



ENTWICKLUNG NEUARTIGER  
1,4-DIHYDROPYRIDINE UND DEREN  
KÄFIGDIMERE ALS MDR-MODULATOREN IN  
DER THERAPIE VON MALIGNEN TUMOREN

**Dissertation**

zur Erlangung des  
Doktorgrades der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat)

der

Naturwissenschaftlichen Fakultät I - Biowissenschaften -  
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg,

vorgelegt von

Herrn Henry Döring  
geboren am 30.08.1993 in Halle

verteidigt am  
08.07.2022



**Gutachter 1:**

Prof. Dr. Andreas Hilgeroth

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Wolfgang-Langenbeck-Str. 4,  
06120 Halle (Saale)

**Gutachter 2:**

Prof. Dr. Christoph Ritter

Universität Greifswald, Felix-Hausdorff-Str. 1, 17489 Greifswald

**Gutachter 3:**

PD Dr. habil. Matthias Schmidt

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Wolfgang-Langenbeck-Str. 4,  
06120 Halle (Saale)



# Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis</b>	<b>I</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>V</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>IX</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>XIII</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2 Grundlagen</b>	<b>3</b>
2.1 Krebsentstehung . . . . .	3
2.1.1 Auslöser . . . . .	5
2.2 Einteilung von Tumorerkrankungen . . . . .	7
2.2.1 Histologische Klassifikation (Typing) . . . . .	7
2.2.1.1 Benigne und maligne Tumoren . . . . .	7
2.2.1.2 Einteilung nach Ursprungsgewebe . . . . .	8
2.2.1.3 WHO-Klassifikation . . . . .	9
2.2.2 Staging und Grading . . . . .	10
2.3 Therapieprinzipien . . . . .	14
2.3.1 Chirurgische Entfernung . . . . .	15
2.3.2 Strahlentherapie . . . . .	16
2.3.3 Medikamentöse Behandlung . . . . .	16
2.3.3.1 Zytostatika . . . . .	16
2.3.3.2 Antihormonelle Therapie . . . . .	22
2.3.3.3 Zielgerichtete Krebstherapie . . . . .	22
2.4 Resistenzmechanismen, Multiple drug resistance . . . . .	24
2.4.1 ATP-binding cassette-Transporter . . . . .	28
2.4.1.1 P-Glykoprotein . . . . .	29
2.4.1.2 Multidrug resistance-associated protein . . . . .	30

2.4.2	Inhibitoren der multidrug resistance-associated proteins . . . . .	33
2.4.2.1	MRP1-Modulatoren . . . . .	33
2.4.2.2	MRP2-Modulatoren . . . . .	36
2.4.2.3	MRP4-Modulatoren . . . . .	37
2.5	Zielstellung der Arbeit . . . . .	39
<b>3</b>	<b>Synthese und Charakterisierung der Verbindungen</b>	<b>41</b>
3.1	Darstellung und Charakterisierung der 1,4-Dihydropyridin-Derivate .	41
3.1.1	Diskussion zum Mechanismus der Synthese . . . . .	41
3.1.2	Synthese der Verbindungen, Problemstellungen und Lösungen	46
3.1.3	Strukturaufklärung . . . . .	50
3.2	Darstellung und Charakterisierung der Käfigdimere . . . . .	56
3.2.1	Diskussion zum Mechanismus der Synthese . . . . .	56
3.2.2	Synthese der Verbindungen, Problemstellungen und Lösungen	58
3.2.3	Strukturaufklärung . . . . .	61
3.3	Darstellung und Charakterisierung der alkoholischen Käfigdimere . .	62
3.3.1	Diskussion zum Mechanismus der Synthese . . . . .	62
3.3.2	Synthese der Verbindungen, Problemstellungen und Lösungen	63
3.3.3	Strukturaufklärung . . . . .	66
3.4	Versuch der Synthese von Käfigdimersäuren . . . . .	69
<b>4</b>	<b>Bioanalytische Untersuchungen</b>	<b>71</b>
4.1	MRP4-Hemmung . . . . .	71
4.1.1	Durchflusszytometrie . . . . .	71
4.1.1.1	Ergebnisse der 1,4-Dihydropyridin-Derivate . . . . .	73
4.1.1.2	Ergebnisse der alkoholischen Käfigdimerstrukturen .	78
4.1.1.3	Vergleich der Ergebnisse beider Reihen . . . . .	84
4.1.2	MTT-Test zur Untersuchung der Resistenzaufhebung . . . . .	86
4.2	Untersuchungen zur Selektivität . . . . .	88
4.2.1	MRP1- und MRP2-Hemmung . . . . .	88
4.2.1.1	Ergebnisse der 1,4-Dihydropyridin-Derivate . . . . .	89
4.2.1.2	Ergebnisse der alkoholischen Käfigdimerstrukturen .	90
4.2.2	Zusammenfassung und Auswertung der Selektivitätsuntersuchungen . . . . .	91
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>93</b>

<b>6 Experimenteller Teil</b>	<b>97</b>
6.1 Methoden und Materialien . . . . .	97
6.1.1 Schmelzpunktbestimmung . . . . .	97
6.1.2 NMR-Spektroskopie . . . . .	97
6.1.3 Massenspektrometrie . . . . .	98
6.1.4 Chromatografische Methoden . . . . .	99
6.1.4.1 Dünnschichtchromatografie (DC) . . . . .	99
6.1.4.2 Schwerkraftsäulenchromatografie (SSC) . . . . .	100
6.1.4.3 Analytische <i>high performance liquid chromatography</i> (HPLC) zur Reinheitsbestimmung . . . . .	100
6.1.4.4 Präperative <i>high performance liquid chromatography</i> (HPLC) . . . . .	101
6.1.5 Bioanalytische Methoden . . . . .	102
6.1.5.1 Durchflusszytometrie . . . . .	102
6.1.5.2 MTT-Test . . . . .	104
6.1.6 Verwendete Chemikalien . . . . .	104
6.1.7 Sonstiges . . . . .	106
6.2 Synthese der Verbindungen . . . . .	107
6.2.1 Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAVs) . . . . .	107
6.2.2 Synthese der N-substituierten 1,4-Dihydropyridine . . . . .	110
6.2.2.1 Aufgeklärte Nebenprodukte . . . . .	132
6.2.3 Synthese der käfigdimeren Strukturen . . . . .	133
6.2.4 Synthese der alkoholischen Käfigdimere . . . . .	154
6.2.4.1 Aufgeklärte Nebenprodukte . . . . .	179
6.2.5 Synthese der Käfigdimersäuren . . . . .	180
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>183</b>
<b>Eidesstattliche Erklärung</b>	<b>XV</b>
<b>Danksagung</b>	<b>XVII</b>
<b>Lebenslauf</b>	<b>XIX</b>



# Abkürzungsverzeichnis

<b>3ATA</b>	<i>3β-acetyl tormentic acid</i>
<b>5-FU</b>	5-Fluorouracil
<b>AAV</b>	Allgemeine Arbeitsvorschrift
<b>Abb.</b>	Abbildung
<b>ABC</b>	<i>ATP-binding cassette</i>
<b>AEBSF</b>	4-(2-Aminoethyl)benzolsulfonylfluorid
<b>ALL</b>	Akute lymphoblastische Leukämie
<b>AM</b>	Acetoxymethylester
<b>AML</b>	Akute myeloische Leukämie
<b>APT</b>	<i>attached proton test</i>
<b>APCI</b>	<i>Atmospheric pressure chemical ionization</i>
<b>BCA</b>	Bicinchoninsäure
<b>BCRP</b>	<i>breast cancer resistance protein</i>
<b>BRCA</b>	<i>breast cancer</i>
<b>cAMP</b>	cyclisches Adenosinmonophosphat
<b>CFDA</b>	5-Carboxy-fluorescein-diacetat
<b>cGMP</b>	cyclisches Guanosinmonophosphat
<b>CLL</b>	Chronische lymphoblastische Leukämie
<b>CML</b>	Chronische myeloische Leukämie
<b>cMOAT</b>	<i>canalicular multispecific organic anion transporter</i>
<b>COSY</b>	Korrelationspektroskopie
<b>DC</b>	Dünnschichtchromatografie
<b>DHP</b>	Dihydropyridin
<b>DKFZ</b>	Deutschen Krebsforschungszentrum

<b>DMSO</b>	Dimethylsulfoxid
<b>DR</b>	<i>proapoptotic death receptor</i>
<b>EGF</b>	<i>epidermal growth factor</i>
<b>engl.</b>	englisch
<b>ESI</b>	Elektronen-Spray-Ionisation
<b>FAR</b>	<i>fluorescence activity ratio</i>
<b>FH<sub>4</sub></b>	5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure
<b>GARFT</b>	Glycinamid-Ribonucleotid-Formyltransferase
<b>GBE</b>	Gesundheitsberichterstattung des Bundes
<b>GCS</b>	Glucosylceramid-Synthase
<b>HER</b>	<i>human epidermal growth factor receptor</i>
<b>HPLC</b>	<i>high performance liquid chromatography</i>
<b>HR-MS</b>	Hochauflösende Massenspektrometrie
<b>HSQC</b>	<i>heteronuclear single quantum coherence</i>
<b>ICD-10</b>	Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme
<b>ICD-O-3</b>	Internationale Klassifikation der Krankheiten für die Onkologie
<b>IMB</b>	2-Indolylmethylenbenzofuranone
<b>KD</b>	Käfigdimer
<b>MDR</b>	<i>multiple drug resistance</i>
<b>miRNA</b>	Micro-RNA
<b>MRP</b>	<i>multidrug resistance-associated protein</i>
<b>MSD</b>	<i>membrane-spanning domain</i>
<b>MTT</b>	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid
<b>MTX</b>	Methotrexat
<b>NBD</b>	Nukleotid-bindende Domäne
<b>NMR</b>	Kernspinresonanz
<b>NOESY</b>	<i>nuclear overhauser enhancement and exchange spectroscopy</i>
<b>P-gp</b>	P-Glykoprotein

<b>PARP</b>	Poly(ADP-ribose)-Polymerase
<b>PBS</b>	Phosphatgepufferte Salzlösung
<b>PDGF</b>	<i>platelet-derived growth factor</i>
<b>ppm</b>	<i>parts per million</i>
<b>RKI</b>	Robert Koch-Institut
<b>RNAi</b>	RNA-Interferenz
<b>RTKI</b>	Rezeptortyrosinkinaseinhibitoren
<b>SD</b>	Standardabweichung
<b>SSC</b>	Schwerkraftsäulenchromatografie
<b>Tab.</b>	Tabelle
<b>THF</b>	Tetrahydrofuran
<b>TMD</b>	transmembranäre Domäne
<b>TRAIL</b>	<i>tumor necrosis factor-related-apoptosis-inducing ligand</i>
<b>UICC</b>	<i>Union for International Cancer Control</i>
<b>Vdg.</b>	Verbindung
<b>VEGF</b>	<i>vascular endothelial growth factor</i>
<b>WHO</b>	<i>World Health Organization</i>



# Abbildungsverzeichnis

1	Altersstandardisierte Erkrankungs- und Sterberaten nach Geschlecht, ICD-10 C00–C97 ohne C44, Deutschland 1999–2016/2017, Prognose (Inzidenz) bis 2020 [3] . . . . .	1
2	Kennzeichen von Krebszellen durch genetische Veränderungen [20] . .	4
3	Zahlen und Anteile der durch potentiell vermeidbare Krebsrisikofaktoren bedingten Krebsfälle bei Männern und Frauen zwischen 35 und 84 Jahren in Deutschland 2018 [26] . . . . .	7
4	Metastasierung am Beispiel des Dickdarmkarzinoms [31, S.5] . . . . .	8
5	Angriffspunkte von Zytostatika und zielgerichteten Inhibitoren [61, S.928] . . . . .	17
6	5-FU . . . . .	18
7	Hydroxycarbamid . . . . .	19
8	N-Lost . . . . .	19
9	Cisplatin . . . . .	20
10	Doxorubicin . . . . .	21
11	Schematische Darstellung der Funktionsweise von ABC-Transportern [106] . . . . .	29
12	Struktur des P-gp von <i>C. elegans</i> [118] . . . . .	29
13	Schematische Darstellung der Sekundärstruktur von langen und kurzen <i>multidrug resistance-associated proteins</i> (MRPs) [150] . . . . .	31
14	Dreidimensionales Modell der Tertiärstruktur von MRP1 und MRP4 [150] . . . . .	31
15	Strukturformeln von Verapamil (links) und Nicardipin (rechts) . . . .	34
16	Strukturformeln IA1 und IIA5 und Docking-Interaktion von IA1 mit der aktiven Seite von MRP1-NBD1 [188] . . . . .	34
17	Allgemeine Struktur der 1,4-DHPs von KREUTZER <i>et al.</i> [189]. . . . .	35
18	Strukturformeln von Probenecid, Benzbromaron und MK571 . . . . .	35
19	Strukturformel von 3ATA . . . . .	36
20	2-Indolylmethylenbenzofuran-3(2H)-one [201] . . . . .	37

21	Auswahl bekannter MRP4-Inhibitoren und ihre Bioaktivität [12] . . .	37
22	Strukturformel von Cpd23 . . . . .	39
23	Zielstrukturen der zu synthetisierenden 1,4-Dihydropyridine (links) und ihrer alkoholischen Käfigdimere (rechts) . . . . .	40
24	Darstellung der 1,4-Dihydropyridine modifiziert nach Hilgeroth [207] .	42
25	Möglicher Reaktionsweg bei der Synthese der 1,4-Dihydropyridine . .	42
26	Reaktionsmechanismus bei der Bildung des Aminoacrylats A . . . . .	43
27	Reaktionsmechanismus der Reaktion von A mit Benzaldehyd zu B . .	44
28	Reaktionsmechanismus der Reaktion Enamin A mit B zu C . . . . .	44
29	Ringschluss zu Verbindung D mit anschließender Eliminierung des Benzylamins . . . . .	45
30	Struktur der hergestellten 1,4-Dihydropyridine . . . . .	47
31	Verbindung 23 . . . . .	49
32	Reaktion des Imins mit Enamin A . . . . .	50
33	Verbindung 1 und dazugehörige <sup>1</sup> H-NMR-Daten . . . . .	51
34	Relevante Bereiche des <sup>1</sup> H-NMR-Spektrums der Verbindung 1 . . . .	51
35	Verbindung 6 und dazugehörige <sup>1</sup> H-NMR-Daten . . . . .	53
36	Ausschnitte aus der COSY und der NOESY der Verbindung 1 . . . .	53
37	Verbindung 1 und dazugehörige <sup>13</sup> C-NMR-Daten . . . . .	55
38	HSQC-Spektrum der Verbindung 1 . . . . .	55
39	Dimerisierung der 1,4-Dihydropyridine . . . . .	57
40	Beispiele für [2+2]-Cycloadditionen . . . . .	58
41	Struktur der Käfigdimere . . . . .	60
42	Relevante Bereiche des <sup>1</sup> H-NMR-Spektrums der Verbindung 24 . . . .	61
43	Verbindung 24 und dazugehörige <sup>1</sup> H-NMR-Daten . . . . .	62
44	Reduktion der Carbonsäureester mit Lithiumaluminiumhydrid . . . .	63
45	Struktur der reduzierten Käfigdimere . . . . .	64
46	Verbindung 45 und dazugehörige <sup>1</sup> H-NMR-Daten . . . . .	66
47	Relevante Bereiche des <sup>1</sup> H-NMR-Spektrums der Verbindung 45 . . . .	67
48	Ausschnitte aus der COSY der Verbindung 45 . . . . .	68
49	Western Blot der Colo357 Zelllinien . . . . .	72
50	Struktur der hergestellten 1,4-Dihydropyridine . . . . .	73
51	Einfluss der Methoxy-Substituenten am 1- <i>N</i> -Benzyl-Rest auf die Hemm- aktivität im Verhältnis zu MK571 bei 1,4-DHP-Verbindungen . . . .	77
52	1,4-DHP-Verbindungen mit 1- <i>N</i> -Benzyl-3-Methoxy-Rest im Vergleich	77

53	1,4-DHP-Verbindungen mit der höchsten Aktivität . . . . .	78
54	Struktur der Käfigdimere . . . . .	79
55	Einfluss auf die Aktivität von Methoxy-Substituenten an alkoholi- schen Käfigdimeren . . . . .	83
56	Alkoholische Käfigdimere ohne Methoxy-Substituenten am 4-Phenyl- Rest mit den besten Aktivitäten . . . . .	84
57	Reduktion von MTT zu Formazan . . . . .	86
58	Resistenzüberwindung bei Colo357MRP4 gegen 6-Mercaptopurin . . .	87



# Tabellenverzeichnis

1	Staging Brustkrebs nach UICC [48, 52] . . . . .	11
2	Übersicht - Staging und Grading . . . . .	12
3	Organtoxische Nebenwirkungen von Zytostatika [58] . . . . .	22
4	Auswahl von miRNAs mit Einfluss auf die Entstehung von Resistenzen	27
5	Substitutionsmuster der Verbindungen 1-22 . . . . .	47
6	Vergleich von Ausbeuten bei der DHP-Synthese . . . . .	48
7	Substitutionsmuster der Verbindungen 24-44 . . . . .	60
8	Substitutionsmuster der Verbindungen 45-77 . . . . .	64
9	Ergebnisse des durchflusszytometrischen Assays der Verbindungen 1- 22 (n = 3) . . . . .	73
10	Ergebnisse des durchflusszytometrischen Assays der Verbindungen 45-77 (n = 3) . . . . .	79
11	Vergleich der Hemmaktivitäten von 1,4-Dihydropyridinen mit den aus ihnen synthetisierten alkoholischen Käfigdimeren im Verhältnis zu MK571 . . . . .	85
12	IC50-Werte von 6-Mercaptopurin bei Colo357 und Colo357MRP4 und nach Behandlung von Colo357MRP4 mit entsprechender Verbindung	87
13	Ergebnisse des Bicinchoninsäure (BCA)-Assays in pmol/mg Mem- branprotein . . . . .	89
14	x-Werte des MRP1/2-Inhibitionsassay der acht stärksten MRP4-In- hibitoren der synthetisierten 1,4-DHP . . . . .	90
15	x-Werte des MRP1/2-Inhibitionsassay der acht stärksten MRP4-In- hibitoren der synthetisierten alkoholischen Käfigdimere . . . . .	90
16	Genutzte Handels-, Präzisions-, Feinwaagen . . . . .	106
17	Magnetrührplatten . . . . .	106



# 1 Einleitung

„Jeder zweite Krebspatient kann inzwischen geheilt werden“ [1]. Das verkündete der damalige Vorstandsvorsitzende des Deutschen Krebsforschungszentrums (DKFZ) Otmar Wiestlar 2014, dem Jahr des 50. Geburtstags des Forschungszentrums. Von Heilung spricht man, wenn fünf Jahre nach einer erfolgreichen Behandlung kein Rückfall auftritt [2]. Die relative 5-Jahres-Überlebensrate in Deutschland lag laut Zahlen des Robert Koch-Instituts (RKI) und des Zentrums für Krebsregisterdaten von 2015 bis 2016 bei 65 % für Frauen und bei 59 % für Männer. Vor 1980 starben noch mehr als zwei Drittel aller Krebspatienten an ihrer Erkrankung [3, 4]. Das ist der Verdienst großer Fortschritte in der Therapie von Krebserkrankungen und von Verbesserungen in der Vorbeugung und Früherkennung. Dennoch wird eine Krebsdiagnose in der Bevölkerung häufig als Todesurteil wahrgenommen [5]. Denn wie hoch die Überlebenschancen sind, ist von vielen Faktoren abhängig, z.B. vom Organsystem, welches betroffen ist. Das zeigen die Zahlen des RKI und des Zentrums für Krebsregisterdaten. So ist z.B. die relative Überlebensrate bei der Diagnose Lungenkrebs viel geringer, als wenn z.B. die Schilddrüse betroffen ist [3].

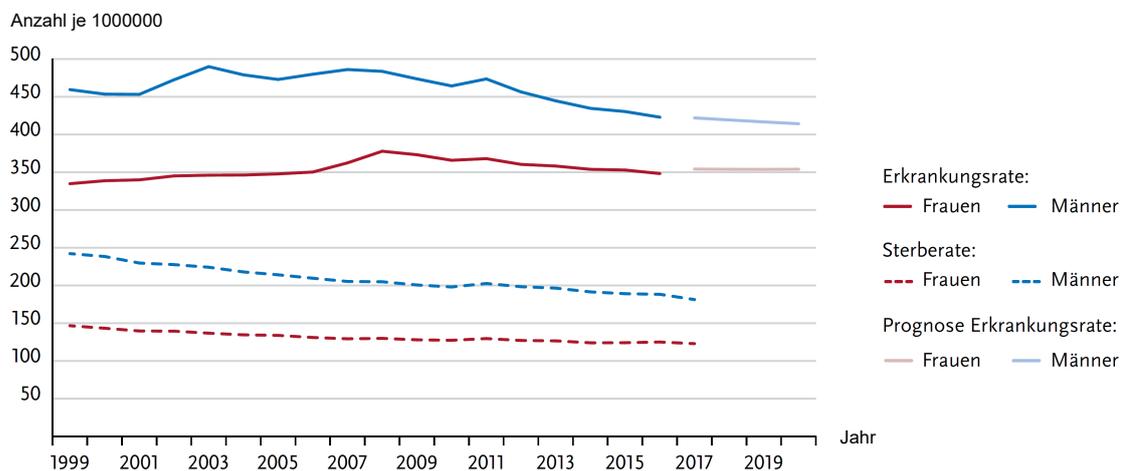


Abb. 1: Altersstandardisierte Erkrankungs- und Sterberaten nach Geschlecht, ICD-10 C00–C97 ohne C44, Deutschland 1999–2016/2017, Prognose (Inzidenz) bis 2020 [3]

Abb. 1 zeigt einen Rückgang der Sterberaten. Wegen der steigenden Lebenserwartung in der Bevölkerung und weil Krebserkrankungen im Alter gehäuft auftreten,

ist eine Altersstandardisierung notwendig, um eine Vergleichbarkeit über die Jahre zu ermöglichen. Trotz der Forschungsfortschritte bleibt insbesondere für bestimmte Arten von Krebs ein hohes restliches Sterberisiko. Ein Grund hierfür ist unter anderem die Entwicklung von Resistenzen gegen strukturell und pharmakologisch unterschiedliche Arzneistoffe, die oftmals die Therapie limitieren [6–8]. Eine sogenannte *multiple drug resistance* (MDR) ist Thema vieler Forschungsarbeiten. Selbst gegen neuere Wirkstoffe, Rezeptortyrosinkinaseinhibitoren (RTKI) und monoklonale Antikörper wurden Resistenzen beobachtet [9–11]. Einer von vielen Mechanismen, der zur Entstehung einer MDR beiträgt, ist die Überexpression von *ATP-binding cassette* (ABC)-Transportern, die unter anderem für das Ausschleusen der Arzneistoffe aus der Zelle sorgen können [8]. Das *multidrug resistance-associated protein* (MRP) 4 ist ein wichtiger Vertreter der Gruppe C der ABC-Transporter und spielt aufgrund seiner ubiquitären Verbreitung im Körper sowohl bei physiologischen Prozessen als auch bei der Entstehung einer MDR eine wichtige Rolle [12–14]. Die effektive Hemmung dieses Transporters, könnte zum erneuten Ansprechen resistenter Krebserkrankungen auf Zytostatika führen. Derzeit gibt es in der Klinik keinen Arzneistoff, der als MRP4-Inhibitor zum Einsatz kommt. Umso mehr ist es von Nöten, die Entwicklung neuer Substanzen in Angriff zu nehmen. In der vorliegenden Arbeit soll zuerst ein Überblick über die Komplexität der Entstehung und Einteilung von Tumorerkrankungen gegeben und die Entstehung einer MDR durch verschiedene Resistenzmechanismen besprochen werden. Außerdem sollen zum einen verschiedene Vertreter der ABC-Transporterfamilie vorgestellt sowie potentielle Effluxpumpeninhibitoren, die aus anderen Forschungsarbeiten hervorgingen, aufgezeigt und diskutiert werden. Anschließend werden die im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Substanzen vorgestellt und charakterisiert und deren biochemische Testergebnisse ausgewertet, die Aufschluss auf deren Potential zur Bekämpfung einer MDR geben.

# 2 Grundlagen

## 2.1 Krebsentstehung

In einem vielzelligen Organismus herrscht ein Gleichgewicht zwischen Zellproliferation (Zellteilung), Zelldifferenzierung (Zellreifung) und Apoptose (programmierter Zelltod). Die Aufrechterhaltung dieser sogenannten Gewebshomöostase ist wichtig für den Körper, um Zellen bestimmter Organe neu zu bilden oder Zellschädigungen zu entfernen. Unter physiologischen Bedingungen laufen die genannten Prozesse streng kontrolliert ab und werden durch entsprechende Signalstoffe reguliert. Kommt es zur Störung dieses Gleichgewichts aufgrund von Veränderungen von Genen, die solche Signalstoffe kodieren, kann Krebs entstehen [15]. Mögliche Typen genetischer Veränderungen können Punktmutation (Einzelbasenveränderung), Deletion (Verlust größerer DNA-Segmente), Amplifikation (Vervielfachung einzelner DNA-Segmente), Insertion (Integration von Fremd-DNA) und Translokation (Verlagerung von Chromosomensegmenten) sein [15–17].

Die Entstehung eines Tumors ist ein komplexer und mehrstufiger Prozess. In der Regel treten während der Tumorgenese Mutationen in 4 bis 7 verschiedenen Genen auf, welche das Wachstumsverhalten von Zellen verändern. Studien von VOGELSTEIN und KINZLER verdeutlichten das am Beispiel von Kolonkarzinomen [15, 17, 18]. Bereits 1990 formulierten FEARON und VOGELSTEIN aus ihren Erkenntnissen ein Modell der Mehrstufenmutation im Verlauf der Tumorprogression [19]. Die Entstehung eines malignen Tumors beruht demnach auf einer Akkumulation von Mutationen in Protoonkogenen und Tumorsuppressorgenen. Protoonkogene codieren Proteine, die an der Weiterleitung oder Generierung von Wachstumssignalen beteiligt sind. Durch entsprechende Mutationen können diese zu Onkogenen umgewandelt werden, was zu übermäßigem Zellwachstum führen kann. Die Produkte von Tumorsuppressorgenen wiederum hemmen das Zellwachstum oder induzieren die Apoptose. Durch Mutationen kann es zu einem Funktionsverlust kommen. Des Weiteren spielen auch Genveränderungen an Mutatorgenen (deren Produkte beeinflussen die Mutationsrate) und Genen mit Einfluss auf das Potential zur Metastasierung eine Rolle [15,

17, 19].

Mutationen an den genannten Arten von Genen führen zu bestimmten Zellveränderungen. HANAHAN und WEINBERG fassten diese im Jahr 2000 als sechs Kennzeichen von Krebs zusammen (Abb. 2). Bestimmte Veränderungen von Genen, deren Proteine Wachstumssignale weiterleiten, können dazu führen, dass Zellen permanent Wachstumssignale empfangen. Andere Genveränderungen führen zur Resistenz gegenüber wachstumshemmenden Signalen oder der Apoptose. Des Weiteren kann es zu einer erhöhten Angiogenese (Bildung neuer Blutgefäße), zur Metastasierung oder zur Ausschaltung der Seneszenz (Einstellen der Zellteilung nach bestimmter Anzahl der Teilungen) kommen, womit eine unbegrenzte Teilungsfähigkeit einhergeht [15, 20].

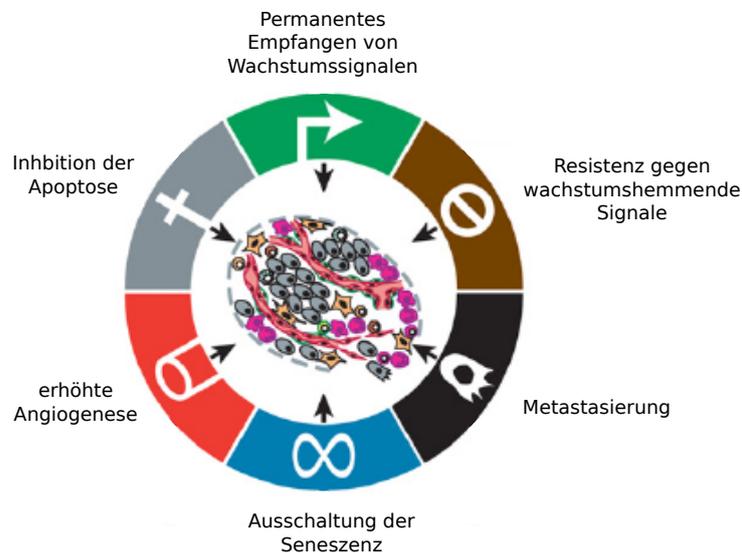


Abb. 2: Kennzeichen von Krebszellen durch genetische Veränderungen [20]

Im Jahr 2011 ergänzten HANAHAN und WEINBERG ihre Übersicht durch vier weitere Kennzeichen von Krebs. Zwei davon bezeichneten sie als „*emerging hallmarks*“ (aufkommende Kennzeichen), da zwar eine zunehmende Anzahl von Arbeiten nahe legte, dass sie in die Pathogenese einiger, vielleicht sogar aller Krebsarten involviert sind, diese Aussage allerdings noch nicht vollständig validiert war. Es handelt sich hierbei zum einen um die Fähigkeit von Krebszellen den zellulären Metabolismus zu modifizieren, um effektiv die neoplastische Proliferation zu unterstützen und zum anderen der immunologischen Zerstörung, insbesondere durch T- und B-Lymphozyten, zu entgehen. Die anderen zwei Kennzeichen erleichtern sowohl den

Erwerb der genannten sechs Kennzeichen als auch der aufkommenden Kennzeichen. Sie werden deshalb als „*enabling characteristics*“ (Aktivierungsmerkmale) bezeichnet. Dazu gehören eine genomische Instabilität, die das Fortschreiten eines Tumors vorantreibt und eine tumorfördernde Wirkung von Entzündungen, die durch angeborene Immunzellen ausgelöst wird und unbeabsichtigt mehrere Kennzeichen von Krebs unterstützen kann [21]. Diese Zusammenfassung charakteristischer Kennzeichen von Krebszellen gibt auch heute noch einen guten Überblick über die Biologie einer Krebserkrankung und deren Besonderheiten.

### 2.1.1 Auslöser

Die Karzinogenese ist ein komplexer biologischer Prozess. Die in Abschnitt 2.1 erwähnten genetischen Veränderungen können durch verschiedene Substanzen oder Einflüsse ausgelöst werden, die Karzinogene genannt werden. Man unterscheidet chemische, physikalische und biologische bzw. virale Karzinogene als extrinsische Auslöser, also Faktoren, die von außen einwirken.

Chemische Karzinogene werden zumeist nach Aufnahme in den Organismus metabolisch aktiviert, also von einem Prokarzinogen in ein hochreagibles Karzinogen umgewandelt [22]. Die entstandenen, meist kurzlebigen elektrophilen Substanzen können mit nukleophilen Zentren anderer Moleküle reagieren, zum Beispiel mit DNA-Basen. Bei der nachfolgenden DNA-Replikation können so Mutationen auftreten, sollte das nicht durch Reparaturmechanismen des Körpers verhindert werden. Zu dieser Art von Karzinogenen gehören zum Beispiel verschiedene Zytostatika, aromatische Amine oder Kohlenwasserstoffe und Asbest [17].

Die wichtigste Rolle der physikalischen Karzinogene nimmt ionisierende Strahlung ein, zu der auch UV-Strahlung zählt [23]. Der karzinogene Effekt der Bestrahlung erfolgt überwiegend durch entstehende hochreaktive Sauerstoffradikale, die durch die Strahlen im Überschuss entstehen, sodass sie in der Zelle nicht mehr enzymatisch deaktiviert werden können. Dadurch bildet sich unter anderem aus dem Nukleosid Desoxyguanosin das promutagene 8-Hydroxydesoxyguanosin, welches auch ein Marker für oxidativen Stress darstellt, und es kann zu einer irreversiblen Störung der genetischen Information der Zelle kommen. Einen weniger relevanten aber vorhandenen Effekt stellt die direkte genotoxische Wirkung von ionisierender Strahlung durch Freisetzung energiereicher Elektronen an der DNA durch Strangbrüche dar [17].

Unter viraler Karzinogenese versteht man eine Tumorinduktion durch onkogene Viren. Besonders die Entstehung von Zervixkarzinomen steht mit bestimmten Gruppen

des humanen Papillomavirus im Zusammenhang. In die DNA von Zellen eingelagerte Erbinformationen von bestimmten Viren können durch deren Produkte zu Störungen in der Steuerung von proliferations- und differenzierungsregulierender Gene führen, wodurch die zelluläre Wachstumskontrolle versagen kann [17, 24].

Die extrinsischen Auslöser können auch in Lebensstilfaktoren und Umweltfaktoren eingeteilt werden. Zu den Lebensstilfaktoren gehören vor allem das Rauchen, Übergewicht durch schlechte Ernährung und Bewegungsmangel und das häufige, ungeschützte Aussetzen des Körpers gegenüber Sonnenstrahlen oder Solariumsbesuche. Auf Umweltfaktoren hat ein Jeder nur wenig Einfluss. Dazu gehören z.B. Asbest, Chemikalien, Umweltgifte und natürliche Strahlung [25]. Krebserkrankungen, die durch Lebensstilfaktoren ausgelöst werden, können vermieden werden. Etwa 37% aller Krebsfälle in Deutschland sind daher vermeidbar. Zu diesem Schluss kam ein Team von Wissenschaftlern<sup>1</sup> um MONS und BRENNER vom Deutschen Krebsforschungszentrum (DKFZ), welchen sie in einer Serie von drei Artikeln im Deutschen Ärzteblatt veröffentlichten [26–28]. Berücksichtigt wurden 440000 Krebsfälle bei Personen zwischen 35 und 84 Jahren, bei denen der ursächlicher Zusammenhang mit der Krebsentstehung als gesichert galt, siehe Abb. 3. Laut BRENNER und MONS sei die Anzahl vermeidbarer Fälle noch niedrig geschätzt, da die Zusammenhänge zu einzelnen Risikofaktoren bei vielen Krebsarten noch nicht belegt seien und somit nicht in die Berechnung einfließen. Würde das Potential von Früherkennungsmaßnahmen zusätzlich berücksichtigt, läge der Anteil schätzungsweise bei mindestens 50%, so BRENNER [29].

Neben den extrinsischen Faktoren existiert auch ein familiäres Krebsrisiko. Hierbei spielt die genetische Grundausstattung des Menschen eine Rolle. So haben einige Menschen ein erhöhtes Krebsrisiko, da Veränderungen am Erbmateriale existieren, die von vorn herein vorhanden sind und die Krebsentstehung fördern. Diese sind vererbbar [25]. Des Weiteren kann auch der Zellstoffwechsel selbst eine Quelle für Fehler sein. Zum einen entstehen während physiologischen Vorgängen der Zelle freie Radikale, welche das Erbmateriale schädigen können, zum anderen kann es auch während der Zellteilung zu Fehlern kommen. Diese Zellvorgänge führen jedoch selten zu Krebs, spielen jedoch im Zusammenspiel mit extrinsischen Faktoren vor allem im hohen Alter eine größere Rolle [17, 25].

---

<sup>1</sup>In dieser Arbeit wird aus Gründen der besseren Lesbarkeit das generische Maskulinum im Sinne eines generischen Neutrums verwendet. Weibliche und anderweitige Geschlechteridentitäten werden dabei ausdrücklich mit gemeint, soweit es für die Aussage erforderlich ist.

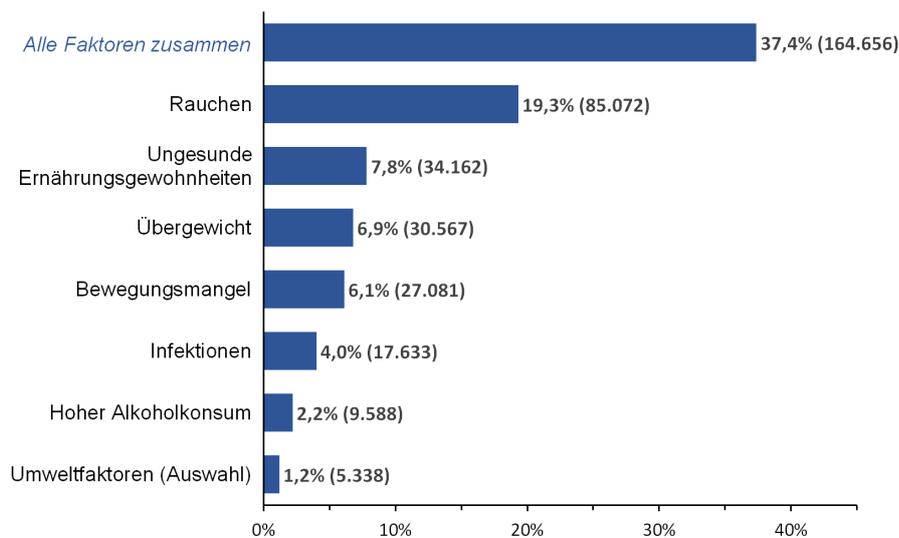


Abb. 3: Zahlen und Anteile der durch potentiell vermeidbare Krebsrisikofaktoren bedingten Krebsfälle bei Männern und Frauen zwischen 35 und 84 Jahren in Deutschland 2018 [26]

## 2.2 Einteilung von Tumorerkrankungen

### 2.2.1 Histologische Klassifikation (Typing)

#### 2.2.1.1 Benigne und maligne Tumoren

Die grundlegendste Unterscheidung von Zellveränderungen in Tumoren ist die zwischen bösartigen (malignen) und gutartigen (benignen). Das Wort Tumor kommt aus dem lateinischen und bedeutet Schwellung oder Geschwulst [30]. Es bezeichnet eine anormale Vergrößerung des Gewebes durch eigenständige, fortschreitende und überschießende Teilung körpereigener Zellen und sagt nichts darüber aus, ob es sich bei der Zellveränderung um eine maligne oder benigne handelt. Oftmals wird auch von Neoplasien (griechisch: Neubildung) gesprochen [25]. Der Begriff Krebs wiederum steht für maligne Tumoren [31]. Ob ein Tumor gut- oder bösartig ist, unterscheidet man anhand des Wachstumsverhaltens der Neoplasie [3]. Obwohl benigne und maligne Tumoren sehr vielfältig sind und sich auch individuell sehr unterschiedlich ausprägen, gibt es Eigenschaften, die eher auf bösartige und Eigenschaften, die eher auf gutartige zutreffen, wodurch man sie abgrenzen kann. Benigne Tumoren sind Geschwulste, die nicht über Gewebegrenzen hinauswachsen. Das bedeutet sie wachsen weder in benachbarte Gewebe hinein, noch bilden sie Metastasen [32]. Jedoch können sie sehr groß werden und verdrängen das umliegende Gewebe [25]. Beispiele

hierfür wären Hyperplasien im Fettgewebe unter der Haut, ein sogenanntes Lipom, oder eine Hypertrophie, die eine physiologische Größenzunahme des Zellvolumens bei gleichbleibender Zellzahl bezeichnet, wie sie bei Sportlern oft bei den Herzmuskelzellen zu beobachten ist [31]. Maligne Tumoren wiederum wachsen aggressiv in umliegende Gewebe hinein (infiltrierend) und zerstören es (destruierend). Dadurch sind sie im Gegensatz zu benignen Tumoren schwer bis gar nicht vom umliegenden Gewebe abgrenzbar. Außerdem zeichnen sich bösartige Neubildungen oft durch ein schnelleres Wachstum aus und damit die Zellen mit Sauerstoff versorgt werden können, wird auch die Neubildung von Blutgefäßen angeregt (Angiogenese). Das führt dazu, dass die Krebszellen auch in Blutgefäße und Lymphgefäße eindringen und sich im ganzen Körper Metastasen bilden können. Man spricht je nach dem von hämatogener oder lymphogener Metastasierung, siehe Abb. 4 [31, 33–35].

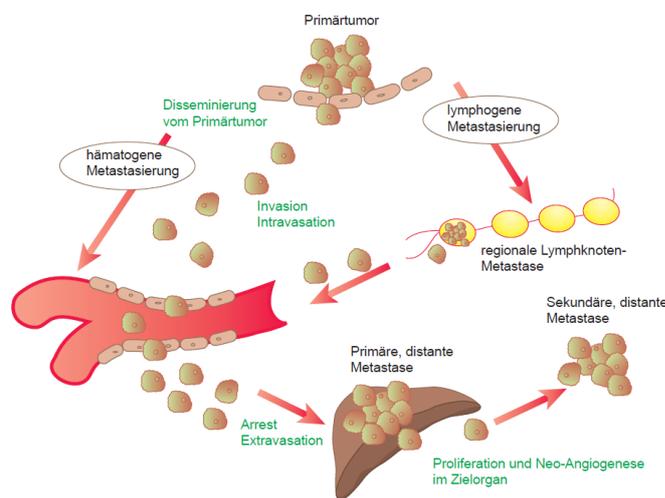


Abb. 4: Metastasierung am Beispiel des Dickdarmkarzinoms [31, S.5]

### 2.2.1.2 Einteilung nach Ursprungsgewebe

Tumoren werden außerdem nach Geweben eingeteilt, denen sie ursprünglich entstammen. Die häufigsten Krebserkrankungen entstehen aus Epithelzellen, also Gewebe, das die inneren und äußeren Oberflächen des Körpers bedeckt [4]. Dazu gehören das Deckgewebe der Haut, der Schleimhaut und des Drüsengewebes. Man spricht hierbei von Karzinomen. Sarkome entstehen aus Binde- oder Stützgewebe. Hierzu zählen Fettgewebe, Muskeln, Sehnen oder Knochen. Blastome sind embryonale Tumoren, die während der Entwicklung von Geweben und Organen entstehen [25].

Diese Arten von Neoplasien bezeichnet man als solide Tumoren, da sie zumindest in den frühen Stadien aus einem festen Gewebeverband mit deutlicher Begrenzung bestehen [25]. Dem gegenüber stehen systemische Krebserkrankungen. Als solche bezeichnet man bösartige Erkrankungen des blutbildenden (Leukämie) oder des lymphatischen Systems (Lymphome), die sich von Anfang an im ganzen Körper ausbreiten. Leukämien zählen nur im weitesten Sinne als Krebserkrankung. Genau genommen handelt es sich um eine Erkrankung des blutbildenden Systems, bei der die Blutbildung im Knochenmark gestört ist [36]. Fehler im Erbmateriale führen dazu, dass vom Knochenmark eine große Anzahl unreifer weißer Blutkörperchen gebildet wird, die meistens nicht funktionstüchtig sind. Es kommt dadurch zu einer Verschiebung des Gleichgewichtes der gesunden Blutzellen und so zu einem Mangel an reifen weißen Blutzellen aber auch an roten Blutkörperchen und Blutplättchen.

Maligne Lymphome bezeichnen bösartige Tumoren des lymphatischen Systems. Es kommt zur Entartung von Lymphozyten, die unkontrolliert wachsen und sich vermehren. Zum lymphatischen System gehören die Lymphbahnen und die lymphatischen Organe. Zu den primären lymphatischen Organen zählen Thymus und Knochenmark, wo die Lymphozyten reifen. Zu den sekundären gehören zum Beispiel die Lymphknoten, die Milz, aber auch das lymphathische Gewebe im Magen-Darm-Trakt [37]. Somit können Lymphome überall im Körper auftreten, auch wenn ein starkes Anschwellen von Lymphknoten meistens auftritt.

Eine weitere Sonderstellung nehmen Tumoren des zentralen Nervensystems ein. Sie werden separat nach Gewebetyp unterschieden, von welchem die Erkrankung ausgeht. Gliome gehen meistens von den Gliazellen aus, Ependymome vom Deckgewebe des Nervensystems, Neurinome (Schwannome) und Neurofibrome von den entsprechenden Nervenzellen. Adenome gehen von den Drüsen des Gehirns aus und sind in fast allen Fällen gutartig [38]. Bösartige Neoplasien, die von Drüsengewebe ausgehen, bezeichnet man, wie bereits erwähnt als Karzinome.

### **2.2.1.3 WHO-Klassifikation**

Damit bei Diagnosen von Tumoren ein hohes Maß an Reproduzierbarkeit gewährleistet werden kann, wird empfohlen einen Tumor nach der Klassifikation der *World Health Organization* (WHO) zu diagnostizieren. Die entsprechenden Regeln hierzu sind in sogenannten „*Blue Books*“ festgehalten [17, 39].

Zur Angabe der Diagnose wird ein von der WHO entwickeltes Klassifikationssystem verwendet, die Internationale Klassifikation der Krankheiten für die Onkologie (ICD-O-3). Hierbei handelt es sich um eine Erweiterung der Internationalen

statistischen Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme (ICD-10). Die ICD-10 ist für Tumorerkrankungen oftmals nicht ausreichend genau, da nur wenige histologische Typen unterschieden werden. Während in der ICD-10 vor allem nach Lokalisation differenziert wird, teilt sich die ICD-O-3 in zwei Codes auf, einen Topographie-Code und einen Morphologie-Code. Der Topographie-Code gibt basierend auf der ICD-10 mit vier Zeichen den Sitz des Tumors an. Der Morphologie-Code besteht aus fünf Zeichen und gibt den Zelltyp und das biologische Verhalten des Tumors an, z.B. ob er benigne oder maligne ist [40–43].

### 2.2.2 Staging und Grading

Da sich Tumoren trotz gleicher histologischer Klassifikation biologisch sehr unterschiedlich verhalten und entwickeln können, werden Tumoren zusätzlich zum Typing in Stadien eingeteilt (Staging) und nach Differenzierungsgrad unterteilt (Grading). Dadurch wird eine genaue Planung der Behandlung und eine Prognose über Verlauf der Erkrankung möglich.

#### TNM-System

Das System wurde 1943-1952 von PIERRE DENOIX entwickelt [44]. Seine Arbeiten hierzu wurden im *Bulletin de l'Institut National de Hygiène* veröffentlicht [44–47]. Seit 1950 [48] wird das System von der *Union for International Cancer Control* (UICC) weiterentwickelt und ist heute der international anerkannte Standard für die Stadieneinteilung von Krebserkrankungen [49].

Die TNM-Klassifikation beschreibt die Ausbreitung von Tumoren im Körper [50]. Die Tumoren werden hierbei zuerst vorläufig durch klinische Untersuchungen und nach operativer Entfernung präzise pathologisch, mikroskopisch analysiert und nach drei Gesichtspunkten eingeteilt [51]. T bezeichnet die Größe und Ausbreitung des Primärtumors. N gibt an, ob und wie weit verbreitet Krebszellen in benachbarten Lymphknoten (engl.: Nodes) vorgefunden wurden. M zeigt an, ob Krebszellen auch in anderen Körperregionen oder Organen gefunden wurden, also ob Fernmetastasen entstanden sind [48]. Diese Kategorien werden mit Ziffern hinter dem Buchstaben dem Befund entsprechend eingeteilt und der Tumor kann klassifiziert werden. Man spricht vom sogenannten Staging. Der TNM-Klassifikation nach der Operation wird außerdem der Buchstabe R hinzugefügt. Die Nummerierung von 0 bis 2 gibt hierbei an, wie gut der Tumor entfernt werden konnte. Anhand des TNM-Systems werden Tumoren in die Stadien 0 bis IV eingeteilt und die TNM-Ergebnisse somit zusammengefasst. Sie werden auch als Prognosegruppen (engl.: Prognostic Groups)

bezeichnet. Die Einteilung kann je nach histologischer Klassifikation leicht unterschiedlich ausfallen [48, 50]. Tab. 1 zeigt die Einteilung bei Brustkrebs.

Tabelle 1: Staging Brustkrebs nach UICC [48, 52]

Stadium	TNM
0	in-situ-Karzinom ohne befallene Lymphknoten und ohne Metastasen (Tis N0 M0)
I A	maximal 2 cm großer Tumor ohne Befall von Lymphknoten oder Fernmetastasen (T1 N0 M0)
I B	kein oder maximal 2 cm großer Tumor mit Mikrometastasen in den Lymphknoten, aber ohne Fernmetastasen (T0/T1 N1mi M0)
II A	kein oder maximal 2 cm großer Tumor mit wenig befallenen Lymphknoten, aber ohne Fernmetastasen (T0/1 N1 M0) oder größerer, aber maximal 5 cm großer Tumor ohne Lymphknotenbefall oder Fernmetastasen (T2 N0 M0)
II B	größerer, aber maximal 5 cm großer Tumor mit wenig befallenen Lymphknoten, aber ohne Fernmetastasen (T2 N1 M0) oder Tumor größer als 5 cm, aber ohne Lymphknotenbefall oder Fernmetastasen (T3 N0 M0)
III A	kein oder maximal 5 cm großer Tumor mit Lymphknotenbefall mittlerer Ausbreitung, aber ohne Fernmetastasen (T0-T2 N2 M0) oder Tumor größer als 5 cm, mit befallenen Lymphknoten, aber ohne Fernmetastasen (T3 N1/N2 M0)
III B	Tumor jeder Größe mit Ausdehnung auf Brustwand oder Haut, unabhängig vom Befall von Lymphknoten, aber ohne Fernmetastasen (T4 mit N0, N1 oder N2, M0)
III C	ausgedehnter Lymphknotenbefall unabhängig von der Tumorgöße, aber keine Fernmetastasen (jedes T, N3, M0)
IV	Fernmetastasen vorhanden, unabhängig von Tumorgöße und Lymphknotenbefall (jedes T, jedes N, M1)

Neben dem Staging nimmt man ein histopathologisches Grading vor, indem man den Differenzierungsgrad, oder auch Malignitätsgrad des Tumors bestimmt. Es wird mikroskopisch während einer Biopsie oder nach der operativen Entfernung untersucht wie sehr sich das Tumorgewebe vom Normalgewebe unterscheidet. Je weniger die Zellen ausdifferenziert sind, umso weniger sie also dem Ausgangsgewebe ähneln,

desto bösartiger ist der Tumor. Angegeben wird der Differenzierungsgrad durch den Buchstaben G und Ziffern von 1 bis 4. Im Laufe der Zeit wurden von der UICC weitere Kategorien ergänzt. So wird auch angegeben, ob eine Invasion von Tumorzellen in Blut- oder Lymphgefäße oder in das Gewebe um Nervenfasern (perineurale Invasion) stattgefunden hat.

Eine gute Zusammenfassung der Themen Staging und Grading führt CHRISTA PLEYER in ihrem Buch „Onkologie: Verstehen - Wissen - Pflegen“ auf [31, S. 51]. Ergänzt durch Informationen der UICC und des DKFZ wird das TNM-System inklusive des Gradings und weiterer Ergänzungen in Tab. 2 veranschaulicht [48, 50].

Tabelle 2: Übersicht - Staging und Grading

Buchstabe	Parameter	Abstufungen
T	Tumorgröße	T1–4: zunehmende Größe und Ausbreitung T0: CUP-Syndrom („ <i>cancer unknown primary</i> “). Metastasen ohne Primärtumor Tis: Tumor in situ. Eine Krebsfrühform, bei der der Tumor noch nicht in das ihn umgebende Gewebe infiltriert ist.
N	Lymphknoten ( <i>nodes</i> )	N0: keine Krebszellen in den regionären Lymphknoten N1-3: zunehmender Befall regionärer Lymphknoten
M	Metastasen	M0: keine (Fern-)Metastasen vorhanden M1: (Fern-)Metastasen vorhanden Betroffene Organe können in Klammern ergänzt sein, z.B.: M1(PUL): Lunge, M1(OSS): Knochen, M1(HEP): Leber, M1 (BRA): Gehirn, usw.
G	Grading	G1-4: gut differenziert bis undifferenziert Go: Grading ist nicht vorgesehen
R	Residualtumor	R0: Tumor wurde bei der OP ganz entfernt R1: nur mikroskopisch nachweisbare Reste R2: makroskopisch sichtbare Reste
L	Lymphgefäß- einbruch	L0 = kein Nachweis einer Lymphgefäßinvasion L1: Lymphgefäßinvasion

V	Blutgefäßeinbruch	V0: kein Nachweis einer Blutgefäßinvasion V1: mikroskopische Blutgefäßinvasion V2: makroskopische Blutgefäßinvasion
Pn	perineurale Invasion	Pn0: keine perineurale Invasion Pn1: perineurale Invasion
a, c, p, m, r, y, sn	Ergänzungen	a: durch eine Autopsie gesicherter Befund c: durch klinische Untersuchung gesicherter Befund p: pathologisch, postoperative Untersuchung des Tumors sichert den Befund (mikroskopisch) m: multiple Primärtumoren r: Rezidivtumor y: Klassifikation nach Durchführung einer nicht operativen Therapie (Radiotherapie, Chemotherapie)

Die in Tab. 2 aufgeführten Ergänzungen können zur Präzisierung vor das TNM gesetzt werden [17, 50]. Außerdem kann jeweils hinter die Kategorien T, N und M ein C-Faktor mit der Nummerierung 1 bis 5 gesetzt werden zur Kennzeichnung der Diagnosesicherheit (engl.: certainty), die mit der Nummerierung steigt und abhängig von der diagnostischen Methode ist [17, S.362f]. Kennzeichnet man eine Kategorie mit einem X anstatt einer Ziffer, dann kann keine Aussage über den jeweiligen Gesichtspunkt getroffen werden. Die Angabe MX wird allerdings in der aktuellen Version des TNM-Systems nicht mehr verwendet. Sollten sich nach einer klinischen Untersuchung und nach Anwendung bildgebender Verfahren keine Hinweise auf Metastasen geben, wird die Bezeichnung cM0 verwendet [50].

Nicht für alle Arten von Tumoren kann das TNM-System zum Einsatz kommen, da die Prognose nicht nur von Tumorgröße und Ausbreitung, sondern mehr von anderen Faktoren abhängig ist. Ausnahmen bilden zum Beispiel, systemische Krebserkrankungen und Tumoren des zentralen Nervensystems. [50].

Leukämien und Lymphome treten wie in Abschnitt 2.2.1.2 erwähnt im ganzen Körper auf, weswegen das TNM-System keine Anwendung finden kann. Seit 2008 gilt eine einheitliche Einteilung der WHO, welche regelmäßig überarbeitet wird [50, 53]. Für Leukämien orientiert sich die Klassifikation am Verlauf der Krankheit und am Aussehen und Anteil der veränderten Zellen im Blut bzw. im Knochenmark [50]. Man unterscheidet nach der Verlaufsform, die akut oder chronisch sein kann, und

anhand der Art der Vorläuferzellen, aus denen die Krebszellen entstehen [54]. Sind die Vorläuferzellen der Granulozyten und Monozyten betroffen, spricht man von einer myeloischen Leukämie. Sind die Vorläuferzellen der Lymphozyten betroffen, spricht man von einer lymphatischen oder lymphoblastischen Leukämie [31, S.92]. Wichtige Erkenntnisse für diese Einteilung erlangt man aus der Anamnese, aus der Untersuchung des Blutes, des Knochenmarks und der Rückenmarksflüssigkeit und durch verschiedene bildgebende Verfahren [55]. So unterscheidet man vier Gruppen: Akute myeloische Leukämie (AML), Akute lymphoblastische Leukämie (ALL), Chronische myeloische Leukämie (CML) und Chronische lymphoblastische Leukämie (CLL). Nach heutigem Stand wird die CLL allerdings nicht mehr zu den Leukämien gezählt, sondern zu den malignen Lymphomen [54]. Lymphome werden laut WHO nach der Lymphozytenart unterschieden, von der die Krankheit ausgeht. Die Einteilung nach Verlauf in niedrig-maligne (indolent, eher chronisch) verlaufend und hoch-maligne (aggressiv) verlaufend wird in der aktuellen Klassifikation der WHO nicht mehr verwendet, da trotz der möglichen Einteilung die einzelnen Lymphomarten sehr unterschiedlich verlaufen. [37, 53]

Tumoren des zentralen Nervensystems werden nach der entsprechenden Klassifikation der WHO in Gruppen zusammengefasst, die sich nach Ursprungsgewebe richten. Zusätzlich werden sie in vier Grade eingeteilt, welche die Bösartigkeit des Tumors bewerten. Entscheidend für diese Unterteilung sind nicht nur Wachstumseigenschaften und feingewebliche Merkmale, sondern auch biologische und genetische Veränderungen [38, 56].

### 2.3 Therapieprinzipien

Obwohl in Deutschland laut Gesundheitsberichterstattung des Bundes (GBE) mehr Menschen an Herz-Kreislaufkrankungen sterben als an Krebs, werden Krebsdiagnosen häufig als Todesurteil wahrgenommen [57]. Tatsache ist jedoch, dass in den letzten Jahrzehnten große Fortschritte in der Weiterentwicklung verschiedenster Therapieprinzipien gegen Krebserkrankungen gemacht wurden. Während vor 1980 mehr als zwei Drittel aller Krebspatienten an ihrer Krebserkrankung starben, lag die relative 5-Jahres-Überlebensrate 2015 bis 2016 bei 65 % für Frauen und bei 59 % für Männer [3, 5]. Von einer Heilung wird gesprochen, wenn fünf Jahre nach der Behandlung kein Rückfall auftritt [2]. Das bedeutet, dass bereits mehr als die Hälfte der Krebspatienten geheilt werden. Die genannten Zahlen sind Durchschnittswerte, in die alle bösartigen Neubildungen einschließlich der Lymphome und Leukämien

zusammengefasst wurden. Natürlich unterscheiden sich die Überlebensraten stark je nach Tumorart und reichen von unter 20 % für bösartige Tumoren der Lunge, Leber und Bauchspeicheldrüse bis hin zu Werten über 90 % für das maligne Melanom der Haut, den Hodenkrebs und den Prostatakrebs [3, 4].

Die wichtigsten Therapieprinzipien in der Bekämpfung von Neoplasien stellen die chirurgische Entfernung des Tumorgewebes, die Strahlentherapie und die medikamentöse Therapie dar [58]. Wie die Therapie letztendlich durchgeführt wird, hängt von der Art des Tumors ab. So können auch alle drei Therapieoptionen zeitversetzt eingesetzt von Nöten sein. Die Einbeziehung von Therapieprinzipien verschiedenster Fachgebiete, interdisziplinäre Therapie genannt, ist eine unverzichtbare Vorgehensweise in der Behandlung von Tumorpatienten [58, 59]. Das Ziel einer kurativen Therapie ist die Vollremission des Tumors, welche erst erreicht ist, wenn kein Nachweis des Tumors mehr möglich ist [31]. In diesem Kapitel wird kurz auf die drei Therapieprinzipien eingegangen.

### **2.3.1 Chirurgische Entfernung**

Kann ein Tumor chirurgisch entfernt werden, können die Chancen auf Heilung gut stehen. Liegt der Tumor an einer gut erreichbaren Stelle und befindet sich in einem frühen Stadium kann sogar eine kurative Operation möglich sein. Das ist insbesondere bei Brust- oder Hautkrebs oftmals der Fall [2]. Vorrangiges Ziel der onkologischen Chirurgie ist die Sicherung des Überlebens des Patienten oder zumindest eine Prognoseverbesserung und die Erhöhung der Lebensqualität [59].

Die Rahmenbedingungen für das Feld der onkologischen Chirurgie bilden zum einen die Gegebenheiten der Tumorerkrankung, die notwendige Radikalität ihrer Behandlung und das individuelle Risiko für den Patienten. Das Risiko für den Patienten vor, während und nach der Operation (perioperatives Risiko) ist zum einen abhängig vom patientenspezifischen Risiko, welches von den Organfunktionen und bereits existierenden Begleiterkrankungen und Vorerkrankungen bestimmt wird, und zum anderen vom operationsspezifischen Risiko, das wiederum von der Lage und des Stadiums des Tumors beeinflusst wird. Deswegen ist ein präoperatives Staging nach TNM-System (siehe Abschnitt 2.2.2) geboten [59].

Um das bestmögliche Ergebnis zu erzielen, kooperiert die onkologische Chirurgie mit den anderen onkologischen Fächern. Die nicht chirurgische Therapieprinzipien, die vor, während oder nach der Operation im Gesamttherapiekonzept von Nöten sind, fallen in den Bereich der chirurgischen Onkologie [59]. Je nach Stadium kann eine ergänzende Zytostatika- oder Strahlentherapie vor und/oder nach der Ope-

ration durchgeführt werden. Auch eine Kombination ist möglich [31]. Man spricht von einer neoadjuvanten Therapie, die nötig sein kann, um den Primärtumor vor der Operation zu verkleinern, damit er besser operabel wird und einer adjuvanten Therapie, die nach der Operation Resttumorzellen entfernen soll [31].

### 2.3.2 Strahlentherapie

Die Strahlentherapie wird bereits seit mehr als 100 Jahren eingesetzt [59]. Noch heute kommt sie bei jedem zweiten Krebspatienten im Laufe seiner Erkrankung zum Einsatz [60]. Im Gegensatz zur systemischen, medikamentösen Therapie ist sie eine rein lokale Maßnahme. Die Krebszellen werden mit ionisierender Strahlung oder Teilchenstrahlung bestrahlt und somit ihre Erbsubstanz beschädigt, was letztendlich zur Apoptose führt. Durch die Bestrahlung sind allerdings auch unweigerlich gesunde Zellen betroffen, welche allerdings besser in der Lage sind sich selbst zu reparieren. In Tumorzellen sind die Reparaturmechanismen aufgrund ihrer genomischen Instabilität schlechter ausgeprägt, weswegen sie durch die Strahlung eher absterben. Trotzdem kann es durch Schädigung der gesunden Zellen zu Nebenwirkungen wie Müdigkeit und Erschöpfung aufgrund der dadurch verursachten körperlichen Belastung kommen. Außerdem tritt häufig eine Strahlendermatitis der bestrahlten Hautregionen auf. Diese Nebenwirkung ähnelt einem Sonnenbrand [31, 60].

### 2.3.3 Medikamentöse Behandlung

Anhand der Eigenschaften von Krebszellen, die durch genetische Mutationen hervorgerufen werden, ergeben sich bestimmte Targets für Medikamente, die gegen Krebszellen wirken. In Abschnitt 2.1 wurde bereits Bezug auf diese Eigenschaften genommen. Ziele einer Medikamentösen Behandlung können unterschiedliche sein. Medikamente gegen Krebs können adjuvant, neoadjuvant, kurativ oder auch palliativ zum Einsatz kommen. Bei der palliativen Therapie steht eine Verbesserung der Lebensqualität oder auch der Überlebenszeit im Vordergrund. Sie kommt zum Einsatz, wenn die Kuration ausgeschlossen ist, zum Beispiel bei Tumoren im fortgeschrittenen Stadium [61].

#### 2.3.3.1 Zytostatika

Zytostatika sind Substanzen, die die Zellteilung blockieren und durch Schädigung der Zellen die Apoptose auslösen und somit das Absterben von Geweben fördern. Da die meisten Wirkstoffe wenig selektiv auf Tumorzellen wirken, sondern auch gesunde

Zellen schädigen, geht eine Zytostatikatherapie oft mit starken Nebenwirkungen einher. Nur dadurch, dass Tumorzellen eine höhere Proliferationsrate aufweisen als das umliegende Gewebe, kommt es zu einer relativen Selektivität, da Zytostatika in den Zellzyklus eingreifen. Tumorgewebe reagieren somit besonders empfindlich auf die Therapie [15, 58, 61]. Es gibt verschiedene Angriffspunkte, die Zytostatika nutzen um in den Zellzyklus einzugreifen. Abb. 5 zeigt eine zusammengefasste Übersicht dieser Targets.

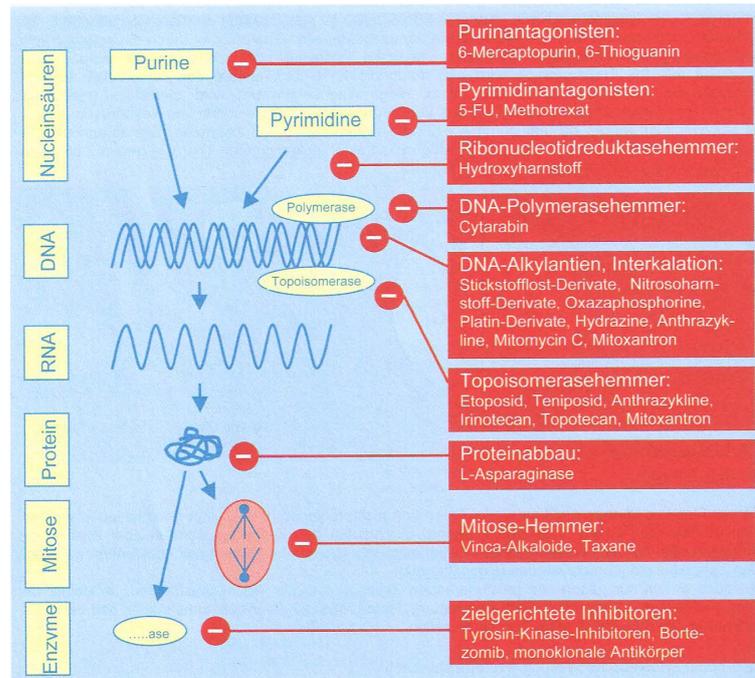


Abb. 5: Angriffspunkte von Zytostatika und zielgerichteten Inhibitoren [61, S.928]

Der Zellzyklus besteht aus verschiedenen Phasen. In der G1-Phase beginnt die Zelle nach der Mitose oder der Ruhephase (G0) wieder zu wachsen, indem Zellbestandteile und Proteine neu gebildet werden. In der S-Phase findet die Replikation der DNA statt. Hier greifen Inhibitoren der Ribonucleotidreduktase und Antimetabolite ein. Die G2-Phase stellt die Vorbereitung auf die Mitose dar. Zellen aus Geweben lösen die Zellkontakte zu den Nachbarzellen, runden sich ab und vergrößern sich durch Flüssigkeitsaufnahme. Die M-Phase ist die Phase, in der die Mitose stattfindet. Es findet die Teilung der Chromosomen und der Zelle statt. In diese Phase greifen Mitose-Hemmstoffe wie Vinca-Alkaloide und Taxane ein. Die G0-Phase ist die Ruhephase der Zellen. Differenzierte Zellen verbleiben in der Ruhephase und wachsen und teilen sich nicht mehr. Bei Bedarf können einige Zelltypen allerdings durch Stimulation mit bestimmten Wachstumsfaktoren den Zellzyklus erneut durchlaufen. Während Hemmstoffe der Topoisomerase I in die G2- und M-Phase eingreifen, ent-

fallen Hemmstoffe der Topoisomerase II ihre Wirkung in der S- und G2-Phase. Phasenunspezifisch, also in allen Phasen wirksam, sind Platinverbindungen, Alkylanzien und Interkalatoren [15]. Verschiedene Zytostatikatypen werden in der Therapie kombiniert, um möglichst in vielen Phasen über unterschiedliche Targets den Zellzyklus zu hemmen. So wird die Therapie effektiviert.

### Antimetabolite

Zu den Antimetaboliten gehören Antagonisten der Pyrimidin- und Purinbasen, ihrer Nucleoside und der Folsäure. Aufgrund ihrer Strukturähnlichkeit zu ihrem Pendant werden sie in den Zellstoffwechsel integriert und hemmen dort Enzyme der DNA- und RNA-Synthese [15].

5-Fluorouracil (5-FU) (Abb. 6) ist ein Pyrimidinantagonist, also ein Antagonist der Pyrimidinbasen Uracil und Thymin. 5-FU unterscheidet sich strukturell nur durch das Fluor-Atom am C5. Der Wirkstoff wird einerseits als falsches Substrat zum Nukleotid umgewandelt und letztendlich als 5-Fluorouridin-triphosphat in die RNA oder als 5-Fluor-2'-desoxyuridin-triphosphat in die DNA eingebaut, was entsprechende Funktionen beeinträchtigt. Des Weiteren hemmt 5-FU die Thymidylat-Synthase, indem es als 5-Fluor-2'-

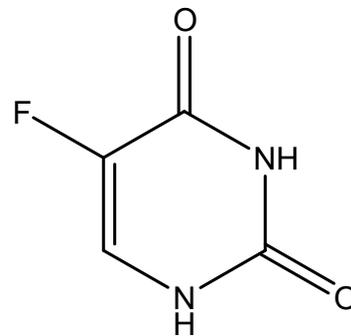


Abb. 6: 5-FU

desoxyuridin-monophosphat im aktiven Zentrum gebunden wird. Normalerweise findet nun eine C<sub>1</sub>-Übertragung statt. Da die Position 5 allerdings durch das Fluoratom blockiert ist, kann das falsche Substrat nicht zum entsprechenden Thymidin umgewandelt werden. Da zusätzlich die Affinität des fluorierten Substrats zum Enzym 250fach höher ist als die des eigentlichen Substrates Desoxyuridin-monophosphat, entsteht ein Thymidinmangel, wodurch die DNA-Synthese gehemmt wird [15]. 5-FU wird parenteral vor allem bei gastrointestinalen, insbesondere kolorektalen Karzinomen und bei Mammakarzinom eingesetzt [61].

Methotrexat (MTX) ist kein Pyrimidinantagonist, wie es in Abb. 5 vereinfacht dargestellt wurde, sondern ein Folsäureantagonist. Dennoch ist MTX ein Inhibitor sowohl der Pyrimidinsynthese als auch der Purinsynthese. Die aktive Form der Folsäure ist die 5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure (FH<sub>4</sub>). Diese wird durch zweifache enzymatische Reduktion durch die Folsäure-Reduktase und die Dihydrofolat-Reduktase erhalten und spielt eine wichtige Rolle als Coenzym bei der Übertragung von Methylgruppen während der Thymidinsynthese und von Formylgruppen während der Synthese von Purinbasen. Da MTX die Dihydrofolsäure aus dem aktiven Zentrum

der Dihydrofolat-Reduktase verdrängt und das Enzym hemmt, kommt es zu einem Mangel an  $\text{FH}_4$  und somit zur Verminderung der Thymidinsynthese und der Synthese von Purinbasen. Außerdem hemmt MTX die Thymidin-Synthase auch direkt, genauso wie die Glycinamid-Ribonucleotid-Formyltransferase (GARFT) und die 5-Aminoimidazol-4-carboxamid-Ribonucleotid-Transformylase. Beide Enzyme sind Teil der Purinbiosynthese. Ein weiteres Folsäureanalogon ist Pemetrexed. Während bei MTX die Hemmung der Dihydrofolat-Reduktase im Vordergrund steht, ist es bei Pemetrexed die GARFT. Weitere Beispiele für Antimetaboliten sind Cytarabin als Cytidin-Analogon, welches hauptsächlich die DNA-Polymerase hemmt, 6-Mercaptopurin als Purinbasen-Analogon und sein Prodrug Azathioprin und Fludarabin als Purin-Nucleosid-Analogon [15, 61].

### Inhibitoren der Ribonucleotid-Reduktase

Hydroxycarbamid (Abb. 7), auch Hydroxyharnstoff genannt, ist ein Hemmstoff der Ribonucleotid-Reduktase. Das Enzym katalysiert die Reduktion von Ribose zu Desoxyribose. Diese Reaktion ist wichtig für die Synthese von Nucleotiden für die DNA und verläuft über ein Tyrosinradikal im aktiven Zentrum, das durch ein nahegelegenes Eisenzentrum entsteht. Diese dreiwertigen Eisenionen werden vom Hydroxyharnstoff komplexiert und zu zweiwertigen Eisenionen reduziert. Dadurch wird die Tyrosinradikalbildung gehemmt, Ribose kann nicht zu Desoxyribose reduziert werden und die DNA-Synthese somit inhibiert [15]. Der Wirkstoff wird unter anderem bei CML eingesetzt [61].

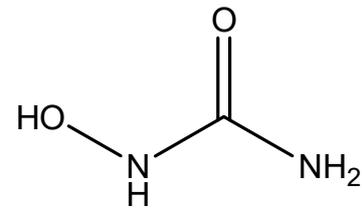


Abb. 7: Hydroxycarbamid

### Alkylanzien

Bei dieser Gruppe der Zytostatika handelt es sich um sehr heterogene Strukturen. Die Wirkung der Stoffe beruht allerdings auf dem selben Reaktionsprinzip. Durch Bildung reaktiver Carbokationen werden Nucleinsäuren alkyliert. Neben der einfachen Alkylierung kommt es aber auch zur Vernetzung von DNA- bzw. RNA-Strängen (Cross-linking), woraus eine gestörte Transkription und Replikation resultiert. Das führt zur Hemmung der Zellteilung und zur Apoptose. Targets sind verschiedene nukleophile Zentren wie Hydroxy-, Amino-, Sulfhydryl- und Carboxygruppen [15, 61]. Durch Zufall entdeckte man während der Weltkriege die tumorhemmenden Eigenschaften des Kampfgases

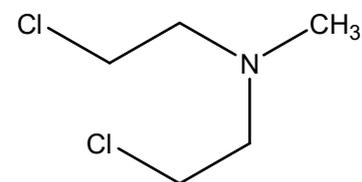


Abb. 8: N-Lost

Lost, das auch als Senfgas bekannt ist. In den 1940ern wurde daraus eine neue Form der Krebstherapie entwickelt [62, 63]. Stickstoff-Lost-Derivate besitzen eine geringere Toxizität als die schwefelhaltigen Analoga. Das in Abb. 8 gezeigte N-Lost bzw. Chlormethin bildet das Grundgerüst für einige weitere N-Lost-Derivate, die heute noch eingesetzt werden. Beispiele hierfür sind Chlorambucil, Melphalan und Bendamustin. Weitere Alkylanzien sind z.B. die Oxazaphosphorine, zu denen unter anderem Cyclophosphamid gehört. Auch diesen Strukturen liegt das N-Lost Gerüst zu Grunde [15].

### Platinverbindungen

Wie auch in Abb. 5 zu sehen, werden die Platinverbindungen oftmals den Alkylanzien zugeordnet, was aber im Grunde nicht richtig ist, da sie entweder über keine Alkylgruppen verfügen, oder enthaltene Alkylgruppen nicht am Reaktionsmechanismus beteiligt sind. Gemeinsam haben die beiden Gruppen jedoch, dass sie DNA-Stränge vernetzen [15].

Bei Cisplatin (Abb. 9) handelt es sich um einen planaren Diammin-Komplex des Platindichlorids. Aufgrund der cis-Ständigkeit der gleichartigen Liganden ist eine Quervernetzung möglich. Die beiden Chloratome reagieren mit nukleophilen Zentren in Nukleinsäuren und Proteinen. Bevorzugt erfolgt die Bindung am Guanin.

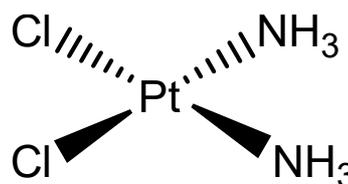


Abb. 9: Cisplatin

Wie auch bei den Alkylanzien führt diese Vernetzung zum Stopp des Zellzyklus und zur Apoptose. Cisplatin wird unter anderem bei Bronchialkarzinomen und Ösophaguskarzinomen parenteral angewendet. Weitere Vertreter der Platinverbindungen sind Carboplatin und Oxaliplatin. Carboplatin wirkt selektiver auf Tumoren als Cisplatin, wodurch die Toxizität auf gesunde Zellen geringer ist [15, 61].

### Topoisomeraseinhibitoren

Die DNA liegt in Zellen als Superhelix vor. Die DNA-Doppelhelix ist also zu einer übergeordneten Spirale verdrillt. Topoisomerasen sind Enzyme, die die räumliche Anordnung von DNA-Molekülen verändern, indem sie durch Einzel- oder Doppelstrangbrüche, anschließender Rotation und Wiederverknüpfung die Superhelix relaxieren. Dieser Vorgang ist wichtig für die Transkription und Replikation. Topoisomerase I und Topoisomerase II unterscheiden sich unter anderem dadurch, dass Typ I Einzelstrangbrüche und Typ II Doppelstrangbrüche verursacht. Topoisomeraseinhibitoren binden nach dem aufbrechen der Stränge am DNA-Enzym-Komplex und

verhindern eine Wiederverknüpfung [15]. Beispiele für Hemmstoffe der Topoisomerase I sind Topotecan und Irinotecan. Topotecan wird vor allem bei Ovarialkarzinom und kleinzelligem Bronchialkarzinom eingesetzt. Inhibitoren der Topoisomerase II sind zum Beispiel Etoposid und Zytostatika vom Anthrazyklintyp, die im nächsten Abschnitt behandelt werden. Etoposid wird zum Beispiel bei Leukämien, Lymphomen und Bronchialkarzinomen eingesetzt [61, 64].

### Interkalierende Wirkstoffe

Interkalierende Wirkstoffe sind planare oder teilweise planare Stoffe, die sich zwischen die Basen der DNA schieben. Das führt zur Hemmung der Replikation und Transkription.

Eine wichtige Gruppe der Interkalierer sind die Anthracycline zu denen Doxorubicin (Abb. 10), Daunorubicin, Epirubicin und Idarubicin gehören. Diese Zytostatika entfalten ihre Wirkung jedoch nicht nur durch die Interkalation, sondern alkylieren und quervernetzen außerdem die DNA, hemmen die Topoisomerase II, was zu DNA-Doppelstrangbrüchen führt, bilden reaktive Sauerstoffspezies, wodurch auch eine Kardiotoxizität bedingt ist, und sie lagern sich an Zellmembranlipide an, was die Membranpermeabilität erhöht. Durch diese Mechanismen wird die Apoptose induziert. Wichtig für die Wirkung der Anthrazykline ist zum einen die koplanare hydrophobe Region, welche die Anthrachinon-Struktur bildet, und eine gewinkelte hydrophile Struktur. Die Winkelung entsteht durch den Aminozucker und den hydrophilen Charakter erhält die Struktur durch die OH-Gruppen und die Aminogruppe [15]. Doxorubicin hat ein breites Wirkspektrum, weshalb es außer bei ALL, AML und Lymphomen bei vielen Arten von Karzinomen eingesetzt wird [64].

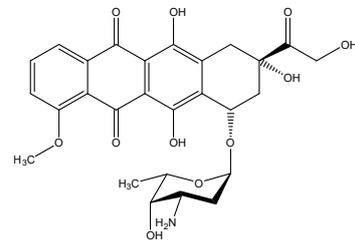


Abb. 10: Doxorubicin

### Mitoseinhibitoren

Die Mitosehemmstoffe hemmen die Funktion des Spindelapparates während der Mitose, was die Zellteilung verhindert. Der Spindelapparat besteht aus Mikrotubuli, die durch ein dynamisches Gleichgewicht von ständigem Auf- und Abbau gekennzeichnet sind. Während die Vinca-Alkaloide den Aufbau stören, hemmen die Taxane den Abbau. Dadurch kann der Spindelapparat nicht ausgebildet werden. Die Vinca-Alkaloide Vinblastin und Vincristin werden als Naturstoff aus *Catharanthus roseus* gewonnen. Vindesin und Vinorelbin werden halbsynthetisch erhalten. In den 1960er Jahren entdeckte man die tumorhemmende Wirkung von *Taxus brevifolia* (Pazifische

Eibe). Noch heute wird Paclitaxel aus Pflanzenkulturen gewonnen, da die Synthese aufgrund der Struktur nur schwer realisierbar ist. Docetaxel wird halbsynthetisch aus Paclitaxel hergestellt [15].

### Zytostatika-assoziierte Nebenwirkungen

Einige Nebenwirkungen sind allen Zytostatika gemein und können auf die Toxizität auf rasch proliferierendes gesundes Gewebe zurückgeführt werden. Dazu gehören Knochenmarksdepression, Mucositis, Diarrhö, Übelkeit und Erbrechen, Haarausfall, Hautreaktionen und Nagelveränderungen. Organtoxische Nebenwirkungen sind substanzspezifisch (s. Tab. 3). Eine Zytostatikatherapie kann auch Spätfolgen wie Infertilität, Sekundärmalignome, Teratogenität oder Wachstumsstörungen bei Kindern mit sich bringen [58].

Tabelle 3: Organtoxische Nebenwirkungen von Zytostatika [58]

Toxizität	Wirkstoffbeispiele
Nephrotoxizität	Cisplatin, MTX, Cyclophosphamid
Neurotoxizität	Cyclophosphamid, Oxaliplatin, Paclitaxel, MTX
Pneumotoxizität	Irinotecan, Paclitaxel, Busulfan
Kardiotoxizität	Anthrazykline, 5-FU
Hepatotoxizität	Busulfan, MTX

### 2.3.3.2 Antihormonelle Therapie

Einige Tumore besitzen noch teilweise Eigenschaften des Ursprungsgewebes wie z.B. Hormonrezeptoren und wachsen aufgrund der Hormonwirkung. Diese Tumoren mit hormonabhängigem Wachstum können mit gegengeschlechtlichen Hormonen, Hormonrezeptorantagonisten oder Hemmstoffen der Hormonbiosynthese behandelt werden. Möglich ist dies bei Prostata-, Mamma- und Korpuskarzinomen des Uterus [15]. Die Therapie ist spezifischer, da nur Zellen mit entsprechenden Hormonrezeptoren betroffen sind und zeigt deswegen im Vergleich zu einer Zytostatikatherapie weniger starke Nebenwirkungen [31, 65].

### 2.3.3.3 Zielgerichtete Krebstherapie

Die zielgerichtete Krebstherapie, oder auch *targeted therapy* genannt, bezeichnet die Behandlung von Krebserkrankungen mit verschiedenen Arzneistoffen, die auf bestimmte molekulare Eigenschaften der Krebszellen abzielen. Diese Targets sind vor

allein in Tumorzellen zu finden und dort überexprimiert, weniger bis gar nicht allerdings in gesunden Zellen, weshalb eine *targeted therapy* weniger Nebenwirkungen als eine Zytostatikatherapie mit sich bringt [31, 66]. 1997 gelang erstmals der Nachweis für die Wirksamkeit einer solchen Therapie mit dem monoklonalen Antikörper Rituximab [67]. Heute steht eine recht breite Palette von monoklonalen Antikörpern und niedermolekularen Stoffen für eine zielgerichtete Krebstherapie zur Verfügung. Aufgrund verschiedenster Targets ergeben sich unterschiedliche Wirkprinzipien. Grundsätzlich können zielgerichtete Therapien nur wirken, wenn das entsprechende Target in den Krebszellen existiert. Bei den hier vorgestellten Wirkstoffen und deren Wirkprinzipien handelt es sich um eine Auswahl.

Antikörper wie zum Beispiel Cetuximab und Trastuzumab hemmen das Zellwachstum indem sie den *human epidermal growth factor receptor* (HER)-1, bzw. HER-2 besetzen und verhindern, dass die entsprechenden Wachstumsfaktoren (*epidermal growth factor* (EGF)) binden können. So wird kein Signal zur Teilung mehr erhalten. Ein weiterer Ansatzpunkt zur Unterdrückung von Wachstumssignalen ist die Hemmung der Signalweiterleitung durch RTKI. Rezeptoren mit Tyrosinkinaseaktivität sind z.B. Rezeptoren für EGF, *platelet-derived growth factor* (PDGF) und *vascular endothelial growth factor* (VEGF). Stoffe wie Erlotinib und Gefetinib hemmen selektiv die Tyrosinkinaseaktivität von HER-1. Angiogenesehemmer wie Bevacizumab binden an VEGF und verhindern die Bindung an dessen Rezeptor, Sorafenib und Sunitinib wiederum hemmen die Tyrosinkinase von VEGFR, wodurch die Neubildung von Blutgefäßen im Tumor verhindert wird und somit die Versorgung der Krebszellen. Rituximab bindet an das Antigen CD20, welches in hoher Anzahl auf B-Lymphozyten zu finden ist und führt zur Apoptose. So wird der Antikörper bei verschiedenen bösartigen B-Zell-Lymphomen eingesetzt [15, 61, 68, 69].

Eine weitere Gruppe sind die Poly(ADP-ribose)-Polymerase (PARP)-Inhibitoren. 2019 wurde in Deutschland Talazoparib als ein Inhibitor von PARP 1 und 2 zugelassen. Er zeigte in einer randomisierten Phase-III-Studie gute Ergebnisse als Monotherapie bei der Behandlung von HER-2 negativem lokal fortgeschrittenem oder metastasierendem Mammakarzinom mit BRCA1/2-Keimbahnmutation. PARP 1 und 2 sind wichtige Enzyme bei der Reparatur von Einzelstrangbrüchen der DNA. Talazoparib hemmt diese, und hält PARP an der DNA fest, was bei der Replikation zu Doppelstrangbrüchen führt und schließlich zur Apoptose. Verstärkt wird der Effekt, wenn das an der Reparatur von Doppelstrangbrüchen beteiligte *breast cancer* (BRCA)-Tumorsuppressor-Gen aufgrund einer Mutation ausfällt. Da in Tumorzellen generell auch durch die hohe Teilungsrate mehr DNA-Schäden auftreten, sind sie stärker auf ein funktionierendes Reparatursystem angewiesen als

gesunde Zellen [70, 71]. Ein weiterer Vertreter dieser Gruppe ist Olaparib [72]. Ein anderer Ansatz ist das Auslösen der Apoptose durch einen rekombinanten *tumor necrosis factor-related-apoptosis-inducing ligand* (TRAIL). Dulanermin aktiviert durch die Bindung am *proapoptotic death receptor* (DR) 4 und DR 5 den Signalweg der Apoptose. Der Wirkstoff wurde in einer Phase-III-Studie in Kombination mit Cisplatin und Vinorelbin bei fortgeschrittenem Lungenkrebs getestet und führte zum besseren Therapieansprechen und verlängertem Überleben der Probanden [73].

## 2.4 Resistenzmechanismen, Multiple drug resistance

Krebszellen sind aufgrund der Instabilität ihres Genoms sehr wandlungsfähig. So sind sie nicht nur in der Lage, dem Immunsystem zu entgehen, sie haben auch die Fähigkeit Resistenzen gegen medikamentöse Therapien zu entwickeln [74]. Ein wichtiger Punkt in der Entstehung einer sogenannten *multiple drug resistance* (MDR) ist die meist hohe Heterogenität von Krebszellen innerhalb des Tumors. Obwohl sich Tumoren zunächst aus einer mutierten Zelle entwickeln, kommt es aufgrund der schnellen Teilung und der bereits erwähnten genomischen Instabilität zu teils sehr unterschiedlichen Mutationen (siehe auch Abschnitt 2.1) [1, 75, 76]. Ein weiteres Problem ist das Vorhandensein von Tumorstammzellen, die bei verschiedensten systemischen und soliden Tumorarten festgestellt wurden [9, 77, 78]. Es handelt sich hierbei um undifferenzierte Zellen aus denen neue Krebszellen hervorgehen, wodurch sie zentraler Bestandteil der Entstehung von malignen Neoplasien sind [79, 80]. Diese Stammzellen sind zwar nur zu einem geringen Prozentsatz in Tumoren vorhanden, sind aber aufgrund ihrer hohen Resistenz gegen Zytostatika und auch gegen Strahlentherapie häufig für die Entwicklung eines Rezidivs verantwortlich. Für die Resistenz gegen Zytostatika wird unter anderem auch eine Überexpression von ABC-Transportern verantwortlich gemacht [9, 78, 81, 82].

MDR limitiert häufig die Therapie von bakteriellen und viralen Erkrankungen sowie auch von Krebserkrankungen. Dabei werden Resistenzen bei strukturell und pharmakologisch unterschiedlichen Arzneistoffen beobachtet. Das kann bis zu einem kompletten Versagen der Therapie führen [6–8]. Das Vorhandensein von Resistenzen ist schon lange ein Problem mit dessen Überwindung sich viele Forschungsarbeiten beschäftigen. Bereits 1988 beschrieben BRADLEY, JURANKA und LING in der Zeitschrift „*Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer*“ die MDR als eines der Hauptprobleme der Therapie mit Zytostatika [83]. Trotz immenser Fortschritte in der Therapie von neoplastischen Erkrankungen durch die Entwicklung neuer Wirk-

stoffe, insbesondere von monoklonalen Antikörpern und RTKI, ist MDR noch immer ein aktuelles und komplexes Thema in der Krebstherapie. Ein Grund ist die Vielseitigkeit der möglichen Resistenzmechanismen. Sogar für die erwähnten Wirkstoffgruppen mit zielgerichtetem Wirkmechanismus sind bereits Resistenzen beobachtet worden [9–11]. Resistenzen können intrinsisch, also von Anfang an im Tumorgewebe vorhanden, extrinsisch, z.B. durch die Therapie induziert, oder durch die direkte Umgebung des Tumors vermittelt sein [1, 9, 76].

Die direkte Umgebung eines Tumors wird auch Tumormikroumgebung genannt und besteht aus normalen Stromazellen, der extrazellulären Matrix und löslichen Faktoren wie Zytokinen und Wachstumsfaktoren [76, 84]. Krebszellen interagieren durch Ausschüttung von Botenstoffen und durch Oberflächenadhäsionsmoleküle mit ihrer Umgebung. Sie regen so das Ausschütten von Wachstumsfaktoren und Zytokinen an, die das Überleben und die Therapieresistenz der Zellen über bestimmte Signaltransduktionswege verstärken. Eine wichtige Rolle spielen hierbei tumorassoziierte Fibroblasten und tumorassoziierte Makrophagen, sowie andere Zellen des Immunsystems, die an einer chronischen Entzündung des Tumorgewebes beteiligt sind, die das Tumorwachstum fördert (siehe Abschnitt 2.1) [21, 85]. Die Erkenntnisse über die krebsfördernde Tumormikroumgebung liefern Targets in der Tumorthherapie. So bietet es sich z.B. an, die Signaltransduktionswege durch spezifische Tyrosinkinaseinhibitoren zu hemmen [1, 84].

Die intrinsische Resistenz ist in erster Linie auf folgende Mechanismen zurückzuführen: Die Wirkstoffinaktivierung bzw. die fehlende Aktivierung in Folge einer qualitativen und quantitativen Veränderung der Biotransformation des Wirkstoffs, eine veränderte Expression des Wirkstofftargets und die Mutation des Wirkstofftargets, sodass die Funktion oder die Signalübertragung verändert oder die Interaktion zwischen Target und Wirkstoff verringert ist. Außerdem sind ein veränderter Transport durch die Membran sowie ein verstärkter Efflux aus der Zelle z.B. durch ABC-Transporter, gesteigerte intrazelluläre DNA-Reparaturmechanismen oder eine geringere Apoptoserate durch erhöhte Expression antiapoptotischer Gene oder Inaktivierung des Tumorsuppressorgens TP53, dessen Protein p53 eine tragende Rolle in der Auslösung der Apoptose spielt, möglich [9, 86–88]. Einen weiteren zellulären, metabolischen Prozess, der die Effizienz von zytostatischen Wirkstoffen herabsetzt, stellt die Ceramidglykosylierung dar. Die Glucosylceramid-Synthase (GCS) katalysiert den ersten Reaktionsschritt der Ceramidglykosylierung im Sphingosidstoffwechsel und ist in diversen resistenten Krebszellen und in Brusttumoren, Dickdarmtumoren und bei Leukämie überexprimiert. Eine Zunahme an Ceramid als Reaktion auf Stress, wie z.B. Chemotherapie, bewirkt bei betroffenen Zellen einen Stillstand der

Proliferation und somit Apoptose oder Autophagie. Durch die Glykosylierung des Ceramids wird dieser Apoptosemechanismus aufgehoben [89]. MADIGAN *et al.* zeigten unter anderem, dass gegen Oxaliplatin resistente kolorektale Krebszellen, die eine erhöhte Expression von GCS und somit einen erhöhten Spiegel von Glycosylceramid aufwiesen, durch eine RNA-Interferenz (RNAi)-vermittelte Inaktivierung des entsprechenden Gens und daraus resultierende Verringerung der GCS-Expression wieder empfindlich gegenüber Oxaliplatin wurden [90].

Neben bereits vorhandenen Resistenzen können Tumorzellen diese auch erwerben. Dieser Prozess kann durch genetische wie auch durch epigenetische Faktoren beeinflusst sein [9, 76]. Durch erworbene Resistenzen tritt ein Therapieversagen oftmals erst nach vorheriger, erfolgreicher Behandlung ein. So kann sich zum Beispiel bei längerer Therapie mit Taxanen wie Paclitaxel und Docetaxel eine Resistenz entwickeln, die darauf beruht, dass die Krebszellen den von den Taxanen ausgelösten Mitose-Stopp entkommen und wieder in den Zellzyklus eintreten. Verantwortlich für das Auslösen der Apoptose in Folge eines durch Taxane vermittelten Mitose-Stops ist normalerweise das Protein FBXW7, ein Tumorsuppressor. Forscher des DKFZ zeigten jedoch, dass der FBXW7-Spiegel in der Zelle bei längerer Behandlung mit Taxanen deutlich abnimmt. Sie fanden heraus, dass der Abbau von FBXW7 durch vermehrte Bindung des Proteins FBXO45 zunimmt. Der Proteinkomplex FBXO45-MYCBP2 markiert FBXW7 durch Ubiquitinierung zum Abbau durch die Ubiquitin-Ligase FBXO45-MYCBP2 E3. Mit dem Einsatz von Micro-RNAs (miRNAs) gelang es, die Expression von FBXO45 und MYCBP2 durch RNAi zu stoppen und den Abbau des Tumorsuppressors zu verhindern, wodurch wieder mehr Zellen durch die Taxane in die Apoptose getrieben wurden [91, 92].

miRNAs sind kurzkettige aus ca. 22 Nukleotiden bestehende RNAs, die eine wichtige Rolle in der Genexpression spielen. Sie regulieren die meisten proteinkodierenden Gene, einschließlich wichtiger Gene in Krebszellen, die insbesondere bei der Entstehung von Resistenzen von Bedeutung sind. Über drei verschiedene Mechanismen bewirken diese Nukleinsäurestränge ein *gene silencing*, also eine Unterdrückung der Expression von Genen. Dazu gehören die Spaltung des mRNA-Strangs, eine Destabilisierung der mRNA durch Verkürzung des Poly(A)-Schwanzes und eine weniger effiziente Übersetzung der mRNA in Proteine [76]. Je nachdem, welche mRNA-Sequenz durch miRNAs beeinflusst wird, können sie Tumoreigenschaften und Resistenzen begünstigen oder hemmen. Zahlreiche Studien zeigen, dass miRNAs eine wichtige Rolle in der Entstehung von Resistenzen gegen Krebsmedikamenten einnehmen (s. Tab. 4). Der gezielte Einsatz von miRNAs könnte die Wirksamkeit von Zytostatika erhöhen und Resistenzen verhindern [76, 93]. Außerdem sind sie wichtige Biomarker für die

Prognose des Therapie- und Krankheitsverlaufs, da der Spiegel bestimmter miRNAs in den Tumorzellen im Vergleich zu normalen Zellen Aufschluss auf eventuell vorhandene Resistenzen geben kann [94–96]. Für die in Tab. 4 aufgeführten Beispiele wurden bei den untersuchten resistenten Zelllinien stets eine Herunterregulierung der entsprechenden miRNA beobachtet.

Tabelle 4: Auswahl von miRNAs mit Einfluss auf die Entstehung von Resistenzen

miRNA	Target	Effekt	Lit.
miR-20a-5p	MAPK1	sensibilisiert resistente Brustkrebszellen für verschiedene Zytostatika, wie Vinorelbin, Doxorubicin und Paclitaxel durch Hemmung der Expression von P-Glykoprotein (P-gp) und c-Myc via Hemmung des MAPK/ERK-Signalweges	[97]
miR-122-5p	CTNNB1	sensibilisiert resistente Leberzellkarzinome gegenüber Oxaliplatin durch Hemmung von P-gp via Hemmung des Wnt/ $\beta$ -Catenin-Signalweges	[98]
miR-129-5p	P-gp	sensibilisiert resistente Magenkrebszellen gegenüber Cisplatin durch Hemmung der Expression von P-gp	[99]
miR-134	MRP1	sensibilisiert resistente Brustkrebszellen gegenüber Doxorubicin durch Hemmung der Expression von MRP1	[100]
miR-210-rp	MRP5	sensibilisiert resistente Pankreaskarzinomzellen gegenüber Gemcitabin durch Hemmung der Expression von MRP5	[101]

Auch zielgerichtete Antitumorthérapien und RTKI sind von intrinsischen und extrinsischen Resistenzen betroffen, die eine wesentliche Einschränkung in der Behandlung darstellen. Veränderungen der Targetstrukturen können die Wirksamkeit dieser Wirkstoffe einschränken. Die Wirkung von RTKI kann auch durch die Aktivierung von parallelen oder nachgeschalteten Signalwegen umgangen werden [11, 102, 103]. Ein weiterer Mechanismus, der auch bei RTKI greift, ist der aktive Transport des Wirkstoffs durch ABC-Transporter wie das P-Glykoprotein (P-gp) oder verschiedene Subtypen vom *multidrug resistance-associated protein* (MRP), die in einigen Krebsarten überexprimiert sein können [8, 102]. Präklinische Daten zeigten zum Beispiel beim Nierenzellkarzinom, dass Sorafenib und Sunitinib durch solche Transporter in Lysosomen abgesondert und somit für die Zelle unschädlich gemacht wurden [104].

Im nächsten Abschnitt wird näher auf eben solche ABC-Transporter eingegangen und deren Rolle für die MDR näher beleuchtet.

### 2.4.1 ATP-binding cassette-Transporter

ABC-Transporter stellen eine der größten und bekanntesten Proteinsuperfamilien dar, die in allen lebenden Organismen gefunden werden können [105]. Sie sind Thema zahlreicher Forschungsarbeiten, die unter anderem die möglichst selektive Inhibition der Funktion oder die Unterdrückung der Expression derselben behandeln, da Membrantransportproteine der ABC-Familie häufig an der Entstehung einer MDR beteiligt sind. Ungefähr 40 Jahre Forschung an Zellkulturen und Tiermodellen zeigen den hohen Einfluss des aktiven Effluxes auf die Entstehung der MDR [106]. Bereits 1980 beschrieben MCMURRY *et al.* einen aktiven Efflux von Tetracyclin in *Escherichia coli* [107]. Die potentielle Bedeutung von ABC-Transportern bei der Entstehung von MDR wird durch eine große Zahl an Krebsmitteln untermauert, die als Substrate identifiziert wurden, wie z.B. Anthrazykline, Taxane, Vinca-Alkaloide, Topoisomeraseinhibitoren und Tyrosinkinaseinhibitoren, da dadurch eine weitgehende Substratspezifität naheliegt [106, 108, 109].

#### Aufbau und Funktionsweise

Das menschliche Genom enthält 49 ABC-Gene, die in sieben Unterfamilien klassifiziert sind [110]. Gemeinsam ist allen, dass die codierten Proteine Substanzen aktiv gegen das Konzentrationsgefälle transportieren [111]. Die Energie hierfür wird aus der Hydrolyse von ATP zu ADP gewonnen, weswegen ABC-Transporter zu den primären Transportern zählen [112]. ABC-Transporter können als Exporter und als Importer auftreten. Während bei prokaryotischen Lebensformen beide Funktionen vertreten sind, ist bei Eukaryonten, mit sehr wenigen Ausnahmen, nur der Export bekannt [111, 113]. Strukturell bestehen alle Transporter dieser Familie aus zwei hydrophoben, variablen transmembranären Domänen (TMDs), die eine Pore in der Membran bilden und zwei hydrophilen, hoch konservierten, im Zytoplasma liegenden Nukleotid-bindenden Domänen (NBDs) [114, 115]. Im Gegensatz zu den NBDs sind die TMDs nicht hoch konserviert, zeigen aber eine ähnliche Topologie innerhalb einer Transporterklasse. Die mangelnde Konservierung ist vermutlich auf die Verschiedenartigkeit der Substrate zurückzuführen, da die TMDs stets anpassungsfähig gegenüber zu effluierenden Stoffen sein müssen, um mit ihnen interagieren zu können [111, 116]. Je nach Transporterklasse besteht eine TMD aus 6 bis 10 transmembranären  $\alpha$ -Helices, wobei bei den meisten Exportern 6 vorhanden sind [111].

In Eukaryonten besteht die Mehrheit der ABC-Transporter aus einem Polypeptid, das alle vier Domänen umfasst oder sie sind aus zwei Halbtransportern zusammengesetzt [105, 111, 117].

Der Export wird nach folgendem Schema diskutiert: Das Substrat bindet in der Bindungstasche der TMDs. Daraufhin bindet ATP an den beiden Bindungsstellen der NBDs. Die folgende ATP-Hydrolyse bewirkt eine Konformationsänderung der TMDs, was dazu führt, dass das Substrat aus dem Protein freigesetzt und damit effliert wird. Durch die Hydrolyse eines weiteren ATP-Moleküls wird die Konformation zurückgesetzt (Abb. 11) [106, 111].

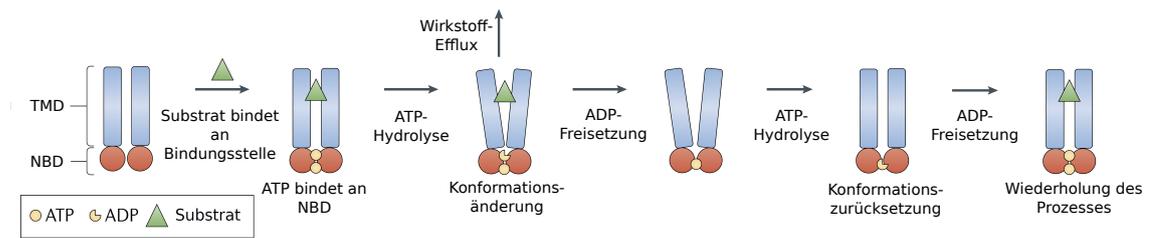


Abb. 11: Schematische Darstellung der Funktionsweise von ABC-Transportern [106]

### 2.4.1.1 P-Glykoprotein

P-gp ist der bekannteste und der erste Transporter der mit durch Überexpression von ABC-Transportern entstandenen Resistenzen in Verbindung gebracht wurde. Entdeckt wurde P-gp 1976 von JULIANO und LING in Colchicin-resistenten Zellen der Ovarien von chinesischen Hamstern [119]. Er gehört zur Gruppe B der ABC-Familie und wird durch das ABCB1-Gen codiert [8, 120]. Der Transporter hat eine Masse von 170 kDa und setzt sich aus 1280 Aminosäuren zusammen. Das Polypeptid besteht aus zwei homologen Hälften, die zu 43 % identisch sind, wobei jede Hälfte aus 6 transmembranären Helices aufgebaut ist. Die Hälften sind

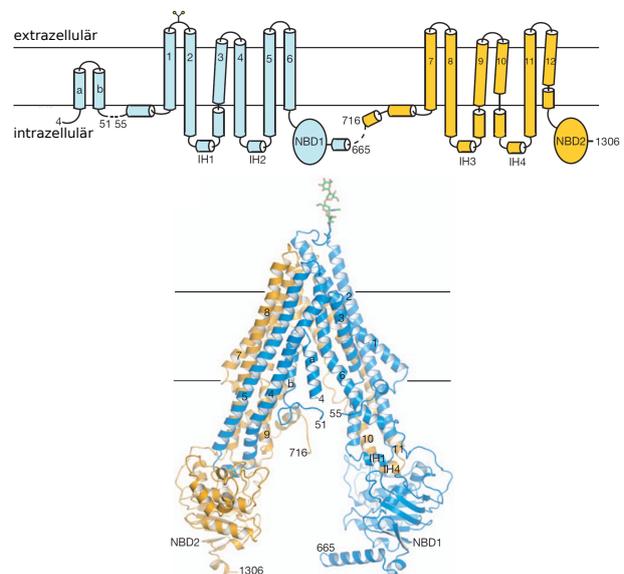


Abb. 12: Struktur des P-gp von *Caenorhabditis elegans*. oben: Sekundärstruktur, TMD1 und TMD2 bestehen aus je 6 Transmembranären Helices. unten: Tertiärstruktur, Hälften sind in der Vorderansicht dargestellt. Abbildung modifiziert nach JIN *et al.* [118].

durch einen *Linker* miteinander verbunden und das gesamte Protein ist durch zwei hydrophobe Molekülanteile in der Zellmembran verankert [105, 118, 121–123]. Das in Abb. 12 abgebildete P-gp von *Caenorhabditis elegans* ist zu 46% identisch mit dem des Menschen und das aus der Struktur abgeleitete Modell des menschlichen P-gp ist kompatibel mit den biochemischen Analysen der letzten Jahrzehnte [118]. In bisher vorhandenen Strukturmodellen wurde eine  $C_2$ -Pseudosymmetrie der TMDs im P-gp beschrieben [105, 122, 124, 125].

Für das humane P-gp sind über 200 strukturell diverse Moleküle bekannt, die als Substrate identifiziert wurden [114, 126–129]. Zu diesen gehören nicht nur Wirkstoffe zur Antitumorthherapie sondern auch solche zur Schmerztherapie sowie Antibiotika, Antiarrhythmika, Antihistaminika, Calciumkanalblocker, HIV-Proteaseinhibitoren, Immunsuppressiva, Neuroleptika, Naturprodukte und viele mehr [8, 128, 130–136]. Physiologisch ist P-gp insbesondere in Geweben mit Barrierefunktion wie der Blut-Hirn-Schranke, dem Darm, der Leber, der Niere und der Plazenta exprimiert [105, 137, 138]. Außerdem wurde P-gp insbesondere in malignen Zellen bei Leukämien, Nieren-, Dickdarm-, Brust- und Lungenkrebs gefunden, die schlecht auf die Therapie ansprechen [106, 139–141].

### 2.4.1.2 Multidrug resistance-associated protein

Die MRPs gehören zur Gruppe C der ABC-Familie und werden von 13 verschiedenen Genen, ABCC1 bis ABCC13, codiert, in 13 Subtypen unterteilt und sind ebenfalls in die Entstehung von MDR verwickelt [106, 110]. Nach der Entdeckung von P-gp im Jahre 1976, stellten Forscher in den späten 80ern und frühen 90ern fest, dass einige in vitro Tumorzelllinien Resistenzen gegen ein breites Spektrum von Antitumormedikamenten aufwiesen, jedoch die Menge an P-gp nicht erhöht war [142–146]. Man sprach hierbei von einer „*non-P-gp-MDR*“. Einige dieser Zelllinien zeigten eine Überexpression von MRPs [142, 147–149].

Die verschiedenen MRP-Subtypen sind unterschiedlich aufgebaut. Man unterscheidet zwischen „kurzen MRPs“ und „langen MRPs“. Zu den „kurzen MRPs“ zählen MRP4, 5, 8 und 9. Sie sind eher symmetrisch und sind aus zwei TMDs, die aus je sechs  $\alpha$ -Helices bestehen, und zwei NBDs aufgebaut. MRP1, 2, 3, 6 und 7 besitzen zusätzlich eine weitere  $NH_2$ -proximale TMD. Sie wird als TMD0 bezeichnet und besteht aus fünf transmembranären  $\alpha$ -Helices, s. Abb. 13 und Abb. 14.

### MRP1

MRP1 ist ein aus 1531 Aminosäuren bestehendes Protein [150]. Wie auch P-gp ist

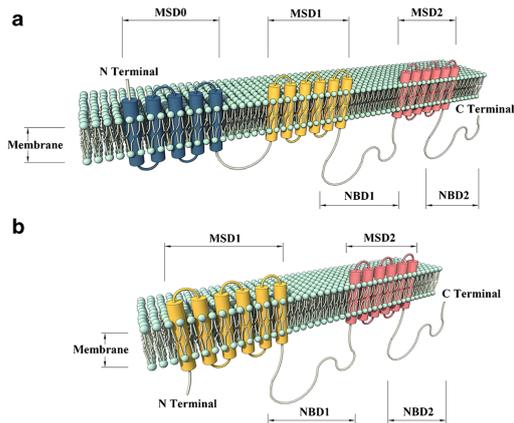


Abb. 13: Schematische Darstellung der Sekundärstruktur von langen und kurzen MRPs. TMDs werden in dieser Darstellung als *membrane-spanning domains* (MSDs) bezeichnet. a: Schematische Darstellung der vorhergesagten Topologie der langen MRPs (MRP1, 2, 3, 6, 7). b: Schematische Darstellung der vorhergesagten Topologie der kurzen MRPs (MRP4, 5, 8, 9). Abbildung modifiziert nach Zhang et al. [150].

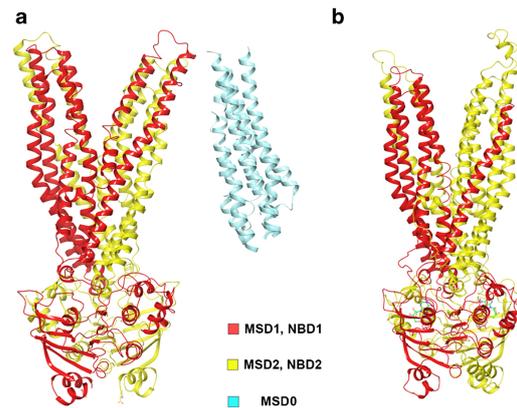


Abb. 14: Dreidimensionales Modell der Tertiärstruktur von MRP1 und MRP4. Die Proteinstrukturen sind in der  $\alpha$ -carbon-backbone-ribbon Darstellung von der Membran aus senkrechten Ebene zu sehen. a: Struktur von MRP1. Die Tertiärstruktur von MSD0 und die Art und Weise, in der die drei MSDs arrangiert sind, ist unbekannt. b: Struktur von MRP4. Abbildung modifiziert nach Zhang et al. [150].

MRP1 physiologisch vor allem in Geweben mit einer Barrierefunktion zu finden, wie der Blut-Hirn-Schranke, dem Dickdarm, der Leber und der Niere. Außerdem kommt der Transporter auch im Brustgewebe, in der Milz und in Lymphknoten vor [114, 151]. Aufgrund seines breiten Substratspektrums und der weiten Gewebeverteilung kann MRP1 an vielen physiologischen, wie auch pathophysiologischen Prozessen beteiligt sein. Dazu gehören unter anderem Entzündungsreaktionen und die Verhinderung von oxidativem Stress, da z.B. Leukotrien C4 und strukturell verwandte Konjugate sowie auch Vitamin B12 Substrate von MRP1 sind [150, 152–155]. Des Weiteren sind viele neutrale und anionische, hydrophobe Stoffe und Produkte des Phase-II-Metabolismus, wie Glutathion- und Glucuronid-Konjugate als Substrate bekannt [106, 154]. Der Transporter ist insbesondere bei Brust-, Lungen-, Ovarial- und Prostatakrebs sowie bei Neuroblastomen und bei Leukämie überexprimiert. Auch bei duktalem Pankreas-Adenokarzinom steht die Überexpression von MRP1 mit einer verringerten 5-Jahres-Überlebensrate im Zusammenhang [114, 152]. Die Entwicklung einer MDR im Zusammenhang mit erhöhter MRP1-Expression wurde unter anderem für Anthracycline, Vinca-Alkaloide, Topotecan, Etoposid, MTX und auch für RTKI wie Imatinib festgestellt [114, 150, 156, 157].

### MRP2

MRP2 besteht aus 1545 Aminosäuren und wurde als erstes bei Rattenleberzellen identifiziert, geklont und als *canalicular multispecific organic anion transporter* (cMOAT) bezeichnet. Bei dieser Methode profitierten BÜCHLER *et al.* von der strukturellen Ähnlichkeit zum humanen MRP1 [158, 159]. Der Transporter wird in proximalen Nierentubuli, Darm, Nervenzellen, Blase, Plazenta, CD4<sup>+</sup>-Lymphozyten und Hepatozyten exprimiert. Er spielt eine besondere Rolle bei der hepatobiliären Ausscheidung zahlreicher organischer Anionen und deren Konjugate des Phase-II-Metabolismus mit Glutathion, Glucuronid und Sulfat [150, 160–164]. Außerdem ist MRP2 bei verschiedenen soliden Tumoren wie Kolorektal-, Leber-, Lungen-, Magen-, Nieren-, Brust- und Ovarialkarzinomen überexprimiert, wodurch er an der Entstehung von Resistenzen beteiligt ist [114, 152, 165, 166]. Wirkstoffe der Antitumortherapie wie Cisplatin, Doxorubicin, Epirubicin, Etoposid, Irinotecan, Mitoxantron, MTX und Vinka-Alkaloide sind bekannte Substrate [8, 150, 160].

### MRP4

MRP4 ist aus 1325 Aminosäuren aufgebaut und besteht im Gegensatz zu MRP1 und 2 nur aus zwei TMDs und zwei NBDs [150]. Das Protein ist in den meisten Geweben des menschlichen Körpers vorhanden einschließlich Gehirn, Leber, Niere, Bauchspeicheldrüse, Nebennieren, Lunge, Herz, Haut, Erythrozyten und Thrombozyten [12, 14, 114, 167]. Zu den endogenen Substraten von MRP4 gehören unter anderem die meisten Signalmoleküle und Entzündungsmediatoren wie z.B. die Eicosanoide Prostaglandin E2, Leukotrien B4 und Thromboxan B2, außerdem zyklische Nukleotide, wie cAMP und cGMP, die als Second Messenger fungieren, sowie Gallensäuren, konjugierte Steroide und Folsäure, weswegen MRP4 eine wichtige Rolle bei physiologischen Regulations- und Signaltransduktionswegen einnehmen kann [12–14]. Aufgrund seiner ubiquitären Lokalisierung und seines breiten Spektrums an Substraten kann MRP4 maßgeblich an der Entstehung von MDR beteiligt sein. Neben den nukleosidanalogen, antiviralen Wirkstoffen Ganciclovir und Nelfinavir gehören unter anderem auch nukleosidische Zytostatika wie die Antimetabolite 6-Thioguanin und 6-Mercaptopurin genauso wie die Zytostatika Topotecan und MTX zu den Substraten [12–14, 168]. Besonders häufig überexprimiert ist MRP4 bei Prostata-, Nieren-, Lungen-, Brust-, Eierstock-, Magen- und Bauchspeicheldrüsenkrebs sowie bei Neuroblastomen, verschiedenen Arten von Leukämien und Lymphomen [114, 151, 169–172]. Der Transporter kann durch sein breites Substratspektrum zum einen für ein Nichtansprechen einer Zytostatikatherapie sorgen und zum anderen eine wachstumsfördernde Entzündungsreaktion durch den Transport von tumorfördernder Boten-

stoffe, wie z.B. die bereits oben genannten Entzündungsmediatoren, aufrecht erhalten.

## 2.4.2 Inhibitoren der multidrug resistance-associated proteins

Als Inhibitoren bezeichnet man Substanzen, die ganz oder teilweise hemmend auf einen Prozess wirken, womit im biochemischen Sinne Enzymreaktionen, Rezeptoren oder Transportsysteme zu verstehen sind [173, 174]. Aufgrund des vielfältigen Substratspektrums von MRP1, 2 und 4, der weiten Verbreitung im menschlichen Körper sowie der häufigen Überexprimierung dieser Transporter bei verschiedensten Krebsarten und der damit verbundenen Beteiligung an einer MDR, ist es sinnvoll an möglichen Inhibitoren zu forschen. Ein idealer Inhibitor ist hochwirksam, besitzt keine pharmakologische Eigenwirkung, zeigt keine pharmakokinetischen Wechselwirkungen mit anderen Wirkstoffen, ist leicht zu einem Arzneimittel zu verarbeiten und wirkt möglichst selektiv auf den Zieltransporter, um eine möglichst spezifischen Eingriff in die Resistenzmechanismen zu erlauben. Das Ziel ist es, einen Inhibitor zu finden, der diese Bedingungen erfüllt und in der Lage ist, die Wirksamkeit einer refraktären Therapie wieder herzustellen [175]. In diesem Kapitel sollen Substanzen besprochen werden, die bereits Potential als Inhibitoren von MRP1, 2 und 4 in Forschungsarbeiten aufwiesen. In den letzten Jahrzehnten wurden große Anstrengungen unternommen, um die MDR zu überwinden. So kamen Hochdurchsatz-Screenings bereits bekannter pharmakologischer sowie auch natürlicher Stoffe zum Einsatz, intrinsische Substrate wurden modifiziert und neue Stoffe designt und synthetisiert um neuartige Inhibitoren der MRPs zu finden [176]. Das Problem ist oftmals die fehlende Selektivität [177]. Nachfolgend wird nur eine Auswahl aufgezeigt.

### 2.4.2.1 MRP1-Modulatoren

Einer der ersten Wirkstoffe, der hinsichtlich einer Modifikation von MRP1 vermittelter Resistenz untersucht wurde, ist Verapamil (Abb. 15). Seit den 1980ern ist bekannt, dass der antiarrhythmische Wirkstoff die Sensitivität in P-gp-überexprimierten Zellen wieder herstellt. Das konnte anhand von Versuchen an P388 Maus-Leukämie-Modellzellen, resistenten, humanen Eierstockkrebszellen und durch Biopsie erhaltenen Krebszellen verschiedener Krebsarten gezeigt werden [178–180]. Klinische Testungen scheiterten meist an schweren Nebenwirkungen, wie AV-Block, Hypotonie und Herzrhythmusstörungen [176, 180, 181]. 1989 untersuchten COLE *et al.* Verapamil und andere kardiovaskulär wirkende Substanzen wie Nicardipin hinsichtlich einer Chemosensibilisierung von nicht-P-gp-überexprimierenden Zellen der kleinzelligen

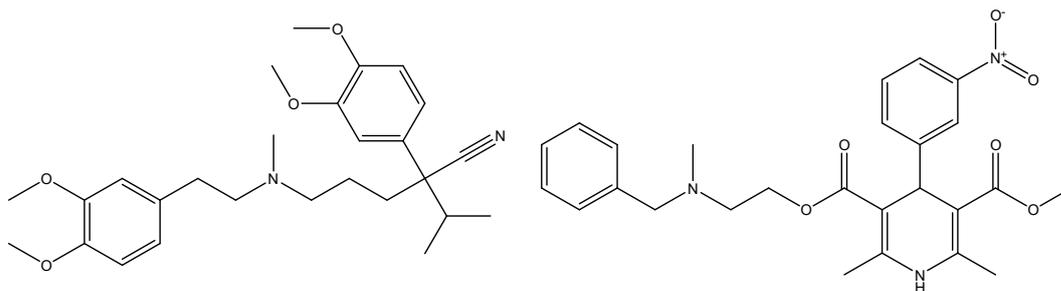


Abb. 15: Strukturformeln von Verapamil (links) und Nicardipin (rechts)

Lungenkrebs-Zelllinie H69AR. Für diese Zellen wurde berichtet, dass sie Resistenzen gegenüber einigen Anthracyclinen, Vinka-Alkaloiden und anderen Zytostatika ausbildeten, wenn sie mit Doxorubicin behandelt wurden [182, 183]. 1992 wurde MRP1 als überexprimierter Transporter der Zelllinie identifiziert [184]. Die Tests zeigten einen Dosis-modifizierenden-Faktor (Quotient aus  $EC_{50}(\text{Doxorubicin})$  und  $EC_{50}(\text{Doxorubicin} + \text{Chemosensitizer})$ ) von 4,86 für 10  $\mu\text{M}$  Verapamil und 4,59 für 3  $\mu\text{M}$  Nicardipin [182].

Dass Dihydropyridine (DHPs) wie Nicardipin (Abb. 15) Effluxpumpen hemmen, ist auch bereits seit den späten 1980ern bekannt. So zeigten Forschungsarbeiten eine Umkehrung von P-gp-vermittelter MDR *in vitro* [185, 186] und *in vivo* [187] durch DHPs genauso wie bereits ausgeführt auch für MRP1. Seitdem ist eine große Anzahl von DHP-Derivaten synthetisiert worden, um den MDR-umkehrenden Effekt zu verstärken, die Selektivität für bestimmte Transporter zu erhöhen und den inhibitorischen Effekt auf Calciumkanäle zu verringern, um Nebenwirkungen zu reduzieren [176]. Eine Reihe neuer DHP-Derivate synthetisierten SIRISHA *et al.*, von

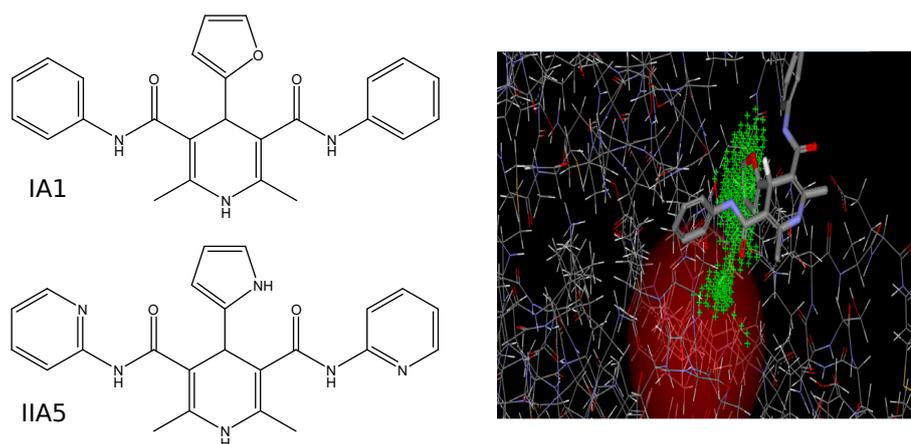


Abb. 16: Strukturformeln IA1 und IIA5 und Docking-Interaktion von IA1 mit der aktiven Seite von MRP1-NBD1 [188]

denen sich zwei Verbindungen mit  $IC_{50}$ -Werten von  $20 \pm 4 \mu\text{M}$  für Verbindung IA1

und  $14 \pm 2 \mu\text{M}$  für Verbindung IIA5 als potente MRP1-Inhibitoren herausstellten (Abb. 16). Außerdem führten sie Docking-Studien durch und zeigten, dass die DHPs mit der NBD1 von MRP1 interagierten (Abb. 16) [188].

Ein anderer Ansatz zur Erhöhung der Selektivität für MRP1 und 2, die nicht symmetrisch aufgebaut sind, stellen die neuen unsymmetrischen 1,4-DHPs von KREUTZER *et al.* dar. Innerhalb der Verbindungsreihe sind günstige Substitutionsmuster wie 3-Methoxyphenylsubstituenten und *meta-N*-Benzylsubstituenten für die Hemmung von MRP1 und 4-Methoxyphenylsubstituenten und *para-N*-Benzylsubstituenten für die Hemmung von MRP2 festgestellt worden (Abb. 17) [189].

Eine der ersten Standardverbindungen für die Hemmung von MRP1, die nicht aus dem Wissen über P-gp abgeleitet wurde, ist Probenecid (Abb. 18) [176]. Probenecid ist ein Wirkstoff aus der Gruppe der Urikosurika und wird ursprünglich eingesetzt, um eine Hyperurikämie zu behandeln, indem die tubuläre Harnsäurerückresorption gehemmt wird.

Der URAT1-Austauscher, der durch Urikosurika gehemmt wird, reabsorbiert Harnsäure und sezerniert im Austausch dafür organische Anionen [190]. Daher liegt es nahe, dass auch Anionentransporter wie die MRPs durch Probenecid gehemmt werden. VERSANTFOORT *et al.* zeigten, dass 5 mM Probenecid bei humanen COR-L23/R Lungenkrebszellen, welche MRP1 überexprimieren, zur Akkumulation von Daunorubicin und Calcein-Acetoxy-methylester (AM) führte. Der gestoppte Efflux von Calcein ist ein klares Zeichen für die direkte MRP1-Hemmung [176, 191]. Auch Benzbromaron (Abb. 18) stellt einen Inhibitor aus der Gruppe der Urikosurika dar [176]. Durch die fehlende Selektivität und die aufkommenden Nebenwirkungen, die das Auskristallisieren von Harnsäure im Urin mit sich bringt, sind Urikosurika für die klinische Anwendung als MRP1-Inhibitoren eher ungeeignet.

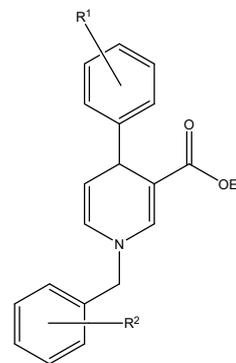


Abb. 17: Allgemeine Struktur der 1,4-DHPs von KREUTZER *et al.* [189].

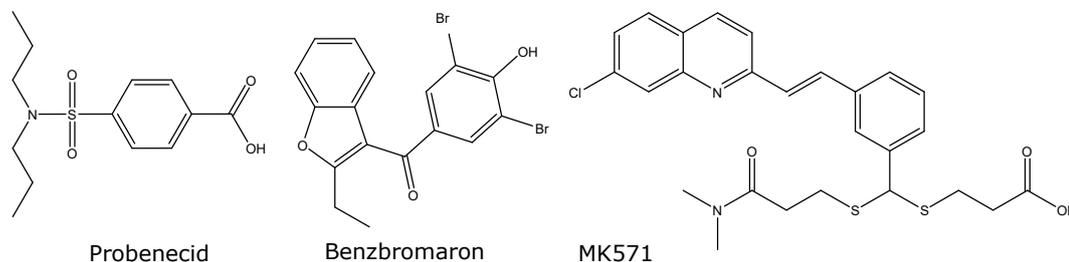


Abb. 18: Strukturformeln von Probenecid, Benzbromaron und MK571

Eine weitere häufig verwendete Standardverbindung für die Hemmung von MRP1 ist

MK571 (Abb. 18), auch als Verlukast bezeichnet. MK571 ist ein Leukotrienrezeptorantagonist, der ursprünglich für die Verwendung bei asthmatischen Erkrankungen untersucht wurde [192]. Als Wirkstoff aus dieser Gruppe ist in Deutschland allerdings nur Montelukast zugelassen [193]. GEKELER *et al.* zeigten, dass MK571 in der Lage war, die Empfindlichkeit von HL60/ADR- und GLC4/ADR-Zellen gegenüber Vincristin und Doxorubicin komplett wiederherzustellen [194]. MK571 wird häufig als Referenzsubstanz für Untersuchungen neuer potentieller Verbindungen hinsichtlich ihrer hemmenden Aktivität auf Efflux-Pumpen benutzt. MK571 hemmt jedoch außer MRP1 auch MRP2, MRP3, MRP4, MRP5 und Phosphodiesterasen [12, 195–199].

Ein Studie von 2012 berichtet, dass ein aus *Cecropia lyratiloba* isoliertes Triterpen MDR umkehren kann, ohne P-gp zu hemmen. 3 $\beta$ -acethyl tormentic acid (3ATA) (Abb. 19) blockierte signifikant MRP1 in Maus-Melanom-B16F10- und Affenepithel-Ma104-Zelllinien, welche MRP1 überexprimieren. Die Fluoreszenz des zurückgehaltenen Farbstoffes war in den B16F10-Zellen bei einer Konzentration von 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  20 mal höher als in der Kontrolle und fast 2 mal so intensiv wie bei 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  MK571. Des Weiteren zeigte 3ATA nur einen geringen inhibitorischen Effekt bei der A549-Zelllinie, die MRP1-5 überexprimiert, was ein Hinweis darauf ist, dass andere Transporter weniger stark inhibiert werden. Bei Zellen, die mit MRP1, 2, 3 und 4 transfiziert

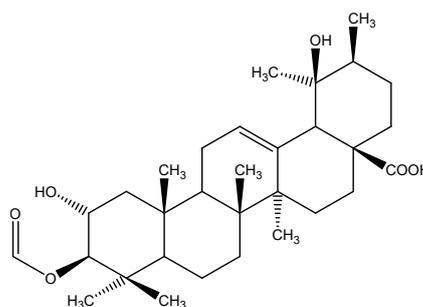


Abb. 19: Strukturformel von 3ATA

wurden, zeigte 3ATA auch modulierende Eigenschaften, allerdings ist die Inhibitionsratio signifikant geringer als die für MRP1. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass 3ATA ein neuer und potenter Modulator von MRP1-4 mit bevorzugter Selektivität für MRP1 ist. 3ATA könnte als eine vielversprechende Leitsubstanz zur Entwicklung wirksamer MRP-Inhibitoren genutzt werden [200].

#### 2.4.2.2 MRP2-Modulatoren

Neben den Inhibitoren, die bereits als MRP1-Inhibitoren genannt wurden und ebenso MRP2 hemmen, wie Verapamil, Probenecid, MK571 und gewisse DHP-Derivate, sind auch weitere Substanzklassen als effektive Inhibitoren von MRP2 bekannt [12, 189, 199]. BAICEANU *et al.* untersuchten 2-Indolylmethylbenzofuranone (Abb. 20) hinsichtlich ihrer hemmenden Aktivität auf MRP2 und ihrer potentiellen Selektivität [201].

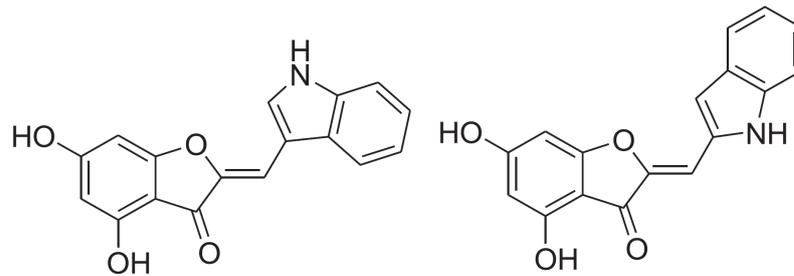


Abb. 20: 2-Indolylmethylenebenzofuran-3(2H)-one [201]

Eine der untersuchten Verbindungen ((Z)-2-(N-Methyl-5-bromindol-3-ylmethylene)-4,6-dihydroxybenzofuran-3(2H)-on) erwies sich mit einer  $IC_{50}$  von  $17,8 \pm 1,8 \mu\text{M}$  als potenter sowie auch relativ aber nicht vollständig selektiver MRP2-Inhibitor [201]. Auch miRNAs zur Bekämpfung von Resistenzen bei Krebs, auf die bereits in Abschnitt 2.4 eingegangen wurde, sind Gegenstand vieler Forschungsarbeiten [202]. Eine signifikante Anzahl von miRNAs befindet sich in instabilen genomischen Regionen, die mit Krebs in Verbindung stehen [203]. So vermitteln miRNAs z.B. Arzneimittelresistenzen in kolorektalen Karzinomen. Die miRNA miR-297 moduliert die Expression von MRP2 bei kolorektalem Krebs und ist oftmals in humanem kolorektalem Karzinomgewebe herunterreguliert, was zu einem Anstieg der Expression von MRP2 führt [204]. XU *et al.* konnten durch Transfektion von miR-297-Imitaten die Expression von MRP2 hemmen und dadurch HCT116/L-OHP- und HCT-8/VCR-MDR-Zellen für einige Zytostatika *in vitro* und *in vivo* sensibilisieren [204].

### 2.4.2.3 MRP4-Modulatoren

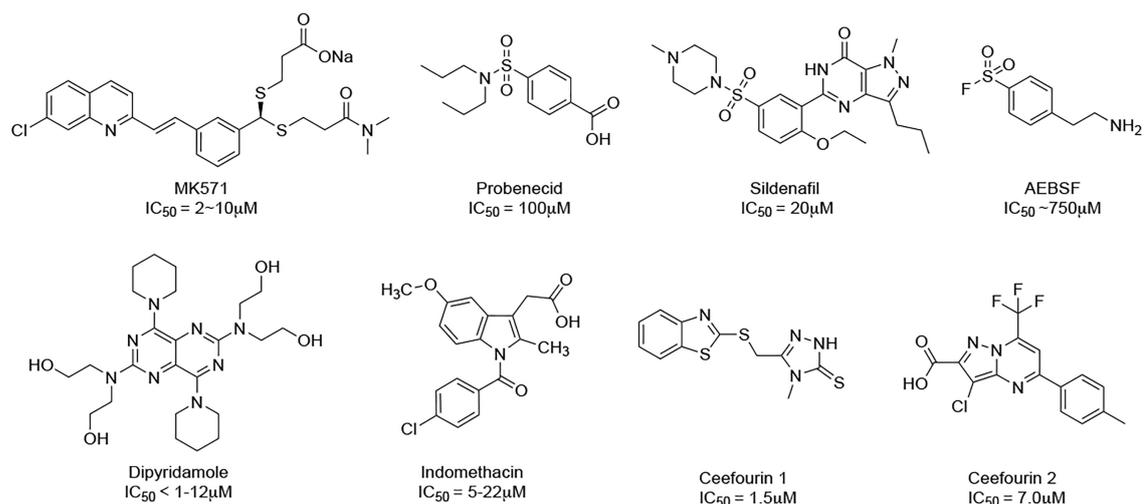


Abb. 21: Auswahl bekannter MRP4-Inhibitoren und ihre Bioaktivität [12]

Im Zusammenhang mit verschiedenen Krebsarten, bei denen MRP4 überexprimiert ist, zeigt die MRP4-Hemmung auffällige Effekte gegen das Fortschreiten von Krebserkrankungen und gegen Arzneimittelresistenzen [12]. Trotz der positiven Effekte einer solchen Hemmung stehen relativ wenige niedermolekulare Inhibitoren zur Verfügung. Die bekannten Inhibitoren haben oftmals eine geringe Potenz und geringe Spezifität. MK571 ist ein weit verbreiteter MRP4-Inhibitor, ist jedoch, wie bereits erwähnt, nicht selektiv. Probenecid, Sildenafil, 4-(2-Aminoethyl)benzolsulfonylfluorid (AEBSF), Dipyridamol und Indomethacin sind schwache und nicht selektive Inhibitoren [12, 14].

Das Fehlen spezifischer niedermolekularer Inhibitoren ist eine wesentlich Einschränkung für das Verständnis der physiologischen und pharmakologischen Rolle von MRP4. CHEUNG *et al.* identifizierten Ceefourin 1 und 2 (Abb. 21) als hochselektive Inhibitoren von MRP4 durch ein Hochdurchsatz-Screening vielfältiger niedermolekularer Substanzen. Die Selektivität wurde anhand einer Reihe von gepaarten arzneimittelsensitiven und -resistenten Zelllinien untersucht. Die Zelllinien exprimierten MRP4 (HEK293-MRP4), P-gp (HEK293-Pgp), ABCG2 (HEK293-ABCG2), auch *breast cancer resistance protein* (BCRP) genannt, MRP1 (MCF7-VP16), MRP2 (MDCKII-MRP2), MRP3 (MDCKII-MRP3) und MRP5 (HEK293-MRP5) über. Nur bei der Zelllinie, die MRP4 überexprimierte, wurde eine Sensibilisierung gegenüber Zytostatika durch Ceefourin 1 oder Ceefourin 2 beobachtet. Alle anderen Zelllinien, die Transporter überexprimierten, wiesen weiterhin erheblich Arzneimittelresistenzen auf. Darüber hinaus zeigten Ceefourin 1 und Ceefourin 2 eine geringe Zelltoxizität sowie eine hohe mikrosomale Stabilität und Säurestabilität [177]. Die beiden Verbindungen sind also potente und hochselektive MRP4-Inhibitoren und könnten bei der weiteren Aufklärung der biologischen Rolle von MRP4, genauso wie bei der Entwicklung neuer Inhibitoren und einer eventuellen therapeutischen Anwendung von großem Interesse sein.

CHEN *et al.* führten zur Identifizierung neuer MRP4-Inhibitoren ein virtuelles Screening der SPECS-Datenbank durch. SPECS ist ein weltweit führender Anbieter von *compound management services* und führt umfassende Substanzbibliotheken [205]. MK571 wurde für das ligandenbasierte Wirkstoffdesign verwendet und ein Homologiemodell von MRP4 für das strukturbasierte Wirkstoffdesign. 200000 Verbindungen wurden untersucht. Zuerst wurden Moleküle mit unbefriedigenden Moleküleigenschaften gefiltert, dann einer dreidimensionalen Ähnlichkeitssuche und einem Docking-basierendem virtuellen Screening unterzogen. Nach der Kalkulationen der

Löslichkeiten blieben 39 potentielle Verbindungen übrig, die dann biochemisch getestet wurden. Die Verbindung Cpd23 (Abb. 22) zeigte die besten Ergebnisse als MRP4-Inhibitor, der eine gleichwertige Aktivität wie eine fast zehnfach höhere Konzentration MK571 bei der Verbesserung der Zellempfindlichkeit der HEK293/MRP4-Zelllinie gegenüber dem Krebsmedikament 6-Mercaptopurin zeigte [12].

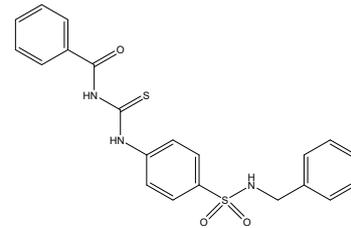


Abb. 22: Strukturformel von Cpd23

Auf die Möglichkeit Resistenzen mit der Hilfe von miRNAs zu modulieren wurde schon mehrfach hingewiesen. Auch die Expression von MRP4 kann durch miRNAs reguliert werden. miR-124a und miR-506 senkten in den Studien von MARKOVA und KROETZ die MRP4-Proteinspiegel in HEK293T/17-Zellen um 20 bis 30 % und die MRP4-Funktion um 50 % [206].

## 2.5 Zielstellung der Arbeit

In der Krebstherapie sind durch MRP-Transporter vermittelte Resistenzen immer noch ein Problem. In der Klinik eingesetzte Modulatoren dieser Proteine gibt es bisher nicht. Ein Problem ist oftmals eine fehlende Selektivität und damit einhergehende Nebenwirkungen, die in der Klinik auftreten würden [177]. MRP4 spielt aufgrund seiner ubiquitären Verbreitung im Körper und Überexpression bei einigen Krebsarten eine tragende Rolle bei der Entstehung von MDR. Eine Hemmung könnte demnach gleich zwei positive Effekte auf die Tumortherapie haben, nämlich zum einen die Aufhebung einer Resistenz gegenüber Zytostatika und zum anderen wird der Transport von tumorfördernden Botenstoffen verhindert, die ebenfalls Substrate von MRP4 sind [114, 151, 169–172]. Von HILGEROTH, WOLLMANN und BAUMERT synthetisierte C<sub>2</sub>-symmetrische Käfigdimerverbindungen von 1,4-Dihydropyridinen zeigten bereits eine gute Inhibition der HIV-1-Protease, wobei ein Angriff der Struktur am ebenfalls C<sub>2</sub>-symmetrischen Zentrum der Protease vermutet wurde [207–209]. Die Verbindungen zeigten in Arbeiten von RICHTER und COBURGER auch MDR-modulatorische Eigenschaften durch die Hemmung von verschiedenen ABC-Transportern, wie P-gp, BCRP und auch MRP4. Für die Targetstrukturen von MRP4 wurde ebenfalls ein symmetrischer Bindungsmodus diskutiert [209–214].

Ziel der Arbeit ist die Entwicklung und Synthese neuer symmetrischer 1,4-DHPs und ihrer alkoholischen Käfigdimere mit anschließender Evaluierung beider Substanzklassen als MRP4-Inhibitoren. Die Verbindungen mit den höchsten Aktivitäten

sollen außerdem einer Untersuchung zur Resistenzaufhebung unterzogen werden. Zusätzlich zur MRP4-Hemmung soll eine Betrachtung der Hemmaktivität auf MRP1 und 2 erfolgen um erste Hinweise auf potentielle Tendenzen der Verbindungen für eine Spezifität auf MRP4 zu erhalten.

Durch verschiedene Substitutionen der beiden Substanzklassen an den 1-*N*-Benzyl- und 4-Phenyl-Resten bzw. im Falle der Käfigdimere an den 3,9-Dibenzyl- und 6,12-Diphenylresten soll eine umfangreiche Verbindungsbibliothek entwickelt werden, um bestehende Struktur-Wirkungs-Beziehungen erkennen zu können.

Die Synthese der 1,4-Dihydropyridine soll in Form einer „Eintopfsynthese“ erfolgen. Hierfür bietet sich die Verwendung von verschiedenen substituierten, kommerziell erworbenen Benzaldehyden und Benzylaminen an. Über zwei weitere Reaktionsschritte, eine [2+2]-Cycloaddition mit anschließender Reduktion, können die 2,6-unsubstituierten 1,4-DHPs in ihre entsprechenden alkoholischen Käfigdimere umgesetzt werden.

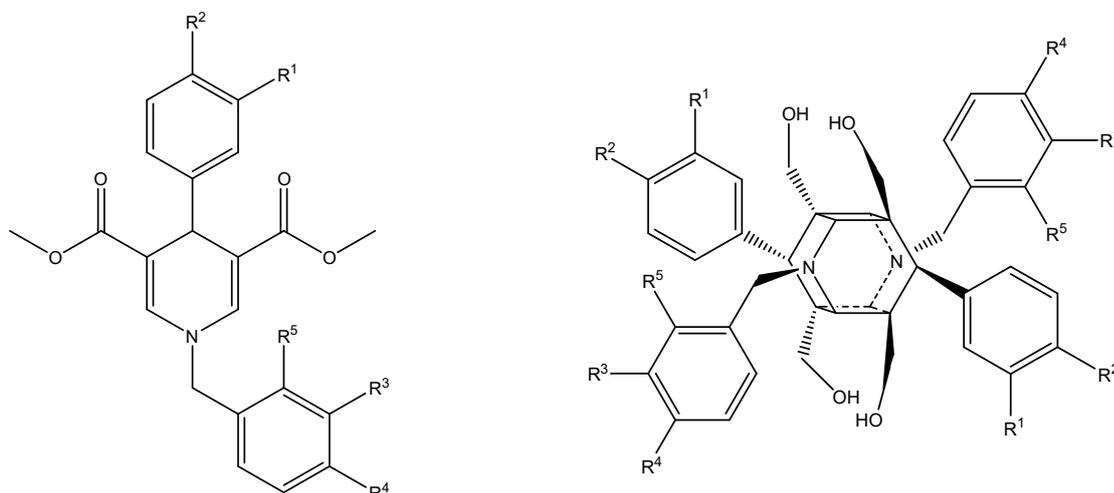


Abb. 23: Zielstrukturen der zu synthetisierenden 1,4-Dihydropyridine (links) und ihrer alkoholischen Käfigdimere (rechts)

# 3 Synthese und Charakterisierung der Verbindungen

## 3.1 Darstellung und Charakterisierung der 1,4-Dihydropyridin-Derivate

### 3.1.1 Diskussion zum Mechanismus der Synthese

Die Basis für die Synthese der 1,4-DHPs bildet die HANTZSCH-Dihydropyridin-Synthese. Bei der Reaktion einer *C-H*-aziden  $\beta$ -Ketocarbonylverbindung wie z.B. Acetessigester mit Ammoniak und einem Aldehyd entstehen 2,6-substituierte 1,4-DHPs [215, 216]. Ziel der Arbeit ist es jedoch DHPs zu synthetisieren, die an Position 2 und 6 nicht substituiert sind, da aufgrund der sterischen Hinderung eine Dimerisierung sonst nicht möglich wäre [207–209]. CHENNAT und EISNER entwickelten auf der HANTZSCH-Dihydropyridin-Synthese basierend eine Methode zur Herstellung 2,6-unsubstituierter DHPs. Hierfür werden Propiolsäureester mit einem aromatischen Aldehyd und Ammoniumacetat im essigsäuren Milieu umgesetzt [217]. Die dabei entstehenden *N*-unsubstituierten DHPs können durch die Umsetzung mit Natriumhydrid und Benzylhalogeniden nach SAUSIN' *et al.* zu den gewünschten Verbindungen umgesetzt werden [218]. Weitaus einfacher ist jedoch die von HILGEROTH abgewandelte Methode von CHEKAVICHUS [219]. Während CHEKAVICHUS statt Ammoniumacetat Aniline verwendete, kommen bei der Reaktion nach HILGEROTH verschieden Amine unter anderem auch Benzylamine zum Einsatz (s. Abb. 24) [207, 220]. So ist eine leicht zu handhabende und schnelle Eintopfsynthese der gewünschte 2,6-unsubstituierten 1,4-DHPs möglich. Die Verwendung von Methylpropiolat für die zu synthetisierenden Verbindungen erwies sich in der Vergangenheit als vorteilhaft bezüglich ihres Kristallisationsverhaltens im Vergleich zu anderen Propiolsäureestern sowohl für diesen Reaktionsschritt, als auch den folgenden (s. Abschnitt 3.2) [209].

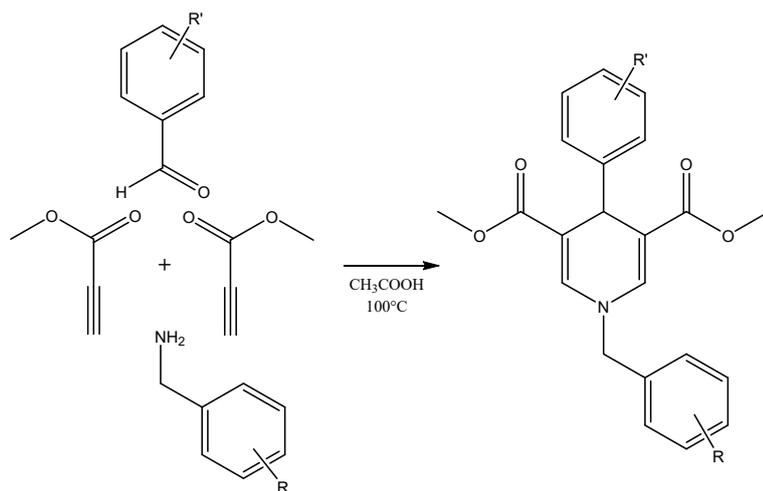


Abb. 24: Darstellung der 1,4-Dihydropyridine modifiziert nach Hilgeroth [207]

Anhand der bereits genannten Forschungsarbeiten zu der Chemie von DHPs kann folgender Reaktionsweg (Abb. 25) angenommen werden [215–219].

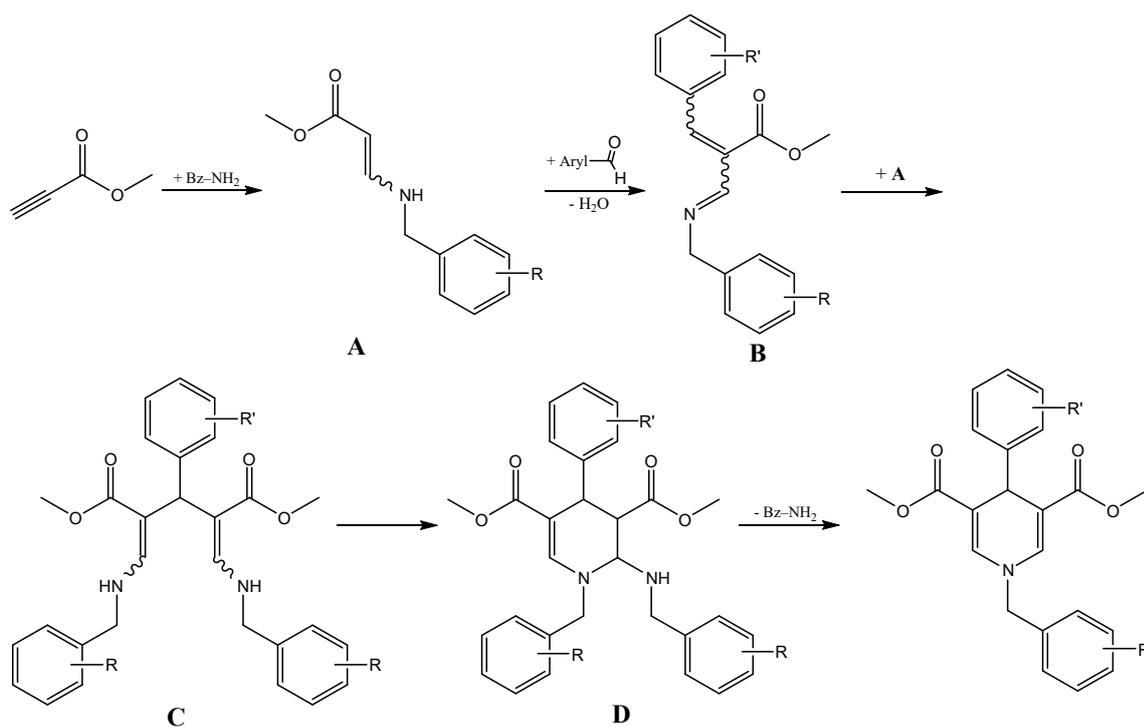


Abb. 25: Möglicher Reaktionsweg bei der Synthese der 1,4-Dihydropyridine

Die nächsten Abbildungen zeigen vereinfacht den Reaktionsmechanismus für die Synthese der gewünschten 1,4-DHPs mit Methylpropiolat, Benzaldehyd und Benzylamin. Laut CHENNAT *et al.* beginnt die Reaktion mit einer Addition des Amins an Methylpropiolat unter Bildung eines Aminoacrylats A [217]. Die elektronenziehende

Carbonsäureester-Gruppe fördert den elektrophilen Charakter der Doppelbindung, wie es durch die Darstellung der Grenzstrukturen des protonierten Methylpropiolats in Abb. 26 verdeutlicht wird. Dadurch ist der säurekatalysierte nukleophile Angriff des Benzylamins möglich. Das durch die nukleophile Addition intermediär entstandene Allen wird durch Delokalisierung der positiven Ladung zur Carbonyl-Gruppe zum stabilerem Enamin isomerisiert. Nach anschließender Deprotonierung entsteht Verbindung A.

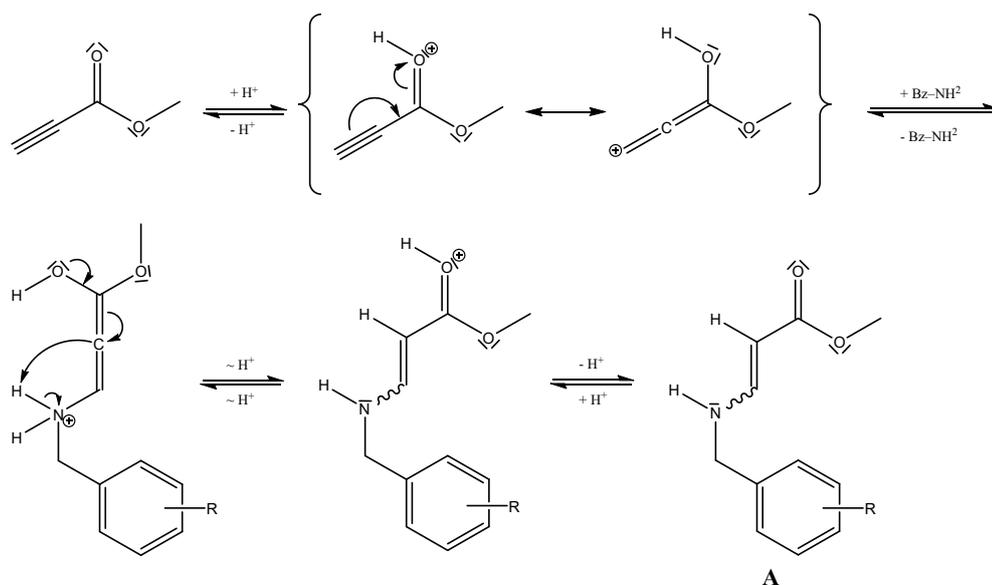


Abb. 26: Reaktionsmechanismus bei der Bildung des Aminoacrylats A

Im Anschluss erfolgt eine nukleophile Addition vom Enamin A am Benzaldehyd, wodurch letztendlich Verbindung B entsteht (Abb. 27) [217, 221]. Das freie Elektronenpaar des Stickstoffs ist delokalisiert, wodurch die in Abb. 27 dargestellten mesomeren Grenzstrukturen des Enamins möglich wären. Anhand dieser wird der nukleophile Charakter des  $\alpha$ -Kohlenstoffs in Reichweite der Carbonyl-Gruppe ersichtlich (Struktur A2) und deutlich, dass ein nukleophiler Angriff am elektrophilen Aldehyd vonstattengehen kann. Das entstandene, positiv geladene Intermediat wird durch Umlagerung eines Wasserstoffatoms und anschließender Abspaltung von Wasser und eines Protons zur neutralen Verbindung B umgewandelt.

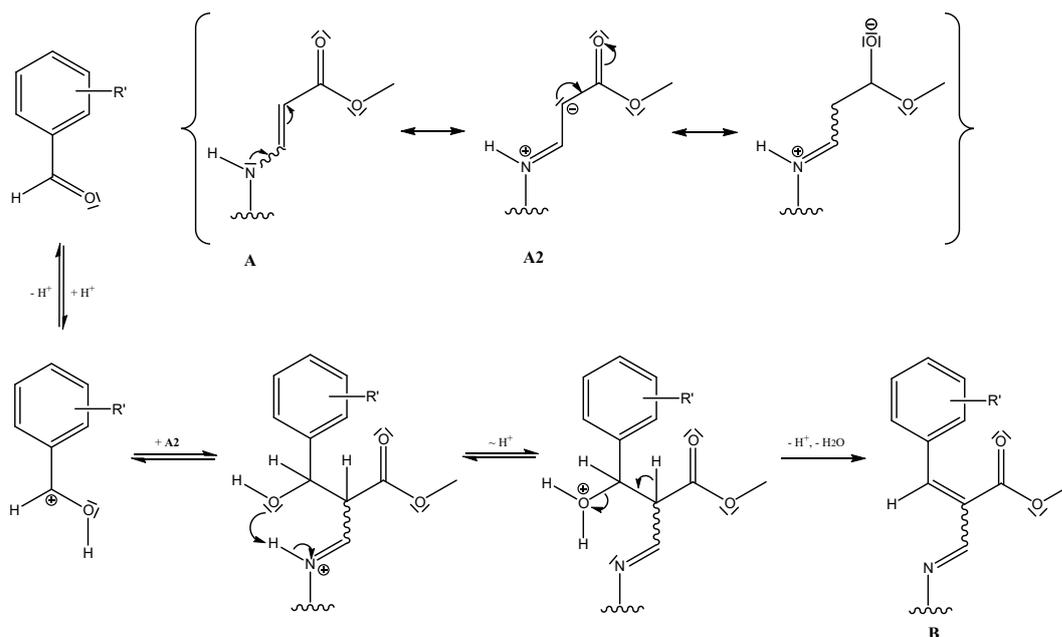


Abb. 27: Reaktionsmechanismus der Reaktion von A mit Benzaldehyd zu B

Als nächstes reagiert ein weiteres Molekül A über den  $\alpha$ -Kohlenstoff mit der elektrophilen Doppelbindung der im vorherigen Schritt entstandene Verbindung B, siehe Abb. 28. Durch Übertragung des Protons vom Imin auf das Enamin erfolgt ein Ladungsausgleich. Die Imin-Gruppe kann zum Enamin isomerisieren, wodurch Verbindung C, ein Divinylmethan-Derivat, erhalten wird [221].

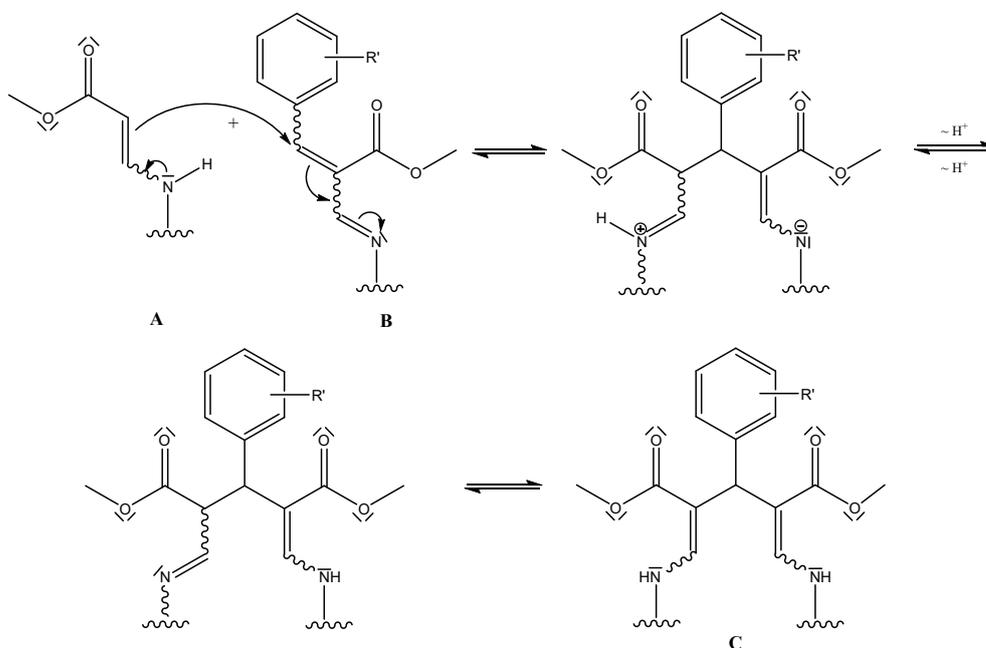


Abb. 28: Reaktionsmechanismus der Reaktion Enamin A mit B zu C

Abschließend erfolgt ein Ringschluss durch den nukleophilen Angriff eines der Stickstoffatome an der gegenüberliegenden elektrophilen Doppelbindung (Abb. 29). Aus dem Aminoaldehyd D wird durch Abspaltung eines Benzylamins das Endprodukt gebildet [221, 222]. YANG *et al.* postulierten außerdem, dass die Ausbeute an DHP durch Zugabe eines Überschusses Aldehyd erhöht werden kann. Sie zeigten das am Beispiel eines isolierten Divinylmethans analog zu C und setzten es mit und ohne entsprechendem Aldehyd um. Diskutiert wird, dass der überschüssige Aldehyd das abgespaltene Amin unter Bildung eines Imins abfängt und so das Gleichgewicht in Richtung des Endproduktes verschoben wird [221]. Durch die Zugabe von Aldehyd im Überschuss wurde jedoch im Rahmen dieser Arbeit mehrmals die Entstehung eines Nebenproduktes festgestellt, welches bei der Synthese von Verbindung 17 isoliert und anschließend analysiert werden konnte (Verbindung 23). Genauer wird hierauf in Abschnitt 3.1.2 eingegangen.

LENTZ konnte in seiner Dissertation während der praktischen Arbeit durch routinemäßiger massenspektrometrischer Verlaufskontrolle bei jeder seiner Synthesen, welche analog zur hier besprochenen ablaufen, Verbindung A, B und das Imin zuzuordnen, was den Reaktionsablauf bestätigt [223]. Bei einigen DHP-Synthesen dieser Arbeit konnten die Massen ebenfalls zugeordnet werden.

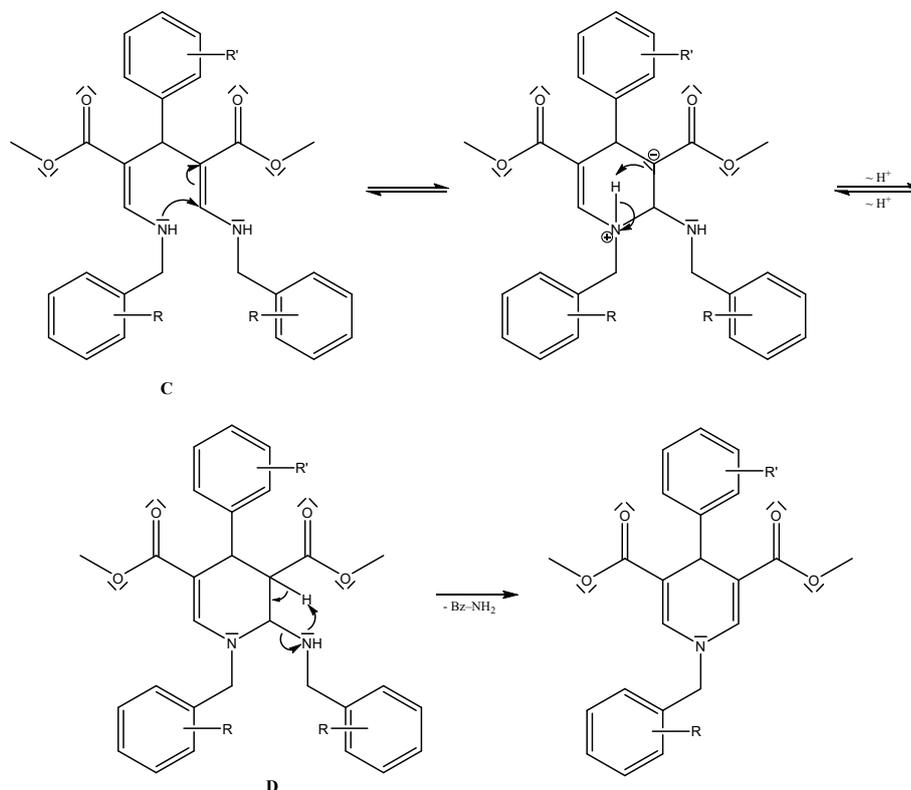


Abb. 29: Ringschluss zu Verbindung D mit anschließender Eliminierung des Benzylamins

### 3.1.2 Synthese der Verbindungen, Problemstellungen und Lösungen

Die Synthesen wurden als Eintopfsynthesen mit entsprechend substituierten Benzaldehyden und Benzylaminen mit Methylpropiolat in frisch destilliertem Eisessig durchgeführt. Es wurden für die Umsetzung verschiedene Reaktionstemperaturen getestet, wobei die Ausbeuten bei 80 °C am höchsten ausfielen. Die Reaktionszeiten lagen in den meisten Fällen bei 1 bis 4 Stunden, in wenigen Fällen bis zu einem Tag. Die Verläufe der Reaktionen wurden dünnschichtchromatografisch und per Massenspektrometrie überwacht. Ziel der Synthesen war es eine vielfältige, repräsentative Reihe von 1,4-DHPs für die biologische Testung und zur anschließenden Dimerisierung zu Käfigdimeren (Abschnitt 3.2) zu erstellen (Tab. 5). Modifizierungen fanden nur am Phenyl- und *N*-Benzyl-Rest statt. Deshalb waren alle synthetisierten DHPs durch den Einsatz verschieden substituierter Benzaldehyde und Benzylamine realisierbar.

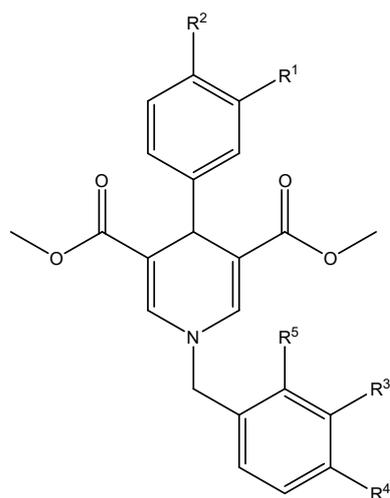


Abb. 30: Struktur der hergestellten 1,4-Dihydropyridine

Tabelle 5: Substitutionsmuster der Verbindungen 1-22

	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>
1	H	F	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
2	F	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
3	F	F	H	OCH <sub>3</sub>	H
4	F	F	OCH <sub>3</sub>	H	H
5	F	F	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
6	H	CF <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H
7	H	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H
8	H	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
9	CF <sub>3</sub>	H	H	OCH <sub>3</sub>	H
10	CF <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H	H
11	CF <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
12	CF <sub>3</sub>	H	CF <sub>3</sub>	H	H
13	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H
14	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H
15	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
16	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CF <sub>3</sub>	H	H
17	OBn	OBn	H	OCH <sub>3</sub>	H
18	OBn	OBn	CF <sub>3</sub>	H	H
19	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CF <sub>3</sub>	H	H
20	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	Cl	H
21	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	Cl	H	H
22	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	Cl	Cl

Die Ausbeuten dieses Reaktionsschrittes lagen im Durchschnitt bei 31 %. Dabei unterscheiden sich die einzelnen Ausbeuten teilweise stark voneinander.

Dafür kann es verschiedene Ursachen geben. Zum einen sind die elektrochemischen Eigenschaften der verwendeten Benzaldehyde und Benzylamine als Edukte zu betrachten. Außerdem konnten nicht alle Produkte direkt nach der Reaktion auskristallisiert werden. Oftmals war eine säulenchromatografische Reinigung des erhaltenen Stoffgemisches von Nöten, um eine Kristallisation des reinen Produktes zu erreichen. Dadurch kommt es zu einer Verringerung der Ausbeuten, da Verluste durch den Reinigungsprozess in diese einberechnet sind. Die Verluste entstehen durch Überlappung der einzelnen

Tabelle 6: Vergleich von Ausbeuten bei der DHP-Synthese

	4-Ph-R	1-N-Bz-R	Ausbeute
22	3,4-OCH <sub>3</sub>	2,4-Cl	61,41 %
19	3,4-OCH <sub>3</sub>	3-CF <sub>3</sub>	55,34 %
5	3,4-F	3,4-OCH <sub>3</sub>	49,47 %
16	3-CF <sub>3</sub> , 4-OCH <sub>3</sub>	CF <sub>3</sub>	48,70 %
21	3,4-OCH <sub>3</sub>	3-Cl	46,51 %
11	3-CF <sub>3</sub>	3,4-OCH <sub>3</sub>	24,40 %
4	3,4-F	3-OCH <sub>3</sub>	22,01 %
12	3-CF <sub>3</sub>	3-CF <sub>3</sub>	15,40 %
17	3,4-OBn	4-OCH <sub>3</sub>	13,75 %
7	4-CF <sub>3</sub>	3-OCH <sub>3</sub>	10,32 %
10	3-CF <sub>3</sub>	3-OCH <sub>3</sub>	7,54 %
18	3,4-OBn	3-CF <sub>3</sub>	6,30 %

Fractionen mit der Produktfraktion und durch Verbleiben geringer Mengen Produkt in der Kieselgelphase. So ist die Ausbeute z.B. bei Verbindung 5 trotz ähnlicher Substituenten höher als bei Verbindung 4. Das Kristallisationsverhalten ist also ebenso von Bedeutung für die Ausbeuten wie die elektrochemischen Faktoren. Wenn man die Substituenten der Edukte betrachtet, ist auffällig, dass insbesondere Methoxy-Gruppen in Position 4 des Benzaldehyds für hohe Ausbeuten sorgten (s. Tab. 6: Verbindung 22, 19, 21). Auch Verbindung 20 (nicht in Tab. 6 aufgeführt) entstand in einer überdurchschnittlichen Ausbeute. Ebenso zu sehen ist dieser Effekt beim beispielhaften Vergleich von Verbindung 12 und Verbindung 16. Beide Verbindungen unterscheiden sich nur durch die 4-Methoxy-Gruppe am Phenylrest voneinander, was zu einer weitaus höheren Ausbeute bei Verbindung 16 führte. Das gleiche gilt für Verbindung 14 (nicht in Tab. 6 aufgeführt, Ausbeute: 45,21 %) und 10. Die geringsten Ausbeuten wurden bei den Synthesen von Verbindung 17, 7, 10 und 18 erhalten. Während die Ausbeuten bei Verbindung 17 und 18 unter den sterisch anspruchsvollen Benzyloxy-Resten des Benzaldehyds leiden dürften, könnte man für Verbindung 10 und 7 die Vermutung anstellen, dass die 3-Methoxy-Gruppe am Benzylamin mit ihrem +M-Effekt für eine höhere Elektronendichte in *ortho*- und

*para*-Position sorgt, während die Methylamin-Gruppe in *meta*-Position steht. Eine zusätzliche Methoxy-Gruppe in Position 4 erhöhte die Ausbeute wieder. (s. Tab. 6: Verbindung 11).

Für Verbindung 7 wurde als Versuch zur Erhöhung der Ausbeute eine alternative 2-Schrittsynthese ausprobiert. Zuerst wurde nach EISNER & CHENNAT 4-Trifluormethylbenzaldehyd mit Methylpropiolat und Ammoniumcarbonat in Eisessig umgesetzt [217]. Das erhaltene *N*-unsubstituierte DHP reagierte anschließend nach LUSIS & DUBUR mit 3-Methoxybenzylchlorid zu Verbindung 7 [224]. Dieser Weg brachte jedoch eher schlechtere Ausbeuten.

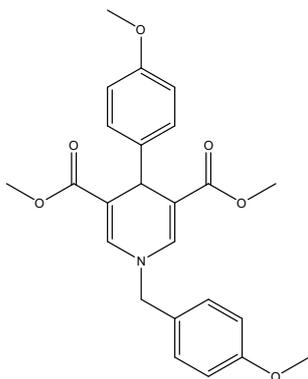


Abb. 31: Verbindung 23

Wie bereits in Abschnitt 3.1.1 erwähnt, kann die Ausbeute an DHP durch einen Überschuss an Aldehyd erhöht werden [221]. Bei einigen Verbindungen konnte dadurch jedoch die Entstehung eines weiteren Dihydropyridins beobachtet werden. Bei der Synthese von Verbindung 17 war es möglich dieses Nebenprodukt zu isolieren und zu analysieren (s. Abschnitt 6.2.2.1, Verbindung 23). Der überschüssige Aldehyd fängt das bei der Ringschließung abgespaltene Benzylamin unter Bildung eines Imins ab. Reagiert dieses Imin mit Enamin A (s. Abb. 32) ähnlich wie in Abb. 27, kann unter analoger Fortsetzung der

Reaktion (s. Abb. 28 und Abb. 29) ein weiteres DHP als Nebenprodukt entstehen. Der  $\alpha$ -Kohlenstoff des Enamins A greift nukleophil am zum Stickstoff benachbartem Kohlenstoff an, welches aufgrund des elektronenziehenden Effekts des Stickstoffs als Elektrophil agiert. Das dadurch entstehende DHP-Nebenprodukt hat somit am 1-*N*-Benzyl- wie auch am 4-Phenyl-Rest die gleichen Substituenten. Verbindung 23 (Abb. 31) hatte in einigen Laufmitteln das gleiche Laufverhalten wie Verbindung 17, was die Auftrennung erschwerte und somit auch die Ausbeute wieder reduzierte.

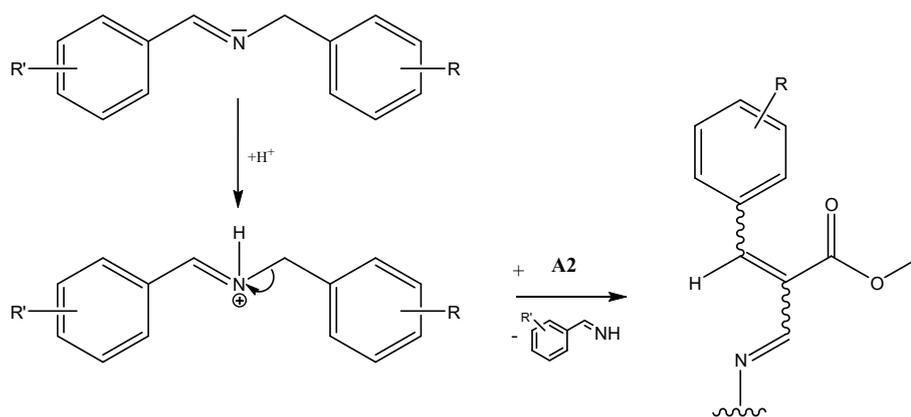


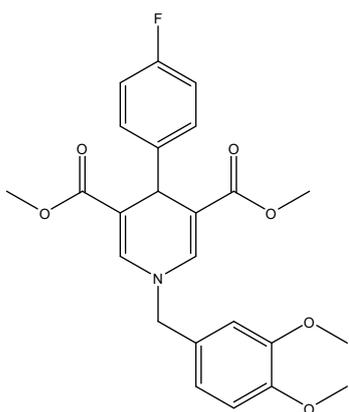
Abb. 32: Reaktion des Imins mit Enamin A

### 3.1.3 Strukturaufklärung

Zur Strukturaufklärung der synthetisierten Verbindungen werden neben der Massenspektrometrie vor allem Kernspinresonanz (NMR)-spektroskopische Verfahren verwendet. Neben der eindimensionalen  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie, die die wichtigste Analysemethode darstellt, spielt auch die zweidimensionale H,H-Korrelationsspektroskopie (COSY) (engl.: correlated spectroscopy) eine wichtige Rolle, um insbesondere die aromatischen Protonen zuordnen zu können. Neben ihr werden auch Daten der *nuclear overhauser enhancement and exchange spectroscopy* (NOESY) zu Rate gezogen. Für Verbindung 1 ist außerdem exemplarisch eine  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie und ein *heteronuclear single quantum coherence* (HSQC)-Experiment durchgeführt worden, um Korrelationen zwischen Kohlenstoff- und Wasserstoffatomen zu erkennen.

#### $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie

Charakteristisch für die  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren aller synthetisierten 1,4-Dihydropyridine sind die Signale der  $\text{CH}_2$ -Gruppe des Benzyl-Restes, die Signale der Wasserstoffatome an C2, C4 und C6 des Dihydropyridinrings sowie der  $\text{CH}_3$ -Gruppen der Ester-Substituenten an Position 3 und 5 und bieten daher einen guten Ausgangspunkt für die Analyse des Spektrums (Abb. 34, Abb. 33).



**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$ (ppm, 500 MHz, DMSO- $\text{D}_6$ ) = 3,53 (s, 6H,  $\text{COOCH}_3$ ); 3,73 (s, 3H, 3- $\text{CH}_3\text{-OBz}$ ); 3,74 (s, 3H, 4- $\text{CH}_3\text{-OBz}$ ); 4,69 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 4,70 (s, 1H, H4); 6,87 (dd,  $^3J_{6/5} = 8,5$  Hz,  $^4J_{6/2} = 2,0$  Hz, 1H, H6 des N-Bz); 6,97 („s“, 1H, H2 des N-Bz); 6,97 (d,  $^3J_{5/6} = 8,5$  Hz, 1H, H5 des N-Bz); 6,99 (d,  $^3J_{3/2} = ^3J_{5/6} = 8,6$  Hz, 2H, H3 und H5 des Ph); 7,11 (d,  $^3J_{2/3} = 8,6$  Hz, 1H, H2 des Ph); 7,12 (d,  $^3J_{6/5} = 8,6$  Hz, 1H, H6 des Ph); 7,46 (s, 2H, H2 und H6)

Abb. 33: Verbindung 1 und dazugehörige  $^1\text{H-NMR}$ -Daten

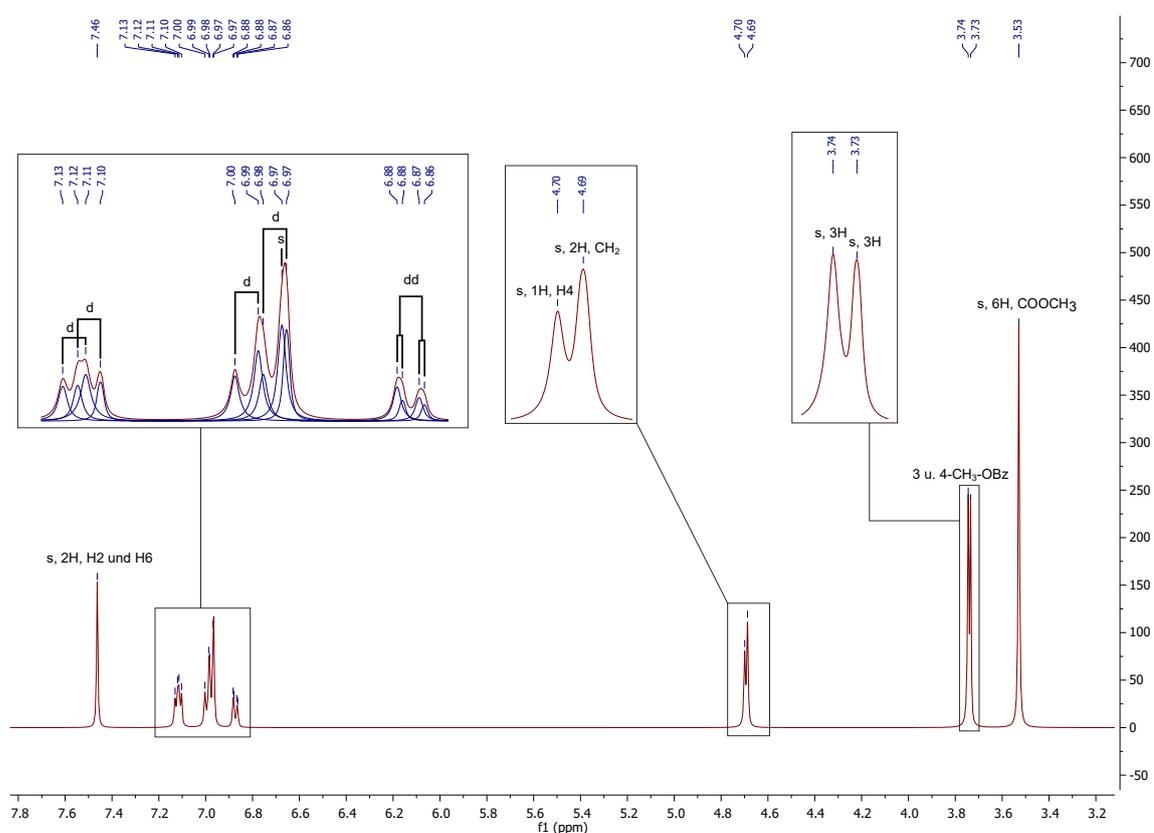
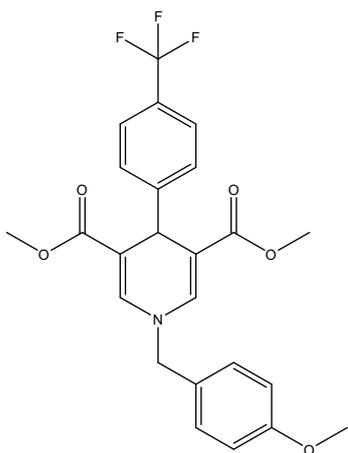


Abb. 34: Relevante Bereiche des  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums der Verbindung 1

Die Methylestergruppen sind aufgrund der Symmetrie des Moleküls sowohl chemisch als auch magnetisch äquivalent und bilden charakteristischerweise ein Singulett mit einem Integral, das sechs Protonen entspricht, mit einer Verschiebung zwischen  $\delta = 3,50$  ppm und  $\delta = 3,64$  ppm. Ebenfalls ein Singulett bilden die H-Atome an C2 und C6. Aufgrund der elektronenziehenden Estersubstituenten ist die Elektronendichte verringert und das Signal ist im Vergleich zum unsubstituierten

1,4-DHP-Ring ( $\delta = 4,35$  ppm, [225, S. 220]) weiter ins Tieffeld verschoben. Bei Verbindung 1 erscheint das Singulett mit einem zwei Protonen entsprechenden Integral bei einer Verschiebung von  $\delta = 7,46$  ppm. Die Signale der CH<sub>2</sub>-Gruppe und des Wasserstoffatoms am C4 liegen zwar bei fast der gleichen Verschiebung sind jedoch gut anhand der unterschiedlich großen Integrale der Singuletts voneinander unterscheidbar. Dadurch, dass die Methoxy-Substituenten am *N*-Benzyl-Rest nicht äquivalent sind, erscheinen sie als zwei Singuletts mit je einem Integral, welches drei Protonen entspricht. Für die Zuordnung der Aryl-Protonen zu ihren Signalen im Spektrum gibt es mehrere Anhaltspunkte. Zum einen geben die jeweiligen Substituenten Aufschluss auf die Abschirmung und somit auf die chemische Verschiebung und zum anderen können durch die COSY skalare Spin-Spin-Kopplungen, also über chemische Bindungen bestehende Wechselwirkungen und mit Hilfe der NOESY über den Raum bestehende Wechselwirkungen zwischen koppelnden Kerndipolen, aufgezeigt werden (Abb. 36). Zusätzlich können durch den Vergleich der Kopplungskonstanten der Multipletts <sup>3</sup>J- und <sup>4</sup>J-Kopplungen identifiziert werden. Koppeln zwei Gruppen miteinander, so sind die Kopplungskonstanten beider Multipletts gleich.

Durch die 3,4-Methoxy-Substituenten des *N*-Benzyl-Restes von Verbindung 1, die die Elektronendichte in *ortho*- und *para*-Position zum Substituenten mit ihrem +M-Effekt erhöhen, sind die Signale der Arylprotonen weiter ins Hochfeld verschoben. Der summierte Effekt sorgt dafür, dass H6 des *N*-Benzyls am weitesten verschoben ist und sich das Resonanzsignal mit  $\delta = 6,87$  ppm deutlich von den anderen unterscheidet. H3 und H5 des Phenylrings sind ebenfalls hochfeldverschoben, aufgrund des 4-Fluor-Substituenten, der in *ortho*-Position die Elektronendichte erhöht. Allerdings fällt dieser Effekt geringer aus, als der durch die Methoxy-Substituenten, sodass die Signale weniger hochfeldverschoben sind und bei  $\delta = 6,99$  ppm erscheinen. Die Signale von H2 und H6 des Phenyl-Rings wiederum sind dadurch deutlich weiter im Tieffeld. Vergleicht man die Arylprotonensignale der Verbindung 1 mit denen der Verbindung 6 werden die Auswirkungen der Substituenten auf die Verschiebung der Signale ersichtlich (Abb. 35). Durch die 4-Methoxy-Gruppe sind die Signale von H3 und H5 des *N*-Benzyl-Restes hochfeldverschoben, da die Protonen in *ortho*-Position zu ihr stehen. Während diese bei einer Verschiebung von  $\delta = 6,97$  ppm erscheinen, liegen die Arylprotonensignale von H2 und H6 bei  $\delta = 7,29$  ppm, um einiges weiter tieffeldverschoben. Der 4-Trifluormethyl-Substituent der Phenyl-Gruppe sorgt durch seinen -M- und -I-Effekt für eine Entschirmung von H3 und H5 des Phenyl-Restes und somit für eine Verschiebung ins Tieffeld. Das Signal erscheint bei  $\delta = 7,54$  ppm. Das Signal von H2 und H6 erscheint hingegen bei  $\delta = 7,29$  ppm.



**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$ (ppm, 500 MHz, DMSO- $\text{D}_6$ ) = 3,52 (s, 6H,  $\text{COOCH}_3$ ); 3,75 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{-OBz}$ ); 4,72 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 4,77 (s, 1H, H4); 6,96-6,99 (m, BB'-Teil des AA'BB'-Systems, 2H, H3 und H5 des N-Bz); 7,25-7,33 (m, AA'-Teil des AA'BB'-Systems, 2H, H2 und H6 des N-Bz); 7,29 (d,  $^3J_{2/3} = ^3J_{6/5} = 8,4\text{ Hz}$ , 2H, H2 und H6 des Ph); 7,51 (s, 2H, H2 und H6);  $^3J_{3/2} = ^3J_{5/6} = 8,2\text{ Hz}$ , 2H, H3 und H5 des Ph)

Abb. 35: Verbindung 6 und dazugehörige  $^1\text{H-NMR}$ -Daten

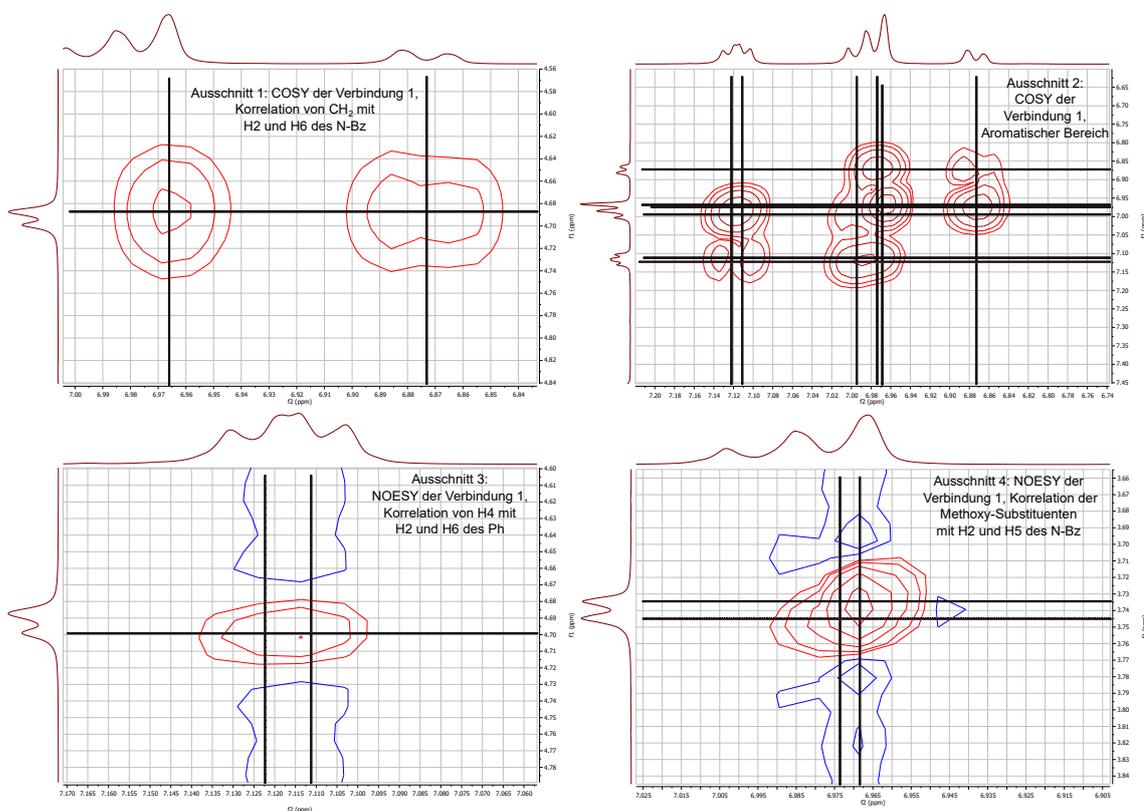


Abb. 36: Ausschnitte aus der COSY und der NOESY der Verbindung 1

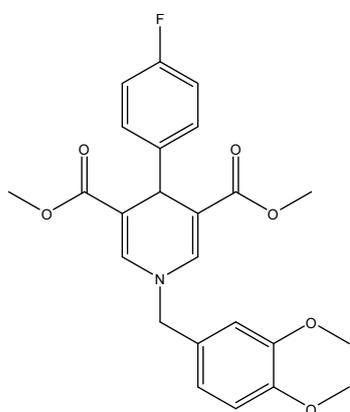
Abb. 36 zeigt Ausschnitte der COSY- und NOESY-Spektren der Verbindung 1, die grundlegende Hinweise für die Zuweisung der Signale liefern. Ausschnitt 1 zeigt eine skalare spin-spin-Kopplung der Protonen des Singulets bei  $\delta = 4,69\text{ ppm}$ , das sicher der  $\text{CH}_2$ -Gruppe zugeordnet werden kann, mit dem Dublett eines Dubletts bei  $\delta = 6,87\text{ ppm}$  und dem Singulett bei  $\delta = 6,97\text{ ppm}$ . Es handelt sich

um  ${}^4J$ -Kopplungen zu den Arylprotonen. Das Dublett eines Dubletts kann so H6 des *N*-Benzyl-Restes zugeordnet werden. Die Kopplungskonstanten betragen  ${}^3J_{6/5} = 8,5$  Hz,  ${}^4J_{6/2} = 2,0$  Hz. Das Singulett kann H2 zugeordnet werden. Da das Signal statt als Dublett mit  ${}^4J_{2/6} = 2,0$  Hz als Singulett erscheint, wird es in Anführungszeichen gesetzt. Durch die räumliche Nähe der Methoxygruppen zu den Arylprotonen können in der NOESY Kopplungen über den Raum mit H2 und H5 des *N*-Benzyls ausgemacht werden (Ausschnitt 4). Die Kopplung von H4 des DHP-Rings mit den Arylprotonen des 4-Phenyl-Restes sind in der COSY nicht, jedoch in der NOESY identifizierbar, da sie über den Raum korrelieren (Ausschnitt 3). Über Ausschnitt 2 können durch die Kopplungen der Arylprotonen untereinander die restlichen Signale zugeordnet werden. H5 des *N*-Benzyl-Restes erscheint als Dublett bei 6,97 ppm mit einer Kopplungskonstante von  ${}^3J_{5/6} = 8,5$  Hz, die der vom H6 entspricht. Auch die Kopplungskonstanten der Dubletts der Arylprotonen des 4-Phenyl-Restes entsprechen einander,  ${}^3J_{3/2} = {}^3J_{5/6} = {}^3J_{2/3} = {}^3J_{6/5} = 8,6$  Hz. Durch dieses systematische Vorgehen konnten alle Strukturen sicher aufgeklärt werden.

### **${}^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie**

Durch die geringe natürliche Häufigkeit von 1,1 % und des kleinen magnetischen Moments des  ${}^{13}\text{C}$ -Kerns, ist eine geringe Empfindlichkeit bedingt. Deswegen muss die Probenlösung möglichst konzentriert sein, um eine vertretbare Messzeit zur Erstellung eines Routinespektrums zu gewährleisten. Als Faustregel gilt hierbei eine Konzentration von 1 bis 2 mg pro erwartetes C-Atom auf 0,6 ml Probenlösung [225]. Aufgrund der hohen Anzahl der C-Atome und der geringen Löslichkeit der dimeren Verbindungen konnte diese Methode nur bei den synthetisierten DHPs durchgeführt werden. Der geringe  ${}^{13}\text{C}$ -Gehalt bringt jedoch den Vorteil mit sich, dass homonukleare  ${}^{13}\text{C}$ - ${}^{13}\text{C}$ -Kopplungen vernachlässigt werden können, was zu einer Vereinfachung der Spektren führt. Jedoch können direkte, geminale, vicinale oder Fern- ${}^{13}\text{C}$ - ${}^1\text{H}$ -Kopplungen zum Auftreten von Multipletts führen, wodurch  ${}^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren schnell unübersichtlich werden können. Deswegen kam bei dieser Methode eine  ${}^1\text{H}$ -Breitband-Entkopplung zum Einsatz. Es handelt sich um eine heteronukleare Spin-Entkopplung. Dementsprechend ist keine Signalaufspaltung zu beobachten und jedes C-Atom erscheint im Spektrum als Singulett. Außerdem werden durch den Kern-Overhauser-Effekt die Signale der C-Atome, die an ein Proton gebunden sind intensiver und die Messzeit ist verkürzt. Als Nachteil der Entkopplung erhält man jedoch keine Informationen zu Kopplungskonstanten und es ist keine Auswertung der Integralen Intensitäten möglich [225]. Die beiden Methyl-Gruppen der Ester-Gruppen sind magnetisch äquivalent und erscheinen als

ein Singulett. Selbiges gilt für die Kohlenstoffatome der Carboxygruppen, C2 und C6 des DHP-Rings und C3 und C5 des DHP-Rings, sodass letztendlich 20 Signale für 24 C-Atome im Spektrum von Verbindung 1 erscheinen (Abb. 37).



**$^{13}\text{C}$ -NMR:**  $\delta$ (ppm, 101 MHz, DMSO-D6) = 166,79 (COOCH<sub>3</sub>); 160,02 (C4 des Ph); 149,41 (C3 des N-Bz); 149,06 (C4 des N-Bz); 143,18 (C1 des Ph); 138,90 (C2 und C6 des DHP-Rings); 129,93 (C1 des N-Bz); 129,68 (C2 des Ph); 129,60 (C6 des Ph); 120,55 (C6 des N-Bz); 115,20 (C5 des Ph); 114,99 (C3 des Ph); 112,41 (C5 des N-Bz); 111,97 (C2 des N-Bz); 106,99 (C3 und C5 des DHP-Rings); 56,87 (CH<sub>2</sub>); 56,00 (OCH<sub>3</sub>); 55,97 (OCH<sub>3</sub>); 51,52 (COOCH<sub>3</sub>); 36,38 (C4 des DHP-Rings)

Abb. 37: Verbindung 1 und dazugehörige  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten

Untermauert wird die Zuordnung der Signale mit Hilfe des *attached proton test* (APT)-Verfahrens, durch das man NMR-Signale von C-Atomen mit 1 oder 3 und 0 oder 2 direkt gebundenen Wasserstoffatomen unterscheiden kann und des HSQC-Experiments. Das Spektrum besteht im Prinzip aus dem  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum und dem breitbandenkoppelten  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum. Dieses HSQC-Experiment zeigt die Kopplungen der C-Atome zu ihren direkt gebundenen H-Atomen auf und lässt CH- und CH<sub>3</sub>-Gruppen von CH<sub>2</sub>-Gruppen unterscheiden. (Abb. 38).

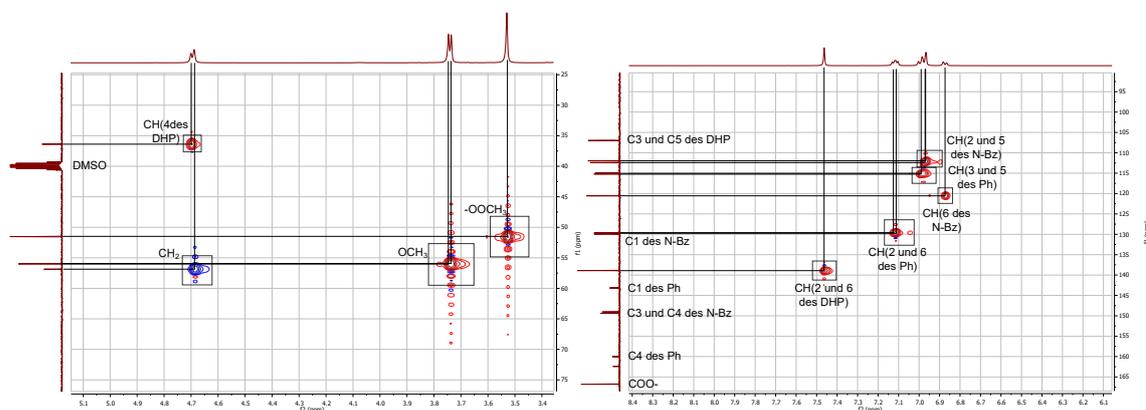


Abb. 38: HSQC-Spektrum der Verbindung 1

Auf der x-Achse ist das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum und auf der y-Achse das  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum aufgetragen. CH<sub>2</sub>-Gruppen werden als blaue Signale dargestellt, CH und CH<sub>3</sub>-Gruppen als rote. Kohlenstoffatome ohne gebundenes Wasserstoffatom zeigen keine Korrelationssignale.

## 3.2 Darstellung und Charakterisierung der Käfigdimere

### 3.2.1 Diskussion zum Mechanismus der Synthese

Dass 1,4-Dihydropyridine oftmals lichtempfindlich sind, ist bekannt. So ziemlich alle Calciumkanalblocker des Dihydropyridin-Typs, die in der Behandlung von Bluthochdruck Anwendung finden, zeichnen sich durch eine erhebliche Lichtempfindlichkeit aus, die zum vollständigen Verlust der pharmakologischen Aktivität führen kann [226]. Bei diesen 2,6-substituierten DHPs beginnt die photochemische Degradation mit der Aromatisierung des Dihydropyridinrings, wonach sich sekundäre Prozesse an den verschiedenen Substituenten anschließen können. Einer der ersten Wirkstoffe, bei dem diese Photoreaktivität festgestellt wurde, ist Nifedipin. Es handelt sich hierbei um eine lichtinduzierte Redoxreaktion, die sowohl in der Festkörperphase, als auch in Lösung stattfindet. Dimerisierungsreaktionen sind bei 2,6-substituierten DHPs wohl nicht bekannt, da die Substituenten in Position 2 und 6 die Dimerisierung sterisch verhindern [226–230].

2,6-unsubstituierte DHPs können jedoch unter Lichteinwirkung dimerisieren. HILGEROTH beobachtete bei der Lagerung solcher Verbindungen Farbveränderungen. Durch Untersuchungen hinsichtlich der Struktur mittels Röntgenstrukturanalyse und  $^{13}\text{C}$ -Festkörper-NMR-Spektroskopie konnte die Bildung von dimeren 1,4-Dihydropyridinen nachgewiesen werden [207, 231]. Außerdem stellte HILGEROTH bei weiterer Untersuchung der Reaktion fest, dass sowohl bei der Festphasendimerisierung, als auch bei der Lösungsdimerisierung *syn*- und *anti*-Dimere entstehen. Das *syn*-Dimer reagiert bei weiterer Bestrahlung zum Käfigdimer (s. Abb. 39). Die Lösungsdimerisierung bietet allerdings Vorteile. Zum einen liegen die DHPs in Lösung als frei bewegliche Moleküle vor und in keiner festgelegten Position zueinander, wodurch die Dimerisierung einfacher vonstattengeht. Zum anderen wird das Gleichgewicht durch die Weiterreaktion des *syn*-Dimers zum Käfigdimer in dessen Richtung verschoben, wodurch die Entstehung des *anti*-Dimers eine untergeordnete Rolle spielt [207].

Die Reaktion stellt eine [2+2]-Cycloaddition dar und läuft nach der WOODWARD-HOFMANN-Regel ab [232]. Es handelt sich demnach um eine photochemisch erlaubte, electrocyclic Reaktion, die suprafacial abläuft. Die Addition erfolgt also auf der jeweils gleichen Seite des  $\pi$ -Systems. Man spricht außerdem von einer konzertierten Reaktion. Bei konzertiert verlaufenden Reaktionen bleibt die Orbitalsymmetrie erhalten. Sie zeichnet sich dadurch aus, dass sie in einem Schritt abläuft, also das Lösen

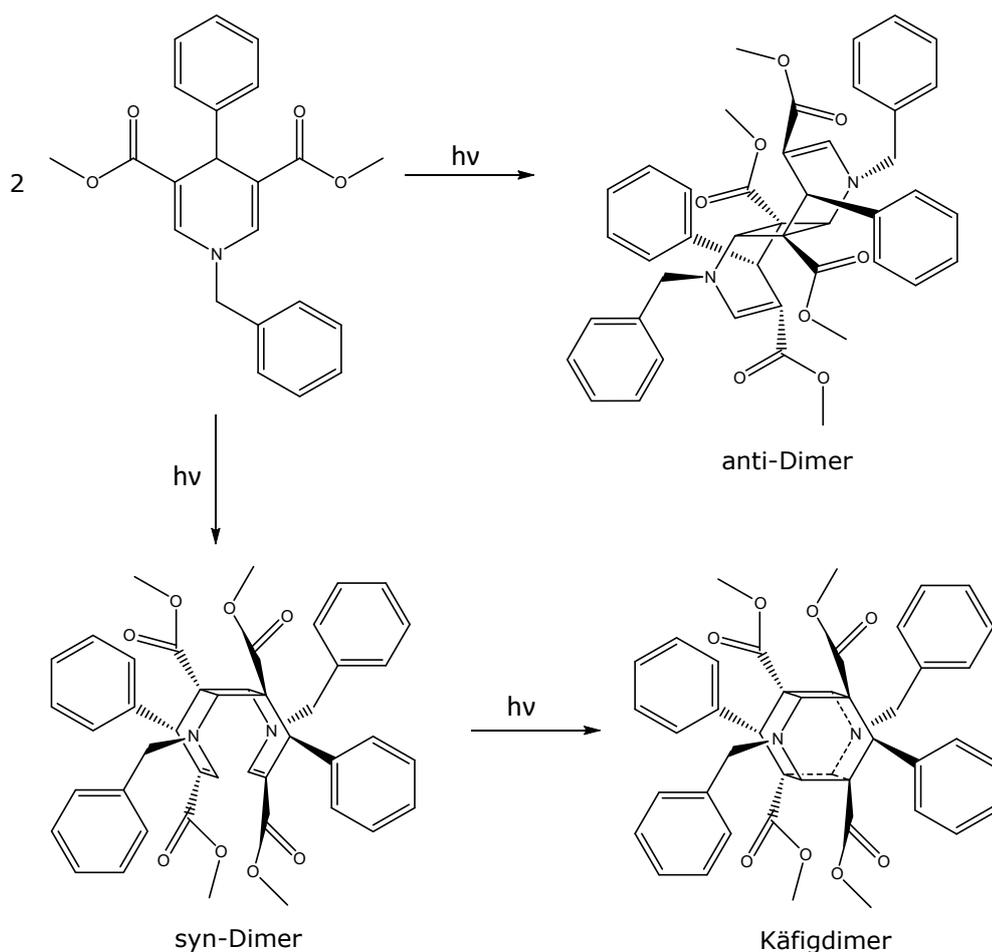


Abb. 39: Dimerisierung der 1,4-Dihydropyridine

und Knüpfen der neuen Bindung in einem Schritt erfolgt. Das bedeutet wiederum, dass es keine Zwischenprodukte, sondern nur Übergangszustände gibt [232–236]. Die photochemische [2+2]-Cycloaddition stellt eine wertvolle Methode zur Herstellung von Vierringen dar [234–236]. FRITZ *et al.* nutzten sie zur Herstellung von Tetraasteran aus 3,6-Dihydrophthalsäureanhydrid [237]. Hierbei laufen inter- und intramolekulare [2+2]-Cycloadditionen ab (s. Abb. 40). Auch bei der Herstellung der Käfigdimere in dieser Arbeit findet zuerst eine intermolekulare Addition zwischen zwei DHP-Molekülen statt, auf die eine intramolekulare im *syn*-Dimer folgt (Abb. 39).

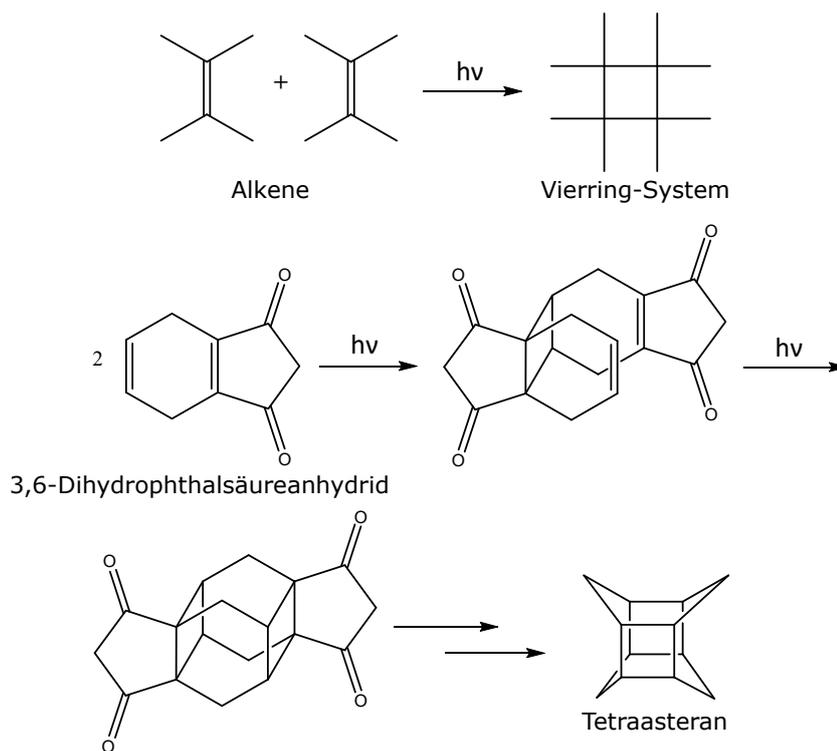


Abb. 40: Beispiele für [2+2]-Cycloadditionen

### 3.2.2 Synthese der Verbindungen, Problemstellungen und Lösungen

Für die Synthese der Käfigdimere wurden die synthetisierten, in Abschnitt 3.1.2 aufgeführten DHPs zur Dimerisierung gebracht. Die Verbindungen wurden hierfür in trockenem Tetrahydrofuran (THF) gelöst, mit Argon durchspült und anschließend mit Ultra-Vitalux®-Lampen, die ein ähnliches Spektrum wie das Sonnenlicht aufweisen ( $\lambda \geq 270$  nm), bei Raumtemperatur bestrahlt. Der Verlauf der photochemischen Reaktion war leicht nachzuverfolgen. Der Dihydropyridinring und die beiden Carbonylgruppen in Position 3 und 5 bilden zusammen ein konjugiertes System aus  $\pi$ - und n-Elektronen und somit ein Chromophor, das Licht mit einem Absorptionsmaximum von 340 bis 380 nm absorbiert. Wenn die Elektronen in den Grundzustand zurückkehren wird die Anregungsenergie in Form von Fluoreszenzlicht mit einem Wellenlängenmaximum von 400 bis 450 nm wieder freigesetzt [209, 228, 229, 238]. Durch die Cycloaddition wird dieses Chromophor aufgelöst und es kommt zu einem Verlust der fluoreszierenden Eigenschaften. Das war zum Teil makroskopisch während der Bestrahlung sichtbar, genauso wie eine Farbveränderung von gelb zu farblos und das Auskristallisieren des Additionsproduktes. Außerdem konnte man

im Zuge der dünnschichtchromatografischen Überwachung sehr gut die Umsetzung zum Dimer erkennen, da die Spots der Käfigdimere, im Gegensatz zu den Spots der Monomere, unter ultraviolettem Licht nicht intensiv blau fluoreszieren.

Die Reaktionszeit betrug in der Regel zwischen 5 bis 9 Wochen. Nur in wenigen Ausnahmen wurden die Ansätze länger bestrahlt, da die Reaktion noch nicht vollständig beendet war. Bei der Synthese von Verbindung 36 und 38 wurde die Bestrahlung nach 16 Wochen abgebrochen, obwohl noch fluoreszierendes Monomer im Dünnschichtchromatogramm zu sehen war, da die Reaktion nicht weiter voranschritt. Verbindung 7 war nach 18 Wochen erfolgreich und vollständig zu Verbindung 30 umgesetzt. Nur bei Verbindung 18 konnte auch nach 35 Wochen keine Umsetzung zum Käfigdimer festgestellt werden, was durchaus an der sterischen Hinderung durch die Benzyloxy-Reste am 4-Phenyl-Rest und der stark desaktivierenden Trifluormethyl-Gruppe am 1-Benzyl-Rest liegen könnte. Ansonsten waren die Additionsprodukte (Abb. 41, Tab. 7) ohne Probleme realisierbar, da sie meistens bereits während der Bestrahlung ausfielen. Bei einzelnen Verbindungen, bei denen das nicht der Fall war, reichte eine Reduktion des Lösungsmittelvolumens mit anschließender Kühlung, um das Käfigdimer auszukristallisieren. Die durchschnittliche Ausbeute dieses Reaktionsschrittes lag bei 77 %.

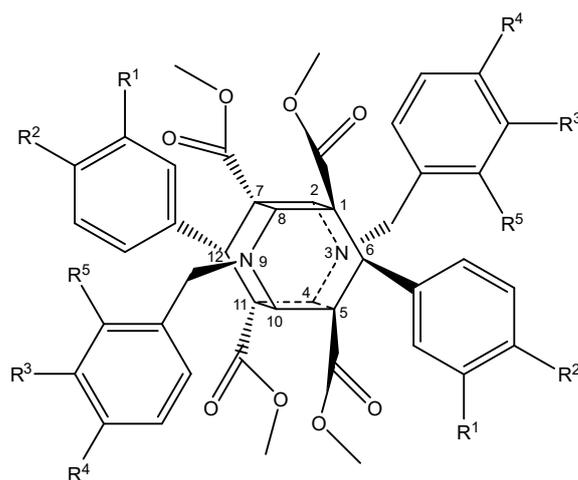


Abb. 41: Struktur der Käfigdimere

Tabelle 7: Substitutionsmuster der Verbindungen 24-44

	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>
24	H	F	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
25	F	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
26	F	F	H	OCH <sub>3</sub>	H
27	F	F	OCH <sub>3</sub>	H	H
28	F	F	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
29	H	CF <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H
30	H	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H
31	H	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
32	CF <sub>3</sub>	H	H	OCH <sub>3</sub>	H
33	CF <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H	H
34	CF <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
35	CF <sub>3</sub>	H	CF <sub>3</sub>	H	H
36	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H
37	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H
38	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
39	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CF <sub>3</sub>	H	H
40	OBn	OBn	H	OCH <sub>3</sub>	H
41	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CF <sub>3</sub>	H	H
42	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	Cl	H
43	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	Cl	H	H
44	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	Cl	Cl

### 3.2.3 Strukturaufklärung

Auch bei den Käfigdimeren ist die  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie der Eckpfeiler der Strukturaufklärung. Während die COSY neben der eindimensionalen  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie wichtige Erkenntnisse liefert, trägt die NOESY eher weniger zur Strukturaufklärung bei, da aufgrund der räumlichen Struktur der Moleküle sehr viele Kopplungen über den Raum stattfinden und somit kein übersichtliches Spektrum entsteht.

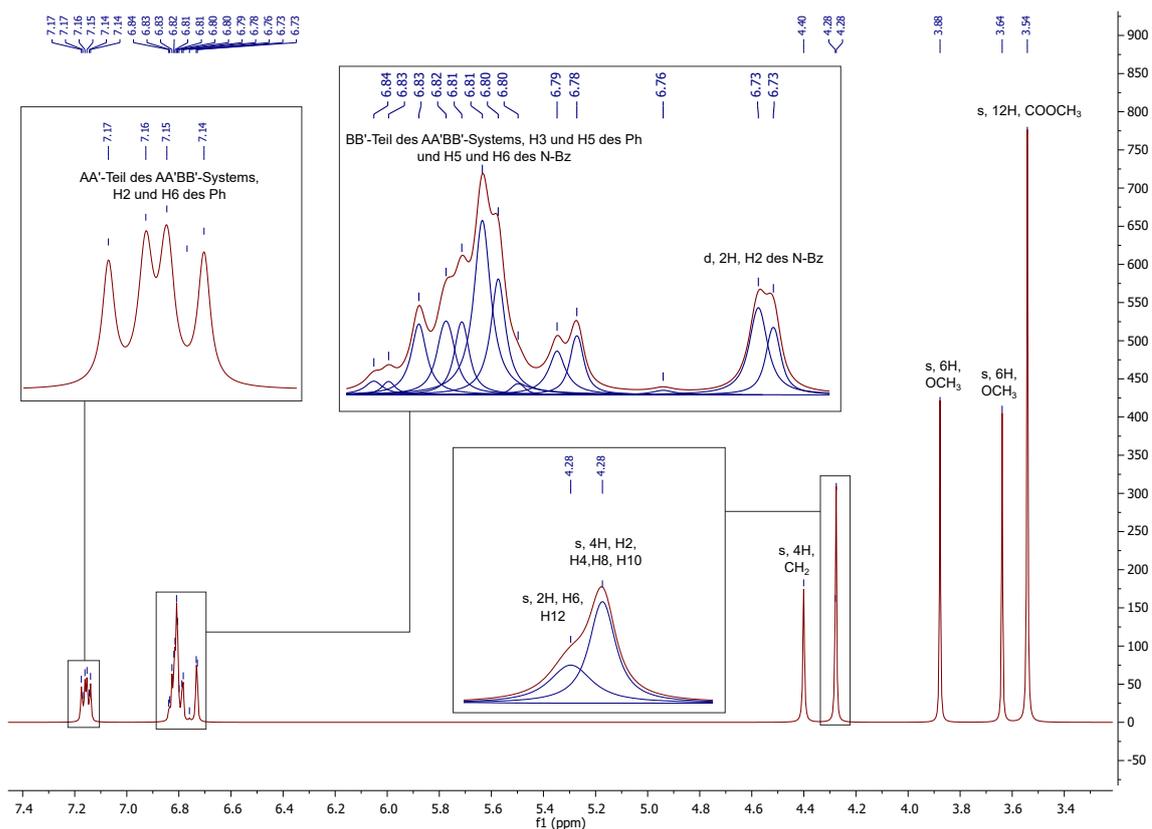


Abb. 42: Relevante Bereiche des  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums der Verbindung 24

Abb. 42 zeigt das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Verbindung 24. Die aufgrund der Symmetrie des Moleküls chemisch äquivalenten Kerne erscheinen im Spektrum auch als magnetisch äquivalent. So bilden die Protonen an Position 2, 4, 8 und 10 ein Signal bei  $\delta = 4,28$  ppm. Dieses Singulett ist aufgrund des Verlustes der Doppelbindungen und der daraus folgenden Abschirmung ins Hochfeld verschoben, im Gegensatz zum Singulett von H2 und H6 der DHP-Struktur, das tieffeldverschoben bei  $\delta = 7,51$  ppm liegt. Die Wasserstoffatome an C6 und C12 bilden genauso ein Singulett, das bei allen synthetisierten Verbindungen dieser Klasse bei einer ähnlichen Verschiebung wie das der anderen Protonen der Käfigstruktur erscheint.

Grund dafür sind ebenfalls die fehlenden Doppelbindungen, wodurch sich das Signal auch weiter hochfeldverschoben befindet. Genauso bilden die Methylengruppen ein gemeinsames Singulett. Die vier Methylgruppen der Esterstrukturen erzeugen ein Singulett, dessen Integral 12 Protonen entspricht und bei  $\delta = 3,54$  ppm liegt. Diese Signale sind markant für die Verbindungen 24 bis 44. Außerdem existieren auch für die chemisch äquivalenten Protonen der sich gegenüberliegenden Arylsubstituenten gemeinsame Signale (Abb. 43).

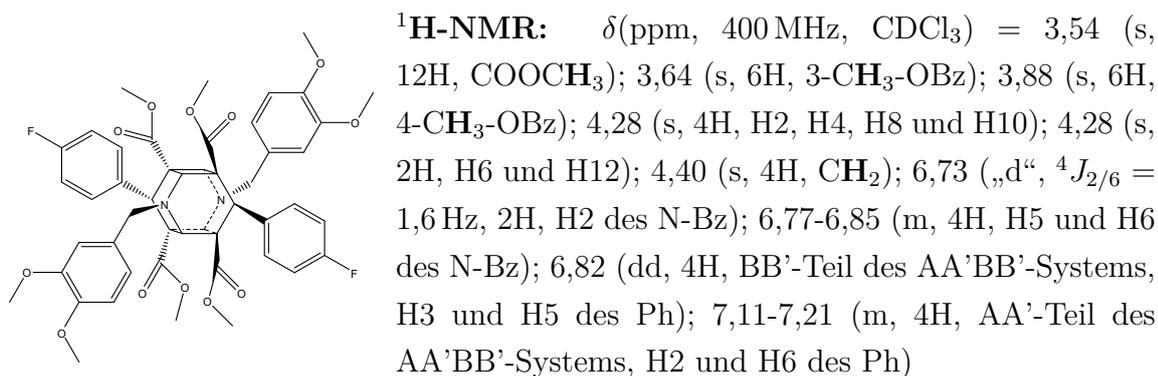


Abb. 43: Verbindung 24 und dazugehörige <sup>1</sup>H-NMR-Daten

### 3.3 Darstellung und Charakterisierung der alkoholischen Käfigdimere

#### 3.3.1 Diskussion zum Mechanismus der Synthese

Den letzten Schritt stellt die Reduktion der Estergruppen der gewonnenen Käfigdimere zu alkoholischen Strukturen dar. Durchgeführt wurde der Reaktionsschritt mit Lithiumaluminiumhydrid, da hiermit bereits in der Vergangenheit gute Ergebnisse erzielt wurden und auch die Literatur dieses komplexe Hydrid als schonendes und effektives Reduktionsmittel beschreibt, das hohe Ausbeuten liefert [207–209, 239, 240].

Der Mechanismus ist in Abb. 44 abgebildet. Das nukleophile Wasserstoffatom vom Hydrid addiert sich an das elektrophile Kohlenstoff der Estergruppe. Daraufhin bildet sich ein tetraedrischer Metallalkoxid-Komplex. Dieser Komplex zerfällt schneller als er sich bildet. Beim Zerfall entsteht ein Aldehyd und ein Lithiumalkoholat. Der Aldehyd stellt ein besseres Elektrophil dar als der Ester, wodurch es rascher von einem weiteren Hydridnucleophil angegriffen wird, als die übrigen Estermoleküle.

Deshalb wird der Ester zuverlässig zum Alkohol umgesetzt und der Aldehyd ist über die Reaktion mit Lithiumaluminiumhydrid nicht zugänglich [240]. Durch wässrige Aufarbeitung wird überschüssiges Hydrid hydrolysiert und das alkoholische Produkt aus dem Lithiumalkoxyaluminiumhydrid freigesetzt.

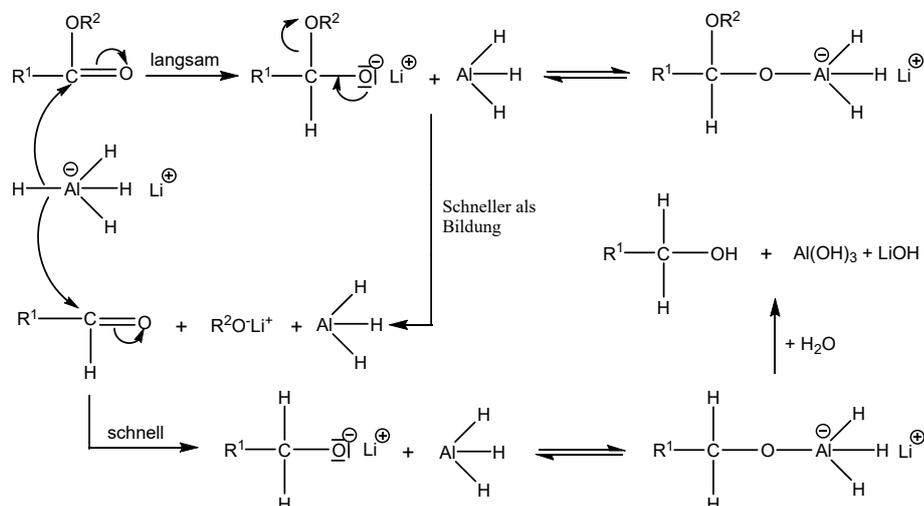


Abb. 44: Reduktion der Carbonsäureester mit Lithiumaluminiumhydrid

### 3.3.2 Synthese der Verbindungen, Problemstellungen und Lösungen

Für die Reduktion zur Zielstruktur wurden die hergestellten und in Abschnitt 3.2 besprochenen käfigdimeren Verbindungen in trockenem THF gelöst und mit Lithiumaluminiumhydrid-Lösung (1 M in THF) unter Argonschutzatmosphäre zu ihren Alkoholen umgesetzt (Abb. 45, Tab. 8). Das Reduktionsmittel ist in der Lage, auch reaktionsträge Carbonylverbindungen unter milden Bedingungen umzusetzen. Die Reaktion musste bei  $-8^\circ\text{C}$  ablaufen, da es bei höheren Temperaturen zur Dimerenspaltung kommen kann [207]. Das verlangsamte die Umsetzung. Um dem entgegenzuwirken wurde die Lithiumaluminiumhydrid-Lösung in einem 16-fachen Überschuss zugegeben. Der Verlauf der Reaktion wurde dünnschichtchromatografisch überwacht. Nach vollständiger Umsetzung wurde der Reaktionsansatz mit Eiswasser aufgearbeitet, wodurch überschüssiges Hydrid abreagierte und als Aluminium und Lithiumhydroxid ausfiel. Um die weitere Verarbeitung zu vereinfachen, konnte der Niederschlag durch die Zugabe von Salzsäure aufgelöst werden. Die bei diesem Arbeitsschritt entstehenden Chloride sind leichter löslich als die Hydroxide. Der Extraktionsprozess konnte dadurch erleichtert werden.

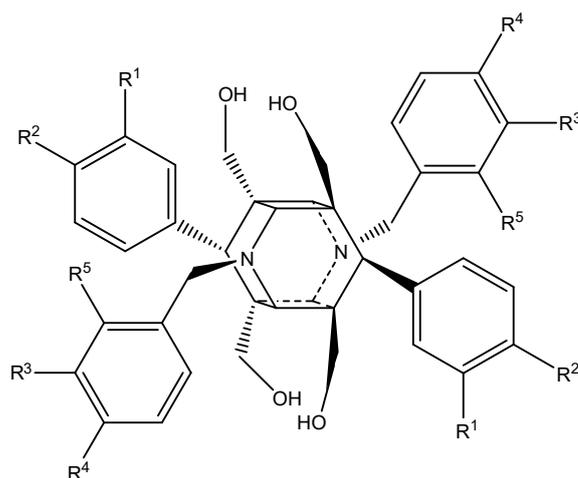


Abb. 45: Struktur der reduzierten Käfigdimere

Tabelle 8: Substitutionsmuster der Verbindungen 45-77

	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>
45	H	F	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
46	F	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
47	F	F	H	OCH <sub>3</sub>	H
48	F	F	OCH <sub>3</sub>	H	H
49	F	F	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
50	H	CF <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H
51	H	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H
52	H	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
53	CF <sub>3</sub>	H	H	OCH <sub>3</sub>	H
54	CF <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H	H
55	CF <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
56	CF <sub>3</sub>	H	CF <sub>3</sub>	H	H
57	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H
58	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H
59	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
60	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CF <sub>3</sub>	H	H
61	OBn	OBn	H	OCH <sub>3</sub>	H
62	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	Cl	H
63	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	Cl	Cl
64	H	H	H	H	H
65	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	H
66	H	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H

67	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H	H
68	OCH <sub>3</sub>	H	H	OCH <sub>3</sub>	H
69	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
70	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H
71	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
72	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H
73	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H
74	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
75	H	OBn	H	H	H
76	OBn	OCH <sub>3</sub>	H	H	H
77	OCH <sub>3</sub>	OBn	H	H	H

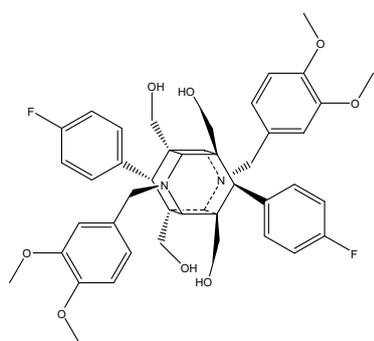
Da die Ausgangsverbindungen schwer löslich sind, konnten nur sehr kleine Reaktionsansätze in einem teilweise großen Volumen THF durchgeführt werden, was die Handhabung und die Umsetzung erschwerte. Bei den Verbindung 41 und 43 war aufgrund der schlechten Löslichkeit keine Umsetzung zum Alkohol möglich. Trockenes THF ist bereits das Lösungsmittel der Wahl, da Lithiumaluminiumhydrid gut in diesem löslich ist. Auch für die Käfigdimere hatte sich THF bewährt. In anderen Lösungsmitteln wie Diethylether, welches sich auch für eine Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid eignen würde, waren die nicht reduzierten Käfigdimere nicht lösbar. Bei der Synthese von Verbindung 58, 59, 60, 62 und 63 machte sich ein anderes Problem bemerkbar. Selbst bei den oben genannten sehr milden Reaktionsbedingungen kam es zu Zersetzungen. Die Verringerung der Reaktionstemperatur brachte meistens eine weitaus längere Reaktionszeit sowie häufig eine nicht vollständige Umsetzung und ein „Stehenbleiben“ der Reaktion mit sich, sodass das Endprodukt nur in kleinen Mengen vorhanden war und gleichzeitig das zweifach und dreifach reduzierte Zwischenprodukt und das Edukt vorlagen. Die Trennung des Endprodukts von diesen Zwischenprodukten war problematisch. Der Versuch die Umsetzung mit dem milderen Calciumborhydrid als Calcium-bis(tetrahydrofuran)-Komplex, welcher stabiler und weniger hygroskopisch als bloßes Calciumborhydrid ist, bei 40 °C nach AAV4b durchzuführen, führte maximal zur Reduktion nur einer Estergruppe. Calciumborhydrid erwies sich also unter den gegebenen Bedingungen als zu schwach. Aufgrund dessen konnten Verbindung 59, 62 und 63 nur massenspektrometrisch nachgewiesen, jedoch nicht isoliert werden, da der Anteil des Endprodukts zu minimal war, was in Verbindung mit den kleinen Ansätzen eine Aufreinigung unmöglich machte. Bei den Verbindungen 58 und 60 war dies bis zu einem gewissen Punkt durchführbar.

Eine NMR-spektroskopische Analyse gelang, die Reinheiten sind dennoch ungenügend. Die Verbindungen 29 und 33 mussten ebenfalls bei mildereren Bedingungen zu Verbindung 50 und 54 umgesetzt werden, aber da diesmal der Anteil der Endprodukte größer war, waren diese durch chromatografische Methoden in reiner Form zugänglich. Allerdings sind die Ausbeuten dadurch unterdurchschnittlich für diesen Reaktionsschritt.

Die Zwischenprodukte konnten per Massenspektrometrie nachgewiesen werden und bei der Synthese von Verbindung 48 konnte das dreifach reduzierte durch Schwerkräftenchromatografie (SSC) isoliert und per  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie analysiert werden (s. Abschnitt 6.2.4.1, Verbindung 78).

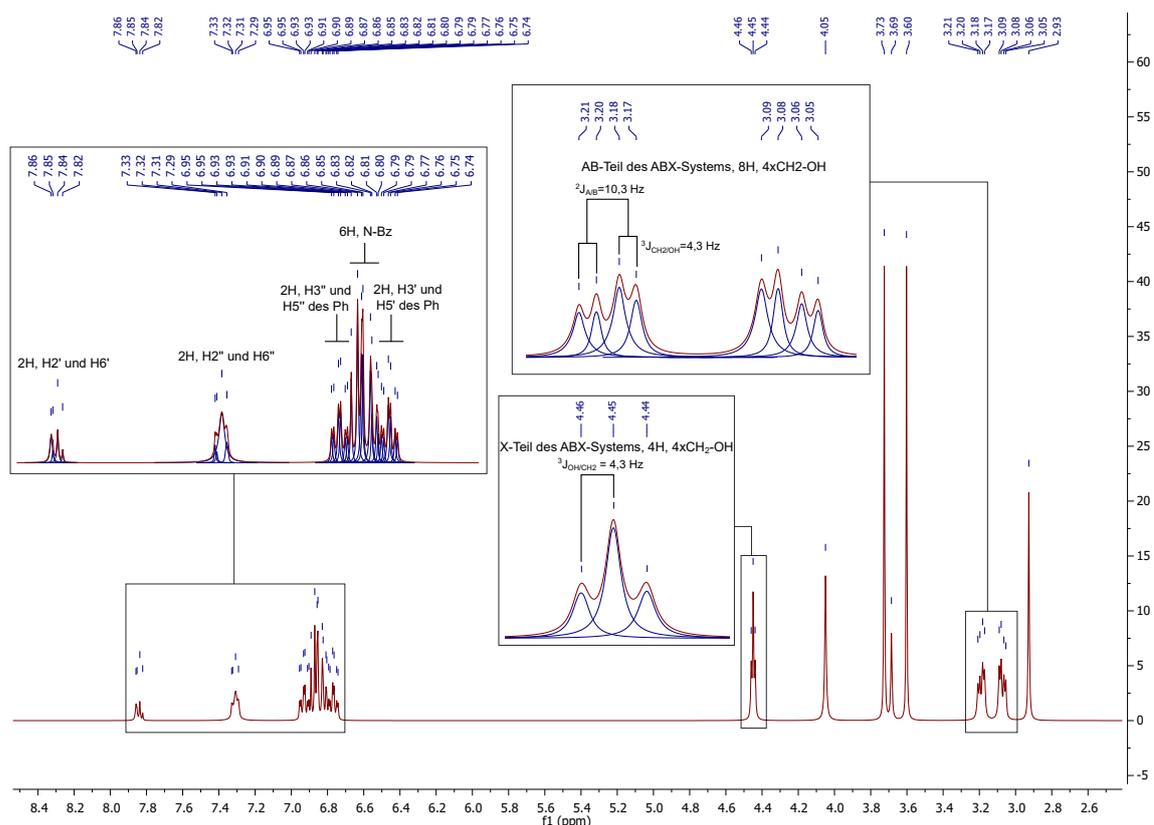
### 3.3.3 Strukturaufklärung

Nach der Reduktion der Methylestergruppen zu den entsprechenden Hydroxymethyl-Resten ergaben sich in den  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der alkoholischen Käfigdimere Besonderheiten, die für Strukturen bezeichnend sind. In Abb. 46 und Abb. 47 sind die  $^1\text{H-NMR}$ -Daten und das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Verbindung 45 beispielhaft für diese Verbindungsgruppe dargestellt.



**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$ (ppm, 400 MHz, DMSO- $\text{D}_6$ ) = 2,93 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 3,03-3,23 (AB-Teil des ABX-Systems,  $^2J_{A/B} = 10,3$  Hz,  $^3J_{\text{CH}_2/\text{OH}} = 4,3$  Hz, 8H,  $\text{CH}_2\text{-OH}$ ); 3,60 (s, 6H, 3- $\text{CH}_3\text{-OBz}$ ); 3,69 (s, 2H, H6 und H12); 3,73 (s, 6H, 4- $\text{CH}_3\text{-OBz}$ ); 4,05 (s, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 4,45 (X-Teil des ABX-Systems,  $^3J_{\text{OH}/\text{CH}_2} = 4,3$  Hz, 4H,  $\text{CH}_2\text{-OH}$ ); 6,73-6,80 (m, 2H, H3' und H5' des Ph); 6,80-6,90 (m, 6H, H2, H5 und H6 des N-Bz); 6,90-6,96 (m, 2H, H3'' und H5'' des Ph); 7,20-7,39 (m, 2H, H2'' und H6'' des Ph); 7,79-7,90 (m, 2H, H2' und H6' des Ph)

Abb. 46: Verbindung 45 und dazugehörige  $^1\text{H-NMR}$ -Daten

Abb. 47: Relevante Bereiche des  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums der Verbindung 45

Die Hydroxymethylgruppen spalten im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum als ABX-System ( $\text{CH}_{AB}\text{OH}_X$ ) auf. Diese Art von Drei-Spin-Systemen entsteht, wenn zwei nicht-äquivalente Kerne stark gekoppelt und sie jeweils an einen dritten nicht-äquivalenten Kern schwach gekoppelt sind [241]. Durch die chiralen Zentren an C1, C5, C7 und C11 sind die Protonen der Methylengruppen nicht stereochemisch und somit auch nicht magnetisch äquivalent. Deswegen tritt eine geminale Kopplung zwischen den Wasserstoffatomen auf. Gleichzeitig koppeln die H-Atome der Methylengruppen mit den Protonen der Hydroxylgruppen über eine  $^3\text{J}$ -Kopplung. Der AB-Teil ist dadurch im Spektrum als zwei Doppeldoublets mit  $^2J_{A/B} = 10,3 \text{ Hz}$  und  $^3J_{\text{CH}_2/\text{OH}} = 4,3 \text{ Hz}$  zu erkennen. Den X-Teil bilden die Hydroxylgruppen in diesem Fall bei einer Verschiebung von  $\delta = 4,45 \text{ ppm}$  und bilden ein Pseudotriplett mit  $^3J_{\text{OH}/\text{CH}_2} = 4,3 \text{ Hz}$ . In Abschnitt 2 von Abb. 48 erkennt man gut die Kopplung des AB-Teils mit dem X-Teil. In der COSY kann man außerdem auch die  $^2\text{J}$ -Kopplung zwischen dem A- und dem B-Teil erkennen. Da die beschriebene Kopplung nur im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zu erkennen ist, wenn ein Lösungsmittel verwendet wird, in dem der Protonenaustausch deutlich verlangsamt abläuft [238], kommt für die Vermessung der alkoholischen Käfigdimere ausschließlich deuteriertes Dimethylsulfoxid (DMSO) zum Einsatz. Eine

weitere Besonderheit sind die Signale der aromatischen Protonen der beiden Substituenten am C6 und C12 des Käfigs. Anders als bei den Esterverbindungen sind die chemisch äquivalenten Arylprotonen der sich gegenüberliegenden Phenylsubstituenten nicht magnetisch äquivalent und spalten als separate Signale auf. Der Grund für dieses Phänomen könnte die eingeschränkte Drehbarkeit der aromatischen Ringe sein [207–209]. Bei Verbindung 45 spalten die Signale der *ortho*- wie auch der *meta*-ständigen Protonen der Phenylsubstituenten in je zwei Signale mit einem Integral auf, das jeweils 2 Wasserstoffatomen entspricht (s. Abb. 46 und Abb. 47). In der COSY dieser Verbindung (Abschnitt 1 Abb. 48) erkennt man deutlich welche Signale miteinander koppeln, was das sichere Zuordnen der Signale möglich macht. So kann sicher ausgeschlossen werden, dass die Signale bei  $\delta = 7,20\text{--}7,39$  ppm und bei  $\delta = 7,79\text{--}7,90$  ppm von Protonen des gleichen Rings stammen, da ihre koppelnden *meta*-ständigen Protonen Signale bei  $\delta = 6,90\text{--}6,96$  ppm bzw. bei  $\delta = 6,73\text{--}6,80$  ppm erzeugen. Das Multiplett mit  $\delta = 6,80\text{--}6,90$  ppm zeigt im aromatischen Bereich keine weitere skalare Spin-Spin-Kopplung, woraus man schließen kann, dass es sich um die aromatischen Protonen des *N*-Benzyl-Restes handeln muss. Das Integral dieses Multipletts entspricht außerdem genau sechs Wasserstoffatomen. Außerdem geben auch die Werte der Verschiebungen Hinweise auf die richtige Zuordnung der aromatischen Protonen zu ihren Signalen wie in Abschnitt 3.1.3 bereits ausführlich beschrieben.

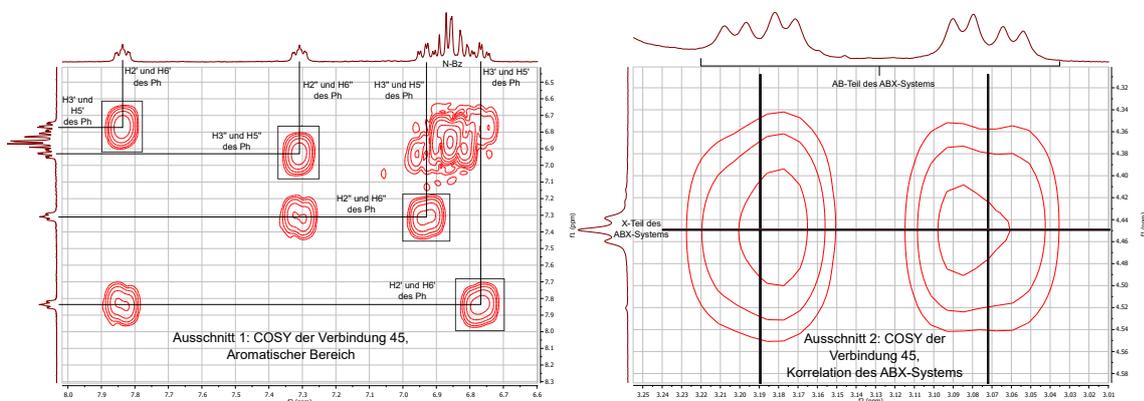


Abb. 48: Ausschnitte aus der COSY der Verbindung 45

Bedingt durch die Reduktion der Methylestergruppen zu Hydroxylresten, die einen ausgeprägten +M-Effekt ausüben, kommt es zu einer Verschiebung der Signale ins Hochfeld deren Protonen sich in der Nähe der Hydroxylgruppen befinden, da durch den +M-Effekt die Elektronendichte und somit die magnetische Abschirmung erhöht ist. So erscheint das Singulett der Wasserstoffatome H2, H4, H8 und H10 beim Spektrum von Verbindung 45 (Abb. 47) nun bei einer Verschiebung von  $\delta = 2,93$  ppm. Betrachtet man vergleichend dazu das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Ver-

bindung 24 (Abb. 42) sieht man, dass das Signal in diesem Spektrum noch bei einer Verschiebung von  $\delta = 4,28$  ppm liegt. Die Signale von H6 und H12 und der Methylengruppen der *N*-Benzyl-Reste sind ebenfalls weiter hochfeldverschoben.

### 3.4 Versuch der Synthese von Käfigdimersäuren

Durch die Verseifung der Estergruppen der nicht reduzierten Käfigdimere sollte eine neue Substanzklasse hervorgehen, nämlich die der Käfigdimersäuren. Die Reaktion erfolgte in getrocknetem THF mit schrittweiser Zugabe von methanolischer Kaliumhydroxidlösung nach AAV5. Die Umsetzung erwies sich als sehr langwierig und träge. Der Reaktionsverlauf wurde stets dünnschichtchromatografisch und massenspektrometrisch verfolgt. Dabei viel auf, dass die Zielstruktur nach 3-4 Tagen nachweisbar war. Eine vollständige Umsetzung konnte auch nach 7 Tagen nicht erfolgen. Die Reaktion schritt auch darüber hinaus nicht weiter voran. Die Zugabe von zusätzlichem Kaliumhydroxid brachte keine Vorteile, eine Erwärmung des Ansatzes führte zur Zersetzung. Aufgrund dieser Bedingungen und nur geringer Ausbeuten gestaltete sich die Aufreinigung als kompliziert, da wieder nur kleine Ansätze möglich waren, bedingt durch die schlechte Löslichkeit der Vorstufen. Dementsprechend wurde die Reaktion nur mit Verbindung 28 durchgeführt. Verbindung 79 konnte massenspektrometrisch, nicht jedoch  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopisch analysiert werden (Abschnitt 6.2.5). Grund hierfür war das Vorliegen der Verbindung in einem Stoffgemisch und offenbar auch eine gewisse Instabilität der Verbindung, da diese zu einem späteren Zeitpunkt auch nicht mehr massenspektrometrisch nachweisbar war. Außerdem zeigten auch dünnschichtchromatografische Untersuchungen Veränderungen des Stoffgemisches bei gleichem Laufmittel.



# 4 Bioanalytische Untersuchungen und Diskussion der Ergebnisse

Eine Vielzahl gängiger, zytostatisch wirkender Arzneistoffe, wie z.B. 6-Mercaptopurin, MTX und Topotecan, unterliegen als Substrate dem aktiven Efflux durch das *multidrug resistance-associated protein 4* [12–14, 168]. Für die Targetstruktur dieses Proteins wird ein ähnlicher, symmetrischer Bindungsmodus diskutiert wie bei der HIV-1-Protease und P-gp, für die in der Vergangenheit bereits gezeigt wurde, dass 1,4-Dihydropyridin-Derivate wie auch deren Käfigdimere eine gute Hemmung zeigten [209–214, 223]. Aufgrund dessen werden als erstes die modulierenden Eigenschaften der synthetisierten Stoffe auf das MRP4 untersucht. Weitere Experimente sollen außerdem Aufschluss über eine mögliche Resistenzaufhebung bei MRP4-exprimierenden Zellen geben, die gegen die Wirkung von 6-Mercaptopurin resistent sind. Zu guter Letzt werden durch Testungen auf eine mögliche MRP1- und MRP2-Hemmung unter den jeweils verwendeten Testbedingungen erste Hinweise auf eine potentiell bestehende Präferenz von MRP4 als Target untersucht.

Die biochemischen Testungen erfolgten in Kooperation mit dem Arbeitskreis C. RITTER der Universität Greifswald.

## 4.1 MRP4-Hemmung

### 4.1.1 Durchflusszytometrie

Das Ausmaß der MRP4-Hemmung wird in einem durchflusszytometrischen Assay bestimmt, für das die Zelllinien Colo357 und deren Subzelllinie Colo357MRP4 verwendet werden. Die Zelllinien haben ihren Ursprung in humanen Zellen einer Metastase eines Pankreas-Adenokarzinoms. Die Colo357MRP4-Zelllinie exprimiert MRP4 durch Gentransfektion der Colo357-Zelllinie mit einem MRP4-Vektor über. Der Nachweis erfolgt durch das Western Blot-Verfahren (Abb. 49).  $\beta$ -Actin dient als Ladekontrolle.

Nach der Kultivierung der genannten Zelllinien wird für die Testung pro Probe eine definierte Zellpopulation von 200000 Zellen beider Linien entnommen und in Eppendorf-Gefäße überführt. Die Testverbindung wird aus einer Stammlösung in einer finalen Konzentration 10  $\mu\text{M}$  hinzugefügt. Für die Kontrollzelle und die Farbstoff-Kontrolle wird für den ersten Beladungsschritt nur Medium benutzt und für die DMSO-Kontrolle zusätzlich zum Medium DMSO in einer finalen Konzentration von 1%. Der zweite Beladungsschritt folgt nach 20 minütiger Inkubation bei 37 °C,

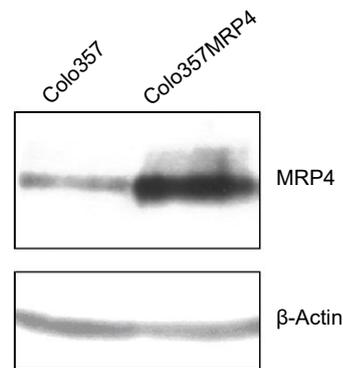


Abb. 49: Western Blot der Colo357 Zelllinien

indem eine vorgefertigte Lösung fluoreszierendes Calcein-AM hinzugefügt wird, so dass die Endkonzentration des Farbstoffs bei 0,005  $\mu\text{M}$  liegt. Die Kontrollzelle und die DMSO-Kontrolle werden mit Medium beladen. Die Proben werden weitere 30 min bei 37 °C inkubiert. Nach zweimaligem Waschen mit PBS-Puffer wird die verbleibende Fluoreszenz vom fluoreszierenden Calcein-AM in den Zellen durchflusszytometrisch bestimmt. Calcein-AM ist ein typisches Substrat des MRP4-Transporters und dient in dem Assay als Marker für die Aktivität von MRP4 [242]. Bei der MRP4 überexprimierenden Zelllinie sollten für die Testsubstanz-Proben im Vergleich zur Messung der Farbstoffkontrollen höhere Fluoreszenzwerte gemessen werden, da der Farbstoff zu geringerem Maße aus der Zelle ausgeschleust wird. Bei der parentalen Zelllinie Colo357 sollten die Werte gleich bleiben, da die Konzentration von MRP4 in der Zellmembran gering ist. Zum Erreichen der finalen Substanzkonzentrationen von 10  $\mu\text{M}$  werden die Verbindungen in DMSO gelöst und durch Verdünnungsreihen verdünnt. Die finale DMSO-Konzentration beläuft sich nach Zugabe zum Zellmedium auf 1%. Durch Anfertigung und Vermessung einer 1%igen DMSO-Kontrolle konnte der Einfluss von DMSO ausgeschlossen werden. Als Maß der inhibitorischen Aktivität wird die *fluorescence activity ratio* (FAR) nach folgender Formel berechnet:

$$FAR = \frac{F_{Colo357MRP4,Inh} - K_{Colo357MRP4} / F_{Colo357MRP4} - K_{Colo357MRP4}}{F_{Colo357,Inh} - K_{Colo357} / F_{Colo357} - K_{Colo357}}$$

$F$  = Fluoreszenz der im Index beschriebenen Zelllinie mit oder ohne Inhibitor (Inh)

$K$  = Fluoreszenzwerte der Kontrollzelle der jeweiligen Zelllinie

Demnach sprechen Werte größer 1 für eine Hemmung des Proteins, während bei Werten kleiner gleich 1 keine Hemmung vorliegt. Um eine Vergleichbarkeit der Werte

über mehrere Testreihen unabhängig vom Zeitpunkt der Messung zu gewährleisten, wird eine Positivkontrolle mit dem gut erforschten MRP4-Modulator MK571 [12] durchgeführt und mit den Ergebnissen der Testsubstanzen ins Verhältnis gesetzt:

$$x = \frac{FAR_{\text{Verbindung}}}{FAR_{MK571}}$$

$x$  = Vielfaches des inhibitorischen Potentials von MK571

Ist der  $x$ -wert einer Verbindung größer als 1 so ist die inhibitorische Aktivität auf MRP4 demnach größer als die von MK571. Liegt der Wert jedoch bei 1 oder ist kleiner als 1, so ist ein vergleichbares oder geringeres Potential vorhanden und bräuchte damit keinen Mehrwert.

#### 4.1.1.1 Ergebnisse der 1,4-Dihydropyridin-Derivate

22 Verbindungen werden nach in Abschnitt 4.1.1 beschriebenem Prinzip 3 mal vermessen. Die FAR-Werte sind zusammen mit ihren Standardabweichungen und dem Verhältnis zu den gemessenen FAR-Werten für MK571 der jeweiligen Testreihe in Tab. 9 aufgeführt. Alle vermessenen Verbindungen zeigen eine höhere inhibitorische Aktivität als MK571.

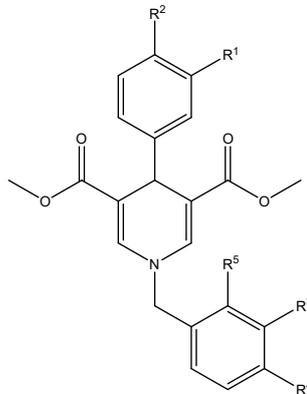


Abb. 50: Struktur der hergestellten 1,4-Dihydropyridine

Tabelle 9: Ergebnisse des durchflusszytometrischen Assays der Verbindungen 1-22 ( $n = 3$ )

Nr.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>	FAR ± SD	FAR <sub>MK571</sub>	x-Wert
1	H	F	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	1,12 ± 0,27	0,85 ± 0,13	1,32
2	F	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	1,21 ± 0,14	0,85 ± 0,13	1,41
3	F	F	H	OCH <sub>3</sub>	H	1,40 ± 0,50	0,85 ± 0,13	1,64
4	F	F	OCH <sub>3</sub>	H	H	1,43 ± 0,33	0,85 ± 0,13	1,67

5	F	F	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	1,23 ± 0,20	0,85 ± 0,13	1,45
6	H	CF <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H	1,11 ± 0,24	0,85 ± 0,13	1,30
7	H	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H	1,28 ± 0,27	0,85 ± 0,13	1,50
8	H	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	1,26 ± 0,36	0,85 ± 0,13	1,48
9	CF <sub>3</sub>	H	H	OCH <sub>3</sub>	H	1,11 ± 0,13	0,85 ± 0,13	1,30
10	CF <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	1,21 ± 0,20	0,85 ± 0,13	1,42
11	CF <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	1,10 ± 0,30	0,85 ± 0,13	1,29
12	CF <sub>3</sub>	H	CF <sub>3</sub>	H	H	1,28 ± 0,25	0,85 ± 0,13	1,50
13	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H	0,95 ± 0,09	0,85 ± 0,13	1,12
14	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H	1,55 ± 0,70	0,85 ± 0,13	1,82
15	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	1,22 ± 0,33	0,85 ± 0,13	1,43
16	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CF <sub>3</sub>	H	H	1,19 ± 0,17	0,85 ± 0,13	1,39
17	OBn	OBn	H	OCH <sub>3</sub>	H	1,42 ± 0,22	0,82 ± 0,28	1,72
18	OBn	OBn	CF <sub>3</sub>	H	H	1,30 ± 0,18	0,82 ± 0,28	1,58
19	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CF <sub>3</sub>	H	H	0,98 ± 0,09	0,85 ± 0,13	1,15
20	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	Cl	H	1,03 ± 0,12	0,85 ± 0,13	1,21
21	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	Cl	H	H	1,27 ± 0,24	0,85 ± 0,13	1,49
22	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	Cl	Cl	1,33 ± 0,44	0,85 ± 0,13	1,56

Anhand der in Tab. 9 aufgeführten FAR-Werte sieht man, dass bis auf wenige Ausnahmen die meisten Verbindungen bei einer Konzentration von 10 µM eine deutliche Hemmaktivität auf MRP4 zeigen. Bei den Verbindungen 13, 19 und 20 liegen die FAR-Werte bei 0,95, 0,98 und 1,03. Hier kann davon ausgegangen werden, dass keine bis eine sehr geringe Hemmung stattfindet. Trotzdem sind die gemessenen Werte höher als die des Standards MK571. Der Grund dafür ist, dass der Inhibitor bei einer Konzentration von 10 µM keine Hemmaktivität auf MRP4 zeigt. Ein besonders hohes inhibitorisches Potential zeigen die Verbindungen 14, 4, 17 und 3. Hier liegen die FAR-Werte bei 1,55, 1,43, 1,42 und 1,40. Da Verbindung 17 zu einem anderen Zeitpunkt als die anderen bis jetzt genannten Verbindungen getestet wurde, ist es besser den x-Wert zum Vergleich heranzuziehen. Da der FAR-Wert für MK571 bei der Testreihe, bei der Verbindung 17 getestet wurde, mit 0,82 festgesetzt ist, während er für die Testreihe der anderen Verbindungen bei 0,85 liegt, zeigt Verbindung 17 eine minimal stärkere Hemmung als Verbindung 4 im Vergleich zu MK571. Verbindung 14 hemmt MRP4 1,82 mal, Verbindung 17 1,72 mal, Verbindung 4 1,67 mal und Verbindung 3 1,64 mal stärker als MK571 bei der gleichen Konzentration. Weitere sieben Verbindungen bieten eine ca. eineinhalbfach und noch acht eine 1,30-

bis 1,43fach höhere Hemmwirkung.

### Struktur-Wirkungs-Beziehung

Die *para*- bzw. *meta*-Fluor-Substituenten am 4-Phenyl-Rest kombiniert mit 3,4-Dimethoxy-Resten am 1-*N*-Benzyl-Rest bei den Verbindungen 1 und 2 bringen bereits mit einer 1,32- bzw. 1,41fachen Aktivität im Vergleich zu MK571 ein gutes Potential für die Inhibition von MRP4, wobei Verbindung 2 mit der Substitution in *meta*-Position des 4-Phenyl-Restes aktiver ist.

Eine Difluor-Substitution in *meta*- und *para*-Position des 4-Phenyl-Restes bei Verbindung 5 zeigt eine höhere Aktivität als bei Verbindung 1 und 2, woraus man schließen kann, dass eine zweifache Substitution mit Fluor höhere Aktivitäten bringt. Entfernt man die Methoxygruppe in *meta*-Position des 1-*N*-Benzyl-Restes so erhält man in diesem Falle mit Verbindung 3 eine höhere Hemmaktivität mit einem  $x$ -Wert von 1,64. Befindet sich die Methoxygruppe stattdessen in *meta*-Position, erhält man einen noch leicht höheren Wert von 1,67.

Die Verbindungen 6-8 bringen mit einem Trifluormethyl-Rest in *meta*-Position des 4-Phenyl-Rings im Vergleich zu Verbindungen 3-5 eine verringerte Hemmwirkung mit sich. Aber auch hier erkennt man eine Erhöhung der Aktivität durch einen Methoxy-Rest in *meta*-Position des 1-*N*-Benzyl-Restes bei Verbindung 7 verglichen zum *para*-Methoxy-Rest (6) und 3,4-Dimethoxy-Rest (8). Allerdings zeigt Verbindung 8 eine höhere Aktivität als Verbindung 6, was im Gegensatz dazu bei Verbindung 3 und 5 umgekehrt ist.

Durch einen Trifluormethyl-Substituenten in *para*-Position statt in *meta*-Position des 4-Phenyl-Restes bei den Verbindungen 9-11 nimmt die Hemmaktivität weiter leicht ab, ist jedoch weiterhin deutlich höher als die von MK571. Sie belaufen sich auf das 1,30fache bei Verbindung 9, das 1,42fache bei Verbindung 10 und das 1,29fache bei Verbindung 11. Auch hier zeigt Verbindung 10 mit einem *meta*-Methoxy-Substituenten am 1-*N*-Benzyl-Rest eine höhere Aktivität als Verbindung 9 (*para*-Methoxy) und Verbindung 11 (3,4-Dimethoxy).

Ersetzt man den *meta*-Methoxy-Substituenten der Verbindung 10 mit einem Trifluormethyl-Substituenten wie bei Verbindung 12, erhöht sich das inhibitorische Potential auf das der Verbindung 7 mit einem  $x$ -Wert von 1,50. Allerdings erweist sich diese Abänderung nur in der Kombination mit dem 4-Trifluormethyl-Substituenten am 4-Phenyl-Rest als günstig. In anderer Kombination wie bei den Verbindungen 16, 18 und 19 brachte es eher eine Erniedrigung der Hemmaktivität im Vergleich zu anderen Resten am 1-*N*-Benzylring.

Ergänzt man die Struktur von Verbindung 10 an der *para*-Position des 4-Phenylrings

mit einer Methoxygruppe, erhält man Verbindung 14 mit einem FAR-Wert von 1,55, der 1,82 mal so groß ist wie der von MK571. Diese Verbindung stellt die aktivste der Reihe dar. Jedoch brachte diese Veränderung in Kombination mit einer Methoxygruppe in *para*-Position des 1-*N*-Benzyl-Restes auch die Verbindung 13 mit der niedrigsten Aktivität der Reihe hervor mit einem FAR-Wert von 0,95 und somit einem gerade mal 1,12fach höheren inhibitorischem Potential verglichen mit MK571. Das Einführen einer Methoxygruppe in *meta* und *para* Position des 1-*N*-Benzyl-Restes bei Verbindung 15 resultiert in einem geringfügig höheren x-Wert (1,43) als Verbindung 2 (1,41) aber einem deutlich höherem als Verbindung 11 (1,29).

Tauscht man die beiden Substituenten am 4-Phenylring der Verbindung 13 mit einer Dibenzyl-oxy-Substitution, resultiert das in einem Anstieg der Aktivität gegenüber MK571 von einem Wert von 1,12 auf 1,72 bei Verbindung 17. Diese Verbindung stellt die zweitaktivste der Reihe dar. Wie bereits erwähnt bringt der Austausch der *para*-Methoxygruppe am 1-*N*-Benzyl-Rest gegen eine *meta*-Trifluormethylgruppe eine Erniedrigung der Aktivität bei Verbindung 18.

Ersetzt man die zwei Benzyl-oxy-Reste von Verbindung 18 durch zwei Methoxygruppen, nimmt der FAR-Wert stark von 1,30 auf 0,98 ab. Verbindung 19 ist mit einem x-Wert von 1,15 die Verbindung mit der zweitgeringsten Aktivität im Vergleich zu MK571. Die Substitution von Chlor-Substituenten am 1-*N*-Benzyl-Rest in *meta*-Stellung bei Verbindung 21 und in *para*- und *ortho*-Stellung bei Verbindung 22 erhöhten die Hemmaktivität wieder. Verbindung 22 hemmt MRP4 in einem 1,56 mal höheren Ausmaß als MK571.

#### **Zusammenfassung**

Als Erstes lässt sich sagen, dass die Einführung einer Methoxygruppe in *meta*-Position des 1-*N*-Benzyl-Restes in jedem Fall höhere Aktivitäten zur Folge hat. Besonders deutlich ist dies bei den Verbindungen 13-16 zu erkennen, die in Abb. 51 mit ihren dazugehörigen x-Werten dargestellt sind. Nicht in jedem Fall brachte allerdings die doppelte Methoxylierung Vorteile gegenüber der alleinigen *para*-Substitution, wie es bei den Verbindungen 13-16 der Fall war. So hat Verbindung 3 bessere Werte als Verbindung 5 und Verbindung 9 zeigt eine leicht bessere Aktivität als Verbindung 11.

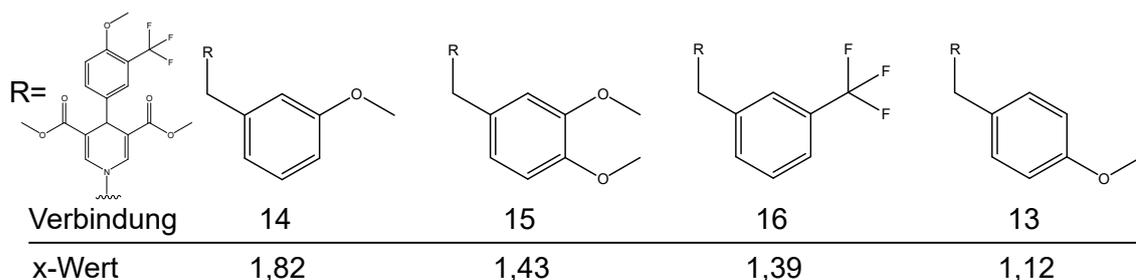


Abb. 51: Einfluss der Methoxy-Substituenten am 1-*N*-Benzyl-Rest auf die Hemmaktivität im Verhältnis zu MK571 bei 1,4-DHP-Verbindungen

In Abb. 52 sind die vier 1,4-DHPs dargestellt, die über einen 1-*N*-Benzyl-3-Methoxy-Rest verfügen. Es wird deutlich, dass das Einfügen einer Methoxygruppe in *para*-Position zusätzlich zum Trifluormethyl-Rest in *meta*-Position des 4-Phenyl-Restes klare Vorteile bringt. Verbindung 14 hemmt MRP4 ca. 28 % stärker als Verbindung 10 im Verhältnis zu MK571. Außerdem scheint sich eine 3,4-Difluor-Substitution am 4-Phenylring günstig auszuwirken. Überraschenderweise zeigt auch Verbindung 3 ein ähnliches inhibitorisches Potential wie Verbindung 4, obwohl Verbindung 3 am *N*-Benzyl-Rest nur in *para*-Position eine Methoxygruppe besitzt (s. Abb. 53). Das bedeutet, dass durch die 3,4-Difluor-Substitution gleich zwei Verbindungen mit einer hohen ca. 1,6fach höheren Wirksamkeit verglichen mit MK571 zur Verfügung stehen.

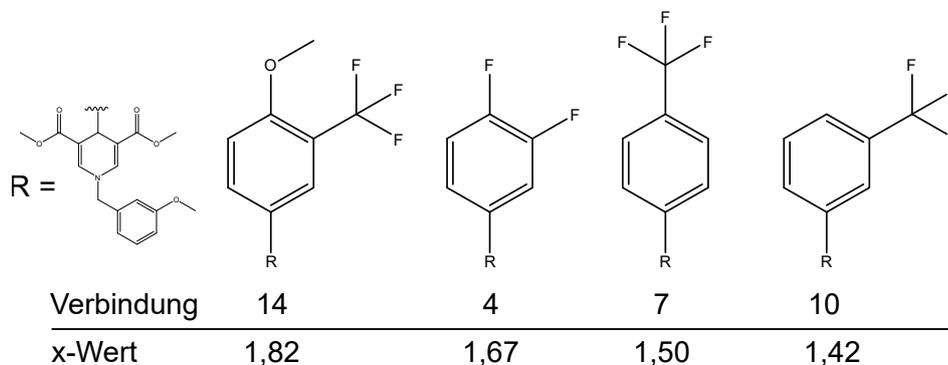


Abb. 52: 1,4-DHP-Verbindungen mit 1-*N*-Benzyl-3-Methoxy-Rest im Vergleich

In Abb. 53 sind die vier aktivsten Verbindungen dieser Reihe aufgelistet. Die 3,4-Dibenzyl-Substituierung am 4-Phenylring stellt eine äußerst dienliche Struktur zur Erhöhung der Aktivität dar, wie es bei Verbindung 17 erkennbar ist. Eine höhere Aktivität könnte man eventuell durch den Austausch der 4-Methoxygruppe am *N*-Benzylring durch eine 3-Methoxygruppe erreichen. Jedoch ist diese Verbindung aus Gründen der Planung im Rahmen dieser Arbeit nicht synthetisiert worden. Trotz der eher als unvorteilhaft ausgemachten 3-Trifluormethylgruppe am *N*-Benzyl-Rest

liegt der FAR-Wert von Verbindung 18 bei 1,30 und ist somit 1,58 mal höher als der von MK571, was die förderliche Wirkung der 3,4-Dibenzoyloxy-Substituierung am 4-Phenylring untermauert.

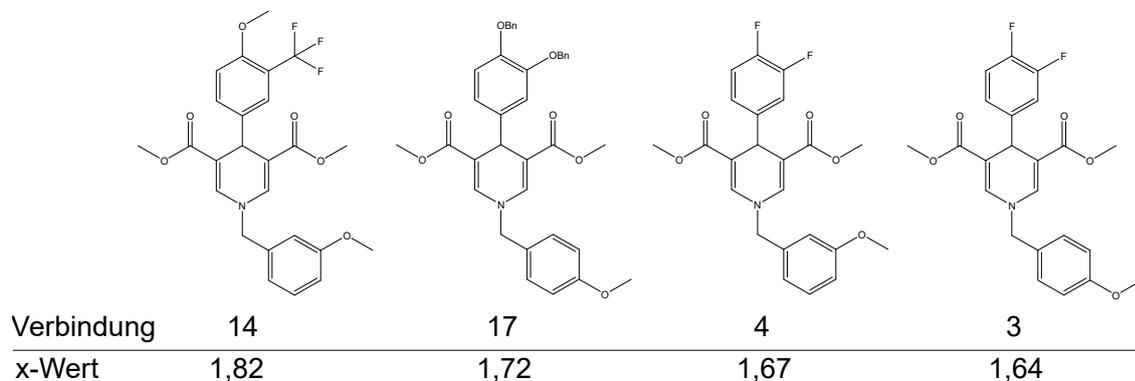


Abb. 53: 1,4-DHP-Verbindungen mit der höchsten Aktivität

Eine 3,4-Dimethoxy-Substituierung am 4-Phenyl-Rest stellt sich als eher ungünstig heraus, jedoch scheinen Chlorid-Reste in *meta*- und in *ortho*-Position einen positiven Effekt zu haben.

#### 4.1.1.2 Ergebnisse der alkoholischen Käfigdimerstrukturen

28 Verbindung standen zur Testung zur Verfügung. Ebenso wie bei der Testung der DHPs in Abschnitt 4.1.1.1 wurden 3 Messungen zur Bestimmung des FAR-Wertes durchgeführt und der FAR-Wert von MK571 als Vergleichskontrolle benutzt. 14 Verbindungen gehen aus den im Ausmaß dieser Arbeit hergestellten DHPs hervor. Die Dimere der weiteren DHPs konnten aus in Abschnitt 3.2.2 und Abschnitt 3.3.2 genannten Gründen nicht vermessen werden. Außerdem wurden zusätzliche 14 alkoholische Käfigdimer-Verbindungen zur Bestimmung ihrer MRP4-Hemmaktivität aus anderen Arbeiten zur Verfügung gestellt (s. Abschnitt 6.2.4) [208, 209, 220]. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Tab. 10 aufgeführt. Der x-Wert ist bei allen Verbindungen größer als 1, was bedeutet, dass die Verbindungen ein höheres inhibitorisches Potential auf MRP4 haben als MK571. Für den Standardinhibitor wurden FAR-Werte von 0,82 bzw. 0,97 während einer weiteren Testreihe bestimmt.

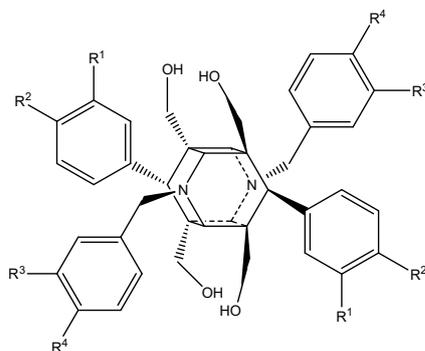


Abb. 54: Struktur der Käfigdimere

Tabelle 10: Ergebnisse des durchflusszytometrischen Assays der Verbindungen 45-77  
(n = 3)

Nr.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	FAR ± SD	FAR <sub>MK571</sub>	x-Wert
45	H	F	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	1,24 ± 0,25	0,97 ± 0,26	1,28
46	F	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	1,57 ± 0,44	0,82 ± 0,28	1,91
47	F	F	H	OCH <sub>3</sub>	1,31 ± 0,17	0,82 ± 0,28	1,59
48	F	F	OCH <sub>3</sub>	H	1,31 ± 0,37	0,97 ± 0,26	1,35
49	F	F	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	0,98 ± 0,14	0,97 ± 0,26	1,01
50	H	CF <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	1,07 ± 0,08	0,97 ± 0,26	1,10
51	H	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	1,13 ± 0,24	0,82 ± 0,28	1,38
52	H	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	1,23 ± 0,43	0,97 ± 0,26	1,27
53	CF <sub>3</sub>	H	H	OCH <sub>3</sub>	1,18 ± 0,30	0,97 ± 0,26	1,22
54	CF <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H	1,35 ± 0,34	0,82 ± 0,28	1,65
55	CF <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	1,33 ± 0,49	0,97 ± 0,26	1,37
56	CF <sub>3</sub>	H	CF <sub>3</sub>	H	1,31 ± 0,36	0,97 ± 0,26	1,36
57	CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	1,11 ± 0,21	0,97 ± 0,26	1,15
61	OBn	OBn	H	OCH <sub>3</sub>	1,12 ± 0,26	0,97 ± 0,26	1,15
64	H	H	H	H	1,11 ± 0,26	0,97 ± 0,26	1,15
65	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	0,95 ± 0,20	0,82 ± 0,28	1,15
66	H	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	1,10 ± 0,17	0,82 ± 0,28	1,34
67	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H	1,24 ± 0,20	0,82 ± 0,28	1,52
68	OCH <sub>3</sub>	H	H	OCH <sub>3</sub>	1,40 ± 0,18	0,82 ± 0,28	1,70
69	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	1,27 ± 0,12	0,82 ± 0,28	1,55
70	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	1,28 ± 0,08	0,82 ± 0,28	1,56
71	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	1,11 ± 0,14	0,82 ± 0,28	1,36
72	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	1,03 ± 0,29	0,82 ± 0,28	1,25
73	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	1,16 ± 0,16	0,82 ± 0,28	1,41

74	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	1,43 ± 0,14	0,82 ± 0,28	1,74
75	H	OBn	H	H	1,03 ± 0,31	0,82 ± 0,28	1,25
76	OBn	OCH <sub>3</sub>	H	H	1,12 ± 0,12	0,82 ± 0,28	1,36
77	OCH <sub>3</sub>	OBn	H	H	1,23 ± 0,21	0,82 ± 0,28	1,49

Die meisten getesteten alkoholische Käfigdimerstrukturen zeigen, wie es in Tab. 10 ersichtlich ist, eine signifikante Hemmwirkung für MRP4. Bei den Verbindungen 49, 65, 72 und 75 kann man aufgrund von FAR-Werten nahe eins davon ausgehen, dass eine sehr niedrige bis keine Hemmung von MRP4 von ihnen ausgeht. Da diese Verbindungsreihe ebenfalls zu unterschiedlichen Zeitpunkten vermessen wurden, ist es sinnvoll zum Vergleich der Werte den x-Wert heranzuziehen, also das Verhältnis zum FAR-Wert von MK571, der zu jeder Messreihe als Vergleichssubstanz bestimmt wurde. Die Verbindung mit der höchsten Aktivität ist die Nummer 46 mit einem FAR-Wert von 1,57. Sie hemmt MRP4 mit einem nahezu zweifachen Potential im Vergleich zu MK571. Des Weiteren zeigen auch die Verbindungen 74 und 68 eine 1,74fache und 1,70fache Hemmaktivität von MK571. Fünf weitere Verbindungen hemmen MRP4 mehr als 1,5 mal stärker als der Standard. Verbindung 77 erreicht mit einem FAR-Wert von 1,23 eine fast 1,5fach höhere Aktivität als MK571, für welches für diese Messreihe nur ein FAR-Wert von 0,82 zugeordnet ist. Hinzu kommen 8 Verbindungen, die MRP4 mehr als ein Drittel stärker hemmen als die Vergleichssubstanz.

### Struktur-Wirkungs-Beziehung

Ausgehend von der komplett unsubstituierten Verbindung 64, können günstige Substituenten für die 3,9-Dibenzyl-Reste und die 6,12-Diphenyl-Reste abgeschätzt werden. Die alkoholischen Käfigdimerstrukturen sind symmetrisch aufgebaut, sodass die beiden Benzylringe jeweils die gleichen Substituenten aufweisen, genauso wie die beiden Phenylringe. Verbindung 64 hat einen FAR-Wert von 1,11 und hemmt MRP4 somit um einen 1,15 mal höheren Wert als MK571. Durch eine Anfügung von Methoxygruppen in *para*-Position der beiden *N*-Benzylringe (Verbindung 65) verändert sich der x-Wert nicht. Erst durch weitere Methoxygruppen in *para*-Position der Phenylringe, resultierend in Verbindung 66, steigt der Faktor auf 1,34. Sind die 6,12-Phenyl-Reste in *para*- und *meta*-Position mit Methoxygruppen substituiert (Verbindung 73), steigt der x-Wert geringfügig auf 1,41. Befinden sich die Methoxygruppen stattdessen nur in *meta*-Position der Phenylringe ist die Aktivität stark auf das 1,70fache von MK571 erhöht (Verbindung 68).

Bei Verbindung 72 befinden sich die Methoxygruppen der *N*-Benzyl-Reste in *meta*-Position, was im Vergleich zu Verbindung 73 zu einer Verringerung des *x*-Werts führt. Verbindung 67 hat ebenfalls einen kleineren *x*-Wert als sein an den Phenyl-Resten gleich substituiertes Äquivalent Verbindung 68. Mit einem *x*-Wert von 1,52 ist die Hemmaktivität ähnlich wie die von Verbindung 70, die sich durch die Position der Methoxygruppen an den Phenylringen unterscheidet. Verbindung 69 zeigt ebenfalls fast den gleichen *x*-Wert wie Verbindung 67. Die doppelte Substitution in *para*- und *meta*-Position an den *N*-Benzylringen hat hier somit kaum einen Effekt. Ähnlich verhält es sich bei den Verbindungen 66 und 71. Die zweithöchste Aktivität der alkoholischen Käfigdimere hat Verbindung 74 mit einer 1,74fach höheren als MK571. Verbindung 74 ist sowohl an den Phenyl-, als auch an den *N*-Benzylringen in *para*- und *meta*-Position mit Methoxygruppen substituiert.

Als nächstes wird der Effekt anderer Substituenten als Methoxy-Reste insbesondere an den Phenylringen der Positionen 6 und 12 der Käfigdimerstruktur näher beleuchtet. Das Einfügen eines Fluor-Substituenten in *para*-Position der Phenyl-Reste brachte keine Vorteile gegenüber anderer Verbindungen mit gleicher Substitution am *N*-Benzylring. Mit einem *x*-Wert von 1,28 ist Hemmaktivität von Verbindung 45 unterdurchschnittlich. Durch das Ersetzen der 4-Fluor-Substituenten durch 3-Fluor-Substituenten bei Verbindung 46 erhält man die höchste Aktivität der Reihe mit einem *x*-Wert von 1,91.

Eine doppelte Fluor-Substitution an beiden Phenylringen bei Verbindung 49 resultierte dann in einem Verlust der Hemmaktivität. In Kombination mit einer 3-Methoxygruppe am *N*-Benzyl-Rest bei Verbindung 48 erhält man einen *x*-Wert von 1,35 und bei Verbindung 47 mit einer 4-Methoxygruppe einen *x*-Wert von 1,59.

Die *para*-Substitution eines Trifluormethyl-Restes an den Phenylringen erweist sich eher als ungünstig. Mit einer 3,4-Dimethoxy-Substitution an den *N*-Benzyl-Ringen (Verbindung 52) erhält man einen unterdurchschnittlichen *x*-Wert von 1,27, in *meta*-Position 1,38 (Verbindung 51) und in *para*-Position substituiert 1,10 (Verbindung 50).

Etwas vorteilhafter wirkt sich die Trifluormethylgruppe in *meta*-Position der Phenyl-Reste aus. Der *x*-Wert erhöht sich von 1,10 bei Verbindung 50 auf 1,22 bei Verbindung 53. Sind die *N*-Benzyl-Reste in *para*- und *meta*-Position mit Methoxygruppen substituiert (Verbindung 55), steigt die Aktivität weiter auf das 1,36fache von MK571. Ist ausschließlich in *meta*-Position der *N*-Benzylringe eine Methoxygruppe vorhanden, hemmt die Testsubstanz MRP4 sogar um das 1,65fache stärker als MK571. Verbindung 54 ist somit die viertaktivste Verbindung der alkoholischen Käfigdimer-Derivate. Eine weitere Trifluormethylgruppe in *meta*-Position der *N*-

Benzyl-Reste brachte keine Verbesserung. Die Aktivität von Verbindung 56 entspricht in etwa der von Verbindung 55.

Das Einführen einer Methoxygruppe in *para*-Position der Phenylringe, ausgehend von Verbindung 53, brachte keine Erhöhung der Aktivität. Der x-Wert von Verbindung 57 liegt bei 1,15 wie der von der unsubstituierten Verbindung 64. Weitere Substanzen mit dem gleichen Substitutionsmuster an den Phenylringen stehen aus in Abschnitt 3.3.2 genannten Gründen nicht zur Auswertung zur Verfügung.

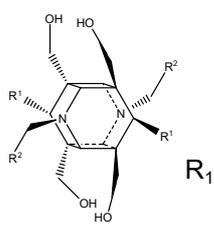
Eine 3,4-Dibenzyloxy-Substitution an den Phenylringen in Kombination mit einem 4-Methoxy-Rest, resultierend in Verbindung 61, brachte ebenfalls keine Vorteile gegenüber der Grundverbindung 64. Das Einführen einer Benzyloxygruppe in *para*-Position, ausgehend von Verbindung 64, bringt für Verbindung 75 eine geringfügig höhere Aktivität. Ergänzt man zusätzlich in *meta*-Position eine Methoxygruppe, erhält man einen durchschnittlichen x-Wert von 1,36. Durch einen Tausch der Positionen dieser Substituenten erhöht sich die Aktivität weiter auf das 1,49fache von MK571 (Verbindung 77).

#### **Zusammenfassung**

Eine allgemeine Struktur-Wirkungs-Beziehung für die einzelnen Substituenten der 3,9-*N*-Dibenzyl- und 6,12-Diphenyl-Reste wie bei den 1,4-DHPs zu formulieren, erweist sich bei alkoholischen Käfigdimer-Derivaten als schwierig, da die FAR-Werte eher von der Kombination der Substituenten an beiden Ringpaaren abhängig sind. So zeigen sich zwei Methoxygruppen in *para*- und *meta*-Position des 1-*N*-Benzylrings bei gleichzeitiger *meta*-Fluor-Substitution bei Verbindung 46 oder bei gleichzeitiger 3,4-Dimethoxy-Substitution bei Verbindung 74 als äußerst positiv mit hohen FAR-Werten, die 1,91fach bzw. 1,74fach höher sind als von MK571, während das Substitutionsmuster bei Verbindung 49 (6,12-Bis(3,4-Difluorphenyl)) oder Verbindung 55 (6,12-Bis(3-(trifluormethyl)phenyl)) und 52 (6,12-Bis(4-(trifluormethyl)phenyl)) eher negativ wirkt. Dennoch lassen sich Tendenzen erkennen.

In Abb. 55 ist eine Auswahl der Strukturen dargestellt, die ausschließlich mit Methoxygruppen substituiert sind, um auf eine Struktur-Wirkungs-Tendenz zu schließen. Verbindung 65 bringt mit einer einfachen *para*-Substitution an den *N*-Benzylringen keine Vorteile gegenüber der Grundverbindung 64. Eine weitere *para*-Substitution an den Phenylringen erhöht die Aktivität nur leicht. Durch den Austausch der 6,12-(4-Methoxybenzyl)-Reste durch 6,12-(3-Methoxybenzyl)-Reste erhält man mit Verbindung 70 eine gute Aktivität. Verbindung 67 zeigt mit ausschließlicher *meta*-Substitution ein ähnliches Ergebnis. Durch die Kombination einer *meta*-Substitution an den Phenylringen und einer *para*-Substitution an den *N*-

Benzylringen entsteht mit Verbindung 68 eine sehr gute Aktivität. Nur eine jeweils *para*- und *meta*-Substitution erhöhte den x-Wert nochmals. Somit kann man sagen, dass eine in *meta*-Stellung platzierte Methoxygruppe an den Phenylringen sich äußerst günstig auswirkt, insbesondere wenn man dieses Muster mit einer Substitution in *para*-Position der *N*-Benzylringe kombiniert. Die Methoxygruppen in *meta*-Stellung der Phenylringe scheinen hierbei die größere Rolle zu spielen, da die Verbindungen 67, 68 und 69 mit diesem Merkmal mindestens eine 1,5fach höhere Aktivität als MK571 aufweisen. Verbindung 68 ist sogar die zweitbeste Verbindung aus der Reihe der ausschließlich mit Methoxygruppen substituierten alkoholischen Käfigdimere.



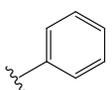
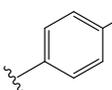
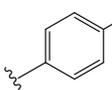
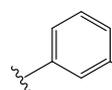
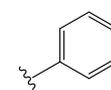
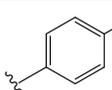
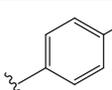
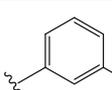
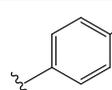
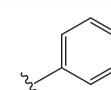
R <sub>1</sub>					
R <sub>2</sub>					
Verbindung	65	66	70	68	74
x-Wert	1,15	1,34	1,56	1,70	1,74

Abb. 55: Einfluss auf die Aktivität von Methoxy-Substituenten an alkoholischen Käfigdimeren

Abb. 56 veranschaulicht den Effekt weiterer Gruppen an den Phenylringen in Position 6 und 12 der Käfigstruktur. Pauschal eine Aussage über günstige Substitutionen an den *N*-Benzylringen in Position 3 und 9 zu treffen, ist nicht möglich, da der optimierende Effekt auf die Aktivitäten durch die *N*-Benzyl-Substituenten insbesondere von den Substituenten an den Phenyl-Resten abhängig ist. So optimiert beispielsweise eine doppelte Substitution in *meta*- und *para*-Position mit Methoxygruppen an den *N*-Benzyl-Resten die Aktivität, wenn die Phenylringe in Position 3 mit einem Fluoratom substituiert sind (Verbindung 46), während eine Methoxygruppe in *meta*-Stellung der *N*-Benzylringe die Hemmwirkung begünstigt, wenn die Phenylringe in *meta*-Position mit einer Trifluormethylgruppe substituiert sind (Verbindung 54). Eine doppelte Substitution in *meta*- und *para*-Position mit Methoxygruppen resultiert dann in einer weitaus geringeren Hemmung (Verbindung 55, nicht in Abb. 56 aufgeführt, s. Tab. 10). Insbesondere 3-Fluor-, 3-Trifluormethyl- und 3,4-Difluor-Substitutionen an den Phenylringen scheinen die Hemmwirkung auf MRP4

zu begünstigen.

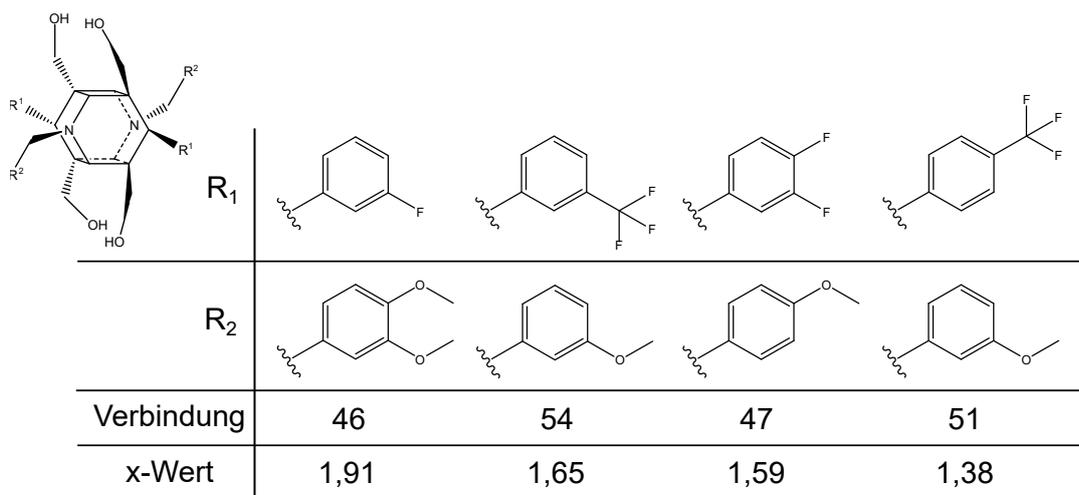


Abb. 56: Alkoholische Käfigdimere ohne Methoxy-Substituenten am 4-Phenyl-Rest mit den besten Aktivitäten

#### 4.1.1.3 Vergleich der Ergebnisse beider Reihen

In diesem Abschnitt werden die Hemmwirkungen auf MRP4 der 1,4-DHP-Derivate mit denen der alkoholischen Käfigdimere (KDs) verglichen, hauptsächlich aber der synthetisierten DHPs und den aus ihnen im Zuge dieser Arbeit hervorgegangenen KDs, um eine Veränderung der x-Werte durch eine Dimerisierung mit anschließender Reduktion der DHPs abzuschätzen. Die x-Werte der DHPs und ihrer dazugehörigen Käfigdimerstrukturen und somit die Faktoren um die die Hemmaktivitäten stärker als die von MK571 sind, sind anschaulich in Tab. 11 dargestellt.

Die Dimerisierung mit anschließender Reduktion der synthetisierten 1,4-DHP-Derivate führte in drei Fällen der davon getesteten Verbindungen zu einer deutlichen Verbesserung bei den Verbindungen 46, 54 und 55 und in einem Fall zu einer leichten, kaum signifikanten Verbesserung bei Verbindung 57. Die Verbindung 46 ist die Verbindung mit dem höchsten inhibitorischen Potential beider Reihen. Sie hemmt MRP4 1,91 mal stärker als MK571, während das dazugehörige DHP (Verbindung 2) MRP4 nur 1,41 mal stärker hemmt. Das entspricht einer Steigerung von 35,5 %. Außerdem ist der Faktor von Verbindung 46 noch mal um 5 % höher als der von Verbindung 14, welche das aktivste Monomer darstellt. Die Substanz hemmt MRP4 1,82 mal stärker als MK571. Die Synthese von Verbindung (Vdg.) 54 aus Vdg. 10 bringt einen Anstieg des x-Wertes um 16,2 %, während die Umwandlung von Vdg. 11 zu 55 nur eine geringe Steigerung von 6,2 % und die von Vdg. 13 zu 57 nur eine kaum signifikante Steigerung von 2,7 % bringt.

Tabelle 11: Vergleich der Hemmaktivitäten von 1,4-Dihydropyridinen mit den aus ihnen synthetisierten alkoholischen Käfigdimeren im Verhältnis zu MK571

DHP-Vdg.	x-Wert (DHP)	KD-Vdg.	x-Wert (KD)	Veränderung
1	1,32	45	1,28	-
2	1,41	46	1,91	↑
3	1,64	47	1,59	↓
4	1,67	48	1,35	↓
5	1,45	49	1,01	↓
6	1,30	50	1,10	↓
7	1,50	51	1,38	↓
8	1,48	52	1,27	↓
9	1,30	53	1,22	↓
10	1,42	54	1,65	↑
11	1,29	55	1,37	↑
12	1,50	56	1,36	↓
13	1,12	57	1,15	-
17	1,72	61	1,15	↓

Die in Tab. 11 aufgeführten 1,4-Dihydropyridine haben einen durchschnittlichen x-Wert von 1,44. Obwohl die daraus synthetisierten Käfigdimere weitestgehend gute Ergebnisse in der MRP4-Hemmung liefern sowie die aktivste Verbindung dieser Arbeit, liegt der Durchschnitt der x-Werte der in Tab. 11 dargestellten KDs niedriger bei 1,34. Bei neun aus den DHPs synthetisierten KDs ist der Faktor, mit dem MRP4 stärker gehemmt wird als durch MK571, niedriger als der der Monomere. Der stärkste Abfall der Aktivität ist durch die Synthese von Vdg. 61 aus Vdg. 17 zu verzeichnen. Während Vdg. 17 MRP4 1,72 mal stärker hemmt als MK571, ist der Faktor des reduzierten Käfigdimers (Vdg. 61) um 33,1 % niedriger. Nach der Umsetzung von Vdg. 5 zu Vdg. 49 sinkt die Hemmaktivität vom 1,45fachen von MK571 auf nahezu den gleichen FAR-Wert den MK571 aufweist.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Umsetzung eines monomeren 1,4-Dihydropyridins zum Käfigdimer und anschließender Reduktion also nicht immer Vorteile bezüglich der MRP4-Hemmung bringt. Durchschnittlich ist eher eine Erniedrigung der Aktivität zu erkennen, obwohl Verbindung 46 mit der höchsten Aktivität der getesteten Substanzen aus dieser Reihe hervorgeht. Allerdings sind außerdem die Untersuchungen hinsichtlich der Präferenzen der Verbindungen zur MRP4-Hemmung zu betrachten, wodurch Hinweise zu einer selektiven MRP4-Hemmung

abgeschätzt werden könnten. Siehe hierzu Abschnitt 4.2.

#### 4.1.2 MTT-Test zur Untersuchung der Resistenzaufhebung

Die Untersuchungen zur Resistenzaufhebung werden mit Hilfe eines MTT-Assays durchgeführt. Das MTT-Assay ist nach dem zum Einsatz kommenden Farbstoff 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT) benannt. Mit diesem Versuch ist es möglich die metabolische Aktivität von Zellen zu bestimmen, die stark mit dem Anteil lebendiger Zellen korreliert (Zellviabilität). Der wasserlösliche, gelbe Tetrazol-Farbstoff MTT wird durch die mitochondrialen Reduktasen der Zellen zum violetten Formazan reduziert (Abb. 57). Die Menge des entstandenen Formazans wird durch die Messung der Lichtabsorption bei einer bestimmten Wellenlänge bestimmt [243]. Die Messwellenlänge beträgt 540 nm und die Referenzwellenlänge 630 nm. Das Maß der Lichtabsorption ist abhängig von der Formazankonzentration. Je höher die Formazankonzentration, desto höher ist die Absorption und desto höher ist die metabolische Aktivität in der Zellpopulation.

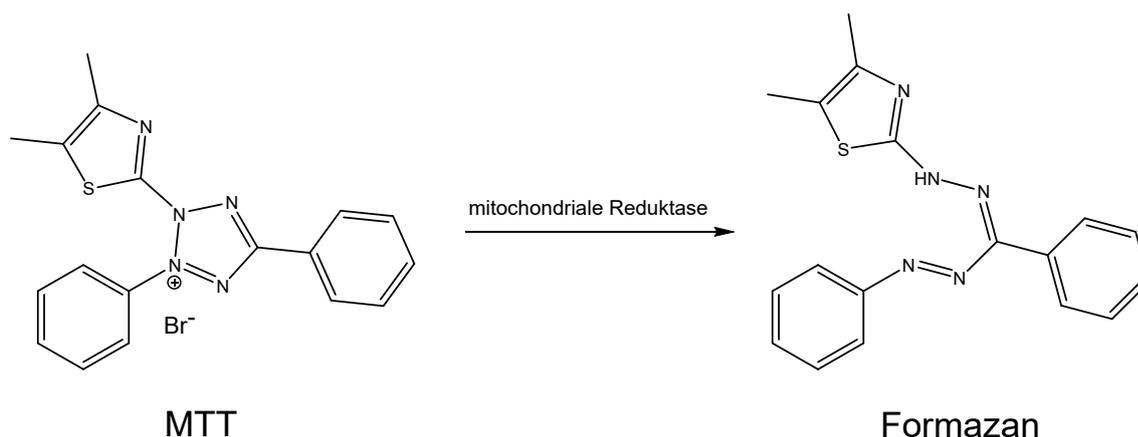


Abb. 57: Reduktion von MTT zu Formazan

Im Umkehrschluss kann die Toxizität einer Substanz auf eine Zellpopulation mit Hilfe des MTT-Assays festgestellt werden. In dem verwendeten Assay kommt der Purinbasen-Antagonist 6-Mercaptopurin zum Einsatz, der ein bekanntes Substrat von MRP4 ist [14]. Das Zytostatikum wird mit steigender finaler Konzentration von 0,0001  $\mu\text{M}$  bis 100  $\mu\text{M}$  zugegeben, um einen  $\text{IC}_{50}$ -Wert anhand der resultierenden Sigmoidfunktion für 6-Mercaptopurin zu ermitteln (Abb. 58). Die Konzentration von 6-Mercaptopurin ist auf der x-Achse als dekadischer Logarithmus aufgetragen. Bei der nicht-MRP4-exprimierenden Zelllinie Colo357 wird für 6-Mercaptopurin ein  $\text{IC}_{50}$ -Wert von 24,88  $\mu\text{M}$  festgestellt. Der  $\text{IC}_{50}$ -Wert für die Zelllinie Colo357MRP4,

die nachweislich MRP4 überexprimiert (s. Abschnitt 4.1.1), liegt erwartungsgemäß viel höher bei 224,00  $\mu\text{M}$ , da der Wirkstoff durch MRP4 effektiv aus den Zellen effluert wird (s. Tab. 12).

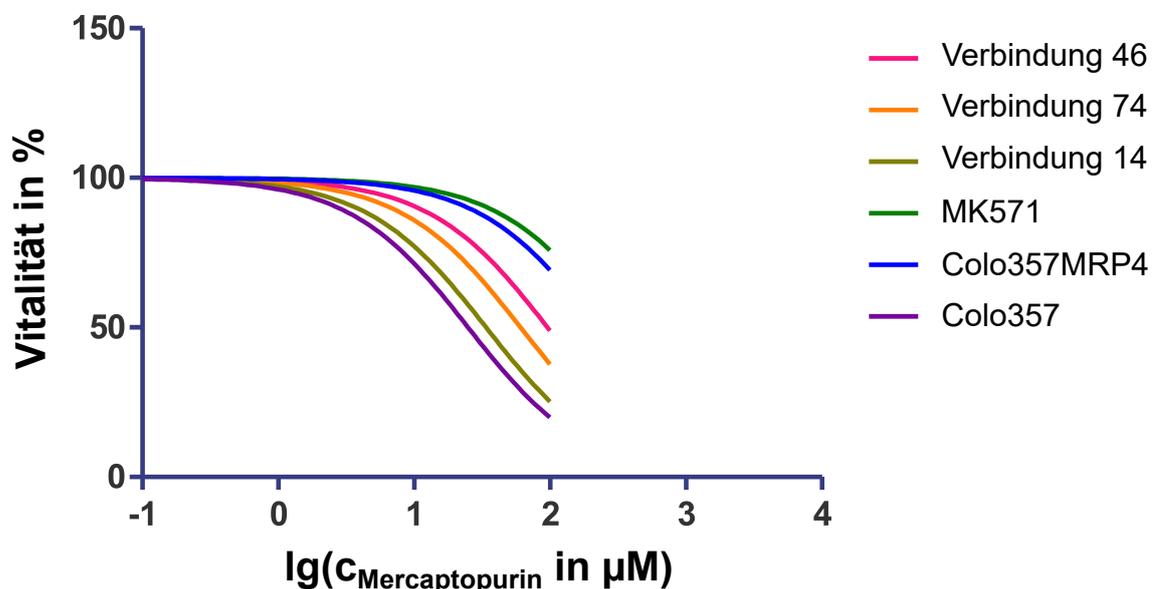


Abb. 58: Resistenzüberwindung bei Colo357MRP4 gegen 6-Mercaptopurin

Um eine mögliche Resensibilisierung gegenüber 6-Mercaptopurin der Colo357MRP4-Zelllinie durch MK571 und ausgewählten Testsubstanzen zu untersuchen, werden sie vor der Zugabe des Zytostatikums den jeweiligen Proben in einer finalen Konzentration von 10  $\mu\text{M}$  zugeführt. Durch MK571 findet keine Sensibilisierung statt. Der  $\text{IC}_{50}$ -Wert liegt bei 313,60  $\mu\text{M}$ . Die Konzentration an MK571 reicht demnach nicht aus, um MRP4 im ausreichenden Umfang zu hemmen, vermutlich da die Zellen MRP4 in einem zu hohem Maße überexprimieren. Diese Vermutung legen auch die ermittelten FAR-Werte für MK571 nahe, die in allen Testreihen kleiner als eins sind.

Tabelle 12:  $\text{IC}_{50}$ -Werte von 6-Mercaptopurin bei Colo357 und Colo357MRP4 und nach Behandlung von Colo357MRP4 mit entsprechender Verbindung

	Colo357	Colo357MRP4	MK571	Vdg. 46	Vdg. 74	Vdg. 14
$\text{IC}_{50}$	24,88	224,00	313,60	95,79	60,56	33,73

Die drei Testverbindungen, die im MRP4-Inhibitions-Assay (s. Abschnitt 4.1.1.1 und Abschnitt 4.1.1.2) die besten Ergebnisse in der Hemmung des Transporters aufweisen, werden auch dem MTT-Assay unterzogen. Die vorherige Behandlung der

Colo357MRP4-Zelllinie mit Verbindungen 46, 47 und 14 in einer Endkonzentration von 10  $\mu\text{M}$  führte zu einer starken Sensibilisierung der Zellen gegenüber 6-Mercaptopurin. Durch Vdg. 46 wird ein IC<sub>50</sub>-Wert von 95,79  $\mu\text{M}$  erreicht und durch Vdg. 74 ein IC<sub>50</sub>-Wert von 60,56  $\mu\text{M}$ . Vdg. 14 resensibilisiert die Zellpopulation nahezu vollständig. Der IC<sub>50</sub>-Wert liegt bei 33,73  $\mu\text{M}$  und somit wird eine 6,64fach kleinere Dosis an 6-Mercaptopurin für die Inaktivierung der Hälfte der Zellen benötigt als ohne vorherige Behandlung der Colo357MRP4-Zelllinie mit einem MRP4-Inhibitor (s.Tab. 12). Die Empfindlichkeit gegenüber 6-Mercaptopurin konnte somit wiederhergestellt werden.

## 4.2 Untersuchungen zur Selektivität

### 4.2.1 MRP1- und MRP2-Hemmung

Um Hinweise auf eine mögliche Selektivität der Verbindungen in der Hemmung von MRP4 zu bekommen, ist ein weiteres durchflusszytometrisches Experiment im Sinne eines MRP1/MRP2-Inhibitionsassay angezeigt. Verwendet werden hierfür die humane Ovarialkarzinom-Zelllinie A2780, die aus unbehandelten Patienten gewonnen wurde und die A2780cis-Zelllinie, die man durch die chronische Exposition der parentalen Zelllinie mit Cisplatin erhalten hat. Durch das Behandeln der Zellen mit dem Zytostatikum, werden sie resistent gegenüber diesem.

Je 500000 Zellen pro Probe werden verwendet. Analog zu der in Abschnitt 4.1.1 beschriebenen Testung werden pro Probe die zu testenden Substanzen in einer finalen Konzentration von 10  $\mu\text{M}$  hinzugefügt und inkubiert. Außerdem werden ebenso eine Leerkontrolle, eine DMSO-Kontrolle, eine Farbstoff-Kontrolle und eine Vergleichskontrolle mit Probenecid, ein typischer und gut erforschter MRP1 und MRP2-Inhibitor, als Vergleichssubstanz durchgeführt [176, 244]. Als Farbstoff dient das fluoreszierende Substrat der beiden Transporter 5-Carboxy-fluorescein-diacetat (CFDA) mit einer finalen Konzentration von 1  $\mu\text{M}$ .

Cisplatin ist ein typisches Substrat von MRP2 und wird von diesem Transporter aktiv aus der Zelle ausgeschleust [8, 150, 160]. Durch die Exposition der A2780 Zelllinie mit Cisplatin wurde eine Überexprimierung von MRP2 erwartet. Dadurch wäre es möglich, die Hemmung von MRP1 und von MRP2 einzeln zu betrachten. Jedoch stellte sich durch einen BCA-Assay heraus, dass die A2780cis-Zelllinie ihre Resistenz in unserem Fall nicht durch den vermehrten Einbau von MRP2 in die Zellmembran erhielt (s. Tab. 13). Vermutlich ist die Zelllinie durch den Einbau andere Transporter und/oder durch eine erhöhte Fähigkeit zur Reparatur von DNA-

Schäden und zytogenetische Anomalien zu ihrer Resistenz gekommen.

Die FAR-Werte können somit nicht auf einen einzelnen Transporter bezogen werden, sondern nur auf einen Gesamteffekt auf MRP1 und MRP2. Zur Beurteilung einer potentiellen Selektivität werden die Ergebnisse der Hemmung der beiden Transporter für die A2780-Zelllinie herangezogen, in der MRP1 mit einer Konzentration von 0,50 pmol/mg und MRP2 mit einer Konzentration von 0,79 pmol/mg vorkommen. Der FAR-Wert berechnet sich aufgrund der genannten Bedingungen nicht analog zu der in Abschnitt 4.1.1 genannten Formel, sondern wie folgt:

Tabelle 13: Ergebnisse des BCA-Assays in pmol/mg Membranprotein

Protein	A2780	A2780cis
P-gp	-	-
MRP1	0,50	0,30
MRP2	0,79	0,61
MRP3	0,31	0,16
MATE1	0,13	0,14
OCT1	0,13	0,04
OCT3	0,32	0,27
Na/K-ATPase	1,59	1,62

$$FAR = \frac{F_{A2780,Inh} - K_{A2780}}{F_{A2780} - K_{A2780}}$$

$F$  = Fluoreszenz der im Index beschriebenen Zelllinie mit oder ohne Inhibitor (Inh)

$K$  = Fluoreszenzwerte der Kontrollzelle der jeweiligen Zelllinie

Um eine Vergleichbarkeit der Werte unabhängig vom Zeitpunkt der Messungen zu gewährleisten, wird wieder der x-Wert, diesmal als Vielfaches des inhibitorischen Potentials von Probenecid, berechnet.

#### 4.2.1.1 Ergebnisse der 1,4-Dihydropyridin-Derivate

Die acht besten Verbindungen des 1,4-Dihydropyridin-Typs in der Hemmung von MRP4 hemmen den Transporter um mindestens das 1,5fache Ausmaß im Vergleich zu MK571. Jede dieser Verbindungen zeigt im MRP1/2-Inhibitionsassay zwar eine gewisse Aktivität, jedoch fällt diese im Vergleich zu Probenecid in 4 Fällen nur gering höher aus und in 4 Fällen niedriger. Die Werte sind in Tab. 14 zusammengetragen.

Tabelle 14: x-Werte des MRP1/2-Inhibitionsassay der acht stärksten MRP4-Inhibitoren der synthetisierten 1,4-DHP

Vdg.	14	17	4	3	18	22	7	12
x-Wert (MRP4)	1,82	1,72	1,67	1,64	1,58	1,56	1,50	1,50
x-Wert (MRP1/2)	0,92	0,92	1,27	1,15	0,87	0,77	1,23	1,06

Die geringste Hemmung von MRP1/2 zeigen Verbindung 22 und Verbindung 5 (nicht in Tab. 14 aufgeführt). Verbindung 5 zeigt gerade mal 69 % des Potentials von Probenecid und hemmt gleichzeitig MRP4 mit einem 1,45fachen Potential von MK571. Verbindung 5 zeigt somit eine deutliche Tendenz für eine Selektivität für die MRP4-Hemmung. Aber auch die Verbindungen 22, 18, 17 und 14 zeigen eine derartige Tendenz. Verbindung 14 als aktivste Substanz in der MRP4-Hemmung, zeigt im MRP1/2-Inhibitionsassay nur 92 % der Aktivität von Probenecid.

#### 4.2.1.2 Ergebnisse der alkoholischen Käfigdimerstrukturen

Auch die alkoholischen Käfigdimer-Derivate wurden hinsichtlich ihrer MRP1/2-Hemmung untersucht. In Tab. 15 sind die acht Verbindungen dieser Strukturreihe mit dem stärksten Hemmpotential auf MRP4 mit ihren Hemmaktivitäten auf MRP4 im Verhältnis zu MK571 und auf MRP1 und 2 im Verhältnis zu Probenecid veranschaulicht.

Tabelle 15: x-Werte des MRP1/2-Inhibitionsassay der acht stärksten MRP4-Inhibitoren der synthetisierten alkoholischen Käfigdimere

Vdg.	46	74	68	54	47	70	69	67
x-Wert (MRP4)	1,91	1,74	1,70	1,65	1,59	1,56	1,55	1,52
x-Wert (MRP1/2)	1,00	1,26	1,41	1,60	1,96	1,18	1,62	0,97

Insgesamt zeigen die Verbindungen dieser Reihe ein stark unterschiedliches Hemmpotential im MRP1/2-Inhibitionsassay. Während z.B. Verbindung 46 mit einer fast 2 mal höheren Hemmaktivität auf MRP4 als MK571 nur in etwa das gleiche Inhibitionspotential wie Probenecid auf MRP1/2 zeigt, liefert Verbindung 47 im MRP1/2-Inhibitionsassay eine nahezu zweifach stärkere Hemmung als Probenecid. Auch bei Verbindung 67 kann man wie bei Verbindung 46 eine Tendenz zur MRP4-Hemmung gegenüber der MRP1/2-Hemmung erahnen. Ebenso zeigen Verbindung 74 und Verbindung 70 eine solche Tendenz. Die geringste Aktivität hat Verbindung 56, deren

Potential 80% des Potentials von Probenecid entspricht. Gleichzeitig hemmt die Substanz MRP4 1,36fach stärker als MK571, was ein durchschnittliches Ergebnis darstellt.

#### 4.2.2 Zusammenfassung und Auswertung der Selektivitätsuntersuchungen

Im Schnitt lässt sich sagen, dass die getesteten Verbindungen des 1,4-Dihydropyridin-Typs geringere Aktivitäten im MRP1/2-Inhibitionsassay aufweisen als die alkoholischen Käfigdimerverbindungen. Während von den 22 getesteten DHPs 12 Verbindungen eine geringere Aktivität besitzen als Probenecid, sind es bei den alkoholischen Käfigdimeren nur sieben von 28 Verbindungen.

Die acht besten MRP4-Inhibitoren der beiden Reihen an Testsubstanzen weisen unterschiedlich starke Hemmaktivitäten gegenüber MRP1 und 2 auf. Während Verbindung 4 und 7 mit x-Werten von 1,27 und 1,23 die Verbindungen mit der stärksten MRP1/2-Hemmung sind, weisen die alkoholischen Käfigdimere höhere Aktivitäten gegenüber diesen beiden Transportern auf. Verbindung 54 hat ein x-Wert von 1,60, Verbindung 47 sogar 1,96 und damit fast die zweifache Aktivität von Probenecid. Keine Verbindung der DHP-Reihe zeigt so starke Aktivitäten gegenüber MRP1 und 2. Unter den Käfigdimerverbindungen sind auch Strukturen, die nur eine schwache MRP4-Hemmaktivität aufweisen, aber MRP1 und 2 doppelt so stark hemmen wie Probenecid. Das betrifft die Verbindungen 65 und 72. Hier kann man bereits eine Tendenz in Richtung MRP1/2-Hemmung vermuten. Dennoch sind mit den Verbindungen 14, 17, 46 und 74 aussichtsreiche Substanzen hinsichtlich einer potentiell selektiven MRP4-Hemmung synthetisiert und evaluiert worden, die beiden Zielsubstanzklassen angehören. Es ist außerdem in der Substanzklasse der Käfigdimere gelungen, mit effektiver Veränderung der Substituenten aus der Grundverbindung 64 und der Verbindung 65 (3,9-Di(4-methoxybenzyl)-substituiert), die beide eher eine Tendenz zur Hemmung von MRP1 und 2 aufweisen, potentiell selektive MRP4-Inhibitoren zu entwickeln.

Es ist allerdings zu beachten, dass die Ergebnisse des MRP1/2-Inhibitionsassay untereinander nur begrenzt vergleichbar sind, aufgrund der schwankenden FAR-Werte, die für Probenecid an unterschiedlichen Zeitpunkten festgestellt wurden, (zwischen 1,44 und 0,94) und recht hoher Standardabweichungen für die FAR-Werte der Testsubstanzen bei dreifacher Messung. Außerdem ist durch dieses Assay maximal eine Tendenz in Richtung der Selektivität gegenüber der Hemmung von MRP4 abschätzbar, da Probenecid MRP1 und 2 in einem unterschiedlichem Maße hemmt als MK571

MRP4 und aufgrund der unterschiedlichen Weise der Berechnung der FAR-Werte im Vergleich zum MRP4-Inhibitionsassay (s. Abschnitt 4.1.1), bedingt durch die in Abschnitt 4.2.1 beschriebenen Bedingungen.

## 5 Zusammenfassung und Ausblick

Einführend wurde ein Überblick über Tumorerkrankungen gegeben. Durch die Betrachtung verschiedener Aspekte, wie die Entstehung, die Unterteilung und die Therapie von Krebserkrankungen wurde die Vielseitigkeit dieser verdeutlicht. Aufgrund dessen ist vor jeder Therapierung einer malignen Neoplasie eines Patienten ein ausführliches Typing, Staging und Grading der Erkrankung durchzuführen um eine angemessene Therapie festzulegen. Trotz vielseitiger Behandlungsmöglichkeiten, sowohl medikamentöser als auch nicht medikamentöser Art, kommt es aufgrund der von HANAHAN und WEINBERG zusammengefassten Kennzeichen von Krebszellen, vielseitiger Mutationen und schneller Zellteilung oftmals zu Resistenzen. Insbesondere Rezidive weisen oftmals durch verschiedene Mechanismen eine *multiple drug resistance* auf. Multiresistente, undifferenzierte Tumorstammzellen, die in geringer Anzahl bei systemischen und soliden Tumorerkrankungen vorhanden sein und eine erste Therapie mit Zytostatika oder Strahlen überstehen können, sind häufig für dieses Phänomen verantwortlich. Eine MDR kann über ein schlechtes Ansprechen der Therapie bis hin zum kompletten Therapieversagen führen, was die Überlebenschance des Krebspatienten verringert. Der Einsatz einer interdisziplinären Therapie ist deswegen eine unverzichtbare Vorgehensweise. Außerdem ist auch heute noch eine intensive Forschung an neuen Wirkstoffen mit neuen Mechanismen zur Krebstherapie und zur Umgehung von Resistenzmechanismen von Nöten. MDR ist noch immer ein aktuelles und komplexes Thema in der Krebstherapie, da auch für monoklonale Antikörper und RTKI Resistenzen beobachtet worden sind.

Mehrere Mechanismen die in die Entstehung einer MDR einwirken, wurden in dieser Arbeit vorgestellt und diskutiert. Ein Mechanismus, der bei Tumorstammzellen, systemischen Erkrankungen und soliden Tumoren für das Überleben von Tumorzellen trotz einer Zytostatikatherapie sorgen kann, ist die Überexpression von ABC-Transportern. Im Rahmen dieser Arbeit wurde insbesondere auf diesen Mechanismus und auf ABC-Transporter-Modulatoren als Mittel zum Ausschalten einer MDR eingegangen. Der Aufbau, die Eigenschaften, die Verbreitung und die Substrate von P-gp, MRP1, 2 und 4 wurden näher beleuchtet. Außerdem wurden auch bereits vorhandene Modulatoren der Transporter und deren Potential diskutiert.

Das Hauptaugenmerk lag hierbei auf dem *multidrug resistance-associated protein* 4. Der Transporter gehört zu den „kurzen“ MRPs und ist weitgehend symmetrisch aus zwei TMDs und NBDs aufgebaut. Er ist im Körper weit verbreitet und an viele physiologischen Prozessen beteiligt, aber auch für die Resistenzen vieler solider und systemischer Krebserkrankungen verantwortlich. MRP4-Inhibitoren können aufgrund der ubiquitären Verbreitung von MRP4 im menschlichen Körper und der vielfältigen Substrate, unter die nicht nur Zytostatika, sondern auch physiologische Stoffe fallen, wie verschiedene Entzündungsmediatoren und Botenstoffe, zwei positive Effekte auf die Tumorthherapie ausüben. Zum einen können durch MRP4 resistent gewordene Tumorzellen wieder auf eine Zytostatikatherapie ansprechen und zum anderen, wird der Transport von tumorfördernden Botenstoffen verhindert.

DHPs zeigten bereits in vielen Forschungsarbeiten seit den 1980ern Potential als Inhibitoren verschiedener ABC-Transporter. Ziel des praktischen Teils der Arbeit war es neuartige symmetrische 2,6-unsubstituierte DHPs und deren alkoholische, symmetrische Käfigdimere, die über zwei weitere Reaktionsschritte darstellbar waren, zu synthetisieren und als potentielle MRP4-Inhibitoren zu evaluieren. Aufgrund der gemeinsamen symmetrischen Struktur von Verbindung und Target erwartete man erhöhte Aktivitäten, da für die Targetstruktur von MRP4 ein symmetrischer Bindungsmodus diskutiert wird. Die Verbindungen unterscheiden sich lediglich durch ihre Substituenten am 1-*N*-Benzyl- und 4-Phenyl-Rest bei den DHPs bzw. an den 3,9-Dibenzyl- und 6,12-Diphenyl-Resten bei den Dimeren.

Trotz beschriebener Probleme bei der Synthese konnten 62 Verbindungen synthetisiert werden, von denen 21 zu den nicht reduzierten Käfigdimeren gehören und als Zwischenprodukt der Drei-Schritt-Synthese anzusehen sind. Von den 22 synthetisierten 2,6-unsubstituierten 1,4-DHPs wurden im Rahmen der Arbeit alle der biochemischen Testung zugänglich gemacht. Von den 19 synthetisierten alkoholischen Käfigdimeren wurden 14 biochemisch untersucht. Zusätzlich konnten weitere 14 Verbindungen dieser Gruppe untersucht werden, die von WOLLMANN, BAUMERT und HILGEROTH zur Verfügung gestellt wurden.

Zur Bestimmung des inhibitorischen Potentials der Verbindungen wurde ein MRP4-Inhibitionsassay verwendet. Zum Einsatz kamen die aus Pankreaskarzinomen stammende Zelllinien Colo357 und deren Subzelllinie Colo357MRP4, die durch Transfektion der parentalen Zelllinie mit einem MRP4-Vektorkonstrukt MRP4 überexprimiert und aufgrund dessen Resistenzen gegen verschiedene Zytostatika zeigt. Mit Hilfe des Assays konnten FAR-Werte als Maß der Inhibition berechnet werden. Als Vergleichskontrolle wurde MK571 verwendet. Die finale Substanzkonzentration lag jeweils bei 10  $\mu$ M. Acht der getesteten 1,4-DHP-Verbindungen zeigten ein mindestens

1,5fach höheres Potential als MK571. Besonders gute Inhibitoren sind die Verbindungen 14 mit einem 1,86fach, Verbindung 17 mit einem 1,72fach, Verbindung 4 mit einem 1,67fach und Verbindung 3 mit einem 1,64fach höherem Potential. Von den 28 getesteten alkoholischen Käfigdimer-Verbindungen zeigten ebenfalls 8 einen mindestens 1,5fach höheren Wert als MK571. Mit Verbindung 46 ging aus dieser Strukturreihe die aktivste Verbindung der Arbeit hervor. Sie hemmt MRP4 1,91 mal stärker als MK571. Weitere Verbindungen mit besonders guten Ergebnissen sind Verbindung 74 mit einem 1,74fach, Verbindung 68 mit einem 1,70fach und Verbindung 54 mit einem 1,65fach höheren Potential als MK571. Trotz der hohen Aktivität von Verbindung 46 zeigte sich, dass die Dimerisierung mit anschließender Reduktion der 1,4-DHPs nur in wenigen Fällen Vorteile brachte. Im Durchschnitt ist die Aktivität dadurch eher gesunken. Erkennbare Struktur-Wirkungs-Beziehungen wurden für beide Substanzklassen diskutiert.

Zusätzlich zur Bestimmung der FAR-Werte wurden die drei Verbindungen mit den höchsten Werten hinsichtlich ihrer Fähigkeit zur Resistenzauflösung bei Colo357MRP4 untersucht. Hierfür wurde ein MTT-Test durchgeführt. Verbindung 46, 74 und 14 resensibilisierten die resistente Zelllinie gegenüber 6-Mercaptopurin. Während der  $IC_{50}$ -Wert für die unbehandelte Zelllinie ursprünglich bei  $224 \mu\text{M}$  lag, senkte eine vorherige Behandlung der Zelllinie mit  $10 \mu\text{M}$  der Verbindung 14 den  $IC_{50}$ -Wert auf  $33,73 \mu\text{M}$  ab. Dieser entspricht nahezu dem Wert für die nicht resistente Zelllinie. Das bedeutet, dass Verbindung 14 Colo357MRP4 nahezu vollständig für 6-Mercaptopurin resensibilisierte. Verbindung 46 bzw. 74 in der gleichen finalen Konzentration senkten die  $IC_{50}$ -Werte für 6-Mercaptopurin auf  $95,79 \mu\text{M}$  bzw.  $60,56 \mu\text{M}$ .

Abschließend wurde mit den bereits auf MRP4-Hemmung getesteten Verbindungen ein MRP1/2-Inhibitionsassay durchgeführt, um potentielle Tendenzen zur selektiven MRP4-Hemmung abschätzen zu können. Die Ergebnisse der jeweils acht besten MRP4-Inhibitoren sowie einiger weiterer auffälliger Substanzen wurden diskutiert. Die Verbindungen 46, 74 und 14 zeigen neben sehr guten Ergebnissen in der MRP4-Hemmung ein eher schwächeres bis gleiches Inhibitionspotential auf MRP1 und 2 im Vergleich zu Probenecid. Diese und auch weitere Substanzen, wie Verbindungen 3, 17, 18, 22 und 67 zeigen gute erste Tendenzen zur selektiven MRP4-Hemmung bei den jeweils vorherrschenden Testbedingungen.

### Ausblick

Die vielversprechenden Ergebnisse beider Substanzklassen und der Bedarf an effektiven Mitteln zur Bekämpfung von resistenten Krebserkrankungen legen nahe, insbesondere die oben genannten Verbindungen weiter zu charakterisieren. Hierzu sollten weitere präklinische Tests zur Bestätigung der Wirksamkeit durchgeführt werden sowie zur Beantwortung der Frage wie spezifisch MRP4 von den neu entwickelten Substanzen gehemmt wird. Demnach bieten sich weitere Inhibitionsassays mit Zelllinien an, die verschiedene andere ABC-Transporter überexprimieren. Interessant wäre zum Beispiel wie stark eine Hemmung von P-gp, als bekanntester und ebenfalls im Körper stark verbreiteter Transporter, unter Einfluss der synthetisierten DHPs und ihren Käfigdimeren ausfällt. Eine weitgehende Spezifität ist anzustreben, um mögliche Nebenwirkungen zu verringern und ein gezieltes Einsetzen der Wirkstoffe zu ermöglichen. Außerdem sollten weitere Zytotoxizitätstest durchgeführt werden. In Untersuchungen von COBURGER *et al.* erwiesen sich erste Verbindungen bereits als relativ untoxisch [245]. Des Weiteren zeigen insbesondere Dihydropyridine oftmals eine inhibitorische Wirkung auf Calciumkanäle, was zu kardiovaskulären Nebenwirkungen führen könnte. Es wäre sinnvoll abzuklären, ob solche Effekte auch bei den im Rahmen der Arbeit entwickelten Dihydropyridinen bestehen. Auch Untersuchungen zu weiteren physikochemischen Eigenschaften wie Löslichkeit in Wasser und organischen Lösungsmitteln und die Bestimmung des n-Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient wären sinnvoll. Weiterhin könnte die Entwicklung weiterer Verbindungen dieser Substanzklassen anhand der beschriebenen günstigen Substituenten fortgeführt werden.

# 6 Experimenteller Teil

## 6.1 Methoden und Materialien

### 6.1.1 Schmelzpunktbestimmung

Für die Bestimmung der Schmelzbereiche kam ein Schmelzpunktbestimmer APOTEC<sup>®</sup> der Firma WEPA zum Einsatz (Messbereich: 25 - 370 °C; Messgenauigkeit bei 25 - 200 °C:  $\pm 0,3$  °C; Messgenauigkeit bei 200 - 400 °C:  $\pm 0,5$  %). Hierfür wurde eine geringe Menge Substanz in einer geeigneten Glaskapillare aufgenommen und im ersten Messdurchlauf der grobe Schmelzbereich bestimmt (Aufheizrate: 25 °C/min). In zwei weiteren Messungen wurde das Gerät auf eine Starttemperatur temperiert, die 3 °C unter diesem Bereich lag und die genaue Messung mit einer Aufheizrate von 1 °C/min durchgeführt.

### 6.1.2 NMR-Spektroskopie

Um die synthetisierten Substanzen zu identifizieren, wurde unter anderem die NMR-Spektroskopie verwendet. Angefertigt wurden <sup>1</sup>H-, <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY- und teilweise NOESY-, <sup>13</sup>C-, HSQC- und APT-Spektren.

NMR-Messgerät: 400 MHz VNMRS oder 500 MHz DD2 von AGILENT TECHNOLOGIES.

Probenvorbereitung: Die zu messende Substanz wurde in einer geeigneten Konzentration (2-7 mg für <sup>1</sup>H-, <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY- und NOESY-Spektren; 1-2 mg pro erwartetes C-Atom für <sup>13</sup>C-, HSQC- und APT-Spektren in 0,6 ml Probenlösung) in DMSO-d<sub>6</sub>, CDCl<sub>3</sub> oder Aceton-d<sub>6</sub> gelöst. Das jeweils verwendete deuterierte Lösungsmittel ist in Abschnitt 6.2.2 bis Abschnitt 6.2.5 bei der jeweiligen Substanz angegeben.

Software: Die Rohdatenauswertung erfolgte mit MESTRENOVA 11.0.4 von MESTRELAB RESEARCH S.L..

Die Vermessungen der <sup>1</sup>H-NMR-Proben wurden bei 27 °C durchgeführt. Die jeweils verwendete Arbeitsfrequenz ist in Abschnitt 6.2.2 bis Abschnitt 6.2.5 bei der jeweiligen Substanz angegeben. Die chemischen Verschiebungen ( $\delta$ ) der Signale sind in

*parts per million* (ppm) angegeben und für Signale mit definierter Multiplizität auf die Symmetrieachse bezogen. Sie ist in aufsteigender Reihenfolge angegeben. Die Syntax der Angaben in Abschnitt 6.2.2 bis Abschnitt 6.2.5 unter  $^1\text{H}$ -NMR lautet wie folgt:

Chemische Verschiebung der Signale (Multiplizität, Kopplungskonstante, Anzahl der Protonen, Zuordnung).

Die Multiplizitäten können als Singulett (s), Dublett (d), Triplett (t), Quartett (q) oder Multipllett (m) bezeichnet sein. Kombinationen der Abkürzungen sind möglich. Bei Signalen, die als Multipllett gekennzeichnet sind, werden Bereiche der chemischen Verschiebung angegeben und es sind keine Kopplungskonstanten aufgeführt. Wenn die Multiplizität in Anführungszeichen gesetzt ist, handelt es sich um eine Überlagerung zweier oder mehrerer Signale desselben Protons mit unterschiedlichen Kopplungspartnern. Die einzelnen zueinandergehörenden Werte sind durch Simikola voneinander getrennt. Falls die Zuordnung im angegebenen Molekülabschnitt nicht eindeutig erkennbar ist, sind die betreffenden Protonen fett markiert.

$^{13}\text{C}$ -NMR-Proben wurden mit einer Arbeitsfrequenz von 100 MHz bei 27 °C von  $^1\text{H}$ -Atomen entkoppelt vermessen. Die Syntax lautet:

Chemische Verschiebung der Signale (Zuordnung).

Die Auswertungen der  $^1\text{H}$ -NMR- und vereinzelt  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren sind in Abschnitt 6.2.2 bis Abschnitt 6.2.5 aufgeführt.

### 6.1.3 Massenspektrometrie

Zur Bestimmung der Massen der synthetisierten Verbindungen wurden massenspektrometrische Verfahren durchgeführt. Kleinste Mengen der Substanzen wurden hierfür je nach Löslichkeit in Aceton oder Chloroform gelöst. Die einzelnen Wertepaare werden mit Semikola getrennt.

#### Elektronen-Spray-Ionisation (ESI)

Gerät: LCQ-CLASSIC von THERMO FINNIGAN, Kapillartemperatur: 220 °C.

positive und negative Ionisierung: Elektronenspray-Methode mit 5,0 kV.

Messbereich: 50 - 2000 u/z.

Messgenauigkeit:  $\pm 0,1$  u/z.

Injektion der Probe: kontinuierlich 20  $\mu\text{l}/\text{min}$  mittels Spritzenpumpe.

Die ausgewerteten Ergebnisse sind in Abschnitt 6.2.2 bis Abschnitt 6.2.5 nach folgender Syntax unter den entsprechenden Verbindungen aufgeführt:

Massenzahl (m/z) (relative Peakintensität in Bezug zum Basispeak, [Ionenzuord-

nung]).

### **Atmospheric pressure chemical ionization (APCI)**

Gerät: EXPRESSION S von ADVION.

Kapillartemperatur: 220 °C.

Ionisierung: Chemische Ionisation bei Atmosphärendruck.

Messbereich: 10 - 2000 u/z.

Messgenauigkeit:  $\pm 0,1$  u/z.

Zufuhr der Probe: Über einen erhitzten Kapillarstab.

Diese massenspektrometrische Methode wurde zur Verlaufskontrolle der Reaktionen verwendet.

### **Hochauflösende Massenspektrometrie (HR-MS)**

Gerät: BRUKER Apex III 70e Fouriertransformations-Ionenzyklonresonanz-Massenspektrometer.

Abweichungen bis zu 5 ppm wurden toleriert.

Die Auswertung erfolgte in Abschnitt 6.2.2 bis Abschnitt 6.2.4 nach folgender Syntax:

gefunden für [Ionenzuordnung]: Massenzahl (m/z), (relative Peakintensität in Bezug zum Basispeak), berechnet für [Summenformel]: Molekülmasse mit vier Dezimalstellen.

## **6.1.4 Chromatografische Methoden**

### **6.1.4.1 Dünnschichtchromatografie (DC)**

Zur Bestimmung der  $R_f$ -Werte, Kontrolle des Reaktionsverlaufes und vorläufigen Reinheitsbestimmung von Zwischen- und Endprodukten wurde die DC verwendet. Hierfür wurde die jeweilige Probe zur Probenvorbereitung in einem geeignetem Lösungsmittel, meist Aceton oder Chloroform, gelöst und mit einer ausgezogenen Glaskapillare dünn auf die DC-Platte aufgetragen. Zur Verfügung standen mit Kieselgel 60  $F_{254}$  beschichtete Aluminiumplatten der Firma MERCK (Darmstadt, Deutschland). Die Entwicklung der Chromatogramme erfolgte in Chromatographiekammern und Kammersättigung mit folgenden Laufmitteln als mobile Phase:

Laufmittel 1: Cyclohexan/Ethylacetat	2:3
Laufmittel 2: Cyclohexan/Ethylacetat	1:1
Laufmittel 3: Cyclohexan/Ethylacetat	3:2
Laufmittel 4: Cyclohexan/Ethylacetat	65:35
Laufmittel 5: Cyclohexan/Ethylacetat	7:3
Laufmittel 6: Toluol/Methanol	85:15
Laufmittel 7: Toluol/Methanol	9:1
Laufmittel 8: Cyclohexan/Ethylacetat/Essigsäure	12:8:1.

Die Detektion erfolgte durch Fluoreszenzlöschung oder Eigenfluoreszenz der Verbindungen nach vorangegangener Trocknung der DC-Platte bei Bestrahlung mit ultraviolettem Licht der Wellenlängen 254 nm oder 366 nm in einer Dunkelkammer.

#### 6.1.4.2 Schwerkraftsäulenchromatografie (SSC)

Zur Auftrennung eines Reaktionsgemisches wurde unter anderem eine SSC durchgeführt. Als stationäre Phase diente Kieselgel 60 (62-200 nm Partikelgröße). Es standen Glassäulen mit verschiedenen Durchmessern und Längen für die Aufreinigung zur Verfügung. Die Wahl des Durchmessers war abhängig von der Masse des zu reinigenden Stoffgemisches und die Länge vom Trennproblem bzw. von den  $R_f$ -Werte der einzelnen Substanzen im gewählten Laufmittel, die vorher per DC bestimmt wurden. Das Kieselgel wird vor der Befüllung der Säule mit dem gewähltem Lösungsmittel aufgeschlämmt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Kieselgel 60 aufgebracht. Hierfür wurde es in Chloroform gelöst, pro 500 mg Rohprodukt 800 mg Kieselgel 60 hinzugefügt und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Die aufgetragene Probeschicht wurde mit einer Schicht Seesand bedeckt. Ob eine schwerkraftsäulenchromatografische Trennung durchgeführt wurde und welches Laufmittel gegebenenfalls als mobile Phase verwendet wurde, ist in Abschnitt 6.2.2 bis Abschnitt 6.2.4 unter dem Punkt „Darstellung“ aufgeführt. Die Laufmittel sind analog zu den in Abschnitt 6.1.4.1 aufgelisteten.

#### 6.1.4.3 Analytische *high performance liquid chromatography* (HPLC) zur Reinheitsbestimmung

Die Reinheiten der Verbindungen sind in Abschnitt 6.2.2 bis Abschnitt 6.2.4 in Prozent mit der zugehörigen Retentionszeit ( $t_R$ ) angegeben. Welches Gerät für die Bestimmung verwendet wurde, ist mit (1) für Gerät 1 und mit (2) für Gerät 2 gekennzeichnet.

Probenvorbereitung: 0,5 mg Substanz wurden in 1 ml Methanol gelöst. 10 µl dieser Stammlösung verdünnte man mit 90 µl Methanol und addierte gegebenenfalls 40 µl DMSO zur Lösungsvermittlung. Dann wurde die Lösung in ein HPLC-Probengläschen mit eingehangenen Verjüngungskorpus überführt.

### **HPLC-Gerät 1**

SHIMADZU; LC-10AD, SIL-HAT auto sampler.

Säule: XTERRA RP-18 Säule (3,5 µM, 3,9 x 100 mm) von Waters.

Detektor: UV-Vis-Detektor SPD-M10A VP PDA,  $\lambda = 254$  nm.

Injektionsvolumen: 10 µl.

Flussrate: 0,5 ml/min.

Laufmittel: Elutionsgradient; Beginnend mit 100 % destilliertem Wasser. Der Anteil an Methanol wurde innerhalb von 15 min auf 100 % erhöht. Zur Verbesserung der Trennung setzte man den Eluenten 0,1 % Trifluoressigsäure hinzu.

Laufzeit: 50 min.

Software: LABSOLUTIONS 5.54. SP2.

### **HPLC-Gerät 2**

JASCO, PU-980, 851 AS. Säule: LICHROSPHER® 100 RP-18 Säule von MERCK KGaA.

Detektor: UV-Vis-Detektor UV-970,  $\lambda = 254$  nm.

Injektionsvolumen: 20 µl.

Flussrate: 1,0 ml/min.

Laufmittel: isokratisch, in Volumen-Volumen-Verhältnis (V/V) in der Reinheitsangabe angegeben.

Laufzeit: 60 min.

Software: BORWIN 1.50, für die Auswertung der Rohdaten und Verarbeitung der Graphiken wurde ORIGINLAB 8.0 genutzt.

#### **6.1.4.4 Präperative *high performance liquid chromatography* (HPLC)**

Gerät: Siehe Abschnitt 6.1.4.3, HPLC-Gerät 1.

Säule: XTERRA RP-18 Säule (7 µM, 7,8 x 300 mm) von WATERS.

Probenvorbereitung: maximal 100 mg Substanzgemisch wurden in 1,1 ml Methanol gelöst und zur Lösungsvermittlung maximal 500 µl DMSO hinzugefügt.

## 6.1.5 Bioanalytische Methoden

### 6.1.5.1 Durchflusszytometrie

Die Pankreaskarzinom-Zelllinien Colo357 und Colo357MRP4 und die Ovarialkarzinom-Zelllinien A2780 und A2780cis wurden bei 37 °C unter Kohlenstoffdioxidatmosphäre (5 %) in einem RPMI-1640-Medium kultiviert, das mit fetalem Kälberserum (10 %) und Penicillin/Streptomycin (1 %) versetzt wurde und essentielle Aminosäuren (1 %) enthält.

#### MRP4-Inhibitionsassay

Die Colo357MRP4-Zelllinie wurde durch Transfektion der Colo357-Zelllinie mit einem MRP4-Vektorkonstrukt erhalten und die Überexpression von MRP4 wurde durch einen Western-Blot (s. Abschnitt 4.1.1, Abb. 49) bestätigt.

Probenvorbereitung: Angefertigt wurden neben den Testverbindungs-Proben 3 Kontrollzellen, 3 DMSO-Kontrollen (1 %), 3 Farbstoffkontrollen und 3 Vergleichskontrollen mit MK571 (10 µM).

Für jede Probe wurden 200000 Zellen in ein Eppendorfgefäß überführt und die Proben ab diesem Zeitpunkt bei 4 °C gehalten. Dann wurden die Proben bei 2000 U/min zwei Minuten lang zentrifugiert, der Überstand entfernt und mit 500 µl frischem RPMI-1640-Medium resuspendiert.

Danach erfolgte die erste Beladung. Die Testverbindungs-Proben wurden mit der zu testenden Substanz in einer finalen Konzentration von 10 µM beladen, die Kontrollzellen und Farbstoff-Kontrollen mit frischem Medium, die DMSO-Kontrollen mit DMSO (1 %) und die Vergleichskontrollen mit 10 µM MK571.

Nach folgender 20 minütiger Inkubation bei 37 °C und 1200 U/min in einem Thermomixer erfolgte die zweite Beladung. Hierfür wurden die Testverbindungs-Proben, die Farbstoff-Kontrollen und die Vergleichskontrollen mit dem fluoreszierenden Calcein AM als Farbstoff beladen, sodass die Endkonzentration bei 0,005 µM lag. Die DMSO-Kontrollen und die Kontrollzellen wurden stattdessen mit frischem Medium beladen.

Anschließend erfolgte eine weitere Inkubation im Thermomixer für 30 min bei 37 °C und 1200 U/min. Nach einer 2 minütigen Zentrifugation bei 4 °C und 2000 U/min wurden die Überstände entfernt und die Proben zwei mal mit Phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) gewaschen. Danach erfolgte die durchflusszytometrische Vermessung von 10000 Zellen.

Gerät: MACSQUANT® Analyzer Flow Cytometer von MILTENYI BIOTEC B.V. & Co. KG (Bergisch Gladbach, Deutschland).

Statistik: Für die Auswertung und die vergleichende Darstellung der Messwerte wurden statistische Parameter herangezogen.

Für jede Probe wurden drei Messungen durchgeführt. Zur Präsentation der Daten wurde das arithmetische Mittel ( $\bar{x}$ , ein Lageparameter der den Durchschnittswert einer Anzahl von  $n$  Messungen darstellt) verwendet und mit folgender Formel berechnet:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

$n$  = Anzahl der durchgeführten Messungen

$x_i$  = Einzelner Messwert

Die Standardabweichung (SD) ist ein Maß für die Streubreite der gemessenen Einzelwerte in einer Stichprobe im Bezug auf deren arithmetisches Mittel und hat die gleiche Einheit wie der Messwert. Sie wird nach folgender Formel berechnet:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$n$  = Anzahl der durchgeführten Messungen

$x_i$  = Einzelner Messwert

$\bar{x}$  = arithmetisches Mittel

### **MRP1/2-Inhibitionsassay**

Der Ablauf des MRP1/2-Inhibitionsassay war weitgehend analog zum MRP4-Inhibitionsassay. Statt Calcein AM wurde CFDA in einer finalen Konzentration von 1  $\mu\text{M}$  als Farbstoff und für die Vergleichskontrolle statt MK571 Probenecid (finale Konzentration: 10  $\mu\text{M}$ ) als Standard verwendet. Außerdem wurden für jede Probe je 500000 Zellen der Ovarialkarziom-Zelllinie A2780 und A2780cis in Eppendorfgefäße überführt.

### 6.1.5.2 MTT-Test

Der MTT-Test fand im Zuge der Untersuchung zur Resistenzaufhebung Anwendung. Hierfür wurden je 10000 Zellen der beiden Zelllinien Colo357 und Colo357MRP4 in eine 96-Well-Platte überführt und für 24 h bei 37 °C unter einer Kohlenstoffdioxid-Atmosphäre (5 %) kultiviert. Nach der Zugabe der Testsubstanz und von MK571 als Vergleichssubstanz in einer finalen Konzentration von 10 µM wurden die Vertiefungen mit steigenden Endkonzentrationen (0,0001 µM bis 100 µM) des MRP4-Substrats 6-Mercaptopurin beladen und die Well-Platte unter bereits genannten Bedingungen 48 h inkubiert. Dann wurde die MTT-Reagenz (10 µl einer 5 mg/ml in PBS Stammlösung) in die Wells gegeben und die Inkubation für weitere 4 h fortgesetzt. Anschließend folgte die Zugabe von 100 µl DMSO, um das entstandene Formazan-Reduktionsprodukt zu lösen. Die Platte wurde dann 30 min lang geschüttelt und die Formazanabsorption bei einer Wellenlänge von 540 nm vermessen. Die Referenzwellenlänge beträgt 630 nm. Die beschriebene Methode wurde dreimal wiederholt und aus den resultierenden Sigmoidkurven die IC<sub>50</sub>-Werte bestimmt.

### 6.1.6 Verwendete Chemikalien

Die verwendeten Lösungsmittel wurden nach literaturbekannten Methoden gereinigt bzw. getrocknet [246].

Zur Synthese und Analytik der Verbindungen wurden die folgenden Chemikalien kommerziell erworben oder aus dem Bestand des Pharmazieinstitutes bezogen:

- 2,4-Dichlorbenzylamin (SIGMA ALDRICH)
- 3,4-Dibenzoyloxybenzaldehyd (SIGMA ALDRICH)
- 3,4-Difluorbenzaldehyd (SIGMA ALDRICH)
- 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (SIGMA ALDRICH)
- 3,4-Dimethoxybenzylamin (SIGMA ALDRICH)
- 3-Chlorbenzylamin (SIGMA ALDRICH)
- 3-Fluorbenzaldehyd (SIGMA ALDRICH)
- 3-Methoxybenzylamin (SIGMA ALDRICH)
- 3-Methoxybenzylchlorid (SIGMA ALDRICH)
- 3-Trifluorbenzaldehyd (SIGMA ALDRICH)
- 3-Trifluormethylbenzylamin (SIGMA ALDRICH)
- 4-Chlorbenzylamin (SIGMA ALDRICH)
- 4-Fluorbenzaldehyd (SIGMA ALDRICH)
- 4-Methoxy-3-Trifluormethylbenzaldehyd (SIGMA ALDRICH)

4-Methoxybenzylamin (FERAK BERLIN)  
4-Trifluomethylbenzaldehyd (SIGMA ALDRICH)  
Aceton  
Aceton-d<sub>6</sub> (EURISO TOP)  
Ammoniumcarbonat  
Benzophenon  
Chloroform  
Chloroform-d (EURISO TOP)  
Cyclohexan (> 99,5 % zur Synthese; CARL ROTH GMBH & CO KG)  
Diethylether  
Dimethylsulfoxid-d<sub>6</sub> (EURISO TOP)  
Dimethylsulfoxid (SIGMA ALDRICH)  
Eisessig  
Ethanol  
Ethylacetat  
Heptan  
Kaliumhydroxid  
Kalium-tert-butanolat (SIGMA ALDRICH)  
Kieselgel 60 (63-200 nm; MACHEREY-NAGEL)  
Lithiumaluminiumhydrid (1M in THF; AcroSeal<sup>®</sup>; ACROS ORGANICS<sup>®</sup>)  
Methanol  
Methanol für HPLC (CARL ROTH GMBH)  
Methylpropiolat (SIGMA ALDRICH)  
N,N-Dimethylformamid (GRÜSSING GMBH)  
Natrium  
Natriumchlorid (ORG LABORCHEMIE GMBH)  
Natriumsulfat (wasserfrei)  
Petroleumbenzin  
Salzsäure (37 %; ORG LABORCHEMIE GMBH)  
Seesand (GRÜSSING GMBH)  
Silikonöl (bis 220 °C; GRÜSSING GMBH)  
Tetrahydrofuran (GRÜSSING GMBH)  
Tetrahydrofuran (Extra trocken mit Molekularsieb; ACROS ORGANICS)  
Toluol (GRÜSSING GMBH)

### 6.1.7 Sonstiges

#### Waagen

Zum Abwägen der jeweiligen Komponenten wurden die nachstehenden elektronischen Handels-, Präzisions- und Feinwaagen genutzt:

Tabelle 16: Genutzte Handels-, Präzisions-, Feinwaagen

	SCALTEC SPA 62	SARTORIUS BA- SIC BA210S	METTLER TOLEDO XA105 Dual Range
Wägebereich	4200 g	200 g	120 g (41 g <sup>*</sup> )
Ablesbarkeit	0,1 g	0,1 mg	0,1 mg (0,01 mg <sup>*</sup> )
SD	$\leq \pm 0,2$ g	$\leq \pm 0,1$ mg	0,05-0,1 mg (0,02 mg <sup>*</sup> )
Richtigkeit	$\leq \pm 0,1$ g	$\leq \pm 0,2$ mg	0,2 mg

\* im Feinbereich

#### Vakuumrotationsverdampfer und Wasserbad

Zum Entfernen der Lösungsmittel wurde ein HEIDOLPH VV 2011 Vakuumrotationsverdampfer, ein HEIDOLPH WB 2001 Wasserbad, mit einem Temperaturregler bis 100 °C sowie eine nachstehend aufgeführte Membranvakuumpumpe genutzt.

#### Membranvakuumpumpe

Firma: VACUUBRAND, Model: MZ 2C.

#### Magnetrührer

Folgende Magnetrührplatten wurden verwendet:

Tabelle 17: Magnetrührplatten

	IKAMAG RET	IKAMAG RH	IKAMAG RH Basic 2	HEIDOLPH MR 3001	HEIDOLPH MR 3001 K
Maximaltemperatur (°C)	300	320	320	300	300
Motorleistung (min <sup>-1</sup> )	0-1100	20-2000	100-2000	1000-1250	1000-1250

## 6.2 Synthese der Verbindungen

### 6.2.1 Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAVs)

#### **AAV1 - Synthese der N-substituierten 1,4-Dihydropyridine**

Es werden 1 eq Benzylamin, 2 eq Methylpropiolat und 1 eq aromatisches Aldehyd in einem geeigneten Rundkolben in 2 ml frisch destilliertem Eisessig gelöst und anschließend 2 Stunden bei 80 °C im Silikonölbad unter Rückfluss erwärmt und gerührt. Der Reaktionsverlauf wird mittels Dünnschichtchromatografie und Massenspektrometrie kontrolliert. Nach Beendigung der Reaktion wird dem Reaktionsansatz gesättigte Kochsalzlösung hinzugefügt und das Reaktionsprodukt mittels mehrmaligen Ausschüttelns mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten Chloroformphasen werden unter vermindertem Druck eingengt und restlicher Eisessig als azeotropes Gemisch mit Toluol entfernt. Die Ausfällung des Produktes aus dem erhaltenen gelb bis braunem dickflüssigem Stoffgemisch erfolgt durch die Zugabe von Methanol oder einem Gemisch aus Diethylether und Ethanol unter Kühlung. Bei einigen Substanzen ist eine vorherige säulenchromatische Auftrennung zur erleichterten Fällung notwendig.

#### **AAV2 - Synthese eines N-unsubstituierten 1,4-Dihydropyridins mit anschließender N-Alkylierung**

1 eq Benzaldehyd, 2 eq Methylpropiolat und 1 eq Ammoniumcarbonat werden nach AAV1 umgesetzt. Das entstandene N-unsubstituierte 1,4-Dihydropyridin wird anschließend in 4 ml Dimethylformamid gelöst. Bei einer Temperatur von 0 °C werden 1,2 eq Kalium-tert-butanolat hinzugefügt und anschließend 1 eq des entsprechenden Benzylchlorids. Der Ansatz wird 2 Stunden bei 50 °C gerührt. Der Reaktionsverlauf wird mittels Dünnschichtchromatografie und Massenspektrometrie kontrolliert. Nach Beendigung der Reaktion wird vorsichtig destilliertes Wasser zum Ansatz hinzugefügt und dieser mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten Chloroformphasen werden unter vermindertem Druck eingengt und restliches Dimethylformamid als azeotropes Gemisch mit Heptan entfernt.

#### **AAV3 - Lösungsdimerisierung der 1,4-Dihydropyridine**

1 mmol monomeres 1,4-Dihydropyridin wird in trockenem Tetrahydrofuran in einem Quarzglas Kolben gelöst. Nach Durchspülen der Lösung mit Argon wird der

verschlossene Kolben mit einer Ultra-Vitalux®-Lampe ( $\lambda \geq 270 \text{ nm}$ ) in einem Abstand von 60 cm bei Raumtemperatur bestrahlt. Der Verlauf der Reaktion wird dünnschichtchromatographisch kontrolliert. Häufig kristallisieren die Käfigdimere teilweise bereits bei der Bestrahlung der Lösung aus. Nach Beendigung der Bestrahlung wird bereits ausgefallenes Produkt abfiltriert und ggf. noch in Lösung befindliches Produkt unter Kühlung ausgefällt.

### **AAV4 - Reduktion der Esterfunktionen der Käfigdimere mit komplexen Hydriden zu Alkoholgruppen**

(a) Lithiumaluminiumhydrid als Reduktionsmittel:

1 eq Dimer wird in 60 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst. Nach Durchspülen der Lösung mit Argon wird sie auf  $-8 \text{ }^\circ\text{C}$  abgekühlt. Danach werden 16 eq Lithiumaluminiumhydrid (vierfach pro Estergruppe) als 1,0 molare Lösung in Tetrahydrofuran vorsichtig zum Reaktionsansatz unter Rühren zugetropft und drei Stunden bei dieser Temperatur weitergerührt. Der Verlauf der Reaktion wurde dünnschichtchromatografisch verfolgt. Nach vollständiger Umsetzung zum Alkohol wird überschüssiges Hydrid durch Zugabe von Eiswasser vorsichtig bei  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  hydrolysiert und die entstandenen Hydroxide durch Zugabe konzentrierter Salzsäure gelöst. Anschließend erfolgt die Extraktion des Reaktionsproduktes durch mehrmaliges Ausschütteln mit Chloroform. Die organischen Phasen werden vereinigt und unter vermindertem Druck eingeeengt. Durch Zugabe einer Mischung von Chloroform, Diethylether und Petroleumbenzin zum farblosen, festen bis öligen Rückstand wird das entsprechende Käfigdimer ausgefällt.

(b) Calciumborhydrid als Reduktionsmittel:

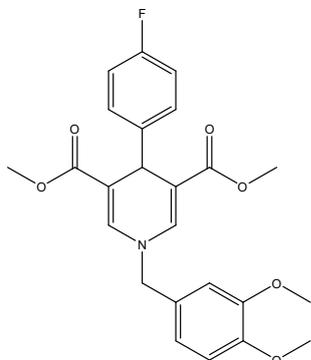
1 eq Dimer wird in 60 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst. Der Ansatz wird dauerhaft mit Argon durchspült. Bei Raumtemperatur werden 16 eq Calciumborhydrid als Calcium-bis(tetrahydrofuran)-Komplex hinzugefügt. Der Ansatz wird 4 Stunden bei  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  gerührt. Der Reaktionsverlauf wird dünnschichtchromatografisch überwacht. Nach Beendigung der Reaktion wird überschüssiges Hydrid durch Zugabe von Eiswasser vorsichtig bei  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  hydrolysiert und die entstandenen Hydroxide durch Zugabe konzentrierter Salzsäure gelöst. Anschließend erfolgt die Extraktion des Reaktionsproduktes durch mehrmaliges Ausschütteln mit Chloroform. Die organischen Phasen werden vereinigt und unter vermindertem Druck eingeeengt. Durch Zugabe einer Mischung von Chloroform, Diethylether und Petroleumbenzin zum farblosen, festen bis öligen Rückstand wird das entsprechende Käfigdimer ausgefällt.

**AAV5 - Verseifung der Esterfunktionen der Käfigdimere**

1 eq Dimer wird in 60 ml Tetrahydrofuran gelöst. Nach Zugabe von 4 eq Kaliumhydroxid als 10 %ige (m/V) methanolische Lösung zum Ansatz wird dieser bei Raumtemperatur gerührt. Nach 24 Stunden werden erneut 4 eq Kaliumhydroxid hinzugefügt. Die Zugabe wird alle 24 Stunden wiederholt, bis 16 eq Kaliumhydroxid hinzugefügt wurden. Insgesamt wird der Ansatz 7 Tage gerührt. Der Verlauf der Reaktion wird dünnschichtchromatografisch verfolgt. Nach Beendigung der Reaktion wird der Reaktionsansatz mit Chloroform gegen eine basische Wasserphase extrahiert. Die aufgefangenen Chloroformphasen werden verworfen, die wässrige Phase mit konzentrierter Salzsäure vorsichtig angesäuert und erneut mit Chloroform extrahiert. Unter vermindertem Druck werden die vereinigten Chloroformphasen eingedampft und das Produkt mit einer Mischung aus Aceton und Cyclohexan (1:10) ausgefällt.

## 6.2.2 Synthese der N-substituierten 1,4-Dihydropyridine

### (1) Dimethyl 1-(3,4-dimethoxybenzyl)-4-(4-fluorphenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat



Verbindung Nr.: 1

Summenformel:  $C_{24}H_{24}FNO_6$

Molare Masse: 441,16 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 1 wurde nach AAV1 aus 4-Fluorbenzaldehyd, Methylpropiolat und 3,4-Dimethoxybenzylamin hergestellt und als hochviskose gelbe Flüssigkeit erhalten, säulenchromatografisch mit Laufmittel 3 als Elutionsmittel gereinigt und mit Methanol unter Kühlung als gelboranges kristallines Pulver ausgefällt.

**Ausbeute:** 21,60 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,467 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 159,3 - 161 °C

**Reinheit(2):** 95,03 % ( $t_R = 1,61$  min; Methanol:Wasser; 7:3)

**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 905,03 (100,  $[2M + Na^+]^+$ ); 464,76 (30,  $[M + Na^+]^+$ )

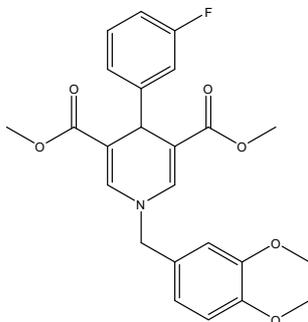
**HRMS ( $m/z$  (%)):** gefunden für  $[M + Na^+]^+$ : 464,1485 (100), berechnet für  $[C_{24}H_{24}FNO_6Na]^+$ : 464,1480; gefunden für  $[M + H^+]^+$ : 442,1667 (40), berechnet für  $[C_{24}H_{25}FNO_6]^+$ : 442,1660

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$ (ppm, 500 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 3,53 (s, 6H, COOCH<sub>3</sub>); 3,73 (s, 3H, 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,74 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz); 4,69 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,70 (s, 1H, H4); 6,87 (dd,  $^3J_{6/5} = 8,5$  Hz,  $^4J_{6/2} = 2,0$  Hz, 1H, H6 des N-Bz); 6,97 („s“, 1H, H2 des N-Bz); 6,97 (d,  $^3J_{5/6} = 8,5$  Hz, 1H, H5 des N-Bz); 6,99 (d,  $^3J_{3/2} = ^3J_{5/6} = 8,6$  Hz, 2H, H3

und H5 des Ph); 7,11 (d,  $^3J_{2/3} = 8,6$  Hz, 1H, H2 des Ph); 7,12 (d,  $^3J_{6/5} = 8,6$  Hz, 1H, H6 des Ph); 7,46 (s, 2H, H2 und H6)

$^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$ (ppm, 101 MHz, DMSO-D6) = 166,79 (COOCH<sub>3</sub>); 160,02 (C4 des Ph); 149,41 (C3 des N-Bz); 149,06 (C4 des N-Bz); 143,18 (C1 des Ph); 138,90 (C2 und C6 des DHP-Rings); 129,93 (C1 des N-Bz); 129,68 (C2 des Ph); 129,60 (C6 des Ph); 120,55 (C6 des N-Bz); 115,20 (C5 des Ph); 114,99 (C3 des Ph); 112,41 (C5 des N-Bz); 111,97 (C2 des N-Bz); 106,99 (C3 und C5 des DHP-Rings); 56,87 (CH<sub>2</sub>); 56,00 (OCH<sub>3</sub>); 55,97 (OCH<sub>3</sub>); 51,52 (COOCH<sub>3</sub>); 36,38 (C4 des DHP-Rings)

(2) **Dimethyl 1-(3,4-dimethoxybenzyl)-4-(3-fluorphenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat**



**Verbindung Nr.:** 2

**Summenformel:**  $C_{24}H_{24}FNO_6$

**Molare Masse:** 441,16 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 2 wurde nach AAV1 aus 3-Fluorbenzaldehyd, Methylpropiolat und 3,4-Dimethoxybenzylamin hergestellt und als hochviskose gelbe Flüssigkeit erhalten. Das Produkt kristallisierte aus einer Mischung Methanol: Diethylether (5:1) zu gelben Kristallen.

**Ausbeute:** 28,88 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,500 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 134,6 - 135,2 °C

**Reinheit(2):** 96,70 % ( $t_R = 1,61$  min; Methanol:Wasser; 7:3)

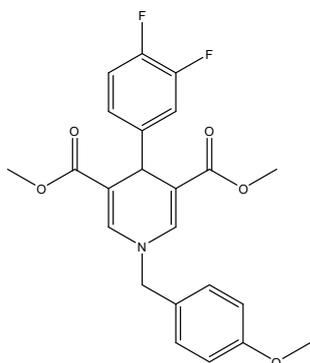
**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 905,03 (100, [2M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>); 464,48 (73, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>: 442,1664 (100), berechnet für [C<sub>24</sub>H<sub>25</sub>FNO<sub>6</sub>]<sup>+</sup>: 442,1660; gefunden für [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>: 464,1484 (85), berechnet für

$[C_{24}H_{24}FNO_6Na]^+$ : 464,1480

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$ (ppm, 400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 3,54 (s, 6H, COOCH<sub>3</sub>); 3,73 (s, 3H, 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,74 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz); 4,69 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,72 (s, 1H, H<sub>4</sub>); 6,80 (dd,  $^3J_{6/5} = 8,4\text{ Hz}$ ,  $^4J_{6/2} = 2,1\text{ Hz}$ , 1H, H<sub>6</sub> des N-Bz); 6,88 (dd,  $^3J_{6/5} = 8,2\text{ Hz}$ ,  $^4J_{6/2} = 2,0\text{ Hz}$ , 1H, H<sub>6</sub> des Ph); 6,88-7,00 (m, 4H, H<sub>2</sub> und H<sub>5</sub> des N-Bz, H<sub>2</sub> und H<sub>4</sub> des Ph); 7,16-7,25 (m, 1H, H<sub>5</sub> des Ph); 7,49 (s, 2H, H<sub>2</sub> und H<sub>6</sub>)

(3) **Dimethyl 4-(3,4-difluorphenyl)-1-(4-methoxybenzyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat**



**Verbindung Nr.:** 3

**Summenformel:**  $C_{23}H_{21}F_2NO_5$

**Molare Masse:** 429,14 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 3 wurde nach AAV1 aus 3,4-Difluorbenzaldehyd, Methylpropiolat und 4-Methoxybenzylamin hergestellt und als hochviskose gelbe Flüssigkeit erhalten. Während des Eindampfens des Lösungsmittels kam es zur Kristallisation eines Produktgemisches, aus dem durch Waschen mit Methanol die gewünschte Verbindung als gelbe Kristalle isoliert wurde.

**Ausbeute:** 45,97 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,382 (Laufmittel 3)

**Schmelzbereich:** 129,0 - 129,8 °C

**Reinheit(2):** 95,42 % ( $t_R = 4,55\text{ min}$ ; Methanol:Wasser; 7:3)

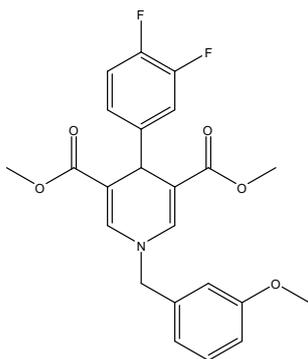
**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 881,10 (100,  $[2M + Na^+]^+$ ); 452,46 (54,  $[M + Na^+]^+$ )

**HRMS ( $m/z$  (%)):** gefunden für  $[M - H^+]^-$ : 428,1303 (100), berechnet für  $[C_{23}H_{20}F_2NO_5]^-$ : 428,1304 ; gefunden für  $[M + Na^+]^+$ : 452,1281 (15), berechnet für

$[C_{23}H_{21}F_2NO_5Na]^+$ : 452,1280

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$ (ppm, 400 MHz, DMSO-D6) = 3,54 (s, 6H, COOCH<sub>3</sub>); 3,74 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-OBz); 4,68 (s, 1H, H4); 4,71 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 6,86-7,00 (m, 4H, H2, H3, H5 und H6 des N-Bz); 7,17-7,33 (m, 3H, H2, H5 und H6 des Ph) 7,49 (s, 2H, H2 und H6)

(4) **Dimethyl 4-(3,4-difluorphenyl)-1-(3-methoxybenzyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat**



Verbindung Nr.: 4

Summenformel:  $C_{23}H_{21}F_2NO_5$

Molare Masse: 429,14 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 4 wurde nach AAV1 aus 3,4-Difluorbenzaldehyd, Methylpropiolat und 3-Methoxybenzylamin hergestellt und als hochviskose gelbe Flüssigkeit erhalten, säulenchromatografisch mit Laufmittel 3 als Elutionsmittel gereinigt und mit Methanol unter Kühlung als gelb kristallines Pulver ausgefällt.

**Ausbeute:** 22,01 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,275 (Laufmittel 3)

**Schmelzbereich:** 98,9 - 100,3 °C

**Reinheit(1):** 95,26 % ( $t_R = 11,88$  min)

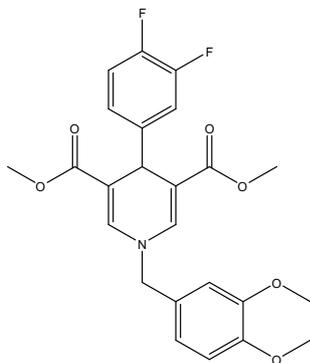
**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 881,07 (78,  $[2M + Na^+]^+$ ); 452,63 (62,  $[M + Na^+]^+$ )

**HRMS ( $m/z$  (%)):** gefunden für  $[M - H^+]^-$ : 428,1307 (100), berechnet für  $[C_{23}H_{20}F_2NO_5]^-$ : 428,1304 ; gefunden für  $[M + H^+]^+$ : 430,1459 (88), berechnet für  $[C_{23}H_{22}F_2NO_5]^+$ : 430,1461

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$ (ppm, 400 MHz, DMSO-D6) = 3,54 (s, 6H, COOCH<sub>3</sub>); 3,74 (s, 3H,

$\text{CH}_3$ ; 4,70 (s, 1H, H4); 4,76 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 6,86-6,93 (m, 3H, H2, H4 und H6 des N-Bz); 6,93-7,01 (m, 2H, H2 und H5 des Ph); 7,18-7,27 (m, 1H, H5 des N-Bz); 7,29-7,35 (m, 1H, H6 des Ph); 7,50 (s, 2H, H2 und H6)

(5) **Dimethyl 4-(3,4-difluorphenyl)-1-(3,4-dimethoxybenzyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat**



**Verbindung Nr.:** 5

**Summenformel:**  $\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{F}_2\text{NO}_6$

**Molare Masse:** 459,15 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 5 wurde nach AAV1 aus 3,4-Difluorbenzaldehyd, Methylpropiolat und 3,4-Dimethoxybenzylamin hergestellt, als hochviskose gelbe Flüssigkeit erhalten und mit Methanol zu einem weißgelben Feststoff umkristallisiert.

**Ausbeute:** 49,17 %

**$R_f$ -Wert:** 0,531 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 163,9 - 165,2 °C

**Reinheit(2):** 95,24 % ( $t_R = 2,92$  min; Methanol:Wasser; 7:3)

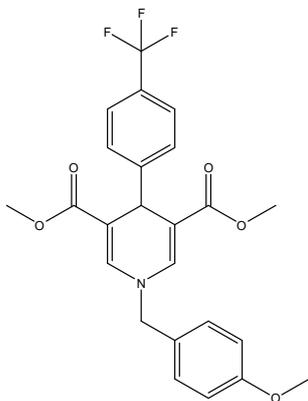
**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 940,78 (100,  $[2\text{M} + \text{Na}^+]^+$ ); 482,73 (19,  $[\text{M} + \text{Na}^+]^+$ ); 460,48 (15,  $[\text{M} + \text{H}^+]^+$ )

**HRMS ( $m/z$  (%)):** gefunden für  $[\text{M} + \text{Na}^+]^+$ : 482,1392 (100), berechnet für  $[\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{F}_2\text{NO}_6\text{Na}]^+$ : 482,1385 ; gefunden für  $[\text{M} + \text{H}^+]^+$ : 460,1574 (32), berechnet für  $[\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{F}_2\text{NO}_6]^+$ : 460,1566

**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$ (ppm, 400 MHz, DMSO- $\text{D}_6$ ) = 3,54 (s, 6H,  $\text{COOCH}_3$ ); 3,73 (s, 3H, 3- $\text{CH}_3$ -OBz); 3,74 (s, 3H, 4- $\text{CH}_3$ -OBz); 4,69 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 4,70 (s, 1H, H4); 6,88

(dd,  ${}^3J_{6/5} = 8,2$  Hz,  ${}^4J_{6/2} = 2,0$  Hz, 1H, H6 des N-Bz); 6,92-7,01 (m, 4H, H2 und H5 des N-Bz und H2 und H5 des Ph); 7,24 (d,  ${}^3J_{6/5} = 8,0$  Hz,  ${}^4J_{6/2} = 2,1$  Hz, 1H, H6 des Ph); 7,49 (s, 2H, H2 und H6)

(6) **Dimethyl 1-(4-methoxybenzyl)-4-(4-(trifluormethyl)phenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat**



**Verbindung Nr.:** 6

**Summenformel:**  $C_{24}H_{22}F_3NO_5$

**Molare Masse:** 461,15 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 6 wurde nach AAV1 aus 4-Trifluormethylbenzaldehyd, Methylpropiolat und 4-Methoxybenzylamin hergestellt, als hochviskose gelbe Flüssigkeit erhalten und mit Methanol zu einem weißgelben Feststoff umkristallisiert

**Ausbeute:** 26,30 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,605 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 128,9 - 130,1 °C

**Reinheit(2):** 97,42 % ( $t_R = 6,275$  min; Methanol:Wasser; 7:3)

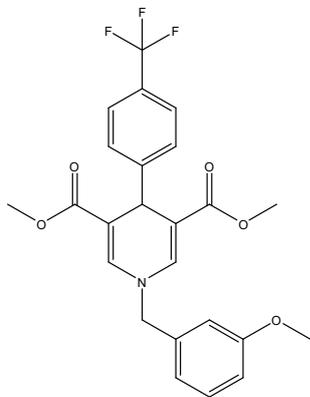
**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 461,40 (99, [M]); 944,89 (72, [2M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für [M - H<sup>+</sup>]<sup>-</sup>: 460,1364 (100), berechnet für [C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>5</sub>]<sup>-</sup>: 460,1366 ; gefunden für [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>: 462,1520 (40), berechnet für [C<sub>24</sub>H<sub>23</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>5</sub>]<sup>+</sup>: 462,1523

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 500 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 3,52 (s, 6H, COOCH<sub>3</sub>); 3,75 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-OBz); 4,72 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,77 (s, 1H, H4); 6,96-6,99 (m, BB'-Teil des AA'BB'-Systems, 2H, H3 und H5 des N-Bz); 7,25-7,33 (m, AA'-Teil des AA'BB'-

Systems, 2H, H2 und H6 des N-Bz); 7,29 (d,  $^3J_{2/3} = ^3J_{6/5} = 8,4$  Hz, 2H, H2 und H6 des Ph); 7,51 (s, 2H, H2 und H6);  $^3J_{3/2} = ^3J_{5/6} = 8,2$  Hz, 2H, H3 und H5 des Ph)

(7) **Dimethyl 1-(3-methoxybenzyl)-4-(4-(trifluormethyl)phenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat**



**Verbindung Nr.:** 7

**Summenformel:**  $C_{24}H_{22}F_3NO_5$

**Molare Masse:** 461,15 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 7 wurde nach AAV1 aus 4-Trifluormethylbenzaldehyd, Methylpropiolat und 3-Methoxybenzylamin hergestellt. Der erhaltene rotbraune Feststoff wurde säulenchromatografisch mit Laufmittel 1 als Elutionsmittel gereinigt und mit Methanol zu einem gelborangenem Feststoff umkristallisiert.

**Ausbeute:** 10,32 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,609 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 115,6 - 117,0 °C

**Reinheit(2):** 98,08 % ( $t_R = 6,583$  min; Methanol:Wasser; 7:3)

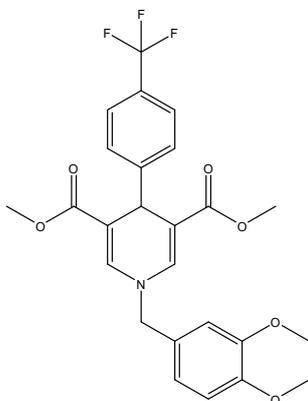
**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 945,11 (100,  $[2M + Na^+]^+$ ); 484,74 (21,  $[M + Na^+]^+$ );

**HRMS ( $m/z$  (%)):** gefunden für  $[M + Na^+]^+$ : 484,1333 (100), berechnet für  $[C_{24}H_{22}F_3NO_5Na]^+$ : 484,1343 ; gefunden für  $[M + H^+]^+$ : 462,1517 (24), berechnet für  $[C_{24}H_{23}F_3NO_5]^+$ : 462,1523

**$^1H$ -NMR:**  $\delta$ (ppm, 500 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 3,53 (s, 6H, COOCH<sub>3</sub>); 3,74 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-OBz); 4,77 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,79 (s, 1H, H4); 6,87-6,94 (m, 3H, H2, H4 und H6 des N-Bz); 7,31 (d,  $^3J_{2/3} = ^3J_{6/5} = 8,0$  Hz, 2H, H2 und H6 des Ph); 7,32-7,36 (m,

1H, H5 des N-Benzyl); 7,52 (s, 2H, H2 und H6); 7,54 (d,  ${}^3J_{3/2} = {}^3J_{5/6} = 8,0$  Hz, 2H, H3 und H5 des Ph)

(8) **Dimethyl 1-(3,4-dimethoxybenzyl)-4-(4-(trifluormethyl)phenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat**



**Verbindung Nr.:** 8

**Summenformel:**  $C_{25}H_{24}F_3NO_6$

**Molare Masse:** 491,16 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 8 wurde nach AAV1 aus 4-Trifluormethylbenzaldehyd, Methylpropiolat und 3,4-Dimethoxybenzylamin hergestellt und als hochviskose orangebraune Flüssigkeit erhalten, säulenchromatografisch mit Laufmittel 5 als Elutionsmittel gereinigt und mit Methanol unter Kühlung als gelboranges, kristallines Pulver ausgefällt.

**Ausbeute:** 21,62 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,265 (Laufmittel 3)

**Schmelzbereich:** 131,3 - 132,2 °C

**Reinheit(2):** 95,28 % ( $t_R = 4,11$  min; Methanol:Wasser; 7:3)

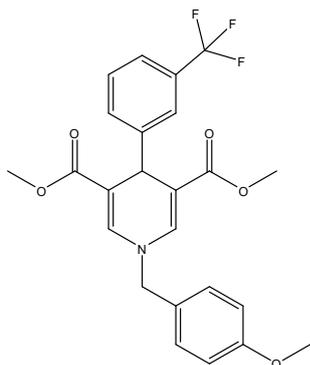
**MS (ESI):** m/z (%) = 1004,91 (100, [2M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>); 514,49 (79, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>: 514,1441 (100), berechnet für [C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>6</sub>Na]<sup>+</sup>: 514,1448; gefunden für [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>: 492,1624 (75), berechnet für [C<sub>25</sub>H<sub>25</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>6</sub>]<sup>+</sup>: 492,1628

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 3,53 (s, 6H, COOCH<sub>3</sub>); 3,73 (s, 3H, 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,74 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz); 4,70 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,79 (s, 1H, H4);

6,88 (dd,  ${}^3J_{6/5} = 8,2\text{ Hz}$ ,  ${}^4J_{6/2} = 2,0\text{ Hz}$ , 1H, H6 des N-Bz); 6,97 (s, 1H, H2 des N-Benzyl); 6,99 (d,  ${}^3J_{5/6} = 8,2\text{ Hz}$ , 1H, H5 des N-Bz); 7,31 (d,  ${}^3J_{2/3} = {}^3J_{6/5} = 8,2\text{ Hz}$ , 2H, H2 und H6 des Ph); 7,51 (s, 2H, H2 und H6); 7,54 (d,  ${}^3J_{3/2} = {}^3J_{5/6} = 8,1\text{ Hz}$ , 2H, H3 und H5 des Ph)

(9) **Dimethyl 1-(4-methoxybenzyl)-4-(3-(trifluormethyl)phenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat**



Verbindung Nr.: 9

Summenformel:  $C_{24}H_{22}F_3NO_5$

Molare Masse: 461,15 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 9 wurde nach AAV1 aus 3-Trifluormethylbenzaldehyd, Methylpropiolat und 4-Methoxybenzylamin hergestellt. Die erhaltene hochviskose gelbe Flüssigkeit wurde säulenchromatografisch mit Laufmittel 5 als Elutionsmittel gereinigt und mit Methanol unter Kühlung als gelber, kristalliner Feststoff ausgefällt.

**Ausbeute:** 14,50 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,571 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 100,9 - 102,9 °C

**Reinheit(2):** 97,81 % ( $t_R = 5,27\text{ min}$ ; Methanol:Wasser; 7:3)

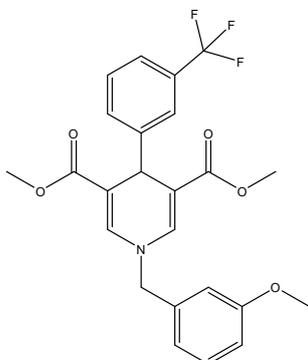
**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 945,00 (100,  $[2M + Na^+]^+$ ); 484,52 (81,  $[M + Na^+]^+$ )

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für  $[M - H^+]^-$ : 460,1366 (100), berechnet für  $[C_{24}H_{21}F_3NO_5]^-$ : 460,1366

**${}^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$ (ppm, 400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 3,53 (s, 6H, COOCH<sub>3</sub>); 3,74 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-OBz); 4,73 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,78 (s, 1H, H4); 6,94 (dd,  ${}^3J_{3/2} = {}^3J_{5/6} = 6,6\text{ Hz}$ ,  ${}^4J_{3/5} = {}^4J_{5/3} = 2,0\text{ Hz}$ , 2H, H3 und H5 des N-Bz); 7,29 (dd,  ${}^3J_{2/3} = {}^3J_{6/5} = 6,6\text{ Hz}$ ,

$^4J_{2/6} = ^4J_{62} = 2,1 \text{ Hz}$ , 2H, H2 und H6 des N-Bz); 7,32 (s, 1H, H2 des Ph); 7,36-7,50 (m, 3H, H4, H5 und H6 des Ph); 7,52 (s, 2H, H2 und H6)

(10) **Dimethyl 1-(3-methoxybenzyl)-4-(3-(trifluormethyl)phenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat**



**Verbindung Nr.:** 10

**Summenformel:**  $C_{24}H_{22}F_3NO_5$

**Molare Masse:** 461,15 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 10 wurde nach AAV1 aus 3-Trifluormethylbenzaldehyd, Methylpropiolat und 3-Methoxybenzylamin hergestellt. Die erhaltene hochviskose, tiefrote Flüssigkeit wurde säulenchromatografisch mit Laufmittel 5 als Elutionsmittel gereinigt und mit Methanol zu einem rotgelben, kristallinen Feststoff umkristallisiert.

**Ausbeute:** 7,54 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,650 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 104,2 - 105,0 °C

**Reinheit(2):** 95,76 % ( $t_R = 5,57 \text{ min}$ ; Methanol:Wasser; 7:3)

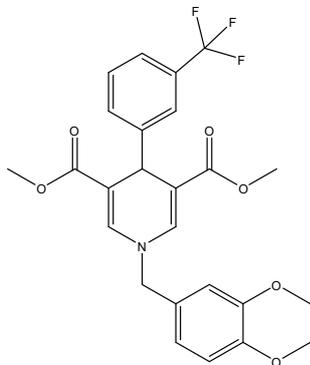
**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 944,96 (100,  $[2M + Na^+]^+$ ); 484,49 (75,  $[M + Na^+]^+$ )

**HRMS ( $m/z$  (%)):** gefunden für  $[M + Na^+]^+$ : 484,1347 (100), berechnet für  $[C_{24}H_{22}F_3NO_5Na]^+$ : 484,1343

**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$ (ppm, 500 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 3,53 (s, 6H, COOCH<sub>3</sub>); 3,74 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-OBz); 4,77 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,79 (s, 1H, H4); 6,87-6,95 (m, 3H, H2, H4 und H6 des N-Bz); 7,31 („t“,  $^3J = 7,8 \text{ Hz}$ , 1H, H5 des N-Bz); 7,35 (s, 1H, H2 des Ph); 7,39-7,45 (m, 2H, H5 und H6 des Ph); 7,46-7,50 (m, 1H, H4 des Ph), 7,54 (s, 2H,

H2 und H6)

## (11) Dimethyl 1-(3,4-dimethoxybenzyl)-4-(3-(trifluormethyl)phenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat



Verbindung Nr.: 11

Summenformel:  $C_{25}H_{24}F_3NO_6$ 

Molare Masse: 491,16 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 11 wurde nach AAV1 aus 3-Trifluormethylbenzaldehyd, Methylpropiolat und 3,4-Dimethoxybenzylamin hergestellt, säulenchromatografisch mit Laufmittel 5 als Elutionsmittel aufgereinigt und mit Methanol zu einem gelben Feststoff umkristallisiert.

Ausbeute: 24,40 %

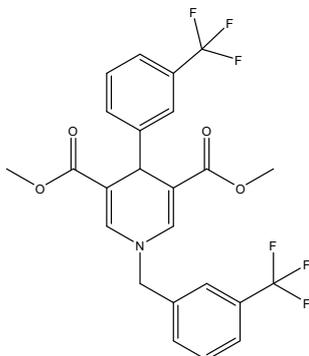
 $R_f$ -Wert: 0,512 (Laufmittel 1)

Schmelzbereich: 131,9 - 133,1 °C

Reinheit(2): 96,37 % ( $t_R = 3,38$  min; Methanol:Wasser; 7:3)MS (ESI):  $m/z$  (%) = 514,63 (57,  $[M + Na^+]^+$ ); 1004,71 (34,  $[2M + Na^+]^+$ )HRMS ( $m/z$  (%)): gefunden für  $[M + H^+]^+$ : 492,1626 (100), berechnet für  $[C_{25}H_{25}F_3NO_6]^+$ : 492,1628

$^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$ (ppm, 400 MHz, DMSO- $D_6$ ) = 3,53 (s, 6H,  $\text{COOCH}_3$ ); 3,73 (s, 3H, 3- $\text{CH}_3\text{-OBz}$ ); 3,74 (s, 3H, 4- $\text{CH}_3\text{-OBz}$ ); 4,70 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 4,79 (s, 1H, H4); 6,88 (dd,  $^3J_{6/5} = 8,2$  Hz,  $^4J_{6/2} = 2,0$  Hz, 1H, H6 des N-Bz); 6,95 (d,  $^3J_{5/6} = 8,2$  Hz, 1H, H5 des N-Benzyl); 7,00 (d,  $^4J_{2/6} = 2,0$  Hz, 1H, H2 des N-Bz); 7,35 (s, 1H, H2 des Ph); 7,37-7,44 (m, 2H, H4 und H6 des Ph); 7,43-7,51 (m, 1H, H5 des Ph); 7,53 (s, 2H, H2 und H6)

## (12) Dimethyl 1-(3-(trifluormethyl)benzyl)-4-(3-(trifluormethyl)phenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat



Verbindung Nr.: 12

Summenformel:  $C_{24}H_{19}F_6NO_4$ 

Molare Masse: 499,12 g/mol

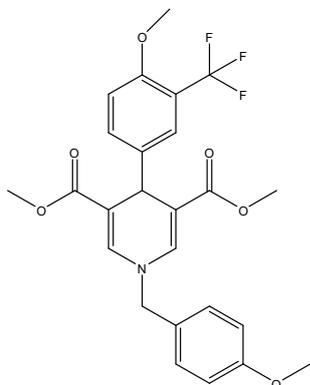
**Darstellung:** Verbindung 12 wurde nach AAV1 aus 3-Trifluormethylbenzaldehyd, Methylpropiolat und 3-Trifluormethylbenzylamin hergestellt und als hochviskose gelbe Flüssigkeit erhalten, säulenchromatografisch mit Laufmittel 5 als Elutionsmittel gereinigt und mit Methanol unter Kühlung als gelbes, kristallines Pulver ausgefällt.

**Ausbeute:** 15,40 %**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,623 (Laufmittel 1)**Schmelzbereich:** 99,0 - 100,6 °C**Reinheit(1):** 98,69 % ( $t_R = 14,26$  min)**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 1020,81 (100,  $[2M + Na^+]^+$ ); 522,48 (32,  $[M + Na^+]^+$ )

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für  $[M - H^+]^-$ : 498,1136 (100), berechnet für  $[C_{24}H_{18}F_6NO_4]^-$ : 498,1135; gefunden für  $[M + H^+]^+$ : 500,1288 (86), berechnet für  $[C_{24}H_{20}F_6NO_4]^+$ : 500,1291

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$ (ppm, 400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 3,54 (s, 6H, COOCH<sub>3</sub>); 4,80 (s, 1H, H4); 4,92 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 7,29 (s, 1H, H2 des Ph); 7,37-7,44 (m, 2H, H4 des N-Bz und H4 des Ph); 7,46-7,50 (m, 1H, H5 des N-Ph); 7,62 (s, 2H, H2 und H6); 7,63-7,68 (m, 2H, H6 des N-Bz und H6 des Ph); 7,68-7,73 (m, 1H, H4 des N-Bz); 7,76 (s, 1H, H2 des N-Bz)

## (13) Dimethyl 1-(4-methoxybenzyl)-4-(4-methoxy-3-(trifluormethyl)-phenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat



Verbindung Nr.: 13

Summenformel:  $C_{25}H_{24}F_3NO_6$ 

Molare Masse: 491,16 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 13 wurde nach AAV1 aus 4-Methoxy-3-(trifluormethyl)-benzaldehyd, Methylpropiolat und 4-Methoxybenzylamin hergestellt und als hochviskose gelbe Flüssigkeit erhalten, säulenchromatografisch mit Laufmittel 5 als Elutionsmittel gereinigt und mit einer Mischung aus Ether Chloroform und Petroleumbenzin (1:1:5) unter Kühlung als weißgelbe, kristalline Nadeln ausgefällt.

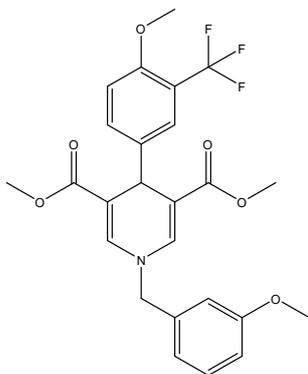
**Ausbeute:** 41,01 %**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,487 (Laufmittel 1)**Schmelzbereich:** 152,5 - 153,3 °C**Reinheit(2):** 95,12 % ( $t_R = 4,29$  min; Methanol:Wasser; 7:3)**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 514,76 (100,  $[M + Na^+]^+$ )

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für  $[M + H^+]^+$ : 492,1623 (100), berechnet für  $[C_{25}H_{25}F_3NO_6]^+$ : 492,1628; gefunden für  $[M + Na^+]^+$ : 514,1447 (52), berechnet für  $[C_{25}H_{24}F_3NO_6Na]^+$ : 514,1448

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$ (ppm, 400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 3,53 (s, 6H, COOCH<sub>3</sub>); 3,74 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>-OPh); 3,81 (s, 3H, 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 4,68 (s, 1H, H4); 4,71 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 6,94 (dd,  $^3J_{3/2} = ^3J_{5/6} = 6,5$  Hz,  $^4J_{3/5} = 2,0$  Hz, 2H, H3 und H5 des N-Bz); 7,07 (d,

$^3J_{5/6} = 8,7$  Hz, 1H, H5 des Ph); 7,22 (d,  $^4J_{2/6} = 2,3$  Hz, 1H, H2 des Ph); 7,28 (dd,  $^3J_{2/3} = ^3J_{6/5} = 6,5$  Hz,  $^4J_{2/6} = 2,0$  Hz, 2H, H2 und H6 des N-Bz); 7,32 (dd,  $^3J_{6/5} = 8,7$  Hz,  $^4J_{6/2} = 2,2$  Hz, 1H, H6 des Ph); 7,49 (s, 2H, H2 und H6)

(14) **Dimethyl 1-(3-methoxybenzyl)-4-(methoxy-3-(trifluormethyl)-phenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat**



Verbindung Nr.: 14

Summenformel:  $C_{25}H_{24}F_3NO_6$

Molare Masse: 491,16 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 14 wurde nach AAV1 aus 4-Methoxy-3-(trifluormethyl)-benzaldehyd, Methylpropiolat und 3-Methoxybenzylamin hergestellt und mit Methanol zu einem weißgelben Feststoff umkristallisiert.

**Ausbeute:** 45,21 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,612 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 142,4 - 143,7 °C

**Reinheit(1):** 97,77 % ( $t_R = 11,99$  min)

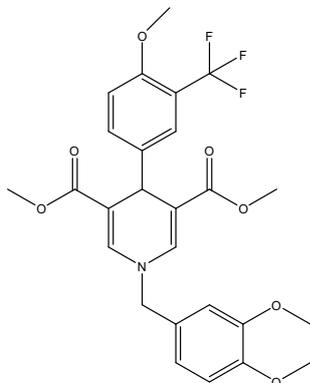
**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 1004,83 (100,  $[2M + Na^+]^+$ ); 514,79 (80,  $[M + Na^+]^+$ )

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für  $[M - H^+]^-$ : 490,1470 (100), berechnet für  $[C_{25}H_{23}F_3NO_6]^-$ : 490,1472; gefunden für  $[M + H^+]^+$ : 492,1630 (74), berechnet für  $[C_{25}H_{25}F_3NO_6]^+$ : 492,1628

**$^1H$ -NMR:**  $\delta$ (ppm, 400 MHz, DMSO- $D_6$ ) = 3,54 (s, 6H,  $COOCH_3$ ); 3,74 (s, 3H, 3- $CH_3$ -OBz); 3,82 (s, 3H, 4- $CH_3$ -OPh); 4,71 (s, 1H, H4); 4,76 (s, 2H,  $CH_2$ ); 6,85-6,95 (m, 3H, H2, H4 und H6 des N-Bz); 7,08 (d,  $^3J_{5/6} = 8,6$  Hz, 1H, H5 des Ph); 7,26 (d,  $^4J_{2/6} = 2,3$  Hz, 1H, H2 des Ph); 7,28-7,33 (m, 1H, H5 des N-

Bz); 7,35 (dd,  $^3J_{6/5} = 8,6$  Hz,  $^4J_{6/2} = 2,3$  Hz, 1H, H6 des Ph); 7,50 (s, 2H, H2 und H6)

(15) **Dimethyl 1-(3,4-dimethoxybenzyl)-4-(4-methoxy-3-(trifluormethyl)phenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat**



Verbindung Nr.: 15

Summenformel:  $C_{26}H_{26}F_3NO_7$

Molare Masse: 521,17 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 15 wurde nach AAV1 aus 4-Methoxy-3-(trifluormethyl)-benzaldehyd, Methylpropiolat und 3,4-Dimethoxybenzylamin hergestellt und als gelber, amorpher Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 31,90 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,441 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 141,8 - 143,1 °C

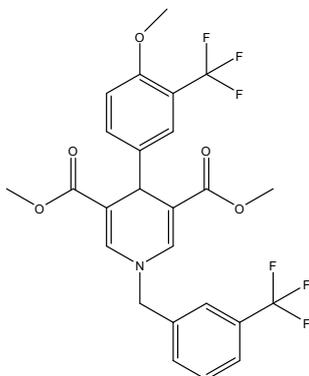
**Reinheit(1):** 95,29 % ( $t_R = 11,35$  min)

**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 1064,86 (100,  $[2M + Na^+]^+$ ); 544,54 (81,  $[M + Na^+]^+$ )

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für  $[M + H^+]^+$ : 522,1733 (100), berechnet für  $[C_{26}H_{27}F_3NO_7]^+$ : 522,1734; gefunden für  $[M + Na^+]^+$ : 544,1555 (50), berechnet für  $[C_{26}H_{26}F_3NO_7Na]^+$ : 544,1554

**$^1H$ -NMR:**  $\delta$ (ppm, 500 MHz, Aceton-D<sub>6</sub>) = 3,54 (s, 6H, COOCH<sub>3</sub>); 3,82 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>-OPh); 3,83 (s, 3H, 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,88 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz); 4,77 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,86 (s, 1H, H4); 6,96-7,01 (m, 2H, H5 und H6 des N-Bz); 7,04 (d,  $^3J_{5/6} = 8,5$  Hz, 1H, H5 des Ph); 7,07 (d,  $J = 1,8$  Hz, 1H, H2 des Bz); 7,43 (dd,  $^3J_{6/5} = 8,5$  Hz,  $^4J_{2/6} = 2,3$  Hz, 1H, H6 und H2 des Ph); 7,47 (s, 2H, H2 und H6)

(16) Dimethyl 4-(4-methoxy-3-(trifluormethyl)phenyl)-1-(3-(trifluormethyl)benzyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat



Verbindung Nr.: 16

Summenformel:  $C_{25}H_{21}F_6NO_5$

Molare Masse: 529,13 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 16 wurde nach AAV1 aus 4-Methoxy-3-(trifluormethyl)benzaldehyd, Methylpropiolat und 3-Methoxybenzylamin hergestellt und säulenchromatografisch mit Laufmittel 4 als Elutionsmittel gereinigt. Der erhaltene gelbe Film wurde mit Methanol zu einem hellgelben Niederschlag umkristallisiert.

**Ausbeute:** 48,70 %

**$R_f$ -Wert:** 0,533 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 154,7 - 155,6 °C

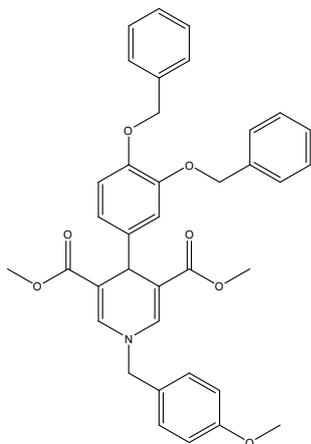
**Reinheit(2):** 99,53 % ( $t_R$  = 6,48 min; Methanol:Wasser; 7:3)

**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 552,54 (100,  $[M + Na^+]^+$ ); 1080,63 (36,  $[2M + Na^+]^+$ )

**HRMS ( $m/z$  (%)):** gefunden für  $[M - H^+]^-$ : 528,1242 (100), berechnet für  $[C_{25}H_{20}F_6NO_5]^-$ : 528,1241; gefunden für  $[M + H^+]^+$ : 530,1388 (50), berechnet für  $[C_{25}H_{22}F_6NO_5]^+$ : 530,1397

**$^1H$ -NMR:**  $\delta$ (ppm, 500 MHz, DMSO-D6) = 3,54 (s, 6H, COOCH<sub>3</sub>); 3,81 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>-OPh); 4,71 (s, 1H, H4); 4,90 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 7,06 (d,  $^3J_{5/6}$  = 8,7 Hz, 1H, H5 des Ph); 7,18 (d,  $^4J_{2/6}$  = 2,3 Hz, 1H, H2 des Ph); 7,34 (dd,  $^3J_{6/5}$  = 8,7 Hz,  $^4J_{6/2}$  = 2,3 Hz, 1H, H6 des Ph); 7,58 (s, 2H, H2 und H6); 7,62-7,68 (m, 2H, H4 und H5 des N-Bz); 7,70-7,77 (m, 2H, H2 und H6 des N-Bz)

## (17) Dimethyl 4-(3,4-dibenzyloxyphenyl)-1-(4-methoxybenzyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat



Verbindung Nr.: 17

Summenformel:  $C_{37}H_{35}NO_7$ 

Molare Masse: 605,24 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 17 wurde nach AAV1 aus 3,4-Dibenzyloxybenzaldehyd, Methylpropiolat und 4-Methoxybenzylamin hergestellt und säulenchromatografisch mit Laufmittel 1 als Elutionsmittel gereinigt. Der erhaltene gelbe Film wurde mit Methanol zu einem weißgelben Niederschlag umkristallisiert.

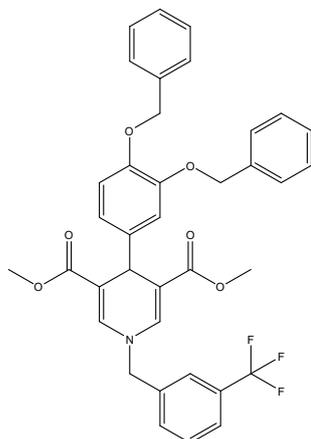
**Ausbeute:** 13,75 %**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,558 (Laufmittel 1)**Schmelzbereich:** 120,3 - 121,8 °C**Reinheit(1):** 97,597 % ( $t_R = 13,82$  min)**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 628,66 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für [M - H<sup>+</sup>]<sup>-</sup>: 604,2336 (100), berechnet für [C<sub>37</sub>H<sub>34</sub>NO<sub>7</sub>]<sup>-</sup>: 604,2330

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, Aceton-D<sub>6</sub>) = 3,56 (s, 6H, COOCH<sub>3</sub>); 3,73 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-OBz); 4,76 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,79 (s, 1H, H4); 4,98 (s, 2H, 3-O-CH<sub>2</sub>-Ph); 5,07 (s, 2H, 4-O-CH<sub>2</sub>-Ph); 6,78 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 8,3 Hz, <sup>4</sup>J<sub>6/2</sub> = 2,1 Hz, 1H, H6 des Ph); 6,88 (d, <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 8,3 Hz, 1H, H5 des Ph); 6,93 (d, <sup>4</sup>J<sub>2/6</sub> = 2,1 Hz, 1H, H2 des Ph); 6,95 (dd, <sup>3</sup>J<sub>3/2</sub> = <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 8,7 Hz, <sup>4</sup>J<sub>3/5</sub> = <sup>4</sup>J<sub>5/3</sub> = 2,2 Hz, 2H, H3 und H5 des N-Bz); 7,28-7,32 (m, 1H, H4 des 3-O-Bz); 7,32-7,34 (m, 1H, H4

4-O-Bz); 7,34-7,36 (m, 2H, H3 und H5 des 4-O-Bz), 7,36-7,38 (m, 2H, H3 und H5 des 3-O-Bz); 7,38-7,41 (m, 2H, H2 und H6 des N-Bz); 7,42 (s, 2H, H2 und H6); 7,45-7,46 (m, 2H, H2 und H6 des 4-O-Bz); 7,47-7,48 (m, 2H, H2 und H6 des 3-O-Bz)

(18) **Dimethyl 4-(3,4-dibenzyloxyphenyl)-1-(3-(trifluormethyl)-benzyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat**



**Verbindung Nr.:** 18

**Summenformel:**  $C_{37}H_{32}F_3NO_6$

**Molare Masse:** 643,22 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 18 wurde nach AAV1 aus 3,4-Dibenzyloxybenzaldehyd, Methylpropiolat und (Trifluormethyl)benzylamin hergestellt und säulenchromatografisch mit Laufmittel 5 als Elutionsmittel gereinigt. Der erhaltene gelbe Film wurde mit Methanol zu einem gelben Niederschlag umkristallisiert.

**Ausbeute:** 6,30 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,432 (Laufmittel 3)

**Schmelzbereich:** 97,2 - 98,0 °C

**Reinheit(1):** 98,934 % ( $t_R = 14,20$  min)

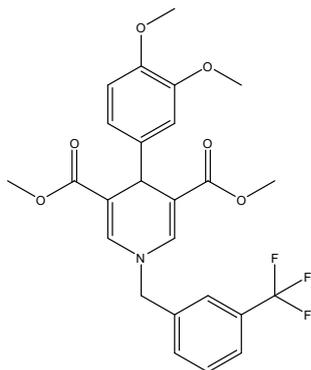
**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 666,71 (100,  $[M + Na^+]^+$ )

**HRMS ( $m/z$  (%)):** gefunden für  $[M - H^+]^-$ : 642,2108 (100), berechnet für  $[C_{37}H_{31}F_3NO_6]^-$ : 642,2098

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$ (ppm, 400 MHz, Aceton-D<sub>6</sub>) = 3,57 (s, 6H, COOCH<sub>3</sub>); 4,81 (s, 1H, H4); 4,99 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 5,02 (s, 2H, 3-O-CH<sub>2</sub>-Ph); 5,08 (s, 2H, 4-O-CH<sub>2</sub>-Ph); 6,76

(dd,  $^3J_{6/5} = 8,3$  Hz,  $^4J_{6/2} = 2,1$  Hz, 1H, H6 des Ph); 6,88 (d,  $^3J_{5/6} = 8,3$  Hz, 1H, H5 des Ph); 6,99 (d,  $^4J_{2/6} = 2,1$  Hz, 1H, H2 des Ph); 7,25-7,41 (m, 6H, H3, H4 und H5 des 4-O-Bz, H4 und H5 des 3-O-Bz und H6 des N-Bz); 7,44-7,49 (m, 4H, H2 und H6 des 4-O-Bz und H3 und H6 des 3-O-Bz); 7,42 (s, 2H, H2 und H6); 7,62-7,78 (m, 4H, H2 des 3-O-Bz und H2, H4 und H5 des N-Bz)

(19) **Dimethyl 4-(3,4-dimethoxyphenyl)-1-(3-(trifluormethyl)benzyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat**



**Verbindung Nr.:** 19

**Summenformel:**  $C_{25}H_{24}F_3NO_6$

**Molare Masse:** 491,16 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 19 wurde nach AAV1 aus 3,4-Dimethoxybenzaldehyd, Methylpropiolat und 3-(Trifluormethyl)benzylamin hergestellt und mit Methanol zu einem weißgelben Feststoff umkristallisiert.

**Ausbeute:** 55,34 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,531 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 161,3 - 162,4 °C

**Reinheit(2):** 96,79 % ( $t_R = 3,04$  min; Methanol:Wasser; 7:3)

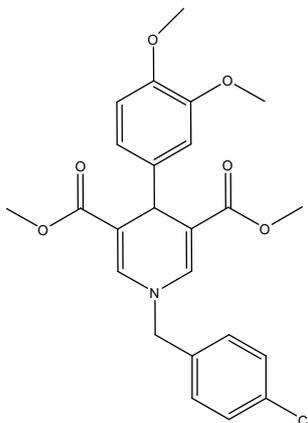
**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 514,12 (91, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>: 492,1631 (100), berechnet für [C<sub>25</sub>H<sub>25</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>6</sub>]<sup>+</sup>: 492,1628

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$ (ppm, 400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 3,50 (s, 3H, 3-CH<sub>3</sub>-OPh); 3,55 (s, 6H, COOCH<sub>3</sub>); 3,66 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>-OPh); 4,64 (s, 1H, H4); 4,89 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 6,58 (dd,  $^3J_{6/5} = 8,2$  Hz,  $^4J_{6/2} = 2,0$  Hz, 1H, H6 des Ph); 6,60 (d,  $^4J_{2/6} = 2,0$  Hz, 1H,

H2 des Ph); 6,71 (d,  $^3J_{5/6} = 8,2$  Hz, 1H, H5 des Ph); 7,54 (s, 2H, H2 und H6); 7,62-7,73 (m, 3H, H2, H4 und H6 des N-Bz); 7,77 („t“,  $J = 1,6$  Hz, 1H, H5 des N-Bz)

(20) **Dimethyl 1-(4-chlorbenzyl)-4-(3,4-dimethoxyphenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat**



**Verbindung Nr.:** 20

**Summenformel:**  $C_{24}H_{24}ClNO_6$

**Molare Masse:** 457,13 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 20 wurde nach AAV1 aus 3,4-Dimethoxybenzaldehyd, Methylpropiolat und 4-Chlorbenzylamin hergestellt und mit Methanol zu einem gelben Feststoff umkristallisiert.

**Ausbeute:** 41,86 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,510 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 144,8 - 146,3 °C

**Reinheit(1):** 95,99 % ( $t_R = 11,24$  min)

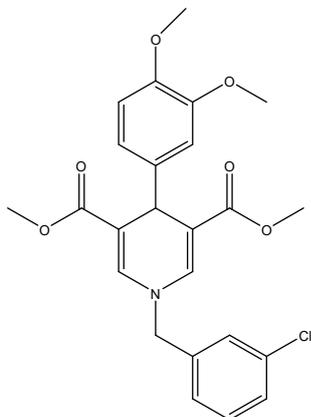
**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 937,09 (100,  $[2M + Na^+]^+$ ); 481,08 (55,  $[M + Na^+]^+$ )

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für  $[M + Na^+]^+$ : 480,1184 (98), berechnet für  $[C_{24}H_{24}ClNO_6Na]^+$ : 480,1184; gefunden für  $[2M + Na^+]^+$ : 937,2485 (42), berechnet für  $[C_{48}H_{48}Cl_2N_2O_{12}Na]^+$ : 937,2477

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$ (ppm, 400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 3,52 (s, 3H, 3-CH<sub>3</sub>-OPh); 3,54 (s, 6H, COOCH<sub>3</sub>); 3,67 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>-OPh); 4,63 (s, 1H, H4); 4,78 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 6,57-6,60 (m, 2H, H2 und H6 des Ph); 6,75 (d,  $^3J_{5/6} = 8,9$  Hz, 1H, H5 des Ph); 7,39 (dd,  $^3J_{3/2} = ^3J_{5/6} = 6,5$  Hz,  $^4J_{3/5} = ^4J_{5/3} = 2,1$  Hz, 2H, H3 und H5 des N-Bz); 7,47

(dd,  ${}^3J_{2/3} = {}^3J_{6/5} = 6,5$  Hz,  ${}^4J_{2/6} = {}^4J_{6/2} = 2,1$  Hz, 2H, H2 und H6 des N-Bz); 7,49 (s, 2H, H2 und H6)

(21) **Dimethyl 1-(3-chlorbenzyl)-4-(3,4-dimethoxyphenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat**



Verbindung Nr.: 21

Summenformel:  $C_{24}H_{24}ClNO_6$

Molare Masse: 457,13 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 21 wurde nach AAV1 aus 3,4-Dimethoxybenzaldehyd, Methylpropiolat und 3-Chlorbenzylamin hergestellt und mit Methanol zu einem gelben Feststoff umkristallisiert.

**Ausbeute:** 46,51 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,510 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 203,4 - 204,2 °C

**Reinheit(1):** 95,11 % ( $t_R = 11,19$  min)

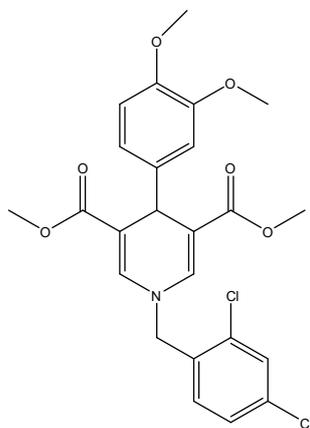
**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 936,95 (100,  $[2M + Na^+]^+$ ); 480,90 (90,  $[M + Na^+]^+$ )

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für  $[M + Na^+]^+$ : 480,1184 (100), berechnet für  $[C_{24}H_{24}ClNO_6Na]^+$ : 480,1184; gefunden für  $[M - H^+]^-$ : 456,1209 (78), berechnet für  $[C_{24}H_{23}ClNO_6]^-$ : 456,1208

**${}^1H$ -NMR:**  $\delta$ (ppm, 500 MHz,  $CDCl_3$ ) = 3,64 (s, 6H,  $COOCH_3$ ); 3,79 (s, 3H, 3- $CH_3$ -OPh); 3,82 (s, 3H, 4- $CH_3$ -OPh); 4,54 (s, 2H,  $CH_2$ ); 4,87 (s, 1H, H4); 6,74 (d,  ${}^3J_{5/6} = 8,3$  Hz, 1H, H5 des Ph); 6,80 (dd,  ${}^3J_{6/5} = 8,3$  Hz,  ${}^4J_{6/2} = 2,0$  Hz, 1H, H6 des Ph); 6,85 (d,  ${}^4J_{2/6} = 2,0$  Hz, 1H, H2 des Ph); 7,13-7,19 (m, 1H, H6 des N-Bz);

7,24 (s, 2H, H2 und H6); 7,27 (s, 1H, H2 des N-Bz); 7,32-7,37 (m, 2H, H4 und H5 des N-Bz)

(22) **Dimethyl 1-(2,4-dichlorbenzyl)-4-(3,4-dimethoxyphenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat**



**Verbindung Nr.:** 22

**Summenformel:**  $C_{24}H_{23}Cl_2NO_6$

**Molare Masse:** 491,09 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 22 wurde nach AAV1 aus 3,4-Dimethoxybenzaldehyd, Methylpropiolat und 2,4-Dichlorbenzylamin hergestellt und mit Methanol zu einem weißgelben Feststoff umkristallisiert.

**Ausbeute:** 61,41 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,571 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 181,4 - 182,2 °C

**Reinheit(1):** 95,41 % ( $t_R = 11,80$  min)

**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 514,67 (100,  $[M + Na^+]^+$ )

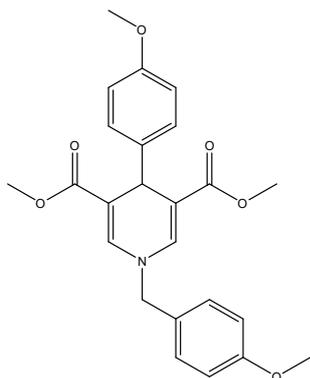
**HRMS (m/z (%)):** gefunden für  $[M - H^+]^-$ : 490,0820 (100), berechnet für  $[C_{24}H_{22}Cl_2NO_6]^-$ : 490,0819; gefunden für  $[2M + Na^+]^+$ : 1005,1703 (90), berechnet für  $[C_{48}H_{46}Cl_4N_2O_{12}Na]^+$ : 1005,1697

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$ (ppm, 400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 3,54 (s, 6H, COOCH<sub>3</sub>); 3,58 (s, 3H, 3-CH<sub>3</sub>-OPh); 3,67 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>-OPh); 4,65 (s, 1H, H4); 4,88 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 6,63 (dd,  $^3J_{6/5} = 8,8$  Hz,  $^4J_{6/2} = 2,0$  Hz, 1H, H6 des Ph); 6,63 (d,  $^4J_{2/6} = 2,0$  Hz, 1H, H2 des Ph); 6,77 (d,  $^3J_{5/6} = 8,8$  Hz, 1H, H5 des Ph); 7,45 (s, 2H, H2 und H6); 7,48 (d,

$^3J_{6/5} = 8,3$  Hz, 1H, H6 des N-Bz); 7,52 (dd,  $^3J_{5/6} = 8,3$  Hz,  $^4J_{5/3} = 2,1$  Hz, 1H, H5 des N-Bz); 7,71 (d,  $^4J_{3/5} = 2,1$  Hz, 1H, H3 des N-Bz)

### 6.2.2.1 Aufgeklärte Nebenprodukte

#### (23) Dimethyl 1-(4-methoxybenzyl)-4-(4-methoxyphenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat



Verbindung Nr.: 23

Summenformel:  $C_{24}H_{25}NO_6$

Molare Masse: 423,17 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 23 entstand als Nebenprodukt bei der Synthese von Verbindung 17, wurde säulenchromatografisch mit Laufmittel 1 isoliert und als gelber, Licht durchlässiger, unter UV-Licht fluoreszierender Film erhalten. Die Verbindung entspricht Verbindung 67 aus [209] und die analytischen Daten stimmen überein.

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,519 (Laufmittel 1)

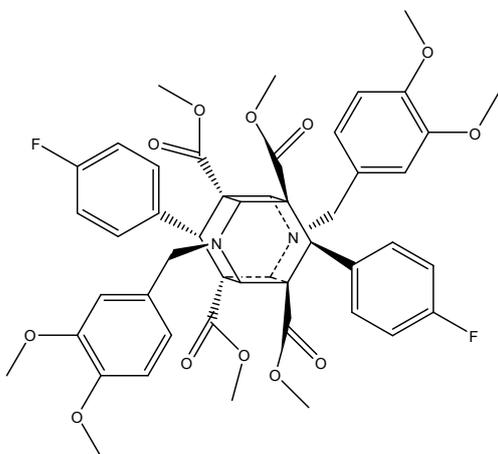
**Schmelzbereich:** 129,3 - 130,5 °C

**MS (ESI):** m/z (%) = 869,23 (100, [2M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>); 446,38 (86, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, Aceton-D<sub>6</sub>) = 3,56 (s, 6H, COOCH<sub>3</sub>); 3,72 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 4,76 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,78 (s, 1H, H4); 6,72 (dd, 2H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems, H3 und H6 des N-Bz); 7,00 (dd, 2H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems, H3 und H6 des Ph); 7,12 (dd, 2H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems, H2 und H6 des N-Bz) 7,35-7,38 (m, 2H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems, H2 und H6 des Ph) 7,40 (s, 2H, H2 und H6)

### 6.2.3 Synthese der käfigdimeren Strukturen

- (24) Tetramethyl-3,9-bis(3,4-dimethoxybenzyl)-6,12-di(4-fluorphenyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat



Verbindung Nr.: 24

Summenformel:  $C_{48}H_{48}F_2N_2O_{12}$

Molare Masse: 882,32 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 24 wurde nach AAV3 aus Verbindung 1 hergestellt und als kristalliner, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 95,68 %

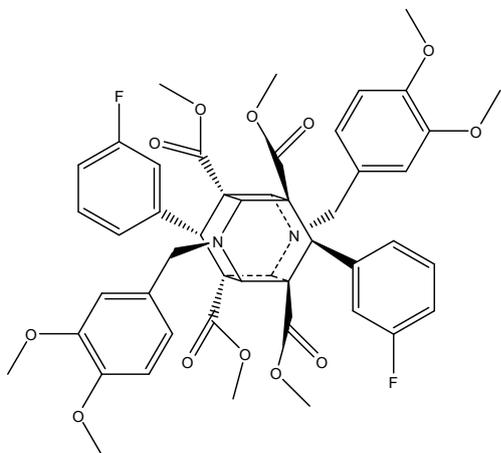
**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,500 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 219,1 - 220,8 °C

**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 905,31 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$ (ppm, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) = 3,54 (s, 12H, COOCH<sub>3</sub>); 3,64 (s, 6H, 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,88 (s, 6H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz); 4,28 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 4,28 (s, 2H, H6 und H12); 4,40 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 6,73 („d“, <sup>4</sup>J<sub>2/6</sub> = 1,6 Hz, 2H, H2 des N-Bz); 6,77-6,85 (m, 4H, H5 und H6 des N-Bz); 6,82 (dd, 4H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems, H3 und H5 des Ph); 7,11-7,21 (m, 4H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems, H2 und H6 des Ph)

- (25) Tetramethyl-3,9-bis(3,4-dimethoxybenzyl)-6,12-di(3-fluorphenyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat



Verbindung Nr.: 25

Summenformel:  $C_{48}H_{48}F_2N_2O_{12}$

Molare Masse: 882,32 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 25 wurde nach AAV3 aus Verbindung 2 hergestellt und als kristalliner, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 84,72 %

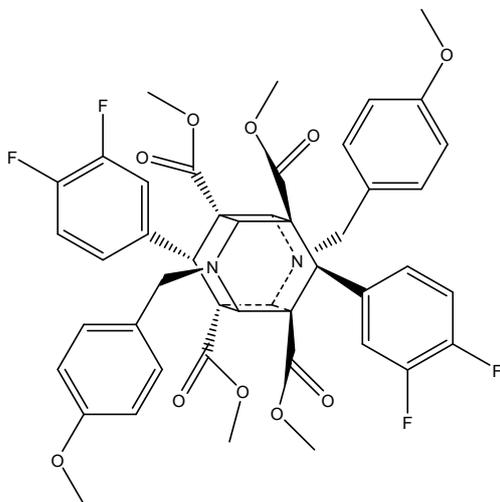
**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,452 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 250,0 - 250,3 °C

**MS (ESI):** m/z (%) = 905,34 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) = 3,55 (s, 12H, COOCH<sub>3</sub>); 3,63 (s, 6H, 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,87 (s, 6H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz); 4,28 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 4,32 (s, 2H, H6 und H12); 4,41 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 6,75 („d“, <sup>4</sup>J<sub>2/6</sub> = 1,9 Hz, 2H, H2 des N-Bz); 6,79 („d“, <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 8,2 Hz, 2H, H5 des N-Bz); 6,82-6,87 (m, 4H, H2 des Ph und H6 des N-Bz); 6,92 („dt“, <sup>3</sup>J<sub>4/5</sub> = 8,0 Hz, <sup>4</sup>J<sub>4/2</sub> = <sup>4</sup>J<sub>4/6</sub> = 1,3 Hz, 2H, H4 des Ph); 7,00-7,14 (m, 4H, H5 und H6 des Ph)

- (26) Tetramethyl-3,9-di(4-methoxybenzyl)-6,12-bis(3,4-difluorphenyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat



Verbindung Nr.: 26

Summenformel:  $C_{46}H_{42}F_4N_2O_{10}$

Molare Masse: 858,28 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 26 wurde nach AAV3 aus Verbindung 3 hergestellt und als kristalliner, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 94,80 %

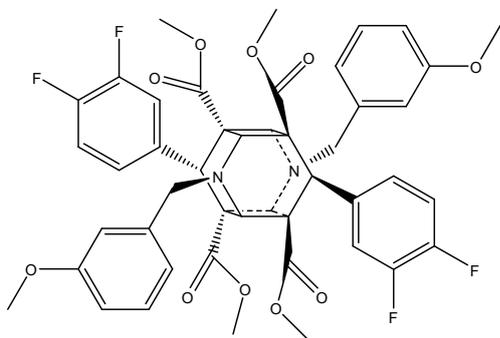
**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,692 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 218,8 - 219,9 °C

**MS (ESI):** m/z (%) = 881,27 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) = 3,58 (s, 12H, COOCH<sub>3</sub>); 3,82 (s, 6H, CH<sub>3</sub>-OBz); 4,24 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 4,24 (s, 2H, H6 und H12); 4,36 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 6,83-6,92 (m, 2H, H2 des Ph); 6,88 (dd, <sup>3</sup>J<sub>2Bz/3Bz</sub> = <sup>3</sup>J<sub>6Bz/5Bz</sub> = <sup>3</sup>J<sub>6Ph/5Ph</sub> = 6,7 Hz, <sup>4</sup>J<sub>2Bz/6Bz</sub> = <sup>4</sup>J<sub>6Bz/2Bz</sub> = <sup>4</sup>J<sub>6Ph/2Ph</sub> = 2,1 Hz, 6H, H2 und H6 des N-Bz und H6 des Ph); 7,12-7,28 (m, 2H, H2 des Ph); 7,23 (dd, <sup>3</sup>J<sub>3/2</sub> = <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 6,7 Hz, <sup>4</sup>J<sub>3/5</sub> = <sup>4</sup>J<sub>5/3</sub> = 2,1 Hz, 4H, H3 und H5 des N-Bz)

(27) Tetramethyl-3,9-di(3-methoxybenzyl)-6,12-bis(3,4-difluorphenyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat



Verbindung Nr.: 27

Summenformel:  $C_{46}H_{42}F_4N_2O_{10}$

Molare Masse: 858,28 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 27 wurde nach AAV3 aus Verbindung 4 hergestellt und als kristalliner, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 79,74 %

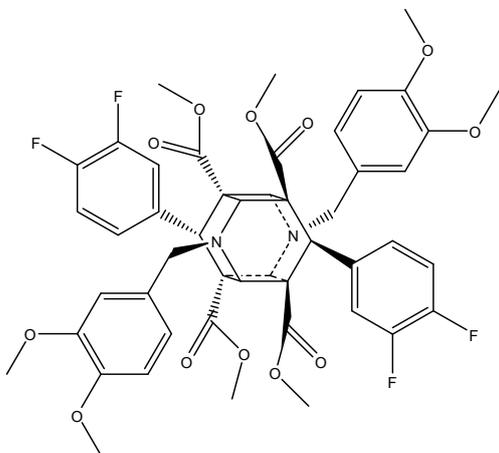
**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,652 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 217,0 - 218,2 °C

**MS (ESI):** m/z (%) = 881,75 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) = 3,58 (s, 12H, COOCH<sub>3</sub>); 3,72 (s, 6H, CH<sub>3</sub>-OBz); 4,23 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 4,27 (s, 2H, H6 und H12); 4,40 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 6,79-6,91 (m, 10H, H2 und H6 des Ph und H2, H4 und H6 des N-Bz); 7,12-7,28 (m, 2H, H5 des Ph); 7,25 („t“, <sup>3</sup>J<sub>5/4</sub> = <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 7,8 Hz, 2H, H5 des N-Bz)

- (28) Tetramethyl-3,9-bis(3,4-dimethoxybenzyl)-6,12-bis(3,4-difluorophenyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat



Verbindung Nr.: 28

Summenformel:  $C_{48}H_{46}F_4N_2O_{12}$

Molare Masse: 918,30 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 28 wurde nach AAV3 aus Verbindung 5 hergestellt und als kristalliner, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 98,23 %

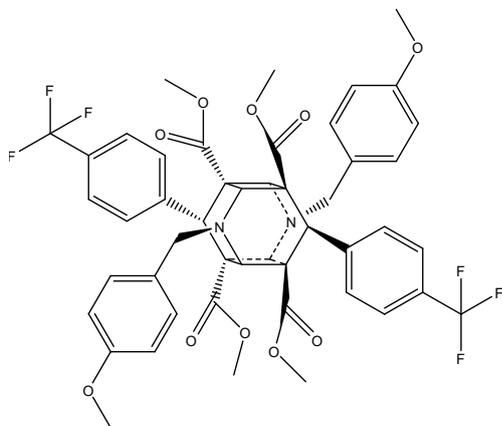
**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,528 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 217,6 - 219,1 °C

**MS (ESI):** m/z (%) = 940,98 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) = 3,56 (s, 12H, COOCH<sub>3</sub>); 3,73 (s, 6H, 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,88 (6H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz); 4,27 (s, 6H, H2, H4, H6, H8, H10 und H12); 4,38 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 6,77 („d“, <sup>4</sup>J<sub>2/6</sub> = 1,8 Hz, 2H, H2 des N-Bz), 6,79-6,96 (m, 8H, H2 und H6 des Ph und H5 und H6 des N-Bz); 7,15-7,22 (m, 2H, H5 des Ph)

(29) Tetramethyl-3,9-di(4-methoxybenzyl)-6,12-bis(4-(trifluormethyl)phenyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat



Verbindung Nr.: 29

Summenformel:  $C_{48}H_{44}F_6N_2O_{10}$

Molare Masse: 922,29 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 29 wurde nach AAV3 aus Verbindung 6 hergestellt und als kristalliner, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 99,00 %

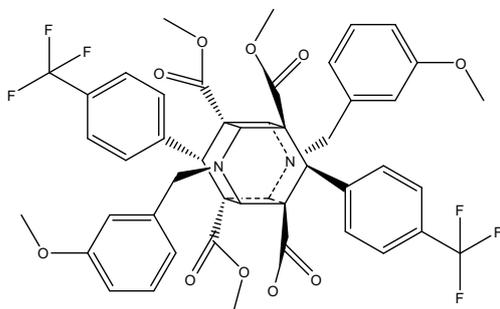
**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,672 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 235,9 - 237,4 °C

**MS (ESI):** m/z (%) = 945,12 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) = 3,57 (s, 9H, COOCH<sub>3</sub>); 3,59 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>); 3,82 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-OBz); 3,90 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-OBz); 4,28 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 4,34 (s, 2H, H6 und H12); 4,37 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 6,83-6,92 (m, 4H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems, H3 und H5 des N-Bz); 7,01 (d, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 8,7 Hz, H6 des Ph); 7,18 (d, <sup>3</sup>J = 8,6 Hz, 4H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems, H2 und H6 des N-Bz); 7,30-7,39 (m, 4H, H2 und H5 des Ph); 7,82-7,86 (m, 2H, H3 des Ph)

- (30) Tetramethyl-3,9-di(3-methoxybenzyl)-6,12-bis(4-(trifluormethyl)phenyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat



Verbindung Nr.: 30

Summenformel:  $C_{48}H_{44}F_6N_2O_{10}$

Molare Masse: 922,29 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 30 wurde nach AAV3 aus Verbindung 7 hergestellt und als kristalliner, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 72,70 %

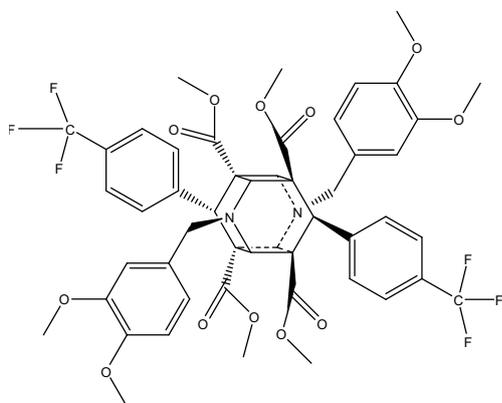
**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,641 (Laufmittel 2)

**Schmelzbereich:** 219,1 - 220,0 °C

**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 945,32 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>); 923,00 (27, [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$ (ppm, 500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) = 3,57 (s, 12H, COOCH<sub>3</sub>); 3,62 (s, 6H, CH<sub>3</sub>-OBz); 4,31 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 4,34 (s, 2H, H6 und H12); 4,42 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 6,74 („t“, <sup>4</sup>J<sub>2/4</sub> = <sup>4</sup>J<sub>2/6</sub> = 2,0 Hz, 2H, H2 des N-Bz); 6,84 (dd, <sup>3</sup>J<sub>4/5</sub> = <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 8,3 Hz, <sup>4</sup>J<sub>4/2</sub> = <sup>4</sup>J<sub>6/2</sub> = 2,0 Hz, 4H, H4 und H6 des N-Bz); 7,21-7,28 (m, 6H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems, H2 und H6 des Ph und H5 des N-Bz); 7,37 (d, <sup>3</sup>J = 8,2 Hz, BB'-Teil des AA'BB'-Systems, 4 H, H3 und H5 des Ph)

- (31) Tetramethyl-3,9-bis(3,4-dimethoxybenzyl)-6,12-di(4-(trifluormethyl)phenyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat



Verbindung Nr.: 31

Summenformel:  $C_{50}H_{48}F_6N_2O_{12}$

Molare Masse: 982,31 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 31 wurde nach AAV3 aus Verbindung 8 hergestellt und als kristalliner, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 76,53 %

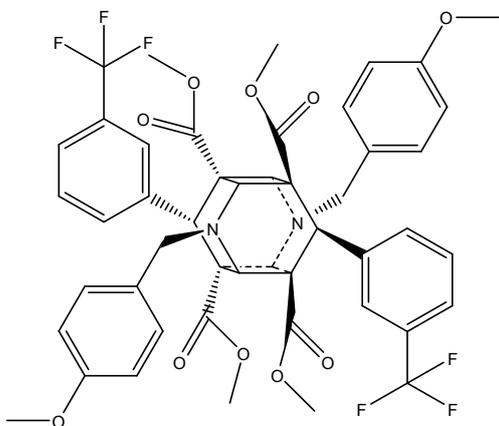
**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,583 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 235,5 - 236,2 °C

**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 1005,26 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$ (ppm, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) = 3,56 (s, 12H, COOCH<sub>3</sub>); 3,57 (s, 6H, 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,88 (s, 6H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz); 4,30 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 4,37 (s, 2H, H6 und H12); 4,40 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 6,68 (s, 2H, H2 des N-Bz); 6,80 (s, 4H, H5 und H6 des N-Bz); 7,28 (d,  $^3J_{2/3} = ^3J_{6/5} = 8,2$  Hz, 4H, H2 und H6 des Ph); 7,39 (d,  $^3J_{3/2} = ^3J_{5/6} = 8,2$  Hz, 4H, H3 und H5 des Ph)

- (32) Tetramethyl-3,9-di(4-methoxybenzyl)-6,12-bis(3-(trifluormethyl)phenyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat



Verbindung Nr.: 32

Summenformel:  $C_{48}H_{44}F_6N_2O_{10}$

Molare Masse: 922,29 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 32 wurde nach AAV3 aus Verbindung 9 hergestellt und als kristalliner, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 83,70 %

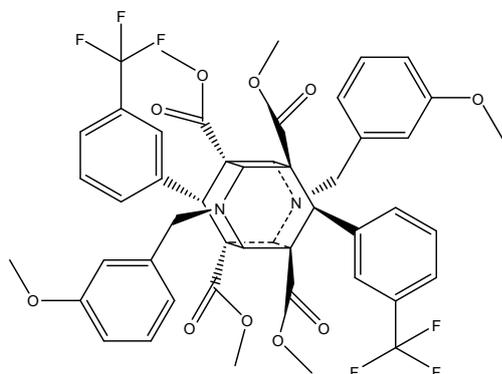
**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,666 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 209,4 - 210,8 °C

**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 945,23 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$ (ppm, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) = 3,56 (s, 12H, COOCH<sub>3</sub>); 3,81 (s, 6H, CH<sub>3</sub>-OBz); 4,28 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 4,34 (s, 2H, H6 und H12); 4,38 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 6,84 (dd, <sup>3</sup>J<sub>3/2</sub> = <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 6,5 Hz, <sup>4</sup>J<sub>3/5</sub> = <sup>4</sup>J<sub>5/3</sub> = 2,0 Hz, 4H, H3 und H5 des N-Bz); 7,19 (dd, <sup>3</sup>J<sub>2/3</sub> = <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 6,5 Hz, <sup>4</sup>J<sub>2/6</sub> = <sup>4</sup>J<sub>6/2</sub> = 2,0 Hz, 4H, H2 und H6 des N-Bz); 7,16-7,23 (m, 2H, H5 des Ph) 7,33 (d, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 8,0 Hz, 2H, H6 des Ph); 7,42 (d, <sup>3</sup>J<sub>4/5</sub> = 7,8 Hz, 2H, H4 des Ph); 7,45 (s, 2H, H2 des Ph);

(33) Tetramethyl-3,9-di(3-methoxybenzyl)-6,12-bis(3-(trifluormethyl)phenyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat



Verbindung Nr.: 33

Summenformel:  $C_{48}H_{44}F_6N_2O_{10}$

Molare Masse: 922,29 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 33 wurde nach AAV3 aus Verbindung 10 hergestellt und als kristalliner, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 58,20 %

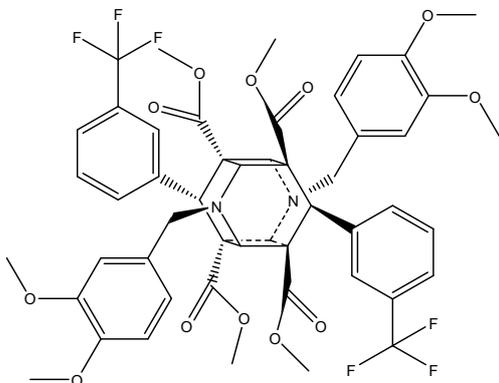
**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,641 (Laufmittel 2)

**Schmelzbereich:** 201,3 - 202,2 °C

**MS (ESI):** m/z (%) = 945,23 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>); 923,26 (21, [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) = 3,56 (s, 12H, COOCH<sub>3</sub>); 3,62 (s, 6H, CH<sub>3</sub>-OBz); 4,32 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 4,33 (s, 2H, H6 und H12); 4,43 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 6,75 („t“, <sup>4</sup>J<sub>2/4</sub> = <sup>4</sup>J<sub>2/6</sub> = 2,1 Hz, 2H, H2 des N-Bz); 6,82 (dd, <sup>3</sup>J<sub>4/5</sub> = 8,2 Hz, <sup>4</sup>J<sub>4/2</sub> = 2,2 Hz, 2H, H4 des N-Bz); 6,84 (d, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 7,4 Hz, 2H, H6 des N-Bz); 7,18-7,25 (m, 4H, H5 des N-Bz und H6 des Ph); 7,36 (d, <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = <sup>3</sup>J<sub>5/4</sub> = 8,0 Hz, 2H, H5 des Ph); 7,42 (d, <sup>3</sup>J<sub>4/5</sub> = 8,0 Hz, 4H, H4 und H2 des Ph)

- (34) Tetramethyl-3,9-bis(3,4-dimethoxybenzyl)-6,12-bis(3-(trifluormethyl)phenyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat



Verbindung Nr.: 34

Summenformel:  $C_{50}H_{48}F_6N_2O_{12}$

Molare Masse: 982,31 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 34 wurde nach AAV3 aus Verbindung 11 hergestellt und als kristalliner, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 99,28 %

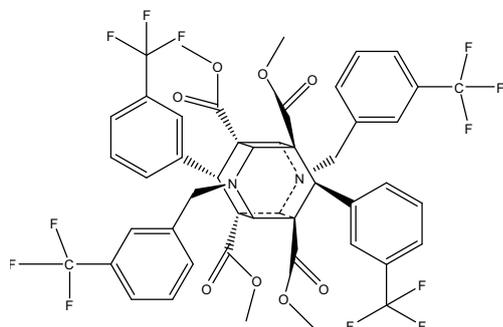
**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,520 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 220,4 - 220,8 °C

**MS (ESI):** m/z (%) = 1005,58 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) = 3,56 (s, 18H, COOCH<sub>3</sub> und 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,87 (s, 6H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz); 4,31 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 4,33 (s, 2H, H6 und H12); 4,40 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 6,64 (d, <sup>4</sup>J<sub>2/6</sub> = 1,8 Hz, 2H, H2 des N-Bz); 6,78 (d, <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 8,2 Hz, 2H, H5 des N-Bz); 6,82 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 8,2 Hz, <sup>4</sup>J<sub>6/2</sub> = 1,8 Hz, 2H, H6 des N-Bz); 7,21 („t“, <sup>3</sup>J<sub>5/4</sub> = <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 7,8 Hz, 2H, H5 des Ph); 7,34 (d, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 7,8 Hz, 2H, H6 des Ph); 7,41 (d, <sup>3</sup>J<sub>4/5</sub> = 7,8 Hz, 2H, H4 des Ph); 7,45 (s, 2H, H2 des Ph)

- (35) Tetramethyl-3,9-di(3-(trifluormethyl)benzyl)-6,12-bis(3-(trifluoromethyl)phenyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat



Verbindung Nr.: 35

Summenformel:  $C_{48}H_{38}F_{12}N_2O_8$

Molare Masse: 998,24 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 35 wurde nach AAV3 aus Verbindung 12 hergestellt und als kristalliner, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 73,67 %

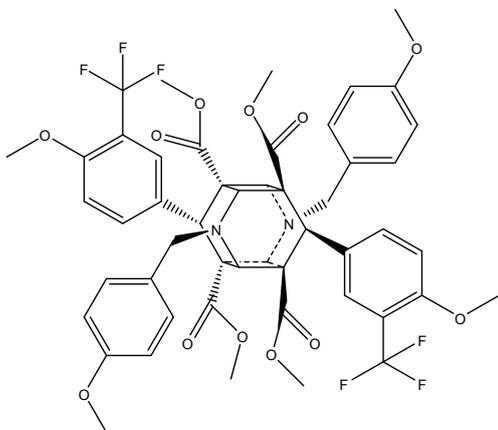
**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,771 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 229,9 - 231,7 °C

**MS (ESI):** m/z (%) = 999,29 (100, [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>); 1021,21 (63, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) = 3,55 (s, 12H, COOCH<sub>3</sub>); 4,29 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 4,35 (s, 2H, H6 und H12); 4,53 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 7,23 (d, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 7,7 Hz, 2H, H6 des Ph); 7,32 (d, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 8,0 Hz, 2H, H6 des N-Bz); 7,40-7,48 (m, 10H, H2, H4 und H5 des Ph und H2 und H5 des N-Bz); 7,51-7,56 (m, 2H, H4 des N-Bz)

- (36) Tetramethyl-3,9-di(4-methoxybenzyl)-6,12-bis(4-methoxy-3-(trifluormethyl)phenyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]-dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat



Verbindung Nr.: 36

Summenformel:  $C_{50}H_{48}F_6N_2O_{12}$

Molare Masse: 982,31 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 36 wurde nach AAV3 aus Verbindung 13 hergestellt und als kristalliner, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 65,49 %

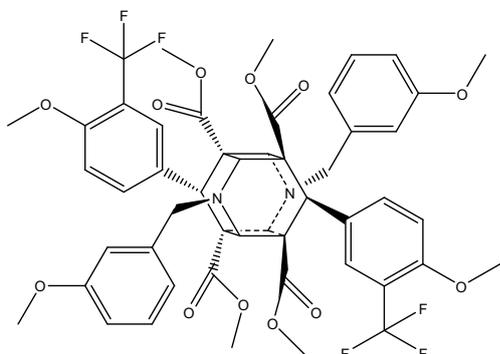
**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,646 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 226,7 - 229,2 °C

**MS (ESI):** m/z (%) = 1005,24 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) = 3,58 (s, 12H, COOCH<sub>3</sub>); 3,80 (s, 6H, 4-CH<sub>3</sub>-OPh); 3,85 (s, 6H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz); 4,24 (s, 2H, H6 und H12); 4,25 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 4,37 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 6,82-6,86 (m, 4H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems, H3 und H5 des N-Bz); 6,85-6,90 (m, 2H, H5 des Ph); 7,17-7,21 (m, 4H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems, H2 und H6 des N-Bz); 7,26 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 8,5 Hz, <sup>4</sup>J<sub>6/2</sub> = 2,4 Hz, 2H, H6 des Ph); 7,37 (d, <sup>4</sup>J<sub>2/6</sub> = 2,4 Hz, 2H, H2 des Ph)

- (37) Tetramethyl-3,9-di(3-methoxybenzyl)-6,12-bis(4-methoxy-3-(trifluormethyl)phenyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]-dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat



Verbindung Nr.: 37

Summenformel:  $C_{50}H_{48}F_6N_2O_{12}$

Molare Masse: 982,31 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 37 wurde nach AAV3 aus Verbindung 14 hergestellt und als kristalliner, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 97,41 %

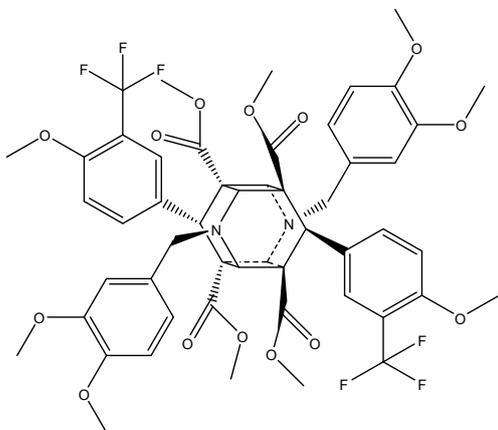
**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,640 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 233,3 - 234,8 °C

**MS (ESI):** m/z (%) = 983,80 (100, [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) = 3,59 (s, 12H, COOCH<sub>3</sub>); 3,63 (s, 6H, 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,85 (s, 6H, 4-CH<sub>3</sub>-OPh); 4,24 (s, 2H, H6 und H12); 4,28 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 4,41 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 6,69 (d, <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 8,8 Hz, H5 des Ph); 6,73-6,75 (m, 2H, H2 des N-Bz); 6,82 (ddd, <sup>3</sup>J<sub>4/5</sub> = 8,3 Hz, <sup>4</sup>J<sub>4/2</sub> = 2,7 Hz, <sup>4</sup>J<sub>4/6</sub> = 1,1 Hz, 2H, H4 des N-Bz); 6,85 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 7,4 Hz, <sup>4</sup>J<sub>6/4</sub> = 1,1 Hz, 2H, H6 des N-Bz); 7,22 („t“, <sup>3</sup>J<sub>5/4</sub> = 8,3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 7,4 Hz, 2H, H5 des N-Bz); 7,26 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 8,8 Hz, <sup>4</sup>J<sub>6/2</sub> = 2,4 Hz, 2H, H6 Ph); 7,35 (d, <sup>4</sup>J<sub>2/6</sub> = 2,4 Hz, 2H, H2 des Ph)

- (38) Tetramethyl-3,9-bis(3,4-dimethoxybenzyl)-6,12-bis(4-methoxy-3-(trifluormethyl)phenyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]-dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat



Verbindung Nr.: 38

Summenformel:  $C_{52}H_{52}F_6N_2O_{14}$

Molare Masse: 1042,33 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 38 wurde nach AAV3 aus Verbindung 15 hergestellt und als kristalliner, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 45,48 %

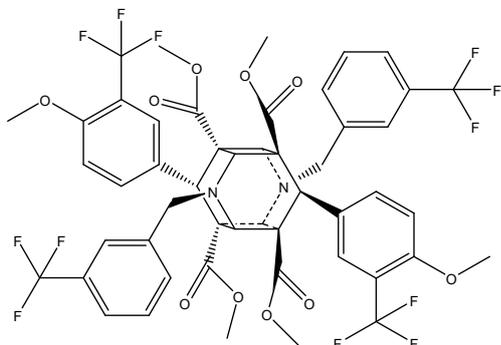
**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,446 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 254,2 - 255,3 °C

**MS (ESI):** m/z (%) = 1065,29 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) = 3,58 (s, 12H, COOCH<sub>3</sub>); 3,59 (s, 6H, 4-CH<sub>3</sub>-Oph); 3,84 (s, 6H, 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,87 (s, 6H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz); 4,26 (s, 2H, H6 und H12); 4,29 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 4,38 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 6,65 (d, <sup>4</sup>J<sub>2/6</sub> = 1,7 Hz, 2H, H2 des N-Bz); 6,68 (d, <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 8,7 Hz, 2H, H5 des Ph); 6,79 (d, <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 8,2 Hz, 2H, H5 des N-Bz); 6,82 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 8,2 Hz, <sup>4</sup>J<sub>6/2</sub> = 1,7 Hz, 2H, H6 des N-Bz); 7,24 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 8,7 Hz, <sup>4</sup>J<sub>6/2</sub> = 2,2 Hz, 2H, H6 des Ph); 7,39 (d, <sup>4</sup>J<sub>2/6</sub> = 2,2 Hz, 2H, H2 des Ph)

- (39) Tetramethyl-3,9-bis(3-(trifluormethyl)benzyl)-6,12-bis(4-methoxy-3-(trifluormethyl)phenyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]-dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat



Verbindung Nr.: 39

Summenformel:  $C_{50}H_{42}F_{12}N_2O_{10}$

Molare Masse: 1058,26 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 39 wurde nach AAV3 aus Verbindung 16 hergestellt und als kristalliner, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 52,70 %

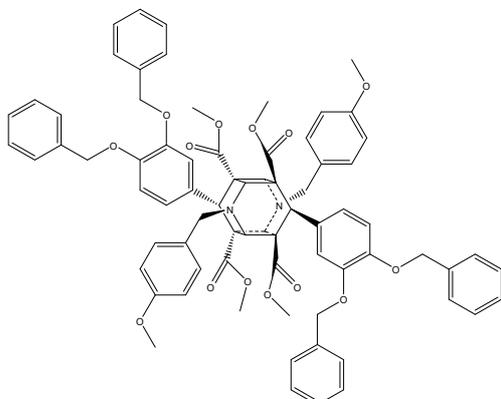
**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,675 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 236,2 - 237,5 °C

**MS (ESI):** m/z (%) = 1059,26 (100, [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) = 3,57 (s, 12H, COOCH<sub>3</sub>); 3,85 (s, 6H, 4-CH<sub>3</sub>-OPh); 4,26 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 4,27 (s, 2H, H6 und H12); 4,51 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 6,73 (d, <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 8,8 Hz, 2H, H5 des Ph); 7,28 (d, <sup>4</sup>J<sub>2/6</sub> = 2,4 Hz, 2H, H2 des Ph); 7,36 (d, <sup>4</sup>J<sub>6/2</sub> = 2,4 Hz, 2H, H6 des Ph); 7,40-7,47 (m, 4H, H5 und H6 des N-Bz); 7,48 (s, 2H, H2 des N-Bz); 7,55 (d, <sup>3</sup>J<sub>4/5</sub> = 7,2 Hz, 2H, H4 des N-Bz)

- (40) Tetramethyl-3,9-di(4-methoxybenzyl)-6,12-bis(3,4-dibenzyloxyphenyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat



Verbindung Nr.: 40

Summenformel:  $C_{74}H_{70}N_2O_{14}$

Molare Masse: 1210,48 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 40 wurde nach AAV3 aus Verbindung 17 hergestellt und als kristalliner, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 37,60 %

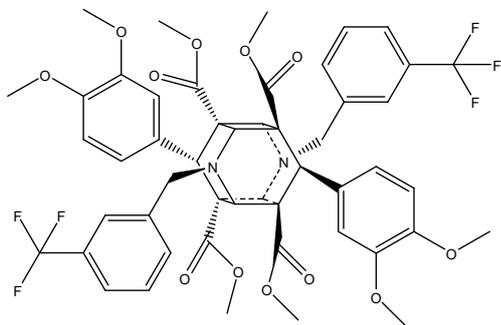
**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,652 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 220,5 - 221,9 °C

**MS (ESI):** m/z (%) = 1233,33 (52, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) = 3,51 (s, 12H, COOCH<sub>3</sub>); 3,72 (s, 6H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz); 4,19 (s, 2H, H6 und H12); 4,22 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 4,34 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 4,90 (s, 4H, O-CH<sub>2</sub>-Ph); 5,08 (s, 4H, O-CH<sub>2</sub>-Ph); 6,68 (d, <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 8,4 Hz, 2H, H5 des Ph); 6,71 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 8,4 Hz, <sup>4</sup>J<sub>6/2</sub> = 2,0 Hz, 2H, H6 des Ph); 6,74-6,80 (m, 4H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems, H3 und H5 des N-Bz); 6,85 (d, <sup>4</sup>J<sub>2/6</sub> = 2,0 Hz, 2H, H2 des Ph); 7,14-7,20 (m, 4H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems, H2 und H6 des N-Bz); 7,20-7,47 (m, 20H, 3-O-Bz und 4-O-Bz)

- (41) **Tetramethyl-3,9-bis(3-(trifluormethyl)benzyl)-6,12-bis(3,4-dimethoxyphenyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat**



**Verbindung Nr.:** 41

**Summenformel:**  $C_{50}H_{48}F_6N_2O_{12}$

**Molare Masse:** 982,31 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 41 wurde nach AAV3 aus Verbindung 19 hergestellt und als kristalliner, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 87,67 %

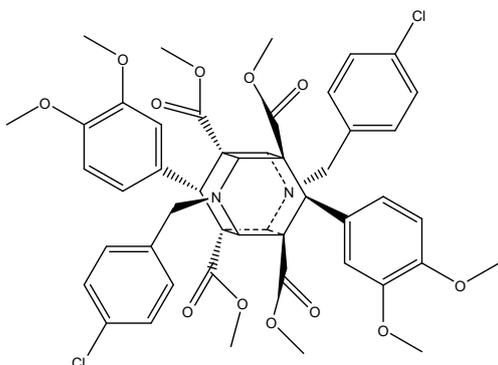
**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,528 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 233,7 - 234,3 °C

**MS (ESI):** m/z (%) = 1004,92 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) = 3,56 (s, 12H, COOCH<sub>3</sub>); 3,70 (s, 6H, 3-CH<sub>3</sub>-OPh); 3,85 (s, 6H, 4-CH<sub>3</sub>-OPh); 4,22 (s, 2H, H6 und H12); 4,26 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 4,55 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 6,62 (d, <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 8,4 Hz, 2H, H5 des Ph); 6,66 (d, <sup>4</sup>J<sub>2/6</sub> = 2,2 Hz, 2H, H2 des Ph); 6,71 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 8,4 Hz, <sup>4</sup>J<sub>6/2</sub> = 2,2 Hz, 2H, H6 des Ph); 7,36-7,47 (m, 4H, H5 und H6 des N-Bz); 7,48-7,56 (m, 4H, H2 und H4 des N-Bz)

- (42) Tetramethyl-3,9-di(4-chlorbenzyl)-6,12-bis(3,4-dimethoxyphenyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat



Verbindung Nr.: 42

Summenformel:  $C_{48}H_{48}Cl_2N_2O_{12}$

Molare Masse: 914,26 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 42 wurde nach AAV3 aus Verbindung 20 hergestellt und als kristalliner, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 70,37 %

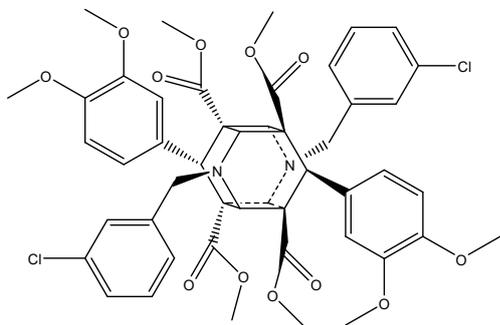
**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,536 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 234,8 - 236,3 °C

**MS (ESI):** m/z (%) = 936,88 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) = 3,58 (s, 12H, COOCH<sub>3</sub>); 3,67 (s, 6H, 3-CH<sub>3</sub>-OPh); 3,84 (s, 6H, 4-CH<sub>3</sub>-OPh); 4,18 (s, 2H, H6 und H12); 4,25 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 4,43 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 6,58 (d, <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 9,0 Hz, 2H, H5 des Ph); 6,62-6,68 (m, 4H, H2 und H6 des Ph); 7,16-7,21 (m, 4H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems, H2 und H6 des N-Bz); 7,21-7,29 (m, 4H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems, H3 und H5 des N-Bz)

(43) Tetramethyl-3,9-di(3-chlorbenzyl)-6,12-bis(3,4-dimethoxyphenyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat



Verbindung Nr.: 43

Summenformel:  $C_{48}H_{48}Cl_2N_2O_{12}$

Molare Masse: 914,26 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 43 wurde nach AAV3 aus Verbindung 21 hergestellt und als kristalliner, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 72,80 %

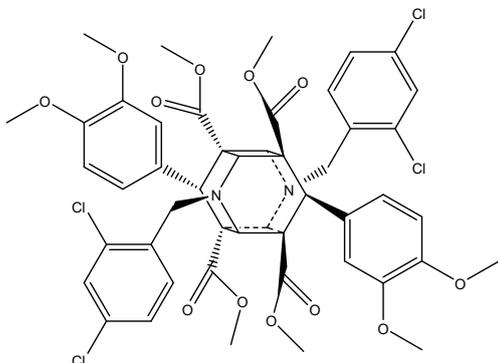
**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,431 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 251,4 - 253,1 °C

**MS (ESI):** m/z (%) = 937,38 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) = 3,58 (s, 12H, COOCH<sub>3</sub>); 3,71 (s, 6H, 3-CH<sub>3</sub>-OPh); 3,84 (s, 6H, 4-CH<sub>3</sub>-OPh); 4,16 (s, 2H, H6 und H12); 4,26 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 4,44 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 6,63-6,69 (m, 6H, H2, H5 und H6 des Ph); 7,12-7,17 (m, 2H, H6 des N-Bz); 7,19-7,25 (m, 4H, H4 und H5 des N-Bz); 7,27 (s, 2H, H2 des N-Bz)

- (44) Tetramethyl-3,9-bis(2,4-dichlorbenzyl)-6,12-bis(3,4-dimethoxyphenyl)-3,9-diazapentacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan-1,5,7,11-tetracarboxylat



Verbindung Nr.: 44

Summenformel:  $C_{48}H_{46}Cl_4N_2O_{12}$

Molare Masse: 982,18 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 44 wurde nach AAV3 aus Verbindung 22 hergestellt und als kristalliner, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 62,30 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,544 (Laufmittel 1)

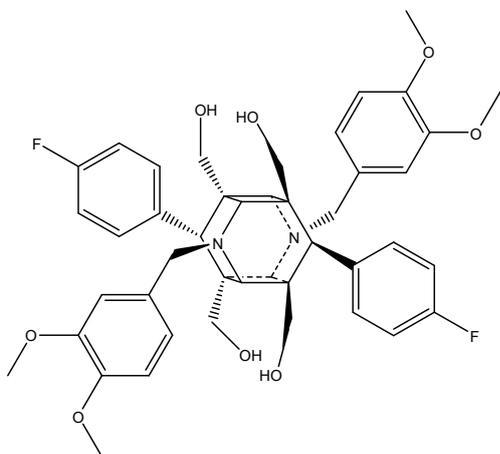
**Schmelzbereich:** 251,1 - 252,1 °C

**MS (ESI):** m/z (%) = 1006,84 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>); 1004,85 (75, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) = 3,60 (s, 12H, COOCH<sub>3</sub>); 3,62 (s, 6H, 3-CH<sub>3</sub>-OPh); 3,82 (s, 6H, 4-CH<sub>3</sub>-OPh); 4,13 (s, 2H, H6 und H12); 4,35 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 4,51 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 6,49 (d, <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 8,4 Hz, 2H, H5 des Ph); 6,56 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 8,4 Hz, <sup>4</sup>J<sub>6/2</sub> = 2,1 Hz, 2H, H6 des Ph); 6,60 (d, <sup>4</sup>J<sub>2/6</sub> = 2,1 Hz, 2H, H2 des Ph); 7,13 (dd, <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 8,3 Hz, <sup>4</sup>J<sub>5/3</sub> = 2,0 Hz, 2H, H5 des N-Bz); 7,20 (d, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 8,3 Hz, 2H, H6 des N-Bz); 7,40 (d, <sup>4</sup>J<sub>3/5</sub> = 2,0 Hz, 2H, H3 des N-Bz)

## 6.2.4 Synthese der alkoholischen Käfigdimere

(45) 3,9-Bis(3,4-dimethoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(4-hydroxymethyl)-6,12-di(4-fluorphenyl)-3,9-diazahexacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan



Verbindung Nr.: 45

Summenformel:  $C_{44}H_{48}F_2N_2O_8$

Molare Masse: 770,34 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 45 wurde nach AAV4 aus Verbindung 24 hergestellt, säulenchromatografisch mit Laufmittel 1 als Elutionsmittel gereinigt und als weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 65,38 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,193 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 244,0 - 244,3 °C

**Reinheit(1):** 93,78 % ( $t_R = 10,78$  min)

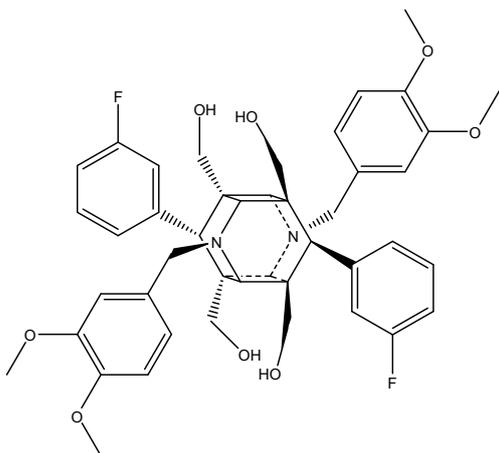
**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 769,56 (100, [M - H]<sup>+</sup>); 793,52 (100, [M + Na]<sup>+</sup>)

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für [M + H]<sup>+</sup>: 771,3456 (100), berechnet für [C<sub>44</sub>H<sub>49</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>]<sup>+</sup>: 771,3452

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 2,93 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 3,03-3,23 (AB-Teil des ABX-Systems, <sup>2</sup>J<sub>A/B</sub> = 10,3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>/OH</sub> = 4,3 Hz, 8H, CH<sub>2</sub>-OH); 3,60 (s, 6H, 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,69 (s, 2H, H6 und H12); 3,73 (s, 6H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz); 4,05 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 4,45 (X-Teil des ABX-Systems, <sup>3</sup>J<sub>OH/CH<sub>2</sub></sub> = 4,3 Hz,

4H, CH<sub>2</sub>-OH); 6,73-6,80 (m, 2H, H3' und H5' des Ph); 6,80-6,90 (m, 6H, H2, H5 und H6 des N-Bz); 6,90-6,96 (m, 2H, H3'' und H5'' des Ph); 7,20-7,39 (m, 2H, H2'' und H6'' des Ph); 7,79-7,90 (m, 2H, H2' und H6' des Ph)

(46) **3,9-Bis(3,4-dimethoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(2-hydroxyethyl)-6,12-di(3-fluorphenyl)-3,9-diazaheptacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



Verbindung Nr.: 46

Summenformel:  $C_{44}H_{48}F_2N_2O_8$

Molare Masse: 770,34 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 46 wurde nach AAV4 aus Verbindung 25 hergestellt, und mit Methanol zu einem weißen Feststoff umkristallisiert.

**Ausbeute:** 90,72 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,185 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 230,0 - 230,7 °C

**Reinheit(1):** 92,68 % ( $t_R = 10,95$  min)

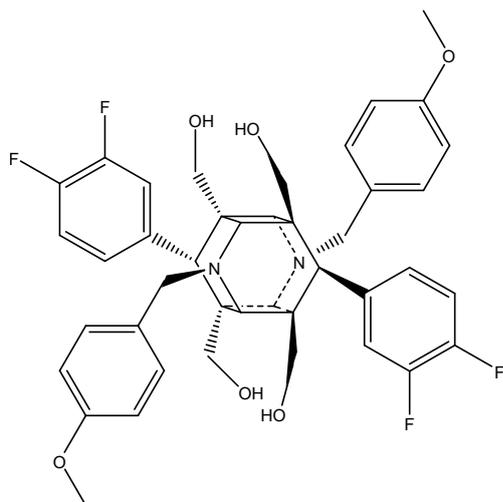
**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 771,31 (100, [M + H]<sup>+</sup>); 793,40 (68, [M + Na]<sup>+</sup>)

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für [M + H]<sup>+</sup>: 771,3455 (100), berechnet für [C<sub>44</sub>H<sub>49</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>]<sup>+</sup>: 771,3452

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 2,93 (s, 2H, H8 und H10); 2,97 (s, 2H, H2 und H4); 3,02-3,25 (AB-Teil des ABX-Systems, 8H, CH<sub>2</sub>-OH); 3,58 (s, 3H, 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,60 (s, 3H, 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,70 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,71 (s, 4H,

4-CH<sub>3</sub>-OBz und H6 oder H12); 3,78 (s, 1H, H6 oder H12); 4,06 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,08 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,50 (X-Teil des ABX-Systems, 4H, CH<sub>2</sub>-OH); 6,78-6,91 (m, 8H, H2, H5 und H6 des N-Bz und H2 des Ph); 6,98-7,21 (m, 4H, H4 und H6 des Ph); 7,61-7,70 (m, 1H, H5' des Ph); 7,70-7,86 (m, 1H, H5'' des Ph)

(47) **3,9-Di(4-methoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(4-hydroxymethyl)-6,12-bis(3,4-difluorphenyl)-3,9-diazaheptacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



Verbindung Nr.: 47

Summenformel: C<sub>42</sub>H<sub>42</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>

Molare Masse: 746,30 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 47 wurde nach AAV4 aus Verbindung 26 hergestellt und mit Methanol zu einem weißen Feststoff umkristallisiert.

**Ausbeute:** 74,30 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,283 (Laufmittel 6)

**Schmelzbereich:** 223,1 - 224,3 °C

**Reinheit(1):** 98,21 % (t<sub>R</sub> = 12,68 min)

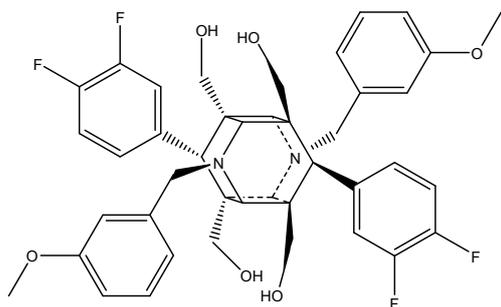
**MS (ESI):** m/z (%) = 745,53 (100, [M - H<sup>+</sup>]<sup>-</sup>); 769,53 (89, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>: 747,3066 (100), berechnet für [C<sub>42</sub>H<sub>43</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>: 747,3051

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 2,89 (s, 2H, H8 und H10); 2,93 (s,

2H, H2 und H4); 2,95-3,19 (AB-Teil des ABX-Systems, 8H, CH<sub>2</sub>-OH); 3,72 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,74 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz); 4,00 (s, 2H, H6 und H12); 4,03 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 4,54 (X-Teil des ABX-Systems, 4H, CH<sub>2</sub>-OH); 6,84 (d, <sup>3</sup>J = 8,6 Hz, 3H, H5 des N-Bz und H6' des Ph); 6,89 (d, <sup>3</sup>J = 8,6 Hz, 3H, H3 des N-Bz und H6'' des Ph); 7,07 (s, 2H, H2 des Ph); 7,22 (dd, <sup>3</sup>J = 8,6 Hz, <sup>4</sup>J = 3,1 Hz, 3H, H2 des N-Bz und H5' des Ph); 7,27 (dd, <sup>3</sup>J = 8,6 Hz, <sup>4</sup>J = 3,1 Hz, H6 des N-Bz und H5'' des Ph)

(48) **3,9-Di(3-methoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(4-hydroxymethyl)-6,12-bis(3,4-difluorphenyl)-3,9-diazahexacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



**Verbindung Nr.:** 48

**Summenformel:** C<sub>42</sub>H<sub>42</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>

**Molare Masse:** 746,30 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 48 wurde nach AAV4 aus Verbindung 27 hergestellt, säulenchromatografisch mit Laufmittel 3 als Elutionsmittel gereinigt und mit einer Mischung aus Aceton und Cyclohexan (1:10) als weißer Feststoff ausgefällt.

**Ausbeute:** 52,96 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,164 (Laufmittel 3)

**Schmelzbereich:** 212,3 - 214,1 °C

**Reinheit(1):** 93,54 % (t<sub>R</sub> = 12,14 min)

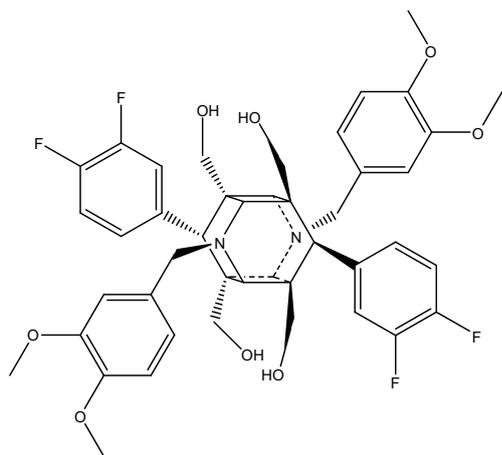
**MS (ESI):** m/z (%) = 745,23 (100, [M - H<sup>+</sup>]<sup>-</sup>); 747,28 (60, [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>: 747,3048 (100), berechnet für [C<sub>42</sub>H<sub>43</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>: 747,3051

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 2,71 (s, 2H, H8 und H10); 2,87 (s, 2H, H2 und H4); 2,91-3,23 (AB-Teil des ABX-Systems, 8H, CH<sub>2</sub>-OH); 3,63 (s, 1H,

H6 oder H12); 3,67 (d,  $^5J_{CH_3/N-Bz} = 1,4\text{ Hz}$ , 6H, 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,72 (s, 1H, H6 oder H12); 4,08 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 4,57 (X-Teil des ABX-Systems, 4H, CH<sub>2</sub>-OH); 6,72-6,99 (m, 8H, H2, H4 und H6 des N-Bz und H2' und H6' des Ph); 7,02-7,38 (m, 4H, H5 des N-Bz und H5' und H2'' des Ph); 7,85-7,97 (m, 2H, H5'' und H6'' des Ph)

(49) **3,9-bis(3,4-dimethoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(4-hydroxymethyl)-6,12-bis(3,4-difluorphenyl)-3,9-diazaheptacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



Verbindung Nr.: 49

Summenformel:  $C_{44}H_{46}F_4N_2O_8$

Molare Masse: 806.32 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 49 wurde nach AAV4 aus Verbindung 28 hergestellt, säulenchromatografisch mit Laufmittel 1 als Elutionsmittel gereinigt als weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 94,32 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,305 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 232,4 - 234,8 °C

**Reinheit(1):** 98,05 % ( $t_R = 12,34\text{ min}$ )

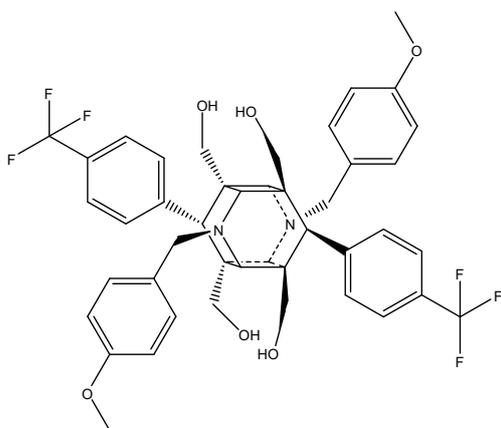
**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 805,46 (100, [M - H<sup>+</sup>]<sup>-</sup>); 829,49 (98, [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>: 807,3263 (100), berechnet für [C<sub>44</sub>H<sub>47</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>]<sup>+</sup>: 807,3263

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 500 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 2,91 („d“, 1H, H2); 2,96 (s, 2H, H4

und H10); 2,99-3,25 (AB-Teil des ABX-Systems, 8H, CH<sub>2</sub>-OH); 3,15 („d“, 1H, H8); 3,63 (“dd,, 6H, 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,72 („d“, 6H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz); 4,00-4,12 (m, 4H, CH<sub>2</sub>); 4,16-4,26 (m, 2H, H6 und H12); 4,51-4,59 (X-Teil des ABX-Systems, 4H, CH<sub>2</sub>-OH); 6,78-6,92 (m, 6H, N-Bz); 6,93-7,03 (m, 1H, H2” des Ph); 7,04-7,21 (m, 2H, H5” und H6” des Ph); m 7,23 - 7,34 (1H, H6’ des Ph); 7,63-7,73 (m, 2H, H5’ und H6’ des Ph)

(50) **3,9-Di(4-methoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(4-hydroxymethyl)-6,12-bis(4-(trifluormethyl)phenyl)-3,9-diazaheptacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



Verbindung Nr.: 50

Summenformel: C<sub>44</sub>H<sub>44</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>

Molare Masse: 810.31 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 50 wurde nach AAV4 aus Verbindung 29 hergestellt, säulenchromatografisch mit Laufmittel 2 als Elutionsmittel gereinigt und mit einer Mischung aus Aceton und Cyclohexan (1:10) als weißer Feststoff ausgefällt.

**Ausbeute:** 35,00 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,526 (Laufmittel 2)

**Schmelzbereich:** 234,6 - 235,7 °C

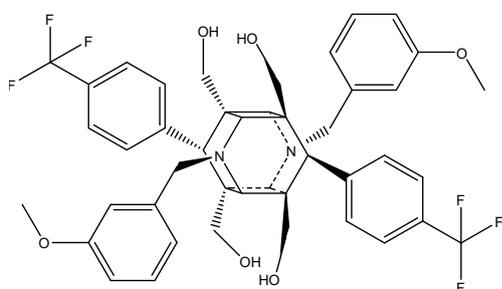
**Reinheit(1):** 98,05 % (t<sub>R</sub> = 12,34 min)

**MS (ESI):** m/z (%) = 833,52 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>); 809,53 (40, [M - H<sup>+</sup>]<sup>-</sup>)

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für [M - H<sup>+</sup>]<sup>-</sup>: 809,3022 (100), berechnet für [C<sub>44</sub>H<sub>43</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>]<sup>-</sup>: 809,3020; gefunden für [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>: 811,3174 (80), berechnet für [C<sub>44</sub>H<sub>45</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>: 811,3176

<sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$ (ppm, 400 MHz, DMSO-D6) = 2,94 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 2,95-3,20 (AB-Teil des ABX-Systems,  $^2J_{A/B} = 10,4$  Hz,  $^3J_{CH_2/OH} = 4,4$  Hz, 8H, CH<sub>2</sub>-OH); 3,63 (s, 2H, H6 oder H12); 3,74 (s, 6H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,77 (s, 2H, H6 und H12); 4,05 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 4,56 (X-Teil des ABX-Systems,  $^3J_{OH/CH_2} = 4,4$  Hz, 4H, CH<sub>2</sub>-OH); 6,89 (d, 4H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems, H3 und H5 des N-Bz); 7,26 (d,  $^3J_{2,6/3,5} = 8,4$  Hz, 2H, H2' und H6' des Ph); 7,26 (d, 4H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems, H2 und H6 des N-Bz); 7,48 (s, 4H, H2'', H3'', H5'' und H6'' des Ph); 8,02 (d,  $^3J_{3,5/2,6} = 8,4$  Hz, 2H, H3' und H5' des Ph)

(51) **3,9-Di(3-methoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(4-(trifluormethyl)phenyl)-3,9-diazahexacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



Verbindung Nr.: 51

Summenformel:  $C_{44}H_{44}F_6N_2O_6$

Molare Masse: 810.31 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 51 wurde nach AAV4 aus Verbindung 30 hergestellt und als weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 89,00 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,427 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 228,2 - 229,6 °C

**Reinheit(1):** 95,56 % ( $t_R = 13,49$  min)

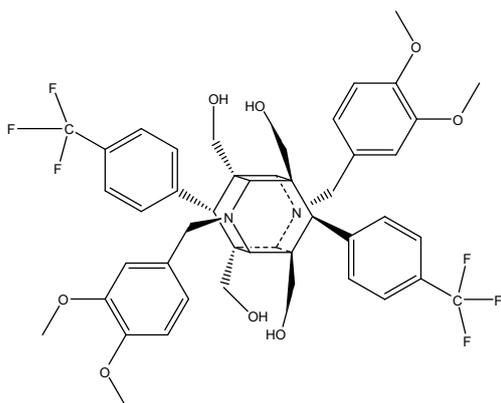
**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 811,49 (100, [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>); 809,52 (100, [M - H<sup>+</sup>]<sup>-</sup>)

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>: 811,3180 (100), berechnet für [C<sub>44</sub>H<sub>45</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>: 811,3176

<sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$ (ppm, 400 MHz, DMSO-D6) = 2,98 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10);

3,01-3,25 (AB-Teil des ABX-Systems,  $^2J_{A/B} = 10,4\text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{CH}_2/\text{OH}} = 4,4\text{ Hz}$ , 8H,  $\text{CH}_2\text{-OH}$ ); 3,64 (s, 6H, 3- $\text{CH}_3\text{-OBz}$ ); 3,77 (s, 2H, H6 und H12); 4,11 (s, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 4,59 (X-Teil des ABX-Systems,  $^3J_{\text{OH}/\text{CH}_2} = 4,4\text{ Hz}$ , 4H,  $\text{CH}_2\text{-OH}$ ); 6,76-6,95 (m, 6H, H2, H4 und H6 des N-Bz); 7,24 (m, 4H, H5 des N-Bz und H2'' und H6'' des Ph); 7,45-7,55 (m, 4H, H2', H3', H5' und H6' des Ph'); 7,99 (d,  $^3J = 8,4\text{ Hz}$ , 2H, H3''' und H5''')

(52) **3,9-Bis(3,4-dimethoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(4-(trifluormethyl)phenyl)-3,9-diazahehexacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



**Verbindung Nr.:** 52

**Summenformel:**  $\text{C}_{46}\text{H}_{48}\text{F}_6\text{N}_2\text{O}_8$

**Molare Masse:** 870,33 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 52 wurde nach AAV4 aus Verbindung 31 hergestellt und mit Methanol zu einem weißen Feststoff umkristallisiert.

**Ausbeute:** 91,05 %

**$R_f$ -Wert:** 0,260 (Laufmittel 6)

**Schmelzbereich:** 205,8 - 207,7 °C

**Reinheit(1):** 92,57 % ( $t_R = 12,14\text{ min}$ )

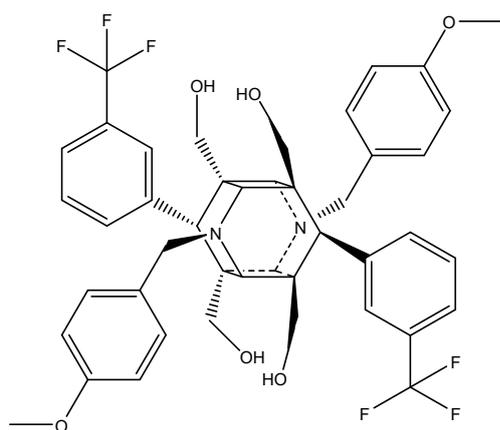
**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 869,62 (100,  $[\text{M} - \text{H}^+]^-$ ); 894,20 (27,  $[\text{M} + \text{Na}^+]^+$ )

**HRMS ( $m/z$  (%)):** gefunden für  $[\text{M} + \text{H}^+]^+$ : 871,3394 (100), berechnet für  $[\text{C}_{46}\text{H}_{49}\text{F}_6\text{N}_2\text{O}_8]^+$ : 871,3387

**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$ (ppm, 400 MHz, DMSO- $\text{D}_6$ ) = 2,96 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10); 3,00-3,25 (AB-Teil des ABX-Systems,  $^2J_{A/B} = 10,4\text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{CH}_2/\text{OH}} = 4,2\text{ Hz}$ , 8H,

CH<sub>2</sub>-OH); 3,56 (s, 6H, 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,72 (s, 6H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,81 (s, 2H, H6 und H12); 4,07 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 4,52-4,58 (X-Teil des ABX-Systems, <sup>3</sup>J<sub>OH/CH<sub>2</sub></sub> = 4,2 Hz, 4H, CH<sub>2</sub>-OH); 6,80-6,91 (m, 6H, N-Bz); 7,31 (d, <sup>3</sup>J<sub>2,6/3,5</sub> = 8,4 Hz, 2H, H2' und H6' des Ph); 7,51 („q“, 4H, H2'', H3'', H5'' und H6'' des Ph); 8,01 (d, <sup>3</sup>J<sub>3,5/2,6</sub> = 8,4 Hz, 2H, H3' und H5' des Ph)

(53) **3,9-Di(4-methoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(4-(trifluoromethyl)phenyl)-6,12-bis(3-(trifluoromethyl)phenyl)-3,9-diazaheptacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



Verbindung Nr.: 53

Summenformel: C<sub>44</sub>H<sub>44</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>

Molare Masse: 810,31 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 53 wurde nach AAV4 aus Verbindung 32 hergestellt und als bräunlich, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 98,90 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,481 (Laufmittel 6)

**Schmelzbereich:** 228,2 - 230,1 °C

**Reinheit(1):** 97,93 % (t<sub>R</sub> = 12,43 min)

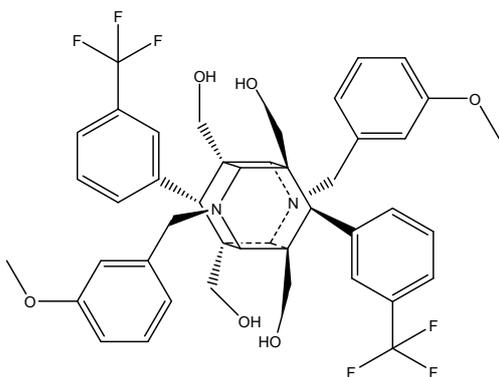
**MS (ESI):** m/z (%) = 833,51 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>); 809,68 (25, [M - H<sup>+</sup>]<sup>-</sup>)

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>: 811,3184 (100), berechnet für [C<sub>44</sub>H<sub>45</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>: 811,3176

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 2,94 (s, 2H, H2 und H10); 2,96 (s, 2H, H4 und H8); 2,96-3,20 (AB-Teil des ABX-Systems, 8H, CH<sub>2</sub>-OH); 3,68 (s, 3H,

4-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,74 (s, 4H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz und H6 oder H12); 3,75 (s, 1H, H6 oder H12); 4,04 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,05 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,49-4,69 (X-Teil des ABX-Systems, 4H, CH<sub>2</sub>-OH); 6,66-6,93 (m, BB'-Teil des AA'BB'-Systems, 4H, H3 und H5 des N-Bz); 7,14-7,28 (m, 6H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems, H2 und H6 des N-Bz und H6 des Ph); 7,35-7,49 (m, 4H, H2' und H2'', H4'' und H5'' des Ph); 7,54-7,66 (m, 2H, H4' und H5' des Ph)

(54) **3,9-Di(3-methoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(2-hydroxyethyl)-6,12-bis(3-(trifluormethyl)phenyl)-3,9-diazaheptacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



Verbindung Nr.: 54

Summenformel: C<sub>44</sub>H<sub>44</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>

Molare Masse: 810,31 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 54 wurde nach AAV4 aus Verbindung 33 hergestellt, säulenchromatografisch (präparative HPLC) aufgereinigt und als weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 38,00 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,478 (Laufmittel 1)

**Schmelzbereich:** 154,7 - 156,1 °C

**Reinheit(1):** 100,00 % (t<sub>R</sub> = 13,90 min)

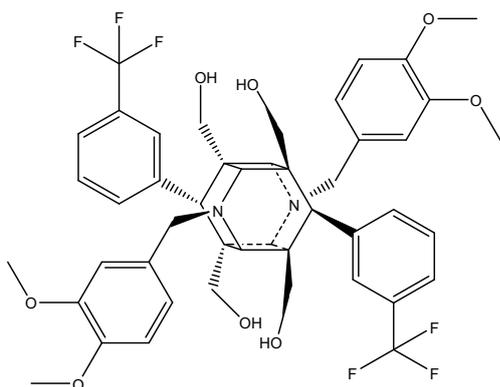
**MS (ESI):** m/z (%) = 833,29 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>); 809,49 (100, [M - H<sup>+</sup>]<sup>-</sup>)

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>: 811,3186 (100), berechnet für [C<sub>44</sub>H<sub>45</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>: 811,3176

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 2,99 (s, 4H, H2, H4, H8 und H10);

2,98-3,23 (AB-Teil des ABX-Systems, 8H, CH<sub>2</sub>-OH); 3,51 (s, 2H, H6 und H12); 3,65 (s, 3H, 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 4,11 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,17 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,53-4,65 (X-Teil des ABX-Systems, 4H, CH<sub>2</sub>-OH); 6,57-6,94 (m, 6H, H2, H4 und H6 des N-Bz); 7,03-7,31 (m, 4H, H5 des N-Bz und H6 des Ph); 7,33-7,52 (m, 2H, H5 des Ph); 7,50-7,78 (m, 2H, H4 des Ph); 7,91-8,18 (m, 2H, H2 des Ph)

(55) **3,9-Bis(3,4-dimethoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(hydroxymethyl)-6,12-bis(3-(trifluormethyl)phenyl)-3,9-diazahehexacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



Verbindung Nr.: 55

Summenformel: C<sub>46</sub>H<sub>48</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>

Molare Masse: 870,33 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 55 wurde nach AAV4 aus Verbindung 34 hergestellt, säulenchromatografisch mit Laufmittel 2 als Elutionsmittel gereinigt und mit einer Mischung aus Aceton und Cyclohexan (1:10) als weißer Feststoff ausgefällt.

**Ausbeute:** 60,00 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,164 (Laufmittel 2)

**Schmelzbereich:** 221,3 - 221,9 °C

**Reinheit(2):** 97,56 % (t<sub>R</sub> = 2,99 min; Methanol:Wasser 7:3)

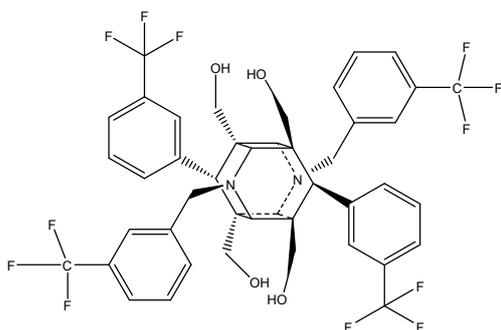
**MS (ESI):** m/z (%) = 893,49 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>); 869,85 (100, [M - H<sup>+</sup>]<sup>-</sup>)

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>: 871,3403 (50), berechnet für [C<sub>46</sub>H<sub>49</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>]<sup>+</sup>: 871,3387

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 500 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 2,98 (s, 2H, H2 und H10); 2,98-3,26

(AB-Teil des ABX-Systems, 8H, CH<sub>2</sub>-OH); 3,44 (s, 2H, H4 und H8); 3,60 (s, 6H, 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,68 (s, 2H, H6 und H12); 3,74 (s, 6H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz); 4,08 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,14 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,51-4,63 (X-Teil des ABX-Systems, 4H, CH<sub>2</sub>-OH); 6,73-6,81 (m, 2H, H6 des N-Bz); 6,82-6,91 (m, 4H, H2 und H5 des N-Bz); 7,19-7,27 (m, 1H, H5' des Ph); 7,37-7,50 (m, 3H, H5'' und H6 des Ph); 7,57-7,71 (m, 2H, H4 des Ph); 8,07 (m, 2H, H2 des Ph)

(56) **3,9-Bis(3-(trifluormethyl)benzyl)-1,5,7,11-tetrakis(2-hydroxyethyl)-6,12-bis(3-(trifluormethyl)phenyl)-3,9-diazaheptacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



**Verbindung Nr.:** 56

**Summenformel:** C<sub>44</sub>H<sub>38</sub>F<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

**Molare Masse:** 886,26 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 56 wurde nach AAV4 aus Verbindung 35 hergestellt und als rötlich, weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 100,00 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,422 (Laufmittel 6)

**Schmelzbereich:** 290,2 - 291,6 °C

**Reinheit(1):** 97,22 % (t<sub>R</sub> = 16,52 min)

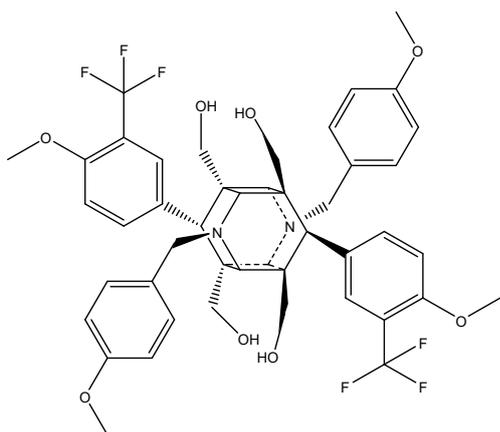
**MS (ESI):** m/z (%) = 887,51 (100, [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>); 885,63 (100, [M - H<sup>+</sup>]<sup>-</sup>)

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>: 887,2721 (100), berechnet für [C<sub>44</sub>H<sub>39</sub>F<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>]<sup>+</sup>: 887,2713

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 500 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 2,98 (s, 2H, H2 und H10); 3,01-3,25 (AB-Teil des ABX-Systems, 8H, CH<sub>2</sub>-OH); 3,22 (s, 2H, H4 und H8); 3,79 (s, 1H, H6 oder H12); 3,89 (s, 1H, H6 oder H12); 4,24 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,30 (s, 2H, CH<sub>2</sub>);

4,58-4,72 (X-Teil des ABX-Systems, 4H, CH<sub>2</sub>-OH); 7,38-7,58 (m, 8H, H5 und H6 des N-Bz und H5 und H6 des Ph); 7,60 (s, 4H, H2 des N-Bz und H2 des Ph); 7,61-7,72 (m, 2H, H4 des Ph); 7,93-8,04 (m, 2H, H2 des N-Bz)

(57) **3,9-Di(4-methoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(hydroxymethyl)-6,12-bis(4-methoxy-3-(trifluormethyl)phenyl)-3,9-diazahehexacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



Verbindung Nr.: 57

Summenformel: C<sub>46</sub>H<sub>48</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>

Molare Masse: 870,33 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 57 wurde nach AAV4 aus Verbindung 36 hergestellt, säulenchromatografisch mit Laufmittel 2 als Elutionsmittel gereinigt und als weißer Feststoff erhalten.

**Ausbeute:** 73,25 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,250 (Laufmittel 2)

**Schmelzbereich:** 240,0 - 240,3 °C

**Reinheit(2):** 99,87 % (t<sub>R</sub> = 1,33 min; Methanol:Wasser 8:2)

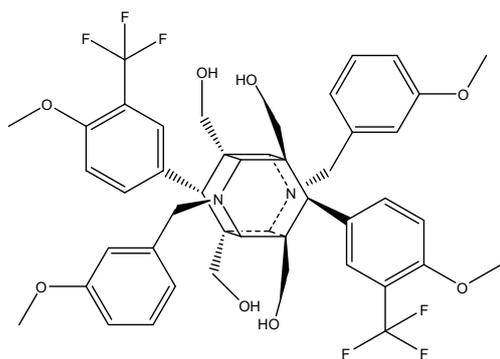
**MS (ESI):** m/z (%) = 893,33 (100, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>); 869,27 (100, [M - H<sup>+</sup>]<sup>-</sup>)

**HRMS (m/z (%)):** gefunden für [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>: 871,3400 (50), berechnet für [C<sub>46</sub>H<sub>49</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>]<sup>+</sup>: 871,3387

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 500 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 2,90 (s, 2H, H2 und H10); 2,92 (s, 2H, H4 und H8); 2,98-3,20 (AB-Teil des ABX-Systems, <sup>2</sup>J<sub>A/B</sub> = 10,4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>/OH</sub>

= 4,3 Hz, 8H, CH<sub>2</sub>-OH); 3,66 (s, 1H, H6 oder H12); 3,68 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>-OPh); 3,75 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>-OPh); 3,85 (s, 6H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,86 (s, 1H, H6 oder H12); 4,05 („dd“, 4H, CH<sub>2</sub>); 4,46-4,60 (X-Teil des ABX-Systems, <sup>3</sup>J<sub>OH/CH<sub>2</sub></sub> = 4,3 Hz, 4H, CH<sub>2</sub>-OH); 6,65-6,96 (m, 5H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems, H3 und H5 des N-Bz und H5' des Ph); 7,00-7,31 (m, 5H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems, H2 und H6 des N-Bz und H5'' des Ph); 7,43-7,61 (m, 2H, H6 des Ph); 7,90-8,02 (m, 2H, H2 des Ph)

(58) **3,9-Di(3-methoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(4-methoxy-3-(trifluormethyl)phenyl)-3,9-diazahexacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



Verbindung Nr.: 58

Summenformel: C<sub>46</sub>H<sub>48</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>

Molare Masse: 870,33 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 58 wurde nach AAV4 aus Verbindung 37 hergestellt und als braune viskose Flüssigkeit erhalten.

**Ausbeute:** 61,50 %

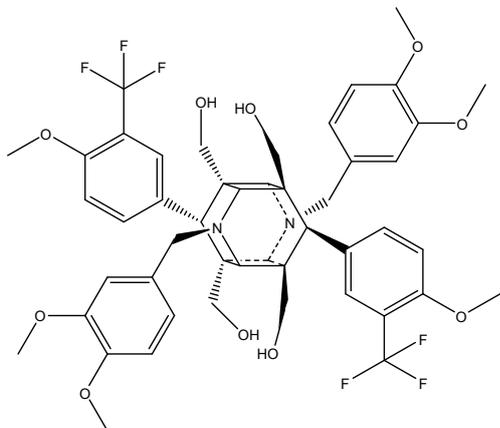
**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,194 (Laufmittel 6)

**Schmelzbereich:** 235,3 - 238,1 °C

**MS (ESI):** m/z (%) = 869,28 (100, [M - H]<sup>+</sup>); 893,56 (74, [M + Na]<sup>+</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ(ppm, 500 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 2,93 (s, 2H, H2 und H10); 2,95 (s, 2H, H4 und H8); 2,96-3,24 (AB-Teil des ABX-Systems, 8H, CH<sub>2</sub>-OH); 3,50 (s, 2H, H6 und H12); 3,51 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>-OPh); 3,54 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>-OPh); 3,82 (s, 3H, 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,84 (s, 3H, 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 4,08 („d“, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,15 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,49-4,62 (X-Teil des ABX-Systems, 4H, CH<sub>2</sub>-OH); 6,61 (s, 2H, H2 des N-Bz); 6,65-6,73 (m, 2H, H6 des N-Bz); 6,75-6,84 (m, 2H, H4 des N-Bz); 6,82-6,91 (m, 4H, H2 und H5 des Ph); 7,18-7,29 (m, 2H, H5 des N-Bz); 7,30-7,36 (m, 2H, H6 des Ph)

- (59) **3,9-Bis(3,4-dimethoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(hydroxymethyl)-6,12-bis(4-methoxy-3-(trifluormethyl)phenyl)-3,9-diazahexacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



Verbindung Nr.: 59

Summenformel:  $C_{48}H_{52}F_6N_2O_{10}$

Molare Masse: 930,94 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 59 wurde nach AAV4 aus Verbindung 38 hergestellt und als bräunlich, weißes Pulver erhalten. Die Verbindung war über diesen Syntheseschritt grundsätzlich zugänglich, konnte jedoch nicht als einzelne, reine Verbindung von seinen Nebenprodukten isoliert werden. Eine Auswertung der <sup>1</sup>HNMR-Daten war deswegen nicht möglich (s. Abschnitt 3.3.2).

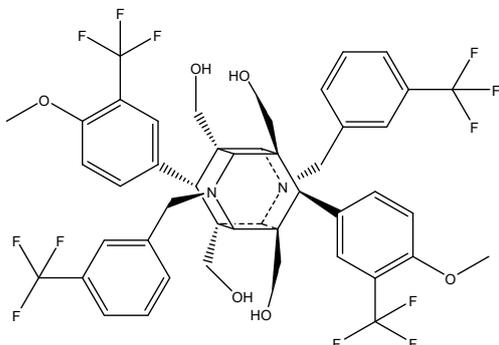
**Ausbeute:** 62,50 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,309 (Laufmittel 7)

**Schmelzbereich:** 230,7 - 232,4 °C

**MS (ESI):** m/z (%) = 929,45 (100, [M - H<sup>+</sup>]<sup>-</sup>); 953,34 (44, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

(60) **3,9-Bis(3-(trifluormethyl)benzyl)-1,5,7,11-tetrakis(4-methoxy-3-(trifluormethyl)phenyl)-3,9-diazahexacyclo[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



**Verbindung Nr.:** 60

**Summenformel:**  $C_{46}H_{42}F_{12}N_2O_6$

**Molare Masse:** 946,29 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 60 wurde nach AAV4 aus Verbindung 39 hergestellt und mit Methanol zu einem feinen, weißen Feststoff umkristallisiert.

**Ausbeute:** 69,37 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,302 (Laufmittel 6)

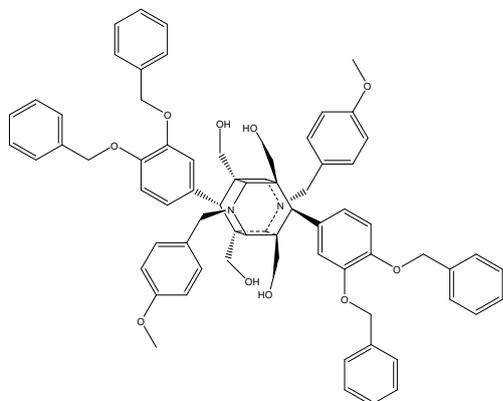
**Schmelzbereich:** 214,4 - 216,1 °C

**Reinheit(1):** 73,63 % ( $t_R = 13,26$  min)

**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 945,58 (100, [M - H<sup>+</sup>]<sup>-</sup>)

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$ (ppm, 500 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 2,94 (s, 2H, H<sub>2</sub> und H<sub>10</sub>); 2,96 (s, 2H, H<sub>4</sub> und H<sub>8</sub>); 2,94-3,26 (AB-Teil des ABX-Systems, 8H, CH<sub>2</sub>-OH); 3,70 (s, 2H, H<sub>6</sub> und H<sub>12</sub>); 3,80 (d,  $^5J_{CH_3/Ph} = 3,3$  Hz, 3H, 4-CH<sub>3</sub>-OPh); 3,85 (s, 3H, d,  $^5J_{CH_3/Ph} = 3,7$  Hz, 3H, 4-CH<sub>3</sub>-OPh); 4,22 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,27 („d“, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,54-4,68 (X-Teil des ABX-Systems, 4H, CH<sub>2</sub>-OH); 6,53-6,96 (m, 2H, H<sub>5</sub> des Ph); 7,38-7,67 (m, 12H, H<sub>2</sub> und H<sub>6</sub> des Ph und N-Bz)

(61) **3,9-Di(4-methoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(4-hydroxymethyl)-6,12-bis(3,4-dibenzyloxyphenyl)-3,9-diazahexacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



**Verbindung Nr.:** 61

**Summenformel:**  $C_{70}H_{70}N_2O_{10}$

**Molare Masse:** 1098,50 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 61 wurde nach AAV4 aus Verbindung 40 hergestellt und mit Methanol zu einem weißen Feststoff umkristallisiert.

**Ausbeute:** 82,12 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,349 (Laufmittel 6)

**Schmelzbereich:** 211,0 - 213,0 °C

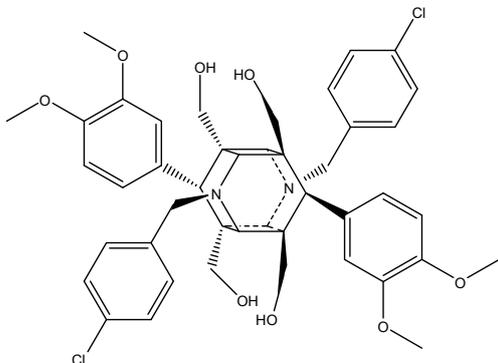
**Reinheit(1):** 97,89 % ( $t_R = 13,65$  min)

**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 1121,35 (100,  $[M + Na^+]^+$ ); 1097,49 (39,  $[M - H^+]^-$ )

**HRMS ( $m/z$  (%)):** gefunden für  $[M + H^+]^+$ : 1099,5110 (100), berechnet für  $[C_{70}H_{71}N_2O_{10}]^+$ : 1099,5103

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$ (ppm, 400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 2,89 (s, 2H, H2 und H10); 2,97 (s, 2H, H4 und H8); 3,08-3,22 (AB-Teil des ABX-Systems, 8H, CH<sub>2</sub>-OH); 3,74 (s, 3H, 4-CH<sub>3</sub>-OBz); 4,01 (s, 1H, H6 oder H12); 4,02 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,12 (s, 1H, H6 oder H12); 4,30-4,38 (X-Teil des ABX-Systems, 4H, CH<sub>2</sub>-OH); 4,57 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 5,02 („d“, 4H, O-CH<sub>2</sub>-Ph); 5,05 („d“, 4H, O-CH<sub>2</sub>-Ph); 6,61-6,84 (m, 4H, BB'-Teil des AA'BB'-Systems, H3 und H5 des N-Bz); 6,84-7,08 (m, 4H, AA'-Teil des AA'BB'-Systems, H2 und H6 des N-Bz); 7,12-7,28 (m, 6H, Ph); 7,25-7,51 (m, 20H, 3-O-Bz und 4-O-Bz)

(62) **3,9-Di(4-chlorbenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(3,4-dimethoxyphenyl)-6,12-bis(3,4-dimethoxyphenyl)-3,9-diazahexacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



**Verbindung Nr.:** 62

**Summenformel:**  $C_{44}H_{48}Cl_2N_2O_8$

**Molare Masse:** 802,28 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 62 wurde nach AAV4 aus Verbindung 42 hergestellt und mit Methanol zu einem bräunlich, weißen Feststoff umkristallisiert. Die Verbindung war über diesen Syntheseschritt grundsätzlich zugänglich, konnte jedoch nicht als einzelne, reine Verbindung von seinen Nebenprodukten isoliert werden. Eine Auswertung der <sup>1</sup>HNMR-Daten war deswegen nicht möglich (s. Abschnitt 3.3.2).

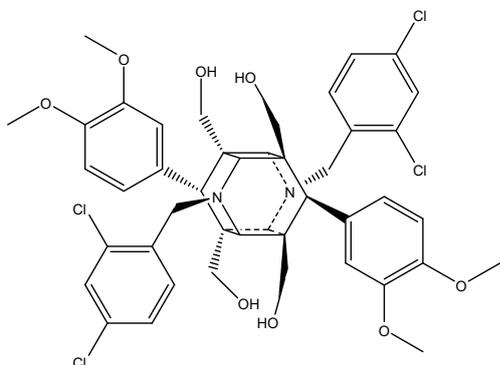
**Ausbeute:** 52,30 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,258 (Laufmittel 6)

**Schmelzbereich:** 233,0 - 234,8 °C

**MS (ESI):** m/z (%) = 803,34 (100, [M + H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

(63) **3,9-Di(4-chlorbenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(4-hydroxymethyl)-6,12-bis(3,4-dimethoxyphenyl)-3,9-diazaheptacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



Verbindung Nr.: 63

Summenformel:  $C_{44}H_{48}Cl_2N_2O_8$

Molare Masse: 802,28 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 63 wurde nach AAV4 aus Verbindung 44 hergestellt und mit Methanol zu einem gelben Feststoff umkristallisiert. Die Verbindung war über diesen Syntheseschritt grundsätzlich zugänglich, konnte jedoch nicht als einzelne, reine Verbindung von seinen Nebenprodukten isoliert werden. Eine Auswertung der <sup>1</sup>HNMR-Daten war deswegen nicht möglich (s. Abschnitt 3.3.2).

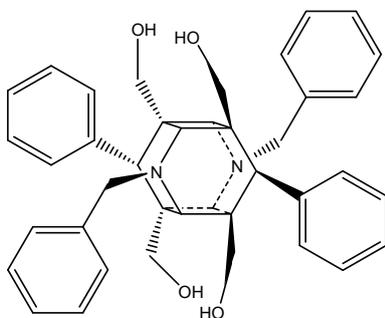
**Ausbeute:** 61,50 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,258 (Laufmittel 6)

**Schmelzbereich:** 254,2 - 255,8 °C

**MS (ESI):** m/z (%) = 895,30 (83, [M + Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>)

(64) **3,9-Dibenzyl-1,5,7,11-tetrakis(4-hydroxymethyl)-6,12-diphenyl-3,9-diazaheptacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



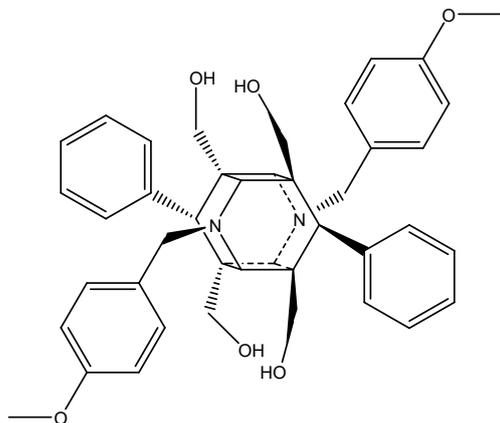
Verbindung Nr.: 64

Summenformel:  $C_{40}H_{42}N_2O_4$

Molare Masse: 614,31 g/mol

Die Verbindung 64 wurde von HILGEROTH zur Verfügung gestellt. Die experimentellen Daten stimmen mit der Literatur überein [207].

(65) **3,9-Di(4-methoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(hydroxymethyl)-6,12-diphenyl-3,9-diazaheptacyclo-[6.4.0.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



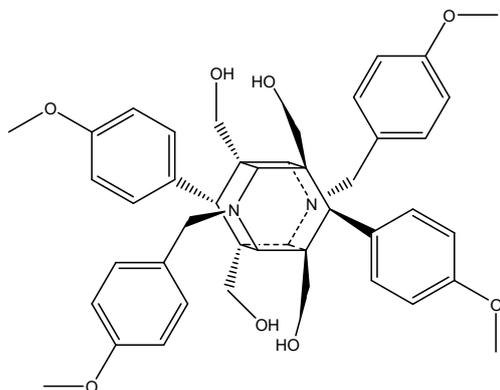
Verbindung Nr.: 65

Summenformel:  $C_{42}H_{46}N_2O_6$

Molare Masse: 674,34 g/mol

Die Verbindung 65 wurde von WOLLMANN zur Verfügung gestellt. Die experimentellen Daten stimmen mit der Literatur überein [208].

(66) **3,9-Di(4-methoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(hydroxymethyl)-6,12-di(4-methoxyphenyl)-3,9-diazaheptacyclo-[6.4.0.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



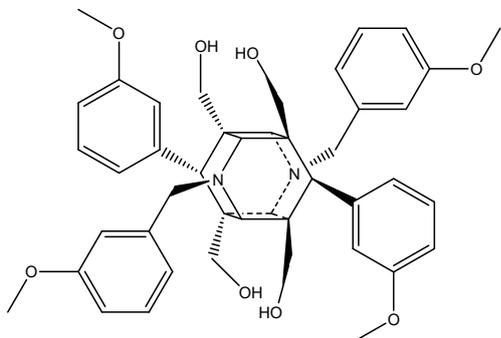
Verbindung Nr.: 66

Summenformel:  $C_{44}H_{50}N_2O_8$

Molare Masse: 734,36 g/mol

Die Verbindung 66 wurde von WOLLMANN zur Verfügung gestellt. Die experimentellen Daten stimmen mit der Literatur überein [208].

- (67) **3,9-Di(3-methoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(hydroxymethyl)-6,12-di(3-methoxyphenyl)-3,9-diazahexacyclo-[6.4.0.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



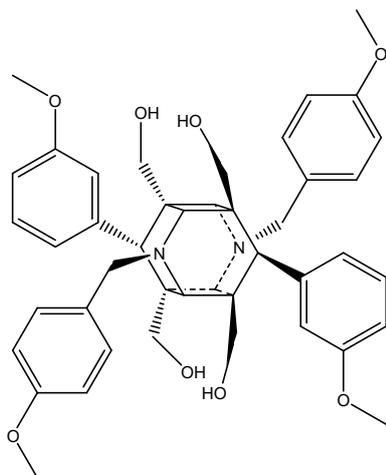
Verbindung Nr.: 67

Summenformel:  $C_{44}H_{50}N_2O_8$

Molare Masse: 734,36 g/mol

Die Verbindung 67 wurde von BAUMERT zur Verfügung gestellt. Die experimentellen Daten stimmen mit der Literatur überein [209].

- (68) **3,9-Di(4-methoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(hydroxymethyl)-6,12-di(3-methoxyphenyl)-3,9-diazahexacyclo-[6.4.0.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



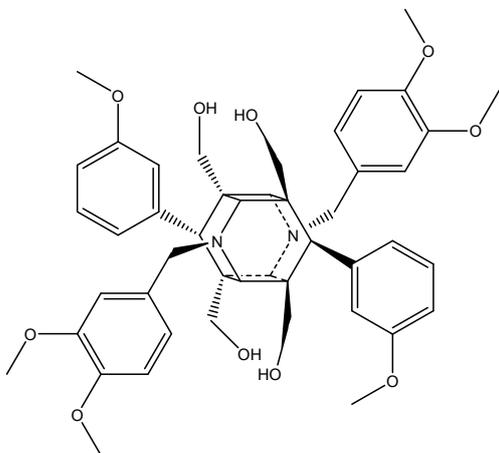
Verbindung Nr.: 68

Summenformel:  $C_{44}H_{50}N_2O_8$

Molare Masse: 734,36 g/mol

Die Verbindung 68 wurde von BAUMERT zur Verfügung gestellt. Die experimentellen Daten stimmen mit der Literatur überein [209].

- (69) **3,9-Bis(3,4-dimethoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(4-hydroxymethyl)-6,12-di(3-methoxyphenyl)-3,9-diazaheptacyclo-[6.4.0.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



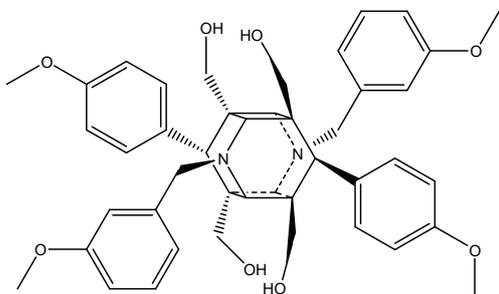
Verbindung Nr.: 69

Summenformel:  $C_{46}H_{54}N_2O_{10}$

Molare Masse: 794,38 g/mol

Die Verbindung 69 wurde von BAUMERT zur Verfügung gestellt. Die experimentellen Daten stimmen mit der Literatur überein [209].

- (70) **3,9-Di(3-methoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(4-hydroxymethyl)-6,12-di(4-methoxyphenyl)-3,9-diazaheptacyclo-[6.4.0.0.0.0.0.0]dodecan**



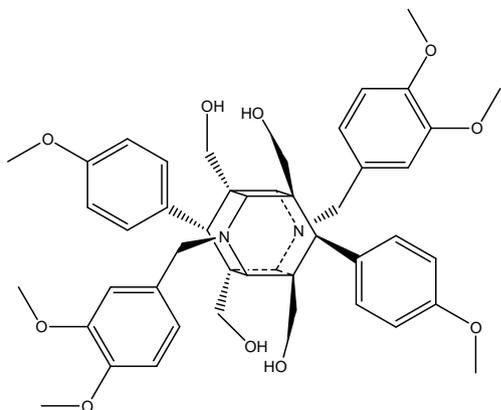
Verbindung Nr.: 70

Summenformel:  $C_{44}H_{50}N_2O_8$

Molare Masse: 734,36 g/mol

Die Verbindung 70 wurde von BAUMERT zur Verfügung gestellt. Die experimentellen Daten stimmen mit der Literatur überein [209].

- (71) **3,9-Bis(3,4-dimethoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(hydroxymethyl)-6,12-di(4-methoxyphenyl)-3,9-diazaheptacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



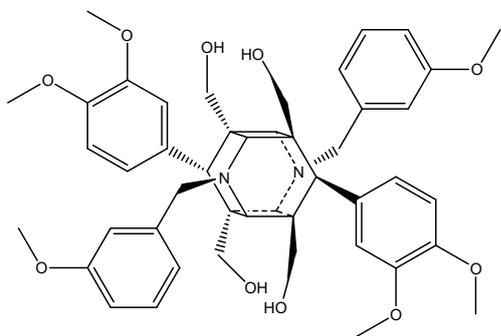
Verbindung Nr.: 71

Summenformel:  $C_{46}H_{54}N_2O_{10}$

Molare Masse: 794,38 g/mol

Die Verbindung 71 wurde von BAUMERT zur Verfügung gestellt. Die experimentellen Daten stimmen mit der Literatur überein [209].

- (72) **3,9-Di(3-methoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(hydroxymethyl)-6,12-bis(3,4-dimethoxyphenyl)-3,9-diazaheptacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



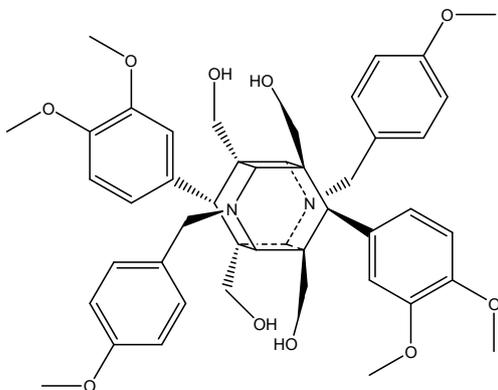
Verbindung Nr.: 72

Summenformel:  $C_{46}H_{54}N_2O_{10}$

Molare Masse: 794,38 g/mol

Die Verbindung 72 wurde von BAUMERT zur Verfügung gestellt. Die experimentellen Daten stimmen mit der Literatur überein [209].

- (73) **3,9-Di(4-methoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(4-hydroxymethyl)-6,12-bis(3,4-dimethoxyphenyl)-3,9-diazahexacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



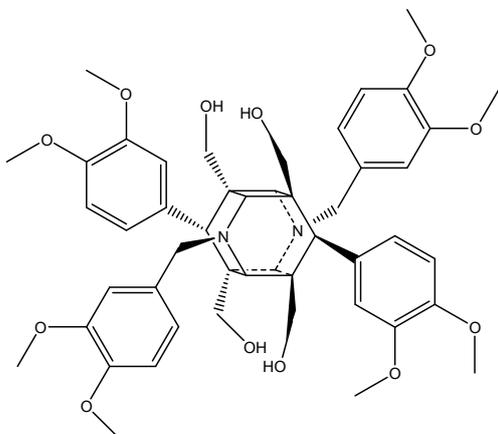
Verbindung Nr.: 73

Summenformel:  $C_{46}H_{54}N_2O_{10}$

Molare Masse: 794,38 g/mol

Die Verbindung 73 wurde von BAUMERT zur Verfügung gestellt. Die experimentellen Daten stimmen mit der Literatur überein [209].

- (74) **3,9-Bis(3,4-dimethoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakis(4-hydroxymethyl)-6,12-bis(3,4-dimethoxyphenyl)-3,9-diazahexacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



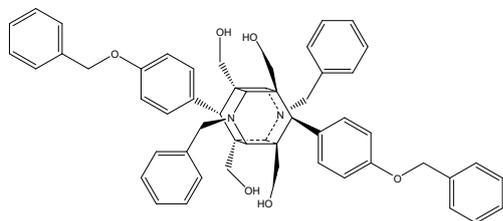
Verbindung Nr.: 74

Summenformel:  $C_{48}H_{58}N_2O_{12}$

Molare Masse: 854,40 g/mol

Die Verbindung 74 wurde von BAUMERT zur Verfügung gestellt. Die experimentellen Daten stimmen mit der Literatur überein [209].

(75) **3,9-Dibenzyl-1,5,7,11-tetrakishydroxymethyl-6,12-di(4-benzyloxyphenyl-3,9-diazahehexacyclo-6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



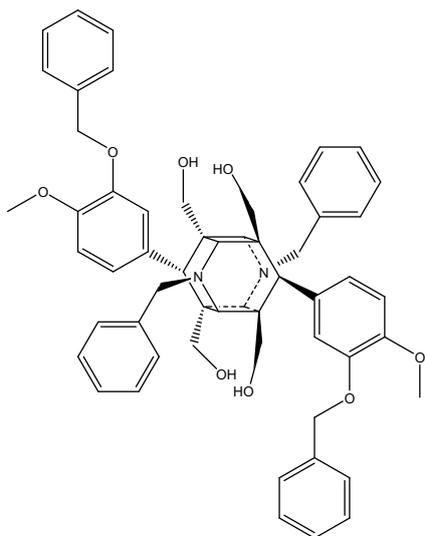
Verbindung Nr.: 75

Summenformel:  $C_{54}H_{54}N_2O_6$

Molare Masse: 826,40 g/mol

Die Verbindung 75 wurde von WOLLMANN zur Verfügung gestellt. Die experimentellen Daten stimmen mit der Literatur überein [209].

(76) **3,9-Dibenzyl-1,5,7,11-tetrakishydroxymethyl-6,12-bis(3-benzyloxy-4-methoxyphenyl-3,9-diazahehexacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



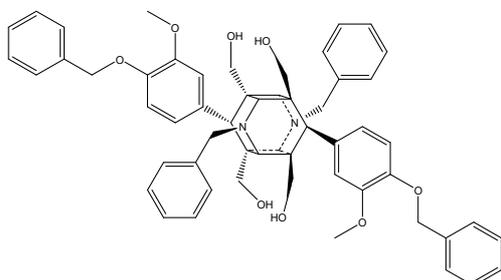
Verbindung Nr.: 76

Summenformel:  $C_{56}H_{58}N_2O_8$

Molare Masse: 886,42 g/mol

Die Verbindung 76 wurde von BAUMERT zur Verfügung gestellt. Die experimentellen Daten stimmen mit der Literatur überein [209].

- (77) 3,9-Dibenzyl-1,5,7,11-tetrakis(hydroxymethyl)-6,12-bis(4-benzyloxy-3-methoxyphenyl)-3,9-diazahexacyclo[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan



Verbindung Nr.: 77

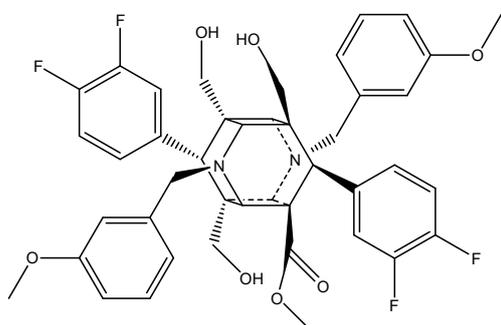
Summenformel:  $C_{56}H_{58}N_2O_8$

Molare Masse: 886,42 g/mol

Die Verbindung 77 wurde von BAUMERT zur Verfügung gestellt. Die experimentellen Daten stimmen mit der Literatur überein [209].

### 6.2.4.1 Aufgeklärte Nebenprodukte

- (78) Methyl-6,12-bis(3,4-difluorphenyl)-5,7,11-tris(hydroxymethyl)-3,9-di(3-methoxybenzyl)-3,9-diazapentacyclo[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]-dodecan-1-carboxylat



Verbindung Nr.: 78

Summenformel:  $C_{43}H_{42}F_4N_2O_7$

Molare Masse: 774,29 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 78 entstand als Nebenprodukt bei der Synthese von Verbindung 48, wurde säulenchromatografisch mit Laufmittel 3 als Elutionsmittel isoliert und mit einer Mischung aus Aceton und Cyclohexan (1:10) als weißer Feststoff ausgefällt.

**Ausbeute:** 6,06 %

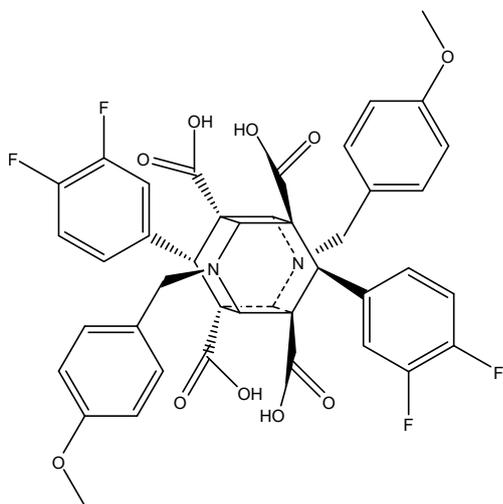
**MS (ESI):**  $m/z$  (%) = 797,48 (76,  $[M + Na^+]^+$ )

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$ (ppm, 500 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>) = 2,92 (s, 2H, H2 und H8); 3,01-3,21

(AB-Teil des ABX-Systems, 6H, CH<sub>2</sub>-OH); 3,51 (s, 6H, 3-CH<sub>3</sub>-OBz); 3,63 (s, 2H, H4 und H10); 3,63 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 3,65 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 3,68 (s, 2H, H6 und H12); 4,17 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>); 4,60-4,92 (X-Teil des ABX-Systems, 3H, CH<sub>2</sub>-OH); 6,74-7,02 (m, 10H, H2 und H6 des Ph und H2, H4 und H6 des N-Bz); 7,10-7,29 (m, 4H, H5 des Ph und H5 des N-Bz)

### 6.2.5 Synthese der Käfigdimersäuren

(79) **3,9-Di(4-methoxybenzyl)-1,5,7,11-tetrakiscarboxy-6,12-bis(3,4-difluorphenyl)-3,9-diazahexacyclo-[6.4.0.0<sup>2,7</sup>.0<sup>4,11</sup>.0<sup>5,10</sup>]dodecan**



Verbindung Nr.: 67

Summenformel: C<sub>42</sub>H<sub>34</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>

Molare Masse: 802,21 g/mol

**Darstellung:** Verbindung 79 wurde nach AAV5 aus Verbindung 26 hergestellt und mit einer Mischung aus Aceton und Cyclohexan (1:10) als weißer Feststoff ausgefällt. Die Verbindung war über diesen Syntheseschritt grundsätzlich zugänglich, konnte jedoch nicht als einzelne, reine Verbindung von seinen Nebenprodukten isoliert werden. Eine Auswertung der <sup>1</sup>HNMR-Daten war deswegen nicht möglich (s. Abschnitt 3.4).

**Ausbeute:** 61,50 %

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0,264 (Laufmittel 8)

**Schmelzbereich:** 176,8 - 178,9 °C

MS (ESI): 801,35 [M - H<sup>+</sup>]<sup>-</sup>



# Literatur

- [1] T. Dingermann und I. Zündorf. “Resistente Tumorzellen - Krebswachstum trotz Therapie”. In: *Pharmazeutische Zeitung (AVOXA)* 43/2015 (19. Okt. 2015). URL: <https://www.pharmazeutische-zeitung.de/ausgabe-432015/krebswachstum-trotz-therapie/> (besucht am 21.09.2020).
- [2] Deutsche Krebsgesellschaft e.V. *Die Operation bei Krebs*. 10. Sep. 2014. URL: <https://www.krebsgesellschaft.de/onko-internetportal/basis-informationen-krebs/therapieformen/operation-bei-krebs.html> (besucht am 31.08.2020).
- [3] Robert Koch-Institut und Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. “Krebs in Deutschland 2015/2016”. In: (2019). DOI: <http://dx.doi.org/10.25646/5977>.
- [4] Zentrum für Krebsregisterdaten, RKI. *Krebsarten: Krebs gesamt*. 17. Dez. 2019. URL: [https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Krebsarten/Krebs\\_gesamt/krebs\\_gesamt\\_node.html](https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Krebsarten/Krebs_gesamt/krebs_gesamt_node.html) (besucht am 25.04.2021).
- [5] Krebsinformationsdienst des Deutschen Krebsforschungszentrum. *Krebsstatistiken: So häufig ist Krebs in Deutschland*. 17. Dez. 2019. URL: <https://www.krebsinformationsdienst.de/tumorarten/grundlagen/krebsstatistiken.php> (besucht am 25.04.2021).
- [6] T. Ozben. “Mechanisms and strategies to overcome multiple drug resistance in cancer”. In: *FEBS Letters* 580.12 (Feb. 2006), S. 2903–2909. DOI: 10.1016/j.febslet.2006.02.020.
- [7] A. Hilgeroth, M. Hemmer und C. Coburger. “The Impact of the Induction of Multidrug Resistance Transporters in Therapies by Used Drugs: Recent Studies”. In: *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* 12.11 (Sep. 2012), S. 1127–1134. DOI: 10.2174/138955712802762130.
- [8] S. K. Gupta, P. Singh, V. Ali und M. Verma. “Role of membrane-embedded drug efflux ABC transporters in the cancer chemotherapy”. In: *Oncology Reviews* 14.2 (Juli 2020). DOI: 10.4081/oncol.2020.448.

- [9] M. Nikolaou, A. Pavlopoulou, A. G. Georgakilas und E. Kyrodimos. “The challenge of drug resistance in cancer treatment: a current overview”. In: *Clinical & Experimental Metastasis* 35.4 (Apr. 2018), S. 309–318. DOI: 10.1007/s10585-018-9903-0.
- [10] P. Sharma, S. Hu-Lieskovan, J. A. Wargo und A. Ribas. “Primary, Adaptive, and Acquired Resistance to Cancer Immunotherapy”. In: *Cell* 168.4 (Feb. 2017), S. 707–723. DOI: 10.1016/j.cell.2017.01.017.
- [11] F. H. Groenendijk und R. Bernards. “Drug resistance to targeted therapies: Déjà vu all over again”. In: *Molecular Oncology* 8.6 (Mai 2014), S. 1067–1083. DOI: 10.1016/j.molonc.2014.05.004.
- [12] Y. Chen, X. Yuan, Z. Xiao, H. Jin, L. Zhang und Z. Liu. “Discovery of novel multidrug resistance protein 4 (MRP4) inhibitors as active agents reducing resistance to anticancer drug 6-Mercaptopurine (6-MP) by structure and ligand-based virtual screening”. In: *PLOS ONE* 13.10 (Okt. 2018). Hrsg. von I. V. Lebedeva, e0205175. DOI: 10.1371/journal.pone.0205175.
- [13] A. J. Slot, S. V. Molinski und S. P. Cole. “Mammalian multidrug-resistance proteins (MRPs)”. In: *Essays in Biochemistry* 50 (Sep. 2011). Hrsg. von F. J. Sharom, S. 179–207. DOI: 10.1042/bse0500179.
- [14] F. Russel, J. Koenderink und R. Masereeuw. “Multidrug resistance protein 4 (MRP4/ABCC4): a versatile efflux transporter for drugs and signalling molecules”. In: *Trends in Pharmacological Sciences* 29.4 (Apr. 2008), S. 200–207. DOI: 10.1016/j.tips.2008.01.006.
- [15] D. Steinhilber, M. Schubert-Zsilavec und H. J. Roth. *Medizinische Chemie. Targets, Arzneistoffe, Chemische Biologie; 191 Tabellen*. 2. Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, 29. Apr. 2010. 704 S. ISBN: 978-3-7692-5002-2.
- [16] L. A. Loeb, K. R. Loeb und J. P. Anderson. “Multiple mutations and cancer”. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100.3 (Jan. 2003), S. 776–781. DOI: 10.1073/pnas.0334858100.
- [17] H.-J. Schmoll, K. Höffken und K. Possinger. *Kompendium Internistische Onkologie : Standards in Diagnostik und Therapie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2006. ISBN: 978-3-540-20657-6.
- [18] K. W. Kinzler und B. Vogelstein. “Lessons from Hereditary Colorectal Cancer”. In: *Cell* 87.2 (Okt. 1996), S. 159–170. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81333-1.

- [19] E. R. Fearon und B. Vogelstein. “A genetic model for colorectal tumorigenesis”. In: *Cell* 61.5 (Juni 1990), S. 759–767. DOI: 10.1016/0092-8674(90)90186-i.
- [20] D. Hanahan und R. A. Weinberg. “The Hallmarks of Cancer”. In: *Cell* 100.1 (Jan. 2000), S. 57–70. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81683-9.
- [21] D. Hanahan und R. A. Weinberg. “Hallmarks of Cancer: The Next Generation”. In: *Cell* 144.5 (März 2011), S. 646–674. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
- [22] H. Bartsch. “DNA adducts in human carcinogenesis: Etiological relevance and structure-activity relationship”. In: *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology* 340.2-3 (Juni 1996), S. 67–79. DOI: 10.1016/s0165-1110(96)90040-8.
- [23] International Agency for Research on Cancer (IARC) der WHO. *Solar and Ultraviolet Radiations: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Volume 55*. World Health Organization, 1. Dez. 1992. 316 S. ISBN: 978-92-832-1255-3.
- [24] Krebsinformationsdienst des Deutschen Krebsforschungszentrum. *Viren und weitere Krankheitserreger als Krebsauslöser*. 18. Okt. 2016. URL: <https://www.krebsinformationsdienst.de/vorbeugung/risiken/viren.php> (besucht am 13.07.2020).
- [25] Krebsinformationsdienst des Deutschen Krebsforschungszentrum. *Wie entsteht Krebs? - Wenn aus gesunden Zellen Tumorzellen werden*. 1. Aug. 2018. URL: <https://www.krebsinformationsdienst.de/tumorarten/grundlagen/krebsentstehung.php> (besucht am 20.05.2020).
- [26] T. Gredner, G. Behrens, C. Stock, H. Brenner und U. Mons. “Cancers due to infection and selected environmental factors”. In: *Deutsches Ärzteblatt Online* (Sep. 2018). ISSN: 1866-0452. DOI: 10.3238/arztebl.2018.0586.
- [27] U. Mons, T. Gredner, G. Behrens, C. Stock und H. Brenner. “Cancers due to smoking and high alcohol consumption”. In: *Deutsches Ärzteblatt Online* (Sep. 2018). ISSN: 1866-0452. DOI: 10.3238/arztebl.2018.0571.
- [28] G. Behrens, T. Gredner, C. Stock, M. F. Leitzmann, H. Brenner und U. Mons. “Cancers due to excess weight, low physical activity and unhealthy diet”. In: *Deutsches Ärzteblatt Online* (Sep. 2018). ISSN: 1866-0452. DOI: 10.3238/arztebl.2018.0578.

- [29] Krebsinformationsdienst des Deutschen Krebsforschungszentrum. *Erstmals für Deutschland ermittelt: Vermeidbare Risikofaktoren verursachen 37 Prozent aller Krebsfälle*. 3. Sep. 2018. URL: <https://www.dkfz.de/de/presse/pressemitteilungen/2018/dkfz-pm-18-48-Vermeidbare-Risikofaktoren-verursachen-37-Prozent-aller-Krebsfaelle.php> (besucht am 22.06.2020).
- [30] *PONS Basiswörterbuch Latein*. Pons GmbH, 11. Juni 2018. 712 S. ISBN: 978-3-12-517849-6.
- [31] C. Pleyer. *Onkologie. Verstehen - Wissen - Pflegen*. 2. Elsevier Health Sciences, 2017. ISBN: 9783437273469.
- [32] Robert Koch-Institut. *Gesundheitsberichterstattung des Bundes, Heft 25: Brustkrebs*. 2005.
- [33] Krebsinformationsdienst des Deutschen Krebsforschungszentrum. *Krebs: Was ist das? Wie entstehen Metastasen?* 1. Okt. 2018. URL: <https://www.krebsinformationsdienst.de/tumorarten/grundlagen/krebsentstehung-faq.php> (besucht am 27.04.2020).
- [34] Krebsinformationsdienst des Deutschen Krebsforschungszentrum. *Metastasen bei Krebs - Wie entstehen Tochtergeschwülste?* 6. Sep. 2018. URL: <https://www.krebsinformationsdienst.de/tumorarten/grundlagen/metastasenbildung.php> (besucht am 11.05.2020).
- [35] Roche Deutschland Holding GmbH. *Angiogenese - Tumor-Angiogenese*. 12. Nov. 2019. URL: <https://www.roche.de/pharma/onkologie/brustkrebs/angiogenese.html#Was-ist-Angiogenese> (besucht am 11.05.2020).
- [36] Krebsinformationsdienst des Deutschen Krebsforschungszentrum. *Leukämie bei Erwachsenen: Häufigkeit und Krankheitsentstehung*. 28. Nov. 2017. URL: <https://www.krebsinformationsdienst.de/tumorarten/leukaemien/risikofaktoren.php> (besucht am 20.05.2020).
- [37] Krebsinformationsdienst des Deutschen Krebsforschungszentrum. *Lymphome: Hodgkin, Non-Hodgkin und multiples Myelom*. 3. Sep. 2019. URL: <https://www.krebsinformationsdienst.de/tumorarten/lymphome/index.php> (besucht am 20.05.2020).
- [38] Krebsinformationsdienst des Deutschen Krebsforschungszentrum. *Hirntumoren: Gliome, Glioblastome, Astrozytome und weitere*. 27. Nov. 2017. URL: <https://www.krebsinformationsdienst.de/tumorarten/hirntumoren.php> (besucht am 26.05.2020).

- [39] International Agency for Research on Cancer (IARC) der WHO. *WHO Classification of Tumours*. 2020. URL: <https://whobluebooks.iarc.fr> (besucht am 22.06.2020).
- [40] Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information. *ICD-O-3 Erste Revision - Unterschiede zwischen der ICD-O und der ICD-10*. 27. Feb. 2014. URL: <https://www.dimdi.de/static/de/klassifikationen/icd/icd-o-3/icdo3rev1html/zusatz-08-unterschiede-icdo-icd10.htm> (besucht am 22.06.2020).
- [41] Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information. *ICD-10-WHO Version 2019, Kapitel II - Neubildungen (C00-D48)*. 24. Aug. 2018. URL: <https://www.dimdi.de/static/de/klassifikationen/icd/icd-10-who/kode-suche/htmlamt12019/chapter-ii.htm> (besucht am 03.06.2020).
- [42] Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information. *ICD-O-3*. URL: <https://www.dimdi.de/dynamic/de/klassifikationen/icd/icd-o-3/> (besucht am 22.06.2020).
- [43] World Health Organization. *International Classification of Diseases for Oncology, 3rd Edition (ICD-O-3)*. 5. Okt. 2015. URL: <https://www.who.int/classifications/icd/adaptations/oncology/en/> (besucht am 22.06.2020).
- [44] M. Harmer, P. Denoix und H. Hamperl. "Das TNM-System zur Klassifikation von Tumorkrankheiten". In: *Klinische Wochenschrift* 46.22 (Nov. 1968), S. 1181–1185. DOI: 10.1007/BF01710851.
- [45] P. Denoix. "Tumor, node and metastasis (TNM)". In: *Bull Inst Nat Hyg (Paris)* 1.6 (1944), S. 1–69.
- [46] P. Denoix u. a. "Cancer In French West Africa: Cumulative Results of Ten Years Enquiry (1940-1949)." In: *Bull. Inst. Nat. Hyg.* 5.3 (1950), S. 372–7.
- [47] P. Denoix. "The TNM staging system". In: *Bull Inst Nat Hyg (Paris)* 7 (1952), S. 743.
- [48] M. K. Gospodarowicz, C. Wittekind und J. D. Brierley (UICC). *TNM Classification of Malignant Tumours*. John Wiley und Sons Ltd, 16. Dez. 2016. 272 S. ISBN: 978-1-119-26357-9.
- [49] Union for International Cancer Control (UICC). *What is TNM?* 1. Okt. 2019. URL: <https://www.uicc.org/resources/tnm> (besucht am 03.06.2020).

- [50] Krebsinformationsdienst des Deutschen Krebsforschungszentrum. *TNM-System, Staging, Grading: Was bedeuten die Begriffe?* 9. Jan. 2018. URL: <https://www.krebsinformationsdienst.de/untersuchung/krebs-befunde-verstehen.php> (besucht am 20.05.2020).
- [51] Deutsche Krebsgesellschaft e.V. *Klassifikation von Tumoren (TNM-System & Grading)*. 9. Sep. 2015. URL: <https://www.krebsgesellschaft.de/onko-internetportal/basis-informationen-krebs/basis-informationen-krebs-allgemeine-informationen/klassifikation-von-tumoren-tnm.html> (besucht am 20.05.2020).
- [52] Krebsinformationsdienst des Deutschen Krebsforschungszentrum. *Brustkrebs: Klassifikation und Stadieneinteilung*. 15. März 2018. URL: <https://www.krebsinformationsdienst.de/tumorarten/brustkrebs/stadieneinteilung.php> (besucht am 04.06.2020).
- [53] S. Swerdlow, E. Campo, N. L. Harris, E. Jaffe, P. Stefano, H. Stein und J. Thiele. *WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2017. ISBN: 9789283244943.
- [54] Krebsinformationsdienst des Deutschen Krebsforschungszentrum. *Leukämie bei Erwachsenen: Einteilung*. 25. März 2020. URL: <https://www.krebsinformationsdienst.de/tumorarten/leukaemien/einteilung.php> (besucht am 20.05.2020).
- [55] Deutsche Krebsgesellschaft e.V. *Diagnose von Leukämie*. 21. März 2017. URL: <https://www.krebsgesellschaft.de/onko-internetportal/basis-informationen-krebs/krebsarten/leukaemie/diagnose.html> (besucht am 01.06.2020).
- [56] D. N. Louis, A. Perry, G. Reifenberger, A. von Deimling, D. Figarella-Branger, W. K. Cavenee, H. Ohgaki, O. D. Wiestler, P. Kleihues und D. W. Ellison. “The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary”. In: *Acta Neuropathologica* 131.6 (Mai 2016), S. 803–820. DOI: 10.1007/s00401-016-1545-1.
- [57] Gesundheitsberichterstattung des Bundes, RKI, Destatis. *Indikator 3.2 des Indikatorensetzes der GBE der Länder: Sterbefälle nach Hauptdiagnosegruppen und Geschlecht, Region, ab 1998*. 2019. URL: [https://www.gbe-bund.de/gbe/pkg\\_isgbe5.prc\\_menu\\_olap?p\\_uid=gast&p\\_aid=66382262&p\\_spra](https://www.gbe-bund.de/gbe/pkg_isgbe5.prc_menu_olap?p_uid=gast&p_aid=66382262&p_spra)

- che=D&p\_help=2&p\_indnr=6&p\_indsp=658&p\_ityp=H&p\_fid= (besucht am 23.04.2021).
- [58] P. Högger und E. S. I. Krämer. *Repetitorium Klinische Pharmazie*. Govi Verlag, 15. Okt. 2014. 537 S. ISBN: 978-3-7741-1265-0.
- [59] W. Hiddemann, H. Huber und C. R. Bartram. *Die Onkologie*. Springer-Verlag GmbH, 24. Dez. 2009. ISBN: 978-3-540-79725-8.
- [60] Deutsche Krebsgesellschaft e.V. *Die Strahlentherapie bei Krebs*. 10. Sep. 2014. URL: <https://www.krebsgesellschaft.de/onko-internetportal/basis-informationen-krebs/therapieformen/strahlentherapie-bei-krebs.html> (besucht am 03.09.2020).
- [61] T. Karow und R. Lang-Roth. *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie : vorlesungsorientierte Darstellung und klinischer Leitfaden für Studium und Praxis 2020*. Köln: Verlag Thomas Karow, 2019. ISBN: 978-3-9821223-0-4.
- [62] F. R. Moulton. “Approaches to tumor chemotherapy”. In: American Association for the Advancement of Science. American Association for the Advancement of Science, 1947.
- [63] S. L. Smith. “War! What is it good for? Mustard gas medicine”. In: *Canadian Medical Association Journal* 189.8 (Feb. 2017), E321–E322. DOI: 10.1503/cmaj.161032.
- [64] G. Geisslinger, S. Menzel, T. Gudermann, B. Hinz und P. Ruth. *Mutschler Arzneimittelwirkungen*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 19. Dez. 2019. ISBN: 978-3-8047-3663-4.
- [65] Krebsinformationsdienst des Deutschen Krebsforschungszentrum. *Brustkrebs: Die Antihormontherapie*. 20. Nov. 2018. URL: <https://www.krebsinformationsdienst.de/tumorarten/brustkrebs/hormontherapie.php> (besucht am 11.09.2020).
- [66] Deutsche Krebsgesellschaft e.V. *Zielgerichtete Krebstherapien*. 10. Sep. 2014. URL: <https://www.krebsgesellschaft.de/onko-internetportal/basis-informationen-krebs/therapieformen/molekularbiologische-therapie.html> (besucht am 15.09.2020).

- [67] P. McLaughlin, A. J. Grillo-López, B. K. Link, R. Levy, M. S. Czuczman, M. E. Williams, M. R. Heyman, I. Bence-Bruckler, C. A. White, F. Cabanillas, V. Jain, A. D. Ho, J. Lister, K. Wey, D. Shen und B. K. Dallaire. “Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program.” In: *Journal of Clinical Oncology* 16.8 (Aug. 1998), S. 2825–2833. DOI: 10.1200/JCO.1998.16.8.2825.
- [68] Krebsinformationsdienst des Deutschen Krebsforschungszentrum. *Zielgerichtete Krebstherapien: Wie funktionieren sie?* 20. Jan. 2020. URL: <https://www.krebsinformationsdienst.de/service/iblatt/iblatt-zielgerichtete-krebstherapien.pdf> (besucht am 15.09.2020).
- [69] Y. T. Lee, Y. J. Tan und C. E. Oon. “Molecular targeted therapy: Treating cancer with specificity”. In: *European Journal of Pharmacology* 834 (Sep. 2018), S. 188–196. DOI: 10.1016/j.ejphar.2018.07.034.
- [70] *Neue Arzneimittel - DAZ-Beilage*. 67. Jahrgang, Nr.8. Deutscher Apotheker Verlag, Aug. 2020.
- [71] J. K. Litton, H. S. Rugo, J. Ettl, S. A. Hurvitz, A. Gonçalves, K.-H. Lee, L. Fehrenbacher, R. Yerushalmi, L. A. Mina, M. Martin, H. Roché, Y.-H. Im, R. G. Quek, D. Markova, I. C. Tudor, A. L. Hannah, W. Eiermann und J. L. Blum. “Talazoparib in Patients with Advanced Breast Cancer and a Germline BRCA Mutation”. In: *New England Journal of Medicine* 379.8 (Aug. 2018), S. 753–763. DOI: 10.1056/NEJMoa1802905.
- [72] E. Pujade-Lauraine u. a. “Olaparib tablets as maintenance therapy in patients with platinum-sensitive, relapsed ovarian cancer and a BRCA1/2 mutation (SOLO2/ENGOT-Ov21): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial”. In: *The Lancet Oncology* 18.9 (Sep. 2017), S. 1274–1284. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30469-2.
- [73] X. Ouyang, M. Shi, F. Jie, Y. Bai, P. Shen, Z. Yu, X. Wang, C. Huang, M. Tao, Z. Wang, C. Xie, Q. Wu, Y. Shu, B. Han, F. Zhang, Y. Zhang, C. Hu, X. Ma, Y. Liang, A. Wang, B. Lu, Y. Shi, J. Chen, Z. Zhuang, J. Wang, J. Huang, C. Wang, C. Bai, X. Zhou, Q. Li, F. Chen, H. Yu und J. Feng. “Phase III study of dulanermin (recombinant human tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand/Apo2 ligand) combined with vinorelbine and cisplatin in patients with advanced non-small-cell lung cancer”. In: *Investigational New Drugs* 36.2 (Nov. 2017), S. 315–322. DOI: 10.1007/s10637-017-0536-y.

- [74] G. Housman, S. Byler, S. Heerboth, K. Lapinska, M. Longacre, N. Snyder und S. Sarkar. “Drug Resistance in Cancer: An Overview”. In: *Cancers* 6.3 (Sep. 2014), S. 1769–1792. DOI: doi:10.3390/cancers6031769.
- [75] L. A. Loeb, K. R. Loeb und J. P. Anderson. “Multiple mutations and cancer”. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100.3 (Jan. 2003), S. 776–781. DOI: 10.1073/pnas.0334858100.
- [76] B. Mansoori, A. Mohammadi, S. Davudian, S. Shirjang und B. Baradaran. “The Different Mechanisms of Cancer Drug Resistance: A Brief Review”. In: *Advanced Pharmaceutical Bulletin* 7.3 (Sep. 2017), S. 339–348. DOI: 10.15171/apb.2017.041.
- [77] D. Bonnet und J. E. Dick. “Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell”. In: *Nature Medicine* 3.7 (Juli 1997), S. 730–737. DOI: 10.1038/nm0797-730.
- [78] E. Batlle und H. Clevers. “Cancer stem cells revisited”. In: *Nature Medicine* 23.10 (Okt. 2017), S. 1124–1134. DOI: 10.1038/nm.4409.
- [79] I. Bördlein. *Tumorstammzellen: Wie man die Basis ausschalten will*. 7. Dez. 2012. URL: <https://www.aerzteblatt.de/archiv/133341/Tumorstammzellen-Wie-man-die-Basis-ausschalten-will> (besucht am 28.09.2020).
- [80] A. Kreso und J. E. Dick. “Evolution of the Cancer Stem Cell Model”. In: *Cell Stem Cell* 14.3 (März 2014), S. 275–291. DOI: 10.1016/j.stem.2014.02.006.
- [81] M. Dean, T. Fojo und S. Bates. “Tumour stem cells and drug resistance”. In: *Nature Reviews Cancer* 5.4 (Apr. 2005), S. 275–284. DOI: 10.1038/nrc1590.
- [82] B. Pal, R. Bayat-Mokhtari, H. Li, R. Bhuyan, J. Talukdar, S. Sandhya, A. Sarma, W. Tasabehji, S. Bhuyan, S. Gayan, A. C. Katarki, D. Baishya, H. Yeger, D. W. Felsher und B. Das. “Abstract 251: Stem cell altruism may serve as a novel drug resistance mechanism in oral cancer”. In: (Juli 2016). DOI: 10.1158/1538-7445.AM2016-251.
- [83] G. Bradley, P. F. Juranka und V. Ling. “Mechanism of multidrug resistance”. In: *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* 948.1 (Aug. 1988), S. 87–128. DOI: 10.1016/0304-419x(88)90006-6.
- [84] Z.-W. Li und W. S. Dalton. “Tumor microenvironment and drug resistance in hematologic malignancies”. In: *Blood Reviews* 20.6 (Nov. 2006), S. 333–342. DOI: 10.1016/j.blre.2005.08.003.

- [85] J. Ma, L. Liu, G. Che, N. Yu, F. Dai und Z. You. “The M1 form of tumor-associated macrophages in non-small cell lung cancer is positively associated with survival time”. In: *BMC Cancer* 10.1 (März 2010). DOI: 10.1186/1471-2407-10-112.
- [86] M. M. Gottesman. “Mechanisms of Cancer Drug Resistance”. In: *Annual Review of Medicine* 53.1 (Feb. 2002), S. 615–627. DOI: 10.1146/annurev.med.53.082901.103929.
- [87] K. S. Sherlach und P. D. Roepe. “Drug resistance associated membrane proteins”. In: *Frontiers in Physiology* 5 (März 2014). DOI: 10.3389/fphys.2014.00108.
- [88] S. W. Lowe, H. Ruley, T. Jacks und D. E. Housman. “p53-dependent apoptosis modulates the cytotoxicity of anticancer agents”. In: *Cell* 74.6 (Sep. 1993), S. 957–967. DOI: 10.1016/0092-8674(93)90719-7.
- [89] Y.-Y. Liu, R. A. Hill und Y.-T. Li. “Ceramide Glycosylation Catalyzed by Glucosylceramide Synthase and Cancer Drug Resistance”. In: (2013), S. 59–89. DOI: 10.1016/B978-0-12-394274-6.00003-0.
- [90] J. P. Madigan, R. W. Robey, J. E. Poprawski, H. Huang, C. J. Clarke, M. M. Gottesman, M. C. Cabot und D. W. Rosenberg. “A role for ceramide glycosylation in resistance to oxaliplatin in colorectal cancer”. In: *Experimental Cell Research* 388.2 (März 2020), S. 111860. DOI: 10.1016/j.yexcr.2020.111860.
- [91] K. T. Richter, Y. T. Kschonsak, B. Vodicska und I. Hoffmann. “FBXO45-MYCBP2 regulates mitotic cell fate by targeting FBXW7 for degradation”. In: *Cell Death & Differentiation* 27.2 (Juli 2019), S. 758–772. DOI: 10.1038/s41418-019-0385-7.
- [92] Krebsinformationsdienst des Deutschen Krebsforschungszentrum. *Wie Resistenz gegen wichtiges Krebsmedikament entsteht*. 23. Juli 2019. URL: <https://www.dkfz.de/de/presse/pressemitteilungen/2019/dkfz-pm-19-35c-Wie-Resistenz-gegen-wichtiges-Krebsmedikament-entsteht.php> (besucht am 05.10.2020).
- [93] H. A. Seo, S. Moeng, S. Sim, H. J. Kuh, S. Y. Choi und J. K. Park. “MicroRNA-Based Combinatorial Cancer Therapy: Effects of MicroRNAs on the Efficacy of Anti-Cancer Therapies”. In: *Cells* 9.1 (Dez. 2019), S. 29. DOI: 10.3390/cells9010029.

- [94] O. Gourbault und L. Llobat. “MicroRNAs as Biomarkers in Canine Osteosarcoma: A New Future?” In: *Veterinary Sciences* 7.4 (Sep. 2020), S. 146. DOI: 10.3390/vetsci7040146.
- [95] J. Li, X. Guan, Z. Fan, L.-M. Ching, Y. Li, X. Wang, W.-M. Cao und D.-X. Liu. “Non-Invasive Biomarkers for Early Detection of Breast Cancer”. In: *Cancers* 12.10 (Sep. 2020), S. 2767. DOI: 10.3390/cancers12102767.
- [96] H. Yamamoto, Y. Watanabe, Y. Sato, T. Maehata und F. Itoh. “Non-Invasive Early Molecular Detection of Gastric Cancers”. In: *Cancers* 12.10 (Okt. 2020), S. 2880. DOI: 10.3390/cancers12102880.
- [97] W. Si, J. Shen, C. Du, D. Chen, X. Gu, C. Li, M. Yao, J. Pan, J. Cheng, D. Jiang, L. Xu, C. Bao, P. Fu und W. Fan. “A miR-20a/MAPK1/c-Myc regulatory feedback loop regulates breast carcinogenesis and chemoresistance”. In: *Cell Death & Differentiation* 25.2 (Nov. 2017), S. 406–420. DOI: 10.1038/cdd.2017.176.
- [98] F. Cao und L.-X. Yin. “miR-122 enhances sensitivity of hepatocellular carcinoma to oxaliplatin via inhibiting MDR1 by targeting Wnt/ $\beta$ -catenin pathway”. In: *Experimental and Molecular Pathology* 106 (Feb. 2019), S. 34–43. DOI: 10.1016/j.yexmp.2018.10.009.
- [99] C. Lu, Z. Shan, C. Li und L. Yang. “MiR-129 regulates cisplatin-resistance in human gastric cancer cells by targeting P-gp”. In: *Biomedicine & Pharmacotherapy* 86 (Feb. 2017), S. 450–456. DOI: 10.1016/j.biopha.2016.11.139.
- [100] L. Lu, F. Ju, H. Zhao und X. Ma. “MicroRNA-134 modulates resistance to doxorubicin in human breast cancer cells by downregulating ABCC1”. In: *Biotechnology Letters* 37.12 (Aug. 2015), S. 2387–2394. DOI: 10.1007/s10529-015-1941-y.
- [101] P. S. Amponsah, P. Fan, N. Bauer, Z. Zhao, J. Gladkich, J. Fellenberg und I. Herr. “microRNA-210 overexpression inhibits tumor growth and potentially reverses gemcitabine resistance in pancreatic cancer”. In: *Cancer Letters* 388 (März 2017), S. 107–117. DOI: 10.1016/j.canlet.2016.11.035.
- [102] C. Pottier, M. Fresnais, M. Gilon, G. Jérusalem, R. Longuespée und N. E. Sounni. “Tyrosine Kinase Inhibitors in Cancer: Breakthrough and Challenges of Targeted Therapy”. In: *Cancers* 12.3 (März 2020), S. 731. DOI: 10.3390/cancers12030731.

- [103] P. B. Alexander und X.-F. Wang. “Resistance to receptor tyrosine kinase inhibition in cancer: molecular mechanisms and therapeutic strategies”. In: *Frontiers of Medicine* 9.2 (Mai 2015), S. 134–138. DOI: 10.1007/s11684-015-0396-9.
- [104] P. Makhov, S. Joshi, P. Ghatalia, A. Kutikov, R. G. Uzzo und V. M. Kolenko. “Resistance to Systemic Therapies in Clear Cell Renal Cell Carcinoma: Mechanisms and Management Strategies”. In: *Molecular Cancer Therapeutics* 17.7 (Juli 2018), S. 1355–1364. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-17-1299.
- [105] C. Thomas und R. Tampé. “Structural and Mechanistic Principles of ABC Transporters”. In: *Annual Review of Biochemistry* 89.1 (Juni 2020), S. 605–636. DOI: 10.1146/annurev-biochem-011520-105201.
- [106] R. W. Robey, K. M. Pluchino, M. D. Hall, A. T. Fojo, S. E. Bates und M. M. Gottesman. “Revisiting the role of ABC transporters in multidrug-resistant cancer”. In: *Nature Reviews Cancer* 18.7 (Apr. 2018), S. 452–464. DOI: 10.1038/s41568-018-0005-8.
- [107] L. McMurry, R. E. Petrucci und S. B. Levy. “Active efflux of tetracycline encoded by four genetically different tetracycline resistance determinants in *Escherichia coli*.” In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 77.7 (Juli 1980), S. 3974–3977. DOI: 10.1073/pnas.77.7.3974.
- [108] M. M. Gottesman, O. Lavi, M. D. Hall und J.-P. Gillet. “Toward a Better Understanding of the Complexity of Cancer Drug Resistance”. In: *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 56.1 (Jan. 2016), S. 85–102. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-010715-103111.
- [109] F. J. Sharom. “The P-glycoprotein multidrug transporter”. In: *Essays in Biochemistry* 50 (Sep. 2011). Hrsg. von F. J. Sharom, S. 161–178. DOI: 10.1042/bse0500161.
- [110] V. Vasiliou, K. Vasiliou und D. W. Nebert. “Human ATP-binding cassette (ABC) transporter family”. In: *Human Genomics* 3.3 (2008), S. 281. DOI: 10.1186/1479-7364-3-3-281.
- [111] S. Wilkens. “Structure and mechanism of ABC transporters”. In: *F1000Prime Reports* 7 (Feb. 2015). DOI: 10.12703/P7-14.
- [112] R. C. Ford und K. Beis. “Learning the ABCs one at a time: structure and mechanism of ABC transporters”. In: *Biochemical Society Transactions* 47.1 (Jan. 2019), S. 23–36. DOI: 10.1042/BST20180147.

- [113] F. J. Sharom. “ABC multidrug transporters: structure, function and role in chemoresistance”. In: *Pharmacogenomics* 9.1 (Jan. 2008), S. 105–127. DOI: doi:10.2217/14622416.9.1.105.
- [114] A. Adamska und M. Falasca. “ATP-binding cassette transporters in progression and clinical outcome of pancreatic cancer: What is the way forward?” In: *World Journal of Gastroenterology* 24.29 (Aug. 2018), S. 3222–3238. DOI: 10.3748/wjg.v24.i29.3222.
- [115] S. C. Hyde, P. Emsley, M. J. Hartshorn, M. M. Mimmack, U. Gileadi, S. R. Pearce, M. P. Gallagher, D. R. Gill, R. E. Hubbard und C. F. Higgins. “Structural model of ATP-binding proteing associated with cystic fibrosis, multi-drug resistance and bacterial transport”. In: *Nature* 346.6282 (Juli 1990), S. 362–365. DOI: 10.1038/346362a0.
- [116] J. ter Beek, A. Guskov und D. J. Slotboom. “Structural diversity of ABC transporters”. In: *Journal of General Physiology* 143.4 (März 2014), S. 419–435. DOI: 10.1085/jgp.201411164.
- [117] I. Holland und M. A. Blight. “ABC-ATPases, adaptable energy generators fuelling transmembrane movement of a variety of molecules in organisms from bacteria to humans”. In: *Journal of Molecular Biology* 293.2 (Okt. 1999), S. 381–399. DOI: 10.1006/jmbi.1999.2993.
- [118] M. S. Jin, M. L. Oldham, Q. Zhang und J. Chen. “Crystal structure of the multidrug transporter P-glycoprotein from *Caenorhabditis elegans*”. In: *Nature* 490.7421 (Sep. 2012), S. 566–569. DOI: 10.1038/nature11448.
- [119] R. Juliano und V. Ling. “A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants”. In: *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 455.1 (Nov. 1976), S. 152–162. DOI: 10.1016/0005-2736(76)90160-7.
- [120] H. Glavinas, P. Krajcsi, J. Cserepes und B. Sarkadi. “The Role of ABC Transporters in Drug Resistance, Metabolism and Toxicity”. In: *Current Drug Delivery* 1.1 (Jan. 2004), S. 27–42. DOI: 10.2174/1567201043480036.
- [121] C. A. Hrycyna, L. E. Airan, U. A. Germann, S. V. Ambudkar, I. Pastan und M. M. Gottesman. “Structural Flexibility of the Linker Region of Human P-Glycoprotein Permits ATP Hydrolysis and Drug Transport†”. In: *Biochemistry* 37.39 (Sep. 1998), S. 13660–13673. DOI: 10.1021/bi9808823.

- [122] J. Li, K. F. Jaimes und S. G. Aller. “Refined structures of mouse P-glycoprotein”. In: *Protein Science* 23.1 (Nov. 2013), S. 34–46. DOI: 10.1002/pro.2387.
- [123] *p-Glykoprotein: Arzneistoffpumpe nach draußen*. 10. Apr. 2012. URL: <https://www.pharmazeutische-zeitung.de/ausgabe-152012/arzneistoffpumpe-nach-draussen/> (besucht am 26.10.2020).
- [124] S. G. Aller, J. Yu, A. Ward, Y. Weng, S. Chittaboina, R. Zhuo, P. M. Harrell, Y. T. Trinh, Q. Zhang, I. L. Urbatsch und G. Chang. “Structure of P-Glycoprotein Reveals a Molecular Basis for Poly-Specific Drug Binding”. In: *Science* 323.5922 (März 2009), S. 1718–1722. DOI: 10.1126/science.1168750.
- [125] M. F. Rosenberg, R. Callaghan, S. Modok, C. F. Higgins und R. C. Ford. “Three-dimensional Structure of P-glycoprotein”. In: *Journal of Biological Chemistry* 280.4 (Jan. 2005), S. 2857–2862. DOI: 10.1074/jbc.M410296200.
- [126] L. Esser, F. Zhou, K. M. Pluchino, J. Shiloach, J. Ma, W.-k. Tang, C. Gutierrez, A. Zhang, S. Shukla, J. P. Madigan, T. Zhou, P. D. Kwong, S. V. Ambudkar, M. M. Gottesman und D. Xia. “Structures of the Multidrug Transporter P-glycoprotein Reveal Asymmetric ATP Binding and the Mechanism of Polyspecificity”. In: *Journal of Biological Chemistry* 292.2 (Nov. 2016), S. 446–461. DOI: 10.1074/jbc.M116.755884.
- [127] R. Callaghan. “Providing a molecular mechanism for P-glycoprotein; why would I bother?” In: *Biochemical Society Transactions* 43.5 (Okt. 2015), S. 995–1002. DOI: 10.1042/BST20150131.
- [128] F. J. Sharom. “The P-glycoprotein multidrug transporter”. In: *Essays in Biochemistry* 50 (Sep. 2011). Hrsg. von F. J. Sharom, S. 161–178. DOI: 10.1042/bse0500161.
- [129] R. Didziapetris, P. Japertas, A. Avdeef und A. Petrauskas. “Classification Analysis of P-Glycoprotein Substrate Specificity”. In: *Journal of Drug Targeting* 11.7 (Aug. 2003), S. 391–406. DOI: 10.1080/10611860310001648248.
- [130] P. Borst, R. Evers, M. Kool und J. Wijnholds. “A Family of Drug Transporters: the Multidrug Resistance-Associated Proteins”. In: *JNCI Journal of the National Cancer Institute* 92.16 (Aug. 2000), S. 1295–1302. DOI: 10.1093/jnci/92.16.1295.

- [131] C. J. Matheny, M. W. Lamb, K. L. R. Brouwer und G. M. Pollack. “Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Implications of P-glycoprotein Modulation”. In: *Pharmacotherapy* 21.7 (Juli 2001), S. 778–796. DOI: 10.1592/phco.21.9.778.34558.
- [132] R. B. Kim. “Drugs as P-glycoprotein substrates, inhibitors, and inducers”. In: *Drug Metabolism Reviews* 34.1-2 (Jan. 2002), S. 47–54. DOI: 10.1081/dmrr-120001389.
- [133] A. H. Schinkel und J. W. Jonker. “Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview”. In: *Advanced Drug Delivery Reviews* 55.1 (Jan. 2003), S. 3–29. DOI: 10.1016/s0169-409x(02)00169-2.
- [134] S. Choudhuri und C. D. Klaassen. “Structure, Function, Expression, Genomic Organization, and Single Nucleotide Polymorphisms of Human ABCB1 (MDR1), ABCC (MRP), and ABCG2 (BCRP) Efflux Transporters”. In: *International Journal of Toxicology* 25.4 (Juli 2006), S. 231–259. DOI: 10.1080/10915810600746023.
- [135] G. Jedlitschky, U. Hoffmann und H. K. Kroemer. “Structure and function of the MRP2 (ABCC2) protein and its role in drug disposition”. In: *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology* 2.3 (Mai 2006), S. 351–366. DOI: 10.1517/17425255.2.3.351.
- [136] A. T. Nies, M. Schwab und D. Keppler. “Interplay of conjugating enzymes with OATP uptake transporters and ABCC/MRP efflux pumps in the elimination of drugs”. In: *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology* 4.5 (Mai 2008), S. 545–568. DOI: 10.1517/17425255.4.5.545.
- [137] S. V. Ambudkar, S. Dey, C. A. Hrycyna, M. Ramachandra, I. Pastan und M. M. Gottesman. “BIOCHEMICAL, CELLULAR, AND PHARMACOLOGICAL ASPECTS OF THE MULTIDRUG TRANSPORTER”. In: *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 39.1 (Apr. 1999), S. 361–398. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.39.1.361.
- [138] T. W. Loo, M. C. Bartlett und D. M. Clarke. “Human P-glycoprotein Contains a Greasy Ball-and-Socket Joint at the Second Transmission Interface”. In: *Journal of Biological Chemistry* 288.28 (Juni 2013), S. 20326–20333. DOI: 10.1074/jbc.M113.484550.

- [139] L. J. Goldstein, H. Galski, A. Fojo, M. Willingham, S.-L. Lai, A. Gazdar, R. Pirker, A. Green, W. Crist, G. M. Brodeur, M. Lieber, J. Cossman, M. M. Gottesman und I. Pastan. "Expression of Multidrug Resistance Gene in Human Cancers". In: *JNCI Journal of the National Cancer Institute* 81.2 (Jan. 1989), S. 116–124. DOI: 10.1093/jnci/81.2.116.
- [140] L. Amiri-Kordestani, A. Basseville, K. Kurdziel, A. T. Fojo und S. E. Bates. "Targeting MDR in breast and lung cancer: Discriminating its potential importance from the failure of drug resistance reversal studies". In: *Drug Resistance Updates* 15.1-2 (Feb. 2012), S. 50–61. DOI: 10.1016/j.drug.2012.02.002.
- [141] R. W. Robey, P. R. Massey, L. Amiri-Kordestani und S. E. Bates. "ABC Transporters: Unvalidated Therapeutic Targets in Cancer and the CNS". In: *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* 10.8 (Okt. 2010), S. 625–633. DOI: 10.2174/187152010794473957.
- [142] Y.-P. Gong, T. Liu, Y.-Q. Jia, L. Qin, C.-Q. Deng und R.-Y. O. Yang. "Comparison of Pgp- and MRP-Mediated Multidrug Resistance in Leukemia Cell Lines". In: *International Journal of Hematology* 75.2 (Feb. 2002), S. 154–160. DOI: 10.1007/BF02982020.
- [143] T. McGrath, C. Latoud, S. T. Arnold, A. R. Safa, R. L. Felsted und M. S. Center. "Mechanisms of multidrug resistance in HL60 cells". In: *Biochemical Pharmacology* 38.20 (Okt. 1989), S. 3611–3619. DOI: 10.1016/0006-2952(89)90134-2.
- [144] H. Coley, P. Workman und P. Twentyman. "Retention of activity by selected anthracyclines in a multidrug resistant human large cell lung carcinoma line without P-glycoprotein hyperexpression". In: *British Journal of Cancer* 63.3 (März 1991), S. 351–357. DOI: 10.1038/bjc.1991.84.
- [145] F. Baas, A. Jongasma, H. Broxterman, R. Arceci, D. Housman, G. Scheffer, A. Riethorst, M. Groenigen, A. Nieuwint und H. Joenje. "Non-P-Glycoprotein mediated Mechanism for Multidrug Resistance Precedes P-Glycoprotein Expression during in Vitro Selection for Doxorubicin Resistance in a Human Lung Cancer Cell Line". In: *Cancer research* 50 (Okt. 1990), S. 5392–8.
- [146] C. H. M. Versantvoort, H. J. Broxterman, H. M. Pinedo, E. G. E. de Vries, N. Feller, C. M. Kuiper und J. Lankelma. "Energy-dependent Processes Involved in Reduced Drug Accumulation in Multidrug-resistant Human Lung Cancer

- Cell Lines without P-Glycoprotein Expression”. In: *Cancer Research* 52.1 (1992), S. 17–23. ISSN: 0008-5472.
- [147] S. Cole, G. Bhardwaj, J. Gerlach, J. Mackie, C. Grant, K. Almquist, A. Stewart, E. Kurz, A. Duncan und R. Deeley. “Overexpression of a transporter gene in a multidrug-resistant human lung cancer cell line”. In: *Science* 258.5088 (Dez. 1992), S. 1650–1654. DOI: 10.1126/science.1360704.
- [148] N. Krishnamachary, L. Ma, L. Zheng, A. Safa und M. Center. “Analysis of MRP gene expression and function in HL60 cells isolated for resistance to adriamycin”. English (US). In: *Oncology Research* 6.3 (1994), S. 119–127. ISSN: 0965-0407.
- [149] M. A. Barrand, A. C. Heppell-Parton, K. A. Wright, P. H. Rabbitts und P. R. Twentyman. “A 190-Kilodalton Protein Overexpressed in Non-P-Glycoprotein-Containing Multidrug-Resistant Cells and Its Relationship to the MRP Gene”. In: *JNCI Journal of the National Cancer Institute* 86.2 (Jan. 1994), S. 110–117. DOI: 10.1093/jnci/86.2.110.
- [150] Y.-K. Zhang, Y.-J. Wang, P. Gupta und Z.-S. Chen. “Multidrug Resistance Proteins (MRPs) and Cancer Therapy”. In: *The AAPS Journal* 17.4 (Apr. 2015), S. 802–812. DOI: 10.1208/s12248-015-9757-1.
- [151] Z. Chen, T. Shi, L. Zhang, P. Zhu, M. Deng, C. Huang, T. Hu, L. Jiang und J. Li. “Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family in multidrug resistance: A review of the past decade”. In: *Cancer Letters* 370.1 (Jan. 2016), S. 153–164. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.10.010.
- [152] *The Human Protein Atlas*. 6. März 2020. URL: <http://www.proteinatlas.org> (besucht am 06.11.2020).
- [153] D. F. Robbiani, R. A. Finch, D. Jäger, W. A. Muller, A. C. Sartorelli und G. J. Randolph. “The Leukotriene C4 Transporter MRP1 Regulates CCL19 (MIP-3 $\beta$ , ELC)-Dependent Mobilization of Dendritic Cells to Lymph Nodes”. In: *Cell* 103.5 (Nov. 2000), S. 757–768. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)00179-3.
- [154] S. P. Cole. “Targeting Multidrug Resistance Protein 1 (MRP1,ABCC1): Past, Present, and Future”. In: *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 54.1 (Jan. 2014), S. 95–117. DOI: doi:10.1146/annurev-pharmtox-011613-135959.

- [155] R. Beedholm-Ebsen, K. van de Wetering, T. Hardlei, E. Nexø, P. Borst und S. K. Moestrup. “Identification of multidrug resistance protein 1 (MRP1/ABCC1) as a molecular gate for cellular export of cobalamin”. In: *Blood* 115.8 (Feb. 2010), S. 1632–1639. DOI: 10.1182/blood-2009-07-232587.
- [156] A. H. Schinkel und J. W. Jonker. “Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview”. In: *Advanced Drug Delivery Reviews* 55.1 (Jan. 2003), S. 3–29. DOI: 10.1016/S0169-409X(02)00169-2.
- [157] S.-F. Zhou, L.-L. Wang, Y. Di, C. Xue, W. Duan, C. Li und Y. Li. “Substrates and Inhibitors of Human Multidrug Resistance Associated Proteins and the Implications in Drug Development”. In: *Current Medicinal Chemistry* 15.20 (Aug. 2008), S. 1981–2039. DOI: 10.2174/092986708785132870.
- [158] M. Büchler, J. König, M. Brom, J. Kartenbeck, H. Spring, T. Horie und D. Keppler. “cDNA Cloning of the Hepatocyte Canalicular Isoform of the Multidrug Resistance Protein, cMrp, Reveals a Novel Conjugate Export Pump Deficient in Hyperbilirubinemic Mutant Rats”. In: *Journal of Biological Chemistry* 271.25 (Juni 1996), S. 15091–15098. DOI: 10.1074/jbc.271.25.15091.
- [159] C. C. Paulusma, P. J. Bosma, G. J. R. Zaman, C. T. M. Bakker, M. Otter, G. L. Scheffer, R. J. Scheper, P. Borst und R. P. J. O. Elferink. “Congenital Jaundice in Rats with a Mutation in a Multidrug Resistance-Associated Protein Gene”. In: *Science* 271.5252 (Feb. 1996), S. 1126–1128. DOI: 10.1126/science.271.5252.1126.
- [160] G. Jedlitschky, U. Hoffmann und H. K. Kroemer. “Structure and function of the MRP2 (ABCC2) protein and its role in drug disposition”. In: *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology* 2.3 (Mai 2006), S. 351–366. DOI: 10.1517/17425255.2.3.351.
- [161] O. Janneh, E. Jones, B. Chandler, A. Owen und S. H. Khoo. “Inhibition of P-glycoprotein and multidrug resistance-associated proteins modulates the intracellular concentration of lopinavir in cultured CD4 T cells and primary human lymphocytes”. In: *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 60.5 (Sep. 2007), S. 987–993. DOI: 10.1093/jac/dkm353.

- [162] D. Rost, J. König, G. Weiss, E. Klar, W. Stremmel und D. Keppler. “Expression and localization of the multidrug resistance proteins MRP2 and MRP3 in human gallbladder epithelia”. In: *Gastroenterology* 121.5 (Nov. 2001), S. 1203–1208. DOI: 10.1053/gast.2001.28648.
- [163] A. T. Nies und D. Keppler. “The apical conjugate efflux pump ABCC2 (MRP2)”. In: *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology* 453.5 (Juli 2006), S. 643–659. DOI: 10.1007/s00424-006-0109-y.
- [164] J. Kranz, S. Hessel, J. Aretz, A. Seidel, E. Petzinger, J. Geyer und A. Lampen. “The role of the efflux carriers Abcg2 and Abcc2 for the hepatobiliary elimination of benzo[a]pyrene and its metabolites in mice”. In: *Chemico-Biological Interactions* 224 (Dez. 2014), S. 36–41. DOI: 10.1016/j.cbi.2014.10.009.
- [165] F. Narasaki, M. Oka, R. Nakano, K. Ikeda, M. Fukuda, T. Nakamura, H. Soda, M. Nakagawa, M. Kuwano und S. Kohno. “Human Canalicular Multispecific Organic Anion Transporter (cMOAT) Is Expressed in Human Lung, Gastric, and Colorectal Cancer Cells”. In: *Biochemical and Biophysical Research Communications* 240.3 (Nov. 1997), S. 606–611. DOI: 10.1006/bbrc.1997.7703.
- [166] G. E. Sandusky, K. S. Mintze, S. E. Pratt und A. H. Dantzig. “Expression of multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2) in normal human tissues and carcinomas using tissue microarrays”. In: *Histopathology* 41.1 (Juli 2002), S. 65–74. DOI: 10.1046/j.1365-2559.2002.01403.x.
- [167] P. Borst, C. de Wolf und K. van de Wetering. “Multidrug resistance-associated proteins 3, 4, and 5”. In: *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology* 453.5 (Apr. 2006), S. 661–673. DOI: 10.1007/s00424-006-0054-9.
- [168] J. Wen, J. Luo, W. Huang, J. Tang, H. Zhou und W. Zhang. “The Pharmacological and Physiological Role of Multidrug-Resistant Protein 4”. In: *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 354.3 (Juli 2015), S. 358–375. DOI: 10.1124/jpet.115.225656.
- [169] T. Huynh, M. D. Norris, M. Haber und M. J. Henderson. “ABCC4/MRP4: a MYCN-regulated transporter and potential therapeutic target in neuroblastoma”. In: *Frontiers in Oncology* 2 (2012). DOI: 10.3389/fonc.2012.00178.
- [170] Z. Zhang, J. Wang, B. Shen, C. Peng und M. Zheng. “The ABCC4 gene is a promising target for pancreatic cancer therapy”. In: *Gene* 491.2 (Jan. 2012), S. 194–199. DOI: 10.1016/j.gene.2011.09.029.

- [171] K. Takeuchi, M. Shibata, E. Kashiyama und K. Umehara. “Expression levels of multidrug resistance-associated protein 4 (MRP4) in human leukemia and lymphoma cell lines, and the inhibitory effects of the MRP-specific inhibitor MK-571 on methotrexate distribution in rats”. In: *Experimental and Therapeutic Medicine* 4.3 (Juni 2012), S. 524–532. DOI: 10.3892/etm.2012.627.
- [172] C. A. Ritter, G. Jedlitschky, H. M. zu Schwabedissen, M. Grube, K. Köck und H. K. Kroemer. “Cellular Export of Drugs and Signaling Molecules by the ATP-binding Cassette Transporters MRP4 (ABCC4) and MRP5 (ABCC5)”. In: *Drug Metabolism Reviews* 37.1 (Jan. 2005), S. 253–278. DOI: 10.1081/DMR-200047984.
- [173] Römpp Thieme. *Inhibitoren*. 1. Aug. 2008. URL: <https://roempp.thieme.de/lexicon/RD-09-00684?searchterm=inhibitor> (besucht am 10.11.2020).
- [174] Römpp Thieme. *Hemmung*. 1. Aug. 2008. URL: <https://roempp.thieme.de/lexicon/RD-08-00846#> (besucht am 10.11.2020).
- [175] G. Szakács, J. K. Paterson, J. A. Ludwig, C. Booth-Genthe und M. M. Gottesman. “Targeting multidrug resistance in cancer”. In: *Nature Reviews Drug Discovery* 5.3 (März 2006), S. 219–234. DOI: 10.1038/nrd1984.
- [176] S. M. Stefan und M. Wiese. “Small-molecule inhibitors of multidrug resistance-associated protein 1 and related processes: A historic approach and recent advances”. In: *Medicinal Research Reviews* 39.1 (Mai 2018), S. 176–264. DOI: 10.1002/med.21510.
- [177] L. Cheung, C. L. Flemming, F. Watt, N. Masada, D. M. Yu, T. Huynh, G. Conseil, A. Tivnan, A. Polinsky, A. V. Gudkov, M. A. Munoz, A. Vishvanath, D. M. Cooper, M. J. Henderson, S. P. Cole, J. I. Fletcher, M. Haber und M. D. Norris. “High-throughput screening identifies Ceefourin 1 and Ceefourin 2 as highly selective inhibitors of multidrug resistance protein 4 (MRP4)”. In: *Biochemical Pharmacology* 91.1 (Sep. 2014), S. 97–108. DOI: 10.1016/j.bcp.2014.05.023.
- [178] T. Tsuruo, H. Iida, S. Tsukagoshi und Y. Sakurai. “Overcoming of vincristine resistance in P388 leukemia in vivo and in vitro through enhanced cytotoxicity of vincristine and vinblastine by verapamil.” In: *Cancer Research* 41.5 (1981), S. 1967–72. URL: <https://app.dimensions.ai/details/publication/pub.1082219511>.

- [179] A. Rogan, T. Hamilton, R. Young, R. Klecker und R. Ozols. "Reversal of adriamycin resistance by verapamil in human ovarian cancer". In: *Science* 224.4652 (Juni 1984), S. 994–996. DOI: 10.1126/science.6372095.
- [180] W. S. Dalton, T. M. Grogan, P. S. Meltzer, R. J. Scheper, B. G. Durie, C. W. Taylor, T. P. Miller und S. E. Salmon. "Drug-resistance in multiple myeloma and non-Hodgkin's lymphoma: detection of P-glycoprotein and potential circumvention by addition of verapamil to chemotherapy." In: *Journal of Clinical Oncology* 7.4 (Apr. 1989), S. 415–424. DOI: 10.1200/JCO.1989.7.4.415.
- [181] R. F. Ozols, R. E. Cunnion, R. W. Klecker, T. C. Hamilton, Y. Ostchega, J. E. Parrillo und R. C. Young. "Verapamil and adriamycin in the treatment of drug-resistant ovarian cancer patients." In: *Journal of Clinical Oncology* 5.4 (Apr. 1987), S. 641–647. DOI: 10.1200/JCO.1987.5.4.641.
- [182] S. Cole, H. Downes und M. Slovak. "Effect of calcium antagonists on the chemosensitivity of two multidrug-resistant human tumour cell lines which do not overexpress P-glycoprotein". In: *British Journal of Cancer* 59.1 (Jan. 1989), S. 42–46. DOI: 10.1038/bjc.1989.9.
- [183] S. E. L. Mirski, J. H. Gerlach und S. P. C. Cole. "Multidrug Resistance in a Human Small Cell Lung Cancer Cell Line Selected in Adriamycin". In: *Cancer Research* 47.10 (1987), S. 2594–2598. ISSN: 0008-5472.
- [184] S. Cole, G. Bhardwaj, J. Gerlach, J. Mackie, C. Grant, K. Almquist, A. Stewart, E. Kurz, A. Duncan und R. Deeley. "Overexpression of a transporter gene in a multidrug-resistant human lung cancer cell line". In: *Science* 258.5088 (Dez. 1992), S. 1650–1654. DOI: 10.1126/science.1360704.
- [185] N. Ichiro, K. Kimitoshi, K. Junko, kuwano Michihiko, A. Shin-Ichi, K. Akira, S. Ken-Ichi, Y. Yohji, M. M. Cornwell, I. Pastan und M. M. Gottesman. "Analysis of structural features of dihydropyridine analogs needed to reverse multidrug resistance and to inhibit photoaffinity labeling of P-glycoprotein". In: *Biochemical Pharmacology* 38.3 (Feb. 1989), S. 519–527. DOI: 10.1016/0006-2952(89)90393-6.
- [186] M. Kamiwatari, Y. Nagata, H. Kikuchi, A. Yoshimura, T. Sumizawa, N. Shudo, R. Sakoda, K. Seto und S.-i. Akiyama. "Correlation between Reversing of Multidrug Resistance and Inhibiting of [3H]Azidopine Photolabeling of P-Glycoprotein by Newly Synthesized Dihydropyridine Analogues in a Human Cell Line". In: *Cancer Research* 49.12 (1989), S. 3190–3195. ISSN: 0008-5472.

- [187] H. Shinoda, M. Inaba und T. Tsuruo. “In Vivo Circumvention of Vincristine Resistance in Mice with P388 Leukemia Using a Novel Compound, AHC-52”. In: *Cancer Research* 49.7 (1989), S. 1722–1726. ISSN: 0008-5472. eprint: <https://cancerres.aacrjournals.org/content/49/7/1722.full.pdf>.
- [188] K. Sirisha, M. C. Shekhar, K. Umasankar, P. Mahendar, A. Sadanandam, G. Achaiah und V. M. Reddy. “Molecular docking studies and in vitro screening of new dihydropyridine derivatives as human MRP1 inhibitors”. In: *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 19.10 (Mai 2011), S. 3249–3254. DOI: doi:10.1016/j.bmc.2011.03.051.
- [189] D. Kreutzer, C. A. Ritter und A. Hilgeroth. “Novel Nonsymmetrical 1,4-Dihydropyridines as Inhibitors of Nonsymmetrical MRP-Efflux Pumps for Anticancer Therapy”. In: *Pharmaceuticals* 13.7 (Juli 2020), S. 146. DOI: 10.3390/ph13070146.
- [190] *Fachinformation: Probenecid*. 1. Jan. 2010. URL: <https://www.fachinfo.de/suche/fi/004367> (besucht am 12.11.2020).
- [191] C. H. M. Versantvoort, T. Bagrij, K. A. Wright und P. R. Twentyman. “On the relationship between the probenecid-sensitive transport of daunorubicin or calcein and the glutathione status of cells overexpressing the multidrug resistance-associated protein (MRP)”. In: *International Journal of Cancer* 63.6 (Dez. 1995), S. 855–862. DOI: 10.1002/ijc.2910630617.
- [192] P. J. Manning, R. M. Watson, D. J. Margolskee, V. C. Williams, J. I. Schwartz und P. M. O’Byrne. “Inhibition of Exercise-Induced Bronchoconstriction by MK-571, a Potent Leukotriene D<sub>4</sub>-Receptor Antagonist”. In: *New England Journal of Medicine* 323.25 (Dez. 1990), S. 1736–1739. DOI: 10.1056/NEJM199012203232504.
- [193] ABDA. *ABDA-Datenbank: Deutsche Fertigarzneimittel*. 12. Nov. 2020.
- [194] V. Gekeler, W. Ise, K. Sanders, W. Ulrich und J. Beck. “The Leukotriene LTD<sub>4</sub> Receptor Antagonist Mk571 Specifically Modulates MRP Associated Multidrug Resistance”. In: *Biochemical and Biophysical Research Communications* 208.1 (März 1995), S. 345–352. DOI: 10.1006/bbrc.1995.1344.
- [195] P. Borst und R. O. Elferink. “Mammalian ABC Transporters in Health and Disease”. In: *Annual Review of Biochemistry* 71.1 (Juni 2002), S. 537–592. DOI: 10.1146/annurev.biochem.71.102301.093055.

- [196] Q. Tian, J. Zhang, E. Chan, W. Duan und S. Zhou. “Multidrug resistance proteins (MRPs) and implication in drug development”. In: *Drug Development Research* 64.1 (Jan. 2005), S. 1–18. DOI: 10.1002/ddr.10427.
- [197] Q. Tian, J. Zhang, S. Chan, T. C. Tan, W. Duan, M. Huang, Y. Zhu, E. Chan, Q. Yu, Y. Nie, P. C.-L. Ho, Q. Li, K.-Y. Ng, H. Yang, H. Wei, J. Bian und S. Zhou. “Topotecan Is a Substrate for Multidrug Resistance Associated Protein 4”. In: *Current Drug Metabolism* 7.1 (Jan. 2006), S. 105–118. DOI: 10.2174/138920006774832550.
- [198] Q. Tian, J. Zhang, T. M. C. Tan, E. Chan, W. Duan, S. Y. Chan, U. A. Boelsterli, P. C.-L. Ho, H. Yang, J.-S. Bian, M. Huang, Y.-Z. Zhu, W. Xiong, X. Li und S. Zhou. “Human Multidrug Resistance Associated Protein 4 Confers Resistance to Camptothecins”. In: *Pharmaceutical Research* 22.11 (Sep. 2005), S. 1837–1853. DOI: 10.1007/s11095-005-7595-z.
- [199] M. Xie, T. C. Rich, C. Scheitrum, M. Conti und W. Richter. “Inactivation of Multidrug Resistance Proteins Disrupts Both Cellular Extrusion and Intracellular Degradation of cAMP”. In: *Molecular Pharmacology* 80.2 (Mai 2011), S. 281–293. DOI: 10.1124/mol.111.071134.
- [200] G. da Graça Rocha, M. Simões, R. R. Oliveira, M. A. C. Kaplan und C. R. Gattass. “Effects of 3 $\beta$ -Acethyl Tormentic Acid (3ATA) on ABCC Proteins Activity”. In: *International Journal of Molecular Sciences* 13.6 (Juni 2012), S. 6757–6771. DOI: 10.3390/ijms13066757.
- [201] E. Baiceanu, K.-A. Nguyen, L. Gonzalez-Lobato, R. Nasr, H. Baubichon-Cortay, F. Loghin, M. L. Borgne, L. Chow, A. Boumendjel, M. Peuchmaur und P. Falson. “2-Indolylmethylenbenzofuranones as first effective inhibitors of ABCC2”. In: *European Journal of Medicinal Chemistry* 122 (Okt. 2016), S. 408–418. DOI: 10.1016/j.ejmech.2016.06.039.
- [202] Y. Zhang und J. Wang. “MicroRNAs are important regulators of drug resistance in colorectal cancer”. In: *Biological Chemistry* 398.8 (Juli 2017), S. 929–938. DOI: 10.1515/hsz-2016-0308.
- [203] G. A. Calin, C. Sevignani, C. D. Dumitru, T. Hyslop, E. Noch, S. Yendamuri, M. Shimizu, S. Rattan, F. Bullrich, M. Negrini und C. M. Croce. “Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers”. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101.9 (Feb. 2004), S. 2999–3004. DOI: 10.1073/pnas.0307323101.

- [204] K. Xu, X. Liang, K. Shen, D. Cui, Y. Zheng, J. Xu, Z. Fan, Y. Qiu, Q. Li, L. Ni und J. Liu. “miR-297 modulates multidrug resistance in human colorectal carcinoma by down-regulating MRP-2”. In: *Biochemical Journal* 446.2 (Aug. 2012), S. 291–300. DOI: 10.1042/BJ20120386.
- [205] SPECS. *About Specs*. URL: <https://www.specs.net/> (besucht am 26.05.2021).
- [206] S. M. Markova und D. L. Kroetz. “ABCC4 is regulated by microRNA-124a and microRNA-506”. In: *Biochemical Pharmacology* 87.3 (Feb. 2014), S. 515–522. DOI: 10.1016/j.bcp.2013.10.017.
- [207] A. Hilgeroth. *Dimere 4-Aryl-1,4-dihydropyridine als neuartige Leitstrukturen für die Entwicklung von HIV-1 Proteaseinhibitoren*. Habil. Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 2000.
- [208] J. Wollmann. “Struktur-Wirkungsbeziehungen neuartiger käfigdimerer 1,4-Dihydropyridine als HIV-1 Proteaseinhibitoren”. In: (2008). Diss.
- [209] C. Baumert. “Synthese, Charakterisierung und biologische Evaluation von MDR-Modulatoren und HIV-1 Proteaseinhibitoren mit 1,4-Dihydropyridin-Grundstruktur”. In: (2012). Diss. DOI: 10.25673/887.
- [210] C. Coburger. “Bioanalytische Evaluierung neuer MDR-Modulatoren”. de. In: (2011). Diss. DOI: 10.25673/408.
- [211] M. Richter. “Bioanalytische Evaluierung neuartiger HIV-Proteaseinhibitoren als MDR-Modulatoren: In situ und in vitro Studien”. In: (2005). Diss.
- [212] C. Coburger, J. Wollmann, M. Krug, C. Baumert, M. Seifert, J. Molnár, H. Lage und A. Hilgeroth. “Novel structure–activity relationships and selectivity profiling of cage dimeric 1,4-dihydropyridines as multidrug resistance (MDR) modulators”. In: *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 18.14 (Juli 2010), S. 4983–4990. DOI: 10.1016/j.bmc.2010.06.004.
- [213] A. Hilgeroth, C. Baumert, C. Coburger, M. Seifert, S. Krawczyk, C. Hempel, F. Neubauer, M. Krug, J. Molnar und H. Lage. “Novel Structurally Varied N-Alkyl 1,4-Dihydropyridines as ABCB1 Inhibitors: Structure-Activity Relationships, Biological Activity and First Bioanalytical Evaluation”. In: *Medicinal Chemistry* 9.4 (Apr. 2013), S. 487–493. DOI: 10.2174/1573406411309040002.

- [214] C. Baumert, M. Günthel, S. Krawczyk, M. Hemmer, T. Wersig, A. Langner, J. Molnár, H. Lage und A. Hilgeroth. “Development of small-molecule P-gp inhibitors of the N-benzyl 1,4-dihydropyridine type: Novel aspects in SAR and bioanalytical evaluation of multidrug resistance (MDR) reversal properties”. In: *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 21.1 (Jan. 2013), S. 166–177. DOI: 10.1016/j.bmc.2012.10.041.
- [215] A. Hantzsch. “Ueber die Synthese pyridinartiger Verbindungen aus Acetessigäther und Aldehydammoniak”. In: *Justus Liebig’s Annalen der Chemie* 215.1 (1882), S. 1–82. DOI: 10.1002/jlac.18822150102.
- [216] C. Beyer. “Ueber den Mechanismus der Hantzsch’schen Pyridinsynthesen”. In: *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* 24.1 (Jan. 1891), S. 1662–1670. DOI: 10.1002/cber.189102401283.
- [217] T. Chennat und U. Eisner. “A new synthesis of 1,4-dihydropyridines”. In: *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* (10 1975), S. 926–929. DOI: 10.1039/P19750000926.
- [218] A. E. Sausin’, V. K. Lusic, G. Y. Dubur und Y. I. Beilis. “N-alkylation of 1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylic acid esters”. In: *Chemistry of Heterocyclic Compounds* 14.11 (Nov. 1978), S. 1226–1231. ISSN: 1573-8353. DOI: 10.1007/BF00509742.
- [219] B. S. Chekavichus, A. Sausin’ und G. Y. Dubur. “Effect of substituents in the dihydropyridine ring on the reactivity of the ester group of 3,5-dialkoxycarbonyl-1,4-dihydropyridines”. In: *Chemistry of Heterocyclic Compounds* 18.8 (Aug. 1982), S. 818–823. DOI: 10.1007/BF00506586.
- [220] A. Hilgeroth. *Untersuchungen zur inter- und intramolekularen Interaktion zwischen 1,4-Dihydropyridin- und 1,4-Benzochinonstruktur*. Diss. Universität Düsseldorf, 1994.
- [221] J. Yang, C. Wang, X. Xie, H. Li und Y. Li. “Acid-Catalyzed Cascade Reactions of Enaminones with Aldehydes: C-H Functionalization To Afford 1,4-Dihydropyridines”. In: *European Journal of Organic Chemistry* 2010.22 (Juni 2010), S. 4189–4193. DOI: 10.1002/ejoc.201000607.
- [222] S. Sueki, R. Takei, J. Abe und I. Shimizu. “Ytterbium-catalyzed synthesis of dihydropyridines”. In: *Tetrahedron Letters* 52.34 (Aug. 2011), S. 4473–4477. DOI: 10.1016/j.tetlet.2011.06.070.

- [223] F. G. G. Lentz. “Entwicklung neuartiger 1,4-Dihydropyridine und deren Potential in der Wirksamkeit bei Tuberkulose”. In: (2018). Diss. DOI: 10.25673/13497.
- [224] V. K. Lusiš und G. Y. Dubur. “Synthesis and properties of 1-substituted derivatives of diethyl 4-aryl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylic acid esters”. In: *Chemistry of Heterocyclic Compounds* 18.8 (Aug. 1982), S. 813–818. DOI: 10.1007/BF00506585.
- [225] M. Hesse. *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*. Stuttgart-New York: Georg Thieme Verlag, 2016. ISBN: 9783135761091.
- [226] M. D. Luca, G. Ioele und G. Ragno. “1,4-Dihydropyridine Antihypertensive Drugs: Recent Advances in Photostabilization Strategies”. In: *Pharmaceutics* 11.2 (Feb. 2019), S. 85. DOI: 10.3390/pharmaceutics11020085.
- [227] U. Eisner, J. Williams, B. Matthews und H. Ziffer. “The photochemistry of 3,5-disubstituted 1,4-dihydropyridines”. In: *Tetrahedron* 26.3 (1970), S. 899–909. DOI: 10.1016/S0040-4020(01)97888-3.
- [228] K. Schlossmann. “Fluorometric determination of 4-(2'-nitrophenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylic acid dimethyl ester and its main metabolite”. In: *Arzneimittel-Forschung* 22.1 (Jan. 1972), S. 60–62. ISSN: 0004-4172.
- [229] K. Thoma und R. Klimek. “Untersuchungen zur Photoinstabilität von Nifedipin. I: Zersetzungskinetik und Reaktionsmechanismus”. In: *Pharmazeutische Industrie* 47.2 (1985), S. 207–215.
- [230] K. Thoma und R. Klimek. “Untersuchungen zur Photoinstabilität von Nifedipin. II: Einfluss von Milieubedingungen”. In: *Pharmazeutische Industrie* 47.3 (1985), S. 319–327.
- [231] A. Hilgeroth und F. W. Heinemann. “Novel solid-state synthesis of dimeric 4-aryl-1, 4-dihydropyridines”. In: *Journal of heterocyclic chemistry* 35.2 (1998), S. 359–364.
- [232] R. B. Woodward und R. Hoffmann. “Die Erhaltung der Orbitalsymmetrie”. In: *Angewandte Chemie* 81.21 (Nov. 1969), S. 797–869. DOI: 10.1002/ange.19690812102.

- [233] A. Schmidt. *Woodward-Hoffmann-Regeln*. de. Hrsg. von F. Böckler, B. Dill, U. Dingerdissen, G. Eisenbrand, F. Faupel, B. Fugmann, T. Gamse, R. Matissek, G. Pohnert und G. Sprenger. Dez. 2007. URL: <https://roempp.thieme.de/lexicon/RD-23-01077> (besucht am 06.01.2021).
- [234] T. Laue und A. Plagens. “[2+2]-Cycloaddition”. In: (1994), S. 83–86. DOI: 10.1007/978-3-322-94726-0\_28.
- [235] N. Turro. *Modern molecular photochemistry*. S. 419-465. Menlo Park, Calif: Benjamin/Cummings Pub. Co, 1978. ISBN: 978-0805393538.
- [236] I. Ninomiya und T. Naito. *Photochemical synthesis*. Academic Press, 2012.
- [237] H.-G. Fritz, H.-M. Hutmacher, H. Musso, G. Ahlgren, B. åkermark und R. Karlsson. “Asterane, XIII Synthese des Tetraasterans durch Photodimerisierung von 3,6-Dihydrophthalsäure-anhydrid”. In: *Chemische Berichte* 109.12 (Dez. 1976), S. 3781–3792. DOI: 10.1002/cber.19761091205.
- [238] G. Rücker, M. Neugebauer, G. G. Willems, G. K. E. Scriba und M. A. Hubert. *Instrumentelle pharmazeutische Analytik*. Wissenschaftliche, 31. Juli 2013. ISBN: 978-3804730922.
- [239] K. Schwetlick. *Organikum*. Wiley-VCH GmbH, 8. Apr. 2015. 914 S. ISBN: 978-3-527-33968-6.
- [240] R. Brückner. *Reaktionsmechanismen organische Reaktionen, Stereochemie, moderne Synthesemethoden*. BerlinHeidelberg: Springer Spektrum, 2015. ISBN: 978-3-662-45684-2.
- [241] G. Slomp. “Analysis of ABX Spectra in NMR Spectroscopy”. In: *Applied Spectroscopy Reviews* 2.2 (Jan. 1969), S. 263–351. DOI: 10.1080/05704926908050171.
- [242] A. Molinas, G. Sicard und I. Jakob. “Functional Evidence of Multidrug Resistance Transporters (MDR) in Rodent Olfactory Epithelium”. In: *PLoS ONE* 7.5 (Mai 2012). Hrsg. von M. A. Deli, e36167. DOI: 10.1371/journal.pone.0036167.
- [243] T. Mosmann. “Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays”. In: *Journal of Immunological Methods* 65.1-2 (Dez. 1983), S. 55–63. DOI: 10.1016/0022-1759(83)90303-4.

- [244] J. H. Hooijberg, H. J. Broxterman, M. Kool, Y. G. Assaraf, G. J. Peters, P. Noordhuis, R. J. Scheper, P. Borst, H. M. Pinedo und G. Jansen. “Antifolate Resistance Mediated by the Multidrug Resistance Proteins MRP1 and MRP2”. In: *Cancer Research* 59.11 (1999), S. 2532–2535. ISSN: 0008-5472.
- [245] C. Coburger, H. Lage, J. Molnár, A. Langner und A. Hilgeroth. “Multidrug resistance reversal properties and cytotoxic evaluation of representatives of a novel class of HIV-1 protease inhibitors”. In: *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 62.12 (Okt. 2010), S. 1704–1710. DOI: 10.1111/j.2042-7158.2010.01144.x.
- [246] K. Schwetlick, R. Beckert, E. Fanghänel und W. D. Habicher. *Organikum, Eigenschaften, Reinigung und Darstellung wichtiger Reagenzien, Lösungsmittel und Hilfsstoffe (Reagenzienanhang)*. Wiley-VCH GmbH, 8. Apr. 2015. 914 S. ISBN: 978-3-527-33968-6.

# Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift gemäß der Promotionsordnung der Naturwissenschaftlichen Fakultät I - Biowissenschaften - der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg selbstständig und ohne fremde Hilfe angefertigt habe. Ich habe keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet, die daraus wörtlich und inhaltlich entnommenen Stellen wurden als solche gekennzeichnet.

Die Dissertationsschrift wurde ausschließlich der Naturwissenschaftlichen-Fakultät I der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg vorgelegt und an keiner anderen universitären Einrichtung, weder im In- noch im Ausland, zur Erlangung des Doktorgrades eingereicht.

Datum: \_\_\_\_\_ Unterschrift: \_\_\_\_\_



# Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die mich während der Anfertigung dieser Dissertation stets motiviert und unterstützt haben und ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Zuerst gebührt mein Dank Herrn Prof. Dr. Andreas Hilgeroth für den Vorschlag des interessanten und umfangreichen Themas, die Bereitstellung von Arbeitsmitteln für die Forschung im Labor und die Betreuung dieser Arbeit, insbesondere für Anregungen und Diskussionen, die maßgeblich zur Lösung auftretender Probleme beitrugen.

Zudem bedanke ich mich bei Herrn PD Dr. habil. Matthias Schmidt für die tatkräftige Unterstützung und für Anregungen und Ideen hinsichtlich der HPLC-Analytik. Außerdem gilt mein Dank Frau Herbrich-Peters und Frau Woigk für die Anfertigung der Massenspektren und die Durchführung der HPLC-Analysen. Sie standen stets für fachkundige Gespräche bereit.

Vielen Dank auch an meinen Kollegen David Kreutzer und Prof. Dr. Christoph Ritter für die Durchführung der biochemischen Testung.

Bedanken möchte ich mich auch bei Nico Schade für das Einarbeiten in die tägliche Laborpraxis und seine Unterstützung bei fachliche Problemen. Des weiteren danke ich allen Personen unseres Arbeitskreises für die gute Arbeitsatmosphäre. Besonders hervorheben möchte ich hierbei meinen Laborkollegen Ansgar Opitz. Seine fachliche wie auch persönliche Unterstützung in dieser Zeit trug zum Erfolg dieser Arbeit bei. Sehr zu schätzen weiß ich die vielen Gespräche während der Pausen und auch abseits des Arbeitsalltages.

Vielen Dank auch an meine Arbeitskollegen der Apotheke, die mir immer motivierend zur Seite standen und ein offenes Ohr hatten.

Ein besonderer Dank gilt auch Paul Pöschel, der mir während der Promotionszeit mit hilfreichen Tipps zur Erstellung der Arbeit aber auch persönlich stets motivierend und unterstützend zur Seite stand. Seine Persönlichkeit und Herangehensweise an viele Dinge brachten mich beruflich sowie auch privat voran.

Am dankbarsten bin ich für die Unterstützung meiner Familie. Ohne sie wäre die Arbeit in dieser Form nicht möglich gewesen. Vielen Dank an meine Eltern, meine Brüder, meine Großeltern und meine Lebensgefährtin Julia Göhre für den enormen Rückhalt in jeder Phase der Promotionszeit und meines Lebens.

# Lebenslauf

Henry Döring

\* 30.08.1993 (Halle (Saale))

männlich, deutsch, ledig

## Werdegang

2009 - 2012	Giebichenstein-Gymnasium „Thomas Müntzer“ in Halle mit Abschluss der allgemeinen Hochschulreife
2012 - 2016	Studium der Pharmazie an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 1. und 2. Staatsexamen
11.2016 - 04.2017	Pharmazeutisches Praktikum in der Krankenhausapotheke des Städtischen Klinikums „St. Georg“ Leipzig
05.2017 - 10.2017	Pharmazeutisches Praktikum in der Apotheke im Saalecenter in Halle (Saale)
11.2017	3. Staatsexamen und Erhalt der Approbation als Apotheker
seit 11.2017	Promotion im Fachbereich pharmazeutische Chemie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
seit 12.2017	Apotheker in der Apotheke im Saalecenter in Halle (Saale)