

SYNTHESE UND BIOLOGISCHE EVALUIERUNG VON NATURSTOFFDERIVATEN

Dissertation

Zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

der

Naturwissenschaftlichen Fakultät II

Chemie, Physik und Mathematik

Martin-Luther-Universität

Halle-Wittenberg

vorgelegt von

Herrn Immo Serbian

geb. am 26.08.1990 in Gehrden

Gutachter:

1. Prof. Dr. René Csuk (Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg)
2. Prof. Dr. Paola Barraja (Università degli Studi di Palermo)

Halle (Saale), den 03. September 2020

Datum der Verteidigung: 7. April 2021

Die vorliegende Arbeit wurde von März 2017 bis August 2020 am Institut für Chemie im Bereich für Organische Chemie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg im Arbeitskreis von Prof. Dr. René Csuk angefertigt. Die Dissertation wurde in kumulativer Form verfasst und die Forschungsergebnisse wurden bereits in internationalen „peer-reviewed“ Fachzeitschriften publiziert.

Danksagung

Ein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. René Csuk – Ich danke Ihnen für Ihr Vertrauen und dass Sie immer an mich geglaubt haben; die zahlreichen Ratschläge sowohl in Bezug auf fachliche als auch berufliche Perspektiven, den mir von Ihnen gewährten Freiraum und viele anregende Ideen. Sie haben mich stets unterstützt und mit Ihrer Begeisterung für die Chemie waren Sie stets ein Vorbild für mich. Ich danke Ihnen auch dafür, dass Sie immer ein offenes Ohr und Zeit für mich hatten. Vielen Dank!

Ebenso möchte ich mich bei der gesamten Arbeitsgruppe für die schöne Zeit und Hilfe bedanken. Hierbei möchte ich mich auch in besonderer Weise bei Herrn M. Sc. O. Kraft und M. Sc. M. Kozubek bedanken, die Zeit mit euch war mir immer eine große Freude. Ein weiterer Dank gilt Dr. J. Wiemann, ich danke dir für zahlreiche lange Gespräche und eine unvergessliche Zeit im Labor. Sowie M. Sc. B. Brandes, unsere Gespräche waren immer sehr konstruktiv und interessant.

Ein großer Dank gilt hier auch allen Studenten, die ich betreuen durfte und durch deren direkte oder indirekte Hilfe ein Beitrag zum Gelingen dieser Arbeit geleistet wurde. Ein besonderer Dank gilt hier Dipl.-LMChem. F. Helmrich, für die angenehme Zusammenarbeit im Labor.

Ein weiterer Dank gilt Dr. R. Schäfer; ich danke Ihnen für die netten Gespräche und hilfreichen Tipps während meiner gesamten Zeit in der Arbeitsgruppe. Ebenso danke ich Dr. D. Ströhl, Yvonne Schiller und B. Sc. S. Ludwig für die Aufnahme zahlreicher NMR-Spektren. Einen besonderen Dank möchte ich auch Dr. R. Kluge widmen, sowohl für die Anfertigung zahlreicher MS-Spektren, als auch für die vielen hilfreichen Gespräche und Amüsanten Momente. Bei B. Sc. V. Simon, M. Schneider, Dipl.-LMChem. T. Schmidt und Dr. A. Kramell bedanke ich mich für die Aufnahme der UV/Vis-, IR-, MS- und Drehwertmessungen.

Ich danke auch meinen Freunden, die mich immer unterstützt haben und mit denen auch die Zeit außerhalb des Labors unvergesslich geworden ist.

Abschließend möchte ich mich bei meiner Familie für die gewährte Unterstützung und das Vertrauen in den letzten Jahren bedanken.

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung.....	1
1.1. Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe – die Terpene.....	2
1.2. Boswelliasäure.....	4
1.2.1. Vorkommen und Bedeutung	4
1.2.3. Pharmakologische Wirkung	4
1.3. Targets in der Tumorthherapie	5
1.3.1. Der programmierte Zelltod.....	5
1.3.2. Mitocane.....	6
1.3.3. Carboanhydrase IX Inhibition	7
2 Zielstellung	8
3 Zusammenfassung und Einordnung der Forschungsergebnisse	9
3.1. Zur Synthese der Boswelliasäure.....	9
3.1.1. Die Partialsynthese von α - und β -Amyrin ^[107]	10
3.1.2. Umwandlung von Hedragenin und Gypsogenin ^[126]	11
3.1.3. Die Problematik der Boswelliasäuresynthese	13
3.2. Targeting Tumors	14
3.2.1. Steroidale Mitocane ^[151]	14
3.2.2. Mitocane „einfacher Rhodamine“ ^[157]	16
3.2.3. Ureidobenzenesulfonamide als Carboanhydrase Inhibitoren ^[168]	17
4 Zusammenfassung der Dissertation.....	18
5 Literaturverzeichnis.....	20
6 Abbildungsverzeichnis.....	26
7 Tabellenverzeichnis	27
Anhang	A
Publikation P-1	B
Publikation P-2	B
Publikation P-3	C
Publikation P-4	C
Publikation P-5	D
Lebenslauf	E
Publikationsliste	F
Erklärung über den Autorenanteil	H
Selbstständigkeitserklärung	J

Abkürzungsverzeichnis

5-LO	5-Lipoxygenase
α (<i>alpha</i>)-Stellung	Substituent unterhalb der Molekülebene
ABA	3- <i>O</i> -Acetyl-boswelliasäure
AKBA	3- <i>O</i> -Acetyl-11-keto-boswelliasäure
Akt	Proteinkinase B
β (<i>beta</i>)-Stellung	Substituent oberhalb der Molekülebene
β -ABA	β -3- <i>O</i> -Acetyl-boswelliasäure
BAIB	Iodbenzoldiacetat
β -AKBA	β -3- <i>O</i> -Acetyl-11-keto-boswelliasäure
β -BA	β -Boswelliasäure
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
β -KBA	β -11-Keto-boswelliasäure
CXCR4	CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4
DMP	Dess-Martin-Periodinan
EPR	engl. "enhanced permeability and retention"
FITC	Fluorescein isothiocyanat
HMPA	Hexamethylphosphorsäuretriamid
KBA	11-Keto-boswelliasäure
K_i	Inhibitionskonstante
LiHMDS	Lithium-bis(trimethylsilyl)amid
EC ₅₀	Mittlere effective Konzentration
mTOR	engl. "mechanistic Target of Rapamycin"
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
TEMPO	2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxyl
THF	Tetrahydrofuran
TNF α	Tumornekrosefaktor <i>alpha</i>
PCC	Pyridiniumchlorochromat
PDC	Pyridiniumdichromat
PI	Propidiumiodid
PI3K	Phosphoinositid-3-Kinasen
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies

1 Einleitung

Trotz intensiven Forschungsbemühens in den letzten Jahrzehnten, bleiben die Tumorerkrankungen, oder auch umgangssprachlich Krebs mit Abstand die zweithäufigste Todesursache weltweit – jährlich sterben 9.6 Millionen Menschen an bösartigen Tumoren mit steigenden Prognosen für die kommenden Jahre. ^{[1] [2] [3]}

Zur üblichen Therapie zählt die operative Entfernung des Tumorgewebes sowie Radiotherapie und/oder Chemotherapie; insbesondere bei fortgeschrittenen Tumorerkrankungen und möglicher Metastasenbildung ist eine Operation mit Bestrahlung meist nicht ausreichend und deshalb zusätzliche Chemotherapie notwendig. ^[4] Einige der kleineren Wirkstoffmoleküle der letzten Dekade sind vielversprechend die außer Kontrolle geratenen, wuchernden Zellen zu bekämpfen. Ein großes Problem bei der Chemotherapie ist ursächlich darin begründet, dass Chemotherapeutika weitgehend unselektiv Tumorzellen „töten“ und so ebenfalls gesundes Gewebe beschädigen. Die Beschädigung von gesundem Gewebe kann zu teils starken Nebenwirkungen führen; so ist beispielsweise eine Schädigung von Herzen, Gehirn oder Innenohr, welche zu einem Verlust des Hörens führen kann, möglich. ^[5] Ein zentrales Anliegen aktueller Forschung ist das selektive Fokussieren der Therapeutika auf Tumorzellen.

Dies kann beispielsweise durch Konjugate mit Nanopartikeln geschehen; mit diesen ist es möglich geringe Wirkstoffstabilitäten zu umgehen, die Wirkstoffeffizienz, sowie die Spezifität zu erhöhen. Des Weiteren kann auch die Löslichkeit erhöht werden. ^{[6] [7]} Grundlegend für die Erhöhung der Selektivität gegenüber Tumoren ist hierbei der EPR-Effekt. Dieser beschreibt die erhöhte Permeabilität und Retention von Makromolekülen oder Nanopartikeln in Tumorgeweben. Die vasculäre Permeabilität um das Tumorgewebe ist durch Entzündungsreaktionen und vasculäre Effektoren erhöht, sodass Makromoleküle besser aufgenommen werden. Dies erklärt auch teilweise, wieso unselektive Antitumor-Medikamente stärker auf Tumorgewebe wirken. Diese Strategie bezeichnet man auch als „passive targeting“. Ebenso erhöht die PEGylierung durch den „Stealth-Effekt“ die Halbwertszeit und ermöglicht somit, dass die Nanopartikel in das gewünschte Gewebe gelangen. Allerdings kann dies auch die Nebenwirkungen erhöhen. ^[8] Bei dem „active targeting“ wird die Strategie verfolgt, durch Konjugation mit Liganden gezielt dafür zu sorgen, dass die Tumorzelle den Wirkstoff aufnimmt. ^{[9] [10]}

Neben Nanopartikeln bieten auch Konjugate mit monoklonalen Antikörpern oder mit anderen organischen Molekülen wie mehrfach ungesättigten Fettsäuren, Folsäure, Hyaluronsäure oder Peptiden die Möglichkeit, Wirkstoffe gezielt im Tumorgewebe anzureichern. ^[11]

Insbesondere in letzter Zeit bekommt auch die Klasse der „Mitocane“ ^{[12] [13] [14] [15] [16] [17]} höhere Aufmerksamkeit als potentielle Chemotherapeutika. Dies hat verschiedene Gründe. Ein Vorteil, der sich beispielsweise bei lipophilen Kationen ergibt, ist die erhöhte Löslichkeit im wässrigen Medium. Zum anderen ist ein intrinsischer Vorteil, dass Zelltodkaskaden des Mitochondriums der Tumorzelle ausgelöst werden. Damit ist es möglich, einen programmierten Zelltod der Tumorzelle herbeizuführen, sodass stärkere Entzündungsreaktionen vermieden werden können, wodurch der Stress für den Patienten verringert wird. ^{[18] [19] [20]}

Eine Vielzahl aktueller Wirkstoffe leitet sich von Naturstoffen ab. Die Natur dient damit seit jeher als Vorbild. Durch die Identifikation von Naturstoffen ist es maßgeblich möglich, deren Interaktion und Funktion zu studieren und dadurch abzuleiten, wie bessere Wirkstoffe aufgebaut sein müssen. Damit

bilden die Natur und das Verständnis über die Naturstoffe Grundpfeiler einer modernen Wirkstoffforschung.^{[21] [22]}

Damit ist es möglich aus natürlichen Leitverbindungen einfachere Wirkstoffe herzustellen, die jedoch die gleiche Wirkung behalten. Ein Beispiel dafür stellen die β -Lactam Antibiotika dar.

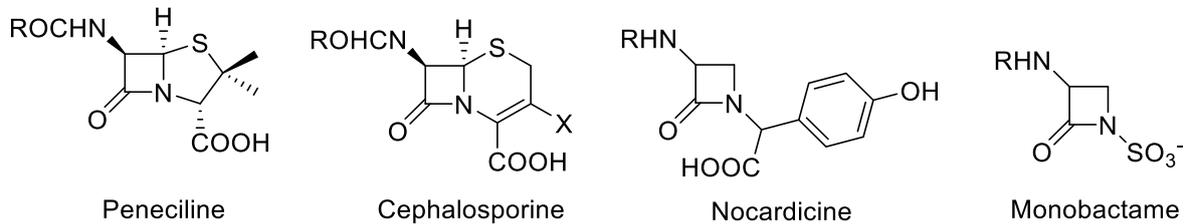


Abbildung 1: Von der Natur abgeleitete β -Lactam Antibiotika

Hierbei können die komplexeren Penicilline, sowie Cephalosporine durch einfacher zugängliche Nocardicine und Monobactame abgelöst werden. Diese unterscheiden sich jedoch teilweise stark in ihrer Selektivität gegenüber einzelnen Bakterienstämmen.^[23]

1.1. Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe – die Terpene

Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe bilden eine reichhaltige Quelle für neuartige Verbindungen und Leitstrukturen. Eine Analyse von Cragg *et al.*^[24] der neuen Wirkstoffe von 1981 bis 2010 konnte zeigen, dass nur 36% rein synthetischen Ursprunges sind, und der Großteil von 64% Naturstoffe, Naturstoffderivate und von Naturstoffen abgeleitete Moleküle umfasst.

Damit bilden Naturstoffe auch weiterhin einen wichtigen Grundpfeiler der Wirkstoffforschung,^[25] sowohl durch die häufig inhärente Bioaktivität aber insbesondere auch durch ihre meist einzigartige Struktur. Naturstoffe sind oftmals komplex aufgebaut und bilden dadurch eher räumlich ausgedehntere Strukturen, die die entsprechenden Rezeptoren besser ausfüllen.^{[26] [27] [28]}

Zu diesen zählen auch die Triterpene. Terpene sind aus „n“ Isopreneinheiten aufgebaut und lassen sich danach in Hemiterpene ($n = 1$), Monoterpene ($n = 2$), Sesquiterpene ($n = 3$), Diterpene ($n = 4$), Sesterterpene ($n = 5$), Triterpene ($n = 6$) und Tetraterpene ($n = 8$) klassifizieren. Vielen dieser Verbindungen konnten bereits interessante pharmakologische Wirkungen zugeschrieben werden, und weitreichende Studien konnten einige Wirkmechanismen dieser Verbindungen aufklären (Tab. 1). Diese Verbindungen besitzen ein weitreichendes antitumor Potential – viele Triterpene inhibieren auch die Effluxpumpen (MDR1, MRP1/MRP2, MXR), die hauptsächlich für multiresistente Tumorphentypen verantwortlich sind.^[29]

Tabelle 1: Übersicht einiger apoptotischer Triterpen Wirkmechanismen

Maslinsäure ^{[30] [31] [32] [33]}	<p>↑Caspase 3; Bildung von ROS; Bax; Cytochrom c; Caspase 9; JNK; p53; Bid; Caspase 7; Caspase 8</p> <p>↓Bcl-2, mitochondriales Membranpotential, MRP-1</p>
Ursolsäure ^{[34] [35]}	<p>↑Caspase 3 und Caspase 9, JNK, Ca²⁺ influx</p> <p>↓NF-κB, Bcl-2</p>
Terpenoide ^{[31] [36]}	<p>↑Mitochondriale Membran Permeabilität, Caspase 3 & 9</p> <p>↓Bcl-2, NF-κB, STAT3, TNF, angiogenesis, PI3K/Akt/mTOR</p>
Erythrodiol, Uvaol ^[37]	<p>↑JNK</p> <p>↓Mitochondriales Membranpotential</p>
Asiasäure ^{[38] [39]}	<p>↑p21/WAF1, MAPKs (p38, ERK1/2, but not JNK), Bax, Caspase 9, IKK</p> <p>↓Bcl-2, NF-κB, cyclinB1, cyclinA, Cdc2, and Cdc25C</p>
AKBA ^[36]	<p>↑Cytokine</p> <p>↓VEGF, Src Kinasen, NF-κB, Akt/mTOR, Ribosomale Protein S6 Kinase</p>
TPD (Diol aus Boswellia serrata) ^[40]	<p>↑ROS und NO, TNF-R1, DR4, Bax, AIF, Smac/DIABLO, Cytochrome c, Caspase 3, 8, 9</p> <p>↓Bcl-2, mitochondriales Membranpotential</p>
Glycyrrhetinsäure ^{[41] [42]}	<p>↑ERK, JNK</p> <p>↓TNF-α, interleukin-1b, NF-κB, Akt/mTOR/STAT3</p>
Oleanolsäuremethylester ^[43]	<p>↑Cytochrome c, Caspase 3/7, ROS</p> <p>↓Mitochondriales Membranpotential</p>
Betulinsäure ^{[44] [45]}	<p>Zielt auf die "Mitochondrial permeability transition pore" (PTPC)</p> <p>↓cyclin D1, Bcl-2, Zellüberleben, VEGF, VEGFR, EGFR, NF-κB</p>
CDDO/CDDO-Me ^{[45] [46] [47]}	<p>↑Caspase 3, Bax, Cytochrome c</p> <p>↓Mitochondriales Membranpotential, MDR-1, NF-κB, Bcl-2, cyclinD1, COX-2, MMP-9, VEGF, TNF</p> <p>Apoptose unabhängig von p53</p>

1.2. Boswelliasäure

1.2.1. Vorkommen und Bedeutung

Die *Boswellia*-Arten zählen zu den Balsambaumgewächsen (Burseraceae); sie wachsen in Trockengebieten des Horn von Afrikas, Indiens oder Arabiens. Die Geschichte des Weihrauchs geht bis ins Altertum zurück. So findet das Weihrauchharz beispielsweise im katholischen Gottesdienst als Räuchermittel Anwendung mit dem Hintergrund, dass der wohlwollende Duft eine tiefere Verbundenheit mit Gott hervorrufe. Weihrauch findet beispielsweise auch in der Bibel als eine der drei Gaben an das neugeborene Jesuskind Erwähnung. [48] [49]

Die Zusammensetzung des Weihrauchharzes lässt sich in drei grobe Kategorien einteilen, den Schleimstoffen (10-23%), den ätherischen Ölen (5-15%) und den Harzen (55-66%), zu denen auch die Boswelliasäuren zählen. [50] Die genaue Zusammensetzung variiert dabei je nach Art. Therapeutisch relevante Arten sind *Boswellia serrata*, *Boswellia sacra*, *Boswellia carteri* und *Boswellia papyrifera*.

Boswelliasäure konnte erstmals 1898 von TSCHIRSCH isoliert werden. [51] Spätere Untersuchungen von WINTERSTEIN und STEIN (1932) zeigten dann, dass es sich bei der isolierten Verbindung um ein Gemisch aus α - und β -Boswelliasäure handelt [52]; diese unterscheiden sich dabei im Triterpengerüst; Die α -Boswelliasäure wird zu den β -Amyrin gezählt, wohingegen die β -Boswelliasäure den α -Amyrinen zugerechnet wird. Neben diesen Grundstrukturen finden sich auch die acetylierten Formen, die 3-O-Acetyl-boswelliasäure (**ABA**), sowie die oxidierte Form, die 11-Keto-boswelliasäure und eine gemischte Form, die 3-O-Acetyl-11-keto-boswelliasäure (**AKBA**) beider Grundgerüsttypen im Extrakt. Hauptbestandteil sind die β -Boswelliasäuren. [53] Insbesondere bei der fokussierten Synthese von JAUCH *et al.* wird nur β -AKBA erhalten. [54] Die heilende Wirkung des Weihrauchs wird in erster Linie den Boswelliasäuren zugeschrieben. [55] [56]

Tabelle 2: Prozentuale Anteile von einigen Boswelliasäuren in der Harzsäurefraktion [57]

	β -BA	β -ABA	β -KBA	β -AKBA
ENNET <i>et al.</i> [58]	-	-	3.8 %	4.2 %
SHAO <i>et al.</i> [59]	21.1 %	0.05 %	7.7 %	0.2 %
MAJEED <i>et al.</i> [60]	10.1 %	6.8 %	5.1 %	3.8 %

1.2.3. Pharmakologische Wirkung

Noch heute findet Weihrauch in der ayurvedischen Medizin aufgrund seiner antiseptischen, antiarthritischen und antiphlogistischen Eigenschaften Verwendung. [48] Weihrauchzubereitungen wurden in der ayurvedischen Medizin schon seit langem als Heilmittel und bei Erkrankungen wie Blutkrankheiten, chronischen Darmerkrankungen [61] [62], Entzündung der Eierstöcke [63], Arthritis [64] [65] und Erkrankungen der Atemwege [25] [66], insbesondere Asthma verwendet. [55][66] [67] Durch AMMON *et al.* konnte der Zusammenhang der Boswelliasäure und der entzündungshemmenden Wirkung erschlossen werden. [68] Die entzündungshemmende Eigenschaft beruht hierbei auf der Inhibierung Leukotriensynthese und führt damit direkt zur Hemmung der Bildung von Entzündungsmediatoren. Dabei wird die 5-Lipoxygenase (5-LO) durch **AKBA** mit einem EC₅₀-Wert von 1.5 μ M inhibiert. Der große Vorteil dieser gezielten Inhibierung im Gegensatz zu anderen entzündungshemmenden Medikamenten ist, dass die 5-LO selektiv inhibiert wird und die Prostaglandinsynthese weiter stattfindet, wodurch diese Gewebshormone weiterhin der Signalübertragung dienen und der Entzündungsreaktion entgegenwirken.

Diese entzündungshemmende Eigenschaft der Boswelliasäuren scheint maßgeblich für die „gesunden“-Eigenschaften verantwortlich zu sein und auch protektiv auf Herzgewebe und Nervenzellen zu wirken. ^[69] ^[70]

Neben diesen positiven Eigenschaften ist **AKBA** auch antitumor aktiv und kann die Blut-Hirn-Schranke überwinden. ^[71] Ein vermuteter Ansatzpunkt ist vermutlich der Chemokinerezeptor CXCR4, wodurch **AKBA** die Invasion und Metastasenbildung von Tumorzellen verhindert ^[72]; zusätzlich wird der TNF α -Faktor verringert. ^[73] ^[70] Ebenso stehen Entzündungsreaktionen stark mit der Tumorbildung und Invasion in Zusammenhang, was durch die guten entzündungshemmenden Eigenschaften der Boswelliasäure gute Therapiemöglichkeiten bietet.

1.3. Targets in der Tumorthherapie

In der Tumorthherapie gibt es verschiedene Proteine, die als Target für Therapeutika interessant erscheinen. So sind besonders Kinasen PI3K/AKT/mTOR von Interesse, da diese direkt den Zellzyklus beeinflussen. In vielen Tumorarten ist besonders dieser Signalweg hochreguliert und verhindert dadurch die Apoptose. ^[74]

Das Hauptziel besteht zumeist darin, einen programmierten Zelltod in Form der Apoptose auszulösen. Im Weiteren werde ich kurz auf die Wirkweise der Mitocane und Carboanhydrase IX Inhibitoren in der antitumor-Therapie eingehen.

1.3.1. Der programmierte Zelltod

Der programmierte Zelltod spielt eine essentielle Rolle für mehrzellige Organismen und ist keinesfalls zufällig sondern hochorganisiert. ^[75] Das Aktivieren der Zelltodsignalwege kann daher zu morphologischen und biochemischen Veränderungen im Organismus führen. So wird beispielsweise die Separation der Finger durch die Apoptose embryonaler Zellen herbeigeführt. ^[76] In einem lebenden Organismus befinden sich die Zellen jederzeit in einem Gleichgewicht zwischen Leben und Tod; dadurch ist es für den Organismus möglich, dass kleine Änderungen den programmierten Zelltod auslösen und so infizierte oder beschädigte Zellen entfernt werden. ^[77] ^[78] Dabei unterscheidet man hauptsächlich zwischen drei Arten des programmierten Zelltods: Zum einen die Apoptose, bei der eine Fragmentierung der DNA eintritt, gefolgt von der Bildung von kleinen Vesikeln mit Zellbestandteilen und zuletzt einer Phagozytose und der Zersetzung dieser apoptotischen Vesikel durch angrenzende Zellen. ^[79] Und zum anderen die Autophagozytose – hierbei werden Zellbestandteile recycelt. Dabei werden kleine Vesikel, die Teile des Zytoplasmas und von Organellen enthalten, dem Lysosom zugeführt und dort wiederverwertet. ^[80] Der letzte der drei großen Zelltodmechanismen, welche allerdings kein programmierter Zelltod ist, ist die Nekrose. Dabei werden von beschädigten Zellen Zytoplasma und Zellorganellen in den extrazellulären Raum abgegeben, was meistens zu Entzündungsreaktionen führt. ^[81] Dies kann beispielsweise durch Zerreißen der Membran, Frost-Tau-Zyklen oder starke osmotische Gradienten herbeigeführt werden. Seit 2005 und besonders in der letzten Dekade vermehren sich aber Befunde, dass es auch kontrollierte Nekrose, die Nekroptose, gibt. ^[82] ^[83]

1.3.2. Mitocane

Das Mitochondrium ist in gewisser Weise der Dreh- und Angelpunkt der Zelle. Sowohl als „Kraftwerk“ der Zelle spielt es eine entscheidende Rolle in der Energieversorgung aber auch als zentrale Schalteinheit vieler Signalwege – beispielsweise bei den Zelltod Mechanismen. ^{[77] [84] [18]} Diese Eigenschaft des Mitochondriums – direkt den Zelltod von Zellen zu beeinflussen und Apoptose auslösen zu können – macht es zu einem idealen Target für die antitumor-Therapie.

Als Mitocane bezeichnet man Zellgifte, die den Zelltod über das Mitochondrium auslösen. Dies birgt insbesondere in Bezug auf Tumorzellen einige Vorteile, was Mitocane zu ausgesprochen interessanten Verbindungen in Bezug auf die Chemotherapie macht. Bei Tumorzellen sind generell die Zelltodmechanismen gestört. Dadurch ist es diesen Zellen möglich, unkontrolliert zu wachsen und in fremdes Gewebe einzudringen. Sie ignorieren die Signale, die den Zelltod auslösen sollten, um dieses unkontrollierte Wachstum zu stoppen. ^[85]

Obwohl Tumorzellen an sich „immun“ gegen zelltodauslösende Signale zu sein scheinen, kann das Mitochondrium in Tumorzellen den Zelltod durch Apoptose induzieren. Tumorzellen sind teilweise dafür prädestiniert, sodass die Apoptose „leichter“ möglich ist, als bei gesunden Zellen ^[5] – Da dies eine inhärente Selektivität bedeuten kann, stellen Mitocane sehr interessante Therapeutika dar: Somit ist es beispielsweise möglich, Apoptose direkt auszulösen indem anti-apoptotische Proteine inhibiert werden. Dies funktioniert beispielsweise bei den ABT-ähnlichen Inhibitoren (ABT-737, ABT-263), die die Proteine der BCL-2 Familie inhibieren. ^{[3] [18] [86]} Ebenso ist bekannt, dass in Tumorzellen der Stress durch reaktive Sauerstoff Spezies (ROS) permanent erhöht ist. Somit können Verbindungen, wie Triterpene, Resveratrol oder Vitamin E, die einen plötzlichen Anstieg an ROS erzeugen, durch das Mitochondrium Apoptose auslösen. ^[87]

Die Zelltodkaskade der Mitochondrien endet immer mit dem Auflösen der Kompartimentierung, also einer Durchlässigkeit der äußeren mitochondrialen Membran, welches zur Cytochrom c Ausschüttung führt. An diesem Punkt – der als „Point of no return“ bekannt ist – ist der Zelltod unausweichlich. ^[88]

1.3.3. Carboanhydrase IX Inhibition

Die Carboanhydrasen sind eine essentielle Enzymklasse für jegliches Leben; sie regulieren das Säure-Base-Gleichgewicht in Blut und Gewebe durch die Umwandlung von Kohlenstoffdioxid und Wasser zu Carbonat und Protonen. Wie wichtig die Carboanhydrasen sind, erkennt man auch an ihrer hohen Turnoverzahl von $200 \text{ k}\cdot\text{s}^{-1}$ bis $1 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ ^[89]; das bedeutet, dass 200.000 bis 1 Million dieser Umsätze pro Sekunde stattfinden. Die Acetylcholinesterase, welche essentiell für die Funktionen des Nervensystems verantwortlich ist, besitzt eine geringere Turnoverzahl von 25.000 Umsätzen pro Sekunde.^[90]

Ein weiterer Therapieansatz der letzten Jahrzehnte war der Einsatz von Carboanhydrase IX-Inhibitoren in der Tumor-Therapie.^{[91] [92]} Grundlage hierfür ist, dass in Tumorzellen – und insbesondere in hypoxischen Tumorzellen – Carboanhydrase IX überexprimiert ist. Hypoxische Tumoren entstehen dadurch, dass das Wachstum der Tumorzellen zu schnell ist und durch die mangelnde Blutversorgung eine Unterversorgung an Sauerstoff entsteht. Dies führt zu einer Acidose des extrazellulären Bereiches und einen verminderten pH-Wert. Ebenso trägt diese Versäuerung des umliegenden Gewebes dazu bei, dass das Tumorwachstum, die Proliferation und Invasion von diesen Tumorzellen erhöht^[93] ist und umliegendes Gewebe stärker geschädigt wird.^{[94] [95] [96]} Der Phänotyp hypoxischer Tumore geht zumeist mit schlechten Prognosen und resistenten Tumorarten einher.^{[97] [98]}

Damit stellen Carboanhydrase-Inhibitoren eine interessante Verbindungsklasse dar, um die Tumor-Therapie zu unterstützen.^[99] Der Fokus liegt hierbei insbesondere auf den Carboanhydrasen IX und XII, beide sind stark tumor-assoziiert.^{[100] [101] [102] [103] [104] [105]} Am zugrunde liegenden Mechanismus der Antitumor Aktivität gibt es jedoch berechtigte Zweifel; so scheinen Carboanhydrase Inhibitoren zwar die Mikroumgebung des Tumors direkt zu beeinflussen, die Antitumor-Aktivität beruht jedoch auf einem anderen Mechanismus.^[106]

2 Zielstellung

Die Naturstoffklasse der Triterpene zeichnet sich durch ihre vielfältige biologische Aktivität aus, sodass sich ein Teilgebiet der Naturstoff- und Wirkstoffforschung intensiv mit Triterpenen befasst. Insbesondere die im Weihrauch vorkommenden Boswelliasäuren erwecken schon lange das Interesse an ihrer Isolierung und pharmakologischen Nutzbarkeit.

Der Schwerpunkt dieser Arbeit soll daher auf der Synthese und Isolierung von α -Boswelliasäure liegen, welche bisher nur schwer zu isolieren ist und wenige pharmakologische Untersuchungen dazu vorliegen. Ebenso sollen diese auf ihr zytotoxisches Potential im Hinblick auf humane maligne Tumorzelllinien untersucht werden.

Bei der Synthese soll diese zunächst ausgehend von Oleanolsäure erarbeitet werden. Wobei zunächst die Synthese von α - und β -Amyrin einen Schlüsselschritt darstellt. Im weiteren Verlauf soll eine zusätzliche Oxidation der Methylgruppen C-23 / C-24 die Grundlage zum Zugang zur Boswelliasäure liefern.

Ein weiterer Ansatz, bei dem bereits die entsprechenden Strukturmerkmale der Boswelliasäure vorhanden sind, beschäftigt sich mit Hederagenin und Gypsogenin als Ausgangsmaterialien. Durch die Umwandlung dieser beiden Verbindungen ineinander und eine Retro-Aldol-Reaktion, ist es möglich die absolute Konfiguration an C-4 im A-Ring so zu beeinflussen, dass entsprechende Vorstufen von α -Boswelliasäure erhalten werden. Dies legt auch den Grundstein zur Erweiterung der Chemie des Hederagenins und Gypsogenins.

In Bezug auf die antitumor-Eigenschaften sollen im weiteren Verlauf sowohl Rhodamin B-Konjugate der Boswelliasäure, als auch weitere Derivate des Rhodamins hergestellt werden, um Rückschlüsse auf die Wirkweise ziehen zu können und neue Ansatzpunkte für mitocane Verbindungen zu erhalten. Dazu sollen sowohl weitere Substanzklassen wie Steroide als Mitocane herangezogen werden aber auch einfachere Rhodamin B-Derivate synthetisiert werden, die ebenfalls gut zugänglich sind und interessante Kandidaten für die Tumorthherapie darstellen können.

Zur Behandlung hypoxischer Tumoren soll ebenso daran gearbeitet werden, selektive Carboanhydrase IX- und XII-Inhibitoren zu synthetisieren, die auf ihre Selektivität der Inhibierung und zytotoxische Aktivität gegen Tumorzellen getestet werden sollen.

3 Zusammenfassung und Einordnung der Forschungsergebnisse

3.1. Zur Synthese der Boswelliasäure

Bei der fokussierten Synthese und Extraktion nach JAUCH ^[54] konnte bisher nur 3-O-Acetyl- β -boswelliasäure erhalten werden. Die α -Boswelliasäure konnte bisher nicht – mit Ausnahme aufwendiger chromatographischer Isolierungen – präparativ dargestellt werden, obwohl diese je nach Art des Weihrauchs in großen Mengen vorhanden sein sollte. Daher sollte eine Partialsynthese zur Darstellung der α -Boswelliasäure erarbeitet werden.

Die Partialsynthese ausgehend von Oleanolsäure gliedert sich in drei Transformationen (Abb. 2)

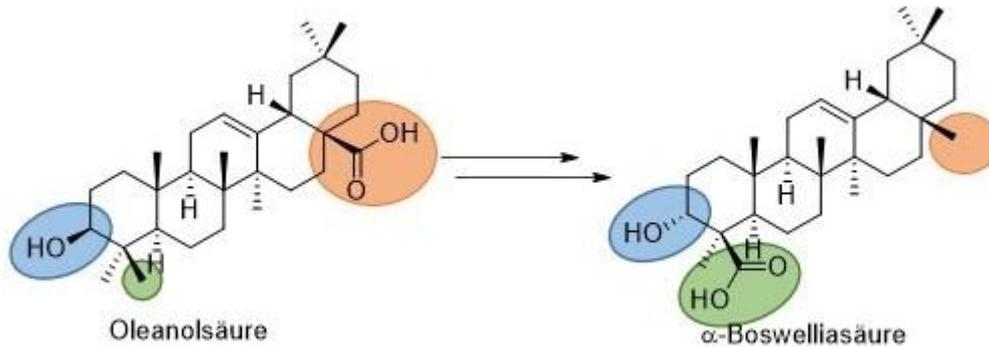


Abbildung 2: Transformation von Oleanolsäure zu α -Boswelliasäure

Zunächst muss die Carbonsäurefunktion an C-28 der Oleanolsäure (Abb. 2; orange) zur Methylgruppe reduziert werden, dies beugt auch dem Verwenden einer Schutzgruppe vor. In einem weiteren Syntheseschritt muss die Methylgruppe C-24 am A-Ring (Abb. 2; grün) zur Carbonsäure oxidiert werden. Die letzte Transformation ist notwendig zur Inversion der Hydroxygruppe an C-3 (Abb. 2; blau). Wie dieses erreicht werden konnte, ist im Folgenden dargestellt.

Ein weiterer Ansatz besteht in der Inversion der Stereozentren am A-Ring. Dabei wird zunächst wie bei der in Abb.2 beschriebenen Synthese die Carbonsäure des Gypsogenins reduziert (Abb. 3, A). Im weiteren Verlauf soll dann durch eine Retro-Aldol-Reaktion die absolute Konfiguration an C-4 des A-Rings invertiert werden um so eine Vorstufe der α -Boswelliasäure zu erhalten, die dann im Folgenden unter milden Bedingungen zur α -Boswelliasäure oxidiert wird.

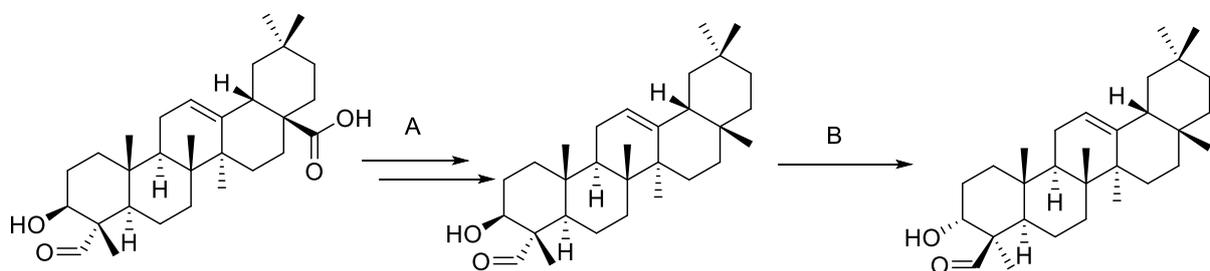


Abbildung 3: Transformation von Gypsogenin zu α -Boswelliasäure

3.1.1. Die Partialsynthese von α - und β -Amyrin^[107]

Die pentacyclischen Triterpene der Amyrine gehören zu den am häufigsten vorkommenden sekundären Pflanzeninhaltsstoffen. Sie bilden die Ausgangsstoffe der Biosynthese von Oleanol- und Ursolsäure und finden sich in der Cuticula vieler Pflanzen, wie Tomaten^[108], Orangen und Pfeffer^[109], wo sie die erste Schutzschicht gegen die feindliche Umwelt durch ihre antimikrobielle^[110] und antifungale^[111] Wirkung darstellen.

Weiterhin zeichnen sich die Amyrine durch eine Vielzahl weiterer pharmakologisch interessanter Eigenschaften aus; sie wirken entzündungshemmend^[112] ^[113] ^[114], antischmerzwahrend^[115], gastroprotektiv^[116] und zeigen Potential durch Derivatisierung.^[117]

Ungeachtet dessen, dass die Amyrine allgegenwärtig sind, ist es dennoch problematisch größere Mengen α - und β -Amyrin zu erhalten.^[118] Dies liegt mitunter an der schwierigen Aufreinigung dieser Gemische; daher ist es auch noch immer von Bedeutung α - und β -Amyrin besser zugänglich zu machen.^[113] ^[119] Die erste Partialsynthese von β -Amyrin wurde bereits 1968 von BARTON durchgeführt.^[120] Ebenso gelang COREY die erste Totalsynthese einiger β -Amyrin Triterpene, sowie die des β -Amyrins 1993.^[121] Viele synthetische Ansätze beschäftigten sich in erster Linie mit der Synthese von Triterpenen des β -Amyrin Typs, und bis 2017 war keine Synthese von α -Amyrin bekannt.^[122] ^[123] ^[124] 2017 gelang es CHEN *et al.* durch eine geschickte Verkettung von Reduktion und Oxidation aus Ursolsäure α -Amyrin herzustellen.^[125]

Da größere Mengen α - und β -Amyrin für die weitere Synthese notwendig waren, sollte die Synthese weiter verbessert werden. Durch Reduktion von Oleanolsäure mit Lithiumaluminiumhydrid wurde Erythrodiol (**EO**) in sehr guten Ausbeuten erhalten. Der Schlüsselschritt stellt im Folgenden die selektive Iodierung der primären Hydroxygruppe an C-28 dar, dies wurde durch Reaktionsbedingungen analog der APPEL-Reaktion erreicht. Eine Optimierung hin zu sehr kurzen Reaktionszeiten bei hoher Temperatur ermöglichte die selektive Iodierung, ohne dass nennenswerte Mengen des 3-Iod-Erythrodiols gebildet wurden. Das chromatographisch aufgereinigte 28-Iod- β -Amyrin (**EO-I**) wird im Folgenden mit Zink in Essigsäure reduziert. Nachdem das Zink abfiltriert wurde, erhält man durch Ausfällen reines β -Amyrin in 81% Gesamtausbeute und damit beinahe doppelt so viel wie bei CHEN *et al.*^[125]

Für die Synthese von α -Amyrin musste die Synthesestrategie abgewandelt werden; es war aufgrund der veränderten Position der Methylgruppe am α -Amyrin-Typ und der damit resultierenden geringeren Reaktivität der Hydroxygruppe nicht möglich, die Iodierung an C-28 selektiv durchzuführen. Ähnliche Schwierigkeiten traten bei der Tosylierung auf. Das Mesylat ließ sich nicht mit Lithiumaluminiumhydrid reduzieren.

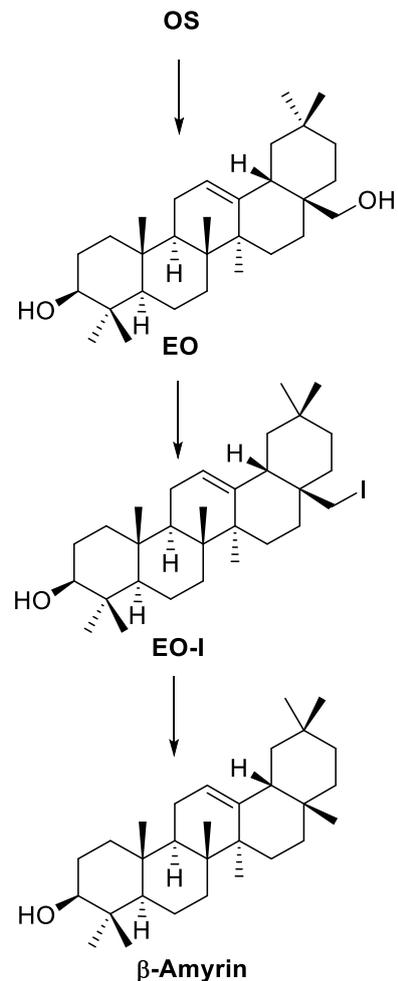


Abbildung 1: Synthese von β -Amyrin ausgehend von Oleanolsäure

Einzig das Triflat war reaktiv genug und konnte sowohl gebildet, als auch reduziert werden. Dies erforderte jedoch eine Schutzgruppenstrategie für die Hydroxygruppe an C-3. Somit wurde diese zunächst als Silylether geschützt, damit bei der Umsetzung mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid und anschließender Reduktion die Hydroxygruppe an C-3 erhalten bleibt. Damit war es möglich, α -Amyrin mit 64% Gesamtausbeute zu erhalten.

3.1.2. Umwandlung von Hedragenin und Gypsogenin ^[126]

Hederagenin und Gypsogenin sind Triterpene mit β -Amyrinstruktur, die zumeist als Saponin in verschiedenen Pflanzen vorkommen. ^{[127] [128] [129]} Hederagenin wurde zuerst von L. POSSELT im Jahre 1849 ^[130] isoliert und findet sich in verschiedenen Pflanzen, wie beispielsweise den Heckenkirschen (*Lonicera*) ^[131], Clematis (*Clematis*) ^[132] und der Luzerne (*Medicago sativa*) ^[133]. Hederageninsaponine zeigen neben anti-inflammatorischen ^[134] viele weitere pharmakologisch interessante Eigenschaften. ^{[134] [135]} Besonders interessant ist Hederagenin aufgrund seiner antitumor Eigenschaften. ^[134] Gypsogenin wurde hingegen erst im Jahre 1927 entdeckt ^[136] und aus *Gypsophila paniculata* und *Saponaria officinalis* isoliert. ^[137] Obwohl auch Gypsogenin allgegenwärtig ist und beide Triterpene häufig gleichzeitig vorkommen, können die Konzentrationen jedoch stark variieren. Das Saponin des Gypsogenins ist industriell von großem Interesse und gut zugänglich. ^[138] Im Gegensatz dazu lässt sich Hederagenin, beispielsweise aus dem Fruchthäutchen von *Sapindus saponaria* gewinnen. ^[139]

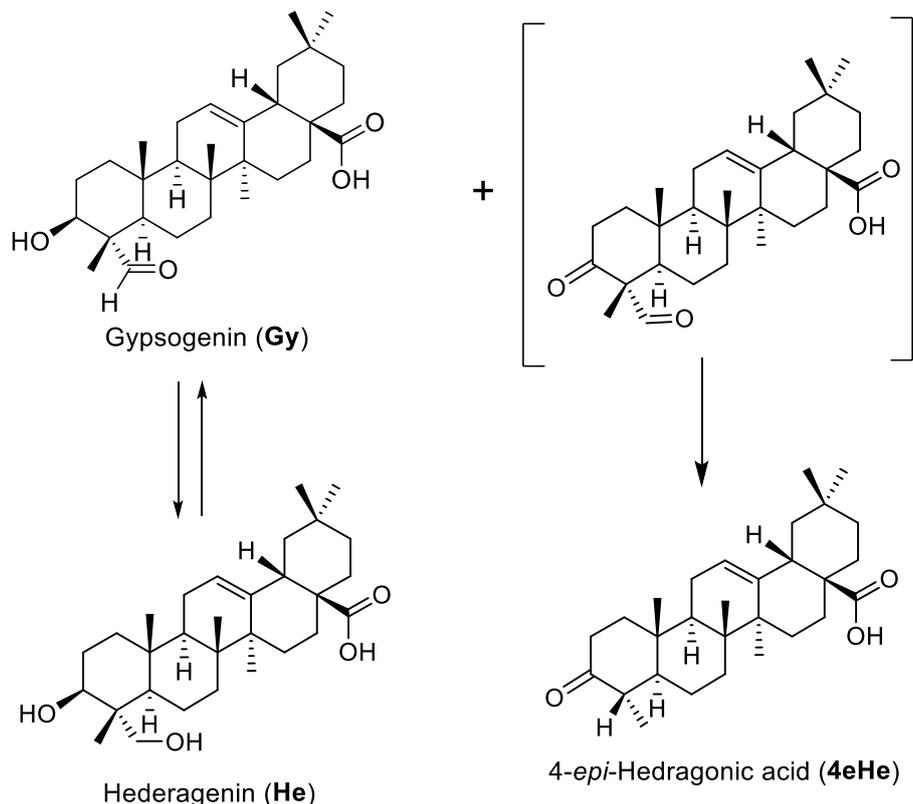


Abbildung 5: Synthese von β -Amyrin ausgehend von Oleanolsäure

Gypsogenin (Gy) und Hederagenin (He) wurde nach bekannten Methoden gewonnen. ^{[140] [139]} Die Reduktion des Gypsogenins mittels Natriumborhydrid verlief mit guten Ausbeuten von 78%. Die Oxidation des Hederagenins, um selektiv den Aldehyd an C-23 zu erhalten, führte zunächst nicht zum gewünschten Produkt (Gy).

Verschiedene Reaktionsbedingungen und Oxidationsmittel (PDC, PCC, BAIB/DMP (+TEMPO), NaClO₂/H₂O₂, NaOCl/TEMPO, KBr, FeCl₃/TEMPO/NaNO₂/O₂) lieferten nicht das gewünschte Ergebnis. Mittels IBX war es letztlich möglich, Gypsogenin selektiv mit 84% Ausbeute zu erhalten.

Ein großes Problem bei der Oxidation durch DMP ist, dass sich Gypsogenin bildet, dieses aber zumeist bevor ein guter Umsatz eintritt weiter oxidiert. Das Zersetzungsprodukt bei Überoxidation konnte ebenso isoliert werden und wurde als 4-*epi*-Hedragonsäure (**4eHe**) identifiziert. Die Reaktionsbedingungen lassen sich auch entsprechend anpassen, sodass nur 4-*epi*-Hedragonsäure erhalten wird. Die Bildung lässt sich auf die Bildung von 3-oxo-Gypsogenin zurückführen, welches durch *syn*-Decarboxylierung in 4-*epi*-Hedragonsäure überführt wird (Abb. 5). Die Zwischenstufe ist oxidationsempfindlich, sodass sie nicht isoliert werden konnte. Das Epimer der 4-*epi*-Hedragonsäure konnte auch bereits 1972 in Pflanzen gefunden werden ^[141] und zeigt einige interessante pharmakologische Eigenschaften – so ist es aktiv gegen Magenkrebs und ein Ligand des Rezeptors Farnesoid X. ^{[142] [143] [144]}

3.1.3. Die Problematik der Boswelliasäuresynthese

Im zeitlichen Rahmen der Arbeit konnte die Synthese der Boswelliasäure nicht fertiggestellt werden. Im Folgenden sind einige Probleme bei der Synthese erläutert.

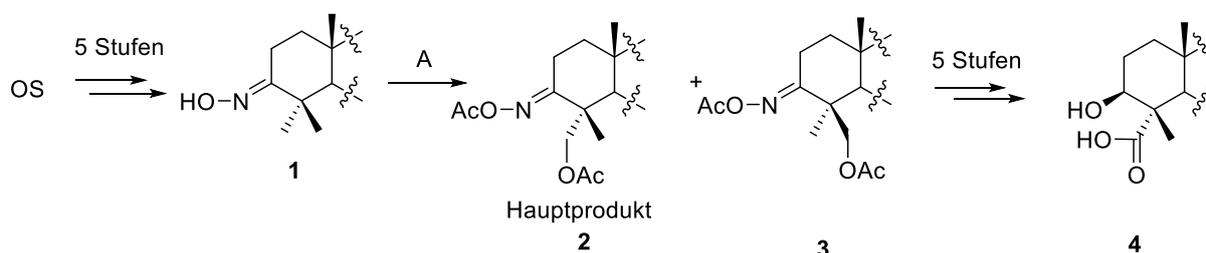


Abbildung 6: Synthese der α -Boswelliasäure über Cyclopalladierung

Das Hauptproblem der Synthese der α -Boswelliasäure stellt die Cyclopalladierung dar (Abb. 6, A). Hierbei bildet sich Verbindung **2** als Hauptprodukt mit 80%. Verbindung **3**, welche die Vorstufe der α -Boswelliasäure darstellt, wird nur mit 15% Ausbeute gebildet. Dies ist konsistent mit der Literatur und kann umgangen werden, in dem Position 2 des A-Rings hydroxyliert wird.^[145] Die Hydroxylierung an Position 2 des A-Rings, sowie die Deoxygenierung nach der Cyclopalladierung stellen zusätzliche Synthesestufen dar. Dieser Syntheseaufwand lohnt sich nicht um die Ausbeute von 15% an Verbindung **3** signifikant zu erhöhen.

Aufgrund der genannten Probleme wurde sich für die Alternativvariante über die Retro-Aldol-Reaktion (Abb. 7) an Gypsogenin entschieden. Hierbei sollte ausgehend von Hederagenin zunächst die Carbonsäurefunktion an C-28 reduziert werden. Daraufhin erfolgt die Oxidation zum Gypsogenin Analogon (**5**) und die Retro-Aldol-Reaktion zu den entsprechenden Diastereomeren. Als Modelreaktion wurde die Retro-Aldol-Reaktion an Gypsogenin getestet. Dabei konnte gezeigt werden, dass durch Zugabe von HMPA alle vier Diastereomere (Abb. 7, Verbindung **6-9**) entstehen. Dabei stellt Verbindung **9** den Vorläufer der α -Boswelliasäure dar und ließe sich im Folgenden zur α -Boswelliasäure oxidieren.

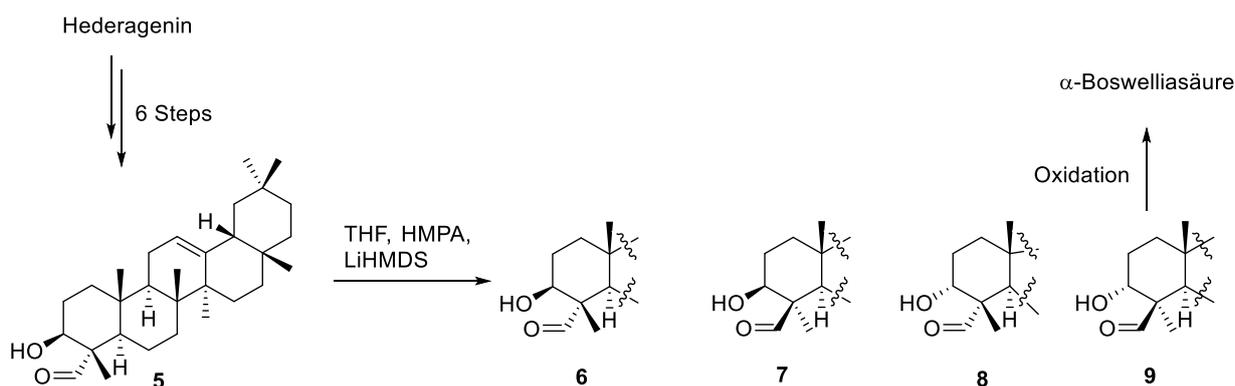


Abbildung 7: Synthese der α -Boswelliasäure über die Retro-Aldol-Reaktion

Das Hauptproblem dieser Synthese stellte sich dadurch heraus, dass die Schutzgruppen des 1,3-Diols des A-Rings nicht stabil gegenüber den reduktiven Bedingungen sind. Sowohl TBDMS-Ether, Allyl-Ether und das Isopropylidenketal sind nicht stabil und resultieren in undefinierten Produkten. Diese Synthesestrategie scheint vielversprechend, da die falschen Diastereomere (Verbindung **6**, **7** und **8**) wieder zu Verbindung **9** isomerisiert werden können. Eine Durchführung war jedoch aus zeitlichen Gründen nicht mehr möglich.

3.2. Targeting Tumors

Es gibt eine Vielzahl an Möglichkeiten Tumor Erkrankungen mittels Wirkstoffen zu therapieren. Dabei werden diese Moleküle meistens von den Zellen aufgenommen und inhibieren Enzyme oder Signalwege, die zu einem Zelltod führen. Eine neuere Wirkstoffklasse stellen die sogenannten „Mitocane“ dar.^{[146] [147] [148] [149]} Hierbei stellt das Mitochondrium der Zelle den Wirkort der Therapeutika dar, wodurch dieses dann den Zelltod auslöst. Man unterscheidet zwischen verschiedenen Klassen von Mitocanen.^[146]

Tabelle 3: Klassifizierung der „Mitocane“ nach Neuzil^[146]

Klasse	Zielort	Beispiele
Klasse 1	Hexokinase	3BP, 2DG
Klasse 2	BCI-2 Proteinfamilie	ABT-737, α -TOS
Klasse 3	Thiol-redox	Isothiocyanate
Klasse 4	und VDAC/ANT	Lonidamine, Steroidanaloga
Klasse 5	Elektronen Redoxkette	α -TOS, MitoVES, Tamoxifen
Klasse 6	Innere Zellmembran (Lipophile Kationen)	Rhodamin-Konjugate
Klasse 7	Zitronensäure Zyklus	DCA, 3BP
Klasse 8	mtDNA	Vitamin K3, MitoVES
Klasse 9	Unbekannter Wirkort	Betulinsäure ^[150]

3.2.1. Steroidale Mitocane^[151]

Aus früheren Arbeiten ist bereits bekannt, dass Rhodamin-Konjugate mit Triterpenen mit EC₅₀-Werten um die 28 nM stark zytotoxisch sein und dennoch eine gute Selektivität gegenüber Tumorzellen erreichen können.^[17] Neben den Piperazinamiden des Rhodamins, die stark zytotoxisch sind, wurden auch entsprechende Triterpen-Ester des Rhodamins synthetisiert, die im nanomolaren Bereich aktiv sind.^{[152] [153] [154]} Weiterhin konnte auch durch WIEMANN *et al.* gezeigt werden, dass auch Diterpene, die mittels einer Ugi-Multikomponentenreaktion mit einem Rhodamin verknüpft wurden eine deutliche Aktivitätssteigerung zeigten.^[155] Damit eignet sich Rhodamin B als Leitstruktur um Verbindungen gezielt zum Mitochondrium zu transportieren. Dieses Konzept der „Mitocane“ sollte nun auf steroidale Terpene übertragen werden, um zu untersuchen, ob auch bei diesen Konjugaten sowohl die Selektivität wie auch die Aktivität gegen Tumorzellen erhöht werden kann.

Derivate sollten daher sowohl von Prednison (**R2**) und Abirateron hergestellt werden, da diese bereits in der Tumorthherapie von Prostata und lymphatischen Tumoren Anwendung finden.^[156] Prednison- und Abirateronacetat-Kombinationspräparate werden seit 2018 zur Behandlung von metastasierenden Prostatakrebs eingesetzt. Dadurch, dass diese Verbindungen den Zelltod durch das Mitochondrium auslösen, haben sie das Potential die beschädigten Zelltod-Signalkaskaden von Tumorzellen zu umgehen. Als Gegenbeispiele wurden ebenso die Rhodamin-Konjugate von Cholesterol und Testosteron (**R1**) hergestellt, die keine direkte Anwendung in der Tumorthherapie besitzen (Abb. 8).

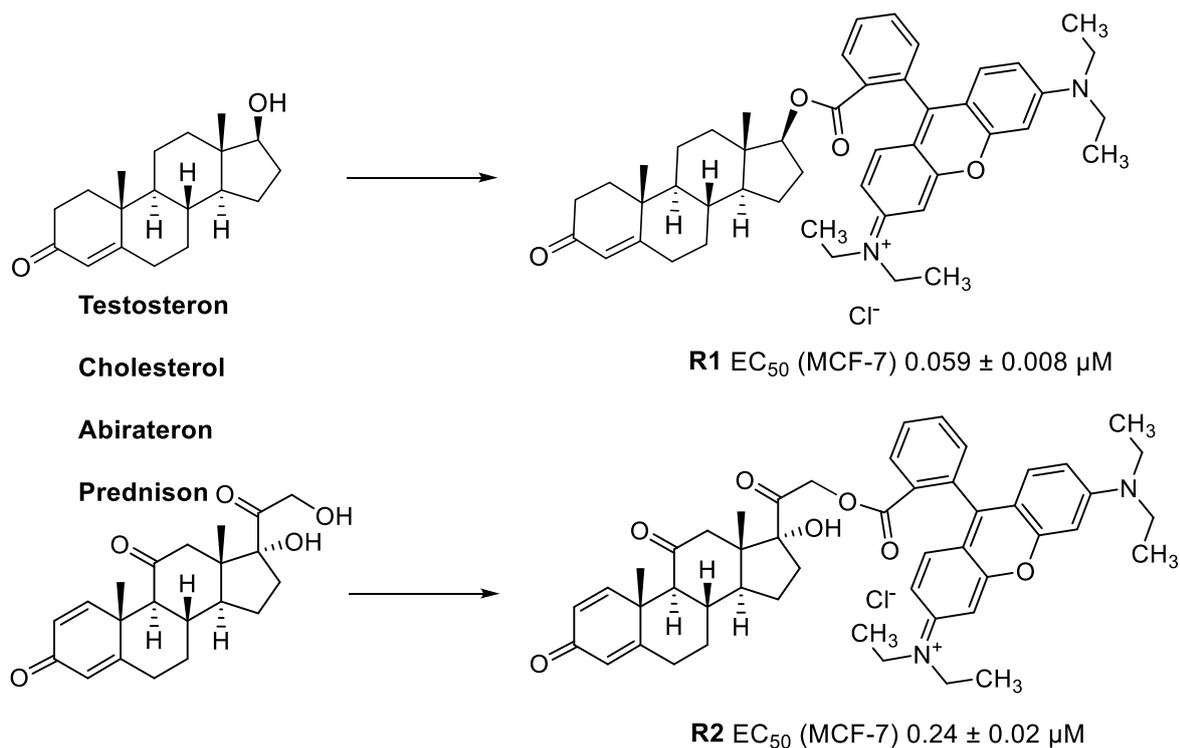


Abbildung 8: Mitocane abgeleitet von Steroidhormonen

Neuere Ansätze zielen ebenso auf sogenannte „ABT-Type“ Inhibitoren ab, diese Inhibitoren inhibieren das Protein Bcl-2, welches anti-apoptotisch wirkt. Wird Bcl-2 inhibiert, können andere Proteine der Bcl-Familie sich in der mitochondrialen Membran einlagern, welches zu einer Membranöffnung und somit zum Zelltod führt. Daher wurde auch Bexaroten als Rhodamin-Piperazin-Konjugat synthetisiert, um die Konzentration von Bexaroten am Mitochondrium zu erhöhen und somit eine stärkere Inhibierung von Bcl-2 zu erreichen. Die Synthese der Derivate verlief sehr geradlinig über das entsprechende Säurechlorid des Rhodamins.

Das Cholesterol- sowie das Bexaroten-Derivat waren unter den Bedingungen des SRB-Assays nicht löslich. Insbesondere das Testosteron-Konjugat zeigte die höchste Aktivität mit einem EC_{50} -Wert von 60 nM gegen MCF-7 Brust-Adenocarcinom-Zellen. Allerdings zeigte dieses Derivat nur Selektivitätswerte von $S_{NIH\ 3T3/FaDu} = 1.1$ bis $S_{NIH\ 3T3/MCF-7} = 3.1$ und war damit sehr unselektiv. Ebenso zeigten sich beim Annexin V-FITC/PI Assay, dass das Testosteron-Konjugat 20% nekrotische Zellen nach 24h auslöste und nur 5% Apoptose. Das Abirateron-Derivat zeigte zwar eine leichte Erhöhung der Aktivität zu 0.1 bis 0.3 μM war aber unselektiv.

Dem gegenüber zeigte das Prednison-Derivat hingegen sowohl gute Aktivitätswerte von 0.2 bis 0.9 μM als auch eine Selektivität gegen MCF-7 Tumorzellen von $S_{NIH\ 3T3/MCF-7} = 7.3$. Der Annexin V-FITC/PI Assay konnte zeigen, dass dieses Derivat keine Nekrose auslöst und schon nach 24 h zu 48% apoptotischen Zellen und 14% spätapoptotische Zellen führte.

3.2.2. Mitocane „einfacher Rhodamine“ ^[157]

Rhodamin und einige Derivate werden häufig benutzt um das Mitochondrium anzufärben. ^{[158] [159]} Aus anderen Arbeiten ist bekannt, dass Rhodamin-Triterpen-Konjugate direkt das Mitochondrium als Ziel haben und sehr gute Zytotoxizität gegen Tumorzellen aufweisen. ^{[17] [152] [153] [155]} Ebenso konnte dies, wie in Kapitel 3.2.1 erwähnt, auch für einige Rhodamin-Steroid-Konjugate gezeigt werden. ^[151] Bei Triterpenen stellt auch die Löslichkeit eine große Herausforderung für das wässrige Milieu der Tumorzellen dar, was jedoch durch die Rhodamin-Konjugation verbessert wird. ^{[160] [161] [162]} Insbesondere einfache Rhodamin B Derivate lassen sich sehr günstig in großen Mengen herstellen, sodass diese Art an Verbindungen sehr interessante Kandidaten für die antitumor Therapie darstellen würden. Auch ist es hierbei möglich sich innerhalb der Parameter der Lipinski Regeln ^{[163] [164]} zu bewegen, welches diese Verbindungen auch zu interessanten „Lead“-Verbindungen macht, bei denen weder ein großes Löslichkeitsproblem auftritt und unter Umständen gute Ergebnisse erzielt werden würden.

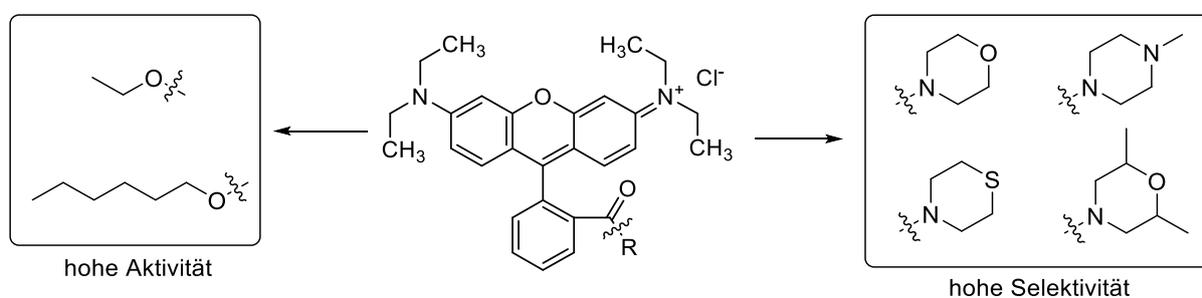


Abbildung 9: Cytotoxische Rhodamin B Derivate

Dazu wurden die Ethyl, Hexyl und Eicosylester, sowie die vom Piperidin abgeleiteten Amide aus Morpholin, Thiomorpholin, 2,6-Dimethylmorpholin, *N,N*-Dimethylamin und Piperazin hergestellt (Abb. 9). Die Verbindungen ließen sich in guten bis sehr guten Ausbeuten von 48 bis 92% aus dem Rhodaminacylchlorid erhalten.

Insbesondere der Ethylester zeigte mit einer Zytotoxizität von $0.15 \pm 0.02 \mu\text{M}$ sehr gute EC_{50} -Werte. Die Zytotoxizitätswerte des Eicosylesters waren dabei mit EC_{50} -Werten $>20 \mu\text{M}$ unerwartet hoch, obwohl zu erwarten sei, dass der Eicosylrest hinsichtlich seiner Lipophilie den Triterpenen ähnlicher sei. Ebenso ist bekannt, dass hydrophobe Reste sogar schneller die Membran passieren als hydrophile. ^{[165] [166] [167]} Es fällt ebenso auf, dass die Rhodamin B Ester keinerlei Selektivität gegenüber den Tumorzellen aufweisen.

Die Rhodamin B Amide zeigen sowohl gute EC_{50} -Werte zwischen $0.27 \pm 0.01 \mu\text{M}$ und $17.34 \pm 0.8 \mu\text{M}$. Hierbei fällt unter anderem auch auf, dass das Rhodamin B Piperazinamid EC_{50} -Werte $>30 \mu\text{M}$ zeigt und damit deutlich inaktiver als die anderen Derivate ist. Weiterhin zeigen die Rhodamin B Amide gute Selektivitätswerte gegen MCF-7 (Brustkrebs) und A2780 (Eierstockkrebs) Zellen. Das Morpholinderivat sticht hier mit guten Selektivitätswerten von $S = 19.5$ gegen MCF-7 und $S = 18.1$ gegen A2780 Zellen hervor.

3.2.3. Ureidobenzenesulfonamide als Carboanhydrase Inhibitoren ^[168]

Die entsprechenden Sulfonamide **1** – **19** konnten über die Reaktion von Sulfonamid mit den entsprechenden Isocyanaten dargestellt werden (Abb. 10).

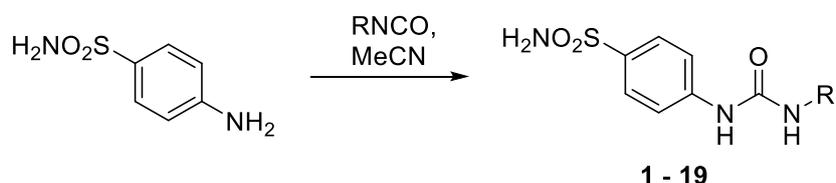


Abbildung 10: Carboanhydraseinhibitoren **1-19**; **1** Naphthalen-1-yl, **2** 4-benzylphenyl, **3** 2-benzylphenyl, **4** 4-methoxy-[1,1'-biphenyl]-3-yl, **5** 4-methoxyphenyl, **6** 3-methoxyphenyl, **7** 2-methoxyphenyl, **8** 4-fluorophenyl, **9** 3-fluorophenyl, **10** 2-fluorophenyl, **11** ethyl, **12** isopropyl, **13** butyl, **14** hexyl, **15** phenyl, **16** benzoyl, **17** ethyl 4-benzoat, **18** 4-benzoic acid, **19** 5-chloro-2-phenoxyphenyl.

Sowohl durch Docking Experimente als auch ein bCA II Assay konnte gezeigt werden, dass es sich um gute Inhibitoren für die Carboanhydrase II handelt. Insbesondere die Verbindungen **1**, **2** und **3** – also jene mit zusätzlichem aromatischem System zeigten sehr gute EC₅₀-Werte mit Inhibierungen von 72% bis 85% und K_i-Werte von 0.4 μM, 2.95 μM und 0.58 μM, die mit Acetazolamid (EC₅₀:93%, K_i: 0.37 μM) vergleichbar sind.

Im SRB-Assay wurden diese Verbindungen zusätzlich auf ihre zytotoxische Wirkung gegen Tumorzelllinien getestet. Dabei wurde festgestellt, dass fast alle Verbindungen inaktiv (EC₅₀-Werte > 30 μM) sind. Eine Ausnahme hierbei stellte Verbindung **2** dar, die mit EC₅₀-Werten von 7.4 ± 0.8 μM gegen 518A2-Zellen (Melanom) und 2.1 ± 0.5 μM gegen HT29-Zellen (Darmkrebs) zytotoxisch ist. Damit ist Verbindung **2** auch sehr selektiv gegenüber diesen Tumorarten. Spätere Untersuchungen in Kooperation mit SUPURAN *et al.* konnten zeigen, dass Verbindung **2** auch sehr selektiv die Carboanhydrase IX und XII im Vergleich zu Carboanhydrase II inhibiert (Vgl. Tab. 4).

Tabelle 4: Untersuchungen in Kooperation mit SUPURAN *et al.* gegen CA IX und CA XII

Cmp	hCA I	hCA II	hCA IX	S(I/IX)	S(II/IX)	hCA XII	S(I/XII)	S(II/XII)
1	242.8	33.5	42.9	5.66	0.78	15.5	15.66	2.16
2	785.2	356.2	15.2	51.66	23.43	6.4	122.69	55.66
3	78.3	61.5	8.2	9.55	7.50	1	78.30	61.50
4	6650	5034	188.6	35.26	26.69	32.9	202.13	153.01
5	94.4	56.5	149.7	0.63	0.38	79.6	1.19	0.71
6	84.5	56.8	210.4	0.40	0.27	90.4	0.93	0.63
9	263.3	53.6	165.3	1.59	0.32	6.7	39.30	8.00
11	871.6	595.2	134.3	6.49	4.43	86.5	10.08	6.88
12	447.7	98.6	183.7	2.44	0.54	45.9	9.75	2.15
13	86.2	84.9	84.9	1.02	1.00	2.9	29.72	29.28
14	693.9	497.1	57.7	12.03	8.62	6.8	102.04	73.10
16	948.5	209.2	207.7	4.57	1.01	63.9	14.84	3.27
17	773.3	63.5	216.7	3.57	0.29	60.7	12.74	1.05
18	368.1	84.4	174.9	2.10	0.48	53.4	6.89	1.58
19	591.1	300.4	161.4	3.66	1.86	14.2	41.63	21.15
AAZ	250	12.1	25.8	9.69	0.47	5.7	43.86	2.12

4 Zusammenfassung der Dissertation

Seit vielen Jahrzehnten bilden Naturstoffe die Grundlage der modernen Wirkstoffsuchforschung und sind häufig die Inspiration für neue Wirkstoffleads. Die pentacyclischen Triterpene befinden sich hier schon lange im Forschungsfokus, da diese viele pharmakologisch relevante Eigenschaften vereinen. Ein Vertreter stellt die Boswelliasäure dar, die auch durch ihre entzündungshemmenden Eigenschaften von Interesse ist.

Im ersten Teil der Arbeit sollte eine Partialsynthese erarbeitet werden um α -Boswelliasäure zugänglich zu machen. Zu dieser gibt es bisher nur wenige Untersuchungen; die meisten Derivate und Untersuchungen wurden bislang an β -Boswelliasäure durchgeführt.

Es konnte im ersten Teil der Arbeit eine sehr gute Methode für die Reduktion der Carbonsäurefunktion an C-28 entwickelt werden, wodurch auch α -Amyrin und β -Amyrin sehr gut aus Oleanolsäure und Ursolsäure zugänglich sind. Weiterhin stellt dies den ersten Schlüsselschritt bei der Synthese der Boswelliasäure dar. Damit ist es möglich, β -Amyrin in nur drei Stufen mit 81% Gesamtausbeute aus Oleanolsäure zu gewinnen und α -Amyrin in fünf Stufen mit 64% Gesamtausbeute aus Ursolsäure. Beide Reaktionen lassen sich auch gut in großen Maßstab durchführen, sodass größere Mengen des Materials zugänglich sind und eine mehrstufige Synthese gut durchgeführt werden kann.

Ein Problem bei der Synthese der Boswelliasäure war die C-H Funktionalisierung der nicht aktivierten Methylgruppen C-23 bzw. C-24 am A-Ring. Bei der Cyclopalladierung, wodurch eine Oxidation der genannten Methylgruppen stattfindet, ist die absolute Konfiguration zum gewünschten Produkt invertiert und die „falsche“ Methylgruppe wird bevorzugt oxidiert. Dies Problem lässt sich nicht ohne weiteres umgehen und aufgrund der folgenden Synthesestufen wäre sehr viel Ausgangsmaterial notwendig um dennoch zur Boswelliasäure zu gelangen. Es wurde daher eine Alternativroute entwickelt.

Ausgehend von Hederagenin wurden Bedingungen für eine selektive Oxidation der primären Hydroxygruppe erarbeitet, um Gypsogenin zu erhalten. Dies stellt einen Schlüsselschritt für die Synthese der Boswelliasäure dar. Durch die Umwandlung von Hederagenin und Gypsogenin ineinander ist es damit möglich, diese Verbindungen als Ausgangsstoffe für die Synthese der Boswelliasäure heranzuziehen. Gypsogenin lässt sich leicht aus dem Saponin gewinnen. Ebenso war es durch Modifikation der Methode möglich, 4-*epi*-Hedragonsäure zu erhalten, welche eine interessante Ausgangsstruktur für weitere A-Ring-modifizierte Triterpene darstellt.

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass Gypsogenin einer Retro-Aldol-Reaktion unterzogen werden kann. In diesem Gleichgewicht bildet sich die entsprechende Vorstufe mit korrekter absoluter Konfiguration an C-4 zu der Boswelliasäure.

Im zweiten Teil der Arbeit lag der Fokus darauf, antitumor aktive Verbindungen herzustellen. Zunächst wurden hierbei Carboanhydrase IX-Inhibitoren auf der Basis von Sulfonamiden synthetisiert. Die hergestellten Inhibitoren wurden sowohl auf ihre Inhibition gegen humane Carboanhydrase I, II, IX und XII, wie auch auf ihre zytotoxische Aktivität gegen humane Tumorzelllinien im SRB-Assay untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass eine dieser Verbindungen selektiv die Carboanhydrase IX und XII inhibiert und selektiv gegen 518A2 Tumorzellen sowie HT29 Tumorzellen wirkt. Hierbei bestätigt sich auch die Beobachtung von MBOGE *et al.* ^[106], dass hier ein anderer Wirkmechanismus zu Grunde liegen muss und die Carboanhydrase-Inhibition nicht alleine für die Selektivität und antitumor-Aktivität verantwortlich sein kann.

Ein weiterer vielversprechender Ansatz ist die Konjugation mit Rhodamin B. Dadurch erhält man lipophile Kationen, die gezielt das Mitochondrium adressieren und so die Möglichkeit bieten den Zelltod auszulösen. Es ist bereits durch frühere Arbeiten der Arbeitsgruppe CSUK^[17,152–155] bekannt, dass Triterpenkonjugate sehr gute Aktivitäten bis in den nanomolaren Bereich aufweisen. Eine weitere Klasse der Terpene sind die Steroide; daher wurden einige Steroid-Rhodamin B Konjugate hergestellt, um zu untersuchen, wie sich Aktivität und Selektivität verhalten.

Dabei konnte gezeigt werden, dass diese Derivate auch ein sehr gutes Potential für mögliche antitumor-Therapeutika besitzen. Hervorzuheben ist dabei das Prednison-Rhodamin B- Derivat, welches fast ausschließlich Apoptose in den Tumorzellen ausgelöst hat und dabei deutlich aktiver war als reines Prednison. Auch das Abirateron und Testosteron Derivat waren aktiver als Konjugat mit Rhodamin B – das Testosteron Derivat sogar im nanomolaren Bereich. Damit stellen auch Steroid-Rhodamin B-Konjugate sehr vielversprechende Verbindungen für die antitumor-Therapie dar.

Um dieses Konzept weiter zu verallgemeinern, wurden „triviale“ Derivate des Rhodamin B hergestellt. Dies ist besonders interessant im Hinblick auf Therapeutika, da diese sehr günstig in größeren Mengen herstellbar sind. Dabei konnte im SRB-Assay gezeigt werden, dass selbst sehr einfache Derivate des Rhodamin B schon EC₅₀-Werte unter 1 µM aufweisen. Hierbei ist besonders interessant, dass auch die sehr einfachen Rhodamin B-Amide, welche von Morpholin bzw. Piperazin abgeleitet sind, Selektivitätswerte gegenüber den Tumorzellen im Vergleich zu nicht-malignen Zellen von >20 aufweisen.

Mit diesen Verallgemeinerungen lässt sich sagen, dass das Rhodamin B eine interessante Leitstruktur ist um Mitocane mit verschiedenen zytotoxischen Eigenschaften herzustellen, bei denen man sowohl Einfluss auf die Aktivität nehmen kann, sehr gute Aktivitätswerte erhält aber auch sehr gute Selektivitätswerte erreichen kann. Ein weiterer Vorteil spiegelt sich darin wider, dass sehr hohe Werte an Apoptose ausgelöst werden.

5 Literaturverzeichnis

- [1] C. Fitzmaurice, D. Abate, N. Abbasi, H. Abbastabar, F. Abd-Allah, O. Abdel-Rahman, A. Abdelalim, A. Abdoli, I. Abdollahpour, Abdulle, Abdishakur S. M. et al., *JAMA Oncol* **2019**, *5*, 1749.
- [2] World Health Organization, "Cancer (Fact-Sheets)", can be found under <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>, **2018**.
- [3] B. Yan, L. Dong, J. Neuzil, *Mitochondrion* **2016**, *26*, 86–93.
- [4] Bernd Alt-Epping, Stefan Fuxius, Ulrich Wedding, *Elsevier Essentials Onkologie*, Urban & Fischer, München, **2017**.
- [5] D. R. Green, *Cancer Cell* **2017**, *31*, 2–4.
- [6] S. Çalıř, K. Öztürk-Atar, *J Drug Res Dev* **2017**, *3* (1), 1-2.
- [7] J. He, C. Li, L. Ding, Y. Huang, X. Yin, J. Zhang, J. Zhang, C. Yao, M. Liang, R. P. Pirraco, K. Wang, Q. Lu, R. Baldrige, Y. Zhang, M. Wu, R. L. Reis, Y. Wang, *Adv. Mater.* **2019**, *31*, 1902409.
- [8] S.-D. Li, L. Huang, *J. Contr. Rel.* **2010**, *145*, 178–181.
- [9] N. Bertrand, J. Wu, X. Xu, N. Kamaly, O. C. Farokhzad, *Adv. Drug Del. Rev.* **2014**, *66*, 2–25.
- [10] T. Sun, Y. S. Zhang, B. Pang, D. C. Hyun, M. Yang, Y. Xia, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53* (46), 12320–12364.
- [11] S. Jaracz, J. Chen, L. V. Kuznetsova, I. Ojima, *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 5043–5054.
- [12] J. Neuzil, L.-F. Dong, J. Rohlena, *Curr. Pharm. Biotechnol.* **2013**, *14*(3), 377-389.
- [13] J. Neuzil, M. Tomasetti, Y. Zhao, L.-F. Dong, M. Birringer, X.-F. Wang, P. Low, K. Wu, B. A. Salvatore, S. J. Ralph, *Mol. Pharmacol.* **2007**, *71*, 1185–1199.
- [14] B. J. Morrison, L. Andera, B. A. Reynolds, S. J. Ralph, J. Neuzil, *Mol. Nutr. Food Res.* **2009**, *53*, 147–153.
- [15] V. Panda, P. Khambat, S. Patil, *IJCM* **2011**, *02*, 515–529.
- [16] I. Macasoı, A. Mioc, M. Mioc, I. Soica, A. Chevereșan, C. Dehelean, V. Dumitrașcu, *CMC* **2019**, *26*, 1169-1183.
- [17] S. Sommerwerk, L. Heller, C. Kerzig, A. E. Kramell, R. Csuk, *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *127*, 1–9.
- [18] P. D. Bhola, A. Letai, *Molecular Cell* **2016**, *61*, 695–704.
- [19] G. Chen, F. Wang, D. Trachootham, P. Huang, *Mitochondrion* **2010**, *10*, 614–625.
- [20] P. Costantini, *Journal of the National Cancer Institute* **2000**, *92*, 1042–1053.
- [21] P. A. Wender, B. L. Miller, *Nature* **2009**, *460*, 197–201.
- [22] P. A. Wender, R. V. Quiroz, M. C. Stevens, *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, 752–760.
- [23] M. Konaklieva, *Antibiotics* **2014**, *3*, 128–142.
- [24] G. M. Cragg, D. J. Newman, *Biochim. Biophys. Acta* **2013**, *1830*, 3670–3695.
- [25] Gupta I, Gupta V, Parihar A, Gupta S, Lüdtker R, Safayhi H, Ammon HP, *Eur. J. Med. Res.* **1998**, *3*, 511–514.
- [26] D. A. Dias, S. Urban, U. Roessner, *Metabolites* **2012**, *2*, 303–336.
- [27] T. Rodrigues, D. Reker, P. Schneider, G. Schneider, *Nature Chem* **2016**, *8*, 531–541.
- [28] B. J. Huffman, S. Chen, J. L. Schwarz, R. E. Plata, E. N. Chin, L. L. Lairson, K. N. Houk, R. A. Shenvi, *Nat. Chem.* **2020**, *12*, 310–317.
- [29] L. Amaral, G. Spemgler, J. Molnar, *Anticancer Res.* **2016**, *36*, 5665–5672.
- [30] M. E. Juan, U. Wenzel, V. Ruiz-Gutierrez, H. Daniel, J. M. Planas, *J. Nutr.* **2006**, *136*, 2553–2557.
- [31] F. J. Reyes-Zurita, E. E. Rufino-Palomares, J. A. Lupiáñez, M. Cascante, *Cancer Lett.* **2009**, *273*, 44–54.

- [32] F. J. Reyes-Zurita, G. Pachón-Peña, D. Lizárraga, E. E. Rufino-Palomares, M. Cascante, J. A. Lupiáñez, *BMC Cancer* **2011**, *11*, 42.
- [33] V. H. Villar, O. Vögler, F. Barceló, M. Gómez-Florit, J. Martínez-Serra, A. Obrador-Hevia, J. Martín-Broto, V. Ruiz-Gutiérrez, R. Alemany, *J. Nutr. Biochem.* **2014**, *25*, 429–438.
- [34] H. Yang, Q. Ping Dou, *CDT* **2010**, *11*, 733–744.
- [35] E. Kassi, Z. Papoutsis, H. Pratsinis, N. Aligiannis, M. Manoussakis, P. Moutsatsou, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **2007**, *133*, 493–500.
- [36] B. S. Gill, S. Kumar, Navgeet, *Mol. Biol. Rep.* **2016**, *43*, 881–896.
- [37] R. Martín, E. Ibeas, J. Carvalho-Tavares, M. Hernández, V. Ruiz-Gutierrez, M. L. Nieto, J. A. Bauer, *PLoS ONE* **2009**, *4*, e5975.
- [38] Y.-L. Hsu, P.-L. Kuo, L.-T. Lin, C.-C. Lin, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2005**, *313*, 333–344.
- [39] K.-J. Yun, J.-Y. Kim, J.-B. Kim, K.-W. Lee, S.-Y. Jeong, H.-J. Park, H.-J. Jung, Y.-W. Cho, K. Yun, K.-T. Lee, *Int. Immunopharmacol.* **2008**, *8*, 431–441.
- [40] S. Bhushan, A. Kumar, F. Malik, S. S. Andotra, V. K. Sethi, I. P. Kaur, S. C. Taneja, G. N. Qazi, J. Singh, *Apoptosis* **2007**, *12*, 1911–1926.
- [41] M. Menegazzi, R. Dipaola, E. Mazzon, T. Genovese, C. Crisafulli, M. Dalbosco, Z. Zou, H. Suzuki, S. Cuzzocrea, *Pharmacol. Res.* **2008**, *58*, 22–31.
- [42] Si-Qi He, Meng Gao, Yun-Feng Fu, Ya-Nan Zhang, *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* **2015**, *8*, 5175–5181.
- [43] N. Abdelmageed, S. A. Morad, A. A. Elghoneimy, T. Syrovets, T. Simmet, H. El-zorba, H. A. El-Banna, M. Cabot, M. I. Abdel-Aziz, *Biomed. & Pharmacother.* **2017**, *96*, 417–425.
- [44] S. Fulda, L. Galluzzi, G. Kroemer, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2010**, *9*, 447–464.
- [45] S. H. Safe, P. L. Prather, L. K. Brents, G. Chadalapaka, I. Jutooru, *ACAMC* **2012**, *12*, 1211–1220.
- [46] M. Konopleva, T. Tsao, P. Ruvolo, I. Stiouf, Z. Estrov, C. E. Leysath, S. Zhao, D. Harris, S. Chang, C. E. Jackson et al., *Blood* **2002**, *99*, 326–335.
- [47] S. Shishodia, *Clin. Cancer Res.* **2006**, *12*, 1828–1838.
- [48] M. Pfeifer, *Der Weihrauch. Geschichte, Bedeutung, Verwendung*, Pustet, Regensburg, **2008**.
- [49] C. Rättsch, *Enzyklopädie der psychoaktiven Pflanzen. Botanik, Ethnopharmakologie und Anwendung*, AT Verlag, Aarau, **2004**.
- [50] H. P. Ammon, *Weihrauch – Anwendung in der westlichen Medizin. Historische Anwendung und neue naturwissenschaftliche Erkenntnisse*, Springer, Berlin, Heidelberg, **2018**.
- [51] A. Tschirsch, O. Halbey, *Arch. Pharm.* **1898**, *236*, 487–503.
- [52] A. Winterstein, G. Stein, *Z. physiol. Chem.* **1932**, *208*, 9–25.
- [53] H. P. Ammon, H. Safayhi, *Pharmaz. Ztg.* **1997**, *39*, 3277–3286.
- [54] J. Jauch, J. Bergmann, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, *2003*, 4752–4756.
- [55] Ammon, H. P. T., *Wien Med Wochenschr* **2002**, *152*, 373–378.
- [56] Z. Du, Z. Liu, Z. Ning, Y. Liu, Z. Song, C. Wang, A. Lu, *Planta Med* **2015**, *81*, 259–271.
- [57] Stefanie Seitz, *Dissertation*, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, **2008**.
- [58] D. Ennet, F. Poetsch, D. Schopka, *Deut. Apotheker Z.* **2000**, *140*, 1887–1895.
- [59] Y. Shao, C.-T. Ho, C.-K. Chin, V. Badmaev, W. Ma, M.-T. Huang, *Planta Med* **1998**, *64*, 328–331.
- [60] M. Majeed, L. Prakash, V. Badmaev, Y. Nujoma, S. Natarajan, T. Norton, "Redifining Our Standards, Boswellin The Only Natural Leukotriene and HLE inhibitor", can be found under <https://sabinsa.com/newsletters-april-may-1999/778-new-publications-redefining-our-standards-boswellin-the-only-natural-leukotriene-and-hle-inhibitor>, **1999**.
- [61] H. Gerhardt, F. Seifert, P. Buvari, H. Vogelsang, R. Repges, *Z. Gastroenterol.* **2001**, *39*, 11–17.
- [62] A. Madisch, S. Miehle, O. Eichele, J. Mrwa, B. Bethke, E. Kuhlisch, E. Bästlein, G. Wilhelms, A. Morgner, B. Wigglinghaus et al., *Int. J. Colorectal. Dis.* **2007**, *22*, 1445–1451.

- [63] D. Martinetz, K. Lohs, J. Janzen, *Weihrauch und Myrrhe. Kulturgeschichte und wirtschaftliche Bedeutung : Botanik, Chemie, Medizin*, Akademie-Verl, Berlin, **1989**.
- [64] M. Alam, H. Khan, L. Samiullah, K.M. Siddique, *J. Appl. Pharm. Sci.* **2012**, *2*.
- [65] S. Umar, K. Umar, Sarwar, Abu Hasnath Md. Golam, A. Khan, N. Ahmad, S. Ahmad, C. K. Katiyar, S. A. Husain, H. A. Khan, *Phytomedicine* **2014**, *21*, 847–856.
- [66] M. Ismail, *Int. Pharm. Sci.* **2010**, *2*, 28–29.
- [67] N. Bansal, S. Mehan, S. Kalra, D. Khanna, *Pharmacologia* **2013**, *4*, 457–463.
- [68] Ammon, H. P. T., T. Mack, G. Singh, H. Safayhi, *Planta Med* **1991**, *57*, 203–207.
- [69] Y. Ding, M. Chen, M. Wang, M. Wang, T. Zhang, J. Park, Y. Zhu, C. Guo, Y. Jia, Y. Li, A. Wen, *Sci. Rep.* **2014**, *4*, 7002.
- [70] S. M. Elshazly, Abd El Motteleb, Dalia M., N. N. Nassar, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **2013**, *386*, 823–833.
- [71] K. Gerbeth, J. Hüscher, G. Fricker, O. Werz, M. Schubert-Zsilavec, M. Abdel-Tawab, *Fitoterapia* **2013**, *84*, 99–106.
- [72] B. Park, B. Sung, V. R. Yadav, S.-G. Cho, M. Liu, B. B. Aggarwal, *Int. J. Cancer* **2011**, *129*, 23–33.
- [73] Al-Yasiry, Ali Ridha Mustafa, B. Kiczorowska, *Postepy Hig. Med. Dosw.* **2016**, *70*, 380–391.
- [74] J. Peltier, A. O'Neill, D. V. Schaffer, *Devel. Neurobio.* **2007**, *67*, 1348–1361.
- [75] L. Galluzzi, Bravo-San Pedro, José Manuel, G. Kroemer, *Nat. Cell. Biol.* **2014**, *16*, 728–736.
- [76] Ondřej Smetana, *Promotionsarbeit*, Universität Straßburg, Straßburg, **2010**.
- [77] C. Wang, R. J. Youle, *Annu. Rev. Genet.* **2009**, *43*, 95–118.
- [78] Y. Zhao, R. Li, W. Xia, J. Neuzil, Y. Lu, H. Zhang, X. Zhao, X. Zhang, C. Sun, K. Wu, *Cancer Lett.* **2010**, *288*, 42–49.
- [79] Kerr, J F R, A. H. Wyllie, A. R. Currie, *Br. J. Cancer* **1972**, *26*, 239–257.
- [80] D. J. Klionsky, *Science* **2000**, *290*, 1717–1721.
- [81] J. Cohen, *Immunology Today* **1993**, *14*, 126–130.
- [82] T. V. Berghe, A. Linkermann, S. Jouan-Lanhouet, H. Walczak, P. Vandenabeele, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2014**, *15*, 135–147.
- [83] A. Degterev, Z. Huang, M. Boyce, Y. Li, P. Jagtap, N. Mizushima, G. D. Cuny, T. J. Mitchison, M. A. Moskowitz, J. Yuan, *Nat. Chem. Biol.* **2005**, *1*, 112–119.
- [84] Y. Fuchs, H. Steller, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2015**, *16*, 329–344.
- [85] R. W. Johnstone, A. A. Ruefli, S. W. Lowe, *Cell* **2002**, *108*, 153–164.
- [86] J.-M. Zingg in *Adv. Food Nutr. Res.*, Elsevier, **2018**, *83*, 311–363.
- [87] F. Bavo, S. Pucci, F. Fasoli, C. Lammi, M. Moretti, V. Mucchietto, D. Lattuada, P. Viani, C. de Palma, R. Budriesi et al., *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 10531–10544.
- [88] N. Zamzami, G. Kroemer, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2001**, *2*, 67–71.
- [89] J. N. Earnhardt, M. Qian, C. Tu, M. M. Lakkis, Berghem, Nils C. H., P. J. Laipis, R. E. Tashian, D. N. Silverman, *Biochemistry* **1998**, *37*, 10837–10845.
- [90] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Biochemie*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **2010**.
- [91] F. Carta, D. Vullo, S. M. Osman, Z. AlOthman, C. T. Supuran, *Bioorg. Med. Chem.* **2017**, *25*, 2569–2576.
- [92] S. Singh, C. Lomelino, M. Mboge, S. Frost, R. McKenna, *Molecules* **2018**, *23*, 1045.
- [93] J. Chiche, M. C. Brahimi-Horn, J. Pouyssegur, *J. Cell. Mol. Med.* **2010**, *14*, 771–794.
- [94] M. Vooijs, E. Gort, A. Groot, E. der Wall, P. van Diest, *CMM* **2008**, *8*, 60–67.
- [95] D. M. Gilkes, G. L. Semenza, D. Wirtz, *Nat. Rev. Cancer* **2014**, *14*, 430–439.
- [96] F. Spill, D. S. Reynolds, R. D. Kamm, M. H. Zaman, *Curr. Op. Biotechnol.* **2016**, *40*, 41–48.
- [97] J. S. Fang, R. D. Gillies, R. A. Gatenby, *Sem. Cancer Biol.* **2008**, *18*, 330–337.

- [98] D. Verduzco, M. Lloyd, L. Xu, A. Ibrahim-Hashim, Y. Balagurunathan, R. A. Gatenby, R. J. Gillies, *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0120958.
- [99] E. Andreucci, J. Ruzzolini, S. Peppicelli, F. Bianchini, A. Laurenzana, F. Carta, C. T. Supuran, L. Calorini, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2019**, *34*, 117–123.
- [100] H. I. Gul, C. Yamali, H. Sakagami, A. Angeli, J. Leitans, A. Kazaks, K. Tars, D. O. Ozgun, C. T. Supuran, *Bioorg. Chem.* **2018**, *77*, 411–419.
- [101] C. T. Supuran, *Exp. Op. Invest. Drugs* **2018**, *27*, 963–970.
- [102] M. N. Peerzada, P. Khan, K. Ahmad, M. I. Hassan, A. Azam, *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *155*, 13–23.
- [103] J.-Y. Winum, M. Rami, A. Scozzafava, J.-L. Montero, C. Supuran, *Med. Res. Rev.* **2008**, *28*, 445–463.
- [104] W. M. Eldehna, M. Fares, M. Ceruso, H. A. Ghabbour, S. M. Abou-Seri, H. A. Abdel-Aziz, Abou El Ella, Dalal A., C. T. Supuran, *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *110*, 259–266.
- [105] M. Y. Mboge, B. P. Mahon, N. Lamas, L. Socorro, F. Carta, C. T. Supuran, S. C. Frost, R. McKenna, *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *132*, 184–191.
- [106] M. Y. Mboge, Z. Chen, A. Wolff, J. V. Mathias, C. Tu, K. D. Brown, M. Bozdog, F. Carta, C. T. Supuran, R. McKenna et al., *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0207417.
- [107] I. Serbian, R. Csuk, *Molecules* **2018**, *23*, 1552.
- [108] S. Yasumoto, H. Seki, Y. Shimizu, E. O. Fukushima, T. Muranaka, *Front. Plant Sci.* **2017**, *8*, 996.
- [109] I. Lara, B. Belge, L. F. Goulao, *J. Agric. Food Chem.* **2015**, *63*, 4005–4019.
- [110] S. Johann, Oliveira, Vetúria Lopes de, M. G. Pizzolatti, J. Schripsema, R. Braz-Filho, A. Branco, A. Smânia Jr, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **2007**, *102*, 681–685.
- [111] S. Johann, C. Soldi, J. P. Lyon, M. G. Pizzolatti, M. A. Resende, *Lett. Appl. Microbiol.* **2007**, *45*, 148–153.
- [112] N. N. Okoye, D. L. Ajaghaku, H. N. Okeke, E. E. Ilodigwe, C. S. Nworu, Okoye, Festus Basden C., *Pharm. Biol.* **2014**, *52*, 1478–1486.
- [113] C. E. Vitor, C. P. Figueiredo, D. B. Hara, A. F. Bento, T. L. Mazzuco, J. B. Calixto, *Br. J. Pharm.* **2009**, *157*, 1034–1044.
- [114] V. R. Askari, N. Fereydouni, V. Baradaran Rahimi, N. Askari, A. H. Sahebkar, P. Rahmanian-Devin, A. Samzadeh-Kermani, *Biomed. Pharmacother.* **2018**, *101*, 438–446.
- [115] C. Soldi, M. G. Pizzolatti, A. P. Luiz, R. Marcon, F. C. Meotti, L. A. Mioto, A. R. Santos, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 3377–3386.
- [116] F. A. Oliveira, M. H. Chaves, F. R. Almeida, R. C. Lima, R. M. Silva, J. L. Maia, Brito, Gerly Anne A.C., F. A. Santos, V. S. Rao, *J. Ethnopharmacol.* **2005**, *98*, 103–108.
- [117] P. Cavoretto, A. Farina, G. Gaeta, C. Sigismondi, S. Spinillo, D. Casiero, M. Pozzoni, P. Vigano, E. Papaleo, M. Candiani, *Ultrasound Obstet Gynecol* **2020**, doi:10.1002/uog.21969.
- [118] C. Brendolise, Y.-K. Yauk, E. D. Eberhard, M. Wang, D. Chagne, C. Andre, D. R. Greenwood, L. L. Beuning, *FEBS J.* **2011**, *278*, 2485–2499.
- [119] J. A. Ramos-Hernández, M. Calderón-Santoyo, A. Navarro-Ocaña, J. C. Barros-Castillo, J. A. Ragazzo-Sánchez, *J. Food Sci. Technol.* **2018**, *55*, 2377–2383.
- [120] Barton, D. H. R., E. F. Lier, J. F. McGhie, *J. Chem. Soc. C* **1968**, *0*, 1031–1040.
- [121] E. J. Corey, J. Lee, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 8873–8874.
- [122] A. X. Huang, Z. Xiong, E. J. Corey, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9999–10003.
- [123] K. Surendra, E. J. Corey, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 13928–13929.
- [124] Van Tamelen, E. E., *Acc. Chem. Res.* **2002**, *8*, 152–158.

- [125] D. Chen, F. Xu, P. Zhang, J. Deng, H. Sun, X. Wen, J. Liu, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2017**, *350*, 1700178.
- [126] I. Serbian, D. Ströhl, R. Csuk, *Phytochem. Lett.* **2020**, *39*, 35–38.
- [127] S. Böttger, M. F. Melzig, *Phytochem. Lett.* **2011**, *4*, 59–68.
- [128] S. Çapanlar, S. Kirmızıgül, *Nat. Prod. Res.* **2010**, *24*, 1337–1346.
- [129] S. Danloy, J. Quetin-Leclercq, P. Coucke, M.-C. de Pauw-Gillet, R. Elias, G. Balansard, L. Angenot, R. Bassleer, *Planta Med.* **1994**, *60*, 45–49.
- [130] L. Posselt, *Ann. Chem. Pharm.* **1849**, *69*, 62–67.
- [131] Y. Chen, X. Feng, X. Jia, M. Wang, J. Liang, Y. Dong, *Chem. Nat. Compd.* **2008**, *44*, 39–43.
- [132] D. Hao, X. Gu, P. Xiao, Y. Peng, *Chin. Sci. Bull.* **2013**, *58*, 1120–1129.
- [133] A. Kiełbasa, A. Krakowska, K. Rafińska, B. Buszewski, *J. Sep. Sci.* **2019**, *42*, 465–474.
- [134] J. Zeng, T. Huang, M. Xue, J. Chen, L. Feng, R. Du, Y. Feng, *RSC Adv.* **2018**, *8*, 24188–24202.
- [135] O. A. Ekabo, N. R. Farnsworth, T. O. Henderson, G. Mao, R. Mukherjee, *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*, 431–435.
- [136] A.W. van der Haar, *Reg. Trav. Chim.*, *46*, 85–96.
- [137] Z. Jia, K. Koike, T. Nikaido, *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 1368–1373.
- [138] Ö. Güçlü-Üstündağ, G. Mazza, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2007**, *47*, 231–258.
- [139] D. Rodríguez-Hernández, A. J. Demuner, L. C. Barbosa, R. Csuk, L. Heller, *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *105*, 57–62.
- [140] L. Heller, S. Schwarz, B. A. Weber, R. Csuk, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2014**, *347*, 707–716.
- [141] H. T. Cheung, C. S. Wong, *Phytochemistry* **1972**, *11*, 1771–1780.
- [142] Z. Chu, H. Wang, T. Ni, L. Tao, L. Xiang, Z. Zhou, Y. Qian, M. Sunagawa, Y. Liu, *Molecules* **2019**, *24*, 3513.
- [143] Y. Qian, Y. Yan, H. Lu, T. Zhou, M. Lv, C. Fang, J. Hou, W. Li, X. Chen, H. Sun, Y. Li, Z. Wang, N. Zhao, Y. Gu, Y. Ding, Y. Liu, *ACAMC* **2019**, *19*, 1754–1761.
- [144] Y. Lu, W. Zheng, S. Lin, F. Guo, Y. Zhu, Y. Wei, X. Liu, S. Jin, L. Jin, Y. Li, *Mol. Pharmacol.* **2017**, *93*, 63–72.
- [145] A. García-Granados, P. E. López, E. Melguizo, A. Parra, Y. Simeó, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 3500–3509.
- [146] J. Neuzil, L.-F. Dong, J. Rohlena, J. Truksa, S. J. Ralph, *Mitochondrion* **2013**, *13*, 199–208.
- [147] J. Neuzil, X.-F. Wang, L.-F. Dong, P. Low, S. J. Ralph, *FEBS Lett.* **2006**, *580*, 5125–5129.
- [148] S. J. Ralph, J. Neuzil, *Mol. Nutr. Food Res.* **2009**, *53*, 7–8.
- [149] S. J. Ralph, J. Neuzil, *Mol. Nutr. Food Res.* **2009**, *53*, 9–28.
- [150] S. Fulda, C. Scaffidi, S. A. Susin, P. H. Krammer, G. Kroemer, M. E. Peter, K.-M. Debatin, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 33942–33948.
- [151] I. Serbian, S. Hoenke, R. Csuk, *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *199*, 112425.
- [152] R. K. Wolfram, L. Fischer, R. Kluge, D. Ströhl, A. Al-Harrasi, R. Csuk, *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *155*, 869–879.
- [153] R. K. Wolfram, L. Heller, R. Csuk, *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *152*, 21–30.
- [154] M. Kahnt, J. Wiemann, L. Fischer, S. Sommerwerk, R. Csuk, *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *159*, 143–148.
- [155] J. Wiemann, L. Fischer, J. Kessler, D. Ströhl, R. Csuk, *Bioorg. Chem.* **2018**, *81*, 567–576.
- [156] de Bono, Johann S., C. J. Logothetis, A. Molina, K. Fizazi, S. North, L. Chu, K. N. Chi, R. J. Jones, O. B. Goodman, F. Saad, J. N. Staffurth, P. Mainwaring, S. Harland, T. W. Flaig, T. E. Hutson, T. Cheng, H. Patterson, J. D. Hainsworth, C. J. Ryan, C. N. Sternberg, S. L. Ellard, A. Fléchon, M. Saleh,

- M. Scholz, E. Efstathiou, A. Zivi, D. Bianchini, Y. Lorient, N. Chieffo, T. Kheoh, C. M. Haqq, H. I. Scher, *New Engl. J. Med.* **2011**, *364*, 1995–2005.
- [157] I. Serbian, S. Hoenke, O. Kraft, R. Csuk, *Med. Chem. Res.* **2020**, *29*, 1655–1661.
- [158] R. Guo, J. Yin, Y. Ma, Q. Wang, W. Lin, *J. Mater. Chem. B* **2018**, *6*, 2894–2900.
- [159] L. V. Johnson, M. L. Walsh, L. B. Chen, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **1980**, *77*, 990–994.
- [160] R. Csuk, H.-P. Deigner, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2019**, *29*, 949–958.
- [161] S. Song, K. Gao, R. Niu, W. Yi, J. Zhang, C. Gao, B. Yang, X. Liao, *J. Mol. Liq.* **2019**, *296*, 111993.
- [162] E. R. Shakurova, D. A. Pozdnyakova, E. V. Tretyakova, L. V. Parfenova, *LDDD* **2019**, *17*, 79–84.
- [163] T. Oprea, *Molecules* **2002**, *7*, 51–62.
- [164] W. P. Walters, A. A. Murcko, M. A. Murcko, *Curr. Op. Chem. Biol.* **1999**, *3*, 384–387.
- [165] T. I. Rokitskaya, S. S. Klishin, I. I. Severina, V. P. Skulachev, Y. N. Antonenko, *J Membrane Biol.* **2008**, *224*, 9–19.
- [166] T. I. Rokitskaya, G. A. Korshunova, Y. N. Antonenko, *Biophys. J.* **2018**, *115*, 514–521.
- [167] G. B. Melikyan, B. N. Deriy, D. C. Ok, F. S. Cohen, *Biophys. J.* **1996**, *71*, 2680–2691.
- [168] I. Serbian, P. Schwarzenberger, A. Loesche, S. Hoenke, A. Al-Harrasi, R. Csuk, *Bioorg. Chem.* **2019**, *91*, 103123.

6 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Von der Natur abgeleitete β -Lactam Antibiotika	2
Abbildung 2: Transformation von Oleanolsäure zu α -Boswelliasäure	9
Abbildung 3: Transformation von Gypsogenin zu α -Boswelliasäure.....	9
Abbildung 4: Synthese von β -Amyrin ausgehend von Oleanolsäure.....	10
Abbildung 5: Synthese von β -Amyrin ausgehend von Oleanolsäure.....	11
Abbildung 6: Synthese der α -Boswelliasäure über Cyclopalladierung.....	13
Abbildung 7: Synthese der α -Boswelliasäure über die Retro-Aldol-Reaktion.....	13
Abbildung 8: Mitocane abgeleitet von Steroidhormonen	15
Abbildung 9: Cytotoxische Rhodamin B Derivate	16
Abbildung 10: Carboanhydraseinhibitoren 1-19 ; 1 Naphthalen-1-yl, 2 4-benzylphenyl, 3 2-benzylphenyl, 4 4-methoxy-[1,1'-biphenyl]-3-yl, 5 4-methoxyphenyl, 6 3-methoxyphenyl, 7 2-methoxyphenyl, 8 4-fluorophenyl, 9 3-fluorophenyl, 10 2-fluorophenyl, 11 ethyl, 12 isopropyl, 13 butyl, 14 hexyl, 15 phenyl, 16 benzoyl, 17 ethyl 4-benzoat, 18 4-benzoic acid, 19 5-chloro-2-phenoxyphenyl.	17

7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht einiger apoptotischer Triterpen Wirkmechanismen	3
Tabelle 2: Prozentuale Anteile von einigen Boswelliasäuren in der Harzsäurefraktion ^[57]	4
Tabelle 3: Klassifizierung der „Mitocane“ nach Neuzil ^[146]	14
Tabelle 4: Untersuchungen in Kooperation mit SUPURAN et al. gegen CA IX und CA XII	17

Anhang

Publikationen

Im Folgenden werden die für diese Arbeit relevanten Publikationen (P-1 bis P-7) aufgelistet.

P-1: An Improved Scalable Synthesis of α - and β -Amyrin

Immo Serbian, René Csuk *Molecules* **2018**, 23(7), 1552

P-2: Interconversion of hederagenin and gypsogenin and accessing 4-epihedragonic acid

Immo Serbian, Dieter Ströhl, René Csuk *Phytochem. Lett.* **2020**, 39, 35-38

P-3: Synthesis of some steroidal mitocans of nanomolar cytotoxicity acting by apoptosis

Immo Serbian, Sophie Hoenke, René Csuk *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, 199, 112425

P-4: Ester and amide derivatives of rhodamine B exert cytotoxic effects on different human tumor cell lines

Immo Serbian, Sophie Hoenke, Oliver Kraft & René Csuk *Med. Chem. Res.* **2020**, 29, 1655-1661

P-5: Ureidobenzenesulfonamides as efficient inhibitors of carbonic anhydrase II

Immo Serbian, Philipp Schwarzenberger, Anne Loesche, Sophie Hoenke, Ahmed Al-Harrasi, René Csuk *Bioorg. Chem.* **2019**, 91, 103123

Publikation P-1

An Improved Scalable Synthesis of α - and β -Amyrin

Immo Serbian, René Csuk *Molecules* **2018**, 23(7), 1552

Abstract

The synthesis of α - and β -amyrin was accomplished starting from easily accessible starting materials, oleanolic, and ursolic acid. The procedures allow the preparation of β -amyrin in an exceptionally short scalable manner via selective iodation and reduction. For α -amyrin, a different synthetic approach had to be chosen providing access to α -amyrin in medium-to-large scale.

Keywords: α -amyrin; β -amyrin; partial synthesis

DOI: [10.3390/molecules23071552](https://doi.org/10.3390/molecules23071552)

Publikation P-2

Interconversion of hederagenin and gypsogenin and accessing 4-epihedragonic acid

Immo Serbian, Dieter Ströhl, René Csuk *Phytochem. Lett.* **2020**, 39, 35-38

Abstract

Gypsogenin (**1**) and hederagenin (**2**) were isolated by extracting the powdered roots of *Saponaria officinalis* and the pericarp of *Sapindus saponaria*, respectively. While the gypsophila derived saponin can be obtained easily and in large quantities as a technical product, the plant material from *Sapindus saponaria* is difficult to obtain in Europe and the North-Americas, whereas in Latin America it is readily available (unlike the gypsophila saponin). In order to achieve a better accessibility of both aglycones, gypsogenin (**1**) and hederagenin (**2**), a simple synthesis for their interconversion was developed. Modification of the reaction conditions led to the first synthesis of 4-*epi*-hedragonic acid (**3**).

Keywords: Hederagenin, Gypsogenin, Epi-hedragonic acid, Interconversion

DOI: [10.1016/j.phytol.2020.06.005](https://doi.org/10.1016/j.phytol.2020.06.005)

Publikation P-3

Synthesis of some steroidal mitocans of nanomolar cytotoxicity acting by apoptosis

Immo Serbian, Sophie Hoenke, René Csuk *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, 199, 112425

Abstract

Several steroids (abiraterone, prednisone, testosterone, cholesterol) and the BCL-2 inhibitor bexarotene were used as starting materials to synthesize iperaziny-1-yl-spacered rhodamine B conjugates. The conjugates were screened for their cytotoxicity in SRB assays against several human tumor cell lines and found to be active in a low μM to nM range. The conjugate derived from testosterone held an $\text{EC}_{50} = 59$ nM against MCF-7 tumor cells and acted mainly by necrosis. The prednisone conjugate, however, was less cytotoxic but acted mainly by apoptosis and held a moderate selectivity against MCF-7 tumor cells.

Keywords: Prednisone, Steroids, Apoptosis, Rhodamine B, Synthesis, Cytotoxicity

DOI: [10.1016/j.ejmech.2020.112425](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112425)

Publikation P-4

Ester and amide derivatives of rhodamine B exert cytotoxic effects on different human tumor cell lines

Immo Serbian, Sophie Hoenke, Oliver Kraft & René Csuk *Med. Chem. Res.* **2020**, 29, 1655-1661

Abstract

Three esters of rhodamine B (1–3) differing in their alkyl chain lengths as well as several rhodamine B amides (4–9) were synthesized in good yields and tested for their cytotoxicity in SRB assays employing several human tumor cell lines. The rhodamine B esters were unselective but showed cytotoxicity of as low as $\text{EC}_{50} = 0.15 \pm 0.02$ μM . The rhodamine B amides were slightly less cytotoxic but showed good selectivity against MCF-7 and A2780 tumor cell lines. Especially a morpholinyl derivative 4 was ~20 time more cytotoxic for MCF-7 than for nonmalignant NIH 3T3 cells.

Keywords: Rhodamin B, Rhodamin B amide, Rhodamine B esters, cytotoxicity, SRB assay

DOI: [10.1007/s00044-020-02591-8](https://doi.org/10.1007/s00044-020-02591-8)

Publikation P-5

Ureidobenzenesulfonamides as efficient inhibitors of carbonic anhydrase II

Immo Serbian, Philipp Schwarzenberger, Anne Loesche, Sophie Hoenke, Ahmed Al-Harrasi, René Csuk
Bioorg. Chem. **2019**, 91, 103123

Abstract

Sulfonamides represent an important class of drugs because of their inhibitory effect on carbonic anhydrases (CAs). We therefore synthesized several ureidobenzenesulfonamides and evaluated their bCA II inhibition for their potential use as anti-glaucoma agents. Since these compounds must not show cytotoxic effects, their cytotoxic potential against several human tumor cell lines and non-malignant fibroblasts was investigated. Several fluorophenyl substituted sulfonamides were efficient inhibitors of bCA II. Only one benzylphenyl substituted sulfonamide, however, showed a remarkable selectivity for HT29 colorectal carcinoma cells while being significantly less cytotoxic to non-malignant fibroblasts.

Keywords: **Carbonic anhydrase, Inhibitor, Urea, Ureidobenzenesulfonamide, Glaucoma**

DOI: **10.1016/j.bioorg.2019.103123**

Lebenslauf

Persönliche Angaben

Name: Immo Serbian
Geburtsdatum: 26.08.1990
Geburtsort: Gehrden
Staatsangehörigkeit: deutsch

Bildungsweg

Seit 03/2017 Promotionsstudium am Institut für Chemie im Bereich Organische Chemie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg unter der Leitung von Prof. Dr. René Csuk
10/2016 Abschluss als **Master of Science (M.Sc)** (Note 1,5)
8/2011 bis 10/2016 Chemiestudium an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Schwerpunkt: Organische Synthese
10/2014 Abschluss Bachelor of Science (B.Sc) (Note 2,1)
ASQ: Englisch für Naturwissenschaftler (1 Semester)
ASQ: Wirtschaft für Nichtwirtschaftswissenschaftler (1 Semester)
9/2003 bis 6/2011 Abitur (Note 1,7)
Georg-Büchner-Gymnasium Seelze

Berufserfahrung

03/2017 bis 12/2020 Wissenschaftlicher Mitarbeiter Bioorganische Chemie
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
04/2020 bis 10/2020 Lehrbeauftragter Organische Chemie II Fachhochschule Merseburg
11/2016 bis 1/2017 Wissenschaftlicher Mitarbeiter Makromolekulare Chemie
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
01/2015 bis 04/2015 Wissenschaftl. Hilfskraft Organische Chemie in Halle

Publikationsliste

1. „Straightforward partial synthesis of four diastereomeric 2,3-dihydroxy-olean-12-en-28-oic acids from oleanolic acid“
Sommerwerk, S.; Heller, L.; **Serbian, I.**; Csuk, R., *Tetrahedron* 2015, 71(45), 8528-8534.
2. „Converting maslinic acid into an effective inhibitor of acylcholinesterases“
Schwarz, S.; Loesche, A.; Lucas, S.D.; Sommerwerk, S.; **Serbian, I.** Siewert, B.; Pianowski, E.; Csuk, R., *Eur J Med Chem.* 2015; 103, 438-445.
3. „An Improved Scalable Synthesis of α - and β -Amyrin“
Serbian, I.; Csuk, R., *Molecules.* 2018, 23(7):1552.
4. „Hydroxylated boswellic and glycyrrhetic acid derivatives: synthesis and cytotoxicity“
Serbian, I.; Wolfram, R.K.; Fischer, L.; Al-Harrasi, A.; Csuk, R., *Mediterr. J. Chem.* 2018, 7, 286-293.
5. „Triterpene-Based Carboxamides Act as Good Inhibitors of Butyrylcholinesterase“
Loesche, A.; Kahnt, M.; **Serbian, I.**; Brandt, W.; Csuk, R., *Molecules.* 2019, 24(5), 948.
6. „The cytotoxicity of oleanane derived aminocarboxamides depends on their aminoalkyl substituents“
Kahnt, M.; Loesche, A.; **Serbian, I.**; Hoenke, S.; Fischer, L.; Al-Harassi, A.; Csuk, R., *Steroids.* 2019, 149, 108422.
7. „Substituted cinnamic anhydrides act as selective inhibitors of acetylcholinesterase“
Gießel, J.M.; **Serbian, I.**; Loesche, A.; Csuk, R., *Bioorg. chem.* 2019, 90, 103058.
8. „2-O-(2-chlorobenzoyl) maslinic acid triggers apoptosis in A2780 human ovarian carcinoma cells“
Serbian, I.; Siewert, B.; Al-Harrasi, A.; Csuk, R., *Eur. J. Med. Chem.* 2019, 180, 457-464.
9. „Ureidobenzenesulfonamides as efficient inhibitors of carbonic anhydrase II“
Serbian, I.; Schwarzenberger, P.; Loesche, A.; Hoenke, S.; Al-Harrasi, A.; Csuk, R., *Bioorg. Chem.* 2019, 91, 103123.
10. „Synthesis and Biological Evaluation of Structurally Varied 5'-/6'-Isonucleosides and Theobromine-Containing N-Isonucleosidyl Derivatives“
Xavier, N.M.; de Sousa, E.C.; Pereira, M.P.; Loesche, A.; **Serbian, I.**; Csuk, R.; Conceição Oliveira, M., *Pharmaceuticals (Basel).* 2019, 12(3), 103.
11. „Synthesis of amide-spacer dimers of ursolic and oleanolic acid“
Hoenke, S.; Wiengarn, I.; **Serbian, I.**; Al-Harrasi, A.; Csuk, R., *Mediterr. J. Chem.* 2019, 1, 24-36.
12. „Streamlined synthesis of (R, R)-rhizoferrin, (S, S)-rhizoferrin and (R, S, R)-staphyloferrin A“
Serbian, I.; Wiese, J.; Raschke, A.; Deising, H.; Csuk, R., *Phytochem. Lett.* 2019, 33, 64-69.

13. „Development of indanones and isatins as non-cytotoxic inhibitors of cholinesterases”
Gießel, J.M.; Loesche, A.; Hoenke, S.; **Serbian, I.**; Al-Harrasi, A.; Csuk, R., *Mediterr. J. Chem.* 2020, 10, 121-137.
14. „Stereoselective synthesis of alkyl pyranosides on a laboratory scale”
Serbian, I.; Prell, E.; Al-Harrasi, A.; Csuk, R., *Mediterr. J. Chem.* 2020, 10(3), 269.
15. „Synthesis and cytotoxic evaluation of malachite green derived oleanolic and ursolic acid piperazineamides”
Friedrich, S.; **Serbian, I.**; Hoenke, S.; Wolfram, R.K.; Csuk, R., *Med Chem Res.* 2020, 29, 926–933.
16. „In the Mists of a Fungal Metabolite: An Unexpected Reaction of 2,4,5-Trimethoxyphenylglyoxylic acid”
Serbian, I.; Loesche, A.; Sommerwerk, S.; Liebing, P.; Ströhl, D.; Csuk, R., *Molecules.* 2020, 25(8), 1978.
17. „Synthesis of some steroidal mitocans of nanomolar cytotoxicity acting by apoptosis”
Serbian, I.; Hoenke, S.; Csuk, R., *Eur. J. Med. Chem.* 2020, 199, 112425.
18. „Synthesis and cholinesterase inhibiting potential of A-ring azepano- and 3-amino-3,4-seco-triterpenoids”
Kazakova, O.; Smirnova, I.; Lopatina, T.; Giniyatullina, G.; Petrova, A.; Khusnutdinova, E.; Csuk, R.; **Serbian, I.**; Loesche, A., *Bioorg. Chem.* 2020, 101, 104001.
19. „Synthesis and cytotoxic evaluation of hydroxycinnamic acid rhodamine B conjugates”
Kozubek, M.; **Serbian, I.**; Hoenke, S.; Kraft, O.; Csuk, R., *Results Chem.* 2020, 2, 100057.
20. „Ester and amide derivatives of rhodamine B exert cytotoxic effects on different human tumor cell lines”
Serbian, I.; Hoenke, S.; Kraft, O.; Csuk, R., *Med Chem Res.* 2020, 29, 1655-1661.
21. „Interconversion of hederagenin and gypsogenin and accessing 4-epi-hedragonic acid”
Serbian, I.; Ströhl, D.; Csuk, R., *Phytochem. Lett.* 2020, 39, 35-38.

Erklärung über den Autorenanteil

Publikation 1: „An Improved Scalable Synthesis of α - and β -Amyrin“

Immo Serbian, René Csuk *Molecules* **2018**, 23(7), 1552

Die Synthese der Verbindungen und die Auswertung der spektroskopischen Daten wurde von mir vorgenommen. R. Csuk betreute praktischen sowie theoretischen Aspekte der Arbeit.

P-2: Interconversion of hederagenin and gypsogenin and accessing 4-epihederagenic acid

Immo Serbian, Dieter Ströhl, René Csuk *Phytochem. Lett.* **2020**, 39, 35-38

Die Synthese der Verbindungen und die Auswertung der spektroskopischen Daten wurde von mir vorgenommen. D. Ströhl führte erweiterte NMR-Experimente an den Verbindungen durch. R. Csuk betreute praktische sowie theoretische Aspekte der Arbeit.

P-3: Synthesis of some steroidal mitocans of nanomolar cytotoxicity acting by apoptosis

Immo Serbian, Sophie Hoenke, René Csuk *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, 199, 112425

Die Synthese der Verbindungen und die Auswertung der spektroskopischen Daten wurde von mir vorgenommen. Die Bestimmung der EC₅₀-Werte, sowie weitere Zelltest relevante Untersuchungen wurden von S. Hoenke vorgenommen. R. Csuk betreute praktische sowie theoretische Aspekte der Arbeit.

P-4: Ester and amide derivatives of rhodamine B exert cytotoxic effects on different human tumor cell lines

Immo Serbian, Sophie Hoenke, Oliver Kraft, René Csuk *Med. Chem. Res.* **2020**, 29, 1655-1661

Der Großteil der Synthesen der Verbindungen und die Auswertung der spektroskopischen Daten wurde von mir vorgenommen. Die Bestimmung der EC₅₀-Werte, sowie weitere Zelltest relevante Untersuchungen wurden von S. Hoenke vorgenommen. R. Csuk betreute praktische sowie theoretische Aspekte der Arbeit.

P-5: Ureidobenzenesulfonamides as efficient inhibitors of carbonic anhydrase II

Immo Serbian, Philipp Schwarzenberger, Anne Loesche, Sophie Hoenke, Ahmed Al-Harrasi, René Csuk *Bioorg. Chem.* **2019**, 91, 103123

Der Großteil der Synthesen der Verbindungen und die Auswertung der spektroskopischen Daten wurde von mir vorgenommen. Die Auswertung und Anfertigung des Enzymassays übernahm A. Loesche. Die Bestimmung der EC₅₀-Werte, sowie weitere Zelltest relevante Untersuchungen wurden von S. Hoenke vorgenommen. R. Csuk betreute praktische sowie theoretische Aspekte der Arbeit.

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Zuhilfenahme der angegebenen Quellen und Hilfsmittel verfasst habe. Die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen wurden als solche kenntlich gemacht. Die Arbeit wurde bisher an keiner anderen Universität oder Hochschule eingereicht.

Halle (Saale), den 03.09.2020

Immo Serbian