

Grundlagen des Drug-Targeting

Synthese und Analyse von Dimethylfumarat zur
Behandlung von Multipler Sklerose

Schuljahr 2013/2014

Betreuer: Prof. Mag. R. Dellinger

BG/ BRG Carneri

Autor: Jarom Korak

I. Inhaltsverzeichnis

II Danksagung

III Vorwort

IV Einleitung

1 Drug-Targeting	1
1.1 Geschichte der Wirkstoffforschung	1
1.2 Anfänge der modernen Arzneimittelforschung	2
1.3 Anfänge des Drug-Targetings	4
1.4 Die Leitstruktur	5
1.5 Die Suche nach der Leitstruktur	7
1.6 Die Optimierung der Leitstruktur	9
1.6.1 Die Molekülverdopplung	10
1.6.2 Isosterer Ersatz von Atomen und Gruppen	10
1.6.3 Systematische Variation von Substituenten	11
1.6.4 Optimierung von Absorption und Resorption	11
1.6.5 Optimierung der Bioverfügbarkeit	12
1.7 Prodrugs	13
1.7.1 Ester als Prodrugs	14
1.8 Kombinatorik in der Chemie	15
1.9 Gentechnologie in der Arzneimittelforschung	15
1.9.1 Gezielte Herstellung von Proteinen durch Bakterien	16
1.9.2 Wechselwirkung von Arzneistoffen mit dem ganzen Organismus	17
1.10 Beseitigung von negativen Eigenschaften eines Wirkstoffs	17
1.10.1 Beseitigung von schlechtem Geruch oder Geschmack	17
1.10.2 Beseitigung von Reiz- oder Ätzwirkung	18
1.10.3 Die Vermeidung schwer abbaubarer Zwischen- und Endprodukte	18

2 Multiple Sklerose - Ein Beispiel für Drug-Targeting	19
2.1 Krankheitsbild	19
2.2 Verbreitung	21
2.3 Ursachen für Multiple Sklerose	22
2.4 Diagnose von Multipler Sklerose	22
3 Dimethylfumarat - Ein Wirkstoff zur Behandlung von Multipler Sklerose	24
3.1 Eigenschaften	24
3.2 Geschichte des Dimethylfumarat als Wirkstoff	24
3.3 Wirkungsweise und Studien	27
3.4 Nebenwirkungen	29
4 Synthese von Dimethylfumarat	30
4.1 Geräte	30
4.2 Chemikalien	30
4.3 Durchführung	31
4.3.1 Synthese	31
4.3.1 Reinigung	31
4.4 Ergebnis	33
4.5 Diskussion der Synthese	33
4.6 Analyse des synthetisierten Dimethylfumarat	34
4.6.1 Dünnschichtchromatographie	34
4.6.2 Schmelzpunktanalyse	38
4.6.3 Analyse mittels HNMR	41
4.6.4 Interpretation des HNMR-Spektrums	44
4.6.5 C-13 Spektroskopie	45
4.6.6 Interpretation des C-13 Spektrums	46
4.7 Diskussion der Analyse	46
5 Zusammenfassung	47
6 Literaturverzeichnis	49
7 Abbildungsverzeichnis	53
8 Anhang	54

II. Danksagung

Ich möchte mich ganz besonders bei Herrn Prof. Dellinger bedanken, der mit seiner Hartnäckigkeit, seiner Geduld und seinen Ideen diese Arbeit erst möglich gemacht hat. Außerdem hätte ich ohne seine Hilfe die Versuche im praktischen Teil der Arbeit nie zustande gebracht. Besonderer Dank gebührt ihm auch dafür, dass er seine Zeit geopfert und mir den Chemiesaal zur Verfügung gestellt und sich für jede meiner Fragen Zeit genommen hat.

Ganz besonders möchte ich mich auch bei Jakob Pletz bedanken, ohne dessen Unterstützung und umfassendes Fachwissen ich viele Teile meiner praktischen Arbeit nie so umsetzen hätte können.

Ich möchte mich auch bei meiner Familie bedanken, die mich immer unterstützt und ermutigt hat. Auch ohne sie wäre diese Arbeit nie möglich gewesen.

Erklärung:

Ich erkläre mit meiner Unterschrift, dass ich die FBA ohne fremde Hilfe verfasst, und nur die von mir angegebene Literatur verwendet habe.

III. Vorwort

Im Rahmen dieser Arbeit wollte ich mich damit auseinandersetzen, was genau die Forschung und Entwicklung an einem Wirkstoff ist, nach welchem Schema sie durchgeführt wird und welche Ergebnisse bereits erzielt wurden, auf denen die heutige Forschung aufbauen kann. Dabei wollte ich mich damit beschäftigen was man tun kann, um eine Verbindung, die geeignet scheint, ein Wirkstoff zu sein, so gut wie möglich zu verbessern.

Die Pharmazie ist eines der komplexesten und spannendsten Themen die es gibt. Außerdem ist die Forschung zur Erhaltung und Wiederherstellung der Gesundheit eine der wichtigsten überhaupt. Durch einen Beitrag in der Arzneimittelforschung kann man einen großen Beitrag zum Gemeinwohl liefern, denn wirkungsvolle Medikamente erhöhen und verbessern die Lebensqualität von vielen Menschen.

Mein Wunsch war es auch, die Entdeckung und Entwicklung eines spezifischen Wirkstoffs, sowie die Krankheit, die er therapieren sollte genauer zu analysieren und zu beobachten, sowie Synthese und Analyse auch praktisch umzusetzen.

Im habe mich schlussendlich für Dimethylfumarat entschieden, einen erst vor kurzer Zeit entdeckten Wirkstoff, mit dem man Multiple Sklerose behandeln kann.

IV. Einleitung

Seit jeher ist es für jeden Menschen entscheidend, gesund zu sein. Doch so ausgeklügelt und anpassungsfähig unser Körper sich auch erweisen mag, gegen manche Krankheiten ist auch er ohne Hilfe machtlos. Deshalb erweist gerade jene Forschung, die sich mit den Möglichkeiten beschäftigt, Heilmittel für die Gesundheit des Menschen zu entdecken und zu perfektionieren, allen einen großen Dienst. Wenn wir an einige der größten Seuchen und Epidemien denken, wie etwa die Pest, sollte uns bewusst werden, dass der „Krieg“ gegen Krankheiten vermutlich mehr Todesopfer gefordert hat als alle Kriege, die die Menschheit gegeneinander geführt hat.

Immer häufiger ist auch zu beobachten, wie Krankheiten, die bisher mit bereits bestehenden Medikamenten leicht zu behandeln sind, gegen ebenjene Medikamente Resistenzen aufweisen, und so Forscher erneut vor die Aufgaben stellen, einen neuen Wirkstoff zu entwickeln.

In der pharmazeutischen Forschung gibt es ein System, nach dem man vorgeht, um einen geeigneten Wirkstoff zu finden und seine Eigenschaften zu verbessern. Dazu muss zuerst eine geeignete Verbindung gefunden werden, die bereits die gewünschten Eigenschaften, also einen krankheitsbekämpfenden Effekt, aufweist. Diese Verbindung, man nennt sie auch Leitstruktur, muss dann verbessert werden. Dabei versucht man die Aufnahme, die Verteilung im Körper, sowie die Wirkstärke und Wirkdauer positiv zu beeinflussen. Außerdem muss man mögliche negative Nebenwirkungen so gut wie möglich eliminieren.

Im praktischen Teil der Arbeit geht es um die Entdeckung eines speziellen Wirkstoffs, dem Dimethylfumarat. Das Dimethylfumarat dient als Wirkstoff gegen die Multiple Sklerose, eine Krankheit des Zentralnervensystems, die gerade in Mittel- und Nordeuropa sehr verbreitet ist.

1. Drug-Targeting

1.1 Geschichte der Wirkstoffforschung

„Wirkstoffdesign ist eine Wissenschaft, Technologie und Kunst zugleich“^[1]

Der Gedanke des rationalen Entwurfs von Wirkstoffen ist nicht neu. Als Wirkstoffe bezeichnet man alle Substanzen, die beim Menschen einen bestimmten positiven und erwünschten Effekt hervorrufen. Bereits vor Hunderten von Jahren wurden die ersten Beobachtungen von Wirkmechanismen aufgegriffen. Schon damals wurden Versuche gestartet, den beobachteten Effekt, der in der Natur vorkommenden Substanz auf verschiedene Weise zu verbessern. Einerseits um Nebenwirkungen zu eliminieren, andererseits um den gewünschten Effekt zu verstärken.

Die ersten, die sich auf die aktive Suche nach einem Heilmittel machten, waren die Alchemisten, die überzeugt waren, es müsse ein Universalheilmittel geben, das jede Krankheit heilen könne. Gefunden wurde es leider bis heute nicht. Für viele Jahrhunderte waren Alkohol, Opium und natürlich vorkommende Heilkräuter alles, was die Menschheit gegen die vielen Krankheiten anzubieten hatten, die durch fehlendes Wissen über die Ansteckungsgefahr als auch durch mangelnde Hygiene stark verbreitet wurden. So kam es, dass durch Seuchen bis ins 20. Jahrhundert viel mehr Menschen getötet wurden als durch alle Kriege und Unfälle, die im gleichen Zeitraum stattfanden.^[2]

Begonnen hat die Arzneimittelforschung mit zufälligen Entdeckungen der Heilwirkung bestimmter Pflanzen. So gibt es mehrere Bücher über die Heilwirkung von Pflanzen, bereits von ägyptischen und griechischen Ärzten verfasst. Der wohl bekannteste Arzt, der sich damals mit der Entwicklung von Heilmitteln beschäftigte, war wohl der Leibarzt von Kaiser Nero, Andromachus, der das Rezept für den Theriak erfand, ein Heilmittel aus mindestens 64 verschiedenen Pflanzen, das als eine Art Universalmedizin wirken sollte. Der Theriak war bis ins 18. Jahrhundert ein weit verbreitetes Medikament. Zusätzlich wurden im Mittelalter viele Wundermittel hinzugefügt, wie etwa Bezoarsteine oder Mumienstaub, vielfach wurde das Rezept auch völlig abgewandelt oder es wurden gänzlich neue Zutaten hinzugefügt.

Eine unschätzbare Arbeit auf diesem Gebiet leistete Paracelsus, der eigentlich Theoprastus Bombastus von Hohenheim hieß, denn er machte die Inhaltsstoffe der Heilmittel, die er *Quinta Essentia* nannte, für die heilende Wirkung verantwortlich. Trotzdem waren fast alle Medikamente bis ins 19. Jahrhundert Extrakte von Pflanzen, tierische Inhaltsstoffe oder Mineralien.^[3]

Dies änderte sich erst grundlegend mit dem Entstehen der organischen Chemie, als man viele Medikamente aus extrahierten Pflanzenstoffen herstellte oder von einem Pflanzenstoff ableitete.

Vor etwa 40 Jahren versuchte man, von der bis dahin genutzten Praxis des Tierversuchs, der bis dahin Jahrzehnte lang die einzige Quelle von Informationen über neue Medikamente war, wegzukommen, da der Tierversuch immer mehr von der breiten Öffentlichkeit kritisiert wurde und sehr teuer war. So versuchte man, Medikamente auf neue Arten zu testen. Zum Beispiel ging man dazu über, Zytostatika an gezüchteten Tumorzellkulturen oder herzaktive Substanzen an embryonalen Hühnerzellen zu testen. Mit dem Fortschritt der Gentechnik konnte man erreichen, dass heute nahezu jedes Medikament an künstlich gezüchteten Kulturen getestet werden kann.^[4]

1.2 Anfänge der modernen Arzneimittelforschung

Der Zeitraum von 1880 bis 1980 war geprägt von Zufällen und glücklichen Fügungen, aber auch von einigen meisterhaft geplanten und ausgeführten Entdeckungen. Entdeckt wurden Wirkstoffe und Prinzipien, die noch heute in leicht abgeänderter Form in Gebrauch sind. Nach dieser Zeit begann ein neues Zeitalter in der pharmazeutischen Forschung. Viele der größten Errungenschaften in der Medikamentenentwicklung wurden in diesem kurzen Zeitraum gemacht.

Eines der besten Beispiele dafür sind Wirkstoffe wie Acetylsalicylsäure, der Wirkstoff des bekannten Medikaments Aspirin.^[5]

Ein weiteres Forschungsgebiet, das in der modernen Arzneimittelforschung nicht unerwähnt bleiben sollte, ist der Kampf gegen die Malaria. Malaria ist eine in den Tropen und Subtropen weit verbreitete Krankheit und tritt wegen der Übertragung durch die

Anophelesmücke besonders häufig in Feuchtgebieten auf. In Deutschland gab es die letzten großen Malariaepidemien 1918 und 1926. Die Geschichte der Forschung in diesem Bereich beginnt mit der Chinarinde. Man vermutet, dass man die amerikanischen Ureinwohner, die von ihren christlichen Eroberern zu Frondiensten in den Minen gezwungen waren, die Chinarinde kauen sah, um das Kältezittern zu unterdrücken. Vermutlich kamen einige Jesuiten auf die Idee, dass die Rinde vielleicht auch bei Zittern der Malaria helfen könnte. So kam die Rinde schließlich nach Europa. Erst gegen Ende des 19. Jahrhunderts wurde die Anopheles-Mücke als Überträger identifiziert.^[6]

Erst im Jahr 1820 wurde Chinin als Wirkstoff der Chinarinde isoliert. Obwohl es gute therapeutische Wirksamkeit zeigte, hatte es auch erhebliche Nebenwirkungen. Um das Jahr 1930 waren geschätzte 700 Millionen Menschen mit der Krankheit infiziert.

Erst der Schutz vor Malaria ermöglichte es, die Kolonien auszubeuten. Im Jahr 1955 beschloss die WHO, Malaria weltweit gänzlich auszurotten. Man setzte das Pestizid Dichlordiphenyltrichlorethan ein und innerhalb kürzester Zeit ging die Zahl der Erkrankten auf fast Null zurück. Das Projekt wurde eingestellt, da Dichlordiphenyltrichlorethan (DDT) zwar für den Menschen nicht unmittelbar gefährlich ist, aber in der Umwelt sehr langsam abgebaut wird und über Fische und Vögel in die Nahrungskette eingeschleust wurde.

Nach dem Einstellen der Pestizidbehandlung stieg die Zahl der Erkrankten zwar wieder exponentiell an, aber eine erneute Behandlung war unmöglich geworden, da in den meisten Gebieten die Anopheles-Mücke resistent gegen das Pestizid geworden war.

Ein weiteres Problem, das zu dieser Zeit auftauchte, war, dass die meisten Malariaerreger resistent gegen die Medikamente waren, die zu dieser Zeit eingesetzt wurden. Malaria ist eines der anschaulichsten Beispiele, dass in vielen Fällen das Drug-Targeting niemals zu einem endgültigen Endergebnis kommt. Es ist immer notwendig, Wirkstoffe an neue Bedingungen anzupassen oder einen komplett neuen Versuch zu starten, wenn eine Krankheit resistent gegen einen Wirkstoff geworden ist.^[7]

1.3 Anfänge des Drug-Targeting

Die Anfänge der Arzneimittelforschung sind geprägt vom glücklichen Zufall. Die meisten Arbeitshypothesen waren falsch, entweder weil ein falscher Inhaltstoff für die krankheitsbekämpfende Wirkung angesehen wurde, oder weil man durch eine falsche Vermutung einen Wirkstoff für eine ganz andere Form von Krankheit entdeckte. Nur sehr selten kam es vor, dass ein Wirkstoff zielgenau entdeckt und isoliert wurde. Am Anfang war die Medikamentenentwicklung direkt mit der Forschung über synthetische Farbenherstellung in Verbindung.

So versuchte zum Beispiel William Perkins im Jahr 1856, den zur Behandlung von Malaria eingesetzten Wirkstoff Chinin durch Oxidation von Toluidin herzustellen, was völlig unmöglich ist, wenn man die erst seit zwei Jahrzehnten bekannte Struktur ansieht.

Stattdessen entstand Mauvein, ein Farbstoff, der Seide violett färbt. Die Entwicklungen der späteren Farbenindustrie in England und Deutschland gehen auf diese zufälligen Entdeckungen zurück. Es überrascht also nicht, dass in vielen pharmakologischen Labors, die bis dahin bekannte Palette von synthetischen Farbstoffen, auf eine eventuelle pharmakologische Wirkung untersucht wurde.^[7]

Die antibiotische Wirkung von *Penicilium Notatum* durch Alexander Fleming ist ein weiteres gutes Beispiel der Zufallsentdeckungen jener Zeit. Er entdeckte, dass bei einer verdorbenen Zellkultur in seinem Labor, bei dem sich auf dem Nährmedium ein Schimmelpilzbefall gebildet hatte, keine Bakterien wuchsen. Den damals noch unbekanntem Wirkstoff nannte er Penicillin. In Illinois entdeckte man durch Zufall einen weiteren Pilz mit dem Namen *Penicillium chrysogenum*, der nicht nur mehr Penicillin produzierte als *Penicillium Notatum*, sondern auch leichter zu züchten war.

Die Strukturaufklärung und die systematische Variation von Penicillin ist eine wissenschaftliche Meisterleistung, der wir unsere heutige Bandbreite an Antibiotika verdanken, die aus der modernen Medizin nicht mehr wegzudenken ist.^[8]

1.4 Die Leitstruktur

Bei der Forschung nach einem neuen Medikament ist der Ausgangspunkt immer die Leitstruktur. Die Substanz, die die Leitstruktur darstellt, besitzt bereits eine bestimmte biologische Wirkung, um sie aber in der Behandlung und Therapie einzusetzen, fehlen noch bestimmte essenzielle Eigenschaften.

Von dieser Leitstruktur stellt man dann durch chemische Variation gezielt Analoga her, die entweder eine höhere Wirksamkeit haben, eine höhere Selektivität aufweisen oder leichter oder gezielter verabreicht oder eingesetzt werden können. Fast alle Leitstrukturen stammen direkt von Naturstoffen, meist pflanzlicher oder tierischer Natur, seltener auch von körpereigenen Substanzen.^[9]

Da die Natur bereits eine große Bandbreite wirksamer Wirkstoffe vorzeigt, müssen sie vielfach nur leicht verändert werden, um einen therapeutisch wirksamen Effekt beim Menschen hervorzurufen. Der Grund, dass Pflanzen in solch hohem Maße Substanzen beinhalten, die in sofortige Wechselwirkung mit den meisten Organismen treten, ist von evolutionsbedingter Seite zu betrachten.^[10]

Die Pflanzen, die evolutionsbedingt Stoffe entwickelten, die entweder toxisch, scharf oder bitter waren, konnten bei ihren „Gegnern“ einen Lerneffekt hervorrufen, da die Wirkstoffe in irgendeiner Form gegen ihre Fressfeinde gerichtet waren. So konnten sie verhindern, gefressen zu werden, obwohl die Pflanzen standortgebunden waren. So haben Pflanzen vielfach unterschiedliche und oft sogar einzigartige Leitstrukturen zu bieten.^[9]

Tiere hingegen haben vielfach keine chemischen Abwehrmechanismen entwickelt, sie benutzen meist Wirkstoffe nur zum Erlegen einer Beute. Dieser Umstand hat zur Folge, dass die meisten Verbindungen tierischer Herkunft für jede Form von Medikament ungeeignet sind, da meist selbst kleine Mengen schon stark toxische Auswirkungen haben können. Andererseits sind aber gerade wegen der hohen Wirksamkeit Verbindungen tierischer Herkunft interessant.

Der ecuadorianische Giftpfrosch *Epipedobates tricolor* produziert ein Gift, das trotz seiner äußerst einfachen Struktur, hundertmal so schmerzstillend ist, wie Morphin. Es besitzt starke Ähnlichkeit mit Nikotin, da es den nikotinischen Acetylcholin Rezeptor angreift. Außerdem bindet es 50 Mal stärker an das Blut als Nikotin. Der einzige bis jetzt noch nicht behobene Nachteil ist, dass die schmerzstillende Wirkung von einer leichten Senkung der Körpertemperatur begleitet wird. ^[11]

Ein weiterer wichtiger Bereich ist die Anwendung von tierischen Proteinen und von polymeren Kohlenstoffen, die bei der Substitutionstherapie beim Menschen außerordentliche Bedeutung erlangt haben. Wichtigste Vertreter sind hierbei beispielweise das Insulin, das aus der Bauchspeicheldrüse von Schweinen gewonnen wird und eine Reihe von ähnlichen essentiellen Enzymen. Allerdings hat die Isolierung von Enzymen aus tierischen Organen an Bedeutung verloren, seit es mit Hilfe der Fortschritte in der Gentechnik möglich ist, künstlich Humaninsulin herzustellen. ^[12]

Eine weitere scheinbar unendliche Quelle für Leitstrukturen sind Mikroorganismen. Neben hoher Bioverfügbarkeit zeichnen sie sich vor allem durch eine Breitbandwirkung und hohe metabolische Stabilität aus. An erster Stelle sind hierbei die Antibiotika zu nennen, zum Beispiel die Lactame Penicillin und Cephalosporin, die besonders ergiebige Leitstrukturen abgeben. Manchmal besitzt die Leitstruktur, die von einem Wirkstoff eines bestimmten Mikroorganismus ausgewählt wird, stark toxische Eigenschaften. Ein Beispiel wäre hierfür der Pilz *Claviceps purpurea*, der im Getreide das Mutterkorn bildet, und für Vergiftungserscheinungen verantwortlich war, die nach dem Genuss von Brot, das aus verunreinigten Mehl gebacken wurde, auftraten. Als die Hauptstrukturen, die dafür verantwortlich waren, aufgeklärt wurden, zum Beispiel Ergotamin, konnte man es in Abwandlungen vielfältig einsetzen. Einige Anwendungsbereiche waren zum Beispiel die Wehenförderung oder die Behandlung von Durchblutungsproblemen. ^[13]

Ein anderer Ansatz zum Finden neuer Leitstrukturen ist, dass man die Nebenwirkungen eines bereits fertiggestellten Medikaments untersucht und verstärkt, so dass die ursprüngliche Wirkung kaum noch zu bemerken ist und die Nebenwirkung zur

Hauptwirkung wird. Besonders sinnvoll ist das bei Medikamenten, die nie aktiv in die Therapie eingeführt wurden, weil die Nebenwirkungen zu stark sind. ^[12]

1.5 Die Suche nach der Leitstruktur

Da die Entwicklung eines Wirkstoffs mit enormen Kosten verbunden ist, versucht man heute, die Leitstruktur sehr sorgfältig und gezielt auszuwählen. Deshalb ist man vielfach dazu übergegangen, eine große Anzahl von Pflanzenextrakten, mikrobiellen Wirkstoffen und synthetisch hergestellten Verbindungen durchzumustern, bevor man eine bestimmte Leitstruktur auswählt.

Heute steht eine riesige Zahl von möglichen Ausgangsverbindungen, Naturstoffen und Synthetika zur Verfügung. Deshalb ist es nicht einfach, die geeignete Leitstruktur auszuwählen. Dazu werden sogenannte Screening-Technologien eingesetzt. Das Screening bedeutet das Durchschauen oder Durchmustern riesiger Substanzbestände, um eine geeignete neue Leitstruktur zu finden.

Hier wird meist ein Ausschlussverfahren angewendet. In der ersten Phase des Screenings werden alle Strukturen und Verbindungen von einem Analyseprogramm und Robotern überprüft, und alle Strukturen, die mit einer sehr hohen Wahrscheinlichkeit nicht die Anforderungen der gewünschten Leitstruktur erfüllen, werden aus dem Auswahlvorgang ausgeschlossen. ^[14]

Dafür verwendet man sogenannte high-rate-screener, die eine große Menge von Proben und Verbindungen in kurzer Zeit analysieren können. Der zweite Teil des Auswahlverfahrens besteht darin, dass jede potenzielle Leitstruktur auf ihre Eignung und ihr Potenzial untersucht wird, sodass man von der Basis der Leitstruktur aus einen geeigneten Wirkstoff entwickeln kann. In dieser Phase des Auswahlvorgangs kostet das Untersuchen einer Verbindung, die als Leitstruktur in Frage kommt, etwa zwei bis fünf Dollar. Um die Erfolgswahrscheinlichkeit eines Wirkstoffs gleich von Anfang an zu erhöhen, werden immer mehrere Millionen Verbindungen und Substanzen getestet. Dies führt dazu, dass diese von Menschen durgeführte Analyse um einiges mehr kostet, als das von einem Analyseprogramm durchgeführte Screening. ^[15]

Allerdings ist das Ergebnis des zweiten Auswahlvorgangs qualitativ viel wertvoller, als die grobe Aussortierung, die der Computer vornimmt. Alle Verbindungen und Substanzen, die in diesem zweiten Auswahlvorgang nicht ausgeschlossen werden, werden dann noch einmal eingehend untersucht und auf Basis dieser Erkenntnisse wird dann eine endgültige Entscheidung getroffen. ^[16]

Es gibt außerdem noch zwei grundlegend verschiedene Techniken, die man zum Screening einsetzen kann.

Beim Massen-Screening versucht man einfach, so viele Substanzen wie möglich auf eine mögliche Wirksamkeit zu testen. Es werden auch keine Vorgaben oder Einschränkungen gemacht, um Substanzen auszuwählen. Das Massen-Screening liefert meist mehrere Verbindungen, die die gewünschten bzw. benötigten Eigenschaften aufweisen, und diese werden dann eingehend untersucht und verbessert. ^[17]

Im Gegensatz zum Massen-Screening wird beim zielgerichteten Screening der Pool der untersuchten Substanzen eingeschränkt. Dabei werden hauptsächlich Substanzen ausgewählt, die Ähnlichkeiten mit Strukturen aufweisen, die eine schwache Wirkung gezeigt haben, sich aber in einigen funktionellen Gruppen unterscheiden. Es werden auch Wirkstoffe getestet, die bei Wirksamkeitstests von anderen Arbeitsgruppen mehr als nur eine Wirkung hatten. ^[18]

1.6 Die Optimierung der Leitstruktur

Die Leitstruktur ist der erste Schritt auf dem langen Weg zum Arzneistoff. Hat man sich für eine bestimmte Leitstruktur entschieden, sollte man einige Eigenschaften des Wirkstoffs verbessern. In einem darauf folgenden Prozess müssen die Wirkstärke, die Wirkdauer, die Distribution optimiert werden. Außerdem sollte versucht werden, jede Form von Nebenwirkung und Toxizität so weit wie möglich zu verringern. Dazu kann man meist auf computergestützte Vorschläge zurückgreifen.

Um den Wirkstoff zu verbessern, stellen die meisten Arbeitsgruppen eine Arbeitshypothese auf. Bei einem solchen Arbeitsplan versucht man zuerst meist folgende Faktoren zu beachten:

- Zusätzliche Gruppen einbauen, die eine höhere Affinität ermöglichen (Haftgruppen).
- Zusätzliche Gruppen, die nicht die Bindung sondern die Lipophilie des Moleküls, und damit den Transport und die Verteilung verbessern.
- Zusätzliche Gruppen, die im Organismus abgespalten werden und nur der Distribution im Körper dienen, oder um einen Wirkstoff nur als Vorstufe in den Körper einzubringen und erst an einer bestimmten Stelle wirksam zu machen.

Außerdem kann man durch die gezielten Änderungen der dreidimensionalen Struktur erreichen, dass ein Wirkstoff veränderte physikalische und chemische Eigenschaften aufweist.^[19]

Um die dreidimensionale Struktur zu verändern versucht man:

- Eine oder mehrere hydrophobe oder hydrophile Gruppen einzuführen, die die Lipophilie und die elektronischen Eigenschaften verändern.
- Eine geringe Änderung der Kettenlänge.
- Einbau flexibler Teilstrukturen in Ringe.
- Die Variation von Substituenten.
- Das Aufschneiden von Ringen.
- Der Einbau von optisch aktiven Zentren.
- Der Einbau von Verzweigungen oder Ringen.

Bei der klassischen Wirkstoffoptimierung ist jedoch zu beachten, dass die Optimierung und die dazu durchgeführten Versuche immer nur an einer Stelle des Moleküls durchgeführt werden, da sonst die Gefahr besteht, dass die einzelnen Gruppen sich gegenseitig so stark beeinflussen, dass der gewünschte Effekt gar nicht oder nur in sehr abgeschwächter Form auftritt oder im schlimmsten Fall sogar unerwünschte Eigenschaften zeigt.^[20]

1.6.1 Die Molekülverdopplung

Aufgrund von empirischen Erkenntnissen ist bekannt, dass die Verdopplung eines Moleküls die Wirkstärke erhöht. Diese Tatsache lässt sich so erklären, dass die Verdoppelung der funktionellen Gruppe die Wirkstoff-Rezeptor-Bindung verstärkt und erleichtert. Allerdings ist bei dieser Verdopplung zu beachten, dass die nun erheblich größeren Moleküle aufgrund der Veränderung ihrer Struktur möglicherweise völlig neue chemische und physikalische Eigenschaften aufweisen und außerdem ein vollkommen neues Absorptions- und Resorptionsverhalten zeigen könnten.^[21]

1.6.2 Isosterer Ersatz von Atomen und Gruppen

Isosterer Ersatz bezeichnet den Ersatz von bestimmten Atomen oder Gruppen durch Atome oder Gruppen mit gleichen physikalischen und chemischen Eigenschaften. Bleibt dabei auch die biologische Wirkung gleich, spricht man von bioisosteren Ersatz. Im einfachsten Fall tauscht man einfach ein einzelnes Atom einer Verbindung aus, in wesentlich komplizierteren Fällen tauscht man ganze Gruppen mit gleichen oder modifizierten Eigenschaften aus. Isosterer Ersatz findet meist dann Anwendung, wenn eine Firma ein Patent auf eine bestimmte Verbindung anmeldet und andere Arbeitsgruppen versuchen ein patentfreies Analogon herzustellen. Diese Analoga besitzen dann meist bessere Eigenschaften und konnten sich meist auf lange Sicht gegen das Ursprungsmedikament durchsetzen.^[22]

1.6.3 Systematische Variation von Substituenten

Der Chemiker Paul Craig entwickelte 1971 ein System, mit dem man mit Hilfe eines einfachen Diagramms die Wirkung einzelner Substituenten auf die Eigenschaften der Verbindung abwägen konnte. Hierbei wird eine möglichst große Anzahl von Substituenten in einzelnen Spalten gegeneinander aufgetragen. Dann werden verschiedene Kombinationen gegeneinander abgewogen. So kann man auch die Wirkung der einzelnen Substituenten aufeinander beobachten. Dieses System lässt sich auf eine große Bandbreite ausweiten, und wenn nötig auch mit Hilfe von mathematisch-kombinatorischer Statistik auf eine große Anzahl von möglichen Substituenten anwenden. ^[23]

1.6.4 Optimierung von Absorption und Resorption

Um an den Wirkungsort zu gelangen, muss eine Substanz durch wässrige Körperflüssigkeiten transportiert werden. Dazu muss die Substanz ein Minimum an Wasserlöslichkeit haben. Allerdings ist auch die Lipophilie entscheidend, denn die meisten Körpermembrane weisen sehr stark lipophile Eigenschaften auf, und deshalb können nur Wirkstoffmoleküle, die unpolar genug sind, die Lipidmembran durchdringen. ^[24]

Außerdem ist neben der Löslichkeit zu beachten, dass die spezifische Lösegeschwindigkeit beachtet wird. Diese bestimmt nämlich die Menge des Wirkstoffs, der in der Magen-Darm-Passage aufgelöst wird und dort ins Blut diffundiert. Denn nur dieser Teil des Wirkstoffs wird tatsächlich in den Körper aufgenommen, der Rest wird größtenteils ausgeschieden. Es ist allerdings möglich, die Menge des aufgenommenen Wirkstoffs zu erhöhen. Dabei versucht man hauptsächlich die Oberfläche zu vergrößern, indem man Kristallstrukturen zermahlt. Andere Lösungsansätze sind das Züchten von besser löslichen Kristallstrukturen oder Kristallstrukturen, die absichtliche Fehlstellen in ihrem Gitter aufweisen, um die Lösung zu erleichtern.

Wegen der großen Bedeutung der spezifischen Lösegeschwindigkeit wurden eine ganze Reihe von Testsystemen entwickelt, mit denen man nachprüfen kann, ob die erwünschte

oder benötigte Substanzmenge im Magen-Darm-Trakt in Lösung geht. Die beiden effizientesten und aussagekräftigsten Testsysteme sind Versuche mit Zellkulturen. ^[25]

Bei Versuchen mit Zellkulturen werden hauptsächlich Vorgänge im menschlichen Magen-Darm-Trakt getestet. Die gängigste Variante für Versuche mit Zellkulturen ist die Züchtung von menschlichen Karzinomzellen des Magen-Darm-Trakts in einem Zweikammersystem. Dieses System hat den Vorteil, dass alle Versuche sowohl von der Vorderseite als auch der Rückseite beobachtet werden können. Außerdem produzieren Karzinomzellen auch für den Magen-Darm-Trakt typische Spaltungs- und Transportsubstanzen. ^[26]

Der einzige Nachteil bei Versuchen mit den Karzinomzellen ist, dass man nicht testen kann, welche Wechselwirkungen der Wirkstoff mit dem Stoffwechsel aufzeigt, da diese Karzinomzellen kaum typischen Stoffwechsel aufweisen. ^[27]

1.6.5 Optimierung der Bioverfügbarkeit

Bei der experimentellen Ermittlung von Absorptions- und Resorptionsverhalten ist zu beachten, dass kaum allgemeine Ergebnisse gewonnen werden können, da durch verschiedene körpereigene Faktoren die Konzentration des Wirkstoffs und die Aufnahmefähigkeit stark variiert. Auch zu beachten ist, dass auch die körpereigenen Filtersysteme stetig die Konzentration im Blut verringern. So können zum Beispiel Moleküle mit Molekulargewichten, die größer als 500-600u (Atomare Masseneinheiten) sind und die sehr gut aufgenommen werden könnten, bereits beim ersten Durchgang durch die lebereigenen Filtersysteme eliminiert werden. ^[28]

1.7 Prodrugs

„Der Begriff Prodrug beschreibt eine pharmakologisch inaktive Verbindung, die durch einen metabolischen Umwandlungsprozess in einen aktiven Wirkstoff überführt wird. Die Umwandlung vom Prodrug zum Wirkstoff kann vor, während oder erst nach der Aufnahme oder erst am spezifischen Wirkort im Körper stattfinden. Im Idealfall wird ein Prodrug erst in den aktiven Wirkstoff überführt, sobald die Zielsetzung erfüllt ist, für die eine Prodrug-Strategie entworfen wurde.“^[29]

Es gibt eine Vielzahl von Gründen, warum man für ein Medikament ein Prodrug-Konzept entwerfen muss. Der wahrscheinlich häufigste Grund ist, dass ein aktiver Wirkstoff stark unpolar ist, und er so zwar leicht durch Lipidmembrane diffundieren kann, aber nicht genug wasserlöslich ist, um oral eingenommen zu werden. Um dieses Problem zu lösen führt man meist eine wasserlösliche Gruppe ein, die sich nach der Aufnahme wieder absplattet. Außerdem besteht die Möglichkeit, einen Wirkstoff zielgerichteter in ein Organ oder Gewebe zu senden, wenn dort eine charakteristisch hohe Konzentration eines bestimmten Enzyms vorkommt. Dann werden an dem Wirkstoff Teile des Enzyms oder sogar das ganze Enzym angehängt. Dadurch wird der Wirkstoff viel effizienter zum gewünschten Ziel transportiert.^[30]

Manchmal ist es darüber hinaus notwendig, dass über einen langen Zeitraum geringe Mengen eines Wirkstoffs freigesetzt werden. Dann wird das Medikament meist so verändert, dass es sehr langsam metabolisch in seine aktive Form überführt wird. Ein weiteres Problem, das meist über eine Prodrug-Strategie gelöst wird, ist die Vermeidung von unangenehmen Geruch oder Geschmack, oder wenn die Aufnahme schmerzhaft oder unpraktisch ist, zum Beispiel über Injektionen. Dazu wird die Struktur des ganzen Wirkstoffs überarbeitet, um eine Umwandlung erst im Körper stattfinden zu lassen. Außerdem greift man auf Prodrug-Konzepte zurück, wenn ein Wirkstoff in seiner aktiven Form toxische Eigenschaften hat, denn da darf dieser erst am Zielort in seine aktive Form überführt werden und auf keinen Fall vorher.^[31]

Diffundiert ein Wirkstoff im Magen-Darm-Trakt in die Blutbahn, gelangt das ganze Blut mit dem Wirkstoff über die Pfortader in die Leber. Dort wird durch eine Vielzahl von Enzymen und Filtersystemen die Konzentration des Wirkstoffs stark verringert. Über den Blutkreislauf gelangt der Wirkstoff immer wieder durch die Leber, die stetig die Konzentration verringert. Allerdings ist zu beobachten, dass die Konzentration auch in der Blutbahn stetig sinkt, da sich der Wirkstoff dann auch im Gewebe verteilt. Außerdem verfügt der Mensch über eine Reihe von Enzymen, die Fremdstoffe chemisch verändern und sie in der Regel leicht wasserlöslich machen, deswegen können sie danach leicht ausgeschieden werden. ^[32]

1.7.1 Ester als Prodrugs

Ester eignen sich besonders gut als Prodrug, da sie passabel wasserlöslich sind und außerdem leicht durch überall im Körper vorkommende Enzyme, die sogenannten Esterasen, aufgespaltet werden können. Ester ist es wegen ihrer lipophilen Eigenschaften leicht möglich, durch Membrane und die Blut-Hirn-Schranke zu diffundieren. ^[33]

Ein gutes Beispiel für Ester als Prodrug ist das Heroin, die Diacetylverbindung des Morphins. Aufgrund seiner lipophilen Eigenschaften durchdringt Heroin die Blut-Hirn-Schranke deutlich schneller als das Morphin, weswegen es bei Bayer auch als Schmerzmittel entwickelt und verkauft wurde. Wegen des hohen Suchtpotenzials wurde es größtenteils aus der aktiven Therapie verdrängt. Heute wird es nur noch selten zur Schmerzlinderung bei schwer Krebskranken oder austherapierten Fällen eingesetzt.

Trotzdem treiben viele Menschen noch heute Missbrauch, und das Suchtpotenzial ist in vielen Ländern ein akutes soziales Problem. Es gab zwar Ansätze, die zu einer internationalen Lösung führen sollten, wie etwa die Genfer Opiumkonferenzen von 1925 und 1931, aber diese waren für die 46 teilnehmenden Staaten nicht bindend und so blieb das Problem bis heute ungelöst. ^[34]

1.8 Kombinatorik in der Chemie

Die Suche nach einer neuen Leitstruktur und die systematische Variation dieser Leitstruktur ist sehr aufwändig. Selbst bei kleinen Molekülen, bei denen nur wenige Substituenten variiert werden, können Hunderte Möglichkeiten bestehen. Bis zu der Zeit, in der Tierversuche das einzige Testverfahren waren, setzte diese Tatsache die Geschwindigkeit der Entwicklung eines Medikaments fest. Heute kann man durch fast vollständig automatisierte Testsysteme mehrere tausend Substanzen an einem Tag testen. Dazu werden nicht mehr vollständige Tierorganismen benötigt, sondern nur Testmodelle mit Enzymversuchen und Rezeptorbindungstests. Um die Kapazität dieser Testmodelle ausschöpfen zu können, greift man entweder auf die automatische Parallelsynthese oder auf Simultan-Herstellungstechniken zurück. Dabei werden meist riesige Substanzbibliotheken erstellt, bei denen die einzelnen Gruppen eines Wirkstoffmoleküls getestet werden. Die Synthese erfolgt hierbei aber normalerweise durch Roboter und automatisierte Synthese-Systeme. Dabei versucht man meist nur einzelne Bausteine zu variieren oder bekannte Bausteine neu zu kombinieren. Körper eigene Peptide waren die ersten Substanzen, die bei solchen Testmethoden untersucht wurden. Hierbei sind Peptide meist der Beginn und dienen als Ansatz, sind aber als Wirkstoff ungeeignet, da sie auch in leicht abgewandelter Form als körpereigener Wirkstoff erkannt und zu schnell abgebaut werden. ^[35]

1.9 Gentechnologie in der Arzneimittelforschung

Für viele Krankheiten oder Fehlfunktionen gibt es genetische Ursachen. Dafür sind meist das Fehlen oder die Mutation einzelner Gene verantwortlich. Dazu gehören sehr weit verbreitete Krankheiten, wie die Bluterkrankheit, Diabetes aufgrund von Insulinmangel und einige Krebsarten und Melanome. Um solche Krankheiten zu behandeln, musste erst intensiv Grundlagenforschung in der Genetik betrieben werden. ^[36]

1.9.1 Gezielte Herstellung von Proteinen durch Bakterien

Um manche Wirkstoffe oder Proteine herzustellen, benutzt man Bakterien. Dabei versucht man fremde DNA in den Wirtskörper einzubauen und sie dann mit der zelleigenen DNA zu verschmelzen oder auszutauschen. Die Gene, die übertragen werden müssen, werden zuerst mit Hilfe von Restriktionsenzymen, Enzyme die DNA-Stränge in einzelne Teile zerteilen können, aus ihrem Herkunftsgenom isoliert. Dann wird die Suspension der gewünschten DNA mit der Suspension der bereits von Restriktionensenzymen zerteilten Plasmidringbruchstücken zusammengebracht, und die Bruchstücke werden mit dem Enzym DNA-Ligase wieder verbunden. Dieser überarbeitete Plasmidring wird dann in Lösung mit plasmidfreien Bakterien gebracht, deren Zellwände zuvor chemisch durchlässig gemacht wurden. So ist es möglich, Bakterien mit gewünschter DNA herzustellen.

Diese Methode findet zum Beispiel bei der Produktion von Humaninsulin, das benötigt wird, um zuckerkranken Menschen zu behandeln, Anwendung, indem menschlicher DNA das Insulingen entnommen und mit Hilfe eines Vektors in die Bakterien eingesetzt wird, woraufhin diese das gewünschte Humaninsulin herstellen.^[37]

Aus der Möglichkeit Proteine gezielt herzustellen, haben sich einige Hauptanwendungsgebiete herauskristallisiert, die für die moderne Arzneimittelforschung unverzichtbar sind. Die Tatsache, dass gezielt Proteine hergestellt werden können, hat es ermöglicht, gezielter Proteine ausfindig zu machen, die für Auftreten oder Behandlung einer Krankheit relevant sind. Außerdem kann man so wichtige Proteine für Behandlung und Therapie herstellen, die den Betroffenen fehlen und weswegen schwere Fehlfunktionen des Körpers auftreten.

Die Erkenntnisse, die man durch Genetik und Molekularbiologie gewonnen hat, sind wegweisend für die Medikamentenentwicklung. Denn dadurch kennt man Ursachen und Wirkungsweisen besser und kann gezielter dagegen vorgehen.^[38]

1.9.2 Wechselwirkung von Wirkstoffen auf den gesamten Organismus

Bevor ein Medikament zugelassen wird, wird genau überprüft, welche Folgen es für den menschlichen Organismus hat, wenn die Funktion bestimmter Gene, Körperzellen oder Organe durch ein Medikament beeinflusst oder unterbunden wird.

Denn meist hat eine solche Veränderung nicht nur Auswirkungen auf die gewünschte Körperfunktion, die eine Krankheit oder Fehlfunktion ausgelöst hat, sondern auf den ganzen menschlichen Organismus. Hier besteht leider auch die Möglichkeit, dass das Unterbinden einer bestimmten Körperfunktion negative Auswirkungen auf das Gesamtsystem hat, so dass es nicht effizient ist, auch wenn es die gewünschte Wirkung erzielt, da die Nebenwirkungen zu groß sind. ^[39]

1.10 Beseitigung von negativen Eigenschaften eines Wirkstoffs

Viele Wirkstoffe weisen neben der erwünschten Hauptwirkung auch einige Nebenwirkungen auf, die aus anderen Wechselwirkungen mit dem Körper resultieren. Bei der Entwicklung eines Wirkstoffs sollte versucht werden, so viele Nebenwirkungen wie möglich zu beseitigen, und die, wo das aus einer Vielzahl von möglichen Gründen nicht geht, sie so gut wie möglich abzuschwächen. Nebenwirkungen können in verschiedenen Formen auftreten. Dazu zählt zum Beispiel schlechter Geruch oder Geschmack, eine reizende oder ätzende Wirkung auf Schleimhäute oder Körperpartien. Außerdem soll der Körper durch schwer ausscheidbare Endprodukte nicht zusätzlich belastet werden, und es sollten keine Beschwerden beim Patienten auftreten, die von dem Medikament verursacht werden. ^[40]

1.10.1 Beseitigung von schlechtem Geruch und Geschmack

Schlechter Geschmack oder Geruch ist ein großer Nachteil für ein sonst wirksames Medikament. Denn es gibt eine Vielzahl von Patienten, die sich weigern, das Medikament einzunehmen, oder es nur mit großem Widerwillen tun. Besonders bei der Behandlung von Kindern stellt dies eine große Hürde dar, denn ein Großteil der zu behandelnden Kinder wird sich weigern, schlecht schmeckende oder riechende Präparate, die vielleicht noch durch ihre Nebenwirkungen Beschwerden hervorrufen, über längere Zeit

einzunehmen. Dazu versucht man zum Beispiel, Wirkstoffe in Kombination mit Eiweißverbindungen oder oft sehr neutral schmeckende Salzverbindungen einzuarbeiten. Außerdem versucht man, einen bestehenden Restgeschmack mit Geschmacksaromen zu überdecken, wenn diese die Wirkung nicht beeinflussen. ^[41]

1.10.2 Beseitigung von Reiz- und Ätzwirkung

Um die unerwünschten Wirkungen verschiedener Salze und Ionen, die die Schleimhäute bei oraler Einnahme eines Medikaments reizen, zu verringern, versucht man sie mit sogenannten Schutzkolloiden zu umgeben.

Außerdem versucht man, wenn der Wirkstoff organische Säuren, meist Carbonsäuren, enthält, die bei längerer Einnahme stark die Magenschleimhäute reizen, Salze oder Ionen mit zu verabreichen, die mit den überschüssigen sauren Stoffen reagieren, um so eine Reizung der Magenschleimhäute zu verhindern.

Außerdem überführt man viele Säuren in Ester, die von den Esterasen erst gespalten werden, wenn sie im Darm sind, um so die Reizung der Schleimhäute zu vermeiden. Außerdem werden diese Ester langsam gespalten, was zur Folge hat, dass der Wirkstoff in kleinen Mengen abgegeben wird. Auch so wird der Körper geschont. ^[42]

1.10.3 Die Vermeidung schwer abbaubarer Zwischen- und Endprodukte

Um zu vermeiden, dass ein Medikament den Körper schädigt, muss man oft über lange Zeiträume testen, ob der Wirkstoff nicht auf lange Sicht im Körper Schaden anrichtet. Das betrifft vor allem Medikamente, die in hohen Dosen oder über einen langen Zeitraum verabreicht werden. Es ist zum Beispiel möglich, dass ein Umsetzungsprodukt toxische Eigenschaften hat, oder Kristalle bildet, die sich in Niere oder der Harnblase ablagern. ^[43]

2. Multiple Sklerose- Ein Beispiel für Drug-Targeting

Die Multiple Sklerose ist eine der häufigsten Krankheiten des Zentralen Nervensystems, die in Nordamerika und Europa auftritt. Wegen mangelnder Kenntnis der Krankheit selbst sowie der unzureichenden Forschung nach einer Therapiemethode, waren lange Zeit nur geringe Erfolge bei der Behandlung von MS zu erzielen. Allerdings mussten für diese eher bescheidenen Therapieerfolge vom Patienten eine Vielzahl von Nebenwirkungen in Kauf genommen werden. Die Entdeckung von Dimethylfumarat war ein Quantensprung auf diesem Gebiet. Es zeichnet sich nicht nur dadurch aus, dass es fast keine Nebenwirkungen hat, sondern es führt auch zu einer signifikanten Verringerung der Schubrate. Dieser große Erfolg in der Forschung für ein Medikament gegen Multiple Sklerose wurde erst vor kurzer Zeit erzielt. Der Wirkstoff Dimethylfumarat, ein Ester der Fumarsäure, mit dem man Multiple Sklerose behandeln kann, ist ein anschauliches Beispiel für die Entwicklung eines Wirkstoffs.

Die Multiple Sklerose, auch Encephalomyelitis Disseminata genannt, oft auch mit MS oder ED abgekürzt, ist die häufigste entzündliche Krankheit des Zentralen Nervensystems. Ein weiterer sehr gebräuchlicher Name für Multiple Sklerose ist auch die „Krankheit mit den tausend Gesichtern“, da sie sehr schwer zu diagnostizieren ist, weil das Krankheitsbild kein eindeutiges Schema hat. Deshalb werden körperliche Beschwerden oder Fehlfunktionen meist erst zu spät als Symptome für Multiple Sklerose identifiziert. ^[44]

2.1 Krankheitsbild

„Die Multiple Sklerose ist eine Entmarkungskrankheit, das heißt, die Markscheide (Myelin) der Nerven wird angegriffen und zerstört. Die Nerven sind ähnlich wie ein elektrisches Kabel von einer Isolierschicht (im Falle der Nerven Myelinschicht) umgeben. Wenn das Myelin angegriffen wird, kommt es zunächst zu einer Verlangsamung der Reizleitung, bei vollständigem Ausfall zur vollkommenen Zerstörung dieser Nervenleitung.“ ^[45]

Die Multiple Sklerose ist eine Autoimmunerkrankung, die aber nicht nur afferente Nerven angreift, auch efferente Nervenbahnen können betroffen sein. Diese Beschaffenheit der

Krankheit erklärt, warum die ersten Symptome der Krankheit in den meisten Fällen der völlige oder teilweise Verlust der Sehkraft, sowie der Verlust von wichtigen motorischen Fähigkeiten oder Taubheitsgefühl in bestimmten Körperregionen sind.

Das Krankheitsbild hängt außerdem stark von der genauen Lage der Entmarkungsherde im Zentralnervensystem ab. So treten zum Beispiel meist Wahrnehmungsstörungen auf, wenn die Entmarkungsherde im Gehirn liegen, während die Wahrscheinlichkeit von motorischen Fehlfunktionen bei Entmarkungsherden im Rückenmark wesentlich höher ist.^[46]

Bemerkenswert bei Multipler Sklerose ist außerdem, dass Krankheitssymptome oft über längere Zeit nicht bemerkbar sind, sondern meist in sogenannten Schüben auftreten. Dabei treten innerhalb eines kurzen Zeitraums alle Symptome auf. Am Anfang, nach Auftreten der Krankheit, bilden sich etwa 60 % der Folgeschäden von selbst bald nach Ende des Schubs zurück. Zwischen den Schüben liegen oft mehrere beschwerdefreie Jahre, aber es besteht die Möglichkeit, dass plötzlich wieder ein neuer Schub auftritt. Viele Experten unterscheiden zwischen primärem und sekundärem Krankheitsverlauf.^[47]

Der primäre Krankheitsverlauf ist bei ungefähr einem Drittel der Multiple-Sklerose-Patienten zu beobachten. Dabei treten die Schübe erst sehr schwach auf und werden in einem kurzen Zeitraum immer häufiger und intensiver. Dabei werden die Krankheitssymptome, wie verschlechterte Sicht, Taubheitsgefühl oder schnellere Ermüdung meist auf andere Ursachen zurückgeführt. Der primäre Krankheitsverlauf ist in der Regel meist harmloser als der sekundäre.^[48]

Beim sekundären Krankheitsverlauf nimmt die Krankheit nach anfänglich starken Schüben einen langsam fortschreitenden Verlauf. Dieser wird noch gelegentlich von stärkeren Schüben unterbrochen. Eine Prognose, wie sich die Krankheit entwickeln wird, kann man erst sehr spät treffen, aber meist bleiben die Patienten noch sehr lange von stärkeren lebensbehindernden Krankheitssymptomen verschont.^[49]

2.2 Verbreitung der Krankheit

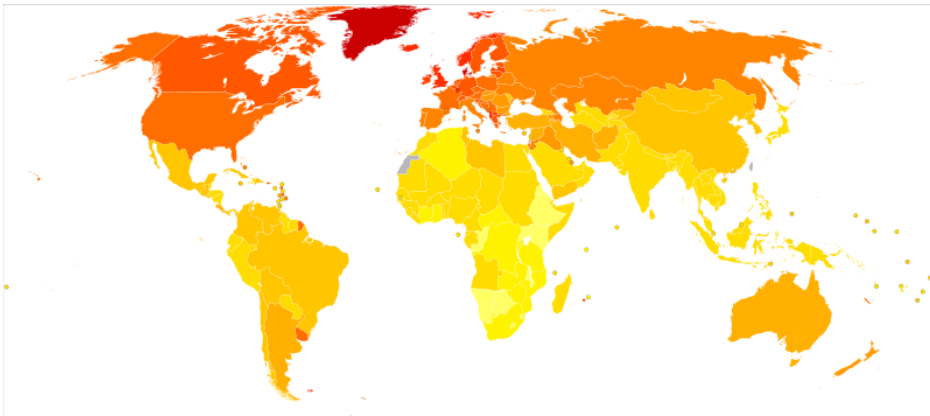


Abb. 1: Geographische Verteilung von Multipler Sklerose

Wie in der Grafik sehr gut zu sehen ist, besteht im Fall der Multiplen Sklerose ein Nord-Süd Gefälle. Je dunkler ein Land schraffiert ist, desto mehr Multiple-Sklerose-Fälle gibt es auf 100 000 Einwohner. Man kann erkennen, dass Europa, die nördlichen Teile von Nordamerika und Russland stärker betroffen sind, als alle anderen südlicher liegenden Kontinente und Staaten. Auch innerhalb von Europa und Nordamerika kann man dieses Gefälle wahrnehmen. ^[50]

Dieses Gefälle wird oft auch als warm-kalt Gefälle bezeichnet. In Nordamerika und Nordeuropa ist ein Durchschnitt von 70 bis 100 an Multipler Sklerose erkrankter Personen pro 100 000 Einwohner zu finden, ein Durchschnitt, der je weiter man sich in Amerika oder Europa nach Süden bewegt, immer mehr abnimmt. In Südamerika und Afrika sind kaum Fälle von Multipler Sklerose bekannt. Das bedeutet die lokalen Bedingungen haben auch einen großen Einfluss auf den Ausbruch der Krankheit. In mehreren Studien konnte bewiesen werden, dass Personengruppen die Wahrscheinlichkeit an Multipler Sklerose zu erkranken übernehmen, wenn sie in ein anderes Land ziehen. Hier war zu beobachten, dass das erhöhte Risiko beim Einwandern in ein Gebiet mit hoher MS-Rate übernommen wurde. Dies war auch im umgekehrten Fall festzustellen. Einwanderer übernehmen also das Gastlandrisiko, sobald sie sich für einen längeren Zeitraum dort aufhalten. Außerdem war zu beobachten, dass der Erwerb des MS-Risikos am stärksten im Alter von fünf bis

fünfzehn liegt, in diesem Zeitraum scheinen also im Körper MS relevante Vorgänge stattzufinden. ^[51]

2.3 Ursachen für Multiple Sklerose

Es wurde bis jetzt noch nicht bewiesen, dass Gendefekte in irgendeiner Form Multiple Sklerose verursachen können. Es gibt zwar einige Vermutungen, dass MS über das Erbgut weitergegeben wird oder, dass zumindest ein Risiko vererbt werden könnte, aber dafür wurden noch keine eindeutigen wissenschaftlichen Beweise gefunden. ^[52]

Es wurden allerdings schon mehrfach Belege dafür gefunden, dass Viren mögliche Aktivatoren für Multiple Sklerose sein können. Dabei ist es meist so, dass sobald ein Virus im Körper auftritt, das Immunsystem sofort Abwehrkörper bildet, und die Viren bekämpft. Dabei verspürt man aber nicht für die Krankheit typische Symptome, sondern zeigt eher Zeichen von Erschöpfung, und eventuell leichtes Fieber oder Kopfschmerzen. Solche inaktiven Viruserkrankungen können anfänglich zu Schwächungen des Immunsystems und letztendlich zum Ausbruch von Multipler Sklerose führen.

Außerdem scheinen Unfälle und Operationen oder ähnliche Umstände, die den Menschen physisch oder psychisch Stress aussetzen, Multiple Sklerose zu fördern. Auch starke Sonneneinwirkung, sowie große Hitze, wie sie bei Thermalbädern oder Saunen zu finden sind, scheinen Multiple Sklerose zu fördern, da unter solchen Umständen eine höhere Schubdichte auftritt. ^[53]

2.4 Diagnose von Multipler Sklerose

Multiple Sklerose zu diagnostizieren stellt eine große Herausforderung dar. Meist äußert sich der erste Schub, das klassische Zeichen der Multiplen Sklerose, in einer Form, die von den meisten Ärzten der Allgemeinmedizin als Symptome von Überarbeitung oder Erschöpfung gesehen wird. In Wirklichkeit ist es der erste Schub der Multiplen Sklerose, der desto besser behandelt werden kann, je früher die Krankheit entdeckt und diagnostiziert wird. In 60% der Fälle verschwinden diese Krankheitssymptome innerhalb

kürzester Zeit wieder. Erst einige Jahre später wird meist Multiple Sklerose diagnostiziert, da spätere Schübe und deren Folgen meist eindeutig sind. Das Problem dabei ist, dass die Entmarkungsherde an vielen verschiedenen Stellen auftreten können. Das hat zur Folge, dass man die Krankheit nur schwer aufspüren kann. Wenn man sie diagnostiziert hat, kann man nie im Vorhinein sagen, in welcher Form und Intensität die Krankheit auftreten wird. Jeder Multiple Sklerose Patient ist also ein Einzelfall.

Um die genaue Art, Form und Lage der Sklerose zu erfassen, bedient man sich meist eines EEG, ein Elektroenzephalogramm zur Messung der Hirnströme, sowie der Computertomographie, durch die es möglich ist, sehr viele genaue Informationen über Lage der Sklerosen und Intensität zu erhalten. Dann wird meist noch eine Liquorprobe untersucht, denn im Liquor kann man beim Auftreten von Multipler Sklerose typische Eiweißverbindungen finden, die vom Immunsystem als Antikörper gebildet werden. Im Fall der Multiplen Sklerose bietet vielen Erkrankten der neue Wirkstoff Dimethylfumarat neue Hoffnung. Dimethylfumarat ist zwar nicht in der Lage den Schaden, den die Krankheit im Nervensystem anrichtet zu beheben, aber es verlangsamt den Verlauf der Krankheit stark und reduziert die Häufung der Krankheitsschübe deutlich. ^[54]

3. Dimethylfumarat- Ein Wirkstoff zur Behandlung von MS

Dimethylfumarat, nach der IUPAC Nomenklatur auch Fumarsäuredimethylester genannt, ist ein Ester der aus Fumarsäure und Methanol hergestellt wird. Dimethylfumarat wird hauptsächlich als Wirkstoff gegen Psoriasis und Multiple Sklerose eingesetzt. ^[55]

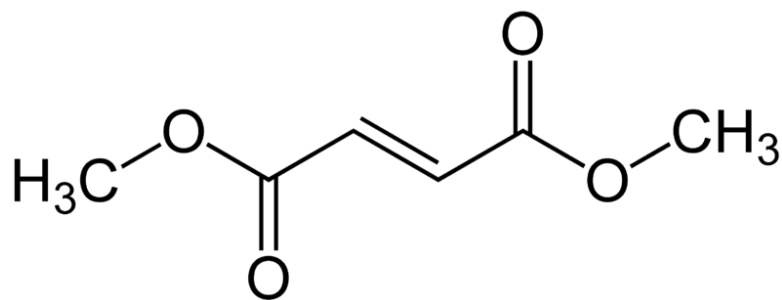


Abb. 2: Struktur von Dimethylfumarat

3.1 Eigenschaften der Substanz

Dimethylfumarat ist bei Normaltemperatur ein geruchloses, weißes kristallines Pulver. Es löst sich in fast allen unpolaren Substanzen gut. Es hat einen Schmelzpunkt von 102°C und einen Siedepunkt bei 193°C. Es besitzt eine durchschnittliche Dichte von 1,37g/cm³. ^[56]

3.2 Geschichte des Dimethylfumarat als Wirkstoff

Im Herbst 2013 bringt das Pharmaunternehmen Biogen Idec. sein MS-Medikament Tecfidera in Europa auf den Markt. In den USA ist es schon seit einigen Monaten erhältlich. Der Hauptwirkstoff ist Dimethylfumarat. Durch die Einnahme kann man erreichen, dass die Schubrate bei Multipler Sklerose zurückgeht. Es ist eine wertvolle Neuerung im Bereich der Multiplen Sklerose. Dimethylfumarat zeigt fast keine Nebenwirkungen und ist schon in kleinen Dosen hoch wirksam. Zwar fehlt noch die Zustimmung der Europäischen Kommission, doch der Ausschuss für Humanarzneimittel bei der Europäischen Arzneimittelbehörde EMA hat das Medikament schon zur Zulassung

empfohlen. Sobald die Europäische Kommission die Entscheidung absegnet, wird es teuer. Die Kosten für eine Jahrestherapie dürften dann wohl zwischen 25.000 und 35.000 Euro liegen. Um das zu verstehen, muss man die anschauliche Geschichte des Dimethylfumarats von Anfang an verfolgen. ^[57]

Im Jahr 1982 übergibt ein Mann, der an akuter Psoriasis, auch Schuppenflechte genannt, leidet, dem Schweizer Apotheker Hans-Peter Strebel ein Naturheilmittel, das ihm zwar Bauchschmerzen bereitet, aber die Psoriasis war stark zurückgegangen.

Daraufhin übergibt der Apotheker Hans-Peter Strebel das weiße Pulver der ETH Zürich. Bei der Analyse finden sie in dem weißen Pulver Fumarsäure, eine leicht zu synthetisierende Verbindung, die in fast allen Körperzellen vorkommt und schon lang aus der Lebensmittelindustrie als Säuerungsmittel E297 bekannt ist. Nach kurzer Zeit ist klar, dass das Dimethylfumarat, ein Ester der Fumarsäure, die heilende Wirkung auf die Schuppenflechtenerkrankung ausübt.

Aufgrund dieser Erkenntnis gründen Hans-Peter Strebel und zwei seiner Kollegen von der ETH eine Firma mit der sie Dimethylfumarat als Medikament gegen Psoriasis vermarkten wollen.

Nach einer Studie mit 120 Probanden hat das Trio den Beweis, dass Dimethylfumarat ein hochwertig wirksames Mittel gegen Psoriasis ist. Die Firma Fumafarm bekommt die Zulassung für Dimethylfumarat als Medikament gegen die Schuppenflechte. Zur gleichen Zeit forscht Peter Altmeyer, ein Dermatologe am St. Joseph Hospital, in Absprache mit Hans-Peter Strebel an weiteren Anwendungsbereichen für Dimethylfumarat. Bei Testungen aller möglichen Krankheiten ging bei Probanden, die an Psoriasis und MS leiden, nicht nur die Schuppenflechte, sondern auch die Anzahl der Schübe von MS zurück. Daraufhin bezahlte Fumapharm eine Studie mit 15 Probanden. Als die zweite Phase der Studie anläuft, meldet Fumapharm, dass sie nicht über die finanziellen Mittel verfügen, um die Studie allein zu finanzieren. Es kostet ungefähr 900 Millionen bis 1,5 Milliarden Dollar ein Medikament wie dieses zu entwickeln, zu testen und zuzulassen. ^[58]

Peter Altmeyer und Ludwig Kappos beginnen derweil mit einer groß angelegten Studie über die Wirksamkeit von Dimethylfumarat. Sie arbeiten an den Rahmenbedingungen für eine zweite Studie, die eine endgültige Aussage über die Wirksamkeit von Dimethylfumarat gegen Multiple Sklerose machen soll. In dieser Zeit wird die Branche der Pharmaunternehmen an dem Medikament interessiert, da man bemerkt, dass es sehr großes Potential aufweist, eine sehr effiziente Therapie für Multiple Sklerose zu sein.

Biogen übernimmt die Forschung im Bereich MS, Fumapharm kümmert sich um die Schuppenflechte. Und als drei Jahre später das Dimethylfumarat in einer weiteren Studie mit 2.500 Teilnehmern besser abschneidet als herkömmliche MS-Präparate, verkauft Strebel seine Firma für 220 Millionen US-Dollar an Biogen.

Nun kämpft Biogen Idec. darum, ihr durch das komplizierte Patentrecht nicht vollständig vor Nachahmern geschütztes Patent zu verteidigen. Das Problem dabei ist, dass Biogen Idec. nur das Recht für die Abgabemenge von 480ml als Medikament gegen Multiple Sklerose hat, was viele Firmen, die Generika herstellen, in Versuchung bringt, das Patent zu umgehen. ^[59]

3.3 Wirkungsweise und Studien

Professor Gold, Vorstandsmitglied im Ärzteverband und im Beirat des DMSG-Verbandes und Professor an der Neurologischen Klinik der Ruhr-Universität Bochum, führte eine Studie über die Wirkung von Dimethylfumarat auf Multiple Sklerose durch und untersuchte mögliche Nebenwirkungen einer Therapie mit Multipler Sklerose. Er berichtete am Ende seiner Studie folgendes:

„Dimethylfumarat stößt schützende Stoffwechselwege in Zellen an. Die Nervenzellen werden wie durch eine Firewall vor entzündlichen Botenstoffen geschützt, insbesondere von freien Radikalen und Stickoxid. In meiner Studie mit über 2400 Patienten zeigte sich: Die Fumarsäure-Ester reduzierten die MS-Schubraten um bis zu 50 Prozent und führten zu bis zu 90 Prozent weniger entzündlich aktiven Herden, die mit der Kernspintomografie sichtbar waren. Verdauungsbeschwerden, eine häufige Nebenwirkung von Fumarsäure-Ester, ließen sich durch eine abgewandelte Formulierung des Medikaments stark reduzieren, nämlich auf drei bis fünf Prozent.“ ^[60]

Eine weitere Studie, die zum Thema Multiple Sklerose durchgeführt wurde, ist die Studie DEFINE (Determination of the Efficacy and Safety of Oral Fumarate) mit 1234 Patienten zwischen 18 und 55 Jahren, die per Zufall ausgewählt wurden. Dann wurden die Patienten, wiederum durch Zufall in zwei Gruppen geteilt. Der einen Gruppe wurde 2-3 mal am Tag eine 240 Milligramm-Dosis Dimethylfumarat in Form des Fumarsäure-Präparats „BG-12“ gegeben, der anderen Versuchsgruppe ein Scheinmedikament, um den Placebo-Effekt auszuschließen. Das wichtigste Kriterium, auf das das Medikament untersucht wurde, war nicht die kurzzeitige Verbesserung, sondern die Anzahl der Schübe, die in dem zweijährigen Studienverlauf auftraten. Die jährliche Schubrate ging stark zurück, ungefähr um 48% bis 53%. Die Aufnahmen des Gehirns, die bei 540 Patienten mit Hilfe von Magnetresonanztomographie gemacht wurden, zeigen, dass die Zahl von neuen Läsionen gegenüber dem Scheinmedikament, um 73 % bis 90 % zurückgingen.

[61]

Vergleich Schubraten BG-12 ↔ Plazebo

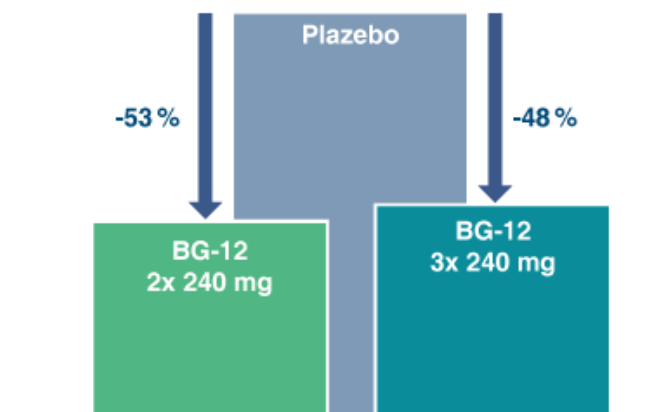


Abb. 3: Effizienz von Dimethylfumarat-DEFINE

Der genaue Einfluss von Dimethylfumarat auf Multiple Sklerose ist bisher unbekannt. Forscher vermuten aber zwei Hauptwirkungen:

- Dimethylfumarat interagiert mit dem Immunsystem und „programmiert“ es um, dass es das Nervensystem gezielter vor den Entmarkungsherden schützen kann.
- Dimethylfumarat schützt vor toxischen Substanzen und baut beschädigte Proteine ab. So verringert es beispielsweise eine zu hohe Konzentration von im Nervensystem schädlich wirkendem Stickstoffoxid. ^[62]

3.4 Nebenwirkungen

Der Wirkstoff Dimethylfumarat ist im Allgemeinen ungefährlich und gesundheitsschonend. Der Großteil der möglichen Nebenwirkungen, wie etwa Durchfall oder Magen-Darm-Krämpfe, treten nur die ersten 2-3 Wochen auf und verschwinden bei etwa 97% der behandelten Patienten wieder. Weitere mögliche, aber eher selten vorkommende Nebenwirkungen können Hautrötungen sein, die für etwa ein bis zwei Monate auftreten. Die einzige sehr gefährliche Nebenwirkung ist die, dass sich bei einigen Patienten die Anzahl an weißen Blutkörperchen stark verringert, was, schwerwiegende gesundheitliche Folgen haben kann. Deshalb müssen alle Patienten, die mit Dimethylfumarat behandelt werden, alle sechs bis acht Wochen ein Blutbild anfertigen lassen. ^[63]

4 Synthese von Dimethylfumarat

4.1 Geräte

4.1.1 Geräte zur Synthese von Dimethylfumarat

Schlangenkühler, Rundkolben, Heizpilz, Gummischläuche, Laborklemmen, Korkringe, Pipette, Messzylinder, Spatel, Schutzbrille, Wasserstrahlpumpe, Vakuumpumpe, Drehrotationsverdampfer, Thermometer, Manometer, Schutzbrille, Schutzglas, Büchnertrichter, Wasserstrahlpumpe

4.1.2 Geräte zur Analyse des Dimethylfumarats

HNMR, Heizbank nach Kofler, Dünnschichtchromatographiekammer, Kieselgur geladene GC-Platte

4.2 Chemikalien

4.2.1 Chemikalien für die Synthese

- Fumarsäure ($C_4H_4O_4$) [Merck GesmbH, Nr. 8.00269.1000]
- Schwefelsäure 96% (H_2SO_4) [Carl Roth GmbH & Co. Kg, Nr. 4623.1]
- Methanol (CH_4O) [Carl Roth GmbH & Co. Kg, Nr. 8388.1]

4.2.2 Chemikalien zur Reinigung und Analyse

- Soda
- Toluol

4.3 Durchführung

4.3.1 Synthese

In einem Rundkolben mit aufgesetztem Schlangenkühler werden Fumarsäure, wasserfreies Methanol und 96%-ige Schwefelsäure für vier Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nach Ablauf der vier Stunden Reaktionszeit besitzt das entstandene Stoffgemisch bereits teilweise das Aussehen von Dimethylfumarat, es bilden sich weiße Kristallstrukturen.

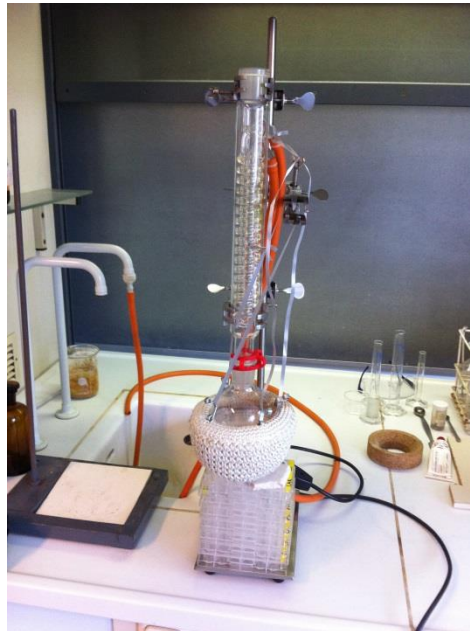


Abb. 4: Syntheseaufbau

4.3.2 Reinigung

Man lässt das Stoffgemisch abkühlen und gibt es in den Drehrotationsverdampfer. Danach erzeugt man mit der Vakuumpumpe einen Unterdruck und verdampft das Methanol. Dabei ist besonders auf die durch das Vakuum stark gesenkten Siedepunkte zu achten.

Wenn das Methanol verdampft wurde, muss man die Schwefelsäure entfernen. Dazu spült man das Dimethylfumarat mit Soda in einem Büchnertrichter. Dabei ist darauf zu achten, wann die Säure ausgespült ist. Das erkennt man daran, dass keine Reaktion mehr

stattfindet, die durch das typische Schäumen erkennbar ist. Dann lässt man das meist noch leicht feuchte kristalline Dimethylfumarat trocknen und verpackt es sorgfältig, so dass es nicht verunreinigt werden kann.



Abb. 5:
Drehrotationsverdampfer mit
Vakuumpumpe

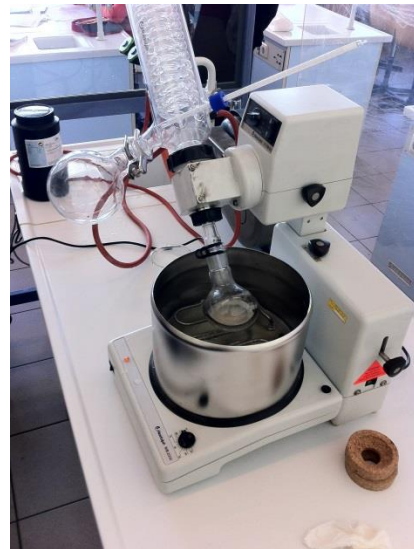


Abb. 6: Reinigung des
Syntheseprodukts im
Drehrotationsverdampfer

4.4 Ergebnis der Synthese



Abb. 5: Ungereinigtes
Syntheseresultat

Das Ergebnis der Synthese zeigt bereits teilweise die für Dimethylfumarat typischen weißen Kristalle. Außerdem ist das Syntheseresultat vollkommen geruchlos.

4.5 Diskussion der Synthese

Die Synthese ist im Allgemeinen wie eine normale Veresterung. Allerdings ist zu beachten, dass es bei einer Überschreitung der Reaktionszeit von 4 Stunden zu einer weiteren Reaktion kommt, die das Syntheseprodukt völlig unbrauchbar macht. Danach habe ich noch zwei weitere Syntheseeansätze gestartet, um mehrere Ergebnisse miteinander vergleichen zu können, und etwaige Fehler und Verbesserungsvorschläge zu finden.



Abb. 8: Verunreinigtes Syntheseprodukt durch Reaktionen aufgrund der Überschreitung der Syntheszeit

4.6 Analyse des Syntheseprodukts

4.6.1 Dünnschichtchromatographie

Die Dünnschichtchromatographie ist ein chemisches Trennverfahren, mit dem man die Zusammensetzung verschiedener Stoffe untersuchen kann. Dazu wird zuerst die zu untersuchende Substanz in einem Lösungsmittel gelöst und dann mit einer Kapillare möglichst dünn auf eine Platte, die mit einer geeigneten Grundierung überzogen wurde, aufgebracht.



Abb. 9: Gelöste Proben des Dimethylfumarat

Dabei trägt man alle Punkte genau auf einer Linie auf. Danach wird die Platte in eine Chromatographie-Kammer, meist ein kleines verschließbares Gefäß, gestellt, das mit einem geeigneten Laufmittel befüllt ist, das sich dann durch das Kieselgur nach oben saugt. Die Substanzen werden durch die Kräfte, die durch das nach oben fließende Flüssigkeitsgemisch entstehen, ein Stück nach oben mitgerissen.

Diese Strecke variiert je nach Eigenschaften der zu untersuchenden Probe. Es hängt auch davon ab, ob die Substanz sowie das Laufmittel polar oder unpolar ist.

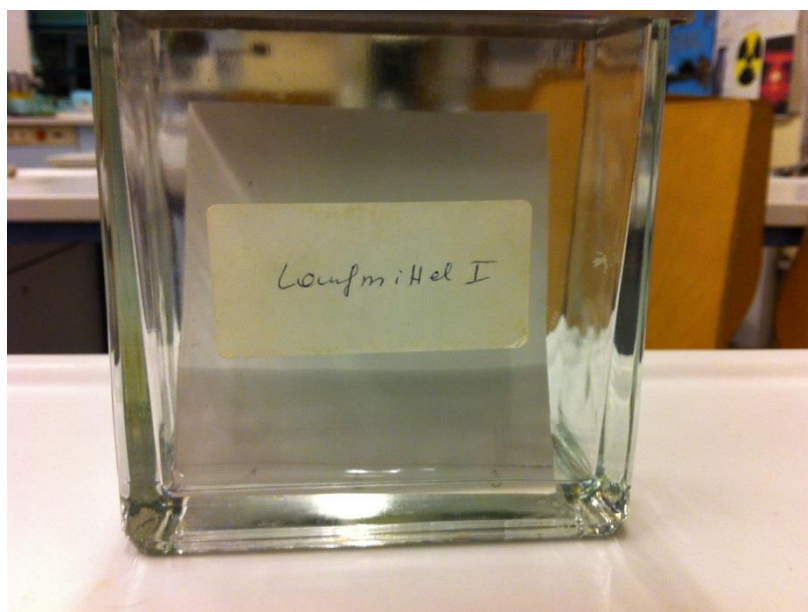


Abb. 10: DC-Kammer mit Laufmittel und DC-Platte mit den Proben

Wenn sich in etwa 75% der Grundierung der GC-Platte mit dem Laufmittel vollgesaugt haben, entfernt man die Platte aus der GC-Kammer und lässt sie trocknen. Dann untersucht man sie unter UV-Licht, mit einer Wellenlänge von 254 nm.

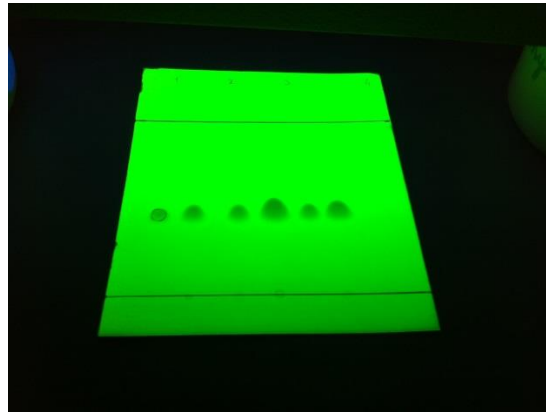


Abb. 11: Fertiges DC von Dimethylfumarat unter UV-Licht

4.6.1.1 Durchführung

Zuerst löst man die Proben des Dimethylfumarats in Toluol. Dann trägt man kleine Proben der Lösung auf eine Kieselgel-Grundierung auf. Danach stellt man ein Laufmittel aus Toluol und Essigsäureethylester im Verhältnis 20:1 her. Als nächstes gibt man Laufmittel und die Platte mit Kieselgelgrundierung mit aufgetragenen Proben in eine DC-Laufkammer und lässt diesen Aufbau stehen. Nach 10 Minuten holt man das Dünnschichtchromatogramm aus der Kammer und lässt es trocknen. Dann betrachtet man das Dünnschichtchromatogramm unter UV-Licht.

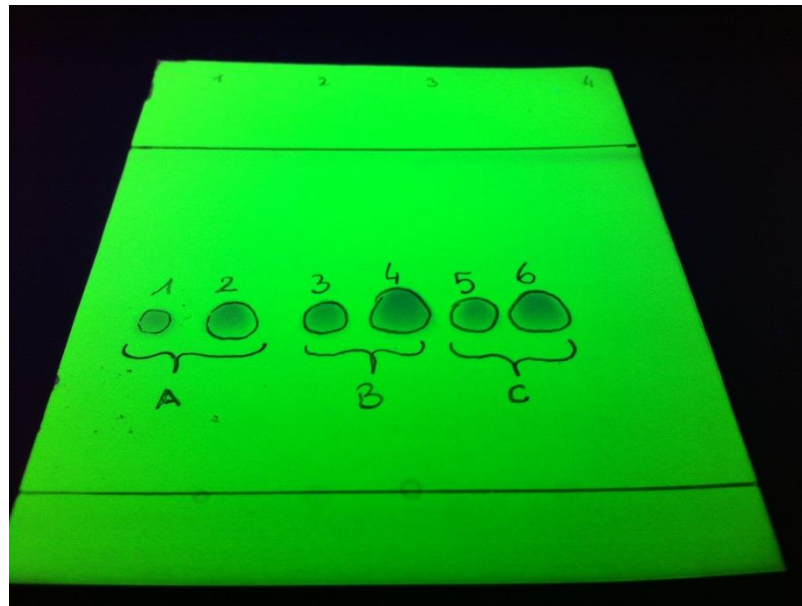


Abb. 12: Dünnschichtchromatogramm unter UV-Licht

- Probe A: Industriell hergestelltes Dimethylfumarat mit 99% Reinheit
- Probe B: Gereinigtes Dimethylfumarat aus dem ersten Syntheseansatz
- Probe C: Gereinigtes Dimethylfumarat aus dem zweiten Syntheseansatz

Von jeder Probe wurde die einfache Menge (Probe 1,3,5) und doppelte Menge (Probe 2,4,6) der gelösten Proben aufgetragen, um besser vergleichen zu können.

4.6.2 Schmelzpunktanalyse

4.6.2.1 Schmelzpunktbestimmung mit der Heizbank nach Kofler

Um den Schmelzpunkt zu bestimmen, kann man die Heizbank nach Kofler verwenden. Dabei hat eine Metallplatte von der einen zur anderen Seite eine ansteigende Temperatur. Neben dieser Metallplatte ist eine Skala angebracht, an der man die genaue Temperatur abliest, die an einer bestimmten Stelle der Heizbank herrscht. Um diese Skala zu kalibrieren trägt man einige Testsubstanzen auf die Heizbank auf, deren Schmelzpunkt genau bestimmt ist. So kann man genaue Punkte auf der Heizbank feststellen, an denen die Heizbank eine spezifische Temperatur hat.



Abb. 13: Probesubstanzen zur Kalibrierung der Temperaturskala

Um den Schmelzpunkt einer bestimmten Probe feststellen zu können, trägt man sie einige Zentimeter vor dem Punkt auf, an dem die Heizbank den erwarteten Schmelzpunkt der Probe aufweist. Ist der Schmelzpunkt vollkommen unbekannt, muss man die Probe am Anfang der Heizbank nach Kofler auftragen. Dann schiebt man mit einem, meist auf der Heizbank selbst vorhandenen Regler, die Probe immer weiter in die Richtung in der die Temperatur der Heizplatte ansteigt. An dem Punkt, an dem die Probe schmilzt, liest man den zugehörigen Wert von der Temperaturskala ab.



Abb. 14: Heizbank nach Kofler mit einer Probe des Dimethylfumarats

4.6.2.2 Schmelzpunktbestimmung mit dem MEL-TEMP

Um den Schmelzpunkt eines Stoffes so genau wie möglich bestimmen zu können, habe ich den MEL-TEMP der Firma Barnstead/Thermolyne Corporation verwendet. Dabei gibt man die auf ihren Schmelzpunkt zu untersuchende Probe in ein Röhrchen. Dieses Kapillarröhrchen führt man dann in den MEL-TEMP ein, wo man die Kapillare weiter unter einem Mikroskop beobachten kann.



Abb. 15: MEL-TEMP –Gerät zur genauen Bestimmung des Schmelzpunktes

Dann kann man am Gerät manuell die Stärke des Temperaturanstiegs festlegen und ständig die genaue Temperatur in der Umgebung des Kapillarröhrchens ablesen. Unter dem Mikroskop lässt sich dann exakt beobachten, bei welcher Temperatur die Probe schmilzt.

4.6.2.4 Ergebnis der Schmelzpunktanalyse

<u>Probe</u>	<u>Schmelzpunkt</u>	
	<i>Heizbank nach Kofler</i>	<i>MEL-TEMP</i>
Dimethylfumarat, erste Synthese	99°C	100,3°C
Dimethylfumarat, zweite Synthese	101°C	102,3°C
Dimethylfumarat, industriell hergestellt, 99% Reinheit	102°C	103°C

Der genau bestimmte Schmelzpunkt von Dimethylfumarat beläuft sich laut Hersteller zwischen 102-104°C. Die Schmelzpunktanalyse mit der Heizbank nach Kofler ergab eine ungenauere Messung als die Analyse mit dem MEL-TEMP. Das liegt vermutlich daran, dass die Skalierung an der Heizbank nach Kofler nicht so genau war wie die des MEL-TEMP. Außerdem konnte man bei dem MEL-TEMP die Probe unter dem Mikroskop viel genauer beobachten, als mit dem freien Auge bei der Heizbank nach Kofler.

4.6.3 Analyse mittels HNMR

Die NMR-Spektroskopie ist ein wichtiges Instrument zur Strukturaufklärung unbekannter Substanzen oder Proben. Die ^1H -Spektroskopie gibt spezielle Informationen über den Aufbau von organischen Verbindungen. Dabei wird beobachtet, wie sich der Spin der Kernteilchen, also die elektromagnetische Bewegungsrichtung, in einem starken Magnetfeld ändert. Des weiteren werden die Wasserstoff-Atome von den benachbarten Elementen und Molekülteilen in einer Verbindung stark beeinflusst. Außerdem wechselwirken die einzelnen Wasserstoff-Atome miteinander.

Zur Verschiebung des Ausschlags kommt es dann, wenn der betrachtete Teil des Moleküls neben einem stark negativen elektromagnetischen Teil einer Verbindung liegt. Das bedeutet, dass der Peak aufgrund der Elektronegativität später auftritt. Am Ende der Untersuchung einer Verbindung mit dem HNMR erhält man ein Spektrum, aus dem man die Zusammensetzung der organischen Verbindung interpretieren kann.



Abb. 16: HNMR-Spektrometer

Die Signalstärke steht dabei in direktem Zusammenhang mit der Anzahl der Wasserstoffatome. Deshalb integriert man die Fläche unter dem Peak, dem Ausschlag im Spektrum. Dabei ist allerdings zu beachten, dass diese errechnete Fläche manchmal ein Vielfaches des eigentlichen Wertes ist, da durch strukturtechnisch auftretende Besonderheiten, wie Spiegelungen des Moleküls, verschiedene Verbindungsteile den gleichen Peak hervorrufen können.



Abb. 17: HNMR-Spektrometer

Bei der Messung selbst werden kleine Mengen einer Probe, in etwa 30mg in einem H^+ freien Lösungsmittel gelöst. Dazu verwendet man meist D_2O , schweres Wasser, das dazu bestens geeignet ist, da es nicht über H^+ -Ionen verfügt, und so keinen Peak im Spektrum erzeugt. Wegen der aufwändigen Herstellungsprozedur, und wegen des hohen benötigten Reinheitsgrades, ist es sehr teuer.

Dann wird die in D_2O gelöste Probe in eine Halterung eingeführt und im Aufnahmebereich des HNMR-Spektrometers registriert.

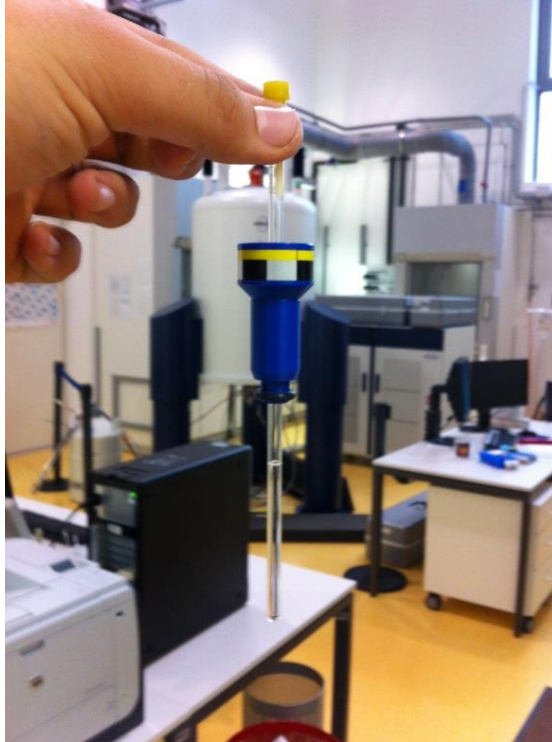


Abb. 18: Halterung für die zu untersuchende Probe im HNMR-Spektrometer

Danach wird die Probe etwa 15 Minuten in einem Magnetfeld von 14 Tesla untersucht.



Abb. 19: Aufnahme der Proben ins HNMR-Spektrometer

4.6.4 Interpretation des HNMR-Spektrums

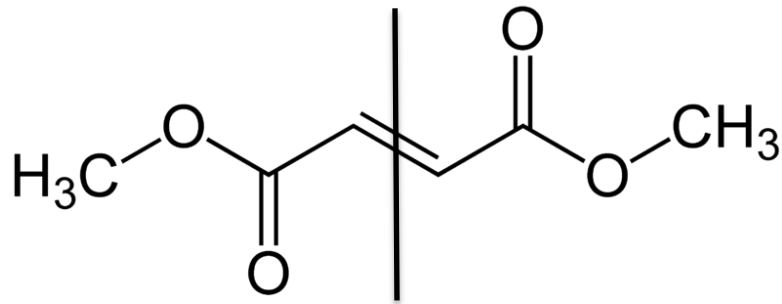


Abb. 20: Spiegelungsebene des Dimethylfumarat

Eine spannende Besonderheit bei Dimethylfumarat ist, dass es eine Spiegelungsebene hat. Das bedeutet, dass Verbindungsteile, die gespiegelt sind, im ¹HNMR als ein Peak auftreten. Das wiederum bedeutet, dass die Fläche, die das Integral unter den Peaks einschließt im Fall des Dimethylfumarats immer doppelt so groß ist.

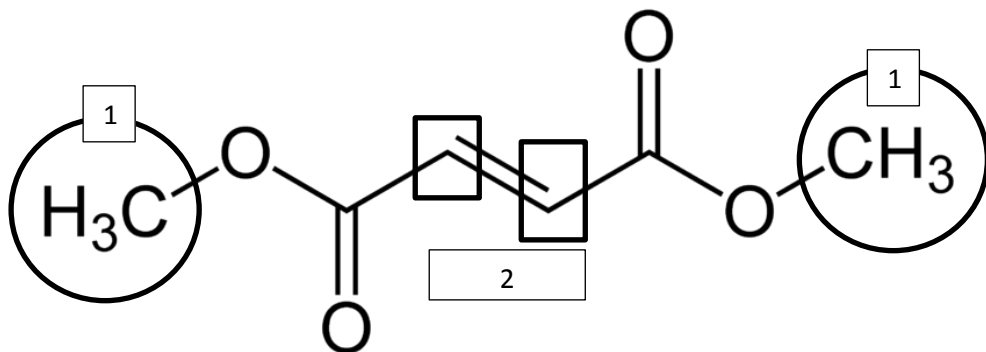


Abb. 21: Zuordnung der Peaks

Bei dem betrachteten HNMR-Spektrum ist dem Peak A der Verbindungsteil 2, der Peak B dem Verbindungsteil 1 zuzuordnen. Wenn man das Integral der beiden Peaks vergleicht, das der Computer errechnet hat, kommt man auf ein Verhältnis von 1:3, das genau das Verhältnis der Wasserstoffatome der beiden Verbindungsteile widerspiegelt. Dabei ist allerdings zu beachten, dass die Peaks aufgrund der Spiegelung doppelt sind, also besteht ein Verhältnis von 2:6.

Die Verschiebung des Peaks A kommt durch die Lage neben der stark elektronegativen Estergruppe zustande, während der Peak B nur leicht von der Estergruppe beeinflusst wird.

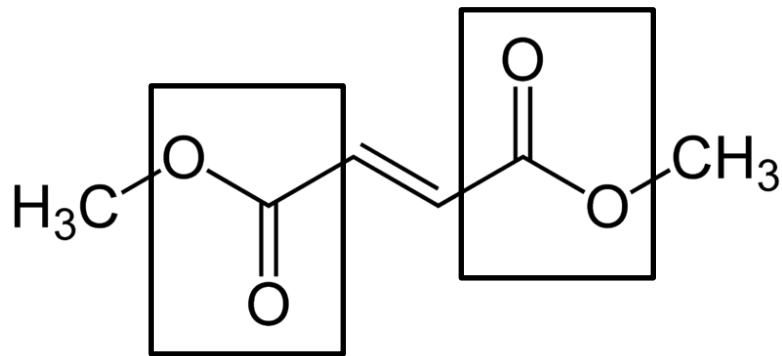


Abb. 22: Lage der Estergruppen

Im Fall des Dimethylfumarats tritt auch keine Kopplung der Wasserstoffatome auf, da diese durch die Estergruppe weit von einander entfernt sind.

4.6.5 C-13 Spektroskopie

Die C-13 Spektroskopie ist neben der HNMR Spektroskopie die Wichtigste zur Aufklärung der Struktur einer Verbindung. Das C-13 Isotop ist sehr selten, es macht etwa 1% der Kohlenstoffkerne aus. Bis vor kurzem war es wegen unzureichender Messgenauigkeit nicht möglich ein C-13 Spektrum zu erstellen. Allerdings treten aufgrund von speziellen Entkopplungstechniken aber kaum Kopplungen auf, weswegen die C-13 Spektroskopie gerade bei größeren Verbindungen viel effizienter und übersichtlicher ist.

Dabei wird das Spektrum nach dem Ausschlag des Chloroforms im Lösungsmittel, das sozusagen den Nullpunkt festlegt, referenziert.

4.6.6 Interpretation des C-13 Spektrums

Im Spektrum des C-13 sind gleich wie beim HNMR die einzelnen Peaks einzelnen Verbindungsteilen zuzuordnen. Außerdem tritt auch hier wieder die bereits beim HNMR beobachtbare Spiegelungsebene auf.

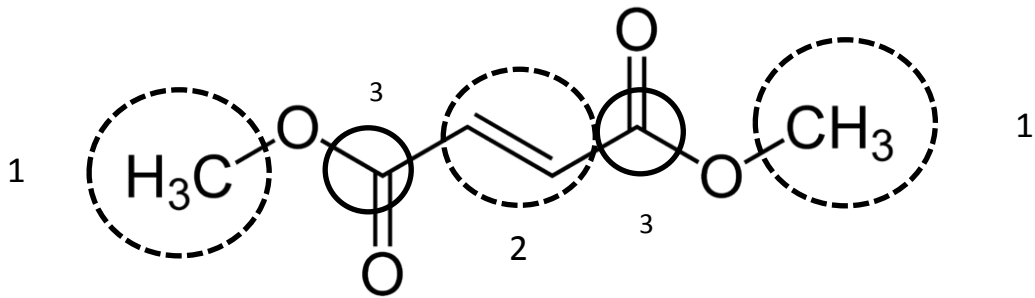


Abb. 23 : Zuordnung der Peaks des C-13 Spektrums

Dabei ist der Verbindungsteil 1 dem Peak B im C-13 Spektrum zuzuordnen. Der zweite Teil ist dem Peak C zuzuordnen und der in der Abb. 23 als Teil 3 markierte Verbindungsteil dem Peak A. Der dreifache Ausschlag nach unten entsteht durch das Lösungsmittel und dient wie oben schon erklärt als Normierung für das Spektrum.

Auch im C-13 Spektrum kann man erkennen, dass die Verbindung sehr rein ist, und dass es keine nennenswerten Verunreinigungen gibt.

4.7 Diskussion der Analyse

Das erhaltene Dimethylfumarat zeigt vom Erscheinungsbild alle typischen Kennzeichen, es besitzt eine weiße kristalline Struktur und ist vollkommen geruchslos. Im DC war kein Unterschied zwischen dem gekauften Dimethylfumarat, mit einer 99%-igen Reinheit, und dem selbst synthetisierten Dimethylfumarat zu erkennen.

Die Analyse hat außerdem ergeben, dass der zweite Synthesansatz um einiges reiner war als der erste. Das Ergebnis des zweiten Syntheserversuchs hat einen fast idealen Schmelzpunkt, und im HNMR kann man erkennen, dass es eine fast 98%-ige Reinheit aufweist, und somit die annähernd höchste die auf diesem Weg, ohne chemische Nachbearbeitung, zustande zu bringen ist.

5. Zusammenfassung

Eine wichtige Erkenntnis, die ich in meiner Fachbereichsarbeit gewonnen habe, ist ein theoretischer Überblick über das System nach dem ein neuer Wirkstoff entwickelt wird.

Dabei muss zuerst eine geeignete Leitstruktur gewählt werden, die bereits über gewünschte Eigenschaften verfügt, die gegen eine Krankheit als wirksam erweisen. Dann muss diese Leitstruktur optimiert werden. Das kann auf verschiedene Arten geschehen. Einerseits durch das Einführen von neuen Gruppen in die Verbindung, oder durch die Veränderung von Resorptions- oder Absorptionsverhalten. Außerdem können durch eine Reihe von Veränderungen Nebenwirkungen minimiert werden, um die optimale Wirkung zu gewährleisten.

Im praktischen Teil der Arbeit habe ich mich mit einem ganz bestimmten Wirkstoff, dem Dimethylfumarat auseinandergesetzt. Dazu beschäftigte ich mich zuerst mit der Multiplen Sklerose. Multiple Sklerose ist eine Krankheit des Zentralnervensystems, die durch den neuen Wirkstoff Dimethylfumarat behandelt werden kann. Dabei ist besonders hervorzuheben, dass der neue Wirkstoff fast keine Nebenwirkungen hat, und so eine pharmazeutische Meisterleistung darstellt.

Dann synthetisierte ich den Wirkstoff Dimethylfumarat selbst und analysierte danach Syntheseprodukt. Dabei zeigte sich, dass mein Syntheseweg ein sehr gutes Ergebnis ergab, und ich konnte erste Erfahrungen in die praktische Arbeit der pharmazeutischen Forschung sammeln. Außerdem konnte ich mich mit den wichtigsten Analysemethoden vertraut machen und diese selbst anwenden

Im Rahmen dieser Arbeit hatte ich die Gelegenheit einen tiefen Einblick in die pharmazeutische Forschung zu nehmen, und konnte auch im Rahmen einiger Analysen auf der Technischen Universität mehr über Alltag und Vorgehensweisen von Forschern lernen.

Interessant wäre es noch herauszufinden, wie sich der Wirkstoff Dimethylfumarat auf lange Sicht weiterentwickelt. Dabei wäre besonders spannend welche Fortschritte bei der Verbesserung der Leitstruktur gemacht werden, und auf welche Art und Weise die Verbesserungen erzielt wurden. Außerdem wäre es interessant zu sehen, ob das Dimethylfumarat die Effizienz von bis zu 50%, die es in den klinischen Studien gezeigt hat, auch in der praktischen Anwendung aufweisen kann.

6 Literaturverzeichnis

- [1] Klebe G.: Wirkstoffdesign-Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2.Auflage 2009, Einführung
- [2] vgl. Klebe G.: Wirkstoffdesign-Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2.Auflage 2009, S.9 ff
- [3] vgl. Klebe G.: Wirkstoffdesign-Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2.Auflage 2009, S.1 ff
- [4] vgl. Klebe G.: Wirkstoffdesign-Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2.Auflage 2009, S.14 ff
- [5] vgl. Knobloch J.: Malaria – Grundlagen und klinische Praxis, Uni-Med, Bremen 2002
- [6] vgl. Knobloch J.: Malaria – Grundlagen und klinische Praxis, Uni-Med, Bremen 2002
- [7] vgl. Klebe G.: Wirkstoffdesign-Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2.Auflage 2009, S.1 ff
- [8] vgl. Silverman R.: Medizinische Chemie für Organiker, Biochemiker und Pharmazeutische Chemiker, VCH, Weinheim 1995, S.5 f
- [9] vgl. Klebe G.: Wirkstoffdesign-Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2.Auflage 2009, S.87 ff
- [10] vgl. Burger A.: A Guide to the Chemical Basis of drug design, Wiley-Interscience Publication, New York 1983, S.7 f
- [11] vgl. Klebe G.: Wirkstoffdesign-Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2.Auflage 2009, S.88 f
- [12] vgl. Klebe G.: Wirkstoffdesign-Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2.Auflage 2009, S.88 ff
- [13] vgl. Klebe G.: Wirkstoffdesign-Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2.Auflage 2009, S.91 ff
- [14] vgl. Silverman R.: Medizinische Chemie für Organiker, Biochemiker und Pharmazeutische Chemiker, VCH, Weinheim 1995, S.5 ff
- [15] vgl. Klebe G.: Wirkstoffdesign-Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2.Auflage 2009, S.98 ff

- [16] vgl. Klebe G.: Wirkstoffdesign-Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2.Auflage 2009, S. 97 ff
- [17] vgl. Silverman R.: Medizinische Chemie für Organiker, Biochemiker und Pharmazeutische Chemiker, VCH, Weinheim 1995, S.9
- [18] vgl. Silverman R.: Medizinische Chemie für Organiker, Biochemiker und Pharmazeutische Chemiker, VCH, Weinheim 1995, S.9 ff
- [19] vgl. Klebe G.: Wirkstoffdesign-Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2.Auflage 2009, S.114 ff
- [20] vgl. Büchi J.: Grundlagen der Arzneimittel und der synthetischen Arzneimittelforschung, Birkhäuser Verlag, Basel 1963, S.103 ff
- [21] vgl. Büchi J.: Grundlagen der Arzneimittelforschung und der Synthetischen Arzneimittel, Birkhäuser Verlag, Basel 1963, S.174
- [22] vgl. Klebe G.: Wirkstoffdesign-Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2.Auflage 2009, S.114
- [23] vgl. Klebe G.: Wirkstoffdesign-Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2.Auflage 2009, S.115
- [24] vgl. Büchi J.: Grundlagen der Arzneimittelforschung und der Synthetischen Arzneimittel, Birkhäuser Verlag, Basel 1963, S.339 ff
- [25] vgl. Klebe G.: Wirkstoffdesign-Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2.Auflage 2009, S.119 ff
- [26] vgl. Klebe G.: Wirkstoffdesign-Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2.Auflage 2009, S.122
- [27] vgl. Klebe G.: Wirkstoffdesign-Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2.Auflage 2009, S.122
- [28] vgl. Klebe G.: Wirkstoffdesign-Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg,2.Auflage 2009, S.119 f
- [29] Silverman R.: Medizinische Chemie für Organiker, Biochemiker und Pharmazeutische Chemiker, VCH, Weinheim 1994, S.361
- [30] vgl. Silverman R.: Medizinische Chemie für Organiker, Biochemiker und Pharmazeutische Chemiker, VCH, Weinheim 1994, S.361 ff

- [31] vgl. Silverman R.: Medizinische Chemie für Organiker, Biochemiker und Pharmazeutische Chemiker, VCH, Weinheim 1994, S.361 ff
- [32] vgl. Klebe G.: Wirkstoffdesign-Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2.Auflage 2009, S.366 ff
- [33] vgl. Klebe G.: Wirkstoffdesign-Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2.Auflage 2009, S.127 f
- [34] vgl. Ridder M.: Heroin- Vom Arzneimittel zur Droge, Campus Verlag, Frankfurt am Main 2000
- [35] vgl. Weber P. et al.: Kombinatorische Methoden in Chemie und Biologie, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 1999
- [36] vgl. Dickenson J. et. al.: Molecular Pharmacology- From DNA to Drug-Discovery, Wiley Blackwell, Chichester 2013
- [37] vgl. Bayrhuber H. et al.: Linder Biologie 3, E. Dörner Verlag, Wien 2005, S.144 f
- [38] vgl. Klebe G.: Wirkstoffdesign-Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2.Auflage 2009, S.169 ff
- [39] vgl. Klebe G.: Wirkstoffdesign-Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 2.Auflage 2009, S.113 ff
- [40] vgl. Büchi J.: Grundlagen der Arzneimittelforschung und der Synthetischen Arzneimittel, Birkhäuser Verlag, Basel 1963, S.193
- [41] vgl. Büchi J.: Grundlagen der Arzneimittelforschung und der Synthetischen Arzneimittel, Birkhäuser Verlag, Basel 1963, S.194
- [42] vgl. Büchi J.: Grundlagen der Arzneimittelforschung und der Synthetischen Arzneimittel, Birkhäuser Verlag, Basel 1963, S.195 ff
- [43] vgl. Büchi J.: Grundlagen der Arzneimittelforschung und der Synthetischen Arzneimittel, Birkhäuser Verlag, Basel 1963, S.198 f
- [44] vgl. Neuhofer C.: Multiple Sklerose, Falken TaschenBuch, Niedernhausen 1996, S.7 f
- [45] Neuhofer C.: Multiple Sklerose, Falken TaschenBuch, Niedernhausen 1996, S.9
- [46] vgl. Neuhofer C.: Multiple Sklerose, Falken TaschenBuch, Niedernhausen 1996, S.9 ff

- [47] vgl. Neuhofer C.: Multiple Sklerose, Falken TaschenBuch, Niedernhausen 1996, S.9 ff
- [48] vgl. Neuhofer C.: Multiple Sklerose, Falken TaschenBuch, Niedernhausen 1996, S.10 f
- [49] vgl. Neuhofer C.: Multiple Sklerose, Falken TaschenBuch, Niedernhausen 1996, S.11
- [50] vgl. http://de.wikipedia.org/wiki/Multiple_Sklerose [Stand: 12.2.2014]
- [51] vgl. Limroth V. et al.: Therapieleitfaden Multiple Sklerose, Thieme Verlag, Stuttgart 2001, S.2 ff
- [52] vgl. Limroth V. et al.: Leitfaden Multiple Sklerose, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2001, S.3 ff
- [53] vgl. Neuhofer C.: Multiple Sklerose, Falken TaschenBuch, Niedernhausen 1996, S.12 ff
- [54] vgl. Neuhofer C.: Multiple Sklerose, Falken TaschenBuch, Niedernhausen 1996, S.17 ff
- [55] vgl. GESTIS-Stoffdatenbank der IFA (Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung)
- [56] vgl. Lide D. : CRC Handbook of Chemistry and Physics 90th Edition (Internet Version: 2010), CRC Press/Taylor and Francis, Boca Raton
<http://www.fptl.ru/biblioteka/spravo4niki/handbook-of-Chemistry-and-Physics.pdf> [Stand 2.2.2014]
- [57] vgl. Biogen Idec, Besitzer der Rechte für Dimethylfumarat zur Behandlung von MS
http://www.biogenidec.at/medikament%C3%B6se_therapien.aspx?ID=6625
[Stand 9.12.13]
- [58] vgl. Die Zeit Online, Medikament Tecfidera
www.zeit.de/2013/33/multiple-sklerose-medikament-tecfidera [Stand: 24.1.2014]
- [59] vgl. Die Zeit Online, Medikament Tecfidera
www.zeit.de/2013/33/multiple-sklerose-medikament-tecfidera [Stand: 24.1.2014]

[60] Website der Deutschen Multiple Sklerose Gesellschaft DMSG

<http://www.dmsg.de/mobil/index.php?kategorie=therapien&anr=4527>

[Stand 1.2.2014]

[61] vgl. Website der Deutschen Multiple Sklerose Gesellschaft DMSG

<http://dmsg.de/multiple-sklerose-news/index.php?w3pid=news&kategorie=therapien&anr=4527> [Stand 1.2.2014]

[62] vgl. Website der Deutschen Multiple Sklerose Gesellschaft DMSG

<http://www.dmsg.de/multiple-sklerose-news/index.php?w3pid=news&kategorie=therapien&anr=4501&searchkey=fumars%E4ure&wholewords=0> [Stand 1.2.2014]

[63] vgl. Website der Deutschen Multiple Sklerose Gesellschaft DMSG

www.dmsg.de/multiple-sklerose-news/index.php?w3pid=news&kategorie=therapien&anr=4501&searchkey=fumars%E4ure&wholewords=0 [Stand 1.2.2014]

7. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: http://de.wikipedia.org/wiki/Multiple_Sklerose [Stand: 12.2.2014]

Abb. 2: <http://de.wikipedia.org/wiki/Fumars%C3%A4uredimethylester> [Stand: 17.2.2014]

Abb. 3: http://www.dmsg.de/ms-erforschen/images/DEFINE_E_v01.png
[Stand: 17.2.2014]

Abb. 4 – Abb. 19 : Eigene Abbildungen

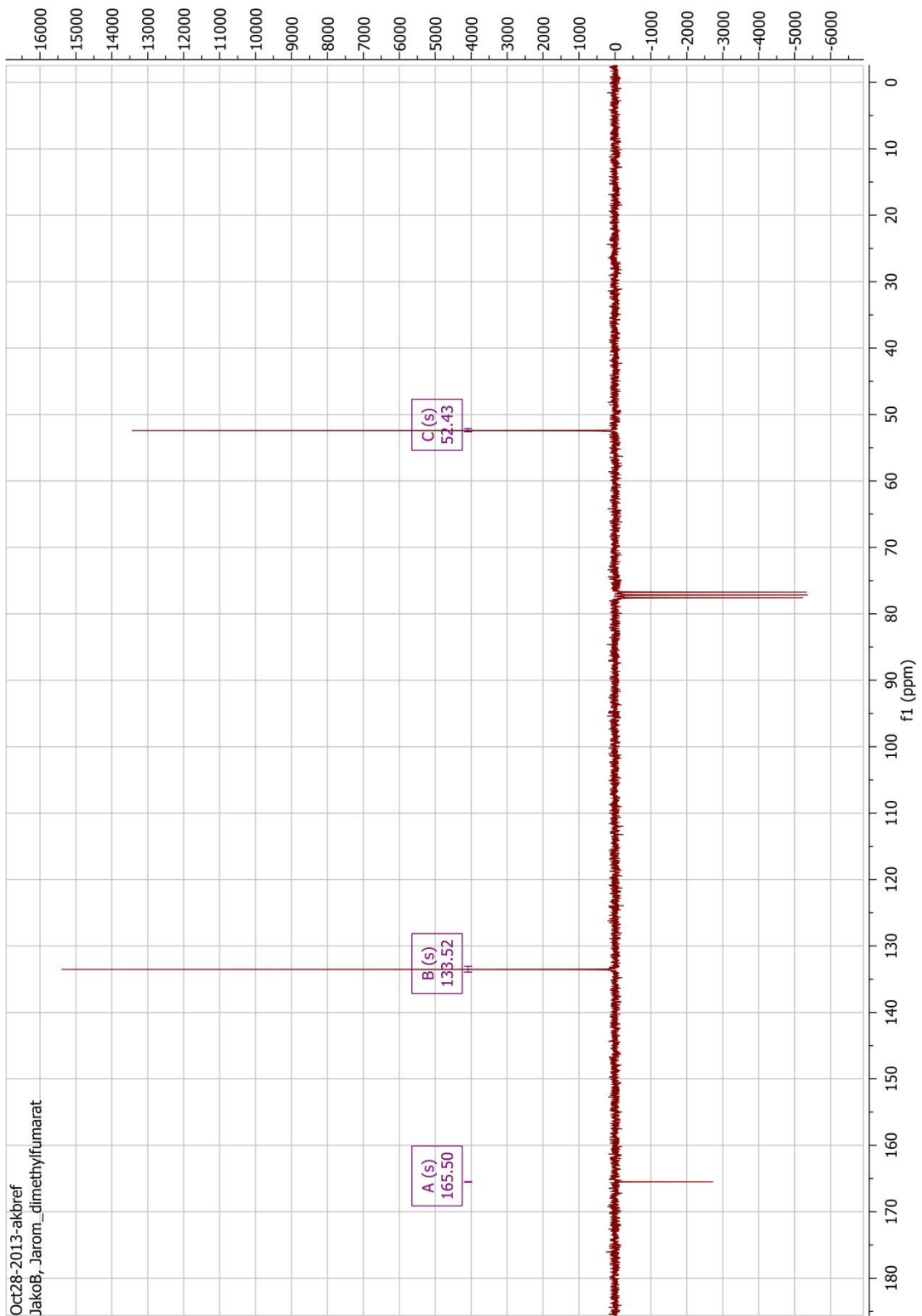
Abb. 20- Abb. 23: <http://de.wikipedia.org/wiki/Fumars%C3%A4uredimethylester>
[Stand: 17.2.2014]

8. Anhang

HNMR-Spektrum des Dimethylfumarat



C-13 Spektrum des Dimethylfumarat



Zeitplan

- *Juli-August 2013*: Literatursuche und Sammlung von Informationsmaterialien und Arbeitsvorschriften
- *1. August 2013*: Erste Besprechung mit Jakob Pletz und Sammeln von allgemeinen Informationen über die pharmazeutische Forschung
- *5. September 2013*: Beginn des Verfassens des theoretischen Teils der Arbeit
- *16. Oktober 2013* : Synthese von Dimethylfumarat
- *23. Oktober 2013*: Erste Analysen (Schmelzpunktbestimmung mit der Heizbank nach Kofler, Anfertigung eines Dünnschichtchromatogramms)
- *18. November 2013*: Anfertigen von C-13NMR, HNMR und genaue Schmelzpunktbestimmung
- *21. Dezember 2013*: Abgabe der ersten Rohfassung
- *1. Februar 2014*: Abgabe der zweiten Rohfassung und genaue Besprechung der Arbeit
- *1. März 2014*: Endkontrolle der Arbeit
- *7. März 2014*: Endabgabe bei Herr Prof. Dellinger
- *10. März 2014*: Drucken und Binden