Neuartige Bisindolylcyclobutendione als potentielle Antimalaria-Wirkstoffe

Von der Fakultät für Lebenswissenschaften

der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig

zur Erlangung des Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

genehmigte

D i s s e r t a t i o n

von Duc Hoàng Lande
aus Hanoi / Vietnam

1. Referent:	Professor Dr. Conrad Kunick
2. Referent:	Professor Dr. Hermann Wätzig
eingereicht am:	01.02.2016
mündliche Prüfung (Disputation) am:	21.04.2016

Druckjahr 2016

Dissertation an der Technischen Universität Braunschweig,
Fakultät für Lebenswissenschaften

Berichte aus der Pharmazie

Duc Hoàng Lande

Neuartige Bisindolylcyclobutendione als potentielle Antimalaria-Wirkstoffe

Shaker Verlag
Aachen 2016

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek
Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über http://dnb.d-nb.de abrufbar.

Zugl.: Braunschweig, Techn. Univ., Diss., 2016

Copyright Shaker Verlag 2016
Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 978-3-8440-4520-8
ISSN 0945-0939

Shaker Verlag GmbH • Postfach 101818 • 52018 Aachen
Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9
Internet: www.shaker.de • E-Mail: info@shaker.de

Vorveröffentlichungen der Dissertation

Teilergebnisse aus dieser Arbeit wurden mit Genehmigung der Fakultät für Lebenswissenschaften, vertreten durch den Mentor der Arbeit, in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht:

Publikation

Lande, D. H.; Messal, M.; Reimann, V.; Renger, C.; Rurka, C.; Schoemaker, J.; Schröder, N. K.; Grünefeld, J.: 3-Chloro-4-(5-methoxy-1*H*-indol-3-yl)cyclobut-3-ene-1,2-dione. *Molbank* **2013**, *2013*, M805.

Tagungsbeiträge

Lande, D. H.; Nasereddin, A.; Dzikowski, R.; Grünefeld, J.; Kunick, C.: 3,4-Bis(indol-3-yl)cyclobut-3-ene-1,2-diones as novel potential antimalarial drugs. (Poster) DPhG Jahrestagung, Düsseldorf, 2015.

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von Februar 2013 bis Januar 2016 am
Institut für Medizinische und Pharmazeutische Chemie der Technischen Universität
Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig unter Anleitung von

Herrn Professor Dr. Conrad Kunick,
dem ich für seine hervoragende wissenschafliche Betreuung
und die vielen interessanten Diskussionen
sowie die schöne Zeit in seinem Arbeitskreis besonders danken möchte,

und von
Herrn Dr. Johann Grünefeld,
dem ich für seine tatkräftige, kompetente Betreuung
und die konstruktiven Ratschläge sowie
die vielen angenehmen Gespräche herzlich danken möchte.

Mein besonderer Dank gilt auch

Herrn Professor Dr. Hermann Wätzig

für die Übernahme des Koreferats.

„Die Wissenschaft ist der Verstand der Welt,

die Kunst ihre Seele.“ MAXIM GORKI

Meiner Familie gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS **V**

1 EINLEITUNG **1**

1.1 Malaria – eine „antike“ Krankheit **1**

1.2 *Plasmodium falciparum* – der Lebenszyklus **1**

1.3 Prophylaxe, Therapie und Resistenzen **3**

1.3.1 4-Aminochinoline 3

1.3.2 8-Aminochinoline 4

1.3.3 Arylaminoalkohole 5

1.3.4 Naphthochinone 6

1.3.5 Antifolate und Sulfonamide 6

1.3.6 Endoperoxide 7

1.3.7 Antibiotika 9

1.3.8 Neuere Entwicklungen 9

1.4 Molekulare *targets* und neue therapeutische Ansatzpunkte **12**

1.4.1 Proteinkinasen 12

Katalytische Einheit 12

Strategien der Kinaseinhibition 13

1.4.2 Das Malaria-Kinom – Plasmodiale Kinasen als *drug targets* 15

*Pf*map-2 15

*Pf*nek-1 16

*Pf*PK5 16

*Pf*CDPK1 17

*Pf*CDPK4 17

*Pf*CLK1 (*Pf*lammer) und *Pf*CLK2 18

*Pf*PK7 18

*Pf*GSK-3 19

1.5 Von Naturstoffen zu potentiellen Wirkstoffen **20**

Indol-Alkaloide 20

Quadratsäure-Derivate mit antiplasmodialer Aktivität 23

2 ZIELSETZUNG 25

3 STRUKTURBASIERTES WIRKSTOFFDESIGN 29

3.1 *Molecular docking* 29

3.2 Strukturoptimierung der Cyclobut-3-en-1,2-dione 32

3.2.1 *Docking* von **57a** in plasmodiale Proteinkinasen 32

*Pf*PK5 32

*Pf*CDPK2 34

*Pf*PK7 36

*Pf*lammer 37

*Pf*map-2 39

*Pf*GSK-3 40

3.2.2 *Docking*-Analyse der Strukturmodifikationen 46

Modifikationen in 5-Position des Indol-Rings 46

Modifikationen in 2-Position des Indol-Rings 52

Modifikationen in 1-Position des Indol-Rings 53

Modifikationen in 7-Position des Indol-Rings 55

3.3 Schlussfolgerungen 59

4 SYNTHESEN 60

4.1 Edukte 60

4.1.1 3,4-Dichlorcyclobut-3-en-1,2-dion bzw. Quadratsäuredichlorid 60

4.1.2 3-Chlor-4-(1*H*-indol-3-yl)cyclobut-3-en-1,2-dione 61

4.1.3 3-Chlor-4-(1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-3-yl)cyclobut-3-en-1,2-dione 61

4.1.4 4-Aryl-3-chlorcyclobut-3-en-1,2-dione 63

4.1.5 4-(Het)arylthio-3-(1*H*-indol-3-yl)cyclobut-3-en-1,2-dione 63

4.2 Endstufen der Synthesesequenzen 65

4.2.1 3,4-Bis(indol-3-yl)cyclobut-3-en-1,2-dione 65

Indolylquadraine 73

Bisindolylmaleinsäureanhydride 75

4.2.2 3-(1*H*-Indol-3-yl)-4-(1*H*-pyrrolo[2,3-*b*]pyridin-3-yl)cyclobut-3-en-1,2-dione 82

4.2.3 4-(Het-)Aryl-3-(1*H*-indol-3-yl)cyclobut-3-en-1,2-dione 92

4.2.4 3,4-Diarylcyclobut-3-en-1,2-dione 94

5 BIOLOGISCHE AKTIVITÄT UND STRUKTUR-WIRKUNGSBEZIEHUNGEN 95

5.1 Antiplasmodiale Aktivität 95

5.2 Zytotoxizität 112

6 LÖSLICHKEITSSTUDIEN 115

6.1 Löslichkeit 115

6.2 Ergebnisse der Löslichkeitsbestimmung 117

6.3 Fazit 118

7 ZUSAMMENFASSUNG 119

8 SUMMARY 122

9 EXPERIMENTELLER TEIL 125

9.1 *Molecular docking* 125

9.2 Geräte und Methoden 126

9.3 Synthesen und analytische Daten 131

9.4 Löslichkeitsuntersuchungen 228

9.5 Biologische Daten 230

9.5.1 *In vitro*-Bestimmung der antiplasmodialen Aktivität 230

9.5.2 Zytotoxizitäts-*assays* 230

10 LITERATUR 241

Abkürzungsverzeichnis

Å: Ångstrom; AAV: Allgemeine Arbeitsvorschrift; Abb.: Abbildung; ACN: Acetonitril; ACTs: *Artemisinin-based combination therapies*; ArH: aromatisches Proton; arom.: aromatisch; ATP: Adenosin-5´-triphosphat; AMP-PNP: Adenylylimidodiphosphat; ANP: Adenosin-5'-(β,γ-imido)triphosphat; AUC: *area under the curve*; ber.: berechnet; bidest.: bidestilliert; BIMs: Bisindolylmaleimide; *bp*: *back pocket*; br: verbreitertes Signal; BSD: Blasticidin; CaMK: Calcium/Calmodulin-abhängige Kinasen: CDK: *cyclin-dependent kinase*; CHK: *checkpoint kinase*; CHN: Elementaranalyse; CK: *casein kinase*; CLK: *CDC2-like kinase*; COSY: *correlated spectroscopy*; CYTbc_1: Cytochrom-bc_1-Komplex; δ: chemische Verschiebung; CuTC: Kupfer(I)thiophen-2-carboxylat; Δ: Erhitzen; d: Dublett; d_6-DMSO: Hexadeuterodimethylsulfoxid; DAD: *diode array detector*; DC: Dünnschichtchromatographie; DIPEA: Diisopropylethylamin; DMEM: *Dulbecco's Modified Eagle's Medium*; DMF: *N*,*N*-Dimethylformamid; DMSO: Dimethylsulfoxid; DNA: Desoxyribonukleinsäure; EC_{50}: *effective concentration* 50%; EI: Elektronenstoß-Ionisation; ESI: Elektrospray-Ionisation; *et al*.: *et alii*; Et_2O: Diethylether; Et_3N: Triethylamin; EtMgBr: Ethylmagnesiumbromid; FKS: Fötales Kälberserum; G6PD: Glukose-6-phosphatdehydrogenase; GA: *genetic algorithm*; gef.: gefunden; ges.: gesättigt; *gk*: *gatekeeper*; GSK-3: *glycogen synthase kinase-3*; h: Stunden; HMBC: *heteronuclear multiple bond correlation*; HPLC: *high performance liquid chromatography*; HRMS: *high resolution mass spectrometry*; HSQC: *heteronuclear single quantum coherence*; Hz: Hertz; *I*: Spinquantenzahl; IE: Internationale Einheit; IC_{50}: *inhibitory concentration* 50%; IR: Infrarot; ital.: italienisch; ITNs: *insecticide-treated mosquito nets*; IRS: *indoor residual spraying of insecticides*; *J*: Kopplungskonstante; konz.: konzentriert; λ_{max}: Wellenlänge des Absorptionsmaximums; Lit.: Literatur; LLINs: *long-lasting insecticidal nets*; M: molar; m: Multiplett; mAU: *milli absorbance units*; –M: negativ mesomer; MAPK: *mitogen activated protein kinase*; MAPKK: MAPK-Kinase; MHz: Megahertz; $[M]^{+\cdot}$: Molekülradikalkation; M_r: relative Molmasse; MS: Massenspektrometrie; µw: Mikrowelle; m/z: Masse pro Ladungseinheit; NCI: *National Cancer Institute*; NimA: *never in mitosis/Aspergillus*; NMR: *nuclear magnetic resonance*; NOESY: *nuclear overhauser enhancement and exchange spectroscopy*; PBS: *phosphate buffered saline*; PDB: *Protein Data Bank*; $Pd_2(dba)_3$: Tris(dibenzylidenaceton)dipalladium; PenStrep: Penicillin und Streptomycin; *Pf*: *Plasmodium falciparum*; *Pf*ATP6: plasmodialer Ca^{2+}-ATPase-6-Ionenkanal; *Pf*ATP4: plasmodialer Na^+-ATPase-4-Ionenkanal; *Pf*CARL: *P. falciparum cyclic amine resistance locus*; *Pf*CRT: *P.*

falciparum chloroquine resistance transporter; *Pf*DHODH: plasmodiale Dihydroorotatdehydrogenase; *Pf*DXR: plasmodiale 1-Desoxy-$_D$-xylulose-5-phosphatase-Reduktoisomerase; *Pf*K13: plasmodiales Kelch-Protein auf dem Chromosom 13; *Pf*map: plasmodiale MAPK; *Pf*MDR1: *P. falciparum multidrug resistance transporter* 1; *Pf*nek-1: *P. falciparum NimA related kinase* 1; *Pf*NHE1: *P. falciparum sodium/proton exchanger* 1; *Pf*PK5: plasmodiale Proteinkinase 5; *Pf*PI4K: plasmodiale Phosphatidylinositol-4-Kinase; *Pf*PNP: plasmodiale Purin-Nukleosid-Phosphorylase; Ph: Phenyl; PKA: Proteinkinase A; PKC: Proteinkinase C; PKG: Proteinkinase G; ppm: *parts per million*; prim.: primär; q: Quartett; *qs*: *quantum satis*; quin: Quintett; rpm: *revolutions per minute*; RPMI: *Roswell Park Memorial Institute*; RT: Raumtemperatur; s: Singulett; Schmp.: Schmelzpunkt; SGK: *human serum and glucocorticoid dependent kinase*; t: Triplett; TFP: Tris-(2-furyl)phosphin; THF: Tetrahydrofuran; TKL: *tyrosin kinase like*; t_m: Totzeit; t_r: Gesamtretentionszeit; UV: Ultraviolett; Verb.: Verbindung; verd.: verdünnt; Vis: *visible* (sichtbares Lichtspektrum); W: Watt; °C: Grad Celsius; wf.: wasserfrei; WHO: *World Health Organisation*; Zers.: Zersetzung.