

Über ABCG2-Inhibitoren mit Heteroaryl-phenylamid- und Carborancarboxamid-Grundstruktur

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von

Sebastian Christoph Köhler

aus Berlin

2016

angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. M. Wiese

2. Gutachter: PD Dr. A. Schiedel

Tag der Promotion: 15. 02. 2017

Erscheinungsjahr: 2017

meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

1	Einleitung	1
1.1	ABC-Transporter.....	1
1.1.1	Allgemeines	1
1.1.2	Multidrug-Resistenz in der Krebstherapie	7
1.1.3	P-Glykoprotein.....	8
1.1.4	Multidrug-Resistenz assoziiertes Protein 1.....	16
1.1.5	Brustkrebs-Resistenz-Protein.....	19
1.2	Biochemische Charakterisierung von ABC-Transporter-Inhibitoren	23
1.2.1	ABCG2-Inhibitoren	23
1.2.2	ABCB1- und ABCC1-Inhibitoren	25
1.2.3	Enzymkinetische Untersuchungen.....	27
1.2.4	Zytotoxizität.....	31
2	Zielsetzung	33
3	Heteroaryl-phenylamide	35
3.1	Literatur.....	35
3.2	Synthese	38
3.2.1	2,5-Diaryl-2 <i>H</i> -tetrazole.....	39
3.2.2	5-Aryl-1 <i>H</i> -tetrazole	42
3.2.3	2,5-Diaryl-1,3,4-oxadiazole.....	44
3.2.4	1,2,3-1 <i>H</i> -Triazole.....	46
3.2.5	Reduktion der Nitrogruppe	49
3.2.6	Sonstige Reaktionen	51
3.2.7	Darstellung des Amids.....	52

3.3	Biologische Testung	54
3.3.1	Inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2.....	54
3.3.2	Untersuchungen zur ABCG2-Selektivität.....	75
3.3.3	Enzymkinetische Untersuchungen	84
3.3.4	Intrinsische Zytotoxizität und Sensibilisierung resistenter Zellen	86
3.3.5	Löslichkeitsuntersuchungen	89
3.4	Ergebnisse und Ausblick	91
4	Carborancarboxamide.....	97
4.1	Literatur	97
4.2	Synthese.....	99
4.3	Biologische Testung	103
4.3.1	Inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2.....	103
4.3.2	Untersuchungen zur ABCG2-Selektivität.....	110
4.3.3	Zytotoxische Eigenschaften	111
4.4	Ergebnisse und Ausblick	112
5	Zusammenfassung.....	115
6	Experimentalteil	117
6.1	Chemische Synthese	117
6.1.1	Allgemeines.....	117
6.1.2	Allgemeine Synthesevorschriften (ASV).....	121
6.1.3	Synthetisierte Verbindungen	126
6.2	Biologische Testung	234
6.2.1	Material	234
6.2.2	Überprüfung des Präzipitationsverhaltens	237
6.2.3	Vorschriften zur Zellkultur.....	238
6.2.4	Testverfahren.....	242
7	Anhang	255
7.1	Abkürzungsverzeichnis	255
7.2	Tabellenverzeichnis	257
7.3	Abbildungsverzeichnis	259
7.4	Literaturverzeichnis	265

7.5	Publikationsverzeichnis.....	285
7.5.1	Publikationen	285
7.5.2	Kongressbeiträge (Poster).....	285
7.6	Danksagung.....	287

1 EINLEITUNG

1.1 ABC-Transporter

1.1.1 Allgemeines

Die Proteinklasse der ABC-Transporter (Adenosintriphosphat-Bindungskassetten-Proteine) ist eine größten Proteinfamilien. Sie kommt sowohl in prokaryontischen (Archaea, Bakterien) als auch eukaryontischen Lebewesen (Pilze, Pflanzen, humane Parasiten, Wirbeltiere) vor. Phylogenetische Untersuchungen haben einen hohen Verwandtschaftsgrad der Transporter untereinander aufgezeigt.^[1]

Die ABC-Transporter sind an vielen unterschiedlichen zellulären Prozessen beteiligt. Die Mehrzahl führt, in Membranen integriert, den Transport diverser Substrate gegen einen Konzentrationsgradienten mittels ATP-hydrolytisch gewonnener Energie durch. Man unterscheidet im allgemeinen zwischen Im- und Exportern, wobei erstere Gruppe bis jetzt nur in Prokaryonten gefunden worden ist.^[2] Neben der Aufnahme bzw. Ausschleusung physiologisch essentieller Substanzen ist vornehmlich der Schutz der Zelle vor endo- und exogenen Giften ihre Aufgabe. Bis dato sind achtundvierzig humane ABC-Transportproteine identifiziert worden, von denen die meisten eine Exportfunktion ausüben. Sie werden gemäß der Sequenzhomologie der für sie codierenden Gene in sieben Untergruppen (ABCA bis G) unterteilt.^[3,4] Mutationen in diesen DNS-Bereichen konnten als Ursache für Erbkrankheiten ausgemacht werden.^[5]

Tabelle 1: Durch Mutationen in ABC-Genen ausgelöste Erbkrankheiten

Transporter	Funktion	Erkrankung	Referenz
ABCA1	Cholesterin- und Phospholipidtransport	Tangier-Krankheit (erhöhte zelluläre Cholesterinspeicherung), Atherosklerose, Morbus Alzheimer	[6]
ABCA3	Phospholipidtransport	neonatale Alveolarproteinose	[7]
ABCA4	Retinaltransport	Morbus Stargardt (juvenile Makuladegeneration)	[6]
ABCA7	Cholesterintransport, β -Amyloid-Metabolismus	Sjögren- oder Siccasyndrom, Morbus Alzheimer	[8,9]
ABCA12	Lipidtransport	Ichthyosen (Hautverhornungsstörung)	[10]
ABCB2/B3	Antigenpräsentation	Morbus Behçet (Vaskulitis der Kleingefäße)	[11]
ABCB4	Phosphatidylcholintransport	Cholestasen (u. a. PFIC* Typ 3)	[6]
ABCB7	Eisentransport	sideroachrestische Anämie und Ataxie (Eisenverwertungsstörung)	[6]
ABCB11	Gallensäuretransport	PFIC Typ 2, neonataler Surfactant-Mangel	[6]
ABCC2	Bilirubinkonjugattransport	Dubin-Johnson-Syndrom (Störung der Bilirubinexkretion in die Galle)	[6]
ABCC5	Transport cyclischer Nucleotide	inhärente Hypertrichose	[12]
ABCC6	unbekannt	Pseudoxanthoma elasticum (Calciumeinlagerung in die elastischen Fasern des Bindegewebes)	[13]
ABCC7	Chloridionenkanal	Mukoviszidose	[6]
ABCC8	Kaliumkanalregulator	Nesidioblastose (Inselzellhyperplasie)	[11]
ABCD1	Transport von VLCFA**	Siemerling-Creutzfeldt-Syndrom (Adrenoleukodystrophie)	[6]
ABCD3	Transport ungesättigter langkettiger Fettsäuren	Hepato- und Splenomegalie	[14]
ABCD4	Lipidtransport (?)	veränderter Vitamin-B ₁₂ -Metabolismus, Adrenoleukodystrophie (?)	[15,16]
ABCG5/G8	Steroidtransport	Sitosterinämie	[6]

* *progressive familiäre intrahepatische Cholestase*** *äußerst langkettige Fettsäuren*

Generell besteht ein ABC-Protein aus vier Domänen, von denen zwei die Membran durchziehen, die Transmembrandomänen (TMD), und zwei die ATP-Moleküle binden, die Nucleotidbindedomänen (NBD) oder ABC-Regionen.^[17,18] Letztere enthalten hochkonservierte Proteinsequenzen (Motive). Das *ABC-Signaturmotiv*, das die über die *C-Schleife* verbundenen Proteinmotive *Walker A* und *Walker B* enthält, stellt das Hauptmerkmal der Superfamilie dar.^[19] Anhand von Mutagenesestudien konnte gezeigt werden, dass die *Q-Schleife* eine zentrale Rolle hinsichtlich des Transports von Substraten und der Hydrolyse von ATP einnimmt.^[20]

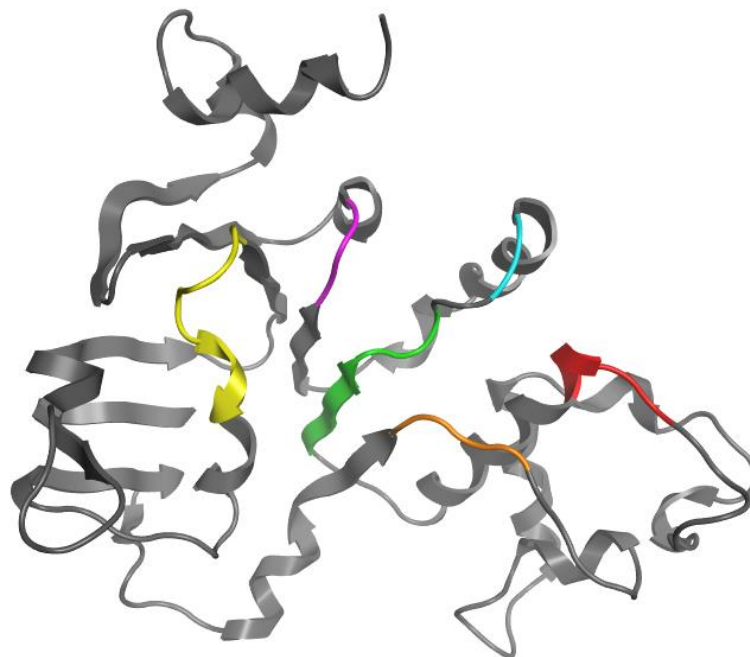


Abbildung 1: Kristallstruktur der NBD des ABC-Transporters Hämolyysin B in *Escherichia coli* (PDB-Nummer 1MT0)^[6,21]: Walker-A-Motiv (gelb), Q-Schleife (orange), C-Schleife (rot), Walker-B-Motiv (grün), D-Schleife (cyan), H-Schleife (lila)

In der Literatur sind drei verschiedene Mechanismen des Substrattransports anhand des ABCB1-Proteins beschrieben worden (Abbildung 2).^[22,23] Nach dem Pumpenmodell schleust der Transporter sein Substrat von der Innen- auf die Außenseite der Membran, was jedoch eine ausreichende Hydrophilie der Substrate voraussetzt, damit diese in den von der Membran umschlossenen Raum gelangen können. Dieser Modellmechanismus ist unwahrscheinlich, da die Substratspektren zumeist hydrophobe Verbindungen umfassen.^[24]

Das Flippasemodell setzt die passive Diffusion eines Substrates vom Extra- in den Intermembranraum voraus. Der Transporter bewirkt eine Anreicherung des Substrates an der äußeren Membranseite, so dass es von dort aus in den Außenbereich diffundiert. Nach dem HVC-Modell (*hydrophobic vacuum cleaner*, hydrophober Staubsauger) fängt der Transporter die Substanz vor der Diffusion in den Intramembranraum ab und transportiert sie wieder hinaus.

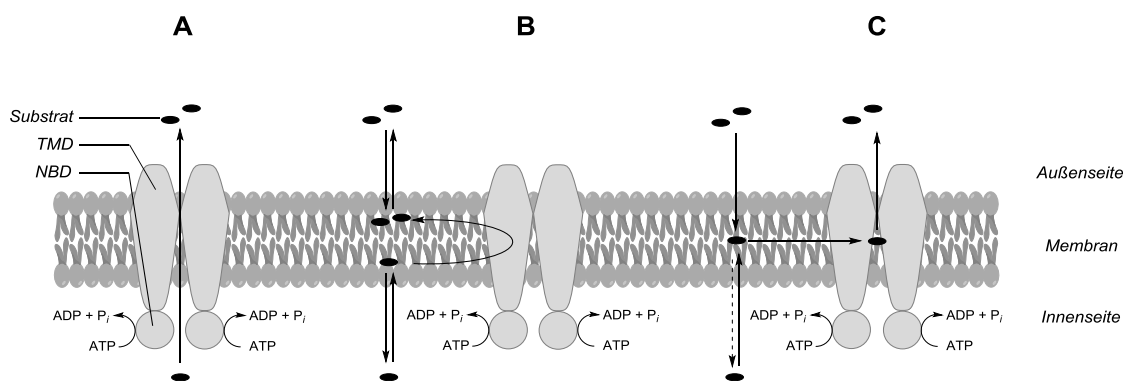


Abbildung 2: Formulierungen zum Transportmechanismus eines ABC-Proteins:^[22,23]
A: Porenmodell; B: Flippasemodell; C: HVC-Modell

Das HVC-Modell wird in der Literatur als Grundlage zur Formulierung des Transportcyclus herangezogen. Trotz vielen verschiedenen, aus röntgenkristallographischen Untersuchungen erhaltenen Konformationen von ABC-Transportern des Typs B pro- und eukaryontischen Ursprungs ist der Transportcyclus immer noch nicht vollständig aufgeklärt.^[18] In der Literatur wird die Abfolge eines Substrattransports im Allgemeinen folgendermaßen beschrieben (*Abbildung 3*):^[18,20,25-30]

- I) Wie kryoelektronenmikroskopische Aufnahmen zeigten, liegt der Transporter im Grundzustand, der nach innen gerichteten Konformation, in einem Gleichgewicht zwischen offener und geschlossener Form aufgrund schwacher Wechselwirkungen zwischen den beiden NBD vor. Dadurch zeigt er eine Basalaktivität, in der ATP auch in Abwesenheit eines Substrates umgesetzt wird.
- II) Getrieben durch vorwiegend hydrophobe Wechselwirkungen gelangt das membranpassierende Substrat an die Bindungsstelle der TMD.
- III) Es bindet je ein Molekül ATP an die NBD.

- IV) Die NBD umschließen die zwei Moleküle ATP durch Dimerisierung (*sandwich dimer*), wodurch eine Konformationsänderung ausgelöst wird. Der Transporter befindet sich nun in der nach außen gerichteten Konformation.
- V) Die Affinität der TMD zum Substrat nimmt ab, so dass es in den Extramembranraum diffundieren kann.
- VI) Die Hydrolyse der ATP-Moleküle in ADP und anorganisches Phosphat stellt den Grundzustand wieder her.

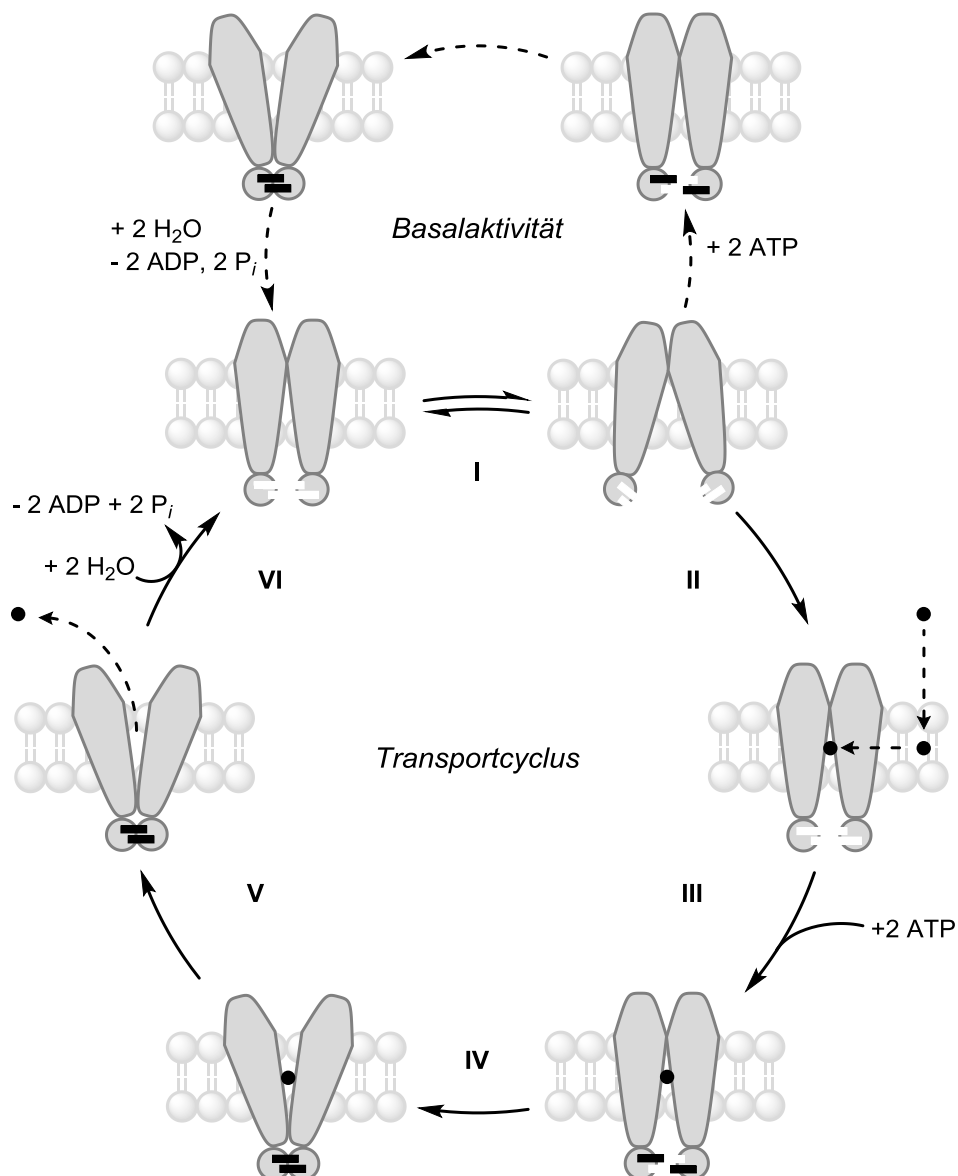


Abbildung 3: Allgemein angenommener Transportcyclus eines ABC-Transporters, basierend auf dem Higgins und Linton formulierten ATP-Switch-Modell (● Substrat, ■ ATP)^[18,20,25-30]

Nach dem von George und Jones formulierten Kolbenmodell (*reciprocating twin channel model*) schleusen die beiden Transporterhälften unter gegenseitiger Beeinflussung alternierend ein Substrat aus.^[31-33]

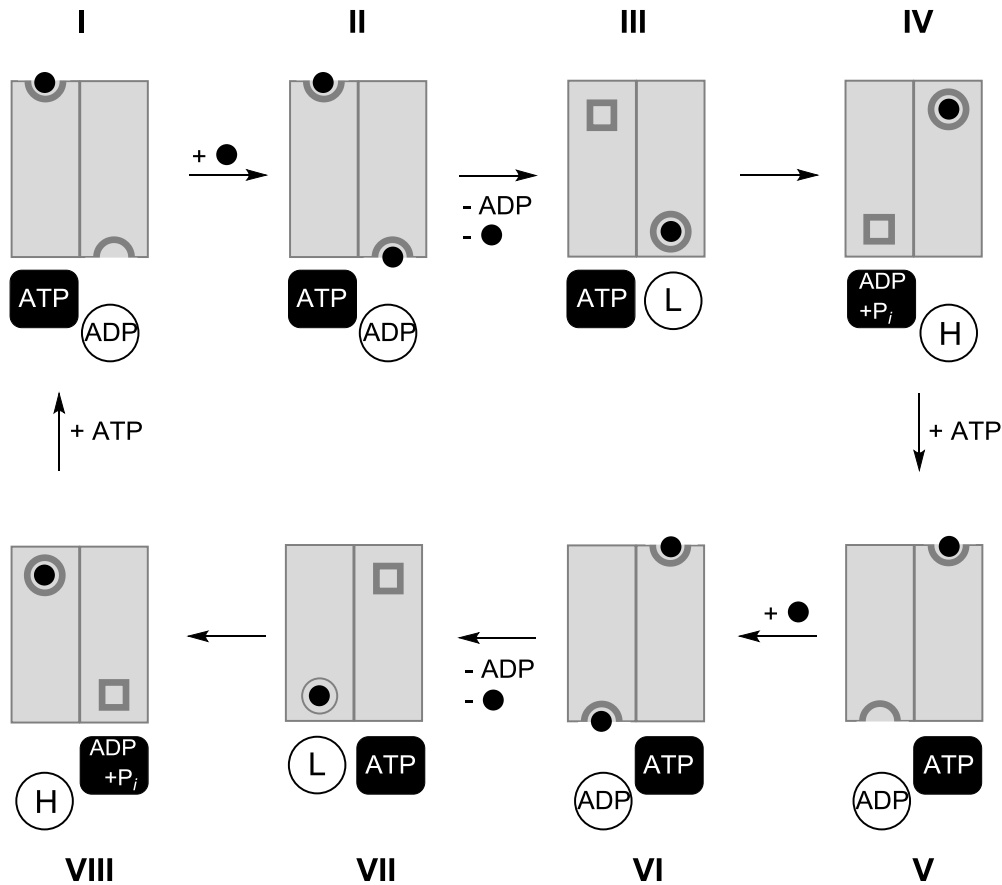


Abbildung 4: Kolbenmodell nach George und Jones:^[31-33]TMD = graue Rechtecke; (●) Substrat; Substratbindungsstellen (● = gebunden, □ ungebunden); NBD = Kreise; Nucleotidbindungsstelle in geschlossener Konformation (schwarz); Nucleotidbindungsstelle in offener Konformation (weiß) - die abgesenkte Position verdeutlicht die Ausrichtung der offenen Konformation (NBD vom Komplex weggedreht)

- I) Während die Bindungstasche der linken Hälfte (1. Kanal) zur Substratdissoziation bereit ist, befindet sich die Bindungstasche der rechten Hälfte (2. Kanal) in einem substrataffinen nach innen gerichteten Zustand. Von den aktiven Zentren der NBD umschließt die 1. Bindungsstelle ein Molekül ATP. Die 2. Bindungsstelle befindet sich in einem geöffneten Zustand mit ADP-Bindung.

-
- II) Ein Substrat bindet an *2. Kanal*, und *1. Kanal* entlässt sein Substrat.
 - III) Die *2. Bindungsstelle* setzt ADP frei, weist aber eine geringe Affinität für ATP (L) auf. Der *2. Kanal* wechselt von der offenen, nach innen gerichteten in die geschlossene, nach innen gerichtete Konformation.
 - IV) Durch die ATP-Hydrolyse wird die Konformation des *2. Kanals* stabilisiert, und die Affinität der *2. Bindungsstelle* für ATP steigt (H). Das Substrat befindet sich nun auf Höhe der äußeren Membrannenseite.
 - V) Die Bindung des ATP-Moleküls bringt die *2. Bindungsstelle* in die geschlossene Konformation, führt zur Öffnung der *1. Bindungsstelle* und stellt die Substrataffinität des *1. Kanals* wieder her. Die Ausschleusung des Substrats im *2. Kanal* steht bevor.
- VI) - VIII) Analog den Schritten II - IV.

1.1.2 Multidrug-Resistenz in der Krebstherapie

Laut Untersuchungen der Weltgesundheitsorganisation (WHO) und der amerikanischen Krebsgesellschaft (ACS) wird die Zahl der Krebserkrankungen ungebremst ansteigen.^[34] Diese stellen in industriellen Ländern wie Deutschland und den USA die zweithäufigste Todesursache dar. Das Nichtansprechen bzw. Versagen einer Chemotherapie ist in vielen Fällen auf eine bestehende (intrinsische) bzw. erworbene (extrinsische) Resistenz von Tumorzellen gegen Zytostatika zurückzuführen.^[34,35]

Dieses Phänomen wurde 1970 zum ersten Male beschrieben. Biedler und Riehm hatten beobachtet, dass ausschließlich mit Actinomycin D gestresste Ovarialzellen des chinesischen Hamsters (CHO-Zellen) auch gegen andere klinisch bedeutsame Zytostatika resistent wurden.^[36] Diese Multidrug-Resistenz (MDR) kann über verschiedene Anpassungsmechanismen herbeigeführt werden.^[37]

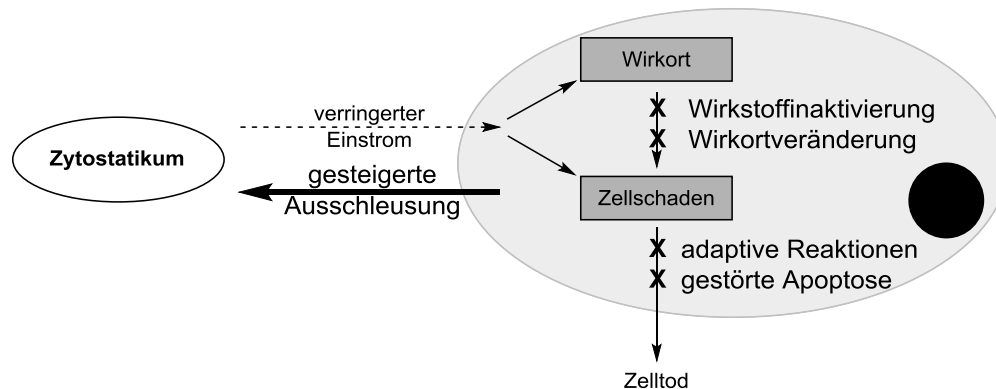


Abbildung 5: Übersicht über generelle Mechanismen zur Ausbildung einer MDR nach Holohan et al.^[37]

Einer dieser Mechanismen besteht darin, dass entartete Zellen durch eine erhöhte Expression von ABC-Transportern die intrazelluläre Konzentration eines zytotoxisch wirkenden Arzneimittels so niedrig halten können, dass ihr Überleben gesichert ist. ABC-Proteine vermögen strukturell unterschiedliche Substanzen und auch viele Standardzytostatika auszuschleusen. Vor allem auf die drei Vertreter ABCB1, ABCC1 und ABCG2, die in vielen multidrugresistenten Tumorgeweben überexprimiert vorgefunden worden sind, ist der wissenschaftliche Fokus gerichtet worden, die im Folgenden - geordnet nach dem Jahre ihrer Entdeckung - vorgestellt werden.^[37]

1.1.3 P-Glykoprotein

Das P-Glykoprotein ist als erster Vertreter der ABC-Transporter-Superfamilie beschrieben worden und der bis dato am genauesten untersuchte Transporter. Juliano und Ling entdeckten im Rahmen gelelektrophoretischer Untersuchungen colchicin-resistenter CHO-Zelllinien ein Oberflächenprotein, das im Phänotyp, aber nur in geringem Maße im Genotyp vorhanden war.^[38] Man führte die Resistenz auf die durch die Anwesenheit des Polypeptids herabgesetzte Membrangängigkeit der eingesetzten Substanzen zurück. Die Autoren bezeichneten das Enzym daher als *Permeabilitäts-glykoprotein*, kurz *P-gp*. Kurze Zeit später wurde die humane Form in vinblastin-resistenten leukämischen Lymphoblasten entdeckt.^[39] Das HGNC (Gen-Nomenklaturausschuss der Humangenom-Organisation) empfiehlt die Bezeichnung ABCB1.^[4]

Struktur und Vorkommen

Das aus 1280 Aminosäuren bestehende Protein hat im glykosylierten Zustand ein Molekulargewicht von 170 bis 180 kDa. Es ist aus zwei homologen Hälften aufgebaut, die sich aus je einer aus sechs Helices bestehenden TMD und einer NBD zusammensetzen.^[40]

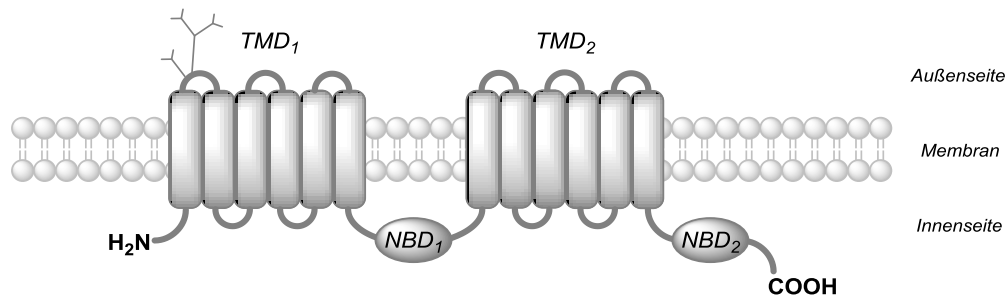


Abbildung 6: Sekundärstruktur von ABCB1^[41]

Bis heute ist es nicht gelungen, eine Kristallstruktur des humanen ABCB1-Transporters zu erhalten. Erste Homologiemodelle basierten daher auf den Strukturen bakterieller Exporter, vor allem auf der des Homodimers Sav1866 des Bakterium *Staphylococcus aureus*.^[42] Im Jahre 2009 gelang die erste Röntgenkristallstruktur des in der Maus vorkommenden ABCB1-Proteins, das der humanen Variante sehr ähnlich ist (Sequenzhomologie von 87 %).^[43] Das Protein bildet eine große Kavität zwischen den beiden TMD aus, deren Volumen auf 6000 \AA^3 geschätzt wird - im Vergleich dazu hat das Substrat Vinblastin ein Volumen von 154 \AA^3 .^[44] Bezüglich der Art und Weise, wie eine Substanz mit dem Transporter interagiert, herrscht noch Unklarheit. Früheren Untersuchungen zufolge existieren zwei Bindungsstellen, die aufgrund unterschiedlicher Affinitäten zu den eingesetzten Fluoreszenzfarbstoffen als H-Seite (Hoechst 33342) und R-Seite (Rhodamin 123) bezeichnet werden.^[45] In einer weiteren Veröffentlichung werden mindestens vier Bindungsstellen, die entweder eine Transport- oder eine Modulationsfunktion ausüben und ihre Affinität dem Liganden gegenüber verändern können, beschrieben.^[46] Andererseits wird postuliert, dass es eine weiträumige Tasche mit vielen, sich überlappenden Bindungsregionen gibt.^[44]

ABCB1 befindet sich vor allem in den Plasmamembranen polarisierter Epithelzellen, die eine Barriere- (Darm, Blut-Hirn-Schranke, Placenta) oder Ausscheidungsfunktion (Gallengänge der Leber, proximale Tubuli in der Niere, Nebennieren) ausüben.^[47] Bei diversen Tumorerkrankungen, vor allem bei akuter myeloischer Leukämie, Brust-, Blasen- und Gebärmutterhalskrebs, ist seine Überexpression nachgewiesen worden.^[48]

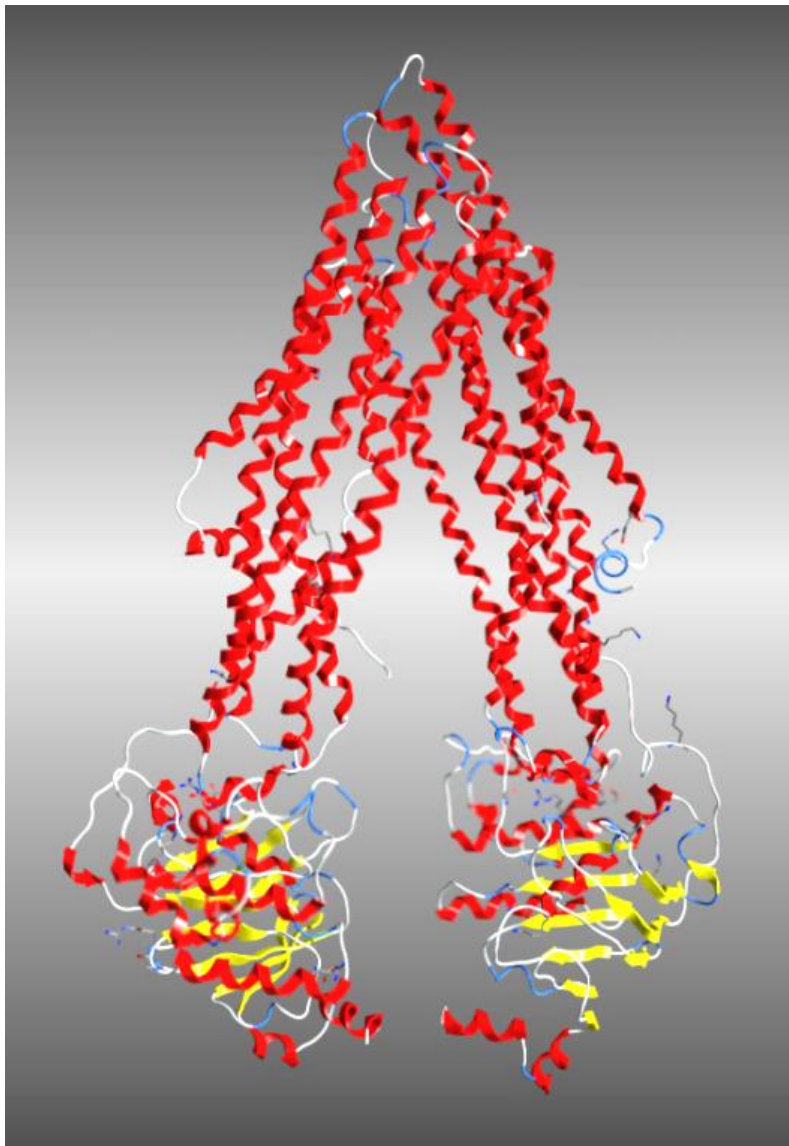


Abbildung 7: Röntgenkristallstruktur der murinen Variante des Transporters ABCB1 (PDB-Nummer: 4M1M)^[43]

Substrate und Inhibitoren

In den oben genannten Geweben ist das Protein am Transport von Bilirubin, Phospholipiden (z.B. PFA), Glykolipiden, β -Amyloiden, Zytokinen und Steroidhormonen (Aldosteron, Progesteron) beteiligt. Es ist eine große Anzahl strukturell unverwandter Arzneimittel identifiziert worden, die mit ABCB1 interagieren können. Ihre Zuordnung zum Substrat- oder Inhibitorspektrum ist mitunter nicht eindeutig, da Vertreter vorkommen, die nicht wie klassische Hemmstoffe die Transportaktivität - messbar durch die nicht ausbleibende Hydrolyse des ATP - unterbinden.^[49-51]

Die Interaktionsweise einer Substanz mit dem Protein auf molekularer Ebene ist immer noch unklar. Der inhibitorische Effekt kann durch den eigenen Transport, also als kompetitiv agierendes Substrat (z. B. Cyclosporin A), als Inhibitor im eigentlichen Sinne (z. B. Zosuquidar) oder durch Beeinflussung der ATPase-Aktivität über Wechselwirkungen mit den NBD (z. B. Steroide) ausgeübt werden.^[47,52] Eine andere Definition nimmt Bezug auf die Ursache der Entwicklung einer MDR.^[53] Als Inhibitoren werden Substanzen unabhängig ihrer Wechselwirkung mit dem Protein beschrieben, die die MDR aufzuheben in der Lage sind, ohne dass sie selbst zytotoxische Eigenschaften haben. Derartige Verbindungen werden daher auch als *overcoming agents*, *reversers*, *modulators*, *modifiers* oder *chemosensitisers* bezeichnet. Als Substrat eines ABC-Transporters hingegen wird eine Verbindung verstanden, die die Entwicklung der Resistenz einer Tumorzelle induziert. So sind vor allem verschiedene klinisch relevante Zytostatika als Substrate von ABCB1 zu bezeichnen.^[53] In der Literatur werden neben Fluoreszenzfarbstoffen, die als Modellzytostatika zur Identifikation neuer Inhibitoren eingesetzt werden, aber auch viele andere Arzneimittel dem Substratspektrum zugeordnet (Tabelle 2).^[23,41,47,54]

Tabelle 2: ABCB1-Substrate (Auswahl)^[23,41,47,54]

Arzneimittelklasse		Beispiele
Zytostatika	Anthracycline	Daunorubicin, Doxorubicin
	Anthracene	Mitoxanthron
	Podophyllotoxine	Etoposid, Teniposid
	Taxane	Docetaxel, Paclitaxel
	Tyrosinkinasehemmer	Erlotinib, Imatinib
	<i>Vinca</i> -Alkaloide	Vinblastin, Vincristin
Fluoreszenzfarbstoffe		Calcein-AM, Hoechst 33342, Rhodamin123
Kardiaka	Antihypertensiva	Reserpin
	Calciumkanalblocker	Diltiazem, Nifedipin, Verapamil
	Digitalisglykoside	Digoxin
Immunsuppressiva		Cyclosporin A, Tacrolimus
Sonstige	Analgetika	Morphin
	Antibiotika	Erythromycin
	HIV-Protease-Hemmer	Nelfinavir, Ritonavir, Saquinavir
	Cholesterinsenker	Lovastatin, Simvastatin
	Peristaltikhemmer	Loperamid
	Steroide	Aldosteron, Dexamethason, Progesteron

Der Ansatz, therapieresistente Tumoren unter Zugabe nicht schädlicher Adjuvantien zu behandeln, fußt auf den Arbeiten von Tsuru *et al.*, die die Resistenz einer Mutante der Leukämiezelllinie P388 gegenüber Vincristin und Vinblastin durch Zugabe untoxischer Dosen Verapamils aufheben konnten.^[55] Die Inhibitoren werden allgemein in drei Gruppen unterteilt. Unter den sogenannten *Inhibitoren der ersten Generation* werden Arzneistoffe verstanden, die neben ihren therapeutischen Zielen mit ABCB1 wechselwirken. Ein positiver Studienausgang wurde bei der Therapie akuter myeloischer Leukämie mit Daunorubicin und Cytarabin in Gegenwart von Cyclosporin A berichtet.^[56] Im allgemeinen jedoch hat es sich gezeigt, dass bei dieser Klasse der ABCB1-inhibitorische Effekt, gemessen an Hauptwirkung und Giftigkeit, relativ gering ausgeprägt ist.^[57]

Tabelle 3: ABCB1-Inhibitoren der ersten Generation (Auswahl)^[50]

Klasse	Beispiele
Anästhetika	Propofol
Antibiotika	Cefoprazon, Erythromycin
Antidepressiva	Haloperidol, Chlorpromazin
Antihistaminika	Azelastin
Antiinflammatorika	Ibuprofen
Antimykotika	Ketoconazol
Antiprotozoika	Hycanthon
Chemotherapeutika	Tamoxifen, Gefitinib
Immunsuppressiva	Cyclosporin A, Tacrolimus
PDE5-Hemmer	Sildenafil
Kardiaka	Verapamil, Nifedipin
Steroide	Progesteron
Virustatika	Ritonavir

Es ist das Ziel verfolgt worden, von Vertretern der ersten Generation abgewandelte Analoga mit gesteigerten ABCB1-inhibitorischen und verringerten toxischen Eigenschaften ohne die ursprüngliche Hauptwirkung der Stammsubstanz darzustellen. So ist entdeckt worden, dass die (R)-Enantiomere der chiralen Calciumantagonisten Verapamil und Niguldipin die Eutomere hinsichtlich der ABCB1-Inhibition mit geringer Affinität zum Calciumkanal darstellen.^[58,59] Abkömmlinge auf struktureller Basis von Vertretern der ersten Generation sind zum Beispiel Valspodar, abgeleitet von Cyclosporin D, und Biricodar, abgeleitet von Tacrolimus, die die oben genannten Kriterien erfüllt haben. Dennoch hat es sich gezeigt, dass diese *Inhibitoren der zweiten Generation* in ihrer Anwendung aufgrund von Wechselwirkungen mit CYP450-Enzymen, vor allem CYP3A4, und anderen ABC-Transportern eingeschränkt sind. Erstere Wechselwirkung verändert die Pharmakokinetik, d. h. Metabolismus und Exkretion des eingesetzten Chemotherapeutikums, wodurch eine Dosisreduktion erzwungen wird und der Therapieerfolg gefährdet sein kann.^[50] Die fehlende Transporterselectivität kann, da die Gabe des Inhibitors üblicherweise systemisch erfolgt, die durch ABC-Proteine vermittelten physiologische Abläufe im gesunden Gewebe negativ beeinflussen.^[60] Klinische Untersuchungen unterstrichen auch bei der

zweiten Generation der Inhibitoren die Ineffizienz als Adjuvans bei der Tumorthherapie.^[57]

Daher begann man, die Voraussetzungen für eine inhibitorische Wirkung über quantitative Struktur-Wirkungsbeziehungen und Bestimmung physikochemischer Eigenschaften (Molekulargewicht, Lipophilie, Anzahl der Wasserstoffbrückenakzeptoren und -donatoren usw.) der mit ABC-Transportern interagierenden Substanzen zu identifizieren. Es wurden folgende strukturelle Bedingungen zur Inhibition des ABCB1-Transporters postuliert:^[51]

- a) eine Molekülstruktur mit einer ≥ 18 Atome langen Achse für eine hohe Bindungsstärke,
- b) ein hoher Potentialwert des höchsten besetzten Molekularorbitals (HOMO) für nucleophile Interaktionen,
- c) recht hohe Lipophilie ($\log P \geq 2.92$) zur Gewährleistung hydrophober Wechselwirkungen mit den Aminosäureresten innerhalb des Proteins,
- d) möglichst ein tertiäres Stickstoffatom zur Ausbildung kationischer Wechselwirkungen.

Anhand dieser Parameter sind die *Inhibitoren der dritten Generation* dargestellt worden. Die Ergebnisse *in vitro* zeigten eine hohe Affinität zum Transporter, so dass sie am Menschen untersucht worden sind. Auch wenn die Wechselwirkung mit dem bedeutsamen CYP3A4-Enzym weitgehend ausgeschaltet werden konnte, wurde lediglich eine Erhöhung der systemischen Konzentration eines Zytostatikums und damit verstärkte Nebenwirkungen ohne signifikante Steigerung der Therapieeffizienz erreicht.^[57] Ferner hat es sich durch die Entdeckung der anderen MDR-relevanten ABC-Transporter ABCC1 und ABCG2 herausgestellt, dass die meisten Verbindungen nicht selektiv sind.^[50]

In den letzteren Jahren haben sich neue Indikationsgebiete für diese Arzneistoffklasse aufgetan. Aufgrund des ubiquitären Vorkommens der ABC-Transporter wird der Nutzen für die Aufklärung und Therapie neurodegenerativer Erkrankungen und für die Steigerung der Bioverfügbarkeit *per os* verabreichter Arzneimittel untersucht.^[61,62]

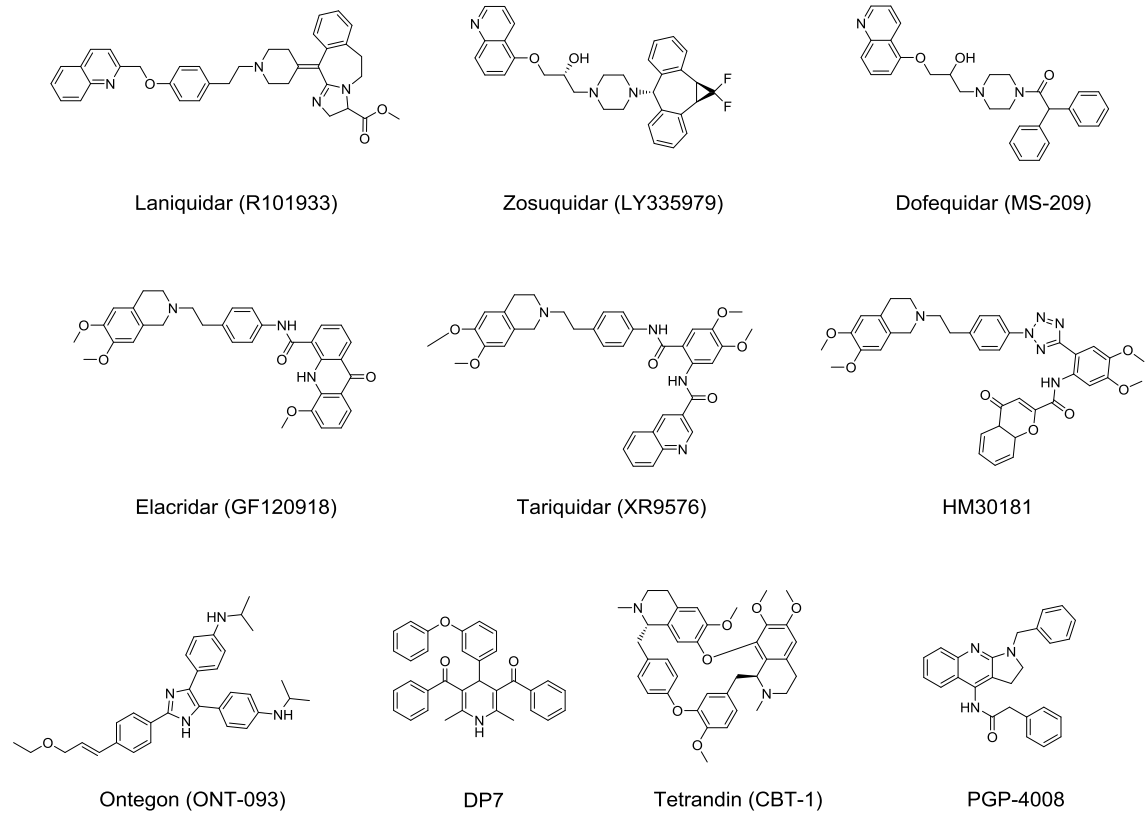


Abbildung 8: Strukturen von Inhibitoren der 3. Generation^[50,63]

1.1.4 Multidrug-Resistenz assoziiertes Protein 1

In den späten 1980er Jahren wurde bei Chemosensitivitätsuntersuchungen verschiedener humaner Krebszelllinien eine Form der MDR beobachtet, die nicht durch ABCB1 verursacht wurde.^[64] Im Jahre 1992 berichteten Cole *et al.* von der Entdeckung eines weiteren Mitgliedes der ABC-Transporterfamilie in einem Phänotyp, der nach der Behandlung von Zellen der humanen Lungenkrebszelllinie H69 mit Doxorubicin isoliert worden war.^[65] Das Multidrug-Resistenz assoziierte Protein 1 (MRP1) wird gemäß HGNC als ABCC1 bezeichnet.^[4]

Struktur und Vorkommen

ABCC1 besteht aus einer Sequenz von 1531 Aminosäuren und weist im glykosylierten Zustand ein Molekulargewicht von ungefähr 190 kDa auf.^[65,66] Neben den für ABC-Proteine charakteristischen TMD₁₋₂ und NBD₁₋₂ besitzt der Transporter eine weitere atypische, aus fünf transmembranären Helices bestehende Domäne (TMD₀), die auch bei den ABCC-Vertretern 2, 3 und 6-9 vorkommt.^[64] Eine Mutagenesestudie konnte zeigen, dass die TMD₀ für den Substrattransport nicht benötigt wird;^[67] jedoch ist ihre Funktion bis dato unklar.^[68]

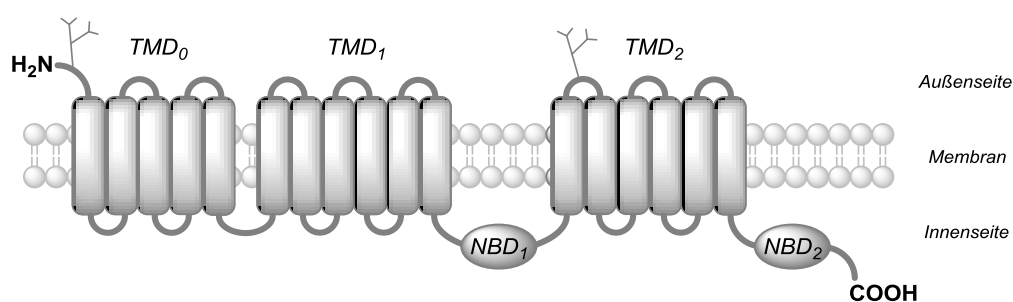


Abbildung 9: Sekundärstruktur von ABCC1^[41]

Der Transporter kommt ubiquitär in humanen Geweben, vermehrt exprimiert in inneren Organen, in Hautepithelien und Skelettmuskeln, aber auch in der Blut-Hirn-Schranke vor.^[69] Er befindet sich zumeist auf der basolateralen Seite endokriner Zellen,

aber auch in Membranen von Zellorganellen wie dem Mitochondrium oder dem endoplasmatischen Retikulum.^[69-71] Eine ABCC1-Überexpression wurde in verschiedenen Tumorerkrankungen wie akuter lymphatischer Leukämie, nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom oder Brustkrebs beobachtet.^[64]

Substrate und Inhibitoren

Wie viele ABC-Transporter hat auch ABCC1 eine Schutzfunktion vor zelltoxischen Verbindungen endogenen und exogenen Ursprungs mittels ATP-abhängigen Exports. Im Unterschied zu ABCB1 vermag der Transporter auch Phase-II-Metaboliten, die an Glutathion, Glucuronat oder Sulfat gebunden sind, zu transportieren.^[68] Aber auch physiologisch wichtige organische Anionen (z. B. Folat), ungebunden oder als Konjugate, sind Substrate. Eine weitere Besonderheit ist es, dass einige klinisch relevante Zytostatika unverstoffwechselt in einem Cotransport mit Glutathion aus dem Zellinneren hinausgeschleust werden.^[68] Einige Arzneimittel wie Verapamil induzieren den ABCC1-vermittelten Glutathionausstrom.^[72]

Tabelle 4: ABCC1-Substrate (Auswahl)^[23,68]

Transportform	Substrat	
ungebunden	endogen	Bilirubin, Vitamin B ₁₂ , Folat, Glutathion
	exogen	Methotrexat, Ciprofloxacin, Atorvastatin, Flutamid, Calcein-AM*, BCEFC**
ungebunden mit GSH***-Cotransport		Vincristin, Doxorubicin, Daunorubicin, Epirubiucin, Etoposid, Mitoxanthron
gebunden	endogen	Glutathiondisulfid, Leukotrien C ₄ (GSH), Prostaglandin A ₂ (GSH), Östron-3-sulfat, 17β-Östradiol-17-(β-D-glucuronid)
	exogen	Ethacrynsäure (GSH), Aflatoxin B ₁ (GSH), Cyclophamid (GSH), As ³⁺ / Sb ³⁺ (GSH)
Stimulation des GSH-Ausstroms		Verapamil, Nelfinavir, Apigenin

* Calcein-AM = Calceinacetoxymethylester

** BCEFC = 2',7'-Bis-(2-Carboxyethyl)-5-(6)-carboxyfluorescein

*** GSH = Glutathion

Ferner scheint das ABCC1-Protein eine Rolle für der Aufrechterhaltung der für die Zelle essentiellen Homöostase des Glutathionspiegels einzunehmen, da es in der Lage ist, das Dimer Glutathiondisulfid hinauszuschleusen, das im Falle großen oxidativen Stresses von der Glutathionreduktase nicht ausreichend schnell abgebaut werden kann und in der Zelle akkumulieren würde.^[73]

Man hat festgestellt, dass unspezifische Inhibitoren organischer Anionentransporter (OAT), z. B. Indomethacin, auch gegenüber ABCC1 hemmend wirken.^[68] Viele ABCB1-Inhibitoren (z. B. Cyclosporin A, Biricodar, Timcodar, Dofequidar, CBT-1) zeigen ebenfalls Aktivitäten gegenüber diesem Transporter.^[50] Etwas selektiver interagieren Vertreter der Leukotrienrezeptor-Antagonisten. Der bekannteste ist MK-571, der aber auch mit dem hepatischen OAT-1B3 wechselwirkt.^[64,68] Einen Fortschritt erreichte man mit Isoxazolochinolinon-Derivaten. Untersuchungen *in vitro* ergaben, dass diese Verbindungen in Anwesenheit millimolarer Mengen Glutathion den ABCC1-vermittelten Ausstrom von Leukotrien C₄ inhibieren können.^[74,75] Bislang sind aber keine klinischen Studien durchgeführt worden. Weitere Beispiele von Substanzen mit der Fähigkeit, ABCC1 *in vitro* zu hemmen, haben ein Pyrazolopyrimidin^[76], ein Pyrrolopyrimidin^[77], ein Galloylbenzamid^[78] oder ein Chalcogenpyrylium^[79] als Grundstruktur.

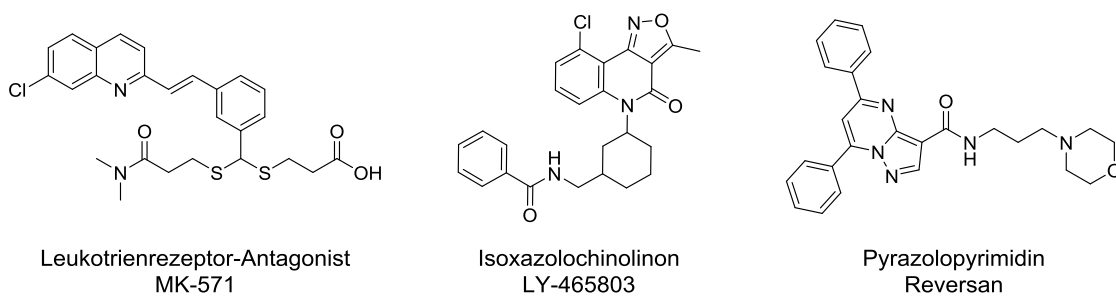


Abbildung 10: Strukturen ausgewählter ABCC1-Inhibitoren

1.1.5 Brustkrebs-Resistenz-Protein

Die Entdeckung dieses ABC-Transporters ist 1998/1999 von mehreren Arbeitsgruppen unter verschiedenen Bezeichnungen bekannt gegeben worden. Seine Überexpression in Doxorubicin resistenten Zellen der humanen Brustkrebszelllinie MCF-7/AdrVp wurde von Doyle *et al.* festgestellt, weshalb sie das Enzym als *Brustkrebs-Resistenz-Protein* (BCRP) bezeichneten.^[80] Seinem Vorkommen entsprechend wurde es von Allikmets *et al.* als Plazenta spezifischer ABC-Transporter (ABCP) bezeichnet.^[81] Die HGNC-Bezeichnung des Brustkrebs-Resistenz-Proteins lautet ABCG2.^[4]

Struktur und Vorkommen

Das Polypeptid ist aus 655 Aminosäuren zusammengesetzt und wiegt ungefähr 72 kDa im glykosylierten Zustand. Abweichend von der Norm ist ABCG2 ein aus einer N-terminal gelegenen NBD sowie einer sechs α -Helices umfassenden TMD bestehender Halbtransporter.^[82] Anhand immunohistochemischer und elektronenmikroskopischer Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass der Transporter seine Funktionsfähigkeit durch eine Oligomerisierung, mindestens durch eine Dimerisierung, von ABCG2-Einheiten erhält.^[83-86] Eine jüngst vorgestellte Studie kam zu dem Schluss, dass das Protein als Tetramer in der Zellmembran vorliegt. Wie sich dieser Komplex bildet, ist unklar.^[87]

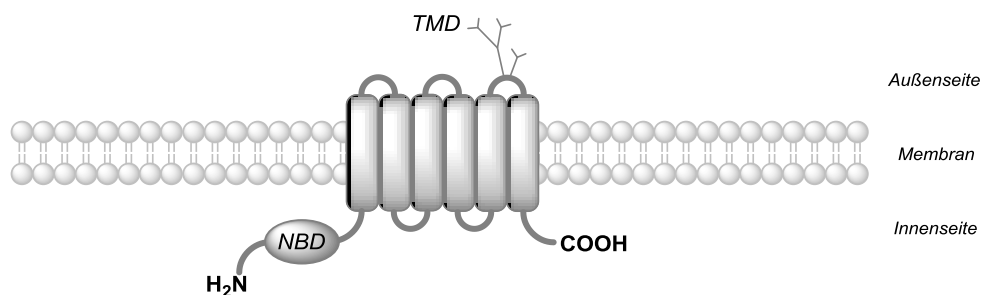


Abbildung 11: Sekundärstruktur von ABCG2^[41]

Die Verteilung und damit auch die physiologischen Aufgaben im humanen Organismus sind denen von ABCB1 recht ähnlich. So wird auch über ABCG2 in Geweben mit physiologischer Barrierefunktion (Blut-Hirn-Schranke, Leber-Gallen-Trakt, Brustdrüsen, Niere, Darm, Hoden, Plazenta) die Ausschleusung von Stoffwechselprodukten und Xenobiotika durchgeführt.^[88] Man vermutet eine Beteiligung am Schutz hämatopoetischer Stammzellen, vor allem in hypoxischen Zuständen.^[89]

Erhöhte ABCG2-Level wurden in Patienten mit akuter myeloischer Leukämie und mit diffusen großzelligen B-Zelllymphomen gefunden. Dennoch ist die Datenlage hinsichtlich des ABCG2-Einflusses auf die MDR ambivalent.^[90] In mehr als 40 % untersuchter solider Tumoren (z. B. Lungen- und Ösophaguskrebs) konnte jedoch ABCG2 als prognostischer Indikator identifiziert werden.^[88,91]

Substrate und Inhibitoren

Zu den physiologischen ABCG2-Substraten gehören sulfat- und glucuronatkonjugierte organische Anionen [z. B. Östron-3-sulfat, Dehydroepiandrosteronsulfat, 17 β -Östradiol-17-(β -D-glucuronid)], Phosphatidylserin, Harnsäure, Häm und Porphyrinmetaboliten, Folat, Riboflavin, und β -Amyloidpeptide.^[92,93] Wie die anderen beiden Transporter vermag auch ABCG2 eine große Anzahl strukturell unterschiedlicher Arzneistoffe zu transportieren. Trotz der großen Unterschiede in der Proteinsequenz werden viele ABCB1-Substrate auch von ABCG2 transportiert.^[94] Des Weiteren hat man beobachtet, dass die Anzahl transportierbarer Verbindungen durch eine Punktmutation am Anfang der dritten Helix der TMD (Position 482: Glycin oder Threonin anstelle von Arginin) zunimmt.^[90,95]

Tabelle 5: ABCG2-Substrate (Auswahl)^[60,90,92,96,97]

Arzneimittelklasse	Beispiele	
Zytostatika	Anthracycline	Daunorubicin*, Doxorubicin*
	Anthracene	Mitoxantron, Bisantren*
	Antimetabolite	Methotrexat**
	Camptothecine	9-Aminocamptothecin, Topotecan, Irinotecan, SN-38
	Epipodophyllotoxine	Etoposid*, Teniposid

Fortsetzung Tabelle 5:

	Proteinkinasehemmer	Flavopiridol
	Tyrosinkinasehemmer	Canertinib, Imantinib, Nilotinib, Erlotinib, Pazopanib
Fluoreszenzfarbstoffe		BODIPY-Prazosin, Hoechst 33342, Pheophorbid A, D-Luciferin, Rhodamin 123*
Sonstige	Antibiotika	Ciprofloxacin, Erythromycin, Nitrofurantoin
	Antiinflammatorika	Sulfasalazin
	Antiöstrogene	Tamoxifen
	α -Blocker	Prazosin
	Calciumkanalblocker	Dipyridamol, Nitrendipin
	HMG-CoA-Reduktasehemmer***	Rosuvastatin
	Protonenpumpenhemmer	Pantoprazol
Virustatika	Abacavir, Lamivudin, Zidovudin	

* Substrate der ABCG2-Mutante R482G

** kein Substrat der ABCG2-Mutante R482G

*** 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktasehemmer

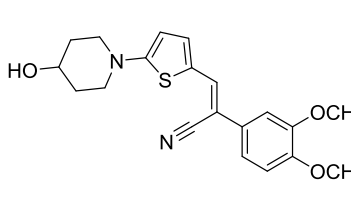
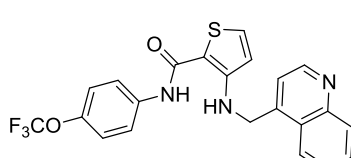
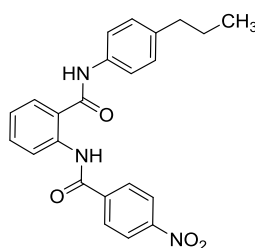
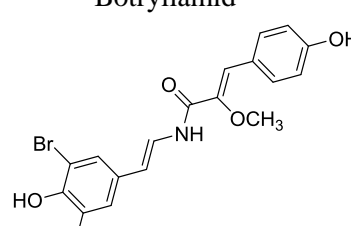
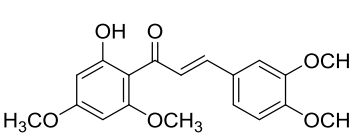
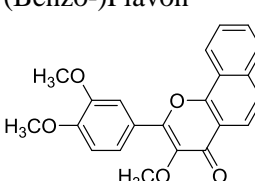
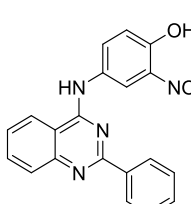
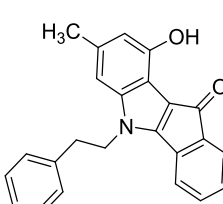
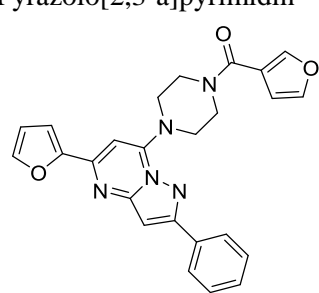
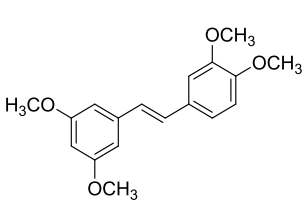
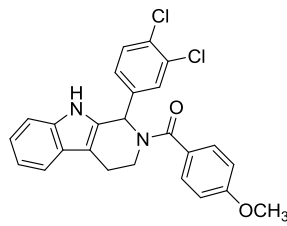
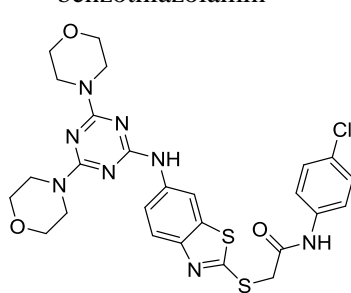
Es sind zahlreiche Substanzen als Inhibitoren beschrieben worden, wobei aber nur wenige von ihnen im Tierversuch oder gar in einer klinischen Studie untersucht worden sind.^[98] Wie schon bei der Vorstellung des ABCB1-Transporters erörtert worden ist, ist die Zuordnung der Verbindungen, die mit ABC-Transportern interagieren, vom interpretatorischen Standpunkt abhängig. Neben der strukturellen Klassifikation sind die Unterteilung gemäß ihrer Transporterselectivität^[99,100] oder die Unterscheidung in klassische Inhibitoren, die die ATPase-Aktivität (z. B. Ko143) hemmen, und „substratabhängige“ kompetitiv agierende Inhibitoren vorgeschlagen worden.^[97]

Neben den unspezifisch mit ABC-Proteinen interagierenden Arzneimitteln (Tabelle 5) haben auch als ABCB1-Inhibitoren (z. B. Dofequidar, Elacridar, Tariquidar) entwickelte Substanzen Aktivitäten gegenüber ABCG2 gezeigt.^[50] Ferner weisen viele Naturstoffe und Abkömmlinge (Aurone, Chalconoide, (Iso-)Flavonoide, Stilbene, Terpenoide) nicht-selektive Hemmeigenschaften auf.^[98] Ein Beispiel eines selektiv inhibierenden Naturstoffes ist Fumitremorgin C, das aus dem Pilz *Aspergillus fumigatus* isoliert worden ist und sich im Tiermodell als neurotoxisch herausgestellt hat.^[101,102]

Sein wohlbekanntes Analogon Ko143 ist wesentlich wirksamer und besitzt eine wesentlich geringere Toxizität als der Naturstoff.^[102,103] Jedoch wurden seine selektiven

Hemmeigenschaften jüngst widerlegt, da es bereits ab einer Konzentration von 1 $\mu\text{mol/l}$ ABCB1 und C1 inhibieren kann.^[104] In der Literatur ist aber auch eine ansehnliche Zahl von Berichten selektiver ABCG2-Inhibitoren zu finden.

Tabelle 6: Selektive ABCG2-Inhibitoren (Auswahl)

<p>Acrylonitril^[105]</p> 	<p>3-Amino-thieno-2-säureamid^[106]</p> 	<p>Anthranilamid^[107-110]</p> 
<p>Botryllamid^[111]</p> 	<p>(Benzo-)Chalcon^[112,113]</p> 	<p>(Benzo-)Flavon^[114-116]</p> 
<p>Chinazolin^[113,117-119]</p> 	<p>Indeno[1,2-b]indol^[120,121]</p> 	<p>Pyrazolo[2,3-a]pyrimidin^[122]</p> 
<p><i>trans</i>-Stilben^[123]</p> 	<p>Tetrahydro-β-carbolin^[124]</p> 	<p><i>N</i>-Triazinyl-benzothiazolamin^[125]</p> 

1.2 Biochemische Charakterisierung von ABC-Transporter-Inhibitoren

1.2.1 ABCG2-Inhibitoren

Bestimmung der Aktivität in Gegenwart des Farbstoffes Hoechst 33342

Der Fluoreszenzfarbstoff Hoechst 33342 – 2'-(4-Ethoxyphenyl)-5-(4-methyl-1-piperazinyl)-2,5'-bis-1*H*-benzimidazol-trihydrochlorid – interkaliert sowohl in Phospholipiddoppelschichten als auch in Kavitäten der DNS, die reich an Adenin und Thymin sind. ^[126-130] Während ungebundenes Hoechst 33342 bei ca. 340 nm angeregt werden kann und bei ca. 510 nm emittiert, weist der gebundene Farbstoff ein Anregungsmaximum bei 355 nm und Emissionsmaximum bei 465 nm auf und fluoresziert wesentlich stärker (750 – 1500fach) als der ungebundene. ^[131,132] Es ist festgestellt worden, dass Hoechst 33342 sowohl von ABCB1 als auch von ABCG2 aus der Zelle hinaus transportiert wird. ^[133-135]

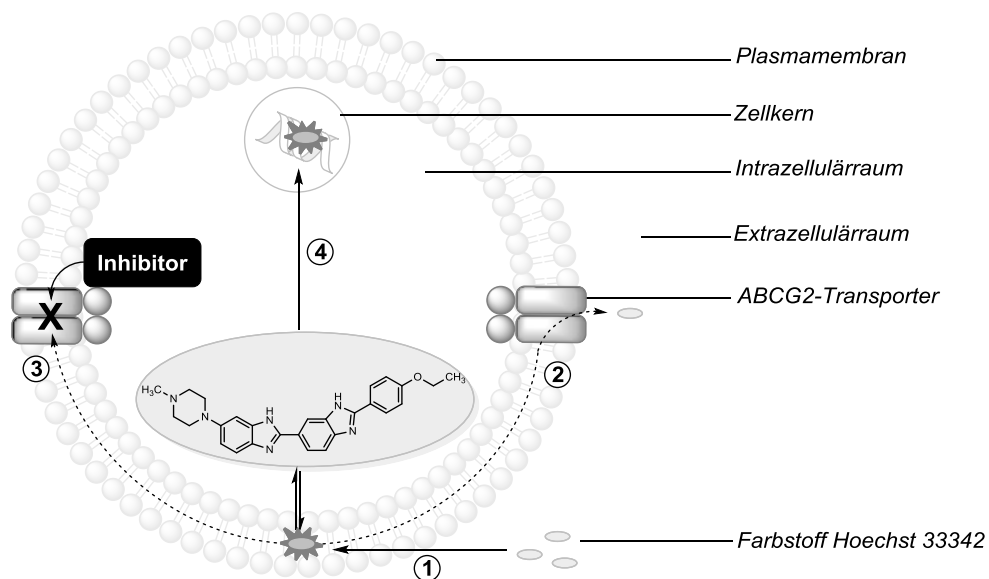


Abbildung 12: Schematischer Ablauf der Akkumulation von Hoechst 33342

Wie in *Abbildung 12* zu sehen ist, diffundiert der Farbstoff passiv entlang dem Konzentrationsgefälle vom Extra- in den Intrazellulärraum (1) und wird aktiv vom Transporter wieder hinausgeschleust (2). Mit der Unterbindung des Transports durch einen Inhibitor (3) kommt es zu einer Akkumulation des Farbstoffes innerhalb der Zelle, wodurch vor allem seine Einlagerung in die DNS einen Fluoreszenzanstieg verursacht (4). In Abhängigkeit der Potenz und der Konzentration eines Inhibitors beobachtet man hyperbolisch verlaufende Fluoreszenzanstiege (Reaktionskinetik 1. Ordnung) in der Zelle.^[136] Durchführung und Auswertung des Akkumulationstests sind dem Experimentalteil (*Kapitel 6.2.4.4*) zu entnehmen.

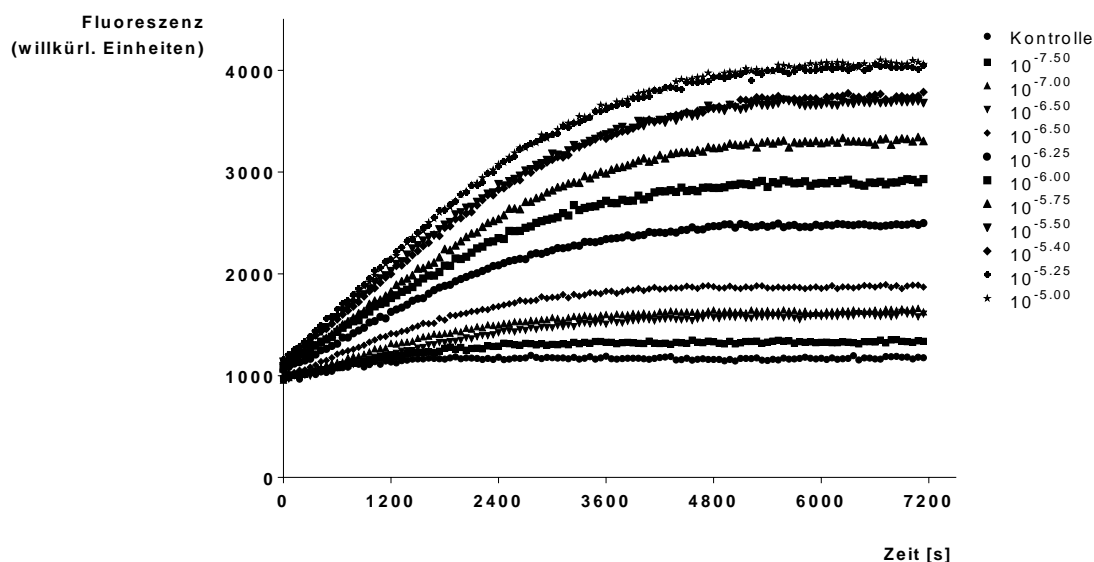


Abbildung 13: *Fluoreszenz-Zeit-Kurven eines typischen Hoechst 33342-Akkumulationstests in Gegenwart verschiedener Konzentrationen des Inhibitors XR9577 (in Mol pro Liter)*

Bestimmung der Aktivität in Gegenwart des Farbstoffes Pheophorbid A

Das Porphyrinderivat Pheophorbid A, ein Abbauprodukt des pflanzlichen Chlorophyllstoffwechsels, ist ein ABCG2-spezifisches Substrat, das ein Anregungsmaximum bei 395 nm und ein Emissionsmaximum bei 670 nm hat. Daher kann es als Modellsubstrat für die Untersuchung potentieller ABCG2-Inhibitoren eingesetzt werden.^[137-139] Da seine Fluoreszenzeigenschaft im Zellinneren unverändert bleibt, unterscheidet sich das Verfahren von dem vorangegangenen dadurch, dass die Fluoreszenzintensität innerhalb der Zellen mittels Durchflusszytometrie bestimmt wird.

Durchführung und Auswertung des Akkumulationstests sind dem Experimentalteil (*Kapitel 6*) zu entnehmen.

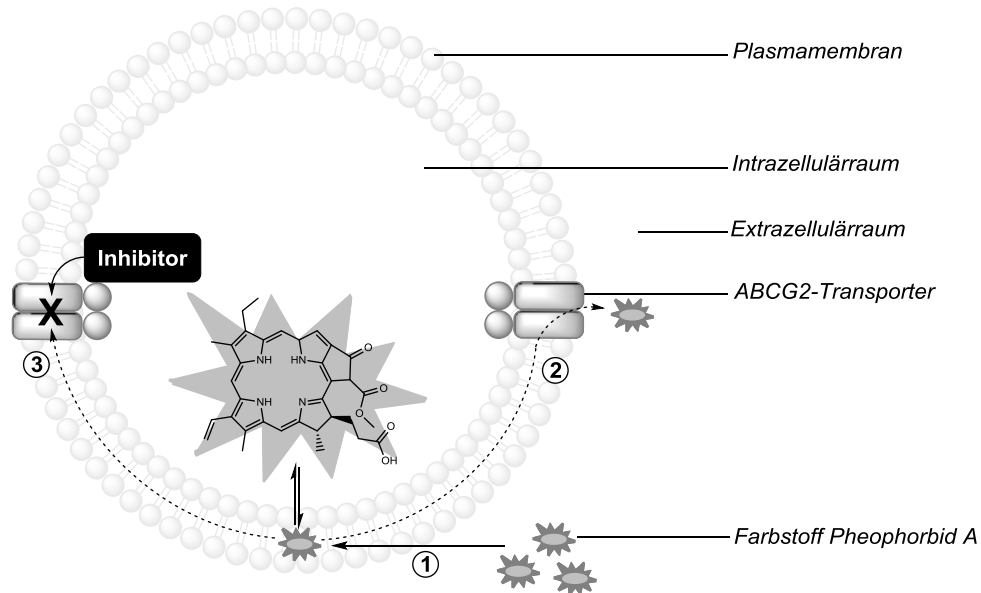


Abbildung 14: Schematischer Ablauf der Akkumulation von Pheophorbid A

1.2.2 ABCB1- und ABCC1-Inhibitoren

Calcein-AM ist die mit vier Acetoxymethylalkohol-Gruppen veresterte, nicht fluoreszierende Vorstufe des Fluoreszenzfarbstoffes Calcein. Wegen seiner Lipophilie kann Calcein-AM leicht über die Zellmembran in die Zelle gelangen, in der die veresterten funktionellen Gruppen von den dort vorhandenen unspezifischen Esterasen gespalten werden. Das dadurch entstandene Calcein-Anion kann die Zellmembran aufgrund seiner Ladungen praktisch nicht mehr überwinden und ist nun in der Lage, die im Zellinneren vorhandenen Calciumionen über die freien Carbonsäuregruppen zu komplexieren, wodurch es zu einer starken grünen Fluoreszenz kommt.^[140,141] Dieser Chelatkomplex besitzt sein Anregungsmaximum bei 496 nm und sein Emissionsmaximum bei 516 nm.^[142] Da nur lebende Zellen aktive Esterasen besitzen, wird Calcein-AM als Sensor zur Untersuchung der Viabilität von Zellen eingesetzt.^[143] Darüber hinaus stellte es sich heraus, dass Calcein-AM ein Substrat von ABCB1 und ABCC1 ist.^[144,145] Bei Zellen, die einen dieser Transporter überexprimieren, wird das Calcein-AM schneller ausgeschleust, als es von den Esterasen zum Calcein-Anion

gespalten werden kann. Dieses wird von ABCB1 nicht bzw. von ABCC1 nur in geringem Maße aus der Zelle transportiert.^[140,141,144,146] Daher eignet es sich zur Bestimmung der Aktivität von potentiellen Modulatoren beider Transporter, da bei deren Hemmung Calcein-AM akkumulieren und gespalten werden kann, wodurch ein Anstieg der Fluoreszenz messbar ist. Wie in *Abbildung 15* dargestellt ist, diffundiert der Calceinacetoxymethylester passiv, dem Konzentrationsgefälle entsprechend, vom Extrazellulärraum in den Intrazellulärraum (1), von dem es aktiv vom Transporter wieder hinausgeschleust werden kann (2). Bei Inhibition des Proteins (3) kann Calcein-AM im Intrazellulärraum akkumulieren, in dem es von unspezifischen Esterasen unter Abspaltung seiner Acetoxymethylgruppen (AcOCH_2 -) in das fluoreszierende Calcein-Anion (4) überführt werden kann.

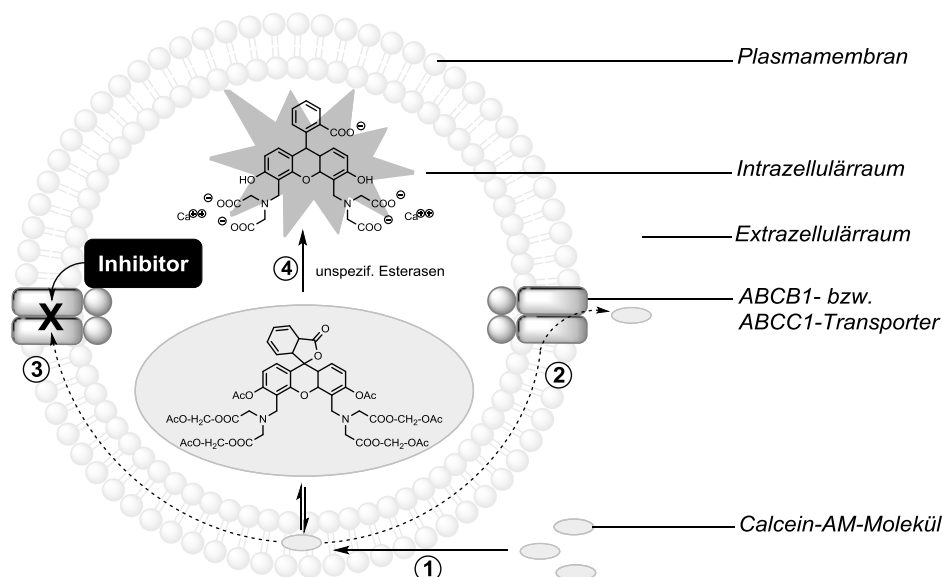


Abbildung 15: Schematischer Ablauf der Akkumulation von Calcein-AM

Die zu testenden Substanzen wurden diesem Akkumulationstest primär unterzogen, um ihre Selektivität zum Transporter ABCG2 festzustellen. Zeigte eine Substanz eine nicht unerhebliche Aktivität (über 25 % im Vergleich zur Referenzsubstanz Cyclosporin A), wurde von dieser der IC_{50} -Wert bestimmt. Da die Messzeit über die Konzentration des Calcein-AM stetig abnimmt, während die des Inhibitors gleich bleibt, wird ein linearer Anstieg der Fluoreszenz (Reaktionskinetik pseudonullter Ordnung) beobachtet (*Abbildung 16*).^[136]

Durchführung und Auswertung des Akkumulationstests sind dem Experimenterteil (*Kapitel 6.2.4.6*) zu entnehmen.

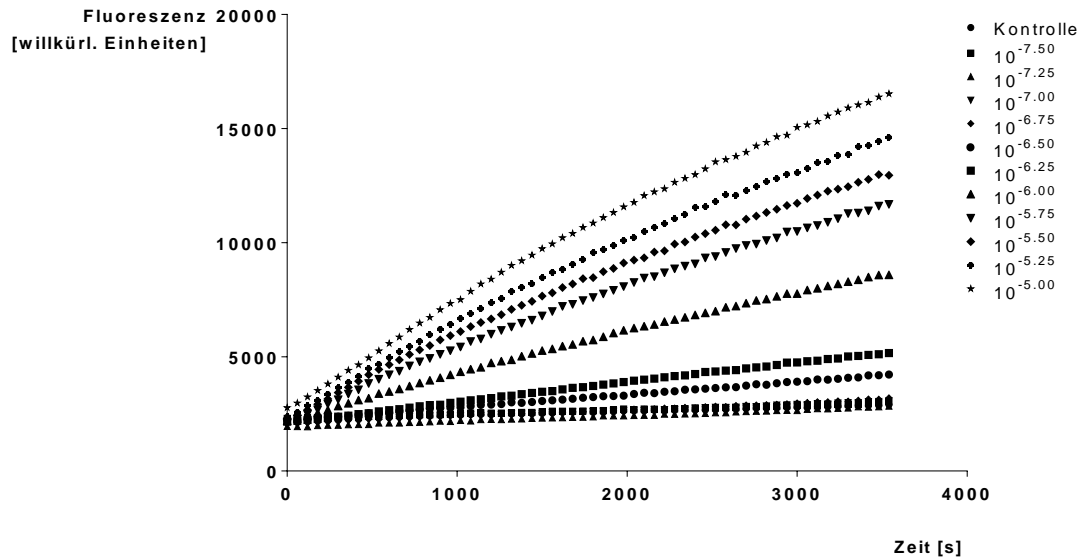


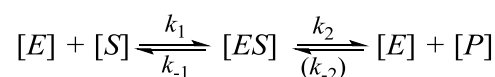
Abbildung 16: *Fluoreszenz-Zeit-Geraden eines typischen Calcein-AM-Akkumulationstests in Gegenwart verschiedener Konzentrationen des Inhibitors Cyclosporin A (in Mol pro Liter)*

1.2.3 Enzymkinetische Untersuchungen

Enzyme sind mit einigen Ausnahmen Proteine und dienen der Beschleunigung (bio-) chemischer Reaktionen.^[147] Die enzymkinetischen Gesetzmäßigkeiten können zur Beschreibung des Wechselwirkungsverhaltens eines ABC-Transportproteins mit seinem Substrat herangezogen werden.^[148]

Das von Michaelis und Menten im Jahre 1913 veröffentlichte Modell beschreibt den Zusammenhang zwischen Substratkonzentration S und Umsatzgeschwindigkeit eines Enzyms E .^[149]

Nach



bindet ein Enzym E reversibel mit der Bildungsgeschwindigkeitskonstante k_1 ein Substrat S unter Ausbildung eines Enzym-Substrat-Komplexes ES .

Anschließend kann ES wieder in die Edukte zerfallen (Zerfallsgeschwindigkeitskonstante k_{-1}) oder aber mit der Geschwindigkeitskonstante k_2 zum Produkt umgesetzt werden. Da bei Enzymen auch eine Rückreaktion mit der Geschwindigkeitskonstante k_{-2} zu beobachten ist, betrachtet man grundsätzlich die Anfangsreaktionsgeschwindigkeit v_0 , bei der Produktkonzentration P sehr gering ist. Das Produkt aus der Geschwindigkeitskonstanten k_2 und der Konzentration von ES stellt die Reaktionsgeschwindigkeit v_0 des Enzyms E dar:

$$v_0 = k_2[ES]$$

Gibbs und Haldane nahmen für enzymatische Reaktionen ein Fließgleichgewicht an, bei dem die Konzentration des Komplexes ES konstant ist, und somit auch Bildungs- und Zerfallsgeschwindigkeiten gleich groß sind:^[150]

$$k_1[E][S] = (k_{-1} + k_2)[ES]$$

Man definiert daher die Michaelis-Konstante K_m als:

$$K_m = \frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

Gehorcht ein Enzym E einer Michaelis-Menten-Kinetik (Abbildung 17), wird die Reaktionsgeschwindigkeit ab einer gewissen Substratkonzentration S maximal, da alle katalytischen Bindungsstellen am Enzym mit dem Substrat besetzt sind:

$$v_{max} = k_2[E]$$

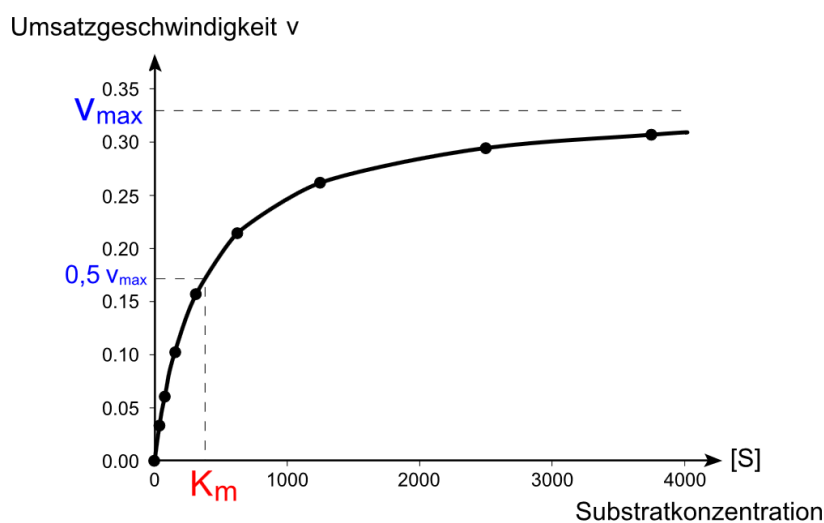


Abbildung 17: Sättigungskurve eines Enzymes mit Michaelis-Menten-Kinetik: Darstellung von v_0 als Funktion von S ^[151]

Durch Kombination der einzelnen Gleichungen erhält man die Michaelis-Menten-Gleichung:

$$v_0 = v_{max} \frac{[S]}{[S] + K_m}$$

K_m entspricht der Substratkonzentration, bei der die Reaktionsgeschwindigkeit v_0 halbmaximal ist. Da aber v_{max} lediglich asymptotisch erreicht wird, kann K_m nur näherungsweise bestimmt werden. K_m kann durch die reziproke Gleichung

$$\frac{1}{v_0} = \frac{K_m}{v_{max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{max}}$$

ermittelt werden. In einem Lineweaver-Burk-Diagramm, in dem $1/v_0$ über $1/[S]$ aufgetragen ist, wird die Funktion graphisch dargestellt, wodurch man die Parameter v_{max} und K_m bestimmen kann.

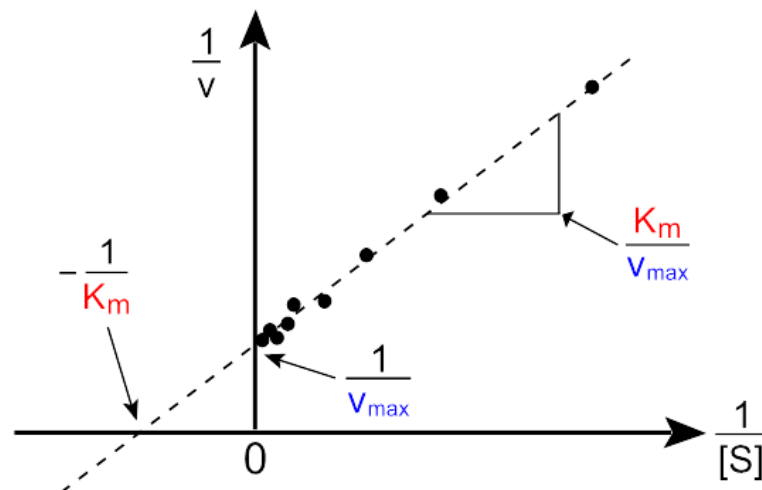


Abbildung 18: Lineweaver-Burk-Diagramm^[152]

Durch empirische Bestimmung der Katalysegeschwindigkeit bei verschiedenen Substrat- und InhibitorKonzentration kann die Art der Enzym-Inhibitor-Interaktion ermittelt werden. Man unterscheidet kompetitiv, nichtkompetitiv und unkompetitiv interagierende Inhibitoren.

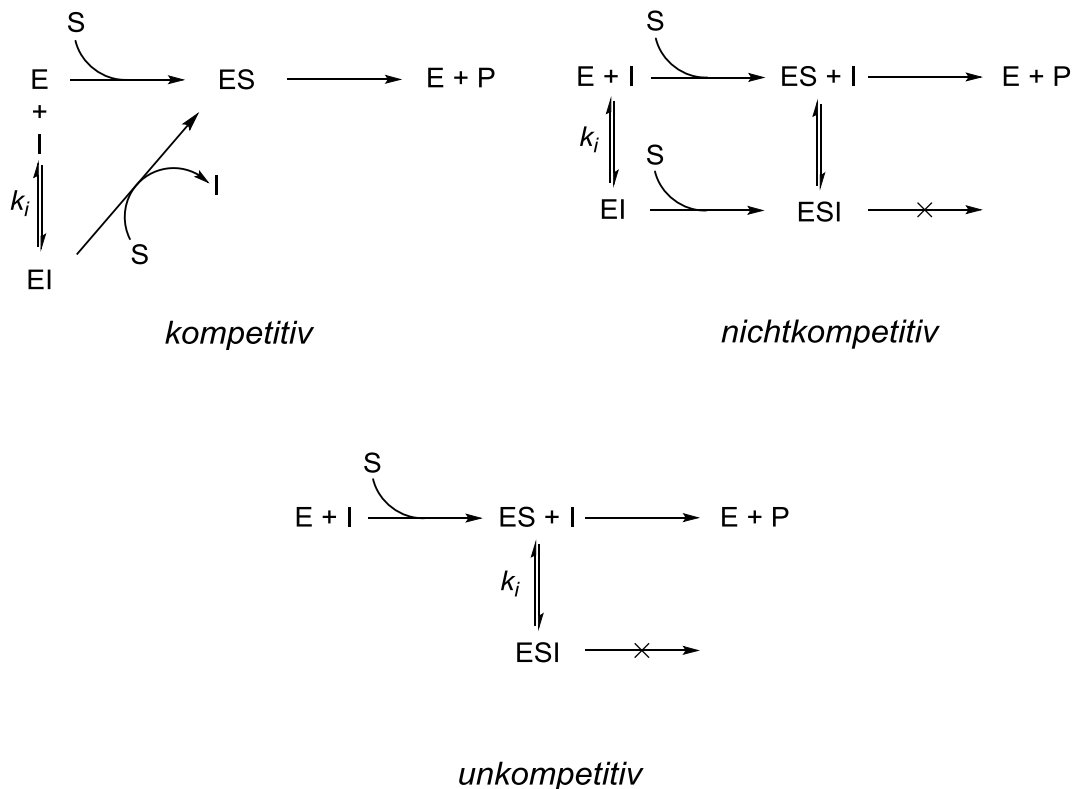


Abbildung 19: Reaktionsschemata möglicher Enzym-Substrat- bzw. Enzym-Inhibitor-Interaktionen (ES bzw. EI); P = Produkt^[147]

Ein *kompetitiver Inhibitor* konkurriert mit dem Substrat um dieselbe Bindungsstelle des Enzyms. Die v_{max} des Enzyms ist nicht erniedrigt. K_m erhöht sich aber in Abhängigkeit der Dissoziationskonstanten k_i des Enzym-Inhibitor-Komplexes. Je kleiner k_i ist, desto stärker ist die Hemmung. Durch eine ausreichend hohe Erhöhung der Substratkonzentration ist es jedoch möglich, den kompetitiven Inhibitor aus seinem Komplex mit dem Enzym zu verdrängen. Dieses Verhalten zeigt sich im Lineweaver-Burk-Diagramm dadurch, dass die Geraden einen gemeinsamen Schnittpunkt mit der Ordinate haben.^[147]

Ein *nichtkompetitiver Inhibitor* bindet an einer anderen Bindungsstelle des Enzyms als das Substrat. Dieses kann sowohl an das freie Enzym als auch an den Enzym-Inhibitor-Komplex binden, wobei jedoch von letzterem kein Produkt gebildet werden kann. Der K_m -Wert des Enzyms bleibt unverändert. Dadurch, dass der Inhibitor die Anzahl freier Enzyme zur Produktbildung erniedrigt, ist v_{max} reduziert. Graphisch wird dieses durch einen gemeinsamen Schnittpunkt der Geraden auf der Abszisse deutlich.^[147]

Ein *unkompetitiver Inhibitor* bindet ausschließlich an eine Bindungsstelle des Enzyms, die nach Bildung des Enzym-Substrat-Komplexes entstanden ist. Durch die Möglichkeit zur Bildung des Enzym-Substrat-Inhibitor-Komplexes (ESI) ist v_{max} erniedrigt. Ferner ist durch die ESI-Komplexbildung die ES-Konzentration gering, was zum Erhalt des Gleichgewichtszustandes zu vermehrter Bindung (Affinitätssteigerung) von S an E führt. Daher ist der apparente K_m -Wert abgesenkt, da eine geringere Substratkonzentration benötigt wird, um die Hälfte der maximalen ES-Konzentration zu erhalten. Im Lineweaver-Burk-Diagramm verlaufen die Geraden parallel zueinander.^[147]

Es wurde das Wechselwirkungsverhalten der Inhibitorenklasse mit Heteroarylphenylamid-Grundstruktur am ABCG2-Protein in Gegenwart der Substrate Hoechst 33342 und Pheophorbid A untersucht. Durchführung und Auswertung der Versuche sind dem Experimentalteil (*Kapitel 6.2.4.8*) zu entnehmen.

1.2.4 Zytotoxizität

Das toxische Verhalten einer Substanz kann mit dem MTT-Test untersucht werden. Lebende Zellen nehmen das gelbe Salz MTT (**Methylthiazolyl-diphenyltetrazoliumbromid**) auf, das durch mitochondriale Dehydrogenasen zu einem schwer wasserlöslichen, violetten Formazan reduziert wird. Die Intensität der Färbung bzw. die gemessene Extinktion korreliert daher mit der Zellvitalität.^[143,153] Durchführung und Auswertung eines MTT-Tests sind dem Experimentalteil (*Kapitel 6.2.4.7*) zu entnehmen.

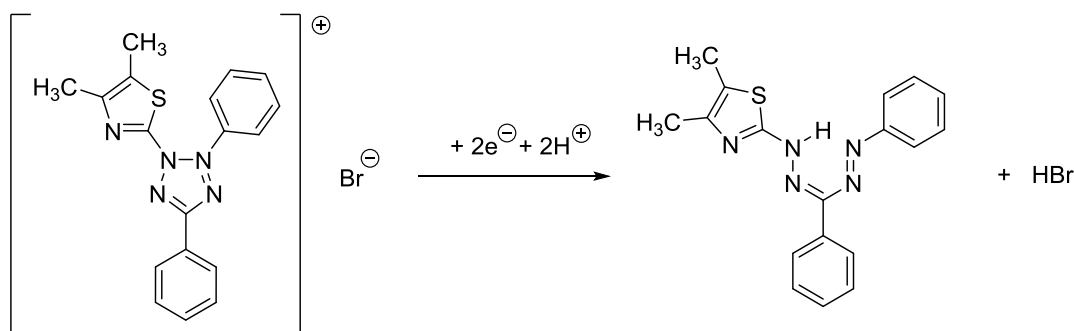


Abbildung 20: Enzymvermittelte Reduktionsreaktion des MTT zum Formazan

Der therapeutische Quotient TQ (oder therapeutische Breite) eines Arzneimittels ist das Verhältnis aus seiner therapeutischen und seiner toxischen Dosis; ein Wirkstoff ist um so sicherer, je größer das Verhältnis aus mittlerer letaler Dosis (LD_{50}) und mittlerer Effektivdosis (ED_{50}) ist.^[154] Um die Nutzbarkeit der Testsubstanzen für Lebendstudien einschätzen zu können, wurde dieses Verhältnis analog anhand der aus den Testverfahren ermittelten halbmaximalen Werte für das Zellüberleben (GI_{50}) und die Inhibition (IC_{50}) mit der Gleichung

$$TQ = \frac{GI_{50}}{IC_{50}}$$

berechnet.

2 ZIELSETZUNG

Das Nichtansprechen bzw. Versagen einer Chemotherapie ist in vielen Fällen auf eine in- oder extrinsische Resistenz von Tumorzellen gegenüber Zytostatika zurückzuführen.^[34,35] Ein Resistenzmechanismus besteht darin, dass entartete Zellen durch erhöhte Expression von ABC-Proteinen die intrazelluläre Konzentration eines zytotoxisch wirkenden Arzneimittels so niedrig halten können, dass ihr Überleben gesichert ist.^[37] Da ABC-Transporter strukturell unterschiedliche Substanzen, zu denen auch viele Standardzytostatika gehören, ausschleusen können, weisen Tumoren, die diese Transporter überexprimieren, eine so genannte Multidrug-Resistenz (MDR) auf.^[155,156] Von den bis dato achtundvierzig bekannten humanen ABC-Transportern konnte die Überexpression dreier Vertreter (ABCB1, ABCC1, ABCG2) für eine MDR verantwortlich gemacht werden.^[37]

Daher verfolgte man den Ansatz, über die Hemmung dieser Proteine die Resistenz aufzuheben. Im Rahmen dieser Arbeit sollten zwei Substanzklassen hinsichtlich ihrer Fähigkeit, den Transporter ABCG2 zu hemmen, untersucht werden:

- Es ist herausgefunden worden, dass der ABCB1-Inhibitor Tariquidar (XR9577) auch in der Lage ist, ABCG2 zu hemmen.^[157,158] Analoga ohne die Tetrahydroisochinolin-Partialstruktur büßten ihre Aktivität gegenüber ABCB1 ein, inhibierten aber weiterhin ABCG2.^[157] Jedoch erreichten diese höchstens das inhibitorische Niveau der Muttersubstanz.^[110] Es sollten die Auswirkungen weiterer Modifikationen des in fünf Bereiche teilbaren Anthranilamid-Grundgerüsts (*Abbildung 21*) untersucht und Struktur-Wirkungsbeziehungen abgeleitet werden (*Kapitel 3*).

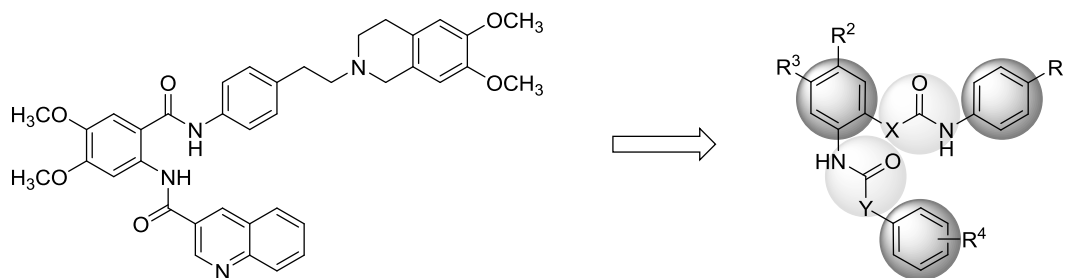


Abbildung 21: Stammsubstanz *Tariquidar* (links) und allgemeine Struktur der von Steggemann^[159] dargestellten Analoga ohne den Tetrahydroisochinolin-Rest (rechts)

- Voruntersuchungen hatten ergeben, dass einige der in der AG Scholz (Pharmazeutisches Institut, Universität Bonn) dargestellten Substanzen mit einer Carborancarboxamid-Partialstruktur eine inhibitorische Wirkung gegenüber ABCG2 zeigten. Daher sollten die für die Wirksamkeit verantwortlichen Strukturen ermittelt, Substituenteneffekte untersucht und Struktur-Wirkungsbeziehungen abgeleitet werden (*Kapitel 4*).

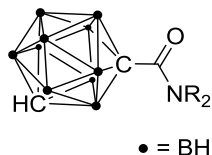


Abbildung 22: Grundstruktur der in der AG Scholz dargestellten Carborancarboxamide; das Carboran besteht aus zwei Kohlenstoff- und zehn Boratomen, die dodekaedrisch angeordnet sind.

3 HETEROARYL-PHENYLAMIDE

3.1 Literatur

Anfang der 1990er Jahre ist berichtet worden, dass die 2,5-Diketopiperazine Piperafizin A und B, isoliert aus dem Bakterium *Streptovercillium aspergilloides* (Aktinomyces), die Akkumulation des Mitosehemmers Vincristin (VCR) in der resistenten Blutkrebszelllinie P388/VCR zu erhöhen vermögen.^[160] Die von Piperafizin A abgewandelte Verbindung XR9051 (Abbildung 23) wurde 1998 als ABCB1-Inhibitor vorgestellt.^[161] Ausgehend von diesem wurde kurze Zeit später eine wesentlich wirkungsvollere Substanzklasse entwickelt, bei der die Piperafizin- gegen eine Anthranilsäureamid-Teilstruktur ausgetauscht worden ist und deren bekanntester Vertreter Tariquidar (XR9576) ist.^[162,163]

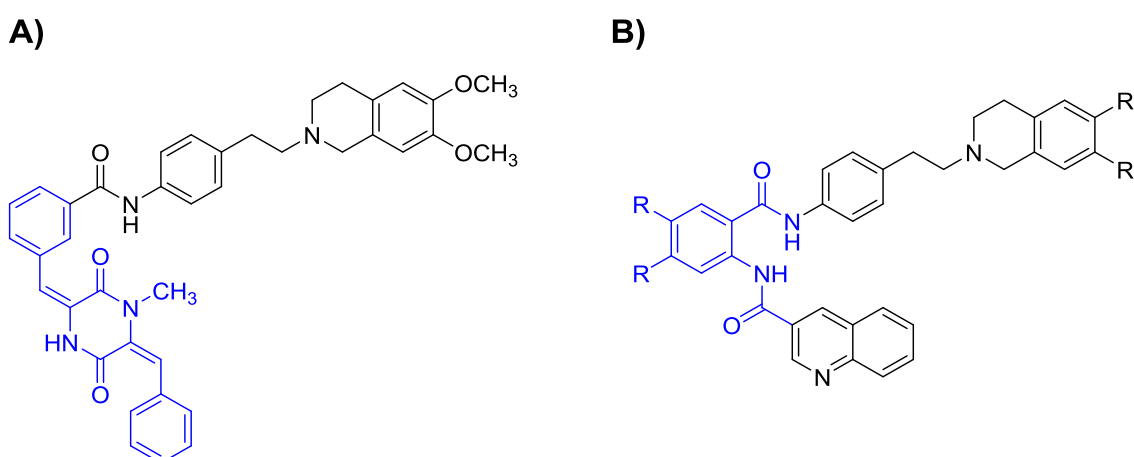


Abbildung 23: A) XR9051 mit Piperafizin-Teilstruktur; B) XR9577 (R = H) bzw. Tariquidar / XR9576 (R = OCH₃) mit Anthranilamid-Teilstruktur

Anhand der Strukturen vieler zur ABCB1-Modulation befähigter Verbindungen können gemeinsame Merkmale abgeleitet werden, nach denen sich die Grundstruktur eines Inhibitors in drei große Bereiche einteilen lässt. Eine basische Aminokomponente (grün) ist über eine teils aromatische Brücke (rot) mit einer großen hydrophoben aromatischen Struktur (schwarz) verbunden.^[164] Tariquidar hat als Vorbild zur Erstellung zahlreicher Substanzbibliotheken gedient, in denen vor allem der mittlere Teil des Grundgerüsts abgewandelt worden ist.

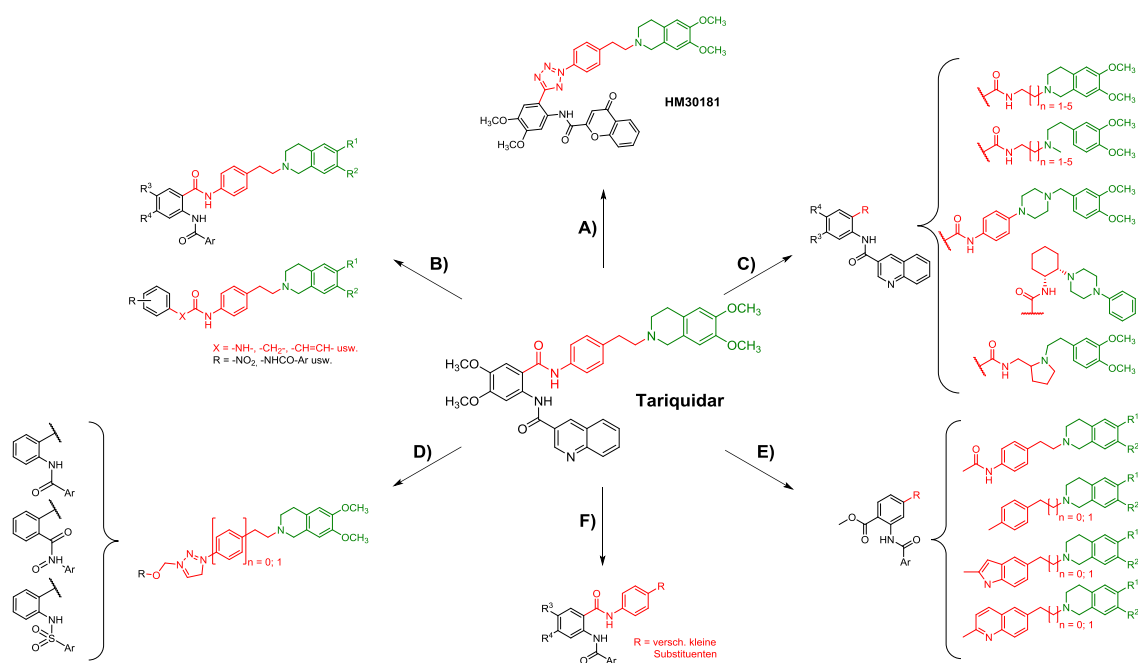


Abbildung 24: Beispiele publizierter Tariquidarabkömmlinge ($R^{1-4} = H$ oder OCH_3): A) dargestellt von der Firma Hanmi Pharmaceuticals (Seoul, Korea)^[165], B) von der AG Wiese (Univ. Bonn)^[159,166-169], C) von Labrie et al.^[170,171], D) von der AG Qian (Pharm. Univ. Nanking, China)^[172-174], E) von der AG Buschauer (Univ. Regensburg)^[107,175-178] und F) von der AG Wiese^[109,110,157,159]

Es ist herausgefunden worden, dass Tariquidar auch in der Lage ist, ABCG2 zu hemmen.^[157,158] Anthranilsäureamid-Analoga ohne Tetrahydroisochinolin-Rest (Abbildung 24F) büßten ihre Aktivität gegenüber ABCB1 ein und inhibierten selektiv ABCG2.^[157] Auf Basis dieser Erkenntnis ist eine Substanzbibliothek zahlreicher Anthranilsäureamid-Derivate, die selektiv ABCG2 inhibierten, aufgebaut worden.^[109,110] Jedoch erreichten diese höchstens das inhibitorische Niveau der Muttersubstanzen XR9576 bzw. XR9577.^[110]

Im Rahmen dieser Arbeit sollten die Auswirkungen von Abänderungen der Anthranilsäureamid-Struktur untersucht werden. Wie *Abbildung 25* zu entnehmen ist, besteht die Grundstruktur aus drei aromatischen Bereichen, die über zwei Amidbrücken verbunden sind. Es sollte zunächst eine Amidverknüpfung gegen ein Tetrazol (grün) ausgetauscht und die Effekte unterschiedlicher Substituenten an den drei Aromaten A, B und C auf die inhibitorische Aktivität gegen ABCG2 untersucht werden. Ferner sollten die Konsequenzen von Veränderungen innerhalb der Grundstruktur bestimmt werden. Die äußeren Phenylringe A und C wurden sowohl durch Alicyclen, Heterocyclen, annelierte (heteroatomhaltige) Cyclen - und nicht planare Systeme (Carborane, *Kapitel 4*) ersetzt als auch komplett ausgespart (grau schraffiert). Es wurden ein 1,3,4-Oxadiazol- und ein 1,2,3-Triazol-Körper als weitere zum Amid bioisostere Strukturen verwendet. Die Bedeutung der amidischen Verknüpfung zwischen den Ringen B und C (rot) für die Hemmwirkung wurde überprüft. Neben Aussparung und Positionswechseln relativ zum Heterocyclen (grün) wurde die Folge (bio)isosterer Substitution untersucht. Dafür ist die Amidsequenz vertauscht und als Substitut eine Sulfonamid- bzw. eine Tetrazolstruktur gewählt worden.

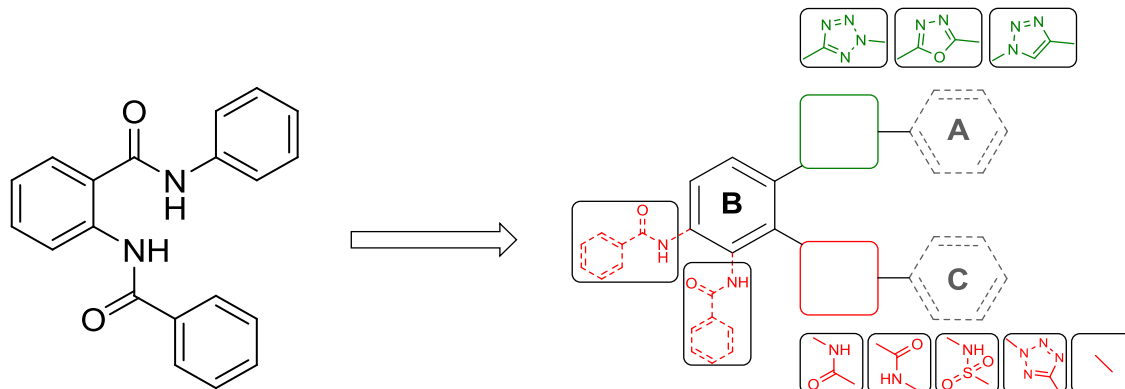


Abbildung 25: Grundgerüst der Anthranilamide und die im Rahmen dieser Arbeit vorgenommenen strukturellen Veränderungen

3.2 Synthese

Zur Darstellung der Derivate wurden unterschiedliche Methoden angewandt, die in den nachfolgenden Unterkapiteln vorgestellt werden.

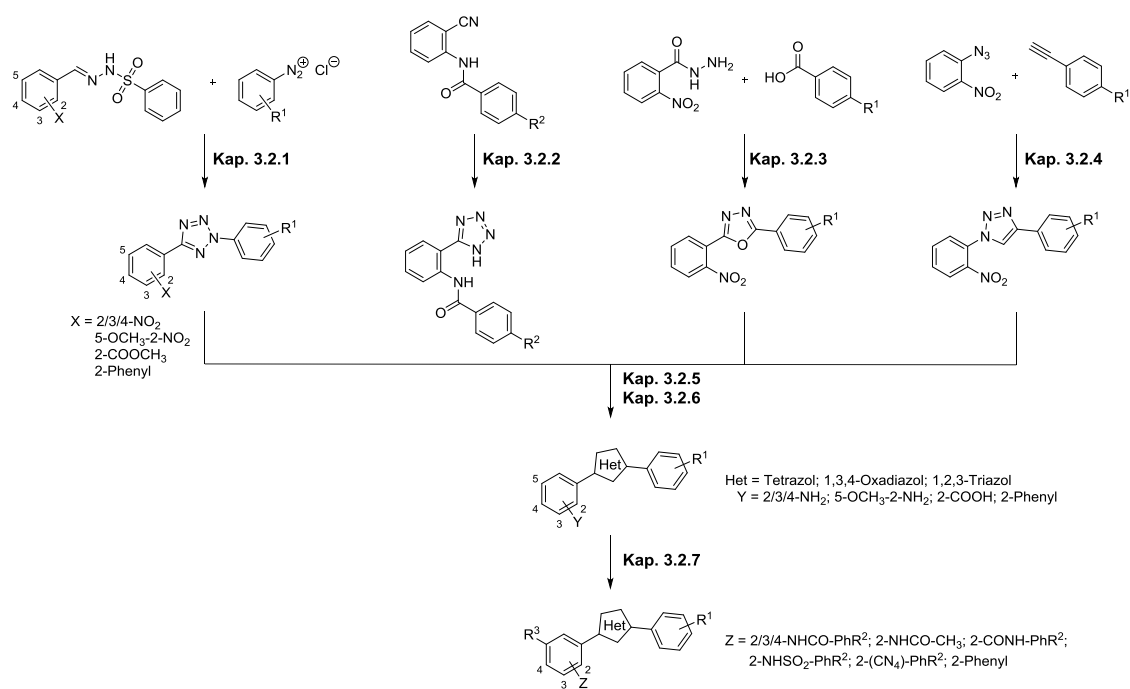


Abbildung 26: Übersicht über die beschrifteten Synthesewege

3.2.1 2,5-Diaryl-2H-tetrazole

Die Überlegung, disubstituierte Tetrazole über eine [2+3]-Cycloaddition (Huisgen-Reaktion) herzustellen, ist nicht verfolgt worden, weil außer stark elektronenarmen organischen Nitrilen wie z.B. dem Perfluoracetonitril die erforderlichen Nitrile so schwache Dipolarophile sind, dass sie mit den organischen Aziden nicht reagieren.^[179]

Die Bildung von 2,5-Diphenyltetrazol ist erstmals von Wedekind durch Oxidation von Tetrazoliumbasen mit salpetersaurem Kaliumpermanganat beschrieben worden.^[180]

Später stellten Dimroth und Merzbacher eine alternative Methode vor, nach der Benzaldehydhydrazon und Phenylazid in alkoholischer Natriummethylat-Lösung zu diesem Tetrazol reagieren.^[181] Ito *et al.* haben zwei andere Synthesewege unter Umgehung des doch recht empfindlichen Azids beschrieben, in denen zum einen *N*-Phenylsulfonyl-arylhydrazidoylchloride mit Arylhydrazinen in Tetrahydrofuran, zum anderen Phenylsulfonyl-arylhydrazone mit Aryldiazoniumsalzen in Pyridin umgesetzt wurden.^[182,183]

In der vorliegenden Arbeit ist das Tetrazol nach letztgenannter Methode dargestellt worden. In einer Kondensationsreaktion unterschiedlich substituierter Aldehyde mit Benzolsulfonsäurehydrazid in Ethanol wurden die Hydrazone **1**, **3-5** und **7-9** erhalten.^[184] Da sich das Kondensationsprodukt aus 2-Carboxy-benzaldehyd und Hydrazid in einer anschließenden intramolekularen Kondensation zum Phthalazinon umsetzt, wurde die Carbonsäurefunktion des Aldehyds zuvor mit Jodmethan als Säuremethylester geschützt (**6**).

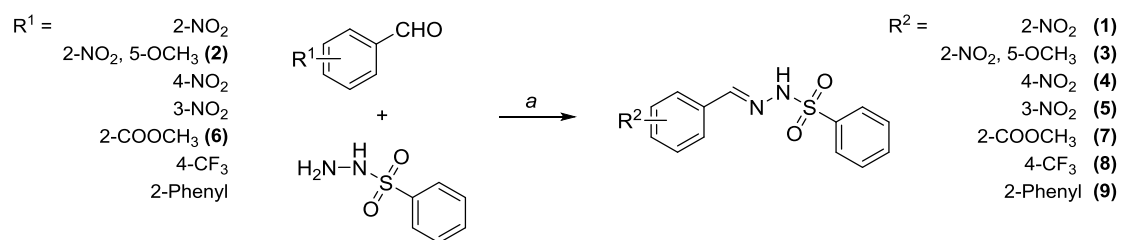
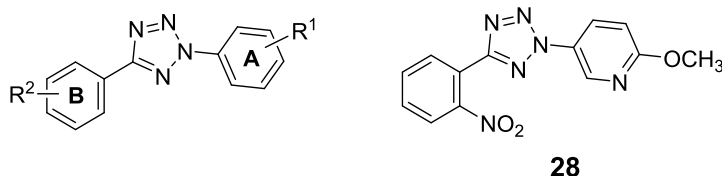


Abbildung 27: Darstellung verschiedener Sulfonylhydrazone; a) MeOH oder EtOH, ΔT

Diese reagierten dann mit einem nach Standardmethode erzeugten Aryldiazoniumion in Gegenwart von Pyridin zu den Tetrazolen **12-31** und **53**:

Tabelle 7: Vorstufen mit 2,5-Diaryl-2H-tetrazol-Teilstruktur



Verb.	R ¹	R ²	Verb.	R ¹	R ²
12	4- <i>n</i> -C ₃ H ₇	2-NO ₂	22	H	2-NO ₂
13	4-CH ₃	2-NO ₂	23	4- <i>i</i> -C ₃ H ₇	2-NO ₂
14	4-CF ₃	2-NO ₂	24	3,4-OCH ₃	2-NO ₂
15	4-Cl	2-NO ₂	25	3,4-F	2-NO ₂
16	4-OCH ₂ CH ₃	2-NO ₂	26	4-OPh	2-NO ₂
17	4-SCH ₃	2-NO ₂	27	4-OCH ₃	4-NO ₂
18	2-OCH ₃	2-NO ₂	29	H	4-NO ₂
19	3-OCH ₃	2-NO ₂	30	4-OCH ₃	3-NO ₂
20	4-OCH ₃	2-NO ₂	31	H	3-NO ₂
21	4-OCH ₃	2-NO ₂ , 5-OCH ₃	53	4-OCH ₃	2-COOCH ₃

Man nimmt folgenden Reaktionsverlauf an (*Abbildung 28*)^[183]: Das Aryldiazoniumion greift zunächst nucleophil am Hydrazon-C an, und es bildet sich ein nicht isolierbares Formazan (I). Einer Bamford-Stevens-Reaktion ähnlich deprotoniert das im Überschuss vorliegende Pyridin den Hydrazon-Stickstoff, wodurch sich ein Benzolsulfonsäure-Anion abspaltet (II). Da aber im Gegensatz zur Olefinbildung nach Bamford und Stevens kein Stickstoff freigesetzt wird, muss sich das Arylazoaryldiazomethan-Intermediat u-förmig im Raum angeordnet haben, wodurch es einen quasiaromatischen Zustand erhält, der die Ladungsunterschiede bzw. den Dipol delokalisiert und damit stabilisiert (III). Dann kann sich der Heterocyclus in einer intramolekularen 1,5-dipolaren Cyclisierung bilden, indem das freie Elektronenpaar am positiv geladenen Stickstoff angreift (IV).

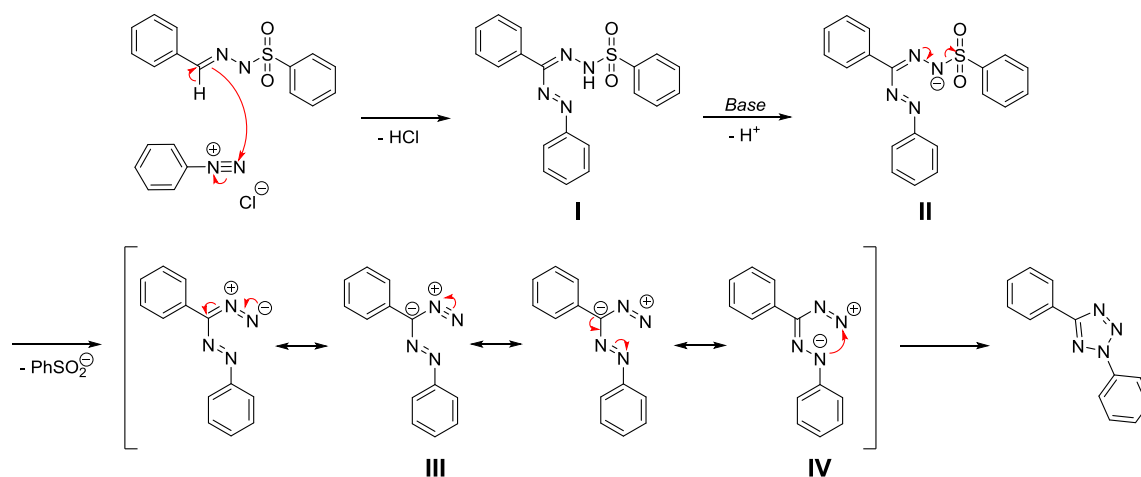


Abbildung 28: Mechanismus der Bildung von 2,5-Diaryltetrazolen nach Ito et al.^[183]

Bemerkbar durch die nicht einsetzende Rotfärbung des Reaktionsansatzes bei Zutropfen der Diazoniumsalz-Lösung, wurde das Tetrazol offensichtlich nicht gebildet, wenn der Rest R^1 des Diazoniumsalzes eine Hydroxy- oder Hydroxyethylgruppe war. Es konnte lediglich das Sulfonsäurehydrazon-Derivat wiedergewonnen werden. Derivate mit Pyridin-2-yl- und Pyridin-4-yl-Partialstruktur im aromatischen Bereich A können nach dem gewählten Syntheseweg nicht dargestellt werden.^[185,186] In der Literatur sind einige allgemeine Methoden zu finden, die die Darstellung ermöglichen könnten (Abbildung 29).^[187,188] Da jedoch die Anwesenheit des Stickstoffes im Ring A keinen signifikanten Einfluss auf die biochemische Aktivität (Kapitel 3.3.1) ausgeübt hat, wurde von der Darstellung weiterer Derivate über diese Synthesewege abgesehen.

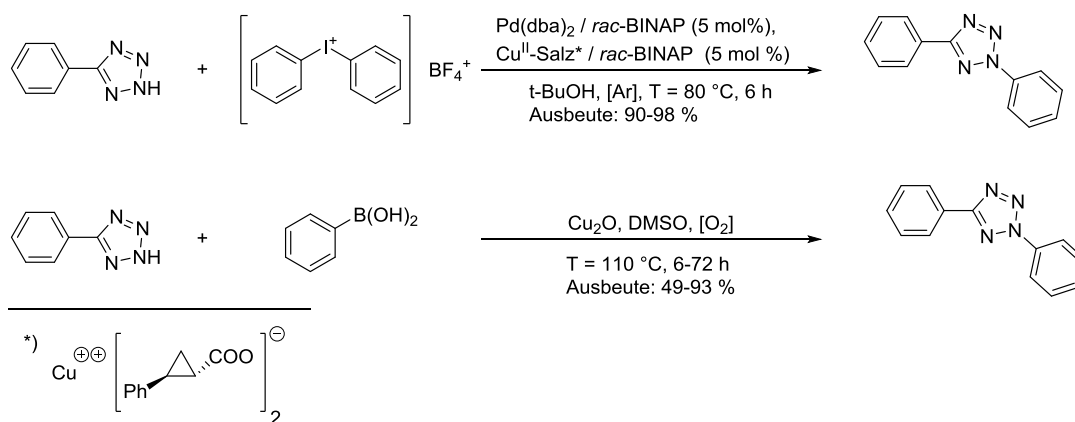


Abbildung 29: Alternative Methoden zur Darstellung von 2,5-Diaryltetrazolen^[187,188]

3.2.2 5-Aryl-1H-tetrazole

Eine Abänderung in der Grundstruktur betraf den Wegfall des am N-2 des Tetrazols befindlichen Aromaten. Einfach substituierte Tetrazole sind auf verschiedene Weisen darstellbar. Pinner isolierte auf mehrstufigem Wege das 5-Phenyltetrazol, im letzten Schritt durch salpetersaure Behandlung von Benzamidrazon.^[189] Diese Darstellungsmöglichkeit erwies sich im Ganzen wegen hohen Aufwandes bei nur mäßiger Ausbeute als ungeeignet. Mihina und Herbst stellten 5-Aryltetrazole durch bis zu fünftägige Einwirkung von Stickstoffwasserstoffsäure auf Nitrilderivate in Benzol im Einschlussrohr bei 150 °C dar.^[190] Da Stickstoffwasserstoffsäure (K_p 37 °C, toxisch und explosiv) ein hohes Gefahrenpotential birgt, sind andere Syntheseprotokolle entwickelt worden, die meist Natriumazid als Azidquelle und stöchiometrischen Mengen eines Katalysators verwenden.^[191-194]

Die Derivate mit einfach substituiertem Tetrazol (**150**, **151**) wurden dem Protokoll von Kogura *et al.* gemäß synthetisiert, nach dem ein Nitrilderivat mit Natriumazid in Gegenwart von Triethylammonium-hydrochlorid in Toluol bei 100 °C über Nacht gerührt wurde.^[195] Die Darstellung des Tetrazols ist der Amidbildung nachgestellt worden, da die (2-Cyanophenyl)-amide **10** und **11** aus der Synthese der 1,2,4-Oxadiazole (*Kapitel 3.2.2*) bereits synthetisiert wurden.

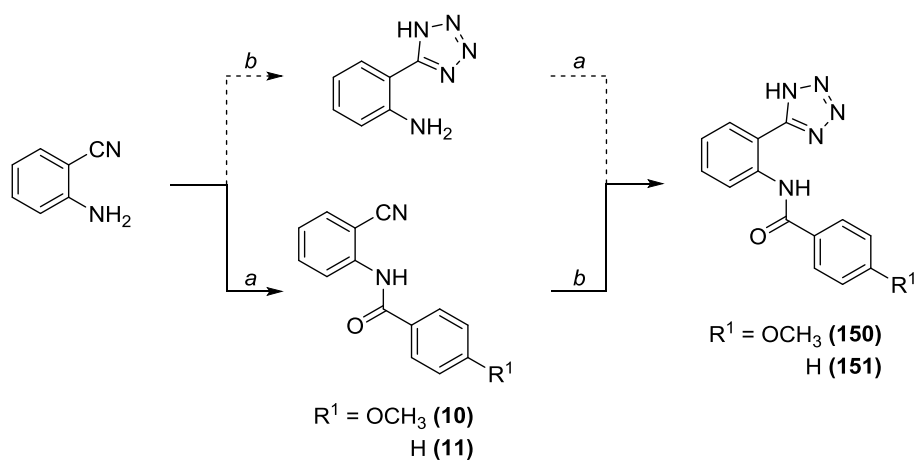


Abbildung 30: Syntheseweg der einfachsubstituierten Tetrazole: a) Säurechlorid, TEA, THF, RT; b) NaN_3 , TEA-HCl, Toluol, $T = 100$ °C

Eine etwaige *N*-Acylierung des Tetrazols hätte jedoch keinen Umstand bedeutet, weil diese Intermediate als aktivierte Carbonsäuren leicht mit Nucleophilen – in diesem Falle ausschließlich mit der Aminogruppe – reagieren, und das Tetrazol wieder freigesetzt worden wäre.^[196]

Quantenmechanische Berechnungen auf Basis der Dichtefunktionaltheorie haben ergeben, dass unter den Reaktionsbedingungen die Tetrazolbildung über einen zweistufigen Prozess gegenüber der konzertierten Addition bevorzugt ist (*Abbildung 31*).^[197] Es bildet sich *in situ* Triethylammoniumazid, welches besser als das Natriumsalz in Toluol löslich ist. Ähnlich einer säurekatalysierten Nitrilhydrolyse polarisiert das Proton des Triethylammoniumions die Nitrilgruppe, wodurch das Azidanion an den Nitril-Kohlenstoff nucleophil angreifen (I) und dann der Ringschluss zum Tetrazol-Anion (II) erfolgen kann. Nach wässriger Extraktion kann das Tetrazol durch Ansäuern mit konzentrierter Salzsäure gefällt werden (III).

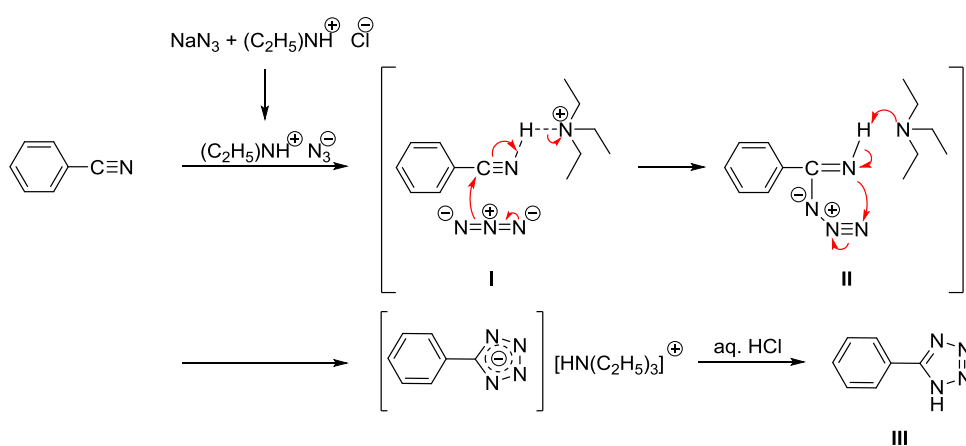


Abbildung 31: Reaktionsmechanismus der Bildung von 5-substituierten 1H-Tetrazolen nach Himo et al.^[197]

3.2.3 2,5-Diaryl-1,3,4-oxadiazole

Der Heterocyclus der Grundstruktur, das Tetrazol, wurde gegen einen Oxadiazol-Körper ausgetauscht. In den letzten fünfzehn Jahren erfreuten sich Oxadiazole auf dem Gebiet der Arzneimittelforschung als bioisostere Ersatz u. a. für Carbonylfunktionen (Ester, Amide usw.) großer Beliebtheit.^[198]

Von den drei Konstitutionsisomeren des Oxadiazols werden vor allem das 1,2,4-, mehr noch das 1,3,4-Isomer (z. B. im HIV-Intergraseinhibitor Raltegravir) eingesetzt.^[198] Das 1,3,4-Oxadiazol hat ein größeres Dipolmoment als das 1,2,4-Isomer, weshalb eine Substanz mit 1,3,4-Isomer eine größere Polarität und dadurch eine geringere Lipophilie als eine analoge mit 1,2,4-Isomer aufweist.^[198]

Da die Lipophilie eines Moleküls auf die Modulation von ABCG2 einen gewissen Einfluss hat,^[24] wurden zunächst Derivate mit 1,2,4-Oxadiazol geplant und nach dem unten angegebenen Syntheseweg (Abbildung 32) dargestellt. Der Austausch bewirkte jedoch, dass die ersten Derivate nur teilweise in Dimethylsulfoxid, welches zur Herstellung der Stammlösungen für die biologische Testung eingesetzt wird, in Lösung zu bringen waren. Daher ist von der Synthese weiterer Vertreter und deren biologischer Untersuchung abgesehen worden.

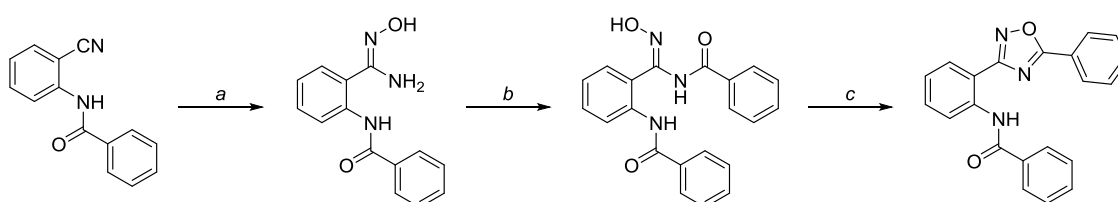


Abbildung 32: Darstellung 1,2,4-oxadiazolhaltiger Derivate^[198]: a) NH_2OH , DIPEA; b) ArCOCl , DIPEA; c) Pyridin, ΔT

Als erster hat Günther die Darstellung von 1,3,4-Oxadiazolen im Jahre 1889 beschrieben, der die Einwirkung von Phosphoroxchlorid und Ähnlichem auf α -Benzildioxim untersucht hatte.^[199] Ihm war aufgefallen, dass sich bei niedrigeren Reaktionstemperaturen das 3,4-Diphenyl-1,2,5-oxadiazol, bei höheren Temperaturen

jedoch das 3,5-Diphenyl-1,3,4-oxadiazol bildet.^[199] Eine bis heute übliche Methode zur Bildung des 1,3,4-Oxadiazol-Körpers ist die Cyclodehydratisierung von Diacylhydraziden bei recht hoher Temperatur (240 °C) oder mittels wasserentziehender Reagentien, wie von Stollé berichtet worden ist.^[200] Da unter konventionellen Bedingungen die Darstellung von Oxadiazolen bis zu mehreren Stunden des Erwärms unter Rückfluss erfordert, haben Khan *et al.* eine Methode entwickelt, bei der sich die Oxadiazole aus Arylacylhydraziden und Arylcarbonsäuren in Gegenwart von Aluminiumoxid und Phosphoroxychlorid durch Mikrowellenbestrahlung innerhalb von maximal fünfzehn Minuten bilden (*Abbildung 33*).^[201]

Da sich bei diesem Verfahren wegen der Freisetzung von Chlorwasserstoffgas (*Abbildung 35*) hohe Drücke aufbauen, sind die Reaktionsansätze zur Darstellung der Vorstufen **55** und **56** nur langsam mit stark gedrosselter Bestrahlungsstärke erwärmt worden.

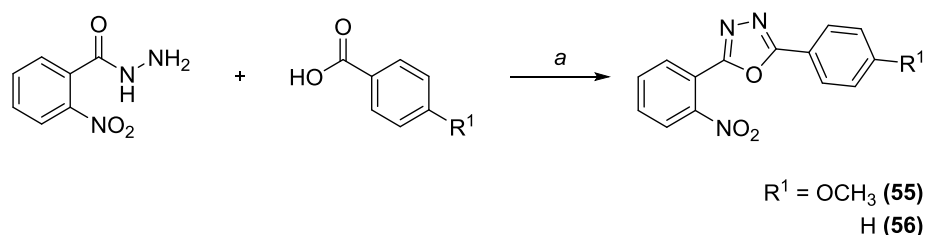


Abbildung 33: Syntheseweg der 1,3,4-Oxadiazole: a) POCl₃, Al₂O₃, p = 10 W, T = 100 °C

Dabei greift zunächst der endständige Hydrazidstickstoff das Carbonyl-Kohlenstoffatom der Carbonsäure in einer nucleophilen Substitution an, und das Diacylhydrazid gebildet (*Abbildung 34*). Das entstandene Wasser wird vom Aluminiumoxid gebunden.

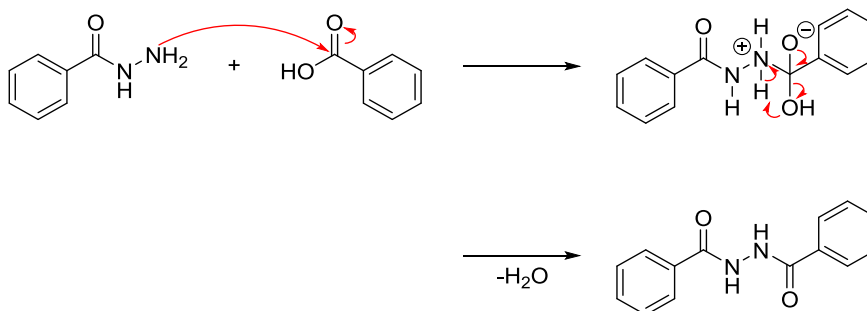


Abbildung 34: Bildung des Diacylhydrazids *in situ*^[202]

Ähnlich wie bei der Bildung eines Vilsmeier-Haack-Reagens^[203] greift ein Carbonyl-Sauerstoff des Diacylhydrazids in einer nucleophilen Substitutionsreaktion (I) an, so dass sich ein Chloratom am Carbonylkohlenstoff anlagern kann. Nach Abspaltung des Phosphonsäureesters (II) erfolgt die Cyclisierung (III) durch den nucleophilen Angriff des Sauerstoffes am aktivierten Kohlenstoff. Im letzten Schritt (IV) erfolgt die Freisetzung von Chlorwasserstoff.

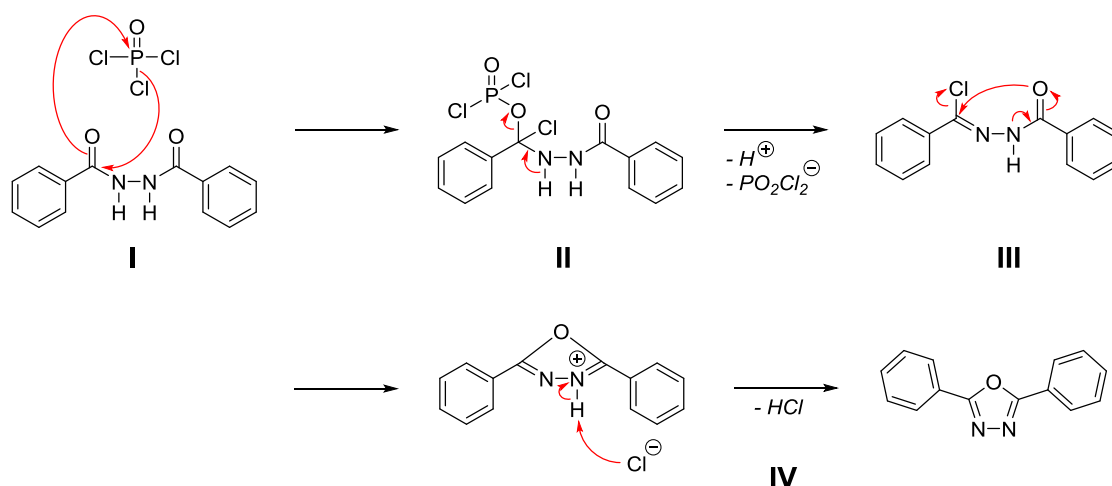


Abbildung 35: Reaktionsmechanismus der Bildung von 1,3,4-Oxadiazolen aus Diacylhydraziden, abgewandelt nach Padmavathi et al.^[202]

3.2.4 1,2,3-1H-Triazole

Als weiteres Substitut für das Tetrazol ist ein 1,4-diaryliertes 1,2,3-1H-Triazol gewählt worden. Dieser Körper kann durch Addition eines Azides an ein Acetylen dargestellt werden, wie es 1898 von Michael als Erstem bei der Reaktion von Phenylazid mit Acetylendicarbonsäure-dimethylester beobachtet worden ist.^[204]

Das Azid **59** wurde durch Umsetzung diazotierten 2-Nitranilins mit Natriumazid im Salzsäuren erhalten:^[205]

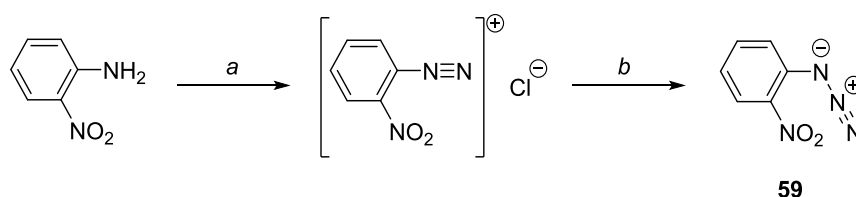


Abbildung 36: Darstellung des Phenylazids: a) konz. HCl, NaNO₂, H₂O, T < 0 °C; b) NaN₃

Entsprechend der Vorschrift von Shao *et al.*^[206] wurde der Heterocyclus mittels Kupfer(I)-Ionen als Katalysator aus dem 1,3-Dipol **59** und einem käuflich erhältlichen Acetylderivat, dem Dipolarophil, dargestellt:

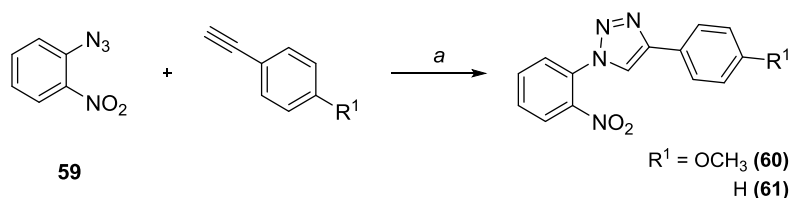


Abbildung 37: Synthese der 1,2,3-Triazole: a) $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ (0.01 Äq.), Natriumascorbat (0.02 Äq.), Benzoesäure (0.1 Äq.), DMF- H_2O , RT

Ein 1,3-Dipol ist definiert als eine Verbindung A-B-C, die durch den elektrophilen bzw. nucleophilen Charakter der Positionen A bzw. C ambivalent ist. Huisgen nahm an, dass die [3+2]-Cycloaddition eines Dipols an ein Dipolarophil in einer Mehrzentrenreaktion abläuft, wie sie schon z. B. für die Diels-Alder-Reaktion beschrieben worden ist.^[207] Huisgen *et al.* beobachteten bei der Umsetzung terminaler Acetylene mit Aziden die Bildung von Gemischen aus 1,4- und 1,5-disubstituierten Triazolen (*Abbildung 38*).^[208] Quantenmechanische Berechnungen auf Basis der Dichtefunktionaltheorie ergaben Aktivierungsenergien (E_A) von 25.7 kcal/mol für die Bildung des 1,4- und 26 kcal/mol für die Bildung des 1,5-Regioisomers.^[209]

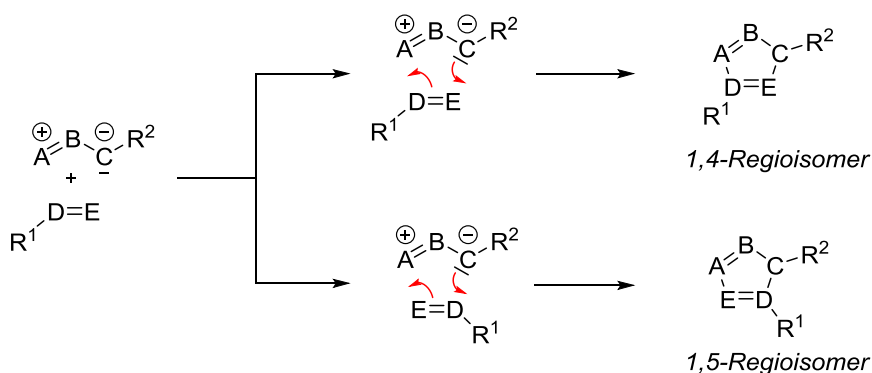


Abbildung 38: Mechanismus der Bildung des ladungsfreien Cyclus bei unkatalysierter Reaktion der Reaktionsteilnehmer nach Huisgen^[207,208]

Meldal *et al.* entwickelten eine Festphasensynthese, die bereits bei Raumtemperatur und wesentlich kürzerer Reaktionszeit in Gegenwart von zwei Äquivalenten Kupfer(I)-iodid nur ein Regioisomer, das 1,4-disubstituierte Triazol, lieferte.^[210,211]

Das Acetylen-Edukt wurde durch Bindung an PEGA-Resin (Poly[acryloyl-bis(aminopropyl)-polyethylenglykol]) „immobilisiert“, um eine Polymerisierung zu verhindern, da einwertiges Kupfer in Anwesenheit von Sauerstoff leicht zum zweiwertigen oxidierte, das „mobile“ Acetylene wie in der Glaser-Kupplung zu Diinen umsetzt.^[210,211]

Eine ebenfalls bei Raumtemperatur ablaufende Synthesemethode ohne Festphase und mit katalytischen Mengen Kupfer(II)-sulfats präsentierten Sharpless *et al.* kurz darauf.^[212] Aufgrund der Annahme, dass die oxidative Polymerisierung in Anwesenheit eines organischen Azides durch Wechselwirkung desselben mit dem Kupferatom teils verhindert wird, generierten die Autoren Kupfer(I)-Spezies in situ durch Reduktion von Kupfer(II)-sulfat mit Natriumascorbat.^[212] Die glatte Umsetzung zum Triazol wurde ferner dadurch gewährleistet, dass das Natriumascorbat eine Oxidation des Cu^{I} zu Cu^{II} verhindert.^[213] Fokin *et al.* folgerten aus den Beobachtungen, dass im Gegensatz zur konzertiert verlaufenen (thermischen) Huisgen-Cycloaddition die kupferkatalysierte Alkin-Azid-Cycloaddition (CuAAC) schrittweise ablaufen muss.^[209]

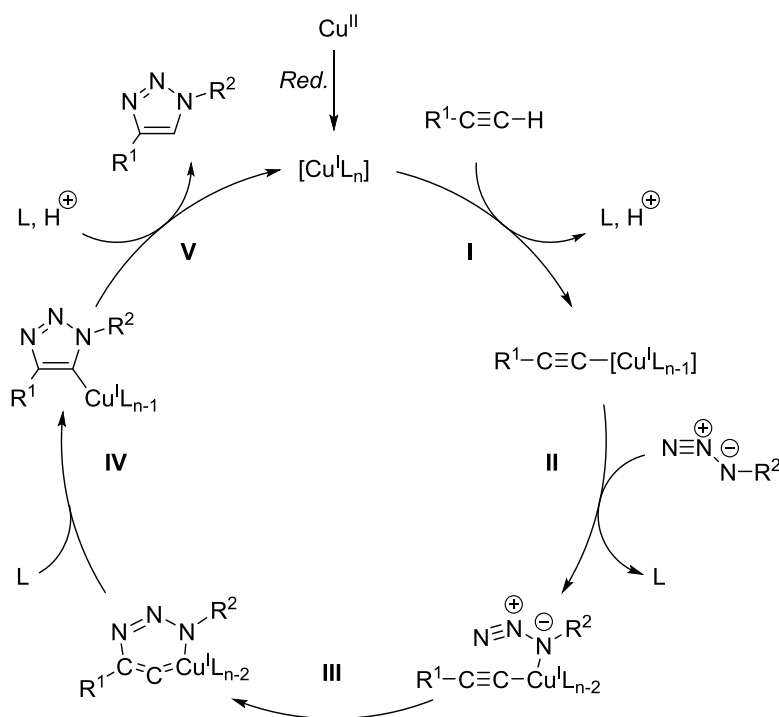


Abbildung 39: Reaktionsmechanismus der CuAAC nach Fokin *et al.*^[209,213]

Obwohl Acetylene nur schwach sauer ($pK_s \sim 25$) sind, ist offenbar die Ausbildung eines π -Komplexes zwischen Kupferatom und Acetylen für einen Abfall des pK_s -Wertes verantwortlich, so dass sich im Wässrigen Kupferacetylide bilden können (I). Im nächsten Schritt (II) wechselwirkt das Kupferatom unter Abgabe eines weiteren Liganden mit dem R^2 -proximalen Stickstoffatom (N-1) des Azides. Das distale Stickstoffatom (N-3) kann nun das R^1 -proximale Kohlenstoffatom (C-2) angreifen, wodurch sich ein sechsgliedriger Ring ausbildet (III). Eine Ringkontraktion (IV) erfolgt durch Bildung einer σ -Bindung zwischen N-3 und C-2, wobei das Kupferatom wieder einen Liganden aufnimmt. Die dem Reaktionsgemisch zusätzlich hinzugefügte Benzoessäure fördert über die Komplexierung des Cu^I -Ions die Umsetzung zum Triazol.^[206] Die anschließende Protolyse des Kupferatoms setzt das 1,4-disubstituierte 1,2,3-Triazol frei.

3.2.5 Reduktion der Nitrogruppe

Die Reduktion der Nitrogruppe der Zwischenstufen zur Aminogruppe wurde über die Hydrierung mit Wasserstoff in Gegenwart von Palladium erreicht.

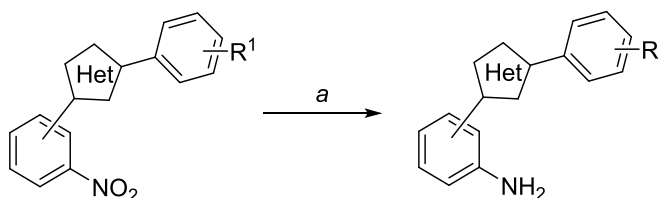


Abbildung 40: Reduktion der Nitrogruppe zum Amin: a) H_2 , Pd/C, EtOH / THF, RT

So wurden die tetrazolhaltigen Vorstufen **32-46** und **48-52**, die oxadiazolhaltigen Vorstufen **57** und **58** und die triazolhaltigen Vorstufen **62** und **63** (Tabelle 8) erhalten. Im Gegensatz zu vorhergehenden Berichten^[159,169] reichte bei den eingesetzten Edukten eine Reaktionsdauer von 60 min aus, um eine vollständige Umsetzung zu gewährleisten. Sie verlief in der Regel ohne die Bildung von Nebenprodukten, so dass man das Produkt ohne Reinigung umsetzen konnte. Es wurden bei der chlorhaltigen Verbindung **35**

3.2.6 Sonstige Reaktionen

3.2.6.1 Esterhydrolyse

Eine weitere Variation der Carbonsäureamidstruktur bestand in der Umkehrung der Reihenfolge der Brückenglieder. Daher wurde der zuvor gebildete Methyl ester für die Synthese der Verbindung **53** im Basischen verseift, um die freiwerdende Carbonsäure **54** mit einem Amin zum Amid umsetzen zu können.^[214]

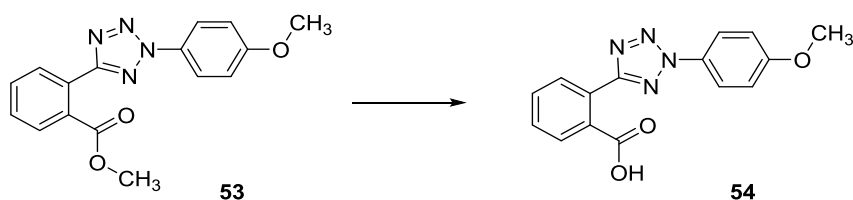


Abbildung 41: Verseifung von Substanz **53** in Ggw. von Lithiumhydroxid in MeOH / H₂O

3.2.6.2 Etherspaltung

Da die Bildung des Tetrazolrings durch die Anwesenheit von Hydroxygruppen (Kapitel 3.2.1) verhindert wurde, wurde der Ether der Verbindung **40** durch Behandlung mit Tribromboran und anschließender Hydrolyse zu Produkt **47** gespalten.^[215]

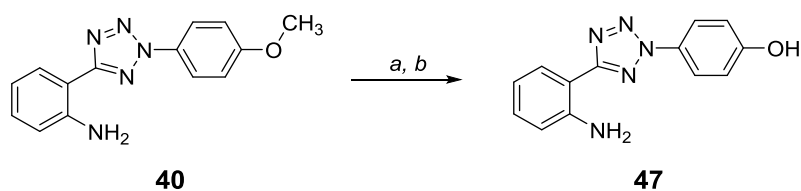


Abbildung 42: Spaltung des Ethers: a) BBr₃, DCM, T = -78 → 0 °C; b) H₂O, 0 °C → RT

Die Spaltung von Alkyl-Aryl-Ethern führt stets zum Phenol und Bromalkan.^[216] Es wurde zuvor unabhängig von den Ethersubstituenten ein unimolekularer Reaktionsverlauf angenommen.^[216] Den quantenmechanischen Berechnungen von Sousa und Silva^[216] zufolge ist dieser nur bei Ethern mit sekundären oder tertiären Alkylgruppen bevorzugt, während die Demethylierung einem bimolekularen Verlauf folgt, bei dem zwei Addukte aus Tribromboran und Ether miteinander reagieren. Auf Basis dieses Ergebnisses schlugen Kosak *et al.*^[217] einen Drei-Cyclen-Mechanismus vor, bei dem sich letztlich ein Triphenylborat bildet. Im Anschluss erfolgt die Hydrolyse der Addukte in die Phenole und Orthoborsäure.

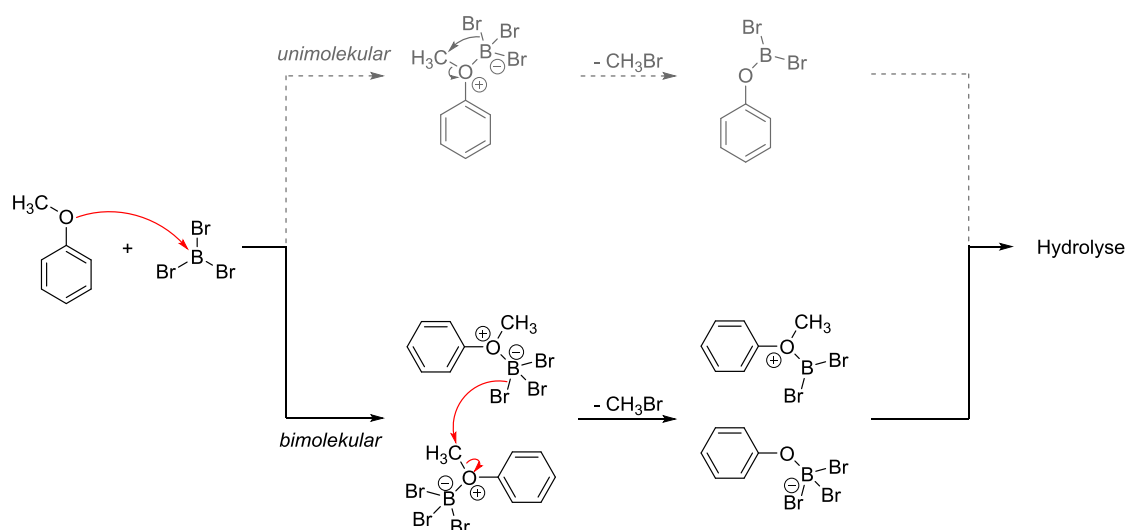


Abbildung 43: *Bimolekularer Mechanismus der durch Bortribromid vermittelten Spaltung eines Alkyl-Aryl-Ethers nach Sousa und Silva^[216]*

3.2.7 Darstellung des Amids

Bis auf wenige Ausnahmen (Biphenyl **172**, Ditetrazol **175**) besitzen die Testsubstanzen eine Amidstruktur. Diese ließ sich aus einer nucleophilen Substitutionsreaktion eines Amins mit einer aktivierten Carbonsäure beziehungsweise Sulfonsäure bilden.

Zur Aktivierung der Carbonsäure stehen mannigfaltige Methoden zur Verfügung. In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Aktivierung der Säuren durch Umsetzung mit Chlorierungsmitteln (Thionylchlorid, Oxalylchlorid) mit oder ohne katalytischer

Mengen DMF in ein Carbonsäurechlorid oder mit Staabs Reagens^[218] (Carbonyldiimidazol) in ein reaktives Acylimidazol.

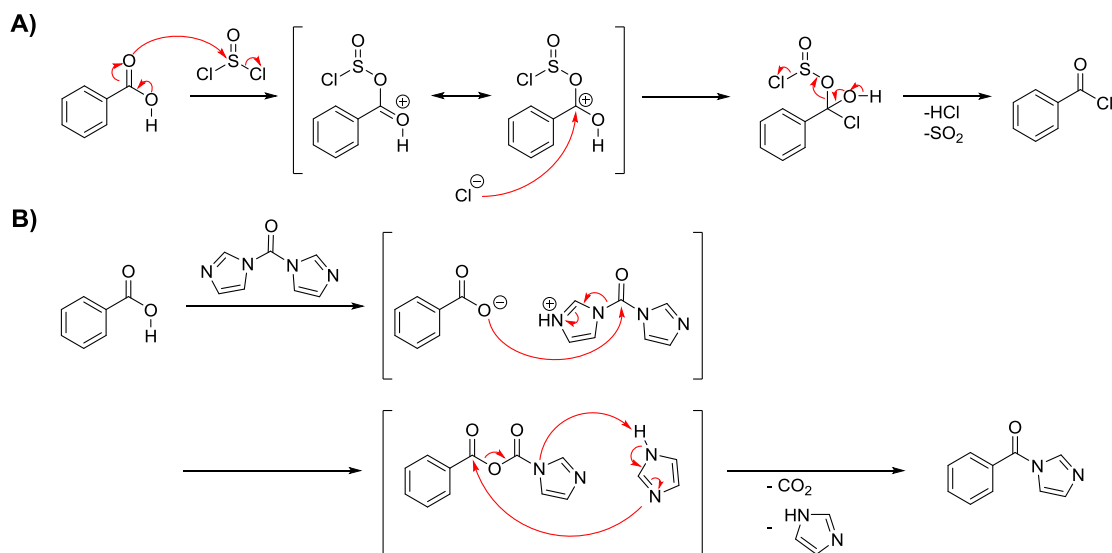


Abbildung 44: Mechanismen der Säurechlorid-Bildung mit A) Thionylchlorid (Die Chlorierung mit Oxalylchlorid ist entsprechend formulierbar.) und B) Carbonyldiimidazol^[219]

Die aktivierte Säure wird vom Amin nucleophil angegriffen. Bei der Umsetzung von Carbonsäurechloriden wurde unter Zuhilfenahme einer Hilfsbase wie Triethylamin (TEA), Diisopropylethylamin (DIPEA, Hünig's Base) oder Pyridin der freiwerdende Chlorwasserstoff abgefangen. Da Sulfonsäurechloride in Gegenwart von TEA oder DIPEA auch im Überschuss nicht mit den Aminen reagierten, wurden die Sulfonamide nach Einhorn's Variante der Schotten-Baumann-Reaktion dargestellt.^[220,221] Nach dieser wurde das Säurechlorid zunächst mit Pyridin versetzt, das das Säurechlorid in ein noch aktiveres *N*-Acylpyridinium-Salz umwandelt. Diesem wurde dann ein in Pyridin gelöstes Amin zugeführt. Der Reaktionsmechanismus aller durchgeführten Varianten ist derselbe:

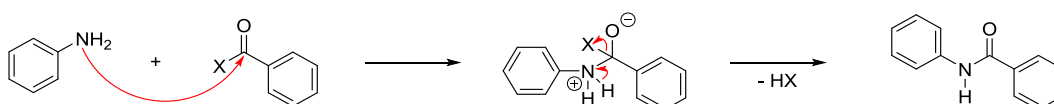


Abbildung 45: Reaktionsmechanismus der Amidbildung; X = Cl, *N*-Imidazolyl oder *N*-Pyridinyl

3.3 Biologische Testung

3.3.1 Inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2

Bei der Planung der Synthesen wurden Substituentenmuster gewählt, die schon bei den Tariquidaranaloga ohne Tetrahydroisochinolin-Struktur zu einer guten ABCG2-Inhibition geführt hatten. Die inhibitorische Aktivität der neuen Verbindungen wurde mit dem Hoechst 33342-Test (*Kapitel 1.2.1, 6.2.4.4*) mit ABCG2 überexprimierenden Zellen (*MDCK II BCRP*) bestimmt. Es wurden zunächst Testsubstanzen dargestellt, die an dem Phenylring C mit einer 4-Nitrogruppe versehen sind, an Phenylring A aber unterschiedliche Substituenten tragen.

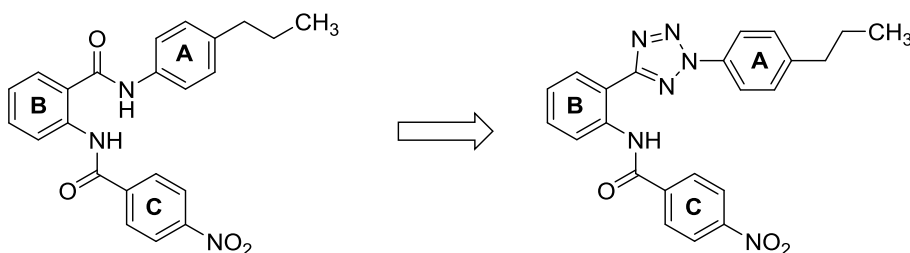


Abbildung 46: Verbindung 64 trägt dieselben Substituenten (4-n-Propyl an Ring A, 4-Nitro an Ring C) wie der potenteste Vertreter der Anthranilamide.

Die Ergebnisse sind in *Tabelle 9* zusammengefasst. Es zeigte sich, dass Verbindung **64** ($IC_{50} = 181 \text{ nmol/l}$) im Gegensatz zu seinem Anthranilamid-Analogen ($IC_{50} = 940 \text{ nmol/l}$) eine ungefähr fünffach niedrigere Konzentration benötigte, um den halbmaximalen Effekt zu erzielen. Es wurde beobachtet, dass Substanz **64** ein im Vergleich zum Standard und zum Anthranilamid geringeres Maximum erreicht (*Abbildung 47*).

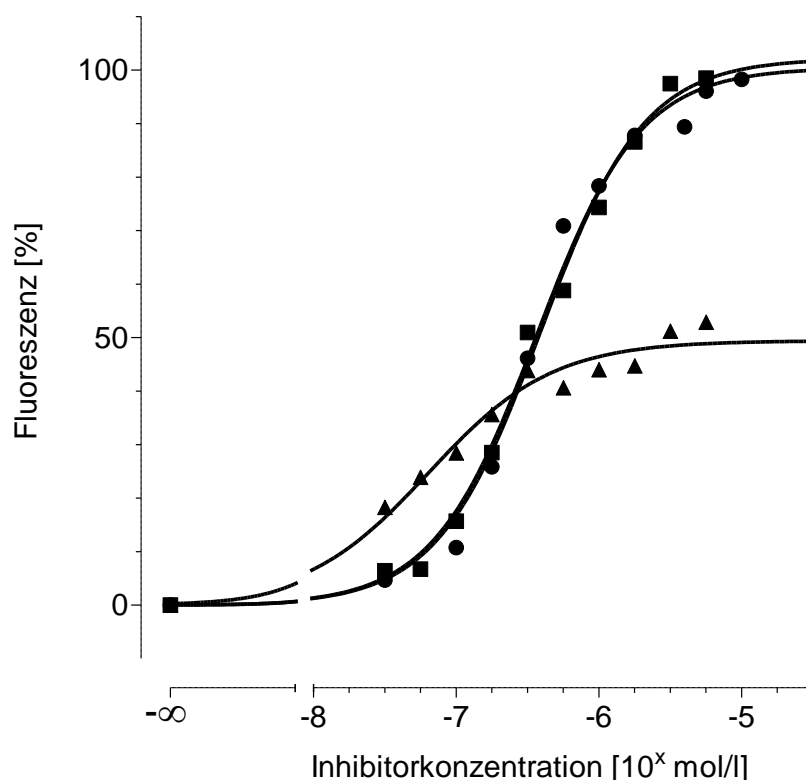


Abbildung 47: Konzentrations-Effekt-Kurven des Anthranilamids (●) und des korrespondierenden Abkömmlings 64 mit Tetrazolstruktur (▲) im Vergleich zur Referenzsubstanz XR9577 (■)

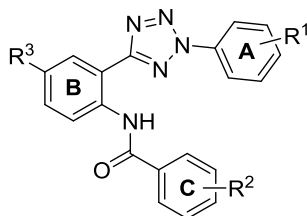
Testsubstanz **65** (4-Methyl an Ring A) unterbot die IC_{50} von Verbindung **64** um das Zweifache ($IC_{50} = 98.8 \text{ nmol/l}$), zeigte aber ebenfalls eine geringere Maximalinhibition als die Referenzsubstanz. Dieser Effekt war auch schon von Kühnle *et al.* beobachtet worden. Sie machten die ungenügende Wasserlöslichkeit ihrer Substanzen für die erniedrigten Maximalinhibitionswerte verantwortlich.^[107] Einige Vertreter wurden daher auf ihre Tendenz zur Präzipitation unter Bedingungen, wie sie bei der Bestimmung der Hemmwirkung herrschen, UV-spektroskopisch untersucht (Kapitel 3.3.5). Da auf Basis dieser Ergebnisse die erniedrigten Plateaus nicht auf das Ausfallen der Substanzen zurückgeführt werden konnten, wurde für jede Substanz zusätzlich zum IC_{50} -Wert das inhibitorische Maximum I_{max} mittels

$$I_{max} [\%] = \frac{F_{max}(\text{Modulator}) - F_{min}(\text{Modulator})}{F_{max}(\text{Referenz}) - F_{min}(\text{Referenz})} \times 100^*)$$

berechnet.

*) $F_{max/min}$ = Fluoreszenzwerte [willk. Einh.] im Maximum bzw. Minimum der Konzentrations-Effekt-Kurve

Tabelle 9: Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC_{50} -Werte der Testsubstanzen mit einem Nitrosubstituenten am Ring C; Referenzsubstanz XR9577: $IC_{50} = 704 \pm 147$ nmol/l; $n = 3$



Verb.	R ¹	R ²	R ³	IC ₅₀ ± σ [nmol/l]	I _{max} ± σ [%]
64	4- <i>n</i> -C ₃ H ₇	4-NO ₂	H	181 ± 42	47 ± 7
65	4-CH ₃	4-NO ₂	H	98.8 ± 29.1	52 ± 6
66	4-CF ₃	4-NO ₂	H	>> 10000	-
67	4-Cl	4-NO ₂	H	>> 10000	-
68	4-OCH ₂ CH ₃	4-NO ₂	H	>> 10000	-
69	4-SCH ₃	4-NO ₂	H	>> 10000	-
70	2-OCH ₃	4-NO ₂	H	117 ± 26	101 ± 4
71	3-OCH ₃	4-NO ₂	H	78.8 ± 1.7	58 ± 4
72	4-OCH ₃	4-NO ₂	H	117 ± 26	45 ± 5
73	4-OCH ₃	4-NO ₂	OCH ₃	129 ± 19	50 ± 3
74	H	4-NO ₂	H	150 ± 28	60 ± 7
75	4-OCH ₃	3-NO ₂	H	168 ± 23	57 ± 11
76	H	3-NO ₂	H	127 ± 32	91 ± 5
77	4-OCH ₂ CH ₃	2-NO ₂	H	308 ± 77	72 ± 9
78	4-SCH ₃	2-NO ₂	H	221 ± 24	91 ± 2
79	4-OCH ₃	2-NO ₂	H	266 ± 28	76 ± 10
80	H	2-NO ₂	H	280 ± 52	57 ± 4

Der Austausch der lipophilen, schwach elektronenliefernden Methylgruppe durch elektronenziehende Substituenten wie 4-Trifluormethyl (**66**) und 4-Chlor (**67**) hob die modulierenden Eigenschaften vollständig auf. Gleiches zeigte eine 4-Methylthiogruppe (**69**). Es wurden unterschiedliche Ergebnisse bei den Verbindungen mit Sauerstoff tragenden Gruppen beobachtet.

Während eine Ethoxygruppe (**68**) zu einer Inaktivität führte, bewirkte eine Methoxygruppe in der *ortho*-Position (**70**) ein Fluoreszenzmaximum auf dem Niveau der Referenz (101 %) bei einem IC₅₀-Wert von 117 nmol/l. Die Isomere der Substanz **70**, die die Methoxygruppe in *meta*- (**71**) bzw. *para*-Position (**72**) am Phenylring A tragen, inhibierten vergleichbar (**71**: 79 nmol/l, 58 %; **72**: 117 nmol/l, 45 %).

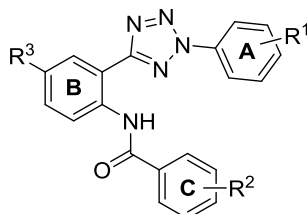
Der Einfluss eines Substituenten an Ring B auf die Hemmung von ABCG2 wurde untersucht (**73**). Hatte man bei den Anthranilamiden zumeist einen Absenkung der Hemmstärke festgestellt^[159], wies die Testsubstanz **73** gegenüber Verbindung **72** nahezu gleiche Parameter auf (129 nmol/l, 50 %). Da auch die an Phenylring A unsubstituierte Substanz **74** einen ähnliche IC₅₀-Wert wie die vorher erörterten Verbindungen **64**, **65** und **71-73** lieferte, wurden die Auswirkungen einer Positionsänderung der Nitrogruppe an Ring C auf die Aktivität untersucht.

Das 3-Nitro-4-methoxy-Derivat **75** schloss sich bezüglich seines inhibitorischen Vermögens (168 nmol/l) mit einer I_{max} von 57 % den vorher genannten Vertretern an. Während bei dem Substanzpaar **72/74** (4-Nitro an Ring C) kein Aktivitätsunterschied festgestellt wurde, bewirkte der Wegfall des Substituenten an Ring A (**76**) eine beträchtliche Zunahme des I_{max}-Wertes auf 91 % und eine leichte Zunahme der inhibitorischen Wirksamkeit auf 127 nmol/l. Der Vergleich der zu den Verbindungen **68**, **69**, **72** und **74** Strukturisomeren **77-80** offenbarte, dass der Wechsel der Nitrogruppe in die *ortho*-Position trotz erhöhter IC₅₀-Werte grundsätzlich positiv zu bewerten ist, da nun unabhängig vom Substituenten R¹ eine Inhibition des Transporters festgestellt werden konnte. Dennoch zeigten diese Verbindungen immer noch erniedrigte Maximalinhibitionen.

Da die an Ring C ein Halogenatom tragenden Anthranilamid-Vertreter keine bis schwache, aber korrespondierende mit Cyano- und Trifluormethylgruppen akzeptable modulierende Eigenschaften an ABCG2 gezeigt hatten,^[110] wurde entschieden, letztere als elektronenziehende Substitute für die Nitrogruppe in *para*-Position an Ring C einzusetzen (*Tabelle 10*). Im Vergleich zu den korrespondierenden Substanzen mit Nitrogruppe wiesen die eine Cyanogruppe tragenden ein ähnliches Aktivitätsmuster auf.

Es wurde mit Verbindung **81** (4-CF₃) keine Inhibition bis 10 µmol/l, mit **82** (2-OCH₃) eine IC₅₀ von 153 nmol/l bei voller und mit **83** (4-OCH₃) eine IC₅₀ von 77 nmol/l bei 66 %iger I_{max} ermittelt. Im Vergleich zum Derivat **74** war die an Ring A unsubstituierte Substanz **84** hingegen etwas schwächer (257 nmol/l), erreichte aber ein höheres Maximum von 87 %.

Tabelle 10: Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC₅₀-Werte der Testsubstanzen mit 4-Nitril- oder 4-Trifluormethylgruppe am Ring C; Referenzsubstanz XR9577: IC₅₀ = 704 ± 147 nmol/l; n = 3



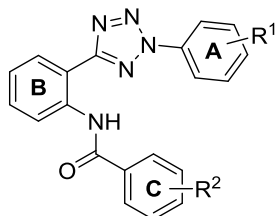
Verb.	R ¹	R ²	R ³	IC ₅₀ ± σ [nmol/l]	I _{max} ± σ [%]
81	4-CF ₃	4-CN	H	>> 10000	-
82	2-OCH ₃	4-CN	H	153 ± 44	97 ± 19
83	4-OCH ₃	4-CN	H	77.4 ± 7.3	66 ± 1
84	H	4-CN	H	257 ± 68	87 ± 15
85	4- <i>n</i> -C ₃ H ₇	4-CF ₃	H	>> 10000	-
86	4- <i>i</i> -C ₃ H ₇	4-CF ₃	H	>> 10000	-
87	4-CH ₃	4-CF ₃	H	136 ± 19	49 ± 2
88	4-CF ₃	4-CF ₃	H	>> 10000	-
89	4-OCH ₂ CH ₃	4-CF ₃	H	>> 10000	-
90	4-SCH ₃	4-CF ₃	H	>> 10000	-
91	3,4-OCH ₃	4-CF ₃	H	330 ± 19	80 ± 13
92	2-OCH ₃	4-CF ₃	H	328 ± 10	104 ± 13
93	3-OCH ₃	4-CF ₃	H	11200 ± 500	100*
94	4-OCH ₃	4-CF ₃	H	105 ± 11	91 ± 4
95	4-OCH ₃	4-CF ₃	OCH ₃	77.4 ± 28.1	96 ± 7
96	3,4-F	4-CF ₃	H	255 ± 124	58 ± 7
97	H	4-CF ₃	H	4390 ± 180	100*

*) Berechnung durch Festlegen der Maximalinhibition auf das Referenzniveau

Wie schon bei den Verbindungen mit der 4-Nitrofunktion zu beobachten war, bewirkten auch die Kombinationen aus Alkyl-, Ethoxy- oder Methylthiosubstituenten am Ring A und Trifluormethylgruppe am Ring C (**85-90**) keine oder nur schwache Akkumulationen des Substrates, während alle methoxytragenden Verbindungen (**91-95**) Aktivitäten zeigten. Insgesamt schien die Trifluormethylgruppe im Gegensatz zu den vorher untersuchten einen geringen Einfluss auf die Maximalinhibition zu haben, da die meisten Verbindungen an den Referenzwert (80 – 96 %) heranreichten. Eine Methoxygruppe in *para*-Position war günstig (**94**: 105 nmol/l, 91 %), wohingegen eine zusätzliche Gruppe in *meta*-Position die Wirksamkeit (**91**: 330 nmol/l, 80 %) reduzierte. Substanz **95** inhibierte etwas stärker als **94** (77.4 nmol/l, 96 %), zeigte aber, dass der Methoxysubstituent im mittleren aromatischen Bereich B keinen großen Einfluss hat. Während die Verbindungen **71** und **74** ein Plateau auf einem $\frac{2}{3}$ -Niveau bildeten, bewirkte der Substituent am Ring C (**93**, **97**), dass sich bis zur verwendeten Höchstkonzentration der Verdünnungsreihen kein Plateau einstellte. Nach Festlegung einer theoretischen Maximalfluoreszenz auf dem Niveau der Referenz wurden für beide Substanzen vergleichsweise schwache Hemmwirkungen von 11 μ mol/l (**93**) bzw. 4.4 μ mol/l (**97**) berechnet. Im Vergleich zur 3,4-Dimethoxysubstitution (**91**) steigerte die 3,4-Difluorsubstitution etwas die inhibitorische Aktivität (**96**: 255 nmol/l), senkte aber die I_{\max} auf unter 60 %.

Es wurde nun eine 4-*n*-Propyl-Gruppe am Ring C (*Tabelle 11*) eingeführt, die im Gegensatz zu den vorher untersuchten Substituenten schwach elektronenliefernd ist und keine Wasserstoffbrücken ausbilden kann. Voluminöse Ester (**98a**) und Ether (**99**) Substituenten an Ring A führten zu Inaktivität. Erst bei Verkleinerung des Substituenten konnte wieder eine inhibitorische Aktivität festgestellt werden. Zeigte der Thioether **100** einen erheblich erniedrigten Effekt ($IC_{50} = 783$ nmol/l, $I_{\max} = 76$ %), inhibierte das Sauerstoffanalogon **101** (85 nmol/l, 91 %) ähnlich seinen verwandten Substanzen **94** und **95**. Befand sich statt der Methoxy- eine Hydroxyfunktion (**98b**) bzw. überhaupt kein Substituent (**102**) am Ring A, sank die Aktivität um das 2.5fache auf eine $IC_{50} > 200$ nmol/l.

Tabelle 11: Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC_{50} -Werte der Testsubstanzen mit 4-*n*-Propylgruppe am Ring C; Referenzsubstanz XR9577: $IC_{50} = 704 \pm 147$ nmol/l; $n = 3$



Verb.	R ¹	R ²	IC ₅₀ ± σ [nmol/l]	I _{max} ± σ [%]
98a	4-OOC-X*	4- <i>n</i> -C ₃ H ₇	>> 10000	-
99	4-OPh	4- <i>n</i> -C ₃ H ₇	>> 10000	-
100	4-SCH ₃	4- <i>n</i> -C ₃ H ₇	783 ± 30	76 ± 9
101	4-OCH ₃	4- <i>n</i> -C ₃ H ₇	85.2 ± 3.6	91 ± 15
98b	4-OH	4- <i>n</i> -C ₃ H ₇	204 ± 24	106 ± 8
102	H	4- <i>n</i> -C ₃ H ₇	212 ± 12	100 ± 3

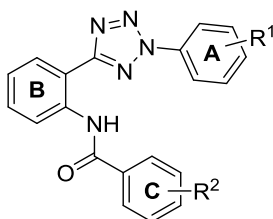
*) X= 4-Propyl-phenyl-

Dass vor allem eine Methoxygruppe am Ring A, bevorzugt in *para*-Position, in niedrige inhibitorische Konzentrationen resultierte, wurde zum Anlass genommen, den Einfluss dieser Gruppe als Substituent am Ring C in Abhängigkeit verschiedener Substituenten am Ring A zu untersuchen (Tabelle 12).

Verbindung **103** stellt ein Konstitutionsisomer von **101** dar, bei dem sich die beiden Substituenten Methoxy und *n*-Propyl an dem jeweils anderen Aromaten befinden. Derivat **103** inhibierte bei einer I_{max} = 90 % mit einem IC₅₀ von 64 nmol/l noch ein wenig stärker als ihr ebenfalls sehr aktives Isomer. Für Substanz **104**, die ebenfalls ein Konstitutionsisomer des Derivates **103** (Isopropyl statt *n*-Propyl) ist, wurde eine IC₅₀ von 136 nmol/l mit ähnlicher Maximalinhibition (97 %) ermittelt. Die Halbierung der Hemmstärke könnte darin begründet liegen, dass die Isopropylgruppe sterisch etwas anspruchsvoller als die Propylgruppe ist.

Ein Chlorsubstituent am Ring A wirkte sich nachteilig auf das inhibitorische Vermögen aus, da Substanz **106** zwar eine gute ABCG2-Hemmung (223 nmol/l) zeigte, aber nur 60 % der Maximalinhibition erreichte. Die Inaktivität der Verbindung **107** ($R^1 = \text{Phenoxy}$) war wiederum auf ihren voluminösen Substituenten zurückzuführen. Hatten die vorher untersuchten Derivate mit Ethoxygruppe keine Effekte gezeigt, wurde in Gegenwart einer Methoxygruppe an R^2 eine schwache ABCG2-Modulation (**108**: $IC_{50} = 793 \text{ nmol/l}$, $I_{\max} = 50 \%$) festgestellt. Mit dem Wechsel des Substituenten zu einer Methylthiogruppe (**109**: $IC_{50} = 132 \text{ nmol/l}$, $I_{\max} = 100 \%$) erlangte die Verbindung eine ähnlich gute Wirksamkeit, wie sie schon bei den Derivaten **103-105** beobachtet worden war.

Tabelle 12: Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC_{50} -Werte der Testsubstanzen mit 4-Methoxygruppe am Ring C; Referenzsubstanz XR9577: $IC_{50} = 704 \pm 147 \text{ nmol/l}$; $n = 3$



Verb.	R^1	R^2	$IC_{50} \pm \sigma$ [nmol/l]	$I_{\max} \pm \sigma$ [%]
103	4- <i>n</i> -C ₃ H ₇	4-OCH ₃	63.8 ± 4.5	90 ± 2
104	4- <i>i</i> -C ₃ H ₇	4-OCH ₃	136 ± 5	97 ± 12
105	4-CF ₃	4-OCH ₃	72.3 ± 13.1	97 ± 7
106	4-Cl	4-OCH ₃	223 ± 20	59 ± 7
107	4-OPh	4-OCH ₃	>> 10000	-
108	4-OCH ₂ CH ₃	4-OCH ₃	793 ± 222	50 ± 7
109	4-SCH ₃	4-OCH ₃	132 ± 13	100 ± 4
110	3,4-OCH ₃	4-OCH ₃	319 ± 54	100 ± 11
111	2-OCH ₃	4-OCH ₃	180 ± 1	83 ± 27
112	4-OCH ₃	4-OCH ₃	199 ± 14	100 ± 12
113	3,4-F	4-OCH ₃	230 ± 44	86 ± 2
114	H	4-OCH ₃	200 ± 17	101 ± 6

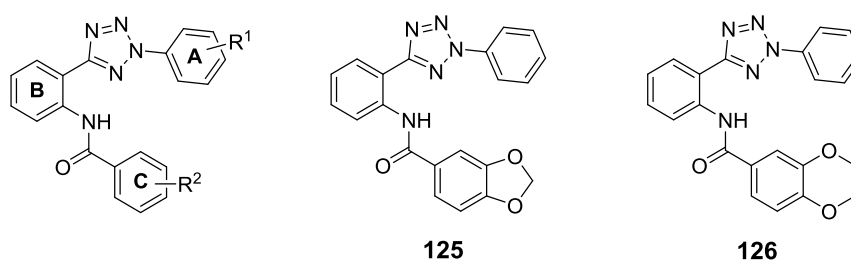
Den Analoga mit Trifluormethylgruppe als R² entsprechend war ein am Ring A *meta*-positionierter Methoxyrest von Nachteil. Der IC₅₀-Wert der Verbindung **110** (3,4-OCH₃) war um die Hälfte höher (319 nmol/l, 100 %) als die Verbindungen **111** mit 2-Methoxygruppe (180 nmol/l, 83 %) und **112** mit 4-Methoxygruppe (199 nmol/l, 100 %). Die bei Verbindung **96** beobachteten Auswirkungen einer 3,4-Difluor-substitution zeichneten sich in geringerem Maße auch bei Substanz **113** (230 nmol/l, 86 %) ab, da diese eine erniedrigte I_{max} im Vergleich zu **110** zeigte, aber bezüglich des IC₅₀-Wertes etwas stärker hemmte. Die Präsenz eines Substituenten an Phenylring A war offenbar bei dieser Substanzunterklasse nicht notwendig, da das Derivat **114** (200 nmol/l, 101 %) eine der Verbindung **112** ähnliche Hemmwirkung zeigten.

Ferner wurden Art und Position sauerstofftragender Substituenten am Phenylring C untersucht (Tabelle 13). Führt die Präsenz einer 4-Ethoxygruppe an R¹ bei den bisher dargestellten Verbindungen grundsätzlich zur einer drastischen Reduktion der inhibitorischen Aktivität, konnte aufgrund des Ergebnisses des Derivates **115** (145 nmol/l, 92 %) nicht nur die Verzichtbarkeit eines Substituenten R¹ bestätigt werden, sondern es zog auch die Vermutung nach sich, dass ein an Ring C *para*-ständiger, nicht elektronenziehender Substituent einen recht geringen Einfluss auf die Inhibition hat. Der Tausch der Methoxygruppe von der *para*- (**115**) in die *meta*-Position (**116**: 257 nmol/l, 119 %) führte zu einem kleinen, in die *ortho*-Position zu einem 4.5fachen Aktivitätsabfall (**117**: 894 nmol/l, 119 %). Dieser negative Einfluss ist offenbar dominant, da es weitere Methoxysubstituenten in der als günstig für die Modulation anzusehenden *para*-Position an einem oder beiden Ringen nicht vermochten, die Aktivität zu steigern, sondern einen der Struktur **117** ähnlichen IC₅₀-Wert zeigten (**118**: 766 nmol/l, 111 %; **119**: 788 nmol/l, 115 %).

In den Verbindungen **120-124** sind die beiden Methoxygruppen an Ring C direkt benachbart. Während für die vier Vertreter mit Substituenten am Ring A (**120-123**) vergleichbare Aktivitäten zwischen 130 und 300 nmol/l berechnet wurden, führte das Fehlen eines Substituenten an Ring A hingegen zu einer starken Erniedrigung der Hemmstärke (**124**, IC₅₀ = 823 nmol/l, I_{max} = 83 %).

Der bei dem unsubstituierten Derivat **124** beobachtete Aktivitätsverlust konnte offenbar durch die Fixierung beider Sauerstofffunktionen mittels einer Methylen- (**125**: 259 nmol/l, 123 %) bzw. Ethylenverknüpfung (**126**: 190 nmol/l, 106 %) wieder beseitigt werden.

Tabelle 13: Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC₅₀-Werte der Testsubstanzen mit Alkoxysubstituenten am Ring C; Referenzsubstanz XR9577: IC₅₀ = 704 ± 147 nmol/l; n = 3



Verb.	R ¹	R ²	IC ₅₀ ± σ [nmol/l]	I _{max} ± σ [%]
115	H	4-OCH ₂ CH ₃	145 ± 11	92 ± 5
116	H	3-OCH ₃	257 ± 25	119 ± 14
117	H	2-OCH ₃	894 ± 27	119 ± 4
118	4-OCH ₃	2,4-OCH ₃	766 ± 78	111 ± 10
119	H	2,4-OCH ₃	788 ± 101	115 ± 6
120	4-CF ₃	3,4-OCH ₃	287 ± 14	97 ± 15
121	4-OCH ₂ CH ₃	3,4-OCH ₃	197 ± 36	104 ± 7
122	4-SCH ₃	3,4-OCH ₃	134 ± 24	83 ± 9
123	4-OCH ₃	3,4-OCH ₃	134 ± 19	101 ± 4
124	H	3,4-OCH ₃	823 ± 90	102 ± 5
125	H	[d][1,3]dioxol	259 ± 62	123 ± 11
126	H	[b][1,4]dioxin	190 ± 18	106 ± 7
127	3,4-OCH ₃	H	230 ± 37	104 ± 11
128	3,4-F	H	446 ± 31	100 ± 4
129	H	H	66.9 ± 4.8	90 ± 3

Stellt man die Verbindungen **120-124** den korrespondierenden Derivaten mit nur einer Methoxygruppe gegenüber, zeigt sich ein Widerspruch. Die zusätzliche 3-Methoxygruppe an Ring C führte bei dem Paar mit $R^1 = 4$ -Trifluormethyl (**105**, **120**) oder (**114**, **124**) zu einer Herabsenkung, bei $R^1 = 4$ -Ethoxy (**108**, **121**) hingegen zu einer Steigerung der inhibitorischen Wirkung, während man bei $R^1 = 4$ -Methylthio (**109**, **122**) oder 4-Methoxy (**112**, **123**) keinen signifikanten Unterschied feststellte.

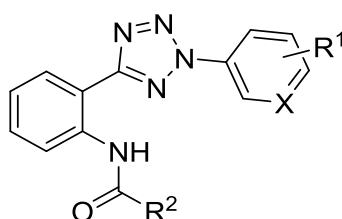
Nach der oben getroffenen Feststellung, dass die Anwesenheit einer Methoxygruppe an Ring A praktisch keine Auswirkung auf die Aktivität hat, wurde die Notwendigkeit eines Substituenten an Ring B in Frage gestellt. So zeigte die Verbindung **124** einen geringfügig niedrigeren IC_{50} -Wert von 230 nmol/l als seine Analoga **91** und **110**. Substanz **127** erreichte nur einen etwas höheren IC_{50} -Wert von 446 nmol/l im Vergleich zum Derivat **113** ($IC_{50} = 230$ nmol/l). Das Fehlen des Substituenten hat offenbar nur einen recht geringen Einfluss auf die Aktivität. Die vollständig unsubstituierte Substanz **129** wies eine ausgesprochen gute Hemmwirkung ($IC_{50} = 66.9$ nmol/l, $I_{max} = 90$ %) auf und bestätigte darüber hinaus die Verzichtbarkeit des Methoxysubstituenten.

Da die bloße Grundstruktur ein hohes Potential besitzt, ABCG2 zu hemmen, wurden die Auswirkungen struktureller Veränderungen untersucht. Bei den in *Tabelle 14* gelisteten Analoga ist stets einer der beiden äußeren Phenylringe ersetzt worden.

Das aromatische System ist bei den Verbindungen **130-132** durch alicyclische Strukturen verkleinert worden, was zu einer Reduktion der inhibitorischen Potenz, aber nicht der Maximalinhibition, führte. Die cyclohexylhaltigen Derivate **130** und **131** hemmten im niederen dreistelligen nanomolaren Bereich, während der Adamantanrest an R^2 (**132**: 1060 nmol/l) zu einer mehr als fünfzehnfachen Zunahme des IC_{50} -Wertes im Vergleich zu Verbindung **129**, führte. Vermutlich fällt der Wirkverlust durch den Cyclohexylsubstituenten aufgrund seiner sterischen Flexibilität, der Änderung von der Sessel- in die Wannenkonformation, nicht so dramatisch wie bei dem starren, kugelförmigen Adamantangerüst aus. Anhand des in der pharmazeutischen Chemie bisher wenig geläufigen Carboranrestes, der u. a. als Bioisoster für Benzol (*Kapitel 4*) eingesetzt werden kann, zeigte sich, dass für die Aktivität aromatische Reste bei dieser Substanzklasse bevorzugt sind.

Dass die carboranhaltigen Vertreter im Konzentrationsbereich der cyclohexylhaltigen Derivate (**133**: 807 nmol/l; **134**: 508 nmol/l) hemmten, könnte auf die hohe Lipophilie und die quasiaromatischen Eigenschaften des Carborans^[222] zurückgeführt werden, die anscheinend imstande sind, den Nachteil räumlicher Ausdehnung auszugleichen.

Tabelle 14: Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC₅₀-Werte der Testsubstanzen mit (ali-)cyclischen Substituenten anstelle eines Phenylringes; Referenzsubstanz XR9577: IC₅₀ = 704 ± 147 nmol/l; n = 3



Verb.	R ¹	X	R ²	IC ₅₀ ± σ [nmol/l]	I _{max} ± σ [%]
130	4-OCH ₃	C	Cyclohexyl-	565 ± 182	95 ± 8
131	H	C	Cyclohexyl-	287 ± 46	97 ± 6
132	H	C	Adamantyl-	1060 ± 160	99 ± 5
133	4-OCH ₃	C	<i>m</i> -Carboranyl-	807 ± 187	112 ± 6
134	H	C	<i>m</i> -Carboranyl-	508 ± 30	107 ± 5
135	4-OCH ₃	N	4-CF ₃ -Phenyl	130 ± 35	95 ± 13
136	4-OCH ₃	N	4-CH ₃ O-Phenyl	61.6 ± 9.2	103 ± 12
137	4-OCH ₃	N	Phenyl-	102 ± 6	120 ± 16
138	H	C	Pyridin-2-yl-	445 ± 17	81 ± 9
139	H	C	Pyridin-3-yl-	733 ± 60	99 ± 8
140	H	C	Pyridin-4-yl-	287 ± 46	97 ± 6
141	4-OCH ₃	C	Pyrazin-2-yl-	174 ± 47	79 ± 13
142	2-OCH ₃	C	Thien-2-yl-	330 ± 18	89 ± 9
143	4-OCH ₃	C	Thien-2-yl-	351 ± 60	90 ± 1
144	H-	C	Thien-2-yl-	270 ± 41	106 ± 3

Fortsetzung Tabelle 14:

145	4-OCH ₂ CH ₃	C	Naphth-1-yl	3300 ± 790	100*
146	4-OCH ₃	C	Naphth-1-yl	267 ± 28	78 ± 7
147	H	C	Naphth-1-yl	430 ± 70	85 ± 2
148	4-OCH ₃	C	Chinolin-3-yl-	228 ± 17	82 ± 9
149	H	C	Chinolin-3-yl-	176 ± 35	51 ± 4

*) Berechnung durch Festlegen der Maximalinhibition auf das Referenzniveau

Als Variation des Phenylringes A wurde ein Pyridin eingesetzt. Der zusätzliche Stickstoff hatte keine Auswirkungen auf die Hemmstärke, wenn als Substituentenmuster 4-Methoxy am Ring A und 4-Trifluormethyl am Ring C verwendet wurde, da Verbindung **135** (130 nmol/l; 95 %) praktisch dieselben Ergebnisse wie ihr Analogon **94** lieferte. Dagegen bewirkte das Heteroatom in Anwesenheit von zwei 4-Methoxygruppen an den Ringen A und C eine dreifache Aktivitätssteigerung. Das zu **112** verwandte Derivat **136** zeigte einen IC₅₀-Wert von 61.6 nmol/l bei einer Maximalinhibition auf Referenzniveau. Die an R² phenylsubstituierte Verbindung **137** war ebenfalls sehr potent mit einer IC₅₀ von 102 nmol/l, was der Erhöhung der Elektronendichte durch den Stickstoff zuzuschreiben sein könnte. Ein dem Derivat **137** analoge Verbindung ohne Stickstoffatom im Ring A hätte wahrscheinlich einen IC₅₀-Wert von ≥ 200 nmol/l gezeigt, da der Tausch der Reste R¹ und R² bei Substituenten in *para*-Position (Paare **94/105** und **101/103**) zu vergleichbaren IC₅₀-Werten geführt hat, und einfach substituierte Verbindungen wie **114** (R¹ = H, R² = 4-Methoxy) und **127** (R¹ = 3,4-Methoxy, R² = H) in dem oben genannten Bereich liegen. Da die Anwesenheit eines Stickstoffs keine signifikante Wirksteigerung erzielt hatte, wurde von der Synthese weitere Derivate abgesehen.

Darüber hinaus wurde der Effekt von Heteroatomen im Phenylring C untersucht. Im Allgemeinen ist deren Anwesenheit mit einem Verlust inhibitorischer Aktivität, kaum aber der I_{max}, verbunden. In Relation zum Derivat **129** sinkt sie um das Vierfache bei *para*-ständigem (**140**: 287 nmol/l, 97 %), um das 6.5fache bei *ortho*-ständigem (**138**: 445 nmol/l, 81 %) und sogar um mehr als das Zehnfache bei *meta*-ständigem

Stickstoff (**139**: 733 nmol/l, 99 %). Interessanterweise bewirkt ein Pyrazin an dieser Stelle eine verhältnismäßig geringe Abschwächung der Potenz (**140**: 174 nmol/l, 79 %). Da auch die schwefelhaltigen Verbindungen **141-143** eine ebenfalls verminderte, aber annähernd gleiche Aktivität um 320 nmol/l bei einer Maximalinhibition von durchschnittlich 95 % zeigten, überwiegt offenbar der Einfluss des Heteroaromaten den des Substituenten R¹.

Auch ein Naphthyl- anstelle des Phenylrings senkte grundsätzlich die Aktivität. Substanz **145** mit R¹ = 4-Ethoxy inhibierte vergleichsweise schwach mit einer halbmaximalen Konzentration von 3300 nmol/l. Gegenüber der unsubstituierten Verbindung (**147**: 430 nmol/l, 85 %) ergab eine Methoxygruppe an dieser Position eine anderthalbfache Steigerung der Aktivität (**146**: 267 nmol/l, 78 %). Die moderate I_{max} des Derivates **146** war auf eine schlechte Löslichkeit unter den Testbedingungen zurückzuführen, die sich nach Erreichen des Plateaus in einer steten Abnahme der Fluoreszenz bei höheren Konzentrationen äußerte.

Die Verwendung des tariquidartypischen 3-Chinolins führte wider Erwarten nicht zu einer Steigerung der inhibitorischen Aktivität, wie es von Tariquidaranaloga berichtet worden ist.^[169] Im Falle der Verbindung **148**, die eine Analogon des Naphthalin-Derivates **146** ist, wurde eine nahezu gleiche IC₅₀ von 228 nmol/l und einer I_{max} von 82 % erhalten. Die unsubstituierte Verbindung **149** zeigte zwar eine IC₅₀ von 176 nmol/l, aber eine drastische Reduktion der Maximalinhibition (51 %). Da sich in den Messungen das Plateau recht früh eingestellt hatte, und die Fluoreszenzwerte danach auf einem Niveau blieben, wurde auf das Präzipitationsverhalten nicht geprüft.

Anhand der biologischen Daten der Verbindungen **138-149** sind die auf 3D-QSAR-Studien fußenden Postulate, bicyclische Reste an dieser Position im Molekül (R²) seien monocyclischen gegenüber bevorzugt, und der Chinolinstickstoff sei für die Aktivität bedeutsam, auf diese Substanzklasse nicht übertragbar.^[169]

Nach Erörterung der Substituenteneinflüsse auf die Grundstruktur hinsichtlich der Aktivität gegenüber ABCG2 wurde nun untersucht, welche Voraussetzungen der Grundkörper aufweisen muss (*Abbildung 48*). Dazu wurde einerseits auf die Präsenz der cyclischen Systeme A und C und auf die Wichtigkeit der Position der Amidgruppe zum Tetrazol hin geprüft, andererseits wurden die Brückenglieder (Tetrazol, Amid) einem (bioisosteren) Tausch unterzogen.

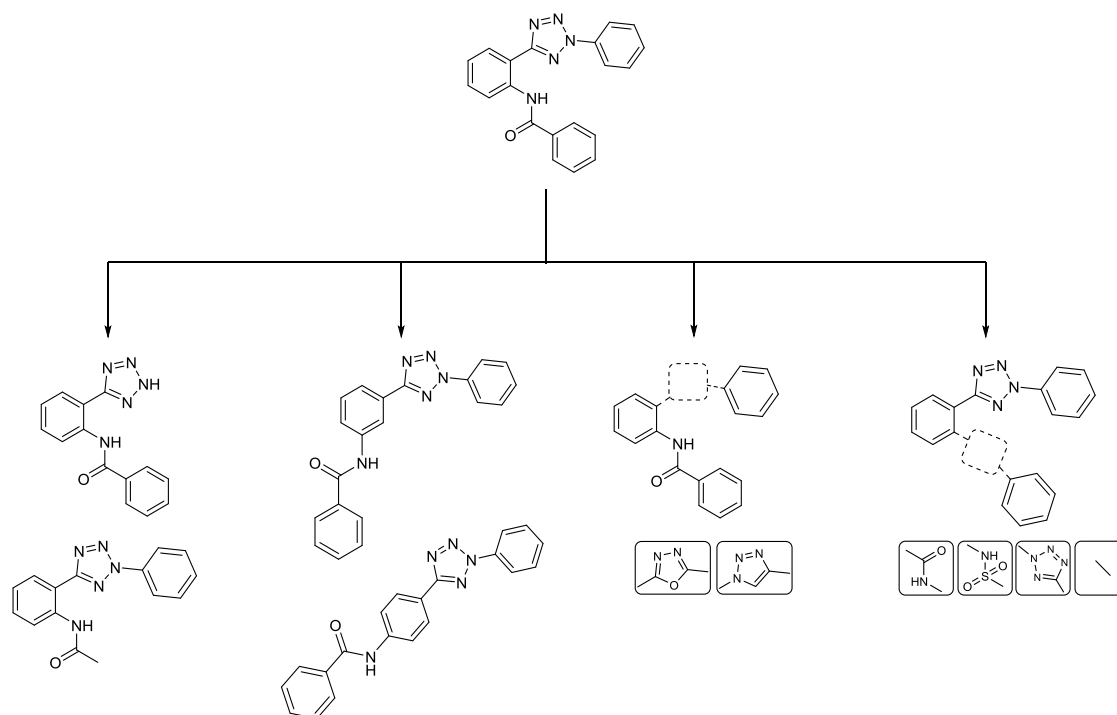
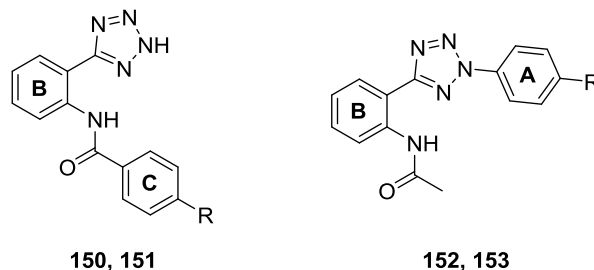


Abbildung 48: Vorgenommene strukturelle Variationen der Grundstruktur

Fehlte der Aromat A (**150**, **151**), führte dieses unabhängig vom Substituenten am Ring C zu Inaktivität, wie es schon bei den Anthranilamiden beobachtet worden war.^[110,159]

Der Austausch des Cyclus C durch eine Methylgruppe führte nicht wie bei den Anthranilamiden zu einem völligen Effektverlust,^[159] sondern zu einer stark verringerten halbmaximalen Hemmkonzentration von 3.2 $\mu\text{mol/l}$ (**152**) bzw. 6.9 $\mu\text{mol/l}$ (**153**).

Tabelle 15: Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC_{50} -Werte der Testsubstanzen mit erster Modifikation der Grundstruktur – Wegfall des Phenylringes A bzw. C; Referenzsubstanz XR9577: $IC_{50} = 704 \pm 147$ nmol/l; $n = 3$



Verb.	R	$IC_{50} \pm \sigma$ [nmol/l]	$I_{max} \pm \sigma$ [%]
150	OCH ₃	>> 10000	-
151	H	>> 10000	-
152	OCH ₃	3230 ± 600	100*
153	H	6910 ± 930	100*

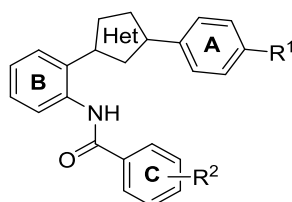
*) Berechnung durch Festlegen der Maximalinhibition auf das Referenzniveau

Die zweite Modifikation betraf das Tetrazol, welches selbst als Bioisoster für die Amidgruppe der Tariquidar-Abkömmlinge eingesetzt worden ist. Es wurden das 1,3,4-Oxadiazol und das 1,2,3-Triazol als Substitute gewählt (Tabelle 16). Da sich vor allem die Methoxygruppe in Parastellung am Ring A bewährt hatte, wurde sie als einziger Substituent neben der unsubstituierten Variante gewählt.

Mit Ausnahme der dem Tetrazolderivat **72** analogen Oxadiazolverbindung **154** ($IC_{50} = 109$ nmol/l, $I_{max} = 51$ %) resultierte der Wechsel des Heterocyclus in einen Aktivitätsverlust oder in einer Absenkung der Maximalinhibition. Bei den Verbindungen **155** ($R^1 = 4-OCH_3$, $R^2 = NO_2$) und **156** ($R^1 = 4-OCH_3$, $R^2 = CF_3$) wurde eine im Vergleich zu ihren korrespondierenden Substanzen (**79** bzw. **94**) um 30 % bzw. 44 % geringere I_{max} beobachtet. Eine Methoxygruppe in *ortho*-Position zur Amidgruppe (**157**) führte ebenfalls zur Ausbildung eines verminderten Plateaus (342 nmol/l, 58 %). Wurde der Abstand zur Amidgruppe (3-OCH₃) vergrößert, verschwand der sich auf die I_{max} negativ auswirkende Effekt des Substituenten wieder (**158**: 293 nmol/l, 104 %).

Die Substanzen **159** ($R^1, R^2 = 4\text{-OCH}_3$) und die **160** (unsubstituiert) erreichten hohe I_{\max} -Werte, waren aber nur noch halb so aktiv wie ihre Tetrazol-Analoga **112** und **129**. Insgesamt ist ein 1,3,4-Oxadiazol als Tetrazolersatz ungünstig.

Tabelle 16: Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC_{50} -Werte der Testsubstanzen mit zweiter Modifikation der Grundstruktur – Austausch des Tetrazols gegen Oxadiazol (148-154) oder Triazol (160-164); Referenzsubstanz XR9577: $IC_{50} = 704 \pm 147$ nmol/l; $n = 3$



Verb.	Heterocyclus	R ¹	R ²	IC ₅₀ ± σ [nmol/l]	I _{max} ± σ [%]
154	1,2,4-Oxadiazol	OCH ₃	4-NO ₂	109 ± 11	51 ± 15
155	1,2,4-Oxadiazol	OCH ₃	2-NO ₂	232 ± 84	46 ± 15
156	1,2,4-Oxadiazol	OCH ₃	4-CF ₃	90.0 ± 24.6	47 ± 7
157	1,2,4-Oxadiazol	OCH ₃	2-OCH ₃	342 ± 84	58 ± 15
158	1,2,4-Oxadiazol	OCH ₃	3-OCH ₃	293 ± 45	104 ± 9
159	1,2,4-Oxadiazol	OCH ₃	4-OCH ₃	438 ± 122	124 ± 23
160	1,2,4-Oxadiazol	H	H	112 ± 18	101 ± 9
161	1,2,3-Triazol	OCH ₃	4-CF ₃	766 ± 46	118 ± 9
162	1,2,3-Triazol	OCH ₃	2-OCH ₃	>> 10000	-
163	1,2,3-Triazol	OCH ₃	4-OCH ₃	2360 ± 350	100*
164	1,2,3-Triazol	OCH ₃	4- <i>n</i> -C ₃ H ₇	367 ± 106	89 ± 6
165	1,2,3-Triazol	H	H	>> 10000	-

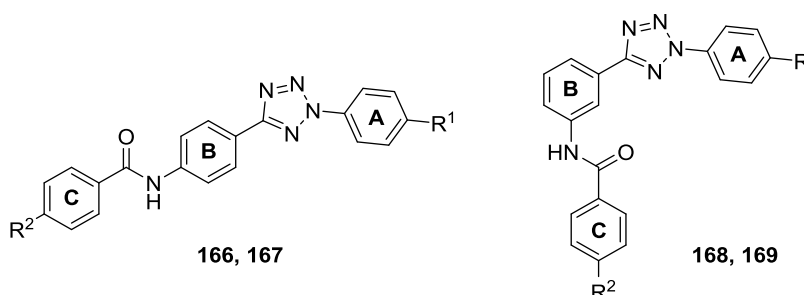
*) Berechnung durch Festlegen der Maximalinhibition auf das Referenzniveau

Die Anwesenheit eines Triazols anstelle des Tetrazols bewirkte nicht nur erhebliche Aktivitätsverluste unabhängig von den Substituenten, sondern auch eine Veränderung der bisher abgeleiteten Struktur-Wirkungs-Beziehungen. Verbindung **161** ($R^1 = 4\text{-OCH}_3$, $R^2 = 4\text{-CF}_3$) erlangte eine I_{\max} von 118 %, war aber mit einer IC_{50} von 766 nmol/l rund siebenmal schwächer als sein tetrazolhaltiges Analogon **94**.

Die Präsenz von Methoxygruppen am Ring C senkte unerwartet die Hemmwirkung bis hin zur Inaktivität. Verbindung **162** (2-OCH₃) zeigte keinen und **163** (4-OCH₃) lediglich einen schwachen Effekt mit 2.4 µmol/l (zwölfmal höher als der IC₅₀ von **112**).

Ein Propylrest an Ring C (**164**) bewirkte jedoch eine Steigerung auf 376 nmol/l bei hoher I_{max} = 89 % im Vergleich zum Derivat **161**. Da die unsubstituierte Grundstruktur **165** keinerlei Hemmwirkung aufwies, eignet sich offenbar die Triazolbrücke auch nicht als Amid- bzw. Tetrazolsubstitut.

Tabelle 17: Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC₅₀-Werte der Testsubstanzen mit dritter Modifikation der Grundstruktur – Auswirkung des Positionswechsels des Amids; Referenzsubstanz XR9577: IC₅₀ = 704 ± 147 nmol/l; n = 3



Verb.	R ¹	R ²	IC ₅₀ ± σ [nmol/l]	I _{max} ± σ [%]
166	OCH ₃	4-CF ₃	>> 10000	-
167	H	H	>> 10000	-
168	OCH ₃	4-CF ₃	>> 10000	-
169	H	H	4930 ± 990	100*

*) Berechnung durch Festlegen der Maximalinhibition auf das Referenzniveau

Die Position der Amidgruppe zwischen den Cyclen B und C relativ zum Tetrazol wurde variiert (Tabelle 17). Es wurden dazu die Isomere **166-169** synthetisiert und getestet. Sie sind Stereoisomere zum unsubstituierten Derivat **129** sowie zur Substanz **94** mit R¹ = OCH₃ und R² = CF₃. Das Abweichen von der *ortho*-Substitution führte zu einer Aufhebung der inhibitorischen Fähigkeit. Als einzige zeigte die unsubstituierte, *meta*-verknüpfte Verbindung **169** einen schwachen Effekt im einstelligen mikromolaren Bereich (4.9 µmol/l).

Tabelle 18: Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC₅₀-Werte der Testsubstanzen mit dritter Modifikation der Grundstruktur – Veränderung der Amid-Teilstruktur; Referenzsubstanz XR9577: IC₅₀ = 704 ± 147 nmol/l; n = 3

Verb.	R ¹	R ²	IC ₅₀ ± σ [nmol/l]	I _{max} ± σ [%]
170	OCH ₃	H	>> 10000	-
171	OCH ₃	OCH ₃	7670 ± 872	100*
172	OCH ₃	CF ₃	>> 10000	-
173	OCH ₃	OCH ₃	>> 10000	-
174	OCH ₃	CF ₃	>> 10000	-
175	-	-	8340 ± 3000	100*

*) Berechnung durch Festlegen der Maximalinhibition auf das Referenzniveau

Des Weiteren wurde die Bedeutsamkeit der *ortho*-ständigen Amidgruppe untersucht, indem sie bioisoster ersetzt oder weggelassen wurde (Tabelle 18). Der Wechsel des Carbonsäureamides zu einer Sulfonsäureamid-Gruppe wirkte sich negativ auf die Aktivität aus. Während Substanz **170** keinen Effekt bis 10 µmol/l zeigte, erzielte **171** mit zusätzlichem Methoxysubstituenten eine schwache Hemmung mit einem IC₅₀-Wert von 7.7 µmol/l. Die Umkehrung der Amidbrückenglieder in den Verbindungen **172** und **173** und die Substitution des Amids durch ein Tetrazol im Derivat **174** resultierten in einem vollständigen Wirkungsverlust. Die bei dem Derivat **175** fehlende amidische Verknüpfung reduzierte die inhibitorische Aktivität auf eine IC₅₀ von 8.4 µmol/l. Eine *NHCO*-Brücke in *ortho*-Stellung zur ersten Verknüpfung, dem Tetrazol, ist offenbar essentiell für die biologische Aktivität, wie sie auch schon bei den Tariquidaranaloga beobachtet worden ist.^[159,162]

Zur Kontrolle der aus dem Hoechst 33342-Test erhaltenen Daten wurde die Akkumulation des ABCG2 spezifischen Substrates Pheophorbid A in Anwesenheit ausgewählter Verbindungen durchflusszytometrisch untersucht (*Tabelle 19*). Die Aktivitätsdaten beider Testverfahren korrelieren nur bedingt miteinander ($r^2 = 0.68$), was an der geringen Diversität der pIC_{50} -Werte liegen könnte (*Abbildung 49*). Jedoch ist innerhalb eines jeden Datensatzes eine ähnliche Tendenz erkennbar, so dass ein vom Substrat unabhängiges Verhalten der Inhibitoren vermutet werden kann.

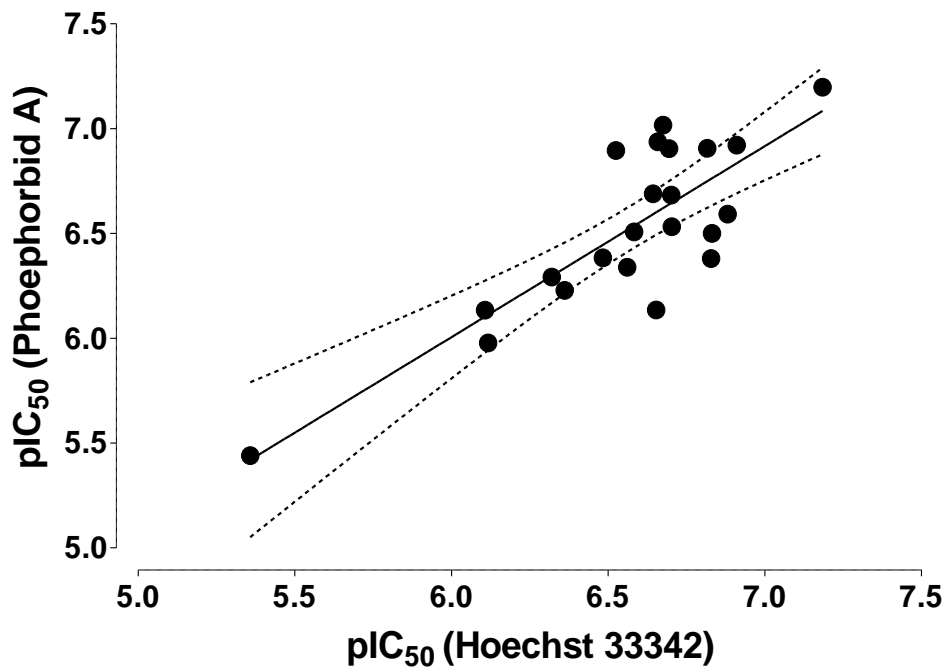
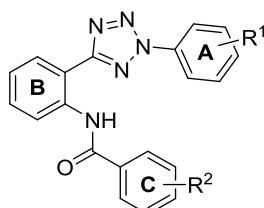


Abbildung 49: Streudiagramm der in beiden Akkumulationstest erhaltenen pIC_{50} -Werte (erstellt mit GraphPad Prism 6.0)

Tabelle 19: Vergleich der Aktivitätsdaten ausgewählter Modulatoren in Gegenwart der Substrate Hoechst 33342 und Pheophorbid A; $n \geq 3$ ^[223]



Verb.	R ¹	R ²	Hoechst 33342		Pheophorbid A	
			IC ₅₀ ± σ [nmol/l]	I _{max} ± σ [%]	IC ₅₀ ± σ [nmol/l]	I _{max} ± σ [%]
74	H	4-NO ₂	150 ± 28	60 ± 7	321 ± 52	69 ± 5
75	4-OCH ₃	3-NO ₂	168 ± 23	57 ± 11	247 ± 36	56 ± 5
76	H	3-NO ₂	127 ± 32	91 ± 5	123 ± 30	98 ± 12
78	4-SCH ₃	2-NO ₂	221 ± 24	91 ± 2	117 ± 27	77 ± 9
79	4-OCH ₃	2-NO ₂	266 ± 28	76 ± 10	311 ± 13	61 ± 5
80	H	2-NO ₂	280 ± 52	57 ± 4	458 ± 14	76 ± 4
97	H	4-CF ₃	4390 ± 180	100*	3630 ± 190	100*
100	4-SCH ₃	4- <i>n</i> -C ₃ H ₇	783 ± 30	76 ± 9	679 ± 110	69 ± 7
98b	4-OH	4- <i>n</i> -C ₃ H ₇	204 ± 24	106 ± 8	129 ± 20	107 ± 9
102	H	4- <i>n</i> -C ₃ H ₇	212 ± 12	100 ± 3	96.6 ± 9.3	85 ± 4
104	4- <i>i</i> -C ₃ H ₇	4-OCH ₃	136 ± 5	97 ± 12	131 ± 45	95 ± 10
109	4-SCH ₃	4-OCH ₃	132 ± 13	100 ± 4	251 ± 15	85 ± 2
112	4-OCH ₃	4-OCH ₃	199 ± 14	100 ± 12	300 ± 60	92 ± 11
114	H	4-OCH ₃	200 ± 17	101 ± 6	208 ± 3	93 ± 7
124	H	3,4-OCH ₃	832 ± 90	102 ± 5	511 ± 23	86 ± 9
127	3,4-OCH ₃	H	230 ± 37	104 ± 11	212 ± 58	95 ± 9
129	H	H	66.9 ± 4.8	90 ± 3	64.0 ± 9.6	109 ± 7
XR9577			704 ± 147	100	741 ± 146	100
Ko143			221 ± 24	103 ± 3	276 ± 40	113 ± 8

*) Berechnung durch Festlegen der Maximalinhibition auf das Referenzniveau

3.3.2 Untersuchungen zur ABCG2-Selektivität

Es wurde die Hemmwirkung von ausgewählten Vertretern der Substanzklasse gegenüber den beiden anderen ABC-Transportproteinen, die bei der Zytostatikatherapie eine Rolle spielen können, bestimmt. Da die Substanzen mit Anthranilamidstruktur zumeist nur geringe hemmende Effekte bei hohen Konzentrationen weit außerhalb des Messfensters zeigten, wurden zunächst über ein Screeningverfahren die Aktivität der neuen Vertreter über die relative Fluoreszenz \mathcal{F}_{rel} mittels Calcein-AM-Tests (*Kapitel 1.2.2, 6.2.4.6*) mit der ABCB1 überexprimierenden Zelllinie *A2780 adr* und mit der ABCC1 überexprimierenden Zelllinie *H69AR* ermittelt. Zusätzlich zu Verbindungen mit guter ABCG2-Hemmwirkung wurden auch solche, die weniger oder nicht aktiv an diesem Transporter waren, untersucht.

3.3.2.1 ABCB1-Inhibition

Wie *Abbildung 50* zu entnehmen ist, wiesen die Verbindungen mit einer Nitrogruppe in *para*-Position am Ring C (**64-74**) zumeist sehr schwache inhibitorische Eigenschaften gegenüber ABCB1 bis ungefähr 10 % bei 10 $\mu\text{mol/l}$ auf. Der Wechsel der Nitrogruppe in die *meta*- bzw. *ortho*-Stellung führte zu unterschiedlichen Ergebnissen. Im Gegensatz zu der Verbindung **75** (4-OCH₃ an Ring A) stellte man eine 50 %ige Hemmung bei der unsubstituierten Substanz **76** fest. Bei den Derivaten mit 2-Nitrogruppe an Ring C führte die Anwesenheit des Methylthio- (**78**) bzw. des Methoxysubstituenten (**79**) zu einem Anstieg der Inhibition auf ein ähnliches Aktivitätsniveau, während die Verbindungen **77** (4-OCH₂CH₃) und **80** (unsubstituiert) eine recht geringe Zunahme der Fluoreszenz verursachten.

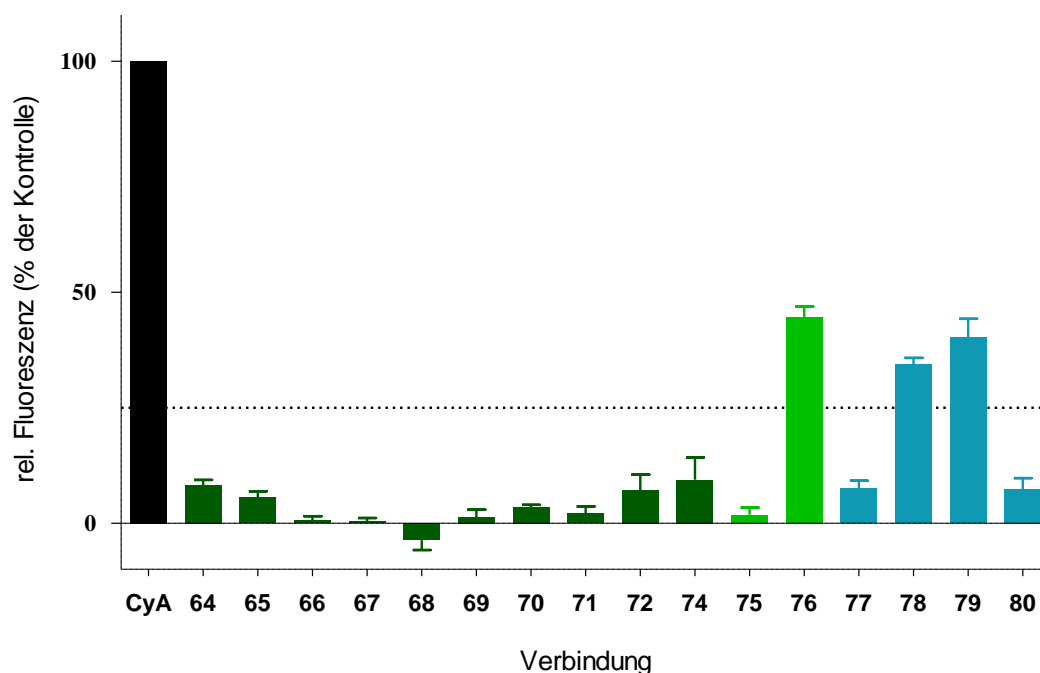


Abbildung 50: Übersicht über die gemessene Fluoreszenzen in Gegenwart von Verbindungen mit $R^2 = 4\text{-NO}_2$ (dunkelgrün), 3-NO_2 (hellgrün) und 2-NO_2 (türkis) bei $10 \mu\text{mol/l}$, auf Cyclosporin A ($10 \mu\text{mol/l}$) bezogen; $n = 3$

Von den Derivaten mit Trifluormethylgruppe als R^2 (orange) waren diejenigen, die als R^1 eine Alkyl-, 4-Ethoxy- oder 4-Methylthiogruppe tragen (Abbildung 51), nahezu inaktiv. Mit einer Ausnahme (**93**) führte eine Methoxygruppe zu einer Zunahme der ABCB1-Inhibition. So zeigten Substanz **91** ($R^1 = 2\text{-OCH}_3$) eine 25 %ige und **92** ($R^1 = 3,4\text{-OCH}_3$) eine 35 %ige Inhibition, während mit **94** ($R^1 = 4\text{-OCH}_3$; $\mathcal{F}_{rel} = 10 \%$) und **95** ($R^1 = 4\text{-OCH}_3$, $R^3 = \text{OCH}_3$; $\mathcal{F}_{rel} = 18 \%$) der Fluoreszenzanstieg etwas geringer ausfiel.

Die Verbindungen **98a** und **99** mit voluminösen Resten an Ring A und mit 4-*n*-Propyl an Ring B (lila) waren an ABCB1 inaktiv. In Analogie zu den Derivaten **90** und **94** verfügten die korrespondierenden Verbindungen **100** und **101** ebenfalls nur über ein geringes Inhibitionsvermögen. Die eine Hydroxylgruppe tragende Verbindung **98b** zeigte hingegen eine beachtliche relative Inhibition von 81 %. Auch für die an Ring A unsubstituierte Verbindung **102** wurde eine recht hohe Aktivität ($\mathcal{F}_{rel} = 45 \%$) festgestellt.

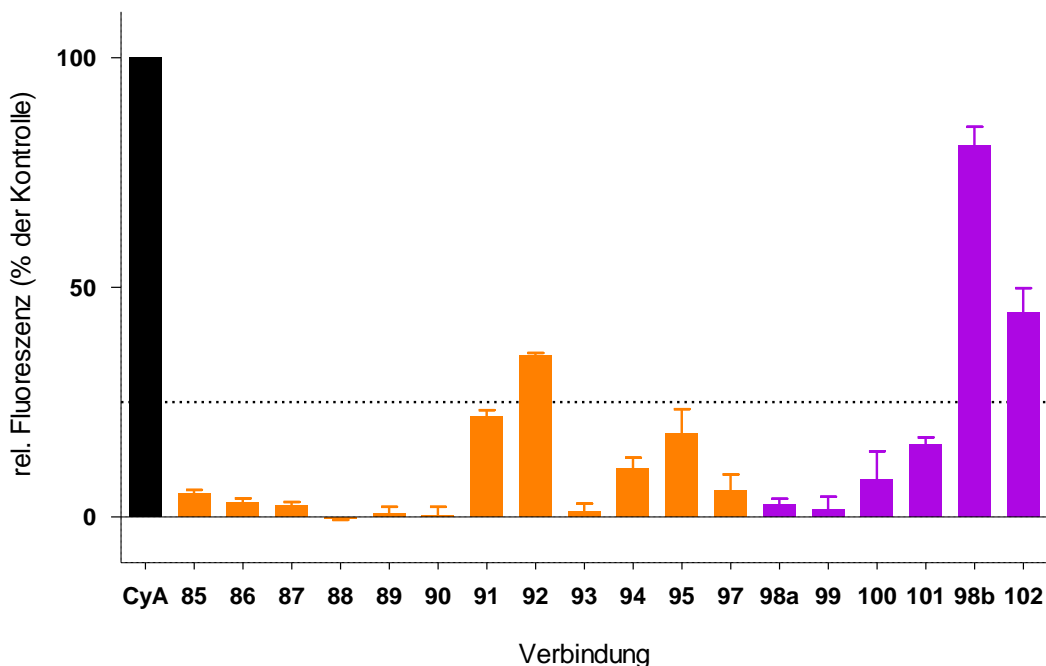


Abbildung 51: Übersicht über die gemessene Fluoreszenzzunahme in Gegenwart von Verbindungen mit $R^2 = 4\text{-CF}_3$ (orange) und $4\text{-n-C}_3\text{H}_7$ (lila) bei $10 \mu\text{mol/l}$, auf Cyclosporin A ($10 \mu\text{mol/l}$) bezogen; $n = 3$

Wie aus *Abbildung 52* hervorgeht, wiesen die Isomeren **103** und **104** im Vergleich zu Cyclosporin A niedrige Fluoreszenzwerte auf, wobei deren augenscheinlich großer Unterschied zueinander (7 % und 24 %) wohl den Grenzen des Testverfahrens in Bezug auf Substanzen geringerer Aktivität zuzuschreiben ist. Verbindung **105**, die zu den an ABCG2 potentesten Derivaten gehört, zeigte praktisch keine ABCB1-Hemmung. Analog zu den vorher erörterten Verbindungen mit Trifluormethylgruppe waren diejenigen, die an ABCG2 eine verminderte Potenz gezeigt hatten, auch an ABCB1 kaum aktiv (**106-108**). Ein Zunahme der inhibitorischen Wirkung wurde festgestellt, wenn der Ring A mit Methylthio- oder Methoxygruppen (**109-112**, **114**) substituiert war. Es wurden relative Fluoreszenzen zwischen 40 und 65 % des Niveaus von Cyclosporin A gemessen.

Im Vergleich zu den Verbindungen mit 4-Methoxy an Ring C (**105**, **108**, **109**, **112**, **114**) führte eine 3,4-Dimethoxysubstitution am Ring C (**120-124**) zu gegensätzlichen Ergebnissen.

Während die Substanzpaare **105/120** ($R^1 = 4\text{-CF}_3$; $\mathcal{F}_{rel} = 0 \% / 5 \%$) und **109/122** ($R^1 = 4\text{-SCH}_3$; $\mathcal{F}_{rel} = 55 \% / 48 \%$) kaum Unterschiede aufwiesen, nahm die inhibitorische Wirkung durch die zusätzliche 3-Methoxygruppe bei den Substanzen mit $R^1 = 4\text{-OCH}_3$ von 64 % (**112**) auf 31 % (**123**, $R^1 = 4\text{-OCH}_3$) beziehungsweise bei den unsubstituierten Verbindungen von 56 % (**114**) auf 17 % (**124**) ab. Im Vergleich zur Substanz **108** ($R^1 = 4\text{-OCH}_2\text{CH}_3$, $\mathcal{F}_{rel} = 2 \%$) bewirkte der zusätzliche Substituent der Verbindung **122** überhaupt erst eine messbare ABCB1-Hemmung ($\mathcal{F}_{rel} = 28 \%$).

In dem Substanzensatz sind ferner vier Konstitutionsisomeren-Paare enthalten, bei denen die beiden Substituenten R^1 und R^2 vertauscht worden waren. Nur eines dieser Paare zeigte einen signifikanten Unterschied in der Aktivität (**124**, 17 % / **127**, 50 %). Die Messergebnisse der anderen Paare (**91/120**, **94/105**, **101/103**) blieben unter 25 % der Referenzinhibition, so dass IC_{50} -Werte weit außerhalb des Messfensters von über 10 $\mu\text{mol/l}$ zu erwarten waren. Die gegenüber ABCG2 sehr aktive Verbindung **129** ($R^1, R^2 = \text{H}$) zeigte eine relativ schwache 15 %ige Hemmung.

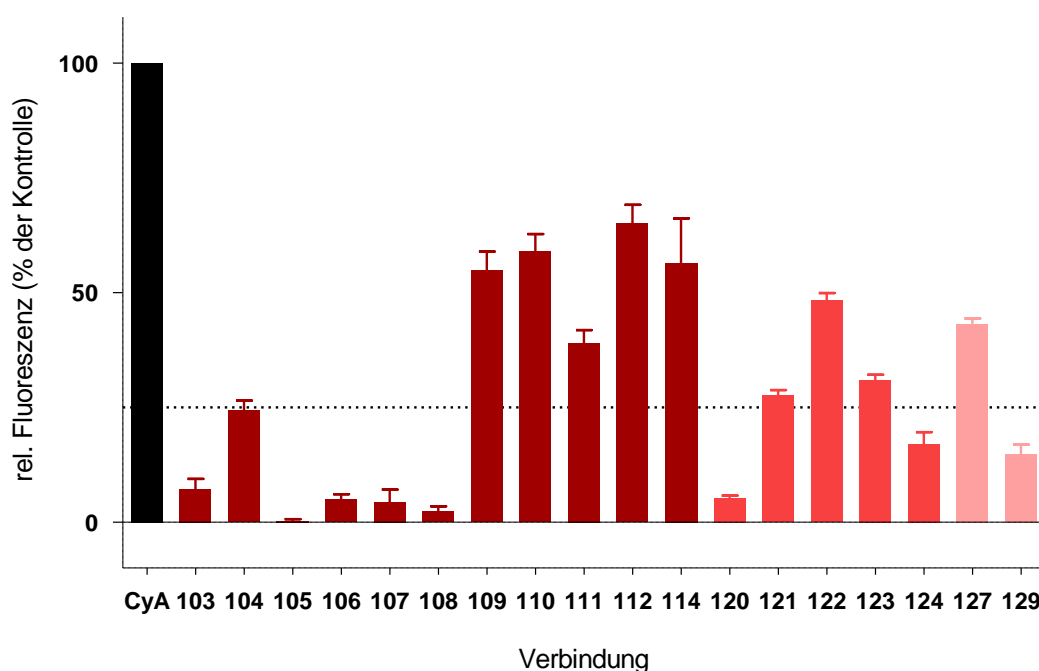


Abbildung 52: Übersicht über die gemessene Fluoreszenzzunahme in Gegenwart der Testsubstanzen mit $R^2 = 4\text{-OCH}_3$ (dunkelrot), $3,4\text{-OCH}_3$ (rot) und H (hellrot) bei 10 $\mu\text{mol/l}$, auf Cyclosporin A (10 $\mu\text{mol/l}$) bezogen; $n = 3$

Der Austausch des dem Tetrazol bioisosteren Oxadiazols (braun) änderte wenig an den ABCG2-selektiven Eigenschaften der Stammverbindungen (*Abbildung 53*). Es wurde bei den drei ausgewählten Verbindungen **154** (12 %), **156** (0 %) und **160** (10 %) eine ähnlich schwache Aktivität wie bei ihren korrespondierenden tetrazolhaltigen Derivaten (**72**: 7 %; **94**: 11 %; **129**: 15 %) beobachtet. Die zu den Substanzen **94** bzw. **129** analogen Derivate **166-169** mit veränderter Amidposition (violett) waren an ABCB1 nahezu inaktiv.

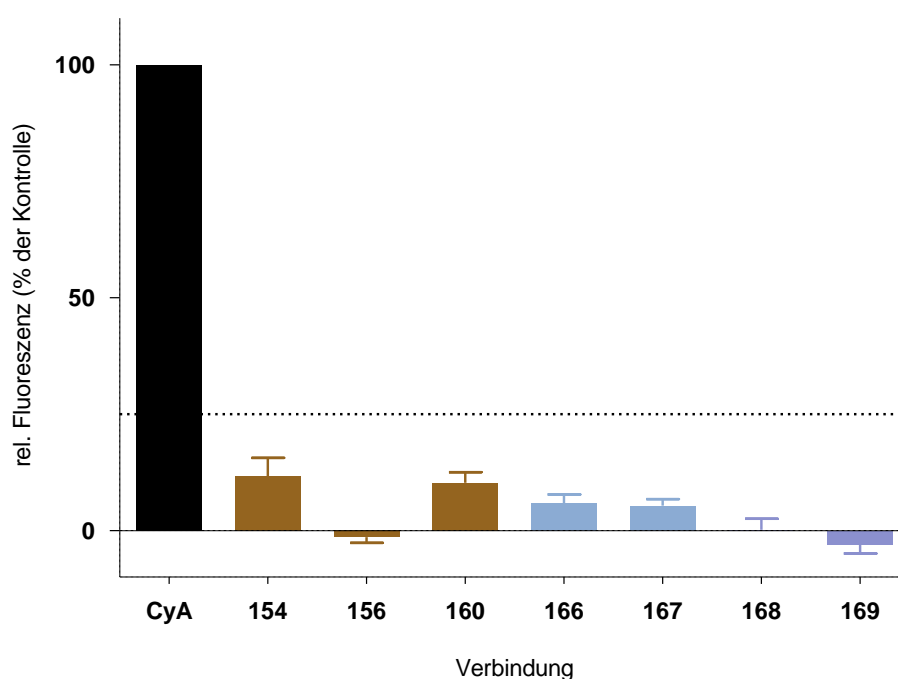


Abbildung 53: Übersicht über die gemessene Fluoreszenzzunahme in Gegenwart von Verbindungen mit einem Oxadiazol anstelle des Tetrazols (braun) und meta- (graublau) bzw. para-Tetrazolylphenyl-amiden (violett) bei 10 $\mu\text{mol/l}$, auf Cyclosporin A (10 $\mu\text{mol/l}$) bezogen; $n = 3$

Es wurde allgemein beobachtet, dass die Testsubstanzen, die gegen ABCG2 keine oder schwache Aktivitätswerte gezeigt hatten, hinsichtlich ABCB1 ebenfalls nahezu inaktiv waren. Von denjenigen Modulatoren mit $\mathcal{F}_{rel} \geq 25\%$ und von der Substanz **129**, stellvertretend für alle anderen Substanzen mit einer Inhibition unter 25 %, wurde mittels Calcein-AM-Tests der IC_{50} -Wert bestimmt (*Tabelle 20*).

Da sich bei fast allen Verbindungen kein Fluoreszenzplateau innerhalb des Messfensters ausbildete, musste als Maximalinhibition die der Referenzsubstanz Cyclosporin A herangezogen werden, nur Verbindung **98b** erreichte maximale Fluoreszenzwerte auf Referenzniveau.

Die unsubstituierte Verbindung **129** zeigte eine im Verhältnis zu ihrer ABCG2 hemmenden Wirkung über 300fach schwächere ABCB1-Inhibition ($IC_{50} = 21.8 \mu\text{mol/l}$) und kann daher als selektiver Inhibitor angesehen werden. Die Präferenz methoxygruppenhaltiger Verbindungen bei der Inhibition des ABCB1-Transporters ist bereits in der Literatur beschrieben worden.^[224] Dieses Phänomen konnte bezüglich der in dieser Arbeit diskutierten Substanzklasse nicht nur für Methoxy-, sondern auch für Methylthiogruppen festgestellt werden. Tendenziell sank die Selektivität ABCG2-aktiver Verbindungen, wenn ihre Phenylringe keine elektronenziehenden (Nitro- bzw. Trifluormethyl-) oder schwach elektronenschiebenden (*n*-Propyl-) Substituenten trugen, wobei der Einfluss des Substituenten R^1 auf die Selektivitätsabnahme größer als der des Substituenten R^2 zu sein schien.

Jedoch ließ sich kein allgemeingültiges Schema ableiten, da einige Substitutionsmuster aus dem Raster fielen. So weichen die Substanzpaare **75/76** und **101/102** von der oben aufgeführten Regel ab, da die methoxytragenden Strukturen **75** und **101** relative Fluoreszenzen unter 25 % zeigten und daher recht geringe ABCB1-Aktivitäten auswiesen, wohingegen ihre Analoga ohne diesen Substituenten (**76/102**) aber mit IC_{50} -Werten von knapp unter $10 \mu\text{mol/l}$ hemmten. Bezüglich der mit einer 2-Nitrogruppe an Ring C substituierten Derivate ist der die ABCB1-Inhibition fördernde Effekt des Methylthio- (**78**: $9.78 \mu\text{mol/l}$) etwas schwächer als der des Methoxysubstituenten (**79**: $6.20 \mu\text{mol/l}$) ausgeprägt.

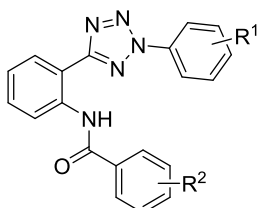
Ausnahmen von der Regel finden sich auch bei den Verbindungen mit Trifluormethylgruppe an Ring C. Die Substanzen **91** ($R^1 = 3,4\text{-OCH}_3$) und **92** ($R^1 = 2\text{-OCH}_3$) zeigten eine halbmaximale Hemmstärke von ca. $10 \mu\text{mol/l}$, während die Analoga **93** ($R^1 = 3\text{-OCH}_3$) und **94** ($R^1 = 4\text{-OCH}_3$) schwache ABCB1-Inhibitoren sind. Mit dem Derivat **98b** ist der an ABCB1 potenteste Modulator dieser Klasse identifiziert worden, der mit einem IC_{50} -Wert von $0.434 \mu\text{mol/l}$ dreimal so stark wie Cyclosporin A inhibierte.

Einen weiteren Sonderfall stellt die sich von der selektiven Substanz **129** durch eine *n*-Propylgruppe unterscheidende Verbindung **102** dar, die im hohen einstelligen mikromolaren Bereich hemmte.

Trotz den stark voneinander abweichenden prozentualen Werten der Strukturisomeren **103** ($\mathcal{F}_{rel} = 7 \%$) und **104** ($\mathcal{F}_{rel} = 24 \%$) ist dieser Unterschied mit Hinblick auf die Transporterselectivität letztlich bedeutungslos, da Substanz **104** nur einen recht hohen Hemmwert von 19.4 $\mu\text{mol/l}$ aufwies und daher 140mal schwächer ABCB1 als ABCG2 inhibierte. Die auf Methoxygruppen zurückzuführende gesteigerte ABCB1-Inhibition zeigte sich vor allem bei den Derivaten **109-112** und **114**, die durchschnittlich niedrigere IC_{50} -Werte als die anderen zeigten. Dabei zeigte sich, dass sich 4-Methylthio- (**109**: 4.20 $\mu\text{mol/l}$) und 3,4-Dimethoxysubstitution (**110**: 3.20 $\mu\text{mol/l}$) zur 4-Methoxysubstitution (**112**: 2.88 $\mu\text{mol/l}$) biochemisch nahezu äquivalent verhalten. Befindet sich die Methoxygruppe in *ortho*-Position, führt dieses zu einem Aktivitätsverlust (**111**, $\text{IC}_{50} = 8.14 \mu\text{mol/l}$).

Am Phenylring C scheint eine zusätzliche Methoxygruppe in *meta*-Position von Nachteil zu sein, da nebst der schwach inhibierenden Verbindung **121** ($\text{IC}_{50} = 19.0 \mu\text{mol/l}$) die Derivate **122** ($\text{IC}_{50} = 9.61 \mu\text{mol/l}$), **123** ($\text{IC}_{50} = 27.2 \mu\text{mol/l}$) und **124** ($\mathcal{F}_{rel} = 17 \%$) im Vergleich zu ihren Analoga ohne 3-Methoxygruppe (**109**: $\text{IC}_{50} = 4.20 \mu\text{mol/l}$; **112**: $\text{IC}_{50} = 2.88 \mu\text{mol/l}$; **114**: $\text{IC}_{50} = 5.47 \mu\text{mol/l}$) entschieden schwächere Aktivitäten aufwiesen, die offenbar auf den durch die nicht planaren Amidbrücke abgewinkelten Phenylring C zurückzuführen sind. Ist der Phenylring C unsubstituiert, sinkt die ABCB1-Aktivität nur gering, da Verbindung **127** ($\text{IC}_{50} = 4.03 \mu\text{mol/l}$) eine der **110** ähnliche Inhibition zeigte.

Tabelle 20: Inhibitorische Aktivitäten der über das Screening identifizierten Substanzen mit mehr als 25 %iger verusachter Fluoreszenz im Calcein-AM-Test; Referenzsubstanz CsA: $IC_{50} = 1.21 \pm 0.16 \mu\text{mol/l}$; $n = 3$



Verb.	R ¹	R ²	IC ₅₀ ± σ [μmol/l]
76	H	3-NO ₂	9.40 ± 0.88
78	4-SCH ₃	2-NO ₂	9.78 ± 0.13
79	4-OCH ₃	2-NO ₂	6.20 ± 1.20
91	3,4-OCH ₃	4-CF ₃	10.2 ± 2.5
92	2-OCH ₃	4-CF ₃	12.4 ± 1.5
98b	4-OH	4- <i>n</i> -C ₃ H ₇	0.434 ± 0.043
102	H	4- <i>n</i> -C ₃ H ₇	8.14 ± 0.52
104	4- <i>i</i> -C ₃ H ₇	4-OCH ₃	19.4 ± 1.5
109	4-SCH ₃	4-OCH ₃	4.20 ± 0.47
110	3,4-OCH ₃	4-OCH ₃	3.20 ± 0.85
111	2-OCH ₃	4-OCH ₃	8.14 ± 1.12
112	4-OCH ₃	4-OCH ₃	2.88 ± 0.30
114	H	4-OCH ₃	5.47 ± 1.77
121	4-OCH ₂ CH ₃	3,4-OCH ₃	19.0 ± 5.5
122	4-SCH ₃	3,4-OCH ₃	9.61 ± 1.65
123	4-OCH ₃	3,4-OCH ₃	27.2 ± 1.0
127	3,4-OCH ₃	H	4.03 ± 1.30
129	H	H	21.8 ± 1.3

3.3.2.2 ABCC1-Inhibition

Untersuchungen hatten ergeben, dass Tariquidar bei 10 $\mu\text{mol/l}$ keine Aktivität gegen ABCC1 gezeigt hatte.^[166] Für die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Derivate wurden bei der selben Konzentration lediglich schwache Inhibitionen bis zu 10 % im Vergleich zu Cyclosporin A festgestellt, so dass sie als nahezu inaktiv angesehen werden können. Aufgrund der Diversität des vorliegenden Datensatzes kann davon ausgegangen werden, dass die Substanzklasse praktisch keine Fähigkeit zur Inhibition von ABCC1 hat.

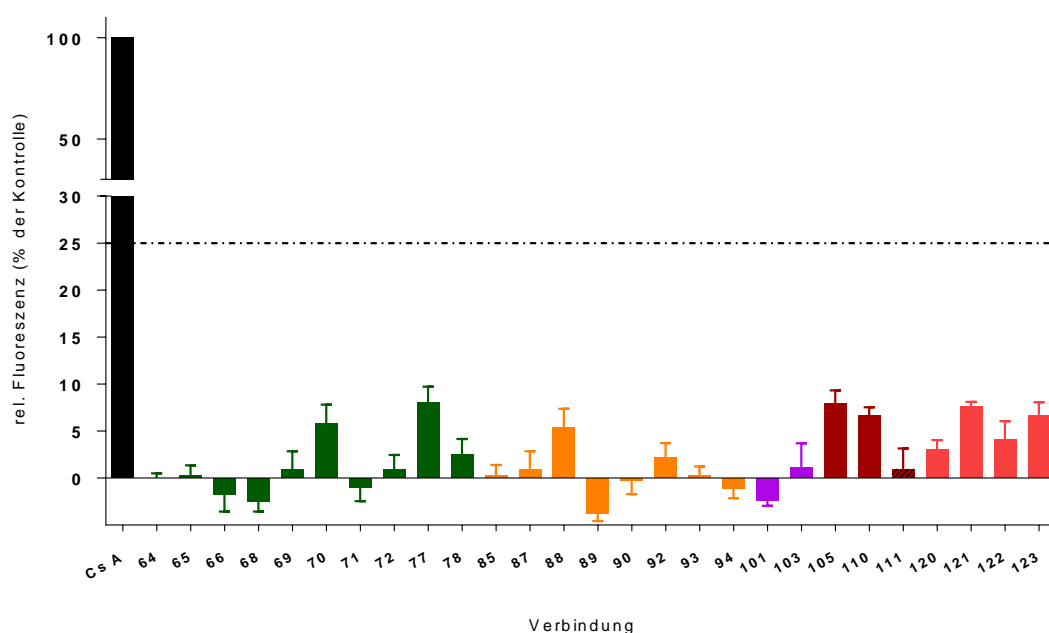


Abbildung 54: Übersicht über die gemessene Fluoreszenzzunahme in Gegenwart von Verbindungen mit $R^2 = 4\text{-NO}_2$ (dunkelgrün), 4-CF_3 (orange) 4-n-Propyl (lila), 4-OCH_3 (dunkelrot) und $3,4\text{-OCH}_3$ (rot) bei 10 $\mu\text{mol/l}$, auf Cyclosporin A (10 $\mu\text{mol/l}$) bezogen; $n = 3$

3.3.3 Enzymkinetische Untersuchungen

Die in *Kapitel 1.2.3* vorgestellte Methode zur Ermittlung des Interaktionsverhaltens eines Inhibitors mit seinem Enzym ist auf ABC-Transporter-Inhibitoren anwendbar.

Es wurden zunächst Konzentrations-Effekt-Kurven von Verbindungen **102**, **114** sowie der Referenz Ko143 bei unterschiedlichen Konzentrationen der verwendeten Substrate Pheophorbid A und Hoechst 33342 aufgenommen. Minimal- und Maximalwerte der Konzentrations-Effekt-Kurven wurden in einem Diagramm gegen die jeweilige Substratkonzentration aufgetragen und einer linearen Regression unterworfen. Die daraus erhaltenen Maximalwerte (\mathcal{F}_{max}) dienen der Schaffung einer Proportionalität der gemessenen Fluoreszenzwerte \mathcal{F} zur Transportgeschwindigkeit. Es wurden die intrazelluläre Substratkonzentration S_{in} und die Umsatzgeschwindigkeit v_0 über die Gleichungen

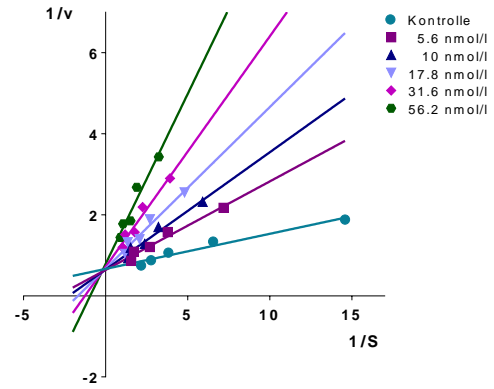
$$[S_{in}] = \frac{[S] \cdot \mathcal{F}}{\mathcal{F}_{max}}$$
$$v_0 = [S] - [S_{in}]$$

berechnet. Danach erfolgte die enzymkinetische Auswertung über das Linearisierungsverfahren nach Lineweaver und Burk.

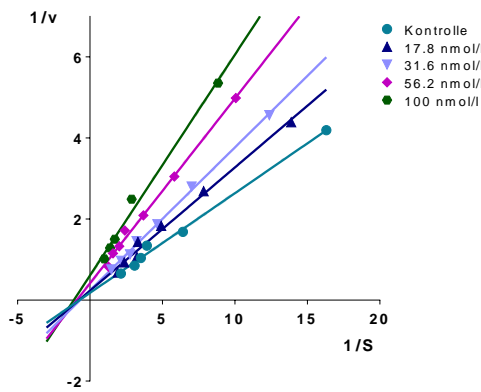
Es wurde für Tariquidaranaloga wie XR9577 sowie WK-X-8 ohne Tetrahydroisochinolin-Rest beobachtet, dass diese in Gegenwart von Pheophorbid A als nichtkompetitive, in Gegenwart von Hoechst 33342 hingegen als kompetitive ABCG2-Inhibitoren agierten.^[157,225] Daher war es nicht weiter verwunderlich, dass dieses Interaktionsverhalten auch von den tetrazolhaltigen Analoga **102** und **114** gezeigt worden ist (*Abbildung 55*).^[223] Der Schnittpunkt der Geradenschar mit der Abszisse indiziert eine nichtkompetitive Interaktion Pheophorbid A, der Schnittpunkt mit der Ordinate eine kompetitive Interaktion mit dem Substrat Hoechst 33342. Ferner wurde für Ko143 dasselbe Verhalten ermittelt, wonach zu schließen ist, dass der Inhibitor an der gleichen Bindungsstelle wie Hoechst 33342 und von Tariquidar abstammenden Verbindungen angreifen.

Pheophorbid A^{a,b}Hoechst 33342^b

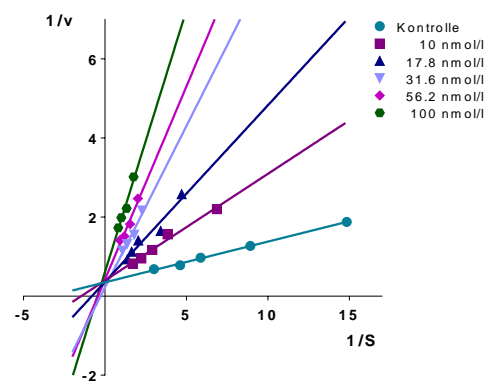
102 (nicht bestimmt)



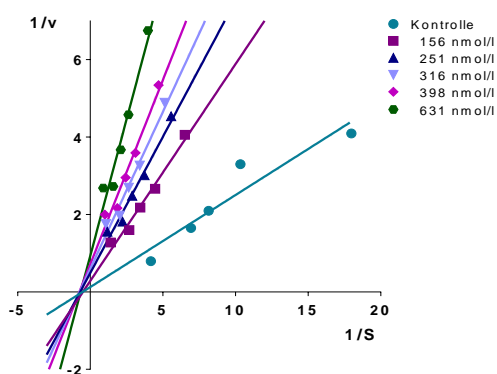
102



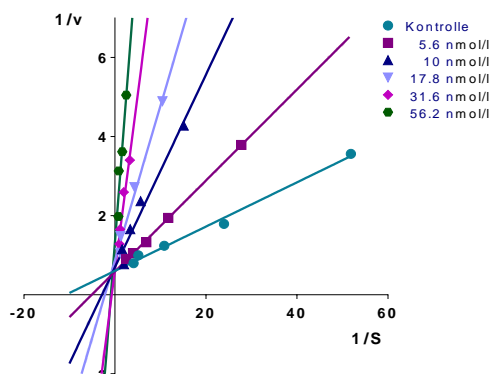
114



114



Ko143



Ko143

Abbildung 55: Lineweaver-Burk-Diagramme zur Ermittlung der Interaktionstypen zwischen Modulator und Substrat; von K. Silbermann durchgeführt (a) und ausgewertet (b)

3.3.4 Intrinsische Zytotoxizität und Sensibilisierung resistenter Zellen

Von einigen Verbindungen - stellvertretend für die gesamte Substanzklasse - wurde die intrinsische Zytotoxizität bestimmt. Mit der Indikation „ABCG2-Hemmung“ sollten die Verbindungen geringe Toxizitätswerte relativ zur inhibitorischen Aktivität aufweisen, um sich für zukünftige Testungen *in vivo* zu eignen. Das toxische Verhalten der Substanzen gegenüber der Zelllinie *MDCK II* (resistente und nicht transfizierte) wurde mittels MTT-Test (Kapitel 6.2.4.7) untersucht und der therapeutische Quotient *TQ* berechnet.

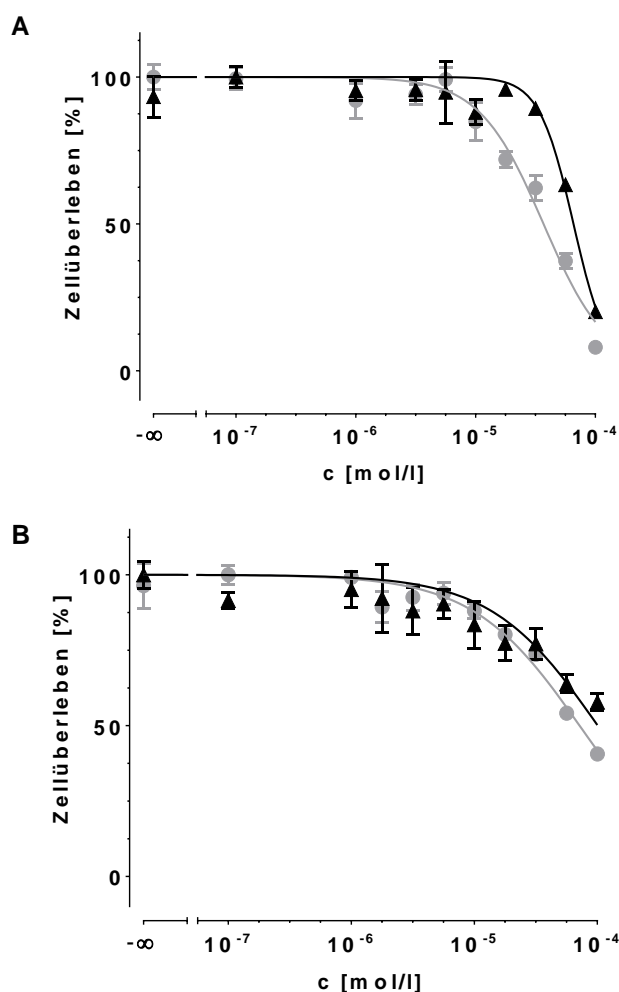
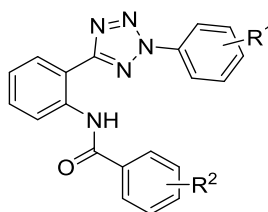


Abbildung 56: Repräsentative Dosis-Effektkurven der Verbindungen 103 (A) und 104 (B) grau = *MDCK II BCRP*, schwarz = *MDCK II wt*

Eine Übersicht über die Daten ist in *Tabelle 21* gegeben. Zum Vergleich ist der bei nichtkleinzelligem Bronchialcarcinom eingesetzte Tyrosinkinaseinhibitor Gefitinib, der auch zur ABCG2-Inhibition befähigt ist,^[99] mit aufgeführt. Das sich die mittleren Zytotoxizitäten der untersuchten Verbindungen auf die resistenten und parenteralen Zellen sich kaum voneinander unterscheiden, ist ein Indiz dafür, dass die Modulatoren nicht als Substrate fungieren. Im Vergleich zum Referenzinhibitor Ko143 wiesen sie geringe Toxizitätswerte im Vergleich zu ihren inhibitorischen Wirkungen auf. Verbindung **129** eignet sich besonders für Untersuchungen *in vivo*, da sie den äußerst hohen TQ-Wert von 1100 aufweist.

Tabelle 21: IC₅₀-, Zytotoxizitäts- und TQ-Werte ausgewählter Verbindungen, ermittelt mit dem MTT-Testverfahren; n = 3, Einzelwerte als Quadruplikat



Verb.	R ¹	R ²	IC ₅₀ ± σ [μmol/l]	GI ₅₀ ± σ [μmol/l]*	TQ	
101	4-OCH ₃	4- <i>n</i> -C ₃ H ₇	0.0852 ± 0.0036	res:	60.1 ± 1.8	705
				wt:	72.5 ± 4.2	
103	4- <i>n</i> -C ₃ H ₇	4-OCH ₃	0.0638 ± 0.0045	res:	54.7 ± 11.5	857
				wt:	62.9 ± 8.8	
104	4- <i>i</i> -C ₃ H ₇	4-OCH ₃	0.136 ± 0.005	res:	89.3 ± 17.0	657
				wt:	114.3 ± 19.0	
105	4-CF ₃	4-OCH ₃	0.0723 ± 0.0131	res:	28.6 ± 9.3	396
				wt:	31.1 ± 5.4	
129	H	H	0.0669 ± 0.0048	res:	73.0 ± 14.8	1091
				wt:	68.0 ± 25.1	
Ko143 ^[119]			0.221 ± 0.023	res:	11.1	50.2
				wt:	10.9	
Gefitinib ^[118]			1.45	res:	3.19	2.2
				wt:		

*) *res* = MDCK II BCRP, *wt* = MDCK II wt

Die Fähigkeit der Substanzen, resistente Zellen gegenüber einem Zytostatikum zu sensibilisieren, wurde anhand des Zellüberlebens mit dem MTT-Verfahren überprüft. Dazu wurden resistente Zellen vom Typ *MDCK II BCRP* unterschiedlichen Konzentration des Irinotecan-Metaboliten und ABCG2-Substrates SN-38 (7-Ethyl-10-hydroxy-camptothecin) in Anwesenheit zweier Konzentrationen der Verbindung **105** ausgesetzt. Für den Positivnachweis wurden nicht transfizierte, für die Negativprobe transfizierte Zellen in Abwesenheit des Modulators mit SN-38 behandelt. Es wurde eine deutliche Verschiebung der Wendepunkte der sigmoidalen Kurven zu niedrigeren Konzentrationen beobachtet (*Abbildung 57*). In Abwesenheit des Modulators wurden $3.79 \pm 0.12 \mu\text{mol/l}$ des Zytostatikums benötigt, um das Wachstum der resistenten Zellpopulation zu halbieren. Gab man 0.1 bzw. $0.25 \mu\text{mol/l}$ der Verbindung **105** hinzu, trat derselbe Effekt mit der Hälfte ($1.88 \pm 0.31 \mu\text{mol/l}$) bzw. einem Viertel ($0.96 \pm 0.18 \mu\text{mol/l}$) der ursprünglichen Zytostatikumskonzentration auf. Ferner erreichte man mit der höheren Inhibitorenkonzentration eine nahezu vollständige Aufhebung der Resistenz, da im Vergleich zur sensitiven Zellpopulation ($0.78 \pm 0.05 \mu\text{mol/l}$) eine nur geringfügig höhere Konzentration an SN-38 notwendig war.

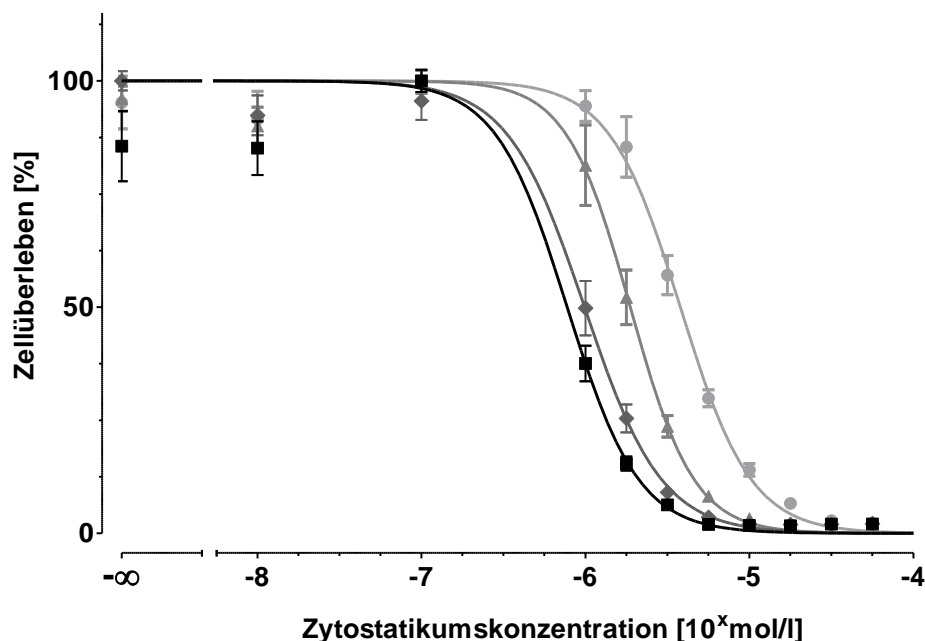


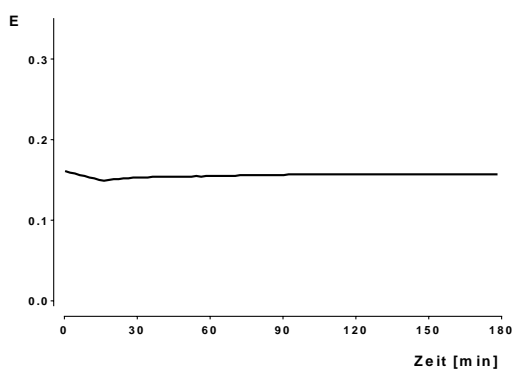
Abbildung 57: Dosis-Wirkungskurven von SN-38 auf resistente Zellen in Abwesenheit von 105 (●, Negativprobe), in Anwesenheit von $0.1 \mu\text{mol/l}$ 105 (▲), in Anwesenheit von $0.25 \mu\text{mol/l}$ 105 (◆) und auf parenterale Zellen (■, Positivprobe); $n = 3$, Einzelwerte als Duplikate

3.3.5 Löslichkeitsuntersuchungen

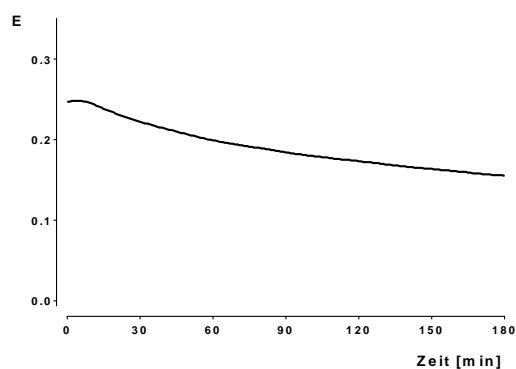
Um auszuschließen, dass das Auftreten reduzierter Maximalinhibition im Vergleich zur Referenzverbindung mit einem Ausfällen während der Messung im Zusammenhang stand, wurden einige Vertreter auf etwaige Präzipitation untersucht, indem sie bei der höchsten verwendeten Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ UV-spektroskopisch über drei Stunden vermessen wurden (*Kapitel 6.1.1*). Das Ausfallen der Substanzen und damit die Verringerung der in Lösung verbleibenden Moleküle geht nach dem Lambert-Beerschen Gesetz mit einem Abfall der Extinktion einher.

Tabelle 22: Verlauf der Extinktion ausgewählter Verbindungen mit verschiedenen I_{max} -Werten; $c(\text{Verb.}) = 10 \mu\text{mol/l}$

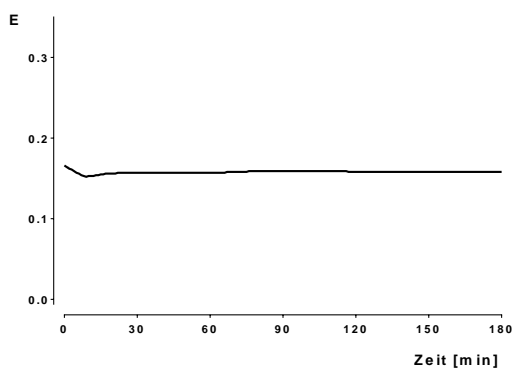
65: $I_{\text{max}} = 52 \pm 6 \%$



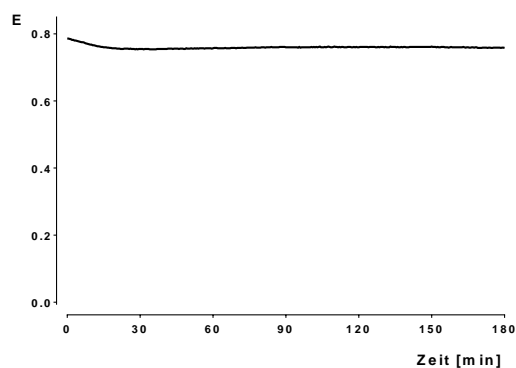
70: $I_{\text{max}} = 101 \pm 4 \%$

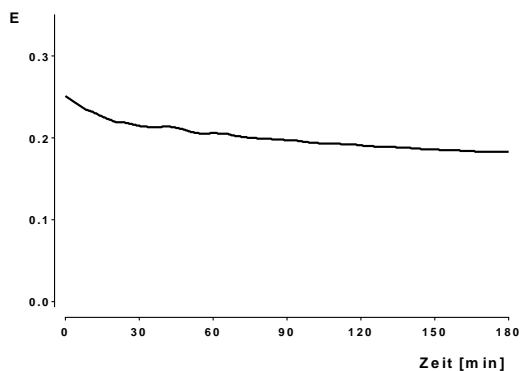
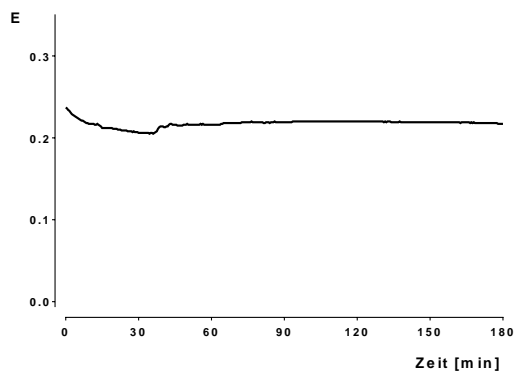
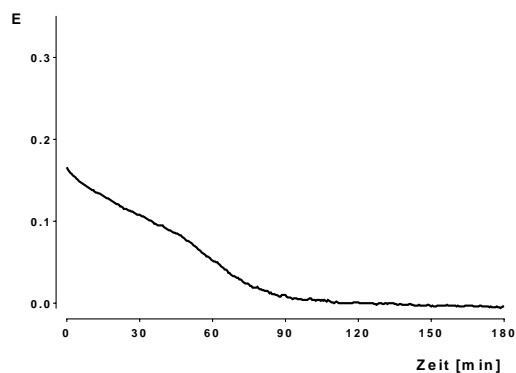
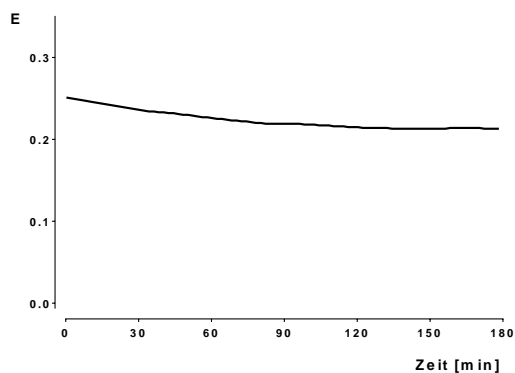


71: $I_{\text{max}} = 58 \pm 4 \%$



75: $I_{\text{max}} = 57 \pm 11 \%$



Fortsetzung: Tabelle 22**76:** $I_{\max} = 91 \pm 5 \%$ **79:** $I_{\max} = 76 \pm 10 \%$ **80:** $I_{\max} = 57 \pm 4 \%$ **87:** $I_{\max} = 49 \pm 2 \%$ 

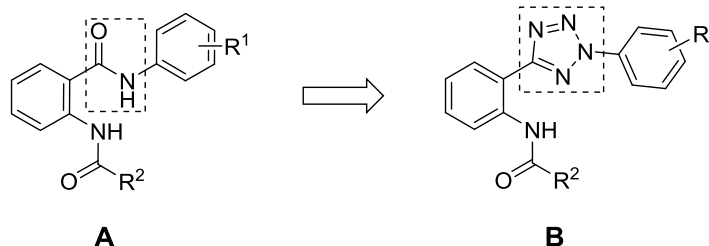
Es konnte kein Zusammenhang zwischen der Löslichkeit der untersuchten Substanzen und der Ausbildung eines Plateaus auf einem niedrigerem als dem Referenzniveau festgestellt werden. Da die Verbindungen **65**, **71**, **75**, **79** und **87** die Messzeit über kaum Veränderungen in der Extinktion zeigten, war davon auszugehen, dass sie auch während der biologischen Tests in Lösung geblieben sind. Lediglich Substanz **80** ließ einen Zusammenhang zwischen Löslichkeit und erniedrigtem Plateau vermuten, da sie bei 10 $\mu\text{mol/l}$ nahezu vollständig ausfiel.

Wie anhand der Verbindungen **70** und **76** zu sehen ist, fallen diese bei der untersuchten Konzentration zum Teil aus. Da sie aber bereits bei recht niedriger Konzentration ein der Referenz ähnliches Plateau bildeten, machte sich das Erreichen der Sättigungskonzentration auch in der Testung durch einen plötzlichen Abfall der Fluoreszenzwerte bemerkbar. Diese Werte wurden zur Ermittlung der IC_{50} nicht herangezogen.

3.4 Ergebnisse und Ausblick

Ausgehend von den bereits untersuchten Anthranilamid-Derivaten^[109,110,159] wurden in der neuen Substanzklasse mit der (2-Tetrazolyl)-phenylamid-Partialstruktur zunächst die biologischen Auswirkungen von Substituenten untersucht.

Tabelle 23: Übersicht über die IC₅₀-Werte substitutionsgleicher Anthranilamid- und Tetrazolylphenylamid-Derivate



Substitutionsmuster		IC ₅₀ ± σ [μmol/l]	
R ¹	R ²	Grundstruktur A	Grundstruktur B ^a
4- <i>n</i> -C ₃ H ₇	4-NO ₂ -Ph	0.94 ± 0.33 ^[110]	0.18 ± 0.04 (47 %)
4-OCH ₃	4-NO ₂ -Ph	3.56 ± 0.84 ^[110]	0.12 ± 0.03 (52 %)
H	4-NO ₂ -Ph	13.4 ± 4.2 ^[110]	0.15 ± 0.03 (60 %)
H	4-CF ₃ -Ph	n. a. ^{b [110]}	4.39 ± 0.18 (100 %)
4-OCH ₃	3,4-OCH ₃ -Ph	3.34 ± 0.25 ^[110]	0.13 ± 0.02 (101 %)
H	3,4-OCH ₃ -Ph	1.76 ± 0.64 ^[110]	0.82 ± 0.09 (102 %)
H	1-Naphthyl	n. a. ^[159]	0.43 ± 0.07 (85 %)
H	3-Chinolyl	n. a. ^[159]	0.18 ± 0.04 (51 %)

a) in Klammern: Angabe der Maximalinhibition im Vgl. zur Referenz, b) nicht aktiv

Wie aus *Tabelle 23* hervorgeht, führte die Substitution der einen Amid-Brücke (umrahmt) durch einen Tetrazolkörper im Allgemeinen zu einer wesentlichen Steigerung der ABCG2-Hemmwirkung, die auf die tetrazolbedingte Zunahme der Planarität zurückgeführt werden kann.^[92]

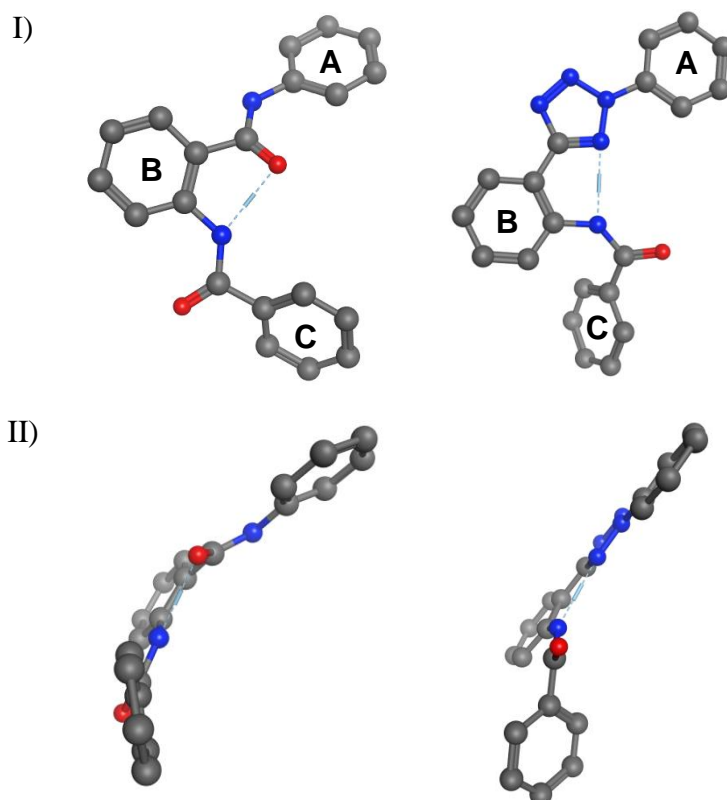


Abbildung 58: Dreidimensionale Darstellungen (I: Aufsicht; II: mit nach hinten gedrehtem mittlerem Phenylring) der Grundstrukturen A und B im jeweiligen Energieminimum; statistische Konformationsanalyse mittels MOE^[226] mit Standardeinstellungen

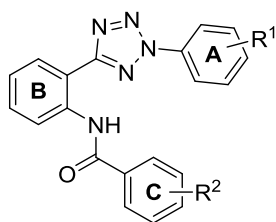
Für aktive als auch inaktive Verbindungen wurden theoretische logP-Werte^[227] über 4.5 berechnet (Daten nicht gezeigt), so dass davon ausgegangen werden kann, dass diese ihrer hohen Lipophilie wegen leicht in die Zellmembran diffundieren. Da sich diese Werte kaum voneinander unterscheiden, ließ sich kein Zusammenhang zwischen Lipophilie und Aktivität ableiten. Daher kann vorausgesetzt werden, dass vor allem die elektronischen Eigenschaften der Substituenten für die biologische Aktivität von Bedeutung sind. Der aus der Ebene ragende Phenylring C (Abbildung 58) kann dafür verantwortlich sein, dass der Einfluss des Substituenten R² überwiegt. So setzen vor allem elektronenziehende Nitrosubstituenten, weniger Cyano- und Trifluormethylgruppen, an diesem Ring in vielen Fällen die Maximalinhibition herab.

Untersuchungen zur Löslichkeit führten zu unterschiedlichen Ergebnissen, so dass dieses Phänomen nicht eindeutig auf die Schwerlöslichkeit zurückgeführt werden konnte. Befand sich ebenfalls eine elektronenziehende Gruppe am Phenylring A, führte dieses zu Inaktivität. Unterschiedliche Ergebnisse hingegen beobachtete man, wenn die Derivate schwach desaktivierende Halogene oder elektronenliefernde Substituenten wie Alkylgruppen, Thioether oder Ether am Ring A trugen. Einzig eine Methoxygruppe in *ortho*-Position am Ring A (**70**, **82**, **92**) führt zu hohen Maximalinhibitionen. In Anwesenheit eines 4-Nitro- bzw. 4-Trifluormethylsubstituenten stellte sich der Einfluss einer Methoxygruppe am Ring B auf die inhibitorische Potenz als recht gering heraus, da sich die IC₅₀-Werte der entsprechende Substanzpaare (**72/73**, **94/95**) kaum voneinander unterscheiden.

Setzte man elektronenliefernde Substituenten wie Alkyl- und Methoxygruppen am Ring C ein, waren bis auf wenige Ausnahmen I_{max}-Werte auf Niveau der Referenzsubstanz XR9577 garantiert. Dadurch konnte aber auch abgeleitet werden, dass voluminöse Substituenten wie 4-Phenoxy (**99**, **107**) und ein 4-Phenylester (**98a**) eindeutig zu einem Aktivitätsverlust führten. Im Falle letzterer Gruppe zeigte sich darüber hinaus, dass die zellulären unspezifischen Esterasen nicht in der Lage waren, die Verbindung in das aktive Derivat **98b** zu überführen. Für Ethersubstituenten am Ring C erwies sich die *para*-Position als optimal. Eine *ortho*-ständige Methoxygruppe setzte unabhängig von weiteren *para*-ständigen Methoxysubstituenten die inhibitorische Aktivität herab. Die *meta*-ständige Methoxygruppe, wie sie bei den Verbindungen mit 3,4-Dimethoxy-substituenten vorkommt, wirkte sich teilweise aktivitätsmindernd aus. Bei Anwesenheit elektronenschiebender Substituenten am Ring A (**121-123**) oder durch Fixierung beider Ether-Sauerstoffe durch eine Methylen- oder Ethylenbrücke (**125**, **126**) wurde wieder eine hohe Wirksamkeit erreicht.

Anhand der Aktivitätsdaten von Substanzpaaren mit vertauschten Substitutionsmustern zeigte sich, dass sie bedingt vertauschbar sind, wenn ein Substituent eine *para*-ständige Methoxygruppe ist. Eine zusätzliche *meta*-ständige Methoxygruppe bewirkt teilweise stark unterschiedliche Aktivitäten.

Tabelle 24: Vergleich der Aktivitäten von Derivaten mit gleichartigen, aber zwischen den Aromaten A und C getauschten Substituenten



Verb.	R ¹	R ²	IC ₅₀ ± σ [nmol/l]	I _{max} ± σ [%]
91	3,4-OCH ₃	4-CF ₃	330 ± 19	80 ± 13
120	4-CF ₃	3,4-OCH ₃	287 ± 14	97 ± 15
94	4-OCH ₃	4-CF ₃	105 ± 11	91 ± 4
105	4-CF ₃	4-OCH ₃	72.3 ± 13.1	97 ± 7
101	4-OCH ₃	4- <i>n</i> -C ₃ H ₇	85.2 ± 3.6	91 ± 15
103	4- <i>n</i> -C ₃ H ₇	4-OCH ₃	63.8 ± 4.5	90 ± 2
127	3,4-OCH ₃	H	230 ± 37	104 ± 11
124	H	3,4-OCH ₃	823 ± 90	102 ± 5
110	3,4-OCH ₃	4-OCH ₃	319 ± 54	100 ± 11
123	4-OCH ₃	3,4-OCH ₃	134 ± 19	101 ± 4

Es stellte sich heraus, dass der unsubstituierte Grundkörper **129** einen der niedrigsten gemessenen IC₅₀-Werte der Substanzklasse besitzt. Veränderungen innerhalb der Grundstruktur (**130-149**) zeigten, dass im Bereich des Phenylringes C sowohl die Aufhebung der Aromatizität, die Anwesenheit von Heteroatomen (N, S) als auch die Vergrößerung des aromatischen Systems die Hemmstärke reduzierte. Im Gegensatz dazu hob die Anwesenheit eines Stickstoffatoms im Ring A im Falle der Verbindung **136** den inhibitorischen Effekt sogar im Vergleich zur Substanz **112** an. Die Verkleinerung der planaren tetrazolhaltigen Partialstruktur führte zu einem vollständigen Aktivitätsverlust, während dieser bei fehlendem aromatischem Strukturteil C nur teilweise beobachtet wurde (**150-153**).

Weitere Abwandlungen (**154-175**) bestätigten, dass ein 2-(2-Amidophenyl)-5-phenyl-2*H*-tetrazol für die Fähigkeit zur Inhibition vorausgesetzt werden muss. Fast alle Variationen der amidischen als auch der tetrazolischen Brücke bewirkten eine

Reduktion der inhibitorischen Wirkung bis hin zur Inaktivität; im Falle der oxadiazolhaltigen Derivate muss berücksichtigt werden, dass diese häufig schlecht löslich waren. Zumeist wurden die selektiven Hemmeigenschaften durch die Anwesenheit von Methoxy- oder Methylthiosubstituenten aufgehoben. Gegenüber dem Transporter ABCG1 wurden unabhängig von den Substituenten durchweg schwache Aktivitäten gemessen.

Ausgewählte ABCG2-aktive Verbindungen zeigten, dass ihre intrinsischen zytotoxischen Eigenschaften im Vergleich zu ihrer inhibitorischen Aktivität gering ausgeprägt sind, so dass sie für *In-vivo*-Untersuchungen geeignet sind. In Anwesenheit eines Zytostatikums konnte die Fähigkeit zur Aufhebung der Resistenz durch einen aktiven Vertreter dieser Substanzklasse unter Beweis gestellt werden.

In weiteren Untersuchungen sollten die Auswirkungen einer Vergrößerung der planaren 2,5-Diaryltetrazol-Partialstruktur und die Erhöhung ihrer Elektronendichte untersucht werden. Aufgrund der biologischen Ergebnisse sollte der Aromat C ein Phenylring sein, der höchstens mit einer *para*-ständigen Methoxygruppe versehen ist.

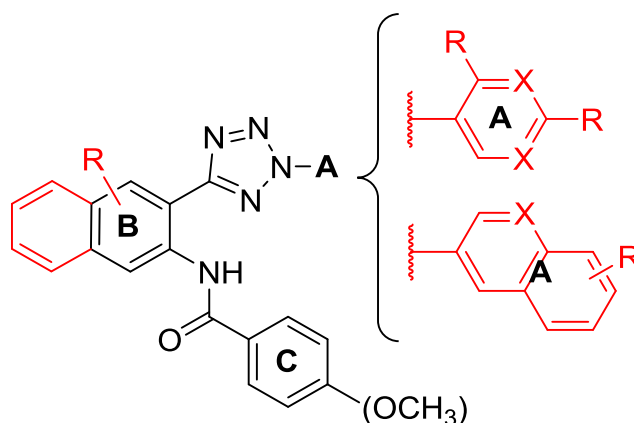


Abbildung 59: Vorschläge für weitere Vertreter dieser Substanzklasse (*R* = Wasserstoff oder Elektronendonator; *X* = C oder N)

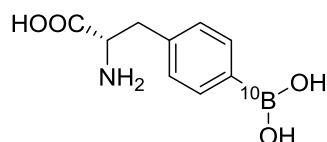
4 CARBORANCARBOXAMIDE

4.1 Literatur

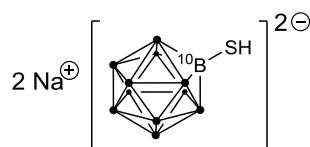
Verbindungen, die aus Bor-Wasserstoff- und Kohlenstoff-Wasserstoff-Untereinheiten bestehen, werden als Carborane (IUPAC-Name: Carbaborane) bezeichnet. Sie sind ein Ergebnis der Suche nach einfacher Handhabung der sehr reaktiven Polyborhydride, die im „Kalten Krieg“ sowohl in den USA als auch in der Sowjetunion als mögliche Raketentreibstoffe in Betracht gezogen worden waren.^[228] In der medizinisch-chemischen Literatur werden die bekanntesten Vertreter dieser Klasse, die Dicarba-*closo*-carborane ($C_2B_{10}H_{12}$ -Einheiten), häufig nur als Carborane bezeichnet. Dieser Terminus technicus wurde in der vorliegenden Arbeit ebenfalls benutzt.

Natürliches Bor kommt in zwei stabilen Nukliden vor. Durch Neutronenbeschuss zerfällt das Nuklid ^{10}B unter Freisetzung von etwa 2,4 MeV Energie in einen 7Li - und 4He -Kern (α -Teilchen).^[229,230] In den 1930er Jahren wurde vorgeschlagen, diese Reaktion im medizinischen Bereich zu nutzen.^[229] Die Therapie mittels Bor-Neutroneneinfangreaktion (BNCT) ist ein in der Erprobungsphase befindliches Verfahren der Radioonkologie mit dem Ziel der selektiven Anreicherung ^{10}B -haltiger Substanzen im Tumorgewebe mit anschließender Bestrahlung mittels einer Neutronenquelle und Zerstörung der Tumorzellen. Da die α -Strahlung eine dem Durchmesser einer Zelle entsprechende Reichweite (5 – 9 μm) hat, ist ihre zytotoxische Wirkung nur auf die Zelle selbst begrenzt.^[231] Unter der Voraussetzung, dass eine solche borhaltige Verbindung sich vor allem in Tumorzellen anreichert, könnte so die Behandlung des gesamten Tumorgewebes ohne große Begleitschäden, wie sie bei den aktuellen Strahlentherapiemethoden auftreten, durchgeführt werden.^[230] Ferner könnten auch so nicht detektierbare Mikrometastasen beseitigt werden.^[232]

Da maligne Tumoren einen erhöhten Stoffwechsel aufweisen, wurden Boratome in physiologisch vorkommende Substanzen wie z. B. in das *p*-Dihydroxyboryl-phenylalanin (BPA) eingebaut. Teilweise in Kombination mit der borreichen Verbindung BSH (*Abbildung 60*) ist BPA bereits an Patienten mit hochgradigen Glioblastoma, malignen Meningioma, Hirn-, Leber- und Lungentumoren sowie Hautmelanoma und Plattenepithelcarcinoma im Kopf- und Nackenbereich klinisch getestet worden.^[232] Die Nachteile der eingesetzten Therapeutika sind, dass einerseits BPA nur ein Boratom aufweist, man jedoch für eine erfolgreiche BNCT eine ausreichende Boratomanzahl pro Zelle benötigt, andererseits das Polyboran BSH dagegen zwölf Boratome pro Verbindung liefert, es aber wegen seiner thiolbedingten Oxidationsempfindlichkeit nur schwerlich als Medikament einsetzbar ist.^[229]



4-Dihydroxyboryl-phenylalanin, BPA



Natrium-mercapto-undecahydro-closo-dodecaborat, BSH
(• = ^{10}B H)

Abbildung 60: Strukturen der in humanen klinischen Studien verwendeten BNCT-Agentien

Gekoppelt an Kohlenhydrate, Porphyrine oder Nucleoside sind Carborane als BNCT-Agentien (*Abbildung 61a*) teilweise schon mit Erfolg im Mausmodell getestet worden.^[233] Die Substanzklasse rückte aber nicht nur wegen ihrer für die BNCT benötigten vielen Boratome, sondern auch wegen ihrer physikochemischen Eigenschaften in den chemisch-medizinischen Fokus. Ihre Gerüstelektronen sind innerhalb des Käfigs delokalisiert, so dass sie als „dreidimensional-aromatisches“ Substitut für Aromaten in Arzneistoffen unterschiedlicher Klassen eingesetzt worden sind (*Abbildung 61b*).^[222,234] So wurde die Carboraneinheit als Aromatenersatz beispielsweise in Steroiden (17 β -Östradiol, Testosteron, Cholesterin),^[222] im selektiven Östrogenrezeptor-Modulator Tamoxifen,^[222] im Dihydrofolatreduktase-Hemmer Trimethoprim,^[222] in nichtsteroidalen Antirheumatika (Acetylsalicylsäure,^[235]

Indometacin^[236]), im Tumornekrosefaktor- α -Modulator Thalidomid^[237] und im Carboanhydrase-Hemmer Acetazolamid^[238] eingesetzt.

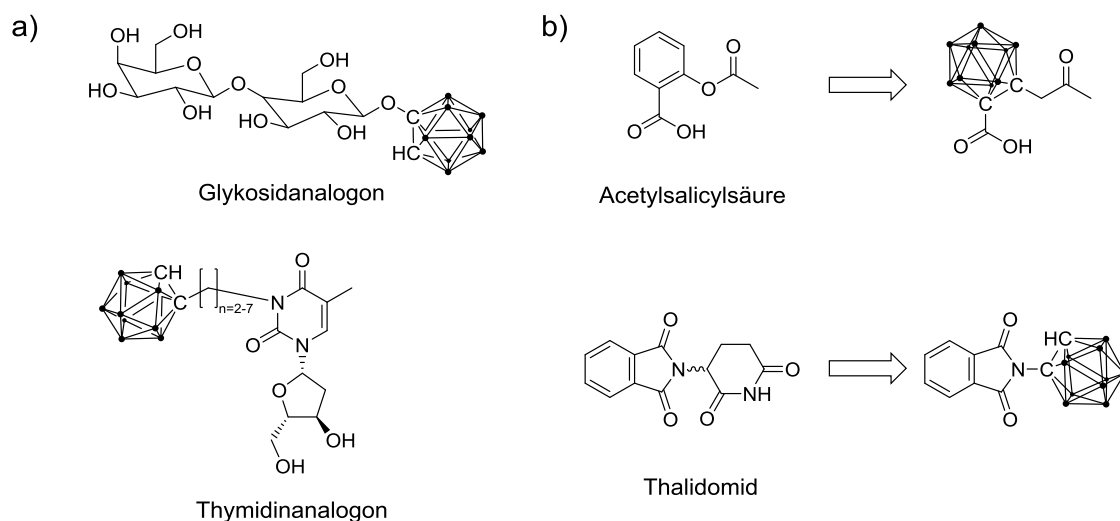


Abbildung 61: a) Carboranhaltige Analoga physiologisch vorkommender Substanzen^[239,240]; b) Beispiele für carboranhaltige Arzneistoffmimetika^[235,237]; ● = BH

4.2 Synthese

Die Grundlagen zur Boranchemie sind vor allem auf die grundlegenden Arbeiten von Stock zurückzuführen, dem ab 1909 die Darstellung zahlreicher Borwasserstoffverbindungen, der Polyborane, gelang.^[241] Durch Einwirkung verdünnter Säuren auf Magnesiumborid bildete sich gasförmiges Diboran, das bei Temperaturen über 50 °C unter Wasserstoffabgabe zu höheren Borwasserstoffen wie z.B. Tetraboran, Pentaboran oder zum kristallinen Decaboran reagierte.^[241]

Die zwischen Bor- und Wasserstoffatomen herrschenden Bindungsverhältnisse waren lange Zeit unklar. Struktur und Bindungsverhältnisse der Polyborane sind vor allem durch die Arbeiten von Longuet-Higgins und Lipscomb aufgeklärt worden.^[242,243]

Bor besitzt die Elektronenkonfiguration $1s^2 2s^2 2p^1$, wodurch es durch kovalente Bindungen nur über sechs statt acht Valenzelektronen und ein unbesetztes Hybridorbital verfügen kann.

Im Gegensatz zu der klassischen kovalenten Bindung, bei der sich zwei Atome ein Elektronenpaar (Zweielektronen-Zweizentren-Bindung) teilen, nimmt bei Boranen das unbesetzte Orbital an der Bindungsbildung teil, so dass sich das Molekülorbital über drei Atome erstreckt, und der Elektronenmangel ausgeglichen ist (Zweielektronen-Dreizentren-Bindung). Daher liegt das Monomer der Borhydride, das Monoboran (BH_3), im Gleichgewicht mit seinem Dimer, dem Diboran (B_2H_6) vor, wobei das Gleichgewicht weit auf der Seite des Dimers liegt (*Abbildung 62*). Höhere Polyborane ordnen sich zur weiteren Stabilisierung in polyedrischen Strukturen an, in denen die Boratome in einer Hexakoordination angeordnet sind.^[245]

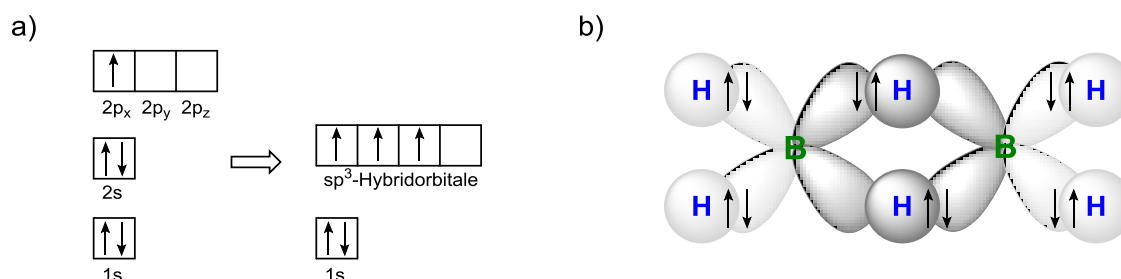


Abbildung 62: a) Hybridisierungsschema von Bor; b) Zweielektronen-Dreizentren-Bindung im Diboran^[244]

Die zu den Polyboranen zählenden Dicarba-decaborane weisen eine geschlossene (*closo*), ikosaedrische Form auf, in der die Bor- und Kohlenstoffatome in den Ecken des Ikosaeders angeordnet sind:

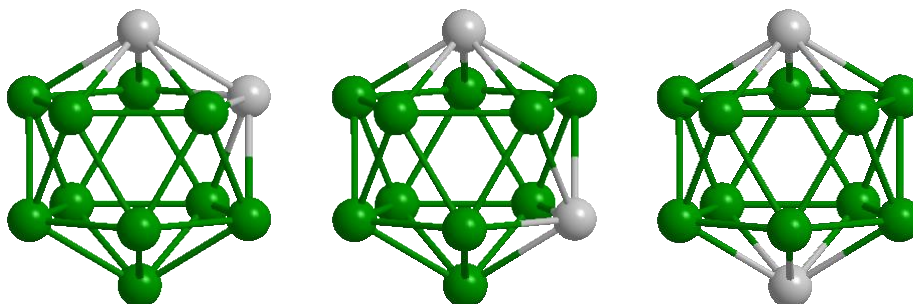


Abbildung 63: 1,2-Dicarba-, 1,7-Dicarba- und 1,12-Dicarba-closo-decaboran (von links nach rechts); grau = CH, grün = BH

Ihre Synthese ist 1963 sowohl von amerikanischen als auch sowjetischen Forschern veröffentlicht worden.^[228] Aus dem offen strukturierten *nido*-Decaboran und Acetylen entsteht in Gegenwart von Lewis-Basen das 1,2-Dicarba-decaboran (*ortho*-Carboran), welches sich durch Erhöhung der Reaktionstemperatur zunächst in das 1,7-Isomer (*meta*-Carboran), dann in das 1,12-Isomer (*para*-Carboran) umlagert.

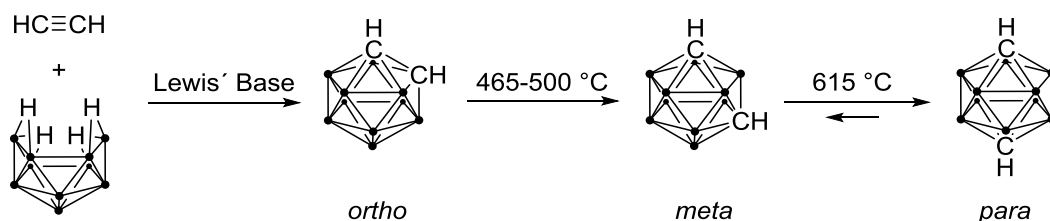


Abbildung 64: Übliche Darstellung der Carborane (● = BH)

Die Wasserstoffatome der BH-Untereinheiten sind wenig polarisiert, wodurch die Carborane einen außerordentlich hydrophoben Charakter haben. Dagegen sind die Protonen der CH-Untereinheiten relativ azid (pKs = 20 – 30, abhängig vom Isomer) und können z. B. durch Organometall-Basen gespalten werden, so dass an diesen Stellen leicht substituiert bzw. funktionalisiert werden kann.^[222] Eine weitere Eigenschaft der Carborane, die bei der Arzneistoffplanung berücksichtigt werden muss, ist die Deboranierungsreaktion in Gegenwart nucleophiler Agentien, aus der ein negativ geladenes *nido*-Undecaboran hervorgeht. Dieser „Entkappung“ unterliegt das *ortho*-Carboran bereits bei Raumtemperatur in Solventien wie DMSO oder Wasser.^[222]

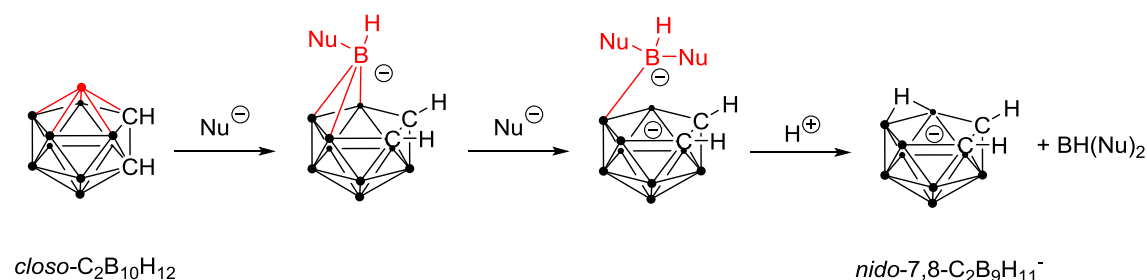


Abbildung 65: Angenommener Mechanismus des nucleophil bedingten Zerfalls eines *ortho*-Carborans^[222]

Die vorliegende Arbeit konzentriert sich vor allem auf das *meta*-Carboran, welches hinsichtlich seiner Eigenschaften zwischen dem *ortho*- und dem *para*-Isomer liegt. Somit lassen sich vom *meta*-Isomer stabile C-verknüpfte Derivate darstellen. Vorarbeiten in der AG Scholz (Pharmazeutisches Institut, Universität Bonn) haben gezeigt, dass eine Carbonsäurefunktion ein idealer Anker ist, um weitere Modifikationen zu ermöglichen. Die käuflichen Carborane wurde in der AG Scholz durch Einleiten von Kohlendioxid in Gegenwart ätherischer *n*-Butyllithium-Lösung zu Carboran-carbonsäuren umgesetzt.^[52] Die Carbonsäurefunktion wurde entweder als Carbonsäurechlorid oder mittels COMU, (1-Cyano-2-ethoxy-2-oxoethyliden-aminoxy)-dimethylamino-morpholino-carbenium-hexafluorophosphat, aktiviert.^[246] Anschließend erfolgte die Umsetzung der aktivierten Carbonsäure mit diversen Aminen zu Amiden (Abbildung 66). Nicht käufliche Aminobenzothiazole wurden entweder aus 1-Chlor-2-nitro-benzolen und Thioharnstoff^[247] oder aus Anilinen mit Kaliumrhodanid und Brom^[248] dargestellt.

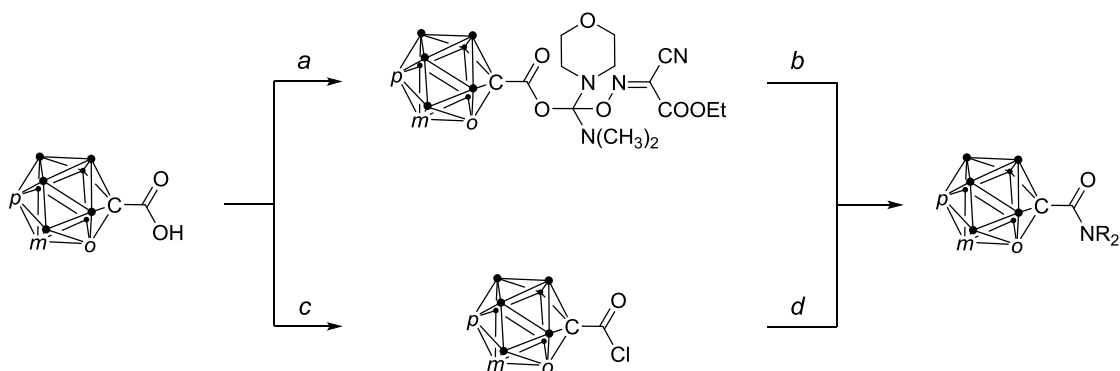


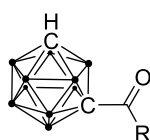
Abbildung 66: Synthesewege zur Darstellung der Amide: a) CUMO (1 Äq.), DIPEA (2.2 Äq.), DMF, RT; b) Amin, DMF, RT; c) PCl_5 ; d) Amin, TEA, THF, RT. o, m, p: Position des zweiten Kohlenstoffatoms in Relation zum ersten Kohlenstoffatom im jeweilig eingesetzten Konstitutionsisomer

4.3 Biologische Testung

4.3.1 Inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2

Eine von der AG Scholz dargestellte Reihe von Carboran-carbonsäureamiden (**176-189**, *Tabelle 25*) wurde im Rahmen der Prüfung auf Aktivität an verschiedenen biochemischen Zielen auch auf die Fähigkeit, ABCG2 zu hemmen, untersucht. Da bei Vortestungen positive Ergebnisse festgestellt worden waren, wurde von den Substanzen die halbmaximale inhibitorische Konzentration über den Hoechst 33342-Akkumulationstest mit der Zelllinie *MDCK II BCRP* ermittelt.

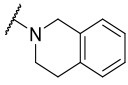

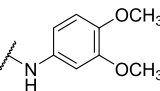
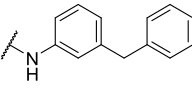
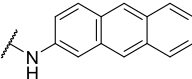
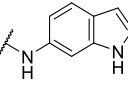
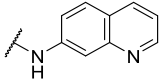
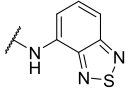
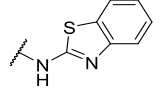
Tabelle 25: Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC_{50} -Werte unterschiedlich substituierter Carborancarboxamide; Referenzsubstanz XR9577: $IC_{50} = 704 \pm 147$ nmol/l; n = 3



m-Carboran

Verb.	R	$IC_{50} \pm \sigma$ [nmol/l]	$I_{max} \pm \sigma$ [%]
176		$>> 10000$	-
177		$>> 10000$	-
178		$>> 10000$	-
179		19830 ± 760	100*
180		16720 ± 2120	100*

Fortsetzung Tabelle 25:

181		6670 ± 380	100*
182		9180 ± 630	100*
183		>> 10000	-
184		13120 ± 2250	100*
185		9430 ± 460	100*
186		>> 10000	-
187		5920 ± 540	100*
188		536 ± 61	107 ± 13
189		109 ± 23	100 ± 6

*) Berechnung durch Festlegen der Maximalinhibition auf das Referenzniveau

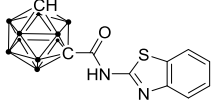
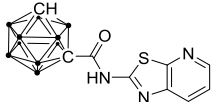
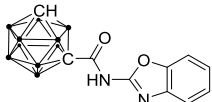
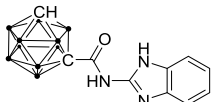
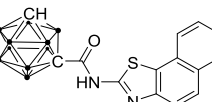
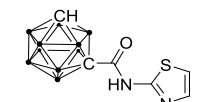
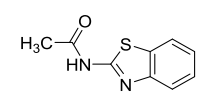
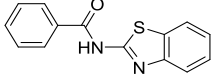
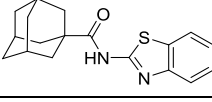
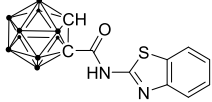
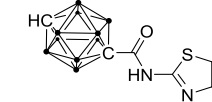
Während die Substanzen **176-180** keine bis gering ausgeprägte Fähigkeiten zur ABCG2-Inhibition ($IC_{50} > 15 \mu\text{mol/l}$) aufwiesen, zeigte Verbindung **181** eine Hemmstärke von $6.7 \mu\text{mol/l}$. Diesen Verbindungen ist gemein, dass sie eine aliphatische Brücke (Methylen- beziehungsweise Ethylen-Gruppe) zwischen dem Amid-Stickstoff und dem aromatischen Rest besitzen. Diese Brücke liegt ebenfalls bei **181** vor, wenn man das Tetrahydroisochinolin als ein mit einer Ethylengruppe verbrücktes Benzylamin betrachtet. Möglicherweise ist die aufgehobene freie Drehbarkeit des Aromaten in dieser Struktur für den Aktivitätszuwachs verantwortlich, da erfahrungsgemäß ausreichend planare Molekülgerüste der Transporterhemmung dienlich sind.^[92] Dieses würde auch erklären, weshalb Substanz **182**, in der sich der Phenylring unmittelbar an der Amidfunktion befindet, eine inhibitorische Aktivität von $9.2 \mu\text{mol/l}$ zeigte.

Die Präsenz von Methoxygruppen in *meta*- und *para*-Position (**183**) oder eines 4-Benzylsubstituenten (**184**) an diesem Phenylring führten wiederum zu einer Potenzabnahme bis hin zur Inaktivität. Im Vergleich zu Verbindung **182** hatte die Vergrößerung des aromatischen Systems zu einem Anthracen (**185**: 9.4 $\mu\text{mol/l}$) keine Auswirkungen.

Der Austausch des Phenylringes durch heterocyclische Systeme führte zu unterschiedlichen Ergebnissen. Ein 1*H*-Indol (**186**) führte zu Inaktivität, ein Chinolin (**187**) bewirkte eine leichte Zunahme der Hemmwirkung auf 6 $\mu\text{mol/l}$. Mehr als zehnmals niedrigere IC_{50} -Werte bei nicht erniedrigter Maximalinhibition wurden gemessen, wenn ein Benzothiadiazol (**188**: 0.5 $\mu\text{mol/l}$) oder ein Benzothiazol (**189**: 0.1 $\mu\text{mol/l}$) direkt amidisch mit dem Carboran verknüpft waren. Auffällig war, dass die Aktivität stieg, je näher sich die Heteroatome an der Amidbrücke befanden.

Um die für das Inhibitionsvermögen verantwortlichen Strukturmerkmale identifizieren zu können, wurden in der AG Scholz Analoga zur Verbindung **189** synthetisiert (Tabelle 26). Einerseits wurden Veränderungen an der heterocyclischen Partialstruktur vorgenommen, indem ein zusätzliches Stickstoffatom (**190**) eingebaut, das Schwefelatom durch ein Sauerstoff- (**191**) beziehungsweise ein Stickstoffatom (**192**) ersetzt, und das Ringsystem vergrößert (**193**) sowie verkleinert (**194**) wurden. Da ein zusätzliches Stickstoffatom in Position 7 des Cyclus (**190**) zu einer Abschwächung des IC_{50} -Wertes auf 0.37 $\mu\text{mol/l}$ führte, konnte mit Hinblick auf die Aktivitätsdaten der Derivate **186-188** angenommen werden, dass räumlich vom Amid entfernte Heteroatome die inhibitorische Potenz absenkten. Unter Beibehaltung des aromatischen Ringsystems ist das Schwefelatom notwendig, da Verbindung **191** mit einer IC_{50} von 1.2 $\mu\text{mol/l}$ zwölfmal schwächer und **192** sogar nur noch mit 4.2 $\mu\text{mol/l}$ inhibierten. Veränderungen der Größe des aromatischen Systems führten ebenfalls zu einem Rückgang der Hemmwirkung, wobei ein zusätzlich anellierter Benzolring (**193**: 3.0 $\mu\text{mol/l}$) weit mehr ins Gewicht fiel als ein fehlender (**194**: 1.2 $\mu\text{mol/l}$).

Tabelle 26: Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC₅₀-Werte der Verbindungen zur Charakterisierung der aktivitätsrelevanten Strukturmerkmale; Referenzsubstanz XR9577: IC₅₀ = 704 ± 147 nmol/l; n = 3

Verb.	Struktur	IC ₅₀ ± σ [nmol/l]	I _{max} ± σ [%]
189		109 ± 23	100 ± 6
190		373 ± 74	99 ± 7
191		1190 ± 140	101 ± 5
192		4200 ± 860	100*
193		3040 ± 430	100*
194		1200 ± 350	100 ± 8
195		>> 10000	-
196		11260 ± 2020	100*
197		8510 ± 2230	100*
198 **)		231 ± 38	112 ± 6
199		222 ± 5	109 ± 13

*) Berechnung durch Festlegen der Maximalinhibition auf das Referenzniveau

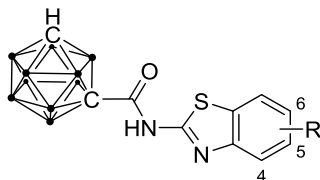
**) Verfahrensbedingt als ortho-nido-Carboran vermessen

Andererseits wurde überprüft, in welchem Ausmaß das Carboran für die Aktivität dieser neuartigen Inhibitorenklasse bedeutsam ist. Das Carboran stellte sich als essentieller Bestandteil des Pharmakophors heraus, da das Methyl-Analogon (**195**) keine Aktivität und die beiden Phenyl- (**196**) und Adamantyl-derivate (**197**) 85-110fach höhere IC_{50} -Werte als Substanz **189** besaßen. Es änderte sich dagegen wenig an der inhibitorischen Stärke, wenn die Isomere des *m*-Carborans (**198**, **199**) verwendet wurden. Interessanterweise wirkte sich die verfahrensbedingte Entkappingsreaktion, der *ortho*-Carborane in Anwesenheit von Nucleophilen wie DMSO oder Wasser leicht unterliegen, nicht auf die Aktivität aus.

Da auf Basis der Ergebnisse Verbindung **189** als Leitstruktur dieser Substanzklasse ausgemacht worden ist, wurde der Einfluss von Substituenten am Benzothiazol untersucht. Während eine Methylgruppe in Position 4 (**200**) zu einer verminderten Hemmstärke von 699 nmol/l führte, änderte die Gruppe in Position 6 (**201**: 150 nmol/l) nur wenig. Daher untersuchte man diese Stelle eingehender. Negative induktive Effekte wirken sich hier offenbar kaum auf die Aktivität aus, da auch die mit einem Fluoratom als üblichem bioisosteren Wasserstoffsubstitut versehene Verbindung **202** (IC_{50} = 96.4 nmol/l) keinen Unterschied zu Verbindung **189** zeigte. Der Einfluss von Substituenten mit mesomeren Effekten hingegen führte teilweise zu größeren Veränderungen. So beobachtete man eine fünffach größeren IC_{50} -Wert mit einem Methoxysubstituenten (**203**: 523 nmol/l), der einen +M-Effekt ausübt. Bezüglich der Substituenten mit negativem mesomeren Effekt blieben die Aktivitäten bei Anwesenheit einer Carboxyethylester- (**204**: 152 nmol/l) und einer Cyanogruppe (**205**: 102 nmol/l) praktisch unverändert hoch, während eine Nitrogruppe eine Halbierung der IC_{50} (**206**: 51.8 nmol/l) bewirkte. Als äußerst aktiv hat sich die einen 5-Cyanosubstituenten tragende Verbindung **207** (IC_{50} = 36.6 nmol/l) herausgestellt.

Der Übergang vom Benzothiazol zum Thiazol war zwar begleitet von einem Aktivitätsverlust von 1 μ mol/l, eröffnete aber die Möglichkeit, eine weitere Substanzunterklasse mit Substituenten an R^1 und/oder R^2 darzustellen und zu untersuchen.

Tabelle 27: Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC_{50} -Werte der Benzothiazol-Reihe zur Überprüfung von Substituenteneinflüssen; Referenzsubstanz XR9577: $IC_{50} = 704 \pm 147$ nmol/l; $n = 3$



Verb.	R	$IC_{50} \pm \sigma$ [nmol/l]	$I_{max} \pm \sigma$ [%]
189	H	109 ± 23	100 ± 6
200	4-CH ₃	699 ± 83	99 ± 10
201	6-CH ₃	150 ± 15	97 ± 8
202	6-F	96.4 ± 9.1	100 ± 6
203	6-OCH ₃	523 ± 39	117 ± 5
204	6-COOC ₂ H ₅	152 ± 11	97 ± 8
205	6-CN	102 ± 23	113 ± 11
206	6-NO ₂	51.8 ± 7.4	97 ± 6
207	5-CN	36.6 ± 7.3	96 ± 8

Es wurde festgestellt, dass die Anwesenheit eines Substituenten an R² die inhibitorische Aktivität steigerte (Tabelle 28). Das bromierte Derivat **208** erreichte einen IC_{50} -Wert von 604 nmol/l, der bei Anwesenheit einer Cyano- (**209**: 374 nmol/l) bzw. Nitrogruppe (**210**: 413 nmol/l) an dieser Stelle abermals unterschritten wurde.

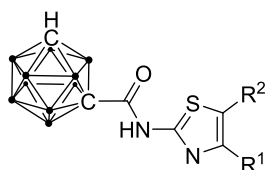
Von den eingesetzten beiden aromatische Carbocyclen an R¹ wirkte sich der Naphthylrest (**211**: 2540 nmol/l) negativ aus, während der Phenylrest der Substanz **212** ($IC_{50} = 843$ nmol/l) die Aktivität gegenüber der Substanz **194** leicht erhöhte. Die Vergrößerung des anellierten Systems scheint allgemein von Nachteil zu sein, da auch bei der Benzothiazolreihe ein zusätzlicher kondensierter Phenylring (**193**) zu einem Einbruch des Inhibitionsvermögens geführt hatte.

Interessanterweise löste ein 4-Chlorsubstituent an dem Phenylring (**213**) einen starken Zuwachs der Hemmstärke auf 282 nmol/l aus. Das an R² methylierte Derivat **214** inhibierte etwas schwächer als die ihm verwandte Verbindung **212** mit einem IC_{50} von 1190 nmol/l, ebenso wie die Leitstruktur **194**.

Wie sich an Verbindung **215** ($IC_{50} = 351 \text{ nmol/l}$) zeigte, führte im Gegensatz zu den Benzothiazol-Analoga (**189**→**204**) der Carboxymethylester bei dieser Unterklasse zu einer 2.5fachen Steigerung der Hemmstärke.

Die Untersuchung, ob Substituenten, die einzeln einen aktivitätssteigernden Effekt ausübten, als Paar kumulativ die IC_{50} weiter senken könnten, führte zu einem widersprüchlichen Ergebnis. Die Kombination aus Phenyl- (R^1) und Bromsubstituenten (R^2) (**216**) führte zu einer Verminderung der Aktivität auf 1080 nmol/l im Vergleich zu den einfach substituierten Derivaten. Dagegen erreichte Substanz **217** ($R^1 = \text{Phenyl}$; $R^2 = \text{CN}$) den deutlich niedrigeren IC_{50} -Wert von 47.5 nmol/l . Trotzdem zeichnete sich ab, dass mit dem Anstieg des Elektronenzuges an Position 5 des Thiazols ein Phenylring als R^1 günstig erscheint, wie am Substanzpaar **209/217** bestätigt worden ist.

Tabelle 28: Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC_{50} -Werte der Thiazol-Reihe zur Überprüfung von Substituenteneinflüssen; Referenzsubstanz XR9577: $IC_{50} = 704 \pm 147 \text{ nmol/l}$; $n = 3$



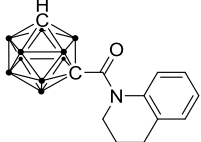
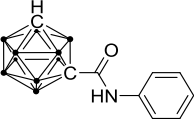
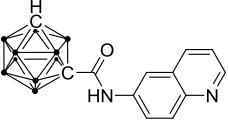
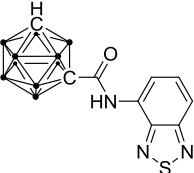
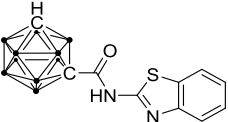
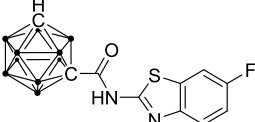
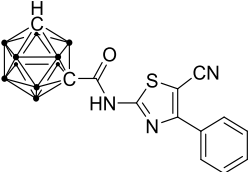
Verb.	R^1	R^2	$IC_{50} \pm \sigma \text{ [nmol/l]}$	$I_{\max} \pm \sigma \text{ [%]}$
194	H	H	1200 ± 350	100 ± 8
208	H	Br	604 ± 83	93 ± 6
209	H	CN	374 ± 71	93 ± 6
210	H	NO_2	413 ± 105	91 ± 3
211	Naphth-1-yl	H	2540 ± 230	100*
212	Phenyl	H	843 ± 105	106 ± 13
213	4-Cl-phenyl	H	282 ± 44	104 ± 6
214	Phenyl	CH_3	1190 ± 220	100 ± 5
215	Phenyl	COOC_2H_5	351 ± 82	97 ± 7
216	Phenyl	Br	1080 ± 130	104 ± 9
217	Phenyl	CN	47.5 ± 9.8	105 ± 11

*) Berechnung durch Festlegen der Maximalinhibition auf das Referenzniveau

4.3.2 Untersuchungen zur ABCG2-Selektivität

Erste Vortests ausgewählter Verbindungen mit dem Calcein-AM-Akkumulationsverfahren zeigten recht geringe Aktivitäten gegenüber ABCB1 bei einer Modulatorkonzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$, so dass von einer überwiegenden ABCG2-Spezifität seitens der Substanzklasse auszugehen ist.

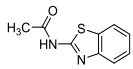
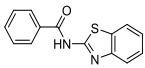
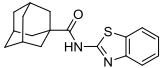
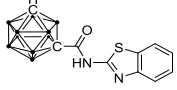
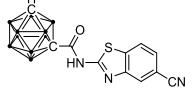
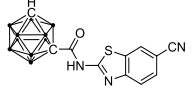
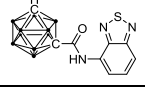
Tabelle 29: Übersicht über die Fluoreszenzzunahme ausgewählter Verbindungen bei 10 $\mu\text{mol/l}$, auf Cyclosporin A (10 $\mu\text{mol/l}$) bezogen

Verb.	Struktur	\mathcal{F}_{rel}	Verb.	Struktur	\mathcal{F}_{rel}
181		15 % (n = 1)	182		19 % (n = 2)
187		5 % (n = 1)	188		6 % (n = 2)
189		7 % (n = 2)	202		2 % (n = 1)
217		6 \pm 4 % (n = 3)			

4.3.3 Zytotoxische Eigenschaften

Um die zytotoxizitätsfördernden Teilstrukturen dieser Substanzklasse zu identifizieren, wurden die GI_{50} -Werte der benzothiazolhaltigen Derivate **189**, **195-197**, **205**, **207** und die benzothiadiazolhaltige Verbindung **188** mit dem MTT-Verfahren (*Kapitel 6.2.4.7*) ermittelt.

Tabelle 30: IC_{50} -, Zytotoxizitäts- und TQ-Werte ausgewählter Verbindungen, ermittelt über das MTT-Testverfahren; n = 3, wenn nicht Anderes angegeben; Einzelwerte als Quadruplikat

Verb.	Struktur	$IC_{50} \pm \sigma$ [$\mu\text{mol/l}$]		$GI_{50} \pm \sigma$ [$\mu\text{mol/l}$]	TQ
195		>> 10	res: wt:	80.5 (n=2) 113 (n=2)	-
196		11.3 ± 2.0	res: wt:	66.3 (n=2) 77.5 (n=2)	5.89
197		8.51 ± 2.23	res: wt:	29.6 ± 1.5 25.7 ± 1.4	3.48
189		0.109 ± 0.023	res: wt:	13.3 ± 0.5 14.9 ± 1.9	122
205		0.102 ± 0.023	res: wt:	5.26 ± 0.15 7.36 ± 0.79	51.6
207		0.0366 ± 0.0073	res: wt:	8.51 ± 2.83 8.99 ± 2.17	232
188		0.536 ± 0.061	res: wt:	95.7 ± 10.5 113 ± 28	178
Ko143 ^[119]		0.221 ± 0.023	res: wt:	11.1 10.9	50.2
Gefitinib ^[118]		1.45	res:	3.19	0.45

*) res = MDCK II BCRP, wt = MDCK II wt

Es wurde festgestellt, dass Zelltoxizität und inhibitorisches Vermögen bei den „Benzothiazolen“ in einem Zusammenhang stehen. Von den sich in der Carbonsäure unterscheidenden Verbindungen war die aktivste auch die mit der höchsten Zytotoxizität (**189**: $GI_{50} \approx 14 \mu\text{mol/l}$). Durch eine Cyanogruppe am Benzothiazol wurde die Zellproliferation weiter eingeschränkt (**205**: $GI_{50} \approx 6 \mu\text{mol/l}$; **207**: $GI_{50} \approx 9 \mu\text{mol/l}$). Es scheint vor allem die Kombination aus Carboran und Benzothiazol für die hohe Toxizität verantwortlich zu sein, da das ebenfalls recht potente Benzothiadiazol-Derivat **188** vergleichsweise untoxische Werte um die $100 \mu\text{mol/l}$ ergab.

Da die Verbindungen **188**, **189** und **207** über Toxizitäts-Hemmverhältnisse verfügen, die (weit) über den TQ des Zytostatikums Gefitinib und der bereits *in vivo* getesteten Referenz Ko143^[102] liegen, dürften sie sich für Testungen im Mausmodell eignen.

4.4 Ergebnisse und Ausblick

Mit den unterschiedlich *N*-substituierten 1,7-Dicarba-*closo*-decaboran-1-carboxamiden steht eine neuartige, synthetisch leicht zugängliche ABCG2-Inhibitorenklasse zur Verfügung.

Die Carboransubstruktur konnte als essentieller Teil des Phamakophors identifiziert werden. Die Wichtigkeit dieser Teilstruktur für das inhibitorische Vermögen ist durch ihre Entfernung und ihren Austausch durch (ali)cyclische Systeme bewiesen worden, wobei der Einsatz isomerer Dicarba-decaborane kaum Auswirkungen auf die Aktivität hat. Ferner stellte es sich heraus, dass heterocyclische Aromaten für eine signifikante Aktivitätssteigerung benötigt werden, deren Heteroatome sich in die Nähe der Amidgruppe befinden. Ausgehend von den Grundstrukturen des *N*-(Benzothiazol-2-yl)- und des *N*-(Thiazol-2-yl)-1,7-dicarba-*closo*-decaboran-1-carboxamides (**189** und **194**) ist der Einfluss von Substituenten untersucht worden. Um Aktivitäten unter 100 nmol/l zu erreichen, ist es offenbar in beiden Unterklassen gemein, dass sich am Heterocyclus ein aromatischer Bereich von der maximalen Ausdehnung eines Phenylringes, tendenziell in der Nähe des Stickstoffes, und eine stark elektronenziehende Gruppe, tendenziell in der Nähe des Schwefels, befinden müssen.

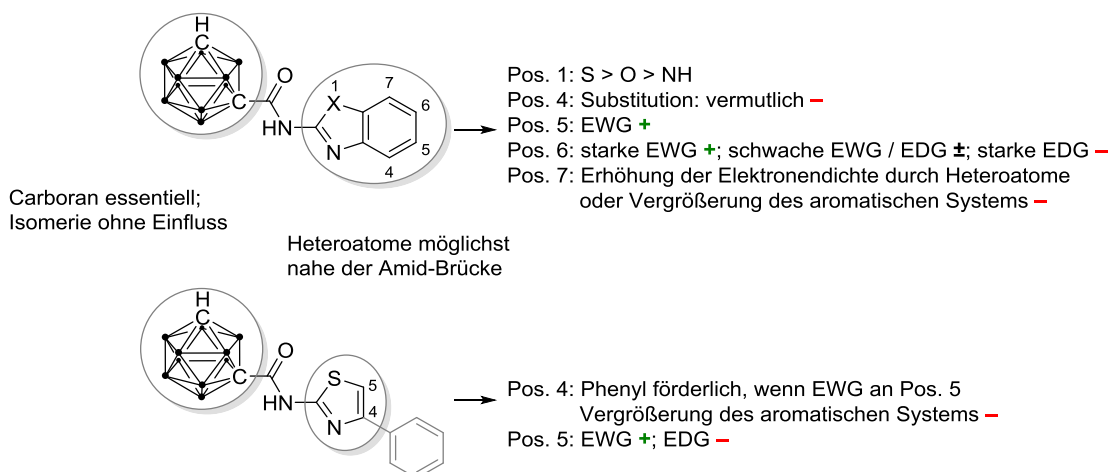


Abbildung 67: Zusammenfassung der Struktur-Wirkungsbeziehungen
(EWG: elektronenziehende Gruppe, EDG: elektronenschiebende Gruppe)

Drei Verbindungen dieser Substanzklasse haben sehr gute Inhibitionswerte gezeigt, die mit viereinhalb- bis sechsfach geringerer IC_{50} -Konzentration als der allgemein bekannte ABCG2-Inhibitor Ko143 hemmen. Unter den Testbedingungen ist mit Verbindung **207** die bis dato höchste Hemmwirkung mit einer IC_{50} von 36.6 nmol/l gemessen worden. Erste Tests weisen auf selektive Inhibitionseigenschaften hin.

Mit einer Ausnahme zeigen die untersuchten Inhibitoren wesentlich günstigere therapeutische Quotienten als die Referenzsubstanz Ko143, so dass sie sich für *In-vivo*-Untersuchungen anbieten.

Fluoreszenzspektroskopische Untersuchungen der von den beiden oben erörterten Unterklassen abweichenden Verbindung **188** mit einer *N*-(Benzo[c][1,2,5]thiadiazol-4-yl)-Teilstruktur zeigten, dass diese neben guten inhibitorischen und geringen zytotoxischen Eigenschaften auch einen Fluorophor mit günstigen Anregungs- und Emissionsmaxima ($\lambda_{ex} = 310$ nm, $\lambda_{em} = 480$ nm) besitzt (Abbildung 68). Dadurch könnte sich die Möglichkeit eröffnen, die Substanzklasse auch ohne eine zusätzliche Fluoreszenz-markierung, die die Eigenschaften eines Liganden hinsichtlich seiner Interaktion mit dem biologischen Ziel massiv beeinflussen kann und somit den Vergleich zu nicht markierten Analoga erschwert, über die Verbindung **188** als pharmakologische Sonde für Rezeptor-Ligand-Bindungsstudien oder Ähnlichem mittels bildgebender Verfahren (Fluoreszenzmikroskopie) zu untersuchen.^[249,250]

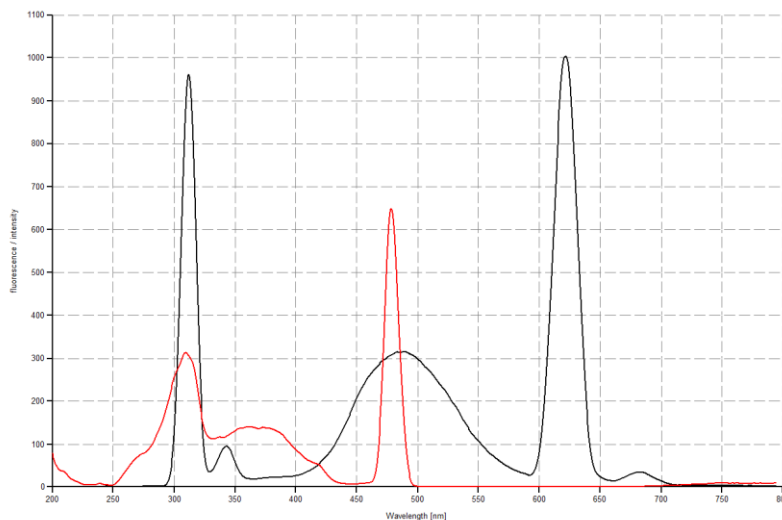


Abbildung 68: Emissionsspektrum (rot) mit Maximum bei $\lambda = 480 \text{ nm}$ und Anregungsspektrum (schwarz) bei $\lambda = 310 \text{ nm}$ der Verbindung 188 in DMSO ($c = 0.45 \mu\text{mol/l}$)

Um eine umfangreiche Struktur-Wirkungsanalyse durchführen zu können, sollte die Substanzklasse um folgende Variationen erweitert werden:

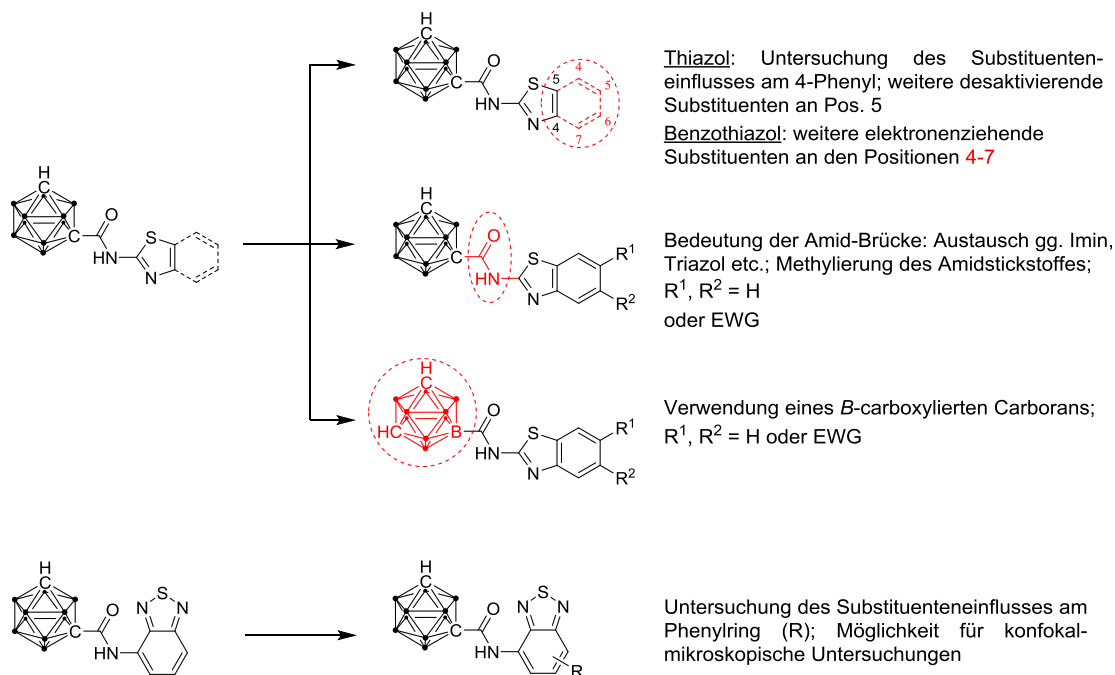


Abbildung 69: Vorschläge zur Erweiterung der Substanzklasse

5 ZUSAMMENFASSUNG

Der Ansatz, die Multidrug-Resistenz eines Tumors über einen Modulator bzw. Inhibitor aufzuheben, wurde in dieser Arbeit mit der Darstellung potenter, selektiver und untoxischer Hemmstoffe für den Transporter ABCG2 verfolgt und *in vitro* untersucht.

Im ersten Teil *Heteroaryl-phenylamide* (Kapitel 3) werden die biochemischen Ergebnisse einer einhundertzölf Verbindungen umfassenden Substanzbibliothek erörtert. Die Verbindungen wurden auf Basis vorangegangener Untersuchungen zu tariquidarabgewandelten ABCG2-Inhibitoren gestaltet. Für die biologische Charakterisierung dieser Substanzklasse sind Verbindungen mit unterschiedlichen Substituenten und veränderter Grundstruktur dargestellt worden. Es hat sich herausgestellt, dass der Grundkörper, ein *N*-(2-(2-Phenyl-2*H*-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid, nicht nur für die Fähigkeit zur Inhibition vorausgesetzt werden muss, sondern auch gleichzeitig eine der höchsten Wirksamkeiten zeigte. Sämtliche Variationen der amidischen als auch der tetrazolischen Brücken führten zu Absenkung der Hemmstärke bis hin zu Inaktivität. Die meisten Substituenten und Abwandlungen der Phenylringe reduzierten ebenfalls das inhibitorische Vermögen.

Für einige Derivate wurde ein günstiger therapeutischer Index ermittelt und somit eine Empfehlung für Untersuchungen *in vivo* ausgesprochen.

Im zweiten Teil *Carborancarboxamide* (Kapitel 4) werden die Entdeckung und der Ausbau einer neuen ABCG2-Inhibitorenklasse, deren gemeinsames Merkmal ein Carborancarboxamid ist, erörtert. Anhand der biologischen Daten von zweiundvierzig Derivaten hat sich herausgestellt, dass neben dem Carboran als essentiellm Bestandteil der Substanzklasse die am Stickstoff der Amidbrücke gebundenen,

mit elektronenziehenden Substituenten ausgestatteten Benzothiazol-2-yl- oder Thiazol-2-yl-Partialstrukturen hohe inhibitorische Aktivitäten gegenüber ABCG2 hervorrufen.

Die Toxizitätsdaten untersuchter Verbindungen zeigen, dass diese für Untersuchungen *in vivo* in Betracht gezogen werden können.

6 EXPERIMENTALTEIL

6.1 Chemische Synthese

6.1.1 Allgemeines

Chemikalien

Alle verwendeten Chemikalien sind von der *Acros Organics BVBA* (Geel, Belgien), der *AlfaAesar GmbH & Co. KG* (Karlsruhe, Deutschland), *Carl Roth GmbH & Co. KG* (Karlsruhe, Deutschland), *Merck KGaA* (Darmstadt, Deutschland), der *Sigma-Aldrich Chemie GmbH* (Taufkirchen, Deutschland), der *VWR Chemicals GmbH* (Darmstadt, Deutschland), der *Linde AG* (München, Deutschland) oder *AirLiquide S.A.* (Paris, Frankreich) bezogen worden. Sie wurden ohne weitere Reinigung eingesetzt, wenn nichts Anderes angegeben ist. Die verwendeten Lösungsmittel wurden ohne vorherige Reinigung in der käuflichen Qualität verwendet. Bei Bedarf ist Tetrahydrofuran über Lithiumaluminiumhydrid, Methylenchlorid über Phosphorpentoxid und Ethanol über Natrium destilliert worden.

Mikrowellensynthesen

Synthesen unter Mikrowellenbestrahlung wurden in einer Mikrowelle *Discover-SP W/Activent* (Modellnummer 909155) der Firma *CEM GmbH* (Kamp-Lintfort, Deutschland) durchgeführt.

Reduktionsreaktionen

Katalytische Hydrierungen sind in einer Hydrierapparatur (Hersteller: Hr. Scholl, Pharmazeutisches Institut der Universität Bonn, Deutschland) durchgeführt worden.

Chromatographie

Dünnschichtchromatographien wurden auf Kieselgel beschichteten Aluminiumplatten mit Fluoreszenzindikator (Kieselgel 60 F₂₅₄, Merck) durchgeführt. Die Detektion erfolgte unter einem UV-Kabinett (CAMAG Chemie-Erzeugnisse & Adsorptionstechnik AG & Co. GmbH, Berlin, Deutschland) bei Wellenlängen von 254 nm oder 366 nm.

Säulenchromatographische Trennungen sind an *Kieselgel 60* (0.040 – 0.063 mm Korngröße, Merck) in einer mit Fritte versehenen Glassäule durchgeführt worden. Diese ist grundsätzlich mit aufgeschlämmtem Kieselgel gepackt worden. Zur Steigerung der Flussrate bei Vorreinigungen wurde der Druck mittels einer handelsüblichen Aquariumpumpe erhöht.

Schmelzpunktsbestimmung

Die Schmelzpunkte der biochemisch untersuchten Verbindungen wurden mit einer Schmelzpunktsbestimmungsapparatur *MPD350.BM3.5* der Firma *Sanyo Gallenkamp PLC* (Leicestershire, Großbritannien) bestimmt und sind unkorrigiert. Zersetzungspunkte bei Substanzen sind durch (Z) hinter der Temperaturangabe gekennzeichnet.

Elementaranalyse

Mit Ausnahme der von der AG Scholz (Pharmazeutisches Institut, Universität Bonn) synthetisierten Verbindungen wurden alle biologisch untersuchten Substanzen mit dem Elementaranalysator *Vario EL V24 CHN* der Firma *Elementar Analysensysteme GmbH* (Hanau, Deutschland) auf eine Reinheit größer als 95 % untersucht. Alle gemessenen Werte wichen nicht mehr als 0.4 % von den theoretischen ab, wenn nichts Anderes erwähnt ist.

Kernspinresonanzspektroskopie

^1H -NMR-, ^{13}C -NMR- sowie ^{11}B -NMR-Spektren wurden mit einem *Bruker Avance 500*- (^1H : 500 MHz, ^{13}C : 125 MHz) oder mit einem *Bruker Avance 600*-Spektrometer (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 151 MHz, ^{11}B : 193 MHz) der Firma *Bruker BioSpin GmbH* (Rheinstetten, Deutschland) bei $T = 30\text{ }^\circ\text{C}$ aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen δ sind in Teilen pro Million (ppm), Kopplungskonstanten J in Hertz (Hz) angegeben.

Als interner Standard dienten die verwendeten deuterierten Lösungsmittel Dimethylsulfoxid- d_6 (^1H : δ 2.50, ^{13}C : δ 39.5)^[251] und Chloroform- d_1 (^1H : δ 7.26, ^{13}C : δ 77.2),^[251] als externer Standard Bortrifluorid-diethyletherat in Chloroform- d_1 zur Aufnahme der ^{11}B -NMR-Spektren. Die Signalmultiplizitäten in den ^1H -NMR-Spektren sind mit *s* für ein Singulett, *br* für ein breites Singulett, *d* für ein Dublett, *dd* für ein Dublett vom Dublett, *ddd* für ein Dublett vom Dublett vom Dublett, *td* für ein Triplett vom Dublett, *t* für ein Triplett, *dt* für ein Dublett vom Triplett, *q* für ein Quartett, *sept* für ein Septett oder *m* für ein Multiplett gekennzeichnet. Austauschbare Protonen sind mit einem Sternchen (*) versehen. Die ^{13}C -NMR-Spektren sind grundsätzlich CH-entkoppelt aufgenommen worden. Es wurde das APT- (*attached proton test*) sowie DEPT135-Verfahren (*distortionsless enhancement by polarization transfer*) angewandt, um zusätzlich den Substitutionsgrad der Kohlenstoffatome zu bestimmen. Messungsbedingt fehlende Kohlenstoffatomsignale (C*) sind in der Struktur gekennzeichnet. Die ^{11}B -NMR-Spektren sind sowohl gekoppelt als auch entkoppelt aufgenommen worden. Die Anzahl der Boratome war wegen überlagerter breiter Signale nicht eindeutig zu bestimmen.

Fluoreszenzspektroskopie

Anregungs- und Emissionsspektren der zu untersuchenden Substanzen wurden in Dimethylsulfoxid mit einem Lumineszenzspektrometer *LS 55* der Firma *Perkin-Elmer* (Wokingham, Großbritannien) bei Raumtemperatur aufgenommen.

HPLC/MS- und HRMS-Spektroskopie

Identität und Reinheit der von der AG Scholz (Pharmazeutisches Institut, Universität Bonn) dargestellten Verbindungen wurden hochleistungsflüssigkeitschromatographisch mit nachgeschalteter Massenspektroskopie untersucht. Die Proben wurden mittels des Systems *Agilent 1100* (Agilent Technologies Deutschland GmbH, Ratingen, Deutschland) mit einer HPLC-Säule *Phenomenex Luna C18* (Phenomenex Ltd., Aschaffenburg, Deutschland) auf Reinheit untersucht. Die Detektion erfolgte UV-spektroskopisch in einer Photodiodenzeile (DAD). Die Identität wurde durch Aufnahme von hochauflösenden Massenspektren (HRMS) in einem Massenspektrometer *API 2000* (Applied Biosystems, Darmstadt, Deutschland) mit einem Elektrosprayionisator *Kratos 50 MS* (Shimadzu Deutschland GmbH, Duisburg, Deutschland) überprüft.

6.1.2 Allgemeine Synthesevorschriften (ASV)

Spezielle Kochvorschriften und Abänderungen in der Durchführung sind den jeweiligen Monographien zu entnehmen.

6.1.2.1 Carbonsäurechloride

Die Carbonsäurechloride wurden nach zwei Verfahren dargestellt:

- A) Die korrespondierende Carbonsäure wurde mit frisch destilliertem Thionylchlorid zwei bis vier Stunden unter Rückfluss und Feuchtigkeitsausschluss erhitzt und nach Entfernen des Thionylchlorides bei Normaldruck entweder unter vermindertem Druck fraktioniert destilliert oder aus Benzol umkristallisiert.
- B) Die korrespondierende Carbonsäure wurde in trockenem Benzol oder Methylenchlorid gelöst bzw. suspendiert, mit frisch destilliertem Thionylchlorid oder mit Oxalylchlorid (2 Äq.) versetzt und unter Rückfluss und Feuchtigkeitsausschluss bis zur vollständigen Umsetzung (DC-Kontrolle) erhitzt. Anschließend wurden Lösungsmittel und überschüssiges Chlorierungsmittel unter verringertem Druck entfernt.

6.1.2.2 Benzolsulfonsäurehydrazid-Derivate^[184]

Benzolsulfonsäurehydrazin (1 Äq.) in EtOH (50 ml) wurde unter Rückfluss erhitzt. Während des Erwärmens wurde das Aldehydderivat (1 Äq.), in einer kleinen Menge heißen EtOH (5 – 20 ml) gelöst, dem Reaktionsansatz hinzugesetzt. Nach einstündigem Kochen unter Rückfluss wurde die Lösung erkalten gelassen, wobei Kristallbildung einsetzte. Alternativ wurde das Lösungsmittel über den Rotationsverdampfer im Vakuum entfernt und der Rückstand aus EtOH umkristallisiert

6.1.2.3 2,5-Diaryl-2*H*-tetrazole^[183]

Das frisch destillierte oder umkristallisierte Anilinderivat (1 Äq.) wurde in 50 %igem EtOH (5 – 10 ml) gelöst bzw. suspendiert und auf unter 0 °C gekühlt. Nach Zugabe konz. Salzsäure (3 Äq.) wurde wässrige Natriumnitritlösung (1 Äq. in 2 – 4 ml) derart hinzugegeben, dass die Temperatur der Lösung 0 °C nicht überstieg. Das Benzolsulfonsäurehydrazid-Derivat (1 Äq.) wurde in trockenem Pyridin (30 – 50 ml) gelöst und auf unter -15 °C gekühlt. Je nach Lösungsvolumen fiel das Edukt aus, was aber für den Reaktionsverlauf nicht hinderlich war. Zur Pyridinlösung wurde die Diazoniumsalz-Lösung hinzugegeben, wobei die Temperatur des Reaktionsansatzes stets unter -10 °C gehalten wurde. Nach der Zugabe wurde der rote Reaktionsansatz bis zum Erreichen der Raumtemperatur und anschließend 2 h bei Raumtemperatur gerührt, dann in Chloroform (100 ml) und demineralisiertem Wasser (100 ml) aufgenommen und in einen Scheidetrichter überführt. Die organische Phase wurde nacheinander mit Salzsäure (1 N, 100 ml) und demin. Wasser (100 ml) gewaschen und über Calciumchlorid getrocknet. Die Lösung wurde am Rotationsverdampfer eingedunstet und über eine kurze Chromatographiesäule mit Toluol oder Benzol als Fließmittel vorgereinigt. Nach Abziehen des Lösungsmittels wurde der Rückstand umkristallisiert.

6.1.2.4 5-Aryl-1*H*-tetrazole^[195]

Das Nitrilderivat (1 Äq.), Natriumazid (1.3 Äq.) und Triethylamin-hydrochlorid (1.3 Äq.) wurden in Toluol (50 ml) bei 100 °C so lange gerührt, bis das Nitril dünnschichtchromatographisch nicht mehr nachweisbar war (ca. 15 h). Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der Reaktionsansatz in demin. Wasser (50 ml) gegossen und die organische Phase mit demin. Wasser (25 ml) nachgewaschen. Anschließend wurde das Produkt durch Ansäuern mit konz. Salzsäure gefällt und nach Abfiltrieren neutral gewaschen und umkristallisiert.

6.1.2.5 2,5-Diaryl-1,3,5-oxadiazole^[201]

Zwei Varianten sind zu ihrer Darstellung angewandt worden:

- A) 2-Nitrobenzhydrazid (1 Äq.) und das Arylcarbonsäure-Derivat (1 Äq.) wurden mit Phosphorylchlorid (> 10 ml) übergossen und bis zur kompletten Umsetzung unter Rückfluss erhitzt.
- B) 2-Nitrobenzhydrazid (1 Äq.), das Arylcarbonsäure-Derivat (1 Äq.) und saures Aluminiumoxid (1.5 g) wurden verrieben und in ein Mikrowellen-Reagenzglas überführt. Nach Zugabe von Phosphorylchlorid (5 – 8 ml) wurde das Reaktionsgemisch vermengt und zur Umsetzung in der Mikrowelle (t = 15 min, T = 100 °C, p = 10 W) erhitzt, wobei darauf geachtet werden musste, dass der Überdruck 20 atm nicht überstieg.

Das dunkelbraune, ölige Reaktionsgemisch wurde mit Eiswasser versetzt und bis zum Erreichen der RT gerührt. Der gebildete bräunliche Feststoff wurde filtriert, erst mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung, dann mit demin. Wasser neutral gewaschen und umkristallisiert.

6.1.2.6 1,4-Diaryl-1*H*-1,2,3-triazole^[206]

Kupfer(II)-sulfat-pentahydrat (0.01 Äq.), Natriumascorbat (0.02 Äq.) und Benzoesäure (0.1 Äq.) wurden mit demin. Wasser (10 ml) versetzt und eine Mischung aus dem Acetylderivat (1 Äq.) und 2-Nitrophenylazid (1.1 Äq.) in DMF (10 ml) hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde bei Raumtemperatur bis Reaktionsende (DC-Kontrolle) gerührt. Nach Extraktion mit Methylenchlorid (1x 50 ml) wurde die organische Phase nacheinander mit demin. Wasser und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels wurde der feste Rückstand umkristallisiert.

6.1.2.7 Katalytische Hydrierungen^[252]

Die nitrogruppenhaltige Verbindung (1 Äq.) wurde in THF gelöst und einer dem dreifachen Volumen entsprechenden Suspension des Katalysators (10 mol% Pd/C) in EtOH in einer Druckgasflasche hinzugefügt. Der Reaktionsansatz wurde in einer Hydrierapparatur je dreimal mit Stickstoff und mit Wasserstoff gespült und dann unter Wasserstoffatmosphäre (3 – 4 atm) solange (in der Regel eine Stunde) bei Raumtemperatur gerührt, bis die Nitroverbindung dünnschichtchromatographisch nicht mehr nachweisbar war. Nach Entfernen des Katalysators über eine kurze mit Kieselgel gefüllte Säule und Abdestillieren des Lösungsmittelgemisches wurde ein in der Regel DC-reines Produkt erhalten, das ohne Umkristallisation verwendet werden konnte.

6.1.2.8 Säureamide

Zu ihrer Darstellung wurden folgende Umsetzungen angewandt:

- A) Anilinderivat (1 Äq.) und Triethylamin (1.4 Äq.) wurden in trockenem THF (5 – 10 ml) gelöst. Nach langsamer Zugabe des Säurechlorides (1 Äq.) in trockenem THF (5 – 10 ml) wurde der Reaktionsansatz bis zur vollständigen Umsetzung (DC-Kontrolle) bei Raumtemperatur unter Feuchtigkeitsausschluss gerührt. Nach dem Abfiltrieren des Triethylamin-hydrochlorides und Abdestillieren des Lösungsmittels wurde der Rückstand umkristallisiert.
- B) Die Arylcarbonsäure (1 Äq.) wurde gemäß ASV 6.1.2.1.B zum Säurechlorid umgesetzt, in trockenem Pyridin (5 ml) aufgenommen und zu einer Lösung des Anilinderivates (1 Äq.) in trockenem Pyridin (10 ml) unter Feuchtigkeitsausschluss zugetropft.^[220] Es wurde bis zur vollständigen Umsetzung (DC-Kontrolle) bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Pyridins bei verringertem Druck wurde der Rückstand in demin. Wasser (50 ml) und Essigester (50 ml) aufgenommen. Nach Trennung beider Phasen wurde die wässrige Phase mit Essigester (2 x 25 ml) gewaschen.

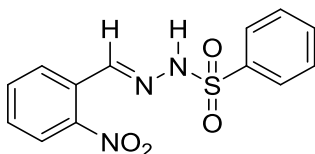
Die vereinigten organischen Phasen wurden nacheinander mit Natronlauge (1 N), demin. Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Der nach Abziehen des Lösungsmittels anfallende Rückstand wurde umkristallisiert.

- C) Analog zur Literatur^[221] wurde das Sulfonsäurechlorid-Derivat (3 Äq.) in trockenem Pyridin (5 ml) gelöst und für 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach langsamen Hinzutropfen des in trockenem Pyridin (5 ml) gelösten Anilinderivates (1 Äq.) wurde das Reaktionsgemisch bis zur kompletten Umsetzung (DC-Kontrolle) bei Raumtemperatur unter Feuchtigkeitsausschluss gerührt. Der Ansatz wurde auf demin. Wasser (40 ml) gegeben und mit Methylenchlorid ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen wurden nach Waschen mit demin. Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Abziehen des Lösungsmittels wurde ein DC-reines Produkt erhalten.

6.1.3 Synthetisierte Verbindungen

6.1.3.1 Vorstufen für tetrazolhaltige Testsubstanzen

(1) *N'*-(2-Nitrobenzyliden)-benzolsulfonsäurehydrazid

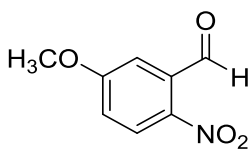


wurde aus 2-Nitrobenzaldehyd (7.60 g, 50 mmol) und Benzolsulfonsäurehydrazin (8.60 g, 50 mmol) gemäß ASV 6.1.2.2 hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (gelbe Prismen; 13.74 g, 45 mmol, 90 % d. Th.).

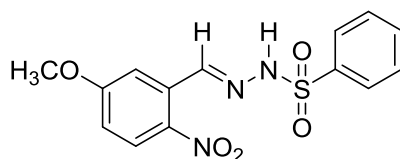
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 7.61 – 7.70 (m, 4H, ArH), 7.72 – 7.77 (m, 1H, ArH), 7.81 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 7.87 – 7.91 (m, 2H, ArH), 8.02 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 8.30 (s, 1H, Imin-H), 11.96 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 124.6 (CH), 127.1 (2x CH), 127.8 (CH), 127.9 (C), 129.3 (2x CH), 130.7 (CH), 133.2 (CH), 133.7 (CH), 138.9 (C), 142.5 (CH), 147.8 (C).

(2) 5-Methoxy-2-nitro-benzaldehyd^[253]



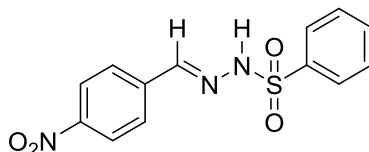
5-Hydroxy-2-nitrobenzaldehyd (2.53 g, 15 mmol, 1 Äq.) und Cäsiumcarbonat (4.94 g, 15 mmol, 1 Äq.) wurden in trockenem DMF (20 ml) vorgelegt und auf 0 °C gekühlt, anschließend Jodmethan (2.14 g, 15 mmol, 1 Äq.) in trockenem DMF (10 ml) bei 0 °C hinzugegeben. Nach dreitägigem Rühren bei RT wurde das Reaktionsgemisch mit demin. Wasser (50 ml) versetzt und fünfmal mit EtOAc (50 ml) extrahiert. Nach Trocknen über Magnesiumsulfat wurde die organische Phase eingedunstet und das Produkt säulenchromatographisch (Fließmittel: PÄ/EtOAc = 3/1) als gelber Feststoff (2.49 g, 13.7 mmol, 92 % d. Th.) isoliert. Auf die Anfertigung von NMR-Spektren wurde verzichtet.

(3) N'-(5-Methoxy-2-nitrobenzyliden)-benzolsulfonsäurehydrazid

wurde aus **2** (2.72 g, 15 mmol) und Benzolsulfonsäurehydrazin (2.58 g, 15 mmol) gemäß ASV 6.1.2.2 hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (gelbe Mikrokristalle; 3.1 g, 9.2 mmol, 62 % d. Th.).

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.88 (s, 3H, OCH₃), 7.10 (d, ³*J*_{HH} = 2.9 Hz, 1H, ArH), 7.16 (dd, ³*J*_{HH} = 9.1 Hz, ⁴*J*_{HH} = 2.9 Hz, 1H, ArH), 7.62 – 7.66 (m, 2H, ArH), 7.68 – 7.72 (m, 1H, ArH), 7.90 (dd, ³*J*_{HH} = 7.3 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.6 Hz, 2H, ArH), 8.09 (d, ³*J*_{HH} = 9.1 Hz, 1H, ArH), 8.39 (s, 1H, Imin-H), 11.96 (s, 1H*, NH).

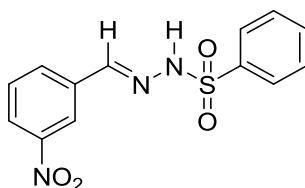
¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 56.2 (CH₃), 112.1 (CH), 115.7 (CH), 127.1 (2x CH), 127.6 (CH), 129.3 (2x CH), 131.0 (C), 133.3 (CH), 138.8 (C), 140.8 (C), 143.1 (CH), 162.8 (C).

(4) N'-(4-Nitrobenzyliden)-benzolsulfonsäurehydrazid

wurde aus 4-Nitrobenzaldehyd (2.63 g, 17 mmol) und Benzolsulfonsäurehydrazin (2.94 g, 17 mmol) gemäß ASV 6.1.2.2 hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (gelbe Mikrokristalle; 3.9 g, 12.9 mmol, 74 % d. Th.).

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.60 – 7.64 (m, 2H, ArH), 7.65 – 7.70 (m, 1H, ArH), 7.80 – 7.84 (m, 2H, ArH), 7.88 – 7.92 (m, 2H, ArH), 8.04 (s, 1H, Imin-H), 8.21 – 8.25 (m, 2H, ArH), 11.97 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 124.0 (2x CH), 127.1 (2x CH), 127.7 (2x CH), 129.3 (2x CH), 133.2 (CH), 138.8 (C), 139.7 (C), 144.5 (CH), 147.9 (C).

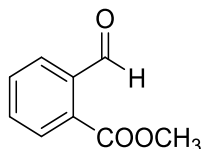
(5) N'-(3-Nitrobenzyliden)-benzolsulfonsäurehydrazid

wurde aus 3-Nitrobenzaldehyd (2.63 g, 17.4 mmol) und Benzolsulfonsäurehydrazin (3.00 g, 17.4 mmol) gemäß ASV 6.1.2.2 hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (gelbliche Plättchen; 3.5 g, 11.5 mmol, 67 % d. Th.).

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.60 – 7.64 (m, 2H, ArH), 7.65 – 7.71 (m, 2H, ArH), 7.88 – 7.92 (m, 2H, ArH), 8.01 (dt, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.3 Hz, 1H, ArH), 8.07 (s, 1H, Imin-H), 8.19 – 8.23 (m, 1H, ArH), 8.36 (t, ⁴*J*_{HH} = 2.0 Hz, 1H, ArH), 11.88 (s, 1H*, NH).

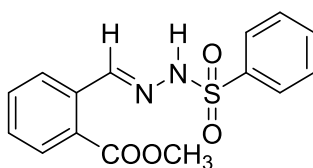
¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 121.0 (CH), 124.3 (CH), 127.1 (2x CH), 129.3 (2x CH), 130.4 (CH), 132.6 (CH), 133.2 (CH), 135.4 (C), 138.9 (C), 144.7, 148.1 (C).

(6) 2-Formyl-benzoesäure-methylester^[254]



Zu einer Mischung aus 2-Formyl-benzoesäure (6 g, 40 mmol, 1 Äq.) und wasserfreiem Kaliumcarbonat (17 g, 123 mmol, 3 Äq.) in Aceton (100 ml) wurde Jodmethan (2.7 ml, 44 mmol, 1.1 Äq.) bei RT hinzugefügt, und der Ansatz für vier Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nach Filtration des Kaliumcarbonats und Abdestillieren des Lösungsmittels wurde das gelbe Öl in Methylenchlorid (100 ml) aufgenommen. Die organische Phase wurde mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Abziehen des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch (Fließmittel: PÄ/EtOAc = 10:1) gereinigt. Man erhielt ein farbloses Öl (6.16 g, 37.5 mmol, 94 % d. Th.). Auf die Aufnahme von NMR-Spektren wurde verzichtet.

(7) 2-((2-(Phenylsulfonyl)hydrazono)methyl)-benzoesäure-methylester^[214]

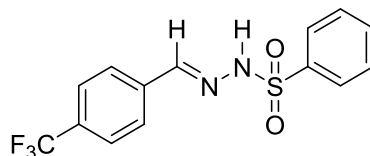


wurde aus **6** (4 g, 24.4 mmol) und Benzolsulfonsäurehydrazin (4.2 g, 24.4 mmol) gemäß ASV 6.1.2.2 hergestellt. Nach Abziehen des Lösungsmittels wurde das dunkelgelbe Öl mit MeOH (50 ml) verdünnt, wodurch sich nach einiger Zeit farblose Mikrokristalle abschieden (4.58 g, 14.4 mmol, 59 % d. Th.).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.83 (s, 3H, OCH₃), 7.50 (td, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.58 – 7.69 (m, 4H, ArH), 7.73 – 7.78 (m, 1H, ArH), 7.80 – 7.83 (m, 1H, ArH), 7.87 – 7.90 (m, 2H, ArH), 8.56 (s, 1H, Imin-H), 11.73 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 52.3 (CH₃), 126.5 (CH), 127.0 (2x CH), 129.19 (C), 129.2 (2x CH), 129.7 (CH), 130.0 (CH), 132.3 (CH), 133.0 (CH), 133.6 (C), 139.0 (C), 145.6 (CH), 166.6 (C).

(8) *N'*-(4-(Trifluormethyl)benzyliden)-benzolsulfonsäurehydrazid

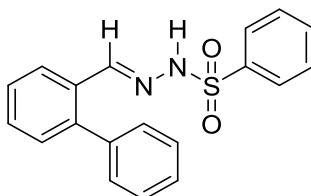


wurde aus 4-(Trifluormethyl)-benzaldehyd (2.63 g, 17.4 mmol) und Benzolsulfonsäurehydrazin (3.00 g, 17.4 mmol) gemäß ASV 6.1.2.2 hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (farblose Prismen; 3.5 g, 11.5 mmol, 67 % d. Th.).

^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 7.58 – 7.64 (m, 2H, ArH), 7.65 – 7.69 (m, 1H, ArH), 7.72 – 7.79 (m, 4H, ArH), 7.87 – 7.91 (m, 2H, ArH), 8.00 (s, 1H, Imin-C), 11.82 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 122.91 (q, $^1J_{\text{CF}} = 271.8$ Hz, C), 125.68 (q, $^3J_{\text{CF}} = 3.7$ Hz, 2x CH), 127.1 (2x CH), 127.3 (2x CH), 129.3 (2x CH), 129.73 (q, $^2J_{\text{CF}} = 31.6$ Hz, C), 133.2 (CH), 137.5 (C), 138.9 (C), 145.3 (CH).

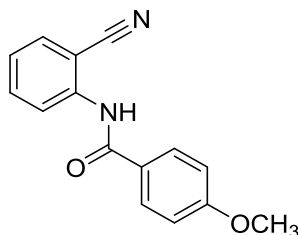
(9) *N'*-([1,1'-Biphenyl]-2-ylmethyl)-benzolsulfonsäurehydrazid^[255]



Eine Suspension aus Benzolsulfonsäure-hydrazin (1.89 g, 11 mmol) in MeOH (10 ml) wurde auf 60 °C erwärmt und in MeOH eingetragener 2-Biphenyl-carbaldehyd (2 g, 11 mmol in 5 ml) hinzugegeben. Nach vollständiger Umsetzung (DC-Kontrolle) wurde das Lösungsmittel unter Vakuum abdestilliert und der Rückstand aus MeOH umkristallisiert (weißer Feststoff; 1.78 g, 5.3 mmol, 48 % d. Th.).

^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.20 – 7.23 (m, 2H, ArH), 7.29 – 7.31 (m, 1H, ArH), 7.37 – 7.48 (m, 5H, ArH), 7.59 – 7.68 (m, 3H, ArH), 7.77 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz, 1H, ArH), 7.82 – 7.86 (m, 3H, 2x ArH und Imin-H), 11.34 (s, 1H*, NH).

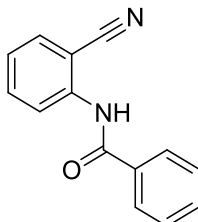
^{13}C -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 125.2 (CH), 127.1 (2x CH), 127.5 (CH), 127.7 (CH), 128.4 (2x CH), 129.2 (2x CH), 129.5 (2x CH), 129.9 (CH), 130.2 (CH), 130.7 (C), 133.0 (CH), 138.7 (C), 139.0 (C), 141.7 (C), 145.9 (CH).

(10) N-(2-Cyanophenyl)-4-methoxybenzamid

wurde aus 2-Amino-benzonitril (0.24 g, 2 mmol) und 4-Methoxy-benzoylchlorid (0.34 g, 2 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.35 g, 1.4 mmol, 70 % d. Th.).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.86 (s, 3H, OCH₃), 7.07 – 7.12 (m, 2H, ArH), 7.41 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 7.55 – 7.61 (m, 1H, ArH), 7.70 – 7.76 (m, 1H, ArH), 7.86 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 7.97 – 8.02 (m, 2H, ArH), 10.41 (s, 1H*, NH).

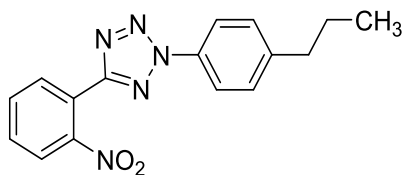
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 55.5 (CH₃), 109.2 (C), 113.8 (2x CH), 117.0 (C), 125.6 (C), 126.0 (CH), 126.7 (CH), 129.7 (2x CH), 133.0 (CH), 133.6 (CH), 140.6 (C), 162.3 (C), 164.9 (C).

(11) N-(2-Cyanophenyl)benzamid^[256]

wurde aus 2-Amino-benzonitril (0.24 g, 2 mmol) und Benzoylchlorid (0.28 g, 2 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.29 g, 1.3 mmol, 65 % d. Th.).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.44 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.55 – 7.66 (m, 4H, ArH), 7.73 – 7.77 (m, 1H, ArH), 7.88 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz, 1H, ArH), 7.99 – 8.02 (m, 2H, ArH), 10.59 (s, 1H*, NH).

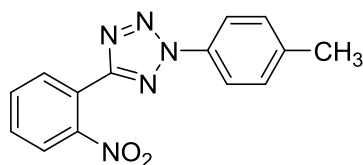
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 109.3 (C), 116.9 (C), 126.3 (CH), 126.8 (CH), 127.7 (2x CH), 128.5 (2x CH), 132.1 (CH), 133.0 (CH), 133.5 (C), 133.7 (CH), 140.4 (C), 165.6 (C).

(12) 2-(2-Nitrophenyl)-2-(4-propylphenyl)-2H-tetrazol

wurde aus 4-Propylanilin (2.03 g, 15 mmol) und **1** (4.58 g, 15 mmol) gemäß ASV 6.1.2.3 hergestellt und aus EtOH/CHCl₃ (1:1) umkristallisiert (gelbliche Nadeln; 2.92 g, 9.45 mmol, 63 % d. Th.).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0.92 (t, ³J_{HH} = 7.3 Hz, 3H, CH₃), 1.59 – 1.71 (m, 2H, CH₂), 2.68 (t, ³J_{HH} = 7.6 Hz, 2H, CH₂), 7.51 (d, ³J_{HH} = 8.5 Hz, 2H, ArH), 7.87 (td, ³J_{HH} = 7.8 Hz, ⁴J_{HH} = 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.93 (td, ³J_{HH} = 7.6 Hz, ⁴J_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 8.02 (d, ³J_{HH} = 8.5 Hz, 2H, ArH), 8.11 (dd, ³J_{HH} = 7.7 Hz, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1H, ArH), 8.14 (dd, ³J_{HH} = 8.0 Hz, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, 1H, ArH).

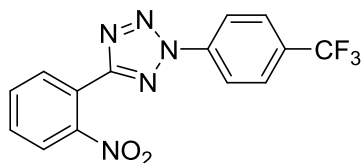
¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.4 (CH₃), 23.7 (CH₂), 36.7 (CH₂), 119.7 (C), 119.9 (2x CH), 124.4 (CH), 130.0 (2x CH), 131.0 (CH), 132.2 (CH), 133.2 (CH), 133.9 (C), 145.1 (C), 148.6 (C), 161.0 (C).

(13) 2-(4-Methylphenyl)-5-(2-nitrophenyl)-2H-tetrazol(12)

wurde aus 4-Methylanilin (1.61 g, 15 mmol) und **1** (4.58 g, 15 mmol) gemäß ASV 6.1.2.3 hergestellt und aus EtOH/CHCl₃ (1:1) umkristallisiert (gelbliche Plättchen; 2.62 g, 9.31 mmol, 62 % d. Th.).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2.44 (s, 3H, CH₃), 7.51 (d, ³J_{HH} = 8.1 Hz, 2H, ArH), 7.88 (td, ³J_{HH} = 7.8 Hz, ⁴J_{HH} = 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.94 (td, ³J_{HH} = 7.6 Hz, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1H, ArH), 8.01 (d, ³J_{HH} = 8.5 Hz, 2H, ArH), 8.12 (dd, ³J_{HH} = 7.7 Hz, ⁴J_{HH} = 1.4 Hz, 1H, ArH), 8.14 (dd, ³J_{HH} = 8.0, ⁴J_{HH} = 1.1 Hz, 1H, ArH).

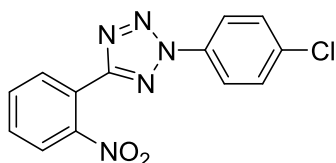
¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 20.7 (CH₃), 119.7 (C), 119.9 (2x CH), 124.4 (CH), 130.6 (2x CH), 131.0 (CH), 132.3 (CH), 133.3 (CH), 133.7 (C), 140.6 (C), 148.6 (C), 161.0 (C).

(14) 5-(2-Nitrophenyl)-2-(4-trifluormethylphenyl)-2H-tetrazol

wurde aus 4-Trifluormethyl-anilin (2.42 g, 15 mmol) und **1** (4.58 g, 15 mmol) gemäß ASV 6.1.2.3 hergestellt und aus Aceton umkristallisiert (farblose Prismen; 2.56 g, 7.64 mmol, 51 % d. Th.).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.89 (t, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, 1H, ArH), 7.95 (t, ³*J*_{HH} = 7.5 Hz, 1H, ArH), 8.09 (d, *J*_{HH} = 8.5 Hz, 2H, ArH), 8.13 (d, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, 1H, ArH), 8.16 (d, ³*J*_{HH} = 8.0 Hz, 1H, ArH), 8.36 (d, ³*J*_{HH} = 8.4 Hz, 2H, ArH).

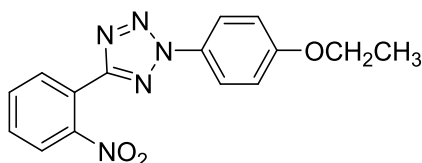
¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 119.4 (C), 120.7 (2x CH), 123.5 (q, ¹*J*_{CF} = 272.5 Hz, C), 124.5 (CH), 127.6 (q, ³*J*_{CF} = 3.3 Hz, 2x CH), 130.3 (q, ²*J*_{CF} = 32.5 Hz, C), 131.1 (CH), 132.5 (CH), 133.3 (CH), 138.5 (C), 148.6 (C), 161.5 (C).

(15) 2-(4-Chlorphenyl)-5-(2-nitrophenyl)-2H-tetrazol

wurde aus 4-Chloranilin (1.28 g, 10 mmol) und **1** (3.05 g, 10 mmol) gemäß ASV 6.1.2.3 hergestellt und aus EtOH/Toluol (2:1) umkristallisiert (beiger Feststoff; 1.38 g, 4.58 mmol, 46 % d. Th.).

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.53 – 7.57 (m, 2H, ArH), 7.67 – 7.71 (m, 1H, ArH), 7.76 (td, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.3 Hz, 1H, ArH), 7.93 (dd, ³*J*_{HH} = 8.1 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.3 Hz, 1H, ArH), 8.07 (dd, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.5 Hz, 1H, ArH), 8.10 – 8.13 (m, 2H).

¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 121.1 (C), 121.3 (2x CH), 124.5 (CH), 130.1 (2x CH), 131.4 (CH), 131.5 (CH), 132.6 (CH), 135.2 (C), 136.1 (C), 149.2 (C), 161.8 (C).

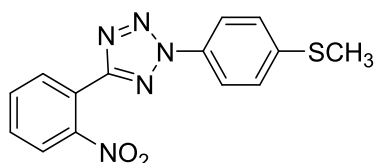
(16) 2-(4-Ethoxyphenyl)-5-(2-nitrophenyl)-2H-tetrazol

wurde aus 4-Ethoxyanilin (2.06 g, 15 mmol) und **1** (4.58 g, 15 mmol) gemäß ASV 6.1.2.3 hergestellt und aus EtOH/CHCl₃ (1:1) umkristallisiert (farblose Plättchen; 2.00 g, 6.42 mmol, 43 % d. Th.).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1.38 (t, ³*J*_{HH} = 7.0 Hz, 3H, CH₃), 4.15 (q, ³*J*_{HH} = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 7.20 – 7.24 (m, 1H, ArH), 7.87 (td, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.93 (td, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.3 Hz, 1H, ArH), 8.00 – 8.04 (m, 2H, ArH), 8.10 – 8.14 (m, 1H, ArH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 14.5 (CH₃), 63.9 (CH₂), 115.7 (2x CH), 119.9 (C), 121.8 (2x CH), 124.5 (CH), 129.2 (C), 131.1 (CH), 132.3 (CH), 133.3 (CH), 148.7 (C), 160.0 (C), 161.0 (C).

(17) 2-(4-(Methylthio)phenyl)-5-(2-nitrophenyl)-2H-tetrazol

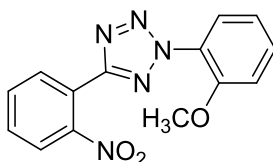


wurde aus 4-Methylthio-anilin (2.01 g, 15 mmol) und **1** (4.58 g, 15 mmol) gemäß ASV 6.1.2.3 hergestellt und aus EtOH/CHCl₃ (1:2) umkristallisiert (orangefarbene Prismen; 1.23 g, 4.0 mmol, 27 % d. Th.).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2.58 (s, 3H, SCH₃), 7.54 – 7.58 (m, 2H, ArH), 7.88 (td, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.94 (td, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 8.02 – 8.07 (m, 2H, ArH), 8.09 – 8.13 (m, 1H, ArH), 8.13 – 8.16 (m, 1H, ArH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 14.4 (CH₃), 119.7 (C), 120.4 (2x CH), 124.5 (CH), 126.7 (2x CH), 131.0 (CH), 132.3 (CH), 132.7 (C), 133.3 (CH), 141.9 (C), 148.6 (C), 161.0 (C).

(18) 2-(2-Methoxyphenyl)-5-(2-nitrophenyl)-2H-tetrazol

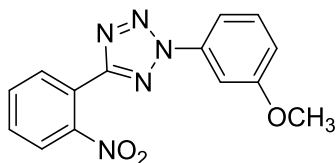


wurde aus 2-Methoxyanilin (1.85 g, 15 mmol) und **1** (4.58 g, 15 mmol) gemäß ASV 6.1.2.3 hergestellt und aus Aceton umkristallisiert (farblose Nadeln; 1.03 g, 3.46 mmol, 23 % d. Th.).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.86 (s, 3H, OCH₃), 7.22 (td, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.41 (dd, ³*J*_{HH} = 8.4 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.0 Hz, 1H), 7.66 – 7.72 (m, 2H), 7.84 – 7.89 (m, 1H), 7.92 (td, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.3 Hz, 1H), 8.09 – 8.14 (m, 2H).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 56.3 (CH₃), 113.5 (CH), 119.6 (C), 120.8 (CH), 124.4 (CH), 125.1 (C), 127.1 (CH), 130.9 (CH), 132.1 (CH), 133.0 (CH), 133.2 (CH), 148.7 (C), 153.2 (C), 160.6 (C).

(19) 2-(3-Methoxyphenyl)-5-(2-nitrophenyl)-2H-tetrazol

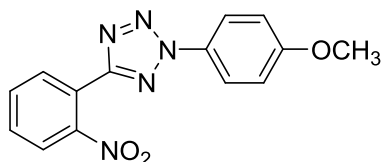


wurde aus 3-Methoxyanilin (1.85 g, 15 mmol) und **1** (4.58 g, 15 mmol) gemäß ASV 6.1.2.3 hergestellt und aus EtOH/CHCl₃ (1:1) umkristallisiert (gräulich-weiße Plättchen; 2.49 g, 8.38 mmol, 56 % d. Th.).

^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.90 (s, 3H, OCH₃), 7.20 – 7.25 (m, 1H, ArH), 7.61 (t, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 7.64 (t, $^3J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz, 1H, ArH), 7.67 – 7.71 (m, 1H, ArH), 7.88 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 7.94 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 8.11 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz, 1H, ArH), 8.15 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 55.7 (CH₃), 105.5 (CH), 112.1 (CH), 116.4 (CH), 119.7 (C), 124.5 (CH), 131.1 (CH), 131.3 (CH), 132.3 (CH), 133.3 (CH), 136.8 (C), 148.6 (C), 160.2 (C), 161.2 (C).

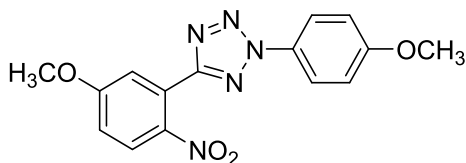
(20) 2-(4-Methoxyphenyl)-5-(2-nitrophenyl)-2H-tetrazol



wurde aus 4-Methoxyanilin (1.85 g, 15 mmol) und **1** (4.58 g, 15 mmol) gemäß ASV 6.1.2.3 hergestellt und aus EtOH/CHCl₃ (1:1) umkristallisiert (farblose Nadeln; 2.01 g, 6.76 mmol, 45 % d. Th.)

^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) 3.87 (s, 3H, OCH₃), 7.21 – 7.25 (m, 1H, ArH), 7.87 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 7.93 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1H, ArH), 8.01 – 8.06 (m, 1H, ArH), 8.11 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz, 1H, ArH), 8.13 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH).

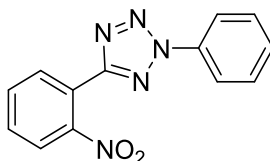
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 55.7 (CH₃), 115.2 (2x CH), 119.8 (C), 121.7 (2x CH), 124.4 (CH), 129.3 (C), 131.0 (CH), 132.2 (CH), 133.2 (CH), 148.6 (C), 160.6 (C), 160.9 (C).

(21) 2-(4-Methoxyphenyl)-5-(5-methoxy-2-nitrophenyl)-2H-tetrazol

wurde aus 4-Methoxyanilin (0.62 g, 5 mmol) und **3** (1.68 g, 5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.3 hergestellt und aus EtOH/Toluol (2:1) umkristallisiert (gelbliche Nadelchen; 0.63 g, 1.92 mmol, 39 % d. Th.).

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.96 (s, 3H, OCH₃), 7.20 – 7.25 (m, 2H, ArH), 7.36 (dd, ³*J*_{HH} = 9.1 Hz, ⁴*J*_{HH} = 2.9 Hz, 1H, ArH), 7.46 (d, ⁴*J*_{HH} = 2.9 Hz, 1H, ArH), 8.01 – 8.08 (m, 2H, ArH), 8.19 (d, ³*J*_{HH} = 9.0 Hz, 1H).

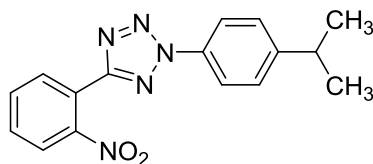
¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.7 (CH₃), 56.5 (CH₃), 115.2 (2x CH), 116.6 (CH), 116.7 (CH), 121.7 (2x CH), 123.2 (C), 127.4 (CH), 129.3 (C), 141.4 (C), 160.6 (C), 161.4 (C), 162.5 (C).

(22) 5-(2-Nitrophenyl)-2-phenyl-2H-tetrazol

wurde aus Anilin (1.40 g, 15 mmol) und **1** (4.58 g, 15 mmol) gemäß ASV 6.1.2.3 hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (farblose Mikrokristalle; 1.73 g, 6.48 mmol, 43 % d. Th.).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.63 – 7.68 (m, 1H, ArH), 7.69 – 7.74 (m, 2H, ArH), 7.86 – 7.90 (m, 1H, ArH), 7.94 (td, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.3 Hz, 1H, ArH), 8.10 – 8.17 (m, 4H, ArH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 119.7 (C), 120.0 (2x CH), 124.5 (CH), 130.2 (2x CH), 130.6 (CH), 131.1 (CH), 132.3 (CH), 133.3 (CH), 135.9 (C), 148.6 (C), 161.2 (C).

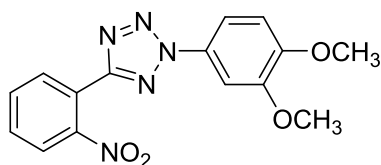
(23) 2-(4-Isopropylphenyl)-5-(2-nitrophenyl)-2H-tetrazol

wurde aus 4-Isopropylanilin (0.68 g, 5 mmol) und **1** (1.53 g, 5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.3 hergestellt. Das nach säulenchromatographischer Reinigung erhaltene rote Öl wurde im Mörser mit MeOH (15 ml) verrieben, wodurch das Produkt als weißer Feststoff erhalten wurde (0.82 g, 2.65 mmol, 53 % d. Th.).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1.26 (d, ³*J*_{HH} = 6.9 Hz, 6H, 2x CH₃), 3.03 (sept, ³*J*_{HH} = 6.9 Hz, 1H, CH), 7.55 – 7.60 (m, 2H, ArH), 7.88 (td, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.94 (td, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.3 Hz, 1H, ArH), 8.05 – 8.01 (m, 2H, ArH), 8.11 (dd, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.5 Hz, 1H, ArH), 8.14 (dd, ³*J*_{HH} = 8.0 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.3 Hz, 1H, ArH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 23.5 (2x CH₃), 33.1 (CH), 119.7 (C), 120.06 (2x CH), 124.44 (CH), 128.0 (CH), 131.0 (CH), 132.2 (CH), 133.3 (CH), 133.9 (C), 148.6 (C), 151.2 (C), 161.0 (C).

(24) 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5-(2-nitrophenyl)-2H-tetrazol

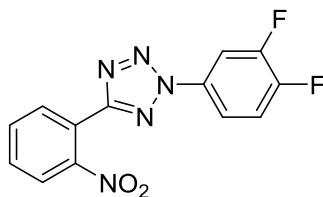


wurde aus 3,4-Dimethoxyanilin (1.53 g, 10 mmol) und **1** (3.05 g, 10 mmol) gemäß ASV 6.1.2.3 hergestellt und aus EtOH/CHCl₃ (1:1) umkristallisiert (gelbliche Prismen; 0.98 g, 2.99 mmol, 30 % d. Th.).

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.90 (s, 3H, OCH₃), 7.21 – 7.26 (m, 1H, ArH), 7.62 – 7.67 (m, 2H, ArH), 7.87 (td, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.93 (td, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.3 Hz, 1H, ArH), 8.10 (dd, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.4 Hz, 1H, ArH), 8.14 (dd, ³*J*_{HH} = 8.1 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH).

¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.90 (CH₃), 55.93 (CH₃), 104.1 (CH), 112.1 (CH), 112.6 (CH), 119.9 (C), 124.5 (CH), 129.2 (C), 131.1 (CH), 132.2 (CH), 133.3 (CH), 148.6 (C), 149.4 (C), 150.4 (C), 160.9 (C).

(25) 2-(3,4-Difluorphenyl)-5-(2-nitrophenyl)-2H-tetrazol

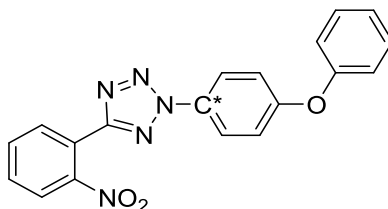


wurde aus 3,4-Difluoranilin (1.29 g, 10 mmol) und **1** (3.05 g, 10 mmol) gemäß ASV 6.1.2.3 hergestellt und aus Aceton umkristallisiert (gelbliche Plättchen; 0.94 g, 3.10 mmol, 31 % d. Th.).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.81 (dt, $^3J_{\text{HF}} = 10.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 8.8$ Hz, 1H, ArH), 7.89 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 7.95 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1H, ArH), 7.99 – 8.04 (m, 1H, ArH), 8.11 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz, 1H, ArH), 8.16 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 8.29 (ddd, $^3J_{\text{HF}} = 10.6$ Hz, $^4J_{\text{HF}} = 6.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz, 1H, ArH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 110.63 (d, $^2J_{\text{CF}} = 22.5$ Hz, CH), 117.48 (dd, $^3J_{\text{CF}} = 7.3$ Hz, $^4J_{\text{CF}} = 3.7$ Hz, CH), 119.27 (d, $^2J_{\text{CF}} = 19.1$ Hz, CH), 119.5 (C), 124.5 (CH), 131.1 (CH), 132.30 (dd, $^3J_{\text{CF}} = 8.6$ Hz, $^4J_{\text{CF}} = 3.0$ Hz, C), 132.5 (CH), 133.4 (CH), 148.6 (C), 149.72 (dd, $^1J_{\text{CF}} = 248.7$ Hz, $^2J_{\text{CF}} = 13.6$ Hz, C), 150.45 (dd, $^1J_{\text{CF}} = 250.0$ Hz, $^2J_{\text{CF}} = 12.2$ Hz, C), 161.4 (C).

(26) 5-(2-Nitrophenyl)-2-(4-phenoxyphenyl)-2H-tetrazol

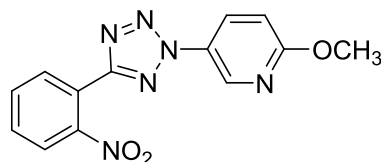


wurde aus 4-Phenoxyanilin (1.85 g, 10 mmol) und **1** (3.05 g, 10 mmol) gemäß ASV 6.1.2.3 hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (roter Feststoff; 1.17 g, 3.25 mmol, 33 % d. Th.).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.14 – 7.18 (m, 2H, ArH), 7.22 – 7.30 (m, 3H, ArH), 7.44 – 7.50 (m, 2H, ArH), 7.87 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 7.93 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1H, ArH), 8.09 – 8.15 (m, 4H, ArH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 119.1 (2x CH), 119.5 (2x CH), 119.7 (C), 122.2 (2x CH), 124.4 (CH), 124.5 (CH), 130.3 (2x CH), 131.0 (CH), 132.3 (CH), 133.3 (CH), 148.6 (C), 155.4 (C), 158.5 (C), 161.0 (C); Signal für Phenyl-C fehlt.

(27) 2-Methoxy-5-(5-(2-nitrophenyl)-2H-tetrazol-2-yl)-pyridin

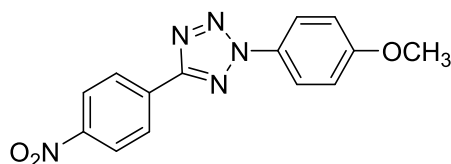


wurde aus 5-Amino-2-methoxy-pyridin (1.24 g, 10 mmol) und **1** (3.05 g, 10 mmol) gemäß ASV 6.1.2.3 hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (roter Feststoff; 1.58 g, 5.30 mmol, 53 % d. Th.).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.98 (s, 3H, OCH₃), 7.15 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 9.0$ Hz, $^5J_{\text{HH}} = 0.6$ Hz, 1H, ArH), 7.86 – 7.90 (m, 1H, ArH), 7.94 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1H, ArH), 8.09 – 8.12 (m, 1H, ArH), 8.13 – 8.16 (m, 1H, ArH), 8.40 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 9.0$, $^4J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, 1H, ArH), 8.92 (dd, $^4J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, $^5J_{\text{HH}} = 0.6$, 1H, ArH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 54.1 (CH₃), 111.8 (CH), 119.6 (C), 124.5 (CH), 127.8 (C), 131.1 (CH), 132.0 (CH), 132.3 (CH), 133.3 (CH), 139.2 (CH), 148.6 (C), 161.2 (C), 164.4 (C).

(28) 2-(4-Methoxyphenyl)-5-(4-nitrophenyl)-2H-tetrazol

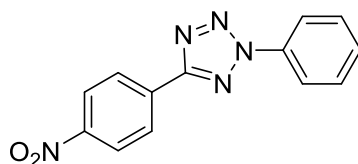


wurde aus 4-Methoxyanilin (0.616 g, 5 mmol) und **4** (1.53 g, 5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.3 hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (gräulich-weißer Feststoff; 0.33 g, 1.1 mmol, 22 % d. Th.).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.89 (s, 3H, OCH₃), 7.20 – 7.25 (m, 2H, ArH), 8.05 – 8.10 (m, 2H, ArH), 8.38 – 8.44 (m, 4H, ArH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 55.5 (CH₃), 114.9 (2x CH), 121.6 (2x CH), 124.1 (2x CH), 127.5 (2x CH), 129.2 (C), 132.2 (C), 148.5 (C), 160.5 (C), 162.4 (C).

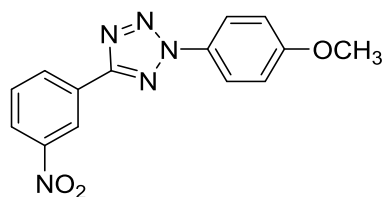
(29) 5-(4-Nitrophenyl)-2-phenyl-2H-tetrazol



wurde aus Anilin (0.47 g, 5 mmol) und **4** (1.53 g, 5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.3 hergestellt und aus EtOH/CHCl₃ (1:1) umkristallisiert (gelblicher Feststoff; 0.47 g, 1.76 mmol, 35 % d. Th.).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.64 – 7.75 (m, 3H, ArH), 8.18 – 8.21 (m, 2H, ArH), 8.43 – 8.48 (m, 4H, ArH).

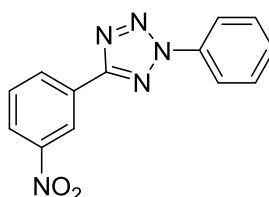
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 120.1 (2x CH), 124.6 (2x CH), 127.9 (2x CH), 130.2 (2x CH), 130.5 (CH), 132.3 (C), 136.0 (C), 148.7 (C), 162.9 (C).

(30) 2-(4-Methoxyphenyl)-5-(3-nitrophenyl)-2H-tetrazol

wurde aus 4-Methoxyanilin (0.616 g, 5 mmol) und **5** (1.53 g, 5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.3 hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (farblose Nadelchen; 0.274 g, 0.92 mmol, 18 % d. Th.).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.88 (s, 3H, OCH₃), 7.22 (d, ³*J*_{HH} = 9.0 Hz, 2H, ArH), 7.91 (t, ³*J*_{HH} = 8.0 Hz, 1H, ArH), 8.10 (d, ³*J*_{HH} = 9.0 Hz, 2H, ArH), 8.42 (dd, ³*J*_{HH} = 8.2 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.7 Hz, 1H, ArH), 8.57 (d, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, 1H, ArH), 8.83 (s, 1H, ArH).

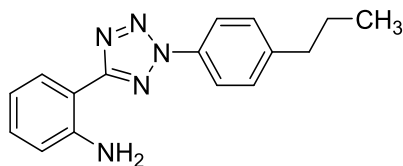
¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.7 (CH₃), 115.1 (2x CH), 120.9 (CH), 121.8 (2x CH), 125.3 (CH), 128.0 (C), 129.4 (C), 131.2 (CH), 132.6 (CH), 148.3 (C), 160.6 (C), 162.6 (C).

(31) 5-(3-Nitrophenyl)-2-phenyl-2H-tetrazol

wurde aus Anilin (0.47 g, 5 mmol) und **5** (1.53 g, 5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.3 hergestellt und aus EtOH/CHCl₃ (1:3) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.68 g, 2.54 mmol, 51 % d. Th.).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.63 – 7.75 (m, 3H, ArH), 7.94 (t, ³*J*_{HH} = 8.2 Hz, 1H, ArH), 8.19 – 8.22 (m, 2H, ArH), 8.42 – 8.46 (m, 1H, ArH), 8.57 – 8.63 (m, 1H, ArH), 8.86 – 8.88 (m, 1H, ArH).

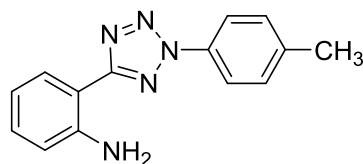
¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 120.1 (2x CH), 121.0 (CH), 125.4 (CH), 127.9 (C), 130.2 (2x CH), 130.5 (CH), 131.3 (CH), 132.7 (CH), 136.0 (C), 148.4 (C), 162.9 (C).

(32) 2-(2-(4-Propylphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)-anilin

wurde aus **12** gemäß ASV 6.1.2.7 als weißer Feststoff quantitativ erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 0.93 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$ Hz, 3H, CH₃), 1.61 – 1.70 (m, 2H, CH₂), 2.68 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, 2H, CH₂), 6.35 (br, 2H*, NH₂), 6.69 – 6.74 (m, 1H, ArH), 6.92 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 7.21 – 7.27 (m, 1H, ArH), 7.47 – 7.53 (m, 2H, ArH), 8.04 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 8.08 – 8.13 (m, 2H, ArH).

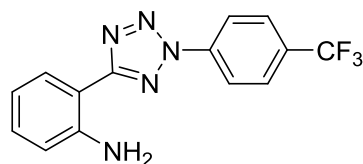
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO) δ 13.5 (CH₃), 23.8 (CH₂), 35.7 (CH₂), 107.7 (C), 115.7 (CH), 116.2 (CH), 119.8 (2x CH), 128.2 (CH), 129.8 (2x CH), 131.3 (CH), 134.1 (C), 144.5 (C), 146.9 (C), 164.4 (C).

(33) 2-(2-(4-Methylphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)-anilin

wurde aus **13** gemäß ASV 6.1.2.7 als weißer Feststoff quantitativ erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 2.43 (s, 3H, CH₃), 6.35 (br, 2H*, NH₂), 6.68 – 6.74 (m, 1H, ArH), 6.92 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 0.8$ Hz, 1H, ArH), 7.21 – 7.27 (m, 1H, ArH), 7.49 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, 2H, ArH), 8.04 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 8.09 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, 2H, ArH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 20.7 (CH₃), 107.7 (C), 115.7 (CH), 116.2 (CH), 119.8 (2x CH), 128.2 (CH), 130.4 (2x CH), 131.3 (CH), 133.9 (C), 139.9 (C), 146.9 (C), 164.4 (C).

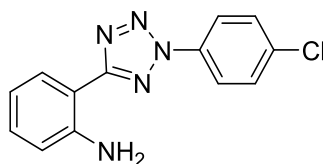
(34) 2-(2-(4-Trifluormethylphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)-anilin

wurde aus **14** gemäß ASV 6.1.2.7 als weißer Feststoff quantitativ erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 6.38 (br, 2H*, NH₂), 6.70 – 6.75 (m, 1H, ArH), 6.93 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 7.23 – 7.28 (m, 1H, ArH), 8.04 – 8.09 (m, 3H, ArH), 8.46 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, 2H, ArH).

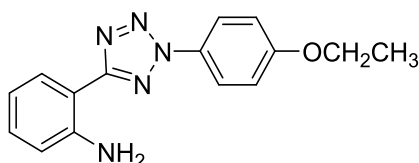
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 107.3 (C), 115.7 (CH), 116.3 (CH), 120.5 (2x CH), 123.7 (q, $^1J_{\text{CF}} = 272.2$ Hz, C), 127.3 (q, $^3J_{\text{CF}} = 3.4$ Hz, 2x CH), 128.4 (CH), 129.8 (q, $^2J_{\text{CF}} = 32.5$ Hz, C), 131.6 (CH), 138.7 (C), 147.1 (C), 164.7 (C).

(35) 2-(2-(4-Chlorphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)-anilin



wurde aus **15** gemäß ASV 6.1.2.7 als weißer Feststoff erhalten, das sich aber unverzüglich unter Braunfärbung zu zersetzen begann. Daher ist auf die Aufnahme von NMR-Spektren verzichtet worden.

(36) 2-(2-(4-Ethoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)-anilin

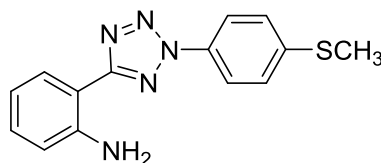


wurde aus **17** gemäß ASV 6.1.2.7 als weißer Feststoff quantitativ erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 1.38 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 3H, CH₃), 4.15 (q, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 2H, CH₂), 6.34 (br, 2H*, NH₂), 6.68 – 6.73 (m, 1H, ArH), 6.91 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 7.18 – 7.25 (m, 3H, ArH), 8.03 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 8.08 – 8.13 (m, 2H, ArH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO) δ 14.5 (CH₃), 63.7 (CH₂), 107.8 (C), 115.4 (2x CH), 115.7 (CH), 116.2 (CH), 121.6 (2x CH), 128.2 (CH), 129.4 (C), 131.3 (CH), 146.8 (C), 159.6 (C), 164.3 (C).

(37) 2-(2-(4-(Methylthio)phenyl)-2H-tetrazol-5-yl)-anilin

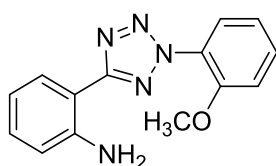


wurde aus **16** gemäß ASV 6.1.2.7 als gelber Feststoff quantitativ erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 2.57 (s, 3H, CH₃), 6.35 (br, 2H*, NH₂), 6.68 – 6.73 (m, 1H, ArH), 6.92 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 7.22 – 7.26 (m, 1H, ArH), 7.52 – 7.55 (m, 2H, ArH), 8.04 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 8.11 – 8.16 (m, 2H, ArH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 14.5 (CH₃), 107.6 (C), 115.7 (CH), 116.2 (CH), 120.3 (2x CH), 126.6 (2x CH), 128.3 (CH), 131.4 (CH), 133.0 (C), 141.1 (C), 146.9 (C), 164.4 (C).

(38) 2-(2-(2-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)-anilin

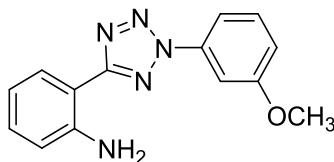


wurde aus **18** gemäß ASV 6.1.2.7 als weißer Feststoff quantitativ erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.85 (s, 3H, OCH₃), 6.29 (br, 2H*, NH₂), 6.68 – 6.73 (m, 1H), 6.90 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.19 – 7.26 (m, 2H, ArH), 7.40 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.66 – 7.70 (m, 1H, ArH), 7.72 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, 1H, ArH), 8.00 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 56.3 (CH₃), 107.8 (C), 113.4 (CH), 115.8 (CH), 116.2 (CH), 120.7 (CH), 125.4 (C), 127.3 (CH), 128.1 (CH), 131.2 (CH), 132.6 (CH), 146.8 (C), 153.4 (C), 164.1 (C).

(39) 2-(2-(3-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)-anilin

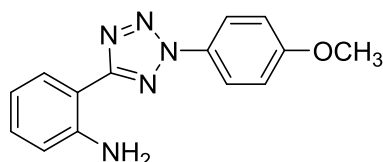


wurde aus **19** gemäß ASV 6.1.2.7 als weißer Feststoff quantitativ erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.90 (s, 3H, OCH₃), 6.35 (br, 2H*, NH₂), 6.69 – 6.74 (m, 1H, ArH), 6.92 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 7.17 – 7.20 (m, 1H, ArH), 7.22 – 7.27 (m, 1H, ArH), 7.60 (t, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 7.73 (t, $^4J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz, 1H, ArH), 7.76 – 7.80 (m, 1H, ArH), 8.05 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 55.7 (CH₃), 105.5 (CH), 107.6 (C), 112.0 (CH), 115.72 (CH), 115.75 (CH), 116.3(CH), 128.3 (CH), 131.0 (CH), 131.4 (CH), 137.0 (C), 146.9 (C), 160.2 (C), 164.5 (C).

(40) 2-(2-(4-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)-anilin

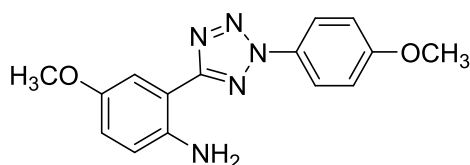


wurde aus **20** gemäß ASV 6.1.2.7 als weißer Feststoff quantitativ erhalten.

^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.87 (s, 3H, OCH₃), 6.34 (br, 2H*, NH₂), 6.68 – 6.74 (m, 1H, ArH), 6.91 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 7.19 – 7.25 (m, 3H, ArH), 8.03 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 8.09 – 8.15 (m, 2H, ArH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO) δ 55.7 (CH₃), 107.8 (C), 115.0 (2x CH), 115.7 (CH), 116.2 (CH), 121.6 (2x CH), 128.2 (CH), 129.5 (C), 131.3 (CH), 146.9 (C), 160.3 (C), 164.3 (C).

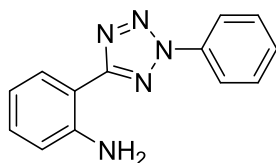
(41) 4-Methoxy-2-(2-(4-methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)-anilin



wurde aus **21** gemäß ASV 6.1.2.7 als weißer Feststoff quantitativ erhalten.

^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 3.74 (s, 3H, OCH₃), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 5.97 (br, 2H*, NH₂), 6.88 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$ Hz, 1H, ArH), 6.94 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 3.0$ Hz, 1H, ArH), 7.19 – 7.24 (m, 2H, ArH), 7.56 (d, $^4J_{\text{HH}} = 2.9$ Hz, 1H, ArH), 8.10 – 8.14 (m, 2H, ArH).

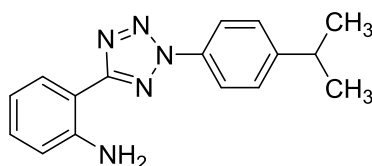
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 55.5 (CH₃), 55.7 (CH₃), 107.8 (C), 111.2 (CH), 115.1 (2x CH), 117.9 (CH), 119.5 (CH), 121.7 (2x CH), 129.5 (C), 141.3 (C), 150.1 (C), 160.3 (C), 164.2 (C).

(42) 2-(2-Phenyl-2H-tetrazol-5-yl)-anilin

wurde aus **22** gemäß ASV 6.1.2.7 als weißer Feststoff quantitativ erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 6.36 (br, 2H*, NH₂), 6.69 – 6.74 (m, 1H, ArH), 6.93 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.21 – 7.28 (m, 1H, ArH), 7.59 – 7.64 (m, 1H, ArH), 7.66 – 7.72 (m, 2H, ArH), 8.05 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz, 1H, ArH), 8.19 – 8.24 (m, 2H, ArH).

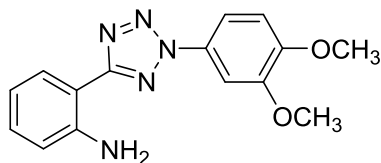
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 107.6 (C), 115.7 (CH), 116.3 (CH), 119.9 (2x CH), 128.3 (CH), 130.01 (CH), 130.04 (2x CH), 131.4 (CH), 136.1 (C), 146.9 (C), 164.5 (C).

(43) 2-(2-(4-Isopropylphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)-anilin

wurde aus **23** gemäß ASV 6.1.2.7 als weißer Feststoff quantitativ erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl₃) δ 1.31 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 6H, CH₃), 3.02 (sept, $^3J_{\text{HH}} = 6.9$ Hz, 1H, CH), 6.81 – 6.87 (m, 2H, ArH), 7.24 – 7.30 (m, 1H, ArH), 7.40 – 7.45 (m, 2H, ArH), 8.07 – 8.11 (m, 2H, ArH), 8.24 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH); -NH₂ ausgetauscht.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 24.0 (2x CH₃), 34.1 (CH), 110.0 (C), 116.8 (CH), 117.7 (CH), 120.1 (2x CH), 127.8 (2x CH), 129.1 (CH), 131.5 (CH), 134.9 (C), 146.0 (C), 151.0 (C), 165.1 (C).

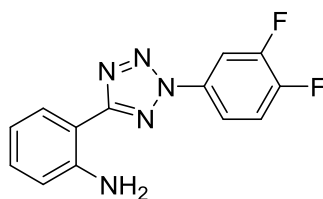
(44) 2-(2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)-anilin

wurde aus **24** gemäß ASV 6.1.2.7 als weißer Feststoff quantitativ erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.92 (s, 3H, OCH₃), 6.34 (br, 2H*, NH₂), 6.69 – 6.73 (m, 1H, ArH), 6.91 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 7.20 – 7.26 (m, 2H, ArH), 7.69 – 7.76 (m, 2H, ArH), 8.03 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 55.9 (CH₃), 56.0 (CH₃), 104.1 (CH), 107.7 (C), 112.0 (CH), 112.5 (CH), 115.7 (CH), 116.2 (CH), 128.3 (CH), 129.5 (C), 131.3 (CH), 146.9 (C), 149.4 (C), 150.1 (C), 164.3 (C).

(45) 2-(2-(3,4-Difluorphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)-anilin

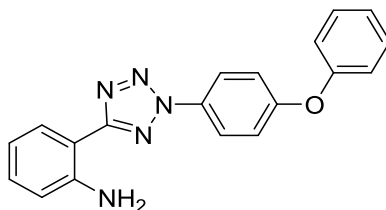


wurde aus **25** gemäß ASV 6.1.2.7 als weißer Feststoff quantitativ erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 6.36 (s, 2H*, NH₂), 6.71 (ddd, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 6.92 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 0.8$ Hz, 1H, ArH), 7.25 (ddd, $^3J_{\text{HH}} = 8.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 7.78 (dt, $^3J_{\text{HF}} = 10.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 8.8$ Hz, 1H, ArH), 8.05 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 8.10 – 8.15 (m, 1H, ArH), 8.43 (ddd, $^3J_{\text{HF}} = 11.0$ Hz, $^4J_{\text{HF}} = 7.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz, 1H, ArH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 107.2 (C), 110.40 (d, $^2J_{\text{CF}} = 22.7$ Hz, CH), 115.7 (CH), 116.3 (CH), 117.07 (dd, $^3J_{\text{CF}} = 7.1$ Hz, $^4J_{\text{CF}} = 3.5$ Hz, CH), 118.98 (d, $^2J_{\text{CF}} = 19.1$ Hz, CH), 128.3 (CH), 131.6 (CH), 132.58 (dd, $^3J_{\text{CF}} = 8.9$ Hz, $^4J_{\text{CF}} = 3.2$ Hz, C), 147.0 (C), 149.71 (dd, $^1J_{\text{CF}} = 248.1$ Hz, $^2J_{\text{CF}} = 13.4$ Hz, C), 150.04 (dd, $^1J_{\text{CF}} = 249.1$ Hz, $^2J_{\text{CF}} = 12.5$ Hz, C), 164.6 (C).

(46) 2-(2-(4-Phenoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)-anilin

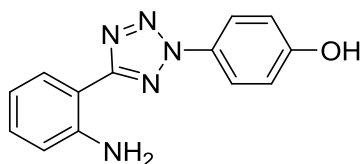


wurde aus **26** (1 g, 2.78 mmol) gemäß ASV 6.1.2.7 als rotes Rohprodukt isoliert, das über eine Säule (Fließmittel: DCM/PÄ = 2:1) gereinigt und aus EtOH umkristallisiert (leicht rosafarbene Nadeln; 0.65 g, 1.97 mmol, 71 % d. Th.).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 6.35 (br, 2H*, NH₂), 6.69 – 6.73 (m, 1H, ArH), 6.90 – 6.94 (m, 1H, ArH), 7.13 – 7.17 (m, 2H, ArH), 7.21 – 7.29 (m, 4H, ArH), 7.45 – 7.50 (m, 2H, ArH), 8.02 – 8.05 (m, 1H, ArH), 8.19 – 8.23 (m, 2H, ArH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 107.6 (C), 115.7 (CH), 116.2 (CH), 119.1 (2x CH), 119.4 (2x CH), 122.0 (2x CH), 124.4 (CH), 128.2 (CH), 130.3 (2x CH), 131.4 (CH), 146.9 (C), 155.6 (C), 158.1 (C), 164.4 (C).

(47) 2-(2-(4-Hydroxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)-anilin^[215]

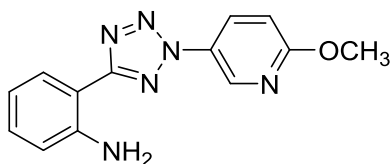


wurde erhalten, indem eine Tribromboran-Lösung (1.1 ml, 11.22 mmol, 6 Äq.) in trockenem Methylenchlorid (10 ml) zu einer Lösung von **40** (0.5 g, 1.87 mmol, 1 Äq.) in trockenem Methylenchlorid (10 ml) unter Argonatmosphäre bei -78 °C langsam zutropft wurde. Nach dreistündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde der Reaktionsansatz auf unter 0 °C gekühlt und langsam mit demineralisiertem Wasser (20 ml) versetzt. Er wurde unter starkem Rühren mit Natronlauge (2 N) bis zur Bildung einer Lösung versetzt. Nach Ansäuern (pH 4 – 5) mit Salzsäure (2 N) wurden die Phasen getrennt, und die wässrige Phase mit Methylenchlorid gewaschen. Nach Trocknung der vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat und Abziehen des Lösungsmittels wurde das Produkt DC-rein erhalten (weißer Feststoff; 0.41 g, 1.6 mmol, 87 % d. Th.).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 6.33 (br, 2H*, NH₂), 6.67 – 6.73 (m, 1H, ArH), 6.90 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 6.99 – 7.05 (m, 2H, ArH), 7.19 – 7.26 (m, 1H, ArH), 7.97 – 8.04 (m, 3H, ArH), 10.17 (s, 1H*, OH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 107.9 (C), 115.7 (CH), 116.2 (3x CH), 121.7 (2x CH), 128.2 (CH), 128.3 (C), 131.2 (CH), 146.8 (C), 158.9 (C), 164.2 (C).

(48) 2-(2-(6-Methoxypyridin-3-yl)-2H-tetrazol-5-yl)-anilin

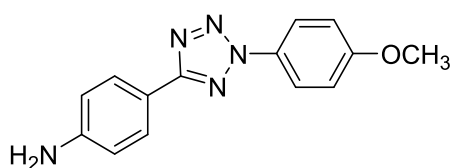


wurde aus **27** gemäß ASV 6.1.2.7 als rötlicher Feststoff erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.97(s, 3H, OCH₃), 6.34 (br, 2H*, NH₂), 6.68 – 6.73 (m, 1H, ArH), 6.92 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 7.12 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 9.0$ Hz, $^5J_{\text{HH}} = 0.6$ Hz, 1H, ArH), 7.21 – 7.26 (m, 1H, ArH), 8.03 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 8.50 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, 1H, ArH), 9.01 (dd, $^4J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, $^5J_{\text{HH}} = 0.6$ Hz, 1H, ArH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 54.0 (CH₃), 107.5 (C), 111.6 (CH), 115.7 (CH), 116.3 (CH), 128.0 (C), 128.3 (CH), 131.4 (CH), 131.8 (CH), 139.0 (CH), 146.9 (C), 164.0 (C), 164.5 (C).

(49) 4-(2-(4-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)-anilin

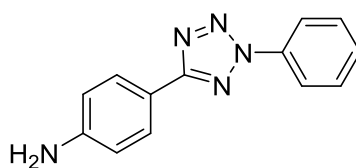


wurde aus **28** gemäß ASV 6.1.2.7 als weißer Feststoff quantitativ erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.86 (s, 3H, OCH₃), 5.66 (s, 2H*, NH₂), 6.67 – 6.75 (m, 2H, ArH), 7.15 – 7.23 (m, 2H, ArH), 7.78 – 7.86 (m, 2H, ArH), 7.99 – 8.07 (m, 2H, ArH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 55.6 (CH₃), 113.3 (C), 113.7 (2x CH), 115.0 (2x CH), 121.3 (2x CH), 127.7 (2x CH), 129.7 (C), 151.2 (C), 160.0 (C), 165.1 (C).

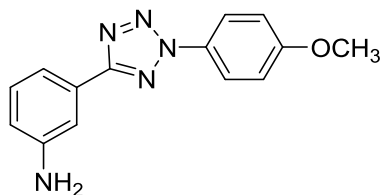
(50) 4-(2-Phenyl-2H-tetrazol-5-yl)-anilin



wurde aus **29** gemäß ASV 6.1.2.7 als weißer Feststoff quantitativ erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 5.68 (s, 2H*, NH₂), 6.68 – 6.75 (m, 2H, ArH), 7.57 – 7.62 (m, 1H, ArH), 7.65 – 7.71 (m, 2H, ArH), 7.80 – 7.87 (m, 2H, ArH), 8.08 – 8.15 (m, 2H, ArH).

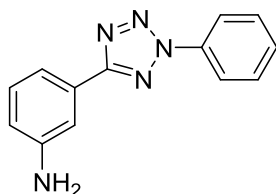
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 113.1 (C), 113.7 (2x CH), 119.6 (2x CH), 127.8 (2x CH), 129.7 (CH), 130.0 (2x CH), 136.3 (C), 151.3 (C), 165.3 (C).

(51) 3-(2-(4-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)-anilin

wurde aus **30** gemäß ASV 6.1.2.7 als weißer Feststoff quantitativ erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.87 (s, 3H, OCH₃), 5.40 (br, 2H*, NH₂), 6.72 – 6.76 (m, 1H, ArH), 7.19 – 7.23 (m, 3H, ArH), 7.29 (dt, ³*J*_{HH} = 7.5 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.3 Hz, 1H, ArH), 7.39 – 7.42 (m, 1H, ArH), 8.01 – 8.07 (m, 2H, ArH).

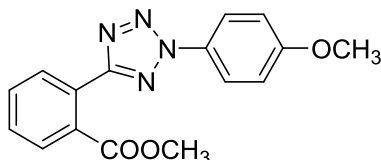
¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.7 (CH₃), 111.5 (CH), 113.8 (CH), 115.1 (2x CH), 116.1 (CH), 121.5 (2x CH), 127.0 (C), 129.6 (C), 129.7 (CH), 149.4 (C), 160.3 (C), 164.9 (C).

(52) 3-(2-Phenyl-2H-tetrazol-5-yl)-anilin

wurde aus **31** gemäß ASV 6.1.2.7 als weißer Feststoff quantitativ erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 5.42 (br, 2H*, NH₂), 6.72 – 6.78 (m, 1H, ArH), 7.22 (t, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, 1H, ArH), 7.30 – 7.34 (m, 1H, ArH), 7.41 – 7.45 (m, 1H, ArH), 7.60 – 7.64 (m, 1H), 7.67 – 7.72 (m, 2H), 8.11 – 8.17 (m, 2H, ArH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 111.5 (CH), 113.9 (CH), 116.2 (CH), 119.8 (2x CH), 126.8 (C), 129.7 (CH), 130.0 (2x CH), 130.1 (CH), 136.2 (C), 149.4 (C), 165.1 (C).

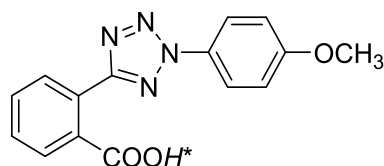
(53) 2-(2-(4-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)-benzoesäure-methylester^[214]

wurde aus 4-Methoxyanilin (0.54 g, 4.4 mmol) und **7** (1.4 g, 4.4 mmol) gemäß ASV 6.1.2.7 dargestellt (dunkelrotes Öl; 0.56 g, 1.8 mmol, 41 % d. Th.).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.74 (s, 3H, COOCH₃), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 7.20 – 7.26 (m, 2H, ArH), 7.72 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz, 1H, ArH), 7.77 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1H), 7.81 – 7.85 (m, 1H, ArH), 7.95 – 7.99 (m, 1H, ArH), 8.02 – 8.07 (m, 2H, ArH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 52.3 (CH₃), 55.7 (CH₃), 115.2 (2x CH), 121.5 (2x CH), 125.4 (C), 129.1 (CH), 129.4 (C), 129.7 (CH), 130.7 (CH), 131.6 (CH), 131.8 (C), 160.4 (C), 163.5 (C), 167.7 (C).

(54) 2-(2-(4-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)-benzoesäure^[214]



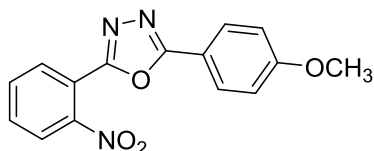
wurde durch Erwärmen einer Lösung von **53** (0.55 g, 2.22 mmol, 1 Äq.) in MeOH/H₂O (5:1, 20 ml) in Gegenwart von Lithiumhydroxid-hydrat (0.28 g, 6.66 mmol, 3 Äq.) unter Rückfluss bis zur vollständigen Umsetzung (DC-Kontrolle) dargestellt (bräunlicher kristalliner Feststoff; 0.53 g, 2.11 mmol, 95 % d. Th.).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.87 (s, 3H, OCH₃), 7.19 – 7.27 (m, 2H, ArH), 7.69 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H), 7.73 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H), 7.83 – 7.88 (m, 2H, ArH), 8.02 – 8.09 (m, 2H, ArH); Signal für –COOH fehlt.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 55.7 (CH₃), 115.2 (2x CH), 121.5 (2x CH), 125.9 (C), 129.2 (CH), 129.5 (C), 130.0 (CH), 130.5 (CH), 131.2 (CH), 133.2 (C), 160.4 (C), 164.0 (C), 168.4 (C).

6.1.3.2 Vorstufen für oxadiazolhaltige Testsubstanzen

(55) 2-(4-Methoxyphenyl)-5-(2-nitrophenyl)-1,3,4-oxadiazol

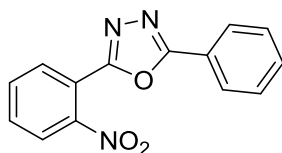


wurde aus 4-Methoxy-benzoesäure (0.76 g, 5 mmol) und 2-Nitrobenzhydrazid (0.91 g, 5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.5.B erhalten und aus EtOH umkristallisiert (braune Nadeln; 0.47 g, 1.6 mmol, 32 % d. Th.).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 3.87 (s, 3H, OCH_3), 7.16 – 7.20 (m, 2H, ArH), 7.91 – 8.00 (m, 4H, ArH), 8.16 – 8.18 (m, 1H, ArH), 8.18 – 8.21 (m, 1H, ArH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 55.5 (CH_3), 115.0 (2x CH), 115.1 (C), 117.0 (C), 124.6 (CH), 128.6 (2x CH), 131.1 (CH), 133.3 (CH), 133.5 (CH), 147.9 (C), 160.0 (C), 162.4 (C), 164.7 (C).

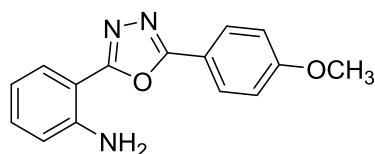
(56) 2-(2-Nitrophenyl)-5-phenyl-1,3,4-oxadiazol



wurde aus Benzoesäure (0.61 g, 5 mmol) und 2-Nitrobenzhydrazid (0.91 g, 5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.5.A hergestellt und aus MeOH umkristallisiert (hellbrauner Feststoff; 0.28 g, 1.1 mmol, 21 % d. Th.).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 7.61 – 7.70 (m, 3H, ArH), 7.91 – 8.00 (m, 2H, ArH), 8.03 – 8.07 (m, 2H, ArH), 8.15 – 8.21 (m, 1H, ArH), 8.15 – 8.24 (m, 1H, ArH).

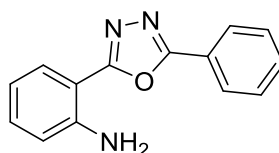
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 116.9 (C), 122.8 (C), 124.7 (CH), 126.7 (2x CH), 129.5 (2x CH), 131.3 (CH), 132.4 (CH), 133.4 (CH), 133.6 (CH), 147.9 (C), 160.6 (C), 164.8 (C).

(57) 2-(5-(4-Methoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-anilin

wurde aus **55** gemäß ASV 6.1.2.7 als weißer Feststoff quantitativ erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.87 (s, 3H), 6.67 – 6.76 (m, 2H), 6.74 (br, 2H*, NH₂), 6.92 (dd, ³*J*_{HH} = 8.4 Hz, ⁴*J*_{HH} = 0.8 Hz, 1H), 7.16 – 7.19 (m, 2H), 7.26 – 7.30 (m, 1H), 7.85 (dd, ³*J*_{HH} = 8.0 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.5 Hz, 1H), 8.06 – 8.09 (m, 2H).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.5 (CH₃), 104.1 (C), 114.8 (2x CH), 115.5 (C), 115.6 (CH), 115.8 (CH), 127.6 (CH), 128.5 (2x CH), 132.3 (CH), 147.7 (C), 161.9 (C), 162.0 (C), 163.8 (C).

(58) 2-(5-Phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-anilin

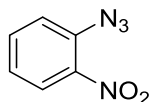
wurde aus **56** gemäß ASV 6.1.2.7 als weißer Feststoff quantitativ erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.69 – 6.74 (m, 1H, ArH), 6.76 (br, 2H*, NH₂), 6.93 (dd, ³*J* = 8.5 Hz, ⁴*J* = 1.0 Hz, 1H), 7.27 – 7.32 (m, 1H), 7.60 – 7.68 (m, 4H), 7.87 (dd, ³*J* = 8.0 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.13 – 8.16 (m, 2H).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 104.0 (C), 115.5 (CH), 115.9 (CH), 123.3 (C), 126.6 (2x CH), 127.7 (CH), 129.3 (2x CH), 131.9 (CH), 132.5 (CH), 147.8 (C), 162.0 (C), 164.3 (C).

6.1.3.3 Vorstufen für triazolhaltige Testsubstanzen

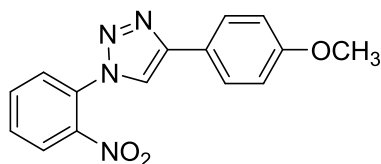
(59) 2-Nitrophenylazid^[205]



Zu einer Suspension von 2-Nitranilin (4.14 g, 30 mmol, 1 Äq.) in demin. Wasser (20 ml) wurde unter kräftigem Rühren konz. Salzsäure (7.6 ml, 90 mmol, 3 Äq.) bei unter 0 °C zugetropft. Eine eiskalte wässrige Natriumnitritlösung (2.28 g, 33 mmol, 1.1 Äq. in 10 ml) wurde hinzugegeben, und das Gemisch bis zur vollständigen Lösung bei unter 0 °C gerührt. Schwerlösliche Nebenprodukte des verunreinigten Eduktes wurden durch zügiges Abfiltrieren entfernt. Durch langsames Hinzutropfen einer eiskalten wässrigen Natriumazidlösung (1.95 g, 30 mmol, 1 Äq. in 15 ml) unter kräftigem Rühren fiel das Rohprodukt als beige- bis braunfarbiges Präzipitat aus. Nach Ende der durch den freiwerdenden Stickstoff bedingten Schaumbildung wurde das Rohprodukt abfiltriert, mit demineralisiertem Wasser neutral gewaschen und aus EtOH umkristallisiert (hellbrauner Feststoff; 3.8 g, 23 mmol, 77 % d. Th.).

Das Produkt wurde im Kühlschrank gelagert, um die bei RT plötzlich auftretenden Zersetzungsreaktionen unter Braunfärbung zu vermeiden.

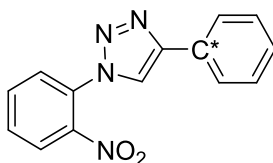
(60) 4-(4-Methoxyphenyl)-1-(2-nitrophenyl)-1H-1,2,3-triazol



wurde aus 4-Methoxy-phenylacetylen (1 g, 7.56 mmol) und **59** (1.37 g, 8.32 mmol) in Gegenwart von CuSO₄·5H₂O (0.019 g, 0.0756 mmol), Natriumascorbat (0.030 g, 0.0151 mmol) und Benzoesäure (0.092 g, 0.756 mmol) gemäß ASV 6.1.2.6 erhalten und aus EtOH/THF (10:1) umkristallisiert (gelbe Mikrokristalle; 1.43 g, 4.83 mmol, 64 % d. Th.).

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.82 (s, 3H, OCH₃), 7.06 – 7.09 (m, 2H, ArH), 7.83 – 7.88 (m, 3H, ArH), 7.93 – 8.01 (m, 2H, ArH), 8.23 (dd, ³J_{HH} = 8.1 Hz, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1H, ArH), 9.05 (s, 1H, Triazol-H).

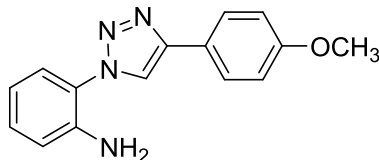
¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.4 (CH₃), 114.7 (2x CH), 121.8 (CH), 122.5 (CH), 125.7 (CH), 126.9 (2x CH), 127.4 (CH), 129.3 (C), 131.3 (CH), 134.6 (CH), 144.2 (C), 147.2 (C), 159.6 (C).

(61) 1-(2-Nitrophenyl)-4-phenyl-1H-1,2,3-triazol

wurde aus Phenylacetylen (0.77 g, 7.56 mmol) und **59** (1.37 g, 8.32 mmol) in Gegenwart von $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.019 g, 0.0756 mmol), Natriumascorbat (0.030 g, 0.0151 mmol) und Benzoesäure (0.092 g, 0.756 mmol) gemäß ASV 6.1.2.6 erhalten und aus EtOH/THF (10:1) umkristallisiert (gelbliche Plättchen; 0.99 g, 3.70 mmol, 49 % d. Th.).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 7.38 – 7.43 (m, 1H, ArH), 7.49 – 7.53 (m, 2H, ArH), 7.85 – 7.90 (m, 1H, ArH), 7.92 – 8.02 (m, 4H, ArH), 8.25 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1H, ArH), 9.17 (s, 1H, Triazol-H).

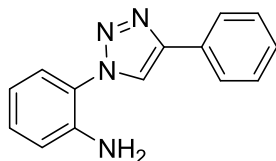
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 122.7 (CH), 125.4 (2x CH), 125.5 (CH), 127.4 (CH), 128.4 (CH), 129.0 (2x CH), 129.8 (C), 131.2 (CH), 134.4 (CH), 144.0 (C), 147.0 (C); Signal für Phenyl-C fehlt.

(62) 2-(4-(4-Methoxyphenyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-anilin

wurde aus **60** gemäß ASV 6.1.2.7 als weißer Feststoff quantitativ erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 3.86 (s, 3H, OCH_3), 6.84 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$ Hz, 1H, ArH), 6.90 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 6.97 – 7.02 (m, 2H, ArH), 7.22 – 7.29 (m, 2H, ArH), 7.80 – 7.86 (m, 2H, ArH), 7.97 (s, 1H, Triazol-H); $-\text{NH}_2$ -Austausch.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 55.5 (CH_3), 114.5 (2x CH), 117.8 (CH), 118.4 (CH), 119.6 (CH), 123.0 (C), 123.3 (C), 124.4 (CH), 127.3 (2x CH), 130.2 (CH), 141.0 (C), 147.6 (C), 160.0 (C).

(63) 2-(4-Phenyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-anilin

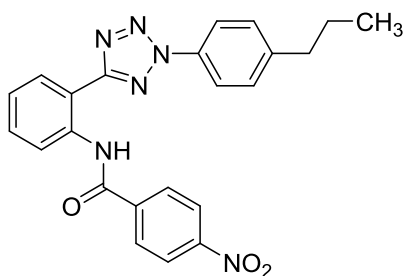
wurde aus **61** gemäß ASV 6.1.2.7 als weißer Feststoff quantitativ erhalten.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 5.46 (br, 2H*, NH₂), 6.69 – 6.75 (m, 1H, ArH), 6.95 (dd, ³*J*_{HH} = 8.2 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.3 Hz, 1H, ArH), 7.20 – 7.25 (m, 1H, ArH), 7.31 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.5 Hz, 1H, ArH), 7.34 – 7.39 (m, 1H, ArH), 7.46 – 7.51 (m, 2H, ArH), 7.93 – 7.98 (m, 2H, ArH), 8.89 (s, 1H, Triazol-H).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 116.0 (CH), 116.7 (CH), 121.9 (C), 122.4 (CH), 125.3 (2x CH), 125.4 (CH), 127.9 (CH), 128.8 (2x CH), 130.0 (C), 130.5 (CH), 142.4 (C), 146.3 (C).

6.1.3.4 Testsubstanzen mit Nitrogruppe

(64) 4-Nitro-*N*-(2-(2-(4-propylphenyl)-2*H*-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid



wurde aus **32** (0.14 g, 0.5 mmol) und 4-Nitro-benzoylchlorid (0.093 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (2:1) umkristallisiert (gelbliche Nadeln; 0.12 g, 0.29 mmol, 57 % d. Th.).

Smp.: 174 – 175 °C (Z)

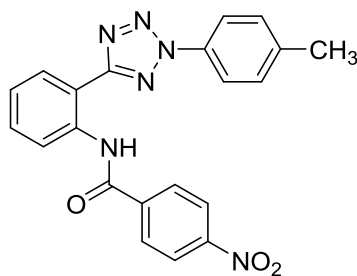
UV (MeOH): λ_{\max} (log ϵ) = 263.0 (4.45)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0.92 (t, ³*J*_{HH} = 7.3 Hz, 3H, CH₃), 1.60 – 1.69 (m, 2H, CH₂), 2.67 (t, ³*J*_{HH} = 7.5 Hz, 2H, CH₂), 7.44 – 7.50 (m, 3H, ArH), 7.64 – 7.69 (m, 1H, ArH), 7.94 – 7.99 (m, 2H, ArH), 8.15 (dd, ³*J*_{HH} = 8.2 Hz, ⁴*J*_{HH} = 0.9 Hz, 1H, ArH), 8.23 – 8.29 (m, 3H, ArH), 8.36 – 8.41 (m, 2H, ArH), 10.92 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.4 (CH₃), 23.7 (CH₂), 36.6 (CH₂), 119.2 (C), 119.8 (2x CH), 123.7 (2x CH), 124.9 (CH), 125.8 (CH), 129.0 (2x CH), 129.1 (CH), 129.9 (2x CH), 131.3 (CH), 134.0 (C), 136.0 (C), 140.2 (C), 144.8 (C), 149.4 (C), 163.2 (C), 163.8 (C).

C₂₃H₂₀N₆O₃ (428.44)	Ber.:	C, 64.48	H, 4.71	N, 19.62
	Gef.:	C, 64.46	H, 4.76	N, 19.25

(65) *N*-(2-(2-(4-Methylphenyl)-2*H*-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-nitro-benzamid



wurde aus **33** (0.35 g, 1.4 mmol) und 4-Nitro-benzoylchlorid (0.26 g, 1.4 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (2:1) umkristallisiert (gelblichen Nadeln; 0.36 g, 0.90 mmol, 64 % d. Th.).

Smp.: 187 – 188 °C (Z)

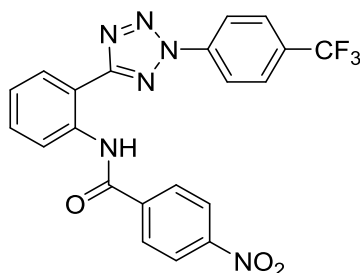
UV (MeOH): λ_{\max} (log ϵ) = 262.0 (4.46)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 2.42 (s, 3H, CH₃), 7.44 – 7.50 (m, 1H, ArH), 7.64 – 7.69 (m, 1H, ArH), 7.92 – 7.97 (m, 2H, ArH), 8.14 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 0.8$ Hz, 1H, ArH), 8.24 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz, 1H, ArH), 8.25 – 8.29 (m, 2H, ArH), 8.37 – 8.42 (m, 2H, ArH), 10.91 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 20.7 (CH₃), 119.2 (C), 119.7 (2x CH), 123.8 (2x CH), 124.9 (CH), 125.8 (CH), 129.0 (2x CH), 129.1 (CH), 130.5 (2x CH), 131.3 (CH), 133.8 (C), 135.9 (C), 140.2 (C), 140.3 (C), 149.4 (C), 163.2 (C), 163.8 (C).

C₂₁H₁₆N₆O₃ (400.40)	Ber.:	C, 62.99	H, 4.03	N, 20.99
	Gef.:	C, 63.00	H, 4.16	N, 20.87

(66) 4-Nitro-N-(2-(2-(4-trifluormethyl-phenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid



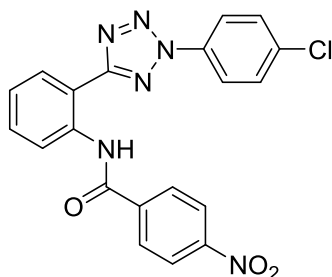
wurde aus **34** (0.15 g, 0.5 mmol) und 4-Nitro-benzoylchlorid (0.093 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (2:1) umkristallisiert (gelbe Mikrokristalle; 0.11 g, 0.23 mmol, 46 % d. Th.).

Smp.: 209 - 210 °C (Z)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.50 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, 1H, ArH), 7.69 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$ Hz, 1H, ArH), 8.07 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, 2H, ArH), 8.10 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 8.22 – 8.27 (m, 3H, ArH), 8.30 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, 2H, ArH), 8.40 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.7$ Hz, 2H, ArH), 10.86 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 119.5 (C), 120.7 (2x CH), 123.73 (d, $^1J_{\text{CF}} = 272.2$ Hz, C), 123.9 (2x CH), 125.5 (CH), 126.1 (CH), 127.68 (q, $^3J_{\text{CF}} = 3.5$ Hz, 2x CH), 129.1 (2x CH), 129.5 (CH), 130.27 (d, $^2J_{\text{CF}} = 32.5$ Hz, C), 131.7 (CH), 136.2 (C), 138.7 (C), 140.3 (C), 149.6 (C), 163.9 (C), 164.0 (C).

C₂₁H₁₃F₃N₆O₃ (454.36)	Ber.:	C, 55.51	H, 2.88	N, 18.50
	Gef.:	C, 55.14	H, 2.96	N, 18.10

(67) N-(2-(2-(4-Chlorphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-nitro-benzamid

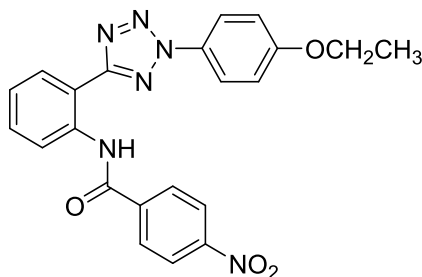
wurde aus **35** (0.14 g, 0.5 mmol) und 4-Nitro-benzoylchlorid (0.093 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (1:2) umkristallisiert (beigefarbener Feststoff; 0.090 g, 0.21 mmol, 43 % d. Th.).

Smp.: 213 – 214 °C (Z)

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.49 (td, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.1 Hz, 1H, ArH), 7.65 – 7.70 (m, 1H, ArH), 7.72 – 7.78 (m, 2H, ArH), 8.07 – 8.12 (m, 3H, ArH), 8.22 – 8.27 (m, 3H, ArH), 8.37 – 8.42 (m, 2H, ArH), 10.87 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 119.3 (C), 121.6 (2x CH), 123.8 (2x CH), 125.2 (CH), 125.9 (CH), 129.0 (2x CH), 129.3 (CH), 130.2 (2x CH), 131.4 (CH), 134.7 (C), 134.8 (C), 136.0 (C), 140.1 (C), 149.4 (C), 163.5 (C), 163.9 (C).

C₂₀H₁₃ClN₆O₃ (420.81)	Ber.:	C, 57.08	H, 3.11	N, 19.97
	Gef.:	C, 57.41	H, 3.51	N, 19.87

(68) N-(2-(2-(4-Ethoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-nitro-benzamid

wurde aus **36** (0.14 g, 0.5 mmol) und 4-Nitro-benzoylchlorid (0.093 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (4:3) umkristallisiert (gelbe Mikrokristalle; 0.13 g, 0.30 mmol, 60 % d. Th.).

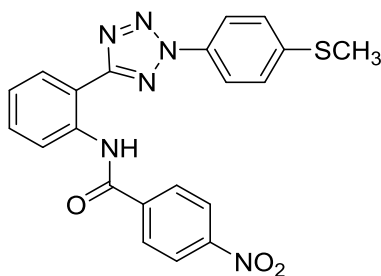
Smp: 198 – 199 °C (Z)

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ 1.37 (t, $^3J_{\text{HH}} = 6.9$ Hz, 3H, CH₃), 4.14 (q, $^3J_{\text{HH}} = 6.9$ Hz, 2H, CH₂), 7.18 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$ Hz, 2H, ArH), 7.47 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.66 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 7.97 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$ Hz, 2H, ArH), 8.16 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 8.24 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, 2H, ArH), 8.26 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, 2H, ArH), 8.40 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, 2H, ArH), 10.94 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 14.5 (CH₃), 63.7 (CH₂), 115.5 (2x CH), 119.1 (C), 121.6 (2x CH), 123.8 (2x CH), 124.8 (CH), 125.8 (CH), 129.0 (2x CH), 129.1 (CH), 129.2 (C), 131.2 (CH), 135.9 (C), 140.2 (C), 149.4 (C), 159.8 (C), 163.1 (C), 163.8 (C).

C₂₂H₁₈N₆O₄ (430.42) Ber.: C, 61.39 H, 4.22 N, 19.53
Gef.: C, 61.66 H, 4.30 N, 19.30

(69) N-(2-(2-(4-(Methylthio)phenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-nitrobenzamid



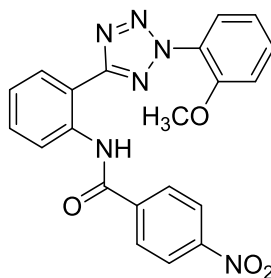
wurde aus **37** (0.15 g, 0.53 mmol) und 4-Nitro-benzoylchlorid (0.10 g, 0.53 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus THF umkristallisiert (gelber Feststoff; 0.15 g, 0.35 mmol, 66 % d. Th.).

Smp.: 194 – 195 °C (Z)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 2.57 (s, 3H, SCH₃), 7.47 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 7.53 – 7.49 (m, 2H, ArH), 7.66 (td, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 8.01 – 7.96 (m, 2H, ArH), 8.15 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 8.24 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, 1H, ArH), 8.28 – 8.24 (m, 2H, ArH), 8.42 – 8.38 (m, 2H, ArH), 10.91 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 14.4 (CH₃), 119.1 (C), 120.2 (2x CH), 123.8 (2x CH), 124.9 (CH), 125.8 (CH), 126.6 (2x CH), 129.0 (2x CH), 129.1 (CH), 131.3 (CH), 132.8 (C), 135.9 (C), 140.2 (C), 141.6 (C), 149.4 (C), 163.2 (C), 163.8 (C).

C₂₁H₁₆N₆O₃S (432.46) Ber.: C, 58.32 H, 3.73 N, 19.43
Gef.: C, 58.55 H, 4.04 N, 19.09

(70) N-(2-(2-(2-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl) 4-nitrobenzamid

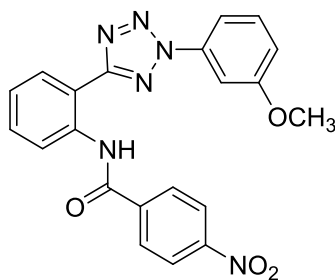
wurde aus **38** (0.13 g, 0.5 mmol) und 4-Nitro-benzoylchlorid (0.093 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (10:1) umkristallisiert (gelbe Nadeln; 0.12 g, 0.29 mmol, 58 % d. Th.).

Smp.: 176 – 177 °C (Z)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.77 (s, 3H, OCH₃), 7.20 (td, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.1 Hz, 1H, ArH), 7.40 (dd, ³*J*_{HH} = 8.5 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.46 (td, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.63 – 7.71 (m, 3H, ArH), 8.19 – 8.26 (m, 4H, ArH), 8.31 – 8.35 (m, 2H, ArH), 10.96 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 56.2 (CH₃), 113.5 (CH), 118.8 (C), 120.7 (CH), 123.6 (2x CH), 124.5 (CH), 125.2 (CH), 125.7 (C), 127.0 (CH), 128.9 (3x CH), 131.2 (CH), 132.8 (CH), 135.9 (C), 140.2 (C), 149.3 (C), 153.1 (C), 162.8 (C), 163.6 (C).

C₂₁H₁₆N₆O₃ (416.39)	Ber.:	C, 60.57	H, 3.87	N, 20.18
	Gef.:	C, 60.54	H, 3.95	N, 19.85

(71) N-(2-(2-(3-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-nitro-benzamid

wurde aus **39** (0.27 g, 1 mmol) und 4-Nitro-benzoylchlorid (0.19 g, 1 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (2:1) umkristallisiert (gelben Nadeln; 0.19 g, 0.45 mmol, 45 % d. Th.).

Smp.: 192 – 193 °C (Z)

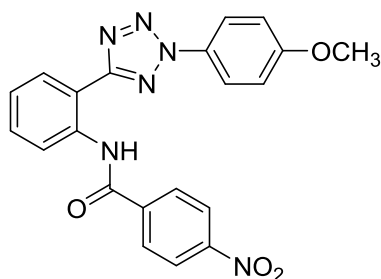
UV (MeOH): λ_{max} (log ε) = 258.0 (4.42)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.81 (s, 3H, OCH₃), 7.19 (dd, ³*J*_{HH} = 8.3 Hz, ⁴*J*_{HH} = 2.6 Hz, 1H, ArH), 7.47 – 7.51 (m, 2H, ArH), 7.57 (t, ³*J*_{HH} = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.64 – 7.70 (m, 2H, ArH), 8.11 (d, ³*J*_{HH} = 8.3 Hz, 1H, ArH), 8.28 (m, 3H, ArH), 8.39 (d, ³*J*_{HH} = 8.8 Hz, 2H, ArH), 10.88 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO) δ 55.6 (CH₃), 105.6 (CH), 111.8 (CH), 115.8 (CH), 119.2 (C), 123.8 (2x CH), 125.1 (CH), 125.9 (CH), 129.0 (2x CH), 129.1 (CH), 131.2 (CH), 131.3 (CH), 135.9 (C), 136.9 (C), 140.2 (C), 149.4 (C), 160.1 (C), 163.2 (C), 163.8 (C).

C₂₁H₁₆N₆O₄ (416.40)	Ber.:	C, 60.57	H, 3.87	N, 20.18
	Gef.:	C, 60.56	H, 3.83	N, 19.81

(72) N-(2-(2-(4-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-nitro-benzamid



wurde aus **40** (0.30 g, 1.12 mmol) und 4-Nitro-benzoylchlorid (0.21 g, 1.12 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (2:1) umkristallisiert (gelben Nadeln; 0.22 g, 0.52 mmol, 58 % d. Th.).

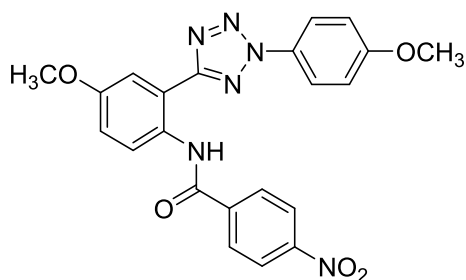
Smp.: 196 – 197 °C (Z)

UV (MeOH): λ_{max} (log ε) = 289.0 (4.43)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.86 (s, 3H, OCH₃), 7.17 – 7.21 (m, 1H, ArH), 7.47 (td, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.1 Hz, 1H, ArH), 7.63 – 7.69 (m, 1H, ArH), 7.97 – 8.01 (m, 2H, ArH), 8.15 – 8.19 (m, 1H, ArH), 8.24 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.4 Hz, 1H, ArH), 8.25 – 8.28 (m, 1H, ArH), 8.37 – 8.41 (m, 1H, ArH), 10.94 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.7 (CH₃), 115.05 (CH), 115.12 (2x CH), 119.1 (C), 121.6 (2x CH), 123.8 (2x CH), 124.7 (CH), 125.7 (CH), 129.0 (2x CH), 129.1 (CH), 129.4 (C), 131.2 (CH), 135.9 (C), 140.2 (C), 149.4 (C), 160.5 (C), 163.1 (C), 163.8 (C).

C₂₁H₁₆N₆O₄ (416.40)	Ber.:	C, 60.57	H, 3.87	N, 20.18
	Gef.:	C, 60.54	H, 4.01	N, 19.81

(73) N-(4-Methoxy-2-(2-(4-methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-nitrobenzamid

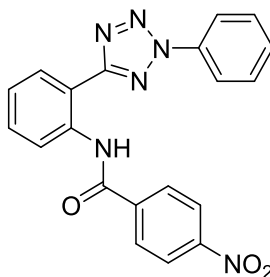
wurde aus **41** (0.15 g, 0.5 mmol) und 4-Nitro-benzoylchlorid (0.094 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (4:5) umkristallisiert (gelber Feststoff; 0.083 g, 0.19 mmol, 38 % d. Th.).

Smp.: 195 – 196 °C (Z)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.86 (s, 3H, OCH₃), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 7.16 – 7.20 (m, 2H, ArH), 7.25 (dd, ³J_{HH} = 8.9 Hz, ⁴J_{HH} = 3.0 Hz, 1H, ArH), 7.71 (d, ⁴J_{HH} = 3.0 Hz, 1H, ArH), 7.92 (d, ³J_{HH} = 8.9 Hz, 1H, ArH), 7.95 – 7.98 (m, 2H, ArH), 8.24 (d, ³J_{HH} = 8.8 Hz, 2H, ArH), 8.36 – 8.40 (m, 2H, ArH), 10.68 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.6 (CH₃), 55.7 (CH₃), 113.4 (CH), 115.1 (2x CH), 116.9 (CH), 121.3 (C), 121.5 (2x CH), 123.7 (2x CH), 127.5 (CH), 128.8 (C), 128.9 (2x CH), 129.4 (C), 140.3 (C), 149.3 (C), 156.9 (C), 160.4 (C), 162.9 (C), 163.8 (C).

C₂₂H₁₈N₆O₅ (446.42)	Ber.:	C, 59.19	H, 4.06	N, 18.83
	Gef.:	C, 59.03	H, 3.95	N, 18.71

(74) 4-Nitro-N-(2-(2-phenyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid

wurde aus **42** (0.12 g, 0.5 mmol) und 4-Nitro-benzoylchlorid (0.093 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (5:4) umkristallisiert (gelbe Prismen; 0.16 g, 0.41 mmol, 82 % d. Th.).

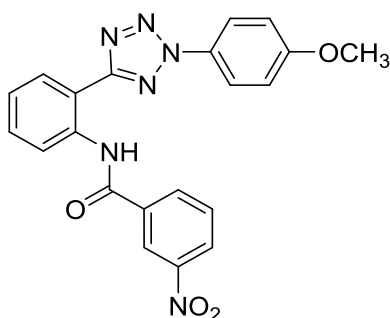
Smp.: 177 – 178 °C (Z)

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 7.33 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.57 – 7.66 (m, 4H, ArH), 8.19 – 8.23 (m, 2H, ArH), 8.33 – 8.37 (m, 2H, ArH), 8.39 – 8.43 (m, 3H, ArH), 8.92 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 11.81 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 114.6 (C), 120.2 (2x CH), 121.3 (CH), 124.2 (2x CH), 124.6 (CH), 128.9 (2x CH), 128.9 (CH), 130.1 (2x CH), 130.7 (CH), 132.1 (CH), 136.6 (C), 137.4 (C), 140.8 (C), 150.0 (C), 163.8 (C), 164.6 (C).

$\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{N}_6\text{O}_3$ (386.37)	Ber.:	C, 62.17	H, 3.65	N, 21.75
	Gef.:	C, 61.99	H, 3.68	N, 21.70

(75) *N*-(2-(2-(4-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-3-nitro-benzamid



wurde aus **40** (0.066 g, 0.25 mmol) und 3-Nitro-benzoylchlorid (0.047 g, 0.25 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (gräulich-weißer Feststoff; 0.058 g, 0.14 mmol, 55 % d. Th.).

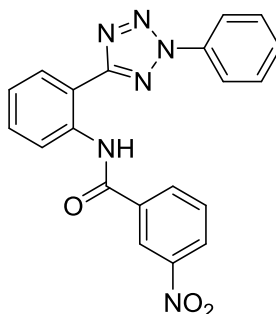
Smp.: 131 – 133 °C

UV (MeOH): λ_{max} (log ϵ) = 274.0 (4.50)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 3.92 (s, 3H, OCH_3), 7.06 – 7.10 (m, 2H, ArH), 7.28 – 7.35 (m, 1H, ArH), 7.58 (m, 1H, ArH), 7.76 (t, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 8.08 – 8.14 (m, 2H, ArH), 8.39 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 8.44 (m, 1H, ArH), 8.51 (m, 1H, ArH), 8.91 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 9.05 (t, $^4J_{\text{HH}} = 2.0$ Hz, 1H, ArH), 11.83 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 55.9 (CH_3), 114.8 (C), 115.0 (2x CH), 121.3 (CH), 121.8 (2x CH), 122.9 (CH), 124.5 (CH), 126.5 (CH), 128.8 (CH), 130.0 (C), 130.2 (CH), 131.9 (CH), 133.5 (CH), 137.1 (C), 137.3 (C), 148.7 (C), 161.2 (C), 163.5 (C), 164.3 (C).

$\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}_4$ (416.40)	Ber.:	C, 60.57	H, 3.87	N, 20.18
	Gef.:	C, 60.78	H, 3.94	N, 19.80

(76) 3-Nitro-*N*-(2-(2-Phenyl-2*H*-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid

wurde aus **42** (0.059 g, 0.25 mmol) und 3-Nitro-benzoylchlorid (0.047 g, 0.25 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (farblose Mikrokristalle; 0.065 g, 0.17 mmol, 67 % d. Th.).

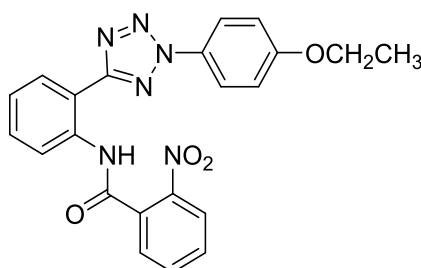
Smp.: 152 – 153 °C

UV (MeOH): λ_{\max} (log ϵ) = 258.0 (4.50)

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 7.33 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.54 – 7.66 (m, 4H, ArH), 7.77 (t, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 8.18 – 8.25 (m, 2H, ArH), 8.42 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 8.45 (m, 1H, ArH), 8.51 (m, 1H, ArH), 8.91 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 9.06 (t, $^4J_{\text{HH}} = 2.0$ Hz, 1H, ArH), 11.80 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 114.6 (C), 120.3 (2x CH), 121.4 (CH), 122.9 (CH), 124.5 (CH), 126.6 (CH), 128.9 (CH), 130.0 (CH), 130.2 (2x CH), 130.6 (CH), 132.1 (CH), 133.5 (CH), 136.6 (C), 137.1 (C), 137.4 (C), 148.7 (C), 163.5 (C), 164.6 (C).

C₂₀H₁₄N₆O₃ (386.37)	Ber.:	C, 62.17	H, 3.65	N, 21.75
	Gef.:	C, 62.52	H, 4.02	N, 21.49

(77) *N*-(2-(2-(4-Ethoxyphenyl)-2*H*-tetrazol-5-yl)phenyl)-2-nitro-benzamid

wurde aus **36** (0.075 g, 0.27 mmol) und 2-Nitro-benzoylchlorid (0.050 g, 0.27 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.046 g, 0.11 mmol, 40 % d. Th.).

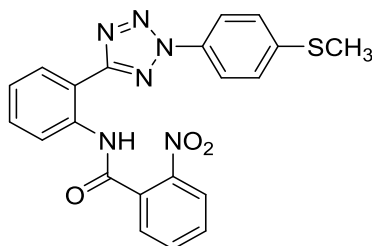
Smp.: 180 – 181 °C (Z)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1.38 (t, ³*J*_{HH} = 7.0 Hz, 3H, CH₃), 4.15 (q, ³*J*_{HH} = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 7.17 – 7.22 (m, 2H, ArH), 7.46 (t, ³*J*_{HH} = 7.5 Hz, 1H, ArH), 7.66 (t, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.79 (t, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.90 (t, ³*J*_{HH} = 7.4 Hz, 1H, ArH), 7.95 (d, ³*J*_{HH} = 7.2 Hz, 1H, ArH), 8.01 (d, ³*J*_{HH} = 9.0 Hz, 2H, ArH), 8.06 (d, ³*J*_{HH} = 8.0 Hz, 1H, ArH), 8.15 (m, 2H, ArH), 10.68 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 14.5 (CH₃), 63.7 (CH₂), 115.5 (2x CH), 119.3 (C), 121.6 (2x CH), 124.3 (CH), 124.6 (CH), 125.7 (CH), 128.7 (CH), 129.3 (CH), 129.3 (C), 131.1 (CH), 131.3 (CH), 132.2 (C), 133.9 (CH), 135.6 (C), 146.9 (C), 159.7 (C), 162.9 (C), 163.9 (C).

C₂₂H₁₈N₆O₄ (430.42)	Ber.:	C, 61.39	H, 4.22	N, 19.53
	Gef.:	C, 61.74	H, 4.41	N, 19.33

(78) ***N*-(2-(2-(4-(Methylthio)phenyl)-2*H*-tetrazol-5-yl)phenyl)-2-nitrobenzamid**



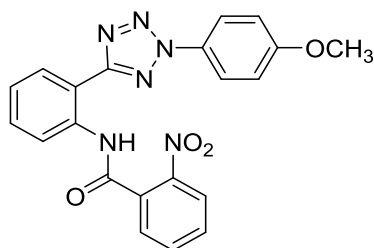
wurde aus **37** (0.15 g, 0.53 mmol) und 2-Nitro-benzoylchlorid (0.10 g, 0.53 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus THF umkristallisiert (gelber Feststoff; 0.066 g, 0.15 mmol, 29 % d. Th.).

Smp.: 180 – 181 °C (Z)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2.58 (s, 3H, SCH₃), 7.46 (td, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{HH} = 0.9 Hz, 1H, ArH), 7.51 – 7.55 (m, 2H, ArH), 7.66 (t, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.76 – 7.82 (m, 1H, ArH), 7.88 – 7.97 (m, 2H, ArH), 8.01 – 8.07 (m, 3H, ArH), 8.11 – 8.17 (m, 2H, ArH), 10.67 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 14.4 (CH₃), 119.3 (C), 120.3 (2x CH), 124.3 (CH), 124.7 (CH), 125.8 (CH), 126.6 (2x CH), 128.7 (CH), 129.4 (CH), 131.2 (CH), 131.3 (CH), 132.2 (C), 132.9 (C), 133.9 (CH), 135.7 (C), 141.5 (C), 146.9 (C), 163.0 (C), 163.9 (C).

C₂₁H₁₆N₆O₃S (432.46)	Ber.:	C, 58.32	H, 3.73	N, 19.43
	Gef.:	C, 58.72	H, 3.91	N, 19.17

(79) N-(2-(2-(4-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-2-nitro-benzamid

wurde aus **40** (0.20 g, 0.75 mmol) und 2-Nitro-benzoylchlorid (0.14 g, 0.75 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.085 g, 0.20 mmol, 40 % d. Th.).

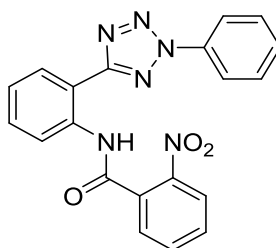
Smp.: 166 – 167 °C

UV (MeOH): λ_{\max} (log ϵ) = 285.2 (4.34)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.88 (s, 3H, OCH₃), 7.19 – 7.24 (m, 2H, ArH), 7.46 (t, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.66 (t, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.79 (t, ³*J*_{HH} = 7.4 Hz, 1H, ArH), 7.90 (t, ³*J*_{HH} = 7.4 Hz, 1H, ArH), 7.95 (d, ³*J*_{HH} = 7.2 Hz, 1H, ArH), 8.00 – 8.04 (m, 1H, ArH), 8.06 (d, ³*J*_{HH} = 8.0 Hz, 1H, ArH), 8.14 (t, ³*J*_{HH} = 7.2 Hz, 2H, ArH), 10.68 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.7 (CH₃), 115.1 (2x CH), 119.3 (C), 121.6 (2x CH), 124.4 (CH), 124.6 (CH), 125.7 (CH), 128.7 (CH), 129.3 (CH), 129.5 (C), 131.1 (CH), 131.3 (CH), 132.2 (C), 133.9 (CH), 135.6 (C), 146.9 (C), 160.4 (C), 162.9 (C), 163.9 (C).

C₂₁H₁₆N₆O₄ (416.40)	Ber.:	C, 60.57	H, 3.87	N, 20.18
	Gef.:	C, 60.66	H, 3.89	N, 20.03

(80) 2-Nitro-N-(2-(2-phenyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid

wurde aus **42** (0.12 g, 0.5 mmol) und 2-Nitro-benzoylchlorid (0.093 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.049 g, 0.13 mmol, 25 % d. Th.).

Smp.: 170 – 171 °C (Z)

UV (MeOH): λ_{\max} (log ϵ) = 251.4 (4.40)

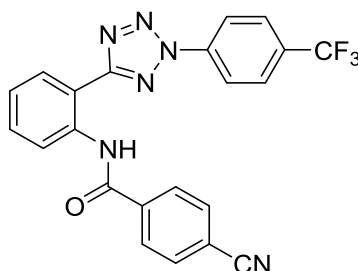
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.47 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.60 – 7.72 (m, 4H, ArH), 7.78 (td, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.89 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$ Hz, 1H, ArH), 7.95 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$ Hz, 1H, ArH), 8.05 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 8.09 – 8.18 (m, 4H, ArH), 10.67 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 119.3 (C), 119.9 (2x CH), 124.3 (CH), 124.7 (CH), 125.8 (CH), 128.8 (CH), 129.4 (CH), 130.1 (2x CH), 130.3 (CH), 131.3 (CH), 131.3 (CH), 132.2 (C), 133.8 (CH), 135.7 (C), 136.1 (C), 146.9 (C), 163.2 (C), 163.9 (C).

$\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{N}_6\text{O}_3$ (386.37)	Ber.:	C, 62.17	H, 3.65	N, 21.75
	Gef.:	C, 62.12	H, 3.70	N, 21.69

6.1.3.5 Testsubstanzen mit Nitril-, Trifluormethyl- oder Propylgruppe

(81) 4-Cyano-N-(2-(2-(4-trifluormethyl-phenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid



wurde aus **34** (0.15 g, 0.5 mmol) und 4-Cyano-benzoylchlorid (0.080 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (3:1) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.12 g, 0.28 mmol, 56 % d. Th.).

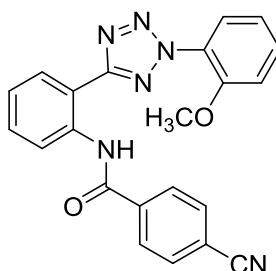
Smp.: 216 – 217 °C (Z)

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.49 (t, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.68 (t, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, 1H, ArH), 8.06 – 8.11 (m, 4H, ArH), 8.13 (d, ³*J*_{HH} = 8.2 Hz, 1H, ArH), 8.18 (d, ³*J*_{HH} = 8.1 Hz, 2H, ArH), 8.25 (d, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, 1H, ArH), 8.31 (d, ³*J*_{HH} = 8.4 Hz, 2H, ArH), 10.81 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 114.3 (C), 118.2 (C), 119.0 (C), 120.5 (2x CH), 123.60 (q, ¹*J*_{CF} = 272.3 Hz, C), 125.1 (CH), 125.9 (CH), 127.57 (q, ³*J*_{CF} = 3.5 Hz, 2x CH), 128.3 (2x CH), 129.3 (CH), 130.1 (q, ²*J*_{CF} = 32.5 Hz, C), 131.5 (CH), 132.8 (2x CH), 136.0 (C), 138.5 (C), 138.6 (C), 163.7 (C), 164.1 (C).

C₂₂H₁₃F₃N₆O (434.38)	Ber.:	C, 60.83	H, 3.02	N, 19.35
	Gef.:	C, 60.46	H, 3.15	N, 18.95

(82) 4-Cyano-N-(2-(2-(2-methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid



wurde aus **38** (0.066 g, 0.25 mmol) und 4-Cyano-benzoylchlorid (0.042 g, 0.25 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.066 g, 0.17 mmol, 66 % d. Th.).

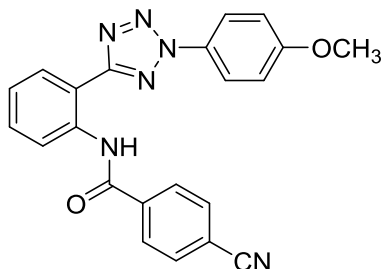
Smp.: 163 – 164 °C

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 3.86 (s, 3H, OCH₃), 7.15 – 7.23 (m, 2H, ArH), 7.26 – 7.34 (m, 1H, ArH), 7.58 (m, 1H, ArH), 7.60 – 7.67 (m, 2H, ArH), 7.73 – 7.81 (m, 2H, ArH), 8.24 – 8.31 (m, 1H, ArH), 8.41 (dt, ³J_{HH} = 7.9 Hz, ⁴J_{HH} = 2.0 Hz, 1H, ArH), 8.92 (dd, ³J_{HH} = 8.5 Hz, ⁴J_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 11.77 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 56.4 (CH₃), 113.1 (CH), 114.8 (C), 115.5 (C), 118.2 (C), 121.1 (CH), 121.3 (CH), 124.5 (CH), 126.0 (C), 127.0 (CH), 128.4 (2x CH), 128.9 (CH), 131.9 (CH), 132.7 (CH), 132.8 (2x CH), 137.3 (C), 139.1 (C), 153.6 (C), 163.9 (C), 164.1 (C).

C₂₂H₁₆N₆O₂ (396.41)	Ber.:	C, 66.66	H, 4.07	N, 21.20
	Ber. * EtOH:	C, 65.15	H, 5.01	N, 18.99
	Gef.:	C, 64.78	H, 4.76	N, 19.24

(83) 4-Cyano-N-(2-(2-(4-methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid



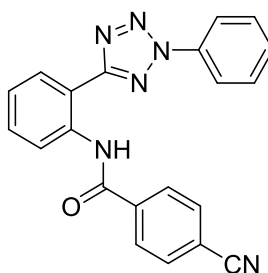
wurde aus **40** (0.28 g, 1 mmol) und 4-Cyano-benzoylchlorid (0.17 g, 1 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (3:2) als weißer Feststoff; 0.153 g, 0.39 mmol, 39 % d. Th.).

Smp.: 202 – 206 °C (Z)

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.88 (s, 3H, OCH₃), 7.22 (d, ³J_{HH} = 8.9 Hz, 2H, ArH), 7.46 (t, ³J_{HH} = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.65 (t, ³J_{HH} = 7.7 Hz, 1H, ArH), 8.00 (d, ³J_{HH} = 8.9 Hz, 2H, ArH), 8.07 (d, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 2H, ArH), 8.16 – 8.22 (m, 3H, ArH), 8.24 (d, ³J_{HH} = 7.8 Hz, 1H, ArH), 10.89 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.7 (CH₃), 114.2 (C), 115.2 (2x CH), 118.2 (C), 118.8 (C), 121.6 (2x CH), 124.6 (CH), 125.6 (CH), 128.3 (2x CH), 129.0 (CH), 129.4 (C), 131.2 (CH), 132.7 (2x CH), 136.0 (C), 138.6 (C), 160.5 (C), 163.1 (C), 164.0 (C).

C₂₂H₁₆N₆O₂ (396.41)	Ber.:	C, 66.66	H, 4.07	N, 21.20
	Gef.:	C, 66.39	H, 4.23	N, 20.80

(84) 4-Cyano-*N*-(2-(2-phenyl-2*H*-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid

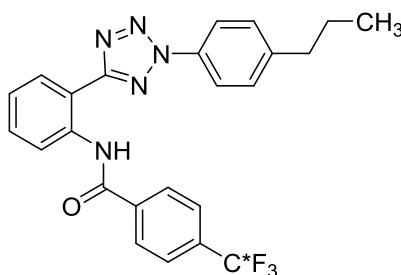
wurde aus **42** (0.059 g, 0.25 mmol) und 4-Cyano-benzoylchlorid (0.042 g, 0.25 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (10:1) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.042 g, 0.11 mmol, 46 % d. Th.).

Smp.: 185 – 186 °C (Z)

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.47 (td, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.61 – 7.71 (m, 4H, ArH), 8.04 – 8.09 (m, 4H, ArH), 8.17 (dd, ³*J*_{HH} = 8.2 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.1 Hz, 1H, ArH), 8.18 – 8.22 (m, 2H, ArH), 8.25 (dd, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 10.86 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 114.2 (C), 118.2 (C), 118.9 (C), 119.8 (2x CH), 124.8 (CH), 125.7 (C), 128.3 (2x CH), 129.1 (CH), 130.10 (2x CH), 130.15 (CH), 130.4 (CH), 131.3 (CH), 132.7 (2x CH), 135.97 (CH), 136.01 (C), 138.5 (C), 163.3 (C), 164.0 (C).

C₂₁H₁₄N₆O (366.38)	Ber.:	C, 68.84	H, 3.85	N, 22.94
	Gef.:	C, 68.92	H, 3.89	N, 22.61

(85) *N*-(2-(2-(4-Propylphenyl)-2*H*-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-trifluormethylbenzamid

wurde aus **32** (0.14 g, 0.5 mmol) und 4-Trifluormethyl-benzoylchlorid (0.10 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (2:1) umkristallisiert (farblose Mikrokristalle; 0.28 g, 0.31 mmol, 62 % d. Th.).

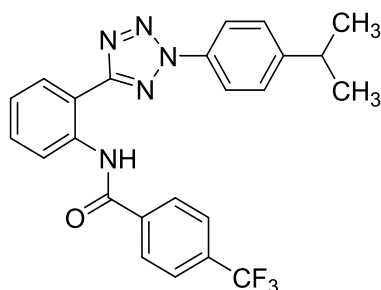
Smp.: 165 – 166 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 0.91 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$ Hz, 3H, CH₃), 1.60 – 1.69 (m, 2H, CH₂), 2.67 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, 2H, CH₂), 7.42 – 7.49 (m, 3H, ArH), 7.63 – 7.69 (m, 1H, ArH), 7.90 – 7.98 (m, 4H, ArH), 8.18 – 8.28 (m, 4H, ArH), 10.88 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 13.4 (CH₃), 23.7 (CH₂), 36.6 (CH₂), 118.8 (CH), 119.8 (2x CH), 124.6 (CH), 125.55 (CH), 125.61 (d, $^3J_{\text{CF}} = 3.3$ Hz, 2x CH), 128.4 (2x CH), 129.0 (CH), 129.8 (2x CH), 131.3 (CH), 131.66 (d, $^2J_{\text{CF}} = 32.0$ Hz, C), 134.0 (C), 136.1 (C), 138.4 (C), 144.8 (C), 163.2 (C), 164.2 (C); CF₃-Signal fehlt.

C₂₄H₂₀F₃N₅O (451.44) Ber.: C, 63.85 H, 4.47 N, 15.51
Gef.: C, 63.88 H, 4.61 N, 15.40

(86) N-(2-(2-(4-Isopropylphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-trifluormethylbenzamid



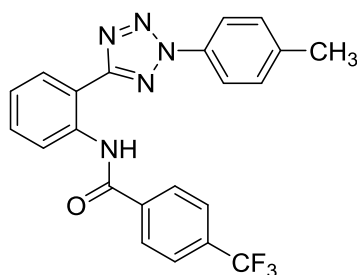
wurde aus **43** (0.28 g, 1 mmol) und 4-Trifluormethyl-benzoylchlorid (0.21 g, 1 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (10:1) als weiße Mikrokristalle; 0.23 g, 0.51 mmol, 51 % d. Th.).

Smp.: 111 – 112 °C

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ 1.25 (d, $^3J_{\text{HH}} = 6.9$ Hz, 6H, 2x CH₃), 3.01 (sept, $^3J_{\text{HH}} = 6.9$ Hz, 1H, CH), 7.46 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.48 – 7.51 (m, 2H, ArH), 7.63 – 7.67 (m, 1H, ArH), 7.92 – 7.96 (m, 4H, ArH), 8.19 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 0.8$ Hz, 1H, ArH), 8.22 – 8.27 (m, 3H, ArH), 10.89 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 23.5 (2x CH₃), 33.1 (CH), 118.8 (C), 119.9 (2x CH), 123.85 (q, $^1J_{\text{CF}} = 272.5$ Hz, C), 124.6 (CH), 125.6 (CH), 125.66 (q, $^3J_{\text{CF}} = 3.6$ Hz, 2x CH), 127.8 (2x CH), 128.4 (2x CH), 129.0 (CH), 131.3 (CH), 131.68 (q, $^2J_{\text{CF}} = 31.9$ Hz, C), 134.0 (C), 136.2 (C), 138.4 (C), 151.0 (C), 163.2 (C), 164.3 (C).

C₂₄H₂₀F₃N₅O (451.44) Ber.: C, 63.85 H, 4.47 N, 15.51
Gef.: C, 63.86 H, 4.62 N, 15.37

(87) N-(2-(2-(4-Methylphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-trifluormethylbenzamid

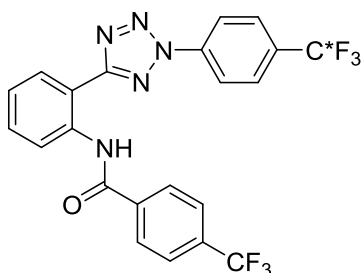
wurde aus **33** (0.075 g, 0.3 mmol) und 4-Trifluormethyl-benzoylchlorid (0.063 g, 0.3 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (farblose Nadeln; 0.079 g, 0.19 mmol, 62% d. Th.).

Smp.: 157 – 158 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2.41 (s, 3H, CH₃), 7.41 – 7.49 (m, 3H, ArH), 7.63 – 7.68 (m, 1H, ArH), 7.91 – 7.97 (m, 4H, ArH), 8.19 (dd, ³*J*_{HH} = 8.2 Hz, ⁴*J*_{HH} = 0.9 Hz, 1H, ArH), 8.22 – 8.26 (m, 3H, ArH), 10.87 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 20.7 (CH₃), 118.8 (C), 119.7 (2x CH), 123.8 (q, ¹*J*_{CF} = 272.5 Hz, C), 124.6 (CH), 125.6 (CH), 125.63 (q, ³*J*_{CF} = 3.8 Hz, 2x CH), 128.4 (2x CH), 129.0 (CH), 130.4 (2x CH), 131.3 (CH), 131.67 (d, ²*J*_{CF} = 31.9 Hz, C), 133.8 (C), 136.1 (C), 138.4 (C), 140.3 (C), 163.2 (C), 164.2 (C).

C₂₂H₁₆F₃N₅O (423.40)	Ber.:	C, 62.41	H, 3.81	N, 16.54
	Gef.:	C, 62.14	H, 3.90	N, 16.51

(88) 4-Trifluormethyl-N-(2-(2-(4-trifluormethylphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid

wurde aus **34** (0.15 g, 0.5 mmol) und 4-Trifluormethyl-benzoylchlorid (0.10 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (farblose Nadeln; 0.12 g, 0.25 mmol, 50 % d. Th.).

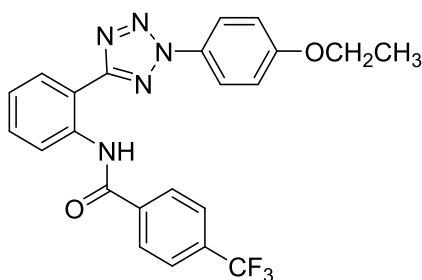
Smp.: 182 – 183 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.48 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.65 – 7.71 (m, 1H, ArH), 7.96 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$ Hz, 2H, ArH), 8.03 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.6$ Hz, 2H, ArH), 8.14 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1H, ArH), 8.22 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, 2H, ArH), 8.24 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 8.28 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, 2H, ArH), 10.81 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 119.0 (C), 120.5 (2x CH), 123.54 (d, $^1J_{\text{CF}} = 272.3$ Hz, C), 125.1 (CH), 125.65 (q, $^3J_{\text{CF}} = 3.5$ Hz, 2x CH), 125.73 (CH), 127.40 (q, $^3J_{\text{CF}} = 3.4$ Hz, 2x CH), 128.4 (2x CH), 129.3 (CH), 130.11 (d, $^2J_{\text{CF}} = 32.7$ Hz, C), 131.5 (CH), 131.66 (d, $^2J_{\text{CF}} = 32.0$ Hz, C), 136.2 (C), 138.3 (C), 138.6 (C), 163.7 (C), 164.3 (C); CF_3 -Signal fehlt.

$\text{C}_{22}\text{H}_{13}\text{F}_6\text{N}_5\text{O}$ (477.36) Ber.: C, 55.35 H, 2.75 N, 14.67
Gef.: C, 55.55 H, 2.94 N, 14.53

(89) *N*-(2-(2-(4-Ethoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-trifluormethylbenzamid (80)



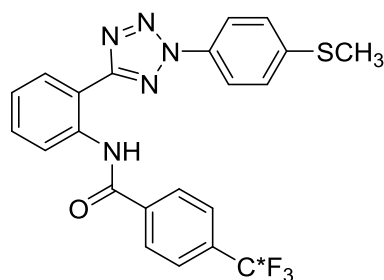
wurde aus **36** (0.45 g, 1.6 mmol) und 4-Trifluormethyl-benzoylchlorid (0.34 g, 1.6 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (10:1) umkristallisiert (gräulich-weißer Feststoff; 0.45 g, 0.99 mmol, 62 % d. Th.).

Smp.: 146 – 147 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 1.37 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 3H, CH_3), 4.13 (q, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 2H, CH_2), 7.13 – 7.17 (m, 2H, ArH), 7.45 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 7.62 – 7.68 (m, 1H, ArH), 7.93 – 7.98 (m, 4H, ArH), 8.21 – 8.26 (m, 4H, ArH), 10.90 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 14.4 (CH_3), 63.7 (CH_2), 115.4 (2x CH), 118.6 (C), 121.6 (2x CH), 123.83 (d, $^1J_{\text{CF}} = 272.8$ Hz, C), 124.4 (CH), 125.65 (CH), 125.7 (q, $^3J_{\text{CF}} = 3.6$ Hz, 2x CH), 128.4 (2x CH), 129.0 (CH), 129.2 (C), 131.2 (CH), 131.67 (d, $^2J_{\text{CF}} = 31.9$ Hz, C), 136.1 (C), 138.4 (C), 159.8 (C), 163.1 (C), 164.2 (C).

$\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_2$ (453.42) Ber.: C, 60.93 H, 4.00 N, 15.45
Gef.: C, 60.88 H, 4.08 N, 15.38

(90) N-(2-(2-(4-(Methylthio)phenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-trifluormethyl-benzamid

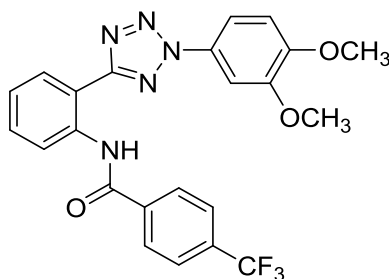
wurde aus **37** (0.10 g, 0.35 mmol) und 4-Trifluormethyl-benzoylchlorid (0.074 g, 0.35 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (gräulich-weiße Nadeln; 0.10 g, 0.23 mmol, 65 % d. Th.).

Smp.: 175 – 176 °C (Z)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2.56 (s, 3H, SCH₃), 7.44 – 7.52 (m, 3H, ArH), 7.64 – 7.68 (m, 1H, ArH), 7.94 – 8.00 (m, 4H, ArH), 8.19 (d, ³*J*_{HH} = 8.1 Hz, 1H, ArH), 8.21 – 8.26 (m, 3H, ArH), 10.87 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 14.3 (CH₃), 118.8 (C), 120.2 (2x CH), 124.6 (CH), 125.6 (CH), 125.67 (q, ³*J*_{CF} = 3.7 Hz, 2x CH), 126.5 (2x CH), 128.4 (2x CH), 129.1 (CH), 131.3 (CH), 131.67 (d, ²*J*_{CF} = 32.0 Hz, C), 132.8 (C), 136.1 (C), 138.4 (C), 141.6 (C), 163.2 (C), 164.2 (C); CF₃-Signal fehlt.

C₂₂H₁₆F₃N₅OS (455.46) Ber.: C, 58.02 H, 3.54 N, 15.38
Gef.: C, 58.14 H, 3.63 N, 15.15

(91) N-(2-(2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-trifluormethyl-benzamid

wurde aus **44** (0.1 g, 0.34 mmol) und 4-Trifluormethyl-benzoylchlorid (0.071 g, 0.34 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (5:2) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.096 g, 0.20 mmol, 60 % d. Th.).

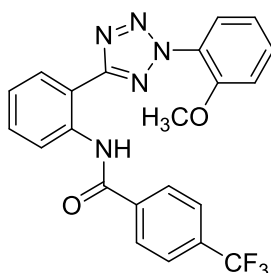
Smp.: 164 – 166 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 7.18 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.8$ Hz, 1H, ArH), 7.46 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 7.55 (d, $^4J_{\text{HH}} = 2.5$ Hz, 1H, ArH), 7.62 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.5$ Hz, 1H, ArH), 7.63 – 7.67 (m, 1H, ArH), 7.94 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, 2H, ArH), 8.15 – 8.18 (m, 1H, ArH), 8.22 – 8.28 (m, 3H, ArH), 10.88 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 55.7 (CH₃), 55.9 (CH₃), 103.9 (CH), 112.0 (CH), 112.4 (CH), 118.9 (C), 123.82 (q, $^1J_{\text{CF}} = 272.1$ Hz, C), 124.7 (CH), 125.6 (CH), 125.65 (q, $^3J_{\text{CF}} = 3.5$ Hz, 2x CH), 128.4 (2x CH), 129.0 (CH), 129.3 (C), 131.2 (CH), 131.65 (d, $^2J_{\text{CF}} = 32.0$ Hz, C), 136.1 (C), 138.4 (C), 149.3 (C), 150.2 (C), 163.1 (C), 164.2 (C).

C₂₃H₁₈F₃N₅O₃ (469.42) Ber.: C, 58.85 H, 3.87 N, 14.92
Gef.: C, 58.98 H, 3.99 N, 14.98

(92) *N*-(2-(2-(2-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-trifluoromethylbenzamid



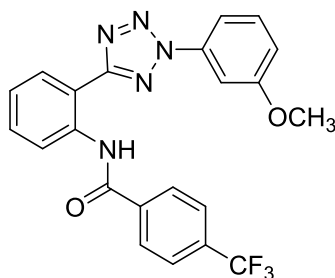
wurde aus **38** (0.13 g, 0.5 mmol) und 4-Trifluormethyl-benzoylchlorid (0.10 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (farblose Nadeln; 0.1 g, 0.23 mmol, 45 % d. Th.).

Smp.: 146 – 147 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.77 (s, 3H, OCH₃), 7.19 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.40 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1H, ArH), 7.43 – 7.47 (m, 1H, ArH), 7.63 – 7.70 (m, 3H, ArH), 7.88 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$ Hz, 2H, ArH), 8.21 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, 2H, ArH), 8.23 – 8.28 (m, 2H, ArH), 10.94 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 56.2 (CH₃), 113.4 (CH), 118.3 (C), 120.7 (CH), 123.8 (d, $^1J_{\text{CF}} = 272.4$ Hz, C), 124.1 (CH), 125.2 (C), 125.4 (CH), 125.5 (q, $^3J_{\text{CF}} = 3.5$ Hz, 2x CH), 127.0 (CH), 128.3 (CH), 128.9 (2x CH), 131.2 (CH), 131.6 (d, $^2J_{\text{CF}} = 31.9$ Hz, C), 132.8 (CH), 136.1 (C), 138.4 (C), 153.1 (C), 162.9 (C), 164.1 (C).

C₂₂H₁₆F₃N₅O₂ (439.39) Ber.: C, 60.14 H, 3.67 N, 15.94
Gef.: C, 59.81 H, 3.88 N, 15.68

(93) N-(2-(2-(3-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-trifluormethylbenzamid

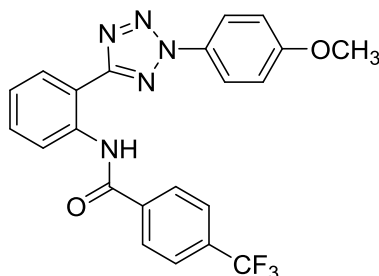
wurde aus **39** (0.54 g, 2 mmol) und 4-Trifluormethyl-benzoylchlorid (0.42 g, 2 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (10:1) umkristallisiert (farblose Nadeln; 0.42 g, 0.96 mmol, 48 % d. Th.).

Smp.: 189 – 190 °C (Z)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.79 (s, 3H, OCH₃), 7.18 – 7.21 (m, 1H, ArH), 7.47 (td, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.52 – 7.58 (m, 2H, ArH), 7.63 – 7.69 (m, 2H, ArH), 7.94 (d, ³*J*_{HH} = 8.2 Hz, 2H, ArH), 8.18 (dd, ³*J*_{HH} = 8.2 Hz, ⁴*J*_{HH} = 0.9 Hz, 1H, ArH), 8.25 (d, ³*J*_{HH} = 8.1 Hz, 2H, ArH), 8.28 (dd, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.5 Hz, 1H, ArH), 10.84 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.5 (CH₃), 105.5 (CH), 111.8 (CH), 115.9 (CH), 118.8 (C), 123.83 (d, ¹*J*_{CF} = 272.5 Hz, C), 124.8 (CH), 125.6 (CH), 125.64 (q, ³*J*_{CF} = 3.7 Hz, 2x CH), 128.4 (2x CH), 129.1 (CH), 131.1 (CH), 131.3 (CH), 131.67 (d, ²*J*_{CF} = 31.9 Hz, C), 136.1 (C), 136.9 (C), 138.4 (C), 160.2 (C), 163.2 (C), 164.2 (C).

C₂₂H₁₆F₃N₅O₃ (439.40)	Ber.:	C, 60.14	H, 3.67	N, 15.94
	Gef.:	C, 59.98	H, 3.74	N, 15.97

(94) N-(2-(2-(4-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-trifluormethylbenzamid

wurde aus **40** (0.54 g, 2 mmol) und 4-Trifluormethyl-benzoylchlorid (0.42 g, 2 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und nach Umkristallisation aus EtOH umkristallisiert (farblose Nadeln; 0.50 g, 1.12 mmol, 56 % d. Th.).

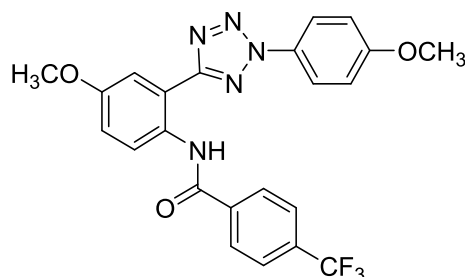
Smp.: 150 – 152 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.86 (s, 3H, OCH₃), 7.14 – 7.19 (m, 2H, ArH), 7.44 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.61 – 7.68 (m, 2H, ArH), 7.92 – 7.99 (m, 4H, ArH), 8.20 – 8.26 (m, 4H, ArH), 10.90 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 55.7 (CH₃), 115.0 (2x CH), 118.5 (C), 121.5 (2x CH), 123.83 (q, $^1J_{\text{CF}} = 272.5$ Hz, C), 124.3 (CH), 125.4 (CH), 125.65 (q, $^3J_{\text{CF}} = 3.3$ Hz, 2x CH), 128.3 (2x CH), 128.9 (CH), 129.4 (C), 131.2 (CH), 131.67 (q, $^2J_{\text{CF}} = 32.0$ Hz, C), 136.1 (C), 138.4 (C), 160.5 (C), 163.1 (C), 164.2 (C).

C₂₂H₁₆F₃N₅O₃ (439.40) Ber.: C, 60.14 H, 3.67 N, 15.94
Gef.: C, 59.88 H, 3.74 N, 15.63

(95) N-(4-Methoxy-2-(2-(4-methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-trifluormethyl-benzamid



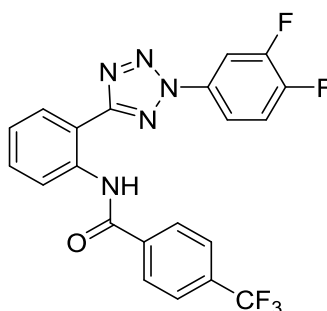
wurde aus **41** (0.15 g, 0.505 mmol) und 4-Trifluormethyl-benzoylchlorid (0.11 g, 0.505 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (2:1) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.17 g, 0.35 mmol, 69 % d. Th.).

Smp.: 175 – 176 °C (Z)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 7.13 – 7.17 (m, 2H, ArH), 7.24 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 3.0$ Hz, 1H, ArH), 7.71 (d, $^4J_{\text{HH}} = 3.0$ Hz, 1H, ArH), 7.92 – 7.98 (m, 5H, ArH), 8.21 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, 2H, ArH), 10.62 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 55.6 (CH₃), 55.7 (CH₃), 113.3 (CH), 115.0 (2x CH), 116.9 (CH), 121.0 (C), 121.5 (2x CH), 123.87 (d, $^1J_{\text{CF}} = 272.9$ Hz, C), 127.2 (CH), 125.54 (q, $^3J_{\text{CF}} = 3.1$ Hz, 2x CH), 128.3 (2x CH), 129.0 (C), 129.4 (C), 131.48 (d, $^2J_{\text{CF}} = 31.6$ Hz, C), 138.5 (C), 156.8 (C), 160.4 (C), 162.9 (C), 164.2 (C).

C₂₃H₁₈F₃N₅O₃ (469.42) Ber.: C, 58.85 H, 3.87 N, 14.92
Gef.: C, 58.78 H, 3.77 N, 14.93

(96) N-(2-(2-(3,4-Difluorphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-trifluormethylbenzamid

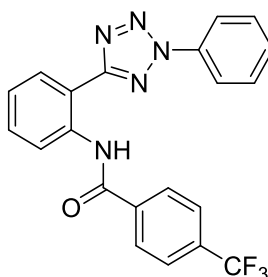
wurde aus **45** (0.10 g, 0.37 mmol) und 4-Trifluormethyl-benzoylchlorid (0.077 g, 0.37 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (10:1) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.086 g, 0.19 mmol, 52 % d. Th.).

Smp.: 160 – 161 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.47 (td, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.67 (ddd, ³*J*_{HH} = 8.2 Hz, ³*J*_{HH} = 7.4 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 7.76 (dt, ³*J*_{HF} = 10.1, ³*J*_{HH} = 8.8 Hz, 1H, ArH), 7.94 (d, ³*J*_{HH} = 8.2 Hz, 2H, ArH), 7.96 – 8.00 (m, 1H, ArH), 8.07 (ddd, ³*J*_{HF} = 10.8 Hz, ⁴*J*_{HF} = 7.0 Hz, ⁴*J*_{HH} = 2.6 Hz, 1H, ArH), 8.15 (dd, ³*J*_{HH} = 8.2, ⁴*J*_{HH} = 1.0 Hz, 1H, ArH), 8.23 (d, ³*J*_{HH} = 8.1 Hz, 2H, ArH), 8.25 (dd, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 10.80 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 110.21 (d, ²*J*_{CF} = 22.5 Hz, CH), 117.08 (dd, ³*J*_{CF} = 7.3 Hz, ⁴*J*_{CF} = 3.6 Hz, CH), 118.8 (C), 119.18 (d, ²*J*_{CF} = 19.0 Hz, CH), 122.7 (CF₃-Signal), 124.9 (CH), 125.64 (q, ³*J*_{CF} = 3.7 Hz, 2x CH), 125.7 (CH), 128.4 (2x CH), 129.1 (CH), 131.5 (CH), 131.74 (d, ²*J*_{CF} = 32.1 Hz, C), 132.41 (dd, ³*J*_{CF} = 8.3 Hz, ⁴*J*_{CF} = 3.0 Hz, C), 136.1 (C), 138.4 (C), 148.67 (dd, ¹*J*_{CF} = 249.2 Hz, ²*J*_{CF} = 13.6 Hz, C), 150.23 (dd, ¹*J*_{CF} = 249.9 Hz, ²*J*_{CF} = 12.1 Hz, C), 163.5 (C), 164.3 (C).

C₂₁H₁₂F₅N₅O₂ (445.35)	Ber.:	C, 56.64	H, 2.72	N, 15.73
	Gef.:	C, 56.45	H, 2.92	N, 15.68

(97) N-(2-(2-Phenyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-trifluormethylbenzamid

wurde aus **42** (0.12 g, 0.5 mmol) und 4-Trifluormethyl-benzoylchlorid (0.10 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (5:3) umkristallisiert (farblose Nadelchen; 0.16 g, 0.38 mmol, 76 % d. Th.).

Smp.: 157 – 158 °C (Z)

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.31 (td, ³J_{HH} = 7.6 Hz, ⁴J_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.56 – 7.64 (m, 4H, ArH), 7.83 (d, ³J_{HH} = 8.1 Hz, 2H, ArH), 8.18 – 8.21 (m, 2H, ArH), 8.29 (d, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 2H, ArH), 8.42 (dd, ³J_{HH} = 7.8 Hz, ⁴J_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 8.94 (dd, ³J_{HH} = 8.4 Hz, ⁴J_{HH} = 1.1 Hz, 1H, ArH), 11.71 (s, 1H*, NH).

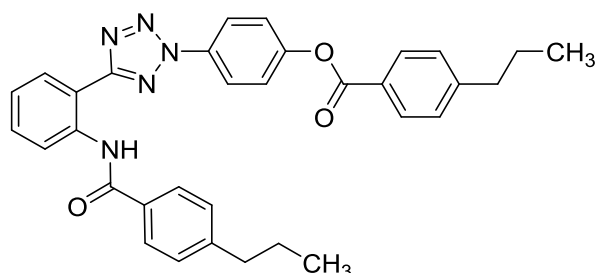
¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 114.5 (C), 120.2 (2x CH), 121.3 (CH), 123.9 (d, ¹J_{CF} = 272.6 Hz, C), 124.3 (CH), 126.0 (q, ³J_{CF} = 3.8 Hz, 2x CH), 128.2 (2x CH), 128.9 (CH), 130.0 (2x CH), 130.6 (CH), 132.1 (CH), 133.70 (d, ²J_{CF} = 32.6 Hz, C), 136.6 (C), 137.6 (C), 138.6 (C), 164.6 (C), 164.7 (C).

C₂₁H₁₄F₃N₅O (409.37)	Ber.:	C, 61.61	H, 3.45	N, 17.11
	Gef.:	C, 61.88	H, 3.52	N, 17.22

(98)

Entsprechend der Literatur^[215] wurde zu einer intensiv gerührten Mischung aus gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung (50 ml) und **47** (0.20 g, 0.79 mmol) in Essigester (15 ml) eine Lösung des 4-*n*-Propylbenzoylchlorides (0.145 g, 0.79 mmol) in Essigester (10 ml) bei RT hinzugegeben. Nach Rühren über Nacht wurden die Phasen getrennt, und die wässrige Phase mit Essigester extrahiert. Nach Trocknen der vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat und Abdestillieren des Lösungsmittels wurden neben der gewünschten **98b** auch **98a** und **98c** aus dem Rückstand säulenchromatographisch (Fließmittel: EtOAc/PÄ = 2:1) abgetrennt:

4-Propylbenzoesäure-(4-(5-(2-(4-propylbenzamido)phenyl)-2H-tetrazol-2-yl)phenyl)-ester (98a)



Weißer Feststoff; 0.11 g, 0.20 mmol, 25 % d. Th.

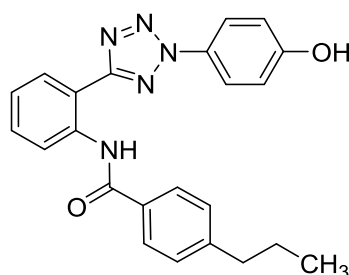
Smp.: 120 – 121 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0.88 – 0.94 (m, 6H, 2x CH₃), 1.59 – 1.71 (m, 4H, 2x CH₂), 2.64 – 2.72 (m, 4H, 2x CH₂), 7.37 – 7.43 (m, 3H, ArH), 7.43 – 7.48 (m, 2H, ArH), 7.59 – 7.67 (m, 3H, ArH), 7.96 – 8.03 (m, 3H, ArH), 8.07 – 8.11 (m, 2H, ArH), 8.18 – 8.22 (m, 2H, ArH), 8.29 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 8.41 (dd, ³*J*_{HH} = 8.4 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 10.82 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.18 (CH₃), 13.21 (CH₃), 23.3 (CH₂), 23.4 (CH₂), 36.9 (CH₂), 37.1 (CH₂), 116.8 (C), 121.4 (2x CH), 123.0 (CH), 123.4 (2x CH), 124.5 (CH), 126.0 (C), 127.2 (2x CH), 128.5 (2x CH), 128.7 (CH), 128.8 (2x CH), 129.8 (2x CH), 131.2 (CH), 132.1 (C), 133.5 (C), 136.8 (C), 146.6 (C), 149.2 (C), 151.7 (C), 163.5 (C), 164.2 (C), 165.2 (C).

C₃₃H₃₁N₅O₃ (545.64) Ber.: C, 72.64 H, 5.73 N, 12.84
Gef.: C, 72.53 H, 5.88 N, 12.61

***N*-(2-(2-(4-Hydroxyphenyl)-2*H*-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-propyl-benzamid (98b)**



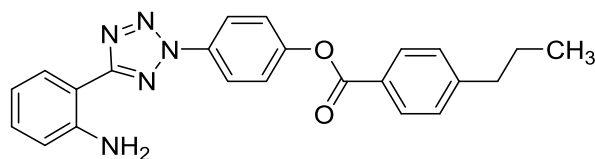
Weißer Feststoff; 0.050 g, 0.13 mmol, 16 % d. Th.

Smp.: 204 – 205 °C (Z)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0.93 (t, ³*J*_{HH} = 7.3 Hz, 3H, CH₃), 1.61 – 1.71 (m, 2H, CH₂), 2.64 – 2.71 (m, 2H, CH₂), 6.97 – 7.03 (m, 2H, ArH), 7.38 (m, 3H, ArH), 7.62 (m, 1H, ArH), 7.88 – 7.94 (m, 2H, ArH), 7.96 – 8.02 (m, 2H, ArH), 8.26 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.5 Hz, 1H, ArH), 8.43 (dd, ³*J*_{HH} = 8.4 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 10.26 (s, 1H*, OH), 10.88 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.5 (CH₃), 23.8 (CH₂), 37.0 (CH₂), 116.2 (2x CH), 116.9 (C), 121.8 (2x CH), 122.9 (CH), 124.5 (CH), 127.4 (2x CH), 128.1 (C), 128.6 (2x CH), 128.7 (CH), 131.2 (CH), 132.1 (C), 136.7 (C), 146.6 (C), 159.2 (C), 163.0 (C), 165.0 (C).

C₂₃H₂₁N₅O₂ (399.45) Ber.: C, 69.16 H, 5.30 N, 17.53
Gef.: C, 69.23 H, 5.60 N, 17.20

4-Propylbenzoesäure-(4-(5-(2-aminophenyl)-2H-tetrazol-2-yl)phenyl)ester (98c)

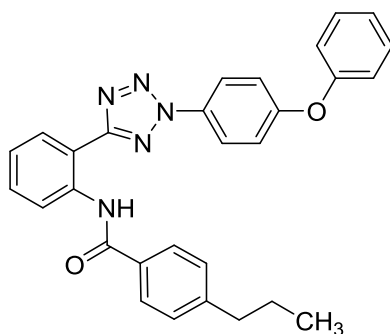
Weißer Feststoff; 0.010 g, 0.025 mmol, 3 % d. Th.

Smp.: 131 – 132 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0.92 (t, ³*J*_{HH} = 7.3 Hz, 3H, CH₃), 1.61 – 1.70 (m, 2H, CH₂), 2.66 – 2.73 (m, 2H, CH₂), 6.37 (br, 2H*, NH₂), 6.69 – 6.75 (m, 1H, ArH), 6.93 (dd, ³*J*_{HH} = 8.4 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.1 Hz, 1H, ArH), 7.23 – 7.28 (m, 1H, ArH), 7.44 – 7.48 (m, 2H, ArH), 7.60 – 7.65 (m, 2H, ArH), 8.06 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 8.08 – 8.12 (m, 2H, ArH), 8.29 – 8.34 (m, 2H, ArH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.6 (CH₃), 23.8 (CH₂), 37.3 (CH₂), 107.7 (C), 116.0 (CH), 116.4 (CH), 121.5 (2x CH), 123.8 (2x CH), 126.2 (C), 128.4 (CH), 129.1 (2x CH), 130.1 (2x CH), 131.6 (CH), 133.8 (C), 147.0 (C), 149.4 (C), 151.6 (C), 164.5 (C), 164.7 (C).

C₂₃H₂₁N₅O₂ (399.45)	Ber.:	C, 69.16	H, 5.30	N, 17.53
	Ber. *0.5 H ₂ O:	C, 67.63	H, 5.43	N, 17.15
	Gef.:	C, 67.91	H, 5.35	N, 16.96

(99) N-(2-(2-(4-Phenoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-propylbenzamid

wurde aus **46** (0.115 g, 0.35 mmol) und 4-Propyl-benzoylchlorid (0.077 g, 0.42 mmol, 1.2 Äq.) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (gräulich-weißer Feststoff; 0.062 g, 0.13 mmol, 37 % d. Th.).

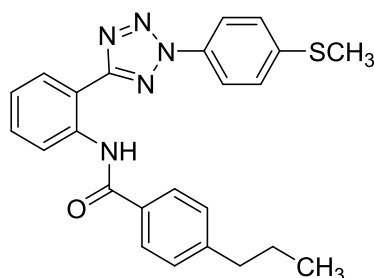
Smp.: 81 – 82 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0.88 (t, ³*J*_{HH} = 7.3 Hz, 3H, CH₃), 1.60 (m, 2H, CH₂), 2.60 – 2.67 (m, 2H, CH₂), 7.14 – 7.17 (m, 2H, ArH), 7.21 – 7.24 (m, 2H, ArH), 7.24 – 7.28 (m, 1H, ArH), 7.35 – 7.38 (m, 2H, ArH), 7.38 – 7.42 (m, 1H, ArH), 7.46 – 7.50 (m, 2H, ArH), 7.59 – 7.67 (m, 1H, ArH), 7.95 – 8.00 (m, 2H, ArH), 8.06 – 8.11 (m, 2H, ArH), 8.27 (dd, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.5 Hz, 1H, ArH), 8.39 (dd, ³*J*_{HH} = 8.3 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 10.82 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.5 (CH₃), 23.7 (CH₂), 36.9 (CH₂), 117.0 (C), 118.9 (2x CH), 119.6 (2x CH), 122.0 (2x CH), 123.2 (CH), 124.5 (CH), 124.6 (CH), 127.4 (2x CH), 128.6 (2x CH), 128.8 (CH), 130.3 (2x CH), 131.1 (C), 131.3 (CH), 132.1 (C), 136.8 (C), 146.6 (C), 155.4 (C), 158.5 (C), 163.3 (C), 165.1 (C).

C₂₉H₂₅N₅O₂ (475.20)	Ber.:	C, 73.25	H, 5.30	N, 14.73
	Gef.:	C, 73.10	H, 5.46	N, 14.61

(100) N-(2-(2-(4-(Methylthio)phenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-propylbenzamid



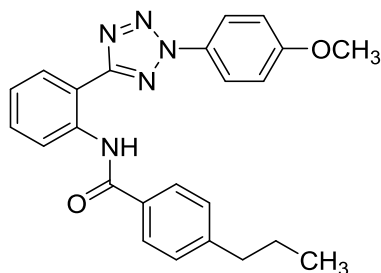
wurde aus **37** (0.10 g, 0.35 mmol) und 4-Propyl-benzoylchlorid (0.077 g, 0.42 mmol, 1.2 Äq.) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (gräulich-weißer Feststoff; 0.11 g, 0.26 mmol, 74 % d. Th.).

Smp.: 118 – 119 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0.92 (t, ³*J*_{HH} = 7.3 Hz, 3H, CH₃), 1.61 – 1.70 (m, 2H, CH₂), 2.57 (s, 3H; SCH₃), 2.67 (t, ³*J*_{HH} = 7.4 Hz, 2H, CH₂), 7.37 – 7.42 (m, 3H, ArH), 7.49 – 7.53 (m, 2H, ArH), 7.60 – 7.65 (m, 1H, ArH), 7.96 – 8.00 (m, 2H, ArH), 8.00 – 8.04 (m, 2H, ArH), 8.26 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.4 Hz, 1H, ArH), 8.39 (dd, ³*J*_{HH} = 8.4 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 10.82 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.5 (CH₃), 14.4 (CH₃), 23.8 (CH₂), 37.0 (CH₂), 117.1 (C), 120.3 (2x CH), 123.2 (CH), 124.6 (CH), 126.5 (2x CH), 127.4 (2x CH), 128.6 (2x CH), 128.8 (CH), 131.3 (CH), 132.1 (C), 132.8 (C), 136.8 (C), 141.6 (C), 146.6 (C), 163.3 (C), 165.1 (C).

C₂₄H₂₃N₅OS (429.54)	Ber.:	C, 67.11	H, 5.40	N, 16.30
	Gef.:	C, 67.16	H, 5.24	N, 16.37

(101) N-(2-(2-(4-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-propyl-benzamid

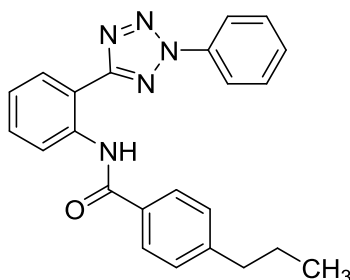
wurde aus **40** (0.10 g, 0.37 mmol) und 4-Propyl-benzoylchlorid (0.069 g, 0.37 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.090 g, 0.22 mmol, 58 % d. Th.).

Smp.: 103 – 104 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0.92 (t, ³*J*_{HH} = 7.3 Hz, 3H, CH₃), 1.65 (m, 2H, CH₂), 2.67 (t, ³*J*_{HH} = 7.5 Hz, 2H, CH₂), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 7.17 – 7.22 (m, 2H, ArH), 7.36 – 7.42 (m, 3H, ArH), 7.59 – 7.65 (m, 1H, ArH), 7.98 (d, ³*J*_{HH} = 8.2 Hz, 2H, ArH), 8.01 – 8.05 (m, 2H, ArH), 8.26 (dd, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.4 Hz, 1H, ArH), 8.42 (d, ³*J*_{HH} = 8.0 Hz, 1H, ArH), 10.86 (s, 1H, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.5 (CH₃), 23.8 (CH₂), 37.0 (CH₂), 55.7 (CH₃), 115.0 (2x CH), 116.9 (C), 121.7 (2x CH), 123.0 (CH), 124.5 (CH), 127.4 (2x CH), 128.6 (2x CH), 128.7 (CH), 129.4 (C), 131.2 (CH), 132.1 (C), 136.8 (C), 146.6 (C), 160.5 (C), 163.2 (C), 165.1 (C).

C₂₄H₂₃N₅O₂ (413.48)	Ber.:	C, 69.72	H, 5.61	N, 16.94
	Gef.:	C, 69.42	H, 5.60	N, 16.81

(102) N-(2-(2-Phenyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-propyl-benzamid

wurde aus **42** (0.12 g, 0.5 mmol) und 4-Propyl-benzoylchlorid (0.092 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (farblose Mikrokristalle; 0.11 g, 0.28 mmol, 56 % d. Th.).

Smp.: 112 – 113 °C

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 0.97 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$ Hz, 3H, CH_3), 1.65 – 2.71 (m, 2H, CH_2), 2.68 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, 2H, CH_2), 7.23 – 7.29 (m, 1H, ArH), 7.34 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$ Hz, 2H, ArH), 7.52 – 7.64 (m, 4H, ArH), 8.04 – 8.11 (m, 2H, ArH), 8.17 – 8.23 (m, 2H, ArH), 8.40 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 8.94 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 11.47 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 14.0 (CH_3), 24.5 (CH_2), 38.1 (CH_2), 114.3 (C), 120.2 (2x CH), 121.3 (CH), 123.7 (CH), 127.7 (2x CH), 128.9 (CH), 129.0 (2x CH), 130.0 (2x CH), 130.4 (CH), 132.0 (CH), 132.8 (C), 136.7 (C), 138.0 (C), 147.3 (C), 164.7 (C), 166.1 (C).

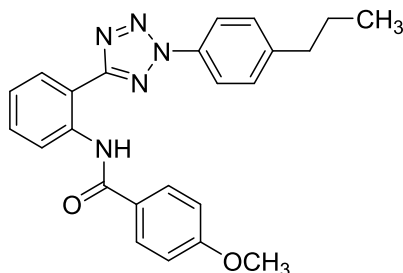
$\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}$ (383.46)

Ber.: C, 72.04 H, 5.52 N, 18.26

Gef.: C, 72.04 H, 5.39 N, 18.27

6.1.3.6 Testsubstanzen mit Alkylethergruppen und unsubstituierte Testsubstanzen

(103) 4-Methoxy-*N*-(2-(2-(4-propylphenyl)-2*H*-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid



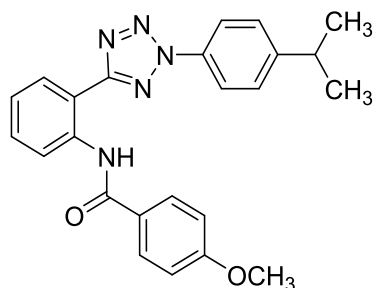
wurde aus **32** (0.14 g, 0.5 mmol) und 4-Methoxy-benzoylchlorid (0.085 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (weiße Mikrokristalle; 0.12 g, 0.28 mmol, 68 % d. Th.).

Smp.: 110 – 111 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0.92 (t, ³*J*_{HH} = 7.3 Hz, 3H, CH₃), 1.61 – 1.69 (m, 2H, CH₂), 2.68 (t, ³*J*_{HH} = 7.5 Hz, 2H, CH₂), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 7.07 – 7.12 (m, 2H, ArH), 7.35 – 7.40 (m, 1H, ArH), 7.47 – 7.51 (m, 1H, ArH), 7.59 – 7.64 (m, 1H, ArH), 7.99 – 8.03 (m, 2H, ArH), 8.03 – 8.06 (m, 2H, ArH), 8.26 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 8.41 (dd, ³*J*_{HH} = 8.3 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.0 Hz, 1H, ArH), 10.79 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.6 (CH₃), 23.9 (CH₂), 36.8 (CH₂), 55.6 (CH₃), 114.1 (2x CH), 117.0 (C), 120.1 (2x CH), 123.2 (CH), 124.6 (CH), 126.9 (C), 128.9 (CH), 129.5 (2x CH), 130.0 (2x CH), 131.5 (CH), 134.2 (C), 137.1 (C), 145.1 (C), 162.4 (C), 163.5 (C), 164.7 (C).

C₂₄H₂₃N₅O₂ (413.47)	Ber.:	C, 69.72	H, 5.61	N, 16.94
	Gef.:	C, 69.51	H, 5.80	N, 16.84

(104) N-(2-(2-(4-Isopropylphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-methoxybenzamid

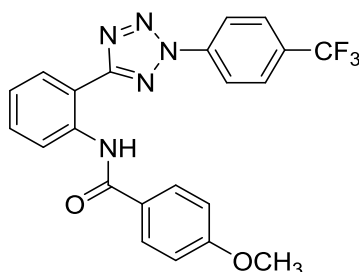
wurde aus **43** (0.10 g, 0.36 mmol) und 4-Methoxy-benzoylchlorid (0.061 g, 0.36 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (10:1) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.068 g, 0.16 mmol, 45 % d. Th.).

Smp.: 121 – 122 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1.27 (d, ³*J*_{HH} = 6.9 Hz, 6H, 2x CH₃), 3.04 (sept, ³*J*_{HH} = 6.9 Hz, 1H, CH), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 7.08 – 7.13 (m, 2H, ArH), 7.38 (td, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.53 – 7.57 (m, 2H, ArH), 7.58 – 7.66 (m, 1H, ArH), 8.01 – 8.04 (m, 2H, ArH), 8.04 – 8.07 (m, 2H, ArH), 8.27 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.5 Hz, 1H, ArH), 8.41 (dd, ³*J*_{HH} = 8.3 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 10.81 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 23.6 (2x CH₃), 33.1 (CH), 55.5 (CH₃), 113.9 (2x CH), 116.8 (C), 120.0 (2x CH), 123.0 (CH), 124.4 (CH), 126.7 (C), 127.9 (2x CH), 128.8 (CH), 129.3 (2x CH), 131.3 (CH), 134.0 (C), 136.9 (C), 151.0 (C), 162.2 (C), 163.4 (C), 164.6 (C).

C₂₄H₂₃N₅O₂ (413.48)	Ber.:	C, 69.72	H, 5.61	N, 16.94
	Gef.:	C, 69.46	H, 5.70	N, 17.07

(105) 4-Methoxy-N-(2-(2-(4-trifluormethyl-phenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid

wurde aus **34** (0.15 g, 0.5 mmol) und 4-Methoxy-benzoylchlorid (0.085 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (1:1) umkristallisiert (farblose Nadeln; 0.079 g, 0.18 mmol, 35 % d. Th.).

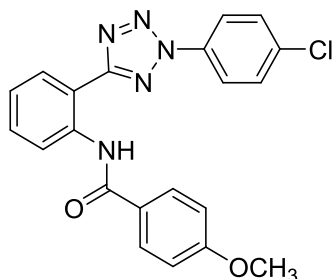
Smp.: 175 – 176 °C (Z)

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.86 (s, 3H, OCH₃), 7.12 (d, ³*J*_{HH} = 8.6 Hz, 2H, ArH), 7.41 (t, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.65 (t, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, 1H, ArH), 8.03 (d, ³*J*_{HH} = 8.6 Hz, 2H, ArH), 8.09 (d, ³*J*_{HH} = 8.4 Hz, 2H, ArH), 8.26 (d, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, 1H, ArH), 8.32 – 8.37 (m, 3H, ArH), 10.69 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.5 (CH₃), 114.0 (2x CH), 117.1 (C), 120.7 (2x CH), 123.59 (CH), 123.60 (q, ¹*J*_{CF} = 272.4 Hz, C), 124.7 (C), 126.6 (C), 127.5 (q, ³*J*_{CF} = 3.6 Hz, 2x CH), 129.0 (CH), 129.4 (2x CH), 130.2 (q, ²*J*_{CF} = 32.4 Hz, C), 131.5 (CH), 137.0 (C), 138.6 (C), 162.2 (C), 163.9 (C), 164.7 (C).

C₂₂H₁₆F₃N₅O₂ (439.40) Ber.: C, 60.41 H, 3.67 N, 15.49
 Gef.: C, 60.16 H, 3.73 N, 15.83

(106) N-(2-(2-(4-Chlorophenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-methoxy-benzamid



wurde aus **35** (0.14 g, 0.5 mmol) und 4-Methoxy-benzoylchlorid (0.086 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (2:1) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.078 g, 0.19 mmol, 38 % d. Th.).

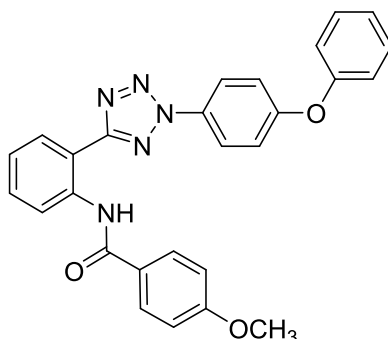
Smp.: 170 – 171 °C (Z)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.87 (s, 3H, OCH₃), 7.08 – 7.13 (m, 2H, ArH), 7.39 (td, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.60 – 7.65 (m, 1H, ArH), 7.75 – 7.79 (m, 2H, ArH), 8.01 – 8.05 (m, 2H, ArH), 8.11 – 8.15 (m, 2H, ArH), 8.25 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 8.37 (dd, ³*J*_{HH} = 8.3 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.0 Hz, 1H, ArH), 10.72 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.5 (CH₃), 113.9 (2x CH), 116.9 (C), 121.7 (2x CH), 123.3 (CH), 124.5 (CH), 126.6 (CH), 128.9 (CH), 129.3 (2x CH), 130.2 (2x CH), 131.4 (CH), 134.8 (C), 136.9 (C), 162.2 (C), 163.6 (C), 164.6 (C). Ein Signal fehlt.

C₂₁H₁₆ClN₅O₂ (405.84) Ber.: C, 62.15 H, 3.97 N, 17.26
 Gef.: C, 62.28 H, 4.07 N, 17.11

(107) N-(2-(2-(4-Phenoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-methoxybenzamid



wurde aus **46** (0.115 g, 0.35 mmol) und 4-Methoxy-benzoylchlorid (0.072 g, 0.42 mmol, 1.2 Äq.) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (5:2) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.095 g, 0.21 mmol, 60 % d. Th.).

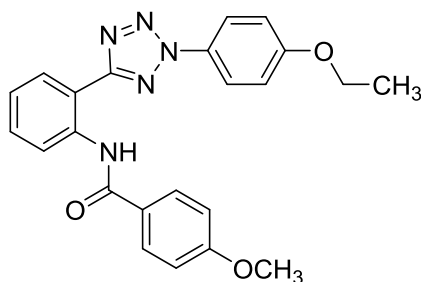
Smp.: 107 – 108 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.83 (s, 3H, OCH₃), 7.07 – 7.11 (m, 2H, ArH), 7.14 – 7.18 (m, 2H, ArH), 7.22 – 7.28 (m, 3H, ArH), 7.38 (td, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.45 – 7.51 (m, 2H, ArH), 7.60 – 7.65 (m, 1H, ArH), 8.01 – 8.05 (m, 2H, ArH), 8.08 – 8.12 (m, 2H, ArH), 8.26 (dd, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 8.41 (dd, ³*J*_{HH} = 8.3 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 10.79 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.4 (CH₃), 113.9 (2x CH), 116.8 (C), 119.0 (2x CH), 119.6 (2x CH), 122.1 (2x CH), 123.0 (CH), 124.4 (CH), 124.5 (CH), 126.7 (C), 128.8 (CH), 129.3 (2x CH), 130.3 (2x CH), 131.1 (C), 131.3 (CH), 136.9 (C), 155.4 (C), 158.5 (C), 162.2 (C), 163.4 (C), 164.6 (C).

C₂₇H₂₁N₅O₃ (463.16)	Ber.:	C, 69.97	H, 4.57	N, 15.11
	Gef.:	C, 69.90	H, 4.78	N, 14.78

(108) N-(2-(2-(4-Ethoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-methoxybenzamid



wurde aus **36** (0.066 g, 0.25 mmol) und 4-Methoxy-benzoylchlorid (0.056 g, 0.3 mmol, 1.2 Äq.) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (5:2) umkristallisiert (farblose Nadelchen; 0.082 g, 0.20 mmol, 66 % d. Th.).

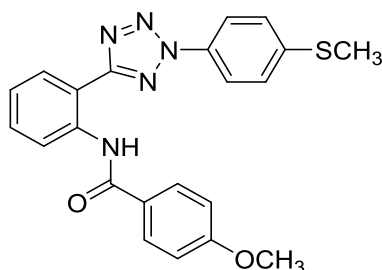
Smp.: 177 – 178 °C (Z)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1.37 (t, ³*J*_{HH} = 7.0 Hz, 3H, CH₃), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 4.15 (q, ³*J*_{HH} = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 7.07 – 7.11 (m, 2H, ArH), 7.20 – 7.25 (m, 2H, ArH), 7.38 (td, ³*J*_{HH} = 7.5 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.61 (m, 1H, ArH), 8.01 – 8.06 (m, 4H, ArH), 8.26 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 8.42 (dd, ³*J*_{HH} = 8.4 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 10.81 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 14.5 (CH₃), 55.7 (CH₃), 63.5 (CH₂), 114.3 (2x CH), 115.1 (2x CH), 116.8 (C), 121.7 (2x CH), 122.9 (CH), 124.4 (CH), 126.5 (C), 128.7 (CH), 129.3 (2x CH), 129.4 (C), 131.2 (CH), 136.9 (C), 160.5 (C), 161.5 (C), 163.3 (C), 164.6 (C).

C₂₃H₂₁N₅O₃ (415.45)	Ber.:	C, 66.49	H, 5.10	N, 16.86
	Gef.:	C, 66.41	H, 5.02	N, 16.75

(109) 4-Methoxy-*N*-(2-(2-(4-(methylthio)phenyl)-2*H*-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid



wurde aus **37** (0.10 g, 0.35 mmol) und 4-Methoxy-benzoylchlorid (0.072 g, 0.42 mmol, 1.2 Äq.) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (2:1) umkristallisiert (hellgelber Feststoff; 0.11 g, 0.26 mmol, 74 % d. Th.).

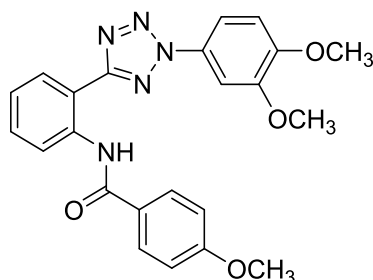
Smp.: 156 – 157 °C

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2.58 (s, 3H, SCH₃), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 7.09 – 7.14 (m, 2H, ArH), 7.35 – 7.41 (m, 1H, ArH), 7.51 – 7.56 (m, 2H, ArH), 7.60 – 7.64 (m, 1H, ArH), 8.01 – 8.07 (m, 4H, ArH), 8.25 (dd, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 8.40 (dd, ³*J*_{HH} = 8.3 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.1 Hz, 1H, ArH), 10.78 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 14.4 (CH₃), 55.5 (CH₃), 114.0 (2x CH), 116.9 (C), 120.4 (2x CH), 123.1 (CH), 124.5 (CH), 126.6 (2x CH), 126.7 (C), 128.8 (CH), 129.3 (2x CH), 131.3 (CH), 132.8 (C), 136.9 (C), 141.7 (C), 162.2 (C), 163.4 (C), 164.6 (C).

C₂₂H₁₉N₅O₂S (417.49)	Ber.:	C, 63.29	H, 4.59	N, 16.78
	Gef.:	C, 63.49	H, 4.78	N, 16.98

(110) N-(2-(2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-methoxybenzamid



wurde aus **44** (0.1 g, 0.34 mmol) und 4-Methoxy-benzoylchlorid (0.058 g, 0.34 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (5:4) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.11 g, 0.25 mmol, 74 % d. Th.).

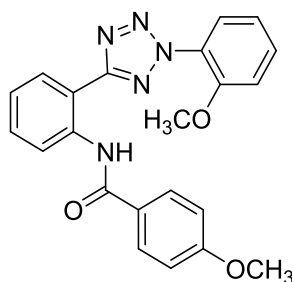
Smp.: 153 – 154 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 7.07 – 7.11 (m, 2H, ArH), 7.22 (d, ³*J*_{HH} = 8.8 Hz, 1H, ArH), 7.38 (td, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.59 – 7.64 (m, 2H, ArH), 7.67 (dd, ³*J*_{HH} = 8.7 Hz, ⁴*J*_{HH} = 2.5 Hz, 1H, ArH), 8.02 – 8.06 (m, 2H, ArH), 8.27 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 8.36 (dd, ³*J*_{HH} = 8.3 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.0 Hz, 1H, ArH), 10.78 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.5 (CH₃), 55.8 (CH₃), 55.9 (CH₃), 104.1 (CH), 112.0 (CH), 112.5 (CH), 113.9 (2x CH), 117.1 (C), 123.3 (CH), 124.5 (CH), 126.7 (C), 128.8 (CH), 129.28 (C), 129.31 (2x CH), 131.2, 136.9 (C), 149.4 (C), 150.3 (C), 162.2 (C), 163.3 (C), 164.6 (C).

C₂₃H₂₁N₅O₄ (431.45)	Ber.:	C, 64.03	H, 4.91	N, 16.23
	Gef.:	C, 63.96	H, 5.03	N, 16.37

(111) 4-Methoxy-N-(2-(2-(2-methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid



wurde aus **38** (0.13 g, 0.5 mmol) und 4-Methoxy-benzoylchlorid (0.085 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (15:1) umkristallisiert (gelbliche Nadeln; 0.13 g, 0.32 mmol, 65 % d. Th.).

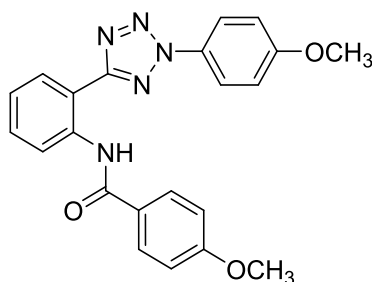
Smp.: 172 – 174 °C (Z)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.81 (s, 3H, OCH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 7.01 – 7.05 (m, 2H, ArH), 7.24 (td, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.35 – 7.39 (m, 1H, ArH), 7.43 (dd, ³*J*_{HH} = 8.5 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.60 – 7.64 (m, 1H, ArH), 7.68 – 7.74 (m, 2H, ArH), 7.99 – 8.03 (m, 2H, ArH), 8.27 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.5 Hz, 1H, ArH), 8.49 (dd, ³*J*_{HH} = 8.4 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.0 Hz, 1H, ArH), 10.89 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.4 (CH₃), 56.2 (CH₃), 113.4 (CH), 113.9 (2x CH), 116.2 (C), 120.7 (CH), 122.5 (CH), 124.3 (CH), 125.2 (C), 126.6 (C), 127.1 (CH), 128.6 (CH), 129.2 (2x CH), 131.3 (CH), 132.9 (CH), 136.9 (C), 153.2 (C), 162.2 (C), 163.0 (C), 164.4 (C).

C₂₂H₁₉N₅O₃ (401.42)	Ber.:	C, 65.83	H, 4.77	N, 17.45
	Gef.:	C, 65.57	H, 4.86	N, 17.12

(112) 4-Methoxy-*N*-(2-(2-(4-methoxyphenyl)-2*H*-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid



wurde aus **40** (0.13 g, 0.5 mmol) und 4-Methoxy-benzoylchlorid (0.086 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (5:2) umkristallisiert (farblose Nadelchen; 0.14 g, 0.35 mmol, 70 % d. Th.).

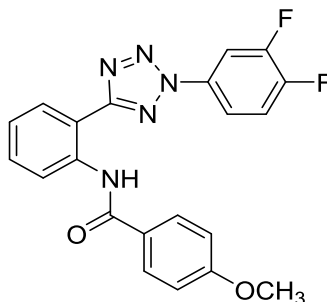
Smp.: 164 – 165 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 7.08 – 7.14 (m, 2H, ArH), 7.19 – 7.25 (m, 2H, ArH), 7.35 – 7.41 (m, 1H, ArH), 7.59 – 7.64 (m, 1H, ArH), 8.02 – 8.06 (m, 4H, ArH), 8.26 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.5 Hz, 1H, ArH), 8.42 (dd, ³*J*_{HH} = 8.3 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.1 Hz, 1H, ArH), 10.82 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.5 (CH₃), 55.7 (CH₃), 113.9 (2x CH), 115.1 (2x CH), 116.8 (C), 121.7 (2x CH), 122.9 (CH), 124.4 (CH), 126.7 (C), 128.7 (CH), 129.3 (2x CH), 129.4 (C), 131.2 (CH), 136.9 (C), 160.5 (C), 162.2 (C), 163.3 (C), 164.6 (C).

C₂₂H₁₉N₅O₃ (401.43)	Ber.:	C, 65.83	H, 4.77	N, 17.45
	Gef.:	C, 65.33	H, 4.82	N, 17.52

(113) N-(2-(2-(3,4-Difluorphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-methoxybenzamid



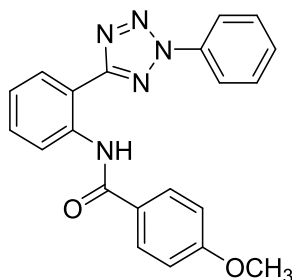
wurde aus **45** (0.14 g, 0.5 mmol) und 4-Methoxy-benzoylchlorid (0.085 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (10:3) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.16 g, 0.39 mmol, 79 % d. Th.).

Smp.: 164 – 165 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.86 (s, 3H, OCH₃), 7.08 – 7.12 (m, 2H, ArH), 7.36 – 7.43 (m, 1H, ArH), 7.63 (ddd, ³*J*_{HH} = 8.6 Hz, ³*J*_{HH} = 7.5 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.6 Hz, 2H, ArH), 7.80 (dt, ³*J*_{HF} = 10.1 Hz, ³*J*_{HH} = 8.8 Hz, 1H, ArH), 7.99 – 8.02 (m, 1H, ArH), 8.02 – 8.05 (m, 2H, ArH), 8.16 (ddd, ³*J*_{HH} = 10.8 Hz, ⁴*J*_{HF} = 7.0 Hz, ⁴*J*_{HH} = 2.6 Hz, 1H, ArH), 8.26 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.4 Hz, 1H), 8.35 (dd, ³*J*_{HH} = 8.3 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.1 Hz, 1H), 10.67 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.5 (CH₃), 110.38 (d, ²*J*_{CF} = 22.6 Hz, CH), 113.9 (2x CH), 117.0 (C), 117.22 (dd, ³*J*_{CF} = 6.9 Hz, ⁴*J*_{CF} = 3.5 Hz, CH), 119.20 (d, ²*J*_{CF} = 19.1 Hz, CH), 123.5 (CH), 124.6 (CH), 126.6 (C), 128.9 (CH), 129.3 (2x CH), 131.5 (CH), 132.4 (dd, ³*J*_{CF} = 8.7 Hz, ⁴*J*_{CF} = 2.8 Hz, C), 137.0 (C), 149.68 (dd, ¹*J*_{CF} = 248.5 Hz, ²*J*_{CF} = 13.5 Hz, C), 150.29 (dd, ¹*J*_{CF} = 249.7 Hz, ²*J*_{CF} = 12.1 Hz, C), 162.2 (C), 163.6 (C), 164.6 (C).

C₂₁H₁₅F₂N₅O₂ (407.38)	Ber.:	C, 61.92	H, 3.71	N, 17.19
	Gef.:	C, 61.70	H, 3.77	N, 17.05

(114) 4-Methoxy-N-(2-(2-phenyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid

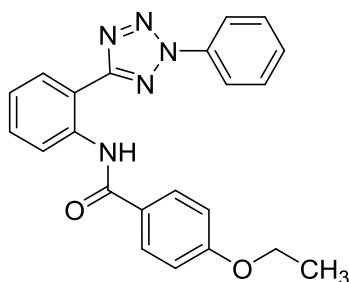
wurde aus **42** (0.12 g, 0.5 mmol) und 4-Methoxy-benzoylchlorid (0.086 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (5:1) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.089 g, 0.24 mmol, 48 % d. Th.).

Smp.: 195 – 196 °C (Z)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.87 (s, 3H, OCH₃), 7.08 – 7.12 (m, 2H, ArH), 7.39 (td, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.60 – 7.72 (m, 4H, ArH), 8.02 – 8.07 (m, 2H, ArH), 8.09 – 8.14 (m, 2H, ArH), 8.27 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 8.39 (dd, ³*J*_{HH} = 8.3 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.0 Hz, 1H, ArH), 10.77 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.5 (CH₃), 113.9 (2x CH), 116.9 (C), 120.0 (2x CH), 123.2 (CH), 124.5 (CH), 126.7 (C), 128.8 (CH), 129.3 (2x CH), 130.1 (2x CH), 130.4 (CH), 131.3 (CH), 136.0 (C), 136.9 (C), 162.2 (C), 163.5 (C), 164.6 (C).

C₂₁H₁₇N₅O₂ (371.40)	Ber.:	C, 67.91	H, 4.61	N, 18.86
	Gef.:	C, 67.74	H, 4.67	N, 19.12

(115) 4-Ethoxy-N-(2-(2-phenyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid

wurde aus **42** (0.12 g, 0.5 mmol) und 4-Ethoxy-benzoylchlorid (0.093 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (10:3) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.17 g, 0.43 mmol, 86 % d. Th.).

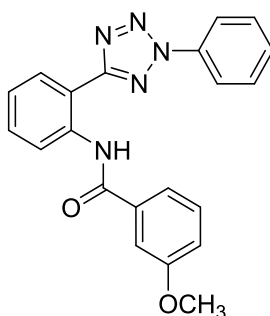
Smp.: 150 – 151 °C

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 1.47 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 3H, CH_3), 4.12 (q, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 2H, CH_2), 6.99 – 7.04 (m, 2H, ArH), 7.22 – 7.28 (m, 1H, ArH), 7.53 – 7.64 (m, 4H, ArH), 8.10 – 8.15 (m, 2H, ArH), 8.18 – 8.23 (m, 2H, ArH), 8.39 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 8.93 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 11.42 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 14.9 (CH_3), 63.9 (CH_2), 114.2 (C), 114.6 (2x CH), 120.2 (2x CH), 121.3 (CH), 123.6 (CH), 127.4 (C), 128.9 (CH), 129.6 (2x CH), 130.0 (2x CH), 130.4 (CH), 132.0 (CH), 136.7 (C), 138.2 (C), 162.2 (C), 164.7 (C), 165.7 (C).

$\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_2$ (385.43)	Ber.:	C, 68.56	H, 4.97	N, 18.17
	Gef.:	C, 68.47	H, 5.03	N, 17.93

(116) 3-Methoxy-*N*-(2-(2-phenyl-2*H*-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid



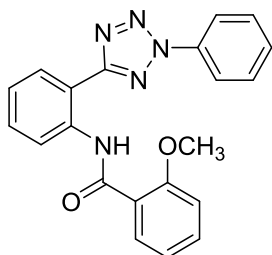
wurde aus **42** (0.12 g, 0.5 mmol) und 3-Methoxy-benzoylchlorid (0.086 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (10:1) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.12 g, 0.32 mmol, 64 % d. Th.).

Smp.: 125 – 127 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 3.83 (s, 3H, OCH_3), 7.20 – 7.24 (m, 1H, ArH), 7.40 – 7.44 (m, 1H, ArH), 7.49 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, 1H, ArH), 7.59 (dd, $^4J_{\text{HH}} = 2.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, 1H, ArH), 7.61 – 7.70 (m, 5H, ArH), 8.08 – 8.12 (m, 2H, ArH), 8.28 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 8.37 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 10.81 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 55.3 (CH_3), 112.7 (CH), 117.4 (C), 117.6 (CH), 119.5 (CH), 120.0 (2x CH), 123.4 (CH), 124.9 (CH), 128.9 (CH), 129.8 (CH), 130.1 (2x CH), 130.4 (CH), 131.3 (CH), 136.0 (CH), 136.1 (C), 136.6 (C), 159.4 (C), 163.4 (C), 164.9 (C).

$\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_2$ (371.40)	Ber.:	C, 67.91	H, 4.61	N, 18.86
	Gef.:	C, 68.31	H, 4.71	N, 18.83

(117) 2-Methoxy-N-(2-(2-phenyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid

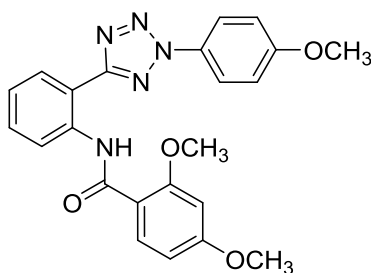
wurde aus **42** (0.12 g, 0.5 mmol) und 2-Methoxy-benzoylchlorid (0.086 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt erhalten und aus EtOH umkristallisiert (farblose Nadelchen; 0.092 g, 0.25 mmol, 50 % d. Th.).

Smp.: 114 – 115 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.88 (s, 3H, OCH₃), 7.12 (td, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.0 Hz, 1H, ArH), 7.25 (d, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, 1H, ArH), 7.35 – 7.40 (m, 1H, ArH), 7.56 – 7.71 (m, 5H, ArH), 7.95 (dd, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.8 Hz, 1H, ArH), 8.09 – 8.13 (m, 2H, ArH), 8.20 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.4 Hz, 1H, ArH), 8.53 (d, ³*J*_{HH} = 8.3 Hz, 1H, ArH), 11.22 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 56.0 (CH₃), 112.2 (CH), 116.2 (C), 120.1 (2x CH), 120.8 (CH), 122.5 (C), 123.0 (CH), 124.3 (CH), 129.1 (CH), 130.1 (2x CH), 130.4 (CH), 131.1 (CH), 131.3 (CH), 133.4 (CH), 136.0 (C), 136.6 (C), 156.9 (C), 163.3 (C), 163.7 (C).

C₂₁H₁₇N₅O₂ (371.40)	Ber.:	C, 67.91	H, 4.61	N, 18.86
	Gef.:	C, 67.97	H, 4.86	N, 18.46

(118) 2,4-Dimethoxy-N-(2-(2-(4-methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid

wurde aus **40** (0.066 g, 0.25 mmol) und 2,4-Dimethoxy-benzoylchlorid (0.061 g, 0.3 mmol, 1.2 Äq.) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (5:2) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.047 g, 0.12 mmol, 47 % d. Th.).

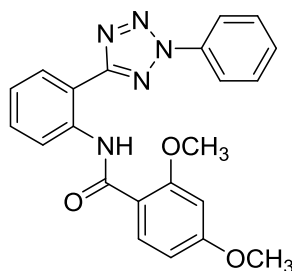
Smp.: 142 – 144 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 3.90 (s, 3H, OCH₃), 6.71 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz, 1H, ArH), 6.74 (d, $^4J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz, 1H, ArH), 7.23 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.7$ Hz, 2H, ArH), 7.34 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.59 (t, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.97 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.7$ Hz, 1H, ArH), 8.05 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$ Hz, 2H, ArH), 8.13 – 8.20 (m, 1H, ArH), 8.54 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, 1H, ArH), 11.22 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 55.6 (CH₃), 55.7 (CH₃), 56.1 (CH₃), 98.4 (CH), 106.2 (CH), 114.5 (C), 115.1 (2x CH), 116.0 (C), 121.9 (2x CH), 123.0 (CH), 124.0 (CH), 129.1 (CH), 129.4 (C), 131.0 (CH), 133.1 (CH), 136.8 (C), 158.7 (C), 160.6 (C), 163.1 (C), 163.2 (C), 163.7 (C).

C₂₃H₂₁N₅O₄ (401.43) Ber.: C, 64.03 H, 4.91 N, 16.23
Gef.: C, 63.75 H, 4.94 N, 16.17

(119) 2,4-Dimethoxy-N-(2-(2-phenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid



wurde aus **42** (0.1 g, 0.42 mmol) und 2,4-Dimethoxy-benzoylchlorid (0.1 g, 0.51 mmol, 1.2 Äq.) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (10:1) umkristallisiert (farblose Mikrokristalle; 0.12 g, 0.31 mmol, 60 % d. Th.).

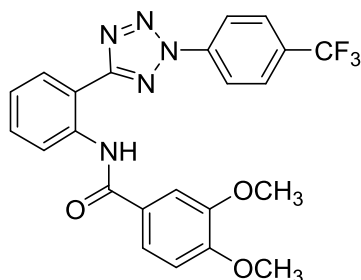
Smp.: 158 – 159 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.90 (s, 3H, OCH₃), 6.69 – 6.72 (m, 1H, ArH), 6.74 (d, $^4J_{\text{HH}} = 2.3$ Hz, 1H, ArH), 7.32 – 7.37 (m, 1H, ArH), 7.56 – 7.64 (m, 1H, ArH), 7.63 – 7.73 (m, 3H, ArH), 7.97 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 0.7$ Hz, 1H, ArH), 8.09 – 8.16 (m, 2H, ArH), 8.18 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 8.54 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, 1H, ArH), 11.20 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 55.6 (CH₃), 56.1 (CH₃), 98.4 (CH), 106.2 (CH), 114.5 (C), 116.0 (C), 120.1 (2x CH), 123.1 (CH), 124.0 (CH), 129.1 (CH), 130.1 (2x CH), 130.4 (CH), 131.2 (CH), 133.1 (CH), 136.0 (C), 136.8 (C), 158.7 (C), 163.2 (C), 163.3 (C), 163.7 (C).

C₂₂H₁₉N₅O₃ (401.43) Ber.: C, 65.83 H, 4.77 N, 17.45
Gef.: C, 65.47 H, 4.80 N, 17.43

(120) 3,4-Dimethoxy-N-(2-(2-(4-trifluormethyl-phenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid



wurde aus **34** (0.15 g, 0.5 mmol) und 3,4-Dimethoxy-benzoylchlorid (0.10 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.14 g, 0.30 mmol, 63 % d. Th.).

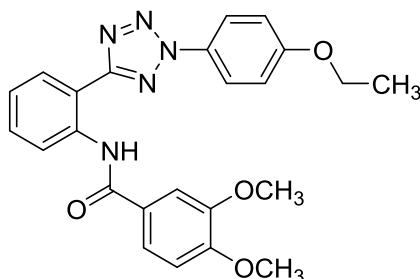
Smp.: 167 – 168 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.80 (s, 3H, OCH₃), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 7.13 (d, ³*J*_{HH} = 8.5 Hz, 1H, ArH), 7.40 (td, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.59 (d, ⁴*J*_{HH} = 2.1 Hz, 1H, ArH), 7.62 – 7.66 (m, 1H, ArH), 7.69 (dd, ³*J*_{HH} = 8.4 Hz, ⁴*J*_{HH} = 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.07 (d, ³*J*_{HH} = 8.6 Hz, 2H, ArH), 8.25 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.5 Hz, 1H, ArH), 8.33 (d, ³*J*_{HH} = 8.5 Hz, 2H, ArH), 8.36 (dd, ³*J*_{HH} = 8.3 Hz, ⁴*J*_{HH} = 0.8 Hz, 1H, ArH), 10.73 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.5 (CH₃), 55.7 (CH₃), 110.8 (CH), 111.2 (CH), 116.9 (C), 120.68 (2x CH), 120.71 (CH), 123.3 (CH), 123.56 (d, ¹*J*_{CF} = 272.7 Hz, C), 124.6 (CH), 126.7 (C), 127.44 (d, ³*J*_{CF} = 3.6 Hz, 2x CH), 129.0 (CH), 130.18 (q, ²*J*_{CF} = 32.4 Hz, C), 131.5 (CH), 137.0 (C), 138.6 (C), 148.6 (C), 152.0 (C), 163.9 (C), 164.7 (C).

C₂₃H₁₈F₃N₅O₃ (469.42) Ber.: C, 58.85 H, 3.87 N, 14.92
Gef.: C, 58.69 H, 3.94 N, 14.75

(121) 3,4-Dimethoxy-N-(2-(2-(4-ethoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid



wurde aus **36** (0.14 g, 0.5 mmol) und 3,4-Dimethoxy-benzoylchlorid (0.10 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (3:2) umkristallisiert (farblose Nadelchen; 0.14 g, 0.32 mmol, 64 % d. Th.).

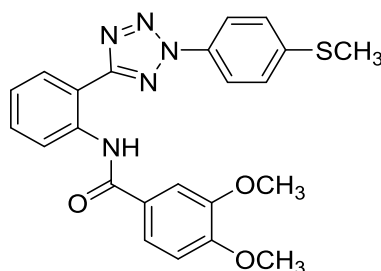
Smp.: 165 – 167 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1.39 (t, ³*J*_{HH} = 7.0 Hz, 3H, CH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 4.18 (q, ³*J*_{HH} = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 7.13 (d, ³*J*_{HH} = 8.4 Hz, 1H, ArH), 7.16 – 7.21 (m, 2H, ArH), 7.33 – 7.39 (m, 1H, ArH), 7.59 – 7.63 (m, 1H, ArH), 7.63 (d, ⁴*J*_{HH} = 2.1 Hz, 1H, ArH), 7.70 (dd, ³*J*_{HH} = 8.4 Hz, ⁴*J*_{HH} = 2.2 Hz, 1H, ArH), 7.98 – 8.03 (m, 2H, ArH), 8.26 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.5 Hz, 1H, ArH), 8.48 (dd, ³*J*_{HH} = 8.3 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.0 Hz, 1H, ArH), 10.82 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 14.0 (CH₃), 55.57 (CH₃), 55.61 (CH₃), 63.6 (CH₂), 111.2 (CH), 111.5 (CH), 115.4 (2x CH), 116.2 (C), 120.5 (CH), 121.5 (2x CH), 122.3 (CH), 123.9 (CH), 126.9 (C), 128.4 (CH), 129.1 (C), 130.8 (CH), 136.8 (C), 148.6 (C), 152.0 (C), 159.7 (C), 163.1 (C), 164.3 (C).

C₂₄H₂₃N₅O₄ (445.47)	Ber.:	C, 64.71	H, 5.20	N, 15.72
	Gef.:	C, 64.41	H, 5.29	N, 15.68

(122) 3,4-Dimethoxy-*N*-(2-(2-(4-(methylthio)phenyl)-2*H*-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid



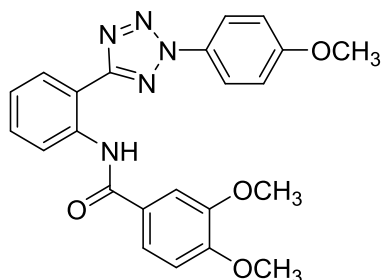
wurde aus **37** (0.14 g, 0.49 mmol) und 3,4-Dimethoxy-benzoylchlorid (0.10 g, 0.49 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (2:1) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.14 g, 0.31 mmol, 64 % d. Th.).

Smp.: 166 – 168 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2.58 (s, 3H, SCH₃), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 7.14 (d, ³*J*_{HH} = 8.5 Hz, 1H, ArH), 7.36 – 7.41 (m, 1H, ArH), 7.50 – 7.54 (m, 2H, ArH), 7.59 – 7.65 (m, 2H, ArH), 7.70 (dd, ³*J*_{HH} = 8.4 Hz, ⁴*J*_{HH} = 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.01 – 8.05 (m, 2H, ArH), 8.25 (dd, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 8.40 (d, ³*J*_{HH} = 8.2 Hz, 1H, ArH), 10.81 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 14.4 (CH₃), 55.5 (CH₃), 55.7 (CH₃), 110.8 (CH), 111.2 (CH), 116.9 (C), 120.4 (2x CH), 120.7 (CH), 123.0 (CH), 124.5 (CH), 126.6 (2x CH), 126.8 (C), 128.8 (CH), 131.3 (CH), 132.8 (C), 137.0 (C), 141.7 (C), 148.6 (C), 152.0 (C), 163.4 (C), 164.7 (C).

C₂₃H₂₁N₅O₃S (447.51)	Ber.:	C, 61.73	H, 4.73	N, 15.65
	Gef.:	C, 61.86	H, 4.75	N, 15.40

(123) 3,4-Dimethoxy-N-(2-(2-(4-methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid

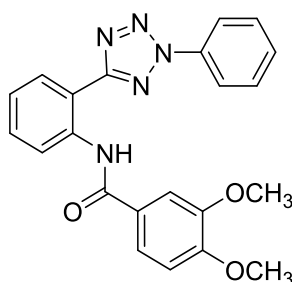
wurde aus **40** (0.30 g, 1.12 mmol) und 3,4-Dimethoxy-benzoylchlorid (0.23 g, 1.12 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (1:1) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.44 g, 0.81 mmol, 72 % d. Th.).

Smp.: 150 – 151 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.82 (s, 3H, OCH₃), 3.869 (s, 3H, OCH₃), 3.873 (s, 3H, OCH₃), 7.13 (d, ³*J*_{HH} = 8.5 Hz, 1H, ArH), 7.18 – 7.23 (m, 2H, ArH), 7.37 (td, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.1 Hz, 1H, ArH), 7.59 – 7.64 (m, 2H, ArH), 7.70 (dd, ³*J*_{HH} = 8.4 Hz, ⁴*J*_{HH} = 2.1 Hz, 1H, ArH), 8.00 – 8.05 (m, 2H, ArH), 8.25 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.5 Hz, 1H, ArH), 8.41 – 8.45 (m, 1H, ArH), 10.86 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.5 (CH₃), 55.7 (2x CH₃), 110.8 (CH), 111.2 (CH), 115.1 (2x CH), 116.7 (C), 120.7 (CH), 121.7 (2x CH), 122.8 (CH), 124.4 (CH), 126.8 (C), 128.8 (CH), 129.4 (C), 131.2 (CH), 136.9 (C), 148.6 (C), 152.0 (C), 160.6 (C), 163.3 (C), 164.6 (C).

C₂₃H₂₁N₅O₄ (431.41)	Ber.:	C, 64.03	H, 4.91	N, 16.23
	Gef.:	C, 63.90	H, 4.86	N, 16.17

(124) 3,4-Dimethoxy-N-(2-(2-phenyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid

wurde aus **42** (0.12 g, 0.5 mmol) und 3,4-Dimethoxy-benzoylchlorid (0.1 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (1:1) umkristallisiert (farblose Plättchen; 0.16 g, 0.38 mmol, 76 % d. Th.).

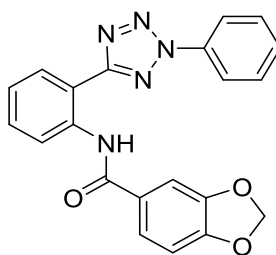
Smp.: 171 – 173 °C (Z)

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 3.98 (s, 3H, OCH_3), 4.03 (s, 3H, OCH_3), 7.01 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, 1H, ArH), 7.23 – 7.30 (m, 1H, ArH), 7.54 – 7.65 (m, 4H, ArH), 7.77 (d, $^4J_{\text{HH}} = 2.1$ Hz, 1H, ArH), 7.82 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.0$ Hz, 1H, ArH), 8.18 – 8.23 (m, 2H, ArH), 8.39 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 8.95 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 11.58 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 56.23 (CH_3), 56.24 (CH_3), 110.7 (CH), 110.9 (CH), 114.2 (C), 120.2 (2x CH), 120.8 (CH), 121.2 (CH), 123.6 (CH), 127.9 (C), 128.8 (CH), 130.0 (2x CH), 130.4 (CH), 132.0 (CH), 136.7 (C), 138.2 (C), 149.2 (C), 152.3 (C), 164.8 (C), 165.6 (C).

$\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_3$ (401.43) Ber.: C, 65.83 H, 4.77 N, 17.45
Gef.: C, 65.79 H, 4.83 N, 17.53

(125) N-(2-(2-Phenyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzo[d][1,3]dioxol-5-carboxamid



wurde aus **42** (0.12 g, 0.5 mmol) und Piperonylsäurechlorid (0.095 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (2:1) umkristallisiert (farblose Mikrokristalle; 0.16 g, 0.41 mmol, 82 % d. Th.).

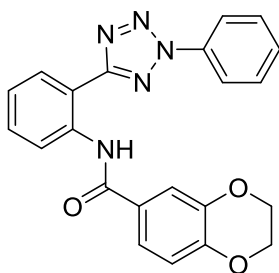
Smp.: 157 – 158 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 6.17 (s, 2H, CH_2), 7.09 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 7.38 – 7.42 (m, 1H, ArH), 7.58 (d, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, 1H, ArH), 7.60 – 7.72 (m, 5H, ArH), 8.10 – 8.15 (m, 2H, ArH), 8.27 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 8.35 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 10.68 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 102.0 (CH_2), 107.3 (CH), 108.1 (CH), 117.2 (C), 119.9 (2x CH), 122.7 (CH), 123.3 (CH), 124.6 (CH), 128.5 (C), 128.9 (CH), 130.1 (2x CH), 130.4 (CH), 131.3 (CH), 136.0 (C), 136.7 (C), 147.7 (C), 150.4 (C), 163.4 (C), 164.3 (C).

$\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_3$ (385.38) Ber.: C, 65.45 H, 3.92 N, 18.17
Gef.: C, 65.43 H, 4.31 N, 17.87

(126) *N*-(2-(2-Phenyl-2*H*-tetrazol-5-yl)phenyl)-2,3-dihydrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-carboxamid



wurde aus **42** (0.12 g, 0.5 mmol) und 1,4-Benzodioxan-6-carbonsäurechlorid (0.1 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (1:1) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.14 g, 0.35 mmol, 71 % d. Th.).

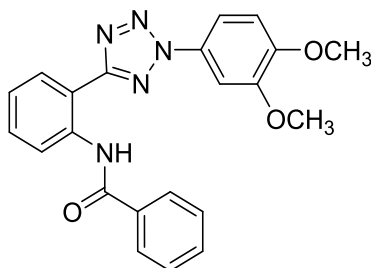
Smp.: 129 – 130 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 4.31 – 4.37 (m, 4H, 2x CH₂), 7.03 (d, ³*J*_{HH} = 8.4 Hz, 1H, ArH), 7.35 – 7.43 (m, 1H, ArH), 7.56 – 7.72 (m, 6H, ArH), 8.11 – 8.15 (m, 2H, ArH), 8.28 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 8.39 (dd, ³*J*_{HH} = 8.3 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.1 Hz, 1H, ArH), 10.71 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 64.0 (CH₂), 64.4 (CH₂), 116.3 (CH), 116.9 (C), 117.1 (CH), 120.0 (2x CH), 121.0 (CH), 123.1 (CH), 124.5 (CH), 127.4 (C), 128.8 (CH), 130.1 (2x CH), 130.4 (CH), 131.3 (CH), 136.0 (C), 136.8 (C), 143.2 (C), 146.7 (C), 163.4 (C), 164.3 (C).

C₂₂H₁₇N₅O₃ (399.41)	Ber.:	C, 66.16	H, 4.29	N, 17.53
	Ber. * H ₂ O	C, 63.30	H, 4.59	N, 16.78
	Gef.:	C, 63.27	H, 4.78	N, 16.43

(127) *N*-(2-(2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-2*H*-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid



wurde aus **44** (0.1 g, 0.34 mmol) und Benzoylchlorid (0.048 g, 0.34 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (10:1) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.12 g, 0.29 mmol, 85 % d. Th.).

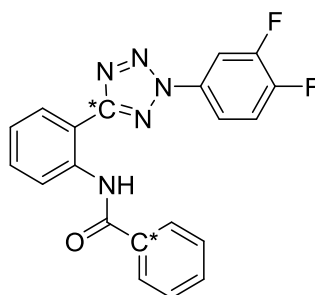
Smp.: 156 – 157 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.78 (s, 3H, OCH₃), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 7.21 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.8$ Hz, 1H, ArH), 7.41 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H), 7.54 – 7.69 (m, 6H, ArH), 8.05 – 8.09 (m, 2H, ArH), 8.28 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 8.34 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1H, ArH), 10.85 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 55.8 (CH₃), 55.9 (CH₃), 104.0 (CH), 112.0 (CH), 112.4 (CH), 117.6 (C), 123.6 (CH), 124.8 (CH), 127.4 (2x CH), 128.7 (2x CH), 128.9 (CH), 129.3 (C), 131.2 (CH), 132.0 (CH), 134.6 (C), 136.6 (C), 149.4 (C), 150.3 (C), 163.2 (C), 165.1 (C).

C₂₂H₁₉N₅O₃ (401.43)	Ber.:	C, 65.83	H, 4.77	N, 17.45
	Gef.:	C, 65.53	H, 4.80	N, 17.31

(128) N-(2-(2-(3,4-Difluorphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid



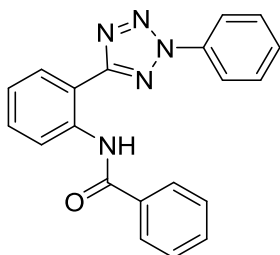
wurde aus **45** (0.067 g, 0.25 mmol) und Benzoylchlorid (0.036 g, 0.25 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (5:1) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.077 g, 0.20 mmol, 82 % d. Th.).

Smp.: 160 – 161 °C

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl₃) δ 7.28 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.42 (td, $^3J_{\text{HF}} = 9.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.54 – 7.64 (m, 4H), 7.99 – 8.03 (m, 1H, ArH), 8.09 (ddd, $^3J_{\text{HF}} = 10.2$ Hz, $^4J_{\text{HF}} = 6.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.6$ Hz, 1H, ArH), 8.15 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, 2H, ArH), 8.37 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 8.94 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, 1H, ArH), 11.42 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 110.32 (d, $^2J_{\text{CF}} = 22.7$ Hz, CH), 114.0 (C), 116.36 (dd, $^3J_{\text{CF}} = 6.8$ Hz, $^4J_{\text{CF}} = 3.9$ Hz, CH), 118.81 (d, $^2J_{\text{CF}} = 18.9$ Hz, CH), 121.5 (CH), 124.0 (CH), 127.6 (2x CH), 128.9 (CH), 129.0 (2x CH), 132.2 (CH), 132.3 (CH), 132.72 (dd, $^3J_{\text{CF}} = 8.1$ Hz, $^4J_{\text{CF}} = 3.5$ Hz, C), 137.9 (C), 150.82 (dd, $^1J_{\text{CF}} = 252.4$ Hz, $^2J_{\text{CF}} = 13.7$ Hz, C), 151.40 (dd, $^1J_{\text{CF}} = 253.9$ Hz, $^2J_{\text{CF}} = 12.4$ Hz, C), 165.0 (C); Signale für das Tetrazol-C und Phenyl-C fehlen.

C₂₀H₁₃F₂N₅O (377.35)	Ber.:	C, 63.66	H, 3.47	N, 18.56
	Gef.:	C, 64.00	H, 3.68	N, 18.43

(129) N-(2-(2-Phenyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid

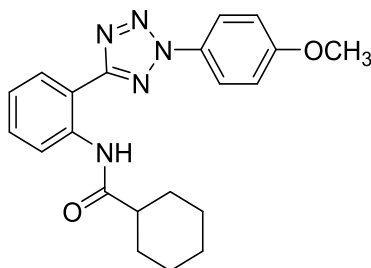
wurde aus **42** (0.15 g, 0.63 mmol) und Benzoylchlorid (0.090 g, 0.63 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (10:1) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.13 g, 0.38 mmol, 61 % d. Th.).

Smp.: 133 – 134 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.40 – 7.44 (m, 1H, ArH), 7.55 – 7.60 (m, 2H, ArH), 7.61 – 7.71 (m, 5H, ArH), 8.05 – 8.13 (m, 4H, ArH), 8.28 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.5 Hz, 1H, ArH), 8.37 (dd, ³*J*_{HH} = 8.3 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.1 Hz, 1H, ArH), 10.84 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 117.4 (C), 119.9 (2x CH), 123.5 (CH), 124.8 (CH), 127.4 (CH), 128.7 (2x CH), 128.9 (2x CH), 130.1 (2x CH), 130.4 (CH), 131.3 (CH), 132.0 (CH), 134.6 (C), 136.0 (C), 136.7 (C), 163.4 (C), 165.2 (C).

C₂₀H₁₅N₅O (341.37)	Ber.:	C, 70.37	H, 4.43	N, 20.52
	Gef.:	C, 69.98	H, 4.69	N, 20.44

6.1.3.7 Testsubstanzen mit substituierten Alicyclen**(130) N-(2-(2-(4-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-cyclohexancarboxamid**

wurde aus **40** (0.066 g, 0.25 mmol) und Cyclohexansäurechlorid (0.037 g, 0.25 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (farblose Mikrokristalle; 0.066 g, 0.17 mmol, 70 % d. Th.).

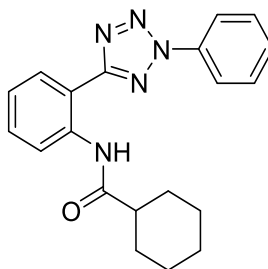
Smp.: 137 – 138 °C

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 1.27 – 1.34 (m, 1H, CH), 1.34 – 1.43 (m, 2H, CH_2), 1.59 – 1.68 (m, 2H, CH_2), 1.71 – 1.78 (m, 1H, CH), 1.83 – 1.91 (m, 2H, CH_2), 2.06 – 2.13 (m, 2H, CH_2), 2.38 – 2.48 (m, 1H, CH_2), 3.90 – 3.94 (m, 3H, OCH_3), 7.05 – 7.13 (m, 2H, ArH), 7.21 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.49 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, 1H, ArH), 8.12 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 2H, ArH), 8.32 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, 1H, ArH), 8.75 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, 1H, ArH), 10.71 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 25.97 (2x CH_2), 25.98 (CH_2), 29.9 (2x CH_2), 47.5 (CH), 55.9 (CH_3), 114.2 (C), 115.0 (2x CH), 121.3 (2x CH), 121.7 (CH), 123.4 (CH), 128.7 (CH), 130.2 (C), 131.7 (CH), 137.9 (C), 161.1 (C), 164.4 (C), 175.4 (C).

$\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_2$ (377.45) Ber.: C, 66.83 H, 6.14 N, 18.55
Gef.: C, 66.55 H, 6.14 N, 18.33

(131) N-(2-(2-Phenyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-cyclohexancarboxamid



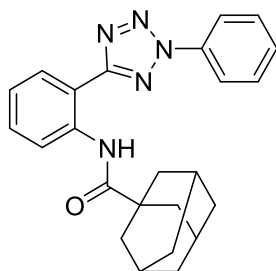
wurde aus **42** (0.066 g, 0.28 mmol) und Cyclohexansäurechlorid (0.042 g, 0.28 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (farblose Mikrokristalle; 0.024 g, 0.07 mmol, 25 % d. Th.).

Smp.: 122 – 123 °C

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 1.28 – 1.35 (m, 1H, CH), 1.34 – 1.45 (m, 2H, CH_2), 1.60 – 1.69 (m, 2H, CH_2), 1.71 – 1.79 (m, 1H, CH), 1.84 – 1.92 (m, 2H, CH_2), 2.05 – 2.15 (m, 2H, CH_2), 2.39 – 2.49 (m, 1H, CH), 7.22 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.48 – 7.53 (m, 1H, ArH), 7.54 – 7.59 (m, 1H, ArH), 7.59 – 7.66 (m, 2H, ArH), 8.21 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 2H, ArH), 8.34 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 8.75 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 10.67 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 25.96 (2x CH_2), 25.97 (CH_2), 29.9 (2x CH_2), 47.5 (CH), 114.0 (C), 120.1 (2x CH), 121.4 (CH), 123.5 (CH), 128.8 (CH), 130.0 (2x CH), 130.3 (CH), 131.8 (CH), 136.7 (C), 137.9 (C), 164.7 (C), 175.4 (C).

$\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}$ (347.42) Ber.: C, 69.14 H, 6.09 N, 20.16
Gef.: C, 69.07 H, 5.80 N, 20.12

(132) N-(2-(2-Phenyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-adamantan-1-carboxamid

ist in der AG Scholz (Pharmazeutisches Institut, Universität Bonn) aus **40** (0.050 g, 0.21 mmol) und Adamantan-1-carbonsäurechlorid (0.042 g, 0.21 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A dargestellt und aus EtOH umkristallisiert worden (weißer Feststoff; 0.051 g, 0.13 mmol, 61 % d. Th.). Die spektroskopische Charakterisierung erfolgte in der AG Scholz.

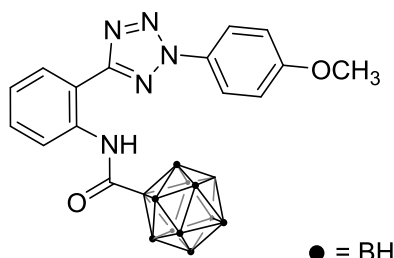
Smp.: 158 – 159 °C

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 1.80 (s, 6H, CH₂), 2.11 (s, 6H, CH₂), 2.13 (s, 3H, CH), 7.22 (t, ³J_{HH} = 7.5 Hz, 1H, ArH), 7.50 (t, ³J_{HH} = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.56 (t, ³J_{HH} = 7.4 Hz, 1H, ArH), 7.58 – 7.67 (m, 2H, ArH), 8.22 (dd, ³J_{HH} = 7.8 Hz, ⁴J = 1.7 Hz, 2H, ArH), 8.35 (dd, ³J_{HH} = 7.9 Hz, ⁴J_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 8.80 (d, ³J_{HH} = 8.4 Hz, 1H, ArH), 10.64 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 28.4 (3x CH), 36.7 (3x CH₂), 39.5 (3x CH₂), 42.5 (C), 114.3 (C), 120.2 (2x CH), 121.5 (CH), 123.5 (CH), 128.9 (CH), 130.0 (2x CH), 130.3 (CH), 131.8 (C), 136.7 (C), 138.0 (C), 164.6 (C), 177.6 (C).

Reinheit (LC-DAD/MS): > 98 %

HR-ESI⁺-MS	Ber. für C ₂₄ H ₂₆ N ₅ O [M+H] ⁺ :	400.2137
	Gef. :	400.2121

(133) N-(2-(2-(4-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-1,7-dicarba-closo-dodecaboran-1-carboxamid

ist in der AG Scholz (Pharmazeutisches Institut, Universität Bonn) aus **40** (0.056 g, 0.21 mmol) und *m*-Carboran-1-carbonsäurechlorid (0.043 g, 0.21 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A dargestellt und säulenchromatographisch isoliert worden (weißer Feststoff; 0.058 g, 0.13 mmol, 63 % d. Th.). Die spektroskopische Charakterisierung erfolgte in der AG Scholz.

Smp.: 187 °C

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 1.73 – 3.71 (m, 10H, B_{Cb}H), 3.09 (s, 1H, C_{Cb}H), 3.92 (s, 3H, OCH₃), 7.10 (m, 2H, ArH), 7.29 (td, ³J_{HH} = 7.6 Hz, ⁴J_{HH} = 1.1 Hz, 1H, ArH), 7.49 (m, 1H, ArH), 8.13 – 8.17 (m, 2H, ArH), 8.37 (dd, ³J_{HH} = 7.9 Hz, ⁴J_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 8.56 (dd, ³J_{HH} = 8.5 Hz, ⁴J_{HH} = 1.0 Hz, 1H), 10.75 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 55.0 (CH), 55.9 (CH₃), 77.1 (C), 115.0 (2x CH), 115.4 (C), 121.5 (CH), 121.8 (2x CH), 125.0 (CH), 129.0 (CH), 130.1 (C), 131.6 (CH), 136.2 (C), 159.4 (C), 161.1 (C), 163.5 (C).

¹¹B-NMR (193 MHz, CDCl₃) δ -15.8 (d, ¹J_{BH} = 187.3 Hz, 2B, BH), -13.5 (d, ¹J_{BH} = 168.7 Hz, 1B, BH), -12.6 – -9.8 (m, 3B, BH), -7.5 (d, ¹J_{BH} = 156.2 Hz, 1B, BH), -5.8 (d, ¹J_{BH} = 170.1 Hz, 2B, BH).*

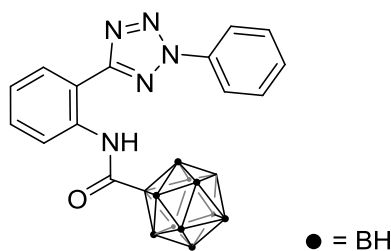
Reinheit (LC-DAD/MS): > 99 %

HR-ESI⁺-MS Ber. für C₁₇H₂₃B₁₀N₅O₂ [M+H]⁺ : 438.2933, 439.2897**
Gef. : 438.2887, 439.2847**

* Boratomanzahl wegen breiter Signale nicht eindeutig bestimmbar

** Isotopengemisch (bedingt durch chargenabhängigen höheren Anteil an ¹¹B)

(134) N-(2-(2-Phenyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-1,7-dicarba-closo-decaboran-1-carboxamid



ist in der AG Scholz (Pharmazeutisches Institut, Univ. Bonn) aus **42** (0.050 g, 0.21 mmol) und *m*-Carboran-1-carbonsäurechlorid (0.043 g, 0.21 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A dargestellt und säulenchromatographisch isoliert worden (weißer Feststoff; 0.067 g, 0.16 mmol, 78 % d. Th.). Die spektroskopische Charakterisierung erfolgte in der AG Scholz.

Smp.: 170 °C

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 1.70 – 3.77 (m, 10H, $\text{B}_{\text{Cb}}\text{H}$), 3.10 (s, 1H, $\text{C}_{\text{Cb}}\text{H}$), 7.30 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 7.48 – 7.52 (m, 1H, ArH), 7.55 – 7.58 (m, 1H, ArH), 7.60 – 7.66 (m, 2H, ArH), 8.23 – 8.27 (m, 2H, ArH), 8.39 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 8.56 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 10.72 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) δ 55.0 (CH), 77.0 (C), 115.3 (C), 120.3 (2x CH), 121.6 (CH), 125.0 (CH), 129.1 (CH), 130.0 (2x CH), 130.4 (CH), 131.8 (CH), 136.2 (C), 136.6 (C), 159.4 (C), 163.7 (C).

$^{11}\text{B-NMR}$ (193 MHz, CDCl_3) δ -15.4 (d, $^1J_{\text{BH}} = 187.2$ Hz, 2B, BH), -13.1 (d, $^1J_{\text{BH}} = 168.6$ Hz, 2B, BH), -12.1 – -9.4 (m, 3B, BH), -7.2 (d, $^1J_{\text{BH}} = 160.5$ Hz, 1B, BH), -5.4 (d, $^1J_{\text{BH}} = 168.7$ Hz, 2B, BH).*

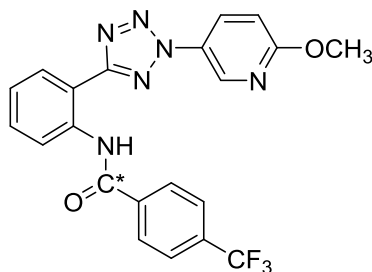
Reinheit (LC-DAD/MS): > 98 %

HR-ESI⁺-MS Ber. für $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{B}_{10}\text{N}_5\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 408.2828, 409.2791**
Gef. : 408.2758, 409.2734**

* Boratomanzahl wegen breiter Signale nicht eindeutig bestimmbar

** Isotopengemisch (bedingt durch chargenabhängigen höheren Anteil an ^{11}B)

(135) N-(2-(2-(6-Methoxypyridin-3-yl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-trifluormethyl-benzamid



wurde aus **48** (0.13 g, 0.5 mmol) und 4-Trifluormethyl-benzoylchlorid (0.11 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (10:3) umkristallisiert (gelblicher Feststoff; 0.14 g, 0.32 mmol, 65 % d. Th.).

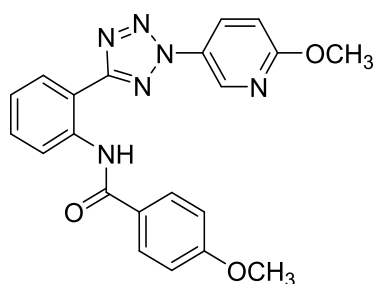
Smp.: 163 – 165 °C

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 3.96 (s, 1H, OCH_3), 7.10 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 9.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 0.7$ Hz, 1H, ArH), 7.46 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.64 – 7.68 (m, 1H, ArH), 7.94 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, 2H, ArH), 8.18 – 8.26 (m, 4H, ArH), 8.35 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, 1H, ArH), 8.83 (dd, $^4J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, $^5J_{\text{HH}} = 0.7$ Hz, 1H, ArH), 10.87 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 54.0 (CH₃), 111.7 (CH), 118.6 (C), 123.81 (d, $^1J_{\text{CF}} = 272.5$ Hz, C), 124.5 (CH), 125.6 (CH), 125.64 (q, $^3J_{\text{CF}} = 3.6$ Hz, 2x CH), 127.9 (C), 128.3 (CH), 129.1 (CH), 131.4 (CH), 131.67 (d, $^2J_{\text{CF}} = 31.9$ Hz, C), 131.7 (CH), 136.1 (CH), 138.4 (C), 139.0 (CH), 163.4 (C), 164.2 (C); Signal des Carbonyl-C fehlt.

C₂₁H₁₅F₃N₆O₂ (440.39)	Ber.:	C, 57.27	H, 3.43	N, 19.08
	Gef.:	C, 57.55	H, 3.72	N, 19.20

(136) **4-Methoxy-N-(2-(2-(6-methoxypyridin-3-yl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid**



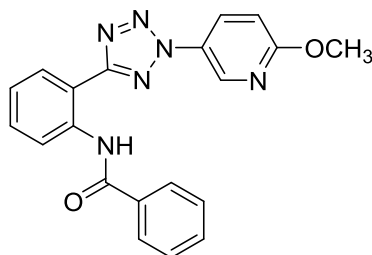
wurde aus **48** (0.13 g, 0.5 mmol) und 4-Methoxy-benzoylchlorid (0.086 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (5:2) umkristallisiert (gräulicher Feststoff; 0.055 g, 0.14 mmol, 28 % d. Th.).

Smp.: 138 – 140 °C

^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 3.86 (s, 3H, OCH₃), 3.98 (s, 3H, OCH₃), 7.08 – 7.12 (m, 2H, ArH), 7.15 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 0.7$ Hz, 1H, ArH), 7.38 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.60 – 7.64 (m, 1H, ArH), 8.01 – 8.05 (m, 2H, ArH), 8.25 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 8.38 – 8.42 (m, 2H, ArH), 8.90 (dd, $^4J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, $^5J_{\text{HH}} = 0.7$ Hz, 1H, ArH), 10.77 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 54.1 (CH₃), 55.5 (CH₃), 111.7 (CH), 113.9 (2x CH), 116.7 (C), 123.0 (CH), 124.4 (CH), 126.6 (C), 127.9 (C), 128.8 (CH), 129.3 (2x CH), 131.4 (CH), 131.8 (CH), 136.9 (C), 139.2 (CH), 162.2 (C), 163.6 (C), 164.3 (C), 164.6 (C).

C₂₁H₁₈N₆O₃ (402.41)	Ber.:	C, 62.68	H, 4.51	N, 20.88
	Gef.:	C, 62.50	H, 4.51	N, 21.26

(137) N-(2-(2-(6-Methoxypyridin-3-yl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid

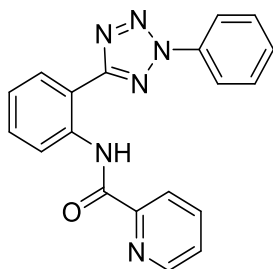
wurde aus **48** (0.13 g, 0.5 mmol) und Benzoylchlorid (0.07 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (gräulich-weiße Mikrokristalle; 0.13 g, 0.34 mmol, 69 % d. Th.).

Smp.: 147 – 148 °C

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.97 (s, 3H, OCH₃), 7.13 (d, ³*J*_{HH} = 9.0 Hz, 1H, ArH), 7.41 (td, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.57 (t, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, 2H, ArH), 7.61 – 7.68 (m, 2H, ArH), 8.03 – 8.08 (m, 2H, ArH), 8.26 (dd, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 8.36 – 8.40 (m, 2H, ArH), 8.91 (d, ⁴*J*_{HH} = 2.7 Hz, 1H, ArH), 10.85 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 54.1 (CH₃), 111.7 (CH), 117.2 (C), 123.4 (CH), 124.8 (CH), 127.3 (2x CH), 127.9 (C), 128.7 (2x CH), 128.9 (CH), 131.4 (CH), 131.8 (CH), 132.0 (CH), 134.5 (C), 136.6 (C), 139.1 (CH), 163.5 (C), 164.2 (C), 165.1 (C).

C₂₀H₁₆N₆O₂ (372.39)	Ber.:	C, 64.51	H, 4.33	N, 22.57
	Gef.:	C, 64.31	H, 4.57	N, 22.33

(138) N-(2-(2-Phenyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-picolinamid

wurde aus **42** (0.137 g, 0.5 mmol) und 2-Pyridincarbonsäure (0.062 g, 0.5 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.B hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (farblose Mikrokristalle; 0.10 g, 0.30 mmol, 60 % d. Th.).

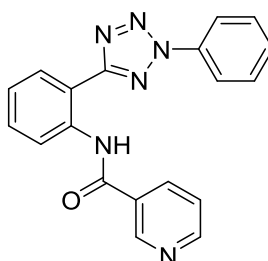
Smp.: 196 – 197 °C (Z)

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ 7.39 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.63 – 7.71 (m, 2H, ArH), 7.74 – 7.78 (m, 1H, ArH), 7.79 – 7.83 (m, 2H, ArH), 8.13 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, 1H, ArH), 8.26 (dt, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 8.37 – 8.43 (m, 3H, ArH), 8.82 (dt, $^3J_{\text{HH}} = 4.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1H, ArH), 8.84 – 8.87 (m, 1H, ArH), 12.39 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 115.0 (C), 119.8 (2x CH), 121.2 (CH), 122.8 (CH), 124.4 (CH), 127.7 (CH), 128.9 (CH), 130.4 (2x CH), 130.5 (CH), 131.8 (CH), 136.2 (C), 136.4 (C), 138.6 (CH), 148.7 (CH), 149.6 (C), 162.8 (C), 163.0 (C).

C₁₉H₁₄N₆O (342.36)	Ber.:	C, 66.66	H, 4.12	N, 24.55
	Gef.:	C, 66.55	H, 3.93	N, 24.38

(139) N-(2-(2-Phenyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-nicotinamid



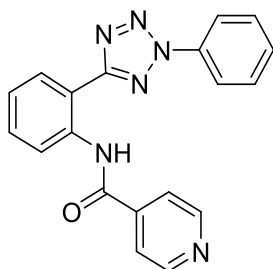
wurde aus **42** (0.066 g, 0.28 mmol) und 3-Pyridincarbonsäure-hydrochlorid (0.050 g, 0.28 mmol) in Gegenwart von Triethylamin (0.12 ml, 0.84 mmol, 3 Äq.) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (farblose Mikrokristalle; 0.046 g, 0.13 mmol, 48 % d. Th.).

Smp.: 152 – 153 °C

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl₃) δ 7.31 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.53 – 7.66 (m, 5H, ArH), 8.18 – 8.24 (m, 2H, ArH), 8.40 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 8.51 (dt, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, 1H, ArH), 8.81 – 8.88 (m, 2H, ArH), 8.91 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, ArH), 9.45 (s, 1H, ArH), 11.75 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 114.5 (C), 120.2 (2x CH), 121.4 (CH), 124.0 (CH), 124.4 (CH), 128.9 (CH), 130.1 (2x CH), 130.5 (CH), 131.3 (C), 132.1 (CH), 136.1 (CH), 136.6 (C), 137.4 (C), 148.5 (CH), 152.0 (CH), 163.8 (C), 164.6 (C).

C₁₉H₁₄N₆O (342.36)	Ber.:	C, 66.66	H, 4.12	N, 24.55
	Gef.:	C, 66.72	H, 3.95	N, 24.53

(140) N-(2-(2-Phenyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-isonicotinamid

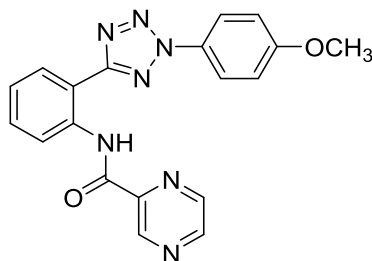
wurde hergestellt, indem nach Aktivierung^[218] der Isonicotinsäure (0.050 g, 0.41 mmol, 1 Äq.) in trockenem THF (5 ml) mit Carbonyldiimidazol (0.086 g, 0.53 mmol, 1.3 Äq.) eine Lösung von **42** (0.097 g, 0.41 mmol, 1 Äq.) in trockenem THF (5 ml) und Diisopropylethylamin (0.15 ml, 0.86 mmol, 2.1 Äq.) hinzugefügt wurde. Das Reaktionsgemisch wurde bis zur vollständigen Umsetzung unter Rückfluss erhitzt und anschließend auf Wasser gegeben. Das ausgefallene Produkt wurde abfiltriert und aus EtOH umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.11 g, 0.33 mmol, 80 % d. Th.).

Smp.: 182 – 183 °C

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.48 (td, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.61 – 7.70 (m, 4H, ArH), 7.93 – 7.96 (m, 2H, ArH), 8.06 – 8.10 (m, 2H, ArH), 8.18 (dd, ³*J*_{HH} = 8.2 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 8.26 (dd, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.4 Hz, 1H, ArH), 8.80 – 8.86 (m, 2H, ArH), 10.89 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 118.9 (C), 119.8 (2x CH), 121.3 (2x CH), 124.7 (CH), 125.8 (CH), 129.1 (CH), 130.1 (CH), 130.4 (2x CH), 131.3 (CH), 135.9 (C), 136.0 (C), 141.5 (C), 150.5 (2x CH), 163.3 (C), 163.8 (C).

C₁₉H₁₄N₆O (342.36)	Ber.:	C, 66.66	H, 4.12	N, 24.55
	Gef.:	C, 66.31	H, 3.91	N, 24.32

(141) N-(2-(2-(4-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-pyrazin-2-carboxamid

wurde aus **40** (0.066 g, 0.25 mmol, 1 Äq.) und Pyrazincarbonsäure (0.062 g, 0.5 mmol, 2 Äq.) gemäß ASV 6.1.2.8.B hergestellt und aus EtOH/THF (5:6) umkristallisiert (gelblicher Feststoff; 0.035 g, 0.094 mmol, 38 % d. Th.).

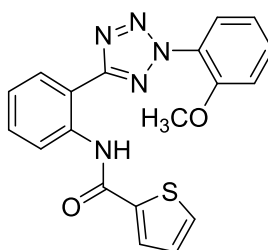
Smp.: 216 – 217 °C (Z)

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 3.94 (s, 3H, OCH₃), 7.10 – 7.14 (m, 2H, ArH), 7.31 – 7.35 (m, 1H), 7.57 – 7.61 (m, 1H, ArH), 8.26 – 8.31 (m, 2H, ArH), 8.45 (dd, ³J_{HH} = 7.8 Hz, ⁴J_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 8.69 (s, 1H, ArH), 8.85 (s, 1H, ArH), 8.96 (dd, ³J_{HH} = 8.4 Hz, ⁴J_{HH} = 1.1 Hz, 1H, ArH), 9.57 (s, 1H, ArH), 12.49 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 55.9 (CH₃), 114.9 (2x CH), 115.6 (C), 121.56 (2x CH), 121.57 (CH), 124.6 (CH), 129.1 (CH), 130.4 (C), 131.7 (CH), 136.5 (C), 142.7 (CH), 145.3 (CH), 145.5 (C), 147.5 (CH), 160.9 (C), 162.1 (C), 163.7 (C).

C₁₉H₁₅N₇O₂ (373.38)	Ber.:	C, 61.12	H, 4.05	N, 26.26
	Gef.:	C, 61.15	H, 4.14	N, 26.44

(142) N-(2-(2-(2-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-2-thenoensäureamid



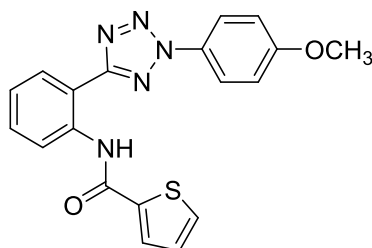
wurde aus **38** (0.066 g, 0.25 mmol) und 2-Thenoensäurechlorid (0.037 g, 0.25 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (10:1) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.041 g, 0.11 mmol, 44 % d. Th.).

Smp.: 171 – 172 °C (Z)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 3.88 (s, 3H, OCH₃), 7.10 – 7.14 (m, 1H, HetH), 7.15 – 7.21 (m, 2H, ArH), 7.23 – 7.28 (m, 1H, ArH), 7.52 – 7.58 (m, 2H, ArH), 7.58 – 7.63 (m, 1H, ArH), 7.62 – 7.68 (m, 1H, HetH), 7.94 (dt, ³J_{HH} = 3.8 Hz, ⁴J_{HH} = 1.1 Hz, 1H, HetH), 8.38 (dt, ³J_{HH} = 7.9 Hz, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1H, ArH), 8.87 (dd, ³J_{HH} = 8.5 Hz, ⁴J_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 11.64 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, CDCl₃) 56.4 (CH₃), 112.9 (CH), 114.3 (C), 121.0 (CH), 121.1 (CH), 123.8 (CH), 126.1 (C), 127.1 (CH), 127.9 (CH), 128.6 (CH), 128.8 (CH), 131.3 (CH), 131.8 (CH), 132.6 (CH), 137.7 (C), 140.9 (C), 153.6 (C), 160.6 (C), 164.3 (C).

C₁₉H₁₅N₅O₂S (377.42)	Ber.:	C, 60.47	H, 4.01	N, 18.56
	Gef.:	C, 60.30	H, 4.00	N, 18.51

(143) N-(2-(2-(4-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-2-thenoensäureamid

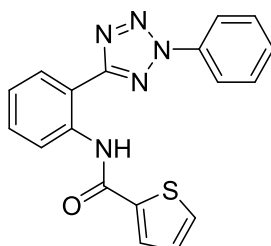
wurde aus **40** (0.066 g, 0.25 mmol) und 2-Thenoensäurechlorid (0.037 g, 0.25 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (5:2) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.055 g, 0.14 mmol, 58 % d. Th.).

Smp.: 180 – 181 °C (Z)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 3.92 (s, 3H, OCH₃), 7.07 – 7.11 (m, 2H, ArH), 7.19 (dd, ³J_{HH} = 5.0 Hz, ³J_{HH} = 3.7 Hz, 1H, HetH), 7.23 – 7.28 (m, 2H, ArH), 7.52 – 7.57 (m, 1H, ArH), 7.59 (dd, ³J_{HH} = 5.0 Hz, ⁴J_{HH} = 1.2 Hz, 1H, HetH), 7.97 (dd, ³J_{HH} = 3.7 Hz, ⁴J_{HH} = 1.2 Hz, 1H, HetH), 8.10 – 8.16 (m, 2H, ArH), 8.35 (dd, ³J_{HH} = 7.9 Hz, ⁴J_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 8.86 (dd, ³J_{HH} = 8.5 Hz, ⁴J_{HH} = 1.1 Hz, 1H, ArH), 11.62 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 55.9 (CH₃), 114.2 (C), 115.0 (2x CH), 121.2 (CH), 121.8 (2x CH), 123.8 (CH), 128.1 (CH), 128.7 (CH), 128.8 (CH), 130.2 (C), 131.3 (CH), 131.9 (CH), 137.7 (C), 140.8 (C), 160.6 (C), 161.1 (C), 164.5 (C).

C₁₉H₁₅N₅O₂S (377.42)	Ber.:	C, 60.47	H, 4.01	N, 18.56
	Gef.:	C, 60.66	H, 4.05	N, 18.54

(144) N-(2-(2-Phenyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-2-thenoensäureamid

wurde aus **42** (0.059 g, 0.25 mmol) und 2-Thenoensäurechlorid (0.037 g, 0.25 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (10:1) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.059 g, 0.17 mmol, 68 % d. Th.).

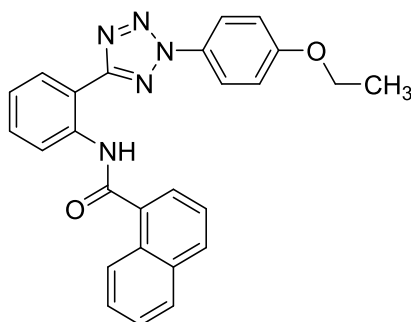
Smp.: 155 – 156 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.20 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 5.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.7$ Hz, 1H, HetH), 7.23 – 7.30 (m, 1H, ArH), 7.53 – 7.65 (m, 5H, ArH), 7.97 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 3.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1H, HetH), 8.21 – 8.24 (m, 2H, ArH), 8.37 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 8.86 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 11.58 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 114.1 (C), 120.3 (2x CH), 121.2 (CH), 123.8 (CH), 128.1 (CH), 128.78 (CH), 128.83 (CH), 130.0 (2x CH), 130.4 (CH), 131.3 (CH), 132.0 (CH), 136.7 (C), 137.8 (C), 140.7 (C), 160.6 (C), 164.7 (C).

$\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{OS}$ (347.40) Ber.: C, 62.23 H, 3.77 N, 20.16
Gef.: C, 62.14 H, 3.79 N, 20.06

(145) N-(2-(2-(4-Ethoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-1-naphthamid



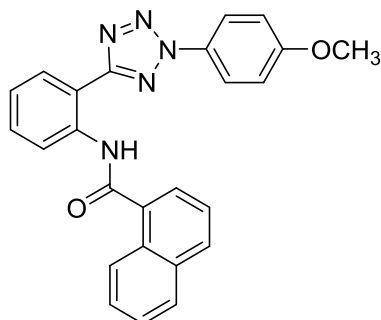
wurde aus **36** (0.45 g, 1.6 mmol) und 1-Naphthoylchlorid (0.31 g, 1.6 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (1:5) umkristallisiert (gelbe Mikrokristalle; 0.21 g, 0.49 mmol, 30 % d. Th.).

Smp: 184 – 185 °C (Z)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 1.37 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 3H, CH_3), 4.13 (q, $^3J_{\text{HH}} = 6.9$ Hz, 2H, CH_2), 7.09 – 7.15 (m, 2H, ArH), 7.45 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.54 – 7.71 (m, 4H, ArH), 7.86 – 7.92 (m, 2H, ArH), 8.02 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.1$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 8.03 – 8.06 (m, 1H, ArH), 8.10 – 8.16 (m, 1H, ArH), 8.21 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 8.32 – 8.40 (m, 2H, ArH), 10.77 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 14.4 (CH_3), 63.7 (CH_2), 115.4 (2x CH), 118.4 (C), 121.4 (2x CH), 123.9 (CH), 124.9 (CH), 125.1 (CH), 125.2 (CH), 125.6 (CH), 126.4 (CH), 127.0 (CH), 128.3 (CH), 129.1 (CH), 129.2 (C), 129.6 (C), 130.7 (CH), 131.2 (CH), 133.3 (C), 134.1 (C), 136.5 (C), 159.6 (C), 163.1 (C), 167.1 (C).

$\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_2$ (435.49) Ber.: C, 71.71 H, 4.86 N, 16.08
Gef.: C, 72.10 H, 5.19 N, 15.86

(146) N-(2-(2-(4-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-1-naphthamid

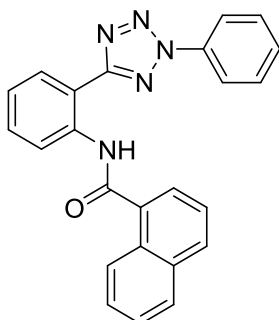
wurde aus **40** (0.10 g, 0.37 mmol) und 1-Naphthoylchlorid (0.086 g, 0.45 mmol, 1.2 Äq.) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (10:7) umkristallisiert (gelblicher Feststoff; 0.12 g, 0.27 mmol, 74 % d. Th.).

Smp.: 186 – 187 °C (Z)

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.86 (s, 3H, OCH₃), 7.10 – 7.17 (m, 2H, ArH), 7.45 (td, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.54 – 7.71 (m, 4H, ArH), 7.89 – 7.94 (m, 2H, ArH), 7.99 – 8.08 (m, 2H, ArH), 8.13 (d, ³*J*_{HH} = 8.2 Hz, 1H, ArH), 8.21 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 8.31 – 8.39 (m, 2H, ArH), 10.78 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.7 (CH₃), 115.0 (2x CH), 118.4 (C), 121.5 (2x CH), 124.0 (CH), 125.0 (CH), 125.1 (CH), 125.2 (CH), 125.7 (CH), 126.4 (CH), 127.0 (CH), 128.3 (CH), 129.1 (CH), 129.4 (C), 129.7 (C), 130.8 (CH), 131.2 (CH), 133.3 (C), 134.2 (C), 136.5 (C), 160.4 (C), 163.2 (C), 167.1 (C).

C₂₅H₁₉N₆O₂ (421.46)	Ber.:	C, 71.25	H, 4.54	N, 16.62
	Gef.:	C, 70.91	H, 4.24	N, 16.52

(147) N-(2-(2-Phenyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-1-naphthamid

wurde aus **42** (0.1 g, 0.42 mmol) und 1-Naphthoylchlorid (0.097 g, 0.51 mmol, 1.2 Äq.) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (10:7) umkristallisiert (farblose Mikrokristalle; 0.087 g, 0.22 mmol, 53 % d. Th.).

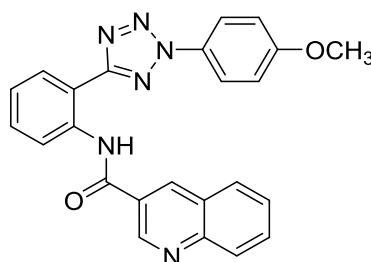
Smp.: 170 – 171 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.46 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.54 – 7.65 (m, 6H, ArH), 7.66 – 7.71 (m, 1H, ArH), 7.96 – 8.01 (m, 2H, ArH), 8.01 – 8.06 (m, 2H, ArH), 8.12 (dt, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1H, ArH), 8.22 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 8.32 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.2$ Hz, 1H, ArH), 8.33 – 8.39 (m, 1H, ArH), 10.75 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 118.5 (C), 119.7 (2x CH), 124.1 (CH), 124.9 (CH), 125.2 (2x CH), 125.7 (CH), 126.4 (CH), 127.0 (CH), 128.3 (CH), 129.2 (CH), 129.7 (C), 130.0 (2x CH), 130.2 (CH), 130.7 (CH), 131.3 (CH), 133.3 (C), 134.2 (C), 135.9 (C), 136.5 (C), 163.4 (C), 167.1 (C).

$\text{C}_{24}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}$ (391.43)	Ber.:	C, 73.64	H, 4.38	N, 17.89
	Gef.:	C, 73.31	H, 4.19	N, 17.75

(148) N-(2-(2-(4-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-chinolin-3-carboxamid



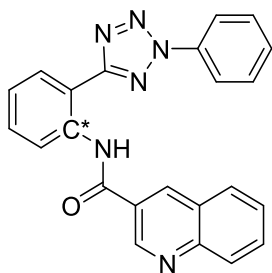
wurde aus **40** (0.066 g, 0.25 mmol, 1 Äq.) und 3-Chinolin-carbonsäurechlorid (0.095 g, 0.5 mmol, 2 Äq.) in Gegenwart von Triethylamin (0.12 ml, 0.75 mmol, 3 Äq.) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (5:6) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.064 g, 0.15 mmol, 61 % d. Th.).

Smp.: 209 – 210 °C (Z)

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 3.91 (s, 3H, OCH_3), 7.02 – 7.11 (m, 2H, ArH), 7.28 – 7.35 (m, 1H, ArH), 7.57 – 7.63 (m, 1H, ArH), 7.68 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, 1H, ArH), 7.84 – 7.92 (m, 1H, ArH), 8.01 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 8.08 – 8.15 (m, 2H, ArH), 8.26 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, 1H, ArH), 8.41 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1H, ArH), 8.95 – 9.01 (m, 2H, ArH), 9.70 (s, 1H, ArH), 11.91 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 55.9 (CH_3), 114.6 (C), 115.1 (2x CH), 121.3 (CH), 121.7 (2x CH), 124.3 (CH), 127.2 (C), 127.88 (C), 127.93 (CH), 128.8 (CH), 129.2 (CH), 129.3 (CH), 130.1 (C), 131.9 (CH), 136.7 (CH), 137.5 (CH), 148.7 (CH), 148.9 (C), 161.1 (C), 163.9 (C), 164.3 (C). Ein Signal fehlt.

$\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{N}_6\text{O}_2$ (422.45)	Ber.:	C, 68.24	H, 4.29	N, 19.89
	Gef.:	C, 67.94	H, 4.09	N, 19.72

(149) N-(2-(2-Phenyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-chinolin-3-carboxamid

wurde aus **42** (0.059 g, 0.25 mmol, 1 Äq.) und 3-Chinolin-carbonsäurechlorid (0.096 g, 0.5 mmol, 2 Äq.) in Gegenwart von Triethylamin (0.12 ml, 0.75 mmol, 3 Äq.) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (2:1) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.054 g, 0.14 mmol, 55 % d. Th.).

Smp.: 201 – 202 °C (Z)

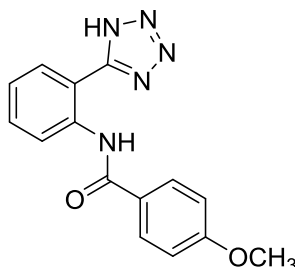
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.49 (td, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.2 Hz, 1H, ArH), 7.56 – 7.61 (m, 3H, ArH), 7.69 (td, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 7.72 – 7.78 (m, 1H, ArH), 7.89 – 7.97 (m, 1H, ArH), 8.05 – 8.12 (m, 3H, ArH), 8.15 (d, ³*J*_{HH} = 8.5 Hz, 1H, ArH), 8.26 (dd, ³*J*_{HH} = 8.2 Hz, ⁴*J* = 1.1 Hz, 1H, ArH), 8.28 (dd, ³*J*_{HH} = 7.8 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 9.05 (d, ⁴*J*_{HH} = 2.3 Hz, 1H, ArH), 9.45 (d, ⁴*J*_{HH} = 2.3 Hz, 1H, ArH), 10.96 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 118.8 (C), 119.9 (2x CH), 124.6 (CH), 125.5 (CH), 126.4 (C), 127.3 (C), 127.6 (CH), 128.8 (CH), 129.1 (CH), 129.2 (CH), 130.1 (2x CH), 130.3 (CH), 131.4 (CH), 131.6 (CH), 136.0 (CH), 136.2 (C), 148.6 (CH), 148.8 (C), 163.3 (C), 164.0 (C); Signal für Phenyl-C fehlt.

C₂₃H₁₆N₆O (392.42)	Ber.:	C, 70.40	H, 4.11	N, 21.42
	Gef.:	C, 70.13	H, 3.96	N, 21.20

6.1.3.8 Testsubstanzen mit abgeänderter Grundstruktur

(150) *N*-(2-(1*H*-Tetrazol-5-yl)phenyl)-4-methoxy-benzamid



wurde aus **10** (0.11 g, 0.45 mmol) gemäß ASV 6.1.2.4 hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.081 g, 0.27 mmol, 60 % d. Th.).

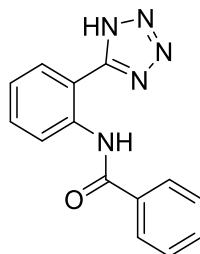
Smp.: 181 – 183 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.87 (s, 3H, OCH₃), 7.14 (d, ³*J*_{HH} = 8.7 Hz, 2H, ArH), 7.31 (t, ³*J*_{HH} = 7.6 Hz, 1H, ArH), 7.57 (t, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, 1H, ArH), 8.00 – 8.11 (m, 3H, ArH), 8.65 (d, ³*J* = 8.4 Hz, 1H, ArH), 11.78 (s, 1H*, NH); Signal für Tetrazol-H fehlt.

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.5 (CH₃), 114.0 (C), 114.1 (2x CH), 121.2 (CH), 123.6 (CH), 126.6 (C), 128.3 (CH), 129.2 (2x CH), 131.1 (CH), 137.3 (C), 155.6 (C), 162.2 (C), 164.5 (C).

C₁₅H₁₃N₅O₂ (295.30)	Ber.:	C, 61.01	H, 4.44	N, 23.72
	Gef.:	C, 61.04	H, 4.83	N, 23.60

(151) *N*-(2-(1*H*-Tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid



wurde aus **11** (0.1 g, 0.45 mmol) gemäß ASV 6.1.2.4 hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.071 g, 0.27 mmol, 60 % d. Th.).

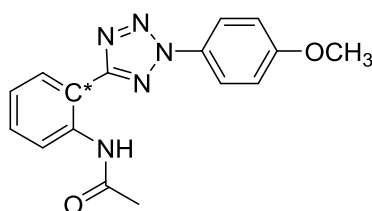
Smp.: 226 – 227 °C (Z)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.38 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.57 – 7.68 (m, 4H, ArH), 8.02 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 8.06 (d, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$ Hz, 2H, ArH), 8.59 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, 1H, ArH), 11.52 (s, 1H*, NH); Signal für Tetrazol-H fehlt.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 113.5 (C), 121.9 (CH), 124.2 (CH), 127.3 (2x CH), 128.6 (CH), 128.8 (2x CH), 131.8 (CH), 132.1 (CH), 134.4 (C), 137.2 (C), 165.0 (C).

$\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{N}_5\text{O}$ (256.28)	Ber.:	C, 63.39	H, 4.18	N, 26.40
	Gef.:	C, 63.62	H, 4.54	N, 26.28

(152) *N*-(2-(2-(4-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-acetamid



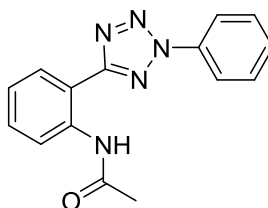
wurde erhalten, indem frisch destilliertes Acetanhydrid (5 ml) zu **40** (0.066 g, 0.25 mmol) in trockenem THF (5 ml) bei Raumtemperatur getropft wurde. Nach vollständiger Umsetzung (DC-Kontrolle) und Abdestillieren des Lösungsmittels wird das Produkt durch Eiswasser (20 ml) gefällt, abfiltriert und pH-neutral gewaschen (weißer Feststoff; 0.062 g, 0.20 mmol, 79 % d. Th.). Ein Umkristallisieren war nicht notwendig.

Smp.: 157 – 158 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 2.13 (s, 3H, CH₃), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 7.22 – 7.28 (m, 2H, ArH), 7.34 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, ArH), 7.51 – 7.59 (m, 1H, ArH), 8.06 – 8.13 (m, 4H, ArH), 10.01 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 24.1 (CH₃), 55.7 (CH₃), 115.2 (2x CH), 121.6 (2x CH), 123.5 (CH), 124.4 (CH), 129.0 (CH), 129.5 (C), 131.0 (CH), 136.5 (C), 160.4 (C), 163.1 (C), 168.4 (C); C*-Signal fehlt.

$\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_2$ (309.33)	Ber.:	C, 62.31	H, 4.89	N, 22.64
	Gef.:	C, 62.00	H, 4.98	N, 22.89

(153) N-(2-(2-Phenyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-acetamid

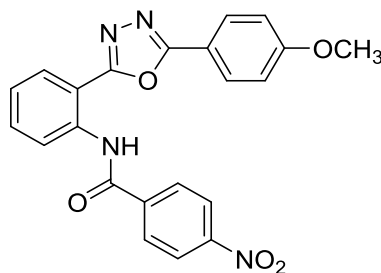
wurde erhalten, indem frisch destilliertes Acetanhydrid (5 ml) zu **42** (0.059 g, 0.25 mmol) in trockenem THF (5 ml) bei Raumtemperatur getropft wurde. Nach vollständiger Umsetzung (DC-Kontrolle) und Abdestillieren des Lösungsmittels wird das Produkt durch Eiswasser (20 ml) gefällt, abfiltriert und pH-neutral gewaschen (weißer Feststoff; 0.062 g, 0.21 mmol, 84 % d. Th.). Ein Umkristallisieren war nicht notwendig.

Smp.: 139 – 140 °C

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 2.34 (s, 3H, CH₃), 7.21 – 7.25 (m, 1H, ArH), 7.49 – 7.53 (m, 1H, ArH), 7.54 – 7.58 (m, 1H, ArH), 7.60 – 7.65 (m, 2H, ArH), 8.17 – 8.24 (m, 2H, ArH), 8.32 (dd, ³J_{HH} = 7.9 Hz, ⁴J_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH), 8.70 (d, ³J_{HH} = 8.4 Hz, 1H, ArH), 10.73 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 25.7 (CH₃), 114.0 (C), 120.1 (2x CH), 121.3 (CH), 123.7 (CH), 128.7 (CH), 130.0 (2x CH), 130.4 (CH), 131.9 (CH), 136.7 (C), 137.7 (C), 164.6 (C), 166.6 (C).

C₁₅H₁₃N₅O (279.30)	Ber.:	C, 64.51	H, 4.69	N, 25.07
	Gef.:	C, 64.62	H, 4.52	N, 25.00

(154) N-(2-(5-(4-Methoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)phenyl)-4-nitrobenzamid

wurde aus **57** (0.1 g, 0.37 mmol) und 4-Nitrobenzoylchlorid (0.069 g, 0.37 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8 hergestellt und aus EtOH/THF (1:1) umkristallisiert (gelber Feststoff; 0.065 g, 0. mmol, 42 % d. Th.).

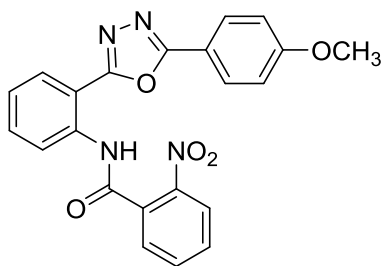
Smp.: 241 – 242 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.88 (s, 3H, OCH₃), 7.12 – 7.18 (m, 2H, ArH), 7.42 – 7.46 (m, 1H, ArH), 7.68 – 7.73 (m, 1H, ArH), 8.01 – 8.06 (m, 2H, ArH), 8.19 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 8.40 – 8.44 (m, 2H, ArH), 8.49 – 8.54 (m, 1H, ArH), 8.30 – 8.26 (m, 2H, ArH), 11.41 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 55.3 (CH₃), 113.3 (C), 114.7 (CH), 115.0 (C), 122.0 (CH), 123.6 (CH), 124.5 (CH), 128.1 (CH), 128.4 (CH), 128.5 (CH), 132.2 (CH), 136.6 (C), 139.7 (C), 149.4 (C), 162.2 (C), 162.7 (C), 163.0 (C), 163.4 (C).

C₂₂H₁₆N₄O₅ (416.39)	Ber.:	C, 63.46	H, 3.87	N, 13.46
	Ber. *0.5 EtOH:	C, 62.87	H, 4.36	N, 12.75
	Gef.:	C, 62.74	H, 4.31	N, 12.47

(155) N-(2-(5-(4-Methoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)phenyl)-2-nitrobenzamid



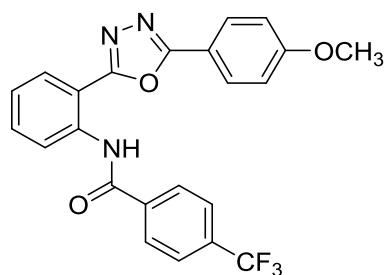
wurde aus **57** (0.1 g, 0.37 mmol) und 2-Nitrobenzoylchlorid (0.069 g, 0.37 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8 hergestellt und aus EtOH/THF (5:3) umkristallisiert (gelblicher Feststoff; 0.076 g, 0.18 mmol, 49 % d. Th.).

Smp.: 215 – 216 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.87 (s, 3H, OCH₃), 7.18 – 7.14 (m, 2H, ArH), 7.45 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$, 1.1 Hz, 1H, ArH), 7.71 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$ Hz, 1H, ArH), 7.85 – 7.80 (m, 1H, ArH), 7.97 – 7.91 (m, 2H, ArH), 8.06 – 8.02 (m, 2H, ArH), 8.32 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, 1H, ArH), 8.19 – 8.15 (m, 2H, ArH), 11.12 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 55.5 (CH₃), 114.1 (C), 114.9 (2x CH), 115.3 (C), 122.7 (CH), 124.6 (CH), 125.1 (CH), 128.6 (2x CH), 128.7 (CH), 128.8 (CH), 131.6 (CH), 131.8 (C), 132.5 (CH), 134.1 (CH), 136.4 (C), 146.9 (C), 162.3 (C), 162.7 (C), 163.4 (C), 164.0 (C).

C₂₂H₁₆N₄O₅ (416.39)	Ber.:	C, 63.46	H, 3.87	N, 13.46
	Gef.:	C, 63.49	H, 4.01	N, 13.39

(156) N-(2-(5-(4-Methoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)phenyl)-4-trifluormethyl-benzamid

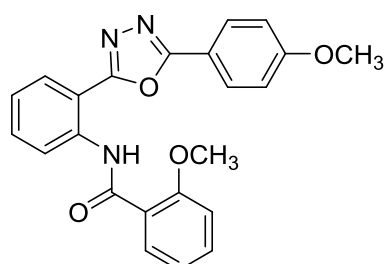
wurde aus **57** (0.1 g, 0.37 mmol) und 4-Trifluormethyl-benzoylchlorid (0.078 g, 0.37 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8 hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.073 g, 0.17 mmol, 45 % d. Th.).

Smp.: 219 – 220 °C

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.87 (s, 3H, OCH₃), 7.13 – 7.17 (m, 2H, ArH), 7.42 – 7.46 (m, 1H, ArH), 7.69 – 7.73 (m, 1H, ArH), 8.00 – 8.06 (m, 4H, ArH), 8.22 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.4 Hz, 1H, ArH), 8.25 (d, ³*J*_{HH} = 8.1 Hz, 2H, ArH), 8.54 (d, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, 1H, ArH), 11.48 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.5 (CH₃), 113.3 (C), 114.9 (2x CH), 115.2 (C), 122.1 (CH), 123.80 (q, ¹*J*_{CF} = 272.6 Hz, C), 124.8 (CH), 125.96 (q, ³*J*_{CF} = 3.6 Hz, 2x CH), 128.3 (2x CH), 128.5 (CH), 128.7 (2x CH), 131.95 (q, ²*J*_{CF} = 32.1 Hz, C), 132.6 (CH), 136.9 (C), 138.1 (C), 162.3 (C), 163.0 (C), 163.2 (C), 164.1 (C).

C₂₃H₁₆F₃N₃O₃ (439.39)	Ber.:	C, 62.87	H, 3.67	N, 9.56
	Gef.:	C, 62.77	H, 3.79	N, 9.53

(157) 2-Methoxy-N-(2-(5-(4-methoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)phenyl)-benzamid

wurde aus **57** (0.08 g, 0.30 mmol, 1 Äq.) und 2-Methoxy-benzoylchlorid (0.062 g, 0.36 mmol, 1.2 Äq.) gemäß ASV 6.1.2.8 hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.065 g, 0.16 mmol, 54 % d. Th.).

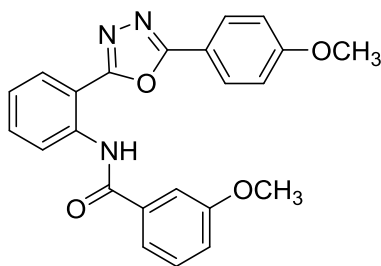
Smp.: 178 – 179 °C

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 3.91 (d, $^3J_{\text{HH}} = 4.0$ Hz, 3H, OCH_3), 4.15 (d, $^3J_{\text{HH}} = 3.9$ Hz, 3H, OCH_3), 6.97 – 7.16 (m, 4H, ArH), 7.20 – 7.32 (m, 1H, ArH), 7.45 – 7.64 (m, 2H, ArH), 7.96 – 8.21 (m, 4H, ArH), 8.99 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 3.7$ Hz, 1H, ArH), 12.02 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 55.7 (CH_3), 56.1 (CH_3), 111.5 (C), 112.0 (CH), 114.8 (2x CH), 116.2 (C), 121.0 (CH), 122.7 (CH), 123.0 (C), 123.4 (CH), 128.0 (CH), 129.0 (2x CH), 132.3 (CH), 132.5 (CH), 133.3 (CH), 138.6 (C), 157.8 (C), 162.7 (C), 163.1 (C), 163.9 (C), 165.2 (C).

$\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4$ (401.42)	Ber.:	C, 68.82	H, 4.77	N, 10.47
	Gef.:	C, 69.09	H, 4.98	N, 10.43

(158) 3-Methoxy-*N*-(2-(5-(4-methoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)phenyl)-benzamid



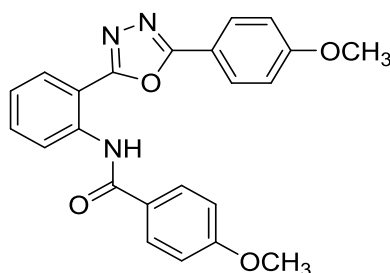
wurde aus **57** (0.080 g, 0.30 mmol, 1 Äq.) und 3-Methoxy-benzoylchlorid (0.062 g, 0.36 mmol, 1.2 Äq.) gemäß ASV 6.1.2.8 hergestellt und aus EtOH/THF (5:1) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.065 g, 0.16 mmol, 54 % d. Th.).

Smp.: 177 – 178 °C

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 3.91 (s, 3H, OCH_3), 3.94 (s, 3H, OCH_3), 7.06 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, 2H, ArH), 7.12 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.3$ Hz, 1H, ArH), 7.23 – 7.29 (m, 1H, ArH), 7.48 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, 1H, ArH), 7.60 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, 1H, ArH), 7.75 (s, 1H, ArH), 7.80 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 8.06 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, 1H, ArH), 8.10 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, 2H, ArH), 9.05 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, 1H, ArH), 11.90 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 55.66 (CH_3), 55.68 (CH_3), 111.0 (C), 112.5 (CH), 114.8 (2x CH), 115.9 (C), 119.0 (CH), 119.8 (CH), 120.9 (CH), 123.4 (CH), 127.7 (CH), 129.0 (2x CH), 130.1 (CH), 133.1 (CH), 136.2 (C), 138.8 (C), 160.1 (C), 162.9 (C), 163.7 (C), 163.8 (C), 166.2 (C).

$\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4$ (401.42)	Ber.:	C, 68.82	H, 4.77	N, 10.47
	Gef.:	C, 68.60	H, 4.89	N, 10.29

(159) 4-Methoxy-N-(2-(5-(4-methoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)phenyl)-benzamid

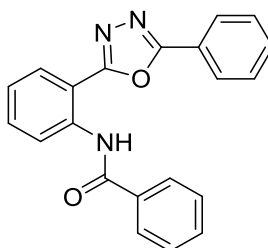
wurde aus **57** (0.080 g, 0.30 mmol, 1 Äq.) und 4-Methoxy-benzoylchlorid (0.062 g, 0.36 mmol, 1.2 Äq.) gemäß ASV 6.1.2.8 hergestellt und aus EtOH/THF (5:3) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.062 g, 0.15 mmol, 51 % d. Th.).

Smp.: 212 – 213 °C

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 3.89 (s, 3H, OCH₃), 3.91 (s, 3H, OCH₃), 7.04 – 7.08 (m, 4H, ArH), 7.21 – 7.27 (m, 1H, ArH), 7.55 – 7.63 (m, 1H, ArH), 8.05 (dd, ³J_{HH} = 7.9 Hz, ⁴J_{HH} = 1.5 Hz, 1H, ArH), 8.08 – 8.13 (m, 2H, ArH), 8.16 – 8.21 (m, 2H, ArH), 9.05 (d, ³J_{HH} = 8.4 Hz, 1H, ArH), 11.79 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 55.6 (CH₃), 55.7 (CH₃), 110.7 (C), 114.3 (2x CH), 114.9 (2x CH), 115.9 (C), 120.9 (CH), 123.1 (CH), 127.1 (C), 127.7 (CH), 129.0 (2x CH), 129.8 (2x CH), 133.1 (CH), 139.1 (C), 162.8 (C), 162.9 (C), 163.7 (C), 163.9 (C), 165.9 (C).

C₂₃H₁₉N₃O₄ (401.42)	Ber.:	C, 68.82	H, 4.77	N, 10.47
	Gef.:	C, 68.90	H, 5.06	N, 10.54

(160) N-(2-(5-Phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)phenyl)-benzamid

wurde aus **58** (0.15 g, 0.63 mmol) und Benzoylchlorid (0.086 g, 0.63 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8 hergestellt und aus EtOH/THF (5:1) umkristallisiert (farblose Mikrokristalle; 0.11 g, 0.51 mmol, 81 % d. Th.).

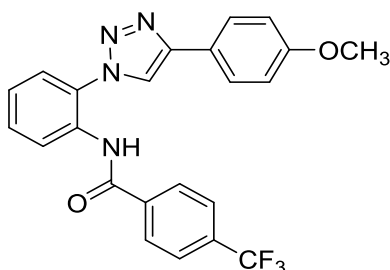
Smp.: 189 – 190 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.38 – 7.43 (m, 1H, ArH), 7.60 – 7.72 (m, 7H, ArH), 8.07 – 8.10 (m, 2H, ArH), 8.11 – 8.14 (m, 2H, ArH), 8.22 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 8.64 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 0.9$ Hz, 1H, ArH), 11.44 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 112.5 (C), 121.5 (CH), 122.9 (C), 124.2 (CH), 126.8 (2x CH), 127.3 (2x CH), 128.6 (CH), 128.9 (2x CH), 129.4 (2x CH), 132.3 (2x CH), 132.8 (CH), 134.2 (C), 137.5 (C), 163.2 (C), 163.6 (C), 165.2 (C).

$\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$ (341.37) Ber.: C, 73.89 H, 4.43 N, 12.31
Gef.: C, 73.57 H, 4.58 N, 12.23

(161) *N*-(2-(4-(4-Methoxyphenyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)phenyl)-4-trifluormethyl-benzamid



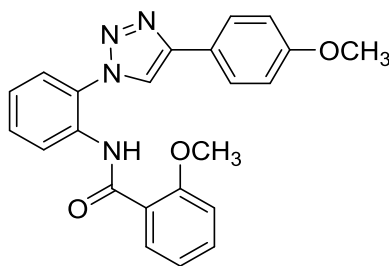
wurde aus **62** (0.067 g, 0.25 mmol) und 4-Trifluormethyl-benzoylchlorid (0.063 g, 0.3 mmol, 1.2 Äq.) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.085 g, 0.19 mmol, 78 % d. Th.).

Smp.: 171 – 173 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.79 (s, 3H, OCH₃), 6.99 – 7.05 (m, 2H, ArH), 7.52 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 7.62 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 7.72 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 7.79 – 7.84 (m, 3H, ArH), 7.87 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, 2H, ArH), 8.02 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, 2H, ArH), 8.88 (s, 1H, Triazol-H), 10.46 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 55.1 (CH₃), 114.3 (2x CH), 121.3 (CH), 122.8 (C), 123.78 (q, $^1J_{\text{CF}} = 272.7$ Hz, C), 125.4 (q, $^3J_{\text{CF}} = 3.5$ Hz, 2x CH), 125.5 (CH), 126.6 (2x CH), 126.9 (CH), 127.6 (CH), 128.4 (2x CH), 129.6 (CH), 131.25 (d, $^2J_{\text{CF}} = 32.0$ Hz, C), 131.3 (C), 131.6 (C), 137.9 (C), 146.3 (C), 159.1 (C), 164.4 (C).

$\text{C}_{23}\text{H}_{17}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_2$ (438.41) Ber.: C, 63.01 H, 3.91 N, 12.78
Gef.: C, 62.90 H, 4.10 N, 12.67

(162) 2-Methoxy-N-(2-(4-(4-methoxyphenyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)phenyl)-benzamid

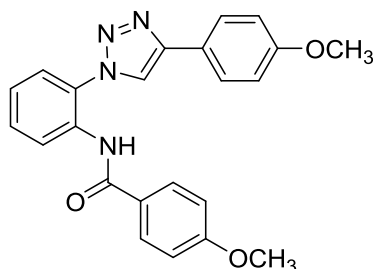
wurde aus **62** (0.067 g, 0.25 mmol) und 2-Methoxybenzoylchlorid (0.052 g, 0.3 mmol, 1.2 Äq.) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (5:1) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.062 g, 0.16 mmol, 62 % d. Th.).

Smp.: 184 – 185 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.79 (s, 3H, CH₃), 3.81 (s, 3H, CH₃), 7.04 – 7.12 (m, 3H, ArH), 7.15 (d, ³J_{HH} = 8.2 Hz, 1H, ArH), 7.36 – 7.42 (m, 1H, ArH), 7.50 – 7.57 (m, 1H, ArH), 7.60 – 7.68 (m, 2H, ArH), 7.86 – 7.92 (m, 2H, ArH), 7.99 (dd, ³J_{HH} = 7.8 Hz, ⁴J_{HH} = 1.9 Hz, 1H, ArH), 8.48 (d, ³J_{HH} = 8.3 Hz, 1H, ArH), 8.97 (s, 1H, Triazol-H), 10.40 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.2 (CH₃), 56.0 (CH₃), 112.3 (CH), 114.4 (2x CH), 120.8 (C), 120.9 (CH), 122.2 (CH), 122.6 (C), 123.7 (CH), 124.8 (CH), 125.9 (CH), 126.7 (2x CH), 127.7 (C), 130.1 (CH), 131.3 (CH), 132.6 (C), 133.8 (CH), 146.8 (C), 157.0 (C), 159.3 (C), 163.1 (C).

C₂₃H₂₀N₄O₃ (400.44)	Ber.:	C, 68.99	H, 5.03	N, 13.99
	Gef.:	C, 69.00	H, 5.31	N, 13.87

(163) 4-Methoxy-N-(2-(4-(4-methoxyphenyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)phenyl)-benzamid

wurde aus **62** (0.067 g, 0.25 mmol) und 4-Methoxybenzoylchlorid (0.052 g, 0.3 mmol, 1.2 Äq.) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.049 g, 0.12 mmol, 49 % d. Th.).

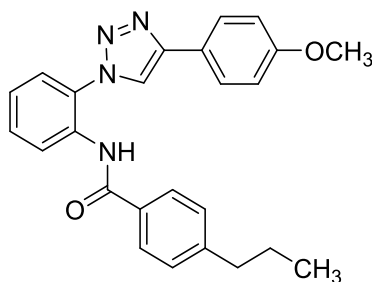
Smp.: 189 – 190 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3.79 (s, 3H, CH₃), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 6.99 – 7.05 (m, 4H, ArH), 7.44 – 7.50 (m, 1H, ArH), 7.57 – 7.62 (m, 1H, ArH), 7.70 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 7.78 – 7.84 (m, 4H, ArH), 7.88 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz, 1H, ArH), 8.85 (s, 1H, Triazol-H), 10.13 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 55.1 (CH₃), 55.4 (CH₃), 113.7 (2x CH), 114.3 (2x CH), 121.3 (CH), 122.8 (C), 125.2 (CH), 126.1 (C), 126.2 (CH), 126.6 (2x CH), 127.1 (CH), 129.4 (2x CH), 129.5 (CH), 131.1 (C), 131.8 (C), 146.2 (C), 159.1 (C), 162.0 (C), 164.8 (C).

C₂₃H₂₀N₄O₃ (400.44)	Ber.:	C, 68.99	H, 5.03	N, 13.99
	Gef.:	C, 68.76	H, 5.14	N, 13.95

(164) N-(2-(4-(4-Methoxyphenyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)phenyl)-4-propylbenzamid



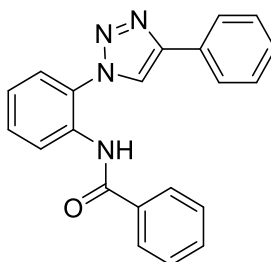
wurde aus **62** (0.067 g, 0.25 mmol) und 4-*n*-Propyl-benzoylchlorid (0.055 g, 0.3 mmol, 1.2 Äq.) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus MeOH umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.042 g, 0.10 mmol, 41 % d. Th.).

Smp.: 124 – 125 °C

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ 0.88 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$ Hz, 3H, CH₃), 1.55 – 1.64 (m, 2H, CH₂), 2.60 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, 2H, CH₂), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 7.00 – 7.04 (m, 2H, ArH), 7.28 – 7.32 (m, 2H, ArH), 7.48 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.7$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz, 1H, ArH), 7.60 (td, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 7.71 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1H, ArH), 7.73 – 7.77 (m, 2H, ArH), 7.78 – 7.83 (m, 2H, ArH), 7.88 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.1$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz, 1H, ArH), 8.86 (s, 1H, Triazol-H), 10.20 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 13.5 (CH₃), 23.7 (CH₂), 37.0 (CH₂), 55.1 (CH₃), 114.3 (2x CH), 121.4 (CH), 122.8 (C), 125.3 (CH), 126.3 (CH), 126.6 (2x CH), 127.1 (CH), 127.5 (2x CH), 128.4 (2x CH), 129.5 (CH), 131.1 (CH), 131.6 (C), 131.7 (C), 146.2 (C), 146.4 (C), 159.1 (C), 165.4 (C).

C₂₅H₂₄N₄O₂ (412.49)	Ber.:	C, 72.80	H, 5.86	N, 13.58
	Gef.:	C, 72.44	H, 6.03	N, 13.51

(165) N-(2-(4-Phenyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)phenyl)-benzamid

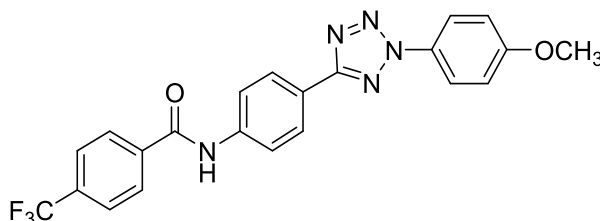
wurde aus **63** (0.06 g, 0.25 mmol) und Benzoylchlorid (0.042 g, 0.3 mmol, 1.2 Äq.) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (1:1) umkristallisiert (farblose Nadeln; 0.072 g, 0.21 mmol, 85 % d. Th.).

Smp.: 184 – 185 °C

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.35 (t, ³*J*_{HH} = 7.4 Hz, 1H, ArH), 7.43 – 7.52 (m, 5H, ArH), 7.56 (t, ³*J*_{HH} = 7.4 Hz, 1H, ArH), 7.62 (td, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.72 (dd, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.3 Hz, 1H), 7.83 (dd, ³*J*_{HH} = 8.2 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.0 Hz, 2H), 7.86 (dd, ³*J*_{HH} = 8.0 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.1 Hz, 1H), 7.89 (dd, ³*J*_{HH} = 8.0 Hz, ⁴*J*_{HH} = 0.9 Hz, 2H), 8.99 (s, 1H, Triazol-H), 10.28 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 122.4 (CH), 125.2 (2x CH), 125.5 (CH), 126.6 (CH), 127.4 (CH), 127.5 (2x CH), 128.1 (CH), 128.4 (2x CH), 128.9 (2x CH), 129.7 (CH), 130.3 (C), 131.4 (C), 131.7 (C), 131.8 (CH), 134.1 (C), 146.3 (C), 165.5 (C).

C₂₁H₁₆N₄O (340.39)	Ber.:	C, 74.10	H, 4.74	N, 16.46
	Gef.:	C, 74.48	H, 5.08	N, 16.16

(166) N-(4-(2-(4-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-trifluormethylbenzamid

wurde aus **49** (0.20 g, 0.75 mmol) und 4-Trifluormethyl-benzoylchlorid (0.16 g, 0.75 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (2:1) umkristallisiert (farblose Plättchen; 0.22 g, 0.49 mmol, 65 % d. Th.).

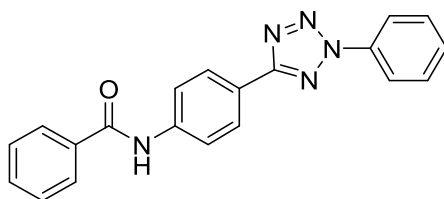
Smp.: 233 – 234 °C (Z)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.88 (s, 3H, OCH₃), 7.20 – 7.25 (m, 2H, ArH), 7.94 (d, ³*J*_{HH} = 8.2 Hz, 2H, ArH), 8.02 – 8.05 (m, 2H, ArH), 8.06 – 8.09 (m, 2H, ArH), 8.21 – 8.15 (m, 4H, ArH), 10.71 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 55.7 (CH₃), 115.1 (2x CH), 120.6 (2x CH), 121.6 (2x CH), 121.9 (C), 123.86 (d, $^1J_{\text{CF}} = 272.5$ Hz, C), 125.38 (q, $^3J_{\text{CF}} = 3.6$ Hz, 2x CH), 127.2 (2x CH), 128.6 (2x CH), 129.6 (C), 131.49 (q, $^2J_{\text{CF}} = 31.6$ Hz, C), 138.5 (C), 141.1 (C), 160.3 (C), 164.1 (C), 164.6 (C).

C₂₂H₁₆F₃N₅O₂ (439.40) Ber.: C, 60.14 H, 3.67 N, 15.94
 Gef.: C, 60.19 H, 3.58 N, 16.02

(167) N-(4-(2-Phenyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid



wurde aus **50** (0.1 g, 0.42 mmol) und Benzoylchlorid (0.061 g, 0.42 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.090 g, 0.26 mmol, 61 % d. Th.).

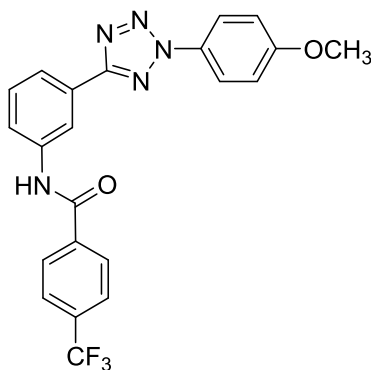
Smp.: 201 – 202 °C (Z)

^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.54 – 7.58 (m, 2H, ArH), 7.60 – 7.65 (m, 2H, ArH), 7.68 – 7.73 (m, 2H, ArH), 7.98 – 8.02 (m, 2H, ArH), 8.03 – 8.07 (m, 2H, ArH), 8.14 – 8.20 (m, 4H, ArH), 10.52 (s, 1H*, NH).

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 119.9 (2x CH), 120.5 (2x CH), 121.4 (C), 127.2 (2x CH), 127.7 (2x CH), 128.4 (2x CH), 130.1 (3x CH), 131.7 (CH), 134.7 (C), 136.2 (C), 141.6 (C), 164.4 (C), 165.8 (C).

C₂₀H₁₅N₅O (341.37) Ber.: C, 70.37 H, 4.43 N, 20.52
 Gef.: C, 70.59 H, 4.45 N, 20.22

(168) N-(3-(2-(4-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-4-trifluormethylbenzamid



wurde aus **51** (0.51 g, 1.9 mmol) und 4-Trifluormethyl-benzoylchlorid (0.40 g, 1.9 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (2:1) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.338 g, 0.77 mmol, 40 % d. Th.).

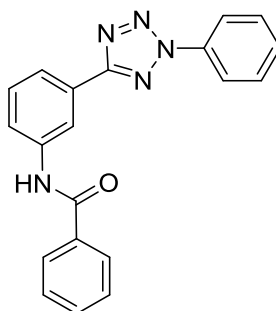
Smp.: 215 – 216 °C (Z)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.88 (s, 3H, OCH₃), 7.21 – 7.26 (m, 2H, ArH), 7.61 (t, ³*J*_{HH} = 7.9 Hz, 1H, ArH), 7.91 – 7.96 (m, 3H, ArH), 8.00 – 8.04 (m, 1H, ArH), 8.06 – 8.11 (m, 2H, ArH), 8.22 (d, ³*J*_{HH} = 8.1 Hz, 2H, ArH), 8.69 (t, ⁴*J*_{HH} = 1.7 Hz, 1H, ArH), 10.71 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.7 (CH₃), 115.1 (2x CH), 118.3 (CH), 121.7 (2x CH), 122.0 (CH), 122.4 (CH), 123.88 (d, ¹*J*_{CF} = 272.7 Hz, C), 125.39 (q, ³*J*_{CF} = 3.3 Hz, 2x CH), 127.0 (C), 128.6 (2x CH), 129.6 (C), 129.8 (CH), 131.49 (q, ²*J*_{CF} = 31.9 Hz, C), 138.4 (C), 139.7 (C), 160.4 (C), 164.2 (C), 164.6 (C).

C₂₂H₁₆F₃N₅O₂ (439.40)	Ber.:	C, 60.14	H, 3.67	N, 15.94
	Gef.:	C, 60.08	H, 3.59	N, 15.83

(169) N-(3-(2-Phenyl-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzamid



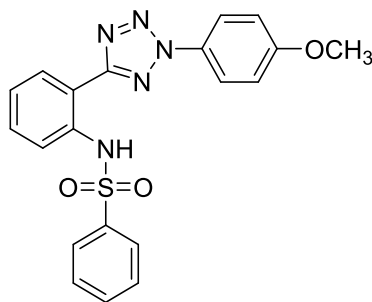
wurde aus **52** (0.1 g, 0.42 mmol) und Benzoylchlorid (0.061 g, 0.42 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und aus EtOH/THF (2:1) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.13 g, 0.37 mmol, 88 % d. Th.).

Smp.: 205 – 206 °C (Z)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.53 – 7.65 (m, 5H, ArH), 7.68 – 7.73 (m, 2H, ArH), 7.90 – 7.93 (m, 1H, ArH), 7.99 – 8.04 (m, 3H, ArH), 8.15 – 8.19 (m, 2H, ArH), 8.72 (t, ⁴*J*_{HH} = 1.8 Hz, 1H, ArH), 10.50 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 118.3 (CH), 120.0 (2x CH), 121.8 (CH), 122.5 (CH), 126.8 (C), 127.7 (2x CH), 128.4 (2x CH), 129.7 (CH), 130.1 (2x CH), 130.2 (CH), 131.7 (CH), 134.6 (C), 136.2 (C), 140.1 (C), 164.5 (C), 165.7 (C).

C₂₀H₁₅N₅O (341.37)	Ber.:	C, 70.37	H, 4.43	N, 20.52
	Gef.:	C, 70.24	H, 4.40	N, 20.12

(170) N-(2-(2-(4-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzolsulfonamid

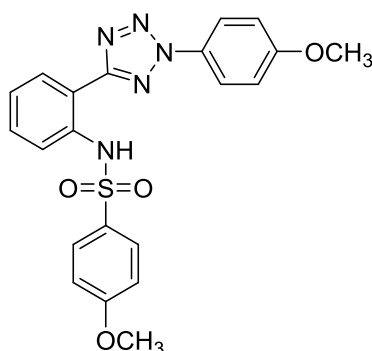
wurde aus **40** (0.1 g, 0.37 mmol) und Benzolsulfonsäurechlorid (0.2 g, 1.12 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.C hergestellt und aus EtOH/THF (5:6) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.055 g, 0.14 mmol, 37 % d. Th.).

Smp.: 134 – 136 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.89 (s, 3H, OCH₃), 7.24 – 7.29 (m, 2H, ArH), 7.33 – 7.43 (m, 3H, ArH), 7.50 – 7.56 (m, 3H, ArH), 7.64 – 7.68 (m, 2H, ArH), 7.96 – 8.00 (m, 1H, ArH), 8.03 – 8.08 (m, 2H, ArH), 9.96 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.7 (CH₃), 115.1 (2x CH), 118.9 (C), 121.6 (2x CH), 123.5 (CH), 125.6 (CH), 126.6 (2x CH), 129.0 (2x CH), 129.3 (C), 129.4 (C), 131.5 (CH), 133.0 (CH), 135.0 (C), 139.1 (C), 160.5 (C), 162.3 (C).

C₂₀H₁₇N₅O₃S (407.45)	Ber.:	C, 58.96	H, 4.21	N, 17.19
	Gef.:	C, 58.73	H, 4.40	N, 16.81

(171) 4-Methoxy-N-(2-(2-(4-methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)phenyl)-benzolsulfonamid

wurde aus **40** (0.1 g, 0.37 mmol) und 4-Methoxy-benzolsulfonsäurechlorid (0.23 g, 1.12 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.C hergestellt und aus EtOH/THF (5:6) umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.093 g, 0.21 mmol, 57 % d. Th.).

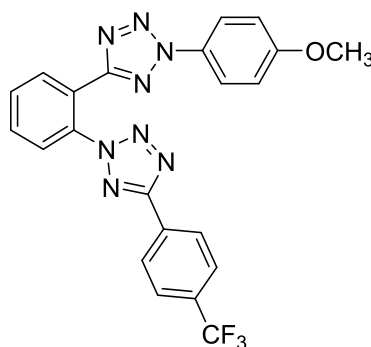
Smp.: 170 – 171 °C (Z)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.70 (s, 3H, OCH₃), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 6.87 – 6.93 (m, 2H, ArH), 7.23 – 7.30 (m, 2H, ArH), 7.31 – 7.37 (m, 1H, ArH), 7.51 – 7.57 (m, 2H, ArH), 7.57 – 7.61 (m, 2H, ArH), 7.99 (dd, ³*J* = 7.5 Hz, ⁴*J* = 1.1 Hz, 1H, ArH), 8.04 – 8.10 (m, 2H, ArH), 9.85 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.5 (CH₃), 55.7 (CH₃), 114.2 (2x CH), 115.1 (2x CH), 118.4 (C), 121.6 (2x CH), 123.1 (CH), 125.4 (CH), 128.9 (2x CH), 129.3 (CH), 130.5 (C), 131.5 (CH), 135.3 (C), 160.5 (C), 162.4 (C), 162.5 (C).

C₂₁H₁₉N₅O₄S (437.12) Ber.: C, 57.66 H, 4.38 N, 16.01
 Gef.: C, 57.80 H, 4.38 N, 15.68

(172) 2-(4-Methoxyphenyl)-5-(2-(5-(4-(trifluormethyl)phenyl)-2H-tetrazol-2-yl)-phenyl)-2H-tetrazol



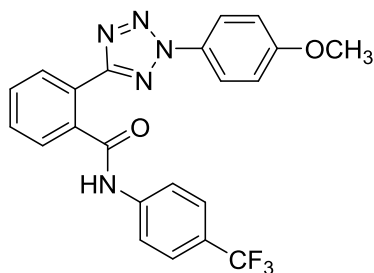
wurde aus **40** (0.3 g, 1.12 mmol) und **8** (0.37 g, 1.12 mmol) gemäß ASV 6.1.2.3 hergestellt und aus EtOH umkristallisiert (weißer Feststoff; 0.126 g, 0.27 mmol, 24 % d. Th.).

Smp.: 172 – 173 °C (Z)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.81 (s, 3H, OCH₃), 7.05 – 7.10 (m, 2H, ArH), 7.74 – 7.79 (m, 2H, ArH), 7.93 – 7.98 (m, 3H, ArH), 8.00 (td, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.5 Hz, 1H, ArH), 8.09 (dd, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.5 Hz, 1H, ArH), 8.33 (d, ³*J*_{HH} = 8.1 Hz, 2H, ArH), 8.41 (dd, ³*J*_{HH} = 7.7 Hz, ⁴*J*_{HH} = 1.6 Hz, 1H, ArH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.6 (CH₃), 115.0 (2x CH), 121.2 (2x CH), 123.2 (C), 123.84 (q, ¹*J*_{CF} = 272.3 Hz, C), 126.38 (q, ³*J*_{CF} = 3.8 Hz, 2x CH), 127.3 (2x CH), 127.8 (CH), 129.0 (C), 130.1 (CH), 130.3 (C), 130.76 (q, ²*J*_{CF} = 32.1 Hz, C), 132.1 (CH), 132.4 (CH), 134.2 (C), 160.5 (C), 160.9 (C), 163.2 (C).

C₂₂H₁₅F₃N₈O (464.41) Ber.: C, 56.90 H, 3.26 N, 24.13
 Gef.: C, 57.00 H, 3.37 N, 24.85

(173) 2-(2-(4-Methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)-N-(4-trifluormethyl-phenyl)-benzamid

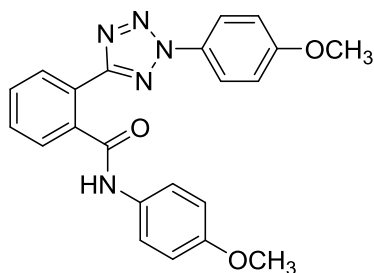
wurde aus dem nach ASV 6.1.2.1.B dargestellten Säurechlorid von **54** (0.15 g, 0.6 mmol) und 4-Trifluormethyl-anilin (0.07 g, 0.6 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt. Nach Abziehen des Lösungsmittels wurde das Reaktionsgemisch in demin. Wasser (100 ml) und Essigester (100 ml) aufgenommen. Die organische Phase wurde nacheinander mit Natronlauge (1 N), Salzsäure (1 N), demin. Wasser und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Abziehen des Lösungsmittels wurde aus EtOH umkristallisiert (farblose Plättchen; 0.1 g, 0.23 mmol, 38 % d. Th.).

Smp.: 197 – 199 °C (Z)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.82 (s, 3H, OCH₃), 7.04 – 7.10 (m, 2H, ArH), 7.69 – 7.77 (m, 5H, ArH), 7.79 – 7.83 (m, 2H, ArH), 7.89 (d, ³*J*_{HH} = 8.5 Hz, 2H), 8.15 – 8.19 (m, 1H), 10.82 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.6 (CH₃), 114.9 (2x CH), 119.4 (2x CH), 121.2 (2x CH), 123.52 (d, ³*J*_{CF} = 32.0 Hz, C), 123.9 (C), 125.27 (q, ²*J*_{CF} = 271.3 Hz, C), 126.02 (q, ⁴*J*_{CF} = 3.8 Hz, 2x CH), 128.3, 128.8, 129.3 (C), 130.3 (CH), 130.6 (CH), 136.8 (C), 143.0 (C), 160.3 (C), 163.3 (C), 167.5 (C).

C₂₂H₁₆F₃N₅O₂ (439.40)	Ber.:	C, 60.14	H, 3.67	N, 15.94
	Gef.:	C, 60.18	H, 3.77	N, 16.15

(174) N-(4-Methoxyphenyl)-2-(2-(4-methoxyphenyl)-2H-tetrazol-5-yl)benzamid

wurde aus dem nach ASV 6.1.2.1.B dargestellten Säurechlorid von **54** (0.150 g, 0.6 mmol) und 4-Methoxyanilin (0.1 g, 0.6 mmol) gemäß ASV 6.1.2.8.A hergestellt und durch Fällung aus Methylenchlorid mit Petroläther erhalten (gräulich-weißer Feststoff; 0.082 g, 0.21 mmol, 34 % d. Th.). Ein Umkristallisieren war nicht notwendig.

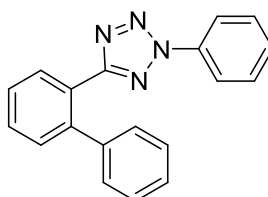
Smp.: 162 – 164 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.74 (s, 3H, OCH₃), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 6.88 – 6.93 (m, 2H, ArH), 7.10 – 7.15 (m, 2H, ArH), 7.55 – 7.60 (m, 2H, ArH), 7.66 – 7.73 (m, 3H, ArH), 7.86 – 7.92 (m, 2H, ArH), 8.08 – 8.12 (m, 1H, ArH), 10.27 (s, 1H*, NH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 55.2 (CH₃), 55.6 (CH₃), 113.8 (2x CH), 115.0 (2x CH), 121.1 (2x CH), 121.2 (2x CH), 124.0 (C), 128.2 (CH), 128.9 (CH), 129.4 (C), 129.8 (CH), 130.4 (CH), 132.5 (C), 137.6 (C), 155.4 (C), 160.3 (C), 163.5 (C), 166.4 (C).

C₂₂H₁₉N₅O₃ (401.43)	Ber.:	C, 65.83	H, 4.77	N, 17.45
	Gef.:	C, 65.78	H, 5.04	N, 17.29

(175) 5-([1,1'-Biphenyl]-2-yl)-2-phenyl-2H-tetrazol



wurde aus Anilin (0.19 g, 2 mmol) und **9** (0.67 g, 2 mmol) gemäß ASV 6.1.2.3 erhalten. Das nach dem Säulen erhaltene rote Öl wurde im Mörser mit MeOH (15 ml) verrieben, wodurch das Produkt ausfiel (weißer Feststoff; 0.14 g, 0.47 mmol, 24 % d. Th.). Ein Umkristallisieren war nicht notwendig.

Smp.: 70 – 71 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.18 – 7.24 (m, 2H, ArH), 7.29 – 7.38 (m, 3H, ArH), 7.51 – 7.71 (m, 6H, ArH), 7.88 – 7.92 (m, 2H, ArH), 7.94 (dd, ³J_{HH} = 7.6 Hz, ⁴J_{HH} = 1.4 Hz, 1H, ArH).

¹³C{¹H}-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 119.6 (2x CH), 125.2 (CH), 127.1 (CH), 127.8 (C), 128.0 (2x CH), 128.9 (2x CH), 130.1 (2x CH), 130.2 (CH), 130.6 (CH), 130.8 (CH), 136.0 (C), 140.2 (C), 141.6 (C), 164.8 (C).

C₁₉H₁₄N₄ (298.35)	Ber.:	C, 76.49	H, 4.73	N, 18.78
	Gef.:	C, 76.34	H, 4.80	N, 18.45

6.2 Biologische Testung

6.2.1 Material

Chemikalien

	Hersteller
Calcein-AM	Sigma-Aldrich
Calciumchlorid-dihydrat	Merck
CASYton-Elektrolytlösung	Schärfe System
Cyclosporin A	Sigma-Aldrich
D-Glucose-monohydrat	Merck
Dimethylsulfoxid	Sigma-Aldrich
Doxorubicin	Fluka
Fötale Kälberserum	Sigma-Aldrich
HEPES, freie Säure	Applichem
Hoechst 33342	Sigma-Aldrich
Kaliumchlorid	Merck
Kaliumphosphat	Applichem
Ko143	Tocris
L-Glutamin-Lösung (0.2 mol/l)	Sigma-Aldrich
Magnesiumsulfat-heptahydrat	Applichem
Nährmedium <i>DMEM 5671</i> , phenolrothaltig	Sigma-Aldrich
Nährmedium <i>RPMI-1640</i> , phenolrothaltig	PAN Biotech
Natriumchlorid	Merck
Natriumhydrogencarbonat	Merck
Natriumhydrogenphosphat	Applichem
Natronlauge (1 N)	Grüssing
Penicillin-Streptomycin-Lösung (10 ⁴ U/ml Penicillin, 10 mg/ml Streptomycin in 0.9 %iger NaCl-Lösung)	Sigma-Aldrich
Pheophorbid A	Fontier Scientific
Dulbeccos phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS)	Sigma-Aldrich

Salzsäure (0.1 N)	Grüssing
SN-38 (7-Ethyl-10-hydroxy-camptothecin)	TCI Europa
Spül- und Reinigungslösungen für Durchflusszytometer <i>FACSFlow, FACSClean, FACSRinse</i>	Becton Dickenson
Thiazolylblau-tetrazoliumbromid (MTT)	Appllichem
Trypsin/EDTA-Lösung, phenolrothaltig (0.5 % Trypsin, 0.2 % EDTA)	PAN Biotech
XR9577	eigene Herstellung ^[169]

Verbrauchsmaterial für Zellkultur und Testungen

	Hersteller
CASY-Röhrchen mit Deckel	Schärfe System
Kryoröhrchen mit Schraubverschluss (aus PP)	Greiner bio-one
Mehrkammerreservoir (aus PP, weiß, autoklavierbar)	Carl Roth
Membranfilter (steril, Porengröße 0.2 µm)	Whatman
Mikrotiterplatten (aus PS, klar, 96 Vertiefungen mit flachem Boden)	Greiner bio-one
Mikrotiterplatten (aus PS, klar, 96 Vertiefungen mit u-förmigem Boden)	Greiner bio-one
Mikrotiterplatten (aus PS, schwarz, 96 Vertiefungen mit flachem Boden)	Nunc
Mikrotiterplatten mit Deckel (aus PS, steril, 96 Vertiefungen mit flachem Boden)	Starlab
Pasteurpipetten (aus Glas, 230 mm Länge)	VWR international
Pipetten, serologisch (aus PS, steril, pyrogenfrei, 10 oder 25 ml)	Sarstedt
Pipettenspitzen (aus PP, 0.2, 1.0 oder 5.0 ml)	Starlab
Reagentienreservoir, steril	Carl Roth
Reagentienreservoir, unsteril	Carl Roth
Spritzen (aus PP, steril, pyrogenfrei, 10 oder 20 ml)	B. Braun
Gewebekulturflaschen mit Filter-Schraubverschluss (aus PS, 25 cm ² , 75 cm ² oder 175 cm ² Fläche, steril)	Greiner bio-one
Zentrifugenröhrchen (aus PP, steril, 15 oder 50 ml)	Greiner bio-one

Gerätschaften

	Hersteller
Absaugvorrichtung mit Pumpe	Vacuubrand
Autoklav <i>Systemc VX-95</i>	Systemc
Durchflusszytometer <i>FACScalibur</i> mit Hochdurchsatz-Probennehmer	Becton Dickenson
elektronische Feinwaage <i>R160P</i>	Sartorius
elektronische Pipettierhilfe <i>Accu-Jet</i>	Brand
elektronische 8-Kanalpipette (10 – 200 µl)	Brand
elektronische 12-Kanalpipette (15 – 300 µl)	Eppendorf
Heizblockthermostat <i>ThermoStat plus</i>	Eppendorf
Inkubator	IBS Integra Bioscience
Kohlendioxid-Gasflasche	Air liquide
Lichtmikroskop <i>Axiovert 25</i>	Zeiss
Magnetrührer <i>RH basic</i>	IKA Labortechnik
Mikrotiterplattenfluorometer <i>FLUOstar Optima</i>	BMG Lab Tech.
Mikrotiterplattenfluorometer <i>POLARstar Galaxy</i>	BMG Lab Tech.
Mikrotiterplattenphotometer <i>Multiscan Ex</i>	Thermo Fisher Scientific
Mikrozentrifuge <i>5417C</i>	Eppendorf
pH-Messgerät <i>pH-Meter 744</i>	Metrohm
Pipetten unterschiedlicher Volumina	Eppendorf, Thermo Fisher Scientific
Quarz-Mikroküvetten <i>Suprasil</i>	Hellma Analytics
Sicherheitswerkbank <i>Safe 2010</i>	Holten LaminAir
UV/Vis-Spektrophotometer <i>Ultrospec 4000</i>	Amersham Pharmacia Biotech
Vortexschüttler <i>Minishaker</i>	IKA Labortechnik
Wasserbad (Typ 1083)	Gesellschaft für Labortechnik
Zellzähler <i>CASY1Modell TT</i>	Schärfe System
Zentrifuge <i>Avanti J-25</i>	Beckman

Programme für Messungen und deren Analyse

	Hersteller
<i>Ascent</i> für Mikrotiterplattenphotometer (Windows)	Thermo Fisher Scientific
<i>Cellquest Pro</i> für Durchflusszytometrie (Linux)	Becton Dickenson
<i>Prism 6.01</i> (Windows)	GraphPad Software
<i>Excel 2010</i>	Microsoft
<i>Fluo.Galaxy 4.11 / Optima 2.20</i> für Mikrotiterplattenfluorometer (Windows)	BMG Lab Tech.
<i>Swift</i> für UV/Vis-Spektrophotometrie (Windows)	Amersham Pharmacia Biotech

6.2.2 Überprüfung des Präzipitationsverhaltens

Ob Substanzen während der Testverfahren in Lösung blieben, wurde festgestellt, indem von der Stammlösung ausgewählter Substanzen eine Verdünnung (10 $\mu\text{mol/l}$) in doppelt destilliertem Wasser hergestellt wurde. Die Verdünnungen wurden bei dem Extinktionsmaximum (*Kapitel 6.1.1*) mit konstantem Messintervall (60 s) für drei Stunden bei Raumtemperatur vermessen und das Ergebnis im Programm *Swift* graphisch festgehalten. Eine wässrige DMSO-Lösung (0.1 % v/v) diente als Referenz, deren Extinktion von den Messwerten der Testsubstanzen subtrahiert wurde.

6.2.3 Vorschriften zur Zellkultur

6.2.3.1 Inkulturnahme

Alle Zellkulturarbeiten wurden unter aseptischen Bedingungen in einer Werkbank mit laminarem Luftstrom durchgeführt. Zur Inkulturnahme wurde die in einem in flüssigem Stickstoff gelagertem Kryoröhrchen befindliche Zellsuspension (1 ml) schnellstmöglich aufgetaut und in ein Zentrifugenröhrchen (50 ml) mit dem jeweiligen Nährmedium (9 ml; *Kapitel 6.2.3.2*) überführt. Nach Zentrifugation (266 x g, 4 °C, 4 min) wurde der Überstand vorsichtig abgesaugt, das Zellsediment in wenig Nährmedium resuspendiert und in eine Kulturflasche überführt, in der Nährmedium (ca. 20 ml) vorgelegt worden war. Diese wurde dann im Inkubator (*Kapitel 6.2.3.2*) gelagert.

6.2.3.2 Kulturbedingungen

Alle Zelllinien wurden in Standard-Gewebekulturflaschen mit Flächen von 25 cm², 75 cm² oder 125 cm² - je nach benötigter Zellzahl - unter einer auf 5 % CO₂ angereicherten Atmosphäre mit einer relativen Luftfeuchte von 95 % bei 37 °C in einem Inkubator in Kultur gehalten. Das dafür verwendete Nährmedium ist auf die jeweilige Zelllinie abgestimmt (*Kapitel 6.2.3.5*). Ein Wechsel des Nährmediums war dann notwendig, wenn der vorhandene Indikator Phenolrot durch das stoffwechselbedingte Absinken des pH-Wertes von Rot nach Gelb umschlug. Zumeist war der Nährmediumswechsel mit der Zellernte verbunden, die bei einer Konfluenz des Zellrasens ab 90% erfolgte. Dazu wurde das Nährmedium entfernt, der Zellrasen zwei- bis dreimal mit PBS (5 ml) zur endgültigen Entfernung toter Zellen und Nährmediumsreste gespült.

Danach wurde eine Trypsin/EDTA-Lösung (3 ml) zum Ablösen des Zellrasens von der Kulturflasche hinzugefügt und diese im Inkubator gelagert; die Ablösezeit variierte dabei (*Kapitel 6.2.3.5*).

Die Zellsuspension wurde in Nährmedium (7 ml) aufgenommen, in ein Zentrifugenröhrchen (Volumen: 50 ml) überführt, zentrifugiert (266 x g, 4 °C, 4 min) und der Überstand vorsichtig abgesaugt.

Das Zellsediment wurde in Nährmedium (3 – 5 ml) aufgenommen und die Suspension durch wiederholtes Auf- und Abpipettieren möglichst homogen suspendiert. Nach der Zellzählung (*Kapitel 6.2.3.3*) wurde von dieser Suspension ein gewisser Anteil zur erneuten Vermehrung in eine neue Kulturflasche, in der Nährmedium (20 – 25 ml) vorgelegt worden war, überführt. Der Anteil für die neue Passage wurde in der Regel so gewählt, dass der Zellrasen nach zwei Tagen wieder geerntet werden konnte (*Kapitel 6.2.3.5*).

6.2.3.3 Zellzahlbestimmung

Die Zellzahl wurde mittels des Zellzählers *Casy1 Modell TT System* bestimmt. Es wurden 20 µl der aufbereiteten Zellsuspension (*Kapitel 6.2.3.2*) in steril filtrierte CasyTon-Elektrolytlösung (10 ml) überführt, mehrmals geschwenkt und die Probe im Zellzähler vermessen. Dieser misst den elektrischen Widerstand einer Suspension definierten Volumens, die mit konstanter Strömungsgeschwindigkeit durch eine Kapillare definierten Durchmessers (150 µm) geleitet wird. Dabei erfasst das Gerät nicht nur die Häufigkeit, sondern auch die Intensität der dabei auftretenden Widerstandsänderungen bei dem Durchtritt der Zellen durch die Kapillare, so dass Populationsgröße und Größenverteilung einer Zellernte bestimmt werden können. Vor allem durch letzteren Parameter kann auf die Vitalität der Zellen rückgeschlossen werden. Eine gesunde Zellkultur ist dadurch charakterisiert, dass der Hauptanteil der Zellen eine Größe um den zelllinienspezifischen Durchmesser aufweist. Generell wurden alle Zellen mit einem Durchmesser zwischen 8 und 30 µm zur Zählung herangezogen. Zellgrößen von unter 8 µm wiesen auf Zellbestandteile und tote Zellen hin, Größen von über 30 µm auf Zellkonglomerate.

6.2.3.4 Kryokonservierung

Eine längerfristige Lagerung der Zellen erfolgte in einem Lagerbehälter in flüssigem Stickstoff. Eine gewisse Zellmenge wurde nach der in *Kapitel 6.2.3.2* aufgeführten Prozedur geerntet und das Zellsediment mit Nährmedium (ca. 10^7 Zellen pro ml) verdünnt. Nach Verteilung der Zellsuspension auf die Kryoröhrchen zu je 900 μ l pro Röhrchen wurde DMSO (100 μ l, 10 %) hinzugefügt, um die Bildung zellmembranschädigender Kristalle während des Gefrierens zu verhindern. Nach mindestens 24stündiger Vorkühlung bei -80 °C konnten die Kryoröhrchen dann im Lagerbehälter in flüssigem Stickstoff gelagert werden.

6.2.3.5 Zelllinien

Zur Bestimmung der inhibitorischen Aktivität der Testsubstanzen wurden folgende Zelllinien herangezogen:

- A) Für die ABCG2-Inhibitionsbestimmung wurden die aus Epithelzellen einer Hundeniere stammende sensitive Zelllinie *MDCK II wt* und ihre mit humaner ABCG2-cDNS transfizierte Zelllinie *MDCK II BCRP* verwendet.^[257] Das zur Transfektion verwendete ABCG2-Gen enthält am C-Terminus die cDNS des grünfluoreszierenden Proteins (GFP). Beide Zelllinien wurden in Nährmedium des Typs *DMEM (Dulbecco's modified Eagle medium)*, welches fötales Kälberserum (10 % v/v), Streptomycin (50 μ g/ml), Penicillin G (50 U/ml) und L-Glutamin (2 mmol/l) enthielt, in Kultur gehalten. Sie ließen sich innerhalb von 10 – 15 min mit Trypsin ablösen. Für die neue Passage wurden drei bis fünf Millionen Zellen in eine neue Gewebekulturflasche überführt. Die Passagierung der resistenten Zelllinie wurde auf maximal 25 – 30 Zyklen begrenzt, weil sich die Messergebnisse danach verschlechterten.
- B) Zur Messung der ABCB1-Inhibition wurde der Doxorubicin resistente Abkömmling *A2780 adr* der humanen Ovarialkarzinomzelllinie *A2780* verwendet.

-
- C) Die Zellen wurden im Nährmedium des Typs *RPMI-1640*, welches fötales Kälberserum (10 % v/v), Streptomycin (50 µg/ml), Penicillin G (50 U/ml) und L-Glutamin (2 mmol/l) enthielt, in Kultur gehalten. Ein vollständiges Ablösen der Zellen erfolgte nach drei bis fünf Minuten. Für die neue Passage wurden ca. vier bis sechs Millionen Zellen in eine neue 75-cm²-Gewebekulturflasche überführt. Um einen Abfall der ABCB1-Überexpression zu vermeiden, wurden die Zellen regelmäßig mit Doxorubicin (0.1 µmol/l) während einer Passage behandelt. Eine Passagierung von 30 Zyklen wurde nicht überschritten.
- D) Die Inhibition von ABCC1 wurde mittels der resistenten Zelllinie *H69AR*, die von einem Patienten mit kleinzelligem Bronchialkarzinom stammt, überprüft. Diese Zelllinie wurde im Nährmedium des Typs *RPMI-1640*, welches fötales Kälberserum (20 % v/v), Streptomycin (50 µg/ml), Penicillin G (50 U/ml) und L-Glutamin (2 mmol/l) enthielt, in Kultur gehalten. Das Nährmedium wurde jeden Tag gewechselt. Nach einer Ablösezeit von drei bis fünf Minuten wurden mindestens zehn Millionen Zellen zur weiteren Kultivierung in Gewebekulturflaschen genutzt, da bei geringerer Zelldichte die Zellen nicht oder inselartig wachsen. Eine Passagierung von 30 Zyklen wurde nicht überschritten.

6.2.4 Testverfahren

6.2.4.1 Stammlösungen

Eine gewisse Menge der zu testenden Substanz bzw. des Substrates (Fluoreszenzfarbstoffe, Zytostatika) wurde in ein farbloses Reagiergefäß (Volumen: 2 ml) überführt. Lösungen von Fluoreszenzfarbstoffen wurden zum Schutz vor Licht in braungefärbten Gefäßen aufbewahrt. Die Wägung der Stoffe fand auf einer analytischen Feinwaage statt. Anschließend wurde mit DMSO eine Lösung mit einer Konzentration von 10^{-2} mol/l hergestellt. Die Stammlösungen wurden bei -20 °C gelagert. Für die Testung wurden sie kurz in einem Heizblockthermostat bei $50 - 60$ °C aufgetaut.

6.2.4.2 Verdünnungsreihen

Folgendes Schema wurde zur Präparation der Verdünnungsreihen angewandt:

c [10^x mol/l] Zielverdünnung	Verdünnung	Volumina [μ l]		c [10^y mol/l] der Substanz auf der Platte
		KHP	MeOH	
- 4.00	10 (10^{-2}) oder	990 min. 500	max. 490	- 5.00
- 4.25	224 (10^{-4})	176		- 5.25
- 4.50	158 (10^{-4})	342		- 5.50
- 4.75	178 (10^{-4})	822		- 5.75
- 5.00	50 (10^{-4})	450		- 6.00
- 5.25	50 ($10^{-4.25}$)	450		- 6.25
- 5.50	50 ($10^{-4.5}$)	450		- 6.50
- 5.75	50 ($10^{-4.75}$)	450		- 6.75
- 6.00	50 (10^{-5})	450		- 7.00
usw.				

Die höchste Konzentration einer Substanz für die Messung betrug 10^{-5} mol/l, für die, bei schlechter Löslichkeit im Puffer, Methanol (bis zu 49 % v/v) hinzugegeben wurde. Nach erster Feststellung des IC_{50} -Wertes einer Substanz wurden die ausgewählten Konzentrationen so angepasst, dass sie möglichst gleichmäßig um den IC_{50} -Wert der Testsubstanz lagen.

6.2.4.3 Substratverdünnungen

Um die für die Tests erforderlichen Substratkonzentrationen zu erhalten, wurden nach folgenden Schemata Verdünnungen hergestellt; ferner sind die benötigten Gesamtvolumina pro Platte(n) angegeben:

Hoechst 33342: 10 μ l der Stammlösung (10 mmol/l) wurden mit 990 μ l KHP auf 0.1 mmol/l verdünnt. 450 μ l Verdünnung (0.1 mmol/l) plus 4050 μ l KHP für zwei Platten.

Pheophorbid A: 15 μ l der Stammlösung (1 mmol/l) plus 2985 μ l KHP für eine Platte.

Calcein-AM: 10 μ l Stammlösung (1 mmol/l) plus 3190 μ l KHP für eine Platte,
15 μ l Stammlösung (1 mmol/l) plus 4785 μ l KHP für zwei Platten,
25 μ l Stammlösung (1 mmol/l) plus 7975 μ l KHP für drei Platten.

6.2.4.4 Akkumulationstest mit Hoechst 33342

Durchführung

Der Akkumulationstest wurde dem Protokoll entsprechend durchgeführt.^[223,258] Es wurden Verdünnungsreihen von den Stammlösungen der zu testenden Substanzen (*Kapitel 6.2.4.2*) vorbereitet. Die Verdünnungen (20 μ l pro Vertiefung) wurden in die Vertiefungen einer schwarzen, flachbödigen Mikrotiterplatte (*Abbildung 70*) überführt. Messungen mit durchsichtigen Platten hatten gezeigt, dass diese bei der verwendeten Anregungswellenlänge eine wesentlich höhere Hintergrundfluoreszenz aufgewiesen haben. Hierzu trug nicht nur ihre hohe Autofluoreszenz bei, sondern auch eine gegenseitige Beeinflussung der Proben in den Vertiefungen.^[225]

Dagegen sind Messungen in schwarzen Mikrotiterplatten wegen geringerer Autofluoreszenz und Abschirmung der Proben voneinander weniger anfällig für Fehler.^[225]

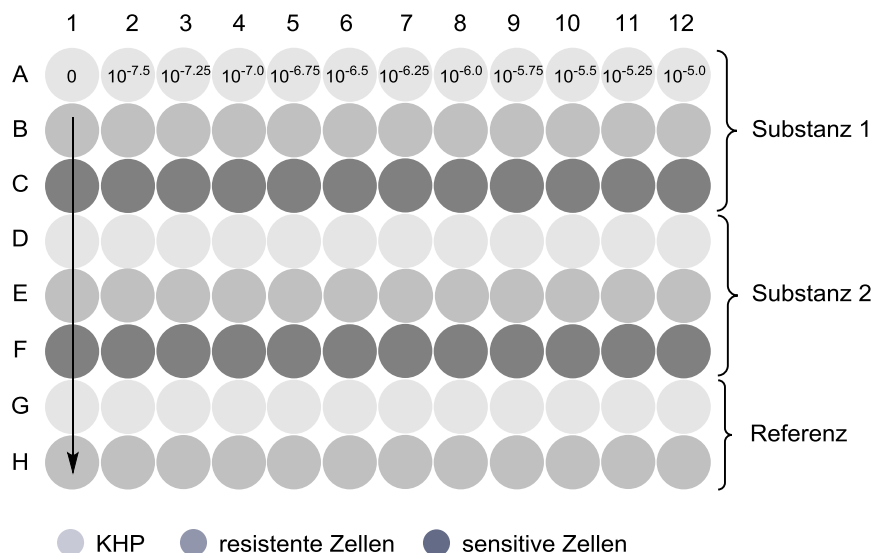


Abbildung 70: Übliche Präparation einer Platte für Hoechst 33342-Akkumulationstests. Die Konzentrationen der Modulatoren (Spalten) sind in Mol pro Liter angegeben.

Als Referenzsubstanzen wurden *XR9577* und *Ko143* verwendet. Nach Ernte und Zählung von Zellen der Typen *MDCK II BCRP* und *MDCK II wt* (Kapitel 6.2.3) wurde den Zellsuspensionen Volumina entnommen, die die für den Test erforderliche Gesamtzellzahl enthielten, und in ein Reagiergefäß (Volumen: 2 ml) überführt. Eine Anzahl von ungefähr 27.000 Zellen pro Vertiefung wurde benötigt. Nach dreimaligem Waschen der Zellen mittels Zentrifugation (10000 x g, 7 s), vorsichtigem Entfernen des Überstandes und Resuspension in KHP (1 ml) wurde die Suspension in eine unsterile Ausplattierschale überführt und mit KHP auf die gewünschte Zellkonzentration verdünnt. Von der Zellsuspension wurden mit einer Multikanalpipette jeweils 160 µl in jede Vertiefung überführt, und die Platte, mit einer Abdeckplatte versehen, in den Inkubator (30 min, 37 °C, 5 % CO₂) gestellt. Nach Ende der Präinkubationszeit wurden jeder Vertiefung 20 µl einer frisch hergestellten Verdünnung des Farbstoffes (Kapitel 6.2.4.3) mittels Multikanalpipette hinzugefügt, so dass seine Konzentration 1 µmol/l und das Gesamtvolumen 200 µl betragen.

Die Platte wurde anschließend in einem Fluorometer gemäß den folgenden Geräteeinstellungen über einen Zeitraum von zwei Stunden vermessen:

Parameter	POLARstar Galaxy	FLUOstar Optima
Plattenstellung		horizontal
Messtemperatur		37 °C
Schütteln vor Messung		ja
Messdauer		120 min
Messwerterfassung		alle 60 s
Intervallzeit zwischen zwei Reihen		0.2 s
Anregung		355 nm
Emission		460 nm
Lichtblitze		10 s ⁻¹
Signalverstärkung (<i>Gain</i>)	43	1400

Datenauswertung

Die Messwerte wurden durch das Fluorometer in einer Exceltabelle erfasst. Aus dieser wurden die Daten in eine weitere Exceltabelle übertragen, aus der die Mittelwerte der Messwerte von Minute 100 bis 109 gebildet wurden. Für jede Substanzverdünnung wurden die Mittelwerte der zellfreien Reihen (A, D, G) von denen der zellhaltigen Reihen (B, E, H mit resistenten Zellen bzw. C, F mit sensitiven Zellen) subtrahiert, um die Hintergrundfluoreszenz (z. B. Eigenfluoreszenz der Substanz) herauszurechnen. Die daraus resultierenden Daten wurden im Programm *GraphPad Prism* gegen die entsprechenden Verdünnungen aufgetragen. Über die logistische Gleichung mit variablem und auf 1 fixiertem Hill-Koeffizienten wurden sigmoidal verlaufende Konzentrations-Effektcurven erstellt. Der Wendepunkt des statistisch bevorzugten Modells wurde zur Ermittlung des IC₅₀-Wertes herangezogen.

6.2.4.5 Akkumulationstest mit Pheophorbid A

Durchführung

Der Akkumulationstest wurde entsprechend dem bereits beschriebenen Protokoll durchgeführt.^[223] Es wurden Verdünnungsreihen von den Stammlösungen der zu testenden Substanzen (Kapitel 6.2.4.2) vorbereitet. Die Verdünnungen (20 µl pro Vertiefung) wurden in die flachbödigen Vertiefungen einer Mikrotiterplatte (Abbildung 71) überführt. Als Referenzsubstanzen dienten XR9577 und Ko143.

Nach Ernte und Zählung von Zellen des Typs MDCK II BCRP (Kapitel 6.2.3) wurde den Zellsuspensionen Volumina entnommen, die die für den Test erforderliche Gesamtzellzahl enthielten, und in ein Reagiergefäß (Volumen: 2 ml) überführt. Eine Anzahl von ungefähr 45000 Zellen pro Vertiefung wurde benötigt. Nach dreimaligem Waschen der Zellen mittels Zentrifugation (10000 x g, 7 s), vorsichtigem Entfernen des flüssigen Überstandes und Resuspension in KHP (1 ml) wurde die Suspension in eine unsterile Ausplattierschale überführt und mit KHP auf die gewünschte Zellkonzentration verdünnt. Von der Zellsuspension wurden mit einer Multikanalpipette jeweils 160 µl in jede Vertiefung überführt, und die Platte, mit einer Abdeckplatte versehen, in den Inkubator (30 min, 37 °C, 5 % CO₂) gestellt.

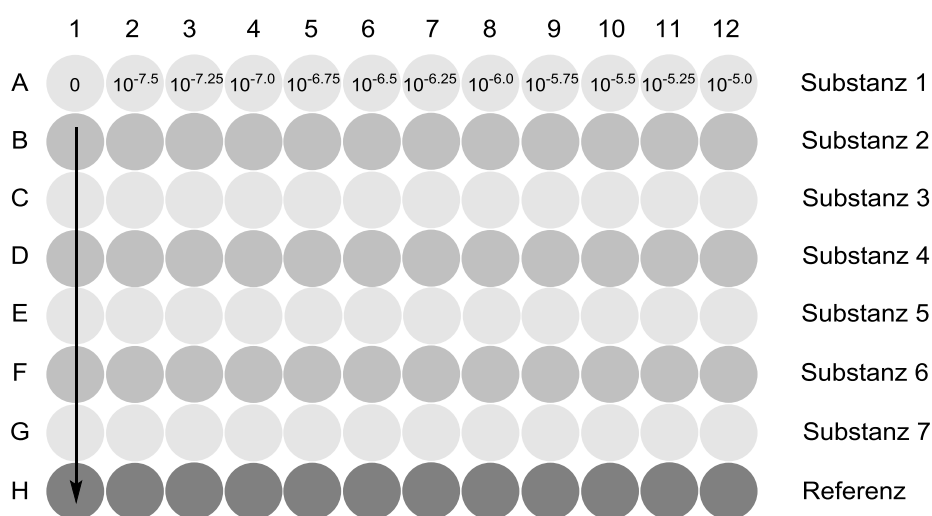


Abbildung 71: Übliche Präparation einer Platte für Pheophorbid-A-Akkumulationstests. Die Konzentrationen der Modulatoren (Spalten) sind in Mol pro Liter angegeben.

Nach Ende der Präinkubationszeit wurden jeder Vertiefung 20 µl einer frisch hergestellten Verdünnung des Farbstoffes (*Kapitel 6.2.4.3*) mittels Multikanalpipette hinzugefügt, so dass seine Konzentration 0.5 µmol/l und das Gesamtvolumen 200 µl in jeder Vertiefung betragen.

Anschließend wurde die Platte mit einer Abdeckplatte versehen und durch Aluminiumfolie lichtgeschützt im Inkubator unter Zellkulturbedingungen für zwei Stunden gelagert. Danach wurden die sich nach der Zeit am Vertiefungsgrund anhaftenden Zellen mittels Multikanalpipette durch mehrmaliges Auf- und Abpipettieren (mindestens 30 x) gelöst, um die Zellen im Durchflusszytometer vermessen zu können. Die Messung wurde mit folgenden Geräteeinstellungen durchgeführt:

Parameter

Messmodus	Hochdurchsatz, 96-Mikrotiter-Platte
Probenvolumen	10 µl
Probenflussgeschwindigkeit	3.0 µl/s
Mischvolumen	100 µl
Mischgeschwindigkeit	200 µl/s
Probenwaschvolumen	200 µl
Mischdurchgänge	2
Anregung	488 nm
Emission	670 nm (FL3)

Datenauswertung

Die Messtechnik registrierte neben der von den einzelnen Zellen ausgesandten Fluoreszenz auch die Qualität der eingesetzten Zellpopulation. Die gemessenen Parameter wurden mit Hilfe des Programmes *Cellquest Pro* als Punktwolken in einem Streudiagramm (Qualität der Zellprobe) bzw. als Balken in einem Histogramm (Fluoreszenzintensitäten) dargestellt und ausgewertet.

Mit Hilfe des Streudiagramms wurden die vermessenen Zellen hinsichtlich ihrer Größe (*forward scatter*) und Zellgranularität (*sideward scatter*) untersucht. So konnten tote Zellen, Zellagglomerate und -trümmer ausgeschlossen werden, indem man den Messbereich durch Setzen eines Analysefensters (*gate*) im Diagramm eingrenzte.

Zellen, die kein ABCG2 exprimierten, konnten ebenfalls ausgeschlossen werden, da man über den FL1-Kanal die vom GFP verursachte Fluoreszenz (*Kapitel 6.2.3.5*) messen konnte. Diese Maßnahme schloss die unerwünschten Fluoreszenzwerte im Histogramm aus, in dem die Fluoreszenzintensität gegen die Zellzahl aufgetragen war. Die geometrischen Mittelwerte der Fluoreszenzintensitäten wurden mit dem Programm *GraphPad Prism* gegen die entsprechenden Verdünnungen aufgetragen. Über die logistische Gleichung mit variablem und auf 1 fixiertem Hill-Koeffizienten wurden sigmoidal verlaufende Konzentrations-Effektkurven erstellt. Der Wendepunkt des statistisch bevorzugten Modells wurde zur Ermittlung des IC₅₀-Wertes herangezogen.

6.2.4.6 Akkumulationstest mit Calcein-AM

Durchführung

Der Akkumulationstest wurde entsprechend dem bereits beschriebenen Protokoll durchgeführt.^[223,258] Es wurden Verdünnungsreihen von den Stammlösungen der zu testenden Substanzen (*Kapitel 6.2.4.2*) vorbereitet. Die Verdünnungen (20 µl pro Vertiefung) wurden in die Vertiefungen einer farblosen, flachbödigen Mikrotiterplatte überführt.

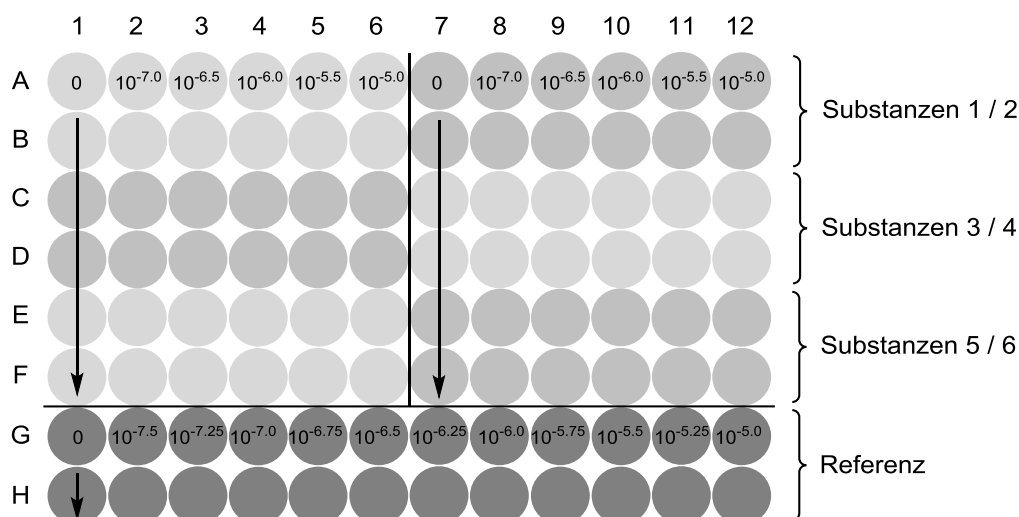


Abbildung 72: Schema einer üblichen Präparation für das Screening. Es wurde in Duplikaten gemessen. Die Konzentrationen der Modulatoren (Spalten) sind in Mol pro Liter angegeben.

Als Referenzsubstanz wurde Cyclosporin A benutzt. Nach Ernte und Zählung von Zellen der Zelllinien *A2780 adr* bzw. *H69AR* (*Kapitel 6.2.3*) wurde der jeweiligen Zellsuspension ein Volumen, das die für den Test erforderliche Gesamtzellzahl enthielt, entnommen und in ein Reagiergefäß (Volumen: 2 ml) überführt. Eine Anzahl von ungefähr 27000 Zellen pro Vertiefung wurde benötigt. Nach dreimaligem Waschen der Zellen mittels Zentrifugation (10000 x g, 7 s), vorsichtigem Entfernen des flüssigen Überstandes und Resuspension mit 1 ml KHP wurden die Suspension in eine unsterile Ausplattierschale überführt und mit KHP auf die gewünschte Zellkonzentration verdünnt. Von dieser wurden mit einer Multikanalpipette jeweils 160 µl in jede Vertiefung überführt, und die Platte, mit einer Abdeckplatte versehen, in den Inkubator (30 min, 37 °C, 5 % CO₂) gestellt.

Nach Ende der Präinkubationszeit wurden jeder Vertiefung 20 µl einer frisch hergestellten Calcein-AM-Verdünnung (*Kapitel 6.2.4.3*) mittels Multikanalpipette hinzugefügt, so dass die Farbstoffkonzentration 0.3125 µmol/l und das Gesamtvolumen 200 µl in jeder Vertiefung betragen. Die Platte wurde anschließend in einem Fluorometer gemäß den folgenden Geräteeinstellungen über einen Zeitraum von einer Stunde vermessen:

Parameter	POLARstar Galaxy	FLUOstar Optima
Plattenstellung		horizontal
Messtemperatur		37 °C
Schütteln vor Messung		ja
Cyclenzahl		60
Messwernerfassung		alle 60 s
Intervallzeit zwischen zwei Reihen		0.2 s
Anregung		485 nm
Emission		520 nm
Lichtblitze		10 s ⁻¹
Signalverstärkung (<i>Gain</i>)	15	1450

Datenauswertung

Die Messwerte wurden durch das Fluorometer in einer Exceltabelle erfasst. Aus dieser wurden die Daten in eine weitere Exceltabelle übertragen. Da der Anstieg der Fluoreszenz zu Anfang linear verläuft, wurden die Werte von Minute 10 bis 29 zur Berechnung der Steigungen herangezogen. Zur Ermittlung der relativen Hemmwirkung einer Testsubstanz bei einer Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ (*Abbildung 72*) wurde der Steigungswert dieser Konzentration von dem Nullwert in der gleichen Reihe subtrahiert (z. B. Wert von A6 minus Wert von A1) und dieser in Bezug zum ebenfalls bereinigtem Maximum des Standards (z. B. G12 minus G1) gesetzt. Von allen Substanzen, die bei 10 $\mu\text{mol/l}$ einen durchschnittlichen Effekt von über 25 % im Vergleich zum Standard zeigten, wurde der IC_{50} -Wert bestimmt. Bei vollständigen Verdünnungsreihen wurden die berechneten Steigungswerte gegen die jeweilige Modulatorkonzentration mit dem Programm *GraphPad Prism* aufgetragen und über die logistische Gleichung mit variablem und auf 1 fixiertem Hill-Koeffizienten eine sigmoidal verlaufende Konzentrations-Effektkurve erstellt. Der Wendepunkt des statistisch bevorzugten Modells wurde zur Ermittlung des IC_{50} -Wertes herangezogen.

6.2.4.7 MTT-Test zur Zelltoxizitätsbestimmung

Durchführung

Der MTT-Test wurde entsprechend der Literatur durchgeführt.^[258] Die sterilen Mikrotiterplatten wiesen Räume zwischen den Vertiefungen auf, die mit sterilem PBS bis zur Hälfte befüllt wurden, um Volumenreduktionen in die Vertiefungen durch Verdunstung während der Inkubationsphasen vorzubeugen. Die zu untersuchenden Zellen des resistenten und des sensitiven Typs wurden vorbereitet (*Kapitel 6.2.3*). Den Zellsuspensionen wurden Volumina, die die für den Test erforderliche Gesamtzellzahl enthielten, entnommen und mit Nährmedium verdünnt, so dass durchschnittlich 3000 Zellen pro 20 μl in jeden Vertiefung mittels einer Multikanalpipette überführt werden konnten. Nach Zufügen zusätzlicher 160 μl Nährmediums in die Vertiefungen wurde die Platte für drei bis sechs Stunden in den Inkubator (30 min, 37 °C, 5 % CO_2) gestellt, um die Zellen anhaften zu lassen. Es wurde eine Verdünnungsreihe von der Stammlösung der zu testenden Substanz nach folgendem Schema vorbereitet:

c [10^x mol/l] Zielverdünnung	Volumina [μ l]		c [10^y mol/l] der Substanz auf der Platte
	Verdünnung	Nährmedium	
- 3.00	150 (10^{-2})	1350	- 4.00
- 3.25	448 (10^{-3})	352	- 4.25
- 3.50	316 (10^{-3})	684	- 4.50
- 3.75	178 (10^{-3})	822	- 4.75
- 4.00	100 (10^{-3})	900	- 5.00
- 4.25	100 ($10^{-3.25}$)	900	- 5.25
- 4.50	100 ($10^{-3.5}$)	900	- 5.50
- 4.75	100 ($10^{-3.75}$)	900	- 5.75
- 5.00	100 (10^{-4})	900	- 6.00
- 6.00	100 (10^{-5})	900	- 7.00

Es wurde ein autoklaviertes Reagentienreservoir mit zwölf Fächern zu Hilfe genommen. Die Fächer wurden entsprechend dem Testschema mit den benötigten Lösungen beschickt, so dass das erste Fach reines Nährmedium, die nächsten zehn Fächer die Verdünnungen der Testsubstanz mit steigenden Konzentration und das zwölfte Fach reines DMSO enthielten. Nun konnten 20 μ l einer jeden Lösung mittels Multikanalpipette in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte überführt werden.

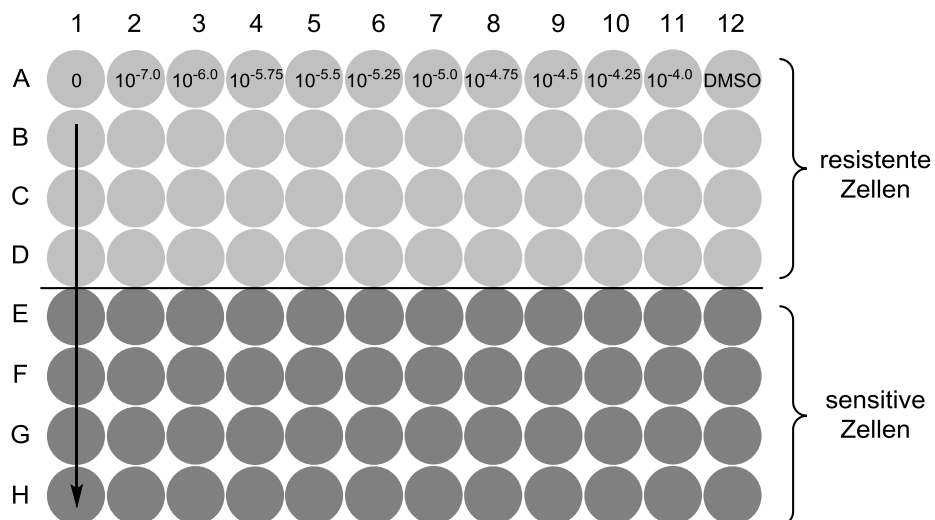


Abbildung 73: Schema einer üblichen Präparation für den MTT-Test zur Bestimmung der Zelltoxizität. Jeder Messwert wurde als Quadruplikat aufgenommen. Die Konzentrationen des Modulators (Spalten) sind in Mol pro Liter angegeben.

Zur Feststellung der Aufhebung der Resistenz gegen ein Zytostatikum mittels eines Modulators wurde der MTT-Test mit einem abgewandelten Protokoll durchgeführt.^[258]

Im Gegensatz zur Überprüfung der Zelltoxizität wurden einigen Reihen mit resistenten Zellen statt der üblichen 160 µl nur 140 µl des Nährmediums hinzupipettiert. Es wurden zwei unterschiedlich konzentrierte Verdünnungen aus der Stammlösung eines Modulators in Nährmedium hergestellt. Nach Ablauf der Zeit zur Anhaftung der Zellen, wurden 20 µl dieser Verdünnungen in die Reihen mit resistenten Zellen, die das geringere Gesamtvolumen (160 µl statt 180 µl) beinhalteten, hinzupipettiert. Anschließend wurde eine Verdünnungsreihe von der Stammlösung des Zytostatikums nach dem in *Abbildung 74* dargestellten Schema hergestellt. Es wurde ein autoklaviertes Reagentienreservoir mit zwölf Fächern zu Hilfe genommen.

Die Fächer wurden entsprechend dem Testschema mit den benötigten Lösungen beschickt, so dass das erste Fach reines Nährmedium, die nächsten zehn Fächer die Verdünnungen der Testsubstanz mit steigenden Konzentration und das zwölfte Fach reines DMSO enthielten. Nun konnten 20 µl einer jeden Lösung mittels Multikanalpipette in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte überführt werden.

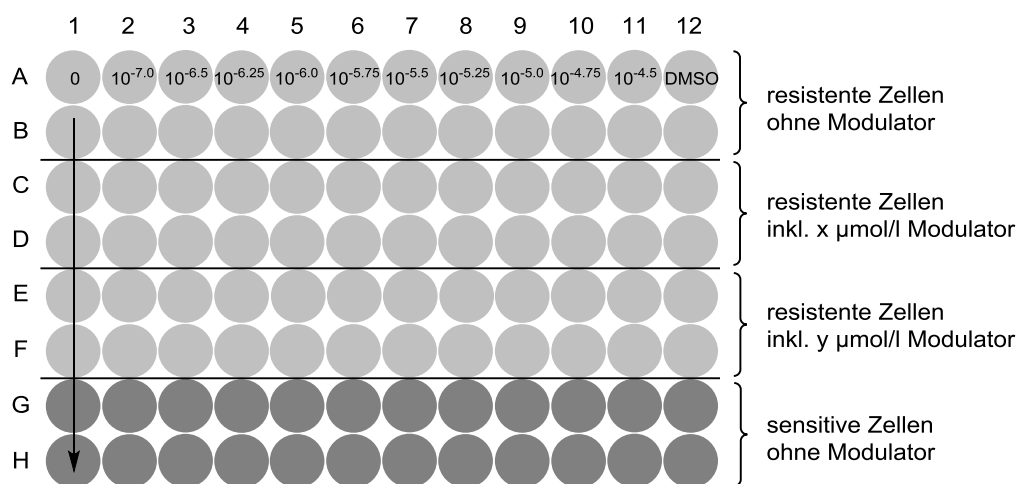


Abbildung 74: Typische Anordnung eines MTT-Tests zur Bestimmung der Zelltoxizität. Jeder Messwert wurde als Duplikat gemessen. Die Konzentration des Cytostatikums (Spalten) ist in Mol pro Liter angegeben.

Nach einer Lagerung über 72 Stunden im Inkubator (37 °C, 5 % CO₂) wurden in jede Vertiefung 40 µl einer MTT-Lösung (5 mg MTT / ml PBS) mittels Multikanalpipette

hinzugefügt, wobei auf steriles Arbeiten verzichtet wurde. Die Platte wurde für eine Stunde in den Inkubator gestellt. Die Überstände in den Vertiefungen wurden vorsichtig entfernt, in dem man die Platte kopfüber auf Zellstoff legte und leicht klopfte. Durch Zugabe von 100 μ l DMSO in jede Vertiefung wurden die Zellen lysiert und die in ihnen gebildeten Formazankristalle gelöst. Im Anschluss wurden die Extinktionen der Formazanlösungen bei 570 nm und die Hintergrundextinktion bei 690 nm gemessen.

Datenauswertung

Die Messwerte wurden durch das Photometerprogramm *Ascent* in einer Exceltabelle erfasst. Nach Abzug der Hintergrund- von den Gesamtextinktion trug man die Werte gegen die jeweilige Modulatorkonzentration im Programm *GraphPad Prism* auf und erstellte über die logistische Gleichung mit vier Parametern eine sigmoidal verlaufende Konzentrations-Effektkurve, aus der sich dann der GI_{50} -Wert ableiten ließ.

6.2.4.8 Enzymkinetische Versuche

Die Versuche wurden von K. Silbermann (AG Wiese, Pharmazeutisches Institut, Universität Bonn) durchgeführt und ausgewertet.

Durchführung

Zur Identifikation des Interaktionstyps einer Substanz mit einem verwendeten Substrat wurden analog zu den schon beschriebenen Verfahren Dosis-Wirkungskurven mit unterschiedlichen Substratkonzentrationen ermittelt. Die Messbedingungen waren dieselben wie bei den schon beschriebenen Standardtests. Die verwendeten Konzentrationen wurden so gewählt, dass sie unterhalb des IC_{50} -Wertes des Inhibitors lagen. Eine weitere Reihe enthielt eine Konzentration, mit der die Maximalfluoreszenz ermittelt wurde.

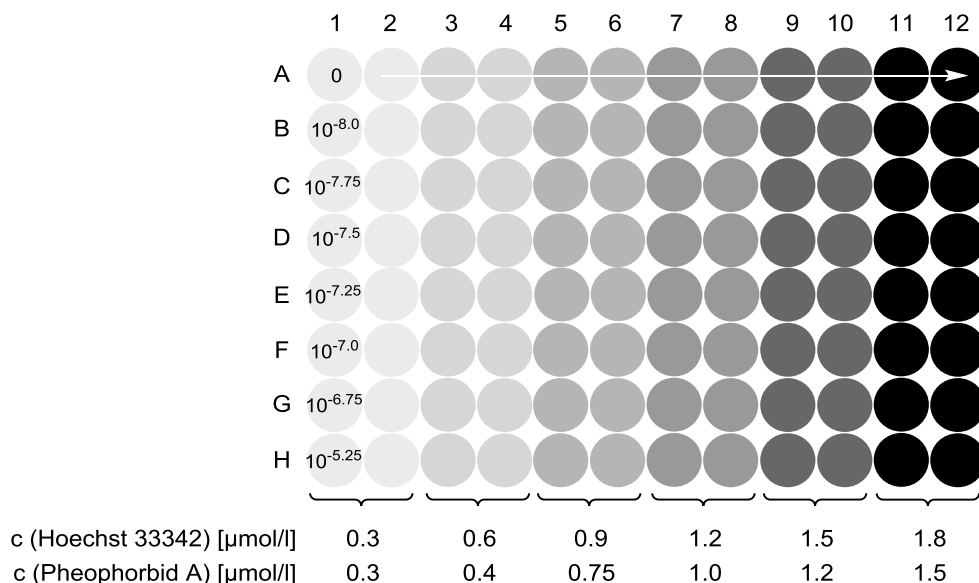


Abbildung 75: Präparation einer enzymkinetischen Untersuchung von Ko143 (in Reihen, Konzentration in Mol pro Liter) mit verschiedenen Konzentrationen von Hoechst 33342 bzw. Pheophorbid A

Datenauswertung

Die Messwerte wurden analog zu den schon beschriebenen Verfahren (s. o.) ermittelt. Die Duplikate wurden gemittelt und gegen die jeweilige Modulatorkonzentration in *GraphPad Prism* aufgetragen. Über die logistische Gleichung wurden sigmoidal verlaufenden Konzentrations-Effektkurven für jede Substratkonzentration erstellt. Der Fluoreszenz-Maximalwert \mathcal{F}_{max} des statistisch bevorzugten Modells (variabler oder auf 1 fixierter Hill-Koeffizient) wurden zur Berechnung der intrazellulären Substratkonzentrationen S_{in} und der Geschwindigkeiten v herangezogen, die nach

$$[S_{in}] = \frac{[S] * \mathcal{F}}{\mathcal{F}_{max}} \quad \text{und} \quad v = [S] - [S_{in}] \quad \text{berechnet wurden.}^{[225]}$$

Die ermittelten Werte wurden reziprok in einem Lineweaver-Burk-Diagramm mit $[S_{in}]^{-1}$ als Abszisse und $[v]^{-1}$ als Ordinate aufgetragen, wodurch eine Geradenschar erhalten wurde. Der Schnittpunkt der Geraden gab Aufschluss über die Art der Interaktion des Inhibitors mit dem Substrat in Gegenwart des Proteins.

7 ANHANG

7.1 Abkürzungsverzeichnis

ABC	ATP-Bindungskassette	dd	Dublett vom Dublett
ADP	Adenosindiphosphat	ddd	Dublett vom Dublett vom Dublett
AG	Arbeitsgruppe	demin.	demineralisiert
ASV	Allgemeine Synthesevorschrift	DIPEA	Diisopropylethylamin, Hünig's Base
ATP	Adenosintriphosphat	DMF	Dimethylformamid
atm	physikalische Atmosphäre	DMSO	Dimethylsulfoxid
Äq.	Äquivalent(e)	dt	Dublett vom Triplet
BCRP	brustkrebsresistentes Protein, ABCG2	d. Th.	(Ausbeute in Prozent) der Theorie
BNCT	Bor-Neutroneneinfang-Therapie (<i>boron neutron capture therapy</i>)	ε	dekadischer Extinktionskoeffizient
br	breites Singulett	EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
Calcein-AM	Calceinacetoxymethylester	EtOAc	Essigester
cDNS	komplementäre Desoxyribonukleinsäure	EtOH	Ethanol
CsA	Cyclosporin A	\mathcal{F}	Fluoreszenzwert [willkürliche Einheiten]
CuAAC	Kupfer katalysierte Alkin-Azid-Cycloaddition	$\mathcal{F}_{rel.}$	relative Fluoreszenz [%]
δ	chemische Verschiebung	FKS	fötales Kälberserum
DC	Dünnschichtchromatographie	GFP	grünfluoreszierendes Protein
DCM	Dichlormethan, Methylenchlorid	GI ₅₀	halbmaximale Wachstumshemmung (<i>growth inhibition</i>)
d	Dublett	GSH	Glutathion

HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure	n	nano; Versuchsanzahl
		N	Normalität
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie (<i>high performance liquid chromatography</i>)	n. a.	nicht aktiv
		NMR	Kernspinresonanz (<i>nuclear magnetic resonance</i>)
HRMS	hochauflösende Massenspektroskopie (<i>high resolution mass spectroscopy</i>)	OAT	organischer Anionentransporter
		p [W]	Leistung [Watt]
HGNC	Gennomenklatur-Ausschuss der Humangenom-Organisation (<i>HUGO gene nomenclature committee</i>)	PÄ	Petroläther, Leichtbenzin (Siedebereich 40 – 60 °C)
		PDB	Protein-Datenbank (www.rcsb.org)
Hz	Hertz	PBS	phosphatgepufferte Salzlösung
IC ₅₀	halbmaximale inhibitorische Konzentration (<i>inhibitory concentration</i>)	Pd/C	Palladium auf Aktivkohle
		q	Quartett
I	Maximalinhibition	σ	Standardabweichung
IUPAC	Internationale Union für reine und angewandte Chemie (<i>international union of pure and applied chemistry</i>)	sept	Septett
		Smp.	Schmelzpunkt
		s. o.	siehe oben
<i>J</i>	Kopplungskonstante	t	Triplett
kcal	Kilokalorie	td	Triplett vom Duplett
KHP	Krebs-HEPES-Puffer	t [s]	Zeit [Sekunde(n)]
konz.	konzentriert	T [°C]	Temperatur in [Grad Celsius]
l	Liter	THF	Tetrahydrofuran
logP	Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient	TQ	therapeutische Quotient
		U	Einheiten (<i>units</i>)
λ _{max.}	Wellenlängenmaximum [nm]	u. a.	unter anderem
m	milli; Multiplett	usw.	und so weiter
M	mega	UV	ultravioletter Wellenlängenbereich
MDR	Multidrug-Resistenz	Vis	sichtbarer Wellenlängenbereich
MeOH	Methanol	wt	Wildtyp, parenteraler Typ
MDCK	Madin-Darby-Hundeniere (<i>Madin-Darby canine kidney</i>)	Z	Zersetzungspunkt
MRP1	MDR-assoziiertes Protein, ABCC1	z. B.	zum Beispiel
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid	% v/v	Volumenprozent

7.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle	Beschreibung	Seite
Tabelle 1	Durch Mutationen in ABC-Genen ausgelöste Erbkrankheiten	2
Tabelle 2	ABCB1-Substrate (Auswahl) ^[23,41,47,54]	12
Tabelle 3	ABCB1-Inhibitoren der ersten Generation (Auswahl) ^[50]	13
Tabelle 4	ABCC1-Substrate (Auswahl) ^[23,68]	17
Tabelle 5	ABCG2-Substrate (Auswahl) ^[60,90,92,96,97]	20
Tabelle 6	Selektive ABCG2-Inhibitoren (Auswahl)	22
Tabelle 7	Vorstufen mit 2,5-Diaryl-2 <i>H</i> -tetrazol-Teilstruktur	40
Tabelle 8	Über die katalytische Hydrierung erhaltene Vorstufen	50
Tabelle 9	Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC ₅₀ -Werte der Testsubstanzen mit einem Nitrosubstituenten am Ring C; Referenzsubstanz XR9577: IC ₅₀ = 704 ± 147 nmol/l; n = 3	56
Tabelle 10	Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC ₅₀ -Werte der Testsubstanzen mit 4-Nitril- oder 4-Trifluormethylgruppe am Ring C; Referenzsubstanz XR9577: IC ₅₀ = 704 ± 147 nmol/l; n = 3	58
Tabelle 11	Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC ₅₀ -Werte der Testsubstanzen mit 4-n-Propylgruppe am Ring C; Referenzsubstanz XR9577: IC ₅₀ = 704 ± 147 nmol/l; n = 3	60
Tabelle 12	Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC ₅₀ -Werte der Testsubstanzen mit 4-Methoxygruppe am Ring C; Referenzsubstanz XR9577: IC ₅₀ = 704 ± 147 nmol/l; n = 3	61
Tabelle 13	Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC ₅₀ -Werte der Testsubstanzen mit Alkoxysubstituenten am Ring C; Referenzsubstanz XR9577: IC ₅₀ = 704 ± 147 nmol/l; n = 3	63
Tabelle 14	Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC ₅₀ -Werte der Testsubstanzen mit (ali-)cyclischen Substituenten anstelle eines Phenylringes; Referenzsubstanz XR9577: IC ₅₀ = 704 ± 147 nmol/l; n = 3	65
Tabelle 15	Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC ₅₀ -Werte der Testsubstanzen mit erster Modifikation der Grundstruktur – Wegfall des Phenylringes A bzw. C; Referenzsubstanz XR9577: IC ₅₀ = 704 ± 147 nmol/l; n = 3	69
Tabelle 16	Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC ₅₀ -Werte der Testsubstanzen mit zweiter Modifikation der Grundstruktur – Austausch des Tetrazols gegen Oxadiazol (148-154) oder Triazol (160-164); Referenzsubstanz XR9577: IC ₅₀ = 704 ± 147 nmol/l; n = 3	70

Tabelle 17	Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC ₅₀ -Werte der Testsubstanzen mit dritter Modifikation der Grundstruktur – Auswirkung des Positionswechsels des Amids; Referenzsubstanz XR9577: IC ₅₀ = 704 ± 147 nmol/l; n = 3	71
Tabelle 18	Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC ₅₀ -Werte der Testsubstanzen mit dritter Modifikation der Grundstruktur – Veränderung der Amid-Teilstruktur; Referenzsubstanz XR9577: IC ₅₀ = 704 ± 147 nmol/l; n = 3	72
Tabelle 19	Vergleich der Aktivitätsdaten ausgewählter Modulatoren in Gegenwart der Substrate Hoechst 33342 und Pheophorbid A; n ≥ 3 ^[223]	74
Tabelle 20	Inhibitorische Aktivitäten der über das Screening identifizierten Substanzen mit mehr als 25 %iger verursachter Fluoreszenz im Calcein-AM-Test; Referenzsubstanz CsA: IC ₅₀ = 1.21 ± 0.16 µmol/l; n = 3	82
Tabelle 21	IC ₅₀ -, Zytotoxizitäts- und TQ-Werte ausgewählter Verbindungen, ermittelt mit dem MTT-Testverfahren; n = 3, Einzelwerte als Quadruplikat	87
Tabelle 22	Verlauf der Extinktion ausgewählter Verbindungen mit verschiedenen I _{max} -Werten; c(Verb.) = 10 µmol/l	89
Tabelle 23	Übersicht über die IC ₅₀ -Werte substitutionsgleicher Anthranilamid- und Tetrazolylphenylamid-Derivate	91
Tabelle 24	Vergleich der Aktivitäten von Derivaten mit gleichartigen, aber zwischen den Aromaten A und C getauschten Substituenten	94
Tabelle 25	Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC ₅₀ -Werte unterschiedlich substituierter Carborancarboxamide; Referenzsubstanz XR9577: IC ₅₀ = 704 ± 147 nmol/l; n = 3	103
Tabelle 26	Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC ₅₀ -Werte der Verbindungen zur Charakterisierung der aktivitätsrelevanten Strukturmerkmale; Referenzsubstanz XR9577: IC ₅₀ = 704 ± 147 nmol/l; n = 3	106
Tabelle 27	Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC ₅₀ -Werte der Benzothiazol-Reihe zur Überprüfung von Substituenteneinflüssen; Referenzsubstanz XR9577: IC ₅₀ = 704 ± 147 nmol/l; n = 3	108
Tabelle 28	Über das Hoechst 33342-Verfahren ermittelte IC ₅₀ -Werte der Thiazol-Reihe zur Überprüfung von Substituenteneinflüssen; Referenzsubstanz XR9577: IC ₅₀ = 704 ± 147 nmol/l; n = 3	109
Tabelle 29	Übersicht über die Fluoreszenzzunahme ausgewählter Verbindungen bei 10 µmol/l, auf Cyclosporin A (10 µmol/l) bezogen	110
Tabelle 30	IC ₅₀ -, Zytotoxizitäts- und TQ-Werte ausgewählter Verbindungen, ermittelt über das MTT-Testverfahren; n = 3, wenn nicht Anderes angegeben; Einzelwerte als Quadruplikat	111

7.3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung	Beschreibung	Seite
Abbildung 1	Kristallstruktur der NBD des ABC-Transporters Hämolyisin B in <i>Escherichia coli</i> (PDB-Nummer 1MT0) ^[6,21] : Walker-A-Motiv (gelb), Q-Schleife (orange), C-Schleife (rot), Walker-B-Motiv (grün), D-Schleife (cyan), H-Schleife (lila)	3
Abbildung 2	Formulierungen zum Transportmechanismus eines ABC-Proteins: ^[22,23] A: Porenmodell; B: Flippasemodell; C: HVC-Modell	4
Abbildung 3	Allgemein angenommener Transportcyclus eines ABC-Transporters, basierend auf dem Higgins und Linton formulierten ATP-Switch-Modell(● Substrat, ■ ATP) ^[18,20,25-30]	5
Abbildung 4	Kolbenmodell nach George und Jones: ^[31-33] TMD = graue Rechtecke; (●) Substrat; Substratbindungsstellen (○ = gebunden, □ ungebunden); NBD = Kreise; Nucleotidbindungsstelle in geschlossener Konformation (schwarz); Nucleotidbindungsstelle in offener Konformation (weiß) - die abgesenkte Position verdeutlicht die Ausrichtung der offenen Konformation (NBD vom Komplex weggedreht)	6
Abbildung 5	Übersicht über generelle Mechanismen zur Ausbildung einer MDR nach Holohan <i>et al.</i> ^[37]	8
Abbildung 6	Sekundärstruktur von ABCB1 ^[41]	9
Abbildung 7	Röntgenkristallstruktur der murinen Variante des Transporters ABCB1 (PDB-Nummer: 4M1M) ^[43]	10
Abbildung 8	Strukturen von Inhibitoren der 3. Generation ^[50,63]	15
Abbildung 9	Sekundärstruktur von ABCC1 ^[41]	16
Abbildung 10	Strukturen ausgewählter ABCC1-Inhibitoren	18
Abbildung 11	Sekundärstruktur von ABCG2 ^[41]	19
Abbildung 12	Schematischer Ablauf der Akkumulation von Hoechst 33342	23
Abbildung 13	Fluoreszenz-Zeit-Kurven eines typischen Hoechst 33342-Akkumulationstests in Gegenwart verschiedener Konzentrationen des Inhibitors XR9577 (in Mol pro Liter)	24
Abbildung 14	Schematischer Ablauf der Akkumulation von Pheophorbid A	25
Abbildung 15	Schematischer Ablauf der Akkumulation von Calcein-AM	26
Abbildung 16	Fluoreszenz-Zeit-Geraden eines typischen Calcein-AM-Akkumulationstests in Gegenwart verschiedener Konzentrationen des Inhibitors Cyclosporin A (in Mol pro Liter)	27
Abbildung 17	Sättigungskurve eines Enzymes mit Michaelis-Menten-Kinetik: Darstellung von v_0 als Funktion von S ^[151]	28

Abbildung 18	Lineweaver-Burk-Diagramm ^[152]	29
Abbildung 19	Reaktionsschemata möglicher Enzym-Substrat- bzw. Enzym-Inhibitor-Interaktionen (ES bzw. EI); P = Produkt ^[147]	30
Abbildung 20	Enzymvermittelte Reduktionsreaktion des MTT zum Formazan	31
Abbildung 21	Stammsubstanz Tariquidar (links) und allgemeine Struktur der von Steggemann ^[159] dargestellten Analoga ohne den Tetrahydroisochinolin-Rest (rechts)	34
Abbildung 22	Grundstruktur der in der AG Scholz dargestellten Carborancarboxamide; das Carboran besteht aus zwei Kohlenstoff- und zehn Boratomen, die dodekaedrisch angeordnet sind.	34
Abbildung 23	A) XR9051 mit Piperafizin-Teilstruktur; B) XR9577 (R = H) bzw. Tariquidar / XR9576 (R = OCH ₃) mit Anthranilamid-Teilstruktur	35
Abbildung 24	Beispiele publizierter Tariquidarabkömmlinge (R ¹⁻⁴ = H oder OCH ₃): A) dargestellt von der Firma Hanmi Pharmaceuticals (Seoul, Korea) ^[165] , B) von der AG Wiese (Univ. Bonn) ^[159,166-169] , C) von Labrie <i>et al.</i> ^[170,171] , D) von der AG Qian (Pharm. Univ. Nanking, China) ^[172-174] , E) von der AG Buschauer (Univ. Regensburg) ^[107,175-178] und F) von der AG Wiese ^[109,110,157,159]	36
Abbildung 25	Grundgerüst der Anthranilamide und die im Rahmen dieser Arbeit vorgenommenen strukturellen Veränderungen	37
Abbildung 26	Übersicht über die beschrittenen Synthesewege	38
Abbildung 27	Darstellung versch. Sulfonylhydrazone; a) MeOH oder EtOH, ΔT	39
Abbildung 28	Mechanismus der Bildung von 2,5-Diaryltetrazolen nach Ito <i>et al.</i> ^[183]	41
Abbildung 29	Alternative Methoden zur Darstellung von 2,5-Diaryltetrazolen ^[187,188]	41
Abbildung 30	Syntheseweg der einfachsubstituierten Tetrazole: a) Säurechlorid, TEA, THF, RT; b) NaN ₃ , TEA-HCl, Toluol, T = 100 °C	42
Abbildung 31	Reaktionsmechanismus der Bildung von 5-substituierten 1H-Tetrazolen nach Himo <i>et al.</i> ^[197]	43
Abbildung 32	Darstellung 1,2,4-oxadiazolhaltiger Derivate ^[198] : a) NH ₂ OH, DIPEA; b) ArCOCl, DIPEA; c) Pyridin, ΔT	44
Abbildung 33	Syntheseweg der 1,3,4-Oxadiazole: POCl ₃ , Al ₂ O ₃ , p=10W, T=100 °C	45
Abbildung 34	Bildung des Diacylhydrazids in situ ^[202]	45
Abbildung 35	Reaktionsmechanismus der Bildung von 1,3,4-Oxadiazolen aus Diacylhydraziden, abgewandelt nach Padmavathi <i>et al.</i> ^[202]	46
Abbildung 36	Darstellung des Phenylazids: a) konz. HCl, NaNO ₂ , H ₂ O, T < 0 °C; b) NaN ₃	46
Abbildung 37	Synthese der 1,2,3-Triazole: a) CuSO ₄ ·5 H ₂ O (0.01 Äq.), Natriumascorbat (0.02 Äq.), Benzoesäure (0.1 Äq.), DMF-H ₂ O, RT	47
Abbildung 38	Mechanismus der Bildung des ladungsfreien Cyclus bei unkatalysierter Reaktion der Reaktionsteilnehmer nach Huisgen ^[207,208]	47

Abbildung 39	Reaktionsmechanismus der CuAAC nach Fokin <i>et al.</i> ^[209,213]	48
Abbildung 40	Reduktion der Nitrogruppe zum Amin: a) H ₂ , Pd/C, EtOH / THF, RT	49
Abbildung 41	Verseifung von Substanz 53 in Ggw. von LiOH in MeOH / H ₂ O	51
Abbildung 42	Spaltung des Ethers: a) BBr ₃ , DCM, T = -78 → 0 °C; b) H ₂ O, 0 °C → RT	51
Abbildung 43	Bimolekularer Mechanismus der durch Bortribromid vermittelten Spaltung eines Alkyl-Aryl-Ethers nach Sousa und Silva ^[216]	52
Abbildung 44	Mechanismen der Säurechlorid-Bildung mit A) Thionylchlorid (Die Chlorierung mit Oxalylchlorid ist entsprechend formulierbar.) und B) Carbonyldiimidazol ^[219]	53
Abbildung 45	Reaktionsmechanismus der Amidbildung; X = Cl, <i>N</i> -Imidazolyl oder <i>N</i> -Pyridinyl	53
Abbildung 46	Verbindung 64 trägt dieselben Substituenten (4- <i>n</i> -Propyl an Ring A, 4-Nitro an Ring C) wie der potenteste Vertreter der Anthranilamide.	54
Abbildung 47	Konzentrations-Effekt-Kurven des Anthranilamids (●) und des korrespondierenden Abkömmlings 64 mit Tetrazolstruktur (▲) im Vergleich zur Referenzsubstanz XR9577 (■)	55
Abbildung 48	Vorgenommene strukturelle Variationen der Grundstruktur	68
Abbildung 49	Streudiagramm der in beiden Akkumulationstest erhaltenen pIC ₅₀ -Werte (erstellt mit GraphPad Prism 6.0)	73
Abbildung 50	Übersicht über die gemessene Fluoreszenzen in Gegenwart von Verbindungen mit R ² = 4-NO ₂ (dunkelgrün), 3-NO ₂ (hellgrün) und 2-NO ₂ (türkis) bei 10 μmol/l, auf Cyclosporin A (10 μmol/l) bezogen; n = 3	76
Abbildung 51	Übersicht über die gemessene Fluoreszenzzunahme in Gegenwart von Verbindungen mit R ² = 4-CF ₃ (orange) und 4- <i>n</i> -C ₃ H ₇ (lila) bei 10 μmol/l, auf Cyclosporin A (10 μmol/l) bezogen; (n = 3)	77
Abbildung 52	Übersicht über die gemessene Fluoreszenzzunahme in Gegenwart der Testsubstanzen mit R ² = 4-OCH ₃ (dunkelrot), 3,4-OCH ₃ (rot) und H (hellrot) bei 10 μmol/l, auf Cyclosporin A (10 μmol/l) bezogen; (n=3)	78
Abbildung 53	Übersicht über die gemessene Fluoreszenzzunahme in Gegenwart von Verbindungen mit einem Oxadiazol anstelle des Tetrazols (braun) und <i>m</i> - (graublau) bzw. <i>p</i> -Tetrazolylphenyl-amiden (violett) bei 10 μmol/l, auf Cyclosporin A (10 μmol/l) bezogen; n = 3	79
Abbildung 54	Übersicht über die gemessene Fluoreszenzzunahme in Gegenwart von Verbindungen mit R ² = 4-NO ₂ (dunkelgrün), 4-CF ₃ (orange) 4- <i>n</i> -Propyl (lila), 4-OCH ₃ (dunkelrot) und 3,4-OCH ₃ (rot) bei 10 μmol/l, auf Cyclosporin A (10 μmol/l) bezogen; n = 3	83
Abbildung 55	Lineweaver-Burk-Diagramme zur Ermittlung der Interaktionstypen zwischen Modulator und Substrat; von K. Silbermann durchgeführt (a) und ausgewertet (b)	85

Abbildung 56	Repräsentative Dosis-Effektkurven der Verbindungen 103 (A) und 104 (B) grau = MDCK II BCRP, schwarz = MDCK II wt	86
Abbildung 57	Dosis-Wirkungskurven von SN-38 auf resistente Zellen in Abwesenheit von 105 (●, Negativprobe), in Anwesenheit von 0.25 μmol/l 105(▲), in Anwesenheit von 0.1 μmol/l 105 (◆) und auf parenterale Zellen (■, Positivprobe); n = 3, Einzelwerte als Duplikate	88
Abbildung 58	Dreidimensionale Darstellungen (I: Aufsicht; II: mit nach hinten gedrehtem mittlerem Phenylring) der Grundstrukturen A und B im jeweiligen Energieminimum; statistische Konformationsanalyse mittels MOE ^[226] mit Standardeinstellungen	92
Abbildung 59	Vorschläge für weitere Vertreter dieser Substanzklasse (R = Wasserstoff oder Elektronendonator; X = C oder N)	95
Abbildung 60	Strukturen der in humanen klinischen Studien verwendeten BNCT-Agentien	98
Abbildung 61	a) Carboranhaltige Analoga physiologisch vorkommender Substanzen ^[239,240] ; b) Beispiele für carboranhaltige Arzneistoffmimetika ^[235,237] ; ● = BH	99
Abbildung 62	a) Hybridisierungsschema von Bor; b) Zweielektronen-Dreizentren-Bindung im Diboran ^[244]	100
Abbildung 63	1,2-Dicarba-, 1,7-Dicarba- und 1,12-Dicarba-closo-decaboran (von links nach rechts); grau = CH, grün = BH	100
Abbildung 64	Übliche Darstellung der Carborane (● = BH)	101
Abbildung 65	Angenommener Mechanismus des nucleophil bedingten Zerfalls eines <i>ortho</i> -Carborans ^[222]	101
Abbildung 66	Synthesewege zur Darstellung der Amide: a) CUMO (1 Äq.), DIPEA (2.2 Äq.), DMF, RT; b) Amin, DMF, RT; c) PCl ₅ ; d) Amin, TEA, THF, RT; o, m, p: Position des zweiten Kohlenstoffatoms in Relation zum ersten Kohlenstoffatom im jeweilig eingesetzten Konstitutionsisomer	102
Abbildung 67	Zusammenfassung der Struktur-Wirkungsbeziehungen (EWG: elektronenziehende Gruppe, EDG: elektronenschiebende Gruppe)	113
Abbildung 68	Emissionsspektrum (rot) mit Maximum bei λ = 480 nm und Anregungsspektrum (schwarz) bei λ = 310 nm der Verbindung 188 in DMSO (c = 0.45 μmol/l)	114
Abbildung 69	Vorschläge zur Erweiterung der Substanzklasse	114
Abbildung 70	Übliche Präparation einer Platte für Hoechst 33342-Akkumulationstests. Die Konzentrationen der Modulatoren (Spalten) sind in Mol pro Liter angegeben.	244
Abbildung 71	Übliche Präparation einer Platte für Pheophorbid-A-Akkumulationstests. Die Konzentrationen der Modulatoren (Spalten) sind in Mol pro Liter angegeben.	246

Abbildung 72	Schema einer üblichen Präparation für das Screening. Es wurde in Duplikaten gemessen. Die Konzentrationen der Modulatoren (Spalten) sind in Mol pro Liter angegeben.	248
Abbildung 73	Schema einer üblichen Präparation für den MTT-Test zur Bestimmung der Zelltoxizität. Jeder Messwert wurde als Quadruplikat aufgenommen. Die Konzentrationen des Modulators (Spalten) sind in Mol pro Liter angegeben.	251
Abbildung 74	Typische Anordnung eines MTT-Tests zur Bestimmung der Zelltoxizität. Jeder Messwert wurde als Duplikat gemessen. Die Konzentration des Cytostatikums (Spalten) ist in Mol pro Liter angegeben.	252
Abbildung 75	Präparation einer enzymkinetischen Untersuchung von Ko143 (in Reihen, Konzentration in Mol pro Liter) mit verschiedenen Konzentrationen von Hoechst 33342 bzw. Pheophorbid A	254

7.4 Literaturverzeichnis

- [1] Saurin, W.; Hofnung, M.; Dassa, E. Getting in or out: Early segregation between importers and exporters in the evolution of ATP-binding cassette (ABC) transporters. *J. Mol. Evol.* **1999**, *48*, 22-41.
- [2] Rees, D. C.; Johnson, E.; Lewinson, O. ABC transporters: the power to change. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* **2009**, *10*, 218-227.
- [3] Dean, M.; Rzhetsky, A.; Allikmets, R. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *Genome Res.* **2001**, *11*, 1156-1166.
- [4] ATP binding cassette transporters. Netzadresse: <http://www.genenames.org/genefamilies/ABC> (letzter Zugriff: 11. X. 2016).
- [5] Theodoulou, F. L.; Kerr, I. D. ABC transporter research: going strong 40 years on. *Biochem. Soc. Trans.* **2015**, *43*, 1033-1040.
- [6] Linton, K. J. Structure and function of ABC transporters. *Physiology (Bethesda)* **2007**, *22*, 122-130.
- [7] Shulenin, S.; Noguee, L. M.; Annilo, T.; Wert, S. E.; Whitsett, J. A.; Dean, M. ABCA3 gene mutations in newborns with fatal surfactant deficiency. *N. Engl. J. Med.* **2004**, *350*, 1296-1303.
- [8] Toda, Y.; Aoki, R.; Ikeda, Y.; Azuma, Y.; Kioka, N.; Matsuo, M.; Sakamoto, M.; Mori, S.; Fukumoto, M.; Ueda, K. Detection of ABCA7-positive cells in salivary glands from patients with Sjögren's syndrome. *Pathol. Int.* **2005**, *55*, 639-643.
- [9] Satoh, K.; Abe-Dohmae, S.; Yokoyama, S.; St George-Hyslop, P.; Fraser, P. E. ATP-binding cassette transporter A7 (ABCA7) loss of function alters Alzheimer amyloid processing. *J. Biol. Chem.* **2015**, *290*, 24152-24165.
- [10] Akiyama, M. The roles of ABCA12 in keratinocyte differentiation and lipid barrier formation in the epidermis. *Dermatoendocrinol.* **2011**, *3*, 107-112.
- [11] Kimura, Y.; Morita, S. Y.; Matsuo, M.; Ueda, K. Mechanism of multidrug recognition by MDR1/ABCB1. *Cancer Sci.* **2007**, *98*, 1303-1310.
- [12] Alexander, S. P. H. The concise guide to pharmacology 2015/16: Transporters. *B. J. Pharmacol.* **2015**, *172*, 6110-6202.
- [13] Xue, P.; Crum, C. M.; Thibodeau, P. H. Regulation of ABCC6 trafficking and stability by a conserved C-terminal PDZ-like sequence. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e97360.
- [14] Morita, M.; Imanaka, T. Peroxisomal ABC transporters: structure, function and role in disease. *Biochim. Biophys. Acta* **2012**, *1822*, 1387-1396.

- [15] Coelho, D.; Kim, J. C.; Miousse, I. R.; Fung, S.; du Moulin, M.; Buers, I.; Suormala, T.; Burda, P.; Frapolli, M.; Stucki, M.; Nurnberg, P.; Thiele, H.; Robenek, H.; Hohne, W.; Longo, N.; Pasquali, M.; Mengel, E.; Watkins, D.; Shoubridge, E. A.; Majewski, J.; Rosenblatt, D. S.; Fowler, B.; Rutsch, F.; Baumgartner, M. R. Mutations in ABCD4 cause a new inborn error of vitamin B₁₂ metabolism. *Nat. Genet.* **2012**, *44*, 1152-1155.
- [16] Asheuer, M.; Bieche, I.; Laurendeau, I.; Moser, A.; Hainque, B.; Vidaud, M.; Aubourg, P. Decreased expression of ABCD4 and BG1 genes early in the pathogenesis of X-linked adrenoleukodystrophy. *Hum. Mol. Genet.* **2005**, *14*, 1293-1303.
- [17] Swier, L. J. Y. M.; Slotboom, D.-J.; Poolman, B., ABC Importers. In *ABC transporters - 40 Years on*, George, A. M., Ed. *Springer International Publishing* (Cham, Schweiz), 2016; S. 3-36.
- [18] Locher, K. P. Mechanistic diversity in ATP-binding cassette (ABC) transporters. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2016**, *23*, 487-493.
- [19] Leslie, E. M.; Deeley, R. G.; Cole, S. P. Multidrug resistance proteins: role of P-glycoprotein, MRP1, MRP2, and BCRP (ABCG2) in tissue defense. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2005**, *204*, 216-237.
- [20] Zolnerciks, J. K.; Akkaya, B. G.; Snippe, M.; Chiba, P.; Seelig, A.; Linton, K. J. The Q loops of the human multidrug resistance transporter ABCB1 are necessary to couple drug binding to the ATP catalytic cycle. *FASEB J.* **2014**, *28*, 4335-4346.
- [21] Schmitt, L.; Benabdelhak, H.; Blight, M. A.; Holland, I. B.; Stubbs, M. T. Crystal structure of the nucleotide-binding domain of the ABC-transporter Haemolysin B: identification of a variable region within ABC helical domains. *J. Mol. Biol.* **2003**, *330*, 333-342.
- [22] Varma, M. P-glycoprotein inhibitors and their screening: a perspective from bioavailability enhancement. *Pharmacol. Res.* **2003**, *48*, 347-359.
- [23] Sharom, F. J. ABC multidrug transporters: structure, function and role in chemoresistance. *Pharmacogenomics* **2008**, *9*, 105-127.
- [24] Matsson, P.; Englund, G.; Ahlin, G.; Bergstrom, C. A.; Norinder, U.; Artursson, P. A global drug inhibition pattern for the human ATP-binding cassette transporter breast cancer resistance protein (ABCG2). *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2007**, *323*, 19-30.
- [25] Higgins, C. F.; Linton, K. J. The ATP switch model for ABC transporters. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2004**, *11*, 918-26.
- [26] Al-Shawi, M. K. Catalytic and transport cycles of ABC exporters. *Essays Biochem.* **2011**, *50*, 63-83.
- [27] Zolnerciks, J. K.; Andress, E. J.; Nicolaou, M.; Linton, K. J. Structure of ABC transporters. *Essays Biochem.* **2011**, *50*, 43-61.

- [28] Shintrea, C. A.; Pike, A. C. W.; Li, Q.; Kim, J.-I.; Barr, A. J.; Goubin, S.; Shrestha, L.; Yang, J.; Berridge, G.; Ross, J.; Stansfeld, P. J.; Mark S. P. Sansom; Edwards, A. M.; Bountra, C.; Marsden, B. D.; Delft, F. v.; Bullock, A. N.; Gileadi, O.; Burgess-Brown, N. A.; Carpenter, E. P. Structures of ABCB10, a human ATP-binding cassette transporter in apo- and nucleotide-bound states. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2013**, *110*, 9710-9715.
- [29] Frank, G. A.; Shukla, S.; Rao, P.; Borgnia, M. J.; Bartesaghi, A.; Merk, A.; Mobin, A.; Esser, L.; Earl, L. A.; Gottesman, M. M.; Xia, D.; Ambudkar, S. V.; Subramaniam, S. Cryo-EM Analysis of the Conformational Landscape of Human P-glycoprotein (ABCB1) During its Catalytic Cycle. *Mol. Pharmacol.* **2016**, *90*, 35-41.
- [30] Zhang, X. C.; Han, L.; Zhao, Y. Thermodynamics of ABC transporters. *Protein Cell* **2016**, *7*, 17-27.
- [31] George, A. M.; Jones, P. M. Perspectives on the structure-function of ABC transporters: the Switch and Constant Contact models. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **2012**, *109*, 95-107.
- [32] Jones, P. M.; George, A. M. Mechanism of the ABC transporter ATPase domains: catalytic models and the biochemical and biophysical record. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **2013**, *48*, 39-50.
- [33] Jones, P. M.; George, A. M. A reciprocating twin-channel model for ABC transporters. *Q. Rev. Biophys.* **2014**, *47*, 189-220.
- [34] Siegel, R. L.; Miller, K. D.; Jemal, A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J. Clin.* **2015**, *65*, 5-29.
- [35] Fachserie 12, Reihe 4. *Gesundheit - Todesursachen in Deutschland*, S. 3-4. Statistisches Bundesamt, Wiesbaden (Deutschland), 2016; Netzadresse: www.destatis.de/DE/Publikationen/Thematisch/Gesundheit/Todesursachen/Todesursachen2120400147004.pdf?__blob=publicationFile (letzter Zugriff: 18. VII. 2016).
- [36] Biedler, J. L.; Riehm, H. Cellular resistance to actinomycin D in chinese hamster cells in vitro: cross-resistance, radioautographic, and cytogenetic studies. *Cancer Res.* **1970**, *30*, 1174-1184.
- [37] Holohan, C.; Van Schaeybroeck, S.; Longley, D. B.; Johnston, P. G. Cancer drug resistance: an evolving paradigm. *Nat. Rev. Cancer* **2013**, *13*, 714-726.
- [38] Juliano, R. L.; Ling, V. A surface glykoprotein modulating drug permeability in chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim. Biophys. Acta* **1976**, *455*, 152-162.
- [39] Beck, W. T.; Mueller, T. J.; Tanzer, L. R. Altered surface membrane glycoproteins in *vinca* alkaloid resistant human leukemic lymphoblasts. *Cancer Res.* **1979**, *39*, 2070-2076.

-
- [40] Grandjean-Forestier, F.; Stenger, C.; Robert, J.; Verdier, M.; Ratinaud, M.-H., The P-glycoprotein 170: Just a multidrug resistance protein or a protein molecule? In *ABC transporters and multidrug resistance*, Boumendjel, A.; Boutonnat, J.; Robert, J., Eds. *John Wiley & Sons Inc.* (Hoboken, New Jersey, USA), 2009.
- [41] Schinkel, A. H.; Jonker, J. W. Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2003**, *55*, 3-29.
- [42] Dawson, R. J. P.; Locher, K. P. Structure of a bacterial multidrug ABC transporter. *Nature* **2006**, *443*, 180-185.
- [43] Li, J.; Jaimes, K. F.; Aller, S. G. Refined structures of mouse P-glycoprotein. *Protein Sci.* **2014**, *23*, 34-46.
- [44] Mittra, R.; Coyle, E. M.; Callaghan, R., Just How and Where Does P-glycoprotein Bind All Those Drugs? In *ABC transporters - 40 years on*, George, A. M., Ed. *Springer International Publishing* (Cham, Schweiz), 2016; S. 153-194.
- [45] Shapiro, A. B.; Ling, V. Positively cooperative sites for drug transport by Pglycoprotein with distinct drug specificities. *Eur. J. Biochem.* **1997**, *250*, 130-137.
- [46] Martin, C.; Berridge, G.; Higgins, C. F.; Mistry, P.; Charlton, P.; Callaghan, R. Communication between multiple drug binding sites on P-glycoprotein. *Mol. Pharm.* **2000**, *58*, 624-632.
- [47] Sharom, F. J. The P-glycoprotein multidrug transporter. *Essays. Biochem* **2011**, *50*, 161-178.
- [48] Leonard, L. D.; Fojo, T.; Bates, S. E. The role of ABC transporters in clinical practice. *Oncologist* **2003**, *8*, 411-424.
- [49] Werle, M.; Takeuchi, H.; Bernkop-Schnürch, A. New generation efflux pump inhibitors. *Exp. Rev. Clin. Pharmacol.* **2008**, *1*, 429-440.
- [50] Palmeira, A.; Sousa, E.; Vasconcelos, M. H.; Pinto, M. M. Three decades of P-gp inhibitors: skimming through several generations and scaffolds. *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19*, 1946-2025.
- [51] Wang, R. B.; Kuo, C. L.; Lien, L. L.; Lien, E. L. Structure-activity relationship: analyses of p-glycoprotein substrates and inhibitors. *J. Clin. Pharm. Ther.* **2003**, *28*, 203-228.
- [52] Stein, W. Kinetics of the multidrug transporter (P-glycoprotein) and its reversal. *Physiol. Rev.* **1997**, *77*, 545-590.
- [53] Wiese, M.; Pajeva, I. K. Structure-activity relationships of multidrug resistance reversers. *Curr. Med. Chem.* **2001**, *8*, 685-713.
- [54] Sarkadi, B.; Homolya, L.; Szakács, G.; Váradi, A. Human multidrug resistance ABCB and ABCG transporters: participation in a chemoimmunity defense system. *Physiol. Rev.* **2006**, *86*, 1179 - 1236.

- [55] 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*, 1967-1972.
- [56] Chan, H. S.; DeBoer, G.; Thiessen, J. J. Combining cyclosporin with chemotherapy controls intraocular retinoblastoma without requiring radiation. *Clin. Cancer Res.* **1996**, *2*, 1499-1508.
- [57] Coley, H. M. Overcoming multidrug resistance in cancer: clinical studies of P-glycoprotein inhibitors. *Methods Mol. Biol.* **2010**, *596*, 341-358.
- [58] 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.; Chabner, B. A. Controlled trial of dexverapamil, a modulator of multidrug resistance, in lymphomas refractory to EPOCH chemotherapy. *J. Clin. Oncol.* **1995**, *13*, 1995-2004.
- [59] Zhang, Y.; Gupta, A.; Wang, H.; Zhou, L.; Vethanayagam, R. R.; Unadkat, J. D.; Mao, Q. BCRP transports dipyridamole and is inhibited by calcium channel blockers. *Pharm. Res.* **2005**, *22*, 2023-2034.
- [60] Mandery, K.; Glaeser, H.; Fromm, M. F. Interaction of innovative small molecule drugs used for cancer therapy with drug transporters. *Br. J. Pharmacol.* **2012**, *165*, 345-362.
- [61] Colabufo, N. A.; Berardi, F.; Cantore, M.; Contino, M.; Inglese, C.; Niso, M.; Perrone, R. Perspectives of P-glycoprotein modulating agents in oncology and neurodegenerative diseases: pharmaceutical, biological, and diagnostic potentials. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 1883-1897.
- [62] Varma, M. V.; Perumal, O. P.; Panchagnula, R. Functional role of P-glycoprotein in limiting peroral drug absorption: optimizing drug delivery. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2006**, *10*, 367-373.
- [63] Kim, T. E.; Lee, H.; Lim, K. S.; Lee, S.; Yoon, S. H.; Park, K. M.; Han, H.; Shin, S. G.; Jang, I. J.; Yu, K. S.; Cho, J. Y. Effects of HM30181, a P-glycoprotein inhibitor, on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of loperamide in healthy volunteers. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **2014**, *78*, 556-564.
- [64] Lu, J. F.; Pokharel, D.; Bebawy, M. MRP1 and its role in anticancer drug resistance. *Drug. Metab. Rev.* **2015**, *47*, 406-419.
- [65] Cole, S. P.; Bhardwaj, G.; Gerlach, J. H.; Mackie, J. E.; Grant, C. E.; Almquist, K. C.; Stewart, A. J.; Kurz, E. U.; Duncan, A. M.; Deeley, R. G. Overexpression of a transporter gene in a multidrug-resistant human lung cancer cell line. *Science* **1992**, *258*, 1650-1654.
- [66] Cole, S.; Deeley, R. Multidrug resistance-associated protein: sequence correction. *Science* **1993**, *260*, 879-879.
- [67] Bakos, E.; Evers, R.; Szakács, G.; Tusnády, G. E.; Welker, E.; Szabó, K.; de Haas, M.; van Deemter, L.; Borst, P.; Váradi, A.; Sarkadi, B. Functional multidrug resistance protein (MRP1) lacking the N-terminal transmembrane domain. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 32167-32175.
- [68] Cole, S. P. Targeting multidrug resistance protein 1 (MRP1, ABCC1): past, present, and future. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2014**, *54*, 95-117.

- [69] Flens, M.; Zaman, G.; Van der Valk, P.; Izquierdo, M.; Schroeijers, A.; Scheffer, G.; Van Der Groep, P.; De Haas, M.; Meijer, C.; Scheper, R. Tissue distribution of the multidrug resistance protein. *Am. J. Pathol.* **1996**, *148*, 1237-1247.
- [70] Roundhill, E. A.; Burchill, S. A. Detection and characterisation of multi-drug resistance protein 1 (MRP-1) in human mitochondria. *Br. J. Cancer* **2012**, *106*, 1224-33.
- [71] Rajagopal, A.; Simon, S. M. Subcellular localization and activity of multidrug resistance proteins. *Mol. Biol. Cell.* **2003**, *14*, 3389-3399.
- [72] Loe, D. W.; Deeley, R. G.; C., C. S. P. Verapamil stimulates glutathione transport by the 190-kDa multidrug resistance protein 1 (MRP1). *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2000**, *293*, 530-538.
- [73] Ballatori, N.; Krance, S. M.; Notenboom, S.; Shi, S.; Tieu, K.; Hammond, C. L. Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases. *Biol. Chem.* **2009**, *390*, 191-214.
- [74] Norman, B. H.; Gruber, J. M.; Hollinshead, S. P.; Wilson, J. W.; Starling, J. J.; Law, K. L.; Self, T. D.; Tabas, L. B.; Williams, D. C.; Paul, D. C.; Wagner, M. M.; Dantzig, A. H. Tricyclic isoxazoles are novel inhibitors of the multidrug resistance protein. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 883-886.
- [75] Norman, B. H.; Lander, P. A.; Gruber, J. M.; Kroin, J. S.; Cohen, J. D.; Jungheim, L. N.; Starling, J. J.; Law, K. L.; Self, T. D.; Tabas, L. B.; Williams, D. C.; Paul, D. C.; Dantzig, A. H. Cyclohexyl-linked tricyclic isoxazoles are potent and selective modulators of the multidrug resistance protein (MRP1). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 5526-5530.
- [76] Burkhart, C. A.; Watt, F.; Murray, J.; Pajic, M.; Prokvolit, A.; Xue, C.; Flemming, C.; Smith, J.; Purmal, A.; Isachenko, N.; Komarov, P. G.; Gurova, K. V.; Sartorelli, A. C.; Marshall, G. M.; Norris, M. D.; Gudkov, A. V.; Haber, M. Small-molecule multidrug resistance-associated protein 1 inhibitor reversan increases the therapeutic index of chemotherapy in mouse models of neuroblastoma. *Cancer Res.* **2009**, *69*, 6573-6580.
- [77] Wang, S.; Folkes, A.; Chuckowree, I.; Cockcroft, X.; Sohal, S.; Miller, W.; Milton, J.; Wren, S. P.; Vicker, N.; Depledge, P.; Scott, J.; Smith, L.; Jones, H.; Mistry, P.; Faint, R.; Thompson, D.; Cocks, S. Studies on pyrrolopyrimidines as selective inhibitors of multidrug-resistance-associated protein in multidrug resistance. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 1329-1338.
- [78] Pellicani, R. Z.; Stefanachi, A.; Niso, M.; Carotti, A.; Leonetti, F.; Nicolotti, O.; Perrone, R.; Berardi, F.; Cellamare, S.; Colabufo, N. A. Potent galloyl-based selective modulators targeting multidrug resistance associated protein 1 and P-glycoprotein. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 424-436.
- [79] Myette, R. L.; Conseil, G.; Ebert, S. P.; Wetzel, B.; Detty, M. R.; Cole, S. P. Chalcogenopyrylium dyes as differential modulators of organic anion transport by multidrug resistance protein 1 (MRP1), MRP2, and MRP4. *Drug. Metab. Dispos.* **2013**, *41*, 1231-1239.

- [80] Doyle, L. A.; Yang, W.; Abruzzo, L. V.; Krogmann, T.; Gao, Y.; Rishi, A. K.; Ross, D. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 15665-15670.
- [81] Allikmets, R.; Schriml, L. M.; Hutchinson, A.; Romano-Spica, V.; Dean, M. A human placenta-specific ATP-binding cassette gene (ABCP) on chromosome 4q22 that is involved in multidrug resistance. *Cancer Res.* **1998**, *58*, 5337-5339.
- [82] Doyle, L.; Ross, D. D. Multidrug resistance mediated by the breast cancer resistance protein BCRP (ABCG2). *Oncogene* **2003**, *22*, 7340-7358.
- [83] Özvegy, C.; Litman, T.; Szakaács, G.; Nagy, Z.; Bates, S.; Váradi, A.; Sarkadi, B. Functional characterization of the human multidrug transporter, ABCG2, expressed in insect cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2001**, *285*, 111-7.
- [84] Litman, T.; Jensen, U.; Hansen, A.; Covitz, K.-M.; Zhanc, Z.; Fetsch, P.; Abati, A.; Hansen, P. R.; Horn, T.; Skovsgaard, T.; Bates, S. E. Use of peptide antibodies to probe for the mitoxantrone resistance-associated protein MXR/BCRP/ABCP/ABCG2. *Biochim. Biophys. Acta* **2002**, *1565*, 6-16.
- [85] Wang, H.; Lee, E. W.; Cai, X.; Ni, Z.; Zhou, L.; Mao, Q. Membrane topology of the human breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) determined by epitope insertion and immunofluorescence. *Biochemistry* **2008**, *47*, 13778-13787.
- [86] Polgara, O.; Robeya, R. W.; Bates, S. E. ABCG2: structure, function and role in drug response. *Expert Opin. Drug Metab. Tox.* **2008**, *4*, 1-15.
- [87] Wong, K.; Briddon, S. J.; Holliday, N. D.; Kerr, I. D. Plasma membrane dynamics and tetrameric organisation of ABCG2 transporters in mammalian cells revealed by single particle imaging techniques. *Biochim. Biophys. Acta* **2016**, *1863*, 19-29.
- [88] Horsey, A. J.; Cox, M. H.; Sarwat, S.; Kerr, I. D. The multidrug transporter ABCG2: still more questions than answers. *Biochem. Soc. Trans.* **2016**, *44*, 824-830.
- [89] Latunde-Dada, G. O.; Laftah, A. H.; Masaratana, P.; McKie, A. T.; Simpson, R. J. Expression of ABCG2 (BCRP) in mouse models with enhanced erythropoiesis. *Front. Pharmacol.* **2014**, *5*, 135.
- [90] Robey, R. W.; To, K. K.; Polgar, O.; Dohse, M.; Fetsch, P.; Dean, M.; Bates, S. E. ABCG2: a perspective. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **2009**, *61*, 3-13.
- [91] Diestra, J. E.; Scheffer, G. L.; Catala, I.; Maliepaard, M.; Schellens, J. H.; Scheper, R. J.; Germa-Lluch, J. R.; Izquierdo, M. A. Frequent expression of the multi-drug resistance-associated protein BCRP/MXR/ABCP/ABCG2 in human tumours detected by the BXP-21 monoclonal antibody in paraffin-embedded material. *J. Pathol.* **2002**, *198*, 213-219.
- [92] Mao, Q.; Unadkat, J. D. Role of the breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in drug transport - an update. *AAPS J.* **2015**, *17*, 65-82.

- [93] van Herwaarden, A. E.; Wagenaar, E.; Karnekamp, B.; Merino, G.; Jonker, J. W.; Schinkel, A. H. Breast cancer resistance protein (Bcrp1/Abcg2) reduces systemic exposure of the dietary carcinogens aflatoxin B1, IQ and Trp-P-1 but also mediates their secretion into breast milk. *Carcinogenesis* **2006**, *27*, 123-130.
- [94] Szakacs, G.; Paterson, J. K.; Ludwig, J. A.; Booth-Genthe, C.; Gottesman, M. M. Targeting multidrug resistance in cancer. *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2006**, *5*, 219-234.
- [95] Honjo, Y.; Hrycyna, C. A.; Yan, Q.-W.; Medina-Pérez, W. Y.; Robey, R. W.; Laar, A. v. d.; Litman, T.; Dean, M.; Bates, S. E. Acquired mutations in the MXR/BCRP/ABCP gene alter substrate specificity in MXR/BCRP/ABCP-overexpressing cells. *Cancer Res.* **2001**, *61*, 6635-6639.
- [96] Robey, R. W.; Honjo, Y.; Morisaki, K.; Nadjem, T. A.; Runge, S.; Risbood, M.; Poruchynsky, M. S.; Bates, S. E. Mutations at amino-acid 482 in the ABCG2 gene affect substrate and antagonist specificity. *Br. J. Cancer* **2003**, *89*, 1971-1978.
- [97] Basseville, A.; Hall, M. D.; Chau, C. H.; Robey, R. W.; Gottesman, M.; Figg, W. D.; Bates, S. E., The ABCG2 multidrug transporter. In *ABC transporters - 40 Years on*, 1. Aufl.; George, A. M., Ed. *Springer International Publishing* (Cham, Schweiz), 2016; S. 195-226.
- [98] Ricci, J. W.; Lovato, D.; Larson, R. S. ABCG2 inhibitors: will they find clinical relevance? *J. Develop. Drugs* **2015**, *04*, 138.
- [99] Ahmed-Belkacem, A.; Pozza, A.; Macalou, S.; Perez-Victoria, J. M.; Boumendjel, A.; Di Pietro, A. Inhibitors of cancer cell multidrug resistance mediated by breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2). *Anticancer Drugs* **2006**, *17*, 239-243.
- [100] Nicolle, E.; Boccard, J.; Guilet, D.; Dijoux-Franca, M. G.; Zelefac, F.; Macalou, S.; Grosselin, J.; Schmidt, J.; Carrupt, P. A.; Di Pietro, A.; Boumendjel, A. Breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2): new inhibitors and QSAR studies by a 3D linear solvation energy approach. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2009**, *38*, 39-46.
- [101] Rabindran, S.; Ross, D.; Doyle, L.; Yang, W.; Greenberger, L. Fumitremorgin C reverses multidrug resistance in cells transfected with the breast cancer resistance protein. *Cancer Res.* **2000**, *60*, 47-50.
- [102] Allen, J. D.; Loevezijn, A. v.; Lakhai, J. M.; Valk, M. v. d.; Tellingen, O. v.; Reid, G.; Schellens, J. H. M.; Koomen, G.-J.; Schinkel, A. H. Potent and specific inhibition of the breast cancer resistance protein multidrug transporter in vitro and in mouse intestine by a novel analogue of fumitremorgin C. *Mol. Cancer Ther.* **2002**, *1*, 417-425.
- [103] van Loevezijn, A.; Allen, J. D.; Schinkel, A. H.; Koomen, G.-J. Inhibition of BCRP-mediated drug efflux by fumitremorgin-type indolyl diketopiperazines. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 29-32.

- [104] Weidner, L. D.; Zoghbi, S. S.; Lu, S.; Shukla, S.; Ambudkar, S. V.; Pike, V. W.; Mulder, J.; Gottesman, M. M.; Innis, R. B.; Hall, M. D. The inhibitor Ko143 is not specific for ABCG2. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2015**, *354*, 384-393.
- [105] Yamazaki, R.; Nishiyama, Y.; Furuta, T.; Hatano, H.; Igarashi, Y.; Asakawa, N.; Kodaira, H.; Takahashi, H.; Aiyama, R.; Matsuzaki, T.; Yagi, N.; Sugimoto, Y. Novel acrylonitrile derivatives, YHO-13177 and YHO-13351, reverse BCRP/ABCG2-mediated drug resistance in vitro and in vivo. *Mol. Cancer Ther.* **2011**, *10*, 1252-1263.
- [106] Kuang, Y. H.; Patel, J. P.; Sodani, K.; Wu, C. P.; Liao, L. Q.; Patel, A.; Tiwari, A. K.; Dai, C. L.; Chen, X.; Fu, L. W.; Ambudkar, S. V.; Korlipara, V. L.; Chen, Z. S. OSI-930 analogues as novel reversal agents for ABCG2-mediated multidrug resistance. *Biochem. Pharmacol.* **2012**, *84*, 766-774.
- [107] Kühnle, M.; Egger, M.; Müller, C.; Mahringer, A.; Bernhardt, G.; Fricker, G.; König, G.; Buschauer, A. Potent and selective inhibitors of breast cancer resistance protein (ABCG2) derived from the P-glycoprotein (ABCB1) modulator tariquidar. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 1190-1197.
- [108] Puentes, C. O.; Hochehl, P.; Kühnle, M.; Bauer, S.; Burger, K.; Bernhardt, G.; Buschauer, A.; König, B. Solid phase synthesis of tariquidar-related modulators of ABC transporters preferring breast cancer resistance protein (ABCG2). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 3654-3657.
- [109] Marighetti, F.; Steggemann, K.; Hanl, M.; Wiese, M. Synthesis and quantitative structure-activity relationships of selective BCRP inhibitors. *ChemMedChem* **2013**, *8*, 125-135.
- [110] Marighetti, F.; Steggemann, K.; Karbaum, M.; Wiese, M. Scaffold identification of a new class of potent and selective BCRP inhibitors. *ChemMedChem* **2015**, *10*, 742-751.
- [111] Henrich, C. J.; Robey, R. W.; Takada, K.; Bokesch, H. R.; Bates, S. E.; Shukla, S.; Ambudkar, S. V.; McMahon, J. B.; Gustafson, K. R. Botryllamides: natural product inhibitors of ABCG2. *ACS Chem. Biol.* **2009**, *4*, 637-647.
- [112] Juvale, K.; Pape, V. F.; Wiese, M. Investigation of chalcones and benzochalcones as inhibitors of breast cancer resistance protein. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 346-355.
- [113] Kraege, S.; Stefan, K.; Juvale, K.; Ross, T.; Willmes, T.; Wiese, M. The combination of quinazoline and chalcone moieties leads to novel potent heterodimeric modulators of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2). *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *117*, 212-229.
- [114] Ahmed-Belkacem, A.; Pozza, A.; Munoz-Martinez, F.; Bates, S. E.; Castanys, S.; Gamarro, F.; Di Pietro, A.; Perez-Victoria, J. M. Flavonoid structure-activity studies identify 6-prenylchrysin and tectochrysin as potent and specific inhibitors of breast cancer resistance protein ABCG2. *Cancer Res.* **2005**, *65*, 4852-4860.

- [115] Juvale, K.; Stefan, K.; Wiese, M. Synthesis and biological evaluation of flavones and benzoflavones as inhibitors of BCRP/ABCG2. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *67*, 115-126.
- [116] Gallus, J.; Juvale, K.; Wiese, M. Characterization of 3-methoxy flavones for their interaction with ABCG2 as suggested by ATPase activity. *Biochim. Biophys. Acta* **2014**, *1838*, 2929-2938.
- [117] Juvale, K.; Wiese, M. 4-Substituted-2-phenylquinazolines as inhibitors of BCRP. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 6766-6769.
- [118] Juvale, K.; Gallus, J.; Wiese, M. Investigation of quinazolines as inhibitors of breast cancer resistance protein (ABCG2). *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 7858-7873.
- [119] Krapf, M. K.; Wiese, M. Synthesis and biological evaluation of 4-anilinoquinazolines and -quinolines as inhibitors of breast cancer resistance protein (ABCG2). *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 5449-5461.
- [120] Jabor Gozzi, G.; Bouaziz, Z.; Winter, E.; Daflon-Yunes, N.; Aichele, D.; Nacereddine, A.; Marminon, C.; Valdameri, G.; Zeinyeh, W.; Bollacke, A.; Guillon, J.; Lacoudre, A.; Pinaud, N.; Cadena, S. M.; Jose, J.; Le Borgne, M.; Di Pietro, A. Converting potent indeno[1,2-b]indole inhibitors of protein kinase CK2 into selective inhibitors of the breast cancer resistance protein ABCG2. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 265-277.
- [121] Gozzi, G. J.; Bouaziz, Z.; Winter, E.; Daflon-Yunes, N.; Honorat, M.; Guragossian, N.; Marminon, C.; Valdameri, G.; Bollacke, A.; Guillon, J.; Pinaud, N.; Marchivie, M.; Cadena, S. M.; Jose, J.; Le Borgne, M.; Di Pietro, A. Phenolic indeno[1,2-b]indoles as ABCG2-selective potent and non-toxic inhibitors stimulating basal ATPase activity. *Drug. Des. Devel. Ther.* **2015**, *9*, 3481-3495.
- [122] Strouse, J. J.; Ivnitski-Steele, I.; Khawaja, H. M.; Perez, D.; Ricci, J.; Yao, T.; Weiner, W. S.; Schroeder, C. E.; Simpson, D. S.; Maki, B. E.; Li, K.; Golden, J. E.; Foutz, T. D.; Waller, A.; Evangelisti, A. M.; Young, S. M.; Chavez, S. E.; Garcia, M. J.; Ursu, O.; Bologa, C. G.; Carter, M. B.; Salas, V. M.; Gouveia, K.; Tegos, G. P.; Oprea, T. I.; Edwards, B. S.; Aube, J.; Larson, R. S.; Sklar, L. A. A selective ATP-binding cassette subfamily G member 2 efflux inhibitor revealed via high-throughput flow cytometry. *J. Biomol. Screen.* **2013**, *18*, 26-38.
- [123] Valdameri, G.; Pereira Rangel, L.; Spatafora, C.; Guitton, J.; Gauthier, C.; Arnaud, O.; Ferreira-Pereira, A.; Falson, P.; Winnischofer, S. M.; Rocha, M. E.; Tringali, C.; Di Pietro, A. Methoxy stilbenes as potent, specific, untransported, and noncytotoxic inhibitors of breast cancer resistance protein. *ACS Chem. Biol.* **2012**, *7*, 322-330.
- [124] Spindler, A.; Stefan, K.; Wiese, M. Synthesis and investigation of tetrahydro-beta-carboline derivatives as inhibitors of the Breast Cancer Resistance Protein (ABCG2). *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 6121-6135.

- [125] Peng, H.; Dong, Z.; Qi, J.; Yang, Y.; Liu, Y.; Li, Z.; Xu, J.; Zhang, J. T. A novel two mode-acting inhibitor of ABCG2-mediated multidrug transport and resistance in cancer chemotherapy. *PLoS One* **2009**, *4*, e5676.
- [126] Shapiro, A. B.; Fox, K.; Lee, P.; Yang, Y. D.; Ling, V. Functional intracellular P-glycoprotein. *Int. J. Cancer* **1998**, *76*, 857-864.
- [127] Kiechle, F. L.; Zhang, X. Apoptosis: biochemical aspects and clinical implications. *Clin. Chim. Acta* **2002**, *326*, 27-45.
- [128] Tawar, U.; Jain, A. K.; Chandra, R.; Singh, Y.; Dwarakanath, B. S.; Chaudhury, N. K.; Good, L.; Tandon, V. Minor groove binding DNA ligands with expanded A/T sequence length recognition, selective binding to bent DNA regions and enhanced fluorescent properties. *Biochemistry* **2003**, 13339-13346.
- [129] 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*, 3785-3792.
- [130] Adhikary, A.; Buschmann, V.; Müller, C.; Sauer, M. Ensemble and single-molecule fluorescence spectroscopic study of the binding modes of the bisbenzimidazole derivative Hoechst 33258 with DNA. *Nucleic Acids Res.* **2003**, *31*, 2178-2186.
- [131] Shapiro, A. B.; Ling, V. Reconstitution of drug transport by purified P-glycoprotein. *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 16167-16175.
- [132] Shapiro, A. B.; Ling, V. Using purified P-glycoprotein to understand multidrug resistance. *J. Bioenerg. Biomembr.* **1995**, *27*, 7-13.
- [133] Shapiro, A. B.; Corder, A. B.; Ling, V. P-glycoprotein-mediated Hoechst 33342 transport out of the lipid bilayer. *Eur. J. Biochem.* **1997**, *250*, 115-121.
- [134] Kim, M.; Turnquist, H.; Jackson, J.; Sgagias, M.; Yan, Y.; Gong, M.; Dean, M.; Sharp, J. G.; Cowan, K. The multidrug resistance transporter ABCG2 (breast cancer resistance protein 1) effluxes Hoechst 33342 and is overexpressed in hematopoietic stem cells. *Clin. Cancer Res.* **2002**, *8*, 22-28.
- [135] Scharenberg, C. W.; Harkey, M. A.; Torok-Storb, B. The ABCG2 transporter is an efficient Hoechst 33342 efflux pump and is preferentially expressed by immature human hematopoietic progenitors. *Blood* **2002**, *99*, 507-512.
- [136] Martin, A. M.; Swarbrick, J.; Cammarata, A.; H., S., *Physikalische Pharmazie: Pharmazeutisch angewandte physikalisch-chemische Grundlagen*. 3. Aufl.; *Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft* (Stuttgart, Deutschland), 1987.
- [137] Jonker, J. W.; Buitelaar, M.; Wagenaar, E.; van der Valk, M. A.; Scheffer, G. L.; Scheper, R. J.; Plösch, T.; Kuipers, F.; Elferink, R. P. J. O.; Rosing, H.; Beijnen, J. H.; Schinkel, A. H. The breast cancer resistance protein protects against a major chlorophyll-derived dietary phototoxin and protoporphyria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 15649-15654.

- [138] Robey, R. W.; Steadman, K.; Polgar, O.; Morisaki, K.; Blayney, M.; Mistry, P.; Bates, S. E. Pheophorbide a is a specific probe for ABCG2 function and inhibition. *Cancer Res.* **2004**, *64*, 1242-1246.
- [139] Henrich, C. J.; Bokesch, H. R.; Dean, M.; Bates, S. E.; Robey, R. W.; Goncharova, E. I.; Wilson, J. A.; McMahon, J. B. A high-throughput cell-based assay for inhibitors of ABCG2 activity. *J. Biomol. Screen* **2006**, *11*, 176-183.
- [140] Tiberghien, F.; Loor, F. Ranking of P-glycoprotein substrates and inhibitors by a calcein-AM fluorometry screening assay. *Anti-Cancer Drugs* **1996**, *7*, 568-578.
- [141] Essodaigui, M.; Broxterman, H. J.; Garnier-Suillerot, A. Kinetic analysis of calcein and calcein-acetoxymethylester efflux mediated by the multidrug resistance protein and P-glycoprotein. *Biochemistry* **1998**, *37*, 2243-2250.
- [142] Sigma-Aldrich Calcein-AM. Netzadresse:
<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/17783?lang=de®ion=DE> (letzter Zugriff: 16. X. 2016).
- [143] 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*, 506-515.
- [144] Feller, N.; Broxterman, H. J.; Währer, D. C. R.; Pinedo, H. M. ATP-dependent efflux of calcein by the multidrug resistance protein (MRP): no inhibition by intracellular glutathione depletion. *FEBS Lett.* **1995**, *368*, 385-388.
- [145] Homolya, L.; Holló, Z.; Germann, U. A.; Pastan, I.; Gottesman, M. M.; Sarkadi, B. Fluorescent cellular indicators are extruded by the multidrug resistance protein. *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 21493-21496.
- [146] Olson, D. P.; Taylor, B. J.; Ivy, S. P. Detection of MRP functional activity: calcein AM but not BCECF AM as a multidrug resistance-related protein (MRP1) substrate. *Cytometry* **2001**, *46*, 105-113.
- [147] Stryer, L.; Berg, J. M.; Tymoczko, J. L., Enzyme: Grundlegende Konzepte und Kinetik. In *Biochemie*, 7. Aufl.; Springer-Verlag Berlin Heidelberg (Deutschland), 2013; S. 219-256.
- [148] Stein, W. Kinetics of the P-glycoprotein, the multidrug transporter. *Exp. Physiol.* **1998**, *83*, 221-232.
- [149] Michaelis, L.; Menten, M. L. Die Kinetik der Invertinwirkung. *Biochem. Z.* **1913**, *49*, 333-369.
- [150] Briggs, G. E.; Haldane, J. B. S. A note on the kinetics of enzyme action. *Biochem. J.* **1925**, *19*, 338-339.
- [151] Michaelis-Menten plot. Netzadresse:
https://de.wikipedia.org/wiki/Michaelis-Menten-Theorie#/media/File:Michaelis-Menten_plot.svg (letzter Zugriff: 1. VII. 2016).

- [152] Lineweaver-Burk-Diagramm. Netzadresse:
https://de.wikipedia.org/wiki/Enzymkinetik#/media/File:Lineweaver-Burke_plot.svg (letzter Zugriff: 1. VII. 2016).
- [153] Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* **1983**, *65*, 55-63.
- [154] Mutschler, E.; Geisslinger, G.; Kroemer, H. K.; Menzel, S.; Ruth, P., Arzneimittelwirkungen. 10. Aufl.; *Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft* (Stuttgart, Deutschland), 2013.
- [155] Higgins, C. F. ABC transporters: from microorganisms to man. *Annu. Rev. Cell Biol.* **1992**, *8*, 67-113.
- [156] Holland, I. B.; Blight, M. A. ABC-ATPases, adaptable energy generators fuelling transmembrane movement of a variety of molecules in organisms from bacteria to humans. *J. Mol. Biol.* **1999**, *293*, 381-397.
- [157] Pick, A.; Klinkhammer, W.; Wiese, M. Specific inhibitors of the breast cancer resistance protein (BCRP). *ChemMedChem* **2010**, *5*, 1498-1505.
- [158] Kannan, P.; Telu, S.; Shukla, S.; Ambudkar, S. V.; Pike, V. W.; Halldin, C.; Gottesman, M. M.; Innis, R. B.; Hall, M. D. The "specific" P-glycoprotein inhibitor tariquidar is also a substrate and an inhibitor for breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2). *ACS Chem. Neurosci.* **2011**, *2*, 82-89.
- [159] Steggemann, K. Design und Synthese neuartiger Inhibitoren für den ABC-Transporter Breast Cancer Resistance Protein. Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Deutschland, 2011.
- [160] Kamei, H.; Oka, M.; Hamagishi, Y.; Tomita, K.; Konishi, M.; Oki, T. Piperazifines A and B, potentiators of cytotoxicity of vincristine. *J. Antibiot.* **1990**, *43*, 1018-1020.
- [161] Dale, I. L.; Tuffley, W.; Callaghan, R.; Holmes, J. A.; Martin, K.; Luscombe, M.; Mistry, P.; Ryder, H.; Stewart, A. J.; Charlton, P.; Twentyman, P. R.; Bevan, P. Reversal of P-glykoprotein-mediated multidrug resistance by XR9051, a novel diketopiperazine derivative. *Br. J. Cancer* **1998**, *78*, 885-892.
- [162] Roe, M.; Folkes, A.; Ashworth, P.; Brumwell, J.; Chima, L.; Hunjan, S.; Pretswell, I.; Dangerfield, W.; Ryder, H.; Charlton, P. Reversal of P-glycoprotein mediated multidrug resistance by novel anthranilamide derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 595-600.
- [163] Mistry, P.; Stewart, A. J.; Dangerfield, W.; Okiji, S.; Liddle, C.; Bootle, D.; Plumb, J. A.; Templeton, D.; Charlton, P. Vitro and in vivo reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by a novel potent modulator, XR9576. *Cancer Res.* **2001**, *61*, 749-758.
- [164] 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*, 2418-2426.

- [165] Bang, K. C.; Cha, M. Y.; Ahn, Y. G.; Ham, Y. J.; Kim, M. S.; Lee, G. S. P-glycoprotein inhibitor, method for preparing the same and pharmaceutical composition comprising the same. WO 2005/033097 A1, 2005.
- [166] Pajeva, I. K.; Wiese, M. Structure-activity relationships of tariquidar analogs as multidrug resistance modulators. *AAPS J.* **2009**, *11*, 435-444.
- [167] 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-glycoprotein and BCRP, using radio imaging techniques. *Int. J. Cancer* **2006**, *119*, 414-422.
- [168] Pick, A.; Müller, H.; Wiese, M. Structure-activity relationships of new inhibitors of breast cancer resistance protein (ABCG2). *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 8224-8236.
- [169] Klinkhammer, W. Design, Synthese und 3D-QSAR neuartiger P-gp-Modulatoren. Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Deutschland, 2006.
- [170] Labrie, P.; Maddaford, S. P.; Lacroix, J.; Catalano, C.; Lee, D. K.; Rakhit, S.; Gaudreault, R. C. In vitro activity of novel dual action MDR anthranilamide modulators with inhibitory activity at CYP-450. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 7972-7987.
- [171] Labrie, P.; Maddaford, S. P.; Lacroix, J.; Catalano, C.; Lee, D. K.; Rakhit, S.; Gaudreault, R. C. In vitro activity of novel dual action MDR anthranilamide modulators with inhibitory activity on CYP-450 (Part 2). *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 3854-3868.
- [172] Liu, B.; Qiu, Q.; Zhao, T.; Jiao, L.; Hou, J.; Li, Y.; Qian, H.; Huang, W. Discovery of novel P-glycoprotein-mediated multidrug resistance inhibitors bearing triazole core via click chemistry. *Chem. Biol. Drug. Des.* **2014**, *84*, 182-191.
- [173] Jiao, L.; Qiu, Q.; Liu, B.; Zhao, T.; Huang, W.; Qian, H. Design, synthesis and evaluation of novel triazole core based P-glycoprotein-mediated multidrug resistance reversal agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 6857-6866.
- [174] Liu, B.; Qiu, Q.; Zhao, T.; Jiao, L.; Li, Y.; Huang, W.; Qian, H. 6,7-Dimethoxy-2-{2-[4-(1H-1,2,3-triazol-1-yl)phenyl]ethyl}-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines as superior reversal agents for P-glycoprotein-mediated multidrug resistance. *ChemMedChem* **2015**, *10*, 336-344.
- [175] Egger, M.; Li, X.; Müller, C.; Bernhardt, G.; Buschauer, A.; König, B. Tariquidar analogues: synthesis by CuI-catalysed *N/O*-aryl coupling and inhibitory activity against the ABCB1 transporter. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, 2643-2649.
- [176] Bauer, S.; Ochoa-Puentes, C.; Sun, Q.; Bause, M.; Bernhardt, G.; König, B.; Buschauer, A. Quinoline carboxamide-type ABCG2 modulators: indole and quinoline moieties as anilide replacements. *ChemMedChem* **2013**, 1773-1778.
- [177] Ochoa-Puentes, C. Potent and selective ABCG2 inhibitors derived from tariquidar. Dissertation, Universität Regensburg, Deutschland, 2012.

- [178] Ochoa-Puentes, C.; Bauer, S.; Kühnle, M.; Bernhardt, G.; Buschauer, A.; König, B. Benzanilide-biphenyl replacement: a bioisosteric approach to quinoline carboxamide-type ABCG2 modulators. *ACS Med. Chem. Lett.* **2013**, *4*, 393-396.
- [179] Demko, Z. P.; Sharpless, K. B. A click chemistry approach to tetrazoles by Huisgen 1,3-dipolar cycloaddition: synthesis of 5-sulfonyl tetrazoles from azides and sulfonyl cyanides. *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 2214-2217.
- [180] Wedekind, E. Synthese des Diphenyltetrazols. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **1896**, *29*, 1846-1855.
- [181] Dimroth, O.; Merzbacher, S. Synthese von Tetrazolen aus Diazobenzolimid. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **1907**, *40*, 2402-2404.
- [182] Ito, S.; Tanaka, Y.; Kakehi, A. Synthesis of 2,5-diaryltetrazoles from *N*-phenylsulfonyl-benzhydrazidoyl chlorides and arylhydrazines. *Bull. Soc. Chem. Jpn.* **1976**, *49*, 762-766.
- [183] Ito, S.; Tanaka, Y.; Kakehi, A.; Kendo, K. A facile synthesis of 2,5-disubstituted tetrazoles by reaction of phenylsulfonylhydrazones with arenediazonium salts. *Bull. Soc. Chem. Jpn.* **1976**, *49*, 1920-1923.
- [184] Grammaticakis, P. Contribution à l'étude spectrale des derives azotés de quelques aldéhydes et cétones aromatiques. IX. – Benzenesulfonylhydrazones et guanilylhydrazones des aldehydes. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1952**, *19*, 446-453.
- [185] Butler, R. N. The diazotization of heterocyclic primary amines. *Chem. Rev.* **1975**, *75*, 241-257.
- [186] Shawali, A. S.; Fahmi, A. A. Azo coupling of benzenesulfonylhydrazones of heterocyclic aldehydes. *J. Heterocyclic Chem.* **1979**, *16*, 123-128.
- [187] Beletskaya, I. P.; Davydov, D. V.; Gorovoy, M. S. Palladium- and copper-catalyzed selective arylation of 5-aryltetrazoles by diaryliodonium salts. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 6221-6223.
- [188] Jamieson, C.; Harris, R.; Stewart, S. Regiospecific synthesis of *N*²-aryl 1,2,3-triazoles from 2,5-disubstituted tetrazoles via photochemically generated nitrile imine intermediates. *Synlett.* **2014**, *25*, 2480-2484.
- [189] Pinner, A. Über die Einwirkung von Hydrazin auf Imidoäther. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **1894**, *27*, 984-1009.
- [190] Mihina, J. S.; Herbst, R. M. The reaction of nitriles with hydrazoic acid: synthesis of monosubstituted tetrazoles. *J. Org. Chem.* **1950**, *15*, 1082-1092.
- [191] Wiberg, E.; Michaud, H. Zur Azidierungswirkung des Aluminiumtriazids. *Z. Naturforsch.* **1954**, *9b*, 496-497.
- [192] Finnegan, W. G.; Henry, R. A.; Lofquist, R. An improved synthesis of 5-substituted tetrazoles. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 3908-3911.
- [193] Herbst, R. M.; Wilson, K. R. Apparent acidic dissociation of some 5-aryltetrazoles. *J. Org. Chem.* **1957**, *22*, 1142-1145.

- [194] Fehlhammer, W. P.; Beck, W. Azide chemistry - an inorganic perspective, Part II: [3+2]-cycloaddition reactions of metal azides and related systems. *Z. anorg. allg. Chem.* **2015**, *641*, 1599-1678.
- [195] Koguro, K.; Oga, T.; Mitsui, S.; Orita, R. Novel synthesis of 5-substituted tetrazoles from nitriles. *Synthesis* **1998**, 910-914.
- [196] Jursic, B. S. *N*-Acyltetrazole as an intermediate for preparation of carboxylic acid derivatives. *Synth. Comm.* **1993**, *23*, 361-364.
- [197] Himo, F.; Demko, Z. P.; Noodleman, L.; Sharpless, K. B. Mechanisms of tetrazole formation by addition of azide to nitriles. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12210-12216.
- [198] Bostrom, J.; Hogner, A.; Llinas, A.; Wellner, E.; Plowright, A. T. Oxadiazoles in medicinal chemistry. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 1817-1830.
- [199] Günther, E. Zur Umlagerung von Oximidverbindungen. Über α - und β -Benzildioxim, α -Benzilmonoxim und Desoxybenzoinoxim. *Liebigs Ann. Chem.* **1889**, *252*, 44-72.
- [200] Stollé, R. Über die Überführung von Hydrazinderivaten in heterocyclische Verbindungen. *J. prakt. Chem.* **1904**, *69*, 145-160.
- [201] Khan, K. M.; Ullah, Z.; Rani, M.; Perveen, S.; Haider, S. M.; Choudhary, M. I.; Atta-ur-Rahman; Voelter, W. Microwave-assisted synthesis of 2,5-disubstituted-1,3,4-oxadiazoles. *Lett. Org. Chem.* **2004**, *1*, 50-52.
- [202] Padmavathi, V.; Reddy, G. S.; Mohan, A. V. N.; Mahesh, K. Synthesis of symmetrical and unsymmetrical 1,3,4-oxadiazoles and their interconversion to 1,3,4-thiadiazoles and 1,2,4-triazoles. *Arkivoc* **2008**, 48-60.
- [203] Beyer, H.; Walter, W.; Francke, W., Vilsmeier-Haack-Synthese. In *Lehrbuch der organischen Chemie*, 24. Aufl.; S. Hirzel Verlag (Stuttgart, Deutschland), 2004; S. 576.
- [204] Michael, A. Über die Einwirkung von Diazobenzolimid auf Acetylendicarbonsäuremethylester. *J. prakt. Chem.* **1893**, *48*, 94-95.
- [205] Mallory, F. B. Benzofuran oxide. *Org. Synth.* **1963**, *37*, 1.
- [206] Shao, C.; Wang, X.; Xu, J.; Zhao, J.; Zhang, Q.; Hu, Y. Carboxylic acid-promoted copper(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 7002-7005.
- [207] Huisgen, R. Kinetik und Mechanismus 1.3-dipolarer Cycloadditionen. *Angew. Chem.* **1963**, *75*, 742-754.
- [208] Huisgen, R.; Knorr, R.; Möbius, L.; Szeimies, G. 1,3-Dipolare Cycloadditionen, XXIII: Einige Beobachtungen zur Addition organischer Azide an CC-Dreifachbindungen. *Ber.* **1965**, *98*, 4014-4021.
- [209] Himo, F.; Lovell, T.; Hilgraf, R.; Rostovtsev, V. V.; Noodleman, L.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. Copper(I)-catalyzed synthesis of azoles. DFT study predicts unprecedented reactivity and intermediates. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 210-216.

- [210] Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. Peptidotriazoles on solid phase: [1,2,3]-triazoles by regiospecific copper(I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057-3064.
- [211] Glaser, C. Beiträge zur Kenntniß des Acetenylbenzols. *Ber. dtsh. chem. Ges.* **1869**, *2*, 422-424.
- [212] Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. A stepwise Huisgen cycloaddition process: copper(I)-catalyzed regioselective ligation of azides and terminal alkynes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.
- [213] Hein, J. E.; Fokin, V. V. Copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC) and beyond: new reactivity of copper(I) acetylides. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1302-1315.
- [214] Li, Z.; Qian, L.; Li, L.; Bernhammer, J. C.; Huynh, H. V.; Lee, J. S.; Yao, S. Q. Tetrazole photoclick chemistry: reinvestigating its suitability as a bioorthogonal reaction and potential applications. *Angew. Chem.* **2016**, *128*, 2042-2046.
- [215] Yu, Z.; Lim, R. K.; Lin, Q. Synthesis of macrocyclic tetrazoles for rapid photoinduced bioorthogonal 1,3-dipolar cycloaddition reactions. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 13325-13329.
- [216] Sousa, C.; Silva, P. J. BBr₃-assisted cleavage of most ethers does not follow the commonly assumed mechanism. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *2013*, 5195-5199.
- [217] Kosak, T. M.; Conrad, H. A.; Korich, A. L.; Lord, R. L. Ether cleavage re-investigated: elucidating the mechanism of BBr₃-facilitated demethylation of aryl methyl ethers. *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, *2015*, 7460-7467.
- [218] Staab, H. A. Über reaktionsfähige heterocyclische Säureamide. *Angew. Chem.* **1959**, *71*, 164.
- [219] El-Faham, A.; Albericio, F. Peptide coupling reagents, more than a letter soup. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 6557-6602.
- [220] Einhorn, A.; Hollandt, F. Über die Acylierung der Alkohole und Phenole in Pyridinlösung. *Liebigs Ann. Chem.* **1898**, *301*, 95-115.
- [221] Freitag, A.; Prajwal, P.; Shymanets, A.; Harteneck, C.; Nürnberg, B.; Schächtele, C.; Kubbutat, M.; Totzke, F.; Laufer, S. A. Development of first lead structures for phosphoinositide 3-kinase-C2γ inhibitors. *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 212-221.
- [222] Scholz, M.; Hey-Hawkins, E. Carbaboranes as pharmacophores: properties, synthesis, and application strategies. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 7035-7062.
- [223] Köhler, S. C.; Silbermann, K.; Wiese, M. Phenyltetrazolyl-phenylamides: Substituent impact on modulation capability and selectivity toward the efflux protein ABCG2 and investigation of interaction with the transporter. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *124*, 881-895.
- [224] Seelig, A. A general pattern for substrate recognition by P-glycoprotein. *Eur. J. Biochem.* **1998**, *251*, 252-261.

- [225] Pick, A. Funktionelle Untersuchungen des ABC-Transporters Breast Cancer Resistance Protein (BCRP). Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Deutschland, 2011.
- [226] *Molecular Operating Environment (MOE)*, 2014.019 Chemical Computing Group Inc. (Montreal, Kanada).
- [227] *ACD/ChemSketch (Probeversion)*, 2015; Advanced Chemistry Development Inc. (Toronto, Kanada).
- [228] Wrackmeyer, E. Carborane - Wenn Kohlenstoff und Bor sich treffen. *ChiuZ* **2000**, *34*, 288-298.
- [229] Hawthorne, F. Die Rolle der Chemie in der Entwicklung einer Krebstherapie durch die Bor-Neutroneneinfangreaktion. *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 997-1033.
- [230] Gabel, D. Bor-Neutroneneinfangtherapie von Tumoren. *ChiuZ* **1997**, *5*, 235-240.
- [231] Barth, R. F.; Coderre, J. A.; Vicente, M. G. H.; Blue, T. E. Boron neutron capture therapy of cancer: current status and future prospects. *Clin. Cancer Res.* **2005**, *11*, 3987-4002.
- [232] Heber, E. M.; Hawthorne, M. F.; Kueffer, P. J.; Garabalino, M. A.; Thorp, S. I.; Pozzi, E. C.; Monti Hughes, A.; Maitz, C. A.; Jalisatgi, S. S.; Nigg, D. W.; Curotto, P.; Trivillin, V. A.; Schwint, A. E. Therapeutic efficacy of boron neutron capture therapy mediated by boron-rich liposomes for oral cancer in the hamster cheek pouch model. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2014**, *111*, 16077-16081.
- [233] Valliant, J. F.; Guenther, K. J.; King, A. S.; Morel, P.; Schaffer, P.; Sogbein, O. O.; Stephenson, K. A. The medicinal chemistry of carboranes. *Coordin. Chem. Rev.* **2002**, *232*, 173-230.
- [234] Issa, F.; Kassiou, M.; Rendina, L. M. Boron in drug discovery: carboranes as unique pharmacophores in biologically active compounds. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 5701-5722.
- [235] Scholz, M.; Bendsdorf, K.; Gust, R.; Hey-Hawkins, E. Asborin: the carbaborane analogue of aspirin. *ChemMedChem* **2009**, *4*, 746-748.
- [236] Neumann, W.; Xu, S.; Sárosi, M. B.; Scholz, M. S.; Crews, B. C.; Ghebreselasie, K.; Banerjee, S.; Marnett, L. J.; Hey-Hawkins, E. Nido-dicarbaborate induces potent and selective inhibition of cyclooxygenase-2. *ChemMedChem* **2016**, *11*, 175-178.
- [237] Tsuji, M.; Koiso, Y.; Takahashi, H.; Hashimoto, Y.; Endo, Y. Modulators of tumor necrosis factor α production bearing dicarba-closo-dodecaborane as a hydrophobic pharmacophore. *Biol. Pharm. Bull.* **2000**, *23*, 513-516.
- [238] Brynda, J.; Mader, P.; Sicha, V.; Fabry, M.; Poncova, K.; Bakardiev, M.; Gruner, B.; Cigler, P.; Rezacova, P. Carborane-based carbonic anhydrase inhibitors. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 13760-13763.

- [239] Tietze, L. F.; Bothe, U.; Griesbach, U.; Nakaichi, M.; Hasegawa, T.; Nakamura, H.; Yamamoto, Y. ortho-Carboranyl glycosides for the treatment of cancer by boron neutron capture therapy. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 1747-1752.
- [240] Tjarks, W.; Wang, J.; Chandra, S.; Ji, W.; Zhuo, J.; Lunato, A. J.; Boyer, C.; Li, Q.; Usova, E. V.; Eriksson, S.; Morrison, G. H.; Cosquer, G. Y. Synthesis and biological evaluation of boronated nucleosides for boron neutron capture therapy (BNCT) of cancer. *Nucleos. Nucleot. Nucl.* **2001**, *20*, 695-698.
- [241] Stock, A., Hydrides of boron and silicon. *Cornell University Press* (Ithaca, New York, USA), 1933.
- [242] Longuet-Higgins, H. C.; Bell, R. P. The structure of the boron hydrides. *J. Chem. Soc.* **1943**, 250-255.
- [243] Eberhardt, W. H.; Crawford Jr., B.; Lipscomb, W. N. The valence structure of the boron hydrides. *J. Chem. Phys.* **1954**, *22*, 989-1001.
- [244] Lesnikowski, Z. J. Challenges and opportunities for the application of boron clusters in drug design. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 7738-7758.
- [245] Lipscomb, W. N. Die Borane und ihre Derivate. *Angew. Chem.* **1977**, *89*, 685-768.
- [246] Withey, J. M.; Bajic, A. Operationally simple synthesis of *N,N*-diethyl-3-methylbenzamide (DEET) using COMU as a coupling reagent. *J. Chem. Educ.* **2015**, *92*, 175-178.
- [247] Sahasrabudhe, K. P.; Estiarte, M. A.; Tan, D.; Zipfel, S.; Cox, M.; O'Mahony, D. J. R.; Edwards, W. T.; Duncton, M. A. J. A single-step preparation of thiazolo[5,4-*b*]pyridine and thiazolo[4,5-*c*]pyridine derivatives from chloronitropyridines and thioureas, or thioamides. *J. Heterocyclic Chem.* **2009**, *46*, 1125-1131.
- [248] Sawhney, S. N.; Boykin, D. W. Transmission of substituent effects in heterocyclic systems by carbon-13 nuclear magnetic resonance. Benzothiazoles. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 1136-1142.
- [249] Gollos, S. Synthese und Charakterisierung neuer fluoreszenzmarkierter Adenosinrezeptor-Liganden als pharmakologische Sonden. Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn, 2013.
- [250] Wombacher, R.; Cornish, V. W. Chemical tags: applications in live cell fluorescence imaging. *J. Biophotonics* **2011**, *4*, 391-402.
- [251] Gottlieb, H. E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A. NMR shifts of common laboratory solvents as trace impurities. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7512-7515.
- [252] Becker, H. G. O., Reduktion von Nitroverbindungen und Nitrosoverbindungen. In *Organikum – Organisch-chemisches Grundpraktikum*, 21. Aufl.; Wiley-VCH (Weinheim, Deutschland), 2001; S. 626-630.

- [253] Iyobe, A.; Uchida, M.; Kamata, K.; Hotei, Y.; Kusama, H.; Harada, H. Studies on new platelet aggregation inhibitors 1. Synthesis of 7-nitro-3,4-dihydroquinoline-2(1*H*)-one derivatives. *Chem. Pharm. Bull.* **2001**, *49*, 822-829.
- [254] Sohail A. Shahzad; Clotilde Vivant; Wirth, T. Selenium-mediated synthesis of biaryls through rearrangement. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1364-1367.
- [255] Ye, F.; Shi, Y.; Zhou, L.; Xiao, Q.; Zhang, Y.; Wang, J. Expedient synthesis of phenanthrenes via CuBr₂-catalyzed coupling of terminal alkynes and *N*-tosylhydrazones derived from *O*-formyl biphenyls. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 5020-5023.
- [256] Proença, M.; Marinho, E. The reaction of 2-(acylamino)benzotrioles with primary aromatic amines: a convenient synthesis of 2-substituted 4-(arylamino)quinazolines. *Synthesis* **2015**, *47*, 1623-1632.
- [257] Louvard, D. Apical membrane aminopeptidase appears at site of cell-cell contact in cultured kidney epithelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1980**, *77*, 4132-4136.
- [258] Köhler, S. C.; Wiese, M. HM30181 derivatives as novel potent and selective inhibitors of the Breast Cancer Resistance Protein (BCRP/ABCG2). *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 3910-3921.

7.5 Publikationsverzeichnis

7.5.1 Publikationen

S. C. Köhler und M. Wiese, HM30181 derivatives as novel potent and selective inhibitors of the breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2). *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 3910-3921.

S. C. Köhler, K. Silbermann und M. Wiese, Phenyltetrazolyl-phenylamides: substituent impact on modulation capability and selectivity toward the efflux protein ABCG2 and investigation of interaction with the transporter. *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *124*, 881-895.

7.5.2 Kongressbeiträge (Poster)

K. Juvale, S. C. Köhler und M. Wiese, 7,8-Benzoflavones as potent inhibitors of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2). *4th FEBS Special Meeting "ATP-Binding Cassette (ABC) Proteins, From Multidrug Resistance to Genetic Diseases"* **2012**, Innsbruck (Österreich).

S. C. Köhler und M. Wiese, Small HM30181 analogues as novel inhibitors for breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2). *7th Annual SFB35 Symposium "Transmembrane Transporters in Health and Disease"* **2014**, Wien (Österreich).

S. C. Köhler, K. Silbermann und M. Wiese, HM30181 analogs – influence of substituents on inhibitory potency and specificity towards breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2). *1st Joint European Conference on Therapeutic Targets and Medicinal Chemistry* **2015**, Münster (Deutschland).

7.6 Danksagung

Meinem Doktorvater Prof. Dr. Michael Wiese danke ich für die Überlassung des Themas, den Freiräumen für die Umsetzung meiner Ideen, seiner großen Diskussionsbereitschaft sowie der Unterstützung zur Lösung von Problemstellungen.

Ich danke PD Dr. Anke Schiedel für die Übernahme des Koreferats sowie PD Dr. Hubert Rein und Prof. Dr. Andreas Gansäuer für ihr Mitwirken in der Prüfungskommission.

Dr. Matthias Scholz danke ich für die zahlreichen Tipps, die vielen Ideen und einbringlichen Diskussionen im Rahmen unserer Kooperation und für sein stets offenes Ohr. Ich danke Katja Silbermann und Stefanie Kraege für die erfolgreiche Zusammenarbeit an den Veröffentlichungen.

Für die Aufnahme der zahlreichen NMR-Spektren und die Durchführung der LC/MS- und Elementaranalysen danke ich Annette Reiner, Marion Schneider, Sabine Terhart-Krabbe und Hermann Passgang. Ich spreche meinen Dank Dieter Baumert und Iris Jusen für die Bereitschaft zur Klärung vieler Fragen und Angelegenheiten im Zelllabor aus. Ferner bedanke ich mich bei Wolfgang Bosse, Jürgen Hohmann, Wilhelm Wolter und Thomas Vidua bei der schnellen Beseitigung der vielen, unerwartet auftretenden, kleinen und großen technischen Probleme.

Mein Dank gilt ebenfalls den Mitgliedern der Arbeitsgruppe, insbesondere Michael Krapf, Katja Silbermann, Anna Spindler und Thomas Willmes, für die gemeinsame Zeit, die gegenseitige Hilfe und die gute Atmosphäre. Hinsichtlich der Betreuung vieler Studenten bedanke ich mich bei den Kollegen des organisch-chemischen Praktikums für die Bewältigung der gemeinsam durchlittenen Zeit.

Ich bin meiner Frau und meiner Familie für die große Geduld, die Fachgespräche und sonstige Unterstützungen, die die Fertigstellung dieser Abhandlung ermöglicht haben, äußerst dankbar.