

(19)



Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets



(11)

EP 1 144 345 B1

(12)

EUROPÄISCHE PATENTSCHRIFT

(45) Veröffentlichungstag und Bekanntmachung des Hinweises auf die Patenterteilung:
22.10.2003 Patentblatt 2003/43

(51) Int Cl.7: **C07B 61/00**, G01N 33/53

(21) Anmeldenummer: **00903606.2**

(86) Internationale Anmeldenummer:
PCT/EP00/00462

(22) Anmeldetag: **21.01.2000**

(87) Internationale Veröffentlichungsnummer:
WO 00/043333 (27.07.2000 Gazette 2000/30)

(54) **VERFAHREN ZUR KOMBINATORISCHEN REAKTIONSFINDUNG ZUR HERSTELLUNG VON NÜTZLICHEN PRODUKTEN**

METHOD FOR THE COMBINATORIAL SEARCH FOR REACTIONS FOR PRODUCING USEFUL PRODUCTS

PROCEDE DE RECHERCHE COMBINATOIRE DE REACTIONS POUR OBTENIR DES PRODUITS UTILES

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU MC NL PT SE

(30) Priorität: **21.01.1999 DE 19902378**

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:
17.10.2001 Patentblatt 2001/42

(73) Patentinhaber: **Morphochem AG**
81379 München (DE)

(72) Erfinder:

- **ALMSTETTER, Michael**
D-85417 Marzling (DE)
- **DOEMLING, Alexander**
D-81241 München (DE)
- **ILLGEN, Katrin**
D-82152 Planegg (DE)
- **WEBER, Lutz**
D-79639 Grenzach-Wyhlen (DE)

(74) Vertreter:

Forstmeyer, Dietmar, Dr. rer. nat., Dipl.-Chem. et al
Boeters & Bauer,
Bereiteranger 15
81541 München (DE)

(56) Entgegenhaltungen:
WO-A-94/24314 **US-A- 5 463 564**

- **WEBER L. ET AL.:** "Optimization of the biological activity of combinatorial compound libraries by a genetic algorithm" **ANGEWANDTE CHEMIE INT. ED.**, Bd. 34, Nr. 20, 1995, Seiten 2280-2282, XP002153818
- **FAUCHERE J -L ET AL:** "Combinatorial chemistry for the generation of molecular diversity and the discovery of bioactive leads" **CHEMOMETRICS AND INTELLIGENT LABORATORY SYSTEMS,NL,ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM**, Bd. 43, Nr. 1-2, 28. September 1998 (1998-09-28), Seiten 43-68, XP004146894 ISSN: 0169-7439
- **DÖMLING A.:** "Isocyanide based multi component reactions in combinatorial chemistry" **COMBINATORIAL CHEMISTRY & HIGH THROUGHPUT SCREENING**, Bd. 1, 1998, Seiten 1-22, XP000960970
- **UGII. ET AL.:** "Molecular libraries in liquid phase via Ugi-MCR" **RESEARCH OF CHEMICAL INTERMEDIATES**, Bd. 22, 1996, Seiten 625-644, XP000961119
- **KHOSLA C. & ZAWADA J.X.:** "Generation of polyketide libraries via combinatorial biosynthesis" **TIBTECH**, Bd. 14, 1996, Seiten 335-341, XP002153819
- **WARR W A:** "COMBINATORIAL CHEMISTRY AND MOLECULAR DIVERSITY. AN OVERVIEW" **JOURNAL OF CHEMICAL INFORMATION AND COMPUTER SCIENCES,US,AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, COLOMBUS,OHIO**, Bd. 37, Nr. 1, 1997, Seiten 134-140, XP000765620 ISSN: 0095-2338

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist. (Art. 99(1) Europäisches Patentübereinkommen).

EP 1 144 345 B1

Bemerkungen:

Derzeit sind die WIPO-Publikationsdaten A3 nicht
verfügbar.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft die Auffindung und Herstellung von chemischen Verbindungen mit gewünschten und nützlichen physikalischen, chemischen und/oder biologischen Eigenschaften mittels eines auf Multi-komponentenreaktionen basierenden iterativen Verfahrens. Die erfindungsgemäßen Verbindungen können als Medikamente, Veterinärprodukte, Impfstoffe, Kosmetika, Pflanzenschutzmittel etc. oder als Zusatzstoffe zu diesen oder als Liganden, Katalysatoren, katalytische Cofaktoren, Detektormoleküle, Polymere, Peptide und Klebstoffe Verwendung finden.

[0002] Verfahren zur Auffindung neuer chemischer Verbindungen mit gewünschten physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften und neuer Reaktionen zur Herstellung chemischer Verbindungen mit gewünschten physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften sind Gegenstand zahlreicher Patente, Verfahren, Methoden und wissenschaftlicher Untersuchungen. Diese sollen insbesondere jeweils eine oder mehrere der folgenden Aufgaben lösen:

(a) Die Generierung von neuen chemischen Reaktionen, Grundstrukturen, Verbindungen oder kombinatorischen Substanzbibliotheken,

(b) die Generierung hoher chemischer Diversität, wobei der Begriff Diversität als der Informationsgehalt einer chemischen Reaktion, Verbindung oder Substanzbibliothek definiert wird,

(c) die Bereitstellung von Verfahren zur Generierung von kombinatorischen Substanzbibliotheken,

(d) die Bereitstellung von Optimierungs- und anderen Verfahren zur Auffindung aktiver Verbindungen aus solchen Bibliotheken,

(e) die Bereitstellung von neuen biologischen Testsystemen und Verfahren;

(f) die Bereitstellung von Verfahren zur Synthese von gewünschten Verbindungen,

(g) die Analyse und Optimierung der Zeitdauer der einzelnen Schritte der Auffindung und Herstellung solcher Verbindungen, und

(h) die Analyse und Optimierung der Kosten der einzelnen Schritte der Auffindung und Herstellung solcher Verbindungen.

[0003] Keines der bisher bekannten Verfahren löst jedoch gleichzeitig alle der oben genannten Aufgaben (a-h). Das Ziel einer schnellen und effizienten Auffindung und Herstellung von nützlichen chemischen Verbindungen wird somit durch den Stand der Technik bestenfalls nur teilweise ermöglicht:

[0004] Die (gezielte) Synthese von kombinatorischen Substanzbibliotheken ist als ein Weg zur Auffindung neuer chemischer Verbindungen mit gewünschten Eigenschaften beschrieben worden (Gallop, *Journal of Medicinal Chemistry*, 37(9), **1994**, 1233-1250, Angemandle Chemie Jul.Ed.Bd. 34(20), 1995, Seiten 2280-2282). Diese Methode liefert eine große Zahl von neuen chemischen Verbindungen - eine Substanzbibliothek - bei der meist nur die Substituenten um ein gemeinsames chemisches Grundgerüst variiert werden.

[0005] Darüber hinaus werden bei ihr die Bibliotheken mit einer beschränkten Anzahl sequentieller Reaktionen aufgebaut, die nur eine geringe Diversität der verwendeten Grundgerüste zuläßt. Zahlreiche molekulare Eigenschaften wie z.B. Lipophilie, orale Bioverfügbarkeit, biologische Wirksamkeit, metabolische Stabilität etc. sind jedoch mit diesen Grundgerüsten verknüpft, so daß viele dieser Eigenschaften mit diesen Substanzbibliotheken nicht darstellbar sind.

[0006] Die generelle Diversität, d.h. der Informationsgehalt dieser systematischen Substanzbibliotheken ist also aufgrund ihres Aufbauprinzips im Vergleich zu zufälligen Substanzbibliotheken gering. (Als zufällige Substanzbibliotheken werden hier solche Substanzsammlungen bezeichnet, die nicht durch ein einheitliches, systematisches Verfahren herstellbar sind, wie z.B. Naturstoffsammlungen.) Solche kombinatorischen Substanzbibliotheken weisen also aufgrund ihrer geringen Diversität und ihres redundanten Informationsgehaltes den Nachteil auf, daß bei ihnen eine verminderte Wahrscheinlichkeit besteht, interessante chemische Verbindungen mit der gewünschten biologischen Aktivität zu finden. Ferner weisen sie bezüglich der benötigten Zeit und der entstehenden Kosten für die Herstellung und Testung dieser Verbindungen Nachteile auf.

[0007] Die geringe Diversität birgt jedoch auch Vorteile: da die Verbindungen immer als chemisch verwandte Familien hergestellt und getestet werden, erhält man jeweils limitierte Struktur-Aktivitäts-Beziehungen (SAB). Diese SAB ermöglichen den Ausschluß häufig auftretender Fehler bei der biologischen Testung, wie zum Beispiel falsch positive

oder falsch negative Signale, die durch Gerätefehler, Verunreinigungen in den Testproben u.s.w. auftreten können. Weiterhin kann eine solche SAB Hinweise auf eine mögliche Optimierung der chemischen Verbindungen hinsichtlich ihrer biologischen und anderen Eigenschaften geben.

[0008] Zufällige Substanzbibliotheken zeigen meist nicht die oben geschilderten Nachteile der geringen Diversität (J.P.Devlin, The Discovery of Bioactive Substances - High Throughput Screening, Marcel Dekkert, **1998**). Die breite Testung dieser Substanzbibliotheken auf verschiedene biologische Wirksamkeiten ist deshalb ein Standardweg zur Auffindung biologisch wirksamer Verbindungen. Nachteil dieses Verfahrens ist jedoch, daß die so gefundenen Verbindungen sich oft nicht mit einer einfachen, effizienten und schnellen Synthese herstellen lassen. Die Ausarbeitung einer kombinatorischen Synthese als Zugang zu diesen Verbindungen für die Optimierung der Substanzeigenschaften ist zeitraubend und teuer. Ein weiterer Nachteil dieser zufälligen Substanzbibliotheken besteht bei ihrer biologischen Testung darin, daß sie nicht systematisch aufgebaut sind, was den Ausschluß falsch positiver oder falsch negativer Testergebnisse aufgrund von SAB nicht erlaubt. Solche SAB müssen nach dem Testen dieser Bibliotheken erst in einem Folgeschritt durch die Synthese chemisch verwandter Verbindungen aufgebaut werden. Hat man durch das Testen der Zufallsbibliotheken eine große Anzahl chemisch diverser Verbindungen mit interessanten biologischen Aktivitäten erhalten, so ist dieser nachfolgende Schritt äußerst zeitaufwendig, da für die Herstellung einer jeden dieser Verbindungen andere, nicht immer bekannte chemische Verfahren angewendet werden müssen. Dieses Verfahren führt deshalb oft zu einer Auswahl solcher Verbindungen, die sich chemisch leichter herstellen lassen, wobei kompliziertere Verbindungen, wie zum Beispiel Naturstoffe nicht weiter betrachtet werden.

[0009] Verfahren zur Auffindung und Herstellung von biologisch wirksamen Verbindungen sind bereits beschrieben worden. Dazu zählen Verfahren wie Molekular Modelling, in denen entweder die Struktur des biologischen Zielmoleküls oder eine Serie von bekannten Verbindungen mit bekannter biologischer Aktivität benutzt werden, um neue und bessere Verbindungen zu planen. Dieses Verfahren ist jedoch aus verschiedenen Gründen nur beschränkt anwendbar, insbesondere dann, wenn die Struktur des biologischen Zielmoleküls nicht bekannt ist, oder noch keine Verbindungen mit bekannter Aktivität vorliegen.

[0010] Andere Verfahren (Agrafiotis, System and Method of Automatically Generating Chemical Compounds with Desired Properties, US 5,463,564, Oct. 31, 1995) benötigen die komplizierte Auswertung von Struktur-Aktivitäts-Beziehungen, die wiederum die sequentielle, automatisierte Synthese von gereinigten Verbindungen mit bekannter Struktur voraussetzen. Solche expliziten Struktur-Aktivitäts-Beziehungen haben sich in der Vergangenheit als nur partiell nützlich erwiesen, da mit ihnen zwar teilweise eine Verbesserung der Aktivität am Zielmolekül vorausgesagt werden kann, jedoch andere Faktoren, wie z.B. orale Bioverfügbarkeit oder Toxizität, die eine andere Abhängigkeit von der Struktur zeigen, nicht berücksichtigt werden.

[0011] Weiter ist ein Verfahren vorgestellt worden, welches die Auffindung und Herstellung von chemischen Verbindungen mit gewünschten Eigenschaften ohne Kenntnis der Struktur der synthetisierten Verbindungen beinhaltet (S. Kauffman, J. Rebek, Random Chemistry for the Generation of New Compounds, WO 94/24314). Dieses Verfahren verwendet jedoch eine Vielzahl von sequentiellen Syntheseschritten, um zu molekularer Diversität zu gelangen. Dabei wird die gewünschte Diversität nur dann erzielt, wenn die Zahl der verschiedenen chemischen Verbindungen in einer Synthese und Testprobe eine hohe Komplexität erreicht und einen superkritischen Punkt übersteigt. Dieses Verfahren beseitigt außerdem nicht die Probleme der Testung hochkomplexer und unbekannter Produktgemische, die bekanntermaßen zu falsch positiven und falsch negativen Resultaten führen kann. Ferner ist die Identifizierung und Isolierung der in nur geringer Konzentration vorliegenden chemischen Verbindungen technisch aufwendig; auch ist die einfache Resynthese einer Verbindung aus einem solchen superkritischen Gemisch noch nicht gezeigt worden und sollte schwierig sein, wenn es sich nicht um biologisch amplifizierbare Verbindungen wie Peptide, DNA oder RNA, die nur beschränkte pharmazeutische Bedeutung haben, handelt.

[0012] Ein Verfahren, welches die Suche nach und die Herstellung von chemischen Verbindungen mit einer komplexen Zielfunktion verbindet, die mehrere gewünschte Eigenschaften oder sogar ein breites Spektrum von Eigenschaften (für die chemische Zielverbindung) beinhaltet, ist noch nicht vorgestellt worden.

[0013] Aufgrund der oben geschilderten Probleme besteht ein Bedarf an einem Verfahren zur schnellen und effizienten Auffindung und Herstellung biologisch wirksamer Verbindungen, welches die geschilderten Nachteile beseitigt.

[0014] Weiter besteht ein Bedarf an einem Verfahren, daß die Herstellung strukturell neuer und naturstoffanaloger Verbindungen auf einfache Weise ermöglicht.

[0015] Weiter besteht ein Bedarf an einem Verfahren, daß die einfache Testung dieser Verbindungen ermöglicht, wobei die Testresultate einen größtmöglichen Einfluß auf die weitere Herstellung neuer, verbesserter chemischer Substanzen haben sollen.

[0016] Eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist ein neuer Zugang zu neuen Substanzklassen wie Polyketiden, in nur einem oder wenigen Schritten.

[0017] Erfindungsgemäß wird ein Verfahren für die schnelle und effiziente Auffindung und Herstellung von biologisch wirksamen Verbindungen bereitgestellt, welches die vorstehend bezeichneten Aufgaben, insbesondere die Aufgaben (a-h) löst, und somit die Mängel bekannter verfahren behebt.

[0018] Das Verfahren umfaßt die folgenden Schritte:

- (1) Auswahl von M unterschiedlichen für Multikomponentenreaktionen (MCRs) geeigneten Edukten,
- (2) Umsetzung von jedem Edukt mit jeder möglichen Kombination von 2 bis zu M-1 anderen gemäß (1) ausgewählten Edukten,
- (3) Analyse der Produkte,
- (4) Bewertung der Produkte und Auswahl mindestens eines Produkts,
- (5) Bestimmung der Edukte, die zu dem oder den in (4) ausgewählten Produkt(en) geführt haben, und
- (6) Bereitstellung von mindestens einer Variante von mindestens einem der Edukte, die in (5) bestimmt wurden,
- (7) Umsetzung der in (6) bereitgestellten Edukte gegebenenfalls mit den übrigen in (5) bestimmten Edukten im Rahmen einer MCR,
- (8) Wiederholung der Schritte (4) bis (7) bis mindestens ein Produkt gefunden wird, das die gewünschte(n) Eigenschaft(en) aufweist, und
- (9) gegebenenfalls Isolierung und Charakterisierung des Produkts.

[0019] Erfindungsgemäß wird also zunächst ein Satz von M unterschiedlichen für Multikomponenten-Reaktionen (MCR's) geeigneten Edukten ausgewählt. Dann werden mit diesen Edukten alle MCR's durchgeführt, die mit diesen Edukten möglich sind, wobei vorzugsweise mindestens 3 Edukte und maximal alle Edukte miteinander umgesetzt werden. Bei 5 Edukten sind also z.B. Reaktionen aller Dreierkombinationen, und aller Vierer-Kombinationen und eine Reaktion der Fünfer-Kombination möglich.

[0020] Sodann werden die Eigenschaften der entstandenen Produkte durch Analysen, Assays etc. festgestellt, wobei es nicht zwingend notwendig ist, die Produkte selbst zu analysieren oder ihre Struktur aufzuklären. Ein solcher Schritt ist jedoch selbstverständlich möglich und wird auch von der vorliegenden Erfindung umfaßt.

[0021] Dann werden die Eigenschaften der Produkte bewertet: Soll z.B. ein Produkt mit einer antibakteriellen Wirkung gegen *Pseudomonas aeruginosa* gefunden werden, so werden das oder die Produkte ausgewählt, die die beste entsprechende Wirkung haben.

[0022] Diese Produkte oder dieses Produkt kann dann gegebenenfalls mit dem nächstbesten Produkt oder den nächstbesten Produkten verglichen werden, um Rückschlüsse über mögliche Faktoren zu erlangen, die für die Wirkung des besten Produkts oder der besten Produkte relevant sind.

[0023] Um festzustellen, durch welche MCR das optimale Produkt entstanden ist, kann es mit seinen Sub- und Suprakombinationen verglichen werden:

[0024] Weist z.B. das Produkt einer 5-Komponentenreaktion gute Eigenschaften auf, so wird es mit den Produkten der mit diesen Komponenten möglichen 4-Komponentenreaktionen verglichen und außerdem mit Produkten, die durch 6-Komponentenreaktionen hergestellt wurden, bei denen zusätzlich zu den 5 bei der 5-Komponentenreaktion verwendeten Edukten ein weiteres Edukt verwendet wird. Weist z.B. das Produkt der 4-Komponentenreaktion ähnlich gute Eigenschaften auf wie das Produkt der 5-Komponentenreaktion, so liegt der Schluß nahe, daß die 5. Komponente nicht zu den Eigenschaften des Produkts beiträgt und z.B. nur als Katalysator wirkt oder gar nicht an der Reaktion beteiligt ist.

[0025] Nach der Bewertung der Produkte werden eines oder mehrere Produkte ausgewählt.

[0026] Im weiteren wird das erfindungsgemäße Verfahren anhand eines einzigen ausgewählten Produkts beschrieben, wobei klar ist, daß auch mehrere Produkte ausgewählt und das Verfahren parallel mit mehreren Produkten durchgeführt werden kann.

[0027] Im nächsten Schritt werden die Edukte bestimmt, die zu dem ausgewählten Produkt geführt haben, das die besten Eigenschaften aufweist. Weist im vorstehend angegebenen Beispiel das aus 5 Edukten hergestellte Produkt die besten Eigenschaften auf, so werden diese 5 Edukte in den weiteren Schritten des Verfahrens zugrunde gelegt.

[0028] Mindestens eines der Edukte, z.B. eine Aminkomponente, wird dann in dem Sinne variiert bzw. modifiziert, daß z.B. mindestens ein Substituent ausgetauscht und/oder mindestens ein (weiterer) Substituent eingeführt wird. Selbstverständlich können auch 2, 3 oder alle Edukte chemisch variiert oder modifiziert werden.

[0029] Die variierten bzw. modifizierten Edukte werden daraufhin im Rahmen der selben MCR ungesetzt, die in den vorherigen Stufen des Verfahrens zu dem optimalen Produkt geführt hat. Werden bei dem vorstehenden Beispiel z.B.

2 Edukte so modifiziert, daß von jedem dieser beiden Edukte eine weitere Variante vorliegt, die anderen drei Edukte jedoch unmodifiziert weiterverwendet werden, so sind drei neue Reaktionen desselben MCR-Typs möglich, da bei der einen Reaktion drei ursprüngliche Edukte und zwei neue Edukte und bei den beiden anderen Reaktionen vier ursprüngliche Edukte und jeweils ein modifiziertes Edukt eingesetzt werden können.

[0030] Daraufhin wird wiederum das Produkt oder die Produkte mit den besten Eigenschaften ausgewählt und gegebenenfalls aufgrund der Variationen bzw. Modifikationen festgestellt, worauf die gegebenenfalls eingetretene Verbesserung der Eigenschaften zurückzuführen ist: Wird z.B. festgestellt, daß die Vergrößerung eines Substituenten an einer Aminkomponente zu einer Verbesserung der Eigenschaften führt, so wird man bei der Wiederholung der Schritte Edukte auswählen, bei denen mindestens ein Substituent an der Aminkomponente weiter vergrößert wird.

[0031] Durch das erfindungsgemäße Verfahren werden also bei einem bestimmten Satz von Edukten zunächst alle mittels Multikomponenten-Reaktionen herstellbaren Grundgerüste hergestellt und die Eigenschaften der unterschiedlichen Gerüste miteinander verglichen.

[0032] In der zweiten Stufe des Verfahrens werden danach z.B. die Substituenten am ausgewählten Gerüst solange verändert, bis ein Produkt mit einer optimalen Wirkung gefunden wurde.

[0033] Ein Vorteil des hier offenbarten Verfahrens gegenüber herkömmlichen Verfahren zur Wirkstofffindung ist die schnelle und effiziente Auffindung von chemischen Verbindungen, die eine gewünschte Zielfunktion erfüllen. Die Zielfunktion kann z.B. eine bestimmte biologische Wirksamkeit und/oder ein Spektrum anderer gewünschter pharmakologischer und physiko-chemischer Eigenschaften sein und wird je nach gesuchtem Molekül etc. variiert. Bevorzugt handelt es sich dabei um therapeutische Eigenschaften.

[0034] Ein weiterer Vorteil des hier offenbarten Verfahrens ist, daß für die Auffindung solcher Verbindungen weder die Kenntnis der chemischen Struktur der herzustellenden bzw. hergestellten Verbindungen noch die Kenntnis der in den Experimenten ablaufenden chemischen Reaktionen notwendig ist. Die Erstellung komplexer Struktur-Aktivitäts-Beziehungen ist damit nicht notwendig.

[0035] Ein weiterer Vorteil des hier offenbarten Verfahrens ist, daß das gewünschte Produkt mit einer Multikomponentenreaktion herstellbar ist, sei es über eine bereits bekannte oder durch eine in dem erfindungsgemäßen Verfahren gefundene neue chemische Reaktion, und daß somit das Produkt durch sehr einfache chemische Verfahrensschritte zugänglich ist, selbst wenn es sich um strukturell sehr komplizierte Verbindungen handelt.

[0036] Ein weiterer Vorteil des hier offenbarten Verfahrens ist, daß durch die Kombinatorik der verschiedenen Startmaterialien eine Vielzahl neuer und verschiedenartiger chemischer Grundstrukturen entsteht, wobei nicht nur die Substituenten dieser Grundgerüste, sondern auch die Grundgerüste selbst variiert werden und auf ihre Eignung für das Finden neuartiger Verbindungen mit hervorragenden Eigenschaften geprüft werden.

[0037] Ein weiterer Vorteil ist außerdem, daß die Effizienz des erfindungsgemäßen Verfahrens zur Auffindung und Herstellung von biologisch wirksamen chemischen Verbindungen auf einfache Weise gemessen werden kann.

[0038] Insbesondere kann also mit dem erfindungsgemäßen Verfahren die Diversität, d.h. der Informationsgehalt von chemischen Reaktionen, chemischen Verbindungen oder Substanzbibliotheken an die einzelnen Phasen der Auffindung, Optimierung und Herstellung von chemischen Verbindungen mit den gewünschten Eigenschaften angepaßt werden bzw. kann ihnen entsprechen, zumal die Vorteile kombinatorischer Substanzbibliotheken mit denen der Zufallsbibliotheken vereinigt werden.

[0039] Erfindungsgemäß wird also ein Verfahren offenbart, das den schnellen und effizienten Zugang zu neuen Verbindungen mit pharmakologisch herausragenden Eigenschaften durch die iterative Selektion der Edukte, die Herstellung von selektionierten Produkten mittels Multikomponentenreaktionen und ihre biologische, pharmakologische und/oder physiko-chemische Testung, insbesondere ihre Testung auf ihr therapeutisches Potential, in mehreren Cyclen ermöglicht.

[0040] Das Verfahren kann z.B. zur Herstellung von beliebigen Produkten mit gewünschten Eigenschaften wie z.B. Medikamenten, Veterinärprodukten, Impfstoffen, Kosmetika, Pflanzenschutzmitteln etc. oder Zusatzstoffen zu diesen oder Liganden, Katalysatoren, katalytischen Cofaktoren, Detektormolekülen, Polymeren, Peptiden und Klebstoffen eingesetzt werden.

[0041] Gegenstand der Erfindung ist sowohl das Verfahren als auch die mit diesem Verfahren gefundenen Produkte.

[0042] Im weiteren wird das Verfahren der vorliegenden Erfindung im Detail erläutert:

1) In einem ersten Schritt wird also eine Anzahl M unterschiedlicher chemischer Startmaterialien (Edukte) ausgewählt, die mit in der Organischen Chemie üblichen und für Multikomponentenreaktionen (MRCs) wie Passerini- oder Ugi-MCRs geeigneten funktionellen Gruppen (J. March, Advanced Organic Chemistry, Wiley-Interscience, New York, 1984) ausgestattet sind, wie

-NC-, -CO-, -CS-, -CN-, -OCN-, -NCO-, -NO-, -NO₂-, -ONO₂-, -CHO-, -COOR-, -COSR-, -CSSR-, -COCOOR-, -SCN-, -NCS-, -Halogen-, -N₃-, -NNNR-, -OR-, -SR-, -OCOOR-, -SCOOR-, -NRCOOR', -OCSOR-, -SCSOR-, -NRCSOR', -OCSSR-, -SCSSR-, -NRCSSR', -OCONR'R-, -SCONR'R-, -NRCONR'R", -NRR', -NRR'NR"R"', -CNNRR', -CNNRR'HX-, -NRCONR'R", -NRC-SNR'R", -RCOCR'R", -RCSCR'R", -COCRR'-Halogen-, -RCNR'CR" wobei R, R', R" und R"' unabhängig voneinander H oder Alkyl, Aryl, Alkyl, Hetaryl, oder Hetarylalkyl bedeuten können, wobei "Alkyl" vorzugsweise C1-C10-Alkyl

bedeutet, "Ar(yl)" vorzugsweise bis zu 10, stärker bevorzugt bis zu 2 oder 3, vorzugsweise aromatische Ringe aufweist und "Het" vorzugsweise N, O oder S umfaßt,

oder Epoxygruppen oder Carbene oder ungesättigte vinyloge Varianten (Alken, Alkin, Aryl) der vorstehend genannten funktionellen Gruppen, oder entsprechende Mono-, Di-, Tri-, Tetra-, Penta- oder Hexacarbonyl Varianten der vorstehend genannten funktionellen Gruppen,

wobei insbesondere zwei, drei, vier oder mehrere der vorstehend genannten funktionellen Gruppen in einem oder mehreren dieser Edukte, insbesondere in geeigneter Kombination gleichzeitig vorliegen können.

[0043] Ein Teil der funktionellen Gruppen kann mit in der Organischen Chemie üblichen Schutzgruppen (T.W.Greene, **Protective Groups in Organic Synthesis**, Wiley-Interscience, New York, **1981**) versehen sein.

[0044] Bevorzugt werden solche Edukte ausgewählt, die bekanntermaßen gute Edukte für Multikomponentenreaktionen sind, wie alpha-Haloketone, Ester, Carbonsäuren, Thiocarbonsäuren, Aldehyde, Amine, Ketone, Isonitrile, Nitrile, alpha-Ketosäuren, alpha-Ketoester, und deren Derivate und alpha-beta ungesättigte Varianten, sowie Kombinationen davon,

wobei entsprechende Mono-, Di-, Tri-, Tetra-, Penta- oder Hexacarbonyl Varianten der vorstehend genannten funktionellen Gruppen besonders bevorzugt sind.

[0045] Erfindungsgemäß werden diese **M** Edukte vorzugsweise in einer für einen Algorithmus zugänglichen Form kodiert, wobei den ausgewählten Edukten entweder zufällig oder systematisch binäre, dezimale oder alphanumerische Kodierungen zugeordnet werden.

[0046] Bevorzugt wird einem Edukttyp einer bestimmten chemischen Klasse, wie z.B. Aldehyden, eine charakteristische Grundkodierung wie z.B. "A" zugeordnet, wobei besonders bevorzugt verschiedenen Edukten, die in diese Klasse fallen, wie verschiedene spezielle Aldehyde, eine zusätzliche Kodierung wie die Zahlen "1, 2, 3 ..." zufällig zugeordnet wird, so daß sich eine alphanumerische Gesamtkodierung A1 für Benzaldehyd und A2 für Acetaldehyd, oder B1 für Anilin und B2 für Methylamin ergibt.

[0047] Chemische Klassen (Substanzklassen, Edukt-Typen) bezeichnen also z.B. Aldehyde, Amine, Carbonsäuren, insbesondere bezeichnen sie Komponentengruppen von MCRs.

[0048] Für **M** verschiedene Edukte erhält man so erfindungsgemäß **N** verschiedene Kodierungen. Die Menge **N** soll dabei die Menge der (unterschiedlichen) Eduktklassen oder chemischen Klassen bedeuten, wobei ein Edukt erfindungsgemäß verschiedenen solcher Klassen zugeordnet und entsprechend kodiert werden kann, wie z.B. beta-Ketopropionsäure der Klasse der Ketone, der Carbonsäuren oder der beta-Ketosäuren zuordenbar ist. Besonders bevorzugt ist eine Kodierung, bei der jedes Edukt nur in jeweils einer Klasse kodiert wird.

[0049] Insbesondere kann durch eine geeignete Auswahl von Edukten der Produktraum, d.h. die Art und Menge der voraussichtlich zu erhaltenden Produkte zumindest in gewissem Rahmen selektiert werden bzw. vorgegeben werden.

[0050] Vorzugsweise ist in dem erfindungsgemäßen Verfahren $M \leq 40$, stärker bevorzugt ist $M \leq 30$, noch stärker bevorzugt ist $M \leq 20$ und am stärksten bevorzugt ist $M \leq 12$.

[0051] 2) In einem zweiten Verfahrensschritt werden die Edukte im Rahmen einer - auch unbekannten - MCR gleichzeitig oder sequentiell umgesetzt. Dabei wird jedes Edukt mit jedem anderen Edukt oder bevorzugt jeder möglichen Kombination von 2 bis zu $M-1$ anderen Edukten umgesetzt, die im ersten Verfahrensschritt ausgewählt werden.

[0052] Ein Vorteil des erfindungsgemäßen Verfahrens besteht darin, daß eine Kenntnis der möglichen Reaktionen, die diese Edukte eingehen können, nicht erforderlich ist.

[0053] Erfindungsgemäß werden in dem zweiten Verfahrensschritt alle oder gegebenenfalls nach einem Algorithmus ausgewählte Multikomponenten-Kombinationen MKK(K) von **K** verschiedenen Edukten aus einer Menge **N** verschiedener Edukte, die eine Untermenge aus der zu Verfügung stehenden Menge **M** von Edukten darstellt, unter in der Organischen Chemie üblichen Bedingungen, wie z.B. für Passerini- oder Ugi-MCR Reaktionen mit 4, 5, 6, 7, 8, 9 oder 10 Komponenten üblich, gleichzeitig oder in sequentieller Reihenfolge zur Reaktion gebracht. Dazu können die gegebenenfalls ausgewählten Edukte in einem oder mehreren Lösungsmitteln wie Methanol, Tetrahydrofuran, Dioxan, Dimethylsulfoxid, Wasser oder Gemischen von diesen eventuell unter Luftausschluss oder einer Stickstoff, Sauerstoff, Wasserstoff oder Argonatmosphäre in einem Temperaturbereich zwischen -60°C bis 150°C zusammengegeben werden. Zusätzlich können Hilfsmittel oder Katalysatoren wie z.B. Lewis-Säuren wie Bortrifluorid-etherat, Zinkchlorid, Ytterbiumtriflat, Eisenchlorid, andere Säuren wie z.B. Salzsäure, para-Toluolsulfonsäure, Essigsäure oder Basen wie z.B. Kaliumcarbonat, Triethylamin, Cäsiumcarbonat, oder wasserentziehende Mittel wie Molsiebe oder Orthoester Verwendung finden.

[0054] Im ersten Cyclus des Verfahrens werden bevorzugt aus der Menge **M** solche **N** ausgewählt, die zu verschiedenen Substanzklassen gehören,

wobei die Gesamtzahl aller Experimente **E** die Summe von $K = 1$ bis **N** über alle **K** aus **N** nach Gleichung (1) ist,

$$E = \sum N! / ((N-K)! * K!)$$

Gleichung (1)

wobei **K** somit die Zahl der für eine Reaktion verwendeten, verschiedenen Edukte, und **N** die höchstmögliche Zahl der in einer Reaktion verwendeten verschiedenen Edukte darstellt,

wobei im ersten Cyclus des Verfahrens besonders bevorzugt alle Kombinationen von $K=1$ bis $K=N$ ausgewählt werden.

[0055] Jedes dieser Experimente kann räumlich getrennt und in nachvollziehbarer Weise, z.B. in verschiedenen Reaktionsgefäßen, durchgeführt werden und insbesondere die Zuordnung der verschiedenen Kombinationen mit ihrer Kodierung zu den Positionen der Reaktionsgefäße in einer einem Algorithmus zugänglichen Form im Computer gespeichert werden.

[0056] Zumindest ein Teil der erhaltenen Reaktionsprodukte kann in einem nachfolgendem Schritt weiter chemisch modifiziert, aufgearbeitet oder für Schritt (3) in geeigneter Weise vorbereitet werden.

[0057] Eine solche chemische Modifizierung kann zum Beispiel die Abspaltung der chemischen Schutzgruppen z. B. durch Trifluoressigsäure, oder die Hydrierung der Produkte mit Hilfe von Wasserstoff, gegebenenfalls unter Zusatz eines Hydrierkatalysators wie z.B. Palladium auf Kohle, Platinoxid, Palladiumacetat sein, oder durch die Oxydation der Produkte mit Sauerstoff oder einem anderen Oxydationsmittel wie z.B. Brom, Wasserstoffperoxyd, tert-Butylperoxyd oder einem geeigneten Metallsalz wie z.B. Cobaltchlorid, oder einem geeigneten Metallkomplex wie z.B. Eisenhexacyanoferrat oder Chromtetraphenylporphyrinat oder durch die Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 200-600 nm erfolgen. Weiter können die Reaktionsprodukte mit einem oder mehreren Enzymen wie z.B. Oxidoreductasen, Ligasen, Peptidasen, Lipasen oder Isomerasen behandelt werden.

[0058] Die Aufarbeitung der Produkte kann in an sich bekannter Weise wie durch Chromatographie z.B. über Kieselgel oder RP-18 Kieselgel, oder Festphasenextraktion oder die Entfernung nicht umgesetzter Edukte durch Binden an einen geeigneten festen Träger wie z.B. Ionenaustauscherharze oder chemisch modifizierte Festphasenharze erfolgen, oder es können die erwarteten Produkte durch selektives Binden an einen solchen festen Träger mit anschließendem Waschen und Ablösen von diesem Träger gereinigt werden.

[0059] Durch anschließendes Lösen in einem geeigneten Lösungsmittel wie z.B. Wasser oder DMSO, kann eine Testlösung vorbereitet werden.

[0060] Die verwendeten Reaktionsbedingungen, Modifizierungen, Aufarbeitungen oder Vorbereitungen für die Testung können ebenfalls in einer für einen Algorithmus geeigneten Form, z.B. in binärer, dezimaler oder alphanumerischer Form kodiert werden. Ein Reaktionsprodukt kann somit z.B. entweder als Kombination der Kodierung der verwendeten Edukte oder aber bevorzugt als Kombination der Kodierung der verwendeten Edukte und der Kodierung für die verwendeten Reaktionsbedingungen, Modifizierungen, Aufarbeitungen oder Vorbereitungen für die Testung kodiert werden, wobei in besonders bevorzugter Weise sowohl die verwendeten Edukte, die Reaktionsbedingungen, Modifizierungen, Aufarbeitungen oder Vorbereitungen für die Testung als auch die Reaktionsgefäße kodiert werden.

[0061] Eine solche Kodierung soll nachfolgend vereinfachend als Genom des Reaktionsproduktes bezeichnet werden.

[0062] Für das hier beschriebene Verfahren ist es nicht notwendig zu wissen, welche Reaktionen in dem einzelnen Reaktionsgefäß ablaufen können, bzw. ablaufen. Erfindungsgemäß können jedoch in allen Reaktionsgefäßen maximal E verschiedene Reaktionstypen und somit E verschiedene chemische Substanzen mit jeweils verschiedenen Grundgerüsten gebildet werden, wenn alle Edukte aus verschiedenen Substanzklassen ausgewählt werden, wie es im ersten Cyclus des Verfahrens bevorzugt ist. Das Genom eines Reaktionsproduktes kodiert in besonders bevorzugter Weise nicht, was in einem Reaktionsgefäß enthalten ist, sondern durch welche Edukte und mit welchen Arbeitsschritten das Reaktionsprodukt entstanden ist.

[0063] 3) In einem dritten Verfahrensschritt werden z.B. Testlösungen der Produkte aus dem zweiten Verfahrensschritt z.B. in einem biologischen und/oder pharmakologischen und/oder physiko-chemischen Test auf ihre biologische Aktivität, Wirksamkeit, Nebenwirkungen oder Selektivität und/oder einem anderen Testverfahren die physiko-chemischen Eigenschaften dieser Produkte untersucht.

[0064] Diese biologischen, pharmakologischen und physiko-chemischen Testverfahren sind dem einschlägig vorgebildeten Fachmann an sich bekannt.

[0065] Bevorzugt wird dabei insbesondere die Abhängigkeit der Messergebnisse von der Konzentration der im Verfahrensschritt zwei eingesetzten Edukte untersucht und festgestellt. Insbesondere wird ein Konzentrationsbereich von 0.5 bis 0.000001 mol/l, besonders bevorzugt ein Konzentrationsbereich von 100 bis 0.01 mol/l untersucht.

[0066] Der Test zur Feststellung der biologischen oder pharmakologischen Aktivität, Wirksamkeit, Nebenwirkungen oder Selektivität wird vorzugsweise mit isolierten Proteinen, Rezeptoren, Enzymen, oder Mischungen davon, Zellen, Zelllysaten, komplexen Zellsystemen, mit Organen oder Teilen davon oder mehreren Organen oder auch mit ganzen Organismen oder Membranen und gegebenenfalls unter Verwendung von für den Test notwendigen Hilfsstoffen, Substraten oder Detektionshilfsmitteln durchgeführt.

[0067] Die Testverfahren für die physiko-chemischen Eigenschaften der Produkte können zum Beispiel das Messen der Lipophilie durch den Octanol-Wasser Verteilungskoeffizienten, die Löslichkeit in Wasser, die unspezifische Proteinbindung an z.B. Rinderserumalbumin, die Bindung an die Proteine des humanen Serumplasmas oder die chemische Stabilität in Krebs-Puffer beinhalten.

[0068] Die erhaltenen Testresultate werden vorzugsweise mit den Genomen der Reaktionsprodukte, bevorzugt in einer für den Algorithmus zugänglichen Form, z.B. in einem Computer Datenfile oder einer Computer Datenbank korreliert.

[0069] Erfindungsgemäß ist die Kenntnis des Inhaltes der einzelnen Reaktionsprodukte wie z.B. auch die Kenntnis der abgelaufenen chemischen Reaktion oder der vorhandenen neuen chemischen Verbindungen und ihrer Struktur nicht für das Verfahren notwendig, da der systematische Charakter der Auswahl eine systematische Auswertung der Testergebnisse zuläßt. Es kann sogar möglich sein, daß in einem oder mehreren der parallelen Reaktionsgefäße keine Reaktion abgelaufen ist, ohne daß dies ein Nachteil für das erfindungsgemäße Verfahren darstellt.

[0070] Hat man zum Beispiel alle Kombinationen von $K=1$ bis $K=N$ ausgewählt, werden erfindungsgemäß alle Edukte ($K=1$) auf ihre biologische Wirkung hin geprüft. Alle Reaktionsprodukte, die diese Edukte enthalten, jedoch eine bessere Wirkung als diese zeigen, sollten eine neue chemische Verbindung mit besserer Wirkung enthalten. Das selbe trifft sinngemäß auch auf alle Kombinationen $K=3$ und alle Zweierkombinationen zu. Eine Dreierkombination, die eine bessere Wirkung als die in ihr enthaltenen Zweierkombinationen, bzw. als die entsprechenden Edukte zeigt, sollte ein neue, wirksame chemische Verbindung aus einer Dreikomponentenreaktion enthalten. In der ausgeführten Weise lassen sich ebenso alle $K>2$ Reaktionsprodukte analysieren.

[0071] Erfindungsgemäß enthält die Liste der Genome und der ihnen zugeordneten Testergebnisse alle für eine weitere Optimierung notwendigen Informationen.

[0072] Implizit kann das erfindungsgemäße Verfahren eine statistische Analyse der durchgeführten Reaktionen und Arbeitsschritte verwenden, wobei die bei der Auswahl der Edukte M verwendete Systematik es erlaubt, auf die genaue und explizite Kenntnis der abgelaufenen chemischen Reaktionen und Strukturen der entstandenen Verbindungen zu verzichten. So ist es beispielsweise möglich, daß unter den verwendeten Reaktionsbedingungen eine an sich wünschenswerte und bekannte Reaktion nicht abläuft, jedoch eine andere bisher nicht bekannte Reaktion eine neue chemische Verbindung liefert, die über wünschenswerte Eigenschaften, wie z.B. orale Bioverfügbarkeit verfügt. Implizit enthält so das entsprechende Genom dieses Reaktionsproduktes und die assoziierten Testresultate also auch das Verfahren, wie auch die Ausbeute und Struktur der chemischen Verbindung aus dieser neuen Multikomponentenreaktion. Dadurch wird es möglich, diese Reaktion auch ohne ihre explizite Kenntnis mit dem erfindungsgemäßen Algorithmus zu verwenden.

[0073] 4) In einem vierten Verfahrensschritt werden die für die hergestellten Produkte gemessenen Testergebnisse dazu benutzt, die vorzugsweise kodierten Produkte zu bewerten und z.B. nach einer vorgegebenen Zielfunktion zu sortieren, und mindestens ein Produkt auszuwählen, wobei diese Zielfunktion eine beliebige Kombination von gewünschten Eigenschaften für die gesuchte Zielverbindung sein kann und das Sortierkriterium aus dem Ausmaß, wie die einzelnen Produkte diese Zielfunktion erfüllen, abgeleitet werden kann. Vorzugsweise werden die Produkte nach ihrer Konzentrationsabhängigkeit bewertet.

[0074] Insbesondere können die Produkte entweder in ihrer Rangfolge sortiert oder in verschiedene Bewertungskategorien eingeteilt werden.

[0075] Die Zielfunktion kann eine beliebige Funktion sein, die aus der Kombination der gewünschten Eigenschaften in den verwendeten Testsystemen für die gesuchte Zielverbindung konstruiert wird. Sie ist das Bewertungskriterium für das Sortieren oder Kategorisieren der Genome danach, wie die einzelnen entsprechenden Produkte diese Zielfunktion erfüllen.

[0076] Bevorzugt bilden sowohl die biologische Aktivität, physiko-chemische Eigenschaften als auch weitere biologisch relevante Testresultate diese Zielfunktion.

[0077] Besonders wird bevorzugt, wenn die Konzentrationsabhängigkeit der Testergebnisse ermittelt wurde und diese in die Zielfunktion eingehen, d.h. diese Eigenschaften in unterschiedlicher und konzentrationsabhängiger Wichtung in diese Zielfunktion eingehen.

[0078] Besonders bevorzugt ist die Zielfunktion eine lineare Kombination oder ein Polynom dieser Eigenschaften mit "fuzzy" Logik Wichtungen, wobei besonders bevorzugt die "fuzzy" Logik Wichtungen einzelner Eigenschaften von dem Ausmaß der Erfüllung anderer Eigenschaften, sowie der Zahl der bereits durchlaufenen Cyclen abhängen kann.

[0079] Eine solche Zielfunktion kann somit erfindungsgemäß die Gestalt eines Programmes annehmen, welches ein Genom in Abhängigkeit von verschiedenen Eigenschaften und Bedingungen mit logischen und konditionalen Verknüpfungen unterschiedlicher Bewertungsfunktionen unterschiedlich bewertet. So können erfindungsgemäß solche Genome eine hohe Wertung erhalten, die am Anfang z.B. eine hohe orale Bioverfügbarkeit besitzen, oder nach mehreren Cyclen mehrere dieser wünschenswerten Eigenschaften aufweisen. Ebenso können erfindungsgemäß Verbindungen, die einige wünschenswerte Eigenschaften aufweisen, darüber hinaus jedoch auch Eigenschaften besitzen, die als nicht wünschenswert bezeichnet worden sind, wie z.B. ein gemessener logD Wert für die Lipophilie von über 5, eine negative Wertung erhalten, wobei die wünschenswerten Eigenschaften nicht mehr betrachtet werden.

[0080] 5) In einem fünften Verfahrensschritt werden die Edukte bestimmt, die zu dem oder den im 4. Schritt bewerteten und ausgewählten Produkt(en) geführt haben.

[0081] Es ist in diesem Schritt nicht nötig, die Edukte selbst zu analysieren oder ihre Struktur aufzuklären: Vielmehr

reicht eine Identifizierung der Edukte anhand einer gegebenenfalls eingesetzten Kodierung, da jedem Edukt ein spezifischer Code zugeordnet werden kann.

[0082] 6) In einem sechsten Verfahrensschritt wird erfindungsgemäß aufgrund der gefundenen Ergebnisse z.B. mit einem Algorithmus eine neue Menge von Edukten ausgesucht. Ferner wird eine Liste neu durchzuführender Experimente erstellt, und es werden die Edukte in entsprechend ausgewählten Multikomponenten-Kombinationen kombiniert und zur Reaktion gebracht, wobei jedoch vorzugsweise ein bereits durchgeführtes Experiment nicht wiederholt vorgeschlagen wird.

[0083] Dazu wird von mindestens einem, vorzugsweise von zwei der in Verfahrensschritt (5) bestimmten Edukte eine Variante oder Modifikation in dem Sinne bereitgestellt, daß in diesem Edukt mindestens ein Substituent ausgetauscht und/oder mindestens ein (zusätzlicher) Substituent eingeführt und/oder ein vorhandener Substituent durch ein H-Atom ersetzt wird.

[0084] Vorzugsweise werden pro Cyclus mehr als ein Edukt und/oder mehr als ein Reaktionsparameter wie die Konzentration eines Edukts oder die Reaktionstemperatur etc. variiert.

[0085] Aufgrund an sich bekannter kombinatorischer Optimierungsverfahren, vgl. Cook, W. J.; Cunningham, W. H.; Pulleyblank, W. R. und Schrijver, A. Combinatorial Optimization, Wiley 1997; Philip M. Dean und Richard A. Lewis (Ed.) Molecular Diversity in Drug Design, Kluwer Academic Publishers, 1999, ist es möglich, veränderte Produkteigenschaften den variierten Edukten und/oder Reaktionsparametern zuzuordnen.

[0086] Bevorzugt werden die als am besten bewerteten Genome des vorangegangenen Cyclus für die Generierung der neuen Genome verwendet.

[0087] Als Algorithmus kann z.B. ein kombinatorisches Optimierungsverfahren wie ein genetischer Algorithmus oder ein Mustererkennungsverfahren, wie zum Beispiel ein neuronales Netz oder eine Kombination eines genetischen Algorithmus mit einem neuronalen Netz verwendet werden,

wobei bevorzugt ein genetischer Algorithmus oder ein Mustererkennungsverfahren, wie zum Beispiel ein neuronales Netz oder eine Kombination eines genetischen Algorithmus mit einem neuronalen Netz implizit oder explizit das Auftreten gewünschter Eigenschaften mit den Bestandteilen des Produkt Genoms der vorhergehenden Generation korreliert.

[0088] Bevorzugt werden diejenigen Bestandteile der Genome der getesteten Produkte, welche mit höherer Wahrscheinlichkeit mit den gewünschten Eigenschaften explizit oder implizit korrelieren, mit höherer Wahrscheinlichkeit für die Generierung der neuen Genome verwendet,

wobei bevorzugt solche Genome, deren Produkte keine gute Bewertung erhalten haben nicht für die Generierung neuer Genome verwendet werden, und bevorzugt und zufällig einzelne Bestandteile der neuen Genome durch einen Zufallsgenerator aus der Zahl der möglichen Kodierungen ausgewählt werden.

[0089] Bevorzugt und zufällig werden einzelne Bestandteile der neuen Genome durch einen Zufallsgenerator aus dem Genom entfernt oder hinzugefügt,

wobei bevorzugt die Zuordnung der Wahrscheinlichkeit einer zufälligen Auswahl eines solchen Bausteins vom Typ dieses Bausteins abhängen kann,

wobei besonders bevorzugt die Genome zufällig in eine oder mehrere Gruppen, sogenannte Populationen eingeteilt werden.

[0090] Besonders bevorzugt werden die Genome einer Gruppe nur für die Generierung neuer Genome einer neuen Gruppe von Genomen benutzt und somit wird jede dieser Populationen eine neue Population erzeugen, wobei bevorzugt nach einer beliebigen Zahl von Cyclen alle Populationen von Genomen in eine neue Anzahl von Populationen mit gleicher oder einer veränderten Zahl an Genomen aufgeteilt werden kann.

[0091] Insbesondere bevorzugt wird diese Neuauftellung vorgenommen, wenn in einer Population ein Produkt besonders wünschenswerte Eigenschaften aufweist.

[0092] Als Bestandteile der Genome werden erfindungsgemäß die unterschiedlichen Kodierungen der Edukte, der Reaktionsbedingungen, Modifizierungen, Aufarbeitungen oder Vorbereitungen für die Testung als auch die Reaktionsgefäße definiert.

[0093] Dieser Verfahrensschritt stellt erfindungsgemäß eine Übertragung der natürlichen Evolution von Biopolymeren wie DNA, RNA oder Peptiden auf die Chemie der Multikomponentenreaktionen in Verbindung mit den Eigenschaften der durch sie erzeugten chemischen Verbindungen dar. Erfindungsgemäß wird in diesem Schritt eine deutlich gesteigerte Anzahl von Reaktionsmöglichkeiten ermöglicht. Da durch den erfindungsgemäßen Algorithmus beliebig Bausteine des Genoms gelöscht oder hinzugefügt werden können, sind z.B. Mehrfachverwendungen eines Bausteins, wie zum Beispiel eines Eduktes, eines Katalysators usw. möglich.

[0094] Die Besonderheit des Algorithmus liegt darin, daß zum einen solche Genome, d.h., solche Kombinationen von Edukten, Reaktionsbedingungen, Modifizierungen, Aufarbeitungen oder Vorbereitungen für die Testung bevorzugt werden, deren Produkte auch gewünschte Eigenschaften aufweisen, zum anderen die für die tatsächliche Herstellung dieser zwar unbekannten Verbindungen auch die besten Reaktionsbedingungen implizit ermittelt werden. Obwohl die zu diesem Produkt führende Reaktion nicht bekannt sein muß, wird diese optimiert, da sich z.B. eine höhere Ausbeute

an dem durch diese Reaktion entstehendem Produkt durch eine Verbesserung der gewünschten Eigenschaften zeigt. Durch dieses Eigenschaft des erfindungsgemäßen Verfahrens erhält man so neben einem Produkt mit den gewünschten Eigenschaften auch gleichzeitig dessen optimale Herstellung durch eine Multikomponentenreaktion.

[0095] Wahlweise können die Edukte und/oder Reaktionen/Reaktionsbedingungen jeweils einzeln oder mehrere oder alle zusammen variiert werden.

[0096] 7) In einem siebten Verfahrensschritt werden die im sechsten Verfahrensschritt bereitgestellten Edukte gegebenenfalls zusammen mit den übrigen im Verfahrensschritt (5) bestimmten Edukten umgesetzt:

[0097] Ist z.B. nur ein Edukt im Verfahrensschritt (6) variiert worden, so wird dieses Edukt vorzugsweise mit den übrigen in Verfahrensschritt (5) bestimmten Edukten außer dem Edukt umgesetzt, das in Verfahrensschritt (6) variiert wurde.

[0098] Wurden im Verfahrensschritt (5) z.B. die Edukte E_1 , E_2 , E_3 , E_4 und E_5 bestimmt, und wurde E_2 im Verfahrensschritt (6) zu E_2' variiert, so wird im Verfahrensschritt (7) E_2' mit E_1 , E_3 , E_4 und E_5 umgesetzt. Vorzugsweise wird bei der Umsetzung pro Edukt-Typ nur ein Molekül eingesetzt, d.h. z.B. nur ein Amin, ein Isocyanid, eine Carbonsäureverbindung.

[0099] 8) In einem achten Verfahrensschritt werden die Verfahrensschritte vier bis sieben solange wiederholt, bis ein Reaktionsprodukt gefunden wird, welches die Kriterien der Zielfunktion erfüllt, wobei häufig bis zu 50, bevorzugt bis zu 30 Cyclen benötigt werden, um ein solches Produkt zu finden.

[0100] Die Wahrscheinlichkeit der Auffindung eines solchen Produktes kann bereits nach 2 bis 6 Cyclen abgeschätzt werden, so daß ein wenig aussichtsreicher Weg bereits in einem frühen Stadium abgebrochen werden kann.

[0101] Bevorzugt wird die Differenz des durchschnittlichen Ausmaßes der Erfüllung der Zielkriterien durch die Produkte einer Genompopulation aus einem Cyclus x und das durchschnittliche Ausmaß der Erfüllung der Zielkriterien durch die Produkte einer Genompopulation aus einem späteren Cyclus $x+i$ für diese Abschätzung verwendet, wobei i eine ganze natürliche Zahl ist.

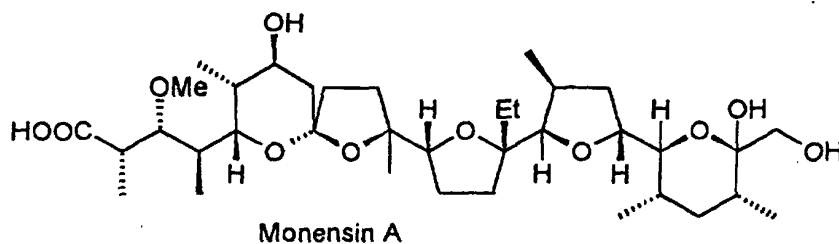
[0102] Diese Differenz kann dazu dienen, eine neue Anzahl Edukte auszuwählen und das erfindungsgemäße iterative Verfahren neu zu beginnen, besonders, wenn diese Differenz klein ist.

[0103] Durch die Verfahrensschritte eins bis acht werden auf neuartige und überraschende Weise verschiedene Probleme bei der Auffindung und Optimierung neuer chemischer Verbindungen gleichzeitig gelöst. Durch das Kombinieren von Edukten aus verschiedenen Substanzklassen unter verschiedenen Reaktionsbedingungen werden neue Multikomponentenreaktionen auf ihre Eignung für die Herstellung neuer chemischer Verbindungen untersucht, wobei solche Multikomponentenreaktionen bevorzugt werden, die Produkte mit gewünschten Eigenschaften ergeben. Weiterhin werden diese Produkte erfindungsgemäß durch die mögliche Verwendung von Edukten aus der selben Substanzklasse, die für diese Multikomponentenreaktionen notwendig sind, variiert und auf ihre Eigenschaften geprüft bzw. optimiert. Weiterhin werden diese neuen Multikomponentenreaktionen erfindungsgemäß selbst optimiert, wenn die Reaktionsbedingungen Bestandteile der entsprechenden Genome sind.

[0104] 9) In einem neunten Verfahrensschritt werden die in dem Reaktionsprodukt, welches die gewünschten Eigenschaften in den Testungen gezeigt hat, enthaltenen chemische Verbindungen auf an sich bekannte Weise, wie zum Beispiel durch Chromatographie oder Kristallisation gereinigt und deren Struktur mit bekannten Verfahren wie Massenspektroskopie oder NMR Spektroskopie bestimmt.

[0105] Das neue Verfahren wird beispielhaft für die Auffindung und Herstellung einer sehr großen Vielfalt von nicht-natürlichen antibiotischen, immunsuppressiven, antineoplastischen oder antihelminthischen polyketoider Verbindungen mit gewünschten Eigenschaften beschrieben, um die Vorteile gegenüber bestehenden Verfahren zu verdeutlichen.

[0106] Polyketide sind eine strukturell hochdiverse Familie von Naturstoffen, die in der Natur durch einen gemeinsamen Biosyntheseweg aufgebaut werden. In der Familie der Polyketide wurden außergewöhnlich viele Substanzen mit interessanten biologischen Aktivitäten gefunden. So stellen viele Vertreter der Polyketide Krebsmedikamente, Antibiotika, Antihelminthika, Immunsuppressiva o.ä. dar. Prominente, im Handel befindliche Beispiele sind die Tetracyclinantibiotika, FK 506 und Rapamycin, Adriamycin und Epothilon, oder Monensin (Abb. 1).



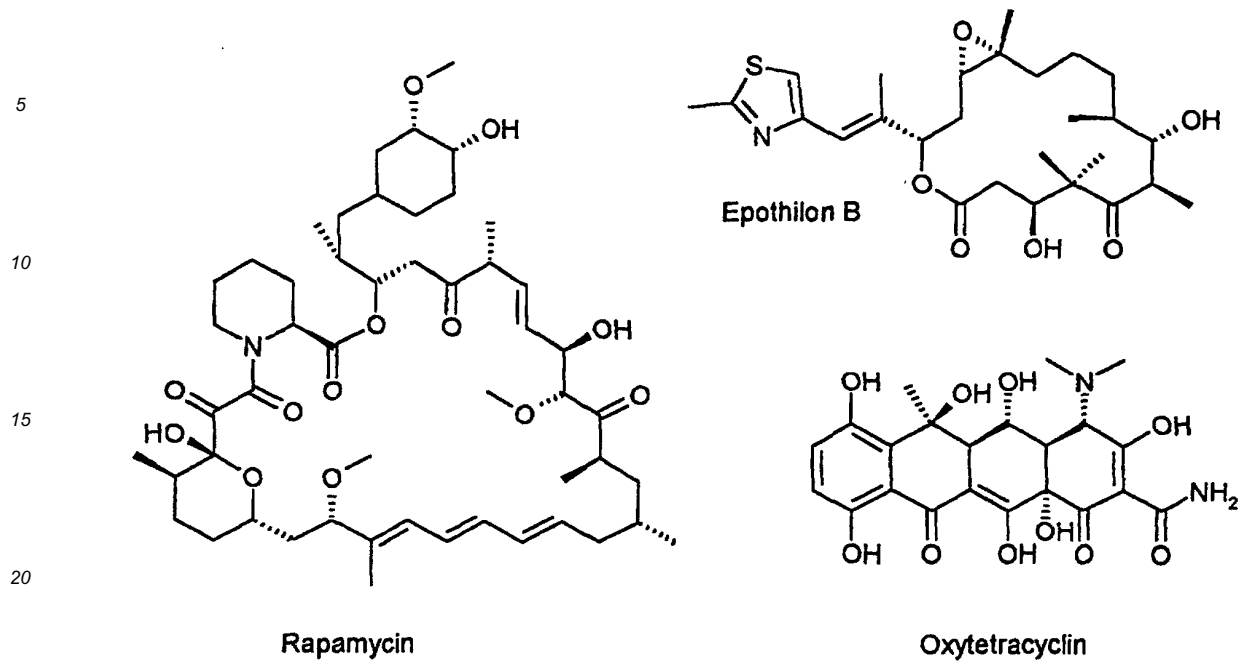


Abbildung 1: Verschiedene Strukturen von Polyketiden.

[0107] Polyketide werden von fast allen Organismenklassen gebildet, vornehmlich aber von mycelbildenden Bakterien der Klasse Actinomyces.

[0108] In der Natur werden Polyketide über den sog. Polyketidweg synthetisiert. Dabei werden putative Polyketide als Zwischenstufe der Biosynthese angenommen (Abb.2).

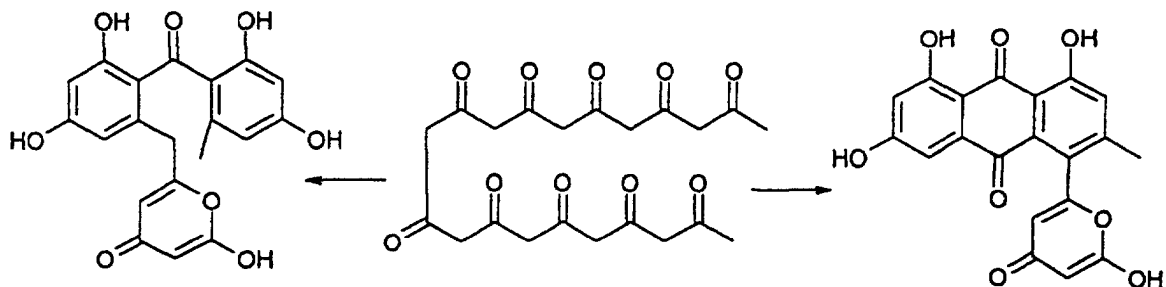


Abbildung 2: Ein Polyketidvorläufer, der je nach Cyclisierungsmodus zu unterschiedlichen Produkten führt.

[0109] Polyketidsynthasen (PKSs) sind multifunktionelle Enzymkomplexe, die mit den Fettsäuresynthasen verwandt sind. Die strukturelle Vielfalt der Polyketide kommt durch den repetitiven Aufbau via decarboxylierender Claisen-kondensation zwischen verschiedenen Thioestern (meist Acetyl-, Propionyl-, Butyryl-, Malonyl-, Methylmalonyl) zu Polyketiden und deren Modifikationen wie z.B. Reduktion zu Alkoholen, Dehydratation etc. zustande. Jedes Produkt des Polyketidsyntheseweges kommt durch eine charakteristische Anzahl von Cyclen zustande, wobei es am Ende der Synthese, häufig unter Cyclisierung von der PKS abgespalten wird.

[0110] Somit kommt die Diversität dieser Substanzgruppe durch den Starterthioester, die reduktiven Cyclen und die Zahl der decarboxylierenden Kondensationscyclen zustande.

[0111] Man unterscheidet zwischen zwei Klassen von PKSs. Die erste Klasse vom Typ I ist in der Lage, komplexe Macrolide wie z.B. Erythromycin zu synthetisieren. Die zweite Klasse vom Typ II ist in der Lage, aromatische Produkte zu synthetisieren.

[0112] In letzter Zeit ist es einigen Arbeitsgruppen gelungen, über genetisch manipulierte PKSs neuartige, in der Natur bisher nicht gefundene Polyketide zu synthetisieren (Khosla, Leadley, Katz, Chem. Rev. **97**, 97,7).

[0113] Auch die chemische Synthese vieler Polyketide wurde und wird intensiv von vielen Arbeitsgruppen bearbeitet (Harris, T.M., Harris, C.M., *Pure & Appl. Chem.*, **1986**, 58, 283 - 294. Oder Nicolaou, K. C.; Vourloumis, D.; Li, T.; Pastor, J.; Winssinger, N.; He, Y.; Ninkovic, S.; Sarabia, F.; Vallberg, H.; Roschangar, F.; King, N. P.; Finlay, M.R.V.; Giannakakou, P.; Verdier-Pinard, P.; Hamel, E. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 2097). Dabei handelt es sich in allen Fällen um vielstufige, zeitaufwendige und wenig variable Synthesen mit geringen Gesamtausbeuten. Weiterhin werden kombinierte biosynthetische - synthetische Wege verfolgt, wobei fermentierte Polyketide nachträglich chemisch modifiziert werden. Keine der chemischen Ansätze erlaubt die Synthese von Polyketiden in hinreichender Vielfalt und mit einer hinreichend kleinen Anzahl von Schritten.

[0114] Deshalb sind alle bisher beschrittenen chemischen Wege langwierig, schwierig, teuer und nicht geeignet für ein schnelles, effizientes und rationelles Auffinden neuer polyketoider Wirkstoffe.

Beispiele:

[0115] Das neue Verfahren wird *beispielhaft* beschrieben zur Herstellung einer sehr großen Vielfalt von unnatürlichen antibiotischen, immunsuppressiven, antineoplastischen oder antihelminthischen Polyketiden.

[0116] **Beispiel 1:** Herstellung einer Substanzbibliothek unterschiedlicher Multikomponentenreaktionen mit antibakterieller Wirkung.

[0117] Es werden 10 Edukte **1-10** (s. Abb. 3) mit verschiedenen funktionellen Gruppen ausgewählt: Benzaldehyd **1**, Anilin **2**, 3-Phenyl-3-keto-propionsäure Ethylester **3**, 2,4-Diketovaleriansäure Ethylester **4**, 3-Keto-glutarsäure Dimethylester **5**, 2-Keto-propionaldehyd **6**, 3-Methyl-2,4-diketopentan **7**, 3,5-Diketo-5-phenyl-valeriansäure **8**, 2,4-Diketo-phenyl-buttersäure **9** und Diphenylmethanonitril **10**.

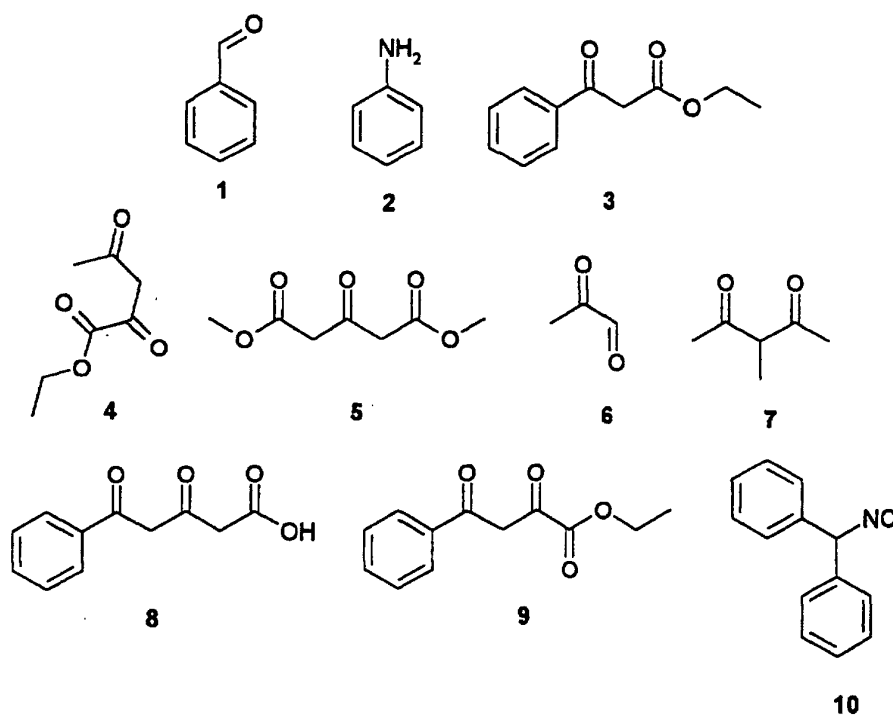


Abbildung 3: Die ausgewählten Edukte für eine kombinatorische Bibliothek von 1023 verschiedenen Multikomponentenreaktionen.

[0118] Die systematische Variation der Edukte von **K=2** bis **K=10** liefert nach Gleichung (1) 1013 verschiedene Möglichkeiten die Edukte zu kombinieren:

Aufstellung 1:

[0119]

Anzahl der Reaktanden	Anzahl der Kombinationen
2	45
3	120
4	210
5	252
6	210
7	120
8	45
9	10
10	1
$\Sigma = 1013$ Reaktionen	

[0120] Durch die Auswahl dieser Edukte werden an sich bekannte Reaktionen ermöglicht, wie zum Beispiel die Ugi 4-CR und 3-CR Reaktion, sowie verschiedene Aldol- und Claisenreaktionen, als auch Cyclisierungsreaktionen nach Abbildung 2.

[0121] Die 10 Edukte wurden als 0.05M Lösungen in Ethanol für die Kombination der einzelnen Reaktionen vorgelegt. Die 1013 verschiedenen Kombinationsmöglichkeiten wurden unter vier verschiedenen Reaktionsbedingungen durchgeführt (Set A, B, C, D). Für die 4*1013 verschiedenen Reaktionsansätze wurden jeweils 20 µl der entsprechenden Eduktlösung dispensiert. Das Reaktionsset A aus 1013 parallelen Ansätzen wurde ohne weitere Zusätze durchgeführt. Für das Reaktionsset B erfolgte zusätzlich eine Zugabe von jeweils 10 µl einer 0.2M Lösung von p-Toluensulfonsäure in EtOH. Für das Reaktionsset C erfolgte zusätzlich eine Zugabe von 10 µl einer 0.2M Lösung von Triethylamin in EtOH. Für das Reaktionsset D erfolgte zusätzlich eine Zugabe von 10 µl einer 0.2M Lösung von Kaliumcarbonat in einem 2:1=EtOH:Wasser-Gemisch.

[0122] Nach beendeter Zugabe wurden die insgesamt 4052 Reaktionen verschlossen bei Raumtemperatur 24 Stunden stehengelassen. Danach wurde das Lösungsmittel bei Raumtemperatur abgedampft. Die Rohprodukte wurden mit jeweils 250 µl DMSO verdünnt und jeweils 10 µl dieser Lösung wurde mit 140µl Wasser verdünnt. Diese Lösungen wurden auf ihre inhibitorische Wirkung gegenüber grampositiven und gramnegativen Bakterien und Hefestämmen getestet. Die Testresultate geben Auskunft über solche Reaktionsansätze, bzw. Reaktionstypen, welche für eine weitere Optimierung von Interesse sind. In Tabelle 1 sind die Testresultate beispielhaft für die Wirkung gegenüber *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 und *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 aufgeführt. Die Testkeime wurden über Nacht in CASO-Bouillon (Bakterien) bei 35° C bzw. Sabourad-Bouillon (Hefen) bei 22° C angezogen. Die Keimsuspension wurde abzentrifugiert, das Pellet in frischem Medium resuspendiert und für weitere 2 Stunden inkubiert. Anschließend wurde das Pellet in 0.9%-iger NaCl Lösung resuspendiert und die Zellzahl anhand der Standard-Kurven auf etwa 10⁸ KBE/ml (Bakterien) bzw. 10⁷ KBE/ml (Hefen) eingestellt.

[0123] Die so erhaltenen Suspensionen wurden anschließend in CASO-Bouillon (Bakterien) bzw. Sabourad-Bouillon auf etwa 10⁶ KBE/ml verdünnt. 15 µl der Lösung der Reaktionsprodukte wurde mit 100 µl dieser Keimlösungen angeimpft. Sofort nach der Inokulation, sowie 7 und 22 Stunden Inkubation der Platten wurden diese in einem Platten-Reader (Bio-tek EL 311 Autoreader) bei 550 nm vermessen.

[0124] Die 1013 verschiedenen Kombinationen der Edukte 1-10 sind in Aufstellung 1 aufgeführt, die inhibitorische Aktivität der besten Edukt-Kombinationen des Reaktionssets A nach einem Zyklus des erfindungsgemäßen Verfahrens gegenüber *Pseudomonas aeruginosa* sind in Tabelle 1 und gegenüber *Staphylococcus aureus* in Tabelle 2 aufgeführt.

[0125] Von den besten Kombinationen können nun z.B. nach einem der vorstehend bezeichneten Algorithmen die ausgesucht werden, die in dem nächsten Zyklus eingesetzt werden sollen.

[0126] Auf analoge Weise werden die Resultate der Reaktionssets A, B, C und D miteinander verglichen und entsprechend bei dem nächsten Zyklus des Verfahrens die besten Reaktionsvarianten berücksichtigt.

[0127] Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß ein Verfahren zur algorithmischen Auffindung und Herstellung von biologisch wirksamen chemischen Verbindungen beschrieben wird. Das Verfahren besteht aus der (1) Herstellung einer algorithmischen Bibliothek von unterschiedlichen Multikomponentenreaktionen, ausgehend von einer Bibliothek geeigneter und diverser Typen von chemischen Ausgangsstoffen, der (2) biologischen Testung dieser Bibliothek, der (3) Identifizierung geeigneter Multikomponentenreaktionen aus diesem Raum der möglichen Reaktionen, der (4) Auswahl einer Vielzahl von chemischen Ausgangsstoffen solcher Typen, die für die identifizierten und geeigneten Multikomponentenreaktionen benötigt werden, die (5) Auffindung von optimalen Kombinationen aus dem damit

konstruierten chemischen Raum dieser geeigneten Multikomponentenreaktionen durch die (6) algorithmische Herstellung und biologische Testung von Verbindungen dieser Bibliothek. Das Verfahren wird am Beispiel der Auffindung neuer antibiotisch wirksamer polyketoidartiger Verbindungen beispielhaft erläutert.

[0128] Tabelle 1: Die Inhibitorische Aktivität des Reaktionssets A der 1013 verschiedenen Reaktionen aus den Edukten 1-10 gegenüber *Pseudomonas aeruginosa*.

[0129] Tabelle 2: Die Inhibitorische Aktivität des Reaktionssets A der 1013 verschiedenen Reaktionen aus den Edukten 1-10 gegenüber *Staphylococcus aureus*.

[0130] Tabelle 3: Reihenfolge der inhibitorischen Aktivität der besten Edukt-Kombinationen des Reaktionssets A nach einem Cyclus des erfindungsgemäßen Verfahrens gegenüber *Pseudomonas aeruginosa*.

[0131] Tabelle 4: Reihenfolge der inhibitorischen Aktivität der besten Edukt-Kombinationen des Reaktionssets A nach einem Cyclus des erfindungsgemäßen Verfahrens gegenüber *Staphylococcus aureus*.

Patentansprüche

1. Verfahren für die schnelle und effiziente Auffindung und Herstellung von neuen Verbindungen, **gekennzeichnet durch**

(1) Auswahl von M unterschiedlichen für Multikomponentenreaktionen (MCRS) geeigneten Edukten,

(2) Umsetzung von jedem Edukt mit jeder möglichen Kombination von 2 bis zu M-1 anderen gemäß (1) ausgewählten Edukten,

(3) Analyse der Produkte,

(4) Bewertung der Produkte und Auswahl mindestens eines Produkts,

(5) Bestimmung der Edukte, die zu dem oder den in (4) ausgewählten Produkt(en) geführt haben, und

(6) Bereitstellung von mindestens einer Variante von mindestens einem der Edukte, die in (5) bestimmt wurden,

(7) Umsetzung der in (6) bereitgestellten Edukte gegebenenfalls mit den übrigen in (5) bestimmten Edukten im Rahmen einer MCR,

(8) Wiederholung der Schritte (4) bis (7) bis mindestens ein Produkt gefunden wird, das die gewünschte(n) Eigenschaft(en) aufweist, und

(9) gegebenenfalls Isolierung und Charakterisierung des Produkts.

2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, daß** $M \leq 40$ ist.

3. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, daß** in (1) und/oder in (6) auch für MCRs geeignete Reaktionsbedingungen ausgewählt werden.

4. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, daß** die Analyse gemäß (3) eine biologische und/oder pharmakologische und/oder physikochemische Analyse ist.

5. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, daß** in (4) alle Produkte bewertet werden.

6. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, daß** in (4) auch die Reaktionsbedingungen zur Herstellung der Produkte bewertet werden.

7. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, daß** die Umsetzung gemäß (7) der in (6) bereitgestellten Edukte gegebenenfalls mit den übrigen in (5) bestimmten Edukten außer dem (den) Edukt(en) erfolgt, deren Varianten in (6) bereitgestellt wurden.

8. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, daß** bei jeder Umsetzung gemäß

(7) pro Edukt-Typ nur ein Molekül ausgewählt wird.

- 5 9. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die Edukte in der Organischen Chemie übliche funktionelle Gruppen wie -NC, -CO-, -CS-, -CN, -OCN, -NCO, -NO, -NO₂, -ONO₂, -CHO, -COOR, -COSR, -CSSR, -COCOOR, -SCN, -NCS, -Halogen, -N₃, -NNNR, -OR, -SR, -OCOOR, -SCOOR, -NRCOOR', -OCSOR, -SCSOR, -NRCSOR', -OCSSR, -SCSSR, -NRCSSR', -OCONR'R, -SCONR'R, -NRCONR'R", -NRR', -NRR'NR"R"', -CNN-RR', -CNNRR'HX, -NRCONR'R", -NRCSNR'R", -RCOCR'R", -RCSCR'R", -COCRR'Halogen, -RCNR'CR" wobei R, R' und R" H oder Alkyl, Aryl, Aralkyl, Hetaryl, oder Hetarylalkyl aufweisen.
- 10 10. Verfahren nach Anspruch 9, wobei die funktionellen Gruppen Epoxygruppen oder Carbene oder die ungesättigten vinylogenen Varianten Alken, Alkin, Aryl Gruppen oder entsprechende Mono-, Di-, Tri-, Tetra-, Penta- oder Hexacarbonyl Varianten dieser Gruppen sind.
- 15 11. Verfahren nach Anspruch 9 oder 10, wobei zwei, drei, vier oder mehrere funktionelle Gruppen in einem oder mehreren Edukten in geeigneter Kombination gleichzeitig vorliegen.
- 20 12. Verfahren nach Anspruch 9, wobei die Edukte für Multikomponentenreaktionen besonders geeignete Edukte sind, wie alpha-Haloketone, Ester, Carbonsäuren, Thiocarbonsäuren, Aldehyde, Amine, Ketone, Isonitrile, Nitrile, alpha-Ketosäuren, alpha-Ketoester, und deren Derivate und alpha-beta ungesättigte Varianten, sowie Kombinationen davon.
- 25 13. Verfahren nach Anspruch 4, wobei die Edukte entsprechende Mono-, Di-, Tri-, Tetra-, Penta- oder Hexacarbonyl Varianten der funktionellen Gruppen aufweisen.
- 30 14. Verfahren nach einem der Ansprüche 9 bis 13, wobei ein Teil der funktionellen Gruppen der Edukte mit in der Organischen Chemie üblichen Schutzgruppen versehen sind.
- 35 15. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die ausgewählten Edukte in einer für einen Algorithmus zugänglichen Form kodiert werden, wobei den ausgewählten Edukten entweder zufällig oder systematisch eindeutige binäre, dezimale oder alphanumerische Kodierungen zugeordnet werden.
- 40 16. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei einem Edukttyp einer bestimmten chemischen Klasse eine charakteristische Kodierung für diese chemische Klasse zugeordnet wird.
- 45 17. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei im ersten Zyklus des Verfahrens nur solche Edukte ausgewählt werden, die zu verschiedenen chemischen Klassen gehören.
18. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die Edukte nach einem Algorithmus ausgewählt werden.
- 50 19. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei nach einem Algorithmus ausgewählte Multikomponenten-Kombinationen MKK(K) der verschiedenen ausgewählten Edukte unter in der Organischen Chemie üblichen Bedingungen gleichzeitig oder in sequentieller Reihenfolge zur Reaktion gebracht werden.
- 55 20. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei jede ausgewählte Kombination der Edukte in einem räumlich getrennten gegebenenfalls kodierten Reaktionsgefäß zur Reaktion gebracht wird.
21. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei zumindest ein Teil der erhaltenen Reaktionsprodukte in einem nachfolgendem Schritt chemisch modifiziert, aufgearbeitet oder für Schritt (3) in geeigneter Weise vorbereitet wird.
22. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei zusätzliche Hilfsmittel oder Katalysatoren wie z.B. Lewis-Säuren wie Bortrifluorid-etherat, Zinkchlorid, Ytterbiumtriflat, Eisenchlorid, andere Säuren wie z.B. Salzsäure, para-Toluolsulfonsäure, Essigsäure oder Basen wie z.B. Kaliumcarbonat, Triethylamin, Cäsiumcarbonat, oder wasserentziehende Mittel wie Molsiebe oder Orthoester zum Einsatz kommen.
23. Verfahren nach Anspruch 21 oder 22, wobei die chemische Modifizierung eine Abspaltung der chemischen Schutzgruppen z.B. durch Trifluoressigsäure ist, oder die Hydrierung der Produkte mit Wasserstoff gegebenenfalls unter

EP 1 144 345 B1

Zusatz eines Hydrierkatalysators wie Palladium auf Kohle, Platinoxid, Palladiumacetat erfolgt, oder die Oxydation der Produkte mit Sauerstoff oder einem anderen Oxydationsmittel wie z.B. Brom, Wasserstoffperoxid, tert-Butylperoxid oder einem geeigneten Metallsalz wie Cobaltchlorid, oder einem geeigneten Metallkomplex wie z.B. Eisenhexacyanoferrat oder Chromtetraphenylporphyrinat, oder durch die Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 200-600 nm erfolgt, oder die Reaktionsprodukte mit mindestens einem Enzym wie z.B. Oxidoreductasen, Ligasen, Peptidasen, Lipasen oder Isomerasen behandelt werden.

24. Verfahren nach Anspruch 21, wobei die Aufarbeitung der Produkte in an sich bekannter Weise durch Chromatographie z.B. über Kieselgel oder RP-18 Kieselgel, oder Festphasenextraktion oder die Entfernung nicht umgesetzter Edukte durch Binden an einen geeigneten festen Träger wie z.B. Ionenaustauscherharze oder chemisch modifizierte Festphasenharze, oder durch selektives Binden der Produkte an einen geeigneten festen Träger erfolgt.
25. Verfahren nach Anspruch 19 oder 22, wobei den Reaktionsbedingungen und verwendeten Hilfsmittel oder Katalysatoren entweder zufällig oder systematisch eindeutige binäre, dezimale oder alphanumerische Kodierungen zugeordnet werden.
26. Verfahren nach Anspruch 20, wobei die Zuordnung der verschiedenen kodierten Kombinationen zu den Reaktionsgefäßen entweder zufällig oder systematisch binär, dezimal oder alphanumerisch kodiert wird.
27. Verfahren nach Anspruch 21 oder 24, wobei der Aufarbeitung der Produkte entweder zufällig oder systematisch binäre, dezimale oder alphanumerische Kodierungen zugeordnet werden.
28. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei sowohl die verwendeten Edukte, Reaktionsbedingungen, Modifizierungen, Aufarbeitungen oder Vorbereitungen für die Testung als auch die Reaktionsgefäße kodiert werden.
29. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die MCR eine Passerini oder Ugi Multikomponentenreaktion mit bis zu 20 Komponenten, vorzugsweise mit 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 oder 12 Komponenten ist.
30. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die Produkte in einem biologischen und/oder pharmakologischen Test auf ihre pharmakologische bzw. biologische Aktivität, Wirksamkeit, Nebenwirkungen und/oder Selektivität und/oder in einem weiteren Testverfahren auf ihre physiko-chemischen Eigenschaften untersucht werden.
31. Verfahren nach Anspruch 30, wobei die Abhängigkeit der Meßergebnisse von der Konzentration der in Verfahrensschritt zwei eingesetzten Edukte festgestellt wird, wobei die Konzentration bevorzugt in einem Bereich von 0.5 bis 0.000001 mol/l liegt.
32. Verfahren nach Anspruch 31, wobei die Konzentration in einem Bereich von 100 bis 0.01 mol/l liegt.
33. Verfahren nach einem der Ansprüche 30 bis 32, wobei der Test zur Feststellung der biologischen oder pharmakologischen Aktivität, Wirksamkeit, Nebenwirkungen oder Selektivität mit isolierten Proteinen, Rezeptoren, Enzymen, oder Mischungen davon, Zellen, Zellysaten, komplexen Zellsystemen, mit Organen oder Teilen davon oder mehreren Organen oder mit ganzen Organismen oder Membranen und gegebenenfalls unter Verwendung von für den Test notwendigen Hilfsstoffen, Substraten oder Detektionshilfsmitteln durchgeführt wird.
34. Verfahren nach einem der Ansprüche 30 bis 32, wobei die Testverfahren für die physiko-chemischen Eigenschaften der Produkte das Messen der Lipophilie durch den Octanol-Wasser Verteilungskoeffizienten, die Löslichkeit in Wasser, die unspezifische Proteinbindung an z.B. Rinderserumalbumin, die Bindung an die Proteine des humanen Serumplasmas und/oder die chemische Stabilität in Krebs-Puffer umfassen.
35. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die erhaltenen Testresultate mit den Kodierungen der einzelnen Reaktionsprodukte in Beziehung gesetzt werden.
36. Verfahren nach Anspruch 35, wobei die Testresultate in einer für einen Algorithmus zugänglichen Form, z.B. in einem Computer Datenfile oder einer Computer Datenbank gespeichert werden.

EP 1 144 345 B1

37. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die Liste der Kodierungen und der ihnen zugeordneten Testergebnisse alle für eine weitere Optimierung notwendigen Voraussetzungen erfüllen.
- 5 38. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die Kodierungen der hergestellten und getesteten Produkte bewertet werden, wobei die Genome nach einer vorgegebenen Zielfunktion entweder in ihrer Rangfolge sortiert oder in verschiedene Bewertungskategorien eingeteilt werden.
- 10 39. Verfahren nach Anspruch 38, wobei die Zielfunktion eine beliebige Funktion sein kann, die aus der Kombination der gewünschten Eigenschaften der Zielverbindungen konstruiert wird.
40. Verfahren nach Anspruch 37 oder 39, wobei das Bewertungskriterium für das Sortieren oder Kategorisieren der Genome aus dem Ausmaß, wie die einzelnen Produkte die Zielfunktion erfüllen, abgeleitet wird.
- 15 41. Verfahren nach einem der Ansprüche 38 bis 40, wobei die biologische Aktivität, die physiko-chemischen Eigenschaften und gegebenenfalls weitere biologisch relevante Testresultate die Zielfunktion bilden.
42. Verfahren nach einem der Ansprüche 38 bis 41, wobei die Konzentrationsabhängigkeit der Testergebnisse in die Zielfunktion eingeht.
- 20 43. Verfahren nach einem der Ansprüche 39 bis 42, wobei die Eigenschaften in unterschiedlicher und konzentrationsabhängiger Wichtung in diese Zielfunktion eingehen, wobei insbesondere die Zielfunktion eine lineare Kombination oder Polynom dieser Eigenschaften mit "fuzzy"-Logik Wichtungen ist.
- 25 44. Verfahren nach einem der Ansprüche 39 bis 43, wobei die "fuzzy"-Logik Wichtungen einzelner Eigenschaften von dem Ausmaß der Erfüllung anderer Eigenschaften, sowie der Zahl der bereits durchlaufenen Cyclen abhängt.
- 30 45. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die bewerteten Kodierungen der einzelnen Produkte dazu benutzt werden, mit einem kombinatorischen Optimierungsverfahren, wie z.B. einem genetischen Algorithmus oder einem Mustererkennungsverfahren, einem neuronalen Netz oder einer Kombination eines genetischen Algorithmus mit einem neuronalen Netz eine neue Menge von gegebenenfalls kodierten Edukten, Reaktionsbedingungen, Modifizierungs- und Aufarbeitungsverfahren auszusuchen und entsprechende MCRs durchzuführen.
- 35 46. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei eine bereits durchgeführte Reaktion nicht wiederholt wird.
- 40 47. Verfahren nach Anspruch 45 oder 46, wobei die als am besten bewerteten Kodierungen des vorangegangenen Cyclus im nächsten Cyclus eingesetzt werden.
48. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 47, wobei bevorzugt ein genetischer Algorithmus oder ein Mustererkennungsverfahren, wie ein neuronales Netz oder eine Kombination eines genetischen Algorithmus mit einem neuronalen Netz, implizit oder explizit das Auftreten gewünschter Eigenschaften mit den Bestandteilen der Kodierung des entsprechenden Produktes der vorhergehenden Cyclen korreliert.
- 45 49. Verfahren nach Anspruch 48, wobei diejenigen Bestandteile der Kodierung der getesteten Produkte, welche mit höherer Wahrscheinlichkeit mit den gewünschten Eigenschaften explizit oder implizit korrelieren, mit höherer Wahrscheinlichkeit für die Generierung der neuen Kodierungen verwendet werden.
- 50 50. Verfahren nach Anspruch 48, wobei solche Kodierungen, deren Produkte keine gute Bewertung erhalten haben, nicht für die Generierung neuer Kodierungen verwendet werden.
- 55 51. Verfahren nach Anspruch 48 oder 49, wobei einzelne Bestandteile der neuen Kodierungen durch einen Zufallsgenerator aus der Zahl der möglichen Kodierungen ausgewählt werden.
52. Verfahren nach Anspruch 48, 49 oder 51, wobei einzelne Bestandteile der neuen Kodierungen durch einen Zufallsgenerator aus dem Genom entfernt oder hinzugefügt werden.
53. Verfahren nach Anspruch 51 oder 52, wobei die Zuordnung der Wahrscheinlichkeit einer zufälligen Auswahl eines solchen Bausteins vom Typ dieses Bausteins abhängt.

54. Verfahren nach Anspruch 51, 52 oder 53, wobei die Kodierungen zufällig in eine oder mehrere Gruppen, sogenannte Populationen eingeteilt werden, wobei besonders bevorzugt die Kodierungen einer Gruppe nur für die Generierung neuer Kodierungen einer neuen Gruppe von Genomen benutzt werden und somit jede dieser Populationen eine neue Population erzeugt.
55. Verfahren nach Anspruch 54, wobei nach einer beliebigen Zahl von Cyclen alle Populationen von Genomen in eine neue Anzahl von Populationen mit gleicher oder einer veränderten Zahl an Genomen aufgeteilt werden.
56. Verfahren nach Anspruch 55, wobei diese Neuaufteilung vorgenommen wird, wenn in einer Population ein Produkt besonders wünschenswerte Eigenschaften aufweist.
57. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei bis zu 30 Cyclen benötigt werden, um ein Produkt mit besonders wünschenswerten Eigenschaften zu finden.
58. Verfahren nach Anspruch 57, wobei die Wahrscheinlichkeit der Auffindung eines solchen Produktes bereits nach 2 bis 6 Cyclen durch die Differenz des durchschnittliche Ausmaß der Erfüllung der Zielkriterien durch die Produkte einer Population aus einem Cyclen x und des durchschnittliche Ausmaß der Erfüllung der Zielkriterien durch die Produkte einer Population aus einem späteren Cyclen $x+i$ abgeschätzt wird, wobei i eine ganze natürliche Zahl ist.
59. Verfahren nach Anspruch 58, wobei diese Differenz dazu dienen kann, eine neue Anzahl Edukte, Reaktionsbedingungen, Modifizierungen oder Aufarbeitungen auszuwählen und das iterative Verfahren neu zu beginnen.
60. Verfahren nach Anspruch 59, wobei das iterative Verfahren neu begonnen wird, wenn die Differenz klein ist.
61. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die in dem Reaktionsprodukt, welches die gewünschten Eigenschaften in den Testungen gezeigt hat, enthaltenen chemische Verbindungen gereinigt und deren Struktur bestimmt wird.
62. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei es sich bei der Analyse der Produkte um die Untersuchung handelt, ob das Produkt therapeutische Eigenschaften aufweist.

Claims

1. Process for the fast and efficient discovery and preparation of new compounds, **characterised by**
- (1) selection of M different starting materials suitable for multicomponent reactions (MCRs),
 - (2) reaction of each starting material with every possible combination of from 2 up to $M-1$ other starting materials selected according to (1),
 - (3) analysis of the products,
 - (4) evaluation of the products and selection of at least one product,
 - (5) determination of the starting materials that have led to the product(s) selected in (4), and
 - (6) provision of at least one variant of at least one of the starting materials that have been determined in (5),
 - (7) reaction of the starting materials provided in (6) if appropriate with the remaining starting materials determined in (5) in the context of an MCR,
 - (8) repetition of steps (4) to (7) until at least one product having the desired property or properties is found, and
 - (9) optionally isolation and characterisation of the product.
2. Process according to claim 1, **characterised in that** $M \leq 40$.

3. Process according to either one of the preceding claims, **characterised in that** in (1) and/or in (6) reaction conditions suitable for MCRs are also selected.
- 5 4. Process according to any one of the preceding claims, **characterised in that** the analysis according to (3) is a biological and/or pharmacological and/or physico-chemical analysis.
5. Process according to any one of the preceding claims, **characterised in that** in (4) all products are evaluated.
- 10 6. Process according to any one of the preceding claims, **characterised in that** in (4) the reaction conditions for preparing the products are also evaluated.
7. Process according to any one of the preceding claims, **characterised in that** the reaction according to (7) of the starting materials provided in (6) is if appropriate carried out with the remaining starting materials determined in (5) with the exception of the starting material(s) of which variants were provided in (6).
- 15 8. Process according to any one of the preceding claims, **characterised in that** for each reaction according to (7) only one molecule is selected per starting material type.
- 20 9. Process according to any one of the preceding claims, wherein the starting materials have functional groups customary in organic chemistry, such as -NC, -CO-, -CS-, -CN, -OCN, -NCO, -NO, -NO₂, -ONO₂, -CHO, -COOR, -COSR, -CSSR, -COCOOR, -SCN, -NCS, -halo, -N₃, -NNNR, -OR, -SR, -OCOOR, -SCOOR, -NRCOOR', -OC-SOR, -SCSOR, -NRCsor', -OCSSR, -SCSSR, -NRCSSR', -OCONR'R, -SCONR'R, -NRCONR'R'', -NRR', -NRR'NR''R''', -CNNRR', -CNNRR'HX, -NRCONR'R'', -NRCSNR'R'', -RCOCR'R'', -RCSCR'R'', -COCRR'halo, -RC-NR'CR'', wherein R, R' and R'' are H or alkyl, aryl, aralkyl, hetaryl or hetarylalkyl.
- 25 10. Process according to claim 9, wherein the functional groups are epoxy groups or carbenes or the unsaturated vinylogous variants alkene, alkyne or aryl groups or corresponding mono-, di-, tri-, tetra-, penta- or hexa-carbonyl variants of those groups.
- 30 11. Process according to claim 9 or 10, wherein two, three, four or more functional groups are present simultaneously in one or more starting materials in suitable combination.
12. Process according to claim 9, wherein the starting materials are starting materials especially suitable for multi-component reactions, such as alpha-haloketones, esters, carboxylic acids, thiocarboxylic acids, aldehydes, amines, ketones, isonitriles, nitriles, alpha-keto acids, alpha-keto esters, and derivatives and alpha-beta unsaturated variants thereof, and also combinations thereof.
- 35 13. Process according to claim 4, wherein the starting materials have corresponding mono-, di-, tri-, tetra-, penta- or hexa-carbonyl variants of the functional groups.
- 40 14. Process according to any one of claims 9 to 13, wherein some of the functional groups of the starting materials are provided with protecting groups customary in organic chemistry.
15. Process according to any one of the preceding claims, wherein the selected starting materials are encoded in a form accessible to an algorithm, the selected starting materials being assigned, either randomly or systematically, unambiguous binary, decimal or alphanumeric codings.
- 45 16. Process according to any one of the preceding claims, wherein a starting material type of a specific chemical class is assigned a characteristic coding for that chemical class.
- 50 17. Process according to any one of the preceding claims, wherein in the first cycle of the process only those starting materials which belong to different chemical classes are selected.
18. Process according to any one of the preceding claims, wherein the starting materials are selected in accordance with an algorithm.
- 55 19. Process according to any one of the preceding claims, wherein multicomponent combinations MCC(K) selected in accordance with an algorithm of different selected starting materials are reacted simultaneously or in a sequential

order under conditions customary in organic chemistry.

20. Process according to any one of the preceding claims, wherein each selected combination of starting materials is reacted in a physically separate, optionally encoded reaction vessel.

21. Process according to any one of the preceding claims, wherein at least some of the resulting reaction products are, in a subsequent step, chemically modified, worked-up or prepared for step (3) in a suitable manner.

22. Process according to any one of the preceding claims, wherein additional auxiliaries or catalysts, such as, for example, Lewis acids, such as boron trifluoride etherate, zinc chloride, ytterbium triflate, iron chloride, other acids, such as, for example, hydrochloric acid, paratoluenesulfonic acid, acetic acid, or bases, such as, for example, potassium carbonate, triethylamine, caesium carbonate, or water-removing agents, such as molecular sieves or orthoesters, are used.

23. Process according to claim 21 or 22, wherein the chemical modification is the removal of chemical protecting groups, for example by trifluoroacetic acid, or the hydrogenation of the products by means of hydrogen, optionally with the addition of a hydrogenation catalyst, such as palladium on carbon, platinum oxide, palladium acetate, or by oxidation of the products with oxygen or some other oxidising agent, such as, for example, bromine, hydrogen peroxide, tert-butyl peroxide or a suitable metal salt, such as cobalt chloride, or a suitable metal complex, such as, for example, iron hexacyanoferrate or chromium tetraphenylporphyrinate, or by irradiation with light of wavelength 200-600 nm, or the reaction products are treated with at least one enzyme, such as, for example, oxidoreductases, ligases, peptidases, lipases or isomerases.

24. Process according to claim 21, wherein the working-up of the products is carried out in a manner known *per se* by chromatography, for example over silica gel or RP-18 silica gel, or solid phase extraction or the removal of unreacted starting materials by binding to a suitable solid carrier, such as, for example, ion exchanger resins or chemically modified solid phase resins, or by selective binding of the products to a suitable solid carrier.

25. Process according to claim 19 or 22, wherein the reaction conditions and auxiliaries used or catalysts are assigned, either randomly or systematically, unambiguous binary, decimal or alphanumeric codings.

26. Process according to claim 20, wherein the allocation of the various encoded combinations to the reaction vessels is encoded, either randomly or systemically, in binary, decimal or alphanumeric form.

27. Process according to claim 21 or 24, wherein the working-up of the products is assigned, either randomly or systematically, binary, decimal or alphanumeric codings.

28. Process according to any one of the preceding claims, wherein the starting materials, reaction conditions, modifications, working-up procedures or procedures in preparation for testing that are used and the reaction vessels are encoded.

29. Process according to any one of the preceding claims, where the MCR is a Passerini or Ugi multicomponent reaction with up to 20 components, preferably with 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 or 12 components.

30. Process according to any one of the preceding claims, wherein the products are investigated in a biological and/or pharmacological test for their pharmacological or biological activity, effectiveness, side effects and/or selectivity and/or in a further test procedure for their physico-chemical properties.

31. Process according to claim 30, wherein the dependency of the measurement results upon the concentration of the starting materials used in process step two is ascertained, the concentration lying especially in a range of from 0.5 to 0.000001 mol/l.

32. Process according to claim 31, wherein the concentration lies in a range of from 100 to 0.01 mol/l.

33. Process according to any one of claims 30 to 32, wherein the test for ascertaining the biological or pharmacological activity, effectiveness, side effects or selectivity is carried out with isolated proteins, receptors, enzymes, or mixtures thereof, cells, cell lysates, complex cell systems, with organs or parts thereof or a plurality of organs or with whole organisms or membranes and as appropriate using adjuvants, substrates or detection aids necessary for the test.

34. Process according to any one of claims 30 to 32, wherein the test procedures for the physico-chemical properties of the products include the measurement of the lipophilicity by means of the octanol-water distribution coefficient, the solubility in water, the non-specific protein binding to, for example, bovine serum albumin, the binding to the proteins of human serum plasma and/or the chemical stability in Krebs buffer.
35. Process according to any one of the preceding claims, wherein the test results obtained are related to the codings of the individual reaction products.
36. Process according to claim 35, wherein the test results are stored in a form accessible to an algorithm, for example in a computer data file or a computer data bank.
37. Process according to any one of the preceding claims, wherein the list of the codings and the associated test results fulfil all the prerequisites necessary for further optimisation.
38. Process according to any one of the preceding claims, wherein the codings of the products prepared and tested are evaluated, the genomes either being sorted by ranking or divided into various evaluation categories, in accordance with a predetermined target function.
39. Process according to claim 38, wherein the target function may be any desired function construed from the combination of desired properties of the target compounds.
40. Process according to claim 37 or 39, wherein the evaluation criterion for the sorting or categorisation of the genomes is derived from the extent to which the individual products fulfil the target function.
41. Process according to any one of claims 38 to 40, wherein the biological activity, the physico-chemical properties and optionally further biologically relevant test results form the target function.
42. Process according to any one of claims 38 to 41, wherein the concentration dependency of the test results is included in the target function.
43. Process according to any one of claims 39 to 42, wherein the properties are included in the target function with different and concentration-dependent weighting, the target function especially being a linear combination or polynomial of those properties with "fuzzy" logic weightings.
44. Process according to any one of claims 39 to 43, wherein the "fuzzy" logic weightings of individual properties are dependent upon the extent to which other properties are fulfilled and upon the number of cycles already completed.
45. Process according to any one of the preceding claims, wherein the evaluated codings of the individual products are utilised to find a new set of optionally encoded starting materials, reaction conditions, modification and working-up procedures using a combinatorial optimisation procedure, such as, for example, a genetic algorithm or a pattern recognition process, a neuronal network or a combination of a genetic algorithm with a neuronal network, and to carry out corresponding MCRs.
46. Process according to any one of the preceding claims, wherein a reaction that has already been performed is not repeated.
47. Process according to claim 45 or 46, wherein the codings from the preceding cycle that are evaluated as being the best are used in the next cycle.
48. Process according to any one of claims 10 to 47, wherein preferably a genetic algorithm or a pattern recognition process, such as a neuronal network or a combination of a genetic algorithm with a neuronal network, implicitly or explicitly correlates the occurrence of desired properties with the constituents of the coding of the corresponding product of the preceding cycles.
49. Process according to claim 48, wherein those constituents of the coding of the tested products which with greater probability correlate explicitly or implicitly with the desired properties are used with greater probability for the generation of new codings.

50. Process according to claim 48, wherein codings that have not received a good rating are not used for the generation of new codings.
- 5 51. Process according to claim 48 or 49, wherein individual constituents of the new codings are selected from the number of possible codings by means of a random generator.
52. Process according to claim 48, 49 or 51, wherein individual constituents of the new codings are removed from or added to the genome by means of a random generator.
- 10 53. Process according to claim 51 or 52, wherein the assignment of probability to a random selection of such a building block depends upon the type of that building block.
54. Process according to claim 51, 52 or 53, wherein the codings are divided randomly into one or more groups, so-called populations, the codings of a group especially being used only for the generation of new codings of a new group of genomes, each of those populations thus creating a new population.
- 15 55. Process according to claim 54, wherein after any desired number of cycles all populations of genomes are divided up into a new number of populations having the same number or a different number of genomes.
- 20 56. Process according to claim 55, wherein that new division is carried out when in a population a product has especially desirable properties.
57. Process according to any one of the preceding claims, wherein up to 30 cycles are required to find a product having especially desirable properties.
- 25 58. Process according to claim 57, wherein the probability of discovering such a product is estimated after as few as 2 to 6 cycles by means of the difference between the average extent to which the products of a population from a cycle x fulfil the target criteria and the average extent to which the products of a population from a later cycle $x+i$ fulfil the target criteria, where i is a whole natural number.
- 30 59. Process according to claim 58, wherein that difference can be used to select a new number of starting materials, reaction conditions, modifications or working-up procedures and to begin the iterative process afresh.
60. Process according to claim 59, wherein the iterative process is begun afresh when the difference is small.
- 35 61. Process according to any one of the preceding claims, wherein the chemical compounds contained in the reaction product that has exhibited the desired properties in the tests are purified and the structure thereof is determined.
62. Process according to any one of the preceding claims, wherein the analysis of the products is an investigation into whether the product has therapeutic properties.
- 40

Revendications

- 45 1. Procédé pour la recherche et préparation rapide et efficace de nouveaux composés, **caractérisé par** les étapes suivantes :
- (1) choix de M réactifs de départ différents, appropriés pour des réactions à plusieurs composants (réaction multi-composants, RMC),
- 50 (2) réaction de chacun des réactifs de départ avec toutes les combinaisons possibles de 2 à $M-1$ autres réactifs de départ choisis dans l'étape (1),
- (3) analyse des produits obtenus,
- (4) évaluation des produits et sélection d'au moins un produit,
- (5) détermination des réactifs de départ ayant conduit au(x) produit(s) sélectionné(s) dans l'étape (4),
- 55 (6) choix d'au moins une variante d'au moins un des réactifs de départ déterminés dans l'étape (5),
- (7) réaction du ou des réactifs de départ choisis dans (6) avec les autres réactifs déterminés dans (5) dans le cadre d'une RMC,
- (8) répétition des étapes (4) à (7) jusqu'à l'obtention d'au moins un produit ayant la ou les propriété(s) sou-

haitées, et,

(9) éventuellement, isolement et caractérisation du produit.

2. Procédé selon la revendication 1, **caractérisé par le fait que** $M \leq 40$.

3. Procédé selon l'une des revendications précédentes, **caractérisé par le fait que** l'on choisit dans l'étape (1) et/ou dans l'étape (6) également des conditions réactionnelles appropriées pour des RMC.

4. Procédé selon l'une des revendications précédentes, **caractérisé par le fait que** l'analyse de l'étape (3) est une analyse biologique et/ou pharmacologique et/ou physioco-chimique.

5. Procédé selon l'une des revendications précédentes, **caractérisé par le fait que** tous les produits sont évalués dans l'étape (4).

6. Procédé selon l'une des revendications précédentes, **caractérisé par le fait que** l'on évalue également dans l'étape (4) les conditions réactionnelles utilisées pour la préparation des produits.

7. Procédé selon l'une des revendications précédentes, **caractérisé par le fait que** l'on fait réagir conformément à l'étape (7) les réactifs de départ choisis dans (6), éventuellement avec les autres réactifs de départ déterminés dans (5) à l'exception de celui ou ceux dont on a utilisé une variante dans l'étape (6).

8. Procédé selon l'une des revendications précédentes, **caractérisé par le fait que** l'on choisi pour chaque réaction selon l'étape (7) une seule molécule par type de réactif de départ.

9. Procédé selon l'une des revendications précédentes, dans lequel les réactifs de départ ont des groupes fonctionnels usuels en chimie organique tels que -NC, -CO-, -CS-, -CN, -OCN-, -NCO, -NO, -NO₂, -ONO₂, -CHO, -COOR, -COSR, -CSSR, -COCOOR, -SCN, -NCS, halogéno, -N₃, -NNNR, -OR, -SR, -OCOOR, -SCOOR, -NRCOOR', -OCSOR, -SCSOR, -NRCOR', -OCSSR, -SCSSR, -NRCSSR', -OCONR'R, -SCONR'R, -NRCONR'R", -NRR', -NRR'NR'R", -CNNRR', -CNNRR'HX, -NRCONR'R", -NRCSNR'R", -RCOCR'R", -RCSCR'R", -COCRR'halogéno, -RCNR'CR", où R, R', R" représentent un atome hydrogène ou un groupe alkyle, aryle, aralkyle, hétéroaryle ou hétéroarylalkyle.

10. Procédé selon la revendication 9, dans lequel les groupes fonctionnels sont des groupes époxy ou carbène ou les variantes insaturées vinylogues comme les groupes alcène, alcyne et aryle, ou des variantes mono-, di-, tri-, tétra-, penta- ou hexacarbonylées de ces groupes.

11. Procédé selon la revendication 9 ou 10, dans lequel deux, trois, quatre groupes fonctionnels ou plus sont présents simultanément dans un ou plusieurs réactifs de départ combinés de manière appropriée.

12. Procédé selon la revendication 9, dans lequel les réactifs de départ pour réactions multicomposants sont des réactifs de départ particulièrement appropriés tels que des alpha-halogénocétone, esters, acides carboxyliques, acides thiocarboxyliques, aldéhydes, amines, cétones, isonitriles, nitriles, alpha-cétoacides, alpha-cétoesters et les dérivés de ceux-ci et les variantes α,β -insaturés, ainsi que des combinaisons de ces réactifs.

13. Procédé selon la revendication 4, dans lequel les réactifs de départ présentent des variantes mono-, di-, tri-, tétra-, penta- ou hexacarbonylés des groupes fonctionnels.

14. Procédé selon une des revendications 9 à 13, dans lequel une partie des groupes fonctionnels des réactifs de départ est protégée par des groupes protecteurs connus en chimie organique.

15. Procédé selon l'une des revendications précédentes, dans lequel les réactifs de départ choisis ont été codés sous une forme accessible à un algorithme, un code unique binaire, décimal ou alphanumérique étant attribué par codage aléatoire ou systématique aux réactifs de départ choisis.

16. Procédé selon l'une des revendications précédentes, dans lequel on attribue à un type de réactif de départ appartenant à une classe chimique déterminée, un code caractéristique de cette classe chimique.

17. Procédé selon l'une des revendications précédentes, dans lequel on choisit, dans le premier cycle du procédé,

uniquement des réactifs de départ appartenant à des classes chimiques différentes.

18. Procédé selon l'une des revendications précédentes, dans lequel les réactifs de départ sont choisis selon un algorithme.

19. Procédé selon l'une des revendications précédentes, dans lequel on fait réagir, simultanément ou séquentiellement, des combinaisons choisies selon un algorithme de plusieurs des différents réactifs de départ choisis (combinaison multi-composants, CMC) dans des conditions utilisées habituellement en chimie organique.

20. Procédé selon l'une des revendications précédentes, dans lequel on fait réagir chacune des combinaison choisies de réactifs de départ, dans un réacteur séparé, éventuellement codé.

21. Procédé selon l'une des revendications précédentes, dans lequel au moins une partie des produits réactionnels obtenus, au cours d'une étape suivantes sont chimiquement modifiés, purifiés ou préparés de manière appropriée pour l'étape (3).

22. Procédé selon l'une des revendications précédentes, dans lequel on utilise des adjuvants ou catalyseurs supplémentaires, par exemple des acides de Lewis tels que le trifluorure de bore étheré, le chlorure de zinc, le triflate d'ytterbium, le chlorure de fer, d'autres acides comme par exemple l'acide chlorhydrique, l'acide para-toluène sulfonique, l'acide acétique ou des bases telles que le carbonate de potassium, la triéthylamine, le carbonate de césium, ou des agents déshydratants tels que les tamis moléculaires ou les orthoesters.

23. Procédé selon la revendication 21 ou 22, dans lequel la modification chimique est la coupure d'un groupe protecteur, par exemple par l'acide trifluoroacétique, ou une hydrogénation des produits avec de l'hydrogène, éventuellement en présence d'un catalyseur d'hydrogénation tel que le palladium sur carbone, l'oxyde de platine ou l'acétate de palladium, ou l'oxydation des produits avec de l'oxygène ou avec un autre agent oxydant tel que le brome, le peroxyde d'hydrogène, le peroxyde de tert-butyle ou un sel métallique approprié tel que le chlorure de cobalt, ou un complexe métallique approprié tel que par exemple l'hexacyanoferrate de fer ou le tétraphénylporphyrinate de chrome, ou par l'irradiation avec de la lumière ayant une longueur d'onde de 200 à 600 nm, ou le traitement des produits réactionnels avec au moins une enzyme telle qu'une oxydoréductase, une ligase, une peptidase, une lipase ou une isomérase.

24. Procédé selon la revendication 21, dans lequel la purification des produits se fait selon des techniques connues telles que la chromatographie, par exemple la chromatographie sur gel de silice ou sur gel de silice RP-18, ou l'extraction sur phase solide ou l'élimination de réactifs de départ n'ayant pas réagi par fixation sur un support approprié, par exemple une résine échangeuse d'ions ou une résine solide chimiquement modifiée, ou la fixation sélective des produits sur un support solide approprié.

25. Procédé selon la revendication 19 ou 22, dans lequel on attribue aux conditions réactionnelles et aux adjuvants ou catalyseurs utilisés, un code unique aléatoire ou systématique, binaire, décimal ou alphanumérique.

26. Procédé selon la revendication 20, dans lequel le codage attribuant aux réacteurs les différentes combinaisons codées est un codage aléatoire ou systématique, binaire, décimal ou alphanumérique.

27. Procédé selon la revendication 21 ou 24, dans lequel on attribue aux différentes techniques de purification des produits un code binaire, décimal ou alphanumérique, aléatoire ou systématique.

28. Procédé selon l'une des revendications précédentes, dans lequel on code les réactifs de départ, les conditions réactionnelles, les modifications, purifications ou préparations pour l'évaluation, ainsi que les réacteurs.

29. Procédé selon l'une des revendications précédentes, dans lequel la RMC est une RMC de Passerini ou de Ugi impliquant jusqu'à 20 composants, de préférence 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12 composants.

30. Procédé selon l'une des revendications précédentes, dans lequel on teste, dans un essai biologique et/ou pharmacologique, l'activité pharmacologique ou biologique des produits, leur efficacité, leurs effets secondaire et/ou leur sélectivité et/ou, dans un essai supplémentaire, leur propriétés physio-chimiques.

31. Procédé selon la revendication 30, dans lequel on détermine l'influence de la concentration des réactifs de départ,

utilisés dans l'étape (2) sur les résultats mesurés, les concentrations étant de préférence comprises dans l'intervalle allant de 0,5 à 0,000001 mole/l.

- 5 32. Procédé selon la revendication 31, dans lequel la concentration est comprise dans l'intervalle allant de 100 à 0,01 mole/l.
- 10 33. Procédé selon l'une des revendications 30 à 32 dans lequel on utilise pour l'essai d'évaluation de l'activité, de l'efficacité, des effets secondaires ou de la sélectivité biologiques ou pharmacologiques des produits, des protéines isolées, des récepteurs, des enzymes, ou des mélanges de ceux-ci, des cellules, lysats cellulaires, systèmes cellulaires complexes, organes, parties d'organes, combinaison d'organes, organismes ou membranes, éventuellement en présence d'adjuvants, de substrats ou d'additifs de détection indispensables pour la réalisation de l'essai.
- 15 34. Procédé selon l'une des revendications 30 à 32, dans lequel les essais de détermination des propriétés physico-chimiques des produits sont la mesure du caractère lipophile par détermination du coefficient de partage dans un mélange eau-octanol, la mesure de la solubilité, la détermination de la fixation non-spécifique à des protéines, par exemple à l'albumine de sérum de boeuf, la fixation à des protéines du sérum humain et/ou la stabilité chimique dans un tampon de Krebs.
- 20 35. Procédé selon l'une des revendications précédentes, dans lequel les résultats d'essai obtenus sont mis en relation avec les codes des différents produits réactionnels.
- 25 36. Procédé selon la revendication 35, dans lequel les résultats d'essai sont enregistrés sous une forme accessibles à un algorithme, par exemple dans un fichier de données informatique ou dans une base de données informatique.
- 30 37. Procédé selon l'une des revendications précédentes, dans lequel la liste des codes et des résultats des essais correspondants remplissent toutes les conditions nécessaires pour une optimisation.
- 35 38. Procédé selon l'une des revendications précédentes, dans lequel on évalue les codes des produits préparés et testés, les génomes étant hiérarchisées selon une fonction de performance prédéterminée ou classés en différentes catégories.
- 40 39. Procédé selon la revendication 38, dans lequel la fonction de performance peut être n'importe quelle fonction construite à partir d'une combinaison des propriétés recherchées des produits recherchés.
- 45 40. Procédé selon la revendication 37 à 39, dans lequel on obtient le critère d'évaluation pour la hiérarchisation ou la catégorisation des génomes est dérivé en examinant dans quelle mesure les différents produits satisfont la fonction de performance.
- 50 41. Procédé selon l'une des revendications 38 à 40, dans lequel l'activité biologique, les propriétés physio-chimiques et éventuellement d'autres résultats d'essais biologiques composent la fonction de performance.
42. Procédé selon l'une des revendications 38 à 41 dans lequel l'influence de la concentration sur les résultats d'essais est prise en compte dans la fonction de performance.
- 45 43. Procédé selon l'une des revendications 39 à 42 dans lequel la pondération avec laquelle les propriétés entrent dans la fonction de performance varie en fonction de la concentration, la fonction recherchée étant en particulier une combinaison linéaire ou un polynôme de ces propriétés avec une pondération de logique floue.
- 50 44. Procédé selon l'une des revendications 39 à 43 dans lequel la pondération de logique floue de différentes propriétés dépend de la mesure dans laquelle les exigences concernant d'autres propriétés sont remplies ainsi que du nombre de cycles déjà effectués.
- 55 45. Procédé selon l'une des revendications précédentes, dans lequel les codes évalués des différents produits sont utilisés pour sélectionner, à l'aide d'un procédé d'optimisation combinatoire, comme par exemple un algorithme génétique ou un procédé de reconnaissance de formes, d'un réseau de neurones ou d'une combinaison d'un algorithme génétique et d'un réseau de neurones, une nouvelle quantité de réactifs de départ, de conditions réactionnelles, de procédés de modification et de purification, éventuellement codifiés, et de réaliser les RMC correspondants.

EP 1 144 345 B1

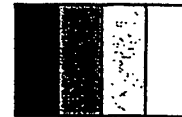
46. Procédé selon l'une des revendications précédentes, dans lequel on ne répète pas une réaction déjà effectuée.
47. Procédé selon la revendication 45 ou 46, dans lequel le code ayant reçu, dans le cycle précédent, la meilleure évaluation, est utilisé dans le cycle suivant.
- 5
48. Procédé selon l'une des revendications 10 à 47, dans lequel de préférence un algorithme génétique ou un procédé de reconnaissance de formes tel qu'un réseau de neurones, ou une combinaison d'un algorithme génétique et d'un réseau de neurones, met en corrélation, implicitement ou explicitement, l'apparition de certaines propriétés recherchées avec les composants du code des produits correspondants des cycles précédents.
- 10
49. Procédé selon la revendication 48, dans lequel les composants du code des produits testés ayant une plus grande probabilité de corrélation explicite ou implicite, sont utilisés avec une plus grande probabilité pour la création de nouveaux codes.
- 15
50. Procédé selon la revendication 48, dans lequel les codes des produits n'ayant pas reçu de bonne évaluation, ne sont pas utilisés pour la création de nouveaux codes.
51. Procédé selon la revendication 48 ou 49, dans lequel des composants individuels des nouveaux codes sont choisis dans le grand nombre de combinaisons possibles à l'aide d'un générateur de nombres aléatoires.
- 20
52. Procédé selon les revendications 48, 49 ou 51, dans lequel des composants individuels des nouveaux codes sont supprimés du génome ou ajoutés à celui-ci à l'aide d'un générateur de nombres aléatoires.
53. Procédé selon les revendications 51 ou 52, dans lequel l'attribution de la probabilité d'une sélection aléatoire d'un tel élément dépend du type de cet élément.
- 25
54. Procédé selon les revendications 51, 52 ou 53, dans lequel les codes sont divisés de manière aléatoire en un ou plusieurs groupes, appelés populations, les codes d'un groupe étant de préférence utilisés uniquement pour la création de nouveaux codes d'un nouveau groupe de génomes, chacune de ces population générant ainsi une nouvelle population.
- 30
55. Procédé selon la revendication 54, dans lequel on divise, après un nombre arbitraire de cycles, toutes les populations de génomes en un nouveau nombre de populations ayant un nombre de génomes identique ou différent.
- 35
56. Procédé selon la revendication 55, dans lequel on procède à cette nouvelle division lorsque, dans une population, un produit présente des propriétés particulièrement intéressantes.
57. Procédé selon l'une des revendications précédentes, dans lequel jusqu'à 30 cycles sont nécessaires pour obtenir un produit ayant des propriétés particulièrement intéressantes.
- 40
58. Procédé selon la revendication 57, dans lequel la probabilité d'obtention d'un tel produit est estimée, après seulement 2 à 6 cycles, grâce à la différence entre le degré de conformité moyen avec des critères recherchés des produits d'une population issue d'un cycle x et le degré de conformité moyen avec les critères recherchés des produits d'une population d'un cycle ultérieur $x + i$, i étant un nombre entier naturel.
- 45
59. Procédé selon la revendication 58, dans lequel cette différence peut servir à effectuer une nouvelle sélection de réactifs de départ, de conditions réactionnelles, de modifications ou de purifications et de recommencer le procédé itératif.
- 50
60. Procédé selon la revendication 59, dans lequel on recommence le procédé itératif lorsque la différence est faible.
61. Procédé selon l'une des revendications précédentes, dans lequel on purifie, à partir du mélange réactionnel ayant présenté, lors des essais, les propriétés recherchées, le composé chimique obtenu et l'on détermine sa structure chimique.
- 55
62. Procédé selon l'une des revendications précédentes, dans lequel l'analyse des produits consiste à déterminer si le produit a un pouvoir thérapeutique.

Pseudomonas aeruginosa

Tabelle 1

Blatt 1

Platte 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-17.79	8.97	15.09	4.78	3.16	4.78	19.28	3.81	-7.48	2.52	-5.22	8.64
B	6.39	17.99	19.93	11.87	17.67	11.87	21.86	12.51	17.03	14.45	22.51	12.83
C	10.58	17.03	26.05	21.22	25.09	21.86	19.28	21.22	9.93	10.26	-1.35	9.29
D	14.45	17.35	27.02	21.22	22.18	29.60	22.51	17.67	19.28	14.77	13.16	14.45
E	20.57	16.38	27.66	19.93	27.34	20.25	15.09	15.09	15.41	17.35	16.70	1.23
F	27.66	25.73	23.47	24.44	24.76	25.73	21.86	17.99	21.54	22.18	13.48	12.51
G	4.45	18.64	18.64	14.45	16.06	17.99	19.28	20.57	16.70	13.80	15.09	-3.28
H	-9.09	17.67	20.89	3.16	20.57	8.97	20.57	-2.32	11.22	-0.71	4.45	-11.02
Platte 2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-16.82	6.06	8.97	6.06	12.83	13.16	13.16	9.29	10.90	-7.48	-5.54	-23.92
B	6.71	4.13	21.86	19.61	30.57	14.12	27.99	17.03	18.96	5.10	9.61	0.26
C	6.06	23.80	30.24	16.06	15.41	18.32	26.38	17.35	26.38	18.32	16.06	11.87
D	17.99	21.54	23.47	32.82	32.18	24.76	23.47	23.80	21.86	18.64	14.77	8.00
E	17.35	17.99	23.80	21.54	25.09	27.02	22.18	17.67	19.61	18.96	3.16	15.09
F	12.51	28.95	32.82	27.02	29.28	26.05	24.44	23.80	23.15	16.70	10.90	13.16
G	14.12	33.47	29.92	27.02	24.76	27.99	18.32	29.28	27.66	10.26	-1.35	-6.51
H	11.55	14.12	12.83	20.57	22.51	14.77	8.64	2.84	-9.09	-4.25	-11.67	-31.01



Inhibition > 40%

Inhibition zwischen 30% und 40 %

Inhibition zwischen 20% und 30%

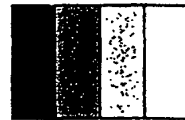
Inhibition < 20%

Pseudomonas aeruginosa

Tabelle 1

Blatt 2

Platte 3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-15.21	2.20	23.47	8.00	21.22	16.70	20.25	8.97	21.86	16.38	-11.02	5.42
B	1.23	-2.64	34.43	37.34	36.05	35.40	28.31	34.76	31.86	19.61	27.66	8.00
C	9.93	14.45	32.50	32.18	24.76	32.82	36.05	25.09	29.28	28.95	20.25	2.84
D	18.64	15.74	32.18	22.18	31.86	37.34	32.82		29.28	17.67	28.31	13.16
E	15.41	27.02	28.31	37.34				31.53	30.24	28.63	29.28	21.22
F	18.96	26.38	32.18	38.95	37.34	28.63	36.37	31.53	23.80	31.86	27.34	9.61
G	13.80	27.02	29.92	30.24	32.50	37.98	31.21	37.34	27.02	27.02	18.64	-1.03
H	15.41	12.19	22.18	4.78	16.70	-4.90	-1.99	-9.09	-1.67	2.84	-5.22	-19.08
Platte 4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	16.70	10.58	22.18	19.28	14.45	19.61	21.86	17.99	11.87	7.35	7.03	11.87
B	8.64	17.67	34.11	31.86	33.79	28.95	30.57	29.60	30.57	18.96	19.61	17.03
C	20.25	25.73	29.60	31.53	34.11	34.43	33.79	18.32	31.53	19.93	18.64	18.96
D	13.48	25.41	25.73	31.21	33.63	39.27	34.43	28.63	27.99	20.89	21.86	13.16
E	22.18	28.95	34.11	34.43	31.53	36.69	32.82	21.22	26.70	20.57	9.29	18.64
F	12.51	23.47	27.02	30.24	33.79	36.05	24.44	23.80	23.80	22.18	13.80	18.64
G	24.76	26.70	25.41	23.15	14.77	26.05	26.05	30.57	19.28	15.09	-0.06	8.00
H	7.03	16.70	20.25	5.10	2.52	-0.71	3.81	13.16	-1.35	-4.90	-3.61	-17.15



Inhibition > 40%

Inhibition zwischen 30% und 40 %

Inhibition zwischen 20% und 30%

Inhibition < 20%

Pseudomonas aeruginosa

Tabelle 1

Blatt 3

Platte 5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	10.26	17.67	16.06	17.03	18.32	26.05	14.45	17.35	26.05	19.61	17.99	-3.93
B	23.80	26.05	28.95	21.86	32.82	31.53	27.66	27.02	25.73	26.38	23.80	10.26
C	20.57	19.93	30.89	34.11	36.37	36.37	35.72	29.28	25.73	22.83	22.18	17.67
D	23.15	28.31	34.43	33.15	30.57	37.01	31.21	24.12	27.34	24.44	27.66	20.89
E	18.32	19.93	17.67	18.96	29.92	34.11	31.21	28.95	20.89	14.12	12.19	16.70
F	30.57	19.93	23.47	28.31	26.38	33.15	31.86	21.54	22.83	20.25	18.64	16.70
G	18.64	12.83	14.45	17.99	21.22	21.22	19.28	12.19	12.19	17.03	8.00	11.22
H	13.80	18.32	18.96	19.61	-1.03	3.49	3.49	0.91	4.45	3.16	-13.60	-20.05
Platte 6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	2.84	15.74	24.12	15.74	27.02	14.12	19.61	14.77	9.29	12.19	0.26	9.61
B	12.51	19.28	28.31	30.89	35.40	22.18	22.18	22.18	30.89	25.09	18.96	13.80
C	16.06	29.28	30.89	31.86	30.24	28.31	31.86	27.34	25.09	17.35	24.44	8.97
D	19.28	23.15	35.72	36.69	33.79	28.95	34.11	23.15	33.15	17.99	20.89	22.18
E	19.93	32.18	29.28	35.40	35.40	24.76	34.43	27.66	34.43	19.61	13.80	12.83
F	15.41	25.73	28.31	37.66	28.63	27.99	28.63	28.31	27.99	21.22	17.03	8.97
G	22.18	26.38	23.15	26.05	25.73	27.02	22.83	18.96	17.03	18.96	8.00	5.74
H	17.03	22.51	13.16	21.86	16.06	22.83	14.12	8.64	17.03	7.03	-8.44	-25.53



Inhibition > 40%

Inhibition zwischen 30% und 40 %

Inhibition zwischen 20% und 30%

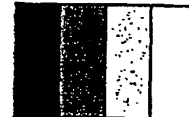
Inhibition < 20%

Pseudomonas aeruginosa

Tabelle 1

Blatt 4

Platte 7	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	16.38	14.77	19.28	17.99	21.54	14.77	12.51	15.09	13.16	16.06	8.64	0.91
B	11.55	19.61	32.50	27.34	21.86	22.83	19.93	24.12	22.51	21.22	17.67	10.90
C	9.29	27.34	29.28	26.70	18.32	27.34	22.83	23.47	21.22	17.35	19.28	17.67
D	-0.06	21.86	29.92	24.76	14.77	13.80	24.44	25.41	18.64	18.32	11.55	17.03
E	9.61	24.76	28.95	30.24	30.57	32.82	22.51	-23.27	-4.57	9.61	19.93	17.35
F	3.49	28.31	26.05	21.86	19.61	23.80	18.96	23.80	16.06	10.58	23.15	11.55
G	12.19	24.12	17.67	25.41	24.44	18.64	22.83	7.03	19.28	18.32	3.49	1.55
H	10.58	18.64	10.90	13.48	14.77	17.03	8.97	17.03	10.26	8.97	-12.31	-17.47
Platte 8	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-0.06	20.89	22.51	17.35	21.54	23.47	21.86	14.45	10.26	18.96	15.74	-3.61
B	13.80	10.90	28.63	33.47	19.28	15.74	15.41	16.06	14.77	14.45	6.71	-2.64
C	6.06	14.77	22.51	7.03	4.78	12.19	4.78	-20.05	15.74	14.77	8.00	13.48
D	15.41	16.38	9.93	0.26	-5.22	-9.73	-4.57	-6.51	-1.35	10.26	9.93	-1.03
E	0.58	17.99	-16.82	-3.93	0.26	-12.63	-15.53	-4.90	-2.64	10.58	10.26	6.71
F	20.25	16.38	22.83	-1.35	7.68	5.74	14.77	23.15	20.57	20.89	11.87	7.68
G	9.93	21.22	15.74	13.48	16.38	21.86	19.93	16.06	22.18	7.03	12.83	2.52
H	10.58	0.91	12.83	18.32	17.67	16.70	15.41	17.35	0.91	1.55	-2.32	-28.43



Inhibition > 40%

Inhibition zwischen 30% und 40 %

Inhibition zwischen 20% und 30%

Inhibition < 20%

Pseudomonas aeruginosa

Tabelle 1

Blatt 5

Platte 9	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	24.12	14.77	20.25	18.32	29.92	25.73	20.57	20.25	19.28	-1.99	-0.71	-26.50
B	25.09	28.63	27.02	20.89	23.47	9.93	14.45	13.16	4.13	6.06	0.26	-13.60
C	28.95	22.18	-19.40	-19.08	-27.46	-23.27	-35.52	-25.21	-28.75	-27.79	3.16	-3.93
D	25.73	14.45	-21.66	-27.46	-12.31	-29.08	-29.72	-26.17	-31.65	-24.88	-3.93	-4.90
E	29.28	18.32	-27.46	-31.65	-27.14	-25.85	-29.40	-41.00	-34.56	-28.43	4.78	4.13
F	25.41	20.25	-24.56	-30.04	-34.88	-35.20	-32.62	-33.91	-30.69	-17.15	-0.06	-0.38
G	20.57	17.03	9.61	14.12	18.64	17.99	13.16	10.26	1.55	0.26	3.16	-15.21
H	12.19	16.70	17.99	17.67	17.35	17.03	-2.64	9.61	4.13	13.16	2.84	-17.15
Platte 10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-10.70	-8.44	4.78	-8.76	8.32	4.45	0.26	-0.71	-6.83	-2.64	-8.12	-23.92
B	6.71	5.42	10.90	6.71	6.71	7.68	12.19	2.52	5.74	3.16	4.13	-11.99
C	-4.57	1.23	10.58	6.06	12.83	12.83	15.41	13.48	6.71	7.03	5.74	5.74
D	6.06	7.03	14.12	10.58	13.16	11.87	15.09	13.48	16.70	8.64	7.68	7.68
E	12.51	-1.67	20.89	14.77	5.74	12.51	13.80	12.51	11.22	5.74	16.38	10.26
F	11.55	14.45	19.93	12.51	15.41	18.64	16.06	11.22	14.12	6.39	18.64	1.87
G	4.45	4.13	15.41	10.58	9.93	9.61	9.93	4.78	6.71	9.29	-1.35	0.91
H	8.64	0.26	4.13	1.55	2.84	15.74	11.55	8.00	3.16	-2.32	-3.28	-4.57



Inhibition > 40%

Inhibition zwischen 30% und 40 %

Inhibition zwischen 20% und 30%

Inhibition < 20%

Pseudomonas aeruginosa

Tabelle 1

Blatt 6

Platte 11 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

A	3.49	-4.90	-4.90	-9.09	6.39	-8.76	-8.76					
B	-0.06	0.26	-0.38	-10.38	0.91	-7.15	-6.83					
C	6.06	-4.25	-2.32	-2.32	-3.93	-1.67	-4.25					
D	7.03	-1.35	-3.61	-1.03	-0.71	-2.96	-3.93					
E	-4.57	2.52	-1.03	-4.25	-1.67	-4.90	-3.61					
F	0.58	-2.32	-1.03	-1.03	-2.64	-0.71						
G	-1.67	1.55	-1.03	-5.86	-1.03	-1.67						
H	-1.35	-8.12	-5.86	-10.38	-9.41	-13.92						



Inhibition > 40%

Inhibition zwischen 30% und 40 %

Inhibition zwischen 20% und 30%

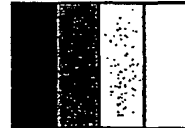
Inhibition < 20%

Staphylococcus Aureus

Tabelle 2

Blatt 1

Platte 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-4.59	-9.57	-5.15	-11.23	-15.09	-8.46	-1.28	-6.80	-6.80	-8.46	-10.12	-27.81
B	0.38	3.70	1.49	0.93	5.91	3.14	4.25	2.04	0.93	-2.38	-6.80	-9.02
C	-6.25	4.80	0.93	-2.94	3.14	5.91	5.91	-2.38	-9.02	-7.36	-13.99	-16.75
D	-2.38	1.49	0.93	-0.17	6.46	-6.80	2.04	-0.17	-3.49	-2.38	-1.28	-11.78
E	2.04	5.35	5.35	-3.49	-0.73	-1.83	-6.25	-1.28	-7.91	-5.15	-1.83	-12.88
F	0.38	3.70	0.93	1.49	7.01	4.25	0.93	-4.04	-3.49	-9.57	-2.94	-15.09
G	0.93	1.49	5.35	3.14	4.80	4.25	-1.83	-1.28	-6.80	-6.25	-11.23	-19.52
H	-10.12	-7.36	-11.23	-15.09	-10.12	-11.78	-12.33	-7.91	-8.46	-7.91	-13.44	-36.65
Platte 2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-12.88	-8.46	0.38	2.59	4.80	9.22	6.46	8.12	9.22	9.22	2.04	0.93
B	6.46	9.22	13.09	13.09	19.72	14.75	17.51	10.33	12.54	11.99	9.78	5.35
C	2.04	18.07	20.28	20.83	23.04	25.25	16.96	20.83	17.51	14.75	10.33	4.25
D	9.22	18.07	23.04	18.07	16.96	18.62	13.09	19.17	13.09	15.85	8.67	7.56
E	7.56	19.17	15.30	20.28	20.83	15.85	18.62	20.28	13.64	9.22	8.12	0.38
F	8.12	13.09	17.51	20.28	20.28	18.62	12.54	16.96	14.20	8.12	18.07	7.01
G	1.49	10.88	16.96	17.51	19.72	15.85	19.17	13.09	8.12	7.01	4.25	8.67
H	-18.41	-4.59	-4.59	2.59	6.46	7.01	-7.91	5.35	10.33	-4.04	-7.36	-10.12



Inhibition > 60%

Inhibition zwischen 50% und 60 %

Inhibition zwischen 40% und 50%

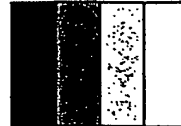
Inhibition < 40%

Staphylococcus Aureus

Tabelle 2

Blatt 2

Platte 3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	25.25	19.17	30.22	24.70	31.88	36.30	29.12	32.44	24.15	26.91	24.15	21.93
B	25.25	32.44	40.17	40.17	42.94	37.41	40.73	39.07	35.20	36.86	32.44	28.57
C	30.78	39.62	44.59	44.04	45.15	47.91	45.15	43.49	44.59	44.59	35.75	32.99
D	31.88	40.17	46.80	47.36	46.25	44.59	49.57	42.38	41.28	45.70	37.96	33.54
E	29.12	42.94	43.49	46.25	44.04	52.63	53.99	50.67	46.25	44.59	40.17	32.99
F	30.22	36.30	44.04	44.04	44.04	44.59	47.36	46.25	46.25	47.36	41.28	36.30
G	28.01	38.51	34.65	39.62	41.28	44.59	41.83	44.04	45.70	39.07	42.38	32.44
H	20.28	36.30	21.38	32.44	34.65	36.86	29.12	35.75	41.83	26.91	26.36	26.36
Platte 4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	36.30	34.09	6.46	35.75	39.07	34.65	39.62	31.88	38.51	31.88	34.09	31.88
B	21.93	40.73	3.70	47.36	46.25	44.59	47.91	44.59	45.70	39.62	38.51	35.75
C	32.44	40.17	19.72	50.12	51.78	51.78	53.44	45.70	49.02	47.36	42.38	35.75
D	29.67	47.36	9.22	45.70	49.57	49.02	54.64	50.12	51.78	49.02	46.80	41.83
E	35.75	44.59	8.12	52.88	53.44	58.41	57.86	49.57	52.88	45.15	42.94	39.62
F	30.22	42.38	11.99	45.70	47.91	49.02	49.02	48.46	50.67	46.25	43.49	36.86
G	30.22	39.62	41.28	41.28	42.38	45.70	44.59	44.59	45.70	40.73	36.30	25.25
H	17.51	-7.91	25.25	25.25	28.01	31.33	28.57	24.70	23.04	17.51	20.28	20.83



Inhibition > 60%

Inhibition zwischen 50% und 60 %

Inhibition zwischen 40% und 50%

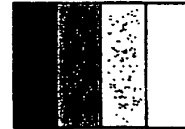
Inhibition < 40%

Staphylococcus Aureus

Tabelle 2

Blatt 3

Platte 5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	42.94	44.04	40.17	47.36	43.49	45.70	34.65	42.38	36.86	38.51	34.09	31.33
B	38.51	46.25	47.91	47.36	48.46	46.80	49.02	50.12	49.57	45.70	40.73	34.65
C	45.15	50.12	49.02	51.23	53.99	56.20	53.99	52.88	51.23	52.33	42.94	34.09
D	35.75	46.25	52.33	55.65	50.67	47.91	50.67	53.99	51.78	50.12	44.04	37.96
E	44.04	45.15	51.23	49.57	54.54		52.33	55.65	53.44	50.12	44.59	37.41
F	45.70	45.70	47.91	49.02	51.23	52.88	47.91	50.67	50.67	48.46	42.38	37.41
G	37.96	30.22	42.94	42.38	45.70	45.70	45.15	45.70	41.83	43.49	35.75	39.62
H	33.54	22.49	34.65	31.88	34.65	32.99	31.33	32.44	33.54	35.20	31.33	28.01
Platte 6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	42.38	41.83	44.04	45.70	46.80	44.59	50.12	44.04	41.83	40.17	43.49	41.28
B	42.94	49.02	52.33	49.57	54.54	53.99	52.38	48.46	53.44	49.02	47.36	44.59
C	40.17	51.23	53.99	55.65	56.75	55.09	57.36	56.75	56.75	55.09	49.02	41.83
D	44.59	49.02	52.88			51.23	54.54	52.38	55.09	56.99	46.25	40.73
E	37.96	48.46	55.65	56.20	55.65	57.36		55.09	53.44	51.23	48.46	38.51
F	37.96	44.04	46.25	50.67	49.57	50.67	50.67	52.33	54.54	50.67	48.46	42.94
G	31.88	40.17	41.83	45.15	48.46	49.57	46.25	48.46	51.23	47.36	42.94	41.28
H	31.33	32.99	33.54	40.17	39.62	41.83	36.86	41.83	36.30	35.20	42.94	30.22



Inhibition > 60%

Inhibition zwischen 50% und 60 %

Inhibition zwischen 40% und 50%

Inhibition < 40%

Staphylococcus Aureus

Tabelle 2 Blatt 4

Platte 7	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	40.17	44.04	42.94	47.36	49.02	45.70	44.04	46.80	41.83	39.07	41.28	38.51
B	37.41	46.80	46.25	48.46	49.02	52.88	50.67	48.46	51.78	49.02	45.15	40.73
C	40.73	48.46	47.91	52.33	51.23	53.99	52.88	55.09	53.99	51.78	49.57	31.33
D	36.86	47.36	49.57	54.54	55.09	50.67	47.36	51.78	53.44	52.88	50.12	36.30
E	39.62	46.25	46.80	59.52			55.65	56.75	59.52	51.23	46.25	39.62
F	35.20	48.46	46.80	49.57	51.23	57.31	51.78	47.91	44.59	49.57	42.94	39.62
G	35.20	39.62	38.51	44.59	47.91	45.15	47.36	39.07	44.59	46.25	37.41	32.44
H	32.99	30.78	31.88	37.41	38.51	39.07	27.46	41.83	34.65	36.30	25.80	34.65
Platte 8	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	31.33	37.96	38.51	40.17	44.04	46.80	41.83	45.15	36.30	41.28	39.62	32.44
B	40.17	45.70	42.94	47.91	46.80	49.02	43.49	50.12	45.70	47.36	39.07	30.22
C	35.75	40.17	47.91	49.57	45.15	26.36	29.12	31.88	37.41	37.41	43.49	30.22
D	40.73	44.04	50.67	11.99	8.12	4.25	0.38	5.35	5.91	7.56	40.17	35.20
E	34.65	40.73	47.91	3.70	8.67	-2.94	-3.49	5.35	4.25	2.04	32.99	35.75
F	37.96	43.49	41.83	29.67	21.38	7.01	10.33	18.07	5.91	19.17	35.75	40.17
G	35.75	37.41	44.59	42.38	46.25	44.04	46.25	44.59	44.59	41.83	39.07	31.88
H	29.67	32.99	36.86	32.44	34.09	37.96	34.65	32.44	32.99	28.01	23.59	38.51



Inhibition > 60%

Inhibition zwischen 50% und 60 %

Inhibition zwischen 40% und 50%

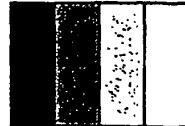
Inhibition < 40%

Staphylococcus Aureus

Tabelle 2

Blatt 5

Platte 9	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	39.07	36.30	42.38	39.07	38.51	40.17	32.44	35.75	35.75	40.17	34.09	35.20
B	37.41	39.07	42.38	44.59	42.94	38.51	38.51	41.28	42.94	38.51	37.96	30.22
C	35.75	46.25	43.49	44.04	47.91	45.70	46.80	45.70	43.49	43.49	41.83	34.09
D	35.75	42.94	49.57	47.36	52.33	51.78	48.46	49.02	47.91	46.25	41.28	32.99
E	32.99	38.51	46.80	48.46	51.28	50.12	51.78	49.57	51.78	51.78	39.07	35.20
F	33.54	41.28	42.94	45.15	55.65	51.28	51.78	51.28	45.15	32.99	39.62	29.67
G	31.88	39.62	41.28	39.07	42.94	42.94	36.30	39.62	35.20	37.96	32.99	36.30
H	32.44	29.67	27.46	34.09	31.88	30.78	31.88	33.54	31.88	27.46	26.91	26.36
Platte 10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	26.91	24.15	33.54	34.09	30.78	34.65	28.01	32.99	25.25	26.36	32.44	28.01
B	27.46	35.20	34.65	35.75	38.51	35.75	34.09	28.57	35.20	30.22	30.22	22.49
C	26.91	34.65	39.62	44.04	44.04	39.62	39.62	39.07	37.96	36.86	35.20	25.80
D	34.65	34.09	42.94	34.09	39.62	36.86	37.41	40.17	35.20	36.30	36.30	29.12
E	32.99	35.20	39.07	36.86	35.20	31.88	37.41	36.30	40.17	32.44	34.09	29.12
F	29.67	33.54	40.73	32.44	35.75	35.20	34.09	35.75	34.09	37.96	35.20	15.85
G	31.33	30.78	30.22	29.67	35.75	36.30	35.20	40.17	37.96	32.99	25.80	26.91
H	28.01	13.64	28.57	23.59	20.83	28.57	27.46	25.25	23.04	28.57	23.04	26.36



Inhibition > 60%

Inhibition zwischen 50% und 60 %

Inhibition zwischen 40% und 50%

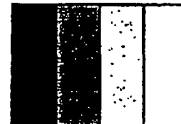
Inhibition < 40%

Staphylococcus Aureus

Tabelle 2

Blatt 6

Platte 11	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	12.54	10.88	8.12	13.64	8.67	13.64	15.85					
B	7.01	18.07	16.96	13.09	14.75	14.20	16.41					
C	14.20	9.22	1.49	10.33	18.62	13.09	13.64					
D	15.85	9.22	4.80	14.75	19.72	14.20	11.99					
E	8.67	8.67	2.59	8.67	13.09	13.09	13.09					
F	9.22	13.64	4.80	8.67	11.99	14.20						
G	4.80	18.62	8.67	7.01	13.09	7.01						
H	-0.73	5.91	7.56	12.54	9.22	4.80						



Inhibition > 60%
 Inhibition zwischen 50% und 60 %
 Inhibition zwischen 40% und 50%
 Inhibition < 40%

Pseudomonas aeruginosa

Tabelle 3

Blatt 1

Platte Nr.	Reihe	Spalte	Edukt-Kombination	% Inhibition von Pseudomonas aeruginosa
3	D	8	2.3.4.7	40.88
3	E	6	1.5.8.9	40.56
3	E	5	1.4.9.10	40.24
3	E	7	1.6.9.10	40.24
4	D	6	3.6.7.9	39.27
3	F	4	1.4.6.9	38.95
4	D	5	3.5.6.10	38.63
3	G	6	1.5.9.10	37.98
6	F	4	2.3.4.6.10	37.66
3	B	4	1.4.5.9	37.34
3	E	4	1.4.6.8	37.34
3	F	5	1.5.6.7	37.34
3	D	6	1.5.7.10	37.34
3	G	8	2.3.4.10	37.34
5	D	6	1.2.7.8.9	37.01
4	E	6	3.6.7.10	36.69
6	D	4	2.3.4.6.8	36.69

Pseudomonas aeruginosa

Tabelle 3

Blatt 2

3	F	7	1.7.8.9	36.37
5	C	5	1.2.5.8.9	36.37
5	C	6	1.2.6.9.10	36.37
3	B	5	1.4.7.10	36.05
3	C	7	1.6.8.9	36.05
4	F	6	3.6.8.9	36.05
5	C	7	1.3.4.5.9	35.72
6	D	3	1.6.8.9.10	35.72
3	B	6	1.5.7.8	35.40
6	E	4	2.3.4.6.9	35.40
6	B	5	2.3.4.8.9	35.40
6	E	5	2.3.5.6.7	35.40
3	B	8	2.3.4.5	34.76
3	B	3	1.3.7.9	34.43
4	E	4	3.4.7.10	34.43
4	C	6	3.6.7.8	34.43
4	D	7	3.8.9.10	34.43
5	D	3	1.2.4.6.9	34.43
6	E	7	2.3.7.8.9	34.43

Blatt 3

Tabelle 3

Pseudomonas aeruginosa

6	E	9	2.4.6.7.10	34.43
4	B	3	3.4.5.6	34.11
4	E	3	3.4.5.9	34.11
4	C	5	3.5.6.9	34.11
5	C	4	1.2.4.9.10	34.11
5	E	6	1.2.7.8.10	34.11
6	D	7	2.3.6.9.10	34.11
4	B	5	3.5.6.8	33.79
4	F	5	3.5.7.9	33.79
4	C	7	3.7.9.10	33.79
6	D	5	2.3.4.9.10	33.79
2	G	2	3.4.6	33.47
8	B	4	1.3.4.5.6.7	33.47
5	D	4	1.2.5.6.7	33.15
5	F	6	1.2.7.9.10	33.15
6	D	9	2.4.6.7.9	33.15
2	F	3	3.5.8	32.82
2	D	4	3.6.10	32.82

Staphylococcus aureus

Tabelle 4

Blatt 1

Platte Nr.	Reihe	Spalte	Edukt-Kombination	% Inhibition von Staphylococcus aureus
7	E	5	4.5.7.8.9	63.39
6	E	7	2.3.7.8.9	62.83
7	E	6	4.7.8.9.10	61.17
6	D	5	2.3.4.9.10	60.62
5	E	6	1.2.7.8.10	60.62
6	D	4	2.3.4.6.8	60.07
7	E	4	3.6.8.9.10	59.52
7	E	9	1.2.3.5.6.9	59.52
4	E	6	3.6.7.10	58.41
6	C	7	2.3.6.8.10	57.86
4	E	7	4.5.6.7	57.86
7	F	6	5.6.7.8.9	57.31
6	E	6	2.3.5.8.10	57.31
7	E	8	1.2.3.4.7.8	56.75
6	C	5	2.3.4.8.10	56.75
6	C	8	2.4.5.6.9	56.75

Staphylococcus aureus

Tabelle 4

Blatt 2

6	C	9	2.4.6.7.8	56.75
6	E	4	2.3.4.6.9	56.20
5	C	6	1.2.6.9.10	56.20
9	F	5	2.5.6.7.9.10	55.65
7	E	7	1.2.3.4.5.7	55.65
6	E	3	1.7.8.9.10	55.65
6	C	4	2.3.4.6.7	55.65
6	E	5	2.3.5.6.7	55.65
5	D	4	1.2.5.6.7	55.65
5	E	8	1.3.4.8.10	55.65
7	D	5	4.5.6.9.10	55.09
7	C	8	1.2.3.4.6.9	55.09
6	C	6	2.3.5.7.10	55.09
6	E	8	2.4.5.7.8	55.09
6	D	9	2.4.6.7.9	55.09
6	C	10	2.4.7.9.10	55.09
7	D	4	3.6.7.9.10	54.54
6	B	5	2.3.4.8.9	54.54
6	D	7	2.3.6.9.10	54.54
6	F	9	2.4.6.8.9	54.54

Staphylococcus aureus Tabelle 4 Blatt 3

5	E	5	1.2.5.9.10	54.54
4	D	7	3.8.9.10	54.54
7	C	6	4.6.7.9.10	53.99
7	C	9	1.2.3.5.6.7	53.99
6	C	3	1.6.7.9.10	53.99
6	B	6	2.3.5.7.9	53.99
6	D	10	2.4.8.9.10	53.99
5	C	5	1.2.5.8.9	53.99
5	C	7	1.3.4.5.9	53.99
5	D	8	1.3.4.8.9	53.99
3	E	7	1.6.9.10	53.99
7	D	9	1.2.3.5.6.8	53.44
6	B	9	2.4.5.9.10	53.44
6	E	9	2.4.6.7.10	53.44
5	E	9	1.3.5.7.10	53.44
4	E	5	3.5.7.8	53.44
4	C	7	3.7.9.10	53.44
7	B	6	4.6.7.8.10	52.88
7	C	7	6.7.8.9.10	52.88