500 (500 MHz,  $^1\text{H}$  bzw. 125 MHz,  $^{13}\text{C}$ ) und Jeol Eclipse 400 (400 MHz,  $^1\text{H}$  bzw. 100 MHz,  $^{13}\text{C}$ ) aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen sind in ppm angegeben und beziehen sich auf die  $\delta$ -Skala. Als interne Standards dienten Tetramethylsilan oder die undeuterten Lösungsmittelanteile. Zur Charakterisierung der Signale wurden folgende Abkürzungen verwendet: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, sept = Septett, m = Multiplett, dd = Dublett vom Dublett, q = quartäres C-Atom. Die Spektrenbearbeitung erfolgte mit dem NMR-Data-Processing Programm WinNuts, Version 2D 5.084, der Firma Acorn NMR Inc. Fremont, Ca, USA und dem Programm MestRe-C 2.3a des Departamento de Química Orgánica, Universidade de Santiago de Compostela, Spanien am PC.

Die **Infrarotspektren** wurden an einem Nicolet 510 FT-IR Spektrometer und einem Jasco FT/IR – 410 Fourier-Transform-Infrarot-Spektrometer aufgenommen. Die Verbindungen wurden als KBr-Presslinge vermessen. Die Absorptionen sind in Wellenzahlen ( $\text{cm}^{-1}$ ) angegeben und mit w (schwach), m (mittel) und s (stark) sowie br (breit) gekennzeichnet.

**Massenspektrometrische Bestimmungen** wurden mit doppelfokussierenden Sektorfeld-Massenspektrometern vom Typ VG 7070 H der Firma Vacuum Generators oder VG-AutoSpec der Firma Micromass, dem API 2000 LC/MS/MS – System der Firma PE SCIEX und der MStation JMS 700 der Firma Jeol vorgenommen. Die Datenakquisition erfolgte mit dem Datensystem „Vector 1“ der Firma Teknivent Corp., dem Programm Analyst 1.2 der Firma Applied Biosystems / MDS SCIEX und dem Programm Jeol Mass Data System MS – MP 9021D 2.30 der Firma Jeol. Falls vorhanden sind das Molekülion ( $\text{M}^+$ ), sowie die Bruchstücke ( $m/z = \text{Masse} / \text{Ladung}$ ) mit der höchsten relativen Intensität in absteigender Reihenfolge, gerundet auf die erste ganze Stelle, angegeben. Folgende Verfahren wurden verwendet: EI = Electron Impact (Elektronenstoß-Ionisation, PT = Proben temperatur), ESI = Elektrospray-Ionisation, FAB = Fast Atom Bombardment (Inertgas: Xenon, Matrix: 3-Nitrobenzylalkohol, Energie: 6 keV), HRMS = High Resolution Mass Spectroscopy.

---

**Elementaranalysen** wurden mit einem CH-Analyzer nach Dr. Salzer der Firma Labormatic/Wösthoff, einem CHN-Autoanalyzer 185 der Firma Hewlett-Packard (nur für N-Analysen) und einem Vario EL der Firma Elementar ausgeführt. Die Werte sind in % angegeben.

**Modellingstudien** wurden von Herrn Dr. Markus Böhm und Frau Katrin Silber aus dem Arbeitskreis von Prof. Klebe in Marburg mit den Programmen SYBYL Version 6.6/6.7 und FlexX Version 1.7.6. auf Silicon Graphics O2-Rechnern durchgeführt. Es wurden die Arbeitsroutinen MAPREF und PLACEBAS (pertubate mode) eingesetzt. Bis auf die Einstellung MAX\_ENERGIE = 10 kJ mol<sup>-1</sup> wurden die Standardparameter benutzt. Für etliche Verbindungen wurde auch das Programm AutoDock 3.0 unter Verwendung des genetischen Algorithmus von Lamarck (Standardparameter) verwendet.

## 6.2. Allgemeine Arbeitsvorschriften zur Synthese

### A: Darstellung von Acrylsäuren aus aromatischen Aldehyden

Der aromatische Aldehyd wird mit 1.2 Äquivalenten Malonsäure (125 mg pro mmol Aldehyd) in einer Mischung aus Pyridin (0.5 ml pro mmol Aldehyd) und Piperidin (0.02 ml pro mmol Aldehyd) zwei Stunden unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen wird der Reaktionsansatz unter intensivem Rühren in eine Mischung aus Eis, Wasser und konzentrierter Salzsäure (60 ml / 60 ml / 60 ml) gegossen. Der entstandene Feststoff wird abgesaugt, getrocknet und bei Bedarf aus einem geeigneten Lösungsmittel umkristallisiert.

### B: Aktivierung von Carbonsäuren als Säurechloride mit Oxalylchlorid

Die Carbonsäure wird in trockenem Dichlormethan gelöst bzw. suspendiert, nach Zugabe von Oxalylchlorid (0.2 ml pro mmol Carbonsäure) mit einigen Tropfen Dimethylformamid versetzt und zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend werden das Lösungsmittel und das überschüssige Oxalylchlorid durch dosiertes Anlegen von Vakuum in eine mit flüssigem Stickstoff gefüllte Vorlage destilliert. Das erhaltene Säurechlorid wird unverzüglich weiter umgesetzt.

### C: Umsetzung von Carbonsäurechloriden mit Aminen

Das Amin wird in heißem Toluol oder, wenn nötig, in einer Mischung aus heißem Toluol und Dioxan gelöst. Zu dieser Lösung wird eine äquivalente Menge des Säurechlorides, gelöst in heißem Dioxan, gegeben. Das Reaktionsgemisch wird zwei Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen des Reaktionsansatzes wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer vollständig entfernt und der verbleibende Feststoff aus einem geeigneten Lösungsmittel umkristallisiert oder säulenchromatographisch gereinigt.

**D: Reduktion von Nitrobenzenderivaten mit Zinn(II)-chlorid-Dihydrat**

Das Nitrobenzenderivat wird in Ethylacetat oder einem Ethylacetat-Ethanol-Gemisch gelöst. Nach Zugabe von Zinn(II)-chlorid-Dihydrat ( $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 1.125 g pro mmol Nitrobenzenderivat) wird zwei Stunden unter Rückfluss erhitzt. Die abgekühlte Reaktionslösung wird mit destilliertem Wasser verdünnt und anschließend mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung auf pH 7 – 8 eingestellt. Anschließend wird dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte werden mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vollständig vom Lösungsmittel befreit.

**E: Schützen von freien Aminosäuren mit der Boc-Schutzgruppe**

Die entsprechende freie Aminosäure wird in einer Mischung aus Dioxan, Wasser und 1 M Natriumhydroxidlösung (10 ml / 5 ml / 5 ml, Angaben bezogen auf 5 mmol der Aminosäure) gelöst und in einem Eis-Wasser-Bad gekühlt. Nach Zugabe von 1.1 Äquivalenten Di-tert.-Butylpyrocarbonat (Boc-Anhydrid, 0.24 g pro mmol Aminosäure) wird eine halbe Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird die Lösung am Rotationsverdampfer auf etwa 10 ml eingeeengt und unter Kühlung im Eis-Wasser-Bad werden 30 ml Ethylacetat zugegeben. Es wird mit verdünnter Kaliumhydrogensulfatlösung auf pH 2 – 3 eingestellt und die wässrige Phase dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die organischen Extrakte werden vereinigt, zweimal mit destilliertem Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer vollständig entfernt. [138]

**F: Umsetzung von Boc-geschützten Aminosäuren mit Aminen unter Aktivierung mit Phosphoroxychlorid**

Eine Lösung der Boc-geschützten Aminosäure und des Amins (jeweils 1 Äquivalent) in trockenem Pyridin (ca. 3 – 5 ml pro mmol Aminosäure) wird in einem mit Septum verschlossenen Kolben auf  $-15^\circ\text{C}$  (Eis-Salz-Bad) gekühlt. Zu dieser Lösung werden 1.1 Äquivalente Phosphoroxychlorid ( $\text{POCl}_3$ , 0.1 ml pro mmol Aminosäure) tropfenweise aus einer Spritze addiert, wobei sich die Lösung langsam orange bis rot färbt. Nach 30 Minuten bei  $-15^\circ\text{C}$  wird der

Ansatz in die zehn- bis zwanzigfache Menge Eiswasser gegossen. Die Mischung wird mit Ethylacetat dreimal extrahiert, wobei bei schlechter Phasentrennung Natriumchlorid zugesetzt wird. Die vereinigten organischen Extrakte werden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer vollständig entfernt und anschließend aus einem geeigneten Lösungsmittel umkristallisiert. [132]

**G: Entschützen einer Boc-geschützten Aminosäure**

Die Boc-geschützte Aminosäure wird in einer gesättigten Lösung von Chlorwasserstoffgas in Dioxan (ca. 10 – 20 ml pro mmol Aminosäure) gelöst bzw. suspendiert und zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das überschüssige Dioxan-Chlorwasserstoff-Gemisch durch dosiertes Anlegen von Vakuum in eine mit flüssigem Stickstoff gekühlte Vorlage destilliert. Der verbleibende Feststoff wird in Aceton aufgenommen, abgesaugt und mehrmals mit Aceton gewaschen.

**H: Substitution des Halogens von 2-Chlor- und 2-Brom-2-phenylcarbonsäurederivaten mit sekundären Aminen**

Das *N*-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-chlor-2-phenylcarbonsäureamid bzw. das *N*-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-brom-2-phenylcarbonsäureamid wird in frisch destilliertem trockenem Acetonitril gelöst bzw. suspendiert. Nach Zugabe von 3 Äquivalenten des sekundären Amins wird 24 bis 48 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nach Entfernen des Acetonitrils am Rotationsverdampfer wird der verbleibende Rest in Ethylacetat aufgenommen und säulenchromatographisch gereinigt oder mit gesättigter Kaliumcarbonatlösung zweimal gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit und durch Umkristallisation aus einem geeigneten Lösungsmittel oder säulenchromatographisch gereinigt. [139]

**I: Darstellung von Nitrobenzensulfonamiden**

Das Amin wird in trockenem Dichlormethan gelöst und bei 0°C (Eis-Wasser-Bad) mit Triethylamin (0,125 ml pro mmol Amin) oder N-Methylmorpholin (0,24 ml pro mmol Amin) und einem Äquivalent 4-Nitrobenzensulfonylchlorid, ebenfalls gelöst in trockenem Dichlormethan, versetzt. Die Mischung wird über Nacht gerührt und mit Dichlormethan verdünnt. Anschließend wird mit HCl-Lösung 10%, gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer vollständig entfernt.

### 6.3. Allgemeine Arbeitsvorschriften zur biologischen Testung

#### A: Proteinisolierung von Farnesyltransferase

Die Proteinisolierung erfolgte nach der Vorschrift von Del Villar et al. und wurde vom Hans-Knöll-Institut (HKI), Jena übernommen. [140]

Bei 37°C wird eine Übernachtskultur (25 ml) von *Escherichia coli* (*E. coli*) DH5a (pGex-DPR1 und pBC-RAM2) in LB-Medium (10 g/l Bacto-Trypton, 5 g/l Yeast-Extract, 10 g/l Natriumchlorid gelöst in 1 l destilliertem Wasser) mit 100 µg/ml Ampicillin und 51 µg/ml Chloramphenicol angezogen. 1 ml dieser Übernachtskultur wird in 1 l LB-Medium mit 100 µg/ml Ampicillin und 51 µg/ml Chloramphenicol (verteilt auf 4 x 250 ml in 1 l Kolben) bei 27°C gezüchtet, bis die OD 600 einen Wert von 0.5, mindestens aber 0.2 erreicht. Anschließend wird mit IPTG (250 µl einer 1 M Stammlösung in 250 ml Kultur) über Nacht induziert.

2 ml Glutathion-Sepharose™ 4B der Firma Amersham Biosciences werden in einem 50 ml Falcon-Tube mit dreimal je 5 ml PBS (Phosphat Buffered Saline: 140 mM Natriumchlorid, 2.7 mM Kaliumchlorid, 10 mM Dinatriumhydrogenphosphat, 1.8 mM Kaliumdihydrogenphosphat, pH = 7.3) gewaschen, dazwischen durch Zentrifugation bei 1000 rpm (Umdrehungen pro Minute) und 4°C sedimentiert, der Überstand jeweils vorsichtig abpipettiert und die Glutathion-Sepharose auf Eis bereitgestellt.

Anschließend wird die Zellkultur bei 4500 rpm 20 Minuten zentrifugiert, ab diesem Punkt finden alle Arbeitsschritte auf Eis statt. Die Zellen werden mit 40 ml kaltem PBS suspendiert, in ein 50 ml Falcon-Tube überführt, erneut 10 Minuten bei 4°C und 4500 rpm zentrifugiert und in 20 ml Ultraschallpuffer (PBS mit 1 mM EDTA, 0.1 mM DTT und 1 Tablette Proteaseinhibitor Complete™, Böhlinger) resuspendiert. Es werden 2 mg Lysozym (Lysozym from hen egg white, Fluka) zugegeben, 5 Minuten auf Eis gestellt und anschließend mit zehnmal 30 Sekunden Ultraschall aufgeschlossen. Die erhaltene Zellsuspension wird 30 Minuten bei 4°C und 15000 rpm zentrifugiert, das erhaltene Cytosol zur Glutathion-Sepharose gegeben und 2 Stunden bei 4°C geschüttelt. Nach dem Schütteln wird das Cytosol-Sepharose-Gemisch auf eine mit PBS gewaschene Säule (MoBiTec, Empty



Columns 10 ml, #S10149) gegeben, dreimal mit Ultraschallpuffer und einmal mit Waschpuffer (9.5 ml Aqua bidest., 0.5 ml 50 mM Tris/HCl-Puffer pH 8.0, 10 µl 0.5 M MgCl<sub>2</sub> und 5 µl 0.1 mM DTT) gewaschen. Anschließend wird dreimal mit je 1 ml Elutionspuffer (2 ml 20 mM Glutathion-Lösung (L-Gluthathione reduced ≥ 97%, Fluka) und 1 ml Waschpuffer) eluiert, das Eluat mit Centricon 50 – Säulen aufkonzentriert und 50% Glycerol zugegeben. Das isolierte Enzym ist bei -80°C zu lagern.

## **B: Bestimmung der Farnesyltransferaseinhibition**

Die Bestimmung der Farnesyltransferaseinhibition wurde mit Hilfe eines Fluoreszenz-Essays in Anlehnung an die Arbeitsvorschriften von Pompliano et al. durchgeführt. [141]

Farnesylpyrophosphat (FPP) wird als Lösung in einer Mischung aus Methanol : 10 mM wässriger Ammoniumchloridlösung (7 : 3) von Sigma-Aldrich bezogen. Dansyl-Gly-Cys-Val-Leu-Ser (Ds-GCVLS) wird auf Bestellung durch das ZMBH, Heidelberg synthetisiert. Die Messlösung (125 µl) enthält Tris/HCl pH 7.0 (52 mM), Dithiothreitol (DTT, 5.8 mM), MgCl<sub>2</sub> (12 mM), ZnCl<sub>2</sub> (12 µM), Ds-GCVLS (7 µM), FPP (5 µM), GST-Farnesyltransferase (5 nM) und 1% (1.25 µl) Inhibitor (verschiedene Konzentrationen) gelöst in Dimethylsulfoxid (DMSO). Die Reaktion wird in einer auf 37°C temperierten 125 µl Quarzküvette der Firma Perkin Elmer an einem Shimadzu RF-5301 PC Spektrofluorophotometer (Marburg) und einem Shimadzu RF-1501 Spektrofluorophotometer (München) durchgeführt und der Verlauf der Enzymreaktion anhand der Fluoreszenzzunahme bei der Emissionswellenlänge 505 nm verfolgt (Anregungswellenlänge: 340 nm). Die IC<sub>50</sub>-Werte werden aus der Fluoreszenzabnahme von drei unabhängigen Messungen mit verschiedenen Inhibitor-Konzentrationen im Vergleich zu einer Messung ohne Inhibitor errechnet. Die Zunahme der Fluoreszenzintensität während der Messung ohne Inhibitor sollte für die Reproduzierbarkeit der Messungen im Bereich von 200 – 300 Einheiten liegen.

**C: Bestimmung der Löslichkeit in Wasser und 0.1 M Natriumphosphatpuffer**

Es wird eine 10 mM Lösung des entsprechenden Inhibitors in DMSO hergestellt. Anschließend werden 500 µl bidestilliertes Wasser oder 0.1 mM Natriumphosphatpuffer pH = 7.2 (68.4 ml 1 M Dinatriumhydrogenphosphatlösung und 31.6 ml 1 M Natriumdihydrogenphosphatlösung) vorgelegt und die Inhibitorlösung in 1 bis 5 µl Schritten addiert. Als Löslichkeit wird der Wert angegeben, bei dem die erste Trübung oder leichte Präzipitation festgestellt wird.

**D: Bestimmung der Aktivität von Farnesyltransferaseinhibitoren gegen *Plasmodium falciparum***

Die Bestimmung der IC<sub>50</sub>-Werte erfolgte von Herrn Dr. Jochen Wiesner vom Labor Infektiologie, Biochemisches Institut der Justus-Liebig-Universität Gießen (Leiter: Dr. Hassan Jomaa)

Verwendet wurde der multiresistente *P. falciparum*-Stamm Dd2. Die eigentliche Testung erfolgte als halbautomatisierter Mikrodilutionsessay auf Mikrotiterplatten. Die Inhibitoren wurden dafür in DMSO gelöst und mit Kulturmedium, das ebenfalls für das Aufziehen der Parasiten verwendet wird, verdünnt und damit eine DMSO-Konzentration von unter 1% erreicht. Pro Einheit der Mikrotiterplatte wurden 200µL infizierte Erythrozyten mit 2% Hämatokrit und 0.4% Parasitämie eingesetzt und mit der Inhibitorlösung für 48 Stunden inkubiert. Nach der Inkubation wurden 0.8 µCi <sup>3</sup>H-Hypoxanthin in 5 µL Medium pro Einheit zugesetzt und erneut für 24 Stunden inkubiert. Anschließend wurden die Zellen mit Hilfe von Glasfaserfiltern isoliert und die aufgenommene Radioaktivität gemessen. [129]

**E: Bestimmung der *in vivo*-Aktivität von Farnesyltransferaseinhibitoren gegen *Plasmodium falciparum***

Die Testung auf *in vivo*-Wirksamkeit wurde wie die *in vitro*-Bestimmung von Herrn Dr. Jochen Wiesner im Labor Infektiologie, Biochemisches Institut der Justus-Liebig-Universität Gießen (Leiter: Dr. Hassan Jomaa).

Verwendet wurde ein modifiziertes Standardprotokoll mit *P. vinckei*-infizierten Mäusen. Am Tag 0 wurden Balb/c-Mäuse mit  $5 \cdot 10^7$  Parasiten aus dem Blut einer Donormaus infiziert. Während der Tage 1 bis 3 wurden die Mäuse einmal täglich mit 6, 13, 25 und 100 mg / kg Körpergewicht (KG) Testsubstanz behandelt, die Verabreichung erfolgte intraperitoneal (i.p.). Am 4. Tag wurde die Parasitämie als prozentueller Anteil der infizierten Erythrozyten bestimmt. Die Zählung erfolgte mikroskopisch an Giemsa-gefärbten Blutzellen.

**F: Bestimmung der Aktivität von Farnesyltransferaseinhibitoren gegen *Trypanosoma cruzi***

Die Testung erfolgte durch Frau Dr. Mónica I. Esteva und Herrn Dr. Esteban José Bontempi vom Instituto Nacional de Parasitología Dr. M. Fatala Chabén, A.N.L.I.S. Dr. Carlos G. Malbrán in Buenos Aires, Argentinien.

Für den *in vitro*-Essay wurde mit *T. cruzi* infiziertes Mausblut verwendet. 100 µl des Blutes ( $5 \cdot 10^5$  Parasiten / ml) wurden mit jeweils 2 µl Inhibitor gelöst in DMSO (verschiedene Konzentrationen) inkubiert. Parallel wurden Kontrollproben durchgeführt, die nur 2µl DMSO enthielten. Die Inkubation erfolgte auf 96-Well-Mikrotiterplatten bei 4°C für 24 Stunden. Im Anschluss wurde die Zahl der lebenden Parasiten mikroskopisch bestimmt. Hierfür wurden 5 µl Blut unter einem 18 mm · 18 mm Deckglas vierhundertfach vergrößert. Die nur mit DMSO inkubierten Kontrollproben lieferten den Ausgangswert der Parasitenzahl, um die prozentuelle Lysis zu kalkulieren.

**G: Bestimmung der *in vivo*-Aktivität von Farnesyltransferaseinhibitoren gegen *Plasmodium falciparum***

Die Testung auf *in vivo*-Wirksamkeit wurde wie die *in vitro*-Bestimmung von Frau Dr. Mónica I. Esteva und Herrn Dr. Esteban José Bontempi vom Instituto Nacional de Parasitología Dr. M. Fatala Chabén, A.N.L.I.S. Dr. Carlos G. Malbrán in Buenos Aires, Argentinien durchgeführt.

Verschiedene Gruppen von Mäusen wurden intraperitoneal (i.p.) mit 500 *T. cruzi*-Trypomastigoten infiziert. 30 Minuten nach der Infektion wurde die Therapie mit den Farnesyltransferaseinhibitoren **110** und **151** begonnen. Diese Inhibitoren wurden fünfmal pro Woche oral verabreicht (insgesamt 39

Dosen, Ausnahme: Die Gruppe, die mit 50  $\mu\text{M}$  Verbindung **110** behandelt wurde, erhielt nur 21 Dosen). Kontrollgruppen erhielten nur physiologische Kochsalzlösung.

Für jede behandelte Gruppe gab es eine nicht infizierte Kontrollgruppe, die zur Untersuchung der Toxizität beider Verbindungen die gleiche Dosis wie die infizierte Gruppe erhielt. Die Bestimmung der Parasitämie während der Therapie erfolgte durch die mikroskopische Untersuchung von zweimal pro Woche entnommenen Blutproben aus dem Schwanz der Mäuse. Dokumentiert wurden Parasitämie und Sterblichkeit, ebenso wie der allgemeine Zustand der Tiere.

Die endgültige Inhibitorkonzentration wurde auf der Grundlage des Blutgesamtvolumens der Mäuse kalkuliert.

#### **H: Bestimmung der Aktivität von Farnesyltransferaseinhibitoren auf *Leishmania amazonensis* und *Leishmania brasiliensis***

Die Testung auf Aktivität gegen *L. amazonensis* und *L. brasiliensis* erfolgte durch Frau Dr. Mónica I. Esteva, Frau Christina Maidana und Herrn Dr. Esteban José Bontempi vom Instituto Nacional de Parasitología Dr. M. Fatała Chabén, A.N.L.I.S. Dr. Carlos G. Malbrán in Buenos Aires, Argentinien.

Promastigoten von *L. amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8) und *L. brasiliensis* (MHOM/BR/75/M2903) wurden mit jeweils 1  $\mu\text{M}$  und 10  $\mu\text{M}$  verschiedener FTI inkubiert. Die Inkubation erfolgte in 15 ml Polypropylen-Tubes bei einer Temperatur von 26°C über einen Zeitraum von 72 Stunden. Pro Experiment wurden  $2 \cdot 10^5$  Promastigoten und 10  $\mu\text{l}$  DMSO mit verschiedenen Mengen der Inhibitoren verwendet, für die Kontrollprobe wurde nur DMSO hinzugefügt. Während der Inkubation wurde die Zahl der lebenden Parasiten durch Zählung mit einer Neubauer-Kammer nach jeweils 24, 48 und 72 Stunden bestimmt. [142]

#### **I: Prüfung auf Zytotoxizität**

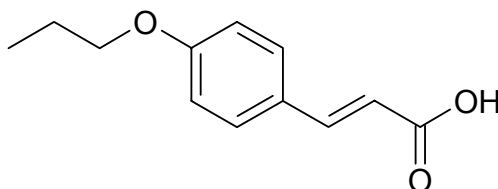
Die Testung erfolgte durch Herrn Dr. Hans-Martin Dahse am Hans-Knöll-Institut für Naturstoff-Forschung, Jena.

---

Verwendet wurde die Zelllinie HeLa DSM ACC 57 (Zervixkarzinomzellen, Patientin: Henrietta Lacks). Für den Zytotoxizitätstest wurden die HeLa-Zellen 48 Stunden auf 96-Well-Mikrotiterplatten vorinkubiert. Nach dieser Vorinkubation wurden die Verdünnungen der Testsubstanzen vorsichtig auf die Schicht der HeLa-Zellen aufgetragen und für weitere 72 Stunden inkubiert (37°C, 5% CO<sub>2</sub>). Anschließend erfolgte eine Fixierung der anhaftenden HeLa-Zellen mit 25% Glutaraldehyd und Einfärbung mit einer 0,05% Lösung von Methyleneblau. Nach vorsichtigem Waschen wurden die Zellen mit 0.2 ml 0.33 N Salzsäure pro Well suspendiert und die optische Dichte bei 660 nm gemessen. Die Auswertung erfolgte mit dem Programm Magellan (TECAN).

## 6.4. Verbindungsdaten

### (E)-4-Propoxyzimtsäure (37)



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **A** aus 4-Propoxybenzaldehyd **36** (0.8 ml, 5.0 mmol) und Malonsäure (625 mg, 6.0 mmol).

**Ausbeute:** 691 mg (67% d. Th.)

weißer Feststoff

**Festpunkt:** 162°C

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 2966 (m, br), 1680 (s), 1624 (m), 1604 (s), 1573 (m), 1511 (s), 1473 (m), 1428 (m), 1307 (s), 1286 (s), 1243 (s), 1218 (s), 1175 (s), 1047 (m), 1020 (m), 985 (m), 946 (w), 837 (m), 813 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 22.4°C):

$\delta$  (ppm) = 1.01 (t, J = 8 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.79 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.93 (t, J = 7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.28 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.88 – 6.89 (m, 2H, arom. H), 7.47 – 7.49 (m, 2H, arom. H), 7.71 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH)

Das Proton der Carbonsäure ist nicht sichtbar.

**MS** (EI, 70eV, PT = Raumtemperatur):

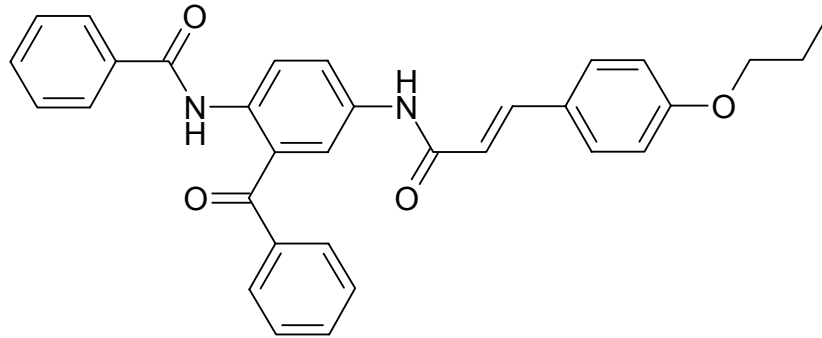
m/z (%) = 207 (16), 206 (72, M<sup>+</sup>), 165 (25), 164 (100), 163 (62), 148 (7), 147 (62), 146 (10), 136 (10), 123 (6), 121 (5), 120 (7), 119 (30), 118 (35), 107 (15), 102 (5), 101 (5), 95 (8), 91 (30), 89 (12), 83 (8), 77 (13), 72 (21), 69 (10), 65 (20), 59 (43), 55 (17), 51 (8), 43 (33), 41 (34)

**Elementaranalyse:** C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub> (206.24)

ber. (%): C: 69.98 H: 6.84

gef. (%): C: 70.24 H: 6.75

**(E)-N-[3-Benzoyl-4-(benzoylamino)phenyl]-4-propoxyzimtsäureamid (41)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 4-Propoxyzimtsäure **37** (154 mg, 0.75 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)benzoesäureamid (237 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 282 mg (75% d. Th.)

hellgelber Feststoff

**Festpunkt:** 219°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3332 (w, br), 1680 (m), 1660 (m), 1629 (m), 1603 (s), 1556 (s), 1511 (s), 1447 (w), 1423 (w), 1403 (m), 1339 (m), 1288 (m), 1253 (s), 1172 (s), 979 (w), 827 (w), 702 (m)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 20.5°C):

$\delta$  (ppm) = 0.96 (t, J = 8 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.72 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.85 (t, J = 7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.30 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.74 – 6.78 (m, 2H, arom. H), 7.29 – 7.70 (m, 12H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.97 – 7.99 (m, 2H, arom. H), 8.13 (s, 1H, NH), 8.70 – 8.72 (m, 1H, arom. H), 11.69 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 440°C):

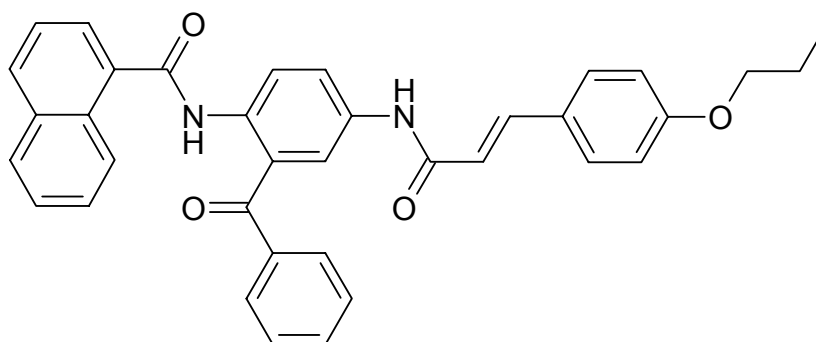
$m/z$  (%) = 505 (19), 504 (52,  $M^+$ ), 317 (9), 316 (39), 190 (14), 189 (100), 147 (22), 119 (4), 105 (7), 40 (4)

**Elementaranalyse:**  $C_{32}H_{28}N_2O_4$  (504.95)

ber. (%): C: 76.17 H: 5.59 N: 5.55

gef. (%): C: 76.12 H: 5.67 N: 5.82

**(E)-N-[3-Benzoyl-4-(1-naphthoylamino)phenyl]-4-propoxyzimtsäureamid (42)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 4-Propoxyzimtsäure **37** (154 mg, 0.75 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-1-naphthoesäureamid (324 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Toluol.

**Ausbeute:** 299 mg (72% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 185°C

(Toluol)

**IR** (KBr):

$\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3422 (w, br), 1658 (m), 1634 (m), 1603 (m), 1574 (m), 1544 (m), 1510 (s), 1403 (m), 1290 (m), 1248 (m), 1172 (s), 826 (w)



**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 20.4°C):

δ (ppm) = 0.95 (t, J = 8 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.70 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.84 (t, J = 7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.26 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.74 – 6.76 (m, 2H, arom. H), 7.07 – 7.25 (m, 6H, arom. H), 7.39 – 7.91 (m, 9H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 8.14 (s, 1H, NH), 8.46 – 8.48 (m, 1H, arom. H), 8.76 – 8.77 (m, 1H, arom. H), 11.17 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 200°C):

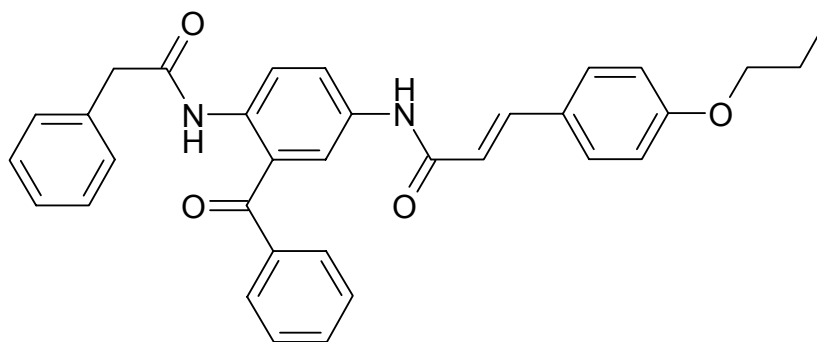
m/z (%) = 556 (6), 555 (9), 554 (21, M<sup>+</sup>), 421 (11), 402 (6), 367 (9), 366 (30), 285 (12), 284 (5), 249 (12), 213 (8), 212 (21), 211 (10), 210 (5), 209 (5), 190 (9), 189 (73), 185 (6), 169 (6), 168 (5), 166 (9), 156 (17), 155 (100), 157 (9), 155 (11), 147 (37), 127 (65), 126 (16), 119 (13), 91 (6), 36 (9)

**Elementaranalyse:** C<sub>36</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (554.65)

ber. (%): C: 77.96 H: 5.45 N: 5.05

gef. (%): C: 78.19 H: 5.68 N: 4.92

**(E)-N-[3-Benzoyl-4-(phenylacetylamino)phenyl]-4-propoxyzimtsäureamid (43)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 4-Propoxyzimtsäure **37** (154 mg, 0.75 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)phenylacetamid (248 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 282 mg (75% d. Th.)

hellgelber Feststoff

**Festpunkt:** 192°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3430 (w, br), 1670 (m), 1651 (m), 1633 (m), 1602 (s), 1556 (m), 1509 (s), 1401 (m), 1307 (w), 1287 (m), 1253 (m), 1173 (s), 977 (w), 827 (w), 705 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 21.1°C):

$\delta$  (ppm) = 0.95 (t, J = 8 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.75 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.67 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.86 (t, J = 7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.24 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.78 – 6.79 (m, 2H, arom. H), 7.19 – 7.63 (m, 14H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.94 (s, 1H, NH), 8.48 – 8.50 (m, 1H, arom. H), 10.51 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 290°C):

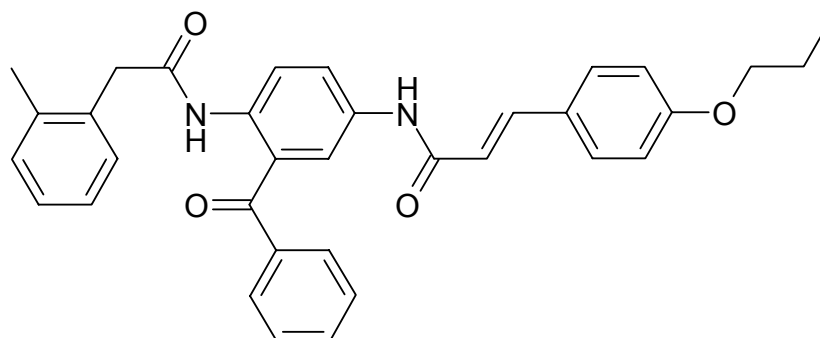
m/z (%) = 520 (5), 519 (22), 518 (56, M<sup>+</sup>), 331 (8), 330 (34), 212 (11), 190 (14), 189 (100), 147 (21), 119 (4)

**Elementaranalyse:** C<sub>33</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (518.62)

ber. (%): C: 76.43 H: 5.83 N: 5.40

gef. (%): C: 76.18 H: 5.78 N: 5.42

**(E)-N-{3-Benzoyl-4-[(2-methylphenyl)acetyl]amino}phenyl}-4-propoxyzimtsäureamid (44)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 4-Propoxyzimtsäure **37** (154 mg, 0.75 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-(2-methylphenyl)acetamid (258 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 222 mg (56% d. Th.)

hellgelber Feststoff

**Festpunkt:** 96°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3275 (w, br), 1662 (m), 1602 (s), 1550 (m), 1511 (s), 1448 (w), 1425 (w), 1401 (m), 1288 (m), 1254 (m), 1173 (s), 978 (w), 828 (w), 748 (w), 704 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 21.2°C):

$\delta$  (ppm) = 1.01 (t, J = 8 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.80 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.33 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.75 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.91 (t, J = 7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.29 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.85 – 6.86 (m, 2H, arom. H), 7.19 – 7.68 (m, 13 H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.97 (s, 1H, NH), 8.52 – 8.53 (m, 1H, arom. H), 10.37 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 320°C):

m/z (%) = 533 (25), 532 (63, M<sup>+</sup>), 386 (7), 345 (9), 344 (36), 254 (8), 212 (15), 190 (14), 189 (100), 147 (21), 105 (5)

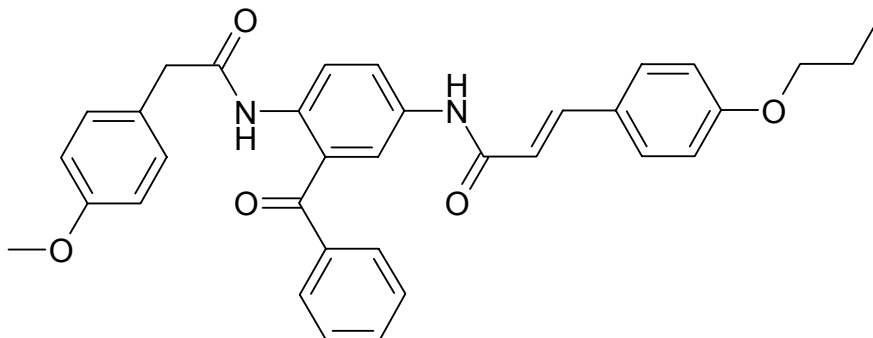
**Elementaranalyse:** C<sub>34</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

(532.65)

ber. (%): C: 76.67 H: 6.06 N: 5.26

gef. (%): C: 76.86 H: 6.02 N: 5.37

**(E)-N-{3-Benzoyl-4-[(4-methoxyphenyl)acetylamino]phenyl}-4-propoxyzimtsäureamid (45)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 4-Propoxyzimtsäure **37** (185 mg, 0.9 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-(4-methoxyphenyl)acetamid (324 mg, 0.9 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 295 mg (60% d. Th.)

hellgelber Feststoff

**Festpunkt:** 158°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3292 (w, br), 1682 (m), 1650 (m), 1625 (w), 1603 (m), 1555 (w), 1511 (s), 1458 (w), 1397 (w), 1307 (m), 1291 (m), 1249 (m), 1232 (m), 1173 (w), 1031 (w), 1005 (w), 973 (w), 845 (w), 827 (w), 749 (w), 705 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, 19.5°C):

$\delta$  (ppm) = 0.93 (t, J = 8 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.70 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.59 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.70 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.83 (t, J = 7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.23 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.78 – 6.83 (m, 4H, arom. H), 7.18 – 7.32 (m, 3H, arom. H), 7.40 – 7.50 (m, 5H, arom. H), 7.52 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.59 – 7.63 (m, 3H, arom. H), 7.95 (s, 1H, NH), 8.42 – 8.45 (m, 1H, arom. H), 10.46 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = keine Angabe):

m/z (%) = 549 (7), 548 (18, M<sup>+</sup>), 530 (5), 427 (4), 403 (12), 402 (11), 400 (38), 360 (11), 342 (8), 341 (5), 239 (4), 213 (7), 212 (48), 211 (13), 190 (13), 189 (100), 148 (12), 147 (64), 121 (41), 120 (22), 107 (8), 105 (9), 91 (16), 78 (6), 77 (11)

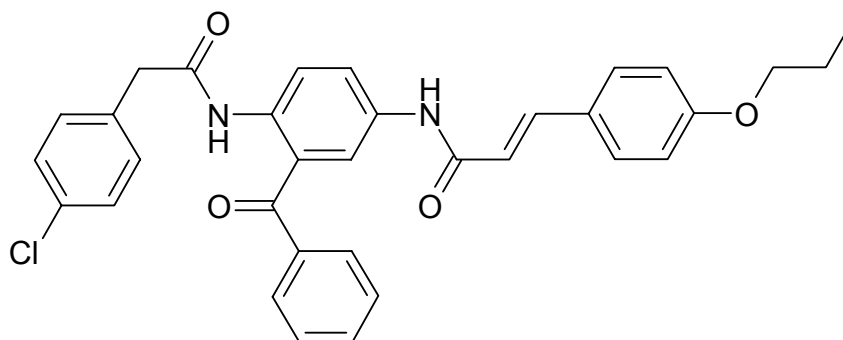
**Elementaranalyse:** C<sub>34</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

(548.64)

ber. (%): C: 74.43 H: 5.88 N: 5.11

gef. (%): C: 74.70 H: 5.80 N: 5.08

**(E)-N-(3-Benzoyl-4-[(4-chlorophenyl)acetyl]amino)phenyl)-4-propoxyzimtsäureamid (46)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 4-Propoxyzimtsäure **37** (154 mg, 0.75 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-(4-chlorophenyl)acetamid (237 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 350 mg (84% d. Th.)

hellgelber Feststoff

**Festpunkt:** 188°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3325 (m, br), 1681 (m), 1663 (s), 1644 (m), 1626 (m), 1603 (m), 1575 (m), 1551 (s), 1509 (s), 1474 (w), 1448 (w), 1424 (w), 1400 (m), 1344 (w), 1285 (m), 1257 (m), 1243 (m), 1172 (s), 1151 (w), 1090 (w), 1018 (w), 976 (m), 825 (m), 703 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 19.8°C):

$\delta$  (ppm) = 0.96 (t, J = 8 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.73 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.62 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.86 (t, J = 7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.24 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.78 – 6.79 (m, 2H, aromat. H), 7.19 – 7.63 (m, 13H aromat. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.97 (s, 1H, NH), 8.45 – 8.47 (m, 1H, aromat. H), 10.59 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 380°C):

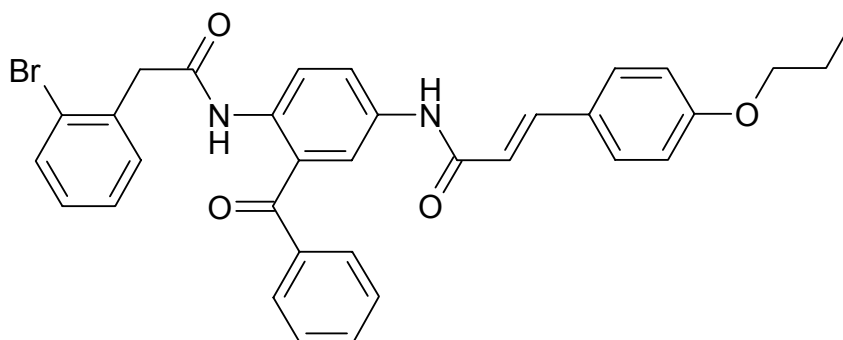
*m/z* (%) = 554 (11, M<sup>+</sup>), 553 (12), 552 (29, M<sup>+</sup>), 400 (6), 366 (5), 364 (15), 212 (11), 190 (14), 189 (100), 147 (21), 119 (4)

**Elementaranalyse:** C<sub>33</sub>H<sub>29</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (553.06)

ber. (%): C: 71.67 H: 5.29 N: 5.07

gef. (%): C: 71.61 H: 5.54 N: 5.06

**(E)-N-(3-Benzoyl-4-[(2-bromophenyl)acetyl]amino]phenyl)-4-propoxyzimtsäureamid (47)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 4-Propoxyzimtsäure **37** (154 mg, 0.75 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-(2-bromophenyl)acetamid (307 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 250 mg (56% d. Th.)

hellgelber Feststoff

**Festpunkt:** 96°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3277 (w, br), 1661 (m), 1627 (m), 1602 (s), 1551 (m), 1510 (s), 1473 (m), 1447 (w), 1424 (w), 1401 (m), 1342 (w), 1318 (m), 1288 (m), 1254 (s), 1173 (s), 1026 (w), 978 (m), 828 (m), 748 (w), 703 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 20.5°C):

$\delta$  (ppm) = 0.95 (t, J = 8 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.72 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.85 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.88 (t, J = 7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.24 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.79 – 6.81 (m, 2H, arom. H), 7.19 – 7.66 (m, 13H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.94 (s, 1H, NH), 8.48 – 8.50 (m, 1H, arom. H), 10.45 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 380°C):

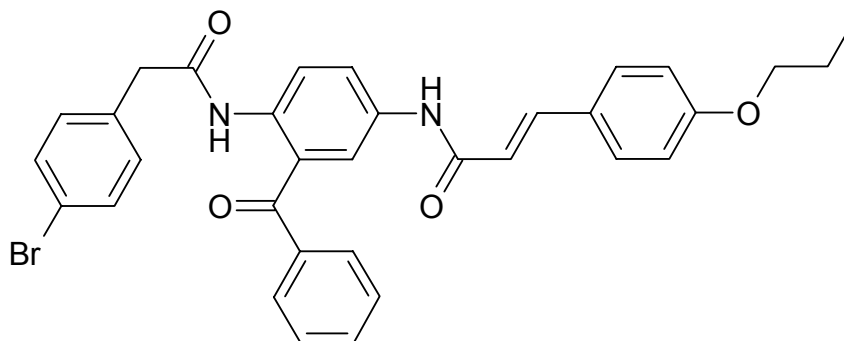
$m/z$  (%) = 598 (26,  $M^+$ ), 597 (11), 596 (26,  $M^+$ ), 411 (6), 410 (25), 409 (6), 408 (25), 400 (10), 213 (5), 212 (32), 211 (11), 206 (5), 190 (14), 189 (100), 164 (9), 147 (26), 135 (5), 119 (6), 105 (4)

**Elementaranalyse:**  $C_{33}H_{29}BrN_2O_4$  (597.51)

ber. (%): C: 66.34 H: 4.89 N: 4.69

gef. (%): C: 66.68 H: 5.09 N: 4.89

**(E)-N-(3-Benzoyl-4-[(4-bromphenyl)acetylamino]phenyl)-4-propoxyzimtsäureamid (48)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 4-Propoxyzimtsäure **37** (103 mg, 0.5 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-(4-bromphenyl)acetamid (205 mg, 0.5 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 293 mg (65% d. Th.)

hellbrauner Feststoff

**Festpunkt:** 178°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3428 (m, br), 1682 (s), 1663 (m), 1642 (m), 1603 (m), 1575 (m), 1550 (s), 1509 (s), 1400 (m), 1343 (m), 1285 (m), 1256 (m), 1172 (s), 1151 (m), 1014 (m), 977 (w), 824 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 20.3°C):

δ (ppm) = 0.96 (t, J = 8 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.73 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.61 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.86 (t, J = 7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.23 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.80 – 6.81 (m, 2H, arom. H), 7.16 – 7.19 (m, 3H, arom. H), 7.32 – 7.43 (m, 6H, arom. H), 7.56 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.58 – 7.66 (m, 4H, arom. H), 7.97 (s, 1H, NH), 8.47 – 8.49 (m, 1H, arom. H), 10.61 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 180°C):

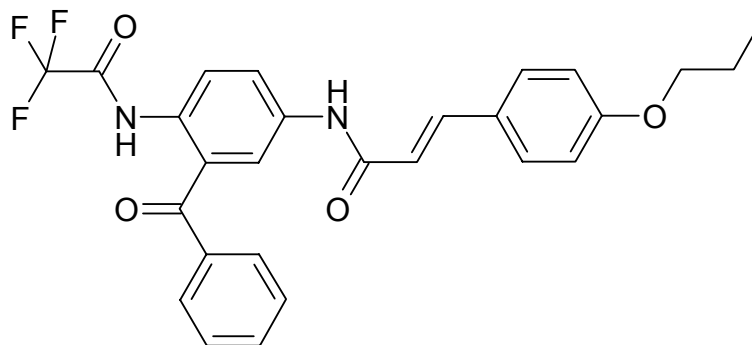
m/z (%) = 598 (12, M<sup>+</sup>), 596 (11, M<sup>+</sup>), 410 (8), 408 (8), 368 (5), 256 (6), 239 (6), 213 (5), 212 (14), 211 (10), 190 (14), 189 (100), 148 (6), 147 (49), 129 (10), 121 (5), 120 (5), 119 (23), 115 (6), 111 (7), 110 (5), 109 (6), 108 (6), 107 (9), 104 (14), 98 (10), 97 (14), 95 (9), 91 (23), 89 (5), 87 (6), 85 (10), 84 (10), 83 (15), 82 (15), 81 (10), 80 (12), 79 (7), 18 (6), 77 (10), 73 (18), 71 (14), 70 (9), 69 (19), 68 (7), 67 (11), 65 (6), 63 (6), 60 (14), 57 (23), 56 (10), 55 (26), 45 (5), 44 (32), 43 (30), 42 (9), 41 (29), 39 (12)

**Elementaranalyse:** C<sub>33</sub>H<sub>29</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (597.51)

ber. (%): C: 66.34 H: 4.89 N: 4.69

gef. (%): C: 66.51 H: 4.98 N: 4.77

**(E)-N-[3-Benzoyl-4-(trifluoracetylamino)phenyl]-4-propoxyzimtsäureamid (52)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 4-Propoxyzimtsäure **37** (725 mg, 3.5 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)trifluoracetamid (1082 mg, 3.5 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.



**Ausbeute:** 1027 mg (59% d. Th.)

hellgelber Feststoff

**Festpunkt:** 200°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3281 (w, br), 1730 (m), 1658 (m), 1626 (m), 1602 (s), 1550 (m), 1516 (s), 1404 (w), 1340 (m), 1322 (m), 1308 (m), 1280 (m), 1258 (m), 1229 (m), 1175 (s), 1153 (s), 975 (m), 829 (m), 729 (m)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, 18.7°C):

$\delta$  (ppm) = 0.97 (t, J = 8 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.75 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.87 (t, J = 7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.26 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.79 – 6.81 (m, 2H, arom. H), 7.34 – 7.57 (m, 5H, arom. H), 7.57 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.62 – 7.71 (m, 4H, arom. H), 8.14 (s, 1H, NH), 8.50 – 8.52 (m, 1H, arom. H), 11.82 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 300°C):

m/z (%) = 497 (9), 496 (27, M<sup>+</sup>), 308 (3), 190 (14), 189 (100), 147 (20), 119 (5)

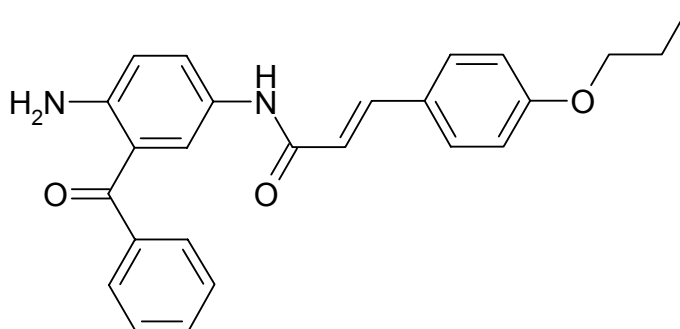
**Elementaranalyse:** C<sub>27</sub>H<sub>23</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

(496.49)

ber. (%): C: 65.32 H: 4.67 N: 5.64

gef. (%): C: 65.59 H: 4.78 N: 5.84

**(E)-N-(4-Amino-3-benzoylphenyl)-4-propoxyzimtsäureamid (53)**



*N*-[3-Benzoyl-4-(trifluoracetyl-amino)phenyl]-4-propoxyzimtsäureamid **52** (993 mg, 2.0 mmol) wird mit einer 1 : 1 Mischung von Dioxan (15 ml) und gesättigter Kaliumcarbonatlösung (15 ml) drei Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen wird mit 30 ml Wasser verdünnt und mit Ethylacetat dreimal extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer vollständig entfernt.

**Ausbeute:** 740 mg (92% d. Th.)

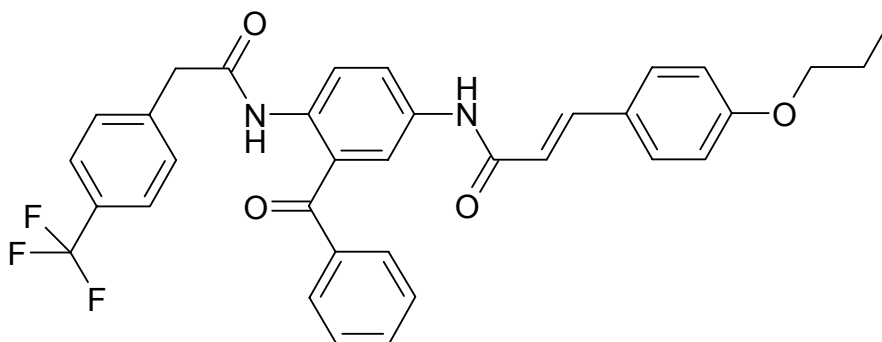
gelber Feststoff

$C_{25}H_{24}N_2O_3$  (400.48)

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 500 MHz, 21.5°C):

$\delta$  (ppm) = 0.96 (t,  $J$  = 8 Hz, 3H,  $CH_3$ ), 1.73 (m, 2H,  $CH_2$ ), 3.86 (t,  $J$  = 7 Hz, 2H,  $CH_2$ ), 6.00 (s, 2H,  $NH_2$ ), 6.22 (d,  $J$  = 16 Hz, 1H, =CH), 6.66 – 6.80 (m, 3H, arom. H), 7.15 – 7.60 (m, 9H, arom. H und d,  $J$  = 16 Hz, 1H, =CH), 8.32 (s, 1H, NH)

**(E)-N-(3-Benzoyl-4-[(4-trifluormethylphenyl)acetyl-amino]phenyl)-4-propoxyzimtsäureamid (55)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 4-Trifluormethylphenylessigsäure **54** (103 mg, 0.5 mmol) und *N*-(4-Amino-3-benzoylphenyl)-4-propoxyzimtsäureamid **53** (200 mg, 0.5 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 293 mg (65% d. Th.)

hellgelber Feststoff

**Festpunkt:** 212°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3419 (w, br), 1664 (m), 1641 (m), 1602 (s), 1547 (m), 1511 (s), 1423 (w), 1404 (m), 1327 (s), 1290 (m), 1258 (m), 1173 (s), 1124 (m), 1069 (m), 978 (w), 824 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, 18.7°C):

$\delta$  (ppm) = 0.94 (t, J = 8 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.69 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.72 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.84 (t, J = 7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.23 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.78 – 6.81 (m, 2H, arom. H), 7.32 – 7.43 (m, 6H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.50 – 7.67 (m, 7H, arom. H), 7.98 (s, 1H, NH), 8.47- 8.49 (m, 1H, arom. H), 10.68 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 290°C):

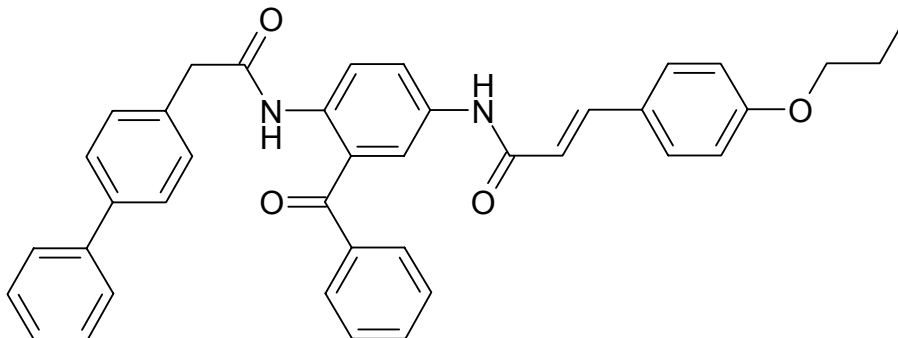
m/z (%) = 587 (14), 586 (33, M<sup>+</sup>), 399 (5), 398 (16), 212 (7), 190 (14), 189 (100), 147 (18), 119 (4)

**Elementaranalyse:** C<sub>36</sub>H<sub>29</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

(586.62)

ber. (%):	C: 69.62	H: 4.98	N: 4.78
gef. (%):	C: 69.67	H: 5.06	N: 4.94

**(E)-N-{3-Benzoyl-4-[(4-biphenyl)acetylamino]phenyl}-4-propoxy-  
zimtsäureamid (49)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 4-Propoxyzimtsäure **37** (207 mg, 1.0 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-(4-biphenylyl)acetamid (407 mg, 1.0 mmol). Umkristallisation aus Toluol.

**Ausbeute:** 453 mg (82% d. Th.)

weißer Feststoff

**Festpunkt:** 167°C

(Toluol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3315 (w, br), 1691 (m), 1671 (m), 1652 (s), 1604 (s), 1575 (s), 1550 (m), 1510 (s), 1488 (w), 1450 (w), 1426 (w), 1401 (w), 1340 (m), 1315 (m), 1290 (m), 1250 (s), 1228 (m), 1176 (s), 974 (m), 826 (m), 758 (m)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 21.9°C):

$\delta$  (ppm) = 0.95 (t, J = 8 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.69 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.69 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.83 (t, J = 7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.24 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.76 – 6.78 (m, 2H, aromat. H), 7.24 – 7.40 (m, 9H, aromat. H), 7.47 – 7.51 (m, 7H, aromat. H), 7.53 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.62 – 7.64 (m, 2H, aromat. H), 7.96 (s, 1H, NH), 8.47 – 8.49 (m, 1H, aromat. H), 10.58 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 180°C):

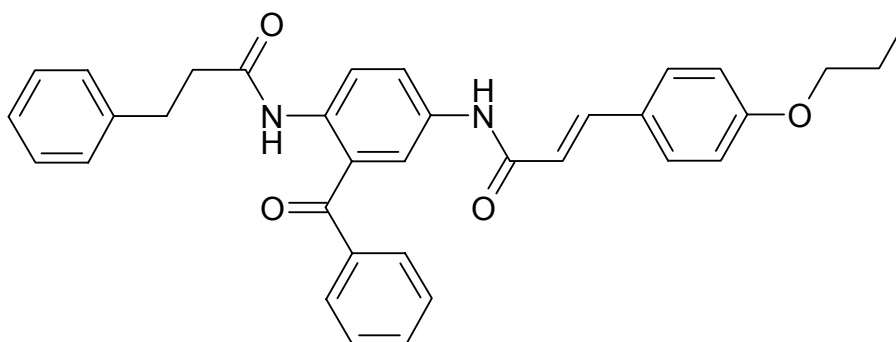
*m/z* (%) = 594 (2, M<sup>+</sup>), 300 (15), 299 (6), 286 (11), 285 (46), 257 (7), 256 (18), 253 (7), 243 (8), 242 (7), 241 (13), 239 (41), 228 (6), 213 (11), 211 (7), 199 (9), 197 (18), 189 (10), 187 (7), 185 (17), 183 (6), 171 (13), 169 (6), 167 (8), 166 (6), 165 (8), 163 (14), 159 (8), 157 (16), 155 (9), 153 (8), 152 (7), 149 (6), 145 (7), 143 (15), 141 (11), 135 (11), 134 (6), 133 (11), 131 (11), 130 (6), 129 (37), 127 (9), 125 (7), 124 (6), 121 (10), 119 (9), 117 (11), 116 (7), 115 (8), 111 (12), 110 (10), 109 (11), 107 (10), 105 (14), 99 (11), 98 (10), 97 (22), 96 (14), 95 (15), 93 (9), 90 (19), 87 (15), 85 (18), 84 (16), 83 (22), 82 (15), 81 (20), 79 (12), 74 (7), 73 (44), 71 (24), 70 (14), 69 (28), 68 (12), 67 (17), 63 (17), 61 (10), 60 (18), 58 (9), 57 (29), 56 (14), 55 (34), 53 (7), 52 (7), 48 (7), 46 (7), 45 (14), 44 (100), 43 (19), 41 (30), 39 (12), 36 (8)

**Elementaranalyse:** C<sub>39</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (594.72)

ber. (%): C: 78.77 H: 5.76 N: 4.71

gef. (%): C: 78.69 H: 5.69 N: 4.95

**(E)-N-[3-Benzoyl-4-(3-phenylpropionylamino)phenyl]-4-propoxy-  
zimtsäureamid (50)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 4-Propoxyzimtsäure **37** (124 mg, 0.6 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-3-phenylpropionsäureamid (227 mg, 0.6 mmol). Umkristallisation aus Toluol.

**Ausbeute:** 182 mg (62% d. Th.)

weißer Feststoff

**Festpunkt:** 180°C

(Toluol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3273 (w, br), 1660 (m), 1602 (m), 1542 (m), 1511(s), 1401 (w),  
1254 (m), 1175 (m), 977 (w), 828 (w), 749 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 20.7°C):

$\delta$  (ppm) = 0.96 (t, J = 8 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.73 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.67 (t, J = 8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.99 (t, J = 8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.86 (t, J = 7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.26 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.77 – 6.80 (m, 2H, arom. H), 7.04 – 7.19 (m, 5H, arom. H), 7.34 – 7.53 (m, 7H, arom. H), 7.56 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.66 – 7.67 (m, 2H, arom. H), 7.98 (s, 1H, NH), 8.49 – 8.51 (m, 1H, arom. H), 10.53 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 450°C):

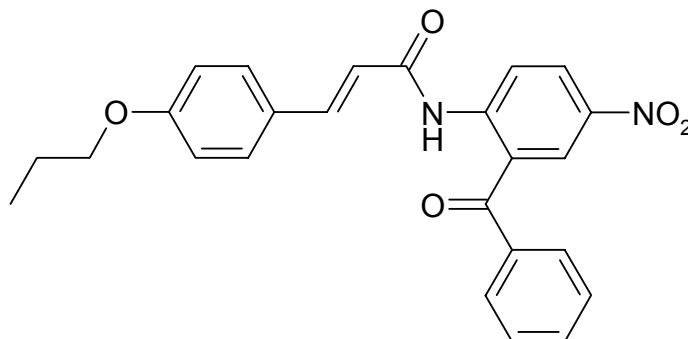
$m/z$  (%) = 533 (22), 532 (54,  $M^+$ ), 345 (8), 344 (29), 242 (3), 212 (12),  
190 (14), 189 (100), 147 (19), 199 (3)

**Elementaranalyse:**  $C_{34}H_{32}N_2O_4$  (532.65)

ber. (%): C: 76.67 H: 6.06 N: 5.26

gef. (%): C: 76.59 H: 5.83 N: 5.35

**N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-4-propoxyzimtsäureamid (39)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 4-Propoxyzimtsäure **37** (618 mg, 3.0 mmol) und 2-Amino-5-nitrobenzophenon **38** (727 mg, 3.0 mmol).  
Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 883 mg (68% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 172°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3279 (w, br), 1704 (w), 1632 (m), 1604 (s), 1574 (m), 1538 (w),  
1513 (s), 1501 (s), 1474 (w), 1427 (w), 1412 (w), 1341 (s), 1307 (w), 1278 (m),  
1253 (s), 1178 (m), 1156 (m), 1145 (s), 1021 (w), 849 (w), 828 (w), 700 (w)

**$^1\text{H-NMR}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz, 20.3°C):

$\delta$  (ppm) = 1.03 (t,  $J = 8$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.82 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.94 (t,  $J = 7$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.45 (d,  $J = 16$  Hz, 1H, =CH), 6.88 – 6.92 (m, 2H, arom. H), 7.50 – 7.77 (m, 7H, arom. H und d,  $J = 16$  Hz, 1H, =CH), 8.41 – 8.50 (m, 2H, arom. H), 9.06 – 9.08 (m, 1H, arom. H), 11.40 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 180°C):

$m/z$  (%) = 430 (14,  $\text{M}^+$ ), 400 (7), 212 (20), 211 (5), 190 (13), 189 (100), 148 (6), 147 (51), 146 (5), 129 (6), 119 (25), 118 (6), 105 (9), 97 (8), 95 (5), 91 (20), 85 (6), 83 (9), 81 (7), 77 (10), 73 (10), 71 (9), 69 (12), 67 (6), 65 (7), 60 (9), 59 (7), 57 (18), 55 (17), 44 (26), 43 (20), 42 (5), 41 (23), 40 (24), 39 (9), 36 (6)

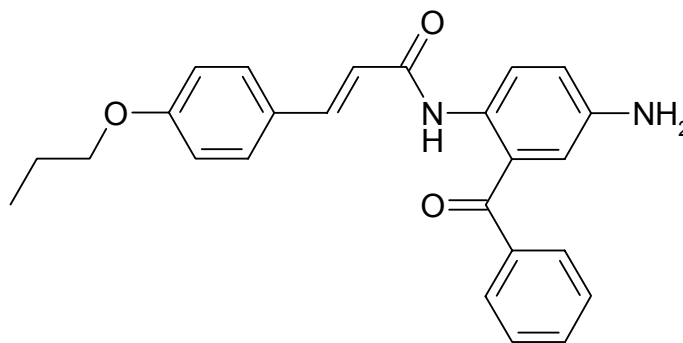
**Elementaranalyse:**  $\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5$

(430.46)

ber. (%): C: 69.76 H: 5.15 N: 6.51

gef. (%): C: 69.95 H: 5.15 N: 6.48

**N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-4-propoxyzimtsäureamid (40)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-4-propoxyzimtsäureamid **39** (778 mg, 1.8 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (2.025 g, 9.0 mmol).

**Ausbeute:** 523 mg (73% d. Th.)

hellgelber Feststoff  
 $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$  (400.48)

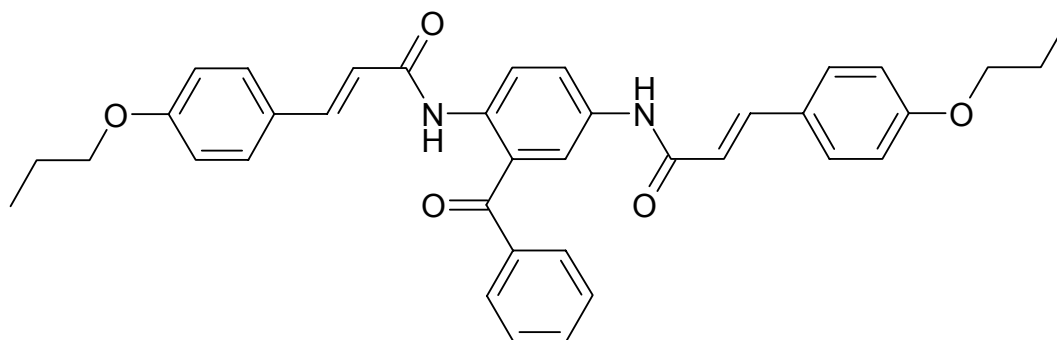
**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3437 (m, br), 1662 (m), 1606 (s), 1575 (w), 1512 (s), 1324 (m), 1306 (s), 1287 (m), 1246 (w), 1174 (w), 829 (m), 704 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, 18.5°C):

$\delta$  = 0.96 (t, J = 8 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.74 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.57 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.87 (t, J = 7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.35 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.77 – 6.90 (m, 4H, arom. H), 7.19 – 7.55 (m, 5H, arom. H), 7.57 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.65 – 7.68 (m, 2H, arom. H), 8.47 – 8.49 (m, 1H, arom. H), 10.53 (s, 1H, NH)

**(E)-N-[3-Benzoyl-4-(4-propoxycinnamoylamino)phenyl]-4-propoxyzimtsäureamid (51)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 4-Propoxyzimtsäure **37** (207 mg, 1.0 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-4-propoxyzimtsäureamid **39** (401 mg, 1.0 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 420 mg (71% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 189°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3426 (w, br), 1662 (m), 1627 (m), 1603 (s), 1550 (m), 1510 (s), 1404 (w), 1282 (m), 1254 (s), 1173 (s), 977 (w), 826 (w)



**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, 19.4°C):

δ (ppm) = 0.96 (m, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 1.72 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub>), 3.83 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub>), 6.29 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.39 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.75 – 6.84 (m, 4H, arom. H), 7.33 – 7.54 (m, 9H, arom. H), 7.55 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.62 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.69 – 7.71 (m, 2H, arom. H), 8.07 (s, 1H, NH), 8.63 – 8.66 (m, 1H, arom. H), 10.84 (s, 1H, NH)

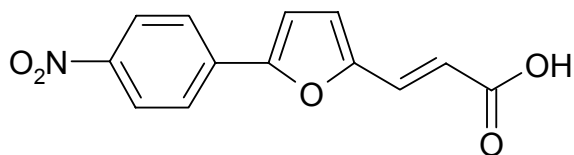
**MS** (EI, 70eV, PT = 200°C):

m/z (%) = 589 (4), 588 (10, M<sup>+</sup>), 401 (5), 400 (16), 300 (5), 285 (19), 284 (17), 270 (4), 264 (4), 257 (9), 256 (52), 242 (13), 241 (8), 239 (21), 228 (12), 223 (9), 213 (22), 212 (26), 211 (6), 207 (4), 199 (13), 197 (8), 190 (9), 189 (53), 186 (6), 185 (30), 183 (11), 182 (10), 181 (11), 172 (5), 171 (19), 169 (12), 167 (14), 165 (13), 157 (17), 155 (17), 149 (4), 148 (4), 143 (15), 141 (23), 130 (8), 129 (68), 122 (10), 116 (10), 115 (24), 102 (8), 101 (17), 98 (15), 91 (5), 88 (9), 87 (35), 84 (10), 74 (14), 73 (100), 64 (21), 61 (19), 60 (74), 58 (6), 48 (9), 46 (8), 45 (11), 43 (17), 39 (12), 36 (11)

**Elementaranalyse:** C<sub>37</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (588.71)

ber. (%): C: 75.49 H: 6.16 N: 4.76

gef. (%): C: 75.26 H: 6.14 N: 4.77

**(E)-3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure (57)**

Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **A** aus 5-(4-Nitrophenyl)furfural **56** (2180 mg, 10.0 mmol) und Malonsäure (1250 mg, 12.0 mmol).

**Ausbeute:** 2420 mg (93% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 251°C

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3071 (w, br), 1689 (s), 1616 (s), 1598 (s), 1563 (m), 1518 (s), 1507 (s), 1424 (m), 1351 (m), 1332 (s), 1313 (m), 1251 (s), 1218 (s), 1111 (w), 1033 (w), 973 (w), 861 (m), 850 (m), 802 (m), 754 (m)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz, 50°C):

$\delta$  (ppm) = 6.42 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.09 – 7.10 (m, 1H, arom. H), 7.40 – 7.41 (m, 1H, arom. H), 7.41 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 8.06 – 8.08 (m, 2H, arom. H), 8.26 – 8.28 (m, 2H, arom. H), 12.35 (s, 1H, COOH)

**MS** (EI, 70eV, PT = RT):

m/z (%) = 260 (16), 259 (100, M<sup>+</sup>), 242 (13), 229 (5), 213 (8), 212 (10), 184 (5), 150 (5), 139 (7), 128 (5)

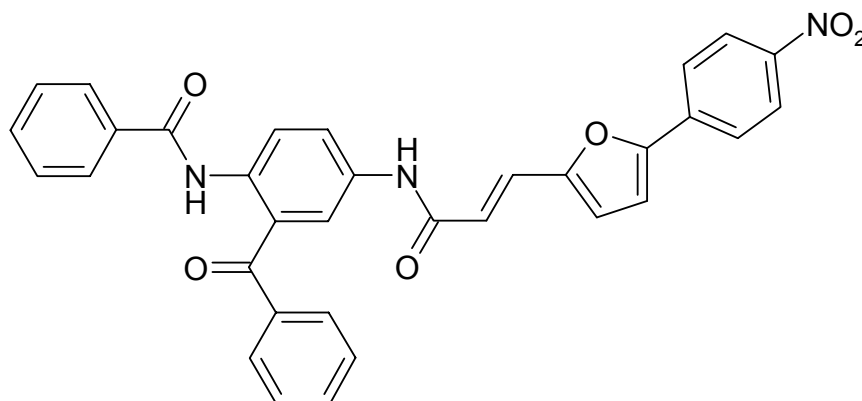
**Elementaranalyse:** C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>5</sub>

(259.22)

ber. (%): C: 60.25 H: 3.50 N: 5.40

gef. (%): C: 60.19 H: 3.60 N: 5.42

**(E)-N-[3-Benzoyl-4-(benzoylamino)phenyl]-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (67)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (195 mg, 0.75 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-benzoesäureamid (237 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 261 mg (62% d. Th.)

orange – roter Feststoff

**Festpunkt:** 252°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3436 (m, br), 1628 (m), 1626 (m), 1599 (m), 1548 (m), 1510 (s), 1402 (w), 1334 (s), 1294 (w), 1249 (w), 1196 (w), 1109 (w), 704 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

$\delta$  (ppm) = 6.78 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.03 – 7.04 (m, 1H, arom. H), 7.42 – 7.49 (m, 3H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.50 – 7.61 (m, 4H, arom. H), 7.70 – 7.74 (m, 4H, arom. H), 7.83 – 8.01 (m, 5H, arom. H), 8.31 – 8.33 (m, 2H, arom. H), 10.42 (s, 1H, NH), 10.61 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 410°C):

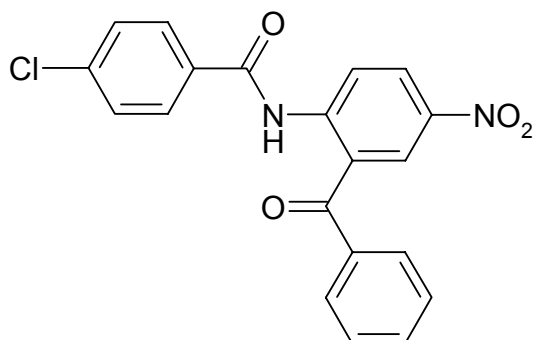
m/z (%) = 558 (13), 557 (33, M<sup>+</sup>), 358 (4), 344 (4), 342 (5), 317 (25), 316 (100), 243 (8), 242 (51), 213 (5), 212 (16), 211 (25), 106 (6), 105 (77), 92 (31), 91 (34), 44 (5), 40 (16)

**Elementaranalyse:** C<sub>33</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> (557.57)

ber. (%): C: 71.09 H: 4.16 N: 7.54

gef. (%): C: 71.17 H: 4.17 N: 7.52

**N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-4-chlorbenzoesäureamid (63)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **C** aus 4-Chlorbenzoylchlorid (0.52 ml, 4.0 mmol) und 2-Amino-5-nitrobenzophenon **38** (969 mg, 4.0 mmol). Umkristallisation aus Toluol.

**Ausbeute:** 1507 mg (99% d. Th.)

hellgelber Feststoff

**Festpunkt:** 178°C

(Toluol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3103 (w, br), 1696 (m), 1637 (m), 1618 (m), 1596 (m), 1582 (s), 1549 (m), 1510 (s), 1492 (m), 1340 (s), 1311 (w), 1280 (s), 1263 (s), 1155 (w), 1105 (m), 1013 (w), 960 (w), 844 (m), 760 (m)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 20.3°C):

$\delta$  (ppm) = 7.42 – 7.69 (m, 7H, arom. H), 7.94 – 8.00 (m, 2H, arom. H), 8.42 – 8.51 (m, 2H, arom. H), 9.06 – 9.08 (m, 1H, arom. H), 12.22 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 230°C):

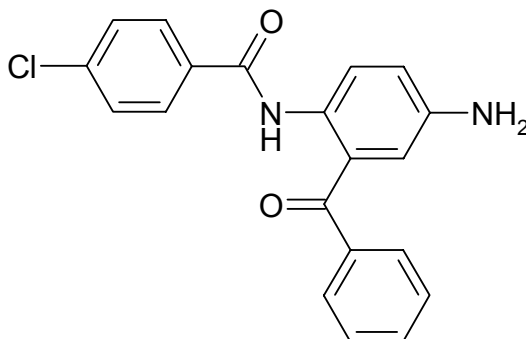
$m/z$  (%) = 382 (18,  $M^+$ ), 380 (51,  $M^+$ ), 277 (9), 275 (26), 141 (41), 140 (11), 139 (100), 111 (8)

**Elementaranalyse:**  $C_{20}H_{13}ClN_2O_4$  (380.79)

ber. (%): C: 63.09 H: 3.44 N: 7.36

gef. (%): C: 63.24 H: 3.46 N: 7.60

**N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-4-chlorbenzoesäureamid (65)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus *N*-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-4-chlorbenzoesäureamid **63** (1373 mg, 3.6 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (4.05 g, 18.0 mmol). Umkristallisation aus Ethanol : Ethylacetat (1 : 1).

**Ausbeute:** 938 mg (74% d. Th.)

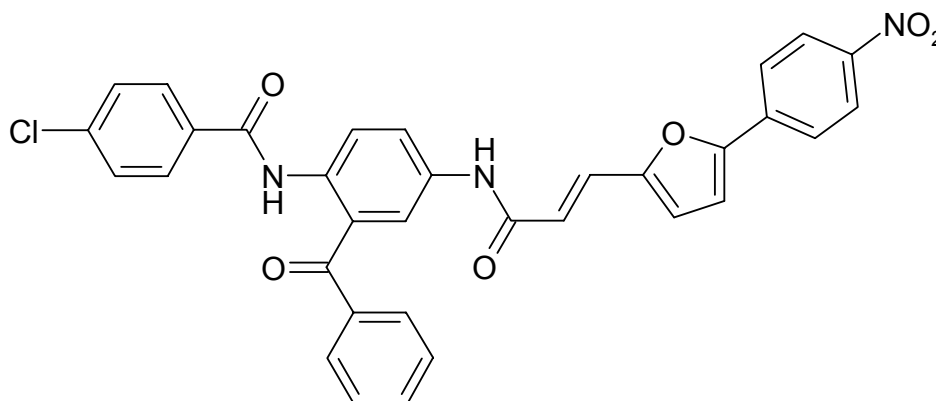
gelber Feststoff

$C_{20}H_{15}ClN_2O_2$  (350.81)

**$^1H$ -NMR** ( $CDCl_3$ , 400 MHz, 20.5°C):

$\delta$  (ppm) = 4.87 (s, 2H,  $NH_2$ ), 8.10 – 8.21 (m, 2H, arom. H), 8.65 – 8.94 (m, 7H, arom. H), 9.15 – 9.87 (m, 2H, arom. H), 9.80 – 9.82 (m, 1H, arom. H), 12.69 (s, 1H, NH)

**(E)-N-{3-Benzoyl-4-[(4-chlorbenzoyl)amino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (68)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (195 mg, 0.75 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-4-chlorbenzoesäureamid **65** (263 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 323 mg (73% d. Th.)

rot – brauner Feststoff

**Festpunkt:** 257°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3384 (w, br), 1678 (m), 1627 (m), 1597 (s), 1546 (m), 1513 (s), 1403 (m), 1333 (s), 1292 (m), 1247 (m), 1108 (w), 853 (w), 752 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

$\delta$  (ppm) = 6.77 (d, *J* = 16 Hz, 1H, =CH), 7.04 – 7.05 (m, 1H, arom. H), 7.42 – 7.78 (m, 11H, arom. H und d, *J* = 16 Hz, 1H, =CH), 7.89 – 8.02 (m, 4H, arom. H), 8.31 – 8.33 (m, 2H, arom. H), 10.44 (s, 1H, NH), 10.58 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 420°C):

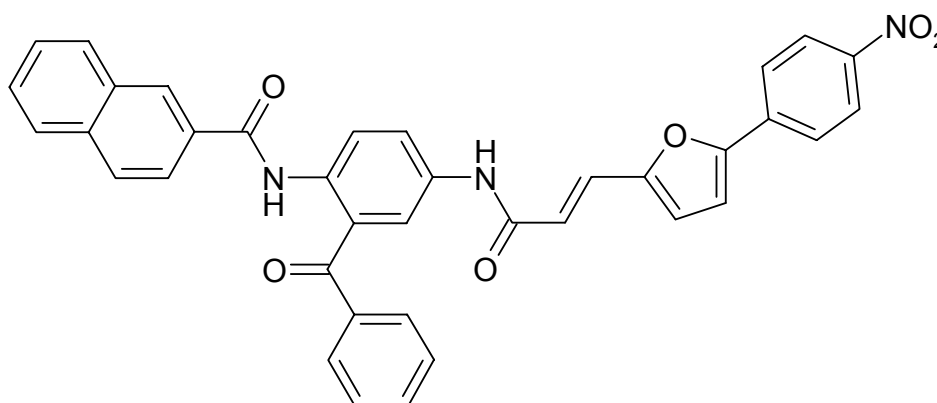
m/z (%) = 593 (1, M<sup>+</sup>), 592 (1), 591 (3, M<sup>+</sup>), 406 (5), 378 (8), 377 (6), 376 (20), 353 (12), 352 (37), 351 (34), 350 (97), 271 (5), 245 (11), 242 (17), 217 (10), 213 (5), 212 (12), 211 (34), 210 (5), 182 (4), 141 (32), 140 (9), 139 (100), 111 (8)

**Elementaranalyse:** C<sub>33</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>6</sub> (592.01)

ber. (%): C: 66.95 H: 3.75 N: 7.10

gef. (%): C: 66.78 H: 3.91 N: 6.89

**(E)-N-[3-Benzoyl-4-(2-naphthoylamino)phenyl]-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (69)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (195 mg, 0.75 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-naphthoylamid (286 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 227 mg (50% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 279°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3370 (w, br), 1675 (m), 1627 (m), 1599 (m), 1545 (m), 1507 (s), 1447 (w), 1402 (m), 1333 (s), 1294 (m), 1244 (m), 1198 (m), 1182 (w), 1165 (m), 1131 (w), 1109 (m), 1027 (w), 966 (w), 853 (m), 791 (w), 775 (w), 753 (m)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

$\delta$  (ppm) = 6.79 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.04 – 7.05 (m, 1H, arom. H), 7.41 – 7.62 (m, 6H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.75 – 8.01 (m, 11H, arom. H), 8.23 – 8.33 (m, 3H, arom. H), 10.44 (s, 1H, NH), 10.72 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 450°C):

m/z (%) = 607 (1, M<sup>+</sup>), 393 (8), 392 (29), 367 (15), 366 (56), 242 (17), 217 (6), 156 (14), 155 (100), 127 (19)

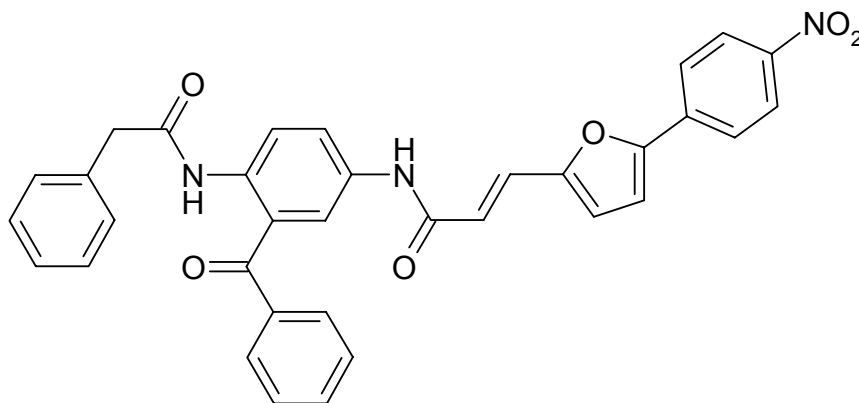
**Elementaranalyse:** C<sub>37</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>

(607.63)

ber. (%): C: 73.14 H: 4.15 N: 6.92

gef. (%): C: 73.30 H: 4.30 N: 6.85

**(E)-N-[3-Benzoyl-4-(phenylacetylamino)phenyl]-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (70)**





Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (195 mg, 0.75 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)phenylacetamid (248 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 307 mg (72% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 211°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3383 (w, br), 1670 (w), 1653 (w), 1629 (w), 1598 (m), 1545 (m), 1512 (w), 1330 (s), 1290 (w), 1246 (w), 1196 (w), 970 (w), 853 (w), 752 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

$\delta$  (ppm) = 3.19 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.75 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.02 – 7.25 (m, 6H, arom. H), 7.39 – 7.50 (m, 3H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.60 – 7.69 (m, 4H, arom. H), 7.87 – 8.00 (m, 4H, arom. H), 8.30 – 8.32 (m, 2H, arom. H), 10.05 (s, 1H, NH), 10.36 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 420°C):

$m/z$  (%) = 571 (8, M<sup>+</sup>), 452 (6), 418 (5), 356 (8), 338 (6), 337 (7), 331 (24), 330 (82), 313 (6), 312 (23), 311 (19), 300 (6), 265 (6), 243 (5), 242 (35), 239 (15), 238 (19), 237 (9), 217 (6), 213 (20), 212 (100), 211 (48), 210 (7), 196 (4), 187 (4), 182 (5), 161 (4), 106 (12), 105 (21), 91 (11), 77 (8), 44 (6), 40 (4)

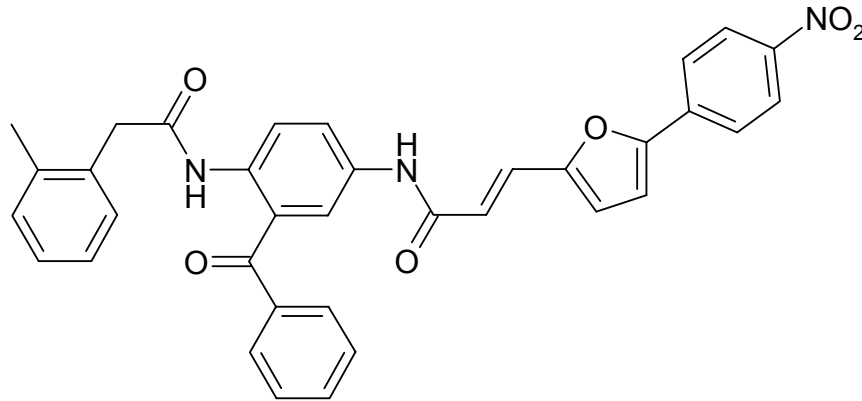
**Elementaranalyse:** C<sub>34</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>

(571.59)

ber. (%): C: 71.45 H: 4.41 N: 7.35

gef. (%): C: 71.46 H: 4.42 N: 7.44

**(E)-N-{3-Benzoyl-4-[(2-methylphenyl)acetylamino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (71)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (195 mg, 0.75 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-(2-methylphenyl)acetamid (258 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 303 mg (69% d. Th.)

oranger Feststoff

**Festpunkt:** 221°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3361 (w, br), 1670 (m), 1627 (m), 1598 (m), 1544 (m), 1508 (m), 1448 (w), 1402 (m), 1332 (s), 1291 (m), 1247 (m), 1199 (w), 1165 (w), 1108 (m), 969 (w), 853 (m), 752 (m), 703 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

$\delta$  (ppm) = 2.12 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.43 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.72 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.06 – 7.08 (m, 5H, arom. H), 7.36 – 7.44 (m, 3H, arom. H), 7.45 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.59 – 7.75 (m, 5H, arom. H), 7.85 – 7.97 (m, 3H, arom. H), 8.20 – 8.29 (m, 2H, arom. H), 9.98 (s, 1H, NH), 10.33 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 450°C):

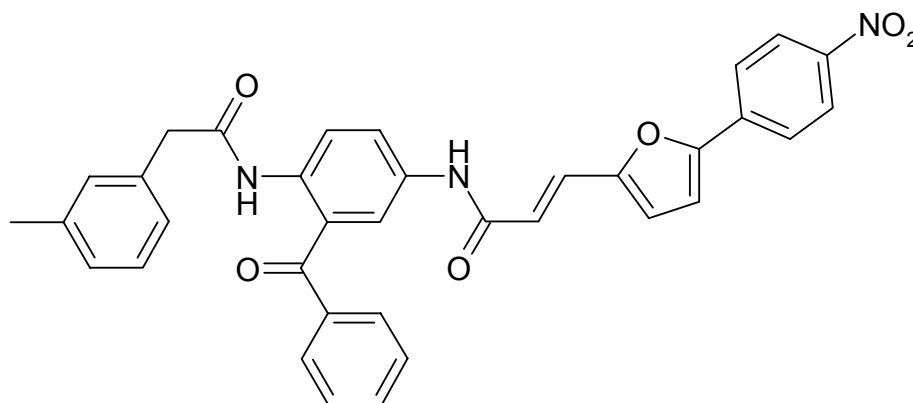
$m/z$  (%) = 585 (9,  $M^+$ ), 370 (10), 345 (21), 344 (82), 265 (10), 242 (37), 239 (21), 238 (27), 237 (10), 217 (6), 213 (17), 212 (100), 211 (38), 210 (6), 120 (8), 119 (6), 105 (24), 44 (5), 40 (7)

**Elementaranalyse:**  $C_{35}H_{27}N_3O_6$  (585.62)

ber. (%): C: 71.79 H: 4.65 N: 7.18

gef. (%): C: 71.56 H: 4.79 N: 7.28

**(E)-N-{3-Benzoyl-4-[(3-methylphenyl)acetylamino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (72)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (195 mg, 0.75 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-(3-methylphenyl)acetamid (258 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 252 mg (67% d. Th.) oranger Feststoff

**Festpunkt:** 222°C (Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3379 (w, br), 1686 (m), 1672 (m), 1628 (m), 1597 (m), 1549 (m), 1510 (s), 1448 (w), 1402 (m), 1330 (s), 1291 (m), 1247 (m), 1199 (m), 1166 (m), 1108 (m), 972 (w), 852 (m), 752 (m)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

δ (ppm) = 2.27 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.38 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.75 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.90 – 7.13 (m, 5H, arom. H), 7.40 – 7.47 (m, 4H, arom. H), 7.48 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.61 – 8.00 (m, 7H, arom. H), 8.30 – 8.32 (m, 2H, arom. H), 10.03 (s, 1H, NH), 10.36 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 400°C):

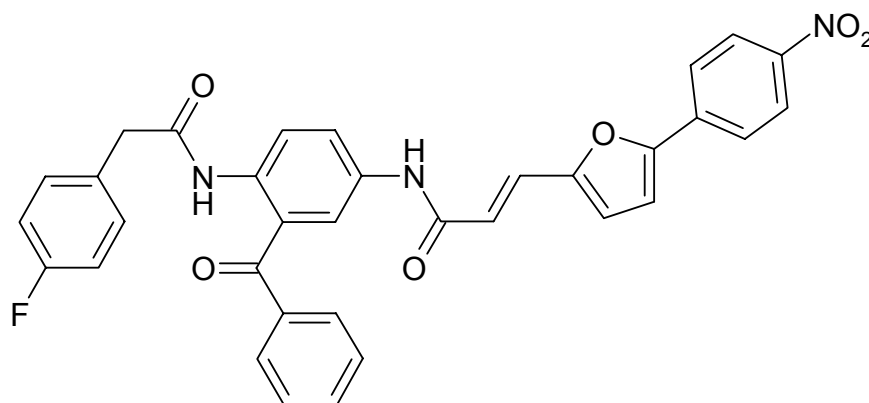
m/z (%) = 586 (24), 585 (58, M<sup>+</sup>), 480 (7), 453 (19), 345 (17), 344 (69), 326 (9), 325 (8), 243 (16), 242 (100), 238 (6), 213 (11), 212 (78), 211 (13), 210 (6), 196 (8), 105 (13), 44 (6)

**Elementaranalyse:** C<sub>35</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> (585.62)

ber. (%): C: 71.79 H: 4.65 N: 7.18

gef. (%): C: 71.69 H: 4.72 N: 7.48

**(E)-N-{3-Benzoyl-4-[(4-fluorphenyl)acetylamino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (81)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 4-Fluorphenylessigsäure **79** (93 mg, 0.6 mmol) und (E)-N-(4-Amino-3-benzoylphenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid **78** (272 mg, 0.6 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 260 mg (74% d. Th.)

oranger Feststoff

**Festpunkt:** 212°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3314 (w, br), 1684 (m), 1629 (m), 1599 (m), 1508 (s), 1402 (m), 1333 (s), 1291 (m), 1226 (m), 1198 (w), 1158 (w), 1110 (w), 853 (w), 152 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

$\delta$  (ppm) = 3.38 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.73 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.00 – 7.13 (m, 5H, arom. H), 7.37 – 7.98 (m, 11H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 8.28 – 8.29 (m, 2H, arom. H), 10.01 (s, 1H, NH), 10.34 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 440°C):

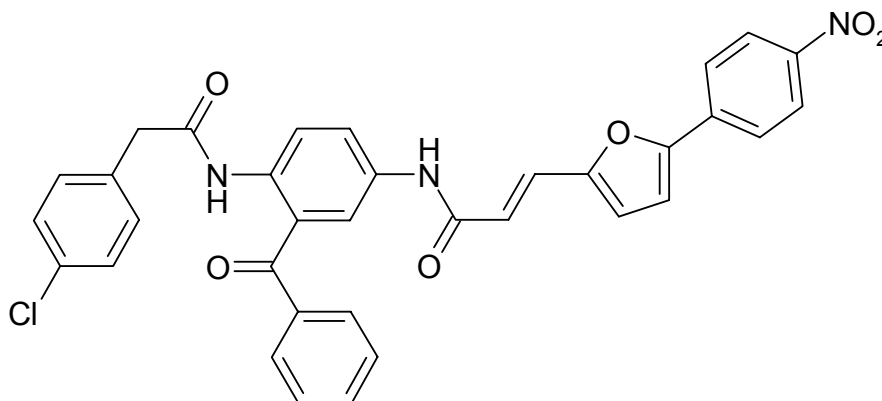
m/z (%) = 590 (15), 589 (37, M<sup>+</sup>), 404 (7), 374 (10), 349 (22), 348 (87), 268 (7), 265 (12), 243 (16), 242 (100), 239 (17), 238 (24), 237 (11), 217 (17), 213 (11), 212 (67), 211 (36), 210 (6), 196 (6), 187 (8), 124 (8), 123 (8), 109 (18), 105 (11), 95 (6), 60 (6), 44 (11), 40 (11)

**Elementaranalyse:** C<sub>34</sub>H<sub>24</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>6</sub> (589.59)

ber. (%): C: 69.27 H: 4.10 N: 7.13

gef. (%): C: 69.31 H: 4.21 N: 6.94

**(E)-N-{3-Benzoyl-4-[(4-chlorophenyl)acetyl]amino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (73)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (195 mg, 0.75 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-(4-chlorphenyl)acetamid (274 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 277 mg (61% d. Th.)

oranger Feststoff

**Festpunkt:** 219°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3386 (m, br), 1627 (w), 1599 (m), 1549 (w), 1511 (s), 1403 (w), 1333 (s), 1291 (w), 1247 (w), 854 (w), 753 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

$\delta$  (ppm) = 3.42 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.76 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.03 – 7.29 (m, 5H, arom. H), 7.40 – 7.50 (m, 3H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.56 – 7.68 (m, 4H, arom. H), 7.78 – 8.00 (m, 4H, arom. H), 8.31 – 8.33 (m, 2H, arom. H), 10.05 (s, 1H, NH), 10.38 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 420°C):

$m/z$  (%) = 607 (6, M<sup>+</sup>), 606 (7), 605 (19, M<sup>+</sup>), 390 (10), 367 (14), 366 (29), 365 (35), 364 (59), 346 (5), 282 (4), 265 (17), 264 (4), 243 (12), 242 (98), 240 (10), 239 (24), 238 (35), 237 (14), 219 (29), 217 (15), 214 (9), 213 (38), 212 (77), 211 (34), 196 (8), 187 (8), 152 (6), 144 (5), 141 (5), 140 (14), 139 (21), 131 (4), 125 (14), 124 (5), 111 (9), 105 (12), 91 (8), 89 (4), 69 (10), 57 (4), 44 (31), 43 (7), 40 (100)

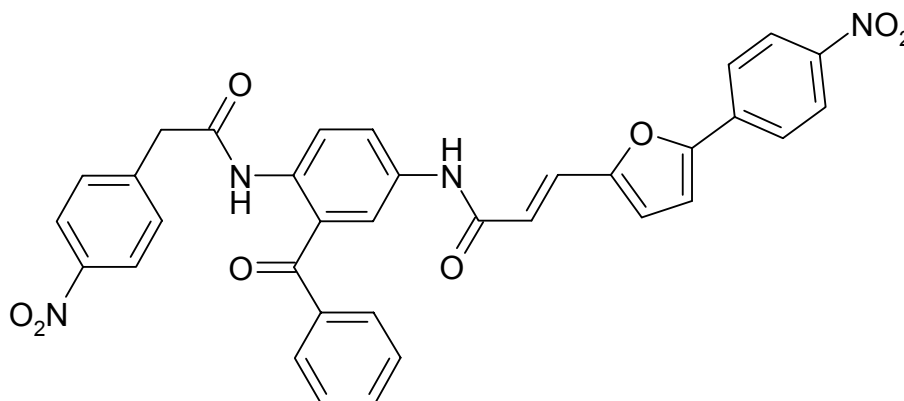
**Elementaranalyse:** C<sub>34</sub>H<sub>24</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>6</sub>

(606.04)

ber. (%): C: 67.36 H: 3.99 N: 6.93

gef. (%): C: 67.29 H: 4.04 N: 6.89

**(E)-N-{3-Benzoyl-4-[(4-nitrophenyl)acetylamino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (82)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 4-Nitrophenylessigsäure (109 mg, 0.6 mmol) **80** und (E)-N-(4-Amino-3-benzoylphenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid **78** (272 mg, 0.6 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 309 mg (84% d. Th.)

rot – brauner Feststoff

**Festpunkt:** 240°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3377 (w, br), 1686 (m), 1684 (w), 1682 (w), 1598 (m), 1516 (s), 1447 (w), 1332 (s), 1292 (m), 1246 (m), 1197 (w), 1166 (w), 1109 (w), 853 (w), 733 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

$\delta$  (ppm) = 3.53 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.71 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.97 – 6.98 (m, 1H, arom. H), 7.30 – 7.62 (m, 10H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.72 – 8.04 (m, 5H, arom. H), 8.25 – 8.27 (m, 2H, arom. H), 10.08 (s, 1H, NH), 10.33 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 300°C):

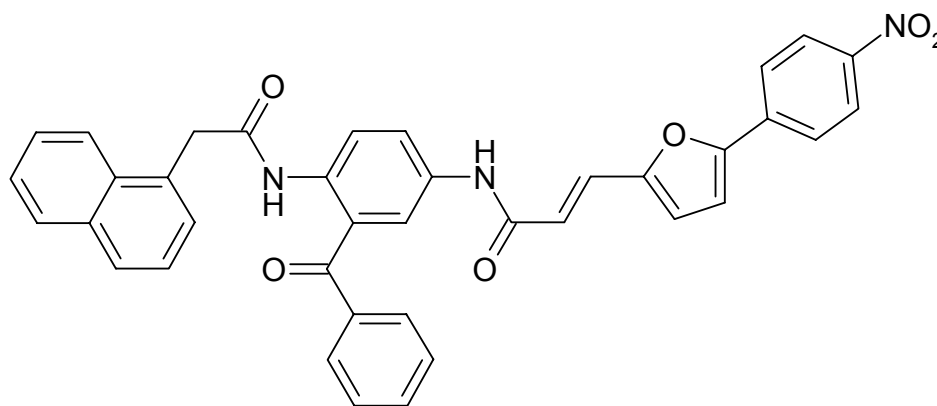
m/z (%) = 616 (1, M<sup>+</sup>), 454 (11), 453 (33), 411 (4), 383 (8), 382 (8), 376 (8), 375 (31), 358 (20), 357 (79), 356 (43), 345 (11), 344 (4), 342 (4), 341 (12), 336 (6), 310 (14), 309 (4), 282 (5), 259 (4), 243 (11), 242 (64), 240 (5), 239 (10), 238 (19), 237 (10), 217 (16), 216 (4), 213 (18), 212 (100), 211 (53), 210 (9), 196 (13), 195 (6), 193 (5), 187 (5), 185 (4), 167 (11), 161 (4), 159 (4), 151 (16), 150 (22), 137 (11), 130 (4), 120 (13), 115 (5), 107 (6), 106 (6), 105 (22), 104 (5), 92 (6), 91 (5), 77 (13), 64 (10), 51 (5), 44 (53)

**Elementaranalyse:** C<sub>34</sub>H<sub>24</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub> (616.5)

ber. (%): C: 66.23 H: 3.92 N: 9.09

gef. (%): C: 66.47 H: 3.87 N: 8.87

**(E)-N-[3-Benzoyl-4-(1-naphthylacetylamino)phenyl]-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (74)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (195 mg, 0.75 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-(1-naphthyl)acetamid (286 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 322 mg (69% d. Th.)

oranger Feststoff

**Festpunkt:** 227°C

(Ethanol)



**IR** (KBr):

$\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3360 (w, br), 1668 (m), 1626 (m), 1598 (s), 1543 (s), 1510 (s), 1448 (m), 1402 (m), 1333 (s), 1291 (m), 1247 (m), 1198 (m), 1166 (m), 1108 (m), 967 (w), 853 (m), 779 (m), 694 (w)

 **$^1\text{H-NMR}$**  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz, 50°C):

$\delta$  (ppm) = 3.89 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.71 (d,  $J = 16$  Hz, 1H, =CH), 6.97 – 6.98 (m, 1H, arom. H), 7.27 – 7.57 (m, 7H, arom. H und d,  $J = 16$  Hz, 1H, =CH), 7.59 – 7.95 (m, 11H, arom. H), 8.26 – 8.28 (m, 2H, arom. H), 10.13 (s, 1H, NH), 10.32 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 400°C):

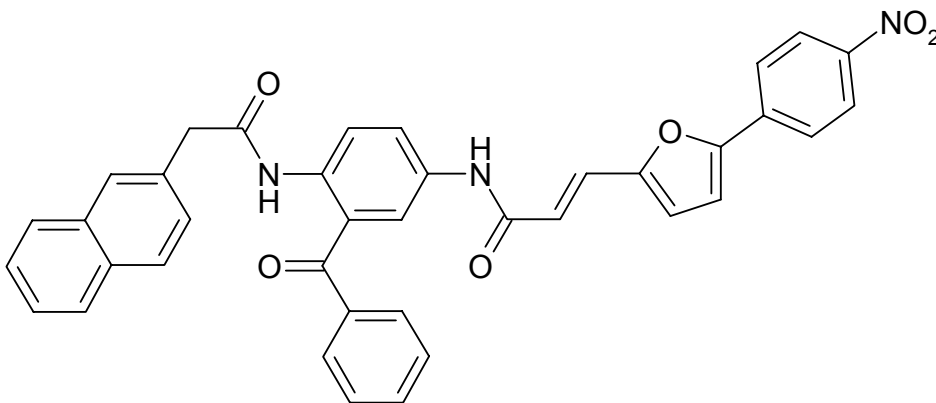
$m/z$  (%) = 621 (1,  $\text{M}^+$ ), 453 (10), 406 (5), 381 (22), 380 (78), 362 (7), 265 (12), 242 (21), 240 (8), 239 (39), 238 (23), 217 (8), 213 (16), 212 (100), 211 (37), 210 (6), 187 (7), 161 (7), 156 (22), 155 (12), 142 (8), 141 (25), 128 (14), 127 (13), 105 (13)

**Elementaranalyse:**  $\text{C}_{38}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_6$  (621.66)

ber. (%): C: 73.42 H: 4.38 N: 6.76

gef. (%): C: 73.53 H: 4.53 N: 6.85

**(E)-N-[3-Benzoyl-4-(2-naphthylacetyl)amino]phenyl]-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (75)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (195 mg, 0.75 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-(2-naphthyl)acetamid (286 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 342 mg (73% d. Th.)

oranger Feststoff

**Festpunkt:** 209°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3309 (w, br), 1734 (m), 1718 (m), 1700 (m), 1697 (m), 1684 (m), 1680 (m), 1670 (m), 1663 (m), 1653 (m), 1647 (m), 1636 (m), 1628 (m), 1618 (m), 1598 (m), 1577 (m), 1569 (m), 1559 (m), 1550 (m), 1540 (m), 1534 (m), 1508 (s), 1473 (m), 1465 (m), 1457 (m), 1448 (m), 1437 (m), 1419 (m), 1401 (m), 1374 (m), 1332 (s), 1290 (m), 1246 (m), 1199 (m), 1166 (m), 1108 (m), 969 (m), 853 (m), 799 (m), 752 (m), 710 (m)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

$\delta$  (ppm) = 3.57 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.76 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.03 – 7.04 (m, 1H, aromat. H), 7.36 – 7.28 (m, 1H, aromat. H), 7.41 – 8.00 (m, 17H, aromat. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 8.31 – 8.33 (m, 2H, aromat. H), 10.13 (s, 1H, NH), 10.38 (m, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 400°C):

$m/z$  (%) = 621 (1, M<sup>+</sup>), 453 (9), 406 (5), 388 (5), 387 (5), 381 (21), 380 (74), 362 (11), 265 (8), 242 (22), 240 (5), 239 (25), 238 (27), 217 (15), 213 (16), 212 (100), 211 (36), 210 (6), 187 (6), 186 (5), 168 (24), 161 (5), 157 (5), 156 (41), 155 (31), 141 (26), 140 (8), 139 (6), 128 (7), 127 (27), 105 (10), 44 (7), 40 (11)

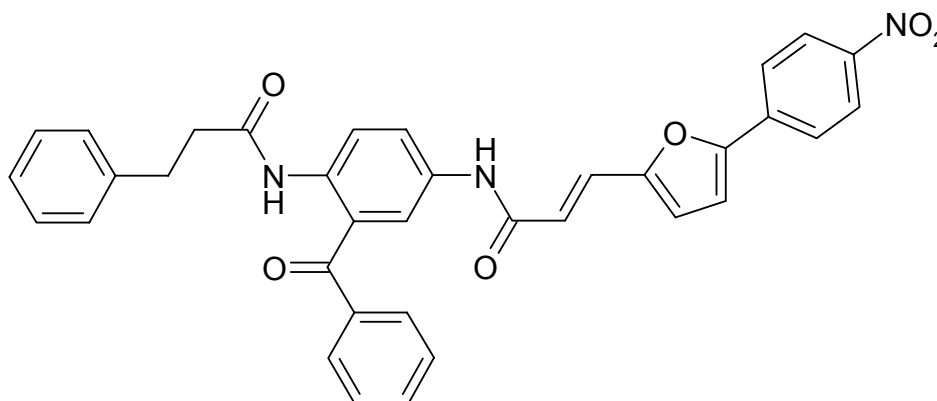
**Elementaranalyse:** C<sub>38</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>

(621.66)

ber. (%): C: 73.42 H: 4.38 N: 6.76

gef. (%): C: 73.39 H: 4.52 N: 6.84

**(E)-N-{3-Benzoyl-4-[(3-phenylpropionyl)amino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (76)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (195 mg, 0.75 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-3-phenylpropionsäureamid (258 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 221 mg (50% d. Th.)

rot – brauner Feststoff

**Festpunkt:** 204°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3379 (w, br), 1684 (w), 1627 (m), 1598 (m), 1544 (w), 1511 (s), 1449 (w), 1402 (w), 1332 (s), 1247 (w), 1198 (w), 853 (w), 752 (w), 700 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

$\delta$  (ppm) = 2.31 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.60 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.77 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.04 – 7.24 (m, 6H, arom. H), 7.40 – 7.52 (m, 4H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.61 – 7.80 (m, 4H, arom. H), 7.88 – 7.90 (m, 3H, arom. H), 8.31 – 8.33 (m, 2H, arom. H), 9.87 (s, 1H, NH), 10.37 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 420°C):

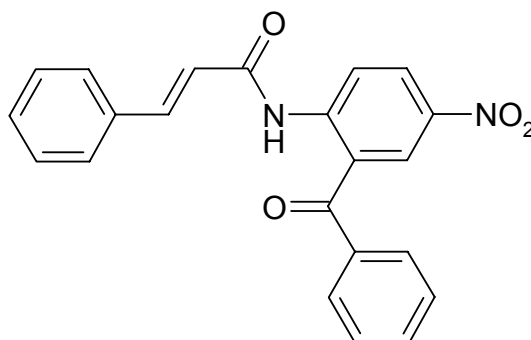
$m/z$  (%) = 585 (8, M<sup>+</sup>), 370 (7), 345 (21), 344 (68), 242 (22), 238 (16), 237 (8), 213 (22), 212 (100), 211 (41), 210 (6), 105 (10), 91 (6)

**Elementaranalyse:** C<sub>35</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> (585.62)

ber. (%): C: 71.79 H: 4.65 N: 7.18

gef. (%): C: 71.88 H: 4.61 N: 7.19

**N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)zimtsäureamid (64)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus Zimtsäure (592 mg, 4.0 mmol) und 2-Amino-5-nitrobenzophenon **38** (969 mg, 4.0 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 698 mg (74% d. Th.)

weißer Feststoff

**Festpunkt:** 145°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3239 (w, br), 1690 (m), 1627 (s), 1597 (m), 1579 (m), 1541 (m), 1502 (s), 1450 (w), 1410 (m), 1344 (s), 1276 (m), 1260 (m), 1180 (w), 1161 (m), 1149 (s), 957 (w), 876 (w), 762 (m)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 19.3°C):

$\delta$  (ppm) = 6.65 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.34 – 7.35 (m, 3H, arom. H), 7.49 – 7.54 (m, 4H, arom. H), 7.61 – 7.68 (m, 3H, arom. H), 7.74 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 3.38 – 3.47 (m, 2H, arom. H), 9.01 – 9.03 (m, 1H, arom. H), 11.41 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 170°C):

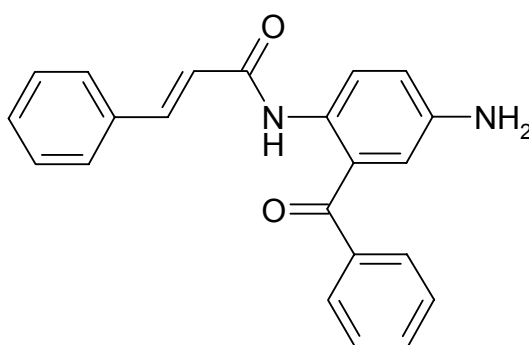
$m/z$  (%) = 373 (8), 372 (30,  $M^+$ ), 132 (11), 131 (100), 103 (16)

**Elementaranalyse:**  $C_{22}H_{16}N_2O_4$  (372.38)

ber. (%): C: 70.96 H: 4.33 N: 7.52

gef. (%): C: 70.72 H: 4.38 N: 7.39

**N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)zimtsäureamid (66)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus *N*-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-zimtsäureamid **64** (633 mg, 1.7 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (1.95 g, 8.5 mmol).

**Ausbeute:** 535 mg (92% d. Th.)

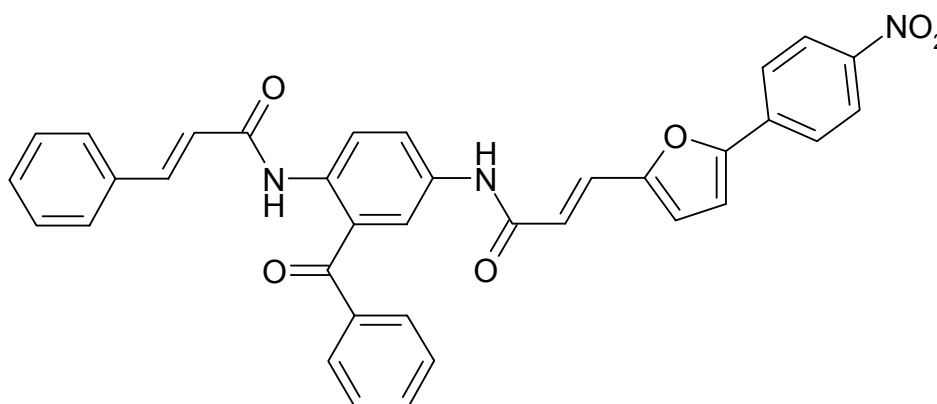
orange – braunes Öl

$C_{22}H_{18}N_2O_2$  (342.4)

**$^1H$ -NMR** ( $CDCl_3$ , 500 MHz, 20.2°C):

$\delta$  (ppm) = 3.65 (s, 2H,  $NH_2$ ), 6.56 (d,  $J$  = 16 Hz, 1H, =CH), 7.22 – 7.36 (m, 3H, arom. H), 7.49 – 7.70 (m, 7H, arom. H), 7.71 (d,  $J$  = 16 Hz, 1H, =CH), 8.38 – 8.47 (m, 2H, arom. H), 9.01 – 9.03 (m, 1H, arom. H), 11.41 (s, 1H, NH)

**(E)-N-[3-Benzoyl-4-(cinnamoylamino)phenyl]-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (77)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (195 mg, 0.75 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-zimtsäureamid **66** (257 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 247 mg (56% d. Th.)

oranger Feststoff

**Festpunkt:** 265°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3309 (w, br), 1700 (m), 1684 (m), 1677 (m), 1654 (m), 1628 (m), 1599 (m), 1577 (m), 1544 (s), 1508 (s), 1457 (m), 1449 (m), 1402 (m), 1335 (s), 1287 (m), 1243 (m), 1198 (m), 1172 (m), 1110 (m), 1031 (m), 991 (m), 971 (m), 854 (m), 752 (m)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

$\delta$  (ppm) = 6.65 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.76 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.01 – 7.12 (m, 1H, arom. H), 7.32 – 7.39 (m, 10H, arom. H), 7.40 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.50 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.53 – 8.07 (m, 6H, arom. H), 8.30 – 8.32 (m, 2H, arom. H), 10.17 (s, 1H, NH), 10.39 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 360°C):

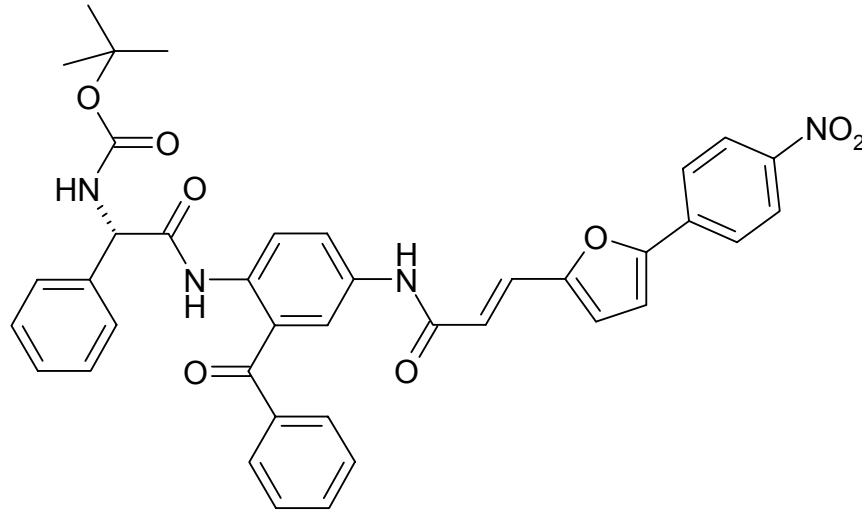
m/z (%) = 584 (8), 583 (21, M<sup>+</sup>), 368 (15), 343 (17), 342 (73), 331 (12),  
243 (13), 242 (95), 238 (14), 217 (7), 213 (14), 212 (100), 211 (21), 196 (6),  
189 (5), 132 (10), 131 (88), 105 (7), 103 (14), 44 (7), 40 (27)

**Elementaranalyse:** C<sub>35</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> (583.61)

ber. (%): C: 72.03 H: 4.32 N: 7.20

gef. (%): C: 72.06 H: 4.41 N: 7.15

**(E-S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-N-tert.-butoxycarbonylphenylglycinamid (93)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **F** aus Boc-L-Phenylglycin (302 mg, 1.2 mmol), (E)-N-(4-Amino-3-benzoylphenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid **78** (544 mg, 1.2 mmol) und Phosphoroxychlorid (0.12 ml, 1.32 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 585 mg (71% d. Th.)

oranger Feststoff

**Festpunkt:** 163°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3367 (w, br), 1686 (m), 1624 (m), 1599 (s), 1511 (s), 1454 (m), 1333 (s), 1290 (m), 1245 (m), 1198 (m), 1163 (m), 1109 (m), 1027 (w), 967 (w), 854 (m), 796 (w), 753 (m), 696 (m)



**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

δ (ppm) = 1.34 (s, 9H, 3 CH<sub>3</sub>), 5.19 (s, 1H, CH-N), 6.74 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.01 – 7.02 (m, 1H, arom. H), 7.21 – 7.70 (m, 12H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.82 – 7.84 (m, 2H, arom. H), 7.88 (s, 1H, NH), 7.97 – 8.00 (m, 2H, arom. H), 8.30 – 8.32 (m, 2H, arom. H), 10.37 (s, 1H, NH), 10.48 (s, 1H, NH)

**MS** (FAB):

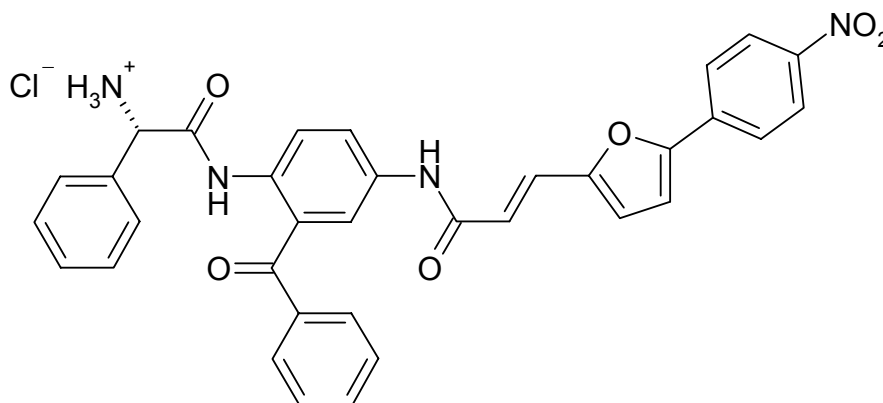
m/z (%) = 687 (100, [M+H]<sup>+</sup>), 670 (2), 631 (23), 587 (90), 570 (18), 542 (8), 480 (63), 454 (63), 453 (38)

**Elementaranalyse:** C<sub>39</sub>H<sub>34</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub> (686.73)

ber. (%): C: 68.21 H: 4.99 N: 8.16

gef. (%): C: 68.48 H: 4.96 N: 7.88

**(E-S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}-phenyl)phenylglycinamidhydrochlorid (106)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **G** aus (E-S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-N-tert.-butoxycarbonylphenylglycinamid **93** (342 mg, 0.5 mmol) und HCl / Dioxan (10 ml).

**Ausbeute:** 195 mg (66% d. Th.)

orange – roter Feststoff

**Festpunkt:** 211°C

(Aceton)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3374 (w, br), 1698 (w), 1625 (m), 1598 (s), 1554 (m), 1511 (s), 1403 (m), 1332 (s), 1291 (m), 1247 (m), 1180 (m), 1107 (m), 966 (m), 852 (m), 751 (w), 695 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz, 49.8°C):

$\delta$  (ppm) = 5.17 (s, 1H, CH-N), 6.80 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.02 – 7.03 (m, 1H, aromat. H), 7.39 – 7.77 (m, 14H, aromat. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.91 – 8.01 (m, 2H, aromat. H), 8.30 – 8.32 (m, 2H, aromat. H), 8.69 (s, 3H, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 10.58 (s, 1H, NH), 10.75 (s, 1H, NH)

**<sup>13</sup>C-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 125 MHz, 24.2°C):

$\delta$  (ppm) = 55.64 (C-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 112.85 (1 Aryl-C), 117.38 (1 Aryl-C), 119.75 (1 Aryl-C), 120.79 (=CH), 121.72 (1 Aryl-C), 124.14 (1 Aryl-C), 124.48 (2 Aryl-C), 124.53 (2 Aryl-C), 126.74 (=CH), 128.06 (2 Aryl-C), 128.29 (2 Aryl-C), 128.70 (2 Aryl-C), 129.12 (1 Aryl-C), 129.81 (2 Aryl-C), 130.03 (1 q Aryl-C), 131.65 (1 q Aryl-C), 132.93 (1 Aryl-C), 132.98 (1 q Aryl-C), 135.13 (1 q Aryl-C), 136.04 (1 q Aryl-C), 136.44 (1 q Aryl-C), 146.38 (1 q Aryl-C), 152.24 (1 q Aryl-C), 152.38 (1 q Aryl-C), 163.27 (NH-C=O), 165.53 (NH-C=O), 193.96 (C=O)

**MS** (ESI):

m/z (%) = 587 (100, M<sup>+</sup>), 569 (16), 454 (4), 106 (5)

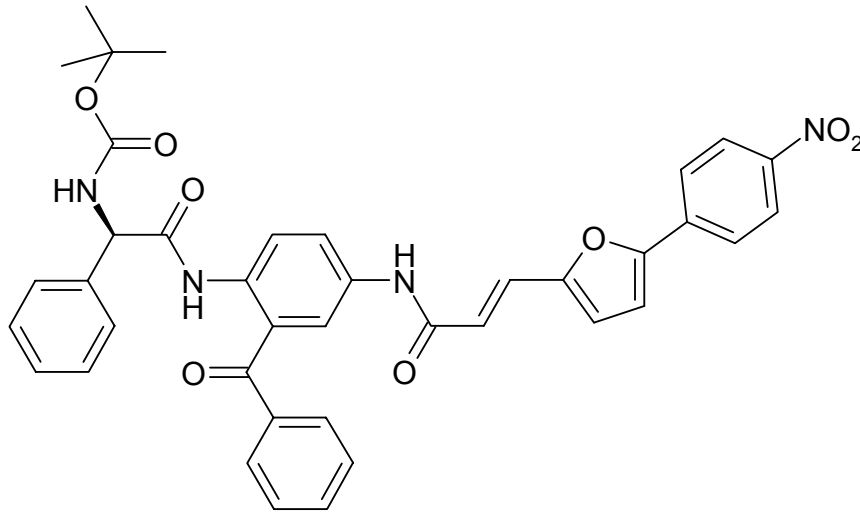
**Elementaranalyse:** C<sub>34</sub>H<sub>26</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub> · HCl

(587.62 + 35.45)

ber. (%): C: 65.54 H: 4.37 N: 8.99

gef. (%): C: 65.26 H: 4.46 N: 8.77

**(E-R)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-N-tert.-butoxycarbonylphenylglycinamid (94)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **F** aus Boc-D-Phenylglycin (302 mg, 1.2 mmol), (E)-N-(4-Amino-3-benzoylphenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid **78** (544 mg, 1.2 mmol) und Phosphoroxychlorid (0.12 ml, 1.32 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 461 mg (56% d. Th.)

oranger Feststoff

**Festpunkt:** 163°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3369 (w, br), 1676 (m), 1622 (m), 1599 (s), 1512 (s), 1402 (w), 1333 (s), 1289 (m), 1244 (m), 1199 (m), 1162 (s), 1109 (w), 854 (m), 753 (w), 695 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

$\delta$  (ppm) = 1.33 (s, 9H, 3 CH<sub>3</sub>), 5.17 (s, 1H, CH-N), 6.72 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.00 – 7.01 (m, 1H, arom. H), 7.24 – 7.69 (m, 12H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.81 – 7.82 (m, 2H, arom. H), 7.87 (s, 1H, NH), 7.96 – 7.97 (m, 2H, arom. H), 8.28 – 8.30 (m, 2H, arom. H), 10.35 (s, 1H, NH), 10.47 (s, 1H, NH)

**MS (FAB):**

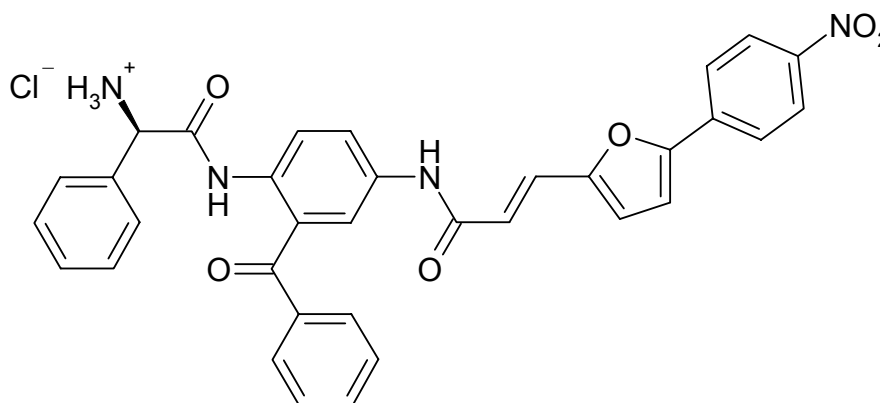
$m/z$  (%) = 687 (46,  $[M+H]^+$ ), 631 (18), 587 (76), 570 (28), 542 (8), 408 (68), 454 (100), 453 (23)

**Elementaranalyse:**  $C_{39}H_{34}N_4O_8$  (686.73)

ber. (%): C: 68.21 H: 4.99 N: 8.16

gef. (%): C: 67.92 H: 4.85 N: 8.02

**(E-R)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}-phenyl)phenylglycinamidhydrochlorid (107)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **G** aus (E-R)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-N-tert.-butoxycarbonylphenylglycinamid **94** (275 mg, 0.4 mmol) und HCl / Dioxan (10 ml).

**Ausbeute:** 205 mg (82% d. Th.)

rot – brauner Feststoff

**Festpunkt:** 211°C

(Aceton)

**IR (KBr):**

$\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3368 (w, br), 1699 (w), 1625 (m), 1598 (m), 1550 (m), 1510 (s), 1402 (m), 1332 (s), 1292 (m), 1246 (m), 1181 (w), 751 (w), 695 (m)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz, 49.8°C):

δ (ppm) = 5.16 (s, 1H, CH-N), 6.80 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.03 – 7.04 (m, 1H, arom. H), 7.39 – 7.77 (m, 14H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.91 – 8.01 (m, 2H, arom. H), 8.30 – 8.33 (m, 2H, arom. H), 8.68 (s, 3H, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 10.56 (s, 1H, NH), 10.72 (m, 1H, NH)

**<sup>13</sup>C-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 125 MHz, 26.3°C):

δ (ppm) = 55.12 (C-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 113.32 (1 Aryl-C), 117.82 (1 Aryl-C), 120.25 (1 Aryl-C), 121.30 (=CH), 122.20 (1 Aryl-C), 124.63 (1 Aryl-C), 124.97 (2 Aryl-C), 125.00 (2 Aryl-C), 127.21 (=CH), 128.53 (2 Aryl-C), 128.77 (2 Aryl-C), 129.17 (2 Aryl-C), 129.59 (1 Aryl-C), 130.28 (2 Aryl-C), 130.53 (1 q Aryl-C), 132.14 (1 q Aryl-C), 133.40 (1 Aryl-C), 133.46 (1 q Aryl-C), 135.61 (1 q Aryl-C), 136.53 (1 q Aryl-C), 136.93 (1 q Aryl-C), 146.87 (1 q Aryl-C), 152.72 (1 q Aryl-C), 152.88 (1 q Aryl-C), 163.76 (NH-C=O), 166.02 (NH-C=O), 194.45 (C=O)

**MS** (ESI):

m/z (%) = 587 (100, M<sup>+</sup>), 569 (17), 515 (4), 454 (4), 391 (4), 337 (4), 273 (6), 243 (3), 180 (3), 115 (27), 106 (9)

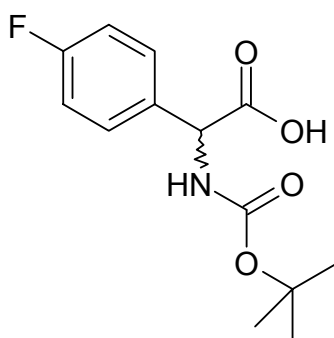
**Elementaranalyse:** C<sub>34</sub>H<sub>26</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub> · HCl

(587.62 + 35.45)

ber. (%): C: 65.54 H: 4.37 N: 8.99

gef. (%): C: 65.32 H: 4.59 N: 9.18

**(R,S)-tert.-Butoxycarbonyl-4-fluorphenylglycin (91)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **E** aus D,L-4-Fluorphenylglycin (507 mg, 3.0 mmol) und Di-tert.-Butylpyrocarbonat (720 mg, 3.3 mmol).

**Ausbeute:** 507 mg (63% d. Th.)

weißer Feststoff

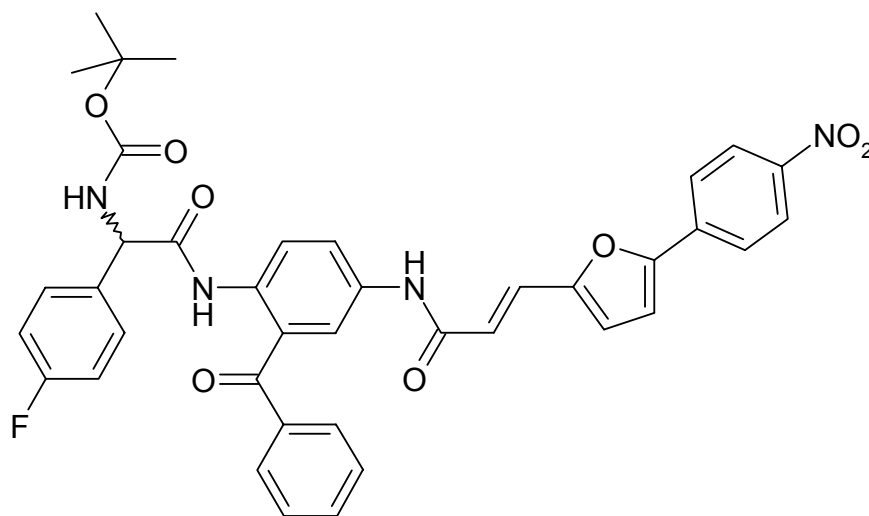
C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>FNO<sub>4</sub> (269.28)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 19.9°C):

δ (ppm) = 1.14 (s, 9H, 3 CH<sub>3</sub>), 5.03 (s, 1H, CH-N), 6.96 – 7.07 (m, 2H, arom. H), 7.32 – 7.34 (m, 2H, arom. H), 8.05 (s, 1H, NH)

Das Proton der Carbonsäure ist nicht sichtbar.

**(E-R,S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}-phenyl)-N-tert.-butoxycarbonyl-4-fluorphenylglycinamid (95)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **F** aus (R,S)-tert.-Butoxycarbonyl-4-fluorphenylglycin **91** (323 mg, 1.2 mmol), (E)-N-(4-Amino-3-benzoylphenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid **78** (544 mg, 1.2 mmol) und Phosphoroxchlorid (0.12 ml, 1.32 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 571 mg (68% d. Th.)

roter Feststoff

**Festpunkt:** 196°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3414 (br, w), 1685 (m), 1627 (m), 1600 (m), 1510 (s), 1403 (w), 1334 (s), 1292 (w), 1231 (m), 1163 (m), 1110 (w), 854 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

$\delta$  (ppm) = 1.34 (s, 9H, 3 CH<sub>3</sub>), 5.20 (s, 1H, CH-N), 6.74 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.01 – 7.10 (m, 3H, arom. H), 7.33 – 7.50 (m, 6H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.60 – 7.82 (m, 5H, arom. H), 7.89 (s, 1H, NH), 7.97 – 8.00 (m, 2H, arom. H), 8.29 – 8.31 (m, 2H, arom. H), 10.37 (s, 1H, NH), 10.44 (s, 1H, NH)

**MS** (FAB):

m/z (%) = 705 (100, [M+H]<sup>+</sup>), 649 (18), 605 (45), 588 (25), 480 (30), 454 (55), 453 (20)

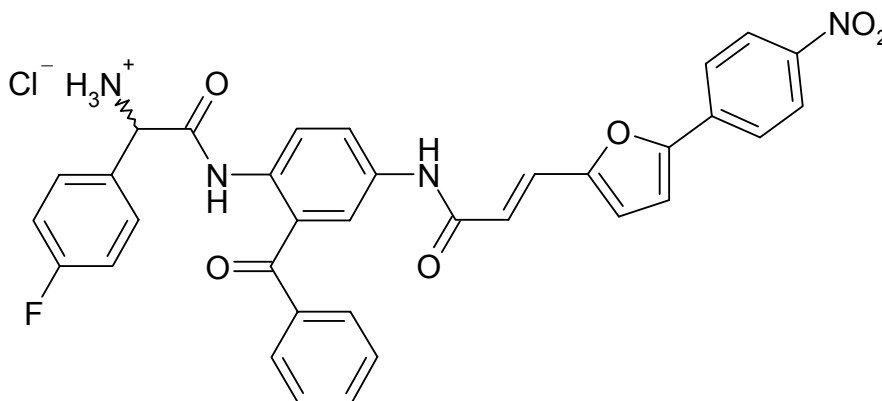
**Elementaranalyse:** C<sub>39</sub>H<sub>33</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>8</sub>

(704.72)

ber. (%): C: 66.47 H: 4.72 N: 7.95

gef. (%): C: 66.23 H: 4.70 N: 7.65

**(E-R,S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}-phenyl)-4-fluorphenylglycinamidhydrochlorid (108)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **G** aus (E-R,S)-*N*-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-*N*-tert.-butoxycarbonyl-4-fluorphenylglycinamid **95** (350 mg, 0.5 mmol) und HCl / Dioxan (10 ml).

**Ausbeute:** 229 mg (75% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 233°C

(Aceton)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3373 (w, br), 1861 (w), 1626 (m), 1599 (s), 1547 (s), 1511 (s), 1403 (m), 1334 (s), 1292 (m), 1237 (m), 1197 (w), 1165 (w), 1109 (w), 852 (w), 752 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz, 50°C):

$\delta$  (ppm) = 5.19 (s, 1H, CH-N), 6.80 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.01 – 7.21 (m, 3H, arom. H), 7.39 – 7.78 (m, 10H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.91 – 8.01 (m, 3H, arom. H), 8.30 – 8.32 (m, 2H, arom. H), 8.69 (s, 3H, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 10.57 (s, 1H, NH), 10.76 (s, 1H, NH)

**<sup>13</sup>C-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 125 MHz, 23.9°C):

$\delta$  (ppm) = 54.81 (C-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 112.86 (1 Aryl-C), 115.48 (1 Aryl-C), 115.65 (1 Aryl-C), 117.37 (1 Aryl-C), 119.66 (1 Aryl-C), 120.82 (=CH), 121.66 (1 Aryl-C), 124.25 (1 Aryl-C), 124.49 (2 Aryl-C), 124.45 (2 Aryl-C), 126.74 (=CH), 128.28 (1 Aryl-C), 129.19 (1 q Aryl-C), 129.72 (2 Aryl-C), 129.84 (1 q Aryl-C), 130.30 (2 Aryl-C), 130.37 (1 Aryl-C), 131.91 (1 q Aryl-C), 132.86 (1 Aryl-C), 135.14 (1 q Aryl-C), 136.20 (1 q Aryl-C), 136.33 (1 q Aryl-C), 146.38 (1 q Aryl-C), 152.24 (1 q Aryl-C), 152.40 (1 q Aryl-C), 161.45 (1 q Aryl-C), 163.28 (NH-C=O), 165.41 (NH-C=O), 193.84 (C=O)

**MS** (ESI):

*m/z* (%) = 605 (100, M<sup>+</sup>), 588 (26), 525 (3), 515 (4), 481 (4), 454 (6), 437 (5), 393 (5), 349 (3), 271 (4), 186 (4), 123 (3)

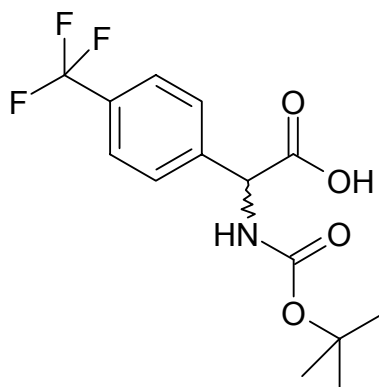


**Elementaranalyse:**  $C_{34}H_{25}FN_4O_6 \cdot HCl$  (605.61 + 35.45)

ber. (%): C: 63.70 H: 4.09 N: 8.74

gef. (%): C: 63.98 H: 4.33 N: 8.68

**(R,S)-tert.-Butoxycarbonyl-4-trifluormethylphenylglycin (92)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **E** aus D,L-4-Trifluormethylphenylglycin (657 mg, 3.0 mmol) und Di-tert.-Butylpyrocarbonat (720 mg, 3.3 mmol).

**Ausbeute:** 882 mg (92% d. Th.)

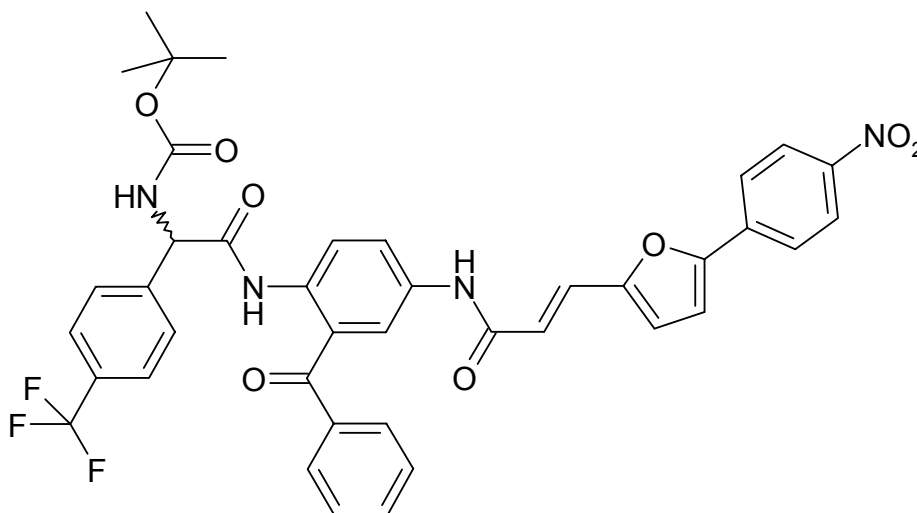
weißer Feststoff

$C_{14}H_{16}F_3NO_4$  (319.28)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO- $d_6$ , 500 MHz, 24.5°C):

$\delta$  (ppm) = 1.34 (s, 9H, 3 CH<sub>3</sub>), 5.49 (d, J = 8 Hz, 1H, CH-N), 7.39 – 7.73 (m, 4H, arom. H), 7.79 (d, J = 8 Hz, 1H, NH), 12.96 (s, 1H, OH)

**(E-R,S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}-phenyl)-N-tert.-butoxycarbonyl-4-trifluormethylphenylglycinamid (96)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **F** aus (R,S)-tert.-Butoxycarbonyl-4-trifluormethylphenylglycin **92** (382 mg, 1.2 mmol), (E)-N-(4-Amino-3-benzoyl-phenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid **78** (544 mg, 1.2 mmol) und Phosphoroxychlorid (0.12 ml, 1.32 mmol). Das Produkt fällt beim Eingießen in Eiswasser aus, wird abgesaugt und mehrmals mit destilliertem Wasser gewaschen.

**Ausbeute:** 562 mg (62% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 168°C

(dest. Wasser)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3314 (w, br), 1691 (m), 1627 (m), 1599 (m), 1513 (s), 1403 (w), 1333 (s), 1314 (s), 1247 (m), 1157 (m), 1109 (m), 1037 (w), 852 (w), 752 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 24.7°C):

$\delta$  (ppm) = 1.38 (s, 9H, 3 CH<sub>3</sub>), 5.56 (d, J = 8 Hz, 1H, CH-N), 6.75 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.04 – 7.05 (m, 1H, arom. H), 7.40 – 7.59 (m, 6H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.64 – 7.79 (m, 4H, arom. H), 7.89 – 8.05 (m, 4H, arom. H), 8.17 (d, J = 8 Hz, 1H, NH), 8.33 – 8.35 (m, 2H, arom. H), 8.64 (m, 1H, arom. H), 10.51 (s, 1H, NH), 10.94 (s, 1H, NH)

**MS (FAB):**

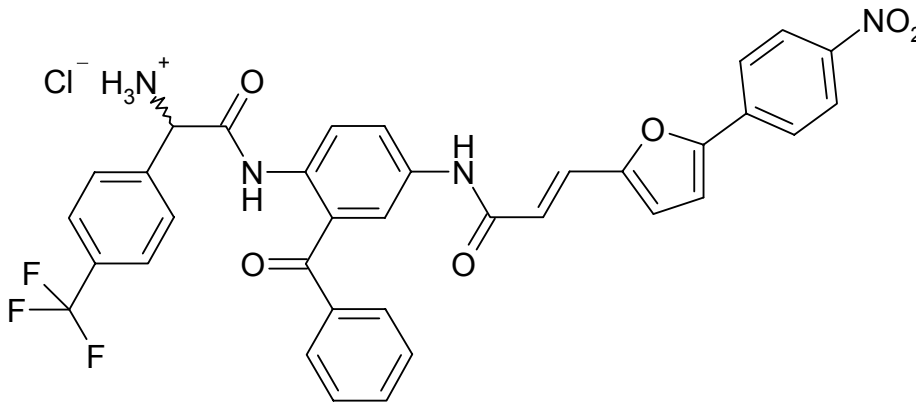
$m/z$  (%) = 755 (21,  $[M+H]^+$ ), 754 (20,  $M^+$ ), 655 (47), 454 (100), 438 (18), 353 (11), 264 (27), 242 (100), 196 (59)

**Elementaranalyse:**  $C_{40}H_{33}F_3N_4O_8$  (754.73)

ber. (%): C: 63.66 H: 4.41 N: 7.42

gef. (%): C: 63.31 H: 4.39 N: 7.39

**(E-R,S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}-phenyl)-4-trifluormethylphenylglycinamidhydrochlorid (109)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **G** aus (E-R,S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-N-tert.-butoxycarbonyl-4-trifluormethylphenylglycinamid **96** (319 mg, 0.42 mmol) und HCl / Dioxan (10 ml).

**Ausbeute:** 120 mg (41% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 224°C

(Aceton)

**IR (KBr):**

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3371 (w, br), 1698 (w), 1678 (m), 1624 (m), 1599 (m), 1547 (s), 1510 (s), 1402 (m), 1335 (s), 1315 (s), 1244 (m), 1123 (m), 1036 (w), 852 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 24.4°C):

δ (ppm) = 5.14 (s, 1H, CH-N), 6.84 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.05 – 7.06 (m, 1H, arom. H), 7.40 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.43 – 7.51 (m, 3H, arom. H), 7.60 – 7.71 (m, 6H, arom. H), 7.74 – 7.77 (m, 1H, arom. H), 7.83 – 7.87 (m, 2H, arom. H), 7.98 – 8.02 (m, 3H, arom. H), 8.32 – 8.34 (m, 2H, arom. H), 9.00 (s, 3H, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 10.46 (s, 1H, NH), 10.75 (s, 1H, NH)

**<sup>13</sup>C-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 125 MHz, 25.6°C):

δ (ppm) = 52.57 (C-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 113.45 (1 Aryl-C), 118.01 (1 Aryl-C), 120.16 (1 Aryl-C), 121.23 (1 Aryl-C), 121.34 (=CH), 122.90 (1 Aryl-C), 125.02 (2 Aryl-C), 125.13 (2 Aryl-C), 125.41 (CF<sub>3</sub>), 127.15 (1 Aryl-C), 127.40 (=CH), 128.92 (2 Aryl-C), 130.25 (2 Aryl-C), 130.63 (1 q Aryl-C), 130.88 (1 Aryl-C), 131.00 (1 Aryl-C), 131.18 (1 q Aryl-C), 131.26 (1 q Aryl-C), 133.47 (1 Aryl-C), 133.73 (1 Aryl-C), 135.72 (1 q Aryl-C), 136.88 (1 q Aryl-C), 137.15 (1 q Aryl-C), 146.99 (1 q Aryl-C), 152.85 (1 q Aryl-C), 152.98 (1 q Aryl-C), 153.03 (1 q Aryl-C), 163.94 (NH-C=O), 165.40 (NH-C=O), 195.65 (C=O)

**MS** (FAB):

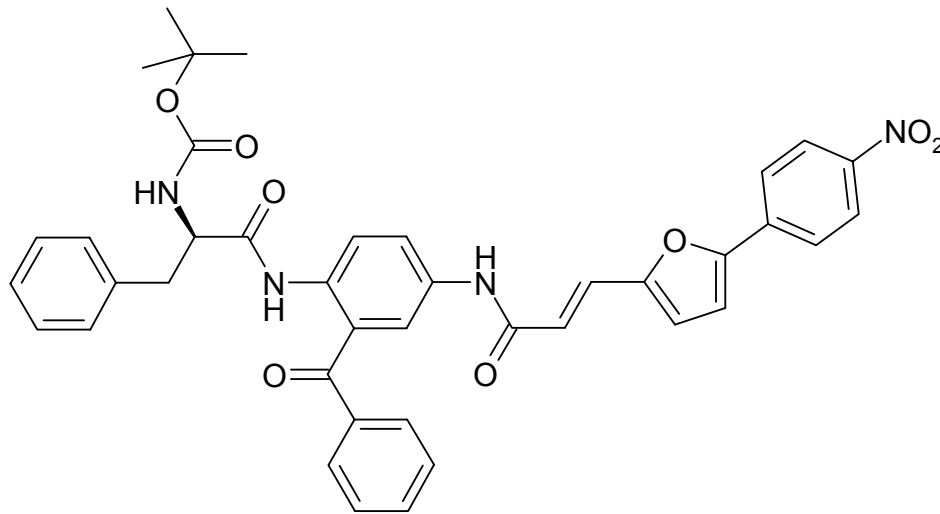
m/z (%) = 654 (100, M<sup>+</sup>), 480 (10), 454 (41), 391 (10), 242 (62), 212 (26)

**Elementaranalyse:** C<sub>35</sub>H<sub>25</sub>F<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub> · HCl (654.61 + 35.45)

ber. (%): C: 60.83 H: 3.79 N: 8.88

gef. (%): C: 60.61 H: 3.84 N: 8.54

**(E-R)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-N-tert.-butoxycarbonylphenylalaninamid (97)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **F** aus Boc-D-Phenylalanin (318 mg, 1.2 mmol), (E)-N-(4-Amino-3-benzoylphenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid **78** (544 mg, 1.2 mmol) und Phosphoroxychlorid (0.12 ml, 1.32 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 642 mg (76% d. Th.)

oranger Feststoff

**Festpunkt:** 210°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3357 (w, br), 1685 (m), 1628 (m), 1599 (m), 1516 (s), 1455 (w), 1403 (m), 1367 (m), 1332 (s), 1292 (m), 1248 (m), 1198 (w), 1166 (m), 1108 (w), 1028 (w), 968 (w), 853 (m), 752 (m), 701 (m)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz, 49.9°C):

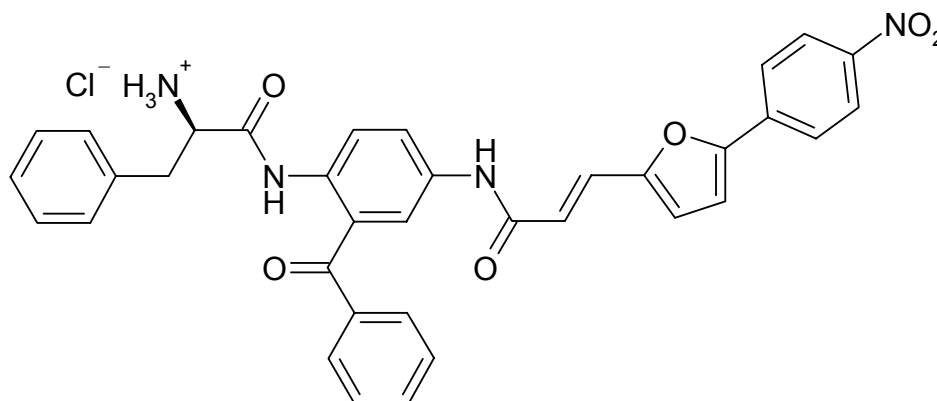
$\delta$  (ppm) = 1.26 (s, 9H, 3 CH<sub>3</sub>), 2.60 (m, 1H, ½ CH<sub>2</sub>), 2.72 (m, 1H, ½ CH<sub>2</sub>), 4.15 (m, 1H, CH-N), 6.76 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.03 – 7.24 (m, 8H, arom. H), 7.41 – 7.87 (m, 7H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.92 (s, 1H, NH), 7.99 – 8.02 (m, 2H, arom. H), 8.31 – 8.33 (m, 2H, arom. H), 10.40 (s, 1H, NH), 10.41 (s, 1H, NH)

**MS (FAB):** $m/z$  (%) = 700 (39,  $M^+$ ), 645 (3), 601 (45), 509 (5), 480 (8), 454 (100), 438 (8)**Elementaranalyse:**  $C_{40}H_{36}N_4O_8$  (700.75)

ber. (%): C: 68.56 H: 5.18 N: 8.00

gef. (%): C: 68.58 H: 5.13 N: 7.77

**(E-R)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}-phenyl)phenylalaninamidhydrochlorid (110)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **G** aus (E-R)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-N-tert.-butoxycarbonylphenylalaninamid **97** (346 mg, 0.5 mmol) und HCl / Dioxan (10 ml).

**Ausbeute:** 186 mg (58% d. Th.)

orange – roter Feststoff

**Festpunkt:** 195°C

(Aceton)

**IR (KBr):** $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3374 (w, br), 1684 (w), 1653 (m), 1625 (w), 1598 (m), 1559 (m), 1507 (s), 1403 (m), 1332 (s), 1247 (w), 1197 (w), 1108 (w), 751 (w), 701 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz, 50.2°C):

δ (ppm) = 2.71 (m, 1H, ½ CH<sub>2</sub>), 2.80 (m, 1H, ½ CH<sub>2</sub>), 4.16 (m, 1H, CH-N), 6.81 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.03 – 7.04 (m, 1H, arom. H), 7.21 – 7.66 (m, 10H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.76 – 8.01 (m, 6H, arom. H), 8.17 (s, 3H, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 8.32 – 8.34 (m, 2H, arom. H), 10.58 (s, 1H, NH), 10.70 (s, 1H, NH)

**<sup>13</sup>C-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 125 MHz, 25.8°C):

δ (ppm) = 36.11 (CH<sub>2</sub>), 53.79 (C-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 112.83 (1 Aryl-C), 117.33 (1 Aryl-C), 119.88 (1 Aryl-C), 120.82 (=CH), 121.83 (1 Aryl-C), 124.47 (2 Aryl-C), 124.50 (2 Aryl-C), 124.66 (1 Aryl-C), 126.74 (1 Aryl-C), 127.09 (=CH), 128.37 (2 Aryl-C), 128.51 (2 Aryl-C), 129.49 (2 Aryl-C), 129.88 (1 q Aryl-C), 129.98 (2 Aryl-C), 132.10 (1 q Aryl-C), 132.95 (1 Aryl-C), 134.84 (1 q Aryl-C), 135.12 (1 q Aryl-C), 136.24 (1 q Aryl-C), 136.69 (1 q Aryl-C), 146.37 (1 q Aryl-C), 152.23 (1 q Aryl-C), 152.39 (1 q Aryl-C), 163.29 (NH-C=O), 166.78 (NH-C=O), 194.22 (C=O)

**MS** (ESI):

m/z (%) = 601 (44, M<sup>+</sup>), 583 (100), 488 (3), 454 (9), 382 (5), 342 (6), 271 (9), 217 (6), 194 (6), 171 (4), 120 (9), 105 (49), 83 (14)

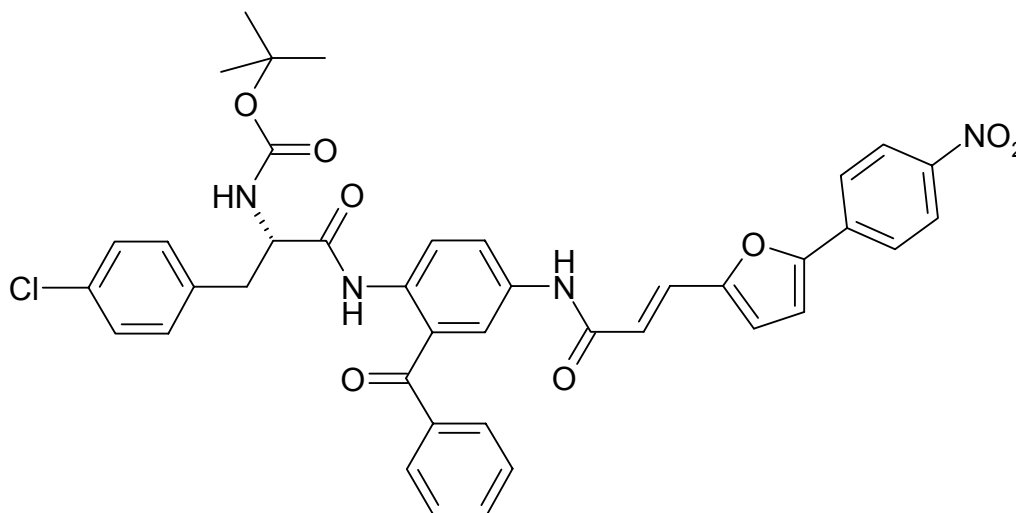
**Elementaranalyse:** C<sub>35</sub>H<sub>28</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub> · HCl

(601.64 + 35.45)

ber. (%): C: 65.99 H: 4.59 N: 8.79

gef. (%): C: 66.29 H: 4.86 N: 9.05

**(E-S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-N-tert.-butoxycarbonyl-4-chlorophenylalaninamid (98)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **F** aus Boc-L-4-Chlorphenylalanin (360 mg, 1.2 mmol), (E)-N-(4-Amino-3-benzoylphenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid **78** (544 mg, 1.2 mmol) und Phosphoroxychlorid (0.12 ml, 1.32 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 638 mg (72% d. Th.)

oranger Feststoff

**Festpunkt:** 230°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3355 (m, br), 1682 (m), 1658 (m), 1628 (m), 1596 (m), 1553 (m), 1521 (s), 1446 (w), 1405 (w), 1367 (w), 1330 (s), 1291 (w), 1275 (w), 1249 (m), 1222 (m), 1203 (w), 1165 (m), 1108 (w), 1093 (w), 969 (w), 852 (w), 749 (w)



**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 24.2°C):

δ (ppm) = 1.22 (s, 9H, 3 CH<sub>3</sub>), 2.49 (m, 1H, ½ CH<sub>2</sub>), 2.60 (m, 1H, ½ CH<sub>2</sub>), 4.10 (t, J = 7 Hz, 1H, CH-N), 6.73 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.04 – 7.05 (m, 1H, arom. H), 7.16 – 7.23 (m, 3H, arom. H), 7.29 – 7.31 (m, 2H, arom. H), 7.39 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.43 – 7.44 (m, 1H, arom. H), 7.50 – 7.54 (m, 2H, arom. H), 7.61 – 7.64 (m, 1H, arom. H), 7.70 – 7.72 (m, 2H, arom. H), 7.77 – 7.79 (m, 1H, arom. H), 7.86 (s, 1H, NH), 7.94 – 7.95 (m, 1H, arom. H), 7.97 – 8.00 (m, 2H, arom. H), 8.31 – 8.33 (m, 2H, arom. H), 10.46 (s, 1H, NH), 10.48 (s, 1H, NH)

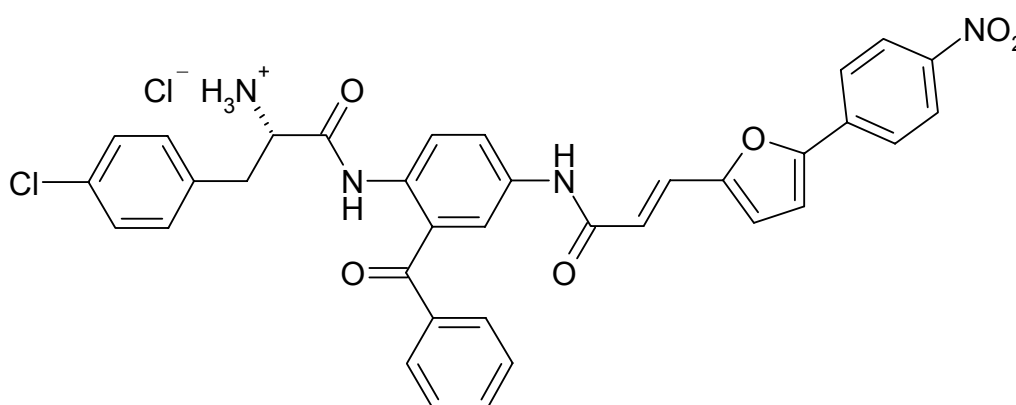
**MS** (FAB):

m/z (%) = 737 (15, [M+H]<sup>+</sup>), 736 (12, M<sup>+</sup>), 735 (52, [M+H]<sup>+</sup>), 734 (30, M<sup>+</sup>), 637 (15), 635 (52), 455 (36), 454 (64), 453 (15), 242 (100)

**Elementaranalyse:** C<sub>40</sub>H<sub>35</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>8</sub> (735.20)

ber. (%):	C: 65.35	H: 4.80	N: 7.60
gef. (%):	C: 65.06	H: 4.68	N: 7.48

**(E-S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-4-chlorphenylalaninamidhydrochlorid (111)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **G** aus (E-S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-N-tert.-butoxycarbonyl-4-chlorphenylalaninamid **98** (368 mg, 0.5 mmol) und HCl / Dioxan (10 ml).

**Ausbeute:** 209 mg (62% d. Th.)

rot – brauner Feststoff

**Festpunkt:** 189°C

(Aceton)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3434 (w, br), 1680 (w), 1625 (w), 1598 (m), 1554 (m), 1510 (s), 1404 (w), 1331 (s), 1291 (w), 1246 (w), 1108 (w), 852 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 24.8°C):

$\delta$  (ppm) = 2.60 (m, 1H,  $\frac{1}{2}$  CH<sub>2</sub>), 2.76 (m, 1H,  $\frac{1}{2}$  CH<sub>2</sub>), 4.15 (s, 1H, CH-N), 6.81 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.01 – 7.02 (m, 1H, arom. H), 7.28 – 7.32 (m, 4H, arom. H), 7.36 – 7.51 (m, 4H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.59 – 7.62 (m, 1H, arom. H), 7.74 – 7.80 (m, 3H, arom. H), 7.91 – 7.93 (m, 1H, arom. H), 7.96 – 7.98 (m, 2H, arom. H), 8.19 (s, 3H, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 8.28 – 8.30 (m, 2H, arom. H), 10.71 (s, 1H, NH), 11.03 (s, 1H, NH)

**<sup>13</sup>C-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 125 MHz, 26.1°C):

$\delta$  (ppm) = 35.19 (CH<sub>2</sub>), 53.62 (C-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 112.82 (1 Aryl-C), 117.30 (1 Aryl-C), 119.81 (1 Aryl-C), 120.82 (=CH), 121.78 (1 Aryl-C), 124.46 (2 Aryl-C), 124.49 (2 Aryl-C), 124.68 (1 Aryl-C), 126.71 (=CH), 128.35 (2 Aryl-C), 128.42 (2 Aryl-C), 129.80 (1 q Aryl-C), 129.95 (2 Aryl-C), 131.43 (2 Aryl-C), 131.90 (1 q Aryl-C), 132.18 (1 q Aryl-C), 132.92 (1 Aryl-C), 133.86 (1 q Aryl-C), 135.12 (1 q Aryl-C), 136.25 (1 q Aryl-C), 136.66 (1 q Aryl-C), 146.36 (1 q Aryl-C), 152.21 (1 q Aryl-C), 152.38 (1 q Aryl-C), 163.27 (NH-C=O), 166.58 (NH-C=O), 194.19 (C=O)

**MS** (FAB):

m/z (%) = 637 (43, M<sup>+</sup>), 635 (100, M<sup>+</sup>), 509 (10), 454 (60), 212 (27)

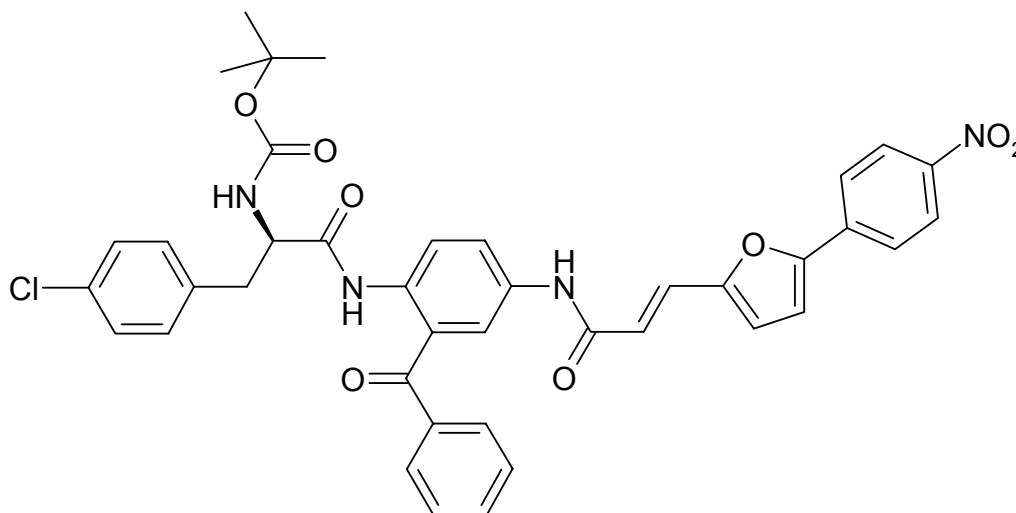
**Elementaranalyse:** C<sub>35</sub>H<sub>27</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>6</sub> · HCl

(636.09 + 35.45)

ber. (%): C: 62.60 H: 4.20 N: 8.34

gef. (%): C: 62.29 H: 4.34 N: 8.09

**(E-R)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-N-tert.-butoxycarbonyl-4-chlorophenylalaninamid (99)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **F** aus Boc-D-4-Chlorphenylalanin (360 mg, 1.2 mmol), (E)-N-(4-Amino-3-benzoylphenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid **78** (544 mg, 1.2 mmol) und Phosphoroxychlorid (0.12 ml, 1.32 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 499 mg (53% d. Th.)

oranger Feststoff

**Festpunkt:** 230°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3355 (m, br), 1680 (m), 1658 (m), 1628 (m), 1596 (m), 1554 (m), 1518 (s), 1446 (w), 1406 (w), 1367 (w), 1330 (s), 1291 (w), 1248 (m), 1222 (m), 1164 (m), 1107 (w), 1093 (w), 969 (w), 852 (w), 749 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 24.2°C):

δ (ppm) = 1.22 (s, 9H, 3 CH<sub>3</sub>), 2.49 (m, 1H, ½ CH<sub>2</sub>), 2.63 (m, 1H, ½ CH<sub>2</sub>), 4.12 (t, J = 7 Hz, 1H, CH-N), 6.75 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.03 – 7.04 (m, 1H, arom. H), 7.15 – 7.22 (m, 3H, arom. H), 7.27 – 7.30 (m, 2H, arom. H), 7.39 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.43 – 7.44 (m, 1H, arom. H), 7.49 – 7.53 (m, 2H, arom. H), 7.59 – 7.63 (m, 1H, arom. H), 7.69 – 7.71 (m, 2H, arom. H), 7.75 – 7.78 (m, 1H, arom. H), 7.85 (s, 1H, NH), 7.91 – 7.94 (m, 1H, arom. H), 7.98 – 8.00 (m, 2H, arom. H), 8.31 – 8.33 (m, 2H, arom. H), 10.48 (s, 1H, NH), 10.50 (s, 1H, NH)

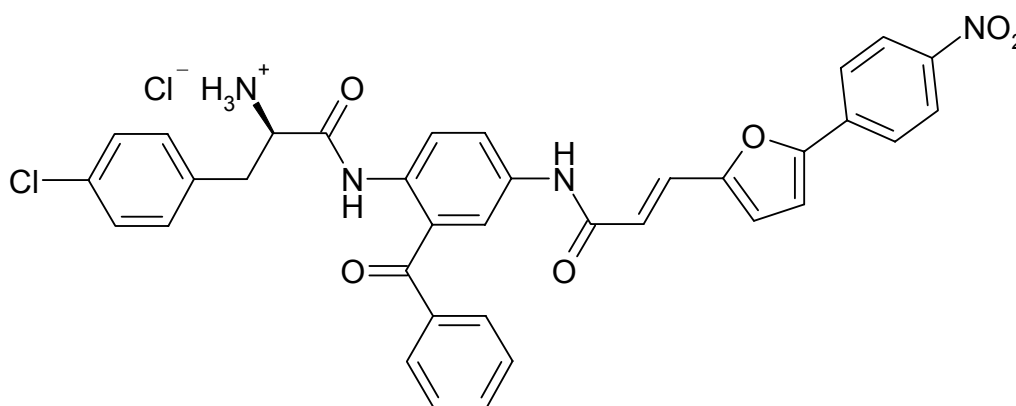
**MS** (FAB):

m/z (%) = 737 (15, [M+H]<sup>+</sup>), 736 (21, M<sup>+</sup>), 735 (30, [M+H]<sup>+</sup>), 734 (28, M<sup>+</sup>), 637 (11), 635 (30), 455 (26), 454 (79), 453 (13), 242 (100)

**Elementaranalyse:** C<sub>40</sub>H<sub>35</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>8</sub> (735.20)

ber. (%):	C: 65.35	H: 4.80	N: 7.60
gef. (%):	C: 65.19	H: 4.49	N: 7.45

**(E-R)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-4-chlorphenylalaninamidhydrochlorid (112)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **G** aus (E-R)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-N-tert.-butoxycarbonyl-4-chlorphenylalaninamid **99** (368 mg, 0.5 mmol) und HCl / Dioxan (10 ml).

**Ausbeute:** 167 mg (50% d. Th.)

rot – brauner Feststoff

**Festpunkt:** 189°C

(Aceton)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3433 (w, br), 1700 (w), 1679 (w), 1626 (m), 1598 (m), 1556 (m), 1510 (s), 1403 (m), 1332 (s), 1290 (w), 1251 (m), 1196 (w), 1108 (w), 851 (w), 753 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 24°C):

$\delta$  (ppm) = 2.63 (m, 1H, ½ CH<sub>2</sub>), 2.79 (m, 1H, ½ CH<sub>2</sub>), 4.18 (m, 1H, CH-N), 6.84 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.04 – 7.05 (m, 1H, aromat. H), 7.31 – 7.35 (m, 4H, aromat. H), 7.39 – 7.54 (m, 4H, aromat. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.62 – 7.65 (m, 1H, aromat. H), 7.77 – 7.79 (m, 2H, aromat. H), 7.82 – 7.83 (m, 1H, aromat. H), 7.94 – 7.96 (m, 1H, aromat. H), 7.99 – 8.01 (m, 2H, aromat. H), 8.22 (s, 3H, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 8.31 – 8.33 (m, 2H, aromat. H), 10.74 (s, 1H, NH), 11.07 (s, 1H, NH)

**<sup>13</sup>C-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 125MHz, 26.2°C):

$\delta$  (ppm) = 35.32 (CH<sub>2</sub>), 53.63 (C-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 112.83 (1 Aryl-C), 117.32 (1 Aryl-C), 119.83 (1 Aryl-C), 120.83 (=CH), 121.80 (1 Aryl-C), 124.46 (2 Aryl-C), 124.50 (2 Aryl-C), 124.69 (1 Aryl-C), 126.72 (=CH), 128.36 (2 Aryl-C), 128.43 (2 Aryl-C), 129.81 (1 q Aryl-C), 129.96 (2 Aryl-C), 131.44 (2 Aryl-C), 131.91 (1 q Aryl-C), 132.20 (1 q Aryl-C), 132.93 (1 Aryl-C), 133.88 (1 q Aryl-C), 135.12 (1 q Aryl-C), 136.26 (1 q Aryl-C), 136.67 (1 q Aryl-C), 146.37 (1 q Aryl-C), 152.22 (1 q Aryl-C), 152.39 (1 q Aryl-C), 163.28 (NH-C=O), 166.59 (NH-C=O), 194.20 (C=O)

**MS** (FAB):

m/z (%) = 637 (31, M<sup>+</sup>), 635 (100, M<sup>+</sup>), 454 (53)

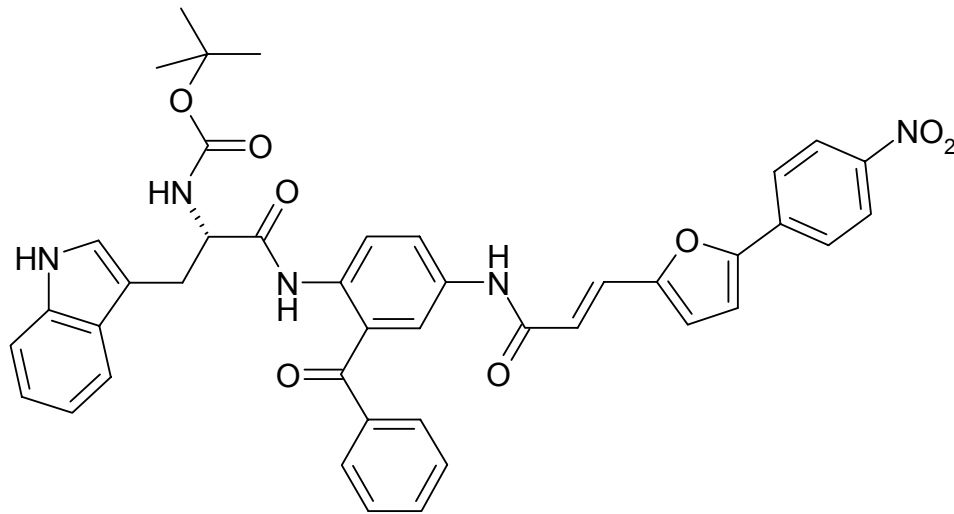
**Elementaranalyse:** C<sub>35</sub>H<sub>27</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>6</sub> · HCl

(636.09 + 35.45)

ber. (%): C: 62.60 H: 4.20 N: 8.34

gef. (%): C: 62.74 H: 4.51 N: 8.68

**(E-S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-N-tert.-butoxycarbonyltryptophanamid (100)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **F** aus Boc-L-Tryptophan (243 mg, 0.8 mmol), (E)-N-(4-Amino-3-benzoylphenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid **78** (358 mg, 0.8 mmol) und Phosphoroxychlorid (0.08 ml, 0.88 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

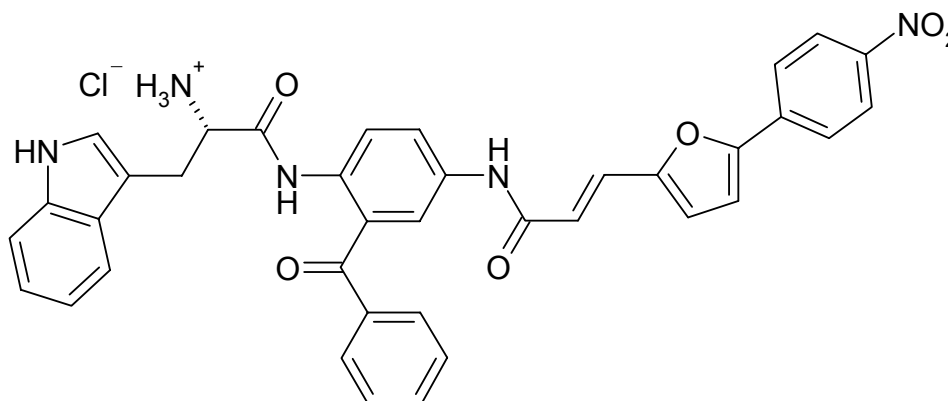
**Ausbeute:** 547 mg (97% d. Th.)

gelb – oranger Feststoff

$C_{42}H_{37}N_5O_8$  (739.79)

Die Substanz wurde ohne Charakterisierung weiter umgesetzt.

**(E-S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-tryptophanamidhydrochlorid (113)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **G** aus (E-S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-N-tert.-butoxycarbonyltryptophanamid **100** (555 mg, 0.75 mmol) und HCl / Dioxan (10 ml).

**Ausbeute:** 245 mg (48% d. Th.)

rot – brauner Feststoff

**Festpunkt:** 220°C

(Aceton)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3288 (w, br), 2920 (w), 2853 (w), 1683 (w), 1597 (m), 1512 (s), 1404 (w), 1331 (s), 1291 (w), 1253 (w), 1117 (w), 745 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 22.8°C):

$\delta$  (ppm) = 2.75 (m, 1H, ½ CH<sub>2</sub>), 2.82 (m, 1H, ½ CH<sub>2</sub>), 4.08 (s, 1H, CH-N), 6.86 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.97 – 7.22 (m, 4H, arom. H), 7.31 – 7.85 (m, 9H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.95 – 8.05 (m, 3H, arom. H), 8.11 (s, 3H, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 8.30 – 8.34 (m, 2H, arom. H), 8.89 – 8.91 (m, 1H, arom. H), 10.78 (s, 1H, NH), 10.98 (s, 1H, NH), 11.08 (s, 1H, NH)

**<sup>13</sup>C-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 100 MHz, 21°C):

δ (ppm) = 27.05 (CH<sub>2</sub>), 53.45 (C-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 107.20 (1 q Aryl-C), 112.02 (1 Aryl-C), 113.49 (1 Aryl-C), 118.03 (1 Aryl-C), 118.97 (1 Aryl-C), 119.24 (1 Aryl-C), 120.44 (1 Aryl-C), 121.43 (=CH), 121.71 (1 Aryl-C), 122.41 (1 Aryl-C), 125.16 (2 Aryl-C), 125.72 (=CH), 127.58 (3 Aryl-C), 128.98 (2 Aryl-C), 129.26 (1 q Aryl-C), 130.58 (2 Aryl-C), 132.84 (1 q Aryl-C), 133.57 (1 Aryl-C), 135.74 (1 q Aryl-C), 136.91 (1 q Aryl-C), 137.29 (1 q Aryl-C), 143.01 (1 Aryl-C und 1 q Aryl-C), 145.99 (1 q Aryl-C), 146.98 (1 q Aryl-C), 152.83 (1 q Aryl-C), 153.00 (1 q Aryl-C), 163.90 (NH-C=O), 167.82 (NH-C=O), 194.82 (C=O)

**MS** (FAB):

m/z (%) = 640 (94, M<sup>+</sup>), 563 (15), 510 (15), 454 (26), 453 (22), 359 (31), 233 (100)

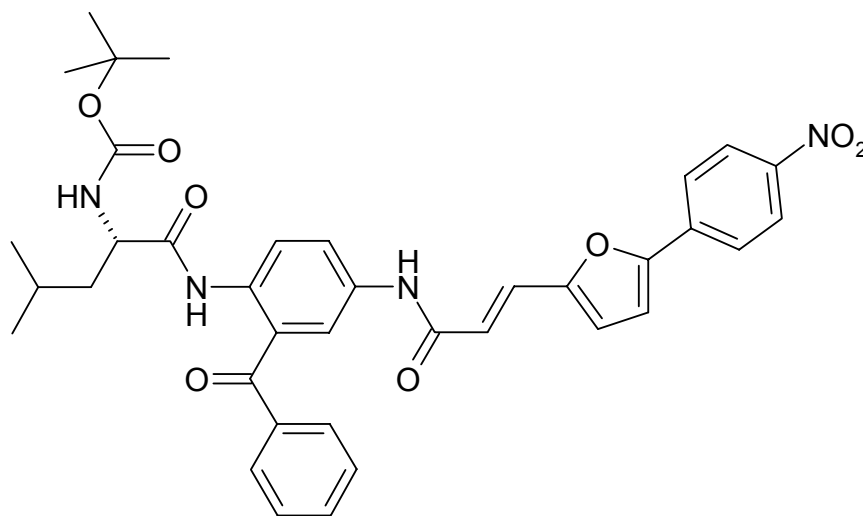
**HRMS** (FAB): C<sub>37</sub>H<sub>29</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> · HCl

(640.68 + 35.45)

ber.: 640.2196

gef.: 640.2155

**(E-S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-N-tert.-butoxycarbonylleucinamid (101)**





Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **F** aus Boc-L-Leucin · H<sub>2</sub>O (299 mg, 1.2 mmol), (E)-N-(4-Amino-3-benzoylphenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid **78** (544 mg, 1.2 mmol) und Phosphoroxychlorid (0.12 ml, 1.32 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

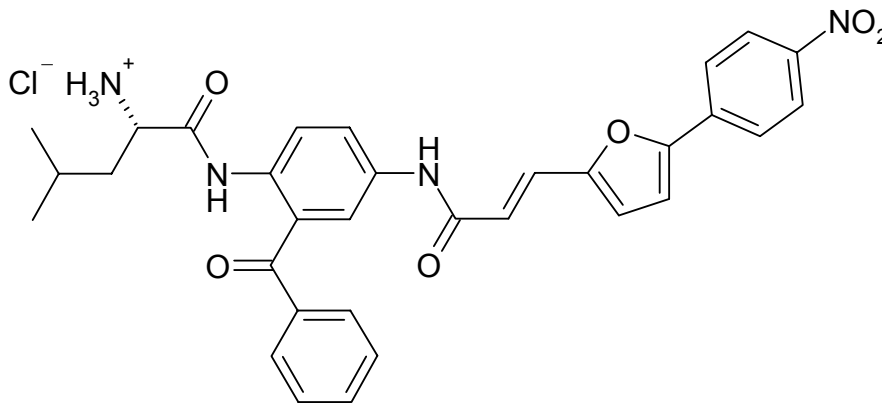
**Ausbeute:** 639 mg (80% d. Th.)

oranger Feststoff

C<sub>37</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub> (666.74)

Die Substanz wurde ohne Charakterisierung weiter umgesetzt.

**(E-S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-leucinamidhydrochlorid (114)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **G** aus (E-S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-N-tert.-butoxycarbonylleucinamid **101** (467 mg, 0.7 mmol) und HCl / Dioxan (10 ml).

**Ausbeute:** 253 mg (60% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 198°C

(Aceton)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3375 (w, br), 2958 (m), 1684 (w), 1653 (w), 1628 (m), 1598 (m), 1550 (m), 1513 (s), 1405 (w), 1333 (s), 1291 (w), 1247 (w), 1196 (w), 852 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 23.2°C):

δ (ppm) = 0.79 (d, J = 6 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 0.80 (d, J = 6 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.00 (m, 1H, ½ CH<sub>2</sub>), 1.19 (m, 1H, ½ CH<sub>2</sub>), 1.50 (sept, J = 6 Hz, 1H, CH), 3.80 (s, 1H, CH-N), 6.83 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.05 – 7.06 (m, 1H, arom. H), 7.41 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.44 – 7.52 (m, 4H, arom. H), 7.62 – 7.65 (m, 1H, arom. H), 7.71 – 7.72 (m, 2H, arom. H), 7.81 – 7.82 (m, 1H, arom. H), 7.95 – 8.01 (m, 3H, arom. H), 8.20 (s, 3H, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 8.32 – 8.34 (m, 2H, arom. H), 10.70 (s, 2H, 2 NH)

**<sup>13</sup>C-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 125 MHz, 24.2°C):

δ (ppm) = 23.43 (2 CH<sub>3</sub>), 23.80 (CH), 39.92 (CH<sub>2</sub>), 51.48 (C-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 113.46 (1 Aryl-C), 118.03 (1 Aryl-C), 120.25 (1 Aryl-C), 121.37 (=CH), 122.32 (1 Aryl-C), 125.09 (2 Aryl-C), 125.14 (2 Aryl-C), 125.34 (1 Aryl-C), 127.38 (=CH), 129.00 (2 Aryl-C), 130.30 (1 q Aryl-C), 130.38 (2 Aryl-C), 133.18 (1 q Aryl-C), 133.63 (1 Aryl-C), 135.71 (1 q Aryl-C), 137.07 (1 q Aryl-C), 137.22 (1 q Aryl-C), 147.00 (1 q Aryl-C), 152.85 (1 q Aryl-C), 152.99 (1 q Aryl-C), 163.88 (NH-C=O), 168.38 (NH-C=O), 194.66 (C=O)

**MS (FAB):**

m/z (%) = 567 (96, M<sup>+</sup>), 454 (60), 453 (26), 227 (100)

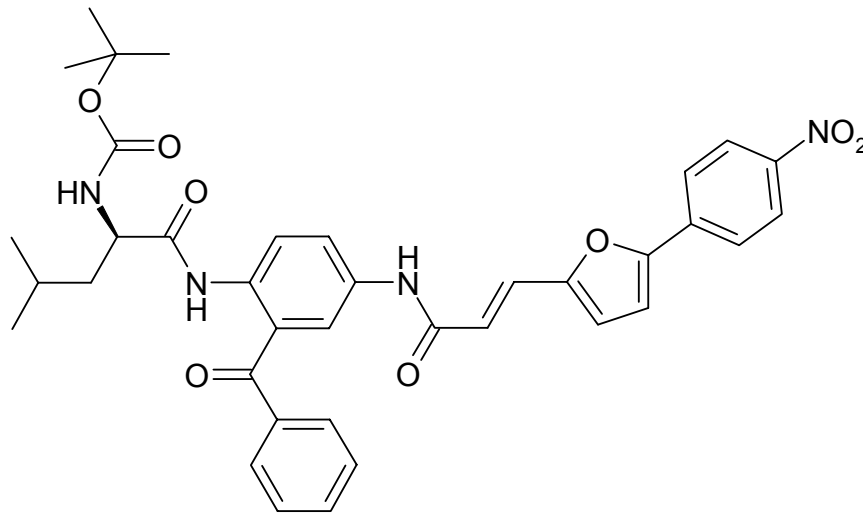
**Elementaranalyse:** C<sub>32</sub>H<sub>30</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub> · HCl

(567.63 + 35.45)

ber. (%): C: 63.73 H: 5.18 N: 9.29

gef. (%): C: 63.38 H: 5.43 N: 9.01

**(E-R)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-N-tert.-butoxycarbonylleucinamid (102)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **F** aus Boc-D-Leucin · H<sub>2</sub>O (299 mg, 1.2 mmol), (E)-N-(4-Amino-3-benzoylphenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid **78** (544 mg, 1.2 mmol) und Phosphoroxychlorid (0.12 ml, 1.32 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

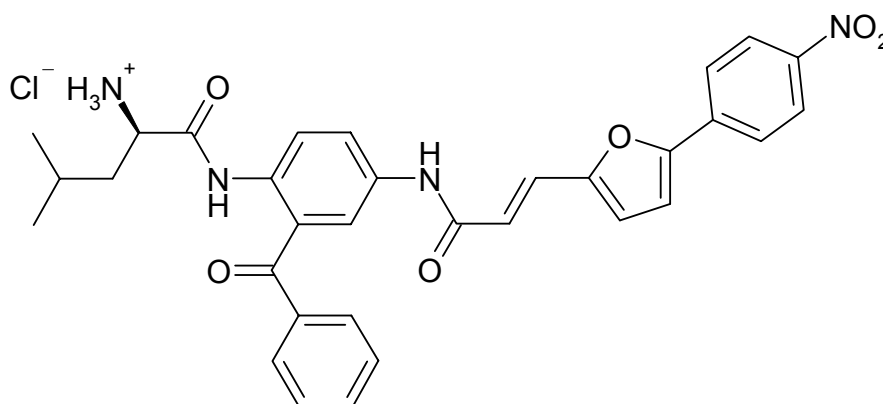
**Ausbeute:** 668 mg (86% d. Th.)

oranger Feststoff

C<sub>37</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub> (666.74)

Die Substanz wurde ohne Charakterisierung weiter umgesetzt.

**(E-R)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-leucinamidhydrochlorid (115)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **G** aus (E-R)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-N-tert.-butoxycarbonylleucinamid **102** (533 mg, 0.8 mmol) und HCl / Dioxan (10 ml).

**Ausbeute:** 286 mg (59% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 198°C

(Aceton)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3372 (w, br), 2958 (w), 1684 (w), 1628 (w), 1597 (m), 1550 (m), 1512 (s), 1404 (w), 1333 (s), 1291 (w), 1247 (w), 852 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 23.1°C):

$\delta$  (ppm) = 0.78 (d, J = 6 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 0.79 (d, J = 6 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.00 (m, 1H, ½ CH<sub>2</sub>), 1.19 (m, 1H, ½ CH<sub>2</sub>), 1.50 (sept, J = 6 Hz, 1H, CH), 3.81 (s, 1H, CH-N), 6.84 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.05 – 7.06 (m, 1H, aromat. H), 7.40 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.43 – 7.53 (m, 4H, aromat. H), 7.62 – 7.63 (m, 1H, aromat. H), 7.71 – 7.73 (m, 2H, aromat. H), 7.82 – 7.83 (m, 1H, aromat. H), 7.98 – 7.97 (m, 3H, aromat. H), 8.22 (s, 3H, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 8.31 – 8.33 (m, 2H, aromat. H), 10.71 (s, 1H, NH), 10.72 (s, 1H, NH)

**<sup>13</sup>C-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 125 MHz, 25.5°C):

δ (ppm) = 23.29 (2 CH<sub>3</sub>), 23.68 (CH), 39.83 (CH<sub>2</sub>), 51.38 (C-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 113.33 (1 Aryl-C), 117.86 (1 Aryl-C), 120.14 (1 Aryl-C), 121.30 (=CH), 122.20 (1 Aryl-C), 124.97 (2 Aryl-C), 125.01 (2 Aryl-C), 125.22 (1 Aryl-C), 127.24 (=CH), 128.87 (2 Aryl-C), 130.21 (1 q Aryl-C), 130.26 (2 Aryl-C), 133.06 (1 q Aryl-C), 133.49 (1 Aryl-C), 135.62 (1 q Aryl-C), 136.95 (1 q Aryl-C), 137.13 (1 q Aryl-C), 146.87 (1 q Aryl-C), 152.73 (1 q Aryl-C), 152.88 (1 q Aryl-C), 163.77 (NH-C=O), 168.26 (NH-C=O), 194.75 (C=O)

**MS** (FAB):

m/z (%) = 567 (100, M<sup>+</sup>), 454 (35), 453 (10), 242 (29)

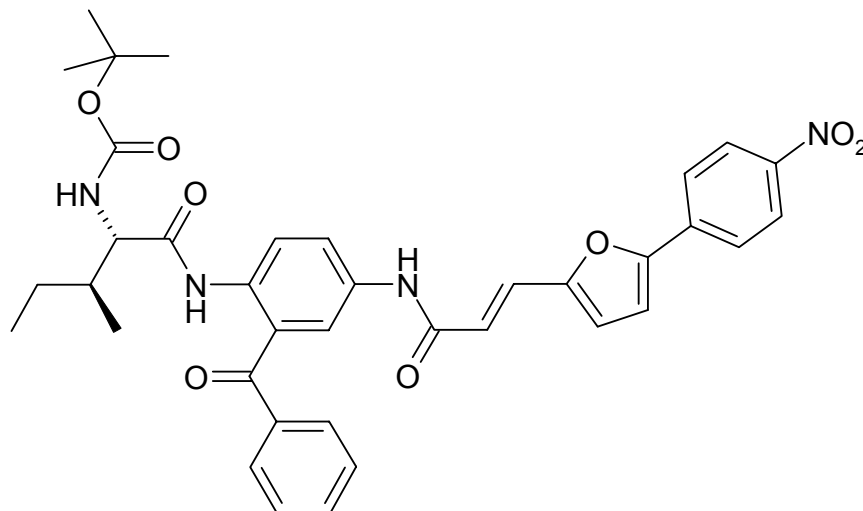
**Elementaranalyse:** C<sub>32</sub>H<sub>30</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub> · HCl

(567.63 + 35.45)

ber. (%): C: 63.73 H: 5.18 N: 9.29

gef. (%): C: 63.48 H: 5.41 N: 9.31

**(E-S,S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}-phenyl)-N-tert.-butoxycarbonylisoleucinamid (103)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **F** aus Boc-L-Isoleucin (276 mg, 1.2 mmol), (E)-N-(4-Amino-3-benzoylphenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid **78** (544 mg, 1.2 mmol) und Phosphoroxychlorid (0.12 ml, 1.32 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

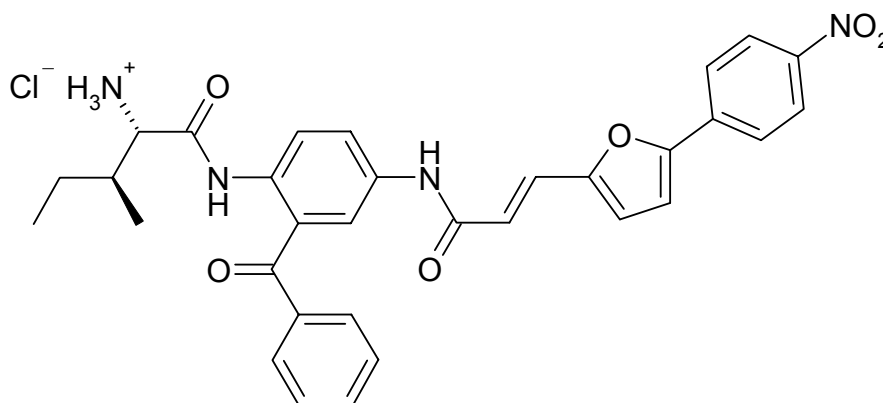
**Ausbeute:** 616 mg (77% d. Th.)

oranger Feststoff

C<sub>37</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub> (666.74)

Die Substanz wurde ohne Charakterisierung weiter umgesetzt.

**(E-S,S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}-phenyl)isoleucinamidhydrochlorid (116)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **G** aus (E-S,S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-N-tert.-butoxycarbonylisoleucinamid **103** (600 mg, 0.9 mmol) und HCl / Dioxan (10 ml).

**Ausbeute:** 328 mg (60% d. Th.)

rot – brauner Feststoff

**Festpunkt:** 196°C

(Aceton)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3433 (w, br), 2964 (w), 2928 (w), 1679 (w), 1628 (m), 1598 (m), 1550 (w), 1512 (s), 1403 (w), 1332 (s), 1291 (w), 1246 (w), 1197 (w), 1107 (w), 851 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz, 20.1°C):

δ (ppm) = 0.79 (m, 3H, CH<sub>3</sub>), 0.82 (m, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.03 (m, 1H, ½ CH<sub>2</sub>), 1.41 (m, 1H, ½ CH<sub>2</sub>), 1.77 (m, 1H, CH-C), 3.87 (s, 1H, CH-N), 6.83 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.03 – 7.04 (m, 1H, arom. H), 7.37 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.44 – 7.55 (m, 4H, arom. H), 7.62 – 7.67 (m, 1H, arom. H), 7.78 – 7.81 (m, 3H, arom. H), 7.91 – 7.94 (m, 1H, arom. H), 7.98 – 8.00 (m, 2H, arom. H), 8.26 (s, 3H, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 8.30 – 8.33 (m, 2H, arom. H), 10.74 (s, 1H, NH), 10.86 (s, 1H, NH)

**<sup>13</sup>C-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 100 MHz, 18.7°C):

δ (ppm) = 11.95 (CH<sub>3</sub>), 14.55 (CH<sub>3</sub>), 24.36 (CH<sub>2</sub>), 36.90 (CH), 57.25 (C-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 113.48 (1 Aryl-C), 117.99 (1 Aryl-C), 119.84 (1 Aryl-C), 121.42 (=CH), 122.02 (1 Aryl C), 125.06 (2 Aryl-C), 125.13 (3 Aryl-C), 127.28 (=CH), 128.98 (2 Aryl-C), 130.38 (1 q Aryl-C), 130.65 (2 Aryl-C), 132.98 (1 q Aryl-C), 133.60 (1 Aryl-C), 135.71 (1 q Aryl-C), 136.58 (1 q Aryl-C), 137.00 (1 q Aryl-C), 146.94 (1 q Aryl-C), 152.80 (1 q Aryl-C), 152.97 (1 q Aryl-C), 163.86 (NH-C=O), 167.22 (NH-C=O), 194.57 (C=O)

**MS** (FAB):

m/z (%) = 567 (100, M<sup>+</sup>), 454 (9), 353 (6)

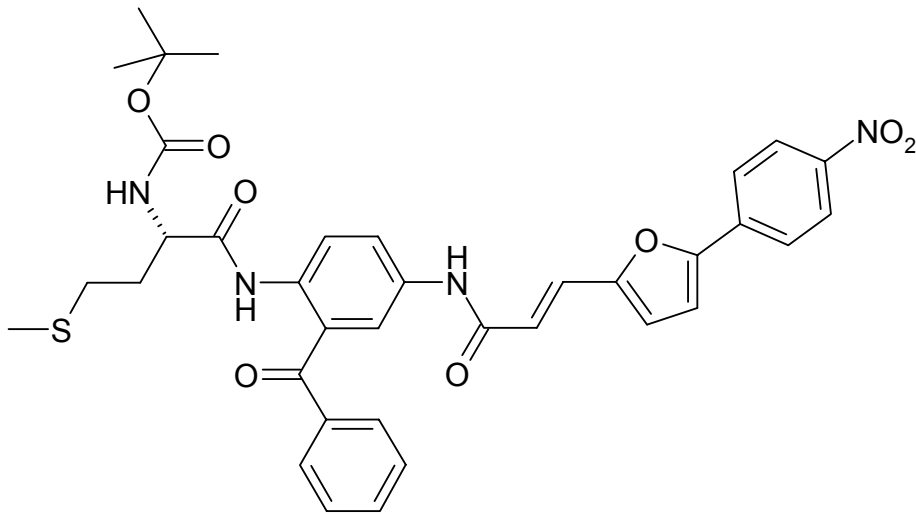
**Elementaranalyse:** C<sub>32</sub>H<sub>30</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub> · HCl

(567.63 + 35.45)

ber. (%): C: 63.73 H: 5.18 N: 9.29

gef. (%): C: 63.31 H: 5.35 N: 8.98

**(E-S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-N-tert.-butoxycarbonylmethioninamid (104)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **F** aus Boc-L-Methionin (299 mg, 1.2 mmol), (E)-N-(4-Amino-3-benzoylphenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid **78** (544 mg, 1.2 mmol) und Phosphoroxychlorid (0.12 ml, 1.32 mmol). Umkristallisation aus Ethanol : Ethylacetat (3 : 1).

**Ausbeute:** 750 mg (92% d. Th.)

gelb – oranger Feststoff

**Festpunkt:** 162°C

(Ethanol : Ethylacetat (3 : 1))

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3274 (w, br), 1711 (m), 1681 (m), 1663 (m), 1639 (m), 1626 (m), 1598 (m), 1556 (w), 1502 (s, br), 1436 (w), 1394 (w), 1367 (w), 1332 (s), 1284 (m), 1246 (m), 1200 (w), 1162 (m), 1108 (m), 1032 (w), 969 (w), 851 (m), 752 (w)



**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 24.5°C):

δ (ppm) = 1.33 (s, 9H, 3 CH<sub>3</sub>), 1.61 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.99 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.39 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.00 (m, 1H, CH-N), 6.75 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.04 – 7.05 (m, 1H, arom. H), 7.24 – 7.29 (m, 1H, arom. H), 7.35 – 7.55 (m, 3H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.64 – 7.80 (m, 3H, arom. H), 7.87 (s, 1H, NH), 7.93 – 7.98 (m, 2H, arom. H), 8.31 – 8.33 (m, 2H, arom. H), 8.56 – 8.57 (m, 2H, arom. H), 10.50 (s, 1H, NH), 10.51 (s, 1H, NH)

**MS** (FAB):

m/z (%) = 685 (33, [M+H]<sup>+</sup>), 684 (23, M<sup>+</sup>), 629 (7), 586 (17), 585 (43), 554 (14), 455 (30), 454 (100), 453 (28), 242 (97), 212 (44)

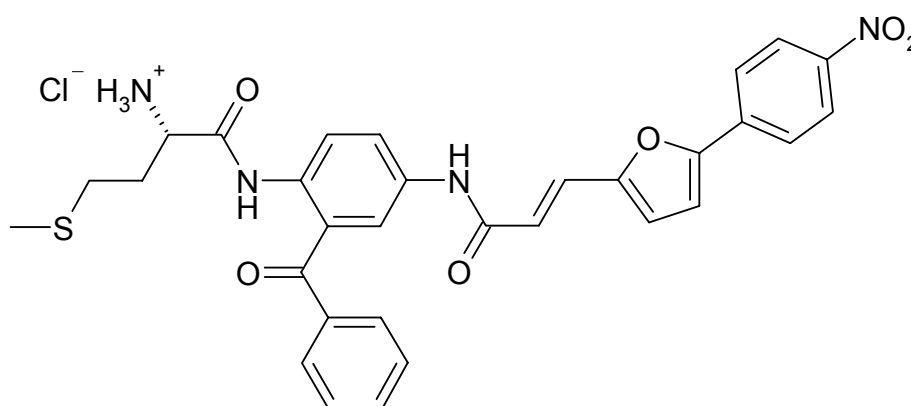
**Elementaranalyse:** C<sub>36</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>S

(684.77)

ber. (%): C: 63.15 H: 5.30 N: 8.18

gef. (%): C: 62.82 H: 5.00 N: 8.44

**(E-S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-methioninamidhydrochlorid (117)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **G** aus (E-S)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-N-tert.-butoxycarbonylmethioninamid **104** (479 mg, 0.7 mmol) und HCl / Dioxan (10 ml).

**Ausbeute:** 138 mg (30% d. Th.)

rot – brauner Feststoff

**Festpunkt:** 179°C

(Aceton)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 2915 (w), 1696 (w), 1627 (w), 1597 (m), 1508 (s), 1331 (s), 1290 (w), 1231 (w), 1108 (w), 962 (w), 850 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 23.9°C):

$\delta$  (ppm) = 1.75 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.02 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.38 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.79 (m, 1H, CH-N), 6.83 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.03 – 7.04 (m, 1H, arom. H), 7.38 – 7.54 (m, 4H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.63 – 7.65 (m, 1H, arom. H), 7.71 – 7.81 (m, 3H, arom. H), 7.93 – 8.01 (m, 3H, arom. H), 8.30 – 8.32 (m, 2H, arom. H), 8.35 (s, 3H, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 10.73 (s, 1H, NH), 10.93 (s, 1H, NH)

**<sup>13</sup>C-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 125 MHz, 25°C):

$\delta$  (ppm) = 14.96 (CH<sub>3</sub>), 26.56 (CH<sub>2</sub>-S), 30.98 (CH<sub>2</sub>), 52.28 (C-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 113.45 (1 Aryl-C), 117.95 (1 Aryl-C), 120.22 (1 Aryl-C), 121.43 (=CH), 122.27 (1 Aryl-C), 125.07 (2 Aryl-C), 125.12 (2 Aryl-C), 125.35 (1 Aryl-C), 127.32 (=CH), 128.96 (2 Aryl-C), 130.29 (1 q Aryl-C), 130.51 (2 Aryl-C), 133.12 (1 q Aryl-C), 133.64 (1 Aryl-C), 135.73 (1 q Aryl-C), 136.92 (1 q Aryl-C), 137.14 (1 q Aryl-C), 146.97 (1 q Aryl-C), 152.83 (1 q Aryl-C), 152.99 (1 q Aryl-C), 163.89 (NH-C=O), 167.47 (NH-C=O), 194.72 (C=O)

**MS** (FAB):

m/z (%) = 585 (100, M<sup>+</sup>), 454 (39)

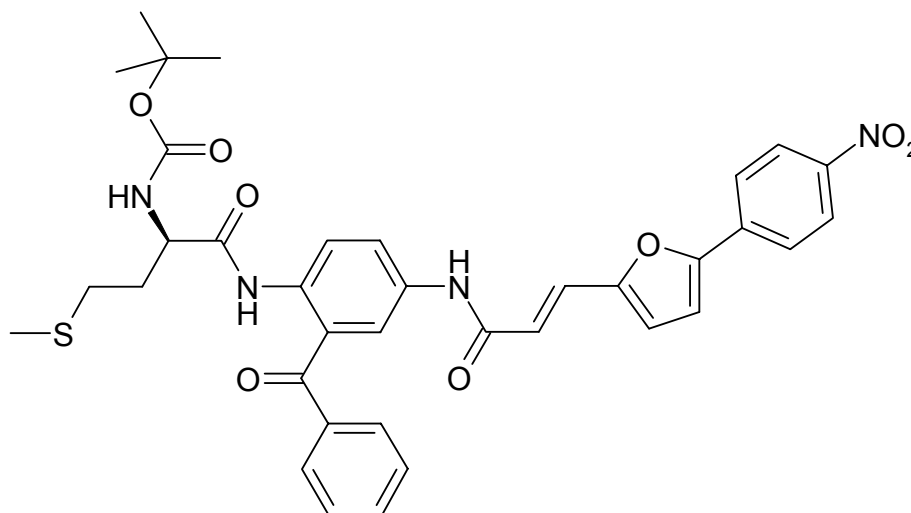
**Elementaranalyse:** C<sub>31</sub>H<sub>28</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S · HCl

(585.66 + 35.45)

ber. (%): C: 59.95 H: 4.71 N: 9.02

gef. (%): C: 59.54 H: 4.88 N: 8.71

**(E-R)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-N-tert.-butoxycarbonylmethioninamid (105)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **F** aus Boc-D-Methionin (299 mg, 1.2 mmol), (E)-N-(4-Amino-3-benzoylphenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid **78** (544 mg, 1.2 mmol) und Phosphoroxychlorid (0.12 ml, 1.32 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 695 mg (85% d. Th.)

oranger Feststoff

**Festpunkt:** 162°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3275 (w, br), 1711 (w), 1681 (m), 1663 (w), 1639 (w), 1625 (w), 1598 (m), 1553 (w), 1503 (s, br), 1436 (w), 1332 (s), 1284 (w), 1246 (m), 1199 (w), 1162 (m), 1108 (w), 967 (w), 851 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 20:6°C):

δ (ppm) = 1.33 (s, 9H, 3 CH<sub>3</sub>), 1.60 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.40 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.00 (m, 1H, CH-N), 6.75 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.04 – 7.05 (m, 1H, arom. H), 7.26 – 7.56 (m, 4H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.62 – 7.81 (m, 3H, arom. H), 7.87 (s, 1H, NH), 7.91 – 8.00 (m, 2H, arom. H), 8.31 – 8.34 (m, 2H, arom. H), 8.56 – 8.57 (m, 2H, arom. H), 10.51 (s, 1H, NH), 10.52 (s, 1H, NH)

**MS** (FAB):

m/z (%) = 685 (17, [M+H]<sup>+</sup>), 684 (14, M<sup>+</sup>), 586 (13), 585 (33), 554 (11), 455 (23), 454 (91), 453 (24), 242 (100), 212 (44)

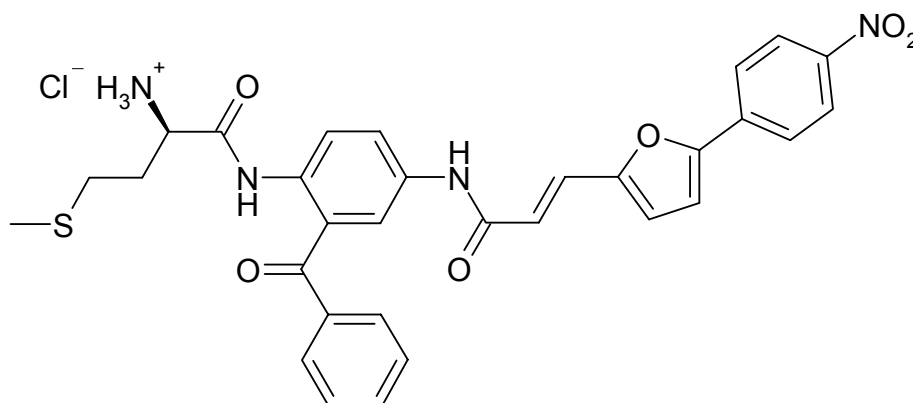
**Elementaranalyse:** C<sub>36</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>S

(684.77)

ber. (%): C: 63.15 H: 5.30 N: 8.18

gef. (%): C: 62.84 H: 5.06 N: 8.47

**(E-R)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-methioninamidhydrochlorid (118)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **G** aus (E-R)-N-(2-Benzoyl-4-{3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acryloylamino}phenyl)-N-tert.-butoxycarbonylmethioninamid **105** (514 mg, 0.75 mmol) und HCl / Dioxan (10 ml).

**Ausbeute:** 188 mg (40% d. Th.)

rot – brauner Feststoff

**Festpunkt:** 179°C

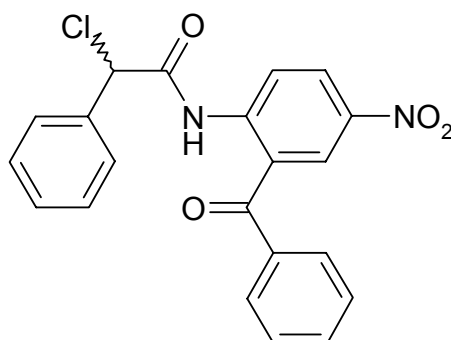
(Aceton)

**IR** (KBr): $\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 2920 (w), 1695 (w), 1623 (w), 1596 (m), 1509 (s), 1331 (s), 1292 (m), 1235 (w), 1107 (w), 964 (w), 850 (w)**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 23.8°C): $\delta$  (ppm) = 1.73 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.02 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.38 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.97 (m, 1H, CH-N), 6.84 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.03 – 7.04 (m, 1H, arom. H), 7.38 – 7.52 (m, 4H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.62 – 7.81 (m, 4H, arom. H), 7.93 – 8.00 (m, 3H, arom. H), 8.30 – 8.32 (m, 2H, arom. H), 8.34 (s, 3H, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 10.74 (s, 1H, NH), 10.95 (s, 1H, NH)**<sup>13</sup>C-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 125 MHz, 25.3°C): $\delta$  (ppm) = 14.96 (CH<sub>3</sub>), 28.57 (CH<sub>2</sub>-S), 30.99 (CH<sub>2</sub>), 52.28 (C-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 113.45 (1 Aryl-C), 117.93 (1 Aryl-C), 120.21 (1 Aryl-C), 121.46 (=CH), 122.28 (1 Aryl-C), 124.95 (2 Aryl-C), 125.12 (2 Aryl-C), 125.34 (1 Aryl-C), 127.31 (=CH), 128.96 (2 Aryl-C), 130.30 (1 q Aryl-C), 130.51 (2 Aryl-C), 133.12 (1 q Aryl-C), 133.63 (1 Aryl-C), 135.73 (1 q Aryl-C), 136.92 (1 q Aryl-C), 137.14 (1 q Aryl-C), 146.97 (1 q Aryl-C), 152.82 (1 q Aryl-C), 153.00 (1 q Aryl-C), 163.89 (NH-C=O), 167.48 (NH-C=O), 194.72 (C=O)**MS** (FAB): $m/z$  (%) = 585 (100, M<sup>+</sup>), 454 (38), 366 (41), 344 (56)**Elementaranalyse:** C<sub>31</sub>H<sub>28</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S · HCl

(585.66 + 35.45)

ber. (%): C: 59.95 H: 4.71 N: 9.02

gef. (%): C: 59.62 H: 5.02 N: 8.76

**(R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-chlor-2-phenylacetamid (124)**

Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **C** aus (R,S)-2-Chlor-2-phenylacetylchlorid **123** (0.73 ml, 5.0 mmol) und 2-Amino-5-nitrobenzophenon **38** (1211 mg, 5.0 mmol).  
Umkristallisation aus Ethanol.

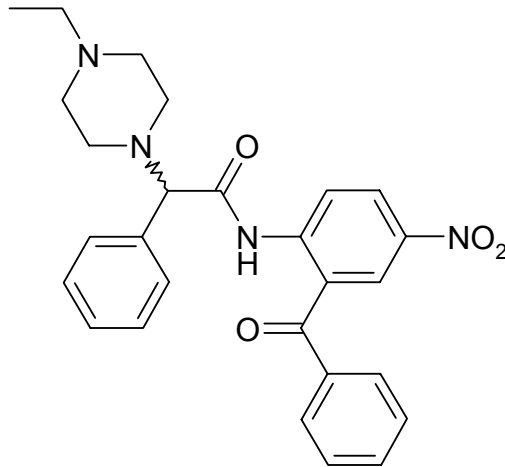
**Ausbeute:** 1793 mg (91% d. Th.)

hellgelber Feststoff  
 $C_{21}H_{15}ClN_2O_4$  (394.82)

**$^1H$ -NMR** ( $CDCl_3$ , 500 MHz, 20.3°C):

$\delta$  (ppm) = 5.50 (s, 1H, CH-Cl), 7.34 – 7.45 (m, 3H, aromat. H), 7.53 – 7.57 (m, 4H, aromat. H), 7.66 – 7.74 (m, 3H, aromat. H), 8.39 – 8.50 (m, 2H, aromat. H), 8.86 – 8.88 (m, 1H, aromat. H), 12.09 (s, 1H, NH)

**(R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-ethyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (125)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **H** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-chlor-2-phenylacetamid **124** (2367 mg, 6.0 mmol) und N-Ethylpiperazin (2.3 ml, 18.0 mmol). Säulenchromatographie an Kieselgel mit Ethylacetat.

**Ausbeute:** 850 mg (30% d. Th.)

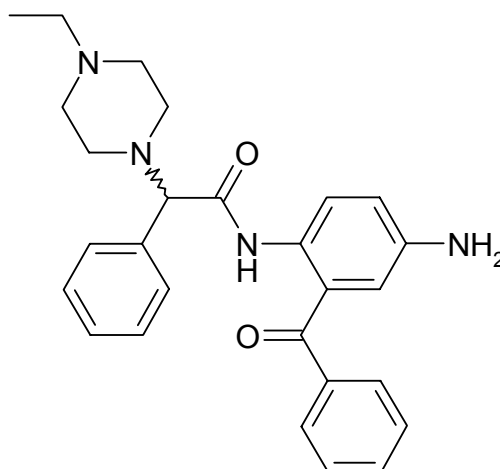
gelbes Öl

$C_{27}H_{28}N_4O_4$  (472.55)

**$^1H$ -NMR** ( $CDCl_3$ , 500 MHz, 23.8°C):

$\delta$  (ppm) = 1.17 (t, J = 8 Hz, 3H,  $CH_3$  (N-Ethyl)), 2.00 (m, 2H,  $CH_2$  (N-Ethyl)), 2.89 (s, 4H, 2  $CH_2$  (Piperazinyl)), 3.16 (s, 4H, 2  $CH_2$  (Piperazinyl)), 4.68 (s, 1H, CH-N), 7.30 – 7.43 (m, 5H, aromat. H), 7.52 – 7.87 (m, 5H, aromat. H), 8.38 – 8.49 (m, 2H, aromat. H), 8.86 – 8.89 (m, 1H, aromat. H), 12.25 (s, 1H, NH)

**(R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-ethyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (137)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-ethyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid **125** (756 mg, 1.6 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (1.8 g, 8.0 mmol).

**Ausbeute:** 569 mg (80% d. Th.)

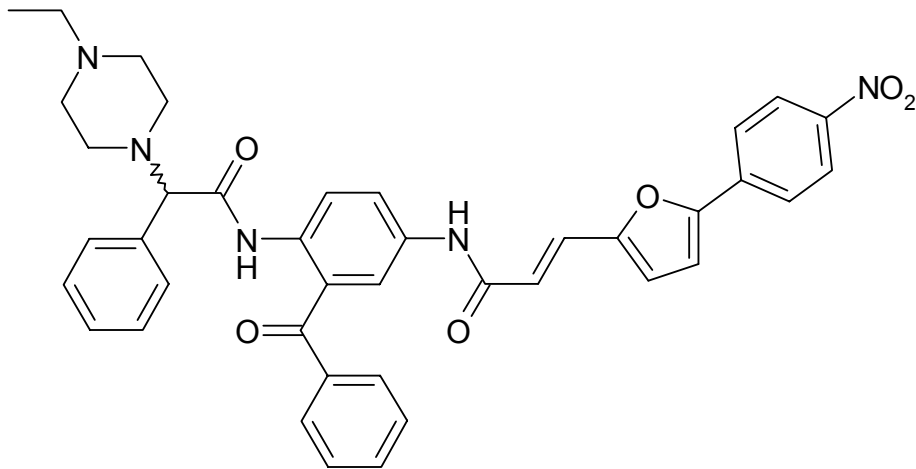
brauner Feststoff  
 $C_{27}H_{30}N_4O_2$  (442.57)

**$^1H$ -NMR** ( $CDCl_3$ , 400 MHz, 23°C):

$\delta$  (ppm) = 1.11 (t,  $J = 8$  Hz, 3H,  $CH_3$  (N-Ethyl)), 2.20 (m, 2H,  $CH_2$  (N-Ethyl)), 2.60 (s, 8H, 4  $CH_2$  (Piperazinyl)), 3.94 (s, 1H, CH-N), 4.48 (s, 2H,  $NH_2$ ), 6.85 – 7.23 (m, 5H, arom. H), 7.25 – 7.41 (m, 5H, arom. H), 7.48 – 7.52 (m, 2H, arom. H), 7.77 – 7.79 (m, 1H, arom. H), 11.24 (s, 1H, NH)



**(E-R,S)-N-(3-Benzoyl-4-[2-(4-ethyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamino]-phenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (149)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus (E)-3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (260 mg, 1.0 mmol) und (R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-ethyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid **137** (443 mg, 1.0 mmol). Der Feststoff fällt aus dem Reaktionsansatz aus.

**Ausbeute:** 436 mg (64% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 168°C

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3409 (w, br), 2979 (w), 1698 (s), 1597 (w), 1495 (s), 1448 (m), 1409 (w), 1337 (m), 1296 (m), 1181 (m), 1119 (w), 1078 (w), 1019 (w), 872 (w), 851 (w), 736 (w), 699 (m), 653 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz, 19.5°C):

$\delta$  (ppm) = 1.18 (t, J = 8 Hz, 3H, CH<sub>3</sub> (N-Ethyl)), 2.27 (m, 2H, CH<sub>2</sub> (N-Ethyl)), 3.03 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 3.27 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 4.68 (s, 1H, CH-N), 7.05 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.11 – 7.37 (m, 12 H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.52 – 7.78 (m, 7H, arom. H), 10.96 (s, 1H, NH), 11.10 (s, 1H, NH)

**MS (ESI):**

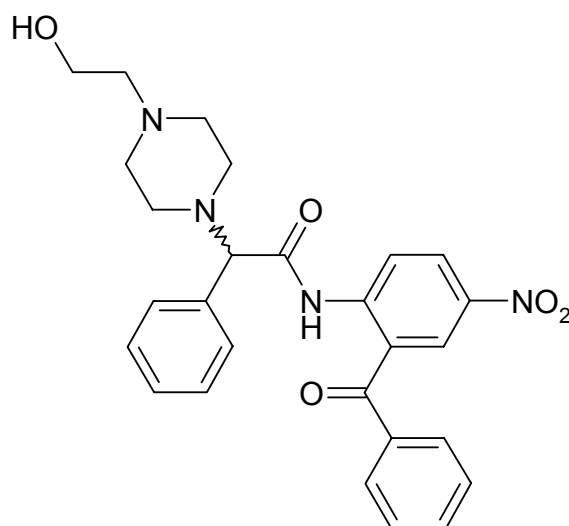
$m/z$  (%) = 684 (30,  $[M+H]^+$ ), 565 (3), 543 (100), 520 (3), 498 (21), 485 (7), 413 (3), 384 (11), 368 (21), 280 (21), 250 (3), 203 (44), 175 (3), 101 (4)

**Elementaranalyse:**  $C_{40}H_{37}N_5O_6$  (683.77)

ber. (%): C: 70.26 H: 5.45 N: 10.24

gef. (%): C: 70.62 H: 5.13 N: 9.85

**(R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl]-2-phenylacetamid (126)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **H** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-chlor-2-phenylacetamid **124** (2367 mg, 6.0 mmol) und N-(2-Hydroxyethyl)piperazin (2343 mg, 18.0 mmol). Säulenchromatographie an Kieselgel mit Ethylacetat.

**Ausbeute:** 303 mg (10% d. Th.)

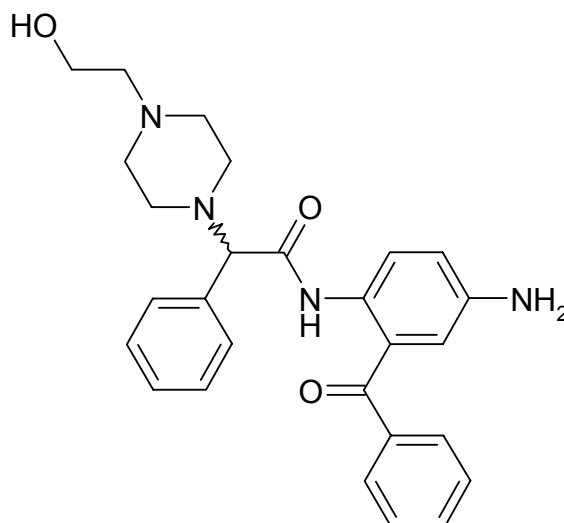
weißer Feststoff  
 $C_{27}H_{28}N_4O_5$  (488.55)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 24.3°C):

δ (ppm) = 2.57 (s, 8H, 4 CH<sub>2</sub> (Piperazinyll)), 2.64 (m, 2H, CH<sub>2</sub> (N-2-Hydroxyethyl)), 3.58 (m, 2H, CH<sub>2</sub> (N-2-Hydroxyethyl)), 4.06 (s, 1H, CH-N), 7.26 – 7.40 (m, 5H, arom. H), 7.47 – 7.85 (m, 5H, arom. H), 8.36 – 8.46 (m, 2H, arom. H), 8.87 – 8.89 (m, 1H, arom. H), 12.15 (s, 1H, NH)

Das Proton der Hydroxygruppe ist nicht sichtbar.

**(R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyll]-2-phenylacetamid (138)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyll]-2-phenylacetamid **126** (293 mg, 0.6 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (0.68 g, 3.0 mmol).

**Ausbeute:** 261 mg (95% d. Th.)

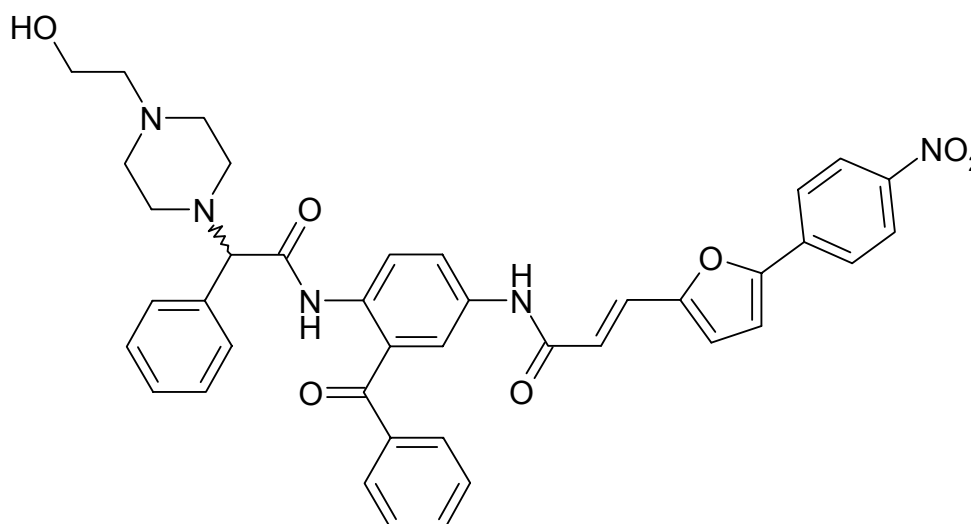
gelber Feststoff  
C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> (458.57)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, 21.5°C):

δ (ppm) = 2.57 (m, 2H, CH<sub>2</sub> (N-2-Hydroxyethyl)), 2.63 (s, 8H, 4 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 3.34 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.58 (m, 2H, CH<sub>2</sub> (N-2-Hydroxyethyl)), 3.92 (s, 1H, CH-N), 6.78 – 6.86 (m, 2H, arom. H), 7.25 – 7.62 (m, 8H, arom. H), 7.77 – 7.79 (m, 2H, arom. H), 8.26 – 8.28 (m, 1H, arom. H), 11.21 (s, 1H, NH)

Das Proton der Hydroxygruppe ist nicht sichtbar.

**(E-R,S)-N-(3-Benzoyl-4-{2-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl]-2-phenylacetyl-amino}phenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (150)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus (E)-3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (130 mg, 0.5 mmol) und (R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl]-2-phenylacetamid **138** (230 mg, 0.5 mmol). Der Feststoff fällt aus dem Reaktionsansatz aus.

**Ausbeute:** 295 mg (84% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 172°C

**IR** (KBr):

$\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3377 (w, br), 2958 (w), 1695 (m), 1627 (w), 1597 (m), 1513 (s), 1448 (m), 1405 (m), 1333 (s), 1293 (m), 1253 (m), 1181 (w), 1117 (w), 1081 (w), 872 (w), 852 (w), 734 (w), 697 (w)

 **$^1\text{H-NMR}$**  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz, 24.4°C):

$\delta$  (ppm) = 2.78 (m, 2H,  $\text{CH}_2$  (*N*-2-Hydroxyethyl)), 3.58 (s, 8H, 4  $\text{CH}_2$  (Piperazinyl), 3.81 (m, 2H,  $\text{CH}_2$  (*N*-2-Hydroxyethyl)), 4.59 (s, 1H, CH-N), 6.86 (d,  $J = 16$  Hz, 1H, =CH), 7.34 – 7.83 (m, 14H, arom. H und d,  $J = 16$  Hz, 1H, =CH), 7.97 – 8.05 (m, 3H, arom. H), 8.33 – 8.39 (m, 2H, arom. H), 10.69 (s, 1H, NH), 11.04 (s, 1H, NH)

Das Proton der Hydroxygruppe ist nicht sichtbar.

**MS** (ESI):

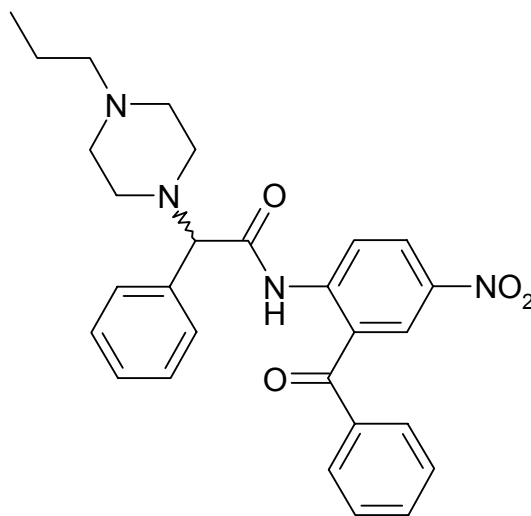
$m/z$  (%) = 700 (48,  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ), 581 (9), 559 (100), 500 (4), 425 (4), 241 (5), 219 (34), 175 (4), 139 (5), 101 (26)

**Elementaranalyse:**  $\text{C}_{40}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_7$  (699.77)

ber. (%): C: 68.66 H: 5.33 N: 10.01

gef. (%): C: 66.98 H: 5.58 N: 9.68

**(R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-phenyl-2-(4-propyl-1-piperazinyl)acetamid (127)**



Als Variation der Allgemeinen Arbeitsvorschrift **H** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-chlor-2-phenylacetamid **124** (2367 mg, 6.0 mmol) und N-Propylpiperazindihydrobromid (5221 mg, 18.0 mmol). Zum Freisetzen des N-Propylpiperazins aus N-Propylpiperazindihydrobromid werden 2 Äquivalente Natriumhydrogencarbonat (3024 mg, 36 mmol) zugegeben und es wird Molekularsieb zum Abfangen des bei der Reaktion entstehenden Wassers zugesetzt. Säulenchromatographie an Kieselgel (kontinuierliche Elution): Erstes Laufmittel Ethylacetat, um unerwünschte Fraktionen abzutrennen, zweites Laufmittel Ethanol, um das gewünschte Produkt zu erhalten.

**Ausbeute:** 1300 mg (45% d. Th.)

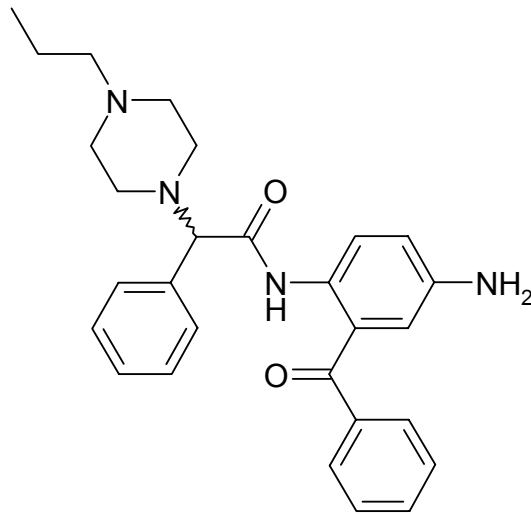
gelbes Öl

$C_{28}H_{30}N_4O_4$  (486.58)

**$^1\text{H-NMR}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz, 24.5°C):

$\delta$  (ppm) = 0.94 (t, J = 8 Hz, 3H,  $\text{CH}_3$  (N-Propyl)), 1.67 (m, 2H,  $\text{CH}_2$  (N-Propyl)), 2.00 (s, 8H, 4  $\text{CH}_2$  (Piperazinyl)), 2.79 (m, 2H,  $\text{CH}_2$  (N-Propyl)), 4.11 (s, 1H, CH-N), 7.34 – 7.36 (m, 5H, aromat. H), 7.58 – 7.60 (m, 2H, aromat. H), 7.74 – 7.78 (m, 3H, aromat. H), 8.40 – 8.48 (m, 2H, aromat. H), 8.87 – 8.89 (m, 1H, aromat. H), 12.24 (s, 1H, NH)

**(R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-phenyl-2-(4-propyl-1-piperazinyl)acetamid (139)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-phenyl-2-(4-propyl-1-piperazinyl)acetamid **127** (1265 mg, 2.6 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (2.93 g, 13.0 mmol).

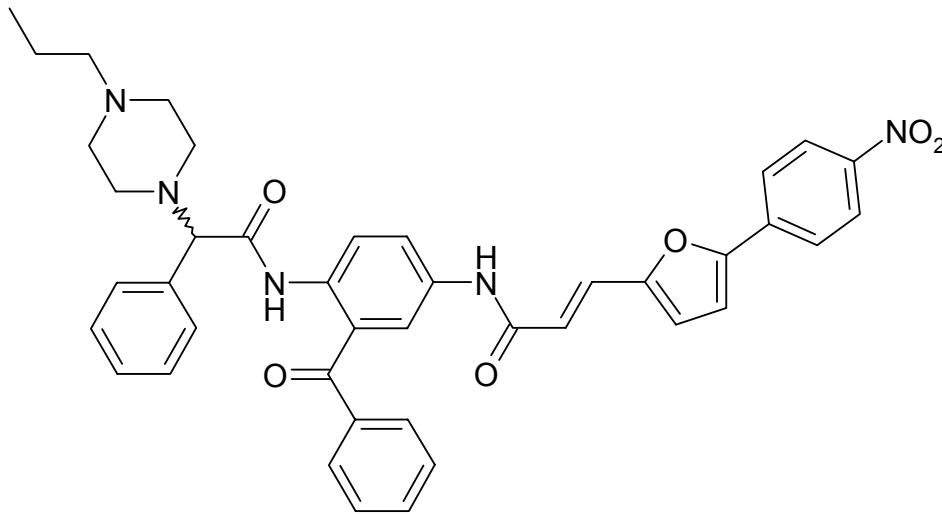
**Ausbeute:** 979 mg (82% d. Th.)

oranger Feststoff  
 $C_{28}H_{32}N_4O_2$  (456.59)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, 20.8°C):

$\delta$  (ppm) = 0.92 (t, J = 8 Hz, 3H, CH<sub>3</sub> (N-Propyl)), 1.67 (m, 2H, CH<sub>2</sub> (N-Propyl)), 2.03 (s, 8H, 4 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 2.79 (m, 2H, CH<sub>2</sub> (N-Propyl)), 3.20 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 4.09 (s, 1H, CH-N), 6.79 – 6.86 (m, 2H, arom. H), 7.25 – 7.73 (m, 10H, arom. H), 8.28 – 8.30 (m, 1H, arom. H), 11.40 (s, 1H, NH)

**(E-R,S)-N-{3-Benzoyl-4-[2-phenyl-2-(4-propyl-1-piperazinyl)acetyl-amino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (151)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus (E)-3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (260 mg, 1.0 mmol) und (R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-phenyl-2-(4-propyl-1-piperazinyl)acetamid **139** (456 mg, 1.0 mmol). Der Feststoff fällt aus dem Reaktionsansatz aus.

**Ausbeute:** 223 mg (32% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 173°C

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3420 (m, br), 2967 (m), 1697 (s), 1596 (m), 1515 (s), 1448 (m), 1403 (w), 1332 (s), 1295 (m), 1252 (m), 1180 (w), 698 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz, 20.6°C):

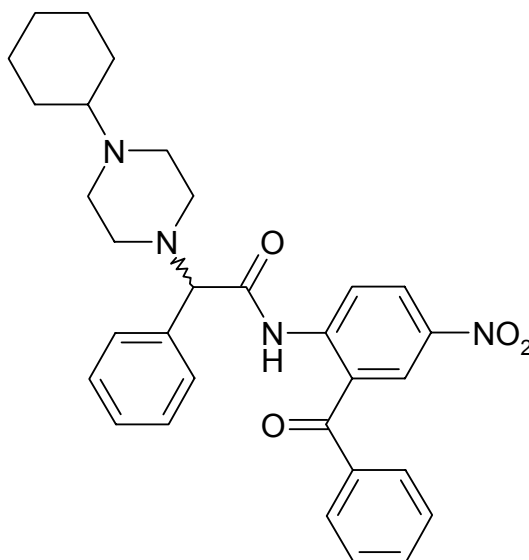
$\delta$  (ppm) = 0.87 (t, J = 8 Hz, 3H, CH<sub>3</sub> (N-Propyl)), 1.69 (m, 2H, CH<sub>2</sub> (N-Propyl)), 2.99 (s, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 3.01 (s, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 3.40 (m, 2H, CH<sub>2</sub> (N-Propyl)), 4.62 (s, 1H, CH-N), 6.83 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.36 – 7.53 (m, 10H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.62 – 8.01 (m, 8H, arom. H), 8.31 – 8.33 (m, 1H, arom. H), 11.13 (s, 1H, NH), 11.24 (s, 1H, NH)



**MS (ESI):** $m/z$  (%) = 698 (83,  $[M+H]^+$ ), 557 (91), 543 (17), 512 (100), 499 (49)**Elementaranalyse:**  $C_{41}H_{39}N_5O_6$  (697.80)

ber. (%): C: 70.57 H: 5.63 N: 10.04

gef. (%): C: 70.12 H: 5.94 N: 9.79

**(R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-cyclohexyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (128)**

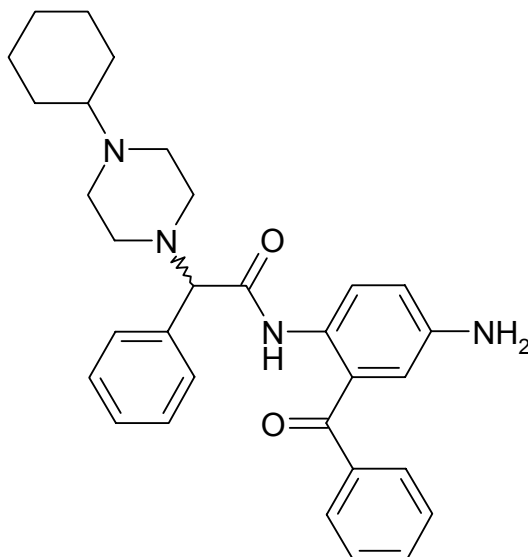
Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **H** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-chlor-2-phenylacetamid **124** (2367 mg, 6.0 mmol) und N-Cyclohexylpiperazin (3029 mg, 18.0 mmol). Säulenchromatographie an Kieselgel mit Ethylacetat.

**Ausbeute:** 965 mg (31% d. Th.)hellgelber Feststoff  
 $C_{31}H_{34}N_4O_4$  (526.64)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 24.5°C):

δ (ppm) = 1.27 (m, 6H, 3 CH<sub>2</sub> (N-Cyclohexyl)), 1.78 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (N-Cyclohexyl)), 2.22 (m, 1H, CH-N (N-Cyclohexylpiperazinyll)), 2.55 (s, 8H, 4 CH<sub>2</sub> (Piperazinyll)), 4.04 (s, 1H, CH-N), 7.35 – 7.43 (m, 5H, aromat. H), 7.56 – 7.82 (m, 5H, aromat. H), 8.36 – 8.45 (m, 2H, aromat. H), 8.86 – 8.88 (m, 1H, aromat. H), 12.10 (s, 1H, NH)

**(R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-cyclohexyl-1-piperazinyll)-2-phenylacetamid (140)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-cyclohexyl-1-piperazinyll)-2-phenylacetamid **128** (948 mg, 1.8 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (2.03 g, 9.0 mmol).

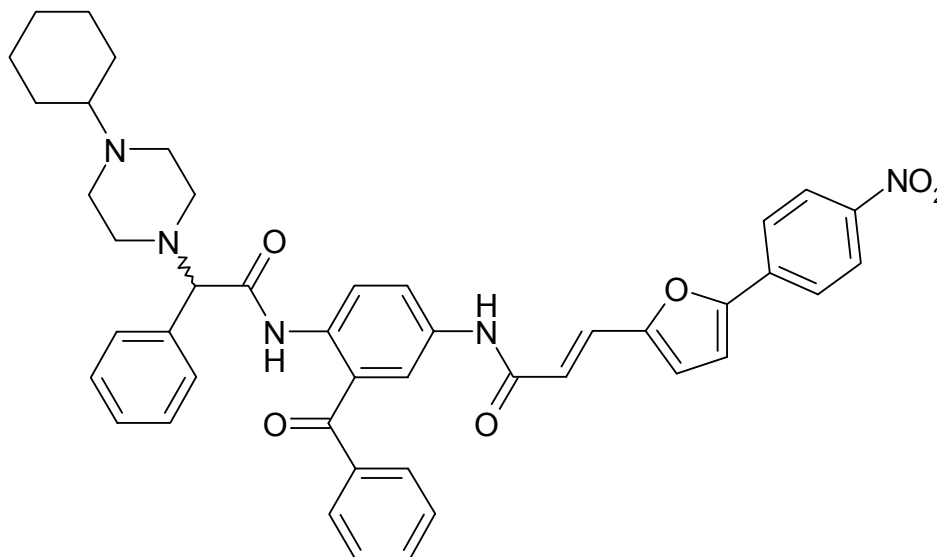
**Ausbeute:** 791 mg (88% d. Th.)

gelber Feststoff  
C<sub>31</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> (496.66)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 24.3°C):

δ (ppm) = 1.26 (m, 6H, 3 CH<sub>2</sub> (N-Cyclohexyl)), 1.85 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (N-Cyclohexyl)), 2.29 (m, 1H, CH-N (N-Cyclohexylpiperazinyl)), 2.62 (s, 8H, 4 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 3.55 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.91 (s, 1H, CH-N), 7.17 – 7.54 (m, 10H, arom. H), 7.80 – 7.81 (m, 2H, arom. H), 8.25 – 8.26 (m, 1H, arom. H), 11.12 (s, 1H, NH)

**(E-R,S)-N-{3-Benzoyl-4-[2-(4-cyclohexyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetyl-amino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (152)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus (E)-3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (260 mg, 1.0 mmol) und (R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-cyclohexyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid **140** (497 mg, 1.0 mmol). Der Feststoff fällt aus dem Reaktionsansatz aus.

**Ausbeute:** 211 mg (29% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 189°C

**IR** (KBr):

$\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3420 (w, br), 2938 (w), 2857 (w), 1693 (m), 1625 (m), 1598 (m), 1514 (s), 1449 (w), 1404 (w), 1333 (s), 1290 (m), 1252 (w), 1182 (w), 1109 (w), 1026 (w), 971 (w), 940 (w), 872 (w), 852 (w), 753 (w), 697 (w), 651 (w)

 **$^1\text{H-NMR}$**  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz, 24.4°C):

$\delta$  (ppm) = 1.27 (m, 6H, 3  $\text{CH}_2$  (*N*-Cyclohexyl)), 1.80 (m, 4H, 2  $\text{CH}_2$  (*N*-Cyclohexyl)), 2.28 (s, 1H, CH-N (*N*-Cyclohexylpiperazinyl)), 3.20 (s, 4H, 2  $\text{CH}_2$  (Piperazinyl)), 3.50 (s, 4H, 2  $\text{CH}_2$  (Piperazinyl)), 4.45 (s, 1H, CH-N), 6.79 (d,  $J = 16$  Hz, 1H, =CH), 7.04 – 7.05 (m, 1H, aromat. H), 7.37 – 7.55 (m, 9H, aromat. H und d,  $J = 16$  Hz, 1H, =CH), 7.66 – 7.77 (m, 4H, aromat. H), 7.91 – 8.01 (m, 3H, aromat. H), 8.31 – 8.34 (m, 2H, aromat. H), 10.65 (s, 1H, NH), 10.99 (s, 1H, NH)

**MS** (ESI):

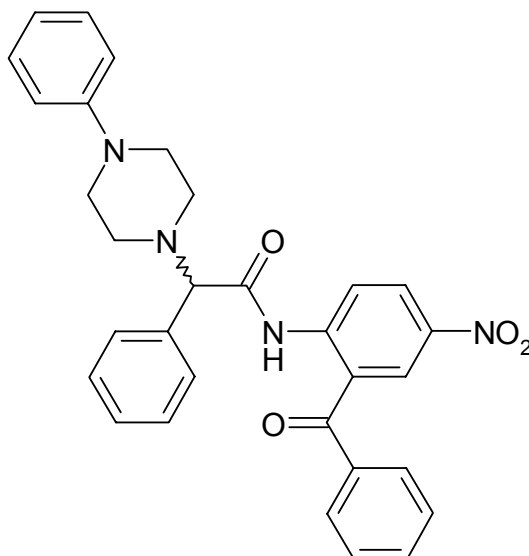
$m/z$  (%) = 738 (100,  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ), 597 (60), 273 (11), 257 (6), 175 (5), 101 (5)

**Elementaranalyse:**  $\text{C}_{44}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_6$  (737.86)

ber. (%): C: 71.62 H: 5.87 N: 9.49

gef. (%): C: 71.03 H: 5.95 N: 9.18

**(R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-phenyl-2-(4-phenyl-1-piperazinyl)acetamid (129)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **H** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-chlor-2-phenylacetamid **124** (2367 mg, 6.0 mmol) und N-Phenylpiperazin (2.75 ml, 18.0 mmol). Säulenchromatographie an Kieselgel mit Ethylacetat.

**Ausbeute:** 2773 mg (89% d. Th.)

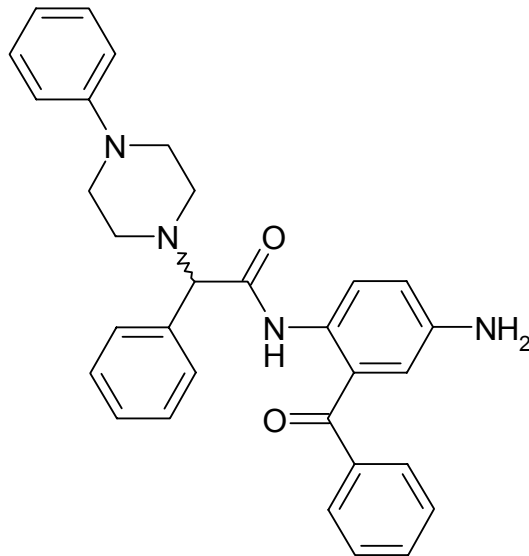
hellgelber Feststoff

C<sub>31</sub>H<sub>28</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> (520.59)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, 21.3°C):

δ (ppm) = 2.64 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 3.31 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 4.10 (s, 1H, CH-N), 6.86 – 6.89 (m, 3H, arom. H), 7.24 – 7.43 (m, 7H, arom. H), 7.54 – 7.77 (m, 5H, arom. H), 8.37 – 8.47 (m, 2H, arom. H), 8.89 – 8.91 (m, 1H, arom. H), 12.24 (s, 1H, NH)

**(R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-phenyl-2-(4-phenyl-1-piperazinyl)acetamid (141)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-phenyl-2-(4-phenyl-1-piperazinyl)acetamid **129** (2700 mg, 5.2 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (5.9 g, 26.0 mmol).

**Ausbeute:** 2117 mg (83% d. Th.)

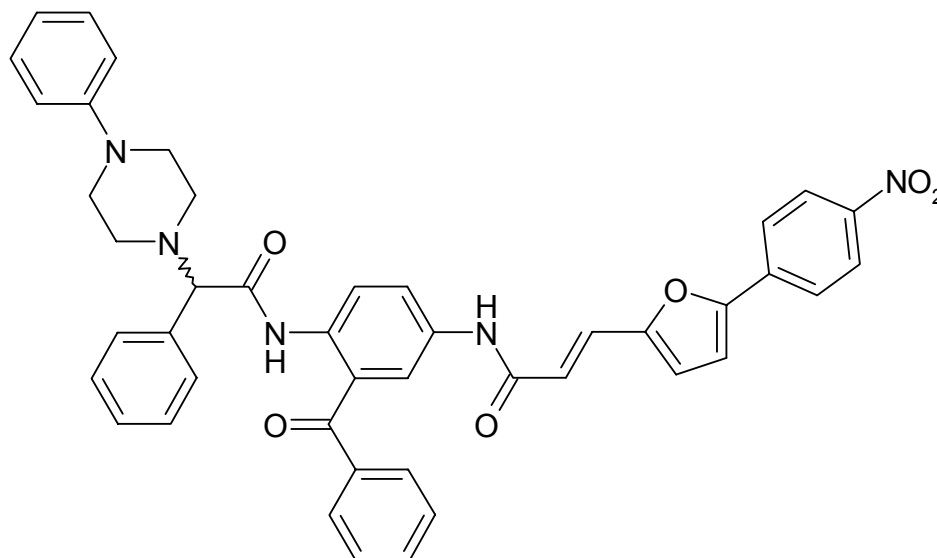
gelber Feststoff

$C_{31}H_{30}N_4O_2$  (490.61)

**$^1H$ -NMR** ( $CDCl_3$ , 400 MHz, 27.0°C):

$\delta$  (ppm) = 2.53 (m, 4H, 2  $CH_2$  (Piperazinyl)), 3.18 (m, 4H, 2  $CH_2$  (Piperazinyl)), 3.63 (s, 2H,  $NH_2$ ), 3.89 (s, 1H, CH-N), 6.70 – 6.79 (m, 5H, arom. H), 7.14 – 7.24 (m, 5H, arom. H), 7.33 – 7.41 (m, 4H, arom. H), 7.51 – 7.53 (m, 1H, arom. H), 7.68 – 7.70 (m, 2H, arom. H), 8.19 – 8.21 (m, 1H, arom. H), 11.17 (s, 1H, NH)

**(E-R,S)-N-{3-Benzoyl-4-[2-phenyl-2-(4-phenyl-1-piperazinyl)acetyl-amino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (153)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus (E)-3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (260 mg, 1.0 mmol) und (R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-phenyl-2-(4-phenyl-1-piperazinyl)acetamid **141** (491 mg, 1.0 mmol). Der Feststoff fällt aus dem Reaktionsansatz aus.

**Ausbeute:** 222 mg (30% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 178°C

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3420 (w, br), 3058 (w), 2957 (w), 1692 (m), 1624 (m), 1598 (s), 1551 (s), 1512 (s), 1448 (w), 1402 (w), 1331 (s), 1294 (m), 1251 (m), 1179 (w), 852 (w), 753 (w), 694 (m)

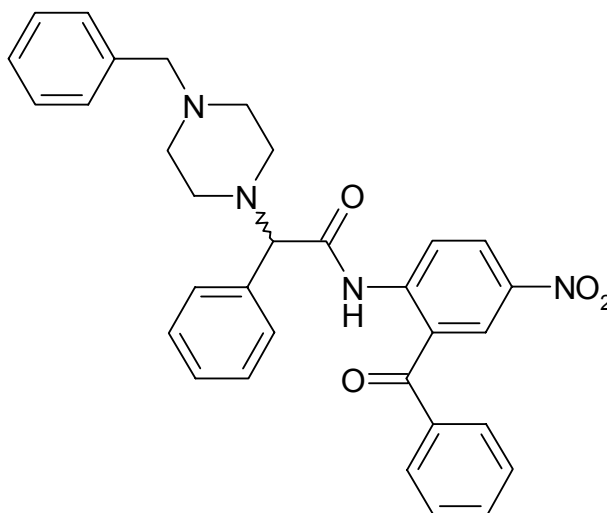
**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 24.7°C):

$\delta$  (ppm) = 3.12 (s, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 3.57 (s, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 5.35 (s, 1H, CH-N), 6.84 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.87 – 7.28 (m, 7H, arom. H), 7.36 – 8.08 (m, 16H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 8.29 – 8.31 (m, 1H, arom. H), 10.80 (s, 1H, NH), 11.51 (s, 1H, NH)

**MS (ESI):** $m/z$  (%) = 732 (100,  $[M+H]^+$ ), 591 (38), 577 (10), 279 (29)**Elementaranalyse:**  $C_{44}H_{37}N_5O_6$  (731.82)

ber. (%): C: 72.42 H: 5.10 N: 9.57

gef. (%): C: 71.97 H: 5.31 N: 9.31

**(R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-benzyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (130)**

Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **H** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-chlor-2-phenylacetamid **124** (2367 mg, 6.0 mmol) und N-Benzylpiperazin (3.13 ml, 18.0 mmol). Säulenchromatographie an Kieselgel mit Ethylacetat.

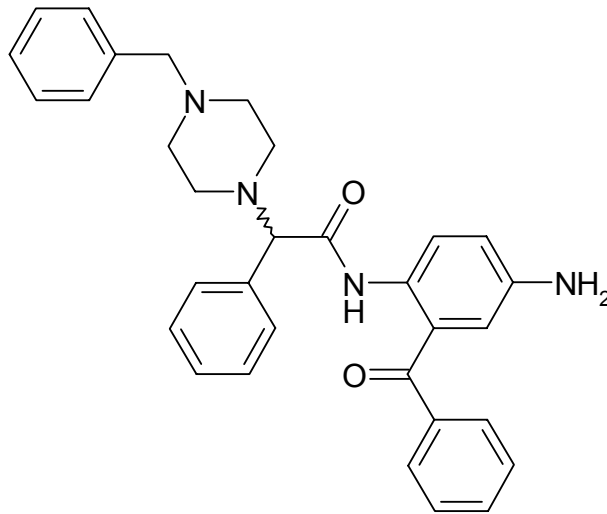
**Ausbeute:** 480 mg (15% d. Th.)

hellbrauner Feststoff

 $C_{32}H_{30}N_4O_4$  (534.62) **$^1H$ -NMR** ( $CDCl_3$ , 400 MHz, 24.8°C): $\delta$  (ppm) = 2.51 (s, 8H, 4  $CH_2$  (Piperazinyll)), 3.51 (m, 2H,  $CH_2$  (N-Benzyl)), 4.04 (s, 1H, CH-N), 7.18 – 7.41 (m, 11H, arom. H), 7.57 – 7.81 (m, 4H, arom. H), 8.37 – 8.45 (m, 2H, arom. H), 8.85 – 8.88 (m, 1H, arom. H), 12.11 (s, 1H, NH)



**(R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-benzyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (142)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-benzyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid **130** (428 mg, 0.8 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (0.9 g, 4.0 mmol).

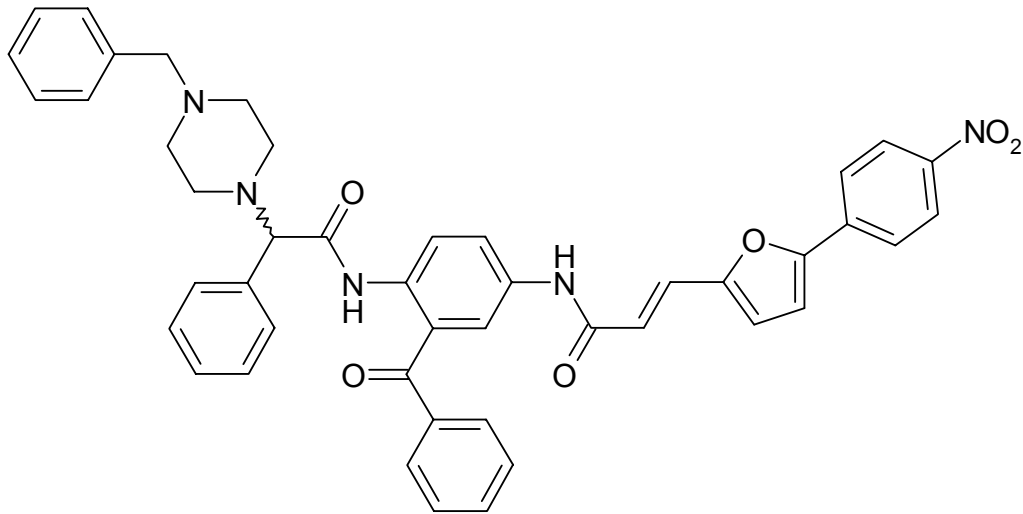
**Ausbeute:** 400 mg (99% d. Th.)

gelber Feststoff  
 $C_{32}H_{32}N_4O_2$  (504.64)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, 21.4°C):

$\delta$  (ppm) = 2.39 (s, 8H, 4 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 3.43 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.54 (m, 2H, CH<sub>2</sub> (N-Benzyl)), 3.92 (s, 1H, CH-N), 7.25 – 7.53 (m, 15H, arom. H), 7.80 – 7.83 (m, 2H, arom. H), 8.24 – 8.26 (m, 1H, arom. H), 11.16 (s, 1H, NH)

**(E-R,S)-N-{3-Benzoyl-4-[2-(4-benzyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetyl-amino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (154)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus (E)-3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (208 mg, 0.8 mmol) und (R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-benzyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid **142** (404 mg, 0.8 mmol). Der Feststoff fällt aus dem Reaktionsansatz aus.

**Ausbeute:** 63 mg (11% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 181°C

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3420 (m, br), 2956 (w), 1669 (m), 1624 (m), 1597 (m), 1511 (s), 1448 (m), 1403 (m), 1331 (s), 1290 (m), 1251 (m), 1197 (w), 1179 (w), 1108 (w), 871 (w), 851 (w), 752 (w), 699 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz, 20.3°C):

$\delta$  (ppm) = 3.50 (s, 8H, 4 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 4.28 (s, 2H, CH<sub>2</sub> (N-Benzyl)), 4.29 (s, 1H, CH-N), 6.78 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.04 – 7.05 (m, 1H, arom. H), 7.26 – 7.57 (m, 15H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.72 – 7.74 (m, 2H, arom. H), 7.88 – 8.00 (m, 4H, arom. H), 8.31 – 8.34 (m, 2H, arom. H), 10.62 (s, 1H, NH), 11.01 (s, 1H, NH)

**MS** (CI, 300eV):

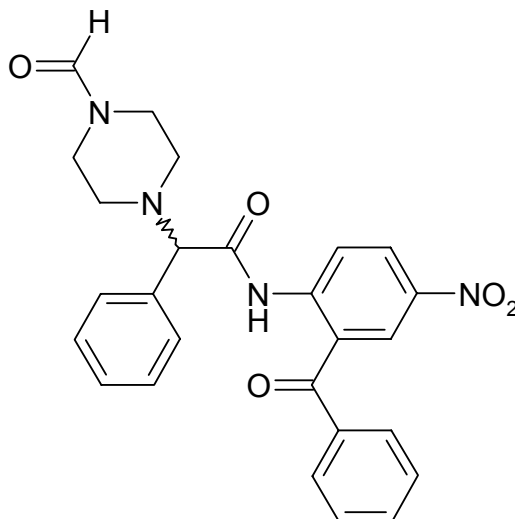
$m/z$  (%) = 746 (100,  $[M+H]^+$ ), 592 (48), 547 (33), 333 (33), 279 (16), 266 (14)

**Elementaranalyse:**  $C_{45}H_{39}N_5O_6$  (745.84)

ber. (%): C: 72.42 H: 5.27 N: 9.39

gef. (%): C: 71.94 H: 5.60 N: 9.05

**(R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-formyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (131)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **H** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-chlor-2-phenylacetamid **124** (2367 mg, 6.0 mmol) und 1-Piperazincarboxaldehyd (1.87 ml, 18.0 mmol). Säulenchromatographie an Kieselgel mit Ethylacetat.

**Ausbeute:** 2234 mg (79% d. Th.)

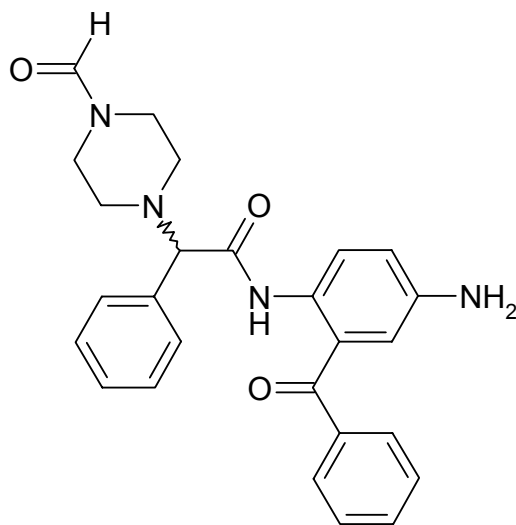
hellgelber Feststoff

$C_{26}H_{24}N_4O_5$  (472.50)

**$^1H$ -NMR** ( $CDCl_3$ , 500 MHz, 23.6°C):

$\delta$  (ppm) = 2.48 (m, 4H, 2  $CH_2$  (Piperazinyl)), 3.55 (m, 4H, 2  $CH_2$  (Piperazinyl)), 4.13 (s, 1H, CH-N), 7.32 – 7.40 (m, 5H, arom. H), 7.56 – 7.80 (m, 5H, arom. H), 8.00 (s, 1H, CHO (N-Formyl)), 8.38 – 8.49 (m, 2H, arom. H), 8.89 – 8.91 (m, 1H, arom. H), 12.36 (s, 1H, NH)

**(R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-formyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (143)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-formyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid **131** (2174 mg, 4.6 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (5.81 g, 23.0 mmol).

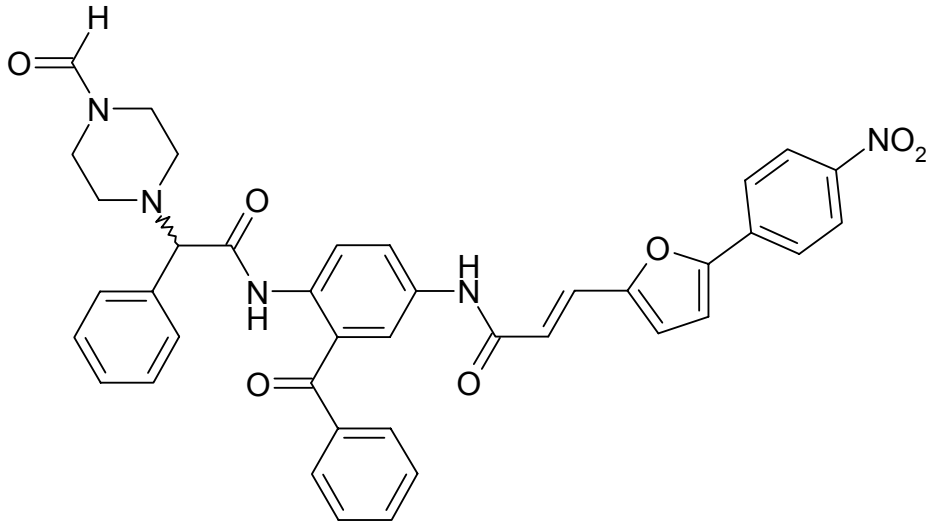
**Ausbeute:** 1096 mg (54% d. Th.)

gelber Feststoff  
 $C_{26}H_{26}N_4O_3$  (442.54)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 25°C):

$\delta$  (ppm) = 2.42 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 3.46 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.62 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 3.97 (s, 1H, CH-N), 6.86 – 6.90 (m, 2H, arom. H), 7.24 – 7.36 (m, 5H, arom. H), 7.46 – 7.58 (m, 2H, arom. H), 7.59 – 7.61 (m, 1H, arom. H), 7.73 – 7.76 (m, 2H, arom. H), 7.95 (s, 1H, CHO (*N*-Formyl)), 8.28 – 8.30 (m, 1H, arom. H), 11.42 (s, 1H, NH)

**(E-R,S)-N-{3-Benzoyl-4-[2-(4-formyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetyl-amino]-phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (155)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus (E)-3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (260 mg, 1.0 mmol) und (R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-formyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid **143** (442 mg, 1.0 mmol). Der aus dem Reaktionsansatz ausfallende Feststoff wird abgesaugt und durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Ethylacetat gereinigt.

**Ausbeute:** 41 mg (6% d. Th.)

oranger Feststoff

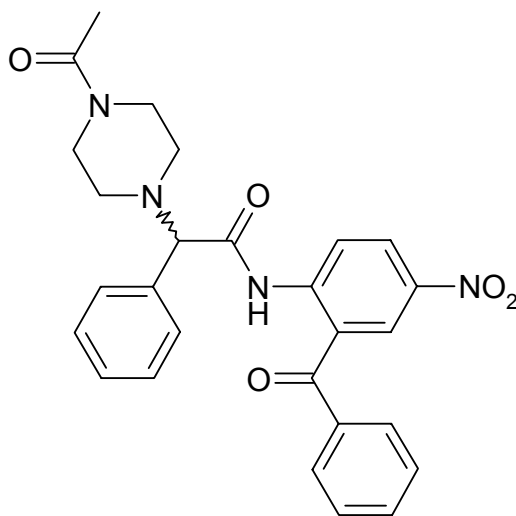
$C_{39}H_{33}N_5O_7$  (683.73)

**$^1H$ -NMR** (DMSO- $d_6$ , 500 MHz, 24.8°C):

$\delta$  (ppm) = 2.27 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 3.47 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 4.12 (s, 1H, CH-N), 6.75 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.05 – 7.07 (m, 1H, arom. H), 7.29 – 7.78 (m, 11H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.91 – 8.05 (m, 5H, arom. H), 8.11 (s, 1H, CHO (N-Formyl)), 8.33 – 8.35 (m, 2H, arom. H), 10.50 (s, 1H, NH), 11.15 (s, 1H, NH)

Die Substanz ist in DMSO und anderen Lösungsmitteln nur sehr schwer löslich und daher nicht zur Testung oder als Arzneistoff geeignet.

**(R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-acetyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (132)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **H** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-chlor-2-phenylacetamid **124** (2367 mg, 6.0 mmol) und N-Acetylpiperazin (2307 mg, 18.0 mmol). Es wird zweimal mit gesättigter Kaliumcarbonatlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer vollständig entfernt, anschließend Säulenchromatographie an Kieselgel mit Ethylacetat.

**Ausbeute:** 2518 mg (86% d. Th.)

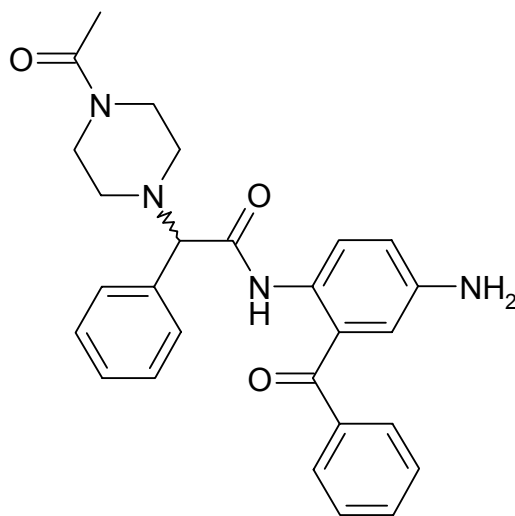
hellgelber Feststoff

C<sub>27</sub>H<sub>26</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub> (486.53)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 25.8°C):

δ (ppm) = 1.97 (s, 3H, CH<sub>3</sub> (N-Acetyl)), 2.42 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 3.45 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 4.04 (s, 1H, CH-N), 7.22 – 7.31 (m, 5H, arom. H), 7.49 – 7.52 (m, 2H, arom. H), 7.61 – 7.65 (m, 1H, arom. H), 7.69 – 7.71 (m, 2H, arom. H), 8.30 – 8.41 (m, 2H, arom. H), 8.82 – 8.84 (m, 1H, arom. H), 12.26 (s, 1H, NH)

**(R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-acetyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (144)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-acetyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid **132** (2433 mg, 5.0 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (5.625 g, 25.0 mmol).

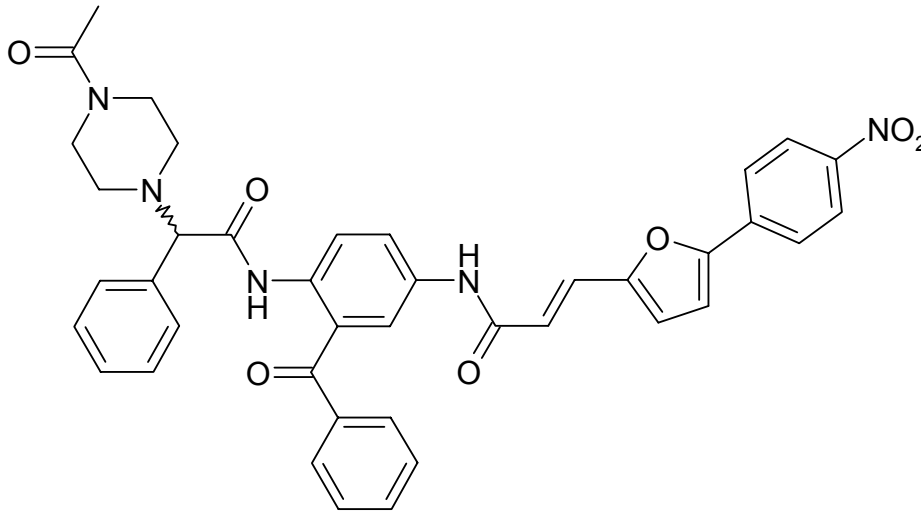
**Ausbeute:** 2250 mg (99% d. Th.)

gelber Feststoff  
 $C_{27}H_{28}N_4O_3$  (456.55)

**$^1H$ -NMR** ( $CDCl_3$ , 500 MHz, 25°C):

$\delta$  (ppm) = 2.00 (s, 3H,  $CH_3$  (N-Acetyl)), 2.40 (m, 4H, 2  $CH_2$  (Piperazinyl)), 3.53 (s, 2H,  $NH_2$ ), 3.66 (m, 4H, 2  $CH_2$  (Piperazinyl)), 3.95 (s, 1H, CH-N), 6.79 – 6.86 (m, 2H, arom. H), 7.24 – 7.35 (m, 5H, arom. H), 7.46 – 7.49 (m, 2H, arom. H), 7.58 – 7.60 (m, 1H, arom. H), 7.74 – 7.76 (m, 2H, arom. H), 8.28 – 8.30 (m, 1H, arom. H), 11.40 (s, 1H, NH)

**(E,R,S)-N-{3-Benzoyl-4-[2-(4-acetyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetyl-amino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (156)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus (E)-3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (260 mg, 1.0 mmol) und (R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-acetyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid **144** (456 mg, 1.0 mmol). Der aus dem Reaktionsansatz ausfallende Feststoff wird abgesaugt und durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Aceton : n-Hexan (7 : 3) gereinigt.

**Ausbeute:** 86 mg (12% d. Th.)

oranger Feststoff

$C_{40}H_{35}N_5O_7$  (697.75)

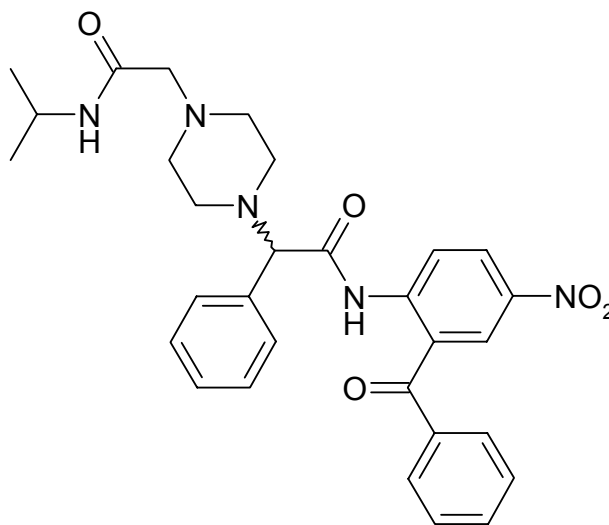
**$^1H$ -NMR** (DMSO- $d_6$ , 500 MHz, 23.5°C):

$\delta$  (ppm) = 1.87 (s, 3H,  $CH_3$  (N-Acetyl)), 2.57 (m, 4H, 2  $CH_2$  (Piperazinyl)), 3.50 (m, 4H, 2  $CH_2$  (Piperazinyl)), 4.01 (s, 1H, CH-N), 6.78 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.09 – 7.11 (m, 1H, arom. H), 7.32 – 7.75 (m, 11H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.89 – 8.06 (m, 5H, arom. H), 8.29 – 8.32 (m, 2H, arom. H), 10.52 (s, 1H, NH), 11.15 (s, 1H, NH)

Die Substanz ist in DMSO und anderen Lösungsmitteln nur sehr schwer löslich und daher nicht zur Testung oder als Arzneistoff geeignet.



**(R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-[4-(N-isopropylaminocarbonyl-methyl)-1-piperazinyl]-2-phenylacetamid (133)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **H** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-chlor-2-phenylacetamid **124** (2367 mg, 6.0 mmol) und N-Isopropyl-1-piperazinacetamid (3335 mg, 18.0 mmol). Säulenchromatographie an Kieselgel mit Ethylacetat.

**Ausbeute:** 1936 mg (59% d. Th.)

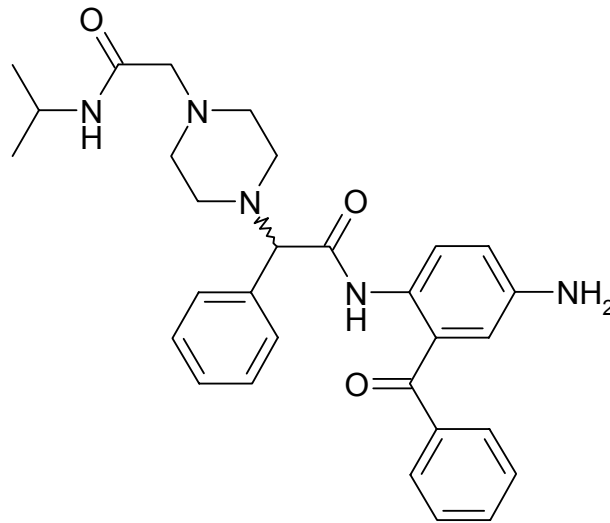
gelber Feststoff

C<sub>30</sub>H<sub>33</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub> (543.63)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 24.3°C):

δ (ppm) = 1.13 (m, 6H, 2 CH<sub>3</sub> (N-Isopropylamino)), 2.64 (s, 8H, 4 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 2.96 (s, 2H, CH<sub>2</sub> (Aminocarbonylmethyl)), 4.07 (s, 1H, CH-N), 4.11 (m, 1H, CH-N (N-Isopropylamino)), 6.83 (s, 1H, NH (N-Isopropylaminocarbonyl)), 7.28 – 7.44 (m, 5H, aromat. H), 7.58 – 7.86 (m, 5H, aromat. H), 8.36 – 8.47 (m, 2H, aromat. H), 8.86 – 8.89 (m, 1H, aromat. H), 12.18 (s, 1H, NH)

**(R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-[4-(N-isopropylaminocarbonylmethyl)-1-piperazinyl]-2-phenylacetamid (145)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-[4-(N-isopropylaminocarbonylmethyl)-1-piperazinyl]-2-phenylacetamid **133** (1903 mg, 3.5 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (3.94 g, 17.5 mmol).

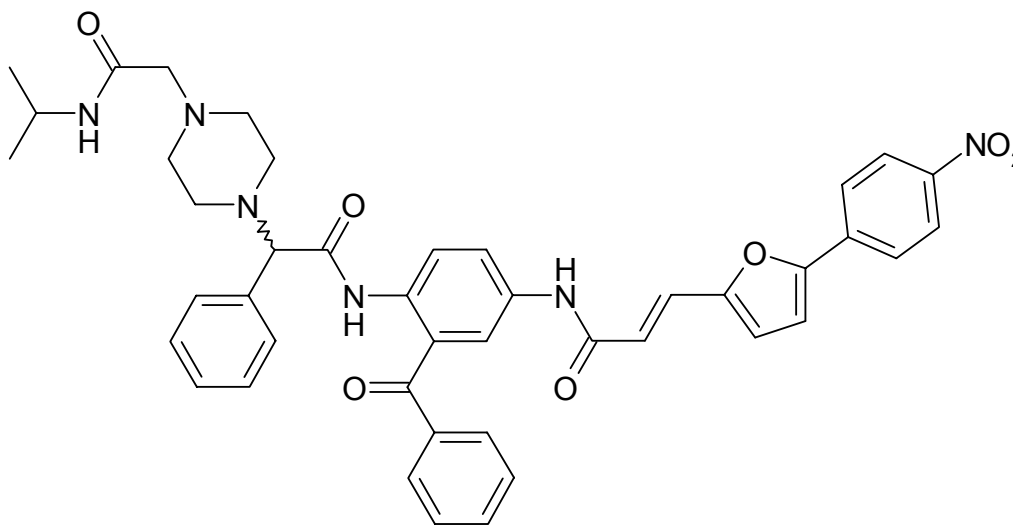
**Ausbeute:** 1237 mg (69% d. Th.)

gelber Feststoff  
C<sub>30</sub>H<sub>35</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub> (513.65)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 24.5°C):

δ (ppm) = 1.09 (m, 6H, 2 CH<sub>3</sub> (N-Isopropylamino)), 2.58 (s, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 2.60 (s, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 2.99 (s, 2H, CH<sub>2</sub> (Aminocarbonylmethyl)), 3.62 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.93 (s, 1H, CH-N), 4.05 (m, 1H, CH-N (N-Isopropylamino)), 6.80 (s, 1H, NH (N-Isopropylaminocarbonyl)), 6.84 – 6.86 (m, 2H, arom. H), 7.26 – 7.63 (m, 8H, arom. H), 7.77 – 7.79 (m, 2H, arom. H), 8.26 – 8.28 (m, 1H, arom. H), 11.23 (s, 1H, NH)

**(E-R,S)-N-(3-Benzoyl-4-{2-[4-(N-isopropylaminocarbonylmethyl)-1-piperazinyl]-2-phenylacetamino}phenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (157)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus (E)-3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (260 mg, 1.0 mmol) und (R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-[4-(N-isopropylaminocarbonylmethyl)-1-piperazinyl]-2-phenylacetamid **145** (514 mg, 1.0 mmol). Der Feststoff fällt aus dem Reaktionsansatz aus.

**Ausbeute:** 412 mg (55% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 180°C

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3434 (w, br), 2971 (w), 1678 (m), 1624 (w), 1597 (m), 1551 (m), 1514 (s), 1449 (w), 1403 (w), 1332 (s), 1292 (w), 1249 (w), 1178 (w), 852 (w), 697 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz, 21.4°C):

δ (ppm) = 1.07 (m, 6H, 2 CH<sub>3</sub> (*N*-Isopropylamino)), 2.71 (s, 2H, CH<sub>2</sub> (Aminocarbonylmethyl)), 3.55 (s, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyll)), 3.85 (s, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyll)), 4.27 (m, 1H, CH-N (*N*-Isopropylamino)), 4.48 (s, 1H, CH-N), 6.80 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.04 (s, 1H, NH (*N*-Isopropylaminocarbonyl)), 7.36 – 7.77 (m, 12H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.80 – 8.01 (m, 4H, arom. H), 8.31 – 8.33 (m, 2H, arom. H), 8.57 – 8.59 (m, 1H, arom. H), 10.67 (s, 1H, NH), 10.99 (s, 1H, NH)

**MS** (ESI):

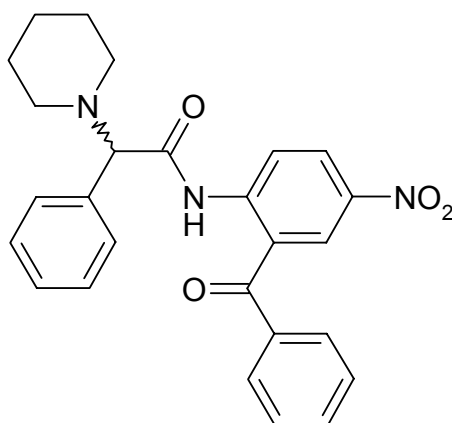
m/z (%) = 755 (100, [M+H]<sup>+</sup>), 615 (54), 337 (38), 316 (47), 241 (26), 217 (11), 185 (14)

**Elementaranalyse:** C<sub>43</sub>H<sub>42</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub> (754.85)

ber. (%): C: 68.42 H: 5.61 N: 11.13

gef. (%): C: 68.81 H: 5.84 N: 11.46

**(R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-phenyl-2-(1-piperidyl)acetamid (134)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **H** aus (R,S)-*N*-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-chlor-2-phenylacetamid **124** (1580 mg, 4.0 mmol) und Piperidin (1.0 ml, 12.0 mmol). Umkristallisation aus Ether : *n*-Hexan (1 : 1).

**Ausbeute:** 646 mg (35% d. Th.)

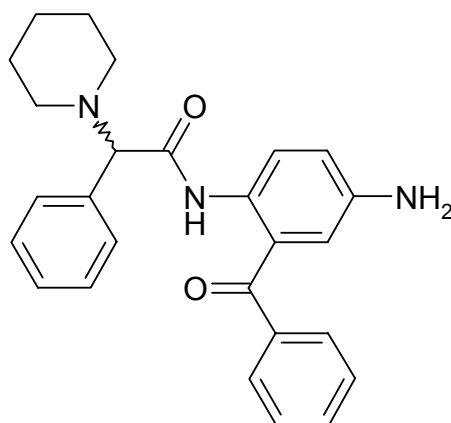
gelber Feststoff

C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (443.51)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz, 29.7°C):

δ (ppm) = 1.29 (m, 2H, CH<sub>2</sub> (Piperidyl)), 1.48 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperidyl)), 2.23 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperidyl)), 4.11 (s, 1H, NH), 7.23 – 7.35 (m, 5H, aromat. H), 7.54 – 7.79 (m, 5H, aromat. H), 8.23 – 8.51 (m, 3H, aromat. H), 11.50 (s, 1H, NH)

**(R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-phenyl-2-(1-piperidyl)acetamid (146)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-phenyl-2-(1-piperidyl)acetamid **134** (532 mg, 1.2 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (1.35 g, 6.0 mmol).

**Ausbeute:** 491 mg (92% d. Th.)

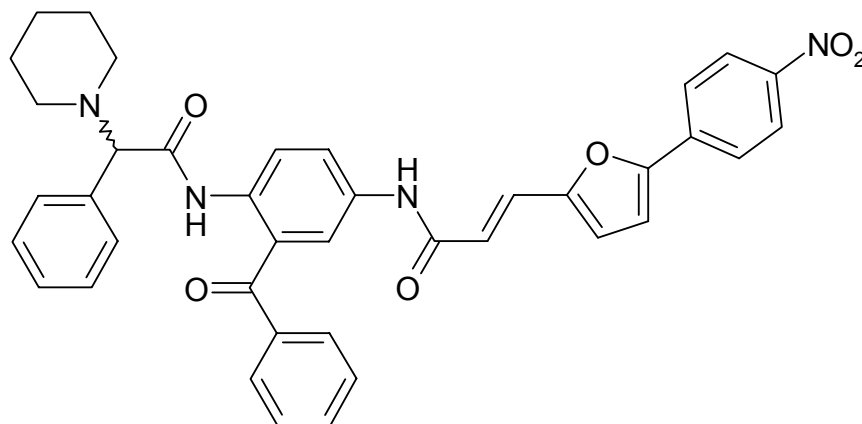
roter Feststoff

C<sub>26</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> (413.25)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 30°C):

δ (ppm) = 1.45 (m, 6H, 3 CH<sub>2</sub> (Piperidyl)), 1.90 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperidyl)), 3.85 (s, 1H, CH-N), 5.19 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 6.73 – 6.81 (m, 2H, aromat. H), 7.23 – 7.75 (m, 11H, aromat. H), 10.55 (s, 1H, NH)

**(E-R,S)-N-{3-Benzoyl-4-[2-phenyl-2-(1-piperidyl)acetylamino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (158)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus (E)-3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (195 mg, 0.75 mmol) und (R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-phenyl-2-(1-piperidyl)acetamid **146** (310 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Toluol : Dioxan (1 : 1).

**Ausbeute:** 131 mg (27% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 195°C

(Toluol : Dioxan (1 : 1))

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3408 (w, br), 2956 (w), 1700 (m), 1697 (m), 1666 (m), 1653 (m), 1623 (m), 1598 (m), 1560 (m), 1513 (s), 1453 (w), 1404 (m), 1333 (s), 1251 (m), 1199 (w), 1181 (w), 1109 (w), 871 (w), 853 (w), 753 (w), 697 (m)

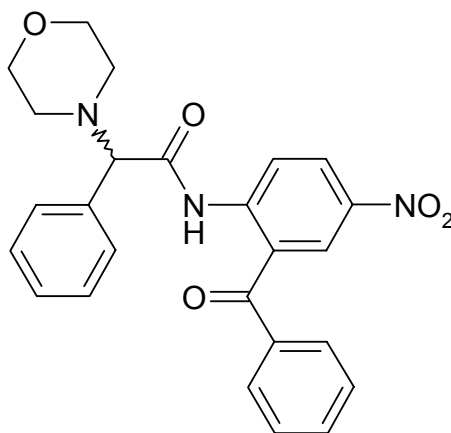
**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 30°C):

$\delta$  (ppm) = 1.62 (m, 6H, 3 CH<sub>2</sub> (Piperidyl)), 3.55 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperidyl)), 5.15 (s, 1H, CH-N), 6.79 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.04 – 7.05 (m, 1H, aromat. H), 7.27 – 7.29 (m, 2H, aromat. H), 7.39 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.44 – 7.65 (m, 8H, aromat. H), 7.78 – 8.00 (m, 6H, aromat. H), 8.31 – 8.33 (m, 2H, aromat. H), 10.63 (s, 1H, NH), 11.37 (s, 1H, NH)

**MS (ESI):** $m/z$  (%) = 655 (100,  $[M+H]^+$ ), 472 (1), 456 (11), 442 (1), 405 (4), 174 (5)**Elementaranalyse:**  $C_{39}H_{34}N_4O_6$  (654.73)

ber. (%): C: 71.55 H: 5.23 N: 8.56

gef. (%): C: 71.35 H: 5.45 N: 8.35

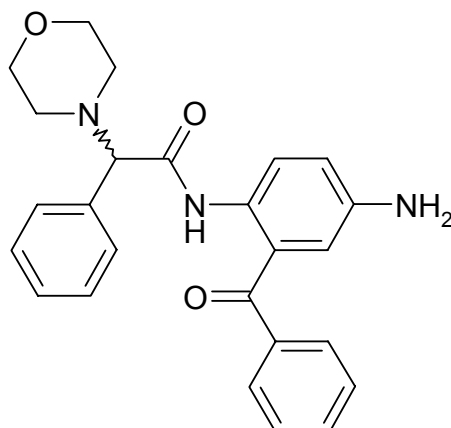
**(R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-morpholinyl)-2-phenylacetamid (135)**

Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **H** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-chlor-2-phenylacetamid **124** (1560 mg, 4.0 mmol) und Morpholin (1.04 ml, 12.0 mmol). Umkristallisation aus Ethylacetat.

**Ausbeute:** 1055 mg (58% d. Th.)

weißer Feststoff

 $C_{25}H_{23}N_3O_5$  (445.48) **$^1H$ -NMR** (DMSO- $d_6$ , 400 MHz, 29.6°C): $\delta$  (ppm) = 2.49 (s, 4H, 2  $CH_2$  (Morpholinyl)), 3.60 (s, 4H, 2  $CH_2$  (Morpholinyl)), 4.14 (s, 1H, CH-N), 7.31 – 7.33 (m, 5H, aromat. H), 7.56 – 7.82 (m, 5H, aromat. H), 8.26 – 8.47 (m, 3H, aromat. H), 11.67 (s, 1H, NH)

**(R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-morpholinyl)-2-phenylacetamid (147)**

Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-morpholinyl)-2-phenylacetamid **135** (668 mg, 1.5 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (1.69 g, 7.5 mmol).

**Ausbeute:** 600 mg (93% d. Th.)

gelber Feststoff

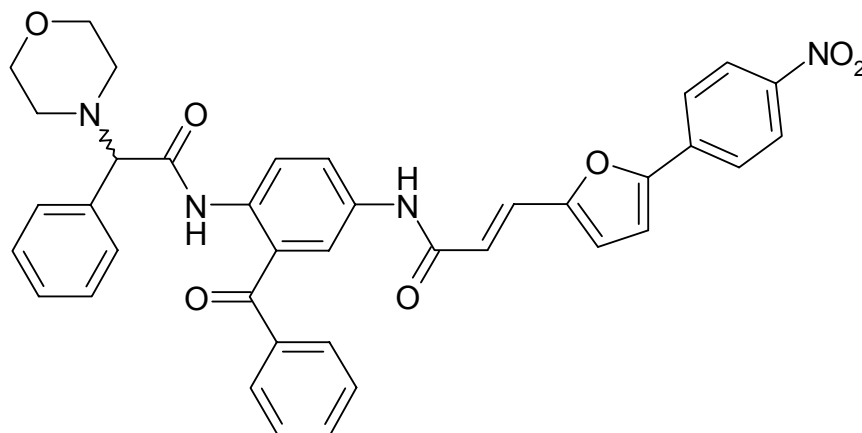
$C_{25}H_{25}N_3O_3$  (415.50)

**$^1H$ -NMR** (DMSO- $d_6$ , 500 MHz, 29.9°C):

$\delta$  (ppm) = 2.17 (s, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Morpholinyl)), 3.53 (s, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Morpholinyl)), 3.84 (s, 1H, CH-N), 5.20 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 6.63 – 6.72 (m, 2H, aromat. H), 7.27 – 7.31 (m, 5H, aromat. H), 7.52 – 7.72 (m, 6H, aromat. H), 10.49 (s, 1H, NH)



**(E-R,S)-N-{3-Benzoyl-4-[2-(4-morpholinyl)-2-phenylacetamino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (159)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus (E)-3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (195 mg, 0.75 mmol) und (R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-morpholinyl)-2-phenylacetamid **147** (312 mg, 0.75 mmol). Es wird in Ethylacetat aufgenommen, mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer vollständig entfernt. Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 305 mg (62% d. Th.)

rot – oranger Feststoff

**Festpunkt:** 255°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3444 (m, br), 2959 (w), 1660 (w), 1627 (m), 1598 (m), 1511 (s), 1404 (w), 1334 (m), 1289 (w), 1248 (w), 1111 (w), 854 (w), 753 (w), 703 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 30°C):

$\delta$  (ppm) = 2.49 (s, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Morpholinyl)), 3.58 (s, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Morpholinyl)), 3.97 (s, 1H, CH-N), 6.73 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.02 – 7.03 (m, 1H, arom. H), 7.29 – 7.42 (m, 6H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.55 – 7.90 (m, 7H, arom. H), 7.97 – 8.05 (m, 3H, arom. H), 8.30 – 8.32 (m, 2H, arom. H), 10.45 (s, 1H, NH), 11.08 (s, 1H, NH)

**MS (ESI):**

$m/z$  (%) = 657 (100,  $[M+H]^+$ ), 528 (2), 416 (6), 333 (4), 298 (16), 271 (6), 185 (2), 176 (5), 130 (4), 121 (4)

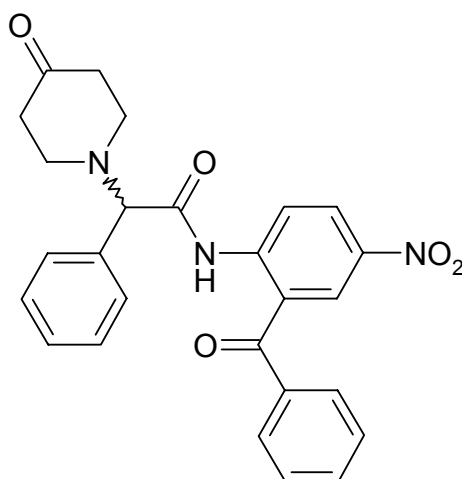
**Elementaranalyse:**  $C_{38}H_{32}N_4O_7$ 

(656.70)

ber. (%): C: 69.50 H: 4.91 N: 8.53

gef. (%): C: 69.35 H: 4.99 N: 8.28

**(R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-oxo-1-piperidiny)-2-phenylacetamid (136)**



Als Variation der Allgemeinen Arbeitsvorschrift **H** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-chlor-2-phenylacetamid **124** (2367 mg, 6.0 mmol) und 4-Piperidonhydrochlorid · H<sub>2</sub>O (2873 mg, 18.0 mmol). Zum Freisetzen des 4-Piperidons aus 4-Piperidondydrochlorid · H<sub>2</sub>O wird 1 Äquivalent Natriumhydrogencarbonat (1512 mg, 18 mmol) zugegeben, außerdem wird Molekularsieb zum Abfangen des bei der Reaktion entstehenden Wassers zugesetzt. Säulenchromatographie an Kieselgel mit Ethylacetat.

**Ausbeute:** 1464 mg (53% d. Th.)

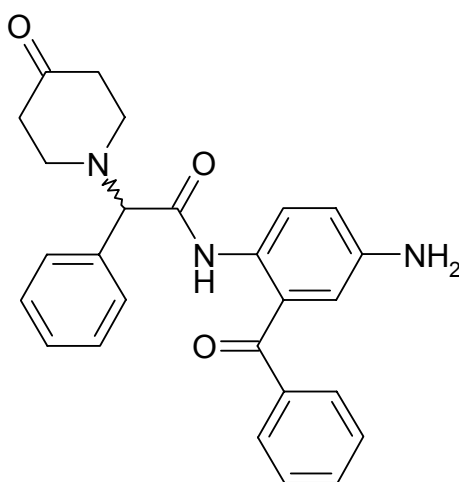
gelber Feststoff

 $C_{26}H_{23}N_3O_5$  (457.49)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 24.8°C):

δ (ppm) = 2.60 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperidinyll)), 2.72 (m, 2H, CH<sub>2</sub> (Piperidinyll)), 2.82 (m, 2H, CH<sub>2</sub> (Piperidinyll)), 4.25 (s, 1H, CH-N), 7.34 – 7.41 (m, 5H, aromat. H), 7.55 – 7.77 (m, 5H, aromat. H), 8.38 – 8.43 (m, 2H, aromat. H), 8.49 – 8.50 (m, 1H, aromat. H), 12.48 (s, 1H, NH)

**(R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-oxo-1-piperidinyll)-2-phenylacetamid (148)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-oxo-1-piperidyl)-2-phenylacetamid **136** (1418 mg, 3.1 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (3.49 g, 15.5 mmol). Säulenchromatographie an Kieselgel mit Ethylacetat : n-Hexan (3 : 2).

**Ausbeute:** 1197 mg (90% d. Th.)

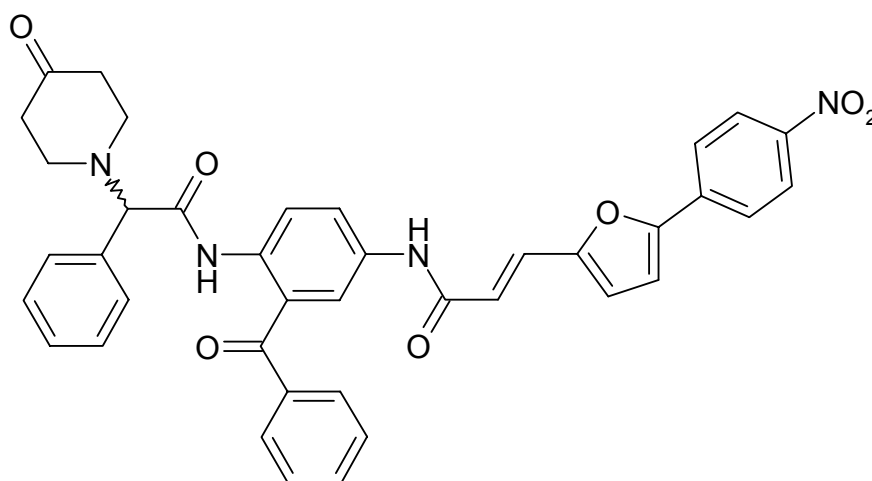
gelb – oranger Feststoff

C<sub>25</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> (427.51)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 22.7°C):

δ (ppm) = 1.76 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperidinyll)), 2.36 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperidinyll)), 3.54 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.82 (s, 1H, CH-N), 6.70 – 6.77 (m, 2H, aromat. H), 7.17 – 7.27 (m, 3H, aromat. H), 7.30 – 7.35 (m, 2H, aromat. H), 7.39 – 7.44 (m, 2H, aromat. H), 7.51 – 7.55 (m, 1H, aromat. H), 7.61 – 7.72 (m, 2H, aromat. H), 8.17 – 8.21 (m, 1H, aromat. H), 11.15 (s, 1H, NH)

**(E-R,S)-N-(3-Benzoyl-4-[2-(4-oxo-1-piperidiny)-2-phenylacetyl-amino]phenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (160)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus (E)-3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (286 mg, 1.1 mmol) und (R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-oxo-1-piperidiny)-2-phenylacetamid **148** (470 mg, 1.1 mmol). Der Feststoff fällt aus dem Reaktionsansatz aus.

**Ausbeute:** 359 mg (49% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 181°C

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3426 (w, br), 2924 (w), 1733 (m), 1695 (m), 1653 (m), 1623 (m), 1597 (m), 1559 (m), 1539 (m), 1516 (s), 1457 (w), 1404 (w), 1332 (s), 1293 (m), 1246 (w), 1180 (w), 1027 (w), 970 (w), 852 (w), 753 (w)

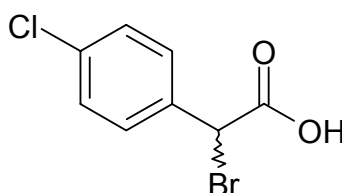
**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 26.6°C):

$\delta$  (ppm) = 2.48 (s, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperidiny)), 3.51 (s, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperidiny)), 5.35 (s, 1H, CH-N), 6.81 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.12 – 7.14 (m, 1H, aromat. H), 7.38 – 7.57 (m, 8H, aromat. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.61 – 7.66 (m, 1H, aromat. H), 7.72 – 7.78 (m, 3H, aromat. H), 7.83 – 8.05 (m, 3H, aromat. H), 8.31 – 8.33 (m, 2H, aromat. H), 8.90 – 8.91 (m, 1H, aromat. H), 10.69 (s, 1H, NH), 11.50 (s, 1H, NH)

**MS (FAB):** $m/z$  (%) = 669 (9,  $[M+H]^+$ ), 581 (20), 528 (11), 428 (20), 354 (8), 242 (3)**Elementaranalyse:**  $C_{39}H_{32}N_4O_7$  (668.71)

ber. (%): C: 70.05 H: 4.82 N: 8.38

gef. (%): C: 69.68 H: 5.17 N: 8.00

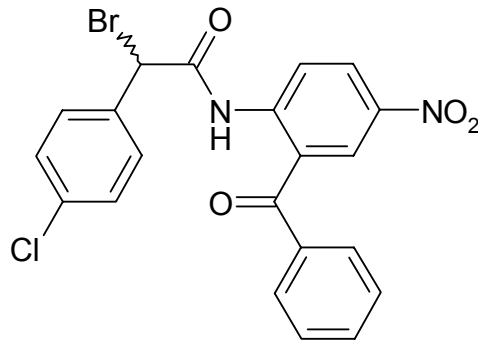
**(R,S)-2-Brom-(4-chlorphenyl)essigsäure (162)**

4-Chlorphenylessigsäure **161** (1700 mg, 10 mmol), Brom ( $Br_2$ , 0.54 ml, 10.5 mmol) und Phosphortrichlorid ( $PCl_3$ , 0.1 ml, 1.15 mmol) werden in etwa 40 ml Benzol gelöst und unter Rühren 2 – 3 Tage vorsichtig erhitzt, bis die Bromfärbung verschwindet. Anschließend lässt man die Lösung abkühlen und dekantiert von polymeren Rückständen ab. Das Benzol wird unter dosiertem Anlegen von Vakuum in eine mit flüssigem Stickstoff gefüllte Vorlage destilliert. Es verbleibt ein Öl, das in n-Hexan aufgenommen und in der Hitze gelöst wird. Nach Abkühlen wird die Lösung für 24 Stunden bei  $-25^\circ C$  aufbewahrt, der entstandene Feststoff abgesaugt und getrocknet. [143]

**Ausbeute:** 1641 mg (66% d. Th.)

weißer Feststoff

 $C_8H_6BrClO_2$  (249.49) **$^1H$ -NMR** (DMSO- $d_6$ , 400 MHz,  $21.3^\circ C$ ): $\delta$  (ppm) = 5.80 (s, 1H, CH-Br), 7.42 – 7.60 (m, 4H, arom. H), 13.24 (s, 1H, COOH)

**(R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-brom-2-(4-chlorphenyl)acetamid (163)**

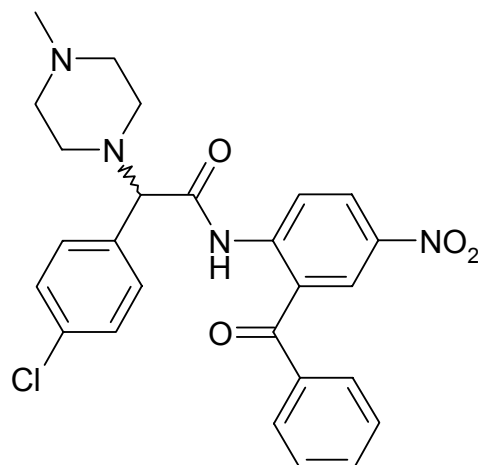
Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus (R,S)-2-Brom-4-chlorphenyllessigsäure **162** (1497 mg, 6.0 mmol) und 2-Amino-5-nitrobenzophenon **38** (1453 mg, 6.0 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 1189 mg (42% d. Th.)

hellgelber Feststoff  
 $C_{21}H_{14}BrClN_2O_4$  (473.71)

**$^1H$ -NMR** ( $CDCl_3$ , 400 MHz, 21.3°C):

$\delta$  (ppm) = 5.49 (s, 1H, CH-Br), 7.21 – 7.77 (m, 9H, arom. H), 8.38 – 8.55 (m, 2H, arom. H), 8.85 – 8.88 (m, 1H, arom. H), 11.95 (s, 1H, NH)

**(R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-chlorphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)acetamid (164)**

Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **H** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-brom-2-(4-chlorphenyl)acetamid **163** (2463 mg, 5.2 mmol) und *N*-Methylpiperazin (1.73 ml, 15.6 mmol). Säulenchromatographie an Kieselgel mit Ethylacetat.

**Ausbeute:** 856 mg (33% d. Th.)

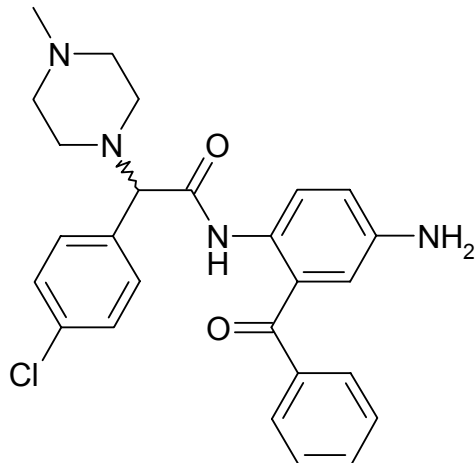
gelber Feststoff

$C_{26}H_{25}ClN_4O_4$  (492.97)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 24.3°C):

δ (ppm) = 2.04 (s, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 2.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub> (*N*-Methyl)), 2.38 (s, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 4.06 (s, 1H, CH-N), 7.27 – 7.32 (m, 4H, arom. H), 7.59 – 7.79 (m, 5H, arom. H), 8.37 – 8.48 (m, 2H, arom. H), 8.85 – 8.87 (m, 1H, arom. H), 12.15 (s, 1H, NH)

**(R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-chlorphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)acetamid (165)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-chlorphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)acetamid **164** (838 mg, 1.7 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (1.91 g, 8.5 mmol).

**Ausbeute:** 714 mg (91% d. Th.)

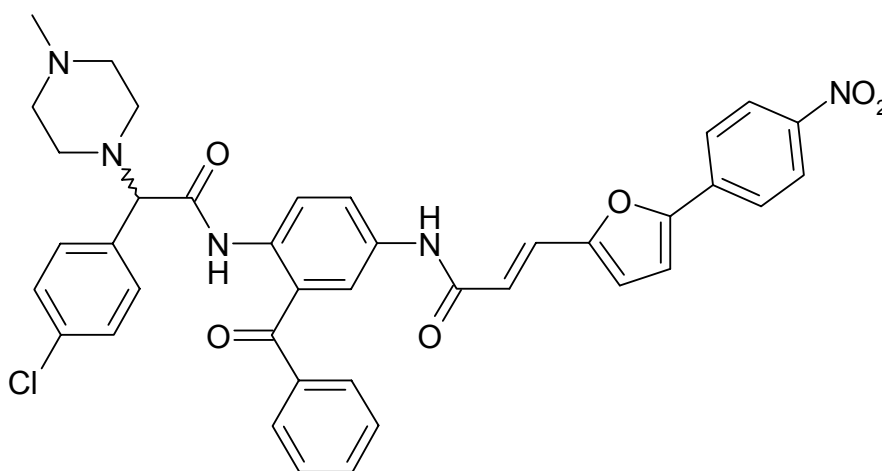
gelb – brauner Feststoff

$C_{26}H_{27}ClN_4O_2$  (462.98)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 24.5°C):

δ (ppm) = 2.04 (s, 3H, CH<sub>3</sub> (N-Methyl)), 2.31 (s, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 2.65 (s, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 3.66 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.91 (s, 1H, CH-N), 7.21 – 7.39 (m, 6H, arom. H), 7.50 – 7.79 (m, 5H, arom. H), 8.23 – 8.25 (m, 1H, arom. H), 11.16 (s, 1H, NH)

**(E-R,S)-N-{3-Benzoyl-4-[2-(4-chlorphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)acetyl-amino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (166)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus (E)-3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (338 mg, 1.3 mmol) und (R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-chlorphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)acetamid **165** (602 mg, 1.3 mmol). Der Feststoff fällt aus dem Reaktionsansatz aus.

**Ausbeute:** 331 mg (36% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 193°C

**IR** (KBr):

ν (cm<sup>-1</sup>) = 3418 (w, br), 2959 (w), 1645 (m), 1625 (m), 1598 (m), 1541 (w), 1509 (s), 1489 (m), 1405 (w), 1333 (s), 1288 (m), 1252 (m), 1196 (w), 1180 (w), 1119 (w), 1109 (w), 1092 (w), 1015 (w), 969 (w), 872 (w), 852 (w), 792 (w)



**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 24.4°C):

δ (ppm) = 2.41 (s, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 2.62 (s, 3H, CH<sub>3</sub> (*N*-Methyl)), 2.95 (s, 2H, CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 3.18 (s, 2H, CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 4.17 (s, 1H, CH-N), 6.69 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.16 – 7.69 (m, 13H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.79 – 7.94 (m, 3H, arom. H), 8.23 – 8.25 (m, 2H, arom. H), 10.30 (s, 1H, NH), 10.60 (s, 1H, NH)

**MS** (ESI):

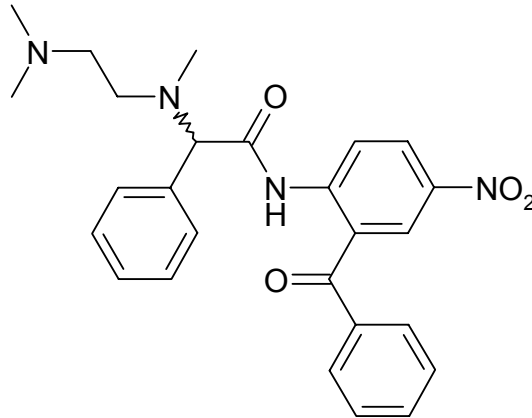
m/z (%) = 706 (50, [M+H]<sup>+</sup>), 704 (100, [M+H]<sup>+</sup>), 657 (14), 588 (15), 563 (59), 333 (61), 279 (56), 243 (30), 233 (18), 185 (18), 175 (31)

**Elementaranalyse:** C<sub>39</sub>H<sub>34</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>6</sub> (704.19)

ber. (%): C: 66.52 H: 4.87 N: 9.95

gef. (%): C: 66.88 H: 4.74 N: 9.75

**(R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-[(2-dimethylaminoethyl)-methylamino]-2-phenylacetamid (173)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **H** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-chlor-2-phenylacetamid **124** (2367 mg, 6.0 mmol) und *N,N,N'*-Trimethylethan-1,2-diamin (2.3 ml, 18.0 mmol). Säulenchromatographie an Kieselgel mit Ethylacetat.

**Ausbeute:** 928 mg (34% d. Th.)

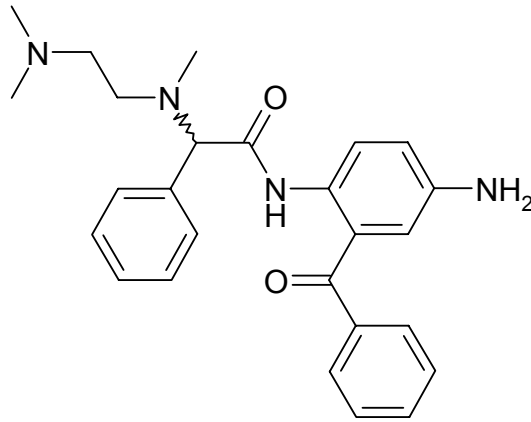
gelber Feststoff

$C_{26}H_{28}N_4O_4$  (460.54)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 24°C):

$\delta$  (ppm) = 2.03 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub> (Dimethylamino)), 2.41 (s, 3H, CH<sub>3</sub> (Methylamino)), 2.52 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Aminoethyl)), 4.19 (s, 1H, CH-N), 7.26 – 7.38 (m, 5H, arom. H), 7.53 – 7.56 (m, 2H, arom. H), 7.65 – 7.68 (m, 1H, arom. H), 7.76 – 7.78 (m, 2H, arom. H), 8.34 – 8.42 (m, 2H, arom. H), 9.81 – 8.83 (m, 1H, arom. H), 12.06 (s, 1H, NH)

**(R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-[(2-dimethylaminoethyl)-methylamino]-2-phenylacetamid (174)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-[(2-dimethylaminoethyl)methylamino]-2-phenylacetamid **173** (921 mg, 2.0 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (2.25 g, 10.0 mmol).

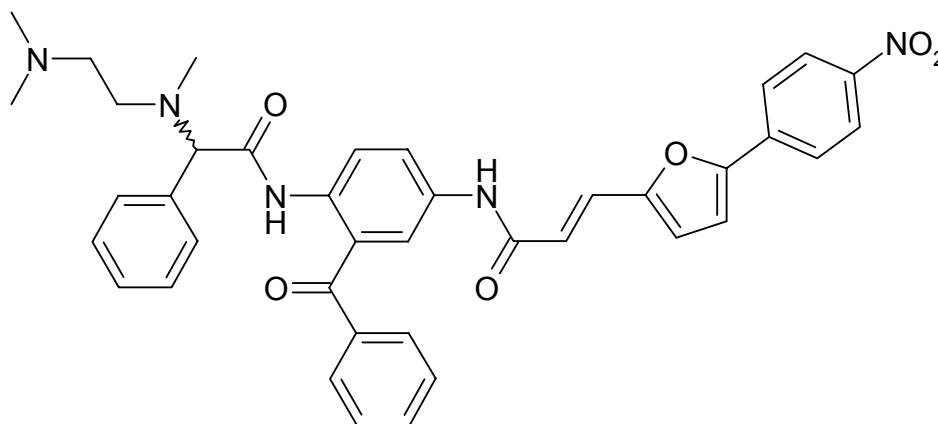
**Ausbeute:** 855 mg (99% d. Th.)

oranger Feststoff  
C<sub>26</sub>H<sub>30</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> (430.55)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 23.8°C):

δ (ppm) = 2.11 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub> (Dimethylamino)), 2.20 (s, 3H, CH<sub>3</sub> (Methylamino)), 2.52 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Aminoethyl)), 3.60 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 4.04 (s, 1H, CH-N), 6.75 – 6.84 (m, 2H, arom. H), 7.21 – 7.28 (m, 3H, arom. H), 7.36 – 7.38 (m, 2H, arom. H), 7.43 – 7.49 (m, 2H, arom. H), 7.57 – 7.60 (m, 1H, arom. H), 7.70 – 7.79 (m, 2H, arom. H), 8.20 – 8.22 (m, 1H, arom. H), 11.15 (s, 1H, NH)

**(E-R,S)-N-(3-Benzoyl-4-{2-[(2-dimethylaminoethyl)methylamino]-2-phenyl-acetyl-amino}phenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (175)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus (E)-3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (286 mg, 1.1 mmol) und (R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-[(2-dimethylaminoethyl)methylamino]-2-phenylacetamid **174** (476 mg, 1.1 mmol). Der Feststoff fällt aus dem Reaktionsansatz aus.

**Ausbeute:** 696 mg (95% d. Th.)

gelb – oranger Feststoff

**Festpunkt:** 161°C

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3433 (w, br), 2958 (w), 1684 (m), 1623 (w), 1597 (m), 1516 (s), 1404 (w), 1332 (s), 1291 (w), 1252 (w), 1180 (w), 852 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz, 20.2°C):

$\delta$  (ppm) = 2.68 (s, 9H, 3 CH<sub>3</sub> (Dimethylamino und Methylamino)), 3.55 (s, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Aminoethyl)), 5.32 (s, 1H, CH-N), 6.80 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.04 – 7.05 (m, 1H, arom. H), 7.37 – 7.55 (m, 9H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.65 – 7.68 (m, 1H, arom. H), 7.77 – 7.81 (m, 4H, arom. H), 7.98 – 8.00 (m, 2H, arom. H), 8.31 – 8.33 (m, 2H, arom. H), 10.70 (s, 1H, NH), 10.99 (s, 1H, NH)

**MS** (ESI): $m/z$  (%) = 672 (100,  $[M+H]^+$ ), 531 (93), 431 (11)**HRMS** (FAB):  $C_{39}H_{37}N_5O_6 + H$ 

ber.: 672.2822

gef.: 672.2863

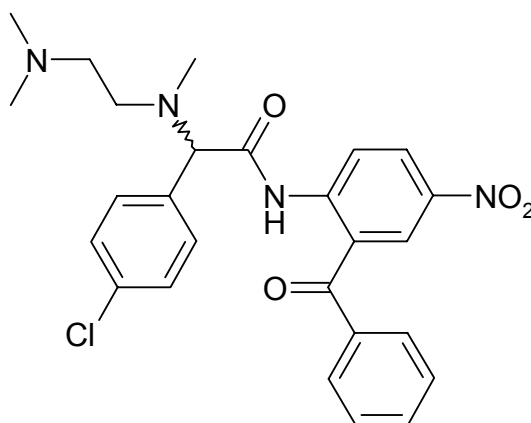
**Elementaranalyse:**  $C_{39}H_{37}N_5O_6$ 

(671.76)

ber. (%): C: 69.73 H: 5.55 N: 10.43

gef. (%): C: 69.26 H: 5.85 N: 10.07

**(R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-chlorophenyl)-2-[(2-dimethylaminoethyl)methylamino]acetamid (176)**



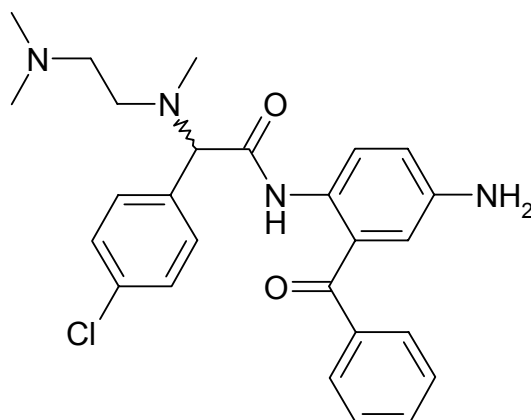
Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **H** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-brom-2-(4-chlorophenyl)acetamid **163** (2842 mg, 6.0 mmol) und N,N,N'-Trimethylethan-1,2-diamin (2.3 ml, 18.0 mmol). Säulenchromatographie an Kieselgel mit Ethylacetat.

**Ausbeute:** 989 mg (33% d. Th.)gelber Feststoff  
 $C_{26}H_{27}ClN_4O_4$  (494.98)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 23.3°C):

δ (ppm) = 2.07 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub> (Dimethylamino)), 2.27 (s, 3H, CH<sub>3</sub> (Methylamino)), 2.51 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Aminoethyl)), 4.21 (s, 1H, CH-N), 7.28 – 7.31 (m, 4H, arom. H), 7.53 – 7.56 (m, 2H, arom. H), 7.65 – 7.68 (m, 1H, arom. H), 7.75 – 7.77 (m, 2H, arom. H), 8.34 – 8.37 (m, 1H, arom. H), 8.41 – 8.42 (m, 1H, arom. H), 8.78 – 8.80 (m, 1H, arom. H), 12.04 (s, 1H, NH)

**(R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-chlorophenyl)-2-[(2-dimethylaminoethyl)methylamino]acetamid (177)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-chlorophenyl)-2-[(2-dimethylaminoethyl)methylamino]acetamid **176** (965 mg, 1.95 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (2.19 g, 9.75 mmol).

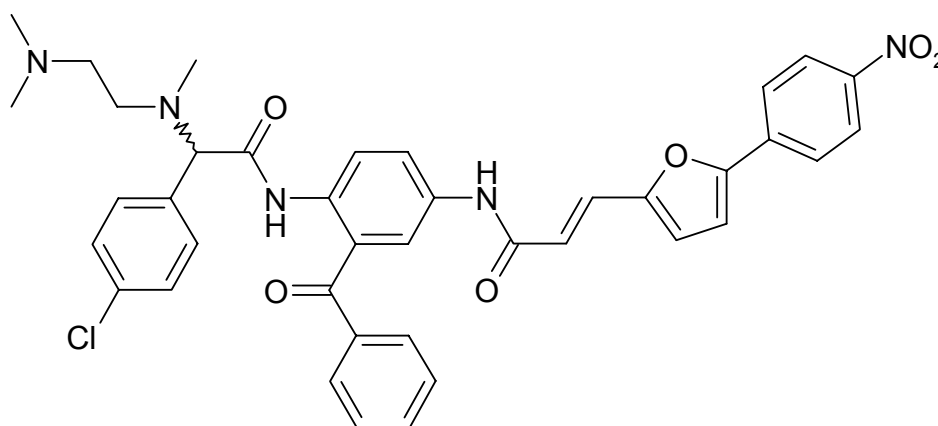
**Ausbeute:** 906 mg (100% d. Th.)

oranger Feststoff  
C<sub>26</sub>H<sub>29</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>2</sub> (465.00)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 23.2°C):

δ (ppm) = 2.14 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub> (Dimethylamino)), 2.19 (s, 3H, CH<sub>3</sub> (Methylamino)), 2.51 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Aminoethyl)), 3.61 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 4.06 (s, 1H, CH-N), 6.76 – 6.77 (m, 1H, arom. H), 6.84 – 6.86 (m, 1H, arom. H), 7.24 – 7.33 (m, 4H, arom. H), 7.44 – 7.49 (m, 2H, arom. H), 7.58 – 7.61 (m, 1H, arom. H), 7.77 – 7.78 (m, 2H, arom. H), 8.17 – 8.18 (m, 1H, arom. H), 11.13 (s, 1H, NH)

**(E-R,S)-N-(3-Benzoyl-4-(2-(4-chlorophenyl)-2-[(2-dimethylaminoethyl)methylamino]methylamino)phenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (178)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus (E)-3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (312 mg, 1.2 mmol) und (R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-chlorophenyl)-2-[(2-dimethylaminoethyl)methylamino]acetamid **177** (558 mg, 1.2 mmol). Der Feststoff fällt aus dem Reaktionsansatz aus.

**Ausbeute:** 783 mg (92% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 170°C

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3407 (w, br), 2959 (w), 1684 (w), 1623 (w), 1597 (m), 1516 (s), 1403 (w), 1332 (s), 1247 (w), 1180 (w), 1108 (w), 852 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 23.9°C):

δ (ppm) = 2.71 (s, 3H, CH<sub>3</sub> (Methylamino)), 2.80 (s, 6H, 2 CH<sub>3</sub> (Dimethylamino)), 3.55 (s, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Aminoethyl)), 5.43 (s, 1H, CH-N), 6.82 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.02 – 7.03 (m, 1H, arom. H), 7.37 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.43 – 7.52 (m, 8H, arom. H), 7.57 – 7.59 (m, 1H, arom. H), 7.62 – 7.80 (m, 3H, arom. H), 7.88 – 7.93 (m, 1H, arom. H), 7.98 – 8.00 (m, 2H, arom. H), 8.30 – 8.32 (m, 2H, arom. H), 10.72 (s, 1H, NH), 11.30 (s, 1H, NH)

**MS** (ESI):

m/z (%) = 708 (54, [M+H]<sup>+</sup>), 706 (100, [M+H]<sup>+</sup>), 565 (19), 467 (9), 465 (22)

**HRMS** (FAB): C<sub>39</sub>H<sub>36</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>6</sub> + H

ber.: 706.2432

gef.: 706.2440

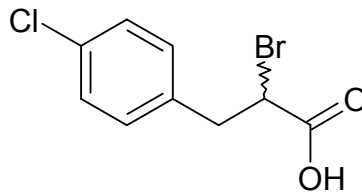
**Elementaranalyse:** C<sub>39</sub>H<sub>36</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>6</sub>

(706.20)

ber. (%): C: 66.33 H: 5.14 N: 9.92

gef. (%): C: 65.83 H: 5.34 N: 9.58



**(R,S)-2-Brom-3-(4-chlorphenyl)propionsäure (168)**

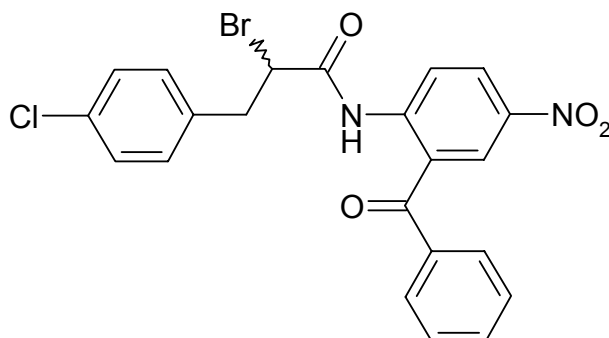
3-(4-Chlorphenyl)propionsäure **167** (1846 mg, 10 mmol), Brom ( $\text{Br}_2$ , 0.54 ml, 10.5 mmol) und Phosphortrichlorid ( $\text{PCl}_3$ , 0.1 ml, 1.15 mmol) werden in etwa 40 ml Benzol gelöst und unter Rühren 1 – 2 Tage vorsichtig erhitzt, bis die Bromfärbung verschwindet. Anschließend lässt man die Lösung abkühlen und dekantiert von polymeren Rückständen ab. Das Benzol wird unter dosiertem Anlegen von Vakuum in eine mit flüssigem Stickstoff gefüllte Vorlage destilliert. Es verbleibt ein Öl, das in n-Hexan aufgenommen und in der Hitze gelöst wird. Nach Abkühlen wird die Lösung für 24 Stunden bei  $-25^\circ\text{C}$  aufbewahrt, der entstandene Feststoff abgesaugt und getrocknet. [1]

**Ausbeute:** 1096 mg (72% d. Th.)

weißer Feststoff  
 $\text{C}_9\text{H}_8\text{BrClO}_2$  (263.52)

**$^1\text{H-NMR}$**  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz,  $22.7^\circ\text{C}$ ):

$\delta$  (ppm) = 3.17 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 5.44 (dd,  $J = 9$  Hz,  $J = 6$  Hz, 1H, CH-Br), 7.37 – 7.46 (m, 2H, arom. H), 7.53 – 7.65 (m, 2H, arom. H), 12.49 (s, 1H, COOH)

**(R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-brom-3-(4-chlorphenyl)propionamid (169)**

Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus (R,S)-2-Brom-3-(4-chlorphenyl)propionsäure **168** (1844 mg, 7.0 mmol) und 2-Amino-5-nitrobenzophenon **22** (1695 mg, 7.0 mmol).

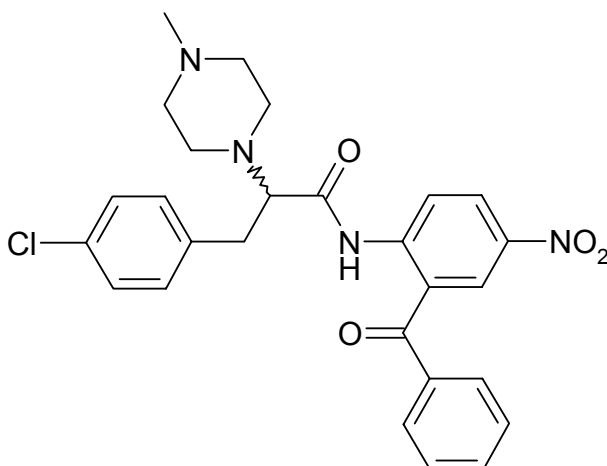
**Ausbeute:** 2695 mg (79% d. Th.)

braunes Öl

$C_{22}H_{16}BrClN_2O_4$  (487.74)

Die Substanz wurde ohne Charakterisierung weiter umgesetzt.

**(R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-3-(4-chlorphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)propionamid (170)**



Als Variation der Allgemeinen Arbeitsvorschrift **H** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-brom-3-(4-chlorphenyl)propionamid **169** (2683 mg, 5.5 mmol) und *N*-Methylpiperazin (1.89 ml, 16.5 mmol). Zur besseren Reaktion wird 1 Äquivalent Natriumhydrogencarbonat (1385 mg, 5.5 mmol) zugegeben und Molekularsieb zum Abfangen des bei der Reaktion entstehenden Wassers zugesetzt. Säulenchromatographie an Kieselgel (kontinuierliche Elution): Erstes Laufmittel Ethylacetat, um unerwünschte Fraktionen abzutrennen, zweites Laufmittel Ethanol, um das gewünschte Produkt zu erhalten.

**Ausbeute:** 780 mg (28% d. Th.)

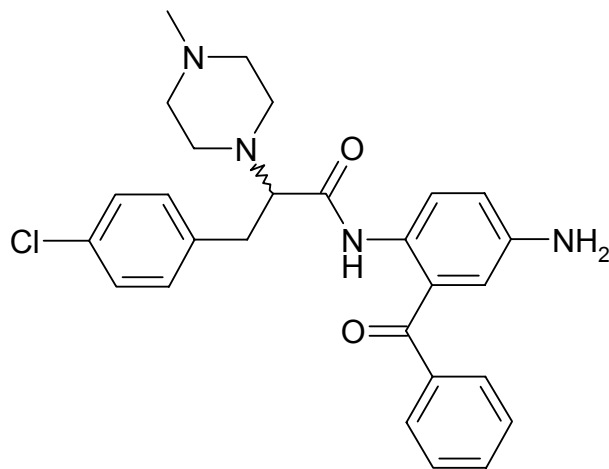
gelb – oranger Feststoff

$C_{27}H_{27}ClN_4O_4$  (506.99)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz, 20.5°C):

δ (ppm) = 2.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub> (*N*-Methyl)), 2.32 (s, 8H, 4 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 2.52 (m, 1H, ½ CH<sub>2</sub>), 2.82 (m, 1H, ½ CH<sub>2</sub>), 3.86 (t, J = 7 Hz, 1H, CH-N), 7.20 – 7.55 (m, 7H, arom. H), 7.63 – 7.85 (m, 3H, arom. H), 8.07 – 8.08 (m, 1H, arom. H), 8.37 – 8.38 (m, 1H, arom. H), 11.01 (s, 1H, NH)

**(R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-3-(4-chlorophenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)propionamid (171)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus (R,S)-*N*-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-3-(4-chlorophenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)propionamid **170** (760 mg, 1.5 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (1.69 g, 7.5 mmol). Säulenchromatographie an Kieselgel mit Ethylacetat.

**Ausbeute:** 433 mg (61% d. Th.)

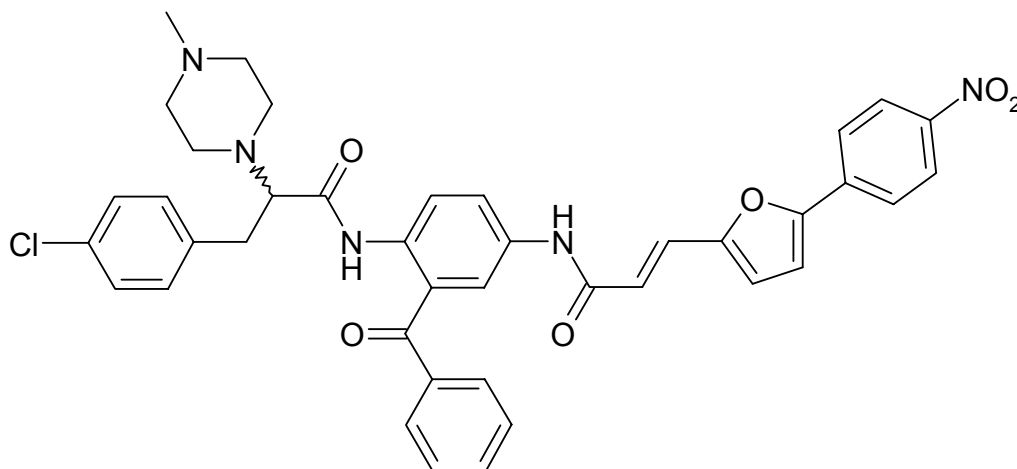
gelber Feststoff

C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>2</sub> (477.01)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 23.9°C):

δ (ppm) = 2.17 (s, 3H, CH<sub>3</sub> (*N*-Methyl)), 2.44 (s, 8H, 4 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 2.52 (m, 1H, ½ CH<sub>2</sub>), 3.01 (m, 1H, ½ CH<sub>2</sub>), 3.70 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.86 (m, 1H, CH-N), 6.75 – 6.86 (m, 2H, arom. H), 7.11 – 7.35 (m, 3H, arom. H), 7.44 – 7.75 (m, 5H, arom. H), 7.97 – 7.98 (m, 1H, arom. H), 8.37 – 8.38 (m, 1H, arom. H), 10.38 (s, 1H, NH)

**(E,R,S)-N-{3-Benzoyl-4-[3-(4-chlorophenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)propionyl-amino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (172)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus (E)-3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (198 mg, 0.9 mmol) und (R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-3-(4-chlorophenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)propionamid **171** (429 mg, 0.9 mmol). Der Feststoff fällt aus dem Reaktionsansatz aus.

**Ausbeute:** 76 mg (12% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 168°C

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3418 (w, br), 2956 (w), 1651 (m), 1622 (m), 1597 (m), 1552 (m), 1511 (s), 1447 (w), 1403 (m), 1331 (s), 1288 (w), 1244 (m), 1198 (w), 1190 (w), 970 (w), 852 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 24.1°C):

$\delta$  (ppm) = 2.70 (s, 3H, CH<sub>3</sub> (N-Methyl)), 2.94 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.49 (s, 8H, 4 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 4.47 (s, 1H, CH-N), 6.73 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.98 – 6.99 (m, 1H, arom. H), 7.22 – 7.50 (m, 6H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.55 – 7.72 (m, 6H, arom. H), 7.80 – 7.81 (m, 1H, arom. H), 7.93 – 7.95 (m, 2H, arom. H), 8.26 – 8.27 (m, 2H, arom. H), 10.52 (s, 1H, NH), 11.06 (s, 1H, NH)

**MS** (ESI):

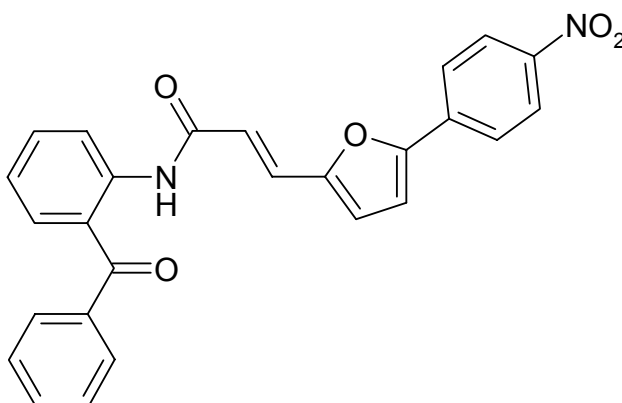
m/z (%) = 720 (15, [M+H]<sup>+</sup>), 718 (23, [M+H]<sup>+</sup>), 608 (30), 577 (11), 418 (8),  
265 (100), 223 (30)

**HRMS** (FAB): C<sub>40</sub>H<sub>36</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>6</sub> + H

(718.22)

ber.: 718.2432

gef.: 718.2430

**(E)-N-(2-Benzoylphenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (58)**

Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **21** (195 mg, 0.75 mmol) und 2-Aminobenzophenon (148 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Toluol.

**Ausbeute:** 178 mg (54% d. Th.)

oranger Feststoff

**Festpunkt:** 211°C

(Toluol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3444 (w, br), 1621 (s), 1599 (m), 1583 (m), 1514 (s), 1448 (m), 1332 (s), 1263 (m), 1203 (m), 1163 (m), 853 (m), 753 (m), 700 (m)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, 21.1°C):

$\delta$  (ppm) = 6.61 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.67 – 7.19 (m, 3H, arom. H), 7.43 – 7.47 (m, 2H, arom. H), 7.47 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.55 – 7.67 (m, 5H, arom. H), 7.81 – 7.83 (m, 2H, arom. H), 8.21 – 8.23 (m, 2H, arom. H), 8.76 – 8.78 (m, 1H, arom. H), 11.19 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = keine Angabe):

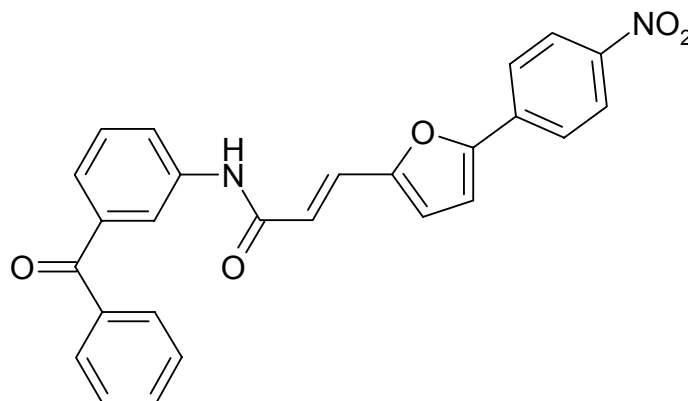
m/z (%) = 438 (3, M<sup>+</sup>), 409 (12), 408 (32), 285 (6), 242 (5), 239 (7), 213 (17), 212 (100), 197 (8), 196 (9), 185 (6), 167 (5), 156 (16), 139 (7), 130 (8), 120 (11), 105 (12), 92 (5), 77 (11), 65 (4)

**Elementaranalyse:** C<sub>26</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (438.44)

ber. (%): C: 71.23 H: 4.14 N: 6.39

gef. (%): C: 71.48 H: 4.34 N: 6.21

**(E)-N-(3-Benzoylphenyl)-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (59)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **21** (195 mg, 0.75 mmol) und 3-Aminobenzophenon (148 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 208 mg (63% d. Th.)

orange - roter Feststoff

**Festpunkt:** 216°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3378 (m, br), 1683 (w), 1653 (m), 1624 (m), 1598 (s), 1544 (m), 1514 (m), 1331 (s), 1285 (w), 1245 (w), 1107 (w), 854 (m)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

$\delta$  (ppm) = 6.80 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.05 – 7.06 (m, 1H, arom. H), 7.42 – 7.77 (m, 7H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 8.00 – 8.12 (m, 4H, arom. H), 8.31 – 8.33 (m, 2H, arom. H), 8.75 – 8.77 (m, 1H, arom. H), 10.46 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = keine Angabe):

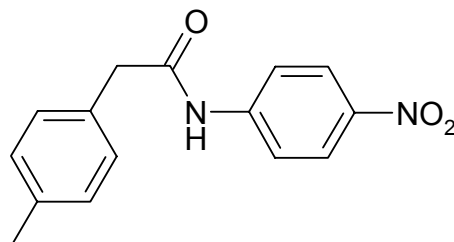
$m/z$  (%) = 439 (5), 438 (17,  $M^+$ ), 408 (9), 243 (14), 242 (100), 213 (4), 202 (10), 197 (8), 196 (28), 156 (5), 120 (7), 105 (19), 77 (10)

**Elementaranalyse:**  $C_{26}H_{18}N_2O_5$  (438.44)

ber. (%): C: 71.23 H: 4.14 N: 6.39

gef. (%): C: 71.32 H: 4.31 N: 6.40

**N-(4-Nitrophenyl)-(4-methylphenyl)acetamid (60)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 4-Methylphenylessigsäure (408 mg, 3.0 mmol) und 4-Nitroanilin (414 mg, 3.0 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 552 mg (80% d. Th.)

hellbrauner Feststoff

**Festpunkt:** 134°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3292 (m, br), 1665 (s), 1618 (m), 1597 (m), 1567 (m), 1518 (s), 1496 (m), 1437 (m), 1406 (m), 1373 (m), 1341 (s), 1320 (m), 1309 (m), 1259 (m), 1174 (w), 1153 (m), 1110 (m), 980 (w), 868 (w), 852 (m), 835 (w), 802 (w), 786 (m)



**$^1\text{H-NMR}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz, 20.7°C):

$\delta$  (ppm) = 2.37 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.74 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.19 – 7.25 (m, 4H, arom. H), 7.35 (s, 1H, NH), 7.57 – 7.60 (m, 2H, arom. H), 8.13 – 8.17 (m, 2H, arom. H)

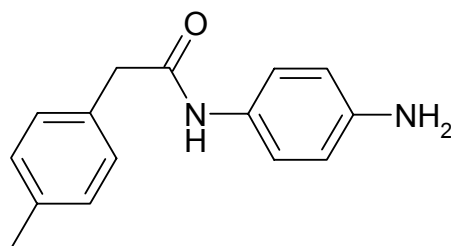
**MS** (EI, 70eV, PT = 100°C):

$m/z$  (%) = 270 (15,  $\text{M}^+$ ), 240 (6), 133 (5), 132 (42), 108 (18), 107 (8), 106 (18), 105 (100), 104 (12), 103 (11), 91 (11), 80 (5), 79 (20), 78 (10), 77 (22), 65 (7), 59 (5), 55 (6), 51 (7), 44 (11)

**Elementaranalyse:**  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$  (270.29)

ber. (%):	C: 66.66	H: 5.22	N: 10.36
gef. (%):	C: 66.67	H: 5.19	N: 10.22

***N*-(4-Aminophenyl)-(4-methylphenyl)acetamid (61)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus *N*-(4-Nitrophenyl)-(4-methylphenyl)acetamid **63** (513 mg, 1.9 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (2.14 g, 9.5 mmol). Umkristallisation aus Toluol.

**Ausbeute:** 337 mg (74% d. Th.)

beiger Feststoff  
 $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}$  (240.31)

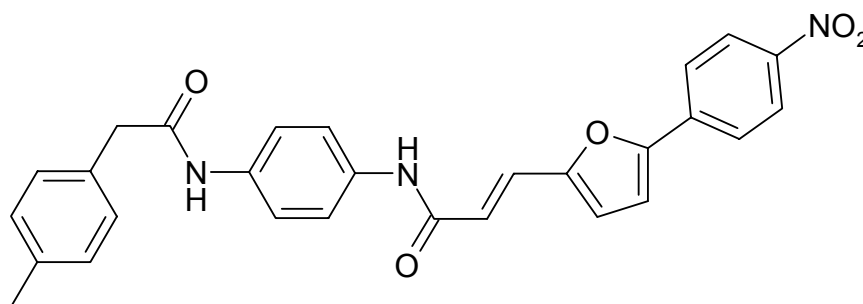
**IR** (KBr):

$\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3286 (m, br), 1662 (s), 1614 (s), 1599 (w), 1533 (s), 1517 (s), 1427 (m), 1410 (m), 1346 (m), 1298 (m), 1255 (m), 820 (m)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, 18.1°C):

δ (ppm) = 2.34 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.55 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.65 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 6.57 – 6.59 (m, 2H, arom. H), 6.87 (s, 1H, NH), 7.13 – 7.16 (m, 2H, arom. H), 7.18 – 7.20 (m, 4H, arom. H)

**(E)-N-{4-[(4-Methylphenyl)acetylamino]phenyl}-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (62)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **21** (195 mg, 0.75 mmol) und *N*-(4-Aminophenyl)-(4-methylphenyl)-acetamid **64** (180 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 242 mg (67% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 280°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3293 (w, br), 1657 (m), 1623 (m), 1600 (m), 1553 (m), 1514 (s), 1404 (m), 1333 (s), 1245 (w), 853 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz, 49.9°C):

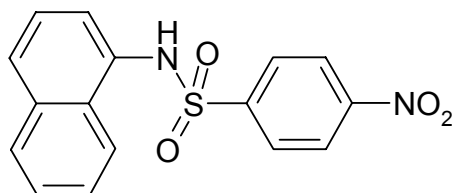
δ (ppm) = 2.27 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.56 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.80 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.03 – 7.22 (m, 5H, arom. H), 7.40 – 7.63 (m, 5H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H), 8.00 – 8.02 (m, 2H, arom. H), 8.32 – 8.34 (m, 2H, arom. H), 9.99 (s, 1H, NH), 10.18 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = 240°C):

m/z (%) = 482 (13), 481 (41, M<sup>+</sup>), 451 (5), 369 (8), 368 (20), 367 (7), 339 (8), 313 (14), 311 (5), 295 (14), 285 (19), 284 (25), 265 (5), 264 (19), 257 (14), 243 (17), 242 (100), 241 (24), 240 (72), 239 (21), 227 (8), 213 (15), 212 (39), 199 (7), 197 (6), 196 (32), 189 (6), 186 (5), 185 (17), 172 (7), 171 (13), 149 (9), 148 (12), 144 (11), 135 (16), 134 (13), 132 (8), 130 (10), 129 (44), 127 (28), 126 (11), 122 (11), 121 (9), 120 (9), 117 (8), 116 (14), 115 (20), 113 (13), 108 (43), 107 (20), 106 (9), 105 (43), 103 (11), 101 (12), 98 (26), 91 (20), 87 (18), 84 (27), 73 (41), 60 (24), 58 (22), 43 (56)

**Elementaranalyse:** C<sub>28</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> (481.51)

ber. (%):	C: 69.84	H: 4.81	N: 8.73
gef. (%):	C: 69.94	H: 4.82	N: 8.53

**N-1-Naphthyl-4-nitrobenzensulfonamid (197)**

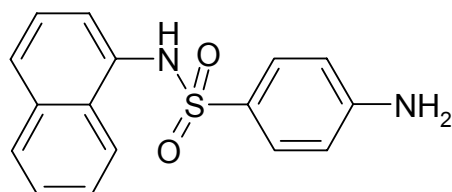
Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **C** aus 4-Nitrobenzensulfonylchlorid **196** (886 mg, 4.0 mmol) und 1-Naphthylamin (573 mg, 4.0 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 329 mg (25% d. Th.)

hellbrauner Feststoff  
C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S (328.35)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

δ (ppm) = 7.14 – 7.16 (m, 1H, arom. H), 7.38 – 7.49 (m, 3H, arom. H), 7.80 – 7.98 (m, 5H, arom. H), 8.30 – 8.32 (m, 2H, arom. H), 10.49 (s, 1H, NH)

**4-Amino-N-1-naphthylbenzensulfonamid (201)**

Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus *N*-1-Naphthyl-4-nitrobenzensulfonamid **197** (329 mg, 1.0 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (1.125 g, 5.0 mmol).

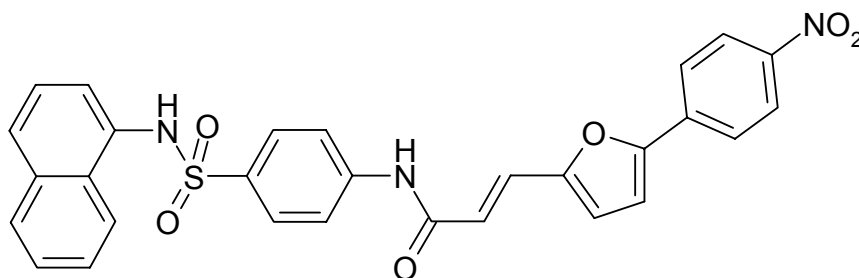
**Ausbeute:** 291 mg (98% d. Th.)

weißer – schwach violetter Feststoff  
C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S (298.37)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

δ (ppm) = 5.76 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 6.44 – 6.47 (m, 2H, arom. H), 7.13 – 8.08 (m, 9H, arom. H), 9.58 (s, 1H, NH)

**(E)-N-[4-(1-Naphthylaminosulfonyl)phenyl]-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (205)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (195 mg, 0.75 mmol) und 4-Amino-*N*-1-naphthylbenzonsulfonamid **201** (224 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 109 mg (27% d. Th.)

beiger Feststoff

**Festpunkt:** 287°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3330 (w, br), 1666 (m), 1653 (w), 1596 (s), 1508 (s), 1403 (m), 1334 (s), 1248 (w), 1184 (m), 1151 (s), 1110 (w), 1094 (m), 853 (m), 800 (m), 776 (m), 753 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

δ (ppm) = 6.49 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.07 – 7.18 (m, 2H, arom. H), 7.38 – 7.46 (m, 4H, arom. H), 7.49 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.65 – 7.88 (m, 6H, arom. H.), 8.00 – 8.08 (m, 3H, arom. H), 8.27 – 8.24 (m, 2H, arom. H), 10.02 (s, 1H, NH), 10.54 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = keine Angabe):

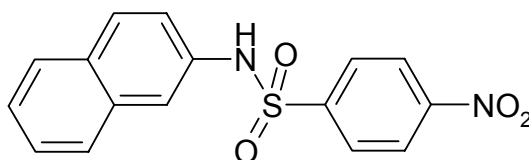
$m/z$  (%) = 539 (2,  $M^+$ ), 385 (9), 384 (33), 383 (5), 382 (7), 334 (13), 299 (13), 298 (66), 259 (8), 243 (11), 242 (67), 234 (21), 233 (15), 232 (7), 196 (13), 156 (20), 144 (12), 143 (100), 142 (53), 116 (9), 115 (45), 106 (6), 93 (23), 92 (11), 64 (10), 44 (6)

**Elementaranalyse:**  $C_{29}H_{21}N_3O_6S$  (539.57)

ber. (%): C: 64.56 H: 3.92 N: 7.79

gef. (%): C: 64.36 H: 3.92 N: 7.62

**N-2-Naphthyl-4-nitrobenzensulfonamid (198)**



Nach Allgemeiner Arbeitsvorschrift I aus 2-Naphthylamin (500 mg, 3.5 mmol), 0.58 ml *N*-Methylmorpholin und 4-Nitrobenzensulfonylchlorid **196** (776 mg, 3.5 mmol).

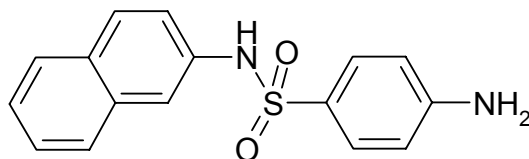
**Ausbeute:** 877 mg (76% d. Th.)

rot – brauner Feststoff

$C_{16}H_{12}N_2O_4S$  (328.35)

**$^1H$ -NMR** (DMSO- $d_6$ , 400 MHz, 20.4°C):

$\delta$  (ppm) = 7.27 – 7.31 (m, 1H, arom. H), 7.37 – 7.46 (m, 2H, arom. H), 7.58 – 7.59 (m, 1H, arom. H), 7.76 – 7.80 (m, 3H, arom. H), 8.03 – 8.06 (m, 2H, arom. H), 8.33 – 8.35 (m, 2H, arom. H), 10.80 (s, 1H, NH)

**4-Amino-N-2-naphthylbenzonsulfonamid (202)**

Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus *N*-2-Naphthyl-4-nitrobenzonsulfonamid **198** (657 mg, 2.0 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (2.26 g, 10.0 mmol).

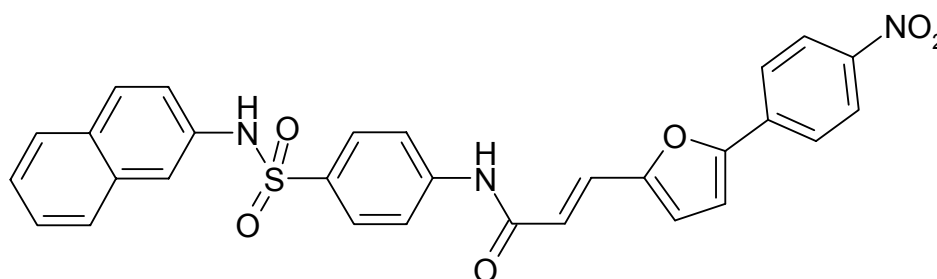
**Ausbeute:** 595 mg (100% d. Th.)

gelber Feststoff

C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S (298.37)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz, 20.2°C):

δ (ppm) = 5.94 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 6.48 – 6.52 (m, 2H, arom. H), 7.26 – 7.51 (m, 6H, arom. H), 7.72 – 7.77 (m, 3H, arom. H), 10.11 (s, 1H, NH)

**(E)-N-[4-(2-Naphthylaminosulfonyl)phenyl]-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (206)**

Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (260 mg, 1.0 mmol) und 4-Amino-N-2-naphthylbenzonsulfonamid **202** (298 mg, 1.0 mmol). Säulenchromatographie an Kieselgel mit Ethylacetat : n-Hexan (2 : 1).

**Ausbeute:** 314 mg (58% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 263°C

(Ethylacetat : n-Hexan (2 : 1))

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3357 (w), 3190 (w, br), 2922 (w), 1662 (w), 1614 (m), 1594 (m), 1518 (s), 1465 (w), 1400 (w), 1359 (m), 1332 (s), 1294 (w), 1240 (w), 1198 (w), 1161 (s), 1104 (w), 1026 (w), 967 (w), 958 (w), 923 (w), 854 (w), 789 (w), 753 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz, 20.5°C):

$\delta$  (ppm) = 6.76 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.07 – 7.09 (m, 1H, arom. H), 7.29 – 7.56 (m, 5H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.76 – 8.00 (m, 7H, arom. H), 8.00 – 8.03 (m, 2H, arom. H), 8.33 – 8.35 (m, 2H, arom. H), 10.45 (s, 1H, NH), 10.64 (s, 1H, NH)

**MS** (ESI):

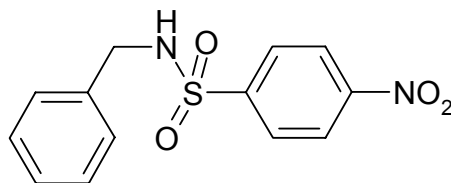
m/z (%) = 539 (100, M<sup>+</sup>), 231 (43), 189 (39), 161 (76), 149 (72)

**Elementaranalyse:** C<sub>29</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S

(539.57)

ber. (%): C: 64.56 H: 3.92 N: 7.79

gef. (%): C: 64.82 H: 4.25 N: 7.44

**N-Benzyl-4-nitrobenzensulfonamid (199)**

Nach Allgemeiner Arbeitsvorschrift I aus Benzylamin (0.44 ml, 4.0 mmol), 0.5 ml Triethylamin und 4-Nitrobenzensulfonylchlorid **196** (886 mg, 4.0 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

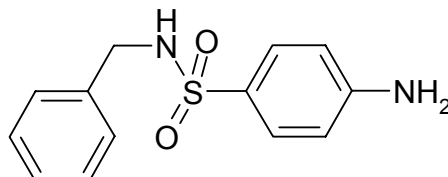
**Ausbeute:** 684 mg (59% d. Th.)hellgelber Feststoff  
C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S (292.32)



**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

δ (ppm) = 4.04 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.15 – 7.23 (m, 5H, arom. H), 7.94 – 7.98 (m, 2H, arom. H), 8.28 – 8.32 (m, 2H, arom. H), 10.42 (s, 1H, NH)

**4-Amino-N-benzylbenzonsulfonamid (203)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus *N*-Benzyl-4-nitrobenzonsulfonamid **199** (673 mg, 2.3 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (2.59 g, 11.5 mmol).

**Ausbeute:** 554 mg (92% d. Th.)

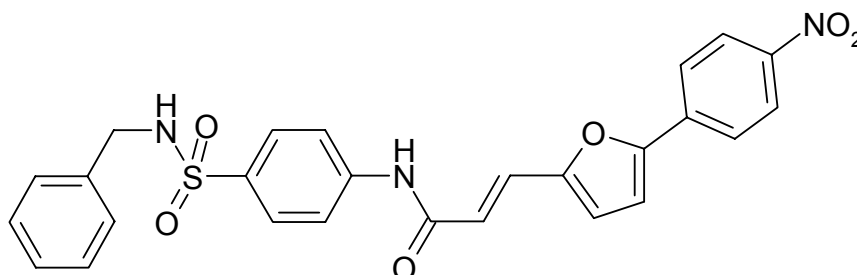
beiger Feststoff

C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S (262.33)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

δ (ppm) = 3.85 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.77 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 6.56 – 6.59 (m, 2H, arom. H), 7.16 – 7.25 (m, 4H, arom. H), 7.39 – 7.49 (m, 3H, arom. H), 9.87 (s, 1H, NH)

**(E)-N-[4-(Benzylaminosulfonyl)phenyl]-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (207)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (195 mg, 0.75 mmol) und 4-Amino-*N*-benzylbenzensulfonamid **203** (197 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 275 mg (73% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 241°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3350 (w, br), 1691 (m), 1627 (m), 1594 (m), 1536 (m), 1514 (m), 1402 (m), 1331 (s), 1296 (m), 1247 (m), 1197 (m), 1152 (s), 1107 (m), 855 (m), 835 (m), 800 (m), 753 (m)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

$\delta$  (ppm) = 3.94 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.80 – 6.83 (m, 1H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.20 – 7.26 (m, 4H, arom. H), 7.40 – 7.42 (m, 2H, arom. H), 7.45 – 8.00 (m, 6H, arom. H. und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 8.29 – 8.31 (m, 2H, arom. H), 9.88 (s, 1H, NH), 10.54 (s, 1H, NH)

**MS** (EI, 70eV, PT = keine Angabe):

$m/z$  (%) = 504 (6), 503 (16, M<sup>+</sup>), 262 (17), 243 (16), 196 (8), 157 (9), 156 (5), 140 (9), 108 (8), 106 (21), 93 (12), 92 (7), 91 (5), 40 (5)

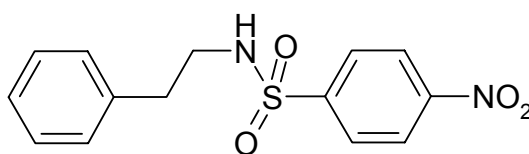
**Elementaranalyse:** C<sub>26</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S

(503.54)

ber. (%): C: 62.02 H: 4.20 N: 8.34

gef. (%): C: 61.86 H: 4.20 N: 8.22

**4-Nitro-*N*-phenethylbenzensulfonamid (200)**



Nach Allgemeiner Arbeitsvorschrift **I** aus Phenethylamin (1.26 ml, 10.0 mmol), 2.4 ml *N*-Methylmorpholin und 4-Nitrobenzonsulfonylchlorid **196** (2216 mg, 10.0 mmol).

**Ausbeute:** 2515 mg (82% d. Th.)

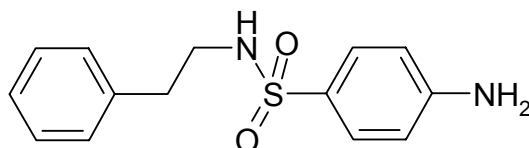
hellbrauner Feststoff

C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S (306.34)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 27.3°C):

δ (ppm) = 2.69 (t, J = 7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.05 (t, J = 7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.14 – 7.18 (m, 3H, arom. H), 7.23 – 7.26 (m, 2H, arom. H), 7.99 – 8.02 (m, 2H, arom. H), 8.10 (s, 1H, NH), 8.36 – 8.39 (m, 2H, arom. H)

**4-Amino-*N*-phenethylbenzonsulfonamid (204)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** aus 4-Nitro-*N*-phenethylbenzonsulfonamid **200** (613 mg, 2.0 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (2.26 g, 10.0 mmol).

**Ausbeute:** 550 mg (100% d. Th.)

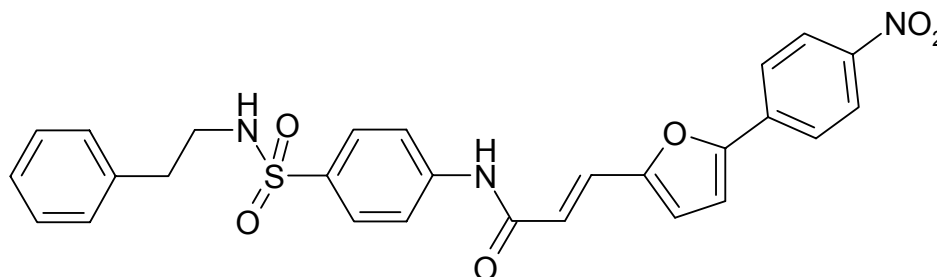
hellbrauner Feststoff

C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S (276.36)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 21.4°C):

δ (ppm) = 2.64 (t, J = 7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.85 (t, J = 7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.92 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 6.59 – 6.61 (m, 2H, arom. H), 7.13 – 7.27 (m, 5H, arom. H und s, 1H, NH), 7.39 – 7.44 (m, 2H, arom. H)

**(E)-N-[4-(Phenethylaminosulfonyl)phenyl]-3-[5-(4-nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (208)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 3-[5-(4-Nitrophenyl)-2-furyl]acrylsäure **57** (130 mg, 0.5 mmol) und 4-Amino-N-phenethylbenzensulfonamid **204** (138 mg, 0.5 mmol). Säulenchromatographie an Kieselgel mit Ethylacetat : n-Hexan (2 : 1).

**Ausbeute:** 123 mg (48% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 249°C

(Ethylacetat : n-Hexan (2 : 1))

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3370 (w, br), 2924 (w), 1679 (w), 1624 (w), 1596 (m), 1528 (m), 1401 (w), 1333 (s), 1246 (w), 1152 (s), 1095 (w), 974 (w), 834 (w), 752 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz, 20.1°C):

$\delta$  (ppm) = 2.67 (t, J = 7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.94 (t, J = 7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.83 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.11 – 7.28 (m, 6H, arom. H), 7.48 (s, 1H, NH), 7.49 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.61 – 7.64 (m, 1H, arom. H), 7.74 – 7.76 (m, 2H, arom. H), 7.88 – 7.90 (m, 2H, arom. H), 8.03 – 8.05 (m, 2H, arom. H), 8.35 – 8.38 (m, 2H, arom. H), 10.71 (s, 1H, NH)

**MS** (ESI):

m/z (%) = 518 (45, [M+H]<sup>+</sup>), 437 (48), 393 (56), 391 (33), 349 (48), 305 (59), 242 (84), 139 (100)

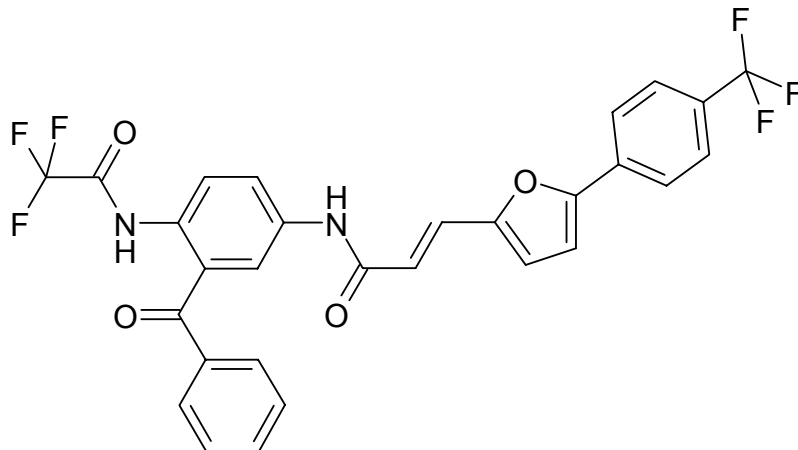
---

**Elementaranalyse:**  $C_{27}H_{23}N_3O_6S$  (517.56)

ber. (%): C: 62.66 H: 4.48 N: 8.12

gef. (%): C: 62.41 H: 4.61 N: 7.84

**(E)-N-[3-Benzoyl-4-(trifluoracetyl)amino]phenyl]-3-[5-(4-trifluoromethylphenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (180)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 3-[5-(4-Trifluormethylphenyl)-2-furyl]acrylsäure (1743 mg, 6.2 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)trifluoracetamid (1911 mg, 6.2 mmol).<sup>4</sup> Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 1595 mg (45% d. Th.)

gelber Feststoff

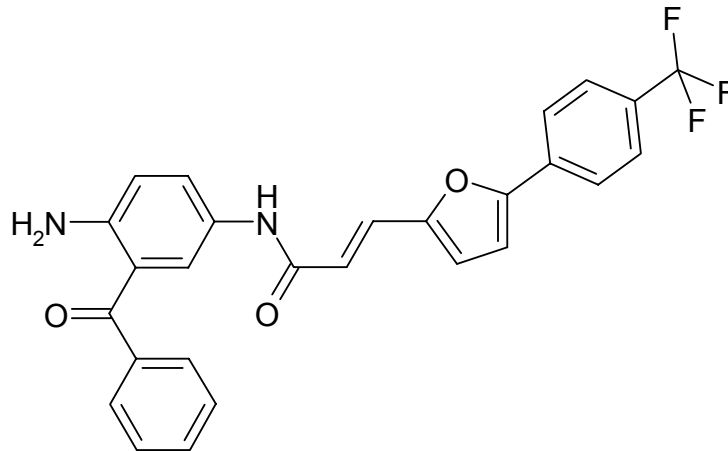
C<sub>29</sub>H<sub>18</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (572.54)

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 23.5°C):

δ (ppm) = 6.74 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.02 – 7.03 (m, 1H, arom. H), 7.41 – 7.71 (m, 7H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.74 – 7.89 (m, 2H, arom. H), 7.96 – 8.13 (m, 4H, arom. H), 10.60 (s, 1H, NH), 11.16 (s, 1H, NH)

<sup>4</sup> Die Charakterisierung von 3-[5-(4-Trifluormethylphenyl)-2-furyl]acrylsäure erfolgte in der Dissertation von Dr. A. Mitsch (Marburg, 2003) und die Charakterisierung von *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)trifluoracetamid erfolgte in der Dissertation von Dr. J. J. Sakowski (Marburg, 2001).

**(E)-N-(4-Amino-3-benzoylphenyl)-3-[5-(4-trifluormethylphenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (181)**



(E) - N -[3-Benzoyl-4-(trifluoracetyl-amino)phenyl]-3-[5-(4-trifluormethylphenyl)-2-furyl]-acrylsäureamid **180** (1595 mg, 2.7 mmol) wird mit einer 1 : 1 Mischung von Dioxan (20 ml) und gesättigter Kaliumcarbonatlösung (20 ml) drei Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen wird mit 30 ml Wasser verdünnt und mit Ethylacetat dreimal extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer vollständig entfernt. Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 326 mg (24% d. Th.)

gelb – oranger Feststoff

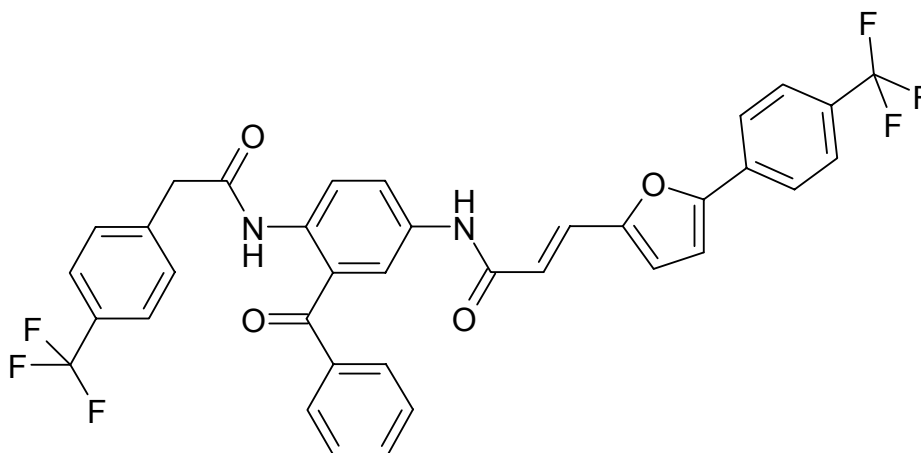
$C_{27}H_{19}F_3N_2O_3$  (476.46)

**$^1H$ -NMR** (DMSO- $d_6$ , 400 MHz, 19.3°C):

$\delta$  (ppm) = 6.67 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.81 – 7.07 (m, 3H, arom. H), 7.46 – 7.65 (m, 10H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 8.00 – 8.01 (m, 1H, arom. H), 10.56 (s, 1H, NH)

Die Protonen der Aminogruppe sind nicht sichtbar.

**(E)-N-{3-Benzoyl-4-[(4-trifluormethylphenyl)acetylamino]phenyl}-3-[5-(4-trifluormethylphenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (182)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 4-Trifluormethylphenyl-essigsäure **54** (133 mg, 0.65 mmol) und (E)-N-(4-Amino-3-benzoylphenyl)-3-[5-(4-trifluormethylphenyl)-2-furyl]acrylsäureamid **181** (310 mg, 0.65 mmol). Umkristallisation aus Ethanol.

**Ausbeute:** 379 mg (88% d. Th.)

hellgelber Feststoff

**Festpunkt:** 242°C

(Ethanol)

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3305 (w, br), 3059 (w), 1681 (m), 1638 (w), 1515 (s), 1447 (w), 1409 (m), 1327 (s), 1293 (m), 1238 (m), 1165 (m), 1121 (m), 1067 (m), 704 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 23.6°C):

$\delta$  (ppm) = 3.53 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.31 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.36 – 7.81 (m, 15H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.95 – 8.20 (m, 3H, arom. H), 10.28 (s, 1H, NH), 11.01 (s, 1H, NH)



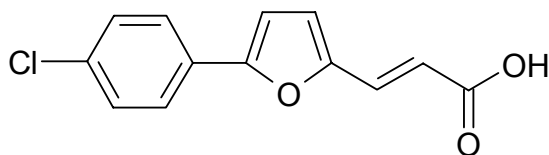
**MS (ESI):**

m/z (%) = 663 (9, [M+H]<sup>+</sup>), 657 (22), 479 (26), 445 (12), 333 (34), 271 (14), 261 (14), 241 (42), 225 (20), 163 (5), 137 (41), 129 (12), 101 (100), 90 (20), 81 (54)

**Elementaranalyse:** C<sub>36</sub>H<sub>24</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (662.59)

ber. (%): C: 65.26 H: 3.65 N: 4.23

gef. (%): C: 65.46 H: 3.99 N: 4.22

**(E)-3-[5-(4-Chlorphenyl)-2-furyl]acrylsäure (185)**

Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **A** aus 5-(4-Chlorphenyl)furfural (620 mg, 3.0 mmol) und Malonsäure (375 mg, 3.6 mmol).

**Ausbeute:** 669 mg (90% d. Th.)

hellgelber Feststoff

**Festpunkt:** 185°C

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 2999 (w, br), 1668 (s), 1629 (s), 1601 (m), 1579 (m), 1519 (m), 1478 (s), 1433 (s), 1312 (s), 1278 (m), 1243 (m), 1218 (m), 1190 (w), 1099 (s), 1025 (m), 1012 (m), 970 (m), 947 (m), 924 (m), 903 (w), 854 (w), 821 (s), 784 (s), 666 (m)

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, 30.9°C):

$\delta$  (ppm) = 6.31 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 6.65 – 6.68 (m, 2H, arom. H), 7.31 – 7.33 (m, 2H, arom. H), 7.43 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.58 – 7.60 (m, 2H, arom. H)

Das Proton der Carbonsäure ist nicht sichtbar.

**MS** (EI, 70eV, PT = RT):

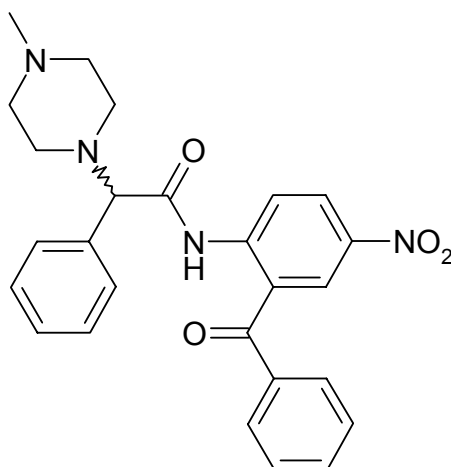
m/z (%) = 250 (33, M<sup>+</sup>), 248 (100, M<sup>+</sup>), 231 (12), 204 (8), 202 (12), 175 (8), 168 (6), 151 (11), 149 (37), 141 (15), 139 (63), 136 (6), 129 (7), 128 (9), 115 (11), 114 (18), 113 (18), 111 (25), 110 (5), 99 (5), 98 (6), 97 (7), 89 (5), 88 (6), 87 (9), 85 (6), 84 (5), 83 (10), 75 (18), 73 (15), 72 (26), 71 (10), 69 (15), 63 (20), 60 (18), 59 (61), 57 (28), 55 (26), 44 (20), 43 (35), 41 (34), 39 (14)

**Elementaranalyse:** C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>ClO<sub>3</sub> (248.67)

ber. (%): C: 62.79 H: 3.65

gef. (%): C: 62.67 H: 3.71

**(R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (183)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **H** aus (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-chlor-2-phenylacetamid **124** (2367 mg, 6.0 mmol) und N-Methylpiperazin (2.0 ml, 18.0 mmol).<sup>5</sup> Säulenchromatographie an Kieselgel (kontinuierliche Elution): Erstes Laufmittel Ethylacetat : n-Hexan (3 : 2), um unerwünschte Fraktionen abzutrennen, zweites Laufmittel Ethanol, um das gewünschte Produkt zu erhalten.

**Ausbeute:** 2006 mg (73% d. Th.)

gelber Feststoff

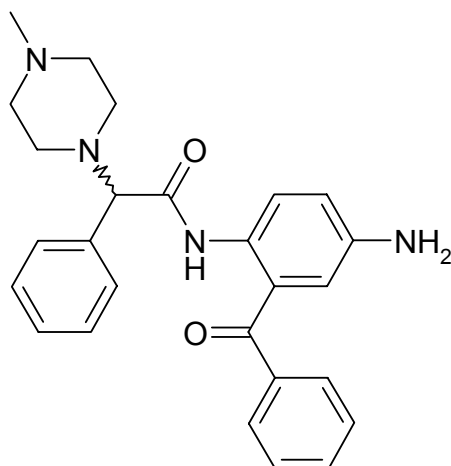
C<sub>26</sub>H<sub>26</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> (458.52)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

δ (ppm) = 2.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub> (N-Methyl)), 2.31 (s, 8H, 4 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 4.10 (s, 1H, CH-N), 7.28 – 7.34 (m, 5H, arom. H), 7.58 – 7.82 (m, 5H, arom. H), 8.25 – 8.26 (m, 1H, arom. H), 8.42 – 8.47 (m, 2H, arom. H), 11.47 (s, 1H, NH)

<sup>5</sup> Dissertation Dr. J. J. Sakowski (Marburg, 2001)

**(R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid (184)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschrift **D** (R,S)-N-(2-Benzoyl-4-nitrophenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid **183** (366 mg, 0.8 mmol) und Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (1.0 g, 4.0 mmol).<sup>6</sup>

**Ausbeute:** 340 mg (99% d. Th.)

gelb – oranger Feststoff

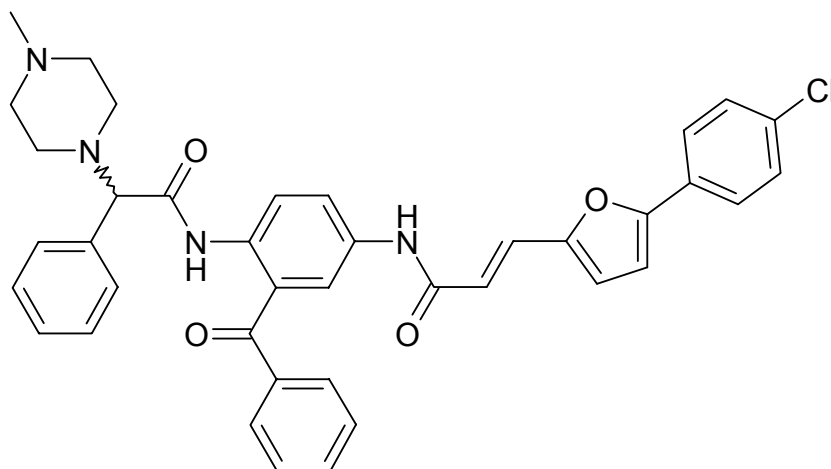
C<sub>26</sub>H<sub>28</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> (428.54)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 50°C):

δ (ppm) = 1.97 (s, 3H, CH<sub>3</sub> (N-Methyl)), 2.20 (s, 8H, 4 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 3.81 (s, 1H, CH-N), 5.11 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 6.63 – 6.74 (m, 2H, arom. H), 7.24 – 7.28 (m, 5H, arom. H), 7.50 – 7.72 (m, 6H, arom. H), 10.31 (s, 1H, NH)

<sup>6</sup> Dissertation J. J. Sakowski (Marburg, 2001)

**(E-R,S)-N-{3-Benzoyl-4-[2-(4-methyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetyl-amino]-phenyl}-3-[5-(4-chlorophenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (186)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus (E)-3-[5-(4-Chlorphenyl)-2-furyl]acrylsäure **185** (187 mg, 0.75 mmol) und (R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid **184** (321 mg, 0.75 mmol). Es wird in Ethylacetat aufgenommen, mit gesättigter Kaliumcarbonatlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer vollständig entfernt. Umkristallisation aus Ether : n-Hexan (1 : 1).

**Ausbeute:** 145 mg (29% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 217°C

(Ether : n-Hexan (1 : 1))

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3395 (w, br), 2935 (w), 1679 (m), 1632 (m), 1596 (w), 1537 (s), 1503 (s), 1478 (m), 1453 (w), 1401 (m), 1333 (w), 1286 (m), 1244 (m), 1194 (w), 1165 (w), 1145 (w), 1093 (w), 1024 (w), 1012 (w), 830 (w), 788 (w), 704 (w)

**$^1\text{H-NMR}$**  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz, 50.1°C):

$\delta$  (ppm) = 2.10 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  (*N*-Methyl)), 2.29 (s, 8H, 4  $\text{CH}_2$  (Piperaziny)), 3.94 (s, 1H, CH-N), 6.66 (d,  $J = 16$  Hz, 1H, =CH), 6.92 – 7.30 (m, 7H, aromat. H), 7.34 (d,  $J = 16$  Hz, 1H, =CH), 7.51 – 7.88 (m, 11H, aromat. H), 8.04 – 8.06 (m, 1H, aromat. H), 10.29 (s, 1H, NH), 10.88 (s, 1H, NH)

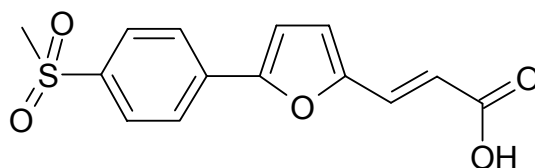
**MS** (ESI):

$m/z$  (%) = 661 (48,  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ), 659 (100,  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ), 429 (2), 189 (4), 100 (3)

**Elementaranalyse:**  $\text{C}_{39}\text{H}_{35}\text{ClN}_4\text{O}_4$  (659.19)

ber. (%): C: 71.06 H: 5.35 N: 8.50

gef. (%): C: 71.03 H: 5.54 N: 8.38

**(E)-3-[5-(4-Methylsulfonylphenyl)-2-furyl]acrylsäure (188)**

(E)-3-[5-(4-Methylsulfonylphenyl)-2-furyl]acrylsäure <sup>7</sup> **187** (873 mg, 4.0 mmol) wird in einer Mischung aus Tetrahydrofuran, Ethanol und destilliertem Wasser (60 ml / 60 ml / 40 ml) gelöst. Nach Zugabe von Kaliumperoxomonosulfat (Oxone®, 2660 mg) wird bei Raumtemperatur 24 Stunden gerührt. Der Ansatz wird filtriert und die organischen Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Die verbleibende wässrige Phase wird dreimal mit Ethylacetat extrahiert, die vereinigten Extrakte über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer vollständig entfernt. Umkristallisation aus Ethanol. [144]

**Ausbeute:** 616 mg (53% d. Th.)

hellbrauner Feststoff  
C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub>S (292.31)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 24.2°C):

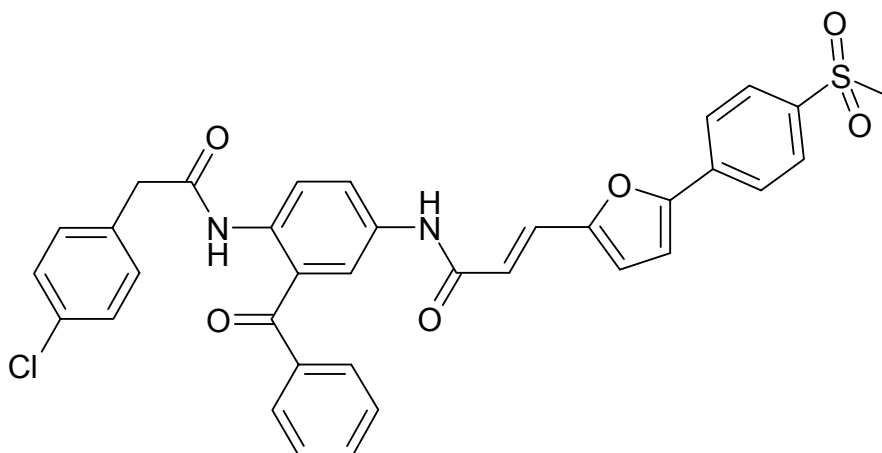
δ (ppm) = 3.25 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 6.40 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.07 – 7.08 (m, 1H, arom. H), 7.35 – 7.37 (m, 1H, arom. H), 7.41 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.96 – 7.97 (m, 2H, arom. H), 8.06 – 8.08 (m, 2H, arom. H), 12.45 (s, 1H, COOH)

**<sup>13</sup>C-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 125 MHz, 26.1°C):

δ (ppm) = 43.46 (H<sub>3</sub>C-SO<sub>2</sub>), 111.56 (1 Furyl-CH), 117.34 (=CH), 117.78 (1 Furyl-CH), 124.56 (2 Phenyl-CH), 127.75 (2 Phenyl-CH), 130.17 (=CH), 133.65 (q Phenyl-C), 139.77 (q Phenyl-C), 151.24 (q Furyl-C), 153.17 (q Furyl-C), 167.25 (COOH)

<sup>7</sup> Die Charakterisierung erfolgte in der Dissertation von Dr. A. Mitsch (Marburg, 2003)

**(E)-N-{3-Benzoyl-4-[(4-chlorphenyl)acetylamino]phenyl}-3-[5-(4-methylsulfonylphenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (192)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus 3-[5-(4-Methylsulfonylphenyl)-2-furyl]acrylsäure **188** (219 mg, 0.75 mmol) und *N*-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-(4-chlorphenyl)acetamid (273 mg, 0.75 mmol). Umkristallisation aus Ethanol : Toluol (5 : 1).

**Ausbeute:** 436 mg (64% d. Th.)

gelber Feststoff

**Festpunkt:** 185°C

(Ethanol : Toluol (5 : 1))

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3262 (m, br), 2923 (w), 1689 (m), 1661 (s), 1630 (m), 1594 (m), 1577 (w), 1534 (m), 1492 (m), 1450 (w), 1409 (m), 1311 (m), 1286 (m), 1241 (m), 1214 (w), 1195 (w), 1149 (s), 1092 (w), 1029 (w), 957 (w), 775 (m), 712 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 25.4°C):

$\delta$  (ppm) = 3.25 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.39 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.74 (d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.02 – 7.09 (m, 3H, arom. H), 7.27 – 7.29 (m, 2H, arom. H), 7.36 – 7.52 (m, 4H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.61 – 8.00 (m, 9H, arom. H), 10.15 (s, 1H, NH), 10.46 (s, 1H, NH)



**MS (FAB):**

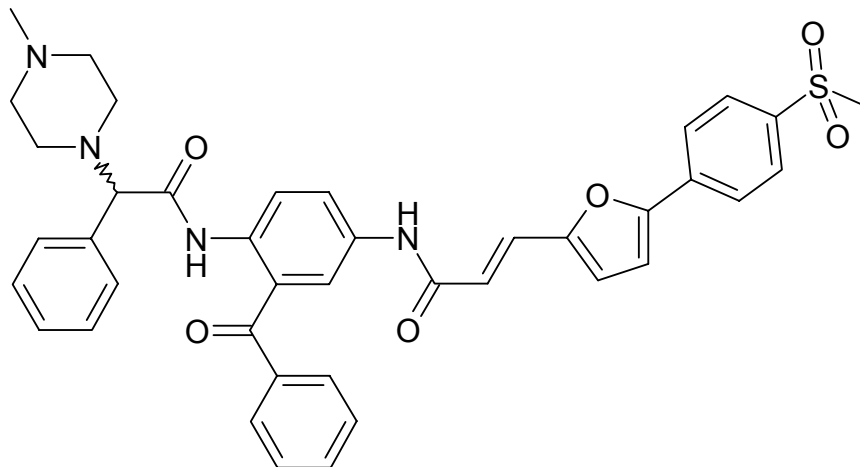
$m/z$  (%) = 641 (20,  $[M+H]^+$ ), 640 (45,  $M^+$ ), 639 (100,  $[M+H]^+$ ), 638 (38,  $M^+$ ), 596 (5), 487 (38), 443 (21), 424 (19), 391 (20), 364 (22), 329 (23)

**Elementaranalyse:**  $C_{35}H_{27}ClN_2O_6S$  (639.13)

ber. (%): C: 65.78 H: 4.26 N: 4.38

gef. (%): C: 65.52 H: 4.20 N: 4.36

**(E-R,S)-N-{3-Benzoyl-4-[2-(4-methyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetyl-amino]-phenyl}-3-[5-(4-methylsulfonylphenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (189)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus (E)-3-[5-(4-Methylsulfonylphenyl)-2-furyl]acrylsäure **188** (219 mg, 0.75 mmol) und (R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)-2-phenylacetamid **183** (322 mg, 0.75 mmol). Der Feststoff fällt aus dem Reaktionsansatz aus.

**Ausbeute:** 385 mg (73% d. Th.)

hellgelber Feststoff

**Festpunkt:** 163°C

**IR (KBr):**

$\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3420 (w, br), 1696 (s), 1596 (w), 1496 (m), 1449 (w), 1409 (w), 1296 (m), 1181 (w), 1148 (w), 1117 (w), 1014 (w), 954 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 24.1°C):

δ (ppm) = 2.48 (s, 3H, CH<sub>3</sub> (*N*-Methylpiperazinyl)), 2.71 (s, 8H, 4 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 3.11 (s, 3H, CH<sub>3</sub> (*N*-Methylsulfonyl)), 4.51 (s, 1H, CH-N), 7.13 – 7.38 (m, 9H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.40 – 7.55 (m, 3H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.63 – 7.66 (m, 2H, arom. H), 7.72 – 7.76 (m, 4H, arom. H), 7.92 – 7.95 (m, 1H, arom. H), 10.98 (s, 1H, NH), 11.12 (s, 1H, NH)

**MS** (ESI):

m/z (%) = 703 (26, [M+H]<sup>+</sup>), 529 (100), 484 (13), 429 (96), 242 (11)

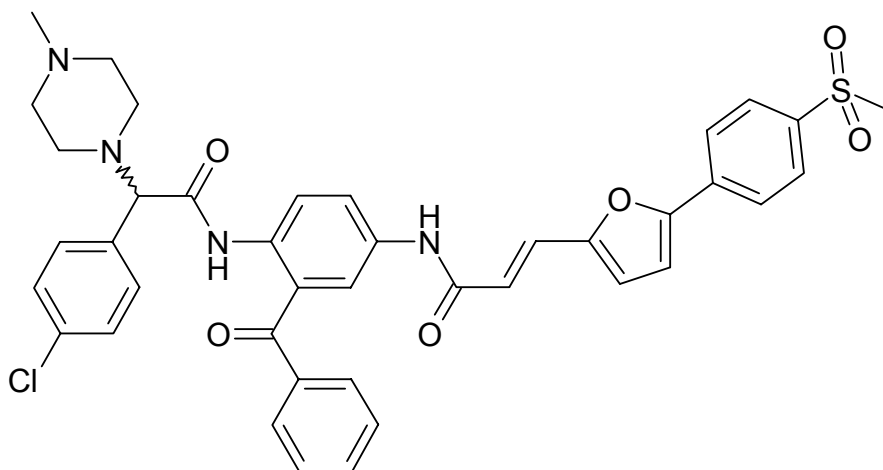
**Elementaranalyse:** C<sub>40</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S

(702.84)

ber. (%): C: 68.36 H: 5.45 N: 7.97

gef. (%): C: 67.91 H: 5.72 N: 8.24

**(E-R,S)-N-{3-Benzoyl-4-[2-(4-chlorphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)acetylamino]phenyl}-3-[5-(4-methylsulfonylphenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (191)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus (E)-3-[5-(4-Methylsulfonylphenyl)-2-furyl]acrylsäure **188** (219 mg, 0.75 mmol) und (R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-chlorphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)acetamid **165** (348 mg, 0.75 mmol) unter Argonatmosphäre. Der Feststoff fällt aus dem Reaktionsansatz aus.

**Ausbeute:** 322 mg (58% d. Th.)

beiger Feststoff

**Festpunkt:** 170°C

**IR** (KBr):

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3381 (w, br), 2979 (w), 1752 (w), 1702 (s), 1661 (m), 1622 (w), 1596 (w), 1577 (w), 1528 (m), 1493 (m), 1449 (m), 1410 (w), 1369 (w), 1317 (m), 1294 (m), 1224 (w), 1183 (m), 1149 (w), 1092 (w), 1016 (w), 960 (w), 835 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 22.7°C):

$\delta$  (ppm) = 2.42 (s, 3H, CH<sub>3</sub> (N-Methyl)), 2.71 (s, 8H, 4 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 3.24 (s, 3H, CH<sub>3</sub>, (N-Methylsulfonyl)), 4.45 (s, 1H, CH-N), 7.33 – 7.42 (m, 8H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.48 – 7.54 (m, 3H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.62 – 7.73 (m, 5H, arom. H), 7.88 – 7.89 (m, 1H, arom. H), 7.96 – 7.97 (m, 1H, arom. H), 10.99 (s, 1H, NH), 11.10 (s, 1H, NH)

**MS** (FAB):

m/z (%) = 739 (4, [M+H]<sup>+</sup>), 737 (10, [M+H]<sup>+</sup>), 663 (3), 563 (100), 354 (2), 223 (18)

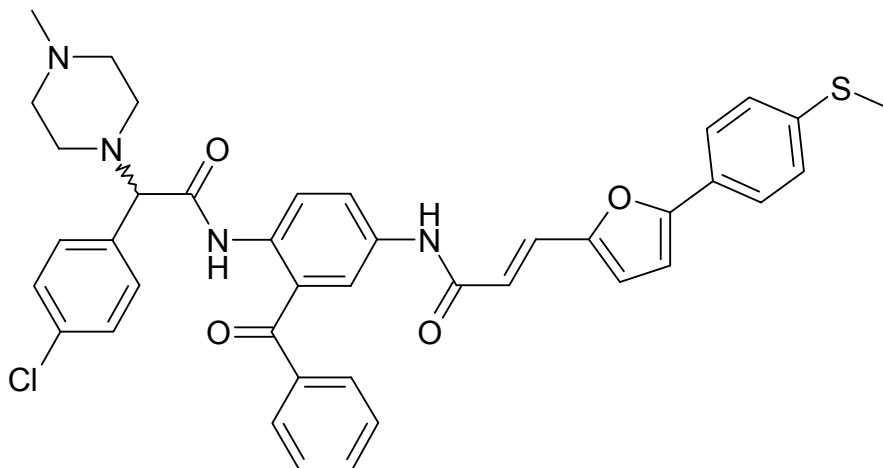
**Elementaranalyse:** C<sub>40</sub>H<sub>37</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S

(737.28)

ber. (%): C: 65.16 H: 5.06 N: 7.60

gef. (%): C: 64.72 H: 5.34 N: 7.58

**(E-R,S)-N-{3-Benzoyl-4-[2-(4-chlorphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)acetylamino]phenyl}-3-[5-(4-methylsulfanylphenyl)-2-furyl]acrylsäureamid (190)**



Gemäß Allgemeiner Arbeitsvorschriften **B** und **C** aus (E)-3-[5-(4-Methylsulfanylphenyl)-2-furyl]acrylsäure **187** (195 mg, 0.75 mmol) und (R,S)-N-(4-Amino-2-benzoylphenyl)-2-(4-chlorphenyl)-2-(4-methyl-1-piperazinyl)acetamid **165** (348 mg, 0.75 mmol). Der Feststoff fällt aus dem Reaktionsansatz aus.

**Ausbeute:** 324 mg (61% d. Th.)

beiger Feststoff

**Festpunkt:** 151°C

**IR (KBr):**

$\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3401 (w, br), 1695 (s), 1663 (m), 1595 (m), 1577 (w), 1493 (s), 1449 (m), 1411 (m), 1370 (w), 1318 (w), 1294 (m), 1181 (w), 1092 (w), 1015 (w)

**<sup>1</sup>H-NMR** (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz, 22.9°C):

$\delta$  (ppm) = 2.48 (s, 3H, CH<sub>3</sub> (*N*-Methyl)), 2.50 (s, 3H, CH<sub>3</sub> (Methylsulfanyl)), 2.69 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 3.07 (m, 4H, 2 CH<sub>2</sub> (Piperazinyl)), 4.41 (s, 1H, CH-N), 7.31 – 7.41 (m, 6H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.47 – 7.57 (m, 4H, arom. H und d, J = 16 Hz, 1H, =CH), 7.62 – 7.65 (m, 7H, arom. H), 7.88 – 7.91 (m, 1H, arom. H), 10.89 (s, 1H, NH), 11.01 (s, 1H, NH)

**MS** (ESI):

$m/z$  (%) = 707 (3, [M+H]<sup>+</sup>), 705 (9, [M+H]<sup>+</sup>), 565 (29), 563 (63), 463 (100)

**Elementaranalyse:** C<sub>40</sub>H<sub>37</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S

(705.28)

ber. (%):	C: 68.12	H: 5.29	N: 7.94
gef. (%):	C: 67.62	H: 5.44	N: 7.87

---

**Abkürzungsverzeichnis**

FPP	Farnesylpyrophosphat
FTase	Farnesyltransferase
FTI	Farnesyltransferaseinhibitoren
GDP	Guanosindiphosphat
GGPP	Geranylgeranylpyrophosphat
GGTase	Geranylgeranyltransferase
GTP	Guanosintriphosphat
GTPase	GTP hydrolysierendes Enzym
KG	Körpergewicht
<i>L. amazonensis</i>	<i>Leishmania amazonensis</i>
<i>L. chagasi</i>	<i>Leishmania chagasi</i>
<i>L. donovani</i>	<i>Leishmania donovani</i>
<i>L. infantum</i>	<i>Leishmania infantum</i>
<i>L. major</i>	<i>Leishmania major</i>
<i>L. mexicana</i>	<i>Leishmania mexicana</i>
<i>L. tropica</i>	<i>Leishmania tropica</i>
<i>L. V. brasiliensis</i>	<i>Leishmania Vianna brasiliensis</i>
<i>L. V. guyanensis</i>	<i>Leishmania Vianna guyanensis</i>
<i>L. V. panamensis</i>	<i>Leishmanina Vianna panamensis</i>
<i>L. V. peruviana</i>	<i>Leishmania Vianna peruviana</i>
<i>L. venezuelensis</i>	<i>Leishmanie venezuelensis</i>
<i>LmjFTase</i>	Farnesyltransferase aus <i>Leishmania major</i>
<i>P. falciparum</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>
<i>P. malariae</i>	<i>Plasmodium malariae</i>
<i>P. ovale</i>	<i>Plasmodium ovale</i>
<i>P. vinckei</i>	<i>Plasmodium vinckei</i>
<i>P. vivax</i>	<i>Plasmodium vivax</i>
<i>PfFTase</i>	Farnesyltransferase aus <i>Plasmodium falciparum</i>
<i>PfFTI</i>	Inhibitoren der Farnesyltransferase aus <i>P. falciparum</i>
<i>R. norvegicus</i>	<i>Rattus norvegicus</i>
<i>RnFTase</i>	Farnesyltransferase aus <i>Rattus norvegicus</i>

---

RhoB-F	farnesyliertes RhoB
RhoB-GG	geranylgeranyliertes RhoB
<i>S. cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>S. pombe</i>	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>
ScFTase	Farnesyltransferase aus <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>T. brucei</i>	<i>Trypanosoma brucei</i>
<i>T. cruzi</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i>
TbFTase	Farnesyltransferase aus <i>Trypanosoma brucei</i>
TcFTase	Farnesyltransferase aus <i>Trypanosoma cruzi</i>
WHO	World Health Organisation

---

## Literaturverzeichnis

- [1] <http://www.who.int/cancer/en/> (Dezember 2004)
- [2] <http://www.krebshilfe.de/neu/infoangebot/themen/zahlen-daten-fakten/zahlen.htm> (Dezember 2004)
- [3] <http://www.m-ww.de/krankheiten/krebs/allgemeines.html> (Dezember 2004)
- [4] Thews G., Mutschler E., Vaupel P. *Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen* 4. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, **1991**
- [5] Karlson P., Doenecke D., Koolman J. *Biochemie* 14. Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1994**
- [6] Mutschler E., Schäfer-Korting M. *Arzneimittelwirkungen* 7. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, **1996**
- [7] Gelb M. H., Scholten J. D., Sebolt-Leopold J. S. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2** (1998), 40 - 48
- [8] <http://www.who.int/tdr/diseases/malaria/files/malaria-poster.pdf> (November 2004)
- [9] Sachs J., Malaney P. *Nature* **415** (2002), 680 - 685
- [10] [http://www.who.int/ith/chapter05\\_m08\\_malaria.htm](http://www.who.int/ith/chapter05_m08_malaria.htm) (November 2004)
- [11] <http://www.m-ww.de/krankheiten/infektionskrankheiten/malaria.html> (November 2004)
- [12] <http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/HTML/Malaria.htm> (November 2004)
- [13] <http://www.gtz.de/malaria/index.html> (November 2004)
- [14] *Travel Med Handbuch Reisemedizin Juni 2004 – November 2004* Centrum für Reisemedizin Düsseldorf **2004**
- [15] <http://www.uni-duesseldorf.de/WWW/AWMF/II/trop001I.htm> (November 2004)
- [16] [http://rbm.who.int/docs/rbm\\_brochure.htm](http://rbm.who.int/docs/rbm_brochure.htm) (November 2004)
- [17] Wiesner J., Ortmann R., Jomaa H., Schlitzer M. *Angew. Chem.* **115** (2003), 5432 - 5451
- [18] <http://www.who.int/tdr/diseases/trypanosomiasis/files/trypanosomiasis-poster.pdf> (November 2004)
- [19] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs259/en/> (November 2004)
- [20] Stich A., Steverding D. *Biologie in unserer Zeit* **5** (2002), 294 - 302
- [21] <http://www.m-ww.de/krankheiten/infektionskrankheiten/schlafkrankheit.html>



- [22] Burchmore R. S. J., Ogbunude P. O. J., Enanga B., Barrett M. P. *Curr. Pharm. Des.* **8** (2002), 257 - 267
- [23] <http://www.infektionsnetz.at/infindex.html> (November 2004)
- [24] <http://www.who.int/tdr/diseases/chagas/files/chagas-poster.pdf> (November 2004)
- [25] Docampo R. *Curr. Pharm. Des.* **7** (2001), 1157 - 1164
- [26] De Souza W. *Curr. Pharm. Des.* **8** (2002), 269 - 285
- [27] <http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/HTML/TrypanosomiasisAmerican.htm> (November 2004)
- [28] <http://www.chagaspace.org/eng/tcruzi/lifecycle.htm> (November 2004)
- [29] <http://www.m-ww.de/krankheiten/infektionskrankheiten/chagas.html> (November 2004)
- [30] [http://www.infektionsbiologie.ch/seiten/modellparasiten/seiten/leishmania/steckbrief\\_leish.html](http://www.infektionsbiologie.ch/seiten/modellparasiten/seiten/leishmania/steckbrief_leish.html) (Februar 2005)
- [31] <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Leishmaniasis.htm> (Februar 2005)
- [32] <http://www.who.int/tdr/diseases/leish/files/leish-poster.pdf> (Februar 2005)
- [33] <http://www.laborlexikon.de/Lexikon/Tabellen/69-Leishmaniosen.htm> (Februar 2005)
- [34] Vannier-Santos M. A., Martiny A., de Souza W. *Curr. Pharm. Des.* **8** (2002), 297 - 318
- [35] Croft S. L., Yardley V. *Curr. Pharm. Des.* **8** (2002), 319 - 342
- [36] Roskoski R. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **303** (2003), 1 - 7
- [37] Liang P.-H., Ko T.-P., Wang H.-J. *Eur. J. Biochem.* **269** (2002), 3339 - 3354
- [38] Maurer-Stroh S., Washietl S., Eisenhaber F. *Genome Biology* **4** (2003), 212
- [39] Fu H.-W., Casey P. J. *Recent Progress in Hormone Research* **54** (1999), 315 - 343
- [40] Prendergast G. C., Rane N. *Expert Opin. Invest. Drugs* **10** (2001), 2105 - 2116
- [41] Omer C. A., Kral A. M., Diehl R. E., Prendergast G. C., Powers S., Allen C. M., Gibbs J. B., Kohl N. E. *Biochemistry* **32** (1193), 5167 - 5176
- [42] Dunten P., Kammlott U., Cowther R., Weber D., Palermo R., Birktoft J. *Biochemistry* **37** (1998), 7907 - 7912
- [43] Park H.-W., Beese L. S. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **7** (1997), 873 - 880
- [44] Cho K.-N., Lee K.-I. *Arch. Pharmacol Res.* **25** (2002), 759 - 769

- [45] Tobin D. A., Pickett J. S., Hartman H. L., Fierke C. A., Penner-Hahn J. E. *J. Am. Chem. Soc.* **125** (2003), 9962 - 9969
- [46] <http://www.rcsb.org/pdb/>
- [47] Park H.-W., Boduluri S. R., Moomaw J. F., Casey P. J., Beese L. S. *Science* **275** (1997), 9612 - 9618
- [48] Long S. B., Casey P. J., Beese L. S. *Biochemistry* **37** (1998), 9612 - 9618
- [49] Strickland C. L., Windsor W. T., Syto R., Wang L., Bond R., Wu Z., Schwartz J., Le H. V., Beese L. S., Weber P. C. *Biochemistry* **37** (1998), 16601 - 16611
- [50] Long S. B., Hancock P. J., Kral A. M., Hellinga H. W., Beese L. S. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **98** (2001), 12948 - 12953
- [51] Yokoyama K., Zimmerman K., Scholten J., Gelb M. H. *J. Biol. Chem.* **272** (1997), 3944 - 3952
- [52] Taylor J. S., Reid T. S., Terry K. L., Casey P. J., Beese L. S. *Embo J.* **22** (2003), 5963 - 5974
- [53] Long S. B., Casey P. J., Beese Lorena S. *Nature* **419** (2002), 645 - 650
- [54] Pickett J. S., Bowers K. E., Hartman H. L., Fu H.-W., Embry A. C., Casey P. J., Fierke C. A. *Biochemistry* **42** (2003), 9741 - 9748
- [55] Bowers K. E., Fierke C. A. *Biochemistry* **43** (2004), 5256-5265
- [56] Wittinghofer A., Waldmann H. *Angew. Chem.* **112** (2000), 4360 - 4383
- [57] Tamanoi F., Kato-Stankiewicz J., Jiang C., Machado I., Thapar N. *J. Cell. Biochem. Suppl.* **37** (2001), 64 - 70
- [58] Tamanoi F., Gau C.-L., Jiang C., Edamatsu H., Kato-Stankiewicz J. *Cell. Mol. Life Sci.* **58** (2001), 1636 - 1649
- [59] Jiang C., Kato-Stankiewicz J., Gau C.-L., Tamanoi F. *Gene Funct. Dis.* **2** (2001), 99 - 107
- [60] Brunner T. B., Hahn S. M., Gupta A. K., Muschel R. J., McKenna W. G., Bernhard E. J. *Cancer Res.* **63** (2003), 5656 - 5668
- [61] Mazieres J., Pradines A., Favre G. *Cancer Lett.* **206** (2004), 159 - 167
- [62] Suzuki N., Urano J., Tamanoi F. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. A.* **95** (1998), 15356 - 15361
- [63] Sellari C., Maciejewski J. P., Montuori N., Ricci P., Visconte V., Serio B., Luciano L., Rotoli B. *Blood* **102** (2003), 1490 -1498

- [64] Jiang K., Coppola D., Crespo N. C., Nicosia S. V., Hamilton A. D., Sebti S. M., Cheng J. Q. *Mol. Cell. Biol.* **20** (2000), 139 - 148
- [65] Du W., Liu A., Prendergast G. C. *Cancer Res.* **59** (1999), 4208 - 4212
- [66] DuHadaway J. B, Du W., Donover S., Baker J., Liu A., Sharp D. M., Muller A. J., Prendergast G. C. *Oncogene* **22** (2003), 3578 - 3588
- [67] Kamasani U., Huang M., DuHadaway J., Prochownik E., Donover S., Prendergas G. C. *Cancer Res.* **15** (2004), 8389 - 8396
- [68] Russo P., Loprevite M., Cesario A., Ardizzoni A. *Curr. Med. Chem.* **4** (2004), 123 - 138
- [69] Adjei A. A. *Curr. Pharm. Des.* **7** (2001), 1581 - 1594
- [70] Rowinsky E. K., Windle J. J., Von Hoff D. D. *J. Clin. Oncol.* **17** (1999), 3631 - 3652
- [71] Gibbs R. A., Zahn T. J., Sebolt-Leopold J. S. *Curr. Med. Chem.* **8** (2001), 1437 - 1465
- [72] Adjei A. A. *J. Natl. Cancer Inst.* **93** (2001), 1062 - 1074
- [73] Sebti S. M., Der C. J. *Nat. Rev. Cancer* **3** (2003), 945 - 951
- [74] Crul M., de Klerk G. J., Beijnen J. H., Schellens J. H. M. *Anti-Cancer Drugs* **12** (2001), 163 - 184
- [75] Lebowitz P. F., Prendergast G. C. *Oncogene* **17** (1998); 1439 - 1445
- [76] Murphy G. A., Solski P. A., Jillian S. A., Perez de la Ossa P., D'Eustachio P., Der C. J., Rush M. G. *Oncogene* **18** (1999), 3831 - 3845
- [77] Lebowitz P. F., Casey P. J., Prendergast G. C., Thissen J. A. *J. Biol. Chem.* **272** (1997), 15591 - 15594
- [78] Prendergast G. C., Du W. *Drug Resistance Updates* **2** (1999), 81 - 84
- [79] Lebowitz P. F., Davide J. P., Prendergast G. C. *Mol. Cell. Biol.* **15** (1995), 6613 - 6622
- [80] Prendergast G.C. *Curr. Opinon Cell. Biol.* **12** (2000), 166 - 173
- [81] Liu A.-X., Du W., Liu J.-P., Jessell T. M., Prendergast G.C. *Mol. Cell. Biol.* **20** (2000), 6105 - 6113
- [82] Du W., Lebowitz P. F., Prendergast G. C. *Mol Cell. Biol.* **19** (1999), 1831 - 1840
- [83] Gromov P. S., Madsen P., Tomerup N., Celis J. E. *FEBS Lett.* **377** (1995), 221 - 226
- [84] Aspuria p: J., Tamanoi F. *Cellular Signalling* **16** (2004), 1105 - 1112

- [85] Yang W., Tabancay A. P., Urano J., Tamanoi F. *Mol. Microbiol.* **41** (2001), 1339 - 1347
- [86] Falugi C., Trombino S., Granone P., Margaritora S., Russo P. *Curr. Cancer Drug Targets* **3** (2003), 109 - 118
- [87] Ashar H. R., James L., Gray K., Carr D., Black S., Armstrong L., Bishop W. R., Kirschmeier P. *J. Biol. Chem.* **275** (2000), 30451 - 30457
- [88] Hussein D., Taylor S. T. *J. Cell Sci.* **115** (2002), 3403 - 3414
- [89] Shields J. M., Pruitt K., McFall A., Shaub A., Der C. J. *Trends In Cell Biology* **10** (2000), 147 - 154
- [90] Graaf M. R., Richel D. J., van Noorden C. J. F., Guchelaar H.-J. *Cancer Treatment Reviews* **30** (2004), 609 - 641
- [91] Rowinsky E. K., Patnaik A. *Expert Opin. Emerging Drugs* **5** (2001), 161 - 199
- [92] Ohkanda J., Knowles D. B., Blaskovich M. A., Sebti S. M., Hamilton A. D. *Curr. Top. Med. Chem.* **2** (2002), 303 - 323
- [93] Xu K., Perola E., Prendergast F. G., Pang Y.-P. *J. Mol. Model.* **5** (1999), 203 - 217
- [94] Caponigro F., Casale M., Bryce J. *Expert Opin. Invest. Drugs* **12** (2003), 943 - 954
- [95] Head J. E., Johnston S. R. D. *Expert Opin. Emerging Drugs* **8** (2003), 163 - 178
- [96] Haluska P., Dy G. K., Adjei A. A. *European Journal of Cancer* **38** (2002), 1685 - 1700
- [97] Sebti S. M., Adjei A. A. *Seminars in Oncology Suppl.* **31** (2004), 28 - 39
- [98] Reid T. S., Beese L. S. *Biochemistry* **43** (2004), 6877 - 6884
- [99] Cox A. D., Der C. J. *Curr. Opin. Pharmacol.* **2** (2002), 388 - 393
- [100] Caponigro F. *Anti-Cancer Drugs* **13** (2002), 891 - 897
- [101] Karp J. E., Kaufmann S. H., Adjei A. A., Lancet J. E., Wright J. J., End D. W. *Curr. Opin. Oncology* **13** (2001), 470 - 476
- [102] Chakrabarti D., Azam T., DelVecchio C., Qui L., Park Y., Allen C. M. *Mol. Biochem. Parasitol.* **94** (1998), 175 - 184
- [103] Moura I. C., Wunderlich G., Uhrig M. L., Couto A. S., Peres V. J., Katzin A. J., Kimura E. A. *Antimicrob. Agents Chemother.* **45** (2001), 2553 - 2558
- [104] Chakrabarti D., Da Silva T., Barger J., Paquettes S., Patel H., Patterson S., Allen C. M. *J. Biol. Chem.* **277** (2002), 42066 - 42073

- [105] Ohkanda J., Lockman J. W., Yokoyama K., Gelb M. H., Croft S. L., Kendrick H., Harrell M. I., Feagin J. E., Blaskovich M. A., Sebti S. M., Hamilton A. D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **11** (2001), 761 - 764
- [106] Carrico D., Ohkanda J., Kendrick H., Yokoyama K., Blaskovich M. A., Bucher C. J., Buckner F. S., Van Voorhis W. C., Chakrabarti D., Croft S. L., Gelb M. H., Sebti S. M., Hamilton A. D. *Bioorg. Med. Chem.* **12** (2004), 6517 - 6526
- [107] Schlitzer M. *Curr. Med. Chem. – Anti-Infective Agents* (2005), im Druck
- [108] Wiesner J., Schlitzer M. *unveröffentlichte Ergebnisse*
- [109] **WO 02/080895**: Windsor W. T., Weber P. C., Strickland C. O., Girijavallabhan V. M., Schering Corporation, 17.10.2002
- [110] Yokoyama K., Lin Y., Stuart K. D., Gelb M. H. *Mol Biochem. Parasitol.* **87** (1997), 61 - 69
- [111] Yokoyama K., Trobridge P., Buckner F. S., Van Voorhis W. C., Stuart K. D., Gelb M. H. *J. Biol. Chem.* **273** (1998), 26497 - 26505
- [112] Buckner F. S., Yokoyama K., Nguyen L., Grewal A., Erdjument-Bromage H., Tempst P., Strickland C. L., Xiao L., Van Voorhis W., Gelb M. H. *J. Biol. Chem.* **275** (2000), 21870 - 21876
- [113] Buckner F. S., Eastman R. T., Nepomuceno-Silva N., Speelman E. C., Myler P. J., Van Voorhis W. C., Yokoyama K. *Mol. Biochem. Parasitol.* **122** (2002), 181 - 188
- [114] Gelb M. H., Van Voorhis W. C., Buckner F. S., Yokoyama K., Eastman R., Carpenter E. P., Panethymitaki C., Brown K. A., Smith D. F. *Mol. Biochem. Parasitol.* **126** (2003), 155 - 163
- [115] Maurer-Stroh S., Washietl S., Eisenhaber F. *Biol. Chem.* **384** (2003), 977 - 989
- [116] Nepomuceno-Silva J. L., Yokoyama K., de Mello L. D. B., Mendonca S. M., Paixao J. C., Baron R., Faye J.-C., Buckner F. S., Van Voorhis W. C., Gelb M. H., Lopes U. G. *J. Biol. Chem.* **276** (2001), 29711 - 29718
- [117] Buckner F. S., Kateete D. P., Lubega G. W., Van Voorhis W. C., Yokoyama K. *Biochem. J.* **367** (2002), 809 - 816
- [118] Yokoyama K., Trobridge P., Buckner F. S., Scholten J., Stuart K. D., Van Voorhis W. C., Gelb M. H. *Mol. Biochem. Parasitol.* **94** (1998), 87 - 97
- [119] Ali B. R. S., Pal A., Croft S. L., Taylor R. J. K., Field M. C. *Mol. Biochem. Parasitol.* **104** (1999), 67 - 80

- [120] Ohkanda J., Buckner F. S., Lockman J. W., Yokoyama K., Carrico D., Eastman R., de Luca-Fradley K., Davies W., Croft S. L., Van Voorhis W. C., Gelb M. H., Sebti S. M., Hamilton A. D. *J. Med. Chem.* **47** (2004), 432 - 445
- [121] Schlitzer M. *Curr. Pharm. Des.* **8** (2002), 1713 - 1722
- [122] Sakowski J., Böhm M., Sattler I., Dahse H.-M., Schlitzer M. *J. Med. Chem.* **44** (2001), 2886 - 2899
- [123] *Martindale The Extra Pharmacopeia*, 31st ed Reynolds J. E. F., Ed., Royal Pharmaceutical Society Of Great Britain: London, **1996**
- [124] Hunt J. T., Lee V. G., Leftheris K., Seizinger B., Carboni J., Mabus J., Ricca C., Yan N., Manne V. *J. Med. Chem.* **39** (1996), 353 - 358
- [125] Breslin M. J., deSolms S. J., Giuliani E. A., Stokker G. E., Graham S. L., Pompliane D. L.; Mosser S. D., Hamilton K. A., Hutchinson J. H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **8** (1998), 331 - 3316
- [126] Böhm M., Mitsch A., Wißner P., Sattler I., Schlitzer M. *J. Med. Chem.* **44** (2001), 3117 - 3124
- [127] Mitsch A., Böhm M., Wißner P., Sattler I., Schlitzer M. *Bioorg. Med. Chem.* **10** (2002), 2657 - 2662
- [128] Mitsch A., Wißner P., Silber K., Haebel P., Sattler I., Klebe G., Schlitzer M. *Bioorg. Med. Chem.* **12** (2004), 4585 - 4600
- [129] Wiesner J., Wißner P., Dahse H.-M., Jomaa H., Schlitzer M. *Bioorg. Med. Chem.* **9** (2001), 785 - 792
- [130] Wiesner J., Mitsch A., Wißner P., Jomaa H., Schlitzer M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **11** (2001), 423 - 424
- [131] Wiesner J., Mitsch A., Wißner P., Jomaa H., Schlitzer M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **12** (2002), 2681 - 2683
- [132] Rijkers D.T.S., Adams H.P.H.M., Hemker H.C., Tesser G.I. *Tetrahedron* **51** (1995), 11235 - 11250
- [133] Fucik K., Kettler K., Wiesner J., Ortmann R., Unterreitmeier D, Krauss J., Bracher F., Jomaa H., Schlitzer M. *Pharmazie* **59** (2004), 744 -752
- [134] Wiesner J., Kettler K., Sakowski J., Ortmann R., Katzin A. M., Kimura E. A., Silber K., Klebe G., Schlitzer M. *Angew. Chem.* **116** (2004), 254 - 257
- [135] Sakowski J., Böhm M., Sattler I., Schlitzer M. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **4** (2002), 135 - 142

- 
- [136] Kettler K., Sakowski J., Wiesner J., Ortmann R., Jomaa H., Schlitzer M. (2005), *Die Pharmazie*, im Druck
- [137] Autorenkollektiv *Organikum* 20. bearbeitete und erweiterte Auflage, Johann Ambrosius Barth Verlag, Hüthig GmbH, Heidelberg · Leipzig 1996
- [138] Keller O., Keller W.E., van Look G., Wersin G. *Organic Synthesis Collective Volumes* **7**, 70 - 75
- [139] Dillard R.D., Yen T.T., Stark P., Pavey D.E. *J. Med. Chem.* **23** (1980), 717 - 722
- [140] Del Villar K., Mitsuzawa H., Yang W., Sattler I., Tamanoi F. *J. Med. Chem.* **272** (1997), 680 - 387
- [141] Pompliano D. L., Gomez R. P., Anthony N. J. *J. Am. Chem. Soc.* **114** (1992), 7945 - 7946
- [142] Esteva M., Maidana C., Sinagra A., Luna C., Ruiz A. M., Stoka A. M. *Exp. Parasitol.* (2005), im Druck
- [143] Carpino L.A., McAdams L.V. *Organic Synthesis, Collective Volumes* **7**, 403 - 406.
- [144] Shin S.S., Noh M.-S., Byun Y.J., Choi J.K., Kim J.Y., Lim K.M., Ha J.-Y., Kim J.K., Lee C.H., Shin C. *Bioorg. Med. Chem. Letters* **11** (2001), 165 - 168

## Lebenslauf

20.12.1975	geboren in Vechta
1982 – 1986	Mühlenkampfschule (Grundschule), Diepholz
1986 – 1988	Orientierungsstufe, Diepholz
1988 – 1995	Graf – Friedrich – Schule (Gymnasium), Diepholz
1995 – 1999	Pharmaziestudium an der Martin – Luther – Universität Halle / Wittenberg
08.1997	Erster Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
09.1999	Zweiter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
10.1999 – 03.2000	Pharmaziepraktikum in der Krankenhausapotheke des Albert – Schweitzer – Krankenhauses, Northeim
04.2000 – 09.2000	Pharmaziepraktikum in der Grafenhof – Apotheke, Northeim
10.2000	Dritter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
11.2000	Approbation als Apothekerin
11.2000 – 12.2000	Wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Pharmazeutische Chemie der Philipps – Universität, Marburg im Arbeitskreis von Prof. Dr. M. Schlitzer
01.2001 – 09.2001	Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Pharmazeutische Chemie der Philipps – Universität, Marburg im Arbeitskreis von Prof. Dr. M. Schlitzer
10.2001 – 04.2004	Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Department Pharmazie – Zentrum für Pharmaforschung der Ludwig – Maximilians – Universität, München im Arbeitskreis von Prof. Dr. M. Schlitzer
seit 05.2004	Filialapothekenleiterin in der Elch – Apotheke, Köln