

Design, Synthese und 3D-QSAR neuartiger P-gp-Modulatoren

Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von

Werner Klinkhammer

aus Dahlem

Bonn 2006

Die vorliegende Dissertationsschrift wurde mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn in der Zeit von April 2002 bis April 2006 in der Abteilung Pharmazeutische Chemie des Pharmazeutischen Institutes Enderich der Rheinischen Friedrich-Wilhelm-Universität Bonn unter Leitung von Prof. Dr. Michael Wiese angefertigt.

Erstgutachter (Betreuer): Prof. Dr. Michael Wiese

Zweitgutachter: Prof. Dr. Michael Gütschow

Fachnahes Mitglied: Prof. Dr. Ulrich Jaehde

Fachangrenzendes Mitglied: PD Dr. Frank Mußhoff

Tag der Promotion: 09.08.2006

Diese Dissertation ist auf dem Hochschulschriftenserver der ULB Bonn unter „http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online“ elektronisch publiziert. Erscheinungsjahr 2006.

Siehst Du den Horizont?
Direkt über dem Boden fängt der Himmel an.
Und wäre ich dort, dann würde ich wetten, dass ich ihn erreichen kann.

Thomas D.

Träumen? Das kann man nicht machen, das passiert einfach.

Alena L.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Multidrug-Resistenz (MDR)	1
1.2	ABC-Transporter	1
1.3	P-Glykoprotein (P-gp, MDR1, ABCB1)	4
1.3.1	Physiologische Bedeutung von P-Glykoprotein für den Menschen	5
1.3.2	Funktion von P-Glykoprotein	6
1.3.3	Transportzyklus von P-gp	7
1.3.4	Bindungsstellen von P-gp	11
1.3.5	Pharmakophormodelle von P-gp	12
1.4	P-gp Substrate und Modulatoren	14
1.4.1	P-gp Modulatoren der ersten Generation	14
1.4.2	P-gp Modulatoren der zweiten Generation	15
1.4.3	P-gp Modulatoren der dritten Generation	17
2	Themenstellung der Arbeit	20
2.1	Synthetische Variation der Leitstrukturen	20
2.2	3D-QSAR-Untersuchungen	21
3	Design und Synthese von P-gp-Modulatoren	22
3.1	Synthese von P-gp-Modulatoren in der Literatur	22
3.2	Synthese von Tariquidar-Analoga	26
3.2.1	Darstellung und Reduktion von Nitrophenylethylaminen	26
3.2.2	Umsetzung der Amine zu Anthranilsäure-Derivaten	28
3.2.3	Variation des Substitutionsmusters an der Aminobenzoesäure-Partialstruktur	36
3.3	Variation der Verknüpfung der 4-Aminophenyl-ethyl-amine mit den <i>N</i> -Phenylamiden	37
3.3.1	Synthese von Harnstoff-Analoga	37
3.3.2	Synthese von Aminophenylethylamine und Aminophenoxyessigsäure-Derivaten	39
3.4	Synthese von Anthranilamiden mit Harnstoff-Teilstruktur	42
3.5	Darstellung eines Dibenzoesäureamids	43
3.6	Darstellung von Tariquidar-Analoga ohne basische Amino-Partialstruktur	44
3.7	Synthese niedermolekularer P-gp-Modulatoren	46
3.7.1	Niedermolekulare Modulatoren mit Tetrahydroisochinolinethylphenylamin-Partialstruktur	46
3.7.2	Variation der Linker-Partialstruktur	52
3.7.2.1	Darstellung und Reduktion von 4-Nitrobenzylaminen	52
3.7.2.2	Darstellung und Reduktion von 4-Cyanobenzylaminen	55
3.7.2.3	Synthese von α -Aminonitrilen aus primären Aminen	57

Inhaltsverzeichnis

3.7.3	Variation der Aminokomponente	59
3.7.3.1	Auswahl und Umsetzung von neuen Amino-Bausteinen zur Herstellung von niedermolekularen Modulatoren.....	59
3.8	Kopplung von 4-Aminophenylethylaminen mit Arzneimittelwirkstoffen über Amidbindungen	62
3.9.1	Grundlagen.....	64
3.9.2	Photoaktivierbare Modulatoren mit Benzophenon-Partialstruktur.....	64
4	Pharmakologische Testung.....	68
4.1	P-gp-Aktivität der synthetisierten MDR-Modulatoren.....	68
4.1.1	<i>In vitro</i> Charakterisierung	68
4.1.1.1	Calcein-Assay.....	68
4.1.1.2	Hoechst-Assay.....	69
4.1.1.3	Daunorubicin-Influx-Assay	69
4.1.1.4	^{99m} Tc-Sestamibi-Assay	70
4.1.1.5	ATPase-Assay	70
4.1.2	<i>In vivo</i> Charakterisierung.....	71
4.1.3	Ergebnisse und Diskussion	72
4.1.3.1	<i>In vitro</i> Ergebnisse	72
4.1.3.2	<i>In vivo</i> Ergebnisse	81
4.2	MRP-Aktivität.....	84
4.3	BCRP-Aktivität.....	85
4.4	Bestimmung der Zytotoxizität mittels MTT-Assay.....	86
4.5	Dopamin.....	87
5	Dreidimensionale quantitative Struktur-Wirkungs-Beziehungen (3D-QSAR) von P-gp-Modulatoren	89
5.1.	Konformationsanalyse und Überlagerung der Moleküle.....	89
5.1.1.	Einleitung.....	89
5.1.2	Der Datensatz	89
5.1.3.	Generierung der 3D-Strukturen	91
5.1.4	Flexible Überlagerung mit Hoechst 33342 mittels FLEXS	92
5.1.5	Überlagerung aller Derivate.....	94
5.2.	Pharmakophor-Modelle	96
5.2.1.	Vergleichende Molekulare Feldanalyse (CoMFA)	96
5.2.2.	Die CoMSIA-Methode.....	98
5.2.3.	Die PLS-Analyse	99
5.2.4.	Validierung der PLS-Ergebnisse	100

Inhaltsverzeichnis

5.3.	CoMFA- und CoMSIA-Modelle der P-gp-Modulatoren	102
5.3.1	Methoden	102
5.3.2	Auswahl der Konformationen für das Alignment.....	102
5.3.3	CoMFA- und CoMSIA-Ergebnisse.....	104
5.3.4	Gruppenweise Kreuzvalidierung.....	110
5.3.5	Auswertung der CoMSIA-Konturdiagramme	112
5.3.5.1	Sterisches und elektrostatisches Feld	112
5.3.5.2	Hydrophobes Feld	113
5.3.5.3	Wasserstoffbrücken-Donor und -Akzeptor-Felder.....	113
5.3.5.4	Zusammenfassung der Konturdiagramme.....	114
5.3.6	Strukturvorschläge für neue P-gp-Modulatoren.....	115
6	Zusammenfassung.....	116
7	Experimenteller Teil	121
7.1	Allgemeine Angaben	121
7.2	Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAVs).....	122
7.3	Monographien	124
7.3.1	Monographien der Vorstufen	124
7.3.2	Monographien niedermolekularer P-gp Modulatoren mit Tetrahydroisochinolinethylphenyl-Partialstruktur	138
7.3.3	Monographien niedermolekularer P-gp-Modulatoren mit variiertes Linker-Partialstruktur	172
7.3.4	Monographien niedermolekularer P-gp Modulatoren mit variiertes Amino-Partialstruktur	176
7.3.5	Monographien von Tariquidar-Analoga	182
7.3.6	Monographien von Tariquidar-Analoga mit variiertes Aminobenzoosäure-Partialstruktur	194
7.3.7	Monographien von Tariquidar-Analoga mit variiertes Verknüpfung	198
7.3.7.1	Harnstoff-Analoga	198
7.3.7.2	Aminophenyl- und Aminophenoxyessigsäure-Analoga.....	202
7.3.8	Monographie eines Anthranilamids mit Harnstoff-Partialstruktur.....	205
7.3.9	Monographie eines Dibenzoesäureamids	206
7.3.10	Monographien von Tariquidar-Analoga ohne basische Amino- Partialstruktur	207
7.3.11	Monographien von 4-Aminophenylethylaminen mit Arzneistoff- Partialstruktur	212

Inhaltsverzeichnis

8	Literaturverzeichnis	220
9	Abkürzungsverzeichnis	229
10	Veröffentlichungen.....	231
10.1	Wissenschaftliche Originalarbeiten	231
10.2	Abstracta/Kongressbeiträge	231
11	Danksagung.....	233

1 Einleitung

1.1 Multidrug-Resistenz (MDR)

Resistenzen gegenüber verschiedensten Arzneimitteln sind ein steigendes Problem in der Therapie von Krankheiten. Das Phänomen der Multidrug-Resistenz (MDR) tritt besonders im Zusammenhang mit der Therapie von malignen Tumoren sowie bei Infektionen durch Bakterien, Pilzen, Protozoen und Viren auf. Die Resistenz kann intrinsisch sein, oder während der Behandlung auftreten. Multidrug-Resistenz ist die simultane Entwicklung einer Resistenz gegenüber chemisch unverwandten Verbindungen und kann die Konsequenz einer Überexpression von ABC (ATP-Binding-Cassette) Transportern sein. Die Ursache einer solchen Resistenz ist der aktive Abtransport der Arzneistoffe aus den Zellen mittels verschiedener Transportproteine. Besonders Bakterien und Tumorzellen besitzen eine große Bandbreite an solchen Transportproteinen und benutzen diese als einen Teil ihrer Überlebensstrategie. Diese Transportproteine besitzen die Fähigkeit, eine Vielzahl strukturell sehr unterschiedlicher Verbindungen zu erkennen und aus den Zellen zu exportieren. Bei der Chemotherapie von Tumoren ist daher das Auftreten einer solchen Resistenz gegenüber Zytostatika eines der Hauptprobleme. Eine häufige und daher wichtige Form der Resistenz beruht auf der Überexpression des *MDR1* Genprodukts, dem P-Glykoprotein (P-gp), dem ersten gefundenen ABC-Transporter. Neben P-gp spielen auch andere ABC-Transporter wie die MRPs (Multidrug resistance associated proteins) und das BCRP (Breast cancer resistance protein) beim Phänomen der Multidrug-Resistenz eine große Rolle [Lee, 2004]. In den Tumorzellen ist P-gp für den aktiven Auswärtstransport einer Reihe strukturell unterschiedlicher Zytostatika verantwortlich, welcher zu einer verringerten intrazellulären Konzentration und somit zum Wirkungsverlust des Zytostatikums führt [Gupta et al., 1996]. Grundlage für die Entstehung dieser erworbenen Resistenzen ist ein erhöhter Selektionsdruck für die Tumorzellen durch die Chemotherapie.

1.2 ABC-Transporter

P-gp wurde 1976 als erster ABC-Transporter von *Juliano* und *Ling* beschrieben [Juliano et al, 1976], nachdem *Dano* schon 1973 einen aktiven Auswärts Transport von Daunorubicin in resistenten Tumorzellen beobachten konnte [Dano, 1973]. In Eukaryoten können ABC-Proteine in drei Gruppen unterteilt werden, die sich aus

Einleitung

deren Funktion ergeben: Transporter, Regulatoren und Kanäle. Viele ABC-Transporter transportieren aktiv eine sehr große Anzahl strukturell stark variierender Substanzen gegen ein Konzentrationsgefälle durch biologische Membranen. Als Energiequelle dient dabei ATP. Die ATP-Bindungsstellen werden auch allgemein als Nukleotidbindungsstellen (NBD, „nucleotide binding domain“) bezeichnet und enthalten vier hochkonservierte Peptidsequenzen: Walker A, Walker B, Q-Loop und H-Loop [Linton et al., 2003]. Zwischen dem Walker A und dem Walker B Motiv liegt das ABC-Signatur Motiv (oder Walker C Motiv) [Leslie et al., 2005], basierend auf einer hochkonservierten Aminosäuresequenz (ALSGGQ). Neben dieser Sequenz liegt ein weiterer Bereich der einzigartig und hochspezifisch für jede ABC-Transporterfamilie ist. Dieser dient als diagnostisches Merkmal zur Unterscheidung der Transporter. Anhand der Sequenz des ABC-Signatur Motivs hat das Human genome nomenclature committee (HUGO) die ABC-Proteine in verschiedene Unterfamilien eingeteilt [Klein et al., 1999]. Tabelle 1 gibt einen Überblick über drei ABC-Transporter Unterfamilien und ihre wichtigsten Vertreter.

P-Glykoprotein (P-gp, MDR1, ABCB1) (siehe Kapitel 1.3.), MRP1 (ABCC1) und BCRP (ABCG2) stellen die wichtigsten Vertreter im Zusammenhang mit MDR dar.

MRP1 (ABCC1) wurde erstmals 1987 in resistenten Tumorzellen identifiziert [McGrath et al., 1987] und ist ein Protein mit einem Molekulargewicht von 190 kDa (Abb.1), bestehend aus 1531 Aminosäuren. MRP1 besitzt 17 transmembranäre Domänen (TMD), sowie 2 Nukleotidbindungsstellen [Litman et al., 2001]. Die 17 TMDs sind in drei kompakten Domänen folgendermaßen organisiert: 5 TMDs, 6 TMDs, NBD1, 6 TMDs, NBD2. Außer den ersten 5 TMDs ähneln die TMDs 6-17 mit den zwei NBDs von MRP1 dem Aufbau von P-gp (siehe 1.3.). Für den Transport scheinen nur die TMDs 6-17 von Bedeutung zu sein. MRP1 transportiert eine Reihe von hydrophoben, organischen Anionen, sowie an Gluthathion, Glucuronsäure und Sulfat gekoppelte Substanzen aber auch andere exogene Stoffe. Im menschlichen Körper ist MRP1 ubiquitär verbreitet, spielt jedoch besonders in der Leber, den Nieren und in der Blut-Hirnschranke eine Rolle in der körpereigenen Abwehr von Xenobiotika.

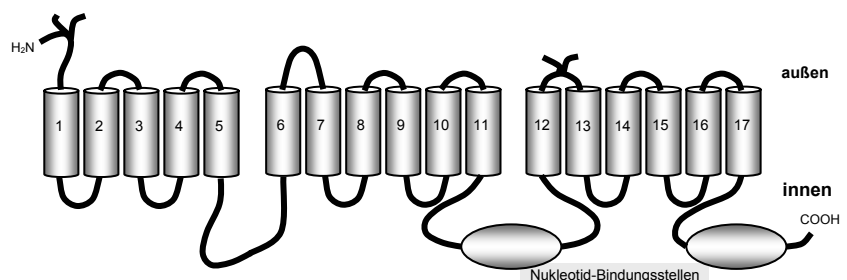


Abb. 1:
Topologiemodell von
MRP1.

Einleitung

Das Breast cancer resistance protein, BCRP (ABCG2, MXR) wurde erst in den späten 90iger Jahren identifiziert [Doyle et al., 1998]. Es ist mit einem Molekulargewicht von 72 kDa, bestehend aus 655 Aminosäuren, die zu 6 transmembranären Domänen und einer Nukleotidbindungsstelle angeordnet sind, ein „halber“ ABC-Transporter (Abb. 2). Verschiedene Studien lassen vermuten, dass zwei ABCG2 Moleküle zum effektiven Stofftransport ein Homodimer bilden [Kage et al., 2002; Janvilisri et al., 2003]. ABCG2 findet sich in der Plazenta und verschiedenen Tumorarten wieder, aber auch in Brust, Leber und der Blut-Hirnschranke [Litman et al., 2001]. ABCG2 spielt bei der natürlichen Abwehr des Körpers gegen verschiedene Xenobiotika eine große Rolle.

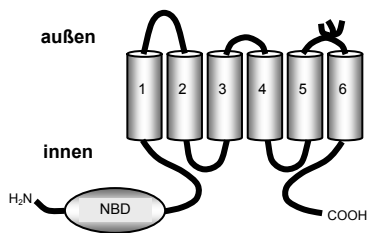


Abb. 2: Topologiemodell von BCRP.

	HUGO Symbol	Weitere Namen	Chromosom	Aminosäuren	Substrate
MDR1	ABCB1	P-gp PGY1	7q21	1280	verschiedene hydrophobe, amphiphile Substanzen
MDR3	ABCB2	PGY2 MDR2/3	7q21	1279	Phosphatidylcholin
MRP1	ABCC1	MRP, GS-X	16p13.1	1531	organische Anionen, Glutathion Konjugate
MRP2	ABCC2	cMOAT	10q24	1545	organische Anionen, Glucuronide
MRP3	ABCC3	cMOAT2, MLP2 MOAT-D	17q21.3	1527	Glucuronide
MRP4	ABCC4	MOAT-B	13q31	1325	organische Anionen, Nukleotide
MRP5	ABCC5	SMRP MOAT-C	3q27	1437	organische Anionen, Nukleotide
MRP6	ABCC6	ARA, MLP1, MOAT-E	16p13.1	1503	Anionische Peptide
MRP7	ABCC7	EST182763	6p21	1513	Glutathion Konjugate
MXR	ABCG2	BCRP, ABCP	4q22	655	Mitoxantron, hydrophobe, amphiphile Substanzen

Tab. 1: Die drei wichtigsten ABC-Transporter Subfamilien im Zusammenhang mit MDR [Litman et al, 2001, <http://nutrigene.4t.com/humanabc.htm>].

Die einzigen Röntgenstrukturen von ABC-Transportern aus der Familie der Multidrug Resistenz Transporter mit einer sehr guten Auflösung stammen derzeit von dem sehr

gut untersuchten bakteriellen Lipid ABC-Transporter MsbA aus *E.coli* (Auflösung: 0,45 nm) [Chang et al., 2001], aus *Vibrio cholerae* (Auflösung: 0,38 nm) [Chang, 2003] und besonders interessant im Komplex mit ADP, Vanadat und Lipopolysaccharid (Auflösung: 0,42 nm) aus *Salmonella typhimurium* [Reyes und Chang, 2005]. Des Weiteren konnte der Vitamin B₁₂-Transporter BtuCD aus *E.coli* [Locher et al., 2002] kristallisiert werden.

Röntgenstrukturdaten von P-gp mit einer niedrigen bis mittleren Auflösung konnten von *Rosenberg et al.* mittels Elektronen-Kristallographie (0,8 nm [Rosenberg et al., 2005] und 2,0 nm [Rosenberg et al., 2003]) aus chinesischen Hamster Ovarialzellen aufgezeichnet werden. Die Kristallstrukturen von P-gp konnten im nukleotidfreiem und nukleotidgebundenem Zustand ermittelt werden.

1.3 P-Glykoprotein (P-gp, MDR1, ABCB1)

P-gp wurde 1976 zuerst von *Juliano* und *Ling* in einem resistenten Tumor der Ovarien chinesischer Hamster identifiziert [Juliano et al, 1976] und war der erste Vertreter der Familie der ABC-Transporter, der in Eukaryoten identifiziert wurde. P-Glykoprotein stellt ein integrales Membranprotein dar, das in der Lage ist, eine sehr große Anzahl strukturell stark variierender Xenobiotika, meist amphiphile Substanzen mit einem Molekulargewicht in einer Größenordnung von annähernd 300 bis 2000 Dalton, aus Zellen heraus zu transportieren [Kimura et al., 2004]. Zu diesen Substanzen gehören unter anderem Zytostatika, HIV-Proteaseinhibitoren, Steroidhormone, immunsuppressive Substanzen, Calcium-Kanal-Blocker, Dopamin-Antagonisten, Peptide [Safa, 2004].

Das Molekulargewicht des P-Glykoproteins liegt in der glykosylierten Form bei etwa 170 kDa, in der nicht glykosylierten Form bei etwa 140 kDa. Es besteht aus insgesamt 1280 Aminosäuren. Das Molekül ist symmetrisch aufgebaut. Wie viele andere ABC-Transporter besteht P-gp aus zwei homologen Hälften. Jede Hälfte besteht aus 6 transmembranären Domäne, die jeweils in helikaler Konformation vorliegen und je einer Nukleotidbindungsstelle [Wiese et al., 2001]. ATP stellt in diesem Zusammenhang die Energie zur Verfügung, die das Transportprotein benötigt, um den aktiven Stofftransport zu katalysieren. Das in Abbildung 3 dargestellte Topologiemodell gibt die Sekundärstruktur von P-gp wider. Die zwei Nukleotidbindungsstellen sind hochkonserviert mit einer signifikanten Homologie zu anderen ABC-Transportern [Pajeva et al., 2004].

Einleitung

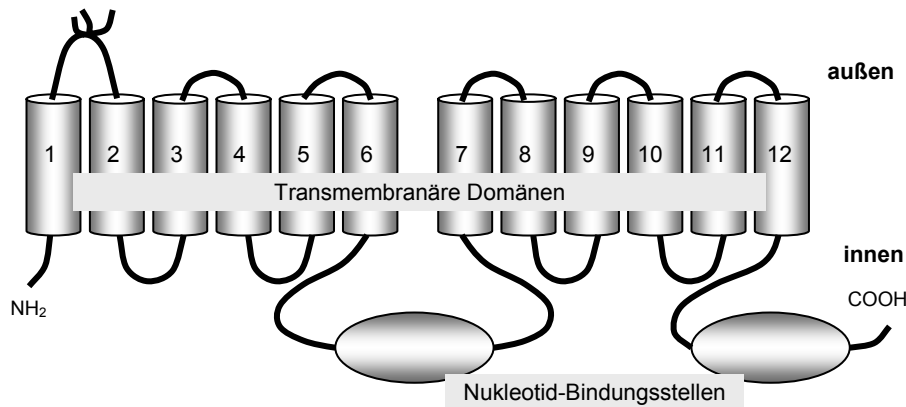


Abb. 3:
Topologiemodell des
P-Glykoproteins.

1.3.1 Physiologische Bedeutung von P-Glykoprotein für den Menschen

P-Glykoprotein ist nicht nur Ursache der „multidrug resistance“, sondern findet sich in verschiedenen Organen und erfüllt dort eine wichtige Rolle. Da P-gp in zahlreichen Gewebe- und Organschranken sowie in Zellen mit Ausscheidungsfunktion vorkommt, wird angenommen, dass ihm eine wichtige physiologische Funktion in der Abwehr von Xenobiotika zukommt. Durch „Auswärtspumpen“ ins Darmlumen, Blut oder in Exkremente (Stuhl, Urin) beeinflusst es die Absorption, Verteilung und Exkretion einer Vielzahl von Wirkstoffen und fördert ihre Elimination.

P-gp ist funktioneller Bestandteil der Blut-Hirn-Schranke [Siegmund et al., 2003] und der Plazentabarriere [Lin et al., 2004]. Im Gehirn ist es in den Kapillarendothelzellen, in der Plazenta in den Synzytiotrophoblasten lokalisiert und limitiert die Penetration von Wirkstoffen in das Gehirn oder den fetalen Kreislauf bzw. exportiert Xenobiotika aus diesen Kompartimenten. So kann das Opioid Loperamid beim Menschen ins Gehirn übertreten und Atemdepressionen verursachen, wenn es mit dem P-gp-Inhibitor Chinidin kombiniert wird, obwohl es normalerweise nicht die Blut-Hirn-Schranke passieren und deshalb ausschließlich peripher wirken kann [Unadkat et al., 2004].

Auch auf der luminalen Seite der Enterozyten des Dünndarms und Dickdarms ist P-gp lokalisiert. Damit entsteht eine funktionelle „Absorptionsbarriere“, die die orale Absorption von Fremd- oder Schadstoffen vermindert. Klinische Bedeutung erlangt P-gp in diesem Zusammenhang, indem es Arzneistoffe, die aus dem Darm in die Zelle aufgenommen wurden, zurück ins Darmlumen transportiert. Somit wird die orale Absorption der Arzneistoffe verringert. Hemmstoffe wie Verapamil vermindern

und Induktoren wie Rifampicin verstärken diesen Effekt. Der Auswärtstransport durch P-gp trägt auch zur rascheren Elimination von Arzneistoffen bei.

Ferner ist P-gp in der Leber (in den Tubuluszellen der Gallenkanälchen) und den Nieren (in den proximalen Nierentubuluszellen) lokalisiert ist wo es zur biliären bzw. renalen Exkretion beiträgt. Wechselwirkungen mit dem Transporter können sich also generell auf die orale Absorption und die Exkretion in die Galle und den Urin auswirken [Siegmund et al., 2003].

1.3.2 Funktion von P-Glykoprotein

Verschiedene Modelle werden diskutiert, um die Funktionsweise des Transports von Molekülen durch P-gp zu erklären. Am weitesten verbreitet sind dabei drei Modelle (Abb. 4); das Poren-Modell, das Flippase-Modell und das HVC-Modell ("hydrophobic vacuum-cleaner" ("Hydrophober Staubsauger")) [Varma et al., 2003].

Nach dem Poren-Modell transportiert P-gp ein Substrat aus dem Zytoplasma durch einen Protein-Kanal aus der Zelle heraus. Im Flippase-Modell befördert ("flipp") der Transporter den Stoff von der inneren zur äußeren Seite der Phospholipid-Doppelmembran, wo dieser dann in den Extrazellularraum entlassen wird. Das am weitesten verbreitete und akzeptierte Modell ist das HVC-Modell: Danach bilden die beiden homologen Hälften des P-Glykoproteins einen Transportkanal, der den Efflux von Molekülen direkt aus der Plasmamembran ermöglicht, während sie durch die Phospholipid-Doppelschicht hindurch diffundieren. Auf diese Weise werden Stoffe ausgeschleust, bevor sie das Zytoplasma erreichen.

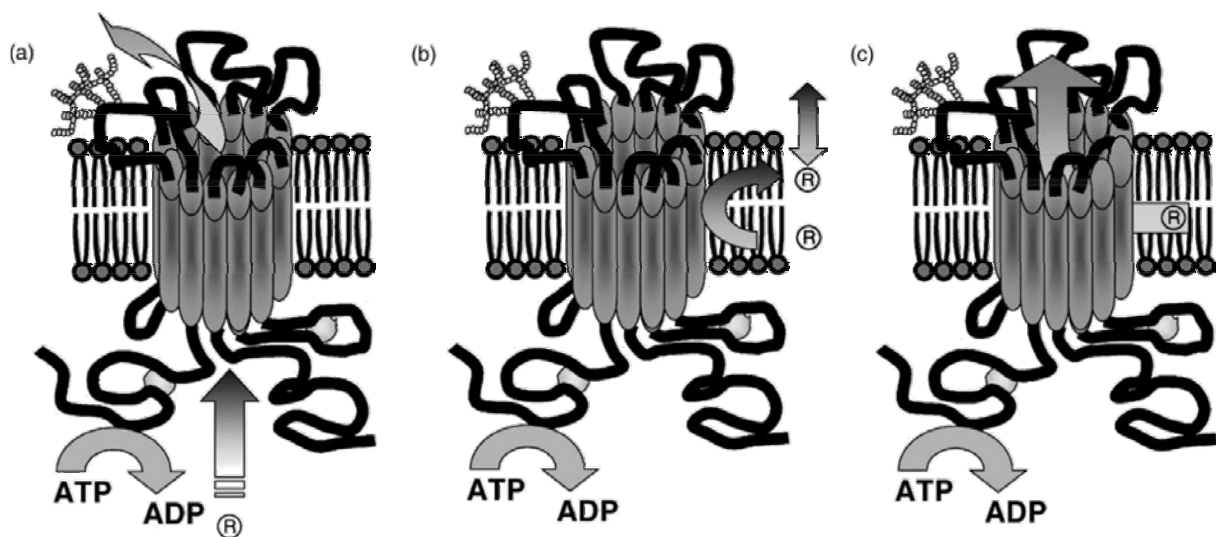


Abb. 4: Modelle zur Funktionsweise von P-gp. (a) Poren-Modell, (b) Flippase-Modell und (c) HVC-Modell (hydrophobic vacuum-cleaner) [Varma et al., 2003].

1.3.3 Transportzyklus von P-gp

Auf dem HVC-Modell basiert auch das neueste allgemeine Modell, welches den Transportzyklus von ABC-Transportern beschreibt: das ATP-Switch Modell (Abb. 5) von *Higgins* und *Linton* [Higgins et al., 2004].

Nach diesem Modell besitzt der ABC-Transporter basal eine Konfiguration mit offenen dimeren Nukleotidbindungsstellen mit einer niedrigen Affinität zu ATP. Die Bindungsseite (rot) besitzt eine hohe Affinität zu den Substraten und zeigt zur Plasmamembran. Im ersten Schritt (Step I) wird der Transportzyklus durch die Bindung eines Substrates an der Bindungsseite der Transmembranären Domänen initiiert. Das aus dem inneren Teil der Plasmamembran kommende Substrat diffundiert an die Bindungsstelle. Die Affinität der NBD zu ATP wird durch die Bindung des Substrates an den Transporter erhöht, wodurch die Aktivierungsenergie für die geschlossene dimere Form herabgesetzt wird. Zwei Moleküle ATP binden an den NBDs und erzeugen das geschlossene Dimer (Step II). Das geschlossene Dimer induziert eine Konformationsänderung der TMDs. Durch Rotation der TMD wird die Bindungsstelle ins Innere des Transporters verschoben und zum Extrazellulärraum frei gelegt. Die Affinität der Bindungsstelle wird erniedrigt und das Substrat kann abdiffundieren. Step III: ATP wird hydrolysiert und es kommt zu einem Übergangszustand. Step IV: Phosphat- (P_i) und ADP-Freigabe führen zu einer Wiederherstellung der basalen Konfiguration durch Rotation und Reorientierung der TMD in den Ausgangszustand. Damit ist der Transporter wieder für einen weiteren Transportzyklus bereit.

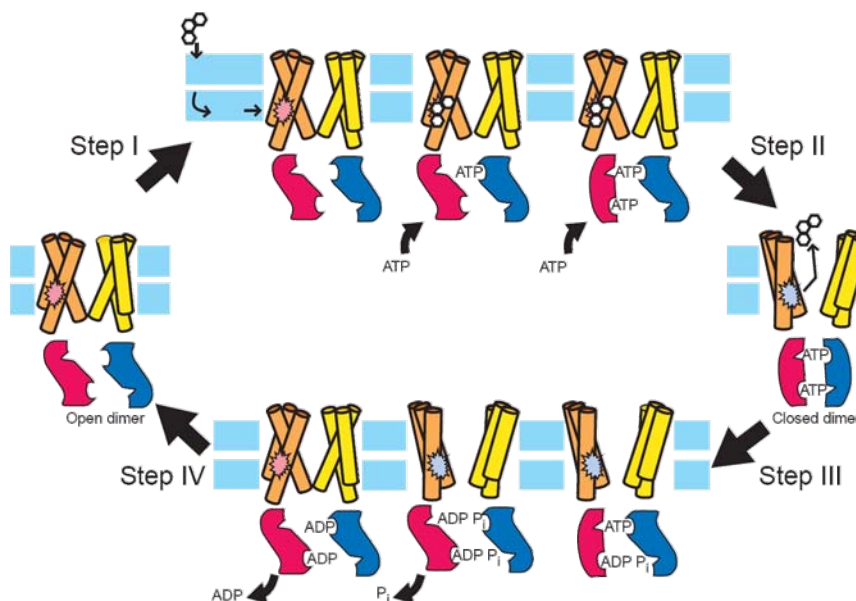


Abb. 5: Schema des ATP-Switch Modells eines Transportzyklus (Substrat-Export) von ABC-Transportern [Higgins et al., 2004]. Die TMDs sind als Zylinder und die NBDs sind als Gebilde im Zytoplasma dargestellt.

Einleitung

Dieses allgemeine Modell für ABC-Transporter lässt sich auch auf den Transportzyklus von P-gp übertragen. Der exakte Mechanismus, wie P-gp Substrate aus dem inneren Teil der Phospholipid-Doppelmembran in den Extrazellulärraum transportiert, konnte noch nicht geklärt werden. Es existieren jedoch verschiedene Modelle über den Transportsmechanismus. Breite Akzeptanz finden besonders die Modelle von Ambudkar und Gottesmann [Ambudkar et al., 2003] und Al-Shawi [Al-Shawi et al., 2003].

Abb. 6 zeigt das Transportmodell von *Ambudkar* und *Gottesmann* [Ambudkar et al., 2003]. Die Ellipsen stellen die Bindungsstellen dar, die „high affinity“ (On) und „low affinity“ (Off) Seite. Das Hexagon ist die „On“ Seite mit verringerter Affinität zum Substrat. Die Kreise sind die ATP-Bindungsstellen. Die leeren Quadrate sind die ATP-Bindungsstellen mit verringerter Affinität für ATP. Der erste Schritt (Step I) in dem Modell von *Ambudkar* und *Gottesmann* [Ambudkar et al., 2003] (Abb. 6) stellt die Bindung eines Substrates zur „high affinity“ (On) Bindungsstelle von P-gp dar. Im Anschluss bindet ATP an eine der Nukleotidbindungsstellen. Im zweiten Schritt kommt es durch ATP Hydrolyse zu einer Konformationsänderung und das Substrat wandert zur „low affinity“ (Off) Bindungsstelle. Im dritten Schritt dissoziiert das Substrat in den Extrazellulärraum und anschließend ADP vom P-gp ab. Dabei geht die Nukleotidbindungsstelle wieder in den Zustand mit hoher Affinität zu ATP über, während die Affinität der „high affinity“ Bindungsstelle zum Substrat niedrig bleibt. Im folgenden Schritt (Step V) bindet ein zweites Molekül ATP an der anderen Nukleotidbindungsstelle. Nach der anschließenden Hydrolyse bewirkt die Freisetzung von ADP eine weitere Konformationsänderung und P-gp kehrt in den Ausgangszustand zurück. Nun ist P-gp für einen weiteren Transportzyklus bereit.

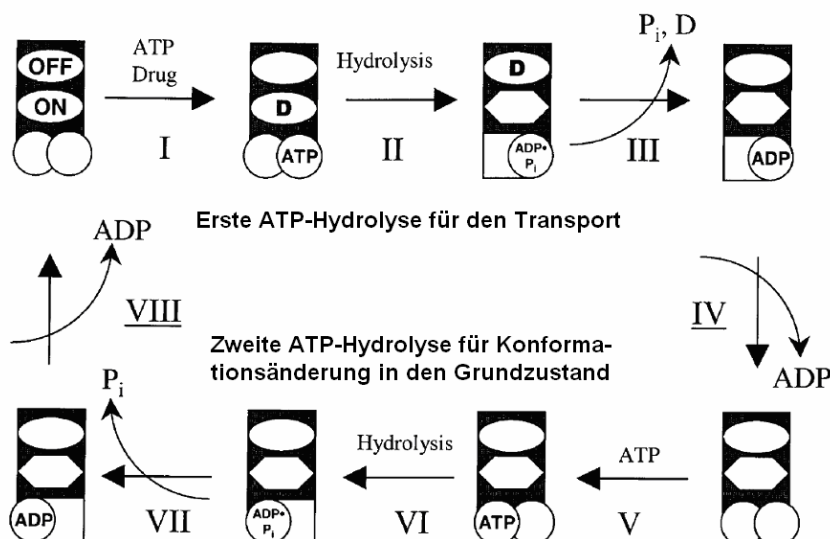


Abb. 6: Katalytischer Zyklus der ATP Hydrolyse von P-gp nach Ambudkar und Gottesmann [Ambudkar et al., 2003].

Einleitung

Etwas anders stellt sich der Transportzyklus in dem Modell von *Al-Shawi* [Al-Shawi et al., 2003] dar. P-gp, an das ein Molekül ATP gebunden hat, ist im Zentrum des Zyklus als *ATPE* angedeutet. Der Substrat-aktivierte Transportzyklus ist in der oberen rechten Ecke und der basale ATPase Zyklus in der unteren linken Ecke dargestellt. Die basale ATPase Aktivität wird in diesem Modell dadurch erklärt, dass in Abwesenheit eines geeigneten Substrates zuerst ein zweites Molekül ATP an P-gp bindet, das zuerst gebundene ATP hydrolysiert und ADP abgespalten wird und das Protein ohne Transport wieder in den für einen Transport aktivierten Zustand (*ATPE*) übergeht. Steht jedoch ein geeignetes Substrat für den Transport zur Verfügung und bindet an P-gp, lagert sich ein zweites Molekül ATP an die noch unbesetzte NBD an. Dies führt zur Hydrolyse des ersten ATP-Moleküls und zu einer Konformationsänderung des Proteins wobei das Substrat ins Innere des Proteins transportiert wird. Diese Konformationsänderung verringert die Affinität des Proteins zum Substrat und das Substrat wird freigesetzt. Nach erfolgreichem Transport wird ADP abgespalten und das Protein geht wieder in den aktivierten Zustand über. Da ATP an zwei verschiedenen NBD im aktivierten Zustand (*ATPE*) vorliegen kann, müsste für einen kompletten Transportzyklus zurück zum Grundzustand jeweils zwei Zyklen durchlaufen werden. In Abb. 7 ist das Modell jedoch in vereinfachter Form dargestellt. Das komplette Modell besteht aus vier Zyklen: zwei gekoppelten und zwei ungekoppelten.

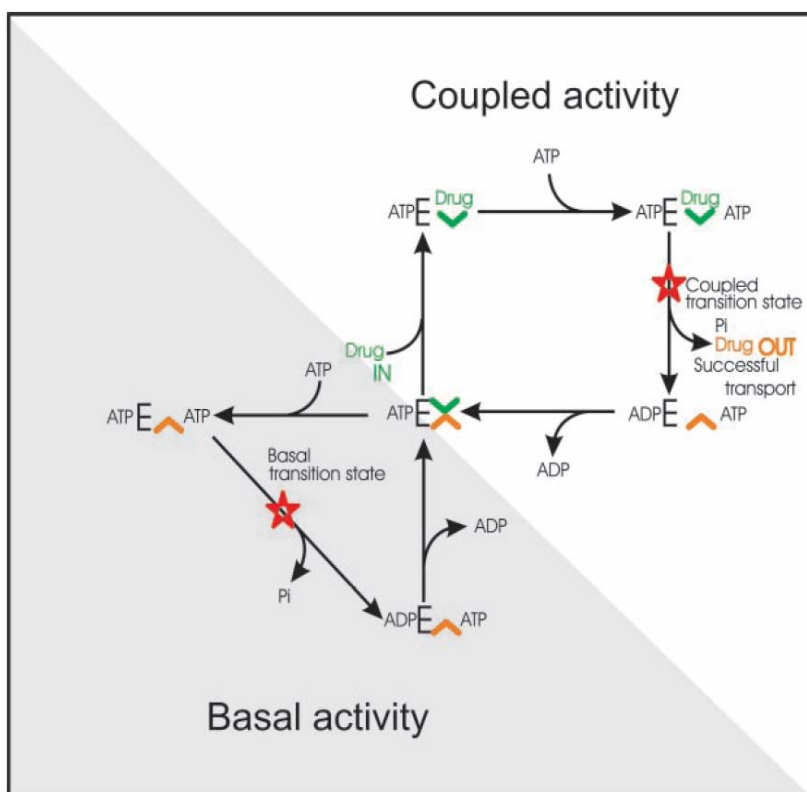


Abb. 7:
Mechanismus des Transports von P-gp nach *Al-Shawi* [Al-Shawi et al., 2003]. P-gp wird durch ein *E* symbolisiert. Die „High-Affinity“ Bindungsstelle ist in grün und die „Low-Affinity“ Bindungsstelle in orange dargestellt. Die roten Sterne kennzeichnen die transportlimitierenden Übergangszustände.

Einleitung

Fasst man diese drei Modelle zusammen, kann der Transportzyklus von P-gp folgendermaßen beschrieben werden:

Im Grundzustand ist ein ATP-Molekül gebunden. Die Substrat Bindungsstelle besitzt eine hohe Affinität zum Substrat (high affinity). Bindet nun zuerst ATP an der zweiten NBD bevor ein geeignetes Substrat binden kann, kommt es zu einer Hydrolyse des ersten ATPs und das Protein geht in den Grundzustand über (Basale ATPase Aktivität). Diffundiert jedoch ein Substrat in die Zellmembran und bindet von dort an die Bindungsstelle, kommt es zu einer Erhöhung der Affinität der Nukleotidbindungsstelle für ATP. Bindet ATP an die Nukleotidbindungsstelle, kommt es zu einer Reorganisation der TM Helices. Durch Rotation und Bewegung den TM-Helices ordnen sich diese zu drei kompakten Domänen an. Dabei rotieren besonders die TM-Helices zum Proteininneren, welche vermutlich an der Substratbindung beteiligt sind (TM5 und TM11 sowie TM6 und TM12). Durch diese Reorganisation werden die hydrophoben Substrate aus der Zellmembran in die zentrale Pore transportiert und frei gelegt. Nach dieser Reorganisation der TM-Helices verringert sich die Affinität zu dem Substrat (low affinity). Daher können die Substrate in den Extrazellulärraum abdifferenzieren. Möglicherweise kommt es in der zentralen Pore des Proteins zu einer Protonierung der meist mit basischen Stickstoffatomen versehenen Substrate. Dies ist wahrscheinlich, da die zentrale Pore von P-gp für Wasser zugänglich ist [Loo et al., 2004] und fast alle Substrate bei physiologischem pH-Wert vorwiegend in der protonierten Form vorliegen. Nach Beendigung des Transports geht das Protein wieder in den basalen Zustand über und ist nun für den nächsten Transportzyklus bereit.

Basierend auf den Röntgenstrukturen der bakteriellen Lipid ABC-Transporter MsbA aus *E.coli* (Auflösung: 0,45 nm) [Chang et al., 2001] und aus *Vibrio cholerae* (Auflösung: 0,38 nm) [Chang, 2003] wurde von Christoph Globisch aus unserem Arbeitskreis ein Homologie-Modell von P-gp im nukleotidfreiem Zustand entwickelt [Pajeva et al., 2004]. Zusätzlich konnte ein Modell des aktiven Zustands von P-gp ausgehend von Cross-Linking und Rhodamin-Inhibitions Daten von Loo und Clarke (siehe [Pajeva et al., 2004]) entwickelt werden. Diese beiden Modelle wurden mit den P-gp Röntgenstrukturen (im nukleotidfreiem (Auflösung 8 Å) und nukleotidgebundenem Zustand (Auflösung 8 Å)) von Rosenberg et al., aufgenommen mittels Elektronen-Kristallographie, verglichen. Abbildung 8 zeigt beide Modelle schematisch

(1+ 2 oben rechts), sowie die niedriger aufgelösten (20 Å) Kristallstrukturen nach Rosenberg.

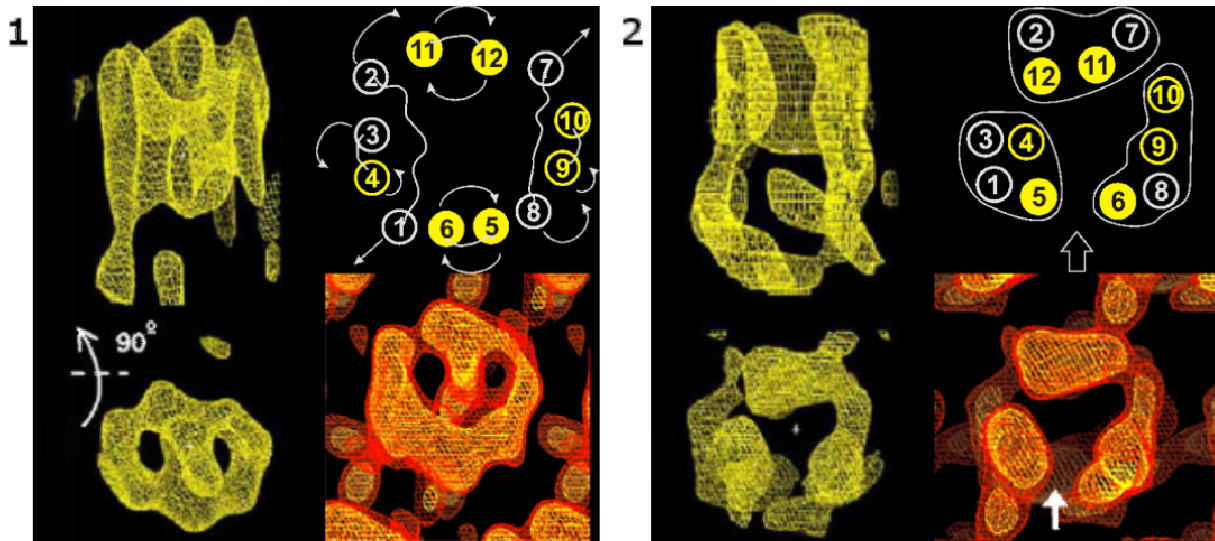


Abb. 8: Schematische Darstellung der Anordnung der TMD: (1) im nucleotidfreien P-gp (rechts oben); (2) gemäß dem cross-linking Modell (rechts oben) [Pajeva et al., 2004]. Die korrespondierenden Röntgenkristallstrukturen nach [Rosenberg et al., 2003] sind links und etwas vergrößert unter den Darstellungen gezeigt.

Sowohl das Homologie-Modell als auch das „Cross-Linking“-Modell, zeigen verblüffende Übereinstimmung mit den beobachteten Kristallstrukturen.

1.3.4 Bindungsstellen von P-gp

Viele strukturell unterschiedliche Verbindungen sind in der Lage, den P-gp vermittelten Ausstrom aus der Zelle zu hemmen. Sie werden als Inhibitoren oder Modulatoren des P-gp bezeichnet. Die Interaktion der Modulatoren mit P-gp ist zwar bereits intensiv untersucht worden, die Frage, ob die Modulatoren und Substrate an der gleichen Bindungsstelle, an überlappenden Bindungsstellen oder an mehreren unterschiedlichen Orten (intrazellulär oder intramembranär) des Proteins binden, ist jedoch nur teilweise geklärt. In den letzten Jahren ergaben sich experimentelle Hinweise auf die Existenz von mehreren Bindungsstellen. *Shapiro* und *Ling* konnten zeigen, dass die in Abbildung 9 dargestellten Verbindungen Rhodamin 123 (R-Seite) und Hoechst 33342 (H-Seite), an unterschiedliche Stellen des Proteins binden, die positiv kooperativ interagieren [Shapiro et al., 1997].

Nur die H-Seite wird in der Literatur einheitlich als solche bezeichnet. An die R-Seite binden neben Rhodamin 123 auch Daunorubicin, Doxorubicin und andere Anthracycline. Hoechst-Derivate, Quercetin und Colchicin sind Liganden der H-Seite.

Einleitung

In einer weiteren Arbeit zeigten *Shapiro* und *Ling*, dass eine zusätzliche Bindungsstelle existiert, welche allosterische Eigenschaften besitzt und Prazosin sowie Progesteron binden kann. Die Bindung dieser beiden Stoffe an P-gp soll die Transportaktivität sowohl der R-, als auch der H-Seite stimulieren. Durch Radioligand-Bindungsexperimente wurde von *Martin et al.* die Existenz von vier verschiedenen Bindungsstellen postuliert, wobei jedoch die Bindungsstelle des Rhodamin 123 nicht identifiziert und zugeordnet werden konnte [Martin et al., 2000].

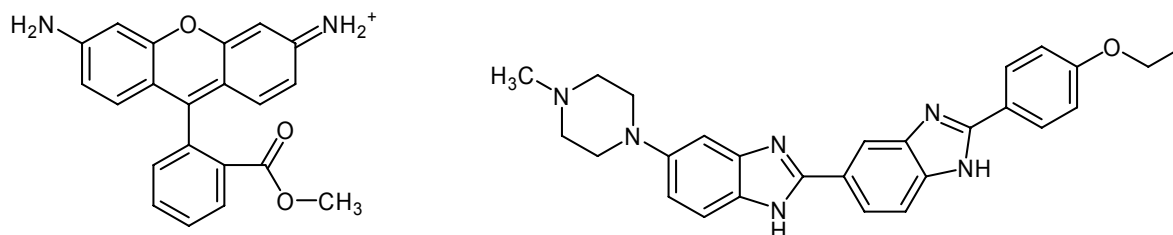


Abb. 9: Strukturformeln von Rhodamin 123 (links) und Hoechst 33342 (rechts).

Aus Photoaffinität-Markierungs- und Mutationsstudien geht hervor, dass besonders TMD5, TMD6, TMD11 und TMD12 an der Bindung von Wirkstoffen beteiligt sind [Isenberg et al., 2001]. Insgesamt ergibt sich aus den Literaturbefunden ein widersprüchliches Bild hinsichtlich der Anzahl und Spezifität möglicher Bindungsstellen.

1.3.5 Pharmakophormodelle von P-gp

In unserem Arbeitskreis konnte, basierend auf Radioligand-Bindungsdaten, ein Pharmakophormodell für die Rhodamin (R)-Bindungsstelle entwickelt werden. Dieses Modell wurde basierend auf einem Satz von 25 strukturell höchst verschiedenen P-gp Modulatoren erstellt [Pajeva und Wiese, 2002]. Dieses generelle Modell für die R-Bindungsseite weist zwei hydrophobe Zentren (H) auf, sowie drei Wasserstoffbrücken Akzeptoren (A) und einen Wasserstoffbrücken Donor (D) (Abb. 10).

In unserem Arbeitskreis konnte 2004 ein Pharmakophormodell der Hoechst (H)-Bindungsstelle postuliert werden [Pajeva et al., 2004], welches auf den strukturellen Eigenschaften von Hoechst 33342, sowie einigen kleinen Molekülen (QB-Verbindungen) basiert, für die gezeigt werden konnte, dass sie mit der H-Bindungsseite interagieren [Kondratov et al., 2001]. Hoechst 33342 besitzt eine ganze Reihe funktioneller Gruppen die mit P-Glykoprotein interagieren können (Abb. 11).

Einleitung

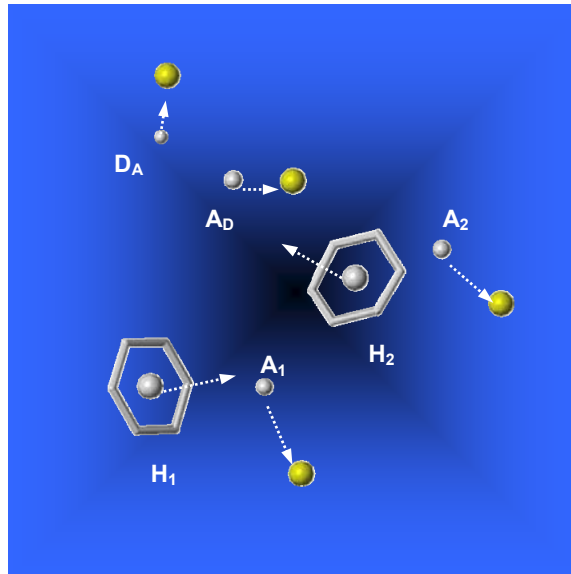


Abb. 10: Generelles Pharmakophormodell für die Verapamil Bindungsstelle [Pajeva und Wiese, 2002].

Einige dieser funktionellen Gruppen finden sich auch bei den QB-Verbindungen. Das Pharmakophormodell basierend auf Hoechst 33342 und den QB-Verbindungen besitzt drei hydrophobe Zentren (H), sowie einen Wasserstoffbrücken Akzeptor (A) und einen Wasserstoffbrücken Donor (D). DS und AS sind die korrespondierenden Wasserstoffbrücken Donor und Akzeptor Gruppen von P-Glykoprotein. Die Entfernungen sind als Mittelwerte in Angström angegeben.

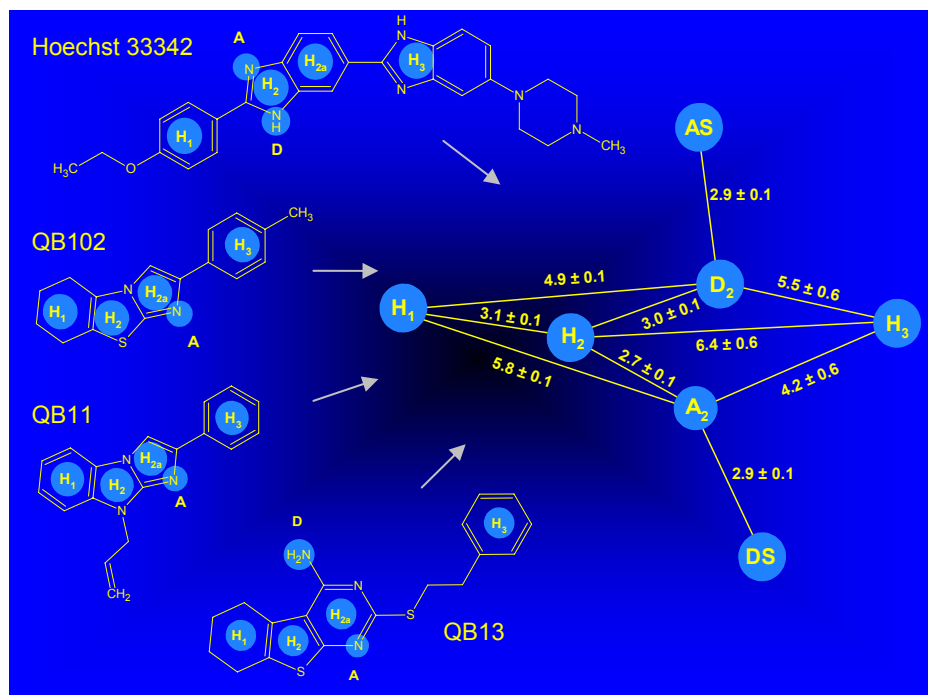


Abb. 11: Pharmakophormodell für die Hoechst 33342 (H-) Bindungsstelle [Pajeva et al., 2004].

1.4 P-gp Substrate und Modulatoren

Die mit P-gp wechselwirkenden Stoffe weisen eine breite chemische und strukturelle Vielfalt auf und unterscheiden sich stark in ihrer biologischen Hauptwirkung.

Die Begriffe Substrat und Modulator werden in der Literatur sehr unterschiedlich definiert und angewandt. In dieser Arbeit werden diejenigen Stoffe ganz allgemein als Substrate bezeichnet, die von P-gp transportiert werden.

Beispiele von klinisch relevanten Chemotherapeutika die mit P-gp interagieren bzw. von P-gp transportiert werden sind: Anthracycline (Doxorubicin, Daunorubicin), Taxane (Paclitaxel, Docetaxel), Vinca Alkaloide (Vinblastin, Vincristin), Actinomycin D, Bisantren, Etoposid, Teniposid, Topotecan, Colchicin, Mitomycin C, Mithramycin, Podophyllotoxin, Triamteren [Varma et al., 2003]. Aber auch das Opioid Loperamid stellt ein Substrat von P-gp dar.

Modulatoren sind Substanzen, die das Phänomen der Multidrug-Resistenz durch Interaktion mit P-Glykoprotein wieder aufheben können und auch zu diesem Zweck hergestellt bzw. eingesetzt werden. Diese Substanzen können kompetitiv oder alloster die Funktion von P-gp beeinflussen. Sie können der Definition nach selber Substrate von P-gp sein. Modulatoren sollten möglichst keine weitere pharmakologische oder toxische Aktivität besitzen. In der Literatur werden Modulatoren unter anderem auch als „chemosensitizer“ bezeichnet. Sie „sensitivieren“ die resistenten Zellen wieder, so dass Zytostatika ihre Wirkung zurückerlangen.

1.4.1 P-gp Modulatoren der ersten Generation

Die Geschichte der MDR-Modulatoren begann 1981 mit der Entdeckung von *Tsuruo et al.*, dass der Calcium-Kanal-Blocker Verapamil in der Lage ist, das Phänomen der Multidrug-Resistenz *in vitro* bei verschiedenen Krebszelllinien aufzuheben [Tsuruo et al., 1981]. Daraufhin ist in den achtziger Jahren eine große Bandbreite an Substanzen identifiziert worden, die in der Lage sind, P-gp zu inhibieren. Diese so genannte „Erste Generation“ von MDR-Modulatoren (Tab. 3) umfasst Wirkstoffe, die allesamt schon in unterschiedlichen therapeutischen Bereichen eingesetzt wurden [Chiba et al., 2004]. Diese Wirkstoffe werfen das Problem auf, dass aufgrund ihrer niedrigen Affinität *in vivo* sehr hohe Dosen benötigt werden, was mit einer nicht akzeptablen pharmakologischen Eigenwirkung und somit einer erhöhten Toxizität einhergeht (Tabelle 2).

Verbindung	erreichbare <i>in vivo</i> Konz.	optimale <i>in vitro</i> Konz.
Chinidin	4,5 - 5,6 μM	3,3 - 9,3 μM
Trifluoperazin	0,32 μM	2,0 - 14 μM
Tamoxifen	6 μM	- 10 μM
Toremifen	10 - 15 μM	- 15 μM
Cyclosporin A	2 - 7 μM	5 μM
Verapamil	1 - 2 μM	6 - 10 μM

Tab. 2: Erreichbare *in vivo* und optimale *in vitro* Konzentration von MDR-Modulatoren der ersten Generation [Raderer et al., 1993].

Dieses Problem trat besonders bei Verapamil, Cyclosporin A und Chinidin auf, was keine sichere Anwendung als MDR-Modulatoren in der Klinik zuließ. Viele dieser Modulatoren der ersten Generation sind selbst P-gp Substrate und konkurrieren mit den Zytostatika um die P-gp Bindungsstellen [Hilary et al., 2003]. Unter den P-gp Modulatoren der ersten Generation ist Cyclosporin A wohl die effektivste und klinisch am besten untersuchte Substanz [Tan et al., 2000].

1.4.2 P-gp Modulatoren der zweiten Generation

Die zweite Generation an P-gp Modulatoren stellt zumeist Weiterentwicklungen der Modulatoren der ersten Generation dar. Dieser interessante Ansatz führte zur Identifizierung der ersten klinisch relevanten und nutzbaren Substanzen. Zu diesen Wirkstoffen gehören Dexverapamil, Dexniguldipin, *trans*-Flupentixol und Valspodar (PSC 833) (Tabelle 3). Diese Wirkstoffe weisen eine höhere Affinität zu P-gp und eine verringerte Toxizität gegenüber ihren Vorgängern auf [Krishna et al., 2000]. Da jedoch in der klinischen Prüfung keine toxische Wirkung dieser Substanzen akzeptiert wurde, stellte man bei vielen dieser Substanzen, trotz guter Ergebnisse als MDR-Modulator, die klinische Prüfung ein. Das D-Isomer von Verapamil, Dexverapamil, besaß z.B. trotz 200-fach niedriger Affinität zu Calcium-Kanälen und guten MDR-Modulator Eigenschaften noch immer eine zu hohe Toxizität um den klinischen Anforderungen zu genügen [Wilson et al., 1995].

Der am besten untersuchte und charakterisierte Modulator dieser Generation ist Valspodar (PSC 833). Valspodar ist ein nicht immunsuppressives Derivat von Cyclosporin D und inhibiert *in vitro* P-gp 10-20-fach stärker als Cyclosporin A [te Boekhorst et al., 1992]. Valspodar wurde in verschiedenen klinischen Prüfungen (bis Phase III) in Kombination mit diversen Zytostatika getestet [Hilary et al., 2003]. Limitierend für den Einsatz von Valspodar als MDR-Modulator ist seine Eigenschaft

Einleitung

Cytochrom P450 3A4 zu inhibieren und damit den Metabolismus von Paclitaxel und Vinblastin zu beeinflussen. In diesen Fällen führt es zu höheren Plasmakonzentrationen der Zytostatika und damit zu einer erhöhten Toxizität für den Patienten [Bates et al., 2001].

Beispiele	Pharmakologische Hauptwirkung
<i>Modulatoren der ersten Generation</i>	
Amiodaron, Chinidin	Antiarrhythmika
Clomipramin, Imipramin	Antidepressiva
Clomiphen, Tamoxifen Toremifen	Antiestrogene
Ketoconazol, Itraconazol	Antifungizide
Terfenadin	Antihistaminika
Chloroquin, Chinin, Mepacrin, Cinchonin	Antimalarialmittel
Propranolol, Metoprolol, Propafenon	Beta-Blocker
Diltiazem, Verapamil, Nifedipin, Nitrendipin, Bepridil	Calcium-Kanal-Blocker
Ethacrynsäure, Amilorid	Diuretika
Indinavir, Nelfinavir, Saquinavir	HIV-Proteaseinhibitoren
Cyclosporin A, Rapamycin	Immunsuppressiva
Vindolin, Reserpin, Yohimbin	Indol Alkaloide
Pimozid, Haloperidol, Phenothiazine, Thioxanthene	Neuroleptika
Progesteron	Steroidhormone
Dipyridamol, Amiodaron	Vasodilatoren
Tetraphenylphosphonium, Cremophor, Tween-80	Andere
<i>Modulatoren der zweiten Generation</i>	
Dexverapamil, Gallopamil	<i>analog zu</i> Verapamil
Dexniguldipin	Nifedipin
<i>trans</i> -Flupentixol	Trifluoperazin
Valspodar (PSC 833)	Cyclosporin A
<i>Modulatoren der dritten Generation</i>	
Elacridar (GF-120918), XR9051, Tariquidar (XR9576)	<i>Strukturmerkmal</i> Tetrahydroisochinoline
Biricodar (VX-710), Timcodar	Amino-Carboxylate
S-9788	Triazinopiperidin
Zosuquidar (LY-335979), Laniquidar (R101933), MS-209	Chinoline
ONT-093 (OC144-093)	Triarylimidazol
SN-22995	Acridin-Carbamid

Tab. 3: Liste der wichtigsten MDR-Modulatoren [Varma et al., 2003 und Robert et al., 2003].

1.4.3 P-gp Modulatoren der dritten Generation

Die P-gp Modulatoren der dritten Generation sind neuartige Moleküle, die aufgrund von Struktur-Wirkungsbeziehungen und mittels kombinatorischer Chemie synthetisiert wurden. Die Hoffnung bei den Modulatoren der dritten Generation besteht darin, die limitierte Einsetzbarkeit der zweiten Generation zu überwinden.

Diese neuen Wirkstoffe wurden aufgrund physikochemischer Eigenschaften wie Lipophilie, positive Ladung bei neutralem pH-Wert, aromatische Ringsysteme etc. auf P-gp zugeschnitten. Als wichtigste Eigenschaft sollten diese Substanzen neben der MDR modulierenden Eigenschaft auch idealerweise keinerlei Toxizität zeigen. Verschiedene Substanzen der dritten Generation kommen diesen wichtigen geforderten Eigenschaften nahe (Tabellen 3 und 4).

Einer der erfolgsversprechensten P-gp Modulatoren der dritten Generation ist das Anthranilsäure-Derivat Tariquidar (XR9576). Tariquidar ist sowohl *in vitro*, als auch *in vivo* ein hochaffiner P-gp Modulator. In nanomolaren Konzentrationen zeigt XR9576 eine komplette Resistenz-Aufhebung bei unterschiedlichen Zytostatika in verschiedenen humanen Krebszelllinien [Mistry et al., 2001]. Aus pharmakologischer Sicht stellt sich Tariquidar als sehr verträglich bei den benötigten Konzentrationen dar und zeigt dabei keinen Effekt auf die Pharmakokinetik von Paclitaxel, Vinorelbin und Doxorubicin [Lee, 2004].

Ein anderer viel versprechender P-gp Modulator der dritten Generation ist Elacridar (GF120918). GF120918 zeigt eine hohe Affinität zu P-gp und ist auch in der Lage, die MDR komplett aufzuheben. Im Gegensatz zu anderen Wirkstoffen der dritten Generation ist GF120918 nicht selektiv für P-gp, sondern weiterhin in der Lage, einen anderen ABC-Transporter, den BCRP, zu inhibieren [de Bruin et al., 1999]. Es zeigt jedoch keine Aktivität am Multidrug resistance associated Protein 1 (MRP1).

Tariquidar (XR9576) und Elacridar (GF120918) sind chemisch nah verwandt und besitzen eine sehr ähnliche Struktur. Beide verfügen über eine 6,7-Dimethoxytetrahydroisochinolin-Partialstruktur, die über einen Ethylphenylamin-Linker an eine Anthranilsäure-Partialstruktur mit zwei aromatischen Zentren gekoppelt ist.

Zosuquidar (LY 335979), ein Difluorocyclopropyldibenzosuberan-Derivat, ist ein weiterer interessanter und zugleich auch einer der potentesten Modulatoren, der sich in einer Phase III Studie befindet. Zosuquidar inhibiert P-gp *in vivo* und *in vitro* in nanomolaren Konzentrationen und besitzt einen K_i -Wert von 59 nM [Dantzig et al.,

Einleitung

2001]. Es ist ein selektiver P-gp Modulator ohne größere Affinität zu anderen Transportern wie MRP-1 oder BCRP.

Struktur	Name (Phase)	Struktur	Name (Phase)
	Verapamil		Chinin (III)
	Valspodar PSC-833 (III)		Biricodar VX-710 (II)
	Tariquidar XR9576 (III)		Timcodar (II)
	Elacridar GF120918 GG918 (I)		Laniquidar R101933 (II)
	MS-209 (III)		SN-22995 (I)
	Zosuquidar LY335979 (II)		S-9788
	ONT-093 OC144-093 (II)		Ethacrynsäure (II)

Tab. 4: Wichtige MDR-Modulatoren (klinische Testphase in Klammern) [Chiba et al., 2004; Robert et al., 2003; Pleban et al., 2005].

Einleitung

MS-209 wurde anfänglich als potentieller multifunktionaler Modulator entwickelt, da diese Verbindung in der Lage ist sowohl P-gp, als auch MRP1 zu inhibieren [Sato et al., 1995].

Auch diese beiden viel versprechenden Modulatoren besitzen eine sehr ähnliche chemische Struktur. Sie leiten sich von der Familie der β -Blocker ab. Die meisten β -Blocker sind Arylether mit einer β -Hydroxy- γ -aminopropan-Seitenkette. Zosuquidar (LY 335979) und MS-209 sind 4-Chinolinether welche über eine β -Hydroxy- γ -piperazinopropan-Seitenkette mit einem Rest verknüpft ist, der zwei aromatische Zentren aufweist. Einen ähnlichen Aufbau besitzen auch Propafenon und Propafenon-Analoga, welche als Photolabel zur Untersuchung und genaueren Charakterisierung der Bindungsstelle(n) eingesetzt werden.

Ein klinisch gut untersuchter Modulator ist auch Biricodar (VX-710), ein Amino-ketopipicolinester-Derivat. Biricodar ist in der Lage, sowohl P-gp, als auch MRP1 zu blockieren. Das strukturell ähnliche Timcodar stellt eine Modifikation der Leitstruktur VX-710 dar.

Mit ONT-093, einem substituierten Triarylimidazol, und Laniquidar (R101933) befinden sich zwei weitere hoch potente MDR-Modulatoren in Phase II Studien.

2 Themenstellung der Arbeit

2.1 Synthetische Variation der Leitstrukturen

Sehr viele literaturbekannte P-gp-Modulatoren besitzen trotz ihrer hohen chemischen Diversität einige allgemeine Strukturmerkmale. Grob kann man die Verbindungen in vier verschiedene Partialstrukturen unterteilen.

Die Modulatoren besitzen eine basische Aminokomponente (meist mit einer aromatischen Partialstruktur), welche durch einen oftmals aromatischen Linker mit einem größeren aromatischen, hydrophoben Bereich verknüpft ist (Abb. 12).

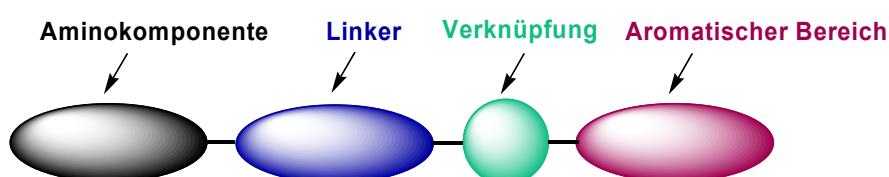
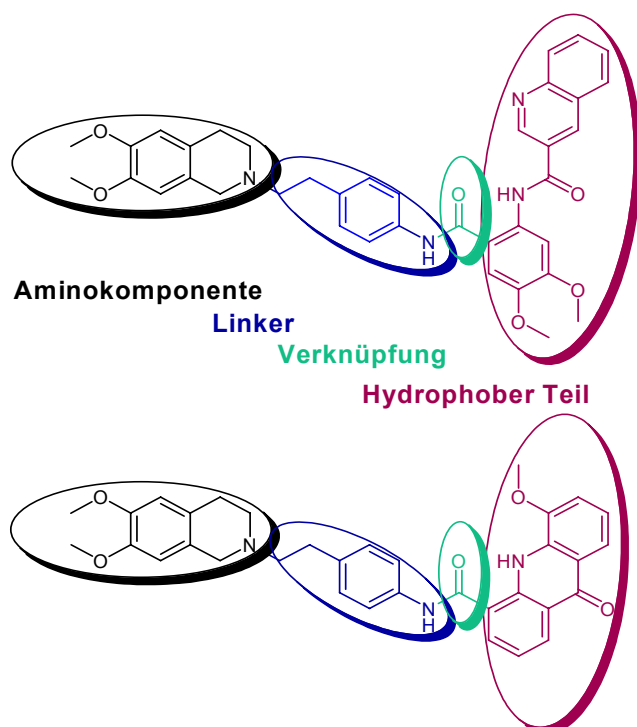


Abb. 12:
Allgemeine Strukturelemente von MDR-Modulatoren.

In dieses Schema passen z.B. die Modulatoren Verapamil, MS 209, Zosuquidar, Laniquidar und viele mehr. Auch zwei der potentesten P-gp-Modulatoren, Tariquidar (XR9576) und Elacridar (GF120918) besitzen diese Strukturmerkmale. Die Affinität der beiden Modulatoren liegt im nanomolaren Bereich. Tariquidar und Elacridar besitzen eine sehr ähnliche chemische Struktur mit einer 6,7-Dimethoxytetrahydroisochinolin-Partialstruktur, die über einen Ethylphenylamin-Linker an eine Anthranilsäure-Partialstruktur mit zwei aromatischen Zentren gekoppelt ist (Abb. 13).



Linker an eine Anthranilsäure-Partialstruktur mit zwei aromatischen Zentren gekoppelt ist (Abb. 13).

Auf der Suche nach weiteren viel versprechenden P-gp modulierenden Substanzen können systematische chemische Modifikationen dieser Strukturmerkmale zu neuen Leitstrukturen führen.

Abb. 13: Strukturelemente am Beispiel von Tariquidar (XR9576, oben) und Elacridar (GF120918, unten).

Themenstellung der Arbeit

Aus den oben genannten Überlegungen ergeben sich folgenden Kernpunkte als Synthesziele dieser Arbeit:

1. Design und Synthese einer Substanzbibliothek, basierend auf den beiden Leitstrukturen Tariquidar und Elacridar. Dabei sollen Variationen an allen vier Molekülteilen durchgeführt werden. Auf diese Weise soll eine Substanzbibliothek mit einer großen Anzahl neuer Verbindungen synthetisiert werden, um sie pharmakologischen Untersuchungen zugänglich zu machen.
2. Charakterisierung und Identifizierung neuer Verbindungen mit einer hohen Affinität zu P-gp. Auf der Suche nach neuen Substanzen soll ein großer Bereich an physikochemischen Eigenschaften abgedeckt werden, um Modulatoren mit neuartigen pharmakologischen Eigenschaften zu synthetisieren. Besonderes Augenmerk wird auf „kleine“ Derivate, d.h. Derivate mit niedrigem Molekulargewicht, gelegt. Es soll untersucht werden, welche Teile der Leitstruktur für die Bindung an P-gp verantwortlich ist.
3. Herstellung von Verbindungen, die möglichst selektiv mit einer der zwei propagierten Bindungsstellen des P-Glykoprotein, also der R-Bindungsstelle und der H-Bindungsstelle interagieren.
4. Synthese von Modulatoren mit photoaktivierbaren Gruppen, die eine hohe Affinität zu P-gp aufweisen. Diese Modulatoren sollen als Photolabel für Photoaffinitätsmarkierungen von P-gp bereitgestellt werden.

2.2 3D-QSAR-Untersuchungen

Um die Zusammenhänge zwischen den chemischen Strukturen der neuen Modulatoren und ihren biologischen Wirkungen näher zu untersuchen, sollen 3D-QSAR-Methoden verwendet werden. Mit Hilfe von CoMFA und CoMSIA sollen valide Modelle erzeugt werden, mit denen neue Verbindungen vorhergesagt und Strukturvorschläge für neue, möglichst potente P-gp-Modulatoren gemacht werden können.

3 Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

3.1 Synthese von P-gp-Modulatoren in der Literatur

Die Darstellung von P-gp-Modulatoren mit einer 6,7-Dimethoxytetrahydroisochinolin-ethylphenylamin-Partialstruktur ist in der Literatur weit verbreitet.

Die erste Verbindung dieser Substanzklasse, die im Zusammenhang mit Multidrug-Resistenz bekannt wurde, ist Elacridar (GF120918), das 1992 bei der Firma Glaxo in der Arbeitsgruppe von *Dodic* und *Dumaitre* synthetisiert wurde [Dumaitre et al., 1992; Dodic et al., 1995; Sharp et al., 1998]. GF120918 besitzt eine Acridon-4-carbonsäureamid-Partialstruktur im aromatischen Bereich. Variationen in der Grundstruktur umfassten alle Molekülbereiche und so wurden ca. 70 Derivate hergestellt. Abbildung 14 zeigt die allgemeine Struktur der synthetisierten GF120918-Derivate. Die Variationen sind bei verschiedenen Substituenten als Reste (R_1 - R_9), sowie bei diversen Atomen als Verknüpfung in der Alkylkette mit der Benzamid-Partialstruktur als X (O,S,CH₂) angedeutet. Unterschiedliche Kettenlängen der Alkylketten sind als n und m symbolisiert.

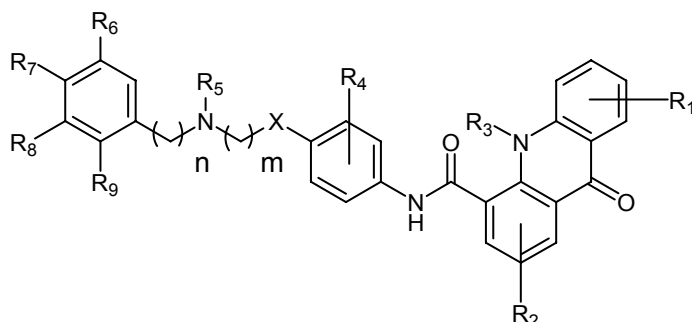


Abb. 14: Allgemeine Struktur der Elacridar (GF120918) Derivate.

Die Synthese von Elacridar (GF120918) startet mit der Umsetzung von 6,7-Dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (1) Hydrochlorid mit 4-Nitrophenylethylbromid (2) unter S_N2 Reaktionsbedingungen. Die Reduktion des entstandenen Produkts (3) erfolgt durch Hydrierung mit Wasserstoff in Gegenwart eines Palladium/Kohle-Katalysators. Die Umsetzung des reduzierten 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl-amins (4) mit 5-Methoxy-acridon-4-carbonsäure oder deren aktivierten Derivaten führen zu GF120918 (Abb. 15).

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

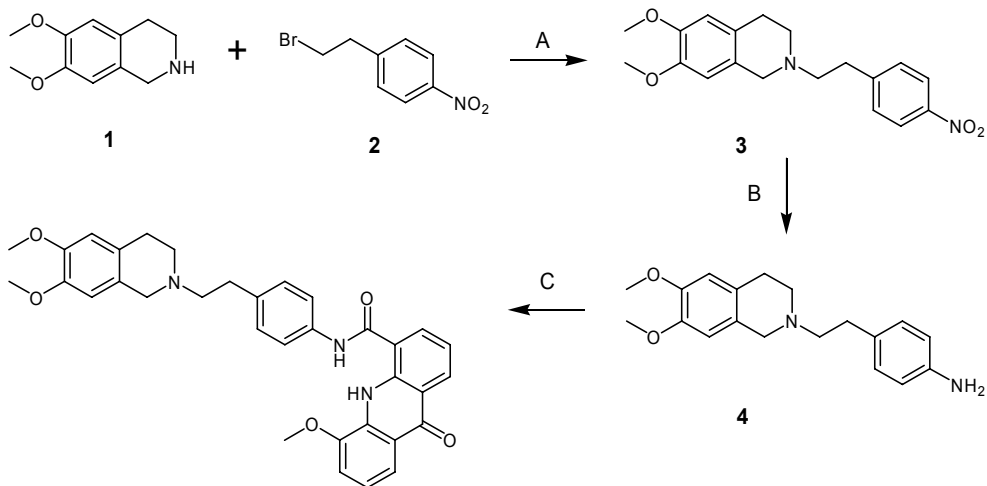


Abb. 15: Synthese von Elacridar (GF120918) [Dodic et al., 1995]:
 (A) DMF, K_2CO_3 , $100^\circ C$; (B) Pd/C, H_2 , EtOH, 4 bar; (C) 5-Methoxy-acridon-4-carbonsäure, 1-Hydroxybenzotriazol Hydrat, DCC, t-BuOH.

Neben der Firma Glaxo arbeitete auch die Firma Xenova an der Synthese von MDR-Modulatoren. Basierend auf den Ergebnissen von Glaxo konnte mit der Substanz XR9051 (Abb. 16) eine neue potente Verbindung synthetisiert und identifiziert werden [Ashworth et al., 1996].

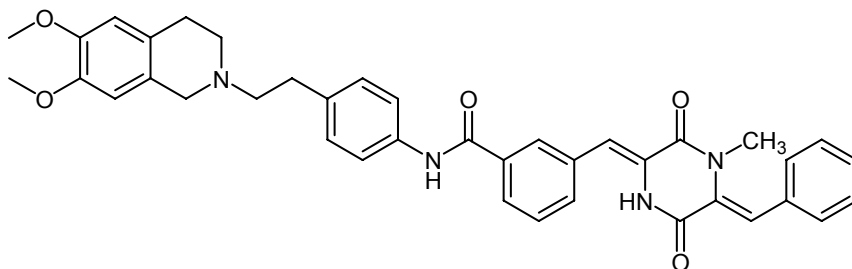


Abb. 16: Struktur von XR9051.

Zwei Jahre später konnte mit Tariquidar (XR9576) der bis heute vielversprechendste Modulator der 3. Generation hergestellt und charakterisiert werden [Ryder et al., 1998; Roe et al., 1999]. XR9576 wurde aus einer Reihe von über 150 Verbindungen als einer der potentesten Modulatoren identifiziert. Innerhalb dieser Substanzbibliothek variierte man systematisch fast alle Bereiche des Moleküls. Abbildung 17 zeigt eine allgemeine Formel, aus der ersichtlich wird, an welchen Positionen Strukturmodifikationen durchgeführt wurden.

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

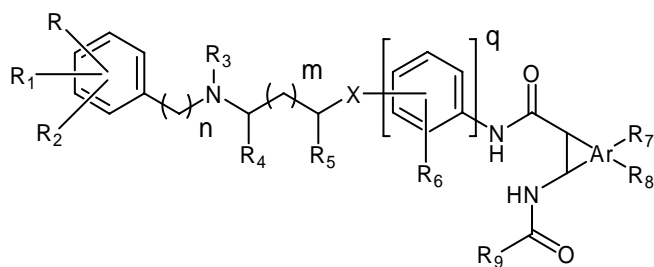


Abb. 17: Allgemeine Struktur der Tariquidar (XR9576) Derivate [Ryder et al., 1998].

Die Synthese von XR9576 startet analog zu der von GF120918 bis zur Stufe des 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamins (**4**). Anschließend folgt die Umsetzung mit 2-Amino-4,5-dimethoxybenzoesäure (**5**) zum korrespondierenden Amid (**6**) und eine zweite Amidierung mit 3-Chinolin-carbonsäurechlorid (Abb. 18).

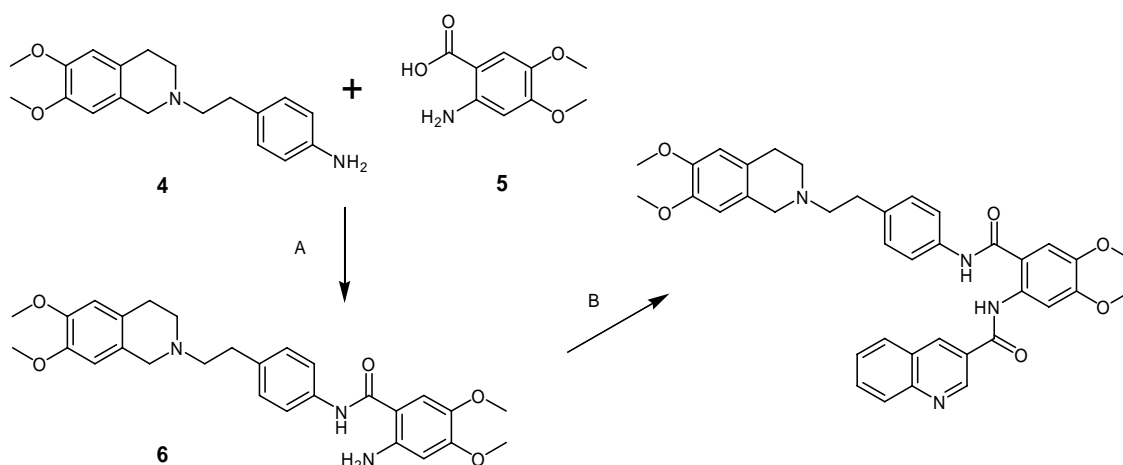


Abb. 18: Synthese von Tariquidar (XR9576):
 (A) 1-Cyclohexyl-3-(2-morpholinoethylcarbodiimidazolmethyl-p-toluensulfonat, 1-Hydroxybenzotriazol Hydrat, Et₃N, DCM
 (B) Chinolincarbonsäurechlorid, Et₃N, DCM

Die neuesten Verbindungen mit 6,7-Dimethoxytetrahydroisochinolin-ethylphenylamin-Partialstrukturen wurden erst 2005 in Korea bei der Firma Hanmi Pharm. synthetisiert [Cha et al., 2005; Bang et al., 2005]. Die neuen Verbindungen können aufgrund ihres chemischen Aufbaus in zwei verschiedene Kategorien unterteilt werden. Zur ersten Kategorie gehören Chromoncarbonsäure-Analoga von XR9576. Die allgemeine Struktur ist in Abb. 19 veranschaulicht [Cha et al., 2005].

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

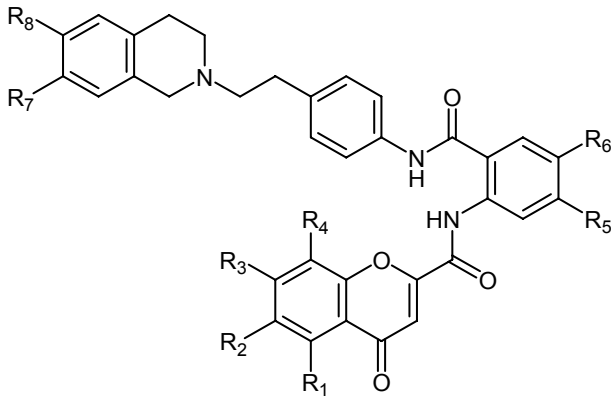


Abb. 19: Allgemeine Struktur der Chromoncarbonsäure-Derivate [Cha et al., 2005].

Weitere Modifikationen umfassten den Austausch der zentralen Amid-Gruppe durch einen Tetrazolring [Bang et al., 2005] (Abb. 20).

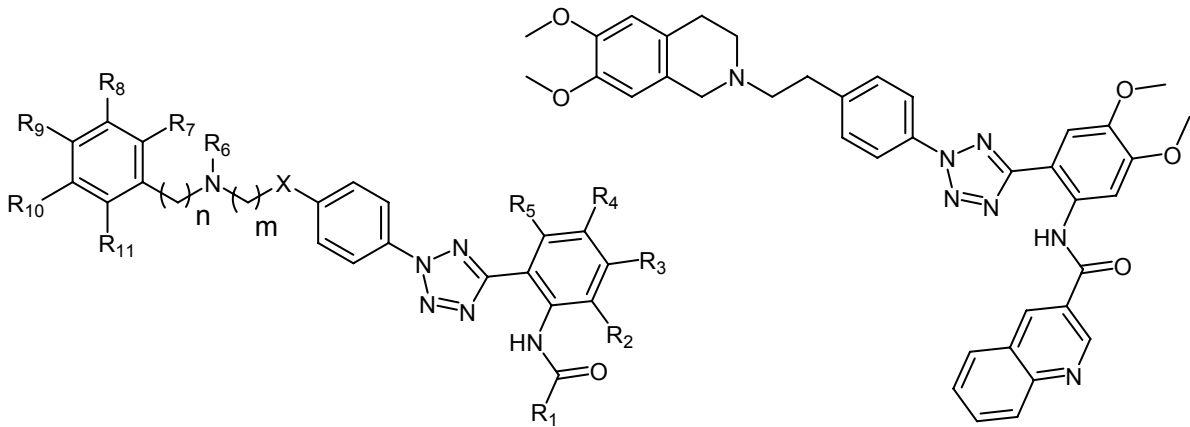
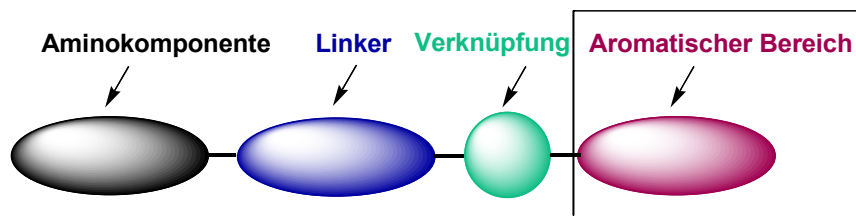


Abb. 20: Struktur der Tetrazol-Derivate [Bang et al., 2005].

3.2 Synthese von Tariquidar-Analoga

Bei der Herstellung von Tariquidar-Analoga war der Fokus der Syntheseaktivitäten in erster Linie auf Modifikationen im aromatischen Bereich des Moleküls gerichtet [Dodić et al., 1995; Ryder et al., 1998].



Es wurden einige bereits bekannte Derivate hergestellt, um die in der Arbeitsgruppe erhobenen pharmakologischen Daten dieser Verbindungen mit den Literaturdaten vergleichen zu können. Anschließend wurden, basierend auf den Erkenntnissen der Literaturstellen, neue Verbindungen gezielt synthetisiert, mit dem Ziel einer Wirkverbesserung.

3.2.1 Darstellung und Reduktion von Nitrophenylethylaminen

4-Nitrophenylethylamine stellen wichtige Vorstufen in der Synthese von Tariquidar-Analoga dar. Die Herstellung der Verbindungsklasse der 4-Nitrophenylethylamine ist mehrfach in der Literatur beschrieben worden, wobei sich besonders 1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin und 6,7-Dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin Partialstrukturen als gute pharmakophore Elemente erwiesen haben [Dodić et al., 1995; Ryder et al., 1998]. Die Synthese beginnt mit der Umsetzung von 1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin (**1**) bzw. 6,7-Dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (**1a**) mit 4-Nitrophenylethylbromid (**2**) (Abb. 21).

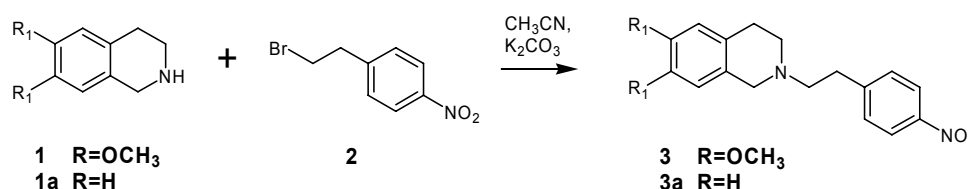


Abb. 21: Darstellung von Nitrophenylethylaminen mittels nukleophiler Substitution.

Die Reaktion verläuft über eine nukleophile Substitution zweiter Ordnung (S_N2). S_N2 -Reaktionen laufen bevorzugt in polar aprotischen Lösungsmitteln ab. Daher ist es nicht verwunderlich, dass in der Literatur DMF als Lösungsmittel verwendet wurde [z.B.: Dodić et al., 1995]. Bei der Verwendung von DMF ergab sich das Problem,

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

dass bei einer Temperatur von 100°C über eine Reaktionszeit von 6 Stunden neben 80% des gewünschten Produkts auch noch das Eliminierungsprodukt (E2) 4-Nitrostyren in nicht unerheblichen Umfang entstand, was an einer dunkelgelben bis braunen Färbung zu erkennen war. Das stark gesundheitsgefährdende 4-Nitrostyren ließ sich nur sehr schlecht durch mehrmaliges Umkristallisieren in Ethanol entfernen. Daher wurde die Reaktion mit Acetonitril als Lösungsmittel unter schonenderen Bedingungen (82°C) durchgeführt. Unter diesen Bedingungen konnten äquivalente Ausbeuten von 78% bei der Synthese von 2-[2-(4-Nitro-phenyl)-ethyl]-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (**3a**) und 74% bei der Herstellung von 6,7-Dimethoxy-2-[2-(4-Nitro-phenyl)-ethyl]-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (**3**) bei einer Reaktionszeit von 24 Stunden erreicht werden. Auch die Aufarbeitung gestaltete sich wesentlich einfacher. Acetonitril ließ sich deutlich schneller und einfacher aus dem Reaktionsansatz entfernen und schon einmaliges Umkristallisieren in Ethanol führte zu reinen Produkten (DC, NMR, EA). Die Verwendung von Aceton (56°C) und THF (64°C) bei gleich bleibender Reaktionszeit von 24 Stunden führte zu deutlich verringerten Ausbeuten von 45% in Aceton und 52% in THF.

Die Reduktion der zwei synthetisierten 4-Nitrophenylethylamine zu den korrespondierenden primären Aminen (**4/4a**) wurde durch katalytische Hydrierung realisiert (Abb. 22). Die Durchführung der Reaktion gelang mit Palladium/Kohle als Katalysator in Ethanol unter 4 bar Wasserstoffatmosphäre in einer Hydrierapparatur. Durch die schonenden Reaktionsbedingungen bei Raumtemperatur über eine Reaktionszeit von 48 Stunden konnten sehr gute Ausbeuten von 87-92% erreicht werden. Nach Beendigung der Reaktion wurde der Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel eingeengt und mit n-Hexan versetzt. In der Kälte kristallisierten die primären Amine als weiße Feststoffe aus.

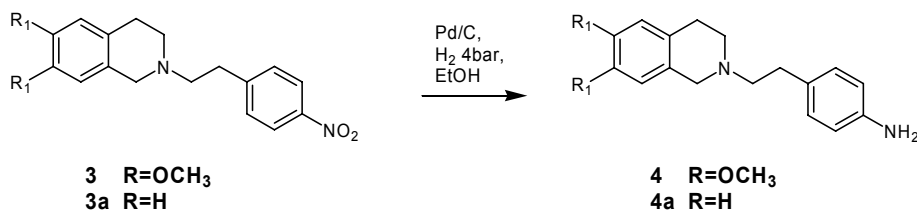


Abb. 22: Reduktion von Nitrophenylethylaminen durch katalytische Hydrierung.

3.2.2 Umsetzung der Amine zu Anthranilsäure-Derivaten

Die so gewonnenen 4-Aminophenylethylamine wurden mit 2-Nitrobenzoylchlorid umgesetzt (Abb. 23). Die Reaktion gelang unter sehr schonenden Bedingungen: das Amin wurde in trockenem THF zusammen mit Triethylamin als Base vorgelegt, die Lösung tropfenweise mit in trockenem THF gelöstem 2-Nitrobenzoylchlorid versetzt und der Reaktionsansatz über 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Beendigung der Reaktionszeit entfernte man das Lösungsmittel, nahm den Rückstand in 1 molarer Natronlauge auf und extrahierte dreimal mit Dichlormethan (DCM) oder Ethylacetat. Die organische Phase wurde dreimal mit 1 molarer Natronlauge und einmal mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel eingeeengt. In der Kälte kristallisierte das Produkt aus. Die Aufreinigung erfolgte durch Umkristallisieren des Rohprodukts in Ethanol/n-Hexan.

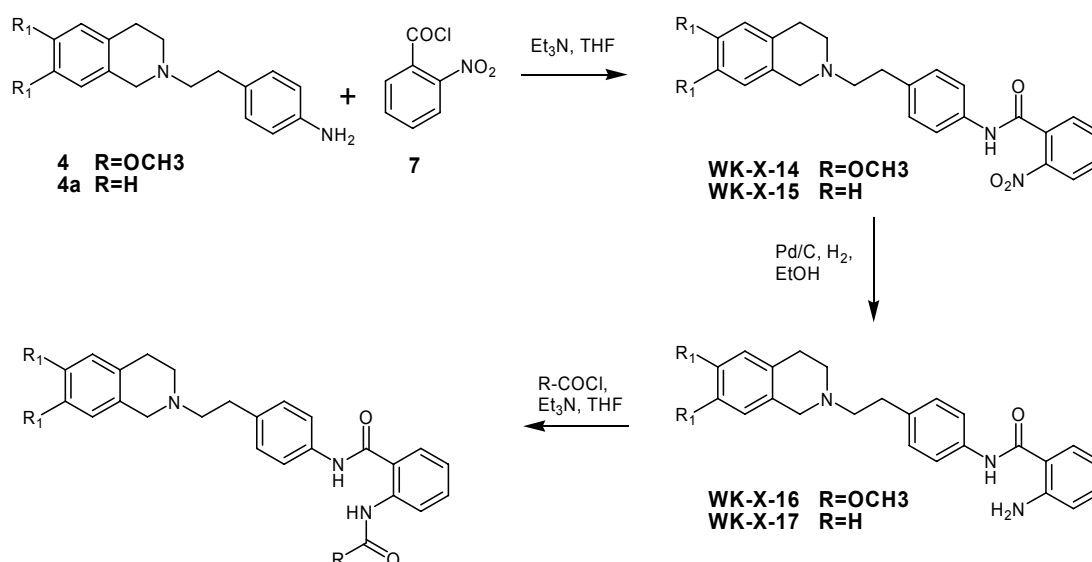
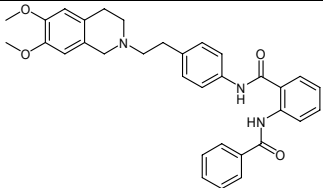
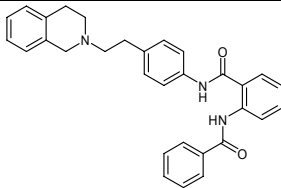
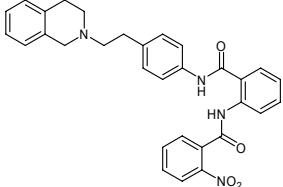
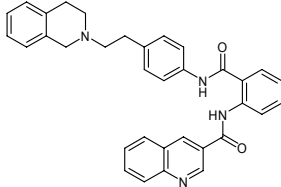
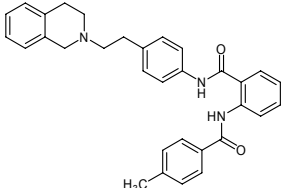
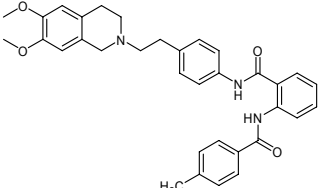
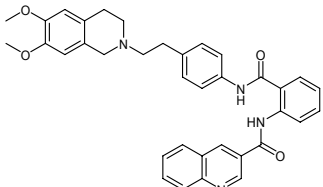
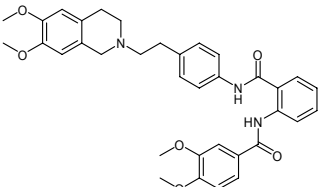
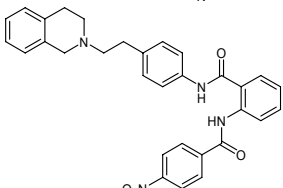
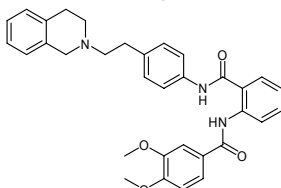
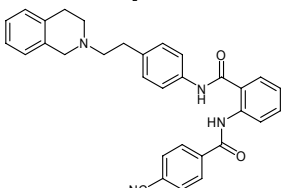
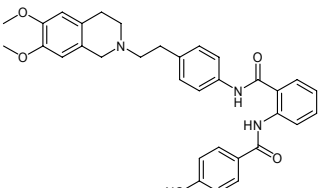


Abb. 23: Synthese der Anthranilsäure-Derivate.

Die Reduktion der 2-Nitrobenzamide zum Anthranilamid erfolgte wiederum mittels katalytischer Hydrierung, wobei sehr gute Ausbeuten von 75% bzw. 90% erreicht wurden. Als Katalysator diente auch hier Palladium auf Aktivkohle. Die Hydrierung wurde ebenfalls in Ethanol unter 4 bar Wasserstoffatmosphäre über eine Reaktionszeit von 48 Stunden in einer Hydrierapparatur realisiert. Nach Beendigung der Reaktion wurde der Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel eingeeengt und n-Hexan zugesetzt. In der Kälte kristallisierten die primären Amine als weiße Feststoffe aus.

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

Im letzten Syntheseschritt wurden die Anthranilamide mit weiteren Säurechloriden unter den oben beschriebenen Bedingungen umgesetzt. Waren die Säurechloride nicht käuflich zu erwerben oder zu teuer, wurden die Carbonsäuren verwendet und mit Thionylchlorid zu den korrespondierenden Säurechloriden umgesetzt. Die Umsetzung gelang am besten, wenn die Carbonsäuren in Toluol aufgenommen, tropfenweise mit Thionylchlorid in Toluol versetzt und mit katalytischen Mengen an DMF für 4 Stunden auf 75°C erhitzt wurden. Nach Entfernen des überschüssigen Thionylchlorids sowie des Toluols nahm man das Säurechlorid in THF auf und setzte es mit dem entsprechenden Anthranilamid um.

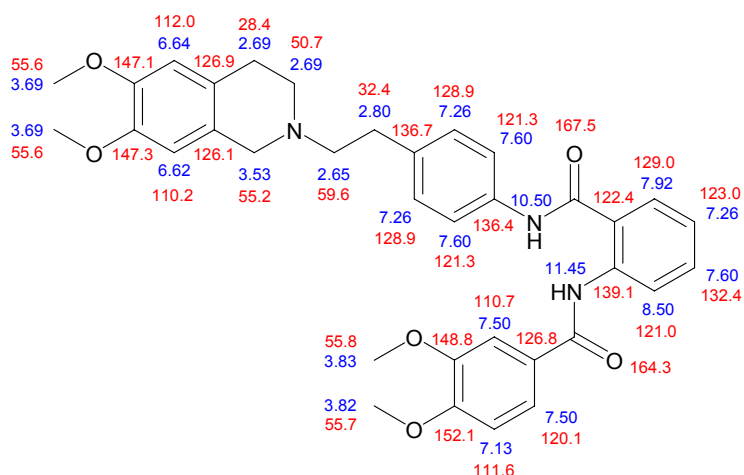
Struktur	Name	Struktur	Name
	XR9456 (WK-X-18)		WK-X-19
	WK-X-23		XR9577 (WK-X-24)
	WK-X-25		XR9504 (WK-X-29)
	XR9476 (WK-X-32)		WK-X-34
	WK-X-36		WK-X-38
	WK-X-41		WK-X-75

Tab. 5: Synthetisierte Anthranilsäure-Derivate.

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

Auf diese Weise konnten 12 Anthranilsäure-Derivate synthetisiert werden (Tab. 5). Vier dieser Tariquidar-Analoga wurden schon früher von der Firma Xenova synthetisiert und dienten, wie bereits erwähnt, als Referenz um die pharmakologischen Daten der Verbindungen mit den Literaturdaten vergleichen zu können. Diese Verbindungen sind mit dem Original-Laborcode der Firma Xenova (XR) [Ryder et al., 1998] versehen. Alle Verbindungen sind mit einem Arbeitskreiscode angegeben.

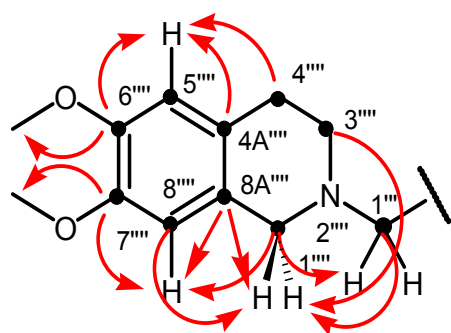
Die pharmakologische Testung zeigte, dass 3-Chinolin- (WK-X-24 und 32), 3,4-Dimethoxyphenyl- (WK-X-34 und 38) und 4-Cyanophenyl- (WK-X-75) substituierte Verbindungen besonders gut P-gp inhibieren (siehe Pharmakologischer Teil, Kapitel 4). Aufgrund des besonders interessanten und viel versprechenden pharmakologischen Profils von WK-X-34 wird die Strukturaufklärung dieser Verbindung im Folgenden näher erläutert. Die Identität von WK-X-34 wurde mittels NMR- und Massen-Spektroskopie gesichert. Neben den eindimensionalen ^1H -NMR, ^{13}C -NMR-Experimenten wurden auch zweidimensionale HSQC-, HMBC- und COSY-



Experimente durchgeführt. In Tabelle 6 und Abbildung 24 sind die gefundenen Verschiebungen und Korrelationen zusammengefasst.

Abb. 24:
Zuordnung der ^1H - (blau) und ^{13}C -NMR-Signale (rot) bei WK-X-34 in ppm (DMSO- d_6).

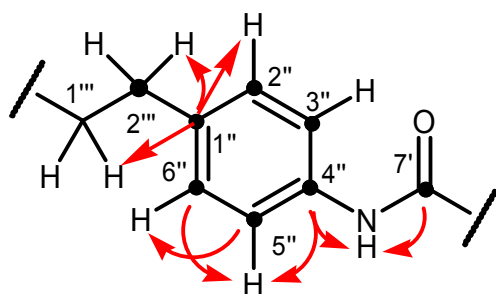
Zur genaueren Strukturaufklärung wurde mit dem im ^1H -NMR-Spektrum charakteristischen Signal bei einer chemischen Verschiebung von 3,53 ppm



begonnen (Abb. 25). Diese zwei Protonen sind in Position 1'''' des Tetrahydroisochinolins lokalisiert. Im HSQC-Spektrum ist deutlich zu erkennen, dass diese Protonen zu dem Kohlenstoff mit einer chemischen Verschiebung von 55,2 ppm gehören. Im HMBC-Spektrum (HMBC-Kopplungen sind mit roten Pfeilen angedeutet) zeigen sich Fernkopplungen dieses Protons mit den Kohlenstoffen bei 50,7 (3''''), 59,6 (1'''),

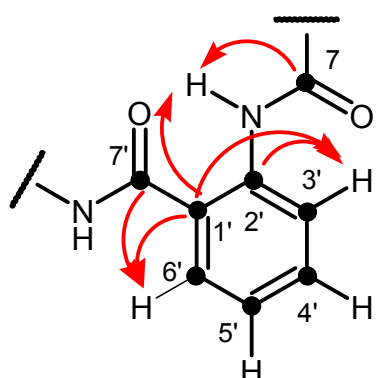
Fernkopplungen dieses Protons mit den Kohlenstoffen bei 50,7 (3''''), 59,6 (1'''),

110.2 (8'''), und 126.1 (8A''') ppm, sowie schwache Kopplung zu 112.0 (5''') und 147.3 (7''') ppm. Verfolgt man die weiteren Kopplungen, erkennt man klar die sonst schwierige Zuordnung der quartären Kohlenstoffatome des Isochinolins (Tab. 6 und Abb. 24). Die HSQC- und HMBC-Spektren lassen auch eine genaue Zuordnung der aromatischen CH-Signale zu. Die CH-Gruppe in Position 5''' liegt bei 6,64 ppm und 112,0 ppm, während die CH-Gruppe in Position 8''' leicht hochfeldverschobene Signale bei 6,62 und 110,2 ppm liefert. Sehr gut ist im ¹H-NMR-Spektrum das Signal der aliphatischen Protonen in Position 2''' der Ethylen-Seitenkette aufgespalten. Das dazugehörige C-Atom bei 32,4 ppm zeigt im HMBC-Spektrum deutliche Kopplungen mit den beiden aromatischen Protonen bei 7,26 ppm des para-substituierten-Aromaten.



Die anderen beiden aromatischen Protonen (7,60 ppm) dieses AA'BB'-Systems zeigen Fernkopplungen zu dem Signal des Amid-Protons, dass als Singulett bei einer chemischen Verschiebung von 10,50 ppm zu finden ist. Das Amid-Proton koppelt weiterhin mit dem Kohlenstoff der benachbarten Carbonyl-Gruppe bei 167,5 ppm.

Interessant sind die Protonen in Position 3' (8,50 ppm) und Position 6' (7,92 ppm) der Anthranilsäure-Partialstruktur aufgrund ihrer Tieffeldverschiebung. Dieser Sachverhalt lässt sich mit der räumlichen Nähe zu den Carbonyl-Funktionen und der damit einhergehenden Lage in deren Abschirmungsbereichen erklären. Die Abschirmung ist bei dem Proton in Position 3' (8,50 ppm) durch die Nähe zum Carbonyl-Sauerstoff und dem elektronenziehende Amid-Substituenten an Position 2' noch verstärkt.

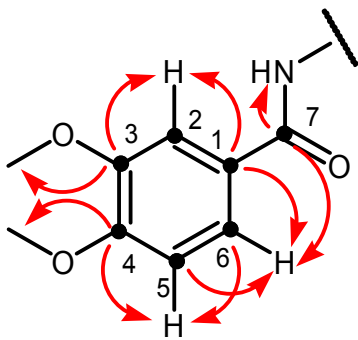


Die Zuordnung dieser Protonen lässt sich weiterhin durch die Fernkopplungen im HMBC-Spektrum beweisen. Die direkte Nähe des Protons in Position 6' (7,92 ppm) zu dem Carbonyl-Kohlenstoff bei 167,5 ppm führt zu einer Fernkopplung. Diese Fernkopplung fehlt dem Proton in Position 3' (8,50 ppm) vermutlich dadurch, dass diese Kopplung durch den Abschirmungskegel der Carbonyl-Gruppe nicht ausgeprägt genug ist. Das Proton des Amid-Substituenten in Position 2' ist bei einer chemischen Verschiebung von 11,45 ppm lokalisiert und besitzt im HMBC Spektrum ein H-C-Fernkopplungen zu

Position 3' (8,50 ppm) vermutlich dadurch, dass diese Kopplung durch den Abschirmungskegel der Carbonyl-Gruppe nicht ausgeprägt genug ist. Das Proton des Amid-Substituenten in Position 2' ist bei einer chemischen Verschiebung von 11,45 ppm lokalisiert und besitzt im HMBC Spektrum ein H-C-Fernkopplungen zu

dem quartären Kohlenstoff in Position 1' (122,4) der Anthranilsäure-Partialstruktur als auch mit Carbonyl-Kohlenstoff (164,3) der 3,4-Dimethoxybenzoesäure-Partialstruktur.

Die 3,4-Dimethoxybenzoesäure-Partialstruktur besitzt drei aromatische Protonen. Besonders charakteristisch im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ist das Dublett des Protons in Position 6 bei einer chemischen Verschiebung von 7,13 ppm und einer



Kopplungskonstante von $^3J = 8,8$ Hertz. Die beiden anderen aromatischen Protonen-Signale fallen bei 7,60 ppm zusammen, wodurch das Singulett des Protons in Position 2 nicht deutlich zu erkennen ist. Die genaue Zuordnung der quartären C-Atome in Position 3 und 4 ist schwierig. Beide Kohlenstoffe zeigen Fernkopplungen zu den Protonen in Position 2 und 5.

Inkrementberechnungen und Vergleiche mit literaturbekannten Verbindungen lassen vermuten, dass das tieffeldverschobene C-Atom bei 152,1 ppm an Position 4 liegt.

Im Massen-Spektrum (FAB) erscheint der Molpeak von WK-X-34 erwartungsgemäß bei m/e 596,2 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 32%).

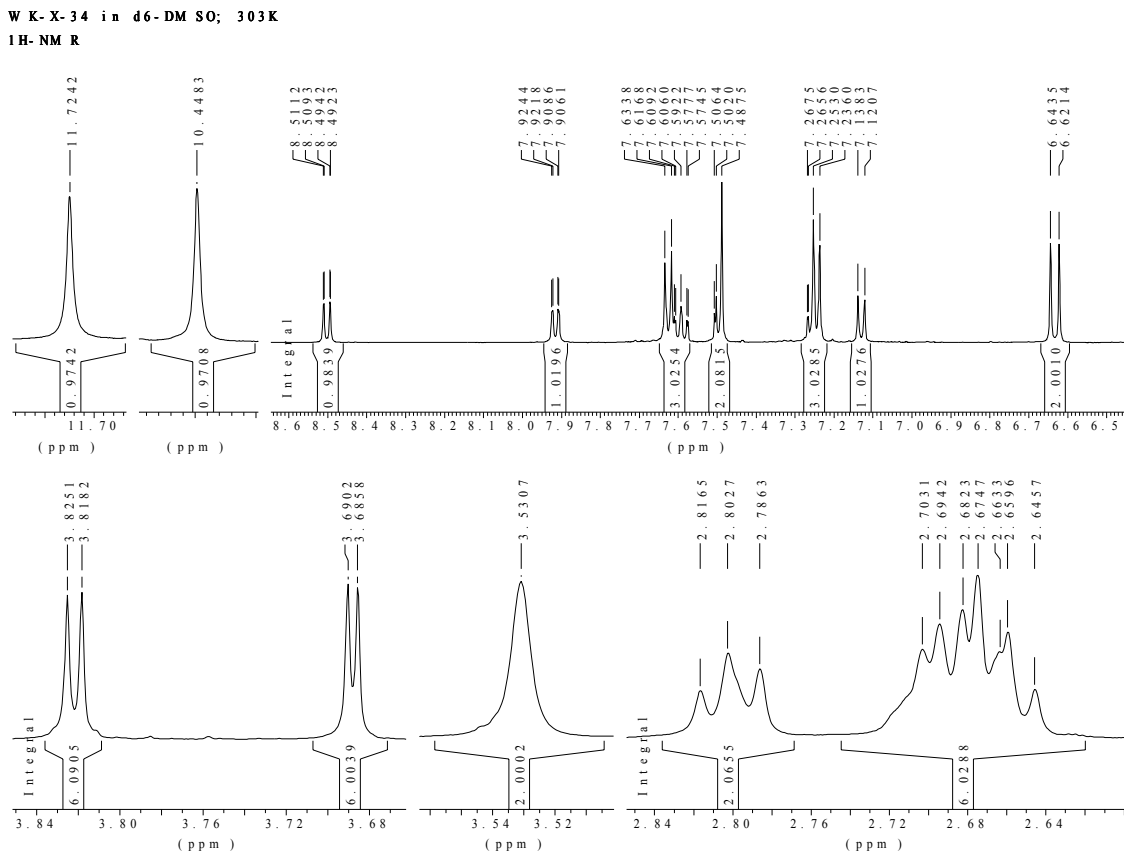


Abb. 25: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von WK-X-34 ($\text{DMSO-}d_6$, 500 MHz).

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

Atom	¹ H-NMR	¹³ C-NMR	HMBC-Korrelation	¹ H- ¹ H-COSY
1	-	126.8		
2	7.50	110.7	126.8; 148.8; 152.1; 164.3	3.83
3	-	148.8		
4	-	152.1		
5	7.13	111.6	120.1; 148.8; 152.1; 164.3	3.82; 7.50
6	7.50	120.1	111.6; 126.8; 164.3	7.13
7	-	164.3		
3-OCH ₃	3.83	55.8	148.8	7.13; 7.50
4-OCH ₃	3.82	55.7	152.1	7.13; 7.50
1'	-	122.4		
2'	-	139.1		
3'	8.50	121.0	122.4; 139.1;	7.26; 7.60
4'	7.60	132.4	121.0; 123.0; 129.0; 139.1	7.26; 7.92; 8.50
5'	7.26	123.0	121.0; 129.0; 132.4; 139.1	7.60; 7.92; 8.50
6'	7.92	129.0	132.4; 139.1; 167.5	7.26; 7.60
7'	-	167.5		
6'-NH	11.45	-	121.0; 122.4; 164.3	
1''	-	136.7		
2''+6''	7.26	128.9	32.4; 121.3; 136.7	2.80; 7.60
3''+5''	7.60	121.3	128.9; 136.4	7.26
4''	-	136.4		
4''-NH	10.50	-	121.3; 136.4; 167.5	
1'''	2.65	59.6	32.4; 50.7; 55.2	2.80; 3.53
2'''	2.80	32.4	59.6; 128.9; 136.7	2.69; 7.26
1''''	3.53	55.2	50.7; 59.6; 110.2; (112.0); 126.1; (147.3)	2.69; 6.62
2''''	-	-		
3''''	2.69	50.7	28.4; 32.4; 55.2; 59.6	3.53
4''''	2.69	28.4	50.7; 112.0; 126.9	6.64
4A''''	-	126.9		
5''''	6.64	112.0	28.4; 126.9; 147.1	3.69
6''''	-	147.1		
7''''	-	147.3		
8''''	6.62	110.2	55.2; 126.1; 147.3	3.69; 3.53
8A''''	-	126.1		
6''''-OCH ₃	3.69	55.6	147.1	6.64
7''''-OCH ₃	3.69	55.6	147.3	6.62

Tab. 6: 1D- und 2D-NMR-Daten von WK-X-34.

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

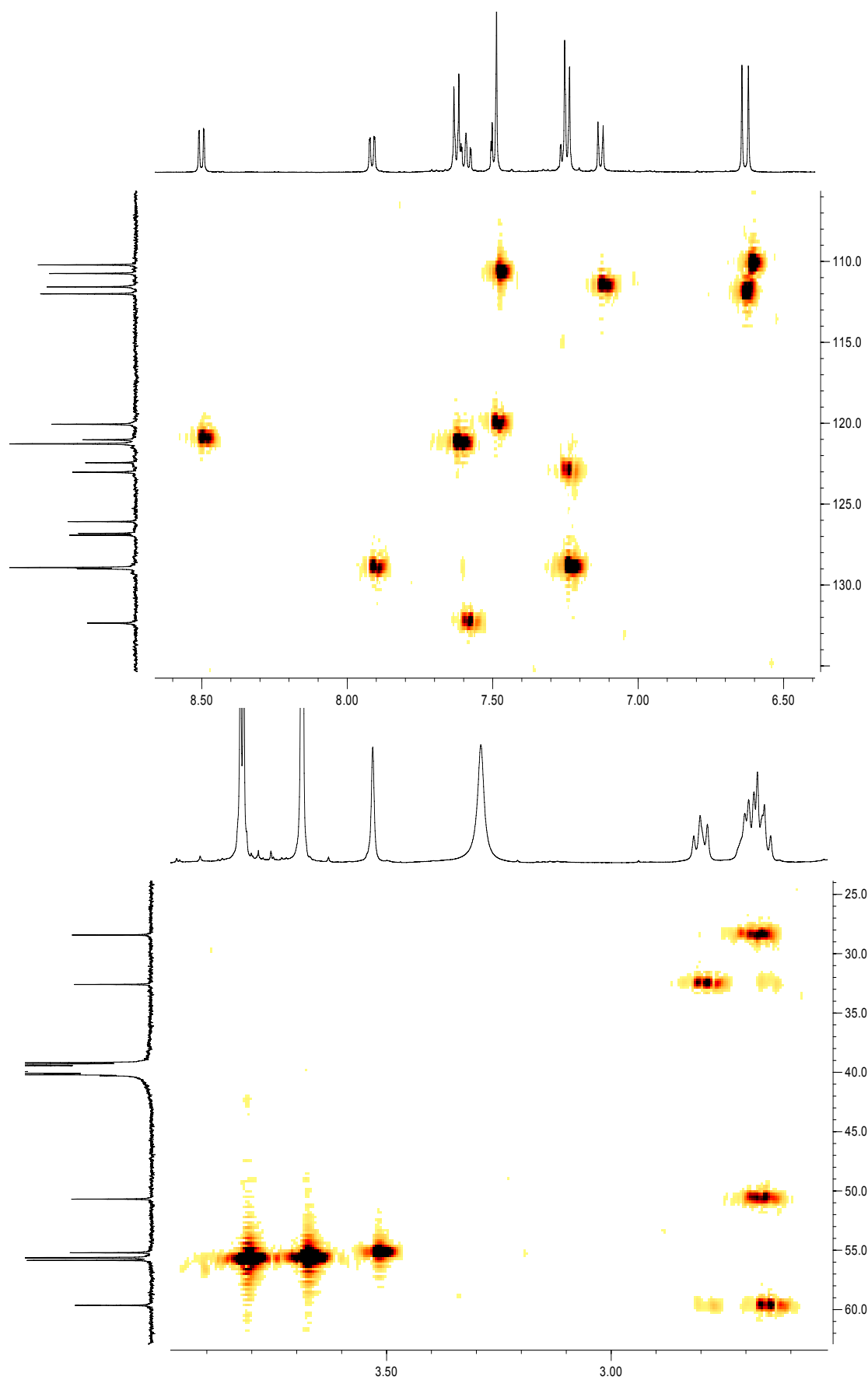


Abb. 26: HSQC-Spektren des aromatischen- (oben) und aliphatischen-Bereichs (unten) von WK-X-34.

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

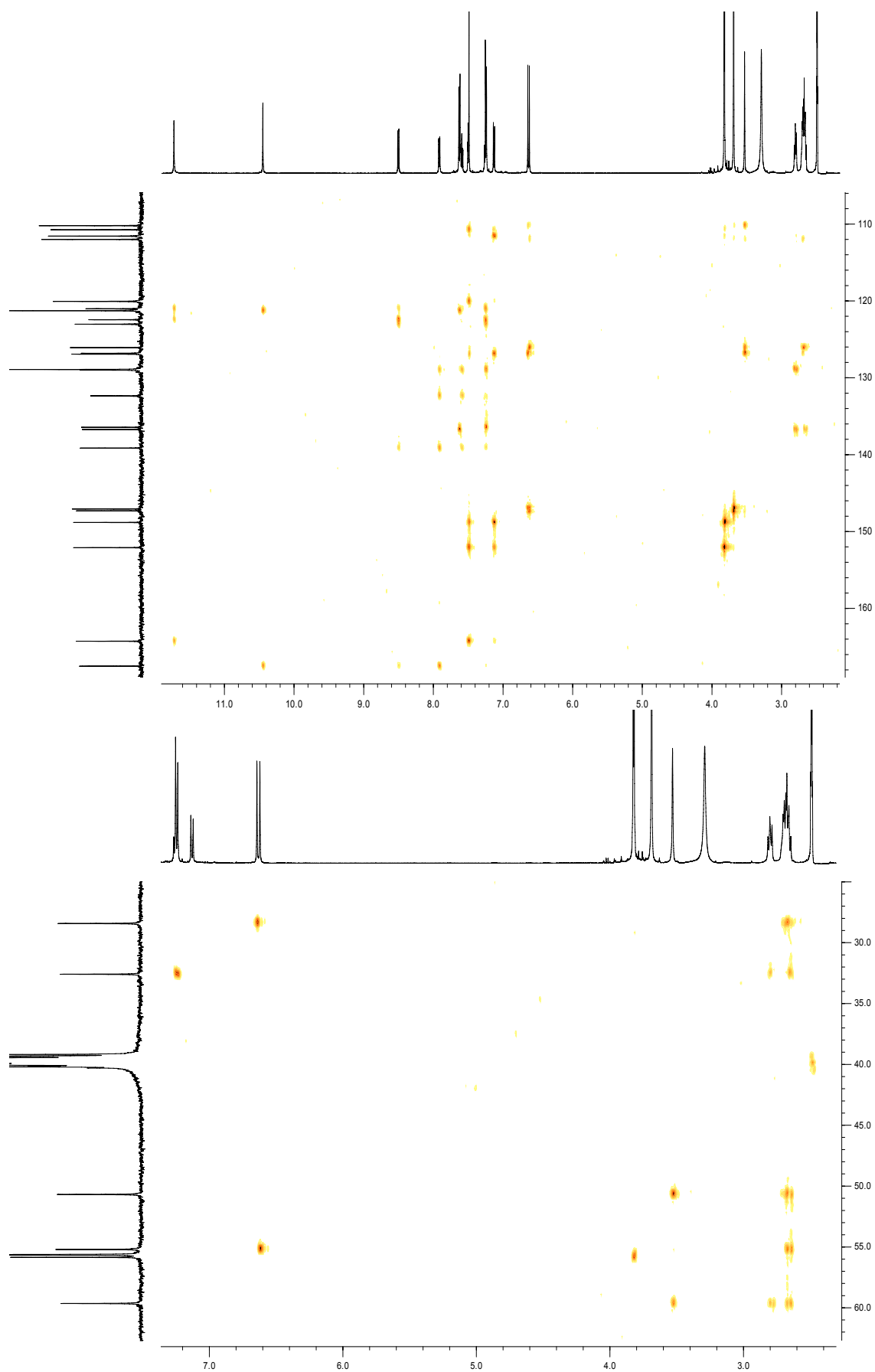


Abb. 27: HMBC-Spektrum von WK-X-34.

3.2.3 Variation des Substitutionsmusters an der Aminobenzoessäure-Partialstruktur

Bislang wurde in der Literatur noch nicht die Frage erörtert, welchen Einfluss das Substitutionsmuster an der zentralen Aminobenzoessäure-Partialstruktur auf die Aktivität der Tariquidar-Analoga ausübt [Ryder et al., 1998; Roe et al., 1999]. Daher wurde WK-X-24 strukturell gezielt modifiziert und ein meta- (WK-X-49) und para- (WK-X-44) substituiertes Aminobenzoessäure-Derivat hergestellt (Tab. 6).

Die Synthese gelang analog zu der Herstellung der Anthranilsäure-Derivate (siehe Kap. 3.2.2), jedoch wurde im ersten Reaktionsschritt 3-Nitrobenzoylchlorid (**8**) bei der Synthese von WK-X-49, bzw. 4-Nitrobenzoylchlorid (**9**) für die Herstellung von WK-X-44 verwendet (Abb. 28). Die Reduktion der 3-Nitro- bzw. 4-Nitrobenzamide erfolgte wiederum mittels katalytischer Hydrierung. Anschließend setzte man die 3-Amino- und 4-Amino-benzamide mit 3-Chinolincarbonsäurechlorid zu den korrespondierenden Amiden um.

Pharmakologische Untersuchungen der P-gp inhibierenden Wirkung der Verbindungen zeigten, dass die para-substituierten Derivate eine höhere Affinität als die meta-substituierten Verbindungen aufwiesen (siehe Pharmakologischer Teil 4). Daher wurden analog, ausgehend von 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (**4**), zwei weitere para-verknüpfte Verbindungen mit der pharmakologisch günstigeren Dimethoxy-tetrahydroisochinolin-Partialstruktur hergestellt (WK-X-35 und WK-X-42).

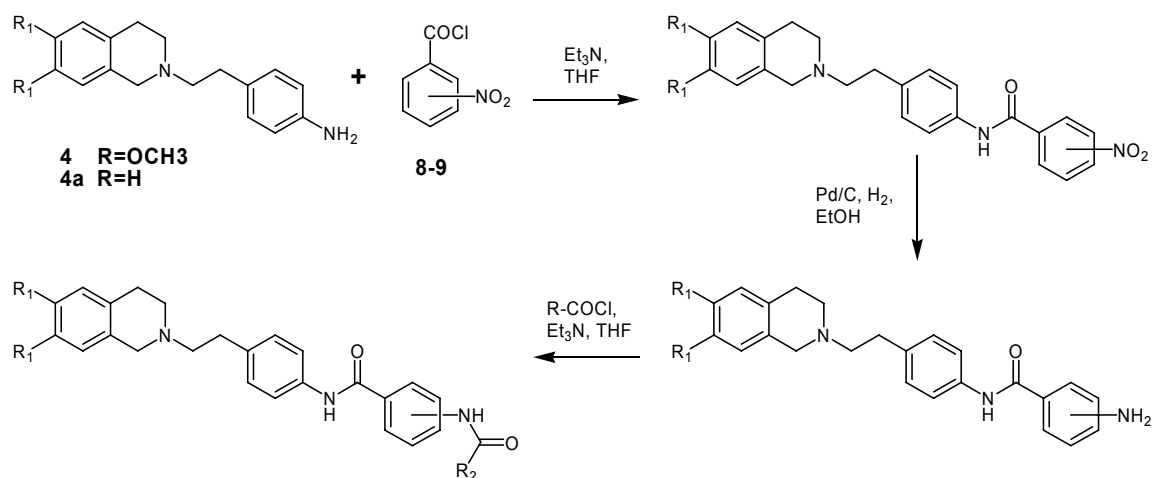
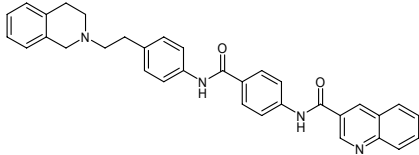
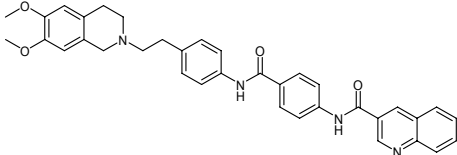
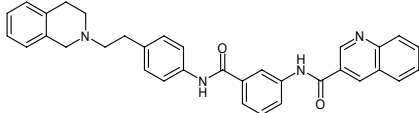
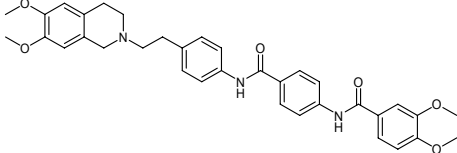


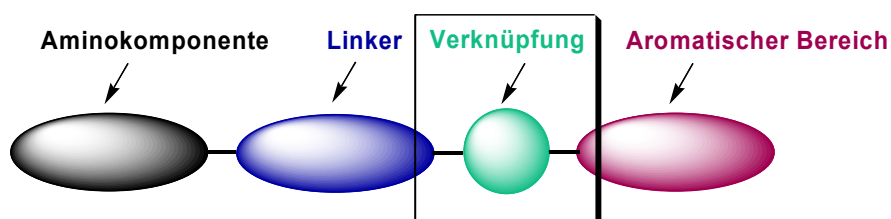
Abb. 28: Synthese und Umsetzung unterschiedlich substituierter Aminobenzoessäure-Derivate.

Struktur	Name	Struktur	Name
	WK-X-44		WK-X-35
	WK-X-49		WK-X-42

Tab. 7: Strukturvariation der zentralen Aminobenzoesäure-Partialstruktur.

3.3 Variation der Verknüpfung der 4-Aminophenyl-ethylamine mit den N-Phenylamiden

Eine sehr interessante Fragestellung in Bezug auf Struktur-Wirkungs-Beziehungen der synthetisierten Verbindungen ergab sich daraus, dass in der Literatur die 4-Aminophenylethylamine bisher nur über eine Amidbindung oder einem Tetrazolring mit der hydrophoben aromatischen Partialstruktur verknüpft wurden.



Daher sollten auch in diesem Bereich Variationen eingeführt werden. Drei Modifikationen wurden ausgewählt um diese Fragestellung näher zu untersuchen.

3.3.1 Synthese von Harnstoff-Analoga

Eine Möglichkeit der Variation der Verknüpfung von 4-Aminophenylethylaminen mit der hydrophoben aromatischen Partialstruktur bestand darin, die Amidbindung durch eine Harnstoff-Struktur zu ersetzen. Die Synthese von Harnstoffen ist der Literatur sehr weit verbreitet. In Anlehnung an eine Herstellungsverfahren aus dem Houben-Weyl [Finkelstein et al., 1983] wurden die 4-Aminophenylethylamine (**4/4a**) mit Nitro-substituierten Phenylisocyanaten (**10-12**) zu den entsprechenden Harnstoffen umgesetzt (Abb. 29). Aufgrund der sehr guten Erfahrungen mit THF bei der Amidsynthese (siehe 3.2.2) wurde der in der Literatur verwendete Ethylalkohol durch THF ersetzt. Ein wesentlicher Grund für die Verwendung von THF als Lösungsmittel stellten die sehr guten Ausbeuten von 71-93% bei der Isolierung der Nitrophenylharnstoffe dar. Ein weiterer Vorteil bestand auch in der Vermeidung der

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

als Nebenreaktion ablaufenden Umsetzung der Isocyanate mit dem Ethylalkohol zu Urethanen.

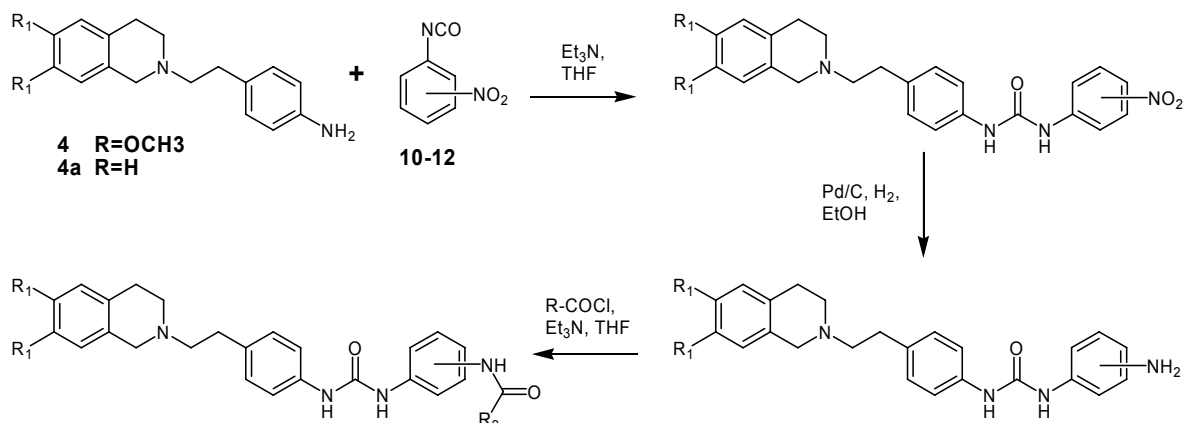


Abb. 29: Synthese und Umsetzung der Nitrophenylharnstoffe.

Die Synthese der Harnstoffverbindungen verlief zumeist problemlos. Die 4-Amino-phenylethylamine wurden dabei in THF gelöst, im äquimolaren Verhältnis mit dem entsprechenden Nitrophenylisocyanat versetzt und nach Zugabe von katalytischen Mengen Triethylamin 6 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Nach Beendigung der Reaktion wurde der Rückstand in Wasser aufgenommen und mit Ethylacetat extrahiert. Nach dem Trocknen der organischen Phase engte man das Lösungsmittel ein und setzte n-Hexan hinzu. In der Kälte kristallisierten die Nitrophenylharnstoffe aus. Die Reinigung erfolgte mittels Umkristallisation aus Ethanol/n-Hexan. Die weitere Umsetzung zu den korrespondierenden Aminophenylharnstoffen gelang mittel katalytischer Hydrierung nach der in Kapitel 3.2.1 beschriebenen Reaktionsvorschrift.

Struktur	Name	Struktur	Name
	WK-X-50		WK-X-91
	WK-X-78		WK-X-94

Tab. 8: Dargestellte Amidophenylharnstoffe.

Auch die folgende Amidierung verlief problemlos und analog zu der Synthese der Anthranilsäure-Derivate (Kap. 3.2.2). Als Reaktionspartner kamen besonders 3-Chinolincarbonsäurechlorid und 3,4-Dimethoxybenzoylchlorid zur Anwendung.

3.3.2 Synthese von Aminophenylessigsäure und Aminophenoxyessigsäure-Derivaten

Die Verknüpfung der 4-Aminophenylethylamine mit der hydrophoben aromatischen Partialstruktur wurde weiterhin variiert, in dem die Länge der Verknüpfung verändert wurde. Hintergrund der Synthese dieser neuartigen Verbindungen war es, den Einfluss der Kettenlänge der Verknüpfung auf die inhibitorische Wirkung gegenüber P-gp aufzuklären. Eine Option bestand in der Verlängerung der Amid-Funktion der Tariquidar-Analoga um eine Methylen-Gruppe.

Der erste Schritt bei der Synthese dieser Tariquidar-Derivate mit Aminophenylessigsäure-Partialstruktur bestand in der Reaktion von 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (**4**) mit 2-Nitrophenylessigsäurechlorid (**13**). Die Darstellung und weitere Umsetzung des so hergestellten Nitrophenylessigsäure-Derivates wurde unter den in Kapitel 3.2.2 beschriebenen Reaktionsbedingungen realisiert (Abb. 30).

Das 2-Nitrophenylessigsäureamid konnte mit einer Ausbeute von 76% hergestellt werden. Die Reduktion zum 2-Aminophenylessigsäureamid gelang problemlos mittels katalytischer Hydrierung mit einer Ausbeute von 90%. Bei der anschließenden Umsetzung des 2-Aminophenylessigsäureamids mit 3-Chinolincarbon säurechlorid wurde eine Ausbeute von 74% erzielt.

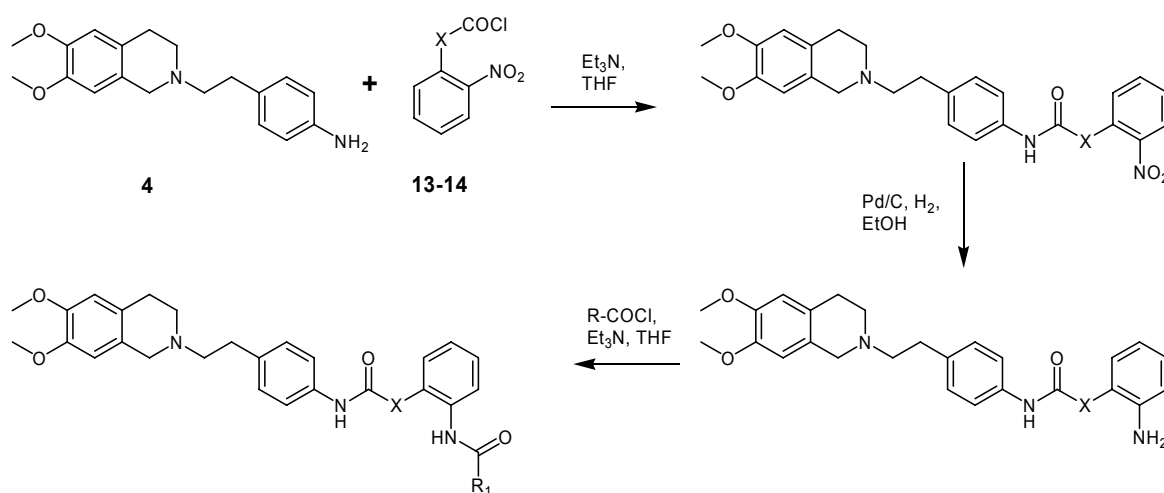


Abb. 30: Synthese der 2-Aminophenylessigsäure- (X = -CH₂-) und 2-Aminophenoxyessigsäure- (X = -CH₂-O-) Derivate.

Eine weitere Verlängerung der Amidbindung konnte durch Einführung einer Methylether-Funktion (-CH₂-O-) realisiert werden. Dies wurde durch die Umsetzung von 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (**4**) mit 2-

Nitrophenoxyessigsäurechlorid (**14**) erreicht. Die Synthese und weitere Umsetzung des so hergestellten Nitrophenoxyessigsäureamid (Abb. 30) erfolgte unter den in Kapitel 3.2.2 beschriebenen Reaktionsbedingungen.

Die Ausbeute bei der Darstellung des 2-Nitrophenoxyessigsäureamids betrug 81%. Diese Verbindung erzielte in der biologischen Testung sehr viel versprechende Ergebnisse und fand Eingang in die Substanzbibliothek der niedermolekularen P-gp-Modulatoren (siehe Kap. 3.7). Die Strukturaufklärung dieser Verbindung wird im Folgenden näher diskutiert.

Die Identität dieser Verbindung (WK-X-81) wurde mittels $^1\text{H-NMR}$ -, $^{13}\text{C-NMR}$ - und MS-Untersuchungen gesichert.

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (Abb. 32) beweist das Amid-Proton bei 9,95 ppm die erfolgreiche Amidierung. Gut zu erkennen ist das AA'BB'-System des para-substituierten Aromaten mit zwei Dublett-Signalen bei 7,20 und 7,48 ppm. Die Protonen des BB'-Systems sind wegen des -I-Effekts der benachbarten Carbonsäureamid-Gruppe deutlich stärker zum tiefen Feld verschoben. Die Protonen der ortho-Nitrophenol-Partialstruktur sind als zwei Dubletts sowie zwei „Pseudo“-Tripletts zu erkennen, wobei die tieffeldverschobenen Protonen noch eine weitere Aufspaltung erfahren. Dabei erfährt das Protonen in Position 3 eine besonders starke Entschirmung aufgrund des -I/-M-Effekts der benachbarten Nitro-Gruppe und erscheint bei 7,92 ppm. Dieses Signal koppelt mit dem „Pseudo“-Triplettsignal bei 7,15 ppm. Ein Dacheffekt zeigt sich bei den Protonen in Position 5 (7,65 ppm) und 6 (7,28 ppm). Das Singulett-Signal der Protonen der Methylene-Gruppe an der Essigsäureether-Partialstruktur ist mit 4,90 ppm gegenüber den anderen Aliphaten-Signalen sehr stark entschirmt und zum tiefen Feld verschoben.

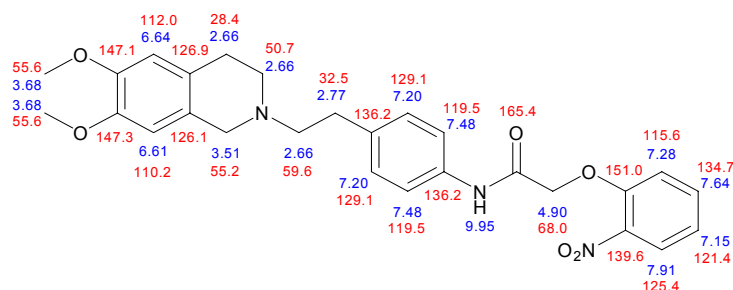


Abb. 31:
Zuordnung der ^1H - (blau) und ^{13}C -
NMR-Signale (rot) bei WK-X-81 in
ppm (DMSO- d_6).

Das Signal des Carbonyl-Kohlenstoffs zeigt sich im $^{13}\text{C-NMR}$ (Abb. 33) bei 165,49 ppm. Im Bereich von 151,0 ppm erkennt man das stark zum tiefen Feld verschobene Signal des quartären Kohlenstoffatoms in Position 1 der *ortho*-Nitrophenol-Partialstruktur. Dieser Kohlenstoff erfährt durch den -I-Effekt der Ether- und Nitro-

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

Substituenten eine starke Entschirmung. Diese Entschirmung ist deutlich stärker als die des quartären Kohlenstoffatoms in Position 2.

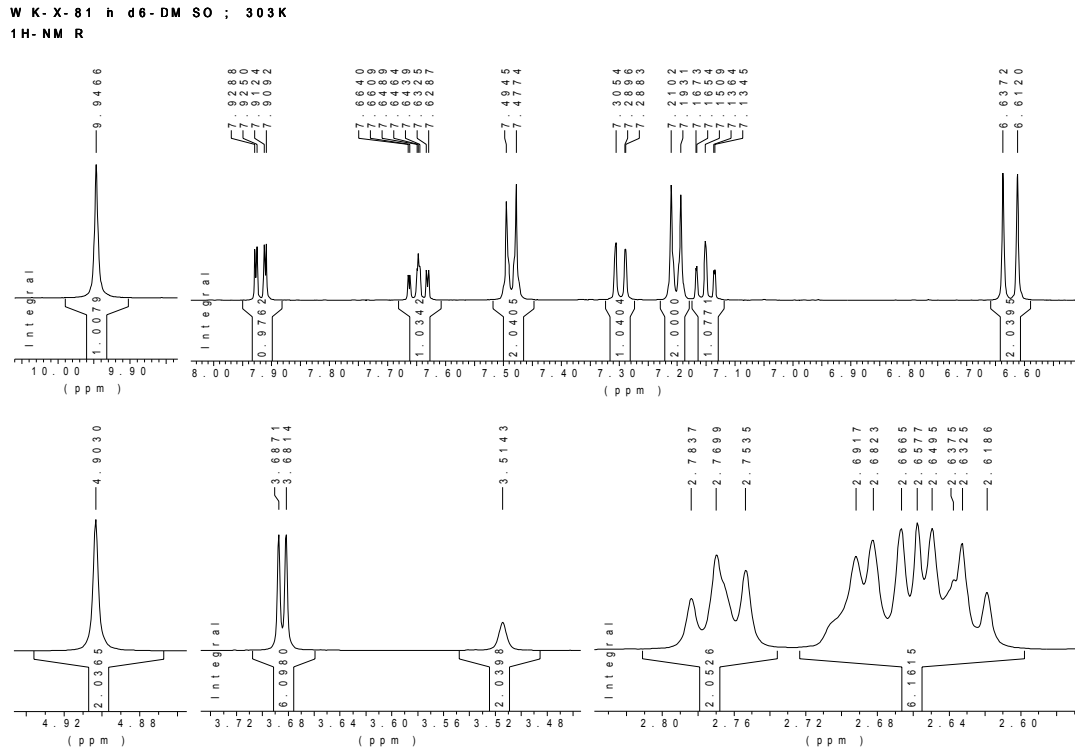


Abb. 32: ¹H-NMR-Spektrum von WK-X-81 (DMSO-d₆, 500 MHz).

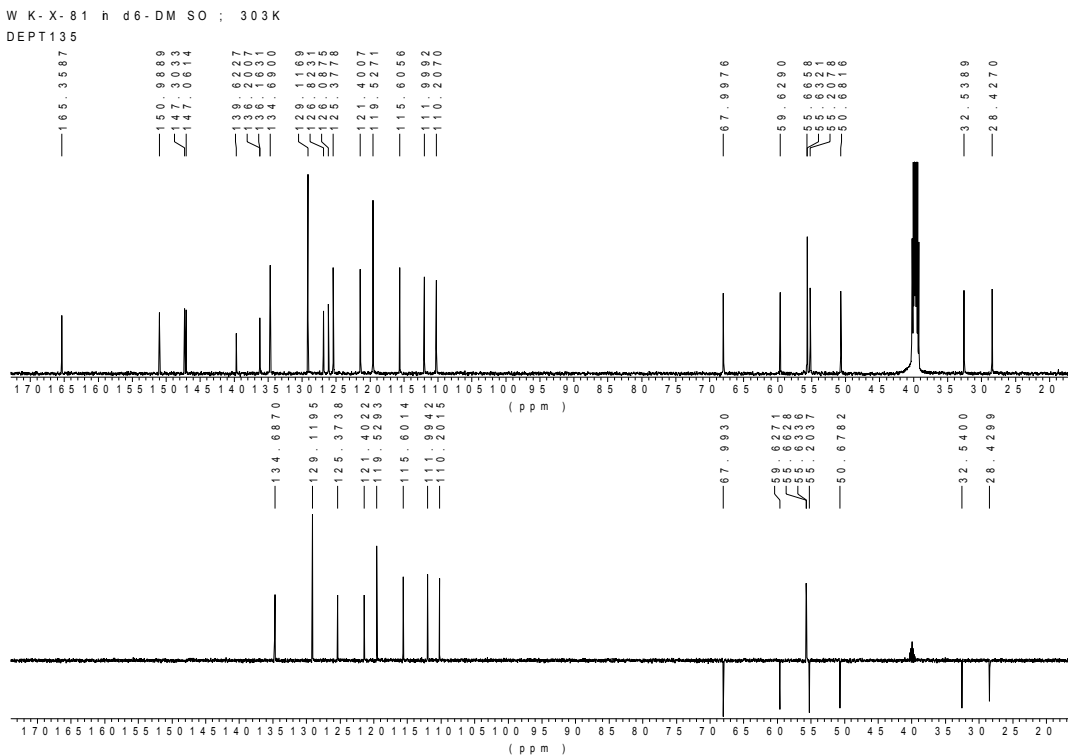
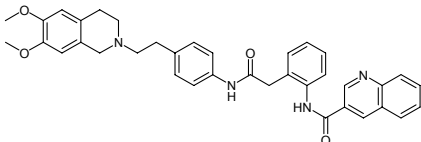
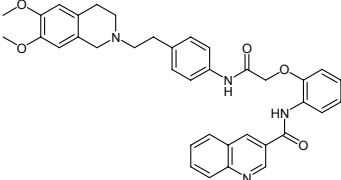
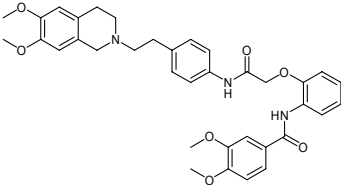


Abb. 33: ¹³C-NMR- und DEPT- Spektrum von WK-X-81 (DMSO-d₆, 125 MHz).

Die weitere Umsetzung des 2-Nitrophenoxyessigsäureamids gestaltete sich problemlos. Das primäre Amin wurde wie schon beschrieben durch katalytische Hydrierung erhalten. Dabei konnte eine Ausbeute von 89% des 2-Aminophenoxyessigsäureamids erzielt werden. Die Amidierungen des 2-Aminophenoxyessigsäureamids erfolgten jeweils durch Umsetzung mit 3-Chinolincarbonsäurechlorid zu WK-X-83 (Ausbeute 40%) bzw. mit 3,4-Dimethoxybenzoylchlorid zu WK-X-84 (Ausbeute 81%).

Von den Verbindungen mit veränderter Verknüpfungslänge wurden von dem 2-Aminophenylessigsäure-Derivat das 3-Chinolinamid und von dem 2-Aminophenoxyessigsäure-Derivat neben dem 3-Chinolinamid auch das 3,4-Dimethoxybenzamid synthetisiert (Tab. 9).

Struktur	Name	Struktur	Name
	WK-X-72		WK-X-83
			WK-X-84

Tab. 9: 2-Aminophenylessigsäure- und 2-Aminophenoxyessigsäure-Derivate.

3.4. Synthese von Anthranilamiden mit Harnstoff-Teilstruktur

In Kapitel 3.3.1 wurde die Carbonsäureamid Struktur zwischen den 4-Aminophenylethylaminen durch eine Harnstoff-Verknüpfung ersetzt. Eine weitere Möglichkeit zur Modifizierung der Derivate stellt der Austausch der zweiten geknüpften Amidbindung durch eine Harnstoff-Partialstruktur dar. Um dieses Ziel zu erreichen, wurde das in Kapitel 3.2.2 synthetisierte Anthranilamid (WK-X-16) mit 4-Nitrophenylisocyanat unter den in Kapitel 3.3 beschriebenen Reaktionsbedingungen zur Synthese von Harnstoffen umgesetzt und aufgearbeitet. In der Kälte kristallisierte der 4-Nitrophenylharnstoff als gelblicher Feststoff aus. Die Reinigung erfolgte mittels Umkristallisation aus Ethanol/n-Hexan.

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

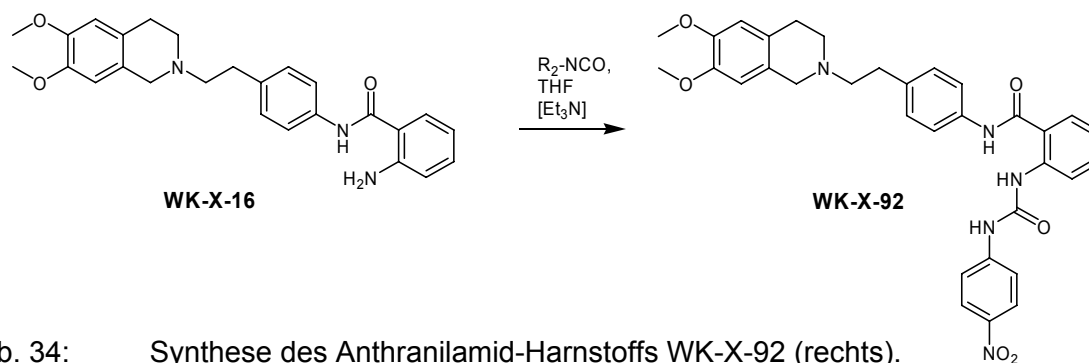


Abb. 34: Synthese des Anthranilamid-Harnstoffs WK-X-92 (rechts).

3.5 Darstellung eines Dibenzoesäureamids

Zur weiteren Diversifizierung der Grundstruktur wurde in einem weiteren Versuch 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (**4**) mit 1,4-Dibenzoylchlorid umgesetzt, um „dimere“ Verbindungen zu erhalten (Abb. 35).

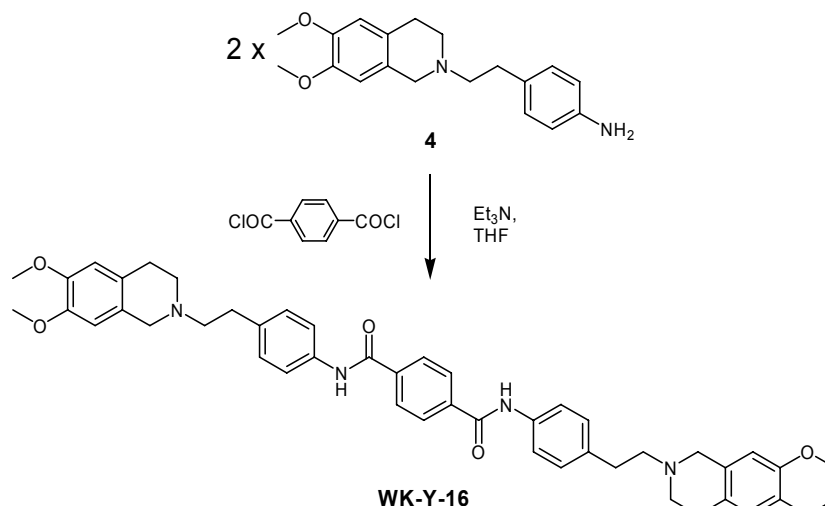
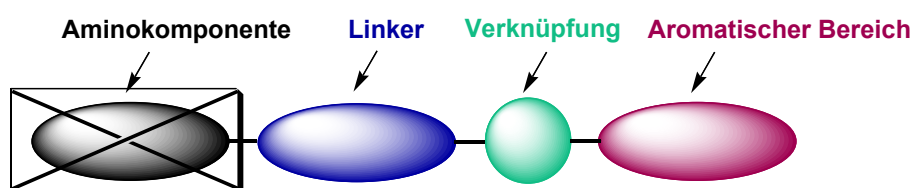


Abb. 35: Synthese eines dimeren 4-Aminophenylethylamins am Beispiel von WK-Y-16.

Die Reaktion gelang unter sehr schonenden Bedingungen. Das Amin wurde in trockenem THF mit Triethylamin als Base vorgelegt, die Lösung tropfenweise mit in THF gelöstem 1,4-Dibenzoylchlorid versetzt und der Reaktionsansatz über 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Aufarbeitung des Reaktionsansatzes kristallisierte in der Kälte ein weißer Feststoff aus. Die Ausbeute war mit ca. 13% verhältnismäßig bescheiden. Ein weiteres Problem stellte die äußerst schlechte Löslichkeit dieser Verbindung (Molekulargewicht >750 g/mol) bei der Durchführung der Analytik mittels ^1H - und ^{13}C -NMR dar. Die Löslichkeit in allen getesteten Lösungsmitteln (DCM, MeOH, DMSO, Aceton) war schlecht und NMR-Spektren konnten nur in $\text{DMSO-}d_6$ in einigermaßen akzeptabler Qualität erhalten werden.

3.6 Darstellung von Tariquidar-Analoga ohne basische Amino-Partialstruktur

Die Bedeutung der basischen Amino-Partialstruktur für die Aktivität von P-gp-Modulatoren ist für Tariquidar-analoga Verbindungen von großem Interesse. Daher wurden gezielt Tariquidar-Derivate synthetisiert, bei denen die basische Dimethoxy-tetrahydroisochinolin-Teilstruktur vollständig fehlt. Sollten diese neuen Derivate keine vergleichbare Inhibition von P-gp zeigen, wäre dies ein Indiz dafür, dass basische Eigenschaften für P-gp-Modulatoren von großer Bedeutung sind.



Für die Darstellung der neuen Derivate musste eine andere Synthese-Strategie erarbeitet werden, da bei den anderen Tariquidar-Analoga das Molekül beginnend von der Aminokomponente aufgebaut wurde. Die Synthese dieser neuen Substanzklasse begann bei der Linker-Partialstruktur. Dafür wurde 4-Aminophenylethylalkohol ausgewählt. 4-Aminophenyl-ethylalkohol besaß im Gegensatz zu 4-Ethyl-anilin den Vorteil, dass die Verbindungen nach der geplanten Synthese, an der Hydroxy-Gruppe noch variabel substituiert werden konnten, während weitere Substitutionen bei der Verwendung von 4-Ethyl-anilin nach dem letzten Syntheseschritt nur äußerst schwierig zu erreichen gewesen wären.

Die Synthese startete mit der Umsetzung von 4-Aminophenylethylalkohol (**15**) mit 2-Nitrobenzoylchlorid (**7**) (Abb. 36) zum korrespondierenden Amid (**16**). Die Reaktion gelang unter sehr schonenden Bedingungen unter den in Kapitel 3.2.2 vorgestellten Reaktionsbedingungen. Die Aufarbeitung gestaltete sich jedoch etwas anders. Nach Beendigung der Reaktionszeit von 12 Stunden entfernte man das Lösungsmittel, nahm den Rückstand in Wasser auf und extrahierte dreimal mit DCM. Die organische Phase wurde der Reihe nach mit 1 molarer Salzsäure, 1 molarer Natronlauge sowie Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel eingengt. Das Produkt kristallisierte in der Kälte aus. Die Aufreinigung erfolgte durch Umkristallisieren des Rohprodukts in Ethanol/n-Hexan.

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

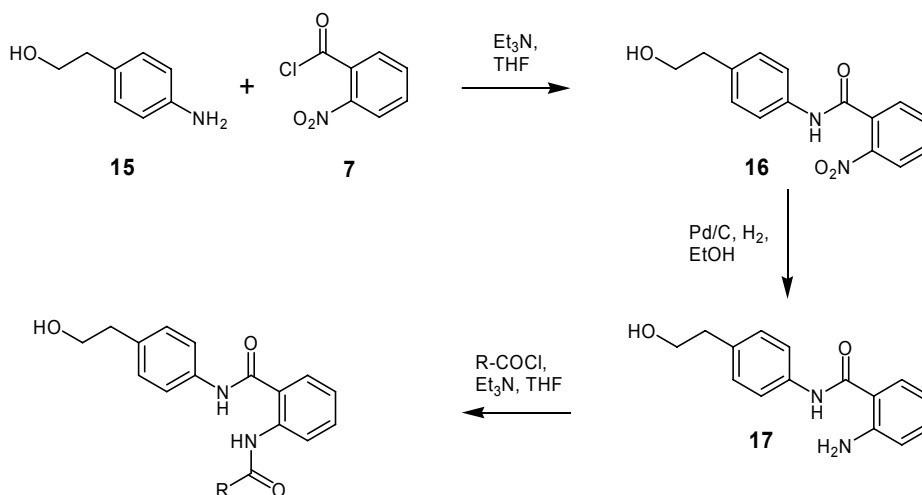


Abb. 36: Darstellung von Tariquidar-Analoga ohne Amino-Partialstruktur

Die Reduktion der Nitro-Gruppe des 2-Nitrobenzamids zum 2-Aminobenzamid (**17**) erfolgte mittels katalytischer Hydrierung unter den in Abschnitt 3.2.1. beschriebenen Bedingungen. Im letzten Syntheseschritt wurde das 2-Aminobenzamid mit unterschiedlichen Carbonsäurechloriden unter den oben beschriebenen Bedingungen umgesetzt und aufgearbeitet. Da sich diese Derivate (Tab. 10) bei der biologischen Testung (siehe Pharmakologischer Teil 4) als inaktiv herausstellten, wurde dieser Ansatz nicht weiter fortgeführt.

Struktur	Name	Struktur	Name	Struktur	Name
	WK-X-7		WK-X-8		WK-X-9
	WK-X-20		WK-X-27		WK-X-28

Tab. 10: Anthranilamide ohne Amino-Partialstruktur

Eine weitere Derivatisierung der nicht basischen Anthranilamide an der Hydroxy-Gruppe wurde nicht in Angriff genommen. Die Umsetzung dieser Derivate mit Carbonsäuren zu den korrespondierenden Estern warf das Problem auf, das bei der Testung mit dem Calcein-Assay (siehe Pharmakologischer Teil 4) diese Ester durch Esterasen gespalten worden wären. Auch die Umsetzung mit Isocyanaten zu den korrespondierenden Urethanen erschien nur bei der Verwendung von Isocyanaten mit basischer Teilstruktur sinnvoll. Dieser Ansatz wurde jedoch nicht weiterverfolgt.

3.7 Synthese niedermolekularer P-gp-Modulatoren

Nahezu alle in der Literatur beschriebenen P-gp-Modulatoren mit einer akzeptablen pharmakologischen Aktivität im hohen nanomolaren Bereich, insbesondere die Modulatoren der 3. Generation, besitzen eine gemeinsame Eigenschaft: alle Substanzen sind sehr groß und zeichnen sich durch relativ hohe molare Massen, meist größer als 600, aus.

Eine sehr interessante Fragestellung in Bezug auf Struktur-Wirkungs-Beziehungen war, welchen Einfluss die „Größe“ der P-gp-Modulatoren auf die Affinität zum P-Glykoprotein hat. Um diese Fragestellung gezielt untersuchen zu können, wurden speziell Verbindungen mit einem Molekulargewicht möglichst kleiner als 500 g/mol synthetisiert.

Diese Überlegung ergab sich aus *Lipinskis* „Rule of Five“. Durch die Betrachtung der Eigenschaften von etwa 2250 Wirkstoffen aus dem Derwent World Drug Index (WDI) gelang es *Lipinski* [Lipinski et al., 2001] bestimmte Eigenschaften, die auf 90% der untersuchten Wirkstoffe zutrafen, in seiner „Rule of Five“ zusammenzufassen:

- Die Anzahl der Wasserstoffbrücken-Donatoren ist kleiner als 5.
- Die Anzahl der Wasserstoffbrücken-Akzeptoren ist kleiner als 10.
- Das Molekulargewicht ist kleiner als 500 g/mol.
- Der cLogP-Wert ist kleiner als 5.

Die Regel erhielten ihren Namen aufgrund der Tatsache, dass jede Zahl, die in ihnen vorkommt, ein Vielfaches von fünf ist. Lipinski ging davon aus, dass die Erfolgswahrscheinlichkeit für einen Wirkstoffkandidaten relativ gering ist, sobald mehr als eine Regel verletzt wird, weil Absorption und Permeabilität dann zu gering wären.

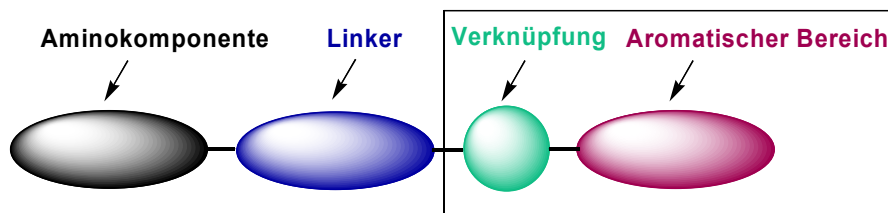
3.7.1 Niedermolekulare Modulatoren mit Tetrahydroisochinolinethylphenylamin-Partialstruktur

Bei dieser Verbindungsklasse wurde zuerst versucht den lipophilen aromatischen Bereich des Moleküls systematisch zu variieren. Im zweiten Schritt wurde sowohl die Verknüpfung, als auch der aromatische Bereich strukturell gezielt verändert.

Als Template für die Synthese kamen die in Kapitel 3.2.1 hergestellten 4-Aminophenylethylamine zum Einsatz. Aufgrund der höheren pharmakologischen

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

Aktivität der Derivate mit zwei Methoxy-Funktionen am Tetrahydroisochinolin-Ring wurde diese Partialstruktur bevorzugt verwendet.



Die Synthese dieser Verbindungen gelang durch Umsetzung der 4-Aminophenylethylamine (**4/4a**) mit verschiedensten Säurechloriden. Waren die Säurechloride nicht kommerziell erhältlich, wurden sie aus den korrespondierenden Carbonsäuren mittels Thionylchlorid mit dem in Kapitel 3.2.2 beschriebenen Verfahren synthetisiert (Abb. 37).

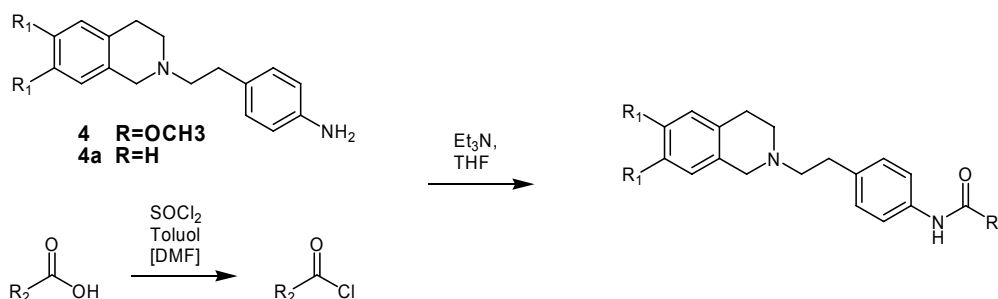


Abb. 37: Synthese der niedermolekularen P-gp-Modulatoren.

Auf diese Weise entstand eine Substanzbibliothek von 46 Verbindungen (Tab. 11). Eingang in diese Substanzbibliothek fanden auch die Nitro- und Amino-Derivate, die als Vorstufen in Kapitel 3.2 und 3.3 synthetisiert wurden.

Von besonderem Interesse bei diesen Derivaten war neben der in Kapitel 3.3.2 vorgestellten Verbindung WK-X-81, die Substanz WK-X-51. Diese Verbindung entstand durch Umsetzung von 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin mit 3-Chinolincarbonsäurechlorid. Das Interessante an dieser Substanz war neben der ausgeprägten pharmakologischen Aktivität (siehe Pharmakologischer Teil, Kapitel 4) die Tatsache, dass sie eine große Ähnlichkeit zu Tariquidar besitzt. Der Unterschied zu Tariquidar besteht lediglich im Fehlen der Anthranilsäure-Partialstruktur bei WK-X-51.

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

Tabelle 11: Niedermolekulare P-gp-Modulatoren mit Tetrahydroisochinolin-ethylphenyl-amin-Partialstruktur.

Struktur	Name	Struktur	Name
	WK-X-14		WK-X-15
	WK-X-16		WK-X-17
	WK-X-30		WK-X-31
	WK-X-33		WK-X-37
	WK-X-45		WK-X-46
	WK-X-47		WK-X-48
	WK-X-51		WK-X-52
	WK-X-56		WK-X-57
	WK-X-58		WK-X-59
	WK-X-64		WK-X-65
	WK-X-66		WK-X-69
	WK-X-74		WK-X-76
	WK-X-79		WK-X-81

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

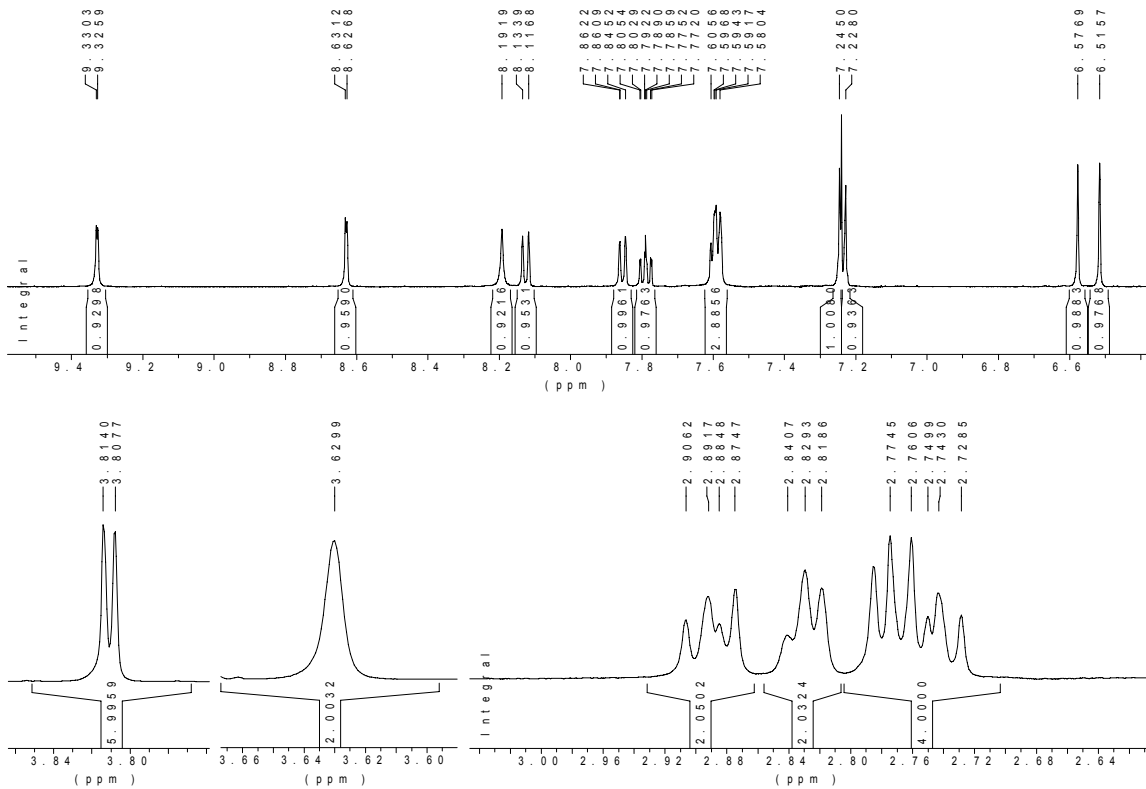
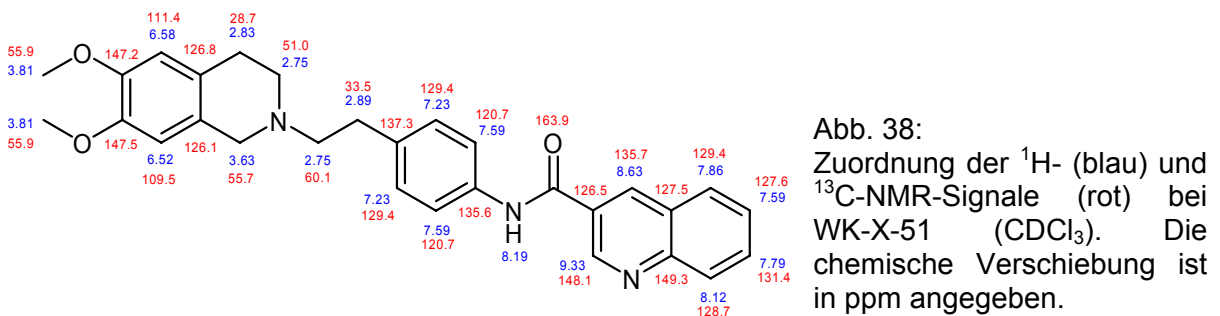
Struktur	Name	Struktur	Name
	WK-X-82		WK-X-85
	WK-X-86		WK-X-88
	WK-X-89		WK-X-96
	WK-X-97		WK-Y-1
	WK-Y-2		WK-Y-3
	WK-Y-14		WK-Y-15
	WK-Y-22		WK-Y-25
	WK-Y-26		WK-Y-27
	WK-Y-28		WK-Y-29
	WK-Y-30		WK-Y-46

Die Identität von WK-X-51 wurde mittels $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ und MS gesichert. Die Zuordnung der $^1\text{H-}$ und $^{13}\text{C-NMR}$ -Signale ist in Abbildung 38 dargestellt.

Im $^1\text{H-NMR}$ (Abb. 39) erscheinen zwei stark zum tiefen Feld verschobene Protonen bei 9,33 und 8,63 ppm. Diese beiden Protonen sind als Dublett mit einer *meta*-Koppelungskonstante von je $J = 2,2$ Hz erkennbar und sind charakteristisch für eine 3-Chinolincarbonsäureamid-Partialstruktur. Besonders bemerkenswert ist das für aromatische Protonen ungewöhnliche Signal bei 9,33 ppm. Dieses Proton liegt genau zwischen der Carbonyl-Funktion und dem Stickstoff des Chinolin-Rings und erfährt dort, aufgrund des starken Elektronenzugs, eine sehr starke Entschirmung. Das Signal bei 8,63 ppm stammt von dem Proton, welches neben der Carbonyl-

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

Funktion und gegenüber dem Stickstoff im 3-Chinolin-Ring lokalisiert ist. Diese beiden Protonen sind deutlich stärker zu tiefem Feld verschoben als das Amid-Proton, das in CDCl_3 bei 8,19 ppm erscheint. Sehr gut sind die aliphatischen Protonen zu erkennen. Bei 3,63 ppm erscheint das Singulett der Methylen-Gruppe in Position 1 des Tetrahydroisochinolin-Rings. Diese Protonen sind durch den -I-Effekt des Stickstoff, sowie der Lage im Entschirmungsbereich des Aromaten, deutlich tieffeldverschoben. Das Signal der Methylen-Protonen in Position 4 ist bei 2,83 ppm lokalisiert. Die Methylen-Gruppe neben dem para-substituierten Aromaten erscheint als Triplett bei 2,89 ppm, während die Protonen der dem Stickstoffatom benachbarten Methylen-Gruppen zusammen bei 2,75 ppm als Multipllett erscheinen.



Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

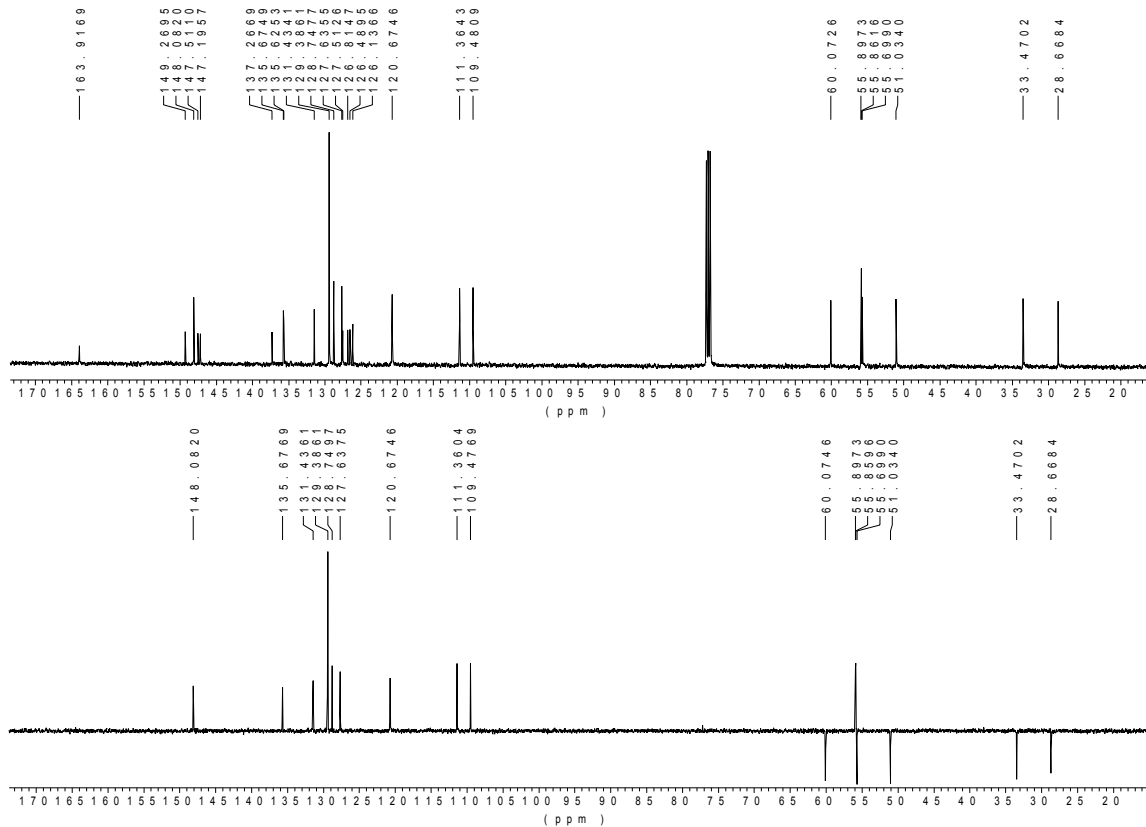


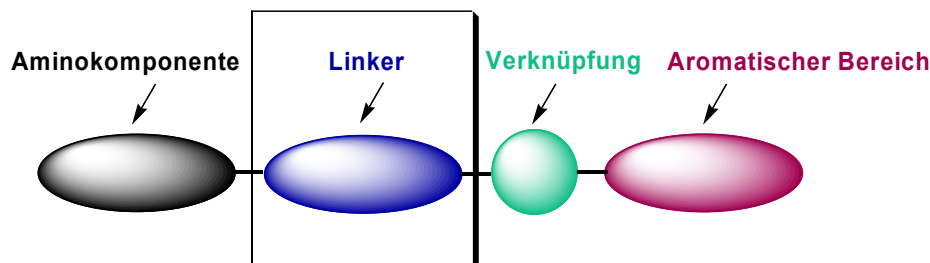
Abb. 40: ^{13}C -NMR- und DEPT- Spektrum von WK-X-51 (CDCl_3 , 125 MHz).

Wie zu erwarten, erscheint der Carbonyl-Kohlenstoff im ^{13}C -NMR (Abb. 40) bei 163,9 ppm als am stärksten zu tiefem Feld verschobenes Signal. Bei ca. 150 ppm erkennt man im ^{13}C -NMR vier Signale von denen man vermuten würde, dass es sich bei diesen allesamt um quartäre C-Atome handeln würde. Das DEPT-Spektrum zeigt jedoch deutlich einen positiven Peak bei 148,1 ppm. Dieses stark entschirmte Signal stammt von dem Kohlenstoffatom zwischen Carbonyl-Funktion und dem Stickstoffatom des Chinolin-Rings.

Im Massen-Spektrum (FAB) erscheint der Molpeak von WK-X-51 wie zu erwarten bei m/e 468,2 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 89%).

3.7.2 Variation der Linker-Partialstruktur

Bei allen bisherigen Synthesen wurde die Ethylphenylamin-Partialstruktur als Linker beibehalten. Modifikationen im Linker-Bereich erforderten eine andere Synthesestrategie, um analoge Substanzen herzustellen. Bei der Synthese wurde die Struktur nur punktuell zu variiert.



3.7.2.1 Darstellung und Reduktion von 4-Nitrobenzylaminen

Die erste Variation dieser Partialstruktur bestand in der Verkürzung der Ethylenkette um ein Kohlenstoffatom. Die Synthese von *N*-benzylierten Tetrahydroisochinolin ist schon in der Literatur beschrieben worden. Ersoy setzten bei dieser Reaktion Tetrahydroisochinolin in Gegenwart von Natriumhydrid in THF mit 4-Nitro-benzylbromid um [Ersoy et al., 1999]. Die Ausbeute dieser Reaktion gaben Ersoy et al. mit 94% an. Auch an fester Phase wurde eine derartige Reaktion mehrfach durchgeführt. Bei allen Literaturstellen [Toy et al., 2000; Plater et al. 2000; Lober et al., 2004] wurde diese Reaktion an REM-Harzen unter Verwendung von DMF oder DMSO als Lösungsmittel durchgeführt.

Nach den guten Erfahrungen bei der *N*-Alkylierung von Tetrahydroisochinolin (Kap. 3.2.1) in Acetonitril als Lösungsmittel wurde auf eine Änderung der Synthesevorschrift verzichtet. Die Umsetzung von 6,7-Dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (**1**) mit 4-Nitrophenylbenzylbromid (**18**) wurde in Acetonitril mit Kaliumcarbonat durchgeführt (Abb. 41).

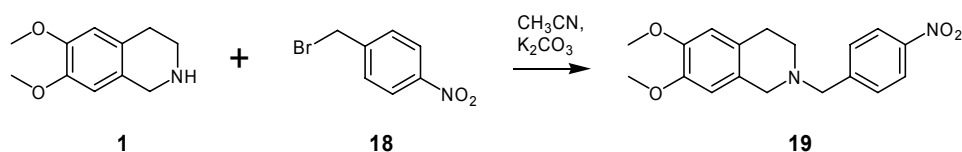


Abb. 41: Darstellung von 4-Nitrobenzylaminen mittels *N*-Alkylierung.

Nach Erhitzen des Reaktionsansatzes für 24 Stunden unter Rückfluss konnte nach der Aufarbeitung des Ansatzes eine Ausbeute von 76% erreicht werden.

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

Die Ausbeute an **19** ist mit 76% für das dimethoxylierte Tetrahydroisochinolin etwas geringer als die 94%ige Ausbeute bei Synthese des unsubstituierten Tetrahydroisochinolins nach Ersoy et al. Vorteilhaft erscheint jedoch, dass die Synthese auch mit schwächeren Basen als Natriumhydrid sehr schonend realisiert werden konnte. Ein weiterer Vorteil bei der Verwendung von Acetonitril im Gegensatz zu dem in der Festphasenchemie verwendeten DMF bzw. DMSO bestand in der einfacheren und schnelleren Entfernung des Lösungsmittels aus dem Reaktionsansatz.

Die bisher verwendete Reduktion von aromatischen Nitro-Gruppen durch katalytische Hydrierung mit Wasserstoff unter Verwendung von Palladium/Kohle als Katalysator in Ethanol konnte für die weitere Umsetzung dieses Derivats nicht angewendet werden, da diese Reaktionsbedingungen zu einer Abspaltung der *N*-Benzyl-Partialstruktur des Moleküls führen würden (Abb. 42).

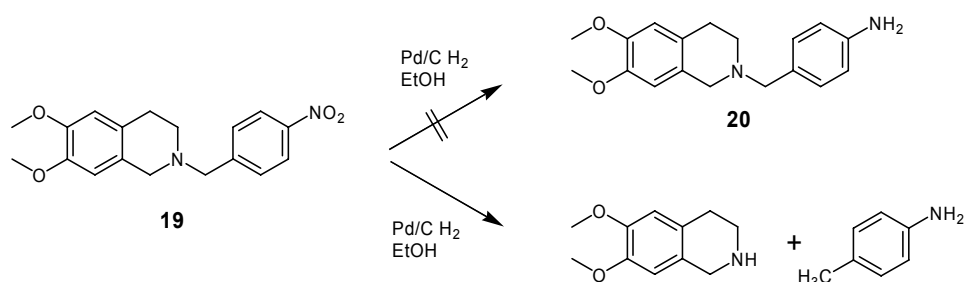


Abb. 42: Reaktionsverlauf bei der Reduktion von *N*-benzylierten Tetrahydroisochinolinen unter Verwendung von Wasserstoff und Palladium/Kohle in Ethanol.

Die Reduktion der Nitrogruppe von 4-Nitrobenzyl-tetrahydroisochinolinen wurde in der Literatur schon zweifach beschrieben. *Harrold* et al. arbeiteten dabei an *N*-alkylierten 1-Benzyl-tetrahydroisochinolinen (**21**) [Harrold et al., 1988] (Abb. 43). Die Reduktion zum primären Amin (**22**) gelangt hier mit Zinn(II)chlorid Dihydrat in Ethanol und konzentrierter Salzsäure

Ersoy et al. reduzierten die Nitrogruppe von **23** mit Hydrazin Hydrat in Isopropanol mit einem Palladium/Kohle Katalysator [Ersoy et al., 1999] (Abb. 43).

Für die Reduktion des 6,7-Dimethoxy-2-(4-nitro-benzyl)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolins (**19**) erschien die Reduktion nach Harrold et al. besonders geeignet. Jedoch wurde auf die Zugabe konzentrierter Salzsäure verzichtet, um keine Etherspaltung an den zwei Methoxy-Gruppen des Tetrahydroisochinolins zu riskieren.

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

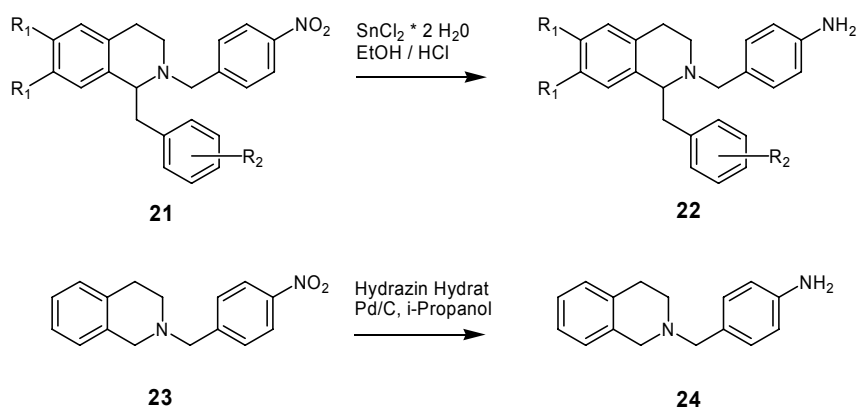


Abb. 43: Literaturbekannte Reduktionen von 4-Nitrobenzyltetrahydroisochinolin nach Harrold (oben) [Harrold et al., 1988] und Ersoy (unten) [Ersoy et al., 1999].

Zur Reduktion wurde **19** in EtOH gelöst und mit der 2,5-fachen molaren Menge an Zinn(II)chlorid Dihydrat versetzt. Unter Schutzgasatmosphäre wurde der Ansatz 4 Stunden unter Rückfluß erhitzt, das Lösungsmittel entfernt, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und mehrmals mit 1 molarer Natriumhydroxid-Lösung und anschließend Wasser gewaschen. Diese Waschschrte mussten sehr sorgfältig durchgeführt werden, um sämtliches Zinn aus dem Reaktionsansatz zu entfernen. Durch eine später stattfindende Umkristallisation konnte nur ein geringer Teil der Zinn-Verunreinigungen elimiert werden. Nur eine zeitaufwändige Säulenchromatographie hätte dies gewährleisten können. Nach Trocknung der organischen Phase, Einengen des Lösungsmittels und Zugabe von n-Hexan kam es in der Kälte zur Kristallisation des gewünschten Produkts **20** (Abb. 44).

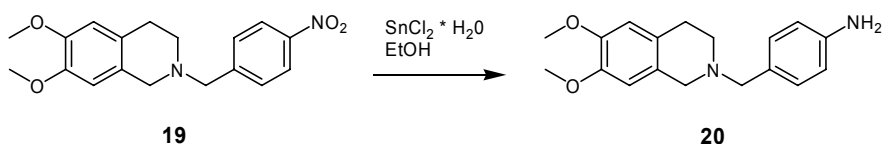


Abb. 44: Reduktionen des *N*-(4-Nitrobenzyl)-tetrahydroisochinolins.

Zur Synthese der niedermolekularen Modulatoren wurde das 4-((6,7-Dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)methyl)phenylamin (**20**) mit 3-Chinolincarbonsäurechlorid oder 2-Nitrophenoxyessigsäurechlorid nach dem in Kap. 3.2.2 vorgestellten Syntheseverfahren zu den korrespondierenden Amiden umgesetzt.

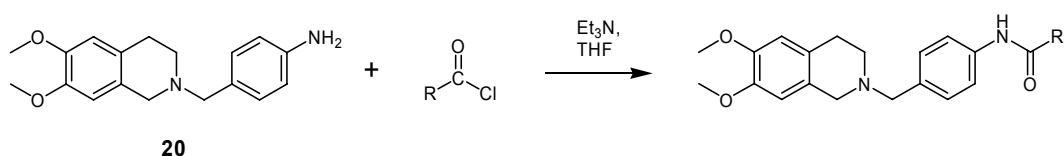


Abb. 45: Umsetzung des 4-((6,7-Dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)methyl)-phenylamins zu den korrespondierenden Amiden.

3.7.2.2 Darstellung und Reduktion von 4-Cyanobenzylaminen

Eine andere Möglichkeit zur Veränderung der Linker-Partialstruktur, bei gleich bleibender Kettenlänge des Linkers, beinhaltete die Variation der Position des Aromaten. Prinzipiell existierte dabei die Möglichkeit den Aromaten von der rechten Seite der Linker-Partialstruktur in die Mitte (**25**) oder auf die linke Seite (**26**) zu verschieben (Abb. 46).

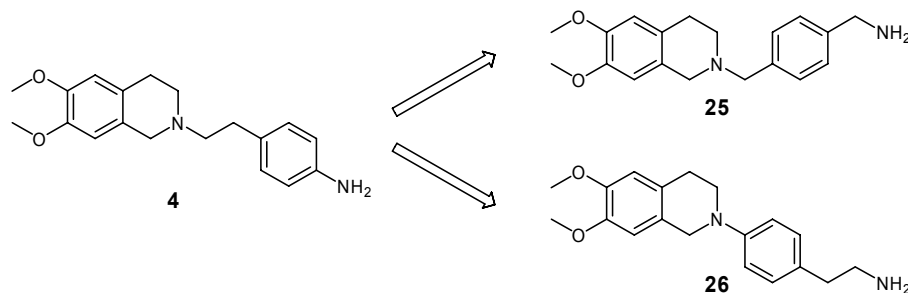


Abb. 46: Variationsmöglichkeiten der Aromaten-Position in der Linker-Partialstruktur.

Eine Verschiebung des Aromaten ganz auf die linke Seite des Linkers (**26**) würde dazu führen, dass der Aromat direkt an die basische Aminfunktion des Tetrahydroisochinolins gebunden wäre. Dies würde zu einer deutlichen Verringerung der Basizität der Zielverbindungen führen. In Anbetracht der Tatsache, dass die meisten P-gp-Modulatoren deutlich basische Eigenschaften aufweisen, oder sogar aufweisen müssen, wäre eine solche Veränderung nicht erwünscht.

Aus diesem Grund wurde nur die Synthese einer Benzyl-methylamin-Partialstruktur am Stickstoff des Tetrahydroisochinolin-Rings durchgeführt. Die Synthese einer solchen Struktur wurde bisher noch nicht in der Literatur beschrieben, sollte jedoch synthetisch relativ problemlos zu realisieren sein.

Es gab verschiedene Ansatzpunkte zur Herstellung von 4-((6,7-Dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)methyl)phenyl)-methylamin (**25**) (Abb. 47).

Eine Möglichkeit bestand in der *N*-Alkylierung von 6,7-Dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (**1**) mit 4-(Brommethyl)-benzonnitril (**27**) und anschließender Reduktion der Cyano-Funktion mit Lithiumaluminiumhydrid in THF. Der zweite Ansatz beinhaltet die Amidierung von **1** mit 4-Cyano-benzoesäurechlorid (**29**) mit anschließender gemeinsamer Reduktion der Cyano- und der Carbonyl-Funktion mit Lithiumaluminiumhydrid in THF.

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

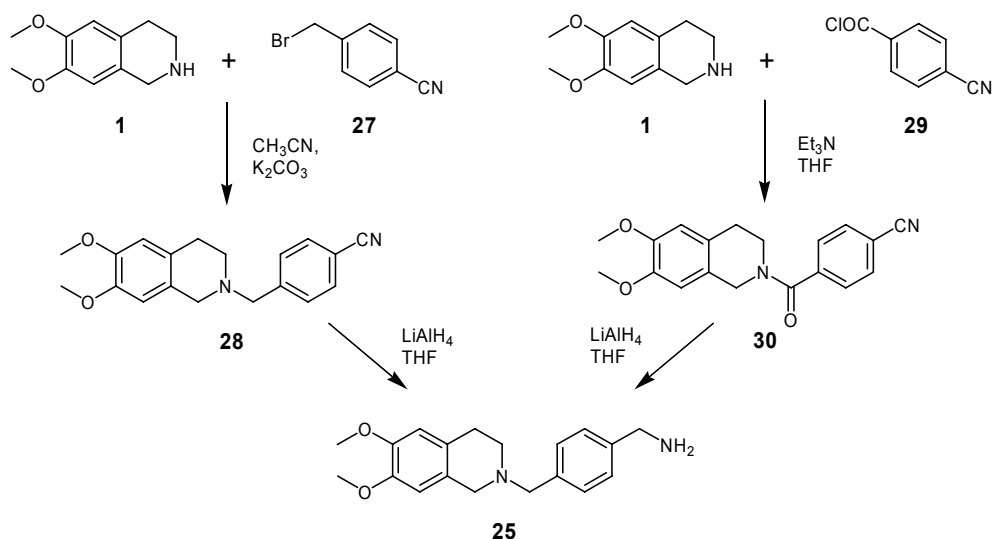


Abb. 47: Mögliche Synthesewege zu Tetrahydroisochinolin-benzyl-methylaminen.

Aufgrund der guten Erfahrungen bei der *N*-Alkylierung von Tetrahydroisochinolinen wurde dieser Reaktionsansatz gewählt.

Die Synthese des 4-((6,7-Dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)methyl)benzonitrils (**28**) gelang analog zur Darstellung des 6,7-Dimethoxy-2-(4-nitro-benzyl)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolins durch *N*-Alkylierung von **1** mit 4-(Brommethyl)benzonitril (**27**) in siedendem Acetonitril in Anwesenheit von Kaliumcarbonat über einen Reaktionszeitraum von 24 h. (Abb. 47). Nach der Aufarbeitung des Reaktionsansatzes wurde das Lösungsmittel eingeeengt und mit einer größeren Menge *n*-Hexan versetzt. In der Kälte fiel **28** als weißer kristalliner Niederschlag aus (Ausbeute 83%).

Die Reduktion von Cyano-Gruppen zu den korrespondierenden primären Aminen (**25**) mit LiAlH_4 ist eine Standardreaktion in der präparativen organischen Synthese. Diese Reduktion wurde, aufgrund der für diese Substanzklasse hervorragenden Lösungseigenschaften, in trockenem THF durchgeführt. Dabei wurde eine Suspension von LiAlH_4 in trockenem THF vorgelegt und tropfenweise mit dem in trockenem THF gelösten Nitril versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 3,5 Stunden wurde das überschüssige LiAlH_4 vorsichtig mit gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung hydrolysiert und der Reaktionsansatz aufgearbeitet. Nach Umkristallisation des Produktes in EtOAc/*n*-Hexan konnte eine Ausbeute von 75% erreicht werden. Für beide Reaktionsschritte wurde eine akzeptable Gesamtausbeute von 63% erzielt.

Zur Synthese von niedermolekularen Modulatoren mit dieser Linker-Struktur wurde das 4-((6,7-Dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)methyl)phenyl)-methylamin

(**25**) mit 3-Chinolincarbonsäurechlorid nach dem in Kap. 3.2.2 vorgestellten Syntheseverfahren zum korrespondierenden Amid umgesetzt (Abb. 48).

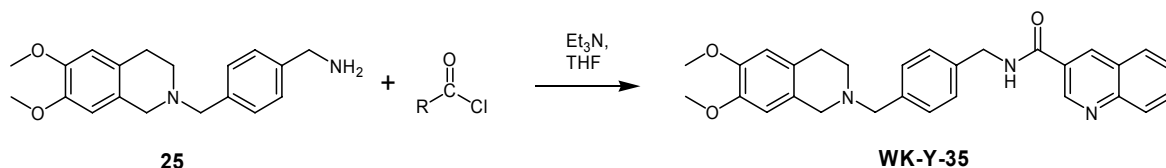


Abb. 48: Umsetzung des 4-((6,7-Dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1H)-yl)methyl)-phenyl)methylamins (**25**) zum korrespondierenden Amid.

3.7.2.3 Synthese von α -Aminonitrilen aus primären Aminen

Die dritte Modifikation der Linker-Partialstruktur stellte die Synthese eines α -Aminonitrils dar. α -Aminonitrile waren und sind wichtige Intermediate zur Synthese von α -Aminosäuren sowie verschiedenen stickstoffhaltigen Heterozyklen, wie z.B. Imidazolen und Thiadiazolen. 2004 berichtete *Yadav et al.* über eine einfache Einzschrittsynthese zur Herstellung von α -Aminonitrilen ausgehend von primären Aminen [Yadav et al., 2004].

Bei dieser modifizierten Strecker-Synthese reagierten das primäre Amin und der Aldehyd zum korrespondierenden Imin. Dieses Intermediat reagierte mit Cyanidionen aus Trimethylsilylcyanid (TMSCN) zum α -Aminonitril. Katalysiert wurde diese Reaktion durch Montmorillonit KSF als Brønsted- bzw. Lewis-Säure (Abb. 49).

Ein Vorteil dieser Reaktion erschien die relativ sichere Handhabung der Cyanidquelle als auch die geringen Kosten der Reagenzien.

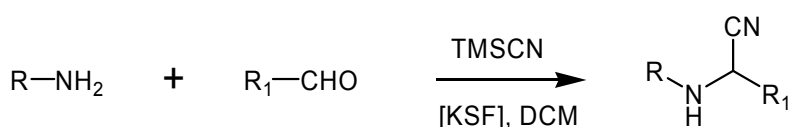


Abb. 49: Synthese von α -Aminonitrilen nach *Yadav et al.* [Yadav et al., 2004].

Yadav et al. synthetisierten einen Satz von 17 sehr unterschiedlichen α -Aminonitrilen mit Ausbeuten von 85-94%.

Aufgrund der guten Ausbeuten, sowie den sehr einfachen Reaktionsbedingungen und niedrigen Kosten, erschien diese Reaktion sehr geeignet zur Modifikation der Linker-Partialstruktur. Als Aminokomponente wurde das in Kapitel 3.2.1 synthetisierte 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1H-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (**4**), als Carbonylkomponente Acetaldehyd und als Cyanidquelle Trimethylsilylcyanid verwendet (Abb. 50). Zur Durchführung dieser Reaktion löste man die Reaktanden in Dichlormethan und rührte den Ansatz nach Zusatz von Montmorillonit KSF als

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

Katalysator 6 Stunden bei Raumtemperatur. Nach Beendigung der Reaktion (DC-Kontrolle) wurde der Ansatz filtriert, der Rückstand mit DCM gewaschen, die organischen Phase vereinigt und getrocknet. Nach Einengen der organischen Phase setzte man n-Hexan bis zur Trübung des Reaktionsansatzes hinzu. In der Kälte kristallisierte ein weißer Feststoff aus.

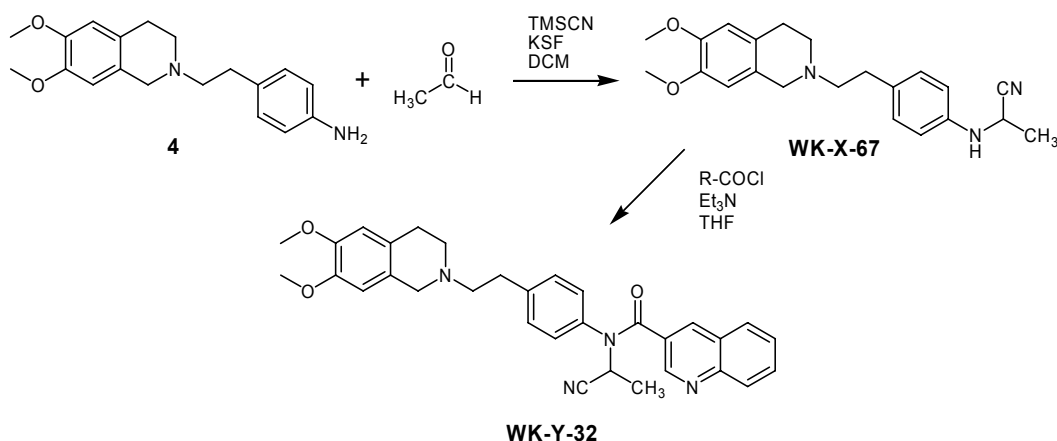


Abb. 50: Synthese und Umsetzung eines α -Aminonitrils aus einem 4-Aminophenylethylamin.

Mit einer nicht optimierten Ausbeute von 63% konnte nur eine gegenüber der Literaturstelle deutlich geringere Ausbeute erzielt werden. Dafür war die Reaktion sehr einfach und schonend durchführbar.

Das so gewonnene α -Aminonitril (WK-X-67) wurde im Anschluß mit 3-Chinolinecarbonsäurechlorid nach dem in Kap. 3.2.2 vorgestellten Syntheseverfahren zu WK-Y-32 umgesetzt (Abb. 50).

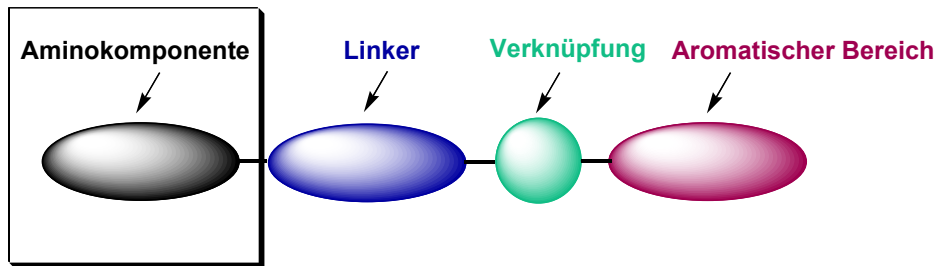
Auf diese Weise entstanden durch Variationen der Linker-Partialstruktur vier weitere niedermolekulare P-gp-Modulatoren, welche sich nur punktuell von anderen Derivaten unterschieden.

Struktur	Name	Struktur	Name
	WK-Y-34		WK-Y-36
	WK-Y-35		WK-Y-32

Tab. 12: Niedermolekulare Modulatoren mit variiertem Linker.

3.7.3 Variation der Aminokomponente

Alle bisher dargestellten niedermolekularen P-gp-Modulatoren verfügten über eine Tetrahydroisochinolin Partialstruktur. Kernpunkt der letzten Modifikation sollte eine Veränderung der Aminokomponente sein.



Sowohl bei der Synthese von Elacridar (GF120918) [Dodic et al., 1995] als auch von Tariquidar (XR9576) [Ryder et al., 1998; Roe et al., 1999] wurde diese Partialstruktur meist durch punktuelle Veränderung der Struktur variiert. Die verwendeten Amine unterschieden sich in ihren physiochemischen Eigenschaften nur sehr gering. Die Variationen bezogen sich vornehmlich auf unterschiedlich substituierte Tetrahydroisochinoline, Benzylamine und Phenylethylamine.

In Bereich der Aminokomponente sollten bei den niedermolekularen Modulatoren verschiedene Derivate synthetisiert werden. Bei der Synthese wurde besonderes Augenmerk darauf gelegt, dass die Zielverbindungen unterschiedlich ausgeprägte basische Eigenschaften aufweisen sollten.

3.7.3.1 Auswahl und Umsetzung von neuen Amino-Bausteinen zur Herstellung von niedermolekularen Modulatoren

Für die geplanten Synthesen wurde ein Satz von 5 verschiedenen Aminen ausgewählt. Die erste Variation der Tetrahydroisochinolin-Partialstruktur bestand in einer nur sehr geringen Veränderung. So sollte der Ring an zwei verschiedenen Positionen „geöffnet“ werden (Abb. 51).

Neben diesen zwei Aminen, 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-N-methylethylamin (**31**) und (3,4-Dimethoxyphenyl)-N-methylmethylamin (**32**), wurde auch 2,3,4,9-Tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol (**33**) als weiterer Synthesebaustein verwendet. Mit 1-(2-Pyridyl)piperazin (**34**) und 1-(Piperonyl)piperazin (**35**) wurden zwei weitere Amine ausgewählt die über einen Piperazinring verfügen. Piperazin-Partialstrukturen finden sich in zwei potenten Modulatoren der dritten Generation (MS-209, Zosuquidar (LY335979)).

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

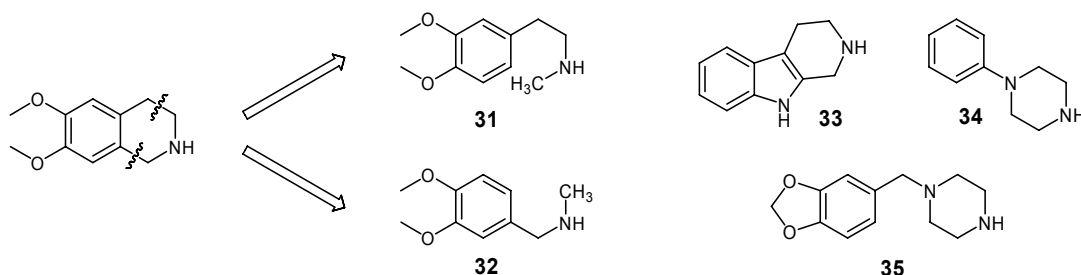


Abb. 51: Fünf ausgewählte Amine zur Synthese von niedermolekularen P-gp-Modulatoren.

Die Umsetzung der Amine mit 4-Nitrophenylethylbromid erfolgte analog zur Synthese der Tetrahydroisochinoline (Abb. 52).

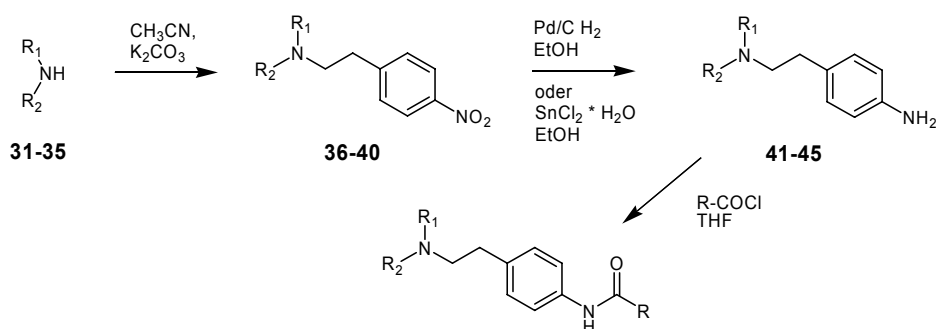


Abb. 52: Syntheschema zu niedermolekularen Modulatoren mit variiertem Amin-Funktion.

Besondere Probleme bei der Synthese ergaben sich nur bei den 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-*N*-methylethylamin- und (3,4-Dimethoxyphenyl)-*N*-methyl-methylamin-Derivaten (Abb. 51). Die korrespondierenden 4-Nitrophenylethylamine (**36/37**) stellen gelbliche harzige Flüssigkeiten dar, die weder durch Destillation noch durch Kristallisation zu reinigen waren. Eine Säulenchromatographie mit Kieselgel und *i*-Propanol/DCM/NH₃ im Verhältnis 80:20:4 als Eluent war aufgrund des unzureichenden Reinheitsgrads der Substanzen nur bedingt erfolgreich. Zur Analytik der Verbindungen wurden 100 mg der vorgereinigten Produkte nach einer Herstellungsverfahren des Organikums [Organikum, 1996] als Pikrate aus einer ethanolischen Pikrinsäurelösung ausgefällt.

Die Reduktion der 4-Nitrophenylethylamine konnte mit Ausnahme des 1-(Piperonyl)-4-(4-nitrophenethyl)piperazins (**39**) mit Wasserstoff in Gegenwart eines Palladium/Kohle-Katalysators in EtOH realisiert werden. Aufgrund der Benzylamin-Partialstruktur könnte diese Reaktionsbedingungen zur Abspaltung des Piperonyl-Restes führen (vergleiche 3.4.2.1). Die Synthese des primären Amins erfolgte daher

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

für diese Verbindung analog zur Herstellung des 4-Aminobenzylamins (Kap. 3.4.2.1) mit Zinn(II)chlorid Dihydrat in EtOH.

Zur Synthese von niedermolekularen Modulatoren mit diesen Amin-Gerüsten wurden die 4-Aminophenylethylamine mit 3-Chinolincarbonsäurechlorid bzw. 2-Nitrophenoxyessigsäurechlorid analog zu dem in Kap. 3.2.2 beschriebenen Syntheseverfahren zu den korrespondierenden Amiden umgesetzt (Abb. 52).

Struktur	Name	Struktur	Name
	WK-Y-47		WK-Y-48
	WK-Y-49		WK-Y-50
	WK-Y-43		WK-Y-44
	WK-Y-23		WK-Y-24

Tab. 13: Niedermolekulare Modulatoren mit variiertes Amino-Funktion.

Von den Derivaten mit 2,3,4,9-Tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol und 1-(2-Pyridyl)piperazin Partialstrukturen wurden jeweils nur die 3-Chinolincarbonsäureamide hergestellt.

3.8 Kopplung von 4-Aminophenylethylaminen mit Arzneimittelwirkstoffen über Amidbindungen

Ein weiterer Ausgangspunkt für die Synthese neuartiger Modulatoren bestand in der Idee, dass besonders geeignete 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (**4**) mit diversen Arzneistoffen, welche über eine Carbonsäure-Funktion verfügen, über eine Amidbindung zu koppeln.

Arzneistoffe mit einer Carbonsäure-Funktion sind in großer Zahl zu finden und sind zu geringen Preisen in hoher Reinheit zu erwerben. Weiterhin verfügen diese Arzneimittel über eine große Bandbreite an unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften, was zur Diversifizierung der Substanzbibliothek beitragen sollte.

Ausgewählt wurden mit Naproxen, Indoprofen und Ketoprofen drei nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR), das Diuretikum Ethacrynsäure, das Antibiotikum Ofloxacin und die als Analgetikum konzipierte aber nicht als solches zur Anwendung gekommene 2-Phthalimidobenzoessäure. Bei der Auswahl der Arzneistoffe wurden verschiedene Aspekte berücksichtigt, die im Folgenden diskutiert werden.

Bei der Umsetzung der 2-Phthalimidobenzoessäure mit dem 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin entsteht ein Analogon zu WK-X-18 (Kap. 3.2.2). Dieses Analogon (WK-X-55) unterscheidet sich von WK-X-18 insofern, dass die zweite Amidbindung durch ein zyklisches Imid ersetzt und somit rigidisiert wurde (Abb. 53).

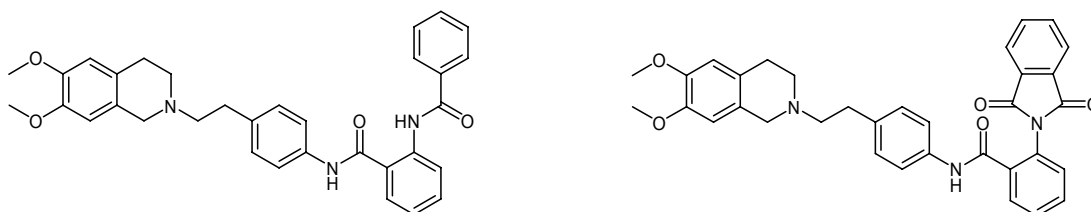


Abb. 53: Vergleich von WK-X-18 (links) und WK-X-55 (rechts).

Weiterhin schien auch die Verwendung von Ethacrynsäure äußerst viel versprechend. Ethacrynsäure befindet sich in der klinischen Testung als MDR-Modulator [Chiba et al., 2004; Robert et al., 2003; Pleban et al., 2005] und durch die Umsetzung mit dem eingesetzten Amin entsteht eine Verbindung, die zwei in MDR-Modulatoren vorkommende Partialstrukturen beinhaltet.

Von besonderem Interesse ist das Adukt aus 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin und Ketoprofen. Auf diese Weise entsteht ein

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

MDR-Modulator mit einer Benzophenon-Partialstruktur. Auf diese Synthese wird im nächsten Kapitel genauer eingegangen (Kap. 3.9).

Die Synthese dieser Verbindungen gelang durch Umsetzung der 4-Aminophenylethylamine mit den zu den korrespondierenden Säurechloriden umgesetzten Arzneistoffen. Die Chlorierung der Carbonsäuren gelang mittels Thionylchlorid unter den in Kapitel 3.2.2 beschriebenen Bedingungen (Abb. 54).

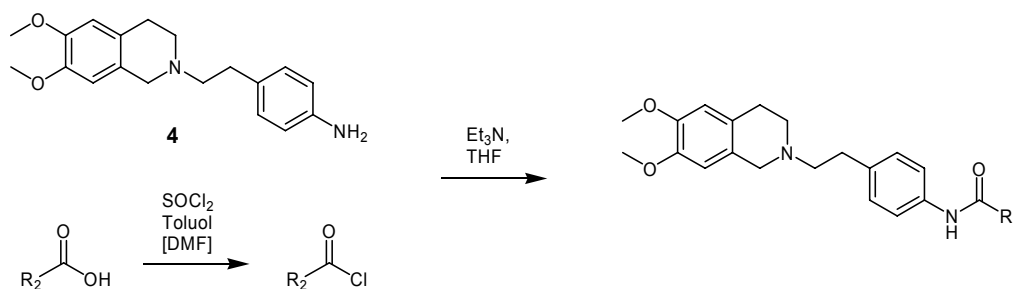


Abb. 54: Synthese von Modulatoren mit Arzneistoff-Partialstruktur.

Neben diesen Verbindungen wurden weiterhin zwei Derivate mit einer veränderten Amino-Partialstruktur mit Indoprofen umgesetzt. Für diese Synthese wurden die Vorstufen **43** und **44** (siehe Kap.3.7.3.1) mit Indoprofen zu den korrespondierenden Amiden unter den in Kapitel 3.2.2 beschriebenen Bedingungen umgesetzt (WK-Y-9/10).

Auf diese Weise entstand eine Substanzbibliothek mit 8 Verbindungen (Tab. 14).

Struktur	Name	Struktur	Name
	WK-X-54		WK-X-55
	WK-X-62		WK-Y-12
	WK-X-87		WK-Y-13
	WK-Y-9		WK-Y-10

Tab. 14: Dargestellte Modulatoren Arzneistoff-Partialstruktur.

3.9 Synthese von photoaktivierbaren Modulatoren

3.9.1 Grundlagen

Für die Synthese neuer spezifischer Modulatoren und das Verständnis der Funktion von P-gp ist die Aufklärung des Transportmechanismus und des Aufbaus der Bindungsdomänen von enormer Wichtigkeit. Untersuchungen zur genauen Struktur und Lage der Bindungsstellen können mit Hilfe von Photoaffinitätsmarkierungen und moderner massenspektrometrischer Peptidanalytik durchgeführt werden [Ecker et al., 2002].

Für Photoaffinitätsmarkierungen von P-gp ist es notwendig Modulatoren zu synthetisieren, die eine hohe Affinität besitzen sowie photoaktivierbare Gruppen (Photophore) wie z.B. Arylazide, Aryldiazirine oder Benzophenone enthalten [Safa, 2004]. Die Photoaffinitätsmarkierung zwischen Zielprotein und photoaktivierbarem Derivat erfolgt durch Bestrahlung mit Licht einer bestimmten Wellenlänge, durch die das Photophor in eine reaktive Spezies überführt wird und mit dem Protein unter Bildung einer kovalenten Bindung reagieren kann. Im Idealfall bindet der Ligand in direkter Nähe zur Bindungsstelle irreversibel an das Zielprotein. Nach der Photoaffinitätsmarkierung kann das Protein isoliert, fragmentiert und die Fragmente massenspektrometrisch analysiert (MALDI-TOF MS) werden [Ecker et al., 2002]. Die Analyse dieser Fragmente lässt Rückschlüsse auf die Bindungsstellen des Proteins zu.

Um Photoaffinitätsmarkierungen von P-gp auch in unserem Arbeitskreis durchführen zu können, sollte ein Derivate mit einer photoaktivierbaren Gruppe hergestellt werden.

3.9.2 Photoaktivierbare Modulatoren mit Benzophenon-Partialstruktur

Die Synthese eines Derivats mit einem Benzophenon-Gerüst stellte sich als relativ unproblematisch heraus. Durch die Kopplung von 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (**4**) mit Ketoprofen (**46**) (Kap. 3.8) entstand eine solche Verbindung. Dabei wurde Ketoprofen, durch Aufnahme in Toluol mit katalytischen Mengen DMF, Zugabe von Thionylchlorid und einer Reaktionszeit von 4 Stunden bei 75°C zu dem korrespondierenden Säurechlorid (**47**) umgesetzt (Abb. 55). Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Säurechlorid (**47**) in THF

aufgenommen und tropfenweise zu einer Lösung von **4** in THF und Et₃N zugegeben. Der Reaktionsansatz wird 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Beendigung der Reaktionszeit wird das Lösungsmittel entfernt, der Rückstand in 1 molarer Natronlauge aufgenommen und dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Nach Waschen, Trocknen und Einengen der organischen Phase fällt das Produkt in der Kälte aus und wird in Dichlormethan/n-Hexan umkristallisiert.

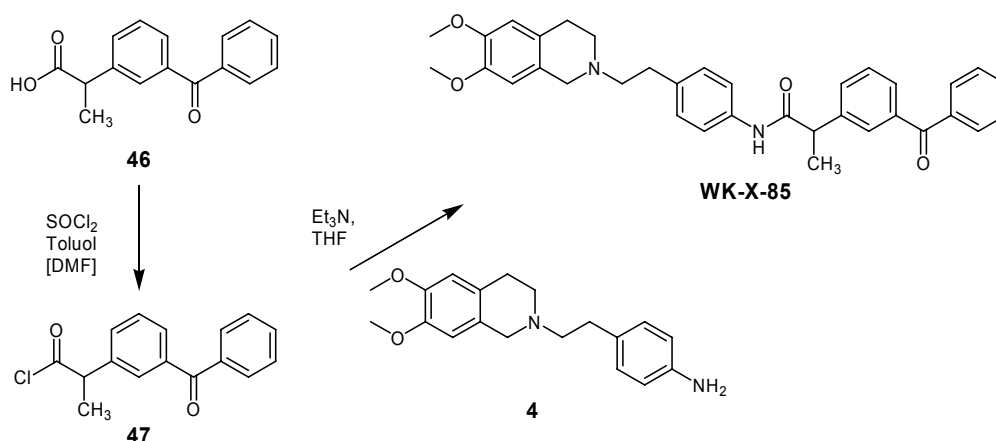


Abb. 55: Synthese von WK-X-87.

Zur Identifizierung der neuen Verbindung dienten ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren (Abb. 56/57). Die erfolgreiche Kopplung der beiden Edukte zum Amid wird durch das im ¹H-NMR deutlich erscheinende Proton des Amidstickstoffs bei einer chemischen Verschiebung von 10,03 ppm bewiesen. Ein weiteres Indiz sind die im Vergleich zum eingesetzten primären Amin deutlich tieffeldverschobenen aromatischen Protonen des AA'BB'-System des Benzamids, die bei 7,15 ppm und 7,46 ppm als Dublett erscheinen. Die aromatischen Protonen der Benzophenon-Partialstruktur sind noch weiter tieffeldverschoben und erscheinen zwischen 7,50 und 7,80. Dabei ist das aromatische Proton zwischen der Keto-Funktion und der Propionsäureamid-Partialstruktur besonders gut als Singulett bei 7,80 ppm zu erkennen.

Im ¹³C-NMR treten die Carbonyl-Kohlenstoffatome deutlich hervor. Dabei ist wie zu erwarten der Keton-Kohlenstoff mit 195,8 ppm deutlich stärker ins tiefe Feld verschoben, als der Amid-Kohlenstoff mit 171,7. Im Vergleich zu anderen hergestellten Amiden (z.B. WK-X-24) erscheint der Amid-Kohlenstoff aber deutlich weiter zum tiefen Feld hin verschoben. Die CH- und CH₃-Gruppe der Phenylpropionsäure-Partialstruktur sind im ¹³C-DEPT-Stektrum deutlich bei 45,8 ppm bzw. 18,7 zu identifizieren.

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

W K-x-87 in d6-DM SO
¹H NMR

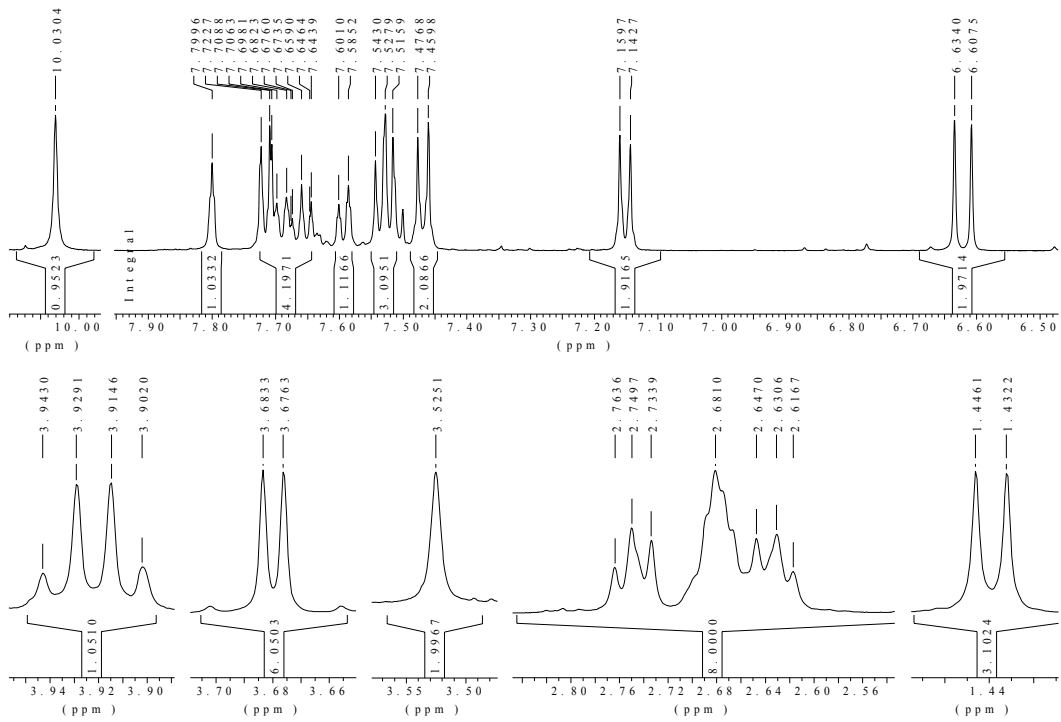


Abb. 56: ¹H-NMR-Spektrum von WK-X-87 (DMSO-d₆, 500 MHz).

W K-x-87 in d6-DM SO
¹³C NMR

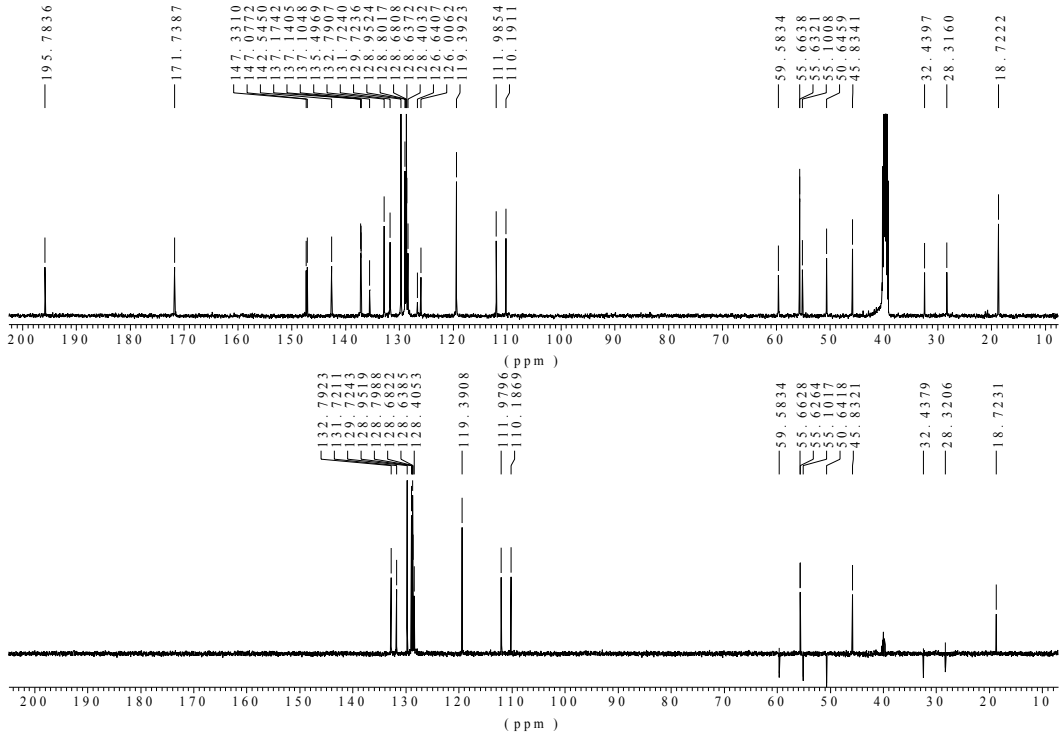


Abb. 57: ¹³C-NMR- und DEPT- Spektrum von WK-X-87 (DMSO-d₆, 125 MHz).

Design und Synthese von P-gp-Modulatoren

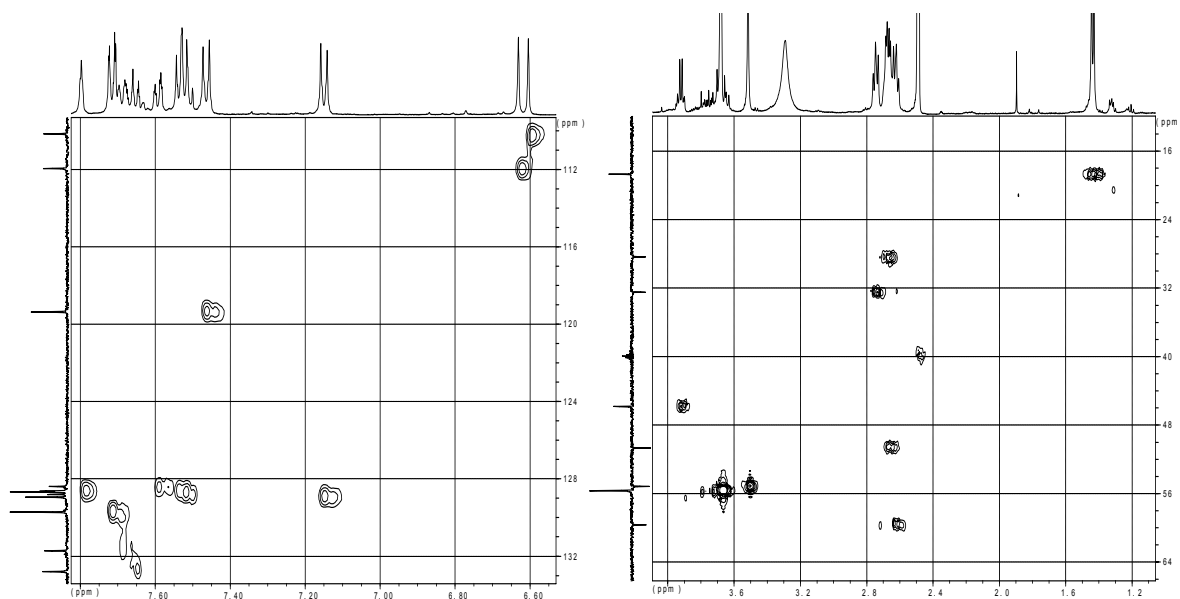


Abb. 58: HSQC-Spektrum des aromatischen (links) und des aliphatischen (rechts) Bereichs von WK-X-87 (DMSO-*d*₆, 500 MHz).

Im HSQC-Spektrum (Abb. 58) zeigt sich die Zuordnung der Protonen zu den entsprechenden Kohlenstoffatomen. Einen genaueren Einblick erlaubt das HSQC-Spektrum im Bereich des Signals der acht Protonen bei 2,68 ppm. Der erste Teil des Signals zwischen 2,72 und 2,77 ppm gehört zu der Methylen-Gruppe bei 32,4 ppm. Dieses Kohlenstoffatom ist direkt neben der zentralen 4-Aminobenzen-Teilstruktur lokalisiert. Neben dieser Methylen-Gruppe erscheint das C-Atom mit einer Verschiebung von 59,6 im ¹³C-NMR. Die zugehörigen zwei Protonen erscheinen im ¹H-NMR zwischen 2,60 und 2,65 ppm. Die Protonensignale der zwei Methylen-Gruppen des Tetrahydroisochinolin-Rings, die im ¹³C-NMR bei 28,3 und 50,6 ppm erscheinen, können dem Protonen-Signal zwischen 2,65 und 2,72 zugeordnet werden. Die CH₂-Gruppe an Position 1 des Isochinolin-Rings ergibt im ¹H-NMR ein Singulett bei 3,52 ppm und gehört zu dem ¹³C-NMR-Signal bei 55,1 ppm.

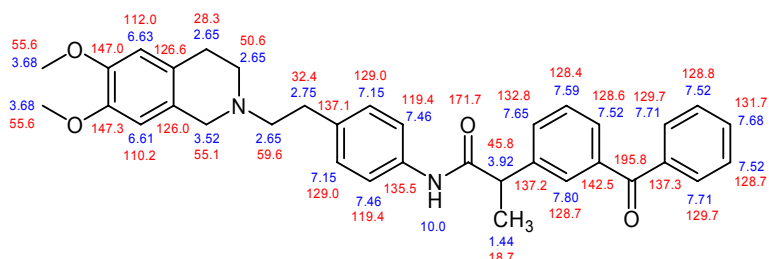


Abb. 59: Zuordnung der ¹H- (blau) und ¹³C-NMR-Signale (rot) bei WK-X-87 (DMSO-*d*₆). Die chemische Verschiebung ist in ppm angegeben.

Als sehr schwierig erweist sich die Zuordnung im aromatischen Bereich des Spektrums, besonders der C-Signale im Bereich zwischen 128 und 129. Die genaue Zuordnung der Signale ist in Abbildung 59 zu sehen.

4 Pharmakologische Testung

Die Pharmakologische Testung der Substanzen wurde in unserem Arbeitskreis von Henrik Müller (Calcein- und Hoechst-Assay), Kerstin Breibach (Daunorubicin-Influx-Assay), Veronika Jekerle (^{99m}Tc -Sestamibi-Assay, BCRP, *in vivo* Studien), Jürgen Sievers (ATPase-Assay) und Alexandra Hamacher (Dopamin) durchgeführt.

Die ^{99m}Tc -Sestamibi- (*in vitro* und *in vivo*) und BCRP-Studien von Veronika Jekerle wurden in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. M. Piquette-Miller, Department of Pharmaceutical Science, University of Toronto, Kanada und Prof. Dr. R. M. Reilly vom Department of Nuclear Medicine des Toronto General Hospitals, University Health Network, Toronto, Kanada, durchgeführt.

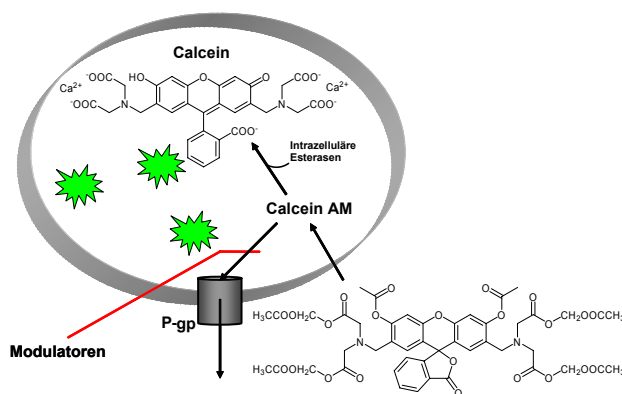
4.1 P-gp-Aktivität der synthetisierten MDR-Modulatoren

4.1.1 *In vitro* Charakterisierung

4.1.1.1 Calcein-Assay

Im Microplate-Reader basierten Calcein-Assay wird Calcein-acetoxy-methylester (Calcein-AM) verwendet, ein P-gp-Substrat, welches mit der Rhodamin-Bindungsstelle des P-Glykoproteins interagiert. Calcein-AM ist ein nicht fluoreszierendes, lipophiles Molekül und kann infolge dieser Eigenschaften Zellmembranen leicht überwinden [Müller et al., 2004].

Nach der Diffusion durch die Zellmembran wird der Ester von endogenen Esterasen



zu fluoreszierendem Calcein gespalten (Abb. 60). Das fluoreszierende Calcein-Anion stellt kein P-gp-Substrat dar und akkumuliert in der Zelle, da aufgrund der anionischen Ladung, eine Auswärtsdiffusion nicht mehr oder nur sehr langsam möglich ist.

Abb. 60: Funktionsschema des Calcein-Assays.

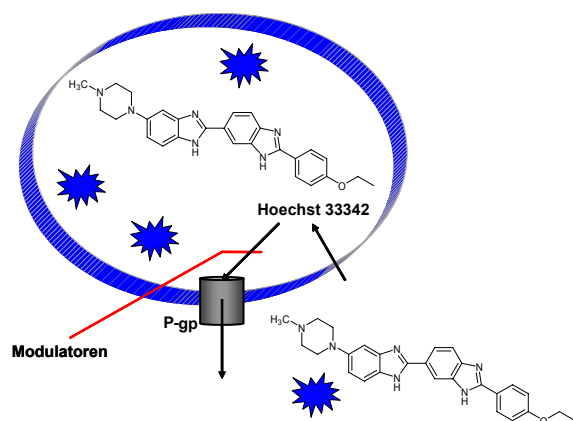
Bei hoher P-gp-Aktivität wird Calcein-AM vor dessen Spaltung ausgeschleust. Ist P-gp aber durch einen Modulator blockiert, verbleibt viel Calcein-AM in der Zelle. Es kann ein höherer Anteil des Esters zu fluoreszierendem Calcein umgesetzt werden.

Die Akkumulation des Calceins in der Zelle bedingt einen Anstieg der Fluoreszenz [Müller et al., 2004, II].

4.1.1.2 Hoechst-Assay

Hoechst 33342 stellt ein P-gp-Substrat dar und interagiert mit der nach dieser Substanz benannten Hoechst-Bindungsstelle des P-Glykoproteins. Die Verbindung Hoechst 33342 besitzt eine Eigenfluoreszenz und hat als lipophiles Molekül die Eigenschaft, sich leicht in Zellmembranen einzulagern [Shapiro et al., 1997]. Von dort ist eine Diffusion in das Zellinnere möglich [Tawar et al., 2003].

Das Funktionsprinzip des Microplate-Reader basierten Hoechst-Assays ist schematisch in Abbildung 61 dargestellt. Wenn Hoechst 33342 in die Zellmembran eingelagert ist, fluoresziert es deutlich stärker als im wässrigen Medium in der Zelle.



Bei erhöhter Aktivität von P-gp wird viel Hoechst 33342 aus der Zelle und der Zellmembran entfernt. Ist P-gp in einer Zelle durch Modulatoren blockiert, so reichert sich mehr Hoechst 33342 in der Zellmembran an. Diese Akkumulation von Hoechst 33342 verursacht einen Anstieg der Gesamtfluoreszenz [Müller, Diss.].

Abb. 61: Funktionsschema des Hoechst-Assays.

4.1.1.3 Daunorubicin-Influx-Assay

Das Zytostatikum Daunorubicin ist ein bekanntes Substrat von P-gp [Shapiro et al., 1997]. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit mit Rhodamin interagiert es mit der Rhodamin-Bindungsstelle von P-gp. Im Daunorubicin-Influx-Assay, der mit Hilfe eines Durchflußzytometers durchgeführt wird, führt eine Hemmung von P-gp zu einer Abnahme des aktiv aus der Zelle heraustransportierten Daunorubicins [Spoelstra et al, 1992].

Der Anstieg der intrazellulären Fluoreszenz wird bis zum Erreichen des Plateaus gemessen ($\lambda_{\text{exit}}=488\text{nm}$ Argonlaser; $\lambda_{\text{em}}=585\text{nm}$) und folgt einer Sättigungskinetik. Die bei verschiedenen Inhibitor-Konzentrationen erhaltenen Plateau-Fluoreszwerte dienen zur Generierung von Konzentrations-Wirkungskurven [Jekerle et al., Int. J.

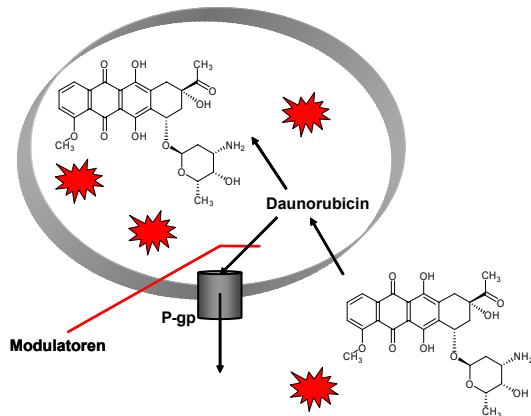


Abb. 62: Funktionsschema des Daunorubicin-Influx-Assays.

Cancer in press]. Dieses Testsystem erlaubt die Bestimmung der Aktivität von P-Glykoprotein direkt in der vitalen Zelle. Tote oder geschädigte Zellen können von der Analyse ausgeschlossen werden. Im Gegensatz zum Calcein- und Hoechst-Assay wird nicht die Gesamtfluoreszenz, sondern die Fluoreszenz der einzelnen Zellen detektiert.

4.1.1.4 ^{99m}Tc-Sestamibi-Assay

Als weiteres Testsystem zur Untersuchung der Interaktion von Modulatoren mit P-gp kam ein ^{99m}Tc-Sestamibi-Akkumulations-Assay zur Anwendung [Utsunomiya et al., 2000]. Der radioaktive Organotechnetium-Komplex ^{99m}Tc-Sestamibi ist ein P-gp-Substrat und eignet sich zur Untersuchung und zur diagnostischen Visualisierung der P-gp Funktionalität [Piwnica-Worms et al., 1993]. ^{99m}Tc ist ein metastabiles, unter Emission von Gammastrahlung in den Grundzustand (⁹⁹Tc) übergehendes

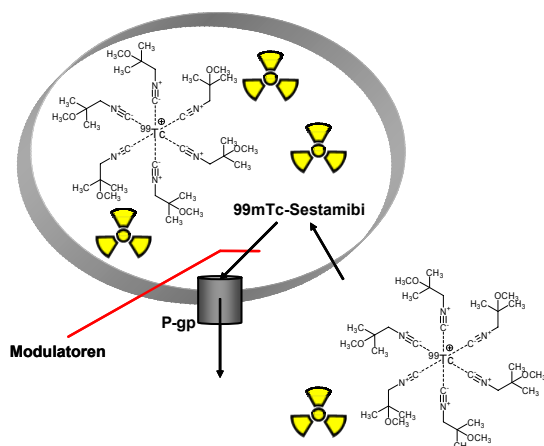


Abb. 63: Funktionsschema des ^{99m}Tc-Sestamibi-Assays.

Isotop mit einer Halbwertszeit von 6 Stunden. Die unterschiedliche Akkumulation von ^{99m}Tc-Sestamibi in P-gp überexprimierenden A2780Adr Zellen in Gegenwart verschiedener Modulatoren kann anhand der Strahlungsintensität mit einem Gamma Counter direkt gemessen werden.

4.1.1.5 ATPase-Assay

Um eine weitere Charakterisierung der Modulatoren vorzunehmen, wurde mit Hilfe eines ATPase-Assays ihr Einfluss auf die ATPase-Aktivität von P-gp untersucht. Die Gewinnung von aufgereinigtem humanem P-gp gelang in einem Hefe-Expressionssystem. Für die P-gp Expression wurde der Protease defiziente *Saccharomyces cerevisiae*-Stamm BJ5457 mit dem Plasmid YepMDR1His

verwendet. Dieser Stamm exprimiert humanes P-gp mit einer zehnfachen Histidin-Sequenz am C-terminalen Ende des Proteins. Nach Kultivierung und Ernte der Hefen reinigte man das P-gp mittels Nickel-Affinitäts-Chromatographie auf und rekonstituierte es in Liposomen definierter Zusammensetzung.

Beim ATPase-Assay wurde eine bestimmte Konzentration einer Testsubstanz zusammen mit mind. 0,5 µg reinem, funktionellem P-gp in Proteoliposomen mit einem Überschuss von ATP bei 37°C inkubiert. Zu bestimmten Zeitpunkten wurden Proben genommen und der Phosphatgehalt dieser Proben über einen Phosphomolybdat-Farbstoffkomplex kolorimetrisch bestimmt. Für jede einzelne Substanzkonzentration wurde aus vier Messpunkten die Hydrolyserate von ATP zu ADP und P_i bestimmt. Als Bezugswert wurde die basale Aktivität, d.h. die Aktivität von P-gp in Abwesenheit von Substanz, gewählt.

4.1.2 In vivo Charakterisierung

Die *in vivo* Charakterisierung des P-gp Modulators WK-X-34 wurden in humanen Tumor Xenograft-Modellen in immunokomprimierten BalbC nu/nu Mäusen etabliert [Jekerle et al., Int. J. Cancer in press]. Dazu wurden in den rechten bzw. den linken Oberschenkel der Tiere ca. 5 Mio. A2780Adr oder wild-typ A2780 Zellen subkutan injiziert. Somit trug jedes Tier einen resistenten Tumor und einen sensitiven Tumor an jeweils einem Hinterbein. Nachdem die Tumore ein Gewicht von ca. 0,5 g entwickelt haben, wurde ein ^{99m}Tc-Sestamibi Imaging durchgeführt [Muzzammil et al., 1999].

Dazu wurde den Tieren am ersten Tag des Versuches 5 MBq ^{99m}Tc-Sestamibi i.v. in die Schwanzvene injiziert. Dorsale Bilder wurden nach 15 min, 30 min, 1 h, 2 h und 4 h aufgenommen. Am zweiten Tag des Versuches wurden die Tiere mit einer i.p. Dosis von 20 mg/kg WK-X-34 in einer Cremophor EL Formulierung vorbehandelt. Eine Stunde später wurde 5 MBq ^{99m}Tc-Sestamibi i.v. in die Schwanzvene injiziert. Wiederum wurden dorsale Bilder der Tiere nach 15 min, 30 min, 1 h, 2 h und 4 h aufgenommen.

Die Ergebnisse des ^{99m}Tc-Sestamibi-Imagings wurden mit einer ^{99m}Tc-Sestamibi-Biodistributions-Studie korreliert. Für die ^{99m}Tc-Sestamibi-Biodistributions-Studie tötete man die Kontroll- und die mit WK-X-34 vorbehandelten Tiere zwei Stunden nach ^{99m}Tc-Sestamibi-Injektion. Nach der Entnahme von Blut, Organen und Tumoren wurden alle Gewebe einzeln gewogen und in einem Gamma Counter

vermessen. Die Menge an ^{99m}Tc -Sestamibi pro Gramm Gewebe wurde berechnet und die Kontrolle mit der WK-X-34 vorbehandelten Gruppe verglichen.

Die ^{99m}Tc -Sestamibi Aufnahme in verschiedenen Geweben und Tumoren quantifizierte man mit Hilfe einer „Regions of Interest“-Analyse [Muzzammil et al., 1999]. Auf den Bildern wurden die zu untersuchenden Organe (Herz, Leber, Darm, Niere, Gehirn und Muskel) und Tumore als Regionen umrandet, markiert und die Intensität der Gamma-Strahlung als „Counts“ per min/pro pixel ermittelt (Abb. 64).

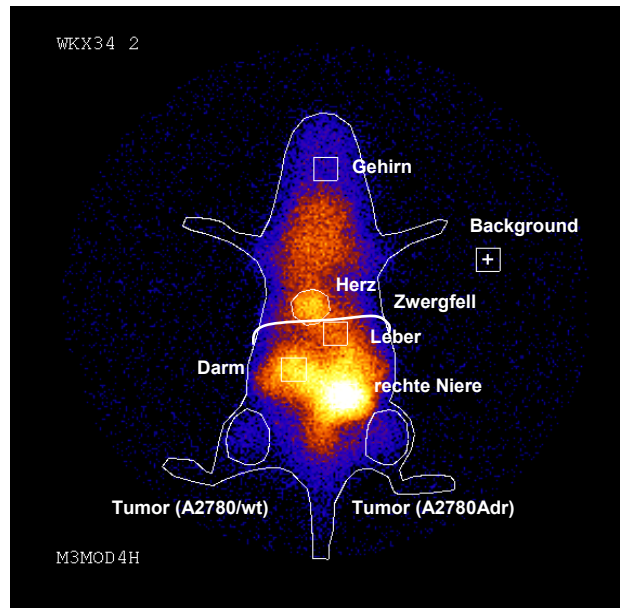


Abb. 64: „Regions of Interest“ Abbildung der Organe und Tumore [Jekerle et al., Int. J. Cancer in press].

4.1.3 Ergebnisse und Diskussion

4.1.3.1 *In vitro* Ergebnisse

Für einen Vergleich der Aktivitätsdaten der untersuchten Verbindungen dienen die als Modulatoren der ersten Generation bekannten Substanzen Cyclosporin A und Verapamil. Es ist dabei hervorzuheben, dass Verapamil eine niedrige P-gp inhibierende Wirkung als Cyclosporin A aufweist. Die Vergleichssubstanzen sollten als Modulatoren der ersten Generation eine wesentlich geringer ausgeprägte P-gp hemmende Wirkung aufweisen als Vertreter der 3. Generation. Pharmakologisch interessante Verbindungen stellen daher nur solche dar, die sowohl Verapamil als auch Cyclosporin A überlegen sind. Bei den Tariquidar-Analoga zeigen einige Verbindungen sehr gute P-gp modulierende Eigenschaften (Tab. 15).

Pharmakologische Testung

R ¹	X*	Sub.	R ²	Name	Calcein- Assay pIC ₅₀ ± SD	Dauno- Influx pIC ₅₀ ± SE
				Cyclosporin A	5,85 ± 0,09	5,61 ± 0,01
				Verapamil	5,34 ± 0,24	5,32 ± 0,04
<i>Tariquidar-Analoga (Kap. 3.2)</i>						
OCH ₃	db	ortho	Phenyl	WK-X-18	6,07 ± 0,28	-
H	db	ortho	Phenyl	WK-X-19	5,01 ± 0,10	-
H	db	ortho	2-Nitrophenyl	WK-X-23	4,81 ± 0,26	-
H	db	ortho	3-Chinolin	WK-X-24	6,31 ± 0,21	6,86 ± 0,01
H	db	ortho	4-Toloyl	WK-X-25	5,27 ± 0,26	-
OCH ₃	db	ortho	4-Toloyl	WK-X-29	6,16 ± 0,31	6,88 ± 0,02
OCH ₃	db	ortho	3-Chinolin	WK-X-32	6,32 ± 0,06	7,16 ± 0,01
OCH ₃	db	ortho	3,4-Dimethoxyphenyl	WK-X-34	6,37 ± 0,14	7,09 ± 0,03
H	db	ortho	4-Nitrophenyl	WK-X-36	5,84 ± 0,04	-
H	db	ortho	3,4-Dimethoxyphenyl	WK-X-38	6,31 ± 0,19	-
H	db	ortho	4-Cyanophenyl	WK-X-41	5,93 ± 0,09	-
OCH ₃	db	ortho	4-Cyanophenyl	WK-X-75	6,23 ± 0,20	6,49 ± 0,02
<i>Variiert Substituierte Aminobenzoesäure-Derivate (Kap. 3.2)</i>						
OCH ₃	db	para	3-Chinolin	WK-X-35	5,92 ± 0,11	-
OCH ₃	db	para	3,4-Dimethoxyphenyl	WK-X-42	-	-
H	db	para	3-Chinolin	WK-X-44	5,93 ± 0,09	6,50 ± 0,02
H	db	meta	3-Chinolin	WK-X-49	5,77 ± 0,07	5,38 ± 0,01
<i>Harnstoff-Derivate (Kap. 3.3.1)</i>						
H	NH	ortho	3-Chinolin	WK-X-50	6,09 ± 0,18	5,81 ± 0,02
OCH ₃	NH	ortho	3,4-Dimethoxyphenyl	WK-X-78	-	-
OCH ₃	NH	meta	3-Chinolin	WK-X-90	5,48 ± 0,21	-
OCH ₃	NH	meta	3,4-Dimethoxyphenyl	WK-X-91	6,07 ± 0,09	-
OCH ₃	NH	para	3,4-Dimethoxyphenyl	WK-X-94	4,93 ± 0,43	-
<i>Aminophenylessigsäure und Aminophenoxyessigsäure-Derivate (Kap. 3.3.2)</i>						
OCH ₃	CH ₂	ortho	3-Chinolin	WK-X-72	6,20 ± 0,20	6,20 ± 0,02
OCH ₃	-CH ₂ -O-	ortho	3-Chinolin	WK-X-83	6,23 ± 0,04	6,05 ± 0,02
OCH ₃	-CH ₂ -O-	ortho	3,4-Dimethoxyphenyl	WK-X-84	6,31 ± 0,06	5,98 ± 0,01
<i>Anthranilamid mit Harnstoff-Partialstruktur (Kap. 3.4)</i>						
OCH ₃	db	ortho	-NH-4-Nitrophenyl	WK-X-92	6,07 ± 0,09	-

*db: direkte Bindung

Tab. 15: Tariquidar-Analoga und modifizierte P-gp Modulatoren.

Die meisten synthetisierten Verbindungen sind den Standardmodulatoren Verapamil und Cyclosporin A in der Hemmwirkung gegenüber P-gp überlegen. Im Calcein-Assay zeigen besonders die 3-Chinolin und 3,4-Dimethoxy- und 4-Cyano-substituierten Derivate eine ca. 10-fach stärkere Aktivität an P-gp als Verapamil und eine etwa 5-fach stärkere Aktivität als Cyclosporin A. Im Daunorubicin-Influx-Assay besitzen WK-X-32 und WK-X-34 mit pIC₅₀-Werten von 7,16 (70 nM) und 7,09 (82 nM) sogar Aktivitäten im mittleren nanomolaren Bereich und sind dabei Verapamil und Cyclosporin A um ca. 1,5 – 2 Zehnenpotenzen überlegen.

Pharmakologische Testung

Im ^{99m}Tc -Sestamibi-Assay zeigen die beiden Modulatoren WK-X-24 und WK-X-34 ähnliche Ergebnisse. Mit IC_{50} -Werte im hohen nanomolaren Bereich für WK-X-24 (300 nM, $\text{pIC}_{50} = 6,52 \pm 0,16$) und WK-X-34 (416 nM, $\text{pIC}_{50} = 6,38 \pm 0,16$) weisen diese Verbindungen eine deutlich stärkere P-gp-Inhibition als Cyclosporin A (5,5 μM , $\text{pIC}_{50} = 5,26 \pm 0,25$) auf [Jekerle, Diss.].

Eine Variation des Substitutionsmusters an der Aminobenzoesäure-Partialstruktur führt nicht zu einer stärkeren P-gp Inhibierung. Die Inhibierung im Calcein-Assay nimmt von einer Substitution in ortho-Stellung (WK-X-24, $\text{pIC}_{50} = 6,31$) über para- (WK-X44, $\text{pIC}_{50} = 5,93$) hin zu meta- (WK-X-49, $\text{pIC}_{50} = 5,77$) ab. Die Ergebnisse werden durch die Daunorubicin-Influx Daten bestätigt.

Die Veränderung der Verknüpfungsart zwischen Linker und dem aromatischen Bereich von einer Amid-Verknüpfung zu einer Harnstoff-Partialstruktur hat keinen positiven Effekt auf die P-gp Inhibition. Die pIC_{50} -Werte aller synthetisierten Derivate sind kleiner als die der Amid-Analoga.

Die Veränderung der Länge der Verknüpfung zwischen den 4-Aminophenylethylaminen und der hydrophoben aromatischen Partialstruktur bewirkt keine Veränderung der P-gp Inhibition. Die 2-Aminophenyl- (WK-X-72) und 2-Aminophenoxy-essigsäure-Derivate (WK-X-83, WK-X-84) inhibieren P-gp im Calcein-Assay im gleichen Maße wie die Anthranilsäure-Derivate. Interessant ist bei diesen Verbindungen, dass die Dauno-Influx-Daten diesen Trend nur zum Teil widerspiegeln. Im Dauno-Influx-Assay sind die zwei 2-Aminophenoxyessigsäure-Derivate etwas schlechter als die korrespondierenden Anthranilsäure-Derivate.

Auch das Anthranilsäure-Derivat mit der Harnstoff-Partialstruktur (WK-X-92) im aromatischen Bereich besitzt im Vergleich zu Verapamil gute P-gp modulierende Eigenschaften, jedoch ist auch diese Verbindung den Anthranilsäure-Derivaten nicht überlegen.

Die Aktivitätsdaten der niedermolekularen P-gp-Modulatoren zeigen sehr interessante Ergebnisse (Tab. 16). Von besonderem Interesse sind aus dieser Reihe die Verbindungen WK-X-51 und WK-X-81.

WK-X-51 ist im Hoechst-Assay der potenteste P-gp-Inhibitor aller neu synthetisierten Verbindungen mit einem pIC_{50} -Wert von 7,01. Im Calcein- und im Dauno-Influx-Assay schneidet diese Verbindung dagegen deutlich schwächer ab.

Pharmakologische Testung

R ₁	X	R ₂	Name	Calcein- Assay pIC ₅₀ ± SD	Hoechst- Assay pIC ₅₀ ± SD	Dauno- Influx pIC ₅₀ ± SE
Cyclosporin A				5,85 ± 0,09	5,85 ± 0,05	5,61
Verapamil				5,34 ± 0,24	5,18 ± 0,25	5,32 ± 0,04
<i>Niedermolekulare Modulatoren Tetrahydroisochinolin-ethylphenyl-amin-Partialstruktur (Kap. 3.7.2)</i>						
OCH ₃	db	2-Nitrophenyl	WK-X-14	5,05 ± 0,31	5,26 ± 0,03	5,41 ± 0,03
H	db	2-Nitrophenyl	WK-X-15	4,91 ± 0,11	4,88 ± 0,02	-
OCH ₃	db	2-Aminophenyl	WK-X-16	5,20 ± 0,30	4,95 ± 0,24	5,39 ± 0,02
H	db	2-Aminophenyl	WK-X-17	5,03 ± 0,24	5,04 ± 0,04	-
OCH ₃	db	4-Nitrophenyl	WK-X-30	5,96 ± 0,14	5,86 ± 0,06	4,72 ± 0,64
H	db	4-Nitrophenyl	WK-X-31	5,15 ± 0,20	5,30 ± 0,16	-
OCH ₃	db	4-Aminophenyl	WK-X-33	5,39 ± 0,19	5,19 ± 0,09	4,95 ± 0,03
H	db	4-Aminophenyl	WK-X-37	4,69 ± 0,22	5,38 ± 0,32	-
H	db	3-Nitrophenyl	WK-X-45	-	-	-
H	-NH-	2-Nitrophenyl	WK-X-46	5,71	-	-
H	db	3-Aminophenyl	WK-X-47	4,89	-	-
H	-NH-	2-Aminophenyl	WK-X-48	4,62	-	-
OCH ₃	db	3-Chinolin	WK-X-51	6,19 ± 0,10	7,01 ± 0,25	5,49 ± 0,05
H	db	3-Chinolin	WK-X-52	6,28 ± 0,04	6,38 ± 0,09	5,13 ± 0,04
OCH ₃	db	3,4-Dimethoxyph.	WK-X-56	5,38 ± 0,19	5,55 ± 0,25	5,72 ± 0,05
OCH ₃	db	4,5-Dimethoxy-2-nitroph.	WK-X-57	4,77 ± 0,17	5,30 ± 0,14	-
OCH ₃	db	4-Chinolin	WK-X-58	5,15 ± 0,32	5,65 ± 0,27	5,49 ± 0,03
OCH ₃	db	2-Amino-4,5-dimethoxyph.	WK-X-59	-	-	-
OCH ₃	-CH ₂ -	2-Nitrophenyl	WK-X-64	5,43 ± 0,20	-	-
OCH ₃	-CH=CH-	4,5-Dimethoxy-2-nitroph.	WK-X-65	5,72 ± 0,16	-	-
OCH ₃	db	3,4-Methylenedioxyph.	WK-X-66	5,71 ± 0,11	5,85 ± 0,19	5,47 ± 0,05
OCH ₃	-CH ₂ -	2-Aminophenyl	WK-X-69	-	-	-
OCH ₃	-NH-	2-Nitrophenyl	WK-X-74	-	-	-
OCH ₃	-NH-	2-Aminophenyl	WK-X-76	4,48	-	-
OCH ₃	-CH ₂ -O-	2-Nitrophenyl	WK-X-81	6,52 ± 0,25	6,64 ± 0,17	7,11 ± 0,06
OCH ₃	-CH ₂ -O-	2-Aminophenyl	WK-X-82	5,41 ± 0,17	6,00 ± 0,05	6,17 ± 0,04
OCH ₃	NH	3-Nitrophenyl	WK-X-85	6,22 ± 0,11	-	5,00 ± 0,03
OCH ₃	NH	4-Nitrophenyl	WK-X-86	5,34	-	-
OCH ₃	NH	3-Aminophenyl	WK-X-88	-	-	-
OCH ₃	NH	4-Aminophenyl	WK-X-89	4,57	-	-
OCH ₃	-CH=CH-	4-Chlorphenyl	WK-X-96	6,18 ± 0,06	5,90 ± 0,22	-
OCH ₃	-CH=CH-	Phenyl	WK-X-97	-	-	-
OCH ₃	db	2-Bromphenyl	WK-Y-1	5,12 ± 0,33	5,46 ± 0,54	5,75 ± 0,03
OCH ₃	db	3-Bromphenyl	WK-Y-2	5,71 ± 0,26	5,49 ± 0,63	5,53 ± 0,02
OCH ₃	db	4-Bromphenyl	WK-Y-3	5,45 ± 0,23	5,61 ± 0,37	5,51 ± 0,03
OCH ₃	-CH=CH-	2-Nitrophenyl	WK-Y-14	-	-	-
OCH ₃	db	Phenyl	WK-Y-15	5,32 ± 0,27	-	-
OCH ₃	-CH ₂ -O-	Phenyl	WK-Y-22	-	-	-
OCH ₃	db	1-Naphthyl	WK-Y-25	5,85 ± 0,12	5,78 ± 0,18	5,63 ± 0,04
OCH ₃	db	2-Naphthyl	WK-Y-26	6,11 ± 0,11	6,11	5,73 ± 0,02
OCH ₃	db	2-Chinoxalin	WK-Y-27	6,24 ± 0,15	6,68 ± 0,16	6,13 ± 0,03
OCH ₃	db	2-Chinolin	WK-Y-28	6,07 ± 0,18	6,11 ± 0,37	6,02 ± 0,03
OCH ₃	db	3-Pyridin	WK-Y-29	5,32 ± 0,12	5,50 ± 0,23	5,91 ± 0,03
OCH ₃	db	6-Chinolin	WK-Y-30	6,14	6,13	6,01 ± 0,02
OCH ₃	-CH ₂ -O-	4-Nitrophenyl	WK-Y-46	-	-	-

*db: direkte Bindung

Tab. 16: Niedermolekulare Modulatoren mit Tetrahydroisochinolin-ethylphenyl-amin-Partialstruktur.

Pharmakologische Testung

Dies könnte darauf hindeuten, dass diese Verbindung eine Prävalenz zur Hoechst-Bindungstelle von P-gp aufweist.

Modifikationen der 3-Chinolin-Partialstruktur führen bei dieser Verbindung sowohl im Calcein- als auch im Hoechst-Assay zu verringerten pIC_{50} -Werten. Dabei scheint die Stellung des Bicyklus von besonderem Interesse zu sein. Variationen zu 2-Chinolin (WK-Y-28), bzw. 6-Chinolin (WK-Y-30) führen nur zu einer geringfügig niedrigeren Aktivität. Verändert man jedoch die Richtung in die der Ring sich ausdehnt, wie beim 4-Chinolin (WK-X-58) kommt es im Hoechst-Assay zu einer deutlichen Abnahme des pIC_{50} -Wertes (5,65) um mehr als eine Zehnerpotenz. Die Naphthyl-Analoga dieser beiden Verbindungen verdeutlichen ebenfalls, dass durch Veränderung der Ausrichtung des Ringsystems die Wirksamkeit der Modulatoren abfällt. Das 2-Naphthyl-Derivat (WK-Y-26, pIC_{50} 6,11) besitzt eine deutlich höhere Aktivität als das 1-Naphthyl-Derivat (WK-Y-25, pIC_{50} 5,78), bei dem sich der zweite Ring analog zu WK-X-58 in eine andere Raumrichtung ausdehnt.

Eine Verkleinerung des aromatischen Rings zu einem Monozyklus geht mit kleineren pIC_{50} -Werten einher. Dies zeigt sich besonders bei dem 3-Pyridin substituierten Derivat. Die Einführung eines zweiten Stickstoffatoms in den Heterozyklus zum 2-Chinoxalin (WK-Y-27) führt zu einem ähnlich potenten P-gp Modulator. WK-Y-27 erscheint im Hoechst-Assay etwas stärker inhibitorisch als im Calcein-Assay. In Abbildung 65 sind die Einflüsse der verschiedenen Strukturmodifikationen schematisch dargestellt.

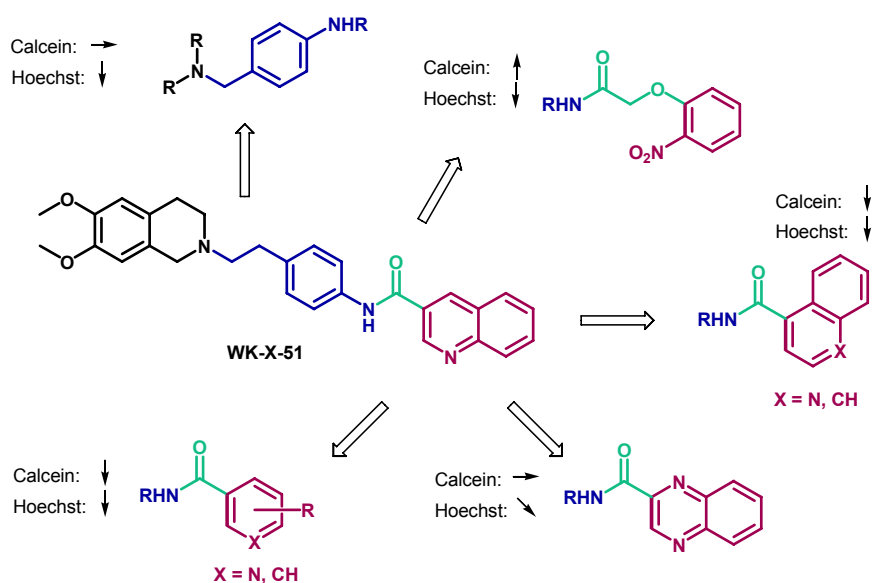


Abb. 65: Schematische Darstellung der Strukturmodifikationen von WK-X-51 und ihrer pharmakologischen Auswirkungen.

Pharmakologische Testung

Alle drei Testsysteme weisen WK-X-81 als hochpotenten P-gp-Inhibitor aus. Die Einführung einer Methylether Partialstruktur im Verknüpfungsbereich und die damit einhergehende Verlängerung der Verbindung führen zu einer deutlich ausgeprägteren P-gp-Inhibition im Vergleich zu WK-X-14. Im Calcein- ($pIC_{50} = 6,52$) und im Dauno-Influx-Assay ($pIC_{50} = 7,11$) gehört diese Verbindung zu den potentesten. Dies ist von besonderem Interesse, da diese Verbindung deutlich stärker P-gp zu inhibieren vermag als die aus dieser Vorstufe synthetisierten 2-Aminophenoxyessigsäure-Derivate (Tab. 16). Die Größe der Verbindungen scheint also nicht der allein entscheidende Faktor für die Aktivität zu sein. Betrachtet man andere als Synthesevorstufen zum Einsatz gekommene Verbindungen mit Ihren weiteren Umsatzprodukten, so inhibieren diese P-gp meist deutlich weniger als ihre korrespondierenden „großen“ Derivate. Nur bei WK-X-81 verhält sich anders.

Die Reduktion der Nitro-Gruppe zum aromatischen Amin geht mit einer deutlichen Abnahme der pIC_{50} -Werte einher.

In Tabelle 17 sind alle niedermolekularen P-gp-Modulatoren mit veränderter Linker- und Amino-Teilstruktur wiedergegeben.

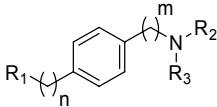
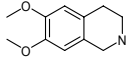
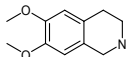
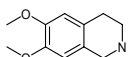
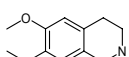

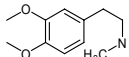
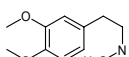
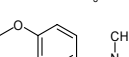
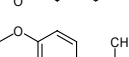
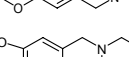
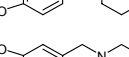
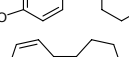
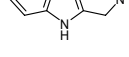
Wie sich anhand der Verbindung WK-Y-34 zeigt, führt eine Verkürzung des Linkerbereichs zu einer leichten Abnahme des pIC_{50} -Wertes (6,59) im Hoechst-Assay im Vergleich zu WK-X-51.

Bis zum Zeitpunkt der Fertigstellung dieser Arbeit waren leider noch nicht alle Verbindungen eingehend untersucht worden. Um weitere Aussagen über die eingefügten Strukturmodifikationen machen zu können, im Besonderen im Bereich der Aminokomponente, müssen die pharmakologischen Daten der noch fehlenden Verbindungen abgewartet werden.

Bei den P-gp-Modulatoren mit Arzneistoff-Partialstruktur zeigen besonders die Verbindungen WK-X-54 mit einer Indoprofen- und WK-X-87 mit einer Ketoprofen-Teilstruktur eine sehr gute Inhibition von P-gp (Tab. 18).

Das photoaktivierbare Derivat WK-X-87 ($pIC_{50} = 6,14$) mit einer fast 10-fach stärkeren Aktivität an P-gp als Verapamil ist dabei von besonderem Interesse. Als Photolabel für Photoaffinitätsmarkierungen von P-gp erscheint dieses Derivat aufgrund der biologischen Ergebnisse gut geeignet zu sein.

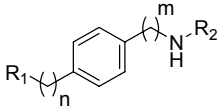
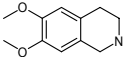
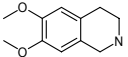
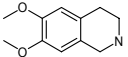
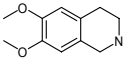
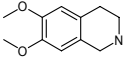
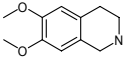
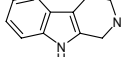
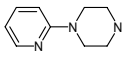
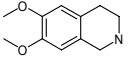
Pharmakologische Testung

R_1	n	m	R_2	R_3	Name	Calcein-Assay $pIC_{50} \pm SD$	Hoechst-Assay $pIC_{50} \pm SD$	Dauno-Influx $pIC_{50} \pm SE$
								
Varierte Linker-Partialstruktur (Kap. 3.7.2)								
	1	-	3-Chinolin-carbonsäure	H	WK-Y-34	6,17 ± 0,21	6,59 ± 0,04	-
	1	-	2-Nitrophenoxy-essigsäure	H	WK-Y-36	-	-	-
	1	1	3-Chinolin-carbonsäure	H	WK-Y-35	-	-	-
	2	-	3-Chinolin-carbonsäure		WK-Y-32	-	-	-
Varierte Amino-Partialstruktur (Kap. 3.7.3)								
	2	-	3-Chinolin-carbonsäure	H	WK-Y-47	-	-	-
	2	-	2-Nitrophenoxy-essigsäure	H	WK-Y-48	-	-	-
	2	-	3-Chinolin-carbonsäure	H	WK-Y-49	-	-	-
	2	-	2-Nitrophenoxy-essigsäure	H	WK-Y-50	-	-	-
	2	-	3-Chinolin-carbonsäure	H	WK-Y-43	-	-	-
	2	-	2-Nitrophenoxy-essigsäure	H	WK-Y-44	-	-	-
	2	-	3-Chinolin-carbonsäure	H	WK-Y-23	5,17 ± 0,04	-	5,46 ± 0,03
	2	-	3-Chinolin-carbonsäure	H	WK-Y-24	6,25 ± 0,01	6,11	4,94 ± 0,04

Tab. 17: Niedermolekulare Modulatoren mit variiertem Linker- und Amino-Teilstruktur.

Interessant sind auch die biologischen Daten der Vorstufe WK-X-12, bei der sowohl die Verknüpfung als auch der aromatische Bereich fehlt. Diese Verbindung übt auch in hohen Konzentrationen von 10 μ M keine Inhibition von P-gp aus. Dies lässt darauf schließen, dass der aromatische Bereich und eventuell auch die Verknüpfung essenziell für eine Inhibition des P-gps sein könnten. Die Bedeutung der basischen Aminokomponente ist ebenso hervorzuheben. Ein Fehlen dieser Partialstruktur führt bei der Verbindung WK-X-8 zu vollständigem Wirkverlust. Das ist umso erstaunlicher, da die Strukturanaloga dieser Substanz mit Tetrahydroisochinolin-Teilstruktur (WK-X-24 und WK-X-32) zu den potentesten Modulatoren gehören.

Pharmakologische Testung

R_1	n	m	R_2	Name	Calcein- Assay $pIC_{50} \pm SD$	Hoechst- Assay $pIC_{50} \pm SD$	Dauno- Influx $pIC_{50} \pm SD$
							
<i>Modulatoren mit Arzneistoff-Partialstruktur (Kap. 3.8)</i>							
	2	-	Indoprofen	WK-X-54	$6,21 \pm 0,05$	-	$6,24 \pm 0,02$
	2	-	2-Phthalimido-benzoessäure	WK-X-55	-	-	-
	2	-	Naproxen	WK-X-62	$5,20 \pm 0,30$	-	$6,44 \pm 0,02$
	2	-	Ketoprofen	WK-X-87	$6,14 \pm 0,13$	-	$6,17 \pm 0,02$
	2	-	Ethacrynsäure	WK-Y-12	-	-	$6,02 \pm 0,03$
	2	-	Ofloxacin	WK-Y-13	-	-	$5,82 \pm 0,03$
	2	-	Indoprofen	WK-Y-9	$5,13 \pm 0,12$	-	-
	2	-	Indoprofen	WK-Y-10	-	-	-
<i>Vorstufe (Kap. 3.2.1)</i>							
	2	-	H	(4) WK-X-12	Kein Effekt bei 10 μ M	-	-
<i>Nicht basische Tariquidar Analoga (Kap. 3.6)</i>							
OH	2	-	2-(Phenyl-carbon- säureamid)-benzoessäure	WK-X-7	-	-	-
OH	2	-	2-(Chinolin-3-carbon- säureamid)-benzoessäure	WK-X-8	Kein Effekt bei 10 μ M	-	-
OH	2	-	2-(2-Nitrophenyl-carbon- säureamid)-benzoessäure	WK-X-9	-	-	-
OH	2	-	2-(2-Aminophenyl-carbon- säureamid)-benzoessäure	WK-X-20	-	-	-
OH	2	-	2-(4-Nitrophenyl-carbon- säureamid)-benzoessäure	WK-X-27	-	-	-
OH	2	-	2-(4-Toluyyl-carbon- säureamid)-benzoessäure	WK-X-28	-	-	-

Tab. 18: Dargestellte Modulatoren Arzneistoff-Partialstruktur und diverse Substanzen.

Pharmakologische Testung

Im ATPase-Assay wurde eine Reihe von Modulatoren untersucht, um aufzuklären ob diese P-gp-Inhibitoren einen direkten Einfluss auf die Enzym-Aktivität des P-Glykoproteins besitzen.

Durch den ATPase-Assay können drei pharmakologische Kenngrößen bestimmt werden: pK_m^D , pK_i und V_{max} . Der pK_m^D -Wert ist der negative dekadische Logarithmus der Substrat-Konzentration, bei der die Aktivität die Hälfte des Maximums erreicht. Entsprechend ist V_{max} die maximal erreichbare Aktivierung. Die Variable pK_i liefert den negativen dekadischen Logarithmus der Konzentration, bei der eine halbmaximale Inhibierung des Transportproteins vorliegt.

Der V_{max} -Wert ist in einem Transportmodell dabei ein Maß für die maximale ATPase-Aktivität und damit ein Maß für die Geschwindigkeit der Hydrolyse-Aktivität. Eine gesteigerte ATP-Hydrolyse erlaubt keinen Rückschluss auf eine gesteigerte Transportleistung von P-gp, da es Substanzen gibt, die die ATPase Aktivität von P-gp steigern, aber nicht transportiert werden (z.B. Progesteron). Der pK_m^D -Wert kennzeichnet die Substrat-Konzentration bei der die „High-Affinity“ Bindungsstelle halbmaximal durch den Modulator besetzt ist (siehe Kap. 1.3.2; Transportmodell von *Al-Shawi* et al.). Bei weiter steigender Substrat-Konzentration bindet der Modulator an der „Low-Affinity“ Bindungsstelle und inhibiert dadurch die ATPase. Die Substrat-Konzentration bei der dies halbmaximal geschieht ist der pK_i -Wert.

Alle Substanzen stimulieren zunächst die Umsetzung von ATP zu ADP und P_i über das Maß der basalen Aktivität hinaus und werden somit von P-gp als Ligand erkannt. Die stärkste Stimulierung der ATPase-Aktivität erreicht WK-X-51. Die Stimulation ist jedoch nur 75% der P-gp Aktivierung von Verapamil. Alle anderen Verbindungen üben einen deutlich geringeren Stimulus auf die ATPase-Aktivität aus.

Dem gegenüber besitzt WK-X-51 die niedrigste Affinität aller synthetisierten Modulatoren zur „High-Affinity“ Bindungsstelle. WK-X-84 scheint mit einem pK_m^D -Wert von 6,15 eine Affinität zur „High-Affinity“ Bindungsstelle im submikromolaren Bereich zu besitzen. Die höchste Affinität zur „Low-Affinity“ Bindungsstelle zeigt WK-Y-26 mit einem pK_i -Wert von 4,08. Aufgrund der zum Teil großen Fehlerbereiche der Messwerte ist eine genaue Interpretation der Ergebnisse jedoch schwierig, da viele der Affinitätsdaten nicht signifikant unterschiedlich sind.

In Tabelle 19 sind die Ergebnisse des ATPase-Assays zusammengefasst.

Pharmakologische Testung

Substanz	B	$V_{max} \pm SE$	$pK_m^D \pm SE$	$pK_i \pm SE$	n
Verapamil	100,0	800,0 ± 96,5	4,89 ± 0,22	2,89 ± 0,23	5
Imatinib	100,0	174,7 ± 45,5	7,89 ± 0,52	4,42 ± 0,43	2
Daunorubicin	100,0	208,0 ± 2,4	6,08 ± 0,04	2,83 ± 0,03	1
Quercetin	100,0	239,9 ± 22,9	6,64 ± 0,21	3,78 ± 0,15	2
WK-X-24	100,0	188,7 ± 24,1	5,13 ± 0,26	2,65 ± 0,75	3
WK-X-34	100,0	303,5 ± 51,3	5,27 ± 0,22	3,49 ± 0,28	3
WK-X-44	100,0	215,7 ± 14,0	5,94 ± 0,20	3,15 ± 0,24	2
WK-X-49	100,0	178,8 ± 11,0	5,80 ± 0,27	1,97 ± 1,04	2
WK-X-50	100,0	233,9 ± 22,1	5,32 ± 0,19	3,47 ± 0,16	2
WK-X-51	100,0	606,7 ± 146,1	4,96 ± 0,19	3,93 ± 0,23	3
WK-X-52	100,0	235,9 ± 16,3	5,19 ± 0,15	2,31 ± 1,14	2
WK-X-58	100,0	245,3 ± 29,4	5,51 ± 0,25	3,01 ± 0,94	3
WK-X-84	100,0	180,2 ± 16,2	6,15 ± 0,40	3,67 ± 0,23	1
WK-X-87	100,0	289,0 ± 47,2	5,59 ± 0,24	3,87 ± 0,39	4
WK-Y-26	100,0	361,6 ± 110,6	5,09 ± 0,39	4,08 ± 0,34	2

Tab. 19: Ergebnisse des ATPase-Assay ausgewählter Verbindungen. B (basale ATPase-Aktivität); V_{max} (stimulierte ATPase-Aktivität (% von B)); pK_m^D (halbmaximale Stimulation); pK_i (halbmaximale Inhibition); S_E (Standardfehler) [Sievers, Diss.].

4.1.3.2 *In vivo* Ergebnisse

WK-X-34 wurde *in vivo* von immunokomprimierten- und wild-typ-Mäusen gut vertragen. Tägliche intraperitoneale Dosen von bis zu 50 mg/kg WK-X-34 wurden ohne Krankheitsanzeichen (Gewichtsverlust, Appetitverlust, Verhaltensänderungen) toleriert [Jekerle et al., Int. J. Cancer in press]. Ein Test auf Hepatotoxizität war sowohl in der Kontroll- als auch in der mit WK-X-34 behandelten Gruppe negativ (ALT Heptotoxizitätstest).

In vivo Studien in humanen Ovarialkarzinom Xenograft-Modellen konnten zeigen, dass in Gegenwart von WK-X-34 die Aufnahme des P-gp-Substrats ^{99m}Tc -Sestamibi in den resistenten Tumor erhöht war. Die Ergebnisse der ^{99m}Tc -Sestamibi Imaging Experimente wiesen eine signifikante 136%ige Steigerung der ^{99m}Tc -Sestamibi Aufnahme in dem P-gp überexprimierenden Tumor in WK-X-34 vorbehandelten Mäusen gegenüber den Kontrolltieren auf (Abb. 67). Weitere signifikante Verstärkungen der ^{99m}Tc -Sestamibi Aufnahme konnten im Besonderen für das Gehirn (147%), aber auch für Leber und Darm detektiert werden. Diese Ergebnisse lassen auf Inhibierung von physiologisch exprimiertem P-gp in der Leber oder der Blut-Hirn Schranke schließen. Diese Ergebnisse wurden durch die Biodistributions-Studie bestätigt. In der Biodistributions-Studie zeigte sich sogar eine 900%

Pharmakologische Testung

Erhöhung der ^{99m}Tc -Sestamibi Menge im Gewebe des resistenten Tumors der mit WK-X-34 behandelten Gruppe (berechnet als Tumor/Muskel-Ratio) gegenüber der Kontroll-Gruppe zwei Stunden nach ^{99m}Tc -Sestamibi Injektion (Tab. 20). Weitere signifikante Veränderungen der ^{99m}Tc -Sestamibi Aufnahme konnten für das Gehirn, die Leber, und das Herz gezeigt werden.

Die *in vivo* Ergebnisse zeigen, dass WK-X-34 den P-gp vermittelten MDR Phänotyp in humanen Ovarialkarzinomen schon ca. 1 Stunde nach einer intraperitonealen Injektion hemmen kann. Wie bei P-gp-Modulatoren häufig zu beobachten, sind Effekte auch in Organen detektierbar, die auf physiologische Weise P-gp exprimieren (z.B. Leber, Blut-Hirn-Schranke). In Abbildung 68 zeigt sich die zeitlich deutlich schnellere ^{99m}Tc -Sestamibi Verteilung in die Tumore und besonders ins Gehirn der WK-X-34 vorbehandelten Mäuse im Gegensatz zur Kontroll-Gruppe. Schon nach 15 Minuten ist die ^{99m}Tc -Sestamibi Konzentration in den WK-X-34 vorbehandelten Mäusen (unten) signifikant größer als in der Kontroll-Gruppe (oben).

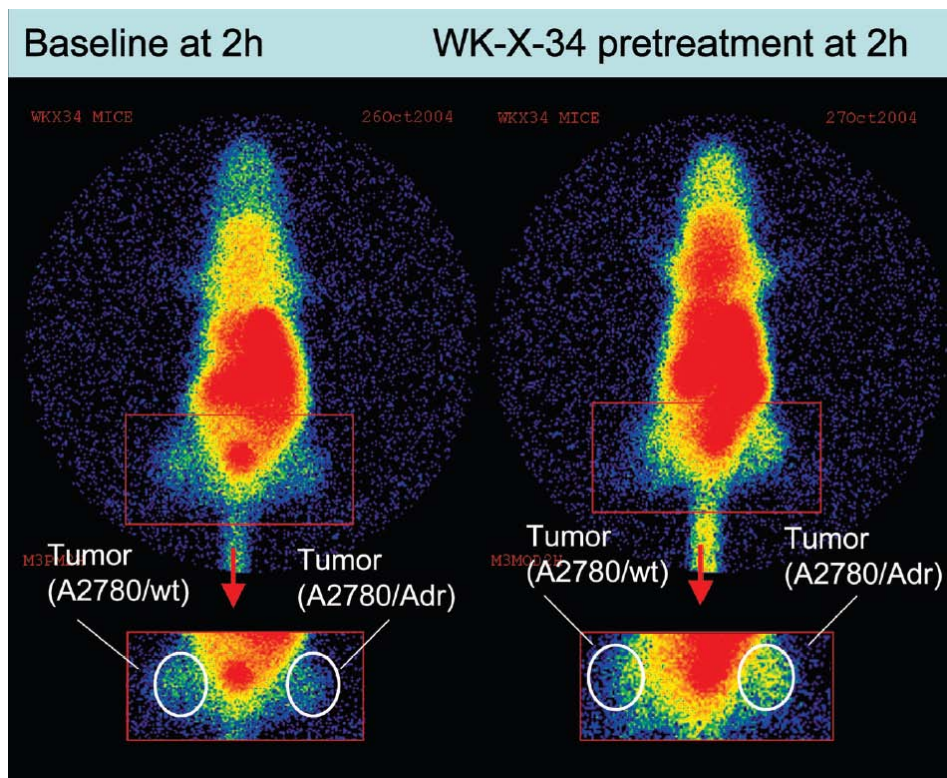


Abb. 67: Normalisierte ^{99m}Tc -Sestamibi-Images einer Kontroll- (links) und einer Test-Maus (rechts) 2 Stunden nach Injektion [Jekerle et al., Int. J. Cancer in press].

Pharmakologische Testung

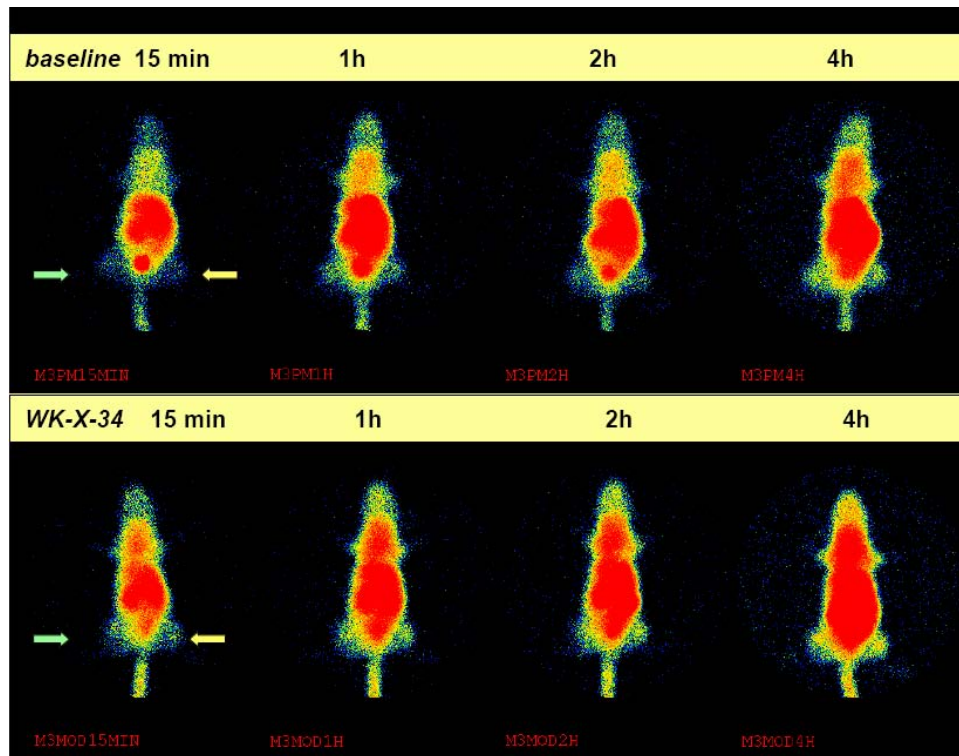


Abb. 68: Verlauf der ^{99m}Tc -Sestamibi-Distribution in den Kontroll- (oben) und Test-Mäusen (unten) über den Zeitraum von 4 Stunden [Jekerle, Diss.].

Gewebe	% Dosis/g Gewebe*		Kontroll-Wert* (%)
	Kontrolle	WK-X-34 behandelt	
Blut	0,18 ± 0,02	0,11 ± 0,02	61 ± 11
Herz	5,90 ± 1,13	10,09 ± 1,55	171 ± 26
Leber	5,83 ± 0,36	11,91 ± 2,44	204 ± 42
Niere	14,60 ± 1,24	15,07 ± 1,45	103 ± 10
Darm	6,50 ± 2,69	5,09 ± 1,47	78 ± 23
Muskel	1,63 ± 0,13	2,58 ± 0,22	158 ± 13
Gehirn	0,06 ± 0,00	0,10 ± 0,02	166 ± 33
A2780Adr Tumor	0,09 ± 0,12	0,95 ± 0,32	1055 ± 356
A2780wt Tumor	0,13 ± 0,06	0,58 ± 0,38	446 ± 292
Gewebe/Muskel Quotient			
A2780Adr Tumor	0,05 ± 0,001	0,45 ± 0,20	900 ± 392
A2780wt Tumor	0,074 ± 0,05	0,28 ± 0,31	384 ± 419

*Mittelwert ± Standardabweichung für 4-5 Maus Xenografts in jeder Gruppe.

Tab. 20: Biodistribution von ^{99m}Tc -Sestamibi in Kontroll- und WK-X-34 behandelten Maus Xenografts [Jekerle et al., Int. J. Cancer in press].

4.2 MRP-Aktivität

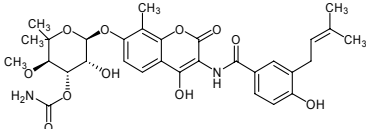
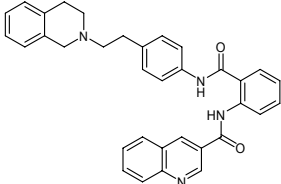
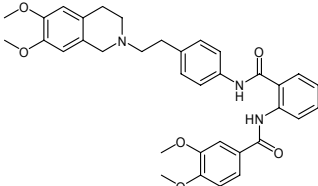
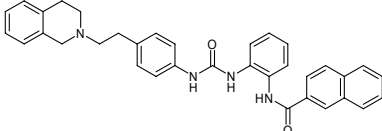
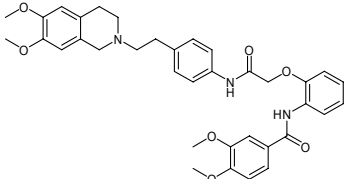
Um die Selektivität der synthetisierten P-gp-Modulatoren zu evaluieren, wurde ein Teil der Verbindungen auf Interaktionen mit anderen MDR Transportproteinen getestet. Die Interaktion der Modulatoren mit den Multidrug Resistance Associated Transportern MRP1, MRP2 und MRP3 wurde in einem 5-Carboxyfluorescein-diacetat (5-CFDA) Efflux-Assay untersucht [Draper et al., 1997]. Dafür verwendete man die selektiv mit humanem MRP1 transfizierte humane Ovarialkarzinom Zelllinie HeLa-MRP1 und die selektiv mit humanem MRP2 bzw. MRP3 transfizierten Nierenkarzinom Zellen vom Hund MDCK-MRP2/3. Dieser Assay basiert auf der Diffusion des unpolaren und nicht fluoreszierenden 5-CFDA-Esters in die Zellen und anschließender Spaltung des Esters durch zelluläre Esterasen zum fluoreszierenden 5-Carboxyfluorescein (5-CF), einem MRP Substrat. Die Konzentration an intrazellulär akkumuliertem 5-CF kann mit Hilfe des Microplate-Readers bei 540 nm bestimmt werden.

Bei allen getesteten Verbindungen (WK-X-24, WK-X-34, WK-X-50 und WK-X-84) wurden keine nennenswerten MRP-Interaktionen detektiert [Jekerle et al., Cancer Chemother. Pharmacol., in press].

4.3 BCRP-Aktivität

Zur Untersuchung der Interaktion der Modulatoren mit BCRP kam ein Mitoxantron Efflux-Assay zur Anwendung [Minderman et al., 2002]. In diesem Assay wurde der durch BCRP vermittelte Efflux des Substrats Mitoxantron in der BCRP überexprimierenden humanen Brustkrebs Zelllinie MCF7/mx mittels Durchflußzytometrie gemessen und daraus die Inhibierung des BCRP ermittelt [Jekerle et al., Int. J. Cancer in press].

Alle getesteten Verbindungen zeigten eine Inhibierung von BCRP (Tab. 21). Die BCRP Inhibition lag in der Größenordnung des etablierten BCRP-Inhibitors Novobiocin [Yang et al., 2003]. Betrachtet man die pIC_{50} -Werte fällt die Inhibition von BCRP im Vergleich zu P-gp jedoch gering aus.

Struktur	Name	pIC_{50}
	Novobiocin	$4,60 \pm 0,03$
	WK-X-24 (XR9577)	$4,68 \pm 0,05$
	WK-X-34	$4,57 \pm 0,09$
	WK-X-50	$4,99 \pm 0,08$
	WK-X-84	$4,68 \pm 0,04$

Tab. 21: BCRP-Inhibition ausgewählter Modulatoren [Jekerle, Diss.].

4.4 Bestimmung der Zytotoxizität mittels MTT-Assay

Mit Hilfe des MTT-Assays kann die Zytotoxizität von neuen Wirkstoffen bestimmt werden [Müller et al, 2004]. Eine andere Anwendung besteht in der Bestimmung des Resistenzgrades von Tumorzellen gegen bestimmte Zytostatika.

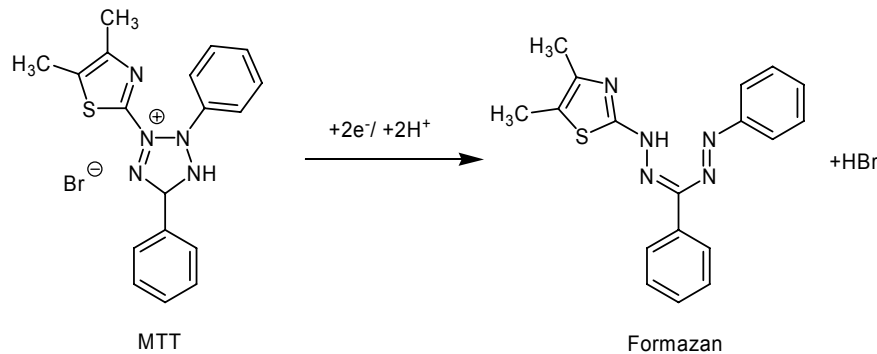


Abb. 69: Reduktion von MTT durch mitochondriale Dehydrogenasen zu Formazan.

In lebenden Zellen wird MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium Bromid) durch mitochondriale Dehydrogenasen zu blau gefärbtem Formazan umgewandelt (Abb. 69).

Werden die Zellen mit einer Substanz vorbehandelt, die sie schädigt oder abtötet, wird abhängig von der Konzentration der Verbindung weniger MTT zu Formazan umgesetzt. Die Absorption des entstandenen Farbstoffes Formazan wird bestimmt, sie ist proportional zur Zellvitalität.

Eine Auswahl interessanter P-gp-Modulatoren (z.B. WK-X-34 und WK-X-51) wurde mit Hilfe des MTT-Assays untersucht. Alle untersuchten Verbindungen zeigten an der P-gp exprimierenden Ovarialkarzinom Zelllinie A2780Adr keine Toxizität nach 72 Stunden Inkubation mit einer Modulator Konzentration von 3 μM .

4.5 Dopamin

Aufgrund bestehender struktureller Ähnlichkeiten der neu synthetisierten P-gp-Modulatoren mit Literaturbekannten D₃-Rezeptor-Antagonisten (z.B.: SB-277011 [Stemp et al., 2000], BP-897 [Hackling und Stark, 2002]) wurde mit ausgewählten Verbindungen die Affinität gegenüber dem D₃-Rezeptorsubtyp überprüft.

Die Charakterisierung erfolgte durch Radioligand-Bindungsstudien an HEK293-Membranpräparationen, die den humanen D₃-Rezeptor rekombinant exprimieren. Zur Durchführung der heterologen Konkurrenzexperimente wurden steigende Konzentrationen der Testsubstanzen in Gegenwart konstanter Konzentrationen des Radioliganden ([³H]-Spiperon: 0,1 nM finale Konzentration, K_D = 0,84 ± 0,10 nmol/l) und der Membranpräparation bis zur Einstellung des Gleichgewichtszustandes inkubiert. Die Inkubationszeit in einem auf 25°C temperiertem Wasserbad betrug 3 Stunden. Nach Ablauf der Inkubationsperiode erfolgte durch Filtration über PEI-behandelte Glassinter-Rundfilter und Waschen mit eisgekühltem Spülpuffer die Abtrennung des ungebundenen Radioliganden. Die auf den Filtern zurückgehaltene membrangebundene Radioaktivität wurde nach einer mindestens zwölfstündigen Inkubation in der Szintillationslösung (Beckmann Readyprotein) unter Verwendung eines Szintillationszählgerätes detektiert. Die Bestimmung der unspezifischen Bindung erfolgte in Gegenwart von 1 µM Haloperidol.

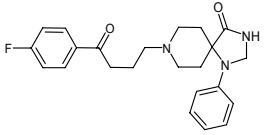
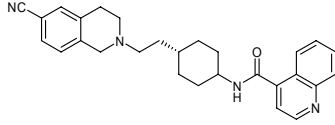
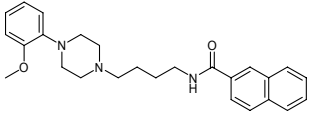
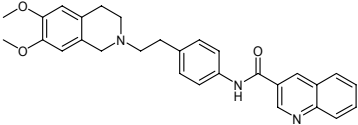
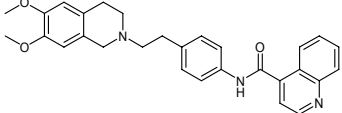
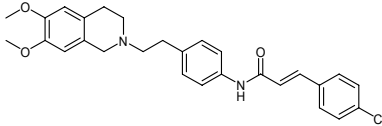
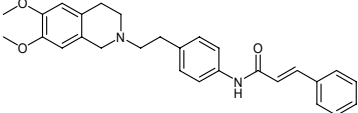
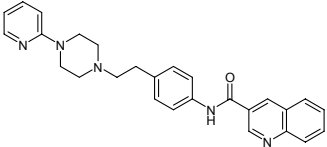
Die erhaltenen Daten wurden einer nichtlinearen Regressionsanalyse unter Anwendung der Vier-Parameter-Logistischen-Gleichung unterzogen. Aus den Wendepunkten der sich ergebenden sigmoidalen Konkurrenzkurven konnten die IC₅₀-Werte der Testsubstanzen ermittelt werden, die sich unter Anwendung der Cheng-Prusoff-Gleichung in K_i-Werte umwandeln ließen. Die Ergebnisse der Radioligand-Bindungsstudien sind in Tabelle 22 wiedergegeben.

Alle getesteten Verbindungen besitzen nanomolare Affinität zum D₃-Rezeptor-Subtyp. Zwei Substanzen weisen K_i-Werte von 20,6 nmol/l (WK-X-97) und 22,9 nmol/l (WK-X-96) auf und sind deshalb als besonders affin anzusehen. Diese Verbindungen liegen im Affinitätsbereich des Literaturbekannten D₃-Rezeptor-Antagonisten SB-277011.

Die untersuchten Verbindungen weisen eine deutliche antagonistische Wirkung am D₃-Rezeptor-Subtyp auf. Das Potential dieser Verbindungen sollte nicht vernachlässigt werden, ergaben sich doch hier Hinweise auf mögliche zu erwartende

Pharmakologische Testung

Nebenwirkungen, die die eigentliche Anwendung als P-gp-Modulatoren einschränken.

Struktur	Name	K_i (nmol/l)
	Spiperon	0,84
	SB-277011	10
	BP-897	0,92
	WK-X-51	125,2
	WK-X-58	109,5
	WK-X-96	22,9
	WK-X-97	20,6
	WK-Y-24	90,8

Tab. 22: Affinitäten ausgewählter P-gp-Modulatoren am D₃-Rezeptor.

5 Dreidimensionale quantitative Struktur-Wirkungs-Beziehungen (3D-QSAR) von P-gp-Modulatoren

5.1. Konformationsanalyse und Überlagerung der Moleküle

5.1.1. Einleitung

Quantitative Struktur-Wirkungsbeziehungen (QSAR) versuchen die Zusammenhänge zwischen chemischen Strukturen und biologischen Wirkungen zu erfassen und sie quantitativ mit mathematischen Modellen zu beschreiben. Die untersuchten Verbindungen sollten dabei am gleichen biologischen Target mit identischem Wirkmechanismus angreifen, sowie ein ähnliches Grundgerüst und äquivalente Pharmakophore aufweisen [Waller et al., 1996]. Bei QSAR-Untersuchungen geht man davon aus, dass Unterschiede der Wechselwirkung von Substanzen mit biologischen Makromolekülen auf Unterschiede in den physikochemischen Eigenschaften der Substanzen beruhen.

3D-QSAR-Methoden versuchen Bindungseigenschaften mit Kenngrößen zu korrelieren, die aus der dreidimensionalen Struktur der Liganden abgeleitet werden. Daher kommt der Konformation der Liganden besondere Bedeutung zu. Im Optimalfall greift man auf experimentell bestimmte 3D-Strukturen (Röntgenkristallstrukturen) der Liganden zurück. Existieren jedoch keine experimentellen Daten ist man auf die Generierung eines Modells der 3D-Strukturen angewiesen.

5.1.2 Der Datensatz

Der einer 3D-QSAR-Untersuchung zugrunde liegende Datensatz muss mehrere Bedingungen erfüllen:

1. Alle Verbindungen müssen dem gleichen Wirkmechanismus folgen, d.h. das gleiche biologische Target besitzen.
2. Die Testwerte sollten eine möglichst hohe Varianz aufweisen, d.h. der Aktivitätsbereich aller getesteten Verbindungen sollte im Idealfall mindestens drei Größenordnungen [Cramer et al., 1988] umfassen. Eine möglichst gleichmäßige Verteilung über den gesamten Wertebereich ist dabei von Vorteil.
3. Die strukturellen Unterschiede innerhalb des Datensatzes sollten nicht zu stark sein, da sonst kein sinnvolles Alignment mehr möglich ist.

3D-QSAR der P-gp-Modulatoren

Für die 3D-QSAR-Untersuchung werden die biologischen Aktivitätsdaten des Hoechst-Assays verwendet (Tab. 23). Dieser Datensatz beinhaltet 27 Verbindungen. 3D-QSAR-Untersuchungen mit den Aktivitätsdaten des Calcein-Assays werden im Rahmen der Dissertation von Henrik Müller durchgeführt [Müller, Diss.].

R_1	n	m	X*	R_2	Name	Hoechst-Assay $pIC_{50} \pm SD$
OCH ₃	2	-	db	2-Nitrophenyl	WK-X-14	5,26 ± 0,03
H	2	-	db	2-Nitrophenyl	WK-X-15	4,88 ± 0,02
OCH ₃	2	-	db	2-Aminophenyl	WK-X-16	4,95 ± 0,24
H	2	-	db	2-Aminophenyl	WK-X-17	5,04 ± 0,04
OCH ₃	2	-	db	4-Nitrophenyl	WK-X-30	5,86 ± 0,06
H	2	-	db	4-Nitrophenyl	WK-X-31	5,30 ± 0,16
OCH ₃	2	-	db	4-Aminophenyl	WK-X-33	5,19 ± 0,09
H	2	-	db	4-Aminophenyl	WK-X-37	5,38 ± 0,32
OCH ₃	2	-	db	3-Chinolin	WK-X-51	7,01 ± 0,25
H	2	-	db	3-Chinolin	WK-X-52	6,38 ± 0,09
OCH ₃	2	-	db	3,4-Dimethoxyph.	WK-X-56	5,55 ± 0,25
OCH ₃	2	-	db	4,5-Dimethoxy-2-nitrophenyl	WK-X-57	5,30 ± 0,14
OCH ₃	2	-	db	4-Chinolin	WK-X-58	5,65 ± 0,27
OCH ₃	2	-	db	3,4-Methylendioxyphenyl	WK-X-66	5,85 ± 0,19
OCH ₃	2	-	-CH ₂ -O-	2-Nitrophenyl	WK-X-81	6,64 ± 0,17
OCH ₃	2	-	-CH ₂ -O-	2-Aminophenyl	WK-X-82	6,00 ± 0,05
OCH ₃	2	-	-CH=CH-	4-Chlorphenyl	WK-X-96	5,90 ± 0,22
OCH ₃	2	-	db	2-Bromphenyl	WK-Y-1	5,46 ± 0,54
OCH ₃	2	-	db	3-Bromphenyl	WK-Y-2	5,49 ± 0,63
OCH ₃	2	-	db	4-Bromphenyl	WK-Y-3	5,61 ± 0,37
OCH ₃	2	-	db	1-Naphthyl	WK-Y-25	5,78 ± 0,18
OCH ₃	2	-	db	2-Naphthyl	WK-Y-26	6,11
OCH ₃	2	-	db	2-Chinoxalin	WK-Y-27	6,68 ± 0,16
OCH ₃	2	-	db	2-Chinolin	WK-Y-28	6,11 ± 0,37
OCH ₃	2	-	db	3-Pyridin	WK-Y-29	5,50 ± 0,23
OCH ₃	2	-	db	6-Chinolin	WK-Y-30	6,13
OCH ₃	1	1	db	3-Chinolin	WK-Y-34	6,59 ± 0,04

*db: direkte Bindung

Tab. 23: Datensatz der Verbindungen für die CoMFA und CoMSIA.

5.1.3. Generierung der 3D-Strukturen

Die biologischen Aktivitätsdaten, die in dieser 3D-QSAR-Untersuchung verwendet werden, stammen aus dem von Henrik Müller entwickeltem Hoechst-Assay [Müller, Diss.]. Das bedeutet in der Theorie, dass die getesteten Substanzen mit Hoechst 33342 um die Bindung an der H-Seite von P-gp konkurrieren. Daher wurde Hoechst 33342 auch als Schablone (Template) für die Überlagerung der zu untersuchenden Substanzen ausgewählt. Ein Vorteil von Hoechst 33342 ist das relativ starre Grundgerüst. Dabei konnte auf Arbeiten von Christoph Globisch zurückgegriffen werden. Im Rahmen seiner Dissertation konnte ein Pharmakophormodell für Hoechst 33342 und andere an die Hoechst-Bindungsstelle bindende Substanzen (z.B. QB 102) postuliert werden (siehe 1.3.4) [Pajeva et al., 2004, Globisch, Diss.]. Dabei wurde auch eine Konformationsanalyse für Hoechst 33342 durchgeführt. Als Methode zur Konformationsanalyse kam das „Simulated Annealing“ zur Anwendung. Es handelt sich dabei um eine Moleküldynamik-Methode zur Konformationsanalyse. Das Molekül wird virtuell auf hohe Temperaturen aufgeheizt. Durch das Aufheizen wird dem Molekül kinetische Energie hinzugefügt, so dass Energiebarrieren überwunden werden und das Molekül zwischen verschiedenen Konformationen wechseln kann. Anschließend wird das Molekül abgekühlt. Dieser Entzug von Energie führt zu energiearmen Konformationen. Um verschiedene energiearme Konformationen zu finden, wird der Zyklus aus Aufheizen und Abkühlen mehrfach wiederholt. Hoechst 33342 wurde hundertmal für 2000 fs auf 2000 K erhitzt und über 10000 fs auf 0 K abgekühlt. Aufgrund des starren Gerüsts von Hoechst 33342 ergaben sich beim anschließenden Vergleich der generierten Strukturen mit einer von Mathias Weigt [Weigt, 2006] entwickelten Auswertungsmethode des „Ähnlichkeitsclustering“ nur vier unterschiedliche Konformationen (Abb. 70).

Diese lassen sich in zwei gestreckte (links) und zwei gebogene (rechts) Konformationen unterteilen. Das Energieminimum stellt die gestreckte Konformation oben links und vergrößert in der Mitte dar. Unten sind die Konformere über den zentralen Benzimidazol- und den Benzolring überlagert. Basierend auf dieser Konformation des Energieminimums von Hoechst 33342 sollten die zu untersuchenden Substanzen überlagert werden, um eine 3D-QSAR durchführen zu können.

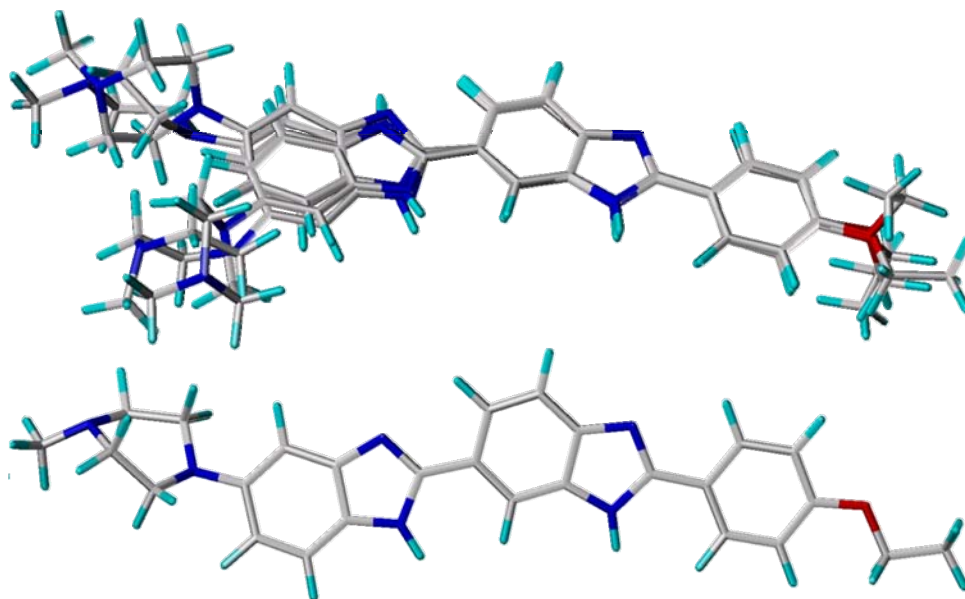


Abb. 70: Vier energiearme Konformationen (oben) von Hoechst 33342 über den Phenyl-benzimidazol-Ring überlagert. Dabei erscheinen je zwei gestreckte und gebogene Konformationen. Das Energieminimum von Hoechst 33342 ist unten separat dargestellt.

5.1.4 Flexible Überlagerung mit Hoechst 33342 mittels FLEXS

Alle Verbindungen des Datensatzes wurden zunächst mit Hilfe des Molecule-Builder im Programm MOE erstellt und anschließend unter Verwendung des MMFF94s-Krauffeldes minimiert.

Für die Überlagerung, engl. Alignment, wurde das Programm FLEXS (Flexible Superposition) verwendet. Dabei diente die energieärmste Konformation von Hoechst 33342 als Referenz-Ligand.

Das Programm FLEXS, das von Lemmen [Lemmen et al., 1997, 1998] entwickelt wurde, versucht Ligand-Protein-Wechselwirkungen zu simulieren. Dabei verwendet FLEXS einen Referenz-Liganden als eine Art 'inverse' Bindungstasche. Der FLEXS-Prozeß behandelt stets nur zwei Strukturen, d. h. er richtet einen Test-Liganden an einem so genannten Referenz-Liganden aus. Dabei werden folgende Voraussetzungen zugrunde gelegt [Lemmen et al., 1997]:

1. Referenz- und Test-Ligand nehmen im Raum die größtmögliche Überlappung ein, außerdem Wechselwirken beide mit den gleichen funktionellen Gruppen in der Rezeptortasche.
2. Es werden generell nur zwei Liganden gleichzeitig untersucht.

3. Die Anzahl der Freiheitsgrade wird auf die Torsionswinkel der Bindungen sowie die Rotation und Translation der Strukturen beschränkt.
4. Alle Atome des Referenz-Liganden bleiben während des gesamten Alignment-Prozesses fixiert.

Bei der Auswahl des Referenz-Liganden müssen einige Überlegungen berücksichtigt werden: die gewählte Konformation sollte größtmögliche Ähnlichkeit mit der bioaktiven Konformation aufweisen. Sehr vorteilhaft für eine spätere QSAR sind hier insbesondere relativ starre und voluminöse Liganden mit guter Aktivität, da hier bereits das Vorliegen einer aktiven Konformation gewährleistet ist. Anschließend werden nacheinander alle Test-Liganden am Referenz-Liganden ausgerichtet. Dabei wird der entsprechende Test-Ligand zunächst in einzelne Fragmente zerlegt, wobei jede drehbare Bindung als Fragmentierungsgrenze dient. Jetzt wird ein Basis-Fragment gewählt und an einer geeigneten Stelle im Referenz-Liganden platziert. Anschließend werden die einzelnen Fragmente sukzessive wieder an die betreffende Stelle angehängt. Dabei rotiert man die geknüpfte Bindung so lange, bis eine größtmögliche Überlappung mit dem Referenz-Liganden gegeben ist. Auf diese Weise werden bis zu mehreren hundert Alignments pro Test-Ligand erzeugt, die dann mit Hilfe einer Bewertungs-Funktion verglichen und gewichtet werden.

Diese Funktion setzt sich im Wesentlichen aus zwei Bestandteilen zusammen [Lemmen et al., 1997]:

1. Intermolekularen Wechselwirkungen, die von beiden Liganden ausgeübt werden können. Dabei werden die Ähnlichkeit funktioneller Gruppen und die Möglichkeit zur Wechselwirkung mit einer potentiellen Rezeptor-Gruppe abgeschätzt.
2. Überlappungsvolumina, welche aus verschiedenen Dichtefunktionen berechnet werden, wie z.B. des elektrostatischen Potentials oder des van-der-Waals-Volumens.

Bei der Überlagerung der Verbindungen mit Hoechst 33342 wurde die Methode Flexible Superposition mit folgenden, von den Standardeinstellungen abweichenden, Einstellungen verwendet:

- FlexS Details:
1. Charge Calculation Method: MMFF94
 2. Minimize Molecules to be Aligned (Force Field: MMFF94s)
 3. Number of Alignments per ligand: 30

Bei dem Alignment der Verbindungen des Datensatzes gelang die beste Überlagerung mit Hoechst 33342 mit der Verbindung WK-X-66. Abbildung 71 zeigt die Überlagerung der Verbindungen. Aus ihr wird ersichtlich, dass einige Strukturelemente der beiden Verbindungen gut zur Deckung zu bringen sind.

Besonders gut überlagert sind die Wasserstoffbrücken Donor- und Akzeptor-Funktionen der Amid-Gruppe von WK-X-66 mit den Donor- und Akzeptor-Funktionen des Benzimidazolrings von Hoechst 33342. Weiterhin passen die substituierten Benzolringe genau übereinander. Nicht ganz optimal ist die Überlagerung der funktionellen Gruppen im Rest der Moleküle. Dort wurde in diesem Fall das Volumen der beiden Verbindungen gut in Einklang gebracht.

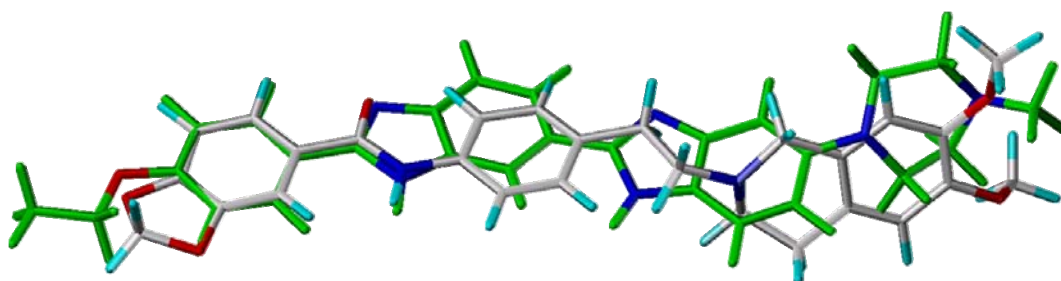


Abb. 71: Überlagerung von WK-X-66 mit Hoechst 33342. *Hoechst 33342 ist bis auf die Stickstoff- und Sauerstoffatome in grün dargestellt.*

5.1.5 Überlagerung aller Derivate

Für die Überlagerung aller Moleküle des Datensatzes wurde nun WK-X-66 als Basis gewählt und die anderen Verbindungen daran ausgerichtet und manuell variiert. Bis auf die Substanz WK-Y-34 besitzen alle anderen Substanzen eine Tetrahydroisochinolin-ethylphenylamin-Partialstruktur. Daher wurde diese Partialstruktur basierend auf der mit Hoechst 33342 überlagerten Struktur von WK-X-66 als Aggregat beibehalten und nur der veränderte Teil energieoptimiert. Dabei ergab sich das Problem, dass bei einer ganzen Reihe von Verbindungen zwei Möglichkeiten bei der Überlagerung des über die Amid-Bindung verknüpften Aromaten mit der 3,4-Methylenedioxybenzol-Partialstruktur von WK-X-66 möglich waren. Die beiden Aromaten an der Amid-Funktion liegen dabei in einer Ebene in Form eines Trans-Amids vor. Das schränkt die Bewegungsfreiheit der endständigen Aromaten deutlich ein. Jedoch ist die Bindung zwischen dem Carbonyl-Kohlenstoff und dem endständigen Aromaten frei drehbar. Dies wird am Beispiel der Verbindung WK-X-51 näher diskutiert. Bei der Ausrichtung des 3-Chinolinrings bestehen zwei Möglichkeiten in welche Richtung das Stickstoffatom des Chinolins zeigen kann. Zum

einen kann das Stickstoffatom in die Richtung des Amid-Stickstoffs und zum andern in Richtung des Amid-Sauerstoffs ausgerichtet sein (Abb. 72).

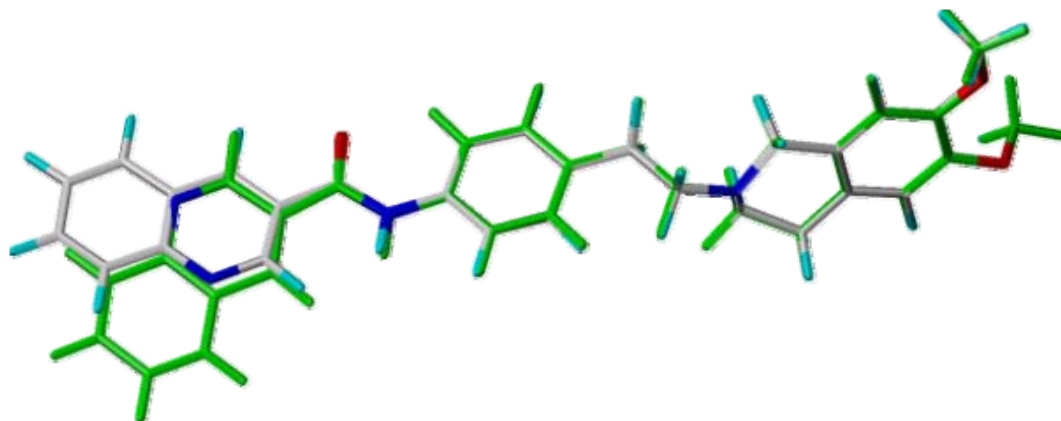


Abb. 72: Zwei mögliche Konformationen von WK-X-51. Der Stickstoff des Chinolin-Rings kann entweder in Richtung der NH-Funktion (weiß) oder in Richtung des Carbonyl-Sauerstoffs (grün) stehen.

Da keine der beiden möglichen Konformationen ausgeschlossen bzw. favorisiert werden konnte, wurden beide Konformation vorerst beibehalten und später selektiert (siehe Kapitel 3.3.3).

Die Verbindung WK-Y-34 besitzt als einzige Verbindung eine Tetrahydroisochinolin-methylphenylamin-Partialstruktur. Die Substanz stellt ein Derivat von WK-X-51 dar, bei dem der Linker zwischen dem Tetrahydroisochinolin-Ring und dem 3-Chinolin-Ring um eine Methylen-Gruppe verkürzt ist. Daher wurde bei WK-Y-34 die schon variierte Struktur von WK-X-51 als Template genommen. Die Toluylchinolin-3-carbonsäureamid-Partialstruktur von WK-X-51 wurde beibehalten und nur der 6,7-Dimethoxytetrahydroisochinolin-Rest verändert (Abb. 73).

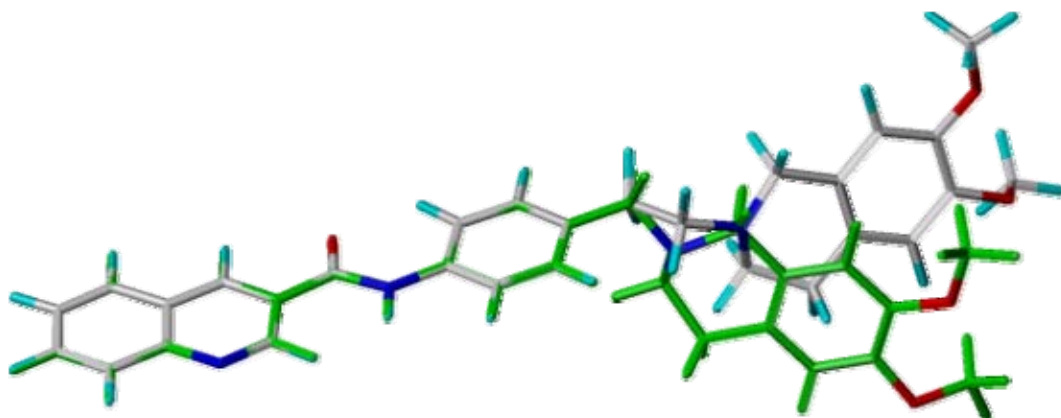


Abb. 73: Überlagerung von WK-X-51 mit WK-Y-34.
WK-Y-34 ist bis auf die Stickstoff- und Sauerstoffatome in grün dargestellt.

Im Anschluss erfolgte die Minimierung aller Verbindungen mit dem MMFF94s-Kraftfeld. Abbildung 74 zeigt die Überlagerung aller Derivate nach der Minimierung.

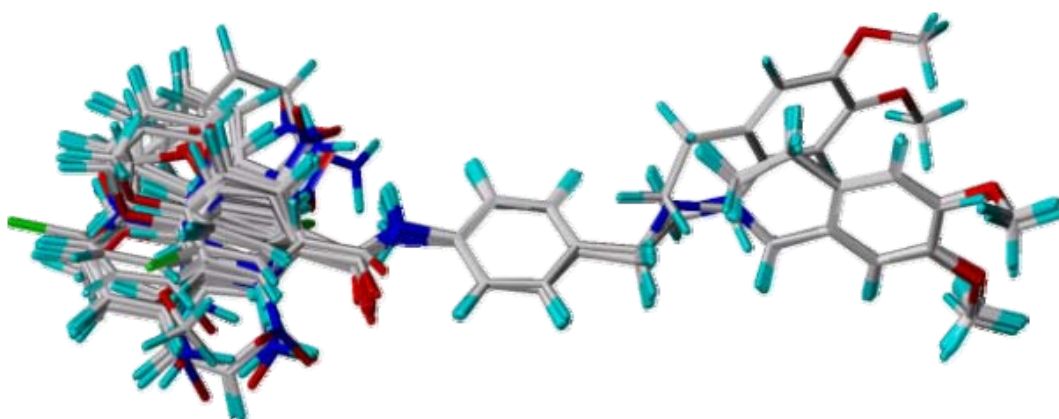


Abb. 74: Überlagerung aller Derivate des Datensatzes.

Die für die spätere Berechnung der CoMFA- und CoMSIA-Felder nötigen Ladungen wurden mit Hilfe des Programms MOPAC mit der semiempirischen AM1-Methode berechnet. Als Parameter für die Berechnung wurden folgende Schlüsselwörter (Keywords) verwendet:

1. MMOK (Zusätzliche Parametrisierung für die Geometrie von Amidbindungen)
2. XYZ (Durchführung der Berechnung in Kartesischen Koordinaten).

Weitere bei der Berechnung verwendete Parameter waren: keine Geometrieoptimierung, Singulett-Zustand, normale Konvergenz.

5.2. Pharmakophor-Modelle

5.2.1. Vergleichende Molekulare Feldanalyse (CoMFA)

Die vergleichende molekulare Feld-Analyse (CoMFA, engl. *Comparative Molecular Field Analysis*) basiert auf Arbeiten von Cramer und Milne, die schon im Jahre 1978 Moleküle im dreidimensionalen Raum überlagert und ihre sterischen und elektrostatischen Wechselwirkungen verglichen haben. Doch erst 10 Jahre später konnte mit der Einführung der PLS-Analyse (engl. *Partial Least Squares*, siehe Abschnitt PLS) in die Chemoinformatik eine Methode etabliert werden, die es gestattete, die erzeugten Daten mit der biologischen Aktivität der Verbindungen zu korrelieren. Somit erschien auch erst 1988 die erste CoMFA-Publikation [Cramer et al., 1988].

Bei der Durchführung einer CoMFA werden die Liganden in ein dreidimensionales Gitter platziert, um potenzielle Interaktionsmöglichkeiten zu ermitteln. An den Schnittpunkten des Gitters werden Sondenatome dazu verwendet, die sterischen

und elektrostatischen Wechselwirkungsenergien zwischen diesen und dem Ligand zu berechnen (Abb. 75). Als Abstand zwischen den Gitterpunkten hat sich ein Wert von 2 Å bewährt [Globisch, 2002]. Die erhaltenen Wechselwirkungsenergien werden für jedes Molekül berechnet und mit seiner biologischen Aktivität (pK_i) mittels der PLS-Analyse korreliert.

Zur Ermittlung der sterischen und elektrostatischen Wechselwirkungsenergien wird meistens ein sp^3 -hybridisiertes Kohlenstoffatom mit einer Ladung von +1 verwendet.

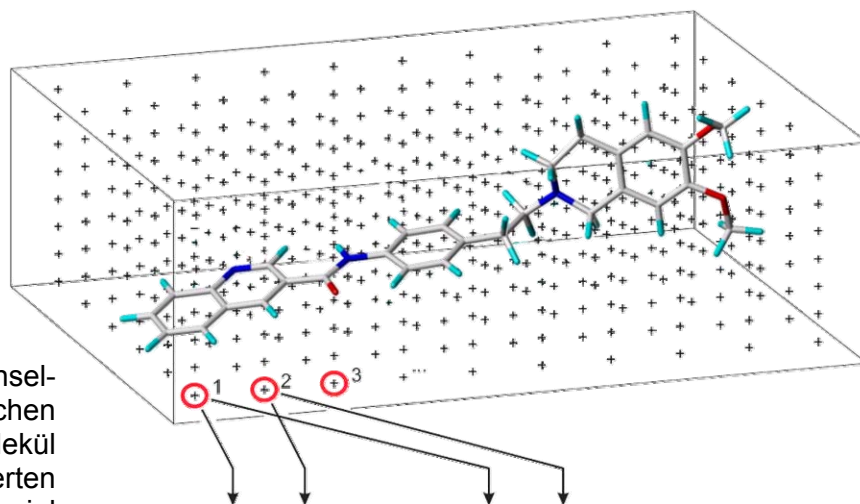


Abb. 75:
PLS-Gleichung der Wechselwirkungsenergien zwischen Sonde und Molekül ($S_1, E_1, S_2, E_2, \dots$) an definierten Gitterpunkten am Beispiel von WK-X-51.

$$-\log(IC_{50}) = s_1 S_1 + s_2 S_2 + \dots + s_n S_n + e_1 E_1 + e_2 E_2 + \dots + e_m E_m + \dots + C$$

Als Berechnungsgrundlage der van-der-Waals-Energien dient das Lennard-Jones-Potential, das wie folgt definiert ist:

$$E_{vdV} = \sum_{i=1}^n (A_{ij} r_{ij}^{-12} - C_{ij} r_{ij}^{-6})$$

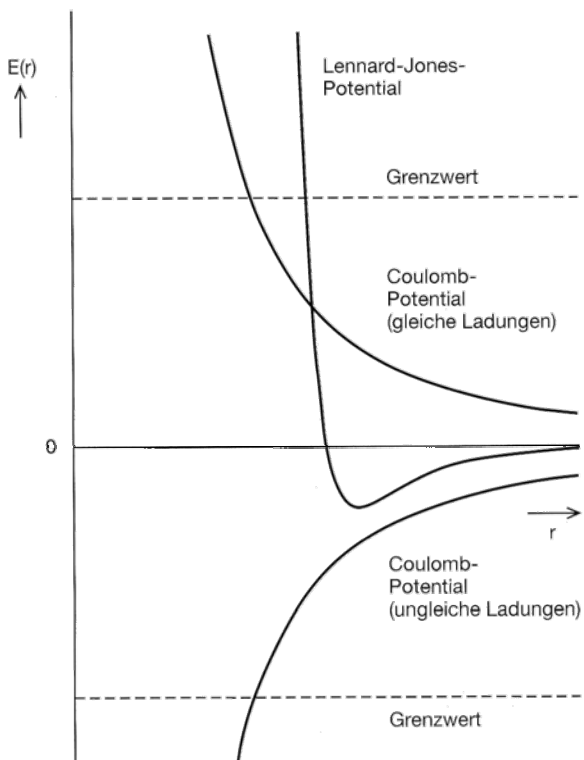
Als Berechnungsgrundlage der elektrostatischen Wechselwirkungsenergien verwendet man das Coulomb-Potential. Als Sonde dient eine Ladung von +1:

$$E_C = \sum_{i=1}^n \frac{q_i q_j}{D r_{ij}}$$

Sieht man sich die Potentialverläufe des Lennard-Jones-Potentials und des Coulomb-Potentials (Abb. 76) an, erkennt man, dass bei sehr kleinen Abständen zwischen Molekül und Sonde beide Potentiale sehr große Werte annehmen. Um extrem große Feldbeträge zu vermeiden, werden definierte Grenzwerte (Cut-offs) zur Begrenzung der Potentiale verwendet.

Der steile Verlauf der Potentiale nahe den Atomen bedingt, dass sich die Werte bei kleinen Abstandsänderungen schnell von niedrigem Potential zum Grenzwert ändern. Beim Lennard-Jones-Potential ist dies schon bei Gitterpunktabständen von 2 Å zu beobachten.

Abb. 76:
Lennard-Jones-Potential und Coulomb-Potential [Böhm et al., 2002].



5.2.2. Die CoMSIA-Methode

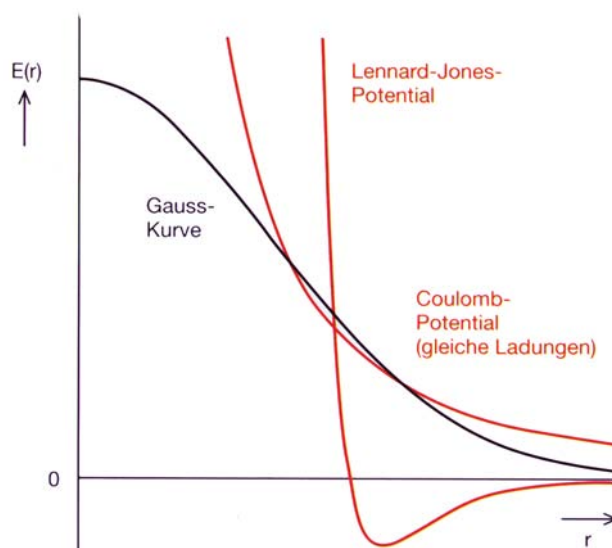
Mit der CoMSIA-Methode (engl. *Comparative Molecular Similarity Indices Analysis*), steht ein weiteres Verfahren zur Verfügung, um überlagerte Verbindungen miteinander zu vergleichen. Entwickelt wurde diese Methode von Klebe et al. bei der Firma BASF [Klebe et al., 1999]. Die Durchführung einer CoMSIA zeigt Analogien zur CoMFA, jedoch werden im Gegensatz dazu hier nicht die Unterschiede der Moleküle verglichen, sondern ihre relativen Ähnlichkeiten. Als mögliche Feldtypen stehen sterische, elektrostatische, hydrophobe, sowie Wasserstoffbrücken-Donor und Akzeptor Eigenschaften zur Verfügung. Diese Ähnlichkeiten werden abstandsabhängig mittels einer Gauß-Funktion zwischen dem Sonden-Atom und dem Molekül berechnet:

$$A_{F,k}^q(j) = \sum_i w_{probe,k} w_{ik} e^{-\alpha r_{iq}^2}$$

(A Ähnlichkeitsmaß für Feldtyp F am Gitterpunkt q aufsummiert für alle Atome i des Moleküls j ; $w_{probe,k}$ Eigenschaftswerte der Sonde: Radius 1 Å, Ladung +1, Hydrophobie +1, WBB-Donor +1, WBB-Akzeptor +1; w_{ik} Eigenschaftswert des Atoms i ; r_{iq} Abstand zwischen Sonde und Atom; α Dämpfungsfaktor der Wechselwirkung mit dem Abstand).

Im Gegensatz zum Verlauf des Lennard-Jones- und des Coulomb-Potentials strebt die Gaußkurve auch für kleinere Abstände zwischen Molekül und Sonde gegen einen endlichen Wert. Es müssen also keine Grenzwerte festgesetzt werden [Böhm et al., 2002]. So können auch Interaktionen innerhalb der Moleküle sowie an oberflächennah gelegenen Gitterpunkten berechnet werden. Die erhaltenen Wechselwirkungsenergien werden analog zur CoMFA für jedes Molekül berechnet und mit seiner biologischen Aktivität (pK_i) mittels der PLS-Analyse korreliert.

Abb. 77:
Vergleich der Gaußschen Abstandsfunktion der CoMSIA-Methode mit den Lennard-Jones- und Coulomb-Potentialen [Böhm et al., 2002].



5.2.3. Die PLS-Analyse

Die PLS-Analyse ist eine multivariate statistische Methode, bei der durch schrittweise Extraktion von Informationen aus einer Datenmatrix ein lineares Modell zwischen abhängigen Aktivitätsvariablen und unabhängigen Strukturvariablen berechnet wird. Bei einer PLS-Analyse von Daten einer CoMFA oder CoMSIA werden aus den Aktivitätsdaten (Y-Matrix; abhängige Variablen) und den berechneten Feldvariablen (X-Matrix, unabhängige Variablen) so genannte „latente Variablen“ (Komponenten) extrahiert, die ein Maximum der Varianz der X-Matrix enthalten und gleichzeitig optimal mit der Y-Matrix korrelieren. Die Extraktion der Komponenten geschieht schrittweise, wobei jede weitere Komponente die verbliebene Restvarianz beschreibt und somit zur vorherigen unkorreliert (orthogonal) ist. Je größer die Anzahl der

Komponenten und damit die erklärte Gesamtvarianz, desto perfekter ist die Korrelation.

Eine PLS-Analyse eignet sich besonders dann, wenn die Anzahl der Strukturparameter größer ist als die Anzahl der ausgewählten Verbindungen, bzw. Interkorrelationen zwischen den Parametern existieren.

5.2.4. Validierung der PLS-Ergebnisse

Zur Kontrolle der Qualität des Modells werden verschiedene Validierungsverfahren angewandt. Bei der Kreuzvalidierung (engl. *cross-validation*) werden aus dem Datensatz entweder eine (engl. *Leave-one-out, LOO*) oder mehrere (engl. *Leave-many-out (Random Groups)*) Verbindungen temporär entfernt und basierend auf den verbleibenden Derivaten ein Modell erstellt. Anhand dieses Modells werden die Aktivitäten der herausgenommenen Verbindungen vorhergesagt und diese mit den experimentellen Werten verglichen. Die Abweichung der vorhergesagten von den experimentellen Werten ist dabei ein Maß für die Güte des Modells.

Wichtige statistische Kenngrößen sind dabei:

Die Summe der Abweichungsquadrate *PRESS* (engl. *PREdictive error Sum of Squares*):

$$PRESS = \sum_{i=1}^n (Y_{i,pred.} - Y_{i,exp.})^2$$

($Y_{i,exp}$ sind die experimentellen und $Y_{i,pred}$ die vorhergesagten Aktivitäten)

Der quadrierte Korrelationskoeffizient der Vorhersage q^2 :

$$q^2 = 1 - \frac{PRESS}{\sum_{i=1}^n (Y_{i,exp.} - \bar{Y})^2}$$

(\bar{Y} ist der Mittelwert der experimentellen Aktivitäten)

Der q^2 -Wert variiert zwischen $-\infty$ und $+1$, wobei $+1$ einem perfekten Modell entspräche, das ohne jegliche Abweichung die Aktivitäten der ausgeschlossenen Liganden vorhersagen könnte. Negative q^2 -Werte bedeuten, dass die Vorhersage des Modells schlechter ist als der einfache Mittelwert aller Aktivitätsdaten (letzteres

entspräche $q^2 = 0$). Bei der Kreuzvalidierung werden der q^2 -Wert und die kreuzvalidierte Standardabweichung S_{PRESS} für verschiedene Komponentenzahlen angegeben. Mit steigender Anzahl an Komponenten steigen die q^2 -Werte und zwar solange, wie die zusätzlichen Komponenten signifikante Informationen enthalten. Werden zu viele Komponenten benutzt, so steigt die Wahrscheinlichkeit, dass irrelevante oder zufällig korrelierte Komponenten einbezogen werden, was zu einem Sinken des q^2 -Wertes und zu einem Anstieg der kreuzvalidierten Standardabweichung führt. Generell akzeptable Vorhersagen eines Modells sollten ab einem q^2 -Wert von etwa 0,4 - 0,5 möglich sein [Böhm et al., 2002].

Während die *Leave-one-out*-Kreuzvalidierung reproduzierbar gleiche Ergebnisse liefert, ist dies bei der *Leave-many-out*-Kreuzvalidierung (*Random Groups*) nicht der Fall. Bei der *Leave-many-out*-Kreuzvalidierung erfolgt eine zufällige Aufteilung der Verbindungen des Datensatzes in zwei bis fünf Gruppen. Eine dieser Gruppen wird bei der Erstellung des Modells nicht berücksichtigt, und anhand dieses Modells wird versucht, die Aktivität der weggelassenen Verbindungen vorauszusagen. Dieser Schritt wird für alle Gruppen wiederholt. Wegen der zufälligen Einteilung der Gruppen unterscheiden sich die q^2 -Werte verschiedener Durchläufe. Dieser Nachteil lässt sich jedoch durch eine hohe Wiederholungsrate der *Leave-many-out*-Kreuzvalidierung verringern. Der Vorteil dieser Kreuzvalidierung ist, dass sie bessere Aussagen über die Robustheit des erzeugten Modells erlaubt.

Die Ergebnisse der durch eine CoMFA oder CoMSIA gelieferten Regressionsgleichung lassen sich graphisch darstellen. Aus dem Modell weiß man, an welchen Gitterpunkten Feldbeiträge auftreten, die signifikant zur Erklärung der Bindungsaffinitäten beitragen. Diese Beiträge lassen sich nach ihrer Wichtigkeit für die verschiedenen Felder konturieren. Diese Konturdiagramme heben Regionen der Liganden hervor, in denen die Eigenschaften stark variieren und die Wechselwirkungen zur Erhöhung bzw. Erniedrigung der Affinität führen. Wegen des Cut-offs sind es bei der CoMFA nur Bereiche, die außerhalb des Moleküls liegen. Mit der CoMSIA erhaltene Konturdiagramme lassen sich oftmals einfacher interpretieren. In diesen Diagrammen werden innerhalb des Moleküls Bereiche hervorgehoben, in denen eine Eigenschaft mit positivem oder negativem Beitrag mit der Affinität korreliert. Für das Design neuer Wirkstoffe sind diese Konturdiagramme ein wichtiges Hilfsmittel, um zu erkennen, an welchen Stellen die Eigenschaften einer Leitstruktur zu verändern sind, damit eine Affinitätssteigerung erzielt werden kann.

5.3. CoMFA- und CoMSIA-Modelle der P-gp-Modulatoren

5.3.1 Methoden

Die CoMFA- und CoMSIA-Modelle wurden mit dem 3D-QSAR-Modul des Programms SYBYL generiert. Die Ladungsberechnung der überlagerten Verbindungen (siehe Kapitel 5.1.4) erfolgte mit dem Programm MOPAC [MOPAC7] unter Verwendung der semi-empirischen AM1-Methode.

Die Gitter-Box-Größe wurde in jede Raumrichtung 4 Å größer als die größte Verbindung mit der Standardmaschenweite von 2 Å gewählt.

Für die Berechnung der CoMFA-Modelle wurden folgende Parameter verwendet:

- CoMFA Field Class: Tripos Standard.
- Sterisches und elektrostatisches Feld mit einem Grenzwert (cut-off) von 30.0 kcal/mol und der Sonde c.3 mit der Ladung +1 (sp³ Kohlenstoff).

Für die Berechnung der CoMSIA-Felder wurden die Standardeinstellungen von SYBYL verwendet.

Die Validierung der Felder erfolgte mit der *Leave-one-out*- (LOO) und der *Leave-many-out*-Methode. Bei den PLS-Analysen wurde ein Column Filtering von 1.0 verwendet.

5.3.2 Auswahl der Konformationen für das Alignment

Wie in Kapitel 5.1.5 beschrieben, befanden sich im Datensatz noch einige Verbindungen mit je zwei Konformationen. Für den Datensatz mit allen Konformationen wurde eine PLS-Analyse mit dem *SAMPLS*-Algorithmus berechnet (Tab. 24). Bei der Betrachtung der Ergebnisse stellte das CoMSIA-Modell S+E+H+A+D das beste Modell dar, mit einem sehr hohen q^2 -Wert von 0,752 bei der niedrigsten kreuzvalidierten Standardabweichung von 0,308 bei nur vier Komponenten.

Die Auswahl der am besten geeigneten Konformation zur Erzeugung eines Modells wurde mit einer von Mathias Weigt aus unserem Arbeitskreis entwickelten Methode, der *AutoPLS*, realisiert [Weigt, 2006].

Bei dieser Methode wurde automatisiert für jede mögliche Kombination der mit zwei Konformationen im Datensatz vorhandenen Verbindungen eine PLS-Analyse mit dem *SAMPLS*-Algorithmus berechnet. Lagen die berechneten Modelle über einem

vom Nutzer definierten q^2 -Wert, führte das Programm automatisiert eine vollständige PLS-Analyse durch.

Das genaue Procedere zur Durchführung einer solchen *AutoPLS*-Analyse kann der Dissertation von Mathias Weigt entnommen werden [Weigt, 2006].

Die Ergebnisse dieser PLS-Analysen ließen sich mit dem von M. Weigt geschriebenen MATLAB-Skript *PLS-Report* auswerten [Weigt, 2006]. Die Auswertung der Ergebnisse zeigte, welche Konformationen bei einer PLS-Analyse mit hohen q^2 -Werten besonders häufig verwendet wurden. Die Konformation einer Verbindung, die bei guten Modellen am häufigsten Verwendung fand, wurde in die finale Auswahl übernommen.

CoMFA-Modelle		Leave-One-Out	
Felder	q^2	n	S_{PRESS}
Sterisches (S)	0,667	3	0,353
Elektrostatisches (E)	0,698	2	0,332
Both	0,601	4	0,391
S+E	0,708	3	0,330
CoMSIA-Modelle		Leave-One-Out	
Felder	q^2	n	S_{PRESS}
Sterisches (S)	0,680	5	0,354
Elektrostatisches (E)	0,673	4	0,354
Hydrophobes (H)	0,708	4	0,335
H-Brücken Akzeptor (A)	0,330	2	0,495
H-Brücken Donor (D)	0,192	2	0,544
S+E	0,704	5	0,340
A+D	0,443	2	0,451
S+H	0,727	4	0,323
E+H	0,746	4	0,312
A+H	0,692	4	0,343
S+E+H	0,754	5	0,310
A+D+H	0,712	2	0,325
S+E+A+D+H	0,752	4	0,308

Tab. 24: PLS-Ergebnisse des Datensatzes mit allen Konformationen.

Die Auswahl der Konformationen basiert auf dem CoMSIA Modell mit Einbeziehung sterischer, elektrostatischer, hydrophober und Wasserstoffbrücken-Donor/-Akzeptor Eigenschaften.

Für die Auswahl dieses Modells gab es mehrere Gründe:

1. Bei der Berechnung von CoMFA und CoMSIA Modellen des Datensatzes mit allen Konformationen ergab dieses CoMSIA-Modell einen mit 0,752 sehr hohen q^2 -Wert mit dem niedrigsten Fehler s_{PRESS} von 0,308 und nur vier Komponenten (Tab. 24).
2. Bei CoMSIA-Modellen können im Gegensatz zu CoMFA-Modellen Ähnlichkeitsindizes auch in unmittelbarer Nähe von Molekülatomen bestimmt werden, und die resultierenden Konturdiagramme sind leichter zu analysieren.
3. Es entsteht ein sehr generelles Modell, das alle möglichen Moleküleigenschaften beinhaltet.

Für die *AutoPLS*-Analyse wurden folgende Parameter verwendet:

- q^2 -Wert $\geq 0,75$
- Column-Filtering: 1,0
- Maximale Anzahl der erlaubten Komponenten: 10
- Anzahl der Moleküle mit zwei Konformationen: 19

Das finale Alignment der 27 Verbindungen ist in Abbildung 78 dargestellt. Basierend auf diesem Alignment wurden die CoMFA- und CoMSIA-Modelle erstellt.

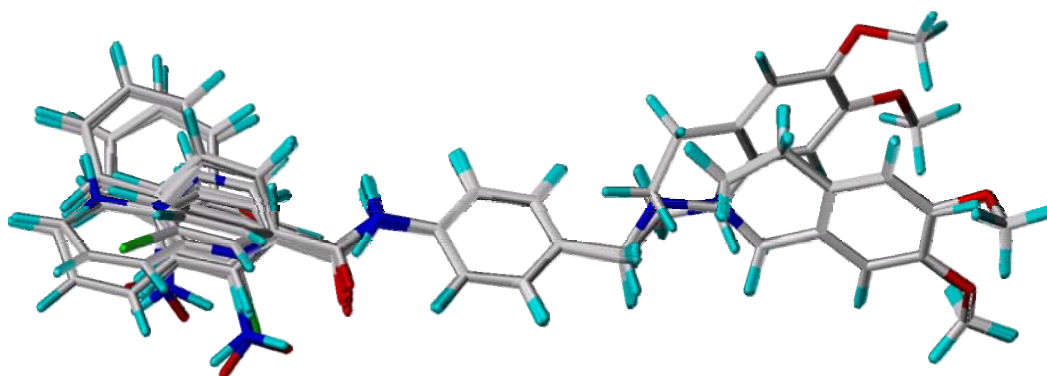


Abb. 78: Finales Alignment der 27 Verbindungen des Datensatzes.

5.3.3 CoMFA- und CoMSIA-Ergebnisse

Mit dem finalen Alignment der 27 Verbindungen wurden PLS-Analysen von 4 CoMFA- und allen 31 möglichen CoMSIA-Modellen berechnet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 25 und Abbildung 79 dargestellt. Bei der Betrachtung der Ergebnisse zeigten die CoMFA-Modelle gute Korrelationen mit q^2 -Werten zwischen 0,7 und 0,8 bei 2-5 Komponenten. Das beste kreuzvalidierte CoMFA-Modell mit Einbeziehung

3D-QSAR der P-gp-Modulatoren

sterischer und elektrostatischer Wechselwirkungen (CoMFA Both) besaß einen q^2 -Wert von 0,789 bei 5 Komponenten.

CoMFA-Modelle		Leave-One-Out		No Validation	
Felder	q^2	n	S _{PRESS}	r^2	St. Abw.
Sterisches (S)	0,733	5	0,322	0,917	0,179
Elektrostatisches (E)	0,729	4	0,316	0,934	0,156
Both	0,789	5	0,286	0,966	0,115
S+E	0,699	2	0,319	0,882	0,200
CoMSIA-Modelle		Leave-One-Out		No Validation	
Felder	q^2	n	S _{PRESS}	r^2	St. Abw.
Sterisches (S)	0,661	6	0,371	0,866	0,234
Elektrostatisches (E)	0,724	5	0,327	0,935	0,159
Hydrophobes (H)	0,783	5	0,290	0,952	0,136
H-Brücken Akzeptor (A)	0,591	1	0,365	0,695	0,315
H-Brücken Donor (D)	0,071	2	0,561	0,266	0,499
S+E	0,744	6	0,323	0,946	0,148
S+H	0,746	4	0,296	0,943	0,145
S+A	0,783	3	0,277	0,901	0,187
S+D	0,590	3	0,381	0,728	0,310
E+H	0,793	3	0,271	0,950	0,133
E+A	0,851	3	0,230	0,942	0,143
E+D	0,686	3	0,333	0,866	0,218
H+A	0,782	2	0,272	0,905	0,180
H+D	0,705	2	0,316	0,855	0,222
A+D	0,734	2	0,300	0,878	0,203
S+E+H	0,774	4	0,289	0,957	0,126
S+E+A	0,836	2	0,236	0,918	0,166
S+E+D	0,722	4	0,320	0,903	0,190
S+H+A	0,821	2	0,460	0,916	0,168
S+H+D	0,731	2	0,302	0,868	0,212
S+A+D	0,827	2	0,242	0,913	0,172
E+H+A	0,845	2	0,230	0,940	0,142
E+H+D	0,774	2	0,277	0,900	0,184
E+A+D	0,882	2	0,200	0,947	0,134
H+A+D	0,835	2	0,236	0,931	0,153
S+E+H+A	0,846	2	0,229	0,937	0,146
S+E+H+D	0,766	2	0,282	0,903	0,182
S+E+A+D	0,883	2	0,199	0,950	0,130
S+H+A+D	0,856	2	0,221	0,938	0,144
E+H+A+D	0,875	2	0,206	0,954	0,125
S+E+A+D+H	0,873	2	0,207	0,957	0,121

Tab. 25: PLS-Ergebnisse des Datensatzes des finalen Alignments.

Bei der Betrachtung der kreuzvalidierten CoMSIA-Modelle fiel auf, dass die einzelnen Felder mit Ausnahme des hydrophoben Felds gegenüber den CoMFA-Modellen schlechtere Korrelationen zeigten. Ein besonders schlechtes Modell mit einem q^2 -Wert von 0,071 resultierte aus dem CoMSIA-Feld der Wasserstoffbrücken-Donor Eigenschaften. Die Kombinationen dieses Feldes mit dem Akzeptor-Feld ergaben deutlich bessere Modelle. So besaß z.B. das CoMSIA-Modell mit Wasserstoffbrücken-Donor und -Akzeptor Eigenschaften einen sehr guten q^2 -Wert von 0,734 bei

3D-QSAR der P-gp-Modulatoren

nur 2 Komponenten und zeigte sich damit den Einzelfeldern deutlich überlegen. Diese Tatsache ist nachvollziehbar wenn man bedenkt, dass die Wasserstoffbrücken-Donor und -Akzeptor Eigenschaften komplementär sind. Gleiches zeigte sich bei der Feldkombination E+A+D (q^2 -Wert 0,882), welche eines der besten Modelle lieferte. Diese Kombination ist dem Modell ohne Donor-Eigenschaften nur wenig (E+A, q^2 -Wert 0,851), dem ohne Akzeptor-Eigenschaften (E+D, q^2 -Wert 0,686) jedoch deutlich überlegen. Ohne das Akzeptor-Feld beinhaltet das Donor-Feld jedoch keine zusätzlichen Informationen die zur Verbesserung der Modelle beitragen.

Die besten Modelle ergaben sich aus Kombinationen mehrerer CoMSIA-Felder. So wiesen die CoMSIA-Modelle E+A, E+A+D, S+E+A+D, S+H+A+D, E+H+A+D und S+E+A+D+H jeweils q^2 -Werte von über 0,85 auf und ermöglichten damit eine sehr gute Korrelation mit den Aktivitätsdaten. Besonders gut erschienen die CoMSIA-Feldkombinationen von E+A+D und S+E+A+D mit q^2 -Werten von 0,882 bzw. 0,883 bei 2 Komponenten und der geringsten kreuzvalidierten Standardabweichung. Interessanterweise ist in diesen fünf Feldkombinationen das hydrophobe Feld, welches bei der Einzelbetrachtung der CoMSIA-Felder das beste Modell erzeugte, nur in zwei Kombinationen zu finden. Die ist wahrscheinlich auf Überschneidungen des Informationsgehalts des hydrophoben Feldes mit anderen Feldern zurückzuführen. Demgegenüber ist das Wasserstoffbrücken-Donor-Feld, das bei der Einzelbetrachtung der CoMSIA-Felder das mit Abstand schlechteste Modell ergab, in vier von fünf Kombinationen (nur in Kombination mit dem Akzeptor-Feld!) zu finden.

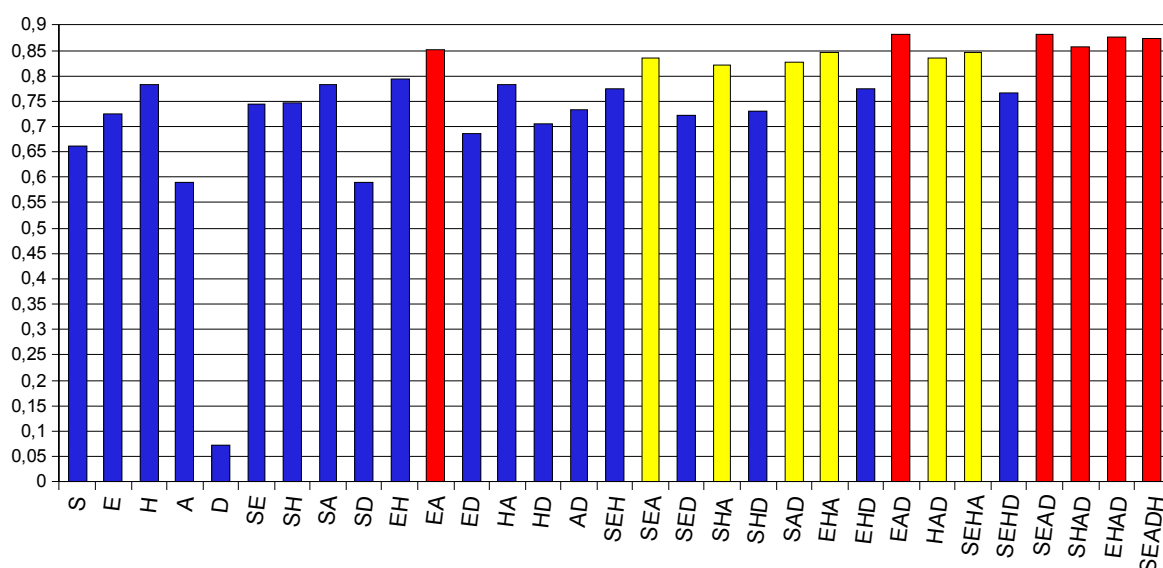


Abb. 79: q^2 -Werte der 31 möglichen CoMSIA-Feldkombinationen (S = sterisch, E = elektrostatisch, H = hydrophob, A/D Wasserstoffbrücken-Akzeptor/-Donor). q^2 -Werte: blau $\leq 0,8$, gelb $\leq 0,85$, rot $> 0,85$

3D-QSAR der P-gp-Modulatoren

Drei CoMFA- und CoMSIA-Modelle werden im Folgenden eingehender diskutiert. In Abbildung 80 sind die experimentellen gegen die vorhergesagten Affinitätswerte für das beste CoMFA-Modell (CoMFA Both, q^2 -Wert von 0,789) aufgetragen. Bei näherer Betrachtung der einzelnen Vorhersagen der Aktivitätswerte fällt auf, dass die vorhergesagten Affinitätswerte von zwei Modulatoren um mehr als 0,4 log-Einheiten (entsprechen zwei Standardabweichungen) von den experimentellen abweichen. Bei diesen beiden Verbindungen handelt es sich um WK-X-31 und WK-X-51. WK-X-31, ein nicht dimethoxyliertes Tetrahydroisochinolin-Derivat, wird dabei deutlich besser vorhergesagt. Das liegt daran, dass in diesem Modell, ähnlich wie in dem später diskutierten CoMSIA-Modell (siehe auch Kapitel 5.3.5), kein positiver Beitrag der zwei Methoxy-Gruppen auf die Aktivität der Verbindungen gefunden wurde. Daher wird der pIC_{50} -Wert ähnlich dem des dimethoxylierten Derivat (WK-X-30) vorhergesagt. Bei den experimentellen Daten erweist sich WK-X-30 (pIC_{50} von 5,86) gegenüber WK-X-31 (pIC_{50} von 5,30) jedoch um eine halbe log-Einheit aktiver. Der Fehler bei der Vorhersage des Derivats mit dem experimentell besten Aktivitätswert, WK-X-51, lässt sich dadurch erklären, dass diese Verbindung mit einem pIC_{50} -Wert von 7,01 die mit Abstand potenteste Verbindung darstellt. Wird diese Verbindung bei einer LOO-Kreuzvalidierung aus der Modellberechnung herausgelassen, kann sie nur anhand der weniger aktiven Verbindungen vorhergesagt werden, was zu einer deutlich schlechteren Vorhersage führt.

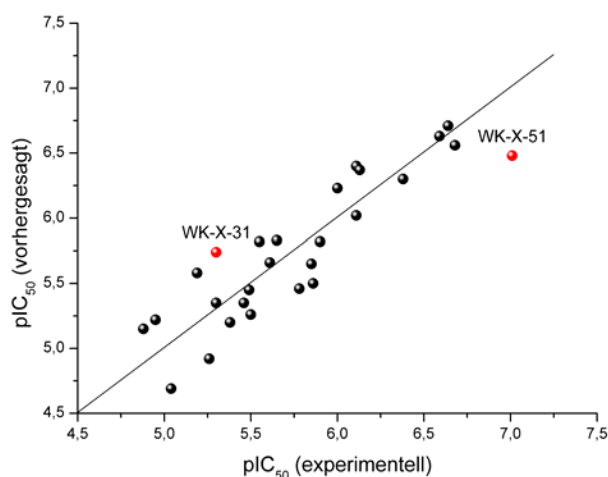


Abb. 80: Auftragung der experimentellen gegen die vorhergesagten pIC_{50} -Werte für das LOO validierte CoMFA Both Modell.

Rot: Verbindungen mit einer Abweichung $\geq 0,4$ log Einheiten

3D-QSAR der P-gp-Modulatoren

Von den CoMSIA-Modellen werden im Folgenden die Modelle E+A+D (q^2 -Wert von 0,882) und S+E+A+D+H (q^2 -Wert von 0,873) näher betrachtet. In den Abbildungen 81 und 82 sind die experimentellen gegen die vorhergesagten Affinitätswerte für diese beiden CoMSIA-Modelle aufgetragen. Bei diesen beiden Modellen gibt es jeweils nur noch eine Verbindung deren vorhergesagter Affinitätswert um mehr als 0,4 log-Einheiten von den experimentellen abweicht. Bei dieser Verbindung handelt es sich wiederum um den Modulator mit dem experimentell besten Aktivitätswert, WK-X-51. Auch diese beiden Modelle haben Probleme diese Verbindung exakt vorherzusagen. Die Erklärung liegt wiederum in dem mit Abstand höchsten pIC_{50} -Wert begründet.

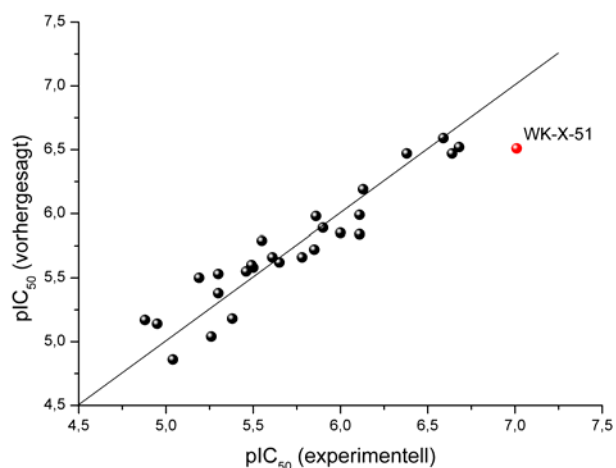


Abb. 81: Auftragung der experimentellen gegen die vorhergesagten pIC_{50} -Werte für das LOO validierte CoMSIA Modell E+A+D (q^2 -Wert von 0,882).
Rot: Verbindung mit einer Abweichung $\geq 0,4$ log Einheiten

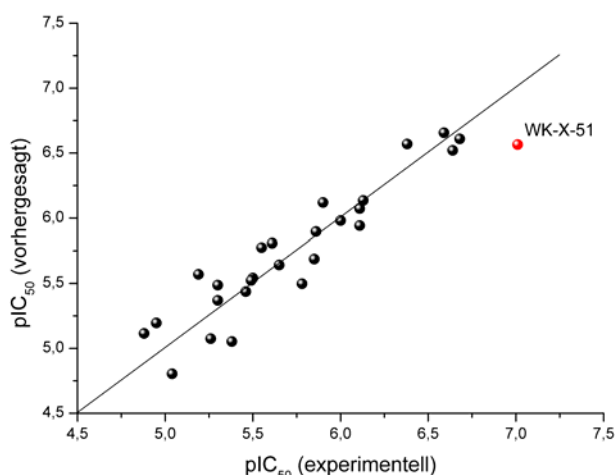


Abb. 82: Auftragung der experimentellen gegen die vorhergesagten pIC_{50} -Werte für das LOO validierte CoMSIA Modell S+E+H+A+D (q^2 -Wert von 0,873).
Rot: Verbindung mit einer Abweichung $\geq 0,4$ log Einheiten

3D-QSAR der P-gp-Modulatoren

Kurz vor Fertigstellung der Arbeit wurde der Affinitätswert von WK-X-51 durch neue experimentelle Untersuchungen noch leicht nach unten korrigiert (pIC_{50} 7,01 \rightarrow 6,86). Mit dem neuen pIC_{50} -Wert von 6,86 liegt auch WK-X-51 nicht mehr außerhalb des 0,4 log-Einheiten-Intervalls und würde damit noch besser in die Modelle passen. Andersherum könnte man auch sagen, dass die Modelle den zu hohen experimentellen Affinitätswert von WK-X-51 schon vorhergesagt haben. Dies bestätigt die Güte der Modelle.

In Tabelle 26 sind die experimentellen (exp.) und die vorhergesagten (pred.) Affinitätsdaten der untersuchten Verbindungen dargestellt.

Verbindung	Exp.	CoMSIA S+E+H+A+D pred.	CoMSIA E+A+D pred.	CoMFA Both pred.
X-14	5,26	5,07	5,04	4,92
X-15	4,88	5,12	5,17	5,15
X-16	4,95	5,20	5,14	5,22
X-17	5,04	4,80	4,86	4,69
X-30	5,86	5,90	5,98	5,50
X-31	5,30	5,37	5,38	5,74
X-33	5,19	5,57	5,50	5,58
X-37	5,38	5,05	5,18	5,20
X-51	7,01	6,57	6,51	6,48
X-52	6,38	6,57	6,47	6,30
X-56	5,55	5,78	5,79	5,82
X-57	5,30	5,49	5,53	5,35
X-58	5,65	5,64	5,62	5,83
X-66	5,85	5,69	5,72	5,65
X-81	6,64	6,52	6,47	6,71
X-82	6,00	5,98	5,85	6,23
X-96	5,90	6,12	5,89	5,82
Y-1	5,46	5,44	5,55	5,35
Y-2	5,49	5,52	5,60	5,45
Y-3	5,61	5,81	5,66	5,66
Y-25	5,78	5,50	5,66	5,46
Y-26	6,11	6,07	5,99	6,40
Y-27	6,68	6,61	6,52	6,56
Y-28	6,11	5,94	5,84	6,02
Y-29	5,50	5,54	5,58	5,26
Y-30	6,13	6,14	6,19	6,37
Y-34	6,59	6,66	6,59	6,63

Tab. 26: Experimentelle (exp.) und vorhergesagte (pred.) pIC_{50} -Werte für drei LOO validierte CoMFA- und CoMSIA-Modelle.

5.3.4 Gruppenweise Kreuzvalidierung

Um die Stabilität der Modelle zu evaluieren, wurde eine mehrfach wiederholte gruppenweise Kreuzvalidierung durchgeführt. In die Auswahl gelangte ein CoMSIA-Modell mit einem q^2 -Wert von über 0,85. Ausgewählt wurde das CoMSIA Modell mit Einbeziehung sterischer, elektrostatischer, hydrophober und Wasserstoffbrücken-Donor und -Akzeptor Eigenschaften. Um die Probleme bezüglich der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu verringern, wurden 500 Wiederholungen pro *Leave-many-out*-Kreuzvalidierung berechnet und statistisch ausgewertet. Die automatisierte Berechnung dieser hohen Wiederholungsrate wurde mit einer von Mathias Weigt aus unserem Arbeitskreis entwickelten Methode, der *Random-Groups*-Kreuzvalidierung, realisiert [Weigt, 2006]. Das verwendete Skript zur Durchführung einer solchen *Random-Groups*-Kreuzvalidierung kann der Dissertation von Mathias Weigt entnommen werden. Dieses Analyseverfahren berechnete die mittleren q^2 -Werte der 500 *Leave-many-out*-Analysen inklusive Standardabweichung.

Die für die *Random-Groups* -Analyse wurden folgende Parameter verwendet:

- Feld: CoMSIA S+E+A+D+H
- Anzahl der Komponenten: 2
- Column-Filtering: 1,0
- Wiederholungsrate: 500
- Anzahl der kreuzvalidierten Gruppen: 2-5

Die Ergebnisse sind in Tabelle 27 dargestellt.

Random Groups CoMSIA S+E+A+D+H				
Gruppen	q^2	N	S_{PRESS}	SD
27 (LOO)	0,873	2	0,207	-
5	0,851	2	-	0,029
4	0,841	2	-	0,037
3	0,826	2	-	0,049
2	0,775	2	-	0,095

Tab. 27: Random-Groups-Ergebnisse des finalen Alignments im CoMSIA S+E+A+D+H Modell.

Betrachtet man die Ergebnisse der gruppenweisen Kreuzvalidierung zeigt sich erwartungsgemäß eine Verringerung der mittleren q^2 -Werte bei kleiner werdender Gruppenzahl. Diese ist jedoch sehr gering. Bei der Aufteilung der 27 Verbindungen des Datensatzes in drei Gruppen ergibt dieses Modell immer noch einen sehr guten mittleren q^2 -Wert von 0,826. Eine Aufteilung in zwei Gruppen und somit die

3D-QSAR der P-gp-Modulatoren

Generierung eines Modells aus den Informationen von nur 14 Verbindungen ergibt immer noch eine gute Vorhersagekraft mit mittlerem q^2 -Wert von 0,775. Es kommt also im Vergleich zur LOO-Analyse nur zu einer Verringerung des q^2 -Wertes um 0,1. Resümierend sprechen diese Ergebnisse deutlich für die Stabilität dieses Modells. Auch mit der Hälfte der Verbindungen und damit der Hälfte der Informationen ist noch eine gute Korrelation der Aktivitätsdaten mit den physikochemischen Kenngrößen der 3D-Ligandenstrukturen möglich.

Neben dem CoMSIA-Modell mit allen Feldtypen wurden auch noch andere CoMFA- und CoMSIA-Modelle mit einer *Leave-many-out*-Analyse auf Stabilität geprüft (Tab. 28). Dabei wurden das beste CoMFA-Feld und die besten CoMSIA Zwei-, Drei- und Vier-Feld-Kombinationen untersucht. Während sich die CoMFA-Both- und das CoMSIA-E+A-Modelle stabil zeigten, kam es bei den CoMSIA-Modellen E+A+D und S+E+A+D zu einem stärkeren Absinken der q^2 -Werten bei der Einteilung in zwei Gruppen.

Random Groups CoMFA Both				
Gruppen	q^2	n	S_{PRESS}	S_E
27 (LOO)	0,792	5	0,286	-
5	0,786	5	-	0,057
4	0,775	5	-	0,067
3	0,762	5	-	0,077
2	0,718	5	-	0,121
Random Groups CoMSIA E+A				
Gruppen	q^2	n	S_{PRESS}	S_E
27 (LOO)	0,851	3	0,230	-
5	0,830	3	-	0,027
4	0,820	3	-	0,034
3	0,800	3	-	0,056
2	0,745	3	-	0,095
Random Groups CoMSIA E+A+D				
Gruppen	q^2	n	S_{PRESS}	S_E
27 (LOO)	0,882	2	0,200	-
5	0,835	2	-	0,049
4	0,834	2	-	0,054
3	0,781	2	-	0,075
2	0,703	2	-	0,122
Random Groups CoMSIA S+E+A+D				
Gruppen	q^2	n	S_{PRESS}	S_E
27 (LOO)	0,883	2	0,236	-
5	0,843	2	-	0,042
4	0,830	2	-	0,054
3	0,803	2	-	0,067
2	0,717	2	-	0,115

Tab. 28: Random-Groups-Ergebnisse des finalen Alignments für ausgewählte CoMFA- und CoMSIA-Modelle.

5.3.5 Auswertung der CoMSIA-Konturdiagramme

5.3.5.1 Sterisches und elektrostatisches Feld

Die Kontur-Diagramme (Abb. 83) basieren auf dem Modell, das unter Verwendung aller fünf CoMSIA-Funktionen (q^2 -Wert von 0,873) erstellt wurde.

Das sterische Feld zeigt am zweiten Ring der Chinolin-Partialstruktur einen grünen Bereich der für eine Besetzung durch einen voluminösen Substituenten begünstigt ist. Sterisch ungünstige Bereiche (gelb) für weitere Substitutionen befinden sich ober- und unterhalb des Chinolin-Rings (Abb. 83). Diese Konturen sind in einer Weise angeordnet, die andeutet, dass der Chinolin-Ring in einer Art „Hülle“ begrenzt ist.

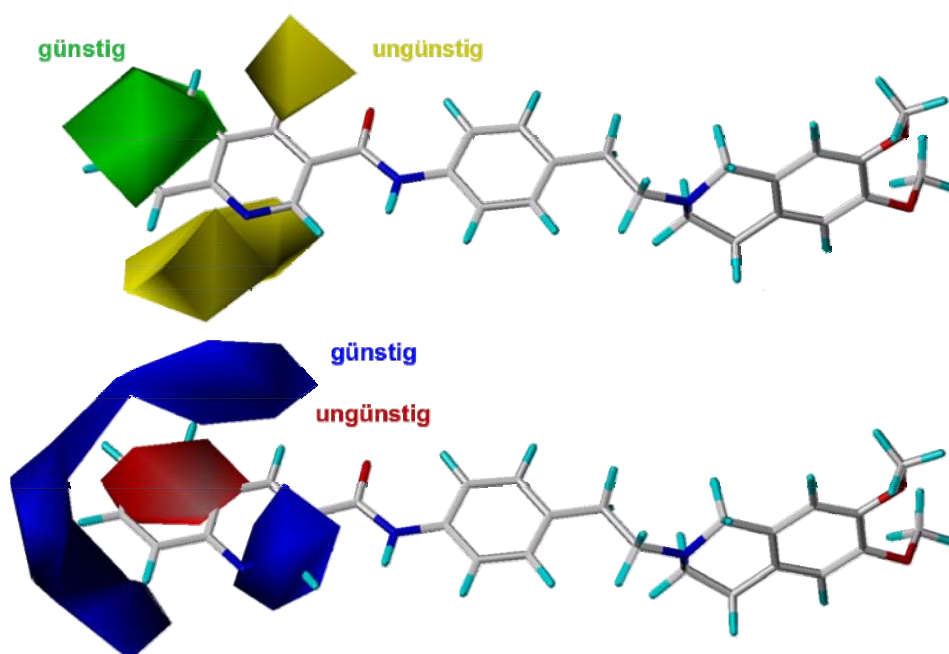


Abb. 83: Konturdiagramm des sterischen (oben) und des elektrostatischen (unten) CoMSIA-Feldes mit WK-X-51.

Das elektrostatische Feld zeigt große Bereiche (blau) in der eine positive Partialladung günstig erscheint. Dies entspricht den partial positiv geladenen H-Atomen des Aromaten. Die roten Konturen (negativer Einfluss einer positiven Ladung) ist im Bereich des zweiten Rings der Chinolin-Partialstruktur zu finden. Dies wiederum entspricht den negativen Partialladungen der Kohlenstoff-Atome des aromatischen Systems. Das deutet darauf hin, dass die Orientierung des Aromaten der von WK-X-51 entsprechen sollte und dass ein Bicyklus gegenüber einem Monozyklus günstiger ist.

5.3.5.2 Hydrophobes Feld

Im Hydrophoben Feld erscheinen zwei Bereiche die für das Pharmakophormodell von Bedeutung sind. Der magentafarbene Bereich am zweiten Ring der Chinolin-Teilstruktur zeigt einen Ort an dem eine hydrophobe Wechselwirkung günstig erscheint (Abb. 84). Dieser Bereich zeigte schon im sterischen Feld wichtige günstige Beiträge für das Pharmakophormodell. Es scheint ein Bereich zu sein an dem weitere Substitutionen oder Modifikationen, besonders mit hydrophoben Gruppen, eine Verbesserung der pharmakologischen Eigenschaften bewirken könnte.

In der Nähe des Stickstoffatoms der Chinolin-Partialstruktur erscheint ein Bereich an dem eine Hydrophile-Partialstruktur günstig ist (cyan).

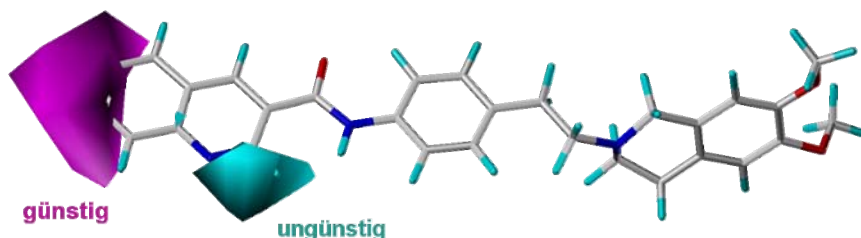


Abb. 84: WK-X-51 innerhalb des Konturdiagramms des hydrophoben CoMSIA-Feldes.

5.3.5.3 Wasserstoffbrücken-Donor und -Akzeptor-Felder

Das Wasserstoffbrücken-Akzeptor Feld des CoMSIA-Modells weist auch wieder zwei Bereiche aus, die einen besonderen Einfluss auf die Aktivitäten ausüben (Abb. 85). Erstaunlicherweise findet sich in der Nähe des Carbonyl-Sauerstoffatoms ein Bereich, in dem eine Akzeptor Funktion nicht günstig erscheint (grün). Diese Kontur überlappt jedoch nicht mit dem Carbonyl-Sauerstoffatom an sich. Da es an dieser Partialstruktur keine Variation in einem Molekül des Datensatzes gegeben hat, wäre diese auch nicht zu vermuten. Befindet sich jedoch eine weitere Akzeptor-Funktion zusätzlich seitlich der Carbonyl-Funktion ist dies ungünstig. Ein günstiger Bereich für einen Wasserstoffbrücken-Akzeptor befindet sich in der Nähe des Chinolin-Stickstoffatoms. Diese Akzeptor-Funktion scheint einen deutlich günstigen Einfluss zu besitzen. Fällt diese Funktion weg, wie bei dem 2-Naphthyl-Derivat, besitzt die Verbindung nur eine niedrigere Aktivität. Das Wasserstoffbrücken-Donor-Feld besitzt nur Bereiche in denen eine Donor-Funktion günstige Beiträge zur Vorhersage der Verbindungen liefert. Die Informationen dieses Konturdiagramms sind jedoch mit

Vorsicht zu betrachten, da das CoMSIA-Donor-Feld alleine nur ein sehr schlechtes Modell liefert das keine guten Vorhersagen der Aktivitäten der Verbindungen erlaubt.

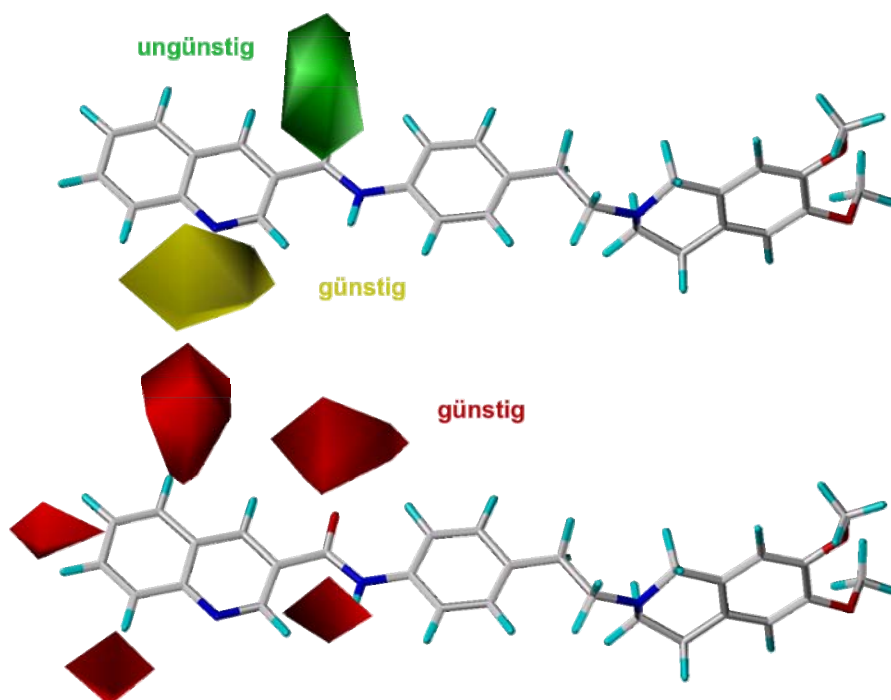


Abb. 85: Konturdiagramm des Wasserstoffbrücken-Akzeptor (oben) und des Wasserstoffbrücken-Donor (unten) CoMSIA-Feldes mit WK-X-51.

5.3.5.4 Zusammenfassung der Konturdiagramme

Betrachtet man die Gesamtheit der Konturdiagramme sowie der Verbindungen des Datensatzes fallen einige wichtige Fakten auf:

1. Die unterschiedliche Substitution am Tetrahydroisochinolin-Ring scheint keinen Einfluss auf die Aktivität der Verbindungen zu besitzen, da in diesem Bereich weder negative noch positive Beiträge in den CoMSIA-Feldern ausgewiesen wurden. Dies steht jedoch im Gegensatz zu den experimentellen Aktivitäts-Daten des dimethoxylierten Derivats WK-X-51 und des unsubstituierten WK-X-52 (pIC_{50} 7,01 bzw. 6,38).
2. Im CoMSIA-Modell erscheint die Verbindung WK-Y-34 mit variiertem Linker-Partialstruktur der Leitstruktur WK-X-51 als gleichwertig.
3. Bei der aromatischen Partialstruktur, in der die meisten Variationen untersucht wurden, erscheint der Bereich bei den Positionen 6 und 7 des Chinolin-Rings besonders interessant. Eine Einführung kleinerer hydrophober Substituenten könnte zu einer Aktivitätssteigerung führen.

4. Der Stickstoff des Chinolin-Rings besitzt eine Bedeutung als Wasserstoffbrücken-Akzeptor und/oder als hydrophile Partialstruktur.

5.3.6 Strukturvorschläge für neue P-gp-Modulatoren

Aufbauend auf den beschriebenen Konturdiagrammen wurde versucht, eine Strategie zu entwickeln, ausgehend von den Strukturen der Leitstrukturen WK-X-51 und WK-X-81 neuartige Modulatoren mit verbesserten biologischen Eigenschaften zu entwickeln. Dazu wurden die Strukturen von ca. 30 neuartigen Verbindungen generiert und die Aktivitäten mit dem CoMSIA-Modell vorhergesagt.

Aufgrund der erzeugten Konturdiagramme wurden nur Variationen im aromatischen Bereich und an der Verknüpfungsstelle eingeführt. Tabelle 29 zeigt die 10 interessantesten Verbindungen.

R	plC_{50} (pred)	R	plC_{50} (pred)
	7,69		6,66
	7,58		6,59
	7,57		6,83
	7,21		6,74
	7,28		6,60

Tab. 29: Aktivitätsvorhersagen von unbekanntem Verbindungen.

6 Zusammenfassung

Das Ziel des ersten Teils dieser Arbeit stellte das Design und die Synthese einer Substanzbibliothek von P-gp-Modulatoren dar. Begonnen wurde mit einer Modifizierung des Literaturbekannten Modulators der 3. Generation Tariquidar (XR9576).

1. Es konnten 12 Tariquidar-Analoga synthetisiert werden, wobei vier dieser Substanzen schon in der Literatur beschrieben sind.

Im Anschluss wurden verschiedene Modifikationen an dieser Leitstruktur vorgenommen. Im ersten Schritt variierte man das Substitutionsmuster an der Aminobenzoosäure-Partialstruktur. Auf diesem Weg konnten vier neue para- und meta-substituierte Aminobenzoosäure-Derivate dargestellt werden. Anschließend wurde die zentrale Amid-Verknüpfung der Leitstruktur durch andere Teilstrukturen ersetzt. Diese beinhalteten Harnstoff- (4 Derivate), 2-Aminophenylethylamin- (1 Derivat) und 2-Aminophenoxyessigsäure-Partialstrukturen (2 Derivate). Des Weiteren folgte eine Variation der „zweiten“ Amidbindung durch eine Harnstoff-Partialstruktur (1 Derivat) sowie die Synthese eines „Dimers“ durch Umsetzung von zwei Äquivalenten eines Aminophenylethylamins mit Dibenzoesäurechlorid (1 Derivat). Im letzten Schritt wurde die basische Amino-Partialstruktur durch eine Hydroxy-Gruppe ersetzt (6 Derivate).

Auf diese Weise wurden 31 P-gp-Modulatoren (27 neue und 4 literaturbekannte) mit der in Abbildung 86 schematisch dargestellten Grundstruktur synthetisiert, analysiert und für pharmakologische Untersuchungen bereitgestellt.

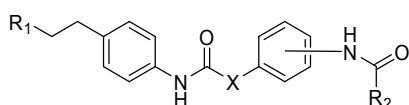


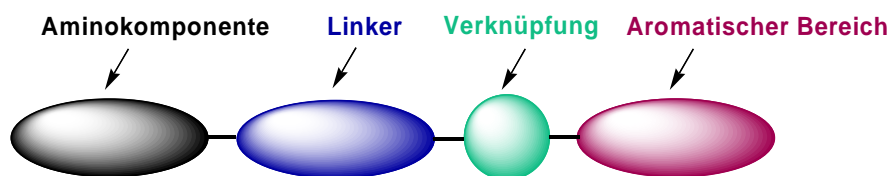
Abb. 86: Schema der Struktur-Modifikationen der Leitstruktur Tariquidar.

In der pharmakologischen Testung stellte sich das Derivat WK-X-34 als erfolgreichste Verbindung dieser Substanzklasse heraus. WK-X-34 besaß nicht nur *in vitro* die Fähigkeit P-gp im mittleren nanomolaren Bereich (Daunorubicin-Influx-Assay, $IC_{50} = 82 \text{ nM}$) zu inhibieren, sondern war auch *in vivo* in der Lage den P-gp vermittelten Efflux von ^{99m}Tc -Sestamibi aus Xenograft-Tumor-Modellen in immunokomprimierten Mäusen zu hemmen. Es konnte gezeigt werden, dass

Zusammenfassung

es auch in anderen P-gp exprimierenden Geweben (Gehirn, Leber) zu einem Anstieg von ^{99m}Tc -Sestamibi unter dem Einfluss des Modulators WK-X-34 kommt. Die Veränderung der zentralen Amid-Verknüpfung brachte keine Verbesserung der pharmakologischen Eigenschaften. Nur die Derivate mit 2-Aminophenoxyessigsäure-Partialstrukturen zeigten sich im Calcein-Assay den Amid-Analoga als nahezu gleichwertig. Verbindungen ohne basische Teilstruktur zeigten keine P-gp inhibierenden Eigenschaften mehr.

2. Es wurden niedermolekulare Modulatoren (Molmasse ≤ 500 g/mol) durch geringe strukturelle Modifikationen der Leitstruktur synthetisiert. Alle Partialstrukturen der Substanzklasse sollten gezielt verändert werden um nähere Einblicke in die pharmakologische Bedeutung der verschiedenen Teilstrukturen des Moleküls zu erlangen.



Zuerst wurden der aromatische Bereich und die Verknüpfungsstelle systematisch variiert. Bei den Variationen (46 Derivate) stellten sich die Verbindungen WK-X-51 und WK-X-81 als pharmakologisch besonders interessant heraus. Betrachtet man die pIC_{50} -Werte (Hoechst-Assay = 7,01; Calcein-Assay = 6,19) scheint WK-X-51 eine Prävalenz zur Hoechst-Bindungsstelle aufzuweisen. Im ATPase-Assay führte WK-X-51 zu der stärksten Stimulation der ATPase-Aktivität aller synthetisierten Verbindungen. WK-X-81 zeigte in allen Testsystemen (Calcein/Hoechst/Dauno) eine sehr starke P-gp-Inhibition. Im Daunorubicin-Influx-Assay zeigte sich die Verbindung mit einem pIC_{50} -Werte von 7,11 als genauso potent wie WK-X-34 und war diesem im Calcein-Assay sogar überlegen.

Basierend auf diesen beiden neuen Leitstrukturen wurde der Linkerbereich abgewandelt. Es konnten drei Modifikationen synthetisch zugänglich gemacht werden. Die Ethylphenylamin-Linkerstruktur wurde zu einer Benzylamin- ($n=1$, $m=0$, $R_3=H$), Benzylmethylamin- ($n=1$, $m=1$, $R_3=H$) und *N*-(1-Cyanoethyl)-ethylphenylamin-Partialstruktur ($n=2$, $m=0$, $R_3=1\text{-Cyanoethyl}$) hin verändert (4 Derivate).

Zusammenfassung

Der Kernpunkt der letzten Modifikation war eine Veränderung der Aminokomponente, wobei die Zielverbindungen unterschiedlich ausgeprägte basische Eigenschaften aufweisen sollten. Es wurde ein Satz von 5 verschiedenen Aminen ausgewählt. Die erste Variation der Tetrahydroisochinolin-Partialstruktur bestand in einer Öffnung des Rings in zwei Positionen. Des Weiteren verwendete man ein β -Carbolin, sowie zwei Piperazin-Derivate. Da die Verbindungen (8 Derivate) mit modifizierter Linker- und Amino-Partialstruktur noch nicht abschließend pharmakologisch untersucht sind, konnte noch keine Beurteilung vorgenommen werden.

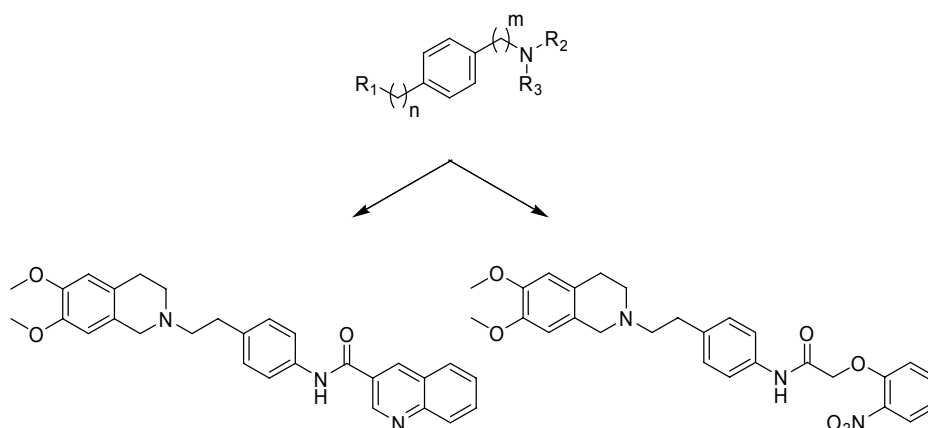


Abb. 87: Allgemeine Struktur der Variationen niedermolekularer P-gp-Modulatoren (oben) sowie die neuen Leitstrukturen WK-X-51 (links) und WK-X-81 (rechts).

Auf diese Weise entstand eine Substanzbibliothek von 58 Verbindungen, von den bisher nur 4 (WK-X-14 bis 17) in der Literatur erwähnt wurden.

3. In einem weiteren Projekt wurde ein photoaktiverbarer P-gp-Modulator mit einer Benzophenon-Teilstruktur durch Kopplung eines Phenylethylamins mit Ketoprofen synthetisiert (Abb. 88). Diese Verbindung, WK-X-87, besitzt eine ca. 10-fach höhere Affinität zu P-gp als Verapamil ($pIC_{50} = 6,14$). Mit diesem photoaktivierbaren Derivat sollen zukünftig Photoaffinitätsmarkierungen von P-gp in unserem Arbeitskreis durchgeführt werden, um nähere Einblicke in die Struktur der Bindungsdomänen des P-gp zu erlangen. Weitere Photolabel mit veränderter Aminokomponente sollten auf diesem Syntheseweg darstellbar sein.

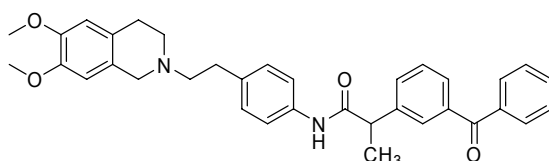


Abb. 88: Struktur des Photolabel WK-X-87.

Zusammenfassung

Im Rahmen dieses Projekts wurden insgesamt 8 Derivate mit Arzneistoff-Partialstruktur synthetisiert. Auch hier steht eine abschließende Beurteilung der Verbindungen aufgrund noch fehlender pharmakologischer Daten aus.

Der zweite Teil dieser Arbeit bestand in der Entwicklung eines 3D-QSAR-Modells um die strukturellen Eigenschaften der Verbindungen mit ihrer P-gp-Aktivität zu korrelieren. Mit Hilfe von CoMFA- und CoMSIA-Methoden wurden die Aktivitätsdaten des Hoechst-Assays von 27 synthetisierten Modulatoren untersucht.

Dabei wurden folgende Ergebnisse erzielt:

1. Aufbauend auf Konformationsanalysen von Hoechst 33342 von Christoph Globisch [Globisch, Diss.] wurden die Strukturen der untersuchten Liganden mit Hilfe des Programm FLEXS überlagert. Das beste Alignment mit Hoechst 33342 zeigte WK-X-66. Diese Konformation von WK-X-66 stellte das Template zum Alignment der anderen Derivate dar. Die meisten Verbindungen wurden anhand ihrer mit WK-X-66 übereinstimmenden Tetrahydroisochinolin-ethyl-phenylamin-Partialstruktur überlagert. Da bei einigen Verbindungen zwei verschiedenen Konformationen an der Amid-Teilstruktur möglich waren, wurden mit dem Programm *AutoPLS* [Weigt, 2006] automatisiert PLS-Analysen durchgeführt. Dabei wurden alle möglichen Konformations-Kombinationen basierend auf einem CoMSIA-Modell unter Einbeziehung sterischer, elektrostatischer, hydrophober und Wasserstoffbrücken-Donor und -Akzeptor Eigenschaften berechnet. Nach statistischer Analyse der *AutoPLS*-Daten mit dem Programm *MATLAB* wurden die Konformationen, die bei guten CoMSIA-Modellen besonders häufig verwendet wurden, in das finale Alignment übernommen.
2. Mit diesem Alignment wurden vier CoMFA- und 31 CoMSIA-Modelle berechnet. Eines der besten Modelle ist das CoMSIA-Modell unter Einbeziehung sterischer, elektrostatischer, hydrophober und Wasserstoffbrücken-Donor und -Akzeptor Eigenschaften. Der q^2 -Wert des Modells zeigt mit 0,873 eine sehr gute Korrelation zwischen den Vorhersagen und den Aktivitätsdaten der Verbindungen bei einer kleinen kreuzvalidierten Standardabweichung von 0,207. In einer gruppenweisen Kreuzvalidierung zeigte sich dieses Modell mit mittleren q^2_n -Werten von 0,851 (5 Gruppen) bis 0,775 (2 Gruppen) als äußerst stabil.

Zusammenfassung

3. Aufbauend auf den Erkenntnissen der Konturdiagramme des CoMSIA-Modells wurden Strukturvorschläge für neue P-gp-Modulatoren erarbeitet. Die aussichtsreichsten Strukturen sind in Abbildung 89 gezeigt.

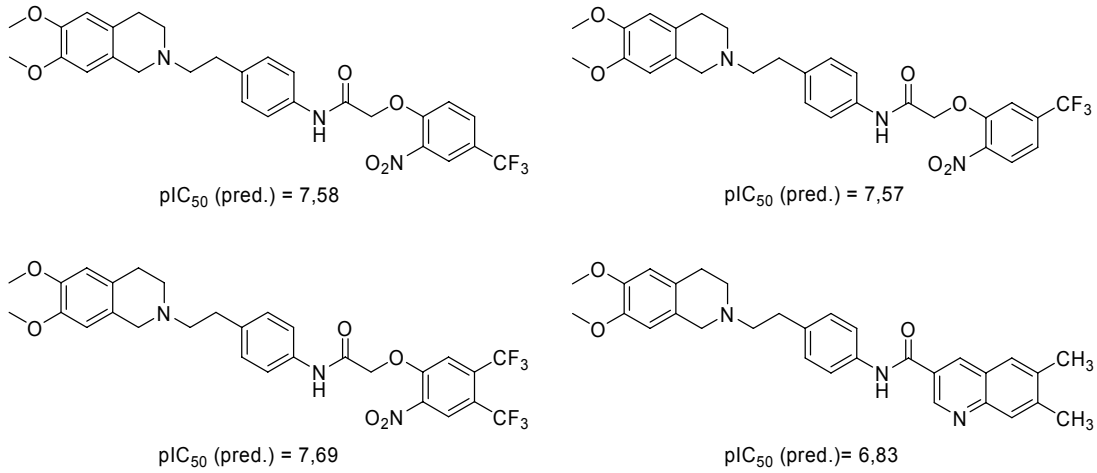


Abb. 89: Von den Leitstrukturen WK-X-51 und WK-X-81 abgeleitete Strukturen mit aussichtsreichen Vorhersagen.

7 Experimenteller Teil

7.1 Allgemeine Angaben

Schmelzpunkte

Die Schmelzpunkte wurden mit einem „Melting Point Apparatus“ der Firma Gallenkamp ermittelt und sind nicht korrigiert.

Molmassen

Die Molmassen werden in Bezug auf die Atomgewichtstabelle von 1962 - bezogen auf ^{12}C - berechnet.

Chromatographie

Zur präparativen Säulenchromatographie wurde Kieselgel der Firma Merck Typ 60 (40-63 μm) eingesetzt. Zur analytischen Säulenchromatographie wurden Kieselgel Fertigfolien der Firma Merck vom Typ 60 F₂₅₄ eingesetzt. Die zur Trennung verwendeten Lauf- und Elutionsmittel sind den Monographien im experimentellen Teil zu entnehmen. Zur Detektion wurden die Fluoreszenzlösung bei 254 nm, sowie Jod als Detektionsmittel eingesetzt.

Infrarotspektren

Die IR-Spektren wurden mit dem Gerät Paragon 1000 der Firma Perkin-Elmer aufgenommen.

Elementaranalyse

Die Elementaranalysen wurden mit dem Gerät „Vario EL“ der Firma Elementar gemessen.

Kernresonanzspektren

^1H -NMR-Spektren wurden mit dem Gerät Bruker Avance 500 (500 MHz) aufgenommen.

^{13}C -NMR-Spektren wurden auf dem Gerät Bruker Avance 500 (125,8 MHz) aufgenommen. Die Verschiebungen sind in δ (ppm) bezogen auf Tetrametylsilan angegeben.

Die Zuordnung der ^1H - (blau) und ^{13}C -NMR-Signale (rot) sind neben den Strukturformeln in ppm (DMSO-*d*6) angegeben. Mit Sternchen (*) gekennzeichnete Protonen sind in D₂O austauschbar.

Massenspektren

Die Massenspektren wurde an den Gerät *Kratos* Concept 1-H, A.E.I., Manchester/GB (FAB, Matrix: Nitrobenzylalkohol) aufgenommen.

7.2 Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAVs)

AAV 1: Synthese der Nitrophenylethylamine mittels nucleophiler Substitution

Eine Mischung von 10,3 mmol 4-Nitrophenylethylbromid (2,5 g), 10,9 mmol Amin Hydrochlorid und 25 mmol K_2CO_3 (bei Aminen als freien Basen 15 mmol) in 50 ml Acetonitril wird 24 h unter Rückfluß erhitzt. Man entfernt das Lösungsmittel im Vakuum, nimmt den Rückstand in 100 ml Wasser auf und extrahiert dreimal mit je 50 ml EtOAc oder DCM. Die organische Phase wird über $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und eingengt. In der Kälte fallen Kristalle aus. Das Rohprodukt wird mit EtOH umkristallisiert.

AAV 2: Katalytische Hydrierung der Nitro-Verbindungen

10 mmol der zu reduzierenden Nitroverbindung werden in einem Hydriergefäß in 100 ml EtOH gelöst und mit Pd/C als Katalystor versetzt. Die Suspension wird mit Wasserstoff bei RT in einer Paarapparatur bei 4 bar Druck 48 h hydriert. Nach Beendigung der Reaktion wird der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum eingengt. In der Kälte fällt das Rohprodukt aus, welches mit EtOH umkristallisiert wird.

AAV 3 Herstellung der Säurechloride und Umsetzung mit Aminen

5 mmol der Carbonsäure wird in trockenem Toluol suspendiert und mit katalytischen Mengen DMF versetzt. Zu dieser Suspension wird tropfenweise 10 mmol Thionylchlorid ($SOCl_2$) unter Feuchtigkeitsausschluss zugesetzt und 4 h bei $75^\circ C$ bis zur Beendigung der Gasentwicklung gerührt. Der Überschuss $SOCl_2$ und das Lösungsmittel werden im Vakuum entfernt.

Das Säurechlorid wird in trockenem THF suspendiert und tropfenweise zu einer Lösung aus 5 mmol Amin in trockenem THF und 6 mmol Et_3N bei $0^\circ C$ zugesetzt. Die Mischung wird 48 h gerührt und nach Beendigung der Reaktion wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird in 100 ml Wasser aufgenommen und 3 mal mit 75 ml EtOAc (oder DCM) extrahiert. Die organische Phase wird mit je 50 ml 1 N HCl (Nicht bei Derivaten mit basischer Amin-Partialstruktur), 1 N NaOH und Wasser gewaschen, mit $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel eingengt. In der Kälte fällt das Carbonsäureamid aus. Das Rohprodukt wird mit DCM/n-Hexan (oder EtOH \rightarrow Nitroverbindungen) umkristallisiert.

AAV 4: Synthese der Carbonsäureamide

5 mmol Säurechlorid wird in trockenem THF suspendiert oder gelöst und tropfenweise zu einer Lösung aus 5 mmol Amin in trockenem THF und 6 mmol Et_3N bei $0^\circ C$ zugesetzt. Die Mischung wird 12 h gerührt und nach Beendigung der Reaktion wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird in 100 ml Wasser aufgenommen und 3 mal mit 75 ml EtOAc extrahiert. Die organische Phase wird mit je 50 ml 1 N HCl (Nicht bei Derivaten mit basischer Amin-Partialstruktur), 1 N NaOH und Wasser gewaschen, mit $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum eingengt. In der Kälte fällt das Carbonsäureamid aus. Das Rohprodukt wird mit DCM/n-Hexan umkristallisiert.

Experimenteller Teil

AAV 5: Synthese der Harnstoffe

Eine Lösung von 3 mmol Amin in 40 ml THF wird unter Rühren mit 3 mmol Isocyanat versetzt. Nach einigen Minuten werden 3 Tropfen Et_3N zugefügt und 6 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Beendigung der Reaktion wird das Lösungsmittel eingedampft, in 50 ml Wasser aufgenommen und mit 3 mal 100 ml EtOAc extrahiert. Die org. Phase wird mit MgSO_4 getrocknet und eingeeengt. Das Rohprodukt wird mit DCM/n-Hexan (oder EtOH \rightarrow Nitroverbindungen) umkristallisiert.

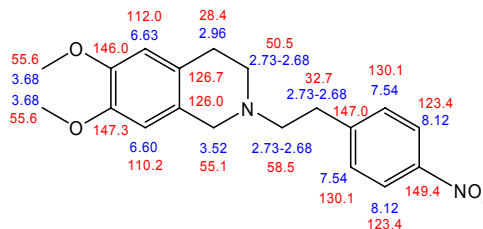
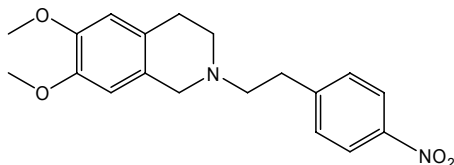
AAV 6: Reduktion aromatischer Nitro-Verbindungen mit Zinn(II)chlorid Dihydrat

3 mmol der Nitro-Verbindung werden in 50 ml EtOH gelöst und mit 30 mmol (7,2 g) Zinn(II)chlorid Dihydrat versetzt. Der Ansatz wird 4 h unter Stickstoffatmosphäre refluxiert. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der Rückstand in 250 ml EtOAc aufgenommen. Die organische Phase wird dreimal mit 75 ml 1 N NaOH und dreimal mit 75 ml Wasser gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wird filtriert und anschließend eingeeengt und solange mit n-Hexan versetzt bis eine leicht weiße Trübung entsteht. In der Kälte fällt ein Feststoff aus, der mit EtOH/n-Hexan umkristallisiert wird.

7.3 Monographien

7.3.1 Monographien der Vorstufen

6,7-Dimethoxy-2-[2-(4-Nitro-phenyl)-ethyl]-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (**3**/WK-X-10)

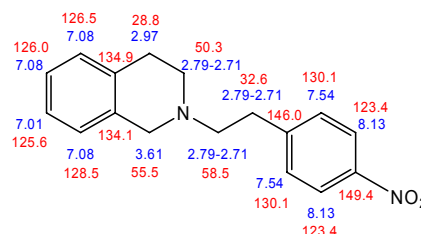
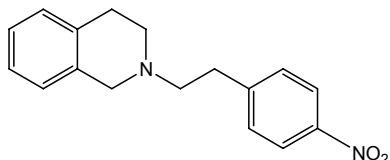


Herstellung:	AAV 1
Edukte:	10,9 mmol (2,5 g) 6,7-Dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin HCl 10,3 mmol (2,5 g) 4-Nitrophenylethylbromid
Summelformel:	C ₁₉ H ₂₂ N ₂ O ₄
Mr:	342,4
Smp.:	118°C
Aussehen:	gelber kristalliner Feststoff
Ausbeute:	73,7% (2,6 g)
Rf:	0,74 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1) 0,25 (Kieselgel/EtOAc)
EA:	ber.: C, 66,65; H, 6,48; N, 8,18; O, 18,69 gef.: C, 66,38; H, 6,46; N, 7,99

¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ = 2.68 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.72 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, CH₂), 2.96 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH₂), 3.52 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 6.60 (s, 1H, ArH), 6.63 (s, 1H, ArH), 7.54 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.13 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2 x ArH).

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.7 (CH₂), 50.5 (CH₂), 55.1 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 58.5 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 123.3 (Ar-CH), 123.4 (2 x Ar-CH), 126.0 (Ar-C), 126.7 (Ar-C), 130.1 (2 x Ar-CH), 146.0 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 149.4 (Ar-C).

2-[2-(4-Nitro-phenyl)-ethyl]-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (**3a**/WK-X-11)



Herstellung:	AAV 1
Edukte:	24,8 mmol (3,3 g) 1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin 20,6 mmol (5,0 g) 4-Nitrophenylethylbromid
Summelformel:	C ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₂
Mr:	282,3
Smp.:	103°C
Aussehen:	hell gelber kristalliner Feststoff

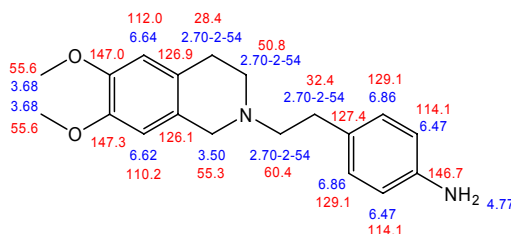
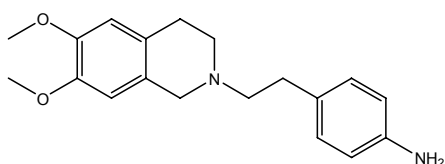
Experimenteller Teil

Ausbeute: 78,3% (4,55 g)
 Rf: 0,80 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
 0,61 (Kieselgel/EtOAc)
 EA: ber.: C, 72,32; H, 6,43; N, 9,92; O, 11,33
 gef.: C, 72,21; H, 6,41; N, 9,69;

¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ = 2.71-2.79 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.97 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH₂), 3.61 (s, 2H, CH₂), 7.01 (m, 1H, ArH), 7.08 (m, 3H, 3 x ArH), 7.55 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.13 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2 x ArH).

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz): δ = 28.8 (CH₂), 32.6 (CH₂), 50.3 (CH₂), 55.5 (CH₂), 58.5 (CH₂), 123.4 (2 x Ar-CH), 125.6 (Ar-CH), 126.0 (Ar-CH), 126.5 (Ar-CH), 128.5 (Ar-CH), 130.1 (2 x Ar-CH), 134.3 (Ar-C), 135.0 (Ar-C), 146.0 (Ar-C), 149.4 (Ar-C).

4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (**4/WK-X-12**)



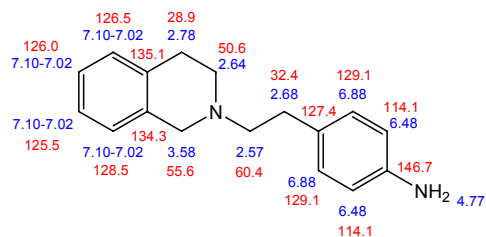
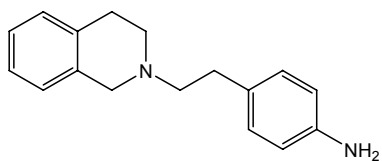
Herstellung: AAV 2
 Ansatz: 4,4 mmol (1,5 g) 6,7-Dimethoxy-2-[2-(4-nitro-phenyl)-ethyl]-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (**3/WK-X-10**)
 Summelformel: C₁₉H₂₄N₂O₂
 Mr: 312,4
 Smp.: 129°C
 Aussehen: weißer kristalliner Feststoff
 Ausbeute: 87% (1,19 g)
 Rf: 0,63 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
 0,07 (Kieselgel/EtOAc)
 EA: ber.: C, 73,05; H, 7,74; N, 8,97; O, 10,24
 gef.: C, 72,69; H, 7,68; N, 8,78;

¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ = 2.56 (m, 2H, CH₂), 2.62 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.69 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H, CH₂), 3.50 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 4.78 (s, 2H*, NH₂), 6.48 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 6.87 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH).

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz): δ = 28.5 (CH₂), 32.4 (CH₂), 50.8 (CH₂), 55.3 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 60.4 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 114.1 (2 x Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.9 (Ar-C), 127.5 (Ar-C), 129.1 (2 x Ar-CH), 146.7 (Ar-C), 147.0 (Ar-C), 147.3 (Ar-C).

Experimenteller Teil

4-[2-(3,4-Dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (**4a**/WK-X-13)

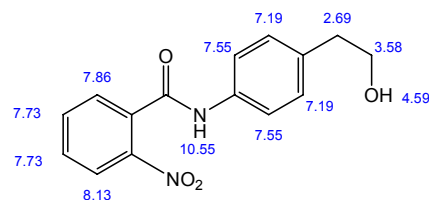
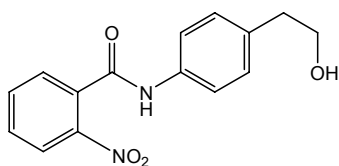


Herstellung:	AAV 2	
Edukte	14,1 mmol (3,0 g) 2-[2-(4-Nitro-phenyl)-ethyl]-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (3a /WK-X-11)	
Summelformel:	C ₁₇ H ₂₀ N ₂	
Mr:	252,4	
Smp.:	90°C	
Aussehen:	weißer kristalliner Feststoff	
Ausbeute:	92,4% (3,29 g)	
Rf:	0,69 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1) 0,34 (Kieselgel/EtOAc)	
EA:	ber.:	C, 80,91; H, 7,99; N, 11,10
	ber. * 0,2 H ₂ O:	C, 79,77; H, 8,03; N, 10,94
	gef.:	C, 79,71; H, 8,05; N, 10,83

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.58 (m, 2H, CH₂), 2.64 (m, 2H, CH₂), 2.68 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H, CH₂), 2.78 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H, CH₂), 3.58 (s, 2H, CH₂), 4.78 (s, 2H*, NH₂), 6.48 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, 2 x ArH), 6.88 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.02-7.10 (m, 4H, 4 x ArH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.9 (CH₂), 32.4 (CH₂), 50.6 (CH₂), 55.6 (CH₂), 60.4 (CH₂), 114.1 (2 x Ar-CH), 125.5 (Ar-CH), 126.0 (Ar-CH), 126.5 (Ar-CH), 127.4 (Ar-C), 128.5 (Ar-CH), 129.1 (2 x Ar-CH), 134.3 (Ar-C), 135.1 (Ar-C), 146.7 (Ar-C).

N-[4-(2-Hydroxy-ethyl)-phenyl]-2-nitro-benzamid (**16**/WK-X-1)



Herstellung: Zu einer Lösung von 4-Aminophenylethanol (50 mmol = 6,9 g) und Et₃N (55 mmol = 5,5 g) in trockenem THF (150 ml) wird bei 0°C tropfenweise mit 2-Nitrobenzoesäurechlorid (50 mmol = 9,28 g) versetzt. Die Mischung wird 6h bei RT gerührt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, der Rückstand in ca. 200 ml Wasser aufgenommen und mit 3 mal 100 ml EtOAc extrahiert. Die org. Phase wird mit je 50 ml 1 N HCl, 1N NaOH und Wasser gewaschen, mit MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum eingeeengt. In der Kälte kristallisiert das Amid aus und wird aus Ethanol zweimal umkristallisiert.

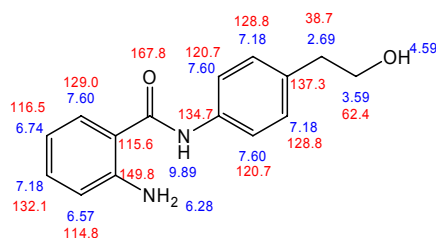
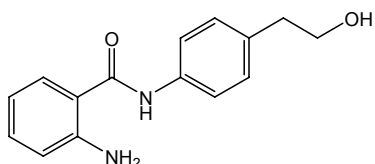
Summelformel: C₁₅H₁₄N₂O₄

Experimenteller Teil

Mr: 286,3
 Smp.: 138°C
 Aussehen: beige-weißer kristalliner Feststoff
 Ausbeute: 59% (8,44 g)
 Rf: 0,79 (Kieselgel; MeOH/NH₃ 99:1); 0,57 (Kieselgel; EtOAc)
 0,67 (Kieselgel; EtOAc/Eisessig 98:2)
 EA: ber.: C, 62,93; H, 4,93; N, 9,79; O, 22,35
 gef.: C, 62,77; H, 4,93; N, 9,70

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.89 (t, *J* = 7 Hz, 2H, CH₂), 3.58 (m, 2H, CH₂), 4.59 (t, *J* = 5.1 Hz, 1H*, OH), 7.13 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.55 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, x ArH), 7.74 (m, 2H, 2 x ArH), 7.85 (dt, *J* = 8.7 Hz, *J* = 1.3 Hz, 1H, ArH), 8.13 (dd, *J* = 8.7 Hz, *J* = 1.3 Hz, 1H, ArH), 10.56 (s, 1H*, NH).

2-Amino-N-[4-(2-hydroxy-ethyl)-phenyl]-benzamid (**17**/WK-X-3)



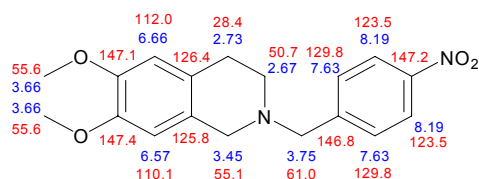
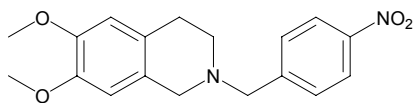
Herstellung: AAV 2
 Ansatz: 10 mmol (2,86 g) *N*-[4-(2-Hydroxy-ethyl)-phenyl]-2-nitro-benzamid (**16**/WK-X-1)
 Summelformel: C₁₅H₁₆N₂O₂
 Mr: 256,3
 Smp.: 140°C
 Aussehen: weißer kristalliner Feststoff
 Ausbeute: 80,4% (2,06 g)
 Rf: 0,74 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
 0,65 (Kieselgel/EtOAc)
 EA: ber.: C, 70,29; H, 6,29; N, 10,93; O, 12,48
 gef.: C, 70,41; H, 6,27; N, 10,80

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.69 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH₂), 3.59 (m, 2H, OCH₂), 4.59 (t, *J* = 5 Hz, 1H*, OH), 6.28 (s, 2H*, NH₂), 6.59 (dt, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 6.74 (dd, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.18 (m, 3H, 3 x ArH), 7.60 (m, 3H, 3 x ArH), 9.89 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 38.7 (CH₂), 60.5 (OCH₂), 114.8 (Ar-CH), 115.6 (Ar-C), 116.5 (Ar-CH), 120.7 (2 x Ar-CH), 128.8 (Ar-CH), 129.0 (2 x Ar-CH), 132.1 (Ar-CH), 134.7 (Ar-C), 137.3 (Ar-C), 149.8 (Ar-C), 167.8 (CO).

Experimenteller Teil

6,7-Dimethoxy-2-(4-nitro-benzyl)-1,2,3,4-tetrahydro-isochinolin (**19**/WK-X-70)



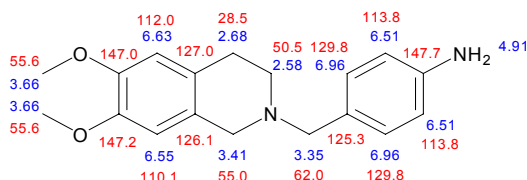
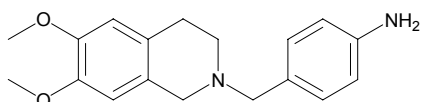
Herstellung: Eine Mischung von 4-Nitrobenzylbromid (2,2 g = 10,3 mmol), 6,7-Dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin Hydrochlorid (2,5 g = 10,9 mmol) und K₂CO₃ (4 g = 25 mmol) in 50 ml Acetonitril wird 24 h unter Rückfluß erhitzt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt, der Rückstand in 100 ml Wasser aufgenommen und dreimal mit je 50 ml EtOAc extrahiert. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet, filtriert und eingeengt. In der Kälte fallen gelbe Kristalle aus. Das Rohprodukt wird in EtOH umkristallisiert.

Summelformel: C₁₈H₂₀N₂O₄
Mr: 328,4
Smp.: 112°C
Aussehen: leicht gelblich-beiger Feststoff
Ausbeute: 76% (2,72 g)
Rf: 0,77 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
 0,60 (Kieselgel/EtOAc)
EA: ber.: C, 65,84; H, 6,14; N, 8,53; O, 19,49
 gef.: C, 65,62; H, 6,37; N, 8,41

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.67 (t, *J* = 5.5 Hz, 2H, CH₂), 2.73 (t, *J* = 5.5 Hz, 2H, CH₂), 3.45 (s, 2H, CH₂), 3.66 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.75 (s, 2H, CH₂), 6.57 (s, 1H, ArH), 6.66 (s, 1H, ArH), 7.63 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.19 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.1 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 61.0 (CH₂), 110.1 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 123.5 (2 x Ar-CH), 125.8 (Ar-C), 126.4 (Ar-C), 129.8 (2 x Ar-CH), 146.8 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.2 (Ar-C), 147.4 (Ar-C).

4-((6,7-Dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)methyl)benzyl-amin (**20**/WK-Y-33)



Herstellung: AAV 6
Edukte: 3 mmol (990 mg) 6,7-Dimethoxy-2-(4-nitro-benzyl)-1,2,3,4-tetrahydro-isochinolin (**19**/WK-X-70)
Summelformel: C₁₈H₂₂N₂O₂
Mr: 298,4
Smp.: 160°C
Aussehen: weißer kristalliner Feststoff
Ausbeute: 39,4% (353 mg)

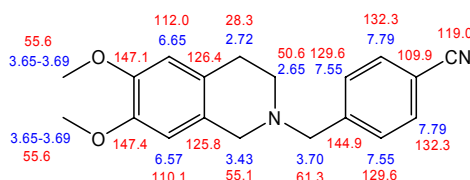
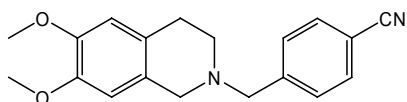
Experimenteller Teil

Rf: 0,63 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1), 0,09 (Kieselgel/EtOAc),
0,39 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)
EA: ber.: C, 72,46; H, 7,43; N, 9,39; O, 10,72
gef.: C, 72,13; H, 7,72; N, 9,50

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.58 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H, CH₂), 2.68 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H, CH₂) 3.35 (s, 2H, CH₂), 3.41 (s, 2H, CH₂), 3.65 (s, 3H, OCH₃), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 4.91 (s, 2H*, NH₂), 6.51 (td, *J* = 8.2 Hz, 2H, 2 x ArH), 6.55 (s, 1H, ArH), 6.63 (s, 1H, ArH), 6.96 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 2 x ArH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.5 (CH₂), 50.5 (CH₂), 55.0 (CH₂), 55.6 (OCH₃) 55.6 (OCH₃), 62.0 (CH₂), 110.1 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 113.8 (2 x Ar-CH), 125.3 (Ar-C), 126.1 (Ar-C), 127.0 (Ar-C), 129.8 (2 x Ar-CH), 147.0 (Ar-C), 147.2 (Ar-C), 147.7 (Ar-C).

4-((6,7-Dimethoxy-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)methyl)benzonitril (**28/WK-X-60**)



Herstellung: Eine Mischung von 4-Cyanobenzylbromid (1,5 g = 7,6 mmol), 6,7-Dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin Hydrochlorid (1,8 g = 7,8 mmol) und K₂CO₃ (4 g = 25 mmol) in 100 ml Acetonitril wird 24 h unter Rückfluß erhitzt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt, der Rückstand in 100 ml Wasser aufgenommen und dreimal mit je 50 ml DCM extrahiert. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet, filtriert und eingengt und mit n-Hexan versetzt. In der Kälte fallen weiße Kristalle aus. Das Rohprodukt wird in EtOAc umkristallisiert.

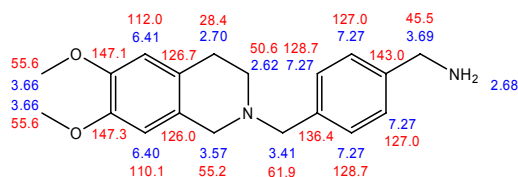
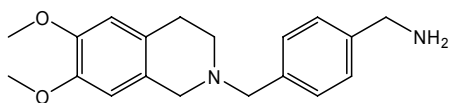
Summelformel: C₁₉H₂₀N₂O₂
Mr: 308,4
Smp.: 124°C
Aussehen: weißer kristalliner Feststoff
Ausbeute: 85,3% (2,0 g)
Rf: 0,81 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
0,70 (Kieselgel/EtOAc)
EA: ber.: C, 74,00; H, 6,45; N, 9,08; O, 10,38
gef.: C, 73,69; H, 6,78; N, 8,95

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.65 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H, CH₂), 2.72 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H, CH₂), 3.43 (br, s, 2H, CH₂), 3.65 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.70 (br, s, 2H, CH₂), 6.57 (s, 1H, ArH), 6.65 (s, 1H, ArH), 7.55 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.79 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.3 (CH₂), 50.6 (CH₂), 55.1 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.6 (OCH₃), 61.3 (CH₂), 109.9 (Ar-C), 110.1 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 119.0 (CN), 125.8 (Ar-C), 126.4 (Ar-C), 129.6 (2 x Ar-CH), 132.3 (2 x Ar-CH), 144.9 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C).

Experimenteller Teil

4-((6,7-Dimethoxy-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)methyl)phenyl)-methylamin (25/WK-X-61)



Herstellung: 5 mmol (1,54 g) 4-((6,7-Dimethoxy-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)-yl)-methyl)benzonnitril wird in 20 ml trockenem THF gelöst und langsam unter Eiskühlung zu einer Suspension aus LiAlH₄ (95%) (10 mmol, 0,38 g) in 30 ml trockenem THF getropft. Anschließend wird der Reaktionsansatz 0,5 h bei RT und 3 h unter Rückfluß gerührt. Nach Abkühlen des Ansatzes wird bei RT vorsichtig so lange die gerade notwendige Menge gesättigte NH₄Cl-Lösung zugegeben, bis das überschüssige LiAlH₄ hydrolysiert wurde und die Gasentwicklung abgeschlossen ist. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase wird dreimal mit 50 ml EtOAc extrahiert. Die vereinigte organische Phase wird mit MgSO₄ getrocknet und anschließend zur Trockne eingedampft.

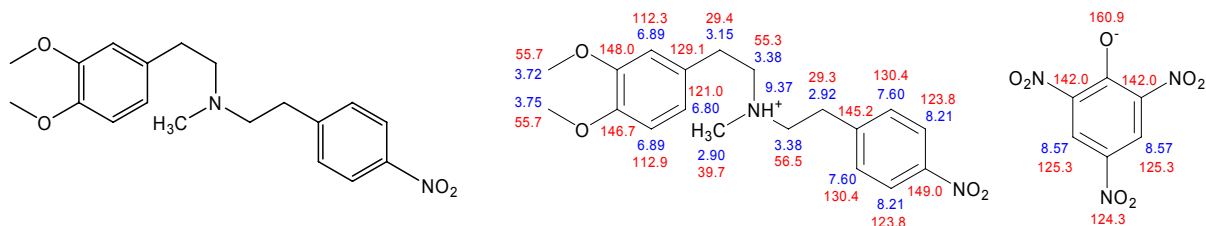
Summelformel: C₁₉H₂₄N₂O₂
Mr: 312,4
Smp.: 72°C
Aussehen: weißer Feststoff
Ausbeute: 74,8% (1,17 g)
Rf: 0,70 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
 0,53 (Kieselgel/EtOAc)
EA: ber.: C, 73,05; H, 7,74; N, 8,97; O, 10,24
 gef.: C, 72,72; H, 7,61; N, 8,83

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.62 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H, CH₂), 2.68-2.72 (m, 2H*, NH₂), 2.70 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H, CH₂), 3.40 (br, s, 2H, CH₂), 3.57 (br, s, 2H, CH₂), 3.65 (s, 3H, OCH₃), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.70 (br, s, 2H, CH₂), 6.55 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.27 (m, 4H, 4 x ArH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 45.5 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (2 x OCH₃), 61.9 (CH₂), 110.1 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 126.0 (Ar-C), 126.7 (Ar-C), 127.0 (2 x Ar-CH), 128.7 (2 x Ar-CH), 136.4 (Ar-C), 143.0 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C).

Experimenteller Teil

N-(3,4-dimethoxyphenethyl)-*N*-methyl-2-(4-nitrophenyl)ethylamin (**36**/WK-Y-37)

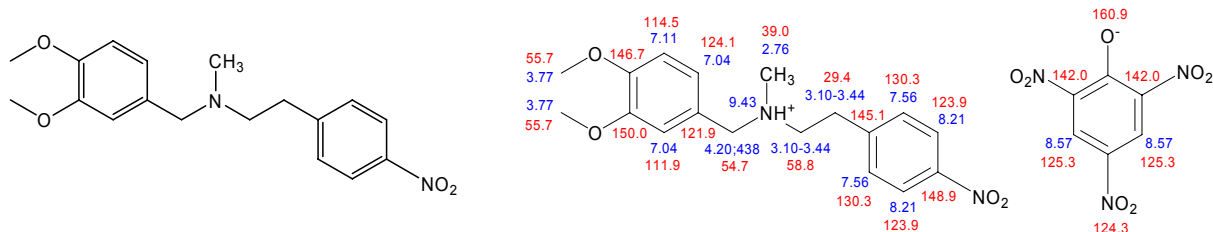


Herstellung:	AAV 1
	Das Rohprodukt wird Säulenchromatographisch mit Kieselgel und i-Propanol/DCM/NH ₃ 80:20:4 als Eluent gereinigt.
Edukte:	10,9 mmol (2,13 g) 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)- <i>N</i> -methylethylamin 10,3 mmol (2,5 g) 4-Nitrophenylethylbromid
Summelformel:	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₄ (Pikrat: C ₂₅ H ₂₇ N ₅ O ₁₁)
Mr:	344,4
Smp.:	166°C (Pikrat)
Aussehen:	gelbe harzige Flüssigkeit (Pikrat: gelber kristalliner Feststoff)
Ausbeute:	45,5% (1,61 g)
Rf:	0,63 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1), 0,17 (Kieselgel/EtOAc), 0,46 (Kieselgel/ <i>n</i> -BuOH/NH ₃ 99:1)
EA:	ber. (Pikrat): C, 52,36; H, 4,75; N, 12,21; O, 30,69 ber. * 1/3 H ₂ O (Pikrat): C, 51,81; H, 4,81; N, 12,08; O, 31,29 gef.: C, 51,88; H, 4,87; N, 11,79

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) Pikrat: δ = δ = 2.92 (br, s, 5H, CH₂ + CH₃), 3.15 (br, s, 2H, CH₂), 3.38 (br, s, 4H, 2 x CH₂), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 6.80 (dd, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 6.89 (t, 2H, 2 x ArH), 7.60 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.21 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.57 (s, 2H, 2 x ArH, Pikrat), 9.37 (s, 1H*, NH⁺).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) Pikrat: δ = 29.3 (CH₂), 29.4 (CH₂), 39.7 (CH₃), 55.3 (CH₂), 55.7 (OCH₃) 55.7 (OCH₃), 56.5 (CH₂), 112.3 (Ar-CH), 112.9 (Ar-CH), 121.0 (Ar-CH), 123.8 (2 x Ar-CH), 124.3 (Ar-C Pikrat), 125.3 (2 x Ar-CH Pikrat), 129.1 (Ar-C), 130.4 (2 x Ar-CH), 142.0 (2 x Ar-C Pikrat), 145.2 (Ar-C), 146.7 (Ar-C), 148.0 (Ar-C), 149.0 (Ar-C), 160.9 (Ar-C-O⁻ Pikrat).

N-(3,4-Dimethoxybenzyl)-*N*-methyl-2-(4-nitrophenyl)ethylamin (**37**/WK-Y-39)



Herstellung:	AAV 1
	Das Rohprodukt wird Säulenchromatographisch mit Kieselgel und i-Propanol/DCM/NH ₃ 80:20:4 als Eluent gereinigt.
Edukte:	10,9 mmol (1,95 g) (3,4-Dimethoxyphenyl)- <i>N</i> -methylmethylamin 10,3 mmol (2,5 g) 4-Nitrophenylethylbromid
Summelformel:	C ₁₈ H ₂₂ N ₂ O ₄
Mr:	330,4
Smp.:	170 °C

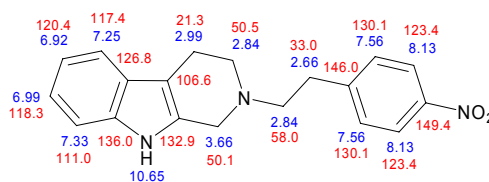
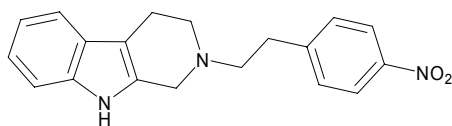
Experimenteller Teil

Aussehen: gelbe harzige Flüssigkeit
Ausbeute: 58,9 % (2,0 g)
Rf: 0,60 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1), 0,20 (Kieselgel/EtOAc),
 0,49 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)
EA: ber.: C, 65,44; H, 6,71; N, 8,48; O, 19,37
 ber. (Pikrat): C, 51,52; H, 4,50; N, 12,52; O, 31,46
 gef. (Pikrat): C, 51,46; H, 4,77; N, 12,43

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) Pikrat: δ = 2.76 (d, 3H, CH₃), 3.10-3.44 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 4.18-4.41 (m, 2H, CH₂), 7.04 (m, 2H, 2 x ArH), 7.11 (d, *J* = 1.6 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.60 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.21 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.57 (s, 2H, 2 x ArH, Pikrat), 9.43 (s, 1H*, NH⁺).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) Pikrat: δ = 29.4 (CH₂), 39.0 (CH₃), 54.7 (CH₂), 55.7 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 58.8 (CH₂), 111.9 (Ar-CH), 114.5 (Ar-CH), 121.9 (Ar-C), 123.9 (2 x Ar-CH), 124.1 (Ar-CH), 124.3 (Ar-C Pikrat), 125.3 (2 x Ar-CH Pikrat), 130.3 (2 x Ar-CH), 142.0 (2 x Ar-C Pikrat), 145.1 (Ar-C), 146.7 (Ar-C), 148.0 (Ar-C), 148.9 (Ar-C), 150.0 (Ar-C), 160.9 (Ar-C-O⁻ Pikrat).

2-(4-Nitrophenethyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol (**38**/WK-Y-4)



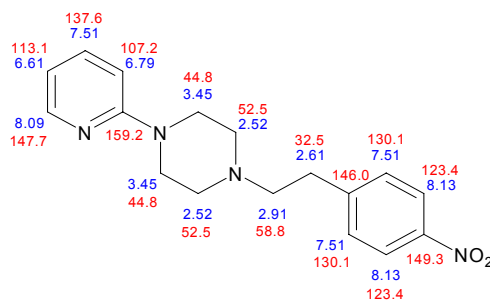
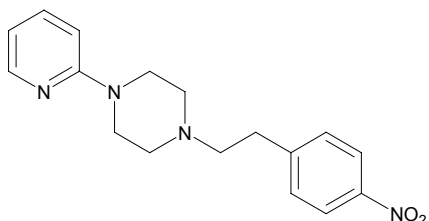
Herstellung: AAV 1
Edukte: 12,5 mmol (2,15 g) 2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol
 12,4 mmol (3 g) 4-Nitrophenylethylbromid
Summelformel: C₁₉H₁₉N₃O₂
Mr: 321,4
Smp.: 159-160°C
Aussehen: hell gelber Feststoff
Ausbeute: 68% (2,73 g)
Rf: 0,74 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1); 0,46 (Kieselgel/EtOAc),
 0,75(Kieselgel/n-BuOH/ NH₃ 99:1)
EA: ber.: C, 71,01; H, 5,96; N, 13,08; O, 9,96
 ber. * 0,2 H₂O: C, 70,22; H, 6,02; N, 12,93; O, 11,05
 gef.: C, 70,14; H, 6,17; N, 13,13

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.66 (t, *J* = 5.5 Hz, 2H, CH₂), 2.84 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.94 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH₂), 3.66 (s, 2H, CH₂), 6.92 (m, 1H, ArH), 6.99 (m, 1H, ArH), 7.25 (dd, *J* = 7.3 Hz, 1H, ArH), 7.33 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 7.56 (m, 2H, 2 x ArH), 8.13 (m, 2H, 2 x ArH), 10.65 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 21.3 (CH₂), 33.0 (2 x CH₂), 50.1 (CH₂), 50.5 (CH₂), 58.0 (CH₂), 106.6 (Ar-C), 111.0 (Ar-CH), 117.4 (Ar-CH), 118.3 (Ar-CH), 120.4 (Ar-CH), 123.4 (2 x Ar-CH), 126.8 (Ar-CH), 130.1 (2 x Ar-CH), 132.9 (Ar-C), 136.0 (Ar-C), 146.0 (Ar-C), 149.4 (Ar-C).

Experimenteller Teil

1-(4-Nitrophenethyl)-4-(pyridin-2-yl)piperazin (**39**/WK-Y-5)

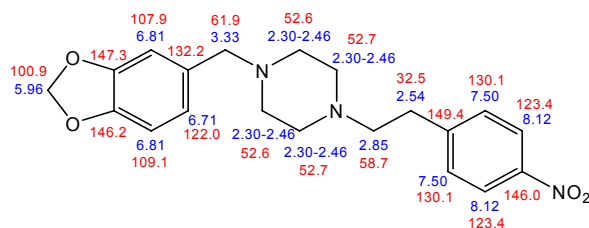
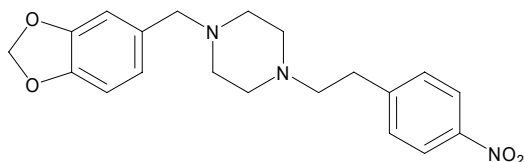


Herstellung:	AAV 1
Edukte:	12,5 mmol (2,04 g) 1-(2-Pyridyl)piperazin 12,4 mmol (3 g) 4-Nitrophenylethylbromid
Summelformel:	C ₁₇ H ₂₀ N ₄ O ₂
Mr:	312,4
Smp.:	126°C
Aussehen:	gelber kristalliner Feststoff
Ausbeute:	63,1% (2,44 g)
Rf:	0,66 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1); 0,17 (Kieselgel/EtOAc), 0,41 (Kieselgel/n-BuOH/ NH ₃ 99:1)
EA:	ber.: C, 65,37; H, 6,45; N, 17,94; O, 10,24 gef.: C, 64,98; H, 6,68; N, 17,57

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.52 (t, *J* = 5.2 Hz, 4H, 2 x CH₂), 2.61 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, CH₂), 2.91 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, CH₂), 3.53 (t, *J* = 5.2 Hz, 4H, 2 x CH₂), 6.61 (m, 1H, ArH), 6.79 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, ArH), 7.51 (m, 3H, 3 x ArH), 8.09 (m, 1H, ArH), 8.13 (m, 2H, 2 x ArH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 32.5 (CH₂), 44.8 (2 x CH₂), 52.5 (2 x CH₂), 58.8 (CH₂), 107.2 (Ar-CH), 113.1 (Ar-CH), 123.4 (2 x Ar-CH), 130.1 (2 x Ar-CH), 137.6 (Ar-CH), 146.0 (Ar-C), 147.7 (Ar-CH), 149.3 (Ar-C), 159.2 (Ar-C).

1-(Benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ylmethyl)-4-(4-nitrophenethyl)piperazin (**40**/WK-Y-41)



Herstellung:	AAV 1
Edukte:	10,9 mmol (2,40 g) 1-(Piperonyl)piperazin 10,3 mmol (2,5 g) 4-Nitrophenylethylbromid
Summelformel:	C ₂₀ H ₂₃ N ₃ O ₄
Mr:	369,4
Smp.:	88°C
Aussehen:	gelber kristalliner Feststoff
Ausbeute:	44,4% (1,69 g)
Rf:	0,62 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1), 0,22 (Kieselgel/EtOAc), 0,56 (Kieselgel/n-BuOH/NH ₃ 99:1)

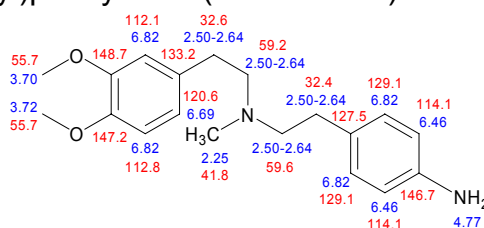
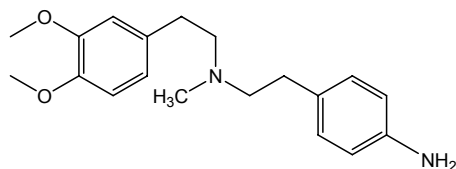
Experimenteller Teil

EA: ber.: C, 65,03; H, 6,28; N, 11,37; O, 17,32
 gef.: C, 64,96; H, 6,49; N, 11,10

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.30-2.46 (d, 8H, 4 x CH₂), 2.54 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH₂), 2.85 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, CH₂), 3.33 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 5.96 (s, 2H, O-CH₂-O), 6.71 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 6.81 (t, 2H, 2 x ArH), 7.50 (td, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.12 (td, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2 x ArH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 32.5 (CH₂), 52.6 (2 x CH₂), 52.7 (2 x CH₂), 58.7 (CH₂), 61.9 (Ar-CH₂-N), 100.9 (O-CH₂-O), 107.9 (Ar-CH), 109.1 (Ar-CH), 122.0 (Ar-CH), 123.4 (2 x Ar-CH), 130.1 (2 x Ar-CH), 132.2 (Ar-C), 146.0 (Ar-C), 146.2 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 149.4 (Ar-C).

4-(2-((3,4-Dimethoxyphenethyl)(methylamino)ethyl)phenylamin (**41**/WK-Y-38)



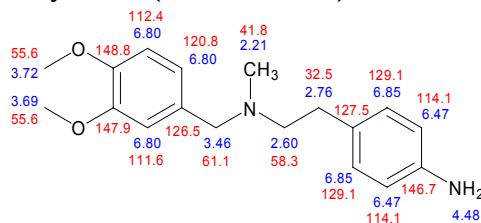
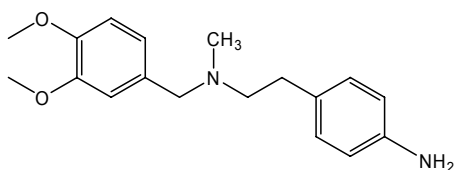
Herstellung: AAV 2
 Edukte: 3,8 mmol (1,31 g) N-(3,4-dimethoxyphenethyl)-N-methyl-2-(4-nitrophenyl)ethylamin (**36**/WK-Y-37)
 Summelformel: C₁₉H₂₆N₂O₂
 Mr: 314,4
 Smp.: 67°C
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 84% (1,04 g)
 Rf: 0,49 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1), 0,03 (Kieselgel/EtOAc), 0,37 (Kieselgel/*n*-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 72,58; H, 8,33; N, 8,91; O, 10,18
 ber. * 0,2 H₂O: C, 71,76; H, 8,37; N, 8,81; O, 11,07
 gef.: C, 71,74; H, 8,64; N, 8,46

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.25 (s, 3H, CH₃), 2.50-2.64 (m, 8H, 2 x CH₂), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 4.77 (s, 2H*, NH₂), 6.46 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 2 x ArH), 6.69 (dd, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 6.82 (m, 4H, 4 x ArH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 32.4 (CH₂), 32.6 (CH₂), 41.8 (CH₃), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.2 (CH₂), 59.6 (CH₂), 112.1 (Ar-CH), 112.8 (Ar-CH), 114.1 (2 x Ar-CH), 120.6 (Ar-CH), 127.5 (Ar-C), 129.1 (2 x Ar-CH), 133.2 (Ar-C), 146.6 (Ar-C), 147.2 (Ar-C), 148.7 (Ar-C).

Experimenteller Teil

4-(2-((3,4-Dimethoxybenzyl)(methylamino)ethyl)phenyl)amin (**42**/WK-Y-40)

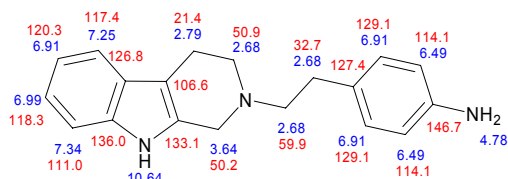
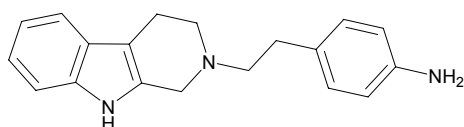


Herstellung:	AAV 6	
Edukte:	3 mmol (990 mg) N-(3,4-Dimethoxybenzyl)-N-methyl-2-(4-nitrophenyl)ethylamin (37 /WK-Y-39)	
Summelformel:	C ₁₈ H ₂₄ N ₂ O ₂	
Mr:	300,4	
Smp.:	57°C	
Aussehen:	weißer Feststoff	
Ausbeute:	82,5% (744 mg)	
Rf:	0,47 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1), 0,03 (Kieselgel/EtOAc), 0,34 (Kieselgel/n-BuOH/NH ₃ 99:1)	
EA:	ber.:	C, 71,97; H, 8,05; N, 9,33; O, 10,65
	ber. * 0,2 H ₂ O:	C, 71,12; H, 8,09; N, 9,21; O, 11,58
	gef.:	C, 71,03; H, 8,14; N, 9,17

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.21 (s, 3H, CH₃), 2.60 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, CH₂), 2.76 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, CH₂), 3.46 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 4.48 (s, 2H*, NH₂), 6.47 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 2 x ArH), 6.80 (m, 3H, 3 x ArH), 6.85 (dd, *J* = 8.2 Hz, 2H, ArH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 32.5 (CH₂), 41.8 (CH₃), 55.6 (OCH₃), 55.6 (OCH₃), 58.3 (CH₂), 61.1 (CH₂), 111.6 (Ar-CH), 112.4 (Ar-CH), 114.1 (2 x Ar-CH), 126.5 (Ar-C), 127.5 (Ar-C), 129.1 (2 x Ar-CH), 146.7 (Ar-C), 147.9 (Ar-C), 148.8 (Ar-C).

4-(2-(3,4-Dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)ethyl)phenylamin (**43**/WK-Y-6)



Herstellung:	AAV 2	
Edukt:	5 mmol (1,61 g) 2-(4-Nitrophenethyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1 <i>H</i> -pyrido-[3,4- <i>b</i>]indol (38 /WK-Y-4)	
Summelformel:	C ₁₉ H ₂₁ N ₃	
Mr:	291,4	
Smp.:	197-198°C	
Aussehen:	weißer Feststoff	
Ausbeute:	80,2% (1,17 g)	
Rf:	0,68 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1); 0,25 (Kieselgel/EtOAc), 0,54 (Kieselgel/n-BuOH/ NH ₃ 99:1)	

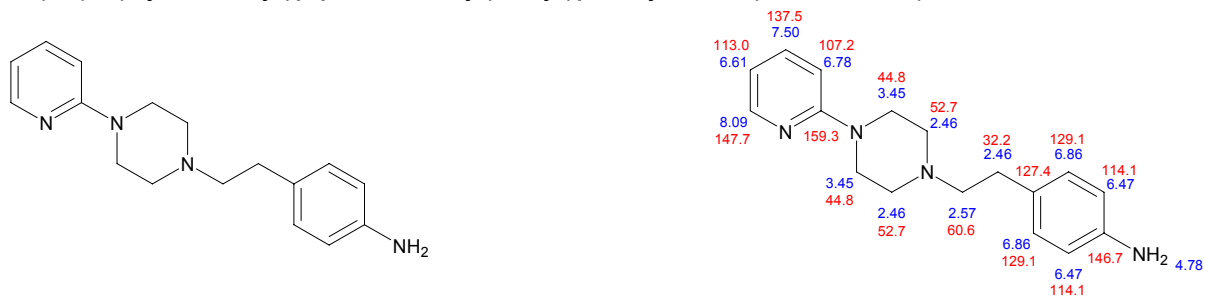
Experimenteller Teil

EA: ber.: C, 78,32; H, 7,26; N, 14,42
ber. * 0,2 H₂O: C, 77,36; H, 7,31; N, 14,24; O, 1,08
gef.: C, 77,24; H, 7,24; N, 14,21

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.64-2.71 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.79 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H, CH₂), 3.64 (s, 2H, CH₂), 4.78 (s, 2H*, NH₂), 6.49 (m, 2H, 2 x ArH), 6.91 (m, 3H, 3 x ArH), 6.99 (m, 1H, ArH), 7.25 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 7.34 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 10.64 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 21.4 (CH₂), 32.7 (2 x CH₂), 50.2 (CH₂), 50.9 (CH₂), 59.9 (CH₂), 106.6 (Ar-C), 111.0 (Ar-CH), 114.1 (2 x Ar-CH), 117.4 (Ar-CH), 118.3 (Ar-CH), 120.3 (Ar-CH), 126.8 (Ar-CH), 127.4 (Ar-C), 129.1 (2 x Ar-CH), 133.1 (Ar-C), 136.0 (Ar-C), 146.7 (Ar-C).

4-(2-(4-(Pyridin-2-yl)piperazin-1-yl)ethyl)phenylamin (**44**/WK-Y-7)



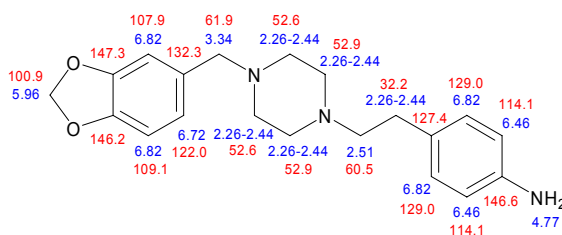
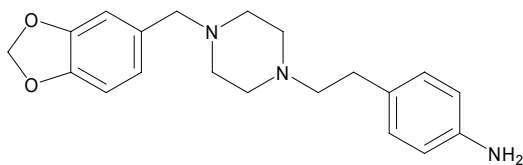
Herstellung: AAV 2
Edukt: 5 mmol (1,56 g) 1-(4-Nitrophenethyl)-4-(pyridin-2-yl)piperazin
Summelformel: C₁₇H₂₂N₄ (**39**/WK-Y-5)
Mr: 282,4
Smp.: 89°C
Aussehen: hell gelber Feststoff
Ausbeute: 86,6% (1,22 g)
Rf: 0,64 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1); 0,06 (Kieselgel/EtOAc),
0,33(Kieselgel/n-BuOH/ NH₃ 99:1)
EA: ber.: C, 72,31; H, 7,85; N, 19,84
ber. * 0,1 H₂O: C, 71,85; H, 7,87; N, 19,71; O, 0,56
gef.: C, 71,67; H, 7,94; N, 19,67

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.46 (m, 6H, 6 x ArH), 2.57 (q, *J* = 5.3 Hz, 2H, CH₂), 3.45 (t, *J* = 5 Hz, 4H, 2 x CH₂), 4.78 (s, 2H*, NH₂), 6.47 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 2 x ArH), 6.61 (m, 1H, ArH), 6.78 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, ArH), 6.86 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.50 (m, 1H, ArH), 8.09 (m, 1H, ArH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 32.2 (CH₂), 44.8 (2 x CH₂), 52.7 (2 x CH₂), 60.6 (CH₂), 107.2 (Ar-CH), 113.0 (Ar-CH), 114.1 (2 x Ar-CH), 127.4 (Ar-C), 129.1 (2 x Ar-CH), 137.5 (Ar-CH), 146.7 (Ar-C), 147.7 (Ar-CH), 159.3 (Ar-C).

Experimenteller Teil

4-(2-(4-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ylmethyl)piperazin-1-yl)ethyl)phenylamin (**45**/WK-Y-42)



Herstellung:	AAV 6	
Edukte:	3,5 mmol (1,3 g)	1-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ylmethyl)-4-(4-nitrophenethyl)piperazin
Summelformel:	C ₂₀ H ₂₅ N ₃ O ₂	
Mr:	339,4	
Smp.:	140°C	
Aussehen:	weißer Feststoff	
Ausbeute:	33,6% (399 mg)	
Rf:	0,60 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1), 0,07 (Kieselgel/EtOAc), 0,54 (Kieselgel/n-BuOH/ NH ₃ 99:1)	
EA:	ber.:	C, 70,77; H, 7,24; N, 12,38; O, 9,43
	ber. * 0,1 H ₂ O:	C, 70,40; H, 7,44; N, 12,31; O, 9,85
	gef.:	C, 70,43; H, 7,58; N, 11,97

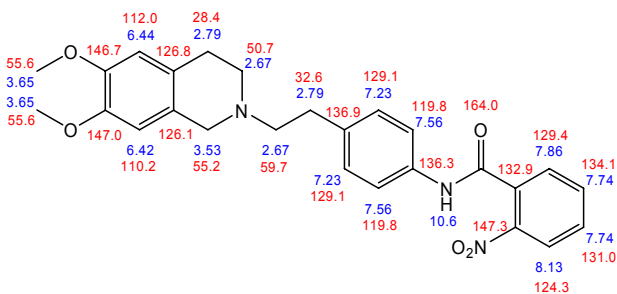
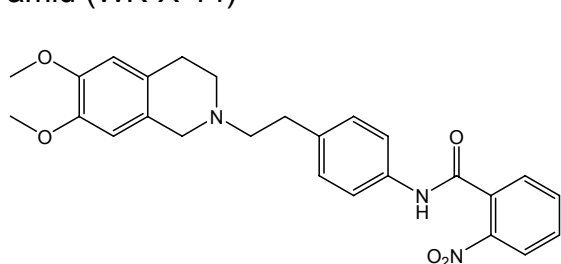
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.26-2.44 (m, 10H, 5 x CH₂), 2.51 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 3.34 (s, 2H, Ar-CH₂-N), 4,77 (s, 2H*, NH₂), 5.96 (s, 2H, O-CH₂-O), 6.46 (td, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 6.72 (dd, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 6.82 (m, 4H, 4 x ArH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 32.2 (CH₂), 52.6 (2 x CH₂), 52.9 (2 x CH₂), 60.5 (CH₂), 61.9 (Ar-CH₂-N), 100.9 (O-CH₂-O), 107.9 (Ar-CH), 109.1 (Ar-CH), 114.1 (2 x Ar-CH), 122.0 (Ar-CH), 127.4 (Ar-C), 129.0 (2 x Ar-CH), 132.3 (Ar-C), 146.2 (Ar-C), 146.6 (Ar-C), 147.3 (Ar-C).

Experimenteller Teil

7.3.2 Monographien niedermolekularer P-gp Modulatoren mit Tetrahydroisochinolinethylphenyl-Partialstruktur

N-{4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-2-nitro-benzamid (WK-X-14)

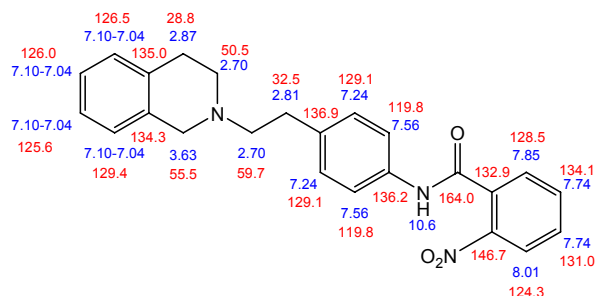
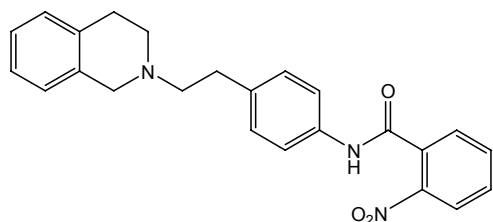


Herstellung:	AAV 4	
Edukte	5 mmol (1,56 g) 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4 /WK-X-12) 5 mmol 2-Nitrobenzoesäurechlorid	
Summelformel:	C ₂₆ H ₂₇ N ₃ O ₅	
Mr:	461,5	
Smp.:	184°C	
Aussehen:	schwach gelblicher kristalliner Feststoff	
Ausbeute:	77,6% (1,79 g)	
Rf:	0,79 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1) 0,28 (Kieselgel/EtOAc)	
EA:	ber.:	C, 67,66; H, 5,90; N, 9,10; O, 17,33
	ber. * 1/6 H ₂ O:	C, 67,23; H, 5,93; N, 9,05; O, 17,80
	gef.:	C, 67,23; H, 5,91; N, 8,81

¹**H-NMR** (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.67 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.80 (t, 2H, CH₂), 3.53 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.63 (s, 1H, ArH), 6.65 (s, 1H, ArH), 7.23 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.56 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.74 (m, 2H, 2 x ArH), 7.85 (dt, *J* = 8.4 Hz, 1H, ArH), 8.12 (dd, *J* = 8.5 Hz, 1H, ArH), 10.55 (s, 1H*, NH).

¹³**C-NMR** (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.6 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.7 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 119.8 (2 x Ar-CH), 124.3 (Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 129.1 (2 x Ar-CH), 129.4 (Ar-CH), 131.0 (Ar-CH), 132.9 (Ar-C), 134.1 (Ar-CH), 136.3 (Ar-C), 136.9 (Ar-C), 146.7 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 164.0 (CO).

N-{4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-2-nitro-benzamid (WK-X-15)



Herstellung: AAV 4

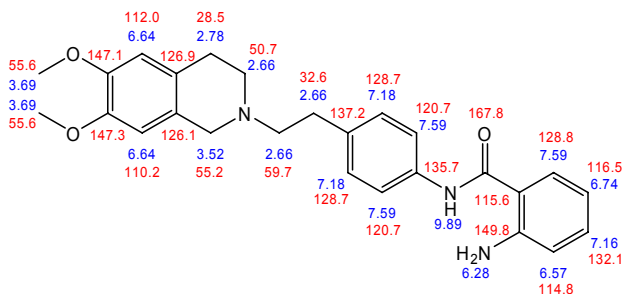
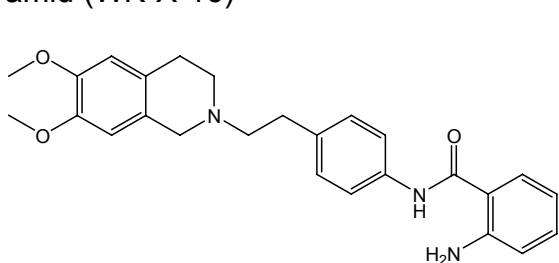
Experimenteller Teil

Edukte	5 mmol 4-[2-(3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4a /WK-X-13)
	5 mmol 2-Nitrobenzoesäurechlorid
Summelformel:	C ₂₄ H ₂₃ N ₃ O ₃
Mr:	401,5
Smp.:	166°C
Aussehen:	weißer kristalliner Feststoff
Ausbeute:	82% (1,65 g)
Rf:	0,75 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1) 0,28 (Kieselgel/EtOAc)
EA:	ber.: C, 71,80; H, 5,77; N, 10,47; O, 11,96 gef.: C, 71,46; H, 5,78; N, 10,40

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.70 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.81 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.63 (s, 2H, CH₂), 7.07 (m, 4H, 4 x ArH), 7.24 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.57 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.74 (m, 2H, 2 x ArH), 7.85 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, ArH), 8.12 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 10.56 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.8 (CH₂), 32.5 (CH₂), 50.5 (CH₂), 55.5 (CH₂), 59.7 (CH₂), 119.8 (2 x Ar-CH), 124.3 (Ar-CH), 125.6 (Ar-CH), 126.0 (Ar-CH), 126.5 (Ar-CH), 128.5 (Ar-CH), 129.1 (2 x Ar-CH), 129.4 (Ar-CH), 131.0 (Ar-CH), 132.9 (Ar-C), 134.1 (Ar-CH), 134.3 (Ar-C), 135.0 (Ar-C), 136.3 (Ar-C), 136.9 (Ar-C), 146.7 (Ar-C), 164.0 (CO).

2-Amino-N-{4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (WK-X-16)



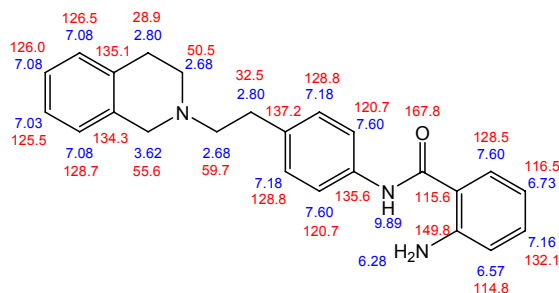
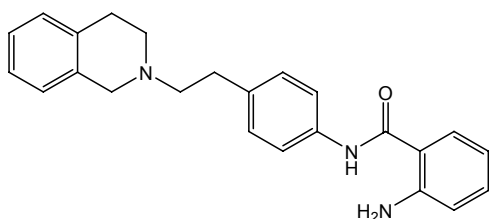
Herstellung:	AAV 2
Edukte	3,4 mmol (1,58 g) N-{4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-2-nitro-benzamid (WK-X-14)
Summelformel:	C ₂₆ H ₂₉ N ₃ O ₃
Mr:	431,5
Smp.:	150°C
Aussehen:	weißer Feststoff
Ausbeute:	89,1% (1,32 g)
Rf:	0,55 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1) 0,18 (Kieselgel/EtOAc)
EA:	ber.: C, 72,37; H, 6,77; N, 9,74; O, 11,12 ber. * 0,2 H ₂ O C, 71,77; H, 6,81; N, 9,66 gef.: C, 71,81; H, 6,89; N, 9,48

Experimenteller Teil

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.67 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.78 (t, 2H, CH₂), 3.53 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.28 (s, 2H*, NH₂), 6.57 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 6.73 (dd, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.18 (m, 3H, 3 x ArH), 7.59 (m, 3H, 3 x ArH), 9.89 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.5 (CH₂), 32.6 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.7 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 114.8 (Ar-CH), 115.6 (Ar-C), 116.5 (Ar-CH), 120.7 (2 x Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.9 (Ar-C), 128.8 (Ar-CH), 128.8 (2 x Ar-CH), 132.1 (Ar-CH), 135.7 (Ar-C), 137.2 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 149.8 (Ar-C), 167.8 (CO).

2-Amino-N-{4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (WK-X-17)



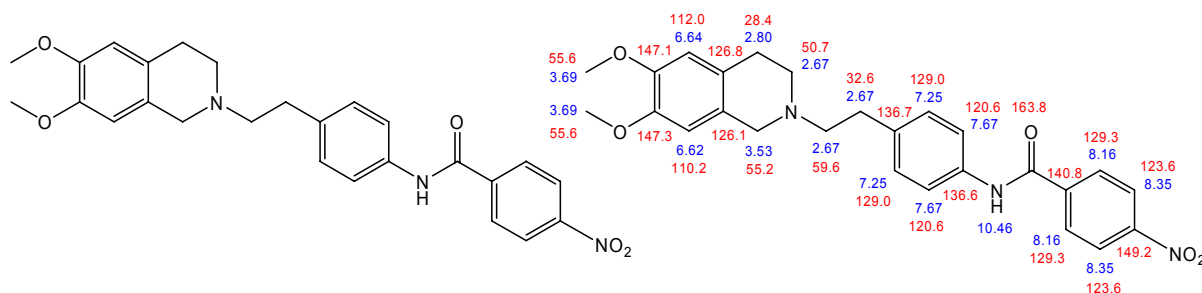
Herstellung:	AAV 2	
Edukte	2,5 mmol (1,05 g) N-{4-[2-(3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-2-nitro-benzamid (WK-X-15)	
Summelformel:	C ₂₄ H ₂₅ N ₃ O	
Mr:	371,5	
Smp.:	104°C	
Aussehen:	weißer kristalliner Feststoff	
Ausbeute:	75,1% (698 mg)	
Rf:	0,61 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1)	
	0,51 (Kieselgel/EtOAc)	
EA:	ber.:	C, 77,60; H, 6,78; N, 11,31; O, 4,31
	ber. * 1 EtOH:	C, 74,79; H, 7,48; N, 10,06; O, 7,66
	gef.:	C, 74,41; H, 7,44; N, 9,79

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.69 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.80 (t, 2H, CH₂), 3.62 (s, 2H, CH₂), 6.28 (s, 2H*, NH₂), 6.57 (m, 1H, ArH), 6.73 (dd, *J* = 8.4 Hz, 1H, ArH), 7.04 (m, 1H, ArH), 7.09 (m, 3H, 3 x ArH), 7.18 (m, 3H, 3 x ArH), 7.60 (m, 3H, 3 x ArH), 9.89 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.9 (CH₂), 32.5 (CH₂), 50.6 (CH₂), 55.6 (CH₂), 59.7 (CH₂), 114.8 (Ar-CH), 115.6 (Ar-C), 116.5 (Ar-CH), 120.7 (2 x Ar-CH), 125.5 (Ar-CH), 126.0 (Ar-CH), 126.5 (Ar-CH), 128.5 (Ar-CH), 128.7 (Ar-CH), 128.8 (2 x Ar-CH), 132.1 (Ar-CH), 134.3 (Ar-C), 135.1 (Ar-C), 135.6 (Ar-C), 137.2 (Ar-C), 149.8 (Ar-C), 167.8 (CO).

Experimenteller Teil

N-{4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1H-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-4-nitro-benzamid (WK-X-30)

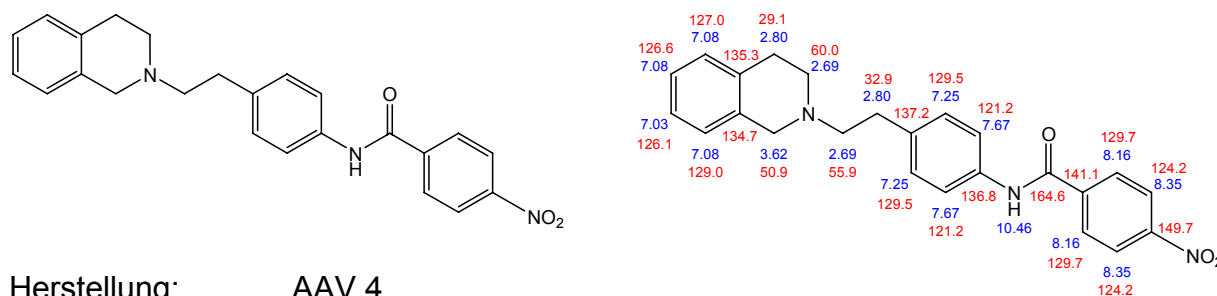


Herstellung:	AAV 4	
Edukte	4 mmol (1,25 g) 4-[2-(3,4-dihydro-1H-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4 /WK-X-12) 6 mmol (1,11 g) 4-Nitrobenzoesäurechlorid	
Summelformel:	C ₂₆ H ₂₇ N ₃ O ₅	
Mr:	461,5	
Smp.:	134°C	
Aussehen:	gelber kristalliner Feststoff	
Ausbeute:	87,8% (1,62 g)	
Rf:	0,75 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1), 0,11 (Kieselgel/EtOAc), 0,56 (Kieselgel/n-BuOH/NH ₃ 99:1)	
EA:	ber.:	C, 67,66; H, 5,90; N, 9,10; O, 17,33
	ber. * 0,5 H ₂ O:	C, 66,37; H, 6,00; N, 8,93; O, 18,70
	gef.:	C, 66,30; H, 5,94; N, 8,77

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.67 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.80 (t, 2H, CH₂), 3.53 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.25 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.69 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.16 (td, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.35 (td, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2 x ArH), 10.46 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ =

N-{4-[2-(3,4-dihydro-1H-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-4-nitro-benzamid (WK-X-31)



Herstellung:	AAV 4	
Edukte	2,5 mmol 4-[2-(3,4-dihydro-1H-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4a /WK-X-13) 2,75 mmol 4-Nitrobenzoesäurechlorid	
Summelformel:	C ₂₄ H ₂₃ N ₃ O ₃	
Mr:	401,5	
Smp.:	176°C	
Aussehen:	gelber kristalliner Feststoff	
Ausbeute:	93,5% (939 mg)	

Experimenteller Teil

Rf: 0,76 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
 0,34 (Kieselgel/EtOAc)

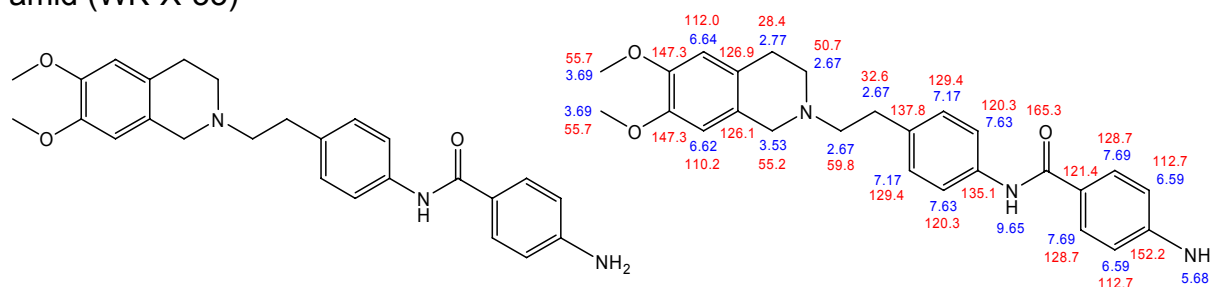
EA: ber.: C, 71,80; H, 5,77; N, 10,47; O, 11,96
 ber. * 0,2 H₂O: C, 71,16; H, 5,82; N, 10,37; O, 12,64
 gef.: C, 71,14; H, 5,95; N, 10,36

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.69 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.80 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.62 (s, 2H, CH₂), 7.03 (m, 1H, ArH), 7.08 (m, 3H, 3 x ArH), 7.25 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.67 (m, 2H, 2 x ArH), 8.16 (ddd, *J* = 9 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.35 (ddd, *J* = 9 Hz, 2H, 2 x ArH), 10.46 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 29.1 (CH₂), 32.8 (CH₂), 50.9 (CH₂), 55.9 (CH₂), 60.0 (CH₂), 121.2 (2 x Ar-CH), 124.2 (2 x Ar-CH), 126.1 (Ar-CH), 126.6 (Ar-CH), 127.0 (Ar-CH), 129.0 (Ar-CH), 129.5 (2 x Ar-CH), 129.7 (2 x Ar-CH), 134.7 (Ar-C), 135.3 (Ar-C), 136.8 (Ar-C), 137.2 (Ar-C), 141.2 (Ar-C), 149.7 (Ar-C), 164.6 (CO).

NMR (DMSO-*d*₆):

4-Amino-N-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)phenyl)benzamid (WK-X-33)



Herstellung: AAV 2

Edukte 3 mmol (1,38 g) *N*-{4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-4-nitro-benzamid (WK-X-30)

Summelformel: C₂₆H₂₉N₃O₃

Mr: 431,5

Smp.: 128°C

Aussehen: hell gelber Feststoff

Ausbeute: 89,1% (1,15 g)

Rf: 0,73 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1), 0,05 (Kieselgel/EtOAc),
 0,38 (Kieselgel/*n*-BuOH/NH₃ 99:1)

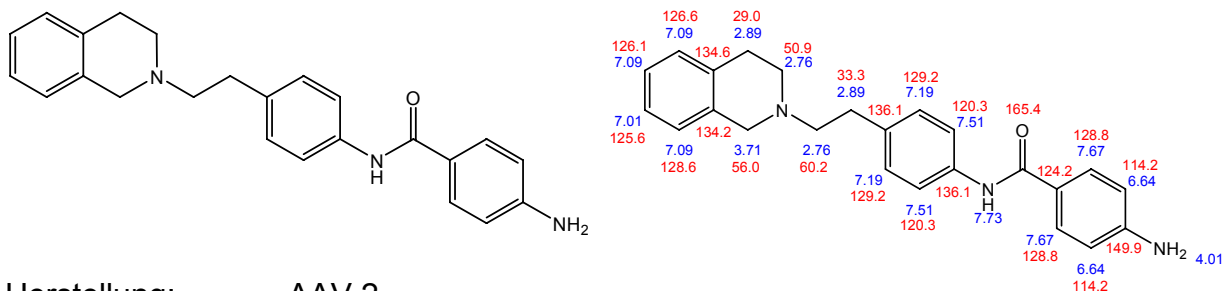
EA: ber.: C, 72,37; H, 6,77; N, 9,74; O, 11,12
 gef.: C, 72,14; H, 6,78; N, 9,70

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.67 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.77 (t, 2H, CH₂), 3.53 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 5.68 (s, 2H*, NH₂), 6.59 (td, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.17 (dd, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.63 (td, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.69 (td, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 9.65 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.6 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.8 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 112.7 (2 x Ar-CH), 120.3 (2 x Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.9 (Ar-C), 128.7 (2 x Ar-CH), 129.4 (2 x Ar-CH), 135.1 (Ar-C), 137.8 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 152.2 (Ar-C), 165.3 (CO).

Experimenteller Teil

4-Amino-N-{4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (WK-X-37)

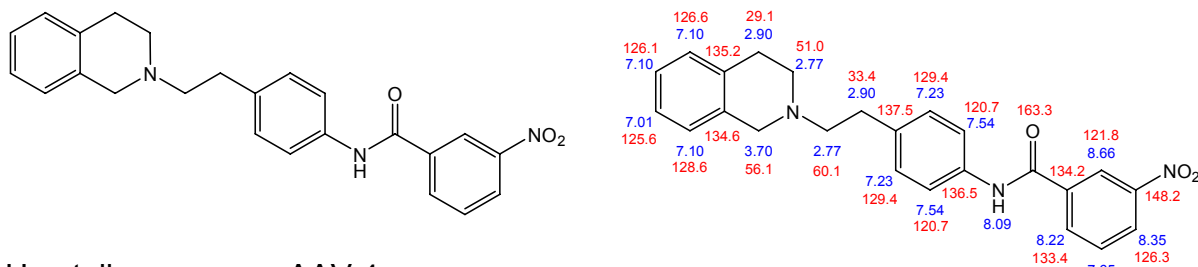


Herstellung:	AAV 2	
Edukte	1,8 mmol (715 mg) N-{4-[2-(3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-4-nitro-benzamid (WK-X-31)	
Summelformel:	C ₂₄ H ₂₅ N ₃ O	
Mr:	371,5	
Smp.:	152°C	
Aussehen:	weißer Feststoff	
Ausbeute:	83,0% (555 mg)	
Rf:	0,75 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1)	
	0,21 (Kieselgel/EtOAc)	
EA:	ber.:	C, 77,60; H, 6,78; N, 11,31; O, 4,31
	ber. * 0,8 H ₂ O:	C, 74,95; H, 6,93; N, 10,93; O, 7,19
	gef.:	C, 74,77; H, 7,06; N, 10,24

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 2.76 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.90 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.71 (s, 2H, CH₂), 4.01 (s, 2H*, NH₂), 6.65 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.01 (m, 1H, ArH), 7.10 (m, 3H, 3 x ArH), 7.19 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.51 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.67 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.74 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ = 29.0 (CH₂), 33.3 (CH₂), 50.9 (CH₂), 56.0 (CH₂), 60.2 (CH₂), 114.2 (2 x Ar-CH), 120.3 (2 x Ar-CH), 124.2 (Ar-C), 125.6 (Ar-CH), 126.1 (Ar-CH), 126.6 (Ar-CH), 128.6 (Ar-CH), 128.8 (2 x Ar-CH), 129.2 (2 x Ar-CH), 134.2 (Ar-C), 134.6 (Ar-C), 136.1 (Ar-C), 136.4 (Ar-C), 149.9 (Ar-C), 165.4 (CO).

N-{4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-3-nitro-benzamid (WK-X-45)



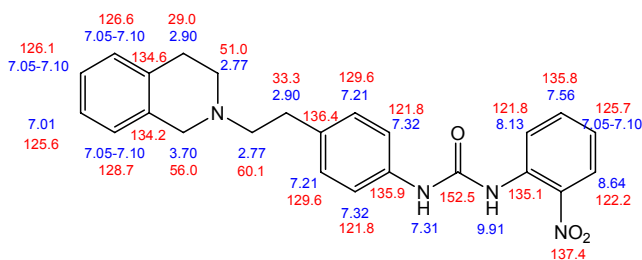
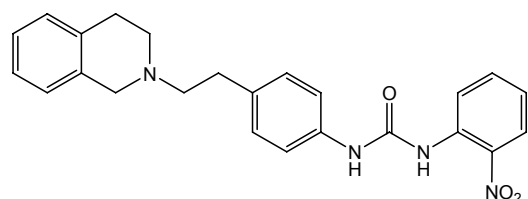
Herstellung:	AAV 4	
Edukte	3 mmol (760 mg) 4-[2-(3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4a /WK-X-13)	
	3 mmol 3-Nitrobenzoesäurechlorid	
Summelformel:	C ₂₄ H ₂₃ N ₃ O ₃	
Mr:	401,5	
Smp.:	142°C	
Aussehen:	leicht gelblicher Feststoff	

Experimenteller Teil

Ausbeute: 48,2% (581 mg)
 Rf: 0,69 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
 0,18 (Kieselgel/EtOAc)
 EA: ber.: C, 71,80; H, 5,77; N, 10,47; O, 11,96
 ber. * 3/5 H₂O: C, 69,92; H, 5,92; N, 10,19; O, 13,97
 gef.: C, 69,93; H, 5,84; N, 10,39

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 2.75 (m, 2H, CH₂), 2.80 (t, 2H, CH₂), 2.88-2.92 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.70 (s, 2H, CH₂), 7.01 (m, 1H, ArH), 7.10 (m, 3H, 3 x ArH), 7.23 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.54 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.65 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, ArH), 8.09 (s, 1H*, NH), 8.22 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, ArH), 8.35 (m, 1H, ArH), 8.66 (s, 1H, ArH).
¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ = 29.1 (CH₂), 33.4 (CH₂), 51.0 (CH₂), 56.1 (CH₂), 60.1 (CH₂), 120.7 (2 x Ar-CH), 121.8 (Ar-CH), 125.6 (Ar-CH), 126.1 (Ar-CH), 126.3 (Ar-CH), 126.6 (Ar-CH), 128.8 (Ar-CH), 129.4 (2 x Ar-CH), 130.0 (Ar-CH), 133.4 (Ar-CH), 134.2 (Ar-C), 134.6 (Ar-C), 135.2 (Ar-C), 136.5 (Ar-C), 137.5 (Ar-C), 148.2 (Ar-C), 163.3 (CO).

1-{4-[2-(3,4-Dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-3-(2-nitro-phenyl)-harnstoff (WK-X-46)

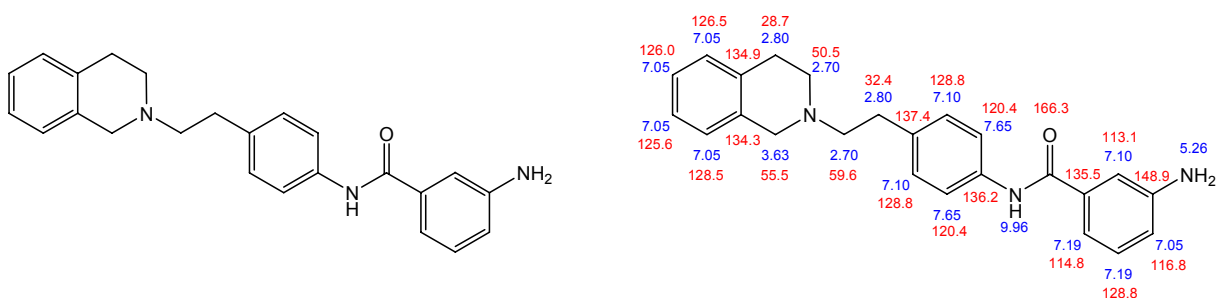


Herstellung: AAV 5
 Edukte: 3 mmol (760 mg) 4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (**4a**/WK-X-13)
 3 mmol 2-Nitrophenylisocyanat
 Summelformel: C₂₄H₂₄N₄O₃
 Mr: 416,5
 Smp.: 157°C
 Aussehen: gelber Feststoff
 Ausbeute: 84,8% (1,06 g)
 Rf: 0,64 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
 0,25 (Kieselgel/EtOAc)
 EA: ber.: C, 69,21; H, 5,81; N, 13,45; O, 11,52
 ber. * 0,5 H₂O: C, 67,75; H, 5,92; N, 13,17; O, 13,16
 gef.: C, 67,96; H, 5,90; N, 13,34

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 2.75 (m, 2H, CH₂), 2.80 (t, 2H, CH₂), 2.87-2.93 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.70 (s, 2H, CH₂), 7.00-7.11 (m, 5H, 5 x ArH), 7.21 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.32 (m, 3H, 2 x ArH, NH*), 7.56 (m, 1H, ArH), 8.13 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, ArH), 8.64 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, ArH), 9.91 (s, 1H*, NH).
¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ = 29.0 (CH₂), 33.3 (CH₂), 51.0 (CH₂), 56.0 (CH₂), 60.1 (CH₂), 121.8 (Ar-CH), 121.8 (2 x Ar-CH), 122.2 (Ar-CH), 125.6 (Ar-CH), 125.7 (Ar-CH), 126.1 (Ar-CH), 126.6 (Ar-CH), 128.7 (Ar-CH), 129.6 (2 x Ar-CH) 134.2 (Ar-C), 134.6 (Ar-C), 135.1 (Ar-C), 135.8 (Ar-CH), 135.9 (Ar-C), 136.4 (Ar-C), 137.4 (Ar-C), 152.5 (CO).

Experimenteller Teil

3-Amino-N-{4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (WK-X-47)

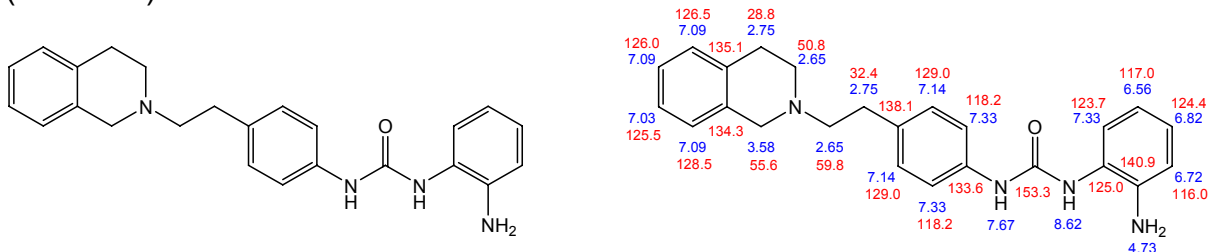


Herstellung:	AAV 2	
Edukte	1,2 mmol (480 mg) N-{4-[2-(3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-3-nitro-benzamid (WK-X-45)	
Summelformel:	C ₂₄ H ₂₅ N ₃ O	
Mr:	371,5	
Smp.:	82°C	
Aussehen:	beiger Feststoff	
Ausbeute:	81,1% (357 mg)	
Rf:	0,73 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1) 0,20 (Kieselgel/EtOAc)	
EA:	ber.:	C, 77,60; H, 6,78; N, 11,31; O, 4,31
	ber. * 2/3 H ₂ O:	C, 75,17; H, 6,92; N, 10,96; O, 6,95
	gef.:	C, 75,07; H, 6,84; N, 10,42

¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ = 2.67-2.74 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.79-2.82 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.64 (s, 2H, CH₂), 5.26 (s, 2H*, NH₂), 7.03-7.22 (m, 10H, 10 x ArH), 7.65 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 9.96 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz): δ = 28.7 (CH₂), 32.4 (CH₂), 50.5 (CH₂), 55.5 (CH₂), 59.6 (CH₂), 113.1 (Ar-CH), 114.8 (Ar-CH), 116.5 (Ar-CH), 120.4 (2 x Ar-CH), 125.8 (Ar-CH), 126.0 (Ar-CH), 126.5 (Ar-CH), 128.5 (Ar-CH), 128.6 (Ar-CH), 128.8 (2 x Ar-CH), 134.3 (Ar-C), 134.9 (Ar-C), 135.5 (Ar-C), 136.2 (Ar-C), 137.4 (Ar-C), 148.9 (Ar-C), 166.3 (CO).

1-(2-Amino-phenyl)-3-{4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-harnstoff (WK-X-48)



Herstellung:	AAV 2	
Edukt:	1,77 mmol (740 mg) 1-{4-[2-(3,4-Dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-3-(2-nitro-phenyl)-harnstoff (WK-X-46)	
Summelformel:	C ₂₄ H ₂₆ N ₄ O	
Mr:	386,5	
Smp.:	176°C	
Aussehen:	weißer Feststoff	

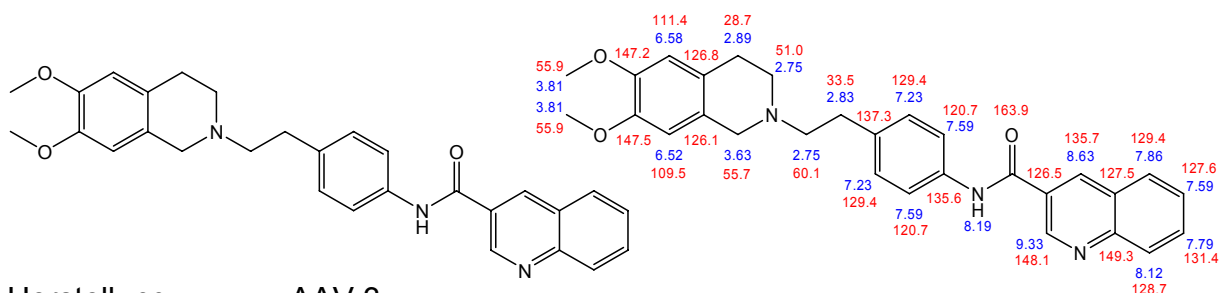
Experimenteller Teil

Ausbeute: 58,2 % (398 mg)
 Rf: 0,75 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1), 0,06 (Kieselgel/EtOAc),
 0,53 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 74,58; H, 6,78; N, 14,50; O, 4,14
 gef.: C, 74,25; H, 6,62; N, 14,87

¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ = 2.66 (m, 2H, CH₂), 2.71 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H, CH₂), 2.75-2.81 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.58 (s, 2H, CH₂), 4.73 (s, 2H*, NH₂), 6.56 (dt, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 6.72 (dd, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 6.82 (dt, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.03 (m, 1H, ArH), 7.09 (m, 3H, 3 x ArH), 7.14 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.33 (m, 3H, 3 x ArH), 7.67 (s, 1H*, NH), 8.62 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz): δ = 28.6 (CH₂), 32.4 (CH₂), 50.5 (CH₂), 55.6 (CH₂), 59.8 (CH₂), 116.0 (Ar-CH), 117.0 (Ar-CH), 118.2 (2 x Ar-CH), 123.7 (Ar-CH), 124.4 (Ar-CH), 125.0 (Ar-C), 125.5 (Ar-CH), 126.0 (Ar-CH), 126.5 (Ar-CH), 128.5 (Ar-CH), 129.0 (2 x Ar-CH) 133.6 (Ar-CH), 134.3 (Ar-C), 135.1 (Ar-C), 138.1 (Ar-C), 140.9 (Ar-C), 153.3 (CO).

Chinolin-3-carbonsäure-{4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-amid (WK-X-51)



Herstellung: AAV 3
 Edukte: 0,6 mmol (187 mg) 4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (**4**/WK-X-12)
 1 mmol (172 mg) Chinolin-3-carbonsäure
 Summelformel: C₂₉H₂₉N₃O₃
 Mr /Exakte Masse: 467,6 /467,2209
 Smp.: 184°C
 Aussehen: weißer kristalliner Feststoff
 Ausbeute: 75% (211 mg)
 Rf: 0,72 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1), 0,02 (Kieselgel/EtOAc)
 MS: 468,2 (89%), 307,1 (84%), 289,1 (45%), 252,2 (12%), 206,2 (100%), 165,1 (22%)
 EA: ber.: C, 74,50; H, 6,25; N, 8,99; O, 10,27
 ber. * 0,2 H₂O: C, 73,93; H, 6,29; N, 8,92; O, 10,87
 gef.: C, 73,98; H, 6,21; N, 9,10
 IR: 3300, 2950, 2800, 1660, 1600, 1520, 1410, 1300, 1220, 1130, 1020, 830, 760 cm⁻¹

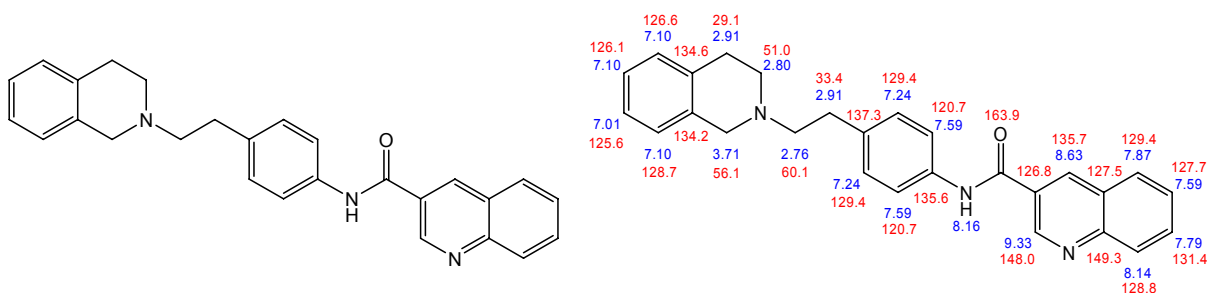
¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 2.73-2.79 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.83 (t, *J* = 5.5 Hz, 2H, CH₂), 2.89 (q, *J* = 5.5 Hz, 2H, CH₂), 3.63 (s, 2H, CH₂), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 6.52 (s, 1H, ArH), 6.58 (s, 1H, ArH), 7.23 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.59 (m, 3H, 3 x ArH), 7.79 (dt, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.86 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH),

Experimenteller Teil

8.12 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, ArH), 8.19 (s, 1H*, NH), 8.63 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, ArH), 9.33 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, ArH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz): $\delta = 28.7$ (CH_2), 33.5 (CH_2), 51.0 (CH_2), 55.7 (CH_2), 55.9 (OCH_3), 55.9 (OCH_3), 60.1 (CH_2), 109.5 (Ar-CH), 111.4 (Ar-CH), 120.7 (2 x Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.5 (Ar-CH), 126.7 (Ar-CH), 126.8 (Ar-C), 127.5 (Ar-C), 127.6 (Ar-CH), 129.4 (Ar-CH), 129.4 (2 x Ar-CH), 131.4 (Ar-CH), 135.6 (Ar-C), 135.7 (Ar-CH), 137.3 (Ar-C), 147.2 (Ar-C), 147.5 (Ar-C), 148.1 (Ar-CH), 149.8 (Ar-C), 163.9 (CO).

Chinolin-3-carbonsäure-{4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1H-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-amid (WK-X-52)



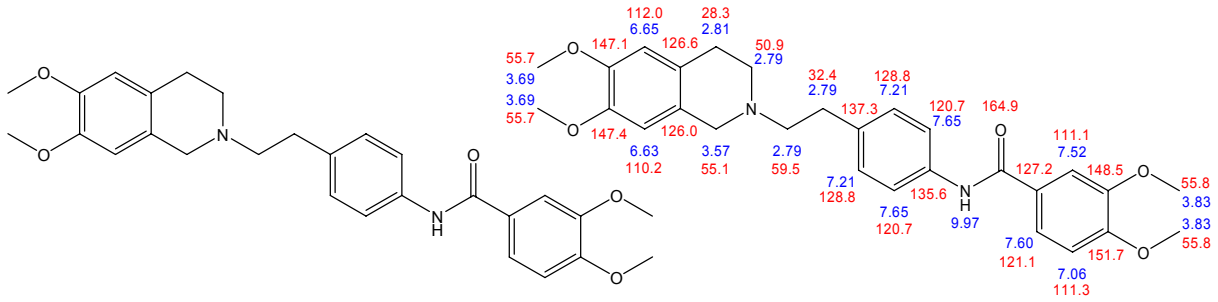
Herstellung: AAV 3
 Edukte: 0,8 mmol 4-[2-(3,4-dihydro-1H-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4a/WK-X-13)
 1 mmol (172 mg) Chinolin-3-carbonsäure
 Summelformel: $\text{C}_{27}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}$
 Mr: 407,5
 Smp.: 186°C
 Aussehen: weißer kristalliner Feststoff
 Ausbeute: 50,3% (164 mg)
 Rf: 0,78 (Kieselgel/MeOH/ NH_3 99:1)
 0,08 (Kieselgel/EtOAc)
 EA: ber.: C, 79,58; H, 6,18; N, 10,31; O, 3,93
 gef.: C, 79,37; H, 6,14; N, 10,25
 IR: 3250, 3050, 2930, 2800, 1660, 1600, 1510, 1400, 1310, 1250, 1090, 920, 820, 740 cm^{-1}

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz): $\delta = 2.74$ -2.81 (m, 4H, 2 x CH_2), 2.88-2.93 (m, 4H, 2 x CH_2), 3.71 (s, 2H, CH_2), 7.01 (m, 1H, ArH), 7.10 (m, 3H, 3 x ArH), 7.24 (m, 2H, 2 x ArH), 7.59 (m, 3H, 3 x ArH), 7.79 (m, 1H, ArH), 7.87 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, ArH), 8.14 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, ArH), 8.16 (s, 1H*, NH), 8.63 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, ArH), 9.33 (s, 1H, ArH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz): $\delta = 29.1$ (CH_2), 33.4 (CH_2), 51.0 (CH_2), 56.1 (CH_2), 60.1 (CH_2), 120.7 (2 x Ar-CH), 125.8 (Ar-CH), 126.1 (Ar-CH), 126.6 (Ar-CH), 126.8 (Ar-C), 127.5 (Ar-C), 127.7 (Ar-CH), 128.6 (Ar-CH), 128.7 (Ar-CH), 129.4 (Ar-CH), 129.4 (2 x Ar-CH), 131.4 (Ar-CH), 134.2 (Ar-C), 134.6 (Ar-C), 135.6 (Ar-C), 135.7 (Ar-CH), 137.3 (Ar-C), 148.0 (Ar-CH), 149.8 (Ar-C), 163.9 (CO).

Experimenteller Teil

N-{4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-3,4-dimethoxybenzamid (WK-X-56)

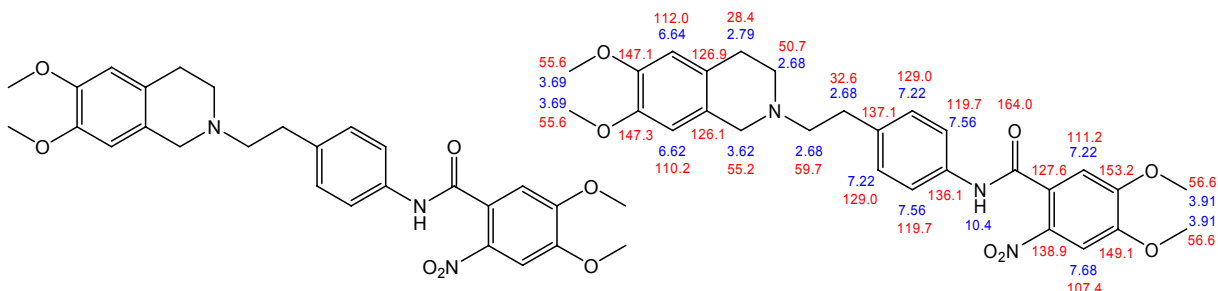


Herstellung:	AAV 4
Edukte:	0,5 mmol (156 mg) 4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4 /WK-X-12) 0,75 mmol (150 mg) 3,4-Dimethoxybenzoesäurechlorid
Summelformel:	C ₂₈ H ₃₂ N ₂ O ₅
Mr:	476,6
Smp.:	181°C
Aussehen:	weißer Feststoff
Ausbeute:	55% (156 mg)
Rf:	0,68 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1) 0,05 (Kieselgel/EtOAc)
EA:	ber.: C, 70,57; H, 6,77; N, 5,88; O, 16,79 ber. * ² / ₃ H ₂ O: C, 68,83; H, 6,88; N, 5,73; O, 18,56 gef.: C, 68,78; H, 6,94; N, 6,07

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.66-2.82 (m, 8H, 4 x CH₂), 3.57 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 6.63 (s, 1H, ArH), 6.65 (s, 1H, ArH), 7.06 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, ArH), 7.21 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.52 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, ArH), 7.60 (dd, *J* = 8.2 Hz, *J* = 1.9 Hz, 1H, ArH), 7.65 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 9.97 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.3 (CH₂), 32.4 (CH₂), 50.9 (CH₂), 55.1 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 55.8 (OCH₃), 55.8 (OCH₃), 59.5 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 111.1 (Ar-CH), 111.3 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 120.7 (2 x Ar-CH), 121.1 (Ar-CH), 126.0 (Ar-C), 126.6 (Ar-C), 127.2 (Ar-C), 128.8 (2 x Ar-CH), 135.5 (Ar-C), 137.3 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.4 (Ar-C), 148.5 (Ar-C), 151.7 (Ar-C), 164.9 (CO).

N-{4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-4,5-dimethoxy-2-nitro-benzamid (WK-X-57)



Herstellung: AAV 3

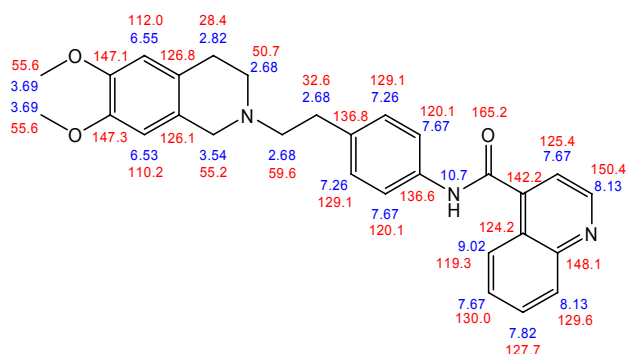
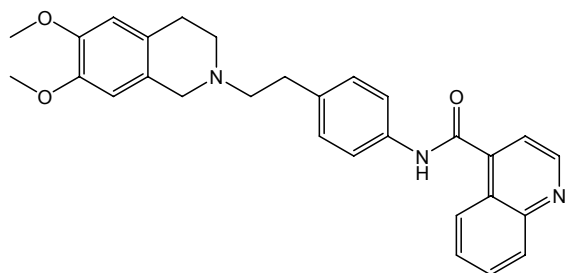
Experimenteller Teil

Edukte	4 mmol (1,25 g) 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4/WK-X-12)
	5 mmol (1,14 g) 4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzoesäure
Summelformel:	C ₂₈ H ₃₁ N ₃ O ₇
Mr:	521,6
Smp.:	152°C
Aussehen:	leicht gelblicher Feststoff
Ausbeute:	66% (1,38 g)
Rf:	0,58 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1)
	0,06 (Kieselgel/EtOAc)
EA:	ber.: C, 64,48; H, 5,99; N, 8,06; O, 21,47
	ber. * 1/3 H ₂ O: C, 63,75; H, 6,05; N, 7,96
	gef.: C, 63,66; H, 5,86; N, 7,98

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.64-2.70 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.79 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, CH₂), 3.62 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.91 (s, 3H, OCH₃), 3.93 (s, 3H, OCH₃), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.22 (t, 3H, 3 x ArH), 7.56 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.68 (s, 1H, ArH), 10.38 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.6 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 56.5 (OCH₃), 56.8 (OCH₃), 59.7 (CH₂), 107.4 (Ar-CH), 110.2 (Ar-CH), 111.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 119.7 (2 x Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.9 (Ar-C), 127.6 (Ar-CH), 129.0 (2 x Ar-CH), 136.1 (Ar-C), 137.1 (Ar-C), 138.9 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 149.1 (Ar-C), 153.2 (Ar-C), 164.0 (CO).

Chinolin-4-carbonsäure-{4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-amid (**WK-X-58**)



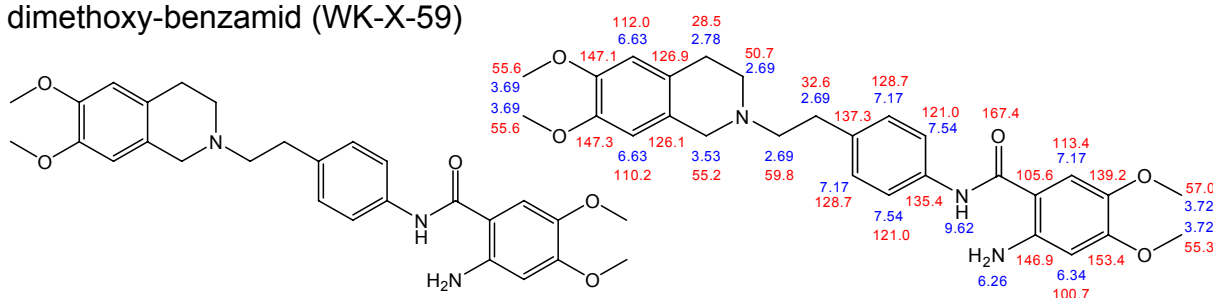
Herstellung:	AAV 3
Edukte:	0,6 mmol (178 mg) 4-[2-(3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4/WK-X-12)
	1 mmol (172 mg) Chinolin-4-carbonsäure
Summelformel:	C ₂₉ H ₂₉ N ₃ O ₃
Mr:	467,6
Smp.:	199°C
Aussehen:	weißer kristalliner Feststoff
Ausbeute:	55,2% (155 mg)
Rf:	0,54 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1)
	0,03 (Kieselgel/EtOAc)
EA:	ber.: C, 74,50; H, 6,25; N, 8,99; O, 10,27
	ber. * 0,8 H ₂ O: C, 72,27; H, 6,40; N, 8,72; O, 12,61
	gef.: C, 72,09; H, 6,29; N, 8,60

Experimenteller Teil

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.66-2.71 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.82 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, CH₂), 3.54 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.63 (s, 1H, ArH), 6.65 (s, 1H, ArH), 7.26 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.67 (m, 4H, 4 x ArH), 7.82 (dt, *J* = 5.5 Hz, 1H, ArH), 8.13 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, 2 x ArH), 9.02 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H, ArH), 10.66 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.6 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.6 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 119.3 (Ar-CH), 120.1 (2 x Ar-CH), 124.2 (Ar-C), 125.4 (Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 127.7 (Ar-CH), 129.1 (2 x Ar-CH), 129.6 (Ar-C), 130.0 (Ar-CH), 136.6 (Ar-C), 136.8 (Ar-C), 142.2 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 148.1 (Ar-C), 150.4 (Ar-CH), 165.2 (CO).

2-Amino-*N*-{4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isoquinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-4,5-dimethoxy-benzamid (WK-X-59)



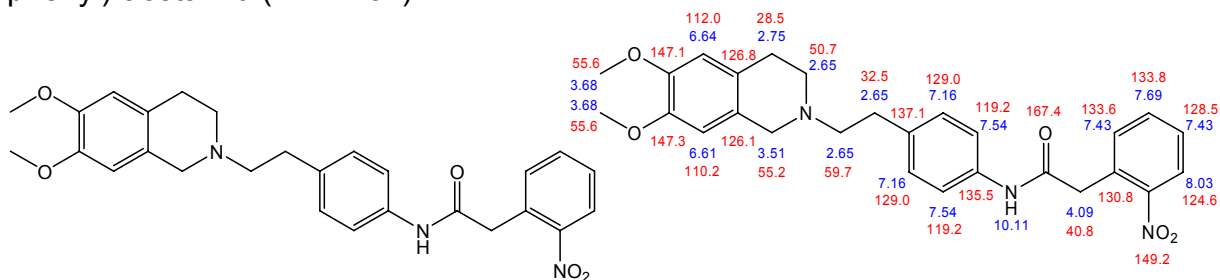
Herstellung: AAV 2
 Edukte: 2,34 mmol (1,22 g) *N*-{4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-4,5-dimethoxy-2-nitro-benzamid (WK-X-57)
 Summelformel: C₂₈H₃₃N₃O₅
 Mr: 491,6
 Smp.: 125°C
 Aussehen: weißer Feststoff (verharzt sofort an der Luft)
 Ausbeute: 69,1% (795 mg)
 Rf: 0,53 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
 0,03 (Kieselgel/EtOAc)
 EA: ber.: C, 68,41; H, 6,77; N, 8,55; O, 16,27
 ber. * 0,5 H₂O: C, 67,18; H, 6,85; N, 8,39; O, 17,58
 gef.: C, 67,35; H, 6,80; N, 8,38

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.63-2.72 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.78 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, CH₂), 3.53 (s, 2H, CH₂), 3.66 (s, 3H, OCH₃), 3.67 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 6.11 (s, 2H*, NH₂), 6.34 (s, 1H, ArH), 6.61 (s, 1H, ArH), 6.63 (s, 1H, ArH), 7.17 (m, 3H, 3 x ArH), 7.54 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 9.62 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.5 (CH₂), 32.6 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.3 (OCH₃), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 57.0 (OCH₃), 59.8 (CH₂), 100.1 (Ar-CH), 105.5 (Ar-C), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 113.4 (Ar-CH), 121.0 (2 x Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.9 (Ar-C), 128.7 (2 x Ar-CH), 135.4 (Ar-C), 137.3 (Ar-C), 139.2 (Ar-C), 146.9 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 153.4 (Ar-C), 167.4 (CO).

Experimenteller Teil

N-{4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-2-(2-nitrophenyl)-acetamid (WK-X-64)

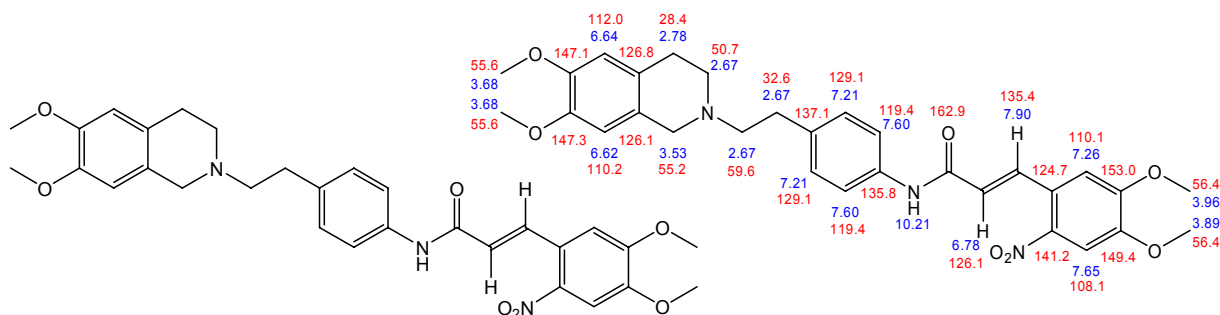


Herstellung: AAV 3
 Ansatz: 3 mmol (937 mg) 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4/WK-X-12)
 4 mmol (725 mg) 2-Nitrophenyllessigsäure
 Summelformel: C₂₇H₂₉N₃O₅
 Mr: 475,5
 Smp.: 149°C
 Aussehen: beiger Feststoff
 Ausbeute: 75,8% (1,08 g)
 Rf: 0,54 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
 0,08 (Kieselgel/EtOAc)
 EA: ber.: C, 68,19; H, 6,15; N, 8,84; O, 16,82
 ber. *1/3 H₂O: C, 67,34; H, 6,21; N, 8,73
 gef.: C, 67,23; H, 6,03; N, 8,73

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.61-2.69 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.75 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, CH₂), 3.51 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 4.09 (s, 2H, CH₂), 6.61 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.16 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.43 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.54 (m, 2H, 2 x ArH), 7.69 (dt, *J* = 5 Hz, 1H, ArH), 8.03 (dt, *J* = 5 Hz, 1H, ArH), 10.11 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.5 (CH₂), 32.5 (CH₂), 40.6 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.7 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 119.2 (2 x Ar-CH), 124.6 (Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 128.5 (Ar-CH), 129.0 (2 x Ar-CH), 130.8 (Ar-C), 133.5 (Ar-C), 133.8 (Ar-CH), 135.5 (Ar-C), 137.1 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 149.2 (Ar-C), 167.4 (CO).

(*E*)-3-(4,5-dimethoxy-2-nitrophenyl)-*N*-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)phenyl)acrylamid (WK-X-65)



Herstellung: AAV 3

Experimenteller Teil

Ansatz: 3 mmol (937 mg) 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4/WK-X-12)
4 mmol (1,01 g) 4,5-Dimethoxy-2-nitrozimtsäure

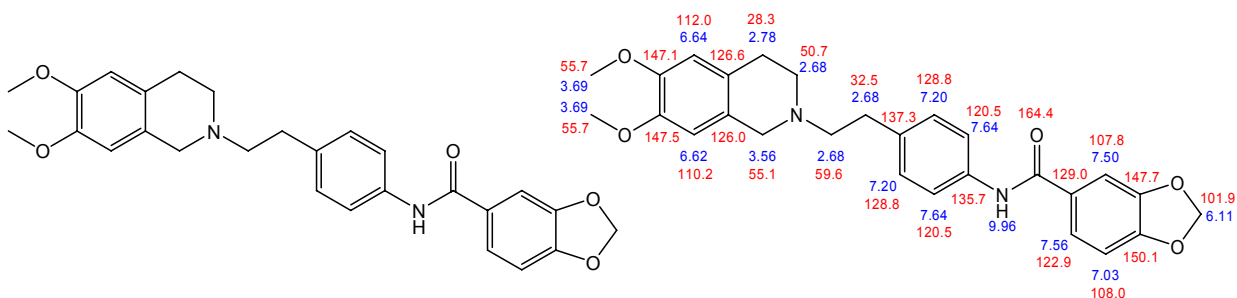
Summelformel: C₃₀H₃₃N₃O₇
Mr: 547,6
Smp.: 184°C
Aussehen: gelber kristalliner Feststoff
Ausbeute: 84% (1,22 g)
Rf: 0,55 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
0,03 (Kieselgel/EtOAc)

EA: ber.: C, 65,80; H, 6,07; N, 7,67; O, 20,45
ber. * ¾ H₂O: C, 64,22; H, 6,20; N, 7,49; O, 22,10
gef.: C, 64,01; H, 5,97; N, 7,44

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.64-2.70 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.78 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, CH₂), 3.53 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 3.95 (s, 3H, OCH₃), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 6.78 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H, ArH), 7.20 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.26 (s, 1H, ArH), 7.60 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.65 (s, 1H, ArH), 7.90 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H, ArH), 10.21 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.6 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 56.3 (OCH₃), 56.4 (OCH₃), 59.6 (CH₂), 108.1 (Ar-CH), 110.1 (Ar-CH), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 119.4 (2 x Ar-CH), 124.7 (Ar-C), 126.1 (CH), 126.1 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 129.1 (2 x Ar-CH), 135.4 (CH), 135.8 (Ar-C), 137.1 (Ar-C), 141.2 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 149.4 (Ar-C), 153.0 (Ar-C), 162.9 (CO).

Benzo[1,3]dioxol-5-carbonsäure{4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-amid (WK-X-66)



Herstellung: AAV 4
Edukte: 0,5 mmol (156 mg) 4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4/WK-X-12)
1 mmol 3,4-(Methylenedioxy)-benzoesäurechlorid

Summelformel: C₂₇H₂₈N₂O₅
Mr: 460,5
Smp.: 180°C
Aussehen: weißer Feststoff
Ausbeute: 80% (184 mg)
Rf: 0,69 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
0,11 (Kieselgel/EtOAc)

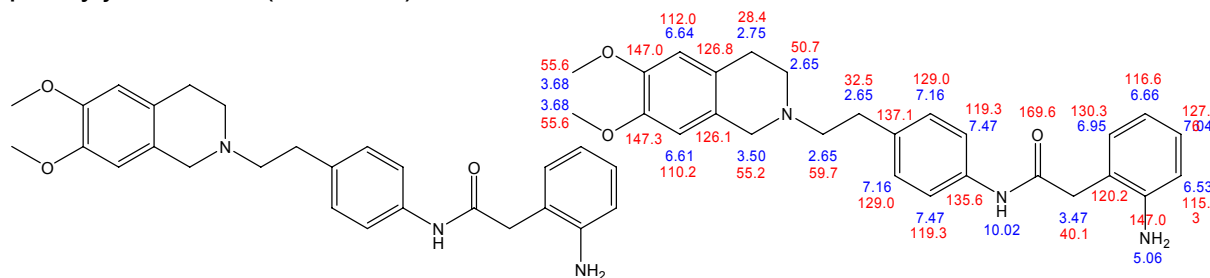
Experimenteller Teil

EA:	ber.:	C, 70,42; H, 6,13; N, 6,08; O, 17,37
	ber. * 0,2 H ₂ O:	C, 69,87; H, 6,17; N, 6,04; O, 17,93
	gef.:	C, 69,93; H, 6,22; N, 6,02

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.66-2.71 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.78 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, CH₂), 3.56 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.11 (s, 2H, CH₂), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.03 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.20 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.50 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.56 (dd, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.64 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 9.96 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.3 (CH₂), 32.5 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.6 (CH₂), 101.9 (CH₂), 107.8 (Ar-CH), 108.0 (Ar-CH), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 120.5 (2 x Ar-CH), 122.9 (Ar-CH), 126.0 (Ar-C), 126.6 (Ar-C), 128.8 (2 x Ar-CH), 129.0 (Ar-C), 135.7 (Ar-C), 137.3 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.5 (Ar-C), 147.7 (Ar-C), 150.1 (Ar-C), 164.4 (CO).

2-(2-Amino-phenyl)-*N*-{4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-acetamid (WK-X-69)



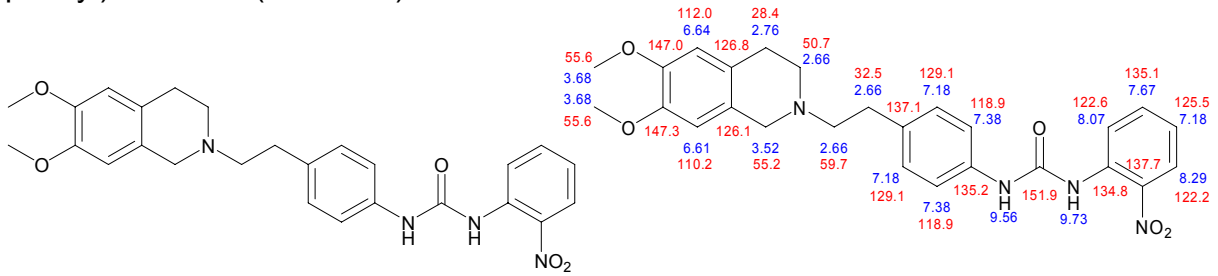
Herstellung:	AAV 2	
Ansatz:	1,5 mmol (715 mg) <i>N</i> -{4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-2-(2-nitro-phenyl)-acetamid (WK-X-64)	
Summelformel:	C ₂₇ H ₃₁ N ₃ O ₃	
Mr:	445,5	
Smp.:	133°C	
Aussehen:	weißer Feststoff	
Ausbeute:	90% (602 mg)	
Rf:	0,70 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1) 0,06 (Kieselgel/EtOAc)	
EA:	ber.:	
	gef.:	
	ber.:	C, 72,78; H, 7,01; N, 9,43; O, 10,77
	gef.:	C, 72,65; H, 7,32; N, 9,05

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.61-2.70 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.75 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, CH₂), 3.47 (s, 2H, CH₂), 3.50 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 5.06 (br, s, 2H*, NH₂), 6.53 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, ArH), 6.61 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 6.66 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 6.95 (dt, *J* = 6.3 Hz, 1H, ArH), 7.04 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H, ArH), 7.16 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.47 (t, *J* = 8.2 Hz, 2H, 2 x ArH), 10.02 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 40.1 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.7 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 115.3 (Ar-CH), 116.6 (Ar-CH), 119.3 (2 x Ar-CH), 120.2 (Ar-C), 126.1 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 127.6 (Ar-CH), 129.0 (2 x Ar-CH), 130.3 (Ar-CH), 135.6 (Ar-C), 137.1 (Ar-C), 147.0 (Ar-C), 147.0 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 169.6 (CO).

Experimenteller Teil

1-{4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-3-(2-nitrophenyl)-harnstoff (WK-X-74)

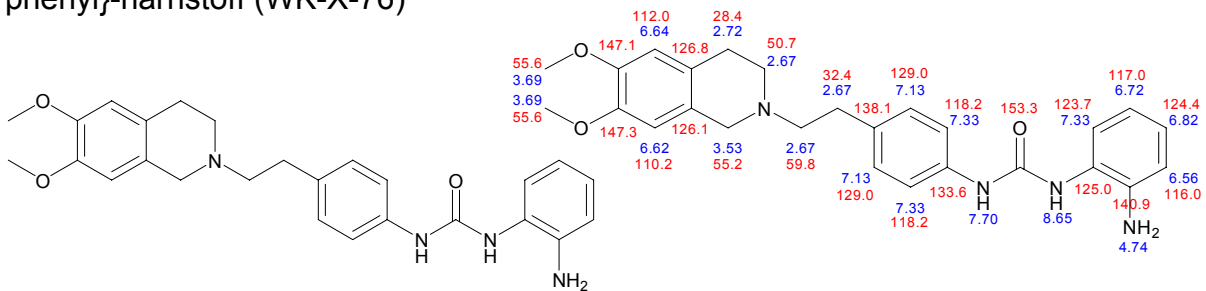


Herstellung:	AAV 5
Edukte:	4 mmol (1,25 g) 4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4 /WK-X-12) 4 mmol (780 mg) 2-Nitrophenylisocyanat
Summelformel:	C ₂₆ H ₂₈ N ₄ O ₅
Mr:	476,5
Smp.:	167°C
Aussehen:	gelber kristalliner Feststoff
Ausbeute:	71% (1,35 g)
Rf:	0,62 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1) 0,13 (Kieselgel/EtOAc)
EA:	ber.: C, 65,53; H, 5,92; N, 11,76; O, 16,79 gef.: C, 65,32; H, 6,06; N, 11,61

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.62-2.70 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.76 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, CH₂), 3.52 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.61 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.18 (m, 3H, 3 x ArH), 7.38 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.67 (dt, *J* = 8.5 Hz, 1H, ArH), 8.07 (dd, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 8.29 (dd, *J* = 8.5 Hz, 1H, ArH), 9.56 (s, 1H*, NH), 9.73 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.7 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 118.9 (2 x Ar-CH), 122.2 (Ar-CH), 122.6 (Ar-CH), 125.5 (Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 129.1 (2 x Ar-CH), 134.8 (Ar-C), 135.1 (Ar-CH), 135.2 (Ar-C), 137.1 (Ar-C), 137.7 (Ar-C), 147.0 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 151.9 (CO).

1-(2-Amino-phenyl)-3-{4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-harnstoff (WK-X-76)



Herstellung: AAV 2

Experimenteller Teil

Ansatz: 2,2 mmol (1,05 g) 1-{4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-3-(2-nitro-phenyl)-harnstoff (WK-X-74)

Summelformel: C₂₆H₃₀N₄O₃

Mr: 446,5

Smp.: 171°C

Aussehen: hell gelber Feststoff

Ausbeute: 87,8% (860 mg)

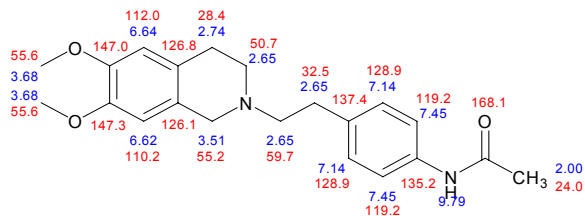
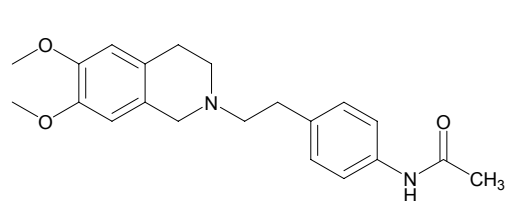
Rf: 0,64 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
0,01 (Kieselgel/EtOAc)

EA: ber.: C, 69,93; H, 6,77; N, 12,55; O, 10,75
ber. * 0,2 H₂O: C, 69,37; H, 6,81; N, 12,45; O, 11,37
gef.: C, 69,27; H, 6,90; N, 12,34

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.63-2.76 (m, 8H, 4 x CH₂), 3.53 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 4.74 (br, s, 2H*, NH₂), 6.56 (dt, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 6.72 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 6.82 (dt, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 7.13 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.33 (m, 3H, 3 x ArH), 7.70 (s, 1H*, NH), 8.65 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.4 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.8 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 116.0 (Ar-CH), 117.0 (Ar-CH), 118.2 (2 x Ar-CH), 123.7 (Ar-CH), 124.4 (Ar-CH), 125.0 (Ar-C), 126.1 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 129.0 (2 x Ar-CH), 133.6 (Ar-C), 138.1 (Ar-C), 140.9 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 153.3 (CO).

N-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)phenyl)-acetamid (WK-X-79)



Herstellung: AAV 4

Ansatz: 3,5 mmol (1,09 g) 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4/WK-X-12)
7 mmol (550 mg) Acetylchlorid

Summelformel: C₂₁H₂₆N₂O₃

Mr: 354,4

Smp.: 136-137°C

Aussehen: hell beiger kristalliner Feststoff

Ausbeute: 64,5% (800 mg)

Rf: 0,66 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1); 0,04 (Kieselgel/EtOAc),
0,41 (Kieselgel/*n*-BuOH/NH₃ 99:1)

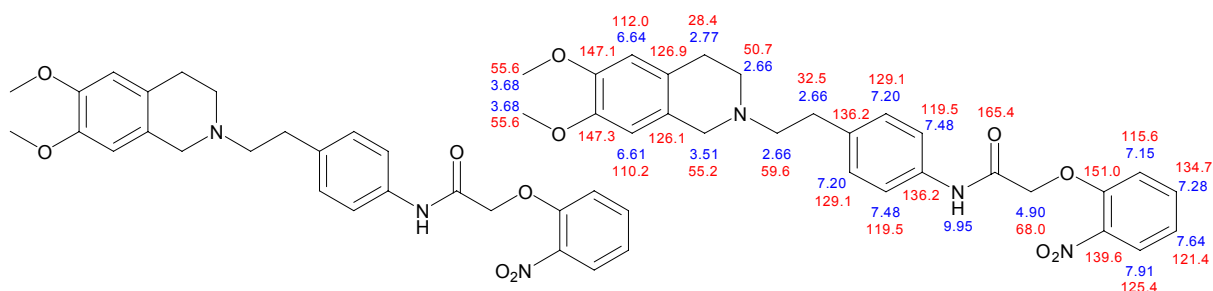
EA: ber.: C, 71,16; H, 7,39; N, 7,90; O, 13,54
gef.: C, 71,27; H, 7,48; N, 7,92

Experimenteller Teil

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.00 (s, 3H, CH₃), 2.61-2.69 (m, 6H, 3 x CH₂), 2,74 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, CH₂), 3.51 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.14 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.45 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 9.79 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 24.0 (CH₃), 28.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃) 55.7 (OCH₃), 59.7 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 119.2 (2 x Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 128.9 (2 x Ar-CH), 135.2 (Ar-C), 137.4 (Ar-C), 147.0 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 168.1 (CO).

N-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)phenyl)-2-(2-nitrophenoxy)acetamid (WK-X-81)



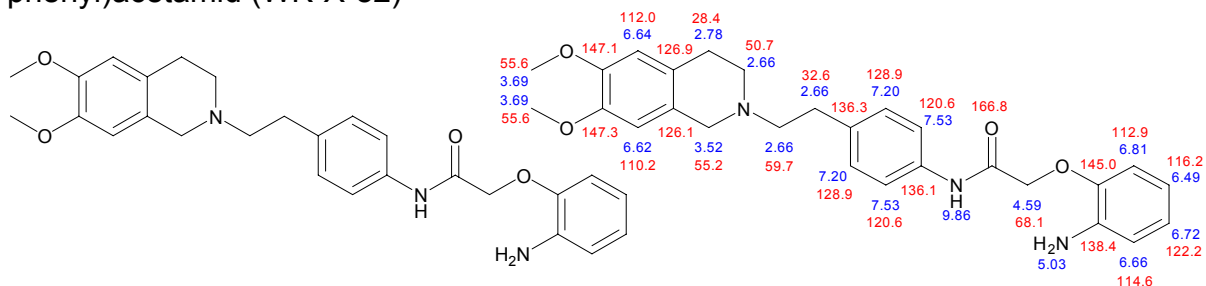
Herstellung: AAV 3
 Ansatz: 3 mmol (937 mg) 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (**4**/WK-X-12)
 4 mmol (790 mg) 2-Nitrophenoxyessigsäure
 Summelformel: C₂₇H₂₉N₃O₆
 Mr / Exakte Masse: 491,5 / 491,2056
 Smp.: 131°C
 Aussehen: weißer kristalliner Feststoff
 Ausbeute: 80,7% (1,19 g)
 Rf: 0,66 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1); 0,07 (Kieselgel/EtOAc),
 0,51 (Kieselgel/*n*-BuOH/NH₃ 99:1)
 MS: 492,2 (60%), 307,1 (18%), 289,1 (10%), 206,2 (100%), 165,1 (11%)
 EA: ber.: C, 65,97; H, 5,95; N, 8,55; O, 19,53
 ber. * 0,2 H₂O: C, 65,49; H, 5,98; N, 8,49
 gef.: C, 65,55; H, 6,07; N, 8,47

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.62-2.69 (m, 6H, 3 x CH₂), 2,77 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, CH₂), 3.51 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 4.90 (s, 2H, OCH₂), 6.61 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.15 (dt, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.20 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.28 (d, *J* = 8 Hz, 1H, ArH), 7.48 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.64 (m, 1H, ArH), 7.91 (dd, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 9.95 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃) 55.7 (OCH₃), 59.7 (CH₂), 68.0 (OCH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 115.6 (Ar-CH), 119.5 (2 x Ar-CH), 121.4 (Ar-CH), 125.4 (Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.9 (Ar-C), 129.1 (2 x Ar-CH), 134.7 (Ar-CH), 136.2 (Ar-C), 136.2 (Ar-C), 139.6 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 151.0 (Ar-C), 165.4 (CO).

Experimenteller Teil

2-(2-Aminophenoxy)-N-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1H)-yl)ethyl)phenyl)acetamid (WK-X-82)

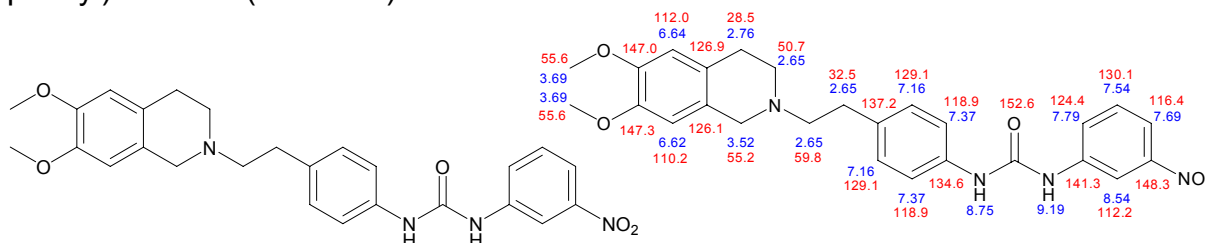


Herstellung:	AAV 2
Ansatz:	2,1 mmol (1,03 g) N-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1H)-yl)ethyl)phenyl)-2-(2-nitrophenoxy)acetamid (WK-X-81)
Summelformel:	C ₂₇ H ₃₁ N ₃ O ₄
Mr:	461,6
Smp.:	163°C
Aussehen:	weißer Feststoff
Ausbeute:	88,6% (860 mg)
Rf:	0,67 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1); 0,03 (Kieselgel/EtOAc), 0,44 (Kieselgel/n-BuOH/NH ₃ 99:1)
EA:	ber.: C, 70,26; H, 6,77; N, 9,10; O, 13,87 gef.: C, 70,03; H, 6,93; N, 9,03

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.62-2.70 (m, 6H, 3 x CH₂), 2,78 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, CH₂), 3.52 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 4.59 (s, 2H, OCH₂), 5.03 (s, 2H*, NH₂), 6.49 (m, 1H, ArH), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 6.66 (dd, *J* = 6 Hz, 1H, ArH), 6.72 (dt, *J* = 7.2 Hz, 1H, ArH), 6.81 (dd, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.20 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.53 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 9.86 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.6 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.7 (CH₂), 68.1 (OCH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 112.9 (Ar-CH), 114.6 (Ar-CH), 116.2 (Ar-CH), 120.6 (2 x Ar-CH), 122.2 (Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.9 (Ar-C), 128.9 (2 x Ar-CH), 136.1 (Ar-C), 136.3 (Ar-C), 138.4 (Ar-C), 145.0 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 166.8 (CO).

1-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1H)-yl)ethyl)phenyl)-3-(3-nitrophenyl)harnstoff (WK-X-85)



Herstellung:	AAV 5
Edukte	3 mmol (937 mg) 4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1H-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4/WK-X-12) 3 mmol (492 mg) 3-Nitrophenylisocyanat
Summelformel:	C ₂₆ H ₂₈ N ₄ O ₅
Mr:	476,5

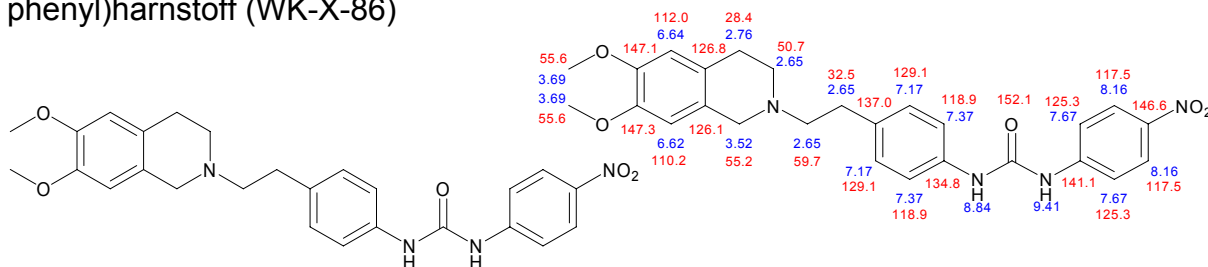
Experimenteller Teil

Smp.: 166°C
 Aussehen: gelber Feststoff
 Ausbeute: 93% (1,33 g)
 Rf: 0,66 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1); 0,04 (Kieselgel/EtOAc),
 0,55 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 65,53; H, 5,92; N, 11,76; O, 16,79
 ber. * ²/₃ H₂O: C, 63,92; H, 6,05; N, 11,47; O, 18,56
 gef.: C, 63,79; H, 6,26; N, 11,25

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.62-2.70 (m, 6H, 3 x CH₂), 2,76 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, CH₂), 3.52 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.13 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.37 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.54 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.69 (dd, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.79 (dd, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 8.54 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H, ArH), 8.75 (s, 1H*, NH), 9.19 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.5 (CH₂), 32.5 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.6 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 112.2 (Ar-CH), 116.4 (Ar-CH), 118.9 (2 x Ar-CH), 124.4 (Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.9 (Ar-C), 129.1 (2 x Ar-CH), 130.1 (Ar-CH), 134.6 (Ar-C), 137.2 (Ar-C), 141.3 (Ar-C), 147.0 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 148.3 (Ar-C), 152.6 (CO).

1-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)phenyl)-3-(4-nitrophenyl)harnstoff (WK-X-86)



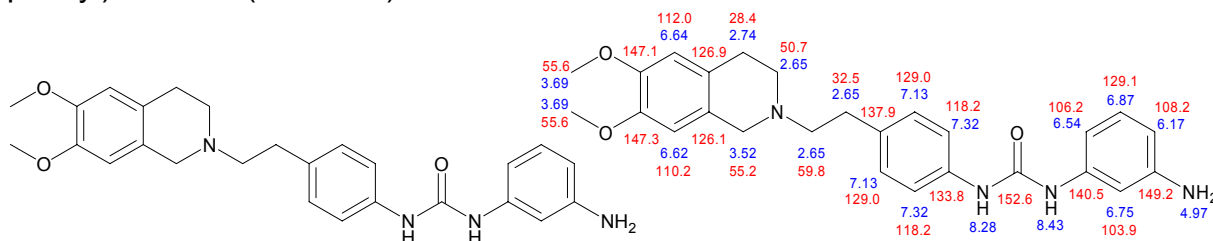
Herstellung: AAV 5
 Edukte: 3 mmol (937 mg) 4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (**4**/WK-X-12)
 3 mmol (492 mg) 4-Nitrophenylisocyanat
 Summelformel: C₂₆H₂₈N₄O₅
 Mr: 476,5
 Smp.: 138°C
 Aussehen: gelber Feststoff
 Ausbeute: 90% (1,29 g)
 Rf: 0,66 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1); 0,04 (Kieselgel/EtOAc),
 0,56 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 65,53; H, 5,92; N, 11,76; O, 16,79
 ber. * 1 H₂O: C, 63,15; H, 6,11; N, 11,33; O, 19,41
 gef.: C, 63,15; H, 6,23; N, 11,03

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.62-2.70 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.76(t, *J* = 7,5, 2H, CH₂), 3.52 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.17 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.37 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.67 (d, *J* = 9.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.16 (d, *J* = 9.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.84 (s, 1H*, NH), 9.41 (s, 1H*, NH).

Experimenteller Teil

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.7 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 117.5 (2 x Ar-CH), 118.9 (2 x Ar-CH), 125.3 (2 x Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.9 (Ar-C), 129.1 (2 x Ar-CH), 134.8 (Ar-C), 137.0 (Ar-C), 141.1 (Ar-C), 146.6 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 152.1 (CO).

1-(3-Aminophenyl)-3-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)phenyl)harnstoff (WK-X-88)



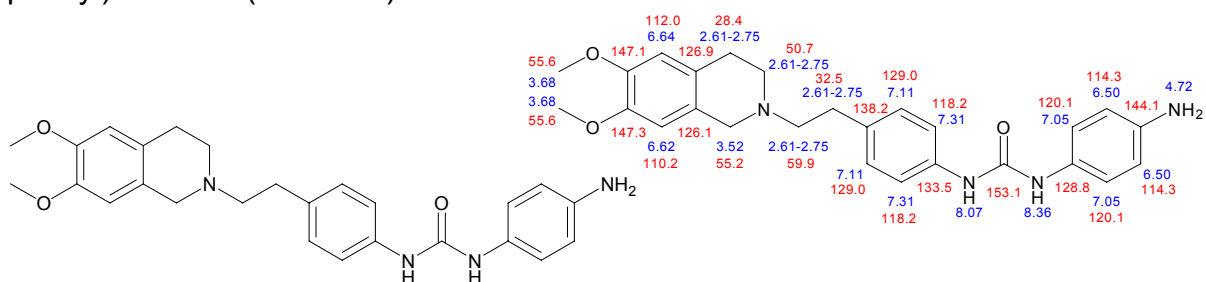
Herstellung: AAV 2
 Edukt 2 mmol (950 mg) 1-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)phenyl)-3-(3-nitrophenyl)harnstoff (WK-X-85)
 Summelformel: C₂₆H₃₀N₄O₃
 Mr: 446,5
 Smp.: 172°C
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 80,6% (720 mg)
 Rf: 0,63 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1); 0,03 (Kieselgel/EtOAc), 0,37 (Kieselgel/*n*-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 69,93; H, 6,77; N, 12,55; O, 10,75
 ber. * 1/3 H₂O: C, 69,00; H, 6,83; N, 12,38; O, 11,78
 gef.: C, 68,75; H, 6,76; N, 12,38

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.61-2.75 (m, 8H, 4 x CH₂), 3.52 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 4.97 (br, s, 2H*, NH₂), 6.17 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 6.53 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 6.75 (s, 1H, ArH), 6.87 (t, 1H, *J* = 7.9 Hz, ArH), 7.13 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.32 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.28 (s, 1H*, NH), 8.43 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.8 (CH₂), 103.9 (Ar-CH), 106.2 (Ar-CH), 108.2 (Ar-CH), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 118.2 (2 x Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.9 (Ar-C), 129.0 (2 x Ar-CH), 129.1 (Ar-CH), 133.8 (Ar-C), 137.9 (Ar-C), 140.5 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 149.2 (Ar-C), 152.6 (CO).

Experimenteller Teil

1-(4-Aminophenyl)-3-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1H)-yl)ethyl)phenyl)harnstoff (WK-X-89)



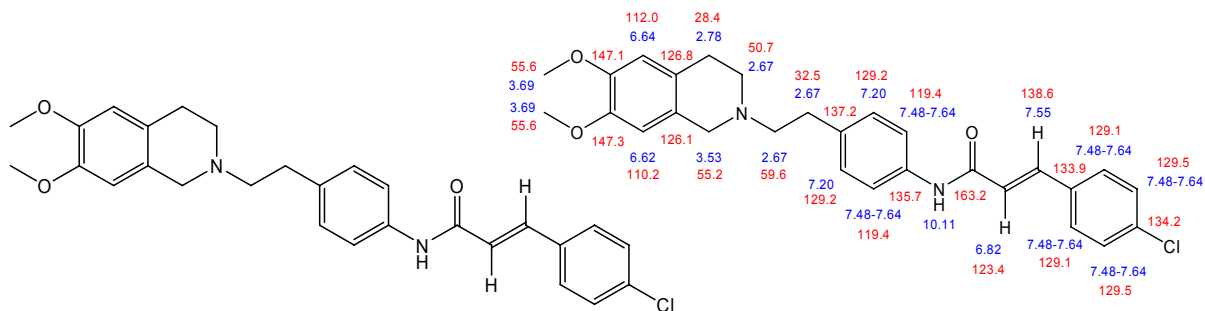
Herstellung:	AAV 2	
Edukt	2,1 mmol (1 g) 1-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1H)-yl)ethyl)phenyl)-3-(3-nitrophenyl)harnstoff (WK-X-86)	
Summelformel:	C ₂₆ H ₃₀ N ₄ O ₃	
Mr:	446,5	
Smp.:	187°C (unter Braunfärbung)	
Aussehen:	leicht gelber Feststoff	
Ausbeute:	75,5 % (707 mg)	
Rf:	0,61 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1); 0,03 (Kieselgel/EtOAc), 0,35 (Kieselgel/n-BuOH/NH ₃ 99:1)	
EA:	ber.:	C, 69,93; H, 6,77; N, 12,55; O, 10,75
	ber. * ² / ₅ H ₂ O:	C, 68,82; H, 6,84; N, 12,35; O, 11,99
	gef.:	C, 68,76; H, 6,69; N, 12,23

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.61-2.75 (m, 8H, 4 x CH₂), 3.52 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 4.72 (br, s, 2H*, NH₂), 6.50 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2 x ArH), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.05 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.11 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.31 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.07 (s, 1H*, NH), 8.35 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.9 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112,0 (Ar-CH), 114.3 (2 x Ar-CH), 118.2 (2 x Ar-CH), 120.8 (2 x Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.9 (Ar-C), 128.8 (Ar-C), 129.0 (2 x Ar-CH), 133.5 (Ar-C), 138.2 (Ar-C), 144.1 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 153.1 (CO).

Experimenteller Teil

(E)-N-(4-(2-(3,4-dihydro-6,7-dimethoxy-isochinolin-2(1H)-yl)-ethyl)phenyl)-4-chlorzimtsäureamid (WK-X-96)

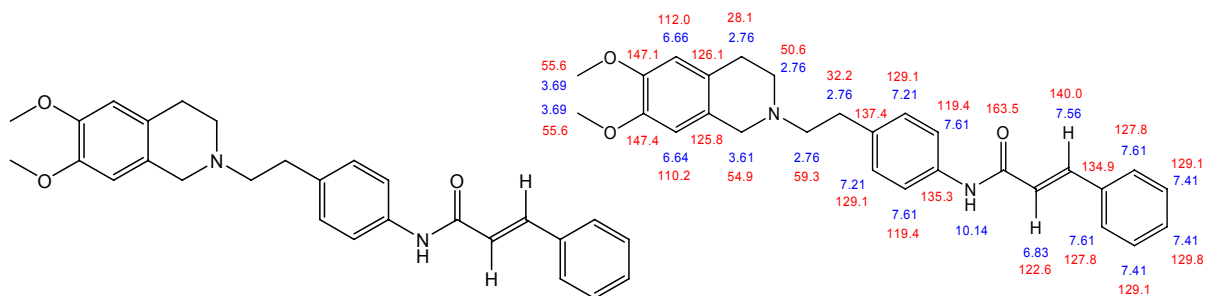


Herstellung: AAV 3
 Ansatz: 0,5 mmol (156 mg) 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1H-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4/WK-X-12)
 0,75 mmol (137 mg) 4-Chlorzimtsäure
 Summelformel: C₂₈H₂₉ClN₂O₃
 Mr: 480,0
 Smp.: 198°C
 Aussehen: hell grauer Feststoff
 Ausbeute: 28% (66 mg)
 Rf: 0,71 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1); 0,08 (Kieselgel/EtOAc),
 0,60 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 70,50; H, 6,13; Cl, 7,43; N, 5,87; O, 10,06
 ber. 0,5 H₂O: C, 69,20; H, 6,22; Cl, 7,29; N, 5,76; O, 11,52
 gef.: C, 69,16; H, 6,38; N, 5,70

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.64-2.70 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.78 (t, 2H, CH₂), 3.53 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 6.78 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H, CO-CH=CH), 7.20 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.48-7.64 (m, 7H, 6 x ArH, 1 x Ar-CH=CH), 10.11 (br, s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.6 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 119.4 (2 x Ar-CH), 123.4 (CO-CH=CH), 126.1 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 129.1 (2 x Ar-CH), 129.2 (2 x Ar-CH), 129.5 (2 x Ar-CH), 133.9 (Ar-C), 134.2 (Ar-C), 135.7 (Ar-C), 137.2 (Ar-C), 138.6 (Ar-CH=CH), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 163.2 (CO).

(E)-N-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1H)-yl)ethyl)phenyl)zimtsäureamide (WK-X-97)



Herstellung: AAV 3

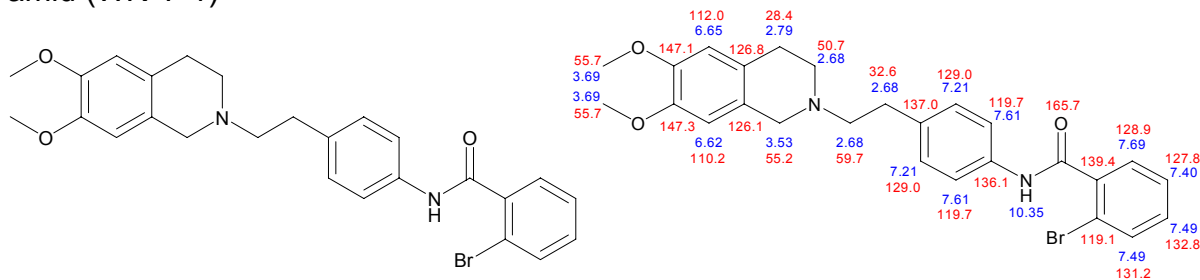
Experimenteller Teil

Ansatz: 0,5 mmol (156 mg) 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (**4/WK-X-12**)
 0,75 mmol (111 mg) Zimtsäure
Summelformel: C₂₈H₃₀N₂O₃
Mr: 442,6
Smp.: 150°C
Aussehen: hell gelber Feststoff
Ausbeute: 38% (85 mg)
Rf: 0,71 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1); 0,08 (Kieselgel/EtOAc),
 0,60 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)
EA: ber.: C, 75,99; H, 6,83; N, 6,33; O, 10,85
 ber. * ²/₅ H₂O: C, 74,77; H, 6,90; N, 6,23; O, 12,10
 gef.: C, 74,48; H, 7,20; N, 6,61

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.69-2.83 (m, 8H, 4 x CH₂), 3.61 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 6.64 (s, 1H, ArH), 6.66 (s, 1H, ArH), 6.83 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H, CO-CH=CH), 7.21 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.41 (m, 3H, 3 x ArH), 7.56 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H, Ar-CH=CH), 7.61 (m, 4H, 4 x ArH), 10.14 (br, s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.1 (CH₂), 32.2 (CH₂), 50.6 (CH₂), 54.9 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.3 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 119.4 (2 x Ar-CH), 122.6 (CO-CH=CH), 125.8 (Ar-C), 126.1 (Ar-C), 127.8 (2 x Ar-CH), 129.1 (2 x Ar-CH), 129.1 (2 x Ar-CH), 129.8 (Ar-CH), 134.9 (Ar-C), 135.3 (Ar-C), 137.4 (Ar-C), 140.0 (Ar-CH=CH), 147.1 (Ar-C), 147.4 (Ar-C), 163.5 (CO).

2-Bromo-*N*-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)phenyl)benzamid (**WK-Y-1**)



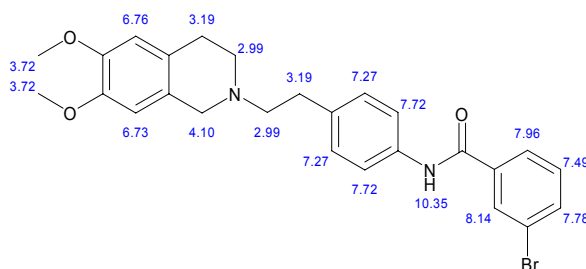
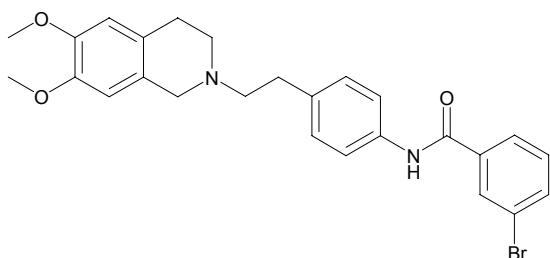
Herstellung: AAV 4
Edukte: 3 mmol (937 mg) 4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (**4/WK-X-12**)
 5 mmol (1,1 g) 2-Brombenzoesäurechlorid
Summelformel: C₂₆H₂₇BrN₂O₃
Mr: 495,4
Smp.: 158°C
Aussehen: hell gelber kristalliner Feststoff
Ausbeute: 76,7% (1,14 g)
Rf: 0,67 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1); 0,10 (Kieselgel/EtOAc),
 0,69(Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)
EA: ber.: C, 63,03; H, 5,49; Br, 16,13; N, 5,65; O, 9,69
 ber. * ¹/₃ H₂O: C, 62,28; H, 5,56; Br, 15,94; N, 5,59; O, 10,64
 gef.: C, 62,00; H, 5,38; N, 5,99

Experimenteller Teil

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.64-2.71 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.79 (t, 2H, CH₂), 3.53 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.65 (s, 1H, ArH), 7.21 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.40 (dt, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 7.49 (m, 2H, 2 x ArH), 7.61 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.69 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 10.35 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.6 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.7 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 119.1 (Ar-C), 119.7 (2 x Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 127.8 (Ar-CH), 128.9 (Ar-CH), 129.0 (2 x Ar-CH), 131.2 (Ar-CH), 132.8 (Ar-CH), 136.1 (Ar-C), 137.0 (Ar-C), 139.4 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 165.7 (CO).

3-Bromo-*N*-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)phenyl)benzamid (WK-Y-2)

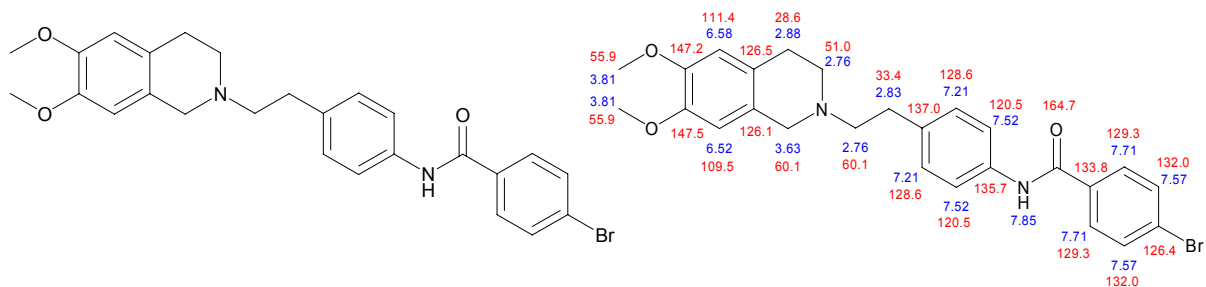


Herstellung: AAV 4
 Edukte: 3 mmol (937 mg) 4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin
 5 mmol (1,1 g) 3-Brombenzoesäurechlorid
 Summelformel: C₂₆H₂₇BrN₂O₃
 Mr: 495,4
 Smp.: 230°C
 Aussehen: hell gelber Feststoff
 Ausbeute: 69,4% (1,03 g)
 Rf: 0,69 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1); 0,09 (Kieselgel/EtOAc),
 0,68 (Kieselgel/*n*-BuOH/ NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 63,03; H, 5,49; Br, 16,13; N, 5,65; O, 9,69
 ber. * 0,2 H₂O: C, 62,58; H, 5,53; Br, 16,01; N, 5,61; O, 10,26
 gef.: C, 62,54; H, 5,59; N, 5,55

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.93-3.07 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.15-3.28 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 4.11 (br, s, 2H, CH₂), 6.73 (s, 1H, ArH), 6.76 (s, 1H, ArH), 7.27 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.49 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 7.72 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.78 (m, 1H, ArH), 7.96 (dt, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 8.14 (t, *J* = 1.9 Hz, 1H, ArH), 10.35 (s, 1H*, NH).

Experimenteller Teil

4-Bromo-*N*-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)phenyl)benzamid (WK-Y-3)

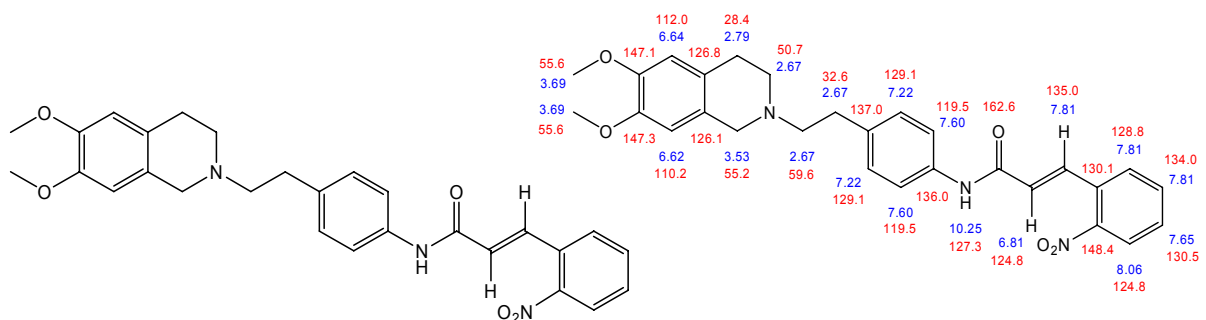


Herstellung:	AAV 4
Edukte:	3 mmol (937 mg) 4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4 /WK-X-12) 5 mmol (1,1 g) 4-Brombenzoesäurechlorid
Summelformel:	C ₂₆ H ₂₇ BrN ₂ O ₃
Mr:	495,4
Smp.:	183°C
Aussehen:	weißer Feststoff
Ausbeute:	74,0% (1,10 g)
Rf:	0,77 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1); 0,10 (Kieselgel/EtOAc), 0,66 (Kieselgel/ <i>n</i> -BuOH/ NH ₃ 99:1)
EA:	ber.: C, 63,03; H, 5,49; Br, 16,13; N, 5,65; O, 9,69 ber. * 0,5 H ₂ O: C, 61,91; H, 5,60; Br, 15,84; N, 5,55; O, 11,10 gef.: C, 61,58; H, 5,43; N, 5,59

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 2.76 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.83 (t, 2H, CH₂), 2.88 (q, 2H, CH₂), 3.63 (s, 2H, CH₂), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 6.52 (s, 1H, ArH), 6.58 (s, 1H, ArH), 7.21 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.52 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.57 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.70 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.85 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ = 28.6 (CH₂), 33.4 (CH₂), 51.0 (CH₂), 55.7 (CH₂), 55.9 (OCH₃), 55.9 (OCH₃), 60.1 (CH₂), 109.5 (Ar-CH), 111.4 (Ar-CH), 120.5 (2 x Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.4 (Ar-C), 126.5 (Ar-C), 128.6 (2 x Ar-CH), 129.3 (2 x Ar-CH), 132.0 (2 x Ar-CH), 133.8 (Ar-C), 135.7 (Ar-C), 137.0 (Ar-C), 147.2 (Ar-C), 147.5 (Ar-C), 164.7 (CO).

(*E*)-*N*-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)-phenyl)-2-nitro-zimtsäureamid (WK-Y-14)



Herstellung: AAV 3

Experimenteller Teil

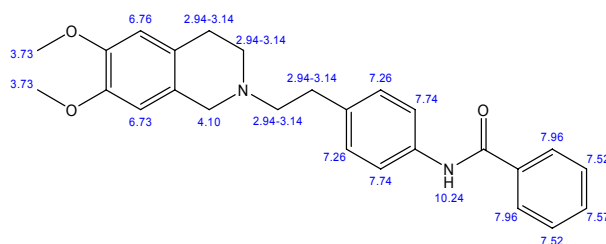
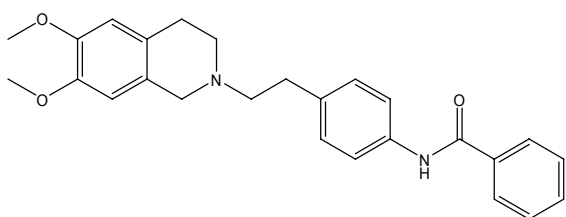
Ansatz: 4 mmol (1,25 g) 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (**4/WK-X-12**)
 6 mmol (1,16 g) 2-Nitrozimtsäure

Summelformel: C₂₈H₂₉N₃O₅
 Mr: 487,6
 Smp.: 169°C
 Aussehen: hell gelber Feststoff
 Ausbeute: 72,3% (1,41 g)
 Rf: 0,69 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1), 0,04 (Kieselgel/EtOAc),
 0,47 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1),
 EA: ber.: C, 68,98; H, 6,00; N, 8,62; O, 16,41
 ber. * 0,5 H₂O: C, 67,73; H, 6,09; N, 8,46; O, 17,72
 gef.: C, 67,69; H, 5,86; N, 8,49

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.64-2.72 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.79 (m, *J* = 8.6 Hz, 2H, CH₂), 3.53 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 6.81 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H, CO-CH=CH), 7.22 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.60 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.65 (m, 1H, ArH), 7.81 (m, 2H, 2 x ArH), 7.83 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H, Ar-CH=CH), 8.06 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 10.25 (br, s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.6 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.6 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 119.5 (2 x Ar-CH), 124.8 (CO-CH=CH), 126.1 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 127.3 (Ar-CH), 128.9 (Ar-CH), 129.1 (2 x Ar-CH), 130.1 (Ar-C), 130.5 (Ar-CH), 134.0 (Ar-CH), 135.0 (Ar-CH=CH), 136.0 (Ar-C), 137.0 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 148.4 (Ar-C), 162.65 (CO).

N-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)-phenyl)benzamid (**WK-Y-15**)



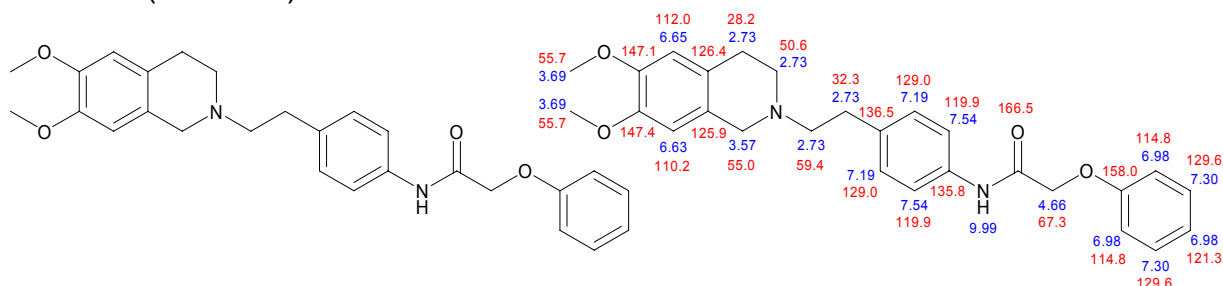
Herstellung: AAV 4
 Edukt: 0,7 mmol (218 mg) 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (**4/WK-X-12**)
 1 mmol (140 mg) Benzoylchlorid

Summelformel: C₂₆H₂₈N₂O₃
 Mr: 416,5
 Smp.: 233°C (unter Braunfärbung)
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 66,5% (194 mg)
 Rf: 0,75 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1), 0,07 (Kieselgel/EtOAc),
 0,62 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 74,97; H, 6,78; N, 6,73; O, 11,52
 ber. * 0,5 H₂O: C, 73,39; H, 6,87; N, 6,58; O, 13,16
 gef.: C, 73,30; H, 6,76; N, 6,30

Experimenteller Teil

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.94-3.19 (m, 8H, 4 x CH₂), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 4.10 (s, 2H, CH₂), 6.73 (s, 1H, ArH), 6.76 (s, 1H, ArH), 7.26 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.52 (m, 2H, 2 x ArH), 7.57 (m, 1H, ArH), 7.74 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.96 (m, 2H, 2 x ArH), 10.24 (s, 1H*, NH).

N-(4-(2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)-phenyl)-2-phenoxyacetamid (WK-Y-22)



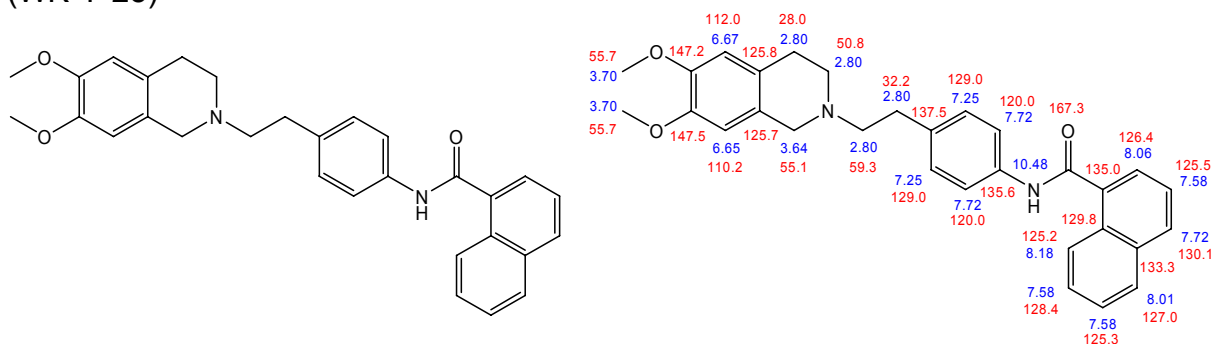
Herstellung: AAV 4
 Ansatz: 0,7 mmol (218 mg) 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4/WK-X-12)
 1 mmol (170 mg) Phenoxyessigsäurechlorid
 Summelformel: C₂₇H₃₀N₂O₄
 Mr: 446,5
 Smp.: 122°C
 Aussehen: beige-weißer kristalliner Feststoff
 Ausbeute: 44,4% (139 mg)
 Rf: 0,71 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1), 0,08 (Kieselgel/EtOAc),
 0,67 (Kieselgel/*n*-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 72,62; H, 6,77; N, 6,27; O, 14,33
 ber. * ¾ H₂O: C, 70,49; H, 6,90; N, 6,09; O, 16,52
 gef.: C, 70,35; H, 7,06; N, 5,88

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.66-2.80 (m, 8H, 4 x CH₂), 3.57 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 4.66 (s, 2H, OCH₂), 6.63 (s, 1H, ArH), 6.65 (s, 1H, ArH), 6.98 (m, 3H, 3 x ArH), 7.19 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.30 (m, 2H, 2 x ArH), 7.54 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 9.95 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.2 (CH₂), 32.3 (CH₂), 50.6 (CH₂), 55.0 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.4 (CH₂), 67.3 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 114.8 (2 x Ar-CH), 119.9 (2 x Ar-CH), 121.3 (Ar-CH), 125.9 (Ar-C), 126.4 (Ar-C), 129.0 (2 x Ar-CH), 129.6 (2 x Ar-CH), 135.8 (Ar-C), 136.5 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.4 (Ar-C), 158.0 (Ar-C), 166.5 (CO).

Experimenteller Teil

N-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)phenyl)-1-naphthylamid (WK-Y-25)

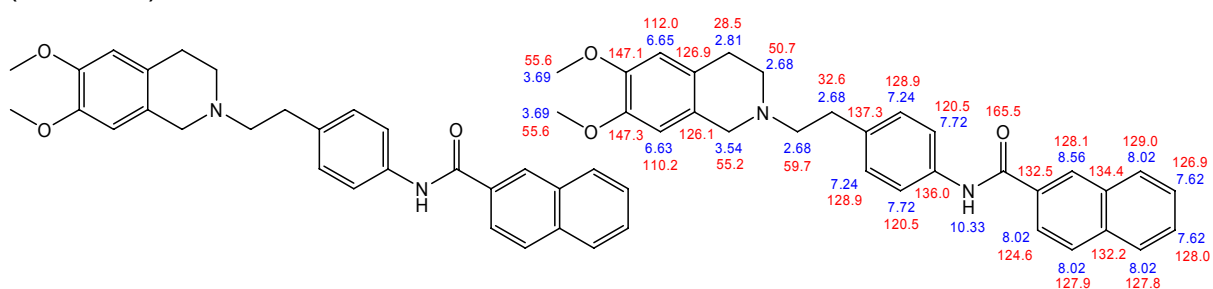


Herstellung: AAV 4
 Edukt: 0,6 mmol (187 mg) 4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4/WK-X-12)
 0,9 mmol (172 mg) 1-Naphthoylchlorid
 Summelformel: C₃₀H₃₀N₂O₃
 Mr: 466,6
 Smp.: 151°C
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 70,0% (196 mg)
 Rf: 0,73 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1); 0,13 (Kieselgel/EtOAc),
 0,57 (Kieselgel/*n*-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 77,23; H, 6,48; N, 6,00; O, 10,29
 ber. * 0,2 H₂O: C, 76,64; H, 6,52; N, 5,96; O, 10,89
 gef.: C, 76,35; H, 6,65; N, 5,87

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.70-2.88 (m, 8H, 4 x CH₂), 3.64 (s, 2H, CH₂), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 6.65 (s, 1H, ArH), 6.67 (s, 1H, ArH), 7.25 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.58 (m, 3H, 3 x ArH), 7.72 (d, *J* = 7.9 Hz, 3H, 3 x ArH), 8.01 (m, 1H, ArH), 8.06 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 8.16 (t, *J* = 4.9 Hz, 1H, ArH), 10.48 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.0 (CH₂), 32.2 (CH₂), 50.8 (CH₂), 55.1 (CH₂), 55.7 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.3 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 120.0 (2 x Ar-CH), 125.2 (Ar-CH), 125.3 (Ar-CH), 125.5 (Ar-CH), 125.8 (Ar-C), 126.5 (Ar-CH), 127.1 (Ar-CH), 128.4 (Ar-CH), 129.0 (2 x Ar-CH), 129.8 (Ar-C), 130.1 (Ar-CH), 133.3 (Ar-C), 135.0 (Ar-C), 135.6 (Ar-C), 137.5 (Ar-C), 147.2 (Ar-C), 147.5 (Ar-C), 167.3 (CO).

N-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)phenyl)-2-naphthamid (WK-Y-26)



Herstellung: AAV 4

Experimenteller Teil

Edukt: 0,6 mmol (187 mg) 4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (**4/WK-X-12**)
 0,9 mmol (172 mg) 2-Naphthoylchlorid

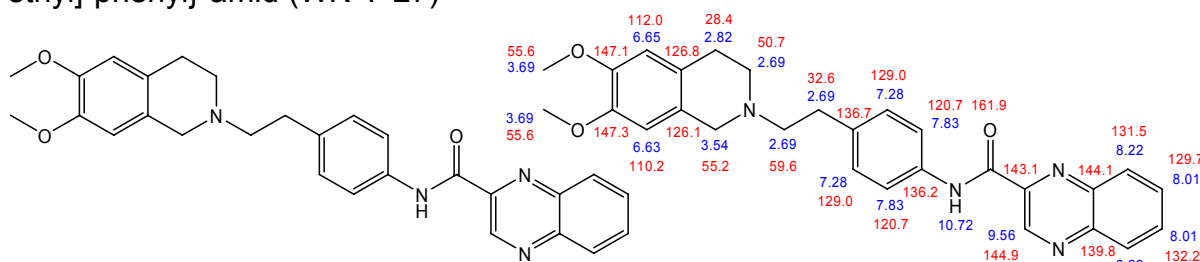
Summelformel: C₃₀H₃₀N₂O₃
 Mr: 466,6
 Smp.: 155°C
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 73,2% (205 mg)
 Rf: 0,73 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1); 0,12 (Kieselgel/EtOAc),
 0,55 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)

EA: ber.: C, 77,23; H, 6,48; N, 6,00; O, 10,29
 ber. * 0,2 H₂O: C, 76,64; H, 6,52; N, 5,96; O, 10,89
 gef.: C, 76,79; H, 6,45; N, 6,01

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.64-2.74 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.81 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, CH₂), 3.54 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.63 (s, 1H, ArH), 6.65 (s, 1H, ArH), 7.24 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.62 (m, 2H, 2 x ArH), 7.72 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.02 (m, 4H, 4 x ArH), 8.56 (s, 1H, ArH), 10.33 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.5 (CH₂), 32.6 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.7 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 120.5 (2 x Ar-CH), 124.6 (Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.9 (Ar-C), 126.9 (Ar-CH), 127.8 (Ar-CH), 127.9 (Ar-CH), 128.0 (Ar-CH), 128.1 (Ar-CH), 128.9 (2 x Ar-CH), 129.0 (Ar-CH), 132.2 (Ar-C), 132.5 (Ar-C), 134.4 (Ar-C), 136.0 (Ar-C), 137.3 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 165.5 (CO).

Chinoxalin-2-carbonsäure-{4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-amid (WK-Y-27)



Herstellung: AAV 3

Edukte: 0,6 mmol (187 mg) 4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (**4/WK-X-12**)
 0,75 mmol (144,5 mg) Chinoxalin-3-carbonsäurechlorid

Summelformel: C₂₈H₂₈N₄O₃
 Mr: 468,6
 Smp.: 150°C
 Aussehen: gelber Feststoff
 Ausbeute: 40,8% (119 mg)
 Rf: 0,72 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1); 0,10 (Kieselgel/EtOAc),
 0,59 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)

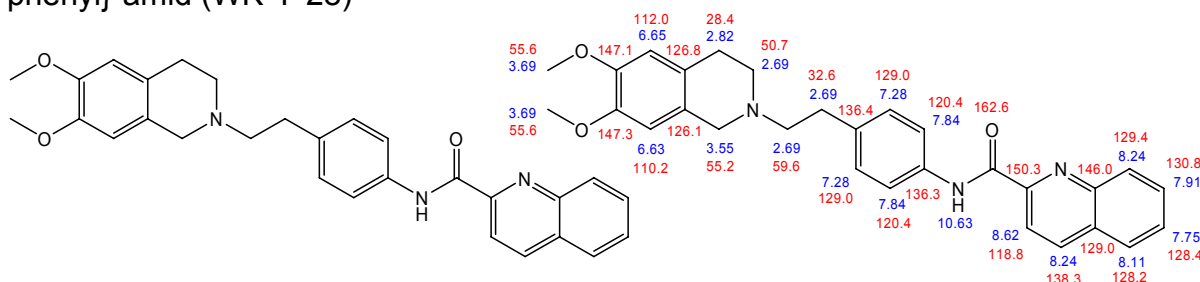
EA: ber.: C, 71,78; H, 6,02; N, 11,96; O, 10,24
 ber. * 0,2 H₂O: C, 71,23; H, 6,06; N, 11,87; O, 10,84
 gef.: C, 70,95; H, 5,83; N, 11,84

Experimenteller Teil

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.67-2.72 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.82 (t, 2H, CH₂), 3.54 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.63 (s, 1H, ArH), 6.65 (s, 1H, ArH), 7.28 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.83 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.01 (m, 2H, 2 x ArH), 8.22 (m, 1H, ArH), 8.29 (m, 1H, ArH), 9.54 (s, 1H, ArH), 10.72 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.6 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.6 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 120.7 (2 x Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 129.0 (2 x Ar-CH), 129.3 (Ar-C), 129.7 (Ar-C), 131.5 (Ar-C), 132.2 (Ar-CH), 136.2 (Ar-C), 136.7 (Ar-C), 139.8 (Ar-C), 143.1 (Ar-C), 144.1 (Ar-CH), 144.9 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 161.9 (CO).

Chinolin-2-carbonsäure-{4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-amid (WK-Y-28)



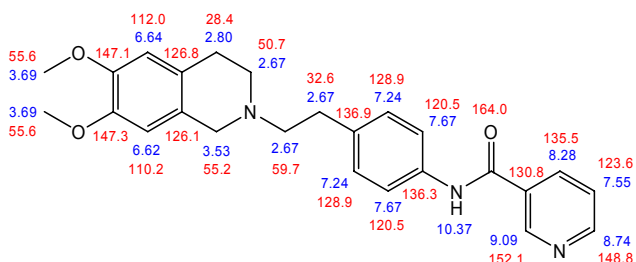
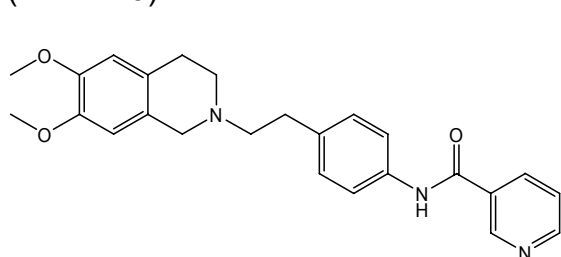
Herstellung: AAV 4
 Edukte: 0,7 mmol (218 mg) 4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4/WK-X-12)
 1 mmol (173 mg) Chinolin-2-carbonsäure
 Summelformel: C₂₉H₂₉N₃O₃
 Mr: 467,6
 Smp.: 141°C
 Aussehen: leicht gelblicher Feststoff
 Ausbeute: 37,6% (123 mg)
 Rf: 0,73 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1), 0,14 (Kieselgel/EtOAc),
 0,60 (Kieselgel/*n*-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 74,50; H, 6,25; N, 8,99; O, 10,27
 ber. * 0,5 H₂O: C, 73,09; H, 6,35; N, 8,82; O, 11,75
 gef.: C, 73,00; H, 6,05; N, 9,20

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.67-2.72 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.82 (t, 2H, CH₂), 3.55 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.63 (s, 1H, ArH), 6.65 (s, 1H, ArH), 7.28 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.75 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, ArH), 7.84 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.91 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 8.11 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 8.24 (q, 2H, 2 x ArH), 8.61 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, ArH), 10.63 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.6 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.6 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 118.8 (Ar-CH), 120.4 (2 x Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 128.2 (Ar-CH), 128.4 (Ar-CH), 129.0 (Ar-C), 129.0 (2 x Ar-CH), 129.4 (Ar-CH), 130.8 (Ar-CH), 136.3 (Ar-C), 136.4 (Ar-C), 138.3 (Ar-CH), 146.0 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 150.3 (Ar-C), 162.6 (CO).

Experimenteller Teil

N-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1H)-yl)ethyl)-phenyl)nicotinamid (WK-Y-29)

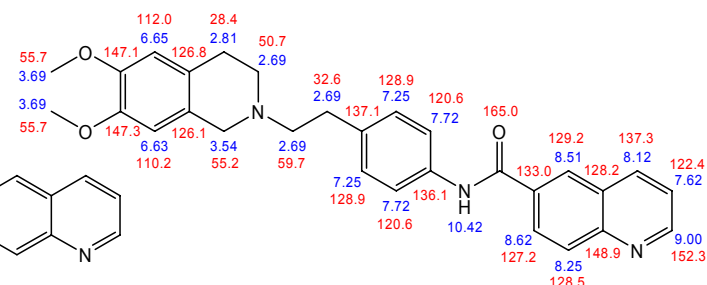
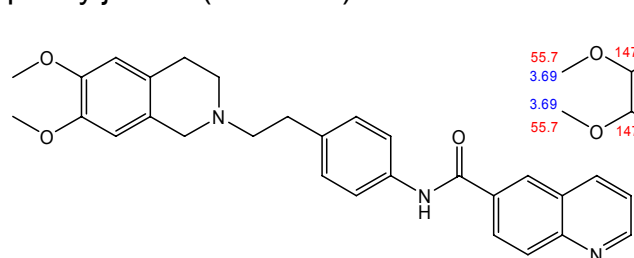


Herstellung:	AAV 3
Edukte:	0,7 mmol (218 mg) 4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4 /WK-X-12) 1 mmol (178 mg) Nicotinsäurechlorid Hydrochlorid
Summelformel:	C ₂₅ H ₂₇ N ₃ O ₃
Mr:	417,5
Smp.:	71°C
Aussehen:	gelblicher Feststoff
Ausbeute:	58,6% (171 mg)
Rf:	0,63 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1), 0,03 (Kieselgel/EtOAc), 0,52 (Kieselgel/n-BuOH/NH ₃ 99:1)
EA:	ber.: C, 71,92; H, 6,52; N, 10,06; O, 11,50 ber. * 0,5 H ₂ O: C, 70,40; H, 6,62; N, 9,85; O, 13,13 gef.: C, 70,27; H, 6,96; N, 9,52

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.64-2.71 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.80 (t, 2H, CH₂), 3.53 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.24 (td, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.55 (m, 1H, ArH), 7.67 (td, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.28 (m, 1H, ArH), 8.74 (q, *J* = 2.1 Hz, 1H, ArH), 9.09 (q, *J* = 2.2 Hz, 1H, ArH), 10.36 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.6 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.7 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 120.5 (2 x Ar-CH), 123.6 (Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 128.9 (2 x Ar-CH), 130.7 (Ar-C), 135.5 (Ar-CH), 136.3 (Ar-C), 136.9 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 148.8 (Ar-CH), 152.1 (Ar-CH), 164.0 (CO).

Chinolin-6-carbonsäure-{4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-amid (WK-Y-30)



Herstellung:	AAV 3
Edukte:	0,6 mmol (187 mg) 4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4 /WK-X-12) 1 mmol (172 mg) Chinolin-3-carbonsäure

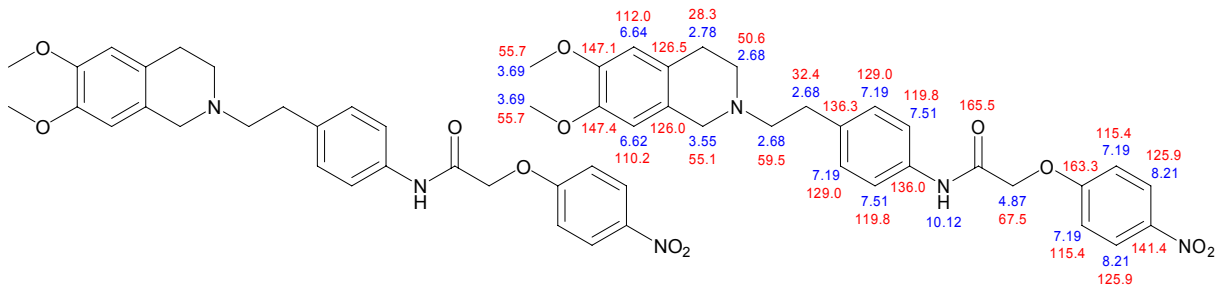
Experimenteller Teil

Summelformel: C₂₉H₂₉N₃O₃
 Mr: 467,6
 Smp.: 177°C
 Aussehen: leicht gelblicher Feststoff
 Ausbeute: 56% (157 mg)
 Rf: 0,68 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1), 0,02 (Kieselgel/EtOAc),
 0,57 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 74,50; H, 6,25; N, 8,99; O, 10,27
 ber. * 0,2 H₂O: C, 73,93; H, 6,29; N, 8,92; O, 10,87
 gef.: C, 73,76; H, 6,45; N, 8,84

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.65-2.73 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.81 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, CH₂), 3.54 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.63 (s, 1H, ArH), 6.65 (s, 1H, ArH), 7.25 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.62 (q, *J* = 4.2 Hz, 1H, ArH), 7.72 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.12 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, ArH), 8.25 (d, *J* = 8.5, 1.9 Hz, 1H, ArH), 8.51 (m, 1H, ArH), 8.62 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, ArH), 9.00 (q, *J* = 2.0 Hz, 1H, ArH), 10.42 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.6 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.7 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 120.6 (2 x Ar-CH), 122.4 (Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 127.2 (Ar-CH), 128.2 (Ar-C), 128.5 (Ar-CH), 128.9 (2 x Ar-CH), 129.2 (Ar-CH), 133.0 (Ar-C), 136.1 (Ar-C), 137.1 (Ar-C), 137.3 (Ar-CH), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 148.9 (Ar-C), 152.3 (Ar-CH), 165.0 (CO).

N-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)phenyl)-2-(4-nitrophenoxy)acetamid (WK-Y-46)



Herstellung: AAV 3
 Ansatz: 0,7 mmol (218 mg) 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (**4**/WK-X-12)
 1 mmol (197 mg) 4-Nitrophenoxyessigsäure
 Summelformel: C₂₇H₂₉N₃O₆
 Mr: 491,5
 Smp.: 129°C
 Aussehen: leicht gelblicher kristalliner Feststoff
 Ausbeute: 59,6% (225 mg)
 Rf: 0,66 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1),
 0,59 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 65,97; H, 5,95; N, 8,55; O, 19,53
 ber. * 0,2 H₂O: C, 65,49; H, 5,98; N, 8,49; O, 20,03
 gef.: C, 65,31; H, 6,07; N, 8,58

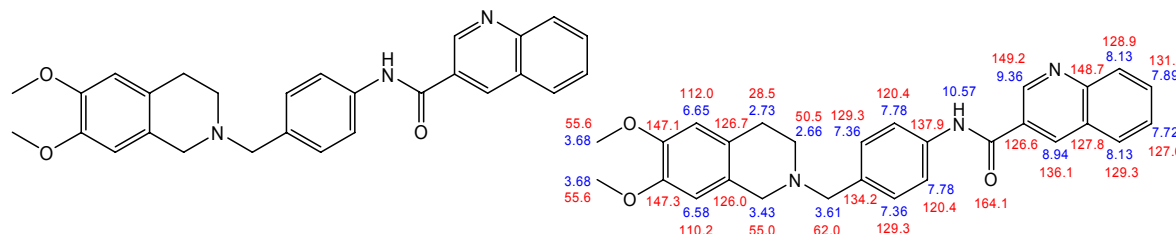
Experimenteller Teil

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.64-2.72 (m, 6H, 3 x CH₂), 2,78 (t, 2H, CH₂), 3.55 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 4.87 (s, 2H, OCH₂), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.19 (m, 4H, 4 x ArH), 7.51 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.21 (m, 2H, 2 x ArH), 10.12 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.3 (CH₂), 32.4 (CH₂), 50.6 (CH₂), 55.1 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.5 (CH₂), 67.5 (OCH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 115.4 (2 x Ar-CH), 119.8 (2 x Ar-CH), 125.9 (2 x Ar-CH), 126.0 (Ar-C), 126.5 (Ar-C), 129.0 (2 x Ar-CH), 136.0 (Ar-C), 136.3 (Ar-C), 141.4 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.4 (Ar-C), 163.3 (Ar-C), 165.5 (CO).

7.3.3 Monographien niedermolekularer P-gp-Modulatoren mit variiertes Linker-Partialstruktur

N-(4-((6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)methyl)-phenyl)-chinolin-3-carbonsäureamid (WK-Y-34)



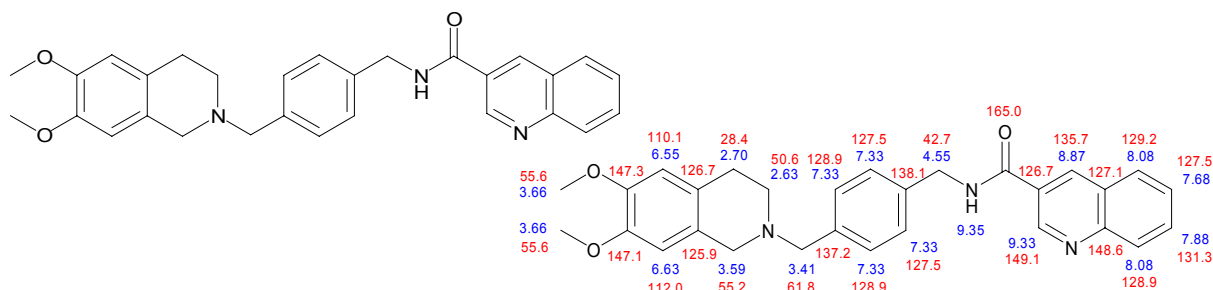
Herstellung: AAV 3
 Edukte: 0,6 mmol (180 mg) 4-((6,7-Dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)methyl)benzylamin (**20**/WK-Y-33)
 1 mmol (173 mg) Chinolin-3-carbonsäure
 Summelformel: C₂₈H₂₇N₃O₃
 Mr: 453,5
 Smp.: 207°C
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 62,5% (170 g)
 Rf: 0,71 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1), 0,08 (Kieselgel/EtOAc),
 0,50 (Kieselgel/*n*-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 74,15; H, 6,00; N, 9,27; O, 10,58
 ber. * 0,5 H₂O: C, 72,71; H, 6,10; N, 9,08; O, 12,11
 gef.: C, 72,51; H, 6,10; N, 8,88

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.66 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H, CH₂), 2.73 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H, CH₂), 3.43 (s, 2H, CH₂), 3.61 (s, 2H, CH₂), 3.66 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.58 (s, 1H, ArH), 6.65 (s, 1H, ArH), 7.36 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.72 (m, 1H, ArH), 7.78 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.89 (m, 1H, ArH), 8.13 (m, 2H, 2 x ArH), 8.94 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, ArH), 9.36 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, ArH), 10.57 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.5 (CH₂), 50.5 (CH₂), 55.0 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.6 (OCH₃), 62.0 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 120.4 (2 x Ar-CH), 126.0 (Ar-C), 126.6 (Ar-C), 126.7 (Ar-C), 127.6 (Ar-CH), 127.8 (Ar-C), 128.9 (Ar-CH), 129.3 (2 x Ar-CH), 129.3 (Ar-CH), 131.5 (Ar-CH), 134.2 (Ar-C), 136.1 (Ar-CH), 137.9 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 148.7 (Ar-C), 149.2 (Ar-CH), 164.1 (CO).

Experimenteller Teil

N-((4-((6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)methyl)phenyl)methyl)chinolin-3-carbonsäureamid (WK-Y-35)

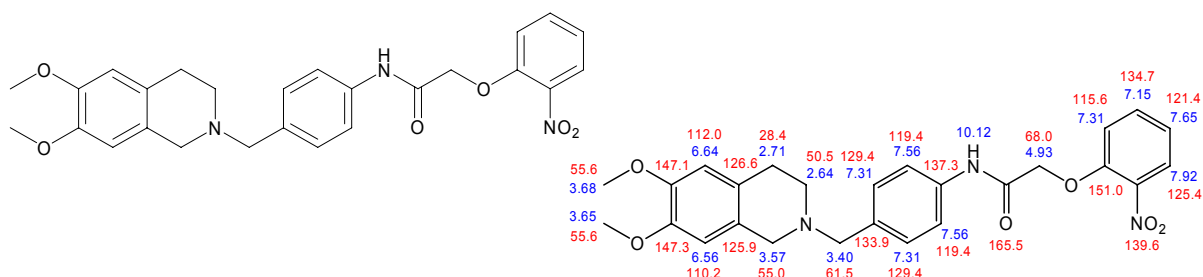


Herstellung:	AAV 3
Ansatz:	0,5 mmol (156 mg) 4-[2-(3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (28 /WK-X-61) 1 mmol (173 mg) Chinolin-3-carbonsäure
Summelformel:	C ₂₉ H ₂₉ N ₃ O ₃
Mr:	467,6
Smp.:	147°C
Aussehen:	weißer Feststoff
Ausbeute:	54,9 % (128 mg)
Rf:	0,71 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1), 0,05 (Kieselgel/EtOAc), 0,48 (Kieselgel/ <i>n</i> -BuOH/NH ₃ 99:1)
EA:	ber.: C, 74,50; H, 6,25; N, 8,99; O, 10,27 ber. * 0,2 H ₂ O: C, 73,93; H, 6,29; N, 8,92; O, 10,87 gef.: C, 73,83; H, 6,25; N, 8,94

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.63 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H, CH₂), 2.70 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H, CH₂), 3.41 (s, 2H, CH₂), 3.59 (s, 2H, CH₂), 3.64 (s, 3H, OCH₃), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 4.55 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H, CH₂), 6.55 (s, 1H, ArH), 6.63 (s, 1H, ArH), 7.33 (m, 4H, 4 x ArH), 7.68 (dt, *J* = 7.8 Hz, 1H, ArH), 7.86 (dt, *J* = 7.5 Hz, 1H, ArH), 8.08 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.87 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, ArH), 9.33 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, ArH), 9.35 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 42,7 (CH₂), 50.6 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (2 x OCH₃), 61.8 (CH₂), 110.1 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 125.9 (Ar-C), 126.7 (Ar-C), 126.7 (Ar-C), 127.1 (Ar-C), 127.5 (2 x Ar-CH), 127.5 (Ar-CH), 128.9 (2 x Ar-CH), 128.9 (Ar-CH), 129.2 (Ar-CH), 131.3 (Ar-CH), 135.7 (Ar-CH), 137.2 (Ar-C), 138.1 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 148.6 (Ar-C), 149.1 (Ar-CH), 165.0 (CO).

N-4-((6,7-Dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)methyl)phenyl)-2-(2-nitrophenoxy)acetamid (WK-Y-36)



Herstellung: AAV 3

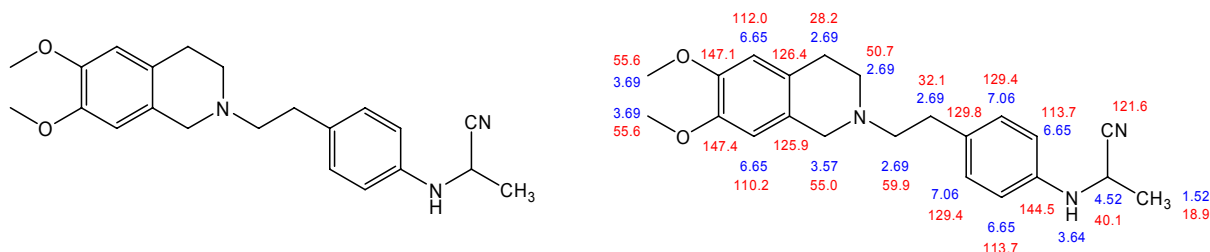
Experimenteller Teil

Edukte:	0,6 mmol (187 mg) 4-((6,7-Dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1 <i>H</i>)-yl)methyl)benzylamin (20 /WK-Y-33) 1 mmol (197 mg) 2-Nitrophenoxyessigsäure
Summelformel:	C ₂₆ H ₂₇ N ₃ O ₆
Mr:	477,5
Smp.:	139°C
Aussehen:	weißer Feststoff
Ausbeute:	80,1% (229 mg)
Rf:	0,75 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1), 0,08 (Kieselgel/EtOAc), 0,58 (Kieselgel/n-BuOH/NH ₃ 99:1)
EA:	ber.: C, 65,40; H, 5,70; N, 8,80; O, 20,10 gef.: C, 65,52; H, 5,97; N, 8,57

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.64 (s, 2H, CH₂), 2.71 (s, 2H, CH₂), 3.40 (s, 2H, CH₂), 3.57 (s, 2H, CH₂), 3.65 (s, 3H, OCH₃), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 4.93 (s, 2H, OCH₂), 6.56 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.15 (dt, *J* = 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.31 (m, 3H, 3 x ArH), 7.56 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.65 (m, 1H, ArH), 7.92 (dd, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 10.12 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 50.5 (CH₂), 55.0 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.6 (OCH₃), 61.5 (CH₂), 68.0 (OCH₂), 110.1 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 115.6 (Ar-CH), 119.4 (2 x Ar-CH), 121.4 (Ar-CH), 125.4 (Ar-CH), 125.9 (Ar-C), 126.6 (Ar-C), 129.4 (2 x Ar-CH), 133.9 (Ar-C), 134.7 (Ar-CH), 137.3 (Ar-C), 139.6 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 151.0 (Ar-C), 165.5 (CO).

2-{4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamino}-propionitril (WK-X-67)



Herstellung: (AAV 6)
Eine Mischung von 1 mmol (312,4 mg) 4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin, 1 mmol Acetaldehyd, 1,2 mmol Trimethylsilylcyanid und 1 g Montmorillonit KSF in 10 ml DCM wird bei RT 6 h gerührt. Nach Beendigung der Reaktion, die mittels DC detektiert wird, wird der Reaktionsansatz filtriert und mit 2 * 10 ml DCM gewaschen. Die vereinigte organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum eingengt. Man gibt solange n-Hexan zu der Lösung bis ein leichter weißer Niederschlag erscheint. In der Kälte fällt der Feststoff aus. Das Rohprodukt wird aus EtOH/PE umkristallisiert.

Summelformel:	C ₂₂ H ₂₇ N ₃ O ₂
Mr:	365,5
Smp.:	78°C
Aussehen:	weißer Feststoff
Ausbeute:	63,7% (233 mg)

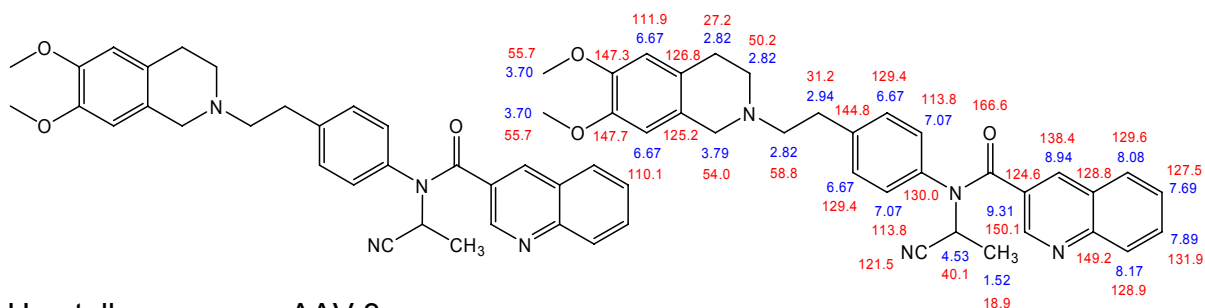
Experimenteller Teil

Rf: 0,70 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1), 0,14 (Kieselgel/EtOAc),
0,47 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1),
EA: ber.: C, 72,30; H, 7,45; N, 11,50; O, 8,76
ber. * 0,2 H₂O: C, 71,59; H, 7,48; N, 11,39; O, 9,54
gef.: C, 71,69; H, 7,25; N, 11,28

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 1.52 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH₃), 2.66-2.73 (m, 8H, 4 x CH₂), 3.57 (s, 2H, CH₂), 3.64 (br, s, 1H*, NH), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 4.51 (m, 1H, CH), 6.65 (m, 4H, 4 x ArH), 7.06 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 18.9 (CH₂), 28.2 (CH₂), 32.1 (CH₂), 40.1 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.0 (CH₂), 55.6 (OCH₃) 55.7 (OCH₃), 59.9 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 113.7 (2 x Ar-CH), 121.6 (CN), 125.9 (Ar-C), 126.4 (Ar-C), 129.4 (2 x Ar-CH), 129.8 (Ar-C), 144.5 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.4 (Ar-C).

N-(1-Cyanoethyl)-*N*-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)-phenyl)chinolin-6-carbonsäureamid (WK-Y-32)



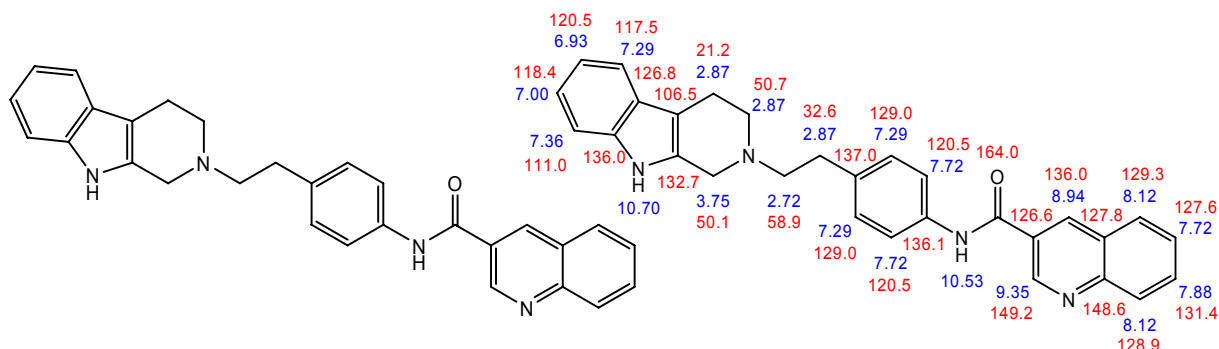
Herstellung: AAV 3
Edukte: 0,35 mmol (128 mg) 2-{4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamino}-propionitril
0,7 mmol (121 mg) Chinolin-3-carbonsäure
Summelformel: C₃₂H₃₂N₄O₃
Mr: 520,6
Smp.: 112°C
Aussehen: gelblicher Feststoff
Ausbeute: 27,5% (50 mg)
Rf: 0,71 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1), 0,09 (Kieselgel/EtOAc),
0,51 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)
EA: ber.: C, 73,82; H, 6,20; N, 10,76; O, 9,22
ber. * 0,25 H₂O: C, 73,19; H, 6,24; N, 10,67; O, 9,90
gef.: C, 73,06; H, 6,30; N, 10,54

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 1.52 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, CH₃), 2.78-2.87 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.94 (s, 2H, CH₂), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 3.79 (s, 2H, CH₂), 4.53 (m, 1H, CH), 6.67 (m, 4H, 4 x ArH), 7.07 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.69 (dt, *J* = 7.4 Hz, 1H, ArH), 7.89 (dt, *J* = 7.7 Hz, 1H, ArH), 8.08 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, ArH), 8.17 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, ArH), 8.94 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, ArH), 9.31 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, ArH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ = 18.9 (CH₃), 27.1 (CH₂), 31.2 (CH₂), 40.1 (CH), 50.2 (CH₂), 54.0 (CH₂), 55.7 (OCH₃) 55.9 (OCH₃), 58.8 (CH₂), 110.1 (Ar-CH), 111.9 (Ar-CH), 113.8 (2 x Ar-CH), 121.5 (CN), 124,6 (Ar-C), 125.2 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 127.5 (Ar-CH), 128.8 (Ar-C), 128.9 (Ar-CH), 129.4 (2 x Ar-CH), 129.6 (Ar-CH), 130.0 (Ar-C), 131.9 (Ar-CH), 138.4 (Ar-CH), 144.8 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 147.7 (Ar-C), 149.2 (Ar-C), 150.1 (Ar-CH), 166.6 (CO).

7.3.4 Monographien niedermolekularer P-gp Modulatoren mit variierter Amino-Partialstruktur

N-(4-(2-(3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)ethyl)phenyl)chinolin-3-carbonsäureamid (WK-Y-23)



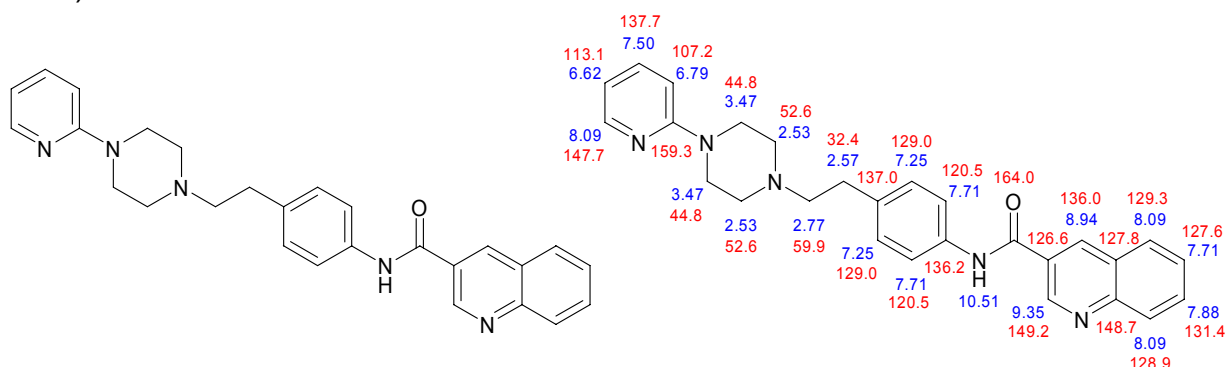
Herstellung: AAV 3
 Edukt: 0,5 mmol (146 mg) 4-(2-(3,4-Dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)ethyl)benzenamin (**43**/WK-Y-6)
 1 mmol (173 mg) Chinolin-3-carbonsäure
 Summelformel: C₂₉H₂₆N₄O
 Mr: 446,5
 Smp.: 244°C (unter Braunfärbung)
 Aussehen: hell gelber Feststoff
 Ausbeute: 52,0% (116 mg)
 Rf: 0,78 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1), 0,05 (Kieselgel/EtOAc),
 0,56 (Kieselgel/*n*-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 78,00; H, 5,87; N, 12,55; O, 3,58
 ber. * 2/3 H₂O: C, 75,96; H, 6,01; N, 12,22; O, 5,82
 gef.: C, 75,92; H, 5,71; N, 12,26

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.72 (br, s, 2H, CH₂), 2.85-2.95 (br, s, 6H, 3 x CH₂), 2.79 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H, CH₂), 3.75 (s, 2H, CH₂), 6.93 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, ArH), 7.00 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.29 (m, 3H, 3 x ArH), 7.35 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.72 (m, 3H, 3 x ArH), 7.88 (m, 1H, ArH), 8.12 (m, 2H, 2 x ArH), 8.94 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, ArH), 9.35 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, ArH), 10.53 (s, 1H*, NH), 10.70 (s, 1H*, Indol-NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 21.2 (CH₂), 32.6 (2 x CH₂), 50.1 (CH₂), 50.7 (CH₂), 58.9 (CH₂), 106.5 (Ar-C), 111.0 (Ar-CH), 117.5 (Ar-CH), 118.4 (Ar-CH), 120.5 (Ar-CH), 120.5 (2 x Ar-CH), 126.6 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 127.6 (Ar-CH), 127.8 (Ar-C), 128.9 (Ar-CH), 129.0 (2 x Ar-CH), 129.3 (Ar-CH), 131.4 (Ar-CH), 132.7 (Ar-C), 136.0 (Ar-CH), 136.0 (Ar-C), 136.1 (Ar-C), 137.0 (Ar-C), 148.6 (Ar-C), 149.2 (Ar-C), 164.0 (CO).

Experimenteller Teil

N-(4-(2-(4-(pyridin-2-yl)piperazin-1-yl)ethyl)phenyl)chinolin-3-carbonsäureamid (WK-Y-24)

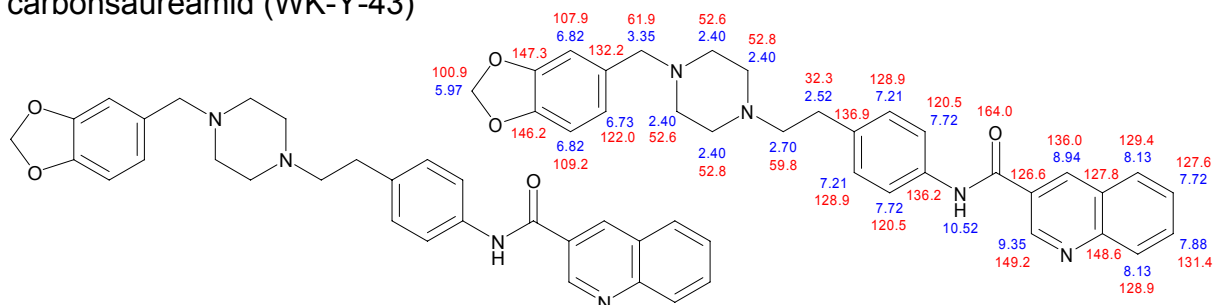


Herstellung: AAV 3
 Edukt: 0,5 mmol (141 mg) 4-(2-(4-(Pyridin-2-yl)piperazin-1-yl)ethyl)benzen-amin (**44**/WK-Y-7)
 1 mmol (173 mg) Chinolin-3-carbonsäure
 Summelformel: C₂₇H₂₇N₅O
 Mr: 437,5
 Smp.: 212°C (unter Braunfärbung)
 Aussehen: leicht beiger Feststoff
 Ausbeute: 66,7% (146 mg)
 Rf: 0,75 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1), 0,04 (Kieselgel/EtOAc),
 0,26 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 74,12; H, 6,22; N, 16,01; O, 3,66
 ber. * 0,5 H₂O: C, 72,62; H, 6,32; N, 15,68; O, 5,37
 gef.: C, 72,69; H, 6,11; N, 15,38

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.53 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂), 2.57 (q, *J* = 7.9 Hz, 2H, CH₂), 2.77 (q, *J* = 7.9 Hz, 2H, CH₂), 3.47 (t, *J* = 4.7 Hz, 4H, 2 x CH₂), 6.62 (m, 1H, ArH), 6.80 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, ArH), 7.25 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.51 (m, 1H, ArH), 7.71 (m, 3H, 3 x ArH), 7.88 (m, 1H, ArH), 8.09 (m, 3H, 3 x ArH), 8.94 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, ArH), 9.35 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, ArH), 10.51 (br, s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 32.4 (CH₂), 44.8 (2 x CH₂), 52.6 (2 x CH₂), 59.9 (CH₂), 107.2 (Ar-CH), 113.1 (Ar-CH), 120.5 (2 x Ar-CH), 126.6 (Ar-C), 127.6 (Ar-CH), 127.9 (Ar-C), 128.9 (Ar-CH), 129.0 (2 x Ar-CH), 129.3 (Ar-CH), 131.4 (Ar-CH), 136.0 (Ar-CH), 136.2 (Ar-C), 137.0 (Ar-C), 137.6 (Ar-CH), 147.7 (Ar-CH), 148.7 (Ar-C), 149.2 (Ar-CH), 159.3 (Ar-C), 164.0 (CO).

N-(4-(2-(4-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ylmethyl)piperazin-1-yl)ethyl)-phenyl)chinolin-3-carbonsäureamid (WK-Y-43)



Herstellung: AAV 3

Experimenteller Teil

Edukte: 0,5 mmol (170 mg) 4-(2-(4-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ylmethyl)-piperazin-1-yl)ethyl)benzylamin (**45**/WK-Y-42)
1 mmol (173 mg) Chinolin-3-carbonsäure

Summelformel: C₃₀H₃₀N₄O₃

Mr: 494,6

Smp.: 166°C (unter Zersetzung)

Aussehen: weißer kristalliner Feststoff

Ausbeute: 79% (195 g)

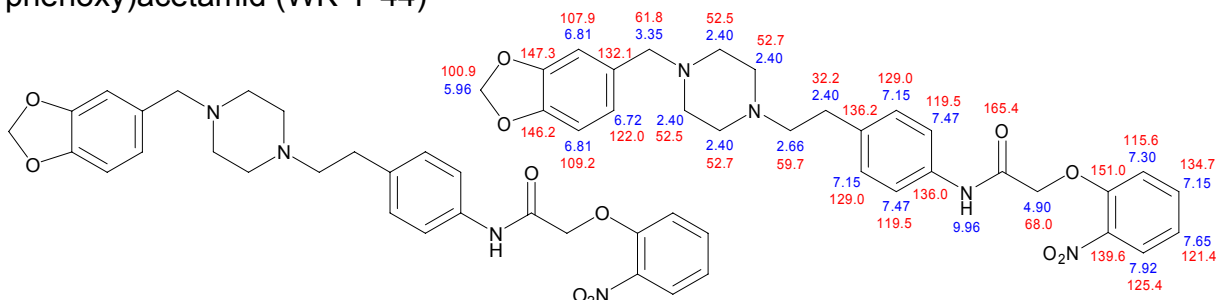
Rf: 0,63 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1),
0,57 (Kieselgel/n-BuOH/ NH₃ 99:1)

EA: ber.: C, 72,85; H, 6,11; N, 11,33; O, 9,70
ber. * 0,5 H₂O: C, 71,55; H, 6,20; N, 11,13; O, 11,12
gef.: C, 71,35; H, 6,29; N, 10,80

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.32-2.48 (br, d, 8H, 4 x CH₂), 2.52 (t, *J* = 4.3 Hz, 2H, CH₂), 2.70 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, CH₂), 3.35 (s, 2H, CH₂), 5.97 (s, 2H, OCH₂O), 6.73 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 6.82 (m, 2H, 2 x ArH), 7.21 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.72 (m, 3H, 3 x ArH), 7.88 (m, 1H, ArH), 8.13 (m, 2H, 2 x ArH), 8.94 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, ArH), 9.35 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, ArH), 10.52 (br, s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 32.3 (CH₂), 52.6 (2 x CH₂), 52.8 (2 x CH₂), 59.8 (CH₂), 61.9 (CH₂), 100.9 (O-CH₂-O), 107.9 (Ar-CH), 109.2 (Ar-CH), 120.5 (2 x Ar-CH), 122.0 (Ar-CH), 126.6 (Ar-C), 127.6 (Ar-CH), 127.8 (Ar-C), 128.9 (3 x Ar-CH), 129.3 (Ar-CH), 131.4 (Ar-CH), 132.2 (Ar-C), 136.0 (Ar-CH), 136.2 (Ar-C), 136.9 (Ar-C), 146.2 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 148.6 (Ar-C), 149.2 (Ar-CH), 164.0 (CO).

N-(4-(2-(4-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ylmethyl)piperazin-1-yl)ethyl)-phenyl)-2-(2-nitro-phenoxy)acetamid (WK-Y-44)



Herstellung: AAV 3

Edukte: 0,5 mmol (170 mg) 4-(2-(4-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ylmethyl)-piperazin-1-yl)ethyl)benzylamin (**45**/WK-Y-42)
1 mmol (197 mg) 2-Nitrophenoxyessigsäure

Summelformel: C₂₈H₃₀N₄O₆

Mr: 518,6

Smp.: 103°C

Aussehen: leicht gelblicher kristalliner Feststoff

Ausbeute: 73% (190 mg)

Rf: 0,63 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1),
0,57 (Kieselgel/n-BuOH/ NH₃ 99:1)

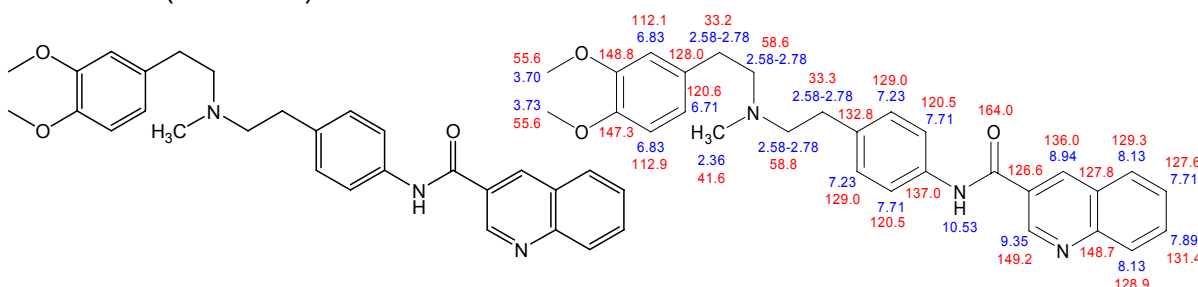
EA: ber.: C, 64,85; H, 5,83; N, 10,80; O, 18,51
ber. * 0,5 H₂O: C, 63,75; H, 5,92; N, 10,62; O, 19,71
gef.: C, 63,82; H, 6,24; N, 10,49

Experimenteller Teil

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.30-2.50 (br, m, 10H, 5 x CH₂), 2.66 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, CH₂), 3.35 (s, 2H, CH₂), 4.90 (s, 2H, OCH₂), 5.96 (s, 2H, OCH₂O), 6.72 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 6.81 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.15 (m, 3H, 3 x ArH), 7.30 (dd, *J* = 8.5 Hz, 1H, ArH), 7.47 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.65 (m, 1H, ArH), 7.92 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 9.96 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 32.2 (CH₂), 52.5 (2 x CH₂), 52.7 (2 x CH₂), 59.7 (CH₂), 61.8 (CH₂), 68.0 (OCH₂), 100.9 (O-CH₂-O), 107.9 (Ar-CH), 109.2 (Ar-CH), 115.6 (Ar-CH), 119.5 (2 x Ar-CH), 121.4 (Ar-CH), 122.0 (Ar-CH), 125.4 (Ar-CH), 129.0 (2 x Ar-CH), 132.1 (Ar-C), 134.7 (Ar-CH), 136.0 (Ar-C), 136.2 (Ar-C), 139.6 (Ar-C), 146.2 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 151.0 (Ar-C), 165.4 (CO).

N-(4-(2-((3,4-Dimethoxyphenethyl)(methyl)amino)ethyl)phenyl)-chinolin-3-carbonsäureamid (WK-Y-47)



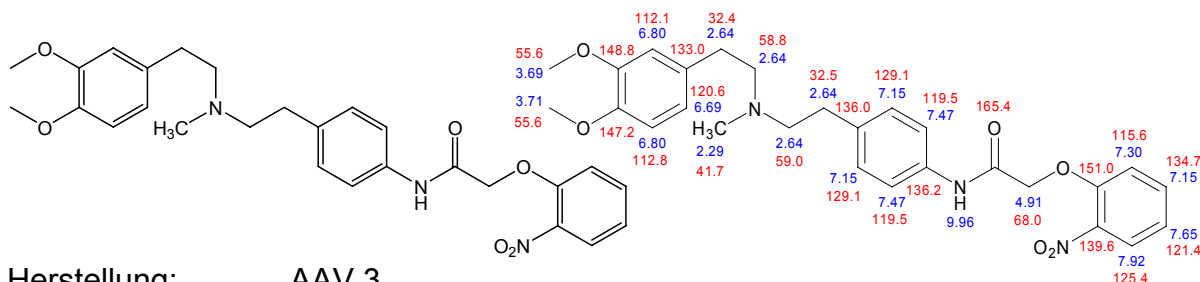
Herstellung: AAV 3
 Edukte: 0,5 mmol (158 mg) 4-(2-((3,4-Dimethoxyphenethyl)(methyl)amino)-ethyl)phenylamin (**41**/WK-Y-38)
 1 mmol (173 mg) Chinolin-3-carbonsäure
 Summelformel: C₂₉H₃₁N₃O₃
 Mr: 469,6
 Smp.: 128°C
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 47% (110 mg)
 Rf: 0,43 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1),
 0,22 (Kieselgel/*n*-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 74,18; H, 6,65; N, 8,95; O, 10,22
 gef.: C, 74,08; H, 6,31; N, 9,00

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.36 (s, 3H, CH₃), 2.58-2.78 (m, 8H, 4 x CH₂), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 6.71 (dd, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 6.83 (m, 3H, 3 x ArH), 7.23 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.71 (m, 3H, 3 x ArH), 7.89 (m, 1H, ArH), 8.13 (m, 2H, 2 x ArH), 8.94 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, ArH), 9.35 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, ArH), 10.53 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 32.2 (CH₂), 32.3 (CH₂), 41.6 (CH₃), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 58.6 (CH₂), 58.8 (CH₂), 112.1 (Ar-CH), 112.9 (Ar-CH), 120.5 (2 x Ar-CH), 120.6 (Ar-CH), 126.6 (Ar-C), 127.6 (Ar-CH), 127.8 (Ar-C), 128.0 (Ar-C), 128.9 (Ar-CH), 129.0 (2 x Ar-CH), 129.3 (Ar-CH), 131.4 (Ar-CH), 132.8 (Ar-C), 136.0 (Ar-CH), 137.0 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 148.7 (Ar-C), 148.8 (Ar-C), 149.2 (Ar-CH), 164.0 (CO).

Experimenteller Teil

N-(4-(2-((3,4-Dimethoxyphenethyl)(methyl)amino)ethyl)phenyl)-2-(2-nitrophenoxy)-acetamid (WK-Y-48)

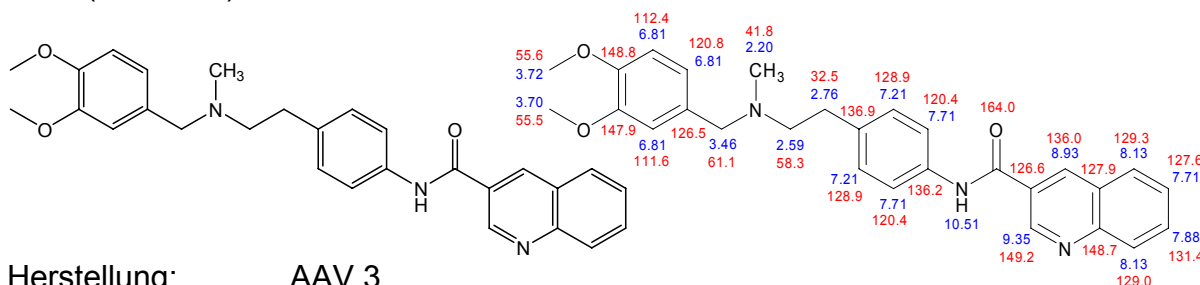


Herstellung:	AAV 3	
Edukte:	0,5 mmol (158 mg) 4-(2-((3,4-Dimethoxyphenethyl)(methyl)-amino)-ethyl)phenylamin (41 /WK-Y-38)	
	1 mmol (197 mg) 2-Nitrophenoxyessigsäure	
Summelformel:	C ₂₇ H ₃₁ N ₃ O ₆	
Mr:	493,6	
Smp.:	83°C	
Aussehen:	beiger Feststoff	
Ausbeute:	64,4% (159 mg)	
Rf:	0,44 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1), 0,23 (Kieselgel/n-BuOH/NH ₃ 99:1)	
EA:	ber.:	C, 65,71; H, 6,33; N, 8,51; O, 19,45
	ber. * 0,2 H ₂ O:	C, 65,23; H, 6,37; N, 8,45; O, 19,95
	gef.:	C, 65,02; H, 6,48; N, 8,42

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.29 (s, 3H, CH₃), 2.57-2.69 (m, 8H, 4 x CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 4.91 (s, 2H, OCH₂), 6.69 (dd, *J* = 7.7 Hz, 1H, ArH), 6.80 (m, 2H, 2 x ArH), 7.15 (m, 3H, 3 x ArH), 7.30 (dd, *J* = 8.9 Hz, 1H, ArH), 7.47 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.65 (m, 1H, ArH), 7.92 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 9.96 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 32.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 41.7 (CH₃), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 58.8 (CH₂), 59.0 (CH₂), 68.0 (OCH₂), 112.1 (Ar-CH), 112.8 (Ar-CH), 115.6 (Ar-CH), 119.5 (2 x Ar-CH), 120.6 (Ar-CH), 121.4 (Ar-CH), 125.4 (Ar-CH), 129.1 (2 x Ar-CH), 133.0 (Ar-C), 134.7 (Ar-CH), 136.0 (Ar-C), 136.2 (Ar-C), 139.6 (Ar-C), 147.2 (Ar-C), 148.8 (Ar-C), 151.0 (Ar-C), 165.4 (CO).

N-(4-(2-((3,4-dimethoxybenzyl)(methyl)amino)ethyl)phenyl)-chinolin-3-carbonsäureamid (WK-Y-49)



Herstellung:	AAV 3	
Edukte:	0,5 mmol (150 mg) 4-(2-((3,4-Dimethoxybenzyl)(methyl)amino)-ethyl)-phenylamin (42 /WK-Y-40)	
	1 mmol (173 mg) Chinolin-3-carbonsäure	
Summelformel:	C ₂₈ H ₂₉ N ₃ O ₃	

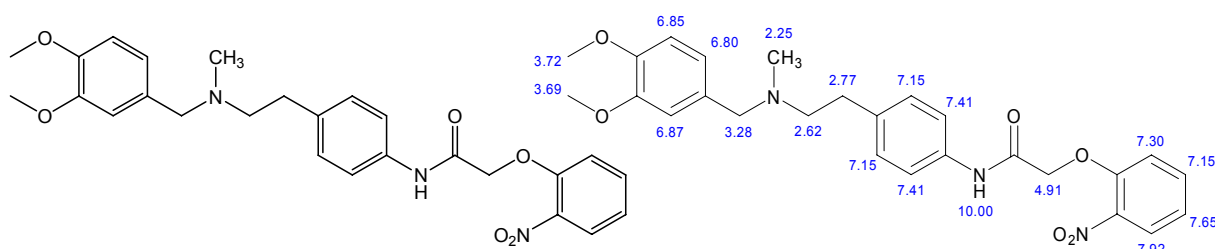
Experimenteller Teil

Mr: 455,6
 Smp.: 178°C
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 62,7% (143 mg)
 Rf: 0,41 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1),
 0,20 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 73,82; H, 6,42; N, 9,22; O, 10,54
 ber. * 0,2 H₂O: C, 73,24; H, 6,45; N, 9,15; O, 11,15
 gef.: C, 72,88; H, 6,68; N, 8,98

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.20 (s, 3H, CH₃), 2.59 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH₂), 2.76 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, CH₂), 3.46 (s, 2H, CH₂), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 6.76-6.88 (m, 3H, 3 x ArH), 7.21 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.71 (m, 3H, 3 x ArH), 7.88 (m, 1H, ArH), 8.13 (m, 2H, 2 x ArH), 8.93 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, ArH), 9.35 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, ArH), 10.51 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 32.5 (CH₂), 41.8 (CH₃), 55.5 (OCH₃) 55.6 (OCH₃), 58.3 (CH₂), 61.1 (CH₂), 111.6 (Ar-CH), 112.4 (Ar-CH), 120.4 (2 x Ar-CH), 120.8 (Ar-CH), 126.5 (Ar-C), 126.6 (Ar-C), 127.6 (Ar-CH), 127.9 (Ar-C), 128.9 (2 x Ar-CH), 129.0 (Ar-CH), 129.3 (Ar-CH), 131.4 (Ar-CH), 136.0 (Ar-CH), 136.2 (Ar-C), 136.9 (Ar-C), 147.9 (Ar-C), 148.7 (Ar-C), 148.8 (Ar-C), 149.2 (Ar-CH), 164.0 (CO).

N-(4-(2-((3,4-Dimethoxybenzyl)(methyl)amino)ethyl)phenyl)-2-(2-nitrophenoxy)acetamid (WK-Y-50)

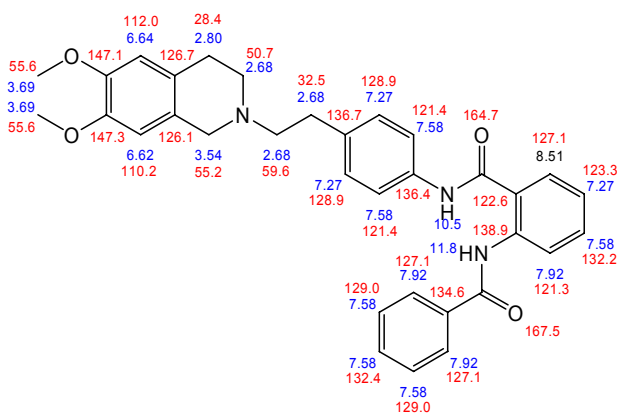
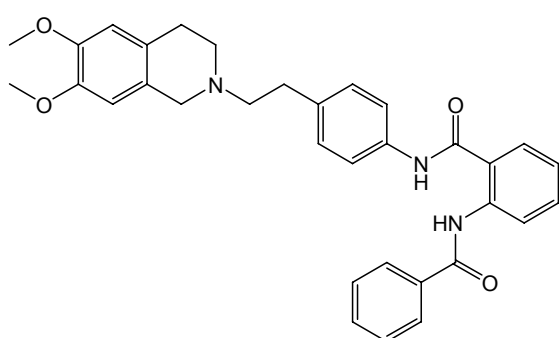


Herstellung: AAV 3
 Edukte: 0,5 mmol (150 mg) 4-(2-((3,4-Dimethoxybenzyl)(methyl)amino)-ethyl)-phenylamin (**42**/WK-Y-40)
 1 mmol (197 mg) 2-Nitrophenoxyessigsäure
 Summelformel: C₂₆H₂₉N₃O₆
 Mr: 479,5
 Smp.: 156°C
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 68,8% (165 mg)
 Rf: 0,43 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1),
 0,21 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 65,12; H, 6,10; N, 8,76; O, 20,02
 ber. * 0,5 H₂O: C, 63,92; H, 6,19; N, 8,60; O, 21,29
 gef.: C, 63,92; H, 6,19; N, 8,54

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.25 (s, 3H, CH₃), 2.62-2.77 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.29 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 4.91 (s, 2H, OCH₂), 6.80 (s, 1H, ArH), 6.85 (s, 1H, ArH), 6.87 (s, 1H, ArH), 7.15 (m, 3H, 3 x ArH), 7.30 (dd, *J* = 8.5 Hz, 1H, ArH), 7.47 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.65 (m, 1H, ArH), 7.92 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 10.00 (s, 1H*, NH).

7.3.5 Monographien von Tariquidar-Analoga

2-Benzoylamino-*N*-{4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (XR9456; WK-X-18)



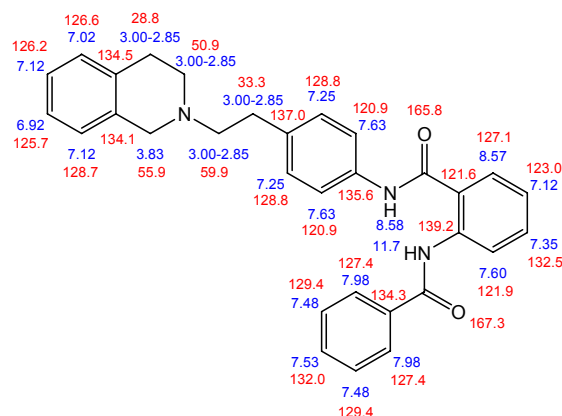
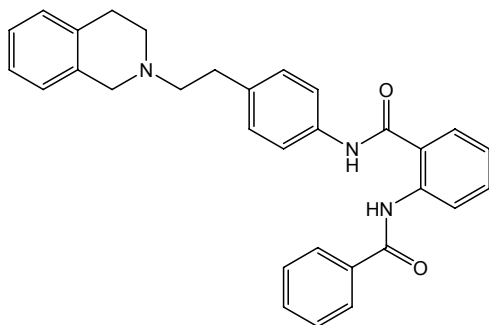
Herstellung:	AAV 4	
Edukte	0,5 mmol (216 mg) 2-Amino- <i>N</i> -{4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (WK-X-16)	
	0,75 mmol Benzoylchlorid	
Summelformel:	C ₃₃ H ₃₃ N ₃ O ₄	
Mr:	535,6	
Smp.:	179°C	
Aussehen:	weißer kristalliner Feststoff	
Ausbeute:	74,3% (199 mg)	
Rf:	0,65 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1)	
	0,10 (Kieselgel/EtOAc)	
EA:	ber.:	C, 74,00; H, 6,21; N, 7,84; O, 11,95
	ber. * 0,5 H ₂ O:	C, 72,77; H, 6,29; N, 7,72; O, 13,22
	gef.:	C, 72,87; H, 6,12; N, 7,77

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.69 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.80 (t, 2H, CH₂), 3.54 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.27 (m, 3H, 3 x ArH), 7.57 (m, 6H, 6 x ArH), 7.92 (m, 3H, 3 x ArH), 8.52 (dd, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 10.47 (s, 1H*, NH), 11.79 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.6 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 121.3 (Ar-CH), 121.4 (2 x Ar-CH), 122.6 (Ar-C), 123.3 (Ar-CH), 126.0 (Ar-C), 126.7 (Ar-C), 127.1 (2 x Ar-CH), 128.9 (2 x Ar-CH), 129.0 (2 x Ar-CH), 129.0 (Ar-CH), 132.2 (Ar-CH), 132.4 (Ar-CH), 134.6 (Ar-C), 136.4 (Ar-C), 136.7 (Ar-C), 138.9 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 164.7 (CO), 167.5 (CO).

Experimenteller Teil

2-Benzoylamino-*N*-{4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (WK-X-19)



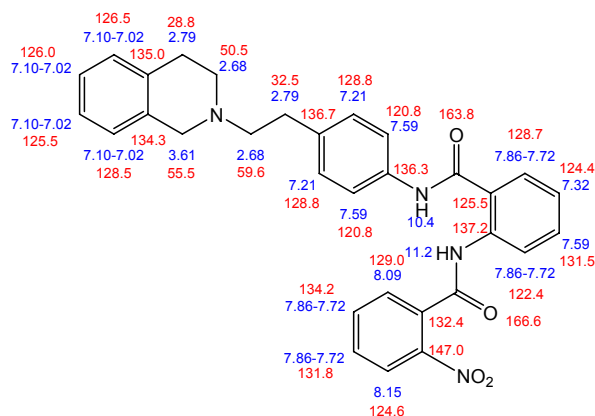
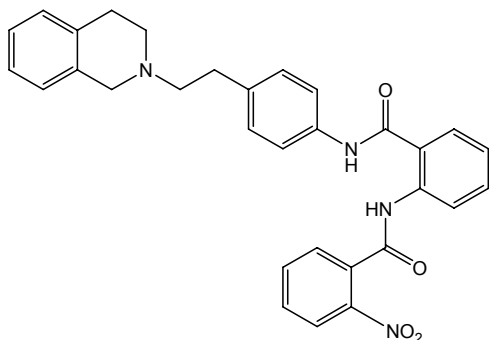
Herstellung:	AAV 4	
Edukte	0,7 mmol (260 mg) 2-Amino- <i>N</i> -{4-[2-(3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (WK-X-17) 1,4 mmol Benzoylchlorid	
Summelformel:	C ₃₁ H ₂₉ N ₃ O ₂	
Mr:	475,6	
Smp.:	196°C (unter Braunfärbung)	
Aussehen:	weißer Feststoff	
Ausbeute:	76,9 % (256 mg)	
Rf:	0,72 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1) 0,36 (Kieselgel/EtOAc)	
EA:	ber.:	C, 78,29; H, 6,15; N, 8,84; O, 6,73
	ber. * 0,25 H ₂ O:	C, 77,56; H, 6,19; N, 8,75; O, 7,50
	gef.:	C, 77,47; H, 6,24; N, 8,68

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 2.86 (m, 2H, CH₂), 2.93 (d, 2H, CH₂), 2.97 (t, 4H, 2 x CH₂), 3.82 (s, 2H, CH₂), 6.93 (dt, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 7.02 (m, 1H, ArH), 7.11 (m, 3H, 3 x ArH), 7.26 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.35 (dt, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 7.50 (m, 3H, 3 x ArH), 7.61 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 7.65 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.98 (m, 2H, 2 x ArH), 8.58 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, ArH), 8.83 (s, 1H*, NH), 11.68 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ = 28.8 (CH₂), 33.3 (CH₂), 50.9 (CH₂), 55.9 (CH₂), 60.0 (CH₂), 120.9 (2 x Ar-CH), 121.6 (Ar-C), 121.9 (Ar-CH), 123.0 (Ar-CH), 125.7 (Ar-CH), 126.3 (Ar-CH), 126.6 (Ar-CH), 127.1 (Ar-CH), 127.4 (2 x Ar-CH), 128.7 (Ar-CH), 128.8 (2 x Ar-CH), 129.4 (2 x Ar-CH), 132.0 (Ar-CH), 132.5 (Ar-CH), 134.1 (Ar-C), 134.3 (Ar-C), 134.5 (Ar-C), 135.6 (Ar-C), 137.0 (Ar-C), 139.2 (Ar-C), 165.8 (CO), 167.3 (CO).

Experimenteller Teil

2-(2-Nitro-)benzoylamino-*N*-{4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (WK-X-23)



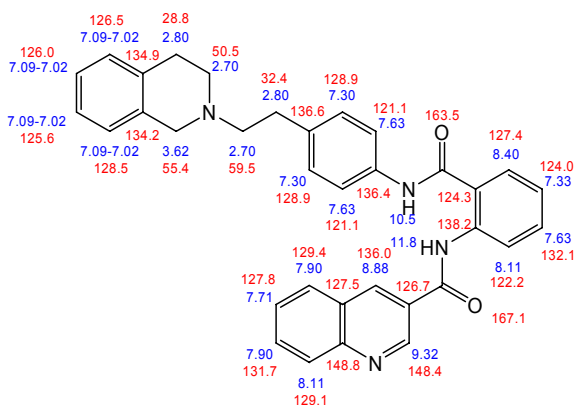
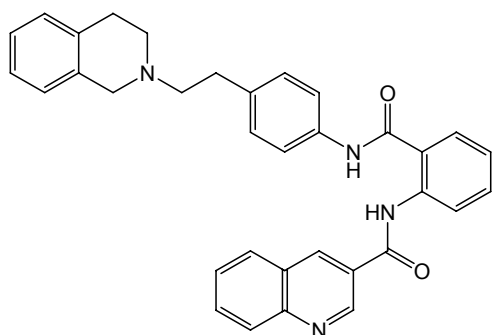
Herstellung:	AAV 4
Edukte	0,5 mmol (186 mg) 2-Amino- <i>N</i> -{4-[2-(3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (WK-X-17) 1 mmol 2-Nitrobenzoylchlorid
Summelformel:	C ₃₁ H ₂₈ N ₄ O ₄
Mr:	520,6
Smp.:	201°C (unter Braunfärbung)
Aussehen:	weißer Feststoff
Ausbeute:	41,8% (109 mg)
Rf:	0,75 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1) 0,27 (Kieselgel/EtOAc)
EA:	ber.: C, 71,52; H, 5,42; N, 10,76; O, 12,29 ber. * 0,5 H ₂ O: C, 70,31; H, 5,52; N, 10,58; O, 13,60 gef.: C, 70,32; H, 5,50; N, 10,44

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.68 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.79 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.61 (s, 2H, CH₂), 7.02-7.10 (m, 4H, 4 x ArH), 7.21 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.32 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.59 (t, *J* = 8.6 Hz, 3H, 3 x ArH), 7.76 (m, 2H, 2 x ArH), 7.83 (q, *J* = 7.3 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.09 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 8.15 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 10.38 (s, 1H*, NH), 11.20 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.8 (CH₂), 32.5 (CH₂), 50.5 (CH₂), 55.5 (CH₂), 59.6 (CH₂), 120.9 (2 x Ar-CH), 122.4 (Ar-CH), 124.4 (Ar-CH), 124.6 (Ar-CH), 125.5 (Ar-CH), 126.0 (Ar-CH), 126.5 (Ar-CH), 128.5 (Ar-CH), 128.7 (Ar-CH), 128.8 (Ar-C), 128.9 (2 x Ar-CH), 129.0 (Ar-CH), 131.5 (Ar-CH), 131.8 (Ar-CH), 132.4 (Ar-C), 134.2 (Ar-CH), 134.3 (Ar-C), 135.0 (Ar-C), 136.3 (Ar-C), 136.7 (Ar-C), 137.2 (Ar-C), 147.0 (Ar-C), 163.8 (CO), 166.6 (CO).

Experimenteller Teil

Chinolin-3-carbonsäure(2-{4-[2-(3,4-dihydro-1H-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}carbonyl-phenyl)-amid (XR9577; WK-X-24)



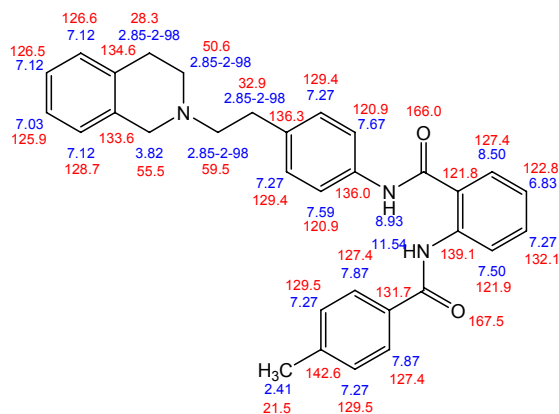
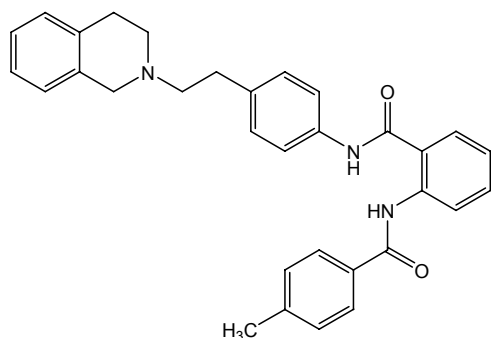
Herstellung: AAV 3
 Edukte 0,41 mmol (154 mg) 2-Amino-*N*-{4-[2-(3,4-dihydro-1H-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (WK-X-17)
 1 mmol (172 mg) Chinolin-3-carbonsäure
 Summelformel: C₃₄H₃₀N₄O₂
 Mr: 526,6
 Smp.: 193°C (unter Braunfärbung)
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 44,5% (96 mg)
 Rf: 0,75 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
 0,26 (Kieselgel/EtOAc)
 EA: ber.: C, 77,54; H, 5,74; N, 10,64; O, 6,08
 ber. * 5/6 H₂O: C, 75,39; H, 5,89; N, 10,34; O, 8,37
 gef.: C, 75,27; H, 5,83; N, 10,02

¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ = 2.70 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.80 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.62 (s, 2H, CH₂), 7.02-7.09 (m, 4H, 4 x ArH), 7.23 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.32 (dt, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.62 (m, 3H, 3 x ArH), 7.71 (dt, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.90 (m, 2H, 2 x ArH), 8.12 (m, 2H, 2 x ArH), 8.39 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 8.88 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, ArH), 9.33 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, ArH), 10.47 (s, 1H*, NH), 11.83 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz): δ = 28.7 (CH₂), 32.4 (CH₂), 50.5 (CH₂), 55.4 (CH₂), 59.5 (CH₂), 121.1 (2 x Ar-CH), 122.2 (Ar-CH), 123.9 (Ar-CH), 124.3 (Ar-C), 125.6 (Ar-CH), 126.0 (Ar-CH), 126.5 (Ar-CH), 126.7 (Ar-C), 127.4 (Ar-CH), 127.5 (Ar-C), 127.8 (Ar-CH), 128.5 (Ar-CH), 128.9 (2 x Ar-CH), 129.1 (Ar-CH), 129.4 (Ar-CH), 131.7 (Ar-CH), 132.1 (Ar-CH), 134.2 (Ar-C), 134.9 (Ar-C), 136.0 (Ar-CH), 136.4 (Ar-C), 136.6 (Ar-C), 138.2 (Ar-C), 148.4 (Ar-CH), 148.8 (Ar-C), 163.5 (CO), 167.1 (CO).

Experimenteller Teil

2-(4-Methyl-)benzoylamino-*N*-{4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (WK-X-25)



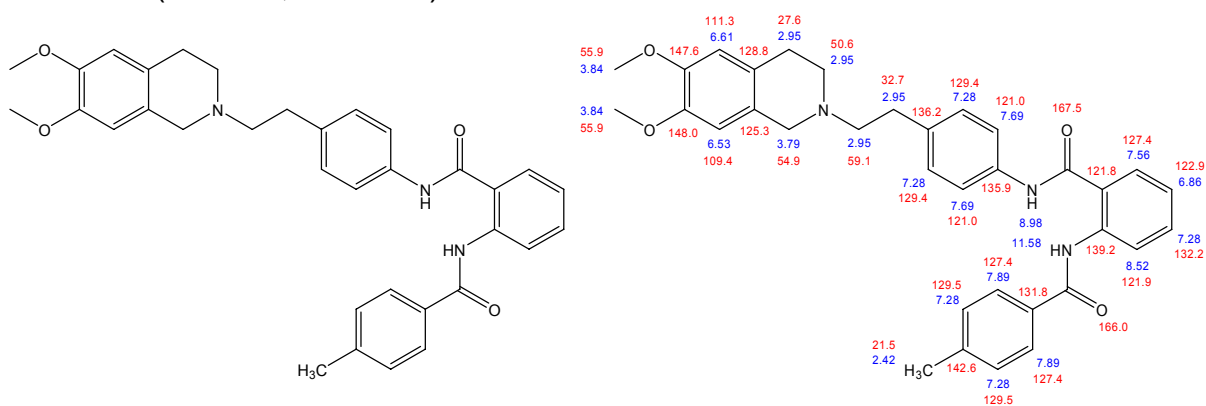
Herstellung:	AAV 4
Edukte:	0,5 mmol (186 mg) 2-Amino- <i>N</i> -{4-[2-(3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (WK-X-17) 1 mmol (155 mg) 4-Toluoylchlorid
Summelformel:	C ₃₁ H ₃₁ N ₃ O ₂
Mr:	489,6
Smp.:	189°C
Aussehen:	weißer Feststoff
Ausbeute:	51,1 % (125 mg)
Rf:	0,76 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1) 0,34 (Kieselgel/EtOAc)
EA:	ber.: C, 78,50; H, 6,38; N, 8,58; O, 6,54 ber. * 0,5 H ₂ O: C, 77,08; H, 6,47; N, 8,43; O, 8,02 gef.: C, 77,14; H, 6,48; N, 8,50

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 2.41 (s, 3H, CH₃), 2.85-2.98 (m, 8H, 4 x CH₂), 3.81 (s, 2H, CH₂), 6.83 (dt, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.02 (m, 1H, ArH), 7.12 (m, 3H, 3 x ArH), 7.27 (m, 5H, 5 x ArH), 7.51 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 7.67 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.87 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.50 (dd, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 8.93 (s, 1H*, NH), 11.54 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ = 21.5 (CH₃), 28.3 (CH₂), 32.9 (CH₂), 50.6 (CH₂), 55.5 (CH₂), 59.5 (CH₂), 120.9 (2 x Ar-CH), 121.8 (Ar-C), 121.9 (Ar-CH), 122.8 (Ar-CH), 125.9 (Ar-CH), 126.5 (Ar-CH), 126.6 (Ar-CH), 127.4 (Ar-CH), 127.4 (2 x Ar-CH), 128.7 (Ar-CH), 129.4 (2 x Ar-CH), 129.5 (2 x Ar-CH), 131.7 (Ar-C), 132.1 (Ar-CH), 133.6 (Ar-C), 134.6 (Ar-C), 136.1 (Ar-C), 136.3 (Ar-C), 139.1 (Ar-C), 142.6 (Ar-C), 166.0 (CO), 167.5 (CO).

Experimenteller Teil

2-(4-Methyl-)benzoylamino-*N*-{4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (XR9504; WK-X-29)



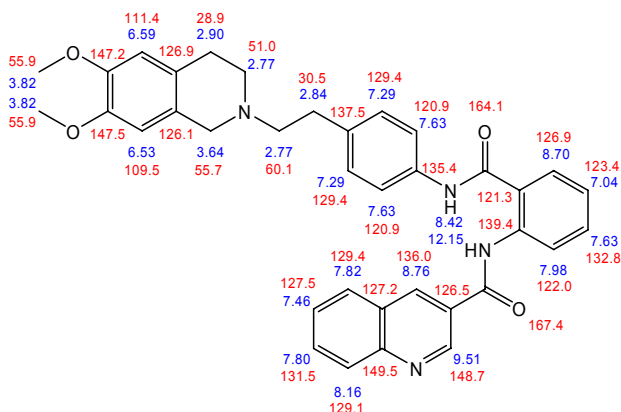
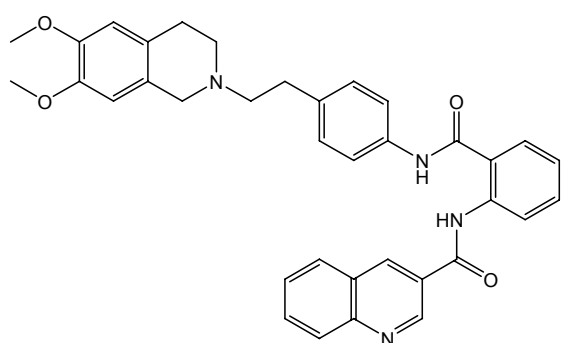
Herstellung:	AAV 4
Edukte	0,25 mmol (108 mg) 2-Amino- <i>N</i> -{4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (WK-X-16) 0,5 mmol Benzoylchlorid
Summelformel:	C ₃₄ H ₃₅ N ₃ O ₄
Mr:	549,7
Smp.:	196°C
Aussehen:	weißer Feststoff
Ausbeute:	59% (81 mg)
Rf:	0,67 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1) 0,12 (Kieselgel/EtOAc)
EA:	ber.: C, 74,29; H, 6,42; N, 7,64; O, 11,64 ber. * 0,6 H ₂ O: C, 72,86; H, 6,51; N, 7,50; O, 13,13 gef.: C, 72,64; H, 6,46; N, 7,57

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 2.43 (s, 3H, CH₃), 2.89-3.01 (m, 8H, 4 x CH₂), 3.79 (s, 2H, CH₂), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 6.53 (s, 1H, ArH), 6.61 (s, 1H, ArH), 6.86 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, ArH), 7.28 (m, 5H, 5 x ArH), 7.56 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.69 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.89 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.52 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, ArH), 8.98 (s, 1H*, NH), 11.58 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ = 21.5 (CH₃), 27.6 (CH₂), 32.7 (CH₂), 50.6 (CH₂), 54.8 (CH₂), 55.9 (OCH₃), 56.0 (OCH₃), 59.1 (CH₂), 109.4 (Ar-CH), 111.4 (Ar-CH), 121.0 (2 x Ar-CH), 121.8 (Ar-C), 121.9 (Ar-CH), 122.9 (Ar-CH), 125.3 (Ar-C), 127.4 (2 x Ar-CH), 127.5 (Ar-CH), 128.7 (Ar-C), 129.4 (2 x Ar-CH), 129.5 (2 x Ar-CH), 131.8 (Ar-C), 132.2 (Ar-CH), 135.9 (Ar-C), 136.2 (Ar-C), 139.2 (Ar-C), 142.6 (Ar-C), 147.6 (Ar-C), 148.0 (Ar-C), 166.0 (CO), 167.5 (CO).

Experimenteller Teil

Chinolin-3-carbonsäure-(2-{4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}carbamoyl)-phenyl)-amid (XR9476; WK-X-32)



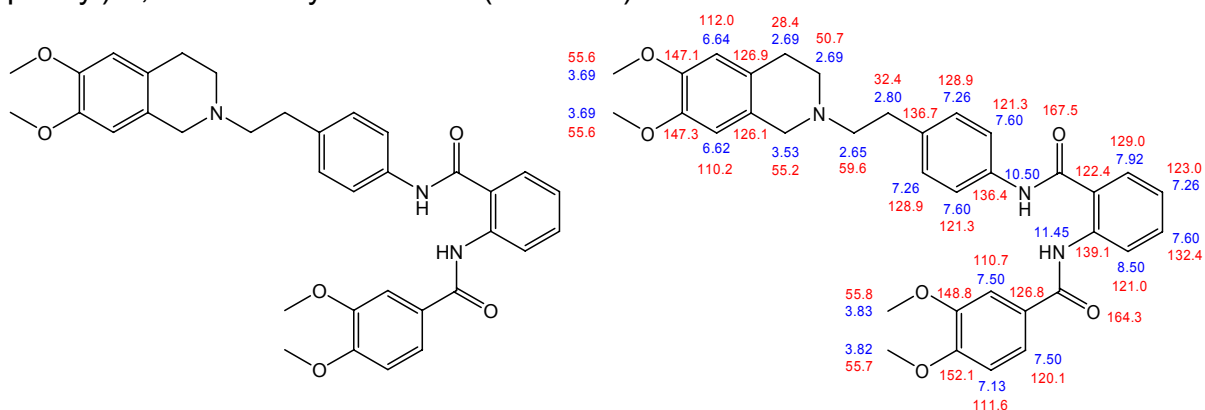
Herstellung:	AAV 3
Edukte	0,5 mmol (216 mg) 2-Amino- <i>N</i> -{4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (WK-X-16) 1 mmol (172 mg) Chinolin-3-carbonsäure
Summelformel:	C ₃₆ H ₃₄ N ₄ O ₄
Mr:	586,7
Smp.:	256°C
Aussehen:	weißer Feststoff
Ausbeute:	34,2% (100 mg)
Rf:	0,58 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1) 0,03 (Kieselgel/EtOAc)
EA:	ber.: C, 73,70; H, 5,84; N, 9,55; O, 10,91 ber. * 0,5 H ₂ O: C, 72,59; H, 5,92; N, 9,41; O, 12,09 gef.: C, 72,62; H, 5,84; N, 9,59

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 2.77 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.84 (t, 2H, CH₂), 3.91 (m, 2H, CH₂), 3.64 (s, 2H, CH₂), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 6.53 (s, 1H, ArH), 6.59 (s, 1H, ArH), 7.04 (dt, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 7.28 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.47 (dt, *J* = 8.4 Hz, 1H, ArH), 7.63 (m, 4H, 4 x ArH), 7.82 (dt, *J* = 8.4 Hz, 1H, ArH), 7.98 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 8.16 (d, *J* = 9 Hz, 1H, ArH), 8.42 (s, 1H*, NH), 8.70 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 8.76 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, ArH), 9.51 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, ArH), 12.15 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ = 28.7 (CH₂), 33.5 (CH₂), 51.0 (CH₂), 55.7 (CH₂), 55.9 (OCH₃), 55.9 (OCH₃), 60.1 (CH₂), 109.5 (Ar-CH), 111.4 (Ar-CH), 120.9 (2 x Ar-CH), 121.3 (Ar-C), 122.0 (Ar-CH), 123.4 (Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.5 (Ar-C), 126.9 (Ar-CH), 126.9 (Ar-C), 127.2 (Ar-C), 127.5 (Ar-CH), 129.1 (Ar-CH), 129.4 (Ar-CH), 129.4 (2 x Ar-CH), 131.5 (Ar-CH), 132.8 (Ar-CH), 135.4 (Ar-C), 136.0 (Ar-CH), 137.5 (Ar-C), 139.4 (Ar-C), 147.2 (Ar-C), 147.5 (Ar-C), 148.7 (Ar-CH), 149.5 (Ar-C), 164.1 (CO), 167.4 (CO).

Experimenteller Teil

N-(2-{4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}carbamoyl)-phenyl)-3,4-dimethoxy-benzamid (WK-X-34)



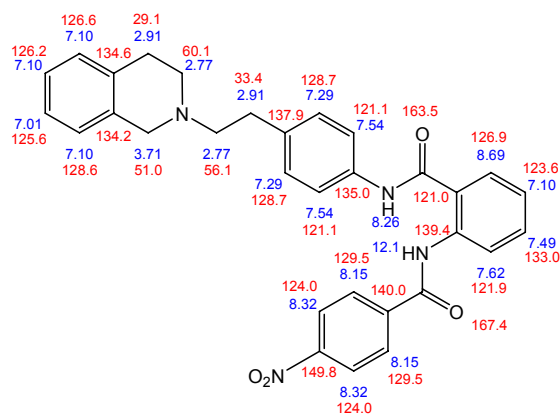
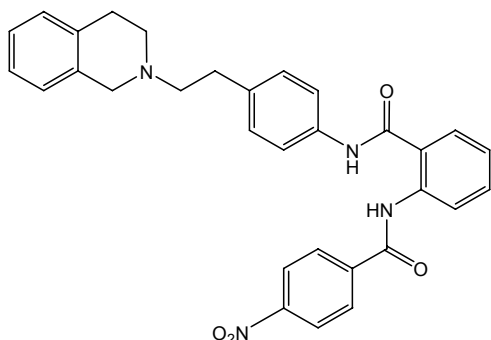
Herstellung: AAV 4
 Edukte 0,35 mmol (151 mg) 2-Amino-*N*-{4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (WK-X-16)
 0,7 mmol 3,4-Dimethoxybenzoylchlorid
 Summelformel: C₃₅H₃₇N₃O₆
 Mr / Exakte Masse: 595,7 /595,2682
 Smp.: 166°C
 Aussehen: gelblicher Feststoff
 Ausbeute: 69,1 % (144 mg)
 Rf: 0,68 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
 0,07 (Kieselgel/EtOAc)
 MS: 596,2 (32%), 307,2 (10%), 284,1 (23%), 206,2 (100%), 193,2 (11%), 165,1 (73%)
 EA: ber.: C, 70,57; H, 6,26; N, 7,05; O, 16,12
 ber. * 1 H₂O: C, 68,50; H, 6,41; N, 6,85; O, 18,25
 gef.: C, 68,63; H, 6,18; N, 6,65

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.64-2.73 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.80 (t, 2H, CH₂), 3.53 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.13 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, ArH), 7.26 (m, 3H, 3 x ArH), 7.50 (m, 2H, 2 x ArH), 7.60 (m, 3H, 3 x ArH), 7.91 (dd, *J* = 7.9/1.3 Hz, 1H, ArH), 8.50 (dd, *J* = 8.5/1.0 Hz, 1H, ArH), 10.45 (s, 1H*, NH), 11.72 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.6 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (2 x OCH₃), 55.7 (OCH₃), 55.8 (OCH₃), 59.6 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 110.7 (Ar-CH), 111.6 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 120.1 (Ar-CH), 121.0 (Ar-CH), 121.3 (2 x Ar-CH), 122.4 (Ar-C), 123.0 (Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 126.9 (Ar-C), 128.9 (2 x Ar-CH), 129.0 (Ar-CH), 132.4 (Ar-CH), 136.4 (Ar-C), 136.7 (Ar-C), 139.1 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 148.8 (Ar-C), 152.1 (Ar-C), 164.3 (CO), 167.5 (CO).

Experimenteller Teil

2-(4-Nitro-)benzoylamino-*N*-{4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (WK-X-36)



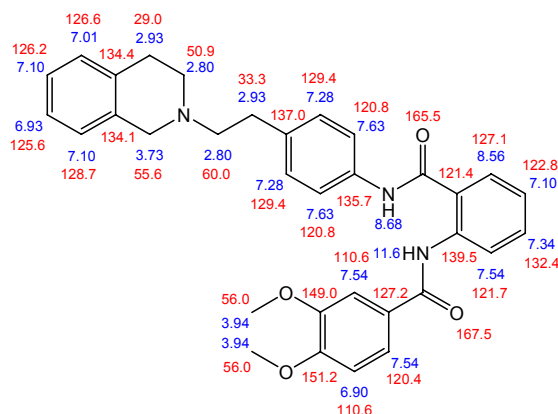
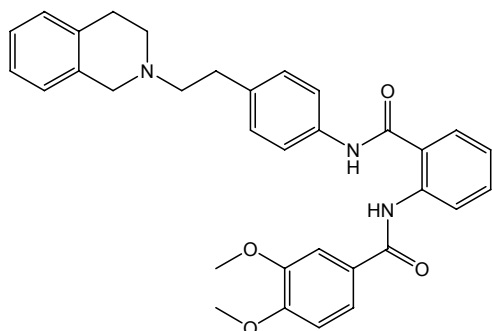
Herstellung:	AAV 4	
Edukte	1 mmol (351 mg) 2-Amino- <i>N</i> -{4-[2-(3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (WK-X-17) 1,5 mmol 4-Nitrobenzoylchlorid	
Summelformel:	C ₃₁ H ₂₈ N ₄ O ₄	
Mr:	520,6	
Smp.:	181°C	
Aussehen:	gelblicher Feststoff	
Ausbeute:	68,2% (355 mg)	
Rf:	0,71 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1) 0,41 (Kieselgel/EtOAc)	
EA:	ber.:	C, 71,52; H, 5,42; N, 10,76; O, 12,29
	ber. * 0,2 H ₂ O:	C, 71,03; H, 5,46; N, 10,69; O, 12,82
	gef.:	C, 71,04; H, 5,48; N, 10,59

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 2.80 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.92 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.71 (s, 2H, CH₂), 7.02 (m, 1H, ArH), 7.10 (m, 4H, 4 x ArH), 7.29 (ddd, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.50 (dt, *J* = 8.4 Hz, 1H, ArH), 7.54 (ddd, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.63 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 8.15 (ddd, *J* = 9 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.26 (s, 1H*, NH), 8.32 (ddd, *J* = 9 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.69 (dd, *J* = 8.4 Hz, 1H, ArH), 12.12 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ = 21.5 (CH₃), 29.1 (CH₂), 33.4 (CH₂), 51.0 (CH₂), 56.1 (CH₂), 60.1 (CH₂), 121.0 (Ar-C), 121.1 (2 x Ar-CH), 121.9 (Ar-CH), 123.6 (Ar-CH), 124.0 (2 x Ar-CH), 125.6 (Ar-CH), 126.2 (Ar-CH), 126.6 (Ar-CH), 126.9 (Ar-CH), 128.6 (Ar-CH), 128.7 (2 x Ar-CH), 129.5 (2 x Ar-CH), 133.1 (Ar-CH), 134.2 (Ar-C), 134.6 (Ar-C), 135.0 (Ar-C), 137.9 (Ar-C), 139.4 (Ar-C), 140.1 (Ar-C), 149.8 (Ar-C), 163.5 (CO), 167.4 (CO).

Experimenteller Teil

N-(2-{4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamoyl)-phenyl)-3,4-dimethoxy-benzamid (WK-X-38)



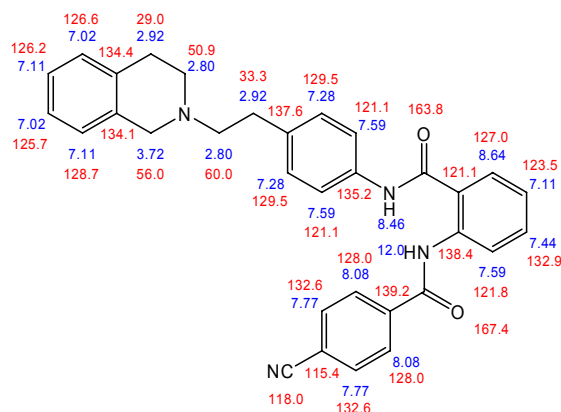
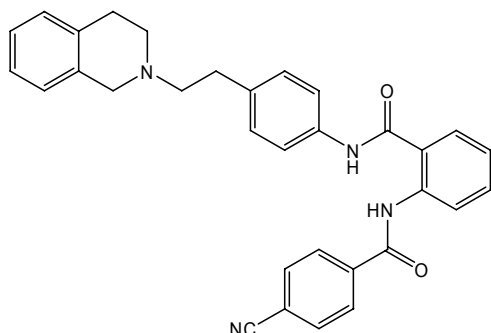
Herstellung: AAV 4
 Edukte 0,4 mmol (149 mg) 2-Amino-*N*-(4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl)-benzamid (WK-X-17)
 0,8 mmol 3,4-Dimethoxybenzoylchlorid
 Summelformel: C₃₃H₃₃N₃O₄
 Mr: 535,6
 Smp.: 153°C
 Aussehen: leicht gelblicher Feststoff
 Ausbeute: 28,5% (61 mg)
 Rf: 0,73 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
 0,29 (Kieselgel/EtOAc)
 EA: ber.: C, 74,00; H, 6,21; N, 7,84; O, 11,95
 ber. * 0,25 H₂O: C, 73,38; H, 6,25; N, 7,78; O, 12,59
 gef.: C, 73,13; H, 6,18; N, 8,17

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 2.81 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.92 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.73 (s, 2H, CH₂), 3.93 (s, 3H, CH₃), 3.97 (s, 3H, CH₃), 6.89 (dt, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 6.93 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, ArH), 7.02 (m, 1H, ArH), 7.11 (m, 3H, 3 x ArH), 7.27 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.34 (m, 1H, ArH), 7.54 (m, 3H, 3 x ArH), 7.64 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.56 (dd, *J* = 8.4 Hz, 1H, ArH), 8.70 (s, 1H*, NH), 11.64 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ = 29.0 (CH₂), 33.3 (CH₂), 50.6 (CH₂), 56.0 (CH₂), 56.0 (OCH₃), 56.0 (OCH₃), 60.1 (CH₂), 110.6 (Ar-CH), 110.6 (Ar-CH), 120.4 (Ar-CH), 120.8 (2 x Ar-CH), 121.4 (Ar-C), 121.7 (Ar-CH), 122.8 (Ar-CH), 125.7 (Ar-CH), 126.2 (Ar-CH), 126.6 (Ar-CH), 127.1 (Ar-CH), 127.2 (Ar-C), 128.7 (Ar-CH), 129.4 (2 x Ar-CH), 132.4 (Ar-CH), 134.1 (Ar-C), 134.4 (Ar-C), 135.8 (Ar-C), 137.1 (Ar-C), 139.5 (Ar-C), 149.0 (Ar-C), 152.2 (Ar-C), 165.5 (CO), 167.5 (CO).

Experimenteller Teil

2-(4-Cyano-)benzoylamino-*N*-{4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (WK-X-41)



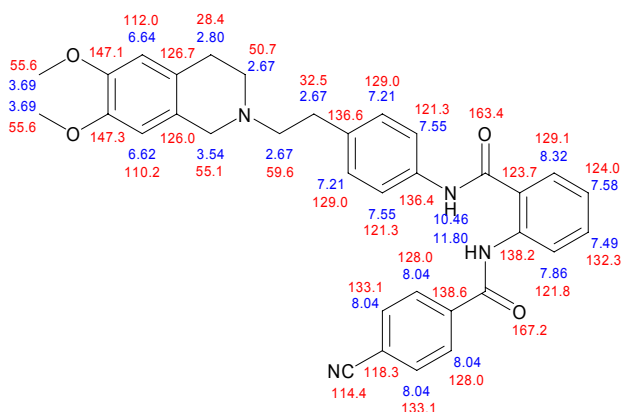
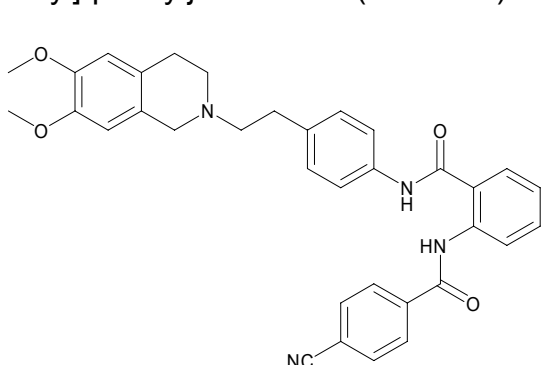
Herstellung:	AAV 4
Edukte	1 mmol (351 mg) 2-Amino- <i>N</i> -{4-[2-(3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (WK-X-17) 1,5 mmol 4-Cyanobenzoylchlorid
Summelformel:	C ₃₂ H ₂₈ N ₄ O ₂
Mr:	500,6
Smp.:	187°C
Aussehen:	leicht gelblicher Feststoff
Ausbeute:	61,7 % (309 mg)
Rf:	0,61 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1) 0,30 (Kieselgel/EtOAc)
EA:	ber.: C, 76,78; H, 5,64; N, 11,19; O, 6,39 ber. * 0,2 H ₂ O: C, 75,42; H, 5,74; N, 10,99; O, 7,85 gef.: C, 75,42; H, 5,75; N, 10,84

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 2.80 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.92 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.72 (s, 2H, CH₂), 7.02 (m, 2H, 2 x ArH), 7.11 (m, 3H, 3 x ArH), 7.28 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.44 (m, 1H, ArH), 7.57 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.61 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 7.77 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.08 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.46 (s, 1H*, NH), 8.64 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, ArH), 12.02 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ = 29.0 (CH₂), 33.3 (CH₂), 50.9 (CH₂), 56.0 (CH₂), 60.0 (CH₂), 115.4 (Ar-C), 118.0 (CN), 121.1 (2 x Ar-CH), 121.1 (Ar-CH), 121.8 (Ar-CH), 123.5 (Ar-CH), 125.7 (Ar-CH), 126.2 (Ar-CH), 126.6 (Ar-CH), 127.0 (Ar-CH), 128.0 (2 x Ar-CH), 128.6 (Ar-CH), 129.5 (2 x Ar-CH), 132.6 (2 x Ar-CH), 132.9 (Ar-CH), 134.1 (Ar-C), 134.4 (Ar-C), 135.2 (Ar-C), 137.6 (Ar-C), 138.4 (Ar-C), 139.2 (Ar-C), 163.8 (CO), 167.4 (CO).

Experimenteller Teil

2-(4-Cyano-)benzoylamino-*N*-{4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (WK-X-75)



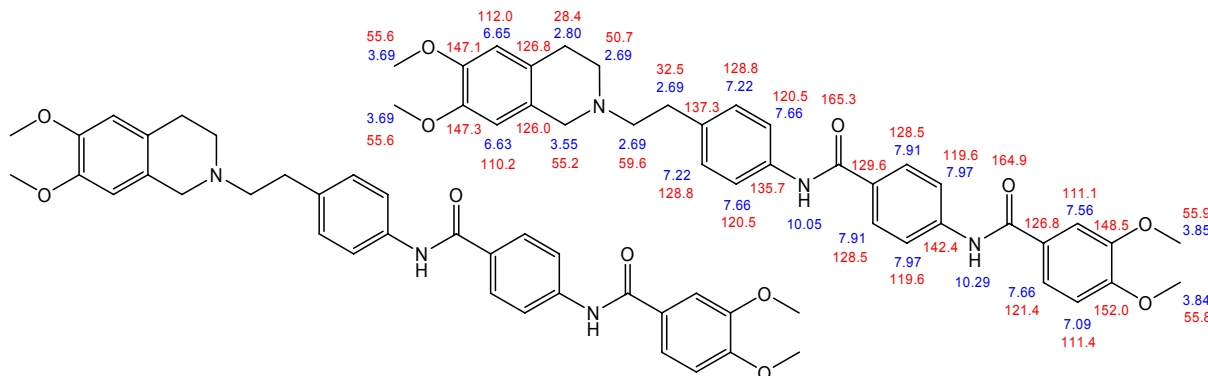
Herstellung:	AAV 4
Edukte	0,4 mmol (173 mg) 4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (WK-X-16) 0,6 mmol 4-Cyanobenzoylchlorid
Summelformel:	C ₃₄ H ₃₂ N ₄ O ₄
Mr:	560,6
Smp.:	205°C
Aussehen:	weißer Feststoff
Ausbeute:	80% (180 mg)
Rf:	0,63 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1) 0,12 (Kieselgel/EtOAc)
EA:	ber.: C, 72,84; H, 5,75; N, 9,99; O, 11,42 ber. * 0,5 H ₂ O: C, 71,69; H, 5,84; N, 9,84; O, 12,64 gef.: C, 71,74; H, 6,07; N, 9,51

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.68 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.80 (t, 2H, CH₂), 3.54 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.23 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.31 (dt, *J* = 7.5 Hz, 1H, ArH), 7.61 (m, 3H, 3 x ArH), 7.92 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 8.04 (s, 4H, 4 x ArH), 8.40 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 10.46 (s, 1H*, NH), 11.81 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.1 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.6 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 114.4 (Ar-C), 118.3 (Ar-C), 121.3 (2 x Ar-CH), 121.8 (Ar-CH), 123.7 (Ar-C), 124.0 (Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.7 (Ar-C), 128.0 (2 x Ar-CH), 128.9 (2 x Ar-CH), 129.1 (Ar-CH), 132.3 (Ar-CH), 133.1 (2 x Ar-CH), 136.5 (Ar-C), 136.6 (Ar-C), 138.2 (Ar-C), 138.6 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 163.4 (CO), 167.2 (CO).

7.3.6 Monographien von Tariquidar-Analoga mit variierter Aminobenzoösäure-Partialstruktur

N-(4-{4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylcarbamoyl}-phenyl)-3,4-dimethoxy-benzamid (WK-X-35)



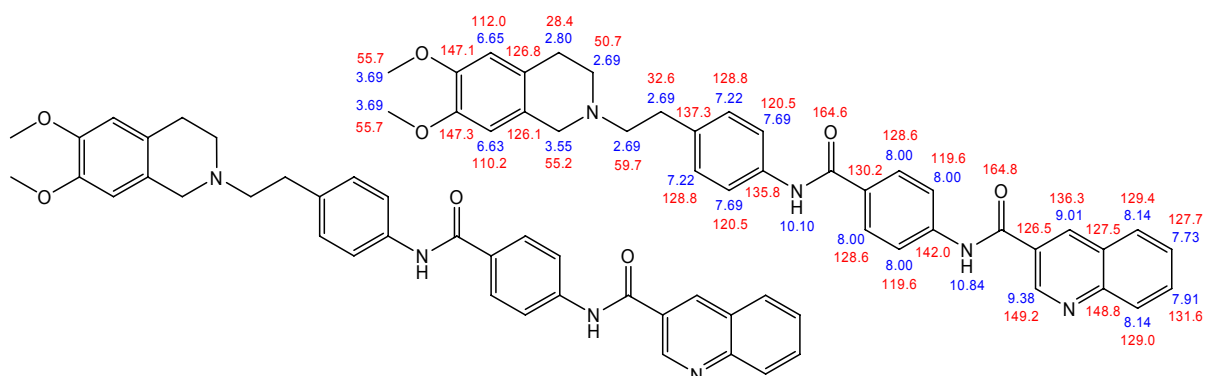
Herstellung:	AAV 4
Edukte	0,5 mmol (216 mg) 4-Amino- <i>N</i> -(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1 <i>H</i>)-yl)ethyl)phenyl)benzamid (WK-X-33) 1 mmol (200 mg) 3,4-Dimethoxybenzoylchlorid
Summelformel:	C ₃₅ H ₃₇ N ₃ O ₆
Mr:	595,7
Smp.:	236°C
Aussehen:	leicht gelblicher Feststoff
Ausbeute:	54,4% (162 mg)
Rf:	0,69 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1), 0,02 (Kieselgel/EtOAc), 0,50 (Kieselgel/ <i>n</i> -BuOH/NH ₃ 99:1)
EA:	ber.: C, 70,57; H, 6,26; N, 7,05; O, 16,12 ber. * 0,5 H ₂ O: C, 69,52; H, 6,33; N, 6,95; O, 17,20 gef.: C, 69,75; H, 6,26; N, 7,10

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.65-2.73 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.80 (m, 2H, CH₂), 3.55 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 6.63 (s, 1H, ArH), 6.65 (s, 1H, ArH), 7.09 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, ArH), 7.22 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.56 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, ArH), 7.66 (m, 3H, 3 x ArH), 7.91 (dd, *J* = 6.9 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.97 (dd, *J* = 6.9 Hz, 2H, 2 x ArH), 10.05 (s, 1H*, NH), 10.29 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 55.8 (OCH₃), 55.9 (OCH₃), 59.6 (CH₂), 110,2 (Ar-CH), 111.1 (Ar-CH), 111.4 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 119.6 (2 x Ar-CH), 120.5 (2 x Ar-CH), 121.4 (Ar-CH), 126.0 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 128.5 (2 x Ar-CH), 128.8 (2 x Ar-CH), 129.6 (Ar-C), 135.7 (Ar-C), 137.3 (Ar-C), 142.4 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 148.5 (Ar-C), 152.0 (Ar-C), 164.9 (CO), 165.3 (CO).

Experimenteller Teil

Chinolin-3-carbonsäure(4-{4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1H-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylcarbamoyl}-phenyl)-amid (WK-X-42)



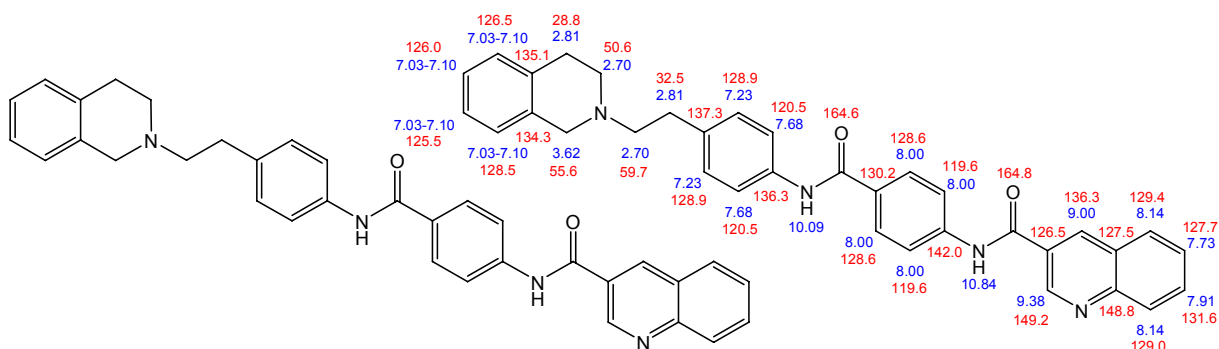
Herstellung: AAV 4
 Edukte 0,5 mmol (216 mg) 4-Amino-*N*-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)phenyl)benzamid (WK-X-33)
 1 mmol (173 mg) Chinolin-3-carbonsäure
 Summelformel: C₃₆H₃₄N₄O₄
 Mr: 586,7
 Smp.: 234°C (unter Braunfärbung)
 Aussehen: beiger Feststoff
 Ausbeute: 34,4% (101 mg)
 Rf: 0,66 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1), 0,02 (Kieselgel/EtOAc),
 0,49 (Kieselgel/*n*-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 73,70; H, 5,84; N, 9,55; O, 10,91
 ber. * 1 H₂O: C, 71,50; H, 6,00; N, 9,27; O, 13,23
 gef.: C, 71,39; H, 6,38; N, 8,99

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.65-2.72 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.80 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, CH₂), 3.55 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.63 (s, 1H, ArH), 6.65 (s, 1H, ArH), 7.22 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.69 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.73 (m, 1H, ArH), 7.91 (m, 1H, ArH), 8.00 (m, 4H, 4 x ArH), 8.14 (m, 2H, 2 x ArH), 9.01 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, ArH), 9.38 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, ArH), 10.10 (s, 1H*, NH), 10.84 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.6 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.7 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 119.6 (2 x Ar-CH), 120.5 (2 x Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.5 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 127.5 (Ar-C), 127.7 (Ar-CH), 128.6 (2 x Ar-CH), 128.8 (2 x Ar-CH), 129.0 (Ar-CH), 129.4 (Ar-CH), 130.2 (Ar-C), 131.6 (Ar-CH), 135.8 (Ar-C), 136.3 (Ar-CH), 137.3 (Ar-C), 142.0 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 148.8 (Ar-C), 149.2 (Ar-CH), 164.6 (CO), 164.8 (CO).

Experimenteller Teil

Chinolin-3-carbonsäure(4-{4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}carbonyl)-phenyl)-amid (WK-X-44)



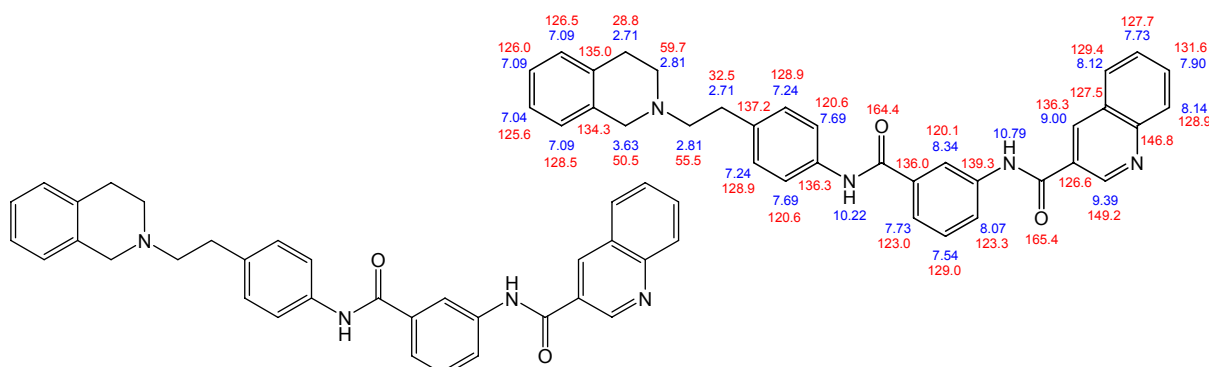
Herstellung: AAV 3
Edukte: 0,5 mmol (186 mg) 4-Amino-*N*-{4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (WK-X-37)
1 mmol (172 mg) Chinolin-3-carbonsäure
Summelformel: C₃₄H₃₀N₄O₂
Mr: 526,6
Smp.: 252°C
Aussehen: weißer Feststoff
Ausbeute: 34,6% (91 mg)
Rf: 0,71 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
0,03 (Kieselgel/EtOAc)
EA: ber.: C, 77,54; H, 5,74; N, 10,64; O, 6,08
ber. * 3/4 H₂O: C, 75,60; H, 5,88; N, 10,37; O, 8,15
gef.: C, 75,75; H, 5,82; N, 10,45

¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ = 2.67-2.82 (m, 8H, 4 x CH₂), 3.63 (s, 2H, CH₂), 7.03-7.10 (m, 4H, 4 x ArH), 7.23 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.68 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.73 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.91 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H, ArH), 8.00 (m, 4H, 4 x ArH), 8.14 (m, 2H, 2 x ArH), 9.00 (s, 1H, ArH), 9.36 (s, 1H, ArH), 10.09 (s, 1H*, NH), 10.84 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz): δ = 28.8 (CH₂), 32.5 (CH₂), 50.6 (CH₂), 55.6 (CH₂), 59.7 (CH₂), 119.6 (2 x Ar-CH), 120.5 (2 x Ar-CH), 125.5 (Ar-CH), 126.0 (Ar-CH), 126.5 (Ar-C), 126.5 (Ar-CH), 127.5 (Ar-C), 127.7 (Ar-CH), 128.5 (Ar-CH), 128.6 (2 x Ar-CH), 128.9 (2 x Ar-CH), 129.0 (Ar-CH), 129.4 (Ar-CH), 130.2 (Ar-C), 131.6 (Ar-CH), 134.3 (Ar-C), 135.1 (Ar-CH), 136.3 (Ar-C), 137.3 (Ar-C), 138.3 (Ar-CH), 142.0 (Ar-C), 148.8 (Ar-C), 149.2 (Ar-CH), 164.6 (CO), 164.8 (CO).

Experimenteller Teil

Chinolin-3-carbonsäure-(3-{4-[2-(3,4-dihydro-1H-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}carbonyl)-phenyl-amid (WK-X-49)



Herstellung: AAV 3
 Edukte: 0,5 mmol (186 mg) 3-Amino-*N*-{4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamide (WK-X-47)
 1 mmol (172 mg) Chinolin-3-carbonsäure
 Summelformel: C₃₄H₃₀N₄O₂
 Mr: 526,6
 Smp.: 263°C
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 41,4% (109 mg)
 Rf: 0,69 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
 0,03 (Kieselgel/EtOAc)
 EA: ber.: C, 77,54; H, 5,74; N, 10,64; O, 6,08
 ber. * 0,5 H₂O: C, 76,24; H, 5,83; N, 10,46; O, 7,47
 gef.: C, 76,57; H, 5,81; N, 10,32

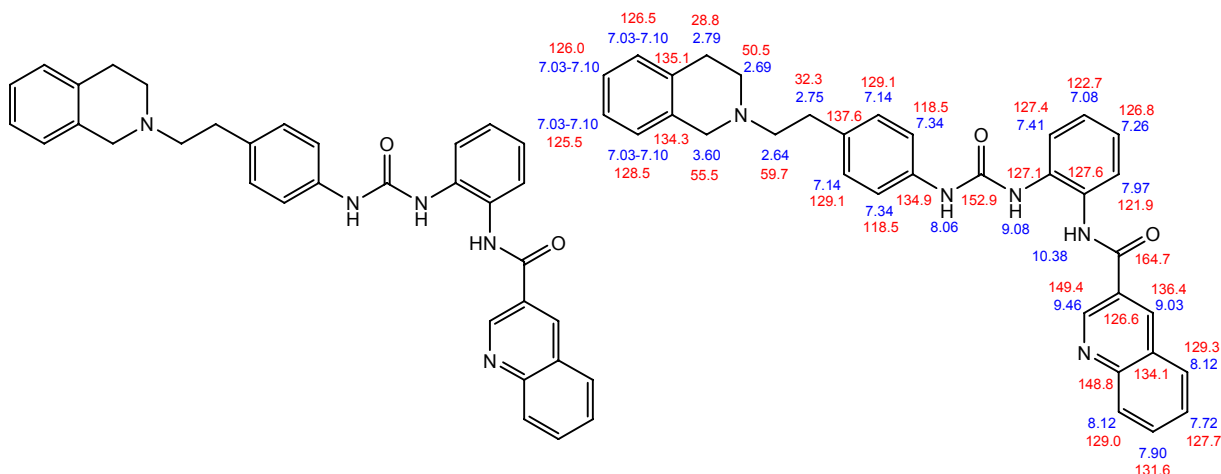
¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ = 2.68-2.74 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.79-2.82 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.63 (s, 2H, CH₂), 7.03-7.10 (m, 4H, 4 x ArH), 7.24 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.54 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 7.69 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.73 (m, 2H, 2 x ArH), 7.90 (dt, *J* = 7.7 Hz, 1H, ArH), 8.07 (dd, *J* = 8 Hz, 1H, ArH), 8.12 (dd, *J* = 8.5 Hz, 1H, ArH), 8.14 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, ArH), 8.34 (s, 1H, ArH), 9.00 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, ArH), 9.39 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, ArH), 10.22 (s, 1H*, NH), 10.79 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz): δ = 28.8 (CH₂), 32.5 (CH₂), 50.5 (CH₂), 55.5 (CH₂), 59.7 (CH₂), 120.1 (Ar-CH), 120.6 (2 x Ar-CH), 123.0 (Ar-CH), 123.3 (Ar-CH), 125.6 (Ar-CH), 126.0 (Ar-CH), 126.5 (Ar-C), 126.6 (Ar-CH), 127.5 (Ar-C), 127.7 (Ar-CH), 128.5 (Ar-CH), 128.9 (Ar-CH), 128.9 (2 x Ar-CH), 129.0 (Ar-CH), 129.4 (Ar-CH), 131.6 (Ar-CH), 134.3 (Ar-C), 135.0 (Ar-C), 136.0 (Ar-CH), 136.0 (Ar-C), 136.2 (Ar-C), 137.2 (Ar-CH), 139.3 (Ar-C), 148.8 (Ar-C), 149.2 (Ar-CH), 164.4 (CO), 165.4 (CO).

7.3.7 Monographien von Tariquidar-Analoga mit variierter Verknüpfung

7.3.7.1 Harnstoff-Analoga

Chinolin-3-carbonsäure-[2-(3-{4-[2-(3,4-dihydro-1H-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-ureido)-phenyl]-amid (WK-X-50)



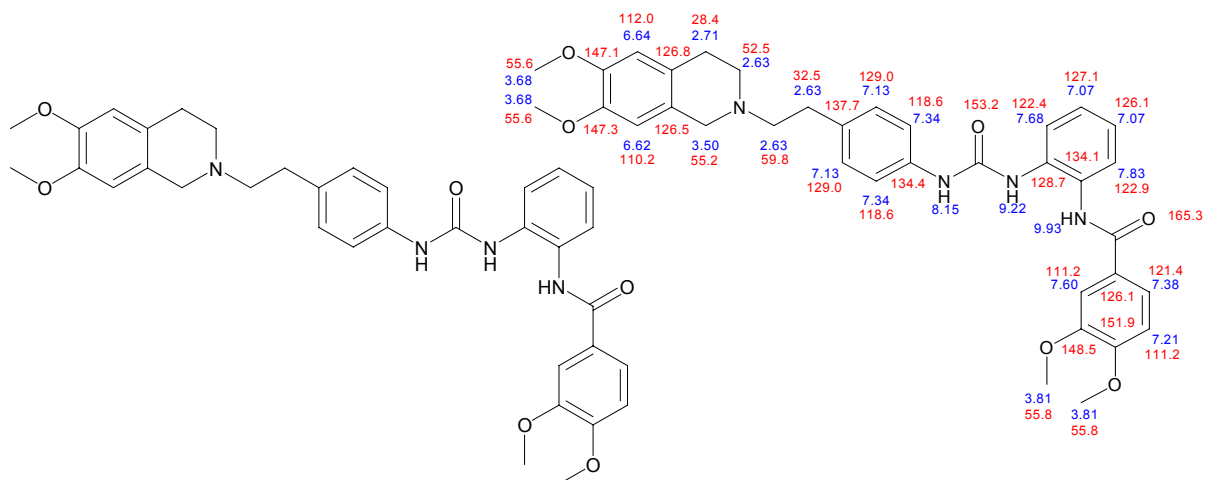
Herstellung:	AAV 3
Edukte:	0,5 mmol (193 mg) 1-(2-Amino-phenyl)-3-{4-[2-(3,4-dihydro-1H-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-harnstoff (WK-X-48) 1 mmol (172 mg) Chinolin-3-carbonsäure
Summelformel:	C ₃₄ H ₃₁ N ₅ O ₂
Mr:	541,6
Smp.:	281°C
Aussehen:	weißer Feststoff
Ausbeute:	62,6% (169 mg)
Rf:	0,70 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1), 0,07 (Kieselgel/EtOAc)
EA:	ber.: C, 75,39; H, 5,77; N, 12,93; O, 5,91 ber. * 0,5 H ₂ O: C, 74,16; H, 5,86; N, 12,72; O, 7,26 gef.: C, 74,18; H, 5,91; N, 12,69

¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ = 2.64 (q, 2H, CH₂), 2.69 (t, 2H, CH₂), 2.73-2.79 (m, 4H, 2 x CH₂), 3.59 (s, 2H, CH₂), 7.02-7.11 (m, 5H, 5 x ArH), 7.13 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.26 (dt, *J* = 7.4 Hz, 1H, ArH), 7.34 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.42 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, ArH), 7.71 (dt, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.90 (dt, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.97 (dd, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 8.08 (s, 1H*, NH), 8.11 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 8.12 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 9.03 (s, 1H, ArH), 9.10 (s, 1H*, NH), 9.46 (s, 1H, ArH), 10.39 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz): δ = 28.8 (CH₂), 32.4 (CH₂), 50.5 (CH₂), 55.6 (CH₂), 59.8 (CH₂), 118.5 (2 x Ar-CH), 121.9 (Ar-CH), 122.7 (Ar-CH), 125.5 (Ar-CH), 126.0 (Ar-CH), 126.5 (Ar-CH), 126.6 (Ar-C), 126.8 (Ar-CH), 127.1 (Ar-C), 127.4 (Ar-CH), 127.6 (Ar-C), 127.7 (Ar-CH), 128.5 (Ar-CH), 129.0 (Ar-CH), 129.1 (2 x Ar-CH), 129.3 (Ar-CH), 131.6 (Ar-CH), 134.1 (Ar-C), 134.3 (Ar-C), 134.9 (Ar-C), 135.1 (Ar-C), 136.4 (Ar-CH), 137.6 (Ar-C), 148.8 (Ar-C), 149.4 (Ar-CH), 152.9 (CO), 164.7 (CO).

Experimenteller Teil

N-[2-(3-{4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-ureido)-phenyl]-3,4-dimethoxy-benzamid (WK-X-78)



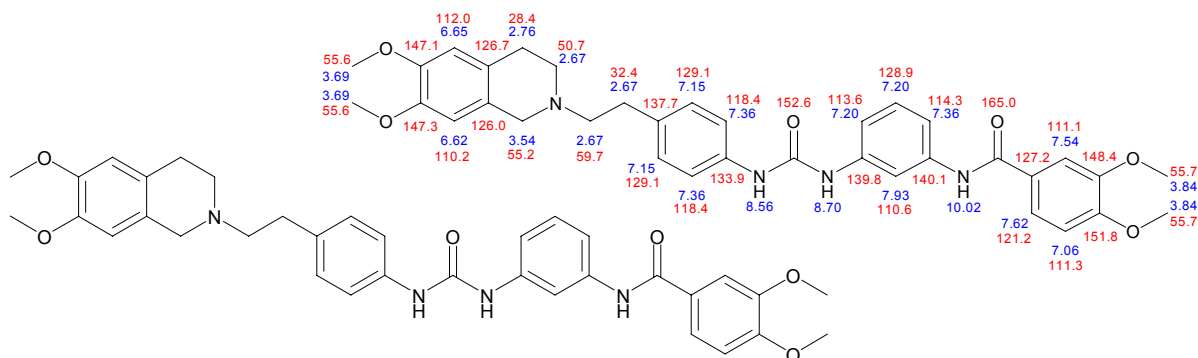
Herstellung: AAV 4
 Ansatz: 0,4 mmol (179 mg) 1-(2-Amino-phenyl)-3-{4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-harnstoff (WK-X-76)
 1 mmol (200 mg) 3,4-Dimethoxybenzoesäurechlorid
 Summelformel: C₃₅H₃₈N₄O₆
 Mr: 610,7
 Smp.: 133°C
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 61,4% (150 mg)
 Rf: 0,70 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
 0,05 (Kieselgel/EtOAc)
 EA: ber.: C, 68,83; H, 6,27; N, 9,17; O, 15,72
 ber. * 0,5 H₂O: C, 67,83; H, 6,34; N, 9,04; O, 16,78
 gef.: C, 67,58; H, 6,39; N, 8,98

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.61-2.70 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.74 (t, 2H, CH₂), 3.52 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.06 (m, 2H, 2 x ArH), 7.13 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.20 (m, 1H, ArH), 7.36 (m, 3H, 3 x ArH), 7.59 (dd, *J* = 2.2 Hz, 1H, ArH), 7.68 (dd, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.83 (dd, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 8.15 (s, 1H*, NH), 9.22 (s, 1H*, NH), 9.93 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 55.8 (OCH₃), 59.8 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 111.2 (Ar-CH), 111.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 118.6 (2 x Ar-CH), 121.4 (Ar-CH), 122.4 (Ar-CH), 122.9 (Ar-CH), 126.1 (Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.5 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 127.1 (Ar-CH), 128.7 (Ar-C), 129.0 (2 x Ar-CH), 134.1 (Ar-C), 134.4 (Ar-C), 137.7 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 148.5 (Ar-C), 151.9 (Ar-C), 153.2 (CO), 165.3 (CO).

Experimenteller Teil

1-(4-(2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)phenyl)-3-(3-(3,4-dimethoxybenzamido)phenyl)harnstoff (WK-X-91)



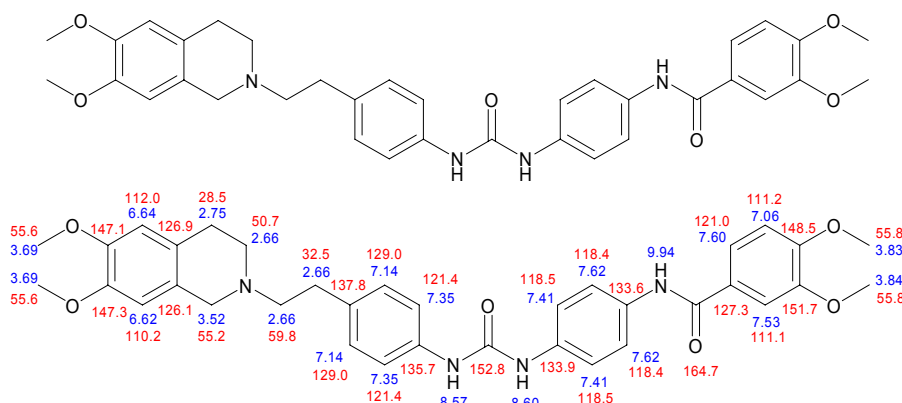
Herstellung: AAV 4
 Edukt 0,4 mmol (179 mg) 1-(3-Aminophenyl)-3-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)phenyl)harnstoff (WK-X-88)
 0,8 mmol (160 mg) 3,4-Dimethoxybenzoesäurechlorid
 Summelformel: C₃₅H₃₈N₄O₆
 Mr: 610,7
 Smp.: 119°C
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 51,1% (125 mg)
 Rf: 0,68 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1); 0,01 (Kieselgel/EtOAc),
 0,52 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 68,83; H, 6,27; N, 9,17; O, 15,72
 ber. * 0,5 H₂O: C, 67,83; H, 6,34; N, 9,04; O, 16,78
 gef.: C, 67,50; H, 6,37; N, 8,87

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.64-2.70 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.76 (t, 2H, CH₂), 3.54 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.65 (s, 1H, ArH), 7.06 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, ArH), 7.15 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.20 (m, 2H, 2 x ArH), 7.36 (m, 3H, 3 x ArH), 7.54 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, ArH), 7.62 (dd, *J* = 8.5 Hz, 1H, ArH), 7.93 (s, 1H, ArH), 8.56 (s, 1H*, NH), 8.70 (s, 1H*, NH), 10.02 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.4 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 55.8 (OCH₃), 59.7 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 110.6 (Ar-CH), 111.1 (Ar-CH), 111.3 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 113.6 (Ar-CH), 118.4 (2 x Ar-CH), 121.2 (Ar-CH), 123.3 (Ar-CH), 126.0 (Ar-C), 126.7 (Ar-C), 127.2 (Ar-C), 128.9 (Ar-CH), 129.1 (2 x Ar-CH), 133.9 (Ar-C), 137.7 (Ar-C), 139.8 (Ar-C), 140.1 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 148.4 (Ar-C), 151.8 (Ar-C), 152.6 (CO), 165.0 (CO).

Experimenteller Teil

1-[4-(2-{6,7-Dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl}ethyl)-phenyl]-3-(4-(3,4-dimethoxybenzamido)phenyl)harnstoff (WK-X-94)



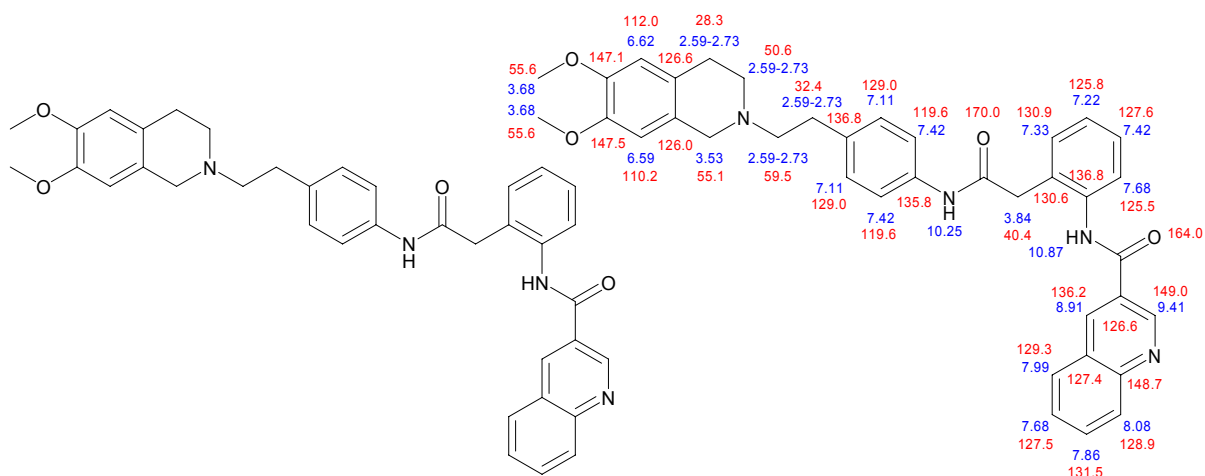
Herstellung: AAV 4
 Edukt 0,4 mmol (179 mg) 1-(4-Aminophenyl)-3-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)phenyl)harnstoff (WK-X-88)
 0,8 mmol (160 mg) 3,4-Dimethoxybenzoesäurechlorid
 Summelformel: C₃₅H₃₈N₄O₆
 Mr: 610,7
 Smp.: 205°C (unter Braunfärbung)
 Aussehen: leicht gelblicher Feststoff
 Ausbeute: 58,9% (144 mg)
 Rf: 0,67 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1); 0,02 (Kieselgel/EtOAc),
 0,30 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 68,83; H, 6,27; N, 9,17; O, 15,72
 ber. * 0,5 H₂O: C, 67,83; H, 6,34; N, 9,04; O, 16,78
 gef.: C, 67,43; H, 6,13; N, 9,08

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.66 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.75 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, CH₂), 3.52 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.06 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, ArH), 7.14 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.35 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.41 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.53 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, ArH), 7.60 (dd, *J* = 8.5 Hz, *J* = 1.9 Hz, 1H, ArH), 7.63 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.57 (s, 1H*, NH), 8.60 (s, 1H*, NH), 9.94 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.5 (CH₂), 32.5 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 55.8 (OCH₃), 55.8 (OCH₃), 59.8 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 111.1 (Ar-CH), 111.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 118.4 (2 x Ar-CH), 118.5 (2 x Ar-CH), 121.0 (Ar-CH), 121.3 (2 x Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.9 (Ar-C), 127.3 (Ar-C), 129.0 (2 x Ar-CH), 133.6 (Ar-C), 133.9 (Ar-C), 135.7 (Ar-C), 137.8 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 148.5 (Ar-C), 151.7 (Ar-C), 152.8 (CO), 164.7 (CO).

7.3.7.2 Aminophenyl- und Aminophenoxyessigsäure-Analoga

Chinoline-3-carbonsäure[2-({4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}carbamoyl)-methyl]-phenyl)-amid (WK-X-72)



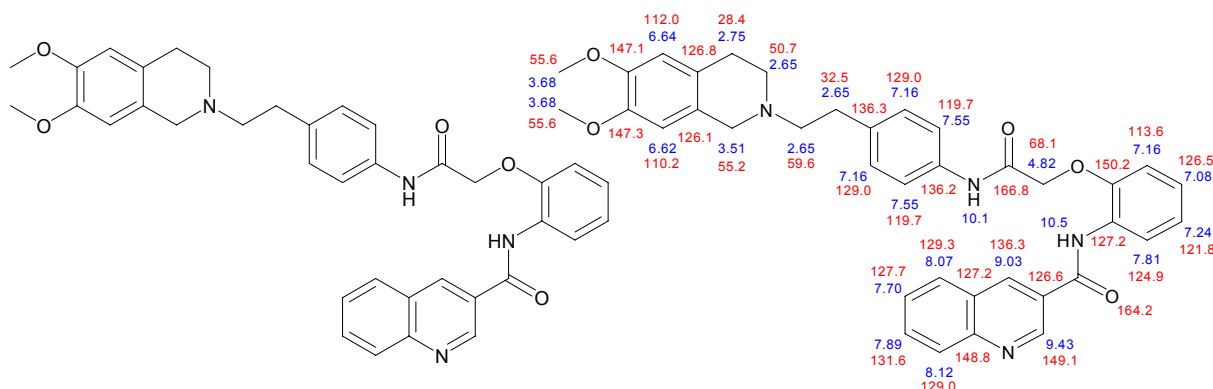
Herstellung:	AAV 3	
Ansatz:	0,4 mmol (178 mg) 2-(2-Amino-phenyl)- <i>N</i> -{4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-acetamid (WK-X-69)	
	1 mmol (172 mg) Chinolin-3-carbonsäure	
Summelformel:	C ₃₇ H ₃₆ N ₄ O ₄	
Mr:	600,7	
Smp.:	179°C	
Aussehen:	weißer Feststoff	
Ausbeute:	74% (178 mg)	
Rf:	0,71 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1)	
	0,03 (Kieselgel/EtOAc)	
EA:	ber.:	C, 73,98; H, 6,04; N, 9,33; O, 10,65
	ber. * 0,5 H ₂ O:	C, 72,89; H, 6,12; N, 9,19; O, 11,81
	gef.:	C, 72,76; H, 5,96; N, 9,22

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.65 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.75 (t, 2H, CH₂), 3.54 (s, 2H, CH₂), 3.84 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.61 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.14 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.23 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.34 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.42 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.46 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.70 (m, 2H, 2 x ArH), 7.88 (m, 1H, ArH), 8.02 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 8.10 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 8.92 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, ArH), 9.41 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, ArH), 10.25 (s, 1H*, NH), 10.87 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.3 (CH₂), 32.4 (CH₂), 40.4 (CH₂), 50.6 (CH₂), 55.1 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.5 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 119.6 (2 x Ar-CH), 125.5 (Ar-CH), 125.8 (Ar-CH), 126.0 (Ar-C), 126.6 (Ar-C), 126.6 (Ar-C), 127.4 (Ar-C), 127.5 (Ar-CH), 127.6 (Ar-CH), 128.9 (2 x Ar-CH), 129.0 (Ar-CH), 129.3 (Ar-CH), 130.6 (Ar-C), 130.9 (Ar-CH), 131.5 (Ar-CH), 135.8 (Ar-C), 136.2 (Ar-CH), 136.8 (Ar-C), 136.9 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.4 (Ar-C), 148.7 (Ar-C), 149.0 (Ar-CH), 164.0 (CO), 170.0 (CO).

Experimenteller Teil

N-(2-(2-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)phenylamino)-2-oxoethoxy)phenyl)chinolin-3-carboxamid (WK-X-83)



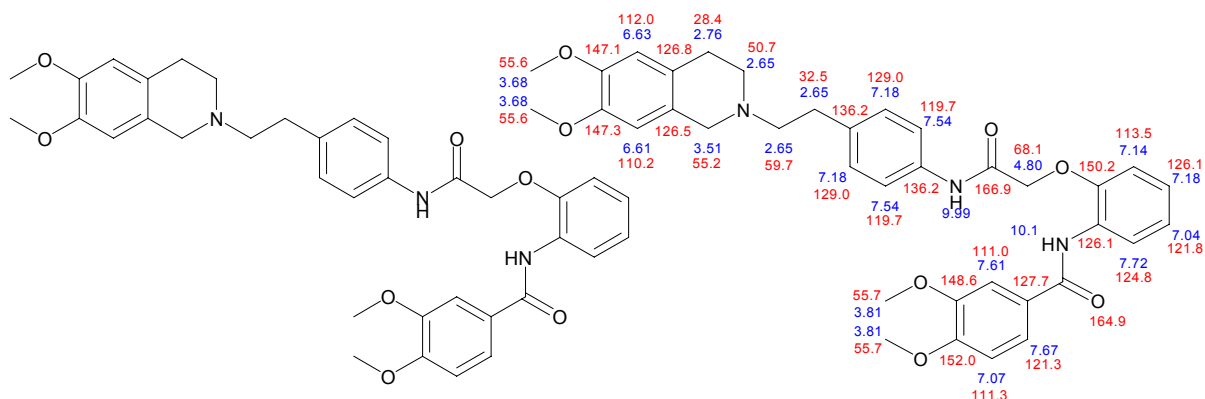
Herstellung:	AAV 2
Ansatz:	0,4 mmol (185 mg) 2-(2-Aminophenoxy)- <i>N</i> -(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1 <i>H</i>)-yl)ethyl)phenyl)acetamid (WK-X-82) 1 mmol (173 mg) Chinolin-3-carbonsäure
Summelformel:	C ₃₇ H ₃₆ N ₄ O ₅
Mr:	616,7
Smp.:	166°C
Aussehen:	hell gelber Feststoff
Ausbeute:	40% (110 mg)
Rf:	0,67 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1); 0,02 (Kieselgel/EtOAc), 0,60 (Kieselgel/ <i>n</i> -BuOH/NH ₃ 99:1)
EA:	ber.: C, 72,06; H, 5,88; N, 9,08; O, 12,97 ber. * 2/3 H ₂ O: C, 70,68; H, 5,99; N, 8,91 gef.: C, 70,40; H, 5,99; N, 8,95

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.60-2.69 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.76 (t, 2H, CH₂), 3.51 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 4.82 (s, 2H, OCH₂), 6.61 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.08 (dt, *J* = 7.5 Hz, 1H, ArH), 7.19 (d, 3H, 3 x ArH), 7.24 (dt, *J* = 8.5 Hz, 1H, ArH), 7.55 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.70 (dt, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.81 (dd, *J* = 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.89 (m, 1H, ArH), 8.07 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, ArH), 8.12 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, ArH), 9.03 (s, 1H, ArH), 9.43 (s, 1H, ArH), 10.07 (s, 1H*, NH), 10.47 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.6 (CH₂), 68.1 (OCH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 113.6 (Ar-CH), 119.7 (2 x Ar-CH), 121.8 (Ar-CH), 124.9 (Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.5 (Ar-CH), 126.6 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 127.2 (Ar-C), 127.2 (Ar-C), 127.7 (Ar-CH), 129.0 (Ar-CH), 129.0 (2 x Ar-CH), 129.3 (Ar-CH), 131.6 (Ar-CH), 136.2 (Ar-C), 136.2 (Ar-C), 136.3 (Ar-CH), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 148.8 (Ar-C), 149.1 (Ar-CH), 150.2 (Ar-C), 164.2 (CO), 166.8 (CO).

Experimenteller Teil

N-(2-(2-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)phenylamino)-2-oxoethoxy)phenyl)-3,4-dimethoxybenzamid (WK-X-84)



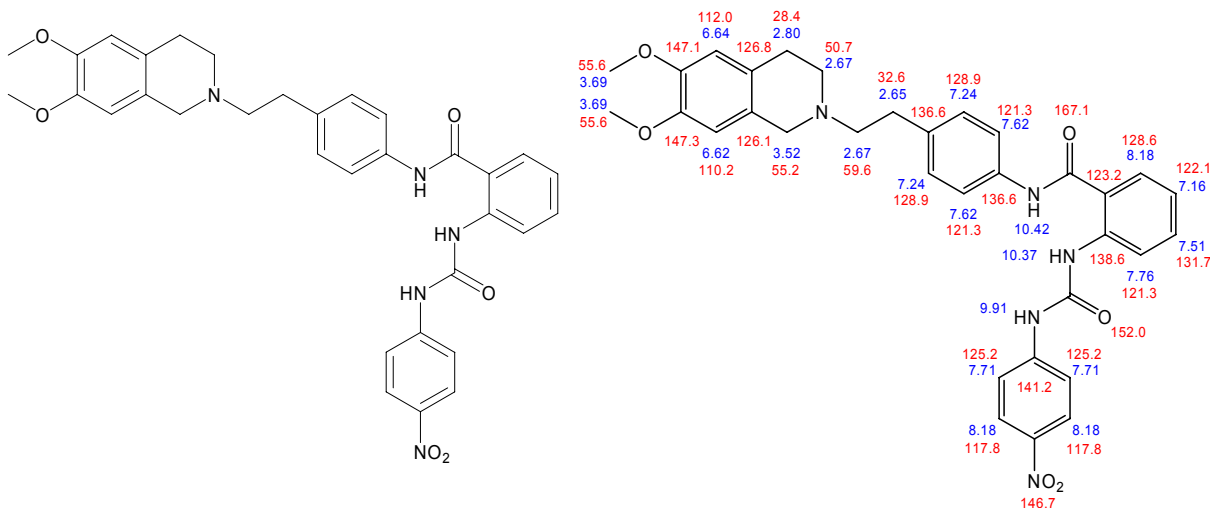
Herstellung:	AAV 2
Ansatz:	0,4 mmol (185 mg) 2-(2-Aminophenoxy)- <i>N</i> -(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1 <i>H</i>)-yl)ethyl)phenyl)acetamid (WK-X-82) 1 mmol (200 mg) 3,4-Dimethoxybenzoesäurechlorid
Summelformel:	C ₃₆ H ₃₉ N ₃ O ₇
Mr:	625,7
Smp.:	172°C
Aussehen:	hell beiger Feststoff
Ausbeute:	80,7% (202 mg)
Rf:	0,72 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1); 0,10 (Kieselgel/EtOAc), 0,56 (Kieselgel/ <i>n</i> -BuOH/NH ₃ 99:1)
EA:	ber.: C, 69,10; H, 6,28; N, 6,72; O, 17,90 ber. * 2/3 H ₂ O: C, 67,80; H, 6,37; N, 6,59 gef.: C, 67,65; H, 6,29; N, 6,52

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.61-2.69 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.76 (t, 2H, CH₂), 3.51 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 4.80 (s, 2H, OCH₂), 6.61 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.05 (m, 2H, 2 x ArH), 7.13 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.18 (m, 3H, 3 x ArH), 7.54 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.67 (dd, *J* = 1.9 Hz, 1H, ArH), 7.67 (dd, *J* = 8.5 Hz, 1H, ArH), 7.71 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 9.99 (s, 1H*, NH), 10.11 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 55.8 (OCH₃), 59.7 (CH₂), 68.1 (OCH₂), 110.2 (Ar-CH), 111.0 (Ar-CH), 111.3 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 113.5 (Ar-CH), 119.7 (2 x Ar-CH), 121.3 (Ar-CH), 121.8 (Ar-CH), 124.8 (Ar-CH), 126.1 (Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.5 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 127.7 (Ar-C), 129.0 (2 x Ar-CH), 136.2 (Ar-C), 136.2 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 148.6 (Ar-C), 150.2 (Ar-C), 152.0 (Ar-C), 164.9 (CO), 166.9 (CO).

7.3.8 Monographie eines Anthranilamids mit Harnstoff-Partialstruktur

1-(2-((4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)-phenyl)carbamoyl)-phenyl)-3-(4-nitrophenyl)harnstoff (WK-X-92)



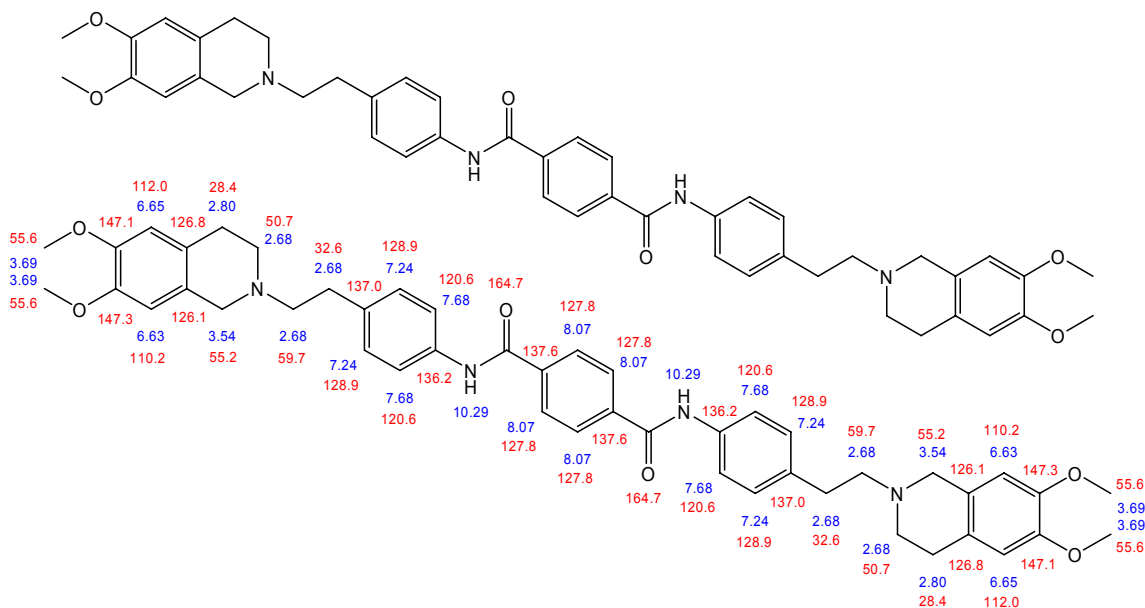
Herstellung:	AAV 5	
Edukte:	0,4 mmol (149 mg) 2-Amino- <i>N</i> -{4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-benzamid (WK-X-16) 0,4 mmol 4-Nitrophenylisocyanat	
Summelformel:	C ₃₃ H ₃₃ N ₅ O ₆	
Mr:	595,7	
Smp.:	171°C	
Aussehen:	gelblicher Feststoff	
Ausbeute:	50,2% (122 mg)	
Rf:	0,80 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1), 0,27 (Kieselgel/EtOAc), 0,77 (Kieselgel/ <i>n</i> -BuOH/NH ₃ 99:1),	
EA:	ber.:	C, 66,54; H, 5,58; N, 11,76; O, 16,12
	ber. * 0,5 EtOH:	C, 66,01; H, 5,87; N, 11,32; O, 16,81
	gef.:	C, 65,85; H, 5,87; N, 11,16

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.67 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.80 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH₂), 3.52 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.16 (dt, *J* = 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.24 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.51 (dt, *J* = 8.5 Hz, 1H, ArH), 7.62 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.71 (m, 2H, ArH), 7.76 (dd, *J* = 7.9, 1H, ArH), 8.18 (m, 3H, 3 x ArH), 9.90 (s, 1H*, NH), 10.37 (s, 1H*, NH), 10.43 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.6 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.6 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 117.8 (2 x Ar-CH), 121.1 (2 x Ar-CH), 121.3 (Ar-CH), 122.1 (Ar-CH), 123.2 (Ar-C), 125.2 (2 x Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 128.6 (Ar-CH), 128.9 (2 x Ar-CH), 131.7 (Ar-CH), 136.6 (Ar-C), 136.6 (Ar-C), 138.6 (Ar-C), 141.2 (Ar-C), 146.7 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 152.0 (CO), 167.1 (CO).

7.3.9 Monographie eines Dibenzoesäureamids

*N*¹,*N*⁴-bis(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)phenyl)terephthalamid (WK-Y-16)



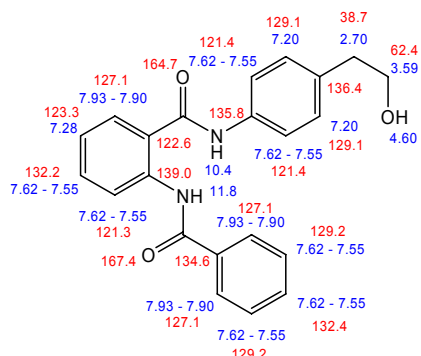
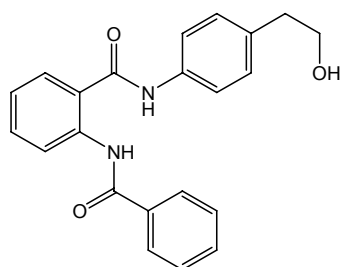
Herstellung: AAV 4
 Edukte 0,8 mmol (250 mg) 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4/WK-X-12)
 0,38 mmol (77 mg) Terephthalsäurechlorid
 Summelformel: C₄₆H₅₀N₄O₆
 Mr: 754,9
 Smp.: 282°C (unter Braufärbung)
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 12,3% (74 mg)
 Rf: 0,02 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1),
 0,05 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 73,19; H, 6,68; N, 7,42; O, 12,72
 ber. * 0,5 H₂O: C, 72,32; H, 6,73; N, 7,33; O, 13,61
 gef.: C, 72,00; H, 6,37; N, 7,51;

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.68 (m, 12H, 6 x CH₂), 2.80 (t, *J* = 7.4 Hz, 4H, 2 x CH₂), 3.54 (s, 4H, 2 x CH₂), 3.69 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.69 (s, 6H, 2 x OCH₃), 6.63 (s, 2H, 2 x ArH), 6.65 (s, 2H, 2 x ArH), 7.24 (d, *J* = 8.5 Hz, 4H, 4 x ArH), 7.68 (d, *J* = 8.5 Hz, 4H, 4 x ArH), 8.07 (s, 4H, 4 x ArH), 10.29 (s, 2H*, 2 x NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (2 x CH₂), 32.6 (2 x CH₂), 50.7 (2 x CH₂), 55.2 (2 x CH₂), 55.6 (4 x OCH₃), 59.7 (2 x CH₂), 110.2 (2 x Ar-CH), 112.0 (2 x Ar-CH), 120.6 (4 x Ar-CH), 126.1 (2 x Ar-C), 126.8 (2 x Ar-C), 127.8 (4 x Ar-CH), 128.9 (4 x Ar-CH), 136.2 (2 x Ar-C), 137.0 (2 x Ar-C), 137.6 (2 x Ar-C), 147.1 (2 x Ar-C), 147.3 (2 x Ar-C), 164.7 (2 x CO).

7.3.10 Monographien von Tariquidar-Analoga ohne basische Amino-Partialstruktur

2-Benzoylamino-*N*-[4-(2-hydroxy-ethyl)-phenyl]benzamid (WK-X-7)

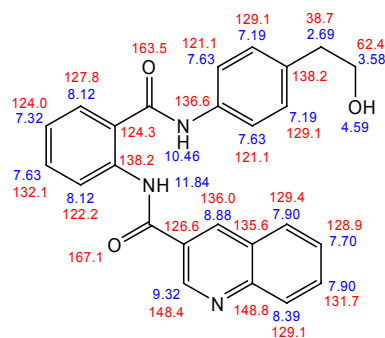
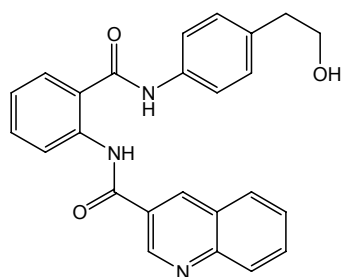


Herstellung: AAV 4
 Edukte: 2,5 mmol 2-Amino-*N*-[4-(2-hydroxy-ethyl)-phenyl]-benzamid (17/WK-X-3)
 2,5 mmol Benzoylchlorid
 Summelformel: C₂₂H₂₀N₂O₃
 Mr: 360,4
 Smp.: 204°C
 Aussehen: weißer, fein kristalliner Feststoff
 Ausbeute: 64% (573 mg)
 Rf: 0,72 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
 0,69 (Kieselgel/EtOAc)
 EA: ber.: C, 73,32; H, 5,59; N, 7,77; O, 13,32
 gef.: C, 72,97; H, 5,60; N, 7,72

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.70 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH₂), 3.59 (m, 2H, OCH₂), 4.60 (t, *J* = 5 Hz, 1H*, OH), 7.20 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.27 (dt, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.59 (m, 6H, 6 x ArH), 7.92 (m, 3H, 3 x ArH), 8.52 (dd, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 10.46 (s, 1H*, NH), 10.80 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 38.7 (CH₂), 62.4 (OCH₂), 121.3 (Ar-CH), 121.4 (2 x Ar-CH), 122.6 (Ar-C), 123.3 (Ar-CH), 127.1 (Ar-CH), 127.1 (2 x Ar-CH), 129.1 (2 x Ar-CH), 129.2 (2 x Ar-CH), 132.2 (Ar-C), 132.4 (Ar-CH), 134.6 (Ar-C), 135.8 (Ar-C), 136.4 (Ar-C), 139.0 (Ar-C), 164.7 (CO), 167.5 (CO).

Chinolin-3-carbonsäure{2-[4-(2-hydroxy-ethyl)-phenyl]carbamoyl]-phenyl}-amid (WK-X-8)



Herstellung: AAV 3

Experimenteller Teil

Edukte: 2 mmol 2-Amino-*N*-[4-(2-hydroxy-ethyl)-phenyl]-benzamid
(17/WK-X-3)
2 mmol Chinolin-3-carbonsäure

Summelformel: C₂₅H₂₁N₃O₃

Mr: 411,4

Smp.: 195°C

Aussehen: weißer, fein kristalliner Feststoff

Ausbeute: 33,8% (278 mg)

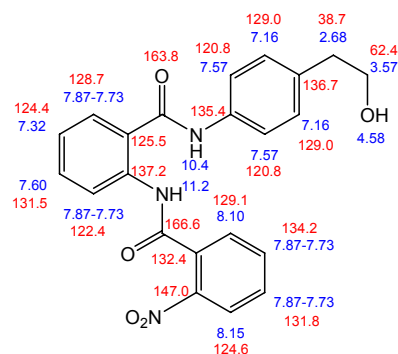
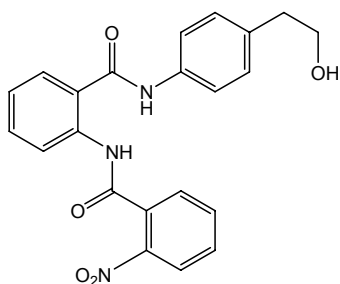
Rf: 0,61 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
0,58 (Kieselgel/EtOAc)

EA: ber.: C, 72,98; H, 5,14; N, 10,21; O, 11,67
ber. * 5/6 H₂O: C, 70,41; H, 5,36; N, 9,85; O, 14,38
gef.: C, 70,45; H, 5,36; N, 9,71

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.69 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂), 3.59 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH₂), 4.59 (t, *J* = 5.3 Hz, 1H*, OH), 7.19 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.32 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.63 (m, 3H, 3 x ArH), 7.71 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 7.90 (m, 2H, 2 x ArH), 8.12 (m, 2H, 2 x ArH), 8.39 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 8.88 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, ArH), 9.33 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, ArH), 10.46 (s, 1H*, NH), 11.84 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 38.7 (CH₂), 62.4 (OCH₂), 121.1 (2 x Ar-CH), 122.2 (Ar-CH), 124.0 (Ar-CH), 124.3 (Ar-C), 126.6 (Ar-C), 127.5 (Ar-C), 127.8 (Ar-CH), 128.9 (Ar-CH), 129.1 (Ar-CH), 129.1 (2 x Ar-CH), 129.5 (Ar-CH), 131.7 (Ar-CH), 132.1 (Ar-CH), 135.6 (Ar-C), 136.0 (Ar-CH), 136.6 (Ar-C), 138.2 (Ar-C), 148.4 (Ar-CH), 148.8 (Ar-C), 163.5 (CO), 167.1 (CO).

2-(2-Nitro-benzoylamino)-*N*-[4-(2-hydroxy-ethyl)-phenyl]benzamid (WK-X-9)



Herstellung: AAV 4

Edukte: 2,5 mmol 2-Amino-*N*-[4-(2-hydroxy-ethyl)-phenyl]-benzamid
(17/WK-X-3)
2,5 mmol 2-Nitrobenzoylchlorid

Summelformel: C₂₂H₁₉N₃O₅

Mr: 405,4

Smp.: 176°C

Aussehen: weißer kristalliner Feststoff

Ausbeute: 73,2% (742 mg)

Rf: 0,78 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
0,59 (Kieselgel/EtOAc)

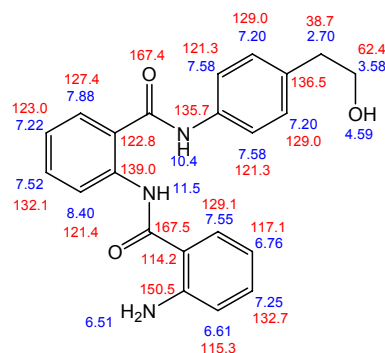
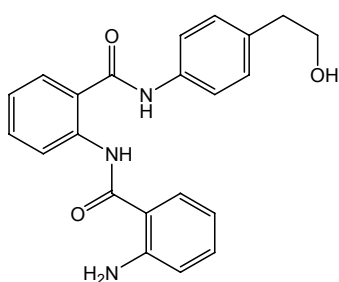
EA: ber.: C, 65,18; H, 4,72; N, 10,37; O, 19,73
ber. * 1/8 H₂O: C, 64,82; H, 4,76; N, 10,31; O, 20,11
gef.: C, 64,86; H, 4,83; N, 10,17

Experimenteller Teil

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.68 (t, J = 7.1 Hz, 2H, CH₂), 3.57 (m, 2H, OCH₂), 4.58 (t, J = 5.3 Hz, 1H*, OH), 7.16 (d, J = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.32 (dt, J = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.59 (m, 3H, 3 x ArH), 7.76 (m, 2H, 2 x ArH), 7.85 (m, 2H, 2 x ArH), 8.10 (dd, J = 8.2 Hz, 1H, ArH), 8.16 (d, J = 8.2 Hz, 1H, ArH), 10.38 (s, 1H*, NH), 11.22 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 38.7 (CH₂), 62.4 (OCH₂), 120.8 (2 x Ar-CH), 122.4 (Ar-CH), 124.4 (Ar-CH), 124.6 (Ar-CH), 125.5 (Ar-C), 128.7 (Ar-CH), 129.0 (2 x Ar-CH), 129.1 (Ar-CH), 131.5 (Ar-CH), 131.8 (Ar-CH), 132.4 (Ar-C), 134.2 (Ar-CH), 135.4 (Ar-C), 136.8 (Ar-C), 137.2 (Ar-C), 147.0 (Ar-C), 163.8 (CO), 166.6 (CO).

2-(2-Amino-benzoylamino)-*N*-[4-(2-hydroxy-ethyl)-phenyl]benzamid (WK-X-20)



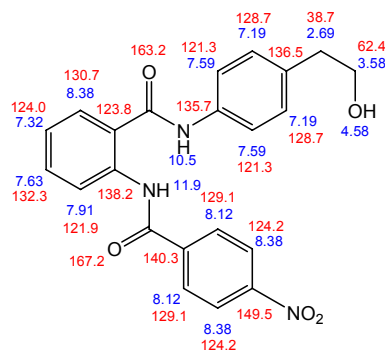
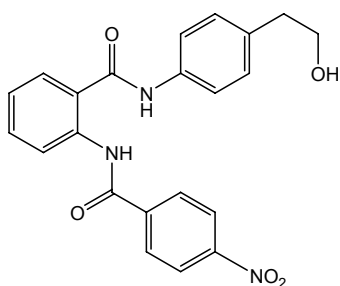
Herstellung:	AAV 2	
Edukte:	1 mmol 2-(2-Nitro-benzoylamino)- <i>N</i> -[4-(2-hydroxy-ethyl)-phenyl]-benzamid (17 /WK-X-3)	
Summelformel:	C ₂₂ H ₂₁ N ₃ O ₃	
Mr:	375,4	
Smp.:	206°C	
Aussehen:	weißer Feststoff	
Ausbeute:	62,9% (236 mg)	
Rf:	0,77 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1) 0,69 (Kieselgel/EtOAc)	
EA:	ber.:	C, 70,38; H, 5,64; N, 11,19; O, 12,79
	ber. * 0,33 H ₂ O:	C, 69,28; H, 5,73; N, 11,02; O, 13,98
	gef.:	C, 69,14; H, 5,72; N, 10,78

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.70 (t, J = 7.1 Hz, 2H, CH₂), 3.59 (q, J = 6.3 Hz, 2H, OCH₂), 4.59 (t, J = 5.3 Hz, 1H*, OH), 6.51 (s, 2H*, HH₂), 6.60 (dt, J = 8.2 Hz, 1H, ArH), 6.76 (dd, J = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.23 (m, 4H, 4 x ArH), 7.54 (m, 4H, 4 x ArH), 7.88 (dd, J = 7.9 Hz, 1H, ArH), 8.41 (d, J = 8.2 Hz, 1H, ArH), 10.42 (s, 1H*, NH), 11.45 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 38.7 (CH₂), 62.4 (OCH₂), 114.2 (Ar-C), 115.3 (Ar-CH), 117.1 (Ar-CH), 121.3 (2 x Ar-CH), 121.4 (Ar-CH), 122.9 (Ar-C), 123.0 (Ar-CH), 127.4 (Ar-CH), 129.0 (2 x Ar-CH), 129.1 (Ar-CH), 132.1 (Ar-CH), 132.7 (Ar-CH), 135.7 (Ar-C), 136.5 (Ar-C), 139.0 (Ar-C), 150.5 (Ar-C), 167.4 (CO), 167.5 (CO).

Experimenteller Teil

2-(4-Nitrobenzoylamino)-*N*-[4-(2-hydroxy-ethyl)-phenyl]benzamid (WK-X-27)



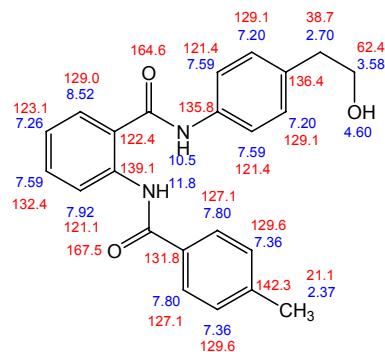
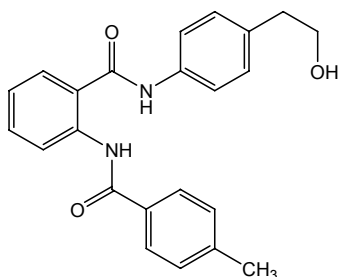
Herstellung:	AAV 4	
Edukte:	2 mmol	2-Amino- <i>N</i> -[4-(2-hydroxy-ethyl)-phenyl]-benzamid (17/WK-X-3)
	2 mmol	4-Nitrobenzoylchlorid
Summelformel:	C ₂₂ H ₁₉ N ₃ O ₅	
Mr:	405,4	
Smp.:	174°C	
Aussehen:	schwach gelblicher kristalliner Feststoff	
Ausbeute:	58,1% (471 mg)	
Rf:	0,79 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1)	
	0,67 (Kieselgel/EtOAc)	
EA:	ber.:	C, 65,18; H, 4,72; N, 10,37; O, 19,73
	ber. * 1/8 H ₂ O:	C, 64,82; H, 4,76; N, 10,31; O, 20,11
	gef.:	C, 64,82; H, 4,79; N, 10,05

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.70 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH₂), 3.58 (m, 2H, OCH₂), 4.59 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H*, OH), 7.19 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.32 (dt, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 7.61 (m, 3H, 3 x ArH), 7.92 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 8.12 (m, 2H, 2 x ArH), 8.39 (m, 3H, 3 x ArH), 10.46 (s, 1H*, NH), 11.86 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 38.7 (CH₂), 62.4 (OCH₂), 121.3 (2 x Ar-CH), 121.9 (Ar-CH), 123.8 (Ar-C), 124.0 (Ar-CH), 124.2 (2 x Ar-CH), 128.7 (2 x Ar-CH), 129.1 (2 x Ar-CH), 130.7 (Ar-CH), 132.3 (Ar-CH), 135.7 (Ar-C), 136.5 (Ar-C), 138.2 (Ar-C), 140.3 (Ar-C), 149.5 (Ar-C), 163.2 (CO), 167.2 (CO).

Experimenteller Teil

2-(4-Toluoylamino)-*N*-[4-(2-hydroxy-ethyl)-phenyl]benzamid (WK-X-28)



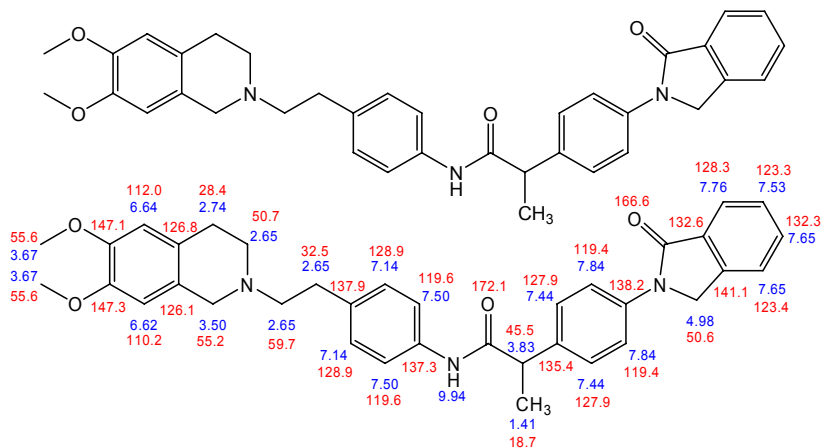
Herstellung:	AAV 4	
Edukte:	2 mmol	2-Amino- <i>N</i> -[4-(2-hydroxy-ethyl)-phenyl]-benzamid (17/WK-X-3)
	2 mmol	4-Toluoylchlorid
Summelformel:	C ₂₃ H ₂₂ N ₂ O ₃	
Mr:	374,4	
Smp.:	202°C	
Aussehen:	weißer Feststoff	
Ausbeute:	53,4 % (400 mg)	
Rf:	0,78 (Kieselgel/MeOH/NH ₃ 99:1)	
	0,65 (Kieselgel/EtOAc)	
EA:	ber.:	C, 73,78; H, 5,92; N, 7,48; O, 12,82
	ber. * 0,1 H ₂ O:	C, 73,42; H, 5,95; N, 7,45; O, 13,18
	gef.:	C, 73,45; H, 6,03; N, 7,41

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.37 (s, 3H, CH₃), 2.71 (t, *J* = 7 Hz, 2H, CH₂), 3.59 (m, 2H, OCH₂), 4.60 (t, *J* = 5.3 Hz, 1H*, OH), 7.21 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.26 (dt, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.36 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.59 (m, 3H, 3 x ArH), 7.80 (dd, *J* = 8.2 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.92 (dd, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 8.52 (dd, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 10.45 (s, 1H*, NH), 11.77 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 21.1 (CH₃), 38.7 (CH₂), 62.4 (OCH₂), 121.1 (Ar-CH), 121.4 (2 x Ar-CH), 122.4 (Ar-C), 123.1 (Ar-CH), 127.1 (2 x Ar-CH), 129.0 (Ar-CH), 129.1 (2 x Ar-CH), 129.6 (2 x Ar-CH), 131.8 (Ar-C), 132.4 (Ar-CH), 135.8 (Ar-C), 136.4 (Ar-C), 139.1 (Ar-C), 142.3 (Ar-C), 164.6 (CO), 167.5 (CO).

7.3.11 Monographien von 4-Aminophenylethylaminen mit Arzneistoff-Partialstruktur

N-{4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-2-[4-(1-oxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-phenyl]-propionamid (WK-X-54)



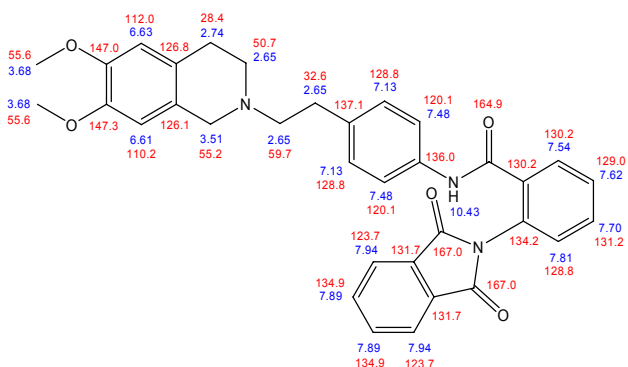
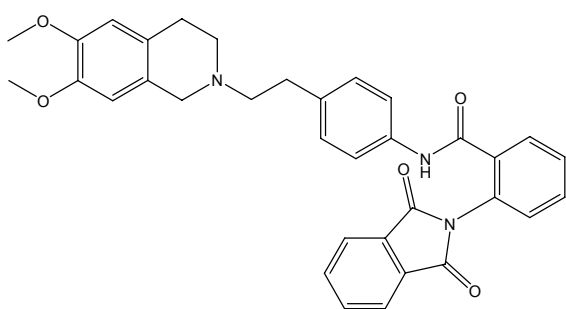
Herstellung: AAV 3
 Edukte: 0,5 mmol (156 mg) 4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4/WK-X-12)
 0,75 mmol (211 mg) Indoprofen (α -Methyl-*p*-1-oxo-2-isoindoliny)-benzenessigsäure
 Summelformel: C₃₆H₃₇N₃O₄
 Mr: 575,7
 Smp.: 177°C
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 73,4% (207 mg)
 Rf: 0,51 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
 0,09 (Kieselgel/EtOAc)
 EA: ber.: C, 75,11; H, 6,48; N, 7,30; O, 11,12
 ber. * ²/₃ H₂O: C, 73,57; H, 6,57; N, 7,15; O, 12,70
 gef.: C, 73,39; H, 6,50; N, 7,16

¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ = 1.42 (d, *J* = 7 Hz, 3H, CH₃), 2.59-2.68 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.73 (t, 2H, CH₂), 3.49 (s, 2H, CH₂), 3.67 (s, 3H, OCH₃), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.82 (q, *J* = 7 Hz, 1H, CH), 4.98 (s, 2H, CH₂), 6.60 (s, 1H, ArH), 6.63 (s, 1H, ArH), 7.14 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.44 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.51 (m, 3H, 3 x ArH), 7.66 (m, 2H, 2 x ArH), 7.76 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.84 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 9.95 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz): δ = 18.7 (CH₃), 28.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 45.5 (CH), 50.6 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.7 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 119.4 (2 x Ar-CH), 119.6 (2 x Ar-CH), 123.3 (Ar-CH), 123.4 (Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 127.9 (2 x Ar-CH), 128.3 (Ar-CH), 128.9 (2 x Ar-CH), 132.3 (Ar-CH), 132.6 (Ar-C), 135.4 (Ar-C), 137.3 (Ar-C), 137.9 (Ar-C), 138.2 (Ar-C), 141.1 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 166.6 (CO), 172.1 (CO).

Experimenteller Teil

N-{4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenyl}-2-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-isindol-2-yl)-benzamid (WK-X-55)



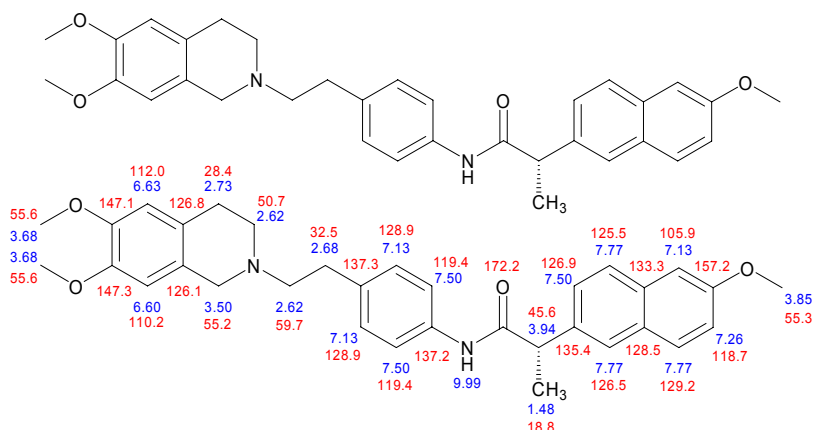
Herstellung: AAV 3
Edukte 0,5 mmol (156 mg) 4-[2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4/WK-X-12)
0,75 mmol (200 mg) 2-Phthalimidobenzoesäure
Summelformel: C₃₄H₃₁N₃O₅
Mr: 561,6
Smp.: 172 °C
Aussehen: weißer Feststoff
Ausbeute: 64% (170 mg)
Rf: 0,73 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1), 0,11 (Kieselgel/EtOAc),
0,46 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)
EA: ber.: C, 72,71; H, 5,56; N, 7,48; O, 14,24
gef.: C, 72,44; H, 5,75; N, 7,31

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 2.65 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.74 (t, 2H, CH₂), 3.51 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 6.61 (s, 1H, ArH), 6.63 (s, 1H, ArH), 7.13 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.49 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.54 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 7.62 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.70 (dt, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.81 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.89 (m, 2H, 2 x ArH), 7.94 (m, 2H, 2 x ArH), 10.43 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 28.4 (CH₂), 32.6 (CH₂), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.7 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 120.1 (2 x Ar-CH), 123.7 (2 x Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 128.8 (3 x Ar-CH), 129.0 (Ar-CH), 130.2 (Ar-CH), 130.3 (Ar-C), 131.2 (Ar-CH), 131.7 (2 x Ar-C), 134.2 (Ar-C), 134.9 (2 x Ar-CH), 136.0 (Ar-C), 137.1 (Ar-C), 147.0 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 164.9 (CO), 167.0 (2 x CO) .

Experimenteller Teil

(S)-N-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1H)-yl)ethyl)-phenyl)-2-(6-methoxynaphthalen-2-yl)propanamid (WK-X-62)



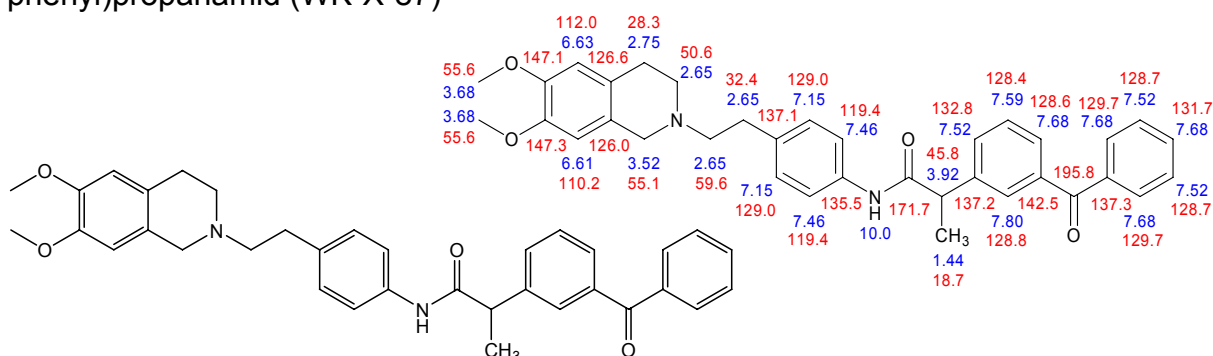
Herstellung: AAV 3
 Ansatz: 0,5 mmol (156 mg) 4-[2-(3,4-dihydro-1H-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (**4**/WK-X-12)
 0,75 mmol (173 mg) Naproxen
 Summelformel: C₃₃H₃₆N₂O₄
 Mr: 524,7
 Smp.: 165°C
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 56% (146 mg)
 Rf: 0,76 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1); 0,12 (Kieselgel/EtOAc),
 0,68 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 75,55; H, 6,92; N, 5,34; O, 12,20
 ber. * 1/3 H₂O: C, 74,69; H, 6,96; N, 5,28; O, 13,07
 gef.: C, 74,78; H, 6,66; N, 5,50

¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): δ = 1.48 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, CH₃), 2.62 (m, 4H, 2 x CH₂), 2.68 (t, 2H, CH₂), 2.73 (t, 2H, CH₂), 3.50 (s, 2H, CH₂), 3.67 (s, 3H, OCH₃), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.94 (q, *J* = 6.9 Hz, 1H, CH), 6.60 (s, 1H, ArH), 6.63 (s, 1H, ArH), 7.13 (m, 3H, 3 x ArH), 7.26 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, ArH), 7.50 (m, 3H, 3 x ArH), 7.77 (m, 3H, 3 x ArH), 9.99 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 125 MHz): δ = 18.8 (CH₃), 28.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 46.0 (CH), 50.7 (CH₂), 55.2 (CH₂), 55.3 (OCH₃), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.7 (CH₂), 105.9 (Ar-CH), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 118.7 (Ar-CH), 119.4 (2 x Ar-CH), 125.5 (Ar-CH), 126.1 (Ar-C), 126.5 (Ar-CH), 126.8 (Ar-C), 126.9 (Ar-CH), 128.5 (Ar-C), 128.9 (2 x Ar-CH), 129.2 (Ar-CH), 133.3 (Ar-C), 135.4 (Ar-C), 137.2 (Ar-C), 137.3 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 157.2 (Ar-C), 172.2 (CO).

Experimenteller Teil

2-(3-Benzoylphenyl)-*N*-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)phenyl)propanamid (WK-X-87)



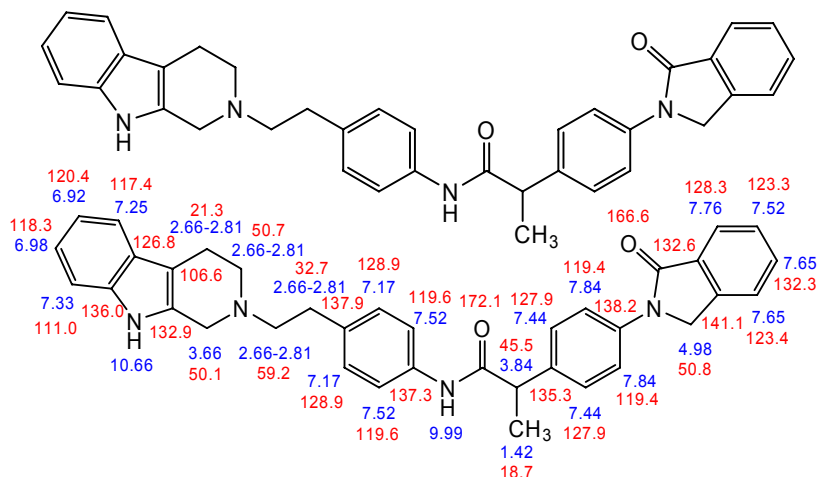
Herstellung: AAV 3
 Ansatz: 0,4 mmol (179 mg) 4-[2-(6,7-Dimethoxy-3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4/WK-X-12)
 1 mmol (254 mg) Ketoprofen
 Summelformel: C₃₅H₃₆N₂O₄
 Mr /Exakte Masse: 548,7 / 548,2675
 Smp.: 74°C
 Aussehen: leicht beiger Feststoff
 Ausbeute: 81,1% (178 mg)
 Rf: 0,71 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1); 0,07 (Kieselgel/EtOAc),
 0,69 (Kieselgel/*n*-BuOH/NH₃ 99:1)
 MS: 549,3 (73%), 430,1 (8%), 307,1 (23%), 289,1 (13%), 206,2 (100%), 192,1 (18%), 165,1 (14%)
 EA: ber.: C, 76,62; H, 6,61; N, 5,11; O, 11,66
 ber. * 1 H₂O: C, 74,18; H, 6,76; N, 4,94; O, 14,12
 gef.: C, 74,00; H, 6,36; N, 4,79

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 1.44 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, CH₃), 2.62-2.76 (m, 8H, 4 x CH₂), 3.53 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.92 (q, *J* = 6.9 Hz, 1H, CH), 6.61 (s, 1H, ArH), 6.63 (s, 1H, ArH), 7.15 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.46 (dt, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.53 (m, 3H, 3 x ArH), 7.59 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 7.64-7.72 (m, 4H, 4 x ArH), 7.80 (s, 1H, ArH), 10.34 (s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 18.7 (CH₃), 28.3 (CH₂), 32.4 (CH₂), 45.8 (CH₂), 50.6 (CH₂), 55.1 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.6 (CH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 119.4 (2 x Ar-CH), 126.0 (Ar-C), 126.6 (Ar-C), 128.4 (Ar-CH), 128.6 (Ar-CH), 128.7 (2 x Ar-CH), 128.8 (Ar-CH), 129.0 (2 x Ar-CH), 129.7 (2 x Ar-CH), 131.7 (Ar-CH), 132.8 (Ar-CH), 135.5 (Ar-C), 137.1 (Ar-C), 137.2 (Ar-C), 137.3 (Ar-C), 142.5 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 171.7 (CO), 195.8 (CO).

Experimenteller Teil

N-(4-(2-(3,4-dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)ethyl)phenyl)-2-(4-(1-oxoisoindolin-2-yl)phenyl)propionamid (WK-Y-9)



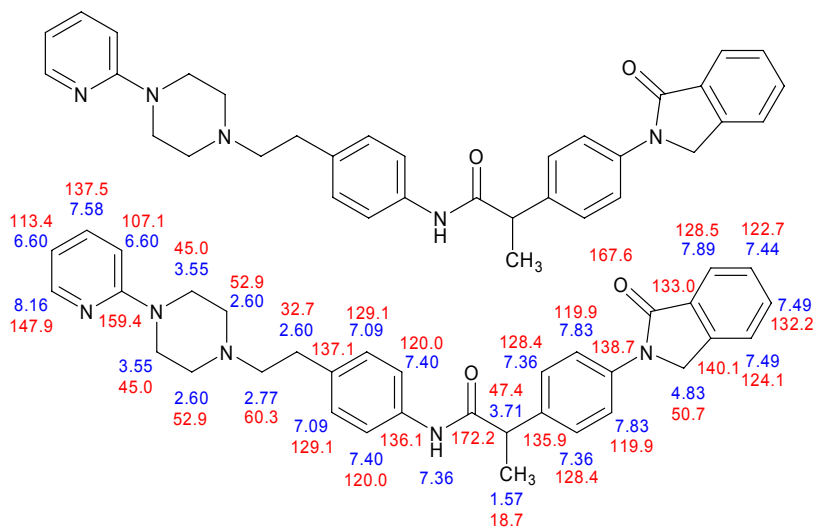
Herstellung: AAV 3
 Edukt: 0,5 mmol (146 mg) 4-(2-(3,4-Dihydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2(9*H*)-yl)ethyl)benzenamin (**43**/WK-Y-6)
 0,75 mmol (211 mg) Indoprofen
 Summelformel: C₃₆H₃₄N₄O₂
 Mr: 554,7
 Smp.: 222°C (unter Braunfärbung)
 Aussehen: gelblicher Feststoff
 Ausbeute: 72% (240 mg)
 Rf: 0,72 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1); 0,09 (Kieselgel/EtOAc),
 0,77 (Kieselgel/*n*-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 77,95; H, 6,18; N, 10,10; O, 5,77
 ber. * 0,5 H₂O: C, 76,71; H, 6,26; N, 9,94; O, 7,10
 gef.: C, 76,85; H, 6,21; N, 9,99

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 1.42 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, CH₃), 2.66-2.81 (m, 8H, 4 x CH₂), 3.66 (s, 2H, CH₂), 3.84 (q, *J* = 6.9 Hz, 1H, CH), 4.98 (s, 2H, CH₂), 6.92 (dt, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 6.98 (dt, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.17 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.25 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, ArH), 7.33 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.44 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.52 (m, 3H, 3 x ArH), 7.65 (m, 2H, 2 x ArH), 7.76 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.84 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, 2 x ArH), 9.99 (s, 1H*, NH), 10.66 (s, 1H*, Indol-NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 18.7 (CH₃), 21.3 (CH₂), 32.7 (CH₂), 45.5 (CH), 50.1 (CH₂), 50.6 (CH₂), 50.8 (CH₂), 59.2 (CH₂), 106.6 (Ar-C), 111.0 (Ar-CH), 117.4 (Ar-CH), 118.3 (Ar-CH), 119.4 (2 x Ar-CH), 119.6 (2 x Ar-CH), 120.4 (Ar-CH), 123.3 (Ar-CH), 123.4 (Ar-CH), 126.8 (Ar-C), 127.9 (2 x Ar-CH), 128.3 (Ar-CH), 128.9 (2 x Ar-CH), 132.3 (Ar-CH), 132.6 (Ar-C), 132.9 (Ar-C), 135.3 (Ar-C), 136.0 (Ar-C), 137.7 (Ar-C), 137.9 (Ar-C), 138.2 (Ar-C), 141.1 (Ar-C), 166.6 (CO), 172.1 (CO).

Experimenteller Teil

2-(4-(1-Oxoisindolin-2-yl)phenyl)-*N*-(4-(2-(4-(pyridin-2-yl)piperazin-1-yl)ethyl)phenyl)propanamid (WK-Y-10)



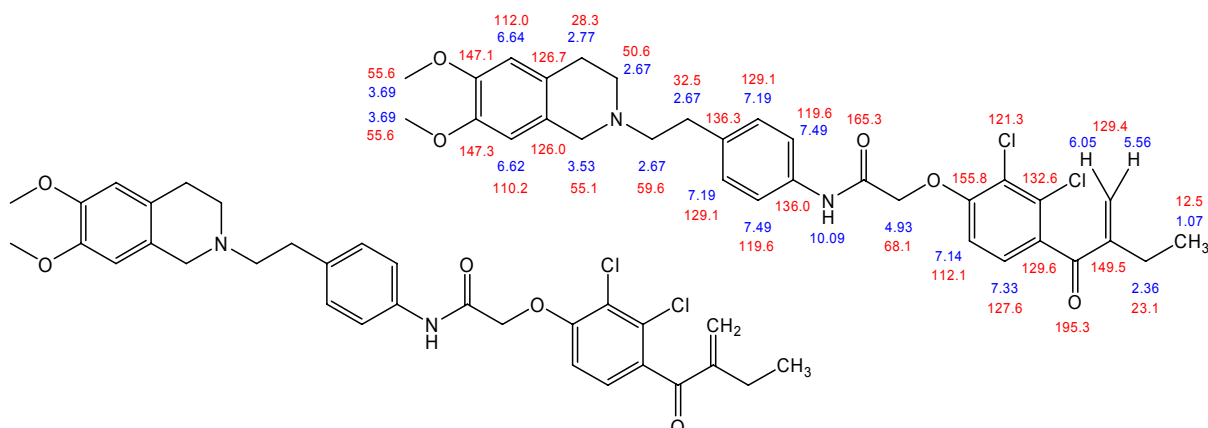
Herstellung: AAV 3
 Edukt: 0,5 mmol (141 mg) 4-(2-(4-(Pyridin-2-yl)piperazin-1-yl)ethyl)benzen-amin (**44**/WK-Y-7)
 0,75 mmol (211 mg) Indoprofen
 Summelformel: C₃₄H₃₅N₅O₂
 Mr: 545,7
 Smp.: 224°C (unter Braunfärbung)
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 85% (233 mg)
 Rf: 0,72 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1); 0,11 (Kieselgel/EtOAc),
 0,42 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 74,84; H, 6,47; N, 12,83; O, 5,86
 ber. * 3/4 H₂O: C, 73,38; H, 6,56; N, 12,59; O, 7,48
 gef.: C, 73,21; H, 6,67; N, 12,26

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ = 1.56 (d, *J* = 7 Hz, 3H, CH₃), 2.60 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.77 (m, 2H, CH₂), 3.55 (t, *J* = 4.9 Hz, 4H, 2 x CH₂), 3.71 (q, *J* = 7.2 Hz, 1H, CH), 4.83 (s, 2H, CH₂), 6.60 (m, 2H, 2 x ArH), 7.09 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.40 (m, 4H + 1H*, 4 x ArH, NH), 7.45 (m, 1H, ArH), 7.49 (m, 2H, 2 x ArH), 7.58 (dt, *J* = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.83 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.89 (dd, *J* = 7.6 Hz, 1H, ArH), 8.16 (dd, *J* = 5.5 Hz, 1H, ArH).

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ = 18.7 (CH₃), 32.7 (CH₂), 45.0 (2 x CH₂), 47.4 (CH), 50.7 (CH₂), 52.9 (2 x CH₂), 60.3 (CH₂), 107.1 (Ar-CH), 113.4 (Ar-CH), 119.9 (2 x Ar-CH), 120.0 (2 x Ar-CH), 122.7 Ar-CH), 124.1 (Ar-CH), 128.4 (2 x Ar-CH), 128.5 (Ar-CH), 129.1 (2 x Ar-CH), 132.2 (Ar-CH), 133.0 (Ar-C), 135.9 (Ar-C), 136.1 (Ar-C), 137.1 (Ar-C), 137.5 (Ar-CH), 138.7 (Ar-C), 140.1 (Ar-C), 147.9 (Ar-CH), 159.4 (Ar-C), 167.6 (CO), 172.2 (CO).

Experimenteller Teil

2-(2,3-dichloro-4-(2-methylenebutanoyl)phenoxy)-*N*-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)phenyl)acetamid (WK-Y-12)



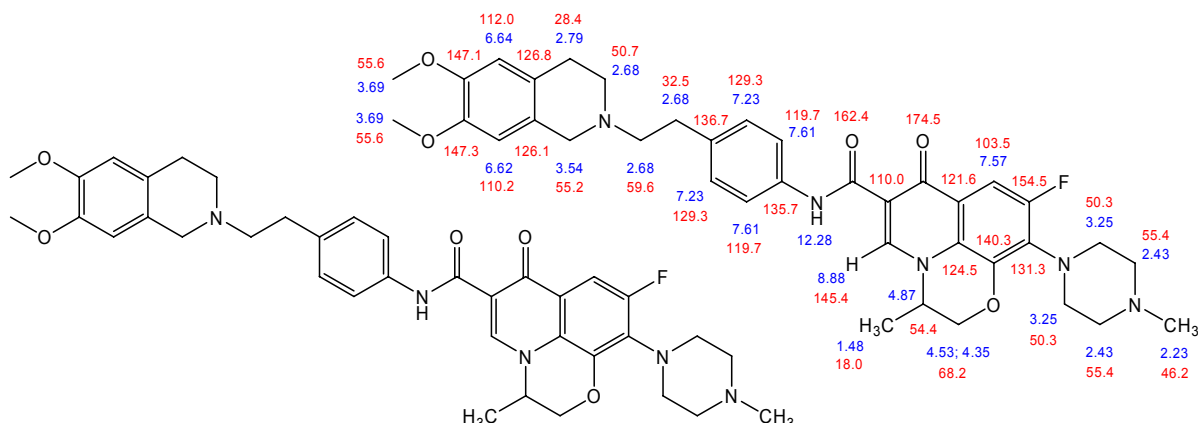
Herstellung: AAV 3
 Edukt: 0,7 mmol (219 mg) 4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (4/WK-X-12)
 1 mmol (303 mg) Ethacrynsäure
 Summelformel: C₃₂H₃₄Cl₂N₂O₅
 Mr: 597,5
 Smp.: 127°C
 Aussehen: weißer kristalliner Feststoff
 Ausbeute: 85% (357 mg)
 Rf: 0,71 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1); 0,09 (Kieselgel/EtOAc),
 0,40 (Kieselgel/n-BuOH/NH₃ 99:1)
 EA: ber.: C, 64,32; H, 5,74; Cl, 11,87; N, 4,69; O,13,39
 ber. * 0,1 H₂O: C, 64,13; H, 5,75; Cl, 11,83; N, 4,67; O,13,61
 gef.: C, 64,03; H, 5,75; N, 4,73

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 1.07 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, CH₃), 2.36 (q, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH₂), 2.63-2.70 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.77 (t, 2H, CH₂), 3.53 (s, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 4.93 (s, 2H, OCH₂), 5.56 (s, 1H, 1H CH₂=C), 6.05 (s, 1H, 1H CH₂=C), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.14 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H, ArH), 7.19 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.33 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H, ArH), 7.49 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 10.09 (br, s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 12.5 (CH₃), 23.1 (CH₂), 28.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 50.6 (CH₂), 55.1 (CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.5 (CH₂), 68.1 (OCH₂), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 112.1 (Ar-CH), 119.6 (2 x Ar-CH), 121.3 (Ar-C), 126.0 (Ar-C), 126.9 (Ar-C), 127.6 (Ar-CH), 129.1 (2 x Ar-CH), 129.4 (CH₂=), 129.6 (Ar-C), 132.6 (Ar-C), 136.0 (Ar-C), 136.3 (Ar-C), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 149.5 (Ar-C), 155.8 (Ar-C), 165.3 (CO), 195.3 (CO).

Experimenteller Teil

N-(4-(2-(6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)ethyl)-phenyl)-9-fluoro-3-methyl-10-(4-methylpiperazin-1-yl)-7-oxo-3,7-dihydro-2*H*-[1,4]oxazino[2,3,4-*ij*]chinolin-6-carboxamid (WK-Y-13)



Herstellung: AAV 3
 Edukt: 0,6 mmol (187 mg) 4-[2-(3,4-dihydro-1*H*-isochinolin-2-yl)-ethyl]-phenylamin (**4**/WK-X-12)
 0,9 mmol (325 mg) Ofloxacin
 Summelformel: C₃₇H₄₂FN₅O₅
 Mr: 655,8
 Smp.: 188°C
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 90% (354 mg)
 Rf: 0,21 (Kieselgel/MeOH/NH₃ 99:1)
 0,01 (Kieselgel/EtOAc)
 EA: ber.: C, 67,77; H, 6,46; F, 2,90; N, 10,68; O, 12,20
 ber. * 0,5 H₂O: C, 66,85; H, 6,52; F, 2,86; N, 10,54; O, 13,24
 gef.: C, 66,63; H, 6,74; N, 10,22

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): δ = 1.48 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH₃), 2.22 (s, 3H, CH₃), 2.43 (s, 4H, 2 x CH₂), 2.68 (m, 6H, 3 x CH₂), 2.79 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, CH₂), 3.25 (t, *J* = 6.5 Hz, 4H, 2 x CH₂), 3.54 (s, 2H, CH₂), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, OCH₃), 4.35 (dd, 1H, OCH₂-CH), 4.53 (dd, 1H, OCH₂-CH), 4.87 (q, *J* = 6.7 Hz, 1H, CH), 6.62 (s, 1H, ArH), 6.64 (s, 1H, ArH), 7.23 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 7.57 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H, ArH), 7.61 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2 x ArH), 8.88 (s, 1H, ArH), 12.28 (br, s, 1H*, NH).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): δ = 18.0 (CH₃), 28.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 46.2 (CH₃), 50.3 (2 x CH₂), 50.7 (CH₂), 54.4 (CH), 55.2 (CH₂), 55.4 (2 x CH₂), 55.6 (OCH₃), 55.7 (OCH₃), 59.6 (CH₂), 68.2 (OCH₂), 103.6 (Ar-CH), 110.0 (Ar-C), 110.2 (Ar-CH), 112.0 (Ar-CH), 119.7 (2 x Ar-CH), 121.7 (Ar-C), 124.5 (Ar-C), 126.1 (Ar-C), 126.8 (Ar-C), 129.3 (2 x Ar-CH), 131.3 (Ar-C), 135.7 (Ar-C), 136.7 (Ar-C), 140.3 (Ar-C), 145.4 (Ar-CH), 147.1 (Ar-C), 147.3 (Ar-C), 154.5 (Ar-C), 162.4 (CO), 174.5 (CO).

8 Literaturverzeichnis

- Ambudkar, S.V.; Dey, S.; Hrycyna, C.A.; Ramachandra, M.; Pastan, I.; Gottesmann, M.M. Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **1999**, 39, 361-398.
- Ambudkar, S.V.; Kimchi-Sarfaty, C.; Sauna, Z.E.; Gottesmann, M.M. P-Glykoprotein: from genomics to mechanism. *Oncogene*, **2003**, 22, 7468-7485.
- Al-Shawi, M.K.; Polar, M.K.; Omote, H.; Figler, R.A. Transition State Analysis of the Coupling of Drug Transport to ATP Hydrolysis by P-Glykoprotein. *J. Biol. Chem.*, **2003**, 278, 52629-52640.
- Ashworth, P.A.; Hunjan, S.; Pretswell, I.A.; Ryder, H.; Brocchini, S.J. Preparation of 1-methyl-3,6-dibenzylidenepiperazine-2,5-diones as modulators of multidrug resistance. *PCT Int. Appl.*, **1996**, WO 9620180, 68 pp.
- Bang, K.C.; Cha, M.Y.; Ahn, Y.G.; Ham, Y.J.; Kim, M.S.; Lee, G.S. Preparation of [(isochinoliny)ethyl]phenyl tetrazoles as P-Glykoprotein inhibitors. *PCT Int. Appl.*, **2005**, WO 2005033097, 53 pp.
- Bates, S.; Kang, M.; Meadows, B.; Bakke, S.; Choyke, P.; Merino, M.; Goldspiel, B.; Chico, I.; Smith, T.; Chen, C.; Robey, R.; Bergan, R.; Figg, W.D.; Fojo, T. A Phase I study of infusional vinblastine in combination with the P-Glykoprotein antagonist PSC 833 (valsopodar). *Cancer*, **2001**, 92, 1577-90.
- Böhm, H.-J.; Klebe, G.; Kubinyi, H. Wirkstoffdesign. *Spektrum Akademischer Verlag*, **2002**.
- Cha, M.Y.; Bang, K.C.; Ahn, Y.G.; Kim, M.S.; Lee, G.S. Preparation of isochinoliny chromonecarboxamide derivatives as p-Glykoprotein inhibitors. *PCT Int. Appl.*, **2005**, WO 2005033101, 32 pp.
- Chang, G.; Roth, C.B. Structure of MsbA from E. coli: a homolog of the multidrug resistance ATP binding cassette (ABC) transporters. *Science*, **2001**, 293, 1793-800.
- Chang, G. Structure of MsbA from Vibrio cholera: a multidrug resistance ABC transporter homolog in a closed conformation. *J. Mol. Biol.*, **2003**, 330, 419-30.
- Chiba, P.; Ecker, G.F. Inhibitors of ABC-type drug efflux pumps: an overview of the current patent situation. *Expert Opin. Ther. Patents*, **2004**, 14, 499-508.
- de Bruin, M. ; Miyake, K. ; Litman, T. ; Robey, R. ; Bates, S.E. Reversal of resistance by GF120918 in cell lines expressing the ABC half-transporter, MXR. *Cancer Lett.*, **1999**, 146, 117-26.

Literaturverzeichnis

- Dano, K. Active outward transport of daunomycin in resistant ehrlich ascites tumor cells. *Biochim. Biophys. Acta*, **1973**, 323, 466–83.
- Dantzig, A.H.; Law, K.L.; Cao, J.; Starling, J.J. Reversal of multidrug resistance by the P-Glykoprotein modulator, LY335979, from the bench to the clinic. *Curr. Med. Chem.*, **2001**, 8, 39-50.
- Dodic, N.; Dumaitre, B.; Daugan, A.; Pianetti, P. Synthesis and Activity against Multidrug Resistance in Chinese Hamster Ovary Cells of New Acridone-4-carboxamides. *J. Med. Chem.*, **1995**, 38, 2418-26.
- Doyle, L.A.; Yang, W.; Abruzzo, L.V.; Krogmann, T.; Gao, Y.; Rishi, A.K.; Ross, D.D. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1998**, 95, 15665–70.
- Draper, M.P.; Martell, R.L.; Levy, S.B. Indomethacin-mediated reversal of multidrug resistance and drug efflux in human and murine cell lines overexpressing MRP, but not P-Glykoprotein. *Br. J. Cancer*, **1997**; 75, 810-815.
- Dumaitre, B.A.; Dodic, N. N-Phenyl-9-oxoacridine-4-carboxamides, methods for their preparation and their use as neoplasm inhibitors and for increasing the sensitivity toward an antitumor drug or reversal of resistance to an antitumor drug. *Eur. Pat. Appl.*, **1992**, EP 494623, 82 pp.
- Ecker, G. F., Csaszar, E., Kopp, S., Plagens, B., Holzer, W., Ernst, W., Chiba, P. Identification of Ligand-Binding Regions of P-Glykoprotein by Activated-Pharmacophore Photoaffinity Labeling and Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time-of-Flight Mass spectrometry. *Mol. Pharmacol.*, **2002**, 61, 637-648.
- Ersoy, O.; Fleck, R.; Blanco, M.-J.; Masamune, S. Design and syntheses of three haptens to generate catalytic antibodies that cleave amide bonds with nucleophilic catalysis. *Bioorg. Med. Chem.*, **1999**, 7, 279-286.
- Findeisen, K.; u.a., Houben-Weyl. Band E4, 1983, 738-834.
- Globisch, C.T.; Dissertation Bonn (in Arbeit).
- Globisch, C.T.; 3D-QSAR Untersuchungen von Agonisten am neuronalen nicotinischen Acetylcholin-Rezeptor. Diplomarbeit Bonn, **2002**.
- Gupta S.; Tsuruo T.; editors. Multidrug Resistance in Cancer Cells. Chichester: John Wiley & Sons **1996**.
- Hackling, A.; Stark, H. Dopamin D₃ Receptor Ligands with Antagonist Properties. *Chem. Bio. Chem.*, **2002**, 3, 946-961

Literaturverzeichnis

- Harrold, M.W.; Grajzl, B.; Shin, Y.; Romstedt, K.J.; Feller, D.R.; Miller, D.D. Synthesis and thromboxane A₂ antagonist activity of N-benzyltrimetoquinol analogs. *J. Med. Chem.*, **1988**, 31, 1506-12.
- Higgins, C.F.; Linton, K.J. The ATP switch model for ABC transporters. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **2004**, 11, 918-26.
- Hilary, T.; Coley, H.M. Overcoming Multidrug Resistance in Cancer: An Update on the Clinical Strategy of Inhibiting P-Glykoprotein. *Cancer Control*, **2003**, 10, 159-165.
- Isenberg, B.; Thole, H.; Tummler, B.; Demmer A. Identification and localization of three photobinding sites of iodoarylazidoprazosin in hamster P-Glykoprotein. *Eur. J. Biochem.*, **2001**, 268, 2629-2634.
- Janvilisri, T.; Venter, H.; Shahi, S.; Reuter, G.; Balakrishnan, L.; van Veen, H.W. Sterol transport by the human breast cancer resistance protein (ABCG2) expressed in lactococcus lactis. *J. Biol. Chem.*, **2003**, 278, 20645–51.
- Jekerle, V.; Klinkhammer, W.; Scollard, D.A.; Breitbach, K.; Reilly, R.M.; Piquette-Miller, M.; Wiese, M. *In vitro* and *in vivo* evaluation of WK-X-34, a novel inhibitor of P-Glykoprotein and BCRP using radio imaging techniques. *Int. J. of Cancer*, in press.
- Jekerle, V.; Klinkhammer, W.; Reilly, R.M.; Piquette-Miller, M.; Wiese, M. Novel tetrahydroisochinolin-ethyl-phenylamine based multidrug resistance inhibitors with broad-spectrum modulating properties. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, accepted.
- Jekerle, V. Investigations of Combined Strategies to reverse P-Glykoprotein- and BCRP-mediated Multidrug Resistance in Human Ovarian Cancer Cells and Xenograft Tumors. Dissertation Bonn, **2006**.
- Juliano, R.L.; Ling, V. A surface Glykoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim. Biophys. Acta*, **1976**, 455, 152-62.
- Kage, K.; Tsukahara, S.; Sugiyama, T.; Asada, S.; Ishikawa, E.; Tsuruo, T.; Sugimoto, Y. Dominant-negative inhibition of breast cancer resistance protein as drug efflux pump through the inhibition of s-s dependent homodimerization. *Int. J. Cancer*, **2002**, 97, 626–30.
- Kartasmita, R.E.; Laufer, S.; Lehmann, J. NO-donors (VII [1]): synthesis and cyclooxygenase inhibitory properties of N-and S-nitrooxypivaloyl-cysteine

Literaturverzeichnis

- derivatives of naproxen - a novel type of NO-NSAID. *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **2002**, 335, 363-6.
- Kimura, Y.; Matsuo, M.; Takahashi, K.; Saeki, T.; Kioka, N.; Amachi, T.; Ueda, K. ATP Hydrolysis-Dependent Multidrug Efflux Transporter: MDR1/P-Glykoprotein. *Curr. Drug. Metabl.*, **2004**, 5, 1-10.
- Klebe, G.; Abraham, U.; Comparative Molecular Similarity Index Analysis (CoMSIA) to Study Hydrogen Bonding Properties and to Score Combinatorial Libraries, *J. Comput.-Aided Mol. Des.*, **1999**, 13, 1-10.
- Klein, I.; Sarkadi, B.; Varadi, A. An inventory of the human ABC proteins. *Biochim. Biophys. Acta*, **1999**, 1461, 237-62.
- Kondratov, R.V.; Komarov, P.G.; Becker, Y.; Ewenson, A.; Gudkov, A.V. Small molecules that dramatically alter multidrug resistance phenotype by modulating the substrate specificity of P-Glykoprotein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2001**, 98, 14078-14083.
- Krishna, R.; Mayer L.D. Multidrug resistance (MDR) in cancer. Mechanisms, reversal using modulators of MDR and the role of MDR modulators in influencing the pharmacokinetics of anticancer drugs. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **2000**, 11, 265-283.
- Krishna, R.; Mayer, L.D. Modulation of P-Glykoprotein (P-GP) Mediated Multidrug Resistance (MDR) Using Chemosensitizers: Recent Advances in the Design of Selective MDR Modulators. *Curr. Med. Chem. – Anti-Cancer Agents*, **2001**, 1, 163-174.
- Kubinyi, H. in: Schleyer, P.R.; Jorgensen, W.L.; Schaefer III, H.F.; Schreiner, P.R.; Thiel, W. (Hrsg.), *Encyclopedia of Computational Chemistry*. DOI: 10.1002/0470845015.cca030.
- Lee, C.H. Reverting Agents for ATP-Bindung Cassette (ABC) Transporters: Application in Modulating Multidrug Resistance (MDR). *Curr. Med. Chem. – Anti-Cancer Agents*, **2004**, 4, 43-52.
- Lemmen, C.; Lengauer, T. Time-efficient flexible superposition of medium-sized molecules. *J. Comput.-Aided Mol. Des.*, **1997**, 11, 357-368.
- Lemmen, C.; Lengauer, T.; Klebe, G. FLEXS: a method for fast flexible ligand superposition. *J. Med. Chem.* **1998**, 41, 4502-4520.
- Leslie, E.M.; Deeley, R.G.; Cole, S.P. Multidrug resistance proteins: role of P-Glykoprotein, MRP1, MRP2, and BCRP (ABCG2) in tissue defense. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **2005**, 204, 216-37.

Literaturverzeichnis

- Lin J.H.; Yamazaki M. Role of P-Glykoprotein in pharmacokinetics: clinical implications. *Clin. Pharmacokinet.*, **2003**, 42, 59-98.
- Linton, K.; Rosenberg, M.; Kerr, I.; and Higgins, C. F. Structure of ABC transporters. *ABC Proteins: From Bacteria to Man*, **2003**, 65–80. Academic Press, London.
- Lipinski, C.A.; Lombardo, F.; Dominy, B.W.; Feeney, P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, **2001**, 46, 3-26.
- Litman, T.; Druley, T.E.; Stein, W.D.; Bates, S.E. From MDR to MXR: new understanding of multidrug resistance system, their properties and clinical significance. *CMLS*, **2001**, 58, 931-959.
- Locher, K.P.; Lee, A.T.; Rees, D.C. The E. coli BtuCD structure: a framework for ABC transporter architecture and mechanism. *Science*, **2002**, 296, 1091–98.
- Loo, T.W.; Bartlett, M.C.; Clarke, D.M. The Drug-Binding Pocket of the Human Multidrug Resistance P-Glykoprotein Is Accessible to the Aqueous Medium. *Biochemistry*, **2004**, 43, 12081-12089.
- Lober, S.; Gmeiner, P. Click chemistry on solid support: synthesis of a new REM resin and application for the preparation of tertiary amines. *Tetrahedron*, **2004**, 60, 8699-8702.
- Martin C.; Berridge, G.; Higgins, C.F.; Mistry, P.; Charlton, P.; Callaghan, R. Communication between multiple drug binding sites on P-Glykoprotein. *Mol Pharmacol.*, **2000**, 58, 624-632.
- MATLAB, <http://www.matlab.com>.
- McGrath, T.; Center, M.S. Adriamycin resistance in HL60 cells in the absence of detectable p-Glykoprotein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1987**, 145, 1171–6.
- Meyer, J.; Dissertation Bonn (in Arbeit).
- Minderman, H.; Suvannasankha, A.; O'Loughlin, K.L.; Scheffer, G.L.; Scheper, R.J.; Robey, R.W.; Baer, M.R. Flow Cytometry Analysis of Breast Cancer Resistance Protein Expression and Function. *Cytometry*, **2002**, 48, 59-65.
- Mistry, P.; Stewart, A.J.; Dangerfield, W.; Okiji, S.; Liddle, C.; Bootle, D.; Plumb, J.A.; Templeton, D.; Charlton, P. In vitro and in vivo reversal of P-Glykoprotein-mediated multidrug resistance by a novel potent modulator, XR9576. *Cancer Res.*, **2001**, 61, 749-758.

Literaturverzeichnis

- MOE, Molecular Modelling Software (Version 2005.06), Chemical Computing Group Inc., Montreal, Canada.
- MOPAC7, J.J.P. Steward, Fujitsu Limited, Tokyo, Japan.
- Müller, H.; Kassack, M.U.; Wiese, M. Comparison of the usefulness of the MTT, ATP, and calcein assays to predict the potency of cytotoxic agents in various human cancer cell lines. *J. Biomol. Screen.*, **2004**, 9, 506-15.
- Müller, H.; Klinkhammer, W.; Kassack, M.U.; Eckstein, N.; Wiese, M. Novel modulators to overcome P-Glykoprotein-mediated multidrug resistance in tumor cells. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, **2004**, 42, 644-5.
- Müller, H.; Dissertation Bonn (in Arbeit).
- Muzzammil, T.; Ballinger, J.R.; Moore, M.J. ^{99m}Tc-sestamibi imaging of inhibition of the multidrug resistance transporter in a mouse xenograft model of human breast cancer. *Nucl. Med. Commun.*, **1999**, 20, 115-22.
- Organikum; Heinz, G.O.; u.a.: *Organikum, Organisch-chemisches Grundpraktikum*, Wiley-VCH, **1999**, Weinheim.
- Pajeva, I.K.; Wiese, M. Molecular modeling of phenothiazines and related drugs as multidrug resistance modifiers: a comparative molecular field analysis study. *J. Med. Chem.*, **1998**, 41, 1815-1826.
- Pajeva, I.K.; Wiese, M. Pharmacophore model of drugs involved in P-Glykoprotein multidrug resistance: explanation of structural variety (hypothesis). *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 5671-5686.
- Pajeva, I.K.; Globisch, C.; Wiese, M. Structure-Function Relationships of Multidrug Resistance P-Glykoprotein. *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 2523-2533.
- Piwnica-Worms D, Chiu M, Budding M, Kronauge JF, Kramer RA, Croop JM. Functional imaging of multidrug-resistant P-Glykoprotein with an organo-technetium complex. *Cancer Res.*, **1993**, 53, 977-984.
- Plater, M.J.; Murdoch, A.M.; Morphy, J.R.; Rankovic, Z.; Rees, D.C. Solid Phase Synthesis of Tertiary Amines on Amide REM Resins: Grignard and Metal Hydride Compatible Resins. *J. Comb. Chem.*, **2000**, 2, 508-512.
- Pleban, K.; Ecker, G.F. Inhibitors of P-Glykoprotein - lead identification and optimisation. *Mini Rev. Med. Chem.*, **2005**, 5, 153-163.
- Pohl, A.; Devaux, P.F.; Herrmann, A. Function of prokaryotic and eukaryotic ABC proteins in lipid transport. *Biochim. Biophys. Acta*, **2005**, 1733, 29– 52.

Literaturverzeichnis

- Raderer, G.D.; Scheithauer, W. Clinical trials of agents that reverse multidrug resistance. A literature review. *Cancer*, **1993**, 72, 3553-3563.
- Reyes, C.L.; Chang, G. Structure of the ABC Transporter MsbA in Complex with ADP*Vanadate and Lipopolysaccharide. *Science*, **2005**, 308, 1028-1031.
- Robert, J.; Jarry, C. Multidrug Resistance Reversal Agents. *J. Med. Chem.*, **2003**, 4805-4817.
- Roe, M.J.; Folkes, A.J.; Ashworth, P.A.; Brumwell, J.E.; Chima, L.; Hunjan, S.; Pretswell, I.; Dangerfield, W.; Ryder, H.; Charlton, P. Reversal of P-Glykoprotein mediated multidrug resistance by novel anthranilamide derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Letters*, **1999**, 9, 595-600.
- Rosenberg, M.F.; Kamis, A.B.; Callaghan, R.; Higgins, C.F.; Ford, R.C. Three-dimensional structures of the mammalian multidrug resistance P-Glykoprotein demonstrate major conformational changes in the transmembrane domains upon nucleotide binding. *J. Biol. Chem.*, **2003**, 278, 8294-8299.
- Rosenberg, M.F.; Callaghan, R.; Modok, S.; Higgins, C.F.; Ford, R.C. Three-dimensional structure of P-Glykoprotein: the transmembrane regions adopt an asymmetric configuration in the nucleotide-bound state. *J. Biol. Chem.*, **2005**, 280, 2857-2862.
- Ryder, H.; Ashworth, P.A.; Roe, M. J.; Brumwell, J.E.; Hunjan, S.; Folkes, A.J.; Sanderson, J.T.; Williams, S.; Maximen, L.M.; et al. Anthranilic acid derivatives as multi drug resistance modulators. *PCT Int. Appl.*, **1998**, WO 9817648, 203 pp.
- Sadeque, A.J.; Wandel, C.; He, H.; Shah, S.; Wood, A.J. Increased drug delivery to the brain by P-Glykoprotein inhibition. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **2000**, 68, 231-237.
- Safa, A.R. Identification and Characterization of the Binding Sites of P-Glykoprotein for Multidrug Resistance-Related Drugs and Modulators. *Curr. Med. Chem. – Anti-Cancer Agents*, **2004**, 4, 1-17.
- Sato, W.; Fukazawa, N.; Nakanishi, O.; Baba, M.; Suzuki, T.; Yano, O.; et al: Reversal of multidrug resistance by a novel chinoline derivative, MS-209. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **1995**, 35, 271-277.
- Shapiro, A.B.; Ling, V. Positively cooperative sites for drug transport by P-Glykoprotein with distinct drug specificities. *Eur. J. Biochem.*, **1997**, 250, 130-137.

Literaturverzeichnis

- Sharp, M.J.; Mader, C.J.; Strachan, C. Synthesis of acridine derivative as multidrug-resistant inhibitor. *PCT Int. Appl.*, **1998**, WO 9852923, 21 pp.
- Spoelstra, E.C.; Westerhoff, H.V.; Dekker, H.; Lankelma, J. Kinetics of daunorubicin transport by P-Glykoprotein of intact cancer cells. *Eur. J. Biochem.*, **1992**, 207, 567-579.
- Siegmund, W.; Cascorbi, I.; Weitschies, W.; Kroemer, H.K. Arzneimitteltransporter, *Der Internist*, **2003**, 44, 219-226.
- Sievers, J.G.; Dissertation Bonn (in Arbeit).
- Seigneuret, M.; Garnier-Suillerot, A. A structural model for the open conformation of the mdr1 P-Glykoprotein based on the MsbA crystal structure. *J. Biol. Chem.*, **2003**, 278, 30115-24.
- Stemp, G.; Ashmeade, T.; Branch, C.L.; Hadley, M.S.; Hunter, A.J.; Johnson, C.N.; Nash, D.J.; Thewlis, K.M.; Vong, A.K.; Austin, N.E.; Jeffrey, P.; Avenell, K.Y.; Boyfield, I.; Hagan, J.J.; Middlemiss, D.N.; Reavill, C.; Riley, G.J.; Routledge, C.; Wood, M. Design and synthesis of trans-N-[4-[2-(6-cyano-1,2,3, 4-tetrahydroisoquinolin-2-yl)ethyl]cyclohexyl]-4-quinolinecarboxamide (SB-277011): A potent and selective dopamine D(3) receptor antagonist with high oral bioavailability and CNS penetration in the rat. *J. Med. Chem.*, **2000**, 43, 1878-85.
- SYBYL, Molecular Modelling Software, Tripos Inc., 1699 S. Hanley Road, St. Louis, MO 63944, USA.
- Tammler, U.; Quillan, J.M.; Lehmann, J.; Sadee, W.; Kassack M.U. Design, synthesis, and biological evaluation of non-peptidic ligands at the *Xenopus laevis* skin-melanocortin receptor. *Eur. J. Med. Chem.*, **2003**, 38, 481-93.
- Tan, B.; Piwnica-Worms, D.; Ratner, L. Multidrug resistance transporters and modulation.. *Curr. Opin. Oncol.*, **2000**, 12, 450-458.
- Tawar, U.; Jain, A.K.; Dwarakanath, B.S.; Chandra, R.; Singh, Y.; Chaudhury, N.K.; Khaitan, D.; Tandon, V. Influence of phenyl ring disubstitution on bisbenzimidazole and terbenzimidazole cytotoxicity: synthesis and biological evaluation as radioprotectors. *J. Med. Chem.*, **2003**, 46(18), 3785-92.
- te Boekhorst, P.A.; van Kappel, J.; Schoester, M. Reversal of typical multidrug resistance by cyclosporin and its non-immunosuppressive analogue SDZ PSC 833 in Chinese hamster ovary cells expressing the mdr1 phenotype. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **1992**, 30, 238-242.

Literaturverzeichnis

- Toy, P.H.; Reger, T.S.; Janda, K.D. Soluble Polymer Bound Cleavage Reagents: A Multipolymer Strategy for the Cleavage of Tertiary Amines from REM Resin. *Org. Lett.*, **2000**, 2, 2205-2207.
- Tsuruo, T.; Iida, H.; Tsukagoshi, S.; Sakurai, Y. Overcoming of vincristine resistance in P388 leukemia in vivo and in vitro through enhanced cytotoxicity of vincristine and vinblastine by verapamil. *Cancer Res.*, **1981**, 41, 1967-72.
- Unadkat, J.D.; Dahlin, A.; Vijah, S. Placental Drug Transporters. *Curr. Drug. Metabl.*, **2004**, 5, 125-131.
- Utsunomiya, K.; Ballinger, J.R.; Piquette-Miller, M.; Rauth, A.M.; Tang, W.; Su, Z.F.; Ichise, M. Comparison of the accumulation and efflux kinetics of technetium-99m sestamibi and technetium-99m tetrofosmin in an MRP-expressing tumour cell line. *Eur. J. Nucl. Med.*, **2000**, 27, 1786-92.
- Varma, M.V.S.; Ashokraj, Y.; Dey, C.S.; Panchagnula, R. P-Glykoprotein inhibitors and their screening: a perspective from bioavailability enhancement. *Pharmacol. Res.*, **2003**, 48, 347-359.
- Waller, C.L.; Booker, W.J.; Gray, L.E. JR., Kelce, W.R. Three-dimensional quantitative structure-activity relationships for androgen receptor ligands. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **1996**, 137, 219-227.
- Weigt, M. Entwicklung neuer QSAR-Methoden und deren Anwendung an Dopaminrezeptorantagonisten. Dissertation Bonn, **2006**.
- Wiese M., Pajeva I. K. Structure-Activity Relationships of Multidrug Resistance Reversers. *Curr. Med. Chem.*, **2001**, 8, 685-713.
- Wilson, W.H.; Bates, S.E.; Fojo, A.; Bryant, G.; Zhan, Z.; Regis, J.; Wittes, R.E.; Jaffe, E.S.; Steinberg, S.M.; Herdt, J.; et al. Controlled trial of dexverapamil, a modulator of multidrug resistance, in lymphomas refractory to EPOCH chemotherapy. *J. Clin. Oncol.*, **1995**, 13, 1995-2004.
- Yadav, J.S.; Subba Reddy, B.V.; Eeshwaraiah, B.; Srinivas, M. Montmorillonite KSF clay catalyzed one-pot synthesis of α -aminonitriles. *Tetrahedron*, **2004**, 60, 1767-1771.
- Yang, C.H.; Chen, Y.C.; Kuo, M.L. Novobiocin sensitizes BCRP/MXR/ABCP overexpressing topotecan-resistant human breast carcinoma cells to topotecan and mitoxantrone. *Anticancer Res.*, **2003**, 23, 2519-23.

9 Abkürzungsverzeichnis

3D	Dreidimensional
Abb.	Abbildung
ABC	ATP-Binding-Cassette
abs.	absolut
ADP	Adenosindiphosphat
AM1	Austin Model 1
ATP	Adenosintri-phosphat
CDCl ₃	deuteriertes Chloroform
BCRP	Breast cancer resistance protein
CoMFA	Comparative Molecular Field Analysis
CoMSIA	Comparative Molecular Similarity Indices Analysis
d	Dublett
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
DEPT	Distortionless Enhancement of Polarisation Transfer
dd	Dublett vom Dublett
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
dt	Dublett vom Triplett
EA	Elementaranalyse
<i>et al.</i>	et alii (und andere)
EtOAc	Ethylacetat
EtOH	Ethanol
FAB	Fast-Atom Bombardment
HMQC	Heteronuclear multiple quantum correlation
HSQC	Heteronuclear single quantum correlation
HUGO	Human genome nomenclature committee
HVC	Hydrophobic vacuum-cleaner
IC50	Inhibition Concentration 50
IR	Infrarot
J	Kopplungskonstante
Kap.	Kapitel
LOO	Leave-one-out
M	Multipllett
MeCN	Acetonitril
MRP	Multidrug resistance associated protein
Mr	molekulare Masse
MS	Massenspektroskopie
NBD	Nukleotidbindungsstellen
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
Pd/C	Palladium auf Aktivkohle (Katalystor)
P-gp	P-Glykoprotein
pIC50	-log(IC50)
PLS	Partial Least Squares
PE	Petrolether
ppm	parts per million
pred.	vorhergesagt (predicted)
QSAR	Quantitative Structure Activity Relationship
Rf	Retentionsfaktor

Abkürzungsverzeichnis

RT	Raumtemperatur
s	Singulett
SAMPLS	SAMple-distance Partial Least Squares
Smp	Schmelzpunkt
t	Triplett
Tab.	Tabelle
THF	Tetrahydrofuran
TM	transmembranär
TMD	ransmembranäre Domäne
TMS	Trimethylsilyl

10 Veröffentlichungen

10.1 Wissenschaftliche Originalarbeiten

Müller, H.; Klinkhammer, W.; Kassack, M.U.; Eckstein, N.; Wiese, M. Novel modulators to overcome P-Glykoprotein-mediated multidrug resistance in tumor cells. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, **2004**, 42, 644-5.

Jekerle, V.; Klinkhammer, W.; Scollard, D.A.; Breitbach, K.; Reilly, R.M.; Piquette-Miller, M.; Wiese, M. *In vitro* and *in vivo* evaluation of WK-X-34, a novel inhibitor of P-Glykoprotein and BCRP using radio imaging techniques. *Int. J. of Cancer*, **2006**, in press.

Jekerle, V.; Klinkhammer, W.; Reilly, R.M.; Piquette-Miller, M.; Wiese, M. Novel tetrahydroisochinolin-ethyl-phenylamine based multidrug resistance inhibitors with broad-spectrum modulating properties. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **2006**, in press.

10.2 Abstracta/Kongressbeiträge

Klinkhammer, W.; Müller, H.; Sievers, J.; Breitbach, K.; Wiese, M. New Tetrahydroisochinolin-Derivatives as modulators of P-Glykoprotein, *DPHG-Jahrestagung 2004*, Regensburg (Poster). *Programm und Abstraktbuch der DPhG-Jahrestagung Regensburg* (ISBN 3-00-014723-3), **2004**

Müller, H.; Klinkhammer, W.; Kassack, M.U.; Eckstein, N.; Wiese, M. Modulators and Substrates of P-glykoprotein. *DPHG-Jahrestagung 2004*, Regensburg (Poster). *Programm und Abstraktbuch der DPhG-Jahrestagung Regensburg* (ISBN 3-00-014723-3), **2004**

Müller, H.; Klinkhammer, W.; Schmidt, M.; Hamacher, A.; Eckstein, N.; Kassack, M.U.; Wiese, M. Neuartige Modulatoren zur Überwindung der P-glykoprotein vermittelten Resistenz von Tumoren, *CESAR-APOH Jahrestagung 2004*, Rostock, **2004**.

Jekerle, V.; Klinkhammer, W.; Wiese, M.; Reilly, R.; Piquette-Miller, M. *In Vitro* and *in vivo* Evaluation of a Novel PGP Modulator in Human Ovarian Cancer Xenografts using Radionuclide Imaging Techniques. *Proc Amer Assoc Cancer Res*, **2005**, 46, 526.

Veröffentlichungen

Jacobs, A.; Müller, H.; Klinkhammer, W.; Wiese, M. Characterization of the binding properties of a third-generation modulator of P-Glykoprotein, *CESAR-APOH Jahrestagung 2005*, Wien (Poster), **2005**.

Jekerle, V.; Christlieb, M.; Leyers, S.; Klinkhammer, W.; Piquette-Miller, M.; Wiese, M. Novel anthranilic acid based multidrug resistance modulators with different effects on P-Glykoprotein, BCRP and MRPs, *FEBS Special Meeting ABC 2006*, Innsbruck, **2006**.

11 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Michael Wiese für die Überlassung dieses interessanten Themas, seinen wertvollen Anregungen, die stete Diskussionsbereitschaft, die Unterstützung bei der Anfertigung der vorliegenden Arbeit und vor allem für die mir überlassenen wissenschaftlichen Freiräume.

Prof. Dr. Michael Gütschow danke ich sehr herzlich für die gute Zusammenarbeit in der Semesterarbeit und für die Übernahme des Korreferates.

Herrn Prof. Dr. Ulrich Jaehde und Herrn PD Dr. Frank Mußhoff möchte ich für ihr Mitwirken in der Prüfungskommission danken.

Besonderen Dank gilt meinen alten Weggefährten des Büros und des 3. Semesters, Christian Hallmen und Christoph Globisch. Mit Euch konnte ich jahrelang Freud und Leid des Doktoranden-Daseins teilen.

Ein ganz großes Dankeschön geht an meinen ehemaligen „Chef“ des 3. Semesters Dr. Eberhard „Ebi“ Scheuch für seine einmalige Art, seine Freundschaft, seine ständige Hilfsbereitschaft und die vielen wissenschaftlichen und privaten Gespräche.

Bedanken möchte ich mich bei allen Kollegen und Freunden, die während der Anfertigung dieser Arbeit stets ein offenes Ohr für Probleme hatten und mir durch Anregungen stets eine Hilfe waren, allen voran Henrik „Ulle“ Müller für seinen unermüdlichen Einsatz. Des Weiteren danke ich natürlich den „Synthetikern“ Heiko Ullmann, Matthias Christlieb, Rainer Bogner und meinem Diplomanden Lars Möllmann, sowie den Kollegen des 3. Semesters Jens Meyer, Björn Conrads und Dirk Simonis für die gute Zusammenarbeit. Für die Durchführung der pharmakologischen Testungen danke ich besonders Henrik Müller, Anna Jacobs, Alexandra Hamacher, Jürgen Sievers, Kerstin Breitbach und Veronika Jekerle. Für die freundliche Computerunterstützung danke ich Matthias Weigt. Allen anderen Kollegen, wie meiner Bürokollegin Claudia Marzian, ein großes Dankeschön für die schöne Zeit die ich mit Euch verbringen durfte.

Dr. Mathias Kassack danke ich für die Hilfe in pharmakologischen Fragestellungen und Prof. Dr. Gerd Bendas für die Zusammenarbeit im 3. Semester.

Danksagung

Wolfram Gotthardt danke ich für sein Engagement und seine einmalige Art.

Meinen Famulanten Anke Müller, Felix Kluxen und Markus Jostwerth danke ich für ihre wertvolle Arbeit.

Bedanken möchte ich mich auch bei allen meinen Studenten für die vielen schönen und auch für die wenigen nicht so schönen Stunden. Die Zusammenarbeit mit Euch hat mir immer sehr viel Spaß bereitet.

Meinen Eltern und Geschwistern danke ich für ihre stete Unterstützung.

Last but not least geht ein riesiges Dankeschön an meine Freundin Gabriele Leesch, für Ihre Motivation, Unterstützung und nicht zuletzt für ihre Geduld, mit der sie mir während der Erstellung der Dissertation zur Seite gestanden hat.

Unserer Tochter Alena Sophie danke ich für ihr wunderbares Lächeln, mit dem sie mich täglich begrüßt und dafür, dass sie jeden Tag die Sonne in mein Leben bringt.

Danke!