

De novo Design, Synthese und Charakterisierung  
von COX-2 Inhibitoren

Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Naturwissenschaften

Vorgelegt beim Fachbereich  
Biochemie, Chemie und Pharmazie der  
Goethe-Universität Frankfurt am Main

von  
Roberto Carrasco Gomez  
aus Frankfurt am Main

Frankfurt 2015  
(D30)

Vom Fachbereich 14 Biochemie, Chemie und Pharmazie der  
Goethe-Universität Frankfurt als Dissertation angenommen

Dekan: Prof. Karas

Erster Gutachter: Prof. Schubert-Zsilavec

Zweiter Gutachter: Prof. Gisbert Schneider

Datum der Disputation:

*„Mehr als die Vergangenheit interessiert mich die Zukunft, denn in ihr gedenke ich zu leben.“*  
Albert Einstein

## Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung .....	1
1.1 Arachidonsäurekaskade .....	2
1.2 Cyclooxygenase.....	5
1.2.1 Physiologie und Pathophysiologie .....	5
1.2.2 Struktur und Funktion.....	6
1.2.3 COX-Inhibitoren .....	10
1.2.4 COX-2 als Target .....	12
1.3 Anwendungsgebiete von Insilico Methoden in der Wirkstoffentwicklung.....	14
1.3.1 Homologie-Modellierung .....	14
1.3.2 Molekular Dynamik Simulation .....	16
1.3.3 Virtual Screening.....	17
1.3.4 Pharmakophor Screening.....	19
1.3.5 De novo Design .....	21
1.3.6 Docking und ADME.....	22
2. Zielsetzung .....	23
3. Ergebnisse .....	24
3.1 Analyse von Docking-Studien an der COX-2.....	24
3.2 Modellierung der humanen COX-2.....	27
3.3 Molekulare Modellierung und de novo Design von neuen COX-2 Inhibitoren.....	31
3.3.1 De novo Design mit DOGS .....	31
3.3.2 Selektive COX-2 Acetylierung.....	34
3.3.3 Fragment-basiertes Design .....	35
3.4 Synthese der neuen COX-2 Inhibitoren .....	37
3.4.1 Synthese der Oxadiazol Derivate .....	37
3.4.2 Synthese von 4-[(Thiophen-2-ylmethyl)amino]benzene-1-sulfonamid .....	40
3.4.3 Synthese vom 1-(4-Methylphenyl)-N-(2-oxo-2-phenylethyl)-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-4-carboxamid .....	42
3.4.4 Acetylierung von Hydroxygruppen .....	43
3.5 Biologische Evaluierung der synthetisierten Verbindungen .....	45
3.5.1 Benzen anillierte Verbindungen .....	46
3.5.2 N-(thiophen-2-ylmethyl)anilin .....	47
3.5.3 Oxadiazol Verbindungen.....	48
4. Diskussion .....	50
5. Zusammenfassung .....	55
6. Experimenteller Teil.....	57
6.1 Molekulare Modellierung.....	57
6.1.1 Modellierung der Tertiärstruktur der humanen COX-2 .....	57
6.1.2 Docking-Studien.....	57
6.2 Chemie .....	58

---

6.2.1 Materialien und Geräte .....	58
6.2.2 Bromierung von Alkoholen .....	59
6.2.3 Acetylierung von Alkoholen .....	60
6.2.4 Nucleophile Substitution .....	65
6.2.5 Suzuki-Kupplung .....	68
6.2.6 Amidkupplung mit DEPC .....	69
6.2.7 Amidsynthese über Säurechlorid.....	70
6.2.8 Reduktive Aminierung .....	77
6.2.9 Synthese von Amidoxim .....	78
6.2.10 Synthese von Oxadiazole .....	84
6.2.11 Hydrolyse von Carbonsäuren .....	93
7. Literaturverzeichnis.....	102
8. Lebenslauf .....	112
9. Puplicationsliste .....	113
10. Eidesstattliche Versicherung .....	114
11. Danksagung.....	115
12. Anhang .....	116
12.1 Abkürzungsverzeichnis .....	116
12.2 Synthetisierte Verbindungen der Arbeit.....	117
12.3 Docking-Studien COX-2 Liganden.....	120
12.4 MODELLER Skript .....	127
12.5 NAMD Skript.....	128

## 1. Einleitung

Eine Entzündung ist eine Abwehrreaktion des Körpers auf eine Gewebeschädigung.<sup>1</sup> Sie ist Teil des Immunsystems und kann von verschiedenen äußerlichen Reizen wie Verletzung, Verbrennung, Verätzung, Verstrahlung, Allergenen oder Mikroorganismen verursacht werden. Die fünf Symptome einer Entzündung sind Rötung, Schwellung, Erwärmung, Schmerz und Beeinträchtigung der Funktion.

Bei einer Entzündung kommt es in der ersten Reaktion zu einer Hyperämie, bei der die Durchblutung erhöht wird, wobei die typischen Rötungen auftreten. Im nächsten Schritt folgt eine Verengung der feinen venösen Blutgefäße, die zu Schwellungen führen. Im weiteren Verlauf wird die Permeabilität der Blutgefäße erhöht, was die Einwanderung von Abwehrzellen ermöglicht.<sup>2</sup> An all diesen Prozessen sind die Prostaglandine als Entzündungsmediatoren beteiligt. Prostaglandine sind Gewebshormone und gehören zu der Klasse der Eikosanoide. Sie werden über die Cyclooxygenase aus der Arachidonsäure gebildet.

Prostaglandine sind auch bei der Beendigung von Entzündungsreaktionen beteiligt, indem sie die Makrophagenaktivierung und Bildung von proinflammatorischen Zytokinen inhibieren.<sup>3</sup>

Lokal gesehen haben Entzündungen destruktive Effekte, jedoch für den gesamten Organismus protektive Effekte. In manchen Fällen können von Entzündungszellen produzierte Entzündungsmediatoren über die Blutgefäße im gesamten Organismus verteilt werden und so an unerwünschten Orten zu Entzündungsreaktionen führen. Akute und chronische Entzündungen können somit den gesamten Organismus stören und müssen daher behandelt werden.

Der mit einer Entzündung einhergehende Schmerz soll den Organismus auf die Entzündung aufmerksam machen und unter anderem dafür sorgen, dass der betroffene Körperteil ruhig gestellt wird. Problematisch wird das bei chronischen Entzündungen, hierbei hat der Schmerz diese Funktion verloren, was zur Beeinträchtigung der Funktion des betroffenen Körperteils und damit zu Problemen im Alltag führen kann. Zu den Botenstoffen, die bei der Vermittlung von Schmerz beteiligt sind gehören ebenfalls die Prostaglandine.<sup>4</sup>

Die Beteiligung der Prostaglandine an zahlreichen physiologischen und pathophysiologischen Prozessen ermöglicht, deren Inhibierung, therapeutisch zu nutzen. Dies wird vor allem wegen ihrer Beteiligung in Entzündungs-, Fieber- und Schmerzprozessen von Antiphlogistika, Antipyretika und Analgetika genutzt.

## 1.1 Arachidonsäurekaskade

Die Arachidonsäure (AA) ist eine vierfach ungesättigte Fettsäure, die durch die Phospholipase A<sub>2</sub> aus Phospholipiden der Zellmembran freigesetzt wird. Die AA dient als Ausgangssubstrat für die Bildung von Eikosanoiden, die als Gewebemediatoren an zahlreichen physiologischen und pathologischen Prozessen beteiligt sind. Die aus der AA gebildeten Eikosanoiden sind an der Verursachung von Schmerz, Fieber und Entzündungseinleitung beteiligt.<sup>5</sup>

Die AA kann über drei unabhängig voneinander laufende Stoffwechselwege verarbeitet werden (siehe Abb. 1). Im Stoffwechselweg der Lipoxygenase (LOX) wird die AA zu Leukotrin A<sub>4</sub> (LTA<sub>4</sub>) umgewandelt. LTA<sub>4</sub> kann über die LTA<sub>4</sub> Hydrolase zum Leukotrin B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) oder über die LTC<sub>4</sub> Synthase zu Leukotrin C<sub>4</sub> (LTC<sub>4</sub>) umgewandelt werden. LTB<sub>4</sub> wirken über BLT<sub>1</sub>-Rezeptoren und sind an inflammatorischen Prozessen beteiligt.<sup>6</sup> Sie wirken unter anderem bei der Aktivierung von Granulozyten und B-Zellen. Sie sind auch an der Permeabilitätserhöhung von feinen venösen Blutgefäßen beteiligt.<sup>7</sup>

LTC<sub>4</sub> binden an CysLT<sub>1</sub>-, CysLT<sub>2</sub>- und CysLT<sub>3</sub>-Rezeptoren und wirken bronchokonstriktorisch.<sup>8</sup> Sie fungieren als chemische Vermittler bei allergischen Prozessen und sind unter anderem bei der Entstehung von Asthma beteiligt.

Über den Stoffwechselweg der Cyclooxygenase (COX) wird die AA zum Prostaglandin-H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>) umgewandelt. Je nach enzymatischer Ausstattung der Zelle dient PGH<sub>2</sub> als Ausgangssubstrat für die Biosynthese von Prostaglandin D<sub>2</sub>, E<sub>2</sub>, F<sub>2α</sub>, Thromboxan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) oder Prostacyclin (PGI<sub>2</sub>), die an zahlreichen physiologischen Prozessen beteiligt sind.<sup>9-11</sup>

TXA<sub>2</sub> kommt in Thrombozyten vor und wird über die TXA-Synthase aus PGH<sub>2</sub> verstoffwechselt. In Thrombozyten wird das PGH<sub>2</sub> über die TXA-Synthase zu TXA<sub>2</sub> gebildet. Thromboxan ist vor allem an der Thrombozytenaggregation beteiligt. Über die PGI-Synthase wird das Prostacyclin gebildet. PGI<sub>2</sub> besitzt die entgegengesetzte Wirkung wie TXA<sub>2</sub>. Es hemmt die Thrombozytenaggregation und steht im Gleichgewicht zum TXA<sub>2</sub>.<sup>12</sup>

PGE<sub>2</sub> ist zusammen mit dem PGI<sub>2</sub> an der Nierendurchblutung und an der Schleimproduktion und Kontraktion des Gastrointestinaltrakts beteiligt. Im Gastrointestinaltrakt haben beide noch zusätzlich cytoprotektive Funktionen. Bei Entzündungsreaktionen sind sie vor allem an der Hyperämie, am Schmerzprozess und an der Fieberinduktion beteiligt.<sup>13</sup> Die unterschiedlichen physiologischen Funktionen von PGE<sub>2</sub> lassen sich durch die vier verschiedenen Rezeptoren (EP1-EP4) erklären, die durch PGE<sub>2</sub> aktiviert werden.<sup>14,15</sup>

PGD<sub>2</sub> wirkt teilweise gegenläufig zu PGE<sub>2</sub> und ist an der Senkung der Körpertemperatur beteiligt. Es wirkt entzündungshemmend und ist bei der Beendigung einer Entzündung essentiell.

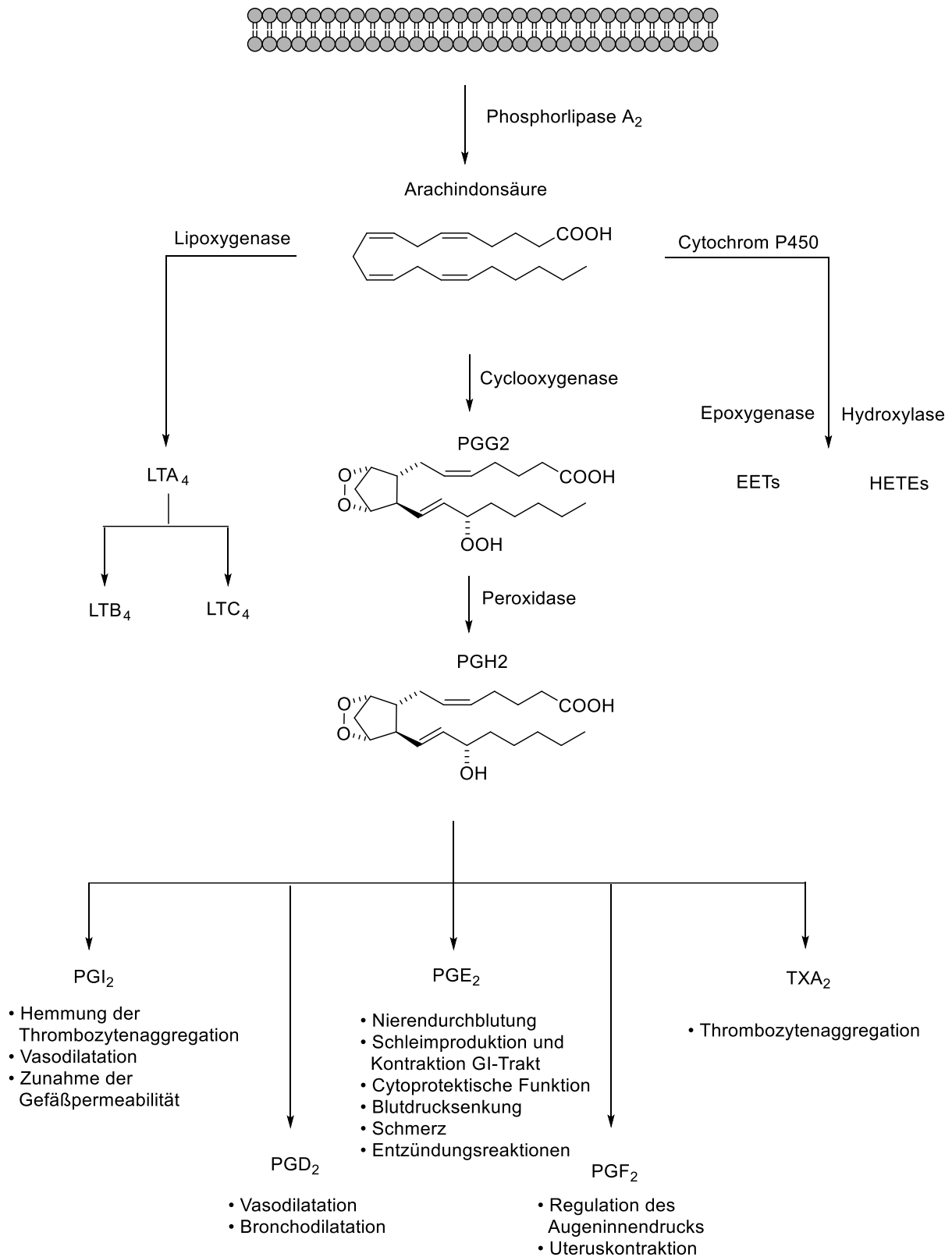


Abb. 1 Darstellung der drei Stoffwechselwege der Arachidonsäure. Über die COX kann die Arachidonsäure zum PGH<sub>2</sub> umgesetzt werden, das je nach Beschaffenheit der Zelle weiter zu PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub> oder TXA<sub>2</sub> umgewandelt wird und verschiedene physiologische Funktionen besitzt. Zusätzlich kann die Arachidonsäure noch über die LOX zu Leukotrienen und über CYP-Enzyme zu EETs und HETEs umgewandelt werden.



PGF<sub>2α</sub> ist an der Regulation des Augeninnendrucks und an der Uteruskontraktion beteiligt.

Es konnte in Studien gezeigt werden, dass Prostaglandine und Thromboxan an pathophysiologischen Prozessen wie Rheumatoide Arthritis<sup>16</sup>, Arthrose<sup>17</sup>, Krebs<sup>18</sup> und Neurodegeneration<sup>19</sup> beteiligt sind. Die Hemmung der Cyclooxygenase kann daher viele therapeutische Zwecke haben.

Über den dritten Stoffwechselweg wird die AA über die Cytochrom P450- (CYP-) Epoxygenase zu Epoxyeicosatriensäuren (EETs) und Hydroxyeicosatetraensäuren (HETEs) metabolisiert. EETs und HETEs sind an Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Entzündung, Schmerzen, Diabetes und Nierenerkrankungen beteiligt.<sup>20</sup>

Die einzelne Hemmung der Proteine in der Arachidonsäurekaskade hat verschiedene Effekte auf den Organismus und kann in verschiedenen Therapien genutzt werden. Somit bietet die Arachidonsäurekaskade zahlreiche Angriffspunkte für potentielle Wirkstoffe.

Glucocorticoide binden an zytosolische Glucocorticoid-Rezeptoren und sind in der Lage am Beginn der Arachidonsäurekaskade einzugreifen, indem sie die Phospholipase A<sub>2</sub> über Lipocortine hemmen.<sup>21</sup> Weil sie am Beginn der Arachidonsäurekaskade eingreifen besitzen sie eine sehr weitreichende therapeutische Wirkung, unter anderem mit antiallergischen und entzündungshemmenden Effekten. Wegen der Risiken bei Langzeitbehandlungen sollten Glucocorticoide aber nur kurzfristig und bei Scheitern anderer Therapiemöglichkeiten eingesetzt werden.

Eine weitere Möglichkeit in die Arachidonsäurekaskade einzugreifen bilden die Lipoxygenase-Hemmer. Sie spielen eine wichtige Rolle in der Therapie von allergischen Reaktionen, besonders bei asthmatischen Entzündungen. FLAP-Hemmer, welche das 5-Lipoxygenase aktivierende Protein hemmen, können die Leukotrien-Synthese inhibieren und somit antiallergische Wirkungen aufzeigen.<sup>22</sup>

Eine weitere Möglichkeit bietet die Hemmung der COX durch die nichtsteroidalen Antirheumatika (NSAR), welche die Bildung von Prostaglandinen inhibiert und damit antiphlogistische, antipyretische und analgetische Effekte bedingt. Jedoch zeigen NSAR, die welche COX-1 hemmen, gastrointestinale Nebenwirkungen. Durch selektive COX-2-Hemmer können diese Nebenwirkungen zwar teilweise umgangen werden, da die COX-2 im Gastrointestinaltrakt keine physiologische Funktionen erfüllt, aber dafür besitzen COX-2-Hemmer wiederum kardiovaskuläre Nebenwirkungen.<sup>23</sup>

## 1.2 Cyclooxygenase

### 1.2.1 Physiologie und Pathophysiologie

Die COX-1 wird konstitutiv exprimiert und ist unter anderem in Endothelzellen, Niere, Magen, Thrombozyten und Gefäßmuskulatur vorhanden.<sup>24</sup> In der Niere erhöht sie den renalen Blutfluss und ist wichtig für die Durchblutung. Im Magen ist sie an der Regulation der Magensaftproduktion und an der Kontraktion des Gastrointestinaltrakts beteiligt.<sup>25</sup> Die Hemmung der COX-1 führt zur Beeinträchtigung der erwähnten physiologischen Funktionen, weshalb es zu gastrointestinalen Nebenwirkungen kommt, bzw. zur Beeinträchtigung der Nierenfunktion und ulzerogenen Wirkungen.<sup>26</sup>

In Thrombozyten wird ausschließlich die COX-1 exprimiert, so dass diese an der Thrombozytenaggregation essentiell beteiligt ist.

Unter physiologischen Bedingungen ist die Menge von COX-2 in den Zellen sehr gering. COX-2 wird vorwiegend durch Entzündungsprozesse induziert, wodurch die Prostaglandinmenge in entzündetem Gewebe erhöht wird, die wiederum an inflammatorischen Prozessen beteiligt sind.<sup>12</sup> Prostaglandine wirken über G-Protein gekoppelte Rezeptoren.

PGE<sub>2</sub> wirkt über die Prostaglandin E-Rezeptoren. Insgesamt gibt es vier Subtypen, die jeweils andere physiologische bzw. pathophysiologische Funktionen haben. Über EP1 wird die schmerzstärkende Wirkung vermittelt. Die Aktivierung von EP1 durch PGE<sub>2</sub> aktiviert die Phospholipase C, welche IP<sub>3</sub>-vermittelt die intrazelluläre Ca<sup>2+</sup> Konzentration erhöht. Dies führt zu einer Aktivierung der Proteinkinase C, welche eine Signalkaskade startet. Über den EP2 Subtyp werden muskelrelaxierende Wirkungen vermittelt, wobei die typischen Rötungen an den lokalen Entzündungen entstehen. Dabei wird die Adenylylcyclase (AC) aktiviert, welche die intrazelluläre Konzentration an cAMP erhöht, welche wiederum die Proteinkinase A aktiviert. EP3 wirkt entgegengesetzt und reduziert die Konzentration an cAMP, was zu proinflammatorischen Effekten führt. Über EP4 wird unter anderem die Signalkaskade für die Aktivierung der T-Zellen induziert.

PGF<sub>2α</sub> wirkt entgegengesetzt zu PGE<sub>2</sub> und erhöht über FP-Rezeptoren IP<sub>3</sub>-vermittelt die intrazelluläre Konzentration von cAMP. cAMP wirkt als second Messenger auf Immun- und Entzündungszellen. Eine hohe intrazelluläre cAMP Konzentration entzieht dem Metabolismus ATP, was eine Hemmung von Entzündungen zur Folge hat. Auch PGD<sub>2</sub> aktiviert über DP-Rezeptoren die Adenylylcyclase, welches zur Folge hat, dass die cAMP Konzentration in der Zelle steigt.

Prostacyclin wirkt über IP-Rezeptoren und erhöht ebenfalls die intrazelluläre Konzentration an cAMP. Auch das TXA<sub>2</sub> erhöht die intrazelluläre cAMP Konzentration über den IP<sub>3</sub>-

Mechanismus. Erhöhung der intrazellulären cAMP Konzentration führt zur Stimulation der Proteinkinase A, worüber eine Signalkaskade induziert werden kann.

Die COX-2 besitzt eine geringe Halbwertszeit, wodurch der Prostaglandin-Spiegel, nach Abklingen der Entzündung, schnell wieder den normalen Wert erreichen kann. COX-2 spielt also eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Schmerz, Fieber und Entzündungsreaktionen. Nur in der Niere und im ZNS wird die COX-2 konstitutiv exprimiert. Für die Nierenfunktion ist die COX-2 essentiell, weil sie an der Ausscheidung von Na<sup>+</sup> beteiligt ist. Prostaglandine können die Durchblutung der Niere steigern und die Resorption von Natrium über die Henle-Schleife hemmen, wodurch überschüssiges Natrium über den Urin ausgeschieden werden kann.<sup>27</sup> Auch in der perinatalen Nierenentwicklung spielt die COX-2 eine wichtige Rolle. In einer Studie konnte gezeigt werden, dass COX-2-Knock-out-Mäuse schwere Nephropathien entwickelten.<sup>28</sup>

Die COX-2 wird auch im Uterusepithel exprimiert und spielt dort eine wichtige Rolle in der Angiogenese. Weitere physiologische Funktionen hat die COX-2 in der Ovulation, Geburtseinleitung und im Umbau des Ductus Botalli.<sup>29</sup>

### 1.2.2 Struktur und Funktion

Die COX ist ein Membranprotein, welches in der Zelle im endoplasmatischen Retikulum, innerhalb der Kernhülle und im Golgi-Apparat lokalisiert ist. Seit den frühen 90iger Jahren ist bekannt, dass es zwei Isoformen der Cyclooxygenase gibt. Die Isoformen unterscheiden sich vor allem in ihrer physiologischen Funktion, Expression und Regulation.<sup>30</sup>

Die Gene der Cyclooxygenasen sind auf verschiedenen Chromosomen lokalisiert, das COX-1-Gen auf Chromosom 9 und das COX-2-Gen auf Chromosom 1.<sup>31</sup>

Die Promotorregion des COX-2-Gens enthält eine TATA-Sequenz und weitere Transkriptionsfaktor-Bindungsstellen, an denen Entzündungsmediatoren, Hormone, Wachstumsfaktoren und cAMP binden und die Expression induzieren können.<sup>32</sup>

Die COX besitzt zwei enzymatische Aktivitäten, die räumlich voneinander getrennt aber mechanisch miteinander gekoppelt sind. Im ersten Schritt wird AA über die Cyclooxygenase unter Einbau von zwei Sauerstoffmolekülen zum Prostaglandin-G<sub>2</sub> (PGG<sub>2</sub>) umgewandelt. Hierbei spielt das Tyr385-Radikal eine wichtige Rolle, welches über die Peroxidase erstellt wird. Im zweiten Schritt wird über die Peroxidase das PGG<sub>2</sub> zum Prostaglandin-H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>) reduziert.<sup>33</sup>

Die COX ist ein dimeres Membranprotein, das aus zwei Monomeren mit einem Gesamtmolekulargewicht von 70 kDa besteht. COX-2 besitzt mit 587 Aminosäuren eine etwas

längere Sequenz als die COX-1. Cyclooxygenasen bestehen aus drei Domänen beginnend mit einer N-terminalen epidermalen Wachstumsfaktor ähnlichen Domäne (*engl.* Epidermal Growth Factor, EGF), die aus zwei kurzsträngigen  $\beta$ -Faltblättern besteht und sich von Aminosäure 34-72 erstreckt. Direkt daran angeschlossen ist eine Membranbindungsdomäne (MBD), die aus vier amphipatischen  $\alpha$ -Helices besteht, die sich von Aminosäure 73-116 erstrecken.<sup>34</sup> Dieser Bereich der Sequenz ist reich an hydrophoben Aminosäuren, die für die Bindung des Proteins mit der Doppellipidschicht nötig ist. Der MBD folgt der größte Teil des Proteins, die C-terminale katalytische Domäne, die über eine Disulfidbrücke mit der EGF-ähnlichen Domäne verknüpft ist (siehe Abb. 2A).

In der katalytischen Domäne befinden sich die zwei aktiven Zentren, die Cyclooxygenase und die Peroxidase. Das aktive Zentrum der Cyclooxygenase befindet sich knapp unter der Proteinoberfläche. Der Eingang zur Bindetasche wird von den Aminosäuren Tyr355 und Arg120 gebildet. Beide Aminosäuren sind an der Interaktion mit der Arachidonsäure beteiligt, wobei sie mit der Carbonsäure wechselwirken. Der hydrophobe Rest der Arachidonsäure reicht in einen tiefer liegenden hydrophoben Bereich der Tasche, die unter anderem von den Aminosäuren Val349, Ile523, Ser530, Tyr385 und Ile377 gebildet wird (siehe Abb. 2B).<sup>35</sup>

Ein wichtiger Unterschied in den Aminosäuresequenzen zwischen den zwei COX Isoformen besteht an Position 523. Dort besitzt die COX-2 die kleinere Aminosäure Val523, wodurch sich eine neue Tasche eröffnet. Diese Tasche spielt eine wichtige Rolle in der selektiven Inhibition der COX-2.<sup>36</sup> Selektive Inhibitoren interagieren in dieser Tasche unter anderem durch eine Wechselwirkung einer polaren Gruppe, meist einem Sulfonamid, mit den Aminosäuren Arg513, His90 oder Gln192 (siehe Abb. 2C). Auch in dieser Subtasche gibt es einen entscheidenden Unterschied zwischen den beiden Isoformen. Das His513 ist in der COX-2 durch ein Arg513 ersetzt, was eine weitere wichtige Rolle in der selektiven Inhibition der COX-2 spielt. Die Wechselwirkung von Arg513 mit dem gebundenen Liganden hat einen entscheidenden Einfluß auf die zeitabhängige Inhibition durch COX-2 Liganden.<sup>37,38</sup>

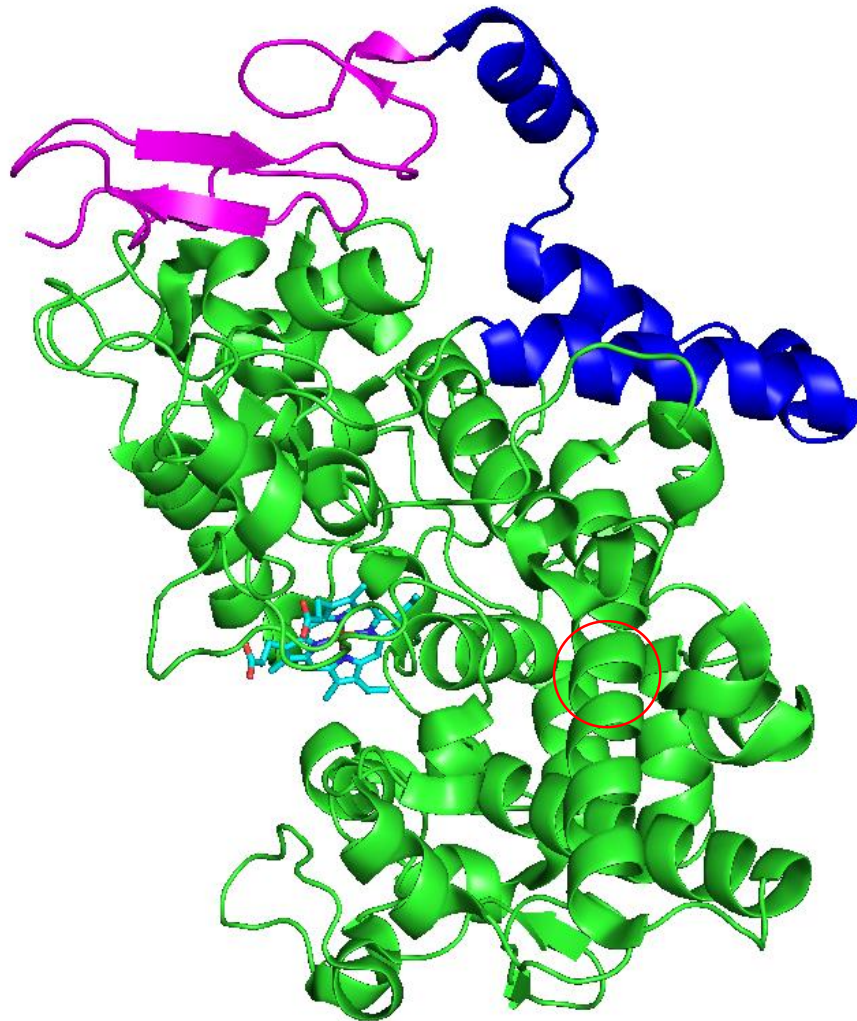
Die Tasche der COX-2 ist um etwa 20% größer als die der COX-1. Dies liegt zum einen an ihrer zusätzlichen Tasche, zum anderen aber auch an der Aminosäure Ile434, die in der COX-2 durch Val434 ersetzt ist.<sup>39</sup> Dieser Unterschied hat einen Einfluss auf die Konformation von Phe518, was zu einer Vergrößerung der Tasche führt.<sup>38</sup>

In der katalytischen Domäne befindet sich ein Häm Co-Faktor, der in beiden katalytischen Zentren an Redoxreaktionen beteiligt ist. Über die Peroxidase ist das Häm bei der Bildung des Tyr385 Radikal beteiligt, welches zur Aktivierung der COX-2 zuerst gebildet werden muss. In

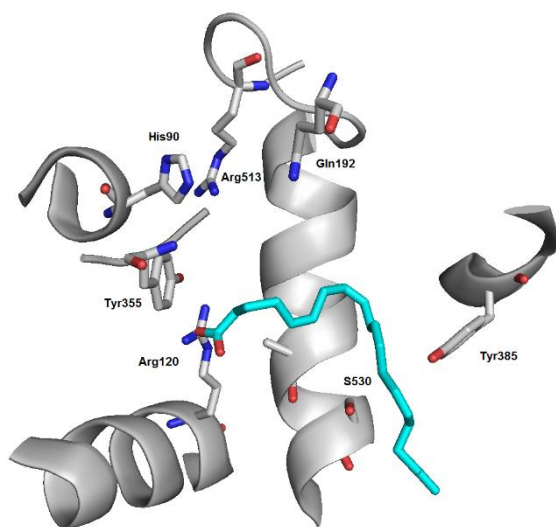
seiner zweiten Funktion überträgt der Co-Faktor zwei Elektronen an das PGG<sub>2</sub>, wodurch es zum PGH<sub>2</sub> reduziert wird.<sup>40,41</sup>

Obwohl beide Isoformen der COX die gleiche katalytische Funktion haben, unterscheiden sie sich in ihrer physiologischen Funktion. Durch unterschiedliche Regulierung können sie sogar im gleichen Gewebe für unterschiedliche Funktionen zuständig sein.

A



B



C

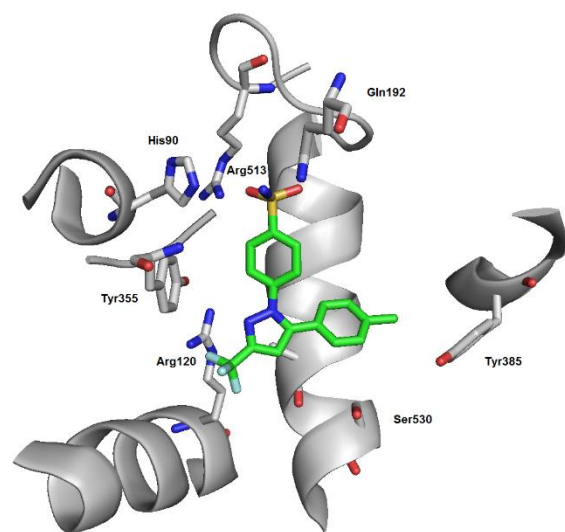


Abb. 2 A) Kristallstruktur der COX-2 mit der EFG-Domäne (Magenta), Membran Bindungsdomäne (Blau) und der katalytischen Domäne (Grün) (PDB-ID 3LN0). In Abbildung B) ist das Aktive Zentrum der COX-2 mit der Arachidonsäure und in Abbildung C) mit Celecoxib und den für die Wechselwirkungen wichtigsten Aminosäuren zu sehen.

### 1.2.3 COX-Inhibitoren

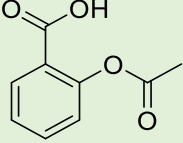
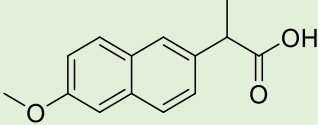
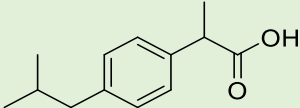
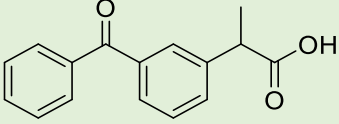
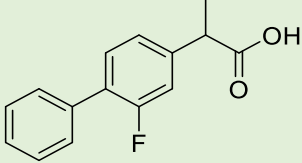
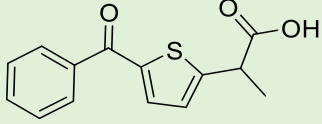
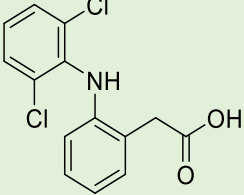
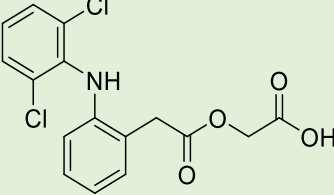
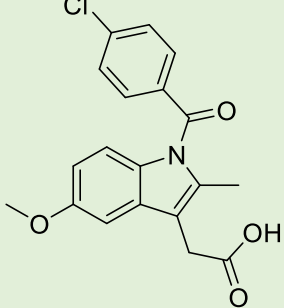
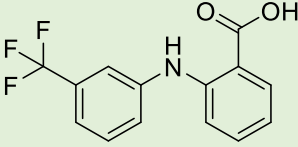
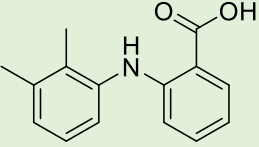
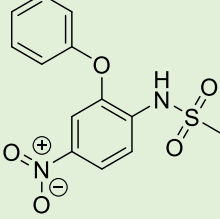
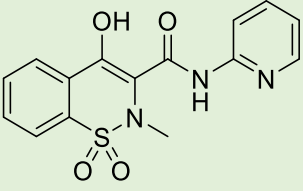
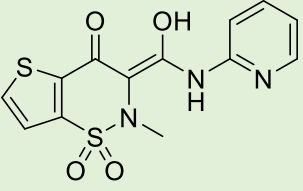
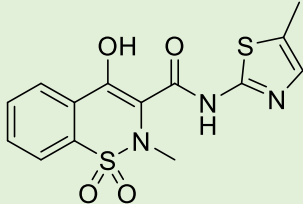
COX-Inhibitoren gehören zur Klasse der NSAR und lassen sich in die zwei Gruppen der unselektiven und selektiven COX-Hemmer unterteilen. COX-Inhibitoren interagieren mit dem aktiven Zentrum der Cyclooxygenase und inhibieren die Umsetzung der AA zu PGH<sub>2</sub>.

In Tabelle 1 sind die wichtigsten COX-Inhibitoren aufgelistet. Das bekannteste Mitglied der unselektiven COX-Inhibitoren, ist die Acetylsalicylsäure (**ASS**). Sie gehört zu den ältesten Arzneimitteln. In geringer Menge wirkt **ASS** selektiv an der COX-1. Es hemmt die Cyclooxygenase irreversibel durch die Acetylierung von Ser530. Besonders in Thrombozyten hat dies einen starken Effekt, weil diese keine Zellkerne besitzen und somit ihre ganze Lebensdauer keine weitere Cyclooxygenase produzieren können. Weil im gastrointestinalen Gewebe das PGE<sub>2</sub> und PGI<sub>2</sub> ausschließlich über die COX-1 katalysiert wird, zeigt dieses Arzneimittel gastrointestinale Nebenwirkungen wie Ulzerationen. Ein weiterer Einfluss, den **ASS** hat, ist die Hemmung der Thrombozytenfunktion, weswegen sie auch antithrombotische Effekte besitzt und vorbeugend bei kardiovaskulären Erkrankungen angewendet werden kann.<sup>42,43</sup> Weitere unselektive COX-Hemmer sind Ibuprofen und Diclofenac, die ähnliche Nebenwirkungen wie **ASS** zeigen, wobei sie einen geringeren Einfluss auf die Hemmung der Thrombozytenfunktion haben und somit weniger antithrombotische Effekte zeigen.

Zu den selektiven COX-2 Inhibitoren gehören die Coxibe. Einer der ersten zugelassenen Coxibe ist das Celecoxib. Es wurde 1999 unter dem Handelsnamen Celebrex zugelassen.<sup>44</sup> Aufgrund der unterschiedlichen physiologischen Funktionen der COX-2 zur COX-1 sollten damit die typischen Nebenwirkungen der NSAR umgangen werden, da die COX-2 erst bei Entzündungsprozessen im umliegenden Gewebe exprimiert und keine physiologischen Funktionen im Gastrointestinaltrakt besitzt. Mit der Hemmung der COX-2 kann gezielt eine Entzündung behandelt werden, ohne die Funktion des Magen-Darm-Trakts zu beeinflussen. Es stellte sich aber bald heraus, dass die selektive Hemmung der COX-2 einen Einfluss auf das Gleichgewicht von PGI<sub>2</sub> und Thromboxan zugunsten von Thromboxan hatte, welches zu erhöhter Thrombozytendisaggregation und damit zu kardiovaskulären Nebenwirkungen führte.<sup>45</sup> Diese Erkenntnis führte zur Rücknahme der Zulassung einiger Coxibe wie Rofecoxib, Lumiracoxib und Valdecoxib.

Coxibe besitzen einen zentralen Heterozyklus, von dem aus zwei Aromaten in einem Winkel kleiner 90°C abzweigen. Einer der Aromaten besitzt meist hydrophobe Eigenschaften und der andere in para Position in den meisten Fällen ein Sulfonamid. Die einzige Ausnahme bildet das Lumiracoxib, das vom Diclofenac abgeleitet ist und ebenfalls die COX-2 selektiv hemmen kann.

Tab. 1 Überblick über einige zugelassene NSAR, unterteilt in nicht-selektiven und selektiven COX-2-Inhibitoren

Nicht selektive COX Inhibitoren		
		
Aspirin	Naproxen	Ibuprofen
		
Ketoprofen	Flurbiprofen	Tiaprofensäure
		
Diclofenac	Aceclofenac	Indometacin
		
Flufenaminsäure	Mefenaminsäure	Nimesulid
		
Piroxicam	Tenoxicam	Meloxicam



## Selektive COX-2 Inhibitoren

Celecoxib <sup>46</sup>	*Lumiracoxib <sup>47</sup>	**Etoricoxib <sup>46</sup>
***Parecoxib <sup>46</sup>	*Rofecoxib <sup>46</sup>	*Valdecoxib <sup>46</sup>

\* vom Markt genommen; \*\* in den USA nicht zugelassen; \*\*\* in den USA und der Schweiz vom Markt genommen

## 1.2.4 COX-2 als Target

Bei Betrachtung der bekannten Nebenwirkungen von COX-2 Inhibitoren, stellt sich die Frage, warum COX-2 trotzdem weiterhin ein interessantes Target sein kann.

In einer Studie konnte gezeigt werden, dass trotz der Zugabe von COX-2 Inhibitoren, die Enzymaktivität der COX-2 nicht völlig verloren ging. In der Studie wurde ermittelt, dass die COX-2 trotz der Zugabe von COX-2 Inhibitoren die AA weiter zu 15(R)-Hydroxyeicosatetraensäure ((15R)-HETE) umsetzen konnte.<sup>48,49</sup>

Dieser Effekt kann inhibierende Auswirkungen auf Entzündungen haben, denn 15(R)-HETE kann von der 5-Lipoxygenasen (5-LO) zu Lipoxinen umgesetzt werden, die wiederum an der Auflösung von Entzündungsreaktionen beteiligt sind und somit antientzündliche Effekte zeigen. Die Hemmung der COX-2 hat also zwei Effekte. Zum einen wird die Produktion von Prostaglandinen gehemmt und zum anderen kann die Produktion der Lipoxine gefördert werden.

Des Weiteren kann eine selektive Hemmung der COX-1 zusätzliche Nebeneffekte bewirken. Durch die Hemmung der Katalyse von AA zum PGH<sub>2</sub> steht der 5-LO mehr Substrat zur Verfügung, wodurch verstärkt Leukotriene produziert werden können, die wiederum zu Entzündungen führen können.<sup>50</sup> Hemmt man aber die COX-2 zusätzlich, kann diese die AA

weiter zu (15R)-HETE umsetzen, wodurch zum einen der 5-LO AA entzogen wird und zum anderen die entzündungshemmenden Lipoxine gebildet werden.

Neben den klassischen Einsatzgebieten wie Entzündung und Schmerz zeigen Studien, dass vor allem die COX-2 auch an der Tumorigenese beteiligt sein kann. In verschiedenen Studien konnte eine Überexpression der COX-2 in Tumorzellen festgestellt werden. In Tabelle 2 sind einige Studien aufgelistet bei den in Tumoren eine Überexpression der COX-2 nachgewiesen werden konnte.<sup>51</sup>

Die COX-2 scheint bei der Bildung eines Tumors, bei dessen Blutversorgung und der Bildung von Metastasen beteiligt zu sein.

Tab.2 Tumoren bei denen eine Überexpression der COX-2 festgestellt werden konnte

<b>Organ</b>	<b>Referenz</b>
<b>Brustkrebs</b>	<i>Parrett et al.</i> <sup>52</sup>
<b>Gebärmutterhalskrebs</b>	<i>Kulkarni et al.</i> <sup>53</sup>
<b>Prostatakrebs</b>	<i>Gupta et al.</i> <sup>54</sup>
<b>Urothelkarzinom</b>	<i>Mohammed et al.</i> <sup>55</sup>
<b>Leberzellkarzinom</b>	<i>Koga et al.</i> <sup>56</sup>
<b>Bauchspeicheldrüsenkrebs</b>	<i>Molina et al.</i> <sup>57</sup>
<b>Hautkrebs</b>	<i>Buckman et al.</i> <sup>58</sup>
<b>Lungenkrebs</b>	<i>Hida et al.</i> <sup>59</sup>
<b>Kopf-Hals-Karzinom</b>	<i>Chan et al.</i> <sup>60</sup>
<b>Darmkrebs</b>	<i>Eberthart et al.</i> <sup>61</sup>
<b>Magenkarzinom</b>	<i>Ristimaki et al.</i> <sup>62</sup>

### 1.3 Anwendungsgebiete von Insilico Methoden in der Wirkstoffentwicklung

Der Zeitraum für die Entwicklung eines neuen Wirkstoffes kann bis zu 25 Jahren dauern. Dabei werden verschiedene Entwicklungsschritte durchlaufen, die unterschiedlich zeitintensiv sind (siehe Abb. 3).

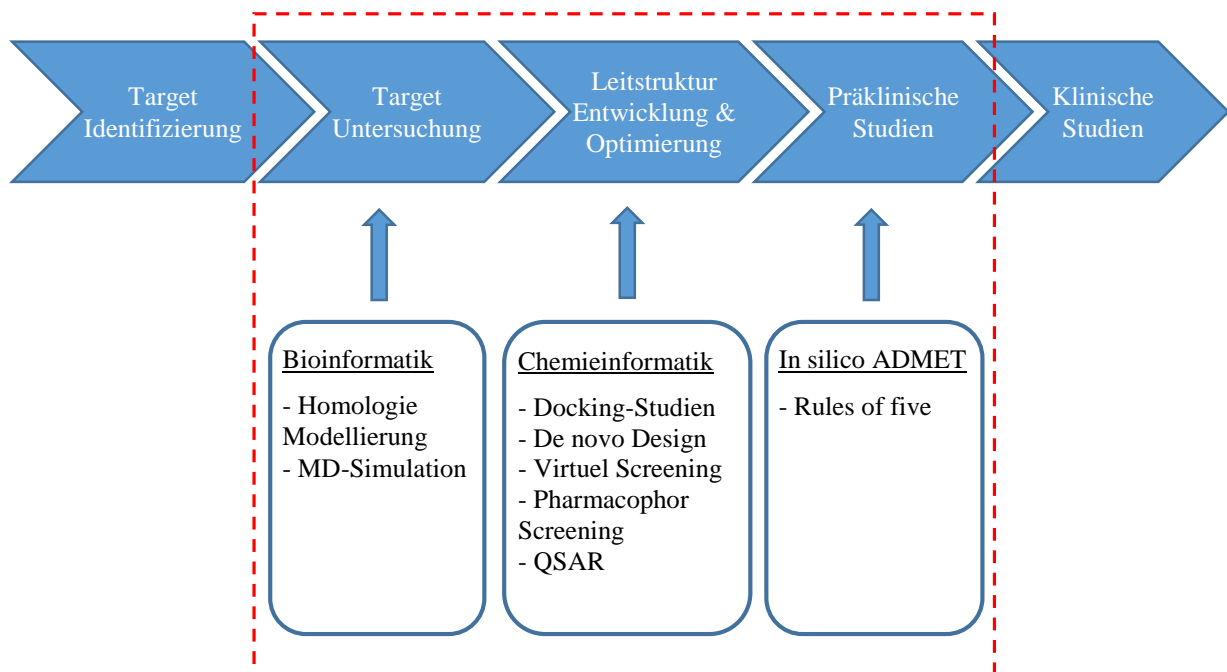


Abb. 3 Typischer Ablauf einer Wirkstoffentwicklung eines de novo Design

Die Entwicklung eines neuen Wirkstoffes beginnt mit der Erforschung des Targets. Neben den allgemeinen Methoden in der Biologie, gibt es schon hier computerunterstützte Methoden, die für die Analyse des Targets eingesetzt werden können. Zu diesen Methoden gehören unter anderem die Homologie-Modellierung und die Molekulardynamik-Simulation (MD-Simulation).

#### 1.3.1 Homologie-Modellierung

Beim Rezeptor-basierten Design ist die Kenntnis der dreidimensionalen Struktur des Proteins notwendig. Es gibt aber Fälle, bei denen die Tertiärstruktur der Proteine nicht bekannt ist. Bei Membranproteinen ist das oft der Fall, weil sich die Isolierung des Proteins von der Membran zur Kristallisation oft als Problematik darstellt. Von der humanen COX-2 (hCOX-2) ist in der Protein Data Bank (PDB) keine Tertiärstruktur hinterlegt, so dass ein Rezeptor-basiertes Design hier nicht möglich ist. Für solche Fälle gibt es jedoch einige in silico Methoden, die das Modellieren der dreidimensionalen Strukturen aus der Primärstruktur ermöglichen. Eine

mögliche Methode, mit der die dreidimensionale Struktur vorhergesagt werden kann, ist die Homologie-Modellierung.

In der Genetik ist der Begriff der Homologie so definiert, dass zwei Gene homolog zueinander sind, wenn sie von einem gemeinsamen Vorläufer stammen.<sup>63</sup> Dies lässt sich in der Biochemie auch auf Proteine übertragen. Homologe Proteine haben meist große Übereinstimmungen in ihrer Primär- und Tertiärstruktur und in ihrer Funktion. Diese Eigenschaft kann man ausnutzen, um die Tertiärstruktur vorherzusagen. Bei der Homologie-Modellierung geht man einen Schritt weiter und stellt die These auf, dass Proteine mit ähnlichen Sequenzen auch eine ähnliche Tertiärstruktur besitzen. Man nutzt also die Informationen einer bekannten Tertiärstruktur (Template) und überträgt diese auf das Protein mit der unbekanntes.<sup>64</sup>

Die Modellierung der Tertiärstruktur lässt sich grob in vier Schritte unterteilen (siehe Abb.4). Im ersten Schritt wird nach einem Template gesucht, nach dessen Vorbild die Sequenz gefaltet werden soll. Es gibt verschiedene Methoden, nach einem Template zu suchen. Gerne genutzt wird der Suchalgorithmus BLASTp (Basic local alignment search tool protein)<sup>65</sup>, der eine beliebige Datenbank über Alignment durchsuchen kann. Hat man sich für ein Template entschieden, müssen beide Sequenzen für die Software soweit vorbereitet werden, dass ein Alignment mit z. B. ClustalW 2.0<sup>66</sup> durchgeführt werden kann. Das Alignment wird an die Software übergeben, woraus das Homologie Modell entwickelt wird. Im letzten Schritt muss das Modell evaluiert und optimiert werden. Dabei können verschiedene Validierungsprogramme genutzt werden wie Procheck<sup>67</sup>, WHAT\_CHECK<sup>68</sup> oder MOE<sup>69</sup>.

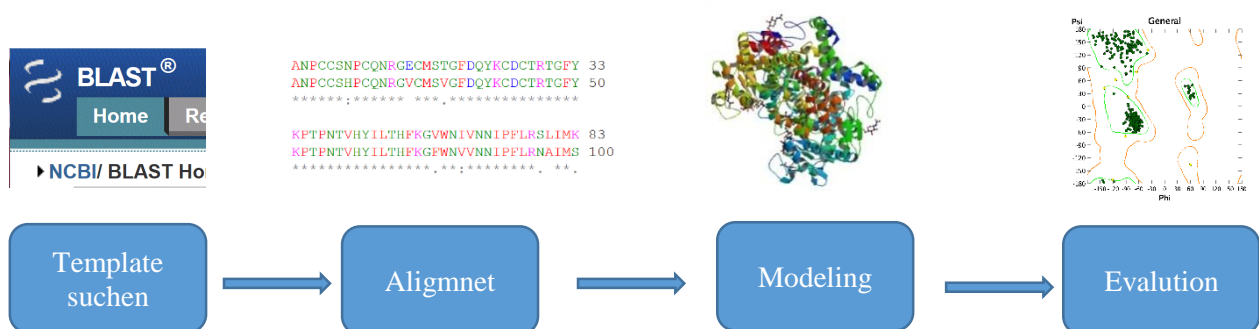


Abb. 4 Im ersten Schritt eines Homologie Modells muss nach einem Template gesucht werden. Über ein Alignmentverfahren können Template Sequenz und die zu modellierende Sequenz analysiert werden, bevor daraus ein Homologie Modell entwickelt wird. Im letzten Schritt muss das Modell mit einem Validierungsprogramm analysiert werden, bevor es für weitere Studien verwendet werden kann.

Eine oft genutzte Validierungsmethode bietet der Ramachandran Plot. Der Ramachandran Plot<sup>70</sup> ist ein Diagramm, welches auf der x Achse den Torsionswinkel Phi von  $-180^\circ$  bis  $+180^\circ$

und auf der y-Achse den Torsionswinkel Psi von  $-180^\circ$  bis  $+180^\circ$  der Peptidbindung darstellt. In seiner Studie konnte Ramachandran feststellen, dass die Peptidbindungen der Aminosäuren bei den einzelnen Sekundärstrukturen ( $\alpha$ -Helix,  $\beta$ -Faltblatt,  $\beta$ -Schleife und etc.) eine bestimmte Kombination beider Winkel einnehmen, welche sich auf obigem Diagramm als Punktwolke darstellen lässt. Wenn man nun seine Tertiärstruktur auf das Diagramm abbildet, lässt sich überprüfen, ob die Winkel aller Peptidbindungen in dem Bereich liegen, dessen Sekundärstruktur vorhergesagt wurde. Liegen sie nicht innerhalb der Punktwolke, könnte es ein Indiz dafür sein, dass die Winkel fehlerhaft sind.

*Amaravani et al.* modellierten mit dieser Methode die Tertiärstruktur der hCOX-2. Sie durchsuchten mit dem BLASTp Algorithmus die PDB und wählten als Template die Kristallstruktur 1PXX von der murine COX-2 (mCOX-2). Die Ähnlichkeit beider Sequenzen betrug 87%. An diesem Modell analysierten sie anschließend über Docking-Studien den Bindungsmodus von 10 verschiedenen Gallussäuren Analoga.<sup>71</sup>

*Singh et al.* entwickelten ebenfalls eine Homologie-Modellierung der hCOX-2 und wählten als Template die Kristallstruktur 1Q4G der ovinen COX-1 (oCOX-1). Beide Sequenzen haben eine Ähnlichkeit von 80%. Sie führten ebenfalls Docking-Studien am Modell durch und untersuchten die Bindemodi von Ibuprofen, Aspirin, Oleanolsäure und  $\beta$ -Carotin.<sup>72</sup>

### 1.3.2 Molekular Dynamik Simulation

Eine Kristallstruktur aus der PDB oder ein Modell der Tertiärstruktur zeigt immer nur eine Momentaufnahme des Targets. In der Wirklichkeit ist ein Protein ein dynamisches System und ändert seine Struktur bei jeder Wechselwirkung mit der Umgebung. Es gibt verschiedene Beispiele, in denen eine Konformationsänderung stattfinden kann.

Eine Konformationsänderung findet zum Beispiel bei der Bindung von Liganden an das Protein statt. Es gibt Fälle, in denen die reine Bindungsstärke zwischen Ligand und Protein sehr schwach ist. In solchen Fällen kann eine Konformationsänderung des Proteins die Bindungsenergie erhöhen. Dieser Effekt ist bekannt als Induced Fit.<sup>73</sup>

Eine Konformationsänderung kann auch Einfluss auf die Regulation von Proteinen nehmen. Proteine können durch Phosphorylierung oder durch die Bindung von Liganden aktiviert oder gehemmt werden und so deren Aktivität steigern oder drosseln.

Diese Beispiele zeigen, welche wichtige Rolle die Konformationsänderung für das Designen neuer Liganden haben kann. Für die Untersuchung der Konformation eines Proteins gibt es in der Bioinformatik einige Tools, mit der man die Flexibilität der Struktur simulieren und analysieren kann. Eine bekannte Methode ist die MD-Simulation. Mit diesem Modell können

die Wechselwirkungen von Atomen und Molekülen über physikalische Formeln iterativ berechnet und dargestellt werden. Dafür werden Kraftfelder genutzt mit deren Hilfe Energieminima eines Proteins gefunden werden können.<sup>74</sup>

Eine bekannte Software, die auch in dieser Arbeit zur Verwendung kam, ist NAMD<sup>75</sup>.

*Anzini et al.* verwendeten diese Methode, um ihre Docking-Studien zu erweitern. Sie führten zuerst eine Docking-Studie der Verbindung 1,5-Diarylpyrrol Nitrooxyalkyl Ether an der mCOX-2 durch (PDB ID: 6COX). Im nächsten Schritt führten sie eine MD-Simulation zusammen mit dem Liganden durch und beobachteten die Wechselwirkungen des Liganden mit der Ligandbindetasche. Dabei konnten sie die in Ihrem Fall wichtige Interaktionen der Nitrogruppe mit Ser119 und die Interaktionen der Esterfunktion mit den Aminosäuren Tyr355 und Arg120 feststellen.<sup>76</sup> Mit dieser Erweiterung vom Docking-Studien können Induced Fit Effekte simuliert und besser verstanden werden.

*Özadali et al.* untersuchten auf ähnlicher Weise die Wechselwirkungen von Isoxazol[4,5-d]pyridazin-4-(5H)-on Analoga mit dem Aktiven Zentrum der mCOX-2. Sie konnten in ihrem Modell eine wichtige Interaktion des Isoxazols mit His90 erkennen.<sup>77</sup>

### 1.3.3 Virtual Screening

Ist die Struktur und Funktion des Target weitgehend analysiert, kommt im nächsten Schritt der Wirkstoffentwicklung die Suche nach neuen Liganden. Über Virtual Screening Methoden können große Datenbanken effektiv nach neuen Liganden durchsucht werden. Dafür können Informationen über bekannte Liganden sehr nützlich sein. Beim Virtuell Screening ist die grundlegende These, dass Verbindungen mit ähnlichen physikalischen und chemischen Eigenschaft auch ähnliche Aktivitäten am Target haben können. Diese Eigenschaften sind auch als molekulare Deskriptoren bekannt, von denen es eine große Auswahl gibt. Man kann molekulare Deskriptoren in verschiedene Dimensionen unterteilen.

Eindimensionale Deskriptoren geben einfache physikalische Eigenschaften wie Größe, Anzahl der Atome, Lipophilie oder Partialladung wieder. Zweidimensionale Deskriptoren geben Informationen über die Verknüpfung der Verbindungen wieder, welche auch als topologische Deskriptoren bekannt sind. Dreidimensionale Deskriptoren geben Informationen über die Konformation der Verbindung wieder, wobei die Koordinaten der Verbindung eine entscheidene Rolle spielen.

Nicht jeder molekulare Deskriptor eignet sich für die Suche nach neuen Liganden. Vielmehr ist die Wahl der molekularen Deskriptoren spezifisch für jedes Target. Um eine Wahl treffen zu können, welche molekularen Deskriptoren für ein Screening geeignet sind, gibt es verschiedene

statistische Methoden. Eine mögliche Methode bietet die Quantitative Struktur-Wirkungs-Beziehung (QSAR). Diese Methode ermöglicht eine signifikante Beziehung zwischen molekularen Deskriptoren und der biologischen Aktivität einer Verbindung.

In Tabelle 3 sind einige molekulare Deskriptoren aufgelistet, die mit einer solchen QSAR-Studie von COX-2 Liganden gefunden worden sind.

In zwei voneinander unabhängigen Studien konnte eine signifikante Beziehung zwischen den logP Wert und der Aktivität von COX-2 Liganden gefunden werden. Der logP Wert, auch bekannt als Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient, ist ein Maß für die Lipophilie einer Verbindung. Die Lipophile spielt anscheinend eine wichtige Rolle in der Struktur-Wirkungsbeziehung bei COX-2.<sup>78,79</sup> In einer weiteren Studie wurde gezeigt, dass der optimale logP-Wert eines COX-2 Liganden zwischen 1.5 und 2.0 liegt. Das liegt wahrscheinlich an der polaren Kopfgruppe, die wichtig für die Interaktion mit der selektiven Tasche ist.<sup>80</sup>

In einer weiteren Studie wurden molekulare Deskriptoren, die Information über die Topologie einer Verbindung geben, untersucht. Dabei wurden drei topologische Deskriptoren identifiziert, die Korrelation mit der Aktivität von bekannten COX-2 Liganden aufwiesen; T\_N\_N\_4, welches die Anzahl an Stickstoffen angibt, die über vier Bindungen von einem anderen Stickstoff entfernt sind; T\_O\_F\_7, welches die Anzahl an Sauerstoffen angibt, die über vier Bindungen von einem Fluor entfernt sind und SssNHcount, welches die Anzahl an NH Gruppen angibt, die mit zwei Einfachbindungen gekoppelt sind.<sup>81</sup>

Tab.3 Molekulare Deskriptoren, die in verschiedene QSAR-Studien Korrelation mit der Bioaktivität von COX-2 Liganden gezeigt haben.

	Molekularer Deskriptor		Referenz
<b>1D</b>	logP	Octanol-Wasser Verteilungskoeffizient	<i>Singh et al.</i> <sup>78</sup> und <i>Khoshneviszadeh</i> <sup>79</sup>
<b>2D</b>	T_N_N_4	Angabe der Anzahl an Stickstoffen, die über vier Bindungen von einem anderen Stickstoff entfernt sind	<i>El-Ayed</i> <sup>81</sup>
	T_O_F_7	Angabe der Anzahl an Sauerstoffen, die über vier Bindungen von einem Fluor entfernt sind	
	SssNHcount	Angabe der Anzahl an –NH Gruppen, die mit zwei Einfachbindungen gekoppelt sind	
<b>3D</b>	TPSA	Wiedergabe Oberfläche von polaren Atomen, primären Sauerstoffen und Stickstoffen, sowie die gebundenen Wasserstoffe	<i>Singh et al.</i> <sup>78</sup>
	vsurf_CP	Critical packing parameter	<i>Hanna et al.</i> <sup>82</sup>
	LOMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbital	<i>Harrak et al.</i> <sup>83</sup>
	HOMO	Highest Unoccupied Molecular Orbital	

Auch dreidimensionale Deskriptoren wurden an der COX-2 untersucht. In drei Studien fand man Korrelationen zum Topological Polar Surface Area (TPSA), welches die Oberfläche von polaren Atomen, primären Sauerstoffen und Stickstoffen, sowie die gebundenen Wasserstoffe wiedergibt. Weitere 3D Deskriptoren, die signifikante Beziehungen zu den Bioaktivitäten von COX-2 Liganden zeigten waren vsurf\_CP (Critical packing parameter), welches die Form und Oberfläche einer Verbindung einbezieht, LOMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) und HOMO (Highest Unoccupied Molecular Orbital).<sup>78,82,83</sup>

Hat man nun molekulare Deskriptoren identifizieren können, die mit der Bioaktivität von bekannten Liganden korrelieren, kann man im nächsten Schritt eine Datenbank mit diesen Deskriptoren nach potenziellen neuen Liganden durchsuchen. Dabei können existierende Datenbanken wie die DrugBank<sup>84</sup> oder auch selbst zusammengestellte Datenbanken genutzt werden.

### 1.3.4 Pharmakophor Screening

Eine weitere bekannte Virtual Screening Methode ist das Pharmakophor Screening. Bei dieser Methode werden die Pharmakophor Informationen eines Liganden verwendet, um nach neuen Liganden zu suchen. Ein Pharmakophor ist der Teil einer Verbindung, der für die Wechselwirkung mit dem Target verantwortlich ist. Ein Pharmakophormodell gibt



Informationen über die Anordnung der Pharmakophore im Raum und gibt damit eine dreidimensionale Information über einen Liganden wieder.<sup>85</sup>

Im ersten Schritt muss das Pharmakophormodell definiert werden. Es gibt verschiedene Ansätze, wie man Pharmakophore eines Liganden identifizieren kann. Besitzt man eine Co-Kristallstruktur mit einem Liganden, kann man aus den Wechselwirkungen ein Pharmakophor bestimmen.

Existieren keine Co-Kristallstrukturen, ist ein Rezeptor-basierter Ansatz nicht möglich. Deswegen besteht hier die Möglichkeit, bekannte Liganden aus der Literatur zu sammeln und mit ihnen ein multiples Alignment durchzuführen. Aus den übereinander liegenden Verbindungen können Gemeinsamkeiten identifiziert werden, die wiederum Hinweise darauf liefern, dass dieser Teil der Verbindung wahrscheinlich eine wichtige Rolle in der Struktur-Wirkungsbeziehung spielt und als Pharmakophor definiert werden kann.

Besitzt man mehrere Liganden mit den erforderlichen Werten der Bioaktivität am Target, kann man auch ein 3D-QSAR Modell erstellen. Bei dieser Methode werden die einzelnen Pharmakophore auf eine Beziehung mit Bioaktivität untersucht.

Hat man das Pharmakophormodell erstellt, muss im nächsten Schritt für jede Verbindung in den Datenbanken ebenfalls ein Pharmakophor angefertigt werden, damit diese mit dem Pharmakophormodell verglichen werden kann. Dieser Schritt geschieht automatisiert. Wenn die Datenbank auf diese Weise vorbereitet ist, kann sie nach Verbindungen mit ähnlichen Pharmakophoren durchsucht werden.

Weil bei dieser Methode anstelle von chemischen Strukturen nach sterischen und elektrostatischen Eigenschaften verglichen, können mit dieser Methode bioisotere Verbindungen gefunden werden. Definiert man zum Beispiel in Diclofenac die Carbonsäure als ein polares Pharmakophor, so können in einem Screening auch Verbindungen gefunden werden, die statt einer Carbonsäure zum Beispiel ein Sulfonamid oder ein Tetrazol besitzen.

*Waltenberger et al.* untersuchten das Pharmakophor Screening Verfahren anhand der mCOX-2. Sie erstellten eine Datenbank, in der schon bekannte COX-2 Liganden vorhanden waren und erstellten ein Pharmakophormodell, um diese Liganden in der Datenbank wieder zu finden. Dabei konnte ihr Modell tatsächlich die bekannten Liganden wieder auffinden.<sup>86</sup> Damit konnten sie zeigen, wie effektiv und hilfreich dieses Tool bei der Suche nach neuen Liganden sein kann. *Su et al.* nutzen für die Suche nach neuen potenten Nimesulid Derivaten diese Methode.<sup>87</sup>

### 1.3.5 De novo Design

Neben den Screeningverfahren gibt es noch den Ansatz des de novo Design. Hierbei wird der Ligand neu konstruiert und nicht wie bei den Screening Verfahren nach einer schon bestehenden Verbindung gesucht. Die gängigste Methode hierbei, ist die Fragment-basierende Zusammensetzung von neuen Verbindungen. Der Vorteil dieser Methode liegt darin, dass völlig neue Verbindungen gefunden werden können, welche noch in keiner Datenbank existieren.

Beim Rezeptor-basierten Ansatz werden die Fragmente, meist mit funktionellen Gruppen, in die Tasche platziert und im nächsten Schritt miteinander verknüpft.

Beim Liganden-basierten Ansatz werden Fragmente mit funktionellen Gruppen von bekannten Liganden, welche eine wichtige Rolle in der Struktur-Wirkungsbeziehung spielen, ausgewählt und miteinander verknüpft. Dabei werden die Anordnung der Fragmente zum Beispiel mit ein Pharmakophormodell bestimmt.

*Lippert et al.* entwickelten das vollautomatisiertes de novo Design Programm Qsearch.<sup>88</sup> Mit Hilfe eines Pharmakophor Screening wird dabei eine Fragmentdatenbank durchsucht und die Fragmente zu einer neuen Verbindung verknüpft. Als Input erwartet das Programm ein Pharmakophormodell und eine Fragmentdatenbank. Anhand der COX-2 haben Sie ihr Programm getestet, indem Sie die Fragmentdatenbank aus bekannten COX-2 Inhibitoren und das Pharmakophormodell anhand der PDB Kristallstruktur 6COX erstellten.

In dieser Arbeit wurde das vollautomatisierte de novo Design Programm Design of Genuine Structures (DOGS)<sup>89</sup> verwendet, welches im Arbeitskreis von Prof. Schneider in Frankfurt entwickelt wurde. Das Innovative an DOGS ist, dass es die neuen Verbindungen aufbaut, indem es mögliche Syntheseweg simuliert. Dabei nutzt es eine Datenbank von ca. 25'144 kommerziellen Building Blocks und 58 etablierte Reaktionen. Über ein Pharmakophor Screening werden einzelne Fragmente ausgewählt und nach einem Syntheschema verknüpft. Die Software bietet nicht nur den Vorteil, dass es neue Verbindungen vollautomatisiert konstruieren kann, sondern auch möglichen Syntheseweg inklusive der benötigten Edukte vorschlagen kann.

### 1.3.6 Docking und ADME

Ist ein neuer Ligand gefunden worden, kommt im nächsten Schritt der Wirkstoffentwicklung die Strukturoptimierung. Dabei soll mit Hilfe einer Struktur-Wirkungsbeziehungs-Studie die Verbindung untersucht und optimiert werden. Ziel dieser Studie ist zum einen die Steigerung der Potenz einer Verbindung und zum anderen auch die Verbesserung der Bioverfügbarkeit der Verbindung. Bei der Bioverfügbarkeit spielen vor allem die Aufnahme, Verteilung, Metabolismus und Ausscheidung (ADME) der Verbindungen eine wichtige Rolle.

*Lipinski's Rule of Five* kann hilfreich bei der Analyse der oralen Bioverfügbarkeit von Verbindungen sein. In seiner Studie analysierte *Lipinski* mehrere Arzneistoffe und entwickelte dabei vier Bedingungen, welche eine Verbindung für eine gute orale Bioverfügbarkeit besitzen sollte. Zum einen sollte eine Verbindung nicht über mehr als fünf Donatoren und über mehr als zehn Akzeptoren von Wasserstoffbrückenbindungen verfügen und zum anderen keine Molekülmasse größer 500 g/mol sowie einen log P größer 5 haben. Diese Faustregeln können schon zum Anfang einer Wirkstoffentwicklung mit einbezogen werden.<sup>90</sup>

Als Hilfe zur Struktur-Wirkungsbeziehungs-Studie können hier Docking-Studien herangezogen werden. Bei einem Docking wird der Bindungsmodus einer Verbindung zu seinem Target vorgeschlagen, was sehr hilfreich bei der Klärung der Struktur-Wirkungsbeziehung sein kann.

Grundsätzlich gibt es zwei Strategien beim Docking. Entweder kann der Ligand als Ganzes (wie in DOCK<sup>91</sup> und GOLD<sup>92</sup>) oder als Fragmente (wie in FlexX<sup>93</sup>) in der Bindetasche platziert werden. Vor dem Platzieren der Ligande muss die Ligandbindetasche identifiziert werden, um diese passend zu platzieren.<sup>94</sup>

Wichtig bei Docking-Studien ist die Auswahl der richtigen Kristallstruktur. Wie in den Abschnitten davor bereits erläutert, findet bei der Wechselwirkung eines Liganden mit dem Target eine Konformationsänderung statt, wodurch ein neues Komplex aus dem Target und Liganden entsteht. Hat man mehrere Kristallstrukturen zur Verfügung, sollten deswegen diejenige ausgewählt werden, bei welchen der Ligand die größte Ähnlichkeit zu der designten Verbindung zeigt.

## 2. Zielsetzung

Insilico Methoden haben in den letzten Jahren immer mehr an Bedeutung gewonnen und sind in der Entwicklung von neuen Wirkstoffen nicht mehr weg zu denken. Die Vorteile liegen auf der Hand. Mit der heutigen Rechenleistung können immer größere und komplexere Datensätze analysiert und untersucht werden. Dadurch lassen sich zeitaufwändige Schritte reduzieren, was zu Kostenreduzierungen in der Wirkstoffentwicklung führt.<sup>95</sup>

In dieser Arbeit sollen mögliche Einsatzgebiete von in silico Methoden in der Wirkstoffentwicklung von COX-2 Inhibitoren untersucht und diskutiert werden. Dafür sollen in der Arbeit neue COX-2 Liganden designt und synthetisiert werden.

Im ersten Schritt soll die Tertiärstruktur der hCOX-2 mit Hilfe eines Homologie Modells modelliert werden, welches in den weiteren Studien für das Design neuer Verbindungen genutzt werden soll. Die Tertiärstruktur wird vor allem für Rezeptor-basiertes Design nötig sein, wie zum Beispiel für Docking-Studien.

Die neuen Verbindungen sollen mit Hilfe von DOGS vorgeschlagen und mit weiteren in silico Methoden weiterentwickelt werden.

Wie beschrieben, besitzen Coxibe eine sehr ähnliche Struktur. Die de novo Design Verfahren sollen genutzt werden, um neue Strukturen zu finden, welche sich von den bekannten Liganden unterscheiden. Dabei soll die Sulfonamidgruppe ersetzt und eine Alternative zur typischen Form der Coxibe gefunden werden.

Um die Stärken der in silico Methoden zu analysieren, soll in dieser Arbeit die Entwicklung neuer COX-2 Liganden nach zwei parallelen Ansätzen durchgeführt werden, bei denen die Liganden im einen Fall mit einem vollautomatisierten Verfahren und im anderen Fall mit einem rationalen Verfahren designt werden.

Im Anschluß der designten Verbindungen sollen Synthesen entwickelt werden, um die designten Verbindungen an der COX-2 zu testen. Dafür sollen unter anderem die vorgeschlagenen Reaktionen von DOGS, aber auch alternative Synthesereaktionen genutzt werden.

---

## 3. Ergebnisse

### 3.1 Analyse von Docking-Studien an der COX-2

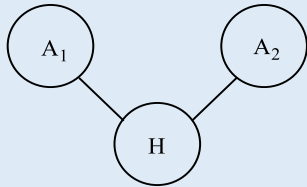
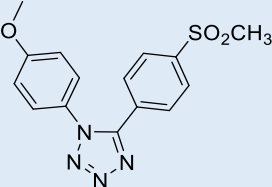
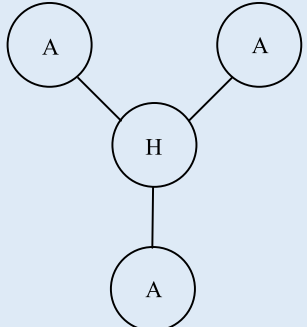
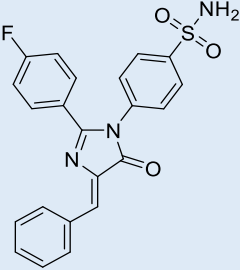
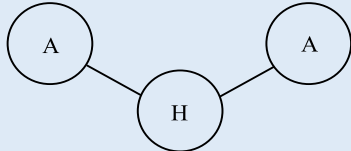
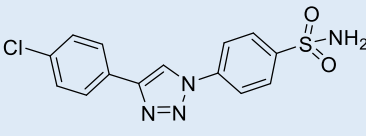
Zu Beginn der Arbeit wurden 81 Docking-Studien von COX-2 Liganden aus der Literatur analysiert. Alle Verbindungen sind im Anhang 12.3 zu finden. Für die Analyse wurden die Verbindungen auf einen Graphen minimiert, um diese in drei verschiedene Klassen unterteilen zu können (siehe Tab. 4).

Die erste Klasse an Verbindungen bildet die Klasse der „Coxib ähnlichen“ Verbindungen. Mit 66,1 % Anteil gehören die meisten COX-2 Liganden zu dieser Klasse. Die Verbindungen dieser Klasse besitzen einen zentralen Aromaten, meist ein Heterozyklus, an den zwei weitere Aromaten gekoppelt sind. Einer der beiden Aromaten besitzt in para-Position eine polare Gruppe, meist ein Sulfonamid. Diese Klasse an Verbindungen lässt sich wiederum in drei Gruppen unterteilen. Die erste Gruppe besteht aus drei Aromaten, wobei die zwei äußeren Aromaten in einem Winkel von höchstens 90° zueinander stehen. Der vorgeschlagene Bindungsmodus der Docking-Studien ähnelt dem vom Celecoxib. Der Aromat mit dem Sulfonamid interagiert mit der selektiven Tasche, die von den Aminosäuren Arg513, His90 und Gln192 geformt wird. Der zentrale Aromat liegt in der Nähe vom Eingang der Tasche, die von den Aminosäuren Arg120 und Tyr355 gebildet werden. Der dritte Aromat reicht in einen tieferliegenden hydrophoben Bereich der Tasche, der unter anderem von den Aminosäuren Ser530, Try385 und Phe518 gebildet wird (siehe Abb. 2C).

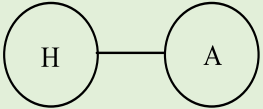
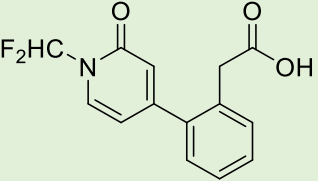
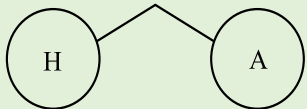
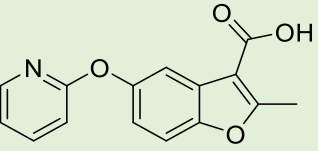
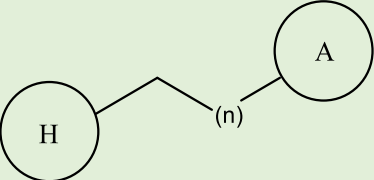
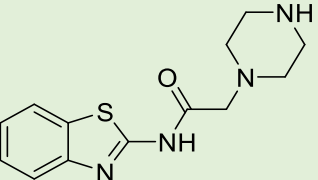
Die zweite Gruppe aus der ersten Klasse unterscheidet sich nur an dem zusätzlichen vierten Aromaten, welcher an den zentralen Aromaten gekoppelt ist. In den Docking-Studien ist zu erkennen, dass der vierte Aromat noch weiter in Richtung der Aminosäuren Arg120 und Tyr355 reicht.

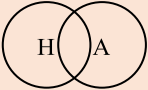
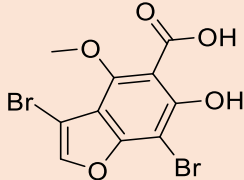
Die dritte Gruppe der ersten Klasse besteht ebenfalls aus drei Aromaten. Der Unterschied zur ersten Gruppe liegt im Winkel der zwei äußeren Aromate, der in diesem Fall größer als 90° ist und einen Einfluss auf den vorgeschlagenen Bindungsmodus hat. Es werden zwei grundlegende Bindemodi vorgeschlagen. Im ersten Bindemodus interagiert die polare Gruppe mit der selektiven Tasche und der hintere Bereich der Verbindung mit der hydrophoben Region der Tasche. Im zweiten vorgeschlagenen Bindemodus interagiert die polare Kopfgruppe mit Arg120, wobei der hintere Bereich der Verbindung in den hydrophoben Bereich reicht. Welcher dieser beiden Bindungsmodi vorgeschlagen wird, hängt häufig von der polaren Kopfgruppe ab. Ein Sulfonamid interagiert in der Regel mit der selektiven Tasche und eine Carbonsäure mit Arg120.

Tab. 4 Aufteilung der COX-2 Liganden in drei Klassen, an denen in den letzten 8 Jahren Docking-Studien durchgeführt wurden.

Klasse A				
Gruppe	Graph	Beispiel	Anteil	Referenz
1			35.8% (29)	<i>Al-Hourani et al.</i> <sup>96</sup>
2			10.5% (10)	<i>El-Araby et al.</i> <sup>97</sup>
3			19.8% (16)	<i>Kaur et al.</i> <sup>98</sup>

## Klasse B

	Graph	Beispiel	Anteil	Referenz
1			6.2% (5)	<i>Yu et al.</i> <sup>99</sup>
2			14.8% (12)	<i>Yadav et al.</i> <sup>100</sup>
3			14.8% (12)	<i>Raghavendra et al.</i> <sup>101</sup>

Klasse C			
Graph	Beispiel	Anteil	Referenz
		9.9% (8)	<i>Dilber et al.</i> <sup>102</sup>

Die zweite Klasse an Verbindungen besteht aus zwei Aromaten, die miteinander über verschieden lange Linker gekoppelt sind. Zu dieser Klasse kann man auch Lumiracoxib zählen. Hier werden je nach Verbindungen zwei Orientierungen vorgeschlagen. Bei der ersten Orientierung interagiert die Carbonsäure mit Arg120 oder Tyr355 und bei der zweiten Orientierung interagiert die Carbonsäure mit Ser530 oder Tyr385 (siehe Abb. 5A).

Die dritte Klasse von Verbindungen besteht aus einem Benzenring oder einem anilinierten Benzenring. Zu dieser Klasse kann man auch die Naproxen hinzuzählen. Als polare Kopfgruppe besitzen sie meist eine Carbonsäure, welche mit Arg120 oder Tyr355 interagiert (siehe Abb. 5B). Der Rest der Verbindung reicht in Richtung der hydrophoben Region der Tasche.

In all diesen Studien wurden die Informationen aus den Docking-Studien verwendet, um die experimentellen Ergebnisse, also die Bioaktivitäten, der Verbindungen, zu diskutieren.

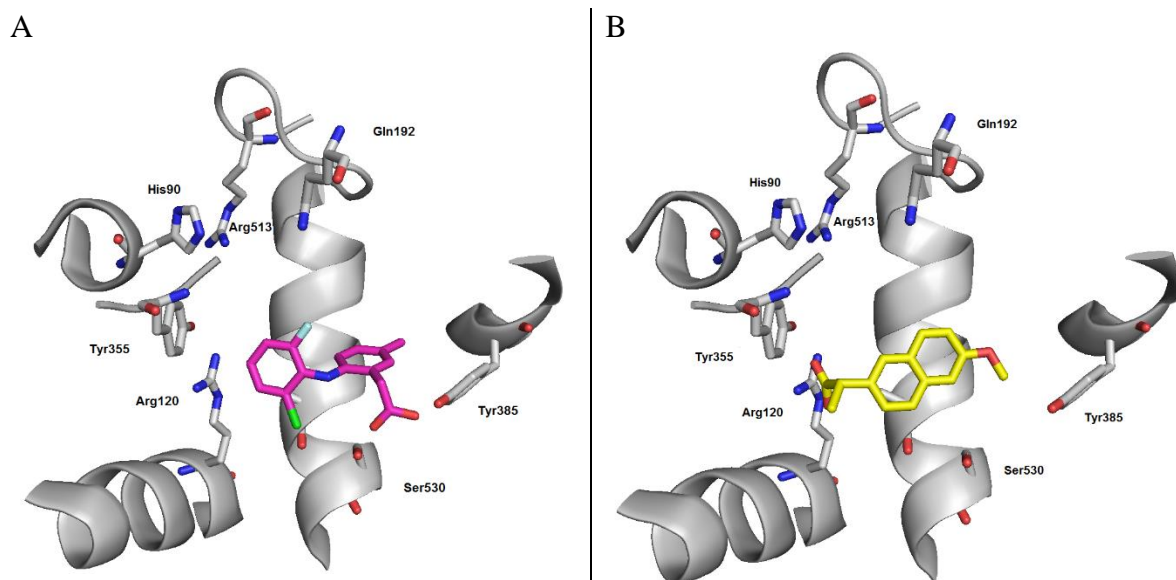


Abb. 5 Kristallstrukturen der Bindetasche von COX-2 mit den Liganden A) Lumiracoxib (PDB-ID: 4RRX) und B) Naproxen (PDB-ID: 3NT1)

### 3.2 Modellierung der humanen COX-2

Der erste Schritt zur Entwicklung neuer Liganden war die Analyse des Targets, bzw. des aktiven Zentrums des Targets. Das erste Problem bestand darin, dass in der PDB keine Kristallstruktur der hCOX-2 veröffentlicht war. Es waren lediglich Kristallstrukturen der mCOX-2 publiziert. Die erste Herausforderung bestand demnach in der Modellierung der Tertiärstruktur der hCOX-2.

Hierfür wurde ein Homologie Modell entwickelt, weil Kristallstrukturen mit sehr ähnlichen Sequenzen zur Verfügung standen, welche als Template dienen konnten.

In der PDB waren 18 COX-2 Kristallstrukturen publiziert, die alle auf dem murinen Protein basierten (siehe Tab. 5). Für die Untersuchung, ob eine dieser Kristallstrukturen als Template dienen kann, wurden alle Sequenzen für ein multiples Alignment vorbereitet. Mit dieser Methode können alle Sequenzen miteinander verglichen werden. Dabei sollten die Sequenzen zunächst nach der Anzahl ihrer Unterschiede in der Sequenz sortiert werden, um die mit den wenigsten Unterschieden zu finden.

Tab. 5 m-COX-2 Kristallstrukturen aus der PDB mit Angabe ihrer Auflösung und Mutationen im Vergleich zur humanen Sequenz der COX-2

<b>PDB-ID</b>	<b>Auflösung (Å)</b>	<b>Mutationen</b>
<b>1DDX</b>	3,0	34
<b>1PXX</b>	2,9	34
<b>3LN0</b>	2,2	34
<b>3LN1</b>	2,4	34
<b>3MQE</b>	2,8	34
<b>3NTB</b>	2,3	34
<b>1CVU</b>	2,4	35
<b>3NTG</b>	2,2	35
<b>1CX2</b>	3,0	36
<b>3PGH</b>	2,5	36
<b>4COX</b>	2,9	36
<b>5COX</b>	3,0	36
<b>6COX</b>	2,8	36
<b>3NT1</b>	1,7	37
<b>3HS7</b>	2,65	39
<b>3KRK</b>	2,4	39
<b>3HS5</b>	2,1	40
<b>3HS6</b>	2,4	40



Durch das erste multiple Alignment, konnte die Auswahl auf sechs Sequenzen reduziert werden. Im weiteren Verlauf konnte das multiple Alignment genutzt werden, um die Mutationen genauer zu analysieren. Dabei wurde ein besonderes Augenmerk auf das aktive Zentrum gesetzt, denn potentielle neue Liganden sollten auf diese Tasche hin designt werden. Mutationen in diesem Bereich, wären für die weitere Studie nachteilig.

Bei dieser Untersuchung fiel als Erstes auf, dass alle sechs zuvor ausgewählten Strukturen die gleichen Mutationen aufwiesen und dass das aktive Zentrum nicht von den Mutationen betroffen war.

Um eine Auswahl zwischen den sechs verbliebenen Sequenzen treffen zu können, wurde im nächsten Schritt die Geometrie der Kristallstrukturen mit Hilfe eines Ramachandran Plots analysiert. Für die Erstellung des Ramachandran Plots wurde PROCHECK genutzt (siehe Tab. 6). Mit dieser Validierung konnten die Sequenzen auf die Kristallstrukturen 3LN0, 3LN1 und 3NTB reduziert werden. Die Sequenzen 2PXX und 3DDX wurden ausgeschlossen, weil sie beide, im Vergleich zu den anderen Kristallstrukturen, eine größere Anzahl an Aminosäuren besaßen, welche sich in erlaubten oder geduldeten Regionen befanden (sog. outlier). Ebenfalls aus diesem Grund wurde die Kristallstruktur 3MQE ausgeschlossen. Letztendlich wurde Kristallstruktur 3LN0 ausgewählt, weil sie 0.3% weniger Aminosäuren in unerlaubten Regionen besaß, als die anderen verbliebenen Kristallstrukturen 3LN1 und 3NTB.

Für die Erstellung des Homologie Modells wurde das Programm MODELLER 9v8 verwendet. Die entsprechenden Einstellungen, können aus Anhang 12.4 entnommen werden.

Für die Validierung des Homologie Modells wurde wiederum PROCHECK verwendet (siehe Abb. 6B).

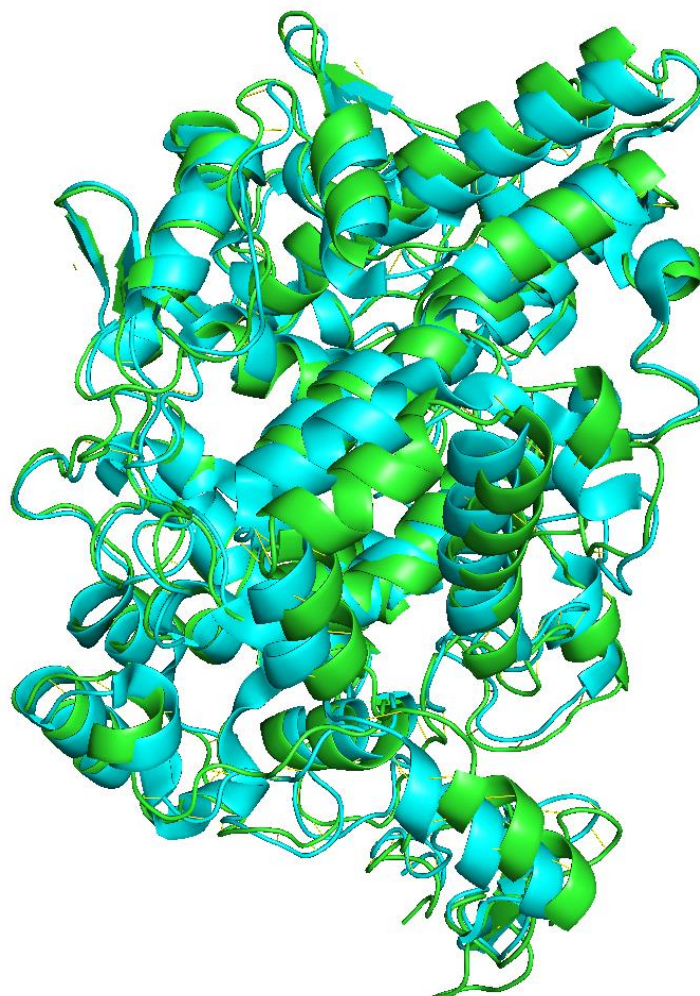
Tab. 6 Ergebnisse der Ramachandran Plot Validierung der sechs besten Kristallstrukturen

<b>Aminosäuren in</b>	<b>favorisierte</b>	<b>erlaubte</b>	<b>geduldete</b>	<b>unerlaubte</b>
	<b>Regionen</b>	<b>Regionen</b>	<b>Regionen</b>	<b>Regionen</b>
<b>3LN0</b>	88.2	11.4	0.2	0.3
<b>3NTB</b>	90.8	8.6	0.2	0.4
<b>3LN1</b>	88.2	11.2	0.2	0.4
<b>3MQE</b>	87.4	11.9	0.4	0.3
<b>3PXX</b>	85.9	13.4	0.3	0.4
<b>3DDX</b>	70.2	27.2	1.9	0.2

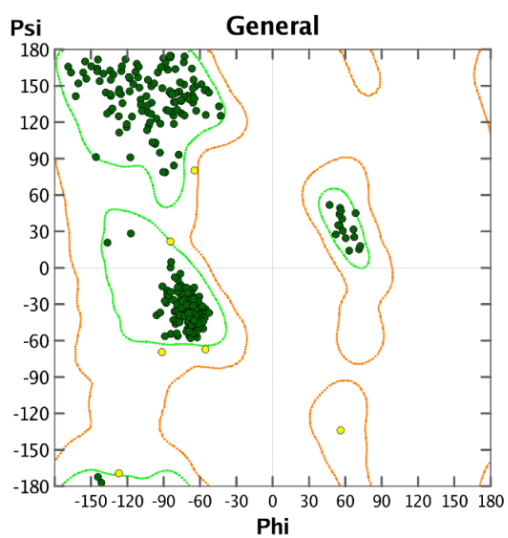
Der Ramachandran Plot zeigte, dass 93.7% der Aminosäuren in favorisierten Regionen, 6.1% in erlaubten Regionen, 0.2% in geduldeten Regionen und 0.0% in unerlaubten Regionen lagen. Für eine genauere Validierung, wurden das Template (PDB-ID: 3LN0) und das Homologie Modell anschließend übereinander gelegt (siehe Abb. 6A) wobei zuerkennen war, dass die Helices und  $\beta$ -Faltblätter vom Modell gut vorhergesagt wurden und im Einklang mit dem Template standen.

Im letzten Schritt der Validierung wurde das aktive Zentrum im Homologie Modell untersucht. Das Modell besaß eine große Tasche, in dem die selektive Tasche nicht sehr stark ausgeprägt war. Aus diesem Grund wurde im Anschluss noch eine MD-Simulation gestartet, um die Flexibilität der Tasche zu analysieren. Während der MD veränderte sich die Tasche deutlich. Interessant zu sehen war, wie sich zum Ende der MD hin die Bindetasche immer stärker der typischen Dreieckstruktur der Coxibe annäherte.

A



B



C

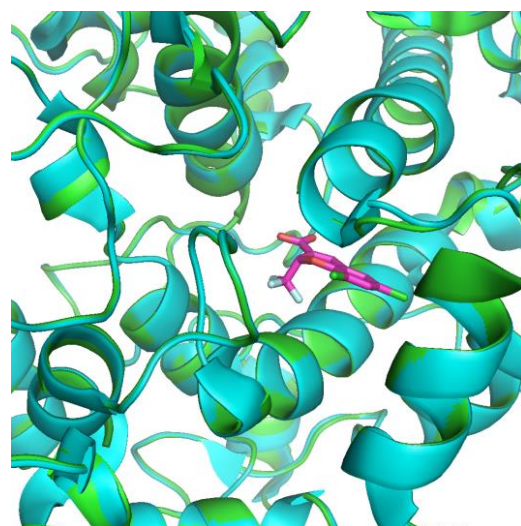


Abb.6. In Abbildung A) ist die Überlagerung des Homologie Modells (grün) mit dem Template (blau) zu sehen. Abbildung B) zeigt den Ramachandran Plot vom Homologie Modell und Abbildung C) zeigt das aktive Zentrum mit dem Liganden vom Template.

### 3.3 Molekulare Modellierung und de novo Design von neuen COX-2 Inhibitoren

Im nachfolgenden Abschnitt sollen die verschiedenen Methoden präsentiert werden, mit denen neue COX-2 Inhibitoren basierend auf den oben beschriebenen, bereits vorangegebenen Arbeiten entwickelt wurden. Für die Entwicklung der neuen Liganden wurde die de novo Software DOGS, für die Docking-Studien und die Variationen der Verbindungen das Molecular Operating Environment (MOE) Programm und für die Darstellung der Strukturen selbst Pymol genutzt.

#### 3.3.1 De novo Design mit DOGS

Im ersten Ansatz wurde als Input für DOGS der selektive COX-2-Hemmer Celecoxib ausgewählt. Die Herausforderung im Design der neuen Leitstrukturen bestand darin, die charakteristische Form der Coxibe abzuwandeln.

Um die vorgeschlagenen Verbindungen von DOGS zu analysieren, wurde eine Docking-Studie mit den Verbindungen an das Homologie Modell durchgeführt. Dabei sollte analysiert werden, ob in einer dieser Verbindungen die typischen Interaktionen mit dem aktiven Zentrum entdeckt werden konnten. Vor allem die Verbindungen **87** und **22** fielen bei dieser Studie auf (siehe Abb. 7).

Verbindung **22** wurde ausgewählt, weil sie sich strukturell entscheidend von den Coxiben unterscheidet und kein Sulfonamid besitzt, also zwei Merkmale, die typisch für Coxibe sind. Bei genauerer Betrachtung fiel auf, dass sich in der Verbindung Strukturen von Celecoxib wiederfinden. Das Benzensulfonamid ist durch einen über ein Amid gekoppelten Arylrest ausgetauscht und der Toluolrest ist am Pyrazol an einer anderen Position substituiert als bei Celecoxib. Die Verbindung wurde ohne weitere Änderungen übernommen.

Die Verbindung **87** wurde wegen der neuen polaren Kopfgruppe und dem Oxadiazol ausgewählt, ebenfalls Merkmale, die bei Coxiben nicht weit verbreitet sind. Wegen der großen Ähnlichkeit in der Form und dem Aldehyd, wurde diese Verbindung nicht einfach übernommen, sondern in weiteren Schritten verarbeitet. Dabei wurden zwei Ansätze verfolgt.

Im ersten Ansatz wurde nur ein Fragment der Verbindung synthetisiert (**85**). Die Butenamidgruppe in der Verbindung wurde gegen eine Propionsäure ausgetauscht, um die Verbindung flexibler zu gestalten und der Furanylaldehyd wurde komplett entfernt. Der Austausch der Gruppen geschah im Homologie Modell mit Hilfe von LigX, einem Tool von MOE. Nach den Änderungen, wurde mit der neuen Verbindung wieder eine neue Docking-Studie durchgeführt.

Nach der Analyse der Docking-Studien wurde Verbindung **85** in einem weiteren Schritt nochmals verkürzt, wobei die Propionsäure zur Essigsäure verkürzt und die Trifluoromethylgruppe gegen ein Chloratom ausgetauscht wurde (**71**). Im Anschluss dazu wurde mit Verbindung **85** wieder eine Docking-Studie durchgeführt. Sowohl für Verbindung **85** als auch für Verbindung **71** wurden ähnliche Bindungsmodi wie für Diclofenac vorausgesagt, bei dem die Carbonsäure mit dem Ser520 interagiert.<sup>103</sup>

In einem zweiten Ansatz sollte die Form der Verbindung **87** beibehalten werden, aber das Furanylaldehyd ausgetauscht werden (**86**). Im ersten Schritt wurde der Furanylaldehyd gegen ein 2-Chloropyridin ausgetauscht, um den reaktiven Aldehyd zu ersetzen. Dabei sollte ein Heterozyklus beibehalten werden.

Über eine Docking-Studie wurde 2-Chloropyridin als Ersatz für Furan ausgewählt. Zwischen dem zentralen Benzenring und dem 2-Chloropyridin wurde ein flexibler Linker gewählt. Das Butenamid wurde mit der Butansäure ausgetauscht, um die Doppelbindung zu entfernen, welche zum Beispiel als Michael Akzeptor reagieren könnte und das Amid gegen eine Carbonsäure.

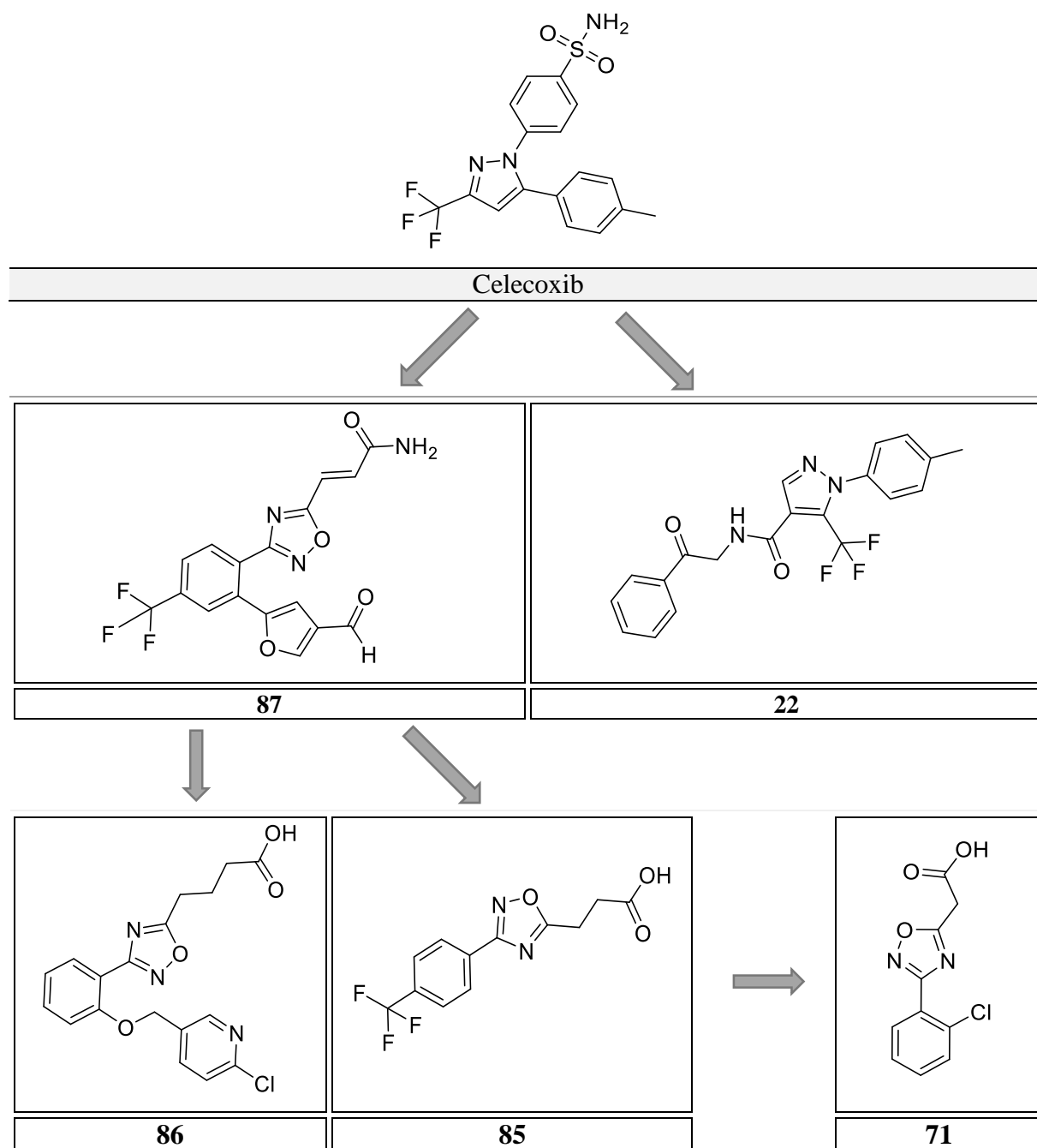


Abb. 7 Als Input für DOGS wurde das Celecoxib ausgewählt, welches zu dem Design von Verbindung 22 und 87 führte. Verbindung 87 wurde weiterverarbeitet und schrittweise zu Verbindung 85 und 86 geändert. Verbindung 85 wurde nochmals schrittweise zu Verbindung 71 verkleinert.

### 3.3.2 Selektive COX-2 Acetylierung

Kalgutkar *et al.* entwickelten 1998 die Verbindung o-(Acetoxyphenyl)methyl sulfid (APHS), einen selektiven COX-2 Hemmer, den sie 1999<sup>104</sup> und 2001<sup>105</sup> patentieren ließen.<sup>106,107</sup> Aus deren Studien ließen sich interessante Informationen gewinnen. Die Carbonsäure scheint nicht zwingend eine wichtige Funktion in der Struktur-Wirkungsbeziehung zu haben. Um einen selektiv acetylierende Verbindung zu entwickeln wurden diese Informationen genutzt, wobei zwei Ansätze verfolgt wurden.

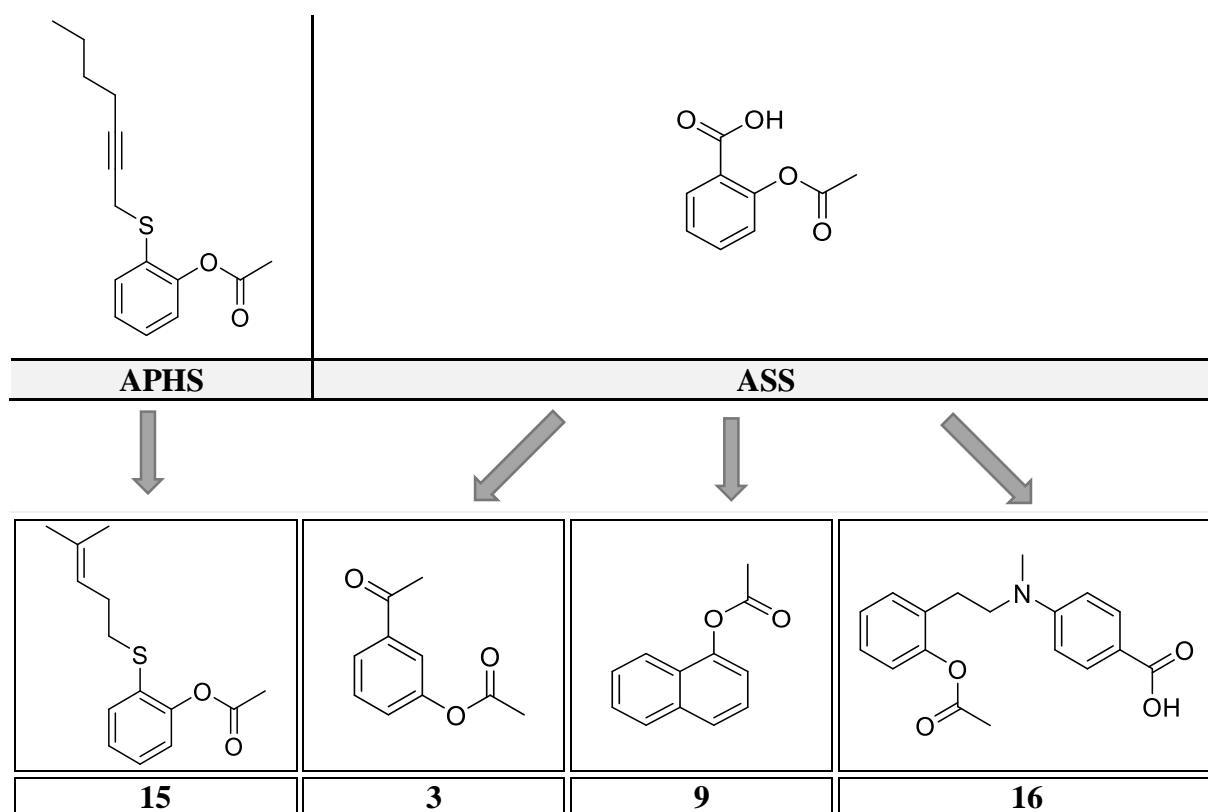


Abb. 8 Mit Hilfe von DOGS wurde aus den COX-2 Liganden APHS die Verbindung 15 entwickelt. Parallel dazu wurde das Aspirin im aktiven Zentrum schrittweise zu den Verbindungen 3, 9 und 16 verändert.

Im ersten Ansatz wurde DOGS genutzt um, ausgehend von **APHS**, neue Verbindungen vorzuschlagen (siehe Abb. 8). Die meisten vorgeschlagenen Verbindungen ähnelten der patentierten Verbindung so sehr, dass nur eine Verbindung für die Synthese ausgewählt werden konnte (**15**).

Zusätzlich wurden in einem zweiten Ansatz weitere Verbindungen, ausgehend von ASS, entwickelt. Dafür wurde die Kristallstruktur 1PTH aus der PDB verwendet, welche als Liganden die ASS besitzt.<sup>108</sup> Im aktiven Zentrum ist der Bindungsmodus der Salicylsäure (**SA**)

dargestellt, weil in diesem Stadium der Kristallisierung die COX-2 von der **ASS** acetyliert worden ist. Aus diesem Grund wurde parallel eine Docking-Studie der **ASS** durchgeführt und beim designen der neuen Verbindung sowohl der Bindungsmodus der **SA** als auch die Docking-Studie der **ASS** berücksichtigt. Ausgehend von der Docking Pose der **ASS**, wurde die Struktur schrittweise im Homologie Modell mit LigX verändert.

In der ersten Änderung der **SA** wurde die Carbonsäure gegen ein Keton ausgetauscht und die Acetylgruppe auf Position 3 verschoben. Damit sollte in einem ersten Schritt der Einfluss der Carbonsäure untersucht werden. In Verbindung **9** wurde die gesammte Benzoesäure ausgetauscht und mit einem Naphtalin ersetzt. Die Carbonsäure wurde ausgetauscht, weil in der Studie von *Kalgutkar et al.* gezeigt werden konnte, dass für eine Inhibition der COX-2 eine Carbonsäure nicht zwingend notwendig ist. Dies sollte mit Verbindung **9** untersucht werden.

In einem dritten Ansatz wurde die **ASS** außerhalb der Kristallstruktur schrittweise vergrößert. Dabei wurde nach jeder Änderung eine Docking-Studie durchgeführt, um die Einflüsse der Änderung auf die möglichen Bindungsmodi hin zu analysieren.

Die Carbonsäure sollte beibehalten werden, sodass die Benzoesäure als Fragment über einen Linker mit der **ASS** verknüpft wurde. Für eine bessere Stabilität wurde als Linker ein Amid ausgewählt (**16**).

### 3.3.3 Fragment-basiertes Design

Ein oft benutzter Ansatz beim De novo Design, ist das Fragment basierte Design. Hierbei kann von einem kleinen Fragment gestartet werden, welches mit weiteren kleinen Fragmenten verknüpft wird, bis man die gewünschte Struktur erreicht.

Dieser Ansatz wurde in der dritten Studie verfolgt. Als Startfragment wurde das 4-Aminobenzenesulfonamid ausgewählt, welches in vielen Coxiben vorhanden ist. Von diesem Fragment ist bekannt, dass es für die Interaktion der Coxibe mit der selektiven Tasche in der COX-2 beteiligt ist.

Um mit diesem Fragment arbeiten zu können, wurde die Kristallstruktur 3LN1 ausgewählt und der Ligand (Celecoxib) bis auf dieses Fragment entfernt (siehe Abb. 9). Ausgehend vom freien Anillin haben wir die Verbindung vergrößert und mit einem Thiophen verknüpft (**35**). Im Anschluss wurde die fertige Verbindung wiederum mit einer Docking-Studie analysiert.

In einem zweiten Ansatz wurde das zweite Fragment, welches an das 4-Aminobenzenesulfonamid gekoppelt werden sollte, ebenfalls aus einem bekannten Liganden ausgewählt. Mit der Idee, daraus eventuell einen selektiven COX-2 Acetylierer entwickeln zu können, wurde hierfür **ASS** gewählt.



ASS wurde über ein Amid an das 4-Aminobenzensulfonamid verknüpft, wobei der resultierende Carbonsäureester in diesem Schritt gegen ein stabileres Amid ausgetauscht wurde (**23**). Zur weiteren Analyse wurde eine Docking-Studie der Verbindung am Homologie Modell durchgeführt.

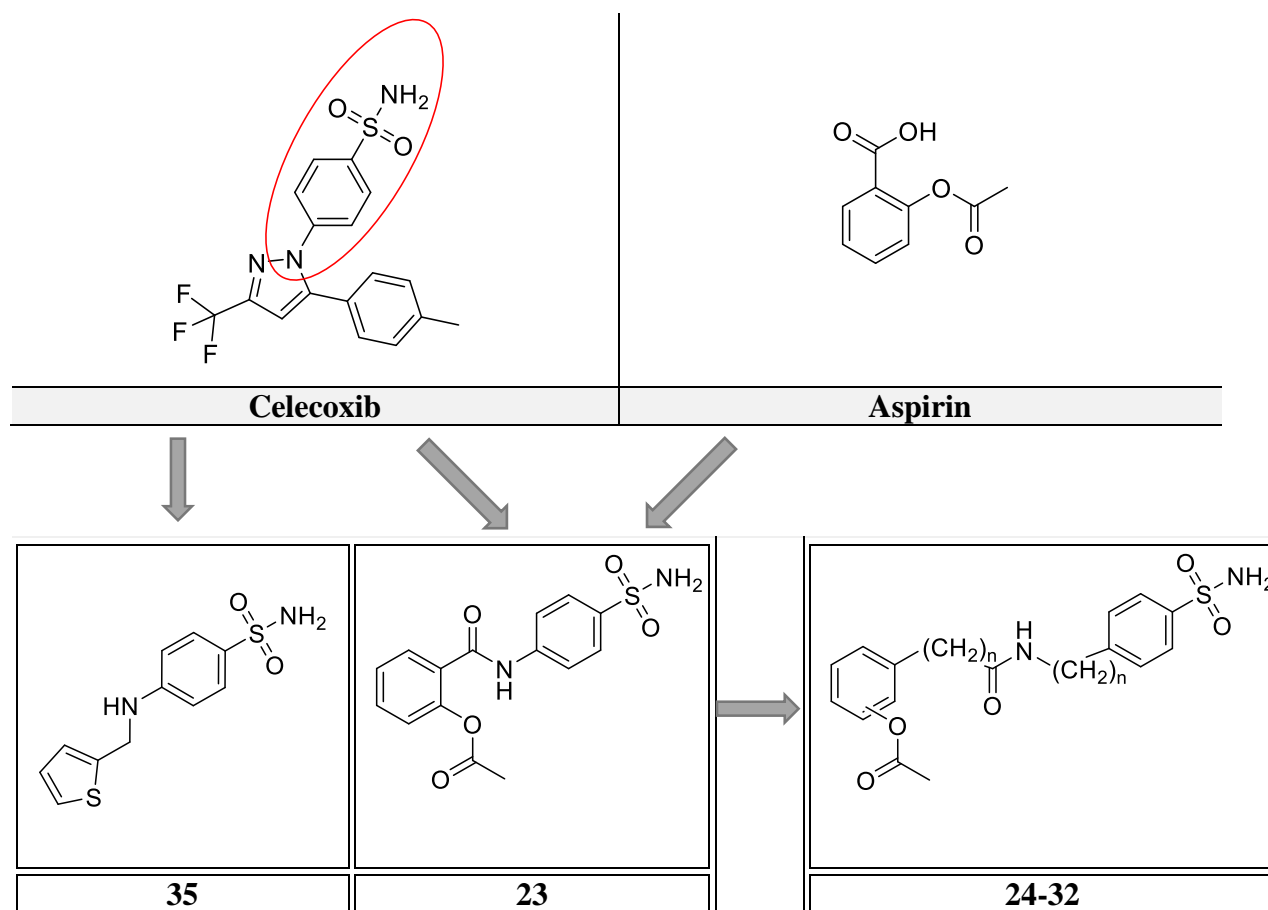


Abb. 9 Im Ansatz des Fragment-basierten Design wurde aus einem Fragment von Celecoxib Verbindung 35 entwickelt. Zusätzlich wurde in einem weiteren Ansatz ein Fragment des Aspirin mit dem Fragment von Celecoxib verknüpft, woraus die Verbindung 24-32 entwickelt worden sind.

Aus den Docking-Studien konnte keine genaue Information gewonnen werden, was für ein Einfluss die Länge der Verbindung **23** auf den Bindungsmodus haben könnte. Aus diesem Grund wurden von der Verbindung zehn Derivate mit verschiedenen Längen und Positionen der Acetylgruppe am Arylrest entwickelt (**24 – 32**).

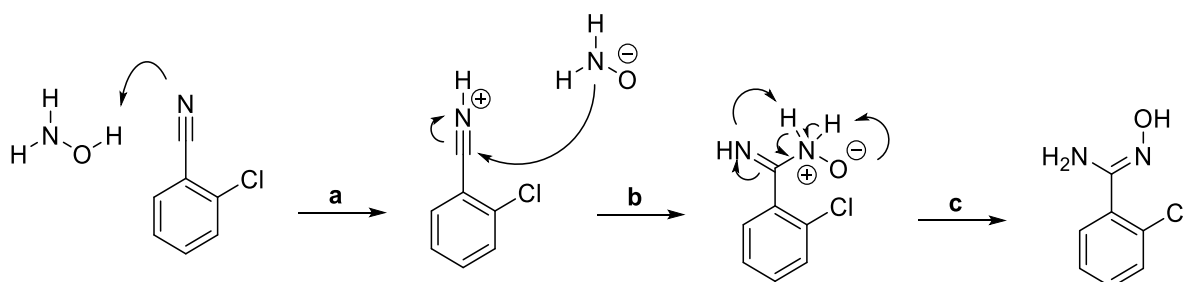
### 3.4 Synthese der neuen COX-2 Inhibitoren

Mit den vorgestellten Insilico Methoden wurden insgesamt 23 verschiedene Verbindungen designt, die potentielle neue COX-2 Inhibitoren darstellten. Im nächsten Abschnitt sollen nun die Synthesen zu deren Herstellung vorgestellt und diskutiert werden.

#### 3.4.1 Synthese der Oxadiazol Derivate

Die Synthese der Oxadiazol Derivate wurde mit der Überführung verschiedener Benzonitril-Derivate zu den korrespondierenden Amidoximen begonnen. Dafür wurde die Methode von *Lee et al.* angewendet, bei der die Nitrile in Ethanol bei 90°C über 3-5 Stunden mit Hydroxylamin behandelt werden.<sup>109</sup>

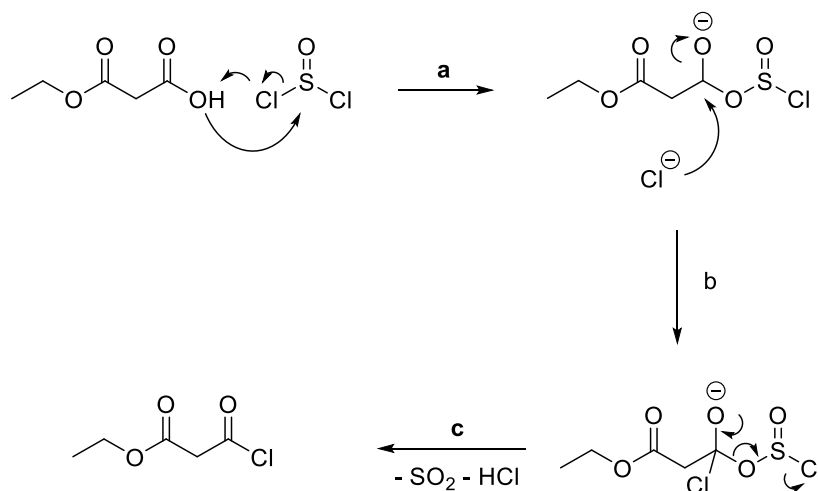
Im ersten Schritt des Mechanismus wird die Nitrilgruppe durch das Hydroxylamin protoniert (**a**), wodurch der Stickstoff anschliessend positiv geladen vorliegt. Dies begünstigt den nucleophilen Angriff des Stickstoffs des Hydroxylamins am Kohlenstoff der Nitrilgruppe (**b**). Aus dem addierten Hydroxylamin wird durch eine Protonenwanderung das Amidoxim gebildet (**c**).



Schema 1 Reaktionsmechanismus der Amidoxim Bildung

Für den nächsten Schritt in der Synthese ist als zweites Edukt ein Acylchlorid-Derivat notwendig. Bei der klassischen Methode der Säurechlorid Synthese wird Thionylchlorid verwendet (siehe Schema 2). Hierbei greift der Hydroxylsauerstoff der Carbonsäure den Schwefel des Thionylchlorids nucleophil an, wobei ein Chlorwasserstoff aus der entstehenden Verbindung freigesetzt wird (**a**). Darauf folgend greift das Chlorid-Ion den Carbonylkohlenstoff nucleophil an (**b**). Zum Schluss werden aus der Verbindung Schwefeldioxid und Chlorwasserstoff abgespalten, wodurch das korrespondierende Säurechlorid entsteht (**c**).

Die Oxadiazol Synthese wurde nach *Leslie J. et al.* durchgeführt.<sup>110</sup> Dabei wurden beide hergestellten Edukte, das Hydroxylamin und das Säurechlorid, in absolutem Dichlormethan (DCM) zusammen mit der Hilfsbase Triethylamin bei Raumtemperatur für eine Stunde gerührt.



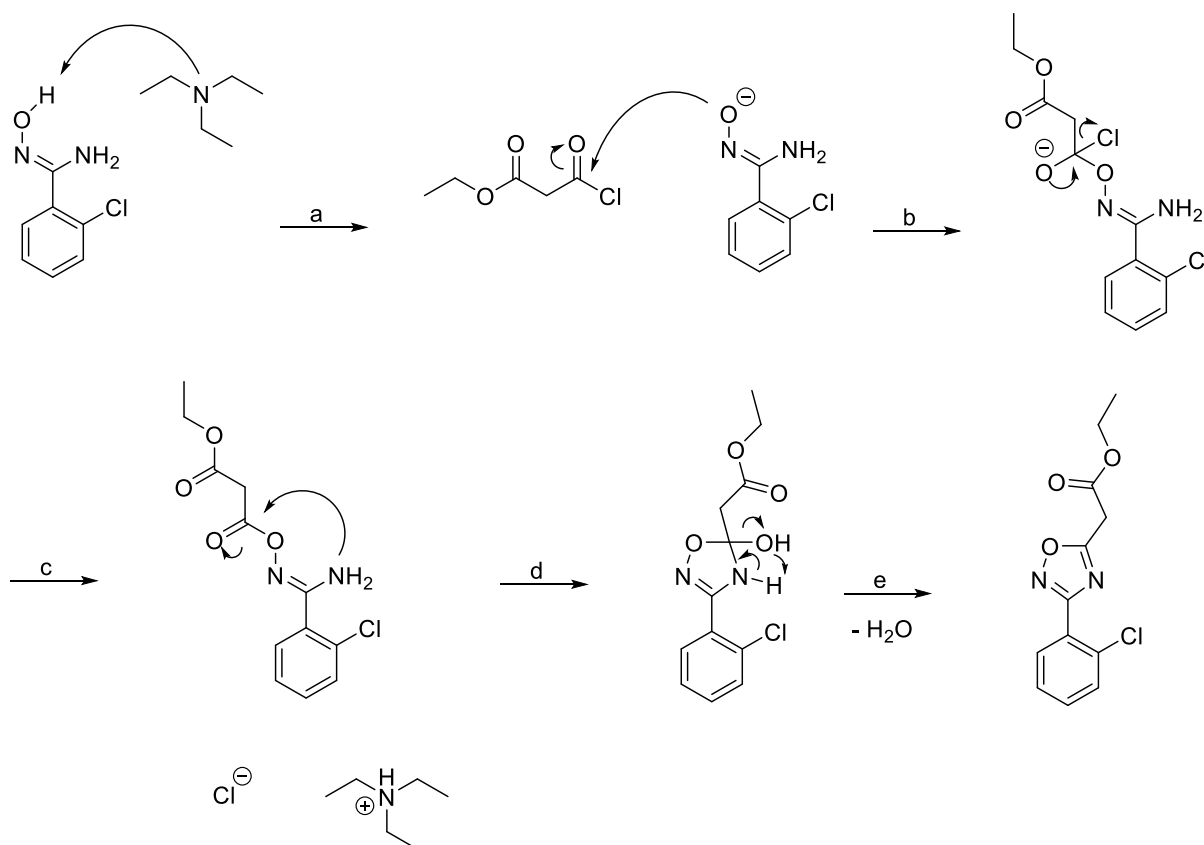
Schema 2 Reaktionsmechanismus der Säurechloridsynthese mit Thionylchlorid

Der Mechanismus beginnt mit der Deprotonierung des Amidoxims (siehe Schema 3), wodurch der Hydroxylsauerstoff ein besseres Nucleophil wird und am Carbonylkohlenstoff des Säurechlorids angreifen kann (**a**). Während dieses Schritts wird gleichzeitig Chlor vom Acylchlorid abgespalten (**b**).

Anschliessend wurde das Dichlormethan (DCM) unter Vakuum mit Tetrahydrofuran (THF) ausgetauscht, damit die Reaktion auf  $60^\circ\text{C}$  erhitzt werden konnte.

Unter diesen Bedingungen kann eine intramolekulare Reaktion stattfinden, wobei das primäre Amin nucleophil den Carbonylkohlenstoff des Carbonsäureesters angreift und durch eine Protonenwanderung ein Wassermolekül abgespalten wird, was zum gewünschten Oxadiazol führt (**d**).

Der Syntheseschritt **c** erwies sich als empfindliche Reaktion. Gemäß Dünnschichtchromatographie (DC) entstanden zwei Produkte, welche je nach Bedingung der Reaktion unterschiedlich dominant waren. Zur Optimierung der Reaktion wurden alle Produkte isoliert und charakterisiert (siehe Abb. 9). Dabei konnte festgestellt werden, dass besonders eine Bedingung Einfluss auf die Reaktion hatte.



Schema 3 Reaktionsmechanismus der Oxadiazolsynthese

Bei Überschuss des Edukts (Z)-2-chloro-N'-hydroxybenzimidamide, entwickelte sich das oberste Produkt auf der DC. Die Isolierung dieses Produktes zeigte, dass es sich dabei um ein Dimer des Oxadiazols handelt. Anscheinend greift bei zu großem Überschuss vom (Z)-2-chloro-N'-hydroxybenzimidamide, dieses wieder nucleophil den Carbonkohlenstoff an und bildet damit ein Dimer vom Produkt, welches keine Carbonsäure mehr besitzt.

Daher wurde die Reaktion fortan mit 1.0 äquivalenten Hydroxyamidin bei 60°C in THF über 12 Stunden durchgeführt.

Im letzten Schritt wurde der Ester zur korrespondierenden Säure hydrolisiert.

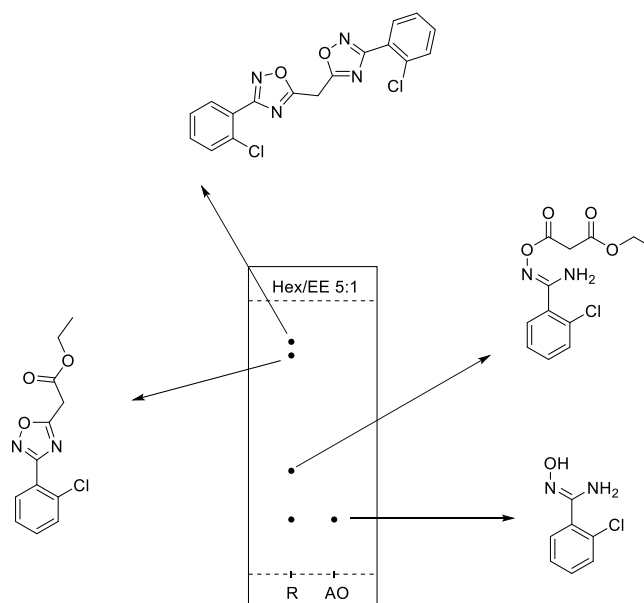
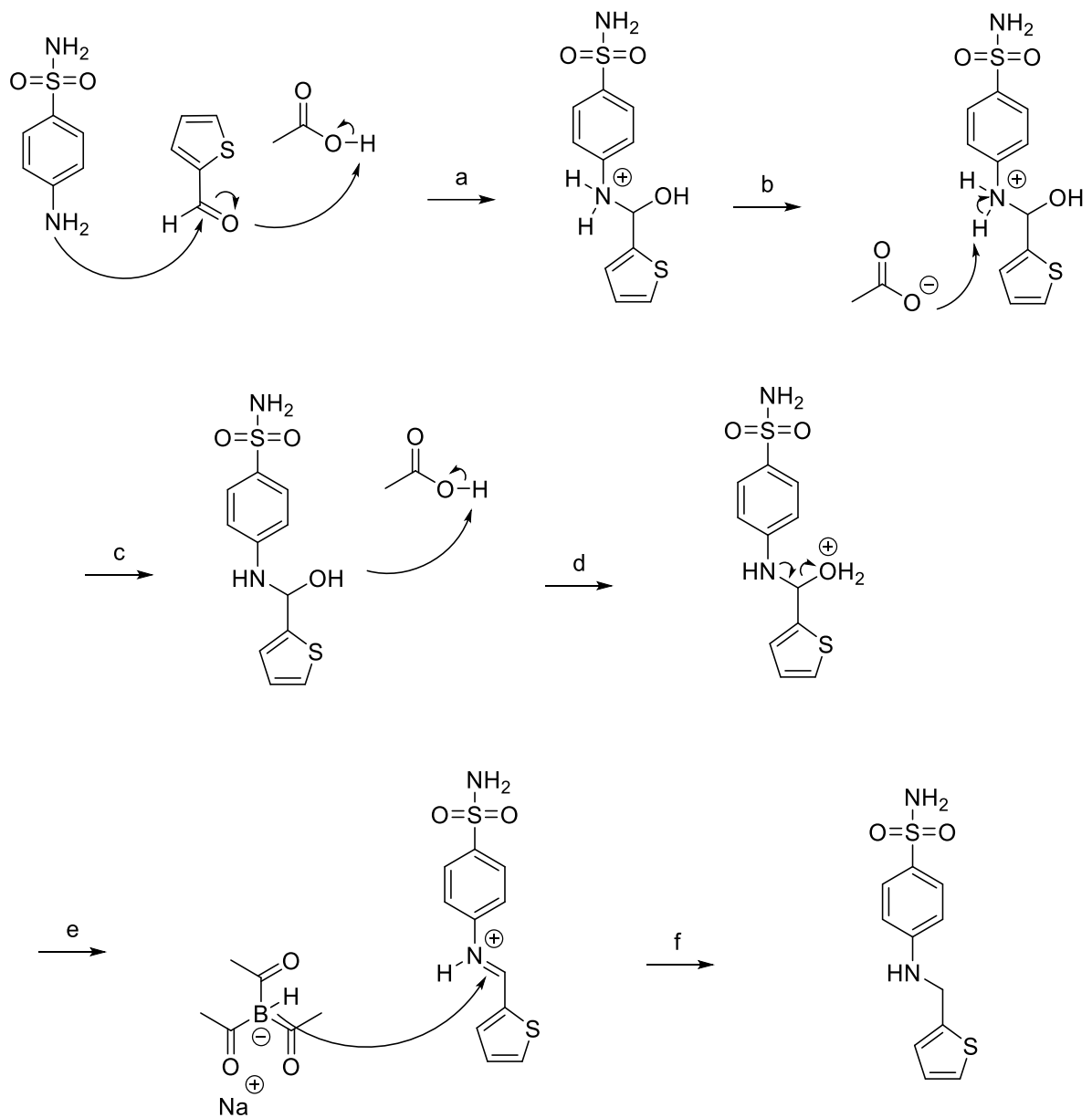


Abb.9 zeigt eine schematische Darstellung der Dünnschichtchromatographie von der Oxadiazolsynthese, mit der Zuordnung der entstandenen Produkte.

### 3.4.2 Synthese von 4-[(Thiophen-2-ylmethyl)amino]benzene-1-sulfonamid

Die Synthese von 4-[(Thiophen-2-ylmethyl)amino]benzene-1-sulfonamid erfolgte durch reduktive Aminierung nach *Abdel-Magid et al.*<sup>111</sup> Zunächst wurde das gewünschte Amin mit Essigsäure und dem gewünschten Aldehyd in THF zusammengegeben und für vier Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Dabei reagiert das Amin nucleophil und greift den Carbonylkohlenstoff des Aldehyds an (**a**) wobei sich nach Protonenabgabe ein Halbaminal bildet (**b-c**). Nach Protonierung der resultierenden Hydroxygruppe wird Wasser eliminiert und es entsteht ein Imin.

Das Reduktionsmittel Natriumtriacetoxyborhydrid wurde erst nach vier Stunden bei Raumtemperatur (RT) zur Reaktion hinzugegeben, welches das Imin zum gewünschten sekundären Amin reduziert (**d-f**).



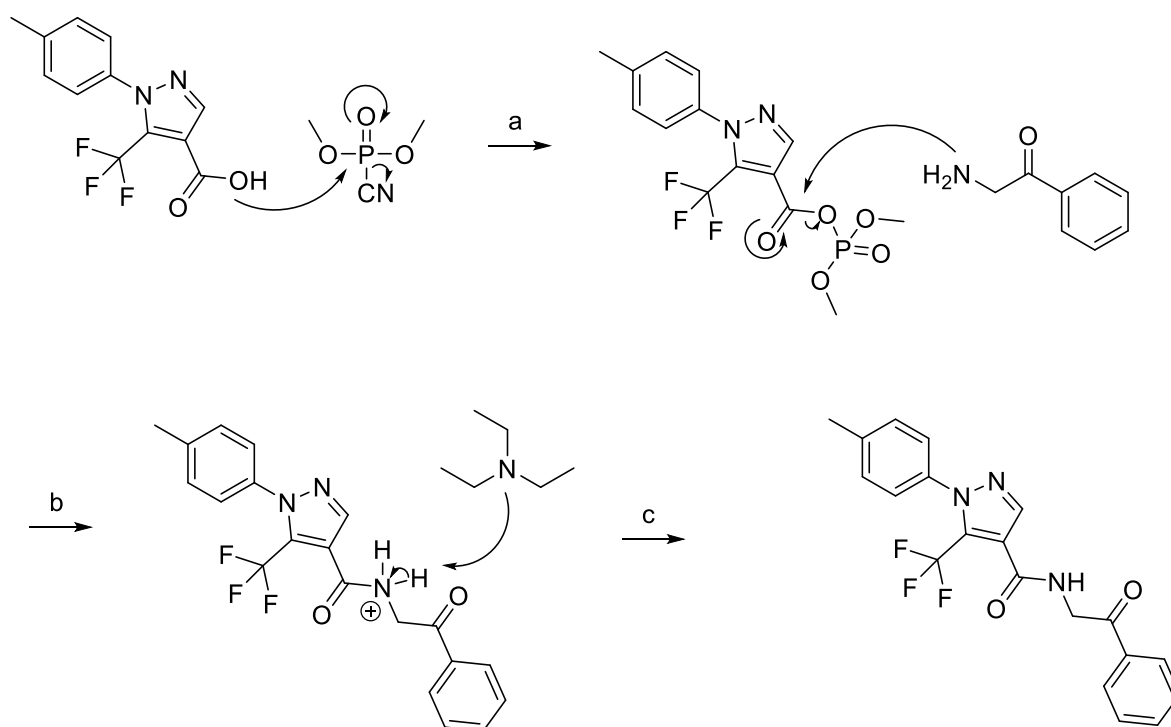
Schema 4 Reaktionsmechanismus der reduktiven Aminierung

### 3.4.3 Synthese vom 1-(4-Methylphenyl)-N-(2-oxo-2-phenylethyl)-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-4-carboxamid

Für die Synthese von 1-(4-Methylphenyl)-N-(2-oxo-2-phenylethyl)-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-4-carboxamid wurde eine Kupplungsreaktion mit Diethyl phosphorocyanidat (DEPC) gemäß einem Patent von *Chen et. Al.* angewendet.<sup>112</sup>

Die Carbonsäure greift hierbei das DEPC nucleophil an, wobei sich ein aktiviertes Zwischenprodukt der Carbonsäure bildet (siehe Schema 5 / **a**). An diesem Zwischenprodukt kann das sekundäre Amin nucleophil angreifen, welches über eine Abspaltung eines Protons das korrespondierende Amid bildet (**b+c**).

Der Vorteil der Synthese liegt darin, dass ein Syntheseschritt im Gegensatz zur herkömmlichen Methoden wie dem Umweg über ein Acylchlorid gespart werden kann. Hervorzuheben ist, dass ein Zwischenschritt wie der Umweg über ein Acylchlorid bei der herkömmlichen Methode durch diese Synthese vermieden werden kann.

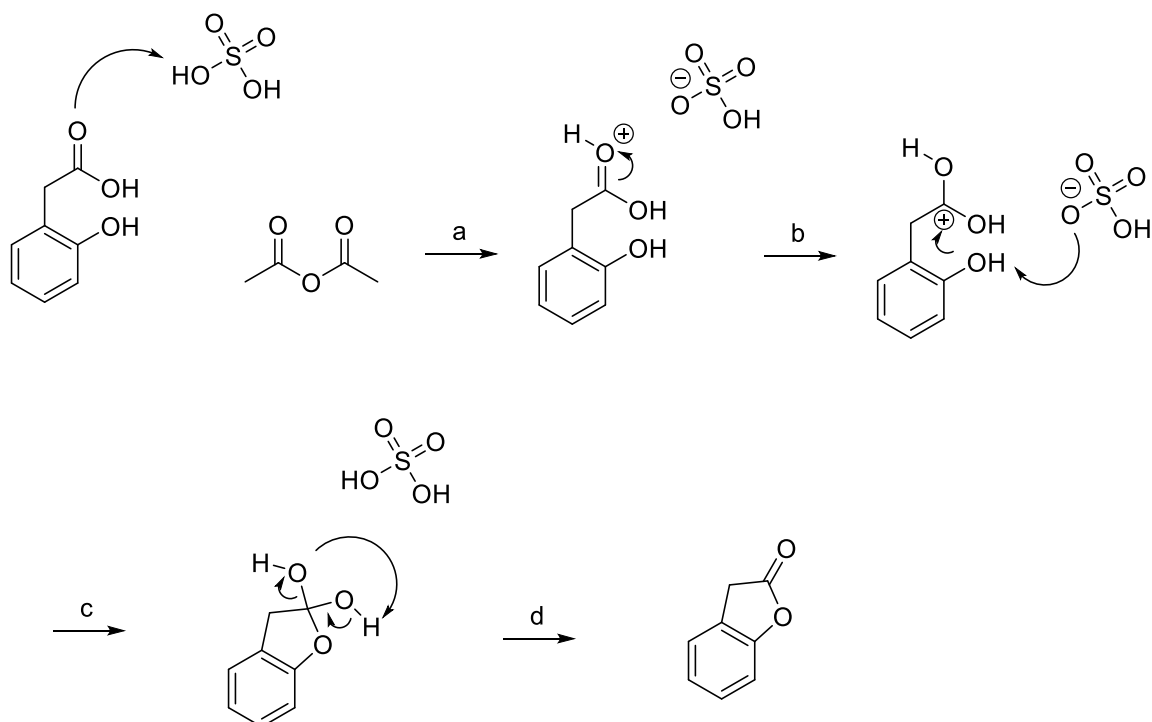


Schema 5 Reaktionsmechanismus der Amidkopplungssynthese mit DEPC

### 3.4.4 Acetylierung von Hydroxygruppen

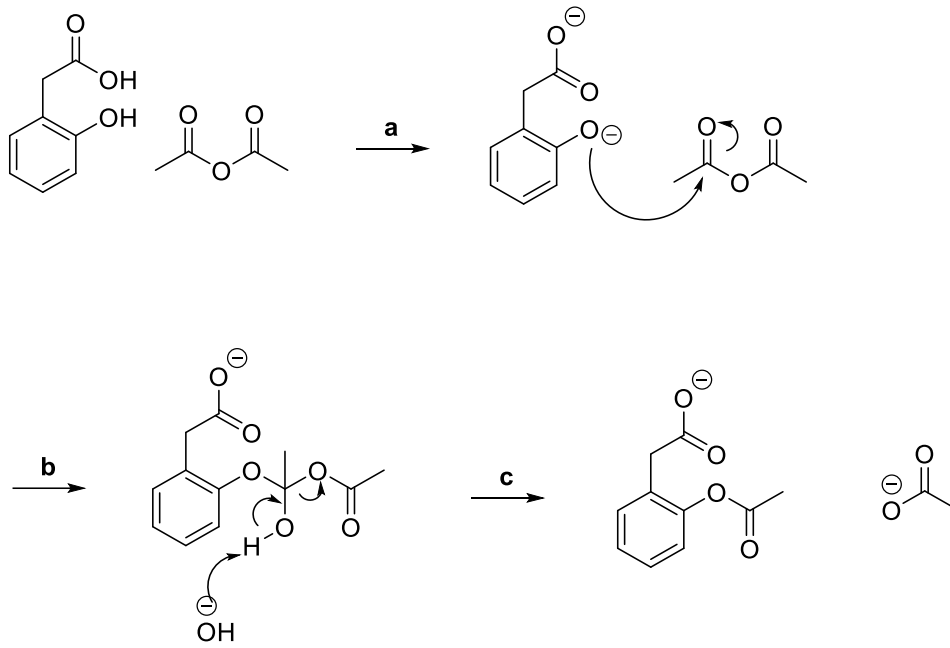
Für die Synthese der acetylierten Verbindungen wurde das entsprechende Phenolderivat mit konzentrierter Schwefelsäure und Essigsäureanhydrid für zwei Stunden auf 90°C erhitzt. Die Hydroxylgruppe reagiert hierbei nucleophil und greift den Carbonkohlenstoff des Essigsäureanhydrids an und bildet damit eine Acetylgruppe.

Die Acetylierung wurde unter zwei verschiedenen Bedingungen durchgeführt. Die erste Methode läuft im sauren Milieu ab. Diese Bedingungen wurden jedoch nur für die Benzoesäure-Derivate ausgewählt, denn bei den Essigsäure-Derivate fand unter dieser Bedingung eine intramolekulare Reaktion statt. Die Schwefelsäure protoniert die Carbonsäure, wodurch der Hydroxylsauerstoff den Carbonylkohlenstoff nucleophil angreift und über Spaltung eines Wassermoleküls ein korrespondierendes Lacton bildet (siehe Schema 6). Deswegen wurde für diese Verbindung eine andere Synthesevorschrift verwendet. Diese zweite Methode fand unter basischen Bedingungen statt und verhindert dadurch die Bildung eines Lactons (siehe Schema 7).



Schema 6 Reaktionsmechanismus von der Bildung des Lactons





Schema 7. Reaktionsmechanismus der Acetylsynthese

### 3.5 Biologische Evaluierung der synthetisierten Verbindungen

Alle wie beschrieben *in silico* designten und anschließend synthetisierten Verbindungen wurden in einem COX-2 Assay biologisch charakterisiert. Dabei konnten fünf Substanzen identifiziert werden, die eine leichte Inhibition der COX-2 bei 30µM zeigten. Dieses Ergebnis bestätigt den großen Wert von *in silico* Methoden, da mit den Computer unterstützten Methoden große chemische Räume abgedeckt und so schneller neue Leitstrukturen mit unterschiedlichen Grundstrukturen gefunden werden können.

Aus dem Ergebnis in Abbildung 11 lassen sich die unterschiedlichen funktioniellen Gruppen in den Verbindungen erkennen. Eine Verbindung besitzt ein Sulfonamid (**35**), zwei Verbindungen eine Carbonsäure (**71** und **86**) und jeweils eine Verbindung ein Amid (**22**) und eine Acetylgruppe (**3**).

In den weiterführenden Studien wurden die Verbindungen **3**, **35**, **71** und **86** ausgewählt und mit der Synthese von weiteren Derivaten untersucht.

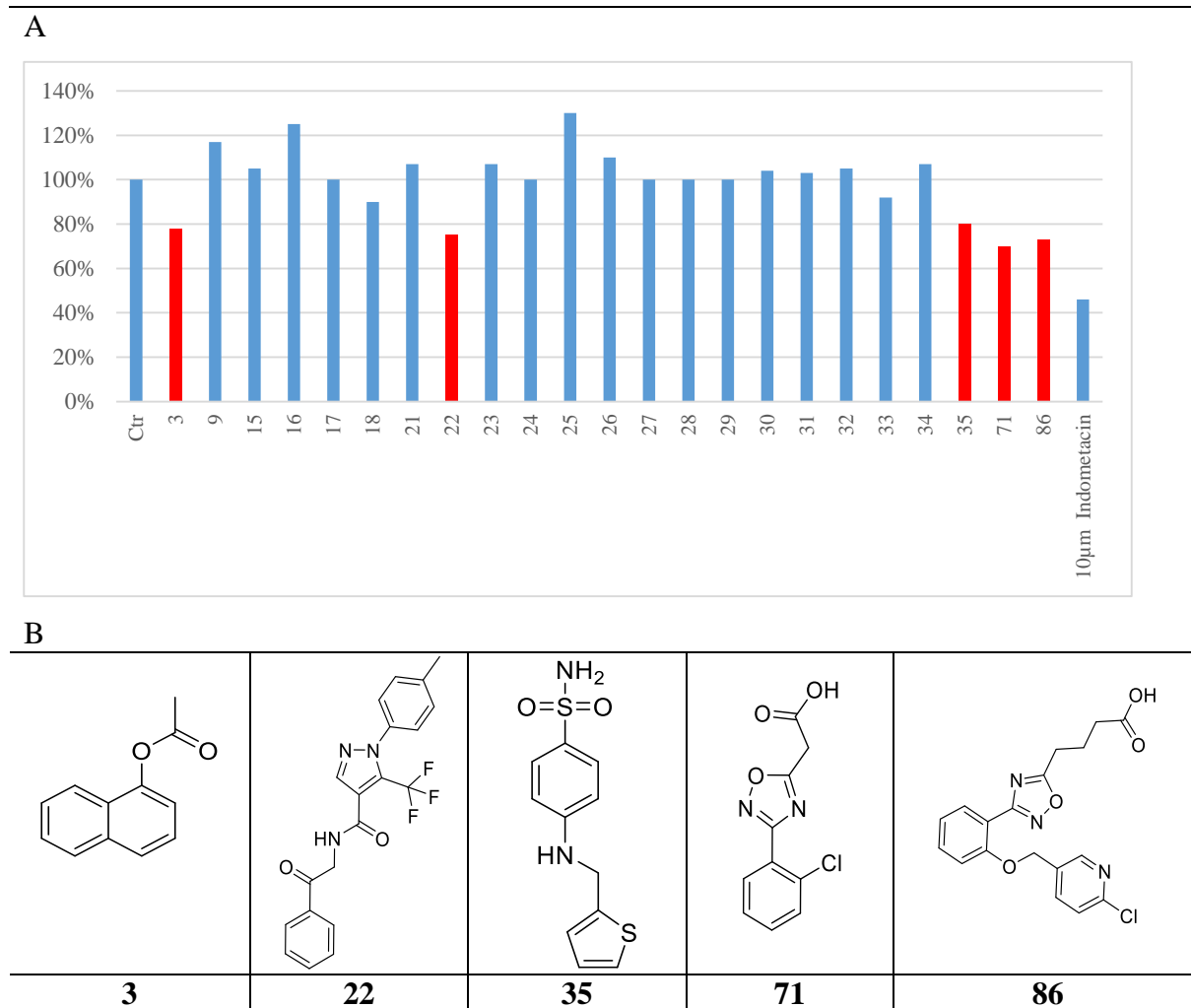
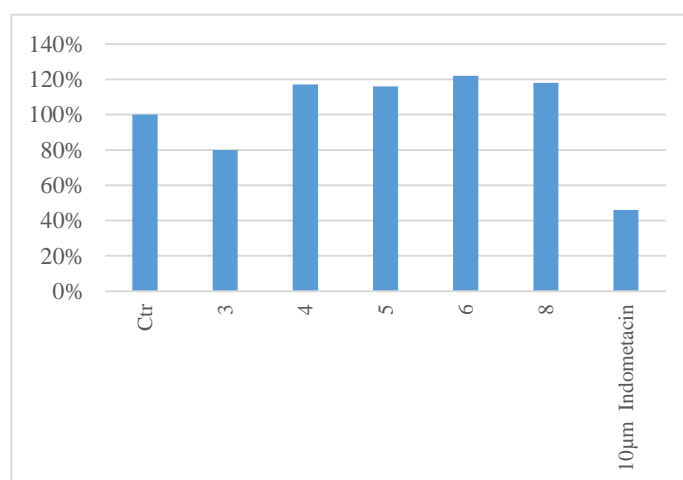


Abb. 11. Abschnitt A zeigt die Restaktivitäten der designten Verbindung an COX-2 bei 30µM. In Abschnitt B sind die fünf neuen Leitstrukturen abgebildet, welche leichte Aktivitäten an der COX-2 zeigen.

### 3.5.1 Benzen anillierte Verbindungen

Als erster potentieller COX-2 Inhibitor wurde das Naphthalen-1-yl acetat (**3**) identifiziert. In der Verbindung fallen zwei interessante Merkmale auf. Zum einen besitzt sie keine azide Kopfgruppe, wie die herkömmliche Coxibe (Carbonsäure oder Sulfonamid) und zum anderen besitzt sie wie die ASS eine Acetylgruppe, welche in der Lage sein könnte, Ser530 zu acetylieren und somit die COX-2 irreversibel zu inhibieren.

A



B

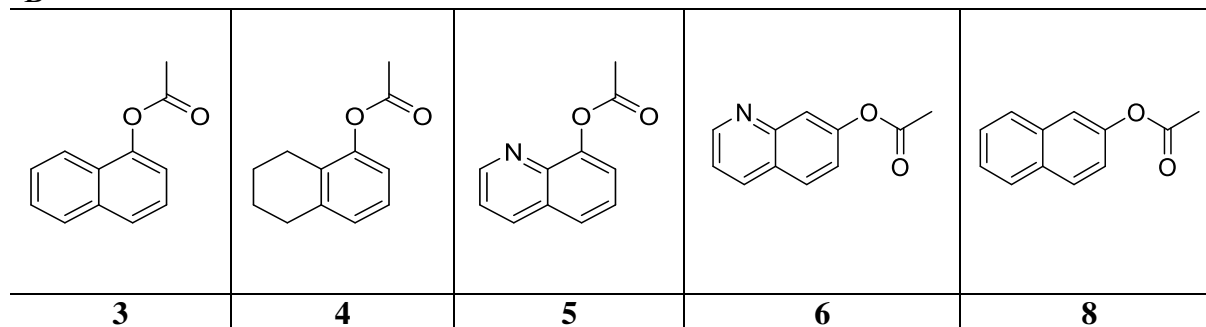


Abb. 12 In Abschnitt A) sind alle Restaktivitäten der synthetisierten Benzen oder anulierten Benzen Derivative bei 30 μM zusehen, welche in Abschnitt B) abgebildet sind.

Für die Untersuchung der SAR von drei wurden vier weitere Derivate (**4**, **5**, **6** und **8**) synthetisiert, bei denen das Naphthalin in der Verbindung mit verschiedenen Fragmenten ausgetauscht wurde (siehe Abb. 12).

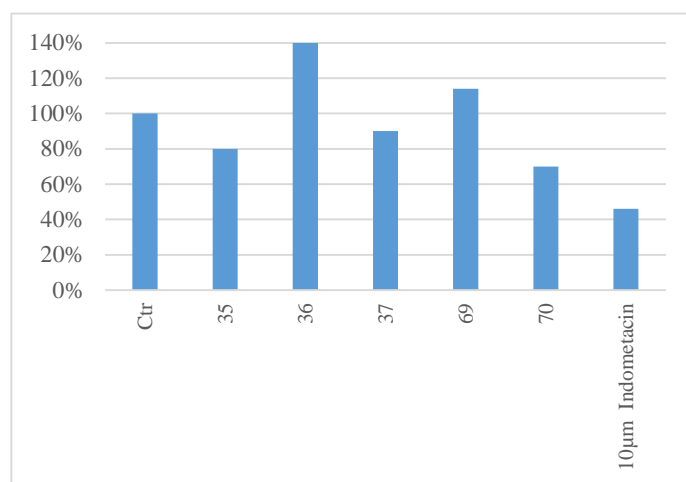
Im ersten Schritt wurde das Naphthalin untersucht, indem es mit zwei polaren Chinolin Derivaten (**5** und **6**) ausgetauscht wurde. Beide Verbindungen zeigten keine Aktivitäten mehr an der COX-2. Partielle Reduktion zum Tetrahydronaphthalin (**4**) führte ebenfalls zum Verlust der Aktivität.

In einem weiteren Versuch wurde die Rolle der Acetoxygruppe untersucht und hierfür von Position 1 auf Position 2 verschoben, was zu einem Aktivitätsverlust der Verbindung führte (**8**).

### 3.5.2 N-(thiophen-2-ylmethyl)anilin

Verbindung **35** hat als polare Kopfgruppe ein Sulfonamid, welches bei Coxiben weit verbreitet ist. Auch dessen SAR wurde eingehender untersucht wobei insbesondere die Bedeutung des Sulfonamids analysiert werden sollte. Dafür wurde das Sulfonamid mit einer Carbonsäure (**69**) und dessen Carbonester (**36**) ausgetauscht, was zum Verlust der Aktivität führte.

A



B

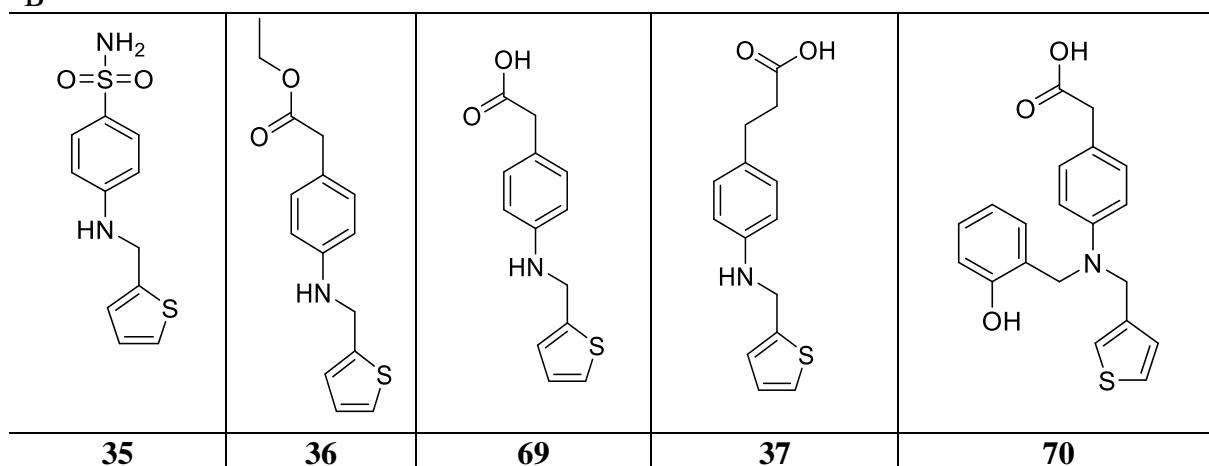


Abb. 13 In Abschnitt A) sind alle Restaktivitäten der synthetisierten N-(thiophen-2-ylmethyl)aniline Derivativen bei 30µM zusehen, welche nochmal in Abschnitt B) abgebildet sind.

Im nächsten Schritt wurde die polare Kopfgruppe flexibler gestaltet und mit einer Propionsäure ausgetauscht (**37**), was nur zu einer geringfügigen Verbesserung der Potenz führte.

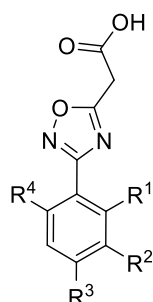
Um weitere Räume in der Ligandbindetasche der COX-2 zu identifizieren, wurde an das sekundäre Amin von Verbindung **69** ein zusätzlicher Benzyl-Rest hinzugefügt (**70**), was im Vergleich zu **69** und auch zu **35** die Aktivität verbesserte.

### 3.5.3 Oxadiazol Verbindungen

Als dritte Leitstruktur konnte Oxadiazole **71** und **86** mit moderater Potenz an der COX-2 identifiziert werden. Ausgehend von **71** wurde die SAR mit 14 weiteren Derivaten vertieft (siehe Tab. 7).

Als erstes wurde das Chloratom an allen Positionen des Benzenerings getestet (**71**, **72**, **73**), wobei nur das 2-Chlorderivat (**71**) Aktivität zeigte. Interessant war auch, dass das Hinzufügen eines zweiten Chlors an Position 6 (**74**) zu einer inaktiven Form der Verbindung führte. Der Austausch von Chlor mit Fluor (**80**) oder einer Trifluoromethylgruppe (**78**) führte ebenfalls zur keiner Aktivität, genau wie ein Trifluoromethylsubstituent an para-Position (**79**). Der Austausch von Chlor mit einer polaren Gruppe wie der Hydroxylgruppe (**81**), führte zu einer Abschwächung der Potenz auf 80% Restaktivität. Eine polare Gruppe an dieser Position, scheint somit mit Einbußen in der Aktivität, toleriert zu werden. Auch der Austausch von Chlor mit eine Methylgruppe (**75**) führte zu einer Abschwächung der Aktivität, wobei in diesem Fall die Methylgruppe an Meta-Position (**76**) bessere Ergebnisse zeigte als in ortho-Position. Das Entfernen von Substituenten am Benzenring (**77**) führte erneut zu einer inaktiven Form der Verbindung.

Tabl. 7 Darstellung aller Restaktivitäten der synthetisierten Oxadiazol Derivative bei 30µM.



	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	Restaktivität bei 30µM			
<b>71</b>	Cl	H	H	H	70%			
<b>72</b>	H	Cl	H	H	Inaktiv	<b>82</b>		70%
<b>73</b>	H	H	Cl	H	Inaktiv			
<b>74</b>	Cl	H	H	Cl	Inaktiv	<b>83</b>		Inaktiv
<b>75</b>	CH <sub>3</sub>	H	H	H	90%			
<b>76</b>	H	CH <sub>3</sub>	H	H	80%	<b>84</b>		Inaktiv
<b>77</b>	H	H	H	H	Inaktiv			
<b>78</b>	CF <sub>3</sub>	H	H	H	Inaktiv	<b>85</b>		Inaktiv
<b>79</b>	H	H	CF <sub>3</sub>	H	Inaktiv			
<b>80</b>	F	H	H	H	Inaktiv			
<b>81</b>	OH	H	H	H	80%			

Weiterhin wurde der Arylrest im Ganzen variiert und zunächst gegen Cyclohexan ausgetauscht (**83**), was ebenfalls Inaktivität zur Folge hatte. Im Gegensatz dazu zeigte Thiophenylderivat **82** eine vergleichbare Aktivität wie die Ausgangsverbindung **71**.

Abschließend wurde der Linker zwischen Oxadiazol und den 2-Chlorobenzen um eine Methylgruppe verlängert (**84**), was zu einem Verlust der Aktivität führte. Auch die Verlängerung der Essigsäure zur Propionsäure (**85**) führte zu Inaktivität.

## 4. Diskussion

Ziel der Arbeit war die Entwicklung von neuen COX-2 Liganden mit Hilfe von etablierten in silico Methoden aus der Bio- und Chemieinformatik. Der erste Schritt einer solchen Wirkstoffentwicklung umfasst die Analyse der Tertiärstruktur des Targets, genauer gesagt die Analyse des aktiven Zentrums. Aufgrund des Fehlens einer Kristallstruktur der hCOX-2 wurde daher mit der Entwicklung eines Homologie Modells begonnen. Die Wahl des Templates für das Homologie Modell stellt dabei einen sehr wichtigen Schritt dar, da dieser die Qualität des Modells beeinflusst. Besonderes Augenmerk sollte dabei auf das aktive Zentrum geworfen werden, welches für die Modellierung neuer Verbindungen genutzt werden soll. Die Sequenzen dieses Abschnittes sollten sich so wenig wie möglich unterscheiden. Für die vorliegende Studie wurden die Sequenzen der mCOX-2 Kristallstrukturen aus der PDB mit der Sequenz der hCOX-2 verglichen. Dabei wurden die Sequenzen mit der größten Ähnlichkeit ausgewählt. Beim Vergleich der jeweiligen Tasche der beiden Sequenzen wurden keine großen Unterschiede festgestellt, sodass sich die mCOX-2 Kristallstrukturen als Template sehr gut eigneten. Dies bestätigte sich später ebenfalls in den guten Validierungsergebnissen des Modells.

Im Laufe der Arbeit wurde das Homologie Modell für Docking-Studien verwendet, um die entwickelten Verbindungen zu analysieren. Je nach Kristallstruktur oder Modell können Docking-Studien sehr hilfreich bei der Untersuchung des Bindungsmodus der Liganden und damit für die Erklärung ihrer biologischen Aktivität sein. Man muss jedoch bedenken, dass die Ergebnisse der Docking-Studien immer sehr stark von der Kristallstruktur oder dem Modell abhängen. Die besten Resultate kann man mit Kristallstrukturen erzielen, bei denen der Ligand mit der zu analysierenden Verbindung die größte Ähnlichkeit aufweist.

Für das Design von neuen Verbindungen wurde das Programm DOGS verwendet, welches nicht nur neue Verbindungen, sondern auch deren Syntheseweg inklusive der benötigten Edukte vorschlägt. Dies ist eine gute Ausgangssituation, denn nicht immer ist eine designte Verbindung auch synthetisch leicht zugänglich.

Im Fall von Verbindung **22** wurde der Synthesevorschlag von DOGS ohne Änderungen übernommen. Die Edukte waren kommerziell erwerbbar und die Synthese gelang ohne weitere Probleme. Dieser Fall zeigt, wie ein automatisiertes Programm in der Lage sein kann, selbstständig ein vollständiges Design zu übernehmen. Die Verbindung beinhaltet einige Teilstrukturen von Celecoxib und konnte trotz der fehlenden Sulfonamidgruppe die COX-2 mit

moderater Potenz inhibieren. Aufgrund der Größe der Verbindung in Relation zu ihrer Aktivität, wurde diese Verbindung jedoch nicht weiter verfolgt.

Die Ergebnisse von DOGS müssen aber nicht zwingend unverändert übernommen werden. Man kann sowohl an der Synthese als auch an der Verbindung Variationen durchführen, wie im Fall von Verbindung **87**. Bei diesem Ansatz wurde die Verbindung in einer Docking-Studie am Homologie Modell analysiert und im Anschluss mit Hilfe von LigX variiert und optimiert. Auch dieser Ansatz führte am Ende zu positiven Resultaten.

Solche Variationen einer Verbindung wie im Fall von Verbindung **87** können aus verschiedenen Überlegungen sinnvoll sein.

Der erste Grund für die weitere Optimierung von **87** war die druglikeness. Bei der freien Aldehyd-Gruppe in der Verbindung handelt es sich um eine relativ reaktive funktionelle Gruppe, die sowohl in der Synthese, als auch im Organismus mit verschiedenen anderen Verbindungen interagieren und auf diese Weise Schäden anrichten kann. Solche freien funktionellen Gruppen sollte man von Anfang an vermeiden, weshalb die Aldehydfunktion im weiteren Design ersetzt, bzw. entfernt wurde.

Der zweite Grund lag in der Formulierung der Ziele. Die neuen Leitstrukturen sollten sich in ihrer Form von den bisherigen Coxiben unterscheiden und wenn möglich einen bioisoteren Ersatz für das Sulfonamid finden. Aus diesen Gründen wurde Verbindung **87** schrittweise verändert und Verbindungen **71**, **85** und **86** entwickelt.

An diesen zwei unterschiedlichen Ansätzen ließ sich zeigen, wie Computer unterstützte Methoden in der Wirkstoffentwicklung eingesetzt werden können. Es geht dabei nicht um die völlige Automatisierung des Prozesses, sondern um die Kombination der Stärken von Computer unterstützen und rationalen Methoden.

Bei den Verbindungen **71**, **85** und **86** handelt es sich um Oxadiazole, welche anstelle der Sulfonamidgruppe eine Carbonsäure als polare Gruppe besitzen. Gleich zwei der oberen drei Verbindungen zeigten eine moderate Inhibition der COX-2, weshalb die Verbindungsklasse genauer untersucht wurde.

Um Verbindung **71** weiter zu analysieren, wurden in einer kleinen SAR-Studie einige Derivate synthetisiert wobei der Einfluß von Substituenten am Benzenring im Vordergrund stand. Es konnte gezeigt werden, dass die Position der Substituenten einen Einfluß auf die Aktivitäten hat. Vor allem Verbindungen mit Substituenten an ortho Positionen waren aktiv, während para-substituierte Derivate die COX-2 nicht hemmen konnten. Dies lässt sich mit dem Bindemodus von Diclofenac gut erklären: Im hinteren Bereich der Verbindung besteht kein größerer Spielraum mehr für Substituenten an para Position, was zu einem negativen Einfluß auf den



Bindemodus führen kann. Auch die Verbindungen mit einem ortho substituerten Benzenring, die über einen Linker verlängert wurden, zeigten dementsprechend keine Aktivitäten (**84**, **85**). Anhand Verbindung **71** konnte gezeigt werden, welche Effekte kleine Änderungen an COX-2 Liganden haben können. Setzt man die Größe der Substanzen in Relation mit deren Aktivität, dann steckt in dieser Klasse von Verbindungen noch einiges an Potential. Eine Möglichkeit die Substanzklasse weiter zu optimieren, könnte darin liegen, sie an der Position des Chloratoms zu vergrößern, ähnlich wie es bei der Verbindung **86** der Fall ist. Über diesen Weg könnte ein COX-2 Liganden gefunden werden, bei dem die Sulfonamidgruppe gegen eine Carbonsäure ausgetauscht wird, was zu geringeren Nebenwirkungen führen könnte.

In einer zweiten Studie wurde für DOGS eine neue Verbindung als Input ausgewählt. Dafür wurde aus der Literatur die Verbindung **APHS** ausgewählt, welche in der Lage ist, selektiv die COX-2 zu acetylieren. Mit Hilfe von DOGS sollte eine neue Verbindung mit ähnlichen Eigenschaften gefunden werden. Die erste Problematik bei diesem Versuch stellte sich in der Vielzahl an Derivaten heraus, welche veröffentlicht und patentiert sind. Zudem handelte es sich bei **APHS** um eine kleine Verbindung, die nicht viel Variationsspielraum zuließ. Eben diese Probleme spiegelten sich auch bei der Verwendung von DOGS wider.

Daher hat der DOGS-basierte Versuch **APHS** zu optimieren gezeigt, dass sich Computer unterstützte Methoden nicht in jedem Fall einsetzen lassen, sondern von Fall zu Fall angepasst werden müssen.

Nachdem aus der Verbindung **APHS** keine neue aktive Verbindung entwickelt werden konnte, wurde eine Verbindung erforscht, welche ähnliche Eigenschaften wie die **ASS** hat und eine Acetylgruppe aufweist. Ausgangspunkt für das Design war die **ASS** in der mCOX-2 Kristallstruktur 1PTH. Die Kristallstruktur stellte sich aber schnell als problematischer Ausgangspunkt heraus, weil sie bereits acetyliert vorliegt und als Liganden nur noch die Salicylsäure (**SA**) enthält. Ein Rezeptor-basierter Ansatz erwies sich daher als schwierig, denn durch die Acetylierung und die Interaktion mit der **SA** besitzt die Kristallstruktur wahrscheinlich eine andere Konformation, als bei der Wechselwirkung mit **ASS**. Aus diesem Grund wurde zusätzlich eine Docking-Studie der **ASS** am Homologie Modell durchgeführt, um die schrittweise Optimierung der Verbindung in diesem Modell vollziehen zu können. Dabei wurden die Informationen aus dem Bindungsmodus der **SA** mit berücksichtigt.

Im ersten Schritt der SAR-Studien zu diesem Projekt wurde die Carbonsäure der **ASS** gegen ein Keton ausgetauscht (**9**), was zu einem vollständigen Verlust der Aktivität führte. Es ließ sich hierbei nicht genau erklären, ob dieser Aktivitätsverlust auf die Verschiebung der Acetylgruppe zurückzuführen ist. Festhalten lässt sich jedoch, dass die Carbonylgruppe in

Kombination mit der ortho-substituierten Acetylgruppe wichtige Funktionen in der Struktur-Wirkungsbeziehung zu besitzen scheint.

Ausgehend von der **ASS** wurde auch ein Naphthalen-1-ylacetat als hCOX-2 Inhibitor identifiziert (**3**). Die Verbindung besaß interessanterweise keine azide Gruppe und als funktionelle Gruppe nur die Acetylfunktion. Wie *Kalgutkar et al.* schon zeigen konnten sind azide polare Gruppen für die Inhibition nicht zwingend notwendig. Die COX-2 kann allein durch die Acetylierung von Ser530 durch den Liganden irreversibel inhibiert werden.

Dieses Potential liegt auch in Verbindung **3**. Zudem ist die Verbindung sehr klein, wodurch sie über Substituenten am Naphtalin vergrößert und ihre Potenz damit erhöht werden könnte.

Für die weitere Analyse wurde Naphthalin gegen Chinolin ausgetauscht, was eine Erniedrigung des logP Werts bewirkte. Diese Änderung hatte jedoch einen negativen Effekt auf die Aktivität. In verschiedenen QSAR-Studien konnte der Einfluss des logP Wertes auf die Bioaktivität statistisch nachgewiesen werden.

Partielle Reduktion zu Tetrahydronaphthalin hatte kaum einen Effekt auf den logP Wert, dafür aber umso mehr auf die räumliche Orientierung. Im Gegensatz zum planaren Aromaten nimmt der gesättigte Ring mehr Raum ein, was einen negativen Effekt auf die Aktivität haben könnte. Bei in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Projekten zum Fragment-basierten Design von COX-Inhibitoren, konnte ebenfalls eine neue Verbindung entwickelt werden, die moderate Potenz an der COX-2 zeigte (**35**). Die Verbindung unterschied sich strukturell erheblich von den Coxiben, besitzt aber als polare Gruppe immer noch ein Sulfonamid, weshalb die SAR der Verbindung mit vier weiteren Derivaten analysiert wurde.

Im ersten Schritt wurde das Sulfonamid gegen eine Carbonsäure (**69**) und einen Carbonsäureester (**36**) ausgetauscht. Beide Verbindungen zeigten in der Folge keine Aktivität mehr, wodurch sich konkludieren lässt, dass die Sulfonamidgruppe eine wichtige Rolle spielt. Im Gegensatz zur Essigsäure in Verbindung **69** zeigte aber die Propionsäure in **37** leichte Aktivität was auf eine größere Flexibilität der längeren Carbonsäure zurückzuführen sein könnte. Durch Vergrößerung von **69** um einen Benzyl-Rest am sekundären Amin in **70** gelang eine Potenzsteigerung verglichen mit der ursprünglichen Leitstruktur **35**. Verbindung **70** stellt eine wertvolle optimierte Leitstruktur dar, welche in weiterführenden SAR-Studien analysiert und optimiert werden kann. Hier könnte man sowohl am Thiophen als auch am Benzyl-Rest einige Änderungen durchführen. **70** weist keine Sulfonamidgruppe auf und besitzt zudem nicht die typische Form der Coxibe, womit sie zwei der ursprünglich gesetzten Ziele erfüllt.

Die Verbindungsklasse der Amide (**4-11**), bei denen der Ansatz der Kopplung zweier Fragmente aus bekannten COX Liganden verfolgt wurde, zeigte keine Aktivitäten. Auch die Variation des Linkers oder die Änderung der Position der Acetylgruppe führte zu keinem positiven Effekt. Dies könnte auf den planaren Amid-Linker zurückzuführen sein, welcher die Verbindung relativ starr macht. Aus den wenigen Daten ließ sich dies jedoch nicht endgültig klären

Zusammenfassend gelang in dieser Arbeit die Identifikation von fünf neuen COX-2 Inhibitoren als wertvolle Leitstrukturen für zukünftige Projekte. Drei der aktiven Verbindungen konnten mit Hilfe von DOGS entwickelt werden und zwei mit Hilfe von rationalem Design. Die Arbeit konnte zeigen, dass beide Methoden ihre Vor- und Nachteile haben aber jeweils zu guten Ergebnissen führen können. Die besten Ergebnisse wurden jedoch erzielt, wenn die Vorteile beider Methoden, wie bei der Entwicklung von Verbindungen **70** und **71** kombiniert wurden. Vor allem die Informationen der Oxadiazole (**71**) und Verbindung **70** könnten genutzt werden, um eine neue Verbindung aus beiden Strukturen zu entwickeln. So könnte das Benzen mit der Essigsäure in Verbindung **70** mit dem Oxadiazol aus Verbindung **71** ausgetauscht werden (siehe Abb. 14). Auch könnte durch eine Optimierung von Verbindung **3** eine neue COX-2 acetylierende Verbindung zugänglich sein.

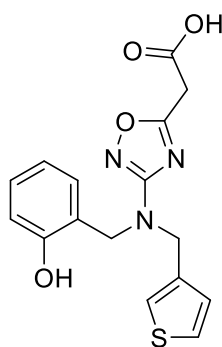


Abb. 14 Ausblick auf potentiellen COX-2 Inhibitor

## 5. Zusammenfassung

In silico Methoden spielen in der Wirkstoffentwicklung eine immer größere Bedeutung. Sie können eine große Hilfe in der Analyse des Targets oder beim Screening von neuen Liganden sein. Ihre Stärken liegen vor allem in der Zeit- und Kostenreduzierung während einer Wirkstoffentwicklung.

Ziel der Arbeit war die Entwicklung neuer COX-2 Liganden mit Hilfe von in silico Methoden. Weil von der mCOX-2 keine Kristallstruktur in der PDB publiziert war, begann die Arbeit mit der Modellierung der mCOX-2. Dafür wurde aus der Sequenz der hCOX-2 aus UniProt mit der ID P35354 mit Hilfe der Kristallstruktur 3LN1 ein Homologie Modell entwickelt und im Anschluss über eine Validierungsmethode, den Ramachandran Plot, analysiert. Der Ramachandran Plot zeigte, dass 93.7% der Aminosäuren in favorisierten Regionen, 6.1% in erlaubten Regionen, 0.2% in geduldeten Regionen und 0.0% in unerlaubten Regionen lagen. Mit diesem Modell wurde eine MD-Simulation durchgeführt, um die Energie des Modells zu minimieren.

Die neuen Verbindungen wurden über drei verschiedene Ansätze designt. Im ersten Ansatz wurde die Software DOGS verwendet. Dabei handelt es sich um ein de novo Design Programm, welches nicht nur neue Verbindungen entwickelt, sondern auch deren Syntheseweg vorschlägt. Die vorgeschlagenen Verbindungen wurden über eine Docking-Studie analysiert, wobei die Verbindungen aus Abbildung 15 identifiziert werden konnten. Verbindung **22** wurde ohne weitere Variationen synthetisiert. Die Verbindungen **71** und **86** wurden aus der modellierten Verbindung **87**, welche von DOGS vorgeschlagen wurde, weiterentwickelt. Dabei wurde Verbindung **71** als ein Fragment von Verbindung **85** entwickelt. Verbindung **86** wurde direkt aus Verbindung **87** entwickelt, wobei einige Variationen durchgenommen wurde. Hierbei sollte vor allem die Form von Verbindung **87** beibehalten werden.

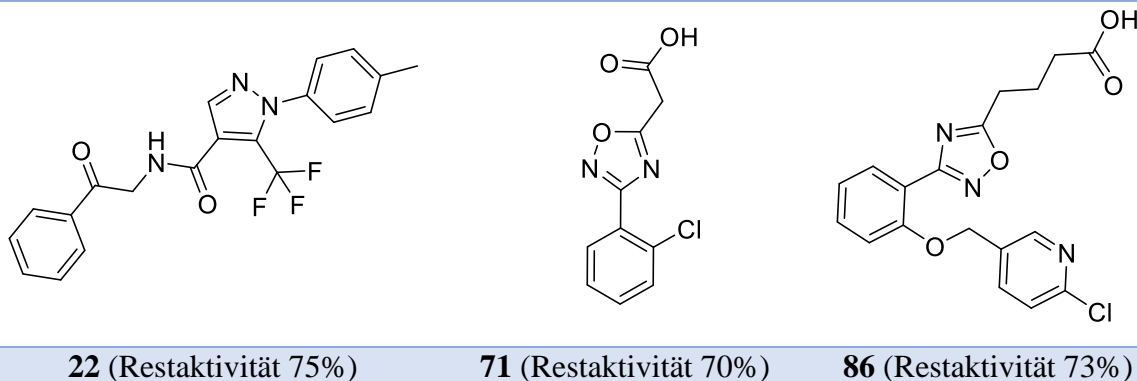


Abb.15 zeigt die drei aus DOGS entwickelten Verbindungen mit deren Restaktivität an der COX-2 bei 30µM. Im zweiten Ansatz wurde der reine rationale Design-Ansatz verfolgt und Informationen aus der Literatur verwendet, um ausgehend von den Verbindungen **APHS** und **ASS** neue COX-2

Inhibitoren zu entwickeln (siehe Abb. 16). Dabei wurden mehrere Verbindungen designt, wovon Verbindung **3** als ein leichter Inhibitor identifiziert werden konnte. **3** enthält keine für COX-Inhibitoren typische polare Gruppe, besitzt dafür aber eine Acetylgruppe, die gemäß in silico Untersuchungen in der Lage sein könnte, Ser530 in COX-2 zu acetylieren.

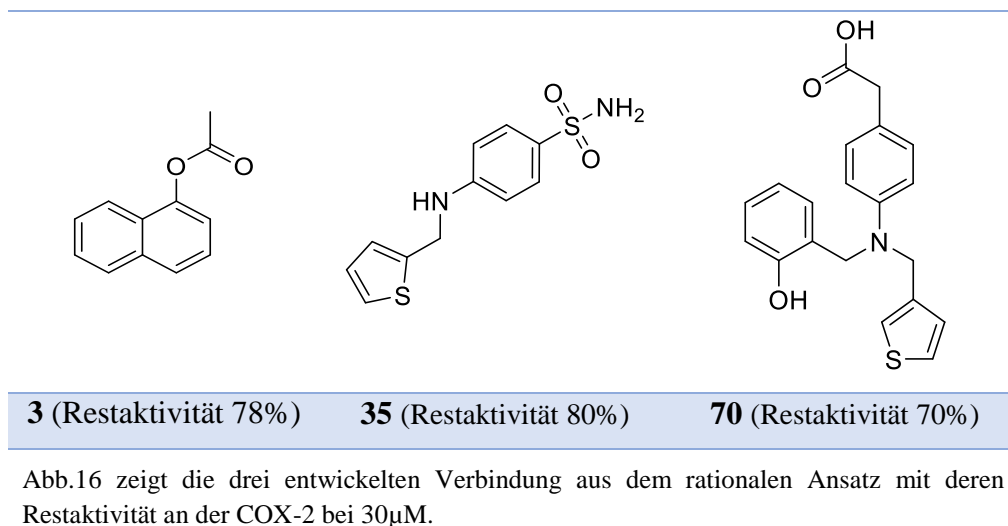


Abb.16 zeigt die drei entwickelten Verbindung aus dem rationalen Ansatz mit deren Restaktivität an der COX-2 bei 30 $\mu$ M.

In der letzten Studie wurden mit Hilfe eines Fragment-basierten Designs neue Verbindungen entwickelt, wobei das Benzensulfonamid von Celecoxib aus der Kristallstruktur 1PTH extrahiert und mit kleinen Fragmente verknüpft wurde, welche zuvor über eine Docking-Studie analysiert wurden. Hieraus entwickelte sich Verbindung **35**, die in einer kleinen SAR-Studie zu **70** optimiert werden konnte. Dabei konnte das Sulfonamid, welches typisch für Coxibe ist, gegen eine Carbonsäure ausgetauscht werden (**69**). Erst durch eine Vergrößerung der Verbindung um einen Benzyl-Rest am sekundären Amin von **69** führte zur potenten Verbindung **70**.

Zusammenfassend konnten in dieser Arbeit fünf neue COX-2 Inhibitoren als Leitstrukturen entwickelt werden. Dabei kamen fortschrittliche in silico Methoden wie die De-Novo Design Software DOGS aber auch rationale Designmethoden zum Einsatz. Beide Methoden boten Vor- und Nachteile und haben jeweils zu guten Ergebnissen geführt. Bei der Entwicklung der vielversprechendsten Leitstrukturen **70** und **71** wurden die Vorteile beider Ansätze kombiniert.

## 6. Experimenteller Teil

### 6.1 Molekulare Modellierung

#### 6.1.1 Modellierung der Tertiärstruktur der humanen COX-2

Das Homologie Modell wurden mit der Software Modeller 9v8 entwickelt. Die Sequenz der hCOX-2 mit der ID P35352, wurde aus der UniProt Datenbank entnommen. Für die Wahl des Template wurden alle COX-2 Kristallstrukturen aus der PDB entnommen und über ein multiples Alignment verglichen. Für das multiple Alignment wurde die Software Clustal 2.1 genutzt.

Die Mutationen der sechs besten Sequenzen wurden genauer analysiert, wobei besonders auf das aktive Zentrum besonders geachtet wurde. Mit Hilfe der Validierungssoftware Procheck, wurden die sechs Kristallstrukturen analysiert. Zum Schluss blieb die Kristallstruktur 3LN0 übrig, die als Template für das Modell genutzt worden ist.

Das Skript mit den jeweilig vorgenommenen Einstellungen für Modeller 9v8 ist dem Anhang 12.4 zu entnehmen. Das fertige Modell wurde wieder mit Hilfe von Procheck validiert. Das Template und das Modell wurden übereinander gelegt und die Helices und  $\beta$ -Faltblätter analysiert. Ein besonderes Augenmerk wurde auf das aktive Zentrum gelegt.

Im Anschluss zum Homologie Modell wurde mit der Software Nanoscale Molecular Dynamics program (NAMD v2.9) eine MD Simulation durchgeführt, um das Modell zu optimieren. Das Skript mit den jeweilig vorgenommenen Einstellungen kann dem Anhang 12.5 entnommen werden.

#### 6.1.2 Docking-Studien

Die Docking-Studien wurden mit der Software Molecular Operating Environment (MOE) (Version 2012.10; The Chemical Computing Group, Montreal, Canada) durchgeführt. Für das Docking wurde das Homologie Modell der hCOX-2 genutzt. Die 3D-Struktur wurde mit Protonate 3D vorbereitet und das aktive Zentrum mit Hilfe von MOE Site Finder isoliert. Die Strukturen wurden mit der Triangle Matcher Methode in die Tasche platziert und mit der London dG scoring Funktion geordnet. Für die Energie Minimierung der Tasche wurde MOE Forcefield Refinement genutzt und mit Hilfe der GBVI/WSA dG scoring Funktion geordnet.

## 6.2 Chemie

### 6.2.1 Materialien und Geräte

#### **Chemikalien**

Die verwendeten Chemikalien wurden von den Firmen *Sigma Aldrich*, *Alfa Aesar* und *Acros* bezogen und ohne weitere Aufreinigung in den Synthesen eingesetzt.

#### **Lösungsmittel**

Für die Synthesen wurden, wenn nicht anders angegeben, Lösungsmittel der Reinheit p.a. verwendet. Die Lösungsmittel wurden von den Firmen *Aldrich* und *Acros* bezogen. Für die Säulenchromatographie wurden technische Lösungsmittel verwendet.

#### **Eingesetzte Lösungsmittel für die Chromatographie:**

Hexan: technische Qualität

Essigsäureethylester: technische Qualität

#### **Dünnschichtchromatographie**

Für die Dünnschichtchromatographie wurden mit Kieselgel 60 F<sub>254</sub> beschichtete Aluminiumfolien der Firma *Merck* (Schichtdicke: 0.2 mm) verwendet. Die Detektion erfolgte mit einer UV-Lampe bei einer Wellenlänge von 254 nm und 366 nm.

#### **Säulenchromatographie**

Die präparative Säulenchromatographie erfolgte mit Kieselgel 60 der Firma *Merck* mit der Korngröße 0.040 – 0.063 mm.

#### **Kernresonanzspektroskopie**

NMR-Spektren wurden auf den Spektrometern AM 250 mit einem BBI-Probenkopf und AV 400 mit einem BBO-Probenkopf gemessen. Beide Geräte stammen von der Firma *Bruker*. Die Messungen fanden bei Raumtemperatur statt. Die Verschiebungen  $\delta$  sind in [ppm] und die Kopplungskonstanten  $J$  in [Hz] angegeben. Für <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-Spektroskopie wurde das deuterierte Lösungsmittel als interner Standard verwendet. Die Auswertung der Spektren erfolgte mit der Software „MestReNova“.

Die Multipletts werden im nachfolgenden wie folgt bezeichnet: s = Singulett, d = Duplett, t = Triplett, q = Quartett, qi = Quintett, m = Multiplett

### Massenspektrometrie (MS)

Die Massenspektren wurden am Institut für organische Chemie der Goethe-Universität Frankfurt aufgenommen. Verwendete Methode war die Elektronensprayionisation (ESI), die im negativen (ESI-) oder positiven Modus (ESI+) auf dem Gerät Fisous Instruments VG Platform 2 durchgeführt wurde.

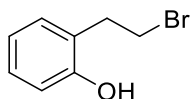
### Elementaranalysen (EA)

Die Elementarzusammensetzung der Substanzen wurde ebenfalls vom Institut für organische Chemie der Goethe-Universität Frankfurt untersucht. Dabei wurde entweder das Gerät Foss Heraus CHN-O-Rapid oder Elementar Vario Micro Cube verwendet.

## 6.2.2 Bromierung von Alkoholen

### Charakterisierung von 2-(2-Bromoethyl)phenol 1 (RC51)

Strukturformel: C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>BrO; Aussehen: farbloses Öl (kristallisiert aus)



Zum 2-(2-Hydroxyethyl)phenol (1.5 g, 10.9 mmol) wurde das HBr (14 g, 174 mmol) hinzugefügt und auf 80°C für 12 Stunden erhitzt. Das Produkt wurde mit Dichlormethan extrahiert und mit MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das orangene Öl wurde über Säulenchromatographie aufgearbeitet (n-hexane/Ethylacetat (EtOAc), 10:1 v/v). Die Ausbeute beträgt 1.15 g (50%).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 3.07 (t, 2H, CH<sub>2</sub>-Br, <sup>3</sup>J=7.59 Hz), 3.66 (t, 2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J=7.34 Hz), 6.74 (dt, 1H, Ph-H<sub>4</sub>, <sup>3</sup>J=7.39 Hz, <sup>4</sup>J=1.21 Hz), 6.81 (dd, 1H, Ph-H<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J=8.02 Hz, <sup>4</sup>J=1.12 Hz), 7.08 (dt, 2H, Ph-H<sub>5</sub>, <sup>3</sup>J=7.4 Hz, <sup>4</sup>J=1.79 Hz), 6.81 (dd, 1H, Ph-H<sub>6</sub>, <sup>3</sup>J=7.76 Hz, <sup>4</sup>J=1.58 Hz), 9.50 (s, 1H, OH); <sup>13</sup>C-NMR (63MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 33.00 (CH<sub>2</sub>-Br), 33.78 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 115.03 (PH-C<sub>6</sub>), 118.87 (Ph-C<sub>4</sub>), 124.82 (C<sub>2</sub>), 127.86 (Ph-C<sub>5</sub>), 130.48 (Ph-C<sub>3</sub>), 155.25 (Ph-C<sub>1</sub>).



### 6.2.3 Acetylierung von Alkoholen

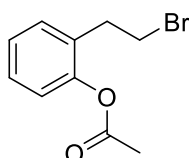
#### Generelle Synthesevorschrift der Acetylierung

**Methode 1:** Das Essigsäureanhydrid (1.2 eq) wurde zum Phenolderivat (1.0 eq) hinzugegeben. Zu der Lösung wurde in katalytischer Menge konzentrierte Schwefelsäure (0.02 eq) vorsichtig hinzugegeben. Die Lösung wurde vorsichtig auf 90°C erhitzt und für 2h gerührt. Zur Reaktion wurde H<sub>2</sub>O (30 ml) hinzugegeben und das Produkt wurde zweimal mit EtOAc (30 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde getrocknet (MgSO<sub>4</sub>), filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das orangene Öl wurde über Säulenchromatographie aufgearbeitet.

**Methode 2:** Der Alkohol (1.0 eq) wurde in 1M NaOH (30 ml) gelöst und für eine halbe Stunde bei 0°C gerührt. Zur kühlen Lösung wurde das Essigsäureanhydrid (2.0 eq) hinzugegeben und für eine weitere halbe Stunde gerührt. Nach Ablauf der Reaktion wurde 1M HCl zur Lösung gegeben, bis der pH-Wert auf 1 gesunken ist. Das Produkt wurde zweimal mit EtOAc (30 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde getrocknet (MgSO<sub>4</sub>), filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das orangene Öl wurde über Säulenchromatographie aufgearbeitet.

#### Charakterisierung von 2-(2-Bromoethyl)phenylacetat 2 (RC52)

Strukturformel: C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>O<sub>2</sub>Br; Aussehen: farbloses Öl (kristallisiert aus)



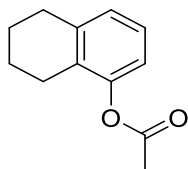
**Methode 1:** E1: Essigsäureanhydrid (550 mg, 5.4 mmol); E2: 2-(2-Bromoethyl)phenol (900 mg, 4.5 mmol); E3: konzentrierte Schwefelsäure (10 mg, 0.02 mmol); Säulenchromatographie: (n-hexane/EtOAc, 10:1 v/v). Die Ausbeute beträgt 700 mg (64%).

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 2.31 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.04 (t, 2H, CH<sub>2</sub>-Br, <sup>3</sup>J=7.22 Hz), 3.65 (t, 2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J=7.18 Hz), 7.11 (dd, 1H, Ph-H3, <sup>3</sup>J=7.84 Hz, <sup>4</sup>J=1.24 Hz), 7.23 (dt, 1H, Ph-H4, <sup>3</sup>J=7.47 Hz, <sup>4</sup>J=1.47 Hz), 7.31 (dt, 1H, Ph-H5, <sup>3</sup>J=7.87 Hz, <sup>4</sup>J=1.89 Hz), 7.34 (dd, 1H, Ph-H6, <sup>3</sup>J=7.36 Hz, <sup>4</sup>J=0.52 Hz); <sup>13</sup>C-NMR (63MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 20.63 (CH<sub>3</sub>), 32.58 (CH<sub>2</sub>-Br), 32.72 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 122.62 (PH-C<sub>6</sub>), 125.91 (Ph-C<sub>4</sub>), 127.96 (C<sub>2</sub>), 130.52 (Ph-C<sub>5</sub>), 130.66 (Ph-C<sub>3</sub>), 148.82 (Ph-C<sub>1</sub>), 169.16 (OOC).

#### Charakterisierung von Chinolin-8-yl-acetat 3 (SC85) siehe Masterarbeit von Sun-Yee Cheung <sup>113</sup>

#### Charakterisierung von 5,6,7,8-Tetrahydronaphthalen-1-yl-acetat 4 (RC148)

Strukturformel: C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>; Aussehen: weißer Feststoff



**Methode 1:** E1: 5,6,7,8-Tetrahydronaphthalen-1-ol (520 mg, 3.5 mmol), E2: Essigsäureanhydrid (430 mg, 4.21 mmol) E3: konz. Schwefelsäure (3.4 mg, 0.04 mmol). Die Ausbeute beträgt 320 mg (48 %).

$^1\text{H-NMR}$  (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 1.69 (q, 4H, Cyclohexan-H<sub>3</sub>+H<sub>4</sub>,  $^3J=3.10$  Hz), 2.25 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.45 (t, 2H, Cyclohexan-H<sub>5</sub>), 2.72 (t, 2H, Cyclohexan-H<sub>2</sub>), 6.83 (d, 1H, Ph-H<sub>4</sub>,  $^3J=7.69$ ), 6.96 (d, 1H, Ph-H<sub>6</sub>,  $^3J=7.69$  Hz), 7.09 (t, 1H, Ph-H<sub>5</sub>,  $^3J=7.47$  Hz);  $^{13}\text{C-NMR}$  (63MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 20.48 (CH<sub>3</sub>), 21.91 (Cyclohexan-C<sub>4</sub>), 22.20 (Cyclohexan-C<sub>5</sub>), 22.70 (Cyclohexan-C<sub>2</sub>), 28.69 (Cyclohexan-C<sub>6</sub>), 119.10 (Ph-C<sub>6</sub>), 125.84 (Ph-C<sub>4</sub>), 126.48 (Ph-C<sub>5</sub>), 128.92 (Ph-C<sub>2</sub>), 138.57 (Ph-C<sub>3</sub>), 148.85 (Ph-C<sub>1</sub>), 168.89 (OOC); MS (ESI +): m/z: 191.1 [M+1]<sup>+</sup>; Anal. calcd for C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>: C 75.76, H 7.42 found: C 75.94, H 7.57.

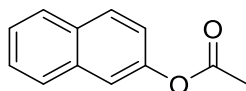
**Charakterisierung von Chinolin-8-yl-acetat 5 (SC83) siehe Masterarbeit von Sun-Yee Cheung <sup>113</sup>**

**Charakterisierung von Chinolin-6-yl-acetat 6 (SC77) siehe Masterarbeit von Sun-Yee Cheung <sup>113</sup>**

**Charakterisierung von (Acetoxy)[2-(acetoxy)phenyl]methylacetat 7 (SC51) siehe Masterarbeit von Sun-Yee Cheung <sup>113</sup>**

**Charakterisierung von Naphthalen-2-yl-acetat 8 (RC149)**

Strukturformel: C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>; Aussehen: weißer Feststoff

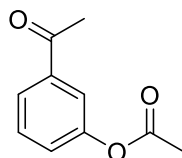


**Methode 1:** E1: Naphthalen-2-ol (520 mg, 3.6 mmol), E2: Essigsäureanhydrid (440 mg, 4.3 mmol) E3: konz. Schwefelsäure (3.5 mg, 0.04 mmol). Die Ausbeute beträgt 480 mg (72 %).  $^1\text{H-NMR}$  (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 2.34 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 7.33 (dd, 1H, naphthalen-H<sub>8</sub>,  $^3J=8.97$ ,  $^4J=2.93$  Hz), 7.55 (m, 2H, naphthalen-H<sub>6</sub>+H<sub>7</sub>), 7.68 (ds, 1H, naphthalen-H<sub>1</sub>,  $^4J=2.10$  Hz), 7.95 (m, 3H, naphthalen-H<sub>3</sub>+H<sub>4</sub>+H<sub>5</sub>);  $^{13}\text{C-NMR}$  (63MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 20.87 (CH<sub>3</sub>), 118.47 (naphthalen-C<sub>8a</sub>), 121.62 (naphthalen-C<sub>8</sub>), 125.75 (naphthalen-C<sub>4</sub>), 126.63 (naphthalen-C<sub>4a</sub>), 127.42 (naphthalen-C<sub>5</sub>), 127.64 (naphthalen-C<sub>6</sub>), 129.24 (naphthalen-C<sub>7</sub>), 130.94 (naphthalen-

C3), 133.30 (naphthalen-C1), 148.17 (naphthalen-C2), 169.36 (OOC); MS (ESI +): m/z: 187.3 [M+1]<sup>+</sup>; Anal. calcd for C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>: C 77.40, H 5.41 found: C 77.49, H 5.58.

### Charakterisierung von 3-acetylphenyl acetat 9 (RC153)

Strukturformel: C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>; Aussehen: weißer Feststoff

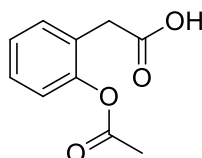


**Methode 1:** E1: 1-(3-Hydroxyphenyl)ethanon (500 mg, 3.7 mmol), E2: Essigsäureanhydrid (450 mg, 4.4 mmol) E3: konz. Schwefelsäure (3.7 mg, 0.04 mmol). Die Ausbeute beträgt 510 mg (78 %).

<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 2.28 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.57 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.32 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.40 (m, 1H, Ph-H<sub>4</sub>), 7.56 (t, 1H, Ph-H<sub>5</sub>, <sup>3</sup>J=7.67 Hz), 7.67 (s, 1H, Ph-H<sub>2</sub>, <sup>4</sup>J=1.89 Hz), 7.85 (m, 1H, Ph-H<sub>6</sub>); MS (ESI -): m/z: 177.1 [M-1]<sup>-</sup>.

### Charakterisierung von 2-[2-(Acetyloxy)phenyl]essigsäure 10 (RC90)

Strukturformel: C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>; Aussehen: farbloses Öl (kristallisiert aus)

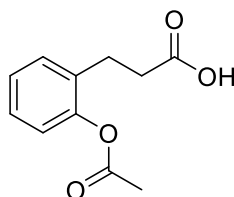


**Methode 2:** E1: 2-(2-Hydroxyphenyl)essigsäure (1 g, 6.6 mmol); E2: Essigsäureanhydrid (1.4 g, 13.2 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 1:1 v/v). Die Ausbeute beträgt 1.1 g (89%).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 2.25 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.48 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.11 (dd, 1H, Ph-H<sub>6</sub>, <sup>3</sup>J=7.93 Hz, <sup>4</sup>J=1.37 Hz), 7.21 (dt, 1H, Ph-H<sub>5</sub>, <sup>3</sup>J=7.29 Hz, <sup>4</sup>J=1.35 Hz), 7.31 (dt, 1H, Ph-H<sub>4</sub>, <sup>3</sup>J=7.50 Hz, <sup>4</sup>J=1.86 Hz), 7.35 (dd, 1H, Ph-H<sub>6</sub>, <sup>3</sup>J=7.23 Hz, <sup>4</sup>J=1.98 Hz); <sup>13</sup>C-NMR (126MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 21.07 (CH<sub>3</sub>), 35.83 (CH<sub>2</sub>), 115.21 (Ph-C<sub>4</sub>), 119.12 (Ph-C<sub>3</sub>), 122.31 (Ph-C<sub>5</sub>), 128.24 (Ph-C<sub>2</sub>), 131.51 (Ph-C<sub>6</sub>), 149.45 (Ph-C<sub>1</sub>), 155.85 (OOC), 173.26 (COOH); MS (ESI +): m/z: 217.1 [M+Na+1]<sup>+</sup>.

### Charakterisierung von 3-(2-acetoxyphenyl)propionsäure 11 (RC99)

Strukturformel: C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>; Aussehen: farbloses Öl (kristallisiert aus)

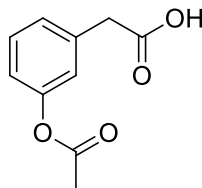


**Methode 2:** E1: 3-(2-Hydroxyphenyl)propionsäure (2 g, 12.0 mmol); E2: Essigsäureanhydrid (1.5 g, 14.4 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 1:1 v/v). Die Ausbeute beträgt 1.1 g (89%).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 2.23 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.48 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-COOH), 2.68 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-COOH), 3.48 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.71 (m, 1H, Ph-H<sub>3</sub>), 7.15 (m, 2H, Ph-H<sub>4+5</sub>), 7.26 (m, 1H, Ph-H<sub>6</sub>), 12.0 (s, 1H, COOH); MS (ESI +): m/z: 209.3 [M+1]<sup>+</sup>.

### Charakterisierung von 2-[3-(Acetyloxy)phenyl]essigsäure 12 (RC100)

Strukturformel: C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>; Aussehen: farbloses Öl (kristallisiert aus)

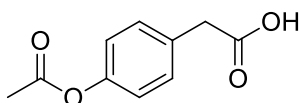


**Methode 2:** E1: 2-(Hydroxyphenyl)essigsäure (2 g, 13 mmol); E2: Essigsäureanhydrid (1.6 g, 15.8 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 1:1 v/v). Die Ausbeute beträgt 1.2 g (47%).

<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 2.27 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.60 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.03 (d, 1H, Ph-H<sub>6</sub>, <sup>3</sup>J=8.18 Hz), 7.04 (s, 1H, Ph-H<sub>2</sub>), 7.17 (d, 1H, Ph-H<sub>4</sub>, <sup>3</sup>J=7.59 Hz), 7.35 (t, 1H, Ph-H<sub>5</sub>, <sup>3</sup>J=7.83 Hz), 12.41 (s, 1H, COOH); <sup>13</sup>C-NMR (126MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 21.31 (CH<sub>3</sub>), 40.69 (CH<sub>2</sub>), 120.56 (Ph-C<sub>4</sub>), 123.16 (Ph-C<sub>2</sub>), 127.35 (Ph-C<sub>6</sub>), 129.64 (Ph-C<sub>5</sub>), 137.10 (Ph-C<sub>3</sub>), 150.83 (Ph-C<sub>1</sub>), 169.67 (OOC), 172.84 (COOH); MS (ESI -): m/z: 192.5 [M-1]<sup>-</sup>.

### Charakterisierung von 2-[4-(Acetyloxy)phenyl]essigsäure 13 (RC101)

Strukturformel: C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>; Aussehen: farbloses Öl (kristallisiert aus)

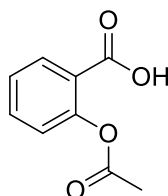


**Methode 2:** E1: 2-(4-Hydroxyphenyl)essigsäure (2 g, 13 mmol); E2: Essigsäureanhydrid (1.6 g, 15.8 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 1:1 v/v). Die Ausbeute beträgt 1.7 g (67%).

$^1\text{H-NMR}$  (500MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 2.26 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.59 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.07 (d, 1H, Ph-H2+6,  $^3J=8.27$  Hz), 7.29 (d, 1H, Ph-H3+5,  $^3J=8.09$  Hz), 12.38 (s, 1H, COOH);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 21.31 ( $\text{CH}_3$ ), 40.69 ( $\text{CH}_2$ ), 122.02 (Ph-C3+5), 130.90 (Ph-C2+6), 133.01 (Ph-C4), 149.66 (Ph-C1), 169.75 (OOC), 173.12 (COOH); MS (ESI -): m/z: 192.7 [M-1]-.

### Charakterisierung von 2-(Acetyloxy)benzoesäure 14 (RC108)

Strukturformel:  $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$ ; Aussehen: weißer Feststoff

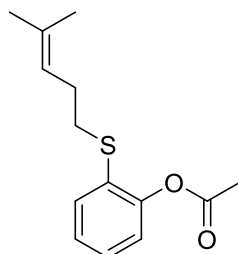


**Methode 2:** E1: 2-Hydroxybenzoic acid (1.1 g, 8.0 mmol); E2: Essigsäureanhydrid (980 mg, 9.6 mmol); Umkristallisiert mit  $\text{H}_2\text{O}$  (50 ml). Die Ausbeute beträgt 1.2 g (84%).

$^1\text{H-NMR}$  (250MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 2.25 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7.21 (dd, 1H, Ph-H3,  $^3J=8.03$  Hz,  $^4J=1.08$  Hz), 7.39 (dt, 1H, Ph-H5,  $^3J=7.53$  Hz,  $^4J=1.07$  Hz), 7.31 (dt, 1H, Ph-H4,  $^3J=7.86$  Hz,  $^4J=1.70$  Hz), 7.35 (dd, 1H, Ph-H6,  $^3J=7.74$  Hz,  $^4J=1.70$  Hz), 13.09 (s, 1H, COOH);  $^{13}\text{C-NMR}$  (75MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 21.32 ( $\text{CH}_3$ ), 124.24 (Ph-C4), 124.52 (Ph-C3), 126.53 (Ph-C5), 131.83 (Ph-C2), 134.26 (Ph-C6), 150.63 (Ph-C1), 166.06 (OOC), 169.63 (COOH); MS (ESI +): m/z: 203.4 [M+Na+1]+.

### Charakterisierung von 2-[(4-Methylpent-3-en-1-yl)thio]phenyl acetat 15 (RC156)

Strukturformel:  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_2\text{S}$ ; Aussehen: farbloses Öl



**Methode 1:** E1: RC155 (200 mg, 1.0 mmol), E2: Essigsäureanhydrid (118 mg, 1.2 mmol) E3: konz. Schwefelsäure (0.9 mg, 0.01 mmol). Die Ausbeute beträgt 190 mg (79 %).

$^1\text{H-NMR}$  (250MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 1.66 (t, 6H,  $\text{CH}_3$ ,  $^3J=6.83$  Hz), 2.27 (q, 2H,  $\text{CH}_2$ ,  $^3J=6.83$  Hz), 2.29 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.91 (q, 2H, S- $\text{CH}_2$ ,  $^3J=7.62$  Hz), 5.16 (t, 1H, CH,  $^3J=6.96$  Hz), 7.13

(m, 1H, Ph-H4), 7.26 (m, 2H, Ph-H3+5), 7.45 (m, 1H, Ph-H6); MS (ESI+): m/z: 251.4 [M+H]<sup>+</sup>.

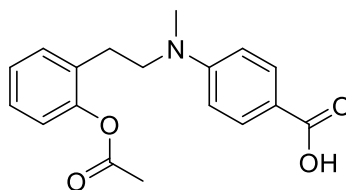
## 6.2.4 Nucleophile Substitution

### Generelle Synthesevorschrift der nucleophilen Substitution

Das Aliphat (1.2 eq) wurde zusammen mit dem CsCO<sub>3</sub> (2.4 eq) und das Nucleophil (1 eq) in Dimethylformamid (DMF) gelöst und für 5h auf 60°C erhitzt. Nach Ablauf der Reaktion wurde H<sub>2</sub>O (30 ml) hinzugegeben und das Produkt wurde zweimal mit EtOAc (30 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde getrocknet (MgSO<sub>4</sub>), filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das orangene Öl wurde über Säulenchromatographie aufgearbeitet.

### Charakterisierung von 4-({2-[2-(Acetyloxy)phenyl]ethyl}(methyl)amino)benzoesäure 16 (RC56\_1)

Strukturformel: C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>; Aussehen: weiße Kristalle

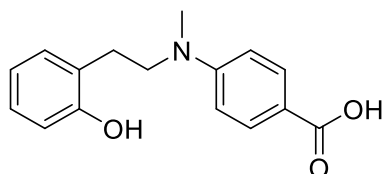


E1: RC52 (350 mg, 1.4 mmol); E2: 4-(Methylamino)benzoesäure (180 mg, 1.2 mmol); E3: CsCO<sub>3</sub> (860 mg, 2.6 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 5:1 v/v). Die Ausbeute beträgt 70 mg (19 %).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 2.32 (s, 3H, OCCH<sub>3</sub>), 2.73 (d, 3H, NCH<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J=4.86 Hz), 2.91 (t, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J=6.59 Hz), 4.32 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N, <sup>3</sup>J=6.27 Hz), 6.55 (d, 2H, Ph-H3+H5, <sup>3</sup>J=8.31 Hz), 7.11 (dd, 1H, Ph'-H3, <sup>3</sup>J=7.71 Hz, <sup>4</sup>J=1.24 Hz), 7.23 (dt, 1H, Ph'-H4, <sup>3</sup>J=7.30 Hz, <sup>4</sup>J=1.40 Hz), 7.31 (dt, 1H, Ph'-H5, <sup>3</sup>J=7.71 Hz, <sup>4</sup>J=2.1 Hz), 7.42 (dd, 1H, Ph'-H6, <sup>3</sup>J=7.17 Hz, <sup>4</sup>J=1.85 Hz), 7.68 (d, 2H, Ph-H2+H6, <sup>3</sup>J=8.81 Hz); <sup>13</sup>C-NMR (63MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 20.59 (OCCH<sub>3</sub>), 29.10 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 62.97 (CH<sub>2</sub>-N), 110.50 (PH-C3+C5), 115.57 (PH-C2+C6), 122.58 (PH'-C6), 125.94 (Ph'-C4), 127.68 (Ph'-C2), 130.16 (Ph'-C5), 130.79 (Ph'-C3), 130.94 (Ph-C4), 149.09 (Ph-C1), 153.68 (Ph-C1), 165.81 (OOC), 169.27 (COOH); MS (ESI+): m/z: 314 [M+H]<sup>+</sup>; Anal. calcd for C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>: C 68.99, H 6.11, N 4.47, found: C 68.86, H 6.08, N 4.36.

### Charakterisierung von 4-([2-(2-Hydroxyphenyl)ethyl](methyl)amino)benzoesäure 17 (RC56\_2)

Strukturformel: C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>; Aussehen: weiße Kristalle

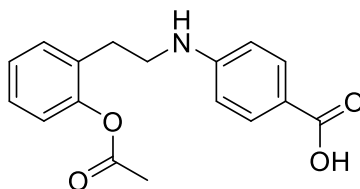


E1: RC52 (350 mg, 1.4 mmol); E2: 4-(Methylamino)benzoesäure (180 mg, 1.2 mmol); E3: CsCO<sub>3</sub> (860 mg, 2.6 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 5:1 v/v). Die Ausbeute beträgt 100 mg (27 %).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 2.73 (d, 3H, NCH<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J=4.37 Hz), 2.94 (t, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J=7.12 Hz), 4.33 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N, <sup>3</sup>J=6.91 Hz), 6.54 (d, 2H, Ph-H3+H5, <sup>3</sup>J=8.60 Hz), 6.73 (t, 1H, Ph'-H4, <sup>3</sup>J=7.02 Hz), 6.82 (d, 1H, Ph'-H3, <sup>3</sup>J=7.96 Hz), 7.04 (t, 1H, Ph'-H5, <sup>3</sup>J=7.96 Hz), 7.13 (d, 1H, Ph'-H6, <sup>3</sup>J=7.02 Hz), 7.68 (d, 2H, Ph-H2+H6, <sup>3</sup>J=8.50 Hz), 9.42 (s, 1H, OH); Anal. calcd for C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>: C 70.83, H 6.32, N 5.16, found: C 70.49, H 6.44, N 4.93.

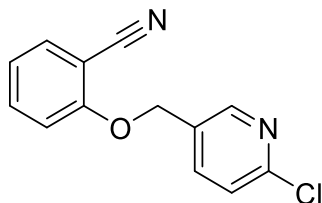
### Charakterisierung von 4-([2-[2-(acetyloxy)phenyl]ethyl]amino)benzoesäure 18 (RC74)

Strukturformel: C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>O<sub>4</sub>N; Aussehen: weiße Kristalle



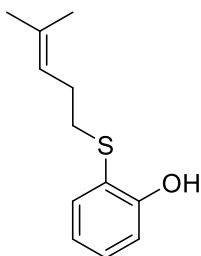
E1: RC52 (1 g, 4.1 mmol); E2: 4-(Methylamino)benzoesäure (470 mg, 3.4 mmol); E3: CsCO<sub>3</sub> (2.5 g, 7.5 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 5:1 v/v). Die Ausbeute beträgt 240 mg (23 %).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 2.32 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.90 (t, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J=6.85 Hz), 4.30 (t, 2H, CH<sub>2</sub>NH, <sup>3</sup>J=6.93 Hz), 5.98 (s, 1H, NH), 6.55 (d, 2H, Ph-H3+H5, <sup>3</sup>J=8.75 Hz), 7.11 (dd, 1H, Ph'-H6, <sup>3</sup>J=7.85 Hz, <sup>4</sup>J=1.72 Hz), 7.23 (dt, 1H, Ph'-H5, <sup>3</sup>J=7.43 Hz, <sup>4</sup>J=1.57 Hz), 7.31 (dt, 1H, Ph'-H4, <sup>3</sup>J=7.58 Hz, <sup>4</sup>J=2.14 Hz), 7.42 (dd, 1H, Ph'-H3, <sup>3</sup>J=7.21 Hz, <sup>4</sup>J=1.90 Hz); MS (ESI+): m/z: 300.7 [M+H]<sup>+</sup>; Anal. calcd for C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>O<sub>4</sub>N: C 68.21, H 5.72, N 4.68, found: C 68.18, H 5.69, N 4.72.

**Charakterisierung von 2-[(6-Chloropyridin-3-yl)methoxy]benzonitril 19 (RC146)**Strukturformel: C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>ON<sub>2</sub>Cl; Aussehen: weiße Kristalle

E1: 2-Hydroxybenzonitrile (1 g, 8.4 mmol); E2: Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3.3 g, 10 mmol); E3: 2-Chloro-5-(chloromethyl)pyridine (1.6 g, 10 mmol); Die Ausbeute beträgt 1.2 g (58 %).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 5.32 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>), 7.12 (dt, 1H, Ph-H5, <sup>3</sup>J=7.72 Hz, <sup>4</sup>J=0.83 Hz), 7.35 (d, 1H, Ph-H6, <sup>3</sup>J=8.43 Hz), 7.59 (d, 1H, Ph-H3, <sup>3</sup>J=8.27 Hz), 7.69 (dt, 1H, Ph-H4, <sup>3</sup>J=8.47 Hz, <sup>4</sup>J=1.84 Hz), 7.75 (dd, 1H, Py-H5, <sup>3</sup>J=7.63 Hz, <sup>4</sup>J=1.56 Hz), 7.95 (dd, 1H, Ph-H5, <sup>3</sup>J=8.22 Hz, <sup>4</sup>J=2.45 Hz), 8.54 (s, 1H, Py-H2, <sup>4</sup>J=2.04 Hz); MS (ESI<sup>+</sup>): m/z: 245.6 [M+H]<sup>+</sup>.

**Charakterisierung von 2-[(4-Methylpent-3-en-1-yl)thio]phenol 20 (RC155)**Strukturformel: C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>OS; Aussehen: weißer Feststoff

E1: 2-Mercaptophenol (385 mg, 3.1 mmol); E2: Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.2 g, 3.7 mmol); E3: 5-Bromo-2-methylpent-2-en (500 mg, 3.1 mmol); Die Ausbeute beträgt 575 g (90 %).

<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 1.66 (t, 6H, CH<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J=13.90 Hz), 2.21 (q, 2H, CH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J=7.08 Hz), 2.84 (q, 2H, S-CH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J=7.33 Hz), 5.18 (t, 1H, CH, <sup>3</sup>J=7.15 Hz), 6.7 (dt, 1H, Ph-H4, <sup>3</sup>J=7.48 Hz, <sup>4</sup>J=1.36 Hz), 6.81 (dd, 1H, Ph-H3, <sup>3</sup>J=8.00 Hz, <sup>4</sup>J=1.28 Hz), 7.02 (d, 1H, Ph-H5, <sup>3</sup>J=7.72 Hz, <sup>4</sup>J=1.58 Hz), 7.18 (dd, 1H, Ph-H6, <sup>3</sup>J=7.72 Hz, <sup>4</sup>J=1.68 Hz), 9.70 (s, 1H, OH); <sup>13</sup>C-NMR (126MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 18.09 (CH<sub>3</sub>), 25.96 (CH<sub>2</sub>), 31.54 (S-CH<sub>2</sub>), 68.26 (C), 115.30 (CH), 119.98 (PH-C6), 123.11 (PH-C4), 127.25 (Ph-C5), 129.64 (Ph-C3), 132.84 (Ph-C2), 155.76 (Ph-C1); MS (ESI<sup>+</sup>): m/z: 209.5 [M+H]<sup>+</sup>.



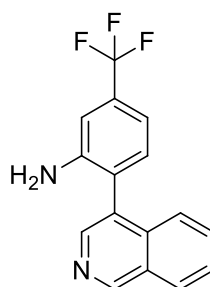
### 6.2.5 Suzuki-Kupplung

0.50 g 2-Brom-5-(trifluormethyl)anilin (2.08 mmol, 1.0 eq) werden in 10 ml Toluol/Ethanol = 5:1-Gemisch gelöst. Anschließend werden 0.43 g Isochinolin-4-boronsäure (2.5 mmol, 1.2 eq) und 2.04 g Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> hinzugefügt. Zum Schluss werden 0.24 g Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) (0.21 mmol, 0.1 eq) dazugegeben. Die Reaktion verläuft unter einer Argon-Atmosphäre, da der Katalysator luftempfindlich ist. Die Reaktionslösung wird über Nacht bei 80°C erhitzt. Der Rückstand wird mit destilliertem Wasser aufgenommen und viermal mit EtOAc extrahiert, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch aufgereinigt. Das Produkt wird bei einem Hexan/ EtOAc-Gemisch von 2 : 1 isoliert.

Als Produkt erhält man einen hellroten Feststoff. Die Ausbeute beträgt 300 mg (50 %).

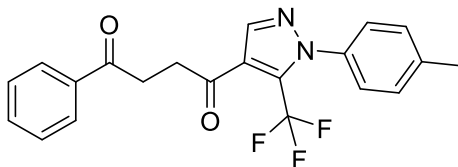
#### Charakterisierung von 2-(Isochinolin-4-yl)-5-(trifluormethyl)anilin 21 (SC13)

Strukturformel: C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>F<sub>3</sub>; Aussehen: weißer Feststoff



<sup>1</sup>H-NMR (DMSO, 250 MHz): δ [ppm] = 5.17 (s, 2H, -NH<sub>2</sub>), 6.98 (d, 1H, H1, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz), 7.16 (s, 1H, H5), 7.22 (d, 1H, H2, <sup>3</sup>J = 7.5), 7.51 (d, 1H, H21, <sup>3</sup>J = 7.5), 7.72-7.77 (m, 2H, H19+H20), 8.21-8.25 (m, 1H, H18), 8.39 (s, 1H, H12), 9.39 (s, 1H, H14); <sup>13</sup>C-NMR (DMSO, 63 MHz): δ = 110.57 (C5), 111.7 (C1), 122.32 (C15), 123.89 (C3), 124.34 (C21), 127.50 (C20), 128.12 (C18), 129.12 (C15), 129.46 (C17), 129.96 (C4), 130.84 (C19), 131.95 (C2), 133.45 (C16), 143.03 (C12), 147.34 (C7), 152.47 (C14); MS (ESI<sup>+</sup>): 289.4 [M+H]<sup>+</sup>; Anal. calcd for C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>F<sub>3</sub>: C 66.66, H 3.85, N 9.72, found: C 66.27, H 3.78, N 9.52.

## 6.2.6 Amidkupplung mit DEPC

**Charakterisierung von 1-(4-Methylphenyl)-N-(2-oxo-2-phenylethyl)-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-4-carboxamid 22 (RC55)**Strukturformel:  $C_{20}H_{16}N_3F_3O_2$ ; Aussehen: weiße Kristalle

1-(p-Tolyl)-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-4-carbonsäure (200 mg, 0.75 mmol), DEPC (185 mg, 1.14 mmol) und Triethylamin (600 mg, 6 mmol) wurden in DMF (15 ml) gelöst. Zur Lösung wurde 2-amino-1-phenylethanone (100 mg, 0.75 mmol) hinzugegeben und bei Raumtemperatur für 16h gerührt. Zur Reaktion wurde 2M HCl (20 ml) hinzugegeben und das Produkt wurde zweimal mit EtOAc (30 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde getrocknet ( $MgSO_4$ ), filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das orangene Öl wurde über Säulenchromatographie aufgearbeitet (n-hexane/EtOAc, 5:1 v/v). Die Ausbeute beträgt 120 mg (41 %).

$^1H$ -NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 2.42 (s, 3H,  $CH_3$ ), 4.81 (d, 2H,  $CH_2$ ,  $^3J=5.5$  Hz), 7.40 (s, 4H, Tol), 7.58 (t, 2H, Ph-H3+H5,  $^3J=7.73$  Hz), 7.71 (t, 1H, Ph-H4,  $^3J=7.26$  Hz), 8.06 (d, 2, Ph-H2+H6,  $^3J=7.14$  Hz), 8.20 (s, 1H, Pyr-H3), 8.96 (t, 1H, NH,  $^3J=5.54$  Hz);  $^{13}C$ -NMR (125MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 21,20 ( $CH_3$ ), 46.68 ( $CH_2$ ), 120.84 (Ph-C1), 121.05 (Tol-C1), 126.28 (Tol-C2+C3+C5+C6), 128.38 (Ph-C2+C6), 129.33 (Ph-C3+C5), 130.20 (Tol-C4), 134.11 (Ph-C4), 135.42 (Pyr-C5), 137.00 ( $CF_3$ ), 140.01 (Pyr-C3), 140.25 (Pyr-C4), 161.03 (OOC), 195.34 (CNH); MS (ESI+): m/z: 388 [ $M+H$ ] $^+$ ; Anal. calcd for  $C_{20}H_{16}N_3F_3O_2$ : C 62.01, H 4.16, N 10.85, found: C 61.62, H 4.10, N 10.72.

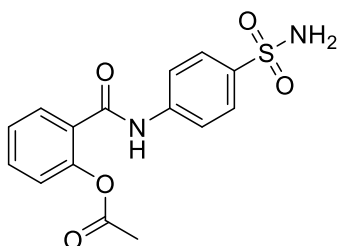
### 6.2.7 Amidsynthese über Säurechlorid

#### Gernerelle Synthese von Amiden über Säurechloride

Die Carbonsäure (1.2 eq) wurde in DCM (30 ml) unter Argonatmosphäre gelöst. Zur Lösung wird Thionylchlorid hinzugegeben (1.4 eq). Die Reaktion wurde für vier Stunden auf 40°C erhitzt. Das Lösungsmittel und die Rückstände vom Thionylchlorid wurden im Vakuum entfernt und das orangene Öl wurde in trockenem Tetrahydrofuran (THF) unter Argonatmosphäre gelöst. Zur Lösung wird Triethylamin (1 eq) hinzugegeben und 4-aminobenzenesulfonamid (1 eq). Die Reaktion wird für 12 Stunden bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und das zurückgebliebene Öl in 2M HCl (30 ml) aufgenommen. Das Produkt wird zweimal mit EtOAc (30 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde getrocknet (MgSO<sub>4</sub>), filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Feststoff wird mit Hexan und EtOAc umkristallisiert.

#### Charakterisierung von 2-[(4-Sulfamoylphenyl)carbamoyl]phenylacetat 23 (RC111)

Strukturformel: C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>S; Aussehen: weißer Feststoff

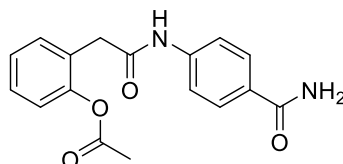


E1: RC108 (300 mg, 1.7 mmol); E2: Thionylchlorid (240 mg, 2.0 mmol); E3: Triethylamin (200 mg, 2.0 mmol); E4: 4-Aminobenzenesulfonamid (290 mg, 1.7 mmol); Die Ausbeute beträgt 350 mg (63 %).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 2.21 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 7.29 (m, 3H, Ph-H<sub>3</sub>+NH<sub>2</sub>), 7.42 (dt, 1H, Ph-H<sub>4</sub>, <sup>3</sup>J=7.53 Hz, <sup>4</sup>J=1.11 Hz), 7.62 (dt, 1H, Ph-H<sub>5</sub>, <sup>3</sup>J=7.94 Hz, <sup>4</sup>J=1.77 Hz), 7.72 (dd, 1H, Ph-H<sub>6</sub>, <sup>3</sup>J=7.62 Hz, <sup>4</sup>J=1.51 Hz), 7.80 (d, 2H, Ph'-H<sub>3</sub>+5, <sup>3</sup>J=9.01 Hz), 7.88 (d, 2H, Ph'-H<sub>2</sub>+6, <sup>3</sup>J=9.02 Hz), 10.69 (s, 2H, NH); <sup>13</sup>C-NMR (75MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 21.13 (CH<sub>3</sub>), 119.85 (Ph'-C<sub>3</sub>+C<sub>5</sub>), 123.75 (Ph-C<sub>4</sub>), 126.38 (Ph-C<sub>3</sub>), 127.08 (Ph'-C<sub>2</sub>+C<sub>6</sub>), 129.60 (Ph-C<sub>5</sub>), 129.71 (Ph-C<sub>2</sub>), 132.33 (Ph-C<sub>6</sub>), 139.28 (Ph'-C<sub>4</sub>), 142.41 (Ph'-C<sub>1</sub>), 148.49 (Ph-C<sub>1</sub>), 165.02 (OOC), 169.29 (CONH); MS (ESI<sup>+</sup>): m/z: 357.4 [M+Na+H]<sup>+</sup>; Anal. calcd for C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>S: C 53.88, H 4.22, N 8.38, S 9.59 found: C 53.48, H 4.20, N 8.14, S 9.81.

### Charakterisierung von 2-[[4-Carbamoylphenyl]carbamoyl]methyl]phenylacetat 24 (RC98):

Strukturformel: C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>; Aussehen: weißer Feststoff

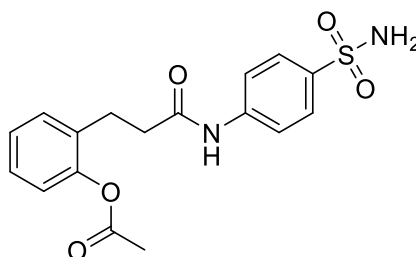


E1: RC90 (270 mg, 1.4 mmol); E2: Thionylchlorid (200 mg, 1.5 mmol); E3: Triethylamin (150 mg, 1.5 mmol); E4: 4-Aminobenzamid (210 mg, 1.5 mmol); Die Ausbeute beträgt 260 mg (60 %).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 2.24 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.65 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.12 (dd, 1H, Ph-H3, <sup>3</sup>J=7.95 Hz, <sup>4</sup>J=1.57 Hz), 7.25 (dt, 1H, Ph-H4, <sup>3</sup>J=7.30 Hz, <sup>4</sup>J=1.33 Hz), 7.33 (dt, 1H, Ph-H5, <sup>3</sup>J=7.80 Hz, <sup>4</sup>J=1.95 Hz), 7.43 (dd, 1H, Ph-H6, <sup>3</sup>J=7.41 Hz, <sup>4</sup>J=1.68 Hz), 7.43 (d, 2H, Ph'-H2+6, <sup>3</sup>J=8.65 Hz), 7.43 (d, 2H, Ph'-H3+5, <sup>3</sup>J=8.71 Hz), 10.37 (s, 2H, NH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (63MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 20.66 (CH<sub>3</sub>), 38.08 (CH<sub>2</sub>), 118.15 (Ph-C6), 122.50 (Ph-C4), 125.74 (Ph-C3), 127.88 (Ph'-C1+C6), 128.22 (Ph-C3), 128.83 (Ph-C5), 128.35 (Ph'-C3+C5), 131.51 (Ph-C6), 141.71 (Ph'-C1), 149.01 (Ph-C1), 167.34 (CONH<sub>2</sub>), 168.54 (OOC), 168.78 (CONH); MS (ESI+): m/z: 313.2 [M+H]<sup>+</sup>; Anal. calcd for C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>: C 65.38, H 5.16, N 8.97, found: C 65.22, H 5.04, N 8.93.

### Charakterisierung von 2-{2-[4-Sulfamoylphenyl]carbamoyl]ethyl}phenylacetat 25 (RC104):

Strukturformel: C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>S; Aussehen: weißer Feststoff



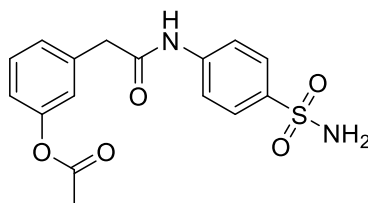
E1: RC99 (300 mg, 1.4 mmol); E2: Thionylchlorid (210 mg, 1.7 mmol); E3: Triethylamin (140 mg, 1.4 mmol); E4: 4-Aminobenzenesulfonamid (250 mg, 1.4 mmol); Die Ausbeute beträgt 310 mg (59 %).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 2.32 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.62 (t, 2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J=7.93 Hz), 2.83 (t, 2H, CH<sub>2</sub>CONH, <sup>3</sup>J=7.93 Hz), 7.09 (dd, 1H, Ph-H3, <sup>3</sup>J=7.52 Hz, <sup>4</sup>J=1.89 Hz), 7.25 (m, 4H, Ph-H4+H5+NH<sub>2</sub>), 7.36 (dd, 1H, Ph-H6, <sup>3</sup>J=7.25 Hz, <sup>4</sup>J=2.16 Hz), 7.75 (s, 4H, Ph'-

H<sub>2</sub>+3+5+6), 10.27 (s, 1H, NH); MS (ESI<sup>+</sup>): m/z: 385.8 [M+Na+H]<sup>+</sup>; Anal. calcd for C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>S: C 56.34, H 5.01, N 7.73, S 8.85 found: C 55.96, H 5.08, N 7.49, S 9.22.

### Charakterisierung von 3-[[[(4-Sulfamoylphenyl)carbamoyl]methyl]phenyl]acetat 26 (RC102):

Strukturformel: C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>S; Aussehen: weißer Feststoff

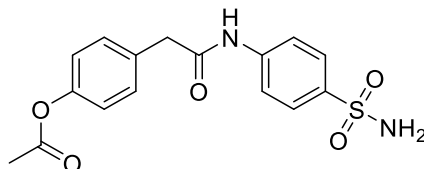


E1: RC100 (300 mg, 1.5 mmol); E2: Thionylchlorid (225 mg, 1.9 mmol); E3: Triethylamin (150 mg, 1.5 mmol); E4: 4-Aminobenzenesulfonamid (270 mg, 1.5 mmol); Die Ausbeute beträgt 250 mg (46 %).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 2.28 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.72 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.01 (m, 1H, Ph-H<sub>4</sub>), 7.11 (s, 1H, Ph-H<sub>2</sub>, <sup>4</sup>J=1.56 Hz), 7.3 (m, 3H, Ph-H<sub>6</sub> + NH<sub>2</sub>), 7.38 (t, 1H, Ph-H<sub>5</sub>, <sup>3</sup>J=7.79 Hz), 7.76 (s, 4H, Ph'-H<sub>2</sub>+3+5+6), 10.52 (s, 2H, NH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (75MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 21.31 (CH<sub>3</sub>), 43.27 (CH<sub>2</sub>), 119.14 (Ph'-C<sub>3</sub>+C<sub>5</sub>), 120.61 (Ph-C<sub>4</sub>), 122.89 (Ph-C<sub>2</sub>), 127.12 (Ph-C<sub>6</sub>), 127.16 (Ph'-C<sub>2</sub>+C<sub>6</sub>), 129.74 (Ph-C<sub>5</sub>), 137.61 (Ph-C<sub>3</sub>), 138.88 (Ph'-C<sub>4</sub>), 142.44 (Ph'-C<sub>1</sub>), 150.89 (Ph-C<sub>1</sub>), 169.64 (OOC), 169.71 (CONH); MS (ESI<sup>-</sup>): m/z: 347.0 [M-H]<sup>-</sup>; Anal. calcd for C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>S: C 55.16, H 4.63, N 8.04, S 9.20 found: C 55.08, H 4.47, N 8.04, S 9.20.

### Charakterisierung von 4-[[[(4-Sulfamoylphenyl)carbamoyl]methyl]phenyl]acetat 27 (RC103)

Strukturformel: C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>S; Aussehen: weißer Feststoff



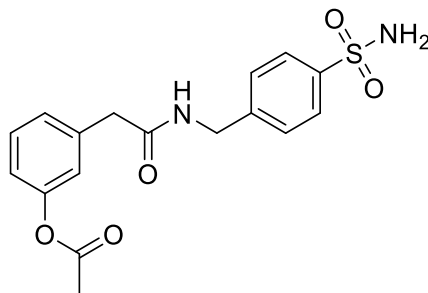
E1: RC101 (300 mg, 1.5 mmol); E2: Thionylchlorid (180 mg, 1.5 mmol); E3: Triethylamin (150 mg, 1.5 mmol); E4: 4-Aminobenzenesulfonamid (270 mg, 1.5 mmol); Die Ausbeute beträgt 300 mg (55 %).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 2.27 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.71 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.10 (d, 2H, Ph-H<sub>2</sub>+6, <sup>3</sup>J=8.70 Hz), 7.25 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.37 (d, 2H, Ph-H<sub>3</sub>+5, <sup>3</sup>J=8.70 Hz), 7.76 (s, 4H, Ph'-H<sub>2</sub>+3+5+6), 10.52 (s, 1H, NH); <sup>13</sup>C-NMR (66MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 20.80 (CH<sub>3</sub>); 42.48 (CH<sub>2</sub>), 118.68 (Ph'-C<sub>3</sub>+C<sub>5</sub>), 121.61 (Ph-C<sub>3</sub>+5), 126.66 (Ph'-C<sub>2</sub>+C<sub>6</sub>), 130.14 (Ph-C<sub>2</sub>+6), 133.03 (Ph-

C4), 138.40 (Ph'-C4), 141.99 (Ph'-C1), 149.26 (Ph-C1), 169.18 (OOC), 169.51 (CONH); MS (ESI-): m/z: 348.4 [M-H]-; Anal. calcd for C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>S: C 55.16, H 4.63, N 8.04, S 9.20 found: C 54.86, H 4.58, N 7.92, S 9.50.

### Charakterisierung von 3-(((4-Sulfamoylphenyl)methyl)carbamoyl)methylphenylacetat 28 (RC105):

Strukturformel: C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>S; Aussehen: weißer Feststoff

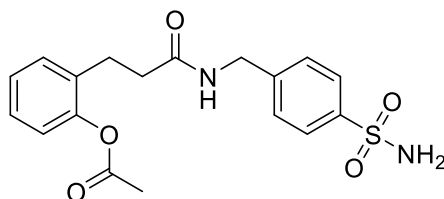


E1: RC100 (300 mg, 1.5 mmol); E2: Thionylchlorid (225 mg, 1.9 mmol); E3: Triethylamin (150 mg, 1.5 mmol); E4: 4-(Aminomethyl)benzenesulfonamid (290 mg, 1.5 mmol); Die Ausbeute beträgt 200 mg (36 %).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 2.28 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.53 (s, 2H, CH<sub>2</sub>CONH), 4.35 (s, 2H, CH<sub>2</sub>NH), 7.00 (d, 1H, Ph-H<sub>4</sub>), 7.06 (s, 1H, Ph-H<sub>2</sub>, <sup>4</sup>J=1.61 Hz), 7.18 (d, 1H, Ph-H<sub>6</sub>), 7.31 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.37 (m, 3H, Ph-H<sub>5</sub>+ Ph'-H<sub>2</sub>+6), 7.76 (d, 2H, Ph'-H<sub>3</sub>+5, <sup>3</sup>J=8.00 Hz), 8.68 (t, 1H, NH, <sup>3</sup>J=6.00 Hz); <sup>13</sup>C-NMR (63MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 21.31 (CH<sub>3</sub>), 43.27 (CH<sub>2</sub>), 120.36 (Ph-C<sub>4</sub>), 122.69 (Ph-C<sub>2</sub>), 126.14 (Ph'-C<sub>3</sub>+C<sub>5</sub>), 126.95 (Ph-C<sub>6</sub>), 127.92 (Ph'-C<sub>2</sub>+C<sub>6</sub>), 129.65 (Ph-C<sub>5</sub>), 138.33 (Ph-C<sub>3</sub>), 143.09 (Ph'-C<sub>4</sub>), 143.97 (Ph'-C<sub>1</sub>), 150.84 (Ph-C<sub>1</sub>), 169.65 (OOC), 170.34 (CONH); MS (ESI-): m/z: 361.0 [M-H]-; Anal. calcd for C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>S: C 56.34, H 5.01, N 7.73, S 8.85 found: C 55.96, H 5.08, N 7.49, S 9.22.

### Charakterisierung von 2-(2-(((4-Sulfamoylphenyl)methyl)carbamoyl)ethyl)phenylacetat 29 (RC107)

Strukturformel: C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>S; Aussehen: weißer Feststoff

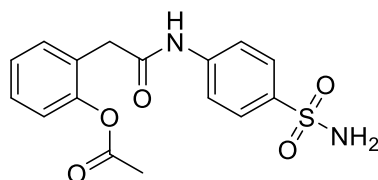


E1: RC99 (300 mg, 1.4 mmol); E2: Thionylchlorid (205 mg, 1.7 mmol); E3: Triethylamin (140 mg, 1.4 mmol); E4: 4-(Aminomethyl)benzenesulfonamid (270 mg, 1.4 mmol); Die Ausbeute beträgt 310 mg (57 %).

$^1\text{H-NMR}$  (250MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 2.31 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.43 (t, 2H,  $\underline{\text{CH}_2\text{-CH}_2}$ ,  $^3J=7.89$  Hz), 2.76 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{CONH}$ ,  $^3J=7.04$  Hz), 4.32 (d, 2H,  $\text{CONHCH}_2$ ,  $^3J=6.02$  Hz), 7.09 (dd, 1H, Ph-H3,  $^3J=7.43$  Hz,  $^4J=1.13$  Hz), 7.20 (dt, 1H, Ph-H4,  $^3J=7.14$  Hz,  $^4J=1.33$  Hz), 7.30 (m, 6H, Ph'-H2+3, Ph'-H5+H6,  $\text{NH}_2$ ), 7.75 (d, 2H, Ph'-H5+6,  $^3J=8.55$  Hz), 10.27 (t, 1H,  $\text{NH}$ ,  $^3J=5.87$  Hz);  $^{13}\text{C-NMR}$  (75MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 21.13 ( $\text{CH}_3$ ), 25.77 ( $\underline{\text{CH}_2\text{CH}_2}$ ), 35.74 ( $\text{CONH}\underline{\text{CH}_2}$ ), 42.13 ( $\underline{\text{CH}_2\text{CONH}}$ ), 122.98 (Ph-C4), 126.07 (Ph'-C3+C5), 126.41 (Ph-C3), 127.70 (Ph-C5), 127.87 (Ph'-C2+C6), 130.42 (Ph-C2), 133.59 (Ph-C6), 143.01 (Ph'-C4), 144.11 (Ph'-C1), 149.24 (Ph-C1), 169.66 (OOC), 171.70 (CONH); MS (ESI+): m/z: 377.7 [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ ; Anal. calcd for  $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_5\text{N}_2\text{S}$ : C 57.43, H 5.36, N 7.44, S 8.52 found: C 57.43, H 5.36, N 7.44, S 8.52.

### Charakterisierung von 2-[[4-Sulfamoylphenyl]carbamoyl]methyl}phenylacetat 30 (RC97)

Strukturformel:  $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_5\text{N}_2\text{S}$ ; Aussehen: weißer Feststoff

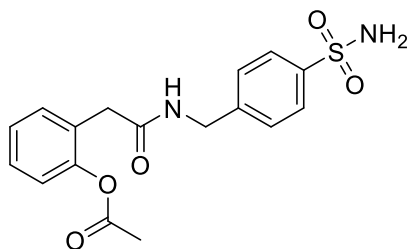


E1: RC90 (300 mg, 1.5 mmol); E2: Thionylchlorid (215 mg, 1.8 mmol); E3: Triethylamin (130 mg, 1.3 mmol); E4: 4-Aminobenzenesulfonamid (225 mg, 1.3 mmol); Die Ausbeute beträgt 280 mg (62 %).

$^1\text{H-NMR}$  (250MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 2.24 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.66 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.12 (dd, 1H, Ph-H3,  $^3J=7.64$  Hz,  $^4J=1.46$  Hz), 7.23 (dt, 1H, Ph-H4,  $^3J=7.40$  Hz,  $^4J=1.61$  Hz), 7.26 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.21 (s, 4H, Ph'-H2+3+5+6), 7.34 (dt, 1H, Ph-H5,  $^3J=7.52$  Hz,  $^4J=1.89$  Hz), 7.41 (dd, 1H, Ph-H6,  $^3J=7.40$  Hz,  $^4J=2.01$  Hz);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 20.89 ( $\text{CH}_3$ ), 37.28 ( $\text{CH}_2$ ), 119.07 (Ph'-C3+C5), 123.04 (Ph-C4), 126.28 (Ph'-C2+C6), 127.21 (Ph-C3), 128.46 (Ph-C5), 128.62 (Ph-C2), 132.07 (Ph-C6), 138.81 (Ph'-C4), 142.50 (Ph'-C1), 149.49 (Ph-C1), 169.29 (OOC), 169.31 (CONH); MS (ESI+): m/z: 349.2 [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ ; Anal. calcd for  $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_5\text{N}_2\text{S}$ : C 55.16, H 4.63, N 8.04, S 9.20, found: C 55.07, H 4.58, N 7.64, S 9.08.

### Charakterisierung von 2-(((4-Sulfamoylphenyl)methyl)carbamoyl)methylphenylacetat 31 (RC113)

Strukturformel: C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>S; Aussehen: weißer Feststoff

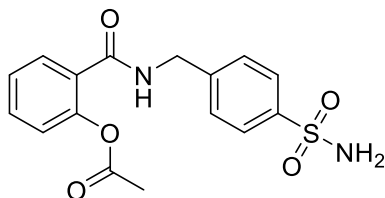


E1: RC90 (300 mg, 1.5 mmol); E2: Thionylchlorid (225 mg, 1.9 mmol); E3: Triethylamin (150 mg, 1.5 mmol); E4: 4-(Aminomethyl)benzenesulfonamid (340 mg, 1.5 mmol); Die Ausbeute beträgt 290 mg (52 %).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 2.24 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.45 (s, 2H, CH<sub>2</sub>CONH), 4.36 (d, 2H, CONHCH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J=5.84 Hz), 7.10 (dd, 1H, Ph-H<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J=7.68 Hz, <sup>4</sup>J=1.11 Hz), 7.22 (dt, 1H, Ph-H<sub>4</sub>, <sup>3</sup>J=7.23 Hz, <sup>4</sup>J=1.37 Hz), 7.33 (m, 4H, Ph-H<sub>5+6</sub>+NH<sub>2</sub>), 7.44 (d, 2H, Ph'-H<sub>3+5</sub>, <sup>3</sup>J=8.24 Hz), 7.78 (d, 2H, Ph'-H<sub>2+6</sub>, <sup>3</sup>J=8.24 Hz), 8.59 (t, 1H, NH, <sup>3</sup>J=5.68 Hz); <sup>13</sup>C-NMR (75MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 21.14 (CH<sub>3</sub>), 37.35 (CONHCH<sub>2</sub>), 42.35 (CH<sub>2</sub>CONH), 122.94 (Ph-C<sub>4</sub>), 126.08 (Ph'-C<sub>3+C5</sub>), 126.16 (Ph-C<sub>3</sub>), 127.99 (Ph'-C<sub>2+C6</sub>), 128.19 (Ph-C<sub>5</sub>), 129.04 (Ph-C<sub>2</sub>), 131.87 (Ph-C<sub>6</sub>), 143.10 (Ph'-C<sub>4</sub>), 144.04 (Ph'-C<sub>1</sub>), 149.43 (Ph-C<sub>1</sub>), 169.35 (OOC), 169.85 (CONH); MS (ESI+): m/z: 363.6 [M+H]<sup>+</sup>; Anal. calcd for C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>S: C 56.34, H 5.01, N 7.73, S 8.85 found: C 56.00, H 4.97, N 7.46, S 9.07.

### Charakterisierung von 2-(((4-Sulfamoylphenyl)methyl)carbamoyl)phenylacetat 32 (RC115)

Strukturformel: C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>S; Aussehen: weißer Feststoff



E1: RC108 (300 mg, 1.7 mmol); E2: Thionylchlorid (230 mg, 1.9 mmol); E3: Triethylamin (140 mg, 1.4 mmol); E4: 4-(Aminomethyl)benzenesulfonamid (260 mg, 1.4 mmol); Die Ausbeute beträgt 300 mg (62 %).

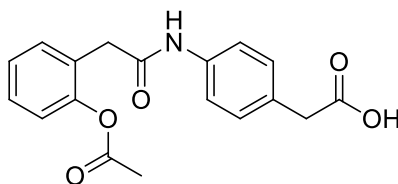
<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 2.15 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.48 (d, 2H, CH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J=6.00 Hz), 7.21 (dd, 1H, Ph-H<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J=8.02 Hz, <sup>4</sup>J=1.00 Hz), 7.37 (m, 3H, Ph-H<sub>4</sub>+NH<sub>2</sub>), 7.53 (m, 3H, Ph-H<sub>5</sub>+Ph'-H<sub>3+5</sub>), 7.65 (dd, 1H, Ph-H<sub>6</sub>, <sup>3</sup>J=7.62 Hz, <sup>4</sup>J=1.63 Hz), 7.80 (d, 2H, Ph'-H<sub>2+6</sub>, <sup>3</sup>J=8.36



Hz), 8.94 (t, 1H, NH,  $^3J=5.97$  Hz);  $^{13}\text{C-NMR}$  (75MHz, DMSO-d6):  $\delta = 21.17$  ( $\text{CH}_3$ ), 42.57 ( $\text{CONHCH}_2$ ), 123.75 (Ph-C4), 126.11 (Ph'-C3+C5), 126.31 (Ph-C3), 127.97 (Ph'-C2+C6), 129.35 (Ph-C5), 129.61 (Ph-C2), 131.80 (Ph-C6), 143.11 (Ph'-C4), 143.94 (Ph'-C1), 148.43 (Ph-C1), 165.91 (OOC), 169.33 (CONH); MS (ESI-): m/z: 347.0 [M-H]-; Anal. calcd for  $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_5\text{N}_2\text{S}$ : C 55.16, H 4.63, N 8.04, S 9.20 found: C 54.91, H 4.54, N 8.04, S 9.11.

### Charakterisierung von 2-[[4-(4-Sulfamoylphenyl)methyl]carbamoyl]phenylacetat 33 (SC14)

Strukturformel:  $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{O}_5\text{N}$ ; Aussehen: weißer Feststoff

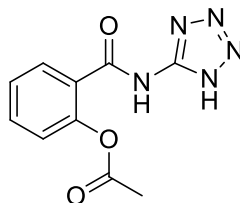


E1: RC90 (300 mg, 1.5 mmol); E2: Thionylchlorid (230 mg, 1.9 mmol); E3: Triethylamin (140 mg, 1.4 mmol); E4: 4-(Aminomethyl)benzenesulfonamid (210 mg, 1.4 mmol); Die Ausbeute beträgt 270 mg (59 %).

$^1\text{H-NMR}$  (DMSO, 250 MHz):  $\delta$  [ppm] = 2.22 (s, 3H,  $-\text{CH}_3$ ), 3.48 (s, 2H,  $-\text{CH}_2\text{COOH}$ ), 3.57 (s, 2H,  $-\text{CH}_2\text{CONH}$ ), 7.10-7.14 (dd, 1H, Ph-H<sub>5</sub>); 7.21-7.27 (dt, 1H, Ph-H<sub>4</sub>); 7.29-7.36 (dt, 1H, Ph-H<sub>3</sub>); 7.38-7.42 (dd, 1H, Ph-H<sub>2</sub>);  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO, 75 MHz):  $\delta = 20.63$  ( $-\text{CH}_3$ ); 32.58 ( $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Br}$ ); 32.72 ( $-\text{CH}_2-\text{Br}$ ); 122.62 (Ph-C<sub>4</sub>); 125.91 (Ph-C<sub>3</sub>); 127.96 (Ph-C<sub>5</sub>); 130.52 (Ph-C<sub>2</sub>); 130.66 (Ph-C<sub>6</sub>); 148.82 (Ph-C<sub>1</sub>); 169.16 ( $-\text{C}=\text{O}$ ); MS (ESI+): 326.0 [M-H]-; Anal. calcd for  $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{O}_5\text{N}$ : C 66.05, H 5.23, N 4.28 found: C 65.59, H 5.13, N 4.18.

### Charakterisierung von 2-[(1H-Tetrazol-5-yl)carbamoyl]phenylacetat 34 (SC24)

Strukturformel:  $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{O}_3\text{N}_5$ ; Aussehen: weißer Feststoff



E1: RC108 (300 mg, 1.7 mmol); E2: Thionylchlorid (230 mg, 1.9 mmol); E3: Triethylamin (140 mg, 1.4 mmol); E4: 4-(Aminomethyl)benzenesulfonamid (120 mg, 1.4 mmol); Die Ausbeute beträgt 225 mg (65 %).

$^1\text{H-NMR}$  (DMSO, 250 MHz):  $\delta = 2.541$  (DMSO); 2.25 (s, 3H,  $-\text{CH}_3$ ), 7.31 (d, 1H, H<sub>2</sub>,  $^3J = 7.5$  Hz), 7.44 (t, 1H, H<sub>3</sub>,  $^3J_{1,2} = 7.5$  Hz), 7.67 (t, 1H, H<sub>4</sub>,  $^3J_{1,2} = 7.5$  Hz), 7.81 (d, 1H, H<sub>1</sub>,  $^3J = 7.5$  Hz), 12.46 (s, 1H, NH), 16.09 (s, 1H, NH im Tetrazol);  $^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO, 63 MHz):  $\delta = 13.96$

(-CH<sub>3</sub>); 42.74 (-CH<sub>2</sub>); 60.75 (-O-CH<sub>2</sub>); 121.73-121.79 (CF<sub>3</sub>); 122.93-122.97 (Ph-C<sub>3</sub>); 125.40 (Ph-C<sub>4</sub>); 128.37 (Ph-C<sub>5</sub>); 128.80 (Ph-C<sub>2</sub>); 134.08 (Ph-C<sub>6</sub>); 136.83 (Ph-C<sub>1</sub>); 165.00 (-CO-NH); 167.61 (-CO-O); MS (ESI<sup>-</sup>): 246.1 [M-H]<sup>-</sup>; Anal. calcd for C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>O<sub>3</sub>N<sub>5</sub>: C 48.58, H 3.67, N 28.33 found: C 48.38, H 3.66, N 28.12.

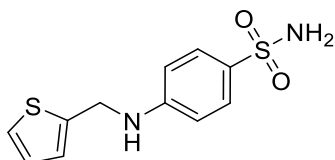
## 6.2.8 Reduktive Aminierung

### Generelle Synthesevorschrift der Reduktiven Aminierung

Das Amin (1 eq) wird zusammen mit dem Aldehyd (1.1 eq) und dem Eisessig (2 eq) in trockenem Dichlorethan DCE (15 ml) gelöst und für vier Stunden bei RT gerührt. Nach diesen vier Stunden wird das Natriumtriacetoxyborhydrid (1.4 eq) zur Reaktion hinzugegeben und das Ganze nochmals bei Raumtemperatur für 12 Stunden stehen gelassen. Nach Abschluss der Reaktion wird das Ganze mit 1M NaOH (30 ml) gequenchet und das Produkt wird zweimal mit EtOAc (30 ml) extrahiert. Die organische Phase wird getrocknet (MgSO<sub>4</sub>), filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das zurückgeblieben Öl wurde über Säulenchromatographie aufgearbeitet.

### Charakterisierung von 4-[(Thiophen-2-ylmethyl)amino]benzene-1-sulfonamid 35 (RC124)

Strukturformel: C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>S<sub>2</sub>; Aussehen: gelber Feststoff



E1: 4-Aminobenzensulfonamid (4 g, 8.1 mmol); E2: Thiophen-2-carbaldehyd (1 g, 8.9 mmol); Eisessig (1 g, 16.5 mmol); Natriumtriacetoxyborhydrid (2.1 g, 11.0 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 2:1 v/v). Die Ausbeute beträgt 1.5 g (69 %).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 4.53 (d, 2H, CH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J=5.82 Hz), 6.69 (d, 2H, Ph-H<sub>3</sub>+H<sub>5</sub>, <sup>3</sup>J=8.66 Hz), 6.93 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.02 (m, 3H, Thio-H<sub>3</sub>+H<sub>4</sub> + NH), 7.39 (dd, 1H, Thio-H<sub>5</sub>, <sup>3</sup>J=5.01 Hz, <sup>4</sup>J=1.25 Hz), 7.51 (d, 2H, Ph-H<sub>1</sub>+H<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J=8.67 Hz); <sup>13</sup>C-NMR (63MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 41.28 (CH<sub>2</sub>), 111.29 (Thiophen-C<sub>3</sub>), 124.63 (Thiophen-C<sub>5</sub>), 125.07 (Ph-C<sub>3</sub>+C<sub>5</sub>), 126.77 (Thiophen-C<sub>4</sub>), 127.23 (Ph-C<sub>2</sub>+C<sub>6</sub>), 130.73 (Ph-C<sub>4</sub>), 143.25 (Thiophen-C<sub>2</sub>), 150.80 (Ph-C<sub>1</sub>); MS (ESI<sup>+</sup>): m/z: 229.1 [M+Na+H]<sup>+</sup>; Anal. calcd for C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>S<sub>2</sub>: C 49.23, H 4.51, N 10.44, S 23.90 found: C 49.21, H 4.41, N 10.34, S 23.91.

**Charakterisierung von Ethyl-2-{4-[(thiophen-2-ylmethyl)amino]phenyl}acetat 36 (SC35)**  
siehe Masterarbeit von Sun-Yee Cheung <sup>113</sup>

**Charakterisierung von 3-{4-[(Thiophen-3-ylmethyl)amino]phenyl}propionsäure 37 (SC63)** siehe Masterarbeit von Sun-Yee Cheung <sup>113</sup>

**Charakterisierung von 2-[4-({4-(Acetyloxy)phenyl}methyl)amino]phenyl]essigsäure 38 (SC72)** siehe Masterarbeit von Sun-Yee Cheung <sup>113</sup>

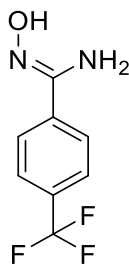
### 6.2.9 Synthese von Amidoxim

#### Generelle Synthesevorschrift der Amidoxime

Das Benzonitril-Derivat (1 eq) und das Hydroxylamin (5 eq) wurden in Ethanol (20 ml) gelöst und für fünf Stunden auf 100°C erhitzt. Das Ethanol wurde im Vakuum entfernt und zum Rückstand wurde Eiswasser hinzugegeben. Das Produkt wurde filtriert und mit EtOAc und Hexan umkristallisiert.

**Charakterisierung von (Z)-N'-Hydroxy-4-(trifluoromethyl)benzene-1-carboximidamid 39 (RC130)**

Strukturformel: C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>ON<sub>2</sub>F<sub>3</sub>; Aussehen: weißer Feststoff

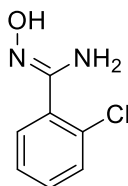


E1: 4-(Trifluoromethyl)benzimidamid (500 mg, 2.9 mmol); E2: Hydroxylamin (1 g, 15 mmol);  
Die Ausbeute beträgt 540 mg (91 %).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 5.99 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.75 (d, 2H, Ph-H<sub>3</sub>+H<sub>5</sub>, <sup>3</sup>J=8.50 Hz), 7.91 (d, 2H, Ph-H<sub>2</sub>+H<sub>6</sub>, <sup>3</sup>J=8.25 Hz), 9.93 (s, 1H, OH); <sup>13</sup>C-NMR (63MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 124.99 (Ph-C<sub>4</sub>), 126.04 (Ph-C<sub>3</sub>+C<sub>5</sub>), 128.74 (Ph-C<sub>2</sub>+C<sub>6</sub>), 129.25 (Ph-C<sub>1</sub>), 137.29 (CF<sub>3</sub>), 149.75 (CNOHNH<sub>2</sub>); MS (ESI<sup>+</sup>): m/z: 205.7 [M+Na+H]<sup>+</sup>.

### Charakterisierung von (Z)-2-chloro-N'-hydroxybenzene-1-carboximidamid 40 (RC132)

Strukturformel:  $C_7H_7ON_2Cl$ ; Aussehen: weißer Feststoff

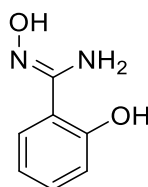


E1: 2-Chlorobenzonitril (2 g, 14.5 mmol); E2: Hydroxylamin (2.9 g, 43.6 mmol); Die Ausbeute beträgt 2.4 g (97 %).

$^1H$ -NMR (250MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 5.83 (s, 2H,  $NH_2$ ), 7.43 (m, 4H, Ph-H3+H4+H5+H6), 9.47 (s, 1H, OH);  $^{13}C$ -NMR (63MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 126.81 (Ph-C5), 129.49 (Ph-C4), 130.25 (Ph-C6), 131.14 (Ph-C3), 132.17 (Ph-C2), 133.65 (Ph-C1), 150.54 (CNOHNH $_2$ ); MS (ESI+): m/z: 171.7 [M+H] $^+$ .

### Charakterisierung von (Z)-N',2-dihydroxybenzene-1-carboximidamid 41 (RC135)

Strukturformel:  $C_7H_8O_2N_2$ ; Aussehen: weißer Feststoff

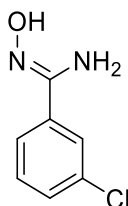


E1: 2-Hydroxybenzonitril (1 g, 8.4 mmol); E2: Hydroxylamin (830 mg, 12.3 mmol); Die Ausbeute beträgt 660 mg (52 %).

$^1H$ -NMR (250MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 6.36 (s, 2H,  $NH_2$ ), 6.85 (m, 2H, Ph-H5+H6), 7.24 (t, 1H, Ph-H4,  $^3J=7.35$  Hz), 7.66 (dd, 1H, Ph-H3,  $^3J=8.11$  Hz,  $^4J=1.50$  Hz), 10.03 (s, 1H, N-OH), 12.24 (s, 1H, OH);  $^{13}C$ -NMR (63MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 114.61 (Ph-C1), 116.51 (Ph-C3), 118.18 (Ph-C5), 125.82 (Ph-C4), 130.15 (Ph-C6), 153.37 (CNOHNH $_2$ ), 157.32 (Ph-C2); MS (ESI+): m/z: 154.5 [M+H] $^+$ .

### Charakterisierung von (Z)-3-Chloro-N'-hydroxybenzene-1-carboximidamid 42 (RC170)

Strukturformel:  $C_7H_7ON_2Cl$ ; Aussehen: weißer Feststoff

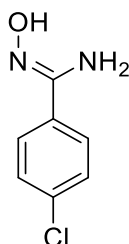


E1: 3-Chlorobenzonitrile (500 mg, 3.6 mmol); E2: Hydroxylamin (720 mg, 10.9 mmol); Die Ausbeute beträgt 580 mg (94 %).

$^1\text{H-NMR}$  (500MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 5.92$  (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.43 (m, 2H, Ph-H4+H5), 7.65 (d, 1H, Ph-H6,  $^3J=7.83$  Hz), 7.71 (s, 1H, Ph-H2), 9.80 (s, 1H, OH);  $^{13}\text{C-NMR}$  (125MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 126.81$  (Ph-C6), 129.49 (Ph-C4), 130.25 (Ph-C5), 131.14 (Ph-C2), 132.17 (Ph-C3), 133.68 (Ph-C1), 150.10 (CNOHNH $_2$ ); MS (ESI+): m/z: 171.8 [M+H] $^+$ .

#### Charakterisierung von (Z)-4-Chloro-N'-hydroxybenzene-1-carboximidamid 43 (RC172)

Strukturformel:  $\text{C}_7\text{H}_7\text{ON}_2\text{Cl}$ ; Aussehen: weißer Feststoff

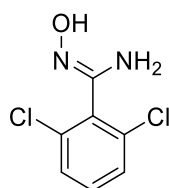


E1: 4-Chlorobenzonitrile (500 mg, 3.6 mmol); E2: Hydroxylamin (720 mg, 10.9 mmol); Die Ausbeute beträgt 590 mg (95 %).

$^1\text{H-NMR}$  (500MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 5.88$  (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.44 (d, 2H, Ph-H3+H5;  $^3J=8.70$  Hz), 7.70 (d, 2H, Ph-H2+H6;  $^3J=8.70$  Hz), 9.74 (s, 1H, OH);  $^{13}\text{C-NMR}$  (125MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 132.65$  (Ph-C4), 127.59 (Ph-C3+C5), 128.60 (Ph-C2+C6), 133.90 (Ph-C1), 150.38 (CNOHNH $_2$ ); MS (ESI+): m/z: 171.8 [M+H] $^+$ .

#### Charakterisierung von (Z)-2,6-Dichloro-N'-hydroxybenzene-1-carboximidamid 44 (RC189)

Strukturformel:  $\text{C}_7\text{H}_6\text{ON}_2\text{Cl}_2$ ; Aussehen: weißer Feststoff

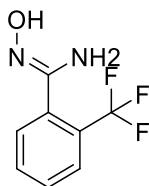


E1: 2,6-Dichlorobenzonitrile (2 g, 11.6 mmol); E2: Hydroxylamin (2.3 g, 34.9 mmol); Die Ausbeute beträgt 2,11 g (89 %).

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 5.89$  (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.45 (m, 3H, Ph-H3+H4+H5), 9.40 (s, 1H, OH);  $^{13}\text{C-NMR}$  (75MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 126.81$  (Ph-C5), 128.48 (Ph-C4), 131.51 (Ph-C3+C5), 133.32 (Ph-C2+C6), 135.30 (Ph-C1), 148.50 (CNOHNH $_2$ ); MS (ESI+): m/z: 205.8 [M+H] $^+$ .

### Charakterisierung von (Z)-N'-Hydroxy-2-(trifluoromethyl)benzene-1-carboximidamid 45 (RC193)

Strukturformel: C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>ON<sub>2</sub>F<sub>3</sub>; Aussehen: weißer Feststoff

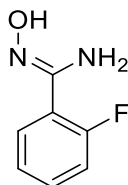


E1: 2-(Trifluoromethyl)benzonnitril (1 g, 5.8 mmol); E2: Hydroxylamin (1.2 g, 17.5 mmol); Die Ausbeute beträgt 900 mg (75 %).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 5.85 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.66 (m, 4H, Ph-H<sub>3</sub>+H<sub>4</sub>+H<sub>5</sub>+H<sub>6</sub>), 9.54 (s, 1H, OH); <sup>13</sup>C-NMR (63MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 126.02 (Ph-C<sub>5</sub>), 129.18 (Ph-C<sub>4</sub>), 131.30 (Ph-C<sub>6</sub>), 131.96 (Ph-C<sub>3</sub>), 133.31 (Ph-C<sub>2</sub>), 134.12 (Ph-C<sub>1</sub>), 135.38 (CF<sub>3</sub>), 150.41 (CNOH-NH<sub>2</sub>); MS (ESI<sup>+</sup>): m/z: 205.1 [M+H]<sup>+</sup>.

### Charakterisierung von (Z)-2-Fluoro-N'-hydroxybenzene-1-carboximidamid 46 (RC194)

Strukturformel: C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>ON<sub>2</sub>F; Aussehen: gelbes Öl

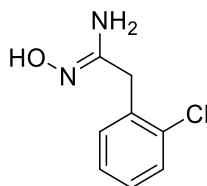


E1: 2-Fluorobenzonnitrile (1 g, 8.3 mmol); E2: Hydroxylamin (1.6 g, 24.8 mmol); Die Ausbeute beträgt 830 mg (65 %).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 5.81 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.27 (m, 2H, Ph-H<sub>3</sub>+H<sub>4</sub>), 7.46 (m, 2H, Ph-H<sub>5</sub>+H<sub>6</sub>), 9.63 (s, 1H, OH); <sup>13</sup>C-NMR (63MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 115.90 (Ph-C<sub>5</sub>), 121.96 (Ph-C<sub>4</sub>), 124.11 (Ph-C<sub>6</sub>), 129.99 (Ph-C<sub>3</sub>), 130.67 (Ph-C<sub>2</sub>), 148.25 (Ph-C<sub>1</sub>), 161.61 (CNOH-NH<sub>2</sub>); MS (ESI<sup>+</sup>): m/z: 155.7 [M+H]<sup>+</sup>.

### Charakterisierung von (Z)-2-(2-Chlorophenyl)-N'-hydroxyethanimidamid 47 (RC187):

Strukturformel: C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>ON<sub>2</sub>Cl; Aussehen: farbloses Öl

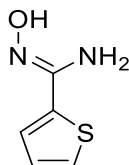


E1: 2-(2-Chlorophenyl)acetonitril (1 g, 6.6 mmol); E2: Hydroxylamin (1.6 g, 24.8 mmol); Die Ausbeute beträgt 560 mg (46 %).

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 3.34$  (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 5.46 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.25 (m, 2H, Ph-H3+H4), 7.39 (m, 2H, Ph-H5+H6), 8.99 (s, 1H, OH);  $^{13}\text{C-NMR}$  (75MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 35.05$  ( $\text{CH}_2$ ), 127.35 (Ph-C5), 128.51 (Ph-C4), 129.35 (Ph-C6), 131.35 (Ph-C3), 133.73 (Ph-C2), 135.79 (Ph-C1), 150.95 (CNOHNH $_2$ ); MS (ESI $^+$ ): m/z: 185.5 [M+H] $^+$ .

### Charakterisierung von (Z)-N'-Hydroxythiophene-2-carboximidamid 48 (RC208)

Strukturformel:  $\text{C}_5\text{H}_6\text{ON}_2\text{S}$ ; Aussehen: weißer Feststoff

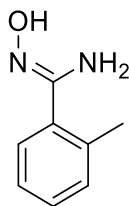


E1: Thiophen-2-carbonitril (2 g, 18.3 mmol); E2: Hydroxylamin (3.6 g, 55.0 mmol); Die Ausbeute beträgt 2,45 g (94 %).

$^1\text{H-NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 5.91$  (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.06 (t, 1H, Thiophene-H4,  $^3J=4.31$  Hz), 7.44 (d, 1H, Thiophene-H3,  $^3J=4.89$  Hz), 7.47 (d, 1H, Thiophene-H5,  $^3J=3.57$  Hz), 9.60 (s, 1H, OH);  $^{13}\text{C-NMR}$  (126MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 125.37$  (Thiophene-C4), 126.67 (Thiophene-C3), 127.33 (Thiophene-C5), 136.99 (Thiophene-C2), 147.91 (CNOHNH $_2$ ); MS (ESI $^+$ ): m/z: 144.5 [M+H] $^+$ .

### Charakterisierung von (Z)-N'-Hydroxy-2-methylbenzene-1-carboximidamid 49 (MR01)

Strukturformel:  $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{ON}_2$ ; Aussehen: weißer Feststoff

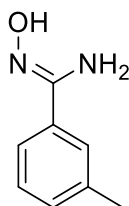


E1: 2-Methylbenzonitril (500 mg, 4.3 mmol); E2: Hydroxylamin (1 g, 15.0 mmol); Die Ausbeute beträgt 510 mg (80 %).

$^1\text{H-NMR}$  (500MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 2.44$  (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 5.82 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 7.33 (m, 4H, Ph-H3+H4+H5+H6), 9.41 (s, 1H, OH);  $^{13}\text{C-NMR}$  (125MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 20.21$  ( $\text{CH}_3$ ), 125.79 (Ph-C5), 128.89 (Ph-C4), 129.34 (Ph-C6), 130.56 (Ph-C3), 134.78 (Ph-C2), 136.70 (Ph-C1), 152.75 (CNOHNH $_2$ ); MS (ESI $^+$ ): m/z: 151.5 [M+H] $^+$ .

### Charakterisierung von (Z)-N'-Hydroxy-3-methylbenzene-1-carboximidamid 50 (MR03)

Strukturformel: C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>ON<sub>2</sub>; Aussehen: weißer Feststoff

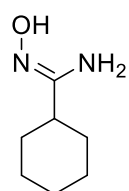


E1: 3-Methylbenzonitril (500 mg, 4.3 mmol); E2: Hydroxylamin (1 g, 15.0 mmol); Die Ausbeute beträgt 550 mg (86 %).

<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 2.32 (s, 2H, CH<sub>3</sub>), 5.75 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.19 (d, 1H, Ph-H4, <sup>3</sup>J=7.34 Hz), 7.26 (t, 1H, Ph-H5, <sup>3</sup>J=7.60 Hz), 7.46 (d, 1H, Ph-H6, <sup>3</sup>J=7.60 Hz), 7.49 (s, 1H, Ph-H2), 9.57 (s, 1H, OH); <sup>13</sup>C-NMR (125MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 21.54 (CH<sub>3</sub>), 123.03 (Ph-C6), 126.45 (Ph-C4), 128.45 (Ph-C5), 129.92 (Ph-C2), 133.78 (Ph-C3), 137.61 (Ph-C1), 151.34 (CNOHNH<sub>2</sub>); MS (ESI<sup>+</sup>): m/z: 151.8 [M+H]<sup>+</sup>.

### Charakterisierung von (Z)-N'-Hydroxycyclohexancarboximidamid 51 (RC207)

Strukturformel: C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>ON<sub>2</sub>; Aussehen: weißer Feststoff

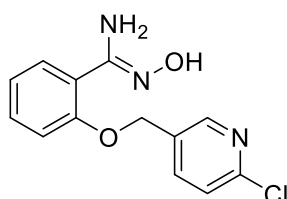


E1: Cyclohexanecarbonitril (3 g, 27.5 mmol); E2: Hydroxylamin (5.5 g, 82.0 mmol); Die Ausbeute beträgt 3.59 g (92 %).

<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 1.40 (m, 10H, Cyclohexan), 1.95 (t, 1H, CH, <sup>3</sup>J=11.28 Hz), 2.32 (s, 2H, CH<sub>3</sub>), 5.19 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 8.66 (s, 1H, OH); <sup>13</sup>C-NMR (126MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 26.21 (Cy-C4), 26.29 (Cy-C3+5), 30.53 (Cy-C2+6), 40.71 (Cy-C1), 156.87 (CNOHNH<sub>2</sub>); MS (ESI<sup>+</sup>): m/z: 143.1 [M+H]<sup>+</sup>.

### Charakterisierung von (Z)-2-[(6-Chloropyridin-3-yl)methoxy]-N'-hydroxybenzimidamid 52 (RC162)

Strukturformel: C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>N<sub>3</sub>Cl; Aussehen: weißer Feststoff





E1: RC146 (1.1 g, 4.5 mmol); E2: Hydroxylamin (0.9 g, 13.5 mmol); Die Ausbeute beträgt 1.10 g (90 %).

$^1\text{H-NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 5.11 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 5.44 (s, 2H, O- $\text{CH}_2$ ), 7.20 (t, 1H, Ph-H5,  $^3J=7.56$  Hz), 7.38 (d, 1H, Ph-3,  $^3J=7.48$  Hz), 7.77 (t, 1H, Ph-H4,  $^3J=8.14$  Hz), 7.80 (d, 1H, Ph-H6,  $^3J=8.14$  Hz), 8.01 (d, 1H, Py-H4,  $^3J=7.88$  Hz,  $^4J=1.90$  Hz), 8.14 (d, 1H, Py-H3,  $^3J=8.41$  Hz,  $^4J=2.31$  Hz), 8.70 (s, 1H, Pyr-H6,  $^4J=2.12$  Hz), 8.54 (s, 1H, OH); MS (ESI+): m/z: 278.9 [M+H] $^+$ .

### 6.2.10 Synthese von Oxadiazole

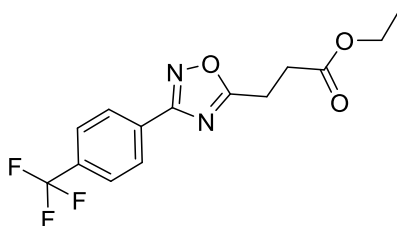
#### Generelle Synthesevorschrift von Oxadiazole

**Methode 1:** Die Säure (1.4 eq) wurde in DCM (30 ml) unter Argonatmosphäre gelöst. Zur Lösung wurde Thionylchlorid (1.6 eq) hinzugegeben und die Reaktion wurde für zwei Stunden auf 40°C erhitzt. Das Lösungsmittel und das restliche Thionylchlorid wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand wieder in THF gelöst. Zur Reaktion wurde Triethylamin (3 eq) und das Oximamid (1.0 eq) hinzugegeben und für zwei weitere Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach den zwei Stunden wurde die Reaktion für 12 Stunden auf 60°C erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das zurückgebliebene Öl in 2M HCl (30 ml) aufgenommen. Das Produkt wurde zweimal mit EtOAc (30 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde getrocknet ( $\text{MgSO}_4$ ), filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das zurückgebliebene Öl wurde über Säulenchromatographie aufgearbeitet.

**Methode 2:** Das Säurechlorid (1.2 eq) wurde in THF unter Argonatmosphäre gelöst. Unter Eiskühlung wurde zur Lösung NaH (1.2 eq) hinzugegeben und die Reaktion für eine halbe Stunde gerührt. Im Anschluss wurde das Oximamid (1.0 eq) hinzugegeben und für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde die Reaktion für 12 Stunden auf 60°C erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das zurückgebliebene Öl in 2M HCl (30 ml) aufgenommen. Das Produkt wurde zweimal mit EtOAc (30 ml) extrahiert. Die organische Phase wurde getrocknet ( $\text{MgSO}_4$ ), filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das zurückgebliebene Öl wurde über Säulenchromatographie aufgearbeitet.

### Charakterisierung von Ethyl 3-{3-[4-(trifluoromethyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5-yl}propanoat 53 (RC131)

Strukturformel: C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>F<sub>3</sub>; Aussehen: farbloses Öl

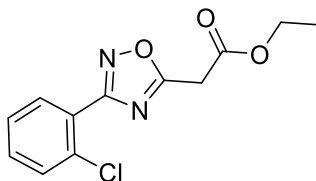


**Methode 1:** E1: 4-Ethoxy-4-oxobutansäure (420 mg, 2.9 mmol); E2: Thionylchlorid (390 mg, 3.3 mmol); E3: Triethylamin (630 mg, 6.2 mmol); E4: RC130 (420 mg, 2.1 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 10:1 v/v); Die Ausbeute beträgt 410 mg (45 %).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 1.18 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J=7.34 Hz), 2.95 (t, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J=7.10 Hz), 3.29 (t, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J=7.17 Hz), 4.10 (q, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J=7.21 Hz), 7.96 (d, 2H, Ph-H<sub>3</sub>+H<sub>5</sub>, <sup>3</sup>J=8.21 Hz), 8.22 (d, 2H, Ph-H<sub>2</sub>+H<sub>6</sub>, <sup>3</sup>J=8.10 Hz); <sup>13</sup>C-NMR (63MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 13.99 (CH<sub>3</sub>), 21.65 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 29.79 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 60.28 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 126.26 (Ph-C<sub>4</sub>), 127.79 (Ph-C<sub>3</sub>+C<sub>5</sub>), 130.02 (Ph-C<sub>2</sub>+C<sub>6</sub>), 131.08 (Ph-C<sub>1</sub>), 131.59 (CF<sub>3</sub>), 166.51 (Oxadiazol-C<sub>3</sub>), 171.22 (Oxadiazol-C<sub>5</sub>), 180.06 (COO); MS (ESI<sup>-</sup>): m/z: 312.9 [M-H]<sup>-</sup>.

### Charakterisierung von Ethyl 2-[3-(2-chlorophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]acetat 54 (RC133)

Strukturformel: C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>Cl; Aussehen: farbloses Öl (kristallisiert aus)

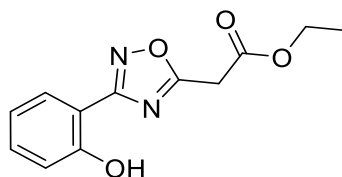


**Methode 1:** E1: Ethyl 3-chloro-3-oxopropanoat (2.3 g, 15.5 mmol); E2: Triethylamin (5.7 g, 56.3 mmol); E3: RC132 (2.4 g, 14.1 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 10:1 v/v); Die Ausbeute beträgt 1.4 mg (37 %).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 1.21 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J=7.12 Hz), 4.17 (q, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J=7.31 Hz), 4.39 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.53 (dt, 1H, Ph-H<sub>4</sub>, <sup>3</sup>J=7.33 Hz, <sup>4</sup>J=1.67 Hz), 7.60 (dd, 1H, Ph-H<sub>6</sub>, <sup>3</sup>J=7.91 Hz, <sup>4</sup>J=1.80 Hz), 7.67 (dt, 1H, Ph-H<sub>5</sub>, <sup>3</sup>J=7.82 Hz, <sup>4</sup>J=1.49 Hz), 7.90 (dd, 1H, Ph-H<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J=7.41 Hz, <sup>4</sup>J=1.88 Hz); <sup>13</sup>C-NMR (63MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 13.92 (CH<sub>3</sub>), 20.73 (CH<sub>2</sub>), 60.82 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 127.02 (Ph-C<sub>5</sub>), 129.58 (Ph-C<sub>4</sub>), 131.05 (Ph-C<sub>6</sub>), 131.33 (Ph-C<sub>3</sub>), 131.49 (Ph-C<sub>2</sub>), 132.10 (Ph-C<sub>1</sub>), 156.50 (Oxadiazol-C<sub>3</sub>), 164.71 (Oxadiazol-C<sub>5</sub>), 166.72 (COO); MS (ESI<sup>-</sup>): m/z: 264.8 [M-H]<sup>-</sup>.

### Charakterisierung von Ethyl 2-[3-(2-hydroxyphenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]acetat 55 (RC140)

Strukturformel: C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>; Aussehen: leicht gelber Feststoff

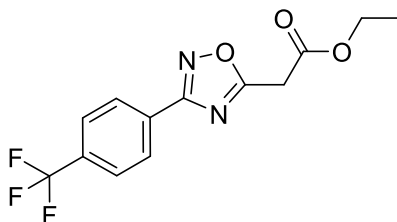


**Methode 1:** E1: Ethyl 3-chloro-3-oxopropanoat (1.3 g, 15.5 mmol); E2: Triethylamin (1.4 g, 14.2 mmol); E3: RC135 (1g, 7 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 10:1 v/v); Die Ausbeute beträgt 410 mg (23 %).

<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 1.21 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J=7.10 Hz), 3.58 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.12 (q, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J=7.18 Hz), 6.76 (dt, 1H, Ph-H5, <sup>3</sup>J=7.97 Hz, <sup>4</sup>J=1.30 Hz), 6.87 (dd, 1H, Ph-H6, <sup>3</sup>J=8.14 Hz, <sup>4</sup>J=1.47 Hz), 7.66 (dt, 1H, Ph-H4, <sup>3</sup>J=7.60 Hz, <sup>4</sup>J=1.64 Hz), 7.88 (dd, 1H, Ph-H3, <sup>3</sup>J=8.10 Hz, <sup>4</sup>J=1.25 Hz), 9.85 (s, 1H, OH); <sup>13</sup>C-NMR (125MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 13.89 (CH<sub>3</sub>), 32.48 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 61.47 (CH<sub>2</sub>), 112.40 (Ph-C1), 116.90 (Ph-C4), 119.38 (Ph-C5), 129.82 (Ph-C6), 132.58 (Ph-C3), 156.32 (Oxadiazol-C3), 166.40 (Oxadiazol-C5), 172.54 (COO); MS (ESI-): m/z: 247.7 [M-H]<sup>-</sup>.

### Charakterisierung von Ethyl 2-[3-[4-(trifluoromethyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5-yl]acetat 56 (RC174)

Strukturformel: C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>F<sub>3</sub>; Aussehen: farbloses Öl

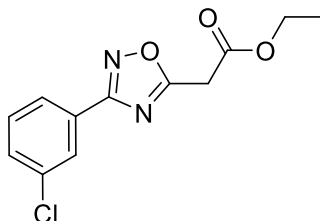


**Methode 2:** E1: Ethyl 3-chloro-3-oxopropanoat (155 mg, 1.0 mmol); E2: Natriumhydrid (30 mg, 1.2 mmol); E3: RC130 (210 mg, 1 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 10:1 v/v); Die Ausbeute beträgt 120 mg (39 %).

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 1.22 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J=7.13 Hz), 4.19 (q, 2H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J=7.18 Hz), 4.41 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.96 (d, 2H, Ph-H3+H5, <sup>3</sup>J=8.02 Hz), 8.23 (d, 2H, Ph-H2+H6, <sup>3</sup>J=7.84 Hz); <sup>13</sup>C-NMR (75MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 14.38 (CH<sub>3</sub>), 33.13 (CH<sub>2</sub>), 62.04 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 126.08 (Ph-C4), 126.81 (Ph-C3+C5), 128.42 (Ph-C2+C6), 130.21 (Ph-C1), 131.76 (CF<sub>3</sub>), 166.74 (Oxadiazol-C3), 167.37 (Oxadiazol-C5), 175.04 (COO); MS (ESI-): m/z: 299.0 [M-H]<sup>-</sup>.

**Charakterisierung von Ethyl 2-[3-(3-chlorophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]acetat 57 (MR02)**

Strukturformel:  $C_{12}H_{11}O_3N_2Cl$ ; Aussehen: farbloses Öl

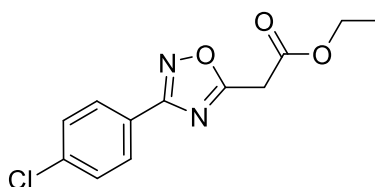


**Methode 2:** E1: Ethyl 3-chloro-3-oxopropanoat (210 mg, 1.4 mmol); E2: Natriumhydrid (38 mg, 1.6 mmol); E3: RC170 (240 mg, 1.4 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 10:1 v/v); Die Ausbeute beträgt 140 mg (38 %).

$^1H$ -NMR (300MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 1.28 (t, 3H,  $CH_3$ ,  $^3J=7.11$  Hz), 4.24 (q, 2H,  $\underline{CH_2}CH_3$ ,  $^3J=6.93$  Hz), 4.45 (s, 2H,  $CH_2$ ), 7.68 (t, 1H, Ph-H5,  $^3J=7.87$  Hz), 7.76 (m, 1H, Ph-H4), 8.04 (m, 2H, Ph-H2+H6);  $^{13}C$ -NMR (75MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 14.38 ( $CH_3$ ), 33.11 ( $CH_2$ ), 62.03 ( $\underline{CH_2}CH_3$ ), 126.15 (Ph-C6), 126.98 (Ph-C4), 128.33 (Ph-C5), 131.91 (Ph-C2), 132.08 (Ph-C3), 134.46 (Ph-C1), 166.75 (Oxadiazol-C3), 167.28 (Oxadiazol-C5), 174.85 (COO); MS (ESI-): m/z: 265.0 [M-H]-.

**Charakterisierung von Ethyl 2-[3-(4-chlorophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]acetat 58 (RC178)**

Strukturformel:  $C_{12}H_{11}O_3N_2Cl$ ; Aussehen: farbloses Öl

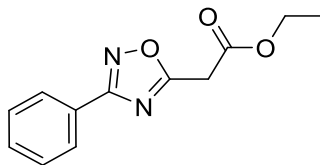


**Methode 2:** E1: Ethyl 3-chloro-3-oxopropanoat (250 mg, 1.7 mmol); E2: Natriumhydrid (47 mg, 2.0 mmol); E3: RC172 (280 mg, 1.6 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 10:1 v/v); Die Ausbeute beträgt 180 mg (41 %).

$^1H$ -NMR (300MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 1.22 (t, 3H,  $CH_3$ ,  $^3J=7.00$  Hz), 4.19 (q, 2H,  $CH_3\underline{CH_2}$ ,  $^3J=7.17$  Hz), 4.37 (s, 2H,  $CH_2$ ), 7.65 (d, 2H, Ph-H3+H5,  $^3J=8.90$  Hz), 8.03 (d, 2H, Ph-H2+H6,  $^3J=8.80$  Hz);  $^{13}C$ -NMR (75MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 14.39 ( $CH_3$ ), 33.10 ( $CH_2$ ), 62.02 ( $\underline{CH_2}CH_3$ ), 125.23 (Ph-C4), 129.27 (Ph-C3+C5), 129.99 (Ph-C2+C6), 136.91 (Ph-C1), 166.79 (Oxadiazol-C3), 167.53 (Oxadiazol-C5), 174.72 (COO); MS (ESI-): m/z: 264.9 [M-H]-.

**Charakterisierung von Ethyl 2-[3-phenyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl]acetat 59 (RC200)**

Strukturformel:  $C_{12}H_{12}O_3N_2$ ; Aussehen: farbloses Öl

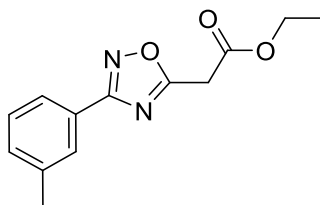


**Methode 2:** E1: Ethyl 3-chloro-3-oxopropanoat (280 mg, 1.8 mmol); E2: Natriumhydrid (88 mg, 3.7 mmol); E3: RC199 (300 mg, 2.2 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 10:1 v/v); Die Ausbeute beträgt 150 mg (35 %).

$^1\text{H-NMR}$  (500MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 1.21 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $^3J=6.96$  Hz), 4.18 (q, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $^3J=7.25$  Hz), 4.38 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.60 (m, 3H, Ph-H3+H4+H5;), 8.02 (dd, 2H, Ph-H2+H6;  $^3J=7.91$  Hz,  $^4J=1.80$  Hz), 7.67 (dt, 1H, Ph-H5;  $^3J=8.12$  Hz,  $^4J=1.68$  Hz);  $^{13}\text{C-NMR}$  (125MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 14.40 ( $\text{CH}_3$ ), 33.10 ( $\text{CH}_2$ ), 62.01 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 126.38 (Ph-C4), 127.46 (Ph-C3+C5), 129.81 (Ph-C2+C6), 132.19 (Ph-C1), 166.89 (Oxadiazol-C3), 168.30 (Oxadiazol-C5), 174.48 (COO); MS (ESI+): m/z: 233.6 [M+H] $^+$ .

**Charakterisierung von Ethyl 2-[3-(3-methylphenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]acetat 60 (RC179)**

Strukturformel:  $C_{13}H_{14}O_3N_2$ ; Aussehen: farbloses Öl

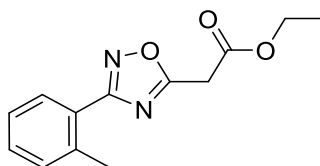


**Methode 2:** E1: Ethyl 3-chloro-3-oxopropanoat (260 mg, 1.7 mmol); E2: Natriumhydrid (50 mg, 2.0 mmol); E3: MR03 (260 mg, 1.7 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 10:1 v/v); Die Ausbeute beträgt 300 mg (71 %).

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 1.22 (t, 3H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $^3J=7.08$  Hz), 2.40 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.18 (q, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $^3J=6.86$  Hz), 4.36 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.45 (m, 2H, Ph-H4+H5), 7.81 (m, 2H, Ph-H2+H6);  $^{13}\text{C-NMR}$  (75MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 14.38 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 21.32 ( $\text{CH}_3$ ), 33.09 ( $\text{CH}_2$ ), 61.99 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 124.61 (Ph-C6), 126.31 (Ph-C4), 127.86 (Ph-C5), 129.68 (Ph-C2), 132.78 (Ph-C3), 139.20 (Ph-C1), 166.86 (Oxadiazol-C3), 168.35 (Oxadiazol-C5), 174.34 (COO); MS (ESI+): m/z: 247.6 [M+H] $^+$ .

**Charakterisierung von Ethyl 2-[3-(2-methylphenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]acetat 61 (MR04)**

Strukturformel: C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>; Aussehen: farbloses Öl

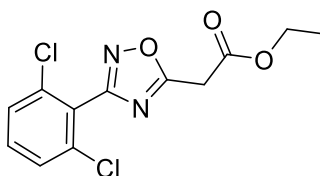


**Methode 2:** E1: Ethyl 3-chloro-3-oxopropanoat (150 mg, 1.0 mmol); E2: Natriumhydrid (36 mg, 1.5 mmol); E3: MR01 (250 mg, 1.0 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 10:1 v/v); Die Ausbeute beträgt 150 mg (61 %).

<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 1.23 (t, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J=7.00 Hz), 2.56 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.19 (q, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J=7.10 Hz), 4.37 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.40 (t, 1H, Ph-H<sub>4</sub>, <sup>3</sup>J=7.53 Hz), 7.43 (d, 1H, Ph-H<sub>6</sub>, <sup>3</sup>J=7.08 Hz), 7.67 (t, 1H, Ph-H<sub>5</sub>, <sup>3</sup>J=7.42 Hz), 7.91 (d, 1H, Ph-H<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J=7.08 Hz); <sup>13</sup>C-NMR (125MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 14.41 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 22.07 (CH<sub>3</sub>), 32.99 (CH<sub>2</sub>), 61.99 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 125.72 (Ph-C<sub>5</sub>), 126.80 (Ph-C<sub>4</sub>), 130.13 (Ph-C<sub>6</sub>), 131.48 (Ph-C<sub>3</sub>), 131.99 (Ph-C<sub>2</sub>), 138.00 (Ph-C<sub>1</sub>), 166.94 (Oxadiazol-C<sub>3</sub>), 168.89 (Oxadiazol-C<sub>5</sub>), 173.38 (COO); MS (ESI<sup>-</sup>): m/z: 265.5 [M-H]<sup>-</sup>.

**Charakterisierung von Ethyl 2-[3-(2,6-dichlorophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]acetat 62 (RC192)**

Strukturformel: C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; Aussehen: farbloses Öl

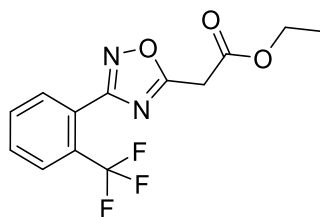


**Methode 2:** E1: Ethyl 3-chloro-3-oxopropanoat (220 mg, 1.5 mmol); E2: Natriumhydrid (42 mg, 1.8 mmol); E3: RC189 (300 mg, 1.5 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 10:1 v/v); Die Ausbeute beträgt 230 mg (52 %).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 1.27 (t, 3H, CH<sub>3</sub>; <sup>3</sup>J=7.01 Hz), 4.24 (q, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>; <sup>3</sup>J=7.09 Hz), 4.52 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.76 (m, 3H, Ph-H<sub>3</sub>+H<sub>4</sub>+H<sub>5</sub>; <sup>3</sup>J=7.33 Hz, <sup>4</sup>J=1.67 Hz); <sup>13</sup>C-NMR (63MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 13.85 (CH<sub>3</sub>), 32.55 (CH<sub>2</sub>), 61.51 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 125.57 (Ph-C<sub>4</sub>), 128.72 (Ph-C<sub>3</sub>+C<sub>5</sub>), 133.55 (Ph-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>), 134.51 (Ph-C<sub>1</sub>), 164.69 (Oxadiazol-C<sub>3</sub>), 166.09 (Oxadiazol-C<sub>5</sub>), 174.55 (COO); MS (ESI<sup>-</sup>): m/z: 298.9 [M-H]<sup>-</sup>.

### Charakterisierung von Ethyl 2-[3-[2-(trifluoromethyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5-yl]acetat 63 (RC195)

Strukturformel:  $C_{13}H_{11}O_3N_2F$ ; Aussehen: farbloses Öl

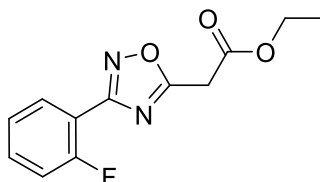


**Methode 2:** E1: Ethyl 3-chloro-3-oxopropanoat (220 mg, 1.5 mmol); E2: Natriumhydrid (42 mg, 1.8 mmol); E3: RC193 (300 mg, 1.5 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 10:1 v/v); Die Ausbeute beträgt 130 mg (30 %).

$^1H$ -NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 1.22 (t, 3H, CH<sub>3</sub>,  $^3J=7.14$  Hz), 4.19 (q, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>,  $^3J=7.13$  Hz), 4.42 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.88 (m, 3H, Ph-H<sub>3</sub>+H<sub>4</sub>+H<sub>5</sub>), 8.00 (m, 1H, Ph-H<sub>6</sub>);  $^{13}C$ -NMR (63MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 13.81 (CH<sub>3</sub>), 32.50 (CH<sub>2</sub>), 61.49 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 124.64 (Ph-C<sub>5</sub>), 125.54 (Ph-C<sub>4</sub>), 126.99 (Ph-C<sub>3</sub>), 127.47 (Ph-C<sub>6</sub>), 127.97 (Ph-C<sub>2</sub>), 131.71 (Ph-C<sub>1</sub>), 132.95 (CF<sub>3</sub>), 166.15 (Oxadiazol-C<sub>3</sub>), 167.10 (Oxadiazol-C<sub>5</sub>), 173.77 (COO); MS (ESI-): m/z: 299.0 [M-H]-.

### Charakterisierung von Ethyl 2-[3-(2-fluorophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]acetat 64 (RC201)

Strukturformel:  $C_{12}H_{11}O_3N_2F$ ; Aussehen: farbloses Öl

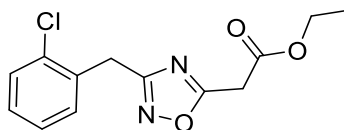


**Methode 2:** E1: Ethyl 3-chloro-3-oxopropanoat (200 mg, 1.4 mmol); E2: Natriumhydrid (65 mg, 2.7 mmol); E3: RC194 (250 mg, 1.6 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 10:1 v/v); Die Ausbeute beträgt 150 mg (44 %).

$^1H$ -NMR (300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 1.22 (t, 3H, CH<sub>3</sub>,  $^3J=7.07$  Hz), 4.19 (q, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>,  $^3J=7.20$  Hz), 4.39 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.44 (m, 2H, Ph-H<sub>4</sub>+H<sub>6</sub>), 7.64 (m, 1H, Ph-H<sub>3</sub>), 8.02 (dt, 1H, Ph-H<sub>5</sub>,  $^3J=7.62$  Hz,  $^4J=1.71$  Hz);  $^{13}C$ -NMR (75MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 14.38 (CH<sub>3</sub>), 32.99 (CH<sub>2</sub>), 62.01 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 114.50 (Ph-C<sub>5</sub>), 117.38 (Ph-C<sub>4</sub>), 125.67 (Ph-C<sub>6</sub>), 130.95 (Ph-C<sub>3</sub>), 134.19 (Ph-C<sub>1</sub>), 158.59 (Ph-C<sub>2</sub>), 165.12 (Oxadiazol-C<sub>3</sub>), 166.81 (Oxadiazol-C<sub>5</sub>), 174.06 (COO); MS (ESI+): m/z: 251.4 [M+H]<sup>+</sup>.

### Charakterisierung von Ethyl 2-[3-(2-chlorophenyl)methyl]-1,2,4-oxadiazol-5-yl]acetat 65 (RC188)

Strukturformel: C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>Cl; Aussehen: farbloses Öl

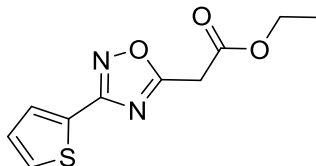


**Methode 2:** E1: Ethyl 3-chloro-3-oxopropanoat (250 mg, 1.6 mmol); E2: Natriumhydrid (47 mg, 2.0 mmol); E3: RC187 (300 mg, 1.6 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 10:1 v/v); Die Ausbeute beträgt 180 mg (42 %).

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 1.18 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J=7.37 Hz), 4.13 (q, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>; <sup>3</sup>J=7.29 Hz), 4.22 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.23 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.33 (m, 2H, Ph-H<sub>4</sub>+H<sub>5</sub>), 7.45 (m, 2H, Ph-H<sub>3</sub>+H<sub>6</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (75MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 14.33 (CH<sub>3</sub>), 29.98 (CH<sub>2</sub>), 32.92 (CH<sub>2</sub>), 61.87 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 127.87 (Ph-C<sub>5</sub>), 129.58 (Ph-C<sub>4</sub>), 129.86 (Ph-C<sub>6</sub>), 132.16 (Ph-C<sub>3</sub>), 133.74 (Ph-C<sub>2</sub>), 133.83 (Ph-C<sub>1</sub>), 166.82 (Oxadiazol-C<sub>3</sub>), 168.96 (Oxadiazol-C<sub>5</sub>), 173.99 (COO); MS (ESI-): m/z: 278.6 [M-H]<sup>-</sup>.

### Charakterisierung von Ethyl 2-[3-(thiophen-2-yl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]acetat 66 (RC210)

Strukturformel: C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>S; Aussehen: farbloses Öl



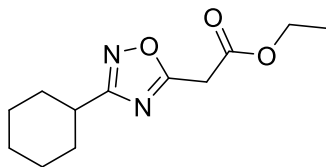
**Methode 2:** E1: Ethyl 3-chloro-3-oxopropanoat (380 mg, 2.5 mmol); E2: Natriumhydrid (100 mg, 4.2 mmol); E3: RC208 (300 mg, 2.1 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 5:1 v/v); Die Ausbeute beträgt 240 mg (48 %).

<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 1.21 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J=7.07 Hz), 4.18 (q, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, <sup>3</sup>J=7.04 Hz), 4.36 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.28 (t, 1H, Thiophen-H<sub>4</sub>, <sup>3</sup>J=4.23 Hz), 7.83 (dd, 1H, Thiophen-H<sub>5</sub>, <sup>3</sup>J=3.79 Hz, <sup>4</sup>J=1.23 Hz), 7.91 (dd, 1H, Thiophen-H<sub>5</sub>, <sup>3</sup>J=4.98 Hz, <sup>4</sup>J=1.05 Hz); <sup>13</sup>C-NMR (75MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 14.39 (CH<sub>3</sub>), 32.98 (CH<sub>2</sub>), 62.04 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 127.54 (Thiophen-C<sub>4</sub>), 129.12 (Thiophen-C<sub>5</sub>), 130.55 (Thiophen-C<sub>3</sub>), 131.43 (Thiophen-C<sub>2</sub>), 164.42 (Oxadiazol-C<sub>3</sub>), 166.80 (Oxadiazol-C<sub>5</sub>), 174.41 (COO); MS (ESI-): m/z: 236.4 [M-H]<sup>-</sup>.



**Charakterisierung von Ethyl 2-[3-cyclohexyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl]acetat 67 (RC212)**

Strukturformel:  $C_{12}H_{18}O_3N_2$ ; Aussehen: farbloses Öl

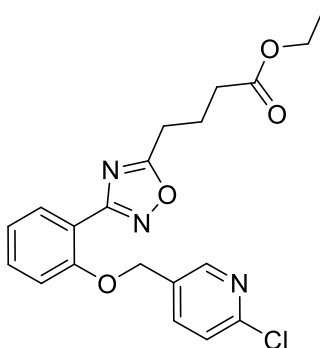


**Methode 2:** E1: Ethyl 3-chloro-3-oxopropanoat (413 mg, 2.7 mmol); E2: Natriumhydrid (100 mg, 4.2 mmol); E3: RC208 (300 mg, 2.1 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 5:1 v/v); Die Ausbeute beträgt 215 mg (43 %).

$^1H$ -NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 1.20 (t, 3H,  $CH_3$ ,  $^3J=7.15$  Hz), 1.59 (m, 11H, Cyclohexan), 3.48 (s, 2H,  $CH_2$ ), 4.15 (q, 2H,  $\underline{CH_2}CH_3$ ,  $^3J=7.08$  Hz);  $^{13}C$ -NMR (126MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 14.38 ( $CH_3$ ), 25.41 (Cy-C4), 25.77 (Cy-C3+5), 30.54 (Cy-C2+6), 35.29 (Cy-C1), 32.97 ( $CH_2$ ), 61.86 ( $\underline{CH_2}CH_3$ ), 166.96 (Oxadiazol-C3), 173.38 (Oxadiazol-C5), 174.11 (COO); MS (ESI+): m/z: 239.7 [M+H] $^+$ .

**Charakterisierung von ethyl 4-(3-{2-[(6-chloropyridin-3-yl)methoxy]phenyl}-1,2,4-oxadiazol-5-yl)butanoat 68 (RC163)**

Strukturformel:  $C_{20}H_{20}O_4N_3Cl$ ; Aussehen: farbloses Öl



**Methode 1:** E1: 5-Ethoxy-5-oxopentansäure (623 mg, 3.9 mmol); E2: Triethylamin (656 mg, 6.5 mmol); E3: RC146 (900 mg, 3.2 mmol); Säulenchromatographie (n-hexane/EtOAc, 10:1 v/v); Die Ausbeute beträgt 560 mg (43 %).

$^1H$ -NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 1.19 (t, 3H,  $CH_3$ ,  $^3J=7.43$  Hz), 2.03 (qi, 2H,  $CH_2$ - $\underline{CH_2}$ - $CH_2$ -COO,  $^3J=7.37$  Hz), 2.49 (t, 2H,  $\underline{CH_2}$ - $CH_2$ - $CH_2$ -COO,  $^3J=7.08$  Hz), 3.06 (t, 2H,  $CH_2$ - $CH_2$ - $\underline{CH_2}$ -COO,  $^3J=7.27$  Hz), 4.06 (q, 2H,  $\underline{CH_2}$ - $CH_3$ ,  $^3J=7.23$  Hz), 5.35 (s, 2H, O- $CH_2$ ), 7.18 (t, 1H, Ph-H5,  $^3J=7.29$  Hz), 7.35 (d, 1H, Ph-3,  $^3J=8.34$  Hz), 7.59 (t, 1H, Ph-H4,  $^3J=7.74$  Hz), 7.59 (d, 1H, Ph-H6,  $^3J=8.14$  Hz), 7.93 (d, 1H, Py-H4,  $^3J=7.60$  Hz,  $^4J=1.48$  Hz), 8.07 (d, 1H, Py-H3,  $^3J=8.31$  Hz,  $^4J=2.38$  Hz), 8.65 (s, 1H, Pyr-H6,  $^4J=2.3$  Hz);  $^{13}C$ -NMR (75MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 14.52 ( $CH_3$ ), 21.80 ( $CH_2$ - $\underline{CH_2}$ - $CH_2$ -COO), 25.34 ( $\underline{CH_2}$ - $CH_2$ - $CH_2$ -COO), 33.08 ( $CH_2$ - $CH_2$ -

$\underline{\text{CH}_2\text{-COO}}$ , 60.38 ( $\underline{\text{CH}_2\text{CH}_3}$ ), 67.23 (O- $\text{CH}_2$ ), 114.22 (Ph-C4), 116.22 (Ph-C5), 121.77 (Ph-C3), 124.47 (Ph-C6), 131.29 (Ph-C2), 132.75 (Ph-C1), 133.11 (Py-C4), 138.93 (Py-C5), 148.96 (Py-C3), 149.94 (Pyr-C6), 156.64 (Pyr-C2), 166.45 (Oxadiazol-C3), 172.96 (Oxadiazol-C5), 174.44 (COO); MS (ESI+): m/z: 403.1 [M+H]<sup>+</sup>.

### 6.2.11 Hydrolyse von Carbonsäuren

#### Generelle Methode der Hydrolyse

**Methode 1:** Die Carbonsäure (1.0 eq) wurde in THF (10 ml) gelöst. Zur Lösung wurde LiOH (5.0 eq), das vorher in H<sub>2</sub>O (2 ml) gelöst wurde hinzugegeben. Die Reaktion wurde für 12 Stunden auf 60°C erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde in H<sub>2</sub>O aufgenommen. Zur Lösung wurde 1M HCl hinzugegeben, bis die Säure anfang auszufallen. Das Produkt wurde filtriert und mit EtOAc und Hexan umkristallisiert.

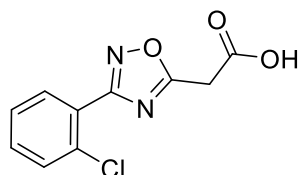
**Methode 2:** Die Säure wurde in 1M NaOH (10 ml) gelöst und für zwei Stunden auf 90°C erhitzt. Nach Abschluss der Reaktion wurde zur Lösung 1M HCl hinzugegeben, bis die Säure anfang auszufallen. Das Produkt wurde filtriert und mit EtOAc und Hexan umkristallisiert.

**Charakterisierung von 2-{4-[(Thiophen-2-ylmethyl)amino]phenyl}essigsäure 69 (SC40)**  
siehe Masterarbeit von Sun-Yee Cheung <sup>113</sup>

**Charakterisierung von 2-(4-[(2-Hydroxyphenyl)methyl](thiophen-3-ylmethyl)amino)phenyl}essigsäure 70 (SC57)** siehe Masterarbeit von Sun-Yee Cheung <sup>113</sup>

**Charakterisierung von 2-[3-(2-Chlorophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]essigsäure 71 (RC137)**

Strukturformel: C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; Aussehen: weißer Feststoff



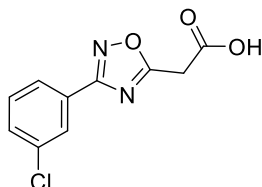
Methode 2: E1: RC 133 (120 mg, 0.4 mmol); Die Ausbeute beträgt 85 mg (79 %).

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 4.02 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.47 (m, 4H, Ph-H3-6), 7.98 (m, 2H, Ph-H2+H6); <sup>13</sup>C-NMR (75MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 33.38 (CH<sub>2</sub>), 127.47 (Ph-C6), 130.03 (Ph-C4), 131.63 (Ph-C5), 131.73 (Ph-C2), 132.34 (Ph-C3), 132.70 (Ph-C1), 154.21 (Oxadiazol-

C3), 161.57 (Oxadiazol-C5), 174.88 (COO); MS (ESI-): m/z: 223.4 [M-H]-; Anal. calcd for C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: C 50.33, H 2.96, N 11.74 found: C 50.13, H 2.96, N 12.03.

### Charakterisierung von 2-[3-(3-Chlorophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]essigsäure 72 (MR05)

Strukturformel: C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>Cl; Aussehen: weißer Feststoff

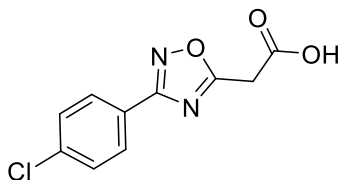


**Methode 2:** E1: MR02 (120 mg, 0.4 mmol); Die Ausbeute beträgt 90 mg (84 %).

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 4.26 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.62 (t, 1H, Ph-H5, <sup>3</sup>J=8.11 Hz), 7.69 (m, 1H, Ph-H4), 7.98 (m, 2H, Ph-H2+H6); <sup>13</sup>C-NMR (75MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 33.38 (CH<sub>2</sub>), 126.13 (Ph-C6), 126.96 (Ph-C4), 128.42 (Ph-C5), 131.89 (Ph-C2), 132.02 (Ph-C3), 134.44 (Ph-C1), 167.23 (Oxadiazol-C3), 168.21 (Oxadiazol-C5), 175.32 (COO); MS (ESI-): m/z: 223.2 [M-H]-; Anal. calcd for C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>Cl: C 50.33, H 2.96, N 11.74 found: C 50.30, H 3.22, N 11.92.

### Charakterisierung von 2-[3-(4-Chlorophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]essigsäure 73 (RC181)

Strukturformel: C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>Cl; Aussehen: weißer Feststoff

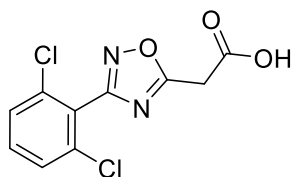


**Methode 2:** E1: RC178 (500 mg, 1.1 mmol); Die Ausbeute beträgt 215 mg (80 %).

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 5.20 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.65 (d, 2H, Ph-H3+5, <sup>3</sup>J=8.50 Hz), 8.03 (d, 2H, Ph-H2+6, <sup>3</sup>J=8.02 Hz); <sup>13</sup>C-NMR (126MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 25.43 (CH<sub>2</sub>), 125.01 (Ph-C4), 129.38 (Ph-C2+6), 130.04 (Ph-C3+5), 137.05 (Ph-C1), 167.70 (Oxadiazol-C5), 174.31 (COO); MS (ESI-): m/z: 223.2 [M-H]-; Anal. calcd for C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>Cl: C 50.33, H 2.96, N 11.74 found: C 50.15, H 3.34, N 11.59.

### Charakterisierung von 2-[3-(2,6-Dichlorophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]essigsäure 74 (RC198)

Strukturformel: C<sub>10</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; Aussehen: weißer Feststoff

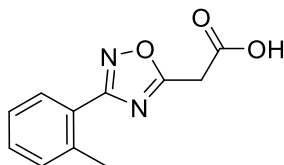


**Methode 2:** E1: RC192 (200 mg, 0.7 mmol); Die Ausbeute beträgt 160 mg (84 %).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 4.33 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.70 (m, 3H, Ph-H<sub>3</sub>+H<sub>4</sub>+H<sub>5</sub>), 13.21 (s, 1H, COOH); <sup>13</sup>C-NMR (63MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 32.83 (CH<sub>2</sub>), 125.66 (Ph-C<sub>4</sub>), 128.71 (Ph-C<sub>3</sub>+C<sub>5</sub>), 133.49 (Ph-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>), 134.52 (Ph-C<sub>1</sub>), 164.60 (Oxadiazol-C<sub>3</sub>), 167.49 (Oxadiazol-C<sub>5</sub>), 174.94 (COO); MS (ESI<sup>-</sup>): m/z: 270.8 [M-H]<sup>-</sup>; Anal. calcd for C<sub>10</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: C 43.98, H 2.21, N 10.26 found: C 44.22, H 2.50, N 10.32.

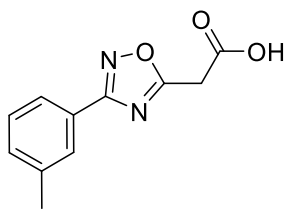
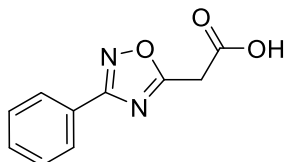
### Charakterisierung von 2-[3-(2-Methylphenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]essigsäure 75 (RC184)

Strukturformel: C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>; Aussehen: weißer Feststoff



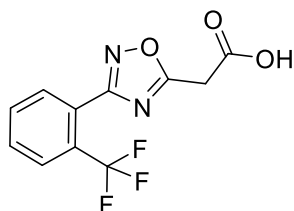
**Methode 2:** E1: MR04 (120 mg, 0.5 mmol); Die Ausbeute beträgt 70 mg (69 %).

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 2.56 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.24 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.43 (m, 3H, Ph-H<sub>3</sub>+H<sub>4</sub>+H<sub>5</sub>), 7.91 (d, 1H, Ph-H<sub>6</sub>, <sup>3</sup>J=7.77 Hz, <sup>3</sup>J=1.13 Hz); <sup>13</sup>C-NMR (75MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 22.07 (CH<sub>3</sub>), 33.25 (CH<sub>2</sub>), 125.81 (Ph-C<sub>5</sub>), 126.75 (Ph-C<sub>4</sub>), 130.11 (Ph-C<sub>6</sub>), 131.39 (Ph-C<sub>3</sub>), 131.95 (Ph-C<sub>2</sub>), 137.96 (Ph-C<sub>1</sub>), 168.36 (Oxadiazol-C<sub>3</sub>), 168.82 (Oxadiazol-C<sub>5</sub>), 173.81 (COO); MS (ESI<sup>-</sup>): m/z: 216.4 [M-H]<sup>-</sup>; Anal. calcd for C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>: C 60.55, H 4.62, N 12.84 found: C 60.20, H 4.94, N 12.54.

**Charakterisierung von 2-[3-(3-Methylphenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]essigsäure 76 (RC182)**Strukturformel:  $C_{11}H_{10}O_3N_2$ ; Aussehen: weißer Feststoff**Methode 2:** E1: RC179 (280 mg, 1.2 mmol); Die Ausbeute beträgt 200 mg (81 %). $^1\text{H-NMR}$  (300MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 2.40 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.23 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.44 (m, 2H, Ph-H4+H5), 7.82 (m, 2H, Ph-H2+H6), 13.28 (s, 1H, COOH);  $^{13}\text{C-NMR}$  (75MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 21.32 ( $\text{CH}_3$ ), 33.36 ( $\text{CH}_2$ ), 124.59 (Ph-C6), 126.40 (Ph-C4), 127.86 (Ph-C5), 129.66 (Ph-C2), 132.72 (Ph-C3), 139.17 (Ph-C1), 168.29 (Oxadiazol-C3), 168.31 (Oxadiazol-C5), 174.82 (COO); MS (ESI-): m/z: 216.6 [M-H] $^-$ ; Anal. calcd for  $C_{11}H_{10}O_3N_2$ : C 60.55, H 4.62, N 12.84 found: C 60.38, H 4.99, N 12.87.**Charakterisierung von 2-(3-Phenyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)essigsäure 77 (RC203)**Strukturformel:  $C_{10}H_8O_3N_2$ ; Aussehen: weißer Feststoff**Methode 2:** E1: RC200 (130 mg, 0.5 mmol); Die Ausbeute beträgt 80 mg (78 %). $^1\text{H-NMR}$  (500MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 4.25 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.60 (m, 3H, Ph-H3+H4+H5), 5.02 (d, 2H, Ph-H2+H6,  $^3J=8.45$  Hz), 13.28 (s, 1H, COOH);  $^{13}\text{C-NMR}$  (125MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 33.38 ( $\text{CH}_2$ ), 126.47 (Ph-C4), 127.45 (Ph-C3+C5), 129.80 (Ph-C2+C6), 132.13 (Ph-C1), 168.24 (Oxadiazol-C3), 168.36 (Oxadiazol-C5), 174.96 (COO); MS (ESI-): m/z: 202.4 [M-H] $^-$ ; Anal. calcd for  $C_{10}H_8O_3N_2$ : C 58.82, H 3.95, N 13.72 found: C 58.65, H 3.98, N 13.98.

### Charakterisierung von 2-{3-[2-(Trifluoromethyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5-yl}essigsäure 78 (RC197)

Strukturformel:  $C_{11}H_7O_3N_2F_3$ ; Aussehen: weißer Feststoff

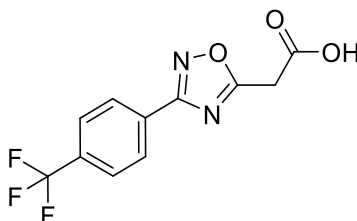


**Methode 2:** E1: RC195 (110 mg, 0.4 mmol); Die Ausbeute beträgt 85 mg (78 %).

$^1H$ -NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 4.29 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.86 (m, 3H, Ph-H<sub>3</sub>+H<sub>4</sub>+H<sub>5</sub>), 7.99 (d, 1H, Ph-H<sub>6</sub>,  $^3J=7.38$  Hz), 13.28 (s, 1H, COOH);  $^{13}C$ -NMR (125MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 33.25 (CH<sub>2</sub>), 124.97 (Ph-C<sub>5</sub>), 125.20 (Ph-C<sub>4</sub>), 127.50 (Ph-C<sub>3</sub>), 128.28 (Ph-C<sub>6</sub>), 132.14 (Ph-C<sub>2</sub>), 132.38 (Ph-C<sub>1</sub>), 133.41 (CF<sub>3</sub>), 167.50 (Oxadiazol-C<sub>3</sub>), 168.19 (Oxadiazol-C<sub>5</sub>), 174.74 (COO); MS (ESI-): m/z: 270.9 [M-H]<sup>-</sup>; Anal. calcd for  $C_{11}H_7O_3N_2F_3$ : C 48.54, H 2.59, N 10.29 found: C 48.35, H 2.99, N 10.51.

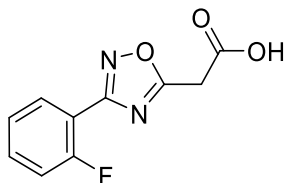
### Charakterisierung von 2-{3-[4-(Trifluoromethyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5-yl}essigsäure 79 (RC176)

Strukturformel:  $C_{11}H_7O_3N_2F_3$ ; Aussehen: weißer Feststoff

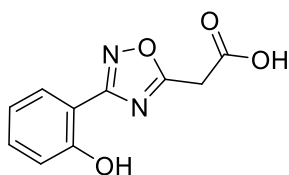


**Methode 2:** E1: RC174 (120 mg, 0.4 mmol); Die Ausbeute beträgt 105 mg (88 %).

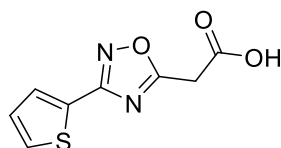
$^1H$ -NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 4.35 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 8.02 (d, 2H, Ph-H<sub>3</sub>+H<sub>5</sub>,  $^3J=8.34$  Hz), 8.29 (d, 2H, Ph-H<sub>2</sub>+H<sub>6</sub>,  $^3J=8.34$  Hz), 13.33 (s, 1H, COOH);  $^{13}C$ -NMR (75MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 33.44 (CH<sub>2</sub>), 126.08 (Ph-C<sub>4</sub>), 126.79 (Ph-C<sub>3</sub>+C<sub>5</sub>), 128.32 (Ph-C<sub>2</sub>+C<sub>6</sub>), 130.32 (Ph-C<sub>1</sub>), 131.93 (CF<sub>3</sub>), 167.32 (Oxadiazol-C<sub>3</sub>), 168.25 (Oxadiazol-C<sub>5</sub>), 175.57 (COO); MS (ESI-): m/z: 270.9 [M-H]<sup>-</sup>; Anal. calcd for  $C_{11}H_7O_3N_2F_3$ : C 48.54, H 2.59, N 10.29 found: C 48.45, H 2.51, N 10.20.

**Charakterisierung von 2-[3-(2-Fluorophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]essigsäure 80 (RC213)**Strukturformel:  $C_{10}H_7O_3N_2F$ ; Aussehen: weißer Feststoff**Methode 2:** E1: RC201 (120 mg, 0.5 mmol); Die Ausbeute beträgt 70 mg (63 %).

$^1H$ -NMR (500MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 4.28 (s, 2H,  $CH_2$ ), 7.44 (m, 2H, Ph-H4+H5), 7.67 (m, 1H, Ph-H3), 8.02 (dt, 1H, Ph-H6,  $^3J=7.44$  Hz,  $^4J=1.60$  Hz);  $^{13}C$ -NMR (125MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 33.26 ( $CH_2$ ), 114.53 (Ph-C5), 117.34 (Ph-C4), 125.64 (Ph-C6), 130.93 (Ph-C3), 134.06 (Ph-C1), 159.27 (Ph-C2), 165.06 (Oxadiazol-C3), 168.32 (Oxadiazol-C5), 174.55 (COO); MS (ESI-): m/z: 220.5 [M-H] $^-$ ; Anal. calcd for  $C_{10}H_7O_3N_2F$ : C 54.06, H 3.18, N 12.61 found: C 53.93, H 3.28, N 12.72.

**Charakterisierung von 2-[3-(2-Hydroxyphenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]essigsäure 81 (RC142)**Strukturformel:  $C_{10}H_8N_2O_4$ ; Aussehen: weißer Feststoff**Methode 2:** E1: RC140 (200 mg, 0.8 mmol); Die Ausbeute beträgt 145 mg (73 %).

$^1H$ -NMR (400MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 6.40 (s, 2H,  $CH_2$ ), 7.46 (dt, 1H, Ph-H5,  $^3J=8.19$  Hz,  $^4J=1.29$  Hz), 7.46 (d, 1H, Ph-H6,  $^3J=7.98$  Hz), 7.53 (dt, 1H, Ph-H4,  $^3J=7.55$  Hz,  $^4J=1.88$  Hz), 7.85 (d, 1H, Ph-H3,  $^3J=7.95$  Hz);  $^{13}C$ -NMR (126MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 62.27 ( $CH_2$ ), 112.78 (Ph-C1), 115.99 (Ph-C3), 120.28 (Ph-C5), 129.02 (Ph-C4), 133.01 (Ph-C6), 156.77 (Oxadiazol-C3), 164.37 (Oxadiazol-C5), 174.24 (COO); MS (ESI+): m/z: 221.3 [M+H] $^+$ ; Anal. calcd for  $C_{10}H_8N_2O_4$ : C 54.55, H 3.66, N 12.72 found: C 54.80, H 3.73, N 12.55.

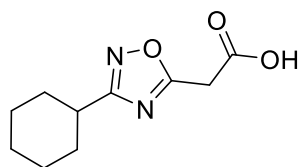
**Charakterisierung von 2-[3-(Thiophen-2-yl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]essigsäure 82 (RC215)**Strukturformel:  $C_8H_6O_3N_2S$ ; Aussehen: weißer Feststoff

**Methode 2:** E1: RC210 (120 mg, 0.5 mmol); Die Ausbeute beträgt 85 mg (80 %).

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 4.23 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.28 (t, 1H, Thiophene-H4, <sup>3</sup>J=4.30 Hz), 7.81 (dd, 1H, Thiophene-H5, <sup>3</sup>J=3.72 Hz, <sup>4</sup>J=1.13 Hz), 7.90 (dd, 1H, Thiophene-H5, <sup>3</sup>J=5.03 Hz, <sup>4</sup>J=1.20 Hz), 13.26 (s, 1H, COOH); <sup>13</sup>C-NMR (75MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 33.26 (CH<sub>2</sub>), 127.65 (Thiophene-C4), 129.07 (Thiophene-C5), 130.43 (Thiophene-C3), 131.30 (Thiophene-C2), 164.36 (Oxadiazol-C3), 168.21 (Oxadiazol-C5), 174.88 (COO); MS (ESI-): m/z: 208.4 [M-H]<sup>-</sup>; Anal. calcd for C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>S: C 45.71, H 2.88, N 13.33, S 15.25 found: C 45.72, H 3.07, N 12.67, S 15.71.

### Charakterisierung von 2-[3-Cyclohexyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl]essigsäure 83 (RC217)

Strukturformel: C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>; Aussehen: weißer Feststoff

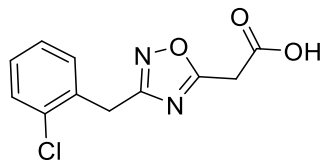


**Methode 2:** E1: RC212 (100 mg, 0.4 mmol); Die Ausbeute beträgt 74 mg (84 %).

<sup>1</sup>H-NMR (500MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 1.44 (m, 11H, Cyclohexan), 3.37 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (126MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 14.38 (CH<sub>3</sub>), 24.78 (Cy-C4), 25.54 (Cy-C3+5), 30.24 (Cy-C2+6), 34.86 (Cy-C1), 32.75 (CH<sub>2</sub>), 164.76 (Oxadiazol-C3), 174.31 (Oxadiazol-C5), 175.31 (COO); MS (ESI<sup>+</sup>): m/z: 211.2 [M+H]<sup>+</sup>; Anal. calcd for C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: C 57.13, H 6.71, N 13.33 found: C 57.64, H 6.97, N 12.97.

### Charakterisierung von 2-{3-[(2-Chlorphenyl)methyl]-1,2,4-oxadiazol-5-yl}essigsäure 84 (RC191)

Strukturformel: C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>Cl; Aussehen: farbloses Öl



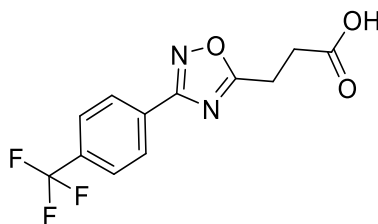
**Methode 2:** E1: RC188 (155 mg, 0.6 mmol); Die Ausbeute beträgt 70 mg (50 %).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 4.10 (s, 2H, Ph-CH<sub>2</sub>), 4.20 (s, 2H, CH<sub>2</sub>COOH), 7.32 (m, 2H, Ph-H4+H5), 7.44 (m, 2H, Ph-H3+H6); <sup>13</sup>C-NMR (63MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 29.45 (Ph-CH<sub>2</sub>), 32.69 (CH<sub>2</sub>COOH), 61.87 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 127.36 (Ph-C5), 129.05 (Ph-C4), 129.34 (Ph-C6), 131.66 (Ph-C3), 133.25 (Ph-C2), 133.31 (Ph-C1), 167.71 (Oxadiazol-C3), 168.35 (Oxadiazol-C5), 173.94 (COO); MS (ESI-): m/z: 251.3 [M-H]<sup>-</sup>; Anal. calcd for C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>Cl: C 52.29, H 3.59, N 11.09 found: C 52.21, H 3.76, N 10.95.



**Charakterisierung von 3-{3-[4-(Trifluoromethyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5-yl}propionsäure 85 (RC136)**

Strukturformel: C<sub>12</sub>H<sub>9</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>F<sub>3</sub>; Aussehen: weißer Feststoff

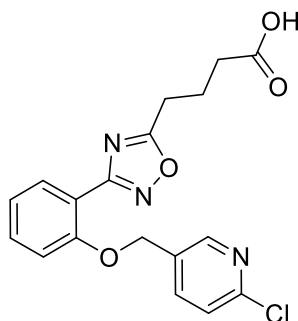


**Methode 1:** E1: RC131 (120 mg, 0.4 mmol); E2: LiOH·H<sub>2</sub>O (80 mg, 1.9 mmol); Die Ausbeute beträgt 70 mg (64 %).

<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 2.85 (t, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J=7.07 Hz), 3.22 (t, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J=6.68 Hz), 7.94 (d, 2H, Ph-H3+H5, <sup>3</sup>J=8.15 Hz), 8.20 (d, 2H, Ph-H2+H6, <sup>3</sup>J=7.96 Hz), 12.45 (s, 1H, COOH); <sup>13</sup>C-NMR (63MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 21.74 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 29.85 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 126.24 (Ph-C4), 127.81 (Ph-C3+C5), 130.05 (Ph-C2+C6), 131.05 (Ph-C1), 131.56 (CF<sub>3</sub>), 166.49 (Oxadiazol-C3), 172.72 (Oxadiazol-C5), 180.33 (COO); MS (ESI-): m/z: 284.9 [M-H]<sup>-</sup>; Anal. calcd for C<sub>12</sub>H<sub>9</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>F<sub>3</sub>: C 50.36, H 3.17, N 9.79 found: C 50.29, H 3.24, N 9.80.

**Charakterisierung von 4-(3-{2-[(6-Chloropyridin-3-yl)methoxy]phenyl}-1,2,4-oxadiazol-5-yl)butansäure 86 (RC164)**

Strukturformel: C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>Cl; Aussehen: weißer Feststoff



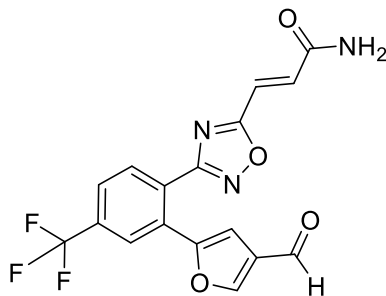
**Methode 2:** E1: RC163 (200 mg, 0.5 mmol); Die Ausbeute beträgt 145 mg (78 %).

<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 2.03 (qi, 2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-COO, <sup>3</sup>J=7.32 Hz), 2.41 (t, 2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-COO, <sup>3</sup>J=6.95 Hz), 3.04 (t, 2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-COO, <sup>3</sup>J=7.47 Hz), 5.39 (s, 2H, O-CH<sub>2</sub>), 7.18 (t, 1H, Ph-H5, <sup>3</sup>J=7.78 Hz), 7.35 (d, 1H, Ph-3, <sup>3</sup>J=7.78 Hz), 7.60 (t, 1H, Ph-H4, <sup>3</sup>J=8.58 Hz), 7.59 (d, 1H, Ph-H6, <sup>3</sup>J=8.13 Hz), 7.96 (d, 1H, Py-H4, <sup>3</sup>J=7.98 Hz, <sup>4</sup>J=1.96 Hz), 8.08 (d, 1H, Py-H3, <sup>3</sup>J=8.40 Hz, <sup>4</sup>J=2.38 Hz), 8.65 (s, 1H, Pyr-H6, <sup>4</sup>J=2.1 Hz), 12.23 (s, 1H, COOH); <sup>13</sup>C-NMR (75MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 21.88 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-COO), 25.40 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-COO), 33.02 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-COO), 67.23 (O-CH<sub>2</sub>), 114.23 (Ph-C4), 116.24 (Ph-C5), 121.78 (Ph-C3), 124.50 (Ph-C6), 131.31 (Ph-C2), 132.77 (Ph-C1), 133.10 (Py-C4), 138.94

(Py-C5), 148.95 (Py-C3), 149.94 (Pyr-C6), 156.64 (Pyr-C2), 166.44 (Oxadiazol-C3), 174.29 (Oxadiazol-C5), 178.97 (COO); MS (ESI+): m/z: 374.6 [M+H]<sup>+</sup>; Anal. calcd for C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>Cl: C 57.84, H 4.31, N 11.24 found: C 57.59, H 4.34, N 11.32.

**Modellierte Verbindung mit DOGS (E)-3-{3-[2-(4-Formylfuran-2-yl)-4-(trifluoromethyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-5-yl}acrylamid 87**

Strukturformel: C<sub>17</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>N<sub>3</sub>F<sub>3</sub>;



## 7. Literaturverzeichnis

1. Hunnius. *C. Hunnius - Pharmazeutisches Wörterbuch*: De Gruyter: Berlin; 2010.
2. Meurer, Wolf. *Allgemeine Pathologie*: Schattauer; 2007.
3. Aronoff DM, Canetti C, Peters-Golden M. Prostaglandin E2 inhibits alveolar macrophage phagocytosis through an E-prostanoid 2 receptor-mediated increase in intracellular cyclic AMP. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 2004;173(1):559–565.
4. Schaible HG, Grubb BD. Afferent and spinal mechanisms of joint pain. *Pain*. 1993;55(1):5–54.
5. Yagami T, Yamamoto Y, Koma H. The role of secretory phospholipase A<sub>2</sub> in the central nervous system and neurological diseases. *Molecular neurobiology*. 2014;49(2):863–876.
6. Peters-Golden M, Henderson WR. Leukotrienes. *The New England journal of medicine*. 2007;357(18):1841–1854.
7. Crooks SW, Stockley RA. Leukotriene B<sub>4</sub>. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 1998;30(2):173–178.
8. Liu M, Yokomizo T. The role of leukotrienes in allergic diseases. *Allergology international : official journal of the Japanese Society of Allergology*. 2015;64(1):17–26.
9. Kurumbail RG, Kiefer JR, Marnett LJ. Cyclooxygenase enzymes: catalysis and inhibition. *Current opinion in structural biology*. 2001;11(6):752–760.
10. Marnett LJ. Cyclooxygenase mechanisms. *Current opinion in chemical biology*. 2000;4(5):545–552.
11. Fitzpatrick FA. Cyclooxygenase enzymes: regulation and function. *Current pharmaceutical design*. 2004;10(6):577–588.
12. Majed BH, Khalil RA. Molecular mechanisms regulating the vascular prostacyclin pathways and their adaptation during pregnancy and in the newborn. *Pharmacological reviews*. 2012;64(3):540–582.
13. Takeuchi K. Gastric cytoprotection by prostaglandin E<sub>2</sub> and prostacyclin: relationship to EP1 and IP receptors. *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society*. 2014;65(1):3–14.
14. Coleman RA, Kennedy I, Humphrey PPA, Bunce K, Lumley. Prostanoids and their receptors. In: *Comprehensive Medicinal Chemistry, Membranes and Receptors*. Vol. 3. JC Emmett (ed). Oxford, Pergamon Press. 1990.
15. Narumiya S, Sugimoto Y, Ushikubi F. Prostanoid receptors: structures, properties, and functions. *Physiological reviews*. 1999;79(4):1193–1226.
16. McCoy JM, Wicks JR, Audoly LP. The role of prostaglandin E2 receptors in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *The Journal of clinical investigation*. 2002;110(5):651–658.
17. Kojima F, Naraba H, Miyamoto S, Beppu M, Aoki H, Kawai S. Membrane-associated prostaglandin E synthase-1 is upregulated by proinflammatory cytokines in chondrocytes from patients with osteoarthritis. *Arthritis research & therapy*. 2004;6(4):R355-65.
18. Pai R, Soreghan B, Szabo IL, Pavelka M, Baatar D, Tarnawski AS. Prostaglandin E2 transactivates EGF receptor: a novel mechanism for promoting colon cancer growth and gastrointestinal hypertrophy. *Nature medicine*. 2002;8(3):289–293.
19. Matousek SB, Hein AM, Shaftel SS, Olschowka JA, Kyrkanides S, O'Banion MK. Cyclooxygenase-1 mediates prostaglandin E(2) elevation and contextual memory impairment in a model of sustained hippocampal interleukin-1beta expression. *Journal of neurochemistry*. 2010;114(1):247–258.
20. Williams CS, Mann M, DuBois RN. The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer, and development. *Oncogene*. 1999;18(55):7908–7916.
21. Hans-Hasso Frey, Wolfgang Löscher. *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin*. 3. Auflage: Enke; 2009.
22. Ford-Hutchinson AW. FLAP: a novel drug target for inhibiting the synthesis of leukotrienes. *Trends in pharmacological sciences*. 1991;12(2):68–70.
23. Steinhilber, Schubert-Szilavec, Roth. *Medizinische Chemie*. 2 Auflage: Deutscher Apotheker Verlag; 2000.
24. Smith WL, DeWitt DL. Prostaglandin endoperoxide H synthases-1 and -2. *Advances in immunology*. 1996;62:167–215.

25. Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 1998;38:97–120.
26. Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Brzozowska I, Pawlik T. Role of prostaglandins in gastroprotection and gastric adaptation. *J. Physiol. Pharmacol.* 2005;56 Suppl 5:33–55.
27. Hao C, Breyer MD. Physiological regulation of prostaglandins in the kidney. *Annual review of physiology*. 2008;70:357–377.
28. Morteau O, Morham SG, Sellon R, et al. Impaired mucosal defense to acute colonic injury in mice lacking cyclooxygenase-1 or cyclooxygenase-2. *The Journal of clinical investigation*. 2000;105(4):469–478.
29. Chakraborty I, Das SK, Wang J, Dey SK. Developmental expression of the cyclo-oxygenase-1 and cyclo-oxygenase-2 genes in the peri-implantation mouse uterus and their differential regulation by the blastocyst and ovarian steroids. *Journal of molecular endocrinology*. 1996;16(2):107–122.
30. Kujubu DA, Fletcher BS, Varnum BC, Lim RW, Herschman HR. TIS10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue. *The Journal of biological chemistry*. 1991;266(20):12866–12872.
31. Cobellis L, Razzi S, Simone S de, et al. The treatment with a COX-2 specific inhibitor is effective in the management of pain related to endometriosis. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2004;116(1):100–102.
32. Samad TA, Moore KA, Sapirstein A, et al. Interleukin-1beta-mediated induction of Cox-2 in the CNS contributes to inflammatory pain hypersensitivity. *Nature*. 2001;410(6827):471–475.
33. Marnett LJ, Rowlinson SW, Goodwin DC, Kalgutkar AS, Lanzo CA. Arachidonic acid oxygenation by COX-1 and COX-2. Mechanisms of catalysis and inhibition. *The Journal of biological chemistry*. 1999;274(33):22903–22906.
34. Picot D, Loll PJ, Garavito RM. The X-ray crystal structure of the membrane protein prostaglandin H2 synthase-1. *Nature*. 1994;367(6460):243–249.
35. Malkowski MG, Ginell SL, Smith WL, Garavito RM. The productive conformation of arachidonic acid bound to prostaglandin synthase. *Science (New York, N.Y.)*. 2000;289(5486):1933–1937.
36. Rimon G, Sidhu RS, Lauver DA, et al. Coxibs interfere with the action of aspirin by binding tightly to one monomer of cyclooxygenase-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010;107(1):28–33.
37. Garavito RM, DeWitt DL. The cyclooxygenase isoforms: structural insights into the conversion of arachidonic acid to prostaglandins. *Biochimica et biophysica acta*. 1999;1441(2-3):278–287.
38. Wong E, Bayly C, Waterman HL, Riendeau D, Mancini JA. Conversion of prostaglandin G/H synthase-1 into an enzyme sensitive to PGHS-2-selective inhibitors by a double His513 -- Arg and Ile523 -- val mutation. *The Journal of biological chemistry*. 1997;272(14):9280–9286.
39. Luong C, Miller A, Barnett J, Chow J, Ramesha C, Browner MF. Flexibility of the NSAID binding site in the structure of human cyclooxygenase-2. *Nat. Struct. Biol.* 1996;3(11):927–933.
40. Smith WL, Marnett LJ, DeWitt DL. Prostaglandin and thromboxane biosynthesis. *Pharmacology & therapeutics*. 1991;49(3):153–179.
41. Ruf HH, Raab-Brill U, Blau C. A model for the catalytic mechanism of prostaglandin endoperoxide synthase. *Biochemical Society transactions*. 1993;21 (Pt 3)(3):739–744.
42. Laube M, Kniess T, Pietzsch J. Radiolabeled COX-2 inhibitors for non-invasive visualization of COX-2 expression and activity--a critical update. *Molecules (Basel, Switzerland)*. 2013;18(6):6311–6355.
43. Kargman S, Charleson S, Cartwright M, et al. Characterization of Prostaglandin G/H Synthase 1 and 2 in rat, dog, monkey, and human gastrointestinal tracts. *Gastroenterology*. 1996;111(2):445–454.
44. FDA.
45. Liu D, Ji L, Wang Y, Zheng L. Cyclooxygenase-2 expression, prostacyclin production and endothelial protection of high-density lipoprotein. *Cardiovascular & hematological disorders drug targets*. 2012;12(2):98–105.

46. Gierse JK, Zhang Y, Hood WF, et al. Valdecoxib: assessment of cyclooxygenase-2 potency and selectivity. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2005;312(3):1206–1212.
47. Esser R, Berry C, Du Z, et al. Preclinical pharmacology of lumiracoxib: a novel selective inhibitor of cyclooxygenase-2. *British journal of pharmacology*. 2005;144(4):538–550.
48. Holtzman MJ, Turk J, Shornick LP. Identification of a pharmacologically distinct prostaglandin H synthase in cultured epithelial cells. *The Journal of biological chemistry*. 1992;267(30):21438–21445.
49. Clària J, Serhan CN. Aspirin triggers previously undescribed bioactive eicosanoids by human endothelial cell-leukocyte interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1995;92(21):9475–9479.
50. Serhan CN, Chiang N, Van Dyke, Thomas E. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nature reviews. Immunology*. 2008;8(5):349–361.
51. Howe LR, Subbaramaiah K, Brown AM, Dannenberg AJ. Cyclooxygenase-2: a target for the prevention and treatment of breast cancer. *Endocrine-related cancer*. 2001;8(2):97–114.
52. Parrett M, Harris R, Joarder F, Ross M, Clausen K, Robertson F. Cyclooxygenase-2 gene expression in human breast cancer. *International journal of oncology*. 1997;10(3):503–507.
53. Kulkarni S, Rader JS, Zhang F, et al. Cyclooxygenase-2 is overexpressed in human cervical cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2001;7(2):429–434.
54. Gupta S, Srivastava M, Ahmad N, Bostwick DG, Mukhtar H. Over-expression of cyclooxygenase-2 in human prostate adenocarcinoma. *The Prostate*. 2000;42(1):73–78.
55. Mohammed SI, Knapp DW, Bostwick DG, et al. Expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) in human invasive transitional cell carcinoma (TCC) of the urinary bladder. *Cancer research*. 1999;59(22):5647–5650.
56. Koga H, Sakisaka S, Ohishi M, et al. Expression of cyclooxygenase-2 in human hepatocellular carcinoma: relevance to tumor dedifferentiation. *Hepatology (Baltimore, Md.)*. 1999;29(3):688–696.
57. Molina MA, Sitja-Arnau M, Lemoine MG, Frazier ML, Sinicrope FA. Increased cyclooxygenase-2 expression in human pancreatic carcinomas and cell lines: growth inhibition by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Cancer research*. 1999;59(17):4356–4362.
58. Buckman SY, Gresham A, Hale P, et al. COX-2 expression is induced by UVB exposure in human skin: implications for the development of skin cancer. *Carcinogenesis*. 1998;19(5):723–729.
59. Hida T, Yatabe Y, Achiwa H, et al. Increased expression of cyclooxygenase 2 occurs frequently in human lung cancers, specifically in adenocarcinomas. *Cancer research*. 1998;58(17):3761–3764.
60. Chan G, Boyle JO, Yang EK, et al. Cyclooxygenase-2 expression is up-regulated in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer research*. 1999;59(5):991–994.
61. Eberhart CE, Coffey RJ, Radhika A, Giardiello FM, Ferrenbach S, DuBois RN. Up-regulation of cyclooxygenase 2 gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Gastroenterology*. 1994;107(4):1183–1188.
62. Ristimäki A, Honkanen N, Jänkälä H, Sipponen P, Härkönen M. Expression of cyclooxygenase-2 in human gastric carcinoma. *Cancer research*. 1997;57(7):1276–1280.
63. Seyffert W. *Lehrbuch der Genetik*. 2. Auflage. Berlin: Spektrum; 2003.
64. Sali A, Overington JP, Johnson MS, Blundell TL. From comparisons of protein sequences and structures to protein modelling and design. *Trends in biochemical sciences*. 1990;15(6):235–240.
65. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *Journal of molecular biology*. 1990;215(3):403–410.
66. Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, et al. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics (Oxford, England)*. 2007;23(21):2947–2948.
67. Laskowski RA, Macarthur MW, Moss DS, Thornton JM. Procheck: a program to check the stereochemical quality of protein structures. *J Appl Crystallogr*. 1993(26):283–291.
68. Hoofst RW, Vriend G, Sander C, Abola EE. Errors in protein structures. *Nature*. 1996;381(6580):272.

69. 2015. Molecular Operating Environment (MOE), 2013.08: Chemical Computing Group Inc. 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7.
70. Ramachandran GN, Venkatachalam CM. Stereochemical criteria for polypeptides and proteins. IV. Standard dimensions for the cis-peptide unit and conformation of cis-polypeptides. *Biopolymers*. 1968;6(9):1255–1262.
71. Amaravani M, Prasad NK, Ramakrishna V. COX-2 structural analysis and docking studies with gallic acid structural analogues. *SpringerPlus*. 2012;1(1):58.
72. Singh S, Pandey VP, Naaz H, Singh P, Dwivedi UN. Structural modeling and simulation studies of human cyclooxygenase (COX) isozymes with selected terpenes: implications in drug designing and development. *Computers in biology and medicine*. 2013;43(6):744–750.
73. Koshland DE. Application of a Theory of Enzyme Specificity to Protein Synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1958;44(2):98–104.
74. Cheng X, Ivanov I. Molecular dynamics. *Methods Mol. Biol.* 2012;929:243–285.
75. Phillips JC, Braun R, Wang W, et al. Scalable molecular dynamics with NAMD. *Journal of computational chemistry*. 2005;26(16):1781–1802.
76. Anzini M, Di Capua A, Valenti S, et al. Novel analgesic/anti-inflammatory agents: 1,5-diarylpyrrole nitrooxyalkyl ethers and related compounds as cyclooxygenase-2 inhibiting nitric oxide donors. *Journal of medicinal chemistry*. 2013;56(8):3191–3206.
77. Özadalı K, Özkanlı F, Jain S, Rao, Praveen P N, Velázquez-Martínez CA. Synthesis and biological evaluation of isoxazolo[4,5-d]pyridazin-4-(5H)-one analogues as potent anti-inflammatory agents. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2012;20(9):2912–2922.
78. Singh P, Mittal A, Kaur S, Kumar S. 2,3,5-Substituted tetrahydrofurans: COX-2 inhibitory activities of 5-hydroxymethyl-/carboxyl-2,3-diaryl-tetrahydro-furan-3-ols. *European journal of medicinal chemistry*. 2008;43(12):2792–2799.
79. Khoshneviszadeh M, Edraki N, Miri R, Hemmateenejad B. Exploring QSAR for substituted 2-sulfonyl-phenyl-indol derivatives as potent and selective COX-2 inhibitors using different chemometrics tools. *Chemical biology & drug design*. 2008;72(6):564–574.
80. Seedher N, Bhatia S, Singh B. Quantitative correlation between theoretical molecular descriptors and drug-HSA binding affinities for various cox-2 inhibitors. *Chemical biology & drug design*. 2008;72(4):297–302.
81. El-Sayed MA, Abdel-Aziz NI, Abdel-Aziz AA, El-Azab AS, ElTahir, Kamal E H. Synthesis, biological evaluation and molecular modeling study of pyrazole and pyrazoline derivatives as selective COX-2 inhibitors and anti-inflammatory agents. Part 2. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2012;20(10):3306–3316.
82. Hanna MM. New pyrimido[5,4-e]pyrrolo[1,2-c]pyrimidines: synthesis, 2D-QSAR, anti-inflammatory, analgesic and ulcerogenicity studies. *European journal of medicinal chemistry*. 2012;55:12–22.
83. Harrak Y, Casula G, Basset J, et al. Synthesis, anti-inflammatory activity, and in vitro antitumor effect of a novel class of cyclooxygenase inhibitors: 4-(aryloyl)phenyl methyl sulfones. *Journal of medicinal chemistry*. 2010;53(18):6560–6571.
84. Wishart DS, Knox C, Guo AC, et al. DrugBank: a comprehensive resource for in silico drug discovery and exploration. *Nucleic acids research*. 2006;34(Database issue):D668-72.
85. John H. Van Drie. Monty Kier and the Origin of the Pharmacophore Concept. In: *Internet Electronic Journal of Molecular Design; vol. 6:271–279*.
86. Waltenberger B, Schuster D, Paramapojn S, et al. Predicting cyclooxygenase inhibition by three-dimensional pharmacophoric profiling. Part II: Identification of enzyme inhibitors from Prasaplai, a Thai traditional medicine. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. 2011;18(2-3):119–133.
87. Su B, Tian R, Darby MV, Brueggemeier RW. Novel sulfonanilide analogs decrease aromatase activity in breast cancer cells: synthesis, biological evaluation, and ligand-based pharmacophore identification. *Journal of medicinal chemistry*. 2008;51(5):1126–1135.
88. Lippert T, Schulz-Gasch T, Roche O, Guba W, Rarey M. De novo design by pharmacophore-based searches in fragment spaces. *Journal of computer-aided molecular design*. 2011;25(10):931–945.
89. Hartenfeller M, Zettl H, Walter M, et al. DOGS: reaction-driven de novo design of bioactive compounds. *PLoS computational biology*. 2012;8(2):e1002380.

90. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2001;46(1-3):3–26.
91. Kuntz et al. DOCK. <http://dock.compbio.ucsf.edu/>. Accessed August 17, 2015.
92. Jones G, Willett P, Glen RC, Leach AR, Taylor R. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *Journal of molecular biology.* 1997;267(3):727–748.
93. Rarey M, Kramer B, Lengauer T, Klebe G. A fast flexible docking method using an incremental construction algorithm. *Journal of molecular biology.* 1996;261(3):470–489.
94. Gisbert Schneider und Karl-Heinz Baringhaus. *Molecular Design. Concepts and Applications.* 1.th ed.: WILEY-VCH; 2088.
95. Ou-Yang S, Lu J, Kong X, Liang Z, Luo C, Jiang H. Computational drug discovery. *Acta Pharmacol. Sin.* 2012;33(9):1131–1140.
96. Al-Hourani BJ, Sharma SK, Mane JY, et al. Synthesis and evaluation of 1,5-diaryl-substituted tetrazoles as novel selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters.* 2011;21(6):1823–1826.
97. El-Araby M, Omar A, Hassanein HH, El-Helby AH, Abdel-Rahman AA. Design, synthesis and in vivo anti-inflammatory activities of 2,4-diaryl-5-4H-imidazolone derivatives. *Molecules (Basel, Switzerland).* 2012;17(10):12262–12275.
98. Kaur J, Bhardwaj A, Sharma SK, Wuest F. 1,4-Diaryl-substituted triazoles as cyclooxygenase-2 inhibitors: Synthesis, biological evaluation and molecular modeling studies. *Bioorganic & medicinal chemistry.* 2013;21(14):4288–4295.
99. Yu G, Chowdhury MA, Abdellatif, Khaled R A, et al. Phenylacetic acid regioisomers possessing a N-difluoromethyl-1,2-dihydropyrid-2-one pharmacophore: evaluation as dual inhibitors of cyclooxygenases and 5-lipoxygenase with anti-inflammatory activity. *Bioorganic & medicinal chemistry letters.* 2010;20(3):896–902.
100. Yadav P, Singh P, Tewari AK. Design, synthesis, docking and anti-inflammatory evaluation of novel series of benzofuran based prodrugs. *Bioorganic & medicinal chemistry letters.* 2014;24(10):2251–2255.
101. Raghavendra NM, Jyothsna A, Venkateswara Rao A, Subrahmanyam, C V S. Synthesis, pharmacological evaluation and docking studies of N-(benzo[d]thiazol-2-yl)-2-(piperazin-1-yl)acetamide analogs as COX-2 inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters.* 2012;22(2):820–823.
102. Dilber SP, Dobric SL, Juranic ZD, Markovic BD, Vladimirov SM, Juranic IO. Docking studies and anti-inflammatory activity of beta-hydroxy-beta-arylpropanoic acids. *Molecules (Basel, Switzerland).* 2008;13(3):603–615.
103. Rowlinson SW, Kiefer JR, Prusakiewicz JJ, et al. A novel mechanism of cyclooxygenase-2 inhibition involving interactions with Ser-530 and Tyr-385. *The Journal of biological chemistry.* 2003;278(46):45763–45769.
104. Lawrence J. Marnett, Amit S. Kalgutkar. Selective inhibitors of prostaglandin endoperoxide synthase-2. 1996. Updated December 30, 1996.
105. Lawrence J. Marnett, Amit S. Kalgutkar. Selective inhibitors of prostaglandin endoperoxide synthase-2. 1999. Updated April 6, 1999.
106. Kalgutkar AS, Kozak KR, Crews BC, Hochgesang GP, Marnett LJ. Covalent modification of cyclooxygenase-2 (COX-2) by 2-acetoxyphenyl alkyl sulfides, a new class of selective COX-2 inactivators. *Journal of medicinal chemistry.* 1998;41(24):4800–4818.
107. Kalgutkar AS, Crews BC, Rowlinson SW, Garner C, Seibert K, Marnett LJ. Aspirin-like molecules that covalently inactivate cyclooxygenase-2. *Science (New York, N.Y.).* 1998;280(5367):1268–1270.
108. Loll PJ, Picot D, Garavito RM. The structural basis of aspirin activity inferred from the crystal structure of inactivated prostaglandin H2 synthase. *Nature structural biology.* 1995;2(8):637–643.
109. Lee, Wai, Mun. Novel Nitrile and Amidoxime compounds and methods of preparation. 2009.
110. Leslie J. Street, Raymond Baker, Tracey Book, Clare O. Kneen, Angus M. MacLeod, Kevin J. Merchant, Graham A. Showell, John Saunders, Richard H. Herbert, Stephen B. Freedman, and Elizabeth A. Harley. Synthesis and Biological Activity of 1,2,4-Oxadiazole Derivatives: H,ghly

- Potent and Efficacious Agonists for Cortical Muscarinic Receptors. *J. Med. Chem.* 1990;33(10):2690–2697.
111. Abdel-Magid AF, Carson KG, Harris BD, Maryanoff CA, Shah RD. Reductive Amination of Aldehydes and Ketones with Sodium Triacetoxyborohydride. Studies on Direct and Indirect Reductive Amination Procedures(1). *The Journal of organic chemistry.* 1996;61(11):3849–3862.
112. Huifen Chen, Brian Desmond Palmer, Gordon William Rewcastle, Christopher Richardson, Richard John Sciotti, Julie Ann Spicer, Jeremy Tyson Starr, Hamish Scott Sutherland. Imidazopyridine and imidazopyrimidine derivatives as antibacterial agents. 2005. Updated March 7, 2005.
113. Sun-Yee Cheung. *Synthese und Charakterisierung von potentiellen COX-2 Inhibitoren. Zur Erlangung des akademischen Grades Master of Science.* Frankfurt; 2013.
114. Zebardast T, Zarghi A, Daraie B, Hedayati M, Dadrass OG. Design and synthesis of 3-alkyl-2-aryl-1,3-thiazinan-4-one derivatives as selective cyclooxygenase (COX-2) inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters.* 2009;19(12):3162–3165.
115. Anzini M, Rovini M, Cappelli A, et al. Synthesis, biological evaluation, and enzyme docking simulations of 1,5-diarylpyrrole-3-alkoxyethyl ethers as selective cyclooxygenase-2 inhibitors endowed with anti-inflammatory and antinociceptive activity. *Journal of medicinal chemistry.* 2008;51(15):4476–4481.
116. Ghodsi R, Zarghi A, Daraei B, Hedayati M. Design, synthesis and biological evaluation of new 2,3-diarylquinoline derivatives as selective cyclooxygenase-2 inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry.* 2010;18(3):1029–1033.
117. Eren G, Unlü S, Nuñez M, et al. Synthesis, biological evaluation, and docking studies of novel heterocyclic diaryl compounds as selective COX-2 inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry.* 2010;18(17):6367–6376.
118. Bhardwaj A, Huang Z, Kaur J, Knaus EE. Rofecoxib analogues possessing a nitric oxide donor sulfohydroxamic acid (SO<sub>2</sub>NHOH) cyclooxygenase-2 pharmacophore: synthesis, molecular modeling, and biological evaluation as anti-inflammatory agents. *ChemMedChem.* 2012;7(1):62–67.
119. Zarghi A, Zebardast T, Hajjghasemali F, Alipoor E, Daraie B, Hedayati M. Design and synthesis of new 1,3-benzdiazinan-4-one derivatives as selective cyclooxygenase (COX-2) inhibitors. *Archiv der Pharmazie.* 2012;345(4):257–264.
120. Jiang B, Zeng Y, Li M, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of 1,5-diaryl-1,2,4-triazole derivatives as selective cyclooxygenase-2 inhibitors. *Archiv der Pharmazie.* 2010;343(9):500–508.
121. Zarghi A, Javid FS, Ghodsi R, Dadrass OG, Daraei B, Hedayati M. Design, synthesis and biological evaluation of new 5,5-diarylhydantoin derivatives as selective cyclooxygenase-2 inhibitors. *Scientia pharmaceutica.* 2011;79(3):449–460.
122. Aggarwal R, Bansal A, Rozas I, Kelly B, Kaushik P, Kaushik D. Synthesis, biological evaluation and molecular modeling study of 5-trifluoromethyl- $\Delta^2$ -pyrazoline and isomeric 5/3-trifluoromethylpyrazole derivatives as anti-inflammatory agents. *European journal of medicinal chemistry.* 2013;70:350–357.
123. Abdel-Aziz M, Beshr EA, Abdel-Rahman IM, Ozadali K, Tan OU, Aly OM. 1-(4-Methoxyphenyl)-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-1H-1,2,4-triazole-3-carboxamides: synthesis, molecular modeling, evaluation of their anti-inflammatory activity and ulcerogenicity. *European journal of medicinal chemistry.* 2014;77:155–165.
124. Assadieskandar A, Amirhamzeh A, Salehi M, et al. Synthesis, cyclooxygenase inhibitory effects, and molecular modeling study of 4-aryl-5-(4-(methylsulfonyl)phenyl)-2-alkylthio and -2-alkylsulfonyl-1H-imidazole derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry.* 2013;21(8):2355–2362.
125. Kim KJ, Choi MJ, Shin J, et al. Synthesis, biological evaluation, and docking analysis of a novel family of 1-methyl-1H-pyrrole-2,5-diones as highly potent and selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters.* 2014;24(8):1958–1962.
126. Bhandari SV, Dangre SC, Bothara KG, et al. Design, synthesis and pharmacological screening of novel nitric oxide donors containing 1,5-diarylpyrazolin-3-one as nontoxic NSAIDs. *European journal of medicinal chemistry.* 2009;44(11):4622–4636.



127. Estevão MS, Carvalho, Luísa C R, Freitas M, et al. Indole based cyclooxygenase inhibitors: synthesis, biological evaluation, docking and NMR screening. *European journal of medicinal chemistry*. 2012;54:823–833.
128. Manivannan E, Chaturvedi SC. Analogue-based design, synthesis and molecular docking analysis of 2,3-diaryl quinazolinones as non-ulcerogenic anti-inflammatory agents. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2011;19(15):4520–4528.
129. Chandna N, Kumar S, Kaushik P, et al. Synthesis of novel celecoxib analogues by bioisosteric replacement of sulfonamide as potent anti-inflammatory agents and cyclooxygenase inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2013;21(15):4581–4590.
130. Mohamed MS, Kamel MM, Kassem, Emad M M, Abotaleb N, Khedr M, Ahmed MF. Synthesis, biological evaluation and molecular docking of quinazoline-4(1H)-one derivatives as anti-inflammatory and analgesic agents. *Acta poloniae pharmaceutica*. 2011;68(5):665–675.
131. Raffa D, Migliara O, Maggio B, et al. Pyrazolobenzotriazinone derivatives as COX inhibitors: synthesis, biological activity, and molecular-modeling studies. *Archiv der Pharmazie*. 2010;343(11-12):631–638.
132. Jiang B, Huang X, Yao H, et al. Discovery of potential anti-inflammatory drugs: diaryl-1,2,4-triazoles bearing N-hydroxyurea moiety as dual inhibitors of cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase. *Organic & biomolecular chemistry*. 2014;12(13):2114–2127.
133. Abdur Rahim M, Praveen Rao, P N, Bhardwaj A, Kaur J, Huang Z, Knaus EE. Isomeric acetoxy analogs of celecoxib and their evaluation as cyclooxygenase inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2011;21(20):6074–6080.
134. Tewari AK, Singh VP, Yadav P, et al. Synthesis, biological evaluation and molecular modeling study of pyrazole derivatives as selective COX-2 inhibitors and anti-inflammatory agents. *Bioorganic chemistry*. 2014;56:8–15.
135. Dündar Y, Unlü S, Banoğlu E, et al. Synthesis and biological evaluation of 4,5-diphenyloxazolone derivatives on route towards selective COX-2 inhibitors. *European journal of medicinal chemistry*. 2009;44(5):1830–1837.
136. Biava M, Porretta GC, Poce G, et al. Synthesis, in vitro, and in vivo biological evaluation and molecular docking simulations of chiral alcohol and ether derivatives of the 1,5-diarylpyrrole scaffold as novel anti-inflammatory and analgesic agents. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2008;16(17):8072–8081.
137. Khalil NA, Ahmed EM, Mohamed KO, Nissan YM, Zaitone SA. Synthesis and biological evaluation of new pyrazolone-pyridazine conjugates as anti-inflammatory and analgesic agents. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2014;22(7):2080–2089.
138. Palkar MB, Singhai AS, Ronad PM, et al. Synthesis, pharmacological screening and in silico studies of new class of Diclofenac analogues as a promising anti-inflammatory agents. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2014;22(10):2855–2866.
139. Tewari AK, Srivastava P, Singh VP, Singh A, Goel RK, Mohan CG. Novel anti-inflammatory agents based on pyrazole based dimeric compounds; design, synthesis, docking and in vivo activity. *Chemical & pharmaceutical bulletin*. 2010;58(5):634–638.
140. Unsal-Tan O, Ozadali K, Piskin K, Balkan A. Molecular modeling, synthesis and screening of some new 4-thiazolidinone derivatives with promising selective COX-2 inhibitory activity. *European journal of medicinal chemistry*. 2012;57:59–64.
141. Amin KM, Kamel MM, Anwar MM, Khedr M, Syam YM. Synthesis, biological evaluation and molecular docking of novel series of spiro [(2H,3H) quinazoline-2,1'-cyclohexan]-4(1H)-one derivatives as anti-inflammatory and analgesic agents. *European journal of medicinal chemistry*. 2010;45(6):2117–2131.
142. Entezari Heravi R, Hadizadeh F, Sankian M, et al. Novel selective Cox-2 inhibitors induce apoptosis in Caco-2 colorectal carcinoma cell line. *European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*. 2011;44(4):479–486.
143. Qiu K, Yan R, Xing M, et al. Synthesis, biological evaluation and molecular modeling of dihydro-pyrazolyl-thiazolinone derivatives as potential COX-2 inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2012;20(22):6648–6654.
144. Bansal S, Bala M, Suthar SK, et al. Design and synthesis of novel 2-phenyl-5-(1,3-diphenyl-1H-pyrazol-4-yl)-1,3,4-oxadiazoles as selective COX-2 inhibitors with potent anti-inflammatory activity. *European journal of medicinal chemistry*. 2014;80:167–174.

145. El-Hawash, Soad A M, Soliman R, Youssef AM, et al. Design, synthesis and biological screening of some pyridinylpyrazole and pyridinylisoxazole derivatives as potential anti-inflammatory, analgesic, antipyretic and antimicrobial agents. *Medicinal chemistry (Sharīqah (United Arab Emirates))*. 2014;10(3):318–338.
146. Zarghi A, Ghodsi R, Azizi E, Daraie B, Hedayati M, Dadrass OG. Synthesis and biological evaluation of new 4-carboxyl quinoline derivatives as cyclooxygenase-2 inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2009;17(14):5312–5317.
147. Bekhit AA, Fahmy, Hesham T Y, Rostom, Sherif A F, El-Din A Bekhit, Alaa. Synthesis and biological evaluation of some thiazolylpyrazole derivatives as dual anti-inflammatory antimicrobial agents. *European journal of medicinal chemistry*. 2010;45(12):6027–6038.
148. Hassan GS, Abou-Seri SM, Kamel G, Ali MM. Celecoxib analogs bearing benzofuran moiety as cyclooxygenase-2 inhibitors: design, synthesis and evaluation as potential anti-inflammatory agents. *European journal of medicinal chemistry*. 2014;76:482–493.
149. Abuo-Rahma, Gamal El-Din A A, Abdel-Aziz M, Farag NA, Kaoud TS. Novel 1-[4-(Aminosulfonyl)phenyl]-1H-1,2,4-triazole derivatives with remarkable selective COX-2 inhibition: design, synthesis, molecular docking, anti-inflammatory and ulcerogenicity studies. *European journal of medicinal chemistry*. 2014;83:398–408.
150. Yewale SB, Ganorkar SB, Baheti KG, Shelke RU. Novel 3-substituted-1-aryl-5-phenyl-6-anilinopyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-ones: docking, synthesis and pharmacological evaluation as a potential anti-inflammatory agents. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2012;22(21):6616–6620.
151. Kaur J, Bhardwaj A, Huang Z, Knaus EE. N-1 and C-3 substituted indole Schiff bases as selective COX-2 inhibitors: synthesis and biological evaluation. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2012;22(6):2154–2159.
152. Badr MH, Elbayaa RY, El-Ashmawy IM. Design, synthesis and molecular docking study of some substituted 4,5-dihydro-2H-indazole derivatives as potential anti-inflammatory agents. *Medicinal chemistry (Sharīqah (United Arab Emirates))*. 2013;9(5):718–730.
153. Elbayaa RY, Badr MH, Khalil AA, Abdelhadi M. Design, synthesis and evaluation of some novel pyrazoline derivatives as potential anti-inflammatory and antitumor agents. *Drug research*. 2013;63(6):271–281.
154. Singh P, Kaur M, Verma P. Design, synthesis and anticancer activities of hybrids of indole and barbituric acids--identification of highly promising leads. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2009;19(11):3054–3058.
155. Bandgar BP, Adsul LK, Chavan HV, et al. Synthesis, biological evaluation, and docking studies of 3-(substituted)-aryl-5-(9-methyl-3-carbazole)-1H-2-pyrazolines as potent anti-inflammatory and antioxidant agents. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2012;22(18):5839–5844.
156. Fioravanti R, Bolasco A, Manna F, et al. Synthesis and biological evaluation of N-substituted-3,5-diphenyl-2-pyrazoline derivatives as cyclooxygenase (COX-2) inhibitors. *European journal of medicinal chemistry*. 2010;45(12):6135–6138.
157. Balakumar C, Lamba P, Kishore DP, et al. Synthesis, anti-inflammatory evaluation and docking studies of some new fluorinated fused quinazolines. *European journal of medicinal chemistry*. 2010;45(11):4904–4913.
158. Santin JR, Uchôa, Flávia D T, Lima, Maria do Carmo A, et al. Chemical synthesis, docking studies and biological effects of a pan peroxisome proliferator-activated receptor agonist and cyclooxygenase inhibitor. *European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*. 2013;48(4-5):689–697.
159. Abdelazeem AH, Abdelatef SA, El-Saadi MT, et al. Novel pyrazolopyrimidine derivatives targeting COXs and iNOS enzymes; design, synthesis and biological evaluation as potential anti-inflammatory agents. *European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*. 2014;62:197–211.
160. Penthala NR, Ponugoti PR, Kasam V, Crooks PA. 5-((1-Aroyl-1H-indol-3-yl)methylene)-2-thioxodihydropyrimidine-4,6(1H,5H)-diones as potential anticancer agents with anti-inflammatory properties. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2013;23(5):1442–1446.
161. Zarghi A, Ghodsi R. Design, synthesis, and biological evaluation of ketoprofen analogs as potent cyclooxygenase-2 inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2010;18(16):5855–5860.

162. Singh P, Shaveta, Sharma S, Bhatti R. Rationally designed hybrid molecules with appreciable COX-2 inhibitory and anti-nociceptive activities. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2014;24(1):77–82.
163. Chen C, Tan C, Huang C, et al. Discovery of 3-(4-bromophenyl)-6-nitrobenzo[1.3.2]dithiazolium ylide 1,1-dioxide as a novel dual cyclooxygenase/5-lipoxygenase inhibitor that also inhibits tumor necrosis factor- $\alpha$  production. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2010;18(2):597–604.
164. Zanatta SD, Manallack DT, Jarrott B, Williams SJ. Synthesis and evaluation of dithiolethiones as novel cyclooxygenase inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2009;19(2):459–461.
165. Singh P, Bhardwaj A, Kaur S, Kumar S. Design, synthesis and evaluation of tetrahydropyran based COX-1/-2 inhibitors. *European journal of medicinal chemistry*. 2009;44(3):1278–1287.
166. Abdel-Aziz AA, ElTahir, Kamal E H, Asiri YA. Synthesis, anti-inflammatory activity and COX-1/COX-2 inhibition of novel substituted cyclic imides. Part 1: Molecular docking study. *European journal of medicinal chemistry*. 2011;46(5):1648–1655.
167. Al-Suwaidean IA, Alanazi AM, El-Azab AS, et al. Molecular design, synthesis and biological evaluation of cyclic imides bearing benzenesulfonamide fragment as potential COX-2 inhibitors. Part 2. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2013;23(9):2601–2605.
168. Yamakawa N, Suemasu S, Matoyama M, et al. Synthesis and biological evaluation of loxoprofen derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2011;19(11):3299–3311.
169. Rullah K, Mohd Aluwi, Mohd Fadhlzil Fasihi, Yamin BM, et al. Inhibition of prostaglandin E(2) production by synthetic minor prenylated chalcones and flavonoids: synthesis, biological activity, crystal structure, and in silico evaluation. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2014;24(16):3826–3834.
170. Bali A, Ohri R, Deb PK. Synthesis, evaluation and docking studies on 3-alkoxy-4-methanesulfonamido acetophenone derivatives as non ulcerogenic anti-inflammatory agents. *European journal of medicinal chemistry*. 2012;49:397–405.
171. Chavan HV, Bandgar BP, Adsul LK, et al. Design, synthesis, characterization and anti-inflammatory evaluation of novel pyrazole amalgamated flavones. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2013;23(5):1315–1321.
172. Basile L, Alvarez S, Blanco A, et al. Sulfonilamidothiopyrimidone and thiopyrimidone derivatives as selective COX-2 inhibitors: synthesis, biological evaluation, and docking studies. *European journal of medicinal chemistry*. 2012;57:149–161.
173. Barone M, Pannuzzo G, Santagati A, Catalfo A, Guidi G de, Cardile V. Molecular docking and fluorescence characterization of benzothieno[3,2-d]pyrimidin-4-one sulphonamide thio-derivatives, a novel class of selective cyclooxygenase-2 inhibitors. *Molecules (Basel, Switzerland)*. 2014;19(5):6106–6122.
174. Shaaban OG, Rizk OH, Bayad AE, El-Ashmawy IM. Synthesis of Some 4,5-Dihydrothieno[3,2-e][1,2,4]Triazolo[4,3-a] Pyrimidine-2-Carboxamides as Anti-Inflammatory and Analgesic Agents. *The open medicinal chemistry journal*. 2013;7:49–65.
175. Abouzid K, Bekhit SA. Novel anti-inflammatory agents based on pyridazinone scaffold; design, synthesis and in vivo activity. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2008;16(10):5547–5556.
176. Yao R, Lu X, Guan Q, Zheng L, Lu X, Ruan B. Synthesis and biological evaluation of some novel resveratrol amide derivatives as potential anti-tumor agents. *European journal of medicinal chemistry*. 2013;62:222–231.
177. Grover J, Kumar V, Singh V, Bairwa K, Sobhia ME, Jachak SM. Synthesis, biological evaluation, molecular docking and theoretical evaluation of ADMET properties of nepodin and chrysophanol derivatives as potential cyclooxygenase (COX-1, COX-2) inhibitors. *European journal of medicinal chemistry*. 2014;80:47–56.
178. Abdel-Azeem AZ, Abdel-Hafez AA, El-Karamany GS, Farag HH. Chlorzoxazone esters of some non-steroidal anti-inflammatory (NSAI) carboxylic acids as mutual prodrugs: design, synthesis, pharmacological investigations and docking studies. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2009;17(10):3665–3670.
179. Rambabu D, Mulakayala N, Ismail, et al. Synthesis and pharmacological evaluation of N-substituted 2-(2-oxo-2H-chromen-4-yloxy)propanamide as cyclooxygenase inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2012;22(21):6745–6749.
180. Ghatak S, Vyas A, Misra S, et al. Novel di-tertiary-butyl phenylhydrazones as dual cyclooxygenase-2/5-lipoxygenase inhibitors: synthesis, COX/LOX inhibition, molecular

- modeling, and insights into their cytotoxicities. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2014;24(1):317–324.
181. El-Sayed MA, Abdel-Aziz NI, Abdel-Aziz AA, El-Azab AS, Asiri YA, ElTahir, Kamal E H. Design, synthesis, and biological evaluation of substituted hydrazone and pyrazole derivatives as selective COX-2 inhibitors: Molecular docking study. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2011;19(11):3416–3424.
182. Sharma SK, Al-Hourani BJ, Wuest M, et al. Synthesis and evaluation of fluorobenzoylated di- and tripeptides as inhibitors of cyclooxygenase-2 (COX-2). *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2012;20(7):2221–2226.
183. Hassan GS, Soliman GA. Design, synthesis and anti-ulcerogenic effect of some of furo-salicylic acid derivatives on acetic acid-induced ulcerative colitis. *European journal of medicinal chemistry*. 2010;45(9):4104–4112.
184. Abdel-Rahman HM, Ozadali K. Trimethyl-4-oxo-4,5,6,7-tetrahydroindazole-1-acetic acid: a new lead compound with selective COX-2 inhibitory activity. *Archiv der Pharmazie*. 2012;345(11):878–883.
185. Yu G, Praveen Rao, P N, Chowdhury MA, et al. Synthesis and biological evaluation of N-difluoromethyl-1,2-dihydropyrid-2-one acetic acid regioisomers: dual inhibitors of cyclooxygenases and 5-lipoxygenase. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2010;20(7):2168–2173.
186. Gautam R, Jachak SM, Kumar V, Mohan CG. Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of stellatin derivatives as cyclooxygenase (COX-1, COX-2) inhibitors and anti-inflammatory agents. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2011;21(6):1612–1616.
187. Ragab, Fatma Abd El-Fattah, Eid NM, Hassan GS, Nissan YM. Synthesis and anti-inflammatory activity of some benzofuran and benzopyran-4-one derivatives. *Chemical & pharmaceutical bulletin*. 2012;60(1):110–120.
188. Gundogdu-Hizliates C, Alyuruk H, Gocmenturk M, Ergun Y, Cavas L. Synthesis of new ibuprofen derivatives with their in silico and in vitro cyclooxygenase-2 inhibitions. *Bioorganic chemistry*. 2014;52:8–15.
189. Procopio A, Alcaro S, Nardi M, et al. Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of oleuropein and its semisynthetic derivatives as cyclooxygenase inhibitors. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2009;57(23):11161–11167.

## 8. Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name: Roberto Carrasco Gomez  
 Geburtsdatum: 18.12.1985  
 Geburtsort: Frankfurt am Main  
 Familienstatus: ledig

### Schulische Ausbildung

1996-2002 Gesamtschule Friedrich-Ebert-Schule  
 2002-2005 Oberstufengymnasium Max-Beckmann-Schule  
 Abschluß: Abitur

### Universitäre Ausbildung

2005-2010 Goethe Universität Frankfurt Studiengang Bioinformatik  
 Diplomarbeit angefertigt im AK von Prof. Schubert-Zsilavec  
 Abschluß: Diplom Bioinformatik  
 seit 2010 Promotion im AK von Prof. Schubert-Zsilavec in Zusammenarbeit mit  
 dem AK von Prof. Gisbert Schneider ETH-Zürich

### Beruflicher Werdegang

10/2009-4/2010 **Hibike:** Marketing Internet  
 seit 2010 **J. D. Sauerländer Verlag:** Webdesign, Administration  
 seit 2010 **e-bogu germany:** E-Shop Administration  
 seit 2010 **HKenV und Katana-Frankfurt:** Webdesign, Administration  
 2/2011-2/2015 **Goethe Universität Frankfurt:** Wissenschaftlicher Mitarbeiter  
 2010-2012 **ETH Zürich:** Wissenschaftlicher Mitarbeiter  
 Seit 2015 **STADA Arzneimittel AG:** Regulatory Affairs  
 seit 2009 Trainer im Verein Katana-Frankfurt e.V.  
 seit 2013 Vorstandvorsitzender im Verein Katana-Frankfurt e.V.

## 9. Publikationsliste

### **Vanillin-derived antiproliferative compounds influence Plk1 activity.**

Carrasco-Gomez R, Keppner-Witter S, Hieke M1, Lange L, Schneider G, Schubert-Zsilavecz M, Proschak E, Spänkuch B.

### **Extending the structure-activity relationship of anthranilic acid derivatives as farnesoid X receptor modulators: development of a highly potent partial farnesoid X receptor agonist.**

Merk D, Lamers C, Ahmad K, Carrasco Gomez R, Schneider G, Steinhilber D, Schubert-Zsilavecz M.

### **Identification of pirinixic acid derivatives bearing a 2-aminothiazole moiety combines dual PPAR $\alpha$ / $\gamma$ activation and dual 5-LO/mPGES-1 inhibition.**

Hanke T, Lamers C, Gomez RC, Schneider G, Werz O, Schubert-Zsilavecz M.

### **Anthranilic acid derivatives as novel ligands for farnesoid X receptor (FXR).**

Merk D, Gabler M, Gomez RC, Flesch D, Hanke T, Kaiser A, Lamers C, Werz O, Schneider G, Schubert-Zsilavecz M.

### **Fragmentation of GW4064 led to a highly potent Farnesoid X Receptor agonist with improved drug-like properties.**

Daniel Flesch, Matthias Gabler, Andreas Lill, Roberto Carrasco Gomez, Ramona Steri, Gisbert Schneider, Holger Stark, Manfred Schubert-Zsilavecz, Daniel Merk

## 10. Eidesstattliche Versicherung

### ERKLÄRUNG

Ich erkläre hiermit, dass ich mich bisher keiner Doktorprüfung im Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Bereich unterzogen habe.

Frankfurt am Main, den .....

(Unterschrift)

### Eidesstattliche Versicherung

Ich erkläre hiermit an Eides Statt, dass ich die vorgelegte Dissertation über

.....  
.....  
.....

selbständig angefertigt und mich anderer Hilfsmittel als der in ihr angegebenen nicht bedient habe, insbesondere, dass alle Entlehnungen aus anderen Schriften mit Angabe der betreffenden Schrift gekennzeichnet sind.

Ich versichere, die Grundsätze der guten wissenschaftlichen Praxis beachtet, und nicht die Hilfe einer kommerziellen Promotionsvermittlung in Anspruch genommen zu haben

Frankfurt am Main, den .....

(Unterschrift)

## 11. Danksagung

Ich möchte die Gelegenheit nutzen, um mich zum Schluß noch einmal bei ein paar Personen zu bedanken, die mir die Promotion ermöglicht bzw. dabei unterstützt haben.

Als erstes möchte ich mich bei meinen zwei Doktorväter Prof. Schubert-Zsilavec und Prof. Gisbert Schneider und dessen Arbeitsgruppen bedanken.

Prof. Schubert-Zsilavec danke ich für die Vergabe des interessanten Promotionsthemas und für die Möglichkeit diese Arbeit in seiner Gruppe am Forschungsinstitut für Pharmazeutische Chemie durchführen zu können.

Prof. Gisbert Schneider danke ich dafür, dass er das Kooperationsprojekt zum de novo vom COX-2 Liganden ermöglicht hat und ich dafür auch nach Zürich zur ETH reisen durfte. Bedanken möchte ich mich auch für die Bereitstellung der Hardware und Software, welche ich in dieser Arbeit nutzen durfte.

Bei meiner Familie möchte ich mich ebenfalls für die Unterstützung während meiner Promotion bedanken.

Mein Dank geht ebenso an meine Freunde von meinem Verein, mit deren Hilfe ich auch in schwierigen Zeiten einen klaren Kopf halten konnte und sie dadurch auch einen Beitrag zu meinem Erfolg geleistet haben.

Ich möchte mich hier auch besonders bei Sabrina Kumpf und Stefanie Aulbach bedanken.

Bei ZAFES, Frankfurt, bedanke ich mich für die finanzielle Unterstützung am Anfang dieser Arbeit, was die Kooperation mit Prof. Gisbert Schneider ermöglicht hat.

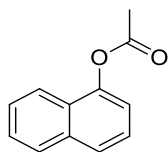
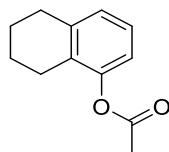
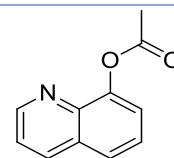
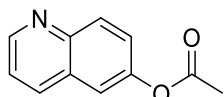
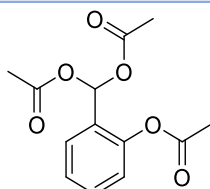
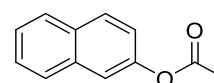
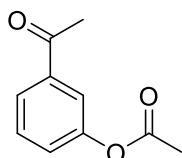
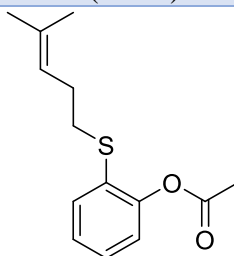
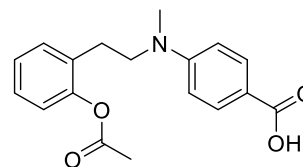
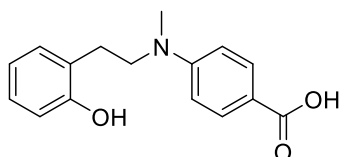
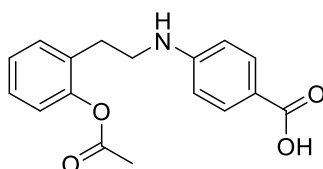
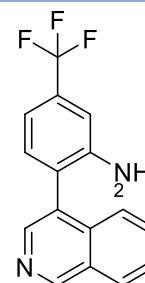
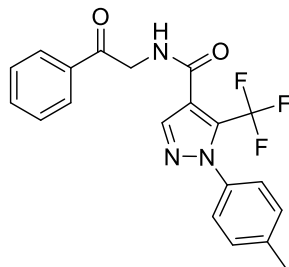
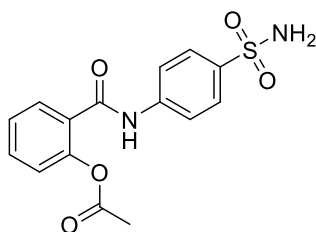
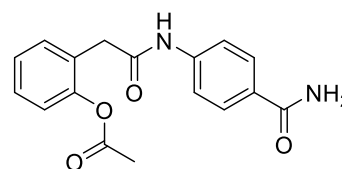


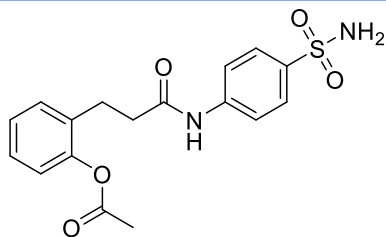
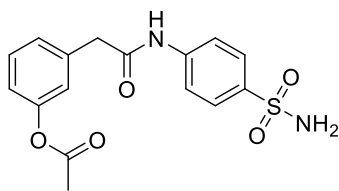
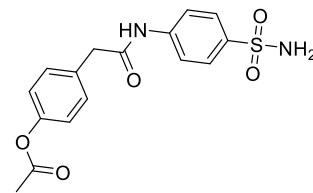
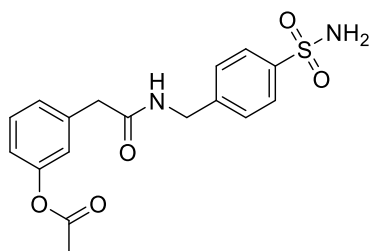
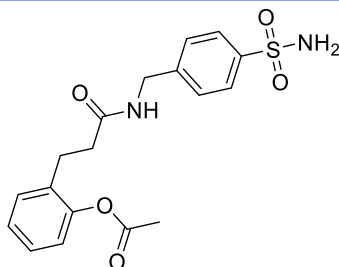
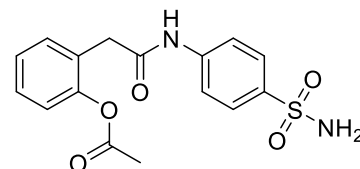
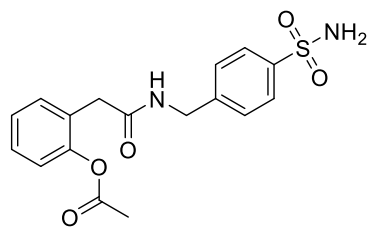
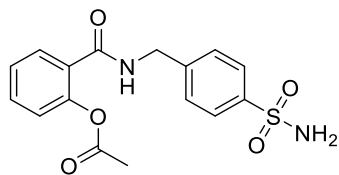
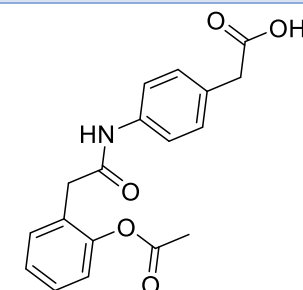
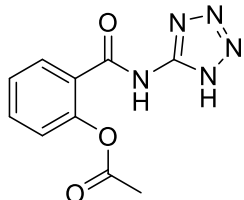
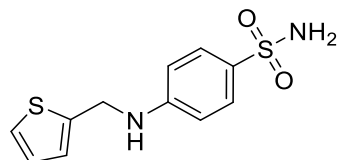
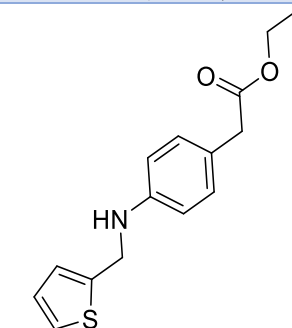
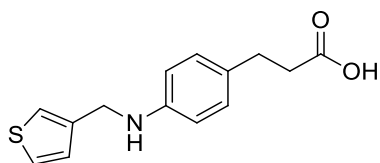
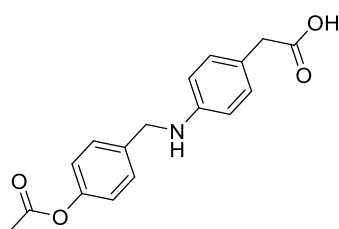
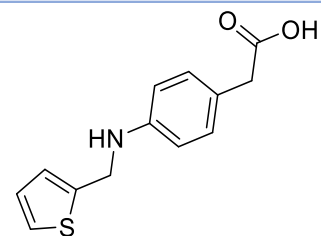
## 12. Anhang

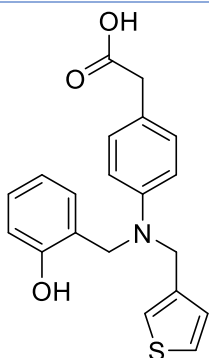
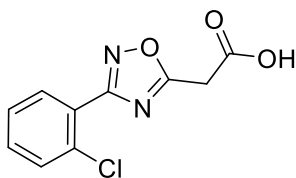
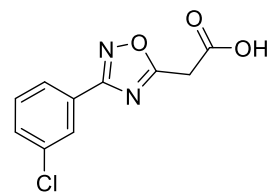
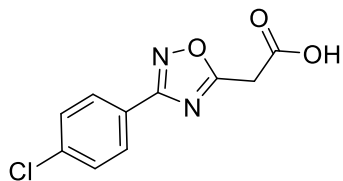
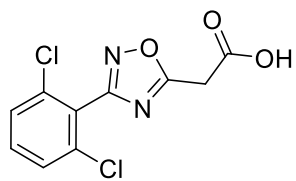
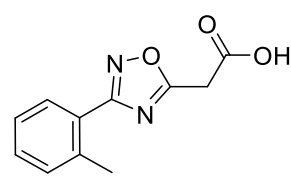
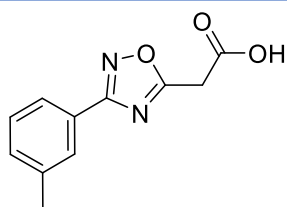
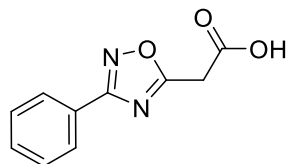
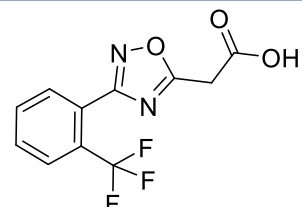
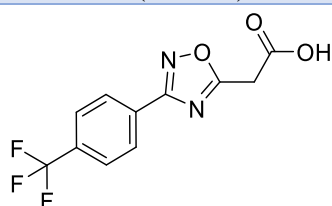
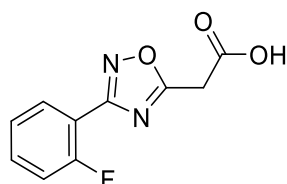
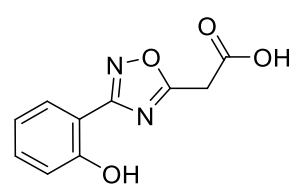
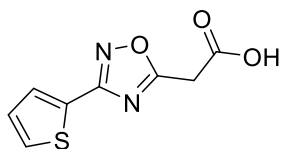
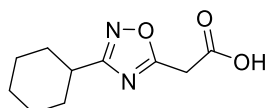
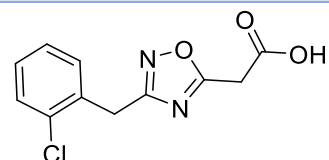
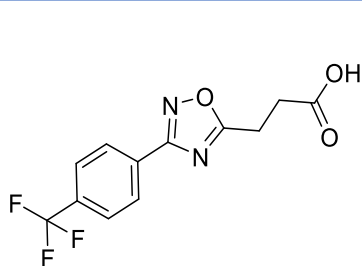
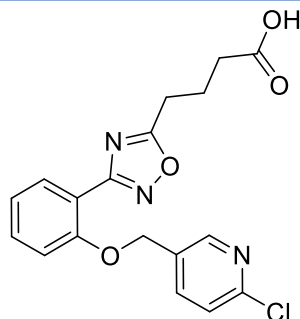
### 12.1 Abkürzungsverzeichnis

5-LO - 5-Lipoxygenase	LTC <sub>4</sub> - Leukotrin C <sub>4</sub>
AA - Arachidonsäure	MBD - Membranbindungsdomäne
AC - Adenylylcyclase	MD - Molecular Dynamics
ADME - absorption, distribution, metabolism, and excretion	MOE - Molecular Operating Environment
Arg - Arginin	MS - Massenspektrometer
ASS - Acetylsalicylsäure	NAMD - NANoscale Molecular Dynamics program
BLASTp - Basic local alignment search tool protein	NMR - Nuclear Magnetic Resonance
COX - Cyclooxygenase	NSAR - nichtsteroidalen Antirheumatika
hCOX-2 - humane Cyclooxygenase 2	PDB - Protein Data Bank
mCOX-2 - murine Cyclooxygenase 2	PGD <sub>2</sub> - Prostaglandin D <sub>2</sub>
oCOX-2 -ovine Cyclooxygenase 2	PGF <sub>2</sub> - Prostaglandin F <sub>2</sub>
CYP - Cytochrom P450	PGH <sub>2</sub> - Prostaglandin H <sub>2</sub>
CysLT <sub>1</sub> - Cysteine-leukotriene receptor 1	PGI <sub>2</sub> - Prostaglandin I <sub>2</sub> / Prostacyclin
CysLT <sub>2</sub> - Cysteine-leukotriene receptor 2	PGG <sub>2</sub> - Prostaglandin G <sub>2</sub>
CysLT <sub>3</sub> - Cysteine-leukotriene receptor 2	QSAR - Quantitative Struktur-Wirkungs-Beziehung
DCE - Dichlorethen	RT - Raumtemperatur
DC - Dünnschichtchromatographie	SA - Salicylsäure
DCM - Dichlormethan	SAR - Struktur-Wirkungsbeziehung
DEPC - Diethyl phosphorocyanidat	Ser - Serin
DMF - Dimethylformamid	THF - Tetrahydrofuran
DOGS - Design of Genuine Structures	TXA <sub>2</sub> - Thromboxan
EETs - Epoxyeicosatriensäuren	Tyr - Tyrosin
EGF - Epidermal Growth Factor	Val - Valin
EtOAc - Ethylacetat	ZNS - Zentralnervensystem
EP1 - Prostaglandin E-Rezeptoren	
Flap - 5-Lipoxygenase aktivierendes Protein	
Gln - Glutaminsäure	
HETEs - Hydroxyeicosatetraensäuren	
His -Histidin	
IP <sub>3</sub> - Inositoltrisphosphat	
Ile - Isoleucin	
LOX - Lipoxygenase	
LTA <sub>4</sub> - Leukotrin A <sub>4</sub>	
LTB <sub>4</sub> - Leukotrin B <sub>4</sub>	

## 12.2 Synthetisierte Verbindungen der Arbeit

**3** (SC85)**4** (RC148)**5** (SC83)**6** (SC77)**7** (SC51)**8** (RC149)**9** (RC153)**15** (RC156)**16** (RC56\_1)**17** (RC56\_2)**18** (RC74)**21** (SC13)**22** (RC55)**23** (RC111)**24** (RC98)

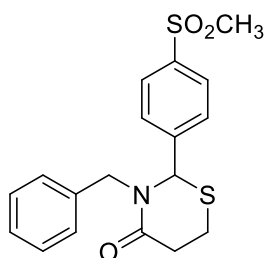
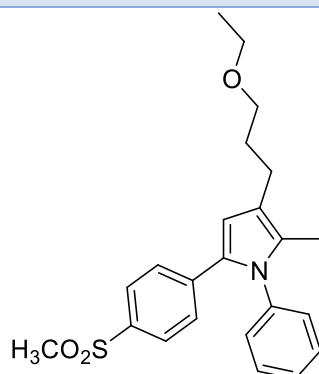
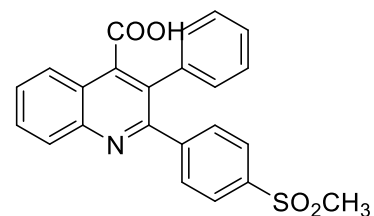
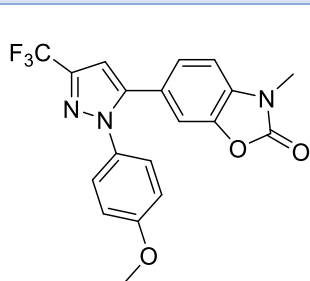
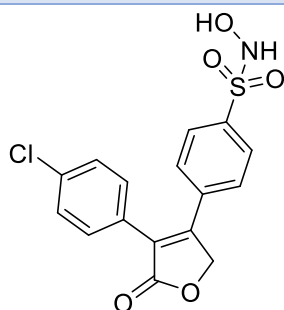
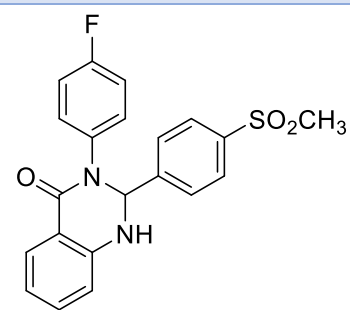
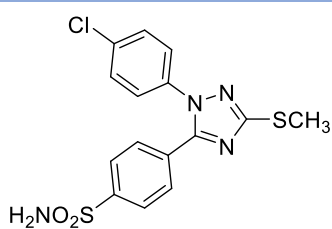
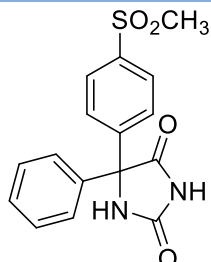
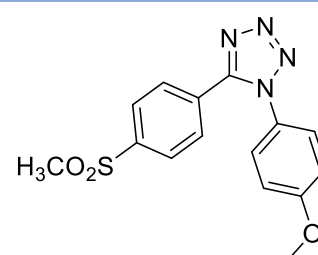
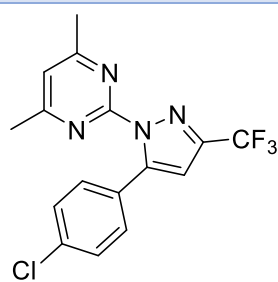
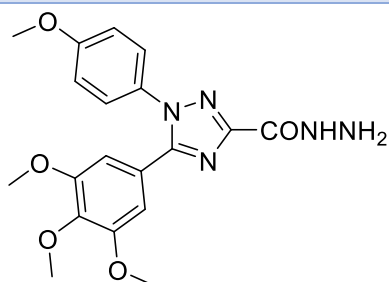
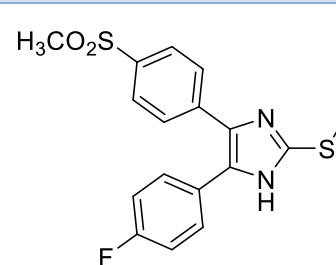
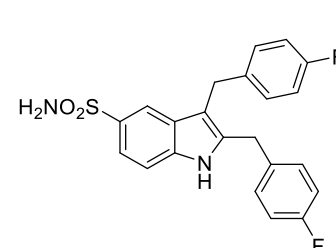
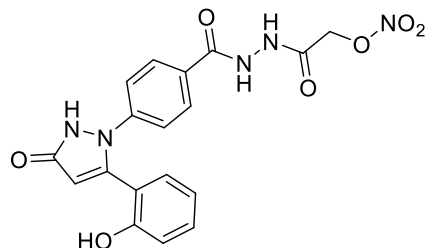
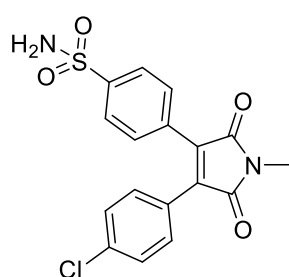
**25 (RC104)****26 (RC102)****27 (RC103)****28 (RC105)****29 (RC107)****30 (RC97)****31 (RC113)****32 (RC115)****33 (SC14)****34 (SC24)****35 (RC124)****36 (SC35)****37 (SC63)****38 (SC72)****69 (SC40)**

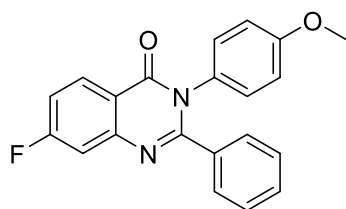
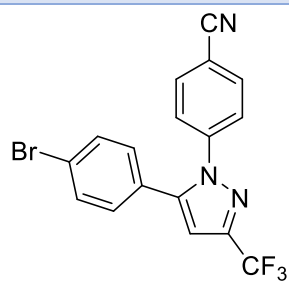
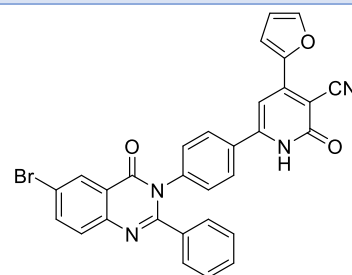
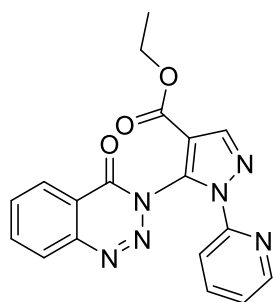
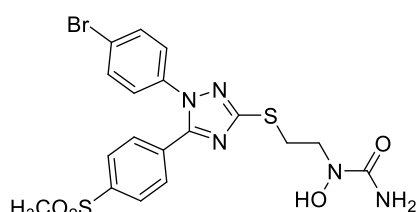
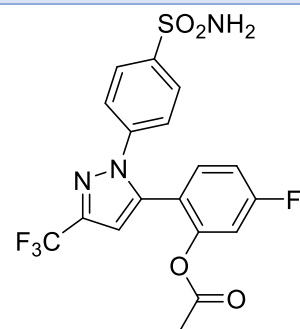
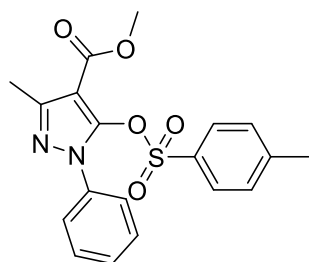
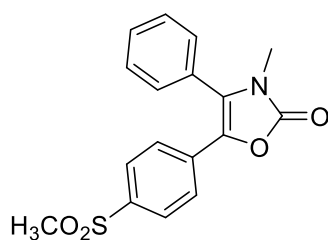
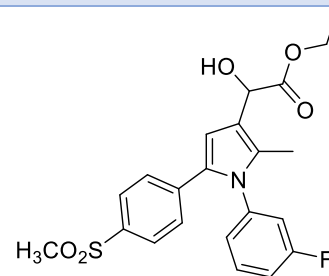
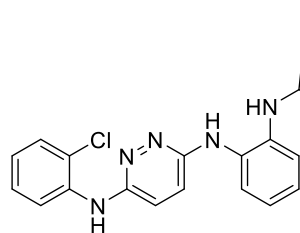
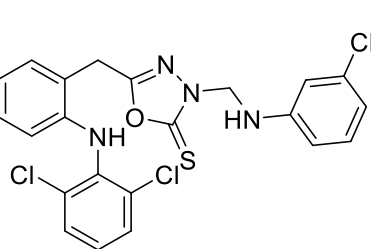
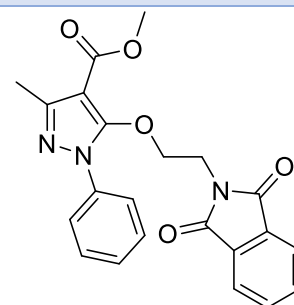
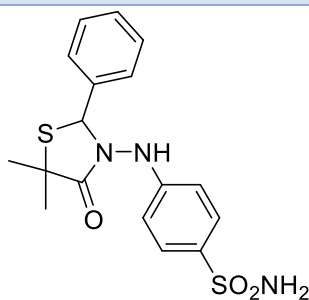
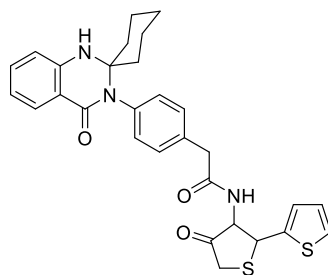
**70** (SC57)**71** (RC137)**72** (MR05)**73** (RC181)**74** (RC198)**75** (RC184)**76** (RC182)**77** (RC203)**78** (RC197)**79** (RC176)**80** (RC213)**81** (RC142)**82** (RC215)**83** (RC217)**84** (RC191)**85** (RC136)**86** (RC164)

## 12.3 Docking-Studien COX-2 Liganden

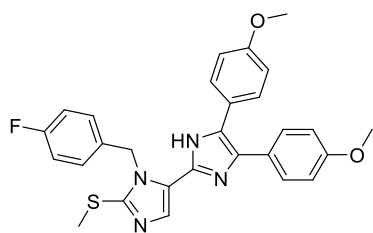
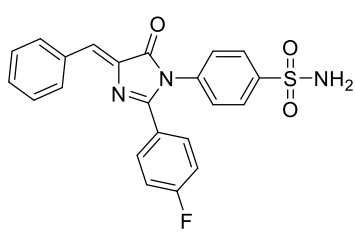
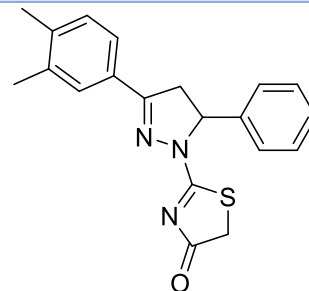
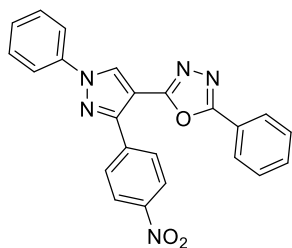
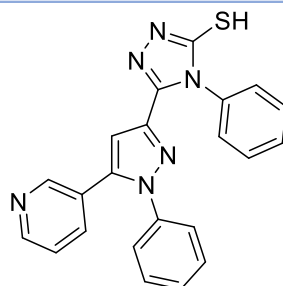
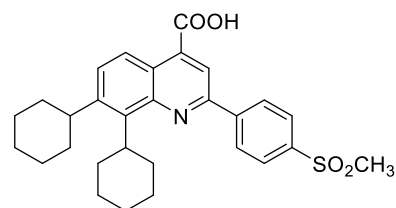
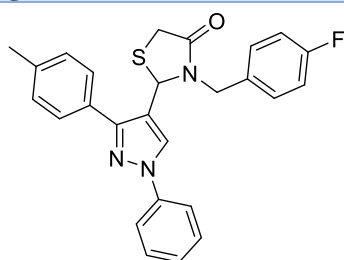
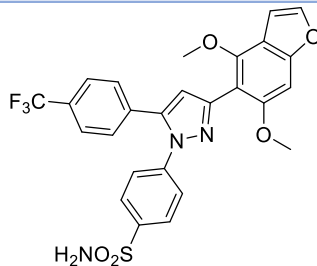
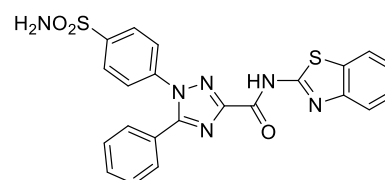
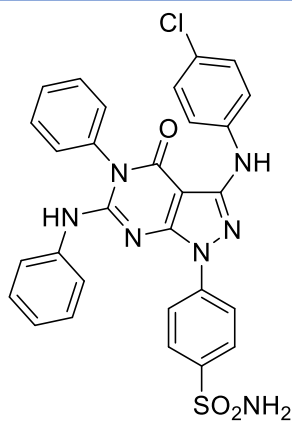
## Klasse A

## Gruppe 1

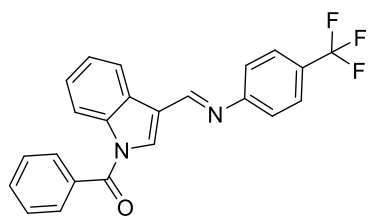
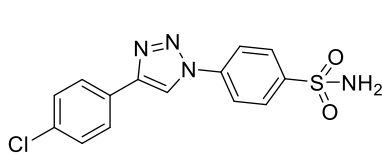
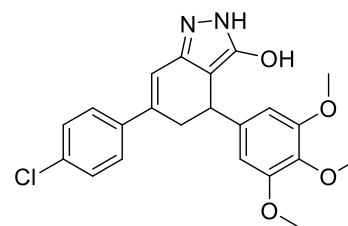
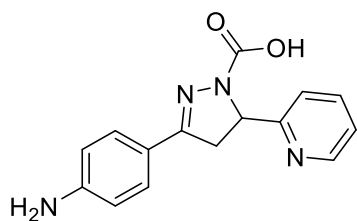
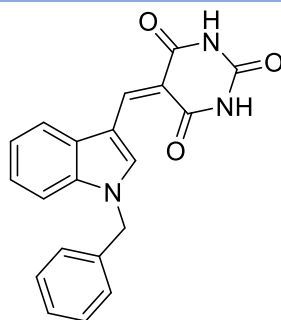
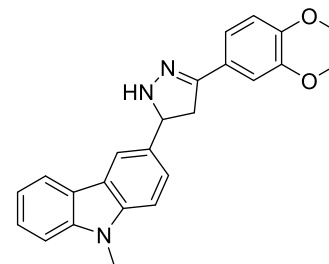
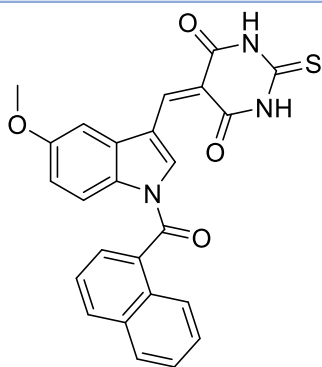
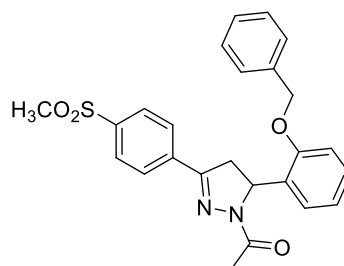
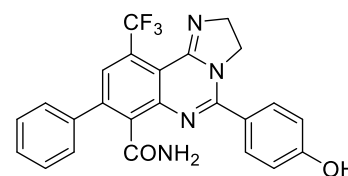
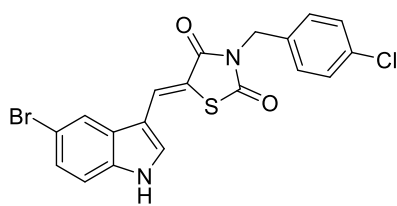
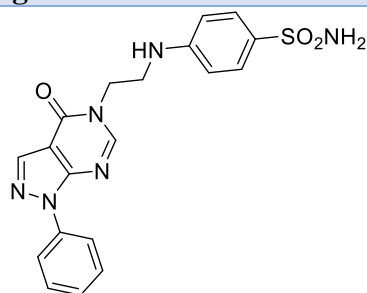
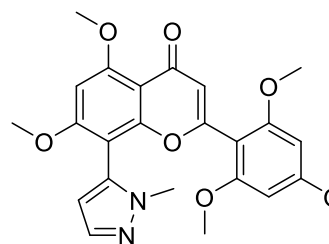
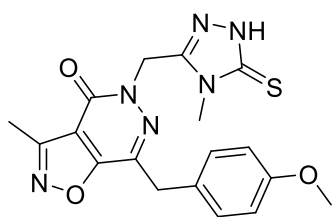
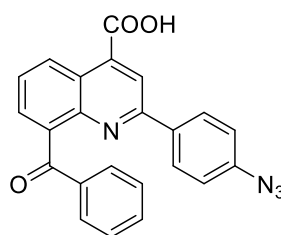
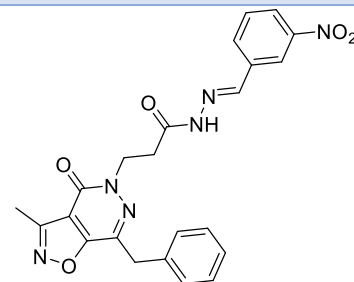
**11a**<sup>114</sup>**7a**<sup>115</sup>**8**<sup>116</sup>**11b**<sup>117</sup>**18**<sup>118</sup>**2b**<sup>119</sup>**6c**<sup>120</sup>**4**<sup>121</sup>**3c**<sup>96</sup>**4g**<sup>122</sup>**6**<sup>123</sup>**10b**<sup>124</sup>

**9d**<sup>125</sup>**7c**<sup>126</sup>**15d**<sup>127</sup>**20**<sup>128</sup>**2e**<sup>129</sup>**3a**<sup>130</sup>**16a**<sup>131</sup>**15e**<sup>132</sup>**9f**<sup>133</sup>**10**<sup>134</sup>**6**<sup>135</sup>**10b**<sup>136</sup>**4d**<sup>137</sup>**4d**<sup>138</sup>**7a**<sup>139</sup>**3a**<sup>140</sup>**XVIIb**<sup>141</sup>

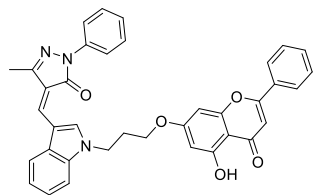
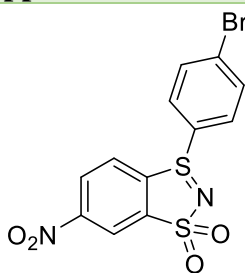
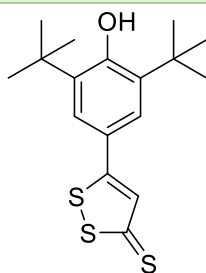
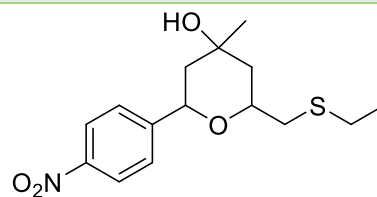
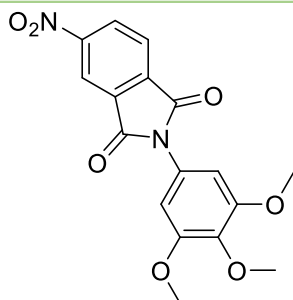
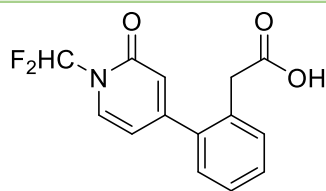
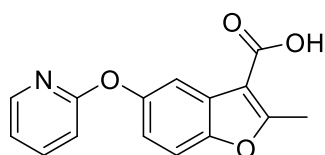
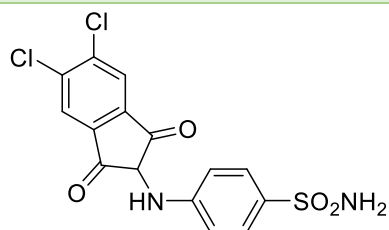
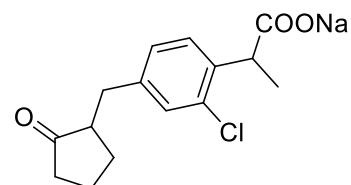
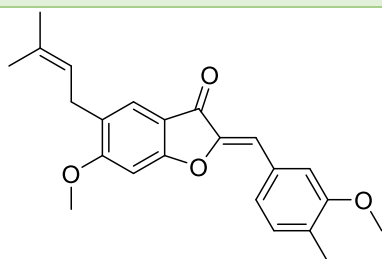
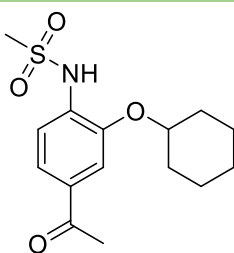
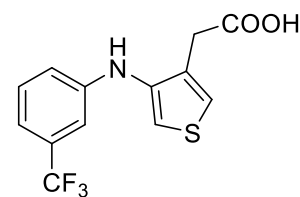
## Gruppe 2

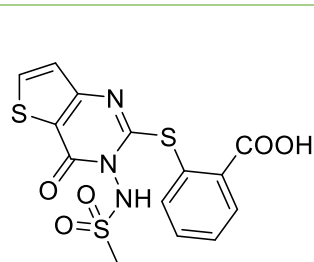
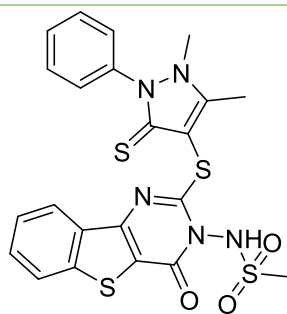
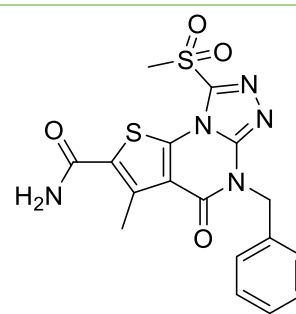
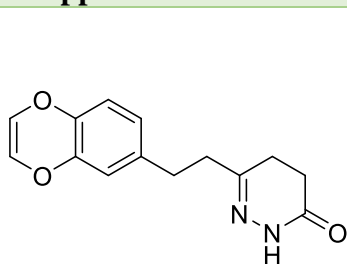
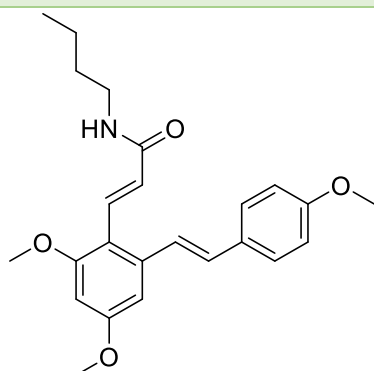
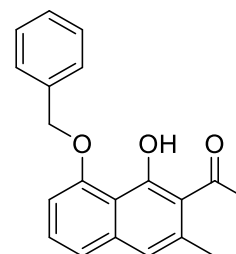
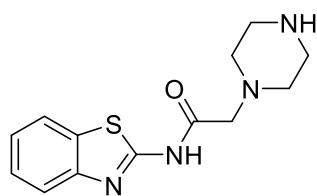
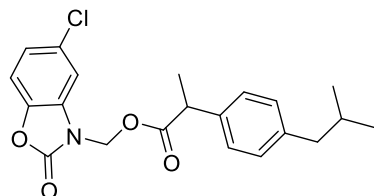
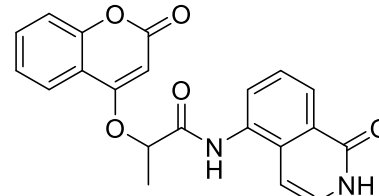
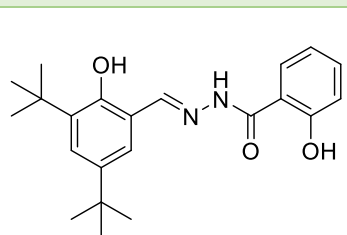
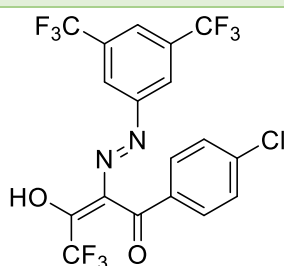
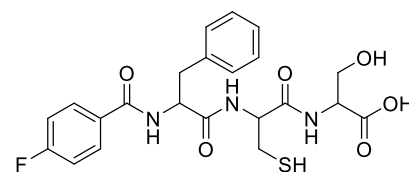
**3c**<sup>142</sup>**3a**<sup>97</sup>**5a**<sup>143</sup>**9g**<sup>144</sup>**15a**<sup>145</sup>**9c**<sup>146</sup>**10b**<sup>147</sup>**9d**<sup>148</sup>**6j**<sup>149</sup>**126**<sup>150</sup>

## Gruppe 3

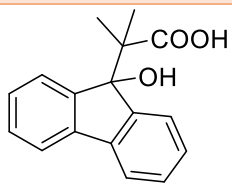
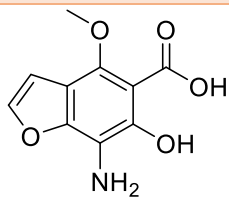
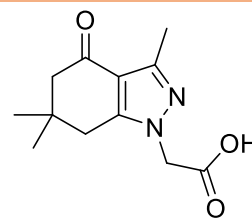
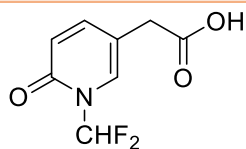
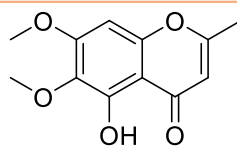
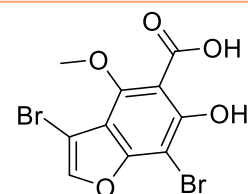
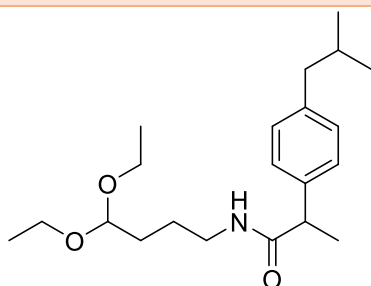
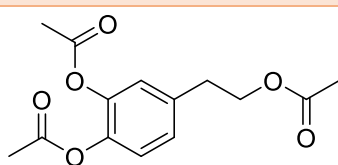
**20**<sup>98,151</sup>**16**<sup>98</sup>**10**<sup>152</sup>**5c**<sup>153</sup>**9**<sup>154</sup>**5c**<sup>155</sup>**3w**<sup>150</sup>**2g**<sup>156</sup>**9b**<sup>157</sup>**LYSO-7**<sup>158</sup>**8a**<sup>159</sup>**10h**<sup>160</sup>**28**<sup>77</sup>**8b**<sup>161</sup>**27**<sup>145</sup>



**4**<sup>162</sup>**Klasse B****Gruppe 1****1**<sup>163</sup>**1**<sup>164</sup>**15**<sup>165</sup>**5b**<sup>166</sup>**61**<sup>99</sup>**Gruppe 2****5c**<sup>100</sup>**6a**<sup>167</sup>**10a**<sup>168</sup>**14b**<sup>169</sup>**4d**<sup>170</sup>**BYK123**<sup>171</sup>

**31**<sup>172</sup>**4**<sup>173</sup>**10a**<sup>174</sup>**Gruppe 3****3j**<sup>175</sup>**1c**<sup>176</sup>**1g**<sup>177</sup>**A1**<sup>101</sup>**6**<sup>178</sup>**5i**<sup>179</sup>**DTPSAL**<sup>180</sup>**2f**<sup>181</sup>**7**<sup>182</sup>

## Klasse C

**5**<sup>102</sup>**4**<sup>183</sup>**4**<sup>184</sup>**7c**<sup>185</sup>**4**<sup>186</sup>**3a**<sup>187</sup>**2c**<sup>188</sup>**9**<sup>189</sup>

## 12.4 MODELLER Skript

### align2d.py

```
from modeller import *

env = environ()
aln = alignment(env)
mdl = model(env, file='3LN0', model_segment=('FIRST:A','LAST:A'))
aln.append_model(mdl, align_codes='3LN0A', atom_files='3LN0.pdb')
aln.append(file='PGH2_HUMAN.ali', align_codes='PGH2_HUMAN')
aln.align2d()
aln.write(file='result_alignment/PGH2_HUMAN-3LN0A.ali',
alignment_format='PIR')
aln.write(file='result_alignment/PGH2_HUMAN-3LN0A.pap',
alignment_format='PAP')
```

### modelling.py

```
from modeller import *
from modeller.automodel import *

env = environ()
a = automodel(env, alnfile='result_alignment/PGH2_HUMAN-3LN0A.ali',
               knowns='3LN0A', sequence='PGH2_HUMAN',
               assess_methods=(assess.DOPE, assess.GA341))
a.starting_model = 1
a.ending_model = 10
a.make()
```

### evaluate\_model.py

```
from modeller import *
from modeller.scripts import complete_pdb

log.verbose() # request verbose output
env = environ()
env.libs.topology.read(file='${LIB}/top_heav.lib') # read topology
env.libs.parameters.read(file='${LIB}/par.lib') # read parameters

# read model file
mdl = complete_pdb(env, '6_homology_model/PGH2_HUMAN.B99990001.pdb')

# Assess with DOPE:
s = selection(mdl) # all atom selection
s.assess_dope(output='ENERGY_PROFILE NO_REPORT',
file='PGH2_HUMAN.profile',
              normalize_profile=True, smoothing_window=15)
```

## 12.5 NAMD Skript

### cox2\_Harmonic\_Heating.conf (step 0-6200)

```
#####
## JOB DESCRIPTION                                     ##
#####

# Minimization in a Water Box
# Protein constrained

#####
## ADJUSTABLE PARAMETERS                             ##
#####

structure          cox2_wb.psf
set outputname     cox2_heat

set inputname      cox2_const
coordinates $inputname.coor
extendedSystem $inputname.restart.xsc

firsttimestep      0

#####
## SIMULATION PARAMETERS                             ##
#####

# Input
paraTypeCharmm      on
parameters          par_all27_prot_lipid.inp

# Force-Field Parameters

exclude             scaled1-4
1-4scaling          1.0
dielectric           1.0

#long range interactions
switching           on
switchdist          10.0
cutoff              12.0
pairlistdist        13.5
margin              0.0

# Integrator Parameters
timestep            2.0 ;# 2fs/step
rigidBonds          all ;# needed for 2fs steps
rigidIterations     500
rigidTolerance      0.00001
nonbondedFreq       1
fullElectFrequency  2
stepspercycle       10
```

```
#heating to endtemperature
temperature 0
reassignFreq 1
reassignIncr 0.05
reassignHold 310

#wrapWater only water is tunneled to the next boxes coords if
leaving one box
wrapAll          on ;#as wrapWater but applies to all molecules

# PME (for full-system periodic electrostatics) # long range forces
in periodic systems
PME              on
PMEtolerance    0.000001
PMEGridSpacing  1.0

# Output
outputName      $outputname
restartfreq     1000      ;# 1000steps = every 2ps
dcdfreq        1000
xstFreq        1000
outputEnergies  100
outputPressure  100
binaryoutput    no

#####
## EXTRA PARAMETERS                                ##
#####

constraints on
consexp 2
consref $inputname.coor
conskfile cox2_wb.heat
conskcol B
constraintScaling 0.1 #reduction of constraints during heating

#####
## EXECUTION SCRIPT                                ##
#####

# Minimization
run 6200 ;# 1ps
# Continuing a job from the restart files
```

```
#####  
## JOB DESCRIPTION ##  
#####  
  
# Minimization in a Water Box  
# Protein constrained  
  
#####  
## ADJUSTABLE PARAMETERS ##  
#####  
  
structure          cox2_wb.psf  
set outputname     cox2_prot_eq  
  
if {1} {  
  set inputname cox2_heat  
  coordinates $inputname.coor  
  binVelocities $inputname.restart.vel  
  extendedSystem $inputname.restart.xsc  
}  
  
firsttimestep      6200  
  
#####  
## SIMULATION PARAMETERS ##  
#####  
  
# Input  
paraTypeCharmm     on  
parameters         par_all27_prot_lipid.inp  
  
# Force-Field Parameters  
  
exclude            scaled1-4  
1-4scaling         1.0  
dielectric          1.0  
  
#long range interactions  
switching          on  
switchdist         10.0  
cutoff             12.0  
pairlistdist       13.5  
margin             0.0  
  
# Integrator Parameters  
timestep           2.0 ;# 2fs/step  
rigidBonds         all ;# needed for 2fs steps  
rigidIterations    500  
rigidTolerance     0.00001  
nonbondedFreq     1  
fullElectFrequency 2  
stepspercycle     10
```

```
# Constant Temperature Control
langevin          on      ;# do langevin dynamics
langevinDamping   5       ;# damping coefficient (gamma) of 5/ps
langevinTemp      310
langevinHydrogen  off     ;# don't couple langevin bath to
hydrogens

#wrapWater only water is tunneled to the next boxes coords if
leaving one box
wrapAll           on ;#as wrapWater but applies to all molecules

# PME (for full-system periodic electrostatics) # long range forces
in periodic systems
PME               on
PMEtolerance      0.000001
PMEGridSpacing    1.0

# Constant Pressure Control (variable volume)
useGroupPressure  yes ;# needed for rigidBonds
useFlexibleCell   no
useConstantArea   no

langevinPiston    on
langevinPistonTarget 1.01325 ;# in bar -> 1 atm
langevinPistonPeriod 100.0
langevinPistonDecay 50.0
langevinPistonTemp 310

# Output
outputName        $outputname
restartfreq        1000 ;# 1000steps = every 2ps
dcdfreq           1000
xstFreq           1000
outputEnergies    100
outputPressure    100
binaryoutput      no

#####
## EXECUTION SCRIPT ##
#####

run 10000 ;
```

cox2\_Production.conf (16200-24000)



```
#####  
## JOB DESCRIPTION ##  
#####  
  
# Minimization in a Water Box  
# Protein constrained  
  
#####  
## ADJUSTABLE PARAMETERS ##  
#####  
  
structure          cox2_wb.psf  
set outputname     cox2_prod  
  
if {1} {  
  set inputname cox2_prot_eq  
  coordinates $inputname.coor  
  binVelocities $inputname.restart.vel  
  extendedSystem $inputname.restart.xsc  
}  
  
firsttimestep      16200  
  
#####  
## SIMULATION PARAMETERS ##  
#####  
  
# Input  
paraTypeCharmm     on  
parameters         par_all27_prot_lipid.inp  
  
# Force-Field Parameters  
  
exclude            scaled1-4  
1-4scaling         1.0  
dielectric         1.0  
  
#long range interactions  
switching          on  
switchdist        10.0  
cutoff            12.0  
pairlistdist      13.5  
margin            0.0  
  
timestep          1.0 ;# 1fs/step  
rigidBonds        water ;# needed for 1fs steps  
rigidIterations   500  
rigidTolerance    0.00001  
nonbondedFreq    1  
fullElectFrequency 2  
stepspercycle    10
```

```
# Constant Temperature Control
langevin          on      ;# do langevin dynamics
langevinDamping   5      ;# damping coefficient (gamma) of 5/ps
langevinTemp      310
langevinHydrogen  off    ;# don't couple langevin bath to
hydrogens

#wrapWater only water is tunneled to the next boxes coords if
leaving one box
wrapAll           on ;#as wrapWater but applies to all molecules

# PME (for full-system periodic electrostatics) # long range forces
in periodic systems
PME               on
PMEtolerance      0.000001
PMEGridSpacing    1.0

# Constant Pressure Control (variable volume)
useGroupPressure  yes ;# needed for rigidBonds
useFlexibleCell   no
useConstantArea   no

langevinPiston    on
langevinPistonTarget 1.01325 ;# in bar -> 1 atm
langevinPistonPeriod 100.0
langevinPistonDecay 50.0
langevinPistonTemp 310

# Output
outputName        $outputname
restartfreq        10000 ;# 1000steps = every 2ps
dcdfreq           10000
xstFreq           10000
outputEnergies    1000
outputPressure     1000
binaryoutput      no

#####
## EXECUTION SCRIPT ##
#####

run 240000 ;# 10ns
# Continuing a job from the restart files
```