

**Synthese und biologische Testung von
Biarylalkylcarbonsäure-Derivaten und Dithiocarbamat-Derivaten
als potentielle anthelmintische Wirkstoffe
gegen *Schistosoma mansoni***

Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

dem

Fachbereich Pharmazie der
Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Patrick Mäder

aus Schwerin

Marburg (Lahn) 2016

Erstgutachter: Prof. Dr. Martin Schlitzer
Zweitgutachter: Prof. Dr. Christoph G. Grevelding
Drittgutachter: Prof. Dr. Peter Imming
Eingereicht am **17.05.2016**
Tag der mündlichen Prüfung am **28.06.2016**
Hochschulkenziffer: 1180

Nur ein toter Wurm ist ein guter Wurm.

Dr. Thomas Quack

Band 1

Theoretischer Teil

Veröffentlichungen

Die folgenden wissenschaftlichen Beiträge, geordnet nach Art und Datum der Veröffentlichung, sind aus der vorliegenden Arbeit hervorgegangen:

Publikationen

Patrick Mäder, Ariane S. Blohm, Thomas Quack, Kerstin Lange-Grünweller, Arnold Grünweller, Roland K. Hartmann, Christoph G. Grevelding, Martin Schlitzer
Biarylalkyl Carboxylic Acid Derivates As Novel Antischistosomal Agents
ChemMedChem, **2016**, DOI: 10.1002/cmdc.201600127

Europäische Patentanmeldung

Patrick Mäder, Ariane S. Blohm, Thomas Quack, Kerstin Lange-Grünweller, Arnold Grünweller, Roland K. Hartmann, Christoph G. Grevelding, Martin Schlitzer
Dithiocarbamat- und Dithiocarbazat-Derivate als Therapie durch Helminthen ausgelöster, parasitärer Infektionskrankheiten.
Eingangsnummer 4279119, Aktenzeichen EP16165936.2, eingereicht am 19.04.2016 beim Europäischen Patentamt

Erfindermeldung

Patrick Mäder, Ariane S. Blohm, Thomas Quack, Kerstin Lange-Grünweller, Arnold Grünweller, Roland K. Hartmann, Christoph G. Grevelding, Martin Schlitzer
Dithiocarbamat- und Dithiocarbazat-Derivate als Therapie durch Helminthen ausgelöster, parasitärer Infektionskrankheiten.
Aktenzeichen TM891, eingereicht 2015 bei der TransMIT Gesellschaft für Technologietransfer mbH Gießen

Poster

Ariane S. Blohm, **Patrick Mäder**, Thomas Quack, Martin Schlitzer, Christoph C. Grevelding
A novel class of chemical compounds based on Disulfiram, a drug approved for human use, causes diverse and lethal phenotypes in Schistosoma mansoni in vitro
DGP Jahrestagung, 09.-12. März 2016, Göttingen, Deutschland.

Patrick Mäder, Ariane S. Blohm, Kerstin Lange-Grünweller, Arnold Grünweller, Christoph G. Grevelding, Martin Schlitzer
Synthese und biologische Testung von neuen anthelminthischen Inhibitoren gegen Schistosomiasis
Academia meets Industry – Bridge the Gap, 19. November 2015, Eschborn, Deutschland.

Ariane S. Blohm, **Patrick Mäder**, Thomas Quack, Michael Eisenmann, Regina Ortmann, Manuela Harloff, Arnold Grünweller, Martin Schlitzer, Christoph G. Grevelding
Disulfiram derivatives cause diverse dramatic effects on adult schistosomes in vitro
8. GGL-Konferenz, 30. September - 01. Oktober 2015, Gießen, Deutschland.

Patrick Mäder, Ariane S. Blohm, Christoph G. Grevelding, Martin Schlitzer
Synthesis and pharmacological evaluation of Dithiocarbamates as novel anthelmintic inhibitors against Schistosomiasis
DPhG Jahrestagung, 23.-26. September 2014, Frankfurt, Deutschland.

Ariane S. Blohm, Thomas Quack, Sophia Parker-Manuel, Richard Parker-Manuel, **Patrick Mäder**, Michael Eisenmann, Regina Ortmann, Martin Schlitzer, Christoph G. Grevelding
Schistosoma mansoni: First characterisations of the aldehyde dehydrogenase genes (SmALDHs)
7. GGL-Konferenz, 17.-18. September 2014, Gießen, Deutschland.

Ariane S. Blohm, Thomas Quack, Richard Parker-Manuel, **Patrick Mäder**, Michael Eisenmann, Regina Ortmann, Martin Schlitzer, Christoph G. Grevelding
Molekulare und biochemische Charakterisierung des Aldehyddehydrogenase Gens SmALDH aus Schistosoma mansoni
DVG Fachtagung Parasitologie, 30. Juni - 02. Juli 2014, Leipzig, Deutschland.

Ariane S. Blohm, Sophia Parker-Manuel, Richard Parker-Manuel, Thomas Quack, **Patrick Mäder**, Michael Eisenmann, Regina Ortmann, Martin Schlitzer, Christoph G. Greveldin

Molecular and biochemical characterisation of the aldehyde dehydrogenase genes (SmALDHs) of Schistosoma mansoni

GGL Section Retreat, 23. Juli 2014, Gießen, Deutschland.

Danksagung

Die vorliegende Dissertation entstand im Zeitraum von November 2013 bis Juni 2016 am Institut für Pharmazeutische Chemie der Philipps-Universität Marburg unter der Leitung von Prof. Dr. Martin Schlitzer. Vielen Dank für die Möglichkeit, dieses hochinteressante Thema in seinem Arbeitskreis anfertigen zu dürfen. Neben dem fachlichen Beistand, seiner Diskussionsbereitschaft und Denkansätze möchte ich mich vor Allem für die Unkompliziertheit und die wissenschaftlichen Freiräume, die er mir gegeben hat, bedanken.

Herrn Prof. Dr. Christoph G. Grevelding danke ich für die Übernahme des Zweitgutachten sowie für die exzellente Kooperation. Neben der Möglichkeit, die entstandenen Verbindungen in seinem Arbeitskreis zu testen, bin ich für seine freundliche Aufnahme und seine stetige Diskussionsbereitschaft sehr dankbar.

Herrn Prof. Dr. Peter Imming danke ich für freundliche Übernahme des Sondergutachtens.

Der gesamten Arbeitsgruppe Grevelding danke ich für die herzliche Aufnahme in den Arbeitskreis sowie die freundschaftliche Atmosphäre innerhalb und außerhalb des Instituts. Ich hab mich immer sehr wohl bei Euch gefühlt, egal ob im Labor, beim Badminton oder beim Suchen der Ethanol-Spritzflasche. Mein ganz besonderer Dank gilt Ariane Blohm. Ohne ihren unermüdlichen Einsatz wäre diese Kooperation nie so erfolgreich gewesen. Zudem möchte ich mich ganz herzlich für die Einführung in die wundersame Welt der Schistosomen bedanken.

Dem gesamten AK Schlitzer danke ich für die Aufnahme in den Arbeitskreis. Besonders bei Dr. Marlene Barho, Dr. Regina Ortmann, Georg Rennar, Yodita Asfaha, Alejandra Peter, Christin Wehdra und Reiner Müller möchte ich mich für die freundschaftliche Atmosphäre innerhalb und außerhalb des Instituts bedanken.

Dr. Marlene Barho, Dr. Regina Ortmann, Dr. Thomas Quack und Ariane Blohm danke ich für das äußerst gründliche Korrekturlesen meiner Arbeit.

Meinen Praktikanten Anna Schiller, Tom Gallinger, Lea Albert und ganz besonders Alejandra Peter danke ich für ihren Beitrag zum Gelingen dieser Arbeit.

Bei Frau Lorek, Frau Lins und Frau Buder möchte ich mich für die Unterstützung bei der Überwindung der vielfältigen bürokratischen Hürden einer universitären Einrichtung sowie der Ausführung der Chemikalienbestellungen bedanken.

Allen Mitarbeitern der Serviceabteilungen danke ich für die Messung meiner zahlreichen Proben sowie die schnelle Bereitstellung der Spektren und der kompetenten Hilfe bei fachlichen Problemen.

Allen meinen Freunden, und ganz besonders Lina, Mike, Christoph und Ulli, danke ich für die schönen Abende und Wochenenden außerhalb des Arbeitsalltags. Ich habe jede Minute mit Euch genossen und auf Euch konnte ich mich immer verlassen.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Verlobten Lena, die immer für mich da war und mich in guten und in schlechten Zeiten immer unterstützt hat. Du hast mir täglich die Kraft gegeben, die ich brauchte, um an diesen Punkt zu gelangen.

Zu guter Letzt gilt es auch meiner Familie und ganz besonders meinen Eltern Danke zu sagen. Nur durch Eure bedingungslose Unterstützung bin ich so weit gekommen. Danke für alles.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	V
Abbildungsverzeichnis	XI
Tabellenverzeichnis	XXI
1 Einleitung	1
1.1 Vernachlässigte Tropenerkrankungen	1
1.2 Schistosomiasis	6
1.3 Praziquantel	12
1.4 Weitere Therapieansätze zur Bekämpfung der Schistosomiasis	17
Teil A - Synthese und biologische Testung von Biarylalkylcarbonsäure-Derivaten als potentielle anthelmintische Wirkstoffe gegen <i>S. mansoni</i>	23
A.1 Vorarbeiten und Zielsetzung	25
A.2 Ergebnisse und Diskussion	31
A.2.1 Erste Serie: Optimierung des terminalen Phenyl-Rings	31
A.2.2 Zweite Serie: Variation der Kettenlänge des Linkers und Einfluss der Carbonylgruppe	45
A.2.3 Dritte Serie: Derivatisierung der Carbonsäurefunktion	54
A.2.4 Vierte Serie: Kombination der besten Substituenten	61
A.2.5 Struktur-Wirkungs-Beziehungen und Bewertung der Inhibitoren	68
A.3 Zusammenfassung und Ausblick	73
Teil B - Synthese und biologische Testung von Dithiocarbamat-Derivaten als potentielle anthelmintische Wirkstoffe gegen <i>S. mansoni</i>	79
B.1 Vorarbeiten und Zielsetzung	81
B.2 Ergebnisse und Diskussion	91
B.2.1 Variation des Substituenten am Schwefel des Dithiocarbamats	91
B.2.1.1 Initiale Derivate	91

B.2.1.2 Optimierung des 2-Ethyl-1,3-dioxan-Substituenten	94
B.2.1.3 Variation der aliphatischen Kette des Benzyl-Substituenten	95
B.2.1.4 Einführung sterisch anspruchsvoller Substituenten	99
B.2.1.5 Modifikation des Benzylsubstituenten durch Einführung von Elektronendonatoren	100
B.2.1.6 Modifikation des Benzylsubstituenten durch Einführung von Elektronenakzeptoren	105
B.2.1.7 Weitere <i>N,N</i> -Diethyldithiocarbamat-Derivate	113
B.2.1.8 Struktur-Wirkungs-Beziehungen und Zusammenfassung	119
B.2.2 Variation der Substituenten am Dithiocarbamat-Stickstoff	122
B.2.2.1 Initiale Derivate	122
B.2.2.2 Piperazin-Derivate	125
B.2.2.3 Weitere Variationen des Substituenten am Dithiocarbamat-Stickstoff	133
B.2.2.4 Imidazol-Derivate	138
B.2.2.5 Struktur-Wirkungs-Beziehungen und Zusammenfassung	144
B.2.3 Variation der Heteroatome des Dithiocarbamats	150
B.2.4 Kombinationsserie der wirksamsten Substituenten	155
B.2.5 Weitere Optimierungsversuche	171
B.2.5.1 Konjugation mit Aminosäuren	171
B.2.5.2 Derivate mit hydrophilen <i>N</i> -Alkylsubstituenten	175
B.2.5.3 Einführung einer Sulfonamid-Struktur am Piperazin-Stickstoff	177
B.2.6 Vergleich der wirksamsten Dithiocarbamat-Derivate mit Praziquantel, Amoscanat, Phenithionat und CGP-6140	187
B.2.6.1 <i>In vitro</i> -Ergebnisse der Referenzsubstanzen Praziquantel, Amoscanat, Phenithionat und CGP-6140	187
B.2.6.2 Vergleich der wirksamsten Dithiocarbamat-Derivate mit Praziquantel, Amoscanat, Phenithionat und CGP-6140	190
B.3 Zusammenfassung und Ausblick	199
Literaturverzeichnis	213
Anhang	227
Eidesstattliche Erklärung	227
Lebenslauf	229

Tabellarischer Anhang der <i>in vitro</i> -Ergebnisse und der Zytotoxizitätsmessungen	233
---	-----

Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
µg	Mikrogramm
µm	Mikrometer
µM	Mikromolar
AAV	allgemeine Arbeitsvorschrift
Aceton-D ₆	deuteriertes Aceton
Ala	Alanin
AlCl ₃	Aluminiumchlorid
APT	<i>attached proton test</i>
AR	Aldose-Reduktase
Arg	Arginin
Asn	Asparagin
ATR	<i>attenuated total reflection</i>
ber.	berechnet
BH3	<i>BCL-2 Homology 3</i>
BID	β-Interaktionsdomäne(n)
Boc	<i>tert</i> -Butyl-oxycarbonyl
<i>br</i>	breites Signal
CDCl ₃	deuteriertes Chloroform
CHCl ₃	Chloroform
cm	Zentimeter
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
C _q	quartärer Kohlenstoff
Cs ₂ CO ₃	Cäsiumcarbonat
C _t	tertiärer Kohlenstoff
CYP	Cytochrom-P 450
<i>d</i>	Dublett
d	Tag(e)

DALY	<i>Disability-Adjusted Life Year</i>
DBH	Dopamin- β -Hydroxylase
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
<i>dd</i>	Dublett vom Dublett
DEG	Diethylenglykol
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamin
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMSO-D ₆	deutrieretes Dimethylsulfoxid
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DNDi	<i>Drugs for Neglected Diseases Initiative</i>
EA	Elementaranalyse
ED ₅₀	mittlere Effektivdosis
EDC·HCl	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimidhydrochlorid
eq	Äquivalent(e)
ES	Elektrospray-Ionisation
EtOAc	Essigsäureethylester
EtOH	Ethanol
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
Fp	Schmelzpunkt
g	Gramm
gef.	gefunden
ges.	gesättigt
Gly	Glycin
h	Stunde(n)
H ₂	Wasserstoff
H ₂ O	Wasser
HBTU	(2-(1 <i>H</i> -Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-hexafluorphosphat)
HCl	Hydrogenchlorid
HCOOH	Ameisensäure
HDAC	Histon-Deacetylase
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)ethansulfonsäure
His	Histidin

HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HRMS	<i>high resolution mass spectrometry</i>
Hz	Hertz
IR	Infrarot
J	Joule
<i>J</i>	Kopplungskonstante
K ₂ CO ₃	Kaliumcarbonat
K ₃ PO ₄	Kaliumphosphat
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
kJ	Kilojoule
KOH	Kaliumhydroxid
LM	Lösungsmittel
Lys	Lysin
m	<i>medium</i>
<i>m</i>	Multipllett
M	Molar [mol/L]
M	Molare Masse [g/mol]
m/z	Masse-Ladungsverhältnis
MDR	<i>Multi Drug Resistance</i>
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
MeOH-D ₄	deuteriertes Methanol
Met	Methionin
mg	Milligramm
MgSO ₄	Magnesiumsulfat
MHz	Megahertz
min	Minute(n)
mL	Milliliter
mm	Millimeter
mmol	Millimol
mol	Mol
Mrd.	Milliarde(n)

MS	Massenspektrometrie
MTBE	Methyl- <i>tert</i> -Butylether
Na ₂ CO ₃	Natriumcarbonat
NaCl	Natriumchlorid
NaH	Natriumhydrid
NaHCO ₃	Natriumhydrogencarbonat
NaOH	Natriumhydroxid
NCS	<i>newborn calf serum</i>
NEt ₃	Triethylamin
NH ₃	Ammoniak
nm	Nanometer
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie
NTDs	<i>Neglected Tropical Diseases</i>
p. a.	<i>pro analysis</i>
Pd	Palladium
Pd(OAc) ₂	Palladium-(II)-acetat
PFK	Phosphofruktokinase
ppm	<i>parts per million</i>
Pro	Prolin
Prx	Peroxoredoxin
PZQ	Praziquantel
<i>q</i>	Quartett
<i>quin</i>	Quinett
R _f	Retentionsfaktor
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
RT	Raumtemperatur
<i>s</i>	<i>strong</i>
<i>s</i>	Singulett
sAR	schistosomale Aldose-Reduktase
SAR	<i>Structure-Activity Relationship</i>
<i>sept</i>	Septett
Ser	Serin
SERCA	<i>Sarcoplasmic/Endoplasmic Reticulum Calcium ATPase</i>

SmMLC	<i>Schistosoma mansoni Myosin Light Chain</i>
SmMRP1	<i>Schistosoma mansoni Multi-Drug-Resistance-Associated Protein 1</i>
spp.	<i>species pluralis</i>
<i>t</i>	Triplett
T	Temperatur
t	Zeit
TB	Tuberkulose
TBAB	Tetrabutylammoniumbromid
TDR	<i>Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases</i>
TETD	Tetraethylthiuramdisulfid
TGR	Thioredoxin-Glutathion-Reduktase
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Tetramethylsilan
Trx	Thioredoxin
Tyr	Tyrosin
USD	<i>United States Dollar</i>
UV	Ultraviolett
vgl.	vergleiche
vs	<i>very strong</i>
w	<i>weak</i>
WHO	<i>World Health Organisation</i>
z	Ladungszahl
z. B.	zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem
α	alpha
β	beta
δ	chemische Verschiebung
λ	Wellenlänge
v	Wellenzahl

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Prävalenz von NTDs in den jeweiligen Ländern.	2
Abbildung 2: Länder und Gebiete mit Infektionsrisiko für Schistosomiasis (Stand 2014).	6
Abbildung 3: Lebenszyklus der Schistosomen (modifiziert).	9
Abbildung 4: Strukturformeln des racemischen PZQ (1), (<i>R</i>)-PZQ (2), (<i>S</i>)-PZQ (3) sowie des Hauptmetaboliten 4 .	12
Abbildung 5: Strukturformeln der relevanten organischen Antimonverbindungen Kaliumantimonyltartrat (5), Stibophen (6) und Astiban (7).	17
Abbildung 6: Strukturformeln von Metrifonat (8) und dem aktiven Metaboliten 9 .	18
Abbildung 7: Strukturformeln von Amoscanat (10), CGP-6140 (11) und Phenithionat (12).	19
Abbildung 8: Strukturformel von Oxamniquin (13).	19
Abbildung 9: Strukturformeln der Oxadiazol-2-oxide (14) und K11777 (15).	20
Abbildung 10: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit Verbindung 17 (100 µM).	28
Abbildung 11: Grundstruktur und Optimierungsmöglichkeiten der Biarylalkylcarbonsäure-Derivate.	29
Abbildung 12: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen 48-50 (Schl32050-Schl32052).	36
Abbildung 13: Vergleich von nativen <i>S. mansoni</i> -Eiern (kleines Bild) und deformierten <i>S. mansoni</i> -Eiern (großes Bild).	37
Abbildung 14: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen 17 und 61 (Schl32063).	38

Abbildung 15: Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen bei der <i>in vitro</i> -Testung von DMSO und Verbindung 66 (Schl32071).	40
Abbildung 16: Eiproduktion und –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit Verbindung 17 in Abhängigkeit der Konzentration.	41
Abbildung 17: Eiproduktion und –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit Verbindung 66 (Schl32071) in Abhängigkeit der Konzentration.	42
Abbildung 18: Strukturformel des besten Biarylalkylcarbonsäure-Derivats 66 (Schl32071) nach der ersten Optimierungsserie.	43
Abbildung 19: Auswertung der Zytotoxizitätsmessung (HepG2-Zelllinie) von Verbindung 66 (Schl32071).	44
Abbildung 20: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen 17 und 69 (Schl32269).	46
Abbildung 21: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit dem 4-Oxobutansäurederivat 17 und dem Butansäurederivat 75 (Schl32268).	48
Abbildung 22: Beobachtete Einschnürung und Aufblähung männlicher Schistosomen nach Behandlung mit Verbindung 75 (Schl32268).	49
Abbildung 23: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit Verbindung 75 (Schl32268) in Abhängigkeit der Konzentration.	50
Abbildung 24: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit dem 4-Oxopentansäurederivat 69 (Schl32269) und dem Pentansäurederivat 76 (Schl32270).	51
Abbildung 25: Auswertung der Zytotoxizitätsmessung (HepG2-Zelllinie) der Verbindungen 75 (Schl32268) und 76 (Schl32270).	52
Abbildung 26: Auswertung der Zytotoxizitätsmessung (LS174T-Zelllinie) der Verbindungen 75 (Schl32268) und 76 (Schl32270).	53
Abbildung 27: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Carbonsäurederivaten 17 und 69 (Schl32269) und den Methylestern 78 (Schl32267) und 79 (Schl32272).	54

Abbildung 28: Beobachtete Substanzablagerungen (Pfeil) bei der <i>in vitro</i> Testung; links: Verbindung 78 (Schl32267), rechts: Verbindung 79 (Schl32272).	55
Abbildung 29: Mit Verbindungen 81 (Schl32266) behandelte Schistosomen. Dunkle Ovale (mit Anisocytose) sind mit einem Pfeil markiert.	56
Abbildung 30: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit dem Carbonsäureamid 81 (Schl32266).	57
Abbildung 31: Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen bei der <i>in vitro</i> -Testung von Verbindung 82 (Schl32271).	58
Abbildung 32: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit Verbindung 82 (Schl32271) in Abhängigkeit der Konzentration.	59
Abbildung 33: Auswertung der Zytotoxizitätsmessung [100 µM] in HepG2 der Verbindungen 81 (Schl32266) und 82 (Schl32271).	60
Abbildung 34: Strukturformeln der Derivate der Kombinationsserie.	61
Abbildung 35: Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen bei der <i>in vitro</i> -Testung von Verbindung 83 (Schl32356) und 84 (Schl32357).	63
Abbildung 36: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen 83 (Schl32356) und 84 (Schl32357) in Abhängigkeit der Konzentration.	64
Abbildung 37: Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen bei der <i>in vitro</i> -Testung von Verbindung 85 (Schl32358) und 86 (Schl32359).	65
Abbildung 38: Auswertung der Zytotoxizitätsmessungen der Verbindungen 83-86 (Schl32356-Schl32359).	66
Abbildung 39: Ergebnisse der SAR der Biarylalkylcarbonsäure-Derivate.	68
Abbildung 40: Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen bei der <i>in vitro</i> -Testung von PZQ (1).	69
Abbildung 41: Strukturformeln der für eine <i>in vivo</i> -Testung potentiell infrage kommenden Derivate 84 und 85 .	71
Abbildung 42: Zusammenfassung der Optimierungsschritte der Substanzklasse der Biarylalkylcarbonsäure-Derivate.	75

Abbildung 43: Mögliche Derivate zur weiteren Verbesserung der antischistosomalen Aktivität.	76
Abbildung 44: Strukturformeln von Disulfiram (91) und Coprin (92).	81
Abbildung 45: Mit Disulfiram (91) behandelte Schistosomen. Tegumentblasen und -ablösung sind mit einem Pfeil markiert.	82
Abbildung 46: Unterteilung der Grundstruktur 97 in drei Bereiche zur synthetischen Modifikation.	88
Abbildung 47: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen 122 (Schl32007) und 124 (Schl32025).	93
Abbildung 48: Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen bei der <i>in vitro</i> -Testung von Verbindung 122 (Schl32007).	94
Abbildung 49: Strukturformel des wirksamsten Derivats 122 der initialen Serie.	96
Abbildung 50: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit Verbindung 122 (Schl32007) in Abhängigkeit der Konzentration.	96
Abbildung 51: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen 122 (Schl32007), 128 (Schl32096), 130 (Schl32098), 131 (Schl32099), 132 (Schl32102) und 133 (Schl32130).	98
Abbildung 52: Weibchen mit Eiakkumulation im Uterus (Pfeile), ausgelöst durch Verbindung 141 (Schl32229).	102
Abbildung 53: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen 122 (Schl32007) und 141 (Schl32229) in Abhängigkeit der Konzentration.	103
Abbildung 54: Vergleich der Eiproduktion von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen 122 (Schl32007), 144 (Schl32160), 145 (Schl32243), 146 (Schl32244), 147 (Schl32247) und 148 (Schl32248).	105
Abbildung 55: Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen bei der <i>in vitro</i> -Testung von Verbindung 157 (Schl32088).	108

- Abbildung 56:** Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **157** (Schl32088) und **158** (Schl32155) in Abhängigkeit der Konzentration. 109
- Abbildung 57:** Strukturformeln des 4-Nitrobenzyl-Derivats **157** (Schl32088) und des 4-Pyridylmethyl-Derivats **161** (Schl32126). 109
- Abbildung 58:** Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **162** (Schl32118). 111
- Abbildung 59:** Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **162** (Schl32118) und **163** (Schl32158) bei der jeweils niedrigsten wirksamen Konzentration. 112
- Abbildung 60:** Strukturformeln der vier wirksamsten Verbindungen sowie die jeweils niedrigste wirksame Konzentration. 112
- Abbildung 61:** Auswertung der Zytotoxizitätsmessung (HepG2-Zelllinie) der Verbindung **157** (Schl32088), **158** (Schl32118), **162** (Schl32155) und **163** (Schl32158). 113
- Abbildung 62:** Strukturformeln der beiden Derivate **175** und **176** mit einem basischen Stickstoff in der Seitenkette. 116
- Abbildung 63:** Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **179** (Schl32189). 117
- Abbildung 64:** Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **177** (Schl32175), **178** (Schl32178) und **179** (Schl32189) bei einer Konzentration von je 10 µM. 118
- Abbildung 65:** Strukturformel des Nitrofurant-derivats **180**. 119
- Abbildung 66:** Grundstruktur der Derivate mit variiertem Substituenten am Stickstoff. 122
- Abbildung 67:** Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **182** (Schl32012), **188** (Schl32019) und **195** (Schl32212) bei einer Konzentration von je 100 µM. 125
- Abbildung 68:** Strukturformel des unsubstituierten Piperazinderivats **197** (Schl32191). 125
- Abbildung 69:** Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **197** (Schl32191). 126

- Abbildung 70:** Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **197** (Schl32191), **198** (Schl32140), **200** (Schl32192) und **201** (Schl32193) bei einer Konzentration von je 100 μM . 128
- Abbildung 71:** Beobachtete Zellablagerungen bei der *in vitro*-Testung des *N*-Benzylsubstituierten Piperazin-Derivats **199**. 129
- Abbildung 72:** Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **207** (Schl32200) und **208** (Schl32209) bei einer Konzentration von je 100 μM und je 10 μM . 131
- Abbildung 73:** Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **208** (Schl32209). 132
- Abbildung 74:** Strukturformeln der in Zusammenarbeit mit *Marlene Barho* dargestellten Derivate **209** und **210**.^[275] 133
- Abbildung 75:** Vergleich der mikroskopischen Aufnahmen von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung der Verbindungen **209** (Schl32177, oben) und **210** (Schl32222, unten). 134
- Abbildung 76:** Vergleich der mikroskopischen Aufnahmen von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Praziquantel (**1**, links) und Verbindung **215** (Schl32223, rechts). 136
- Abbildung 77:** Strukturformel des Imidazol-Derivats **216** (Schl32027). 137
- Abbildung 78:** Mikroskopische Aufnahmen von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **216** (Schl32027). 137
- Abbildung 79:** Mikroskopische Aufnahmen von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **220** (Schl32028). 140
- Abbildung 80:** Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **220** (Schl32028), **223** (Schl32263), **224** (Schl32264) und **225** (Schl32265) bei einer Konzentration von je 5 μM . 141
- Abbildung 81:** Auswertung der Zytotoxizitätsmessung (HepG2-Zelllinie) der Verbindungen **220** (Schl32028), **223** (Schl32263), **224** (Schl32264) und **225** (Schl32265). 142
- Abbildung 82:** Strukturformeln der vier wirksamsten Imidazol-Derivate der Optimierungsserie. 143

Abbildung 83: Strukturformeln der Derivate zur Überprüfung einer möglichen kovalenten Bindung.	144
Abbildung 84: Strukturformeln der sechs wirksamsten Imidazol-Derivate.	147
Abbildung 85: Strukturformel des für eine <i>in vivo</i> -Testung potentiell infrage kommenden Imidazol-1-carbodithionsäureesters 220 (Schl32028).	149
Abbildung 86: Möglicher Wirkmechanismus der Dithiocarbamate am Beispiel von Verbindung 122 (Schl32007).	150
Abbildung 87: Strukturformeln des Dithiocarbamat-Derivats 122 (Schl32007), des Thioharnstoff-Derivats 236 (Schl32151) und des Thionurethan-Derivats 237 (Schl32152).	151
Abbildung 88: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen 122 (Schl32007), 236 (Schl32151) und 237 (Schl32152) bei einer Konzentration von je 100 µM.	151
Abbildung 89: Strukturformeln des Carbamat-Derivats 238 (Schl32161), des Harnstoff-Derivats 239 (Schl32162) und des Thiourethan-Derivats 240 (Schl32163).	152
Abbildung 90: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen 122 (Schl32007) und 237 (Schl32163) bei einer Konzentration von je 100 µM.	152
Abbildung 91: Strukturformeln des Dithioesters 241 (Schl32367) und des Thioamids 242 (Schl32370).	153
Abbildung 92: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen 122 (Schl32007) und 241 (Schl32367) bei einer Konzentration von je 100 µM.	154
Abbildung 93: Strukturformeln der beiden wirksamen Derivate mit einem 4-Nitrobenzyl-Substituenten am Schwefel des Dithiocarbamats.	156
Abbildung 94: Strukturformeln der beiden wirksamen Derivate mit einem (4-Methylsulfonyl)benzyl-Substituenten am Schwefel des Dithiocarbamats.	157

- Abbildung 95:** Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den (4-Methylsulfonyl)benzylsubstituierten Derivaten **162** (Schl32118), **245** (Schl32278) und **246** (Schl32292) bei den jeweils niedrigsten wirksamen Konzentrationen. 158
- Abbildung 96:** Strukturformeln der beiden wirksamen Derivate mit einem (2-Hydroxy-5-nitrophenyl)methyl-Substituenten am Schwefel des Dithiocarbamats. 159
- Abbildung 97:** Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den (2-Hydroxy-5-nitrophenyl)methylsubstituierten Derivaten **163** (Schl32158), **247** (Schl32294) und **248** (Schl32315) bei den jeweils niedrigsten wirksamen Konzentrationen. 160
- Abbildung 98:** Strukturformeln der vier wirksamen Derivate mit einem Cyclohexylmethyl-Substituenten am Schwefel des Dithiocarbamats. 161
- Abbildung 99:** Strukturformeln der drei wirksamen Derivate mit einem 2-(1*H*-Indol-3-yl)ethyl-Substituenten am Schwefel des Dithiocarbamats. 162
- Abbildung 100:** Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den 2-(1*H*-Indol-3-yl)ethylsubstituierten Derivaten **179** (Schl32189), **253** (Schl32304), **254** (Schl32311) und **255** (Schl32325) bei den jeweils niedrigsten wirksamen Konzentrationen. 163
- Abbildung 101:** Strukturformeln der vier wirksamen Derivate mit einem Cumarin-Substituenten am Schwefel des Dithiocarbamats. 164
- Abbildung 102:** Schistosomen mit massiven Darmdilatationen nach Behandlung mit Verbindung **258** (Schl32317). 165
- Abbildung 103:** Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den cumarinsubstituierten Derivaten **177** (Schl32175), **256** (Schl32282), **257** (Schl32296), **258** (Schl32317) und **258** (Schl32324) bei den jeweils niedrigsten wirksamen Konzentrationen. 165

- Abbildung 104:** Häufigkeit der jeweiligen Substituenten in Verbindungen der Kombinationsserie, die bei einer Konzentration $\leq 10 \mu\text{M}$ eine antischistosomale Aktivität zeigten. 168
- Abbildung 105:** Strukturformeln der für eine *in vivo*-Testung potentiell infrage kommenden Derivate der Kombinationsserie. 170
- Abbildung 106:** Grundstruktur der Derivate zur weiteren Steigerung der antischistosomalen Aktivität. 171
- Abbildung 107:** Mikroskopische Aufnahmen der beobachteten Darmdilatation bei der *in vitro*-Testung der Aminosäure-Derivate. 174
- Abbildung 108:** Mikroskopische Aufnahmen von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **279** (Schl32351). 177
- Abbildung 109:** Mikroskopische Aufnahmen von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **283** (Schl32330). 179
- Abbildung 110:** Mikroskopische Aufnahmen von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **286** (Schl32329). 181
- Abbildung 111:** Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den aktiven Sulfonamid-Derivaten **286** (Schl32329), **283** (Schl32330), **289** (Schl32363) und **290** (Schl32364) bei den jeweils niedrigsten wirksamen Konzentrationen. 182
- Abbildung 112:** Strukturformeln der drei Vergleichsverbindungen. 183
- Abbildung 113:** Auswertung der Zytotoxizitätsmessung (HepG2-Zelllinie) der Verbindungen **286** (Schl32329), **283** (Schl32330), **287** (Schl32360), **288** (Schl32361), **289** (Schl32363) und **290** (Schl32364). 184
- Abbildung 114:** Strukturformeln der für eine *in vivo*-Testung potentiell infrage kommenden Sulfonamid-Derivate. 186
- Abbildung 115:** Strukturformeln von Praziquantel (**1**), Amoscanat (**10**), CGP-6140 (**11**) und Phenithionat (**12**). 187
- Abbildung 116:** Mikroskopische Aufnahme eines Schistosomenpärchens bei der *in vitro*-Testung von Praziquantel (**1**) (Konzentration $10 \mu\text{M}$). 188
- Abbildung 117:** Mikroskopische Aufnahme eines Schistosomenweibchens mit ödematösem Ootyp sowie Anisocytose des Ovars bei der *in vitro*-Testung von Amoscanat (**10**) (Konzentration $10 \mu\text{M}$). 189

Abbildung 118: Mikroskopische Aufnahme eines Schistosomenweibchens bei der <i>in vitro</i> -Testung von CGP-6140 (11) (Konzentration 5 μ M).	189
Abbildung 119: Auswertung der Zytotoxizitätsmessung (HepG2-Zelllinie) von Praziquantel (1), Amoscanat (10), CGP-6140 (11) und Phenithionat (12).	190
Abbildung 120: Strukturformeln der drei wirksamsten <i>N,N</i> -Diethyldithiocarbamat-Derivate und deren jeweils niedrigste wirksame Konzentration.	191
Abbildung 121: Strukturformeln der in Zusammenarbeit mit <i>Marlene Barho</i> dargestellten Biarylether-Derivate und deren jeweils niedrigste wirksame Konzentration. ^[275]	192
Abbildung 122: Strukturformeln der wirksamsten Imidazol-Derivate und deren jeweils niedrigste wirksame Konzentration.	193
Abbildung 123: Strukturformeln der wirksamsten Verbindungen mit einer ((4-Nitrophenyl)methyl)piperazin-1-dithiocarbamat-Grundstruktur und deren jeweils niedrigste wirksame Konzentration.	195
Abbildung 124: Strukturformeln der sechs wirksamsten Imidazol-Derivate.	204
Abbildung 125: Strukturformel des wirksamsten Aminosäure-Derivats.	207
Abbildung 126: Strukturformeln der drei bei einer Konzentration von je 1 μ M wirksamen Verbindungen.	208
Abbildung 127: Strukturformeln der für eine <i>in vivo</i> -Testung vorrangig infrage kommenden Verbindungen.	209
Abbildung 128: Strukturformel der besten Verbindung dieser Arbeit.	210
Abbildung 129: Mögliche weitere Optimierungsschritte der Alkylsulfonamid-Derivate.	210
Abbildung 130: Mögliche weitere Sulfonamid-Derivate.	211
Abbildung 131: Grundstruktur möglicher Dithiocarbazat-Derivate.	212

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einteilung der NTDs nach der WHO.	1
Tabelle 2: Globale Prävalenz und Mortalität ausgewählter NTDs sowie Malaria.	3
Tabelle 3: Ausgewählte Therapieoptionen einzelner NTDs.	4
Tabelle 4: Schistosomenspezies sowie deren geographische Verbreitung.	7
Tabelle 5: Ausgewählte schistosomizide Wirkstoffe sowie deren postulierte Wirkmechanismen.	21
Tabelle 6: Strukturformeln der initial getesteten Biarylalkylcarbonsäure-Derivate 17-23 .	27
Tabelle 7: Übersicht der getesteten Reaktionsbedingungen zur Synthese der Vorstufe von Verbindung 17 .	32
Tabelle 8: Übersicht der dargestellten Biarylvorstufen 30-47 .	34
Tabelle 9: Übersicht der dargestellten 4-Oxobutansäurederivate 48-58 mit lipophilen, elektronenschiebenden Substituenten.	35
Tabelle 10: Übersicht der dargestellten 4-Oxobutansäurederivate 59-62 mit anderen aromatischen Resten.	37
Tabelle 11: Übersicht der dargestellten 4-Oxobutansäurederivate 63-66 mit hydrophilen Substituenten in Position 3 des terminalen Phenylrings.	39
Tabelle 12: Übersicht der Gesamtausbeuten der Verbindungen 83-86 .	62
Tabelle 13: Definition von <i>Hit</i> - und <i>Lead</i> -Strukturen nach TDR.	70
Tabelle 14: Bewertung der vier besten Verbindungen 83-86 nach den TDR-Kriterien.	71
Tabelle 15: Strukturformeln der initialen <i>N,N</i> -Diethyldithiocarbamat-Derivate 120-124 .	92
Tabelle 16: Strukturformeln der <i>N,N</i> -Diethyldithiocarbamat-Derivate 125-127 .	95
Tabelle 17: Strukturformeln und Ausbeuten der <i>N,N</i> -Diethyldithiocarbamat-Derivate 128-133 mit veränderter Kettenlänge des <i>Linkers</i> .	97

Tabelle 18: Strukturformeln der <i>N,N</i> -Diethyldithiocarbamat-Derivate 134-140 mit sterisch anspruchsvollen Substituenten.	99
Tabelle 19: Strukturformeln und Ausbeuten der <i>N,N</i> -Diethyldithiocarbamat-Derivate 141-143 .	101
Tabelle 20: Strukturformeln und Ausbeuten der <i>N,N</i> -Diethyldithiocarbamat-Derivate 144-148 .	104
Tabelle 21: Strukturformeln der <i>N,N</i> -Diethyldithiocarbamat-Derivate 149-154 .	106
Tabelle 22: Strukturformeln der <i>N,N</i> -Diethyldithiocarbamat-Derivate 155-160 .	107
Tabelle 23: Strukturformeln und Ausbeuten der <i>N,N</i> -Diethyldithiocarbamat-Derivate 162 und 163 .	110
Tabelle 24: Strukturformeln der <i>N,N</i> -Diethyldithiocarbamat-Derivate 168-174 .	115
Tabelle 25: Strukturformeln und Ausbeuten der <i>N,N</i> -Diethyldithiocarbamat-Derivate 162 und 163 .	116
Tabelle 26: Übersicht der wirksamsten <i>N,N</i> -Diethyldithiocarbamat-Derivate.	120
Tabelle 27: Übersicht der dargestellten Derivate 182-187 mit veränderten Substituenten am Dithiocarbamat-Stickstoff.	123
Tabelle 28: Übersicht der dargestellten Derivate 188-196 mit variiertem Piperidin-Strukturelement.	124
Tabelle 29: Übersicht der <i>N</i> -substituierten Piperazin-Derivate 198-204 unter Aufrechterhaltung der Basizität des Stickstoffs.	127
Tabelle 30: Strukturformeln und Ausbeuten der <i>N</i> -acylierten Piperazin-Derivate 205-208 .	130
Tabelle 31: Strukturformeln der initialen Imidazol-Derivate 220-222 .	139
Tabelle 32: Strukturformeln der Imidazol-Derivate 223-225 mit verlängerter aliphatischer Kette.	140
Tabelle 33: Übersicht der wirksamsten Benzylthiocarbamat-Derivate.	145
Tabelle 34: Definition von <i>Hit</i> - und <i>Lead</i> -Strukturen nach TDR.	148
Tabelle 35: Bewertung der Verbindung 220 nach den TDR-Kriterien.	148
Tabelle 36: Übersicht der jeweils wirksamsten Substituenten der vorangegangenen Optimierungsserien.	155

Tabelle 37: Übersicht der sechs wirksamsten Derivate der Kombinationsserie.	167
Tabelle 38: Definition von <i>Hit</i> - und <i>Lead</i> -Strukturen nach TDR.	169
Tabelle 39: Bewertung der sechs wirksamsten Verbindungen der Kombinationsserie nach den TDR-Kriterien.	170
Tabelle 40: Übersicht der dargestellten <i>N</i> -Boc-Aminosäurederivate.	172
Tabelle 41: Übersicht der dargestellten Aminosäurederivate.	173
Tabelle 42: Übersicht der Derivate mit hydrophilen <i>N</i> -Alkylsubstituenten.	176
Tabelle 43: Übersicht der Derivate mit einer Arylsulfonamid-Struktur.	178
Tabelle 44: Übersicht der sechs weiteren Derivate.	180
Tabelle 45: Definition von <i>Hit</i> - und <i>Lead</i> -Strukturen nach TDR.	185
Tabelle 46: Bewertung der sechs wirksamen Sulfonamid-Derivate nach den TDR-Kriterien.	185
Tabelle 47: Übersicht der sechs wirksamen Derivate der Kombinationsserie und deren jeweils niedrigste wirksame Konzentration.	194
Tabelle 48: Übersicht der sechs wirksamsten Sulfonamid-Derivate und deren jeweils niedrigste wirksame Konzentration.	196
Tabelle 49: Übersicht der wirksamsten der insgesamt 73 <i>N,N</i> -Diethyldithiocarbamat-Derivate.	200
Tabelle 50: Übersicht der wirksamsten der insgesamt 45 Benzylthiocarbamat-Derivate.	202
Tabelle 51: Übersicht der sechs wirksamsten Derivate der Kombinationsserie.	206

1 Einleitung

1.1 Vernachlässigte Tropenerkrankungen

Vernachlässigte Tropenerkrankungen (*neglected tropical diseases*, NTDs) beschreiben eine Gruppe von parasitären, viralen und bakteriellen Infektionskrankheiten, welche weltweit mehr als 1,5 Milliarden Menschen, ein Fünftel der Weltbevölkerung, betreffen. Sie sind für schätzungsweise 550.000 Todesfälle pro Jahr verantwortlich, wobei die Dunkelziffer noch deutlich darüber liegt.^[1] NTDs betreffen fast ausschließlich Menschen in den ärmsten Ländern und verursachen enormes Leiden durch Behinderung, beeinträchtigte körperliche und kognitive Entwicklung.^[1,2] Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) stuft derzeit 17 Krankheiten als NTDs ein (**Tabelle 1**).^[3]

Tabelle 1: Einteilung der NTDs nach der WHO.^[3]

Buruli-Ulkus	Chagas-Krankheit	Cysticercosis/ Taeniasis
Dengue-Fieber	Dracunculiasis	Echinokokkose
Frambösie	Afrikanische Schlafkrankheit	Leishmaniose
Lepra	Lymphatische Filariose	Flussblindheit
Tollwut	Schistosomiasis	Trachoma
Lebensmittelbasierte Trematodeninfektionen	Boden-übertragene Helminthosen	

Obwohl Malaria und Tuberkulose (TB) nicht offiziell als NTDs eingestuft sind, haben diese Krankheiten neben gesundheitlichen auch sozioökonomische Auswirkungen in den tropischen Regionen der Welt sowie in den dortigen Entwicklungsländern dar. Schätzungsweise 660.000 Todesfälle sind im Jahr 2010 durch Malaria verursacht worden.^[4] Für TB stellt sich die Situation noch schlimmer dar: ein Drittel der Weltbevölkerung ist betroffen. Im Jahr 2012 war

die Krankheit für 1,3 Millionen Todesfälle weltweit verantwortlich, wobei 95% davon in Ländern mit niedrigem oder mittlerem Einkommen auftraten.^[5]

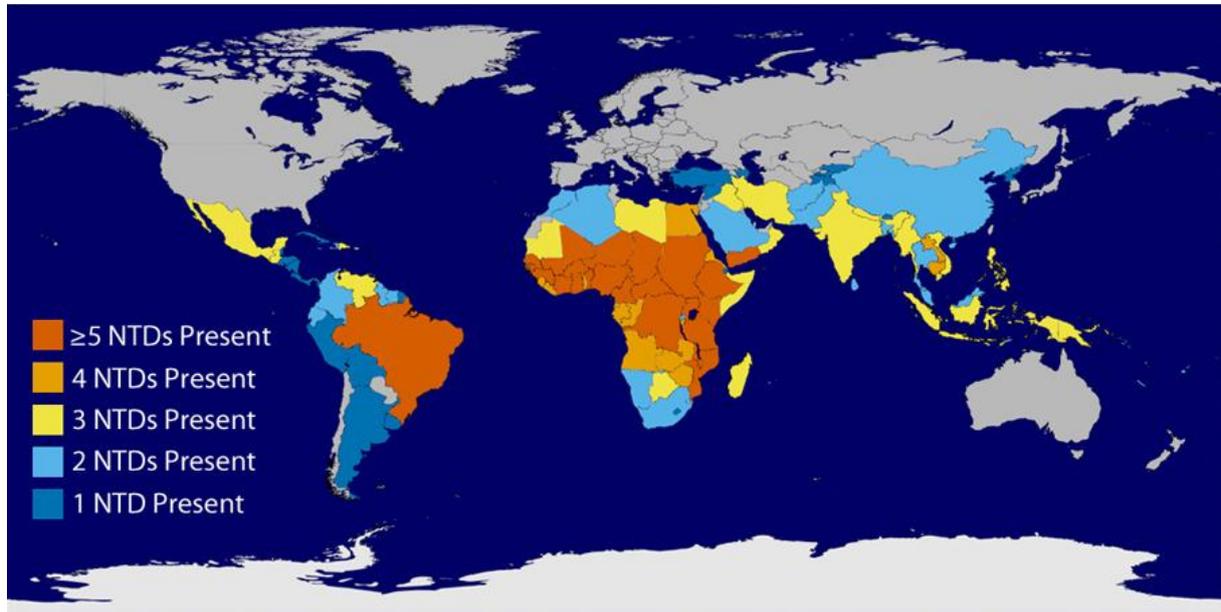


Abbildung 1: Prävalenz von NTDs in den jeweiligen Ländern.^[6]

NTDs sind in zirka 150 Ländern endemisch (**Abbildung 1**). In diesen Ländern leben die weltweit ärmsten Menschen, welche weniger als 2 US-Dollar am Tag zur Verfügung haben. Mehr als ein Drittel dieser Menschen sind nach Schätzungen von NTDs betroffen. Diese Erkrankungen tragen wesentlich zur Kindersterblichkeit in den Entwicklungsländern bei und untergraben deren wirtschaftliche Entwicklung sehr stark. Im Jahr 2010 waren NTDs und Malaria Schätzungen zufolge die Ursache für mindestens 1.321.000 Todesfälle weltweit (vgl. **Tabelle 2**). Dies entspricht einer Steigerung von 9,2% gegenüber 1990 und stellt 2,5% aller Todesfälle des Jahres dar.^[7] Die sozioökonomischen Auswirkungen der NTDs sind keineswegs trivial. Prognosen zufolge gehen jährlich etwa 57 Millionen behinderungsbereinigte Lebensjahre (*disability-adjusted life years*, DALYs) aufgrund dieser Krankheiten verloren.^[8, 9] Diese Zahl ist fast so hoch wie für HIV, Tuberkulose oder Malaria, wobei auch hier die Dunkelziffer mit großer Wahrscheinlichkeit sehr viel höher ist.^[10] Eine Infektion mit einer vernachlässigten Tropenkrankheit erhöht vermutlich das Risiko für Koinfektionen mit HIV, Malaria oder TB und verschlechtert deren Krankheitsverlauf signifikant.^[11, 12] Vernachlässigte Tropenerkrankungen betreffen vor allem Kinder und Jugendliche, welche infolge dessen ein verlangsamtes Wachstum, schlechte Schulleistungen und eine verminderte Arbeitsproduktivität aufweisen, was den Armutskreislauf aufrecht

erhält.^[13] Außerdem treten Krankheiten wie zum Beispiel die Trypanosomiasis oder Schistosomiasis auch bei Wildtieren und Nutztieren auf und zählen somit zu den Zoonosen. Dadurch tragen sie zu einer verringerten Produktivität z.B. in der Viehzucht bei, was enorme wirtschaftliche Auswirkungen durch eine Verringerung der landwirtschaftlichen Produktion zur Folge hat.^[6]

Tabelle 2: Globale Prävalenz und Mortalität ausgewählter NTDs sowie Malaria.^[4,9]

	Geschätzte Prävalenz (Millionen)	Geschätzte Todesfälle (jährlich)
Malaria	207	627.000
Schistosomiasis	240	150.000 – 280.000
Leishmaniose	12	51.000
Trypanosomiasis	< 0,1	48.000
Dengue-Fieber	50	19.000
Chagas-Krankheit	8 – 9	14.000
Trachoma	84	< 500
Lymphatische Filariose	120	< 500
Flussblindheit	37	< 500

Trotz der hohen Prävalenzen vieler dieser Erkrankungen gibt es einen Mangel an sicheren, wirksamen, erschwinglichen und praktikablen Therapien. Das Potential der aktuellen Behandlungsmöglichkeiten wird durch eine Vielzahl von Problemen begrenzt. Neben Resistenzen spielen unerwünschte Arzneimittelwirkungen, zu lange Behandlungsdauer/-zyklen, Verwendung außerhalb des rechtlichen Rahmens durch fehlende Zulassungen in endemischen Gebieten, sowie hohe Therapiekosten eine wichtige Rolle.^[2] Außerdem sind die meisten der zur Verfügung stehenden Arzneimittel seit Jahrzehnten in Gebrauch und häufig in ihrer Wirksamkeit begrenzt.^[14] Eine kürzlich veröffentlichte Studie von „Ärzte ohne Grenzen“ und der *Drugs for Neglected Diseases Initiative* (DNDi) zeigte, dass von den 850 zwischen 2000 und 2011 neu zugelassenen Therapien und Impfstoffen nur 37 (4,4%) eine vernachlässigte Tropenerkrankung als Indikation aufwiesen. Dazu zählten nur vier neu entwickelte Wirkstoffe.^[15-17] Bei Betrachtung der Zahlen für den Zeitraum zwischen 1975 und 2000 sieht man eine Stagnation der Medikamentenentwicklung für NTDs. Nur 1% der neu zugelassenen Medikamente hatte eine vernachlässigte Tropenerkrankung als

Indikation. Für "erste Welt Krankheiten" wie zum Beispiel Erkrankungen des ZNS oder Herz-Kreislauf-Erkrankungen lag der Anteil bei 15% beziehungsweise 12%.^[18-20]

Dieses anhaltende gesellschaftliche Versagen kann weitestgehend auf mangelnde Investitionen in Forschung und Entwicklung der forschenden Pharma-Unternehmen bei Tropenkrankheiten aufgrund der unzureichenden Renditeaussicht von Medikamenten für Entwicklungsländer zurückgeführt werden. Das fehlende öffentliche Interesse hierzulande sowie ein Mangel an klinischen Studien (nur 1% der 148.000 klinischen Studien im Jahr 2011 konzentrierten sich auf NTDs) tragen ebenso zu der Problematik bei.^[10, 11, 21-23]

Tabelle 3: Ausgewählte Therapieoptionen einzelner NTDs.^[24-29]

NTD	Erreger	Wirkstoffe	Therapieprobleme
Leishmaniose	<i>Leishmania spp.</i>	Antimonverbindungen Amphotericin B Pentamidin	Viele Nebenwirkungen Schlechte Bioverfügbarkeit
Trypanosomiasis	<i>T. brucei</i> <i>T. cruzi</i>	Suramin Melarsoprol Eflornithin Nifurtimox	Viele Nebenwirkungen Schlechte Bioverfügbarkeit
Schistosomiasis	<i>Schistosoma spp.</i>	PZQ	Resistenzgefahr
Giardiasis	<i>G. lamblia</i> <i>E. histolytica</i>	Metronidazol Albendazol	Viele Nebenwirkungen Verringerte Sensitivität
Lymphatische Filariose	<i>W. bancrofti</i> <i>B. malayi</i> <i>B. timori</i>	Diethylcarbamazin oder Ivermectin + Albendazol	Viele Nebenwirkungen Schlechte Bioverfügbarkeit Resistenzen beschrieben
Flussblindheit	<i>O. volvulus</i>	Ivermectin	Resistenzen beschrieben
Trachom	<i>C. trachomatis</i>	Azithromycin	Resistenzgefahr

Angesichts der folgenden Gründe stellt die Wirkstoffsuche für vernachlässigte Tropenerkrankungen eine spezifische Herausforderung dar. Erstens sind die Patientenpopulationen meist groß und teils inhomogen. Dabei leben viele Patienten in abgelegenen Gebieten ohne Zugang zu angemessenen Gesundheitssystemen. Folglich müssen die entsprechenden Medikamente einfach zu handhaben sein, also zum Beispiel oral applizierbar und idealerweise einmal täglich mit einer möglichst kurzen Behandlungsdauer

angewendet werden. Zweitens gibt es einen Mangel an gut validierten Targets der entsprechenden pathogenen Erreger, was dazu führte, dass neue *Hit*-Strukturen fast nur durch phänotypische Screenings identifiziert werden können. Drittens ist es trotz umfangreicher Priorisierung schwierig, entsprechende Forschungsansätze zu verfolgen, da es oft bereits an unzureichender Finanzierung scheitert. Zuletzt stellt die Komplexität der Krankheitserreger selbst eine grundlegende wissenschaftliche Herausforderung dar. Um ein vertieftes Wissen über die Erreger zu erhalten, wäre eine stärkere Finanzierung der Grundlagenforschung erforderlich. Weitere Hindernisse für die Entwicklungen von Wirkstoffen sind Arzneimittel-Resistenzmechanismen, die Ausbildung latenter und persistierender Parasiten-Formen (z. B. Hypnozoiten von *Plasmodium vivax*) oder multiple Lebensformen der NTDs, welche durch Vektoren übertragen werden (z. B. *Leishmania spp.* und *Plasmodium falciparum*).^[21]

Vor allem aufgrund des Einsehens durch die Politik scheint sich ein neuer Trend zu entwickeln und die bestehende Situation könnte sich ändern. In den letzten 10 Jahren waren etwa 4% der neu zugelassenen Arzneimittel für vernachlässigte Tropenerkrankungen indiziert.^[23] Die Londoner Erklärung oder das Abkommen des G7-Gipfels in Schloss Elmau verpflichten Regierungen, Pharmaunternehmen sowie andere Entwicklungspartner, ihre Anstrengungen gegen NTDs zu intensivieren.^[30, 31]

Obwohl die meisten NTDs durch meist kostengünstige Chemotherapien und öffentliche Gesundheits- oder Arzneimittelspendenprogramme behandelt werden können, bleibt ihre Prävalenz weiterhin hoch. Resistenzprobleme, eine sehr begrenzte Anzahl zur Verfügung stehender Arzneistoffe oder hohe Therapiekosten, wie im Falle der afrikanischen Schlafkrankheit oder der Leishmaniose, tragen dazu bei. Ein weiteres Problem ist die signifikante Toxizität der eingesetzten Arzneistoffe (vgl. **Tabelle 3**).^[6]

Am wichtigsten ist jedoch immer noch die Tatsache, dass diese Krankheiten hauptsächlich Patienten aus den ärmsten Bevölkerungsgruppen der Welt betreffen, für die eine hochwertige medizinische Versorgung nicht gewährleistet ist. Um diese Herausforderungen zu meistern und die globalen Auswirkungen der NTDs zu minimieren, sind neue Arzneimittel oder Impfstoffe erforderlich, welche dem bestehenden ungedeckten medizinischen Bedarf dieser Krankheiten angemessen Rechnung tragen.

1.2 Schistosomiasis

Die Schistosomiasis, auch Bilharziose genannt, ist eine chronische Krankheit, die von im Blut lebenden *Trematoden* (Saugwürmer) der Gattung *Schistosoma* (Pärchenegel) verursacht wird. Es gibt fünf humanpathogene Schistosomen-Spezies: *S. haematobium*, *S. mansoni*, *S. intercalatum*, *S. japonicum* und *S. mekongi*. Nach der Malaria ist die Schistosomiasis die zweithäufigste durch einen Parasiten ausgelöste Infektionskrankheit in Afrika und tritt in über 70 Ländern vor allem in den Tropen und Subtropen auf (vgl. **Abbildung 2**).^[32-35] In den vergangenen Jahren stieg die Zahl der gegen Schistosomiasis behandelten Menschen von 12,4 Millionen auf 33,5 Millionen, vor allem aufgrund gezielter Therapiekampagnen der WHO.^[36]

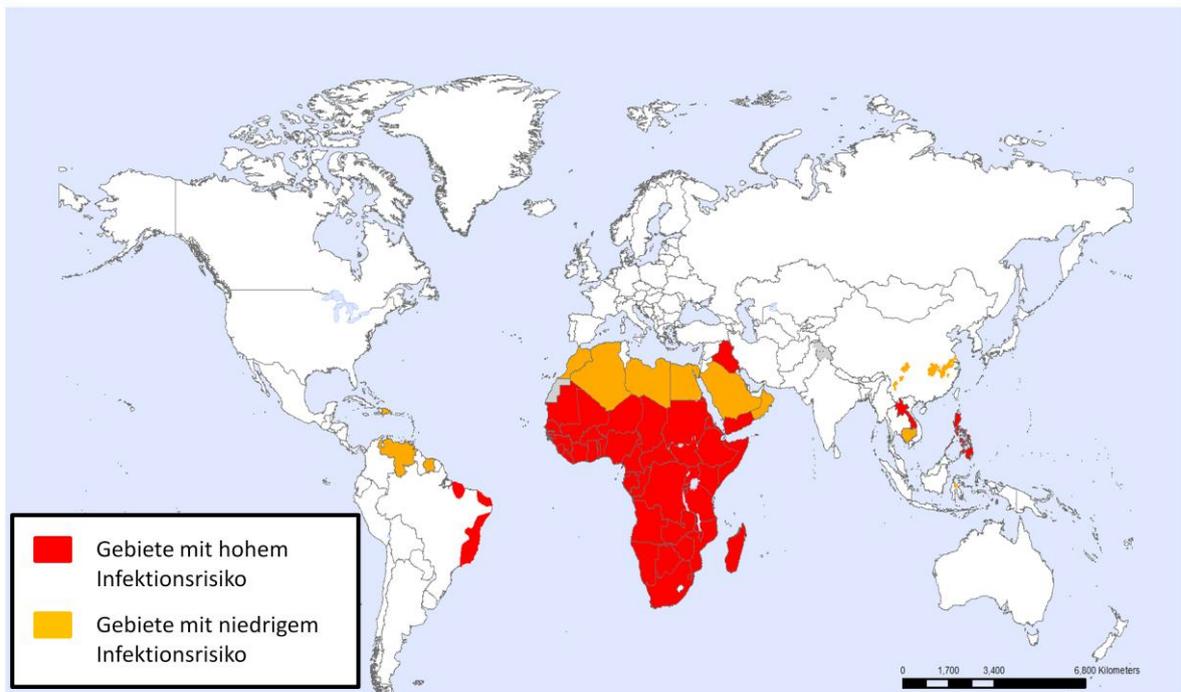


Abbildung 2: Länder und Gebiete mit Infektionsrisiko für Schistosomiasis (Stand 2014).^[37]

Geschätzte 750 Millionen Menschen leben in Hochrisikogebieten, wobei von den etwa 240 Millionen Infizierten mindestens 200.000 pro Jahr an den Folgen einer Infektion sterben.^[38] Aktuelle Studien zeigen, dass sowohl Morbidität als auch Mortalität bislang deutlich unterschätzt wurden.^[39] Bei Schulkindern im Südsudan beispielsweise wurde 2007 eine Prävalenz von *S. haematobium* und *S. mansoni* von 73% bzw. 70% festgestellt.^[40] In der Volksrepublik China trat Schistosomiasis trotz eines in den 1950er Jahren initiierten nationalen Kontrollprogramms in den frühen 2000ern wieder auf und gilt dort mit

15 Millionen Fällen als die schwerwiegendste von Parasiten verursachte Krankheit.^[41, 42] Stark betroffen ist außerdem Ägypten mit einer Prävalenz von über 60% in den ländlichen Gebieten.^[43] Vor allem in den Ländern südlich der Sahara, in denen 85% der Infizierten leben, gilt eine systematische Eindämmung der Krankheit als nicht bezahlbar. Hinzu kommt der steigende Bedarf der Bevölkerung an Wasser, was die Transmission fördert. Durch ökologische Veränderungen und Bewässerungssysteme sind *S. haematobium* und *S. mansoni* mitsamt ihren Schneckenvektoren in viele Regionen Afrikas vorgedrungen.^[44, 45] Noch ist die Schistosomiasis eine vor allem in der südlichen Hemisphäre vorherrschende Erkrankung, weil die als Zwischenwirte dienenden Schneckenspezies warme Gebiete bevorzugen und in gemäßigteren Klimazonen nur geringe Überlebenschancen haben. Daher kann sich ein Schistosomen-Lebenszyklus in der nördlichen Hemisphäre nicht erfolgreich etablieren. Dennoch gibt es seit kurzem Hinweise auf einen autochthonen Infektionsherd in Südeuropa (vor allem Süd-Korsika), wo wegen der höheren Temperaturen auch die entsprechende Schneckenart vorkommt (**Tabelle 4**).^[46]

Tabelle 4: Schistosomenspezies sowie deren geographische Verbreitung.^[46, 47]

Schistosomenart	Zwischenwirt	Endemische Gebiete
<i>S. mansoni</i>	<i>Biomphalaria spp.</i>	Afrika, Südamerika, Karibik, Mittlerer Osten
<i>S. japonicum</i>	<i>Oncomelania spp.</i>	China, Ostasien, Philippinen
<i>S. haematobium</i>	<i>Bulinus spp.</i>	Afrika, Mittlerer Osten, Süd-Korsika
<i>S. intercalatum</i>	<i>Bulinus spp.</i>	Afrika
<i>S. mekongi</i>	<i>Neotricula aperta</i>	Südostasien

Auch wenn die Schistosomiasis schon vor über 160 Jahren erstmals beschrieben wurde, konnten die Übertragungswege und die Zwischenwirte-Spezies erst Anfang des 20. Jahrhunderts aufgeklärt werden. Sämtliche *Schistosoma*-Spezies gelangen durch Kontakt mit Wasser in den Menschen. Im Wasser befinden sich Cercarien, die eine von insgesamt zwei freischwimmenden Larvenformen des Parasiten darstellen und von einer artspezifischen Süßwasserschnecke als Zwischenwirt freigesetzt werden.^[48, 49]

Bei Kontakt mit Wasser setzen die ins Wasser gelangten Eier mikroskopisch kleine Wimpernlarven frei (Miracidien). Diese müssen eine artspezifische Süßwasserschnecke

finden und in diese eindringen, um sich weiter zu entwickeln.^[49] In **Tabelle 4** sind die verschiedenen *Schistosoma*-Arten mit ihren bevorzugten Zwischenwirten und den jeweiligen Verbreitungsgebieten gezeigt.^[47] Sobald das Miracidium im Schneckenwirt ist, wandelt es sich in eine Muttersporozyste um und vermehren sich asexuell zu Tochttersporozysten, von denen mehrere Generationen entstehen können. Diese wandern dann in die Verdauungsorgane der Schnecke und transformieren in weiteren asexuellen Reproduktionszyklen zu Cercarien. In einer wässrigen Umgebung und unter Lichteinfluss (Phototaxis) wandern die Cercarien aus der Schnecke und stellen das einzige für Mensch und Tier infektiöse Stadium dar. Ab der vierten Woche nach Miracidienbefall setzt eine Schnecke tausende bis zehntausende von Cercarien frei.^[49] Menschen infizieren sich dann bei Kontakt mit Cercarien-kontaminiertem Wasser. Die Infektion erfolgt bei gewöhnlichen Aktivitäten wie Waschen, Baden, Fischerei, Landbewässerung, oder dem Spielen der Kinder im Wasser. Weniger als eine Minute Kontakt reicht für die Cercarien aus, um die Hornzellschicht des Wirtes zu durchbohren und in die Haut einzudringen.^[51, 52] Dabei verlieren sie ihren Gabelschwanz, der ausschließlich der Fortbewegung im Wasser diente, und gelangen als sogenannte Schistosomula, einer juvenilen Vorform, in die Blutkapillaren und Lymphgefäße. Bis zu 12 Stunden nach der Infektion klagen die Betroffenen gelegentlich über ein Kribbeln oder leichten Hautausschlag, der auch als Badermatitis (Cercariendermatitis) bezeichnet wird und durch die Reizung an der Eintrittsstelle verursacht wird. Über das Herz wandern die Schistosomula in den nächsten zwei bis drei Tagen in die Lunge.^[53] Ab dem 15.-20. Tag finden sie sich in der Leber, wo sie zum Adultstadium herangewachsen sind, sich paaren und als Pärchen dann in den Pfortaderkreislauf (fast alle Spezies) oder die Blase (*S. haematobium*) auswandern. Schistosomula und adulte Schistosomen ernähren sich dabei durch die Aufnahmen von z.B. Glucose, Lipiden, Aminosäuren über das Tegument -die physiologisch aktive Körperhülle der Schistosomen- sowie durch die Aufnahmen von roten Blutkörperchen über den Kopfsaugnapf und deren Verdau im Darm. Die Entwicklung ab der Penetration bis zur Reifung zum adulten Wurm dauert somit 3 bis 4 Wochen.^[49] Schistosomen sind die einzigen Vertreter der Trematoden (Saugwürmer), die getrenntgeschlechtlich leben. Dies hat zur Folge, dass sich adulte Würmer paaren, wobei der männliche Wurm mit seinen lappig ausgebreiteten Rändern eine Art Bauchfalte bildet, in die das runde und schlankere Weibchen bei einer Paarung aufgenommen und vollkommen umschlossen wird. Eine solche Paarung ist dauerhaft und kann ein Schistosomen-Leben lang aufrechterhalten werden. Aus diesem Grunde werden die Schistosomen auch Pärchenegel genannt.^[54-56] Das Männchen transportiert seine Partnerin zu den Mesenterialvenen (*S. mansoni*, *S. japonicum*, *S. intercalatum*, u.a.) oder zum

Venenplexus der Harnblase (*S. haematobium*).^[49] Direkt unter der Schleimhaut von Darm- oder Urogenitaltrakt positioniert, legt das Weibchen (je nach Art) zwischen 300 bis zu 3000 Eier am Tag. Aus den Blutgefäßen gelangen etwa 50% der Eier dann in das Lumen von Darm bzw. Harnblase und werden mit den Fäkalien (*S. mansoni*, *S. japonicum* und *S. intercalatum*) oder dem Urin (*S. haematobium*) ausgeschieden.^[49] Schistosomen können mehrere Jahre alte werden, in einigen Fällen sogar über 20 Jahre, und sind durch verschiedene Mechanismen in der Lage, der Immunantwort des Wirtes zu entgehen.^[57] Der komplette Lebenszyklus ist in **Abbildung 3** dargestellt.^[58]

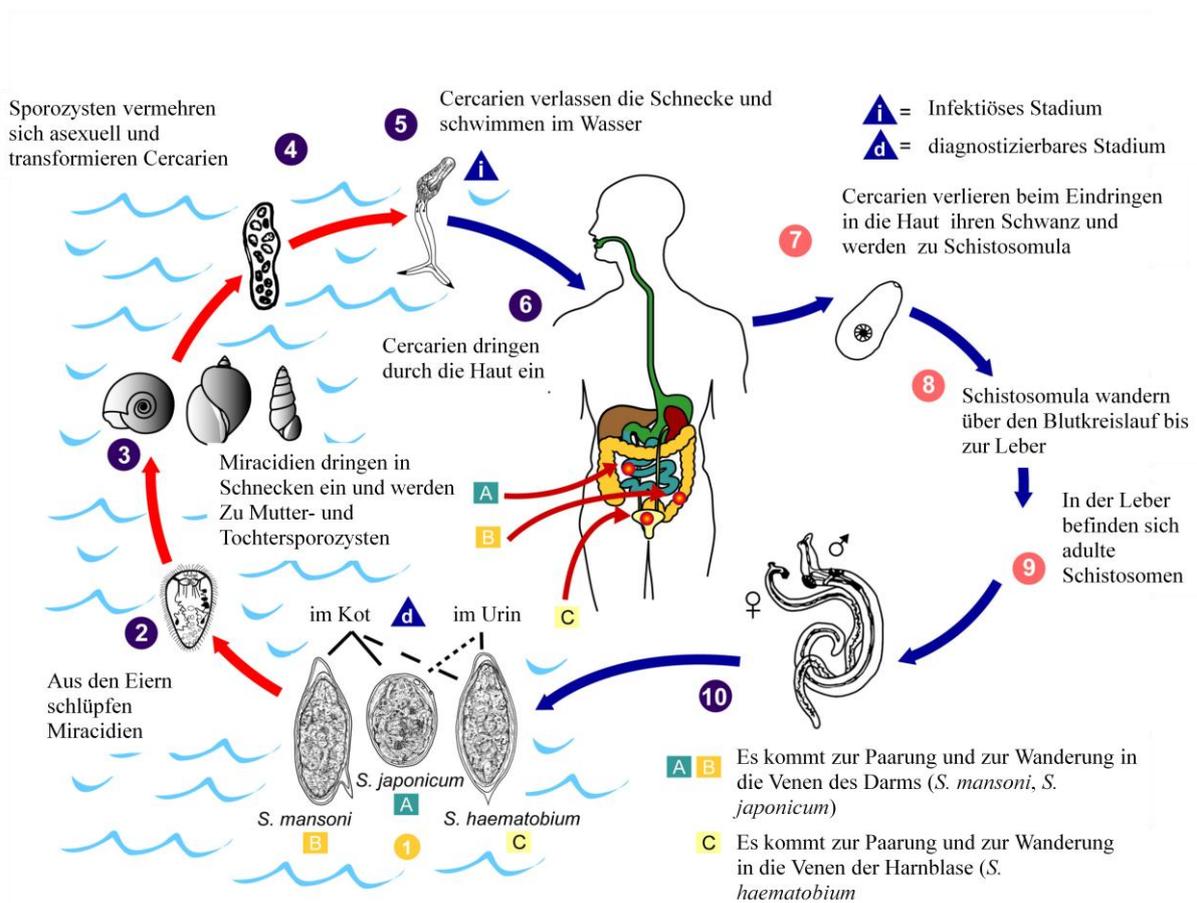


Abbildung 3: Lebenszyklus der Schistosomen (modifiziert).^[58]

Theoretisch sollte daher eine Unterbrechung des Lebenszyklus leicht sein: Ließe sich verhindern, dass Wasser mit Urin und Fäkalien mitsamt der darin enthaltenen Schistosomen-Eier verunreinigt wird, wäre die Transmission des Parasiten unterbrochen. Eier, die nicht das Wasser erreichen, trocknen aus und spielen in der Transmission keine Rolle mehr. Schlüsselparameter für eine Langzeiteindämmung der Krankheit sind daher die Vermeidung

von Wasserverschmutzung sowie gleichzeitig die Bereitstellung von besseren sanitären Anlagen und Leitungswasser.^[49]

Die akute Schistosomiasis, auch *Katayama-Syndrom* genannt, kommt in Gebieten mit hoher Prävalenz vor und manifestiert sich vier bis sechs Wochen nach der Infektion. Typische Symptome sind Hautödeme, Hepato- und Splenomegalie, Fieber, Muskelschmerzen, trockener Husten und Eosinophilie.^[49] Wird die Krankheit chronisch, verschwinden die Symptome wieder. Da die Symptome nicht spezifisch sind, wird oft falsch diagnostiziert. Das Ergebnis kann fatal sein: schwerste Krankheitsverläufe sind z. B. Myelopathien mit dauerhaften Schäden am Zentralnervensystem.^[49] Leichte Infektionen können asymptomatisch verlaufen. Frühe Anzeichen einer Erkrankung, wie sie bei *S. haematobium* und *S. mansoni* auftreten und vor allem Kinder im Schulalter betreffen, sind Anämien, verringertes Wachstum und verzögerte Entwicklung sowie schlechtere kognitive Leistungen. Klares Symptom einer Infektion mit *S. haematobium* ist eine Hämaturie.^[49] Da die Eier der in den Mesenterialvenen lebenden Schistosomen-Spezies, wie z.B. *S. mansoni*, mit dem Fäzes ausgeschieden werden, treten bei schweren Infektionen entzündliche Veränderungen des Darmtrakts auf oft begleitet von Diarrhöen, die auch blutig verlaufen können. Nur aufgrund des klinischen Erscheinungsbilds ist die Diagnose schwierig, da diese Symptome unspezifisch sind. Lebensbedrohlich sind jedoch die späteren Auswirkungen der Schistosomiasis wie Blasenkrebs, Nierenversagen sowie schwere Komplikationen an Leber (Leberzirrhose) und Milz.^[49] Dieses werden durch die im Körper verbleibenden 50% der Schistosomen-Eier verursacht. Anstatt in das Darm- oder Blasenlumen zu gelangen, werden sie über das Blutgefäßsystem in andere Organe verschwämmt, und bleiben vor allem in den kleinen Kapillaren von Leber und Milz stecken, von wo aus sie in die umgebenden Gewebe einwandern. Die Eier haben einen dornartigen Seiten- oder Endstachel, den „spine“ der das Gewebe bei Kontakt reizt und Entzündungen hervorruft. Das Immunsystem ist nicht in der Lage, die Eier zu eliminieren und kapselt diese ein was zu einer Granulom-Bildung um das Ei herum führt.^[54] Die Zahl der Granulome kann so hoch werden, dass das betroffene Organ durch die Bindegewebsvermehrung und damit dem Verlust des eigentlichen Parenchyms nicht mehr funktionsfähig ist. In der Leber führt das schließlich zur Zirrhose, der häufigsten Todesursache, die mit einer Schistosomiasis einhergeht. Zudem können Abszesse auftreten und infolge des Einschlusses von kleinen Gefäßen stirbt das Gewebe unter Geschwürbildung ab. Sehr selten können die Eier ins Gehirn und Rückenmark wandern, was einen noch schwereren Krankheitsverlauf zur Folge hat.^[59-61] Adulte Schistosomen haben einen Durchmesser von 0.3-0.4 mm und eine Länge von 8-10 mm. D.h. sie sind verhältnismäßig

groß verglichen zum Durchmesser der Mesenterialvenen (1-4 mm). Dadurch kann der Blutfluss in diesen Gefäßen beeinträchtigt werden mit der Folge eines erhöhten Thromboserisikos.^[62] Schließlich schwächen Schistosomen auch die Immunreaktion auf andere Infektionserreger was multiple Erkrankungen bei entsprechenden Patienten zur Folge haben kann.^[63, 64]

1.3 Praziquantel

Trotz der großen medizinischen und ökonomischen Bedeutung der Schistosomiasis steht seit den 1980er Jahren mit Praziquantel (**1**, PZQ) nur ein einziges Medikament zur Bekämpfung der Schistosomiasis zur Verfügung, welches gegen alle Schistosomenspezies eingesetzt werden kann. Die *Merck KGaA* entwickelte PZQ (**1**) zunächst als potentiellen Tranquilizer. Das anthelmintische Potential wurde 1972 in Zusammenarbeit mit der *Bayer AG* entdeckt. Da PZQ (**1**) wesentlich bessere pharmakologische Eigenschaften aufwies als frühere Anthelminthika, wurde es zusammen mit der *Food and Drug Administration* (FDA) weiterentwickelt, 1982 für den Menschen zugelassen und auf den Markt gebracht.^[70-72] Aus folgenden Gründen ist PZQ (**1**) heute das Mittel der Wahl zur Therapie der Schistosomiasis: hohe Wirksamkeit gegen alle 5 humanpathogenen *Schistosoma*-Arten sowie ein breites anthelminthisches Wirkungsspektrum (z. B. gegen andere *Trematoden* oder *Zestoden*),^[73] vergleichsweise wenige schwerwiegende Kurzzeit- oder Langzeitnebenwirkungen, oral verabreichbare Einzeldosis-Therapie sowie niedrige Kosten (ca. 0.15 USD pro Kind, ca. 0.30 USD pro Erwachsener).^[74, 75]

PZQ (**1**) ist ein Pyrazinoisochinolin-Derivat. Die Substanz bildet farblose Kristalle, die sehr schlecht in Wasser löslich sind (400 mg/L).^[76] Es besitzt ein Chiralitätszentrum, wobei nur das (*R*)-Enantiomer **2** für die antischistosomale Aktivität verantwortlich ist. Das (*S*)-Enantiomer **3** ist inaktiv, zeigt aber gleiche toxische Effekte wie das wirksame Enantiomer **2**.^[77-81] Der Arzneistoff ist jedoch nur racemisch verfügbar.^[49]

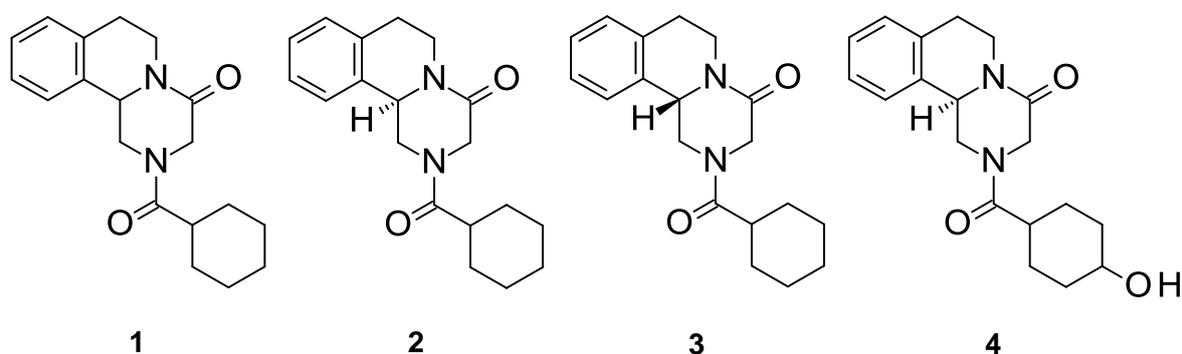


Abbildung 4: Strukturformeln des racemischen PZQ (**1**), (*R*)-PZQ (**2**), (*S*)-PZQ (**3**) sowie des Hauptmetaboliten **4**.

Empfohlen wird die Behandlung mit einer einzigen Dosis (20-60 mg/ kg Körpergewicht je nach Schistosomenspezies), wobei neben Tabletten für Kinder ebenfalls ein Sirup zur Verfügung steht, welcher aufgrund des bitteren Geschmacks der Tabletten zu bevorzugen ist.^[75] Die Heilungsrate liegt je nach Gebiet und Schistosomenspezies zwischen 63% und 89%.^[49]

PZQ (**1**) wird nach oraler Einnahme schnell absorbiert, wobei gleichzeitige Nahrungsaufnahme die Bioverfügbarkeit signifikant erhöht.^[82] Maximale Serumkonzentrationen werden nach 1-2 Stunden erreicht. Es wird sehr schnell in der Leber metabolisiert (Plasmahalbwertszeit etwa 1 Stunde) und unterliegt einem hohen *First-Pass*-Effekt. Dabei wurde als Hauptmetabolit (11bR)-trans-4'-Hydroxypraziquantel (**4**) nachgewiesen, was eine wesentlich längere Plasmahalbwertszeit besitzt.^[75, 83] Die Plasmaproteinbindung von PZQ (**1**) beträgt bis zu 80%, wobei bisher keine irreversible Bindung beobachtet werden konnte.^[84] Die Elimination erfolgt überwiegend (zu etwa 80%) renal. Häufige Nebenwirkungen sind Beschwerden des Magen-Darm-Traktes, vor allem Bauchschmerzen, Übelkeit, Erbrechen, Appetitlosigkeit oder Durchfall.^[49] Diese Symptome können bei bis zu 50% der Patienten beobachtet werden, sind aber in der Regel mild und von kurzer Dauer. Blutiger Durchfall wird gelegentlich bei der Behandlung von schweren *S. mansoni*- oder *S. japonicum*-Infektionen beobachtet, zeigt aber schnelle und vollständige Erholung. Andere Nebenwirkungen sind Kopfschmerzen, Schwindel, Benommenheit, Juckreiz, Ausschläge, Fieber oder Müdigkeit.^[49] Im Allgemeinen zeigt die bisher gesammelte Erfahrung, dass PZQ (**1**) ein sehr gut verträgliches Medikament ist, minimale medizinische Überwachung erfordert und somit besonders für Massentherapie-Programme (z. B. *Schistosomiasis Control Initiative*) geeignet ist.^[73, 85, 86] Im Gegensatz zu vielen anderen antischistosomalen Wirkstoffen ist PZQ (**1**) für viele Organismen, einschließlich Bakterien, Hefen, Insekten und Säuger, nicht mutagen.^[71] Die akute Toxizität in Ratten, Mäusen und Hunden ist im Vergleich zu anderen Schistosomiziden sehr gering. PZQ (**1**) beeinträchtigt die Reproduktion in Ratten nicht und hat auch keine teratogene Wirkung auf Ratten, Mäuse und Kaninchen.^[71] Im Menschen verursacht PZQ (**1**) keine klinisch relevanten Veränderungen, sodass es auch bei Kindern sowie schwangeren und stillenden Frauen eingesetzt werden kann.^[78, 87-90]

Umfangreich durchgeführte Studien zu Struktur-Wirkungs-Beziehungen zeigen, dass sowohl die 4-Oxogruppe als auch die 2-Acylfunktion essentiell für die anthelminthische Aktivität sind. Diese ist optimal, wenn die 2-Acylfunktion ein sechsgliedriges, zyklisches

Strukturelement aufweist. Neben der Cyclohexylcarbonylgruppe werden auch Benzoyl- oder 4-Aminobenzoylreste toleriert und vermitteln Aktivität.^[78]

Die Effektivität von PZQ (**1**) hängt stark von der Dauer der Infektion, dem Alter und Geschlecht des Wurms sowie dem Paarungsstadium ab. Frühe Stadien sind empfindlich. 1-2 Wochen nach Infektion nimmt diese jedoch je nach Schistosomen-Spezies rapide ab. Nach etwa 10 Wochen steigt die Effektivität wieder auf das Ausgangsniveau an.^[91] In Mäusen konnte nachgewiesen werden, dass der ED₅₀ von PZQ (**1**) bei juvenilen Schistosomen 30-mal höher ist als bei adulten Würmern. Die geringe Empfindlichkeit der juvenilen Schistosomen stellt das größte therapeutische Problem dar.^[91-93]

Auch wenn PZQ (**1**) seit über 30 Jahren mit steigender Frequenz eingesetzt wird, ist der genaue Wirkmechanismus bis heute nicht bekannt. Die Wirkungen von PZQ (**1**) auf Schistosomen werden in der Regel in drei Gruppen eingeteilt: (i) Muskelkontraktion; (ii) Tegumentschäden; (iii) Stoffwechseleränderungen.^[73] Es scheint klar, dass jeder dieser Effekte als direkte oder indirekte Folge der Störung von Ca²⁺-Strömen zwischen verschiedenen Wurmgeweben und der Umwelt interpretiert werden kann.^[73, 94]

Geraten adulte Schistosomen in Kontakt mit PZQ (**1**), kommt es innerhalb von Sekunden zu einer tetanischen Muskelkontraktion, woraufhin sich der Wurm von den Gefäßwänden löst und in die Leber geschwemmt wird.^[75, 95] Die Paralyse ist jedoch reversibel, sodass die Würmer wieder in die Mesenterialgefäße wandern können.^[93,95] Gleichzeitig kommt es zu Veränderungen des Teguments durch Bildung von Bläschen und Vakuolen, wobei hierfür eine wesentlich höhere Konzentration nötig zu sein scheint. Zudem sind adulte Würmer wesentlich empfindlicher für Schädigungen des Teguments. Adulte Männchen zeigen diese Effekte schneller und deutlich ausgeprägter.^[93] Elektronenmikroskopische Aufnahmen zeigten jedoch, dass die Tegumentmatrix nach der Behandlung nur leicht modifiziert ist, während die unterliegenden Muskelbündel erheblich angeschwollen sind.^[96] Daraus folgt, dass PZQ (**1**) hauptsächlich die Muskulatur angreift und nicht das Tegument, wie zuvor berichtet.^[97] *In vitro*-Studien zeigten, dass bei männlichen Schistosomen als erstes die Antigenbelegung auf dem Tegument zunimmt.^[98,99] Durch die Freisetzung von Antigenen aus dem geschädigten Tegument wird zum einen eine Sensibilisierung der Immunantwort des Wirts ausgelöst, zum anderen könnte dadurch die Widerstandskraft bei künftigen Neuinfektionen erhöht sein.^[93] Bei T-Zellen-freien Mäusen, die mit *S. mansoni* infiziert wurden, war PZQ (**1**) weniger effektiv als in immunologisch intakten Tieren.^[100] Möglicherweise gibt es eine synergistische Beziehung zwischen Wirkstoff und immunologischen Effektormechanismen.^[100] Die, wenn auch nur geringe, Schädigung des Teguments scheint

nichtsdestotrotz essentiell für die Wirkung zu sein. *In vitro* konnte nachgewiesen werden, dass entlang der Tegumentschäden mehr Stickstoffmonoxid (Faktor 1,5) sowie eine doppelt so hohe Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies im Vergleich zu Kontrollwürmern auftrat. Dies weist auf eine Störung des Redoxzustands hin.^[96]

Auch wenn der genaue molekulare Mechanismus noch immer unbekannt ist, nimmt man an, dass sowohl die Muskelkontraktion als auch die Schädigung des Teguments auf eine Störung der Ca^{2+} -Homöostase zurückzuführen ist.^[95] Hierbei spielen vermutlich spannungsabhängige Ca^{2+} -Kanäle die Hauptrolle.^[101, 102] PZQ (1) induziert möglicherweise eine Unterbrechung zwischen den β - und α_1 -Untereinheiten, wodurch sich entweder mehr Kanäle öffnen oder die Durchlässigkeit der Kanäle für Ionen zunimmt. Dieses Phänomen wird durch β -Interaktionsdomänen (BID) vermittelt, an denen die β - und α_1 -Untereinheiten wechselwirken.^[103, 104] Mutagenese der schistosomalen β -Untereinheit sowie von BID korrelieren hierbei mit der Empfindlichkeit gegenüber PZQ (1).^[105] Da auch die Actin-/ Myosin-Wechselwirkung des Teguments durch Ca^{2+} -Ionen gesteuert wird, spielen Paramyosin und Actin auch eine entscheidende Rolle. Actin findet man an den Stellen des Teguments, welche sich von Schädigungen erholen. Daher scheint Actin eine wichtige Rolle bei der Reparatur einzunehmen.^[106-109] Eine Bindung an die schistosomale leichte Myosinkette (SmMLC) wird vermutet, da durch die induzierte Phosphorylierung der Kette Ca^{2+} vermehrt freigesetzt wird.^[110] Weitere schistosomale, Calcium-bindende Proteine wie die $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -ATPase des sarco-/ endoplasmatischen Retikulums (SERCA) wurden identifiziert und sind sehr wahrscheinlich ebenso in die biochemischen Prozesse involviert.^[111-114] Neuroaktive Verbindungen, wie Dopamin, 5-Hydroxytryptamin, Carbachol, Spiroperidol, Bromlysergsäurediethylamid oder Atropin, haben keinen Einfluss auf die PZQ -induzierten Muskelkontraktionen der Würmer. Daher liegt es nahe, dass PZQ (1) seine Wirkung direkt auf die Muskeln und nicht auf neuronale oder neuromuskuläre *Targets* ausübt.^[73]

In vitro konnte eine Anzahl von Stoffwechselveränderungen bei PZQ-behandelten *S. mansoni* und *S. japonicum* beobachtet werden: verringerte Glucoseaufnahme, Lactatexkretion sowie verringerter Glykogenhaushalt.^[115, 166] Ebenso wird die Konzentration bestimmter Enzyme wie die der ATPase oder der alkalischen Phosphatase, die Aufnahme von Adenosin und Uridin sowie die stimulierende Wirkung von Serotonin auf den schistosomalen Kohlenhydratstoffwechsel reduziert.^[75, 78, 167] Diese Effekte sind jedoch erst nach Stunden zu beobachten und gelten als sekundäre Phänomene.^[73] Es gibt keine Daten, nach denen PZQ (1) mit Nukleinsäuren oder Neurotransmittern wechselwirkt.^[49, 73]

Da PZQ (1) bereits seit über dreißig Jahren sehr breit eingesetzt wird, steigt die Gefahr der Resistenzentwicklung. *In vitro* können sowohl bei *S. mansoni* als auch bei *S. japonicum* in Mäusen Resistenzen beziehungsweise eine verringerte Sensitivität induziert werden.^[118-124] Kreuzresistenzen von PZQ (1) und Oxamniquin (13) wurden jedoch bisher (noch) nicht beobachtet. Dies kann auf unterschiedliche Wirkungsmechanismen beider Substanzen hindeuten.^[119] Bei wenig empfindlichen oder mutmaßlich resistenten *S. mansoni*-Stämmen wurde jedoch schon mehrfach über Therapieversagen berichtet.^[119, 125-127] Isolate von nicht geheilten afrikanischen Patienten wiesen jedoch nur 5- bis 6-mal höhere ED₅₀-Werte als normal empfindliche Isolate auf.^[128] Im Vergleich zur anderen Resistenzen, bei denen die ED₅₀-Werte bis auf das Tausendfache gestiegen sind, ist dieser Wert gering.^[129] Dennoch ist dieser Effizienzrückgang besorgniserregend und könnte klinisch bedeutsam sein. Erschwerend kommt hinzu, dass viele Patienten in Gegenden mit hoher Prävalenz juvenile Schistosomen in sich tragen, wogegen PZQ (1) ineffektiv ist. Ferner hat PZQ (1) unterschiedliche Wirkungen auf Adulte beider Geschlechter, auch in Abhängigkeit vom Paarungszustand, und entfaltet höchste Effektivität nur bei gepaarten Männchen und weit niedrigere bei ungepaarten Weibchen.^[129] Ebenso können sich in der Präpatenz befindende Stadien oder Neuinfektionen Gründe für schlechtere Heilungsraten sein und müssen nicht unbedingt auf Resistenzen schließen lassen.^[130] Zur Nährstoffaufnahme brauchen Schistosomen Transporter, welche ein breites Substratspektrum aufweisen. Die Resistenzbildung könnte an solchen Mehrfachresistenz-(MDR)-Transportern liegen. *In vitro* konnte bereits gezeigt werden, dass *S. mansoni*-Stämme, welche subletalen Konzentrationen von PZQ (1) ausgesetzt waren, mehr *multi-drug-resistance-associated protein 1* (SmMRP1) exprimierten. Ein schistosomales Homolog des P-Glykoproteins wurde ebenfalls in erhöhten Konzentrationen gefunden. Juvenile Würmer, die PZQ-unempfindlich sind, exprimieren dieses Parasitenprotein erheblich stärker.^[131] Daraus folgt, dass die Berichte über individuelles Versagen von PZQ (1) noch keinen Beweis einer umfassenden Resistenz des Parasiten geliefert haben. *In vitro*-Studien sowie die Erfahrungen aus anderen Arzneimittelklassen, wie zum Beispiel Antibiotika, geben jedoch berechtigten Anlass zur Sorge, dass sich Resistenzen gegen PZQ (1) ausbilden können. Um dieser potentiellen Gefahr zu begegnen, ist die Suche nach alternativen antischistosomalen Wirkstoffen dringlich geworden, weil es fahrlässig wäre, sich vor diesem Hintergrund auf nur ein existierendes Medikament zu verlassen.

1.4 Weitere Therapieansätze zur Bekämpfung der Schistosomiasis

Eine der ersten Optionen zur Behandlung der Schistosomiasis stellten organische Antimonverbindungen dar, welche bereits seit Beginn des 20. Jahrhunderts eingesetzt wurden. Die hauptsächlich eingesetzten Wirkstoffe Kaliumantimonyltartrat (**5**, „Brechweinstein“), Stibophen (**6**) und Astiban (**7**) (**Abbildung 5**) greifen alle in die schistosomale Glykolyse ein und inhibierten dabei die Phosphofruktokinase (PFK) durch kovalente Bindung der Thiolgruppen. Dadurch verlieren die Würmer ihre Haftung an der Gefäßwand und werden in die Leber geschwemmt.^[132, 133] Bei Schistosomenweibchen verhindert die Störung der Glykolyse die Eiproduktion.^[134] Auch wenn diese Wirkstoffe gegen *S. mansoni*, *S. haematobium* und, wenn auch schwächer, gegen *S. japonicum* wirksam waren, wurden alle in den 1970er Jahren aufgrund der nötigen intravenösen oder intramuskulären Darreichung, schwerwiegenden systemischen Nebenwirkungen sowie der Anreicherung von Antimon im Gewebe aufgrund seiner langsamen Eliminationszeit vom Markt genommen.^[75, 135-138]

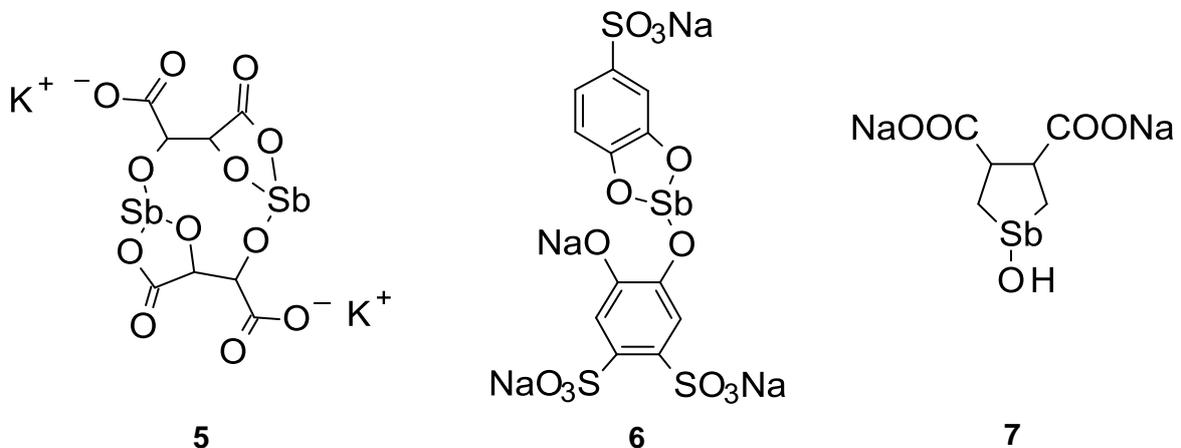


Abbildung 5: Strukturformeln der relevanten organischen Antimonverbindungen Kaliumantimonyltartrat (**5**), Stibophen (**6**) und Astiban (**7**).

In den 1950er Jahren wurden vermehrt phosphororganische Verbindungen gegen Schistosomen getestet. Dabei zeigte Metrifonat (**8**) eine schistosomizide Wirkung auf *S. japonicum* und *S. haematobium*, jedoch nicht gegen *S. mansoni*.^[139, 140] Metrifonat (**8**) wird *in vivo* zu 2,2-Dichlorvinyl dimethylphosphat (**9**) metabolisiert (vgl. **Abbildung 6**), welches anschließend aufgrund der leicht abspaltbaren Dichlorvinylgruppe mit Serinresten im aktiven Zentrum der im Tegument lokalisierten schistosomalen Acetylcholinesterase reagiert und

diese dadurch (reversibel) inhibiert.^[141, 142] Aufgrund des daraus resultierenden Anstiegs der Acetylcholin-Konzentration kommt es zu einer Paralyse der Wurmmuskulatur, sodass die Haftung an den Epithelien der Mesenterialvenen verloren geht und die Schistosomen, je nach Spezies, in die Leber beziehungsweise die Lunge abtransportiert werden.^[142] Da die Reaktion mit Serinresten unspezifisch ist, geht man davon aus, dass Metrifonat (**8**), beziehungsweise sein aktiver Metabolit **9**, auch andere Serinproteasen und Esterasen inhibiert.^[143]

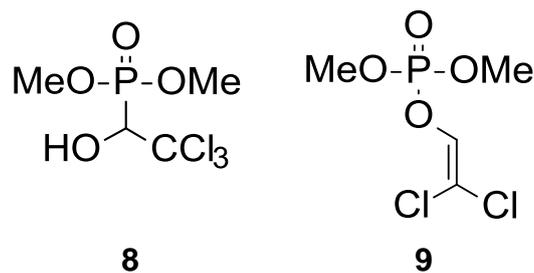


Abbildung 6: Strukturformeln von Metrifonat (**8**) und dem aktiven Metaboliten **9**.

Aufgrund der guten Therapieerfolge und der guten Verträglichkeit empfahl die WHO Metrifonat (**8**) zur Behandlung der durch *S. haematobium* ausgelösten Schistosomiasis.^[144, 145] Diese Empfehlung wurde im Jahr 2000 zurückgenommen, da neben der geringeren Wirksamkeit im Vergleich zu PZQ (**1**) eine rapide Resistenzentwicklung beobachtet wurde.^[146, 147]

Arylthiocyanat-Derivate wie Amoscanat (**10**) wurden in den 1970er Jahren vorrangig von der *Ciba Geigy AG* entwickelt. Diese Substanzen zeigten *in vitro* und *in vivo* neben einer anthelminthischen Aktivität gegenüber Filarien auch eine effektive Wirkung bei Infektionen mit *S. japonicum*, *S. haematobium* und *S. mansoni*.^[148-152] Zunächst ging man davon aus, dass Aminofunktionen der schistosomalen Plasmaproteine durch die charakteristische Isothiocyanatgruppe acyliert werden.^[148] Da jedoch Derivate wie CGP-6140 (**11**) oder Phenithionat (**12**), welche statt der Isothiocyanatgruppe eine Thioharnstoff- oder Thiocarbamatstruktur aufweisen (vgl. **Abbildung 7**), eine vergleichbare Aktivität aufweisen, ist der Wirkmechanismus nicht eindeutig geklärt.^[75, 153] Möglich wäre, dass sowohl CGP-6140 (**11**) als auch Phenithionat (**12**) *in vivo* zu dem entsprechenden Isothiocyanat-Metaboliten umgewandelt werden. Sowohl Amoscanat (**10**) als auch Phenithionat (**12**) wurden vor allem in China umfassend getestet und zeigten dabei sehr gute Heilungsraten von bis zu 92% gegen Infektionen mit *S. japonicum*.^[75, 154] Jedoch zeigten alle

getesteten Derivate eine so starke Hepatotoxizität, dass diese Verbindungsklasse nicht weiter entwickelt wurde.^[155]

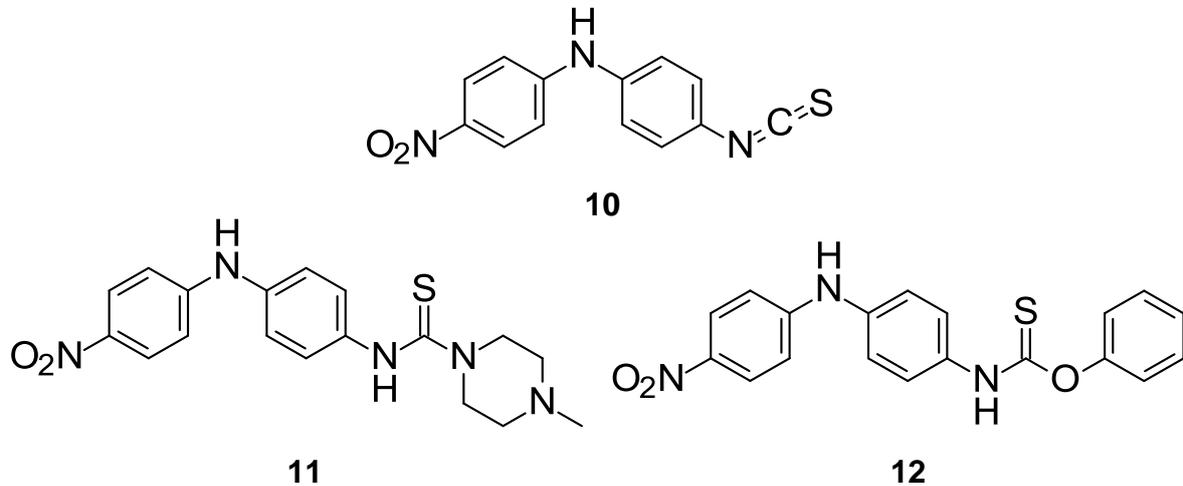


Abbildung 7: Strukturformeln von Amoscanat (**10**), CGP-6140 (**11**) und Phenithionat (**12**).

Neben PZQ (**1**) ist Oxamniquin (**13**) ist der einzige in der WHO-Liste aufgeführte Wirkstoff zur Bekämpfung der Schistosomiasis (**Abbildung 8**).^[156] Er wird dann verwendet, wenn eine PZQ-Therapie erfolglos bleibt.^[156] Oxamniquin (**13**) hat relativ milde Nebenwirkungen wie Kopfschmerzen, Müdigkeit oder Übelkeit, jedoch ist die Substanz nur gegen eine Spezies, *S. mansoni*, wirksam.^[157] Nachdem zunächst angenommen wurde, dass Oxamniquin (**13**) ebenfalls die schistosomale Acetylcholinesterase inhibiert, geht man mittlerweile davon aus, dass die Nukleinsäuresynthese in diesem Parasiten inhibiert wird.^[158, 159] Dies hat eine Paralyse und Kontraktion der Würmer zur Folge, die daraufhin in die Leber gespült werden und sterben.^[159] Jedoch konnte auch gegen Oxamniquin (**13**) eine Resistenzentwicklung beobachtet werden.^[157, 160] Oxamniquin (**13**) ist teuer und seine weitere kommerzielle Verfügbarkeit ist nicht gesichert, was einen weiten potentiellen Einsatz zur Behandlung von Infektionen mit *S. mansoni* erschwert.^[129]

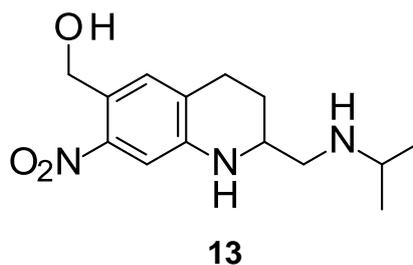


Abbildung 8: Strukturformel von Oxamniquin (**13**).

In den letzten Jahren wurden umfangreiche Genom- und Transkriptomanalysen von *S. mansoni*, *S. japonicum* und *S. haematobium* durchgeführt, die eine Fülle von Informationen über die Molekularbiologie der Schistosomen und über potenzielle Wirkstoffziele bereitgestellt haben.^[161-163] Schistosomen überdauern ggf. Jahrzehnte im menschlichen Körper. Das kann u.a. daran liegen, dass sie über ein umfangreiches Repertoire antioxidativer Enzymen verfügen. Dabei wurden in *S. mansoni* die Thioredoxin-Glutathion-Reduktase (TGR) und Peroxoredoxin (Prx) als interessante Targets für die Entwicklung von antischistosomalen Inhibitoren identifiziert und charakterisiert.^[164] Oxadiazol-2-oxide (**14**) wurden als potentielle TGR-Inhibitoren entwickelt, welche sowohl *in vitro* als auch *in vivo* letale Effekte zeigten. Der Grund hierfür wird in der kombinierten TGR-Inhibition durch kovalente Modifikation eines Cysteins oder Selenocysteins und der anschließenden Freisetzung von Stickstoffmonoxid vermutet.^[165, 166] Nach biomolekularen Studien über schistosomale Apoptosemechanismen könnten potentielle direkte (BH3-Mimetika) oder indirekte (HDAC-Inhibitoren, Kinase-Inhibitoren) Apoptose-Induktoren neue, vielversprechende Ansatzpunkte bei der Suche nach neuen Wirkstoffen sein.^[167-169] Außerdem zeigen neuere Studien, dass Cysteinproteasen wie die identifizierte, darmassoziierte Cathepsin-B1-Cysteinprotease ebenfalls interessante Ziele neuer Inhibitoren darstellen. Die erste hier bekannte Substanzklasse stellen die Vinylsulfone dar. *In vivo* zeigte K11777 (**15**) eine signifikante Reduktion der Eiproduktion sowie die Abnahme von Spleno- und Hepatomegalien sowie der Wurmlast. Mögliche Toxizität oder Interaktionen mit menschlichen Proteasen wurden bisher noch nicht untersucht.^[170, 171]

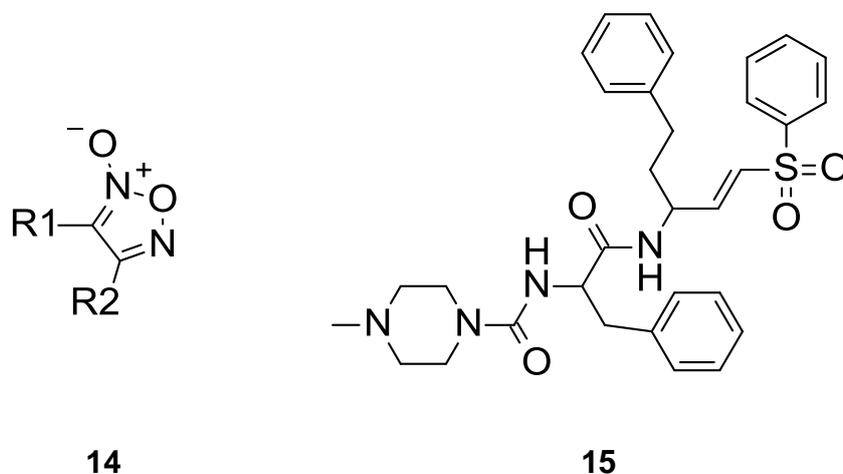


Abbildung 9: Strukturformeln der Oxadiazol-2-oxide (**14**) und K11777 (**15**).

Wirkstoffe, welche zur Malariatherapie eingesetzt werden, wurden ebenfalls auf ihre antischistosomale Aktivität getestet. Dabei konnten für verschiedene Artemisin-Derivate, wie zum Beispiel Artemether oder Artesunat, sowie Mefloquin antischistosomale Potentiale nachgewiesen werden.^[172-195] Trotz der vielversprechenden Ergebnisse ist der Einsatz dieser Wirkstoffe zur Therapie von Schistosomiasis kritisch zu betrachten, da Resistenzen bei der Bekämpfung von Malaria ein noch gravierenderes Problem darstellen. Andere bekannte Anthelminthika wurden ebenfalls getestet, jedoch führten bei Infektionen mit *S. japonicum*, *S. mansoni* und *S. haematobium* weder die Behandlung mit Albendazol, Diethylcarbamazin noch Ivermectin oder deren Kombinationen zu einer im Vergleich zu PZQ (1) erhöhten Heilungsrate.^[196] In **Tabelle 5** sind ausgewählte schistosomizide Wirkstoffe sowie deren postulierter Wirkmechanismus zusammengefasst.

Tabelle 5: Ausgewählte schistosomizide Wirkstoffe sowie deren postulierte Wirkmechanismen.^[96, 157, 165, 173, 175, 197-206]

Wirkstoff(gruppe)	Postulierter Wirkmechanismus
Organische Antimonverbindungen	Inhibition der schistosomalen Phosphofruktokinase
Metrifonat	Inhibition der schistosomalen Acetylcholinesterase, Paralyse
Amoscanat (10) und Derivate	Carbamoylierung von schistosomalen Plasmaproteinen
Xanthon-Derivate	DNA-Interkalatoren
Oxamniquin	Inhibition der parasitären DNA- und RNA-Synthese
Artemisin-Derivate	Hämin-Interaktion
Mefloquin	Inhibition der Hämozoinbildung
Myrrhe-Extrakte (Mirazid)	Wurmentpaarung, Extravasation
Trioxolane/ Trioxaquine	Alkylierung und Stapelung von Häm
Oxadiazole	Inhibition der schistosomalen Thioredoxin-Glutathion-Reduktase
HDAC-Inhibitoren	Inhibition der Histon-Deacetylase
Vinylsulfone	Inhibition schistosomaler Cysteinproteasen

Das Vorhandensein eines Vakzins wäre eine weitere interessante Strategie zur Bekämpfung der Schistosomiasis, da Infektionen häufig erst spät diagnostiziert werden und noch vor dem Beginn einer Chemotherapie schwerwiegende pathologische Schäden entstehen können. Des

Weiteren könnte ein Vakzin die therapeutische Lücke von PZQ (1) zwischen dem Schistosomulum-Stadium und dem der adulten Würmer schließen sowie Neuinfektionen verhindern. Die Forschung der vergangenen etwa 20 Jahre hat jedoch gezeigt, dass die Vakzin-Entwicklung gegen Schistosomen ein schwieriges Unterfangen ist. Frühere Kandidaten, welche eine sterile Immunität als Ziel hatten, scheiterten vorrangig an niedrigen Schutzraten oder einer zu kurzen Schutzdauer.^[207-212] Derzeit gilt rekombinantes Sh28GST der Firma *Eurogentec*, welches bei Infektionen mit *S. haematobium* sicher und immunogen ist, als vielversprechender Vakzin-Kandidat und befindet sich aktuell in Phase III der klinischen Studie.^[213, 214] Jedoch ist die Entwicklung potenter Vakzine auch aufgrund hoher Kosten, schwieriger Produktionsbedingungen, einer meist nötigen Konservierung oder kühlen Lagerung sowie der Anpassung der Schistosomen an das Immunsystem keine leichte Aufgabe.^[215]

Bis auf weiteres werden, neben Gesundheitserziehung und Prävention, effektive, einfache und preisgünstige Chemotherapeutika eine essentielle Rolle zur Bekämpfung der Schistosomiasis spielen.

Teil A

Synthese und biologische Testung von

Biarylalkylcarbonsäure-Derivaten

als potentielle anthelmintische Wirkstoffe

gegen

S. mansoni

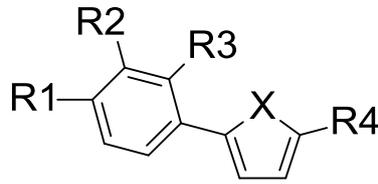
A.1 Vorarbeiten und Zielsetzung

Die langfristige Anwendung von PZQ (**1**) kann zu resistenten Parasiten führen. Eine verminderte Empfindlichkeit von *S. mansoni* und *S. haematobium* gegenüber PZQ (**1**) wurde bereits in früheren Untersuchungen festgestellt. Es besteht daher dringender Bedarf, neue antischistosomale Inhibitoren zu entwickeln. Außerdem ist die Identifizierung weiterer Wirkstoff-Targets ein wichtiger Schritt zur Erreichung dieses Ziels. Die antioxidative Abwehr ist ein wesentlicher Mechanismus für Schistosomen zur Bewältigung von Schäden durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS), welche durch das Wirtsimmunsystem oder vom Parasiten selbst erzeugt werden können.^[216] Zahlreiche Redox-assoziierte Proteine wie die Thioredoxin-Glutathion-Reduktase (TGR), Peroxiredoxin (Prx) und Thioredoxin (Trx) wurden identifiziert. Ihre Rolle bei der Detoxifizierung von ROS wurde bereits in Studien belegt.^[164, 217-219] Obwohl es bisher keine sicheren Beweise gibt, dass die schistosomale Aldose-Reduktase (sAR) an antioxidativen Stoffwechselwegen beteiligt ist, wird in anderen Organismen angenommen, dass die Aldose-Reduktase (AR) eine wichtige Rolle in antioxidativen Stoffwechselwegen spielt. Darüber hinaus ist die Expression der AR sowie deren Aktivität während einer Hyperglykämie und anderen oxidativen stressinduzierten Erkrankungen bei Menschen erhöht.^[220, 221] Zusätzlich sind viele Nebenprodukte des oxidativen Stresses, beispielsweise Methylglyoxal oder 3-Desoxyglucoson, wichtige Substrate der AR.^[222] Werden sowohl diese Erkenntnisse, als auch die schistosomale Notwendigkeit zur Detoxifizierung von ROS berücksichtigt, kann vermutet werden, dass die sAR ebenso an antioxidativen Stoffwechselwegen beteiligt ist und die Würmer vor Angriffen durch ROS schützen kann. Tatsächlich wurden im Rahmen des Genomprojekts von *S. mansoni* zwei AR-Orthologe identifiziert (Smp_150700 und Smp_053220).^[223-225] Nach den relativen Daten der Genexpression wurde ein AR-Ortholog (Smp_150700) gefunden, welches ausschließlich in Larven und juvenilen Stadien exprimiert wird und eines (Smp_053220), welches vorrangig in adulten Würmern exprimiert wird. Dieses Expressionsmuster wurde unabhängig davon durch RNA-seq-Analysen bestätigt. Diese konnten ein dominierendes Genexpressionsprofil

bei adulten *S. mansoni*-Würmern für Smp_053220 zeigen, während keine Expressionsprodukte von Smp_150700 bei adulten Würmern nachgewiesen werden konnten.^[226] Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass die sAR eine wichtige Rolle in der Detoxifizierung von Aldehyden, im Steroidstoffwechsel sowie bei der Energieversorgung, Zellproliferation, Apoptose und in Alterungsprozessen spielt.^[227-230] Die multiplen Aufgaben lassen vermuten, dass die sAR ein Schlüsselenzym in Schistosomen darstellen könnte.

Daher wurde das *in vitro*-Potential von humanen Aldose-Reduktase-Inhibitoren, welche von *Schlitzer et al.* entwickelt wurden, gegen adulte *S. mansoni* durch *Grevelding et al.* untersucht (vgl. **Tabelle 6**).^[231, 232] Alle getesteten Verbindungen wiesen eine Biaryl-4-oxobutansäure-beziehungsweise eine Biarylbutansäure-Grundstruktur auf und trugen mit Ausnahme von Verbindung **17** einen elektronenziehenden Substituenten in Position 3 oder 4 des terminalen Phenyl-Rings.

Tabelle 6: Strukturformeln der initial getesteten Biarylalkylcarbonsäure-Derivate **17-23**.^[231]



16

#	X	R1	R2	R3	R4
17	S	H	H	H	
18	O	NO ₂	H	F	
19	O	H	SO ₂ CH ₃	H	
20	O	H	NO ₂	H	
21	O	H	SO ₂ CH ₃	H	
22	S	H	NO ₂	H	
23	S	H	CF ₃	H	

Aufgrund der Nichtverfügbarkeit rekombinant exprimierbarer sAR wurden alle Verbindungen *in vitro* in einer Wurmkultur gegen adulte *S. mansoni* getestet (initiale Konzentration 100 µM). Dabei wurden die folgenden Faktoren untersucht: Paarungsstabilität, da Schistosomen im Gegensatz zu anderen Trematoden getrennt geschlechtlich sind,

Darmperistaltik, Vitalität, Motilität, Eiproduktion sowie morphologische Veränderungen, zum Beispiel von Tegument oder Darm. Nur Verbindung **17** zeigte dabei eine antischistosomale Aktivität. Die Paarungsstabilität wurde negativ beeinflusst, es kam bei 5 von 10 Wurmpaaren zu einer Entpaarung. Einen noch größeren Einfluss hatte Verbindung **17** auf die Eiproduktion und die Morphologie der Eier. So konnten nach 72 Stunden insgesamt nur 20 Eier nachgewiesen werden, bei der Negativkontrolle Dimethylsulfoxid (DMSO) waren es im gleichen Zeitraum 2318 Eier, was einer Reduktion der Eiproduktion von 99% entspricht (vgl. **Abbildung 10**). Zudem waren die Eier hochgradig deformiert und somit potentiell nicht lebensfähig.

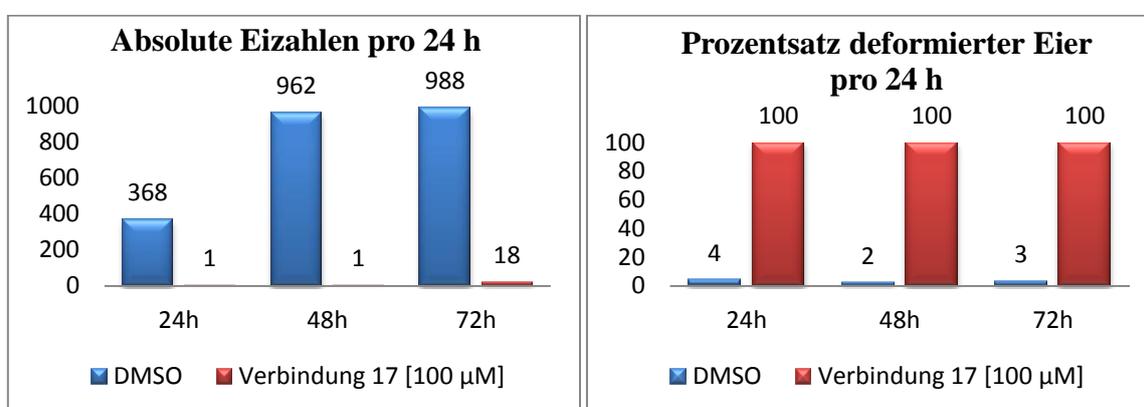
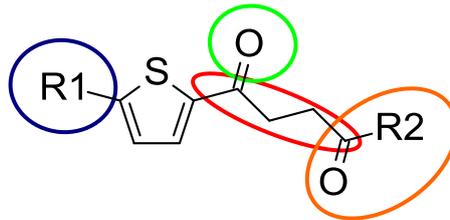


Abbildung 10: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit Verbindung **17** (100 µM).

Alle anderen getesteten Verbindungen (**18-23**) zeigten keine Auswirkungen auf die Paarungsstabilität, Darmperistaltik, Vitalität, Motilität oder Eiproduktion. Dies deutet darauf hin, dass elektronenziehende Substituenten am Phenyl-Ring zu einem Verlust der antischistosomalen Aktivität führen.

Basierend auf den Ergebnissen der initialen Testung von *Grevelding et al.* sollte eine strukturierte synthetische Modifikation der Verbindung **17** durchgeführt werden. Zu diesem Zweck wurde die Grundstruktur **24** in vier Bereiche unterteilt, die im Folgenden variiert wurden (vgl. **Abbildung 11**). Initial sollten für R1 verschiedene aromatische Substituenten eingeführt werden. Substitutionen am terminalen Phenyl-Ring mit elektronenschiebenden, lipophilen oder hydrophilen Resten sollten dabei die ersten Optimierungsversuche darstellen. Ebenso sollte der Phenyl-Ring durch elektronenreiche oder sterisch anspruchsvolle aromatische Reste ausgetauscht werden, gefolgt von dem bioisosteren Austausch des

Phenyl-Rings. In einer nächsten Optimierungsrunde sollte der Einfluss der Carbonylgruppe auf die antischistosomale Aktivität untersucht werden, dem sich die Variation der Kettenlänge des Linkers anschließen sollte. Desweiteren sollte die Carbonsäurefunktion durch potentiell besser bioverfügbare Gruppen ersetzt werden. Carbonsäureester bzw. Carbonsäureamide wurden für diese Variation ausgewählt.



24

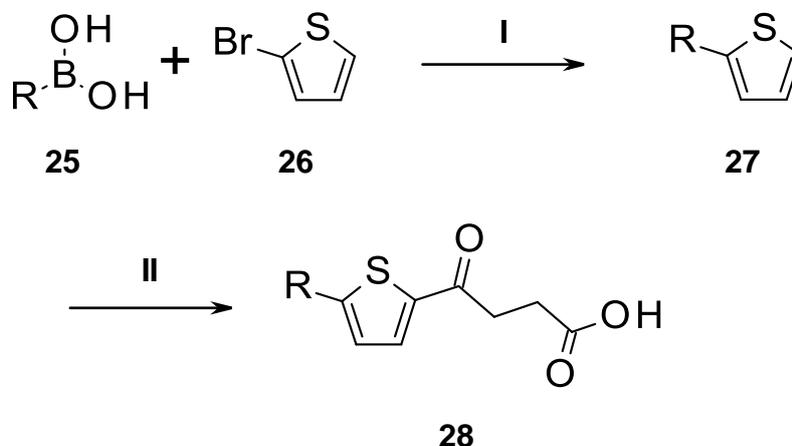
Abbildung 11: Grundstruktur und Optimierungsmöglichkeiten der Biarylalkylcarbonsäure-Derivate (blau: Substitution des Phenyl-Rings, grün: Einfluss der Carbonylgruppe, rot: Derivatisierung des Linkers, orange: Derivatisierung der Carbonsäure).

Ziel dieser Derivatisierungen war es einerseits, Verbindungen mit verbesserter Aktivität darzustellen, andererseits, erste Struktur-Wirkungs-Beziehungen in Hinblick auf eine antischistosomale Aktivität sowie die Zytotoxizität gegen ausgewählte Zelllinien abzuleiten. Jedoch gilt es an dieser Stelle anzumerken, dass es sich bei den durchgeführten *in vitro*-Testungen um eine phänotypische Testung handelt. Die Optimierung erfolgte außerdem aufgrund von rationalen, bekannten und sinnvollen Möglichkeiten des Ersatzes von Strukturelementen. Die dabei beobachteten Struktur-Wirkungs-Beziehungen beschreiben nur die Abhängigkeit der antischistosomalen Aktivität von den durchgeführten strukturellen Änderungen. Dabei ist zu beachten, dass das genaue biologische *Target* bisher unbekannt ist und nicht ausgeschlossen werden kann, dass es zu einer möglichen Interaktion mit mehreren *Targets* kommt, wobei sich mehrere Effekte überlagern können.

A.2 Ergebnisse und Diskussion

A.2.1 Erste Serie: Optimierung des terminalen Phenyl-Rings

In einer ersten Optimierungsserie sollte zunächst das Substitutionsmuster des terminalen Phenyl-Rings verändert werden. Die Derivate sollten dabei in einer zweistufigen Synthese nach der im Arbeitskreis *Schlitzer* bekannten Vorschrift von *Eisenmann* dargestellt werden.^[231] Die nach einer *Suzuki*-Kupplung erhaltenen Biarylvorstufen sollten in einer *Friedel-Crafts*-Acylierung mit Bernsteinsäureanhydrid umgesetzt werden. Der Syntheseweg sowie die Reaktionsbedingungen sind in **Schema 1** dargestellt.



Schema 1: Im Arbeitskreis *Schlitzer* bekannte Syntheseroute von *Eisenmann*.^[231]

- (I) Wasser/ Aceton, K_2CO_3 , TBAB, $Pd(OAc)_2$, 2 h, RT
- (II) Dichlorethan, Bernsteinsäureanhydrid, $AlCl_3$, 18 h, $-5\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$

Zunächst sollte über diese Syntheseroute die aus der initialen Testung einzig aktive Verbindung **17** in größerem Maßstab dargestellt werden, um als Referenz in ausreichender Menge vorhanden zu sein. Jedoch konnte bei dem Versuch, 2-Bromthiophen (**26**) mit Phenylboronsäure analog zur Vorschrift umzusetzen, kein Produkt isoliert werden. Nach verlängerter Reaktionszeit, erhöhter Temperatur ($70\text{ }^\circ\text{C}$) sowie

dünnschichtchromatographischer und massenspektrometrischer Analyse wurde festgestellt, dass beide Edukte unverändert vorlagen. Daher musste die *Suzuki*-Kupplung für die weitere Synthese zunächst optimiert werden.

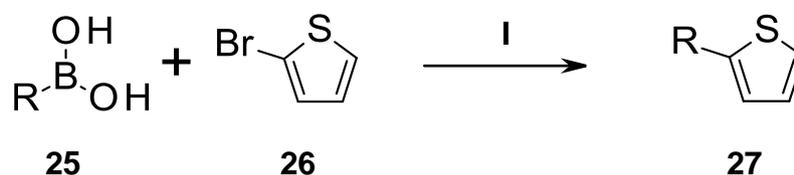
Tabelle 7: Übersicht der getesteten Reaktionsbedingungen zur Synthese der Vorstufe von Verbindung **17**.

#	eq 25	eq 26	LM	Katalysator, Ligand	Base	T [°C]	t [h]	Ausbeute [%]
1	1.0	2.0	H ₂ O, MeCN	Pd(OAc) ₂ , TBAB	Na ₂ CO ₃	RT	10	-
2	1.0	2.0	H ₂ O, MeCN	Pd(OAc) ₂ , TBAB	Na ₂ CO ₃	150	10	-
3	1.0	2.0	H ₂ O, MeCN	Pd(OAc) ₂ , TBAB	Cs ₂ CO ₃	RT	10	-
4	1.0	2.0	H ₂ O, MeCN	Pd(OAc) ₂ , TBAB	Cs ₂ CO ₃	150	10	-
5	1.0	2.0	Toluol, EtOH	Pd(PPh ₃) ₄	Na ₂ CO ₃	90	8	-
6	1.0	2.0	EtOH	Pd(OAc) ₂ , <i>rac</i> -BINAP	Cs ₂ CO ₃	RT	24	-
7	1.0	2.0	MeOH	Pd(OAc) ₂ , TBAB	Cs ₂ CO ₃	RT	12	4
8	1.0	2.0	THF	Pd(OAc) ₂ , TBAB	Cs ₂ CO ₃	RT	12	7
9	1.0	2.0	EtOH	Pd(OAc) ₂ , TBAB	Cs ₂ CO ₃	RT	4	13
10	2.0	1.0	EtOH	Pd(OAc) ₂ , TBAB	Cs ₂ CO ₃	RT	4	25
11	2.0	1.0	EtOH	Pd(OAc) ₂ , TBAB	K ₃ PO ₄	RT	6	59
12	1.2	1.0	EtOH	Pd(OAc) ₂ , TBAB	K ₃ PO ₄	RT	12	83

Das Katalysatorsystem aus Palladium-(II)-acetat sowie dem elektronenarmen *phase-transfer*-Katalysator Tetrabutylammoniumbromid (TBAB) wurde in den ersten Optimierungsschritten beibehalten.^[233-235] Es wurden schrittweise Base und Temperatur in der Reaktionsführung geändert. Im Lösungsmittelgemisch Acetonitril/ Wasser konnte kein Umsatz beobachtet werden, sodass zunächst von der Verwendung von ligandenfreien Reaktionen abgesehen wurde. Stattdessen wurden weitere Reaktionen mit *Tetrakis*(triphenylphosphin)palladium (0) und *rac*-(2,2'-*Bis*(diphenylphosphino)-1,1'-binaphthyl (*rac*-BINAP) in Ethanol oder Ethanol-Toluol-Gemischen getestet.^[236-241] Es konnte ebenfalls kein Produkt erhalten werden. Die höhere Elektronendichte der verwendeten Liganden hatte scheinbar keinen positiven Einfluss auf die Reaktion. Daher wurden unter Verwendung des Ausgangssystems Methanol und Tetrahydrofuran als Lösungsmittel getestet, wobei Verbindung **17** in schlechten Ausbeuten von 4% (Methanol) beziehungsweise 7%

(Tetrahydrofuran) dargestellt werden konnte. Auch wenn diese Bedingungen aufgrund der schlechten Ausbeuten unbrauchbar für weitere Synthesen waren, konnte gezeigt werden, dass das Lösungsmittel einen starken Einfluss auf die Reaktion hat. Der Einsatz von Ethanol steigerte die Ausbeute auf 13%, sodass alle weiteren Optimierungsschritte in Ethanol durchgeführt wurden. Im nächsten Schritt wurde das Verhältnis der Äquivalente der Edukte umgekehrt. Bei allen zuvor durchgeführten Reaktionen wurde ein Überschuss an Bromthiophen (**26**) zugegeben, sodass nun die entsprechende Boronsäure im Überschuss eingesetzt wurde. Durch diesen Schritt konnte die Ausbeute auf 25% gesteigert werden.

Daher wurde in allen folgenden Reaktionen ein Überschuss an Boronsäure eingesetzt. Um die Ausbeute weiter zu steigern, wurde die bisher verwendete Base Cäsiumcarbonat durch Kaliumphosphat ausgetauscht. Daher wurde die Reaktion unter gleichen Bedingungen mit Kaliumphosphat als Base durchgeführt.^[242] Nach einer Reaktionszeit von 6 Stunden konnte das Produkt in einer Ausbeute von 59% isoliert werden. Eine Verlängerung der Reaktionszeit auf 12 Stunden führte trotz eines geringeren Überschusses an eingesetzter Boronsäure (1.2 eq) zu einer zufriedenstellenden Ausbeute von 83%. Eine Auswahl der getesteten Reaktionsbedingungen ist in **Tabelle 7** dargestellt.

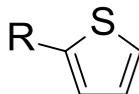


Schema 2: Optimierte Syntheseroute zur Darstellung der Biarylvorstufen.

(I) Ethanol, K_3PO_4 , TBAB, $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, 12 h, RT

Mithilfe der optimierten Reaktionsbedingungen (vgl. **Schema 2**) konnten nun alle gewünschten Derivate dargestellt werden, welche in **Tabelle 8** dargestellt werden. Die Synthese verlief ohne Probleme in moderaten bis ausgezeichneten Ausbeuten. Einzig das 3-Nitrophenyl-Derivat **37** konnte nur mit einer schlechten Ausbeute (24%) dargestellt werden. Der Grund dafür liegt vermutlich an dem elektronenziehenden Substituenten von Verbindung **37**. Dieser scheint von den gewählten Reaktionsbedingungen schlecht toleriert zu werden. Da Verbindung **37** dennoch in ausreichenden Mengen dargestellt werden konnte, wurde die Synthese nicht weiter optimiert.

Tabelle 8: Übersicht der dargestellten Biarylvorstufen **30-47**.

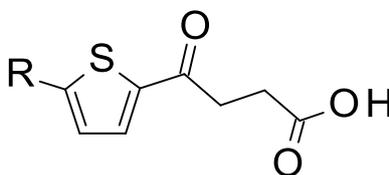


#	R	Ausbeute [%]
Schl32036 (30)	4-Methylphenyl	66
Schl32037 (31)	3-Methylphenyl	70
Schl32038 (32)	2-Methylphenyl	37
Schl32039 (33)	2-Methoxyphenyl	74
Schl32040 (34)	3-Methoxyphenyl	53
Schl32041 (35)	4-Methoxyphenyl	60
Schl32042 (36)	3-(Methoxycarbonylmethyl)phenyl	87
Schl32044 (37)	3-Nitrophenyl	24
Schl32046 (38)	1-Naphthyl	62
Schl32047 (39)	2-Naphthyl	57
Schl32048 (40)	2-Thienyl	60
Schl32069 (41)	3-Hydroxyphenyl	80
Schl32072 (42)	4-Methoxy-3,5-dimethylphenyl	42
Schl32073 (43)	Biphenyl-4-yl	93
Schl32074 (44)	2,4-Dimethoxyphenyl	93
Schl32075 (45)	4-Benzyloxyphenyl	94
Schl32076 (46)	3-Benzyloxyphenyl	71
Schl32077 (47)	2-Benzyloxyphenyl	59

Im zweiten Syntheseschritt lieferte eine *Friedel-Crafts*-Acylierung mit Bernsteinsäureanhydrid und Aluminiumchlorid die gewünschten 4-Oxobutansäurederivate, welche in moderaten Ausbeuten dargestellt werden konnten.^[232]

In der initialen Testung wurde gezeigt, dass elektronenziehende Substituenten ungeeignet sind. Deshalb sollten zunächst Derivate mit lipophilen, elektronenschiebenden Substituenten dargestellt werden. Zunächst wurden Methylphenyl-, Methoxyphenyl- und Benzyloxyphenyl-Derivate ausgewählt, wobei die entsprechenden Substituenten aufgrund der Unkenntnis über das nötige Substitutionsmuster sowohl in 2-, 3- und 4-Position des Phenylrings eingeführt wurden (vgl. **Tabelle 9**).

Tabelle 9: Übersicht der dargestellten 4-Oxobutansäurederivate **48-58** mit lipophilen, elektronenschiebenden Substituenten.



#	R	Ausbeute [%]
Schl32050 (48)	4-Methylphenyl	36
Schl32051 (49)	2-Methylphenyl	47
Schl32052 (50)	3-Methylphenyl	48
Schl32053 (51)	3-Methoxyphenyl	68
Schl32054 (52)	4-Methoxyphenyl	57
Schl32065 (53)	2-Methoxyphenyl	33
Schl32078 (54)	4-Methoxy-3,5-dimethylphenyl	36
Schl32080 (55)	2,4-Dimethoxyphenyl	56
Schl32081 (56)	4-Benzyloxyphenyl	32
Schl32082 (57)	3-Benzyloxyphenyl	38
Schl32083 (58)	2-Benzyloxyphenyl	44

Die anschließende *in vitro*-Testung erbrachte mehrere interessante Erkenntnisse. Die Derivate, welche in Position 3 substituiert waren, zeigten analog zu Verbindung **17** eine signifikante, wenn auch etwas geringere Reduktion der Eiproduktion. Alle Verbindungen, die in Position 2 oder 4 des terminalen Phenyl-Rings substituiert waren, waren inaktiv gegen *S. mansoni*. Der Einfluss der Substitutionsposition ist beispielhaft für die Verbindungen **48** bis **50** in **Abbildung 12** dargestellt. Es konnte beobachtet werden, dass sowohl Verbindung **48** als auch Verbindung **49** die Eiproduktion nur um etwa 30% reduzierten und beide Verbindungen keinen signifikanten Einfluss auf die Deformationsrate der Eier haben.

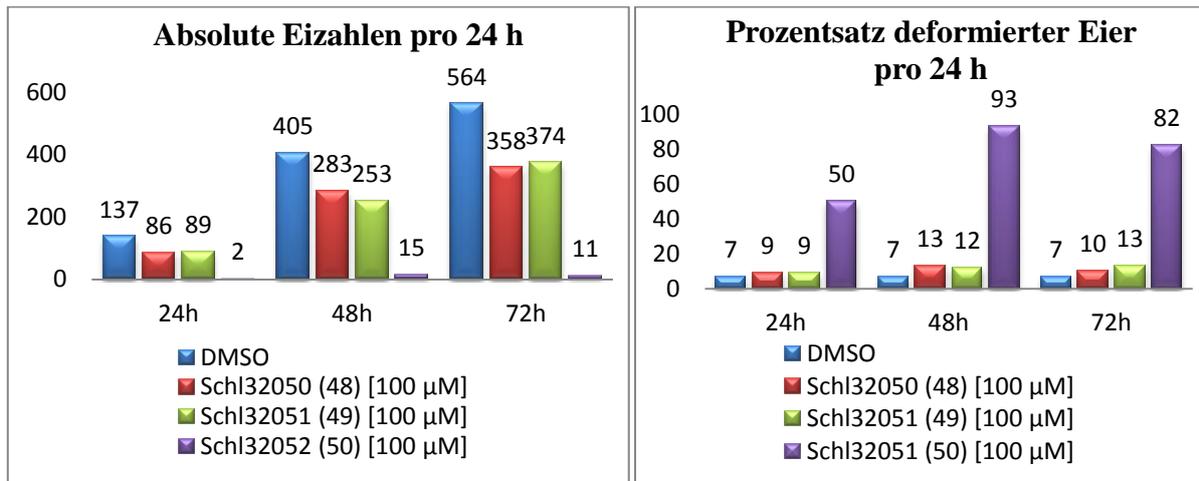


Abbildung 12: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **48-50** (Schl32050-Schl32052).

Verbindung **50** hingegen reduziert die Eiproduktion um etwa 97%. Die verbleibenden Eier sind größtenteils deformiert. Ein Vergleich von normalen *S. mansoni*-Eiern und deformierten Eiern zeigt **Abbildung 13**. Native Eier tragen einen charakteristischen lateralen Dorn (kleiner Bildteil **Abbildung 13**). Dieser ist gewebereizend und die daraus folgende Inkludierung ist die Hauptursache der Granulombildung in Leber und anderen betroffenen Geweben.^[54] Der charakteristische Dorn fehlte nach Behandlung mit Verbindung **50** oftmals. Ebenso wurde beobachtet, dass die Eier teilweise leer waren oder eine andere Morphologie aufwiesen (großer Bildteil **Abbildung 13**). Die Unterdrückung der Eiproduktion sowie die Deformation der verbliebenen Eier könnte möglicherweise ein therapeutisch nutzbarer Effekt sein.

Das 3-Methoxy-Derivat **51** und das 3-Benzoyloxy-Derivat **57** zeigten einen im Vergleich zu Verbindung **50** ähnlichen Effekt auf die Eiproduktion. Außerdem konnte beobachtet werden, dass die Verbindungen **50**, **51** und **57** einen wesentlich geringeren Einfluss auf die Paarungsstabilität und Vitalität der Würmer hatten und somit geringfügig schwächer aktiv als die Ausgangsverbindung **17** sind. Derivate mit Mehrfachsubstitutionen (**54** und **55**) waren ebenfalls inaktiv.

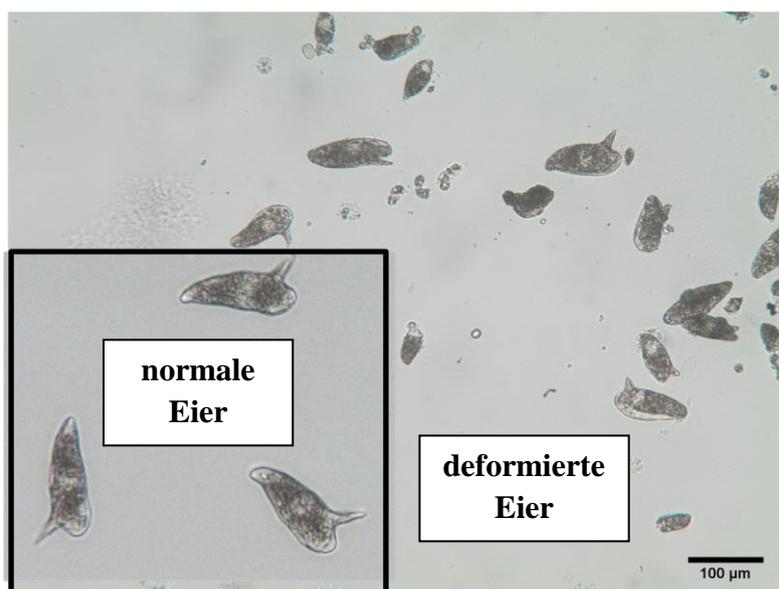
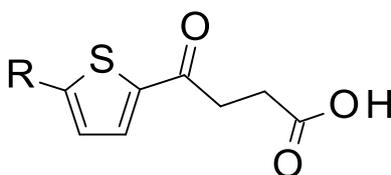


Abbildung 13: Vergleich von nativen *S. mansoni*-Eiern (kleines Bild) und deformierten *S. mansoni*-Eiern (großes Bild).

Im nächsten Schritt sollte der Phenyl-Ring gegen andere aromatische Reste wie Naphthyl oder Biphenyl ausgetauscht werden. Ebenso wurde dieser bioisoster gegen einen Thiophenring ausgetauscht. Ein Überblick über die dargestellten Derivate sowie deren Ausbeute findet sich in **Tabelle 10**.

Tabelle 10: Übersicht der dargestellten 4-Oxobutansäurederivate **59-62** mit anderen aromatischen Resten.



#	R	Ausbeute [%]
Schl32061 (59)	1-Naphthyl	38
Schl32062 (60)	2-Naphthyl	32
Schl32063 (61)	2-Thienyl	42
Schl32079 (62)	Biphenyl-4-yl	30

Die anschließende *in vitro*-Testung zeigte, dass sowohl die beiden Naphthyl-Derivate **59** und **60** als auch das Biphenyl-Derivat **62** keinen Einfluss auf die Eiproduktion hatten und keine

phänotypischen Veränderungen der Würmer beobachtet werden konnten. Der Grund für die fehlende Aktivität liegt vermutlich im sterischen Anspruch der neu eingeführten Reste der Verbindungen, wobei der genaue Grund unbekannt ist.

Verbindung **61**, bei der der terminale Phenyl-Ring bioisoster gegen einen Thiophen-Ring ausgetauscht wurde, zeigte im Vergleich zu Verbindung **17** eine ähnliche, aber schwächere Aktivität.^[243] So wurde die Paarungsstabilität und Vitalität der Würmer durch Verbindung **61** nur minimal abgeschwächt (Verbindung **61**: Entpaarung bei 2 von 10 Paaren; Verbindung **17**: Entpaarung bei 5 von 10 Paaren). Die Eiproduktion wurde durch Verbindung **61** etwas weniger inhibiert, die Deformationsrate war im Vergleich zu Verbindung **17** geringer (vgl. **Abbildung 14**). Aufgrund dieser Beobachtungen wurde das Prinzip des bioisosteren Austausches wieder verworfen.

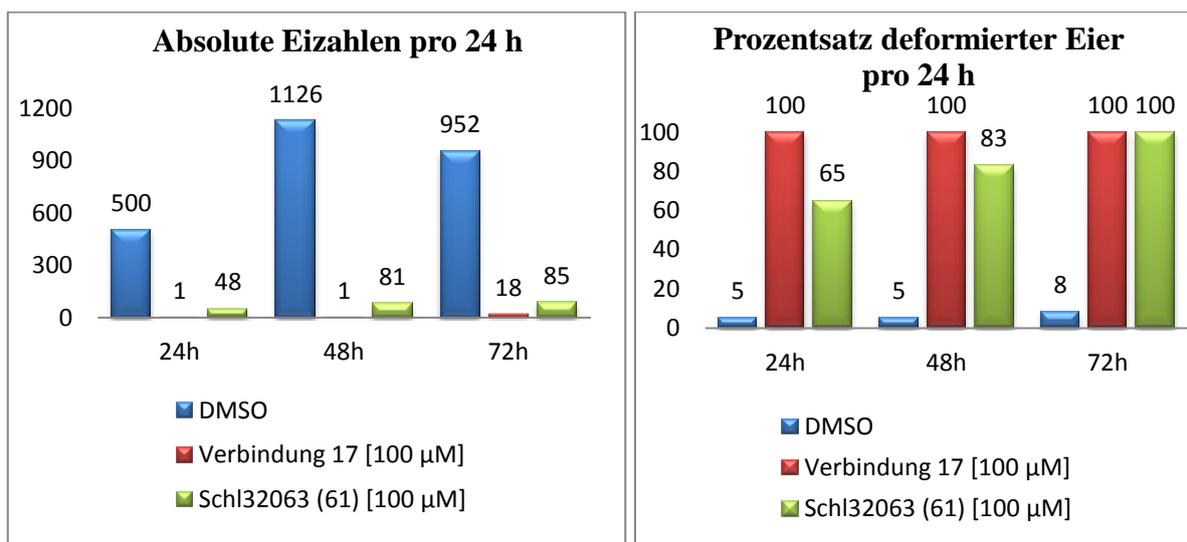
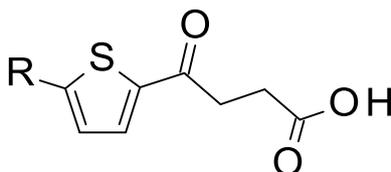


Abbildung 14: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **17** und **61** (Schl32063).

Weder die Einführung lipophiler, elektronenschiebender Substituenten noch der Austausch des terminalen Phenyl-Rings konnte die Aktivität wesentlich steigern. Deshalb wurde im abschließenden Schritt durch die Einführung polarer Substituenten versucht, die Wirksamkeit der Biarylalkylcarbonsäure-Derivate wesentlich zu verbessern. Die neu eingeführten Reste sollten nur noch in Position 3 des terminalen Phenyl-Rings eingeführt werden, da durch die bereits dargestellten Derivate gezeigt werden konnte, dass Substituenten an dieser Position den stärksten Einfluss auf die Aktivität zeigen. Die entsprechenden Derivate sind in **Tabelle 11** dargestellt. Das 3-Aminophenyl-Derivat **65** wurde durch Reduktion des

3-Nitrophenyl-Derivats **64** mit Palladium/ Aktivkohle unter Wasserstoffatmosphäre dargestellt.

Tabelle 11: Übersicht der dargestellten 4-Oxobutansäurederivate **63-66** mit hydrophilen Substituenten in Position 3 des terminalen Phenylrings.



#	R	Ausbeute [%]
Schl32057 (63)	3-(Carboxymethyl)phenyl	17
Schl32059 (64)	3-Nitrophenyl	62
Schl32067 (65)	3-Aminophenyl	98*
Schl32071 (66)	3-Hydroxyphenyl	33

* Ausbeute der Reduktion

Das 3-(Carboxymethyl)phenyl-Derivat **63** zeigte *in vitro* keine antischistosomale Aktivität. Die Verbindung ist aufgrund der zweiten negativ geladenen Carboxylgruppe vermutlich nicht ausreichend bioverfügbar. Bei der *Friedel-Crafts*-Acylierung wurde der Ester der eingesetzten Biarylvorstufe **36** *in situ* gespalten. Die Ausbeute von Verbindung **63** war mit 17% schlecht. So reichte die zur Verfügung stehende Menge nicht aus, den entsprechenden Methylester erneut darzustellen. Da es jedoch synthetisch nicht möglich war, direkt die entsprechende Vorstufe mit der freien Carbonsäure darzustellen, um eine ausreichende Menge für die spätere Veresterung vorliegen zu haben, wurde die Synthese des Methylester-Derivats nicht weiter verfolgt.

Bei der initialen Testung stand nur das unwirksame 3-Nitrophenylfuran-Derivat **20** zur Verfügung, sodass das 3-Nitrophenyl-Derivat **64** ebenso *in vitro* getestet wurde. Dabei konnte keine antischistosomale Aktivität festgestellt werden. Dies war aufgrund der Vorarbeiten zu erwarten und untermauerte die These, dass elektronenziehende Substituenten einen stark negativen Einfluss auf die Aktivität ausüben. Nach Reduktion der Nitrogruppe, die annähernd quantitativ erfolgte, wurde das 3-Aminophenyl-Derivat **65** erhalten, welches *in vitro* ebenfalls keine Aktivität zeigte. Es wurde vermutet, dass die Aminofunktion entweder aufgrund ihrer

positiven Ladung ebenfalls nicht bioverfügbar ist oder die positiv geladene Ammoniumfunktion von einem möglichen Zielenzym nicht toleriert wird.



Abbildung 15: Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von DMSO und Verbindung **66** (Schl32071). **A:** Kontrolle, Schistosomen angesaugt, Weibchen befinden sich in der Bauchfalte des Männchens; **B:** tumorartige Ausstülpung; **C:** entpaarte und seitlich liegende Schistosomen; **D:** Blasenbildung und Ablösung des Teguments.

Abschließend wurde das 3-Hydroxyphenyl-Derivat **66** dargestellt und *in vitro* getestet. Dieses Derivat zeigte im Vergleich zur unsubstituierten Verbindung **17** eine erhöhte antischistosomale Aktivität. Neben einer kompletten Inhibition der Eiproduktion kam es zur Entpaarung aller Wurmpaare. Desweiteren wurden eine stark verlangsamte Darmperistaltik und Motilität, reduzierte Vitalität, Blasenbildung und Ablösung des Teguments sowie tumorartige Ausstülpungen beobachtet (vgl. **Abbildung 15**). Diese phänotypischen Erscheinungen lassen vermuten, dass Verbindung **66** mehrere Zielstrukturen adressiert, da die beobachteten Effekte bei allen bisher getesteten Derivaten nicht aufgetreten waren.

Da sowohl Verbindung **17** als auch Verbindung **66** zunächst nur bei einer hohen Konzentration von 100 µM getestet wurden, wurden beide Verbindungen anschließend bei

niedrigeren Konzentrationen (50 μ M, 25 μ M, 10 μ M) getestet, um zu untersuchen, welche Minimalkonzentration für eine Wirkung erforderlich ist.

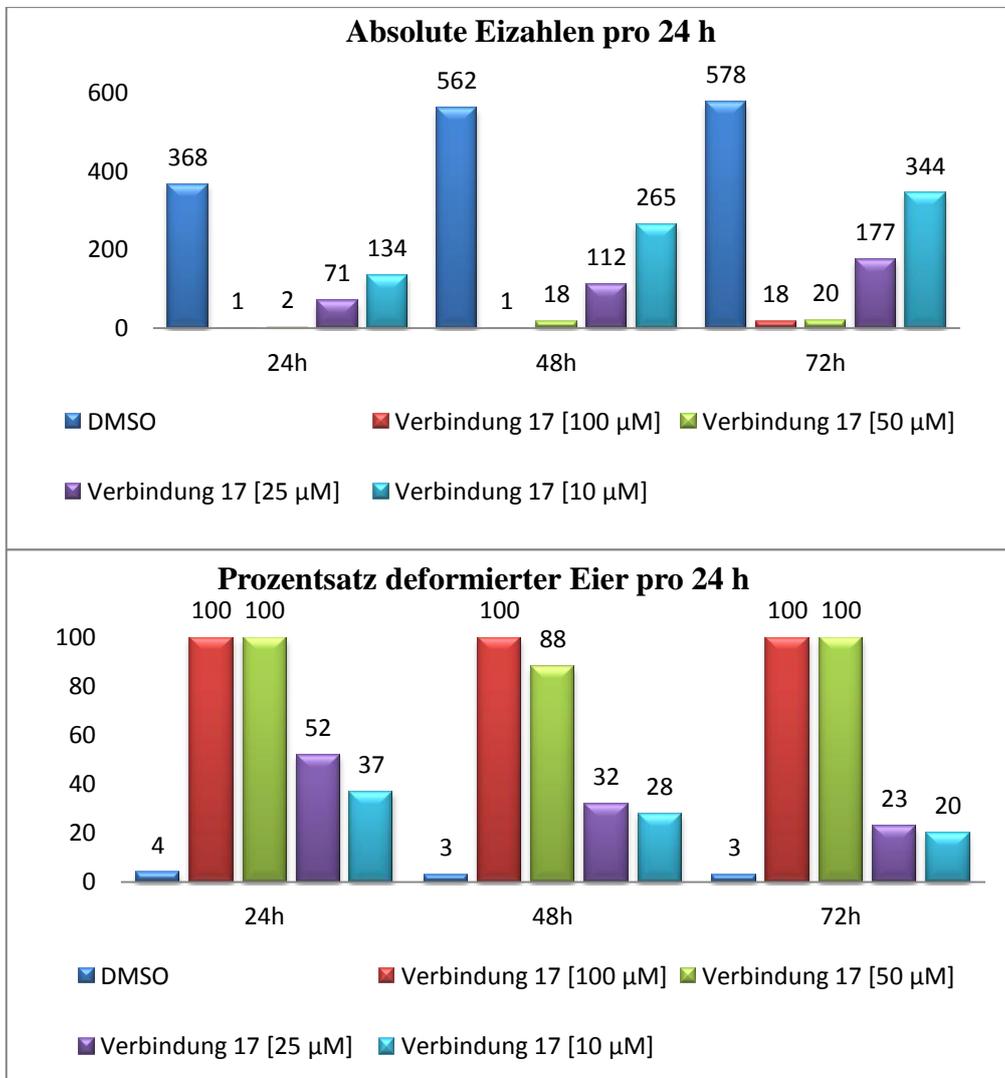


Abbildung 16: Eiproduktion und –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit Verbindung **17** in Abhängigkeit der Konzentration.

In einer Konzentration von 50 μ M zeigte Verbindung **17** einen vergleichbar starken Einfluss auf Eiproduktion, Deformationsrate der Eier, Paarungsstabilität und Vitalität der Schistosomen wie in einer Konzentration von 100 μ M. Ab einer Konzentration von 25 μ M konnte eine signifikante Abnahme der Aktivität beobachtet werden. Die Eiproduktion stieg bei einer gleichzeitigen Abnahme der Deformationsrate an. Außerdem wurden weder die Paarungsstabilität noch die Vitalität und Motilität negativ beeinflusst. Der Einfluss von

Verbindung **17** auf die Eiproduktion und -deformation in Abhängigkeit der Konzentration ist in **Abbildung 16** dargestellt.

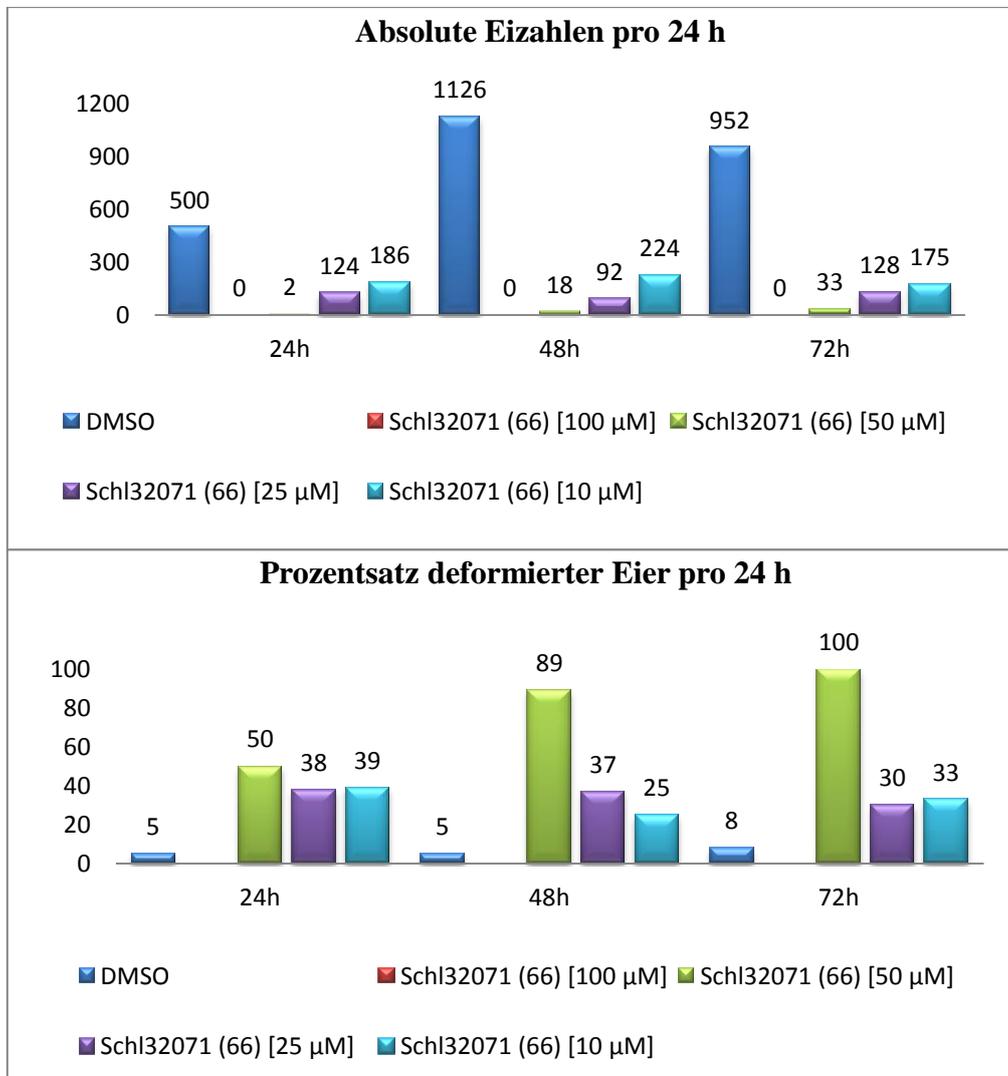
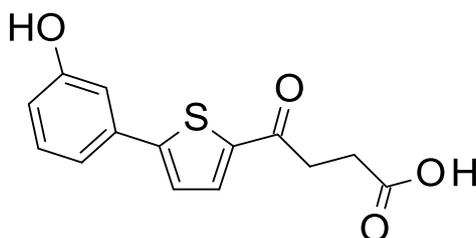


Abbildung 17: Eiproduktion und –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit Verbindung **66** (Schl32071) in Abhängigkeit der Konzentration.

Im Anschluss daran wurde die gleiche Konzentrationsreihe für Verbindung **66** gemessen. Auch hier wurde bei einer Konzentration von 50 µM eine vergleichbare Wirkung auf die Eiproduktion beobachtet. Die Reduktion lag hier bei 98% im Vergleich zur Kontrolle (100 µM: 100%). Ebenso kam es, wenn auch nicht vollständig, zur Entpaarung der Wurmpanne (6 von 10 Paaren). Wie bei 100 µM wurden in einem vergleichbaren Maße eine stark verlangsamte Darmperistaltik und Motilität, reduzierte Vitalität sowie Blasenbildung und Ablösung des Teguments beobachtet, jedoch keine tumorartigen Ausstülpungen. Bis zu

einer Konzentration von 10 μM kam es zu einer schwächeren, aber trotzdem signifikanten Reduktion der Eiproduktion (25 μM : 87%; 10 μM : 77%). Jedoch waren die Eier weniger deformiert und es konnte bei beiden Konzentrationen kein Einfluss auf die Paarungsstabilität, Motilität und Vitalität beobachtet werden. Auch kam es weder zu einer Blasenbildung noch zu einer Ablösung des Teguments. Die Eiproduktion und Deformation durch Verbindung **66** in Abhängigkeit der Konzentration ist in **Abbildung 17** dargestellt.

Es war zu beobachten, dass beide Verbindungen bis zu einer Konzentration von 50 μM eine antischistosomale Aktivität zeigten, diese jedoch bei niedrigeren Konzentrationen abgeschwächt wird. Die Abschwächung konnte bei Verbindung **17** stärker beobachtet werden als bei Verbindung **66**. Aufgrund dem stärkeren Einfluss auf die Eiproduktion, der höheren Deformationsraten sowie dem Fakt, dass bei Verbindung **66** weitere Phänotypen beobachtet wurden, konnte gezeigt werden, dass die Hydroxygruppe in Position 3 des terminalen Phenyl-Rings das beste Substitutionsmuster darstellt.



66

Abbildung 18: Strukturformel des besten Biarylalkylcarbonsäure-Derivats **66** (Schl32071) nach der ersten Optimierungsserie.

Verbindung **66** wurde anschließend durch die Arbeitsgruppe *Grünweller/ Hartmann* (Philipps-Universität Marburg) auf ihre Zytotoxizität getestet. Dabei wurde ein Assay verwendet, bei dem nach definierten Inkubationszeiten (24 h, 96 h, 120 h, 144 h) eine zellzahl- und wachstumsabhängige Absorption gemessen wurde. Das Zellwachstum der getesteten Verbindungen wurde dabei mit dem Zellwachstum in Gegenwart von DMSO als Negativkontrolle verglichen. Als Zelllinie wurde zunächst die Leberzelllinie HepG2 gewählt.

Abbildung 19 zeigt, dass bei der Negativkontrolle DMSO die Zellzahl und somit auch die Absorption stark ansteigt. Je länger die Inkubationszeit betrug, desto geringer war auch der Anstieg der Zellzahl, da die verwendeten Zellen nicht unendlich oft proliferieren können. Die Absorption in Abhängigkeit von der Inkubationszeit nähert sich einem Grenzwert an.

Verbindung **66** zeigte jedoch eine starke Reduktion des Zellwachstums. Nach einer Inkubationszeit von 96 h konnte nur ein geringer Anstieg der Absorption gemessen werden. Daraus resultiert eine geringe Erhöhung der Zellzahl, welche nach weiterer Inkubationszeit wieder sinkt. Das bedeutet, dass Verbindung **66** das Wachstum der Zelllinie inhibiert und somit als zytotoxisch zu bewerten ist.

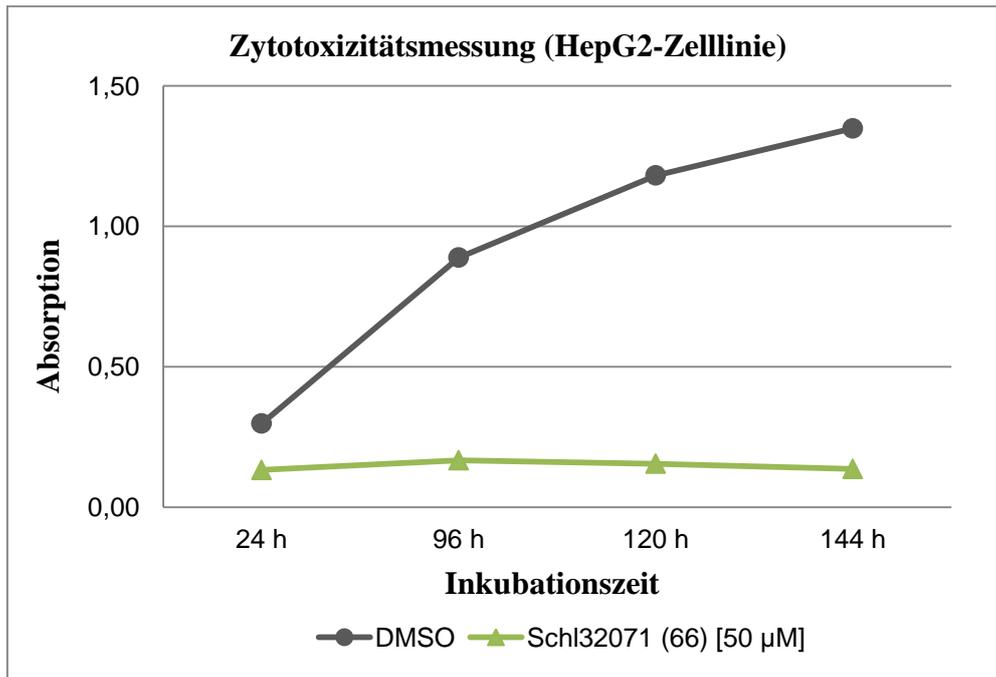
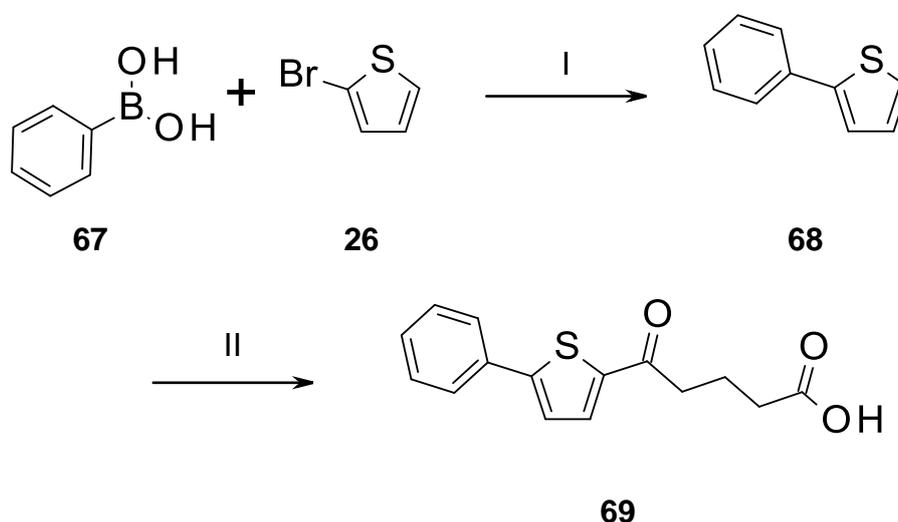


Abbildung 19: Auswertung der Zytotoxizitätsmessung (HepG2-Zelllinie) von Verbindung **66** (SchI32071).

A.2.2 Zweite Serie: Variation der Kettenlänge des Linkers und Einfluss der Carbonylgruppe

Nachdem in der ersten Serie das Substitutionsmuster des terminalen Phenyl-Rings untersucht wurde, wurde in der zweiten Serie die Kettenlänge des Linkers verändert und der Einfluss der Carbonylgruppe auf die antischistosomale Aktivität untersucht. Um die Optimierungsversuche besser beurteilen zu können, wurde bei allen Derivaten der unsubstituierte Phenyl-Ring beibehalten.



Schema 3: Synthese von Verbindung **69** (Schl32269).

- (I) Ethanol, K_3PO_4 , TBAB, $Pd(OAc)_2$, 12 h, RT
- (II) Dichlorethan, Glutarsäureanhydrid, $AlCl_3$, 18 h, $-5\text{ }^\circ C \rightarrow RT$

Zunächst sollte die Kettenlänge um eine Methyleneinheit verlängert werden. Die entsprechende Biarylvorstufe **68** wurde analog zu den anderen Biarylvorstufen über eine *Suzuki*-Kupplung dargestellt. Auch der zweite Syntheseschritt, die *Friedel-Crafts*-Acylierung, erfolgte analog zu den anderen Derivaten, jedoch wurde statt Bernsteinsäureanhydrid das um eine Methyleneinheit längere Glutarsäureanhydrid verwendet (vgl. **Schema 3**).^[232] Die Gesamtausbeute für beide Stufen betrug 54%. Verbindung **69** wurde anschließend *in vitro* getestet, zeigte jedoch weder eine Verbesserung noch eine Verschlechterung der antischistosomalen Aktivität. Die entsprechenden Zahlen der Eiproduktion sowie die Deformationsraten sind in **Abbildung 20** vergleichend dargestellt. Auch bei den anderen

getesteten Parameter (Paarungsstabilität, Vitalität, ...) wurden vergleichbare Ergebnisse erhalten. Desweiteren traten keine weiteren Phänotypen auf. Daher wurde gefolgert, dass die Verlängerung der Kettenlänge um eine Methyleneinheit scheinbar keinen Einfluss auf die Aktivität hat.

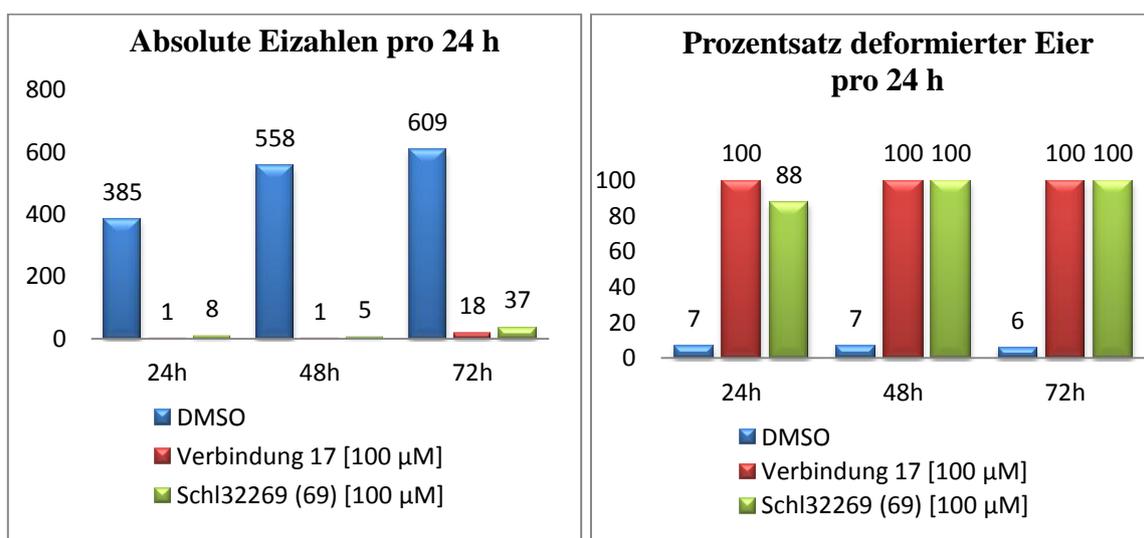
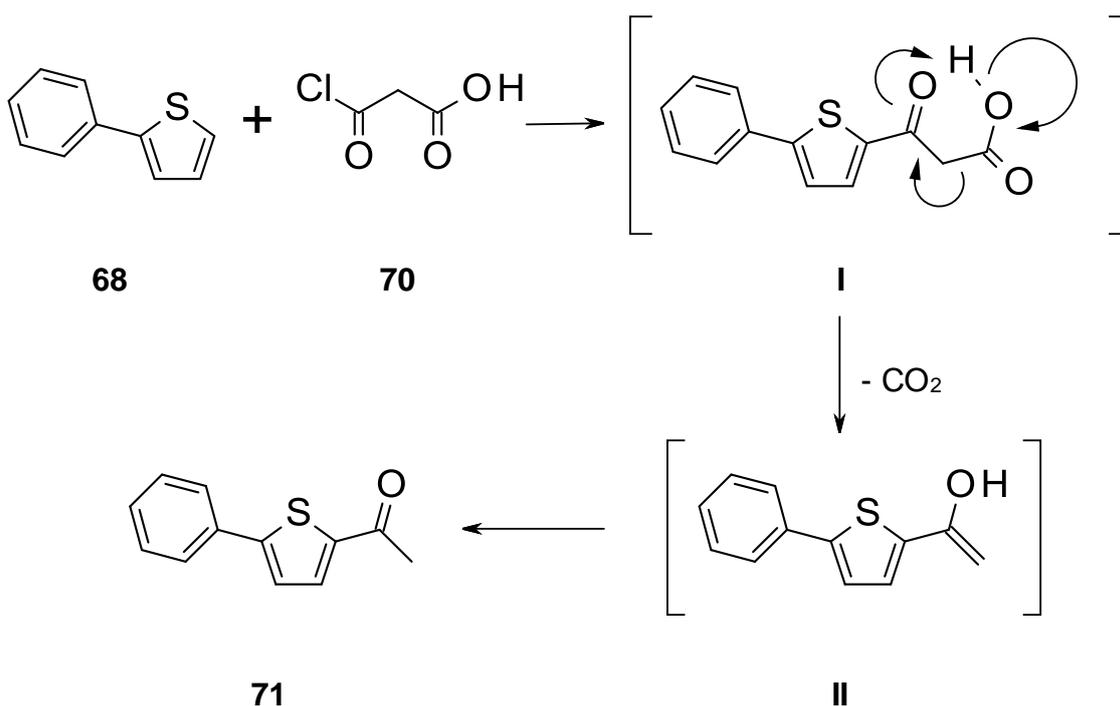


Abbildung 20: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **17** und **69** (Schl32269).

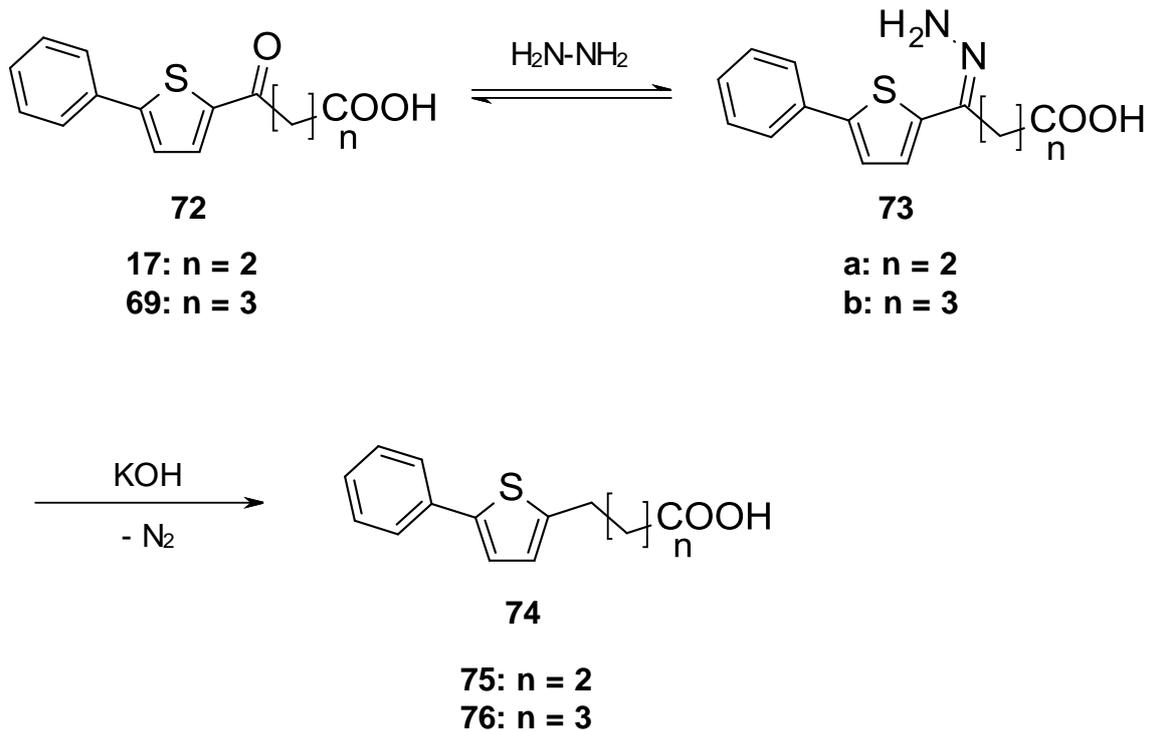
Auf eine weitere Verlängerung der Kette wurde verzichtet, da die erforderlichen Edukte entweder zu teuer oder kommerziell nicht erhältlich waren.

Eine Verkürzung der Kettenlänge sollte ebenfalls erprobt werden. Jedoch ist das entsprechende Malonsäureanhydrid aufgrund der großen Ringspannung des 4-Rings (etwa 100 kJ/mol^{-1} ; Ringspannung 6-Ring: etwa 1 kJ/mol^{-1}) instabil und daher kommerziell nicht erhältlich.^[244] Malonsäurechlorid (**70**), sowie Malonsäure sind bei *Friedel-Crafts*-Acylierungen instabil. Vermutlich wird anstelle der gewünschten β -Ketosäure das entsprechende Keton **71** unter CO_2 -Abspaltung erhalten.^[245, 246] Außerdem fördert die nötige saure Aufarbeitung der *Friedel-Crafts*-Acylierung die Decarboxylierung. Die Umsetzung von 2-Phenylthiophen (**68**) mit Malonsäurechlorid (**70**) wurde nichtsdestotrotz getestet. Dabei wurde das zu erwartende decarboxylierte Produkt **71** isoliert. Der Mechanismus der Decarboxylierung, präparativ genutzt bei der *Knoevenagel*-Kondensation, ist in **Schema 4** übersichtlich dargestellt.^[247]



Schema 4: Mechanismus der Entstehung des Nebenprodukts **71** bei der *Friedel-Crafts*-Acylierung mit Malonsäurechlorid (**70**).

Im nächsten Schritt sollte der Einfluss der Carbonylgruppe auf die Aktivität der Verbindungen untersucht werden. Hierfür sollten die Carbonylgruppen der Verbindungen **17** und **69** mittels einer *Wolff-Kishner*-Reduktion eliminiert werden. Dafür wurde wieder auf eine im Arbeitskreis *Schlitzer* bekannte Vorschrift von *Eisenmann* zurückgegriffen.^[232] Die entsprechende Oxocarbonsäure **72** wurden mit Hydrazinmonohydrat unter Bildung des entsprechenden Hydrazons **73** umgesetzt, welches anschließend durch Reaktion mit Kaliumhydroxid unter Stickstoffabspaltung die gewünschten reduzierten Derivate **74** lieferte (vgl. **Schema 5**). Trotz der drastischen Reaktionsbedingungen (7 h, 180 °C) konnten beide Verbindungen in guten Ausbeuten (**75**: 75%; **76**: 69%) dargestellt werden.



Schema 5: Syntheschema der *Wolff-Kishner-Reduktion*.^[232]

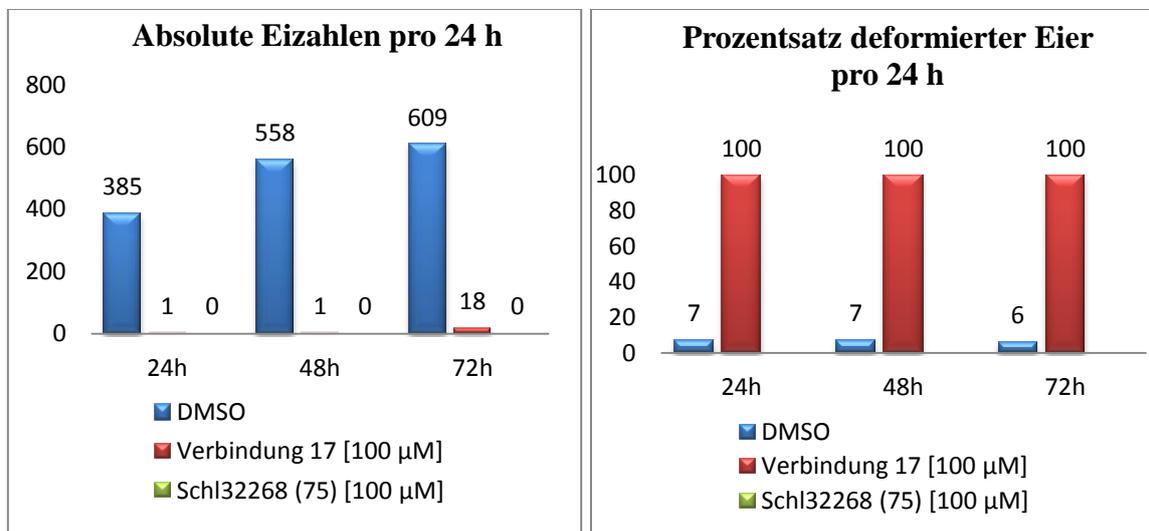


Abbildung 21: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit dem 4-Oxobutansäurederivat **17** und dem Butansäurederivat **75** (Schl32268).

Die folgende *in vitro*-Testung lieferte kontroverse und schwer interpretierbare Ergebnisse. Das Butansäurederivat **75** zeigte bei der initialen Testung bei 100 µM eine bessere Aktivität als das entsprechende 4-Oxobutansäurederivat **17**. Neben einer vollständigen Inhibition der

Eiproduktion (vgl. **Abbildung 21**) wurden die Vitalität, Motilität und die Paarungsstabilität negativ beeinflusst (Entpaarung bei 3 von 10 Paaren). Desweiteren wirkten einige der behandelten Männchen aufgebläht und wiesen Einschnürungen am Körper auf (vgl. **Abbildung 22**).



Abbildung 22: Beobachtete Einschnürung und Aufblähung männlicher Schistosomen nach Behandlung mit Verbindung **75** (Schl32268).

Aufgrund der besseren Aktivität wurde Verbindung **75** in niedrigeren Konzentrationen getestet. Analog zu den bisher getesteten Konzentrationsreihen konnte auch bei dieser bis zu einer Konzentration von 50 µM eine gute antischistosomale Aktivität beobachtet werden. Die Zahlen der Eiproduktion sowie die Deformationsraten von Verbindung **75** lagen auch bei niedrigeren Konzentrationen unter denen der entsprechenden 4-Oxobutansäureverbindung **17** (Verbindung **75**: Reduktion der Eiproduktion um 99%; Verbindung **17**: Reduktion der Eiproduktion um 97%), ebenso wie der Einfluss auf die Paarungsstabilität, Motilität und Vitalität. Jedoch konnte ab einer Konzentration von 50 µM keine Einschnürung oder Aufblähung der Schistosomen-Männchen mehr beobachtet werden. In geringeren Konzentrationen stieg die Zahl der produzierten Eier bei gleichzeitiger Abnahme der Deformationsraten ebenso wie bei den vorherigen Konzentrationsreihen an. Der Anstieg war jedoch wesentlich geringer als bei den vorherigen Messungen. Da jedoch ab einer Konzentration von 25 µM mit Ausnahme der Inhibition der Eiproduktion keine weiteren negativen Effekte auf die Schistosomen beobachtet werden konnten, wurde die Verbindung ab dieser Konzentration aufgrund der unzufriedenstellenden Wirkung als inaktiv angesehen. **Abbildung 23** zeigt die Zahlen der Eiproduktion und –deformation von Verbindung **75** in Abhängigkeit der getesteten Konzentration.

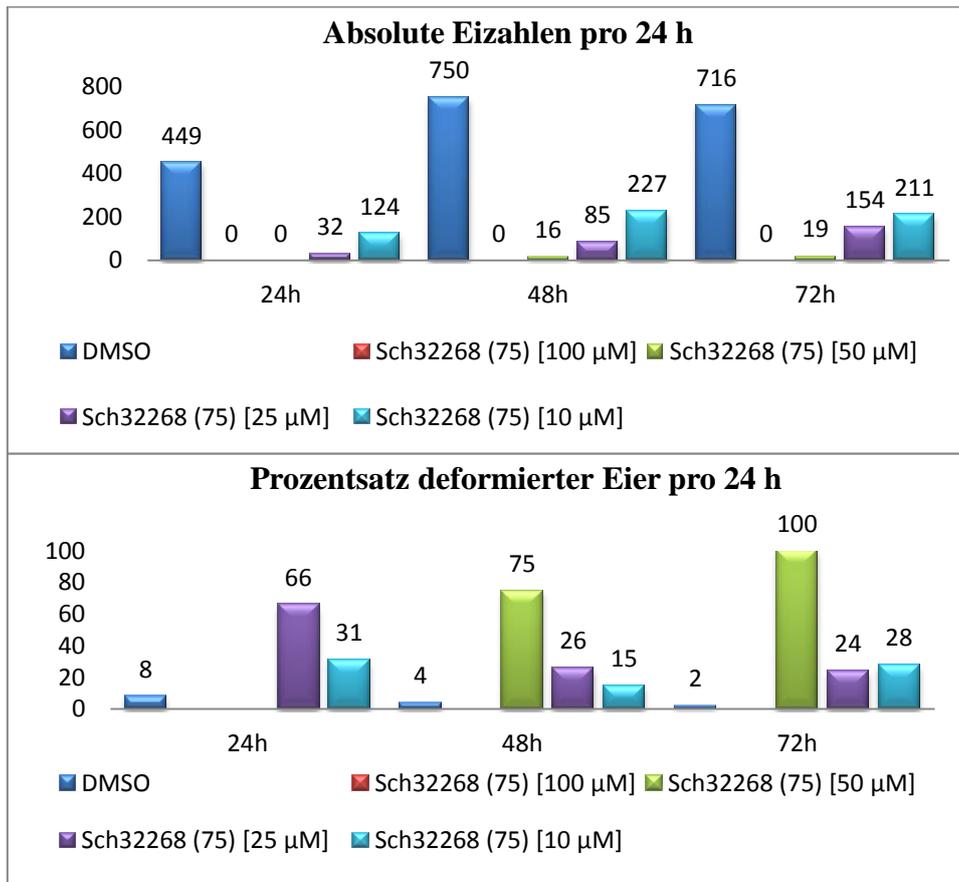


Abbildung 23: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit Verbindung **75** (Sch32268) in Abhängigkeit der Konzentration.

Während nach Auswertung der *in vitro* Testung von Verbindung **75** angenommen wurde, dass mit der Reduktion der Carbonylgruppe ein Anstieg der Aktivität einhergeht, lieferte die Testung des Pentansäurederivates **76** komplett gegenteilige Ergebnisse. Bei einer Konzentration von 100 µM kam es im Vergleich zum 5-Oxopentansäurederivat **69** zu einem sprunghaften Anstieg der Eiproduktion bei gleichzeitiger Abnahme der Deformationsrate der Eier. Desweiteren zeigte Verbindung **76** nahezu keinen Einfluss auf die weiteren Testparameter. Die Schistosomen waren gepaart und mit Ausnahme von zwei Wurmpaaren am Schalenboden angesaugt, Parameter wie Vitalität, Motilität und Darmperistaltik waren vergleichbar mit denen der Negativkontrolle (DMSO). Ein Vergleich der Eiparameter ist in **Abbildung 24** zu finden.

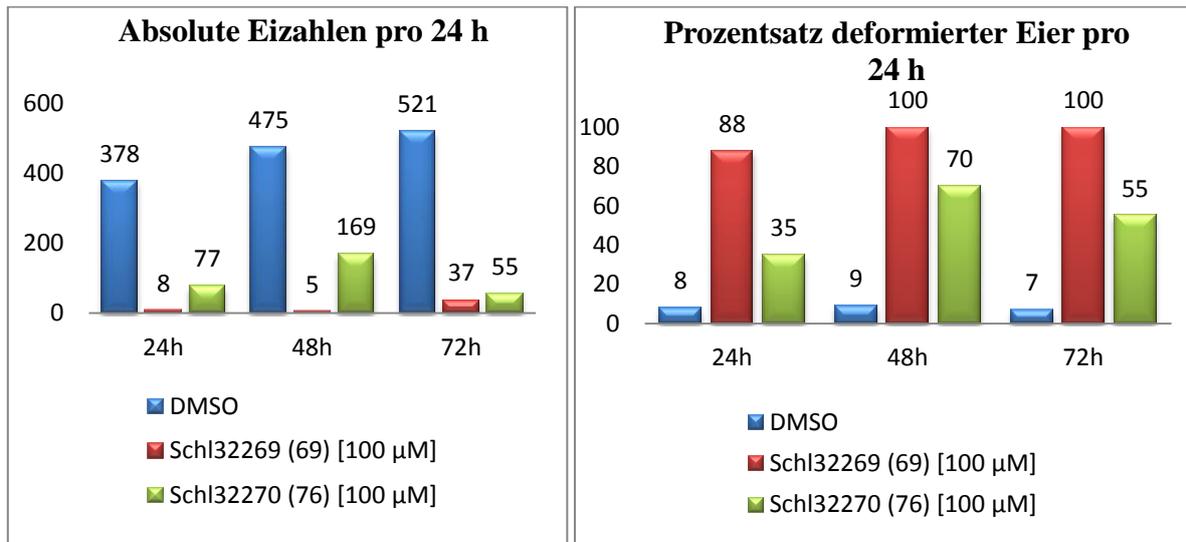


Abbildung 24: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit dem 4-Oxopentansäurederivat **69** (Schl32269) und dem Pentansäurederivat **76** (Schl32270).

Aufgrund dieser sehr gegensätzlichen Testergebnisse konnte zu diesem Zeitpunkt keine Aussage über die Notwendigkeit der Carbonylgruppe für die antischistosomale Aktivität getroffen werden. Zunächst wurde vermutet, dass es sich um einen Mess- beziehungsweise Verdünnungsfehler handeln könnte. Aber auch nach dreimaliger Testung der beiden Verbindungen sowie bei der Verwendung neuer Stammlösungen wurden vergleichbare Ergebnisse erzielt, sodass die Ergebnisse ohne genauere Strukturinformationen des Zielenzym beziehungsweise der Zielenzyme nicht erklärbar sind.

Beide Verbindungen (**75** und **76**) wurden trotz der widersprüchlichen Ergebnisse auf ihre Zytotoxizität getestet (HepG2-Zelllinie), zunächst bei einer Konzentration von 50 µM. Die gemessene Absorption, und somit das Zellwachstum, war dem der Negativkontrolle vergleichbar, sodass keine der beiden Verbindungen einen toxischen Effekt auf die Leberzelllinie zeigte. Anschließend wurde die Konzentration beider Verbindungen auf 100 µM erhöht. Dabei zeigte auch bei 100 µM keine der beiden Verbindungen toxische Effekte auf die gewählte Leberzelllinie (vgl. **Abbildung 25**).

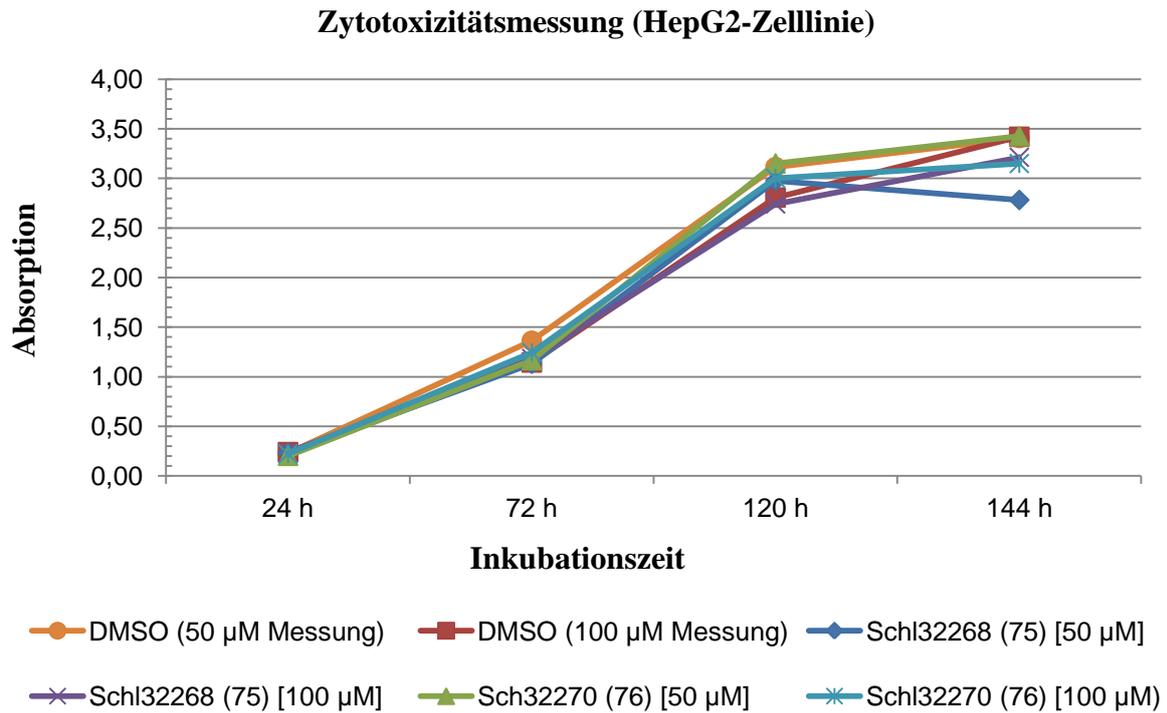


Abbildung 25: Auswertung der Zytotoxizitätsmessung (HepG2-Zelllinie) der Verbindungen **75** (Schl32268) und **76** (Schl32270).

Da sich *S. mansoni* vor allem in den Mesenterialvenen, also in der Darmwand, einnisten, sollte ein potentiell therapeutisch nutzbarer Inhibitor dort bioverfügbar sein und sich optimalerweise dort anreichern.^[49] Daher wurden alle Verbindungen, welche gegenüber der HepG2-Zelllinie keine Zytotoxizität zeigten, auf ihr zytotoxisches Potential gegenüber der Darmepithelzelllinie LS174T untersucht. Bei den analog zur HepG2-Zelllinie verlaufenden Messungen wurden beide Verbindungen ebenfalls bei Konzentrationen von 50 µM und 100 µM getestet. Dabei konnte nachgewiesen werden, dass weder Verbindung **75** noch Verbindung **76** zytotoxisch auf die verwendete LS174T-Zelllinie wirkt (vgl. **Abbildung 26**). Die Abnahme der Absorption (und daraus resultierend der Zellzahl) nach 120 Stunden ist charakteristisch für die LS174T-Zelllinie. Ab diesem Zeitraum sind zu viele Zellen vorhanden und können daher nicht mehr proliferieren, sie sterben teilweise aufgrund von Nährstoffmangel ab.

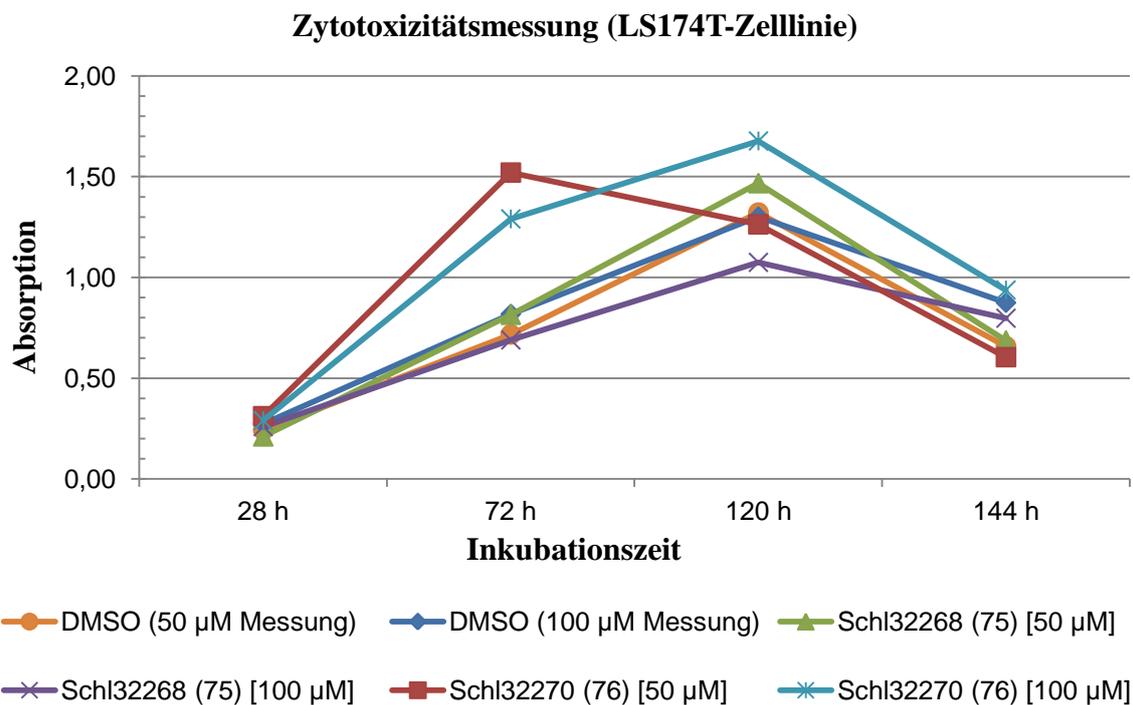
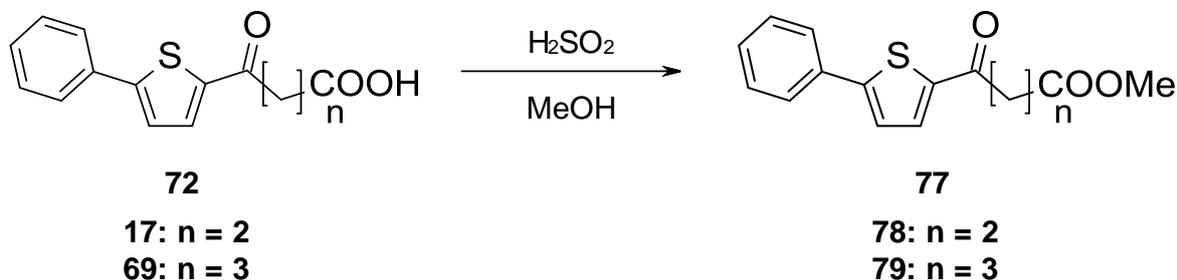


Abbildung 26: Auswertung der Zytotoxizitätsmessung (LS174T-Zelllinie) der Verbindungen **75** (Schl32268) und **76** (Schl32270).

A.2.3 Dritte Serie: Derivatisierung der Carbonsäurefunktion



Schema 6: Darstellung der Methylester **78** (Schl32267) und **79** (Schl32272).^[248]

Im anschließenden Optimierungsschritt wurde die Carbonsäurefunktion derivatisiert. Zunächst wurden die entsprechenden Methylester **78** und **79** durch Umsetzung der freien Carbonsäuren **17** und **69** mit Methanol unter Schwefelsäure-Katalyse dargestellt, wobei beide Derivate in moderaten Ausbeuten von 68% (Verbindung **78**) beziehungsweise 58% (Verbindung **79**) isoliert werden konnten.^[248] Der Syntheseweg ist in **Schema 6** dargestellt. Die Methylester **78** und **79** stellen *Prodrugs* der entsprechenden Carbonsäurederivate dar und sollten (idealerweise) aufgrund der fehlenden negativen Ladung der Carboxylatgruppe die Bioverfügbarkeit bei vergleichbarer Zytotoxizität erhöhen.

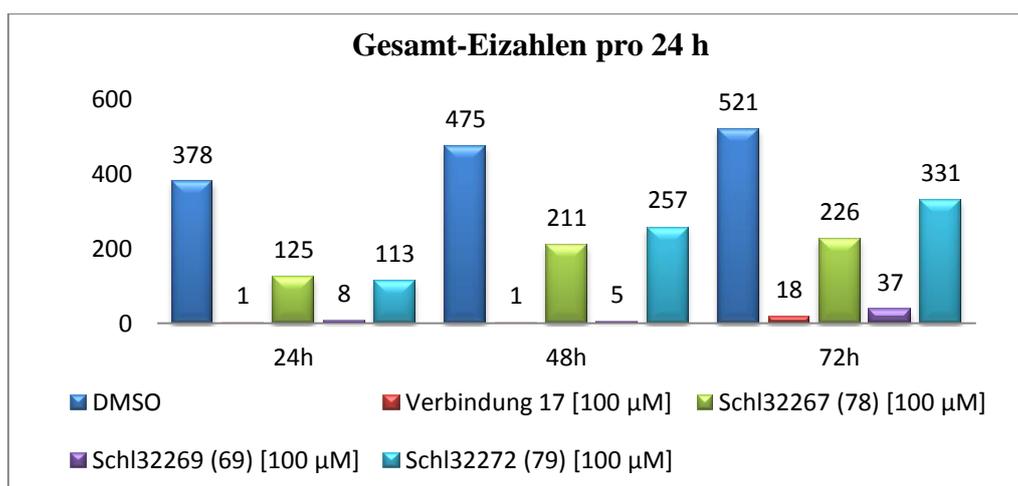


Abbildung 27: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Carbonsäurederivaten **17** und **69** (Schl32269) und den Methylestern **78** (Schl32267) und **79** (Schl32272).

Die Idee der erhöhten Bioverfügbarkeit und der daraus resultierenden gesteigerten antischistosomalen Aktivität konnte bei der anschließenden *in vitro*-Testung nicht bestätigt werden. Beide Verbindungen, unabhängig von der Kettenlänge des Linkers, lieferten bei der initial getesteten Konzentration von 100 μM vergleichbare Ergebnisse wie die der Carbonsäurederivate **17** und **69** (vgl. **Abbildung 27**). Es konnte keine bessere Inhibition der Eiproduktion, negative Effekte auf die Paarungsstabilität und Vitalität der Schistosomen oder neue Phänotypen wie Blasenbildung des Teguments beobachtet werden. Zunächst wurde vermutet, dass die Schistosomen keine adäquate Esterase zur Spaltung des Methylester verfügen, sodass die Carbonsäure nicht freigesetzt werden konnte. Aufgrund schlechter Löslichkeit der beiden Methylester **78** und **79** im Medium wurden teils massive Substanzablagerungen am Schalenboden beobachtet (vgl. **Abbildung 28**). Dadurch lässt sich möglicherweise das Ausbleiben der Aktivitätssteigerung erklären.

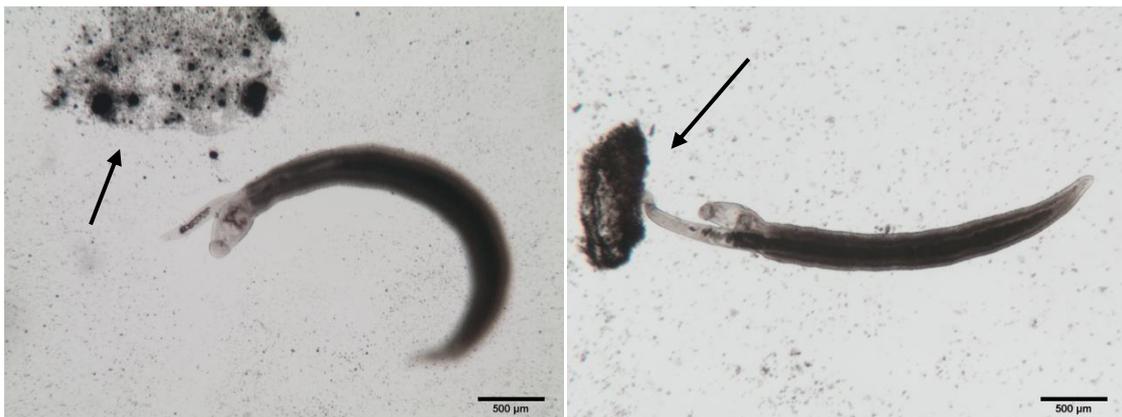
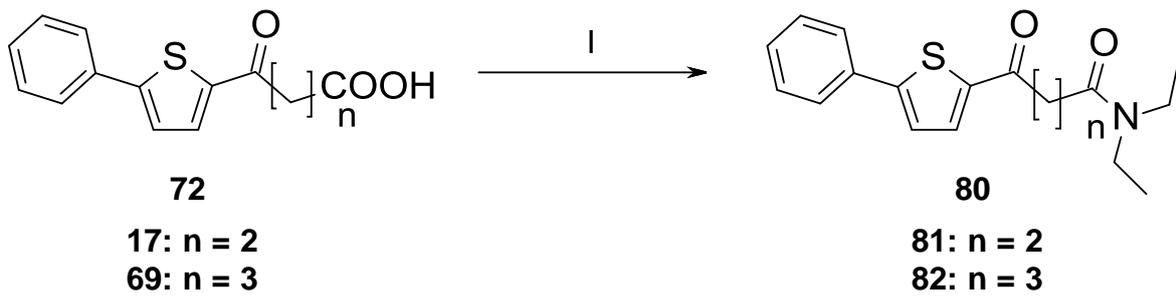


Abbildung 28: Beobachtete Substanzablagerungen (Pfeil) bei der *in vitro* Testung; links: Verbindung **78** (Schl32267), rechts: Verbindung **79** (Schl32272).

Beide Methylester (**78** und **79**) wurden anschließend trotz der wenig zufriedenstellenden Testergebnisse auf ihre Zytotoxizität getestet. Hierbei konnten für beide Verbindungen weder in der HepG2-Zelllinie noch in der LS174T-Zelllinie bei hohen Konzentrationen (100 μM) toxische Effekte nachgewiesen werden.



Schema 7: Darstellung der Carbonsäureamide **81** (Schl32266) und **82** (Schl32271).^[249]

(I) DCM, HNEt₂, EDC·HCl, HOBt, NEt₃, 30 h, -5 °C → RT

Da die Veresterung der Carbonsäure nicht die gewünschte Aktivitätssteigerung mit sich brachte, wurde die Carbonsäurefunktion im nächsten Schritt in ein Carbonsäureamid überführt. Die Synthese der Carbonsäureamide erfolgte ausgehend von der entsprechenden Carbonsäure **17** oder **69** durch Reaktion mit Diethylamin unter der Verwendung von Kupplungsreagenzien (EDC·HCl, HOBt) und Triethylamin als Base (vgl. **Schema 7**). Diese milde Methode lieferte die entsprechenden Amide **81** und **82** in guten Ausbeuten.^[249]



Abbildung 29: Mit Verbindungen **81** (Schl32266) behandelte Schistosomen. Dunkle Ovarie (mit Anisocytose) sind mit einem Pfeil markiert.

Verbindung **81** zeigte *in vitro* sehr gute Ergebnisse. Sowohl bei einer Konzentration von 100 μM als auch bei einer Konzentration von 50 μM wurde die Eiproduktion nahezu komplett inhibiert und es kam zur Entpaarung aller 10 Schistosomen-Pärchen. Die Schistosomen

zeigten eine stark verringerte Vitalität und Motilität, sowie eine stagnierende Darmperistaltik. Desweiteren wurden bei den Schistosomen-Weibchen morphologische Veränderungen des Ovars beobachtet. Es kam neben einer Dunkelfärbung zur Anisocytose des Ovars, wobei die Zellgrenzen unscharf und teils sehr große Zellen oder Zellhaufen erkennbar waren (vgl. **Abbildung 29**). Ab einer Konzentration von 25 μM wurde jedoch, ebenso wie bei den anderen getesteten Verbindungen, nur noch ein negativer Einfluss auf die Eiproduktion beobachtet. Dieser war schwächer ausgeprägt als bei den vorher getesteten Konzentrationen (vgl. **Abbildung 30**). Somit ist auch Verbindung **81** ab einer Konzentration von 25 μM inaktiv.

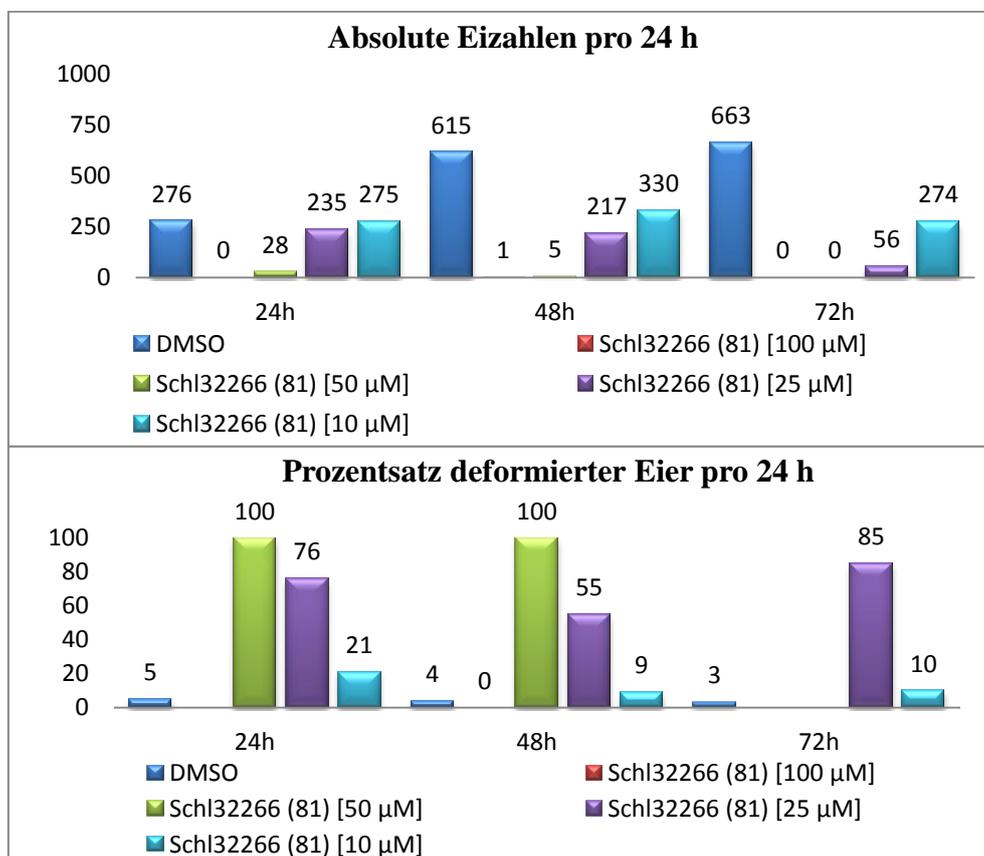


Abbildung 30: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit dem Carbonsäureamid **81** (Schl32266).

Mit Verbindung **82** zeigte erstmals eine Verbindung *in vitro* bei einer Konzentration von 100 μM einen letalen Effekt auf die Schistosomen, welcher bereits nach 24 Stunden eintrat. Wie bei Verbindung **81** kam es neben der Entpaarung aller Schistosomen-Pärchen zur kompletten Inhibition der Eiproduktion. Desweiteren wurden teils massive Tegumentblasen,

Ablösung des Teguments, der Verlust von inneren Strukturen sowie massive Dilatationen des Ösophagus und des Darms beobachtet (vgl. **Abbildung 31**). Die beobachteten Phänotypen sind, mit Ausnahme der Tegumentblasen und der Ablösung des Teguments, bei diesem Derivat zum ersten Mal beobachtet wurden. Analog zu den Beobachtungen bei Verbindung **66** wurde vermutet, dass Verbindung **82** Einfluss auf verschiedene Zielstrukturen haben könnte. Bei einer Konzentration von 50 μM wurden die gleichen Effekte beobachtet, jedoch war diese Konzentration nicht mehr letal für die Schistosomen. Die Vitalität und Motilität war jedoch stark erniedrigt.

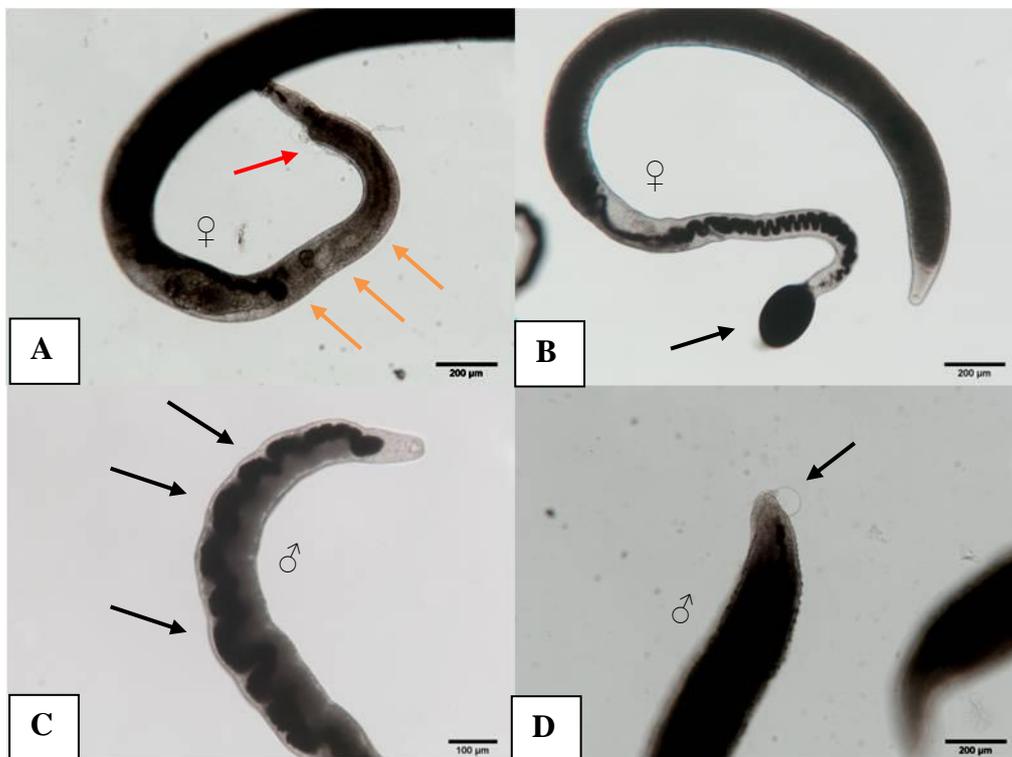


Abbildung 31: Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **82** (Schl32271). **A:** Tegumentablösung (roter Pfeil) und Strukturverlust/Anisocytose (orange Pfeile); **B:** Ösophagus-Dilatation; **C:** Darmdilatation; **D:** Tegumentblase am Schwanzende.

Anschließend wurde die Konzentration weiter reduziert. Bei einer Konzentration von 25 μM wurde die Eiproduktion bei hohen Deformationsraten um 74% reduziert (vgl. **Abbildung 32**). Die Schistosomen waren mit Ausnahme eines Pärchens alle gepaart, jedoch war keines der Pärchen am Schalenboden festgesaugt, was auf eine reduzierte Vitalität schließen ließ. Weitere Phänotypen konnten jedoch nicht beobachtet werden. Wurde die Konzentration von

Verbindung **82** auf 10 μM reduziert, konnte keine antischistosomale Aktivität festgestellt werden.

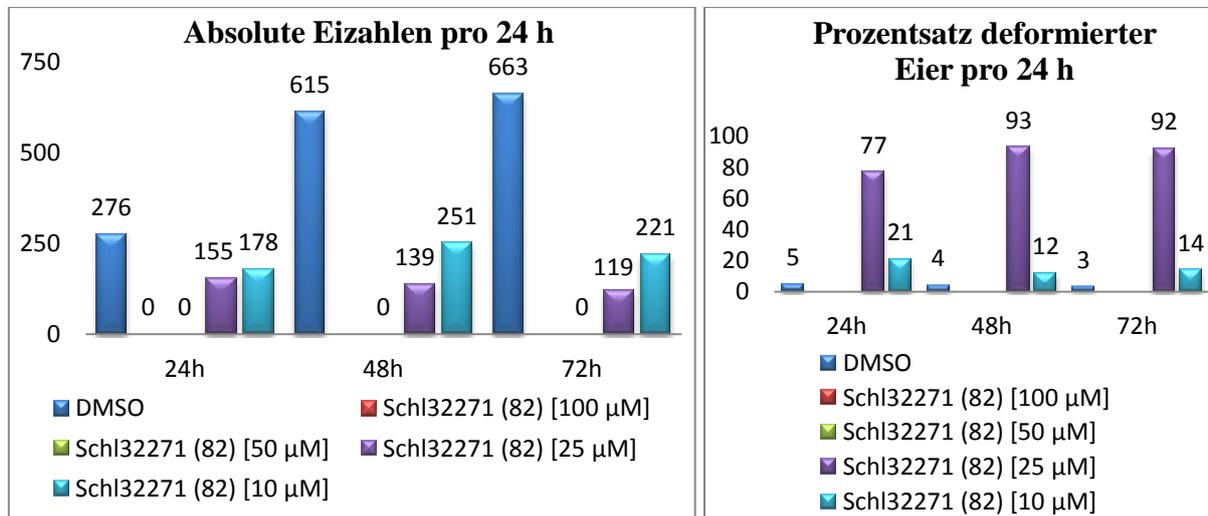


Abbildung 32: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit Verbindung **82** (Schl32271) in Abhängigkeit der Konzentration.

Da beide Verbindungen eine sehr gute antischistosomale Aktivität zeigten, wurde anschließend ihre Zytotoxizität bestimmt. Die Messung in der HepG2-Zelllinie zeigte, dass beide Verbindungen bei einer Konzentration von 100 μM toxisch auf die Zellen wirken, wobei die Toxizität von Verbindung **82** stärker ausgeprägt war als die von Verbindung **81** (vgl. **Abbildung 33**). Niedrigere Konzentrationen (50 μM) lieferten vergleichbare Ergebnisse. Aufgrund dessen wurde auf eine Zytotoxizitätsbestimmung in der LS174T-Zelllinie verzichtet.

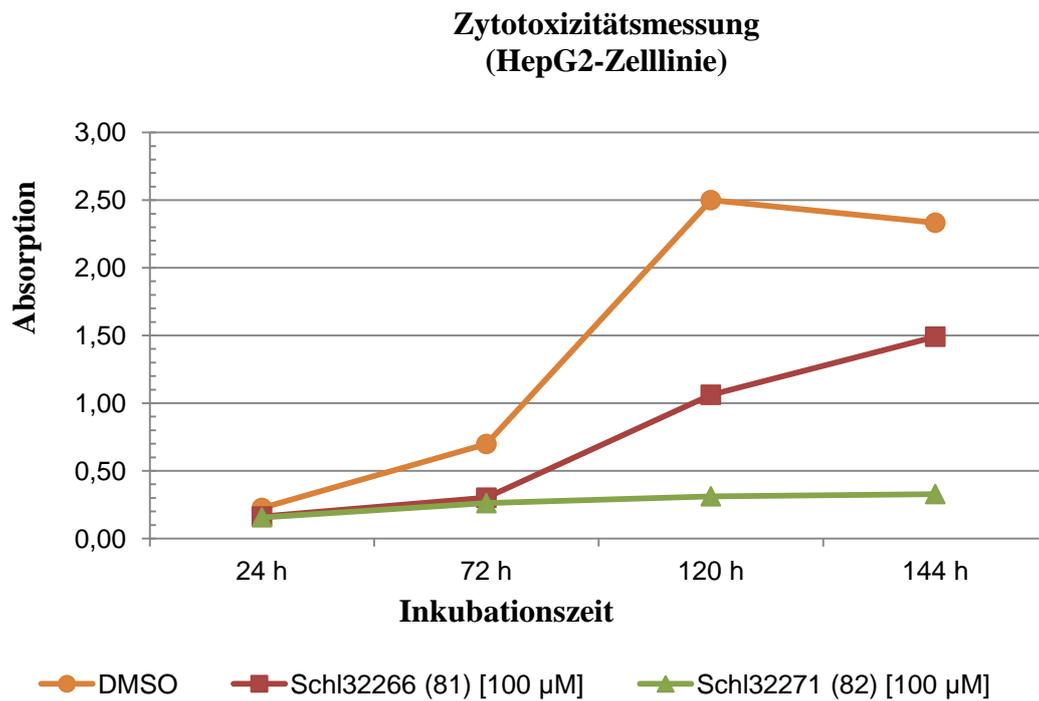


Abbildung 33: Auswertung der Zytotoxizitätsmessung [100 µM] in HepG2 der Verbindungen **81** (Schl32266) und **82** (Schl32271).

A.2.4 Vierte Serie: Kombination der besten Substituenten

Nachdem alle gewünschten Derivate dargestellt und auf ihre antischistosomale Aktivität getestet wurden, sollten in der abschließenden Serie die besten Substituenten miteinander kombiniert werden.

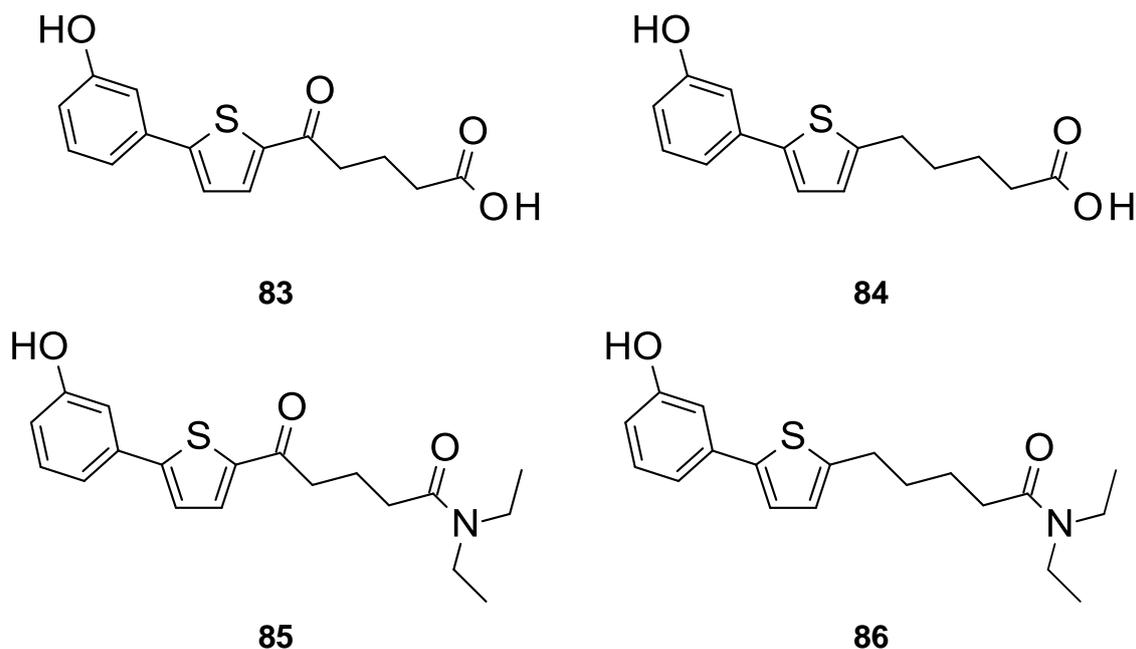


Abbildung 34: Strukturformeln der Derivate der Kombinationsserie.

In Position 3 des terminalen Phenyl-Rings wurde aufgrund der beobachteten Aktivitätssteigerung der Hydroxy-Substituent beibehalten. Die Auswahl der Länge des Linkers gestaltete sich weniger eindeutig. Beim Vergleich des unsubstituierten 4-Oxobutansäurederivats **17** mit dem entsprechenden 5-Oxopentansäurederivats **69** konnten nur geringe Unterschiede in der Aktivität beobachtet werden, was auf keinen signifikanten Unterschied der Kettenlänge des Linkers hindeutete. Beim Vergleich der beiden Carbonsäureamid-Derivate **81** und **82** wurde jedoch festgestellt, dass die Verbindung **82**, welche die um eine Methyleneinheit längere Linker-Kette aufweist, eine sehr viel bessere antischistosomale Aktivität besitzt (stärker ausgeprägte Phänotypen, letaler Effekt bei 100 μ M, stärkere Inhibition der Eiproduktion und -deformation). Deshalb wurde bei der abschließenden Serie entschieden, die entsprechenden Pentansäurederivate darzustellen. Angesichts des noch nicht abschließend geklärten Einflusses der 5-Oxogruppe auf die

antischistosomale Aktivität der Derivate, wurden sowohl die Derivate mit als auch ohne Carbonylgruppe dargestellt.

Tabelle 12: Übersicht der Gesamtausbeuten der Verbindungen **83-86**.

Bezeichnung	Nummer	Gesamtausbeute	Stufen
Schl32356	83	27%	2
Schl32357	84	17%	3
Schl32358	85	11%	3
Schl32359	86	14%	3

Aufgrund der vorangegangenen Testergebnisse sollten des Weiteren die Derivate mit der freien Carbonsäure und auch die entsprechenden Carbonsäureamide dargestellt werden. Die Strukturformeln der entsprechenden Derivate der finalen Serie sind in **Abbildung 34** dargestellt. Die Synthese der vier Derivate erfolgte analog zur Darstellung der vorangegangenen Verbindungen. Die Gesamtausbeuten sind in **Tabelle 12** dargestellt.

Zunächst wurden die beiden Carbonsäurederivate **83** und **84** *in vitro* getestet. Dabei zeigten beide Verbindungen einen starken Aktivitätsanstieg und wirkten bis zu einer Konzentration von 25 µM letal auf die Schistosomen, wobei der letale Effekt bei Verbindung **83** früher eintrat (Verbindung **83**: Tod nach 48 Stunden; Verbindung **84**: Tod nach 72 Stunden). Sowohl die Eiproduktion und –morphologie als auch die Paarungsstabilität wurden massiv beeinträchtigt. Beide Verbindungen lösten (partielle) Dilatationen des Darms sowie Blasenbildung und teilweise Ablösung des Teguments aus. Dabei konnten Tegumentfetzen im Medium beobachtet werden. Desweiteren kam es zum Verlust von inneren Strukturen, bei Weibchen zur Anisocytose des Ovars und zum ödematösen Aufquellen der Schistosomen, wovon Männchen stärker betroffen waren als Weibchen (vgl. **Abbildung 35**).



Abbildung 35: Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **83** (Schl32356) und **84** (Schl32357). **A:** Tegmentablösung, Tegmentfetzen im Medium (schwarzer Kasten); **B:** Verlust innerer Strukturen; **C:** aufgequollenes Männchen mit Tegmentablösung; **D:** Darmdilatation (schwarzer Pfeil), Anisocytose des Ovars (roter Pfeil).

Ab einer Konzentration von 10 µM wirkten beide Verbindungen nicht mehr letal auf die Schistosomen. Dennoch traten die oben genannten Phänotypen in vergleichbarer Stärke auf. Die Vitalität und Motilität der Würmer war auf ein Minimum reduziert. Bei einer Reduktion der Konzentration auf 5 µM konnte keine antischistosomale Aktivität mehr nachgewiesen werden. Die Auswertung der Eiproduktion und -deformation beider Verbindungen ist in **Abbildung 36** für 10 µM und 5 µM dargestellt. Aufgrund der Diversität der beobachteten Phänotypen muss auch hier von einer Wirkung auf mehrere Zielstrukturen ausgegangen werden. Durch die *in vitro*-Testung der beiden Carbonsäurederivate **83** und **84** kann zudem postuliert werden, dass die Carbonylgruppe nicht essentiell für die antischistosomale Aktivität zu sein scheint. Beide Verbindungen lieferten bei gleicher Konzentration vergleichbare Ergebnisse und es konnte weder ein Anstieg noch ein Abfall der Aktivität beobachtet werden.

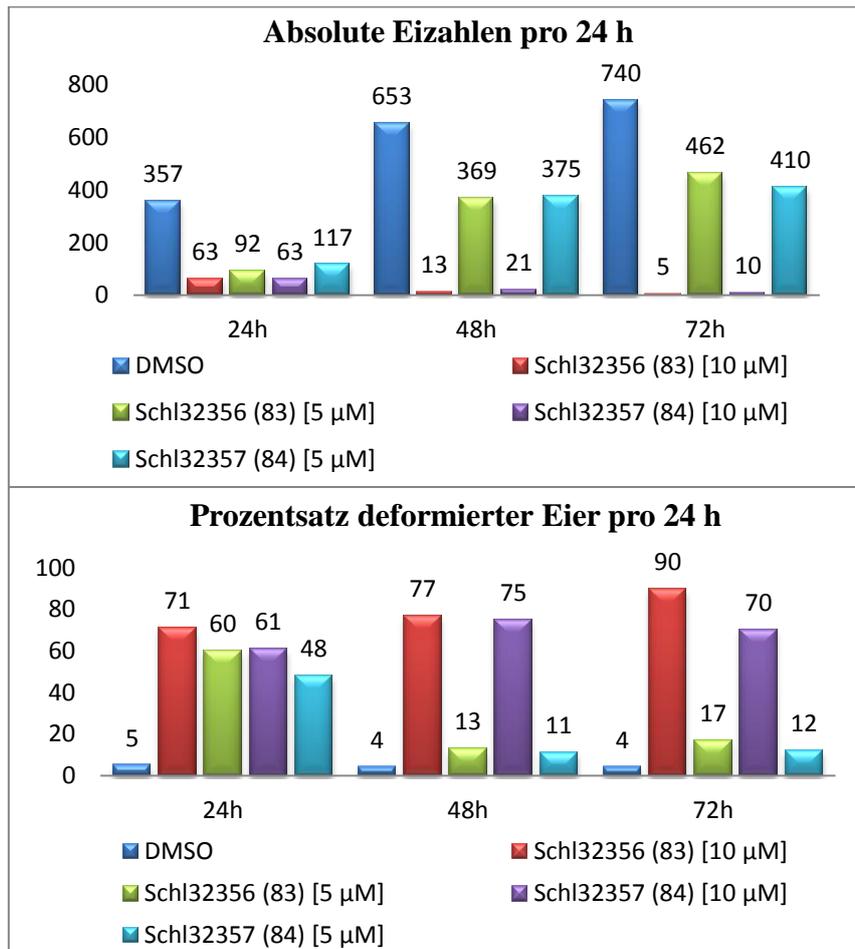


Abbildung 36: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **83** (Schl32356) und **84** (Schl32357) in Abhängigkeit der Konzentration.

Im Anschluss wurden die beiden Carbonsäureamide **85** und **86** getestet. Analog zu den Verbindungen **83** und **84** wurde eine sehr gute antischistosomale Aktivität festgestellt, auch wenn beide Carbonsäureamidderivate keinen letalen Effekt zeigten. Nichtsdestotrotz kam es bis zu einer Konzentration von 10 µM zur nahezu kompletten Reduktion der Eiproduktion bei hohen Deformationsraten der verbliebenen Eier, Entpaarung aller Schistosomen-Pärchen sowie einer drastischen Verringerung der Vitalität und Motilität der Würmer. Der Einfluss der Substanzen auf Eiproduktion und -deformation war mit dem der Carbonsäurederivate vergleichbar. Desweiteren konnten Effekte wie Tegumentschädigungen und -ablösungen, Dilatationen des Darms, ödematöses Aufquellen der Schistosomen sowie der Verlust von inneren Strukturen und Anisocytose bestätigt werden (vgl. **Abbildung 37**). Bei einer weiteren Verringerung der Konzentration auf 5 µM konnte, analog zu den Carbonsäurederivaten **83**

und **84**, auch bei beiden Carbonsäureamiden (**85** und **86**) keine antischistosomale Aktivität mehr registriert werden. Ebenso erhärtete sich die These, dass aufgrund der Diversität der beobachteten Phänotypen von einer Wirkung auf mehrere Zielstrukturen ausgegangen wurde und dass die Carbonylgruppe aufgrund der vergleichbaren Ergebnisse nicht essentiell für die antischistosomale Aktivität zu sein scheint. Auch hier konnte weder ein Anstieg noch ein Abfall der Aktivität beobachtet werden.



Abbildung 37: Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **85** (Schl32358) und **86** (Schl32359). **A:** Darmdilatation (Pfeil); **B:** Tegumentblasen (Pfeil); **C:** Verlust innerer Strukturen und beginnende Anisocytose des Ovars (Pfeil); **D:** ödematös aufgequollenes Männchen mit Tegumentablösung.

Abschließend wurden alle Verbindungen der kombinatorischen Serie auf ihr zytotoxisches Potential getestet. Erfreulicherweise zeigten drei der vier Verbindungen bei 100 µM keine Zytotoxizität gegenüber der HepG2-Zelllinie. Verbindung **86** (Schl32359) war bei 100 µM toxisch, jedoch nicht bei 50 µM. In der LS174T-Zelllinie konnte nur für die Verbindungen **85** und **86** bei einer Konzentration von 100 µM kein zytotoxisches Potential nachgewiesen werden. Verbindung **83** und **86** zeigten ab einer Konzentration von 50 µM keine Zytotoxizität mehr. Die Auswertung der Zytotoxizitätsmessungen ist in **Abbildung 38** dargestellt.

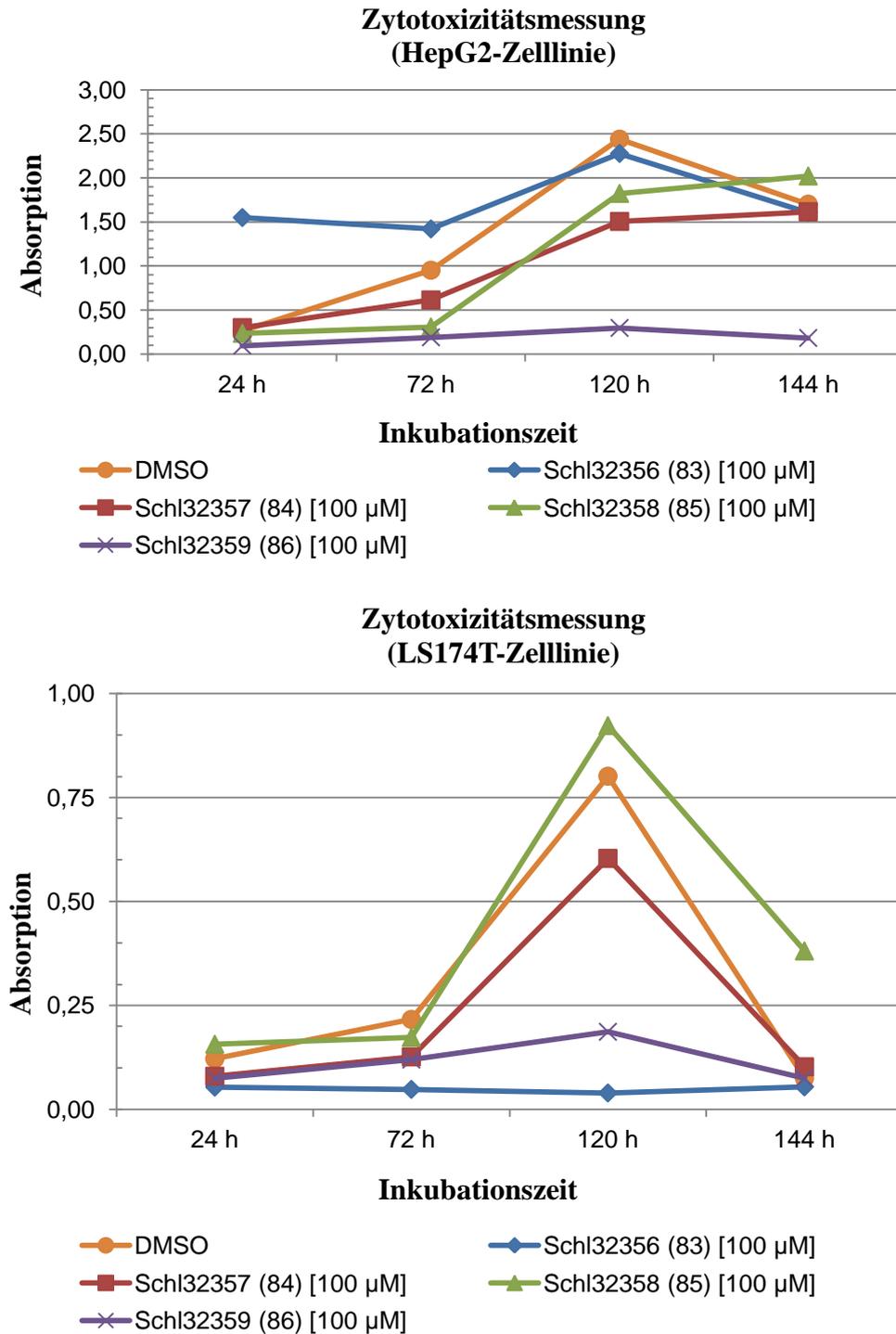


Abbildung 38: Auswertung der Zytotoxizitätsmessungen (oben: HepG2-Zelllinie; unten: LS174T-Zelllinie) der Verbindungen **83-86** (Schl32356-Schl32359).

Die Derivate **83** bis **85** stellen somit *in vitro* sehr gut wirksame antischistosomale Verbindungen mit positivem Toxizitätsprofil dar (mit leichter Einschränkung von

Verbindung **83**). Verbindung **86** überzeugte ebenfalls in ihrer Aktivität, muss aber hinsichtlich der nicht zufriedenstellenden Toxizitätsdaten noch weiter optimiert werden.

A.2.5 Struktur-Wirkungs-Beziehungen und Bewertung der Inhibitoren

Obwohl bisher keine genaue Information über das beziehungsweise die *Target(s)* vorliegen, konnten doch erste Struktur-Wirkungs-Beziehungen (SAR) gefunden werden.

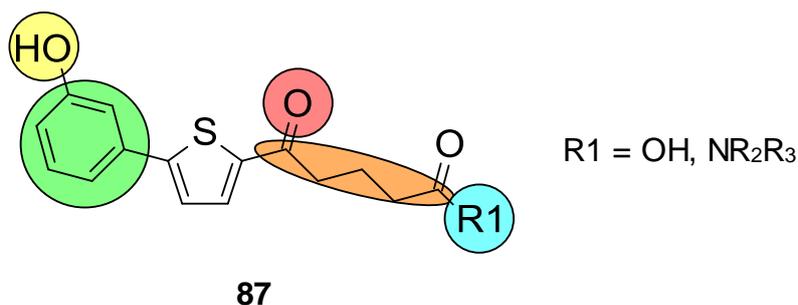


Abbildung 39: Ergebnisse der SAR der Biarylalkylcarbonsäure-Derivate.

Die Serie der initial getesteten Derivate zeigte, dass elektronenziehende Substituenten zu einem Verlust der Aktivität führen. Elektronenschiebende, lipophile und hydrophile Reste wurden in allen möglichen Positionen des terminalen Phenyl-Rings eingeführt. Die 3-Position des Phenyl-Rings konnte als einzige Position identifiziert werden, an der durch Substitution eine Aktivitätssteigerung induziert werden kann. Substitution an den anderen Positionen führte zu einer Wirkminderung bis hin zur vollkommenen Inaktivität. Die Einführung von Methyl- oder Alkoxy-Substituenten in 3-Position lieferte Verbindungen mit einer vergleichbaren Aktivität wie die Ausgangsverbindung **17**. Es konnte gezeigt werden, dass mit der Einführung eines Hydroxy-Substituenten in Position 3 des terminalen Phenyl-Rings ein deutlicher Anstieg der antischistosomalen Aktivität einhergeht (**gelb** markiert). Der Austausch der Hydroxygruppe gegen eine Amino-Gruppe führte zu einem Verlust der Aktivität.

Der Austausch des terminalen Phenyl-Rings gegen andere Aromaten wie Naphthyl oder der bioisostere Austausch gegen Thiophen-2-yl führten zu keinem Anstieg der Aktivität, sodass dieser bei den folgenden Derivaten beibehalten wurde (**grün** markiert).

Der Einfluss der Carbonylgruppe konnte nicht abschließend geklärt werden (**rot** markiert). Bei den bisher dargestellten Derivaten konnte kein signifikanter Unterschied der Aktivität in Abhängigkeit von der Anwesenheit der Carbonylgruppe beobachtet werden. Es bedarf noch weiterer Untersuchungen, um zu einem abschließenden Urteil zu kommen.

Desweiteren wurde der Einfluss der Kettenlänge des Linkers untersucht (**orange** markiert). Nach der Testung der unsubstituierten Derivate konnte kein Urteil über die optimale

Kettenlänge des Linkers getroffen werden. Dem gegenüber zeigten sowohl bei den beiden 3-Hydroxy-Derivaten als auch bei den Carbonsäureamid-Derivaten die Pentansäure-Derivate im Vergleich zu den um eine Methyleneinheit kürzeren Butansäure-Derivaten einen starken Anstieg der Aktivität, sodass nach dem aktuellen Kenntnisstand davon ausgegangen werden kann, dass diese Kettenlänge des Linkers vorteilhafter ist.

Abschließend wurde der Einfluss der Derivatisierung der Carbonsäure auf die antischistosomale Aktivität untersucht (cyan markiert). Der Versuch, die Aktivität durch Carbonsäureester zu erhöhen, schlug fehl. Es kam bei den getesteten Ester-Derivaten zur Präzipitation am Schalenboden, sodass dieser Ansatz aufgrund von vermutlich schlechter Löslichkeit verworfen wurde. Derivatisierung der Säurefunktion zum Carbonsäureamid führte zu vergleichbaren Aktivitäts-Werten und bietet einen guten Ansatzpunkt für weitere Optimierungsschritte.

Die Kombination der besten Strukturelemente resultierte in einem starken Anstieg der antischistosomalen Aktivität und dem Auftreten neuer, vielversprechender Phänotypen.



Abbildung 40: Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von PZQ (**1**).

Im Vergleich zu Praziquantel (**1**) waren alle dargestellten Verbindungen leicht schwächer wirksam. Praziquantel (**1**) zeigt *in vitro* bis zu einer Konzentration von 5 µM eine sehr gute antischistosomale Aktivität. Neben einem paralytischen Effekt nach 24 Stunden konnte eine nahezu vollständige Inhibition der Eiproduktion sowie das ödematöse Aufquellen der Schistosomen beobachtet werden (vgl. **Abbildung 40**). Zunächst wurde vermutet, dass PZQ (**1**) letal auf die Schistosomen wirkt. Setzt man jedoch mit PZQ-behandelte Schistosomen nach 24 Stunden in eine Schale mit Nährmedium, kann ein (teilweise) reversibler Effekt der Paralyse beobachtet werden. Ab einer Konzentration von 2.5 µM

konnten diese Effekte *in vitro* nicht mehr beobachtet werden. Jedoch ist zu vermuten, dass aufgrund der unterschiedlichen beobachteten Phänotypen die Biarylalkylcarbonsäure-Derivate einen anderen Wirkmechanismus aufweisen. Dies wäre aufgrund möglicher Resistenz-Bildungen gegen Praziquantel (**1**) vorteilhaft.

Tabelle 13: Definition von *Hit*- und *Lead*-Strukturen nach TDR.^[250]

	Testung gegen	Definition
Hit-Struktur	Adulte <i>S. mansoni</i>	100%ige Inhibition der Motilität bei einer Konzentration von 5µg/mL ⁻¹
Lead-Struktur	Adulte <i>S. mansoni</i>	Aktiv <i>in vivo</i> (Mäuse) bei subkutaner oder intraperitonealer Gabe einer 10%igen DMSO-Formulierung (5x100 mg/kg Körpergewicht) und statistisch signifikanter Reduktion der Wurmlast (>80%: hochwirksam) Nicht übermäßig toxisch in Tieren bei wirksamen Dosen

Da Begriffe wie *Hit*- und *Lead*-Strukturen auf verschiedene Weise definiert werden können und teilweise inflationär verwendet werden, wurde zur Einstufung der Derivate auf die Definitionen des *Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases* (TDR) der *World Health Organisation* zurückgegriffen, welche beide Begriffe speziell für Anthelminthika definiert haben (vgl. **Tabelle 13**).^[250] Demnach ist jede Verbindung, welche eine 100%ige Inhibition der Motilität bei einer Konzentration von 5µg/mL⁻¹ bewirkt, als *Hit*-Struktur zu bewerten.

Tabelle 14: Bewertung der vier besten Verbindungen **83-86** nach den TDR-Kriterien.

Bezeichnung	#	Molmasse [g/ mol]	Geringste wirksame Konzentration [μM]	Konzentration in $\mu\text{g/ mL}^{-1}$	Hit-Struktur nach TDR
Schl32356	83	290.33	10	2.90	Ja
Schl32357	84	276.35	10	2.76	Ja
Schl32358	85	345.46	10	3.45	Ja
Schl32359	86	317.44	10	3.17	Ja

Die *in vitro*-Ergebnisse der besten Verbindungen **83-86**, welche alle die Motilität inhibierten, zeigen, dass die als Grenzwert gewählte Konzentration von $5 \mu\text{g/ mL}^{-1}$ von allen vier Derivaten unterschritten wurde (vgl. **Tabelle 14**). Somit sind alle vier Verbindungen nach TDR als *Hit*-Struktur zu klassifizieren. Daher würde nun die *in vivo*-Testung im Mausmodell anschließen, um zu verifizieren, ob aus den gefundenen *Hit*-Strukturen eine oder mehrere *Lead*-Strukturen hervorgehen (Kriterien siehe **Tabelle 13**). Eine mögliche *in vivo*-Testung wäre aufgrund der durchgeführten Zytotoxizitätsstudien jedoch nur für die Verbindungen **84** und **85** zu empfehlen (**Abbildung 41**).

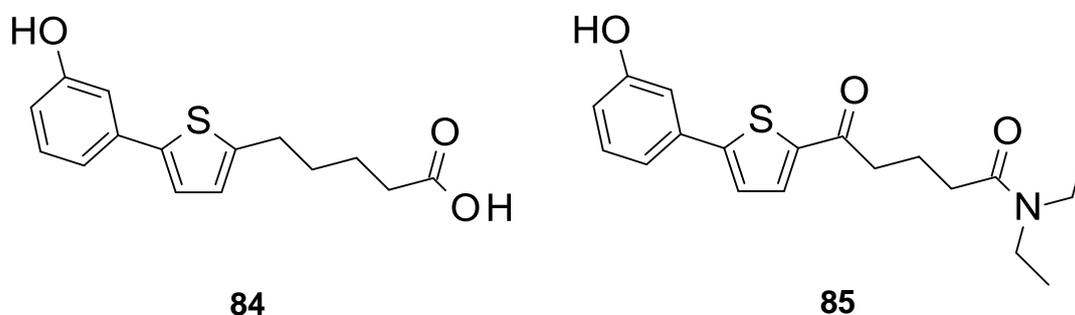


Abbildung 41: Strukturformeln der für eine *in vivo*-Testung potentiell infrage kommenden Derivate **84** und **85**.

A.3 Zusammenfassung und Ausblick

Vernachlässigte Tropenerkrankungen beschreiben eine Gruppe von Infektionskrankheiten, welche weltweit mehr als 1,5 Milliarden Menschen betreffen und für schätzungsweise 550.000 Todesfälle pro Jahr verantwortlich sind, wobei die Dunkelziffer noch deutlich höher liegt.^[1] Ein enormer Teil dieser Erkrankungen wird durch Helminthen ausgelöst. Davon stellt die durch *Schistosoma spp.* ausgelöste Schistosomiasis mit einer geschätzten Prävalenz von 240 Millionen den größten Teil dar. Mit Praziquantel (**1**) und Oxamniquin (**13**), welches nur gegen *S. mansoni* wirksam ist, stehen nur zwei Wirkstoffe zur Bekämpfung der Schistosomiasis zur Verfügung.^[49] Beide Wirkstoffe werden seit Jahrzehnten teils exzessiv eingesetzt, weshalb eine Bildung von Resistenzen vermutlich nur eine Frage der Zeit ist. Eine verminderte Sensitivität der Parasiten gegen die beiden Substanzen und erste Anzeichen für eine Resistenzentwicklung konnten bereits beobachtet werden.^[49] Daher ist es grob fahrlässig, sich bei der Behandlung von Millionen von Menschen nur auf PZQ (**1**) beziehungsweise Oxamniquin (**13**) zu verlassen. Die Entwicklung neuer antischistosomaler Wirkstoffe ist daher dringend notwendig.

Ziel dieser Arbeit war es, basierend auf der Grundstruktur einer initial getesteten Serie, die Substanzklasse der Biarylalkylcarbonsäure-Derivate als antischistosomale Wirkstoffe zu etablieren, idealerweise mit verbesserter Aktivität und geringem zytotoxischem Potential.

In einer ersten Optimierungsserie wurde der Einfluss des Substitutionsmusters des terminalen Phenyl-Rings untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass die Einführung eines Hydroxy-Substituenten in Position 3 des terminalen Phenyl-Rings einen Anstieg der Aktivität zur Folge hatte. Darüber hinaus konnte das Auftreten neuer phänotypischer Effekte beobachtet werden: Neben der vollständigen Inhibition der Eiproduktion konnte bei hohen Konzentrationen (100 μ M) unter anderem eine Schädigung des Teguments mit Blasenbildung und Ablösung beobachtet werden. Durch eine Vielzahl von getesteten Substitutionsmustern sowie dem Austausch des Phenyl-Rings durch andere aromatische Systeme konnten wichtige Informationen für eine erste Struktur-Wirkungs-Beziehung gewonnen werden. Das beste

Derivat dieser Serie zeigte jedoch nur bis zu einer Konzentration von 50 μM einen Effekt auf die Parasiten, diese wäre für einen therapeutischen Ansatz deutlich zu hoch.

In einer zweiten Optimierungsserie wurde, unter Beibehaltung des unsubstituierten Phenyl-Rings, der Einfluss der Kettenlänge des Linkers sowie die Notwendigkeit des Vorhandenseins der Carbonylgruppe untersucht. Erste Erkenntnisse deuteten darauf hin, dass die Verlängerung des Linkers um eine Methyleneinheit einen leichten Anstieg der Aktivität zu Folge hat. Der Einfluss der Carbonylgruppe konnte zu diesem Zeitpunkt aufgrund widersprüchlicher Ergebnisse nicht abschließend geklärt werden.

In der dritten Optimierungsserie wurde die Carbonsäure funktionalisiert. Dabei konnte gezeigt werden, dass eine Umwandlung in das entsprechende Methylester-Derivat eine schlechtere Löslichkeit der Derivate zur Folge hatte. Dadurch können keine Rückschlüsse auf eine mögliche Aktivitätsveränderung gezogen werden. Die entsprechenden Carbonsäureamide zeigten eine gesteigerte antischistosomale Aktivität. Neben negativen Effekten auf die Eiproduktion wurden die Vitalität, Motilität, Paarungsstabilität sowie die Darmperistaltik der Würmer reduziert.

In der abschließenden Serie wurden die besten Substituenten jeder Serie miteinander kombiniert. Dabei zeigte sich, dass die Effekte der jeweiligen Substituenten additiv zu sein scheinen. Bis zu Konzentrationen von 25 μM kam es neben dem Auftreten mehrerer phänotypischer Effekte zu einem starken Anstieg der antischistosomalen Aktivität mit letalen Effekten. Die besten Derivate der Reihe zeigten bis zu einer Konzentration von 10 μM eine deutliche antischistosomale Wirkung. Die multiplen Effekte der Verbindungen lassen darauf schließen, dass eine Wirkung auf verschiedene Zielstrukturen anzunehmen ist. Diese konnten bis dato nicht identifiziert werden. Eine Zusammenfassung der Optimierungsschritte der Substanzklasse der Biarylalkylcarbonsäure-Derivate ist in **Abbildung 42** dargestellt.

Nach der Definition des *Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases* (TDR) stellen die vier Derivate der Kombinationsserie *Hit*-Strukturen dar, da sie in der Lage waren, eine 100%ige Inhibition der Motilität von adulten *S. mansoni*-Würmern bei einer Konzentration von $5\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ hervorzurufen.^[250] In den Zytotoxizitätsmessungen wurden sehr gute Ergebnisse erhalten, wobei die Derivate **84** und **85** bis zu einer Konzentration von 100 μM in keiner der getesteten Zelllinien ein zytotoxisches Potential zeigten.

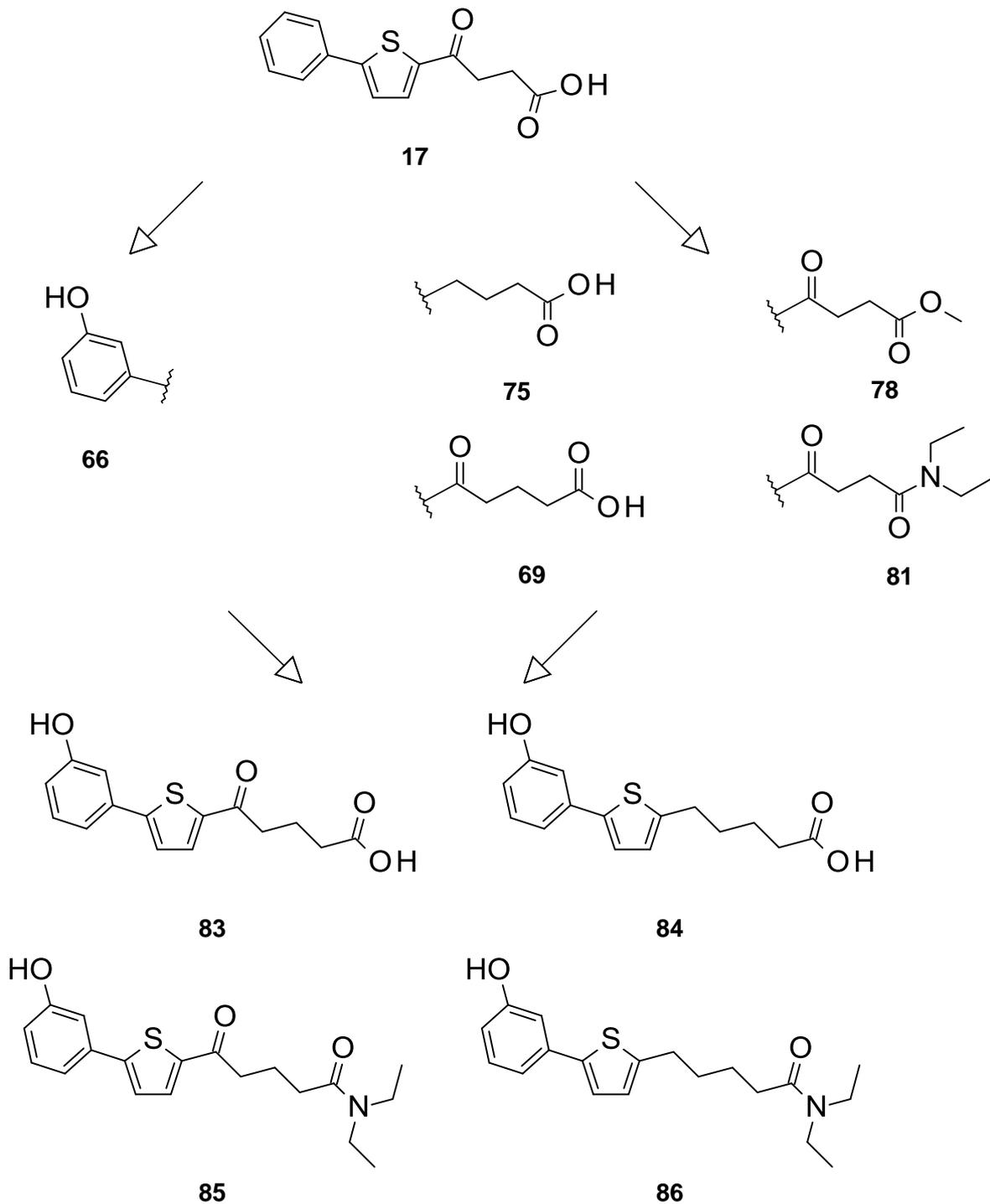


Abbildung 42: Zusammenfassung der Optimierungsschritte der Substanzklasse der Biarylalkylcarbonsäure-Derivate.

Praziquantel (**1**) ist *in vitro* bis 5 μM wirksam, die besten Derivate der Reihe **84** und **85** sind nur um Faktor 2 schlechter. Da diese Substanzen neben einer sehr guten antischistosomalen

Aktivität und einem geringem zytotoxischem Potential einen vermutlich anderen Wirkmechanismus besitzen, empfehlen sie sich für eine *in vivo*-Testung.

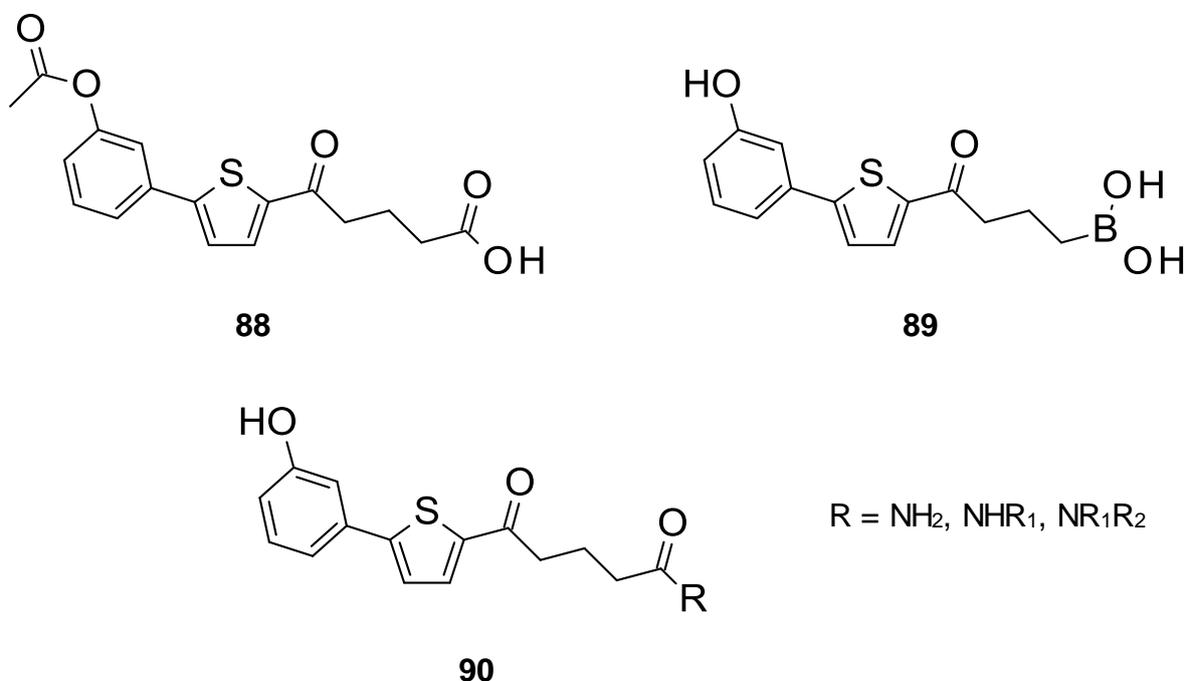


Abbildung 43: Mögliche Derivate zur weiteren Verbesserung der antischistosomalen Aktivität.

Nachdem das antischistosomale Potential der Substanzklasse der Biarylalkylcarbonsäure-Derivate mit dieser Arbeit belegt werden konnte, wäre eine Vertiefung der bisher erhaltenen Erkenntnisse wünschenswert. Vor allem eine Aufklärung des Wirkmechanismus, idealerweise auch eine Kristallstruktur des oder der *Target(s)* wäre wünschenswert. Da die Aufklärung des oder der molekularen *Target(s)* aber keineswegs trivial ist und noch Jahre dauern kann, gilt weiterhin der Grundsatz „Nur ein toter Wurm ist ein guter Wurm“. Ausgehend von den bisher gewonnenen Erkenntnissen wäre die Darstellung weiterer Carbonsäureamide interessant, um zu überprüfen, welchen Einfluss das Substitutionsmuster am Amid-Stickstoff auf die antischistosomale Aktivität ausübt. Außerdem wäre eine Untersuchung des Einflusses einer Acetylierung der Hydroxy-Gruppe des Phenyl-Rings auf die antischistosomale Aktivität interessant. Eine Substitution der Carbonsäurefunktion durch andere Säurederivate, wie zum Beispiel durch die Einführung einer terminalen Sulfon-, Phosphon- oder Boronsäure, wäre ein weiterer interessanter

Ansatzpunkt zur Verbesserung der antischistosomalen Aktivität (vgl. **Abbildung 43**). Die Verbindungsklasse der Biarylalkylcarbonsäure-Derivate kann also noch umfassend modifiziert werden, um potentielle Wirkstoff-Kandidaten für die Bekämpfung der Schistosomiasis bereit zu stellen.

Teil B

Synthese und biologische Testung von

Dithiocarbamat-Derivaten

als potentielle anthelmintische Wirkstoffe

gegen

S. mansoni

B.1 Vorarbeiten und Zielsetzung

Im Rahmen des Genomprojekts von *S. mansoni* wurden zwei Aldose-Reduktase-Orthologe identifiziert: Smp_150700 und Smp_053220.^[223-225] Auch wenn ihre Rolle im Bezug auf den Wirkmechanismus antischistosomaler Inhibitoren, wie zum Beispiel den der Biarylalkylcarbonsäure-Derivate, nicht belegt ist, ist die Familie der Aldo-Keto-Reduktasen Gegenstand aktueller Arbeiten.^[251-253] Dieser Familie NADPH-abhängiger Oxidoreduktasen gehören neben der Aldose-Reduktase unter anderem die Aldehyddehydrogenase, die Prostaglandin-F-Synthase und die Xylose-Reduktase an.^[254] Im Arbeitskreis *Grevelding* wurden bekannte Inhibitoren dieser Enzymgruppe auf ihr antischistosomales Potential getestet, unter anderem die humanen Aldehyddehydrogenase-Inhibitoren Disulfiram (**91**) und Coprin (**92**) (**Abbildung 44**).^[255]

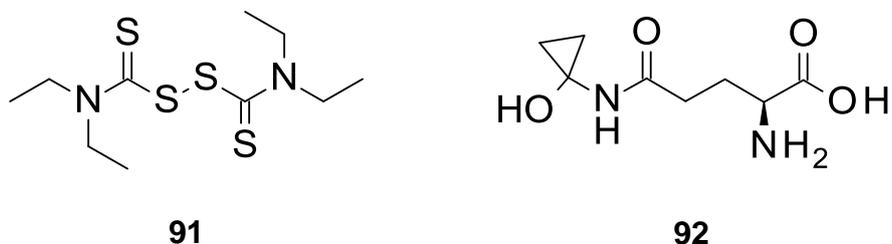


Abbildung 44: Strukturformeln von Disulfiram (**91**) und Coprin (**92**).

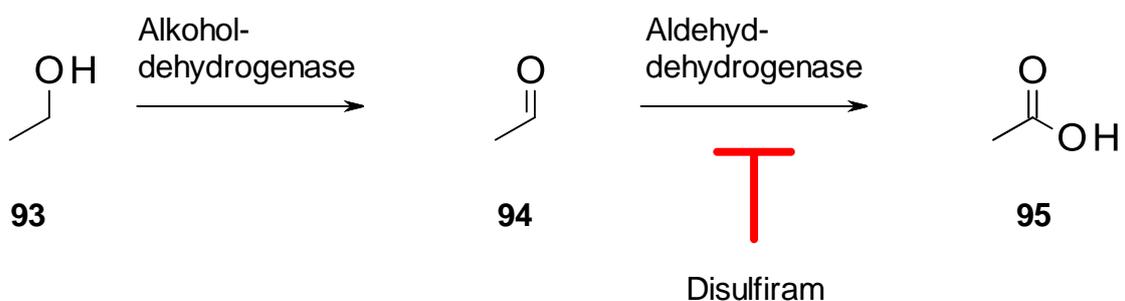
Dabei zeigte vor allem Disulfiram (**91**) *in vitro* eine gute antischistosomale Aktivität bei einer Konzentration von 100 μM . Neben der Entpaarung aller Schistosomen-Pärchen kam es zur nahezu vollständigen Inhibition der Eiproduktion, einschließlich sehr hoher Deformationsraten der produzierten Eier. Desweiteren waren die Vitalität und Motilität stark erniedrigt. Wie in **Abbildung 45** zu sehen ist, wurde durch die Behandlung mit Disulfiram (**91**) das Tegument stark angegriffen. Dabei kam es zur Bildung von Tegumentblasen sowie der großflächigen Ablösung des Teguments. Bei einer Konzentration von 50 μM konnten vergleichbare Ergebnisse beobachtet werden. Eine weitere Reduktion der

Konzentration auf 25 μM hatte eine geringere antischistosomalen Aktivität zur Folge. Die Tegumentschäden traten nicht mehr auf. Die anderen Parameter waren wesentlich weniger inhibiert.



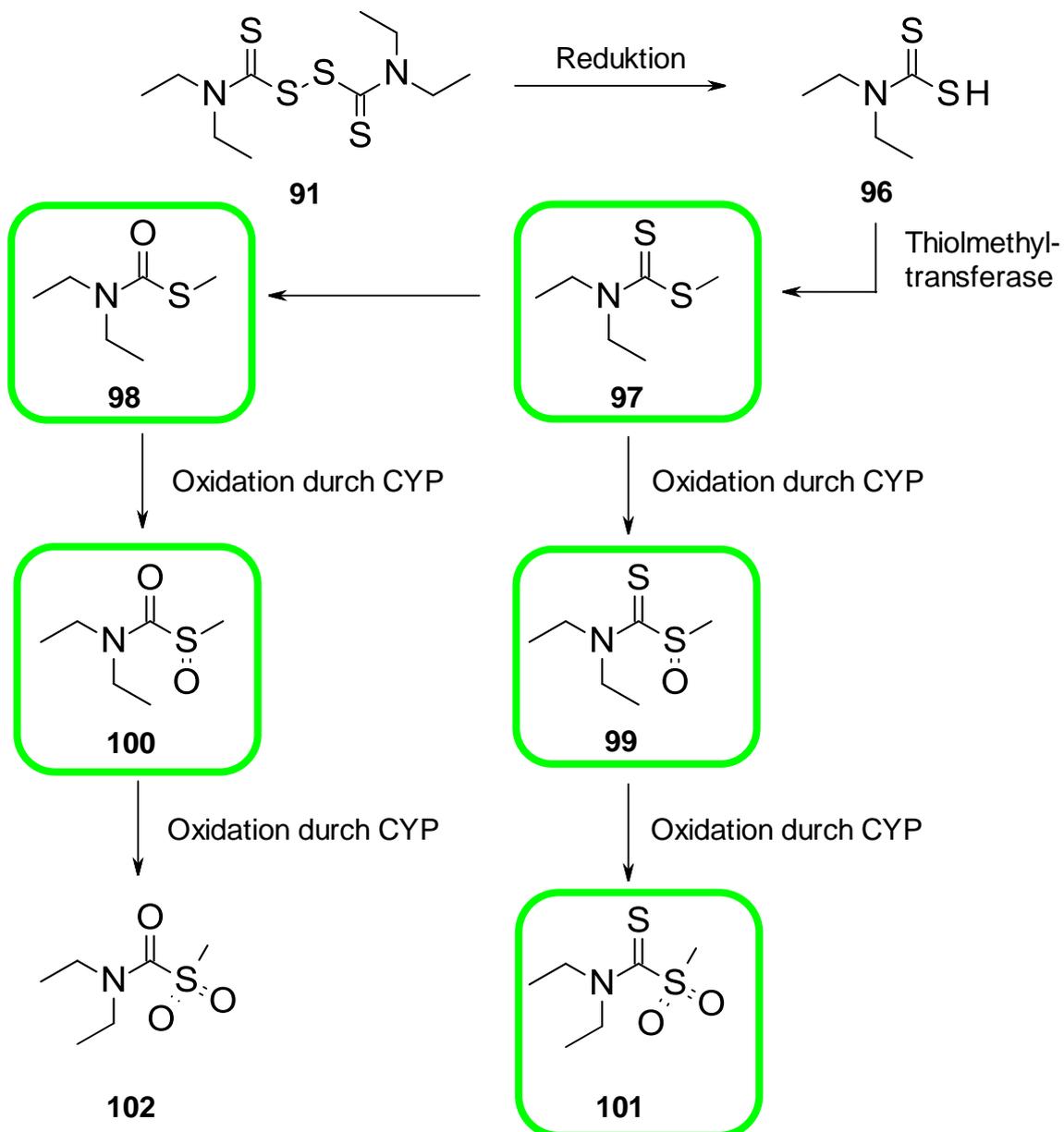
Abbildung 45: Mit Disulfiram (**91**) behandelte Schistosomen. Tegumentblasen und -ablösung sind mit einem Pfeil markiert.

Disulfiram (**91**), auch bekannt als Tetraethylthiuramdisulfid (TETD), wurde bereits 1951 zugelassen und lange Zeit als Arzneistoff zur Therapie der Alkoholabhängigkeit eingesetzt.^[255]



Schema 8: Metabolisierung von Ethanol (**93**) über Acetaldehyd (**94**) zu Essigsäure (**95**) und Angriffspunkt von Disulfiram (**91**).^[255]

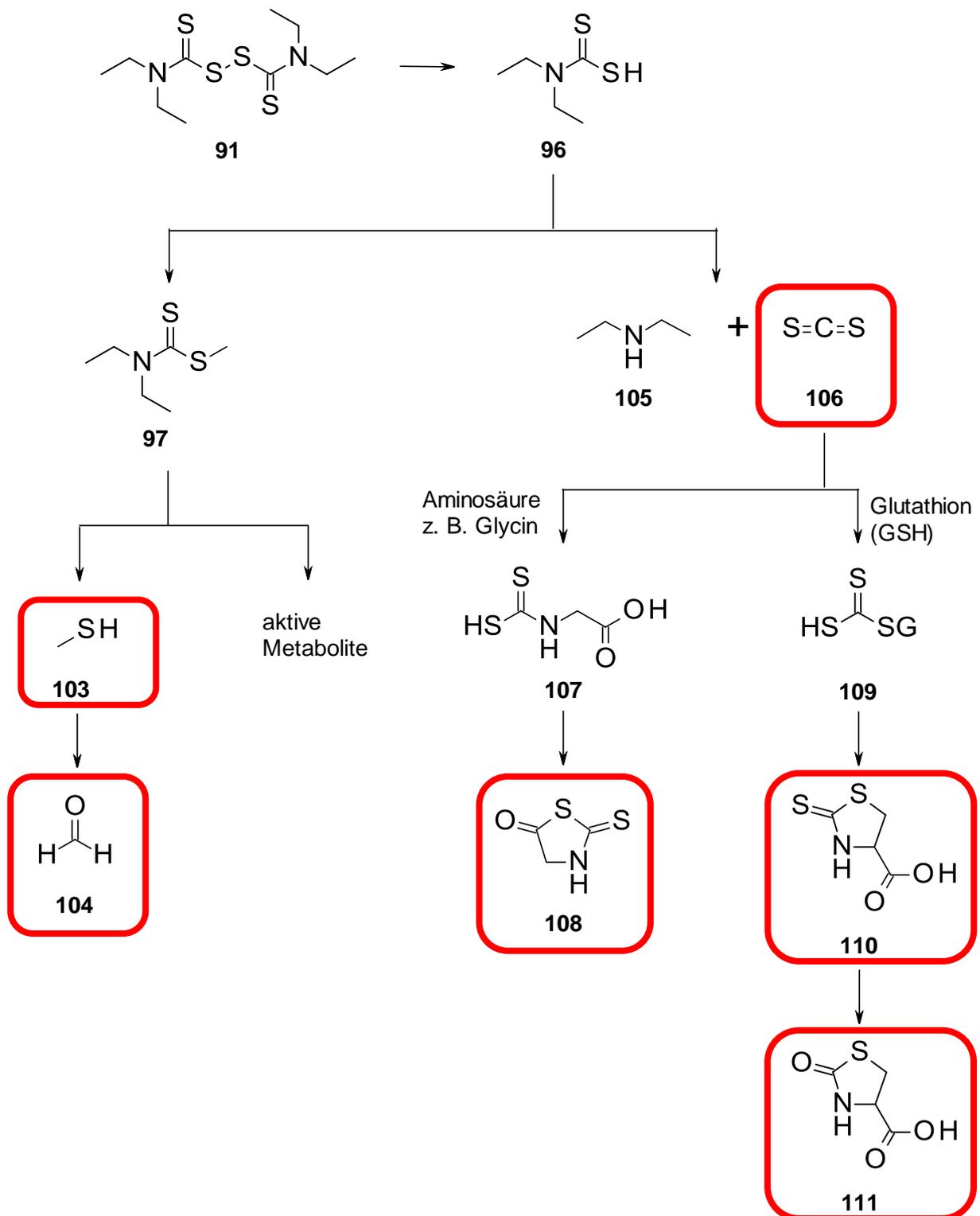
Ethanol (**93**) wird normalerweise in der Leber über die Zwischenstufe Acetaldehyd (**94**) zu Essigsäure (**95**) metabolisiert (**Schema 8**). Durch Inhibition der Aldehyddehydrogenase durch Disulfiram (**91**) kann der intermediär entstehende Acetaldehyd (**94**) nicht mehr abgebaut werden und akkumuliert. Daraus resultiert das sogenannte Acetaldehydsyndrom, eine starke Unverträglichkeitsreaktion, die bereits bei der Aufnahme geringer Mengen an Alkohol zu Tage tritt. Symptome sind Hautrötungen, Kältegefühl in den Extremitäten, Übelkeit, Kopfschmerzen, Herzrasen und Blutdruckabfall.^[255]



Schema 9: Metabolische Aktivierung von Disulfiram (**91**). Aktive Metaboliten sind grün umrandet.^[255]

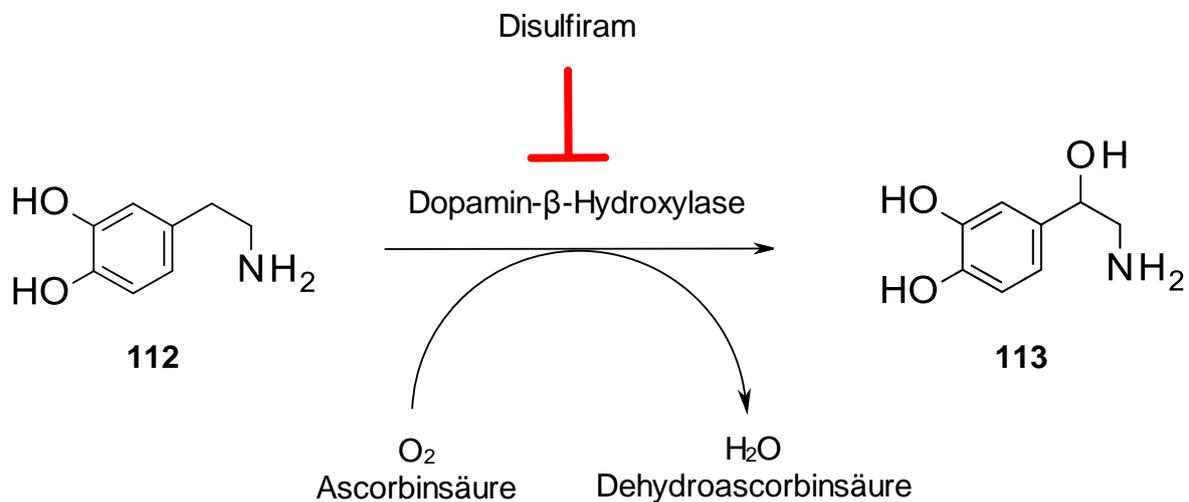
Disulfiram (**91**) ist ein *Prodrug* und muss *in vivo* in seine wirksamen Metaboliten umgewandelt werden (**Schema 9**). Dabei wird zunächst durch reduktive Spaltung der Disulfidbindung das freie Dithiocarbamat **96** gebildet, welches durch die hepatische Thiomethyltransferase zum methylierten Dithiocarbamat **97** umgewandelt wird. Anschließend gibt es zwei mögliche Metabolisierungswege: (i) schrittweise Oxidation des methylierten Dithiocarbamats **97** durch CYP-Enzyme zum Dithiocarbamat-S-Oxid **99** und Dithiocarbamat-S,S-Dioxid **101** oder (ii) Schwefel-Sauerstoff-Austausch zum Thiocarbamat **98** und anschließender schrittweiser Oxidation zum Thiocarbamat-S-Oxid **100** und Thiocarbamat-S,S-Dioxid **102**. Die Verbindungen **97-101** sind die *in vivo* wirksamen Metaboliten und inhibieren die Aldehyddehydrogenase durch (Thio)Carbamoylierung des katalytischen Cysteins 302 irreversibel. Metabolit **102** ist sowohl *in vivo* als auch *in vitro* unwirksam, der Grund dafür ist nicht geklärt.^[255-257]

Aufgrund der Nebenwirkungen, vor allem aber der ausgeprägten Hepatotoxizität von Disulfiram (**91**) ist der Einsatz als antischistosomaler Wirkstoff nicht zu empfehlen. Neben der in **Schema 9** dargestellten Umwandlung des Disulfirams (**91**) in seine aktiven Metaboliten **97-101** sind weitere Metabolisierungswege möglich, welche stark vom Metabolisierungsverhalten des Patienten abhängig sind. So kann es bei sogenannten *slow metabolizern* zur Bildung der toxischen Abbauprodukte Methanthiol (**103**) sowie Formaldehyd (**104**) kommen (linke Seite **Schema 10**). *Fast metabolizer* hingegen sind in der Lage, das freie Dithiocarbamat **96** zu Diethylamin (**105**) und dem stark toxischen Kohlenstoffdisulfid (**106**) zu spalten. Kohlenstoffdisulfid (**106**) ist in der Lage mit Aminosäuren zu reagieren.^[258] Die gebildeten Produkte zyklisieren zum 2-Thioxothiazolidin-5-on (**108**), denen ein zytotoxisches Potential nachgesagt wird.^[258] Kohlenstoffdisulfid ist ebenfalls ein potenter Inhibitor von CYP-Enzymen.^[258] Alternativ sind auch Reaktionen mit Glutathion und die anschließende Bildung der Metaboliten **110** und **111** möglich, deren toxisches Potential *in vitro* nachgewiesen wurde (linke Seite **Schema 10**).^[258]



Schema 10: Abbauprodukte des Disulfirams (91). Nachgewiesen oder mutmaßlich toxische Metaboliten sind rot umrandet.^[258]

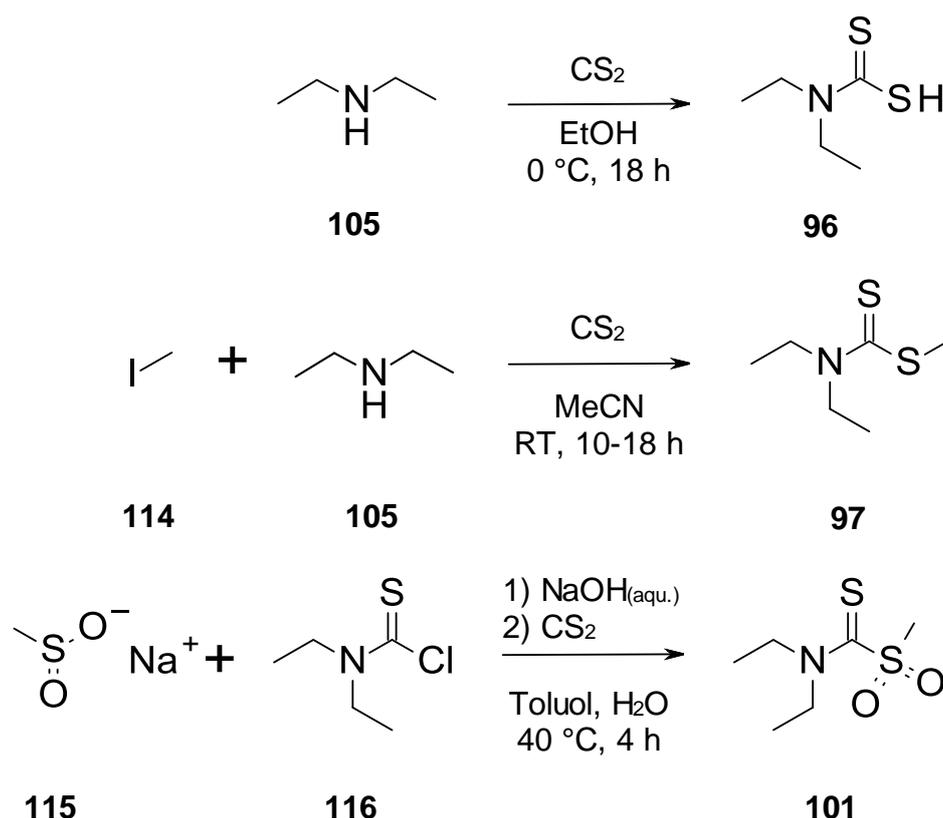
Da eine Vielzahl von Interaktionen mit anderen Enzymen bekannt ist, ist es unklar, ob die antischistosomale Aktivität von Disulfiram (**91**) auf der Inhibition einer schistosomalen Aldehyddehydrogenase beruht. Aufgrund der chelatisierenden Eigenschaften des Dithiocarbamats ist vor allem das freie Dithiocarbamat **96** in der Lage, ubiquitär vorkommenden Metalloproteine durch Bindung zweiwertige Metallionen (z. B. Cu^{2+} -, Fe^{2+} - oder Zn^{2+} -Ionen) zu inhibieren.^[259-261] Es konnte nachgewiesen werden, dass die Metaboliten von Disulfiram (**91**) potente Inhibitoren der humanen Dopamin- β -Hydroxylase (DBH) darstellen. Die Kupfer-haltige Oxygenase wandelt Dopamin (**112**) in Noradrenalin (**113**) um (**Schema 11**). Der Einsatz von Disulfiram (**91**) zur Behandlung der Kokainabhängigkeit wurde intensiv diskutiert, da es durch Inhibition der DBH den Abbau von Dopamin (**112**), dessen Konzentration durch die Hemmung der Wiederaufnahme durch Kokain erhöht ist, verhindert. Der resultierende Konzentrationsanstieg von Dopamin (**112**) führt neben den Rauscheffekten zu einer erhöhten Ängstlichkeit, Blutdruckanstieg und nervöser Unruhe.^[262-264] Aufgrund der Hepatotoxizität wurde dieser Ansatz vermutlich nicht weiter verfolgt. Eine Wirkung von Disulfiram (**91**) auf andere Enzyme wird vermutet und kann zum Teil, wie z. B. die Inhibition der Tryptophan-Hydrolase, *in vitro* nachgewiesen werden.^[265]



Schema 11: Umwandlung von Dopamin (**112**) zu Noradrenalin (**113**) durch die Dopamin- β -Hydroxylase.^[262-264]

Auch das antiparasitäre Potential von Disulfiram (**91**) war und ist Gegenstand intensiver Arbeiten. *In vitro*-Testungen belegten beispielsweise eine Wirkung gegen *Trichomonas*

vaginalis, *Trichomonas foetus* und *Giardia lamblia*. Neben der Inhibition diverser Aldehyddehydrogenasen konnten jedoch auch hier Interaktionen mit anderen Enzymen nachgewiesen werden. Beispiele sind die Carbamat-Kinase von *Giardia lamblia* oder diverse Zink-haltige Metalloproteine von *Trichomonas vaginalis*.^[266, 267] Disulfiram (**91**) wurde desweiteren bereits im Mausmodell auf seine antischistosomale Aktivität gegen *S. mansoni* getestet.^[268] Dabei wurden neben der Produktion deformierter Eier auch erniedrigte Noradrenalin-Spiegel beobachtet, jedoch kein Einfluss auf die Paarungsstabilität oder das Auftreten von Tegumentschäden. Der genaue Wirkmechanismus konnte nicht aufgeklärt werden. Es wurde vermutet, dass neben der Inhibition der schistosomalen Phenol-Oxidase, einem weiteren Kupfer-haltigem Enzym, wiederum die Aldehyddehydrogenase und die DBH involviert sind.^[268]

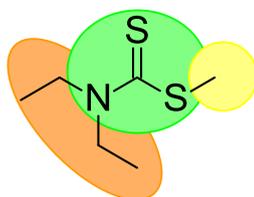


Schema 12: Syntheserouten der dargestellten Disulfiram-Metaboliten **96**, **97** und **101**.^[269-271]

Aufgrund des unklaren antischistosomalen Wirkmechanismus sowie der hohen Interaktionsrate von Disulfiram (**91**) mit anderen Enzymen wurden zunächst die *in vivo* aktiven Disulfiram-Metaboliten **96**, **97** und **101** dargestellt (**Schema 12**) und anschließend auf

ihre antischistosomale Aktivität untersucht. Während die beiden Metaboliten **96** und **101** bei einer Konzentration von 100 μM eine vergleichbare antischistosomale Aktivität wie Disulfiram (**91**) zeigten, war Metabolit **97** inaktiv. Bei niedrigeren getesteten Konzentrationen war keiner der dargestellten Metaboliten aktiv. Das deutet darauf hin, dass der Wirkmechanismus nicht auf der Inhibition einer möglichen schistosomalen Aldehyddehydrogenase beruht. Analog zur Wirkung dieser Metaboliten im Menschen hätten diese Substanzen bei einer Inhibition der schistosomalen Aldehyddehydrogenase ebenfalls eine Wirkung zeigen müssen. Ihre Aktivität müsste sogar höher sein, da aufgrund des Wegfalls der Metabolisierung die Inhibition sofort eintreten könnte. Der Wirkmechanismus der antischistosomalen Aktivität von Disulfiram (**91**) ist bisher nicht geklärt.

Basierend auf den Ergebnissen der initialen Testung sollte eine strukturierte synthetische Modifikation des Disulfirams (**91**) durchgeführt werden. Weder Disulfiram (**91**) noch die beiden *in vitro* wirksamen Metaboliten **96** und **101** bieten sinnvolle Ansatzpunkte für eine rationale Strukturoptimierung. Daher wurde beschlossen, den Metaboliten **97** als Grundstruktur für weitere Synthesen zu nutzen. Zu diesem Zweck wurde die Grundstruktur in drei Bereiche unterteilt, die im Folgenden variiert werden sollten (vgl. **Abbildung 46**).



97

Abbildung 46: Unterteilung der Grundstruktur **97** in drei Bereiche zur synthetischen Modifikation: (gelb: Derivatisierung des Schwefelsubstituenten, grün: Einfluss der Dithiocarbamat-Grundstruktur, orange: Austausch der Substituenten am Stickstoff).

Initial sollte der Einfluss des Substituenten am Schwefel untersucht werden. Zunächst sollten Substituenten mit möglichst verschiedenen Eigenschaften eingeführt werden. Hierfür wurde sich als Substitutionsmuster für Benzyl-, Alkyl- sowie Alkylcarbonsäure(derivate) entschieden. Nach den ersten Erkenntnissen sollten die besten dieser neu eingeführten Reste in nachfolgenden Derivatisierungsserien weiter optimiert werden.

Analoge Optimierungsversuche wurden für das beste Substitutionsmuster des Stickstoffs durchgeführt. Neben der Verlängerung und Verkürzung der aliphatischen Kette sollte dabei ein Austausch der *N,N*-Diethylstruktur gegen einen Piperidin-Ring durchgeführt werden. Nach den ersten Erkenntnissen sollten auch hier die besten dieser neu eingeführten Reste in nachfolgenden Derivatisierungsreihen weiter optimiert werden. Desweiteren wurde geplant, den Einfluss der Dithiocarbamat-Struktur durch schrittweise oder vollständige Substitution der Heteroatome zu untersuchen.

Nach einer Untersuchung des Einflusses der Modifikationen auf die antischistosomale Aktivität der Verbindungen durch eine *in vitro*-Testung an *S. mansoni*, sowie einer Untersuchung ihres zytotoxischen Potentials, war es das Ziel, sinnvolle und präparativ zugängliche Verbindungen mit kombiniertem Substitutionsmuster darzustellen.

Ziel dieser weiteren Optimierungen war es wiederum, Verbindungen mit verbesserter Aktivität darzustellen und weitere Struktur-Wirkungs-Beziehungen in Hinblick auf eine antischistosomale Aktivität sowie die Zytotoxizität gegen ausgewählte Zelllinien abzuleiten.

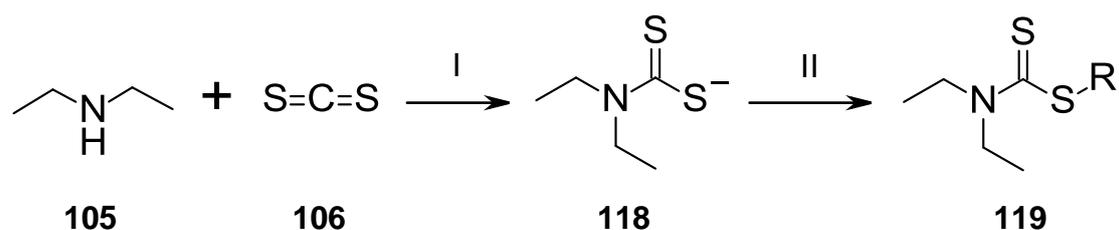
An dieser Stelle gilt es anzumerken, dass es sich bei den durchgeführten *in vitro*-Testungen um eine phänotypische Testung handelt. Der Austausch der Strukturelemente erfolgte ausgehend von bekannten Strategien zur Modifikation potentieller Wirkstoffe. Beobachtete Struktur-Wirkungs-Beziehungen beschreiben im vorliegenden Fall die Abhängigkeit der antischistosomalen Aktivität von den durchgeführten strukturellen Änderungen. Es ist zu beachten, dass bisher kein(e) *Target(s)* bekannt sind und eine Überlagerung verschiedener Effekte möglich ist.

B.2 Ergebnisse und Diskussion

B.2.1 Variation des Substituenten am Schwefel des Dithiocarbamats

B.2.1.1 Initiale Derivate

In einer ersten Optimierungsserie wurde zunächst der Substituent am Schwefel des Dithiocarbamats variiert. Die Derivate sollten dabei in einer *One-Pot*-Reaktion nach einer modifizierten Vorschrift von *Saidi et al.* dargestellt werden.^[270] Dabei wurde Diethylamin (**105**) mit Kohlenstoffdisulfid (**106**) zum entsprechenden Dithiocarbamat (**118**) umgesetzt. Dieses reagierte anschließend in einer bimolekularen nukleophilen Substitution mit den entsprechenden Alkylhalogeniden, wodurch die gewünschten Dithiocarbamat-Derivate (**119**) dargestellt wurden. Die Syntheseroute ist in **Schema 13** dargestellt.

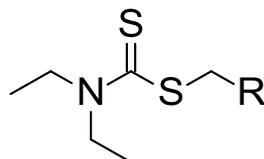


Schema 13: Syntheseroute zur Darstellung der Dithiocarbamat-Derivate (modifiziert).^[270]

- (I) Acetonitril bzw. THF, Base, 15 min, 0 °C → RT
- (II) Alkylhalogenid, 2-8 h, RT

Aufgrund der Unkenntnis tolerierter Substituenten wurden zunächst Derivate dargestellt, deren Substituenten ein breites Spektrum Eigenschaften abdeckten (vgl. **Tabelle 15**). Die *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Grundstruktur wurde dabei beibehalten, um den Effekt der Derivatisierungen bewerten zu können.

Tabelle 15: Strukturformeln der initialen *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivate **120-124**.



#	R	Ausbeute [%]
Schl32003 (120)		55
Schl32006 (121)		81
Schl32007 (122)		87
Schl32017 (123)		86
Schl32025 (124)		91

In den *in vitro*-Testungen wurde beobachtet, dass die Derivate mit einem hydrophilen Substituenten (**120**, **121** und **123**) unwirksam gegen *S. mansoni* waren. Es ist jedoch unklar, ob sich die Verbindungen aufgrund ihrer hohen Polarität nicht ausreichend in den Würmern anreichern konnten.

Nur die beiden Derivate **122** und **124** mit lipophiler Seitenkette zeigten bei der initial getesteten Konzentration von 100 μM eine antischistosomale Aktivität. Diese war bei Verbindung **122** stärker ausgeprägt als bei Verbindung **124**. Beide Verbindungen zeigten einen inhibitorischen Effekt auf die Eiproduktion, jedoch in unterschiedlichem Ausmaß und mit variierenden Deformationsraten (vgl. **Abbildung 47**). Das Acetalderivat **124** zeigte keinen Einfluss auf die Vitalität und Paarungsstabilität der Schistosomen. Das benzylsubstituierte Derivat **122** bewirkte *in vitro* eine Entpaarung aller 10 Schistosomenpärchen mit stark reduzierter Vitalität. Desweiteren wurden eine

verlangsamte Darmperistaltik mit beginnenden Darmdilataationen, eine Akkumulation der Eier im Uterus und tumorähnliche Ausstülpungen beobachtet (**Abbildung 48**).

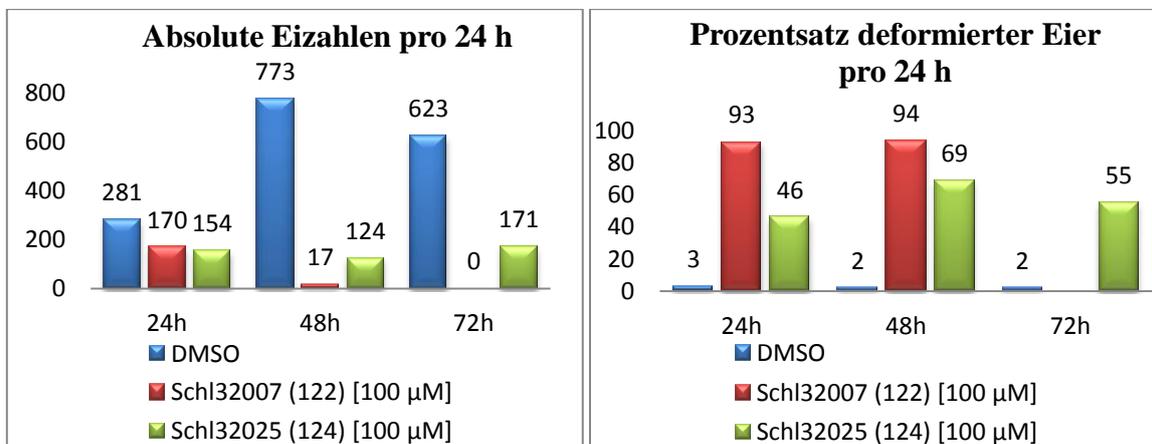


Abbildung 47: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **122** (Schl32007) und **124** (Schl32025).

Anhand der Ergebnisse der initial dargestellten Verbindungen wurde abgeleitet, dass die Einführung hydrophiler Substituenten am Schwefel einen Verlust der antischistosomalen Aktivität zur Folge hat. Lipophile Substituenten am Schwefel hingegen führten zu einer guten Aktivität bei 100 µM mit vielversprechenden Phänotypen. Daher wurden die beiden Verbindungen **122** und **124** als Grundstrukturen für weitere Synthesen verwendet.



Abbildung 48: Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **122** (Schl32007). **A:** tumorähnliche Ausstülpungen; **B:** Eiakkumulation im Uterus; **C:** beginnende Darmdilatation; **D:** Eiakkumulation im Uterus.

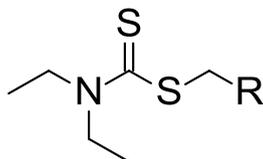
B.2.1.2 Optimierung des 2-Ethyl-1,3-dioxan-Substituenten

Da in der Aktivität des Acetalderivats **124** noch Entwicklungspotential vermutet wurde, wurde zunächst das entsprechende Dioxolan-Derivat **125** dargestellt. Die Synthese erfolgte analog zu der von Verbindung **124**. Im Anschluss daran wurden beide Acetal-Derivate **124** und **125** mit 1,2-Ethandithiol unter Iod-Katalyse zu den entsprechenden Dithioacetal-Analoga **126** und **127** funktionalisiert. **Tabelle 16** zeigt die Strukturformeln der dargestellten Verbindungen.

Das Dioxolan-Derivat **125** wies in der anschließenden *in vitro*-Testung keine antischistosomale Aktivität auf. Für das Dithioacetal-Analogon **126** konnte bei einer Konzentration von 100 µM eine vergleichbare Aktivität zu der des Acetal-Derivats **124** nachgewiesen werden. Bei vergleichbarer Reduktion der Eiproduktion zeigte Verbindung **126** keinen Einfluss auf die Vitalität und Paarungsstabilität der Schistosomen. Das Fünfring-Analogon **127** inhibierte die Eiproduktion nahezu vollständig und führte zu einer Entpaarung

aller Wurmpaare. Die Motilität und Vitalität der behandelten Schistosomen war nur noch sehr gering. Die Aktivität dieser Verbindung war also höher als die Aktivität der zuvor getesteten.

Tabelle 16: Strukturformeln der *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivate **125-127**.

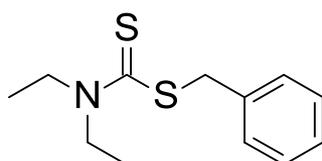


#	R	#	R
Schl32116 (125)		Schl32138 (127)	
Schl32132 (126)			

Vor einer erneuten Testung der Substanzen bei niedrigeren Konzentrationen wurde das Dioxolan-Derivat **127** gegenüber der HepG2-Zelllinie auf sein zytotoxisches Potential untersucht. Dabei wurde bereits bei einer Konzentration von 25 μM eine starke Zytotoxizität beobachtet. Aufgrund dessen wurde die Optimierung der Acetalderivate an dieser Stelle nicht weiter verfolgt.

B.2.1.3 Variation der aliphatischen Kette des Benzyl-Substituenten

Vor einer Funktionalisierung des Benzylsubstituenten aus Verbindung **122** (**Abbildung 49**) wurde die Verbindung auch in niedrigeren Konzentrationen im Assay untersucht. Bei einer Konzentration von 25 μM konnte eine leicht verringerte antischistosomale Aktivität nachgewiesen werden. So war die Eiproduktion weiterhin signifikant reduziert, aber in einem geringeren Maße und mit niedrigeren Deformationsraten. Ebenso waren die Paarungsstabilität, Vitalität und Motilität der Schistosomen geringfügiger reduziert. Phänotypen wie tumorähnliche Ausstülpungen oder Eiakkumulation im Uterus konnten nicht beobachtet werden. Ab einer Konzentration von 10 μM war das Benzylderivat **122** *in vitro* unwirksam (vgl. **Abbildung 50**). Verbindung **122** zeigte sich gegenüber der HepG2-Zelllinie zytotoxisch ab einer Konzentration von 50 μM .



122

Abbildung 49: Strukturformel des wirksamsten Derivats **122** der initialen Serie.

Eine Modifikation des Benzylrests, um einerseits eine höher antischistosomale Aktivität zu erreichen, andererseits die zytotoxische Wirkung zu verringern, erschien sinnvoll. Zunächst wurde der Fokus jedoch auf den Einfluss der Kettenlänge des *Linkers* gelegt.

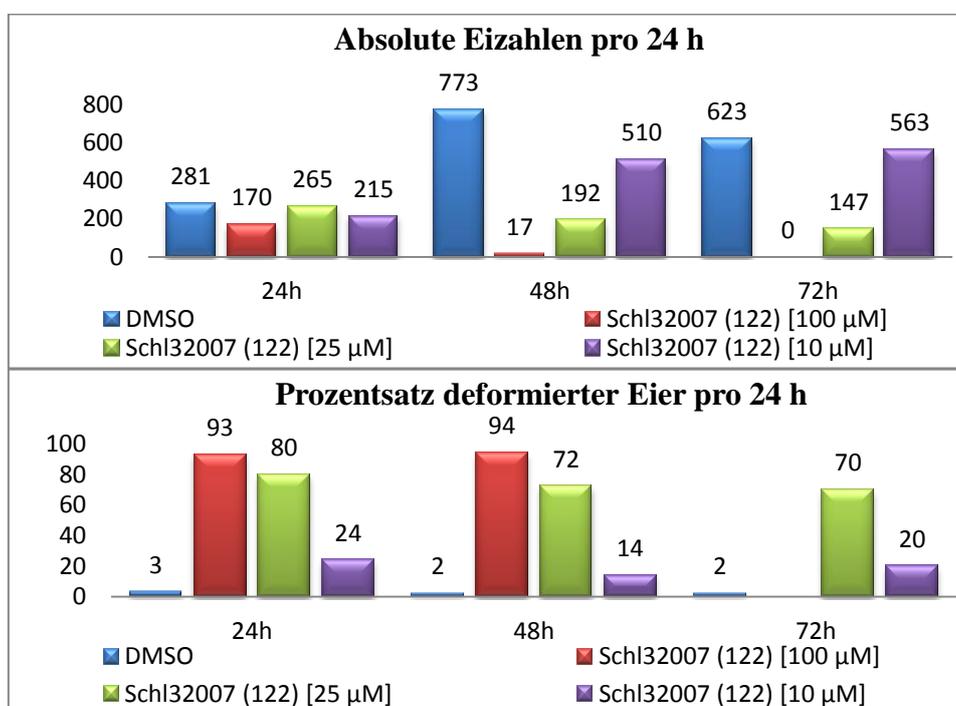
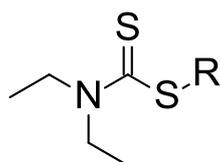


Abbildung 50: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit Verbindung **122** (Schl32007) in Abhängigkeit der Konzentration.

Neben einer schrittweisen Verlängerung der Kette auf bis zu fünf Methyleinheiten wurde die Eliminierung dieser untersucht. Desweiteren sollte die Notwendigkeit der Flexibilität der Kette auf die Aktivität durch Einführung einer Doppelbindung validiert werden. Die Derivate konnten in sehr guten Ausbeuten dargestellt werden. Einzig das Styryl-Derivat **129** wurde in einer schlechten Ausbeute von 20% dargestellt. Grund hierfür war sehr wahrscheinlich das eingesetzte β -Bromstyrol, welches vermutlich instabil ist und durch Eliminierung von

Bromwasserstoff zu Ethinylbenzen zerfiel. Die Strukturformeln der entsprechenden Verbindungen sind in **Tabelle 17** dargestellt.

Tabelle 17: Strukturformeln und Ausbeuten der *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivate **128-133** mit veränderter Kettenlänge des *Linkers*.



#	R	Ausbeute [%]
Schl32096 (128)		85
Schl32097 (129)		20
Schl32098 (130)		94
Schl32099 (131)		86
Schl32102 (132)		95
Schl32130 (133)		89

Das Phenethyl-Derivat **128** und das Phenylpropyl-Derivat **130** zeigten *in vitro* bei einer Konzentration von 100 μ M eine dem Benzylderivat **122** vergleichbare antischistosomale Aktivität. Jedoch konnten keine weiteren Phänotypen wie Eiakkumulation im Uterus, Darmdilataionen oder tumorähnliche Ausstülpungen nachgewiesen werden. Gleiches gilt für Verbindung **133**, bei der der *Linker* eliminiert wurde. Einzig der inhibitorische Effekt auf die Eiproduktion war nach 24 Stunden stärker ausgeprägt. Mit einer weiteren Verlängerung der aliphatischen Kette (Verbindungen **131** und **132**) ging eine Reduktion der antischistosomalen

Aktivität einher. Neben einem Anstieg der Eiproduktion bei vergleichbaren Deformationsraten konnte kein Einfluss auf die Paarungsstabilität, Vitalität und Motilität beobachtet werden (vgl. **Abbildung 51**). Das Styryl-Derivat **129**, bei dem die Flexibilität der Kette durch die Einführung einer Doppelbindung eliminiert wurde, zeigte *in vitro* keine antischistosomale Aktivität.

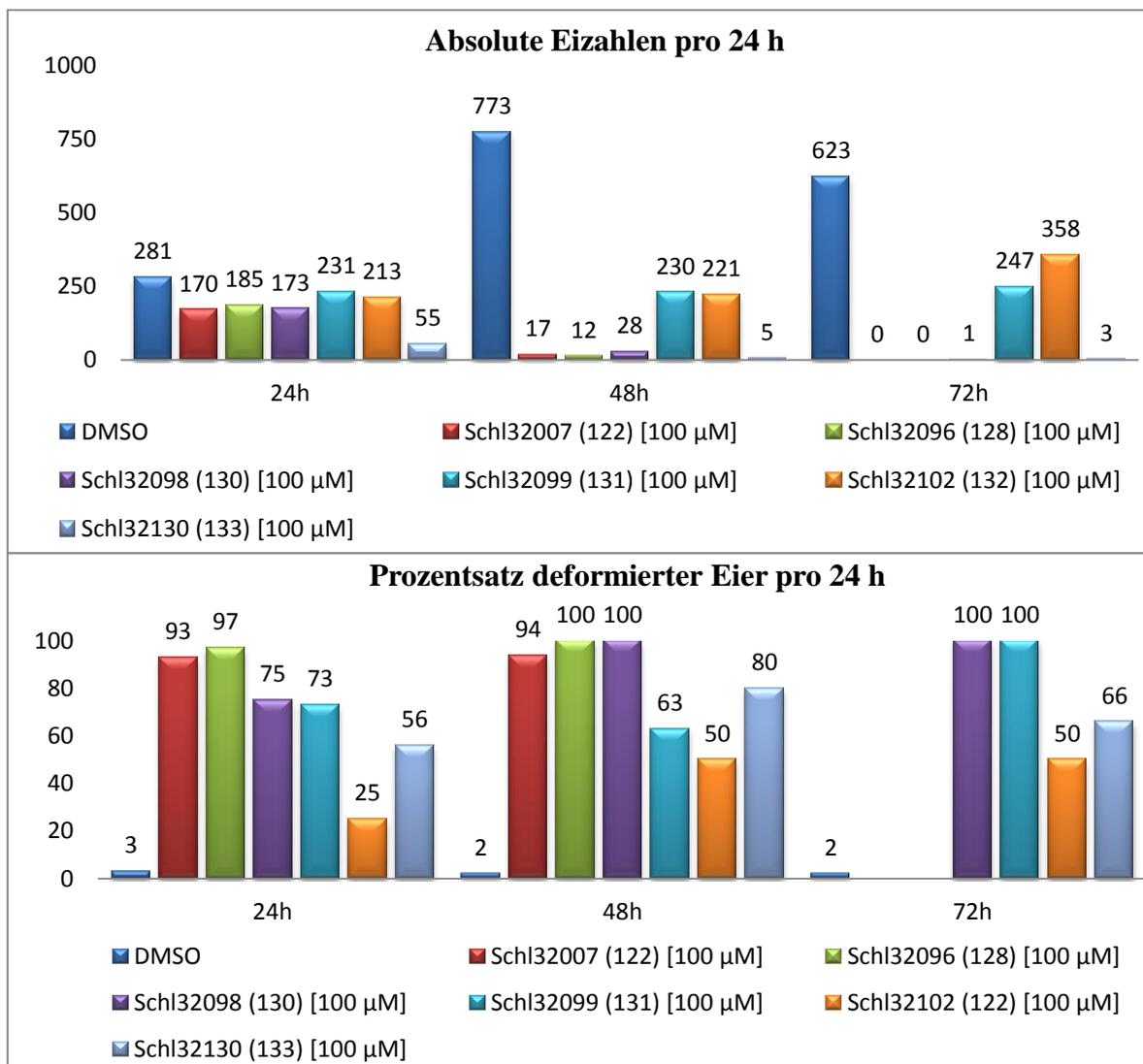


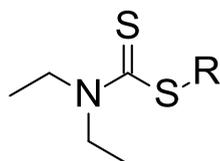
Abbildung 51: Vergleich der Eiproduktion sowie -deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **122** (Schl32007), **128** (Schl32096), **130** (Schl32098), **131** (Schl32099), **132** (Schl32102) und **133** (Schl32130).

Aus dieser Serie konnten drei wichtige Erkenntnisse gewonnen werden: (i) Ab einer Kettenlänge von vier Methyleinheiten nimmt die antischistosomale Aktivität signifikant ab, (ii) die Einführung rigider Linker führt zu einem kompletten Wirkverlust und (iii) die

Verbindungen haben möglicherweise einen verzögerten Wirkeintritt. Die letzte Vermutung lässt sich damit begründen, dass die Eiproduktion mit Ausnahme von Verbindung **133** innerhalb der ersten 24 Stunden zunächst nur geringfügig reduziert wurde (um etwa 30%). Die Reduktion der Eiproduktion nahm danach sprunghaft zu. Die Ursache dieses Effekts konnte bislang nicht aufgeklärt werden, könnte aber möglicherweise für eine irreversible Hemmung des *Targets* durch eine kovalente Modifizierung sprechen.

B.2.1.4 Einführung sterisch anspruchsvoller Substituenten

Tabelle 18: Strukturformeln der *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivate **134-140** mit sterisch anspruchsvollen Substituenten.



#	R	#	R
Schl32120 (134)		Schl32246 (138)	
Schl32121 (135)		Schl32249 (139)	
Schl32156 (136)		Schl32253 (140)	
Schl32157 (137)			

Im nächsten Schritt wurden sterisch anspruchsvolle Substituenten eingeführt. Dadurch sollten erste Erkenntnisse über den zur Verfügung stehenden chemischen Raum gewonnen werden.

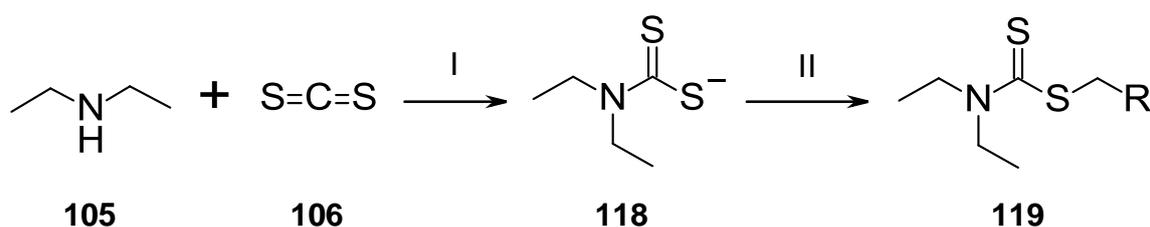
Tabelle 18 zeigt die dargestellten Verbindungen.

In der anschließenden *in vitro*-Testung zeigten bei einer Konzentration von 100 μM alle sieben Derivate eine in Bezug auf Verbindung **122** vergleichbare antischistosomale Aktivität.

Auch hier variierten die Zahlen der Eiproduktion und -deformation nur in einem geringen Maße. Weiterer Phänotypen wie Eiakkumulation im Uterus, Darmdilataionen oder tumorähnliche Ausstülpungen traten nicht auf. Daraus konnte abgeleitet werden, dass der sterische Anspruch des Substituenten am Schwefel des Dithiocarbamats scheinbar keinen negativen Einfluss auf die antischistosomale Aktivität ausübt. Unterhalb einer Konzentration von 100 μM waren alle sieben Derivate unwirksam.

B.2.1.5 Modifikation des Benzylsubstituenten durch Einführung von Elektronendonatoren

Im nächsten Schritt wurde der Aromat durch die Einführung elektronenschiebender Substituenten funktionalisiert. Ziel der Derivatisierungen war es, den Einfluss einer erhöhten Elektronendichte des aromatischen Systems auf die antischistosomale Aktivität zu untersuchen. Die entsprechenden Substituenten wurden sowohl in 2-, 3- und 4-Position des Aromaten eingeführt.



Schema 14: Syntheseroute zur Darstellung der Dithiocarbamat-Derivate (modifiziert).^[270]

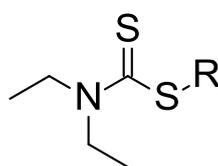
- (I) Acetonitril, NEt_3 , 15 min, RT
- (II) Arylalkylhalogenid, 4-12 h, RT

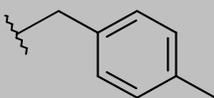
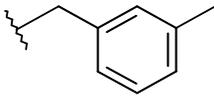
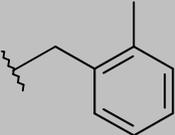
Alle Derivate konnten in einer *One-Pot*-Reaktion nach einer modifizierten Vorschrift von *Saidi et al.* dargestellt werden.^[270] Die Bildung des Dithiocarbamats **118** wurde unter Verwendung von Triethylamin als Base bei Raumtemperatur durchgeführt. In Analogie zur

Synthese der vorangegangenen Derivate folgte die bimolekulare nukleophile Substitution zur Darstellung der Dithiocarbamat-Derivate. Eine Verlängerung der Reaktionszeit war jedoch notwendig. Die Syntheseroute ist in **Schema 14** dargestellt.

Initial wurde in 2-, 3- und 4-Position des aromatischen Rings eine Methylgruppe eingeführt. Die entsprechenden Derivate und Ausbeuten sind in **Tabelle 19** dargestellt.

Tabelle 19: Strukturformeln und Ausbeuten der *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivate **141-143**.



#	R	Ausbeute [%]
Schl32229 (141)		90
Schl32230 (142)		92
Schl32231 (143)		93

Bei einer Konzentration von 100 μ M zeigten alle drei Verbindungen *in vitro* eine gute antischistosomale Aktivität. Die Eiproduktion wurde signifikant reduziert, wobei auch hier ein mutmaßlich verzögerter Wirkeintritt zu beobachten war. Auffällig war, dass Verbindung **141**, welche die Methylgruppe in Position 4 des Aromaten trägt, einen stärkeren negativen Einfluss auf die Paarungsstabilität und Vitalität der Schistosomen zeigte. Während bei der Testung von Verbindung **141** eine vollständige Entpaarung zu beobachten war, lag der Grad der Entpaarung bei den Verbindungen **142** und **143** nur bei 50%. Desweiteren erzeugte Verbindung **141** eine Akkumulation der Eier im Uterus (vgl. **Abbildung 52**).



Abbildung 52: Weibchen mit Eiakkumulation im Uterus (Pfeile), ausgelöst durch Verbindung **141** (Schl32229).

Für die Derivate **142** und **143** konnten keine weiteren Phänotypen nachgewiesen werden. Bei einer hohen Konzentration zeigte Verbindung **141** eine vergleichbare Aktivität zu der des unsubstituierten Benzylderivats **122**, sodass diese im Anschluss bei niedrigeren Konzentrationen getestet wurde. Bereits ab einer Konzentration von 25 µM konnte für Verbindung **141** keine antischistosomale Aktivität mehr nachgewiesen werden. Keiner der beobachteten Parameter wurde beeinflusst (vgl. **Abbildung 53**).

Da Verbindung **141** bei niedrigeren Konzentrationen nicht aktiv war, ist die Aktivität verglichen mit der des unsubstituierten Benzylderivats **122** wesentlich schlechter. Man erkennt, dass die Einführung einer Methylgruppe am aromatischen Ring bei niedrigeren Konzentrationen einen Abfall bzw. einen Verlust der Aktivität zur Folge hat. Jedoch ließ sich aufgrund der Ergebnisse bei 100 µM vermuten, dass die 4-Position die beste Stelle zur Funktionalisierung des aromatischen Rings zu sein scheint. Diese Vermutung war aber an dieser Stelle nicht ausreichend belegbar.

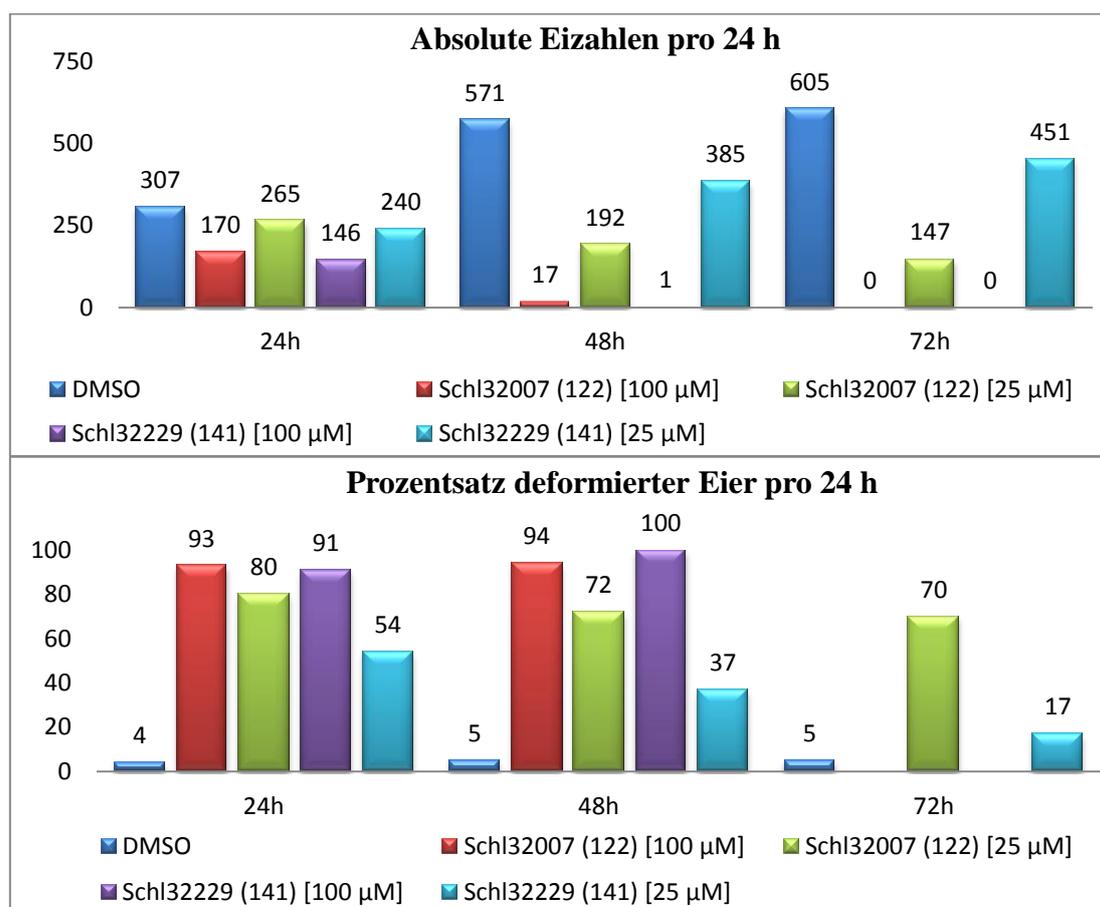
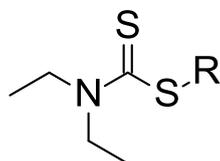


Abbildung 53: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **122** (SchI32007) und **141** (SchI32229) in Abhängigkeit der Konzentration.

Um den Einfluss lipophiler, elektronenschiebender Substituenten weiter zu untersuchen, wurden verschiedene (Thio-)Etherderivate in sehr guten Ausbeuten dargestellt (**Tabelle 20**). Die entsprechenden Substituenten wurden erneut in *ortho*-, *meta*- und *para*-Position des aromatischen Rings eingeführt. Das 2-Methoxy-Derivat konnte jedoch auch nach mehrmaligen Optimierungsversuchen der Syntheseroute nicht dargestellt werden.

Tabelle 20: Strukturformeln und Ausbeuten der *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivate **144-148**.



#	R	Ausbeute [%]
Schl32160 (144)		88
Schl32243 (145)		79
Schl32244 (146)		92
Schl32247 (147)		91
Schl32248 (148)		91

Bei einer Konzentration von 100 μM zeigten auch hier alle Verbindungen *in vitro* eine gute antischistosomale Aktivität. Die Eiproduktion wurde signifikant reduziert, wobei mit Ausnahme von Verbindung **147** wiederum ein mutmaßlich verzögerter Wirkeintritt zu beobachten war (vgl. **Abbildung 54**). Die Deformationsraten waren vergleichbar hoch und wurden aufgrund der Übersichtlichkeit nicht dargestellt. Bei der Testung der Verbindungen wurden neben einer vollständigen Entpaarung negative Effekte auf die Vitalität und Motilität beobachtet. Das Dimethoxy-Derivat **146** wirkte als erstes Dithiocarbamat-Derivat nach 48 Stunden letal auf die Schistosomen.

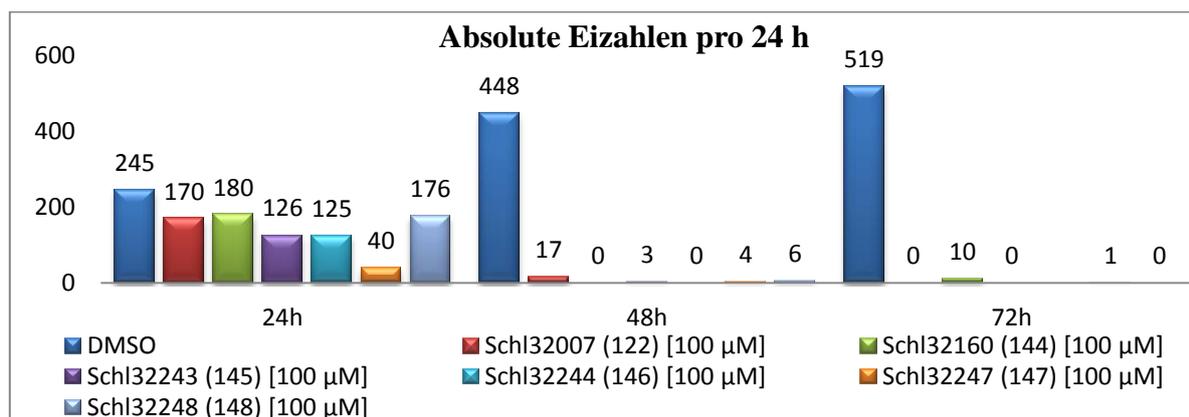


Abbildung 54: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **122** (Schl32007), **144** (Schl32160), **145** (Schl32243), **146** (Schl32244), **147** (Schl32247) und **148** (Schl32248).

Mit Ausnahme des Trifluormethoxy-Derivats **144** wurden alle Verbindungen anschließend bei einer Konzentration von 25 µM getestet. Jedoch konnte für keines der Derivate eine antischistosomale Aktivität nachgewiesen werden.

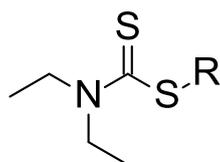
Da alle dargestellten Derivate mit elektronenschiebenden, lipophilen Substituenten bei Konzentrationen unter 100 µM inaktiv waren, wurde dieser Ansatz an dieser Stelle verworfen. Es wurde vermutet, dass diese Art der Funktionalisierung des aromatischen Rings von dem oder den möglichen *Target(s)* nicht toleriert wurde.

B.2.1.6 Modifikation des Benzylsubstituenten durch Einführung von Elektronenakzeptoren

Initial wurde der Einfluss elektronenziehender Substituenten durch Einführung von Fluor-beziehungsweise Trifluormethylsubstituenten in 2-, 3- und 4-Position des aromatischen Rings untersucht (**Tabelle 21**). Die *in vitro*-Testung zeigte bei 100 µM vergleichbare Ergebnisse wie die zuvor getesteten Derivate, jedoch inhibierten die Verbindungen **149** bis **154** die Eiproduktion sofort und nicht erst nach 24 Stunden. Der negative Einfluss auf die Paarungsstabilität, Vitalität und Motilität war dem des unsubstituierten Benzylderivats ebenbürtig. Die beiden Trifluormethyl-Derivate **152** und **153** zeigten zudem nach 48 Stunden einen letalen Effekt auf die Schistosomen. Außerdem konnte die Vermutung untermauert werden, dass die 4-Position des Aromaten die beste Position zur Funktionalisierung ist, da für die beiden Verbindungen **149** und **152** der beste inhibitorische Effekt im Bezug auf alle

beobachteten Parameter registriert werden konnte. Jedoch konnte für keines der sechs Derivate ab einer Konzentration von 25 μM eine antischistosomale Aktivität beobachtet werden, sodass von einer weiteren Funktionalisierung mit Halogensubstituenten abgesehen wurde.

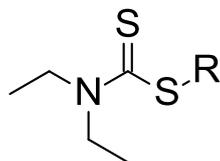
Tabelle 21: Strukturformeln der *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivate **149-154**.



#	R	#	R
Schl32235 (149)		Schl32238 (152)	
Schl32236 (150)		Schl32239 (153)	
Schl32237 (151)		Schl32240 (154)	

Im Anschluss daran wurden Derivate mit Nitro- beziehungsweise Cyano-Substituenten, welche einen negativen mesomeren Effekt besitzen, dargestellt (**Tabelle 22**). Die Synthese erfolgte wiederum nach der etablierten Vorschrift in sehr guten Ausbeuten. Da sich bei der nachfolgenden *in vitro*-Testung bei einer Konzentration von 100 μM abermals bestätigte, dass die in Position 4 des aromatischen Rings substituierten Derivate **157** und **158** die beste Aktivität zeigten, werden an dieser Stelle nur diese beiden Derivate ausführlich diskutiert.

Tabelle 22: Strukturformeln der *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivate **155-160**.



#	R	#	R
Schl32084 (155)		Schl32155 (158)	
Schl32086 (156)		Schl32241 (159)	
Schl32088 (157)		Schl32242 (160)	

Das 4-Nitrobenzyl-Derivat **157** zeigte bis zu einer Konzentration von 5 μM eine sehr gute antischistosomale Aktivität. Neben einer nahezu kompletten Reduktion der Eiproduktion sowie hohen Deformationsraten kam es zur kompletten Entpaarung der Schistosomen und einer starken Inhibition von Vitalität und Motilität. Desweiteren konnten bis zu einer Konzentration von 10 μM Tegumentschädigungen und -ablösung, dilatierete Darmbereiche, der Verlust innerer Strukturen sowie Anisocytose des Ovars beobachtet werden (vgl. **Abbildung 55**). Verbindung **157** ist somit das erste Derivat, das eine zu Praziquantel (**1**) vergleichbare Aktivität zeigt. Durch die Einführung der stark elektronenziehenden Nitrogruppe in Position 4 konnte belegt werden, dass die Elektronendichte des aromatischen Rings einen signifikanten Einfluss auf die antischistosomale Aktivität ausübt. Desweiteren konnte die These bestätigt werden, dass die 4-Position des Aromaten die beste Position für eine Funktionalisierung ist, da die Verbindungen **155** und **156** bereits ab einer Konzentration von 25 μM inaktiv waren. Aufgrund der diversen beobachteten Effekte ist eine Wirkung auf mehrere *Targets* nicht auszuschließen.



Abbildung 55: Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **157** (Schl32088). **A:** Verlust innerer Strukturen; **B:** Tegumentblasen und -ablösung; **C:** Anisocytose des Ovars; **D:** beginnende Darmdilatationen.

Das 4-Cyanbenzyl-Derivat **158** zeigte sehr ähnliche Effekte auf die Reduktion der Eiproduktion, Paarungsstabilität, Vitalität und Motilität. Die Schädigungen des Teguments, der Verlust innerer Strukturen sowie die Anisocytose des Ovars waren ebenfalls bis zu einer Konzentration von 10 µM zu beobachten. Diese waren im Vergleich zu Verbindung **157** weniger stark ausgeprägt. Nichtsdestotrotz konnte ein deutlicher Anstieg der antischistosomalen Aktivität im Vergleich zu der des unsubstituierten Benzylderivats **122** nachgewiesen werden. Die *meta*-substituierten Derivate **159** und **160** waren ebenso ab einer Konzentration von 25 µM inaktiv. **Abbildung 56** zeigt die Eiproduktion und -deformation der Verbindungen **157** und **158** bei 100 µM und der jeweils niedrigsten wirksamen Konzentration.

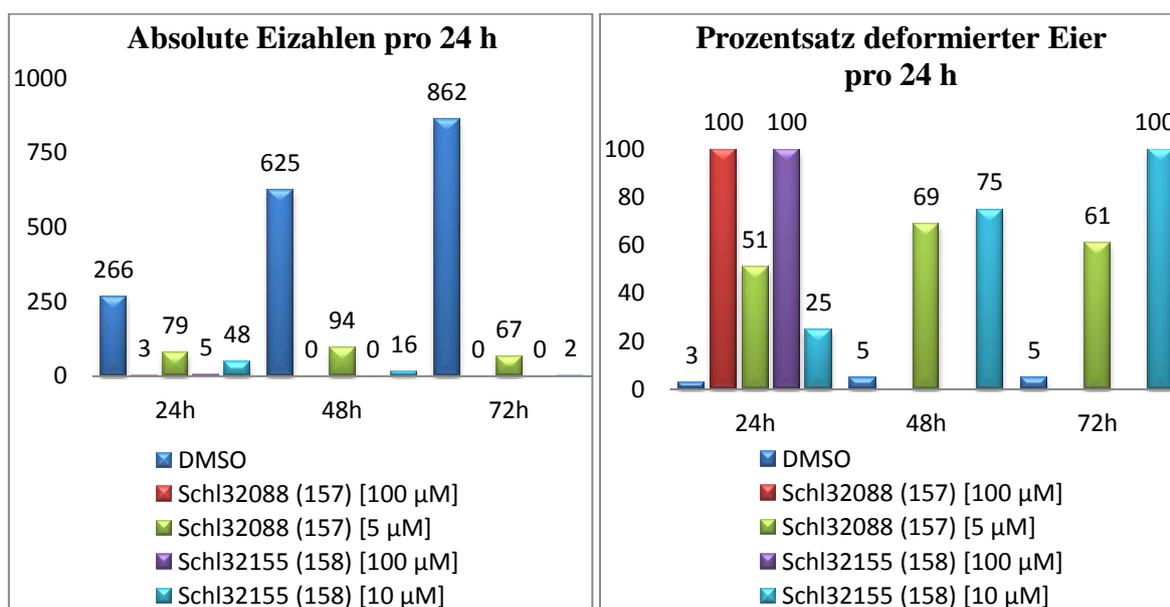


Abbildung 56: Vergleich der Eiproduktion sowie -deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **157** (Schl32088) und **158** (Schl32155) in Abhängigkeit der Konzentration.

Da vor allem die Einführung der Nitrogruppe zu einem starken Anstieg der Aktivität führte, wurde im nächsten Schritt überprüft, ob der Austausch des 4-Nitrophenyl-Strukturelements gegen einen Pyridin-Ring Substanzen mit vergleichbarer Aktivität liefert (**Abbildung 57**). Durch den Einfluss des elektronegativen Stickstoffs ist der Pyridin-Ring ebenfalls elektronenarm, kann jedoch im Gegensatz zum Nitroaromaten keine gerichteten Wechselwirkungen eingehen.

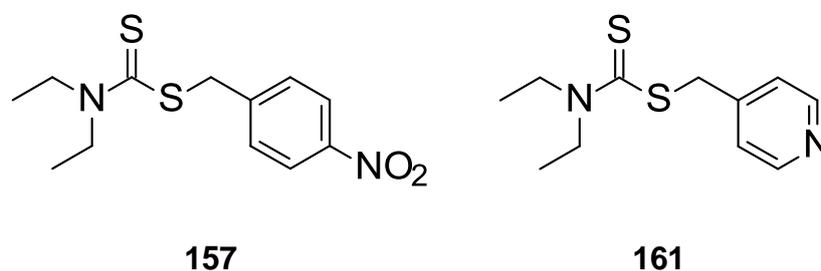
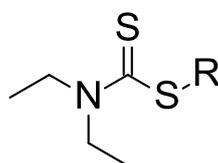


Abbildung 57: Strukturformeln des 4-Nitrobenzyl-Derivats **157** (Schl32088) und des 4-Pyridylmethyl-Derivats **161** (Schl32126).

Das 4-Pyridylmethyl-Derivat **161** zeigte *in vitro* jedoch schon bei einer Konzentration von 100 µM keine antischistosomale Aktivität. Der resultierende Aktivitätsverlust könnte zwei

wesentliche Gründe haben: Entweder ist neben einer geringen Elektronendichte im aromatischen Ring eine gerichtete Wechselwirkung, zum Beispiel durch Ausbildung einer Wasserstoffbrückenbindung, essentiell für die Aktivität, oder aufgrund des protonierbaren Pyridyl-Restes nahm die Absorption stark ab. Da die konjugierte Säure einen pK_s -Wert von etwa 5,5 hat, reagiert der Pyridyl-Rest nur schwach basisch, sodass der zweite Grund nur eine untergeordnete Rolle spielen sollte.

Tabelle 23: Strukturformeln und Ausbeuten der *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivate **162** und **163**.



#	R	Ausbeute [%]
Schl32118 (162)		88
Schl32158 (163)		79

Da die bisherigen Derivate mit einem elektronenziehenden Substituenten einen starken Anstieg der Aktivität zeigten, wurden zwei weitere Derivate in ebenfalls sehr guten Ausbeuten dargestellt (**Tabelle 23**).

Das Methylsulfonylderivat **162** zeigte ebenfalls eine sehr gute antischistosomale Aktivität bis zu einer Konzentration von 10 μ M. Dabei konnte ebenfalls eine nahezu komplette Reduktion der Eiproduktion mit hohen Deformationsraten, eine kompletten Entpaarung aller Schistosomenpärchen und eine starke Inhibition von Vitalität und Motilität beobachtet werden. Desweiteren traten Tegumentschädigungen und -ablösung, der Verlust innerer Strukturen sowie Anisocytose des Ovars auf (vgl. **Abbildung 58**). Die beobachtete Aktivität glich in etwa der des 4-Cyanbenzyl-Derivats **158**.



Abbildung 58: Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **162** (Schl32118). **A:** Tegumentblasen; **B:** Weibchen mit Eiakkumulation im Uterus.

Im Anschluss daran wurde das 2-Hydroxy-5-nitrophenyl-Derivat **163** getestet. Obwohl der aromatische Ring an den wie bisher angenommen ungünstigsten Stellen funktionalisiert wurde, zeigte Derivat **163** *in vitro* eine sehr gute antischistosomale Aktivität. Bis zu einer Konzentration von 25 µM wirkte **163** nach 24 Stunden letal auf die Schistosomen. Bei einer Konzentration von 10 µM trat dieser nach 48 Stunden ein. Neben der vollständigen Entpaarung waren höchstens fünf Eier nachweisbar. Außerdem kam es bei allen getesteten Konzentrationen zur Schädigung des Teguments unter Bildung von Tegumentblasen. Bei einer Konzentration von 5 µM kam es zu einem leichten Anstieg der Eiproduktion. Letale Effekte und Tegumentschäden konnten nicht mehr nachgewiesen werden. Unterhalb einer Konzentration von 5 µM war Verbindung **163** inaktiv. Der Grund für die sehr gute Wirksamkeit trotz der eigentlich ungünstigen Substituentenposition ist nicht bekannt. Aufgrund des letalen Effekts bis zu niedrigen Konzentration und dem mit Ausnahme der Tegumentschäden ausbleibenden weiteren Phänotypen wie zum Beispiel der Eiakkumulation im Uterus oder dem Verlust innerer Strukturen kann eine Wirkung auf ein anderes *Target* vermutet werden.

Abbildung 59 zeigt vergleichend die Eiproduktion und -deformation der Verbindungen **162** und **163** bei der jeweils niedrigsten wirksamen Konzentration.

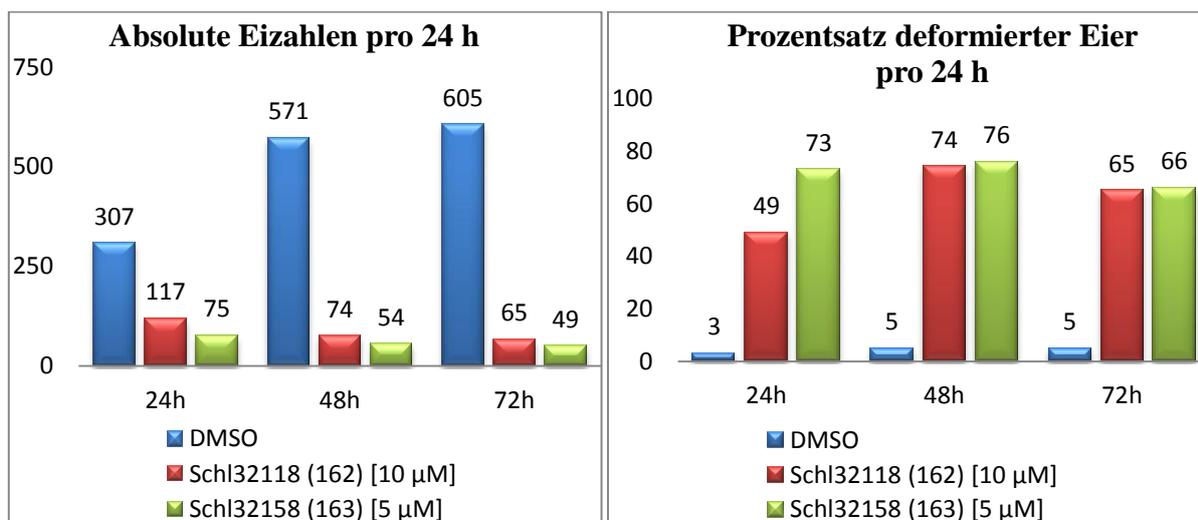


Abbildung 59: Vergleich der Eiproduktion sowie -deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **162** (Schl32118) und **163** (Schl32158) bei der jeweils niedrigsten wirksamen Konzentration.

Durch die Einführung elektronenziehender Substituenten am aromatischen Ring konnten vier Derivate mit stark verbesserter antischistosomaler Aktivität erhalten werden. Die vier Verbindungen sowie die jeweils niedrigste wirksame Konzentration sind in **Abbildung 60** dargestellt.

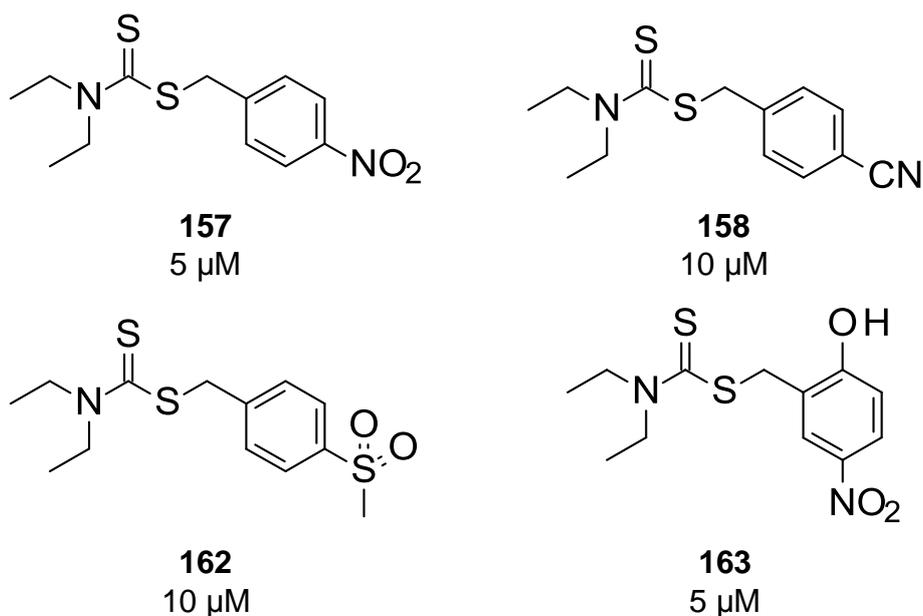


Abbildung 60: Strukturformeln der vier wirksamsten Verbindungen sowie die jeweils niedrigste wirksame Konzentration.

Die vier Derivate wurden abschließend auf ihr zytotoxisches Potential gegenüber der HepG2-Zelllinie getestet. Dabei zeigte sich bereits bei einer Konzentration von 50 μM , dass alle vier Verbindungen ein zytotoxisches Potential aufwiesen (vgl. **Abbildung 61**). Die Testung wurde bei einer Konzentration von 25 μM wiederholt. Dabei konnte für das Methylsulfonyl-Derivat **158** und das 2-Hydroxy-5-nitrophenyl-Derivat **163** keine Zytotoxizität nachgewiesen werden. Auf eine Testung gegenüber der LS174T-Zelllinie wurde verzichtet. Die Derivate zeigten allesamt eine sehr gute antischistosomale Aktivität, müssen aber hinsichtlich ihrer Toxizität weiter optimiert werden.

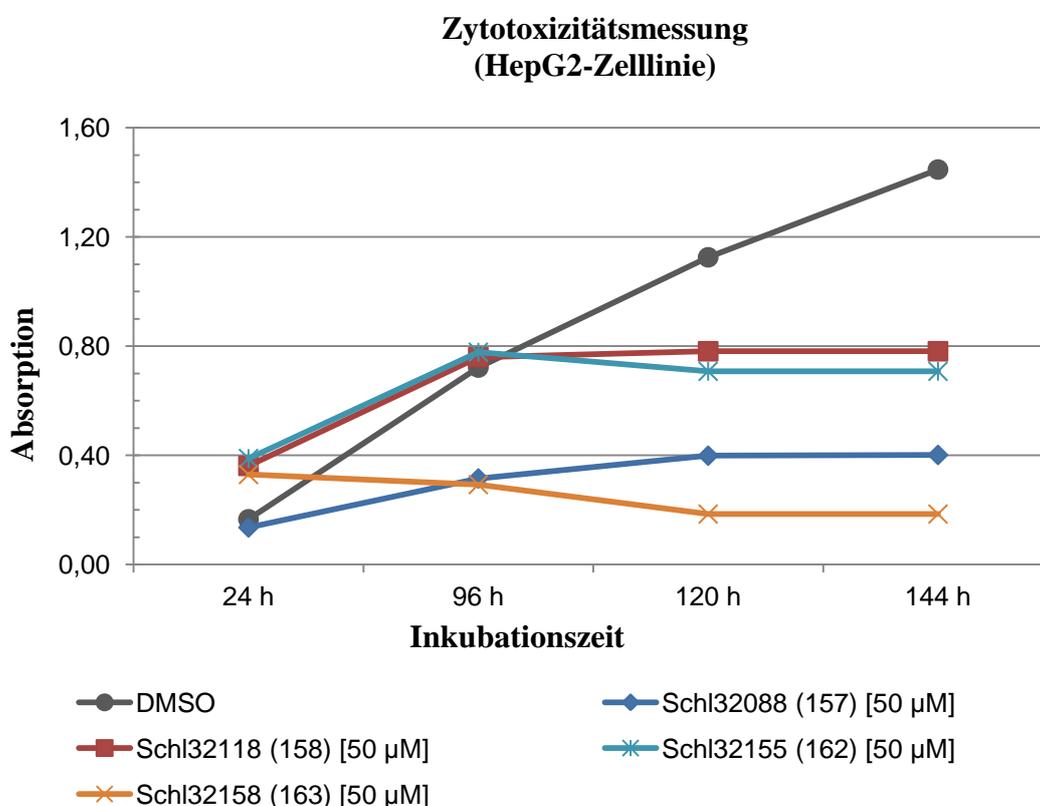
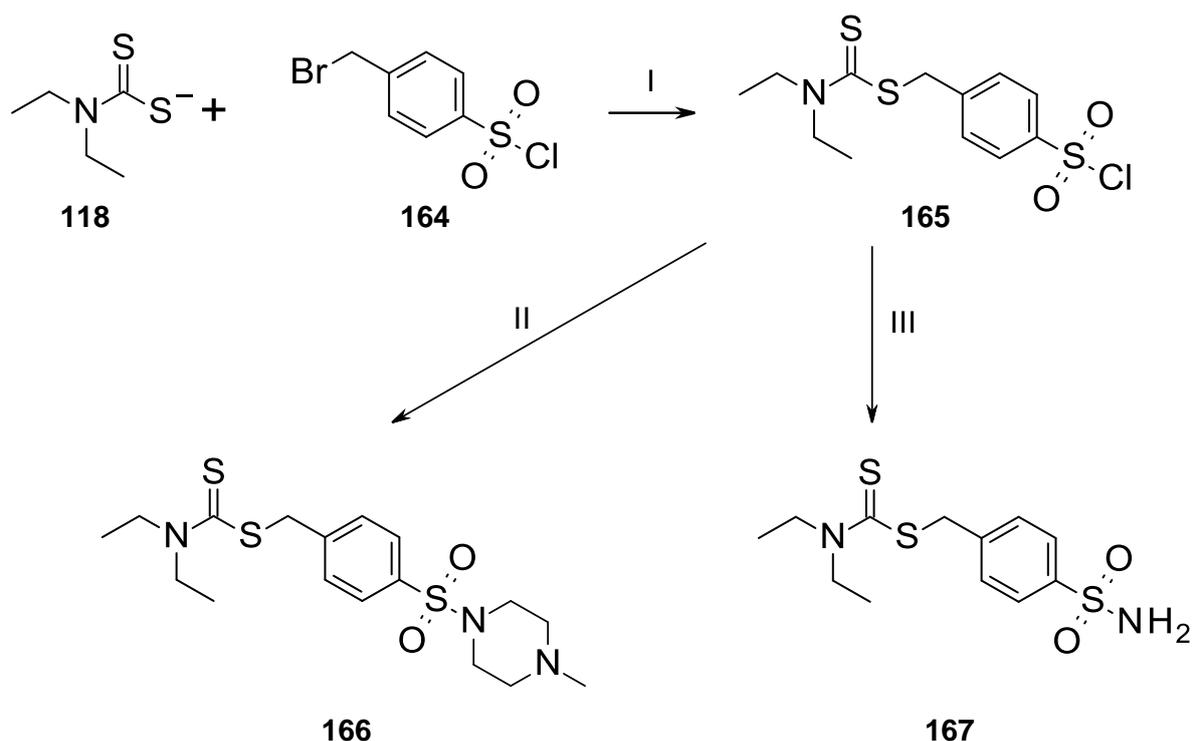


Abbildung 61: Auswertung der Zytotoxizitätsmessung (HepG2-Zelllinie) der Verbindung **157** (Schl32088), **158** (Schl32118), **162** (Schl32155) und **163** (Schl32158).

B.2.1.7 Weitere *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivate

Im nächsten Schritt wurde die Methylsulfonylgruppe durch ein Sulfonamid ersetzt. Zur Darstellung der Derivate wurde zunächst das Dithiocarbamat **118** mit 4-(Brommethyl)benzensulfonylchlorid (**164**) umgesetzt. Das Intermediat **165** wurde anschließend mit Ammoniak oder Methylpiperazin umgesetzt. Die gewünschten Derivate **166**

und **167** konnten in moderaten Ausbeuten (Verbindung **166**: 41%; Verbindung **167**: 29%) isoliert werden. Die Syntheseroute ist in **Schema 15** dargestellt. *In vitro* zeigte keines der beiden Derivate eine antischistosomale Aktivität, sodass dieser Ansatz nicht weiter verfolgt wurde.



Schema 15: Syntheseroute zur Darstellung der Derivate **166** und **167** (modifiziert).^[270]

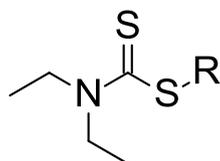
- (I) Acetonitril, NEt_3 , 6 h, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$
- (II) Methylpiperazin, 8 h, RT
- (III) NH_3 , 10 h, $60\text{ }^\circ\text{C}$

Stattdessen wurden nachfolgend Verbindungen mit hydrophilen Substituenten dargestellt, welche, basierend auf den bisher gewonnenen Erkenntnissen mit Ausnahme der Phenol-Derivate **169-171**, nur in Position 4 des aromatischen Rings eingeführt wurden. Die Derivate sind in Tabelle **24** dargestellt.

Die beiden Carbonsäurederivate **172** und **174** waren *in vitro* inaktiv. Von den anderen fünf getesteten Derivaten zeigte nur das 4-Amino-Derivat **168** eine antischistosomale Aktivität unterhalb einer Konzentration von $100\text{ }\mu\text{M}$. Diese war im Vergleich zu der Wirksamkeit der Derivate mit elektronenziehenden Substituenten deutlich unterlegen. Außerdem wurden stark

zytotoxische Effekte nachgewiesen, die möglicherweise auf die Anilin-Grundstruktur zurückzuführen sind. Daher wurde auch dieser Ansatz nicht weiter verfolgt.

Tabelle 24: Strukturformeln der *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivate **168-174**.



#	R	#	R
Schl32089 (168)		Schl32136 (172)	
Schl32110 (169)		Schl32150 (173)	
Schl32111 (170)		Schl32153 (174)	
Schl32112 (171)			

Abschließend wurde versucht, die antischistosomale Aktivität durch Austausch des Benzylsubstituenten gegen andere Ringsysteme zu verbessern. Dabei wurden zunächst das Ethylpiperidin-Derivat **175** und das Ethylmorpholin-Derivat **176** nach der bekannten Syntheseroute dargestellt (**Abbildung 62**). Die anschließende Testung zeigte, dass beide Derivate bereits bei einer Konzentration von 100 μ M inaktiv waren.

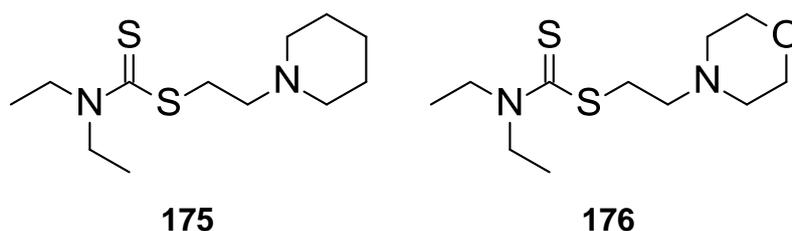
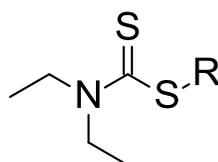


Abbildung 62: Strukturformeln der beiden Derivate **175** und **176** mit einem basischen Stickstoff in der Seitenkette.

Im Anschluss wurde der Phenyl-Ring durch einen Cumarin-Rest (**177**), Cyclohexyl- (**178**) und Indol- (**179**) ersetzt. Die Strukturformeln und Ausbeuten der Derivate sind in **Tabelle 25** angegeben.

Tabelle 25: Strukturformeln und Ausbeuten der *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivate **162** und **163**.



#	R	Ausbeute [%]
Schl32175 (177)		25
Schl32178 (178)		45
Schl32189 (179)		90

In der Literatur wurden bereits verschiedene Cumarin-Derivate beschrieben, deren Wirksamkeit im Mausmodell nachgewiesen wurde.^[272-274] Jedoch enthielt keines dieser

Derivate eine Dithiocarbamat-Grundstruktur, sodass Verbindung **177** synthetisiert wurde. *In vitro* konnte eine sehr gute antischistosomale Aktivität nachgewiesen werden. Bis zu einer Konzentration von 10 μM zeigte **177** nach maximal 48 Stunden einen letalen Effekt auf die Schistosomen. Dieser blieb zwar bei einer Konzentration von 5 μM aus, jedoch wurden die Parameter Eiproduktion, Paarungsstabilität, Vitalität und Motilität sehr stark erniedrigt. Der negative Einfluss auf die Paarungsstabilität und Eiproduktion gleicht dem der literaturbekannten Derivate. Der Cumarin-Rest löst möglicherweise durch kovalente Enzyminhibition unter Öffnung des Laktons diese Effekte aus.^[272-274] Desweiteren konnten Einschnürungen der Schistosomen-Weibchen in Nähe des Ovars und der Verlust innerer Strukturen beobachtet werden. Unterhalb einer Konzentration von 5 μM konnte keine Wirksamkeit mehr nachgewiesen werden.

Auch das Cyclohexylmethyl-Derivat **178** war bis zu einer Konzentration von 10 μM wirksam, zeigte aber neben der Reduktion der Eiproduktion nur einen negativen Einfluss auf die Paarungsstabilität. Parameter wie Vitalität und Motilität waren wenig bis gar nicht beeinflusst. Nichtsdestotrotz war die Aktivität mit der des Benzylderivats **122** vergleichbar.

Eine antischistosomale Aktivität zeigte auch das Indolderivat **179**. Da der Indolyl-Rest elektronenreich ist, wurde aufgrund der vorherigen Ergebnisse eine schwächere Aktivität erwartet. Verbindung **179** war bis zu einer Konzentration von 10 μM aktiv. Dabei wurde neben der signifikanten Reduktion der Eiproduktion die vollständige Entpaarung aller Schistosomenpärchen, stark reduzierte Vitalität und Motilität, Darmdilatationen und der Verlust innerer Strukturen beobachtet (vgl. **Abbildung 63**). Ab einer Konzentration von 5 μM war das Indolyl-Derivat **179** inaktiv.

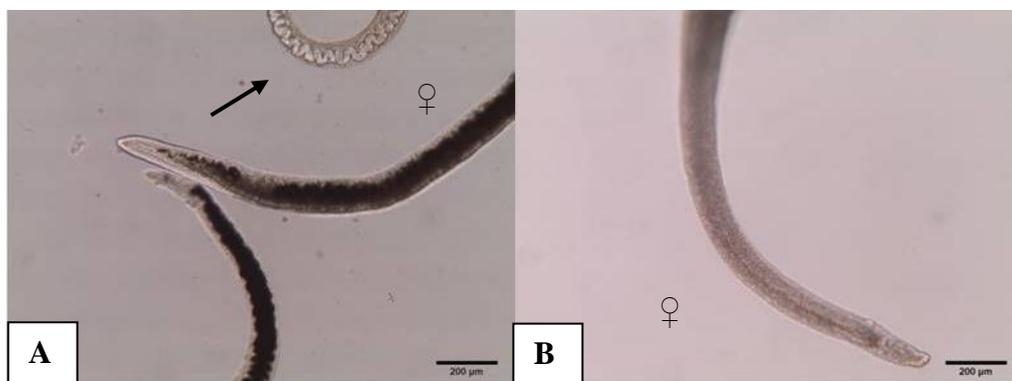


Abbildung 63: Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **179** (Schl32189). **A:** Darmdilatationen; **B:** Verlust innerer Strukturen.

Abbildung 64 zeigt vergleichend die Zahlen der Eiproduktion und –deformation der Verbindungen **177** bis **179** bei einer Konzentration von 10 μM . Dabei ist für das Cyclohexyl-Derivat **178** der bereits mehrfach diskutierte verzögerte Wirkeffekt auf die Eiproduktion zu erkennen. Das Cumarin-Derivat **177** hemmte dagegen die Eiproduktion bereits nach 24 Stunden vollständig. Bei einer Konzentration von 5 μM konnten bei Verbindung **177** vergleichbare Werte beobachtet werden (19 Eier nach 24 h, Deformationsrate 56%; 47 Eier nach 48 h, Deformationsrate 75%; 57 Eier nach 72 h, Deformationsrate 72%).

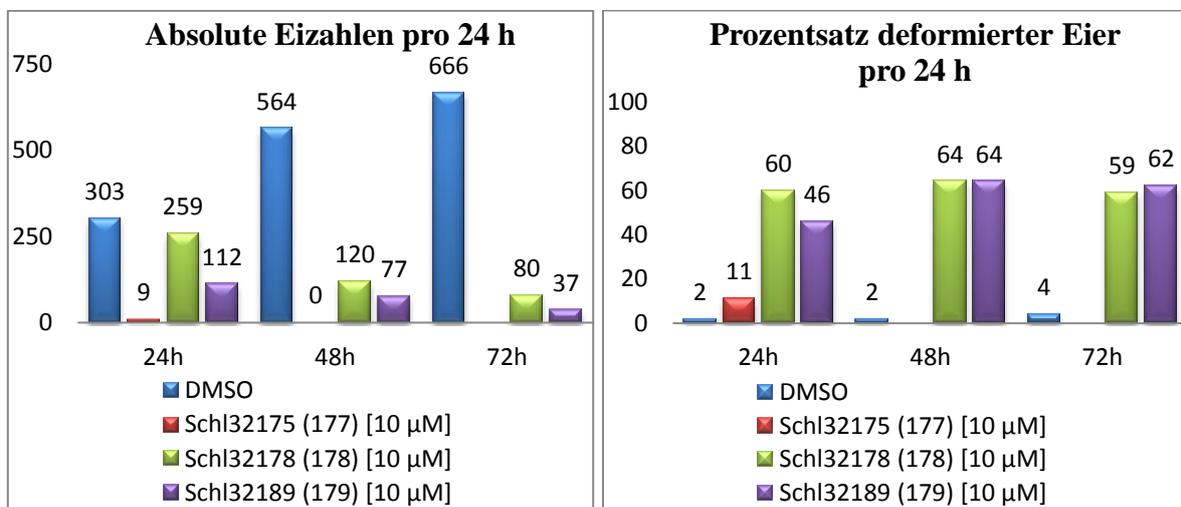


Abbildung 64: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **177** (Schl32175), **178** (Schl32178) und **179** (Schl32189) bei einer Konzentration von je 10 μM .

Das Cumarin-Derivat **177** und das Indol-Derivat **179** wurden im Anschluss auf ihr zytotoxisches Potential getestet. Verbindung **177** zeigte gegenüber der HepG2-Zelllinie bis zu einer Konzentration von 50 μM keine Toxizität. Bei der Testung gegenüber der Darmepithelzelllinie LS174T war Verbindung **177** jedoch in jeder der getesteten Konzentrationen toxisch. Das Indol-Derivat **179** zeigte bereits gegenüber der Leberzelllinie HepG2 bei niedrigen Konzentrationen (25 μM) ein zytotoxisches Potential, sodass diese Verbindung gegenüber LS174T nicht untersucht wurde. Somit müssen die beiden sehr gut wirksamen Verbindungen hinsichtlich ihres Toxizitätsprofils noch weiter optimiert werden.

Ein Austausch des Phenyl-Rings gegen ein Nitrofuran wurde ebenfalls versucht. Jedoch konnte das Nitrofuran-Derivat **180** trotz zahlreicher Syntheseveruche und Optimierungsschritte nicht erfolgreich dargestellt werden.

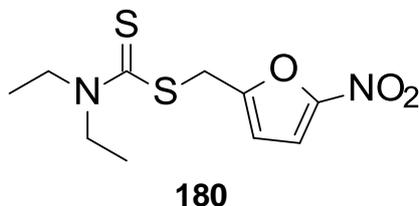
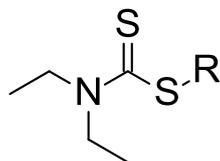


Abbildung 65: Strukturformel des Nitrofuran-Derivats **180**.

B.2.1.8 Struktur-Wirkungs-Beziehungen und Zusammenfassung

Ziel dieser Optimierungsserie war es, den Einfluss des Substituenten am Schwefel des Dithiocarbamats zu bewerten. Es wurden 73 Derivate mit einer großen Diversität dargestellt und *in vitro* getestet. Dabei wurden sieben Substituenten gefunden, deren Einführung einen deutlichen Anstieg der antischistosomalen Aktivität und eine Wirksamkeit bei einer Konzentration von 10 μM zur Folge hatte. Drei der besten sieben Derivate waren zudem bei 5 μM wirksam und waren somit der Aktivität von Praziquantel (**1**) ebenbürtig. Dabei wurden im Vergleich zu PZQ (**1**) neuartige Phänotypen beobachtet, welche auf einen anderen Wirkmechanismus hindeuten. Die sieben besten Derivate sind in **Tabelle 26** zusammengefasst.

Tabelle 26: Übersicht der wirksamsten *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivate.



#	R	#	R
Schl32088** (157)		Schl32175** (177)	
Schl32118* (162)		Schl32178* (178)	
Schl32155* (158)		Schl32189* (179)	
Schl32158** (163)			

* wirksam bis 10 μ M; ** wirksam bis 5 μ M

Anhand der dargestellten Derivate konnte gezeigt werden, dass der Substituent am Schwefel des Dithiocarbamats einen starken Einfluss auf die antischistosomale Aktivität hat. Erste Erkenntnisse zu Struktur-Wirkungs-Beziehungen konnten gewonnen werden.

Mit der Einführung eines Benzylsubstituenten steigt die Aktivität sprunghaft an. Der Abstand zwischen dem Schwefelatom und dem aromatischen Rest darf zwischen null und drei Methyleneinheiten betragen. Eine weitere Verlängerung der Kette des *Linkers* geht mit einem Aktivitätsverlust einher. Gleiches gilt für die Einführung rigider Ketten. Somit scheint eine Flexibilität der Kette notwendig zu sein. Die Einführung von elektronenziehenden Substituenten in der 4-Position des Aromaten führte zu den wirksamsten Derivaten der Reihe.

Das 4-Nitrobenzyl- und das Cumarin-Derivat zeigten bis zu einer Konzentration von 5 μM eine antischistosomale Aktivität. Eine gerichtete Wechselwirkung scheint dabei notwendig zu sein. Eine Substitution des Phenyl-Rings durch einen Cyclohexyl-, Cumarin- oder Indolyl-Ring wurde ebenfalls toleriert. Gleiches gilt für die Einführung des sehr gut wirksamen 2-Hydroxy-5-nitrophenyl-Rests. Nichtsdestotrotz besteht vor allem aufgrund der gemessenen Zytotoxizität weiterer Optimierungsbedarf.

B.2.2 Variation der Substituenten am Dithiocarbamat-Stickstoff

B.2.2.1 Initiale Derivate

In der nächsten Optimierungsserie wurden die Substituenten des Dithiocarbamat-Stickstoffs variiert. Die Derivate wurden wiederum über die bekannte *One-Pot*-Reaktion von *Saidi et al.* dargestellt.^[270] Die Substituenten umfassten erneut ein breites Spektrum. Der in der ersten Optimierungsserie initial gefundene Benzylsubstituent am Schwefel des Dithiocarbamats wurde bei allen Derivaten beibehalten, um den Effekt der Derivatisierungen bewerten zu können (vgl. **Abbildung 66**).

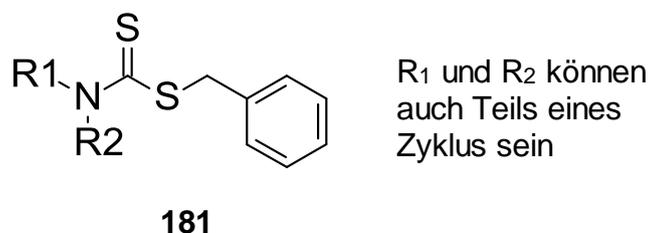


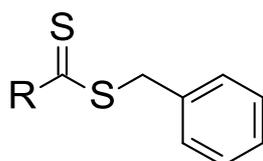
Abbildung 66: Grundstruktur der Derivate mit variiertem Substituenten am Stickstoff.

Zuerst wurden die beiden Ethylsubstituenten gegen andere aliphatische Ketten ausgetauscht. Dabei sollte durch Einführung von Methyl- bis Hexylketten der Einfluss der Kettenlänge untersucht werden. Ebenso sollte durch Einführung eines Piperidinyl-Rests der Einfluss der Cyclisierung auf die antischistosomale Aktivität untersucht werden. Die Synthese erfolgte analog zur bekannten Vorschrift in guten bis sehr guten Ausbeuten. Die dargestellten Derivate sind in **Tabelle 27** gezeigt.

Bei der anschließenden *in vitro*-Testung zeigte sich, dass bei einer Konzentration von 100 μM das Piperidin-, das *N,N*-Dipropyl- und das *N,N*-Dimethyl-Derivat (**182**, **183** und **187**) eine sehr gute Wirksamkeit aufwiesen. Diese glich dem *N,N*-Diethyl-Derivat **122**. Es kam zu einer Entpaarung aller 10 Schistosomenpärchen mit stark reduzierter Vitalität, einer verlangsamten Darmperistaltik mit beginnenden Darmdilataionen und zu einer Akkumulation der Eier im Uterus, wenngleich die Akkumulation geringer ausgeprägt war. Die Eiproduktion wurde ebenfalls signifikant reduziert. Bei den Derivaten **182** und **183** konnte zudem kein verzögerter Effekt auf die Eiproduktion beobachtet werden, wie es beim *N,N*-Diethyl-Derivat **122** der Fall war. Daher ist die Aktivität dieser beiden Verbindungen bei 100 μM geringfügig höher zu

bewerten. Ab einer Konzentration von 50 μM waren die Verbindungen **182**, **183** und **187** unwirksam. Eine Verlängerung der aliphatischen Kette auf vier oder mehr Kohlenstoffe hatte bereits bei einer Konzentration von 100 μM einen rapiden Verlust der antischistosomalen Aktivität zur Folge.

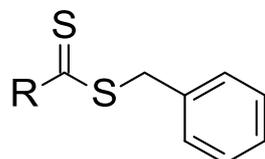
Tabelle 27: Übersicht der dargestellten Derivate **182-187** mit veränderten Substituenten am Dithiocarbamat-Stickstoff.



#	R	#	R
Schl32012 (182)		Schl32203 (185)	
Schl32201 (183)		Schl32204 (186)	
Schl32202 (184)		Schl32261 (187)	

Aufgrund der unzureichenden Derivatisierungsmöglichkeiten der aliphatischen Kette und der guten Wirksamkeit der Verbindung **182**, wurde im Anschluss versucht, das Piperidin-Strukturelement zu variieren. Neben dem Austausch des Piperidin-Strukturelements gegen andere Ringsysteme wie (Thio)Morpholin oder Tetrahydro(iso)chinolin sollte auch die Einführung ausgewählter Substituenten am Piperidin-Ring untersucht werden. Die Verbindungen konnten in guten Ausbeuten dargestellt werden, jedoch mussten die Synthesebedingungen modifiziert werden. Neben der Verdopplung der Reaktionszeit wurden stärkere Basen wie Kaliumphosphat oder Natriumhydroxid verwendet. **Tabelle 28** zeigt die dargestellten Derivate.

Tabelle 28: Übersicht der dargestellten Derivate **188-196** mit variiertem Piperidin-Strukturelement.



#	R	#	R
Schl32019 (188)		Schl32205 (193)	
Schl32176 (189)		Schl32206 (194)	
Schl32186 (190)		Schl32212 (195)	
Schl32195 (191)		Schl32215 (196)	
Schl32196 (192)			

Die beiden (Thio)Morpholin-Derivate **188** und **195** zeigten *in vitro* eine im Vergleich zum Piperidin-Derivat **182** leicht abgeschwächte Wirksamkeit bei einer Konzentration von 100 μ M. Es kam zwar ebenfalls zu einer Entpaarung aller 10 Schistosomenpärchen mit reduzierter Vitalität und einer verlangsamten Darmperistaltik, jedoch konnten Phänotypen wie beginnende Darmdilataionen und einer Akkumulation der Eier im Uterus nicht beobachtet werden. Die Eiproduktion wurde durch beide Verbindungen vergleichbar reduziert. Bei dem Morpholin-Derivat **188** trat erneut ein verzögerter Effekt auf die Eiproduktion auf (**Abbildung 67**). Eine Erniedrigung der getesteten Konzentration auf 50 μ M hatte abermals einen vollständigen Aktivitätsverlust zur Folge. Im Anschluss wurden die Derivate mit

veränderten Ringsystemen beziehungsweise substituierten Piperidinyl-Resten *in vitro* getestet. Dabei konnte für keine der sieben Verbindungen eine Wirksamkeit nachgewiesen werden, sodass die Optimierung dieser Derivate nicht weiter verfolgt wurde.

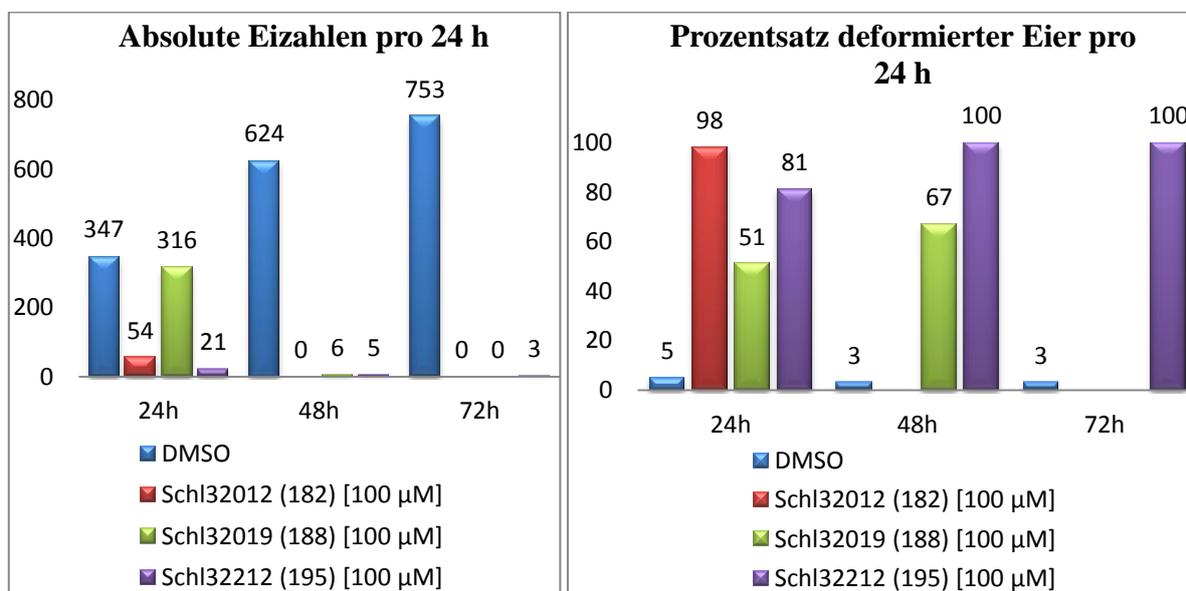


Abbildung 67: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **182** (Schl32012), **188** (Schl32019) und **195** (Schl32212) bei einer Konzentration von je 100 µM.

B.2.2.2 Piperazin-Derivate

Da die Optimierungsversuche des Piperidin-Strukturelements keine Verbesserung der Wirksamkeit zeigten, wurde im nächsten Schritt Piperazin als Aminkomponente des Dithiocarbamats eingeführt. Zunächst wurde nach bekannter Synthesvorschrift das *N*-Boc-geschützte Derivat **206** dargestellt. Nach saurer Abspaltung der Schutzgruppe wurde das Hydrochlorid der gewünschten Verbindung (**197**) erhalten (**Abbildung 68**).

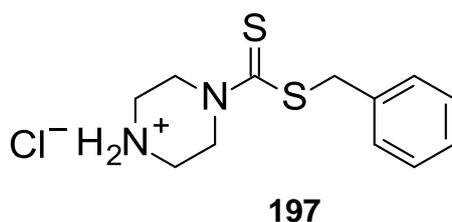


Abbildung 68: Strukturformel des unsubstituierten Piperazinderivats **197** (Schl32191).

In vitro zeigte die Verbindung bei 100 μM eine im Vergleich zur *N,N*-Diethylsubstituierten Ausgangsverbindung **122** stark erhöhte Wirksamkeit. Neben der Entpaarung aller 10 Schistosomenpärchen und einer drastisch reduzierten Vitalität und Motilität wurden starke Tegumentschäden mit Blasenbildung und Ablösung, Darmdilatationen, Verlust innerer Strukturen, tumorähnliche Ausstülpungen sowie Akkumulation von Eiern im Uterus beobachtet (vgl. **Abbildung 69**).

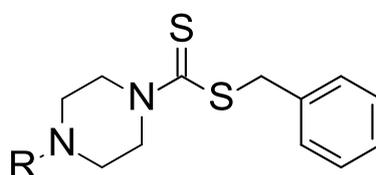


Abbildung 69: Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **197** (Schl32191). **A:** Blasenbildung des Teguments; **B:** Tumorähnliche Ausstülpungen (schwarzer Pfeil); **C:** Blasenbildung des Teguments und Verlust innerer Strukturen (Pfeil); **D:** Darmdilatationen.

Vergleichbare Effekte auf alle Parameter konnten bis zu einer Konzentration von 25 μM nachgewiesen werden. Bei einer Konzentration von 10 μM traten keine Darmdilatationen, Verlust innerer Strukturen, tumorähnliche Ausstülpungen oder Akkumulation von Eiern im Uterus mehr auf. Effekte auf die Paarungsstabilität, die Vitalität, die Eiproduktion und das Tegument konnten, wenn auch in teils stark abgeschwächter Form, dennoch beobachtet werden. Ab einer Konzentration von 5 μM war das Piperazin-Derivat **197** vollständig unwirksam.

Da die Einführung eines Piperazin-Strukturelements einen gravierenden Anstieg der antischistosomalen Aktivität zur Folge hatte, sollten am freien Stickstoff von Verbindung **197** zunächst unter Aufrechterhaltung der Basizität weitere Substituenten eingeführt werden. Neben kurzen Alkylketten (Methyl-, Ethyl- und Propyl-) wurde der Einfluss von Aryl- und Arylalkyl-Substituenten untersucht. Desweiteren wurde eine Carbonsäureamidfunktion in der Seitenkette eingeführt, deren Einfluss auf die antischistosomale Aktivität überprüft werden sollte (**Tabelle 29**).

Tabelle 29: Übersicht der *N*-substituierten Piperazin-Derivate **198-204** unter Aufrechterhaltung der Basizität des Stickstoffs.



#	R	#	R
Schl32140 (198)	-CH ₃	Schl32194 (202)	
Schl32174 (199)		Schl32207 (203)	
Schl32192 (200)		Schl32210 (204)	
Schl32193 (201)			

Zunächst wurden die drei *N*-alkylierten Derivate **198**, **200** und **201** bei einer Konzentration von 100 μ M auf ihre Aktivität getestet. Das *N*-Methylpiperazinderivat **198** zeigte nur einen negativen Effekt auf die Eiproduktion. Der vermutete verzögerte Wirkeintritt wurde ein weiteres Mal beobachtet (vgl. **Abbildung 70**). Mit einer Verlängerung der aliphatischen Kette zu Ethyl (**200**) beziehungsweise Propyl (**201**) stieg die antischistosomale Aktivität wieder auf das Niveau des unsubstituierten Piperazin-Derivats **197** an. *In vitro* konnten mit Ausnahme

der massiven Tegumentschäden die gleichen Effekte beobachtet werden. Zudem zeigte das Propyl-Derivat **201** nach 72 Stunden einen letalen Effekt auf die Schistosomen.

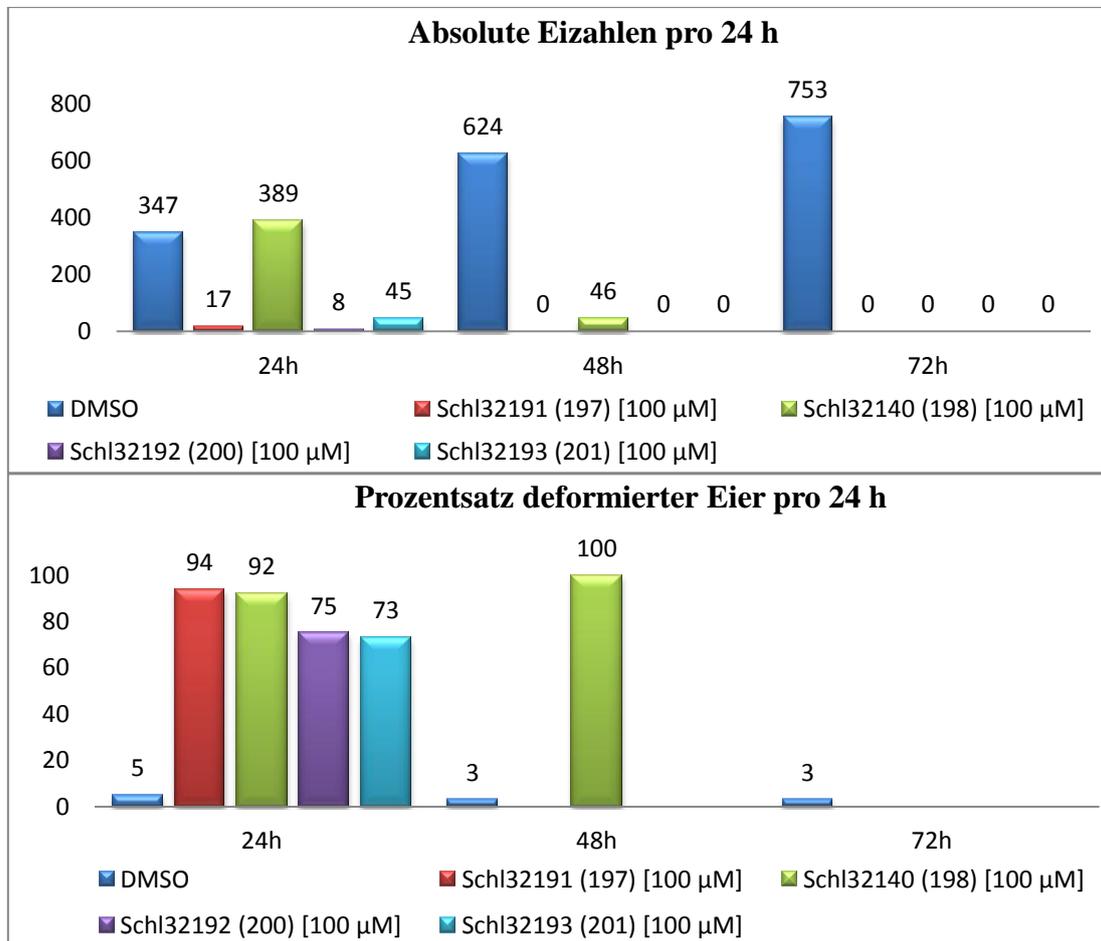


Abbildung 70: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **197** (Schl32191), **198** (Schl32140), **200** (Schl32192) und **201** (Schl32193) bei einer Konzentration von je 100 µM.

Nach Reduktion der Konzentration auf 25 µM war das *N*-Methylpiperazin-Derivat **198** unwirksam. Die beiden Derivate **200** und **201** hingegen zeigten keinen Verlust der Aktivität. Die Wirksamkeit war mit der bei 100 µM vergleichbar. Nur die Eiproduktion war minimal geringer reduziert. Nichtsdestotrotz konnte für beide Verbindungen nie mehr als 80 Eier pro 24 Stunden bei hohen Deformationsraten (> 60%) gezählt werden. Unterhalb von 25 µM waren die Derivate unwirksam. Nach Auswertung der Testungen zeigte sich, dass die Einführung einer Methylgruppe eine reduzierte Aktivität zur Folge hatte. Die Einführung eines Ethyl- beziehungsweise eines Propyl-Substituenten führte zu Derivaten mit einer

ähnlichen Wirksamkeit wie das unsubstituierte Piperazin-Derivat **197** (bei 25 μM). Da aber keines der *N*-alkylsubstituierten Piperazin-Derivate annähernd vergleichbare Tegumentschäden zeigte, ist ein anderer Wirkmechanismus nicht komplett auszuschließen. Nachfolgend wurden die *N*-Aryl(alkyl)substituierten Derivate *in vitro* getestet. Während das *N*-Cinnamyl-Derivat **204** unwirksam war, zeigten sowohl das *N*-Benzylderivat **199** als auch das Pyrimidin-2-yl-Derivat **203** eine sehr gute Wirksamkeit bei einer Konzentration von 100 μM . Bei beiden Derivaten zeigte sich eine nahezu vollständig inhibierte Eiproduktion, eine Entpaarung aller 10 Schistosomenpärchen, eine reduzierten Vitalität und Motilität, der Verlust innerer Strukturen sowie eine Akkumulation von Eiern im Uterus. Zusätzlich wurden bei der Testung des *N*-Benzylderivats **199** Zellablagerungen im Medium beobachtet, deren Ursprung ungeklärt ist (**Abbildung 71**).

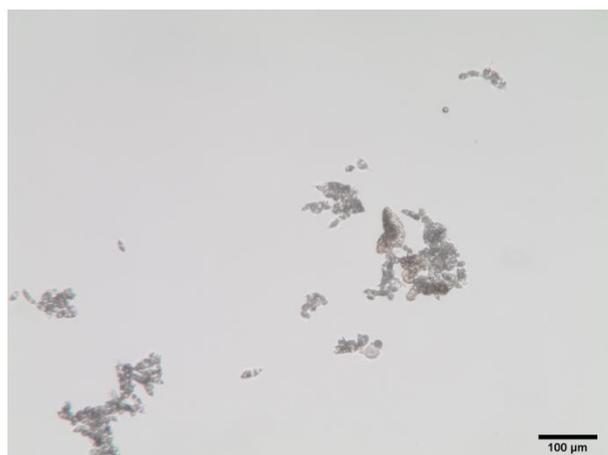


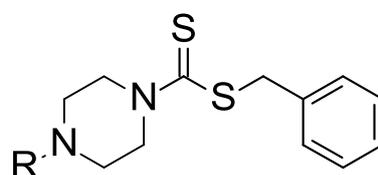
Abbildung 71: Beobachtete Zellablagerungen bei der *in vitro*-Testung des *N*-Benzylsubstituierten Piperazin-Derivats **199**.

Die Reduktion der Konzentration auf 25 μM hatte den Aktivitätsverlust des Pyrimidin-2-yl-Derivats **203** zur Folge. Das *N*-Benzylsubstituierte Piperazin-Derivat **199** zeigte eine im Vergleich zur 100 μM Testung nur geringfügig abgeschwächte Wirksamkeit. Dabei zeigte sich wiederum eine nahezu vollständig inhibierte Eiproduktion, eine Entpaarung von 8 der 10 Schistosomenpärchen, eine reduzierten Vitalität und Motilität sowie ein beginnender Verlust innerer Strukturen. Eine Akkumulation von Eiern im Uterus sowie die Beobachtung der Zellablagerungen im Medium blieben aus. Ab einer Konzentration von 10 μM war auch Verbindung **199** unwirksam.

Im Anschluss wurde die Verbindung **202**, welche ein *N*-Isopropyl-2-(piperazin-1-yl)acetamid-Strukturelement aufweist, auf ihre antischistosomale Aktivität getestet. Bei 100 μM wurden eine starke Inhibition der Eiproduktion, eine Entpaarung aller 10 Schistosomenpärchen, eine drastisch reduzierten Vitalität und Motilität, eine Dunkelfärbung der Ovale, eine Akkumulation von Eiern im Uterus sowie beginnende Darmdilataionen beobachtet. Die Effekte konnten bei einer Konzentration von 25 μM bestätigt werden. Ab einer Konzentration von 10 μM war Verbindung **202** ebenfalls unwirksam.

Durch die Einführung eines Benzylsubstituenten beziehungsweise eines Substituenten mit einer Carbonsäureamid-tragenden Seitenkette wurden erneut Verbindungen dargestellt, welche eine ähnliche Wirksamkeit wie das unsubstituierte Piperazin-Derivat **197** zeigen (bei 25 μM). Jedoch zeigten weder Verbindung **199** noch Verbindung **202** annähernd vergleichbare Tegumentschäden, sodass an dieser Stelle abermals ein anderer Wirkmechanismus realistisch wäre.

Tabelle 30: Strukturformeln und Ausbeuten der *N*-acylierten Piperazin-Derivate **205-208**.



#	R	Ausbeute [%]
Schl32146 (205)		86
Schl32190 (206)		43
Schl32200 (207)		91
Schl32209 (208)		93

Nach Abschluss der Testungen der *N*-substituierten Piperazin-Derivate kam die Frage auf, welchen Einfluss die Basizität des Piperazin-Stickstoffs auf die Wirksamkeit ausübt. Diese sollte durch Acylierung des Stickstoffs überprüft werden. Die dargestellten Derivate sowie die entsprechenden Ausbeuten sind in **Tabelle 30** gezeigt.

Das *N*-*Boc*-geschützte Derivat **206** zeigte *in vitro* die gleiche antischistosomale Aktivität wie das unsubstituierte Piperazin-Derivat **197**. Die Effekte auf die Schistosomen traten dabei mit zeitlicher Verzögerung, aber gleicher Intensität auf. Verbindung **206** war wie das unsubstituierte Piperazin-Derivat **197** bis zu einer Konzentration von 10 μM wirksam. Möglich wäre, dass die *Boc*-Schutzgruppe *in vitro* abgespalten wurde.

Das *N*-Acetylpiperazin-Derivat **205** war bereits bei einer Konzentration von 100 μM nicht aktiv. Das *N*-Ethylpiperazin-Derivat **200** hingegen zeigte bei dieser Konzentration eine sehr gute antischistosomale Aktivität. An der Stelle wurde zunächst vermutet, dass entweder die Carbonylgruppe an der Stelle nicht toleriert wurde und somit einen Aktivitätsverlust zur Folge hatte oder die Basizität des Piperazin-Stickstoffs essentiell für die Wirksamkeit ist.

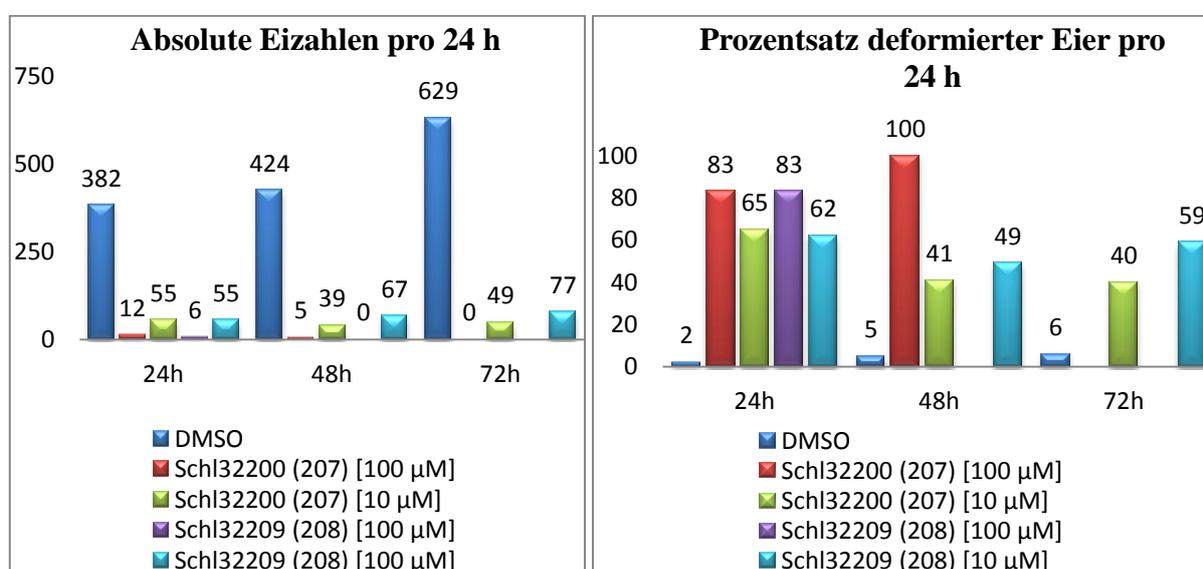


Abbildung 72: Vergleich der Eiproduktion sowie -deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **207** (Schl32200) und **208** (Schl32209) bei einer Konzentration von je 100 μM und je 10 μM .

Diese Vermutung wurde direkt im Anschluss wiederlegt, da die beiden acylierten Derivate **207** und **208** bei 100 μM eine sehr gute Wirksamkeit zeigten. Beide Verbindungen führten zu einer starken Reduktion der Eiproduktion (vgl. **Abbildung 72**) und Motilität sowie zur

Entpaarung aller 10 Schistosomenpärchen. Das Cyclopropyl-Derivat **208** wirkte zudem nach 48 Stunden letal auf die Schistosomen. Das Furoyl-Derivat **207** zeigte ebenfalls einen letalen Effekt. Dieser trat nach 72 Stunden ein. Desweiteren konnte bei beiden Verbindungen eine Blasenbildung und partielle Ablösung des Teguments, Darmdilatationen, der Verlust innerer Strukturen, tumorähnliche Ausstülpungen sowie eine Akkumulation der Eier im Uterus beobachtet werden (**Abbildung 73**). Die Phänotypen traten mit Ausnahme des letalen Effekts bis zu einer Konzentration von 10 μM in nur geringfügig abgeschwächter Form auf. Unterhalb von 10 μM waren beide Verbindungen unwirksam. Keines der beiden Derivate zeigte in der HepG2- oder LS174T-Zelllinie bis zu einer Konzentration von 50 μM ein zytotoxisches Potential.



Abbildung 73: Mikroskopische Aufnahme von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **208** (Schl32209). **A:** Blasenbildung und Ablösung des Teguments; **B:** Weibchen mit Strukturverlust und angeschwollenem Ovar (schwarzer Pfeil); **C:** Verlust innerer Strukturen; **D:** Tumorähnliche Ausstülpungen.

Ob die beobachtete Aktivitätssteigerung durch Acylierung des basischen Piperazin-Stickstoffs oder durch die cyclischen Acylreste erreicht wurde, kann an dieser Stelle nicht abschließend gesagt werden. Auch hier lag die Vermutung nahe, dass die acylierten Verbindungen

aufgrund der verschiedenen beobachteten Phänotypen (im Vergleich zum unsubstituierten Piperazin-Derivat **197**) ein anderes *Target* adressieren könnten. Insgesamt konnte durch den Austausch des Piperidinyl-Rests gegen ein (*N*-substituiertes) Piperazinyl-Strukturelement ein enormer Aktivitätsanstieg erreicht werden.

B.2.2.3 Weitere Variationen des Substituenten am Dithiocarbamat-Stickstoff

In Zusammenarbeit mit *Marlene Barho* (AK Schlitzer) wurden zwei Derivate mit einem *N*-(4-Biaryl(thio)ether)piperidin-4-carbamid-Strukturelement als Aminkomponente des Dithiocarbamats dargestellt (**Abbildung 74**), da mit der Einführung eines Piperidinyl-Rests eine Aktivitätssteigerung erreicht wurde. Die Biaryl(thio)ether-Struktur ist Teil von im Arbeitskreis Schlitzer untersuchten Neuroprotektiva.^[275]

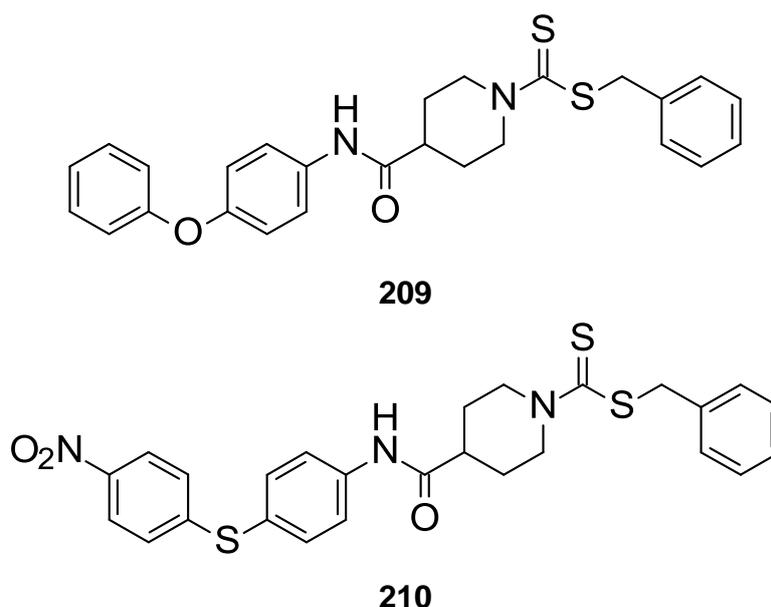


Abbildung 74: Strukturformeln der in Zusammenarbeit mit *Marlene Barho* dargestellten Derivate **209** und **210**.^[275]

Trotz der schlechten Löslichkeit der sehr lipophilen Verbindungen im Medium konnte *in vitro* eine sehr gute Wirksamkeit bis zu einer Konzentration von 5 μM nachgewiesen werden. Eine Inhibition der Eiproduktion sowie die Entpaarung aller 10 Schistosomenpärchen mit stark eingeschränkter Vitalität und Motilität wurde beobachtet. Desweiteren traten teils massive Darmdilataionen, Tegumentschäden und sowie der Verlust von inneren Strukturen auf (vgl.

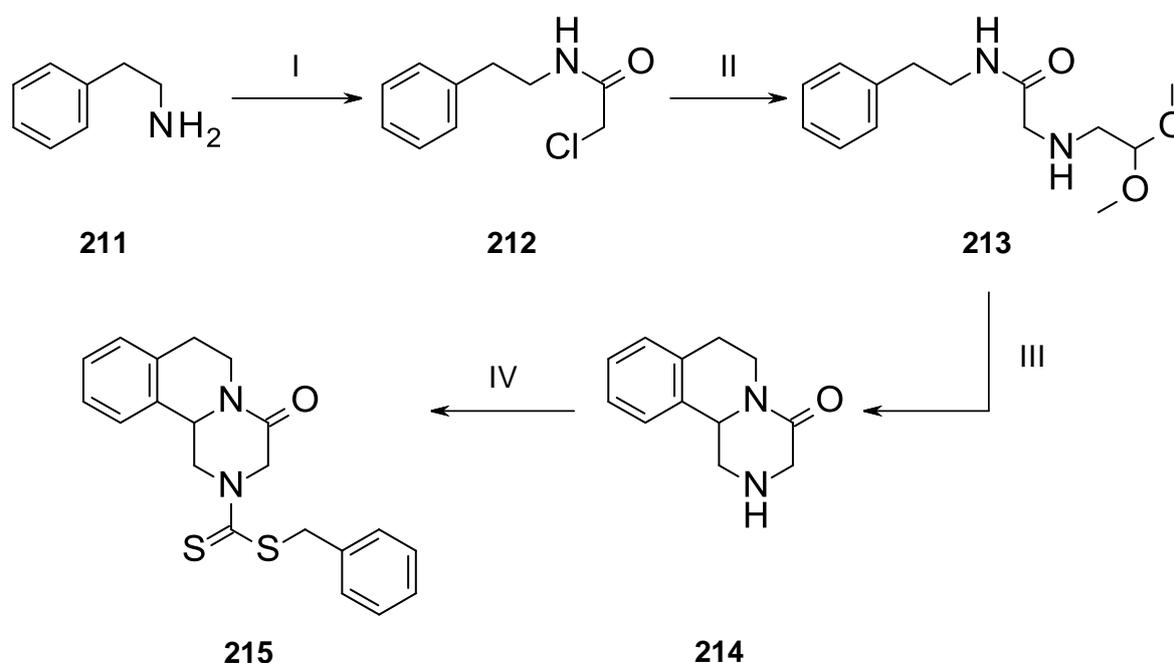
Abbildung 75). Zudem wirkte das Biarylthioether-Derivat **210** bis zu einer Konzentration von 10 μM letal auf die behandelten Schistosomen. Ob der letale Effekt auf das Vorhandensein der Nitrogruppe, der Verbrückung der beiden Arylreste über einen Schwefel oder beides zurückzuführen ist, ist nicht abschließend geklärt. Unterhalb einer Konzentration von 5 μM waren beide Verbindungen unwirksam.



Abbildung 75: Vergleich der mikroskopischen Aufnahmen von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung der Verbindungen **209** (Schl32177, oben) und **210** (Schl32222, unten). **A:** Weibchen mit Darmdilatationen; **B:** Weibchen mit Darmdilatationen und Substanzablagerungen (schwarzer Pfeil); **C:** Weibchen mit Verlust innerer Strukturen und Substanzablagerungen (schwarzer Pfeil); **D:** Männchen mit Tegumentablösung.

Mit der Einführung des *N*-(4-Biaryl(thio)ether)piperidin-4-carbamid-Strukturelements ging ein enormer Anstieg der Aktivität einher. Beide Verbindungen wurden im Anschluss auf ihr zytotoxisches Potential gegenüber der HepG2-Zelllinie getestet. Jedoch zeigten beide Derivate bereits bei einer niedrigen Konzentration von 25 μM eine toxische Wirkung. Aufgrund dessen und der schlechten Löslichkeit der Verbindungen wurde der Ansatz an dieser Stelle nicht weiter verfolgt.

Da auch *in vitro* wirksame Praziquantel-Derivate mit einer Carbamatstruktur beziehungsweise einem Benzyl- statt einem Cyclohexyl-Substituenten literaturbekannt sind, wurde die Aktivität des entsprechenden Pyrazinoisochinolindithiocarbamat-Derivats **215** untersucht.^[276, 277] **Schema 16** zeigt die Syntheseroute des Pyrazinoisochinolins **214** und des entsprechenden Dithiocarbamats **215**. Zunächst reagierte Phenethylamin (**211**) in einer nukleophilen Substitution mit Chloracetylchlorid. Das entstandene Zwischenprodukt **212** wurde im Anschluss in einer weiteren nukleophilen Substitution mit 2,2-Dimethoxyethanamin zu **213** umgesetzt, welches säurekatalysiert zum gewünschten Pyrazinoisochinolin (**214**) cyclisierte.^[278, 279] Die Ausbeute betrug 28% berechnet über drei Stufen. Die Synthese des entsprechenden Dithiocarbamats **215** erfolgte nach der etablierten Vorschrift.



Schema 16: Syntheseroute zur Darstellung des Pyrazinoisochinolin-Derivats **215**.^[278, 279]

- (I) Chloracetylchlorid, NaHCO₃, DCM, 4 h, 0 °C → RT
- (II) 2,2-Dimethoxyethanamin, Toluol, 4 h, 110 °C
- (III) H₂SO₄, 12 h, 0 °C → RT
- (IV) CS₂, NEt₃, Acetonitril, 15 min, 0 °C → RT; Benzylbromid, 8 h, RT

In vitro zeigte Verbindung **215** eine sehr gute antischistosomale Aktivität. Neben der kompletten Entpaarung aller 10 Schistosomenpärchen konnten bei einer Konzentration von 100 µM eine stark reduzierte Eiproduktion, Vitalität und Motilität sowie der Verlust innerer

Strukturen und Tegumentschäden beobachtet werden. Ähnliche Effekte zeigte auch Praziquantel (**1**) bei 100 μM . Zusätzlich paralyisierte Praziquantel (**1**) die Schistosomen. Ein vergleichbarer Wirkmechanismus konnte zunächst vermutet werden. Während Praziquantel (**1**) bis zu einer Konzentration von 5 μM exakt die gleichen Effekte auslöste, wurde bei Verbindung **215** bereits bei einer Konzentration von 25 μM eine sehr viel schwächere Wirksamkeit beobachtet. Die Eiproduktion und Vitalität waren zwar in einem vergleichbaren Maße inhibiert wie bei 100 μM , andere Effekte konnten jedoch nicht oder nur sehr schwach ausgeprägt beobachtet werden. So waren beispielsweise nur zwei von zehn Pärchen entpaart. Unterhalb einer Konzentration von 25 μM war Verbindung **215** unwirksam. **Abbildung 76** vergleicht die beobachteten Effekte bei der *in vitro*-Testung von Praziquantel (**1**) und Verbindung **215** bei einer Konzentration von 25 μM .

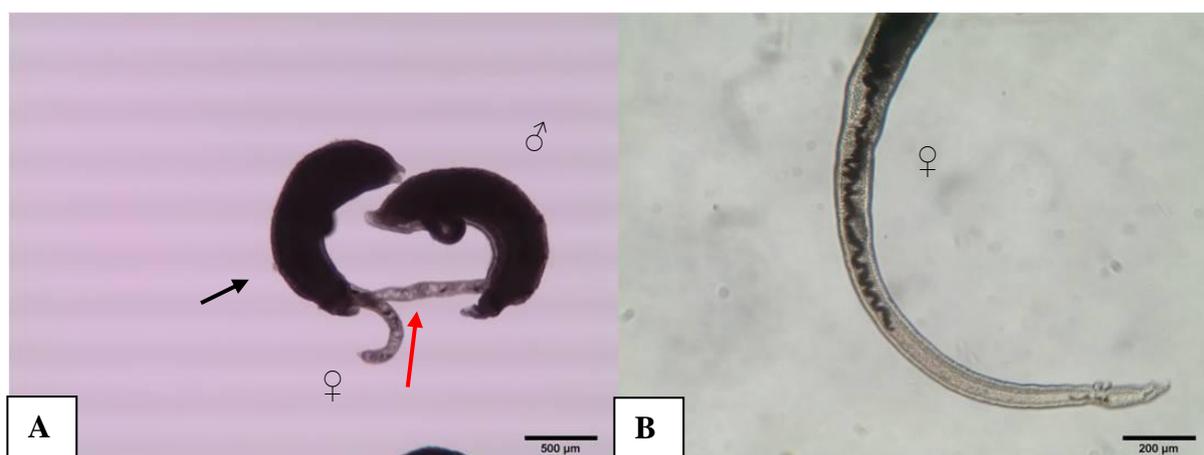
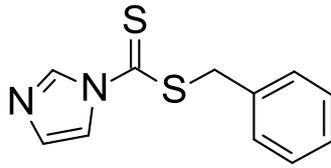


Abbildung 76: Vergleich der mikroskopischen Aufnahmen von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Praziquantel (**1**, links) und Verbindung **215** (Schl32223, rechts). **A:** Unvollständig entpaartes Schistosomenpärchen mit Tegumentschäden (schwarzer Pfeil) und Darmdilatationen (roter Pfeil); **B:** Annähernd morphologisch normales Weibchen.

Abschließend wurde durch Einführung eines Imidazolyl-Restes versucht, die antischistosomale Aktivität weiter zu verbessern. Zur Darstellung von Verbindung **216** musste die bekannte Syntheseroute zunächst modifiziert werden. Nach Einsatz von Kaliumphosphat als Base und Aceton als Lösungsmittel konnte das gewünschte Derivat dargestellt werden, wenn auch in einer schlechten Ausbeute von 34%.^[280]



216

Abbildung 77: Strukturformel des Imidazol-Derivats **216** (Schl32027).

In vitro zeigte Verbindung **216** im Vergleich zu den anderen Derivaten dieser Serie eine differente Wirkung. Bis zu einer Konzentration von 25 μM konnte in Analogie zu den anderen Derivaten eine Entpaarung aller 10 Schistosomenpärchen und eine nahezu vollständige Reduktion der Eiproduktion beobachtet werden. Zusätzlich dazu traten fast alle bisher beobachteten Phänotypen gleichzeitig auf. Neben massiven Tegumentschäden mit Ablösung und Blasenbildung zeigten die Würmer eine nahezu vollständige Inhibition der Vitalität, Motilität, den Verlust innerer Strukturen sowie Darmdilatationen. Diese wurden erstmals auch bei Männchen beobachtet. Die (Kopf-)Saugnapfe erschienen autolytisch. Desweiteren waren die Schistosomen ödematös aufgequollen und korkenzieherartig aufgerollt, wobei die Männchen davon mehr betroffen waren als die Weibchen. Einzig die tumorähnlichen Ausstülpungen konnten nicht nachgewiesen werden (vgl. **Abbildung 78**).

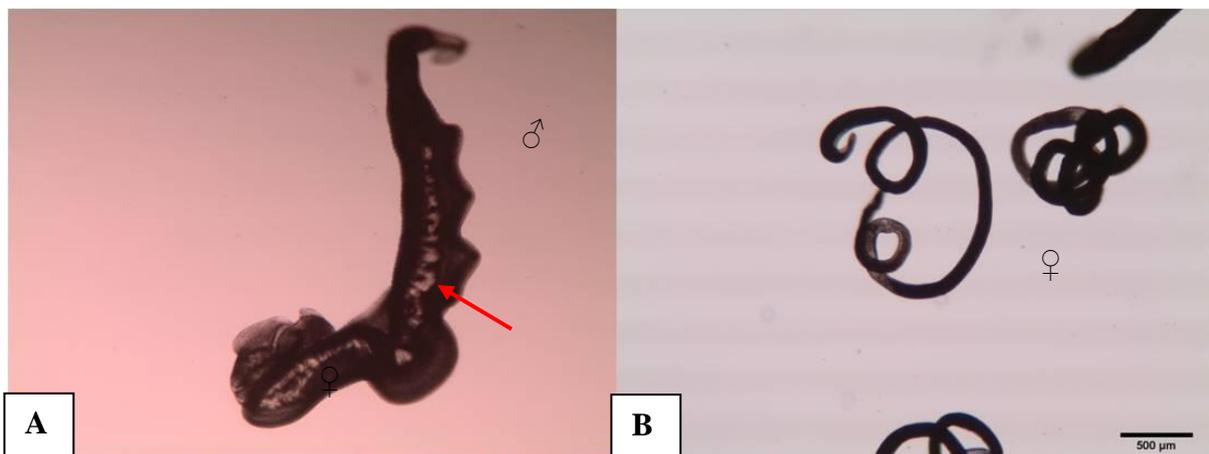


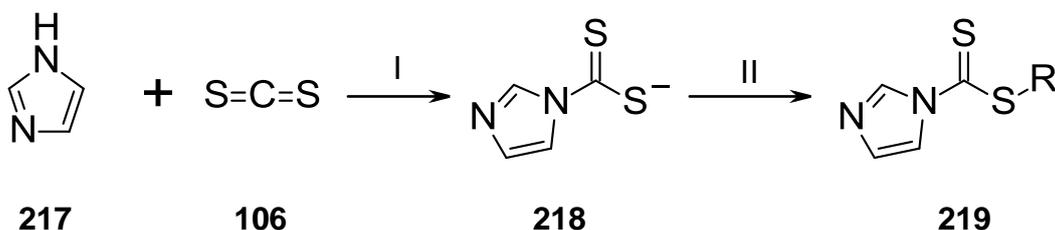
Abbildung 78: Mikroskopische Aufnahmen von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **216** (Schl32027). **A:** Ödematös aufgequollenes Männchen mit Darmdilatationen (roter Pfeil); **B:** Korkenzieherartig aufgerolltes Weibchen mit Strukturverlust.

Bei einer Konzentration von 10 μM waren die beschriebenen Effekte ebenfalls zu beobachten, wenn auch teilweise deutlich abgeschwächt. Unterhalb einer Konzentration von 10 μM war Verbindung **216** unwirksam.

Auch wenn das Imidazolderivat **216** in Bezug auf die niedrigste wirksame Konzentration den anderen Verbindungen nicht überlegen war, so zeigte sich dennoch die komplette Bandbreite aller bisher beobachteten Phänotypen. Ein anderer Wirkmechanismus schien zu diesem Zeitpunkt sehr wahrscheinlich zu sein. Trotz der nachgewiesenen Toxizität von Verbindung **216** gegenüber der HepG2-Zelllinie bis zu einer Konzentration von 25 μM wurde beschlossen, die verschiedenen Benzylsubstituenten aus einer vorangegangenen Serie mit dem Imidazol zu kombinieren.

B.2.2.4 Imidazol-Derivate

In Analogie zur ersten Optimierungsserie wurden die Substituenten des Schwefels variiert. Die Derivate wurden dabei in einer *One-Pot*-Reaktion nach einer Vorschrift von *Li et al.* dargestellt.^[280] Dabei wurde Imidazol (**217**) mit Kohlenstoffdisulfid (**106**) zum entsprechenden Dithiocarbamat (**218**) umgesetzt. Dieses reagierte anschließend in einer bimolekularen nukleophilen Substitution mit dem entsprechenden Alkylhalogenid, wodurch die gewünschten Dithiocarbamat-Derivate dargestellt wurden. Die Syntheseroute ist in **Schema 17** dargestellt.



Schema 17: Syntheseroute zur Darstellung der Dithiocarbamat-Derivate.^[280]

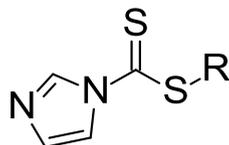
(I) Aceton, 15 min, 0 °C; K_3PO_4 , 45 min, 0 °C \rightarrow RT

(II) Alkylhalogenid, 10-16 h, RT

Auch hier wurden aufgrund der Unkenntnis tolerierter Substituenten zunächst das Methyl-, das Carbonsäure- und das Carbonsäureester-Derivat dargestellt (vgl. **Tabelle 31**). Bei den

in vitro-Testungen zeigte sich, dass die Derivate mit einem hydrophilen Substituenten (**221** und **222**) unwirksam gegen *S. mansoni* waren.

Tabelle 31: Strukturformeln der initialen Imidazol-Derivate **220-222**.



#	R	#	R
Schl32028 (220)	-CH ₃	Schl32031 (222)	
Schl32029 (221)			

Erstaunlicherweise zeigte das Methyl-Derivat **220**, im Gegensatz zum entsprechenden *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivat **97**, *in vitro* eine sehr gute antischistosomale Aktivität. Bis zu einer Konzentration von 10 μM wirkte die Verbindung nach spätestens 48 Stunden letal auf die Schistosomen. Die Eiproduktion und die Paarungsstabilität waren stark reduziert. Des Weiteren wurden massive Tegumentablösungen sowie der Verlust innerer Strukturen beobachtet. Die (Kopf-)Saugnäpfe erschienen ebenfalls autolytisch. Erneut waren die Schistosomen ödematös aufgequollen und korkenzieherartig aufgerollt, wobei die Männchen wiederum davon mehr betroffen waren als die Weibchen (vgl. **Abbildung 79**). Mit Ausnahme des letalen Effekts zeigten sich die gleichen Phänotypen auch bei einer Konzentration von 5 μM . Somit war Verbindung **220** ebenso wirksam wie Praziquantel (**1**). Aufgrund der Phänotypen ist ein im Vergleich zu Praziquantel (**1**) anderer Wirkmechanismus sehr wahrscheinlich. Ab einer Konzentration von 1 μM war Verbindung **220** unwirksam. Bei der Zytotoxizitätsmessung zeigte das Imidazol-Derivat **220** sowohl in der HepG2- als auch in der LS174T-Zelllinie bis zu einer Konzentration von 100 μM kein toxisches Potential.

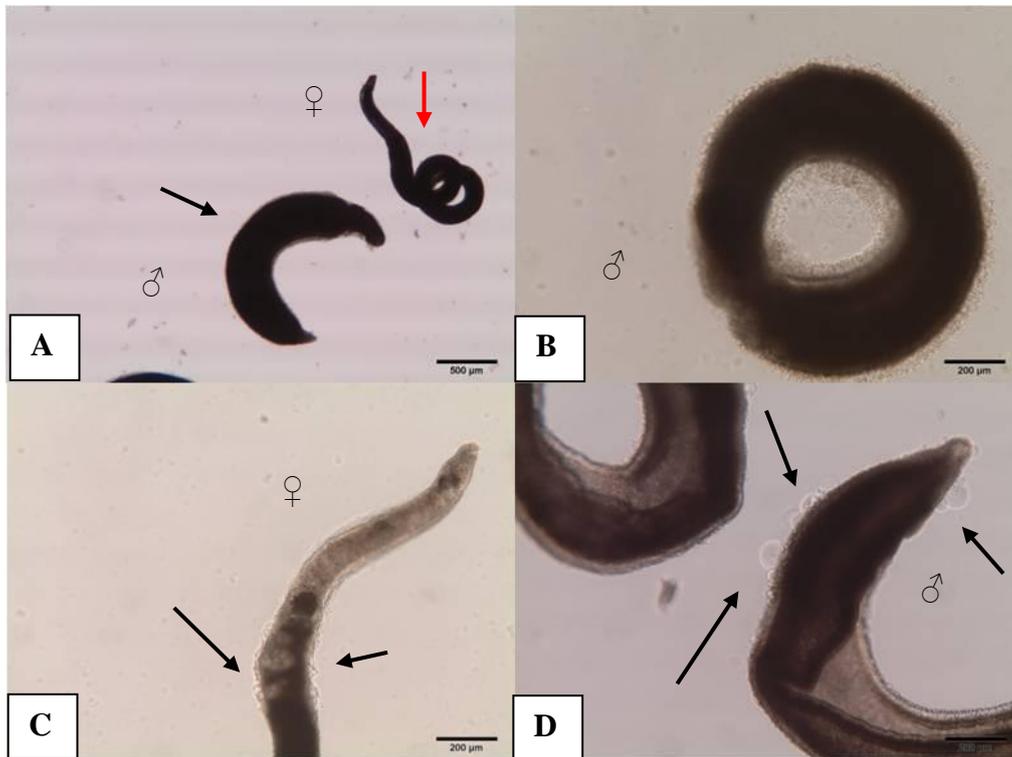
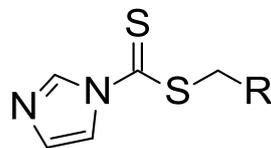
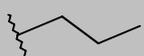
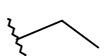


Abbildung 79: Mikroskopische Aufnahmen von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **220** (Schl32028). **A:** Korkenzieherartig aufgerolltes Weibchen (roter Pfeil) und ödematös aufgequollenes Männchen (schwarzer Pfeil); **B:** Männchen mit Ablösung des Teguments; **C:** Weibchen mit Verlust innerer Strukturen und Tegumentschäden (Pfeil); **D:** Männchen mit Tegumentblasen (Pfeil).

Tabelle 32 Strukturformeln der Imidazol-Derivate **223-225** mit verlängerter aliphatischer Kette.



#	R	#	R
Schl32263 (223)	-CH ₃	Schl32265 (225)	
Schl32264 (224)			

Aufgrund der unerwartet guten antischistosomalen Aktivität des Methyl-Derivats **220** wurde anschließend die aliphatische Kette schrittweise verlängert. Die entsprechenden Ethyl-,

Propyl- und Butyl-Derivate (**223-225**) wurden nach der gleichen Syntheseroute dargestellt und sind in **Tabelle 32** gezeigt.

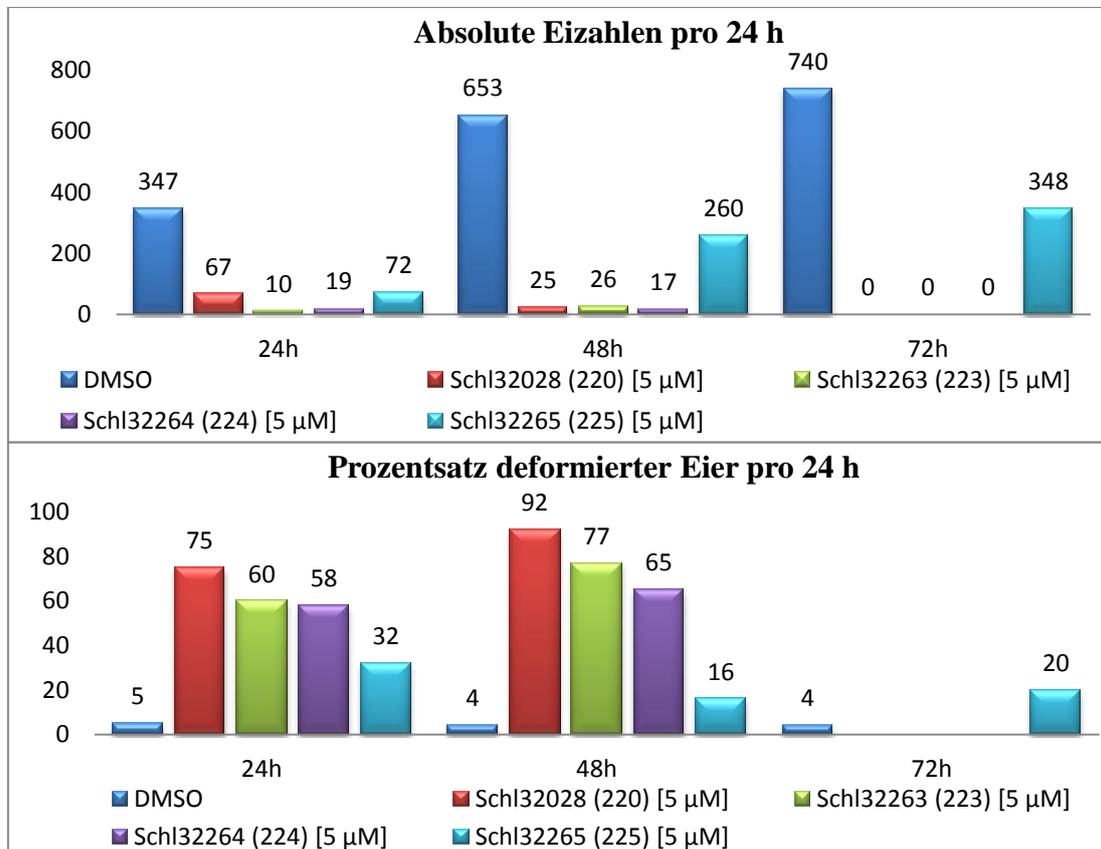


Abbildung 80: Vergleich der Eiproduktion sowie -deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **220** (Schl32028), **223** (Schl32263), **224** (Schl32264) und **225** (Schl32265) bei einer Konzentration von je 5 µM.

Das Ethyl- und das Butyl-Derivat (**223** und **224**) zeigte *in vitro* eine leicht verbesserte Wirksamkeit. Beide Verbindungen zeigten vergleichbare Phänotypen wie Verbindung **220**. Verbindung **223** wirkte in höheren Konzentrationen (≥ 10 µM) bereits nach 24 Stunden, bei einer Konzentration von 5 µM nach 72 Stunden letal. Gleiches konnte für Verbindung **224** nachgewiesen werden. Unterhalb einer Konzentration von 5 µM waren beide Verbindungen wie das Methyl-Derivat **220** unwirksam. Die Einführung eines Butyl-Rests hatte einen leichten Abfall der Wirksamkeit zur Folge. Verbindung **225** zeigte zwar bis zu einer Konzentration von 10 µM gleiche Phänotypen wie die Verbindungen **223** und **224** und war nach spätestens 72 Stunden letal für die Schistosomen, jedoch war das Butyl-Derivat **225** bereits bei einer Konzentration von 5 µM unwirksam. **Abbildung 80** vergleicht die

Eiproduktion und -deformation der Imidazol-1-carbodithionsäurealkylester bei einer Konzentration von 5 μM .

Die drei Derivate zeigten im Gegensatz zum *S*-Methyl-Derivat **220** bei einer Konzentration von 100 μM ein großes zytotoxisches Potential gegenüber der HepG2-Zelllinie. Bei einer Konzentration von 50 μM zeigte sich ein leichtes zytotoxisches Potential. Man erkennt, dass mit der Verlängerung der aliphatischen Kette ein Anstieg der Zytotoxizität einhergeht (vgl. **Abbildung 81**).

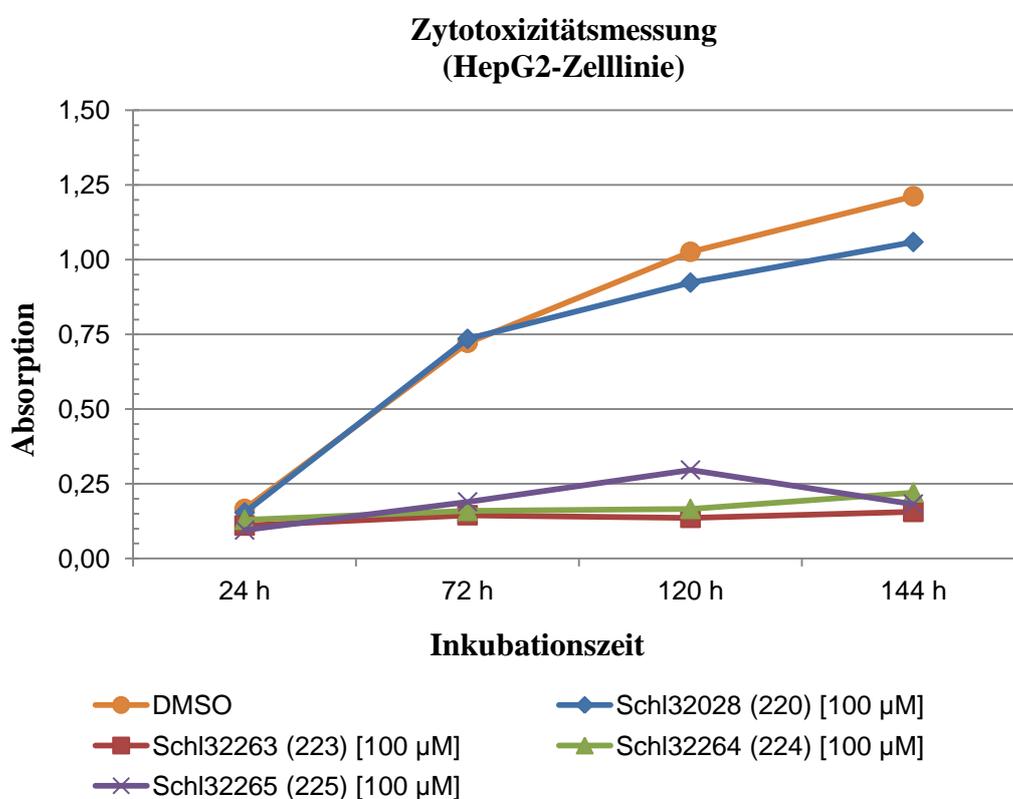


Abbildung 81: Auswertung der Zytotoxizitätsmessung (HepG2-Zelllinie) der Verbindungen **220** (Schl32028), **223** (Schl32263), **224** (Schl32264) und **225** (Schl32265).

Im Anschluss daran wurden für die Imidazol-Derivate die gleichen Optimierungsversuche des Benzylsubstituenten wie bei den *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivaten unternommen (vgl. Kapitel B.2.1). Es erwiesen sich die gleichen Substituenten als wirksam. Es zeigte sich erneut, dass bei der Variation der aliphatischen Kettenlänge des Benzylsubstituenten eine Kettenlänge von null, also einer Elimination der aliphatischen Kette, bis drei Methyleinheiten toleriert wurde. Eine weitere Verlängerung der aliphatischen Kette ging wiederum mit einem Aktivitätsverlust einher. Gleiches galt für die Einführung rigider Ketten. Für die

Funktionalisierung des aromatischen Rings konnte nachgewiesen werden, dass eine Substitution in 4-Position zu Derivaten mit der besten Wirksamkeit führte. Die Einführung elektronenziehender Substituenten ging mit einem Aktivitätsanstieg und einer Wirksamkeit bei niedrigen mikromolaren Konzentrationen einher. Im Folgenden werden nur die besten Imidazol-Derivate dieser Serie diskutiert (vgl. **Abbildung 82**).

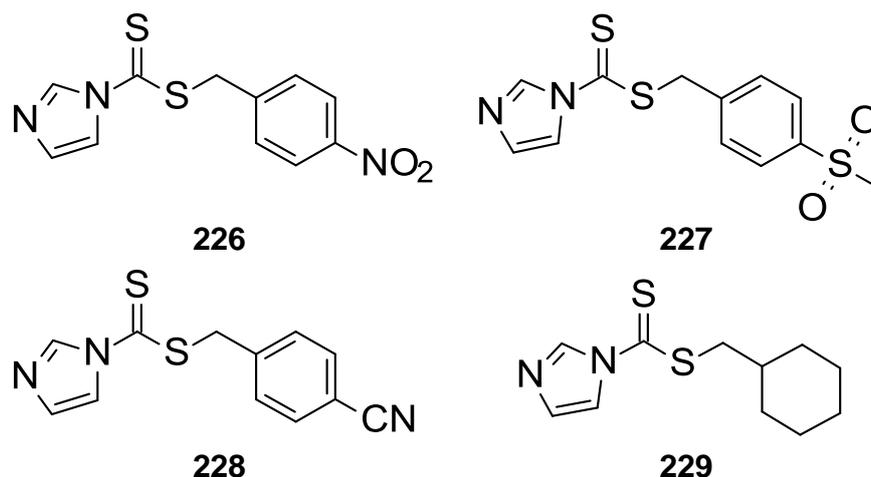


Abbildung 82: Strukturformeln der vier wirksamsten Imidazol-Derivate der Optimierungsserie.

In vitro zeigten alle vier Derivate erneut eine sehr gute antischistosomale Aktivität. Die Eiproduktion und die Paarungsstabilität waren wiederum stark inhibiert. Desweiteren wurden massive Tegumentablösungen sowie der Verlust innerer Strukturen beobachtet. Die (Kopf-)Saugnäpfe erschienen autolytisch. Außerdem waren die Schistosomen wieder ödematös aufgequollen und korkenzieherartig aufgerollt, wobei die Männchen mehr betroffen waren als die Weibchen. Zudem wirkten die drei Derivate mit einem elektronenziehenden Substituenten am aromatischen Ring (**226**, **227** und **228**) bis zu einer Konzentration von 5 μM innerhalb von maximal 72 Stunden letal auf die Schistosomen, das Cyclohexyl-Derivat nur bis zu einer Konzentration von 25 μM . Abermals waren alle vier Verbindungen ab einer Konzentration von 1 μM unwirksam. Jedoch zeigten alle vier Verbindungen bereits bei einer Konzentration von 25 μM ein zytotoxisches Potential gegenüber der HepG2-Zelllinie.

Die beobachteten Phänotypen glichen denen der anderen Imidazol-Derivate. Ein allgemeiner Effekt dieser Verbindungsklasse zeichnete sich ab. Es wurde an dieser Stelle vermutet, dass die Imidazol-1-carbodithionsäureester ihre Wirkung durch kovalente Modifikation der Zielstruktur ausüben. Nach einem möglichen nukleophilen Angriff, zum Beispiel durch ein

Cystein oder Serin, stünden zwei mögliche Abgangsgruppen zur Verfügung: das Thiolat und das Imidazolat. Mithilfe der in **Abbildung 83** gezeigten Derivate wurde dieser Vermutung nachgegangen.

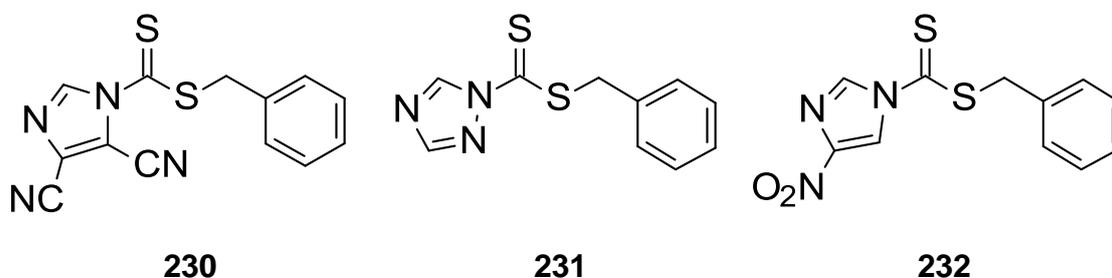


Abbildung 83: Strukturformeln der Derivate zur Überprüfung einer möglichen kovalenten Bindung.

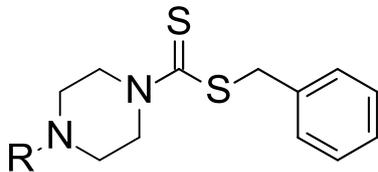
Durch den Elektronenzug des Nitro- beziehungsweise der Nitrilsubstituenten am Imidazol sollte die entstehende negative Ladung besser stabilisiert werden. Gleiches gilt für den Austausch des Imidazolyl-Rests gegen einen 1,2,4-Triazolyl-Rest. *In vitro* konnte dies nicht bestätigt werden. Die beiden Verbindungen **230** und **232** waren bereits bei einer Konzentration von 100 μM unwirksam. Das 1,2,4-Triazol-Derivat **231** zeigte nur eine sehr geringe antischistosomale Aktivität. Das Benzyl-Derivat **216** hingegen war *in vitro* bis zu einer Konzentration von 10 μM wirksam. Ebenso scheint ausgeschlossen, dass das Thiolat als mögliche Abgangsgruppe fungiert, da sonst die Verbindungen **230**, **231** und **232** zumindest bei hohen Konzentrationen ($\geq 50 \mu\text{M}$) eine ähnliche Aktivität wie das Benzyl-Derivat **216** hätten zeigen müssen. Dadurch konnte die Vermutung der kovalenten Modifikation der Zielstruktur durch die Verbindungsklasse der Imidazol-1-carbodithionsäureester an dieser Stelle nicht bestätigt werden.

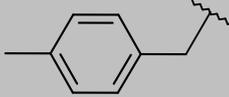
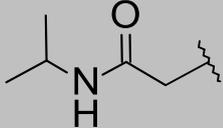
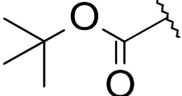
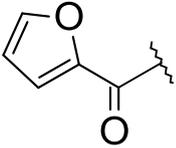
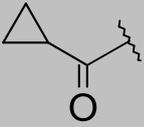
B.2.2.5 Struktur-Wirkungs-Beziehungen und Zusammenfassung

Ziel dieser Optimierungsserie war es, den Einfluss des Substituenten am Stickstoff des Dithiocarbamats zu untersuchen. Zur besseren Vergleichbarkeit der antischistosomalen Aktivität waren alle Derivate am Schwefel benzylsubstituiert. Es wurden 45 Derivate mit einer großen Diversität dargestellt und *in vitro* getestet.

Auch in dieser Serie wurden sieben Substituenten gefunden, deren Einführung einen Anstieg der antischistosomalen Aktivität zur Folge hatte. Dieser war aber weniger stark als bei den sieben wirksamsten Substituenten am Schwefel. Nichtsdestotrotz waren die Derivate bis zu einer Konzentration von 25 μM wirksam. Zwei der Derivate (Verbindung **207** und **208**) zeigten eine antischistosomale Aktivität bis zu einer Konzentration von 10 μM . Die besten sieben Derivate sind in **Tabelle 33** zusammengefasst.

Tabelle 33: Übersicht der wirksamsten Benzylthiocarbamat-Derivate.



#	R	#	R
Schl32174 (199)*		Schl32194 (202)*	
Schl32190 (206)*		Schl32200 (207)**	
Schl32191 (197)*	H · HCl	Schl32209 (208)**	
Schl32192 (200)*			

* wirksam bis 25 μM ; ** wirksam bis 10 μM

Es konnte gezeigt werden, dass durch den Austausch des *N,N*-Diethyl-Rests gegen einen Piperidinyl-Rest eine vergleichbare antischistosomale Aktivität erhalten wurde. Eine Variation der aliphatischen Kettenlänge am Dithiocarbamatstickstoff wurde ebenso untersucht, mit dem Ergebnis, dass eine Kettenlänge von eins bis drei Methyleinheiten toleriert wurde. Eine weitere Verlängerung der aliphatischen Kette geht mit einem

Aktivitätsverlust einher. Derivatisierungsversuche des Piperidin-Rings durch Einführung verschiedener Substituenten hatten einen Verlust der Wirksamkeit zur Folge.

Durch die Einführung eines Piperazin-Strukturelements kam es zu einem sprunghaften Anstieg der antischistosomalen Aktivität. Nachfolgend wurde der Piperazinstickstoff unter Beibehaltung seiner Basizität substituiert. Während eine *N*-Methylierung einen Wirkverlust zur Folge hatte, konnte mit längerer Kettenlänge (Ethyl- oder Propyl-) eine zum unsubstituierten Piperazin-Derivat vergleichbare Wirksamkeit erzielt werden. Ein Einschub eines Carbonsäureamids in die aliphatische Kette wurde ebenso wie die Einführung eines Benzylsubstituenten am Piperazinstickstoff toleriert.

Eine Acylierung des Piperazinstickstoffs unter Elimination der Basizität führte zu einer gesteigerten Aktivität. Unklar ist, ob die beobachtete Aktivitätssteigerung durch Acylierung des basischen Piperazin-Stickstoffs oder durch die cyclischen Acylreste erreicht wurde. Weiterführende Arbeiten sind an dieser Stelle nötig.

Durch die Einführung eines Imidazolyl-Rests konnte eine weitere vielversprechende Substanzklasse etabliert werden. Aufgrund der sehr guten Wirksamkeit sowie dem Auftreten von unter anderem teils massiven Tegumentschäden einschließlich Blasenbildung und Tegumentablösung bis zu einer Konzentration von 10 μM wurde beschlossen, die Verbindungsklasse der Imidazol-1-carbodithionsäureester intensiver zu untersuchen, da ein anderer Wirkmechanismus vermutet wurde. Die *S*-alkylierten Imidazol-Derivate waren ebenfalls sehr gut wirksam und zeigten auch in niedrigen mikromolaren Konzentrationen letale Effekte. Ab dem Butyl-Derivate nahm die Wirksamkeit mit steigender Kettenlänge rapide ab. Die kurz-kettigen Derivate (bis -Propyl) waren bis zu einer Konzentration von 5 μM wirksam, wobei sich die aufgetretenen Phänotypen teils deutlich von Praziquantel (**1**) unterschieden. Im Anschluss daran wurde die Variation des Benzylsubstituenten für diese Verbindungsklasse erneut durchgeführt. Nach weiteren 47 Derivaten zeigten sich letztlich die gleichen Ergebnisse wie bei den *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivaten. Erneut wurde eine Kettenlänge der aliphatischen Kette von null bis drei Methyleneinheiten toleriert. Eine weitere Verlängerung der aliphatischen Kette ging auch hier mit einem Aktivitätsverlust einher. Für die Funktionalisierung des aromatischen Rings zeigte sich abermals, dass eine Substitution in 4-Position zu Derivaten mit der besten Wirksamkeit führte. Elektronenziehende Substituenten eigneten sich vorrangig zur Funktionalisierung und gingen mit einem Aktivitätsanstieg und einer Wirksamkeit bei niedrigen mikromolaren Konzentrationen einher. Zunächst wurde eine kovalente Modifikation der Zielstruktur vermutet. Die Vermutung wurde durch die

Unwirksamkeit von Derivaten, welche die mögliche Abgangsgruppe Imidazol stabilisieren sollten, nicht bestätigt. Der Wirkmechanismus ist nicht bekannt.

Nichtsdestotrotz konnten insgesamt sechs Imidazol-Derivate dargestellt werden, die wie Praziquantel (**1**) bis zu einer Konzentration von 5 μM eine sehr gute antischistosomale Aktivität und vielversprechende Phänotypen zeigten. Diese sind in **Abbildung 84** gezeigt.

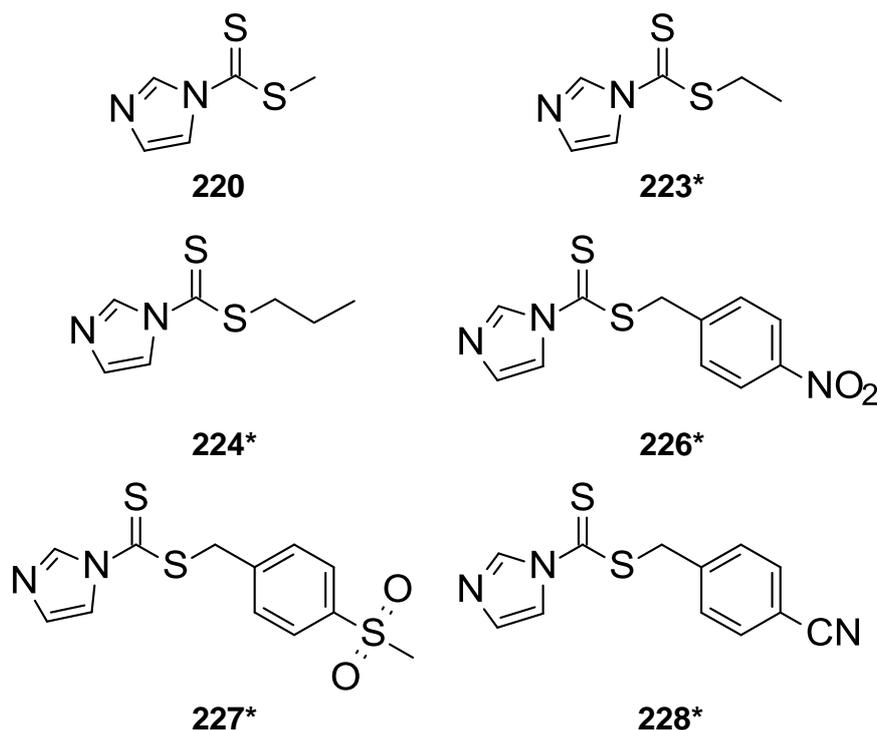


Abbildung 84: Strukturformeln der sechs wirksamsten Imidazol-Derivate. Mit einem * markierte Verbindungen zeigten ein zytotoxisches Potential.

Unglücklicherweise zeigten fünf der sechs wirksamsten Imidazole-derivate bereits bei niedrigen Konzentrationen (25 μM) ein großes zytotoxisches Potential gegenüber der HepG2-Zelllinie. Somit ging mit dem Anstieg der Aktivität auch ein Anstieg der Zytotoxizität einher. Einzig für Verbindung **220** konnte bis zu einer Konzentration von 100 μM weder in der HepG2-, noch in der LS174T-Zelllinie keine Zytotoxizität nachgewiesen werden. Die Verbindungsklasse der Imidazol-1-carbodithionsäureester sollte aufgrund der in Bezug auf Praziquantel (**1**) besseren Wirksamkeit und der vielversprechenden Phänotypen weiter untersucht werden, um das toxische Potential der Verbindungen zu reduzieren.

Tabelle 34: Definition von *Hit*- und *Lead*-Strukturen nach TDR.^[250]

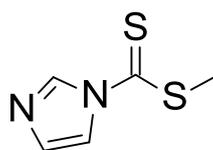
	Testung gegen	Definition
Hit-Struktur	Adulte <i>S. mansoni</i>	100%ige Inhibition der Motilität bei einer Konzentration von 5 µg/mL ⁻¹
Lead-Struktur	Adulte <i>S. mansoni</i>	Aktiv <i>in vivo</i> (Mäuse) bei subkutaner oder intraperitonealer Gabe einer 10%igen DMSO-Formulierung (5x100 mg/kg Körpergewicht) und statistisch signifikanter Reduktion der Wurmlast (>80%: hochwirksam) Nicht übermäßig toxisch in Tieren bei wirksamen Dosen

Verbindung **220** wurde anschließend nach der Definition des *Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases* (TDR) der *World Health Organisation* bezüglich einer möglichen Einstufung als *Hit*-Struktur geprüft. Die speziell für Anthelminthika entwickelte Definition des TDR zeigt **Tabelle 34**.^[250] Demnach ist jede Verbindung, welche eine 100%ige Inhibition der Motilität bei einer Konzentration von 5 µg/mL⁻¹ bewirkt, als *Hit*-Struktur zu bewerten.

Tabelle 35: Bewertung der Verbindung **220** nach den TDR-Kriterien.

Bezeichnung	#	Molmasse [g/ mol]	Geringste wirksame Konzentration [µM]	Konzentration in µg/ mL ⁻¹	<i>Hit</i> -Struktur nach TDR
Schl32028	220	158.24	5	2.90	Ja

Die *in vitro*-Ergebnisse des besten Imidazol-Derivats **220**, welches die Motilität vollständig inhibierte, zeigt, dass die als Grenzwert gewählte Konzentration von 5 µg/ mL⁻¹ unterschritten wurde (vgl. **Tabelle 35**). Somit ist Verbindung **220** nach TDR als *Hit*-Struktur zu klassifizieren. Daher würde nun die *in vivo*-Testung im Mausmodell anschließen, um zu verifizieren, ob aus der gefundenen *Hit*-Struktur eine *Lead*-Strukturen hervorgeht (Kriterien siehe **Tabelle 34**). Eine mögliche *in vivo*-Testung wäre aufgrund der durchgeführten Zytotoxizitätsstudien zu empfehlen (**Abbildung 85**).



220

Abbildung 85: Strukturformel des für eine *in vivo*-Testung potentiell infrage kommenden Imidazol-1-carbodithionsäureesters **220** (Schl32028).

B.2.3 Variation der Heteroatome des Dithiocarbamats

Im Folgenden wurde die Notwendigkeit der Dithiocarbamat-Grundstruktur untersucht. Dabei wurden die beiden Schwefelatome zunächst schrittweise gegen Stickstoff oder Sauerstoff ausgetauscht. Eine mögliche kovalente Modifikation des Zielenzym nach Reaktion mit einem Serin oder Cystein erschien als Wirkmechanismus möglich (vgl. **Abbildung 86**). Das Thiolat wäre dabei die beste Abgangsgruppe. Der Schwefel kann die entstehende negative Ladung aufgrund seiner Größe und seiner Polarisierbarkeit sehr gut stabilisieren.

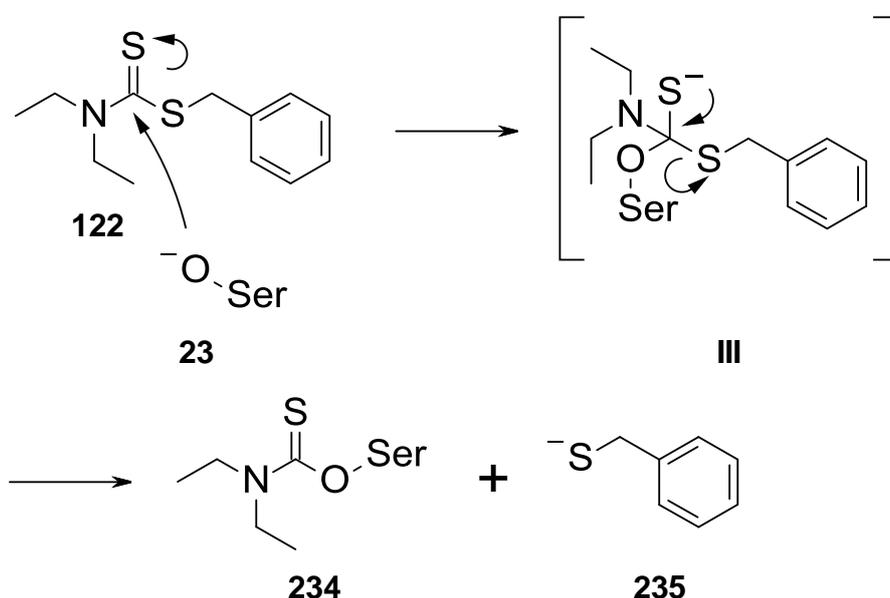


Abbildung 86: Möglicher Wirkmechanismus der Dithiocarbamate am Beispiel von Verbindung **122** (Schl32007).

Initial wurde der einfach gebundenen Dithiocarbamat-Schwefel durch Sauerstoff oder Stickstoff ausgetauscht. Vermutet wurden ein Rückgang beziehungsweise ein Verlust der antischistosomalen Aktivität. Das Alkoholat ist aufgrund der geringeren Stabilisierung der entstehenden negativen Ladung eine schlechtere Abgangsgruppe als das Thiolat. Amide können die entstehende negative Ladung nicht stabilisieren und stellen in der Regel keine Abgangsgruppen dar.

Beide Derivate wurden durch Reaktion von *N,N*-Diethylthiocarbamoylchlorid mit Benzylamin beziehungsweise Benzylalkohol unter basischen Bedingungen dargestellt. Die Strukturformeln der drei Derivate sind in **Abbildung 87** gezeigt.

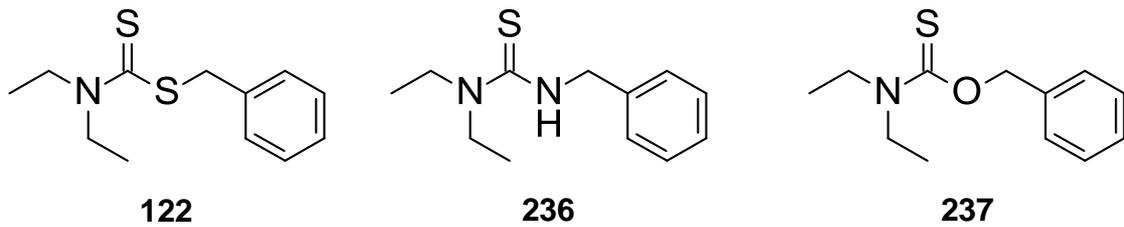


Abbildung 87: Strukturformeln des Dithiocarbamat-Derivats **122** (Schl32007), des Thioharnstoff-Derivats **236** (Schl32151) und des Thionurethan-Derivats **237** (Schl32152).

In vitro bestätigten sich die aufgestellten Vermutungen. Das Thioharnstoff-Derivat **236** war bei einer Konzentration von 100 μM unwirksam. Das Thionurethan-Derivat **237** zeigte bei dieser Konzentration eine antischistosomale Aktivität. Diese war im Bezug auf die Paarungsstabilität, Eiproduktion und Vitalität geringer ausgeprägt als die des Dithiocarbamat-Derivats **122**. Zudem zeigte das Thiocarbamat-Derivat **237** keine weiteren Phänotypen und war unterhalb einer Konzentration von 100 μM unwirksam. **Abbildung 88** vergleicht die Eiproduktion und -deformation unter dem Einfluss der drei Verbindungen.

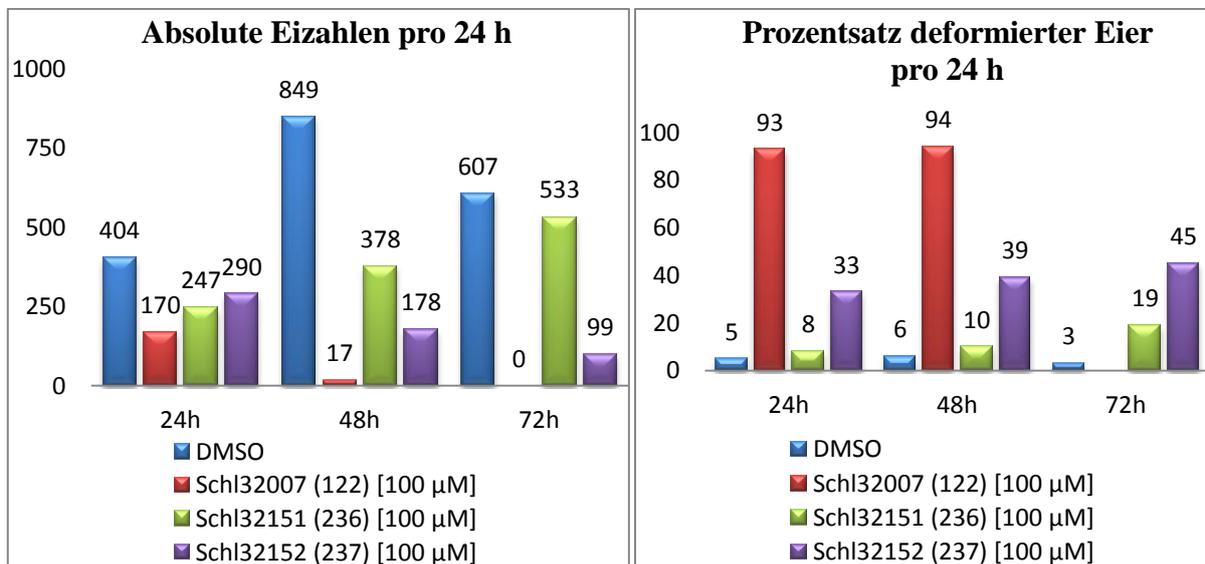


Abbildung 88: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **122** (Schl32007), **236** (Schl32151) und **237** (Schl32152) bei einer Konzentration von je 100 μM .

Anschließend wurde der doppelt gebundene Schwefel gegen einen Sauerstoff ausgetauscht. Durch die Einführung des Sauerstoffs wurde die Reaktivität des Carbonyl-Kohlenstoff gegenüber Nukleophilen verringert.

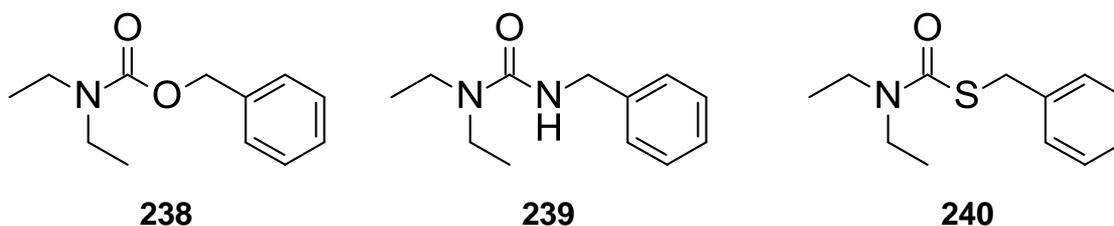


Abbildung 89: Strukturformeln des Carbamat-Derivats **238** (Schl32161), des Harnstoff-Derivats **239** (Schl32162) und des Thiolurethan-Derivats **240** (Schl32163).

Es wurde vermutet, dass nur das Thiolurethan-Derivat **240** aufgrund der besten Abgangsgruppe eine antischistosomale Aktivität zeigt. Das entsprechende Carbamat-Derivat **238**, das Harnstoffderivat **239** und das Thiolurethan-Derivat **240** wurden nach analoger Syntheseroute unter Verwendung von *N,N*-Diethylcarbamoylechlorid dargestellt. Die Strukturformeln der drei Derivate sind in **Abbildung 89** gezeigt.

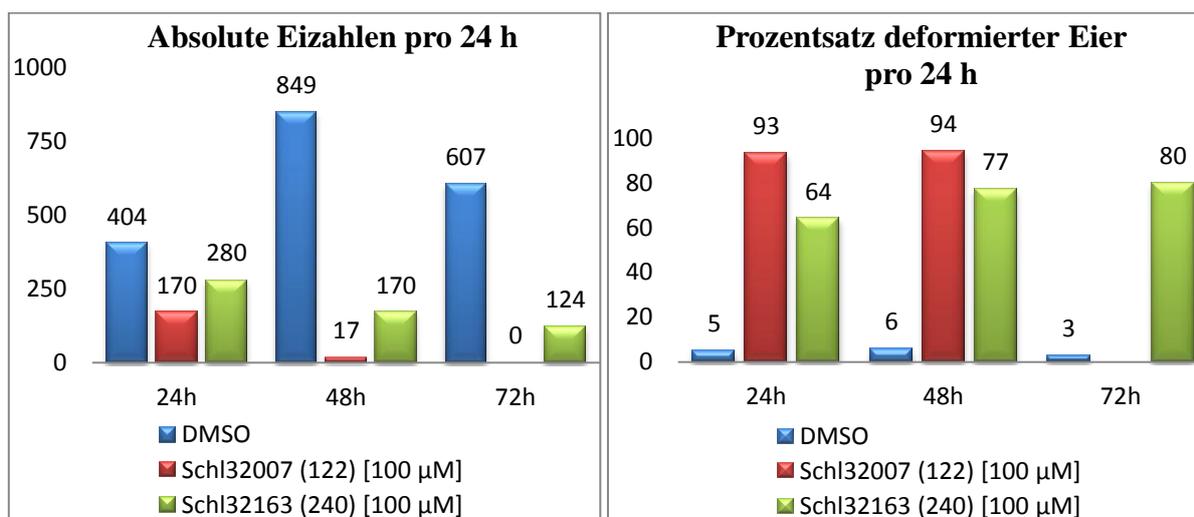


Abbildung 90: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **122** (Schl32007) und **237** (Schl32163) bei einer Konzentration von je 100 µM.

In vitro wurden die vermuteten Ergebnisse bestätigt. Das Thiolurethan-Derivat **240** zeigte eine antischistosomale Aktivität. Wiederum war die Wirksamkeit im Bezug auf die Paarungsstabilität, Eiproduktion und Vitalität geringer ausgeprägt als die des Dithiocarbamat-Derivats **122**. Zudem zeigte auch das Thiolurethan-Derivat **240** keine weiteren Phänotypen und war unterhalb einer Konzentration von 100 µM unwirksam. Die Verbindungen **238** und **239** waren wie vermutet bereits bei einer Konzentration von 100 µM

unwirksam. **Abbildung 90** vergleicht die Eiproduktion und -deformation des Dithiocarbamats **122** mit der des *S*-Thiocarbamat-Derivats **240**.

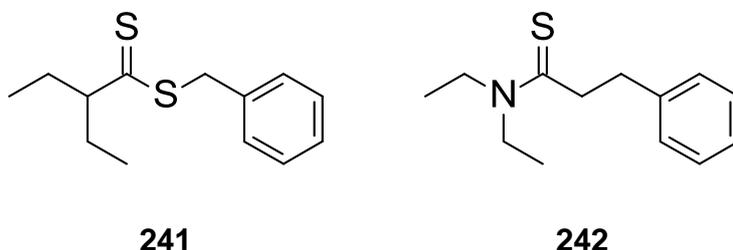


Abbildung 91: Strukturformeln des Dithioesters **241** (Schl32367) und des Thioamids **242** (Schl32370).

Anschließend wurde der Dithiocarbamat-Stickstoff beziehungsweise der einfach gebundene Schwefel durch einen Kohlenstoff ersetzt. Dabei wurden zunächst über eine EDC-Kupplung das entsprechende Amid beziehungsweise der entsprechende Thioester dargestellt, welche anschließend mit *Lawessons*-Reagenz umgesetzt wurden. Die beiden Verbindungen sind in **Abbildung 91** gezeigt. Der Dithioester **241** sollte durch Wegfall des –I- und +M-Effekts des Carbamatstickstoffs, der fehlenden Resonanzstabilisierung und der daraus resultierenden höheren Carbonylaktivität eine bessere Wirksamkeit zeigen als das Dithiocarbamat **122**. Für das Thioamid **242** wurde aufgrund der Elimination der guten Abgangsgruppe Thiolat keine antischistosomale Aktivität erwartet.

In vitro konnte wie erwartet für das Thioamid **242** bei einer Konzentration von 100 μM keine antischistosomale Aktivität gezeigt werden. Entgegen aller Vermutungen zeigte auch der Dithioester **241** bei einer Konzentration von 100 μM eine sehr viel schwächere Wirksamkeit als das Dithiocarbamat **122**. Die Eiproduktion war schwächer inhibiert (vgl. **Abbildung 92**). Gleiches gilt für die Paarungsstabilität. Während es bei der Testung des Dithiocarbamats **122** zur Entpaarung aller 10 Schistosomenpärchen kam, waren bei der Testung des Dithioesters **141** nur 6 von 10 Pärchen entpaart. Andere Phänotypen konnten erneut nicht beobachtet werden.

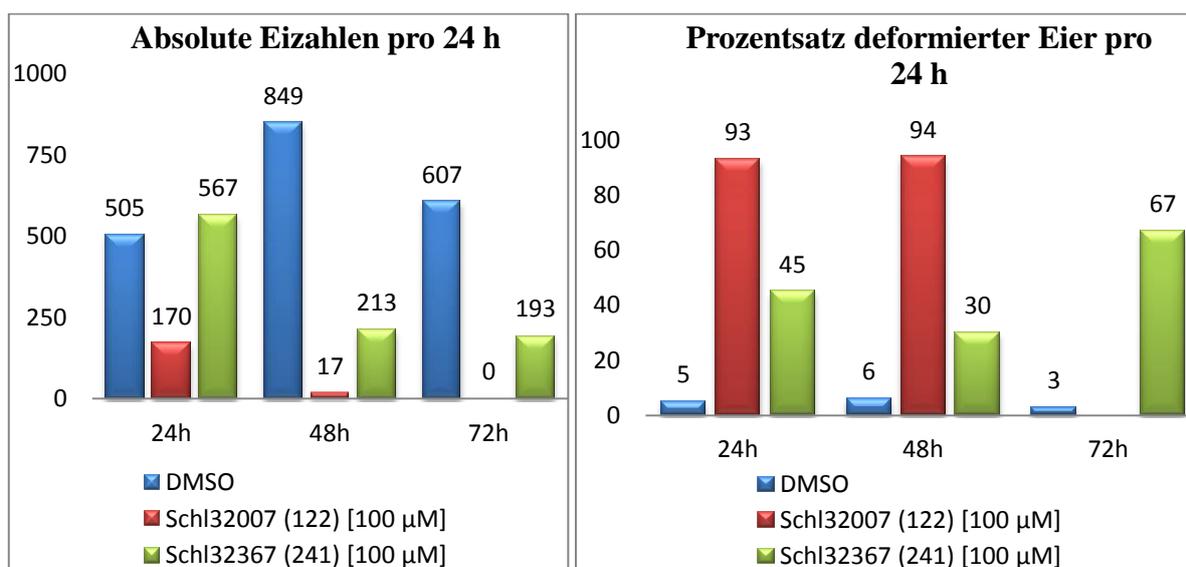


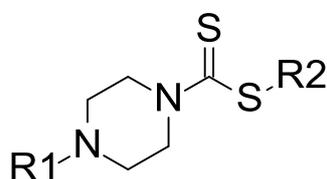
Abbildung 92: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den Verbindungen **122** (Schl32007) und **241** (Schl32367) bei einer Konzentration von je 100 µM.

Die Testergebnisse dieser Serie konnten weder eine kovalente Modifikation der Zielstruktur bestätigen, noch wurde der mögliche Wirkmechanismus vollständig ausgeschlossen. Es zeigte sich zunächst, dass die Verbindungen, bei denen das Thiolat als Abgangsgruppe fungieren kann, eine sehr viel bessere Wirksamkeit zeigten als die anderen Verbindungen. Ebenso zeigte das Thiourethan-Derivat **240** eine im Vergleich zum Dithiocarbamat-Derivat **122** verringerte Aktivität, was durch die reduzierte Carbonylaktivität von Verbindung **240** verursacht wurde. Folglich hätte das Dithioester-Derivat **241** eine im Vergleich zum Dithiocarbamat **122** erhöhte Aktivität zeigen müssen. Jedoch zeigte sich ein Rückgang der Aktivität, welcher schwer interpretierbar ist. Möglicherweise führte die leicht veränderte räumliche Anordnung nach Elimination des Dithiocarbamat-Stickstoffs zu einer Abschirmung des Nukleophils, sodass die kovalente Modifikation erschwert wurde. Ebenso wäre es möglich, dass es zu keiner kovalenten Modifikation kam und der Wegfall des Dithiocarbamat-Stickstoffs zu einem Affinitätsverlust in einer möglichen Bindetasche führte. Die These einer Interaktion innerhalb einer Bindetasche wäre durch den signifikanten Einfluss des Substituenten am Schwefel des Dithiocarbamats gestützt. Nichtsdestotrotz sind weitere Arbeiten zur Aufklärung des Wirkmechanismus nötig.

B.2.4 Kombinationsserie der wirksamsten Substituenten

Im Folgenden wurden die jeweils sieben wirksamsten Substituenten am Schwefel beziehungsweise am Stickstoff des Dithiocarbamats, die in den verschiedenen Optimierungsserien gefunden wurden, miteinander kombiniert. Die Substituenten sind in **Tabelle 36** nochmals gezeigt.

Tabelle 36: Übersicht der jeweils wirksamsten Substituenten der vorangegangenen Optimierungsserien.



R ₁		R ₂	
H · HCl			

Ziel dieser Derivate war es, neben einer gesteigerten antischistosomalen Aktivität wertvolle Informationen zur Struktur-Wirkungs-Beziehung zu generieren. Die Darstellung der 49 kombinatorischen Derivate erfolgte nach den etablierten Syntheserouten in guten bis sehr guten Ausbeuten.

Aufgrund der vermuteten gesteigerten Aktivität wurden die Derivate initial bei einer Konzentration von 25 μM getestet. Für wirksame Verbindungen wurde die Konzentration schrittweise reduziert. Im Folgenden werden nur die Verbindungen diskutiert, die bei einer Konzentration von 10 μM oder geringer eine gute bis sehr gute antischistosomale Aktivität zeigten. Da nach den bisher gewonnenen Erkenntnissen der Substituent am Schwefel des Dithiocarbamats den größeren Einfluss auf die Wirksamkeit auszuüben scheint, sind die folgenden Verbindungen nach diesem Substituenten gruppiert und wurden mit der antischistosomalen Aktivität der entsprechenden *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivate verglichen.

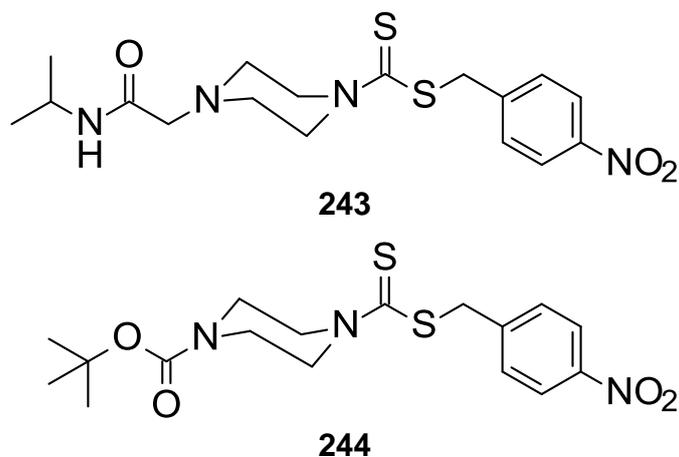


Abbildung 93: Strukturformeln der beiden wirksamen Derivate mit einem 4-Nitrobenzyl-Substituenten am Schwefel des Dithiocarbamats.

In der Gruppe der 4-Nitrobenzylsubstituierten Derivate zeigten nur zwei Verbindungen eine antischistosomale Aktivität bei einer Konzentration von 10 μM (**Abbildung 93**). Beide Verbindungen reduzierten die Eiproduktion, Paarungsstabilität und Vitalität deutlich. Verbindung **243** zeigte keine weiteren Phänotypen und war ab einer Konzentration von 5 μM unwirksam. Das *N*-Boc-geschützte Derivat **244** zeigte bei einer Konzentration von 10 μM zusätzlich Tegumentschäden mit Blasenbildung und Ablösung des Teguments. Die Schistosomen waren ödematös aufgequollen und zeigten einen Verlust der inneren Strukturen.

Beide Effekte traten zeitverzögert nach 48 Stunden auf. Das lässt eine Abspaltung der *Boc*-Schutzgruppe unter Freisetzung des freien Piperazin-Derivats als aktives Agens vermuten. Die Verbindung wirkte nach 72 Stunden letal auf die Schistosomen. Bei einer Konzentration von 5 μM zeigte Verbindung **244** nur noch eine Reduktion der Eiproduktion. Das *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivat **157** hingegen zeigte bei einer Konzentration von 5 μM eine bessere antischistosomale Aktivität als die beiden Derivate der Kombinationsserie. Neben einer nahezu kompletten Reduktion der Eiproduktion sowie hohen Deformationsraten kam es zur Entpaarung aller Schistosomenpärchen und einer starken Inhibition von Vitalität und Motilität. Somit führte in dieser Gruppe der Austausch des Substituenten am Dithiocarbamat-Stickstoff zu Verbindungen mit einer verringerten Wirksamkeit.

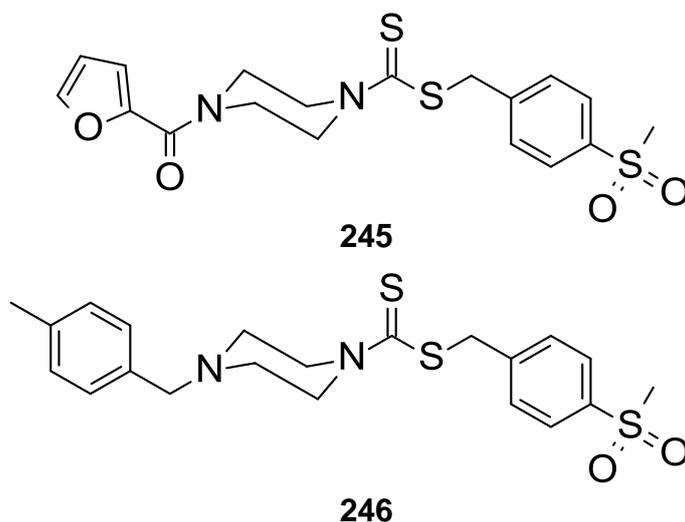


Abbildung 94: Strukturformeln der beiden wirksamen Derivate mit einem (4-Methylsulfonyl)benzyl-Substituenten am Schwefel des Dithiocarbamats.

In der Gruppe der (4-Methylsulfonyl)benzylsubstituierten Derivate zeigten ebenfalls nur zwei der sieben Verbindungen eine antischistosomale Aktivität bei einer Konzentration von 10 μM (**Abbildung 94**). Das *N*-Benzyl-Derivat **246** zeigte bei einer Konzentration von 10 μM eine sehr gute antischistosomale Aktivität. Neben einem letalen Effekt nach nur 24 Stunden konnten Tegumentschäden, der Verlust innerer Strukturen sowie ödematös aufgequollene Schistosomen-Männchen beobachtet werden. Die Eiproduktion und Paarungsstabilität waren vollständig inhibiert. Eine Reduktion der Konzentration auf 5 μM hatte jedoch einen vollständigen Verlust der Wirksamkeit zur Folge. Das *N*-Furoyl-Derivat **245** war bis zu einer Konzentration von 5 μM wirksam und zeigte einen letalen Effekt nach 72 Stunden. Neben der

nahezu vollständigen Inhibition der Eiproduktion zeigten sich eine Entpaarung aller 10 Schistosomenpärchen, mittelgradige Tegumentschäden, der Verlust innerer Strukturen sowie eine Akkumulation der Eier im Uterus. Unterhalb von 5 μM war Verbindung **245** ebenfalls unwirksam.

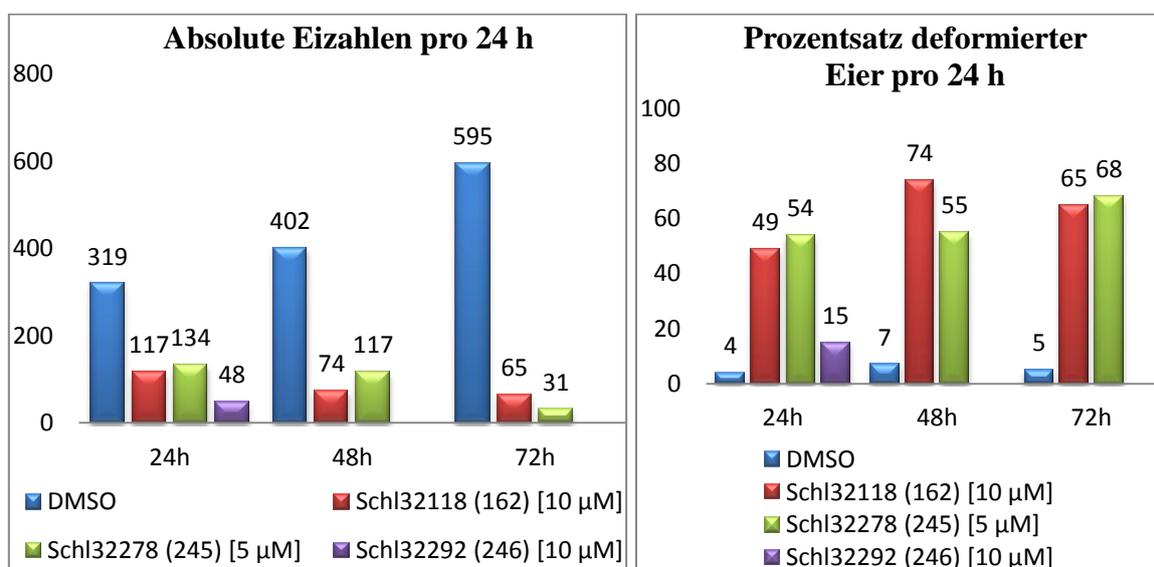


Abbildung 95: Vergleich der Eiproduktion sowie -deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den (4-Methylsulfonyl)benzylsubstituierten Derivaten **162** (Schl32118), **245** (Schl32278) und **246** (Schl32292) bei den jeweils niedrigsten wirksamen Konzentrationen.

Das entsprechende *N,N*-Diethyl-Derivat **162** zeigte eine antischistosomale Aktivität bis zu einer Konzentration von 10 μM . Dabei konnte ebenfalls eine nahezu vollständigen Reduktion der Eiproduktion mit hohen Deformationsraten, eine kompletten Entpaarung aller Schistosomenpärchen und eine starke Inhibition von Vitalität und Motilität beobachtet werden. Desweiteren traten Tegumentschädigungen und -ablösung, der Verlust innerer Strukturen sowie Anisocytose des Ovars auf. Mit Ausnahme des Auftretens der Anisocytose konnten in der Gruppe der (4-Methylsulfonyl)benzyl-Derivate analoge Phänotypen beobachtet werden. **Abbildung 95** vergleicht die Eiproduktion und -deformation der drei Verbindungen bei der jeweils niedrigsten wirksamen Konzentration. Durch die Einführung eines Piperazin-Strukturelements mit einem Aromaten in der Seitenkette konnten Derivate dargestellt werden, die eine äquivalente beziehungsweise verbesserte Wirksamkeit zeigten. Ob die, verglichen mit dem Furoyl-Derivat **245**, bessere Wirksamkeit des

N-Benzyl-Derivats **246** auf die Basizität des Piperazin-Stickstoffs, auf die flexiblere räumliche Anordnung oder auf andere Gründe zurückzuführen ist, kann nicht abschließend gesagt werden.

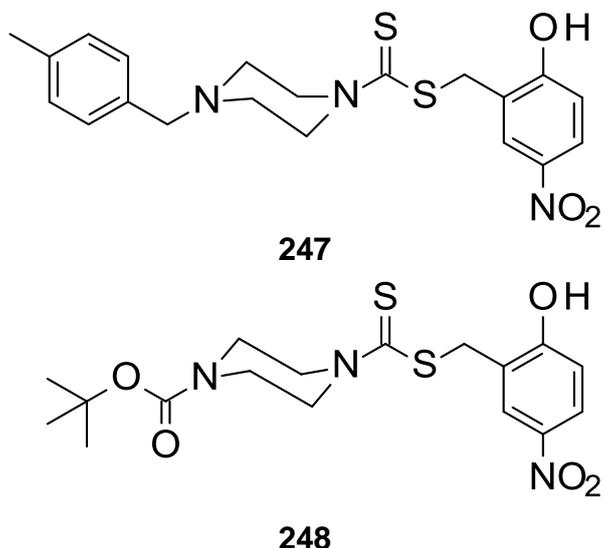


Abbildung 96: Strukturformeln der beiden wirksamen Derivate mit einem (2-Hydroxy-5-nitrophenyl)methyl-Substituenten am Schwefel des Dithiocarbamats.

Auch in der Gruppe der (2-Hydroxy-5-nitrophenyl)methylsubstituierten Derivate zeigten ebenfalls zwei der sieben Verbindungen eine antischistosomale Aktivität bei einer Konzentration von 10 μM (**Abbildung 96**). Das *N*-Boc-geschützte Derivat **248** zeigte bis zu einer Konzentration von 5 μM eine deutlich reduzierte Eiproduktion und Paarungsstabilität. Zudem konnte ein letaler Effekt auf die Schistosomen nach spätestens 72 Stunden festgestellt werden. Die Schistosomen zeigten zudem einen Verlust der inneren Strukturen. Dieser Effekt trat erneut zeitverzögert auf. Auch hier ist es möglich, dass die *Boc*-Schutzgruppe unter Freisetzung des freien Piperazin-Derivats als aktives Agens abgespalten wurde. Unterhalb einer Konzentration von 5 μM zeigte die Verbindung **248** keine antischistosomale Aktivität. Das *N*-Benzyl-Derivat **247** zeigte bei einer Konzentration von 5 μM gleiche Phänotypen. Der letale Effekt auf die Schistosomen trat bereits nach 48 Stunden ein. Zusätzlich konnten Tegumentblasen und eine Anisocytose des Ovars beobachtet werden. Bei einer Konzentration von 1 μM zeigte die Verbindung **247** ebenfalls eine sehr gute Wirksamkeit. Es konnten mit Ausnahme der Tegumentblasen sowie des letalen Effekts die gleichen Phänotypen beobachtet werden, wenn auch in etwas geringerer Intensität.

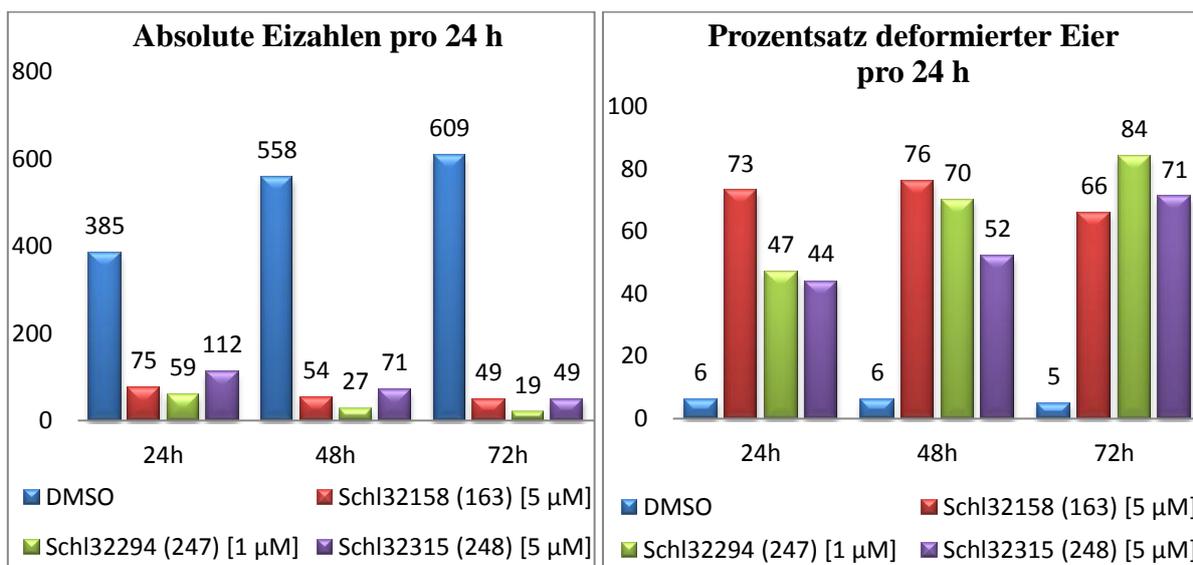


Abbildung 97: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den (2-Hydroxy-5-nitrophenyl)methylsubstituierten Derivaten **163** (Schl32158), **247** (Schl32294) und **248** (Schl32315) bei den jeweils niedrigsten wirksamen Konzentrationen.

Das *N,N*-Diethyl-Derivat **163** zeigte ebenfalls eine antischistosomale Aktivität bis zu einer Konzentration von 5 µM. Bei dieser Konzentration konnte jedoch nur eine Reduktion der Eiproduktion sowie der Paarungsstabilität und Vitalität beobachtet werden. **Abbildung 97** vergleicht die Eiproduktion und -deformation der drei Verbindungen bei der jeweils niedrigsten wirksamen Konzentration. Aufgrund der nachgewiesenen Phänotypen sowie der letalen Effekte bei einer Konzentration von 5 µM ist die Wirksamkeit der beiden Kombinationsderivate höher zu bewerten. Zudem konnte mit Derivat **247** erstmals eine Verbindung dargestellt werden, welche *in vitro* um Faktor 5 wirksamer ist als Praziquantel (**1**).

In der Gruppe der Cyclohexylmethylsubstituierten Derivate zeigten vier der sieben Verbindungen eine antischistosomale Aktivität bei einer Konzentration von 10 µM (**Abbildung 98**). Jedoch bewirkten die drei Verbindungen **249**, **250** und **251** *in vitro* nur eine Reduktion der Eiproduktion bei geringen Deformationsraten. Andere Parameter waren minimal bis gar nicht beeinflusst. Derivat **252** zeigte bei einer Konzentration von 5 µM einen letalen Effekt nach 48 Stunden. Die Eiproduktion war ebenfalls reduziert. Die Deformationsraten der Eier waren aber wesentlich höher als die der anderen drei Derivate dieser Gruppe. Die Paarungsstabilität der Schistosomen war ebenfalls nur marginal reduziert

(Entpaarung von 3 Schistosomenpärchen). Weitere Phänotypen konnten erneut nicht beobachtet werden.

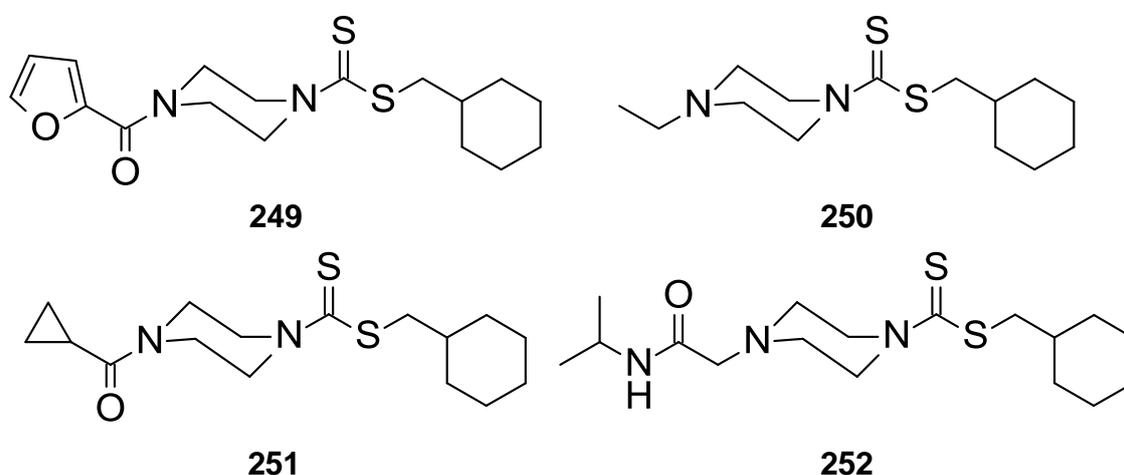


Abbildung 98: Strukturformeln der vier wirksamen Derivate mit einem Cyclohexylmethyl-Substituenten am Schwefel des Dithiocarbamats.

Insgesamt glichen die erhaltenen Ergebnisse denen des *N,N*-Diethyl-Derivats **178**. Dieses war bis zu einer Konzentration von 10 μM wirksam, zeigte aber ebenfalls nur eine Reduktion der Eiproduktion. Der inhibierende Einfluss auf die Paarungsstabilität war stärker ausgeprägt als der der Derivate der Kombinationsserie. Aufgrund der im Vergleich zu den bisher beobachteten Effekten der anderen Derivate schlechteren antischistosomalen Aktivität der Cyclohexylmethylsubstituierten Derivate wurde diese Verbindungsgruppe an dieser Stelle nicht weiter verfolgt.

In der Gruppe der 2-(1*H*-Indol-3-yl)ethylsubstituierten Derivate konnten weitere drei Verbindungen dargestellt werden, die eine antischistosomale Aktivität bei einer Konzentration von 10 μM zeigten (**Abbildung 99**). Dabei konnte bei allen drei Derivaten neben der nahezu vollständigen Reduktion der Eiproduktion, Vitalität und Motilität die Entpaarung aller Schistosomenpärchen beobachtet werden. Die Schistosomen wirkten ödematös aufgequollen und zeigten einen Verlust der inneren Strukturen. Desweiteren lösten alle drei Verbindungen Tegumentschäden aus. Die Tegumentschäden waren bei dem unsubstituierten Piperazin-Derivat **255** mit Abstand am stärksten ausgeprägt. Bei der Testung von Verbindung **254** wurden erneut tumorähnliche Ausstülpungen sowie ein letaler Effekt nach 48 Stunden beobachtet. Die beiden Verbindungen **253** und **255** zeigten bei einer Konzentration von 5 μM keine Wirksamkeit mehr. Das Derivat **254** lieferte bei dieser

Konzentration vergleichbare Ergebnisse wie bei 10 μM . Jedoch traten die beschriebenen Effekte, mit Ausnahme der Eiproduktion, Paarungsstabilität und Vitalität, in teils deutlich abgeschwächter Form auf. Der letale Effekt blieb bei dieser Konzentration aus.

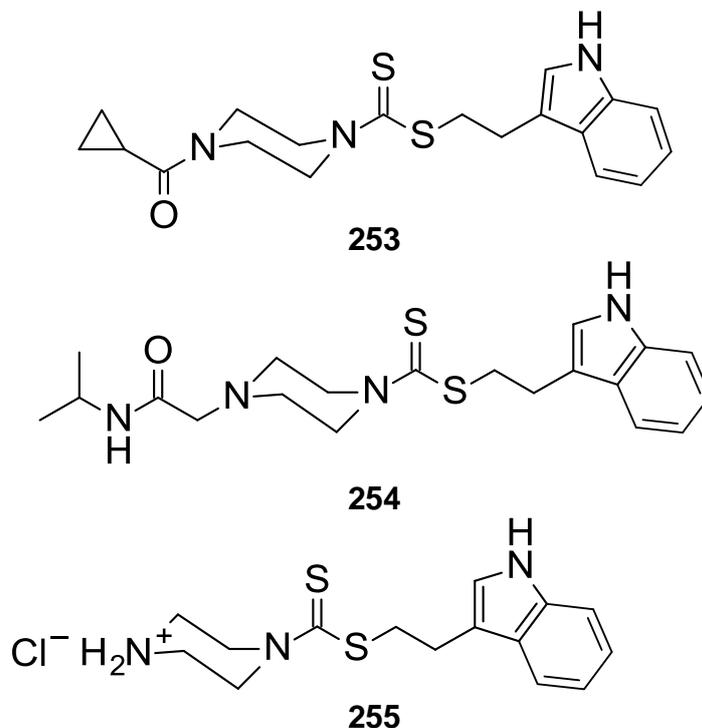


Abbildung 99: Strukturformeln der drei wirksamen Derivate mit einem 2-(1*H*-Indol-3-yl)ethyl-Substituenten am Schwefel des Dithiocarbamats.

Das *N,N*-Diethyl-Derivat **179** zeigte bis zu einer Konzentration von 10 μM eine antischistosomale Aktivität. Dabei wurde neben der signifikanten Reduktion der Eiproduktion die vollständige Entpaarung aller Schistosomenpärchen, stark reduzierte Vitalität und Motilität, Darmdilatationen und der Verlust innerer Strukturen beobachtet. Ab einer Konzentration von 5 μM war Verbindung **179** inaktiv. Mit Ausnahme der Darmdilatationen zeigten die Verbindungen der Kombinationsserie vergleichbare Effekte. Zusätzlich lösten die Derivate der Kombinationsserie teils massive Tegumentschäden aus. Eine verbesserte antischistosomale Aktivität zeigte nur Verbindung **254**, sodass nur eines der sieben Derivate der Kombinationsserie eine verbesserte antischistosomale Aktivität aufwies. **Abbildung 100** vergleicht die Eiproduktion und -deformation der vier Verbindungen bei der jeweils niedrigsten wirksamen Konzentration.

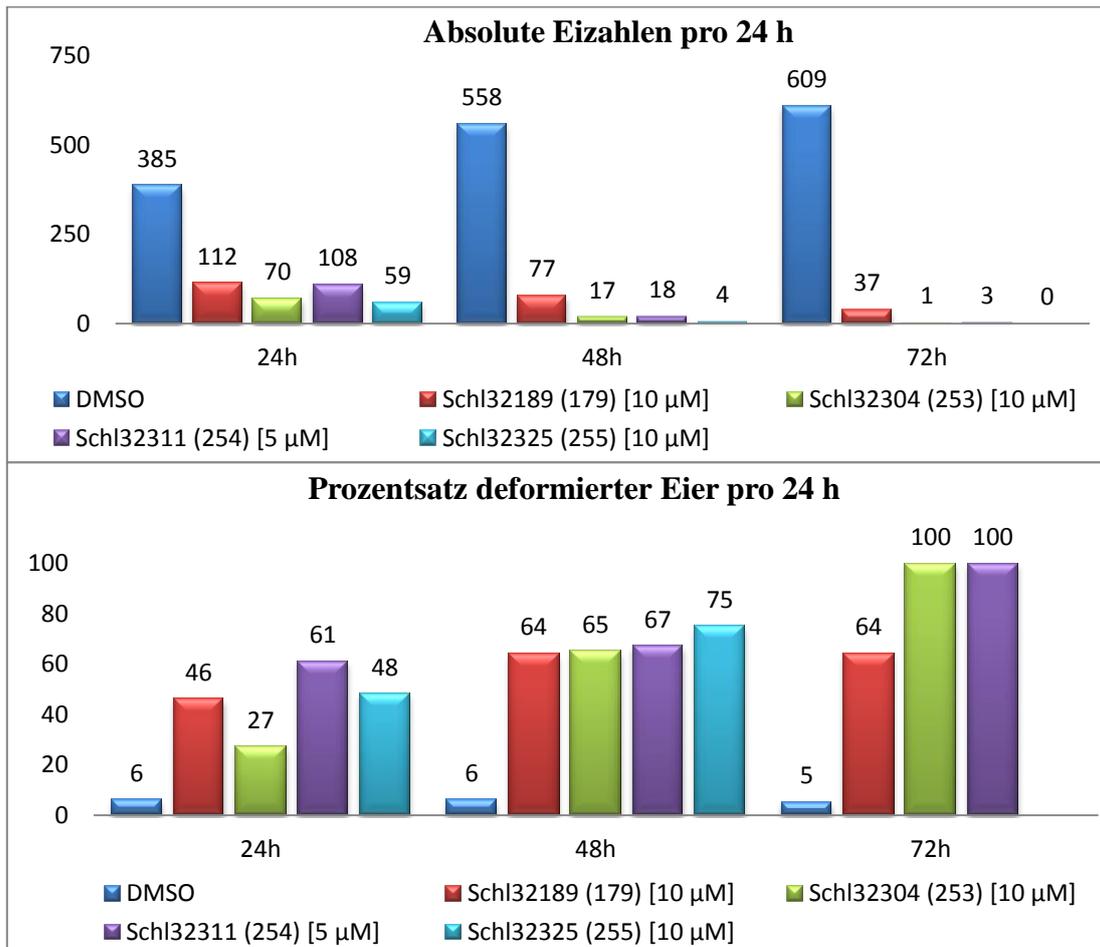


Abbildung 100: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den 2-(1*H*-Indol-3-yl)ethylsubstituierten Derivaten **179** (Schl32189), **253** (Schl32304), **254** (Schl32311) und **255** (Schl32325) bei den jeweils niedrigsten wirksamen Konzentrationen.

In der Gruppe der cumarinsubstituierten Derivate zeigten erneut vier der sieben Verbindungen eine antischistosomale Aktivität bei einer Konzentration von 10 µM (**Abbildung 101**). Das *N*-Furoyl-Derivat **256** und das *N*-Benzyl-Derivat **257** zeigten bei der initial getesteten Konzentration vergleichbare Effekte und wirkten beide nach 72 Stunden letal auf die Schistosomen. Die Eiproduktion und Paarungsstabilität waren fast vollständig reduziert. Desweiteren wurden teils massive Darmdilatationen, der Verlust innerer Strukturen, Anisocytose des Ovars und Tegumentschäden beobachtet. Jedoch setzte die Wirkung des *N*-Benzyl-Derivats **257** erst verzögert nach 48 Stunden ein. Nach 24 Stunden waren die Schistosomen vital und morphologisch kaum verändert. Während Verbindung **257** bei einer Konzentration von 5 µM keine antischistosomale Aktivität mehr zeigte, konnte bei dieser

Konzentration für das *N*-Furoyl-Derivat **256** die gleiche Wirksamkeit wie bei der vorherigen Testung beobachtet werden. Einzig der letale Effekt zeigte sich erst nach 72 Stunden. Bei einer Konzentration von 1 μM konnte nur noch ein geringer Einfluss auf die Paarungsstabilität, Eiproduktion und Vitalität beobachtet werden. Dieser war aber zu gering, um von einer guten Wirksamkeit sprechen zu können.

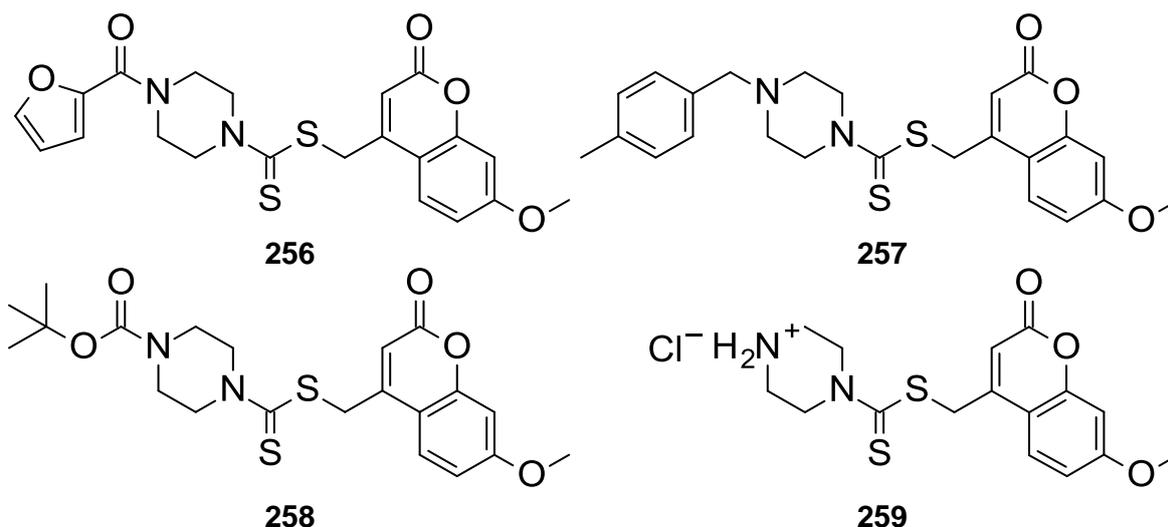


Abbildung 101: Strukturformeln der vier wirksamen Derivate mit einem Coumarin-Substituenten am Schwefel des Dithiocarbamats.

Auch die beiden Derivate **258** und **259** zeigten untereinander sehr ähnliche Phänotypen. Neben der Reduktion der Eiproduktion und Paarungsstabilität wurden massive Darmdilatationen, ein Verlust der inneren Strukturen sowie leichte Tegumentschäden beobachtet (vgl. **Abbildung 102**). Das *N*-Boc-Derivat **258** wirkte zudem nach 72 Stunden letal auf die Schistosomen. Desweiteren wurde erneut ein verzögerter Wirkeintritt beobachtet. Eine Abspaltung der *Boc*-Schutzgruppe unter Freisetzung des freien Piperazin-Derivats als aktives Agens scheint erneut nicht unwahrscheinlich. Während das unsubstituierte Piperazin-Derivat **259** bei einer Konzentration von 5 μM unwirksam war, zeigte Verbindung **258** mit Ausnahme der Tegumentschäden die gleichen Phänotypen wie bei der initial getesteten Konzentration. Der letale Effekt nach 72 Stunden wurde erneut beobachtet. Unterhalb von 5 μM war das Derivat **258** ebenfalls nicht mehr wirksam.



Abbildung 102: Schistosomen mit massiven Darmdilataationen nach Behandlung mit Verbindung **258** (Schl32317).

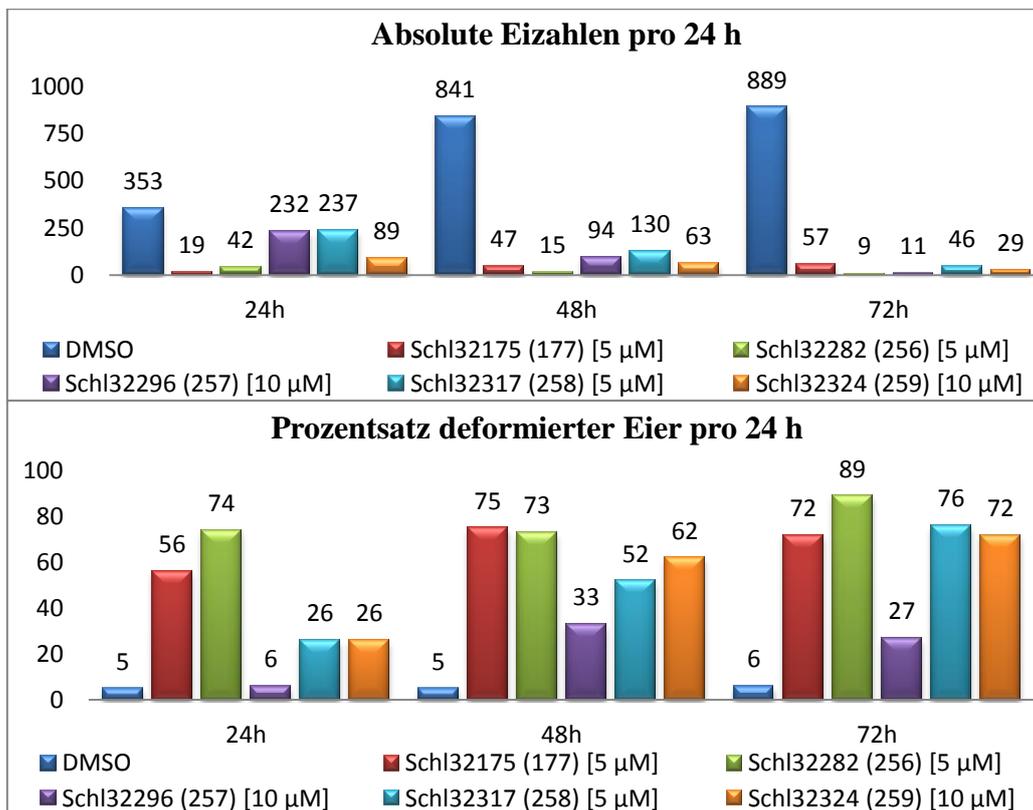


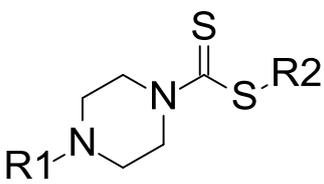
Abbildung 103: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den cumarinsubstituierten Derivaten **177** (Schl32175), **256** (Schl32282), **257** (Schl32296), **258** (Schl32317) und **258** (Schl32324) bei den jeweils niedrigsten wirksamen Konzentrationen.

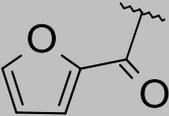
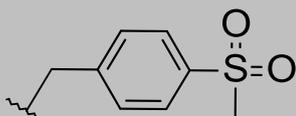
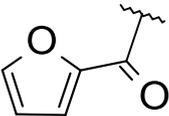
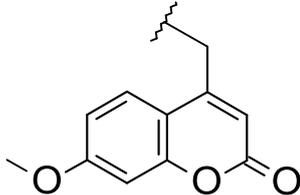
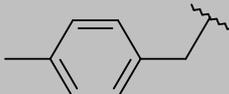
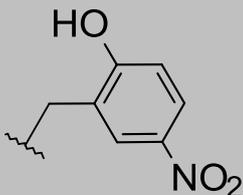
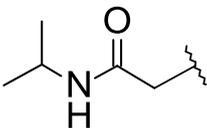
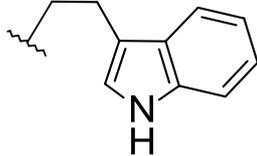
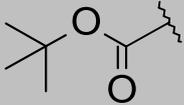
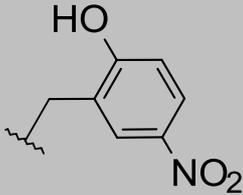
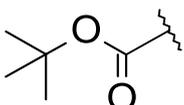
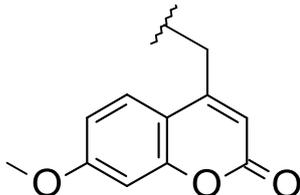
Das entsprechende *N,N*-Diethyl-Derivat **177** war bis zu einer Konzentration von 5 μM wirksam und zeigte eine starke Inhibition der Eiproduktion, Paarungsstabilität, Vitalität und Motilität. Mit Verbindung **256** und **258** zeigten bei dieser Konzentration zwei Derivate der Kombinationsserie ebenfalls eine antischistosomale Aktivität. Aufgrund der weiteren aufgetretenen Phänotypen und dem letalen Effekt nach 72 Stunden ist die Wirksamkeit der beiden Derivate der Kombinationsserie höher zu bewerten. **Abbildung 103** vergleicht die Eiproduktion und -deformation der fünf Verbindungen bei der jeweils niedrigsten wirksamen Konzentration.

In der Gruppe der 4-Cyanbenzylsubstituierten Derivate zeigte keines der sieben Derivate der Kombinationsserie eine antischistosomale Aktivität bei einer Konzentration von 10 μM . Das entsprechende *N,N*-Diethyl-Derivat **158** hingegen zeigte bei dieser Konzentration eine Reduktion der Eiproduktion, Paarungsstabilität, Vitalität und Motilität. Desweiteren konnten Schädigungen des Teguments, der Verlust innerer Strukturen sowie die Anisocytose des Ovars beobachtet werden. Durch die Einführung anderer Substituenten am Stickstoff des Dithiocarbamats kam es zu einem Einbruch der Wirksamkeit. Der Grund dafür ist unbekannt. Aufgrund der erhaltenen Ergebnisse wurde von einer weiteren Verwendung des 4-Cyanbenzyl-Substituenten am Schwefel des Dithiocarbamats abgesehen.

Unter den 49 Derivaten der Kombinationsserie wurden 17 Verbindungen gefunden, die bei einer Konzentration von 10 μM eine gute bis sehr gute antischistosomale Aktivität zeigten. Sechs der 17 Verbindungen waren ebenfalls bei einer Konzentration von 5 μM aktiv und damit genauso wirksam wie Praziquantel (**1**). Die sechs Verbindungen sind in **Tabelle 37** dargestellt. Neben der signifikanten Reduktion der Vitalität und Motilität, der Paarungsstabilität sowie der Eiproduktion einschließlich hoher Deformationsraten der verbliebenen Eier konnten vielversprechende Phänotypen beobachtet werden. Dazu gehörten vor allem Darmdilatationen, der Verlust innerer Strukturen und Tegumentschädigungen mit einhergehender Blasenbildung und Ablösung des Teguments. Zudem zeigten alle sechs Derivate einen letalen Effekt nach spätestens 72 Stunden. Mit Verbindung **247** wurde ein Derivat dargestellt, welches auch bei einer Konzentration von 1 μM eine sehr gute antischistosomale Aktivität zeigte und somit *in vitro* um Faktor 5 wirksamer ist als die Referenzverbindung Praziquantel (**1**).

Tabelle 37: Übersicht der sechs wirksamsten Derivate der Kombinationsserie.



#	R ₁	R ₂
Schl32278 (245)*		
Schl32282 (256)*		
Schl32294 (247)**		
Schl32311 (254)*		
Schl32315 (248)*		
Schl32317 (258)*		

* wirksam bis 5 μM; ** wirksam bis 1 μM

Aufgrund der sehr unterschiedlichen *in vitro*-Ergebnisse der Derivate dieser durchgeführten Kombinationsserie lassen sich keine belastbaren Struktur-Wirkungs-Beziehungen ableiten.

Mit Ausnahme des *N*-Ethylpiperazin- und des 4-Cyanbenzyl-Substituenten kommt jeder andere Substituent in mindestens zwei aktiven Verbindungen vor. **Abbildung 104** zeigt die Häufigkeit der jeweiligen Substituenten am Stickstoff beziehungsweise am Schwefel des Dithiocarbamats. Aufgrund des Auftretens verschiedener Phänotypen liegt die Vermutung nahe, dass mehrere *Targets* adressiert werden. Die Diversität der Strukturen der Verbindungen, welche bei einer Konzentration von 10 μ M wirksam waren, scheinen diese Hypothese zu bestätigen.

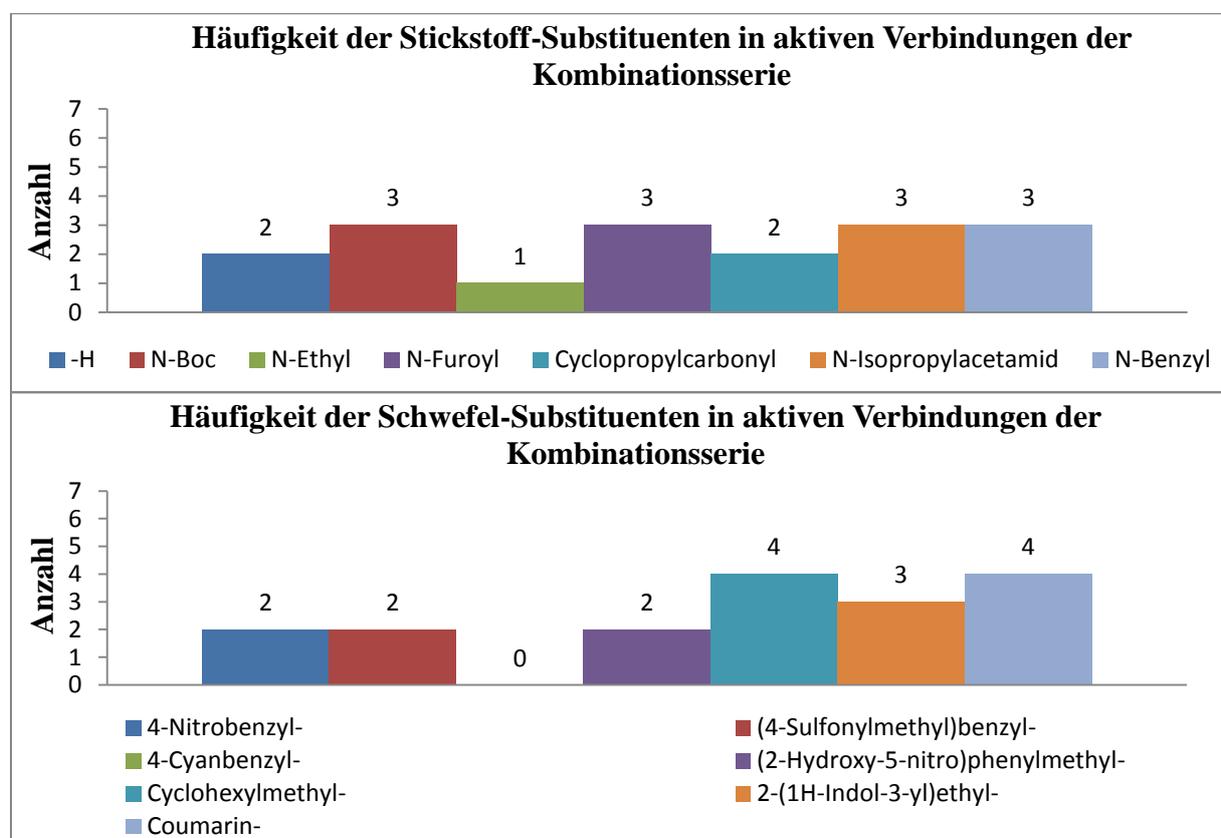


Abbildung 104: Häufigkeit der jeweiligen Substituenten in Verbindungen der Kombinationsserie, die bei einer Konzentration $\leq 10 \mu\text{M}$ eine antischistosomale Aktivität zeigten.

Die sechs wirksamsten Verbindungen (vgl. **Tabelle 37**) wurden im Anschluss auf ihr zytotoxisches Potential gegenüber der HepG2-Zelllinie untersucht. Bei der initial getesteten Konzentration von 100 μM war nur Verbindung **258** nicht toxisch. Gleiches gilt für die Testung gegenüber der LS174T-Zelllinie. Die anderen fünf Verbindungen zeigten ein zytotoxisches Potential gegenüber der HepG2-Zelllinie, sodass auf eine Testung gegenüber

der LS174T-Zelllinie verzichtet wurde. Im Anschluss wurde die Konzentration auf 50 µM reduziert. Dabei zeigte sich, dass bei dieser Konzentration die Verbindungen **248** und **254** erneut zytotoxisch waren. Die Verbindungen **245**, **256** und **247** zeigten bei dieser Konzentration kein zytotoxisches Potential.

Auch die sechs wirksamsten Derivate dieser Kombinationsserie wurden nach der Definition des *Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases* (TDR) der *World Health Organisation* auf eine mögliche Einstufung als *Hit*-Struktur geprüft. Die Definition des TDR sind nochmals in **Tabelle 38** dargestellt.^[250]

Tabelle 38: Definition von *Hit*- und *Lead*-Strukturen nach TDR.^[250]

	Testung	Definition
	gegen	
Hit-Struktur	Adulte <i>S. mansoni</i>	100%ige Inhibition der Motilität bei einer Konzentration von 5 µg/mL ⁻¹
Lead-Struktur	Adulte <i>S. mansoni</i>	Aktiv <i>in vivo</i> (Mäuse) bei subkutaner oder intraperitonealer Gabe einer 10%igen DMSO-Formulierung (5x100 mg/kg Körpergewicht) und statistisch signifikanter Reduktion der Wurmlast (>80%: hochwirksam) Nicht übermäßig toxisch in Tieren bei wirksamen Dosen

Alle sechs Verbindungen waren *in vitro* in der Lage, die Motilität vollständig zu inhibieren. Nach Definition des TDR ist Verbindung **247** als *Hit*-Struktur zu klassifizieren. Aufgrund der im Vergleich zu Praziquantel (**1**) um Faktor 5 verbesserten Wirksamkeit wäre Verbindung **247** die erste Wahl für eine mögliche *in vivo*-Testung. Die anderen fünf Derivate überschritten die als Grenzwert gewählte Konzentration von 5 µg/mL⁻¹ um das Vierfache (vgl. **Tabelle 39**). Nichtsdestotrotz stellen auch diese fünf Derivate aufgrund der erhaltenen *in vitro*-Ergebnisse und der sehr guten Wirksamkeit eine reelle Option für eine anschließende *in vivo*-Testung dar.

Tabelle 39: Bewertung der sechs wirksamsten Verbindungen der Kombinationsserie nach den TDR-Kriterien.

Bezeichnung	#	Molmasse [g/ mol]	Geringste wirksame Konzentration [μM]	Konzentration in $\mu\text{g/ mL}^{-1}$	Hit-Struktur nach TDR
Schl32278	245	424.56	5	21,23	Nein
Schl32282	256	444.52	5	22,23	Nein
Schl32294	247	417.54	1	4,17	Ja
Schl32311	254	404.59	5	20,23	Nein
Schl32315	248	413.51	5	20,68	Nein
Schl32317	258	450.57	5	22,53	Nein

Nach Auswertung der durchgeführten Zytotoxizitätsstudien, der antischistosomalen Aktivität und der Bewertung nach TDR sind die Verbindungen **245**, **247** und **256** für eine *in vivo*-Testung zu empfehlen (**Abbildung 105**).

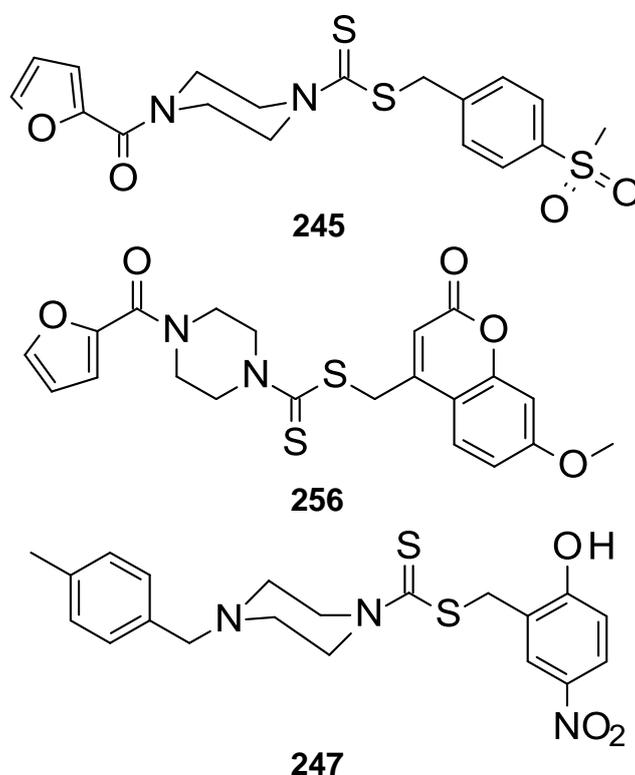


Abbildung 105: Strukturformeln der für eine *in vivo*-Testung potentiell infrage kommenden Derivate der Kombinationsserie.

B.2.5 Weitere Optimierungsversuche

In einer abschließenden Optimierungsserie wurde versucht, die antischistosomale Aktivität sowie das zytotoxische Profil der Substanzklasse der Dithiocarbamate weiter zu verbessern. Als Grundstruktur für die folgenden Derivate wurde das ((4-Nitrophenyl)methyl)piperazin-1-dithiocarboxylat (**260**) gewählt, welches ausschließlich am Piperazin-Stickstoff funktionalisiert wurde (**Abbildung 106**). Die Wahl der Grundstruktur erfolgte aus zwei wesentlichen Gründen: Zum Einen zeigten alle bisher dargestellten Verbindungen mit einem 4-Nitrobenzyl-Substituenten ein schlechtes Zytotoxizitätsprofil. Tritt eine Verringerung der Zytotoxizität auf, sollte diese mit hoher Wahrscheinlichkeit mit der Variation des Substituenten am Piperazin-Stickstoff korrelieren. Zum Anderen zeigten mit Ausnahme des *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivats **157** keines der 4-Nitrobenzylsubstituierten Verbindungen einer antischistosomale Aktivität unterhalb einer Konzentration von 10 μM . Auch hier wurde vermutet, dass eine Verbesserung der Wirksamkeit mit der Variation des Substituenten am Piperazin-Stickstoff korreliert.

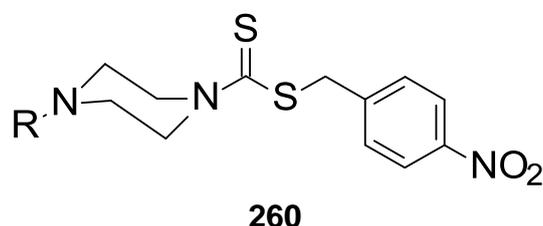


Abbildung 106: Grundstruktur der Derivate zur weiteren Steigerung der antischistosomalen Aktivität.

Basierend auf den bisher erhaltenen Ergebnissen wurden die Verbindungen initial bei einer Konzentration von 10 μM auf ihre antischistosomale Aktivität getestet. Für wirksame Verbindungen wurde die Konzentration schrittweise reduziert.

B.2.5.1 Konjugation mit Aminosäuren

Zunächst wurde das Grundgerüst mit verschiedenen Aminosäuren konjugiert. Verschiedene schistosomale Aminosäuretransporter sind in der Literatur beschrieben, welche sich vor allem im Tegument der Schistosomen befinden.^[281-283] Eine verbesserte Wirksamkeit und eine

mögliche aktive Aufnahme der Verbindungen durch diese Aminosäuretransporter war das Ziel dieser Modifikationen. Die Synthese der Derivate erfolgte ausgehend von der entsprechenden *N*-Boc-geschützten Aminosäure durch Reaktion mit ((4-Nitrophenyl)methyl)piperazin-1-dithiocarboxylhydrochlorid unter der Verwendung von Kupplungsreagenzien (EDC·HCl, HOBt) und Triethylamin als Base. Diese milde Methode lieferte die entsprechenden Verbindungen in guten Ausbeuten.^[249] **Tabelle 40** zeigt die dargestellten Derivate.

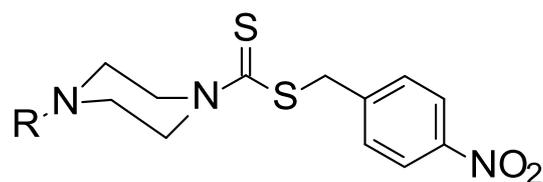
Tabelle 40: Übersicht der dargestellten *N*-Boc-Aminosäurederivate.

#	R	#	R
Schl32336 (261)		Schl32340 (265)	
Schl32337 (262)		Schl32341 (266)	
Schl32338 (263)		Schl32342 (267)	
Schl32339 (264)		Schl32354 (268)	

Die *N*-Boc-Aminosäurederivate wurden ebenfalls auf ihre antischistosomale Aktivität getestet. Bei einer Konzentration von 10 μ M war nur das Tyrosin-Derivat **266** unwirksam. Die übrigen sieben Derivate inhibierten die Eiproduktion und führten zu einer stark

reduzierten Vitalität, Motilität und Paarungsstabilität. Das Alanin-Derivat **262** und das Serin-Derivat **268** bewirkten zusätzlich dilatierte Darmbereiche sowie geringe Tegumentschädigungen. Zudem war das Alanin-Derivat **262** die einzige Verbindung, die letal auf die Schistosomen wirkte (nach 48 Stunden). Keines der *N-Boc*-Aminosäurederivate war unterhalb einer Konzentration von 10 μM wirksam.

Tabelle 41: Übersicht der dargestellten Aminosäurederivate.



#	R	#	R
Schl32343 (269)		Schl32347 (273)	
Schl32344 (270)		Schl32348 (274)	
Schl32345 (271)		Schl32349 (275)	
Schl32346 (272)		Schl32355 (276)	

Im Anschluss wurde die *Boc*-Schutzgruppe sauer abgespalten und das entsprechende Hydrochlorid der Aminosäure-Derivate erhalten (**Tabelle 41**). *In vitro* waren das Asparagin-Derivat **272** und das β -Alanin-Derivat **275** bei der initial getesteten Konzentration von 10 μM unwirksam. Die übrigen sechs Derivate zeigten bei 10 μM vergleichbare

Ergebnisse. Die Eiproduktion wurde inhibiert und die verbliebenen Eier waren hochgradig deformiert. Ebenso wurde eine deutliche Reduktion der Vitalität, Motilität und Paarungsstabilität beobachtet. Zudem zeigte sich, dass alle sechs Verbindungen sowohl hochgradige Darmdilatationen sowie den Verlust von inneren Strukturen auslösten. Zudem zeigten mit Ausnahme des Glycin-Derivats **269** alle Derivate nach spätestens 48 Stunden einen letalen Effekt auf die Schistosomen. Bei einer Konzentration von 5 μM zeigte nur noch das Prolin-Derivat **273** eine antischistosomale Aktivität. Mit Ausnahme des letalen Effekts konnten bei dieser Konzentration die gleichen Ergebnisse beobachtet werden. Unterhalb von 5 μM war auch das Prolin-Derivat **273** unwirksam. Mit Ausnahme des Serin-Derivats **276** zeigten alle Verbindungen bei einer Konzentration von 100 μM ein zytotoxisches Potential gegenüber der HepG2-Zelllinie.



Abbildung 107: Mikroskopische Aufnahmen der beobachteten Darmdilatation bei der *in vitro*-Testung der Aminosäure-Derivate. **A:** Verbindung **269** (Schl32343); **B:** Verbindung **272** (Schl32346); **C:** Verbindung **273** (Schl32347); **D:** Verbindung **276** (Schl32355).

In der Gruppe der Aminosäure-Derivate war auffällig, dass alle wirksamen Verbindungen neben einer deutlichen Inhibition der Eiproduktion starke Darmdilatationen auslösten (vgl. **Abbildung 107**). Es ist bekannt, dass Schistosomen verschiedene Aminosäuren wie

Methionin, Tyrosin, Glycin, Leucin oder Prolin assimilieren.^[282, 284] Diese Aminosäuren werden von den Schistosomen-Männchen vorrangig in die Gastrodermis und die Testes, von den Schistosomen-Weibchen in den Darm, das Ovar und das Vitellarium integriert.^[284] Zudem ist Tyrosin Substrat der Tyrosinase. Durch eine Hydroxylierung bildet die Tyrosinase L-DOPA aus Tyrosin, das anschließend zum *ortho*-Chinon oxidiert wird und für die Quervernetzung der Proteine in der Eierschale essentiell ist.^[285, 286] Mit der Hypothese, dass die Dithiocarbamat-Derivate als Aminosäure-Mimetika erkannt werden, lässt sich ein Zusammenhang zwischen den beobachteten Phänotypen und den jeweiligen Regionen der Aminosäure-Integration vermuten. Durch einen möglichen Einbau der Dithiocarbamat-Derivate in die Gastrodermis beziehungsweise in den Darm könnten die aufgetretenen Darmdilatationen ausgelöst werden. Ein möglicher Einbau der Derivate in die Geschlechtsorgane hätte möglicherweise eine deutlich inhibierte Eiproduktion zur Folge. Eine Interaktion des Tyrosin-Derivats **274** mit der schistosomalen Tyrosinase könnte zu den deformierten Eiern führen.

Während die meisten Aminosäuren von den Schistosomen sowohl durch Diffusion als auch über Aminosäuretransporter aufgenommen werden können, gibt es Belege dafür, dass Prolin nur aktiv aufgenommen werden kann.^[282] Auch wenn dies nicht abschließend geklärt ist, könnte diese aktive Aufnahme die Wirksamkeit des Prolin-Derivats **273** bei einer Konzentration von 5 μ M erklären, bei der die anderen Aminosäure-Derivate unwirksam waren.

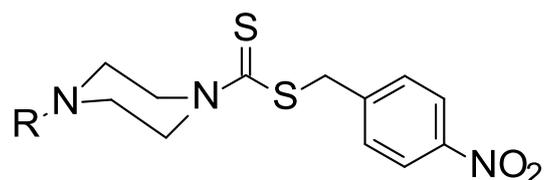
In der Gruppe der Aminosäure-Derivate konnten weitere Derivate mit einer guten antischistosomalen Aktivität dargestellt werden. Davon war nur ein Derivat bei einer Konzentration von 5 μ M wirksam. Weitere Derivate mit verbesserter Wirksamkeit und verbessertem Zytotoxizitätsprofil sind darzustellen. Im Hinblick auf die Hypothese der Wirkung als Aminosäure-Mimetika bedarf es zur Bestätigung weiterführender Arbeiten. Ein Zusammenhang scheint aber nicht unwahrscheinlich. Sollte sich die Hypothese bestätigen, wäre dies ein hochinteressanter Angriffspunkt zur Bekämpfung der Schistosomiasis.

B.2.5.2 Derivate mit hydrophilen *N*-Alkylsubstituenten

In den vorangegangenen Serien konnte gezeigt werden, dass die Einführung von hydrophilen Substituenten am Benzylrest zu einer teils deutlich verminderten Wirksamkeit führte. Zudem resultierte in dieser Substanzklasse die Einführung von Carbonsäuren und Carbonsäureestern

in unwirksamen Derivaten. Abschließend wurde durch die Einführung von hydrophilen Alkylsubstituenten am Stickstoff des Piperazins versucht, die antischistosomale Aktivität zu steigern. Die dargestellten Derivate sind in **Tabelle 42** gezeigt.

Tabelle 42: Übersicht der Derivate mit hydrophilen *N*-Alkylsubstituenten.



#	R	#	R
Schl32327 (277)		Schl32351 (279)	
Schl32328 (278)			

In vitro zeigte das Hydroxy-Derivat **277** bereits bei der initial getesteten Konzentration von 10 μ M keine antischistosomale Aktivität. Die beiden *N,N*-Dimethylamino-Derivate **278** und **279** inhibierten bei dieser Konzentration die Eiproduktion und führten zu einer deutlich reduzierten Vitalität, Motilität und Paarungsstabilität. Zudem wurden hochgradige Darmdilatationen, Tegumentschäden sowie der Verlust innerer Strukturen beobachtet (vgl. **Abbildung 108**). Vor allem bei der Testung von Verbindung **279** waren die Schistosomen sehr dunkel und ödematös aufgequollen. Zudem zeigte Verbindung **279** nach 72 Stunden einen letalen Effekt auf die Schistosomen. Bei einer Konzentration von 5 μ M bewirkte Verbindung **278** nur noch eine geringe Reduktion der Eiproduktion. Andere Parameter wurden nicht beeinflusst. Verbindung **279** hingegen zeigte bei dieser Konzentration mit Ausnahme des letalen Effekts vergleichbare Ergebnisse wie bei einer Konzentration von 10 μ M. Unterhalb von 5 μ M war Verbindung **279** unwirksam.

Mit der Einführung des *N,N*-Dimethylamino-Substituenten konnten zwei Derivate mit einer sehr guten antischistosomalen Aktivität dargestellt werden. Es zeigte sich, dass das Acyl-Derivat **279** wirksamer als das Alkyl-Derivat **278** war. Da beide Verbindungen schon bei einer Konzentration von 25 μ M ein schlechtes Zytotoxizitätsprofil zeigen, wurde der

Ansatz der Einführung von hydrophilen Alkylsubstituenten am Stickstoff des Piperazins nicht weiter verfolgt.

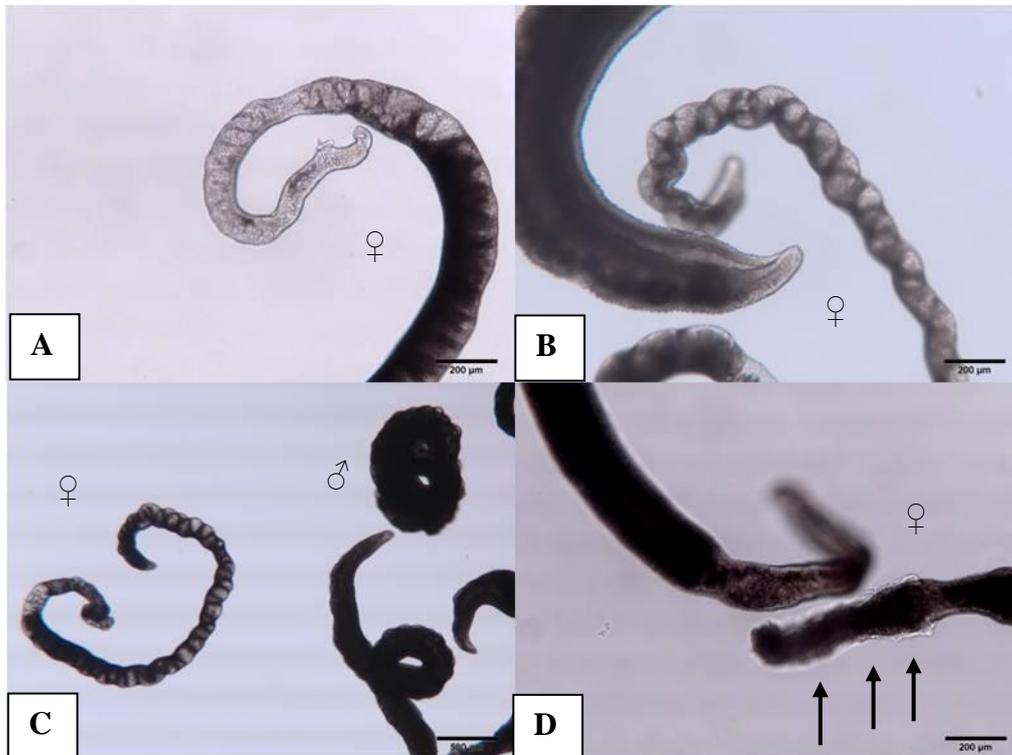
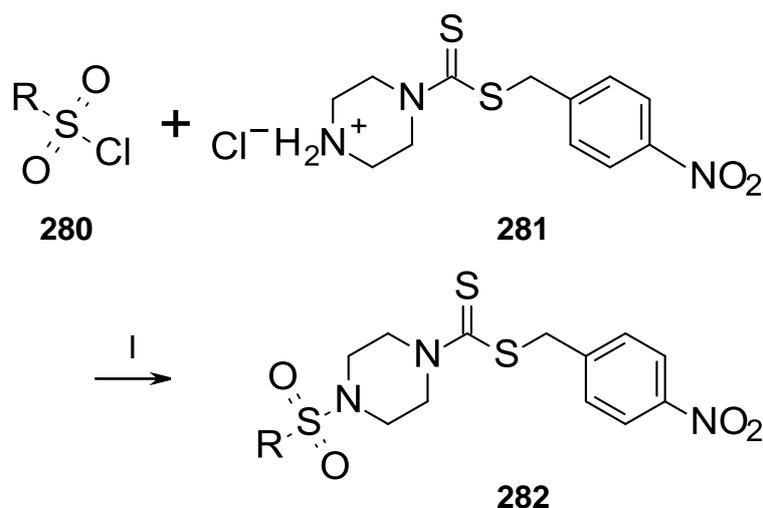


Abbildung 108: Mikroskopische Aufnahmen von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **279** (Schl32351). **A:** Weibchen mit Darmdilataationen und Strukturverlust; **B:** Weibchen mit Darmdilataationen und Strukturverlust; **C:** Ödematös aufgequollenes Männchen (rechts) und Weibchen mit Verlust innerer Strukturen und Darmdilataationen (links); **D:** Weibchen mit Strukturverlust und Tegumentschäden (Pfeil).

B.2.5.3 Einführung einer Sulfonamid-Struktur am Piperazin-Stickstoff

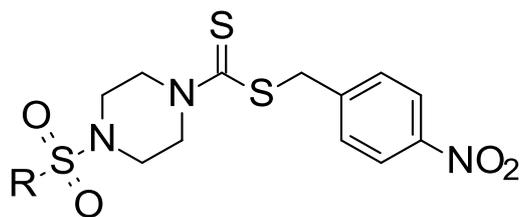
Anhand verschiedener Derivate dieser Substanzklasse konnte gezeigt werden, dass mit einer Acylierung des Piperazin-Stickstoffs eine gesteigerte antischistosomale Aktivität einhergeht. Im nächsten Schritt wurde die Carbonsäureamid-Struktur durch ein Sulfonamid ersetzt. Die Einführung eines Sulfonamids führt zu einer erhöhten Hydrophilie der Verbindungen, wodurch die Zytotoxizität der Verbindungen reduziert werden sollte. Die gewünschten Derivate wurden in einer Kondensationsreaktion in wasserfreiem Pyridin nach einer Vorschrift von Chapman *et al.* dargestellt (**Schema 18**).^[287]



Schema 18: Syntheseroute zur Darstellung der Sulfonamid-Derivate.^[287]

(I) Pyridin_(wasserfrei), 2 h, 0 °C → RT, 10 h, RT

Tabelle 43: Übersicht der Derivate mit einer Arylsulfonamid-Struktur.



#	R	#	R
Schl32330 (283)		Schl32332 (285)	
Schl32331 (284)			

Zunächst wurde sich für die Verwendung von Arylsulfonylchloriden entschieden (**Tabelle 43**). Das Dansyl-Derivat **284** wurde nicht als möglicher Wirkstoff, sondern als potentielle Fluoreszenzsonde dargestellt. Dansylchlorid ist bekannt für seine Reaktion mit primären Aminen unter Bildung von hydrolysestabilen blau- oder blaugrünen fluoreszierenden Sulfonamiden. Die gebildeten Sulfonamide sind im Allgemeinen gute

Akzeptoren für einen Fluoreszenz-Resonanzenergietransfer (FRET), sodass diese hervorragende Fluoreszenzsonden darstellen. Der Einsatz von Dansylchlorid in der Biochemie zur Endgruppenbestimmung von Peptiden und in der Aminosäureanalyse ist weit verbreitet.^[288-291] Sollte das Dansyl-Derivat **284** eine antischistosomale Aktivität zeigen, könnte es möglich sein, mithilfe geeigneter *Assays* den Wirkort zu identifizieren.

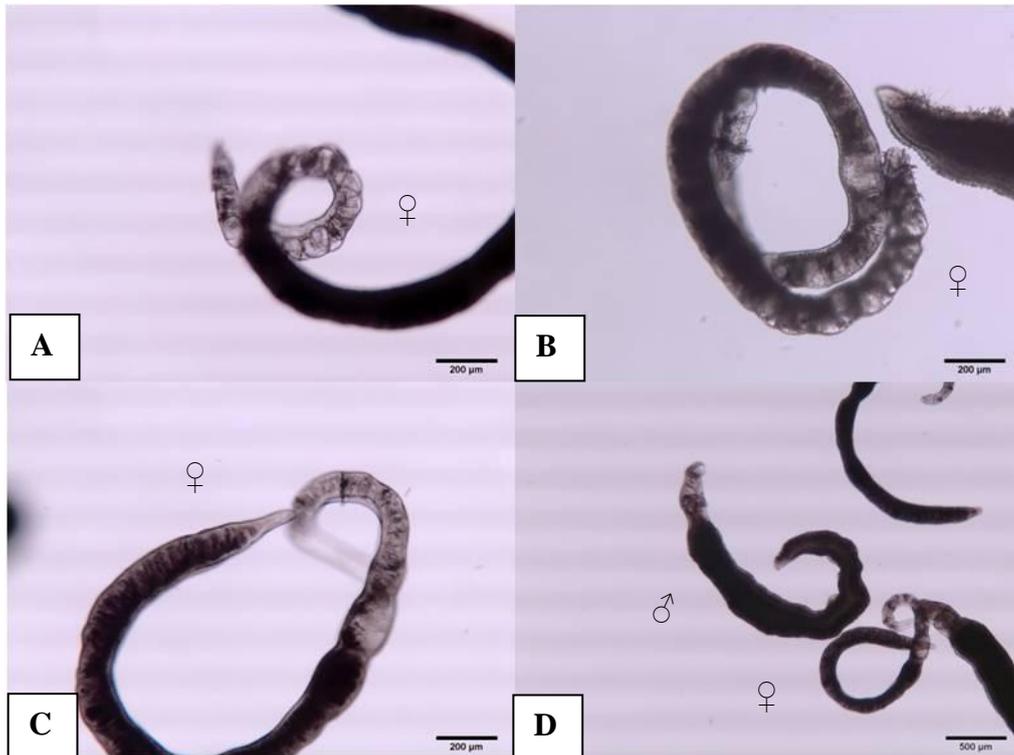
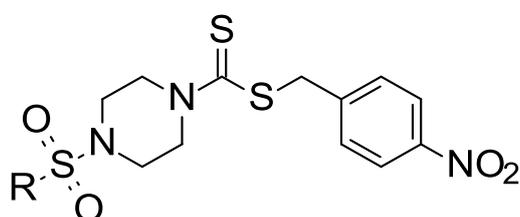


Abbildung 109: Mikroskopische Aufnahmen von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **283** (Schl32330). **A:** Weibchen mit Darmdilatationen und Strukturverlust; **B:** Weibchen mit Darmdilatationen und Strukturverlust; **C:** Weibchen mit aufgeblähtem Ovar und Strukturverlust; **D:** Eingerolltes, seitlich liegendes Männchen.

In vitro zeigte das Phenylsulfonamid-Derivat **283** eine sehr gute antischistosomale Aktivität. Bis zu einer Konzentration von 5 µM war eine deutliche Reduktion der Eiproduktion, der Vitalität, der Motilität und der Paarungsstabilität zu erkennen. Zudem wurden erneut hochgradige Darmdilatationen und der Verlust innerer Strukturen beobachtet (vgl. **Abbildung 109**). Die Schistosomen-Weibchen waren davon mehr betroffen als die Männchen. Unterhalb von 5 µM war Verbindung **283** unwirksam. Die beiden Naphthylsulfonamid-Derivate **284** und **285** waren bereits bei einer Konzentration von 10 µM unwirksam. Möglicherweise waren die Sulfonamid-Substituenten sterisch zu anspruchsvoll.

Das Phenylsulfonamid-Derivat **283** war bis zur gleichen Konzentration wirksam wie Praziquantel (**1**) und zeigte *in vitro* weitere, vielversprechende Phänotypen. Die Einführung des Sulfonamids wurde trotz veränderter Geometrie und des in Bezug auf ein Carbonsäureamid hydrophileren Charakters toleriert. Deshalb wurden im Anschluss fünf weitere Sulfonamid-Derivate sowie ein Schwefelsäurediamid-Derivat dargestellt (Tabelle 44).

Tabelle 44: Übersicht der sechs weiteren Derivate.



#	R	#	R
Schl32329 (286)	-CH ₃	Schl32363 (289)	
Schl32360 (287)		Schl32364 (290)	
Schl32361 (288)		Schl32365 (291)	

Die Alkylsulfonamid-Derivate **286**, **287**, **289** und **290** zeigten bei der initial getesteten Konzentration ebenfalls eine deutliche Reduktion der Eiproduktion, der Vitalität, der Motilität und der Paarungsstabilität. Zudem wurden erneut hochgradige Darmdilatationen, Tegumentschäden und der Verlust innerer Strukturen beobachtet. Mit Ausnahme des Butyl-Derivats **290** wirkten die Verbindungen nach 48 Stunden letal auf die Schistosomen. Verbindung **290** zeigte ebenfalls einen letalen Effekt. Dieser trat jedoch erst nach 72 Stunden ein. Nach Reduktion der Konzentration auf 5 µM konnten nahezu identische Ergebnisse beobachtet werden. Einzig der letale Effekt der Verbindungen **286**, **287** und **289** trat erst nach 72 Stunden ein. Das Butyl-Derivat **290** wirkte nicht mehr letal auf die Schistosomen. Eine weitere Reduktion der Konzentration auf 1 µM führte zu einem vollständigen Verlust der

Aktivität des Cyclopropyl-Derivats **287** und des Butyl-Derivats **290**. Die Wirksamkeit der beiden Verbindungen **286** und **289** hingegen war unverändert. Es wurden erneut die gleichen Effekte auf die Eiproduktion, Paarungsstabilität und Vitalität beobachtet. Ebenso traten die Darmdilatationen, die Tegumentschäden und der Verlust innerer Strukturen auf (vgl. **Abbildung 110**). Im Vergleich zu den vorausgegangenen Testungen der beiden Verbindungen bei höheren Konzentrationen traten diese in vergleichbarer Intensität auf. Der letale Effekt nach 72 Stunden war erneut zu beobachten. In nanomolaren Konzentrationen konnte keine antischistosomale Aktivität mehr nachgewiesen werden. Beide Verbindungen waren dementsprechend um den Faktor 5 wirksamer als Praziquantel (**1**) und zeigten neben dem letalen Effekt weitere vielversprechende Phänotypen.



Abbildung 110: Mikroskopische Aufnahmen von Schistosomen bei der *in vitro*-Testung von Verbindung **286** (Schl32329). **A:** Weibchen mit Strukturverlust und ödematöses Männchen; **B:** Weibchen mit Darmdilatationen und Strukturverlust; **C:** Männchen mit Tegumentschäden (Pfeile); **D:** Weibchen mit Darmdilatationen.

Das Trifluormethyl-Derivat **291** zeigte bei keiner der getesteten Konzentrationen eine antischistosomale Aktivität. Das Schwefelsäurediamid-Derivat **288** zeigte bis zu einer Konzentration von 5 µM eine Wirksamkeit. Im Vergleich zu den anderen

Alkylsulfonamid-Derivaten traten vergleichbare Phänotypen auf. Diese waren jedoch schwächer ausgeprägt. Zudem wirkte Verbindung **288** bei keiner getesteten Konzentration letal auf die Schistosomen. Ob die schwächere Wirksamkeit der Verbindung **288** am Schwefelsäurediamid-Strukturelement oder am Substituenten lag, kann nicht abschließend gesagt werden. Für eine aussagekräftige Einschätzung sind weitere Derivate nötig.

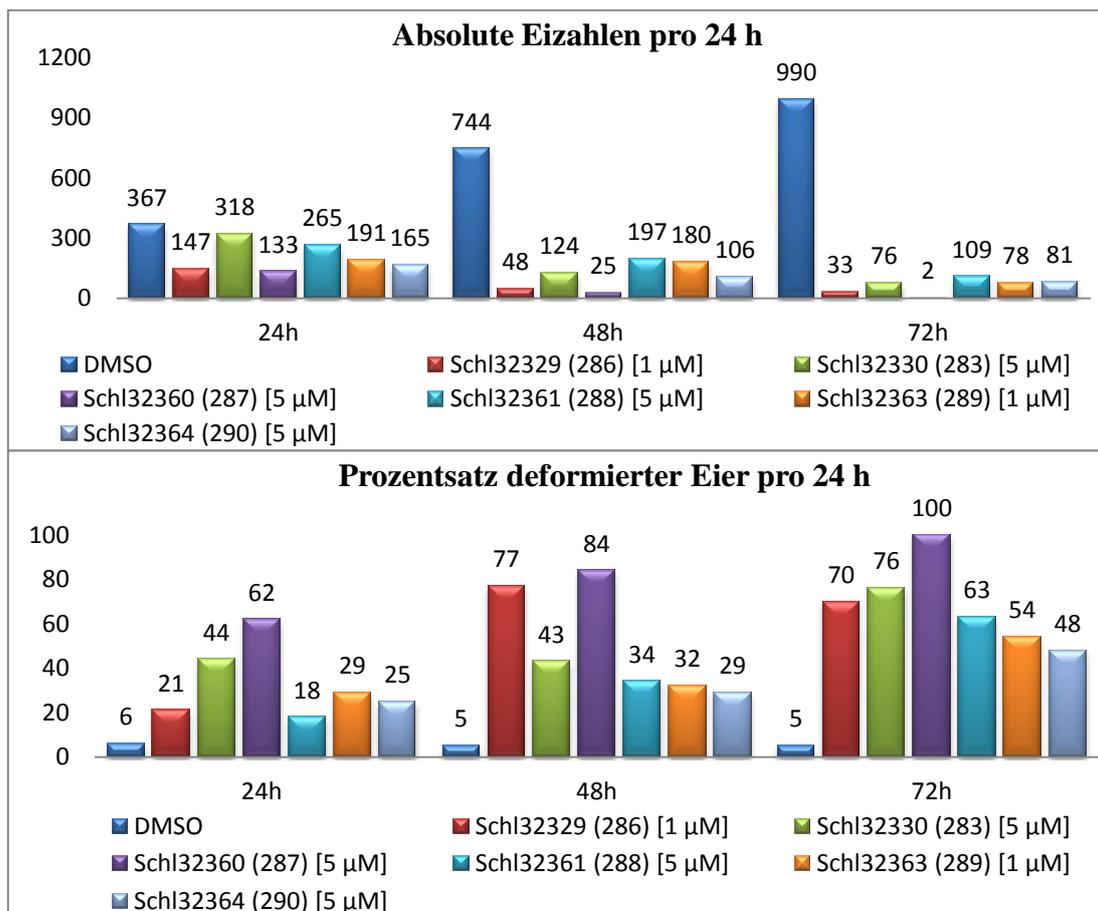


Abbildung 111: Vergleich der Eiproduktion sowie –deformation von Schistosomen-Paaren nach Behandlung mit den aktiven Sulfonamid-Derivaten **286** (Schl32329), **283** (Schl32330), **289** (Schl32363) und **290** (Schl32364) bei den jeweils niedrigsten wirksamen Konzentrationen.

Mit Einführung des Sulfonamids am Piperazin-Stickstoff konnten weitere Derivate mit sehr guter antischistosomaler Aktivität und vielversprechenden Phänotypen dargestellt werden. Vor allem die aufgetretenen letalen Effekte bei niedrigen mikromolaren Konzentrationen zeichnete diese Substanzgruppe aus. Zudem zeigen, in Bezug auf die beobachteten Phänotypen, alle aktiven Derivate eine bessere Wirksamkeit als Praziquantel (**1**). Zwei der

Alkylsulfonamid-Derivate waren sogar um Faktor 5 wirksamer. Sowohl Aryl- als auch Alkylsulfonamid-Derivate wurden toleriert, wobei die Alkyl-Derivate eine bessere antischistosomale Aktivität zeigten. Die Wirksamkeit der Alkylsulfonamide nahm mit steigender Kettenlänge ab. Ein Schwefelsäurediamid-Derivat wurde ebenfalls dargestellt, zeigte aber eine leicht schwächere Aktivität als die Sulfonamid-Derivate.

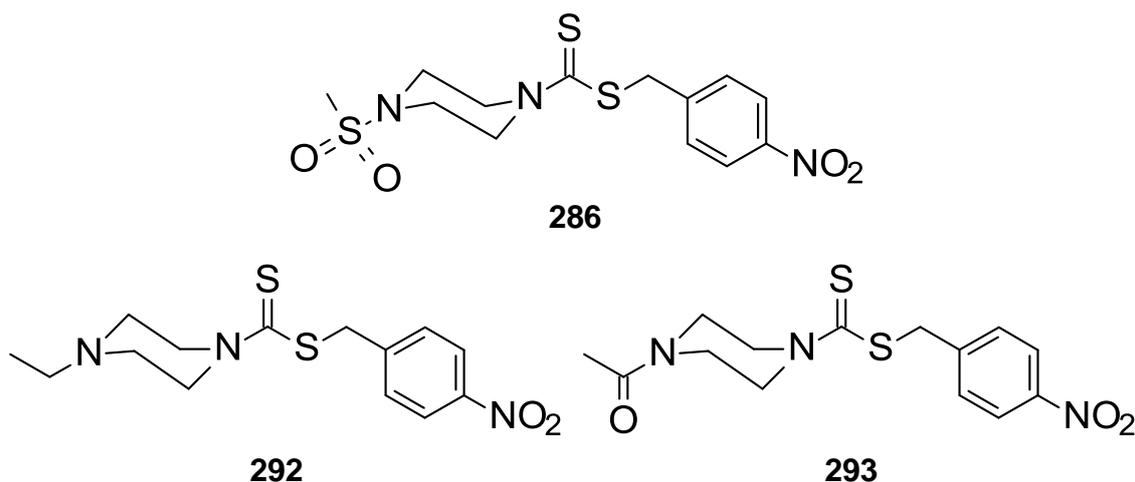


Abbildung 112: Strukturformeln der drei Vergleichsverbindungen.

Die deutlich verbesserte Wirksamkeit der Sulfonamid-Derivate gegenüber anderen (4-Nitro)benzyl-Derivaten lässt sich anhand der in **Abbildung 112** gezeigten Verbindungen erläutern. Das Sulfonamid-Derivat **286** wirkte bis zu einer Konzentration von 1 μM letal auf die Schistosomen. Eine deutliche Reduktion der Eiproduktion und der Paarungsstabilität wurden beobachtet. Zudem traten folgende Phänotypen auf: Darmdilataionen, Strukturverlust und Tegumentschäden. Das Acyl-Derivat **293** war bei den getesteten Konzentrationen 25 μM und 10 μM unwirksam. Das *N*-Ethyl-Derivat **292** zeigte bei einer Konzentration von 25 μM eine gute Wirksamkeit. Dabei waren vorrangig die Eiproduktion, die Paarungsstabilität sowie die Vitalität und Motilität reduziert. Weitere Phänotypen wurden nicht beobachtet. Mit einer Reduktion der Konzentration auf 10 μM ging ein Verlust der Wirksamkeit einher. Der deutliche Anstieg der antischistosomalen Aktivität durch Einführung einer Sulfonamid-Struktur ist zu erkennen.

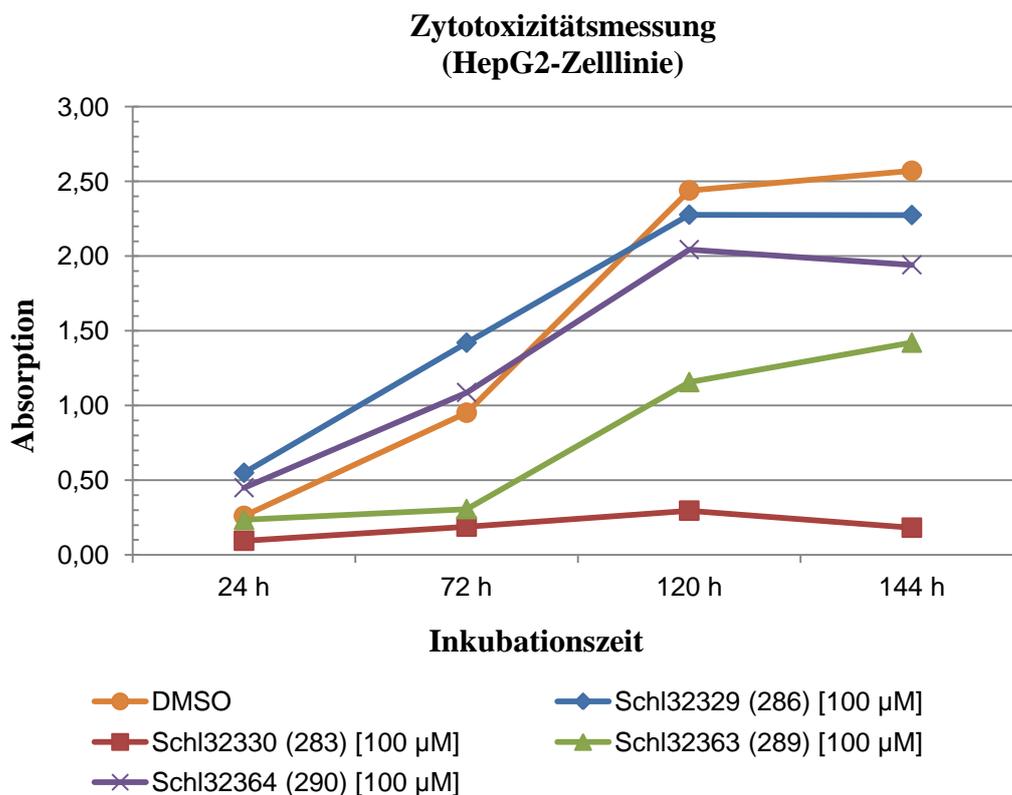


Abbildung 113: Auswertung der Zytotoxizitätsmessung (HepG2-Zelllinie) der Verbindungen **286** (Schl32329), **283** (Schl32330), **289** (Schl32363) und **290** (Schl32364).

Die wirksamen Sulfonamid-Derivate wurden im Anschluss auf ihr zytotoxisches Potential gegenüber der HepG2-Zelllinie untersucht (**Abbildung 113**). Bei der initial getesteten Konzentration von 100 µM waren nur das Methylsulfonamid-Derivat **286** und das Butylsulfonamid-Derivat **290** nicht toxisch. Gleiches gilt für die Testung gegenüber der LS174T-Zelllinie. Für das bis zu einer Konzentration von 1 µM wirksame Methylsulfonamid-Derivat **286** konnte gezeigt werden, dass bei einer um Faktor 100 höheren Konzentration keine Zytotoxizität nachgewiesen werden konnte. Ein deutlich verbessertes Zytotoxizitätsprofil durch Einführung der Sulfonamid-Struktur ist zu erkennen. Andere (4-Nitro)benzyl-Derivate, wie zum Beispiel das *N,N*-Diethyl-Derivat **157**, zeigten bereits bei einer Konzentration von 25 µM ein zytotoxisches Potential gegenüber der HepG2-Zelllinie. Die anderen Sulfonamid-Derivate zeigten bei einer Konzentration von 100 µM ein zytotoxisches Potential gegenüber beiden Zelllinien. Im Anschluss wurde die Konzentration auf 50 µM reduziert. Dabei konnte weder für Verbindung **283** noch für Verbindung **289** ein zytotoxisches Potential gezeigt werden.

Tabelle 45: Definition von *Hit*- und *Lead*-Strukturen nach TDR.^[250]

	Testung gegen	Definition
Hit-Struktur	Adulte <i>S. mansoni</i>	100%ige Inhibition der Motilität bei einer Konzentration von 5 µg/mL ⁻¹
Lead-Struktur	Adulte <i>S. mansoni</i>	Aktiv <i>in vivo</i> (Mäuse) bei subkutaner oder intraperitonealer Gabe einer 10%igen DMSO-Formulierung (5x100 mg/kg Körpergewicht) und statistisch signifikanter Reduktion der Wurmlast (>80%: hochwirksam) Nicht übermäßig toxisch in Tieren bei wirksamen Dosen

Auch die sechs wirksamen Sulfonamid-Derivate wurden nach der Definition des *Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases* (TDR) der *World Health Organisation* auf eine mögliche Einstufung als *Hit*-Struktur geprüft. Die Definition des TDR sind nochmals in **Tabelle 45** dargestellt.^[250]

Tabelle 46: Bewertung der sechs wirksamen Sulfonamid-Derivate nach den TDR-Kriterien.

Bezeichnung	#	Molmasse [g/ mol]	Geringste wirksame Konzentration [µM]	Konzentration in µg/ mL ⁻¹	<i>Hit</i> -Struktur nach TDR
Schl32329	286	375.49	1	3,76	Ja
Schl32330	283	437.56	5	21,88	Nein
Schl32360	287	401.52	5	20,08	Nein
Schl32361	288	404.53	5	20,23	Nein
Schl32363	289	389.51	1	3,90	Ja
Schl32364	290	417.57	5	20,88	Nein

Alle sechs Verbindungen waren *in vitro* in der Lage, die Motilität vollständig zu inhibieren. Nach Definition des TDR sind nur die Verbindungen **286** und **289** als *Hit*-Struktur zu klassifizieren. Beide zeigten eine im Vergleich zu Praziquantel (**1**) um Faktor 5 verbesserte Wirksamkeit. Aufgrund der Atoxizität wäre Verbindung **286** die erste Wahl für eine mögliche *in vivo*-Testung. Die anderen Derivate überschritten die als Grenzwert gewählte

Konzentration von $5 \mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ um das Vierfache (vgl. **Tabelle 46**). Nichtsdestotrotz stellen auch diese Derivate aufgrund der erhaltenen *in vitro*-Ergebnisse und der sehr guten Wirksamkeit eine reelle Option für eine anschließende *in vivo*-Testung dar.

Nach Auswertung der durchgeführten Zytotoxizitätsstudien, der antischistosomalen Aktivität und der Bewertung nach TDR sind die Verbindungen **286** und **289** für eine *in vivo*-Testung zu empfehlen (**Abbildung 114**).

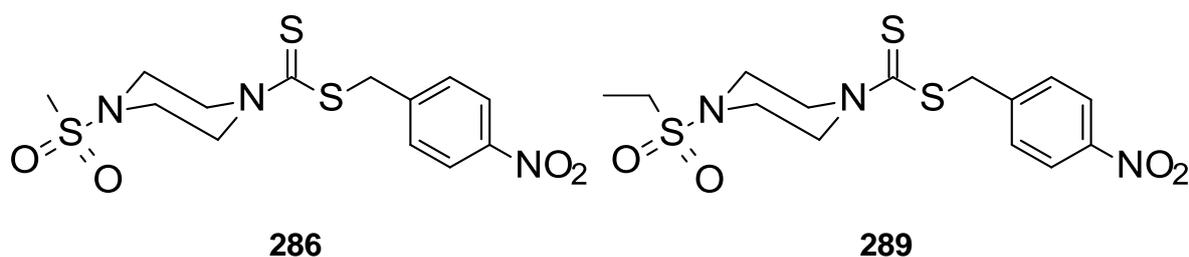


Abbildung 114: Strukturformeln der für eine *in vivo*-Testung potentiell infrage kommenden Sulfonamid-Derivate.

B.2.6 Vergleich der wirksamsten Dithiocarbamat-Derivate mit Praziquantel, Amoscanat, Phenithionat und CGP-6140

B.2.6.1 *In vitro*-Ergebnisse der Referenzsubstanzen Praziquantel, Amoscanat, Phenithionat und CGP-6140

Neben Praziquantel (**1**) dienten Amoscanat (**10**), CGP-6140 (**11**) und Phenithionat (**12**) aufgrund ihrer strukturellen Ähnlichkeit zu den Dithiocarbamaten als Referenzverbindungen und wurden ebenfalls *in vitro* auf ihre antischistosomale Aktivität getestet (**Abbildung 115**).

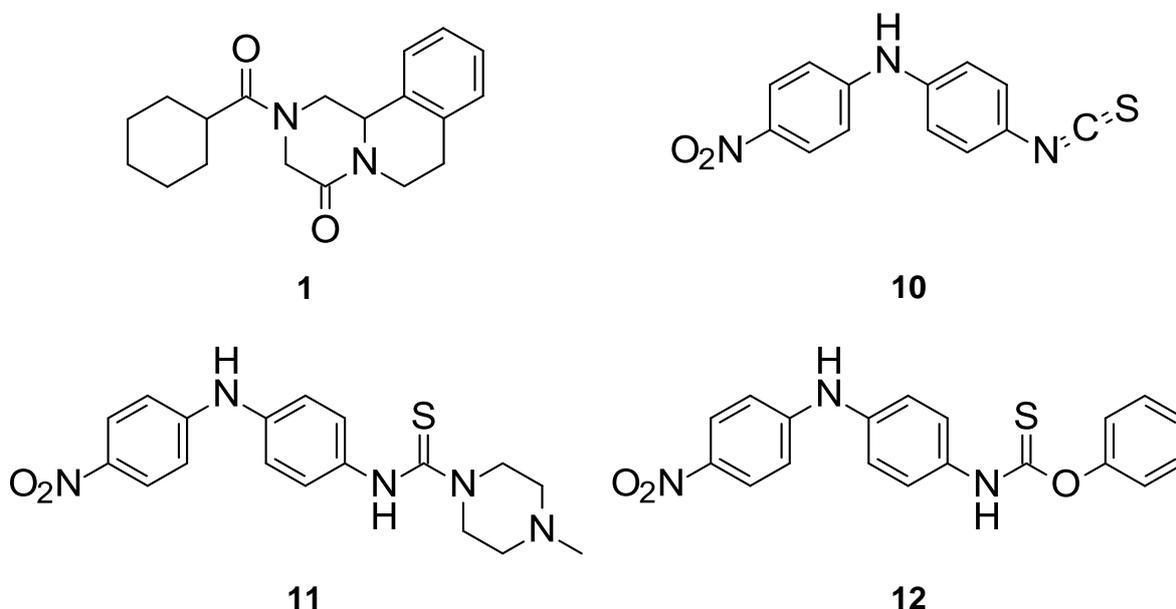


Abbildung 115: Strukturformeln von Praziquantel (**1**), Amoscanat (**10**), CGP-6140 (**11**) und Phenithionat (**12**).

Praziquantel (**1**) ist *in vitro* bis zu einer Konzentration von 5 μ M wirksam und zeigt dabei einen scheinbar letalen Effekt. Dieser scheinbar letale Effekt ist die beschriebene Paralyse der Schistosomen. Nach Transfer der Würmer in eine Mediumschale ohne Praziquantel ist die Paralyse nahezu vollständig reversibel. Aufgrund der schnellen Paralyse der Schistosomen ist die Paarungsstabilität nicht reduziert. Neben einer Inhibition der Eiproduktion sowie der Reduktion der Motilität bewirkt Praziquantel (**1**) bis zu einer Konzentration von 10 μ M Darmdilataionen und bis zu einer Konzentration von 25 μ M Tegumentschäden. Der Verlust der inneren Strukturen war bis zu einer Konzentration von 5 μ M zu beobachten

(**Abbildung 116**). Eine Reduktion der Konzentration auf 2.5 μM führte zu einem Einbruch der Wirksamkeit. Eine leichte Inhibition der Eiproduktion sowie eine geringere Paarungsstabilität konnten noch beobachtet werden. Andere Phänotypen traten nicht auf. Unterhalb von 2.5 μM konnte keine antischistosomale Aktivität mehr nachgewiesen werden.

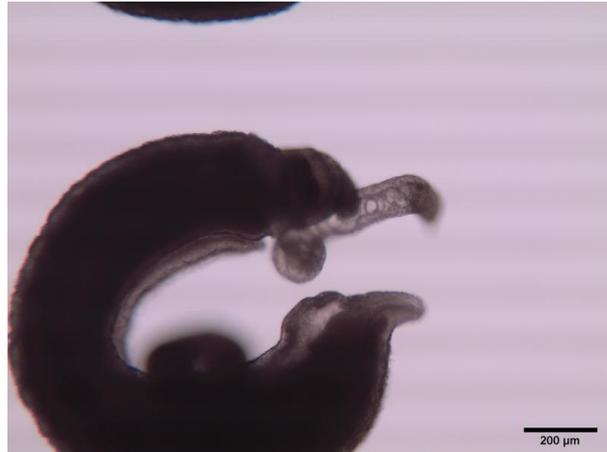


Abbildung 116: Mikroskopische Aufnahme eines Schistosomenpärchens bei der *in vitro*-Testung von Praziquantel (**1**) (Konzentration 10 μM).

Amoscanat (**10**) zeigte bis zu einer Konzentration von 5 μM eine deutliche Inhibition der Eiproduktion sowie eine Reduktion der Paarungsstabilität, Vitalität und Motilität. Desweiteren wurden ein aufgedunsener Ootyp sowie die Anisocytose des Ovars beobachtet (vgl. **Abbildung 117**). Die Inhibition der Eiproduktion ist möglicherweise ein sekundärer Effekt durch die Schädigungen des Ovars. Weitere Phänotypen konnten nicht nachgewiesen werden. Die Wirksamkeit von Amoscanat (**10**) ist aufgrund des Ausbleibens weiterer Phänotypen in Bezug auf Praziquantel (**1**) schlechter zu bewerten. Unterhalb einer Konzentration von 5 μM war Amoscanat (**10**) unwirksam.

Phenithionat (**12**) zeigte *in vitro* die gleichen Effekte wie Amoscanat (**10**). Die vergleichbare Wirksamkeit und das Auftreten ähnlicher Phänotypen lässt sich durch die vermutete schistosomale Metabolisierung von Phenithionat (**12**) zu Amoscanat (**10**) erklären.^[75, 153, 154] Unterhalb einer Konzentration von 5 μM war Phenithionat (**12**) ebenfalls unwirksam.



Abbildung 117: Mikroskopische Aufnahme eines Schistosomenweibchen mit ödematösem Ootyp sowie Anisocytose des Ovars bei der *in vitro*-Testung von Amoscanat (**10**) (Konzentration 10 µM).

Bis zu einer Konzentration von 25 µM wirkte CGP-6140 (**11**) nach 24 Stunden letal auf die Schistosomen. Die Eiproduktion war vollständig inhibiert. Eine Entpaarung aller 10 Schistosomenpärchen wurde beobachtet. Zudem kam es zu morphologischen Veränderungen des Ovars (**Abbildung 118**). Weitere Phänotypen blieben aus. Bis zu einer Konzentration von 1 µM konnten nur wenige Eier nachgewiesen werden. Dabei wurden ebenso eine Reduktion der Paarungsstabilität, Vitalität und Motilität sowie geringfügige morphologische Veränderungen des Ovars festgestellt. Unterhalb einer Konzentration von 1 µM war auch CGP-6140 unwirksam.



Abbildung 118: Mikroskopische Aufnahme eines Schistosomenweibchen bei der *in vitro*-Testung von CGP-6140 (**11**) (Konzentration 5 µM).

Die vier Verbindungen wurden zudem auf ihr zytotoxisches Potential untersucht. Praziquantel (**1**) war sowohl in der HepG2- als auch in der LS174T-Zelllinie bis zu einer Konzentration von 100 μM nicht toxisch. Die anderen drei Referenzverbindungen Amoscanat (**10**), CGP-6140 (**11**) und Phenithionat (**12**) zeigten bereits bei einer Konzentration von 5 μM ein starkes zytotoxisches Potential gegenüber der HepG2-Zelllinie. Das schlechte Zytotoxizitätsprofil wurde erwartet, da die Verbindungsklasse aufgrund starker Hepatotoxizität nicht weiter entwickelt wurde.^[155]

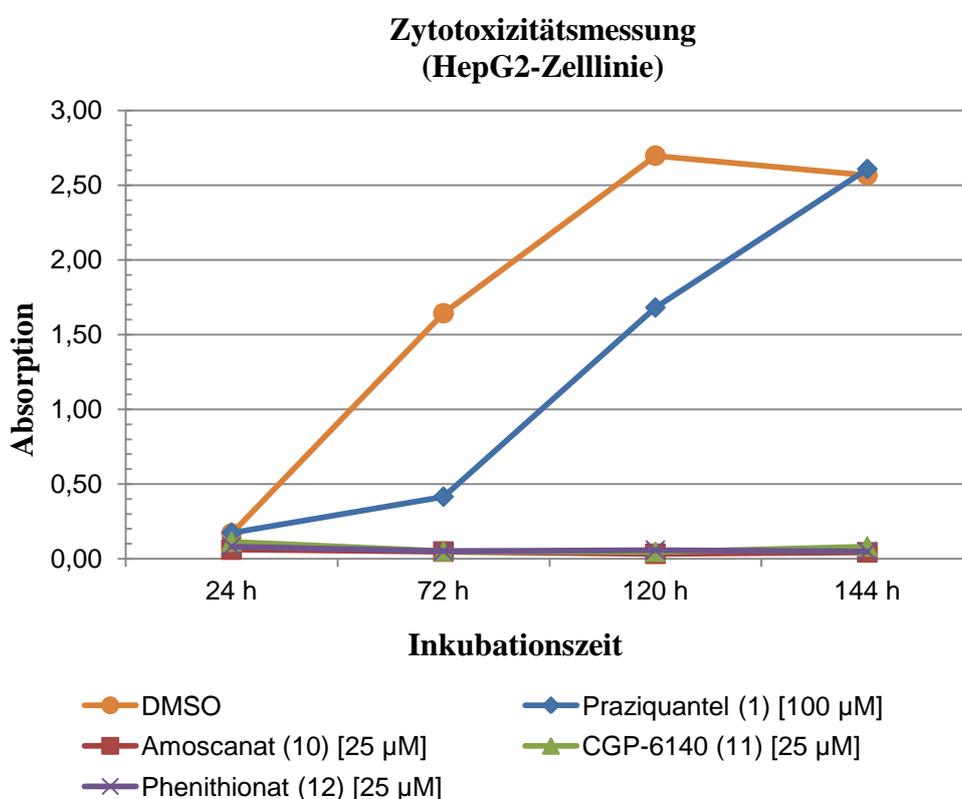


Abbildung 119: Auswertung der Zytotoxizitätsmessung (HepG2-Zelllinie) von Praziquantel (**1**), Amoscanat (**10**), CGP-6140 (**11**) und Phenithionat (**12**).

B.2.6.2 Vergleich der wirksamsten Dithiocarbamat-Derivate mit Praziquantel, Amoscanat, Phenithionat und CGP-6140

Im Folgenden werden die vier Referenzverbindungen mit den Dithiocarbamat-Derivaten verglichen, die *in vitro* bei einer Konzentration von 5 μM oder niedriger eine gute bis sehr gute antischistosomale Aktivität zeigten. Schwerpunkt des Vergleichs sind die aufgetretenen Phänotypen sowie mögliche letale Effekte der Verbindungen.

Die Derivate sind entsprechend ihres Vorkommens in den jeweiligen Optimierungsschritten gruppiert. Alle wirksamen Dithiocarbamat-Derivate inhibierten die Eiproduktion und reduzierten die Paarungsstabilität, Vitalität und Motilität deutlich. Daher werden im folgenden Abschnitt nur abweichende Beobachtungen erwähnt.

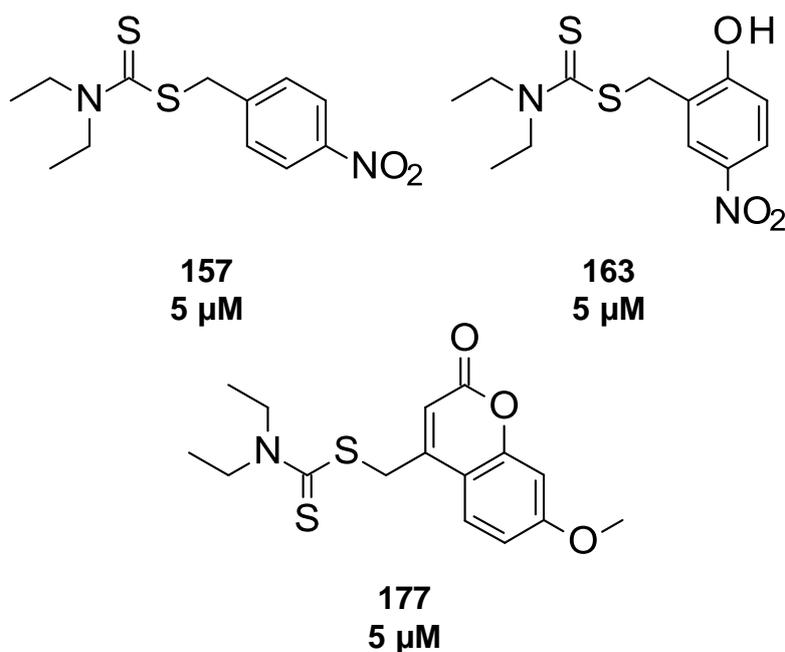


Abbildung 120: Strukturformeln der drei wirksamsten *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivate und deren jeweils niedrigste wirksame Konzentration.

In der Gruppe der *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivate zeigten bei einer Konzentration von 5 μM drei Verbindungen eine antischistosomale Aktivität (**Abbildung 120**). Dabei wurden bei der Testung des 4-Nitrobenzylsubstituierten Derivats **157** ein geringgradiger Strukturverlust und Anisocytose des Ovars beobachtet. Bei der Testung von Verbindung **163** traten Schädigungen des Teguments auf. Die Wirksamkeit der beiden Derivate ist vergleichbar mit der der Referenzverbindungen. Beide Verbindungen waren jedoch bereits bei einer Konzentration von 50 μM zytotoxisch (HepG2-Zelllinie). Das Coumarin-Derivat **177** zeigte keine weiteren Effekte. Somit ist die antischistosomale Aktivität der Verbindung **177** schwächer zu bewerten. Bei einer Konzentration von 50 μM war Verbindung **177** nicht zytotoxisch gegenüber der HepG2-Zelllinie. Aufgrund der unterschiedlichen Phänotypen der *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivate ist von verschiedenen Wirkmechanismen auszugehen.

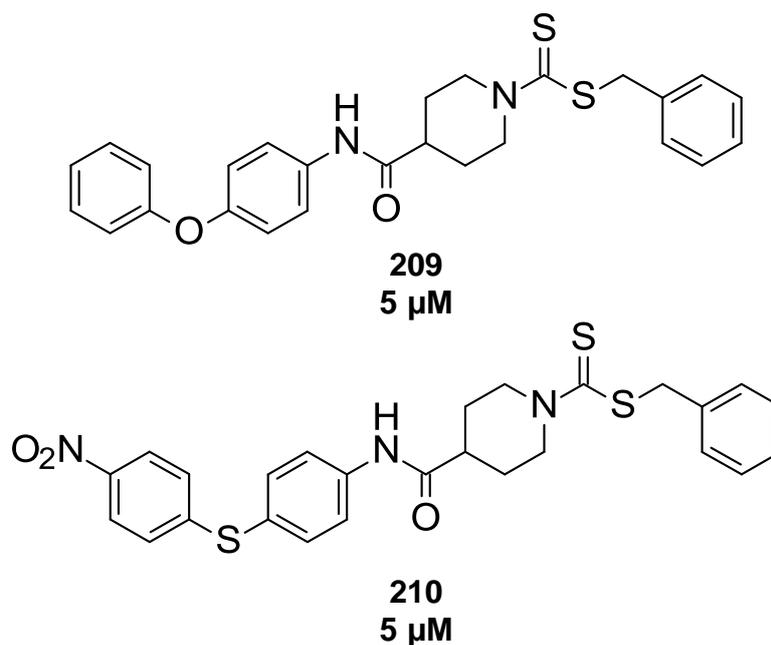


Abbildung 121: Strukturformeln der in Zusammenarbeit mit *Marlene Barho* dargestellten Biarylether-Derivate und deren jeweils niedrigste wirksame Konzentration.^[275]

Im Vergleich zur Wirksamkeit der Referenzverbindungen zeigten beide Biarylether-Derivate eine deutliche verbesserte Aktivität bei einer Konzentration von 5 μ M. Bei der *in vitro*-Testung traten hochgradige Darmdilataionen, Tegumentschäden und der nahezu vollständige Verlust innerer Strukturen auf. Beide Verbindungen waren jedoch schlecht löslich und bereits bei einer Konzentration von 25 μ M zytotoxisch.

In der Gruppe der Imidazol-Derivate waren sechs Verbindungen bei einer Konzentration von 5 μ M wirksam. Bei der *in vitro*-Testung traten massive Tegumentschäden einschließlich großflächiger Ablösung des Teguments und der Verlust innerer Strukturen auf. Dabei erschienen die Würmer sehr dunkel und waren ödematös aufgequollen. Zudem zeigten die Verbindungen **223**, **224**, **227** und **228** einen letalen Effekt nach 72 Stunden. Das Derivat **220** war bei einer Konzentration von 100 μ M in keiner Zelllinie toxisch. Die antischistosomale Aktivität der Imidazol-Derivate ist wesentlich besser als die der vier Referenzverbindungen, bei denen keine so deutlichen Phänotypen auftraten. Ein anderer Wirkmechanismus erscheint auch hier sehr wahrscheinlich.

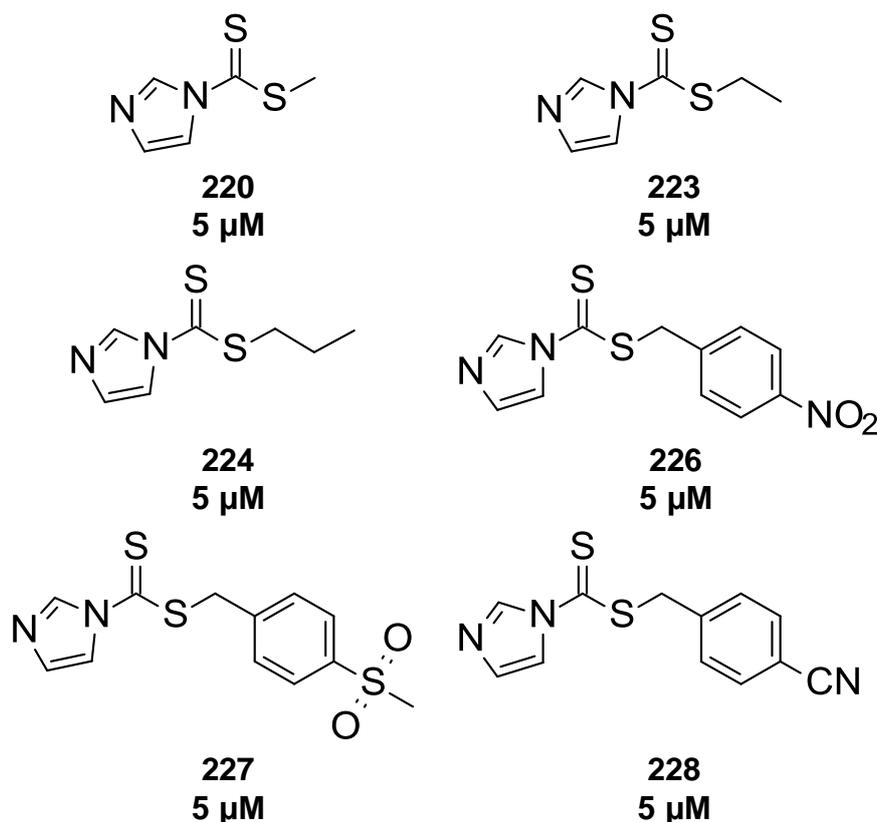
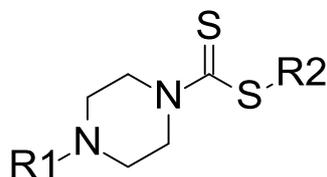


Abbildung 122: Strukturformeln der wirksamsten Imidazol-Derivate und deren jeweils niedrigste wirksame Konzentration.

Sechs Verbindungen der Kombinationsserie zeigten ebenfalls eine sehr gute antischistosomale Aktivität (**Tabelle 47**). Bei der *in vitro*-Testung des Indol-Derivats **254** zeigten sich tumorähnliche Ausstülpungen unbekanntes Ursprungs. Weitere Phänotypen konnten nicht beobachtet werden. Die Wirksamkeit der Verbindung **254** ist, trotz der unterschiedlichen Effekte, mit der der Referenzverbindungen vergleichbar. Die anderen fünf Verbindungen zeigten eine deutlich verbesserte antischistosomale Aktivität. Dabei zeigte sich ein Verlust der inneren Strukturen sowie ein letaler Effekt auf die Schistosomen. Dieser trat nach 72 Stunden auf. Derivat **247** stellte dabei eine Ausnahme dar, da der letale Effekt bereits nach 48 Stunden zu beobachten war. Darmdilatationen traten bei der Testung von Verbindung **256** und **258** auf. Tegumentschäden konnten bei den Verbindungen **245**, **247** und **256** beobachtet werden. Zusätzlich zeigte Derivat **245** eine Akkumulation der Eier im Uterus. Bei der *in vitro*-Testung der Verbindungen **247** und **256** konnte zudem die Anisocytose des Ovars nachgewiesen werden. In dieser Substanzgruppe trat eine Vielzahl von Phänotypen auf, sodass eine Wirkung auf verschiedene *Targets* vermutet wird.

Tabelle 47: Übersicht der sechs wirksamen Derivate der Kombinationsserie und deren jeweils niedrigste wirksame Konzentration.



#	R ₁	R ₂	c [μM]
Schl32278 (245)			5
Schl32282 (256)			5
Schl32294 (247)			1
Schl32311 (254)			5
Schl32315 (248)			5
Schl32317 (258)			5

Verbindung **247** stellt die erste Verbindung dar, die auch bei einer Konzentration von 1 μM eine sehr gute antischistosomale Aktivität zeigte und somit um Faktor 5 wirksamer ist als Praziquantel (**1**). Bei dieser Konzentration wurden ein Verlust der inneren Strukturen und eine Anisocytose des Ovars beobachtet. Weitere Phänotypen blieben aus. Bei einer Konzentration

von 100 μM war nur Verbindung **258** nicht toxisch. Die übrigen Derivate wurden anschließend bei einer Konzentration von 50 μM auf ihr zytotoxisches Potential getestet. Dabei waren die Verbindungen **248** und **254** erneut zytotoxisch. Die Verbindungen **245**, **256** und **247** zeigten bei dieser Konzentration kein zytotoxisches Potential.

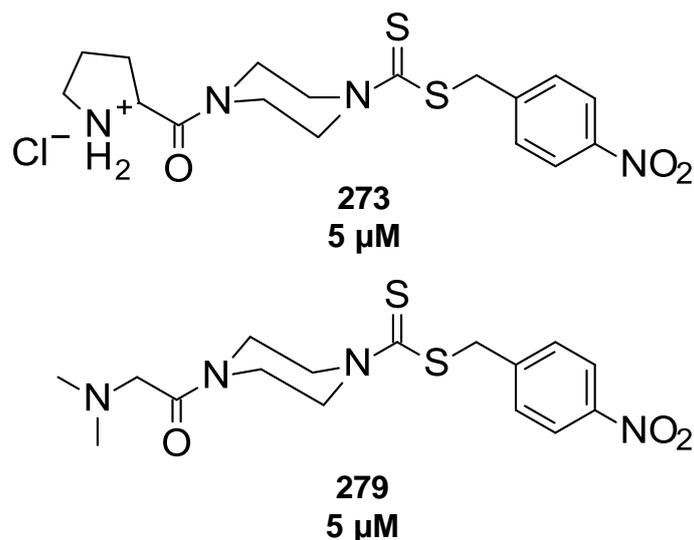


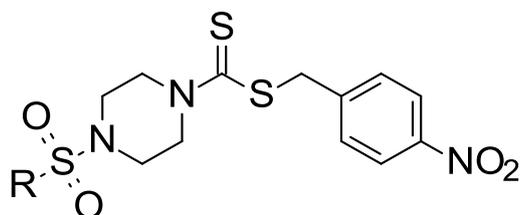
Abbildung 123: Strukturformeln der wirksamsten Verbindungen mit einer ((4-Nitrophenyl)methyl)piperazin-1-dithiocarboxylat-Grundstruktur und deren jeweils niedrigste wirksame Konzentration.

In der Gruppe der Verbindungen mit einer ((4-Nitrophenyl)methyl)piperazin-1-dithiocarboxylat-Grundstruktur waren zwei Verbindungen wirksam, deren antischistosomale Aktivität aufgrund der beobachteten Phänotypen ebenfalls deutlich besser war als die der Referenzverbindungen (**Abbildung 123**). Bei der *in vitro*-Testung beider Derivate wurden deutliche Darmdilataionen sowie der Verlust innerer Strukturen beobachtet. Zudem traten bei der Testung von Verbindung **279** Tegumentschäden auf. Jedoch waren beide Verbindungen bei einer Konzentration von 100 μM zytotoxisch.

In der Gruppe der Sulfonamid-Derivate zeigten ebenfalls sechs Verbindungen eine im Vergleich zu den Referenzverbindungen deutlich verbesserte antischistosomale Aktivität (**Tabelle 48**). Alle Verbindungen zeigten bei einer Konzentration von 5 μM Darmdilataionen und den Verlust innerer Strukturen. Mit Ausnahme des Phenylsulfonamid-Derivats **283** traten zudem Tegumentschäden einschließlich Blasenbildung und Ablösung des Teguments auf. Die Verbindungen **286** und **289** zeigten bereits nach 48 Stunden einen letalen Effekt.

Verbindung **287** wirkte ebenfalls letal auf die Schistosomen, aber erst nach 72 Stunden. Die beiden Alkylsulfonamid-Derivate **286** und **289** zeigten bei einer Konzentration von 1 μM eine vergleichbare antischistosomale Aktivität. Die zuvor beschriebenen Phänotypen zeigten sich mit gleicher Intensität. Der letale Effekt trat aber erst nach 72 Stunden ein. Beide Verbindungen sind somit um Faktor 5 wirksamer als Praziquantel (**1**). Die Verbindungen **286** und **290** zeigten bis zu einer Konzentration von 100 μM in keiner der beiden Zelllinien ein zytotoxisches Potential. Auch in dieser Substanzgruppe trat eine Vielzahl von Phänotypen auf, sodass eine Wirkung auf verschiedene *Targets* vermutet wird.

Tabelle 48: Übersicht der sechs wirksamsten Sulfonamid-Derivate und deren jeweils niedrigste wirksame Konzentration.



#	R	c [μM]	#	R	c [μM]
Schl32329 (286)	-CH ₃	1	Schl32361 (288)		5
Schl32330 (283)		5	Schl32363 (289)		1
Schl32360 (287)		5	Schl32364 (290)		5

Von den 25 Verbindungen, die bei einer Konzentration von 5 μM oder niedriger gut bis sehr gut wirksam waren, zeigte nur ein Derivat aufgrund der beobachteten Effekte eine schwächere antischistosomale Aktivität als die vier Referenzverbindungen. Drei der Dithiocarbamat-Derivate waren vergleichbar wirksam, zeigten aber andere Phänotypen als die Referenzverbindungen. Die übrigen 21 Verbindungen zeigten eine teils deutlich verbesserte antischistosomale Aktivität. Dabei traten ein oder mehrere neue Phänotypen auf, die auf einen im Vergleich zu den Referenzverbindungen anderen Wirkmechanismus schließen lassen. Zudem wirkten viele der Derivate letal auf die Schistosomen. Einen letalen Effekt zeigte

keine der vier Referenzverbindungen bei der jeweils niedrigsten wirksamen Konzentration. Drei der 21 Dithiocarbamat-Derivate waren bis zu einer Konzentration von 1 μM aktiv und zeigten somit eine um Faktor 5 bessere antischistosomale Aktivität als Praziquantel (**1**). Vor allem das Sulfonamid-Derivat **286** zeigte dabei eine sehr gute antischistosomale Aktivität mit multiplen Phänotypen sowie einem letalen Effekt nach 72 Stunden. Zudem zeigte die Verbindung **286** in beiden Zelllinien bei der höchsten gemessenen Konzentration von 100 μM keine zytotoxischen Effekte und weist damit einen Selektivitätsindex ≥ 100 auf.

B.3 Zusammenfassung und Ausblick

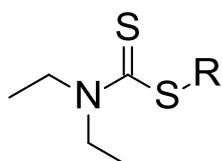
Vernachlässigte Tropenerkrankungen beschreiben eine Gruppe von Infektionskrankheiten, welche weltweit mehr als 1,5 Milliarden Menschen betreffen und für schätzungsweise 550.000 Todesfälle pro Jahr verantwortlich sind, wobei die Dunkelziffer noch deutlich höher liegt.^[1] Ein enormer Teil dieser Erkrankungen wird durch Helminthen ausgelöst. Davon stellt die durch *Schistosoma spp.* ausgelöste Schistosomiasis mit einer geschätzten Prävalenz von 240 Millionen den größten Teil dar. Mit Praziquantel (**1**) und Oxamniquin (**13**), welches nur gegen *S. mansoni* wirksam ist, stehen nur zwei Wirkstoffe zur Bekämpfung der Schistosomiasis zur Verfügung.^[49] Beide Wirkstoffe werden seit Jahrzehnten teils exzessiv eingesetzt, weshalb eine Bildung von Resistenzen vermutlich nur eine Frage der Zeit ist. Eine verminderte Sensitivität der Parasiten gegen die beiden Substanzen und erste Anzeichen für eine Resistenzentwicklung konnten bereits beobachtet werden.^[49] Daher ist es grob fahrlässig, sich bei der Behandlung von Millionen von Menschen nur auf PZQ (**1**) beziehungsweise Oxamniquin (**13**) zu verlassen. Die Entwicklung neuer antischistosomaler Wirkstoffe ist daher dringend notwendig.

Ziel dieser Arbeit war es, basierend auf der Grundstruktur des Disulfiram (**91**) und dessen Metaboliten, die Substanzklasse der Dithiocarbamat-Derivate als antischistosomale Wirkstoffe zu etablieren. Diese sollten idealerweise eine in Bezug auf die Referenzverbindung Praziquantel (**1**) bessere oder vergleichbare antischistosomale Aktivität zeigen. Zudem sollten die Derivate ein geringes zytotoxisches Potential aufweisen. Aufgrund der zahlreichen beobachteten Effekte ist eine Wirkung auf verschiedene *Targets* wahrscheinlich.

Aufgrund der Unkenntnis tolerierter Substituenten wurden zunächst Derivate dargestellt, deren Substituenten am Schwefel des Dithiocarbamats eine breite Diversität abdeckten. Die *N,N*-Diethyl-Struktur wurde dabei vorerst beibehalten. Es konnte gezeigt werden, dass die Einführung eines Benzylsubstituenten einen Anstieg der antischistosomalen Aktivität zur Folge hatte. Darüber hinaus wurde das Auftreten neuer phänotypischer Effekte beobachtet:

Neben der deutlichen Inhibition der Eiproduktion konnte bei hohen Konzentrationen (100 μM) unter anderem eine Entpaarung aller 10 Schistosomenpärchen, eine stark reduzierter Vitalität, eine verlangsamte Darmperistaltik, beginnende Darmdilataionen, eine Akkumulation der Eier im Uterus und tumorähnliche Ausstülpungen beobachtet werden.

Tabelle 49: Übersicht der wirksamsten der insgesamt 73 *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivate.



#	R	#	R
Schl32088** (157)		Schl32175** (177)	
Schl32118* (162)		Schl32178* (178)	
Schl32155* (158)		Schl32189* (179)	
Schl32158** (163)			

* wirksam bis 10 μM ; ** wirksam bis 5 μM

Im Anschluss daran wurde der Benzylrest funktionalisiert, beziehungsweise substituiert, um den Einfluss verschiedener Substituenten am Schwefel des Dithiocarbamats zu untersuchen. Es wurden 73 Derivate mit einer großen Diversität dargestellt und *in vitro* getestet. Dabei wurden sieben Substituenten gefunden, deren Einführung einen deutlichen Anstieg der

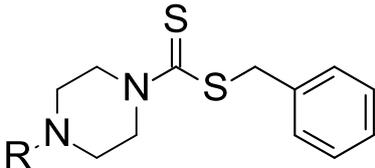
antischistosomalen Aktivität und eine Wirksamkeit bei einer Konzentration von 10 μM zur Folge hatte. Drei der besten sieben Derivate waren zudem bei 5 μM wirksam und waren somit der *in vitro*-Aktivität von Praziquantel (**1**) ebenbürtig. Dabei wurden im Vergleich zu PZQ (**1**) neuartige Phänotypen beobachtet, welche auf einen anderen Wirkmechanismus hindeuten. Die sieben besten Derivate sind in **Tabelle 49** zusammengefasst. Anhand der dargestellten Derivate konnte gezeigt werden, dass der Substituent am Schwefel des Dithiocarbamats einen starken Einfluss auf die antischistosomale Aktivität hat.

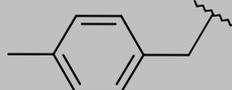
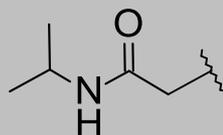
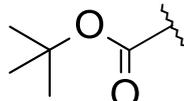
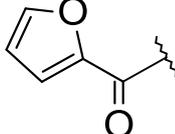
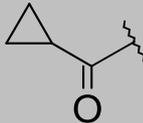
Erste Erkenntnisse zu Struktur-Wirkungs-Beziehungen konnten gewonnen werden: Mit der Einführung eines Benzylsubstituenten steigt die Aktivität sprunghaft an. Der Abstand zwischen dem Schwefelatom und dem aromatischen Rest darf zwischen null und drei Methyleneinheiten betragen. Eine weitere Verlängerung der Kette des *Linkers* geht mit einem Aktivitätsverlust einher. Gleiches gilt für die Einführung rigider Ketten. Somit scheint eine Flexibilität der Kette notwendig zu sein. Die Einführung von elektronenziehenden Substituenten in der 4-Position des Aromaten führte zu den wirksamsten Derivaten der Reihe. Das Cumarin-Derivat zeigte bis zu einer Konzentration von 5 μM eine antischistosomale Aktivität. Das 4-Nitrobenzyl-Derivat zeigte ebenfalls bis zu einer Konzentration von 5 μM eine antischistosomale Aktivität, wobei eine gerichtete Wechselwirkung notwendig zu sein scheint. Ein Austausch des Phenyl-Rings durch einen Cyclohexyl-, Cumarin- oder Indolyl-Ring wurde ebenfalls toleriert. Gleiches gilt für die Einführung des 2-Hydroxy-5-nitrophenyl-Rests. Diese Modifikation lieferte eine Verbindung mit sehr guter Wirksamkeit. Nichtsdestotrotz besteht vor allem aufgrund der Zytotoxizität weiterer Optimierungsbedarf.

Im Anschluss daran wurde der Einfluss des Substituenten am Stickstoff des Dithiocarbamats untersucht. Zur besseren Vergleichbarkeit der antischistosomalen Aktivität waren alle Derivate am Schwefel benzylsubstituiert. Es wurden 45 Derivate dargestellt und *in vitro* getestet. Auch hierbei wurden sieben Substituenten gefunden, deren Einführung einen Anstieg der antischistosomalen Aktivität zur Folge hatte. Dieser war aber weniger stark als bei den sieben wirksamsten Substituenten am Schwefel. Nichtsdestotrotz waren die Derivate bei einer Konzentration von 25 μM wirksam. Zwei der Derivate (Verbindung **207** und **208**) zeigten eine antischistosomale Aktivität bis zu einer Konzentration von 10 μM . Es konnte gezeigt werden, dass durch den Austausch des *N,N*-Diethyl-Rests gegen einen Piperidinyl-Rest eine vergleichbare antischistosomale Aktivität erhalten wurde. Eine Variation der aliphatischen Kettenlänge am Dithiocarbamatstickstoff wurde ebenso untersucht, mit dem Ergebnis, dass

eine Kettenlänge von eins bis drei Methyleneinheiten toleriert wurde. Eine weitere Verlängerung der aliphatischen Kette geht mit einem Aktivitätsverlust einher. Derivatisierungsversuche des Piperidin-Rings durch Einführung verschiedener Substituenten hatten einen vollständigen Verlust der Wirksamkeit zur Folge.

Tabelle 50: Übersicht der wirksamsten der insgesamt 45 Benzylthiocarbamat-Derivate.



#	R	#	R
Schl32174 (199)*		Schl32194 (202)*	
Schl32190 (206)*		Schl32200 (207)**	
Schl32191 (197)*	H · HCl	Schl32209 (208)**	
Schl32192 (200)*			

* wirksam bis 25 µM; ** wirksam bis 10 µM

Durch die Einführung eines Piperazin-Strukturelements kam es zu einem sprunghaften Anstieg der antischistosomalen Aktivität. Nachfolgend wurde der Piperazinstickstoff unter Beibehaltung seiner Basizität substituiert. Während eine *N*-Methylierung einen Wirkverlust zur Folge hatte, konnte mit längerer Kettenlänge (Ethyl- oder Propyl-) eine zum unsubstituierten Piperazin-Derivat vergleichbare Wirksamkeit erzielt werden. Ein Einschub eines Carbonsäureamids in die aliphatische Seitenkette wurde ebenso wie die Einführung eines Benzylsubstituenten am Piperazinstickstoff toleriert. Eine Acylierung des

Piperazinstickstoffs unter Elimination der Basizität führte zu einer gesteigerten Aktivität. Die besten sieben Derivate sind in **Tabelle 50** zusammengefasst.

Mit der Verbindungsklasse der Imidazol-1-carbodithionsäureester konnte eine weitere vielversprechende Substanzklasse etabliert werden. Aufgrund der sehr guten Wirksamkeit sowie dem Auftreten von unter anderem teils massiven Tegumentschäden einschließlich Blasenbildung und Tegumentablösung bis zu einer Konzentration von 10 μM wurde beschlossen, die Verbindungsklasse der Imidazol-1-carbodithionsäureester intensiver zu untersuchen. Die *S*-alkylierten Imidazol-Derivate waren ebenfalls sehr gut wirksam und zeigten auch in niedrigen mikromolaren Konzentrationen letale Effekte. Ab dem Butyl-Derivate nahm Wirksamkeit mit steigender Kettenlänge rapide ab. Die kurzkettigen Derivate (bis Propyl) waren bis zu einer Konzentration von 5 μM wirksam, wobei sich die aufgetretenen Phänotypen deutlich von Praziquantel (**1**) unterschieden. Im Anschluss daran wurde die Variation des Benzylsubstituenten für diese Verbindungsklasse erneut durchgeführt. Nach weiteren 47 Derivaten zeigten sich letztlich die gleichen Ergebnisse wie bei den *N,N*-Diethyldithiocarbamat-Derivaten. Erneut wurde eine Kettenlänge der aliphatischen Kette von null bis drei Methylenheiten toleriert. Eine weitere Verlängerung der aliphatischen Kette ging auch hier mit einem Aktivitätsverlust einher. Für die Funktionalisierung des aromatischen Rings zeigte sich abermals, dass eine Substitution in 4-Position zu Derivaten mit der besten Wirksamkeit führte. Elektronenziehende Substituenten eigneten sich vorrangig zur Funktionalisierung und gingen mit einem Aktivitätsanstieg und einer Wirksamkeit bei niedrigen mikromolaren Konzentrationen einher. Insgesamt konnten sechs Imidazol-Derivate dargestellt werden, die wie Praziquantel (**1**) bis zu einer Konzentration von 5 μM eine sehr gute antischistosomale Aktivität und zudem vielversprechende Phänotypen wie zum Beispiel teils massive Tegumentschäden zeigten. Die wirksamsten Imidazol-Derivate sind in **Abbildung 124** gezeigt.

Fünf der sechs wirksamsten Imidazol-Derivate zeigten bereits bei niedrigen Konzentrationen (25 μM) ein großes zytotoxisches Potential gegenüber der HepG2-Zelllinie. Somit ging mit dem Anstieg der Aktivität auch ein Anstieg der Zytotoxizität einher. Einzig für Verbindung **220** konnte bis zu einer Konzentration von 100 μM weder in der HepG2-, noch in der LS174T-Zelllinie eine Zytotoxizität nachgewiesen werden. Die Verbindungsklasse der Imidazol-1-carbodithionsäureester sollte aufgrund der guten Wirksamkeit und der vielversprechenden Phänotypen weiter untersucht werden, um das toxische Potential der Verbindungen zu reduzieren.

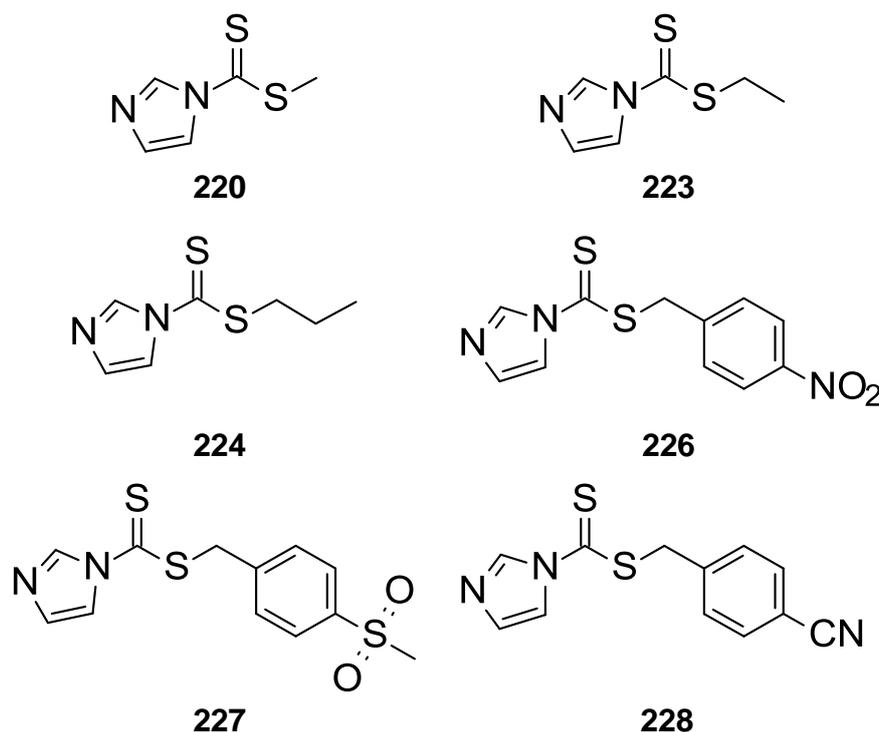


Abbildung 124: Strukturformeln der sechs wirksamsten Imidazol-Derivate.

Im Raum steht die Vermutung einer kovalenten Modifikation des oder der *Targets* durch die Derivate. Ein Austausch der Heteroatome des Dithiocarbamats sollte in diesem Fall einen deutlichen Effekt haben. Es zeigte sich zunächst, dass die Verbindungen, bei denen das Thiolat als Abgangsgruppe fungieren kann, eine sehr viel bessere Wirksamkeit zeigten als die anderen Verbindungen. Ebenso zeigte das Thiourethan-Derivat eine im Vergleich zum Dithiocarbamat-Derivat verringerte Aktivität. Folglich hätte das Dithioester-Derivat aufgrund der sehr viel besseren Carbonylaktivität eine im Vergleich zum Dithiocarbamat erhöhte Aktivität zeigen müssen. Jedoch zeigte sich ein Rückgang der Aktivität, welcher schwer interpretierbar ist. Möglicherweise führte die leicht veränderte räumliche Anordnung nach Elimination des Dithiocarbamat-Stickstoffs zu einer Abschirmung des Nukleophils, sodass die kovalente Modifikation erschwert wurde. Ebenso wäre es möglich, dass es zu keiner kovalenten Modifikation kam und der Wegfall des Dithiocarbamat-Stickstoffs zu einem Affinitätsverlust in einer möglichen Bindetasche führte. Eine kovalente Modifikation der Zielstruktur(en) erscheint momentan eher unwahrscheinlich.

49 kombinatorischen Derivate mit den jeweils sieben wirksamsten Substituenten am Schwefel beziehungsweise am Stickstoff des Dithiocarbamats, die in den verschiedenen Optimierungsserien gefunden wurden, wurden im Anschluss dargestellt und *in vitro* getestet.

Ziel dieser Derivate war es, neben einer gesteigerten antischistosomalen Aktivität Informationen zur Struktur-Wirkungs-Beziehung zu generieren.

Unter den 49 Derivaten der Kombinationsserie finden sich 17 Verbindungen, die bei einer Konzentration von 10 μM eine gute bis sehr gute antischistosomale Aktivität zeigten. Sechs der 17 Verbindungen waren ebenfalls bei einer Konzentration von 5 μM aktiv und damit *in vitro* genauso wirksam wie Praziquantel (**1**). Die sechs Verbindungen sind in **Tabelle 51** dargestellt. Neben der signifikanten Reduktion der Vitalität und Motilität, der Paarungsstabilität sowie der Eiproduktion einschließlich hoher Deformationsraten der verbliebenen Eier konnten vielversprechende Phänotypen beobachtet werden. Dazu gehörten vor allem Darmdilatationen, der Verlust innerer Strukturen und Tegumentschädigungen mit einhergehender Blasenbildung und Ablösung des Teguments. Zudem zeigten alle sechs Derivate einen letalen Effekt nach spätestens 72 Stunden. Mit Verbindung **247** wurde ein Derivat dargestellt, was auch bei einer Konzentration von 1 μM eine sehr gute antischistosomale Aktivität zeigte und somit um den Faktor 5 wirksamer ist als die Referenzverbindung Praziquantel (**1**). Mit Ausnahme des *N*-Ethylpiperazin- und des 4-Cyanbenzyl-Substituenten kommt jeder andere Substituent in mindestens zwei aktiven Verbindungen vor. Aufgrund des Auftretens verschiedenster Phänotypen liegt die Vermutung nahe, dass mehrere *Targets* adressiert werden. Die Diversität der Strukturen der Verbindungen, welche bei einer Konzentration von 10 μM wirksam waren, scheinen diese Hypothese zu bestätigen.

Tabelle 51: Übersicht der sechs wirksamsten Derivate der Kombinationsserie.

#	R ₁	R ₂
Schl32278 (245)*		
Schl32282 (256)*		
Schl32294 (247)**		
Schl32311 (254)*		
Schl32315 (248)*		
Schl32317 (258)*		

* wirksam bis 5 µM; ** wirksam bis 1 µM

In einer abschließenden Optimierungsserie wurde versucht, die antischistosomale Aktivität sowie das zytotoxische Profil der Substanzklasse der Dithiocarbamate weiter zu verbessern. Als Grundstruktur für die folgenden Derivate wurde das ((4-Nitrophenyl)methyl)piperazin-1-

dithiocarboxylat gewählt, welches ausschließlich am Piperazin-Stickstoff funktionalisiert wurde.

Zunächst wurde das Grundgerüst mit verschiedenen Aminosäuren konjugiert, da verschiedene schistosomale Aminosäuretransporter in der Literatur beschrieben sind, welche sich vor allem im Tegument der Schistosomen befinden.^[281-283] Eine verbesserte Wirksamkeit und eine mögliche aktive Aufnahme der Verbindungen durch diese Aminosäuretransporter war das Ziel dieser Modifikationen. Es konnten weitere Derivate mit einer guten antischistosomalen Aktivität dargestellt werden, auch wenn nur das Prolin-Derivat bei einer Konzentration von 5 μM wirksam war. Dabei war auffällig, dass alle wirksamen Verbindungen neben einer deutlichen Inhibition der Eiproduktion starke Darmdilatationen auslösten. Es ist bekannt, dass Schistosomen verschiedene Aminosäuren wie Methionin, Tyrosin, Glycin, Leucin oder Prolin assimilieren.^[282, 284] Diese Aminosäuren werden von den Schistosomen-Männchen vorrangig in die Gastrodermis und die Testes, von den Schistosomen-Weibchen in den Darm, das Ovar und das Vitellarium integriert.^[284] Zudem ist Tyrosin Substrat der Tyrosinase, die eine essentielle Rolle bei der Bildung der Eischale einnimmt.^[285, 286] Weitere Derivate, vorrangig mit einem verbessertem Zytotoxizitätsprofil, sind darzustellen.

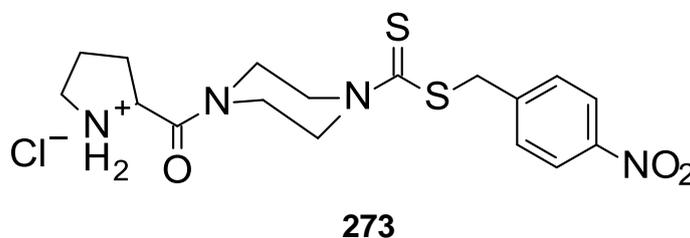


Abbildung 125: Strukturformel des wirksamsten Aminosäure-Derivats.

Anhand verschiedener Derivate dieser Substanzklasse konnte gezeigt werden, dass mit einer Acylierung des Piperazin-Stickstoffs eine gesteigerte antischistosomale Aktivität einhergeht. Im abschließenden Schritt wurde die Carbonsäureamid-Struktur durch eine hydrophilere Sulfonamid-Struktur ersetzt. Dadurch konnten weitere Derivate mit sehr guter antischistosomaler Aktivität und vielversprechenden Phänotypen dargestellt werden. Vor allem die aufgetretenen letalen Effekte bei niedrigen mikromolaren Konzentrationen zeichneten diese Substanzgruppe aus. Zudem zeigen, im Bezug auf die beobachteten Phänotypen (vor allem der Verlust innerer Strukturen, Darmdilatationen und Tegumentschäden), alle aktiven Derivate eine bessere Wirksamkeit als Praziquantel (**1**). Zwei

der Alkylsulfonamid-Derivate waren sogar um den Faktor 5 wirksamer als Praziquantel (**1**). Sowohl Aryl- als auch Alkylsulfonamid-Derivate wurden toleriert, wobei die Alkyl-Derivate eine bessere antischistosomale Aktivität zeigten. Die Wirksamkeit der Alkylsulfonamide nahm mit steigender Kettenlänge ab. Ein Schwefelsäurediamid-Derivat wurde ebenfalls dargestellt, zeige aber eine leicht schwächere Aktivität als die Sulfonamid-Derivate. Ob die Ursache im Schwefelsäurediamid-Strukturelement oder an den Substituenten liegt, kann nicht abschließend gesagt werden, da für eine aussagekräftige Einschätzung weitere Derivate notwendig sind.

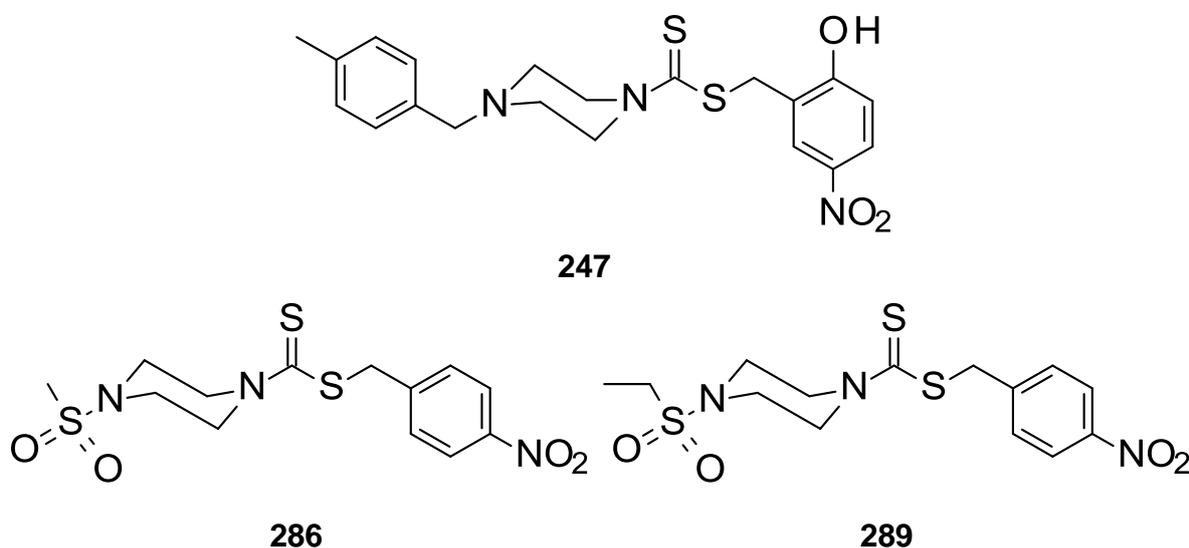


Abbildung 126: Strukturformeln der drei bei einer Konzentration von je 1 μM wirksamen Verbindungen.

Aus den über 300 dargestellten Derivaten gingen 35 Verbindungen hervor, die bei einer Konzentration von 5 μM oder niedriger gut bis sehr gut wirksam waren. Davon zeigte nur ein Derivat aufgrund der beobachteten Effekte eine schwächere antischistosomale Aktivität als die vier Referenzverbindungen Praziquantel (**1**), Amoscanat (**10**), CGP-6140 (**11**) und Phenithionat (**12**). Drei der Derivate waren vergleichbar wirksam, zeigten aber andere Phänotypen als die Referenzverbindungen. Die übrigen 21 Verbindungen zeigten eine teils deutlich verbesserte antischistosomale Aktivität. Dabei traten ein oder mehrere neue Phänotypen auf, die auf einen im Vergleich zu den Referenzverbindungen anderen Wirkmechanismus schließen lassen. Zudem wirkte die Mehrzahl der Derivate letal auf die Schistosomen. Einen letalen Effekt zeigte keine der vier Referenzverbindungen bei der

jeweils niedrigsten wirksamen Konzentration. Drei der 21 Dithiocarbamat-Derivate waren bis zu einer Konzentration von 1 μM aktiv und zeigten somit eine um den Faktor 5 bessere antischistosomale Aktivität (**Abbildung 126**). Einzig das Zytotoxizitätsprofil einiger Verbindungen steht der sehr guten antischistosomalen Aktivität negativ gegenüber.

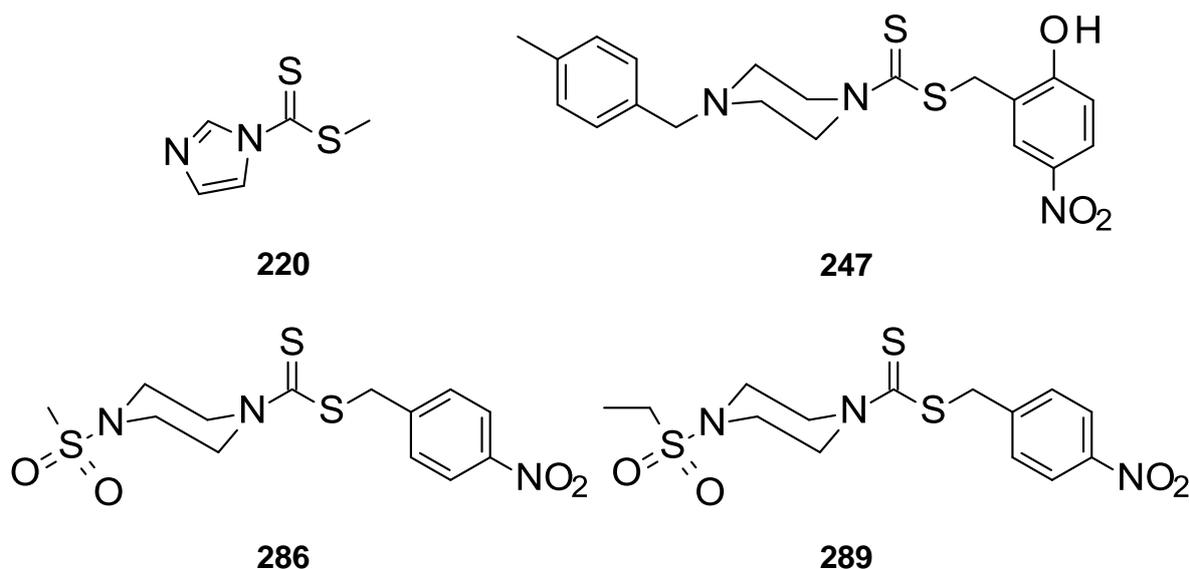
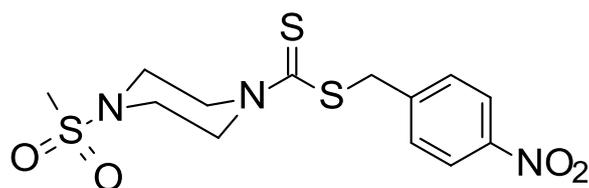


Abbildung 127: Strukturformeln der für eine *in vivo*-Testung vorrangig infrage kommenden Verbindungen.

Nach der Definition des *Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases* (TDR) stellen vier Derivate *Hit*-Strukturen dar, da sie in der Lage waren, eine 100%ige Inhibition der Motilität von adulten *S. mansoni*-Würmern bei einer Konzentration von 5 $\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ hervorzurufen (**Abbildung 127**).^[250] In den Zytotoxizitätsmessungen wurden sehr gute Ergebnisse erhalten, wobei die Verbindungen **220** und **286** bis zu einer Konzentration von 100 μM in keiner der getesteten Zelllinien ein zytotoxisches Potential zeigten. Die beiden Verbindungen **247** und **289** zeigen bei einer Konzentration von 50 μM kein zytotoxisches Potential. Aufgrund der sehr guten antischistosomalen Aktivität, dem geringen zytotoxischen Potential und einem in Bezug auf Praziquantel (**1**) vermutlich anderen Wirkmechanismus empfehlen sich diese vier Derivate vorrangig für eine *in vivo*-Testung.



286

Abbildung 128: Strukturformel der besten Verbindung (286, Schl32329) dieser Arbeit.

Am Ende dieser Arbeit stellt somit Verbindung **286** (**Abbildung 128**) das beste Derivat dieser Verbindungsklasse dar. Das Derivat zeigte bis zu einer Konzentration von 1 μM eine sehr gute antischistosomale Aktivität mit multiplen Phänotypen sowie einem letalen Effekt nach 72 Stunden. Zudem zeigte die Verbindung **286** in beiden Zelllinien bei der höchsten gemessenen Konzentration von 100 μM keine zytotoxischen Effekte und weist damit einen Selektivitätsindex ≥ 100 auf.

Nachdem das antischistosomale Potential der Substanzklasse der Dithiocarbamat-Derivate mit dieser Arbeit belegt werden konnte, wäre eine Vertiefung der bisher erhaltenen Erkenntnisse wünschenswert. Vor allem eine Aufklärung des Wirkmechanismus, idealerweise auch eine Kristallstruktur des oder der *Target(s)* wäre wünschenswert, um gezielte Modifikationen aufgrund der Kenntnis der Bindetasche vornehmen zu können. Jedoch ist davon auszugehen, dass die beobachtete Wirkung auf die Schistosomen durch eine Überlagerung verschiedener Effekte (Aufnahme in die Schistosomen, Verteilung in den Schistosomen, Bindung an verschiedene Zielstrukturen) zustande kommt. Eine Optimierung auf eine Zielstruktur muss daher nicht zwangsläufig zu (gegen den Gesamtorganismus) wirksameren Wirkstoffen führen. Zudem ist die Aufklärung des oder der molekularen *Target(s)* keineswegs trivial. Daher gilt weiterhin der Grundsatz „Nur ein toter Wurm ist ein guter Wurm“.

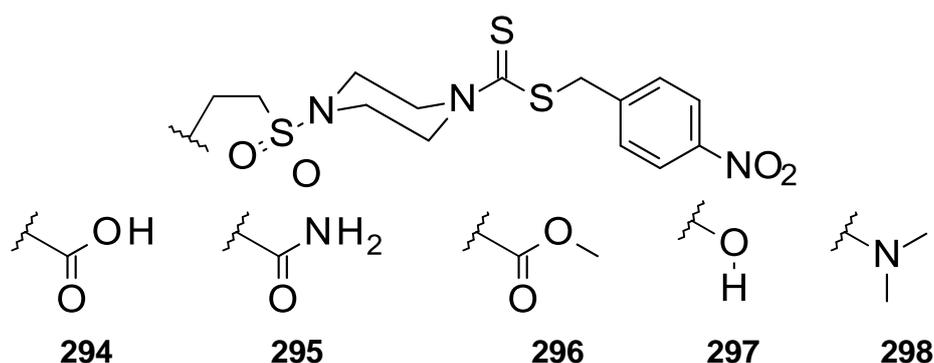


Abbildung 129: Mögliche weitere Optimierungsschritte der Alkylsulfonamid-Derivate.

Ausgehend von den bisher gewonnenen Erkenntnissen wäre vor allem die Darstellung weiterer Sulfonamid-Derivate interessant. Zum Einen wäre die Einführung von Alkylresten mit einem hydrophilen Substituenten in der Seitenkette ein Ansatzpunkt zur möglichen Verbesserung der antischistosomalen Aktivität. Möglich wäre die Einführung einer Carbonsäure oder deren Derivate. Zudem ist die Einführung einer Hydroxygruppe oder eines basischen Stickstoffs in der Seitenkette eine weitere Option (vgl. **Abbildung 130**). Zum Anderen sollte der 4-Nitrobenzyl-Substituent gegen die Substituenten ausgetauscht werden, die sich in der ersten Optimierungsserie als sehr gut wirksam erwiesen haben. Vor Allem ein Austausch gegen den Methylsulfonylbenzyl-, den 2-Hydroxy-5-nitrobenzyl- und den Cumarin-Rest erscheinen aufgrund der erhaltenen Ergebnisse sinnvoll.

Aufgrund der guten antischistosomalen Aktivität des Phenylsulfonamid-Derivats wäre zudem der Einfluss verschiedener Substituenten des Phenyl-Rings auf die Wirksamkeit interessant. Hier sollten umfassende Untersuchungen durchgeführt werden, vor allem im Hinblick auf die Elektronendichte des Rings sowie die Eigenschaften der gewählten Substituenten. Zudem bietet sich der Austausch des Phenyl-Rings gegen andere aromatische oder aliphatische Ringsysteme wie zum Beispiel Cyclohexyl oder diverse Heterozyklen an.

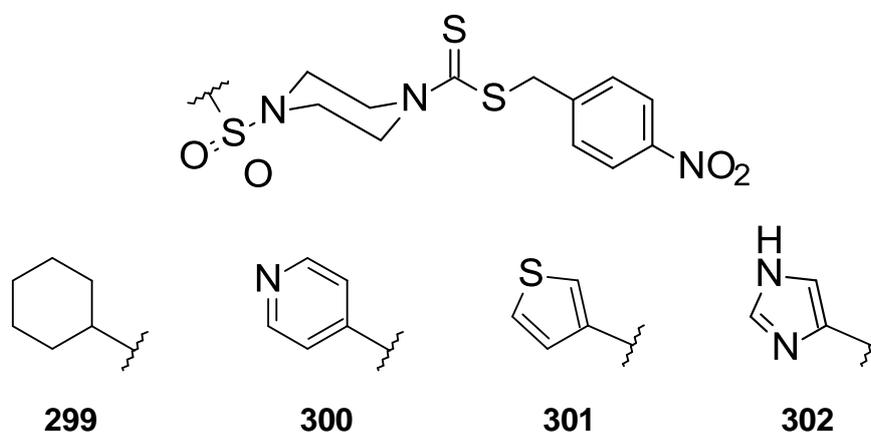


Abbildung 130: Mögliche weitere Sulfonamid-Derivate.

Desweiteren ist die Synthese weiterer Schwefelsäurediamid-Derivate wichtig, da bisher nur eine Verbindung mit diesem Strukturelement dargestellt wurde. Da dieses Derivat gut, aber im Vergleich zu den Sulfonamid-Derivaten schwächer wirksam war, könnte durch die Einführung geeigneter Substituenten die antischistosomale Aktivität weiter gesteigert werden.

Ein weiterer Ansatzpunkt wäre der Austausch der Dithiocarbamat-Grundstruktur gegen eine Dithiocarbazat-Grundstruktur (**Abbildung 131**). Aufgrund der unterschiedlichen Grundstruktur müssen die Struktur-Wirkungs-Beziehungen wohl erneut von Anfang an erarbeitet werden.

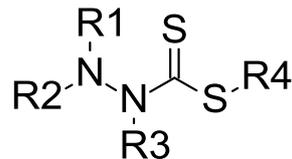


Abbildung 131: Grundstruktur möglicher Dithiocarbazat-Derivate.

Die Verbindungsklasse der Dithiocarbamate kann also noch umfassend modifiziert werden, um weitere potentielle Wirkstoff-Kandidaten für die Bekämpfung der Schistosomiasis bereit zu stellen.

Literaturverzeichnis

- [1] Hotez, P.J., Pecoul, B., Rijal, S., *et al.*, *PLoS Negl. Trop. Dis.*, **2016**, *10* (3), e0003895.
- [2] Burrows, J.A., Elliott, R.L., Kaneko, T., Mowbray, C.E., Watersona, D., *Med. Chem. Commun.*, **2014**, *5*, 688–700.
- [3] Weltgesundheitsorganisation, Neglected Tropical Diseases, http://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/, abgerufen am 07.01.2016, 14:38 Uhr.
- [4] Weltgesundheitsorganisation, World Malaria Report 2015, WHO Press, Genf, Schweiz, **2015**.
- [5] Weltgesundheitsorganisation, Global Tuberculosis Report 2015, WHO Press, Genf, Schweiz, **2015**.
- [6] Webster, J.P., Gower, C.M., Knowles, S.C., *et al.*, *Evol. Appl.*, **2016**, *9* (2), 313-333.
- [7] Lozano, R. *et al.*, *Lancet*, **2012**, *380*, 2095.
- [8] Conteh, L., Engels, T., Molyneux, D. H., *Lancet*, **2010**, *375*, 239.
- [9] Hotez, P.J., Fenwick, A., Savioli, L., Molyneux, D.H., *Lancet*, **2009**, *373*, 1570.
- [10] Utzinger, J., de Savigny, D., *PLoS Med.*, **2006**, *3* (5): e112.
- [11] Fincham, J.E., Markus, M.B., Adams, V.J., *Acta Trop.* **2003**, *86* (2-3), 315-333.
- [12] Druilhe, P., Tall, A., Sokhna, C., *Trends Parasitol.*, **2005**, *21* (8), 359-362.
- [13] Hotez, P.J., Molyneux, D.H., Fenwick, A. *et al.*, *PLoS Med.*, **2006**, *3* (5), e102.
- [14] Renslo, A.R., McKerrow, J.H., *Nature Chem. Biol.*, **2006**, *2* (12), 701-710.
- [15] Nature Medicine Blog, MSF/ DNDi unpublished data, <http://blogs.nature.com/spoonful/2012/12/neglected-diseases-see-few-new-drugs-despite-upped-investment.html>, abgerufen am 23.03.2014, 16:11 Uhr.
- [16] Reddy, M., Gill, S., Kalkar, S.R., Wu, W., Anderson, P.J., Rochon, P.A., *JAMA*, **2007**, *298* (16), 1911-1924.
- [17] Chirac, P., Torreele, E., *Lancet.*, **2006**, *367* (9522), 1560-1561.

- [18] Weltgesundheitsorganisation, Working to Overcome the Global Impact of Neglected Tropical Diseases: First WHO Report on Neglected Tropical Diseases, WHO Press, Genf, Schweiz **2010**.
- [19] Trouiller, P., Olliaro, P., Torreele, E., Orbinski, J., Laing, R., Ford, N., *Lancet*, **2002**, 359, 2188.
- [20] Trouiller, P., Torreele, E., Olliaro, P., White, N., Foster, S., Wirth, D., Pécou, B., *Trop. Med. Int. Health*, **2001**, 6 (11), 945–951.
- [21] Pécou, B., Chirac, P., Trouiller, P., Pinel, J., *JAMA*, **1999**, 281 (4), 361-367.
- [22] Rochon, P.A., Mashari, A., Cohen, A. et al., *CMAJ*, **2004**, 170 (11), 1673-1677.
- [23] Pedrique, B., Strub-Wourgaft, N., Some, C., Olliaro, P., Trouiller, P., Ford, N., Pécou, B., Bradol, J.-H., *Lancet Global Health*, **2013**, 1, e371.
- [24] Steinmann, P., Keiser, J., Ros, R., Tanner, M., Utzinger, J., *Lancet Infect. Dis.*, **2006**, 6, 411-425.
- [25] Amazigo, U. et al., *Disease and Mortality in Sub-Saharan Africa*, 2. Auflage, **2006**: World Bank, 215-222.
- [26] Frost, L.J., Reich, M.R., *Access: How Do Good Technologies Get to Poor People in Poor Countries?* **2008**: Harvard University Press, 39-66.
- [27] Weltgesundheitsorganisation, Onchocerciasis control in the WHO African region: current situation and way forward. Report of the regional director, Regional Committee for Africa, **2007**, http://www.afro.who.int/rc57/documents/AFR-RC57-5_Onchocerciasis_control_in_the_WHO_Region_final.pdf, abgerufen am 08.01.2016, 22:16 Uhr.
- [28] Weltgesundheitsorganisation, *Wkly. Epidemiol. Rec.* **2008**, 83, 333-341.
- [29] International Trachoma Initiative. 2007: Success in Sight, **2007**, <http://www.trachoma.org/pdf/AR2007.pdf>, abgerufen am 08.01.2016, 22:39 Uhr.
- [30] London declaration on neglected tropical diseases; http://www.unitingtocombatntds.org/downloads/press/london_declaration_on_ntds.pdf abgerufen am 09.01.2016, 15:28 Uhr.
- [31] G7 Leadership on Neglected Tropical Diseases, http://unitingtocombatntds.org/sites/default/files/55_G7.pdf, abgerufen am 09.01.2016, 15:33 Uhr.
- [32] Chitsulo, L., Engels, D., Montresor, A., Savioli, L., *Acta Trop.*, **2000**, 77, 41-51.
- [33] Fenwick, A., Rollinson, D., Southgate, V., *Adv. Parasitol.*, **2006**, 61, 567-622.
- [34] Gryseels, B., Polman, K., Clerinx, J., Kestens, L., *Lancet*, **2006**, 368, 1106-1118.

- [35] Brooker, S., *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **2007**, *101*, 1-8.
- [36] Rollinson, D., Knopp, S., Levitz, S., et al., *Acta Trop.*, **2013**, *128* (2), 423-440.
- [37] Schistosomiasis Risk Map 2014, World Health Organisation, http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Global_ShistoPrevalence_ITHRiskMap.png?ua=1, abgerufen am 12.01.2016, 17:40 Uhr.
- [38] Ferrari, M.L.A., Coelho, P.M.Z., Antunes, C.M.F., Tavares, C.A.P., da Cunha, A.S., *Bull. W. H. O.*, **2003**, *81*, 190-196.
- [39] King, C.H., Dickman, K., Tish, D.J., *Lancet*, **2005**, *365*, 1561-1569.
- [40] Deganello, R., Cruciani, M., Beltramello, C., Duncan, O., Oyugi, V., Montresor, A., *Emerging Infect. Dis.*, **2007**, *13*, 1504-1506.
- [41] Zhou, X.-N., Wang, L.-Y., Chen, M.-G., Wang, T.-P., et al., *Acta Trop.*, **2005**, *96*, 97-105.
- [42] Liang, S., Yang, C., Zhong, B., Qiu, D., *Bull. W. H. O.*, **2006**, *84*, 139-144.
- [43] Bericht Nr. 44466 der Weltbank, 25. Juni 2008. http://ieg.worldbank.org/Data/reports/egypt_schistosomiasis_ppar.pdf, abgerufen am 12.01.2016, 16:55 Uhr.
- [44] Patz, J.A., Graczyk, T.K., Geller, N., Vittor, A.Y., *Int. J. Parasitol.*, **2000**, *30*, 1395-1405.
- [45] Pointier, J.-P., DeJong, R.J., Tchuente, L.A.T., Kristensen, T.K., Loker, E.S., *Acta Trop.*, **2005**, *93*, 191-199.
- [46] Berry, A., Fillaux, J., Martin-Blondel, G., et al., *Euro Surveill.*, **2016**, *21* (1), 1560-1579.
- [47] Elbaz, T., Esmat, G., *JARE*, **2013**, *4*, 445-452.
- [48] Bilharz, T.M., *Zeitschrift für Wissenschaftliche Zoologie*, **1853**, *4*, 72-76.
- [49] Robert, A., Meunier, B., et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, *52*, 7936-7956.
- [51] Stirewalt, M.A., Hackey, J.R., *J. Parasitol.*, **1956**, *42*, 565-580.
- [52] Stirewalt, M.A., Kruidenier, F.J., *Exp. Parasitol.*, **1961**, *11*, 191-211.
- [53] Gobert, G.N., Chai, M., McManus, D.P., *Parasitology*, **2007**, *134*, 453-460.
- [54] Grevelding, C.G., *Curr. Biol.*, **2004**, *14* (14), R545.
- [55] Quack, T., Beckmann, S., Grevelding, C.G., *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.*, **2006**, *119* (9-10), 365-372.
- [56] Southgate, V.R., Jourdane, J., Tchuente, L.A., *Int. J. Parasitol.*, **1998**, *28* (8), 1159-1172.
- [57] Boros, D.L., *Clin. Microbiol. Rev.*, **1989**, *2*, 250-269.

- [58] Centers for Disease Control and Prevention, Parasites - Schistosomiasis, <http://www.cdc.gov/parasites/schistosomiasis/biology.html>, abgerufen am 13.01.2016, 17:56 Uhr.
- [59] Carod-Artal, F.J., *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **2008**, *102*, 107-116.
- [60] Jauréguiberry, S., Ansart, S., Perez, L., et al., *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **2007**, *76*, 964-966.
- [61] Jiang, Y.-G., Zhang, M.-M., Xiang, J., *Surg. Neurol.*, **2008**, *69*, 392-397.
- [62] Wu, Y.P., Lenting, P.J., Tielens, A.G.M., De Groot, P.G., van Hellemond, J.J., Thromb, J., *Haemostasis*, **2007**, *5*, 2146-2165.
- [63] Diniz, L.M., Zandonade, E., Dietze, R., Pereira, F.E.L., Ribeiro-Rodrigues, R., *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **2001**, *65*, 852-854.
- [64] Elias, D., Wolday, D., Akuffo, H., Petros, B., Bronner, U., Britton, S., *Clin. Exp. Immunol.*, **2001**, *123*, 219-225.
- [65] Lawrence, J.D., *J. Parasitol.*, **1973**, *59*, 60-63.
- [66] Timms, A.R., Bueding, E., *Br. J. Pharmacol.*, **1959**, *14*, 68-73.
- [67] Goldberg, D.E., Slater, A.F.G., Beavis, R., Chait, B., Cerami, A., Henderson, G.B., *J. Exp. Med.*, **1991**, *173*, 961-969.
- [68] Kloetze, K., Lewert, R.M., *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **1966**, *15*, 28-31.
- [69] Rogers, W.P., *J. Helminthol.*, **1940**, *18*, 53-62.
- [70] Frohberg, H., Schencking, M.S., *Arzneim.-Forsch.*, **1981**, *31*, 555-565.
- [71] Frohberg, H., *Arzneim.-Forsch.*, **1984**, *34*, 1137-1144.
- [72] <http://www.merckgroup.com/en/media/extNewsDetail.html?newsId=B963EBE2398C3878C1257BD3004F35C3&newsType=1>, abgerufen am 15.01.2016, 14:39 Uhr.
- [73] Andrews, P., *Pharmacol. Therapeut.*, **1985**, *29*, 129-156.
- [74] Doenhoff, M.J., Cioli, D., Utzinger, J., *Curr. Opin. Infect. Dis.*, **2008**, *21*, 659-667.
- [75] Cioli, D., Pica-Mattoccia, L., Archer, S., *Pharmacol. Ther.*, **1995**, *68*, 35-85.
- [76] <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/55268-74-1>, abgerufen am 14.01.2016, 14:34 Uhr
- [77] Wu, M.-H., et al., *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **1991**, *45*, 345-349.
- [78] Andrews, P., Thomas, H., Pohlke, R., Seubert, J., *Med. Res. Rev.*, **1983**, *3*, 147-200.
- [79] Liu, Y.H., Qian, M.X., Wang, X.G., et al., *Chin. Med. J.*, **1986**, *99*, 935-940.
- [80] Xiao, S.H., Catto, B.A., *J. Infect. Dis.*, **1989**, *159*, 589-592.
- [81] Wu, M.H., Wei, C.C., Xu, Z.Y., et al., *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **1991**, *45*, 345-349.

- [82] Castro, N., Medina, R., Sotelo, J., Jung, H., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2000**, *44*, 2903-2904.
- [83] Westhoff, F., Blaschke, G., *J. Chromatogr. Biomed. Appl.*, **1992**, *578*, 265-271.
- [84] Steiner, K., Garbe, A., Diekmann, H.W., Novak, H., *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.*, **1976**, *1*, 85-95.
- [85] Polderman, A.M., Gryseels, B., Gerold, J.L., Mpamila, K., Manshande, J.P., *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **1984**, *78*, 752-754.
- [86] Watt, G., Baldovino, P.C., Castro, J.T., Fernando, M.T., Ranoa, C.P., *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **1986**, *80*, 345-346.
- [87] Leopold, G., et al., *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **1978**, *14*, 281-291.
- [88] Allen, H.E., Crompton, D.W., de Silva, N., et al., *Trends Parasitol.*, **2002**, *18*, 381-382.
- [89] Stothard, J.R., Gabrielli, A.F., *Trends Parasitol.*, **2007**, *23*, 83-86.
- [90] Johansen, M.V., Sacko, M., Vennervald, B.J., Kabatereine, N.B., *Trends Parasitol.*, **2007**, *23*, 568-569.
- [91] Pica-Mattoccia, L., Cioli, D., *Int. J. Parasitol.*, **2004**, *34*, 527-533.
- [92] Giinnert, R., Andrews, P., *Z. Parasitenk.*, **1977**, *52*, 129-150.
- [93] Xiao, S.H., Catto, B.A., Webster, L.T., *J. Infect. Dis.*, **1985**, *151*, 1130-1137.
- [94] Day, T.A., Bennett, J.L., Pax, R.A., *Parasitol. Today*, **1992**, *8*, 342-344.
- [95] Pax, R., Bennett, J.L., Fetterer, R., *Naunyn Schiedberg's Arch. Pharmacol.*, **1978**, *304*, 309-315.
- [96] Portela, J., Boissier, J., Gourbal, B., et al., *PLoS Neglected Trop. Dis.*, **2012**, *6* (2), e1474.
- [97] Redman, C.A., Robertson, A., Fallon, P.G., et al., *Parasitol. Today*, **1996**, *12*, 14-20.
- [98] Harnett, W., Kusel, J.R., *Parasitology*, **1986**, *93*, 401-405.
- [99] Hamett, W., Kusel, J.R., *Parasitology*, **1986**, *93*, 401-405.
- [100] Sabah, A.A., Fletcher, C., Webbe, G., Doenhoff, M.J., *Exp. Parasitol.*, **1985**, *60*, 348-354.
- [101] Chan, J.D., Zarowiecki, M., Marchant, J.S., *Parasitol. Int.*, **2013**, *62*, 619-628.
- [102] Greenberg, R.M., *Int. J. Parasitol.*, 2005, *35*, 1-9.
- [103] Kohn, A.B., Anderson, P.A.V., Roberts-Misterly, J.M., Greenberg, R.M., *J. Biol. Chem.*, **2001**, *276*, 36873-36876.
- [104] Jeziorski, M.C., Greenberg, R.M., *Int. J. Parasitol.*, **2006**, *36*, 625-632.
- [105] Greenberg, R.M., *Parasitology*, **2005**, *131*, 97-108.

- [106] Matsumoto, Y., Perry, G., Levine, R.J.C., Blanton, R., et al., *Nature*, **1988**, 333, 76-78.
- [107] Mehlhorn, H., Becker, B., Andrews, P., Thomas, H., Frenkel, J.K., *Arzneimittelforschung*, **1981**, 31, 544-554.
- [108] Shaw, M.K., Erasmus, D.A., *Z. Parasitenk.*, **1983**, 69, 73-90.
- [109] Shaw, M.K., Erasmus, D.A., *Parasitology*, **1987**, 94, 243-254.
- [110] Gnanasekar, M., Salunkhe, A.M., Mallia, A.K., et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2009**, 53, 1054-1060.
- [111] Noël, F., Cunha, V.M.N., Silva, C.L.M., *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **2001**, 96, 85-88.
- [112] Thompson, D.P., Chen, G.Z., Sample, A.K., et al., *Am. J. Physiol.*, **1986**, 251, 1051-1058.
- [113] Taft, A.S., Yoshino, T.P., *J. Parasitol.*, **2011**, 97, 72-81.
- [114] Khalife, J., Liu, J.L., Pierce, R., et al., *Parasitology*, **1994**, 108, 527-532.
- [115] Harder, A., Abbink, J., Andrews, P., Thomas, H., *Parasitol. Res.*, **1987**, 73, 442-445.
- [116] Harder, A., Andrews, P., Thomas, H., *Parasitol. Res.*, **1987**, 73, 245-249.
- [117] Angelucci, F., Basso, A., Bellelli, A., et al., *Parasitology*, **2007**, 134, 1215-1221.
- [118] Fallon, P.G., Doenhoff, M.J., *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **1994**, 51, 83-88.
- [119] Wang, W., Wang, L., Liang, Y.-S., *Parasitol. Res.*, **2012**, 111, 1871-1877.
- [120] Cioli, D., Pica-Mattoccia, L., Archer, S., *Parasitol. Today*, **1993**, 9, 162-166.
- [121] Tchuente, L.-A.T., Shaw, D.J., Polla, L., Cioli, D., Vercruyse, *J. Am. J. Trop. Hyg.*, **2004**, 71, 778.
- [122] Cioli, D., *Curr. Opin. Infect. Dis.*, **2000**, 13, 659.
- [123] Murray-Smith, S.Q., Scott, B.J., Barton, D.P., Wienstein, P.A., *Med. J. Aust.*, **1996**, 165, 458.
- [124] Utzinger, J., N'goran, E.K., Caffrey, C.R., Keiser, J., *Acta Trop.*, **2011**, 120, 121.
- [125] Ismail, M., Metwally, A., Farghaly, A., Bruca, J., et al., *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **1996**, 55, 214-218.
- [126] Van Lieshout, L., Stelma, F.F., Guisse, F., et al., *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **1999**, 61, 760-765.
- [127] Katz, N., Rocha, R.S., De Souza, C.P., et al., *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **1991**, 44, 509-512.
- [128] Stelma, F.F., Talla, I., Polman, K.B., et al., *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **1995**, 53, 167-170.
- [129] Pica-Mattoccia, L., Cioli, D., *Int. J. Parasitol.*, **2004**, 34 (4), 527-533.
- [130] Gryseels, B., Stelma, F.F., Guissé, F. et al., *Trop. Med. Int. Health*, **2001**, 6, 864-873.

- [131] Kasinathan, R.S., Morgan, W.M., Greenberg, R.M., *Mol. Biochem. Parasitol.*, **2010**, *173*, 25-31.
- [132] Bueding, E., Mansour, J.M., *Br. J. Pharmacol. Chemother.*, **1957**, *12*, 159-165.
- [133] Woolhouse, N.M., *Biochem. Pharmacol.*, **1979**, *28*, 2413-2418.
- [134] Mansour, T.E., Bueding, E., *Br. J. Pharmacol. Chemother.*, **1954**, *9*, 459-462.
- [135] Christopherson, J.B., Cantab, M.D., *Lancet*, **1918**, *192* (**4958**), 325-327.
- [136] Miller, M.J., Lyon, H.P., *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **1955**, *4*, 1049-1056.
- [137] Malaret, G.E. *JAMA*, **1964**, *188*, 761-761.
- [138] Ribeiro-dos-Santos, G., Verjovski-Almeida, S., Leite, L.C.C., *Parasitol. Res.*, **2006**, *99*, 505-521.
- [139] Campbell, W.C., Cuckler, A.C., *J. Parasitol.*, **1966**, *52*, 827-828.
- [140] Werbel, L.M., Thompson, P.E., *J. Med. Chem.*, **1967**, *10*, 32-36.
- [141] Nordgren, I., Bergström, M., Holmstedt, B., Sandoz, M., *Arch. Toxicol.*, **1978**, *41*, 31-41.
- [142] Denham, D.A., Holdsworth, R.J., *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **1971**, *65*, 696-699.
- [143] Bloom, A., *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **1981**, *49*, 109-113.
- [144] Doehring, E., Feldmeier, H., et al., *J. Infect. Dis.*, **1984**, *149*, 615-620.
- [145] Utzinger, J., Keiser, J., *Expert Opin. Pharmacother.*, **2004**, *5*, 263-285.
- [146] Coles, G.C., Bruce, J.I., *Int. J. Parasitol.*, **1987**, *17*, 767-771.
- [147] King, C.H., Muchiri, E.M., Ouma, J.H., *Emerging Infect. Dis.*, **2000**, *6*, 585-594.
- [148] Striebel, H.P., *Experientia*, **1976**, *32*, 457-458.
- [149] Walter, R.D., Albiez, E., *Mol. Biochem. Parasit.*, **1985**, *16*, 109-115.
- [150] Tischendorf, F.W., Brattig, N.W., Hoyer, A., et al., *Acta Trop.*, **1993**, *53*, 27-37.
- [151] Voge, M., Bueding, E., *Exp. Parasitol.*, **1980**, *50*, 251-259.
- [152] Leitch, B., Probert, J., *Exp. Parasitol.*, **1984**, *58*, 278-289.
- [153] Köhler, P., Davies, K.P., Zahner, H., *Acta Trop.*, **1992**, *51*, 195-211.
- [154] Liu, Y.-H., Wang, Q.-N., et al., *Chin. Med. J.*, **1983**, *96* (**4**), 269-274.
- [155] Batzinger, R.P., Bueding, E., Popper, H., *Hepatology*, **1981**, *1*, 21-27.
- [156] 19th WHO Model List of Essential Medicines, http://www.who.int/selection_medicines/committees/expert/20/EML_2015_FINAL_amended_AUG2015.pdf?ua=1, abgerufen am 22.01.2016, 15:24 Uhr.
- [157] Pica-Mattoccia, L., Cioli D., *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **1985**, *34*, 112-118.
- [158] Hillman, G.R., Senft, A.W., *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **1975**, *24*, 827-834.
- [159] Pica-Mattoccia, L., Cioli, D., *Mol. Biochem. Parasitol.*, **1983**, *8*, 99-107.

- [160] Pica-Mattoccia, L., Cioli, D., Archer, S., *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **1989**, *83*, 373-376.
- [161] Berriman, M., *Nature*, **2009**, *460*, 352-358.
- [162] Schistosoma japonicum Genome Sequencing and Functional Analysis Consortium, *Nature*, **2009**, *460*, 345-351.
- [163] Young, N.D., et al., *Nat. Genet.*, **2012**, *44*, 221-225.
- [164] Kuntz, A.N., Davioud-Charvet, E., Sayed, A.A., et al., *PLoS Med.*, **2007**, *4*, e206.
- [165] Sayed, A.A., Simeonov, A., Thomas, C.J., Inglese, J., Austin, C.P., Williams, D.L., *Nat. Med.*, **2008**, *14*, 407-412.
- [166] Rai, G., Sayed, A.A., Thomas, C.J., et al., *J. Med. Chem.*, **2009**, *52*, 6474-6483.
- [167] Lee, E.F., Young, N.D., et al., *Trends Parasitol.*, **2014**, *30* (2), 75-84.
- [168] Stolfa, D.A., et al., Jung, M., *J. Mol. Biol.*, **2014**, *426*, 3442-3453.
- [169] Marek, T., Romier, C., et al., *PLoS Pathog.*, **2013**, *9* (9), e1003645.
- [170] Abdulla, M.-H., Caffrey, C., et al., *PLoS Med.*, **2007**, *4* (1), e14.
- [171] Kerr, I.D., Brinen, L.S., et al., *J. Biol. Chem.*, **2009**, *284* (38), 25679-25703.
- [172] You, J.-Q., Mei, J.-Y., Xiao, S.-H., *Acta Pharmacol. Sin.*, **1992**, *13*, 280-284 (Artikel in Chinesisch, Abstract in Englisch).
- [173] Xiao, S.H., Catto, B.A., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1989**, *33*, 1557-1562.
- [174] Pappas, P.W., *Exp. Parasitol.*, **1975**, *37*, 469-530.
- [175] Xiao, S., Utzinger, J., Chollet, J., Endriss, Y., N'Goran, E.K., Tanner, M., *Int. J. Parasitol.*, **2000**, *30*, 1001-1006.
- [176] Utzinger, J., Chollet, J., Tu, Z., Xiao, S.-H., Tanner, M., *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **2002**, *96*, 318-323.
- [177] Li, Y.-S., McManus, D.P., et al., *Acta Trop.*, **2005**, *96*, 184-190.
- [178] Utzinger, J., Tanner, M., et al., *Lancet*, **2000**, *355*, 1320-1325.
- [179] De Clercq, D., Vercruyse, J., Diop, M., et al., *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **2000**, *94*, 90-91.
- [180] Boulanger, D., Dieng, Y., Simondon, F., *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **2007**, *101*, 113-116.
- [181] Keiser, J., N'Guessan, N.A., N'Goran, E.K., et al., *Clin. Infect. Dis.*, **2010**, *50*, 1205-1213.
- [182] Adam, I., Elhardello, O.A., Jansen, F.H., et al., *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, **2008**, *102*, 39-44.
- [183] Borrmann, S., Szlezk, N., Kreamsner, P.G., et al., *J. Infect. Dis.*, **2001**, *184*, 1363-1366.

- [184] Obonyo, C.O., Muok, E.M.O., Mwinzi, P.N.M., *Lancet Infect. Dis.*, **2010**, *10*, 603-611.
- [185] Utzinger, J., Tanner, M., Keiser, J., *Lancet Infect. Dis.*, **2010**, *10*, 579-580.
- [186] Hua, H.-Y., Liang, Y.-S., Zhang, Y., et al., *Parasitol. Res.*, **2010**, *107*, 873-878.
- [187] Liu, R., Dong, H.-F., Jiang, M.-S., *Parasitol. Res.*, **2012**, *110*, 1563-1564.
- [188] Seeberger, P.H., et al., *Angew. Chem.*, **2012**, *124*, 1738-1741.
- [189] Vippagunta, S.R., Dorn, A., Vennerstrom, J.L., et al., *J. Med. Chem.*, **1999**, *42*, 4630-4639.
- [190] el-Lakkany, N.M., el-Din, S.H.S., et al., *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **2011**, *106*, 814-822.
- [191] Manneck, T., Haggenmuller, Y., Keiser, J., *Parasitology*, **2010**, *137*, 85-98.
- [192] Holtfreter, M.C., Reisinger, E.C., et al., *Exp. Parasitol.*, **2011**, *127*, 270-276.
- [193] Fu, S., Björkman, A., et al., *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **1986**, *22*, 93-96.
- [194] Manneck, T., Braissant, O., Ellis, W., Keiser, J., *Exp. Parasitol.*, **2011**, *127*, 260-269.
- [195] Xiao, S.-H., Xue, J., Shen, B., *Parasitol. Res.*, **2010**, *106*, 1179-1187.
- [196] Olsen, A., *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **2007**, *101*, 747-758.
- [197] Bueding, E., Fisher, J., *Biochem. Pharmacol.*, **1966**, *115*, 1197-1211.
- [198] Holmstedt, B., Nordgren, I., Sandoz, M., Sundwall, A., *Arch. Toxicol.*, **1978**, *41*, 3-29.
- [199] Xiao, S., Tanner, M., N'Goran, E.K., Utzinger, J., Chollet, J., Bergquist, R., et al., *Acta Trop.*, **2002**, *82*, 175-181.
- [200] Utzinger, J., Xiao, S.H., Tanner, M., Keiser, J., *Curr. Opin. Investig. Drugs*, **2007**, *8*, 105-116.
- [201] Keiser, J., Chollet, J., et al., *PLoS Negl. Trop. Dis.*, **2009**, *3*, e350.
- [202] Botros, S., William, S., Hammam, O., et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2003**, *47*, 3853-3858.
- [203] Botros, S.S., William, S., Beadle, J.R., Valiaeva, N., Hostetler, K.Y., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2009**, *53*, 5284-5287.
- [204] Prast-Nielsen, S., Huang, H.H., Williams, D.L., *Biochim. Biophys. Acta*, **2011**, *1810*, 1262-1271.
- [205] Badria, F., Abou-Mohamad, G., El-Mowafi, A., Masoud, A., Salama, O., *Pharma. Biol.*, **2001**, *39*, 127-131.
- [206] Rashika, A.F., Hatem, A.-M., *JARE*, **2013**, *4*, 467-478.
- [207] Bergquist, N.R., Colley, D.G., *Parasitol. Today*, **1998**, *14*, 99-104.
- [208] Wilson, R.A., Coulson, P.S., *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **2006**, *101*, 13-20.

- [209] Radke, M.G., Sadun, E.H., *Exp. Parasitol.*, **1963**, *13*, 134-142.
- [210] Richter, D., Harn, D.A., Matuska, F.-R., *Parasitol. Today*, **1995**, *11*, 288-293.
- [211] Ahmad, G., Zhang, W., Siddiqui, A.A., et al., *J. Infect. Dis.*, **2011**, *204*, 1437-1449.
- [212] Capron, A., Riveau, G., Capron, M., Trottein, F., *Trends Parasitol.*, **2005**, *21*, 143-149.
- [213] Riveau, G., Capron, A., et al., *PLoS Negl. Trop. Dis.*, **2012**, *6*, e1704.
- [214] <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00870649>, abgerufen am 26.01.2016, 22:33 Uhr.
- [215] McManus, D.P., Loukas, A., *Clin. Microbiol. Rev.*, **2008**, *21*, 225-242.
- [216] Alger, H.M., Williams, D.L., *Mol. Biochem. Parasitol.*, **2002**, *121* (1), 129-139.
- [217] Boumis, G., Angelucci, F., Bellelli, A., Brunori, M., et al., *Protein Sci.*, **2011**, *20* (6), 1069-1076.
- [218] Rhee, S.G., Chae, H.Z., Kim, K., *Free Radic. Biol. Med.*, **2005**, *38* (12), 1543-1552.
- [219] Sayed, A.A., Cook, S.K., Williams, D.L., *J. Biol. Chem.*, **2006**, *281* (25), 17001-17010.
- [220] Srivastava, S.K., Yadav, U.C., Ramana, K.V., et al., *Chem. Biol. Interact.*, **2011**, *191* (1-3), 330-338.
- [221] Yadav, U.C., Srivastava, S.K., Ramana, K.V., *Curr. Mol. Med.*, **2010**, *10* (6), 540-549.
- [222] Vander, D.L., Hunsaker, L.A., *Chem. Biol. Interact.*, **2003**, *143-144*, 341-351.
- [223] Berriman, M., Haas, B.J., LoVerde, P.T., et al., *Nature*, **2009**, *460* (7253), 352-358.
- [224] http://www.genedb.org/gene/Smp_150700, abgerufen am 23.02.2016, 12:30 Uhr.
- [225] http://www.genedb.org/gene/Smp_053220, abgerufen am 23.02.2016, 12:32 Uhr.
- [226] Lu *et al*; unpublished.
- [227] Colciago, A., Negri-Cesi, P., Celotti, F., *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, **2002**, *110* (1), 22-26.
- [228] Kang, E.S., Iwata, K., Seo, H.G., et al., *Free Radic. Biol. Med.*, **2011**, *50* (6), 680-688.
- [229] Rath, J., Gowri, V.S., Chauhan, S.C., et al., *Gene*, **2009**, *429* (1-2), 1-9.
- [230] Tammali, R., Saxena, A., Srivastava, S.K., Ramana, K.V., *Endocrinology*, **2010**, *151* (5), 2140-2150.
- [231] M. Eisenmann, Struktur-basiertes Wirkstoffdesign neuer Aldose-Reduktase-Inhibitoren, Ludwig-Maximilians-Universität München, **2007**.
- [232] Eisenmann, M., Steuber, H., Schlitzer, M., et al., *ChemMedChem*, **2009**, *4*, 809-819.
- [233] Ledon, H.J., *Org. Synth. Coll.*, **1988**, *6*, 414.
- [234] Leadbeater, N.E., *Org. Lett.*, **2002**, *4*, 2973-2976.
- [235] Escudero, M.I., *Synthesis*, **2011**, *4*, 571-576.

- [236] Suzuki, A., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2011**, *50*, 6723-6737.
- [237] Tucker, C.E., *Top. Catal.*, **2002**, *19*, 111-118.
- [238] Feuerstein, M., *J. Organomet. Chem.*, **2003**, *687*, 327-336.
- [239] Tang, W., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 5879-5883.
- [240] Hanhan, M.E., *Appl. Organomet. Chem.*, **2008**, *22*, 270-275.
- [241] Thanh, N.C., *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 11227-11239.
- [242] Deng, Y., Gong, L., Mi, A., *et al.*, *Synthesis*, **2003**, *3*, 337-339.
- [243] Meanwell, N.A., *J. Med. Chem.*, **2011**, *54*, 2529-2591.
- [244] Wiberg, K.B., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1986**, *25* (4), 312-322.
- [245] Kenyon, J., Ross, W.A., *J. Chem. Soc.*, **1951**, 3407-3411.
- [246] Fairclough, R.A., *J. Chem. Soc.*, **1938**, 1186-1190.
- [247] Knoevenagel, E., *Ber. Deut. Chem. Ges.*, **1898**, *31* (3), 2596-2619.
- [248] Xiao, B., Hu, P., *et al.*, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **2013**, *577* (1), 25-35.
- [249] Han, S.-Y., Kim, Y.-A., *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 2447-2467.
- [250] Nwaka, S., Hudson, A., *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2006**, *5*, 941-955.
- [251] Liu, J., Dyer, D.H., Wang, X., *et al.*, *Parasite Vector*, **2013**, *6*, 162-171.
- [252] Liu, J., Wang, J., Hu, W., *et al.*, *Parasitol. Res.*, **2013**, *112*, 549-558.
- [253] Zhongguo, J., *et al.*, *Chin. J. Parasitol. Dis.*, **2008**, *26* (1), 30-34 (Artikel in Chinesisch, Abstract in Englisch).
- [254] Bohren, K.M., Bullock, B., Wermuth, B., Gabbay, K.H., *J. Biol. Chem.*, **1989**, *264* (16), 9547-9551.
- [255] Kopakka, V., Hurley, T.D., Vasiliou, V., *et al.*, *Pharmacol Rev.*, **2012**, *64* (3), 520-539.
- [256] Staub, R.E., Sparks, S.E., Quistad, G.B., Casida, J.E., *Chem. Res. Toxicol.*, **1995**, *8*, 1063-1069.
- [257] Lipsky, J.J., Shen, M.L., Naylor, S., *Chem. Biol. Interact.*, **2001**, *130-132*, 93-102.
- [258] Berlin, R.G., *Alcohol Alcoholism*, **1989**, *24* (3), 241-246.
- [259] Cvek, B., Dvorak, Z., *Curr. Pharmac. Des.*, **2016**, *13* (30), 3155-3167.
- [260] Goldstein, M., Lauber, E., McKereghan, M.R., *J. Biol. Chem.*, **1965**, *240* (5), 2066-2072.
- [261] Shiah, S.-G., Kao, Y.-R., *et al.*, *Mol. Pharmacol.*, **2003**, *64*, 1076-1084.
- [262] Barth, K.S., Malcolm, R.J., *CNS Neurol. Disord. Drug Targets*, **2010**, *9*, 5-12.
- [263] Schroeder, J.P., Cooper, D.A., *et al.*, *Neuropsychopharmacology*, **2010**, *35*, 2440-2449.

- [264] Gaval-Cruz, M., Weinshenker, D., *Mol. Interv.*, **2009**, 9, 175-187.
- [265] Nilsson, G.E., Tottmar, O., *Brain Res.*, **1987**, 409, 374-379.
- [266] Galkin, A., Kulakova, L., Herzberg, O., *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **2014**, 298, 10502-10509.
- [267] Bouma, M.J., Snowdon, D., Fairlamb, A.H., *et al.*, *J. Antimicrob. Chemoth.*, **1998**, 42 (6), 817-820.
- [268] Bennett, J.L., Gianutsos, G., *Biochem. Pharmacol.*, **1978**, 27 (5), 817-820.
- [269] Gueguen, F., Thouvenot, D., Corbel, B., Nodet, P., *et al.*, *J. Agric. Food. Chem.*, **2000**, 48 (10), 4492-4499.
- [270] Azizi, N., Aryanasab, F., Saidi, M.R., *Org. Lett.*, **2006**, 8 (23), 5275-5277.
- [271] Hu, P., Jin, L., Baillie, T.A., *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, **1997**, 281 (2), 611-617.
- [272] El-Zahar, M.I., Abd El-Karim, S.S., *Egypt. Pharm. J.*, **2012** 11, 1-16.
- [273] Nofal, Z.M., El-Zahar, M.I., *et al.*, *Egypt. J. Chem.*, **2005**, 48, 587-604.
- [274] Nofal, Z.M., El-Zahar, M.I., Abd El-Karim, S.S., *Egypt. J. Chem.*, **2008**, 61, 91-105.
- [275] M.T. Barho, Entwicklung von neuroprotektiven Wirkstoffen basierend auf Amiden des 4-Phenoxyanilins und verwandten Verbindungen, Philipps-Universität Marburg, **2015**.
- [276] Sadhu, P.S., Kumar, S.N., Pica-Mattocchia, L., *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2012**, 22, 1103-1106.
- [277] Dong, Y., Chollet, J., Vennerstrom, J.L., *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, 20, 2481-2484.
- [278] Laurent, S.A.-L., Boissier, J., Meunier, B., *et al.*, *Eur. J. Org. Chem.*, **2008**, 895-913.
- [279] Tang, H., Zheng, C.-H., Lv, J.-G., *et al.*, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, **2010**, 343, 360-366.
- [280] Wang, Y.-Q., Ge, Z.-M., Li, R.-T., *et al.*, *Synthesis*, **2014**, 5, 675-678.
- [281] Skelly, P.J., Pfeiffer, R., Verrey, F., Shoemaker, C.B., *Parasitology*, **1999**, 119, 569-576.
- [282] Asch, H.L., Read, C.P., *Exp. Parasitol.*, **1975**, 38, 123-135.
- [283] Castagna, M., Trotti, D., Hediger, M.A., *J. Exp. Biol.*, **1997**, 200, 269-286.
- [284] Fried, B., Graczyk, T.K., *Advances in Trematode Biology*, 1. Auflage, **1997**: CRC Press Inc, 103-105.
- [285] Fitzpatrick, J.M., Hirai, Y., Hirai, H., Hoffmann, K.F., *FASEB J.*, **2007**, 21, 823-835.
- [286] deWalick, S., *et al.*, *Exp. Parasitol.*, **2012**, 132, 7-13.
- [287] Chapman, D.R., Bauer, L., *J. Heterocyclic Chem.*, **1990**, 27, 2063-2068.

- [288] Bartzatt, R., *et al.*, *J. Biochem. Biophys. Methods*, **2001**, 47 (3), 189-195.
- [289] Kinoshita, T., Iinuma, F., Tsuji, A., *Chem. Pharm. Bull.*, **1974**, 22 (10), 2413-2420.
- [290] Weber, G., *J. Biochem.*, **1952**, 51 (2), 145-155.
- [291] Chen, R.F., *Analyt. Biochem.*, **1968**, 25 (1), 412-416.

ERKLÄRUNG

Ich versichere, dass ich meine Dissertation

**Synthese und biologische Testung
von
Biarylalkylcarbonsäure-Derivaten
und
Dithiocarbamat-Derivaten
als potentielle anthelmintische Wirkstoffe
gegen
*Schistosoma mansoni***

selbständig ohne unerlaubte Hilfe angefertigt und mich dabei keiner anderen als der von mir ausdrücklich bezeichneten Quellen bedient habe. Alle vollständig oder sinngemäß übernommenen Zitate sind als solche gekennzeichnet.

Die Dissertation wurde in der jetzigen oder einer ähnlichen Form noch bei keiner anderen Hochschule eingereicht und hat noch keinen sonstigen Prüfungszwecken gedient.

Marburg, den 17.05.2016

.....
(Unterschrift mit Vor- und Zuname)

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Patrick Mäder
Geburtsdatum: 06.01.1988
Geburtsort: Schwerin
Staatsangehörigkeit: deutsch

Akademische und schulische Ausbildung

Seit Nov. 2013 **Institut für Pharmazeutische Chemie,
Philipps-Universität Marburg**
Doktorand im Arbeitskreis von Prof. Dr. Martin Schlitzer,
Promotionsthema: „Synthese und biologische Testung von
Biarylalkylcarbonsäure-Derivaten und
Dithiocarbamat-Derivaten als potentielle anthelmintische
Wirkstoffe gegen *S. mansoni*“

Feb. 2014 **Approbation als Apotheker**

Mai 2013 -
Okt. 2013 **Apotheke am Ludwigsplatz, Gießen**
2. Halbjahr des Praktischen Jahres im Rahmen der
pharmazeutischen Ausbildung

Nov. 2012 -
Juli 2013 **Institut für Pharmazeutische Chemie,
Philipps-Universität Marburg**
1. Halbjahr des Praktischen Jahres im Rahmen der
pharmazeutischen Ausbildung
Masterarbeit: „Design und Synthese neuartiger Inhibitoren der
membranständigen Aspartylprotease FlaK“, betreut von Frau
Prof. Dr. Wibke E. Diederich

- Okt. 2010 - **Studium der Chemie (Master of Science)**
Juli 2013 Philipps-Universität Marburg,
Spezialisierung Medizinische Chemie
- Okt. 2008 - **Studium der Pharmazie**
Okt. 2012 Philipps-Universität Marburg,
- Juli 2007 **Allgemeine Hochschulreife**
Europaschule Latina „August Hermann Francke“, Halle/Saale,
(Abschlussnote: 1.9, „gut“)

Praktika und Lehrtätigkeit

- Seit Aug. 2015 **Philipps-Universität Marburg**
Praktische Betreuung eines Auszubildenden zum
Chemielaboranten
- April 2015 - **Philipps-Universität Marburg**
April 2016 Leitender Assistent des Praktikums: „Chemie der organischen
Arznei-, Hilfs- und Schadstoffe“ im 3. Fachsemester
des Pharmaziestudiums
- Seit Nov. 2013 **Philipps-Universität Marburg**
Betreuung des Praktikums: „Chemie der organischen Arznei-,
Hilfs- und Schadstoffe“ im 3. Fachsemester
des Pharmaziestudiums
- Feb. 2013 - **Philipps-Universität Marburg**
März 2013 Betreuung des Praktikums: „Chemie der organischen Arznei-,
Hilfs- und Schadstoffe“ im 3. Fachsemester
des Pharmaziestudiums
- Jan. 2013 - **Philipps-Universität Marburg**
Feb. 2013 Betreuung des Praktikums: „Allgemeine und analytische
Chemie der anorganischen Arznei-, Hilfs- und Schadstoffe“ im
1. Fachsemester des Pharmaziestudiums

April 2012 - Juli 2012	Philipps-Universität Marburg Tutorium „qualitative anorganische Chemie der Arznei-, Hilfs- und Schadstoffe“ im 1. Fachsemester des Pharmaziestudiums
Feb. 2012 - März 2012	Philipps-Universität Marburg Synthesepraktikum im Arbeitskreis von Herr Prof. Dr. Paultheo von Zezschwitz
Feb. 2012	Philipps-Universität Marburg Vorbereitungsseminar „Physik und Arzneiformlehre“ für das erste Staatsexamen der Pharmazie
Okt. 2011 - Jan. 2012	Philipps-Universität Marburg Tutorium „qualitative anorganische Chemie der Arznei-, Hilfs- und Schadstoffe“ im 1. Fachsemester des Pharmaziestudiums
Juli 2011	Philipps-Universität Marburg Vorbereitungsseminar „Physik und Arzneiformlehre“ für das erste Staatsexamen der Pharmazie
Mai 2011 – Juni 2011	Philipps-Universität Marburg Synthesepraktikum im Arbeitskreis von Frau Prof. Wibke E. Diederich
März 2011 – April 2011	Philipps-Universität Marburg Synthesepraktikum im Arbeitskreis von Frau Prof. Wibke E. Diederich
Feb. 2011	Philipps-Universität Marburg Vorbereitungsseminar „Physik und Arzneiformlehre“ für das erste Staatsexamen der Pharmazie
März 2010 – April 2010	Philipps-Universität Marburg Synthesepraktikum im Arbeitskreis von Herr Prof. Martin Schlitzer

Tabellarischer Anhang der *in vitro*-Ergebnisse und der Zytotoxizitätsmessungen

Erläuterungen zur Tabelle der *in vitro*-Ergebnisse

Spalte „Wirksamkeit“

- +++ ausgezeichnete antischistosomale Aktivität: nahezu vollständige Inhibition der Eiproduktion (weniger als 100 Eier/ 24 Stunden), deutliche Reduktion der Paarungsstabilität (Entpaarung von mindestens 8 der 10 Schistosomenpärchen), Vitalität und Motilität, letaler Effekt (falls aufgetreten), Auftreten von mehr als einem Phänotyp (zum Beispiel Tegumentschäden, Darmdilatationen, Verlust von inneren Strukturen, Anisocytose des Ovars, tumorähnliche Ausstülpungen, ödematöses Aufquellen der Schistosomen, Eiakkumulation im Uterus)
- ++ gute antischistosomale Aktivität: deutliche Inhibition der Eiproduktion (weniger als 200 Eier/ 24 Stunden), deutliche Reduktion der Paarungsstabilität (Entpaarung von mindestens 5 der 10 Schistosomenpärchen), Vitalität und Motilität, Auftreten von mindestens einem Phänotyp (zum Beispiel Tegumentschäden, Darmdilatationen, Verlust von inneren Strukturen, Anisocytose des Ovars, tumorähnliche Ausstülpungen, ödematöses Aufquellen der Schistosomen, Eiakkumulation im Uterus)
- + akzeptable antischistosomale Aktivität: leichte Inhibition der Eiproduktion (Reduktion um maximal 40%, bezogen auf DMSO als Referenz), geringgradige Reduktion der Paarungsstabilität (Entpaarung von maximal 4 der 10 Schistosomenpärchen), Vitalität und Motilität, keine weiteren Phänotypen erkennbar

Tabellarischer Anhang der in vitro-Ergebnisse und der Zytotoxizitätsmessungen

-	keine antischistosomale Aktivität: keine Inhibition der Eiproduktion, keine Reduktion der Paarungsstabilität, Vitalität und Motilität, Schistosomen erscheinen morphologisch unauffällig und vital
Spalte „Paare (von 10)“	Anzahl der gepaarten Schistosomenpärchen (von insgesamt 10 eingesetzten <i>S. mansoni</i> -Pärchen); je weniger Schistosomenpärchen gepaart vorlagen, desto schlechter wurde die Vitalität der Schistosomen bewertet
Spalte „Paare angesaugt“	Anzahl der gepaarten <i>S. mansoni</i> -Pärchen, die nach 72 Stunden am Schalenboden angesaugt waren; je weniger Schistosomenpärchen am Schalenboden angesaugt waren, desto schlechter wurde die Vitalität der Schistosomen bewertet
Spalte „♂ angesaugt“	Anzahl der entpaarten Schistosomenmännchen, die nach 72 Stunden am Schalenboden angesaugt waren; je weniger Schistosomenmännchen am Schalenboden angesaugt waren, desto schlechter wurde die Vitalität der Schistosomen bewertet
Spalte „♀ angesaugt“	Anzahl der entpaarten Schistosomenweibchen, die nach 72 Stunden am Schalenboden angesaugt waren; je weniger Schistosomenweibchen am Schalenboden angesaugt waren, desto schlechter wurde die Vitalität der Schistosomen bewertet
Spalte „Eizahlen (24/48/72h)“	Absolute Anzahl von Schistosomeneiern, die 24 Stunden, 48 Stunden und 72 Stunden nach Beginn der Testung bei der angegebenen Konzentration gezählt wurden; bei Mehrfachmessungen wurde der Mittelwert angegeben (gerundet auf ganze Zahlen)

Tabellarischer Anhang der in vitro-Ergebnisse und der Zytotoxizitätsmessungen

Spalte „% deformierte Eier“	Prozentsatz von deformierten Schistosomeneiern, bezogen auf die absolute Anzahl von Schistosomeneiern; bei Mehrfachmessungen wurde der Mittelwert angegeben (gerundet auf ganze Zahlen)
Spalte „Tegumentschäden“	+ Auftreten von Tegumentschäden wurde bei der angegebenen Konzentration beobachtet
Spalte „Darmdilatationen“	+ Auftreten von Darmdilatationen wurde bei der angegebenen Konzentration beobachtet
Spalte „Letaler Effekt [h]“	+ Auftreten eines letalen Effekts auf die Schistosomen wurde beobachtet; Angabe der Zeit, bis der letale Effekt bei der angegebenen Konzentration eintrat

Erläuterungen zur Tabelle der Zytotoxizitätsmessungen



Nicht zytotoxisch bei der getesteten Konzentration



Zytotoxisch bei der getesteten Konzentration

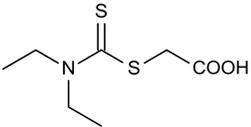
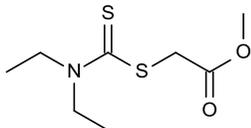
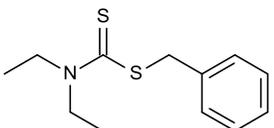
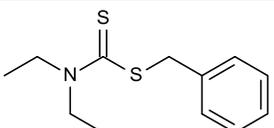
n.a.

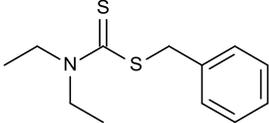
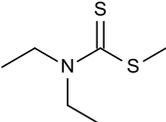
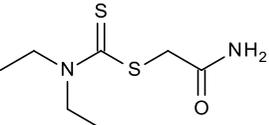
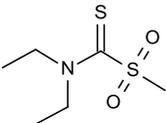
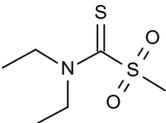
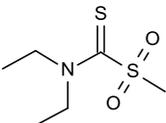
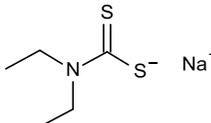
Verbindung zeigt keine antischistosomale Aktivität

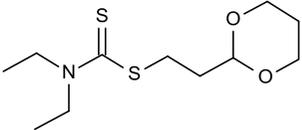
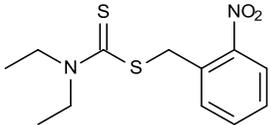
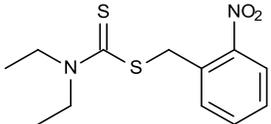
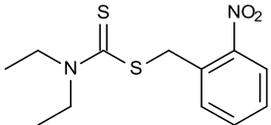
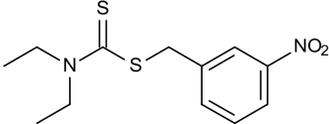
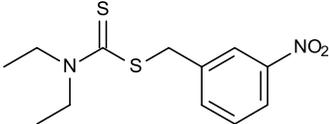
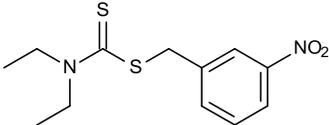
n.t.

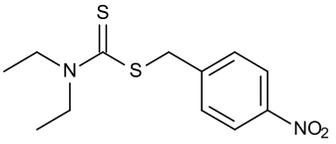
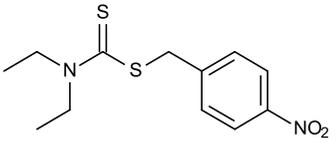
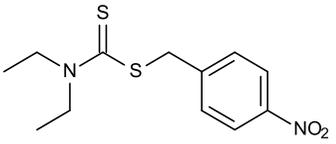
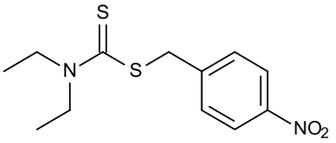
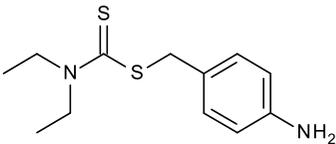
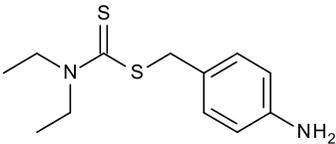
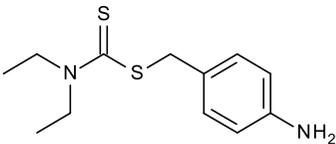
Angegebene Konzentration nicht getestet

Derivate mit Variation des Substitutionsmuster am Schwefel des Dithiocarbamats

Bezeichnung	Konzentration	Strukturformel	Wirksamkeit	Paare (von 10)	Paare angesaugt	♂ angesaugt	♀ angesaugt	Eizahlen (24/48/72h)	% deformierte Eier	Tegumentschäden	Darmdilatation	Letaler Effekt [h]
Schl32003 (120)	100µM		-	7	7	3	1	108 293 158	14 13 15			
Schl32006 (121)	100µM		-	2	0	0	0	356 739 774	1 2 1			
Schl32007 (122)	100µM		+++	0		0	0	170 17 0	93 94			
	25µM		+	2	1	2	0	205 92 47	80 72 70			

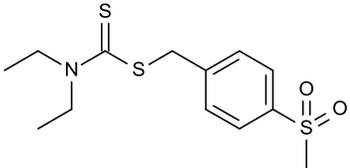
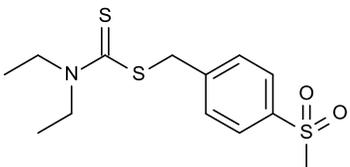
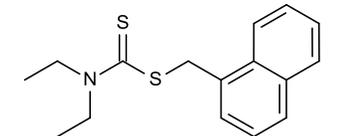
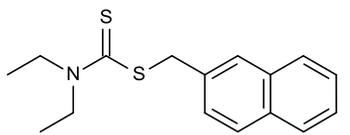
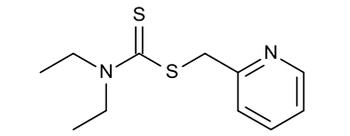
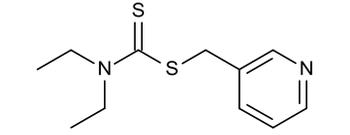
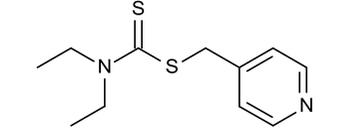
	10μM		-	8	7	2	0	285 510 563	24 14 20			
Schl32008 (97)	100μM		-	9	6	0	0	198 246 256	7 14 11			
Schl32017 (123)	100μM		-	10	9			157 309 422	3 5 3			
Schl32023 (101)	100μM		+++	0		0	0	5 0 0	40	+		+ 72
	25μM		-	10	10			258 299 336	24 25 26			
	10μM		-	10	10			266 377 439	5 7 8			
Schl32024 (96)	100μM		+++	0		0	0	4 0 0	50	+		

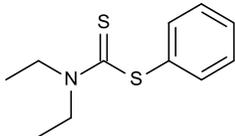
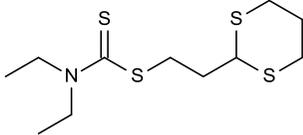
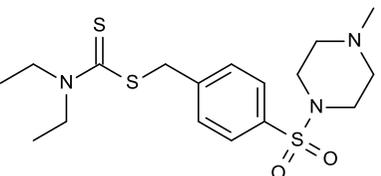
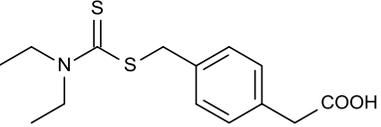
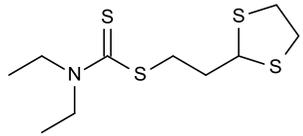
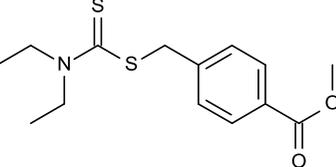
Schl32025 (124)	100μM		(+)	10	3			254 124 271	46 69 55			
Schl32084 (155)	100μM		+++	0		0	0	85 21 0	93 100	(+)		
	25μM		-	8	8	0	0	222 412 406	25 15 14			
	10μM		-	10	9			243 565 406	23 10 6			
Schl32086 (156)	100μM		+++	0		0	0	13 0 0	77			
	25μM		+	2	0	0	0	132 233 334	65 33 70			
	10μM		-	10	0			257 506 493	32 42 48			

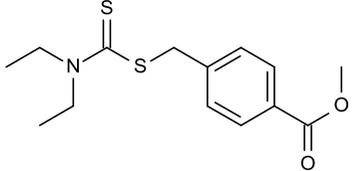
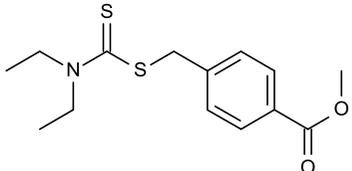
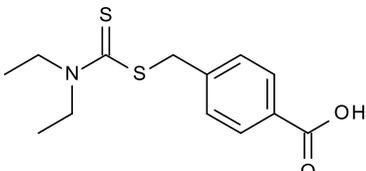
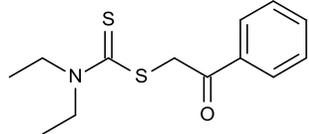
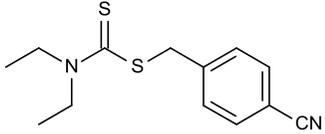
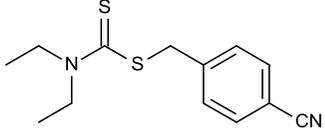
Schl32088 (157)	100μM		+++	0		0	0	3 0 0	100	+		
	25μM		+++	0		0	0	26 8 10	92 38 90	+	+	
	10μM		+++	0		0	0	52 29 22	37 79 91	+	+	
	5μM		++	1	0	0	0	79 94 67	51 69 61			
Schl32089 (168)	100μM		+++	0		0	0	152 0	72	+		+ 48
	25μM		++	1	0	0	0	67 35 54	54 60 61			
	10μM		(+)	6	4	0	0	90 165 158	12 37 55			

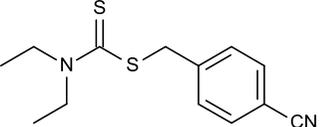
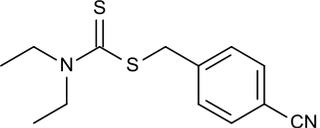
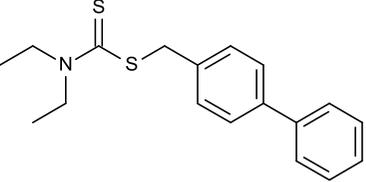
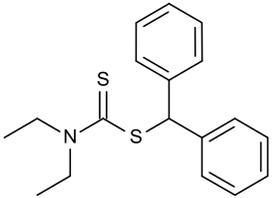
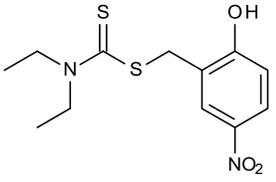
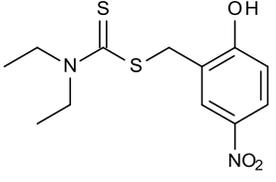
Schl32096 (128)	100μM		++	1	0	0	0	185 12 0	97 100			
Schl32097 (129)	100μM		+++	0		0	0	10 0 0	50	+		
	25μM		-	10	9			190 258 311	27 24 25			
Schl32098 (130)	100μM		++	0		0	0	173 28 1	75 100 100			
Schl32099 (131)	100μM		+	10	0			131 30 47	73 63 100			
Schl32102 (132)	100μM		+	10	0			113 121 58	25 100 100			
Schl32110 (169)	100μM		++	0		0	0	139 56 10	79 93 100			

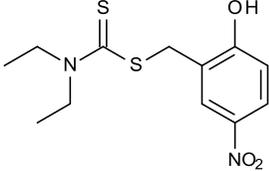
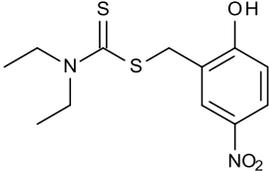
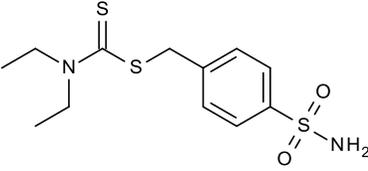
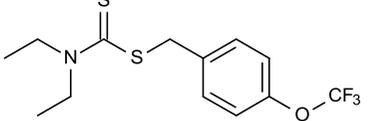
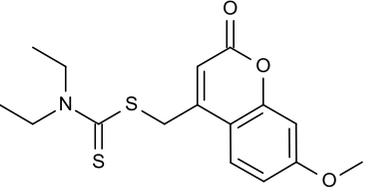
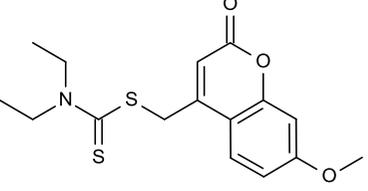
Schl32111 (170)	100µM		++	0		0	0	130 42 0	77 87			
Schl32112 (171)	100µM		+++	0		0	0	37 0 0	100			
	25µM		-	8	8	2	2	297 438 502	7 3 4			
	10µM		-	10	10			309 471 532	7 5 5			
Schl32116 (125)	100µM		(+)	9	3	0	0	101 183 283	52 39 33			
Schl32118 (162)	100µM		+++	0		0	0	61 45 31	81 98 98	+		
	25µM		+++	0		0	0	67 43 29	39 86 72	(+)	(+)	

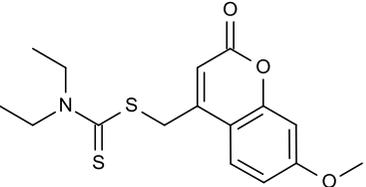
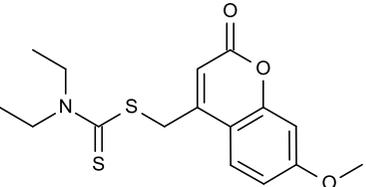
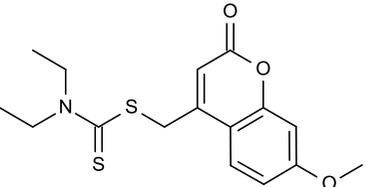
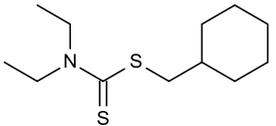
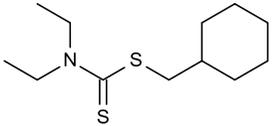
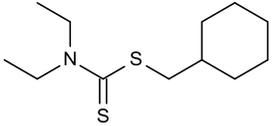
	10μM		++	4		0	0	117 74 65	29 74 65		(+)	
	5μM		-	8	0	1	0	136 195 366	41 31 25			
Schl32120 (134)	100μM		++	1	0	0	0	67 17 31	100 100 100			
Schl32121 (135)	100μM		++	3	0	0	0	15 1 3	87 100 100			
Schl32124 (303)	100μM		-	10	2			392 506 560	32 81 37			
Schl32125 (304)	100μM		-	10	2			1004 434 362	61 77 52			
Schl32126 (161)	100μM		+	9	4	0	0	458 275 80	86 97 98			

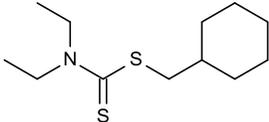
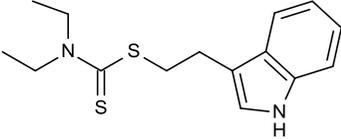
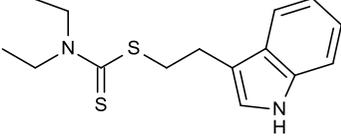
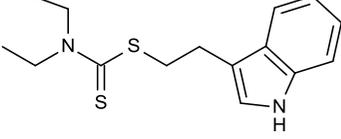
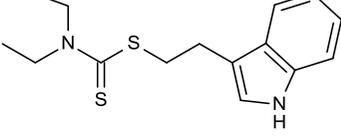
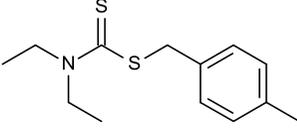
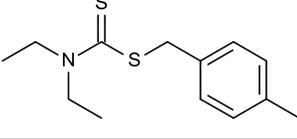
Schl32130 (133)	100µM		++	0	0	0	0	55 5 3	56 80 66			
Schl32132 (126)	100µM		++	7	0	0	0	215 53 0	82 94			
Schl32134 (166)	100µM		-	8	6	0	0	186 383 460	15 21 9			
Schl32136 (172)	100µM		-	10	10			90 506 830	11 25 13			
Schl32138 (127)	100µM		+++	0		0	0	69 0 0	97			
Schl32150 (173)	100µM		++	0		0	0	144 21 26	80 100 100			

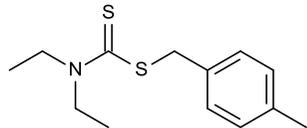
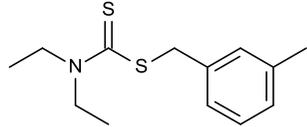
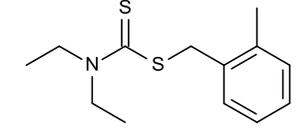
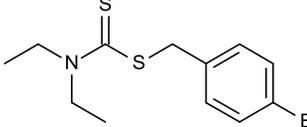
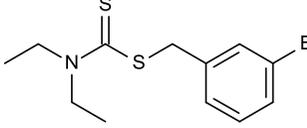
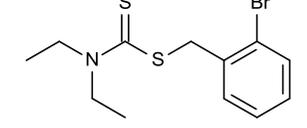
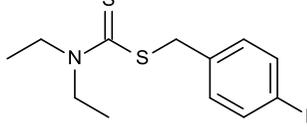
	25μM		+	0	0	0	0	164 83 30	47 54 70			
	10μM		-	8	6	2	0	269 193 162	12 26 19			
Schl32153 (174)	100μM		-	10	10			95 521 565	14 4 1			
Schl32154 (305)	100μM		+	2	0	3	3	7 73 50	29 48 48			
Schl32155 (158)	100μM		+++	0		0	0	5 0 0	80		(+)	
	25μM		+++	0		0	0	4 0 0	75	+		

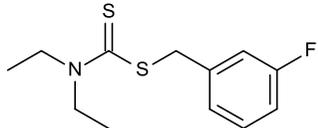
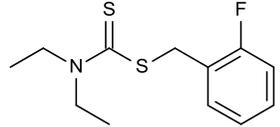
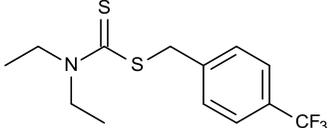
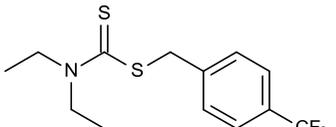
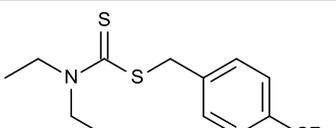
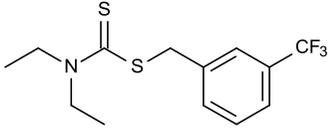
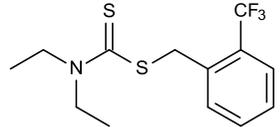
	10μM		++	0		0	0	48 16 2	25 75 100	(+)	+	
	5μM		-	9	0	0	0	132 107 146	33 34 32	(+)		
Schl32156 (136)	100μM		++	5	0	0	0	139 14 7	7 100 100			
Schl32157 (137)	100μM		++	0		0	0	46 8 0	96 100			
Schl32158 (163)	100μM		+++	3	0	0	0	0		(+)		+ 24
	25μM		+++	1	0	0	0	4	25			+ 24

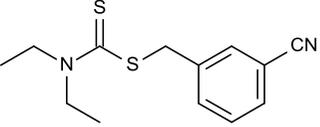
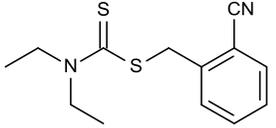
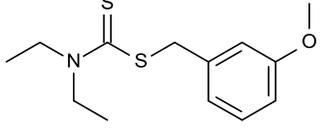
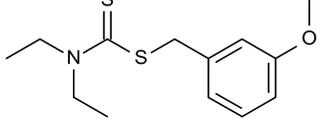
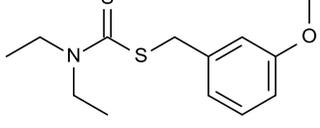
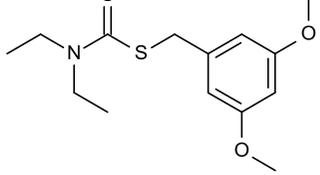
	10μM		+++	0		0	0	5 0	0	+		+ 48
	5μM		+	2	1	0	0	75 54 49	73 76 66	(+)		
Schl32159 (167)	100μM		-	10	9			390 506 830	11 25 13			
Schl32160 (144)	100μM		++	6	0	0	0	180 0 10	67 100			
Schl32175 (177)	100μM		+++	0		0	0	9	56			+ 24
	25μM		+++	0		0	0	5	0			+ 24

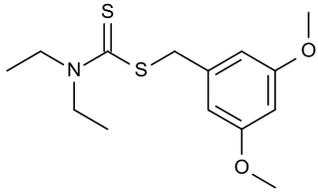
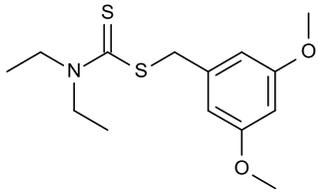
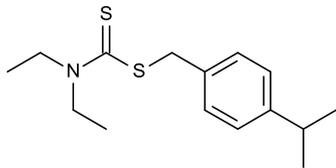
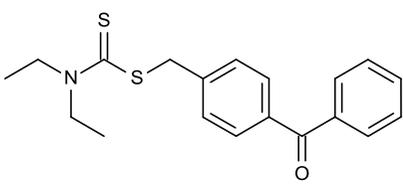
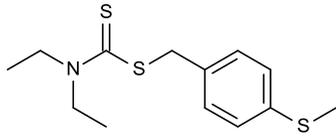
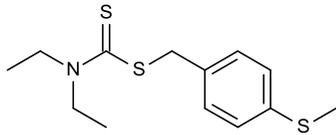
	10μM		+++	0		0	0	9 0	11		(+)	+ 48
	5μM		+++	0		0	0	19 47 57	56 75 72		+	
	1μM		-	4	4	5	1	237 495 499	8 14 8			
Schl32178 (178)	100μM		+++	0		0	0	55 0 0	69			
	25μM		++	0		0	0	118 39 37	65 72 62			
	10μM		+	2	0	2	1	159 120 80	60 64 59			

	5 μ M		-	10	0			176 164 186	77 58 61			
Schl32189 (179)	100 μ M		+++	0		0	0	27 1	89 100			+ 48
	25 μ M		+++	0		0	0	59 3 0	71 0			+
	10 μ M		++	0		0	0	112 77 37	46 64 62			+
	5 μ M		-	10	0			142 219 330	64 29 33			
Schl32229 (141)	100 μ M		+++	0		0	0	146 1 0	91 100	(+)		
	25 μ M		+	10	3			240 385 451	54 37 17			

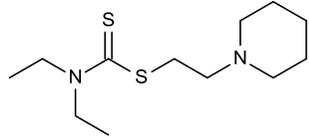
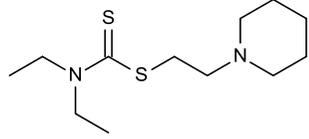
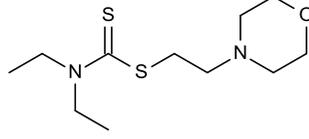
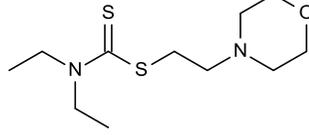
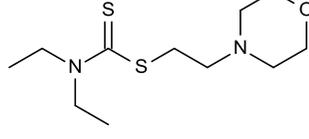
	10 μ M		-	10	10			296 766 653	25 6 8			
Schl32230 (142)	100 μ M		++	5		0	0	181 18 0	80 100			
Schl32231 (143)	100 μ M		++	5		0	0	120 33 0	80 100			
Schl32232 (306)	100 μ M		+++	0		0	0	88 0 0	69	(+)	+	
Schl32233 (307)	100 μ M		+++	0		0	0	46 60 8	89 85 100	+	+	
Schl32234 (308)	100 μ M		++	0		0	0	97 44 4	97 96 75			
Schl32235 (149)	100 μ M		+++	0		0	0	84 0 0	93			

Schl32236 (150)	100μM		+++	0		0	0	81 1 0	98 100			
Schl32237 (151)	100μM		++	0		0	0	114 37 51	93 85 79			
Schl32238 (152)	100μM		+++	0		0	0	44 0	98		+	+ 48
	25μM		+	9	2	1	0	94 155 121	54 37 97			
	10μM		-	9	8	1	1	100 417 400	45 27 29			
Schl32239 (153)	100μM		+++	0		0	0	141 0	100			+ 48
Schl32240 (154)	100μM		++	0		0	0	15 31 0	100 84			

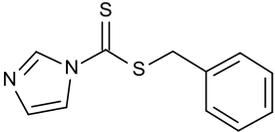
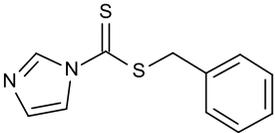
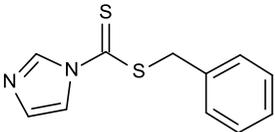
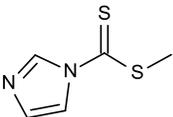
Schl32241 (159)	100µM		+++	0		0	0	14 0 0	21		(+)	
Schl32242 (160)	100µM		+++	0		0	0	8 0 0	25			
Schl32243 (145)	100µM		+++	0		0	0	126 3 0	19 66		+	
	25µM		-	10	4			155 376 402	69 29 71			
	10µM		-	9	8	1	1	237 575 770	32 28 24			
Schl32244 (146)	100µM		+++	0		0	0	125 0	24		+	+ 48

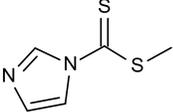
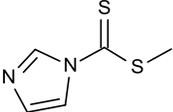
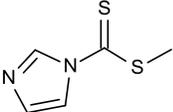
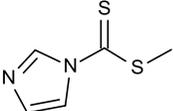
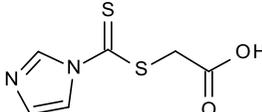
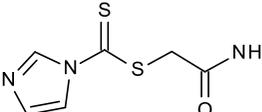
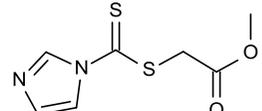
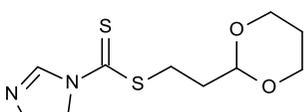
	25μM		-	10	8			267 348 332	47 24 79			
	10μM		-	10	9			162 484 427	27 12 9			
Schl32245 (309)	100μM		+++	0		0	0	14 0	29			+ 48
Schl32246 (138)	100μM		+++	0		0	0	4 0 14	100 93			
Schl32247 (147)	100μM		+++	0		0	0	40 4 1	50 100 100			
	25μM		+	9	1	0	0	86 146 253	49 64 81			

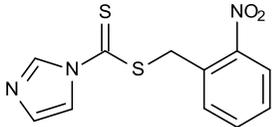
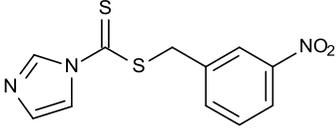
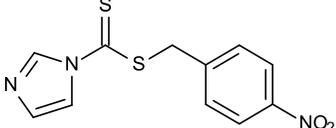
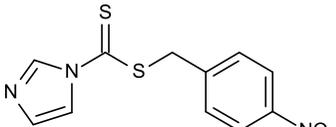
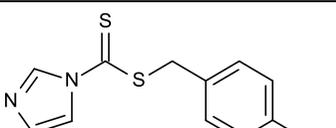
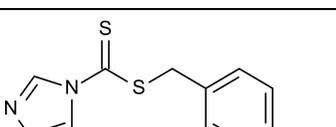
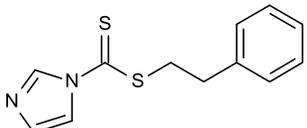
	10μM		-	10	9			329 539 418	19 9 5			
Schl32248 (148)	100μM		++	0		0	0	176 6 0	74 83			
	25μM		-	10	1			270 335 410	50 35 35			
	10μM		-	10	10			329 413 543	19 7 11			
Schl32249 (139)	100μM		++	1	0	0	0	0 25 32	83 84			
Schl32253 (140)	100μM		++	0		0	0	135 53 1	67 79 0			
Schl32274 (175)	100μM		+++	0		0	0	1	0			+ 24

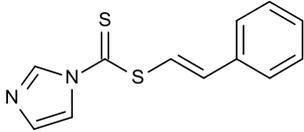
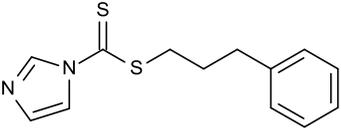
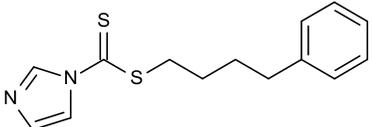
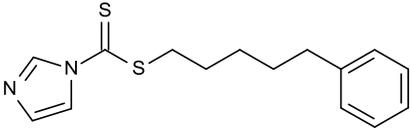
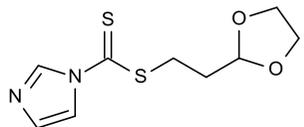
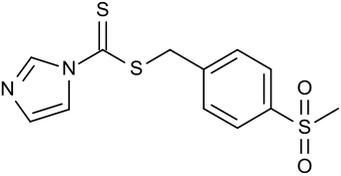
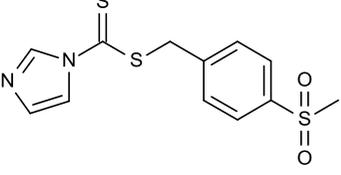
	25μM		+	7	0	0	0	209 336 492	42 85 98			
	10μM		-	10	10			591 463 430	10 4 4			
Schl32275 (176)	100μM		+	10	0			266 275 257	93 88 87			
	25μM		-	10	10			241 475 502	17 5 6			
	10μM		-	10	10			346 467 430	8 2 8			

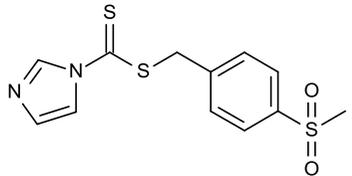
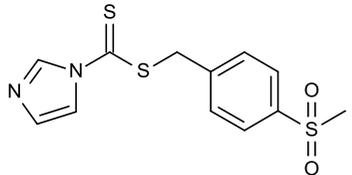
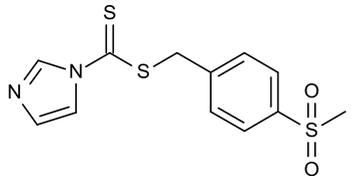
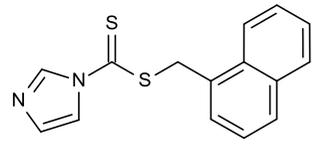
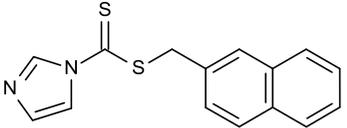
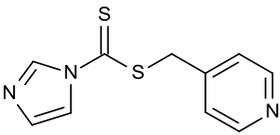
Imidazoldithiocarbamat-Derivate

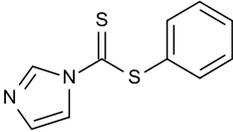
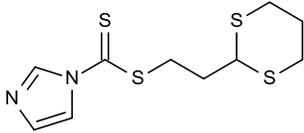
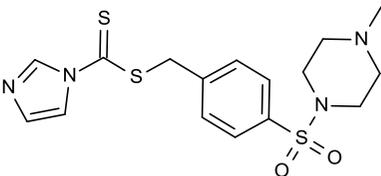
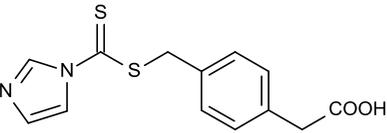
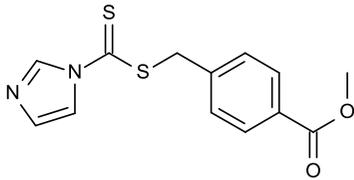
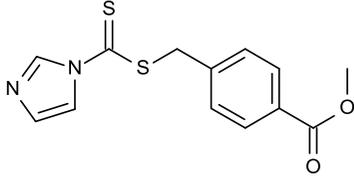
Bezeichnung	Konzentration	Strukturformel	Wirksamkeit	Paare (von 10)	Paare angesaugt	♂ angesaugt	♀ angesaugt	Eizahlen (24/48/72h)	% deformierte Eier	Tegumentschäden	Darmdilatation	Letaler Effekt [h]
Schl32027 (216)	100µM		+++	0		0	0	11 77 1	38 17 0	+	+	
	25µM		++	0		0	0	11 3 0	73 100	+	(+)	
	10µM		-	10	7			128 257 315	45 28 36			
Schl32028 (220)	100µM		+++	0		0	0	2	0	+		+ 24

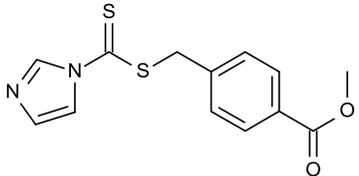
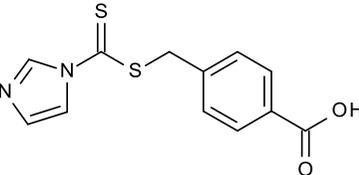
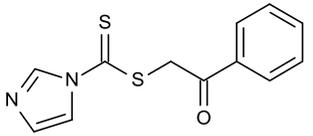
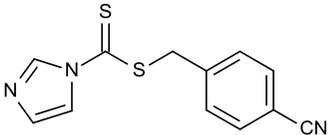
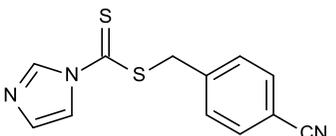
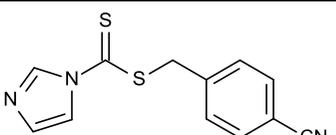
	25μM		+++	0		0	0	6	66	+		+ 24
	10μM		+++	0		0	0	34 1	29 100	+		+ 48
	5μM		++	0		0	0	67 25 0	23 92	+		
	1μM		-	10	10			546 719 569	3 3 2			
Schl32029 (221)	100μM		-	10	10			377 521 783	3 4 4			
Schl32030 (310)	100μM		-	10	9			299 462 689	5 7 7			
Schl32031 (222)	100μM		-	10	9			102 245 410	4 8 9			
Schl32032 (311)	100μM		+++	0		0	0	5	20	+		+ 24

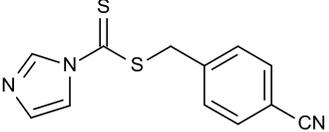
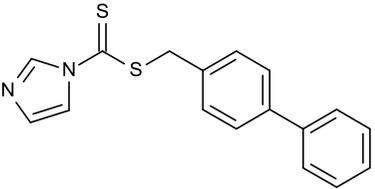
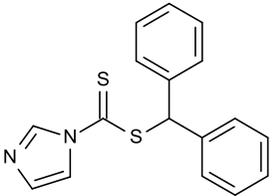
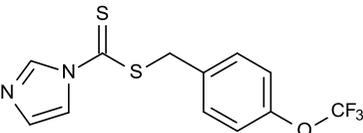
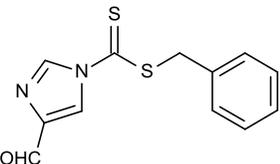
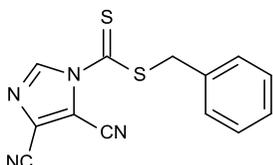
Schl32090 (312)	100μM		+++	0		0	0	3 4	0 75	+	+	+ 48
Schl32092 (313)	100μM		+++	0		0	0	3	33	+	(+)	+ 24
Schl32094 (226)	100μM		+++	0		0	0	0		+		+ 24
	25μM		+++	0		0	0	23	83	+		+ 24
	10μM		+++	0		0	0	30 16	3 44	+		+ 48
	5μM		++	0		0	0	140 75 40	43 69 73	+	+	
Schl32103 (314)	100μM		+++	0		0	0	0		+		+ 24

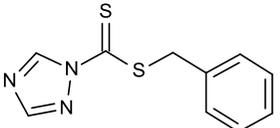
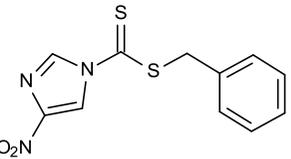
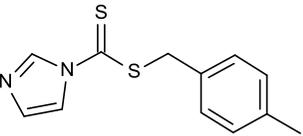
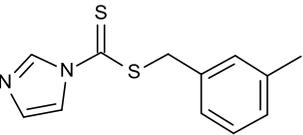
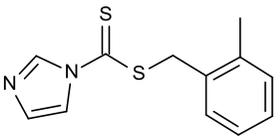
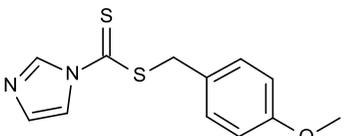
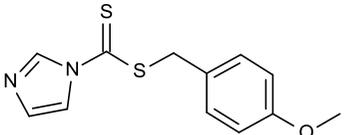
Schl32104 (315)	100μM		-	9	9	0	0		356 582 707	7 7 6		
Schl32105 (316)	100μM		+++	0		0	0	0			+	+ 24
Schl32106 (317)	100μM		+++	0		0	0	0			+	+ 24
Schl32109 (318)	100μM		+++	0		0	0	0			+	+ 24
Schl32117 (319)	100μM		+++	0		0	0	0			+	+ 24
Schl32119 (227)	100μM		+++	0		0	0	0			+	+ 24
	25μM		+++	0		0	0	12	92		+	+ 24

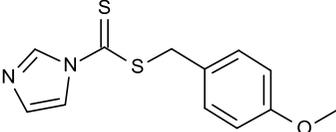
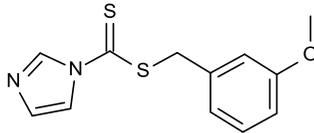
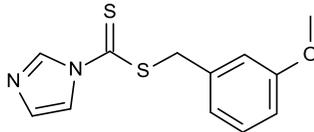
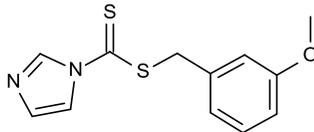
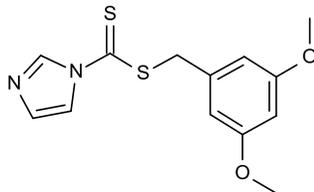
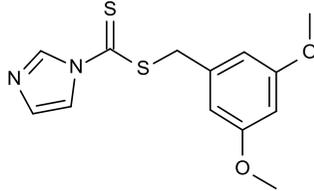
	10 μ M		+++	0		0	0	41 11	7 73	+		+ 48
	5 μ M		+++	0		0	0	97 50 3	73 78 100	+		+ 72
	1 μ M		-	9	9	0	0		582 707 356	3 15 3		
Schl32122 (320)	100 μ M		+++	0		0	0	1	100	+		+ 24
Schl32123 (321)	100 μ M		+++	0		0	0	0 1	100	+		+ 48
Schl32129 (322)	100 μ M		-	7	6	3	3	196 318 573	32 16 10			

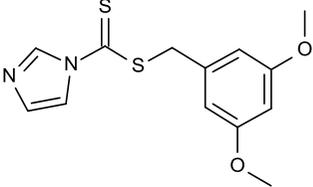
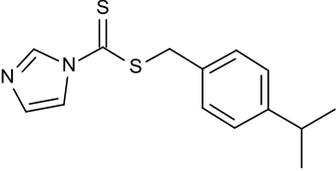
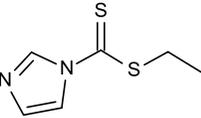
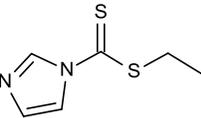
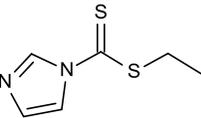
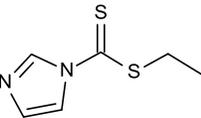
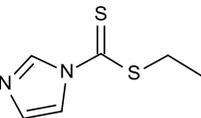
Schl32131 (323)	100µM		+++	0		0	0	2 0	100	+		+ 48
Schl32133 (324)	100µM		-	6	5	2	1	191 358 579	28 13 7			
Schl32135 (325)	100µM		+	2	1	2	0	149 176 219	23 28 27			
Schl32137 (326)	100µM		-	10	10			308 485 612	7 5 5			
Schl32164 (327)	100µM		+++	0		0	0	3 0	66	(+)	+	+ 48
	25µM		+++	0		0	0	37 0	62	+		+ 48

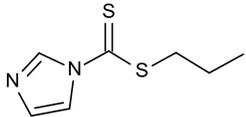
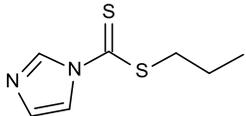
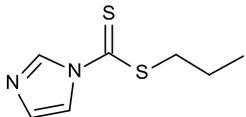
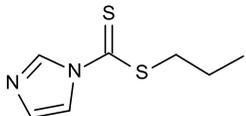
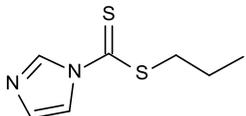
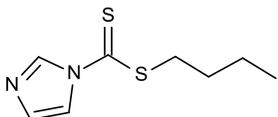
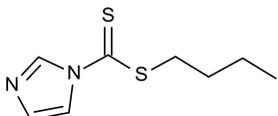
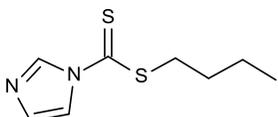
	10 μ M		+	2	0	0	0	196 78 40	32 71 73		+	
Schl32165 (328)	100 μ M		-	10	9			91 158 499	68 73 7			
Schl32166 (329)	100 μ M		-	8	2	1	0	191 244 372	14 23 19			
Schl32167 (228)	100 μ M		+++	0		0	0	0		+	+	+ 24
	25 μ M		+++	0		0	0	4	0	+		+ 24
	10 μ M		+++	0		0	0	17 0	59	+		+ 48

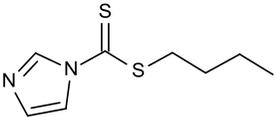
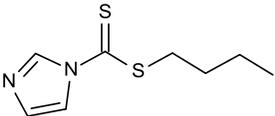
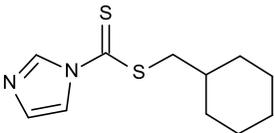
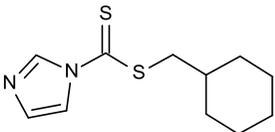
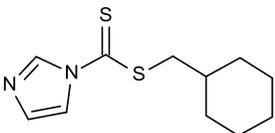
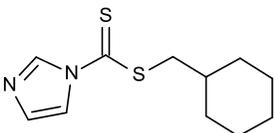
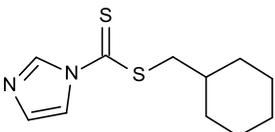
	5 μ M		++	0		0	0	101 121 42	70 66 55	+		+ 72
Schl32168 (330)	100 μ M		+++	0		0	0	1	100	+	(+)	+ 24
Schl32169 (331)	100 μ M		-	9	8	0	0	94 198 260	79 90 46			
Schl32172 (332)	100 μ M		++	0		0	0	113 11 3	54 91 100			
Schl32183 (333)	100 μ M		++	0		0	0	32 5 0	91 100	+		
Schl32184 (230)	100 μ M		(+)	7	7	3	3	113 207 185	36 88 90			

Schl32198 (231)	100μM		(+)	5	4	3	0	231 104 38	57 95 100		(+)	
Schl32214 (232)	100μM		-	10	10			182 503 574	2 4 1			
Schl32254 (334)	100μM		+++	0		0	0	21 6 0	91 100	+		+ 72
Schl32255 (335)	100μM		+++	0		0	0	5 2	100 100			+ 48
Schl32256 (336)	100μM		+++	0		0	0	5 6	80 83			+ 48
Schl32257 (337)	100μM		+++	0		0	0	5 6	100 100			+ 48
	25μM		-	5	3	1	3	133 218 532	19 5 15			

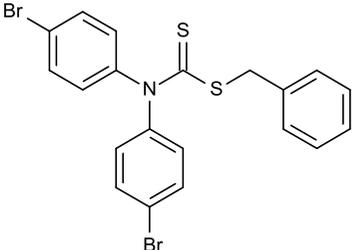
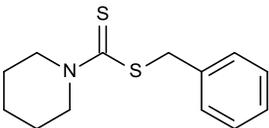
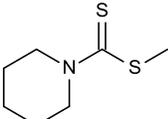
	10μM		-	10	10			309 478 609	11 8 6			
Schl32259 (338)	100μM		+++	0		0	0	13 4	85 100			+ 48
	25μM		+	3	1	3	4	156 136 41	38 29 76			
	10μM		-	10	10			205 507 582	18 3 6			
Schl32260 (339)	100μM		+++	0		0	0	6 1	83 100			+ 48
	25μM		-	2	2	4	5	131 279 376	17 14 29			

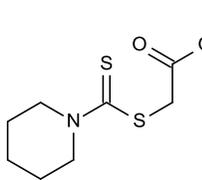
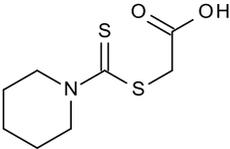
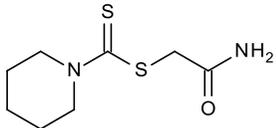
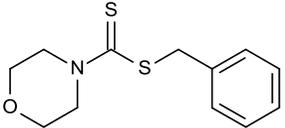
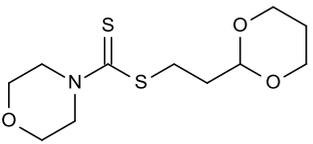
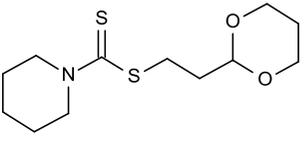
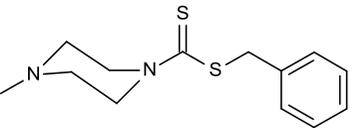
	10μM		-	10	10			141 434 445	15 17 13			
Schl32262 (340)	100μM		-	10	9			176 392 474	12 11 11			
Schl32263 (223)	100μM		+++	5	0	0	0	2	50	+		+ 24
	25μM		+++	0		0	0	0		+		+ 24
	10μM		+++	0		0	0	0		+		+ 24
	5μM		+++	0		0	0	10 76 0	60 28	+	+	+ 72
	1μM		-	10	10			161 524 503	19 4 4			

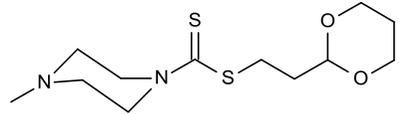
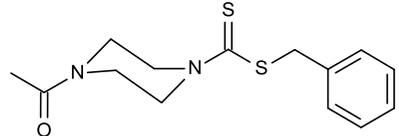
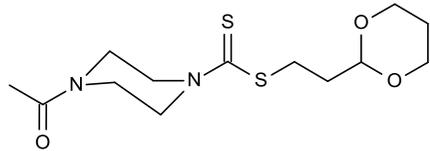
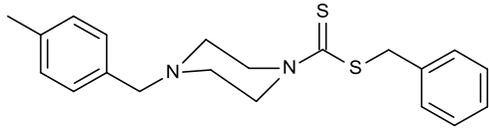
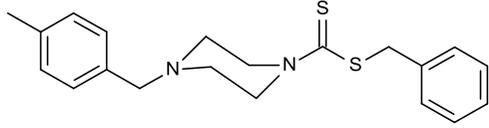
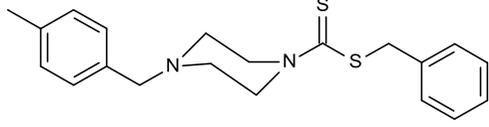
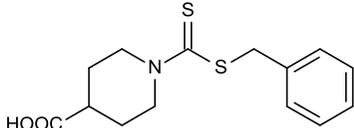
Schl32264 (224)	100μM		+++	2	0	0	0	0		+		+ 24
	25μM		+++	0		0	0	1	0	+		+ 24
	10μM		+++	0		0	0	0		+		+ 48
	5μM		+++	0		0	0	19 17 0	58 65	+		+ 72
	1μM		-	10	10			190 640 630	16 8 10			
Schl32265 (225)	100μM		+++	0		0	0	10	100	+		+ 24
	25μM		+++	0		0	0	1	100	+		+ 24
	10μM		+++	0		0	0	1 1 0	0 100	+	+	+ 72

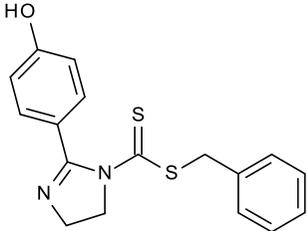
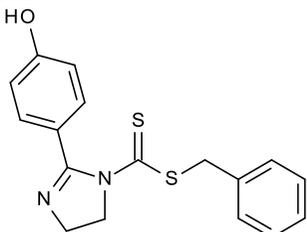
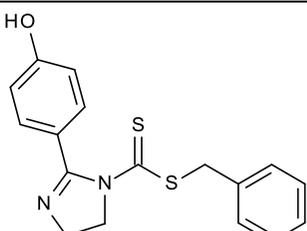
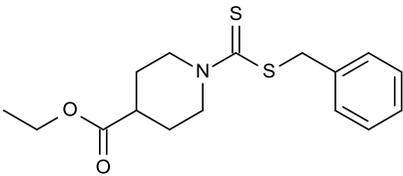
	5 μ M		-	10	6			72 260 348	32 16 20			
	1 μ M		-	10	10			145 563 740	30 6 6			
Schl32276 (229)	100 μ M		+++	0		0	0	0		+		+ 24
	25 μ M		+++	0		0	0	1 27 0	0 9	+	(+)	+ 72
	10 μ M		+++	0		0	0	47 8 0	34 75	+		
	5 μ M		++	0		0	0	28 39 68	21 13 59	+		
	1 μ M		-	10	10			160 467 643	13 6 8			

Derivate mit Variation des Substitutionsmusters am Dithiocarbamat-Stickstoff

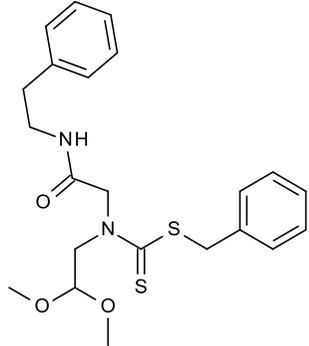
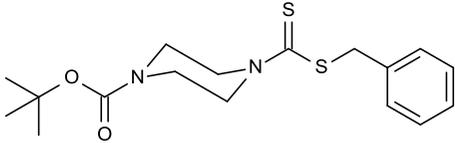
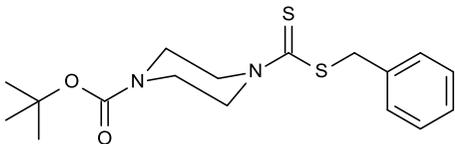
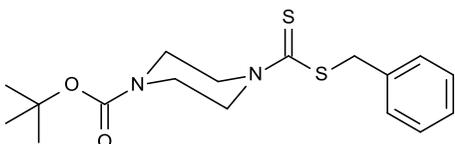
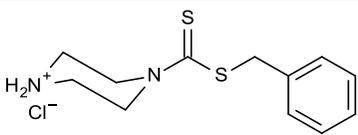
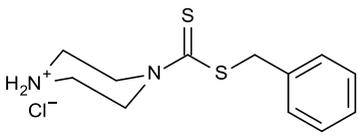
Bezeichnung	Konzentration	Strukturformel	Wirksamkeit	Paare (von 10)	Paare angesaugt	♂ angesaugt	♀ angesaugt	Eizahlen (24/48/72h)	% deformierte Eier	Tegumentschäden	Darmdilatation	Letaler Effekt [h]
Schl32011 (341)	100µM		+++	0		0	0	358 38 3	14 82 100		+	
Schl32012 (182)	100µM		+++	0		0	0	54 0 0	98			
Schl32013 (342)	100µM		-	9	5	0	0	168 329 326	4 9 3			

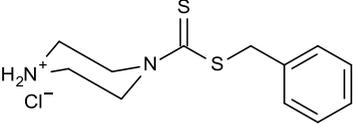
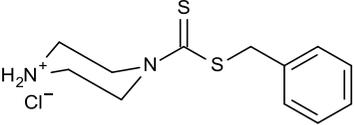
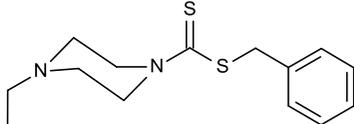
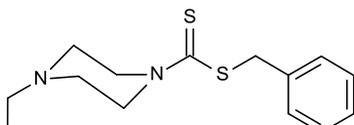
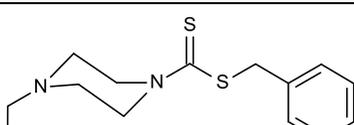
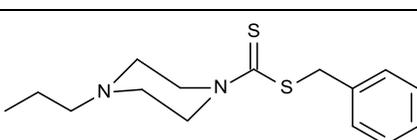
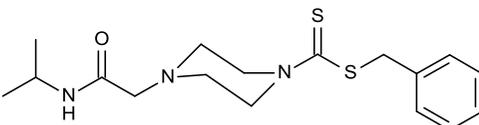
Schl32014 (343)	100μM		-	10	10			207 424 471	3 2 3			
Schl32015 (344)	100μM		-	10	10			155 384 553	3 4 2			
Schl32018 (345)	100μM		-	8	8	1	2	117 139 282	26 20 18			
Schl32019 (346)	100μM		++	0		0	0	316 6 0	51 67			
Schl32020 (347)	100μM		(+)	8	1	0	0	148 143 2	45 40 50			
Schl32026 (348)	100μM		(+)	10	1			274 90 120	26 68 54			
Schl32140 (198)	100μM		++	5	0	0	0	489 46 0	92 100			

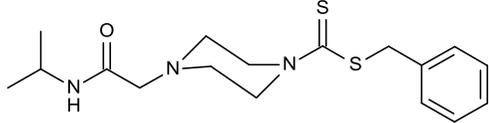
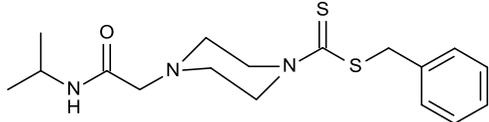
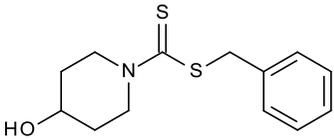
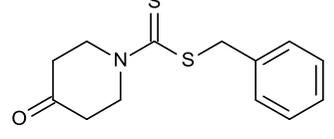
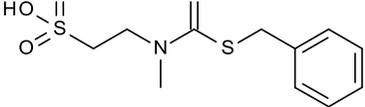
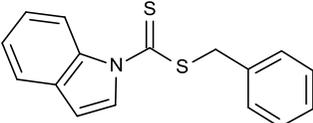
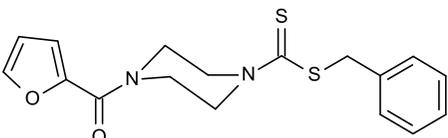
Schl32141 (349)	100μM		-	10	10			294 295 248	26 6 9			
Schl32146 (205)	100μM		(+)	9	0	0	0	1344 1511 437	66 55 83			
Schl32147 (350)	100μM		-	10	10			505 691 910	8 10 2			
Schl32174 (199)	100μM		+++	0		0	0	140 34 0	75 100	(+)		
	25μM		++	3	0	2	0	114 33 39	55 82 79			
	10μM		-	10	9			160 223 209	29 16 14			
Schl32176 (189)	100μM		-	10	10			265 393 760	17 2 6			

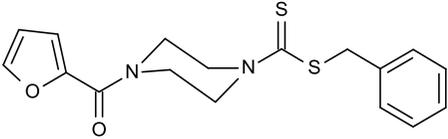
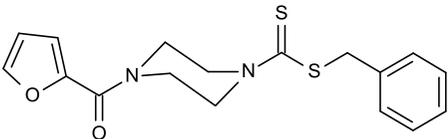
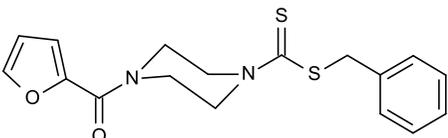
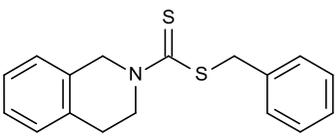
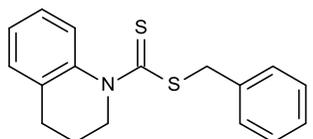
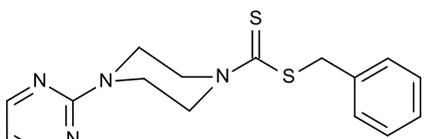
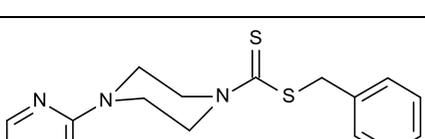
Schl32185 (351)	100μM		+++	0		0	0	4 1 2	50 100 50	+		
	25μM		++	0		0	0	8 5 0	100 60			
	10μM		-	7	4	3	1	202 216 179	19 11 18			
Schl32186 (190)	100μM		+	7	1	0	0	382 356 575	50 10 16			

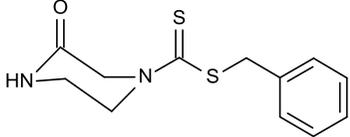
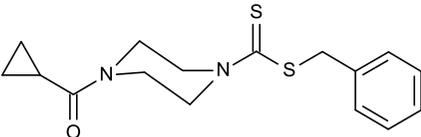
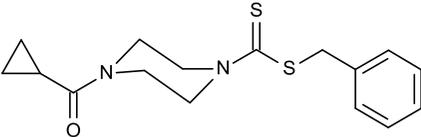
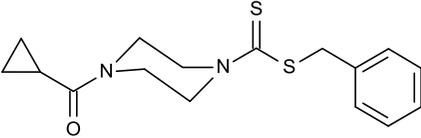
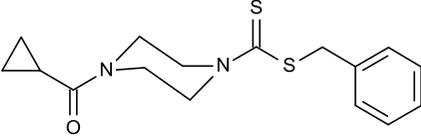
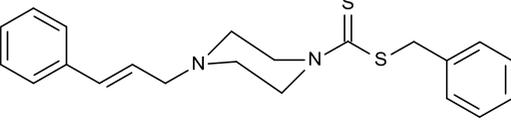
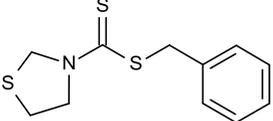
Schl32187 (352)	100µM		+++	0		0	0	0	0		+			
	25µM		+++	0		0	0	6	1	0	83	100	+	
	10µM		++	0		0	0	15	5	3	73	80	66	

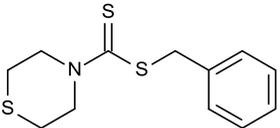
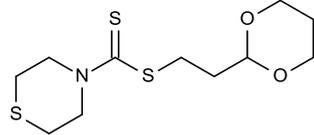
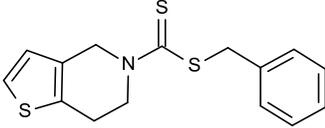
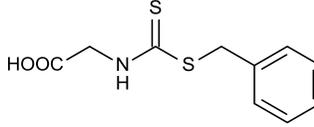
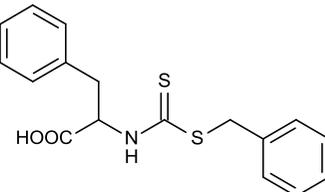
	5 μ M		(+)	7	0	0	0	92 102 186	77 54 34			
Schl32190 (206)	100 μ M		+++	0		0	0	0 0 0			+	
	25 μ M		++	1	0	0	0	61 15 4	59 80 75			
	10 μ M		(+)	6	5	0	0	178 133 87	6 42 45			
Schl32191 (197)	100 μ M		+++	0		0	0	17 0	94	++		
	25 μ M		+++	0		0	0	57 45 22	72 76 85	+	+	

	10μM		+	3	2	2	1	128 107 71	13 32 49	+		
	5μM		-	9	9	1	1	160 337 594	21 15 11			
Schl32192 (200)	100μM		+++	0		0	0	8 0	63		(+)	
	25μM		++	2	0	0	0	88 56 32	58 46 69			
	10μM		-	10	5			221 267 343	15 4 4			
Schl32193 (201)	100μM		+++	0		0	0	45 0 0	73		+	+ 72
Schl32194 (202)	100μM		+++	0		0	0	1 0 0	100		(+)	

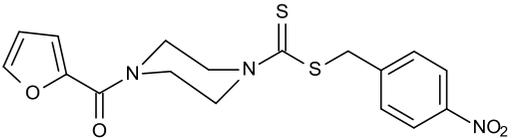
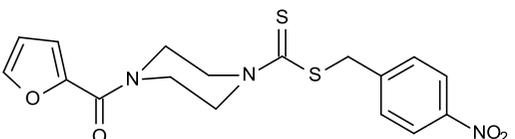
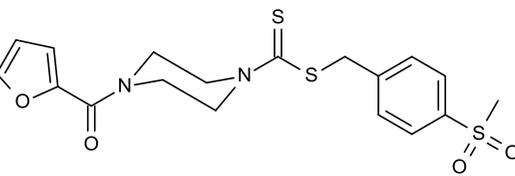
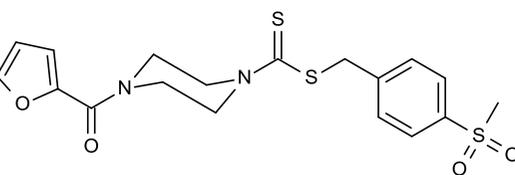
	25μM		+++	1	0	3	0	40 14 3	61 71 67			
	10μM		-	10	8			210 287 325	13 5 5			
Schl32195 (191)	100μM		-	10	0			195 179 497	52 82 64			
Schl32196 (192)	100μM		+	8	2	0	0	194 263 445	74 76 50			
Schl32197 (353)	100μM		++	6	0	0	0	100 21 0	35 90			
Schl32199 (354)	100μM		+++	0		0	0	0 0 0		+	(+)	
Schl32200 (207)	100μM		+++	0		0	0	12 5 0	83 100	+		+ 72

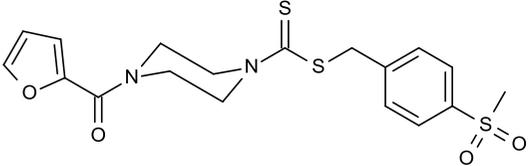
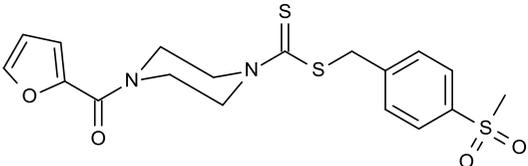
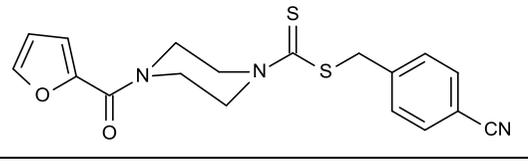
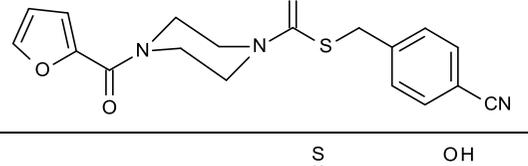
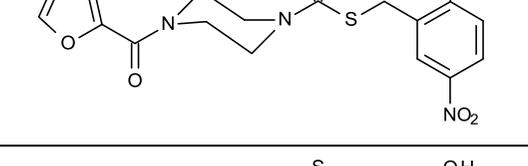
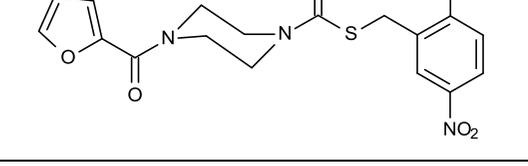
	25μM		+++	0		0	0	26 11 0	73 0	+		
	10μM		++	0		0	0	55 39 49	65 41 40			
	5μM		-	10	10			179 466 707	15 6 12			
Schl32205 (193)	100μM		-	4	0	0	0	96 255 398	89 60 50			
Schl32206 (194)	100μM		-	5	4	3	0	182 434 669	10 21 57			
Schl32207 (203)	100μM		+++	0		0	0	0 1 13	100 100			
	25μM		-	9	0	0	0	236 321 613	14 10 38			

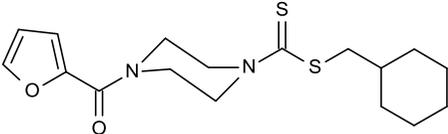
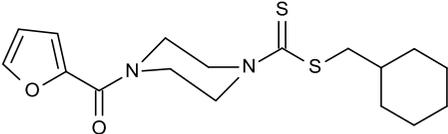
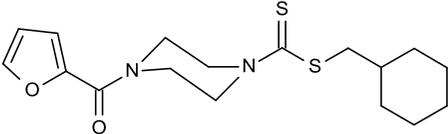
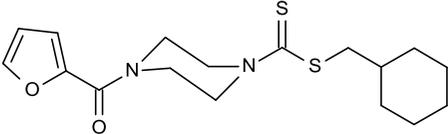
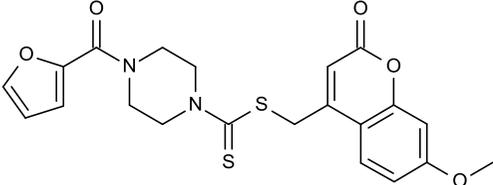
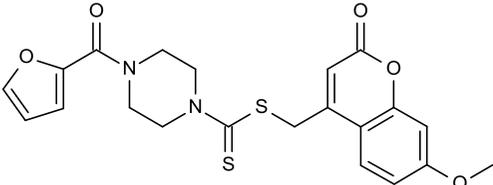
Schl32208 (355)	100μM		++	10	0			0 7 6	86 100			
Schl32209 (208)	100μM		+++	0		0	0	6 0	83	+	(+)	+ 48
	25μM		+++	0		0	0	21 17 2	24 18 100		+	
	10μM		++	0		0	0	55 67 87	62 49 39		+	
	5μM		-	10	9			183 439 678	22 12 15			
Schl32210 (204)	100μM		-	10		0	0	254 400 476	6 6 7			
Schl32211 (356)	100μM		+++	0		0	0	1 0 0	0	+		

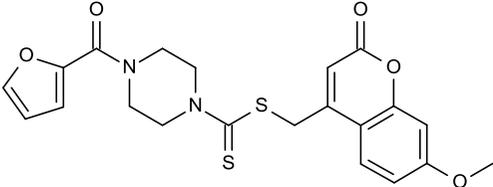
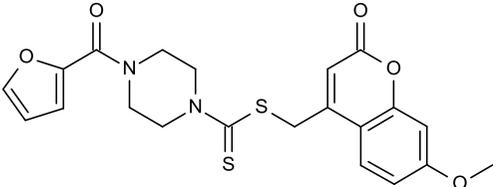
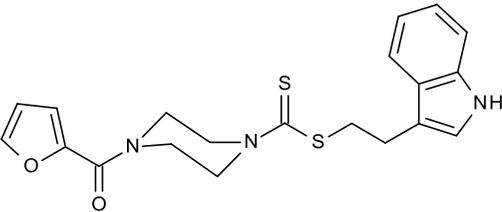
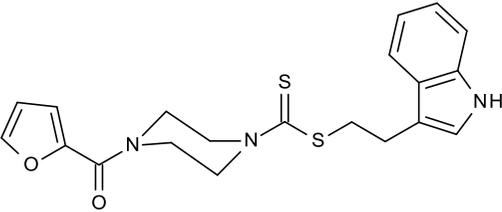
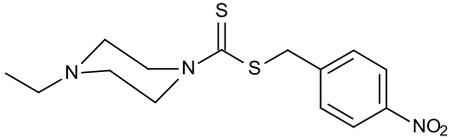
Schl32212 (195)	100µM		++	0		0	0	21 5 3	81 100 100			
Schl32213 (357)	100µM		(+)	8	7	0	0	186 92 85	52 92 85			
Schl32215 (196)	100µM		+	0		0	0	352 396 428	51 59 62			
Schl32225 (358)	100µM		-	8	7	2	1	339 279 389	3 15 16			
Schl32226 (359)	100µM		(+)	3	3	1	0	191 121 87	7 1 9			

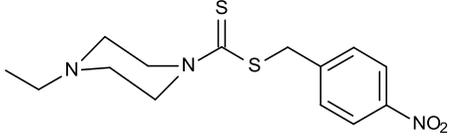
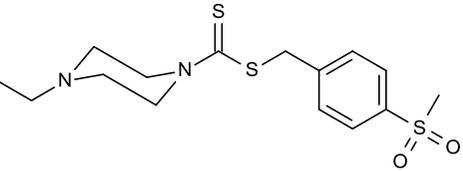
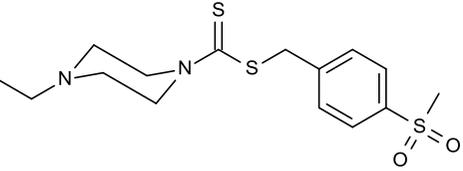
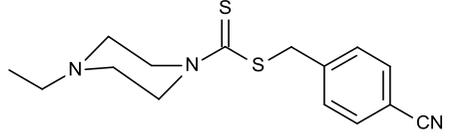
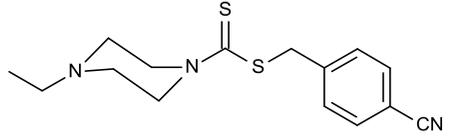
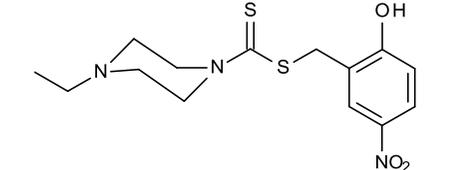
Kombinationsserie der wirksamsten Substituenten

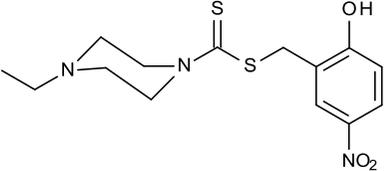
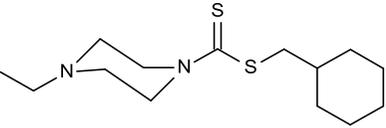
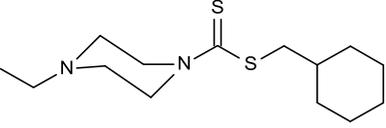
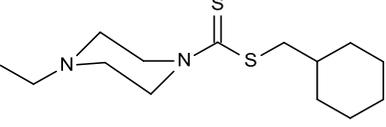
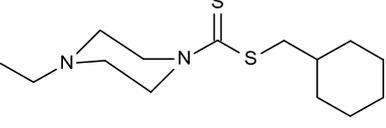
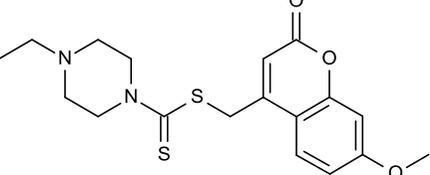
Bezeichnung	Konzentration	Strukturformel	Wirksamkeit	Paare (von 10)	Paare angesaugt	♂ angesaugt	♀ angesaugt	Eizahlen (24/48/72h)	% deformierte Eier	Tegumentschäden	Darmdilatation	Letaler Effekt [h]
Schl32277 (360)	25µM		+++	0		0	0	65 2 0	97 100			
	10µM		-	10	6			317 666 528	45 63 57			
Schl32278 (245)	25µM		+++	0		0	0	5 0 0	100	+		+ 72
	10µM		+++	0		0	0	48 104 50	98 100 100	+		+ 72

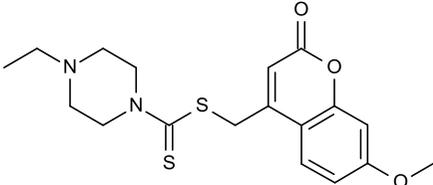
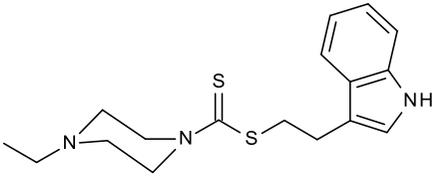
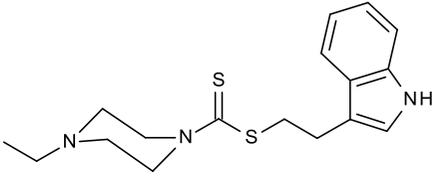
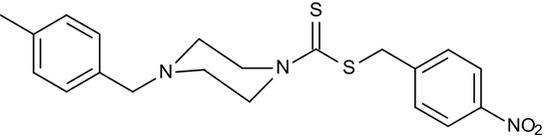
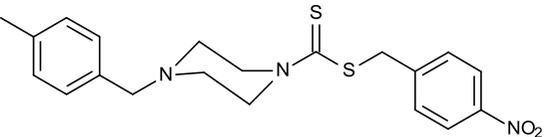
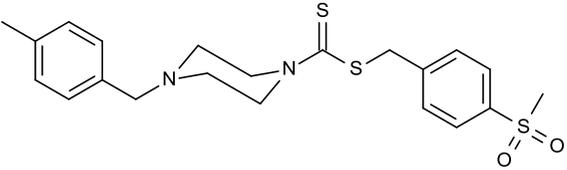
	5 μ M		+++	0		0	0	134 117 31	54 44 68	+		+ 72
	1 μ M		-	10	9			238 411 618	17 18 14			
Schl32279 (361)	25 μ M		++	4	0	0	0	8 0 0	50			
	10 μ M		-	10	8			261 297 484	25 60 41			
Schl32280 (362)	25 μ M		+	3	3	0	0	120 32 21	28 100 90			
	10 μ M		-	10	10			214 337 528	9 23 11			

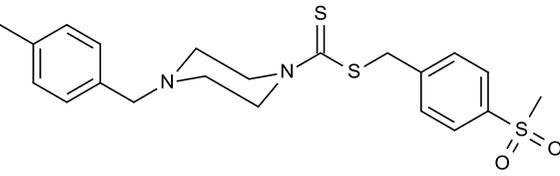
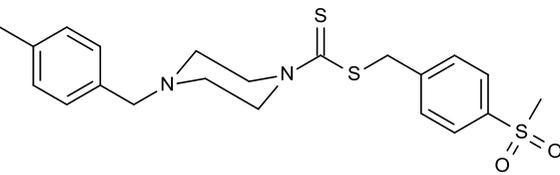
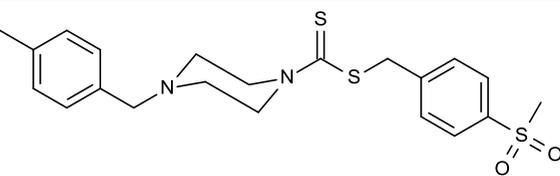
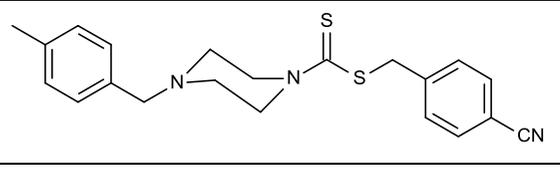
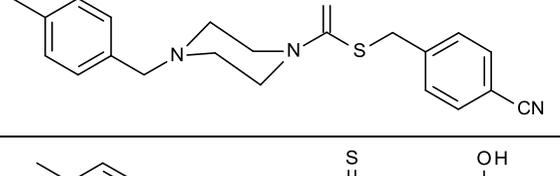
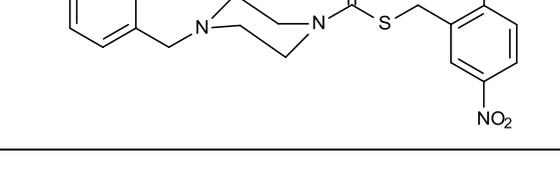
Schl32281 (249)	25µM		+++	9	0	0	0	1	100			+ 24
	10µM		++	7	5	2	0	64 108 53	39 38 36			
	5µM		-	9	6	0	0	65 212 326	45 37 25			
	1µM		-	10	10			110 699 746	37 4 6			
Schl32282 (256)	25µM		+++	0		0	0	8 0	75			+ 48
	10µM		+++	0		0	0	28 3 0	75 100			+ 72

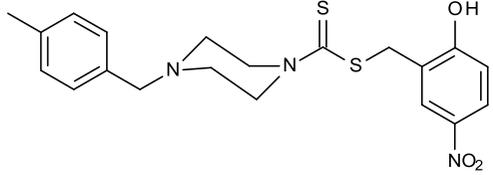
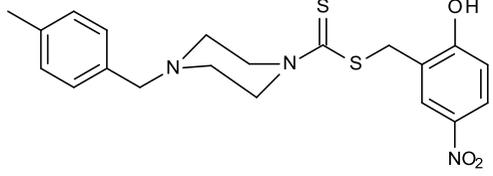
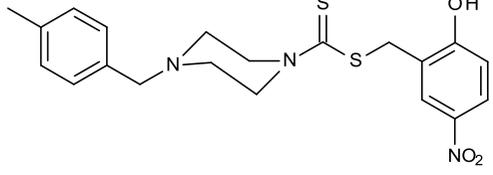
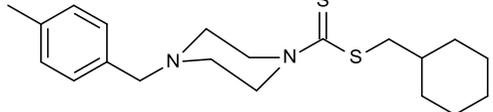
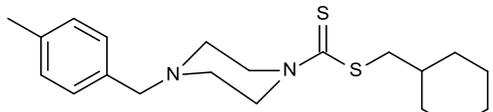
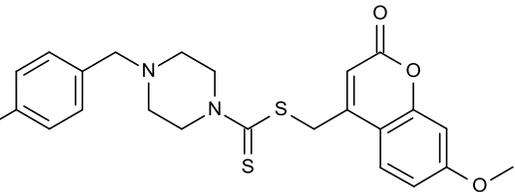
	5 μ M		+++	0	0	0	42 15 9	74 73 89	(+)		+ 72
	1 μ M		+	4	0	0	133 275 183	41 22 39			
Schl32283 (363)	25 μ M		+++	0	0	0	4 0 0	50	(+)	+	
	10 μ M		-	10	10		295 138 91	23 85 74			
Schl32284 (292)	25 μ M		+++	0	0	0	74 31 0	97 97			

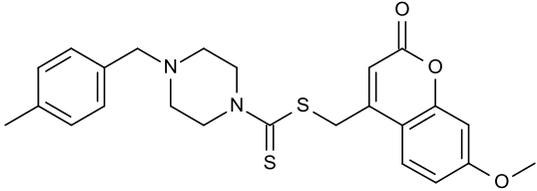
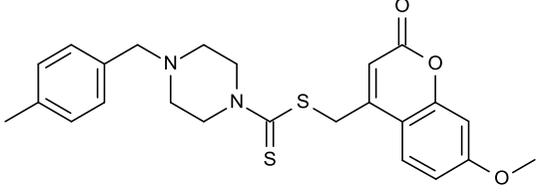
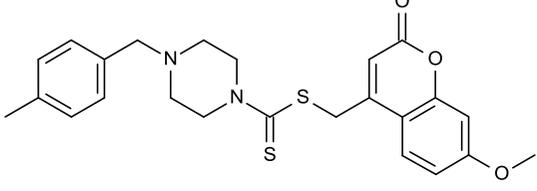
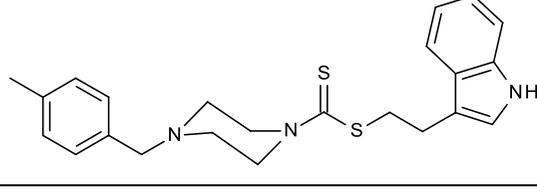
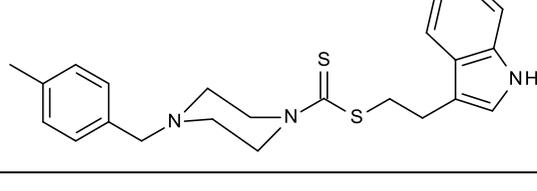
	10μM		-	9	0	0	0	262 486 405	47 84 99			
Schl32285 (364)	25μM		-	10	9			648 272 317	33 16 33			
	10μM		-	10	9			433 474 570	3 3 3			
Schl32286 (365)	25μM		+	10	9			42 4 12	99 100 100			
	10μM		-	10	9			1120 1026 882	61 77 90			
Schl32287 (366)	25μM		+++	0		0	0	0 2 18	50 100			

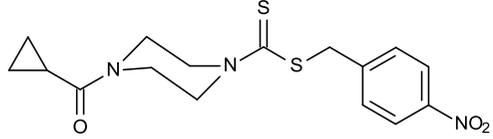
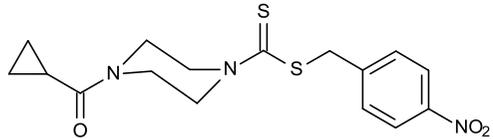
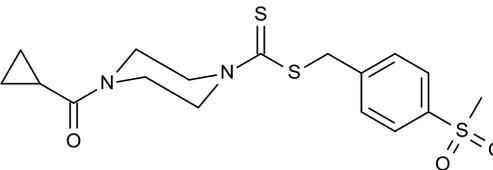
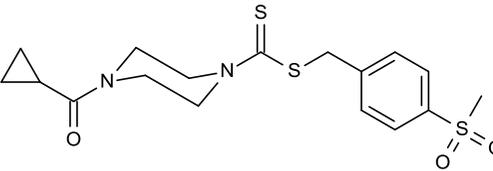
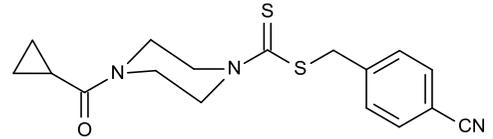
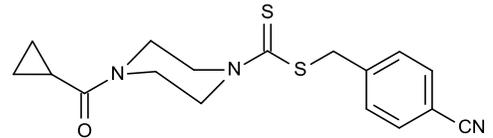
	10μM		-	10	10			100 221 418	40 30 30			
Schl32288 (250)	25μM		+++	0		0	0	2 0 0	50			+ 72
	10μM		++	8	0	0	0	4 3 2	25 67 100			
	5μM		+	3	0	0	0	30 73 138	70 67 49			
	1μM		-	10	5			54 378 520	61 17 14			
Schl32289 (367)	25μM		+	8		0	0	79 224 31	94 97 97			

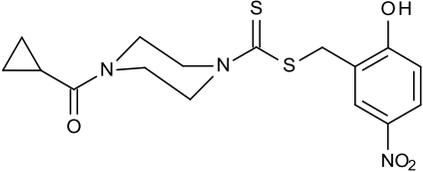
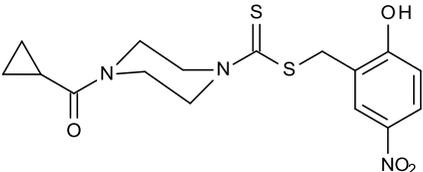
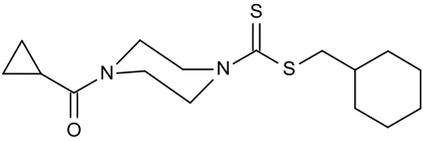
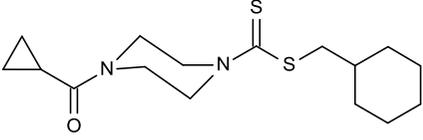
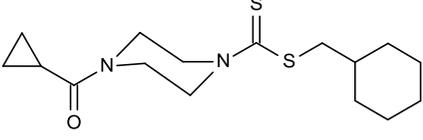
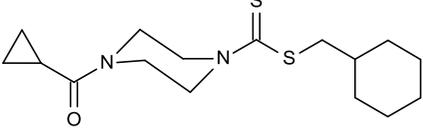
	10μM		-	10	10			131 640 392	60 84 60			
Schl32290 (368)	25μM		+++	0	0	0	0	14 0 0	100	+	+	
	10μM		+	6	0	0	0	175 104 0	76 94			
Schl32291 (369)	25μM		+	0	0	0	0	44 122 199	57 64 56			
	10μM		-	9	9	1	1	78 274 335	60 57 35			
Schl32292 (246)	25μM		+++	1	0	0	0	11	0			+ 24

	10 μ M		+++	4	0	0	0	48	15			+ 24
	5 μ M		-	10	10			103 327 484	25 19 15			
	1 μ M		-	10	10			300 539 763	10 5 7			
Schl32293 (370)	25 μ M		+++	0		0	0	87 0	41			+ 48
	10 μ M		-	9	6	1	0	221 271 349	19 14 12			
Schl32294 (247)	25 μ M		+++	0		0	0	2	0	+		+ 24

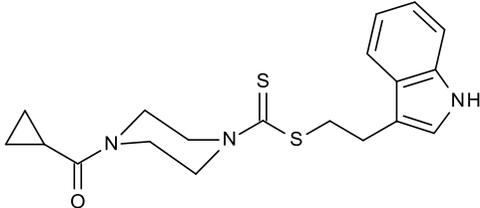
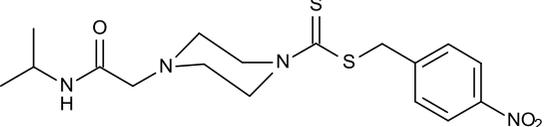
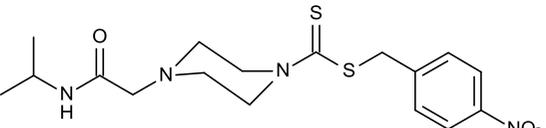
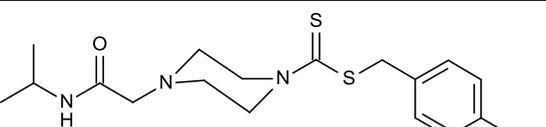
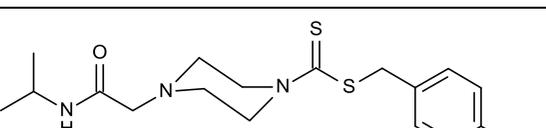
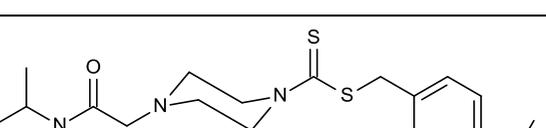
	10μM		+++	3	0	0	0	19	16	+		+ 24
	5μM		+++	0		0	0	27 9	30 78	(+)		+ 48
	1μM		++	0		1	0	59 27 19	47 70 84			
Schl32295 (371)	25μM		+	9	6	0	0	129 67 89	29 31 38			
	10μM		-	10	10			193 277 399	16 19 18			
Schl32296 (257)	25μM		+++	0		0	0	150 25 0	15 32	+		+ 72

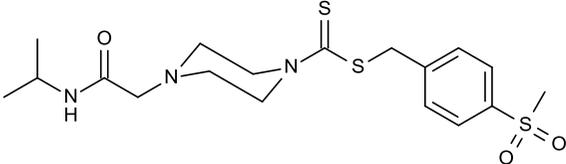
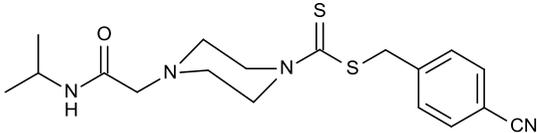
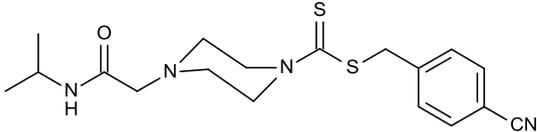
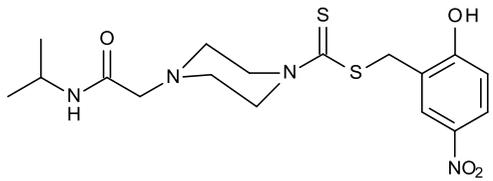
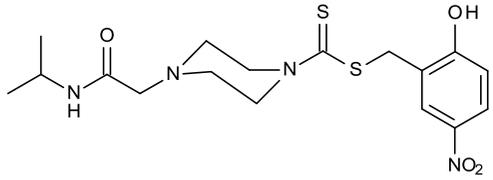
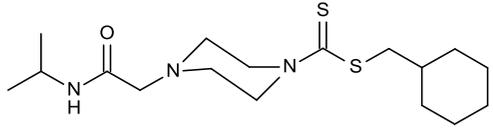
	10μM		+++	0		0	0	232 94 11	6 33 27	(+)	+	+ 72
	5μM		-	10	10			308 675 710	10 9 9			
	1μM		-	10	10			332 729 845	4 4 5			
Schl32297 (372)	25μM		++	0		0	0	138 17 0	25 24			
	10μM		-	10	8			302 187 431	7 18 14			

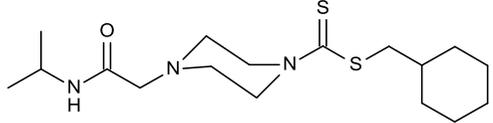
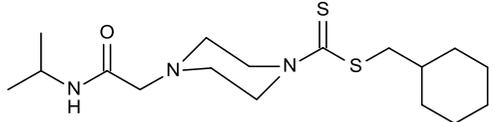
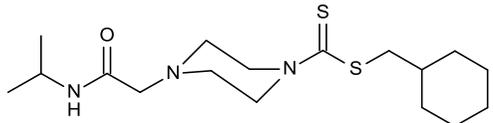
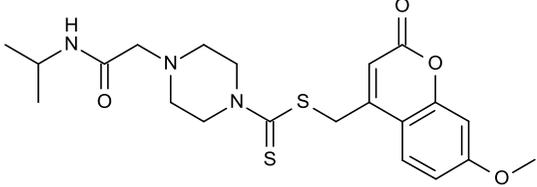
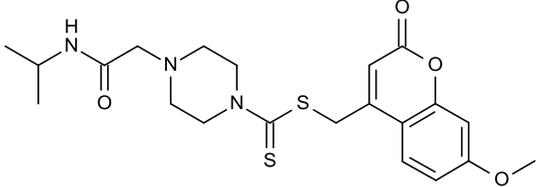
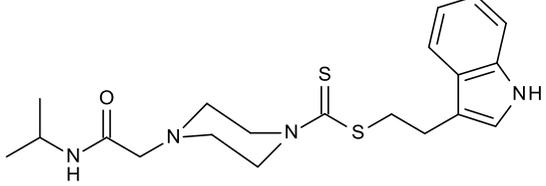
Schl32298 (373)	25µM		+++	0	0	0	5 0 0	60			
	10µM		-	10	9		706 485 503	31 48 23			
Schl32299 (374)	25µM		-	10	10		227 377 135	91 40 82			
	10µM		-	10	10		554 649 614	65 51 15			
Schl32300 (375)	25µM		+	4	0	0	106 209 329	92 98 82			
	10µM		-	10	10		822 655 598	71 57 44			

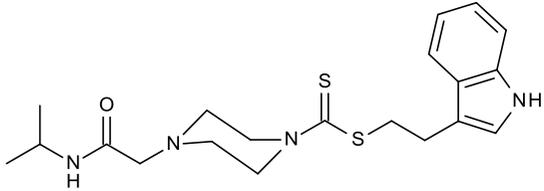
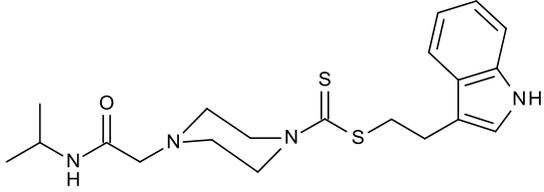
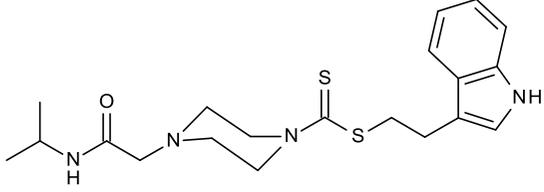
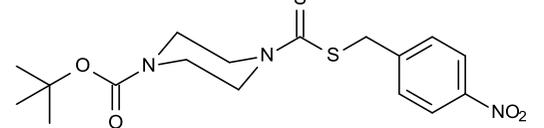
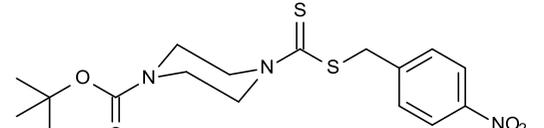
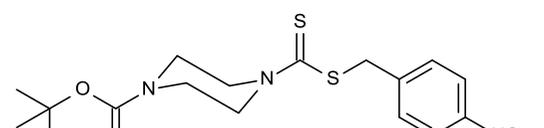
Schl32301 (376)	25µM		-	10	10			151 196 659	24 24 8			
	10µM		-	10	10			413 278 802	51 57 35			
Schl32302 (251)	25µM		+++	0		0	0	5 0 0	100			
	10µM		++	9	0	0	0	22 20 10	41 65 40			
	5µM		-	10	5			70 273 399	33 27 20			
	1µM		-	10	10			115 669 762	25 8 6			

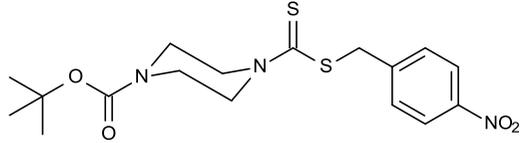
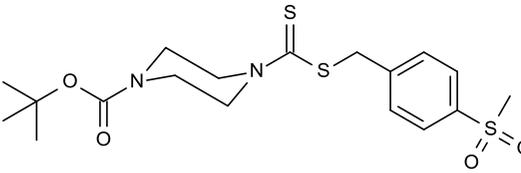
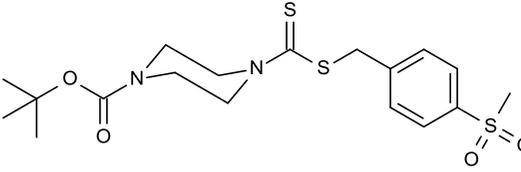
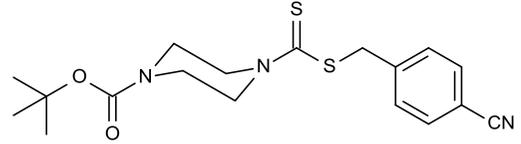
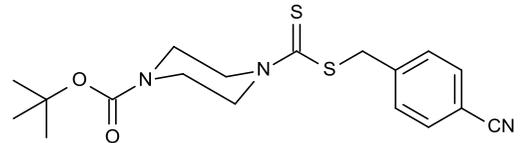
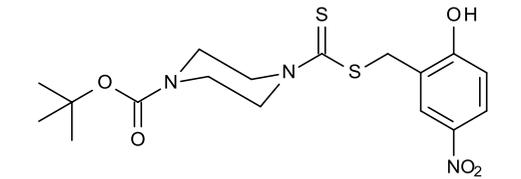
Schl32303 (377)	25μM		-	10	10			173 331 270	20 11 14			
	10μM		-	10	10			246 397 480	11 10 18			
Schl32304 (253)	25μM		+++	0		0	0	49 5 0	25 80	+	(+)	+ 72
	10μM		++	0		0	0	70 17 1	27 65 100	(+)		
	5μM		-	10	6			217 559 731	25 6 7			

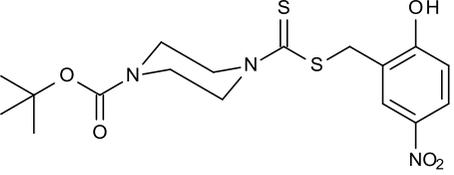
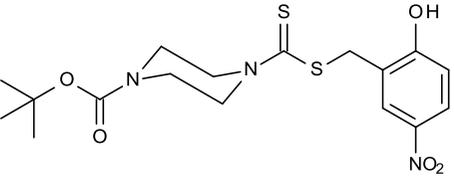
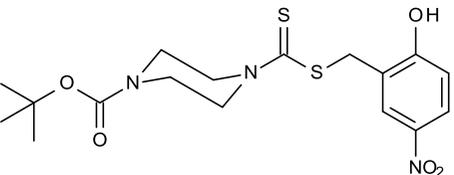
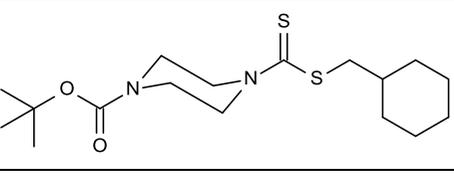
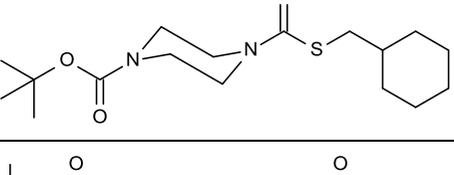
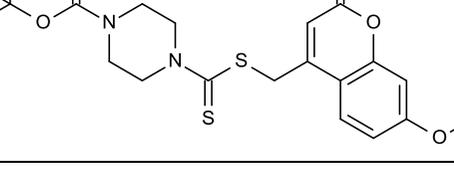
	1 μ M		-	10	10			316 788 847	7 5 5			
Schl32305 (243)	25 μ M		+++	0		0	0	0 0			+	+ 48
	10 μ M		+++	0		0	0	8 4 8	38 75 75		(+)	
	5 μ M		-	10	8			56 570 597	30 12 10			
	1 μ M		-	10	10			307 655 777	7 5 5			
Schl32306 (378)	25 μ M		-	7	0	0	0	71 105 237	28 32 19			

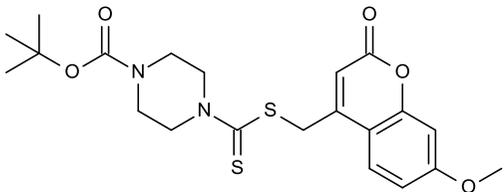
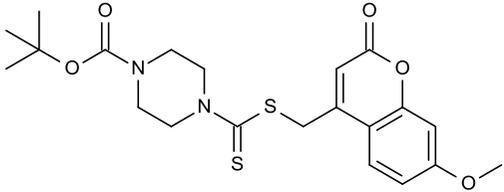
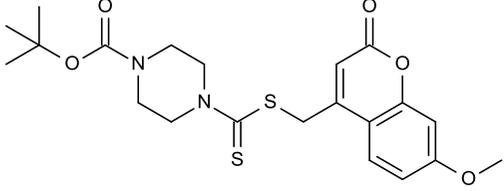
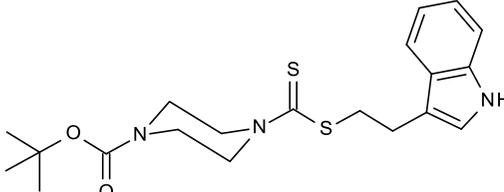
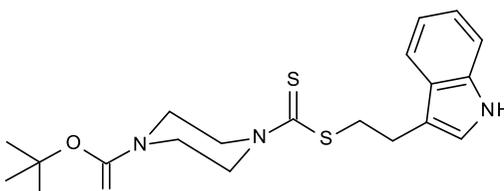
	10μM		-	10	10			213 431 490	4 8 6			
Schl32307 (379)	25μM		+	6	0	0	0	60 186 112	38 44 56			
	10μM		-	10	10			182 308 458	24 3 5			
Schl32308 (380)	25μM		++	0		0	0	72 118 103	74 60 57	+		
	10μM		-	10	10			97 408 555	27 11 7			
Schl32309 (252)	25μM		+++	0		0	0	0		+		+ 24

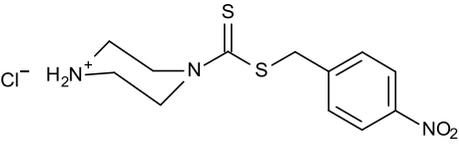
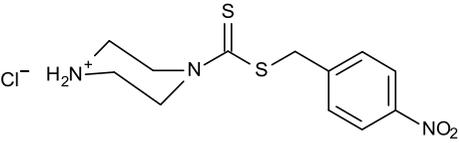
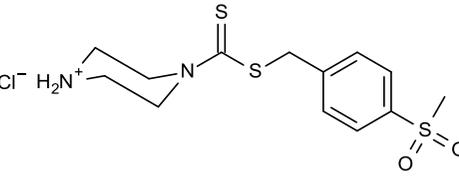
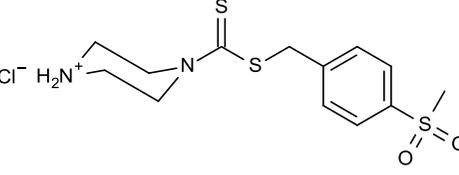
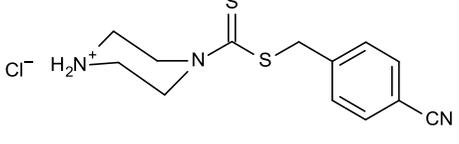
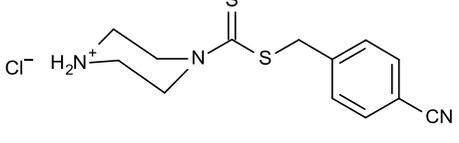
	10μM		+++	10	0			6	83		(+)	+ 24
	5μM		+	9	0	0	0	122 95 90	45 80 60			
	1μM		(+)	10	0			47 126 206	60 62 47			
Schl32310 (381)	25μM		+++	0		0	0	75 35 14	56 74 64	+	+	
	10μM		+	4	0	0	0	174 140 128	58 58 60			
Schl32311 (254)	25μM		+++	0		0	0	3	33			+ 24

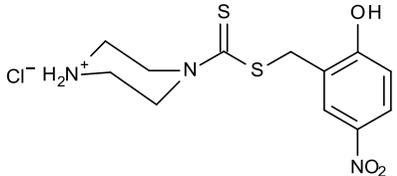
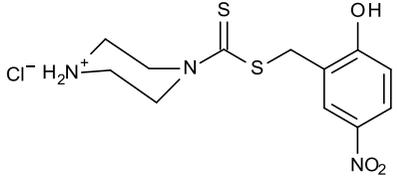
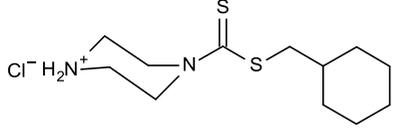
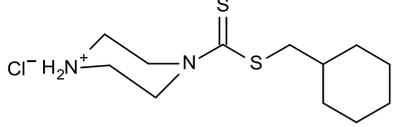
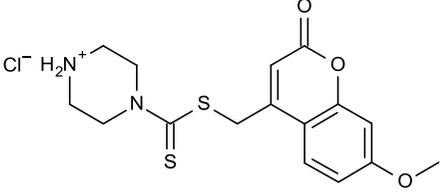
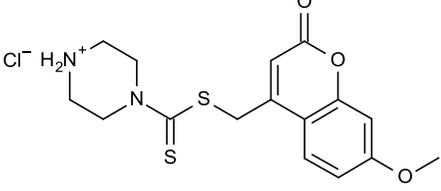
	10μM		+++	0		0	0	20 4	70 75	+		+ 48
	5μM		++	3	0	0	0	108 18 3	61 67 100			
	1μM		-	10	10			318 527 613	15 6 7			
Schl32312 (244)	25μM		+++	2	0	0	0	12	75			+ 24
	10μM		+++	1	0	0	0	70 51 11	67 69 82	+		+ 72
	5μM		(+)	10	7			106 89 108	44 57 61			

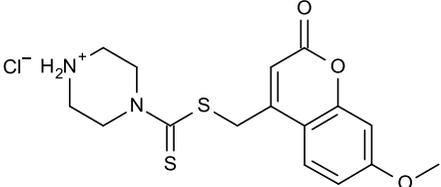
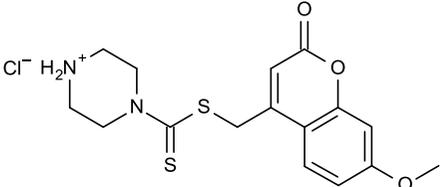
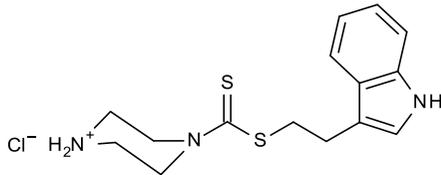
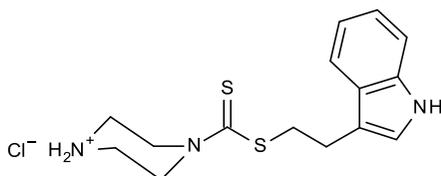
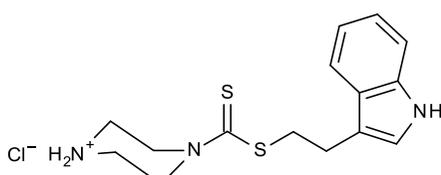
	1μM		-	10	10			240 567 530	12 9 8			
Schl32313 (382)	25μM		-	10	0			202 368 435	22 21 16			
	10μM		-	10	10			232 469 631	6 11 10			
Schl32314 (383)	25μM		+++	0		0	0	18	28		+	+ 24
	10μM		+	10	5			71 41 25	35 66 64			
Schl32315 (248)	25μM		+++	0		0	0	1	0		+	+ 24

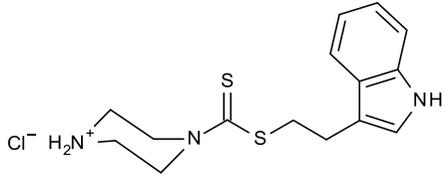
	10μM		+++	1	0	0	0	73 8	58 63		+	+ 48
	5μM		+++	0		0	0	112 71 49	44 42 71			+ 72
	1μM		-	10	10			401 658 742	4 5 7			
Schl32316 (384)	25μM		++	6	2	0	0	39 14 1	64 93 100			
	10μM		-	10	10			100 262 385	38 16 17			
Schl32317 (258)	25μM		+++	0		0	0	16	31		+	+ 24

	10 μ M		+++	1	0	0	0	122 37	37 62	(+)	+	+ 48
	5 μ M		+++	2	0	0	0	237 130 46	26 22 76		+	+ 72
	1 μ M		-	10	10			340 721 783	6 4 9			
Schl32318 (385)	25 μ M		+++	0		0	0	5 0	80	+		+ 48
	10 μ M		-	10	5			101 203 271	38 25 25			

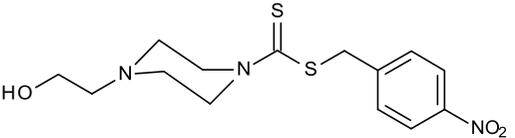
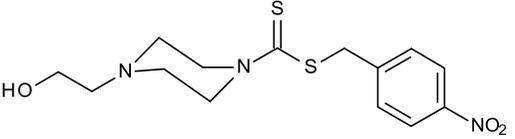
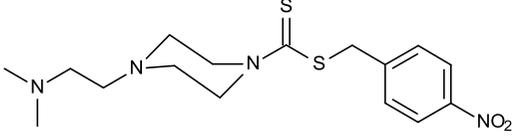
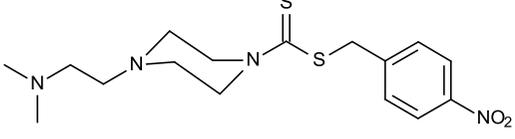
Schl32319 (281)	25µM		+++	0		0	0	5 1	40 100	+	+	+ 48
	10µM		+	5	0	0	0	37 129 209	24 29 34			
Schl32320 (387)	25µM		+++	0		0	0	150 52	21 79			+ 48
	10µM		-	10	6			277 328 508	10 16 16			
Schl32321 (388)	25µM		+++	0		0	0	25 10 3	32 60 100	+		+ 72
	10µM		-	10	10			141 279 668	30 18 14			

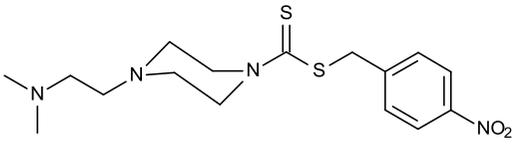
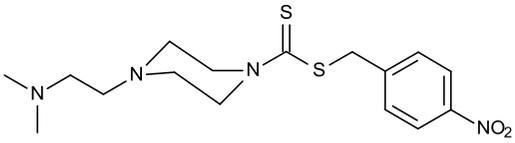
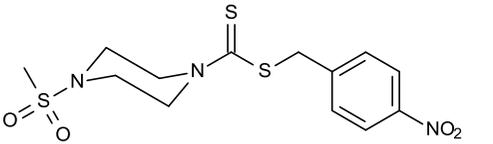
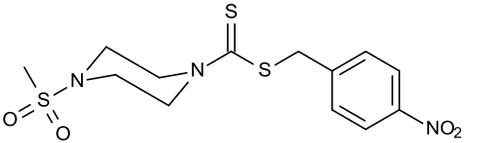
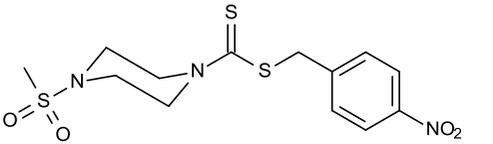
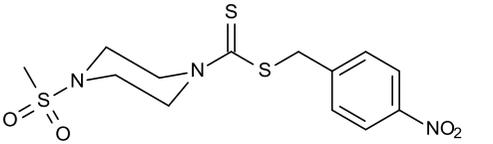
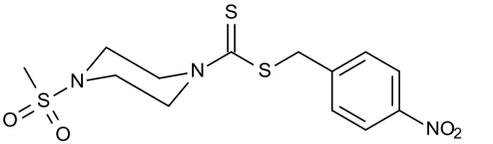
Schl32322 (389)	25µM		-	7	4	0	0	138 310 483	27 20 16			
	10µM		-	10	10			217 596 643	19 4 5			
Schl32323 (390)	25µM		+++	0		0	0	12 0	17	+	+	+ 48
	10µM		+	4	0	0	0	140 168 65	23 45 74			
Schl32324 (259)	25µM		+++	0		0	0	44 0 0	41	+		+ 72
	10µM		+++	0		0	0	89 63 29	26 62 72		+	

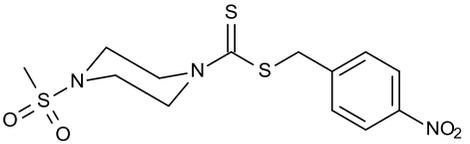
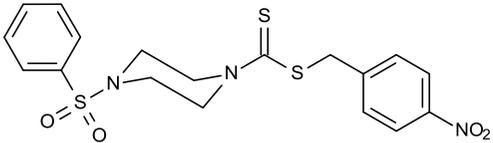
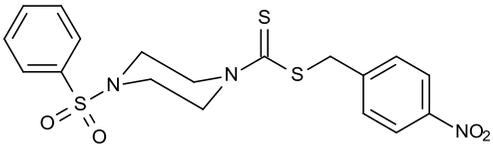
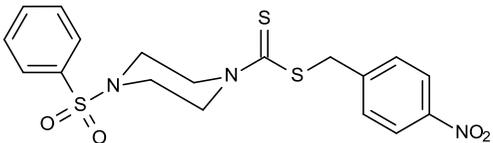
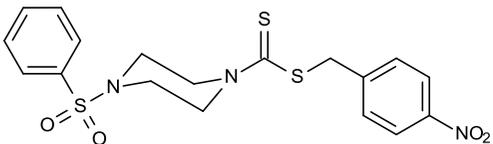
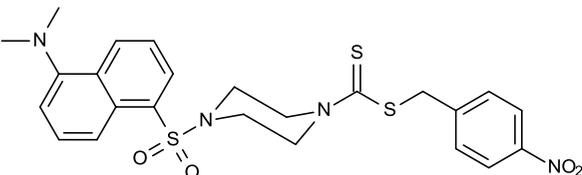
	5 μ M		-	6	4	0	0	76 359 550	32 13 9			
	1 μ M		-	10	10			119 698 763	28 6 6			
Schl32325 (255)	25 μ M		+++	0		0	0	13	31	+		+ 24
	10 μ M		+++	0		0	0	59 4 0	48 75	+		
	5 μ M		-	10	0			329 521 617	16 14 13			

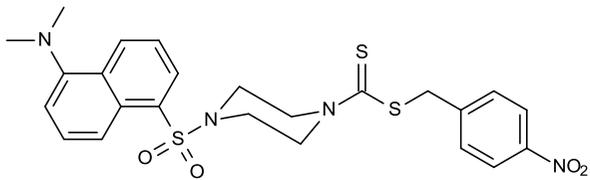
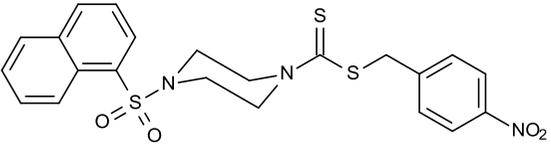
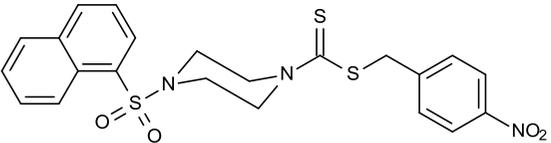
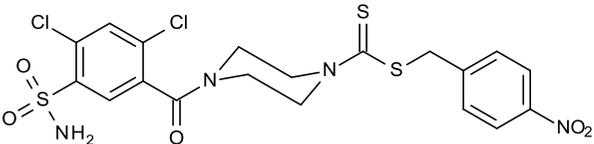
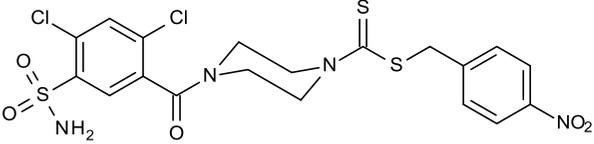
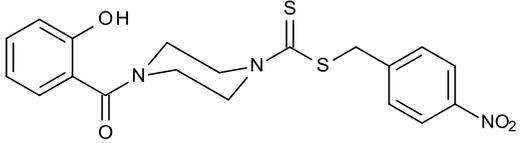
	1 μ M		-	10	10			340 815 871	9 4 6			
--	-----------	--	---	----	----	--	--	-------------------	-------------	--	--	--

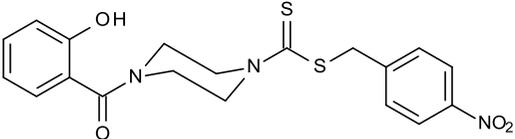
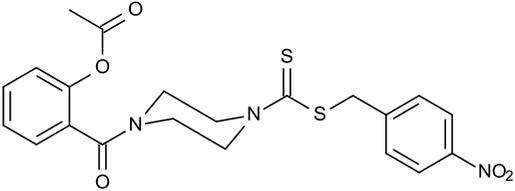
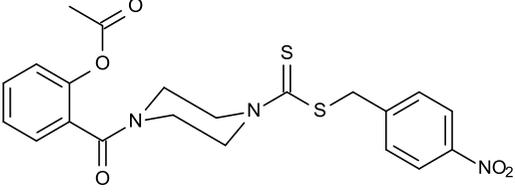
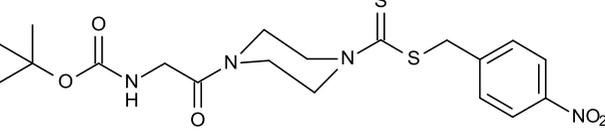
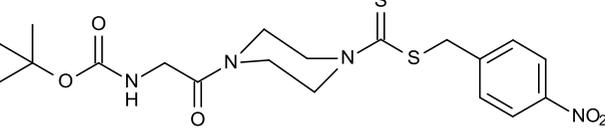
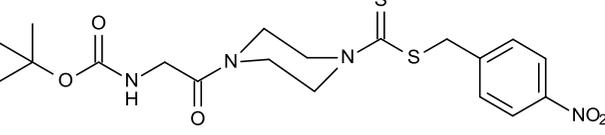
Derivate mit ((4-Nitrophenyl)methyl)piperazin-1-dithiocarboxylat-Grundstruktur

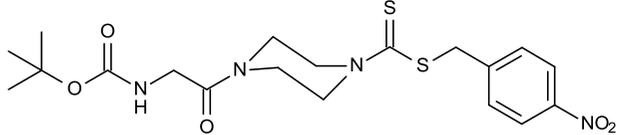
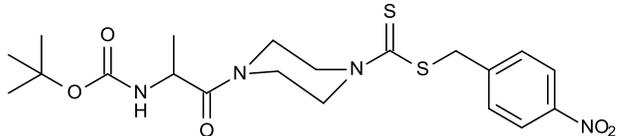
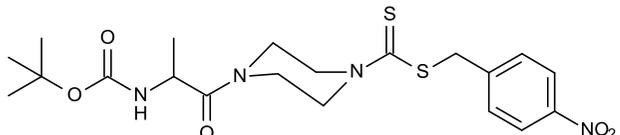
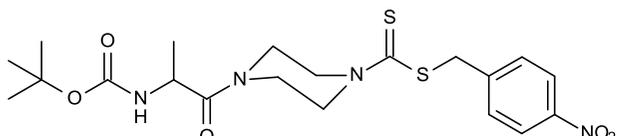
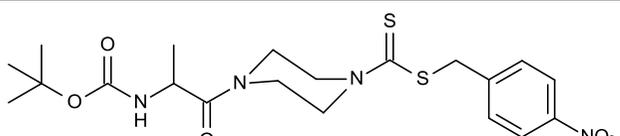
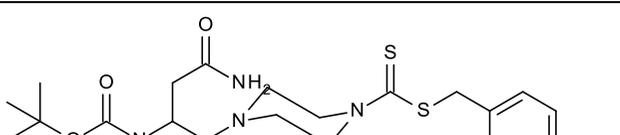
Bezeichnung	Konzentration	Strukturformel	Wirksamkeit	Paare (von 10)	Paare angesaugt	♂ angesaugt	♀ angesaugt	Eizahlen (24/48/72h)	% deformierte Eier	Tegumentschäden	Darmdilatation	Letaler Effekt [h]
Schl32327 (277)	25µM		-	3	0	0	0	87 452 520	39 12 16			
	10µM		-	9	0	0	0	177 551 632	21 8 8			
Schl32328 (278)	25µM		+++	0		0	0	25 9 2	72 67 100	+		+ 72
	10µM		+++	0		0	0	52 18 7	29 72 86	(+) (+)	+	

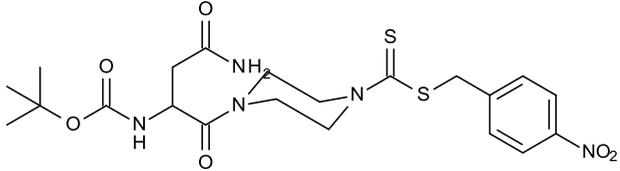
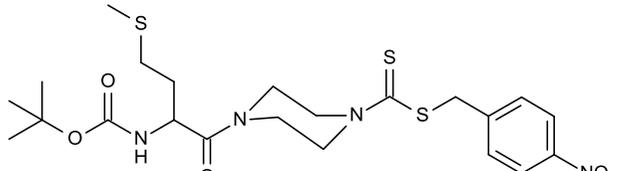
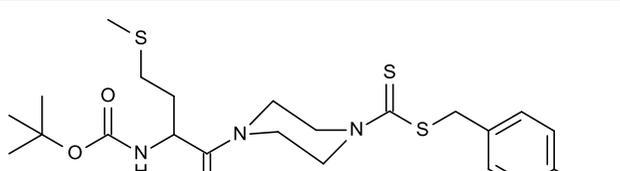
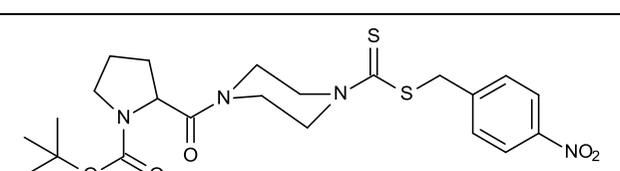
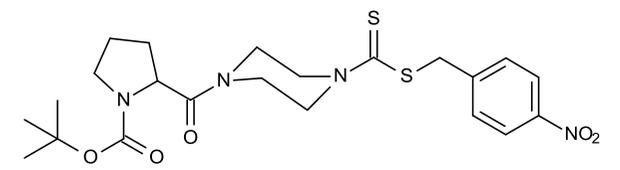
	5 μ M		-	4	2	4	0	84 127 192	75 65 45			
	1 μ M		-	9	9	0	0	155 360 530	14 12 10			
Schl32329 (286)	25 μ M		+++	0		0	0	19 4	31 75	+	(+)	+ 48
	10 μ M		+++	0		0	0	26 11	65 82	+	(+)	+ 48
	5 μ M		+++	0		0	0	43 34	44 85	+		+ 48
	1 μ M		+++	0		0	0	147 48 33	21 77 70	(+)	(+)	+ 72
	0.5 μ M		-	10	10			189 220 419	27 33 28			

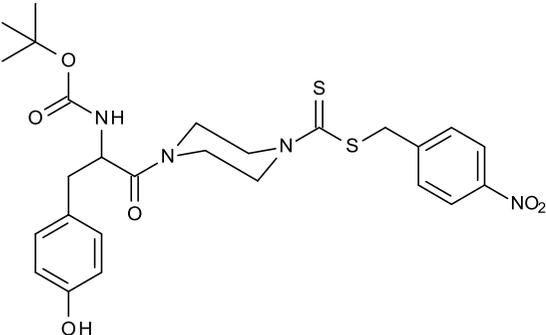
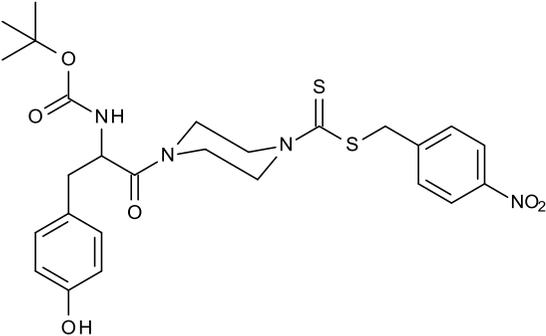
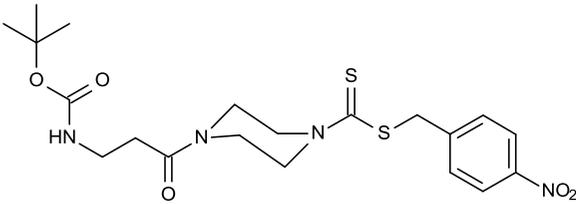
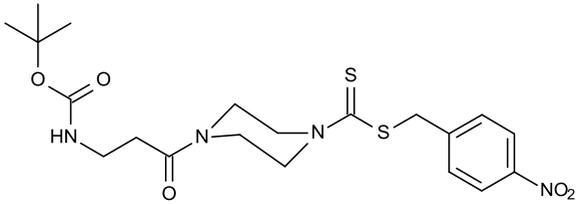
	0.1μM		-	10	10			343 483 698	10 11 11			
Schl32330 (283)	25μM		+++	0		0	0	169 66 28	33 62 82	+	+	
	10μM		+++	0		0	0	234 97 57	19 68 75		+	
	5μM		+++	0		0	0	318 124 76	14 43 76		+	
	1μM		-	10	8			416 266 386	6 18 16			
Schl32331 (284)	25μM		-	7	7	3	0	140 276 363	42 17 14			

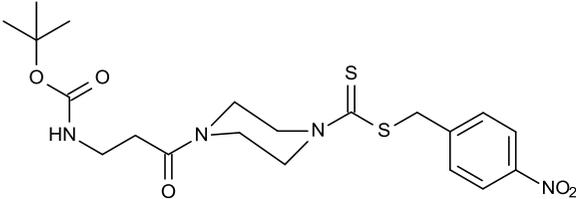
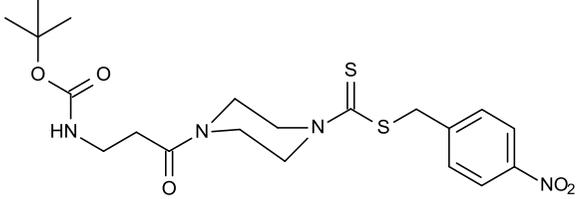
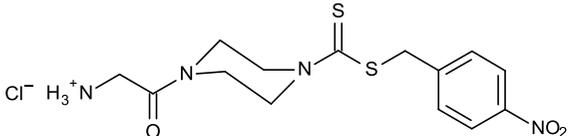
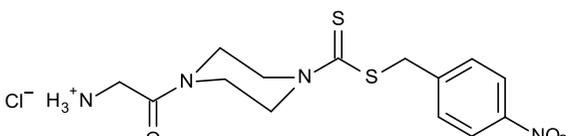
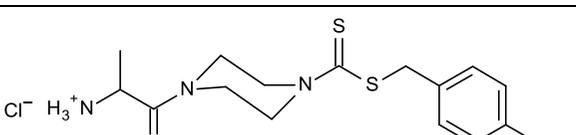
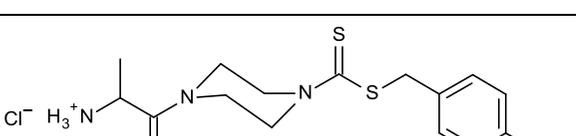
	10 μ M		-	10	10			168 421 523	38 9 8			
Schl32332 (285)	25 μ M		-	10	10			133 272 420	33 20 9			
	10 μ M		-	10	10			193 521 649	13 7 5			
Schl32333 (391)	25 μ M		-	9	0	0	0	168 259 387	45 27 15			
	10 μ M		-	8	0	0	0	178 411 564	34 12 5			
Schl32334 (392)	25 μ M		-	10	10			175 518 540	19 8 10			

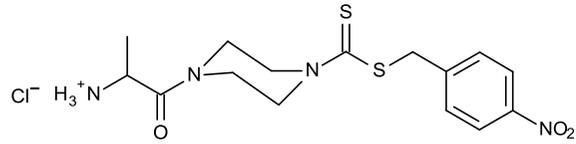
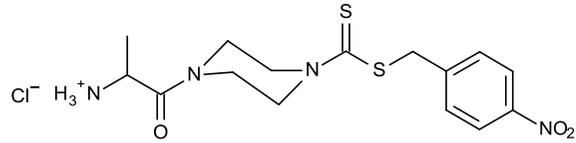
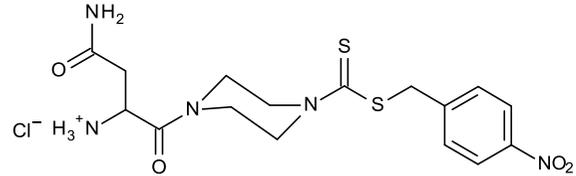
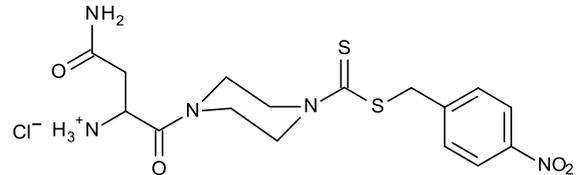
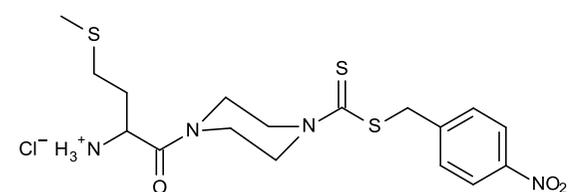
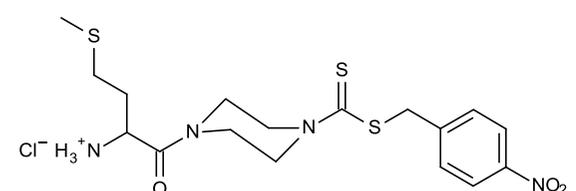
	10 μ M		-	10	10			222 542 562	8 4 9			
Schl32335 (393)	25 μ M		++	0		0	0	90 139 123	43 37 46	+		
	10 μ M		-	10	10			150 250 381	28 18 14			
Schl32336 (261)	25 μ M		+++	0		0	0	47 0 0	62	+	(+)	
	10 μ M		++	0		0	0	96 33 12	61 58 75			
	5 μ M		-	10	4			282 122 198	44 74 67			

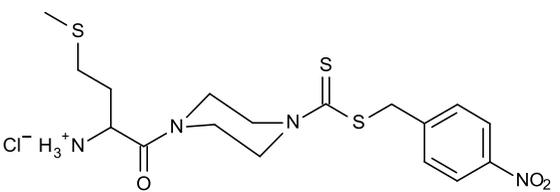
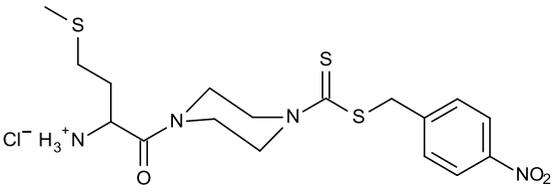
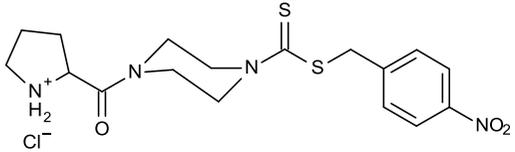
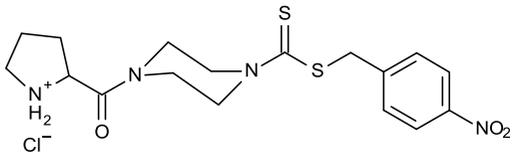
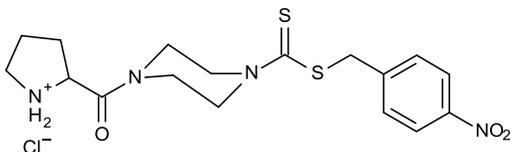
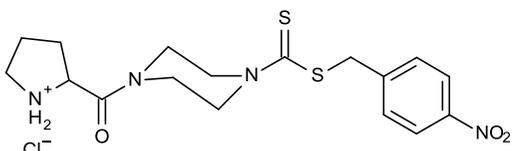
	1μM		-	10	10			287 620 951	4 9 8			
Schl32337 (262)	25μM		+++	1	0	0	0	18	17	+		+ 24
	10μM		+++	0		0	0	43 17	30 35	+	+	+ 48
	5μM		-	10	6			266 130 247	65 62 42			
	1μM		-	10	10			292 686 983	10 6 5			
Schl32338 (263)	25μM		++	0		0	0	27 0 1	59 100			

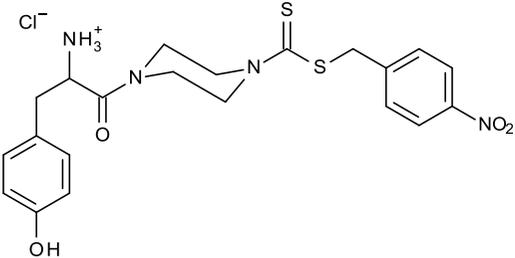
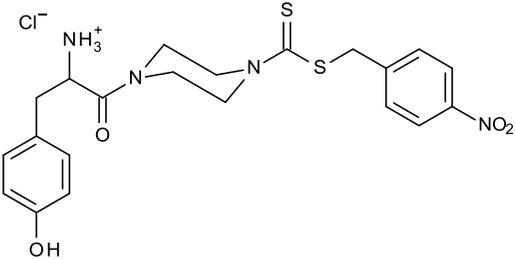
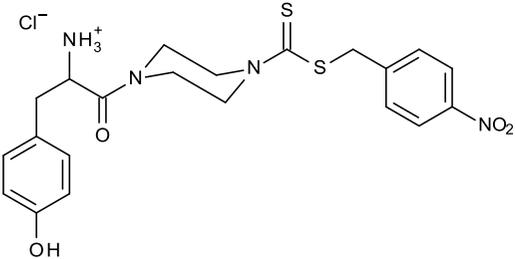
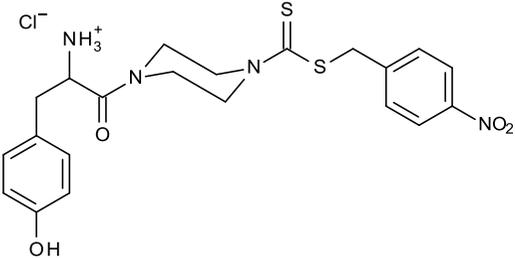
	10 μ M		++	0	0	0	78 34 21	42 71 57			
Schl32339 (264)	25 μ M		+	4	0	0	53 113 173	36 27 34			
	10 μ M		-	7	0	0	98 141 216	69 50 38			
Schl32340 (265)	25 μ M		+++	0	0	0	68 0 0	40	(+)		
	10 μ M		++	0	0	0	117 19 7	31 68 86			

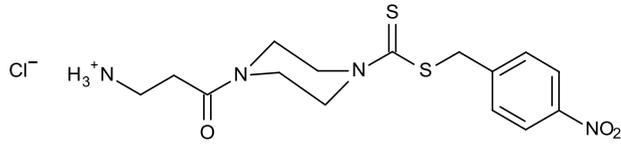
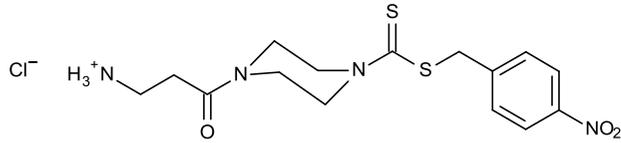
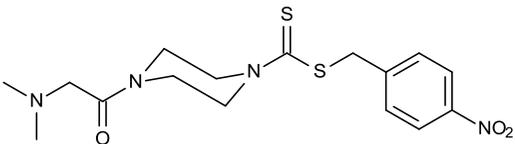
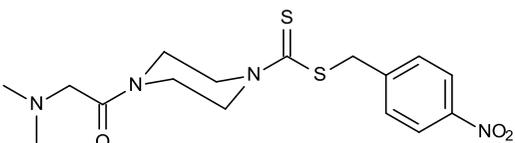
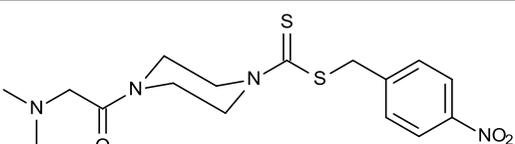
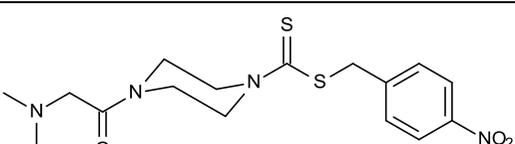
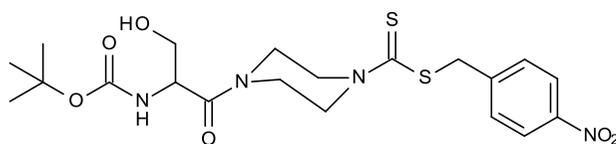
Schl32341 (266)	25 μ M		++	0	0	0	80 75 128	33 41 40			
	10 μ M		-	0	0	0	139 206 276	22 21 22			
Schl32342 (267)	25 μ M		+++	0	0	0	17 0	24	+	+	+ 48
	10 μ M		++	0	0	0	47 31 29	28 29 41			

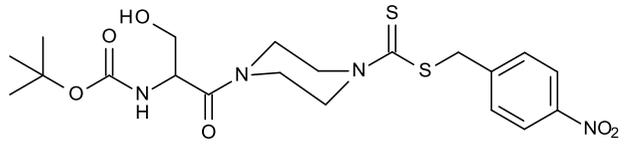
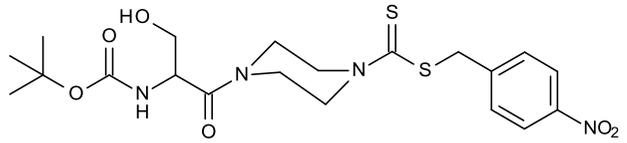
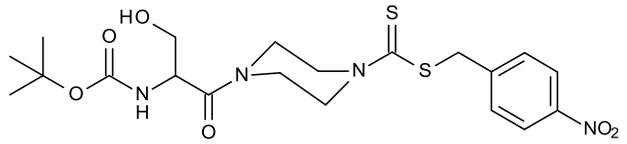
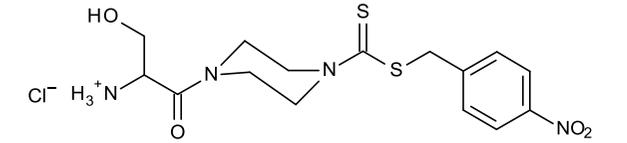
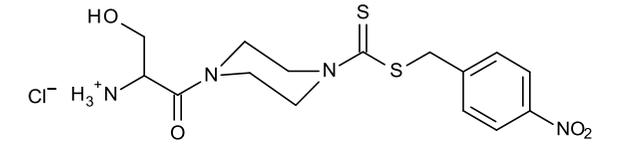
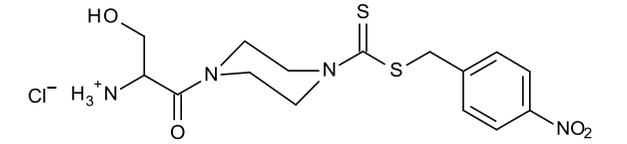
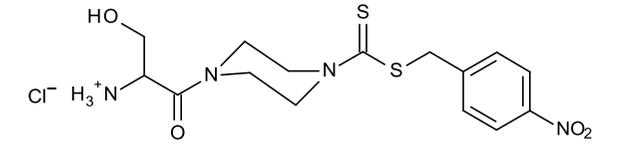
	5 μ M		-	10	0			236 191 271	19 38 44			
	1 μ M		-	10	10			394 541 889	7 11 7			
Schl32343 (269)	25 μ M		+++	0		0	0	42	21		+	+ 24
	10 μ M		+	0		0	0	224 451 447	25 69 62		+	
Schl32344 (270)	25 μ M		+++	0		0	0	55	62		+	+ 24
	10 μ M		+++	0		0	0	144 63	65 92		+	+ 48

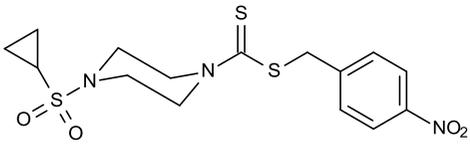
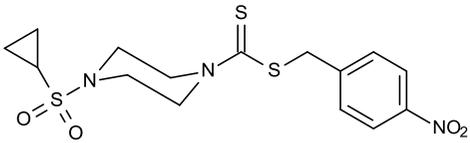
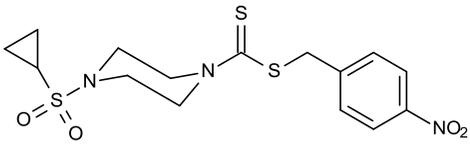
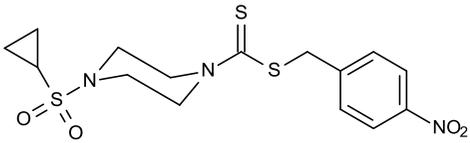
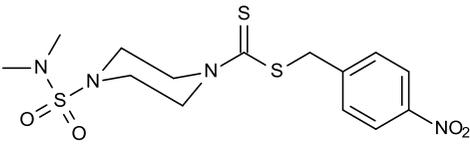
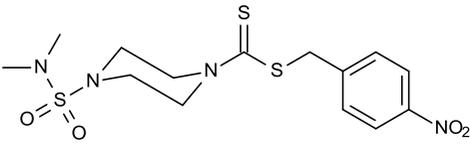
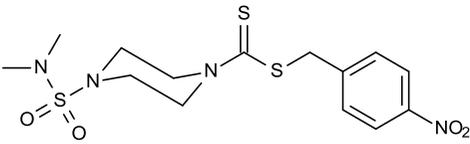
	5μM		+	8	0	0	0	157 280 263	39 34 40			
	1μM		-	9	5	0	0	219 595 768	21 11 10			
Schl32345 (271)	25μM		-	10	0			156 267 482	28 22 13			
	10μM		-	10	6			239 419 582	15 10 6			
Schl32346 (272)	25μM		+++	0		0	0	12	25	+	+	+ 24
	10μM		+++	0		0	0	34	35		+	+ 24

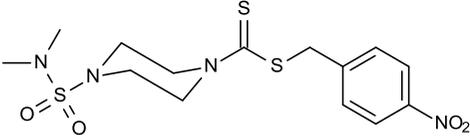
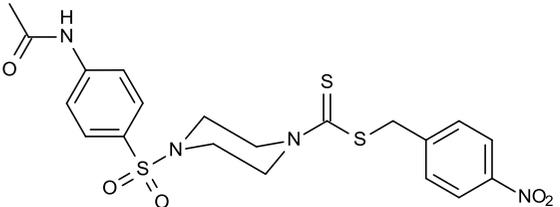
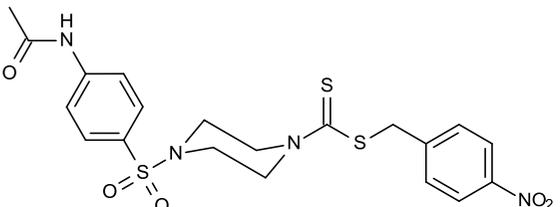
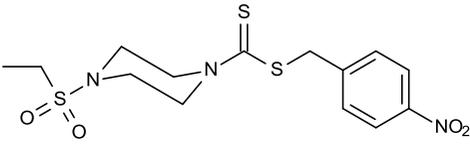
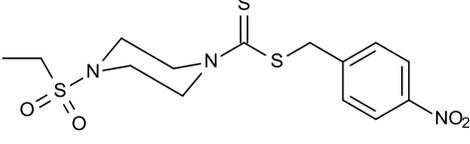
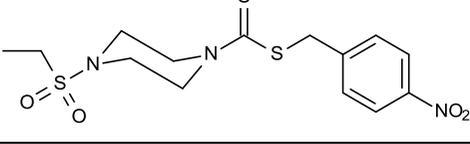
	5 μ M		-	4	0	0	0	305 543 439	13 9 31			
	1 μ M		-	10	10			346 721 981	9 7 6			
Schl32347 (273)	25 μ M		+++	0		0	0	2	50		+	+ 24
	10 μ M		+++	0		0	0	13 4	15 100		+	+ 48
	5 μ M		++	0		2	0	85 21 6	84 90 100			
	1 μ M		-	10	10			244 185 235	21 38 44			

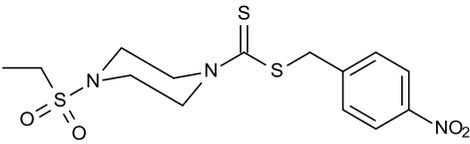
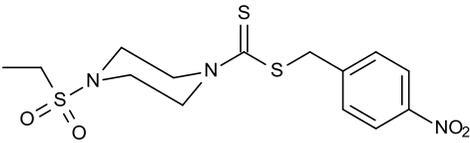
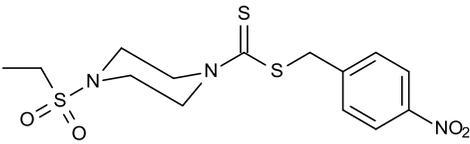
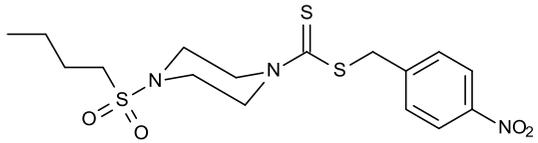
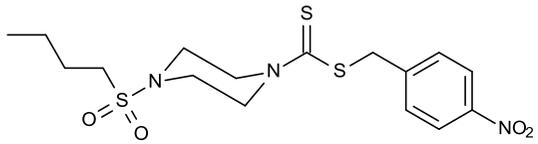
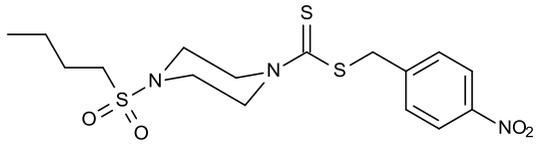
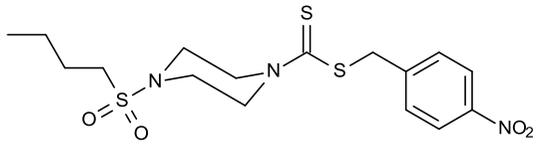
Sch132348 (274)	25μM		+++	0	0	0	24	21			+ 24
	10μM		+++	0	0	0	51	61			+ 24
	5μM		-	10	0		205 487 729	20 13 14			
	1μM		-	10	10		291 674 1037	7 6 5			

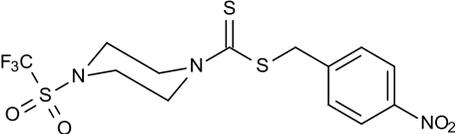
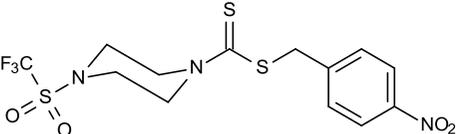
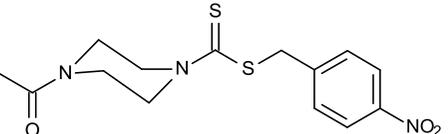
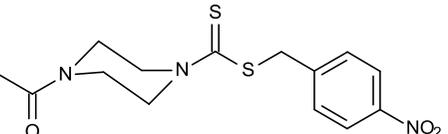
Schl32349 (275)	25μM		-	5	5	5	0	252 277 406	20 19 19			
	10μM		-	10	10			345 404 575	11 10 5			
Schl32351 (279)	25μM		+++	0		0	0	19 0	16		+	+ 72
	10μM		+++	0		0	0	77 4 0	21 100		+	+ 72
	5μM		++	2	0	0	0	68 111 80	75 71 76		(+)	
	1μM		-	8	6	0	0	173 373 463	10 14 13			
Schl32354 (268)	25μM		+++	0		0	0	27 0 0	15		+	+

	10μM		+++	0	0	0	63 21 7	46 76 71	(+)	+	
	5μM		-	10	8		228 640 660	16 12 11			
	1μM		-	10	10		407 757 1067	6 6 5			
Schl32355 (276)	25μM		+++	1	0	0	92	46	+	+	+ 24
	10μM		+++	0	0	0	179 43	37 84	(+)		+ 48
	5μM		-	10	8		231 478 538	13 21 25			
	1μM		-	10	10		330 623 856	9 7 8			

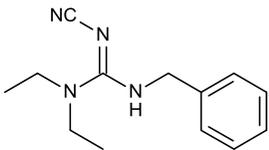
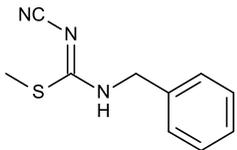
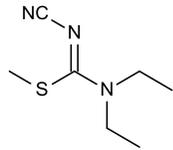
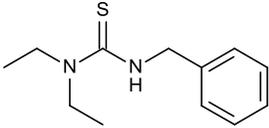
Schl32360 (287)	25μM		+++	0		0	0	11	73			+ 24
	10μM		+++	0		0	0	28 8	75 88	(+)		+ 48
	5μM		+++	0		0	0	133 25 2	62 84 100	(+)	+	+ 72
	1μM		-	10	10			197 223 295	28 21 36			
Schl32361 (288)	25μM		+++	0		0	0	18 2 0	83 50	+		+ 72
	10μM		+++	0		0	0	37 15 3	78 73 67	(+)	+	
	5μM		++	2	0	0	0	265 197 109	18 34 63		+	

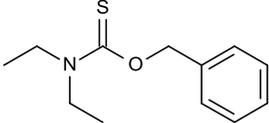
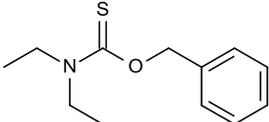
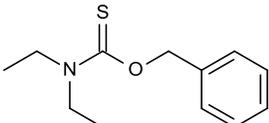
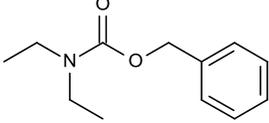
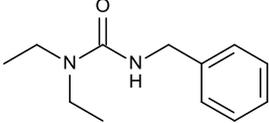
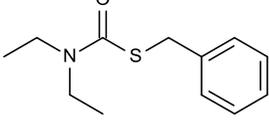
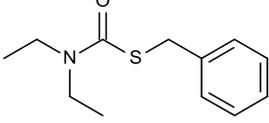
	1μM		-	10	10			309 678 704	9 6 7			
Schl32362 (394)	25μM		+	1	0	0	0	81 123 159	52 48 42			
	10μM		-	5	0	0	0	88 153 238	42 34 22			
Schl32363 (289)	25μM		+++	0		0	0	8	38	+		+ 24
	10μM		+++	0		0	0	44 14	41 79	(+)	+	+ 48
	5μM		+++	0		0	0	61 85	41 60		+	+ 48

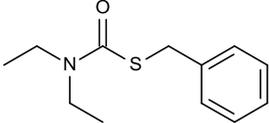
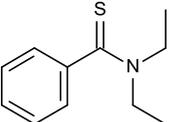
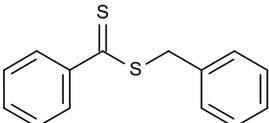
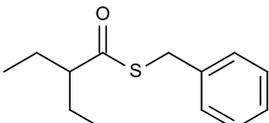
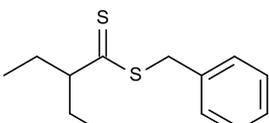
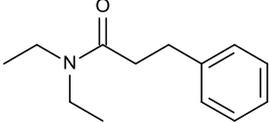
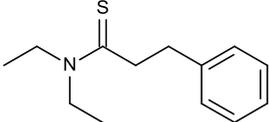
	1μM		+++	0	0	0	191 180 78	19 32 54		+	+	72
	0.5μM		-	10	10		207 232 591	26 30 22				
	0.1μM		-	10	10		363 512 801	7 6 8				
Schl32364 (290)	25μM		+++	0	0	0	31 5 0	32 40	+	(+)	+	72
	10μM		+++	0	0	0	57 25 5	32 68 80	+	(+)	+	72
	5μM		++	0	0	0	106 165 81	25 29 48		+		
	1μM		-	10	7		243 391 553	16 11 9				

Schl32365 (291)	25μM		+	7	0	0	0	303 42 100	87 98 100			
	10μM		-	10	3			827 587 181	70 89 98			
Schl32368 (293)	25μM		-	9	7	0	1	233 467 445	11 4 5			
	10μM		-	10	10			265 671 570	11 5 2			

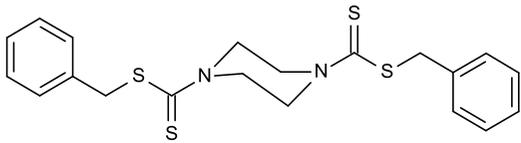
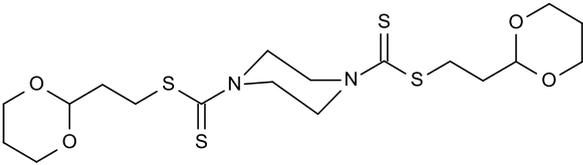
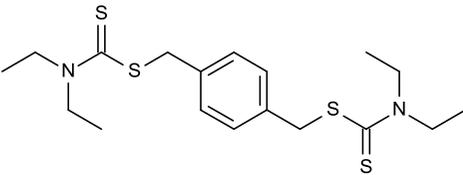
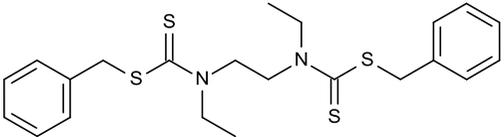
Derivate mit Variation der Heteroatome des Dithiocarbamats

Bezeichnung	Konzentration	Strukturformel	Wirksamkeit	Paare (von 10)	Paare angesaugt	♂ angesaugt	♀ angesaugt	Eizahlen (24/48/72h)	% deformierte Eier	Tegumentschäden	Darmdilatation	Letaler Effekt [h]
Schl32145 (395)	100µM		(+)	10	0			176 152 199	61 59 45			
Schl32148 (396)	100µM		(+)	10	2			288 205 200	56 40 67			
Schl32149 (397)	100µM		-	9	9	1	1	167 312 281	50 22 65			
Schl32151 (236)	100µM		-	10	0			247 378 533	8 10 19			

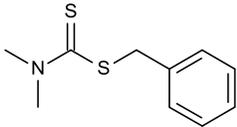
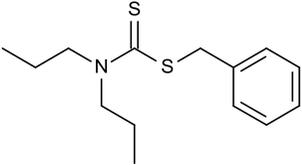
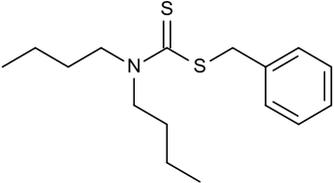
Schl32152 (237)	100μM		+++	4	0	0	0	290 178 99	33 39 45			
	25μM		-	10	10			310 371 530	23 23 16			
	10μM		-	10	10			294 362 541	5 14 8			
Schl32161 (238)	100μM		-	8	3	2	2	260 189 451	86 85 99			
Schl32162 (239)	100μM		-	10	10			279 234 211	38 97 89			
Schl32163 (240)	100μM		+	3	0	1	0	280 170 124	64 77 80			
	25μM		-	10	8			286 341 499	9 5 3			

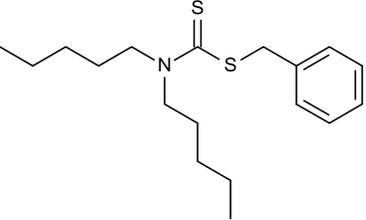
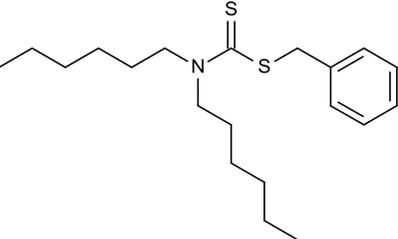
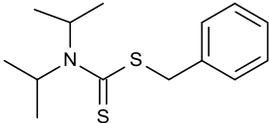
	10μM		-	10	10			317 467 597	3 4 4			
Schl32352 (398)	100μM		-	10	7			286 551 658	3 5 7			
Schl32353 (399)	100μM		-	10	10			225 506 594	12 2 5			
Schl32366 (400)	100μM		-	9	9	1	0	984 347 200	48 57 60			
Schl32367 (241)	100μM		+	4	4	0	0	567 213 193	45 30 67			
Schl32369 (401)	100μM		-	9	7	0	1	402 432 522	17 4 5			
Schl32370 (242)	100μM		-	10	10			776 537 578	56 60 50			

Dithiocarbamat-Dimere

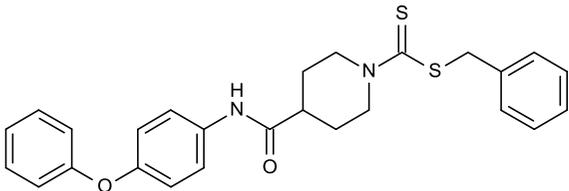
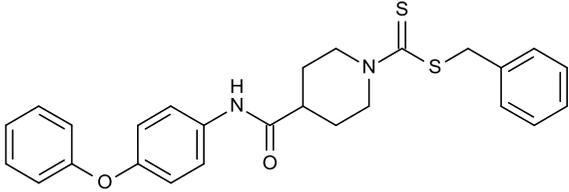
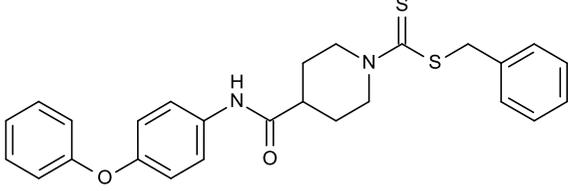
Bezeichnung	Konzentration	Strukturformel	Wirksamkeit	Paare (von 10)	Paare angesaugt	♂ angesaugt	♀ angesaugt	Eizahlen (24/48/72h)	% deformierte Eier	Tegumentschäden	Darmdilatation	Letaler Effekt [h]
Schl32142 (402)	100µM		++	0		1	0	114 7 0	16 71		+	
Schl32143 (403)	100µM		++	0		0	0	7 2 0	29 50		+	
Schl32144 (404)	100µM		++	9	1	0	0	220 13 0	46 100			
Schl32173 (405)	100µM		+	0		7	0	144 172 14	11 15 21		+	

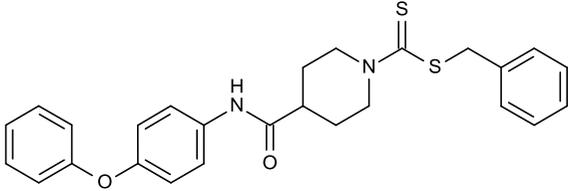
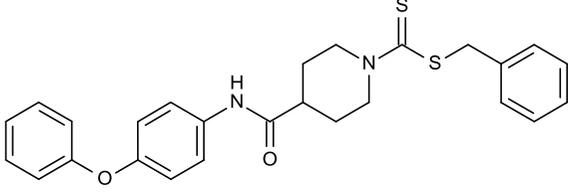
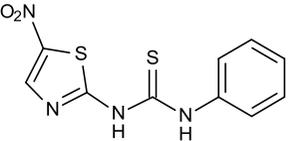
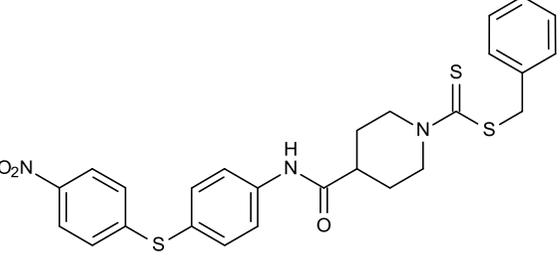
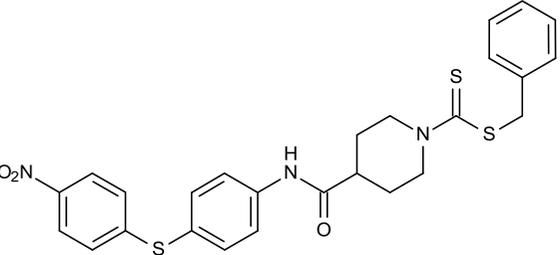
Derivate mit veränderter Alkylkettenlänge am Stickstoff des Dithiocarbamats

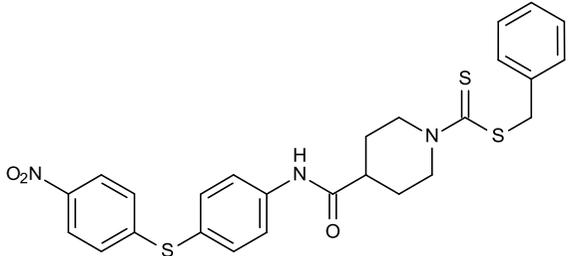
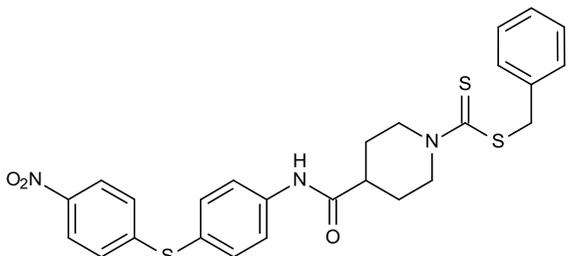
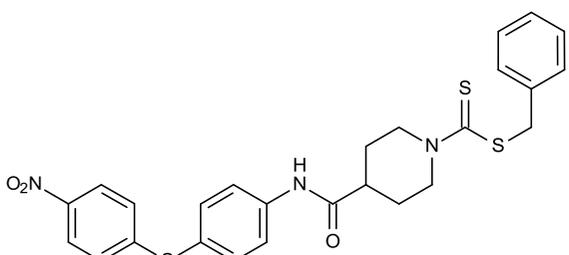
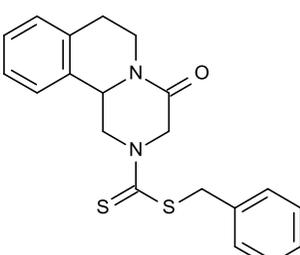
Bezeichnung	Konzentration	Strukturformel	Wirksamkeit	Paare (von 10)	Paare angesaugt	♂ angesaugt	♀ angesaugt	Eizahlen (24/48/72h)	% deformierte Eier	Tegumentschäden	Darmdilatation	Letaler Effekt [h]
Schl32261 (187)	100µM		+++	0		0	0	132 21 1	91 100 100		(+)	
Schl32201 (183)	100µM		+++	0		0	0	58 1 0	88 100			
Schl32202 (184)	100µM		+	0		3	0	182 140 74	29 99 72			

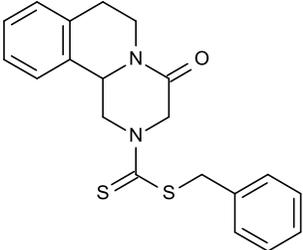
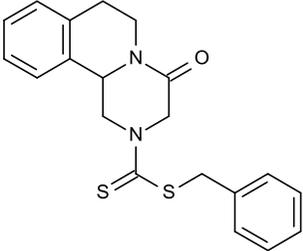
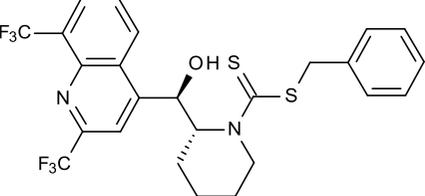
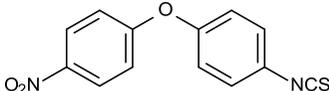
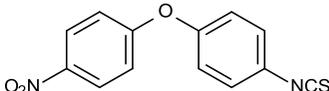
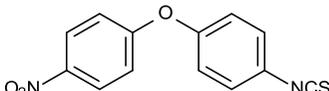
Schl32203 (185)	100µM		-	5	5	5	4	133 770 506	26 70 46			
Schl32204 (186)	100µM		-	10	10			166 585 580	22 3 7			
Schl32188 (406)	100µM		+++	0		0	0	17 0 0	82			

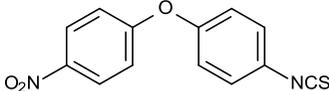
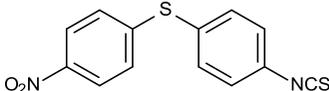
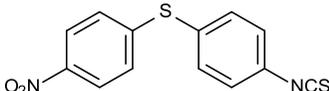
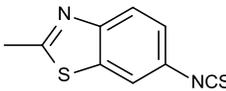
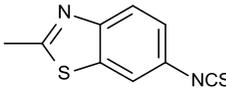
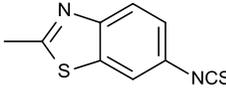
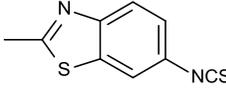
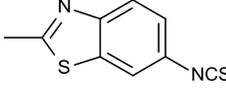
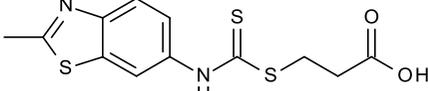
Weitere Dithiocarbamat-Derivate und getestete Verbindungen

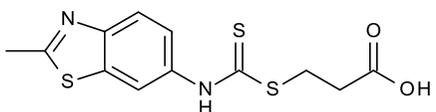
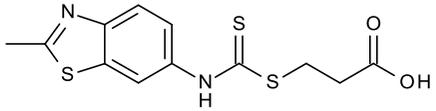
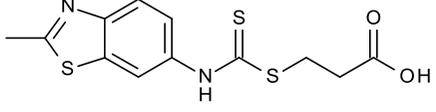
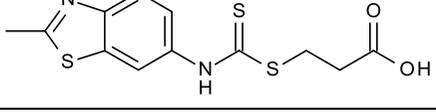
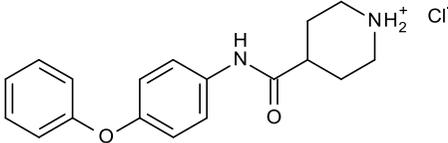
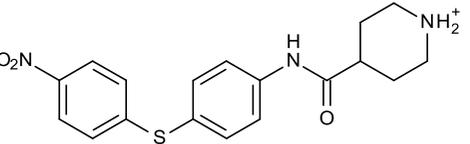
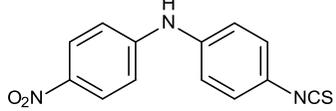
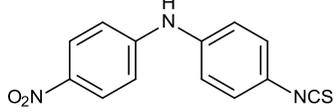
Bezeichnung	Konzentration	Strukturformel	Wirksamkeit	Paare (von 10)	Paare angesaugt	♂ angesaugt	♀ angesaugt	Eizahlen (24/48/72h)	% deformierte Eier	Tegumentschäden	Darmdilatation	Letaler Effekt [h]
Schl32177 (209)	100µM		+++	0		0	0	32 17 0	100 100	+	+	
	25µM		+++	0		0	0	36 23 2	31 92 100	+	+	
	10µM		+++	0		0	0	54 45 51	25 39 41	+	+	

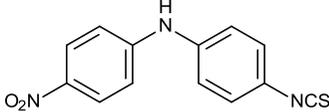
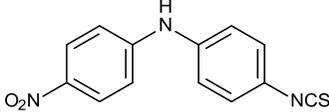
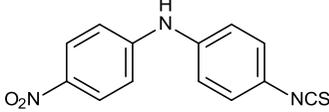
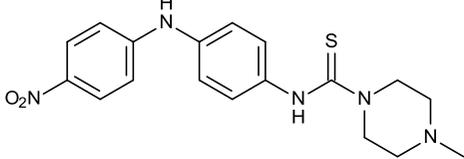
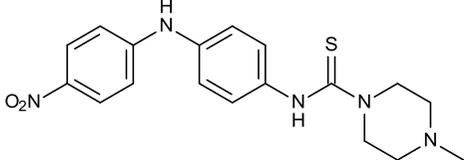
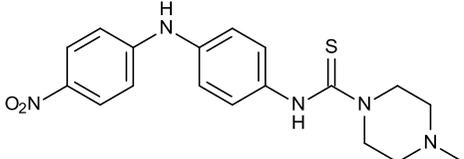
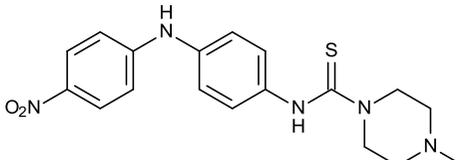
	5 μ M		++	1	0	0	0	64 36 36	60 73 58		+	
	1 μ M		-	10	10			184 472 542	10 10 3			
Schl32221 (407)	100 μ M		++	2	1	1	2	67 103 128	45 39 44			
Schl32222 (210)	100 μ M		+++	0		0	0	2 0	100	+		+ 48
	25 μ M		+++	0		0	0	48 12	29 75	+	(+)	+ 48

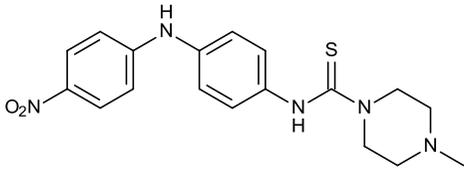
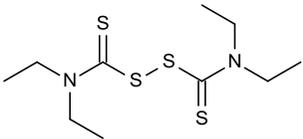
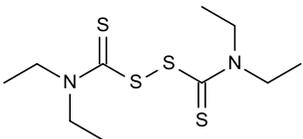
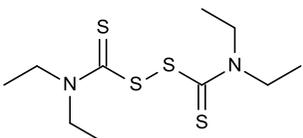
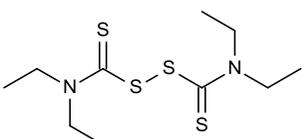
	10 μ M		+++	0		0	0	56 22 12	13 17 75	+	+	+	72
	5 μ M		+++	0		0	0	63 34 15	64 86 73	+	+		
	1 μ M		-	9	9	1	1	537 577 455	11 11 10				
Schl32223 (215)	100 μ M		+++	0		0	0	0 4 1	75 100	+	+		

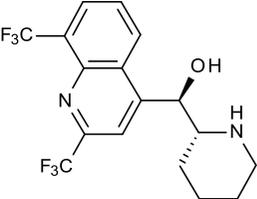
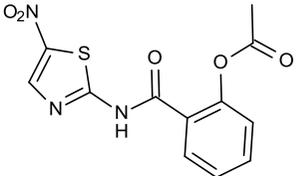
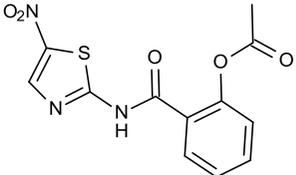
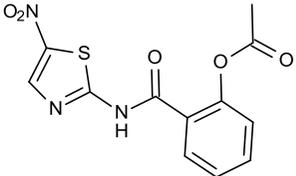
	25μM		+	10	0			8 17 0	100 82			
	10μM		-	10	0			249 496 579	8 12 18			
Schl32228 (408)	100μM		+++	0		0	0	0				+ 24
Schl32372 (409)	25μM		+++	0		0	0	5 1 0	0 0			+ 72
	10μM		+++	0		0	0	5 3 1	0 100 100			
	5μM		+++	0		0	0	22 1 1	68 100 100			

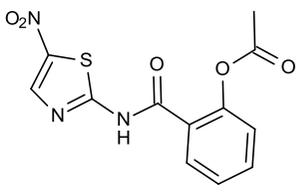
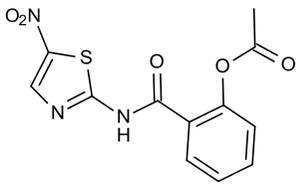
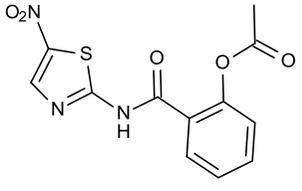
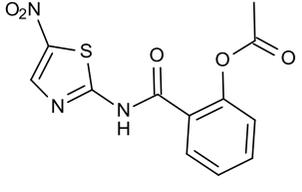
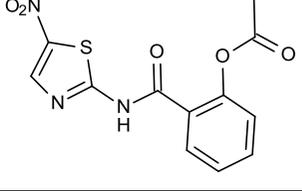
	1μM		++	5	0	0	0	156 59 10	16 25 50			
Schl32373 (410)	25μM		+++	0		0	0	3 1 0	0 0			
	10μM		++	0		0	4	126 6 1	25 83 100			
Schl32374 (411)	100μM		++	0		3	8	11 2 13	55 100 69			
	50μM		++	1	0	0	4	181 39 50	45 49 64			
	25μM		+	8	8	2	2	193 78 53	34 41 53			
	10μM		-	8	8	2	2	112 268 125	45 24 40			
	5μM		-	10	10			68 219 123	56 23 24			
Schl32375 (412)	100μM		++	4	4	5	6	55 89 50	65 29 32			

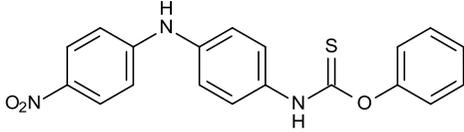
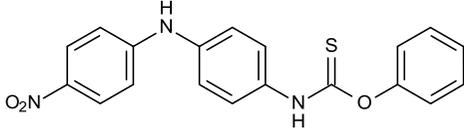
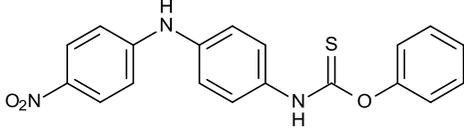
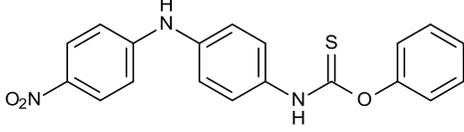
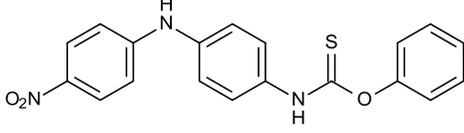
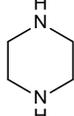
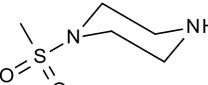
	50μM		+	10	10			127 340 204	35 17 21			
	25μM		-	10	10			87 294 261	29 8 17			
	10μM		-	10	10			106 399 286	26 13 19			
	5μM		-	10	10			173 516 465	20 5 17			
Amin 1 (413)	100μM		-	7	6	2	2	304 316 443	36 27 25			
Amin 2 (414)	100μM		-	4	3	4	3	280 242 450	28 29 34			
Amoscanat (10)	100μM		+++	0		0	0	1	100	+	+	+
	25μM		+++	0		0	0	4 0 0	25			

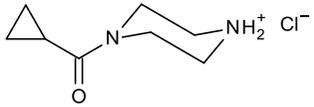
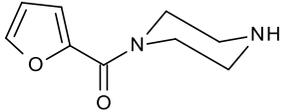
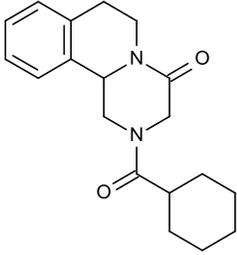
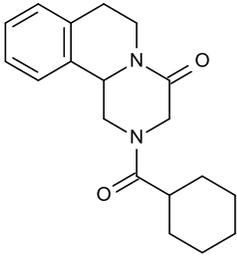
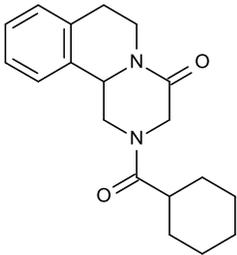
	10μM		+++	0		0	0	3 0 0	33			
	5μM		+++	0		0	0	7 1 1	57 0 100			
	1μM		-	10	6			185 361 199	28 19 30			
CGP 6140 (11)	100μM		+++	7	0	0	0	0			+	+ 24
	25μM		+++	0		0	0	0				+ 24
	10μM		+++	0		0	0	12 0 0	67			
	5μM		+++	0		0	0	8 0 0	100			

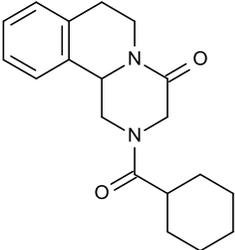
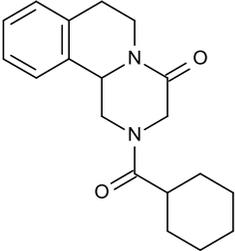
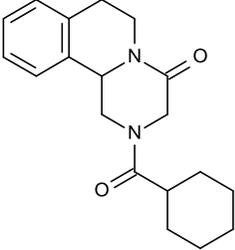
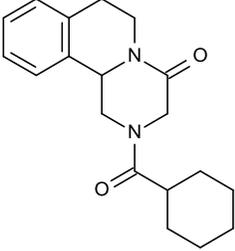
	1μM		+++	0	0	0	0	18 0 0	61			
Disulfiram (91)	100μM		+++	0	0	0	0	15 1 0	76 100	+		
	50μM		+++	0	0	0	0	23 3 1	68 93 83	+		
	25μM		+	6	6	4	2	84 142 231	37 59 46	(+)		
	10μM		-	10	10			228 356 424	14 9 10			
Imidazol (217)	100μM		-	10	10			279 504 972	11 11 11			

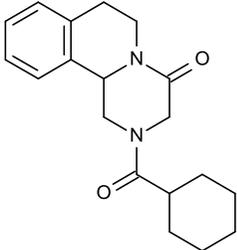
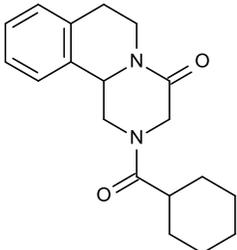
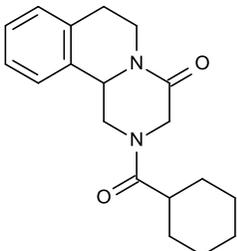
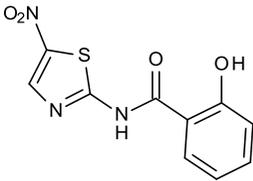
Mefloquin (415)	100µM		+++	0	0	0	0	0				+ 24
Nitazoxanid (416)	100µM		+++	0	0	0	0	0		+		+ 24
	75µM		+++	10	0			0		+		+ 24
	50µM		++	10	0			2	50	(+)	+	+ 24
	25µM		++	9	0	0	0	2 0 0	0			

	10μM		-	7	6	2	1	69 165 272	10 16 20			
	5μM		-	9	8	1	0	136 238 401	14 19 17			
	1μM		-	10	0			169 286 521	10 17 14			
	0.5μM		-	10	0			229 409 586	5 11 11			
	0.1μM		-	10	0			276 425 621	7 4 5			

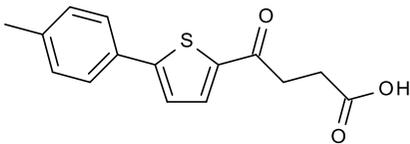
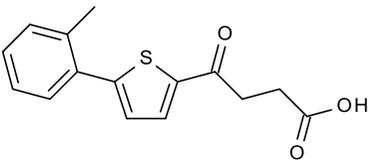
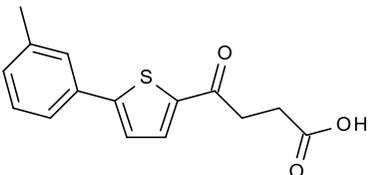
Phenithionat (12)	100µM		+++	0	0	0	0	0	+	+	+ 24
	25µM		+++	0	0	0	3 0 0	33			
	10µM		+++	0	0	0	3 0 0	0			
	5µM		+++	0	0	0	1 1 0	100 0			
	1µM		+	4	0	0	172 125 49	20 72 96			
Piperazin (417)	100µM		-	10	10		305 387 790	13 26 19			
Piperazin 1 (418)	100µM		-	9	9	1	1	234 565 544	13 9 3		

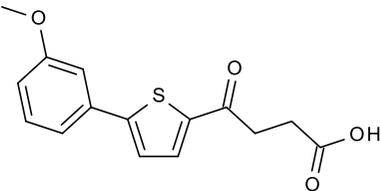
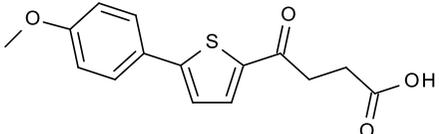
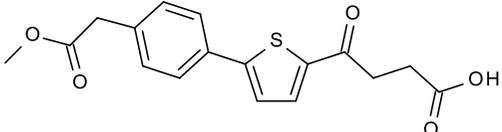
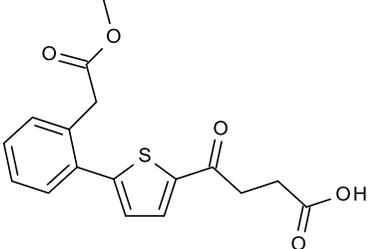
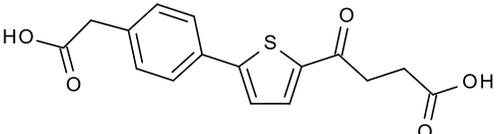
Piperazin 2 (419)	100µM		-	10	10			287 644 630	4 6 4			
Piperazin 3 (420)	100µM		-	10	10			258 569 629	7 3 6			
Praziquantel (1)	100µM		+++	10	0			0		+	+	+ 24
	75µM		+++	10	0			2	100	+	+	+ 24
	50µM		+++	10	0			1	100		+	+ 24

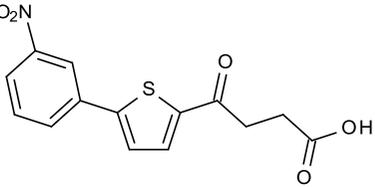
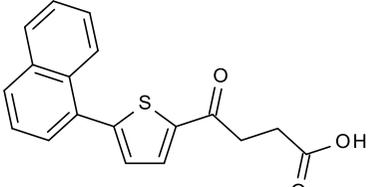
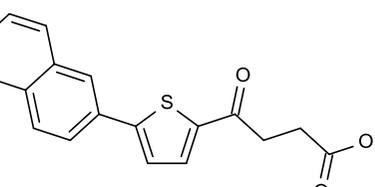
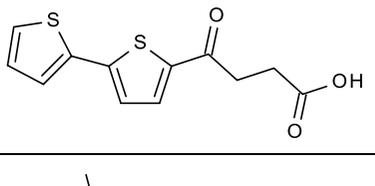
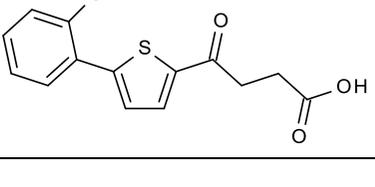
	25μM		+++	10	0			1	0		+	+ 24
	10μM		+++	10	0			1	100		+	+ 24
	5μM		+++	10	0			2	17			+ 24
	2.5μM		(+)	4	1	2	0	102 168 328	13 10 12			

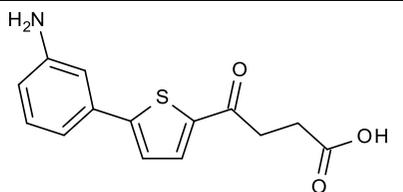
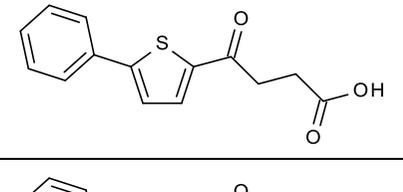
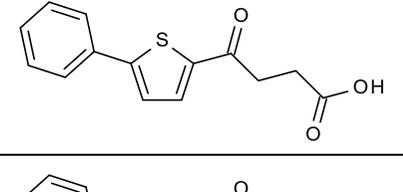
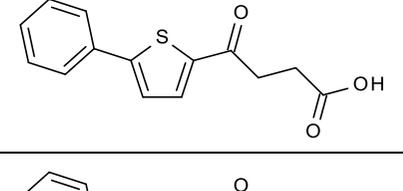
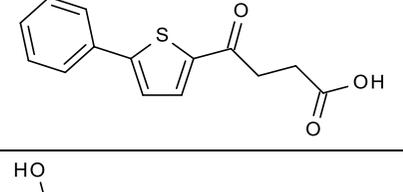
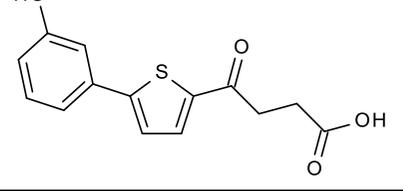
	1 μ M		-	7	5	1	0	203 282 349	10 31 31			
	0.5 μ M		-	8	8	2	1	255 295 478	4 17 21			
	0.1 μ M		-	9	9	1	1	281 331 510	5 9 9			
Tizoxanid (421)	100 μ M		+++	10		0	0	4	100	+		+ 24

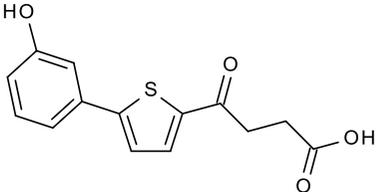
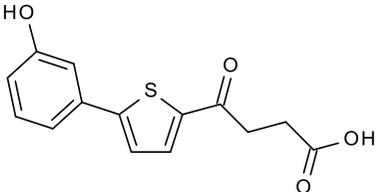
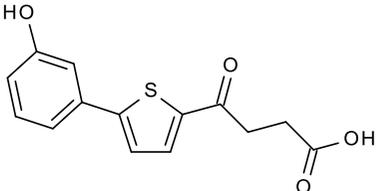
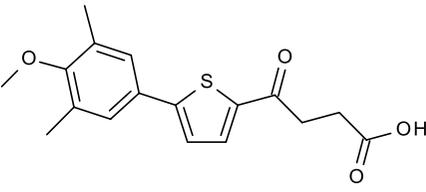
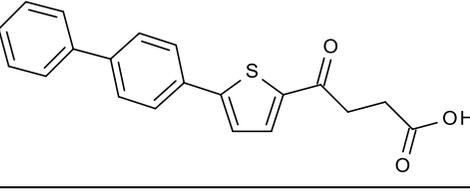
Biarylalkylcarbonsäure-Derivate

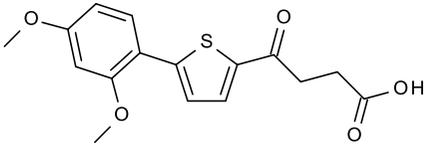
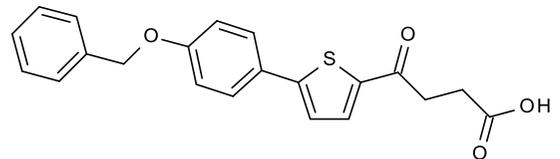
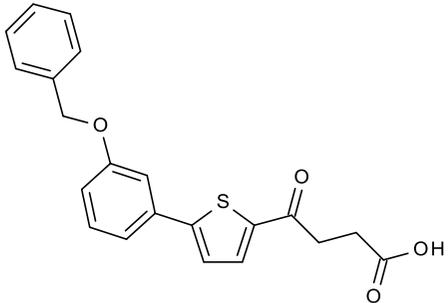
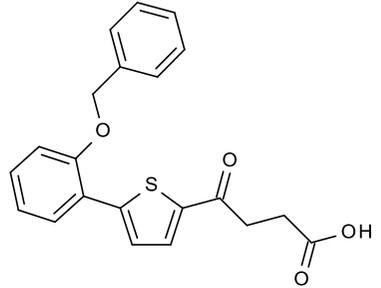
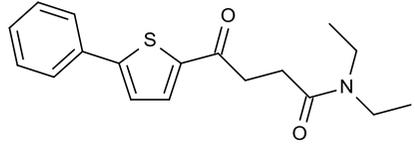
Bezeichnung	Konzentration	Strukturformel	Wirksamkeit	Paare (von 10)	Paare angesaugt	♂ angesaugt	♀ angesaugt	Eizahlen (24/48/72h)	% deformierte Eier	Tegumentschäden	Darmdilatation	Letaler Effekt [h]
Schl32050 (48)	100µM		-	9	7	1	1	86 283 358	9 13 10			
Schl32051 (49)	100µM		-	10	9	1	1	89 253 374	9 32 13			
Schl32052 (50)	100µM		(+)	10	8	0	0	2 15 11	50 93 82			

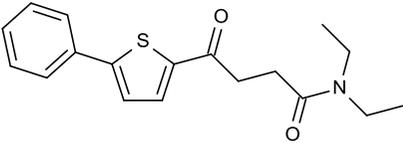
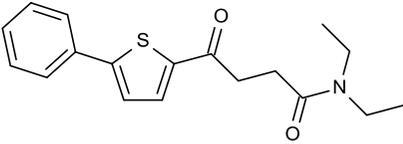
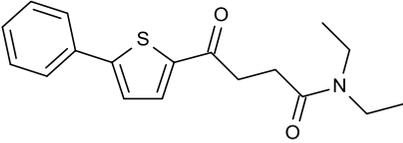
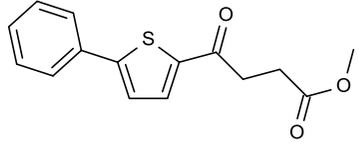
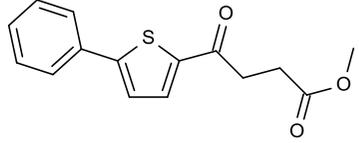
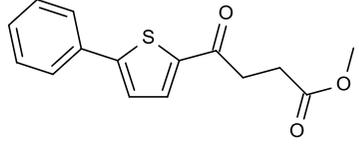
Schl32053 (51)	100μM		-	9	7	1	1	97 287 351	22 59 40			
Schl32054 (52)	100μM		+	7	7	2	1	0 8 19	50 74			
Schl32055 (422)	100μM		-	10	10			80 680 791	20 3 3			
Schl32056 (423)	100μM		-	10	10			103 724 857	17 4 4			
Schl32057 (63)	100μM		-	10	9	1	1	141 626 878	6 3 2			

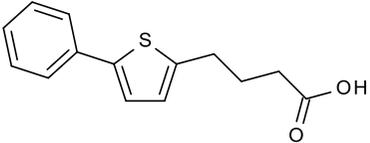
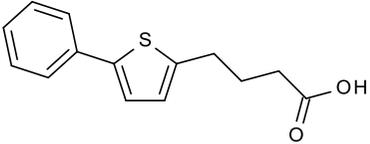
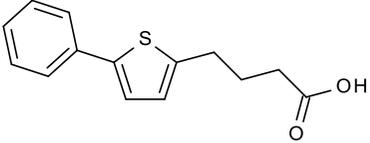
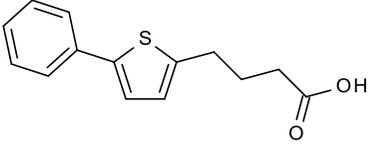
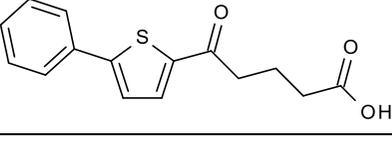
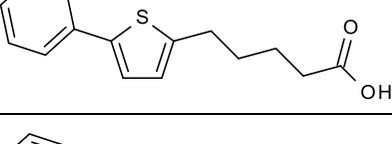
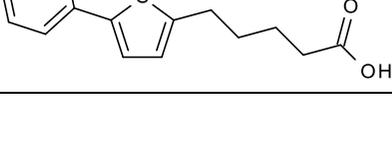
Schl32059 (64)	100µM		-	10	10			20 438 554	40 18 20			
Schl32061 (59)	100µM		-	10	10			283 655 766	22 9 9			
Schl32062 (60)	100µM		-	10	10			75 516 471	11 16 21			
Schl32063 (61)	100µM		+	8	8	1	2	48 81 85	65 83 100			
Schl32065 (53)	100µM		-	10	10			82 493 356	20 4 5			

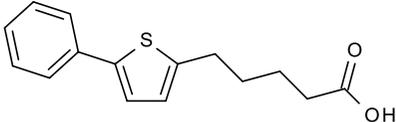
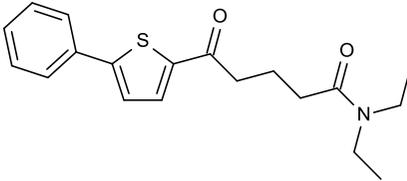
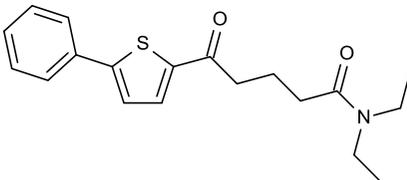
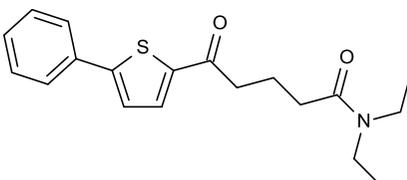
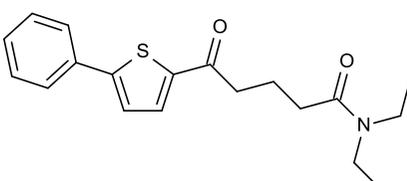
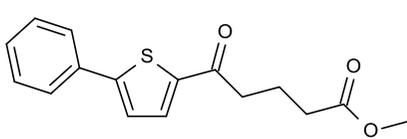
Schl32067 (65)	100μM		-	9	9	1	1	253 400 632	8 20 37			
Schl32070 (17)	100μM		++	9	8	1	2	1 1 18	100 100 100			
	50μM		++	7	7	3	1	2 8 12	100 88 100			
	25μM		(+)	8	7	2	2	71 112 177	52 32 23			
	10μM		-	10	10			134 165 144	37 28 27			
Schl32071 (66)	100μM		+++	0		0	0	0 0 0				

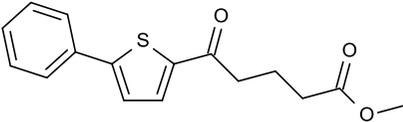
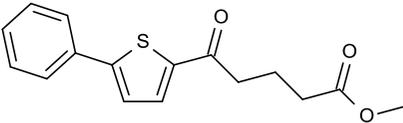
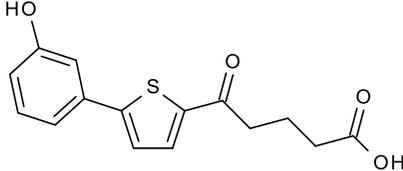
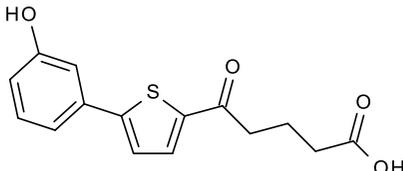
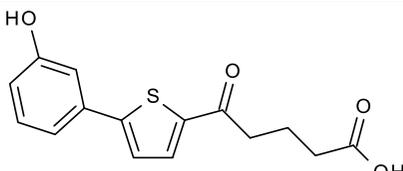
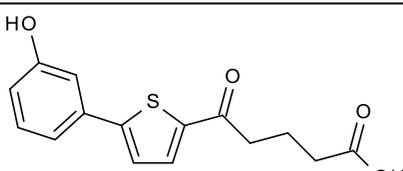
	50μM		+	10	8			69 75 101	63 39 25			
	25μM		+	8	7	0	1	124 92 128	38 37 30			
	10μM		-	9	9	1	1	186 224 175	49 25 33			
Schl32078 (54)	100μM		-	10	9			199 922 850	13 8 6			
Schl32079 (62)	100μM		-	10	10			64 128 395	13 46 17			

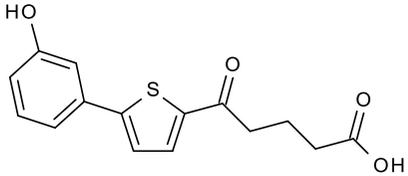
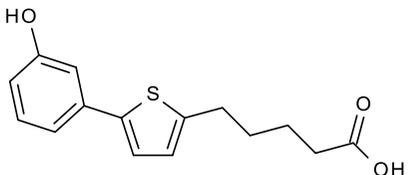
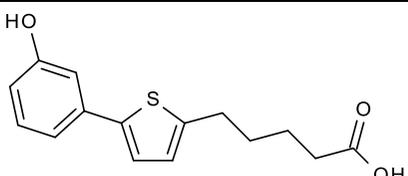
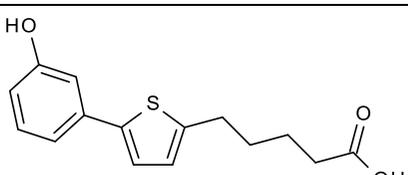
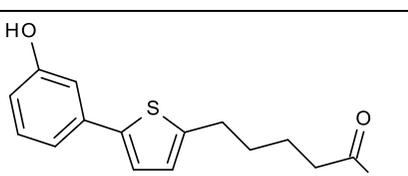
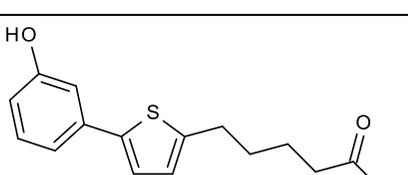
Schl32080 (55)	100μM		-	10	10			59 335 251	13 6 5			
Schl32081 (56)	100μM		++	10	4	0	0	41 3 1	22 100 100			
Schl32082 (57)	100μM		-	8	0	0	0	55 63 38	13 84 100			
Schl32083 (58)	100μM		-	10	10			101 507 529	27 13 18			
Schl32266 (81)	100μM		+++	0		0	0	0 1 0	0			

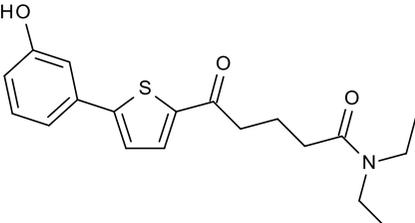
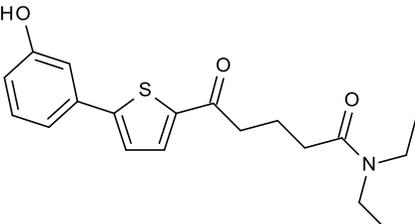
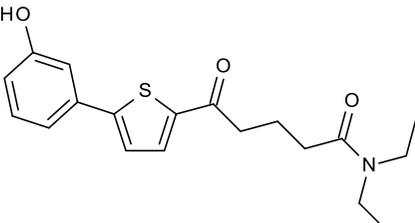
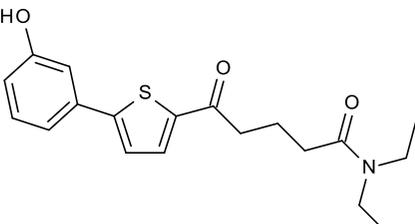
	50μM		+++	0		0	0	28 5 0	100 100			
	25μM		-	10	7			235 217 56	90 86 75			
	10μM		-	10	10			275 330 274	21 9 10			
Schl32267 (78)	100μM		++	7	7	2	3	25 11 26	76 55 85			
	50μM		+	10	7			2 21 73	50 100 63			
	25μM		+	8	8	1	2	11 27 88	91 56 57			

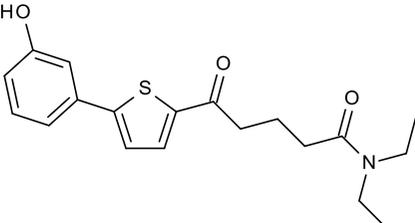
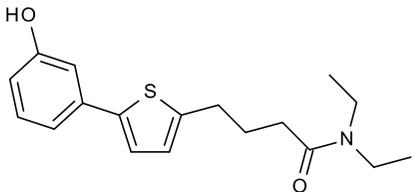
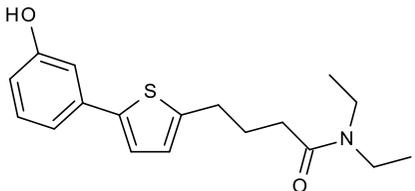
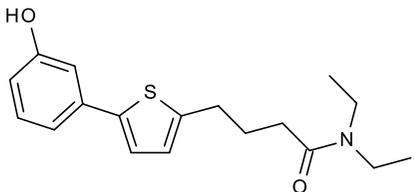
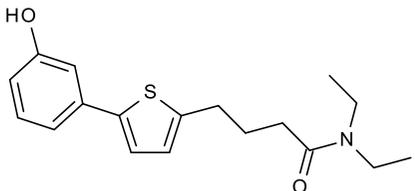
Schl32268 (75)	100μM		+++	3	1	2	4	0 0 0				
	50μM		++	9	8	1	1	0 16 19	75 100			
	25μM		-	9	9	1	1	32 85 154	66 26 24			
	10μM		-	9	9	1	1	124 227 211	31 15 28			
Schl32269 (69)	100μM		(+)	9	9	1	0	80 305 337	9 11 12			
Schl32270 (76)	100μM		(+)	8	8	0	1	77 169 266	35 70 55			
	50μM		-	10	10			14 249 544	43 25 11			

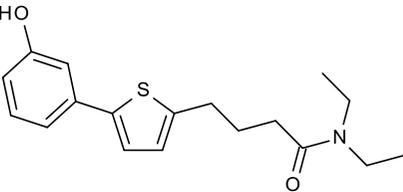
	25μM		-	10	10			96 279 441	19 13 10			
Schl32271 (82)	100μM		+++	0		0	0	0		+		+ 24
	50μM		+++	0		0	0	0 0 0		+	+	
	25μM		+	9	0	0	0	255 239 119	77 93 92			
	10μM		-	10	10			178 251 221	21 12 14			
Schl32272 (79)	100μM		++	6	3	1	0	13 7 31	8 14 61			

	50μM		++	6	2	3	1	0 9 14	78 86			
	25μM		-	10	10			27 156 384	41 16 12			
Schl32356 (83)	100μM		+++	3	0	0	0	0		+		+ 24
	50μM		+++	0		0	0	20 0	45	+		+ 48
	25μM		+++	0		0	0	43 2	44 88	+		+ 48
	10μM		+++	1	0	0	0	63 13 5	71 77 90	+		

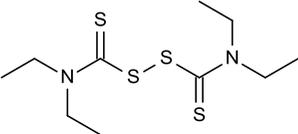
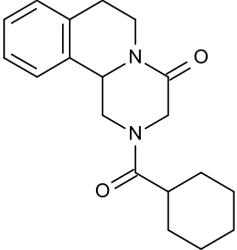
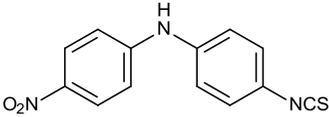
	5μM		-	10	9			92 369 462	60 13 17		+	
Schl32357 (84)	100μM		+++	0		0	0	5	60		+	+ 24
	50μM		+++	0		0	0	11 0 0	64		+	+ 72
	25μM		+++	0		0	0	27 3 0	58 70		+	+ 72
	10μM		++	0		0	0	63 21 10	61 75 63			
	5μM		-	9	3	0	0	117 375 410	48 11 12			

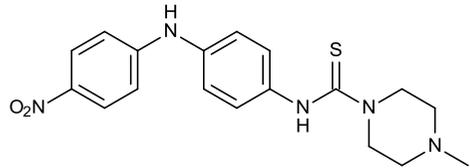
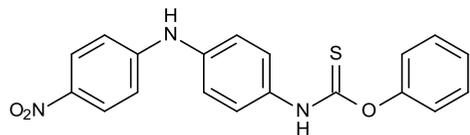
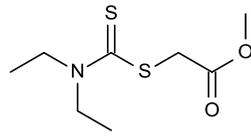
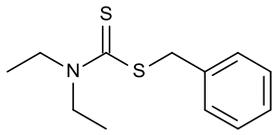
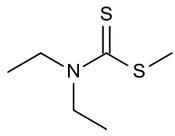
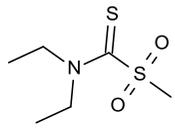
Schl32358 (85)	100µM		+++	0		0	0	28 5 1	40 80 100			
	50µM		+++	0		0	0	34 0 0	68			
	25µM		+++	0		0	0	52 9 4	64 84 71		+	
	10µM		++	2	0	0	0	75 38 14	71 66 79			

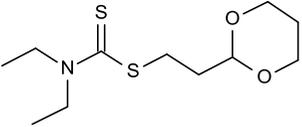
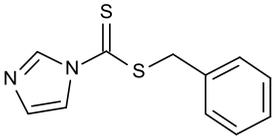
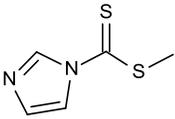
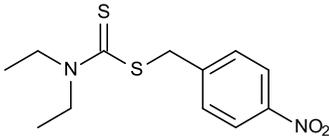
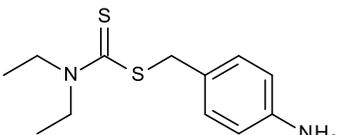
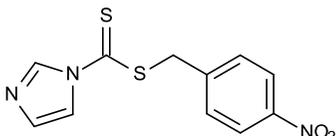
	5 μ M		-	10	1			346 635 674	15 7 5			
Schl32359 (86)	100 μ M		+++	0		0	0	4 0 0	75	(+)		
	50 μ M		+++	0		0	0	0 0 0		(+)		
	25 μ M		+++	0		0	0	11 2 0	75 88	(+)		
	10 μ M		++	0		0	0	29 9 4	67 77 69			

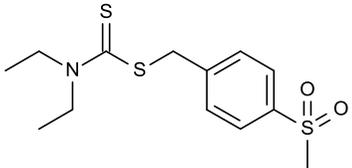
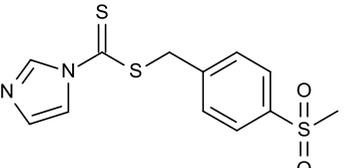
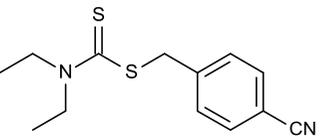
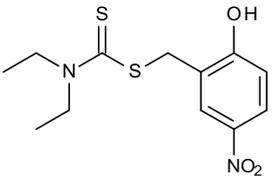
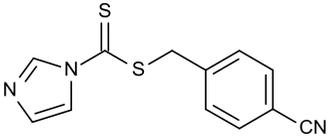
	5μM	 <chem>CCN(CC)C(=O)CCCc1cc(s1)c2ccc(O)cc2</chem>	-	10	10			310 576 664	15 7 7			
--	-----	---	---	----	----	--	--	-------------------	--------------	--	--	--

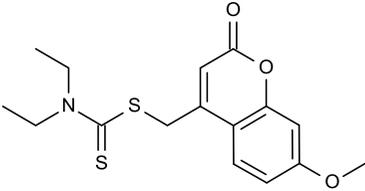
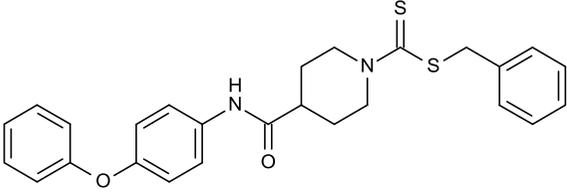
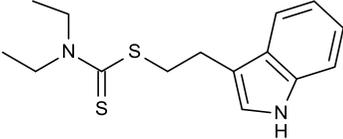
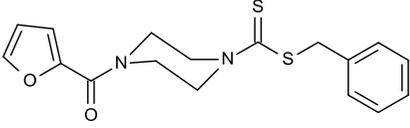
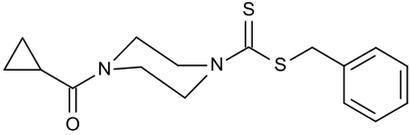
Zytotoxizitätsbestimmungen der Referenzverbindungen und der Dithiocarbamat-Derivate

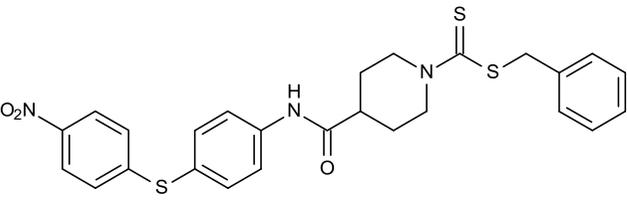
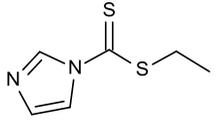
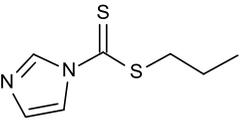
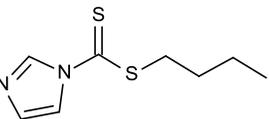
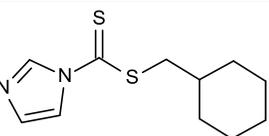
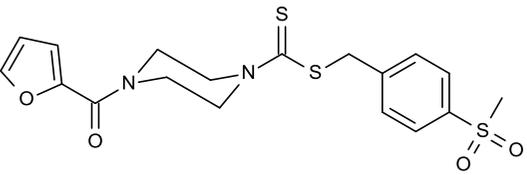
Bezeichnung	Strukturformel	HepG2 [100µM]	HepG2 [50µM]	HepG2 [25µM]	LS174T [100µM]	LS174T [50µM]	LS174T [25µM]	Aktivität gegen <i>S. mansoni</i>
Disulfiram (91)		✗	✗	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	≥ 25µM
Praziquantel (1)		✓	✓	✓	✓	✓	✓	≥ 5µM
Amoscanat (10)		✗	✗	✗	n.t.	n.t.	n.t.	≥ 5µM

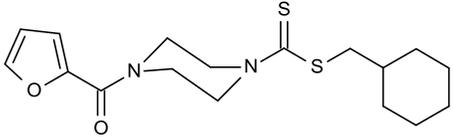
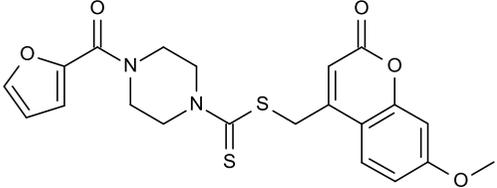
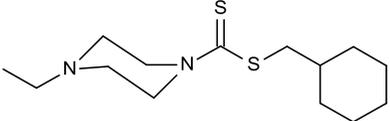
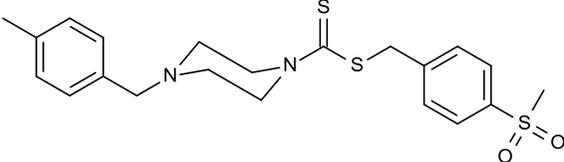
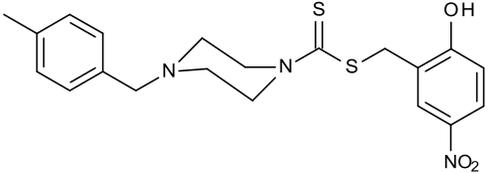
CGP-6140 (11)		✗	✗	✗	n.t.	n.t.	n.t.	$\geq 1\mu\text{M}$
Phenithionat (12)		✗	✗	✗	n.t.	n.t.	n.t.	$\geq 5\mu\text{M}$
Schl32006 (121)		✓	✓	✓	✓	✓	✓	n.a.
Schl32007 (122)		✗	✗	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	$\geq 25\mu\text{M}$
Schl32008 (97)		✓	✓	✓	✓	✓	✓	n.a.
Schl32023 (101)		✗	✗	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	$\geq 50\mu\text{M}$

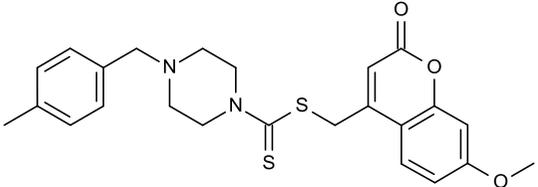
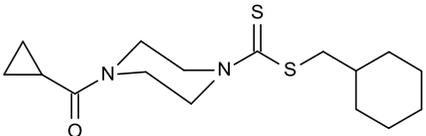
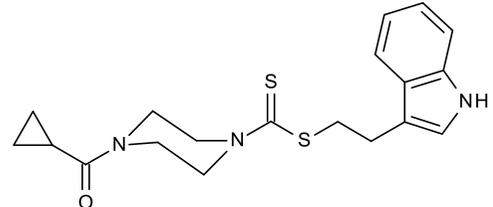
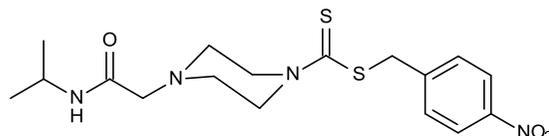
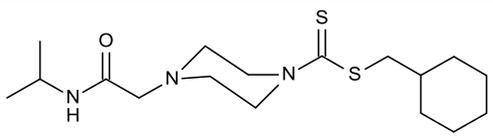
Schl32025 (124)		✗	✗	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.a.
Schl32027 (216)		✗	✗	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	$\geq 25\mu\text{M}$
Schl32028 (220)		✓	✓	✓	✓	✓	✓	$\geq 5\mu\text{M}$
Schl32088 (157)		✗	✗	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	$\geq 5\mu\text{M}$
Schl32089 (168)		✗	✗	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	$\geq 25\mu\text{M}$
Schl32094 (226)		n.t.	✗	✗	n.t.	n.t.	n.t.	$\geq 5\mu\text{M}$

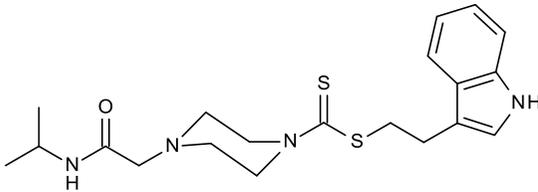
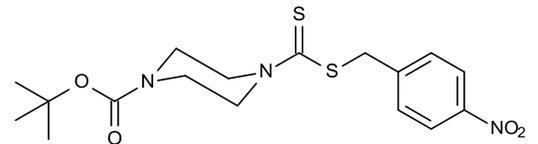
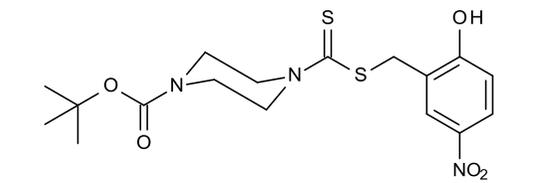
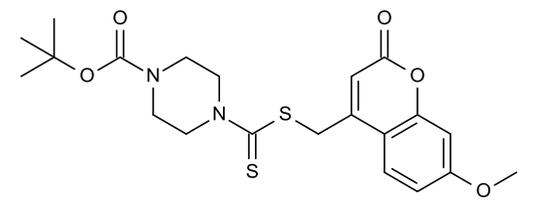
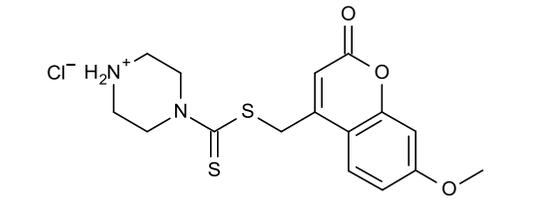
Schl32118 (162)		n.t.	✗	✓	n.t.	n.t.	n.t.	$\geq 10\mu\text{M}$
Schl32119 (227)		n.t.	✗	✗	n.t.	n.t.	n.t.	$\geq 2.5\mu\text{M}$
Schl32155 (158)		n.t.	✗	✗	n.t.	n.t.	n.t.	$\geq 10\mu\text{M}$
Schl32158 (163)		n.t.	✗	✓	n.t.	n.t.	n.t.	$\geq 5\mu\text{M}$
Schl32167 (228)		n.t.	✗	✗	n.t.	n.t.	n.t.	$\geq 5\mu\text{M}$

Schl32175 (177)		n.t.	✓	✓	✗	✗	n.t.	$\geq 5\mu\text{M}$
Schl32177 (209)		n.t.	✗	✗	n.t.	n.t.	n.t.	$\geq 5\mu\text{M}$
Schl32189 (179)		n.t.	✗	✗	n.t.	n.t.	n.t.	$\geq 10\mu\text{M}$
Schl32200 (207)		n.t.	✓	✓	✗	✓	✓	$\geq 10\mu\text{M}$
Schl32209 (208)		n.t.	✓	✓	✗	✓	✓	$\geq 10\mu\text{M}$

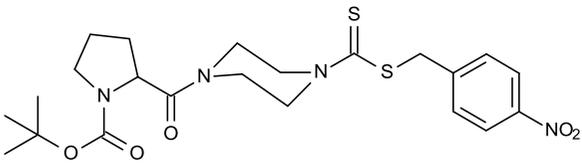
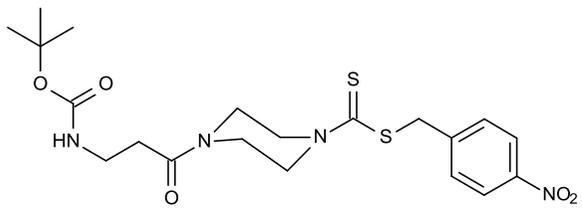
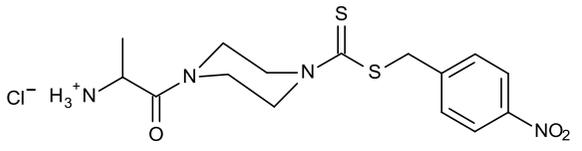
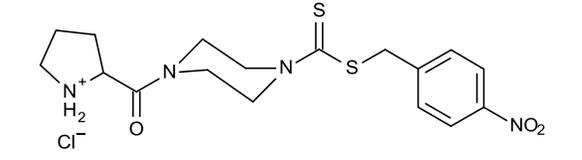
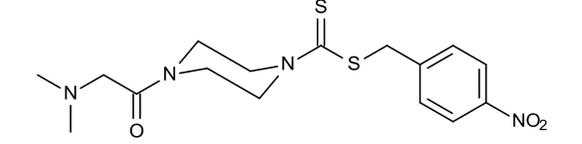
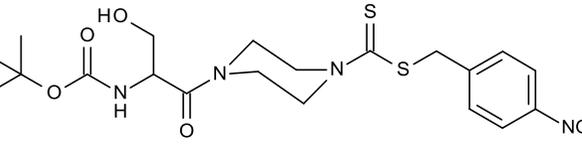
Schl32222 (210)		n.t.	✗	✗	n.t.	n.t.	n.t.	$\geq 2.5\mu\text{M}$
Schl32263 (223)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	$\geq 5\mu\text{M}$
Schl32264 (224)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	$\geq 5\mu\text{M}$
Schl32265 (225)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	$\geq 10\mu\text{M}$
Schl32276 (229)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	$\geq 10\mu\text{M}$
Schl32278 (245)		✗	✓	n.t.	✗	✓	n.t.	$\geq 5\mu\text{M}$

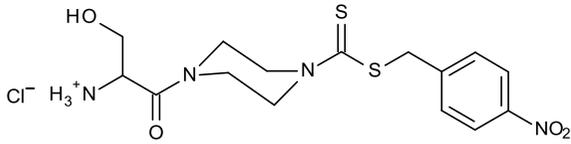
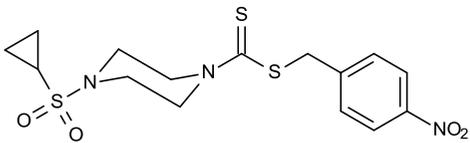
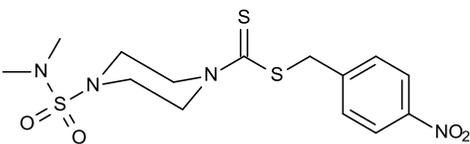
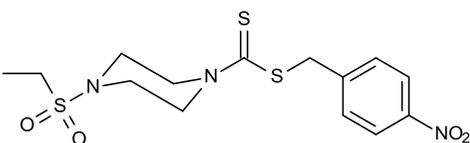
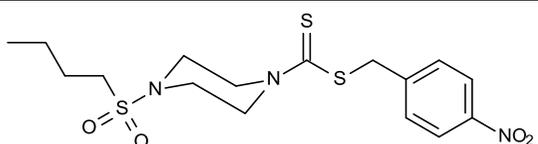
Schl32281 (249)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	$\geq 10\mu\text{M}$
Schl32282 (256)		✗	✓	n.t.	✗	✓	n.t.	$\geq 5\mu\text{M}$
Schl32288 (250)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	$\geq 10\mu\text{M}$
Schl32292 (246)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	$\geq 10\mu\text{M}$
Schl32294 (247)		✗	✓	n.t.	✗	✓	n.t.	$\geq 1\mu\text{M}$

Schl32296 (257)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	$\geq 10\mu\text{M}$
Schl32302 (251)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	$\geq 10\mu\text{M}$
Schl32304 (253)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	$\geq \mu\text{M}$
Schl32305 (243)		✓	✓	n.t.	✓	✓	n.t.	$\geq 10\mu\text{M}$
Schl32309 (252)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	$\geq 10\mu\text{M}$

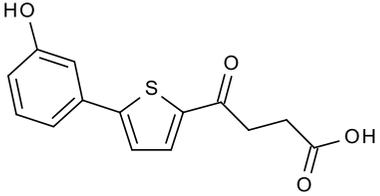
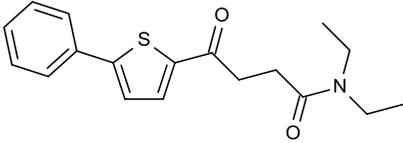
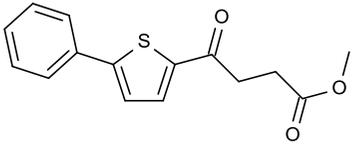
Schl32311 (254)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	$\geq 5\mu\text{M}$
Schl32312 (244)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	$\geq 5\mu\text{M}$
Schl32315 (248)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	$\geq 5\mu\text{M}$
Schl32317 (258)		✓	✓	n.t.	✓	✓	n.t.	$\geq 5\mu\text{M}$
Schl32324 (259)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	$\geq 10\mu\text{M}$

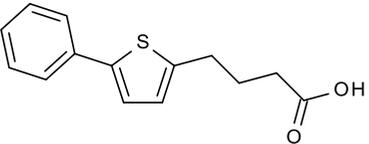
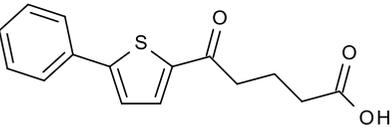
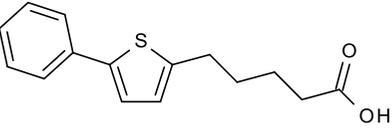
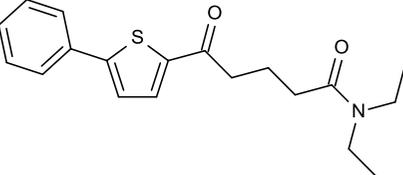
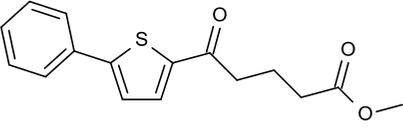
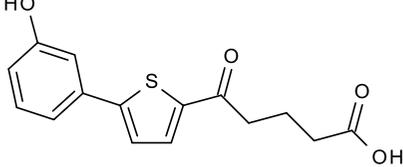
Schl32325 (255)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	≥ 10μM
Schl32328 (278)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	≥ 10μM
Schl32329 (286)		✓	✓	n.t.	✓	✓	n.t.	≥ 1μM
Schl32330 (283)		✗	✓	n.t.	✗	✓	n.t.	≥ 5μM
Schl32336 (261)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	≥ 10μM
Schl32337 (262)		✓	✓	n.t.	✓	✓	n.t.	≥ 10μM

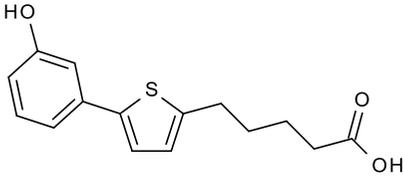
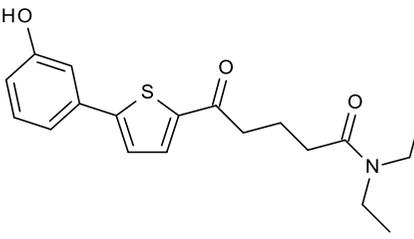
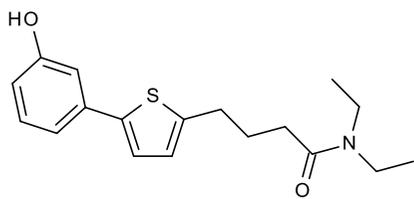
Schl32340 (265)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	$\geq 10\mu\text{M}$
Schl32342 (267)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	$\geq 10\mu\text{M}$
Schl32344 (270)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	$\geq 10\mu\text{M}$
Schl32347 (273)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	$\geq 5\mu\text{M}$
Schl32351 (279)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	$\geq 5\mu\text{M}$
Schl32354 (268)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	$\geq 10\mu\text{M}$

Schl32355 (276)		✓	✓	n.t.	✓	✓	n.t.	$\geq 10\mu\text{M}$
Schl32360 (287)		✗	✓	n.t.	✗	✓	n.t.	$\geq 5\mu\text{M}$
Schl32361 (288)		✗	n.t.	n.t.	✗	n.t.	n.t.	$\geq 5\mu\text{M}$
Schl32363 (289)		✗	✓	n.t.	✗	✓	n.t.	$\geq 1\mu\text{M}$
Schl32364 (290)		✓	✓	n.t.	✓	✓	n.t.	$\geq 5\mu\text{M}$

Zytotoxizitätsbestimmungen der Biarylalkylcarbonsäure-Derivate

Bezeichnung Konzentration	Strukturformel	HepG2 [100µM]	HepG2 [50µM]	HepG2 [25µM]	LS174T [100µM]	LS174T [50µM]	LS174T [25µM]	Aktivität gegen <i>S. mansoni</i>
Schl32071 (66)		✗	✗	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	≥ 50µM
Schl32266 (81)		✗	✗	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	≥ 50µM
Schl32267 (78)		✓	✓	✓	✓	✓	✓	≥ 100µM

Schl32268 (75)		✓	✓	✓	✓	✓	✓	≥ 50μM
Schl32269 (69)		✓	✓	✓	✓	✓	✓	≥ 100μM
Schl32270 (76)		✓	✓	✓	✓	✓	✓	n.a.
Schl32271 (82)		✗	✗	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	≥ 25μM
Schl32272 (79)		✓	✓	✓	✓	✓	✓	≥ 50μM
Schl32356 (83)		✓	✓	✓	✗	✓	✓	≥ 10μM

Schl32357 (84)		✓	✓	✓	✓	✓	✓	$\geq 10\mu\text{M}$
Schl32358 (85)		✓	✓	✓	✓	✓	✓	$\geq 10\mu\text{M}$
Schl32359 (86)		✗	✓	✓	✗	✓	✓	$\geq 10\mu\text{M}$