

5 Ergebnisse und Diskussion

Die Tabellen 5.1 bis 5.8 fassen die Messergebnisse der in Kapitel 4 beschriebenen Methoden zusammen.

Die Einteilung erfolgte nach der in der Zielsetzung festgelegten Segmentierung (**Abb. 2.1**). Tabelle 5.1, 5.2 und 5.3 umfassen Arylnaphthochinone, bei denen das Segment B variiert wurde.

Tabelle 5.4 enthält Arylnaphthochinone, bei denen die 3-Position in Segment C verändert wurde.

In Tabelle 5.5 sind die Variationen in Segment A zusammengestellt. Diese führen zu den diversen heterozyklisch anellierten Arylbenzochinonen.

Tabelle 5.6 und Tabelle 5.7 enthalten komplexere Ringsysteme, zu denen die Benzophenazine, die Benzonaphthofurane und die Naphthothiazine gezählt wurden.

In Tabelle 5.8 finden sich die Ergebnisse für die Arylbenzochinone.

Abschließend erfolgt die Einteilung der in niedrig mikromolaren Konzentrationen aktiven Verbindungen gemäß ihrer Hemmeigenschaften und die Diskussion wirkungsrelevanter Strukturelemente.

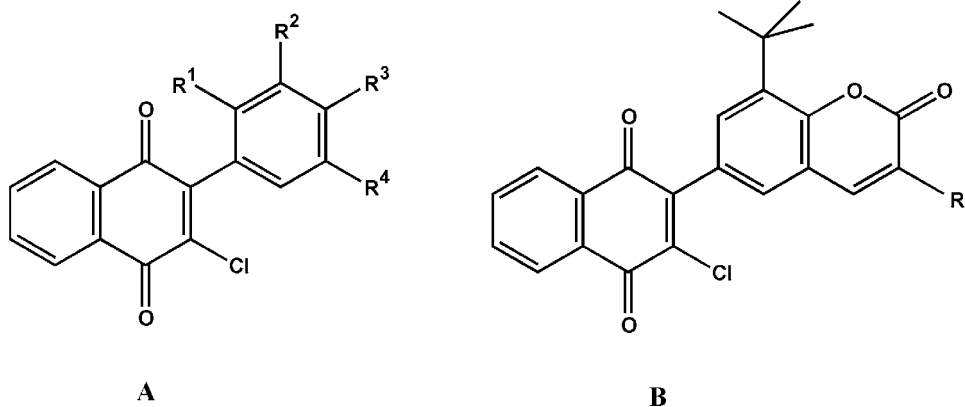
5.1 Variationen in Segment B

5.1.1 Salicylsäure- und Zimtsäure-Derivate mit einer *tert*-Butylgruppe

Die Variationen im Segment B wurden an der 3-Chlorverbindung **4** und der 3-Hydroxy-Verbindung **3** vorgenommen. Für diese bereits von Schwandt [146] auf ihre 5-LO-Hemmung, antioxidative Kapazität und Lipophilie untersuchten Verbindungen konnte das

Untersuchungsprogramm um die in der vorliegenden Dissertation neu etablierten Enzymtests - cPLA₂, 12-LO und COX-1 - erweitert werden.

Tabelle 5.1: Ergebnisse zu den Enzymhemmungen, der Lipophilie und der Antioxidativen Kapazität der monodebutylierten 3-Chlor-Arylnaphthochinone



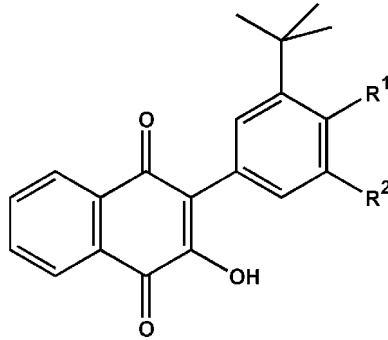
Nr.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	5-LO IC ₅₀ (μM)	12-LO IC ₅₀ (μM)	COX-1 IC ₅₀ (μM)	cPLA₂ IC ₅₀ (μM)	Log P	AOA		
										Lag-Phase (s)	CL-Löschung (10 ⁻⁷ mol/L)	
A	4	H	<i>t</i> -Bu	OH	H	3.9 (3.6-4.2)	6.8 (4.7-9.9)	2.4 (1.2-4.8)	4.6 (3.9-5.5)	5.4	3.85 +/- 1.7	4.50 +/- 3.1
	6	H	<i>t</i> -Bu	OH	CHO	1.9 (1.6-2.2)	2.6 (1.8-3.7)	3.1 (2.2-4.4)	2.8 (1.7-4.6)	6.1	8.84 +/- 3.8	n.b.²⁾
	8	H	<i>t</i> -Bu	OMe	CHO	3.8 (3.4-4.3)	3.4 (2.8-4.2)	2.2 (1.2-4.2)	3.6 (3.1-4.1)	5.7	11.5 +/- 5.5	5.7 +/- 3.7
	9	H	<i>t</i> -Bu	OMe	COOH	2.6 (2.1-3.3)	>>10	>>10	>10	5.7	3.86 +/- 3.9	0.97 +/- 0.9
	97	OH	Cl	OH	<i>t</i> -Bu	3.3 (3.2-3.4)	2.5 (1.4-4.4)	1.5 (0.56-4.0)	3.7 (3.2-4.2)	3.7	836 +/- 23.3	34.8 +/- 4.5
	16	H	<i>t</i> -Bu	OH	C ₂ H ₂ COOMe	3.3 (3.2-3.4)	3.2 (2.5-4.0)	4.3 (2.8-6.6)	4.8 (3.3-7.0)	4.4	0.46 +/- 4.9	n.b.
B	18	H				3.4 (3.0-3.8)	1.9 (1.2-3.1)	1.9 (1.2-3.0)	3.2 (2.8-3.6)	3.7	34.7 +/- 3.9	4.80 +/- 0.75
	21	COOEt				3.1 (2.7-3.5)	1.8 (1.1-3.0)	2.5 (1.6-3.9)	3.9 (3.3-4.7)	4.1	9.16 +/- 5.7	2.38 +/- 1.7

Alle 3-Chlorverbindungen mit Ausnahme von **9** sind unselektive Hemmstoffe aller drei Enzyme der AA-Kaskade sowie der cPLA₂. Die Variationen im Segment B führten zu keinen signifikanten Unterschieden zwischen den einzelnen Vertretern. Alle IC₅₀-Werte liegen in der unteren Hälfte des Bereiches von 1-10 μM. Die antioxidativen Kapazitäten

²⁾ n.b. = nicht bestimmt

sind vergleichbar gering, so dass sie nicht für die Enzymhemmung verantwortlich gemacht werden können.

Tabelle 5.2: Ergebnisse zu den Enzymhemmungen, der Lipophilie und der Antioxidativen Kapazität der monodebutylierten 3-Hydroxy-Arylnaphthochinone



Nr.	R ¹	R ²	5-LO IC ₅₀ (μM)	12-LO IC ₅₀ (μM)	COX-1 IC ₅₀ (μM)	cPLA₂ IC ₅₀ (μM)	Log P	AOA Lag-Phase (s) CL- Löschung	
								(10 ⁻⁶ mol/L)	(10 ⁻⁷ mol/L)
3	OH	H	8.7 (4.8-16)	35 (30-41)	21 (18-25)	>10	3.9	n.b.	71.7 +/- 5.6
108	OH	Cl	2.7 (2.4-3.0)	24 (10-55)	3.7 (2.1-6.5)	n.b.	3.5	n.b.	69.9 +/- 13.4
5	OH	CHO	2.2 (1.7-2.8)	>>100	21 (13-35)	n.b.	4.7	262 +/-28.5	37.4 +/-3.1
10	OMe	CHO	2.9 (1.1-7.8)	>10	>10	n.b.	3.8	5.80 +/- 2.2	2.07 +/- 1.7
7	OH	COOH	13 (6.6-25)	5.2 (4.6-5.8)	7.0 (5.5-8.8)	n.b.	2.2	4.71 +/- 2.3	1.78 +/-2.5
11	OMe	COOH	7.8 (4.9-12)	39 (22-69)	28 (20-39)	n.b.	4.0	-4.70 +/- 5.2	3.20 +/- 4.3
15	OH	CH=CH-COOMe	27 (24-31)	56 (22-140)	7.2 (4.7-11)	n.b.	3.3	n.b.	182 +/- 10.4
17	OH	CH=CH-COOH	>>10	4.0 (3.3-4.9)	4.1 (3.3-5.1)	n.b.	3.5	n.b.	165 +/- 10.0
20	OH	CH ₂ CH ₂ COOMe	4.8 (3.8-6.0)	4.0 (2.1-7.5)	1.9 (1.4-2.6)	>10	3.3	n.b.	207 +/- 14.1
19	OH	CH ₂ CH ₂ CON(Me) ₂	7.9 (6.2-10)	>10	>10	n.b.	3.2	n.b.	286 +/- 67.4

Bei den Derivaten der 3-Hydroxy-Verbindung **3** handelt es sich um Verbindungen mit unterschiedlichen Selektivitäten für die einzelnen Enzyme. Lediglich der Propionsäureester **20** hemmt alle drei Enzyme der AA-Kaskade. Bei allen selektiven Verbindungen kann eine Hemmung der cPLA₂ per Definition ausgeschlossen werden. Der Propionsäureester **20**

zeigte im cPLA₂-Assay keine relevante Aktivität. Die Hydroxyverbindungen sind also im Vergleich mit den Chlorverbindungen keine Hemmstoffe der cPLA₂. Bei ihnen spielen dafür aber die Variationen in Segment B eine entscheidende Rolle.

Die Vergleichsverbindung **3** ist ein eher schwächer wirksamer, selektiver 5-LO-Inhibitor. Eine Steigerung der 5-LO-Aktivität konnte durch die Formylierung (**5**) unter gleichzeitiger Verstärkung der Selektivität erzielt werden. Eine Veretherung der Hydroxylgruppe (**10**) führt dann wieder zu einer deutlichen Abschwächung der Selektivität bei nur unwesentlicher Verminderung der Aktivität.

Eine Chlorierung in Segment B liefert den ersten potenten, dualen 5-LO/COX-1-Hemmstoff (**108**) dieser Substanzklasse.

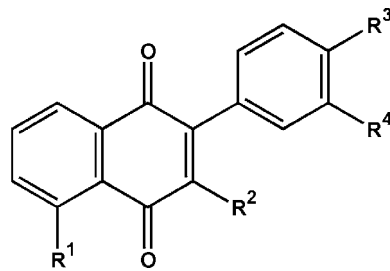
Durch Einführung der Salicylsäure-Struktur in Segment B (**7**) nimmt die 5-LO-Aktivität deutlich ab und man erhält einen moderaten dualen 12-LO/COX-1-Inhibitor. Die Verlängerung der Seitenkette zur Zimtsäure-Partialstruktur (**17**) verstärkt nochmals die Hemmaktivität auf beide Enzyme. Die Veresterung derselben (**15**) führt dann zum Verlust der 12-LO-Aktivität und liefert einen selektiven COX-1-Hemmer.

Wie bereits erwähnt, ist der analoge Propionsäureester **20** ein potenter Hemmstoff aller drei Enzyme. Die freie Beweglichkeit der Seitenkette führt somit gleichzeitig zum Selektivitätsverlust. Die Einführung einer Amid-Funktion (**19**) erwies sich als wenig erfolgreich. Es resultiert eine Verbindung, die im Wirkprofil der Vergleichsverbindung **3** entspricht.

5.1.2 Vollständig debutylierte Arylnaphthochinone

Weitere Untersuchungen zu Variationen in Segment B wurden an den vollständig debutylierten Verbindungen durchgeführt. Dazu wurden Verbindungen von Wurm [169] und Probst [191] herangezogen und des weiteren Verbindungen mit Salicylaldehyd- und Salicylsäure-Struktur synthetisiert.

Tabelle 5.3: Ergebnisse zu den Enzymhemmungen, der Lipophilie und der Antioxidativen Kapazität der vollständig debutylierten Arylnaphthochinone



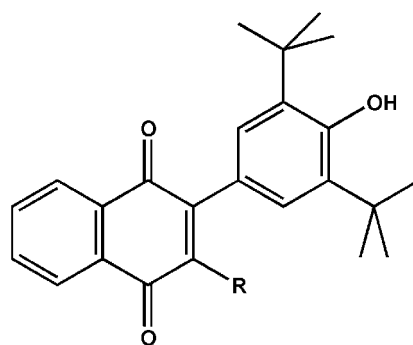
Nr.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	5-LO IC ₅₀ (μM)	12-LO IC ₅₀ (μM)	COX-1 IC ₅₀ (μM)	cPLA₂ IC ₅₀ (μM)	Log P	AOA Lag-Phase (s) CL- Löschung (10 ⁻⁶ mol/L)
109	H	H	OH	H	3.2 (3.1-3.2)	31 (6.8-140)	5.0 (3.3-7.7)	n.b.	2.3	2.30 +/- 3.3
12	H	OH	OH	H	>>10	>>10	>>10	n.b.	0.8	1.68 +/- 0.39
110	H	Cl	OH	H	3.4 (3.1-3.7)	4.4 (3.1-6.3)	5.8 (3.3-10)	5.5 (3.9-7.7)	2.6	0.43 +/- 4.9
111	OH	H	OH	H	5.1 (3.4-7.6)	3.2 (1.8-5.7)	7.3 (5.5-9.7)	12 (6.0-24)	2.8	3.22 +/- 2.0
112	H	OH	COOH	H	>>10	37 (26-53)	46 (25-85)	n.b.	-0.1	4.09 +/-5.4
13	H	OH	OH	CHO	17 (9.6-27)	>100	>100	n.b.	1.3	-10.1 +/- 6.6
14	H	OH	OH	COOH	>>10	>>10	>>10	n.b.	1.3	3.27 +/- 1.1

Durch den Verlust beider *tert*-Butyl-Gruppen kommt es zu einer deutlichen Verringerung der Lipophilie. Eine sehr niedrige Lipophilie führt zu einem massiven Wirkungsverlust. So sind **12**, **112**, **13** und **14** im mikromolekularen Bereich unwirksam. Dieses ist mit hoher Wahrscheinlichkeit darauf zurückzuführen, dass die Substanzen die Membranen nicht mehr passieren können und weniger auf strukturelle Gründe. Die Verbindung **109** mit nur einer Hydroxy-Funktion in Segment B ist ein mit **108** (Tabelle 5.2) durchaus vergleichbarer dualer 5-LO/COX-1-Inhibitor. Das 3-Chlor-Derivat **110** ist wiederum ein Hemmstoff aller drei Enzyme der AA-Kaskade sowie der cPLA₂. Eine Hydroxylierung in Segment A (**111**) führt zu einer vergleichsweise geringen Abnahme der Lipophilie und liefert einen unselektiven Hemmstoff der beiden LO und der COX-1.

5.2 Variationen in Segment C:

Einfluss verschiedener Substituenten in 3-Position des Arylnaphthochinons 1

Tabelle 5.4: Ergebnisse zu den Enzymhemmungen, der Lipophilie und der Antioxidativen Kapazität der in 3-Position variabel substituierten Arylnaphthochinone



Nr.	R	5-LO IC ₅₀ (μM)	12-LO IC ₅₀ (μM)	COX-1 IC ₅₀ (μM)	cPLA₂ IC ₅₀ (μM)	Log P	AOA	
							Lag-Phase (s) (10 ⁻⁶ mol/L)	CL-Löschung (10 ⁻⁷ mol/L)
25	F	3.3 (3.1-3,5)	3.7 (3.7-3.7)	3.7 (3.3-4.1)	4.8 (3.9-5.9)	5.0	76.6 +/- 10.4	11.8 +/- 6.2
2	Cl	1.8 (1.4-2.4)	6.0 (4.9-7.4)	2.6 (2.1-3.2)	5.8 (3.6-9.3)	5.7	45.0 +/- 7.0	4.00 +/- 1.0
26	Br	3.3 (3.3-3.3)	5.3 (3.6-7.8)	3.3 (2.2-4.9)	6.2 (3.6-11)	5.8	56.0 +/- 3.0	n.b.
27	I	1.4 (1.2-1.7)	41 (2.0-86)	5.4 (2.9-10)	12 (5.9-24)	5.4	37.7 +/-3.6	6.36 +/-1.2
1	OH	3.9 (2.9-5.2)	>>10	>10	>10	4.3	n.b.	152 +/- 10.0
113	OMe	>10	>>10	>10	>10	5.1	147 +/- 14.0	n.b.
28	CN	3.8 (1.7-8.3)	3.9 (2.1-7.2)	1.0 (0.63-1.6)	>10	4.3	172 +/- 26.1	20.8 +/- 3.0
30	CH(CN)COOEt	5.3 (3.0-9.4)	>100	>100	n.b.	4.9	534	64.4 +/- 10.0
29	CH(COOEt) ₂	>>10	>10	>10	n.b.	6.1	142 +/- 45.0	11.6 +/- 2.4
31	S-CH ₂ -COOMe	2.4 (1.8-3.2)	>>10	17 (9.3-31)	n.b.	5.4	35.6 +/- 8.1	n.b.
32	S-CH(COOEt)NHCOMe	3.5 (3.0-4.1)	12 (8.2-18)	3.7 (2.6-5.3)	n.b.	4.0	37.9 +/- 7.7	8.13 +/- 6.0

Interessant ist der Vergleich der Basisverbindung **1** mit den entsprechenden Halogenverbindungen (Tabelle 5.4). Der Austausch der Hydroxy- gegen die Halogenfunktionen bewirkt an allen getesteten Enzymmodellen eine Aktivitätssteigerung.

Ein Einfluss des Atomradius in der Reihe der Halogene oder der Eigenschaft als Abgangsgruppe spielt keine entscheidende Rolle. Die Ergebnisse liegen alle in derselben Größenordnung.

Das Cyanid **28** als Pseudohalogenid fällt durch seine besonders potente COX-1-Hemmung auf. Ansonsten entspricht es in seiner Wirkung v.a. dem Fluorid **25**. Allerdings hemmt es die cPLA₂ nicht.

Eine Veretherung der Hydroxylgruppe (**113**) führt zum Verlust sämtlicher Enzymhemmungen. Die Einführung von Malonsäure-Derivaten (**29** und **30**) führt weder zu veränderten Selektivitäten noch zu besseren Hemmaktivitäten. Der Thioether **31** ist ein weiterer potenter, selektiver 5-LO-Inhibitor während das Acetylcystein-Derivat **32** ein dualer 5-LO/COX-1-Hemmer ist.

5.3 Variationen in Segment A: heterozyklisch anellierte Aryl-1,4-benzochinone

Auch bei den heterozyklischen Analoga ließ sich die unselektive Hemmung durch die 3-Halogen-Derivate bestätigen (Tabelle 5.5). Sie hemmen alle drei Enzyme der AA-Kaskade sowie die cPLA₂. Die Stellung des Stickstoffs und zusätzliche Halogensubstitution in Segment A haben dabei keinen relevanten Einfluss auf die Hemmaktivitäten. Im Vergleich zu den Arylnaphthochinonen konnte bei diesen Vertretern durch die Einführung der Heteroatome die 12-LO-Inhibition verstärkt werden.

Die Chinoxalin-Struktur **69** führte zu dem bislang potentesten 5-LO-Inhibitor, der im Arbeitskreis Wurm entwickelt werden konnte. Damit ist erstmals das Ziel erreicht worden, einen im nanomolekularen Bereich aktiven 5-LO-Inhibitor zu schaffen. Allerdings zeigt die Substanz, wie alle Halogen-Derivate, auch potente Hemmaktivitäten für die 12-LO-, COX-1- und cPLA₂-Inhibition.

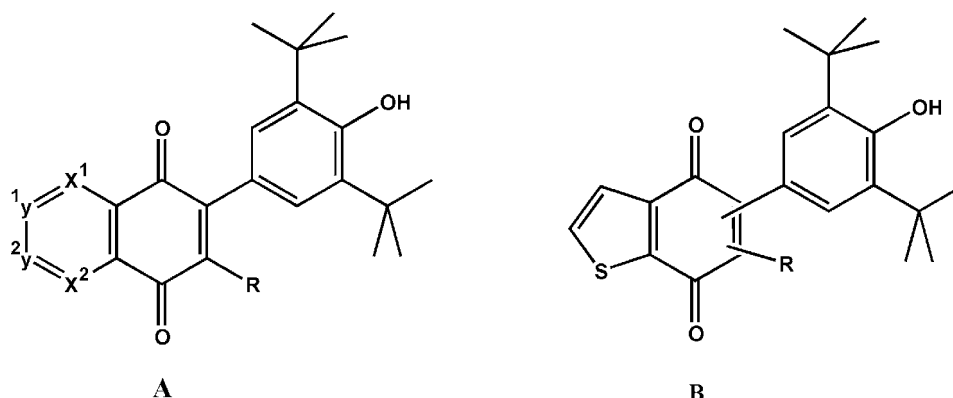
Bei den Hydroxy- und Methoxy-Derivaten kommt der Stellung des Stickstoffs eine wichtige Bedeutung für die Selektivität zu. Während das Chinolin **42** im Bereich unter 10 μM unwirksam ist, ist sein Isomer **43** ein potenter COX-1-Hemmstoff.

Eine Halogenierung im Segment A (**53/54**) führt zu einem unselektiven Hemmstoff der 5-LO, 12-LO und COX-1. Eine Hemmung der cPLA₂ findet aber nicht statt. Der Austausch dieser Halogenfunktion gegen eine Methoxy-Gruppe **55** bewirkt den Verlust der 5-LO-Aktivität bei gleichzeitiger Steigerung der 12-LO-Aktivität.

Die Isochinolin-Derivate **61/62**, die als Isomerengemisch in die Messungen eingegangen sind, sind im Vergleich zu den Chinolin-Derivaten **42** und **43** sehr potente duale Hemmstoffe der 12-LO und COX-1. Eine Trennung der Isomere wäre hier von großem Nutzen gewesen, um eine Aussage über die Bedeutung der Position des Stickstoffs machen zu können. Sollten die hohen Hemmaktivitäten für 12-LO und COX-1 nur einem Isomer zuzuordnen sein, stände ein besonders aktiver 12-LO/COX-1-Inhibitor zur Verfügung. Das Problem der Isomerentrennung konnte aber, wie bereits in Kapitel 3.2.3 erläutert, nicht gelöst werden.

Die Methoxychinolin-Derivate sind beide Hemmstoffe der 5-LO, wobei das Isomer **40** etwa doppelt so hohe Aktivität aufweist wie **41**, während letzteres zusätzlich ein potenter COX-1-Hemmer ist.

Tabelle 5.5: Ergebnisse zu den Enzymhemmungen, der Lipophilie und der Antioxidativen Kapazität der heterozyklisch anellierten Arylbenzochinone



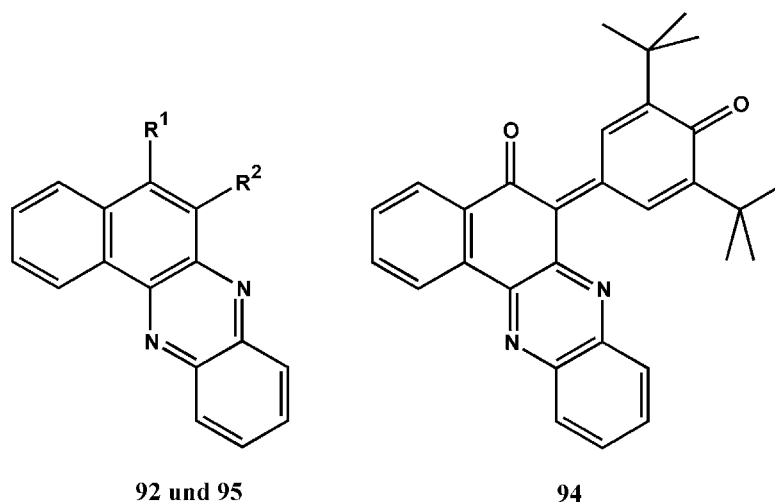
	Nr.	R	X ¹	X ²	Y ¹	Y ²	<u>5-LO</u> IC ₅₀ (µM)	<u>12-LO</u> IC ₅₀ (µM)	<u>COX-1</u> IC ₅₀ (µM)	<u>cPLA₂</u> IC ₅₀ (µM)	Log P	<u>AOA</u> Lag-Phase (s) CL-Löschung (10 ⁻⁷ mol/L)
A	69	Br	N	N	CH	CH	0.47 (0.21-0.81)	3.3 (2.6-4.1)	3.5 (2.0-6.2)	3.6 (2.0-6.4)	2.8	128 +/- 14.9
	38	Br	N	CH	CH	CH	2.8 (2.5-3.2)	1.1 (0.58-2.1)	2.3 (1.2-4.3)	2.6 (2.4-2.9)	4.9	40.4 +/- 11.3
	39	Br	CH	N	CH	CH	2.9 (2.5-3.3)	2.1 (1.3-3.5)	2.4 (1.8-3.1)	3.1 (2.6-3.7)	4.7	21.6 +/- 8.3
	59/60	Br	CH CH	CH CH	N CH	CH N	2.6 (2.3-2.9)	1.5 (1.1-2.1)	1.6 (0.80-3.2)	3.3 (2.6-4.2)	6.0	34.8 +/- 9.7
	51/52	Br	N CCl/Br	CCl/Br N	CH CH	CH CH	2.8 (2.3-3.4)	1.5 (0.80-2.8)	2.5 (1.8-3.4)	2.2 (1.7-2.9)	5.4	19.6 +/- 8.5
	42	OH	N	CH	CH	CH	35 (31-40)	43 (34-54)	19 (13-28)	n.b.	4.4	261 +/- 36.1
	43	OH	CH	N	CH	CH	>>100	12 (6.2-23)	3.5 (2.6-4.7)	n.b.	3.2	138 +/- 4.3
	61/62	OH	CH CH	CH CH	N CH	CH N	19 (7.5-48)	1.2 (1.0-1.4)	0.99 (0.84-1.2)	n.b.	2.7	115 +/- 28.6
	53/54	OH	N CCl/Br	CCl/Br N	CH CH	CH CH	4.5 (3.3-6.2)	3.1 (1.7-5.8)	3.8 (2.1-7.0)	>>10	4.2	213 +/- 46.4
	55	OH	N COMe	COMe N	CH CH	CH CH	>10	1.8 (1.2-2.6)	2.8 (2.2-3.6)	n.b.	n.b.	159 +/- 14.0
	40	OMe	N	CH	CH	CH	3.1 (2.9-3.3)	>>100	35 (30-41)	n.b.	4.0	255 +/- 79.6
41	OMe	CH	N	CH	CH	6.6 (3.8-11)	>100	1.0 (0.53-1.9)	n.b.	3.9	156 +/- 32.5	
B	85/86	Br					3.6 (3.2-4.1)	2.6 (1.7-4.0)	0.82 (0.31-2.2)	4.3 (3.3-5.6)	4.9	8.97 +/- 5.6
	89/90	OH					12 (5.3-27)	22 (11-43)	12 (4.7-30)	n.b.	3.7	36.3 +/- 1.9
	87/88	OMe					0.97 (0.49-1.9)	>>10	2.9 (2.4-3.5)	n.b.	4.4	10.6 +/- 2.4
	83/84	H					40 (12-130)	>>10	>>10	n.b.	4.9	12.4 +/- 5.4

Bei den Thiophen-Derivaten ist das Isomerengemisch der Methoxy-Derivate **87/88** von besonderem Interesse, da hier eine sehr hohe 5-LO-Aktivität bei gleichzeitig potenter COX-1-Aktivität festgestellt werden konnte. Auch hier war die sc Trennung der Isomere nicht erfolgreich.

5.4 Benzophenazine, Benzonaphthofurane und Naphthothiazine

5.4.1 Benzophenazine

Tabelle 5.6: Ergebnisse zu den Enzymhemmungen, der Lipophilie und der Antioxidativen Kapazität der Benzophenazine

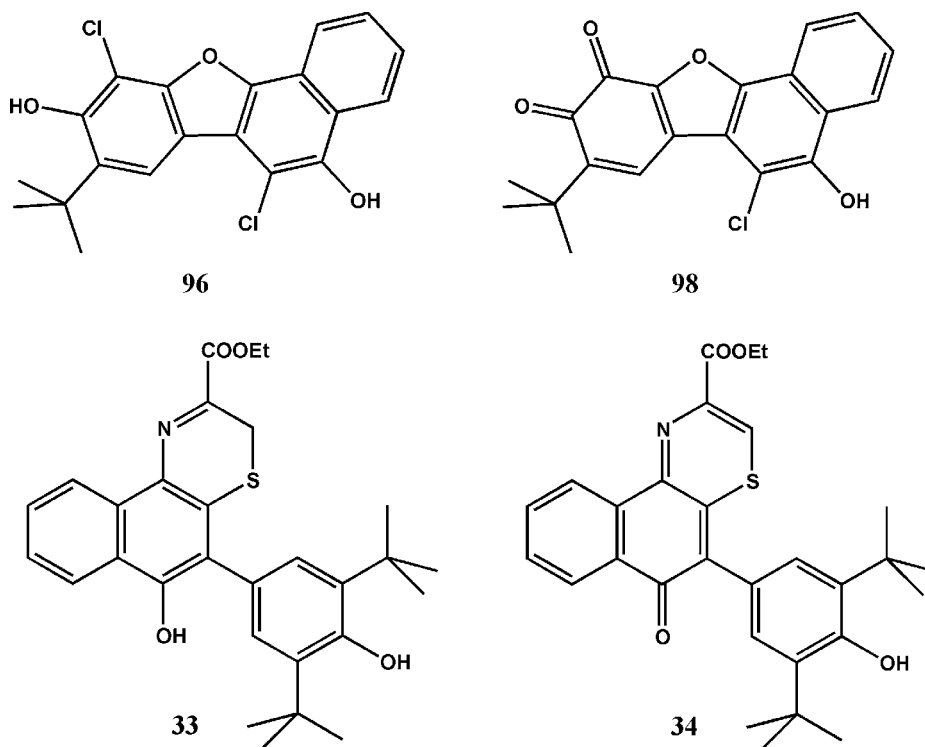


Nr.	R ¹	R ²	<u>5-LO</u> IC ₅₀ (μM)	<u>12-LO</u> IC ₅₀ (μM)	<u>COX-1</u> IC ₅₀ (μM)	<u>cPLA₂</u> IC ₅₀ (μM)	Log P	<u>AOA</u> Lag-Phase (s) CL- Löschung	
								(10 ⁻⁶ mol/L)	(10 ⁻⁷ mol/L)
92	DTBP	H	>>10	>>10	>10	n.b.	n.b.	28.4 +/- 7.6	6.07 +/- 3.2
95	OH	DTBP	>10	>10	28 (20-39)	n.b.	4.8	156 +/- 11.9	27.5 +/- 2.2
94			>10	>>10	28 (19-41)	n.b.	n.b.	259 +/- 14.8	20.1 +/- 4.4

Die aus Aryl-1,2- bzw. -1,4-naphthochinonen, welche aktive Hemmstoffe der AA-Kaskade sind, entwickelten Derivate sind praktisch inaktiv (Tabelle 5.6). Diese großen planaren Moleküle sind offensichtlich nicht in der Lage, so in die lipophilen Taschen einzudringen, dass WW mit dem aktiven Zentrum zustande kommen. **94** und **95** sind Antioxidantien mit derselben Kapazität wie Ascorbinsäure (Tabelle 5.14).

5.4.2 Benzonaphthofurane und Naphthothiazine

Tabelle 5.7: Ergebnisse zu den Enzymhemmungen, der Lipophilie und der Antioxidativen Kapazität der Benzonaphthofurane und Naphthothiazine



Nr.	<u>5-LO</u> IC ₅₀ (μM)	<u>12-LO</u> IC ₅₀ (μM)	<u>COX-1</u> IC ₅₀ (μM)	<u>cPLA₂</u> IC ₅₀ (μM)	Log P	<u>AOA</u>	
						Lag-Phase (s) (10 ⁻⁶ mol/L)	CL-Löschung (10 ⁻⁷ mol/L)
96	0.81 (0.55-1.2)	>>10	13 (6.8-25)	n.b.	5.2	508 +/- 71.3	51.1 +/- 5.5
98	2.7 (2.5-3.0)	>>10	4.1 (3.0-5.6)	n.b.	3.9	132 +/- 80.2	n.b.
33	9.0 (5.5-15)	>>10	5.2 (4.3-6.3)	>>10	5.0	539 +/- 45.5	116 +/- 36.4
34	3.0 (2.5-3.6)	>>10	>10	n.b.	5.1	n.b.	120 +/- 15.5

Für den von Schwandt entwickelten potenten 5-LO-Hemmer **96** konnte, durch Erweiterung des Testprogramms auf die gesamte Arachidonsäurekaskade, gleichzeitig eine selektive Hemmung der 5-LO nachgewiesen werden. Durch die Oxidation zu **98** wird die Aktivität der 5-LO-Hemmung halbiert. Es resultiert jedoch ein durchaus potenter dualer 5-LO/COX-1-Hemmstoff.

Das Naphthothiazin **33** ist ein nur schwacher 5-LO-Hemmer mit mittlerer COX-1-Aktivität. Durch Oxidation zu **34** entsteht wieder eine Verbindung mit chinoider Struktur, wodurch eine Verstärkung der 5-LO-Aktivität erreicht werden konnte. Gleichzeitig geht jedoch die COX-1-Aktivität verloren.

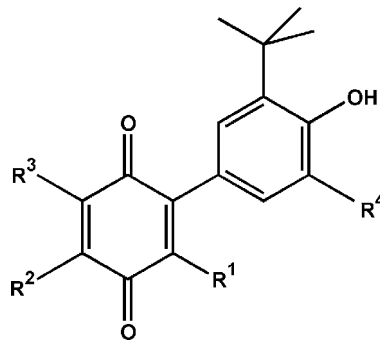
5.5 Aryl-1,4-benzochinone

Die Synthese der Aryl-1,4-benzochinone erfolgte auf die Hypothese hin, dass das Aryl-1,4-benzochinon-Gerüst wesentlich für die 5-LO-Inhibition verantwortlich ist, nachdem alle vorangegangenen Variationen zu keinen signifikanten Aktivitätssteigerungen geführt hatten (Kapitel 3.4).

Bei Betrachtung der Ergebnisse bestätigt sich diese Hypothese. Mit Ausnahme des Di-Arylbenzochinons **103** besitzen alle Vertreter der Substanzklasse eine 5-LO-Aktivität im unteren mikromolaren Bereich. Interessant dabei ist, dass die Sperrigkeit der zwei benachbarten Arylsubstituenten nur für die LO-Aktivität kontraproduktiv ist. Die Verbindung ist aber ein moderater selektiver COX-1-Hemmstoff. Von besonderer Bedeutung ist die Stellung der Sauerstofffunktion am chinoiden System. Immer wenn sich diese *para*-ständig zum Arylsubstituent befindet, erfolgt selektive 5-LO-Hemmung (**101**, **107**). Die *meta*-ständige Methoxyfunktion (**102**) führt zum Selektivitätsverlust. Es kommt zur Hemmung aller drei Enzyme der AA-Kaskade sowie der cPLA₂, die für den Selektivitätsverlust verantwortlich gemacht werden kann.

Die unselektive Wirkung des Aryl-1,4-benzochinons **105** kann damit erklärt werden, dass hier ein System vorliegt, welches in der Lage ist, mit Nukleophilen 1,4-Additionen einzugehen. Es muss davon ausgegangen werden, dass es sich hier um eine zytotoxische Verbindung handelt, die irreversible Reaktionen mit Proteinen eingeht.

Tabelle 5.8: Ergebnisse zu den Enzymhemmungen, der Lipophilie und der Antioxidativen Kapazität der Aryl-1,4-benzochinone



Nr.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	<u>5-LO</u> IC ₅₀ (μM)	<u>12-LO</u> IC ₅₀ (μM)	<u>COX-1</u> IC ₅₀ (μM)	<u>cPLA₂</u> IC ₅₀ (μM)	Log P	<u>AOA</u>	
										Lag-Phase (s) (10 ⁻⁶ mol/L)	CL-Löschung (10 ⁻⁷ mol/L)
105	H	H	H	<i>t</i> -Bu	2.5 (1.9-3.3)	6.1 (4.3-8.7)	5.1 (3.7-7.0)	>10	n.b.	175 +/- 29.9	20.9 +/- 2.3
101	H	OMe	H	<i>t</i> -Bu	2.3 (1.6-3.2)	>10	>10	n.b.	3.9	498 +/- 81.7	29.3 +/- 6.1
102	H	H	OMe	<i>t</i> -Bu	2.8 (2.1-3.6)	5.1 (3.7-7.0)	1.9 (0.77-4.7)	4.1 (2.7-6.2)	3.5	343 +/- 20.6	50.2 +/- 2.4
103	DTBP	OMe	H	<i>t</i> -Bu	>>10	>>10	8.7 (5.6-13)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
107	H	OH	H	H	1.7 (0.94-3.1)	>>10	>10	n.b.	n.b.	-7.93 +/- 0.2	-2.90 +/- 3.0

Die relativ starke 5-LO-Hemmung des partiell debutylierten Hydroxy-Derivats **107**, welches dibutyliert als Analogon der Standardverbindung **1** geplant war, muss differenzierter betrachtet werden. Wie Schwandt [146] zeigen konnte, führt der Verlust einer *tert*-Butyl-Gruppe zu einem deutlichen Aktivitätsverlust, so dass bei Vorhandensein beider *tert*-Butyl-Gruppen hier eine Aktivität im nanomolekularen Bereich angenommen werden kann. Dieses bestätigt nochmals eindrucksvoll die zuvor aufgestellte Hypothese.

5.6 Zusammenstellung wichtiger Parameter zur Erfassung von Struktur-Wirkungsbeziehungen

5.6.1 Unselektive Hemmung der kompletten AA-Kaskade:

2-Aryl-3-halogen-1,4-benzochinone als vinyloge Säurehalogenide

Unabhängig von allen weiteren umfangreichen Strukturvariationen ist allen Verbindungen mit einer vinylogen Säurehalogenid-Partialstruktur eine unselektive Hemmung der LO und COX-1 gemeinsam. Einzige Ausnahme ist der Salicylsäureether **9** (Tabelle 5.1), welcher ein selektiver 5-LO-Hemmstoff ist. Die Überlegung, dass diese unselektive Hemmung der AA-Kaskade auf eine Hemmung der cPLA₂ zurückzuführen sein könnte, ließ sich zunächst im cPLA₂-Assay bestätigen. Sämtliche Vertreter dieser Gruppe sind gleichzeitig auch Hemmstoffe der cPLA₂.

Die Versuche, durch Zusatz von AA zu überprüfen, ob die Hemmung der LO und COX-1 wirklich allein auf eine Hemmung der cPLA₂ zurückzuführen ist oder ob die Enzyme der AA-Kaskade durch die Substanzen selbst gehemmt werden, lieferten folgende Ergebnisse: Bei der Betrachtung der Messergebnisse in Tabelle 5.9, mit Ausnahme der Standardverbindung **1**, zeigt sich, dass bei Zusatz von AA ebenfalls potente 5- und 12-LO-Hemmung eintritt. Dabei liegen die für die 5- und 12-LO-Hemmung ermittelten IC₅₀-Werte in beiden Fällen in der gleichen Größenordnung. Dies entspricht nicht den Erwartungen, dass die zuvor gemessenen Hemmwerte grundsätzlich auf die Hemmung der cPLA₂ angerechnet werden können. Die Annahme trifft allerdings auf die COX-1-Hemmung der Verbindungen **38**, **59/60** und **85/86** zu. Diese sind bei Zusatz von AA nach wie vor potente 5- und 12-LO-Inhibitoren, beeinflussen aber die COX-1 nicht. Die im Standard-Assay gemessene COX-1-Hemmung beruht also auf der Blockade der AA-Freisetzung aus der Zellmembran.

Tabelle 5.9: Vergleich der Enzymhemmungen mit und ohne Zusatz von AA

Nr.	<u>cPLA₂</u> IC ₅₀ (µM)	<u>5-LO+AA</u> IC ₅₀ (µM)	<u>5-LO</u> IC ₅₀ (µM)	<u>12-LO+AA</u> IC ₅₀ (µM)	<u>12-LO</u> IC ₅₀ (µM)	<u>COX-1+AA</u> IC ₅₀ (µM)	<u>COX-1</u> IC ₅₀ (µM)
1	>10	15 (9.0-25)	3.9 (2.9-5.2)	>10	>>10	10	>10
26	6.2 (3.6-11)	1.2 (0.59-2.4)	3.3 (3.3-3.3)	4.7 (2.5-8.7)	5.3 (3.6-7.8)	8.6 (2.8-26)	3.3 (2.2-4.9)
4	4.6 (3.9-5.5)	3.4 (3.4-3.4)	3.9 (3.6-4.2)	8.1 (3.8-17)	6.8 (4.7-9.9)	7.2 (3.0-18)	2.4 (1.2-4.8)
38	2.6 (2.4-2.9)	1.2 (0.68-2.1)	2.8 (2.5-3.2)	4.2 (2.5-7.1)	1.1 (0.58-2.1)	19 (9.4-38)	2.3 (1.2-4.3)
39	3.1 (2.6-3.7)	2.1 (1.5-2.9)	2.9 (2.5-3.3)	3.2 (2.1-4.8)	2.1 (1.3-3.5)	3.7 (2.6-5.2)	2.4 (1.8-3.1)
51/52	2.2 (1.7-2.9)	3.3 (3.1-3.5)	2.8 (2.3-3.4)	2.2 (1.7-2.9)	1.5 (0.80-2.8)	4.1 (2.1-8.1)	2.5 (1.8-3.4)
59/60	3.3 (2.6-4.2)	3.3 (3.2-3.4)	2.6 (2.3-2.9)	3.5 (2.7-4.5)	1.5 (1.1-2.1)	>10	1.6 (0.80-3.2)
85/86	4.3 (3.3-5.6)	3.3 (3.3-3.3)	3.6 (3.2-4.1)	4.2 (3.5-5.1)	2.6 (1.7-4.0)	>10	0.82 (0.31-2.2)
25	4.8 (3.9-5.9)	2.8 (1.9-4.2)	3.3 (3.1-3.5)	3.3 (2.3-4.8)	3.7 (3.7-3.7)	2.8 (2.0-3.9)	3.7 (3.3-4.1)

Die als Vergleich ebenfalls vermessene Stammverbindung **1** zeigt einen anderen Befund. Hier hätte man zunächst gleiche Hemmwerte wie ohne Zusatz von AA erwartet, da keine Beeinflussung der cPLA₂ vorliegt. Ermittelt wurden jedoch IC₅₀-Werte, die in Bezug auf die 5-LO-Hemmung deutlich über denen ohne Zusatz von AA liegen. Dieses weist zumindest darauf hin, dass es sich hier um einen selektiven, kompetitiven Hemmstoff der 5-LO handeln könnte. Es erscheint so, dass alle selektiven Verbindungen eine kompetitive Hemmung des Enzyms durch spezifische WW mit dem aktiven Zentrum bewirken, da bei denselben die Variationen in den einzelnen Struktursegmenten zu veränderten Hemmeselektivitäten geführt haben.

Die unselektiven Säurehalogenide dagegen könnten durch Seitenketten der Enzymprimärstruktur nukleophil angegriffen werden, so dass kovalente Bindungen entstehen. Es handelt sich daher mit hoher Wahrscheinlichkeit um irreversible Hemmstoffe. Diese Reaktion könnte sowohl im aktiven Zentrum als auch an einem allosterischen Zentrum stattfinden. Gestützt wird diese Hypothese durch das Gemisch der Thiophen-Derivate **85/86**, die als 2/3-Brom-1,4-chinone keine Säurehalogenidreaktivität besitzen, da sie nicht in Methanol unter basischen Bedingungen in die Methoxy- und Hydroxy-Derivate

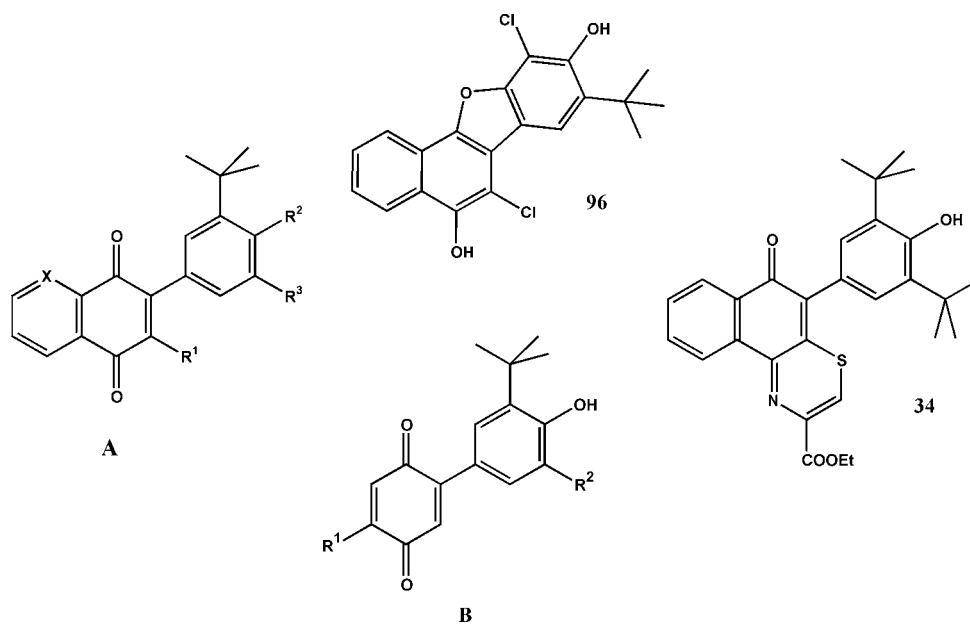
überführt werden können (Kapitel 3.2.6). Das Ausbleiben einer unselektiven Hemmung aller Enzyme, lässt sich mit dem Fehlen dieser Reaktivität erklären. Nicht zu erklären sind zunächst die Hemmeigenschaften der Chinolin- und Isochinolin-5,8-dione **38**, **39** und **59/60**. Sie reagieren alle als typische Säurehalogenide, aber nur das Regioisomer **39** ist erwartungsgemäß ein unselektiver Hemmstoff. Allerdings unterscheiden sich **38** und **39** erheblich in ihrer Reaktivität bei der Überführung in die vinylogenen Methylester mit MeOH/OH[⊖], wobei die Ausbeute an **41** aus **39** doppelt so hoch ist wie die von **40** aus **38**. Das bedeutet, dass **39** als vinyloges Säurebromid wesentlich aktiver ist als **38** und deshalb der Hypothese entsprechend alle Enzyme der AA-Kaskade hemmt. Ein weiterer Erklärungsversuch besteht in der Annahme, dass durch die unterschiedliche Position des Stickstoffs veränderte Orientierungen im aktiven Zentrum der COX erwartet werden können. Dadurch könnte für die Verbindungen **38** und **59/60** der reaktive Partner für eine kovalente Bindung nicht erreichbar sein.

5.6.2 Selektive 5-LO-Inhibitoren

Für die selektive 5-LO-Hemmung durch Verbindungen mit Chinonstruktur lassen sich folgende Kriterien feststellen:

Eine Sauerstoff- bzw. Schwefelfunktion in 3-Position sind für eine selektive 5-LO-Inhibition essentiell. Die aktivsten Verbindungen besitzen in dieser Position eine freie Hydroxygruppe. Eine Ausnahme bildet das Chinolinchinon **40**, bei dem die Hydroxy- durch eine Methoxyfunktion ersetzt ist. Umgekehrt ist das 3-Methoxy-Derivat **113** der Naphthochinonreihe im mikromolaren Bereich unwirksam (Tabelle 5.4). Der Unterschied zwischen Naphtho- und Chinolinchinonreihe könnte demonstrieren, dass zwei polare Funktionen im bityklich chinoiden System (N und OH) die Interaktion mit dem aktiven Zentrum behindern. Eliminierung bzw. Austausch einer *tert*-Butyl-Funktion im Arylrest führt, mit Ausnahme der Carbaldehydgruppe (**5**), zum deutlichen Aktivitätsverlust. Die Ausnahmestellung der Formylfunktion könnte im Zusammenhang mit der Ausbildung irreversibler kovalenter Bindungen zum Enzym stehen. Die Einbindung des Schwefels in 3-Position des zyklischen Chinonimins **34** führt ebenfalls zu einem potenten 5-LO-Hemmer.

Tabelle 5.10: Selektive 5-LO-Inhibitoren



	Nr.	X	R ¹	R ²	R ³	5-LO IC ₅₀ (μM)	AOA	
							Lag-Phase (s) (10 ⁻⁶ mol/L)	CL-Löschung (10 ⁻⁷ mol/L)
A	1	CH	OH	OH	<i>t</i> -Bu	3.9	n.b.	152
	3	CH	OH	OH	H	8.7	n.b.	72
	5	CH	OH	OH	CHO	2.2	262	37
	11	CH	OH	OMe	COOH	7.8	(-5)	3
	19	CH	OH	OH	C ₂ H ₄ CONMe ₂	7.9	n.b.	286
	31	CH	SCH ₂ COOMe	OH	<i>t</i> -Bu	2.4	36	n.b.
	30	CH	CH(CN)COOEt	OH	<i>t</i> -Bu	5.3	534	64
	40	N	OMe	OH	<i>t</i> -Bu	3.1	n.b.	255
B	101	-	OMe	<i>t</i> -Bu	-	2.3	498	29
	107	-	OH	H	-	1.7	-8	-3
	34					3.0	n.b.	120
	96					0.81	508	51

Die Arylbenzochinone **101** und **107** repräsentieren offensichtlich die Minimalstruktur eines selektiven 5-LO-Inhibitors in der Chinonreihe. Die Anellierung weiterer Benzolringe oder Heteroaromaten erbringt keine wesentliche Aktivitätssteigerung.

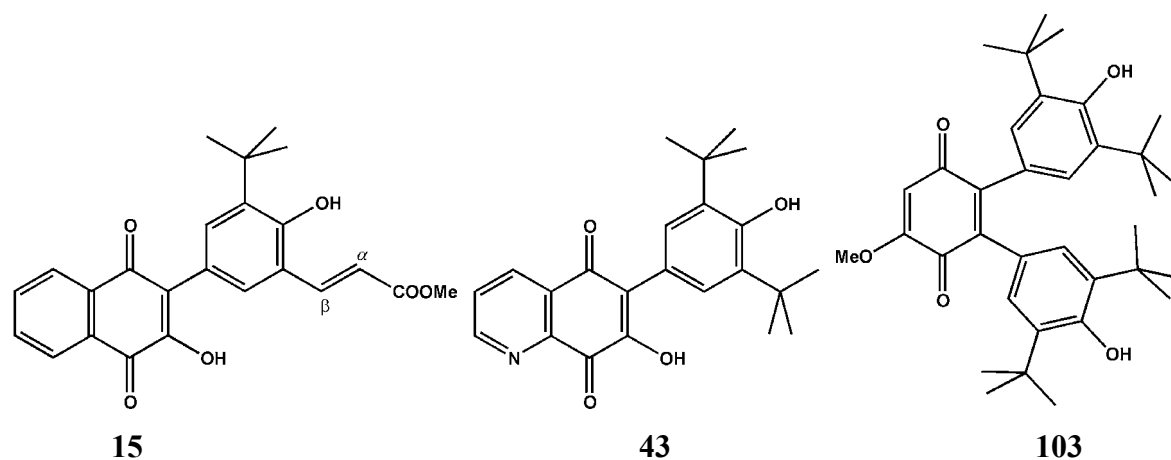
Der auffallend potente, selektive 5-LO-Hemmstoff **96** besitzt als Dibenzofuran-Derivat keine Chinonstruktur und könnte über einen anderen Mechanismus das Enzym beeinflussen.

Die in Tabelle 5.10 aufgelisteten Daten zeigen sehr deutlich, dass keine Korrelation zwischen 5-LO-Inhibition und antioxidativer Kapazität der Inhibitoren besteht.

5.6.3 Selektive COX-1-Inhibitoren

Im Unterschied zu den zahlreichen selektiven 5-LO-Hemmstoffen wurden innerhalb der Gesamtpopulation chinoider Verbindungen nur drei selektive COX-1-Inhibitoren gefunden, wobei sich **15** und **103** als mäßig aktive Verbindungen herausstellten. Das Methylcinnamat **15** verliert nach Esterhydrolyse seine COX-1-Selektivität und wird zum dualen 12-LO/COX-1-Inhibitor (**17**, Tabelle 5.13). Im Unterschied zu den 12-LO-/COX-1-hemmenden Isochinolin-Derivaten (**61/62**, Tabelle 5.13) ist das Hydroxychinolindion **43** ein potenter selektiver COX-1-Hemmer. Sein Isomer **42** (Tabelle 5.5) ist inaktiv im mikromolaren Bereich.

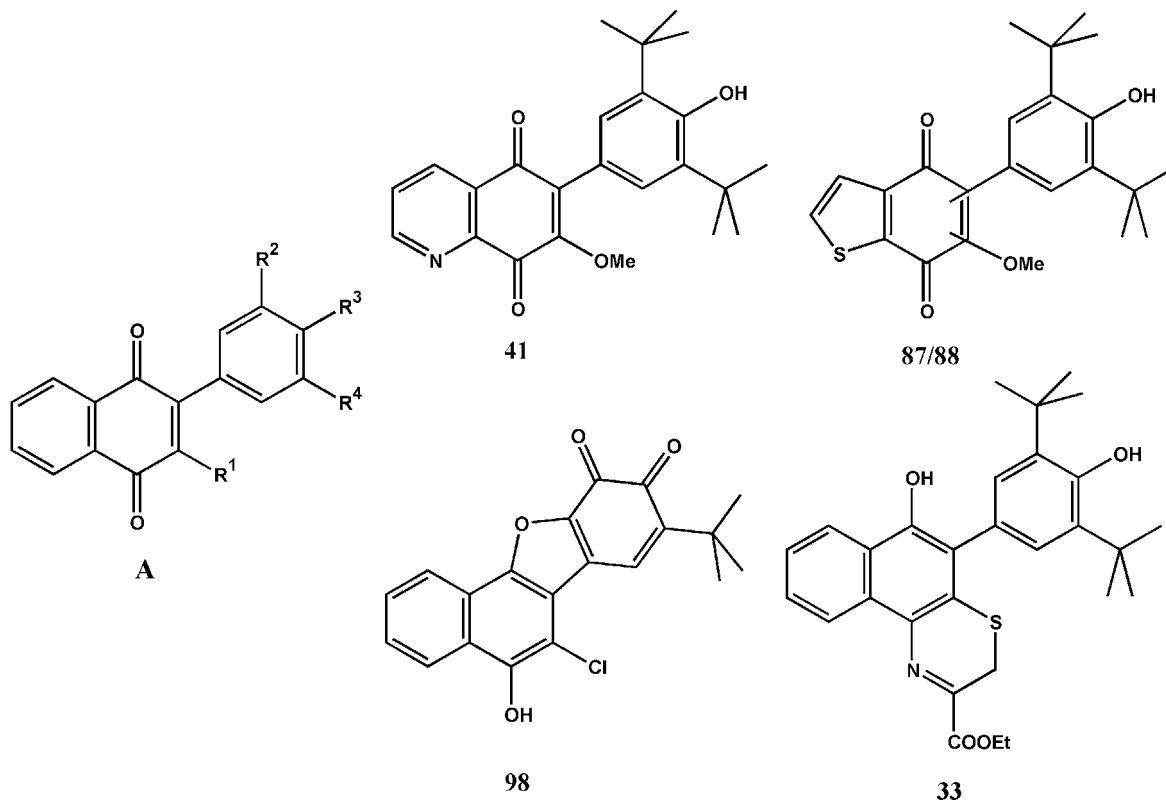
Tabelle 5.11: Selektive COX-1-Inhibitoren



Nr.	<u>COX-1</u> IC ₅₀ (μM)	<u>AOA</u> Lag-Phase (s) CL-Löschung (10 ⁻⁷)
15	7.2	182
43	3.5	138
103	8.7	n.b.

5.6.4 Duale 5-LO-/COX-1-Inhibitoren

Tabelle 5.12: Duale 5-LO-/COX-1-Inhibitoren



	Nr.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	5-LO IC ₅₀ (μM)	COX-1 IC ₅₀ (μM)	<u>AOA</u> Lag-Phase (s) CL- Löschung	
								(10 ⁻⁶ mol/L)	(10 ⁻⁷ mol/L)
A	108	OH	<i>t</i> -Bu	OH	Cl	2.7	3.7	n.b.	70
	109	H	H	OH	H	3.2	5.0	2	n.b.

	Nr.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	5-LO IC ₅₀ (μM)	COX-1 IC ₅₀ (μM)	AOA Lag-Phase (s) CL- Löschung	
								(10 ⁻⁶ mol/L)	(10 ⁻⁷ mol/L)
A	27	I	<i>t</i> -Bu	OH	<i>t</i> -Bu	1.4	5.4	38	6
	32	SCH(COOEt)NHCOMe	<i>t</i> -Bu	OH	<i>t</i> -Bu	3.5	3.7	38	8
	41					6.6	1.0	n.b.	156
	87/88					0.97	2.9	n.b.	11
	98					2.7	4.1	132	n.b.
	33					9.0	5.2	539	116

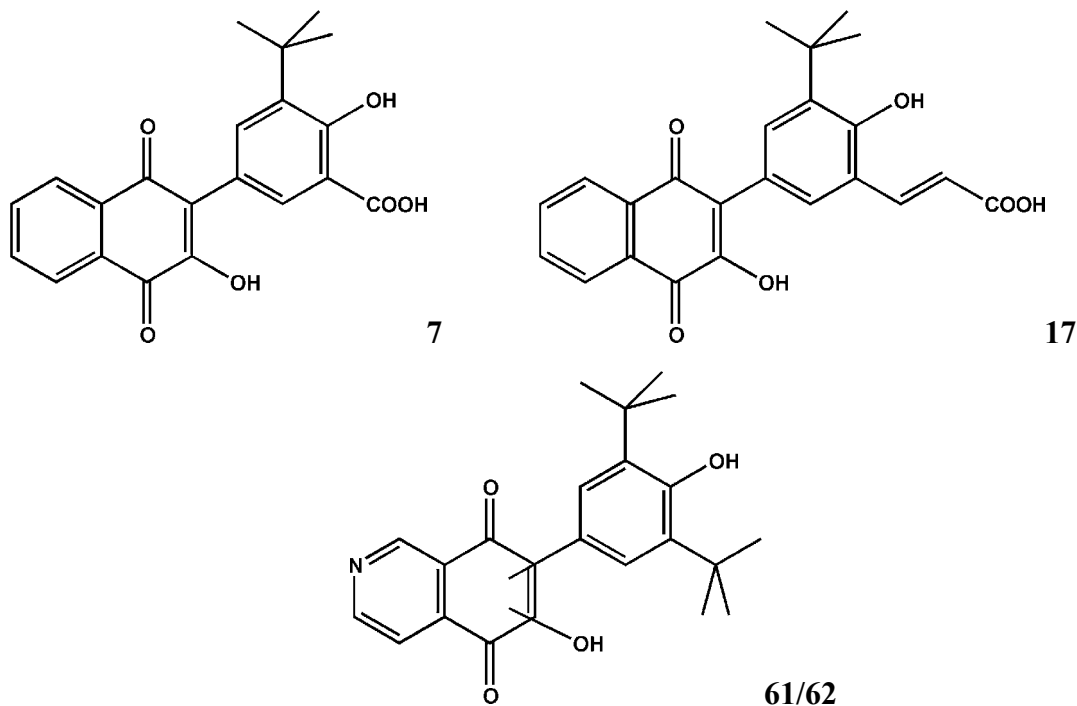
In Tabelle 5.12 sind die aus der Arbeit hervorgegangenen dualen 5-LO-/COX-1-Inhibitoren dargestellt. Zwingende Strukturmerkmale, die für eine solche Wirkung verantwortlich gemacht werden können, ergeben sich hieraus nicht. Als besonders potent stellte sich das Isomerengemisch der Thiophen-Derivate **87/88** heraus. Zwingend für eine Struktur-Wirkungs-Korrelation ist die Feststellung, dass diesen Verbindungen die wesentlich anspruchsvolleren Strukturmerkmale für die 12-LO-Hemmung fehlen (Kapitel 5.6.5).

5.6.5 Duale 12-LO-/COX-1-Inhibitoren

Für die duale Hemmung von COX-1 und 12-LO sind zum einen die Carboxylgruppe als auch die freie Hydroxylgruppe im Segment B essentiell. Durch Veretherung der Hydroxylgruppe von **7** gehen 12-LO- und COX-1-Inhibition verloren und es resultiert ein selektiver 5-LO-Hemmstoff (**11**, Tabelle 5.10). Auch eine Veresterung von **17** führt zum Verlust der 12-LO-Aktivität und zu einer deutlichen Verschlechterung der COX-1-Hemmung (**15**, Tabelle 5.11).

Der potenteste duale 12-LO-/COX-1-Hemmstoff ist das Isomerengemisch der Isochinolin-Derivate **61/62**. Offensichtlich erfüllt der relativ weit vom chinoiden System entfernte polare Stickstoff des Isochinolins im Unterschied zum Chinolin die gleiche Funktion wie die polaren Carboxylgruppen von **1** und **17**.

Tabelle 5.13: Duale 12-LO-/COX-1-Inhibitoren

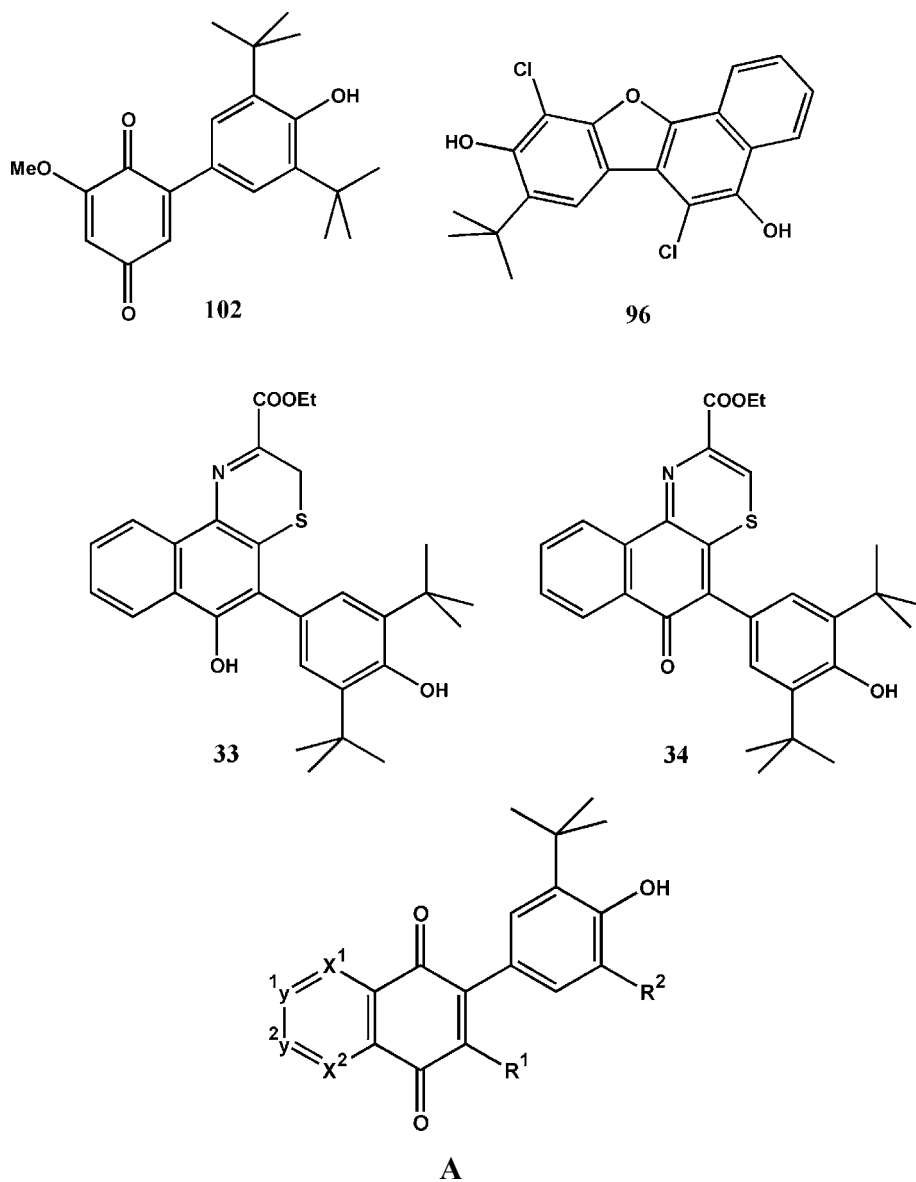


Nr.	<u>12-LO</u> IC ₅₀ (μM)	<u>COX-1</u> IC ₅₀ (μM)	<u>AOA</u> Lag-Phase (s) CL-Löschung (10 ⁻⁷ mol/L)
7	5.2	7.0	2
17	4.0	4.1	164
61/62	1.2	1.0	115

5.6.6 Antioxidantien

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Vielzahl neuer Verbindungen mit hoher antioxidativer Aktivität (AOA) gefunden. Die Untersuchungsergebnisse von Schwandt [146], dass in der Verbindungsklasse der 2-Aryl-1,4-naphthochinone 5-LO-Inhibition und AOA nicht korrelieren, konnte auch hier bestätigt werden.

Tabelle 5.14: Starke Antioxidantien



	Nr.	X ¹	X ²	Y ¹	Y ²	R ¹	R ²	Antioxidative Kapazität Lag-Phase (s) CL-Löschung (10 ⁻⁷ mol/L)
Ascorbinsäure								15
Trolox								33
	102							50
	96							51
A	30	CH	CH	CH	CH	CH(CN)COOEt	<i>t</i> -Bu	64

	Nr.	X ¹	X ²	Y ¹	Y ²	R ¹	R ²	Antioxidative Kapazität Lag-Phase (s) CL-Löschung (10 ⁻⁷ mol/L)
A	108	CH	CH	CH	CH	OH	Cl	70
	3	CH	CH	CH	CH	OH	H	72
	61/62	CH CH	CH CH	N CH	CH N	OH OH	<i>t</i> -Bu <i>t</i> -Bu	115
	33							116
	34							120
A	69	N	N	CH	CH	Br	<i>t</i> -Bu	128
	43	CH	N	CH	CH	OH	<i>t</i> -Bu	138
	1	CH	CH	CH	CH	OH	<i>t</i> -Bu	152
	41	CH	N	CH	CH	OMe	<i>t</i> -Bu	156
	17	CH	CH	CH	CH	OH	C ₂ H ₂ COOH	165
	15	CH	CH	CH	CH	OH	C ₂ H ₂ COOMe	182
	20	CH	CH	CH	CH	OH	C ₂ H ₄ COOMe	207
	53/54	N CCl/Br	CCl/Br N	CH CH	CH CH	OH OH	<i>t</i> -Bu <i>t</i> -Bu	213
	40	N	CH	CH	CH	OMe	<i>t</i> -Bu	255
	42	N	CH	CH	CH	OH	<i>t</i> -Bu	261
	19	CH	CH	CH	CH	OH	C ₂ H ₄ CONMe ₂	286
NDGA								498

Bemerkenswert ist, dass, im Gegensatz zu den von Schwandt untersuchten Verbindungen, die AOA, über die dort neben NDGA aktivste Verbindung **1** hinaus, ganz erheblich gesteigert werden konnte. Nicht unerwartet ist die moderate Aktivitätssteigerung der Zimtsäure-Derivate **15** und **17**. Überraschend war jedoch der drastische Anstieg der AOA bei den Propionsäure-Analoga **19** und **20** als Hydrierungsprodukte der Zimtsäuren.

Interessant ist, dass die antioxidativ aktivsten Verbindungen der Gruppe der Chinolindione entstammen und zwar in Abhängigkeit von der Stellung des Arylrestes in Beziehung zum Chinolinstickstoff. Das 7-Aryl-6-hydroxychinolindion **42** ist die aktivste Verbindung und nahezu doppelt so wirkungsvoll wie sein Stellungsisomer **43**. Wird die Hydroxyfunktion methyliert (**40**, **41**), bleiben die Verhältnisse unbeeinflusst. Die AOA liegt für die Methoxyverbindungen in der gleichen Größenordnung wie für die Hydroxyverbindungen. Das bedeutet, dass hier Stickstoff und Position des Arylsubstituenten aktivitätsbestimmend sind und nicht die freie Hydroxygruppe in 3-Stellung wie bei den analogen Naphthochinonen.