

Synthese und Untersuchung neuer ABCG2 Inhibitoren

Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von

Anna Spindler

aus Köln

Bonn 2016

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

1. Gutachter: Prof. Dr. Michael Wiese

2. Gutachter: Prof. Dr. Gerd Bendas

Tag der Promotion: 14.12.2016

Erscheinungsjahr: 2017

Für meine Familie

„Den Wissenschaftlern geht es wie den Chaoten. Es ist alles da, man muss es nur suchen.“

Franz Kern („biofranz“; geb. 1944)

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Humane ABC-Transporter.....	1
1.2	Zusammenhang von ABC-Transportern und der Multidrug Resistance (MDR) von Tumorzellen	2
1.3	Breast Cancer Resistance Protein (BCRP) / ABCG2	3
1.3.1	Aufbau von ABCG2	4
1.3.2	Vorkommen von ABCG2 in humanem Gewebe	4
1.3.3	Substrate von ABCG2	5
1.3.4	Inhibitoren von ABCG2.....	7
1.4	P-Glykoprotein (P-gp) / ABCB1	9
1.4.1	Aufbau und Vorkommen von ABCB1	9
1.4.2	Substrate von ABCB1.....	11
1.4.3	Inhibitoren von ABCB1	12
1.5	Bestimmung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2 und ABCB1	13
1.5.1	Hoechst 33342 Akkumulationsassay	14
1.5.2	Pheophorbid A Akkumulationsassay	15
1.5.3	Calcein AM Akkumulationsassay	16
2	Ziel der Arbeit	19
3	Chinazolinderivate als ABCG2 Inhibitoren	21
3.1	Chinazoline mit modulatorischen Eigenschaften gegenüber ABC-Transportern.....	21
3.2	Synthese der 4-Phenoxy-2-phenylchinazolinderivate	23

3.3	Synthese 4-Phenylthio-2-phenylchinazolinderivate.....	24
3.4	Ergebnisse und Diskussion der biologischen Testung der Chinazolinderivate.....	24
3.4.1	Untersuchung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2	25
3.4.2	Screening der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCB1	27
3.4.3	Vergleich der inhibitorischen Aktivität der Chinazolinderivate, mit Amin-, Sauerstoff- und Schwefellinker, gegenüber ABCG2.....	28
4	Chinolinderivate als ABCG2 Inhibitoren	31
4.1	Chinoline	31
4.1.1	Chinoline mit modulatorischen Eigenschaften gegenüber ABC-Transportern	31
4.1.2	Synthese der N,2-Diphenylchinolin-4-amine.....	32
4.1.3	Ergebnisse und Diskussion der biologischen Testung der N,2-Diphenylchinolin-4-amine	34
4.1.3.1	Untersuchung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2 mit dem Hoechst 33342 Assay	35
4.1.3.2	Untersuchung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2 mit dem Pheophorbid A Assay	38
4.1.3.3	Inhibition der β -Hämatin Bildung.....	42
4.1.3.3.1	Prinzip des Assays	42
4.1.3.3.2	Ergebnis und Diskussion	43
4.1.3.4	Screening der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCB1.....	48
4.2	Chinolin-Chalkon Hybride	49
4.2.1	Synthese der Chinolin-Chalkon-Hybride	50
4.2.2	Ergebnisse und Diskussion der biologischen Testung der Chinolin-Chalkon Hybride	51
4.2.2.1	Untersuchung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2 mit dem Pheophorbid A Assay	51
4.2.2.2	Screening der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCB1.....	52

4.3	Chinolone.....	54
4.3.1	Synthese der 2-Phenylchinolin-4-nderivate.....	55
4.3.2	Synthese der 3-Hydroxy-2-phenylchinolin-4-on / 3-Hydroxy-2-phenyl-1,8-naphthyridin-4-nderivate	55
4.3.3	Synthese der 3-Methoxy-2-phenylchinolin-4(1H)-on / 3-Methoxy-2-phenyl-1,8-naphthyridin-4 (1H) –nderivate.....	56
4.3.4	Ergebnisse und Diskussion der biologischen Testung der Chinolonderivate.....	57
4.3.4.1	Untersuchung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2 mit dem Pheophorbid A Assay	57
5	Tetrahydro-β-carboline als ABCG2 Inhibitoren	61
5.1	β -Carboline / Tetrahydro- β -carboline als Inhibitoren von ABC-Transportern.....	62
5.2	Synthese der Tetrahydro- β -carbolinderivate	63
5.3	Ergebnisse und Diskussion der biologischen Testung der Tetrahydro- β -carbolinderivate	65
5.3.1	Untersuchung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2.....	65
5.3.2	Screening der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCB1.....	74
5.3.3	Untersuchung der Zytotoxizität (MTT-Assay).....	76
5.3.4	Aufhebung der durch ABCG2 verursachten Zytostatikaresistenz.....	77
5.3.5	ATPase Assay	80
6	Zusammenfassung.....	83
7	Experimenteller Teil	89
7.1	Synthese	89
7.1.1	Material und Methoden.....	89
7.1.1.1	Chemikalien.....	89
7.1.1.2	Dünnschichtchromatographie (DC).....	89
7.1.1.3	Kernspinresonanzspektroskopie (NMR)	90

7.1.1.4	Elementar Analyse (EA)	90
7.1.1.5	Infrarotspektroskopie (FTIR)	90
7.1.1.6	UV-Vis-Spektroskopie	91
7.1.1.7	Mikrowellensynthese	91
7.1.2	Synthesevorschriften und Monographien	91
7.1.2.1	Synthese der 2-Phenyl-4-phenoxychinazoline	91
7.1.2.2	Synthese der 4-Phenylthio-2-phenylchinazoline	95
7.1.2.3	Synthese der N-(2-Acetylphenyl)benzamide	98
7.1.2.4	Synthese der 2-Phenylchinolin-4(1H)-one	100
7.1.2.5	Synthese der 4-Chlor-2-phenylchinoline	102
7.1.2.6	Synthese der N,2-Diphenylchinolin-4-amine	103
7.1.2.7	Synthese der Chinolin-Chalkon Hybride	115
7.1.2.8	Synthese der 2-Oxo-2-phenylethyl-2-aminobenzoate und des 2-Oxo-2-phenylethyl-2-aminonicotinat	120
7.1.2.9	Synthese der 3-Hydroxy-2-phenylchinolin-4-one/3-Hydroxy-2-phenyl-1,8-naphthyridin-4-on	123
7.1.2.10	Synthese der N-BOC-3-Hydroxy-2-phenylchinolin-4-one/ N-BOC-3-Hydroxy-2-phenyl-1,8-naphthyridin-4-on	126
7.1.2.11	Synthese der 1-substituierten-Tetrahydro- β -carboline/1,6-substituierten-tetrahydro-beta-carbolin	129
7.1.2.12	Synthese der N2-Acyl-1-substituierten-tetrahydro- β -carboline	140
7.1.2.13	Synthesen des β -Carbolins und der Tetrahydro- β -carboline mit verändertem Substitutionsmuster	164
7.2	Biologische Untersuchungen	170
7.2.1	Material	170
7.2.1.1	Chemikalien für Zellkultur/Assays/Puffer	170
7.2.1.2	Instrumente für Zellkultur/Assays/Puffer	171
7.2.1.3	Material für die Zellkultur/Assays/Puffer	172

7.2.1.4	Verwendete Puffer	173
7.2.1.4.1	Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS)	173
7.2.1.4.2	Krebs-HEPES-Puffer (KHP).....	173
7.2.2	Zellkultur	175
7.2.2.1	Verwendete Zelllinien	175
7.2.2.1.1	MDCK II BCRP und MDCK II Wildtyp	175
7.2.2.1.2	A2780 Adr und A2780 Sens.	175
7.2.2.2	Kultivierung der Zellen	176
7.2.2.3	Kryokonservierung und Ausfrieren von Zellen.....	176
7.2.2.4	Zellzahlbestimmung	177
7.2.3	Assays	178
7.2.3.1	Herstellung der Verdünnungsreihen der Testsubstanzen	178
7.2.3.2	Verdünnungsschemata bzw. Endkonzentration der Testsubstanzen auf der Mikrotiterplatte	178
7.2.3.3	Vorbereitung der Zellsuspensionen für den Assay.....	179
7.2.3.4	Hoechst 33342 Assay	179
7.2.3.5	Pheophorbid A Assay	180
7.2.3.5.1	Durchflusszytometrie (FACS = fluorescence activated cell sorting)	181
7.2.3.6	Calcein AM Assay.....	182
7.2.3.7	MTT Assay (Zytotoxizität).....	183
7.2.3.8	Berechnung der IC ₅₀ und GI ₅₀ Werte aus der Konzentrations- Effekt-Kurve mit Hilfe von GraphPad Prism [®] 5.0	185
7.2.3.9	β-Hämatin Assay	185
	Literaturverzeichnis.....	189
	Anhang	207
	Abkürzungsverzeichnis.....	207
	Abbildungsverzeichnis.....	209

Tabellenverzeichnis.....	211
Schemataverzeichnis	213
IR-Spektren	214
Publikationen	217

1 Einleitung

Die ATP binding cassette (ABC) Transporter stellen eine der größten Familien von membranständigen Transportproteinen dar. Sie kommen ubiquitär in eukaryotischen und prokaryotischen Zellen vor. ABC-Transporter besitzen vielfältige Aufgaben da sie eine Vielzahl von Verbindungen aktiv, unter Verbrauch von Adenosintriphosphat (ATP), durch die Zellmembran transportieren. Daher sind sie an Prozessen wie der Ausscheidung von Toxinen, der Nährstoffaufnahme oder der Signaltransduktion beteiligt. Während Eukaryonten Efflux-Transporter exprimieren, sind bei Prokaryonten auch Influx-Transporter bekannt. Ein typischer ABC-Transporter besteht aus zwei transmembranären Domänen (TMD), welche je aus sechs α -Helices bestehen und zwei im Zellinneren gelegenen hochkonservierten Nukleotidbindungsdomänen (NBD) (Beispiel siehe Abbildung 1.3) mit den typischen Walker A und Walker B Motiven und der C-Schleifen-Signatur. Daneben existieren auch Halbtransporter die nur aus einer TMD und einer NBD bestehen (Beispiel siehe Abbildung 1.1) und erst durch Oligomerisierung funktionsfähige Einheiten bilden. Die Energie für den Transport von Substraten wird aus der Hydrolyse von ATP gewonnen. Dabei wird ATP an die NBDs gebunden und zu Adenosindiphosphat (ADP) und Phosphat (P) hydrolysiert [1–8].

1.1 Humane ABC-Transporter

Es gibt 48 bekannte humane ABC-Transporter, welche sich durch die phylogenetische Analyse ihrer NBD-Gensequenzen in sieben Subfamilien, ABCA – ABCG, einteilen lassen. Die Subfamilien ABCE und ABCF besitzen dabei keine TMDs, aber die ABC-Transporter typischen NBDs [3,9]. Die meisten ABC-Transporter sind substratspezifisch, allerdings können einige wie ABCB1, ABCG2 und ABCC1 eine Vielzahl verschiedenster Verbindungen transportieren [10]. Zu den bekanntesten und am besten untersuchten humanen ABC-Transportern gehören das P-Glycoprotein (P-gp, MDR1) / ABCB1, das

Multidrug Resistance-associated Protein 1 (MRP1) / ABCC1 und das Breast Cancer Resistance Protein (BCRP) / ABCG2. Bei ABCG2 handelt es sich um einen Halbtransporter, es besitzt daher nur eine TMD und eine NBD (Kapitel 1.3.1). Die zuvor genannten Transporter übernehmen vor allem in Geweben mit Barrierefunktion wie z.B. Darm, Leber, Niere, Plazenta oder Blut-Hirn-Schranke wichtige physiologische Aufgaben und sind dadurch mit an der Absorption, Verteilung und Elimination von Stoffen beteiligt [3,10–13]. Durch die Elimination von Toxinen und Xenobiotica besitzen sie eine zytoprotektive Funktion. Die Mutation eines Transportergens kann zum Verlust oder zur Verminderung der Transporterfunktion und somit zu einer Reihe schwerer Erkrankungen führen. Als Beispiel ist die Mukoviszidose als Folge einer Mutation des ABCC7-Gens zu nennen. Die Adrenoleukodystrophie (ALD) erlangte ihre traurige Bekanntheit durch den Film „Lorenzos Öl“ und ist ebenfalls auf die Mutation eines ABC-Transporters, dem ABCD1-Gen, zurückzuführen. Durch eine rezessive Vererbung des Gendefektes können auch die nachfolgenden Generationen von der Krankheit betroffen sein [1,3,12,14].

1.2 Zusammenhang von ABC-Transportern und der Multidrug Resistance (MDR) von Tumorzellen

Die Chemotherapie ist eine der wichtigsten Behandlungsmethoden maligner Erkrankungen. Im Allgemeinen beschreibt die Multidrug Resistance (MDR) das Phänomen, dass Zellen eine Kreuzresistenz gegen verschiedene Arzneistoffe, mit großer struktureller Diversität und unterschiedlichsten pharmakologischen Wirkungen, aufweisen. Die Entwicklung einer MDR kann zum Versagen der Chemotherapie führen. Ursache dafür können verschiedene Mechanismen sein, wie die erhöhte Expression abbauender Enzyme, Mutationen, eine vermehrte DNA Reparatur, eine verminderte Apoptose oder auch ein erhöhter Efflux der die intrazelluläre Konzentration unter die Wirksamkeitsgrenze absenkt [15]. Die Überexpression von ABC-Transportern kann zu einem erhöhten Efflux verschiedener Zytostatika aus der Zelle führen und somit Ursache für eine unspezifische Resistenz sein [13,15–18]. Anhand der beispielhaft in Tabelle 1.1 aufgeführten Arzneistoffe, die alle eine zytostatische Wirkung aufweisen, ist deutlich zu erkennen, dass die polyspezifischen Transporter strukturell unterschiedlichste Verbindungen transpor-

tieren können. Eine vermehrte Expression von ABC-Transportern konnte in verschiedenen resistenten Krebszelllinien und Tumorarten festgestellt werden (Kapitel 1.3.2, 1.4.1). Allerdings ist davon auszugehen, dass die Entwicklung einer MDR durch eine Vielzahl von Mechanismen verursacht wird [16,19]. Da sich diese Arbeit im Wesentlichen mit ABCG2 und untergeordnet mit ABCB1 beschäftigt wird im Folgenden nur auf diese beiden Transportproteine näher eingegangen.

Tabelle 1.1: Beispiele von Zytostatika, die von drei der wichtigsten polyspezifischen ABC-Transportern transportiert werden [20].

ABC-Transporter	Substrate mit zytostatischer Wirkung
ABCG2/ BCRP	Mitoxantron, Topotecan, Methotrexat
ABCB1/ P-gp	Daunorubicin, Doxorubicin, Mitoxantron, Vincristin, Toptecan, Paclitaxel
ABCC1/ MRP1	Daunorubicin, Doxorubicin, Methotrexat, Vincristin

1.3 Breast Cancer Resistance Protein (BCRP) / ABCG2

Das Breast Cancer Resistance Protein wird systematisch auch ABCG2 (ABC-Transporter, subfamily G, member 2) genannt. ABCG2 wurde 1998 zum ersten Mal beschrieben. Dabei wiesen Doyle *et al.* das Protein in einer durch Doxorubicin und Verapamil selektierten Mammakarzinomzelllinie MCF-7/AdrVp nach, wodurch der Transporter zu seinem Namen BCRP kam [21]. Durch die zeitgleiche Entdeckung des ABCG2 Gens in humanen Plazentagewebe und der zugehörigen cDNA in einer Mitoxantron resistenten Colonkarzinomzelllinie erhielt das Protein auch die Bezeichnungen Placenta-specific ABC protein (ABCP) und Mitoxantrone-Resistance protein (MXR) [22,23]. In dieser Arbeit wird der systematische Name ABCG2 verwendet.

1.3.1 Aufbau von ABCG2

Der Halbtransporter ABCG2 (siehe Abbildung 1.1) besteht aus 665 Aminosäuren und hat ein Molekulargewicht von 72 kDa. Das Protein besteht aus einer TMD mit sechs α -Helices und einer NBD. Die intrazelluläre NBD befindet sich in diesem Fall am N-Terminus, während sie bei anderen ABC-Transportern in der Regel am C-Terminus lokalisiert ist. Um funktionsfähig zu werden muss der Halbtransporter oligomerisieren. Lange Zeit ging man davon aus, dass eine Dimerisierung zweier Halbtransporter über Disulfidbrücken zur Bildung einer funktionsfähigen Einheit führt. Neben den Dimeren wurden auch Tetramere, Octamere und Dodecamere diskutiert [24–27]. Nach neuesten Erkenntnissen wird jedoch höchstwahrscheinlich ein Tetramer gebildet [28].

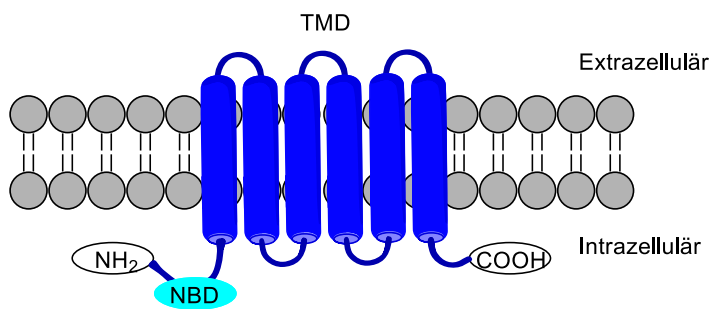


Abbildung 1.1: Topologiemodell von ABCG2.

1.3.2 Vorkommen von ABCG2 in humanem Gewebe

Wie bereits beschrieben kommt ABCG2 hauptsächlich in Geweben mit Barrierefunktion vor. Eine hohe Expression des Proteins wurde in der Plazenta entdeckt [22]. Daneben wurde ABCG2 auch in Dick- und Dünndarm, Gehirn, Leber, Niere sowie Nebenniere, Milz, Prostata, Ovarien, ZNS, Lunge und Magen nachgewiesen [21,27,29,30]. Daher spielt ABCG2 eine große Rolle bei der Absorption, Verteilung und Elimination von Stoffen. Neben zytoprotektiven Aufgaben, wie dem Transport von Toxinen und Xenobiotika aus der Zelle heraus, wird ABCG2 auch im Zusammenhang mit der Sekretion von Nährstoffen wie z.B. Riboflavin in die Muttermilch vermutet. Eine erhöhte Expression des Proteins in den Brustdrüsen am Ende der Schwangerschaft und während der Stillzeit

konnte nachgewiesen werden [31,32]. Daneben können natürlich auch Xenobitika und Toxine so den Weg in die Muttermilch finden und dem Säugling schaden [33]. Der Transporter wurde auch in der sogenannten „Side Population“ hämatopoetischer Stammzellen gefunden, wobei hier ebenfalls eine protektive Funktion vermutet wurde [31,34–36]. Wie bereits beschrieben kann eine Überexpression von ABCG2 in Tumorzellen zu einer MDR gegenüber verschiedenen Zytostatika beitragen. Neben den oben genannten Beispielen konnte auch bei einer Reihe weiterer Mitoxantron-selektierter Zelllinien wie der EPG 85-257 Magenkarzinom-, der EPF 86-079 Fibrosarkomzelllinie und der humanen Brustkrebszelllinie MCF-7 Resistenzen gegen das Zytostatikum im Zusammenhang mit einer ABCG2 Überexpression beobachtet werden [37]. Andere Zellen zeigten eine Korrelation zwischen ABCG2 Expression und der Resistenz gegenüber Topotecan [38,39]. Eine erhöhte Expression von ABCG2 wurde des Weiteren in verschiedenen soliden Tumoren und auch in Tumorstammzellen gefunden [40]. Insgesamt wurde in einer Vielzahl weiterer Studien eine Korrelation zwischen Zytostatikaresistenzen und der Expression von ABCG2 beobachtet, allerdings ist die genaue Rolle von ABCG2 bei der Resistenzentwicklung noch nicht abschließend geklärt [41–43].

1.3.3 Substrate von ABCG2

Das Substratspektrum von ABCG2 ist nicht nur auf Zytostatika beschränkt. Neben dem Transport verschiedener Zytostatikaklassen wie Anthracycline, Camptothecinen und dem Dihydrofolatreduktase-Hemmer Methotrexat können z.B. auch Virustatika, Antibiotika und eine Vielzahl anderer Arzneistoffe sowie physiologische Verbindungen transportiert werden, siehe Tabelle 1.2. Das Substratspektrum kann durch eine Punktmutation an Position 482 der Aminosäuresequenz wesentlich beeinflusst werden [42,44]. So können die Anthracycline Doxorubicin und Daunorubicin sowie der Fluoreszenzfarbstoff Rhodamin 123 nur transportiert werden, wenn an Position 482 Arginin gegen Threonin oder Glycin ausgetauscht wurde. Methotrexat kann hingegen nicht von den Mutanten transportiert werden. Diese Mutation der Aminosäuresequenz wurde nur in selektierten Zelllinien wie MCF7/AdrVp3000 und S1-M1-80 festgestellt. In Wildtyp ABCG2 von normalem Plazentagewebe und in klinischen Proben von Leukämiepatienten konnte nur Arginin in Position 482 nachgewiesen werden, weshalb diese Mutation vermutlich keine klinische

Relevanz besitzt. In weiteren Studien wurden auch andere Mutationen bestimmter Aminosäuren untersucht. Auch diese führten zu einer Veränderung der Substratspezifität [41,42]. Der Transport von Fluoreszenzfarbstoffen durch ABCG2 wird zur funktionellen Untersuchung von ABCG2 genutzt, siehe Kapitel 1.5.

Tabelle 1.2: Eine Auswahl von Substraten von ABCG2 [41–43,45–48].

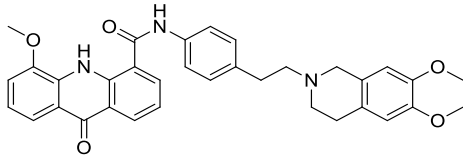
Klasse	Verbindungen
Zytostatika	Mitoxantron Aza-Anthracyclin Bisanthrene Topotecan Irinotecan SN-38 Diflomotecan Methotrexat* Daunorubicin** Doxorubicin**
Virustatika	Lamivudin Zidovudin (AZT)
Antibiotika	Ciprofloxacin Erythromycin Nitrofurantoin
Glucuronid- und Sulfatkonjugate	Estradiol-17- β -D-glucuronid, Dehydroepiandrosteron-3-sulfat
Andere	Prazosin Flavopiridol Imatinib Pantoprazol Cimetidin Sulfasalazin Indolcarbazol Rosuvastatin
Fluoreszenzfarbstoffe	Hoechst 33342 BODIPY-Prazosin Pheophorbid A Rhodamin 123**

* wird nur von Wildtyp ABCG2 transportiert

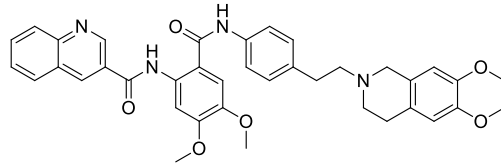
** wird nur durch die ABCG2 Mutante R482T und R482G transportiert

1.3.4 Inhibitoren von ABCG2

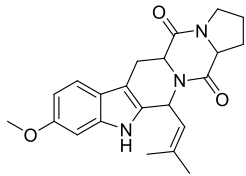
Durch die Entdeckung von ABCG2 in resistenten Krebszelllinien wurde die Entwicklung neuer Inhibitoren in den letzten Jahren immer interessanter. Wie die Substrate weisen auch diese eine große Strukturdiversität auf, siehe Abbildung 1.2. Einige Inhibitoren von ABCB1 wie Elacridar (GF120918) oder Tariquidar (XR9576) erwiesen sich ebenfalls als ABCG2 Inhibitoren [49–51]. Der Naturstoff Fumitremorgin C (FTC) wird vom Schimmelpilz *Aspergillus fumigatus* sezerniert und wurde als potenter ABCG2 Inhibitor identifiziert. Allerdings verhindert seine neurotoxische Wirkung den Einsatz *in vivo* [52]. Eine Weiterentwicklung von FTC führte zu dem hochpotenten Analogon Ko143 [53]. Ko143 besitzt nur eine geringe Neurotoxizität und galt lange Zeit als selektiv gegenüber ABCG2. Eine neuere Untersuchung zeigte allerdings, dass Ko143 ABCB1 und ABCC1 ebenfalls schon im mikromolaren Bereich inhibiert [54]. Vertreter der Arzneistoffklassen der HIV-Protease- und Tyrosinkinaseinhibitoren besitzen auch inhibitorische Eigenschaften gegenüber ABCG2 [55,56]. Des Weiteren zeigten verschiedene Naturstoffe wie die Flavonoide Chrysin und Biochanin und das Alkaloid Harmin eine Hemmwirkung gegenüber ABCG2 [57,58]. Ausgehend von den oben genannten Verbindungen wurde in den letzten Jahren eine Vielzahl synthetischer Tariquidar-, Chromen-, Flavonoid-, Chalkon- und Chinazolin Analoga synthetisiert und als Inhibitoren von ABCG2 identifiziert [59–66]. Der genaue Mechanismus der ABCG2 Inhibition konnte bis heute nicht vollständig geklärt werden. Man geht davon aus, dass es neben den Inhibitoren wie FTC und Ko143 die die ATPase Aktivität hemmen auch kompetitive Inhibitoren gibt, die selbst Substrate von ABCG2 sind und somit nur den Transport bestimmter Verbindungen hemmen welche die gleiche Bindungsstelle am Protein nutzen [42].



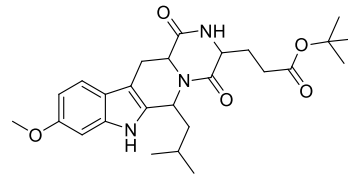
Elacridar



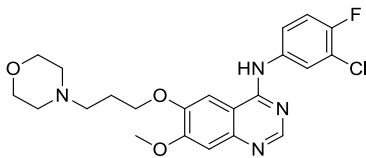
Tariquidar



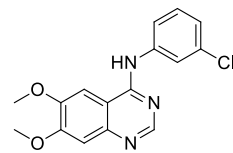
Fumitremorgin C



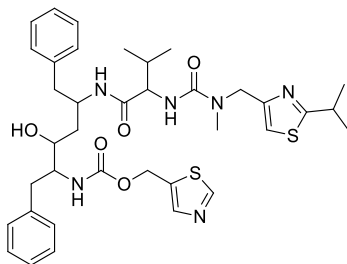
Ko143



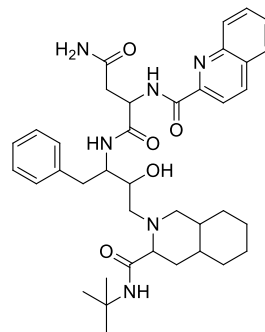
Gefitinib



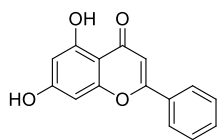
Tyrphostin AG 1478



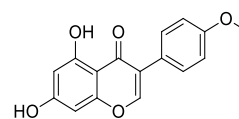
Ritonavir



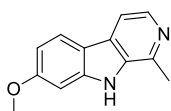
Saquinavir



Chrysin



Biochanin



Harmin

Abbildung 1.2: Strukturen ausgewählter Inhibitoren von ABCG2.

1.4 P-Glykoprotein (P-gp) / ABCB1

ABCB1 ist der am besten untersuchte eukaryotische ABC-Transporter [67–69]. Da ABCB1 in dieser Arbeit nur eine untergeordnete Rolle spielte werden die wichtigsten Zusammenhänge nur kurz erörtert. 1976 wurde die Nager-Isoform des Proteins von Juliano und Ling in einer Colchicin resistenten Ovarialkarzinomzelllinie chinesischer Hamster (CHO-Zelllinie) entdeckt [70]. Die verminderte Permeabilität (P) für verschiedene Zytostatika und die glykosilierung des Proteins bescherten ihm den Namen P-Glykoprotein. Erst 1986 wurde der Transporter im menschlichen Genom nachgewiesen [71]. Ein weiterer Name des P-Glykoproteins ist Multidrug-Resistance-Protein 1 (MDR 1), welcher sich auf seinen Zusammenhang zur MDR zurückführen lässt. In dieser Arbeit wird der systematische Name ABCB1 verwendet.

1.4.1 Aufbau und Vorkommen von ABCB1

Das humane ABCB1 besteht aus 1280 Aminosäuren und hat ein Molekulargewicht von 170 kDa. Es besteht aus zwei homologen Hälften und ist wie ein typischer ABC-Transporter aus zwei TMDs und zwei NBDs aufgebaut, siehe Abbildung 1.3 [72,73]. Anhand von Homologiemodellen des ABCB1 konnten sowohl Bindungsstellen als auch die Struktur des Proteins nachgewiesen werden [74–79]. Das erste Homologiemodell basierte auf der Kristallstruktur eines bakteriellen ABC-Transporters (Sav1866) [80]. 2009 wurde dann die Kristallstruktur des murinen P-Glykoproteins (Abcb1a) publiziert, die eine Homologie von 87 % zum humanen ABCB1 aufwies [81]. Diese musste nach Veröffentlichung der Kristallstruktur von P-Glykoprotein aus *Caenorhabditis elegans* im Jahr 2012 allerdings korrigiert werden [82].

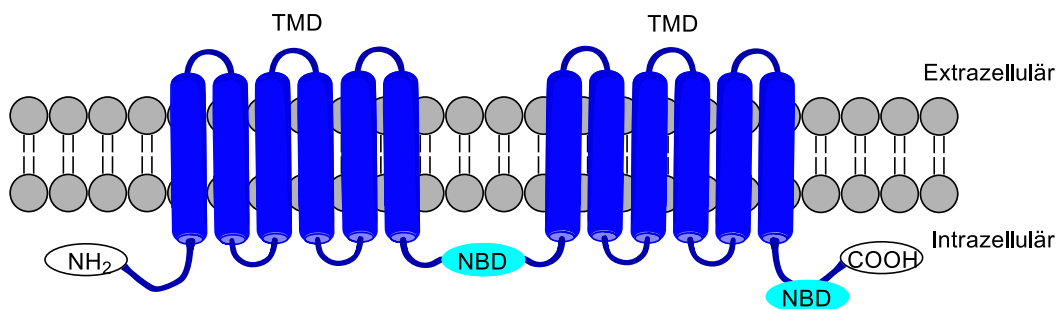


Abbildung 1.3: Topologiemodell von ABCB1.

Für ABCB1 wurden verschiedene Modelle postuliert die den Transport der Substrate beschreiben sollen. Der genaue Transportmechanismus ist jedoch nicht bekannt. Die drei wichtigsten Modelle sind dabei das „Poren-Modell“ [83], das „HVC-Modell“ [84,85] (Abbildung 1.4) und das von Higgins und Gottesman beschriebene „Flippase-Modell“ [86] (Abbildung 1.5). Das „Poren-Modell“ geht davon aus, dass die zwei TMDs einen Kanal in der Membran bilden, durch den das Substrat aus dem Zytoplasma heraus transportiert wird. Aufgrund der meist lipophilen Substrate von ABCB1 ist allerdings eine Anreicherung in der Zellmembran wahrscheinlicher [87]. Des Weiteren zeigten Untersuchungen eine Bindung der Substrate an der TMD des Proteins [77,78,88]. Danach wäre das „Poren-Modell“ eher unwahrscheinlich. Das Hydrophobic Vacuum Cleaner = „HVC-Modell“ geht davon aus, dass das Substrat in der, dem Zytosol zugewandten, inneren Membranschicht gebunden und von dort aus der Zelle heraus transportiert wird. Das „Flippase-Modell“ ist dem „HVC-Modell“ recht ähnlich, allerdings wird hier das Substrat von der inneren Membranschicht in die äußere Membranschicht transportiert von wo es dann anschließend aus der Zelle diffundieren kann.

ABCB1 kommt natürlich im menschlichen Gewebe vor und ist, wie ABCG2, an der Sekretion und Elimination von Substanzen beteiligt. Durch den Transport von Toxinen und Xenobiotika besitzt auch dieses Protein eine zytoprotektive Funktion. Es wird u.a. in Darm, Niere, Leber, Blut-Hirn-Schranke und Plazenta exprimiert [15,67,89]. Eine Expression von ABCB1 wurde auch in einer Reihe von resistenten soliden Tumoren gefunden und auch die Beteiligung von ABCB1 an der Resistenzentwicklung der AML gilt als gesichert [90–94].

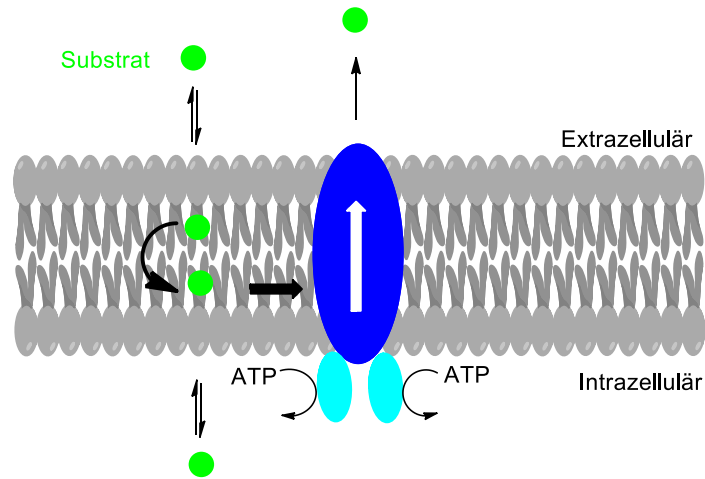


Abbildung 1.4: „HVC-Modell“.

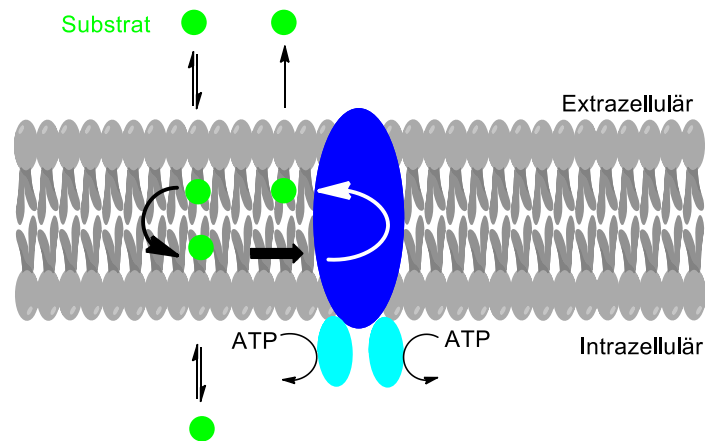


Abbildung 1.5: „Flippase Modell“.

1.4.2 Substrate von ABCB1

Auch ABCB1 weist eine große Substratdiversität auf, die neben Zytostatika eine Vielzahl anderer Arzneistoffe betrifft. Eine Auswahl von Substraten ist in Tabelle 1.3 zusammengestellt. Wie auch im Fall des ABCG2 weisen die Substrate eine große strukturelle Vielfalt auf. Zum Teil überschneiden sich die Substrat- wie auch die Inhibitorspektren beider Transporter.

Tabelle 1.3: Beispiele für Substrate von ABCB1 [45,72,95,96].

Klasse	Verbindungen
Zytostatika	Daunorubicin Doxorubicin Mitoxantron Vinblastin* Vincristin Toptecan Irinotecan SN-38 Imatinib Etoposid Paclitaxel
Virustatika	Ritonavir* Saquinavir*
Herz-Kreislauf -Therapeutika	Digoxin Verapamil* Nifedipin Diltiazem Reserpin*
Andere	Dexamethason Loperamid* Morphin Cyclosporin A Colchicin Chinin*
Fluoreszenzfarbstoffe	Calcein AM Hoechst 33342 Rhodamin 123

* Substrate und Inhibitoren [96].

1.4.3 Inhibitoren von ABCB1

Die Inhibitoren von ABCB1 lassen sich in 3 Generationen einteilen, siehe Tabelle 1.4. Die 1. Generation sind Arzneistoffe die selbst Substrate von ABCB1 sind und daher größtenteils vermutlich als kompetitive Inhibitoren agieren (ausgenommen Cyclosporin A).

Auf Grund ihrer niedrigen Bindungsaffinität mussten diese Arzneistoffe in hohen Dosen verwendet werden, was zu inakzeptablen Nebenwirkungen und weiter auch zu pharmakokinetischen Interaktionen mit den verabreichten Zytostatika führte. Zur 2. Generation der ABCB1 Inhibitoren gehören weiterentwickelte Analoga oder stärker wirksame Enantiomere chiraler Arzneistoffe der 1. Generation. Diese besitzen eine höhere Affinität zu ABCB1 und waren auf Grund geringerer Dosierungen weniger toxisch. Allerdings wurde auch hier der Metabolismus der verabreichten Zytostatika gehemmt, was ebenfalls zu nicht tolerierbaren toxischen Effekten führte. Die 3. Generation der ABCB1 Inhibitoren stellen spezifische Inhibitoren von ABCB1 dar, die keinen Einfluss auf die Metabolisierung des verabreichten Zytostatikums zeigten [97–99].

Tabelle 1.4: Beispiele von ABCB1 Inhibitoren [97–99].

Inhibitoren	Verbindungen
1. Generation	Chinin Chinidin Cyclosporin A Verapamil
2. Generation	Dexverapamil PSC 833 (Valspodar)
3. Generation	Elacridar (GF120918) Tariquidar (XR9576) Zosuquidar (LY335979)

1.5 Bestimmung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2 und ABCB1

Um die inhibitorischen Eigenschaften der in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen, *in vitro*, gegenüber ABCG2 oder ABCB1 exprimierenden Zellen zu untersuchen wurden verschiedene fluoreszenzbasierte Assays eingesetzt. Allgemein wurden dabei Fluoreszenzfarbstoffe verwendet die ein Substrat des jeweiligen Transporters darstellen. Die inhibitorischen Eigenschaften einer Verbindung, gegenüber dem jeweiligen ABC-Transporter, konnten mit Hilfe der Änderung der Fluoreszenzintensität in Abhängigkeit von

der Inhibitorkonzentration detektiert werden. Die erhaltenen Werte der Fluoreszenzintensität wurden hierzu gegen die Konzentration des jeweiligen Inhibitors aufgetragen und man erhielt eine Konzentrations-Effekt-Kurve, aus der die halbmaximale inhibitorische Konzentration (IC_{50}) ermittelt werden konnte.

1.5.1 Hoechst 33342 Akkumulationsassay

Der Fluoreszenzfarbstoff Hoechst 33342 ist ein lipophiles Bisbenzimidazol-Derivat und ein Substrat von ABCG2 und ABCB1. In dieser Arbeit wurde der Hoechst 33342 Assay ausschließlich für die Charakterisierung der Hemmwirkung gegenüber ABCG2 verwendet. Die Intensität der Fluoreszenz dieser Verbindung ist abhängig von der Umgebung. Im Extrazellulärraum (wässrig) weist das Molekül nur eine schwache Fluoreszenz auf, wohingegen intrazellulär die Fluoreszenz erheblich ansteigt. Der Fluoreszenzanstieg ist mit der intrazellulären Interkalation in Adenin und Thymin reiche Sequenzen der DNA und der Einlagerung in die Phospholipiddoppelschicht der Zellmembran verbunden und folgt annähernd einer Kinetik erster Ordnung. Durch seine lipophilen Eigenschaften kann Hoechst 33342 passiv durch die Zellmembran diffundieren, bis sich ein Gleichgewicht zwischen der extra- und intrazellulären Konzentration eingestellt hat. Wenn Zellen die Transporter ABCG2 oder ABCB1 exprimieren wird der Fluoreszenzfarbstoff vermehrt aus der Zelle heraustransportiert, wodurch seine intrazelluläre Konzentration und somit die zelluläre Fluoreszenz abnimmt (Abbildung 1.6). Durch die Zugabe eines geeigneten Inhibitors wird der aktive Transport durch ABC-Transporter gehemmt und die zelluläre Fluoreszenz steigt mit der Inhibitorkonzentration an. Die Durchführung des Hoechst 33342 Assays ist in Kapitel 7.2.3.4 beschrieben [100–106].

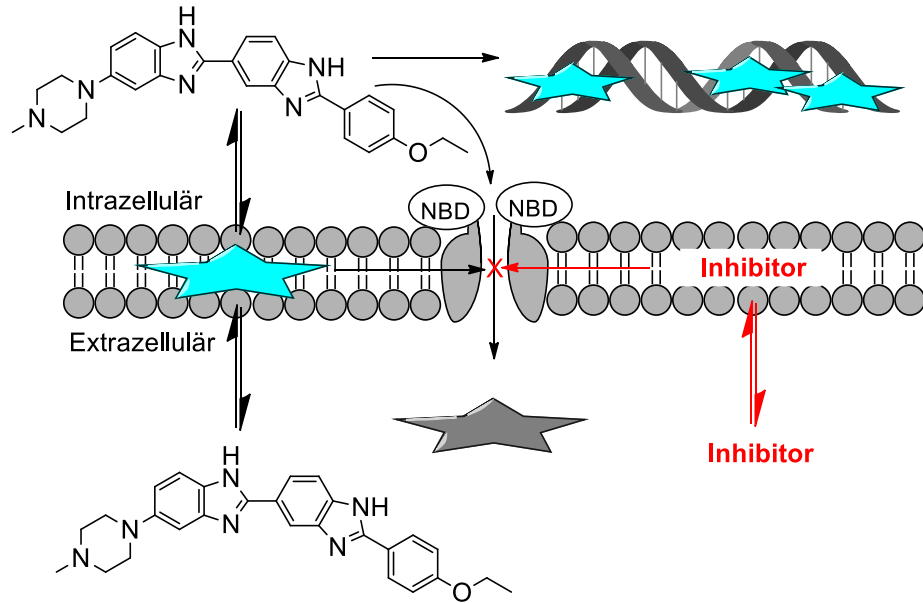


Abbildung 1.6: Schematische Darstellung des Hoechst 33342 Akkumulationsassays.

1.5.2 Pheophorbid A Akkumulationsassay

Der Fluoreszenzfarbstoff Pheophorbid A ist ein selektives Substrat von ABCG2. Das Porphyrin-Derivat stellt eine Zwischenstufe im Chlorophyllabbau von Pflanzen dar. Pheophorbid A kann passiv durch die Zellmembran diffundieren, wobei die intrazelluläre Anreicherung einer Kinetik erster Ordnung folgt. In ABCG2-exprimierenden Zellen kann die Verbindung aktiv aus der Zelle transportiert werden, wodurch die intrazelluläre Konzentration und somit die zelluläre Fluoreszenzintensität abnimmt. Durch die Zugabe eines geeigneten Inhibitors wird der aktive Transport durch ABCG2 gehemmt und die zelluläre Fluoreszenz steigt mit der Inhibitor-Konzentration an (Abbildung 1.7). Da das Molekül sowohl intrazellulär als auch extrazellulär angeregt werden kann, wird die zelluläre Fluoreszenz mittels der Durchflusszytometrie bestimmt (Kapitel 7.2.3.5.1). Die Durchführung des Pheophorbid A Assay ist im Kapitel 7.2.3.5 beschrieben [107,108].

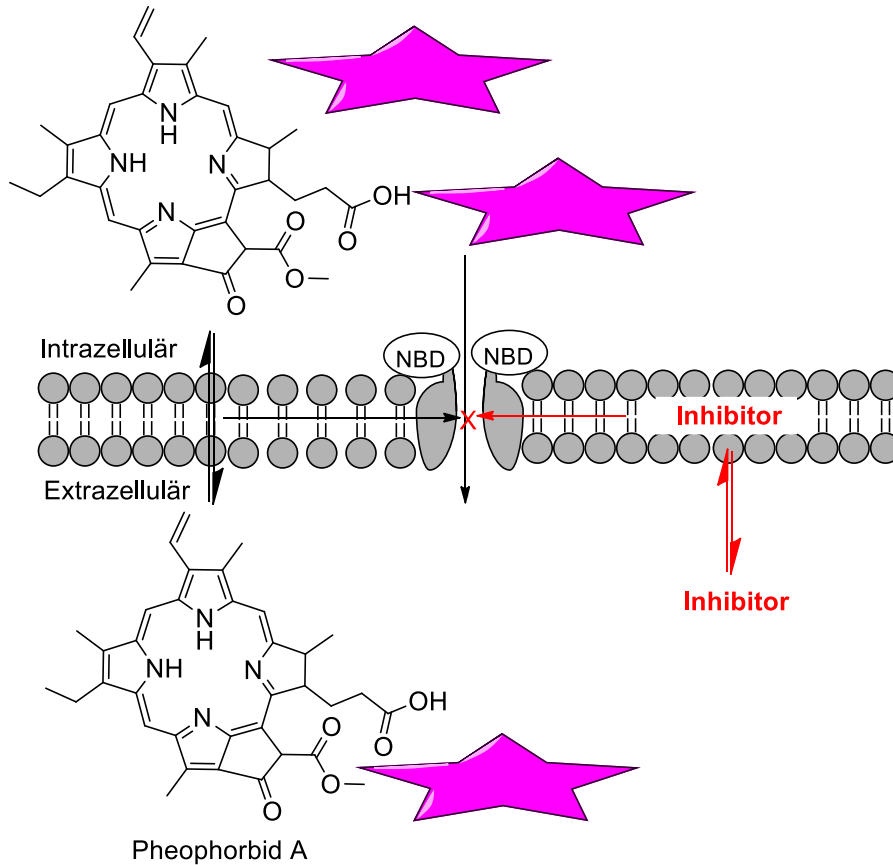


Abbildung 1.7: Schematische Darstellung des Pheophorbid A Akkumulationsassay

1.5.3 Calcein AM Akkumulationsassay

Calcein AM ist der nicht fluoreszierende Acetoxymethylester des Fluoreszenzfarbstoffes Calcein. Calcein AM kann passiv durch die Zellmembran diffundieren und wird intrazellulär, durch unspezifische Esterasen, zum fluoreszierenden Calcein gespalten. Das anionische Calcein kann nicht mehr frei durch die Membran diffundieren und reichert sich in der Zelle an. Calcein AM ist ein Substrat von ABCB1 und ABCC1, während das fluoreszierende Calcein nicht von ABCB1 transportiert werden kann. Von ABCC1 kann es hingegen mit einer deutlich geringen Affinität, als zu Calcein AM transportiert werden. In dieser Arbeit wurde der Calcein AM Assay ausschließlich für die Charakterisierung der Hemmung von ABCB1 verwendet. ABCB1 exprimierende Zellen können Calcein AM aktiv aus der Zelle transportieren und somit die intrazelluläre Bildung des fluoreszierenden Calcein senken, wodurch die zelluläre Fluoreszenzintensität abnimmt. Durch die Zugabe eines geeigneten Inhibitors wird der aktive Transport von Calcein AM durch

ABCB1 gehemmt und die zelluläre Fluoreszenz steigt an (Abbildung 1.8). Der anfängliche lineare Anstieg der Fluoreszenzintensität wird zur Auswertung herangezogen. Die Durchführung des Calcein AM Assay ist in Kapitel 7.2.3.6 beschrieben [109–114].

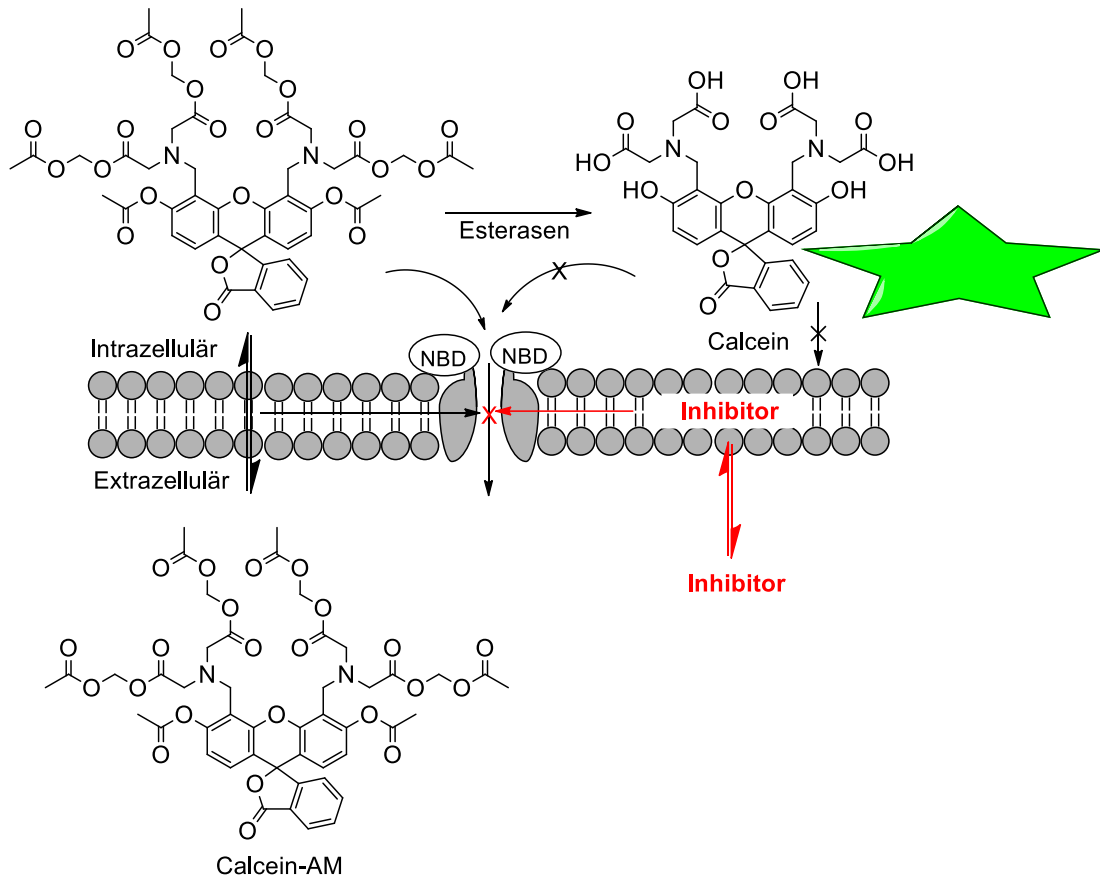


Abbildung 1.8: Schematische Darstellung des Calcein AM Akkumulationsassay.

2 Ziel der Arbeit

Aufgrund dessen, dass die Überexpression von ABCG2 eine Rolle bei der Entstehung der MDR von Krebszellen spielt wurde die Entwicklung potenter und selektiver ABCG2 Inhibitoren immer wichtiger. Ziel dieser Arbeit war daher die Entwicklung und Synthese neuer, selektiver Inhibitoren für ABCG2. Es sollten neue Chinazolin-, Chinolin- und Tetrahydro- β -carbolinderivate synthetisiert und auf ihre inhibitorischen Eigenschaften gegenüber ABCG2 untersucht werden.

Durch die Arbeit von Kapil Juvele wurde bereits eine Reihe von 2-Phenyl-4-Anilinchinazolinen, mit verschiedensten Substitutionsmustern, als potente und selektive ABCG2 Inhibitoren identifiziert. Um zu untersuchen welchen Einfluss die bis dahin konservierten Strukturbestandteile wie der Aminlinker an C4 und das Chinazolingrundgerüst auf die inhibitorische Aktivität haben, sollten verschiedene Modifikationen vorgenommen werden (1., 2.) [64,66,115]

1. Chinazolinderivate mit veränderter Linkerstruktur an C4 als ABCG2 Inhibitoren:

Um den Einfluss der Aminlinker Struktur auf die inhibitorische Aktivität zu untersuchen, sollte dieser durch andere Heteroatome ersetzt und der Einfluss auf die Hemmwirkung gegenüber ABCG2 bestimmt werden.

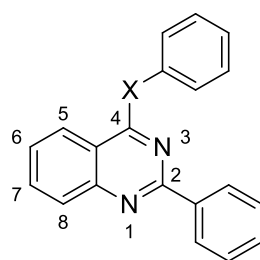
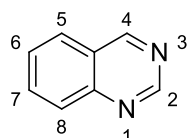


Abbildung 2.1: Grundgerüst der 2-Phenyl-4-X-phenylchinazoline.

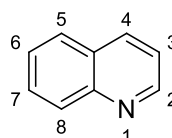
2. Chinolinderivate als ABCG2 Inhibitoren:

Um zu prüfen ob das Chinazolingerüst essentiell für die inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 ist, sollten Derivate mit einem leicht veränderten Grundgerüst synthetisiert werden. Das Chinolingerüst ist dem Chinazolin sehr ähnlich, weist dabei aber nur einen

Stickstoff im Ringsystem auf (Abbildung 2.2). Inwiefern sich das Fehlen des zweiten Stickstoffes im Ringsystem und die damit veränderten Eigenschaften auf die inhibitorische Aktivität auswirken, galt es zu untersuchen. Während der Entwicklung der Chinolinderivate ergaben sich weitere Modifikationsmöglichkeiten. Die dabei entstandenen Chinolin-Chalkon-Hybride und Chinolonderivate wurden ebenfalls auf ihre Hemmwirkung gegenüber ABCG2 untersucht.



Chinazolin

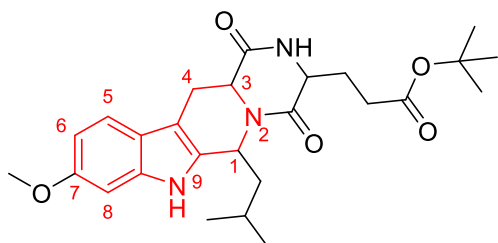


Chinolin

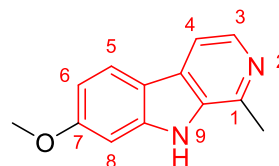
Abbildung 2.2: Grundgerüst von Chinazolin und Chinolin

Tetrahydro- β -carbolinderivate als ABCG2 Inhibitoren

Wie bereits in Kapitel 1.3.4 beschrieben ist Ko143 einer der bekanntesten und potentesten Inhibitoren von ABCG2. Das Alkaloid Harmin wurde ebenfalls als selektiver und potenter Inhibitor von ABCG2 beschrieben [58]. Beide Verbindungen leiten sich von einem gemeinsamen Grundgerüst, dem Pyrido[3,4-*b*]indol, ab (Trivialname: Tetrahydro- β -carbolin/ β -Carbolin). In dieser Arbeit sollten neue Verbindungen mit einem Pyrido[3,4-*b*]indol Grundgerüst synthetisiert und auf ihre inhibitorischen Eigenschaften gegenüber ABCG2 untersucht werden. Auf Grund der größeren Variationsmöglichkeiten wurde das Tetrahydro- β -carbolin Gerüst gewählt.



Ko143



Harmin

Abbildung 2.3: Struktur von Ko143 und Harmin; rot: Grundgerüst Tetrahydro- β -carbolin (links) und β -Carbolin (rechts).

3 Chinazolinderivate als ABCG2 Inhibitoren

Das Chinazolingerüst (Abbildung 2.2) kommt sowohl in der Natur als auch synthetisch in vielen Arzneistoffen, mit verschiedensten pharmakologischen Wirkungen, vor [116–124]. Als Beispiele für natürlich vorkommende Chinazolinalkaloide sind hier das Febri-fugin (toxisch, antimalaria Wirkung) [124,125] und das Tetrodotoxin (neurotoxisch) [124,126] zu nennen. Bei den synthetischen Arzneistoffen ist das Chinazolingerüst zum Beispiel in den Alphablockern Prazosin und Alfuzosin, dem Sedativum Methaqualon, dem oralen Antidiabetikum Linagliptin und in den Tyrosinkinaseinhibitoren (TKI) u.a. Gefitinib, Erlotinib und Lapatinib enthalten [124].

Da sich einige Verbindungen mit dem Chinazolingerüst auch als Modulatoren von ABC-Transportern erwiesen (Kapitel 1.3.4, 3.1) stellte diese Substanzklasse einen interessanten Ansatz für weitere Untersuchungen in unserer Arbeitsgruppe dar.

3.1 Chinazoline mit modulatorischen Eigenschaften gegenüber ABC-Transportern

Der Alphablocker Prazosin ist ein Substrat von ABCG2 und in geringen Maßen auch von ABCB1 [127,128]. Als fluoreszierendes BODIPY-Prazosin wird es für ABCG2 Transportstudien verwendet [129]. Einige Vertreter der Klasse der Tyrosinkinaseinhibitoren (TKI) sind sowohl Substrate als auch Inhibitoren von ABC-Transportern. Beispielsweise wurden die TKIs Lapatinib, Erlotinib und Gefitinib einerseits als Substrate beschrieben [130–132], während andere Arbeitsgruppen diese als Inhibitoren identifizierten [133–136]. Gefitinib, Erlotinib und weitere TKI's mit Chinazolinstruktur, darunter Tyrphostin AG 1478 und PD153035 wurden in unserer Arbeitsgruppe von Anne Pick als Inhibitoren von ABCG2 bestätigt (Strukturen siehe Abbildung 3.1) [137,138].

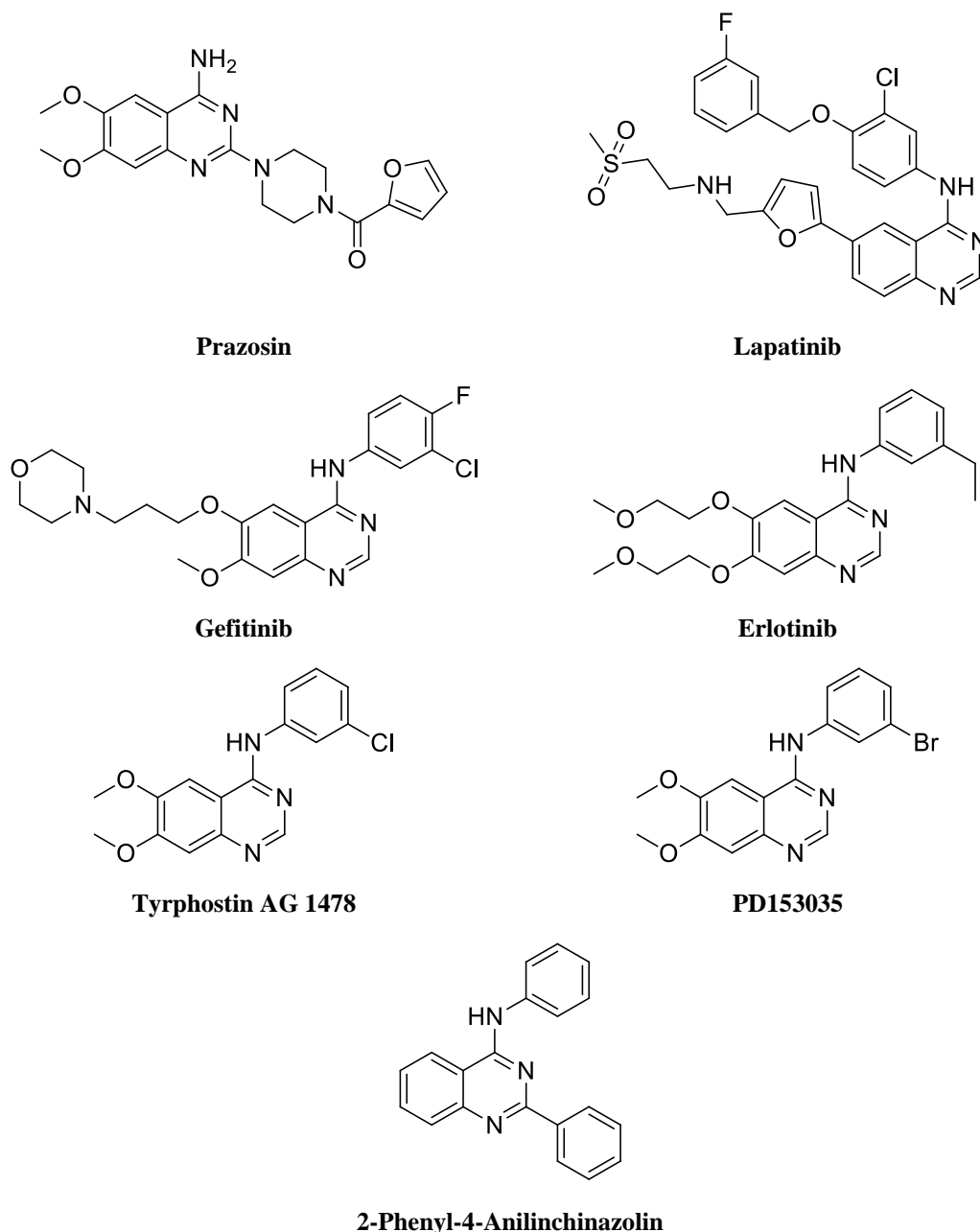


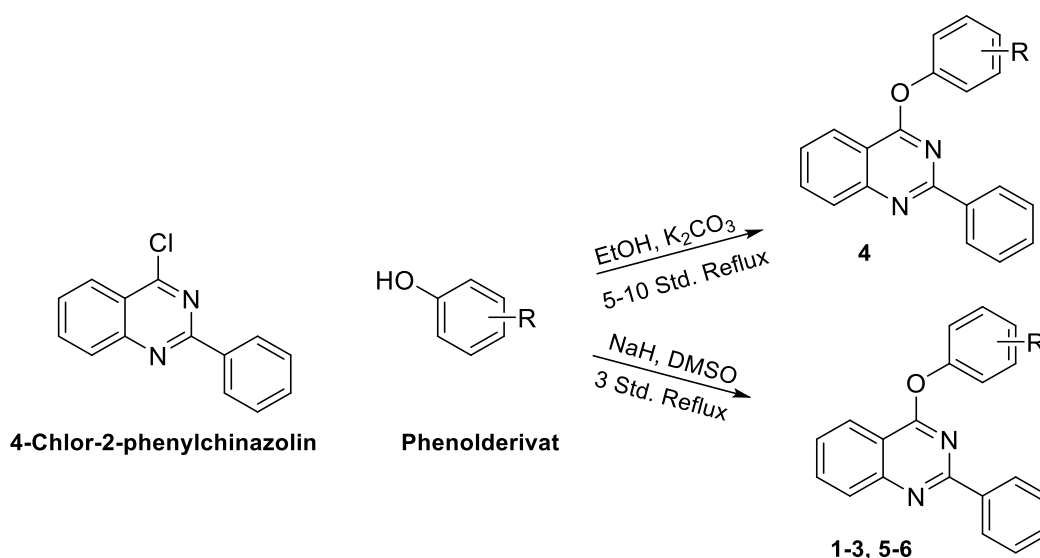
Abbildung 3.1: Strukturen von ABCG2-Modulatoren mit Chinazolingrundgerüst.

Später wurde in unserer Arbeitsgruppe von Kapil Juvale eine Reihe von sehr potenten Inhibitoren mit Chinazolin-körper synthetisiert und bezüglich ihrer inhibitorischen Eigenschaften gegenüber ABC-Transportern untersucht [64,66,115]. Die von Kapil Juvale synthetisierten 2-Phenyl-4-Anilinchinazoline (Abbildung 3.1) mit verschiedenen Substituenten an den Phenylringen zeigten eine gute inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2. Basierend auf diesen Ergebnissen war eine Variation des bis dahin konservierten Aminlinkers an C4 von großem Interesse. Um dessen Einfluss zu untersuchen wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit zunächst der Aminlinker durch Sauerstoff und nachfolgend

durch Schwefel ersetzt. Um zu prüfen, ob der Austausch des Linkers zu bioisosteren Molekülen führt wurden diese anschließend auf ihre inhibitorischen Eigenschaften gegenüber ABCG2 untersucht und mit den korrespondierenden 2-Phenyl-4-Anilinchinazolinen von Kapil Juvale verglichen.

3.2 Synthese der 4-Phenoxy-2-phenylchinazolinderivate

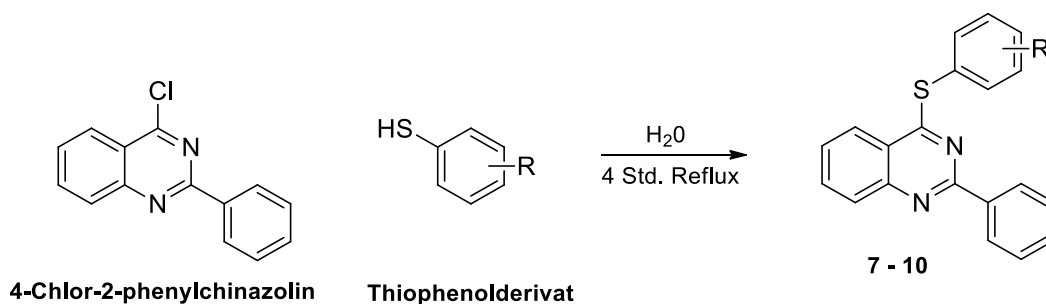
Bei der Synthese wurde 4-Chlor-2-phenylchinazolin mit dem entsprechenden Phenolderivat umgesetzt, siehe Schema 3.1. Die Umsetzung zum 2-Phenyl-4-phenoxychinazolin war aufgrund der geringeren Reaktivität der phenolischen Hydroxylgruppe nicht mit dem Syntheseweg der 2-Phenyl-4-anilinchinazolinen möglich (in Isopropanol unter Reflux) [64]. Die Variante das Phenolderivat mit dem 4-Chlor-2-phenylchinazolin in Ethanol mit Kaliumcarbonat als Base umzusetzen, führte nur bei einem Derivat zum gewünschten Produkt (Verbindung **4**). Weitere Synthesevarianten in wasserfreiem Methanol mit Natriummethanolat oder mit 20%iger NaOH und TBAB in Butanon verliefen ebenfalls negativ [139,140]. Die gewünschten Produkte (Verbindungen **1**, **2**, **3**, **5**, **6**) konnten erst durch die Umsetzung mit Natriumhydrid (60% in Mineralöl) in Dimethylsulfoxid erhalten werden [141].



Schema 3.1: Synthese der 4-Phenoxy-2-phenylchinazoline.

3.3 Synthese 4-Phenylthio-2-phenylchinazolinderivate

Bei der Synthese der 4-Phenylthio-2-phenylchinazolinderivate wurde das 4-Chlor-2-phenylchinazolin mit dem entsprechenden Thiophenolderivat in Wasser unter Reflux zu den gewünschten Produkten (Verbindungen **7-10**) umgesetzt, Schema 3.2 [142].



Schema 3.2: Synthese der 4-Phenylthio-2-phenylchinazoline.

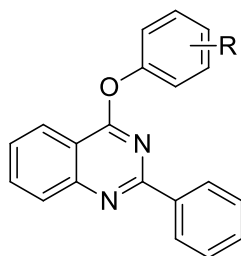
3.4 Ergebnisse und Diskussion der biologischen Testung der Chinazolinderivate

Die Verbindungen **1-10** wurden auf ihre inhibitorische Wirksamkeit gegenüber ABCG2 untersucht. Um eine mögliche Selektivität der Verbindungen festzustellen wurden diese hinsichtlich ihrer Aktivität gegenüber ABCB1 gescreent. Bei allen Assays wurden Konzentrationen bis 10 $\mu\text{mol/l}$ verwendet

3.4.1 Untersuchung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2

Alle Chinazolinderivate wurden im Hoechst 33342 Assay mit MDCK II BCRP Zellen untersucht. Als Standard wurde XR9577 verwendet. Die Funktion und Durchführung des Hoechst 33342 Assays sind in den Kapiteln 1.5.1 und 7.2.3.4 beschrieben. Die Stammlösung der Verbindung **2** musste in DMF hergestellt werden, da diese sich nicht vollständig in DMSO löste. Des Weiteren waren zwei Verbindungen schwerlöslich bei den niedrigen Verdünnungsstufen (**2**, **8**). Durch Erhitzen und zügiges Arbeiten bei der Herstellung der Verdünnungsreihen wurde versucht dieses Problem zu umgehen. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Tabelle 3.1 und Tabelle 3.2 dargestellt.

Tabelle 3.1: Inhibitorische Aktivität der 4-Phenoxy-2-phenylchinazoline gegenüber ABCG2 im Hoechst 33342 Akkumulationsassay mit MDCK II BCRP Zellen.



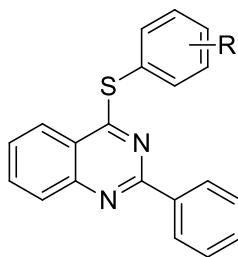
Verbindung	R	IC ₅₀ ± SD [μmol/l]*
1	H	14,5 ± 2,1
2**	4-NO ₂	k.A***
3	3-NO ₂	4,78 ± 1,62
4	4-Br	7,27 ± 2,08
5	3-Br	3,86 ± 0,94
6	3-CF ₃	0,989 ± 0,146
XR9577		0,704 ± 0,147

* M + SD (n ≥ 3)

** schwerlöslich

*** k.A.= keine inhibitorische Aktivität

Tabelle 3.2: Inhibitorische Aktivität der 4-Phenylthio-2-phenylchinazoline gegenüber ABCG2 im Hoechst 33342 Akkumulationsassay mit MDCK II BCRP Zellen.



Verbindung	R	IC ₅₀ ± SD [μmol/l]*
7	H	>>10
8**	3-Br	k.A***
9	3-CF ₃	14,8 ± 4,2
10	3-OCH ₃	7,40 ± 3,65
XR9577		0,704 ± 0,147

* M + SD (n ≥ 3)

** schwerlöslich

*** k.A.= keine inhibitorische Aktivität

Beim Vergleich der inhibitorischen Aktivitäten der Derivate mit Schwefel- und Sauerstofflinker wurde deutlich, dass der Sauerstoff einen besseren Einfluss auf die Hemmwirkung gegenüber ABCG2 aufwies. Bei beiden Klassen erhöhten die verschiedenen Substituenten die inhibitorische Wirksamkeit im Vergleich zum korrespondierenden unsubstituierten Derivat. Eine diesbezügliche Ausnahme stellten die Verbindungen **2** und **8** dar, deren Ergebnisse jedoch aufgrund der schlechten Löslichkeit beider Verbindungen nur bedingt aussagekräftig sind. Beim Vergleich der *meta*- und *para*-Substitution der Verbindungen **2**, **3**, **4** und **5** zeigte sich, dass die *meta*-Substitution einen besseren Effekt auf die inhibitorische Aktivität hatte. Verbindung **3** und **5** erwiesen sich als moderate (IC₅₀ ~ 5 μmol/l; 4 μmol/l) Inhibitoren und Verbindung **6** als potenter (IC₅₀ ~ 1 μmol/l) Inhibitor gegenüber ABCG2. Alle drei Verbindungen wiesen dabei einen Sauerstofflinker und eine *meta*-Substitution auf.

3.4.2 Screening der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCB1

Die Verbindungen **1-10** wurden gegenüber ABCB1 mit Hilfe des Calcein AM Assays und A2780 Adr Zellen, mit Konzentration bis 10 $\mu\text{mol/l}$, gescreent. Die Funktion und Durchführung des Assay sind in Kapitel 1.5.3 und 7.2.3.6 beschrieben. Cyclosporin A wurde als Standard verwendet. Die inhibitorische Aktivität der getesteten Verbindungen wurde prozentual, bezogen auf den Standard (100 %), angegeben.

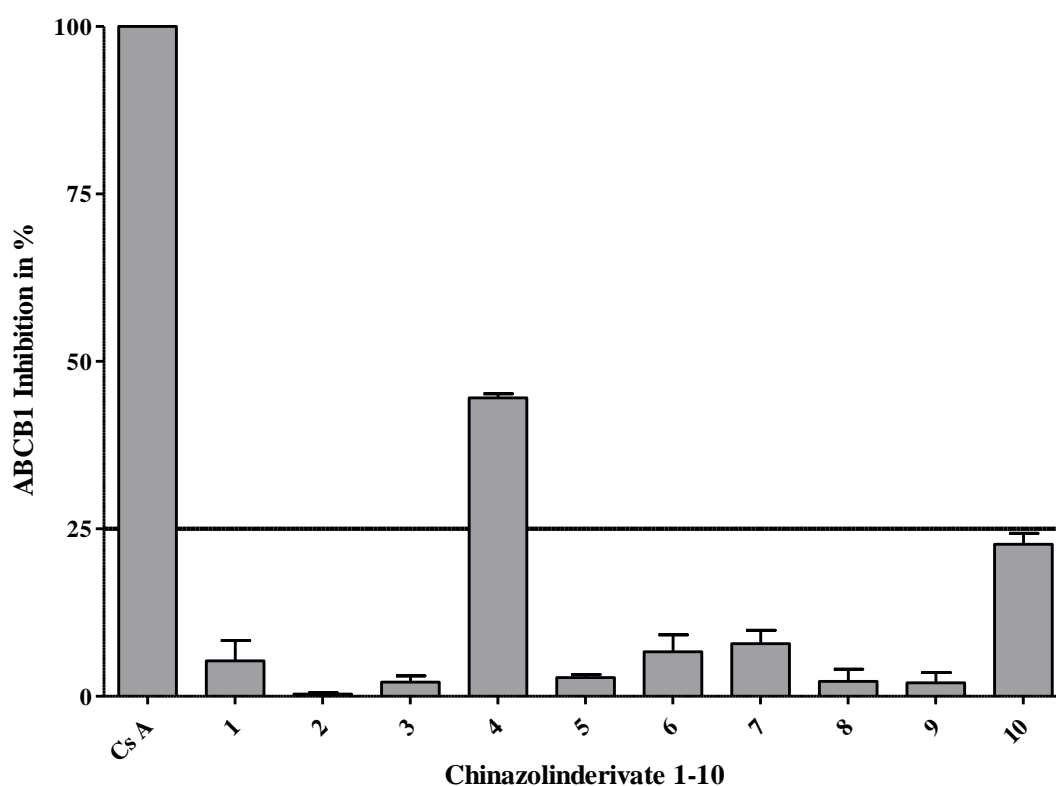


Abbildung 3.2: Effekt der Chinazolinderivate gegenüber ABCB1 (in Prozent, bezogen auf Cyclosporin A (Cs A) als Standard) bei 10 $\mu\text{mol/l}$, $n \geq 3$.

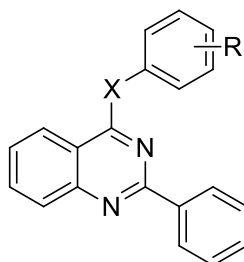
Im Screening zeigten alle Derivate, mit Ausnahme von Verbindung **4**, keinen signifikanten Effekt gegenüber ABCB1 (Abbildung 3.2). Wie im vorherigen Kapitel bereits beschrieben waren auch hier die Verbindungen **2** und **8** schwerlöslich. Die gegenüber ABCG2 potenteste Verbindung **6** und die moderat aktiven Verbindungen **3** und **5** zeigten sich als selektive Inhibitoren gegenüber ABCG2 (in Bezug auf ABCB1). Für Verbindung **4** wurde an ABCB1 anschließend eine IC_{50} von $13,1 \pm 0,9$ ($M \pm SD$, $n \geq 3$) bestimmt. Wie

bereits im Screening zu erkennen war erreichte die Verbindung **4** nicht den maximalen Effekt des Standards Cyclosporin A. Um eine Konzentrations-Effekt-Kurve zu erstellen, aus welcher der IC₅₀-Wert dann ermittelt werden konnte, musste der maximale Effekt der Verbindung auf den des Standards fixiert werden.

3.4.3 Vergleich der inhibitorischen Aktivität der Chinazolinderivate, mit Amin-, Sauerstoff- und Schwefellinker, gegenüber ABCG2

Die Hemmwirkung gegenüber ABCG2 der synthetisierten Verbindungen **1-10** wurden mit denen von Kapil Juvale synthetisierten Derivaten (Stickstofflinker an C4) [64,66] in Tabelle 3.3 verglichen.

Tabelle 3.3: Vergleich der inhibitorischen Aktivität der Chinazolin Derivate mit Amin^{*}-, Sauerstoff- und Schwefellinker.



R	X= -NH-*	X= -O-	X= -S-
	IC ₅₀ ± SD [μmol/l]**	IC ₅₀ ± SD [μmol/l]**	IC ₅₀ ± SD [μmol/l]**
H	2,57 ± 0,28*	14,5 ± 2,1	>>10
4-NO ₂	0,97 ± 0,24*	k.A***	---
3-NO ₂	0,13 ± 0,03*	4,78 ± 1,62	---
4-Br	6,83 ± 0,97*	7,27 ± 2,08	---
3-Br	0,57 ± 0,04*	3,86 ± 0,94	k.A***
3-CF ₃	0,25 ± 0,10*	0,989 ± 0,146	14,8 ± 4,2
3-OCH ₃	1,32 ± 0,10*	---	7,40 ± 3,65

* Daten übernommen von Kapil Juvale [64,66,115]

** M + SD (n ≥ 3)

*** k.a.= keine inhibitorische Aktivität

Der Austausch des Stickstoffs gegen einen Schwefellinker erwies sich dabei als besonders ungeeignet. Ein Austausch gegen Sauerstoff führte an dieser Stelle ebenfalls nicht zu bioisoteren Molekülen, da auch hier die inhibitorischen Eigenschaften im Vergleich zum Stickstofflinker schwächer ausgeprägt waren. Basierend auf diesen Ergebnissen konnte man davon ausgehen, dass der Linker an C4 wesentlich zur inhibitorischen Aktivität beiträgt. Da das Amin in dieser Position als Wasserstoffbrückendonator dient, während Schwefel und Sauerstoff eine Akzeptorfunktion besitzen, könnte dies bei der Wechselwirkung mit dem Protein eine Rolle spielen. Aufgrund, dass die Hemmwirkung gegenüber ABCG2 durch den Austausch des Linkers abnahm wurde von der Synthese weiterer Derivate abgesehen.

4 Chinolinderivate als ABCG2 Inhibitoren

4.1 Chinoline

Da verschiedene Substanzen mit Chinolingrundgerüst eine Affinität gegenüber ABC-Transportern aufwiesen lag ein weiterer interessanter Ansatz darin zu untersuchen, wie ein Austausch des Chinazolingerüsts gegen einen Chinolingerüst (Abbildung 2.2) die inhibitorischen Eigenschaften gegenüber ABCG2 beeinflusst. Das Chinolinringsystem besitzt dabei nur einen Stickstoff in Position 1. Es wurden verschiedene Derivate mit einem Chinolingrundkörper synthetisiert und auf ihre inhibitorischen Eigenschaften gegenüber ABCG2 untersucht.

4.1.1 Chinoline mit modulatorischen Eigenschaften gegenüber ABC-Transportern

Zur Stoffklasse der Chinoline gehört unter anderem der bekannte antimalaria Naturstoff Chinin, welcher als Inhibitor und als Substrat von ABCB1 beschrieben wurde [69,143–145]. Das synthetische Malariamittel Chloroquin leitet sich strukturell vom Chinin ab und wurde ebenfalls ein ABCB1 Modulator beschrieben. Für beide Verbindungen wurde auch eine inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 festgestellt (bei Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$) [146] (Strukturen siehe Abbildung 4.1).

Die antibiotisch wirksamen Fluorchinolone Ciprofloxacin, Ofloxacin und Norfloxacin (Abbildung 4.1) werden von ABCG2 transportiert und stellen somit Substrate dar. ABCG2 hat dadurch einen Einfluss auf die Wirksamkeit und Verteilung der Fluorchinolone im menschlichen Körper [46,147].

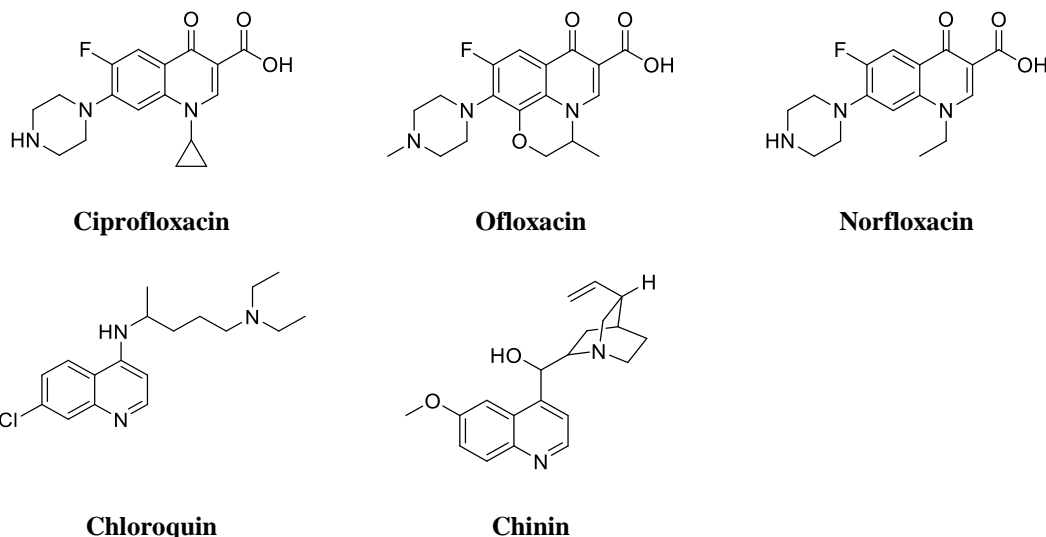


Abbildung 4.1: Strukturen der Fluorchinolon Antibiotika und der Chinolinderivate Chloroquin und Chinin.

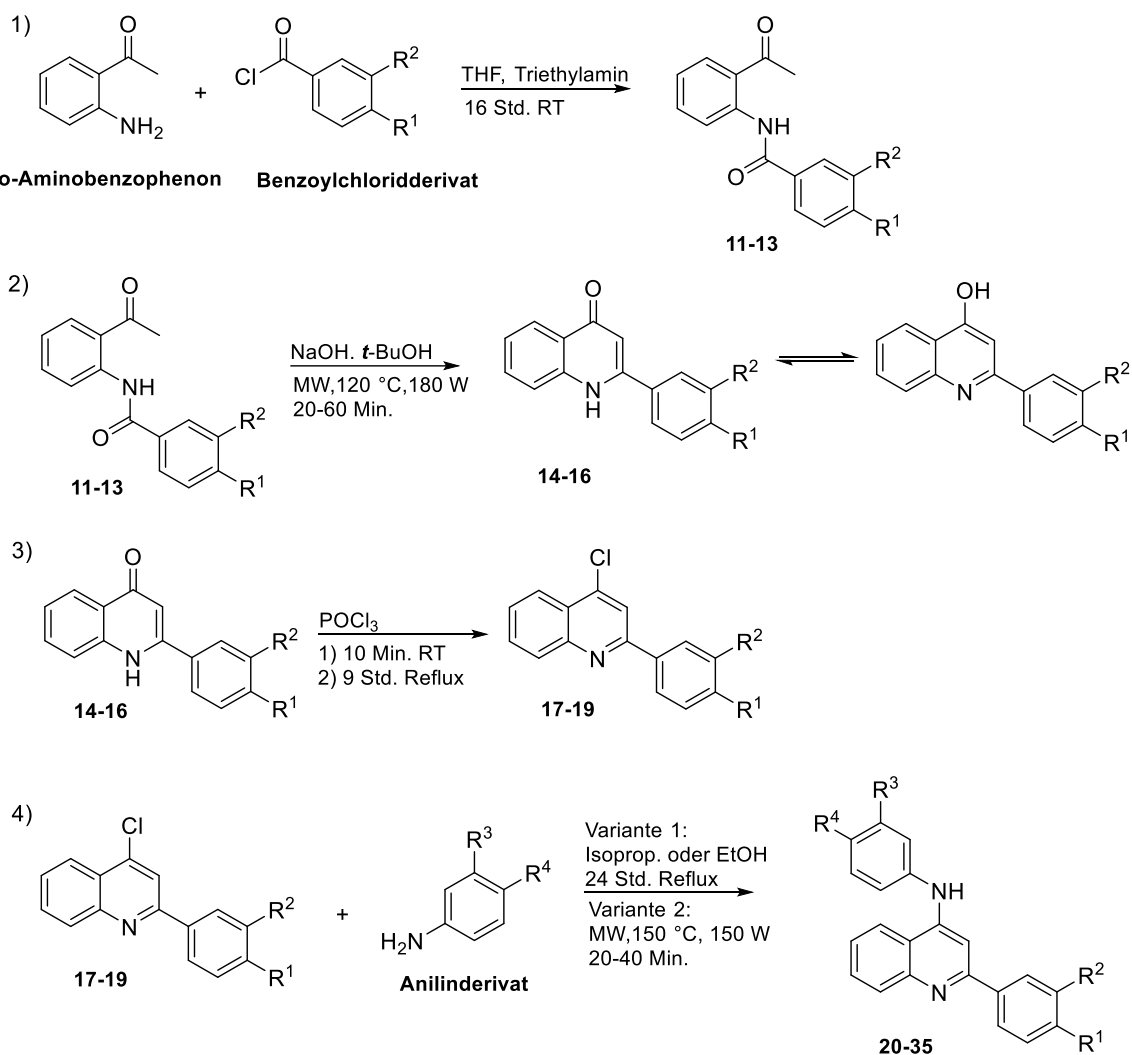
Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden 16 Derivate von *N*,2-Diphenylchinolin-4-aminen synthetisiert und auf ihre inhibitorische Wirkung und Selektivität gegenüber ABCG2 untersucht. Auch hier wurde ein Vergleich zu den Chinazolinderivaten von Kapil Juvele gezogen [64,66,115]. Um die inhibitorischen Eigenschaften der Chinolinderivate mit denen der Chinazolinderivate besser vergleichen zu können, wurden ähnliche Substitutionsmuster gewählt [64,66]. Bei der Synthese wurden 2-Phenylchinolin-4-enderivate als Zwischenprodukte erhalten die eine strukturelle Ähnlichkeit zu Flavonen aufwiesen, welche bereits zuvor in unserer Arbeitsgruppe als ABCG2 Inhibitoren untersucht wurden [62,115]. Das Flavon- und das Chinolongerüst unterscheiden sich nur durch ihr Heteroatom im Ringsystem (Sauerstoff bzw. Stickstoff). Aufgrund dieser Ähnlichkeit wurden die 2-Phenylchinolin-4-enderivate ebenfalls auf ihre inhibitorischen Eigenschaften gegenüber ABCG2 untersucht (Kapitel 4.3).

4.1.2 Synthese der *N*,2-Diphenylchinolin-4-amine

Die Herstellung der *N*,2-Diphenylchinolin-4-amine erfolgte über eine 4 Stufen Synthese (Schema 4.1). Im ersten Schritt wurde das *ortho*-Aminobenzophenon mit Triethylamin und dem entsprechenden Benzoylchloridderivat zu einem Benzamid umgesetzt [148]. Die

entstandenen Benzamidderivate (**11-13**) wurde dann weiter, mittels einer basenkatalysierten Camps Zyklisierung (Chinolinsynthese), mit NaOH in *tert*-Butanol in der Mikrowelle zu den entsprechenden 2-Phenylchinolin-4-nderivaten (**14-16**) zyklisiert [149]. Wie im Syntheschema aufgeführt war bei den 2-Phenylchinolin-4-nderivaten (**14-16**) eine Keto-Enol Tautomerie möglich. Welches der beiden Tautomere bevorzugt vorliegt wurde auch in der Literatur mehrfach diskutiert. Nach Jones *et al.* liegt die Ketoform bevorzugt vor [150]. Nach Reitsema deuten die physikalischen Untersuchungen auf die Ketoform hin, während einige chemische Reaktionen die Phenolform bestätigten [151]. Nach Ewing und Steck wurde beim 4-Chinolon mit chemischen Nachweisen vor allem die phenolische Form identifiziert, während das 2-Methyl-4-chinolon nur bei einigen chemischen Nachweisen auf die phenolische Struktur hinwies [152]. Anhand der NMR Daten (aufgenommen in DMSO-*d*₆) lag bei den Verbindungen **14**, **15** und **16** vermutlich die Ketoform vor (Hinweis: chemische Verschiebung des -NH- Wasserstoffes im H-NMR bei 11-12) [153]. Die FTIR Daten, siehe Anhang, dieser Verbindungen (vermessen als Feststoff) deuteten ebenfalls auf die Ketoform hin, da keine OH-Valenzschwingung in den Spektren zu sehen war (charakteristisch: OH-Valenzschwingung bei ~3200-3650 cm⁻¹). Nach Literatur sollte für die 4-Pyridon Struktur eine NH-Valenzschwingung bei ~2840 ~ 3260 cm⁻¹ und eine Carbonyl-Valenzschwingung bei ~1633 cm⁻¹ charakteristisch sein [153,154]. Bei allen drei Verbindungen sind die NH- und die Carbonyl-Valenzschwingungen im Spektrum zu sehen. Die Intensität der Carbonyl-Valenzschwingung war allerdings nicht so stark ausgeprägt wie erwartet. Welche Form bevorzugt vorliegt konnte daher nicht eindeutig geklärt werden.

Die Chlorierung der 2-Phenylchinolin-4-one zu den 2-Phenyl-4-chlorchinolinen (**17-19**) erfolgte mit Phosphorylchlorid [64]. Im letzten Schritt wurde das 2-Phenyl-4-chlorchinolinderivat mit dem entsprechenden Anilin zum *N*,2-Diphenylchinolin-4-aminderivat substituiert (**20-35**). Die Substitution mit den verschiedenen Anilinderivaten erfolgte anfangs unter 24 stündigem refluxieren in Isopropanol oder absolutem Ethanol und wurde dann durch eine sehr viel schneller ablaufende Mikrowellensynthese ohne Lösungsmittel ersetzt [64,155]. Da alle *N*,2-Diphenylchinolin-4-amine nach der Aufarbeitung als Hydrochloride vorlagen (ein Singulett im H-NMR, $\delta \sim 14,5$) wurden diese, je nach Löslichkeit, entweder in Dichlormethan gelöst und mit 1 mol/l wässriger NaOH ausgeschüttelt oder mit 0,5 mol/l ethanolischer NaOH umkristallisiert. Die gegenüber dem 2-Phenylchinolin-4-onen erhöhte Basizität des Chinolinstickstoffes der Endstufen (**20-35**) ist auf die phenyloge Amidinpartialstruktur zurückzuführen [156].



Schema 4.1: Synthese der N,2-Diphenylchinolin-4-amin Derivate

4.1.3 Ergebnisse und Diskussion der biologischen Testung der N,2-Diphenylchinolin-4-amine

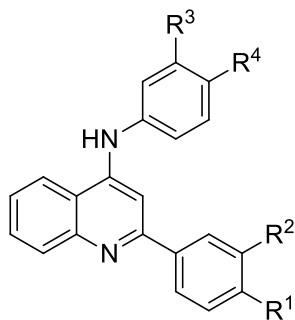
Die Verbindungen **20-35** wurden im Hoechst 33342 Assay mit MDCK II BCRP Zellen auf ihre inhibitorische Wirksamkeit gegenüber ABCG2 untersucht. Um festzustellen, ob die inhibitorische Aktivität ggf. substratspezifisch ist wurden die Substanzen auch im Pheophorbid A Assay vermessen. Die Ergebnisse des Pheophorbid A Assays werden im Kapitel 4.1.3.2 näher diskutiert. Um die Selektivität der Verbindungen zu untersuchen wurden diese im Calcein AM Assay mit A2780 Adr Zellen auf ihre Aktivität gegenüber ABCB1 gescreent. Bei allen Assays wurden Konzentrationen bis 10 $\mu\text{mol/l}$ verwendet.

4.1.3.1 Untersuchung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2 mit dem Hoechst 33342 Assay

Die Funktion und Durchführung des Hoechst 33342 Assay sind in den Kapiteln 1.5.1 und 7.2.3 beschrieben. Die Ergebnisse wurden in Tabelle 4.1 zusammengefasst. Als Standard wurde XR9577 verwendet.

Das *N*,2-Diphenylchinolin-4-aminderivat **20**, welches keine weiteren Substituenten an R¹ - R⁴ trägt, hatte eine inhibitorische Aktivität mit einem IC₅₀ von 2,09 µmol/l, gegenüber ABCG2. Die Substitution des Anilinringes (R³ und R⁴) in *meta*-Position mit Brom- (**22**) oder Cyano- (**24**) sowie in *meta*- und *para*-Position mit Methoxygruppen (**23**) erhöhte diese inhibitorische Aktivität (IC₅₀ ~ 1 µmol/l), während ein Chlor in *meta*-Position (**21**) keinen Einfluss zeigte. Die Substitution mit *meta*-Trifluormethyl (**26**), *meta*-Nitro (**27**) oder mit *meta*-Chlor und *para*-Fluor (**25**) reduzierten hingegen die inhibitorische Wirksamkeit im Vergleich zum unsubstituierten Derivat. Die Substitution des zweiten Phenylringes (R¹ und R²) mit einer Methoxygruppe in *para* oder 3,4-Dimethoxygruppen führte zu einer erheblichen Veränderung der inhibitorischen Eigenschaften. Eine einzelne *para*-Methoxygruppe führte, verglichen mit den an R¹ unsubstituierten Derivaten, zu einer starken Abnahme der Hemmwirkung (**28-31**). Die Substitution mit 3,4-Dimethoxy an R¹ und R² hingegen erhöhte, im Vergleich zu den unsubstituierten Derivaten, die inhibitorische Aktivität bei zwei Verbindungen (**34, 35**). Im Falle der Verbindung **33** besaß dieses Substitutionsmuster jedoch keinen Einfluss, während die Aktivität der Verbindung **32** die bereits am Anilinring zwei Methoxygruppen (R³, R⁴) aufwies, stark herabgesetzt wurde. Dieser starke Einfluss der Methoxygruppen an R¹ und R² war bei den von Kapil Juvele synthetisierten 2-Phenyl-4-Anilinchinazolin nicht zu beobachten [64,66].

Tabelle 4.1: Inhibitorische Aktivität der N,2-diphenylchinolin-4-amine an ABCG2 im Hoechst 33342 Akkumulationsassay mit MDCK II BCRP Zellen

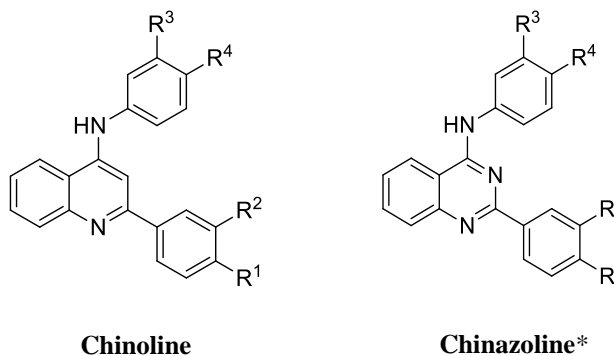


Verbindung	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Hoechst 33342 Assay
					IC ₅₀ ± SD [μmol/l]*
20	-H	-H	-H	-H	2,09 ± 0,30
21	-H	-H	-Cl	-H	1,99 ± 0,38
22	-H	-H	-Br	-H	1,31 ± 0,16
23	-H	-H	-OCH ₃	-OCH ₃	1,07 ± 0,28
24	-H	-H	-CN	-H	0,969 ± 0,195
25	-H	-H	-Cl	-F	4,36 ± 0,49
26	-H	-H	-CF ₃	-H	6,01 ± 0,56
27	-H	-H	-NO ₂	-H	9,12 ± 2,85
28	-OCH ₃	-H	-OCH ₃	-OCH ₃	>>10
29	-OCH ₃	-H	-CN	-H	7,62 ± 2,23
30	-OCH ₃	-H	-CF ₃	-H	8,30 ± 3,56
31	-OCH ₃	-H	-NO ₂	-H	>>10
32	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃	>>10
33	-OCH ₃	-OCH ₃	-CN	-H	0,896 ± 0,144
34	-OCH ₃	-OCH ₃	-Cl	-F	0,992 ± 0,165
35	-OCH ₃	-OCH ₃	-CF ₃	-H	1,58 ± 0,14
XR9577					0,704 ± 0,147

* M + SD (n ≥ 3)

In Tabelle 4.2 wurden die Aktivitätsdaten der im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Chinoline denen der korrespondierenden Chinazoline von K. Juvale gegenübergestellt. Das unsubstituierte *N*,2-Diphenylchinolin-4-amin sowie das mit einem Chlorsubstituenten an R³ wiesen vergleichbare IC₅₀-Werte zu den entsprechenden Chinazolinderivaten von Kapil Juvale auf. Alle weiteren Chinolinderivate zeigten allerdings eine schwächere inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2, im Vergleich zu den korrespondierenden Chinazolinderivaten.

Tabelle 4.2: Vergleich der inhibitorischen Aktivität im Hoechst 33342 Assay (IC₅₀ Werte als M; n ≥ 3) der synthetisierten Chinolinderivate und den korrespondierenden Chinazolinderivaten von Kapil Juvale.



	IC ₅₀ [μmol/l]				
	R ¹ = -H R ² = -H	R ¹ = -OCH ₃ R ² = -H	R ¹ = -OCH ₃ R ² = -OCH ₃	R ¹ = -H R ² = -H	R ¹ = -OCH ₃ R ² = -OCH ₃
R ³ = -H, R ⁴ = -H	2,09	---	---	2,57*	1,99*
R ³ = -Cl, R ⁴ = H	1,99	---	---	1,93*	---
R ³ = -Br, R ⁴ = -H	1,31	---	---	0,57*	0,29*
R ³ = -OCH ₃ , R ⁴ = -OCH ₃	1,07	>>10	>>10	0,19*	0,42*
R ³ = -CN, R ⁴ = -H	0,969	7,62	0,896	0,14*	0,19*
R ³ = -Cl, R ⁴ = -F	4,36	---	0,992	1,66*	---
R ³ = -CF ₃ , R ⁴ = H	6,01	8,30	1,58	0,25*	0,30*
R ³ = -NO ₂ , R ⁴ = -H	9,12	>>10	---	0,13*	0,076*

*Daten übernommen von Kapil Juvale [64,66,115]

Anhand dieser Ergebnisse konnte gezeigt werden, dass der zusätzliche Stickstoff in Position 3 des Chinazolingrundgerüsts ebenfalls einen wesentlichen Einfluss auf die inhi-

bitorische Aktivität hat. Die Begründung könnte in der Veränderung der physikochemischen Eigenschaften wie der erhöhte Basizität des Stickstoffs in Pos. 1 der Chinolinderivate sowie die zusätzliche Wasserstoffbrückenakzeptor Funktion des Stickstoffes in Position 3 des Chinazolingerüst liegen.

Insgesamt konnte im Rahmen dieser Arbeit dennoch eine Reihe potenter Inhibitoren mit Chinolingrundstruktur erhalten werden, deren Aktivität durch das Substitutionsmuster an den beiden Phenylresten maßgeblich beeinflusst wurde. Die vier aktivsten Verbindungen (**23**, **24**, **33**, **34**) zeigten dabei eine IC_{50} von etwa 1 $\mu\text{mol/l}$.

4.1.3.2 Untersuchung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2 mit dem Pheophorbid A Assay

Um zu untersuchen ob der inhibitorische Effekt gegenüber ABCG2 substratspezifisch ist, wurden die *N*,2-Diphenylchinolin-4-amine zusätzlich im Pheophorbid A Assay unter Verwendung von MDCK II BCRP Zellen vermessen. Die Funktion und Durchführung des Assay ist in den Kapiteln 1.5.2 und 7.2.3.5 beschrieben. Eine Auswertung dieser Versuche erwies sich jedoch als schwierig, da die Verbindungen kein Plateau in der Konzentrations-Effekt-Kurve erreichten und die maximalen Fluoreszenzwerte über die des Standards XR9577 hinausgingen. Des Weiteren zeigten auch die MDCK II Wildtyp Zellen einen Anstieg der Fluoreszenzwerte bei höheren Konzentrationen des Inhibitors, obwohl diese kein ABCG2 exprimieren. Ein Anstieg der Fluoreszenzwerte der MDCK II Wildtyp Zellen konnte bei dem verwendeten Standard XR9577 nicht beobachtet werden. Als Beispiel sind in Abbildung 4.2 exemplarische Konzentrations-Effekt Kurven der Verbindung **23** und des Standards XR9577 dargestellt. Da diese Effekte bei der biologischen Untersuchung der Verbindungen im Hoechst 33342 Assay nicht auftraten wurde entweder eine Eigenfluoreszenz der Verbindungen bei der verwendeten Wellenlänge oder eine Wechselwirkung mit Pheophorbid A vermutet.

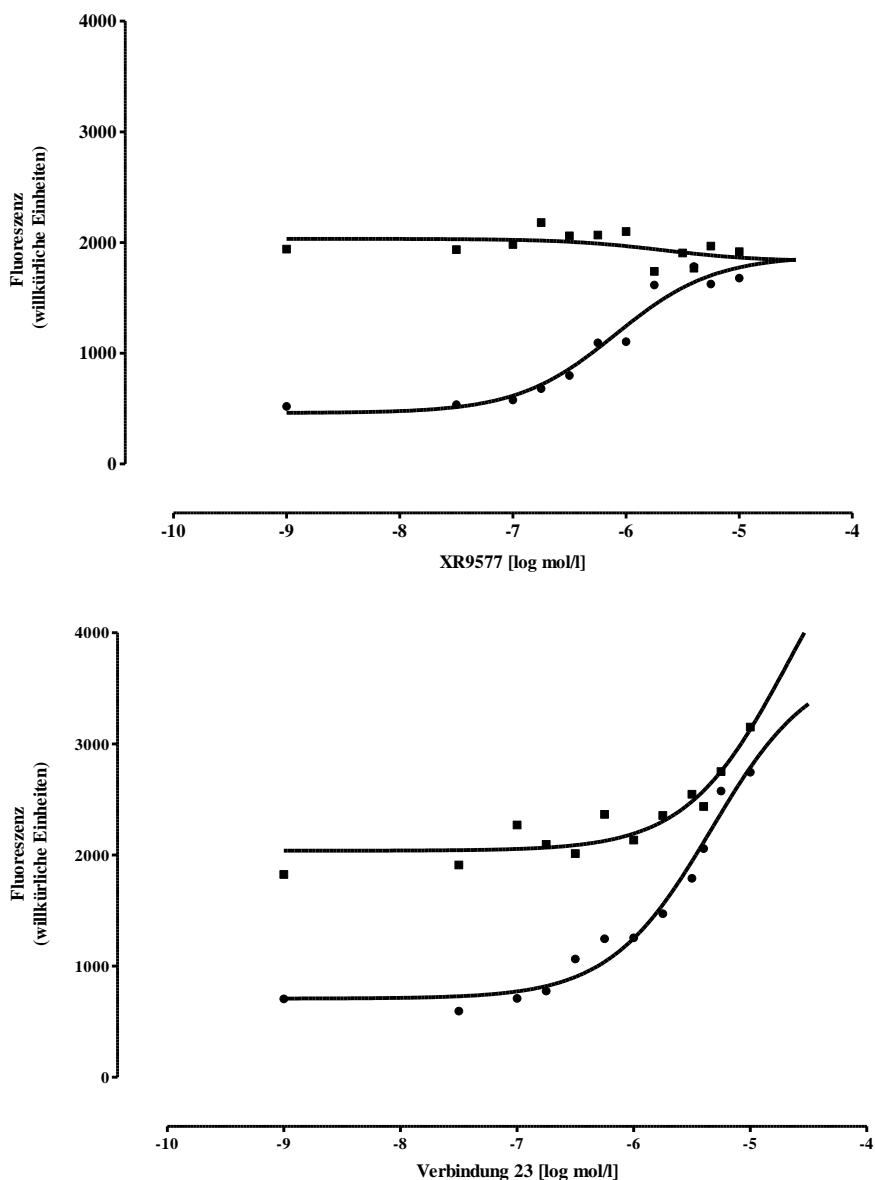


Abbildung 4.2: Konzentrations-Effekt-Kurven von XR9577 als Standard (oben) und Verbindung 23 (unten) im Pheophorbid A Assay mit MDCK II BCRP (●) und Wildtyp (■) Zellen

Eine Eigenfluoreszenz der Verbindungen bei der verwendeten Wellenlänge konnte ausgeschlossen werden, indem der Assay in Abwesenheit von Pheophorbid A wiederholt wurde. Eine Wechselwirkung der Verbindungen mit Pheophorbid A könnte den passiven Ein- und Ausstrom des Fluoreszenzfarbstoffes behindern und somit zu einer vermehrten Anreicherung in der Zelle führen. Bei näherer Betrachtung des Moleküls Pheophorbid A (Abbildung 4.4) fiel die Säurefunktion auf, welche gegebenenfalls mit dem basischen Stickstoff des Chinolinringes der Verbindungen interagieren könnte. Daher wurden zu-

sätzlich strukturell ähnliche Wirkstoffe, die ebenfalls einen basischen Stickstoff im Molekül tragen, im Pheophorbid A Assay untersucht. Die Wahl fiel dabei auf die in Kapitel 4.1.1 beschriebenen Chinolinderivate Chloroquin und Chinin (Abbildung 4.1). Chloroquin besitzt zwei basische Stickstoffe, wovon sich einer ebenfalls im Chinolinring befindet. Im Falle des Chinins ist der basische Stickstoff im Chinuclidin Ring lokalisiert. Der Chinolin Stickstoff des Chinins besitzt hingegen aufgrund der fehlenden phenylogenen Amidstruktur keine starke Basizität (pKs Wert bei 4,2) [156].

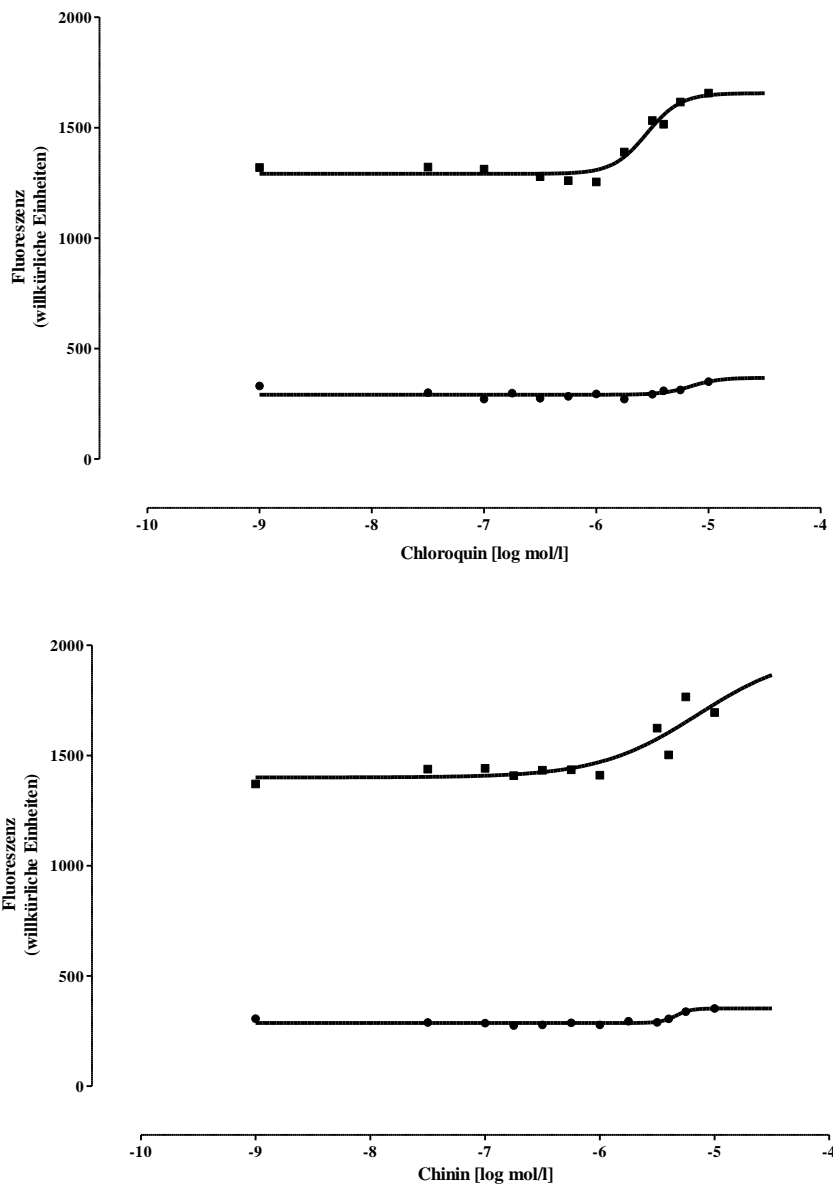


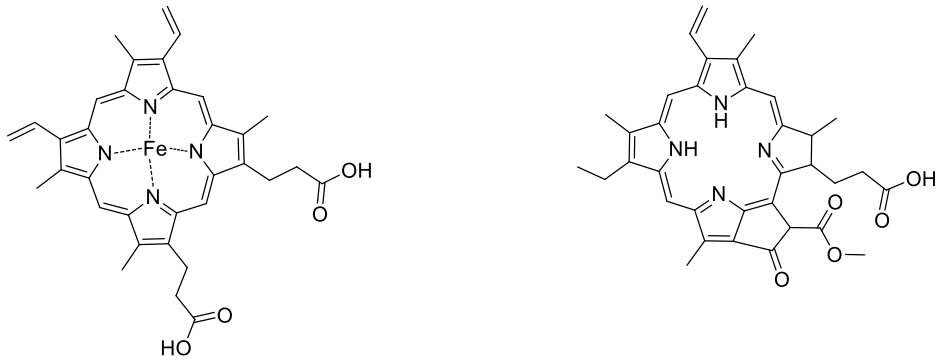
Abbildung 4.3: Konzentrations-Effekt-Kurven von Chloroquindiphosphat (oben) und Chinin (unten) im Pheophorbid A Assay mit MDCK II BCRP (●) und Wildtyp (■) Zellen

Beide Substanzen zeigten im Pheophorbid A Assay einen ähnlichen Effekt auf die MDCK Wildtyp Zellen wie die *N*,2-Diphenylchinolin-4-amine (Abbildung 4.3). Von einer inhibitorischen Wirkung an ABCG2 war, basierend auf Literaturdaten, bei den Konzentrationen bis maximal 10 $\mu\text{mol/l}$ nicht auszugehen [146]. Diese Vermutung bestätigte sich auch im Versuch, da es zu keinem signifikanten Anstieg der Fluoreszenzwerte der MDCK II BCRP Zellen kam.

Einen möglichen Ansatz zur Erklärung des oben beschriebenen Phänomens liefert der Wirkmechanismus von Chinin und Chloroquin bei der Therapie der Malaria. Der Malariaerreger spaltet in den befallenen Erythrozyten das Hämoglobin, wobei das toxische und lösliche Abbauprodukt Ferriprotoporphyrin IX (FPIX) entsteht. Dieses kann durch den Erreger über die Bildung von Dimeren und Polymerisierung entgiftet werden und fällt als unlösliches, kristallines Hämozoin aus. Man geht davon aus, dass Chloroquin das FPIX komplexiert und dadurch die Bildung des Hämozoin und somit die Entgiftung durch die Plasmodien verhindert [157–161].

Bei der Betrachtung der Struktur des FPIX fiel die enorme strukturelle Ähnlichkeit zu Pheophorbid A auf (Abbildung 4.4). Protoporphyrin IX stellt ebenfalls ein Substrat von ABCG2 dar [43]. Aufgrund der ebenso strukturellen Ähnlichkeit der *N*,2-Diphenylchinolin-4-amine zu Chloroquin könnte eine Komplexbildung zwischen den Verbindungen und Pheophorbid A als Ursache in Betracht gezogen werden. Durch eine Komplexbildung würde der passive Ausstrom des Fluoreszenzfarbstoffes aus der Zelle behindert werden, was eine erhöhte Anreicherung in der Zelle zur Folge hätte. Die Recherche nach der Art und Struktur des Chloroquin-FPIX Komplexes zeigte, dass die genauen Wechselwirkungen zwischen Chloroquin und FPIX (π - π -Wechselwirkungen, Säure-Base Interaktion) sowie die Stöchiometrie der Reaktion nur schwer zu erfassen sind, sodass in der Literatur unterschiedliche Hypothesen publiziert wurden [158,160–167].

Eine praktikable Methode zum Nachweis des Komplexes wurde von Ncokazi *et al.* beschrieben [168]. Dabei wurde, *in vitro*, die Bildung von synthetischem Hämozoin (β -Hämatin) gehemmt und diese Inhibition durch Bildung eines roten Komplexes visuell und spektroskopisch erfasst. Mittels einer von Sandra Vargas (Universität Genf) modifizierten Methode sollte eine mögliche Interaktion der Chinoline mit Pheophorbid A untersucht werden. Die gleiche Methode wurde auch bereits in der Dissertation von R. O. Brunner beschrieben, der neben der spektroskopischen Auswertung auch die visuelle Auswertung beschrieb [169]. Die erhaltenen Ergebnisse werden im nachfolgenden Kapitel diskutiert.

**Ferriprotoporphyrin IX****Pheophorbid A***Abbildung 4.4: Struktur von FPIX und Pheophorbid A*

4.1.3.3 Inhibition der β -Hämatin Bildung

Die Durchführung des Assay nach der von Sandra Vargas modifizierte Methode ist in Kapitel 7.2.3.9 beschrieben [170].

4.1.3.3.1 Prinzip des Assays

In vitro kann die Bildung von β -Hämatin (synthetisches Hämозoin) aus Hämatin durch die Inkubation mit einer Acetat-Pufferlösung bei 60 °C herbeigeführt werden. Arzneistoffe wie z.B. Chloroquin hemmen die Bildung des β -Hämatins unter diesen Bedingungen. Nicht umgesetztes Hämatin kann anschließend mit Pyridin, durch die Bildung eines roten Komplexes (Pyridin-Ferrohämochrom-Komplex), nachgewiesen werden. Das gebildete β -Hämatin kann dabei keinen farbigen Komplex mit Pyridin bilden, siehe Abbildung 4.5 [168,170].

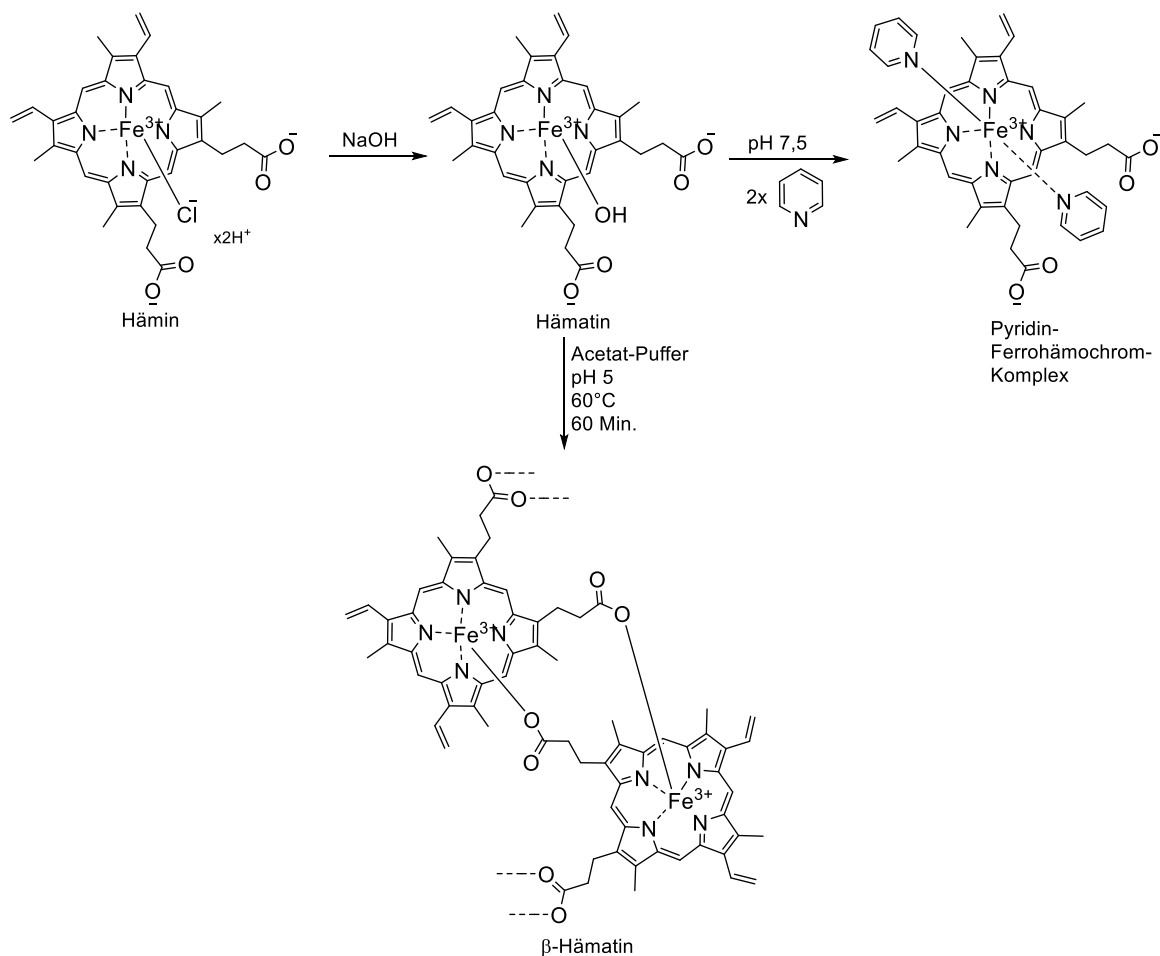


Abbildung 4.5: Darstellung der β -Hämatin- und Pyridin-Ferrohämochrom Komplexbildung [170]

4.1.3.3.2 Ergebnis und Diskussion

Der Versuch wurde mit den Verbindungen **20**, **23**, **29** und **34** durchgeführt. Chloroquindiphosphat diente als Positivkontrolle. Bereits die Herstellung der Probelösungen erwies sich als schwierig, da sich die ausgewählten Verbindungen nicht gut in dem vorgegebenen Lösungsmittelgemisch (HCl 0,1 mol/l / MeOH / DMSO (5:3:2)) lösen. Die Löslichkeit wurde durch Erhitzen zwar verbessert, allerdings enthielten die Lösungen immer noch einen hohen Anteil an ungelöster Substanz. Zum Vergleich wurden auch Probelösungen in reinem Methanol hergestellt was die Löslichkeit der Testverbindungen **20**, **23**, **29** und **34** zwar verbesserte, allerdings lag auch hier noch ein Anteil ungelöster Substanz vor. Chloroquindiphosphat zeigte hingegen eine gute Löslichkeit in dem Lösungsmittelgemisch, während diese in reinem Methanol abnahm. Im ersten Versuch

wurden nur die beiden oben genannten Lösungsmittel (HCl 0,1 mol/l / MeOH / DMSO (5:3:2) oder reines Methanol) verwendet. Als negativ Kontrolle diente das jeweilige Lösungsmittel.

In Abbildung 4.6 sind das Versuchsschema und das dazugehörige Ergebnis von Versuch 1 dargestellt. Der Versuch ließ sich nicht auswerten, da die Negativkontrolle bei beiden Lösungsmittelvarianten ein positives Ergebnis, durch die Bildung des roten Pyridin-Ferrohämochrom Komplex, zeigte. Um den Versuch auswerten zu können hätte die Negativkontrolle farblos sein müssen. In diesem Fall machte es den Eindruck, dass allein die Lösungsmittel schon einen Einfluss auf die Inhibition der β -Hämatin Bildung hatten. Des Weiteren zeigte die Positivkontrolle Chloroquin in dem Lösungsmittelgemisch HCl 0,1 mol/l / MeOH / DMSO (5:3:2) keine positive Reaktion, da die Bildung des roten Pyridin-Ferrohämochrom Komplex nahezu ausblieb (es lag nur eine leichte Rosafärbung vor). Bei den Verbindungen **20**, **23**, **29** und **34** (mit Ausnahme der methanolischen Testlösung der Verbindung **23**) zeigte sich eine rote Färbung, allerdings war dieses Ergebnis aufgrund des Mangels einer auswertbaren Positiv- und Negativkontrolle nicht verwertbar.

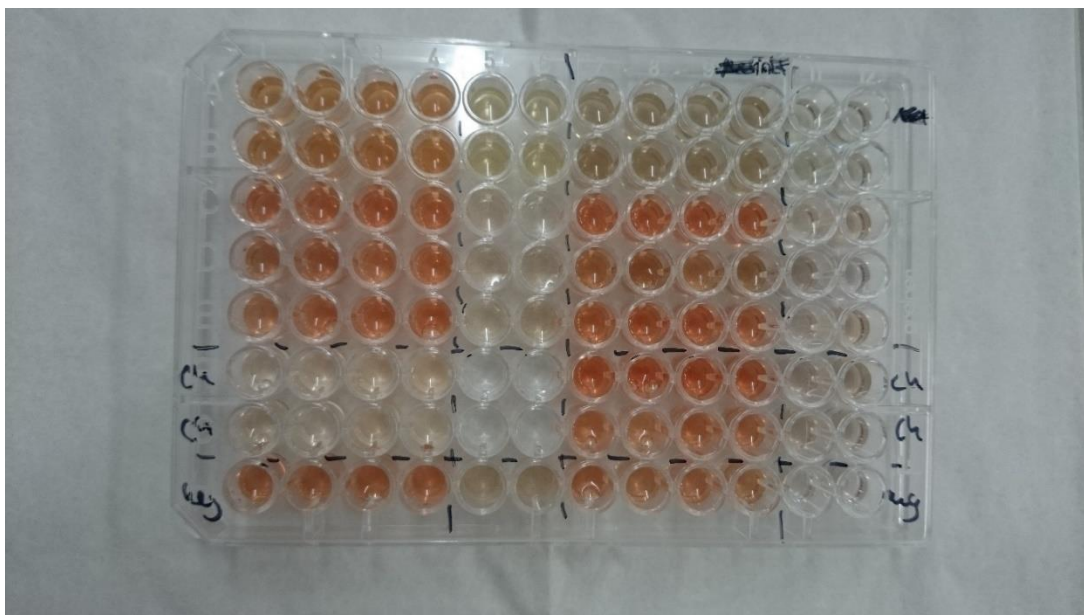
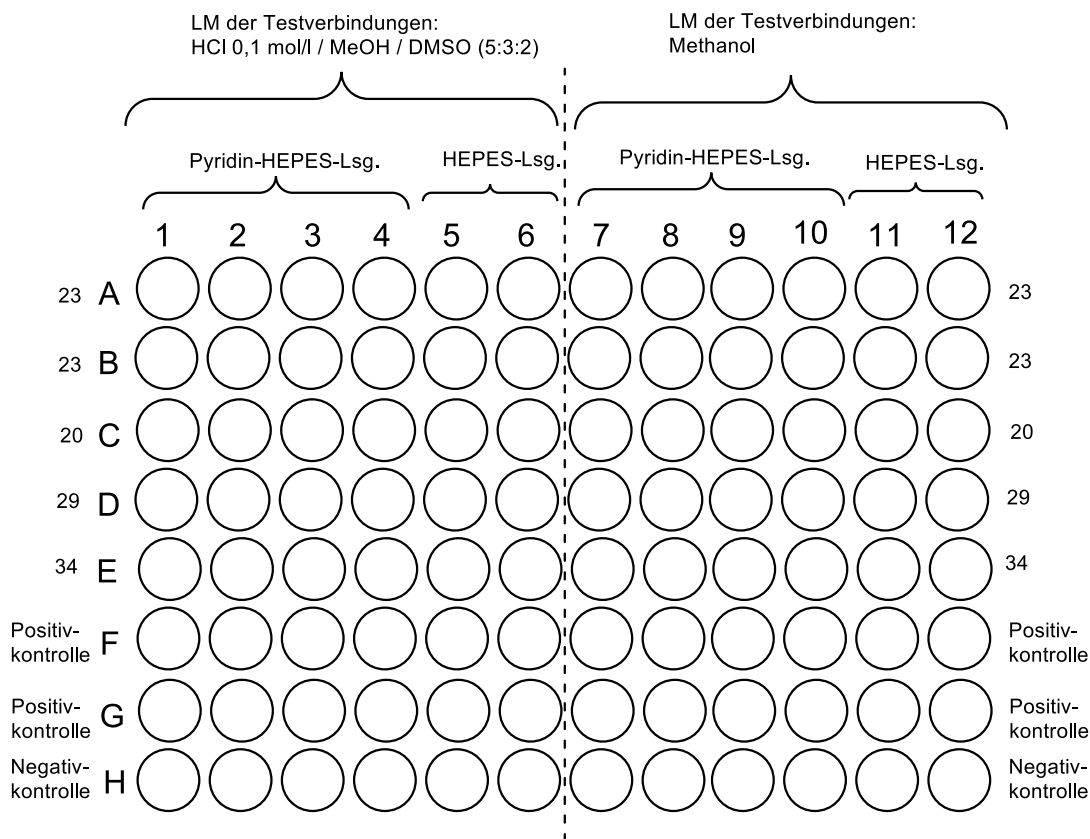


Abbildung 4.6: Versuchsschema, Versuch 1 (oben), Ergebnis, Versuch 1 (unten), LM: Lösungsmittel für die Herstellung der Testlösungen (50 mmol/l) der Verbindungen 20, 23, 29, 34 und der Positivkontrolle Chloroquindiphosphat (50 mmol/l); Negativkontrolle: nur LM

Ein zweiter Versuch führte zu einem ähnlichen Ergebnis.

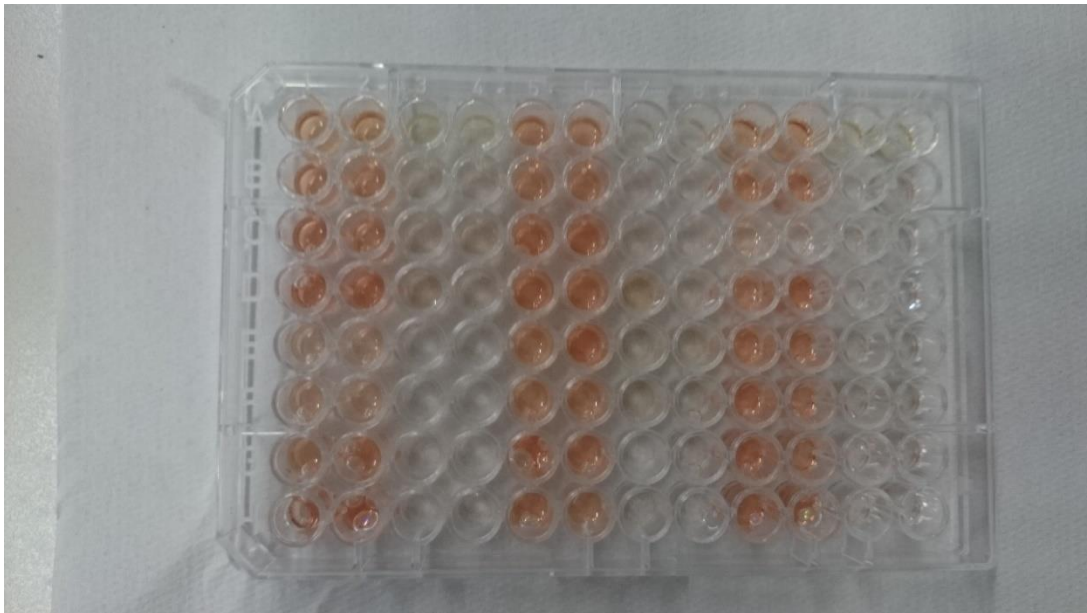
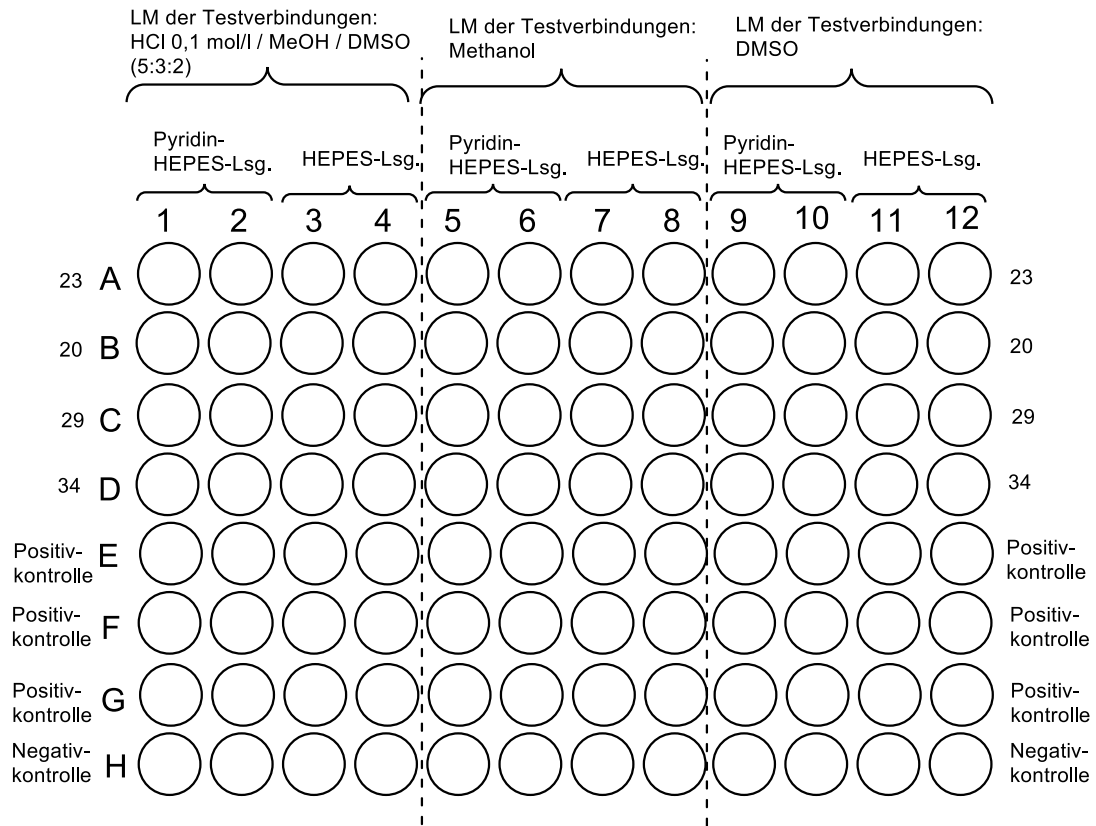


Abbildung 4.7: Versuchsschema, Versuch 2 (oben), Ergebnis, Versuch 2 (unten), LM: Lösungsmittel für die Herstellung der Testlösungen (50 mmol/l) der Verbindungen **20**, **23**, **29** und **34** und der Positivkontrolle: Chloroquindiphosphat (50 mmol/l); Negativkontrolle: nur LM.

In Abbildung 4.7 ist das Versuchsschema und das dazugehörige Ergebnis des zweiten Versuchs dargestellt. Neben den zuvor verwendeten Lösungsmittelvarianten für die Verbindungen **20**, **23**, **29**, **34** und Chlorquin (HCl 0,1 mol/l / MeOH / DMSO (5:3:2) oder Methanol) wurde in diesem Versuch eine weitere Variante mit DMSO als Lösungsmittel verwendet. Die Verbindungen **20**, **23**, **29** und **34** waren in DMSO komplett löslich, während sich das verwendete Chloroquindiphosphat nicht gut in DMSO löste. Auch in diesem Versuch zeigten alle Negativkontrollen (nur Lösungsmittel) die Bildung des roten Pyridin-Ferrohämochrom Komplex. Um den Versuch auswerten zu können hätten auch hier die jeweiligen Negativkontrollen nach Zusatz der Pyridin-HEPES-Lösung farblos bleiben müssen.

Da dieser Assay in zwei unabhängigen Versuchen zu keinem auswertbaren Ergebnis führte sollen an dieser Stelle mögliche Fehlerquellen diskutiert werden.

Hierbei kommen vor allem der verwendete Natriumacetatpuffer und die Inkubationsbedingungen in Frage. Die Bildung des β -Hämatin soll stark pH-Wert abhängig sein [168,170], wodurch der Natriumacetatpuffer eine besonders wichtige Rolle spielte. Der gesättigte Natriumacetatpuffer soll bei der Temperatur von 60 °C einen pH-Wert von 5 aufweisen. Nach der vorgegebenen Herstellungsverfahren [170] liegt der pH-Wert allerdings unter 5 und musste somit abweichend von der Vorschrift mit NaOH 10 mol/l (anstatt mit Essigsäure) auf den gewünschten Wert von 5 eingestellt werden. Da die Temperatur beim Erhitzen des Puffers mit einem Heizrührer nicht durchgehend auf exakt 60 °C gehalten werden konnte und der pH-Wert temperaturabhängig ist, können leichte Abweichungen bei der Bestimmung des pH-Wertes nicht ausgeschlossen werden. Die Inkubation bei 60 °C erfolgte in einem Trockenschrank. Es wurde darauf geachtet, dass dieser eine gleichmäßige Temperatur von 60 °C anzeigte, allerdings können auch hier leichte Schwankungen der Temperatur während der Inkubationszeit nicht ausgeschlossen werden. Da dieser Assay keinen essentiellen Bestandteil meiner Arbeit ausmachte wurde von einer langwierigen Optimierung und somit von weiteren Versuchen abgesehen.

4.1.3.4 Screening der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCB1

Alle Verbindungen wurden gegenüber ABCB1 mit Hilfe des Calcein AM Assays mit A2780 Adr Zellen, in Konzentration bis 10 $\mu\text{mol/l}$, gescreent. Cyclosporin A wurde als Standard verwendet. Die inhibitorische Aktivität der getesteten Verbindungen wurde prozentual, bezogen auf den Standard (100 %), angegeben. Das Ergebnis des Screenings ist in Abbildung 4.8 dargestellt. Bei allen Verbindungen die einen signifikanten Effekt von $> 25\%$ gegenüber ABCB1 aufwiesen wurde anschließend der IC_{50} Wert ermittelt, siehe Tabelle 4.3.

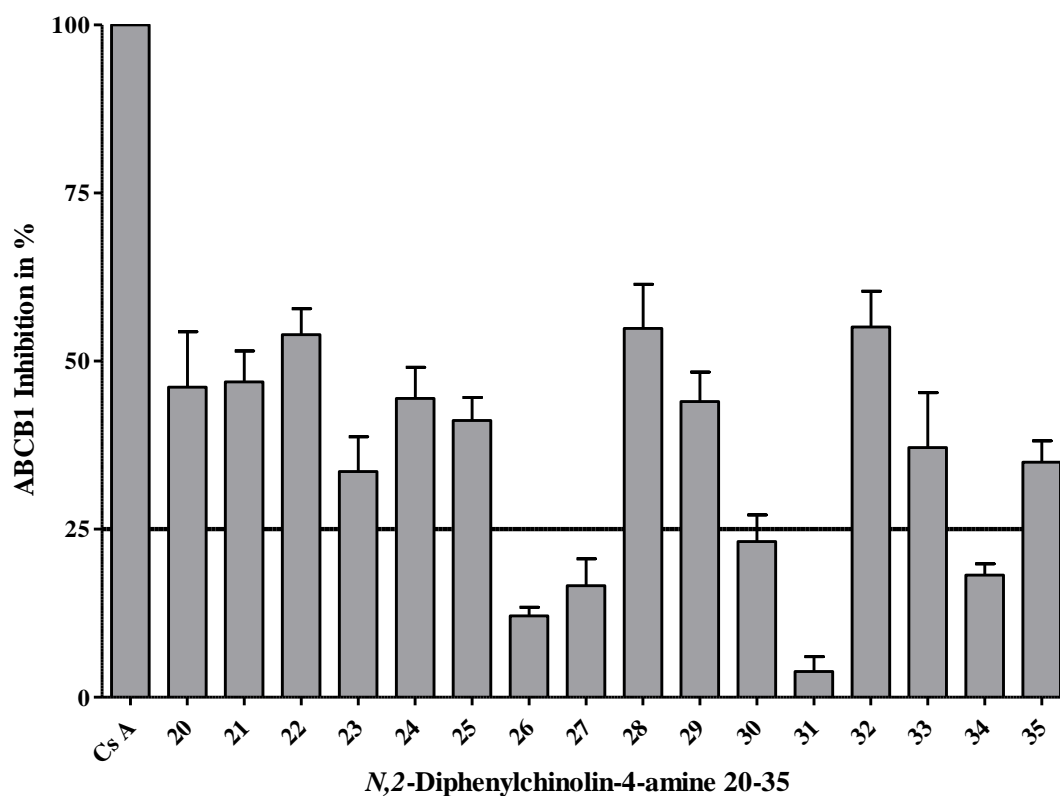


Abbildung 4.8: Effekt der N,2-Diphenylchinolin-4-amine gegenüber ABCB1 (in Prozent, bezogen auf Cs A als Standard) bei 10 $\mu\text{mol/l}$, $n \geq 3$.

Wie im Screening deutlich zu erkennen war erreichte keine der Verbindungen den maximalen Effekt des Standards Cyclosporin A. Um Konzentrations-Effekt-Kurven zu erstellen, aus denen der IC_{50} -Wert dann ermittelt werden konnte, mussten die maximalen Effekte der Verbindungen auf den Standard fixiert werden. Zwei der gegenüber ABCG2

aktivsten Verbindungen (**24**, **34**) zeigten keinen signifikanten Effekt an ABCB1 (< 25 %). Die Verbindungen **23** und **33** hatten zwar eine inhibitorische Aktivität an ABCB1, allerdings erwiesen sie sich an ABCG2 als deutlich potentere Inhibitoren (~1 µmol/l vs. ≥ 5 µmol/l). Einige Verbindungen stellen hingegen duale Inhibitoren dar, da sie sowohl für ABCG2 und ABCB1 ähnliche IC₅₀-Werte aufwiesen (**21**, **22**, **25**, **29**). Zwei der drei Verbindungen die an ABCG2 inaktiv waren (IC₅₀ >> 10 µmol/l), zeigten eine inhibitorische Aktivität an ABCB1 mit einer halbmaximalen Hemmkonzentration von etwa 6 µmol/l (**28**, **32**).

Tabelle 4.3: Inhibitorische Aktivität der synthetisierten N,2-Diphenylchinolin-4-amine gegenüber ABCB1 im Calcein AM Assay mit A2780 Adr Zellen

Verbindung	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Calcein AM Assay
					IC ₅₀ ± SD [µmol/l]*
20	-H	-H	-H	-H	6,07 ± 0,67
21	-H	-H	-Cl	-H	2,34 ± 0,14
22	-H	-H	-Br	-H	3,18 ± 0,68
23	-H	-H	-OCH ₃	-OCH ₃	7,19 ± 1,52
24	-H	-H	-CN	-H	6,73 ± 0,73
25	-H	-H	-Cl	-F	6,38 ± 0,23
28	-OCH ₃	-H	-OCH ₃	-OCH ₃	6,06 ± 0,94
29	-OCH ₃	-H	-CN	-H	6,70 ± 1,08
32	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃	-OCH ₃	6,23 ± 0,56
33	-OCH ₃	-OCH ₃	-CN	-H	5,06 ± 0,44
35	-OCH ₃	-OCH ₃	-CF ₃	-H	12,09 ± 0,95

*M + SD (n ≥ 3)

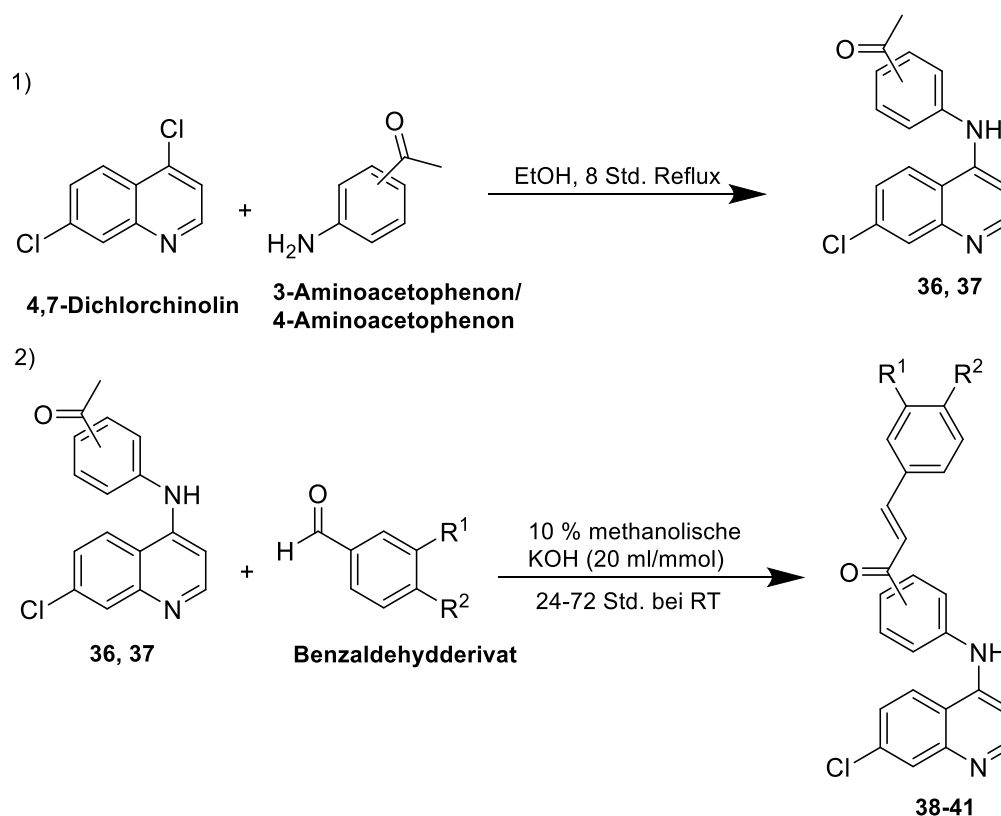
4.2 Chinolin-Chalkon Hybride

Ergänzend zu den zuvor beschriebenen Chinolinen wurde noch eine kleine Serie, bestehend aus vier Chinolin-Chalkon-Hybriden, synthetisiert. Die Chalkone an sich wurden in

unserer Arbeitsgruppe bereits als ABCG2 Inhibitoren untersucht [65,115]. Aus der Literatur sind Hybride aus Chalkonen und Chinolinen bekannt, welche u.a. auf ihre antiinfektiöse und antiulzerogene Eigenschaften hin untersucht wurden [171,172].

4.2.1 Synthese der Chinolin-Chalkon-Hybride

Das 4,7-Dichlorochinolin wurde mit dem entsprechenden Aminoacetophenon in Ethanol unter Reflux erhitzt [171]. Die entstandenen Zwischenprodukte **36** und **37** wurden anschließend mit dem entsprechenden Benzaldehyd nach einer Claisen-Schmidt Kondensation in methanolischer KOH Lösung bei RT zum Chinolin-Chalkon-Hybrid umgesetzt, (Schema 4.2) [172].



Schema 4.2: Synthese der Chinolin-Chalkon Hybride

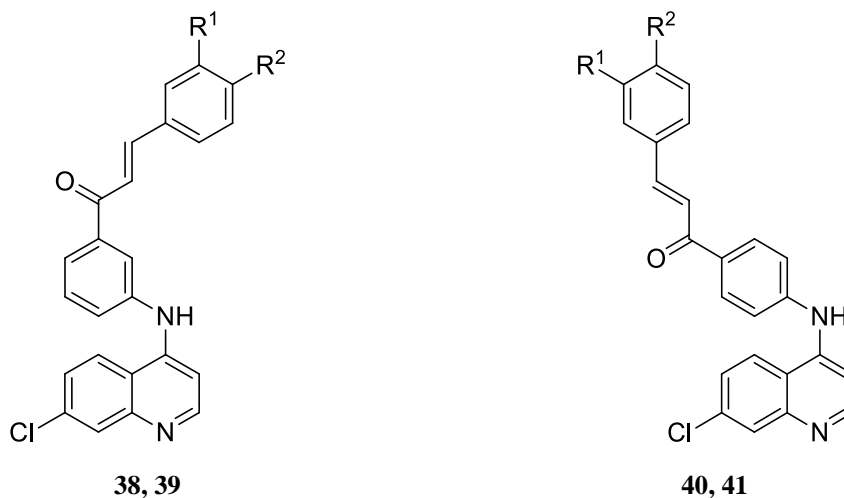
4.2.2 Ergebnisse und Diskussion der biologischen Testung der Chinolin-Chalkon Hybride

Die Verbindungen **38-41** wurden im Pheophorbid A Assay mit MDCK II BCRP Zellen auf ihre inhibitorische Wirksamkeit gegenüber ABCG2 untersucht. Um die Selektivität der Verbindungen zu untersuchen wurden diese im Calcein AM Assay mit A2780 Adr Zellen bezüglich ihrer Aktivität gegenüber ABCB1 gescreent. Bei allen Assays wurden Konzentrationen bis 10 $\mu\text{mol/l}$ verwendet.

4.2.2.1 Untersuchung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2 mit dem Pheophorbid A Assay

Aufgrund ihrer starken Eigenfluoreszenz bei der im Hoechst 33342 Assay verwendeten Wellenlänge, konnten die Chinolin-Chalkon Hybride nur mit Hilfe des Pheophorbid A Assays auf ihre inhibitorischen Eigenschaften gegenüber ABCG2 untersucht werden. Als Standard wurde XR9577 verwendet. Wie bei den zuvor beschriebenen *N*,2-Diphenylchinolin-4-aminen war auch bei den Chinolin-Chalkon-Hybriden ein leichter Anstieg der Fluoreszenzwerte der Wildtyp Zellen, bei hohen Inhibitorkonzentrationen, zu verzeichnen. Dieser war allerdings nicht so stark ausgeprägt, verglichen zu den *N*,2-Diphenylchinolin-4-aminen. Daher wurden diese Versuche unter Vorbehalt ausgewertet und die inhibitorische Aktivität nur unterhalb der 4 Derivate verglichen (Tabelle 4.4). Dabei waren die Derivate, bei denen das Chalkongerüst über den Amidlinker in *meta*-Position (**38**, **39**) mit dem Chinolinkörper verbunden ist potenter als die *para*-verknüpften Derivate (**40**, **41**). Das Einführen einer weiteren Methoxygruppe an R² zeigte keinen Einfluss auf die inhibitorische Potenz. Da diese Verbindungen, auf Grund ihrer oben beschriebenen Eigenschaften, weder für den Hoechst 33342 Assay noch für den Pheophorbid A Assay besonders gut geeignet waren, wurden keine weiteren Derivate synthetisiert.

Tabelle 4.4: Inhibitorische Aktivität der Chinolin-Chalkon Hybride gegenüber ABCG2 im Pheophorbid A Assay mit MDCK II BCRP Zellen



Verbindung	R ¹	R ²	<u>Pheophorbid A Assay</u> IC ₅₀ ± SD[μmol/l]*
38	OCH ₃	OCH ₃	1,82 ± 0,28**
39	OCH ₃	H	1,19 ± 0,34**
40	OCH ₃	OCH ₃	3,28 ± 0,41**
41	OCH ₃	H	3,37 ± 0,62**

* $M + SD$ ($n \geq 3$)

** inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 kann nur innerhalb der Gruppe verglichen werden

4.2.2.2 Screening der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCB1

Die 4 Chinolin-Chalkon-Hybride wurden gegenüber ABCB1 mit Hilfe des Calcein AM Assays mit A2780 Adr Zellen gescreent. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4.9 dargestellt. Als Referenz wurde Cyclosporin A verwendet. Alle 4 Verbindungen wiesen eine signifikante inhibitorische Aktivität von > 25 % an ABCB1 auf, daher wurden anschließend die IC₅₀-Werte ermittelt (siehe Tabelle 4.5). Wie bereits im Screening deutlich zu erkennen war erreichte keine der Verbindungen den maximalen Effekt des Standards Cyclosporin A. Um eine Konzentrations-Effekt-Kurve zu erstellen, aus welcher der IC₅₀-Wert dann ermittelt werden konnte, musste der maximale Effekt der Verbindungen auf den Standard fixiert werden

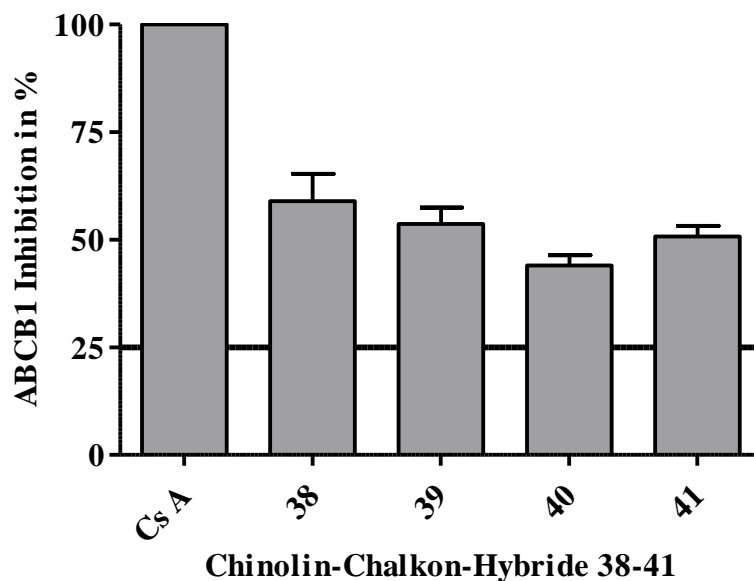


Abbildung 4.9: Effekt der Chinolin-Chalkon Hybride gegenüber ABCB1 (in Prozent, bezogen auf Cs A als Standard) bei Konzentrationen bis 10 $\mu\text{mol/l}$, $n \geq 3$

Tabelle 4.5: Inhibitorische Aktivität der Chinolin-Chalkon Hybride gegenüber ABCB1 im Calcein AM Assay mit A2780 Adr Zellen

Verbindung	Calcein AM Assay
	IC ₅₀ \pm SD [$\mu\text{mol/l}$]*
38	4,86 \pm 0,40
39	8,56 \pm 0,85
40	10,6 \pm 0,7
41	9,47 \pm 1,12

*M + SD (n \geq 3)

Anhand der Ergebnisse des Calcein AM Assays wurde gezeigt, dass die inhibitorische Wirkung der Verbindungen gegenüber ABCB1 nicht besonders ausgeprägt war und im Vergleich erst in höheren Konzentrationen eine Rolle spielte.

4.3 Chinolone

Wie in Kapitel 4.1.1 bereits erwähnt wurden, aufgrund ihrer strukturellen Ähnlichkeit zu den Flavonen (Abbildung 4.10), auch die bei der Synthese der Chinoline als Zwischenprodukte erhaltenen 2-Phenylchinolin-4-one auf ihre Hemmwirkung gegenüber ABCG2 untersucht. Die inhibitorische Wirkung von Flavonoiden gegenüber ABCG2 wurde bereits häufig beschrieben und auch eine Struktur-Wirkungsbeziehung erstellt [62,173–176,176]. In unserer Arbeitsgruppe wurde von Anne Pick eine große Zahl von Flavonoiden auf ihre inhibitorischen Eigenschaften gegenüber ABC-Transportern untersucht und von Kapil Juvale eine Bibliothek von ABCG2 Inhibitoren mit Flavon- und Benzoflavongerüst synthetisiert [62,173].

Neben den 2-Phenylchinolin-4-onen wurden weitere Derivate dargestellt. Im ersten Schritt wurden zu diesem Zweck 3-Hydroxy-2-phenylchinolin-4-on Derivate synthetisiert und untersucht. Da bereits aus den Daten von Ahmed-Belkacem *et al.*, Pick *et al.* und Juvale *et al.* bekannt war, dass bei Flavonen eine Hydroxylgruppe in Position 3 die inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 herabsetzte, sollten diese anschließend zu 3-Methoxy-2-phenylchinolin-4-onen umgesetzt werden.[62,173,176]. Die Methylierung der Hydroxylgruppe in Position 3 verlief allerdings erfolglos und wurde nach einer Vielzahl von Versuchen eingestellt. Ergänzend zum Chinolongerüst wurde auch ein Derivat mit einem 1,8-Naphthydringerüst synthetisiert.

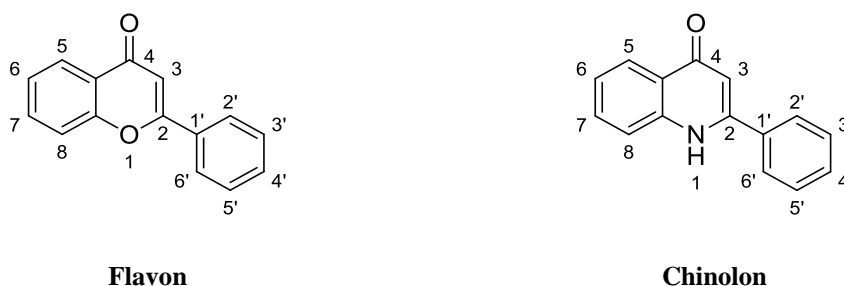
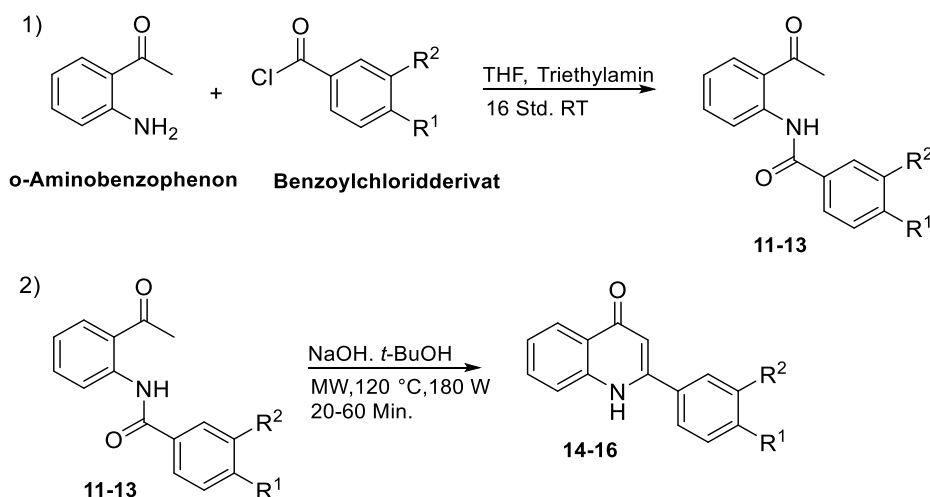


Abbildung 4.10: Grundstrukturen von Flavon und Chinolon

4.3.1 Synthese der 2-Phenylchinolin-4-onderivate

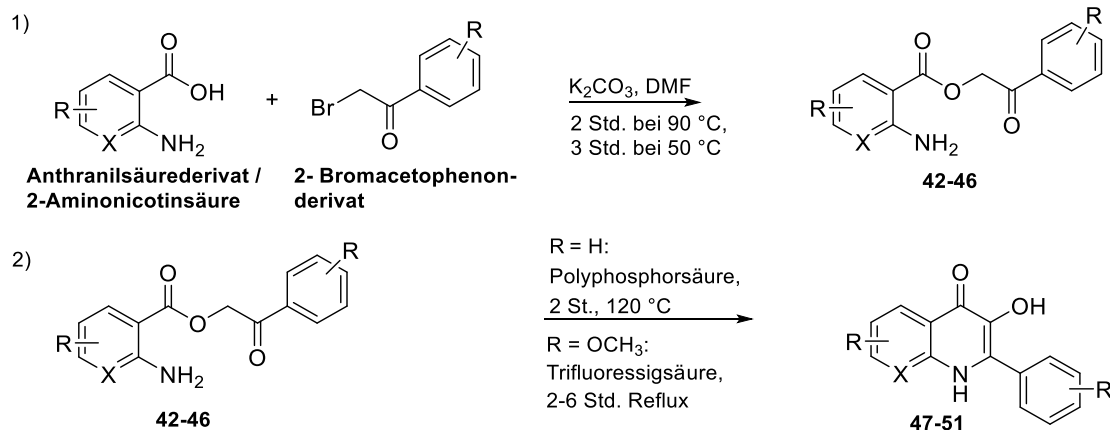
Die genaue Synthese der Verbindungen (**14-16**) wurde bereits im Kapitel 4.1.2 beschrieben und ist in Schema 4.3 erneut zusammengefasst.



Schema 4.3: Synthese der 2-Phenylchinolin-4(1H)-one

4.3.2 Synthese der 3-Hydroxy-2-phenylchinolin-4-on / 3-Hydroxy-2-phenyl-1,8-naphthyridin-4-onderivate

Bei der Synthese der Verbindungen (**47-51**) wurde im ersten Schritt das Anthranilsäurederivat bzw. 2-Aminonicotinsäure mit Kaliumcarbonat in DMF deprotoniert. Das erhaltene Carboxylat wurde anschließend mit dem entsprechenden 2-Bromacetophenoderivat zum 2-Oxo-2-phenylethyl-2-aminobenzoat bzw. 2-Oxo-2-phenylethyl-2-aminonicotinat umgesetzt [177]. Die entstandene Zwischenstufe wurde dann, je nach Substitution, mit Polyphosphorsäure (R= H) oder Trifluoressigsäure (R= OCH₃) zum 3-Hydroxy-2-phenylchinolin-4-on oder 3-Hydroxy-2-phenyl-1,8-naphthyridin-4-on zyklisiert, (Schema 4.4) [177–179].



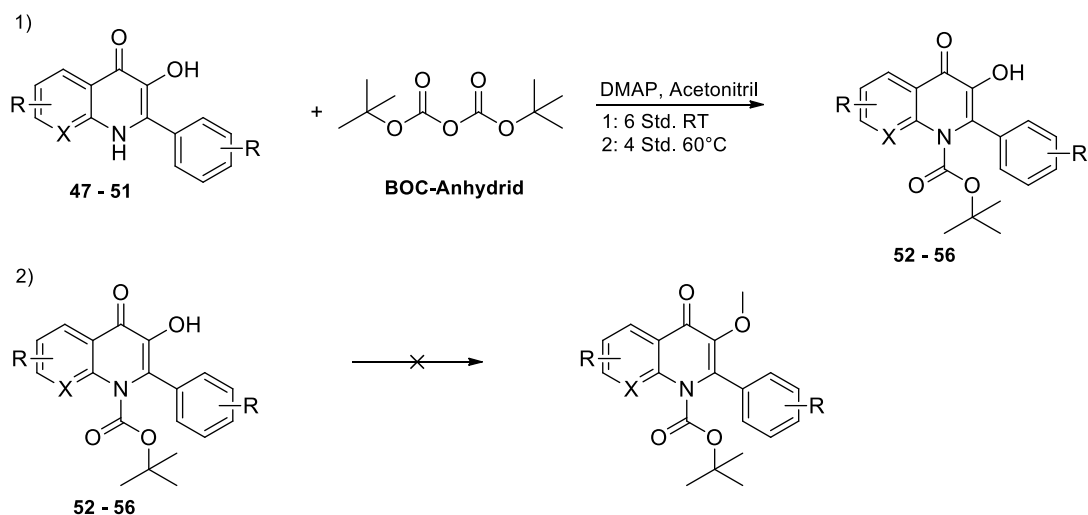
Schema 4.4: Synthese der 3-Hydroxy-2-phenylchinolin-4-one und des 3-Hydroxy-2-phenyl-1,8-naphthyridin-4-on

4.3.3 Synthese der 3-Methoxy-2-phenylchinolin-4(1H)-on / 3-Methoxy-2-phenyl-1,8-naphthyridin-4 (1H) –onderivate

Um die Hydroxylgruppe selektiv zu methylieren wurde im ersten Schritt das sekundäre Amin mit BOC geschützt. Hierzu wurden die 3-Hydroxy-2-phenylchinolin-4-one bzw. das 3-Hydroxy-2-phenyl-1,8-naphthyridin-4-on mit Dimethylaminopyridin (DMAP) und Di-*tert*-butyldicarbonat (BOC-Anhydrid) in Acetonitril umgesetzt [180]. Die Methylierung der Hydroxylgruppe wurde anschließend mehrfach mit verschiedenen Reagenzien und Basen versucht:

1. Iodmethan und Kaliumcarbonat in Aceton oder DMF (getrocknet), 24 Std. Reflux (Aceton), 12 Std. RT (DMF) [62,181].
2. Iodmethan und Natriumhydrid in Aceton oder THF (getrocknet) oder DMF (getrocknet) bei RT und anschließend unter Reflux.
3. Dimethylsulfat und Kaliumcarbonat in Aceton, 7-9 Std. Reflux [182,183].
4. Dimethylcarbonat und Diazadicycloundecen, bis zu 24 Std. oder bis 48 Std., 90 °C [184].

Dies führte allerdings in keiner Variante zu den gewünschten Produkten (siehe Schema 4.5). Als Grund dafür konnte eine starke Wasserstoffbrückenbindung zwischen der Hydroxylgruppe und dem Carbonyl Sauerstoff vermutet werden.



Schema 4.5: Synthese der BOC-geschützten 3-Hydroxy-2-phenylchinolin-4-one und des 3-Hydroxy-2-phenyl-1,8-naphthyridin-4-on.

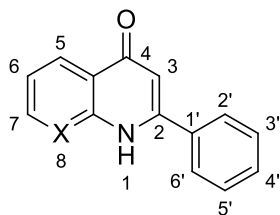
4.3.4 Ergebnisse und Diskussion der biologischen Testung der Chinolinderivate

Die Verbindungen **14-16** und **47-56** wurden alle im Pheophorbid A Assay mit MDCK II BCRP Zellen auf ihre inhibitorische Wirksamkeit gegenüber ABCG2 untersucht. Dabei wurden Konzentrationen bis 10 $\mu\text{mol/l}$ verwendet.

4.3.4.1 Untersuchung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2 mit dem Pheophorbid A Assay

Aufgrund der Tatsache, dass einige Verbindungen eine starke Eigenfluoreszenz bei der im Hoechst 33342 Assay verwendeten Wellenlänge (λ_{ex} : 355 nm; λ_{em} : 460 nm) aufwiesen wurden alle Chinolinderivate im Pheophorbid A Assay untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle 4.6 dargestellt.

Tabelle 4.6: Inhibitorische Aktivität der synthetisierten Chinolinderivate gegenüber ABCG2 im Pheophorbid A Assay mit MDCK II BCRP Zellen



Verbindung	R ¹	R ³	R ⁶	R ⁷	R ^{3'}	R ^{4'}	X	Pheophorbid A Assay
								IC ₅₀ ± SD [μmol/l]*
2-Phenylchinolin-4-on								
14	H	H	H	H	H	H	CH	6,37 ± 1,93
15	H	H	H	H	H	OCH ₃	CH	5,41 ± 0,66
16	H	H	H	H	OCH ₃	OCH ₃	CH	8,76 ± 0,60
3-Hydroxy-2-phenylchinolin-4-on/3-Hydroxy-2-phenyl-1,8-naphthyridin-4-on								
47	H	OH	H	H	H	H	CH	k.A.**
48	H	OH	H	H	H	H	N	k.A.**
49	H	OH	H	H	H	OCH ₃	CH	15,9 ± 3,5
50	H	OH	OCH ₃	OCH ₃	H	H	CH	12,9 ± 2,0
51	H	OH	OCH ₃	OCH ₃	H	OCH ₃	CH	nicht eindeutig
N-BOC-3-Hydroxy-2-phenylchinolin-4-on/N-BOC-3-Hydroxy-2-phenyl-1,8-naphthyridin-4-on								
52	BOC	OH	H	H	H	H	CH	>>10
53	BOC	OH	H	H	H	H	N	>>10
54	BOC	OH	H	H	H	OCH ₃	CH	8,34 ± 1,48
55	BOC	OH	OCH ₃	OCH ₃	H	H	CH	7,03 ± 2,73
56	BOC	OH	OCH ₃	OCH ₃	H	OCH ₃	CH	3,96 ± 1,02

* M + SD (n ≥ 3)

** k.A.: keine inhibitorische Aktivität

Die 2-Phenylchinolin-4-nderivate (**14-16**) zeigten zwar inhibitorische Eigenschaften gegenüber ABCG2, allerdings erwiesen sich diese Verbindungen mit einer IC₅₀ > 5 μmol/l nicht als besonders potente Inhibitoren. Das Einfügen einer Hydroxylgruppe in Position 3 (**47-51**) führte erwartungsgemäß zu einer starken Verringerung der inhibitorischen Eigenschaften, bis hin zu Inaktivität gegenüber ABCG2.

Auch das Naphthyridinderivat (**48**) zeigte keinerlei Hemmwirkung. Der negative Einfluss der Hydroxylgruppe in Position 3 entsprach den Ergebnissen vorangegangener Arbeiten [62,173,175,176].

Da die Umsetzung der 3-Hydroxy-2-phenylchinolin-4-one zu 3-Methoxy-2-phenylchinolin-4-onen, nach einer Vielzahl von Versuchen, nicht zu den gewünschten Produkten führte wurden die an *NI*-BOC-geschützten Zwischenprodukte (**52-56**) untersucht. Diese zeigten zwar einen Anstieg der inhibitorischen Aktivität (verglichen mit den Verbindungen **47-51**), allerdings hatte die aktivste Verbindung (**56**) gerade mal einen IC_{50} von etwa $4 \mu\text{mol/l}$. Aufgrund dessen, dass keine Verbindung dieser Klasse eine gute Hemmwirkung gegenüber ABCG2 zeigte wurden im Rahmen dieser Arbeit keine weiteren Derivate synthetisiert.

5 Tetrahydro- β -carboline als ABCG2 Inhibitoren

Die Substanzklasse der β -Carboline kommt in der Natur in verschiedenen Pflanzen vor. Als Beispiel sind hier die Harman Alkaloide zu nennen, deren Biosynthese sich vom Tryptophan ableiten. Zur Gruppe der Harman Alkaloide gehören u.a. das β -Carbolin Harmin und die Tetrahydro- β -carboline Tetrahydroharmin und Tryptolin. Vertreter der Gruppe der β -Carboline können, neben vielen anderen pharmakologischen Wirkungen, unter anderem die Monoaminoxidase- und die Serotoninwiederaufnahme hemmen [185–188]. Durch ihre vielfältige Wirkung im zentralen Nervensystem stellen sie einen interessanten Ansatz für die Entwicklung von Arzneistoffen gegen neurodegenerative und psychische Erkrankungen dar. Das natürlich vorkommende Psychopharmakon Reserpin besitzt ebenfalls eine Tetrahydro- β -carbolinpartialstruktur im Molekül. Ein weiterer bekannter synthetischer Wirkstoff mit Tetrahydro- β -carbolinpartialstruktur ist der Phosphodiesterase-5-Hemmer Tadalafil. Die Strukturen sind in Abbildung 5.1 zusammengefasst.

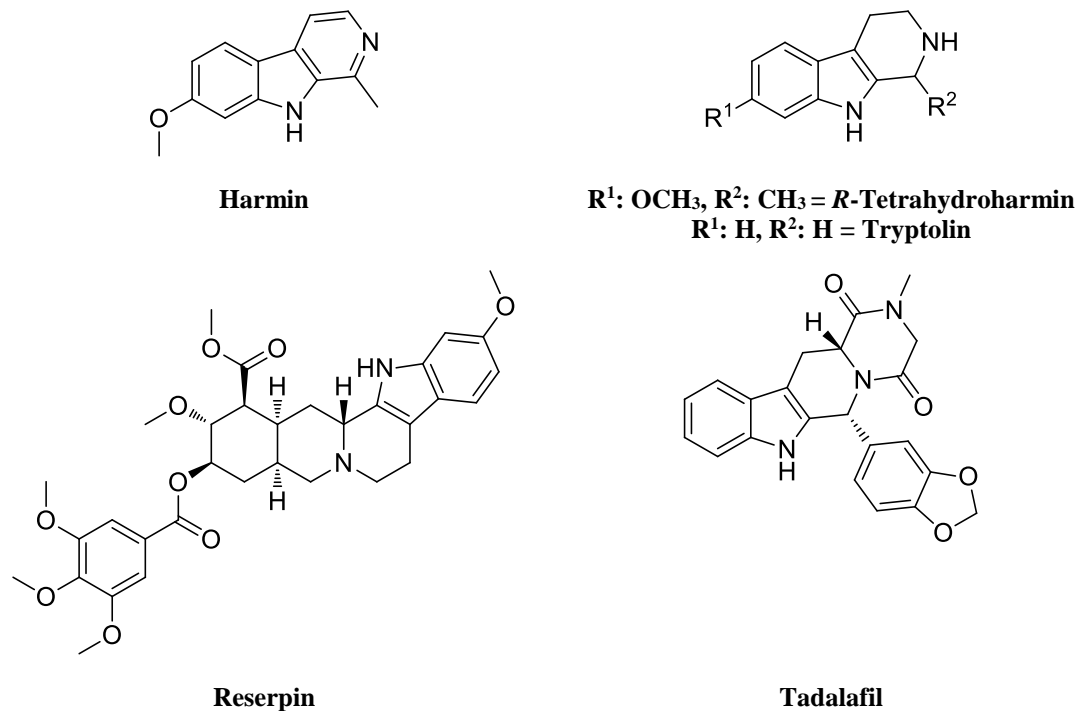


Abbildung 5.1: Beispiele natürlicher und synthetischer Verbindungen mit β -Carbolin und Tetrahydro- β -Carbolin Struktur

5.1 β -Carboline / Tetrahydro- β -carboline als Inhibitoren von ABC-Transportern

Ko143 ist, wie zuvor beschrieben, einer der bekanntesten und potentesten Inhibitoren von ABCG2 und galt lange Zeit als spezifisch [53]. In neuen Untersuchungen wurde allerdings festgestellt, dass Ko143 ABCB1 und ABCC1 ebenfalls inhibiert [54]. Die Struktur leitet sich von dem Pilztoxin und ABCG2 Inhibitor Fumitremorgin C (FTC) ab (Abbildung 5.2) [52]. Beide Moleküle besitzen eine Tetrahydro- β -carbolinstruktur. In der Literatur wurden bereits tetrazyklische Ko143- und FTC-Derivate ohne Methoxygruppe am Ring A und verschiedenen Substitutionsmustern an Ring C (aliphatische, zyklische und aromatische Reste) beschrieben und ihre inhibitorischen Eigenschaften gegenüber ABCG2 untersucht. Dabei besaßen die Derivate mit einem Isobutylrest die größte Wirksamkeit [189,190]. Auch der Einfluss der Methoxygruppe an Ring A wurde bei Ko143 und FTC untersucht und es zeigte sich, dass die Derivate ohne Methoxygruppe eine schwächere Hemmaktivität gegenüber ABCG2 aufwiesen [53]. Die zuvor bereits erwähnten Alkaloide Harmin und Reserpin wurden ebenfalls als potente Inhibitoren von ABCG2 beschrieben [36,43,58]. Harmin zeigte nach Ma *et al.* keine Hemmwirkung gegenüber ABCB1, während Reserpin auch als Inhibitor von ABCB1 bekannt ist [43,58,191]. Auf der Grundlage dieser vielversprechenden Strukturklasse wurden im Rahmen dieser Arbeit verschieden substituierte trizyklische Tetrahydro- β -carboline synthetisiert und diese auf ihre Hemmwirkung gegenüber ABCG2 untersucht. Da bereits von Kerstin Steggemann beschrieben wurde, dass eine Substitution an C1 essentiell für die inhibitorische Aktivität ist wurde auf die Synthese C1-unsubstituierter Derivate verzichtet [192].

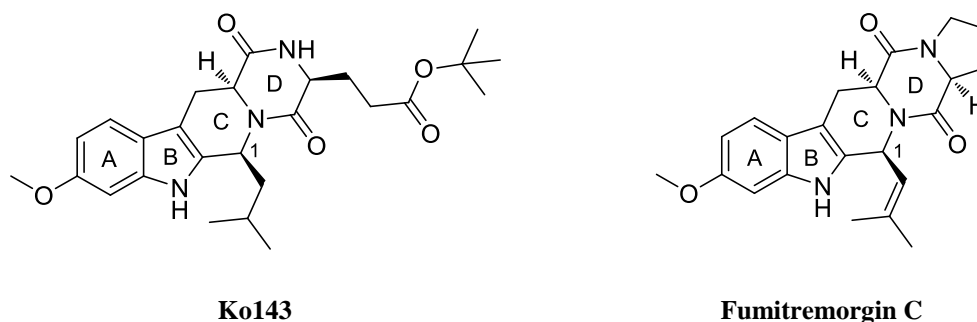
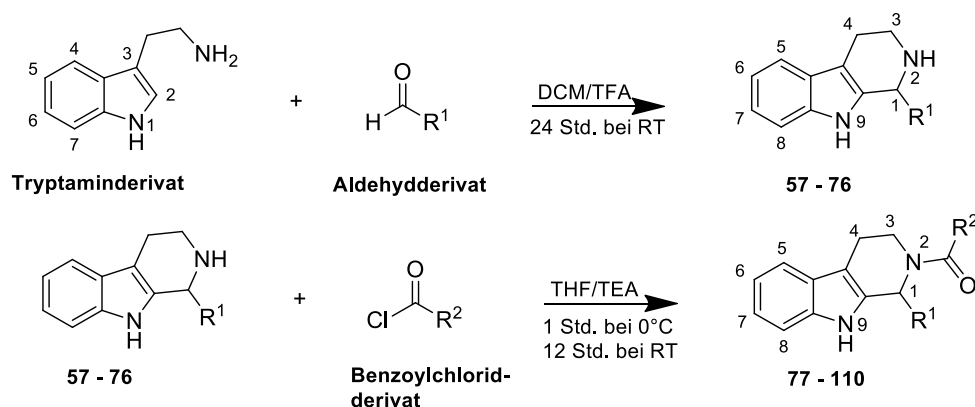


Abbildung 5.2: Strukturen der ABCG2 Inhibitoren Ko143 und FTC

5.2 Synthese der Tetrahydro- β -carbolinderivate

Ausgehend von Tryptamin und verschiedenen Aldehyden wurde in einer Pictet-Spengler-Reaktion, in Dichlormethan unter Zugabe von Trifluoressigsäure, die 1-substituierten-Tetrahydro- β -carboline (**57-76**) synthetisiert [193]. Diese wurden anschließend weiter mit einem Benzoylchloridderivat, in getrocknetem Tetrahydrofuran unter Zugabe von Triethylamin, zu den *N*2-Acyl-1-substituierten-tetrahydro- β -carbolinen (**77-110**) umgesetzt (Schema 5.1) [194].

Ein Derivat wurde von 5-Methoxytryptamin ausgehend, wie oben beschrieben, zum 6-Methoxy-*N*2-acyl-1-substituierten-tetrahydro- β -carbolin umgesetzt.



Schema 5.1: Synthese der Tetrahydro- β -carbolinderivate

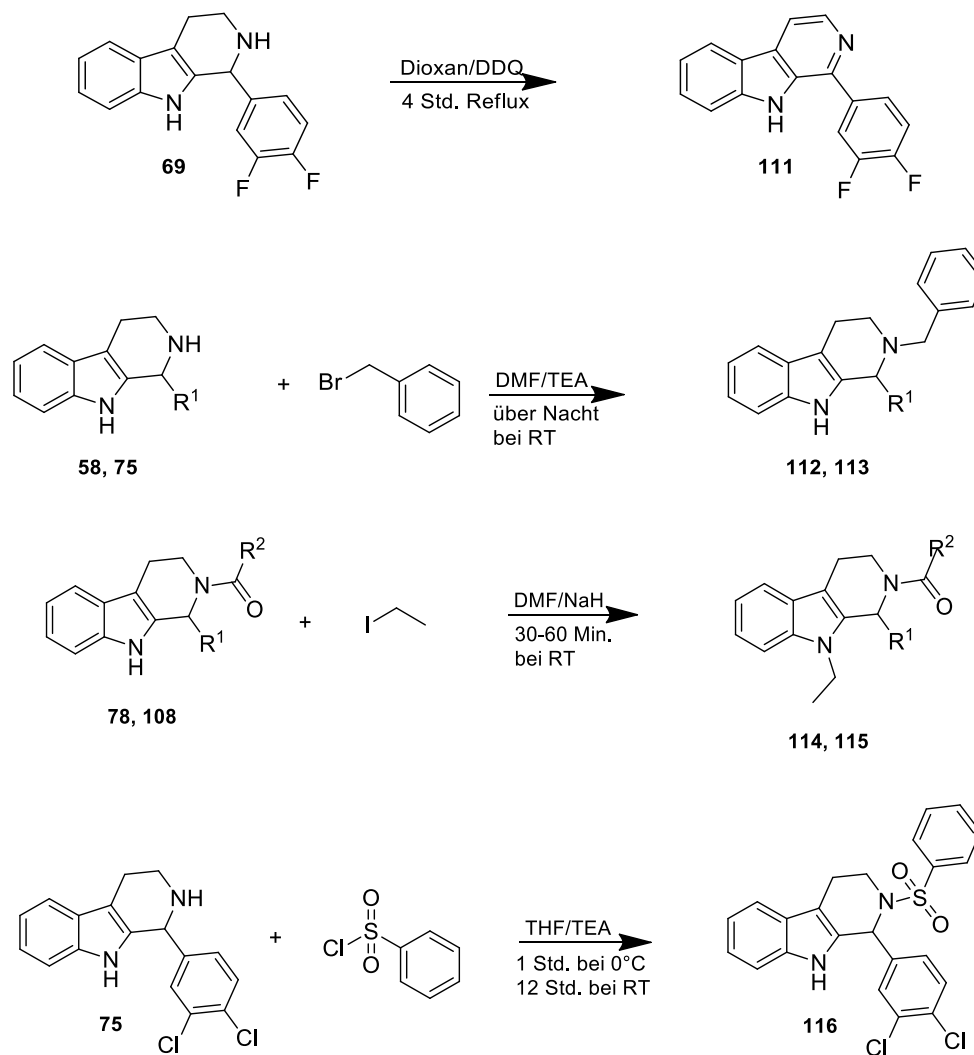
Ausgehend von den 1-substituierten-Tetrahydro- β -carbolinen und den *N*2-Acyl-1-substituierten-tetrahydro- β -carbolinen wurden des Weiteren Derivate mit verändertem Substitutionsmuster synthetisiert (Schema 5.2):

Das 1-substituierten-Tetrahydro- β -carboline

- wurde mit DDQ in Dioxan zum entsprechenden 1-substituierten- β -Carbolin oxidiert [195].
- wurde mit Benzylbromid, in getrocknetem Dimethylformamid und Triethylamin, zum entsprechenden *N*2-Aryl-1-substituierten-tetrahydro- β -carbolin umgesetzt [196, 197].
- wurde mit Benzolsulfonylchlorid, in getrocknetem Tetrahydrofuran und Triethylamin, zum entsprechenden Sulfonamid umgesetzt.

Das *N*2-Acyl-1-substituierte-tetrahydro- β -carbolin

- d) wurde mit Iodethan, in getrocknetem Dimethylformamid und Natriumhydrid, zum entsprechenden *N*2-Acyl-*N*9-ethyl-1-substituierten-tetrahydro- β -carbolin umgesetzt [198].



Schema 5.2: Synthese der Tetrahydro- β -carbolinderivate mit verändertem Substitutionsmuster und des β -Carbolin

5.3 Ergebnisse und Diskussion der biologischen Testung der Tetrahydro- β -carbolinderivate

Die in diesem Kapitel gezeigten Daten wurden, mit Ausnahme der Verbindungen **111** und **116**, bereits im Journal of Medicinal Chemistry veröffentlicht [199].

Alle Derivate (mit Ausnahme von Verbindung **111**) besitzen ein chirales Zentrum am C1 und wurden als Racemate untersucht.

Die Verbindungen **77-116** (ausgenommen Verbindung **111**; diese wurde wegen ihrer Eigenfluoreszenz nur im Pheophorbid A Assay untersucht) wurden alle im Hoechst 33342 Assay mit MDCK II BCRP Zellen auf ihre inhibitorische Wirksamkeit gegenüber ABCG2 untersucht. Um zu ermitteln ob die inhibitorische Aktivität substratspezifisch ist wurden ausgewählte Verbindungen auch im Pheophorbid A Assay vermessen. Um die Selektivität der Verbindungen zu untersuchen wurden diese im Calcein AM Assay mit A2780 Adr Zellen auf ihre Aktivität gegenüber ABCB1 gescreent. Bei allen Assays wurden Konzentrationen bis 10 $\mu\text{mol/l}$ verwendet.

5.3.1 Untersuchung der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2

Die Vorstufen **57**, **59**, **69** und **73** (1-substituierte-Tetrahydro- β -carboline) wurden ebenfalls im Hoechst 33342 und Pheophorbid A Assay getestet und zeigten in beiden Testsystemen keine Hemmwirkung gegenüber ABCG2. Dieses Ergebnis entsprach den Resultaten für bereits beschriebenen trizyklischen FTC Analoga [189]. Die Ergebnisse der *N*-2-Acyl-1-substituierten-tetrahydro- β -carboline (**77-110**) sind in Tabelle 5.1 aufgeführt. IC_{50} -Werte die weit über 10 $\mu\text{mol/l}$ ($\gg 10$) hinausgingen wurden in der folgenden Diskussion als inaktiv (bis 10 $\mu\text{mol/l}$) bezeichnet. Zum Vergleich wurden auch die Ergebnisse der Standards Ko143 und XR9577 sowie von Harmin in der Tabelle aufgeführt. Aufgrund der Eigenfluoreszenz von Harmin, bei der im Hoechst 33342 Assay verwendete Wellenlänge, konnte dieses nur im Pheophorbid A Assay untersucht werden. Um zu

zeigen, dass die Ergebnisse in beiden Assays vergleichbar waren wurden einige ausgewählte *N*2-Acyl-1-substituierte-tetrahydro- β -carboline ebenfalls im Pheophorbid A Assay untersucht. Der Vergleich der pIC_{50} -Werte beider Assays zeigte eine sehr gute Korrelation der Ergebnisse mit einem quadrierten Korrelationskoeffizienten (r^2) von 0,95 (Abbildung 5.3)

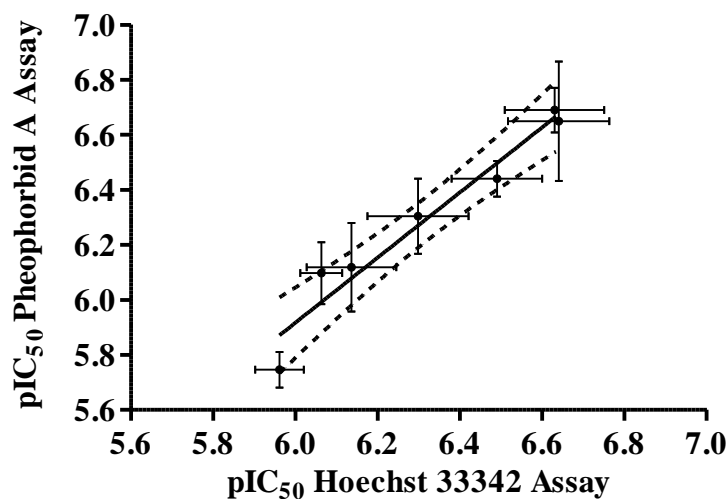


Abbildung 5.3: Streudiagramm der pIC_{50} -Werte ($M \pm SD$, $n \geq 3$) der ABCG2 Inhibitoren 89, 93-95, 107, 108 und XR9577 im Hoechst 33342 und Pheophorbid A Assay, $r^2 = 0,95$ [199]

Verbindung	R ¹	R ²	Hoechst 33342 Assay	Pheophorbid A Assay
			IC ₅₀ ± SD [μmol/l]*	IC ₅₀ ± SD [μmol/l]*
102	Phenyl	4-OCH ₃ -Phenyl	1,75 ± 0,16	---
103	3-OCH ₃ -Phenyl	4-OCH ₃ -Phenyl	1,45 ± 0,16	---
104	4-CF ₃ -Phenyl	4-OCH ₃ -Phenyl	1,23 ± 0,10	---
105	3,4-F-Phenyl	4-OCH ₃ -Phenyl	0,805 ± 0,076	---
106	3-Cl-Phenyl	4-OCH ₃ -Phenyl	0,883 ± 0,093	---
107	3,4-Cl-Phenyl	4-OCH ₃ -Phenyl	0,233 ± 0,044	0,237 ± 0,080
108	3,4-Cl-Phenyl	3-OCH ₃ -Phenyl	0,238 ± 0,044	0,206 ± 0,025
109	3,4-Cl-Phenyl	2-OCH ₃ -Phenyl	0,421 ± 0,050	---
110	3,4-Cl-Phenyl	Phenyl	0,382 ± 0,077	---
Harmin			---	5,08 ± 0,35
XR9577			0,704 ± 0,147	0,741 ± 0,146
Ko143			0,225 ± 0,029	---

*M ± SD (n ≥ 3)

Die Verbindungen **77** und **78** tragen einen Isobutyl- bzw. Phenylrest an C1 und zeigen eine vergleichbare, moderate inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 (**77**: 2,33 μmol/l; **78**: 2,78 μmol/l). Da ein Phenylring durch Substitution mit verschiedenen Resten leicht zu variieren war und somit eine große Vielfalt an unterschiedlichen Derivaten entstehen konnten, wurden verschieden substituierte aromatische Aldehyde für die Synthese verwendet. Die Substituenten des Phenylringes am C1 variierten dabei in ihrer Position (*ortho*, *meta*, *para* oder *meta* und *para*) und wiesen unterschiedliche mesomere und induktive Effekte auf.

Diese Substituenten (an R¹) wurden freundlicherweise von Herrn Prof. Wiese auf ihre physikochemischen Eigenschaften nach σ -Hammett und ihre Lipophilie hin untersucht. Ausgewählte Verbindungen (**78-83**, **85**, **88**, **89**, **91**, **93-95**) sind in Abbildung 5.4 in einem σ - π Streudiagramm dargestellt. In der linearen Regression zeigte sich eine signifikante Korrelation beider Variablen (Formel 5.1). Eine separate Betrachtung der σ -Hammett Werte für die *meta*- und *para*- Substitution führt zu keiner Verbesserung der Korrelation. Die *ortho*-substituierten Derivate konnten auf Grund der fehlenden σ -Werte nicht mit einbezogen werden.

Formel 5.1:

$$pIC_{50} = 0,458 (\pm 0,041) \pi + 0,425 (\pm 0,092) \sigma + 5,639 (\pm 0,027)$$

$$n = 13; R^2 = 0,954; R^2_{adj} = 0,945; s = 0,083; F = 104,5$$

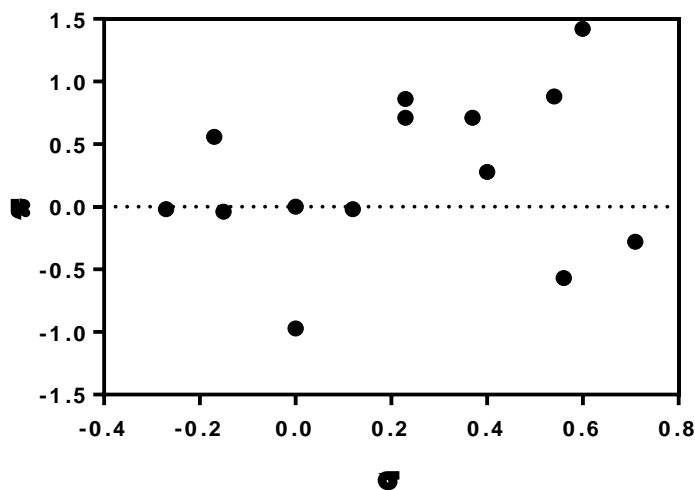


Abbildung 5.4: Verteilung der Substituenten am Phenylringe (R^1) in einem σ - π Streudiagramm [199]

Diese Gleichung zeigte, dass die Lipophilie einen positiven Effekt auf die inhibitorische Aktivität der Verbindungen hat. Eine erhöhte Lipophilie kann die Verteilung in die Membran erhöhen und somit die lokale Konzentration steigern. Da wie in Kapitel 1.4.1 bereits beschrieben die Bindung von Substraten und Modulatoren an den ABC-Transporter höchstwahrscheinlich von der Membran aus stattfindet, würde eine erhöhte Lipophilie dies begünstigen. Auch die Anwesenheit elektronenziehender Substituenten zeigte gemäß der Gleichung einen positiven Effekt auf die Hemmwirkung der Substanzen gegenüber ABCG2. Der Grund dafür könnte eine durch diese Substituenten begünstigte π - π Wechselwirkung des Phenylringes mit aromatischen Aminosäuren innerhalb des Proteins sein.

Die inhibitorische Aktivität zweier Verbindungen (**84**: $R^1 = 3\text{-NO}_2\text{-Phenyl}$; **86**: $R^1 = 4\text{-CF}_3\text{-Phenyl}$) weichte von diesem Ergebnis ab. Um zu überprüfen, ob es sich bei diesen Verbindungen tatsächlich um Ausreißer handelte wurden diese auf ihre Löslichkeit hin untersucht. Dazu wurden die Absorption, im Maximum, einer $10 \mu\text{mol/l}$ Lösung beider Verbindungen (entspricht der höchsten Konzentration, die im Assay verwendet wurde) über einen Zeitraum von 120 Min. (Messzeit des Assays) vermessen. Nach 120 Min. waren die Absorptionswerte beider Verbindungen auf 20 % des Ausgangswertes (Minute 0) abgefallen, was auf ein Ausfallen der Verbindungen in diesem Zeitraum hinwies. Es war

davon auszugehen, dass die schlechte Löslichkeit der beiden Verbindungen für die Inaktivität gegenüber ABCG2 verantwortlich war. Ein Ausfallen der Verbindungen war beim Betrachten der Testlösungen mit bloßem Auge nicht zu erkennen. Aus diesem Grund wurden von den übrigen inaktiven Verbindungen (**90**, **92**, **112**, **113**, **115**) ebenfalls Absorptionsspektren aufgenommen. Zur Kontrolle wurden ausgewählte aktive Verbindungen mit hoher (**107**, IC_{50} : 0,233 $\mu\text{mol/l}$), moderater bis guter (**78**, IC_{50} : 2,78 $\mu\text{mol/l}$; **104**, IC_{50} : 1,23 $\mu\text{mol/l}$) und niedriger (**85**, IC_{50} : 7,82 $\mu\text{mol/l}$; **114**, IC_{50} : 10,4 $\mu\text{mol/l}$) inhibitorischer Aktivität vermessen. Die Verbindungen **90** und **92** zeigten ebenfalls eine Abnahme der Absorptionswerte auf 40 % des Ausgangswertes (nach 120 Min.), während alle anderen untersuchten Verbindungen nahezu quantitativ in Lösung blieben.

Die gute Korrelation der Struktur-Wirkungs-Beziehungsanalyse und der im Hoechst 33342 Assay gemessenen inhibitorischen Aktivitäten (IC_{50} -Werte) der Verbindungen **77-95** ließen folgende Aussagen zu: Die Substitution an R^1 mit Chlor- oder Bromphenyl hatte, abhängig von der Position des Substituenten, einen positiven Einfluss auf die Aktivität. 3-Chlor-, 4-Chlor und 4-Bromphenyl (**93**, IC_{50} : 0,869 $\mu\text{mol/l}$; **94**, IC_{50} : 0,741 $\mu\text{mol/l}$; **91**, IC_{50} : 0,687 $\mu\text{mol/l}$) steigerten die inhibitorische Aktivität bis in den submikromolaren Bereich, während 2-Chlor- und 2-Bromphenyl (**92**, **90**) zu inaktiven Verbindungen führte. Ein ähnliches Ergebnis, allerdings weniger stark ausgeprägt, erhielt man auch beim Vergleich der 4-Fluor- und 2-Fluorphenyl Verbindungen (**88**, IC_{50} : 1,89 $\mu\text{mol/l}$; **87**, IC_{50} : 4,49 $\mu\text{mol/l}$). Bei den Verbindungen **90** und **92** musste allerdings die verminderte Löslichkeit über den Zeitraum des Assay berücksichtigt werden. Durch die Substitution mit einem 3,4-Dichlorphenyl an R^1 (**95**) erhielt man eine der aktivsten Verbindungen mit einem IC_{50} von 0,328 $\mu\text{mol/l}$. Die Verbindung mit einem 3,4-Difluorphenylrest (**89**, IC_{50} : 1,10 $\mu\text{mol/l}$) zeigte ebenfalls einen leichten Anstieg der Aktivität im Vergleich zu 4-Fluorphenyl (**88**, IC_{50} : 1,89 $\mu\text{mol/l}$). Die Substitution des Phenylringes an R^1 mit $-\text{OCH}_3$, $-\text{CH}_3$ oder $-\text{CN}$ (**79**, IC_{50} : 1,92 $\mu\text{mol/l}$; **80**, IC_{50} : 2,21 $\mu\text{mol/l}$; **81**, IC_{50} : 3,62 $\mu\text{mol/l}$; **82**, IC_{50} : 1,43 $\mu\text{mol/l}$; **83**, IC_{50} : 2,00 $\mu\text{mol/l}$) beeinflusste die inhibitorische Aktivität nur geringfügig im Vergleich zur unsubstituierten Verbindung **78** (IC_{50} : 2,78 $\mu\text{mol/l}$). Substituenten wie $-\text{NO}_2$, $-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}_3$ oder $-\text{CF}_3$ (**84**, IC_{50} : $\gg 10$ $\mu\text{mol/l}$; **85**, IC_{50} : 7,82 $\mu\text{mol/l}$; **86**, IC_{50} : $\gg 10$ $\mu\text{mol/l}$) führten hingegen zu einer starken Abnahme der inhibitorischen Aktivität, wobei dieser Effekt bei Verbindung **84** und **86** auf die zuvor beschriebenen Löslichkeitsprobleme zurückgeführt werden konnte.

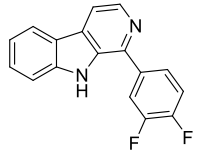
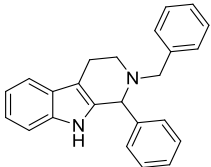
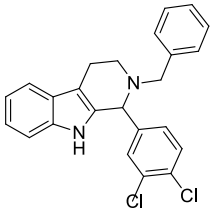
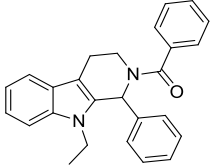
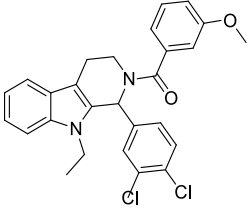
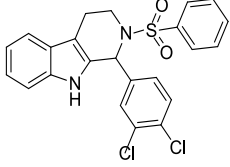
Die Variationen an R² führte zum Teil zu sehr heterogenen Ergebnissen. Bei den Verbindungen mit einem 3,4-Difluorphenylring an R¹ hatten alle Variationen an R² (**96** = 4-Chlorphenyl, IC₅₀: 1,26 μ mol/l; **100** = 3,4-Dimethoxyphenyl, IC₅₀: 1,10 μ mol/l; **105** = 4-Methoxyphenyl, IC₅₀: 0,805 μ mol/l) nur einen geringfügigen Einfluss auf die inhibitorische Aktivität im Vergleich zu Verbindung **89** (R² = Phenyl, IC₅₀: 1,10 μ mol/l). Bei hochpotenten Verbindungen wie **91** (IC₅₀: 0,687 μ mol/l) und **95** (IC₅₀: 0,328 μ mol/l) führte ein 4-Chlorphenylsubstituent an R² zu einer signifikanten Abnahme der inhibitorischen Aktivität (**97**, IC₅₀: 1,78 μ mol/l; **98**, IC₅₀: 1,03 μ mol/l). Gleiches war für R² = 3,4-Dimethoxyphenyl (**99**, IC₅₀: 0,698 μ mol/l) oder 1-Naphthyl (**101**, IC₅₀: 1,32 μ mol/l) zu beobachten. Ein 4-Methoxyphenylrest an R² zeigte keinen (**106**, IC₅₀: 0,883 μ mol/l) oder nur einen leicht positiven Effekt (**102**, IC₅₀: 1,75 μ mol/l; **103**, IC₅₀: 1,45 μ mol/l) auf die inhibitorischen Eigenschaften. Eine Ausnahme waren die Verbindungen **86** und **104** (R¹ = CF₃) da hier der Austausch des Phenylringes in R² durch 4-Methoxyphenyl (**104**, IC₅₀: 1,23 μ mol/l) erst zu einer Inhibition von ABCG2 führte. Dieser Effekt konnte durch die bereits beschriebenen Löslichkeitsprobleme der Verbindung **86** erklärt werden. Das Einführen der 4-Methoxyphenylgruppe in R² führte an dieser Stelle zur Verbesserung der Löslichkeit. Bei der Verbindung mit R¹ = 3,4-Dichlorphenyl führte der Austausch des Phenylringes gegen 4-Methoxyphenyl in R² zu einem leichten Anstieg der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2 (**107**, IC₅₀: 0,233 μ mol/l). Eine weitere Variation mit R² = 3-Methoxyphenyl steigerte die Aktivität in gleicher Weise (**108**, IC₅₀: 0,238 μ mol/l), während R² = 2-Methoxyphenyl die Aktivität leicht herabsetzte (**109**, IC₅₀: 0,421 μ mol/l). Das Einfügen einer zusätzlichen Methoxygruppe an C6 zeigte keine Auswirkung auf die Aktivität gegenüber ABCG2 (Vgl. **95**, IC₅₀: 0,328 μ mol/l; **110**, IC₅₀: 0,382 μ mol/l). Die inhibitorische Aktivität der Verbindungen **107** und **108** ist mit der des bekannten Inhibitors Ko143 (IC₅₀: 0,225 μ mol/l) vergleichbar. Das Alkaloid Harmin erwies sich mit einer IC₅₀-Wert von 5,08 μ mol/l nicht als sonderlich potenter Inhibitor gegenüber ABCG2. Aufgrund seiner strukturellen Ähnlichkeit zu den ABCG2 Inhibitoren Ko143 und FTC wurde der Phosphodiesterase-5-Hemmer Tadalafil ebenfalls untersucht. Sowohl im Hoechst 33342 Assay als auch im Pheophorbid A Assay zeigte dieser keine Hemmwirkung gegenüber ABCG2 (bis 10 μ mol/l). Abgesehen davon, dass Tadalafil ein anderes Substitutionsmuster wie die beiden bekannten Inhibitoren besitzt zeigte sich auch ein Unterschied in der Stereochemie der drei Substanzen. Tadalafil besitzt zwei Stereozentren die beide *R* konfiguriert vorliegen, während Ko143 und FTC je drei Stereozentren besitzen die alle *S* konfiguriert sind. Nach Szolomajer-Csikos *et al.* und van Loevezijn *et al.*

zeigten die Ko143- und FTC Analoga mit *S* Konfiguration eine stärkere inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 als die *R* oder *R/S* gemischt konfigurierten Derivate [189,190,190]. Die in dieser Arbeit als hochpotente ABCG2 Inhibitoren identifizierten Verbindungen wurden als Racemate untersucht (chirales Zentrum an C1). Die Racematspaltung und Untersuchung der enantiomerenreinen Verbindungen stellt somit einen interessanten Ansatz für zukünftige Studien dar.

Bei den Verbindungen **111-116** handelte es sich um Derivate die neben dem Austausch von R¹ und R² weitere strukturelle Variationen aufwiesen, siehe Tabelle 5.2. Verbindung **111** ist die oxidierte Form (β -Carbolin) des 1-substituierten-Tetrahydro- β -carbolins **69**. Verbindung **69** war, wie bereits beschrieben, inaktiv an ABCG2, während die oxidierte Form **111** moderate inhibitorische Eigenschaften (IC₅₀: 2,37 μ mol/l) gegenüber ABCG2 zeigte. Im Vergleich zu dem bereits diskutierten *N*2-Acyl-1-substituierten-Tetrahydro- β -carbolin **89** (IC₅₀: 1,10 μ mol/l) war Verbindung **111** schwächer aktiv was die Annahme zuließ, dass die Substitution an *N*2 einen wichtigen Beitrag zur inhibitorischen Wirksamkeit lieferte.

Um zu untersuchen inwiefern das Wasserstoffbrücken Donor-Akzeptor System des sekundärenamins und der Carbonylgruppe eine Rolle spielte, wurden die Verbindungen **112-115** synthetisiert und untersucht. Sowohl der Austausch der Carbonylgruppe gegen eine Methylengruppe als auch die Alkylierung an *N*9 führte zu einer starken Abnahme der inhibitorischen Aktivität bis hin zur Inaktivität gegenüber ABCG2. Um Löslichkeitsprobleme auszuschließen wurde von den Verbindungen **112-115** ebenfalls die Absorption, im Maximum, über 120 Min. vermessen. Das Ergebnis zeigte, dass die Verbindungen alle nahezu quantitativ in Lösung blieben. Daher konnte angenommen werden, dass das Wasserstoffbrücken Donor-Akzeptor System wichtig für die Inhibition von ABCG2 war. Bei Verbindung **116** wurde die Carbonylgruppe durch einen anderen Wasserstoffbrückenakzeptor, einer Sulfongruppe, ersetzt. Diese Verbindung zeigte zwar eine gute inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 im submikromolaren Bereich, allerdings war sie nicht so aktiv wie Verbindung **95** die eine Carbonylgruppe an dieser Stelle aufwies. Neben der Akzeptorfunktion schienen daher auch noch andere Eigenschaften der Carbonylgruppe eine Rolle zu spielen.

Tabelle 5.2: Inhibitorische Aktivität der Tetrahydro- β -carboline mit verändertem Substitutionsmusters und des β -Carbolins gegenüber ABCG2 im Hoechst 33342 oder Pheophorbide A Assay mit MDCK II BCRP Zellen

Verbindung	Struktur	Hoechst 33342 Assay	Pheophorbide A Assay
		IC ₅₀ \pm SD [μ mol/l]*	IC ₅₀ \pm SD [μ mol/l]*
111		---	2,37 \pm 0,11
112		>> 10	---
113		>> 10	---
114		10,4 \pm 1,84	---
115		>> 10	---
116		0,798 \pm 0,146	---

*M \pm SD (n \geq 3)

5.3.2 Screening der inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCB1

Alle Verbindungen wurden gegenüber ABCB1 mit Hilfe des Calcein AM Assays mit A2780 Adr Zellen, in Konzentration bis 10 $\mu\text{mol/l}$, gescreent. Cyclosporin A wurde als Standard verwendet. Die inhibitorische Aktivität der getesteten Verbindungen wurde prozentual, bezogen auf den Standard (100 %), angegeben. Das Ergebnis des Screenings ist in Abbildung 5.5 dargestellt. Bei allen Verbindungen die eine Aktivität von $> 25\%$ gegenüber ABCB1 aufwiesen wurde ein IC_{50} -Wert ermittelt. Die aktivsten Verbindungen gegenüber ABCG2 (**95**, **107**, **108** und **110**) zeigten keine signifikante Hemmung von ABCB1 ($< 25\%$) und konnten daher als selektiv (in Bezug auf ABCB1) gegenüber ABCG2 angesehen werden.

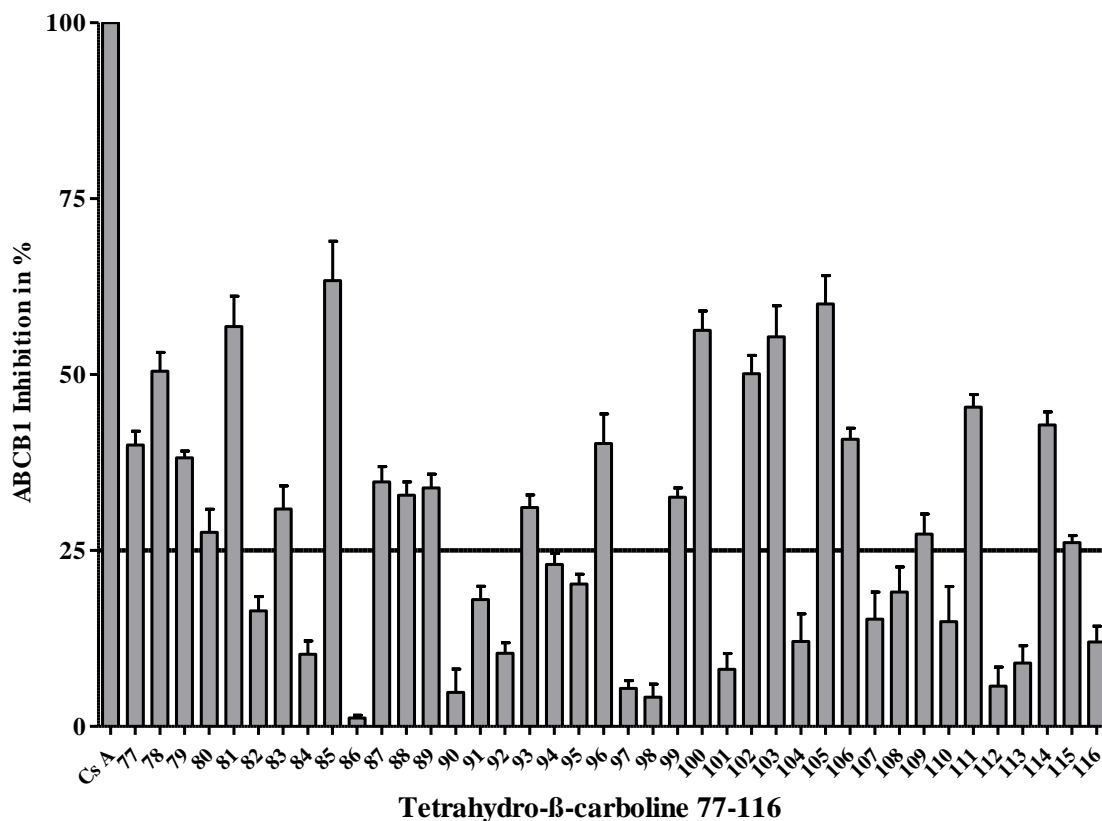


Abbildung 5.5: Effekt der Tetrahydro- β -carbolinderivate und des β -Carbolins gegenüber ABCB1 (in Prozent, bezogen auf Cyclosporin A (Cs A) als Standard) bei Konzentrationen bis 10 $\mu\text{mol/l}$, $n \geq 3$

Wie im Screening schon deutlich zu erkennen war erreicht keine der Verbindungen den maximalen Effekt des Standards Cyclosporin A. Um eine Konzentrations-Effekt-Kurve

zu erstellen, aus welcher der IC_{50} -Wert dann ermittelt werden konnte, mussten die maximalen Effekte der Verbindungen auf den Standard fixiert werden. Ermittelte IC_{50} -Werte die weit über 10 $\mu\text{mol/l}$ hinausgingen wurden als $\gg 10$ angegeben, siehe Tabelle 5.3. Alle Verbindungen die gegenüber ABCG2 eine $IC_{50} < 1 \mu\text{mol/l}$ aufwiesen zeigten nur leichte Effekte gegenüber ABCB1 mit IC_{50} -Werten $> 10 \mu\text{mol/l}$ (mit Ausnahme von **105**). Die Verbindung **85** zeigte sowohl für ABCG2 als auch für ABCB1 ähnliche inhibitorische Eigenschaften mit IC_{50} -Werten von etwa 7,5 $\mu\text{mol/l}$.

*Tabelle 5.3: Inhibitorische Aktivität der synthetisierten Tetrahydro- β -carboline und des β -Carbolins **III** gegenüber ABCB1 im Calcein AM Assay mit A2780 Adr Zellen*

Verbindung	Calcein AM Assay
	$IC_{50} \pm SD [\mu\text{mol/l}]^*$
77	$12,9 \pm 0,6$
78	$7,94 \pm 1,83$
79	$6,22 \pm 0,38$
80	$12,0 \pm 2,8$
81	$7,33 \pm 0,85$
83	$6,55 \pm 0,77$
85	$7,40 \pm 0,94$
87	$11,3 \pm 1,3$
88	$13,4 \pm 0,5$
89	$8,76 \pm 1,30$
93	$\gg 10$
96	$\gg 10$
99	$14,3 \pm 1,5$
100	$2,86 \pm 0,19$
102	$9,55 \pm 2,32$
103	$3,38 \pm 0,64$
105	$8,24 \pm 1,03$
106	$\gg 10$
109	$\gg 10$
111	$10,4 \pm 0,6$
114	$9,23 \pm 0,88$
Cyclosporin A	1.09 ± 0.02

* $M \pm SD$ (n \geq 3)

5.3.3 Untersuchung der Zytotoxizität (MTT-Assay)

Die intrinsische Zytotoxizität der Verbindungen in MDCK II BCRP und Wildtyp Zellen wurde mit Hilfe des MTT-Assays bestimmt. Die Daten der Verbindungen **91** und **94** wurden freundlicherweise von Katja Stefan zur Verfügung gestellt [199]. Das Prinzip des Assays basiert auf folgendem Mechanismus. Das wasserlösliche, gelbe 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium Bromid (MTT) wird in lebenden Zellen zum korrespondierenden blauen Formazan reduziert, siehe Abbildung 5.6. Die gemessene Absorption ist proportional zur Zellvitalität. [200]. Die Durchführung des Assays ist in Kapitel 7.2.3.7 beschrieben.

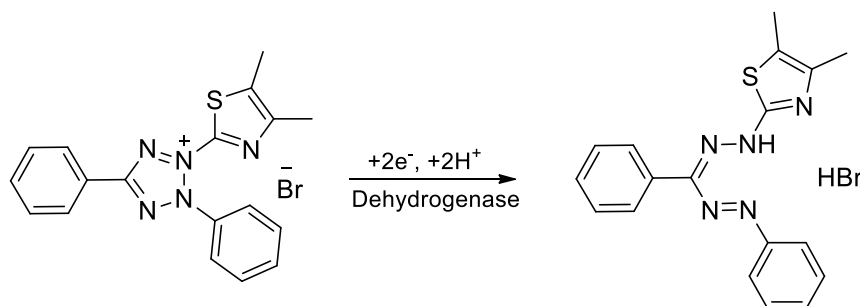
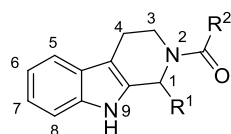
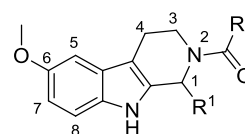


Abbildung 5.6: Reduktion des gelben MTT zum blauviolett gefärbten Formazan.

Der MTT-Assay wurde mit den ausgewählten hochaktiven Verbindungen (IC_{50} im submikromolaren Bereich) **91**, **94**, **95**, **107**, **108** und **110**, im Vergleich zum moderat aktiven unsubstituierten Derivat **78** und den bekannten Inhibitoren Harmin und Ko143, mit Konzentrationen bis zu 100 $\mu\text{mol/l}$ durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5.4 aufgeführt. Die Verbindungen mit einem 3,4-Dichlorphenyl Substituenten an R^1 (**95**, **107**, **108** und **110**) zeigten dabei sehr ähnliche toxische Effekte auf die Zellen. Der Vergleich der GI_{50} und IC_{50} Werte zeigte allerdings, dass die inhibitorische Aktivität stets 20fach höher war als der zytotoxische Effekt. Die Verbindung **78** ($R^1 = \text{Phenyl}$) zeigte ähnliche zytotoxische Effekte wie Ko143. Die Verbindungen **91** ($R^1 = 4\text{-Bromphenyl}$) und **94** ($R^1 = 4\text{-Chlorphenyl}$) zeigten die geringste Toxizität im MTT-Assay. Im Vergleich zu ihren inhibitorischen Aktivitäten gegenüber ABCG2 waren die zytotoxischen Effekte 20-30fach schwächer ausgeprägt. Das Alkaloid Harmin zeigte insgesamt die stärksten zytotoxischen Effekte auf die Zellen. Ein Vergleich des GI_{50} - und des IC_{50} -Wert zeigte, dass der Zytotoxizität in diesem Fall 2fach stärker war als die Hemmwirkung gegenüber ABCG2.

Tabelle 5.4: Intrinsische Toxizität von Ko143, Harmin sowie der Verbindungen **78**, **91**, **94**, **95**, **107**, **108** und **110** in MDCK II BCRP und Wildtyp Zellen im MTT-Assay [199]

**78 - 108****110**

Verbindung	R ¹	R ²	MDCK II BCRP	MDCK Wildtyp
			GI ₅₀ ± SD [μmol/l]*	GI ₅₀ ± SD [μmol/l]*
Ko143			11,1 ± 0,75	10,9 ± 0,9
Harmin			2,42 ± 0,72	2,30 ± 0,63
78	Phenyl	Phenyl	12,9 ± 1,1	12,4 ± 1,7
91	4-Br-phenyl	Phenyl	20,6 ± 1,8	19,4 ± 1,0
94	4-Cl-phenyl	Phenyl	18,1 ± 1,5	16,4 ± 0,4
95	3,4-Cl-phenyl	Phenyl	6,95 ± 1,07	7,29 ± 0,52
107	3,4-Cl-phenyl	4-OCH ₃ -phenyl	4,67 ± 0,46	4,83 ± 0,57
108	3,4-Cl-phenyl	3-OCH ₃ -phenyl	5,82 ± 0,60	6,55 ± 0,15
110	3,4-Cl-phenyl	Phenyl	4,17 ± 0,75	5,27 ± 1,44

*M ± SD (n ≥ 3)

5.3.4 Aufhebung der durch ABCG2 verursachten Zytostatikaresistenz

Die Daten dieser Untersuchungen wurden freundlicherweise von Katja Stefan erhoben [199]. Auch diese Versuche wurden mit den ausgewählten hochaktiven Verbindungen (IC₅₀ im submikromolaren Bereich) **91**, **94**, **95**, **107**, **108** und **110**, im Vergleich zum moderat aktiven unsubstituierten Derivat **78** und den bekannten Inhibitoren Harmin und Ko143 durchgeführt.

Die Fähigkeit der Substanzen die, durch ABCG2 verursachte, Zytostatikaresistenz der MDCK II BCRP Zellen aufzuheben konnte mit Hilfe eines modifizierten MTT-Assays mit SN-38 (7-Ethyl-10-hydroxycamptothecin) untersucht werden. Die zytotoxische Verbindung SN-38 ist der aktive Metabolit des Zytostatikums Irinotecan und ein Substrat von ABCG2 [201]. Der zytotoxische Effekt von SN-38 auf MDCK II BCRP und Wildtyp

Zellen wurde in Ab- und Anwesenheit verschiedener Konzentrationen der zu untersuchenden Inhibitoren gemessen. Anhand der in Tabelle 5.5 aufgeführten GI_{50} -Werte wurde deutlich, dass alle getesteten Verbindungen, konzentrationsabhängig, den Transport von SN-38 durch ABCG2 in unterschiedlichem Maße aufheben konnten.

Tabelle 5.5: Aufhebung der durch ABCG2 verursachten Zytostaiкаaresistenz gegenüber SN-38. Dargestellt am Beispiel der Verbindungen **78**, **91**, **94**, **95**, **107**, **108** und **110** im Vergleich zu Harmin und Ko143 mit MDCK II BCRP und Wildtyp Zellen [199]

Verbindung	MDCK II BCRP $GI_{50} \pm SD$ [$\mu\text{mol/l}$]*	MDCK II BCRP + 0,01 $\mu\text{mol/l}$ Testsubstanz $GI_{50} \pm SD$ [$\mu\text{mol/l}$]*	MDCK II BCRP + 0,1 $\mu\text{mol/l}$ Testsubstanz $GI_{50} \pm SD$ [$\mu\text{mol/l}$]*	MDCK II BCRP + 1 $\mu\text{mol/l}$ Testsubstanz $GI_{50} \pm SD$ [$\mu\text{mol/l}$]*	MDCK Wildtyp $GI_{50} \pm SD$ [$\mu\text{mol/l}$]*
Ko143	1,65 \pm 0,04	1,05 \pm 0,05	0,279 \pm 0,026	0,292 \pm 0,018	0,218 \pm 0,082
Harmin	2,12 \pm 0,21	1,95 \pm 0,19	1,84 \pm 0,08	1,22 \pm 0,11	0,300 \pm 0,072
78	1,96 \pm 0,39	1,75 \pm 0,04	1,58 \pm 0,12	0,865 \pm 0,036	0,300 \pm 0,052
91	3,19 \pm 0,26	2,88 \pm 0,14	2,21 \pm 0,05	0,946 \pm 0,063	0,313 \pm 0,009
94	3,49 \pm 0,37	3,52 \pm 0,45	2,76 \pm 0,01	1,11 \pm 0,04	0,285 \pm 0,007
95	2,22 \pm 0,11	1,69 \pm 0,02	1,17 \pm 0,06	0,484 \pm 0,006	0,311 \pm 0,027
107	2,23 \pm 0,11	1,62 \pm 0,15	0,774 \pm 0,103	0,438 \pm 0,004	0,298 \pm 0,076
108	2,00 \pm 0,29	1,75 \pm 0,19	0,868 \pm 0,001	0,429 \pm 0,003	0,288 \pm 0,023
110	2,00 \pm 0,12	1,44 \pm 0,16	0,655 \pm 0,071	0,410 \pm 0,032	0,258 \pm 0,053
Durchschnitt	2,28 \pm 0,39				0,283 \pm 0,047

* $M \pm SD$ (n \geq 3)

Die Verschiebung der Konzentrations-Effekt-Kurve der ABCG2 exprimierenden MDCK II BCRP Zellen, in Anwesenheit verschiedener Konzentration eines Inhibitors, wurde am Beispiel von Ko143 und der Verbindung **107** in Abbildung 5.7 dargestellt. Trotz ähnlicher IC_{50} -Werte im Hoechst 33342 Assay war die Aufhebung der ABCG2 assoziierten Zytostatikaresistenz durch die Verbindungen **95**, **107**, **108** und **110** 10fach geringer ausgeprägt als durch Ko143. Dieser Effekt war bei den Verbindungen **78**, **91**, **94** und Harmin noch deutlicher zu beobachten. Der Unterschied der im Hoechst 33342 Assay ermittelten IC_{50} -Werte und in diesem Versuch erfassten GI_{50} -Werte der Verbindungen, im Vergleich zu Ko143, wies auf die Wahrscheinlichkeit einer substratspezifischen Wechselwirkung hin. Untersuchungen mit weiteren Substraten wurde in dieser Arbeit nicht vorgenommen, stellen aber für die Zukunft einen interessanten Ansatz dar.

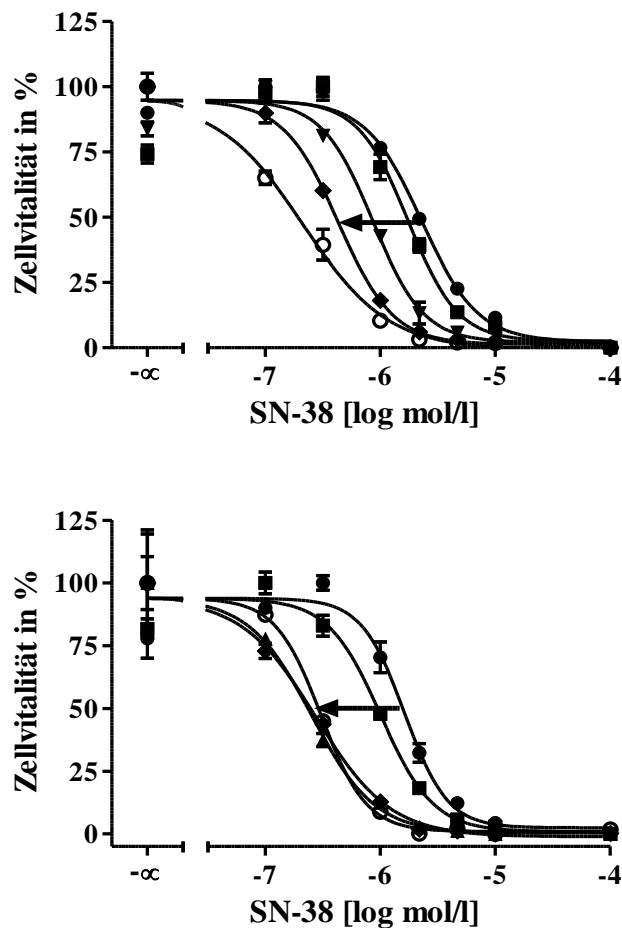


Abbildung 5.7: Konzentrations-Effekt-Kurve von SN-38 erhalten im MTT-Assay, in An- und Abwesenheit verschiedener Konzentrationen der Inhibitoren **107** (oben) und Ko143 (unten), gemessen in MDCK II BCRP und Wildtyp Zellen. ● = Kontrolle; ■ = Konz. Inhibitor 0,01 $\mu\text{mol/l}$; ▼ = Konz. Inhibitor 0,1 $\mu\text{mol/l}$; ◆ = Konz. Inhibitor 1 $\mu\text{mol/l}$; ○ = Wildtyp Zellen [199]

5.3.5 ATPase Assay

Die Daten für ausgewählte Verbindungen wurden freundlicherweise von Katja Stefan zur Verfügung gestellt [199].

Beim ATPase Assay kann indirekt der Einfluss von Substanzen auf die Aktivität eines ABC-Transporters, in diesem Fall ABCG2, bestimmt werden. Wie in der Einleitung bereits beschrieben transportieren Effluxtransporter Substrate entgegen einem Konzentrationsgradienten aktiv, unter Verbrauch von ATP, aus der Zelle heraus. Die Energie wird dabei aus der Hydrolyse von ATP zu ADP und Phosphat gewonnen. Die freigesetzte Menge anorganischen Phosphats ist dabei proportional zur Transporteraktivität und kann einfach kolorimetrisch bestimmt werden. Substrate des betreffenden Transporters können die ATPase Aktivität und somit die Hydrolyse von ATP erhöhen, während Inhibitoren die ATPase Aktivität senken. Gemessen wurde die Vanadat sensitive ATPase Aktivität, isolierter ABCG2 enthaltender Sf9 Membranen. [26,199,202–204]

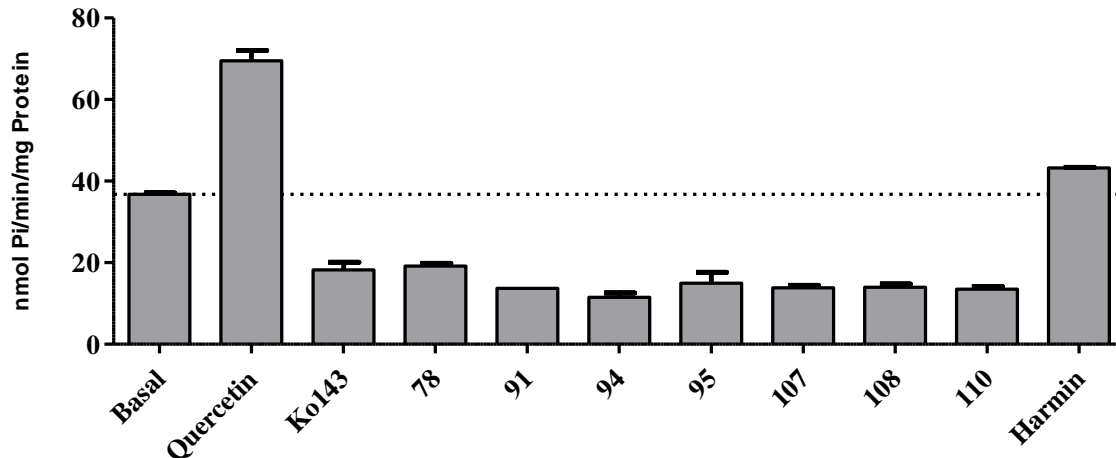


Abbildung 5.8: Effekt der Verbindungen 78, 91, 94, 95, 107, 108, 110 und Harmin auf die Vanadat sensitive ATPase Aktivität, isolierter ABCG2 enthaltender Sf9 Membranen. Positivkontrolle: Quercetin als Aktivator der ATPase; Negativkontrolle: Ko143 als Inhibitor der ATPase Aktivität. Alle Verbindungen wurden bei der Konzentration von 1 $\mu\text{mol/l}$ untersucht. ($n = 3$) [199]

In Abbildung 5.8 sind die Ergebnisse des ATPase Assays im Vergleich zur basalen-, der durch Quercetin stimulierten und der durch Ko143 inhibierten ATPase Aktivität dargestellt. Alle Verbindungen, außer Harmin, inhibierten bei einer Konzentration von 1

$\mu\text{mol/l}$ die ATPase Aktivität im gleichen Maße wie $1 \mu\text{mol/l}$ des bekannten Inhibitors Ko143. Das Ergebnis deutet darauf hin, dass diese Verbindungen keine Substrate von ABCG2 sind. Das Alkaloid Harmin zeigte hingegen keinen signifikanten Einfluss auf die ATPase Aktivität.

Des Weiteren wurden noch Konzentrations-Effekt-Kurven des inhibitorischen Effekts auf die basale ATPase Aktivität im Vergleich zur Quercetin stimulierten ATPase Aktivität bestimmt. Die Ergebnisse wurden in Tabelle 5.6 zusammengefasst.

Tabelle 5.6: Inhibitorischer Effekt der Verbindungen 78, 91, 94, 95, 107, 108, 110 und Ko143 auf die Vanadat sensitive ATPase Aktivität, isolierter ABCG2 enthaltender Sf9 Membranen, gemessen ausgehend von der basalen ATPase Aktivität und der Quercetin stimulierten ATPase Aktivität [199]

Verbindung	Basal Aktivität	Quercetin stimulierte Aktivität	Shift
	IC ₅₀ \pm SD [$\mu\text{mol/l}$]*	IC ₅₀ \pm SD [$\mu\text{mol/l}$]*	
Ko143	0.004 \pm 0.000	0.028 \pm 0.001	7.2
78	0.196 \pm 0.032	2.02 \pm 0.37	10.3
91	0.112 \pm 0.015	0.863 \pm 0.028	7.7
94	0.060 \pm 0.012	0.560 \pm 0.106	9.3
95	0.031 \pm 0.002	0.262 \pm 0.036	8.4
107	0.026 \pm 0.002	0.285 \pm 0.004	11.0
108	0.038 \pm 0.003	0.262 \pm 0.030	7.0
110	0.029 \pm 0.005	0.299 \pm 0.023	10.4

* $M \pm SD$ (n = 3)

In Abbildung 5.9 sind beispielhaft die Konzentrations-Effekt-Kurven von Verbindung **110** und Ko143 dargestellt. Die im Hoechst 33342 Assay aktivsten Verbindungen (**95**, **107**, **108** und **110**) zeigten im ATPase Assay IC₅₀ Werte die eine logarithmische Einheit größer waren als die von Ko143. Die pIC₅₀ Werte der synthetisierten Verbindungen zeigten im Hoechst 33342 Assay und im ATPase Assay eine gute lineare Korrelation. Alle im ATPase Assay getesteten Verbindungen sowie Ko143 hemmten ebenfalls die Quercetin stimulierte ATPase Aktivität. Dabei war im Vergleich zur basalen ATPase Aktivität eine konstante Verschiebung um den Faktor 9 zu beobachten. Dies deutete auf eine kompetitive Interaktion mit der durch Quercetin hervorgerufenen ATPase Stimulation hin.

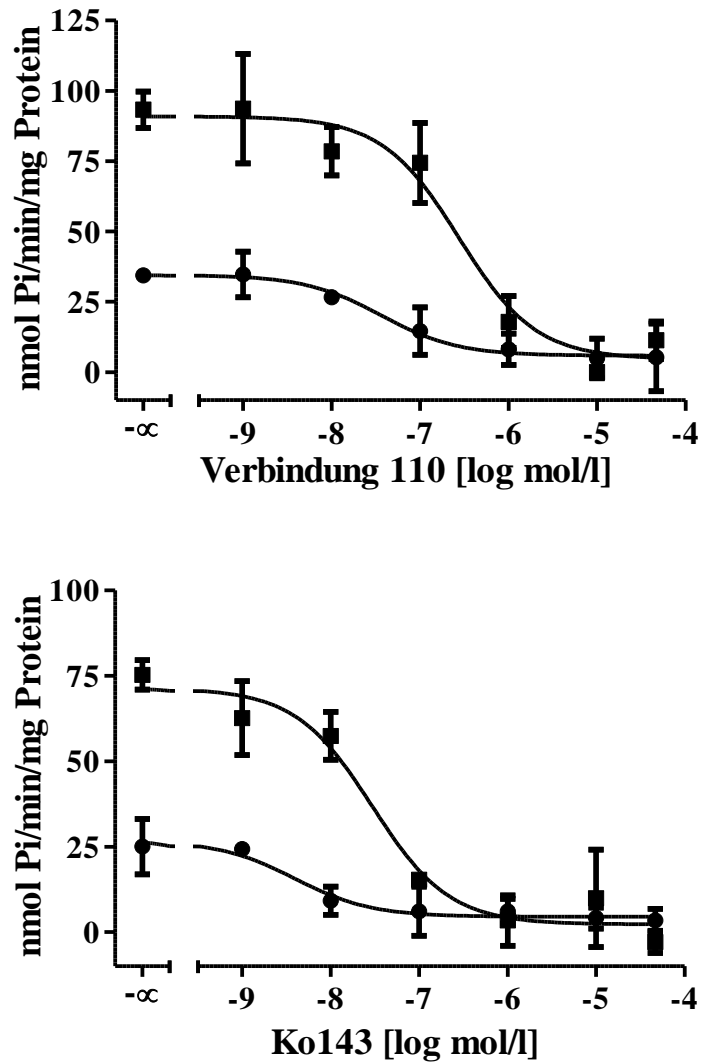
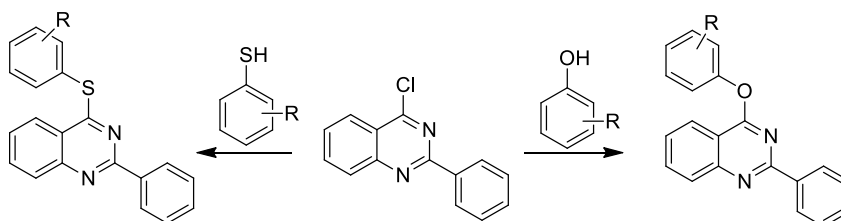


Abbildung 5.9: Konzentrations-Effekt-Kurven der Verbindung **110** (oben) und **Ko143** (unten) auf die Vanadat sensitive ATPase Aktivität, isolierter ABCG2 enthaltender Sf9 Membranen. ● = Basale ATPase Aktivität; ■ = Quercetin (1 μ mol/l) stimulierte ATPase Aktivität [199]

6 Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war die Identifizierung neuer, potenter und selektiver ABCG2 Inhibitoren. Dazu wurde eine Substanzbibliothek von neuen Chinazolin-, Chinolin- und Tetrahydro- β -carbolinderivaten synthetisiert, untersucht und die inhibitorischen Eigenschaft gegenüber ABCG2 mit strukturell verwandten ABCG2 Inhibitoren verglichen.

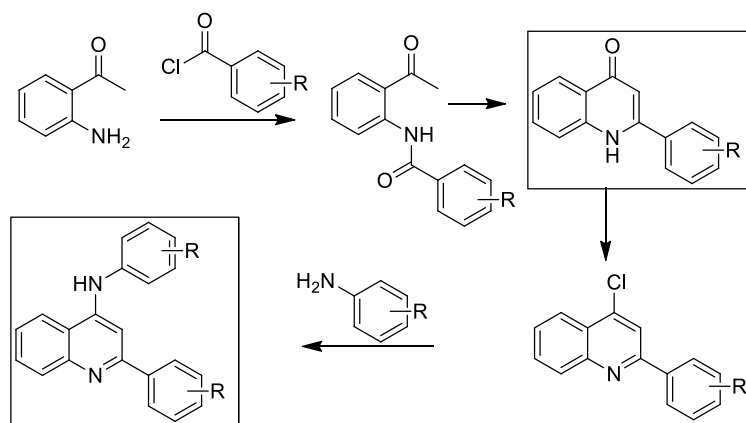
Im ersten Projekt dieser Arbeit (Kapitel 3) wurden 4-Phenoxy-2-phenylchinazolin- und 4-Phenylthio-2-phenylchinazolinderivate synthetisiert, um den Einfluss der bis dahin konservierten Linkerstruktur an C4 der bereits publizierten 2-Phenyl-4-Anilinchinazolin Inhibitoren von Kapil Juvele zu untersuchen. Der Anilinstickstoff wurde hierbei gegen Sauerstoff bzw. Schwefel ausgetauscht. Mit einer schnell durchführbaren Einstufen-Synthese ausgehend von 4-Chlor-2-phenylchinazolin und den entsprechenden Phenol- und Thiophenolderivaten (Schema 6.1) wurden 10 Derivate synthetisiert und auf ihre inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 untersucht. Der Austausch des Aminlinkers gegen Sauerstoff oder Schwefel führte zur einer starken Abnahme der inhibitorischen Aktivität. Ein Schwefellinker erwies sich als besonders ungeeignet. Die Verbindungen mit einem Sauerstofflinker zeigten zwar eine Hemmwirkung gegenüber ABCG2, allerdings waren die IC_{50} -Werte um ein vielfaches höher als die der 2-Phenyl-4-Anilinchinazoline. Nur eine Verbindung (**6**) zeigte eine gute Hemmwirkung mit einem IC_{50} -Wert von etwa 1 $\mu\text{mol/l}$. Anhand der Ergebnisse konnte von einem signifikanten Beitrag des Aminlinkers zur inhibitorischen Aktivität der 2-Phenyl-4-Anilinchinazoline ausgegangen werden.



Schema 6.1: Zusammenfassung der Synthese der 4-Phenoxy-2-phenylchinazolin- und 4-Phenylthio-2-phenylchinazolin Derivate

Im zweiten Projekt (Kapitel 4) wurden Chinolinderivate synthetisiert und untersucht. Im Vergleich zu den Chinazolinderivaten besitzen die Chinolinderivate nur einen Stickstoff

im Ringsystem an Position 1. Über eine Vierstufen Synthese ausgehend von *o*-Aminobenzophenon wurden 16 *N*,2-Diphenylchinolin-4-amine synthetisiert (Schema 6.2) und ihre inhibitorische Aktivität gegenüber ABCG2 bestimmt.



Schema 6.2: Zusammenfassung der Synthese der *N*,2-Diphenylchinolin-4-amine (Zwischenstufe: Chinolon)

Dabei erwiesen sich einige Derivate (**22**, **23**, **24**, **33**, **34**) als potente Inhibitoren mit IC₅₀-Werten von etwa 1 μmol/l. Eine Struktur-Wirkungsbeziehung der *N*,2-Diphenylchinolin-4-aminderivate ist in Abbildung 6.1 zusammengefasst.

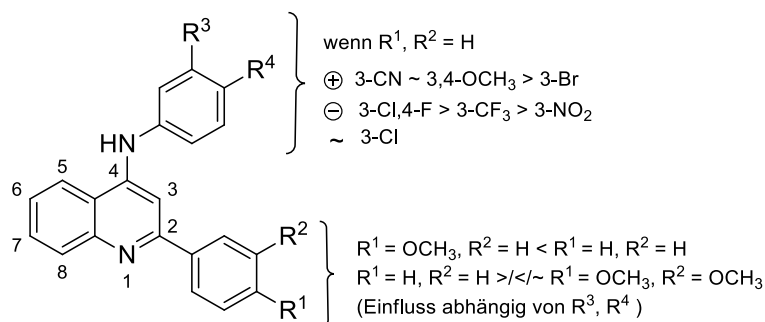


Abbildung 6.1: Zusammenfassung der Struktur-Wirkungsbeziehung der *N*,2-Diphenylchinolin-4-amine

Im Vergleich zu den von Kapil Juvele publizierten, korrespondierenden 2-Phenyl-4-Anilinchinazolinderivaten zeigten die *N*,2-Diphenylchinolin-4-aminderivate (mit Ausnahme der Verbindungen **20** und **21**) eine verminderte Hemmwirkung gegenüber ABCG2. Der

wesentliche Unterschied beider Substanzklassen lag in Position 3 der Grundstruktur. Durch das Fehlen des Stickstoffes in Position 3 wiesen die *N*,2-Diphenylchinolin-4-amine eine erhöhte Basizität am Chinolinstickstoff und nur einen Wasserstoffbrückenakzeptor im Ringsystem auf. Anhand der Ergebnisse lies sich vermuten, dass der zweite Stickstoff in Position 3 des Chinazolingerüst ebenfalls einen wesentlichen Beitrag zur inhibitorischen Aktivität gegenüber ABCG2 liefert (Abbildung 6.2).

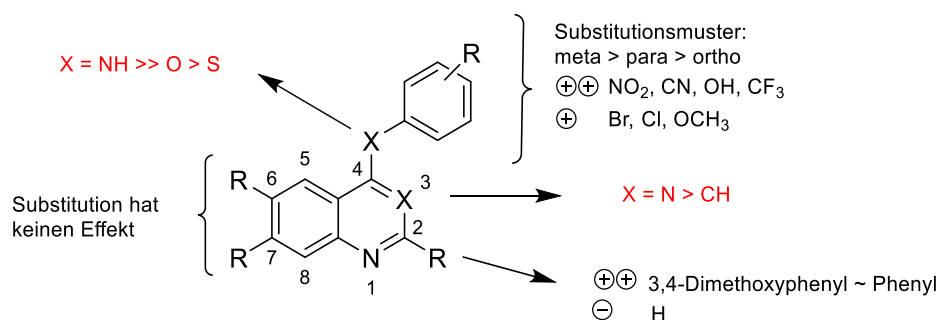
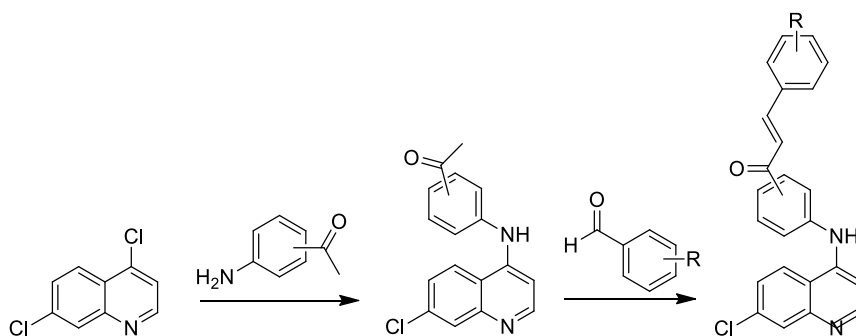


Abbildung 6.2: Zusammenfassung der Struktur-Wirkungsbeziehung der Chinazolin Derivate. schwarz: bereits bekannt [115]; rot: neu hinzugefügt

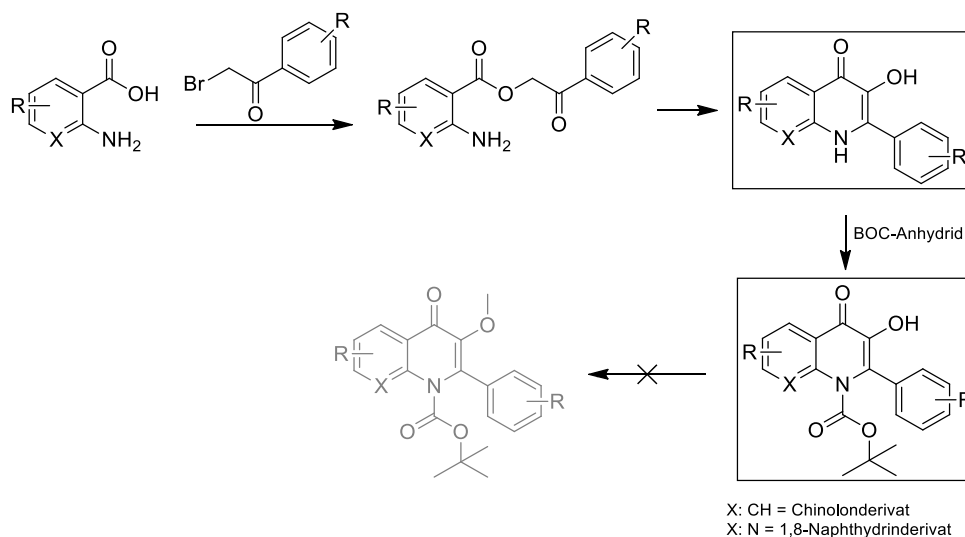
Eine andere interessante Entdeckung war, dass die *N*,2-Diphenylchinolin-4-amine höchstwahrscheinlich das Porphyrinderivat Pheophorbid A komplexieren und dadurch den passiven Ausstrom aus der Zelle verhindern können. Durch die erhöhten Fluoreszenzwerte im Pheophorbid A Assay sowohl in ABCG2 exprimierenden als auch Wildtyp Zellen wurde deutlich, dass die Anreicherung von Pheophorbid A noch durch einen weiteren Mechanismus als der Hemmung von ABCG2 hervorgerufen wurde. Die Vermutung der Komplexierung baut auf dem Wirkmechanismus des strukturell verwandten Arzneistoffes Chloroquin in der Therapie der Malaria auf. Der Versuch die Komplexierung von Pheophorbid A indirekt durch eine kolorimetrische Methode zum Nachweis der Komplexierung von Hämatin nachzuweisen führte leider zu keinem auswertbaren Ergebnis.

Bei der Bestimmung der inhibitorischen Aktivität der kleinen Gruppe der Chinolin-Chalkon-Hybride (Schema 6.3) spielte dieses Phänomen ebenfalls eine Rolle, allerdings war es hier weniger stark ausgeprägt. Da eine alternative Untersuchung, aufgrund von Eigenfluoreszenz, im Hoechst 33342 Assay nicht möglich war konnten die im Pheophorbid A Assay ermittelte Daten nur innerhalb dieser Gruppe verglichen werden.



Schema 6.3: Zusammenfassung der Synthese der Chinolin-Chalkon-Hybride

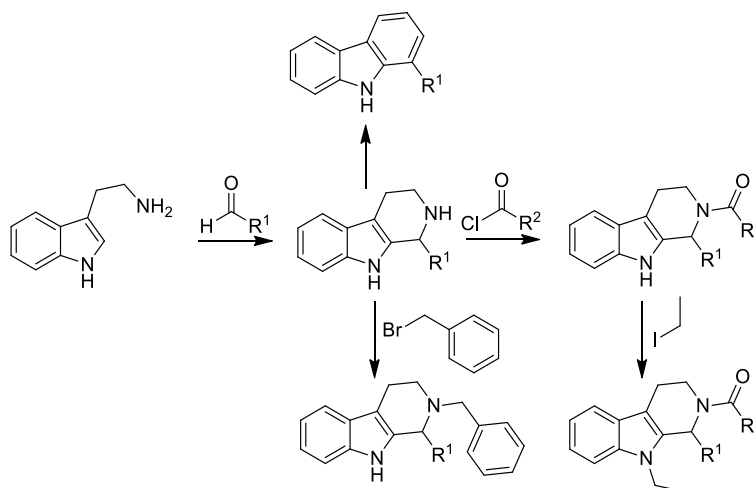
Die Chinolonderivate die zuerst als Zwischenstufe bei der Synthese der *N*,2-Diphenylchinolin-4-amine (Schema 6.2) isoliert wurden, stellten einen weiteren interessanten Ansatz dar. Aufgrund ihrer strukturellen Ähnlichkeit zu den Flavonen, die bereits als ABCG2 Inhibitoren bekannt waren, wurden weitere Derivate synthetisiert und untersucht. Über die Stufe der 3-Hydroxychinolonderivate sollten 3-Methoxychinolonderivate dargestellt werden. Allerdings ließ sich die Umsetzung zu den 3-Methoxychinolonderivaten nicht verwirklichen (Schema 6.4). Die Chinolonderivate erwiesen sich leider nicht als gute ABCG2 Inhibitoren und wurden daher nicht weiter untersucht.



Schema 6.4: Zusammenfassung der Synthese der 3-Hydroxychinolonderivate

Im dritten Projekt (Kapitel 5) wurden Tetrahydro- β -carbolinderivate synthetisiert und auf ihre inhibitorischen Eigenschaften gegenüber ABCG2 untersucht. Zur Synthese des

am C1 substituierten Pyrido[3,4-*b*]indol Grundgerüsts (Tetrahydro- β -carbolin) wurde Tryptamin mit verschiedenen aromatischen Aldehyden in einer Pictet-Spengler Reaktion umgesetzt. Da die entstandenen 1-substituierten-Tetrahydro- β -carboline keine Hemmwirkung gegenüber ABCG2 zeigten wurden diese Derivate in einem weiteren Schritt mit verschiedenen aromatischen Säurechloriden zum *N*2-Acyl-1-substituierten-tertrahydro- β -carbolin umgesetzt (Schema 6.5).



Schema 6.5: Zusammenfassung der Synthese der substituierten Tetrahydro- β -carboline/ β -Carbolin

Auf diese Weise entstanden 34 Derivate der *N*2-Acyl-1-substituierten-tertrahydro- β -carboline mit unterschiedlichsten Substitutionsmustern. Um die Struktur-Wirkungs-Beziehung (Abbildung 6.3) noch besser zu verstehen wurden 6 Verbindungen mit weiteren Variationen, an bis dahin konservierten Strukturbestandteilen, synthetisiert. Die aktivsten Verbindungen der *N*2-Acyl-1-substituierten-tertrahydro- β -carboline zeigten IC_{50} -Werte im submikromolaren Bereich ($IC_{50} = 0,233 \mu\text{mol/l}$) und waren vergleichbar mit der Aktivität von Ko143 ($IC_{50} = 0,225 \mu\text{mol/l}$). Die potentesten Verbindungen zeigten des Weiteren keinen signifikanten Effekt gegenüber ABCB1 und konnten in Bezug auf die beiden Proteine als selektiv gegenüber ABCG2 angesehen werden. Auf Grund ihrer guten inhibitorischen Funktion wurden einige Derivate auch noch auf ihre Toxizität, ihre Fähigkeit die ABCG2 verursachte Resistenz aufzuheben und ihre Eigenschaften gegenüber der ATPase Aktivität untersucht. Auf diese Weise konnten potente und selektive ABCG2 Inhibitoren identifiziert werden, die gleichzeitig die ATPase Aktivität von ABCG2 hemmen und die ABCG2 verursachte Zytostaikaresistenz aufheben konnten. Zudem zeigten sie, dass ihre inhibitorische Aktivität (IC_{50}) 20-30fach höher war als ihr zytotoxischer Effekt (GI_{50}). Eine Struktur-Wirkungsbeziehung ist in Abbildung 6.3 zusammengefasst.

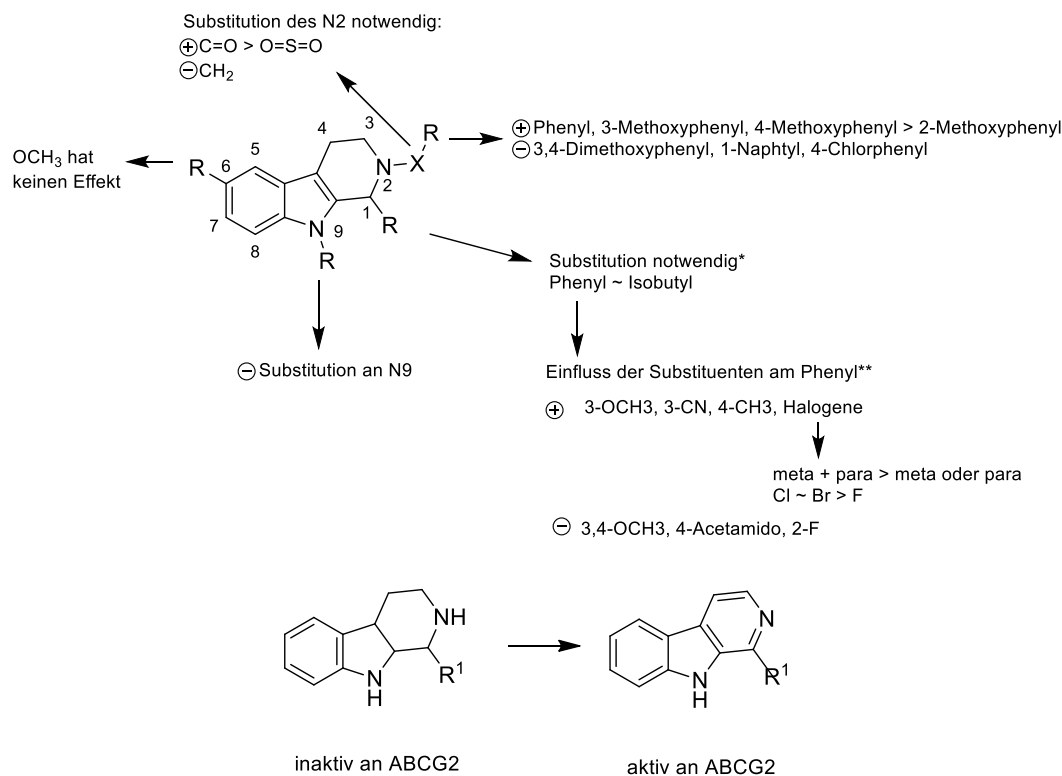


Abbildung 6.3: Zusammenfassung der Struktur-Wirkungsbeziehung der substituierten Tetrahydro- β -carboline/ β -Carboline. * [192], ** nicht alle Substituenten aufgeführt

Zusammenfassend konnte durch diese Arbeit ein Beitrag zur Erweiterung der Struktur-Wirkungsbeziehung der von Kapil Juvele untersuchten hochpotenten 2-Phenyl-4-anilin-chinazolinderivate geleistet werden. Die Aminlinkerstruktur und der Stickstoff in Position 3 konnten als wichtiger Bestandteile für die inhibitorische Aktivität identifiziert werden. Des Weiteren präsentierten sich die die *N*,2-diphenylchinolin-4-amine als neuartige Klasse von guten ABCG2 Inhibitoren. Die Struktur des Tetrahydro- β -carboline ist bereits in bekannten Inhibitoren enthalten. In dieser Arbeit konnte durch eine effektive Synthesemethode neue Tetrahydro- β -carbolinderivate als hochpotente ABCG2 Inhibitoren identifiziert werden, deren Hemmwirkung mit der des bekannten Inhibitors Ko143 vergleichbar ist.

7 Experimenteller Teil

7.1 Synthese

7.1.1 Material und Methoden

7.1.1.1 Chemikalien

Alle Chemikalien und Lösungsmittel wurden von den Firmen ABCR, Acros Organics, Alfa Aesar, Deutero, Fluka, Grüssing, Maybridge, Merck, oder Sigma-Aldrich bezogen. Bei Bedarf wurden in einer Lösungsmitteldestille THF über Lithiumaluminiumhydrid und DCM über Calciumhydrid getrocknet. Für alle Arbeiten im wässrigen wurde ausschließlich demineralisiertes (dem.) Wasser verwendet.

7.1.1.2 Dünnschichtchromatographie (DC)

Die Dünnschichtchromatographie diente der Reaktionskontrolle und der Überprüfung der erfolgten Aufreinigung der synthetisierten Verbindungen. Für alle weiteren analytischen Methoden wurden nur DC reine Verbindungen verwendet. Die DC erfolgt mittels Kieselgel-Platten Typ 60 F₂₅₄ der Firma Merck. Die Auswertung erfolgte unter dem UV-Kabinett mittels der Fluoreszenzlöschung bei 254 nm. Als Fließmittel dienten vor allem DCM oder DCM/Methanol, Ethylacetat/Petrolether Gemische. Je nach den Eigenschaften der Verbindungen wurden die Fließmittel mit sauren (Ameisensäure) oder basischen (Ammoniak) Zusätzen variiert.

7.1.1.3 Kernspinresonanzspektroskopie (NMR)

Die Struktur der synthetisierten Verbindungen konnte mit Hilfe der NMR-Spektroskopie überprüft werden. Die Spektren wurden mit dem Bruker Advance 500 (^1H : 500 MHz; ^{13}C : 126 MHz) oder dem Bruker Advance 600 (^1H : 600 MHz; ^{13}C : 151 MHz) aufgenommen, wobei die Kopplungskonstanten (J) in Herz (Hz) und die chemische Verschiebung (δ) in parts per million (ppm) angegeben sind. Als Lösungsmittel wurden DMSO- d_6 oder CDCl_3 verwendet, deren Lösungsmittelpeaks gleichzeitig als interner Standard dienen (DMSO- d_6 : ^1H 2,49 ppm; ^{13}C 39,7 ppm/ CDCl_3 : ^1H 7,26 ppm; ^{13}C 77,0 ppm). Häufig zeigte sich ein Wasserpeak in den ^1H -Spektren bei 3,3 ppm (DMSO- d_6) und 1,56 ppm (CDCl_3). Die Multiplizitäten wurden als Singulett (s), Dublett (d), Doppeldublett (dd), Dublett vom Triplet (dt), Triplet (t) oder Multiplett (m) angegeben.

7.1.1.4 Elementar Analyse (EA)

Die Reinheit der synthetisierten Verbindungen wurde mit Hilfe der Elementar Analyse bestimmt. Diese wurden mit dem Gerät Vario EL der Firma Elementar (Hanau, Deutschland) durchgeführt. Die gemessenen Werte für Kohlenstoff, Sauerstoff und Stickstoff wurden dabei in Prozent angegeben.

7.1.1.5 Infrarotspektroskopie (FTIR)

Die FTIR-Spektren (FTIR = Fourier-Transformations-Infrarotspektrometrie) wurden mit dem FTIR-Spektrometer ALPHA (Probenmodul Platinum ATR) der Firma Bruker aufgenommen und die Spektren anschließend mit der Software Opus ausgewertet. Es wurde jeweils eine atmosphärische Kompensation (atmosphärische Störsignale entfernt) und Grundlinienkorrektur (Glättung) vorgenommen und die aufgenommenen ATR-Spektren in Transmissionsspektren umgewandelt.

7.1.1.6 UV-Vis-Spektroskopie

Die Absorptionsspektren wurden mit dem Ultraspec 2001 UV/visible Spektrometer der Firma Pharmacia Biotech Ltd. gemessen.

7.1.1.7 Mikrowellensynthese

Bei den beschriebenen Mikrowellensynthesen wurde die Synthesemikrowelle Discover SP der Firma CEM verwendet.

7.1.2 Synthesevorschriften und Monographien

7.1.2.1 Synthese der 2-Phenyl-4-phenoxychinazoline

Methode 1:

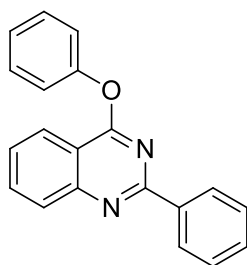
Das entsprechende Phenolderivat (1 äq.) wurde in Ethanol (10 ml/mmol) gelöst, mit Kaliumcarbonat (5 äq.) versetzt und 5 Min. bei RT gerührt. 4-Chloro-2-Phenylchinazolin (1 äq.) wurde hinzugefügt und der Ansatz 5-10 Std. unter Reflux erhitzt. Eine Reaktionskontrolle erfolgte mittels DC. Nach Beendigung der Reaktion wurde der Ansatz in Eiswasser (100 ml/mmol) gegeben. Die wässrige Phase wurde 3x mit Ethylacetat ausgeschüttelt, die organische Phase einrotiert und der entstandene Rückstand getrocknet.

Methode 2:

Natriumhydrid (60 % in Mineralöl, 1,6 äq.) wurde in DMSO (5 - 10 ml/mmol) vorgelegt und 20 Min. bei RT gerührt. Das entsprechende Phenolderivat (1 äq.) wurde zu dem Ansatz hinzugefügt und weitere 10 Min. bei RT gerührt. Anschließend wurde das 4-Chloro-2-phenylchinazolin (1 äq.) zum Ansatz gegeben und dieser 3 Std. unter Reflux erhitzt.

Eine Reaktionskontrolle erfolgt mittels DC. Nach Beendigung der Reaktion wurde der Ansatz mit Wasser versetzt und 3x mit Chloroform extrahiert. Die organische Phase wurde mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und einrotiert. Der flüssige Rückstand wurde in Methanol aufgenommen und im Kühlschrank auskristallisiert, abfiltriert und getrocknet. Bei Bedarf wurde in Methanol oder Ethanol/Wasser (1/1) umkristallisiert

1 4-Phenoxy-2-phenylchinazolin



Hergestellt aus 1 mmol (94 mg) Phenol und 1 mmol (240 mg) 4-Chlor-2-phenylchinazolin, nach Methode 2.

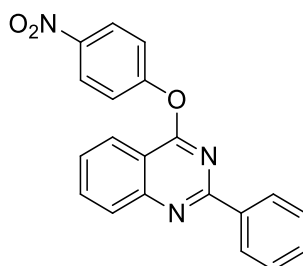
Summenformel: $C_{20}H_{14}N_2O$
 Molekulargewicht: 298,34 g/mol
 Aussehen: weiße Nadeln
 Ausbeute: 33 % (98 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8.38 (dt, $J = 8.1, 1.1$ Hz, 1H), 8.24 – 8.19 (m, 2H), 8.07 – 8.00 (m, 2H), 7.77 – 7.71 (m, 1H), 7.58 – 7.52 (m, 2H), 7.49 – 7.40 (m, 5H), 7.40 – 7.35 (m, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 166.60, 158.87, 152.39, 152.04, 137.12, 134.93, 130.99, 129.77(2C), 128.66(2C), 127.96(2C), 127.89, 127.77, 125.97, 123.61, 122.17(2C), 114.57.

EA: berechnet: C, 80.52; H, 4.73; N, 9.39
 gefunden: C, 79.94; H, 5.02; N, 9.28

2 4-(4-Nitrophenoxy)-2-phenylchinazolin



Hergestellt aus 1 mmol (139 mg) 4-Nitrophenol und 1 mmol (240 mg) 4-Chlor-2-phenylchinazolin, nach Methode 2. Es entstand ein fester Rückstand der nicht löslich in Methanol ist. Alternativ wurde der Rückstand dann in Methanol unter Reflux kurz erhitzt und dann abfiltriert.

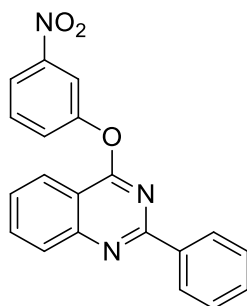
Summenformel: $C_{20}H_{13}N_3O_3$
 Molekulargewicht: 343,34 g/mol
 Aussehen: weißer, watteartiger Feststoff
 Ausbeute: 73 % (251 mg)

1H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.46 – 8.37 (m, 2H), 8.36 – 8.27 (m, 3H), 8.08 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.97 – 7.85 (m, 1H), 7.63 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.60 – 7.51 (m, 2H), 7.48 – 7.38 (m, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 165.84, 159.58, 157.56, 152.96, 145.19, 137.15, 134.49, 130.93, 128.55 (2C), 128.38, 128.34 (2C), 127.32, 125.31 (2C), 123.27, 122.82 (2C), 114.65.

EA: berechnet: C, 69.96; H, 3.82; N, 12.24
 gefunden: C, 69.89; H, 3.92; N, 11.97

3 4-(3-Nitrophenoxy)-2-phenylchinazolin



Hergestellt aus 1 mmol (139 mg) 3-Nitrophenol und 1 mmol (240 mg) 4-Chlor-2-phenylchinazolin, nach Methode 2.

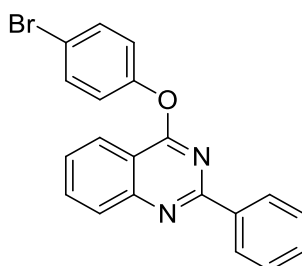
Summenformel: $C_{20}H_{13}N_3O_3$
 Molekulargewicht: 343,34 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 44 % (151 mg)

1H NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ 8.44 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H), 8.43 – 8.37 (m, 1H), 8.29 – 8.23 (m, 1H), 8.25 – 8.19 (m, 2H), 8.10 – 8.03 (m, 2H), 8.04 – 7.98 (m, 1H), 7.86 (dd, $J = 11.0, 5.4$ Hz, 1H), 7.81 – 7.74 (m, 1H), 7.51 – 7.40 (m, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, $DMSO-d_6$) δ 166.17, 158.61, 152.60, 152.16, 148.64, 136.90, 135.16, 131.10, 130.99, 129.41, 128.74(2C), 127.96(2C), 127.93, 127.91, 123.63, 120.95, 117.72, 114.41.

EA: berechnet: C, 69.96; H, 3.82; N, 12.24
 gefunden: C, 69.75; H, 4.01; N, 12.05

4 4-(4-Bromphenoxy)-2-phenylchinazolin



Hergestellt aus 0,62 mmol (107 mg) 4-Bromphenol und 0,62 mmol (150 mg) 4-Chlor-2-phenylchinazolin, nach Methode 1

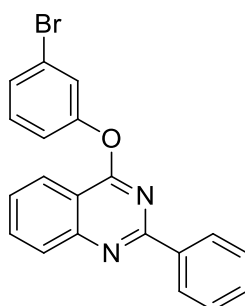
Summenformel: $C_{20}H_{13}BrN_2O$
 Molekulargewicht: 377,23 g/mol
 Aussehen: gelbliches Pulver
 Ausbeute: 85 % (199 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8.54 – 8.50 (m, 2H), 8.15 – 8.11 (m, 1H), 7.97 – 7.89 (m, 2H), 7.65 – 7.58 (m, 1H), 7.58 – 7.49 (m, 3H), 7.33 – 7.25 (m, 2H), 6.77 – 6.67 (m, 2H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 166.36, 159.11, 156.93, 151.32, 137.60, 134.26, 132.11(2C), 130.87, 128.66(2C), 128.16(2C), 127.75, 127.15, 123.37, 117.68(2C), 114.75, 109.98.

EA: berechnet: C, 63.68; H, 3.47; N, 7.43
 gefunden: C, 62.69; H, 4.61; N, 6.68

5 4-(3-Bromphenoxy)-2-phenylchinazolin



Hergestellt aus 1 mmol (173 mg) 3-Bromphenol und 1 mmol (240 mg) 4-Chlor-2-phenylchinazolin, nach Methode 2. Es entstand ein fester Rückstand der schwerlöslich in Methanol ist. Alternativ wurde der Rückstand dann in Methanol unter Reflux kurz erhitzt und dann abfiltriert und in Ethanol/Wasser (1/1) umkristallisiert.

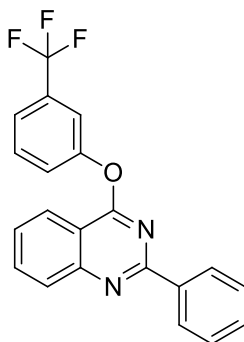
Summenformel: $C_{20}H_{13}BrN_2O$
 Molekulargewicht: 377,23 g/mol
 Aussehen: weißer, watteartiger Feststoff
 Ausbeute: 29 % (108 mg)

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8.35 (dt, $J = 8.0, 1.1$ Hz, 1H), 8.24 – 8.19 (m, 2H), 8.08 – 8.00 (m, 2H), 7.80 – 7.71 (m, 2H), 7.61 – 7.56 (m, 1H), 7.55 – 7.49 (m, 2H), 7.49 – 7.42 (m, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 166.35, 158.74, 153.07, 152.11, 137.04, 135.06, 131.44, 131.09, 128.98, 128.74 (2C), 127.95 (2C), 127.91, 127.87, 125.44, 123.61, 121.65, 114.44. Ein quartäres C fehlt (C-Br)

EA: berechnet: C, 63.68; H, 3.47; N, 7.43
 gefunden: C, 63.49; H, 3.52; N, 7.39

6 2-Phenyl-4-(3-(trifluormethyl)phenoxy)chinazolin



Hergestellt aus 1 mmol (162 mg) 3-(Trifluormethyl)phenol und 1 mmol (240 mg) 4-Chlor-2-phenylchinazolin, nach Methode 2.

Summenformel: $\text{C}_{21}\text{H}_{13}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}$
 Molekulargewicht: 366,34 g/mol
 Aussehen: weiße Nadeln
 Ausbeute: 14 % (51 mg)

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8.42 – 8.37 (m, 1H), 8.24 – 8.18 (m, 2H), 8.09 – 8.02 (m, 2H), 7.97 (t, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.85 – 7.73 (m, 4H), 7.50 – 7.42 (m, 3H).

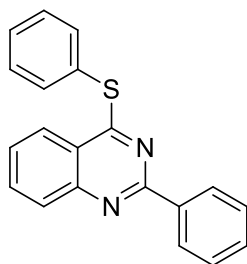
^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 166.26, 158.64, 152.57, 152.14, 137.00, 135.09, 131.09, 131.03, 130.56, 130.30, 128.70 (2C), 127.89 (2C), 126.61, 123.61, 122.67, 122.64, 119.69, 119.66, 114.46.

EA: berechnet: C, 68.85; H, 3.58; N, 7.65
 gefunden: C, 68.77; H, 3.78; N, 7.67

7.1.2.2 Synthese der 4-Phenylthio-2-phenylchinazoline

Eine Suspension von 4-Chlor-2-phenylchinazolin (1 äq.) und dem entsprechenden Thio-phenolderivates (1,1 äq.) wurden in Wasser (5 ml/mmol) 4 Std. refluxiert. Eine Reaktionskontrolle erfolgte mittels DC. Nach Beendigung der Reaktion wurde der NS abfiltriert und in Ethanol umkristallisiert und getrocknet.

7 2-Phenyl-4-(phenylthio)chinazolin



Hergestellt aus 0,744 mmol (82 mg) Thiophenol und 0,62 mmol (150 mg) 4-Chlor-2-phenylchinazolin.

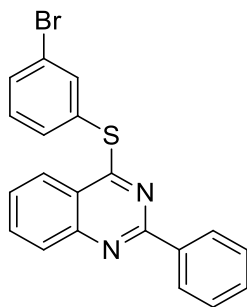
Summenformel: $C_{20}H_{14}N_2S$
 Molekulargewicht: 314,40 g/mol
 Aussehen: weiße Nadeln
 Ausbeute: 51 % (100 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8.23 (dt, $J = 8.2, 1.0$ Hz, 1H), 8.15 – 8.10 (m, 2H), 8.04 – 7.99 (m, 2H), 7.77 – 7.71 (m, 3H), 7.66 – 7.58 (m, 3H), 7.47 – 7.42 (m, 1H), 7.42 – 7.36 (m, 2H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 170.65, 158.00, 148.77, 137.07, 136.06(2C), 134.91, 130.95, 129.99, 129.53 (2C), 128.83, 128.59 (2C), 128.02, 127.99 (2C), 126.91, 123.68, 121.27.

EA: berechnet: C, 76.40; H, 4.49; N, 8.91
 gefunden: C, 76.29; H, 4.61; N, 8.91

8 4-((3-Bromphenyl)thio)-2-phenylchinazolin



Hergestellt aus 0,744 mmol (141 mg) 3-Bromthiophenol und 0,62 mmol (150 mg) 4-Chlor-2-phenylchinazolin

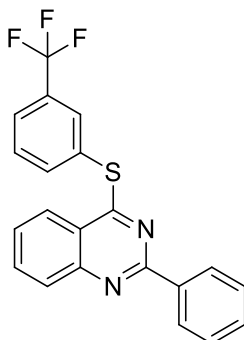
Summenformel: $C_{20}H_{13}BrN_2S$
 Molekulargewicht: 393,30 g/mol
 Aussehen: weißer, watteähnlicher Feststoff
 Ausbeute: 71 % (172 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8.23 – 8.16 (m, 3H), 8.05 – 8.01 (m, 3H), 7.86 – 7.80 (m, 1H), 7.76 – 7.71 (m, 2H), 7.55 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.50 – 7.40 (m, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 169.70, 157.95, 148.88, 138.22, 137.04, 135.06, 134.60, 132.80, 131.35, 131.07, 129.35, 128.88, 128.68(2C), 128.15, 128.02(2C), 123.63, 121.89, 121.23.

EA: berechnet: C, 61.08; H, 3.33; N, 7.12
 gefunden: C, 61.21; H, 3.40; N, 6.95

9 2-Phenyl-4-((3-(trifluormethyl)phenyl)thio)chinazolin



Hergestellt aus 0,718 mmol (125 mg) 3-(Trifluormethyl)thiophenol und 0,65 mmol (157 mg) 4-Chlor-2-phenylchinazolin

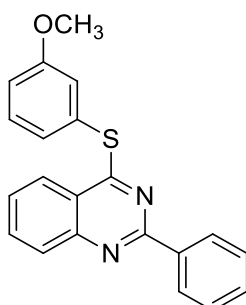
Summenformel: $\text{C}_{21}\text{H}_{13}\text{F}_3\text{N}_2\text{S}$
 Molekulargewicht: 382,40 g/mol
 Aussehen: weiße Nadeln
 Ausbeute: 72 % (180 mg)

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.24 (dt, $J = 8.3, 1.0$ Hz, 1H), 8.19 (s, 1H), 8.14 – 8.10 (m, 2H), 8.07 – 8.02 (m, 3H), 8.01 – 7.97 (m, 1H), 7.83 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.79 – 7.74 (m, 1H), 7.49 – 7.44 (m, 1H), 7.41 – 7.35 (m, 2H).

^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 169.60, 157.94, 148.89, 139.60, 136.95, 135.14, 132.83 (d, $J = 3.8$ Hz), 131.10, 130.66, 130.15 (d, $J = 32.1$ Hz), 128.89, 128.78, 128.58(2C), 128.22, 127.93(2C), 126.65 (d, $J = 3.5$ Hz), 124.00 (d, $J = 272.5$ Hz), 123.65, 121.25.

EA: berechnet: C, 65.96; H, 3.43; N, 7.33
 gefunden: C, 65.59; H, 3.59; N, 7.36

10 4-((3-Methoxyphenyl)thio)-2-phenylchinazolin



Hergestellt aus 0,75 mmol (105 mg) 3-Methoxythiophenol und 0,682 mmol (165 mg) 4-Chlor-2-phenylchinazolin.

Summenformel: C₂₁H₁₆N₂OS
Molekulargewicht: 344,43 g/mol
Aussehen: weiße Nadeln
Ausbeute: 11 % (26 mg)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.22 (dt, J = 8.2, 1.0 Hz, 1H), 8.19 – 8.16 (m, 2H), 8.04 – 7.99 (m, 2H), 7.76 – 7.70 (m, 1H), 7.55 – 7.37 (m, 4H), 7.36 – 7.27 (m, 2H), 7.22 – 7.16 (m, 1H), 3.81 (s, 3H).

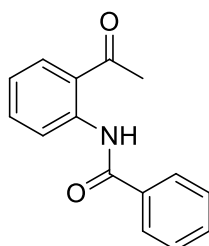
¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 170.49, 159.89, 158.04, 148.83, 137.13, 134.93, 131.00, 130.33, 128.86, 128.63 (2C), 128.03 (3C), 127.97, 123.67, 121.32, 120.93, 116.11, 55.61. Ein Peak fehlt

EA: berechnet: C, 73.23; H, 4.68; N, 8.13
gefunden: C, 73.21; H, 4.74; N, 8.06

7.1.2.3 Synthese der N-(2-Acetylphenyl)benzamide

Das 2'-Aminoacetophenon (1 äq.) wurde in getrockneten THF (5 ml/mmol) gelöst und mit Triethylamin (1,2 äq.) versetzt. Der Ansatz wurde unter Rühren in einem Eisbad gekühlt und anschließend wurde langsam das entsprechende Benzoylchlorid (1,1 äq.) zuge tropft. Die Lösung wurde anschließend 6-12 Std bei RT gerührt. Eine Reaktionskontrolle erfolgte mittels DC. Nach Beendigung der Reaktion wurde der Niederschlag abfiltriert und das Filtrat einrotiert. Der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und mit wässriger NaOH 1 mol/l, dann mit wässriger HCl 1 mol/l und anschließend mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, einrotiert und der Rückstand anschließend in EtOH/H₂O (1:1) umkristallisiert.

11 N-(2-Acetylphenyl)benzamid



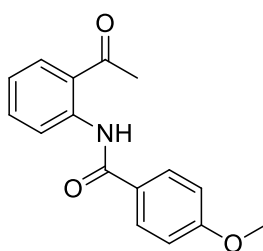
Hergestellt aus 15 mmol (2028 mg) 2'-Aminoacetophenon und 16,5 mmol (2319 mg) Benzoylchlorid.

Summenformel: $C_{15}H_{13}NO_2$
 Molekulargewicht: 239,27 g/mol
 Aussehen: beiger Feststoff
 Ausbeute: 93 % (3342 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 12.35 (s, 1H), 8.65 (dd, $J = 8.4, 1.2$ Hz, 1H), 8.11 (dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz, 1H), 7.98 – 7.94 (m, 2H), 7.70 – 7.57 (m, 4H), 7.30 – 7.22 (m, 1H), 2.69 (s, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 203.65, 165.16, 139.85, 134.78, 134.52, 132.33(2C), 129.11(2C), 127.19(2C), 123.54, 123.23, 120.40, 28.84.

12 N-(2-Acetylphenyl)-4-methoxybenzamid



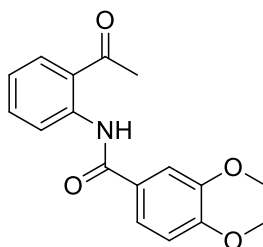
Hergestellt aus 7 mmol (946 mg) 2'-Aminoacetophenon und 7,7 mmol (1313 mg) 4-Methoxybenzoylchlorid.

Summenformel: $C_{16}H_{15}NO_3$
 Molekulargewicht: 269,30 g/mol
 Aussehen: weiße Nadeln
 Ausbeute: 87 % (1640 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 12.30 (s, 1H), 8.66 (dd, $J = 8.4, 1.2$ Hz, 1H), 8.10 (dd, $J = 8.0, 1.5$ Hz, 1H), 7.96 – 7.91 (m, 2H), 7.70 – 7.62 (m, 1H), 7.27 – 7.20 (m, 1H), 7.15 – 7.09 (m, 2H), 3.85 (s, 3H), 2.69 (s, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 203.69, 164.66, 162.50, 140.20, 134.80, 132.37, 129.15(2C), 126.60, 123.21, 122.89, 120.24, 114.38(2C), 55.64, 28.85.

13 N-(2-Acetylphenyl)-3,4-dimethoxybenzamid



Hergestellt aus 5 mmol (676 mg) 2'-Aminoacetophenon und 5,5 mmol (1103 mg) 3,4-Dimethoxybenzoylchlorid.

Summenformel: $C_{17}H_{17}NO_4$

Molekulargewicht: 299,32 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 72 % (1084 mg)

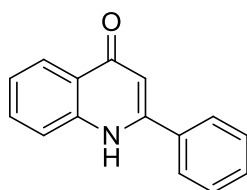
^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 12.31 (s, 1H), 8.65 (dd, $J = 8.4, 1.1$ Hz, 1H), 8.09 (dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz, 1H), 7.70 – 7.62 (m, 1H), 7.57 (dd, $J = 8.4, 2.2$ Hz, 1H), 7.51 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.27 – 7.19 (m, 1H), 7.15 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 3.85 (d, $J = 2.9$ Hz, 6H), 2.68 (s, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 203.71, 164.76, 152.30, 148.90, 140.22, 134.84, 132.41, 126.77, 123.25, 122.92, 120.40, 120.20, 111.58, 110.66, 55.90, 55.71, 28.88.

7.1.2.4 Synthese der 2-Phenylchinolin-4(1H)-one

Die zuvor synthetisierten N-(2-Acetylphenyl)benzamide (1 äq.) wurden mit NaOH (5 äq.) und *tert*-Butanol (5 äq.) in einem geeigneten Mikrowellengefäß gemischt und anschließen bei 120 °C und 180 W 20 bis 3 x 20 Min. in der Mikrowelle umgesetzt. Eine Reaktionskontrolle erfolgte mittels DC. Nach Beendigung der Reaktion wurde der Ansatz mit Wasser versetzt (25 ml/mmol) und mit wässriger HCl 1 mol/l auf pH 5-6 eingestellt. Die Lösung wurde einrotiert und der Rückstand mit Wasser und anschließend mit einer Mischung aus Aceton/DCM (1:1) kalt gewaschen. Bei **16** fiel das Produkt bei der Einstellung des pH-Wertes auf 5-6 als Niederschlag aus. Dieser wurde abfiltriert und ebenfalls mit Wasser und anschließend mit einer Mischung aus Aceton/DCM (1:1) kalt gewaschen.

14 2-Phenylchinolin-4(1H)-on



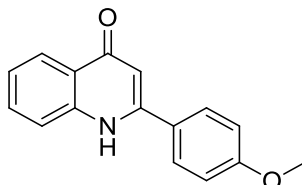
Hergestellt aus 10 mmol (2393 mg) **11**.

Summenformel: $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{NO}$
 Molekulargewicht: 221,25 g/mol
 Aussehen: beiger Feststoff
 Ausbeute: 85 % (1883 mg)

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 11.92 (s, 1H), 8.09 (dd, $J = 8.1, 1.5$ Hz, 1H), 7.92 – 7.84 (m, 3H), 7.69 – 7.62 (m, 1H), 7.61 – 7.53 (m, 3H), 7.32 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 6.33 (s, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 177.09, 150.12, 140.76, 134.27, 131.80, 130.52, 129.07(2C), 127.60(2C), 125.01, 124.78, 123.34, 119.00, 107.39.

15 2-(4-Methoxyphenyl)chinolin-4(1H)-on



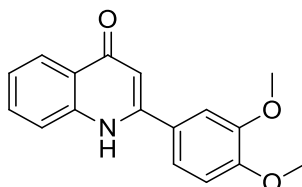
Hergestellt aus 6 mmol (1508 mg) **12**.

Summenformel: $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{NO}_2$
 Molekulargewicht: 251,28 g/mol
 Aussehen: beiger Feststoff
 Ausbeute: 89 % (1348 mg)

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 11.54 (s, 1H), 8.08 (dd, $J = 8.3, 1.5$ Hz, 1H), 7.82 – 7.77 (m, 2H), 7.75 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.68 – 7.60 (m, 1H), 7.34 – 7.27 (m, 1H), 7.14 – 7.10 (m, 2H), 6.29 (s, 1H), 3.84 (s, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 176.99, 161.20, 149.79, 140.64, 131.76, 128.96(2C), 126.40, 124.95, 124.82, 123.19, 118.72, 114.53(2C), 106.65, 55.58.

16 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)chinolin-4(1H)-on



Hergestellt aus 3 mmol (898 mg) **13**.

Summenformel: $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{NO}_3$
 Molekulargewicht: 281,31 g/mol
 Aussehen: beiger Feststoff
 Ausbeute: 78 % (659 mg)

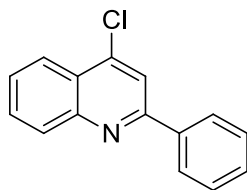
^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 11.56 (s, 1H), 8.09 (dd, $J = 7.7, 1.2$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.68 – 7.63 (m, 1H), 7.44 – 7.36 (m, 2H), 7.36 – 7.28 (m, 1H), 7.14 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.39 (s, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.84 (s, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 150.89, 150.05, 149.05, 140.65, 131.77, 126.61, 124.88, 124.79, 123.25, 120.28, 118.79, 111.98, 111.01, 106.78, 55.93, 55.87. Ein Peak fehlt

7.1.2.5 Synthese der 4-Chlor-2-phenylchinoline

Die entsprechenden 2-Phenylchinolin-4(1H)-one wurden unter Eiskühlung mit Phosphorylchlorid (5 ml/mmol) versetzt und 10 Min. unter Eiskühlung gerührt. Anschließend wurde der Ansatz 9-18 Std. unter Reflux erhitzt. Eine Reaktionskontrolle erfolgte mittels DC. Nach Beendigung der Reaktion wurde der Ansatz einrotiert und anschließend vorsichtig mit Eiswasser (20 ml) versetzt. Die Lösung wurde mit Ammoniak neutralisiert. Die wässrige Lösung wurde 3x mit DCM extrahiert und die vereinten organischen Phasen anschließend mit gesättigter NaCl-Lösung (3x) und Wasser (1x) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und einrotiert. Das Produkt wurde bei Bedarf mit EtOH/H₂O umkristallisiert.

17 4-Chlor-2-phenylchinolin

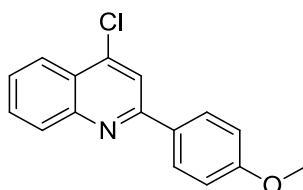


Hergestellt aus 7 mmol (1549 mg) **14**.

Summenformel: C₁₅H₁₀ClN
Molekulargewicht: 239,70 g/mol
Aussehen: nicht erfasst
Ausbeute: 82 % (1384 mg)

Kein NMR aufgenommen.

18 4-Chlor-2-(4-methoxyphenyl)chinolin



Hergestellt aus 3,51 mmol (883 mg) **15**.

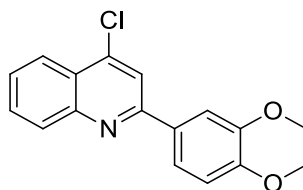
Summenformel: C₁₆H₁₂ClNO
Molekulargewicht: 269,73 g/mol
Aussehen: beiger Feststoff

Ausbeute: 72 % (682 mg)

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8.32 (s, 1H), 8.29 – 8.25 (m, 2H), 8.19 – 8.13 (m, 1H), 8.11 – 8.07 (m, 1H), 7.89 – 7.81 (m, 1H), 7.73 – 7.65 (m, 1H), 7.11 – 7.07 (m, 2H), 3.84 (s, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 161.19, 156.17, 148.47, 142.20, 131.13, 130.03, 129.59, 129.02(2C), 127.55, 124.36, 123.62, 118.48, 114.42(2C), 55.48.

19 4-Chlor-2-(3,4-dimethoxyphenyl)chinolin



Hergestellt aus 1,77 mmol (500 mg) **16**.

Summenformel: $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{ClNO}_2$
 Molekulargewicht: 299,75 g/mol
 Aussehen: gelblich weißer Feststoff
 Ausbeute: 84% (448 mg)

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8.39 (s, 1H), 8.20 – 8.14 (m, 1H), 8.13 – 8.07 (m, 1H), 7.92 – 7.87 (m, 2H), 7.89 – 7.82 (m, 1H), 7.73 – 7.66 (m, 1H), 7.11 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.84 (s, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 156.23, 150.97, 149.19, 148.38, 142.15, 131.10, 130.19, 129.61, 127.56, 124.39, 123.60, 120.64, 118.67, 111.88, 110.63, 55.83, 55.76.

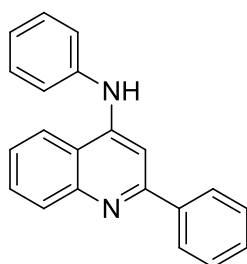
7.1.2.6 Synthese der *N*,2-Diphenylchinolin-4-amine

Methode 1:

Das 4-Chlor-2-phenylchinolin (1 äq.) wurde in Isopropanol oder absoluten EtOH (20 ml/mmol) gelöst. Das entsprechende Anilin Derivat (1,2 - 2 äq.) wurde zum Ansatz hinzugefügt und der Ansatz 24-30 Std. unter Reflux erhitzt. Nach dem Abkühlen fiel das Produkt aus. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit Wasser und kaltem Isopropanol oder EtOH gewaschen. Da unter diesen Bedingungen der Chinolinstickstoff protoniert vorlag, wurde das Produkt in DCM aufgenommen und mit wässriger NaOH 1 mol/l ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde anschließend mit MgSO_4 getrocknet und einrotiert. Wenn Produkte unlöslich in DCM waren, wurden diese in ethanolischer NaOH 0,5 mol/l umkristallisiert

Methode 2:

Das 4-Chlor-2-phenylchinolin Derivat (1 äq.) wurde mit dem entsprechenden Anilin Derivat (2 - 4 äq.) in der Mikrowelle bei 150 W, 150 °C für 15-30 Min. umgesetzt. Nach Beendigung der Reaktion wurde der Ansatz mit Ethylacetat versetzt, wobei das Produkt nicht in Lösung ging (Ausnahme **23**, löste sich in Ethylacetat). Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Da unter diesen Bedingungen der Chinolinstickstoff protoniert vorlag, wurde das Produkt in DCM aufgenommen und mit wässriger NaOH (1 mol/l) ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde anschließend mit MgSO₄ getrocknet und einrotiert. Wenn Produkte unlöslich in DCM waren, wurden diese in ethanolischer NaOH 0,5 mol/l umkristallisiert. Da Verbindung **23** bereits löslich in Ethylacetat war, wurde die organische Phase 1x mit wässriger HCl 1 mol/l und anschließend 2x mit wässriger NaOH (1 mol/l) ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde im Anschluss ebenfalls über MgSO₄ getrocknet und einrotiert.

20 N,2-Diphenylchinolin-4-amin

Hergestellt nach Methode 2 aus 0,63 mmol (150 mg) **17** und 2,5mmol (233 mg) Anilin.
Löslich in DCM

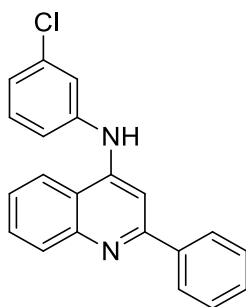
Summenformel: C₂₁H₁₆N₂
Molekulargewicht: 296,37 g/mol
Aussehen: weißer Feststoff
Ausbeute: 29% (55 mg)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.01 (s, 1H), 8.42 – 8.35 (m, 1H), 8.01 – 7.98 (m, 2H), 7.95 (dd, *J* = 8.5, 0.8 Hz, 1H), 7.75 – 7.67 (m, 1H), 7.56 – 7.48 (m, 1H), 7.49 – 7.40 (m, 8H), 7.18 – 7.13 (m, 1H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 154.74, 153.05, 139.42, 137.39, 134.07, 132.46, 131.95, 130.10(2C), 129.37(2C), 128.58(2C), 127.51, 127.06, 125.44(2C), 123.70, 120.95, 116.72, 98.89.

EA: berechnet: C, 85.11; H, 5.44; N, 9.45
berechnet x 0,5 H₂O: C, 82.60; H, 5.61; N, 9.17
gefunden: C, 82.96; H, 5.61; N, 9.05

21 N-(3-Chlorphenyl)-2-phenylchinolin-4-amin



Hergestellt nach Methode 1 in Isoprpanol aus 0,63 mmol (150 mg) **17** und 0,75mmol (96 mg) 3-Chloranilin.

Löslich in DCM

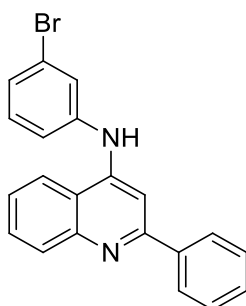
Summenformel: $C_{21}H_{15}ClN_2$
 Molekulargewicht: 330,81 g/mol
 Aussehen: beiger Feststoff
 Ausbeute: 48 % (99 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 9.11 (s, 1H), 8.35 – 8.32 (m, 1H), 8.06 – 8.02 (m, 2H), 7.98 (dd, $J = 8.5, 0.8$ Hz, 1H), 7.77 – 7.70 (m, 1H), 7.57 – 7.52 (m, 2H), 7.51 – 7.47 (m, 2H), 7.46 – 7.41 (m, 4H), 7.17 – 7.12 (m, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 154.48, 153.22, 139.40, 139.16, 134.13, 134.10, 132.33, 132.01, 131.57, 129.34(2C), 128.71(2C), 127.17, 127.13, 125.17, 123.82, 123.80, 120.97, 116.90, 99.50.

EA: berechnet: C, 76.24; H, 4.57; N, 8.47
 gefunden: C, 76.62; H, 4.60; N, 8.35

22 N-(3-Bromphenyl)-2-phenylchinolin-4-amin



Hergestellt nach Methode 1 in EtOH aus 0,63 mmol (150 mg) **17** und 1,25 mmol (215 mg) 3-Bromanilin.

Unlöslich in DCM

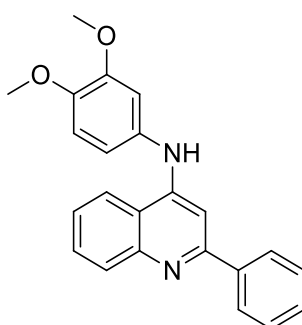
Summenformel: $C_{21}H_{15}BrN_2$
 Molekulargewicht: 375,26 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 20 % (48 mg)

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 9.10 (s, 1H), 8.35 – 8.30 (m, 1H), 8.07 – 7.99 (m, 2H), 8.00 – 7.95 (m, 1H), 7.77 – 7.70 (m, 1H), 7.59 – 7.52 (m, 3H), 7.52 – 7.42 (m, 4H), 7.37 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.32 – 7.25 (m, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 156.72, 149.09, 147.85, 143.07, 139.67, 131.43, 129.99, 129.66, 129.32, 128.80(2C), 127.09(2C), 125.76, 125.04, 124.04, 122.27, 122.13, 120.06, 119.45, 100.14.

EA: berechnet: C, 67.21; H, 4.03; N, 7.47
 gefunden: C, 67.52; H, 4.20; N, 7.54

23 N-(3,4-Dimethoxyphenyl)-2-phenylchinolin-4-amin



Hergestellt nach Methode 2 aus 0,63 mmol (150 mg) **17** und 1,25 mmol (191 mg) 3,4-Dimethoxyanilin.

Löslich in Ethylacetat

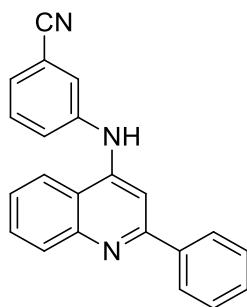
Summenformel: $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$
 Molekulargewicht: 356,42 g/mol
 Aussehen: beiger, glänzender Feststoff
 Ausbeute: 54 % (121 mg)

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8.87 (s, 1H), 8.38 (dd, J = 8.4, 1.6 Hz, 1H), 7.99 – 7.96 (m, 2H), 7.92 (dd, J = 8.6, 1.1 Hz, 1H), 7.73 – 7.66 (m, 1H), 7.52 – 7.37 (m, 4H), 7.25 (s, 1H), 7.06 – 7.00 (m, 2H), 6.97 (dd, J = 8.5, 2.3 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.77 (s, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 156.66, 149.82, 149.54, 148.98, 146.12, 140.01, 133.48, 129.68, 129.55, 129.10, 128.73(2C), 126.96(2C), 124.48, 121.94, 118.68, 115.89, 112.70, 108.88, 97.76, 55.89, 55.77.

EA: berechnet: C, 77.51; H, 5.66; N, 7.86
 gefunden: C, 77.79; H, 5.99; N, 7.84

24 3-((2-Phenylchinolin-4-yl)amino)benzonitril



Hergestellt nach Methode 2 aus 0,63 mmol (150 mg) **17** und 2,5 mmol (295 mg) 3-Aminobenzonitril.

Löslich in DCM

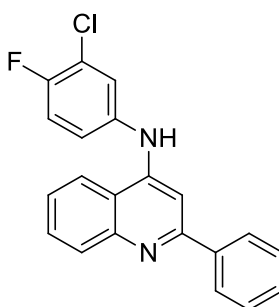
Summenformel: $C_{22}H_{15}N_3$
 Molekulargewicht: 321,37 g/mol
 Aussehen: beiger Feststoff
 Ausbeute: 37 % (74 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 9.22 (s, 1H), 8.33 (dd, $J = 8.3, 1.3$ Hz, 1H), 8.09 – 8.03 (m, 2H), 7.99 (dd, $J = 8.5, 1.2$ Hz, 1H), 7.81 – 7.72 (m, 3H), 7.63 – 7.40 (m, 7H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 154.39, 153.41, 139.46, 138.74, 134.17, 132.31, 132.04, 131.34, 130.75, 130.11, 129.31(2C), 128.83(2C), 128.63, 127.26, 123.88, 121.06, 118.33, 117.01, 112.90, 99.66.

EA: berechnet: C, 82.22; H, 4.70; N, 13.08
 gefunden: C, 81.42; H, 4.92; N, 12.86

25 N-(3-Chlor-4-fluorphenyl)-2-phenylchinolin-4-amin



Hergestellt nach Methode 2 aus 0,63 mmol (150 mg) **17** und 1,25 mmol (182 mg) 3-Chlor-4-fluoranilin.

Löslich in DCM

Summenformel: $C_{21}H_{14}ClFN_2$
 Molekulargewicht: 348,80 g/mol
 Aussehen: violetter Feststoff
 Ausbeute: 65 % (142 mg)

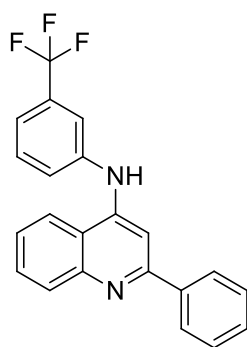
^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 9.06 (s, 1H), 8.33 (dd, $J = 8.5, 1.3$ Hz, 1H), 8.06 – 8.01 (m, 2H), 7.96 (dd, $J = 8.4, 1.2$ Hz, 1H), 7.77 – 7.68 (m, 1H), 7.59 – 7.57 (m, 1H), 7.58 – 7.50 (m, 1H), 7.50 – 7.42 (m, 5H), 7.41 (s, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 156.75, 153.68 (d, $J = 242.7$ Hz), 149.01, 148.46, 139.69, 138.35 (d, $J = 3.0$ Hz), 129.95, 129.65, 129.28, 128.75(2C), 127.12(2C), 124.96, 124.18, 122.75 (d, $J = 7.0$ Hz), 122.01, 120.08 (d, $J = 18.6$ Hz), 119.13, 117.69 (d, $J = 21.9$ Hz), 99.22.

EA: berechnet: C, 72.31; H, 4.05; N, 8.03

gefunden: C, 72.18; H, 4.15; N, 7.92

26 2-Phenyl-N-(3-(trifluormethyl)phenyl)chinolin-4-amin



Hergestellt nach Methode 2 aus 0,63 mmol (150 mg) **17** und 1,25 mmol (201 mg) 3-(Trifluormethyl)anilin.

Löslich in DCM

Summenformel: $\text{C}_{22}\text{H}_{15}\text{F}_3\text{N}_2$
 Molekulargewicht: 364,36 g/mol
 Aussehen: weiße Nadeln
 Ausbeute: 58 % (132 mg)

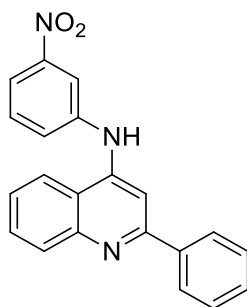
^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 9.26 (s, 1H), 8.35 (dd, $J = 8.5, 1.3$ Hz, 1H), 8.07 – 8.02 (m, 2H), 7.99 (dd, $J = 8.5, 1.1$ Hz, 1H), 7.80 – 7.72 (m, 2H), 7.71 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.64 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.60 – 7.52 (m, 1H), 7.51 – 7.46 (m, 2H), 7.46 – 7.40 (m, 2H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 156.74, 149.14, 147.71, 142.32, 139.62, 130.74, 130.38 (d, $J = 31.5$ Hz), 130.04, 129.68, 129.35, 128.79(2C), 127.10(2C), 125.12, 124.49, 124.26 (q, $J = 272.5$ Hz), 122.15, 119.57, 119.19 (d, $J = 4.0$ Hz), 117.60 (q, $J = 3.9$ Hz), 100.19.

EA: berechnet: C, 72.52; H, 4.15; N, 7.69

gefunden: C, 71.89; H, 4.29; N, 7.55

27 N-(3-Nitrophenyl)-2-phenylchinolin-4-amin



Hergestellt nach Methode 1 in Isopropanol aus 0,63 mmol (150 mg) **17** und 0,75 mmol (104 mg) 3-Nitroanilin.

Löslich in DCM

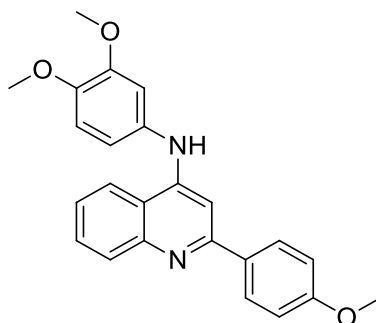
Summenformel: $C_{21}H_{15}N_3O_2$
 Molekulargewicht: 341,36 g/mol
 Aussehen: gelber Feststoff
 Ausbeute: 13 % (28 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 9.40 (s, 1H), 8.34 (dd, $J = 8.4, 0.8$ Hz, 1H), 8.21 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H), 8.12 – 8.07 (m, 2H), 8.01 (dd, $J = 8.4, 0.8$ Hz, 1H), 7.93 – 7.86 (m, 2H), 7.79 – 7.73 (m, 1H), 7.68 (dd, $J = 13.1, 4.9$ Hz, 2H), 7.61 – 7.54 (m, 1H), 7.52 – 7.43 (m, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 154.36, 153.50, 148.86, 139.58, 139.15, 134.15, 132.30, 132.03, 131.35, 131.23, 129.28(2C), 128.85(2C), 127.26, 123.88, 121.44, 121.13, 119.80, 117.19, 99.80.

EA: berechnet: C, 73.89; H, 4.43; N, 12.31
 gefunden: C, 73.32; H, 4.51; N, 11.85

28 N-(3,4-Dimethoxyphenyl)-2-(4-methoxyphenyl)chinolin-4-amin



Hergestellt nach Methode 2 aus 0,37 mmol (100 mg) **18** und 0,93 mmol (142 mg) 3,4-Dimethoxyanilin.

Unlöslich in DCM

Summenformel: $C_{24}H_{22}N_2O_3$
 Molekulargewicht: 386,44 g/mol
 Aussehen: grauer Feststoff

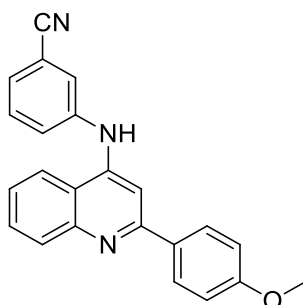
Ausbeute: 78 % (111 mg)

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.81 (s, 1H), 8.35 (dd, $J = 8.5, 1.3$ Hz, 1H), 7.95 – 7.91 (m, 2H), 7.88 (dd, $J = 8.5, 1.2$ Hz, 1H), 7.70 – 7.63 (m, 1H), 7.49 – 7.42 (m, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.05 – 7.00 (m, 4H), 6.96 (dd, $J = 8.5, 2.5$ Hz, 1H), 3.79 (d, $J = 1.5$ Hz, 6H), 3.77 (s, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 160.29, 156.27, 149.62, 149.53, 149.00, 146.03, 133.61, 132.38, 129.59, 129.36, 128.28(2C), 124.12, 121.91, 118.53, 115.78, 114.14(2C), 112.71, 108.78, 97.25, 55.91, 55.77, 55.34.

EA: berechnet: C, 74.59; H, 5.74; N, 7.25
 gefunden: C, 73.92; H, 5.81; N, 7.18

29 3-((2-(4-Methoxyphenyl)chinolin-4-yl)amino)benzonitril



Hergestellt nach Methode 2 aus 0,37 mmol (100 mg) **18** und 0,93 mmol (110 mg) 3-Aminobenzonitril.

Unlöslich in DCM

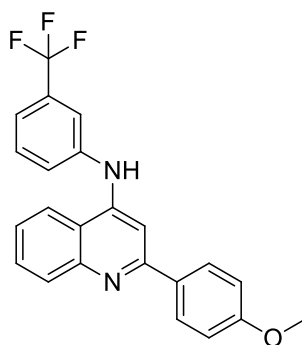
Summenformel: $\text{C}_{23}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}$
 Molekulargewicht: 351,40 g/mol
 Aussehen: beiger Feststoff
 Ausbeute: 53 % (69 mg)

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 9.17 (s, 1H), 8.29 (dd, $J = 8.3, 1.3$ Hz, 1H), 8.07 – 7.99 (m, 2H), 7.95 (dd, $J = 8.5, 1.2$ Hz, 1H), 7.79 – 7.67 (m, 3H), 7.62 – 7.56 (m, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.51 (dq, $J = 7.6, 1.5$ Hz, 2H), 7.06 – 7.02 (m, 2H), 3.81 (s, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 160.52, 156.43, 149.14, 147.35, 142.65, 131.97, 130.93, 129.98, 129.50, 128.57 (2C), 126.26, 125.54, 124.79, 123.88, 122.16, 119.48, 118.86, 114.19 (2C), 112.48, 100.17, 55.39.

EA: berechnet: C, 78.61; H, 4.88; N, 11.96
 berechnet x 0,5 H_2O : C, 76.65; H, 5.03; N, 11.66
 gefunden: C, 77.12; H, 4.99; N, 11.45

30 2-(4-Methoxyphenyl)-N-(3-(trifluormethyl)phenyl)chinolin-4-amin



Hergestellt nach Methode 2 aus 0,44 mmol (120 mg) **18** und 1,11 mmol (180 mg) 3-(Trifluormethyl)anilin.

Unlöslich in DCM

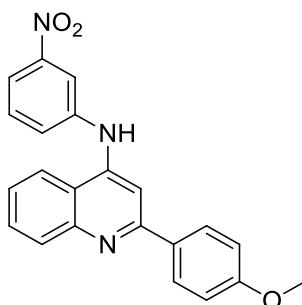
Summenformel: $C_{23}H_{17}F_3N_2$
 Molekulargewicht: 394,39 g/mol
 Aussehen: beiger Feststoff
 Ausbeute: 78 % (135 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 9.16 (s, 1H), 8.29 (dd, $J = 8.4, 1.3$ Hz, 1H), 8.06 – 8.01 (m, 2H), 7.95 (dd, $J = 8.5, 1.2$ Hz, 1H), 7.79 – 7.73 (m, 2H), 7.76 – 7.68 (m, 1H), 7.62 – 7.56 (m, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.53 – 7.49 (m, 2H), 7.07 – 7.00 (m, 2H), 3.81 (s, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 160.51, 156.42, 149.14, 147.35, 142.66, 131.96, 130.93, 129.97, 129.49, 128.56(2C), 126.24, 125.53, 124.78, 123.87, 122.16, 119.48, 118.86, 114.19(2C), 112.47, 100.16, 55.39.

EA: berechnet: C, 70.04; H, 4.34; N, 7.10
 gefunden: C, 69.94; H, 4.45; N, 7.05

31 2-(4-Methoxyphenyl)-N-(3-nitrophenyl)chinolin-4-amin



Hergestellt nach Methode 2 aus 0,37 mmol (100 mg) **18** und 1,48 mmol (204 mg) 3-Nitroanilin.

Unlöslich in DCM

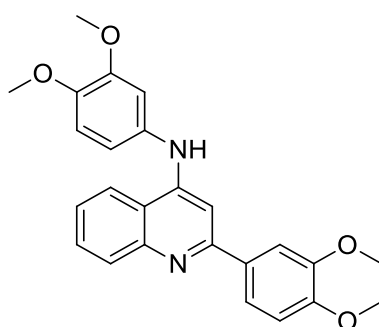
Summenformel: $C_{22}H_{17}N_3O_3$
 Molekulargewicht: 371,39 g/mol
 Aussehen: gelber Feststoff
 Ausbeute: 17 % (24 mg)

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 9.36 (s, 1H), 8.31 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 8.19 (s, 1H), 8.06 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.96 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.88 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.73 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.66 (dd, J = 9.9, 6.3 Hz, 2H), 7.54 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.04 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 3.81 (s, 3H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 160.56, 156.41, 149.20, 148.89, 147.12, 143.23, 131.87, 130.90, 130.07, 129.52, 128.60(2C), 126.34, 124.92, 122.21, 119.63, 116.80, 114.57, 114.22(2C), 100.56, 55.40.

EA: berechnet: C, 71.15; H, 4.61; N, 11.31
 berechnet x 1 H₂O: C, 67.86; H, 4.92; N, 10.79
 gefunden: C, 68.33; H, 4.52; N, 10.59

32 N,2-Bis(3,4-dimethoxyphenyl)chinolin-4-amin



Hergestellt nach Methode 2 aus 0,33 mmol (100 mg) **19** und 0,84 mmol (128 mg) 3,4-Dimethoxyanilin.

Unlöslich in DCM

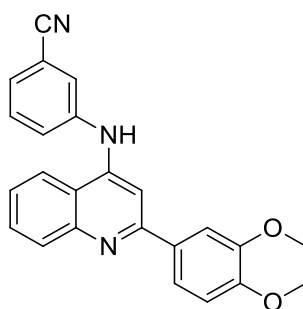
Summenformel: C₂₅H₂₄N₂O₄
 Molekulargewicht: 416,47 g/mol
 Aussehen: brauner Feststoff
 Ausbeute: 43 % (59 mg)

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 8.83 (s, 1H), 8.35 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.90 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.72 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.70 – 7.64 (m, 1H), 7.49 – 7.43 (m, 1H), 7.39 (dd, J = 8.4, 2.1 Hz, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.06 – 6.99 (m, 3H), 6.96 (dd, J = 8.5, 2.4 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.78 (d, J = 9.5 Hz, 9H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 156.39, 150.07, 149.52, 149.49, 148.94(2C), 145.98, 133.66, 132.74, 129.62, 129.42, 124.20, 121.94, 119.58, 118.63, 115.65, 112.70, 111.81, 110.50, 108.60, 97.50, 55.93, 55.78, 55.70, 55.67.

EA: berechnet: C, 72.10; H, 5.81; N, 6.73
 berechnet x 0,5 H₂O: C, 70.57; H, 5.92; N, 6.58
 gefunden: C, 70.31; H, 5.97; N, 6.47

33 3-((2-(3,4-Dimethoxyphenyl)chinolin-4-yl)amino)benzonitril



Hergestellt nach Methode 2 aus 0,33 mmol (100 mg) **19** und 0,84 mmol (99 mg) 3-Aminobenzonitril.

Unlöslich in DCM

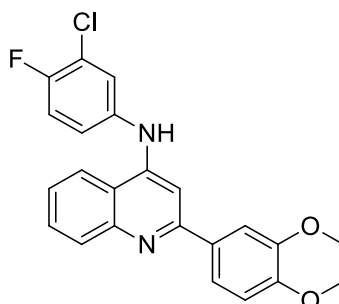
Summenformel: $C_{24}H_{19}N_3O_2$
 Molekulargewicht: 381,43 g/mol
 Aussehen: beiger Feststoff
 Ausbeute: 62 % (78 mg)

1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 9.19 (s, 1H), 8.29 (dd, $J = 8.3, 1.3$ Hz, 1H), 7.97 (dd, $J = 8.4, 1.2$ Hz, 1H), 7.80 (t, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.77 – 7.70 (m, 3H), 7.61 – 7.57 (m, 2H), 7.57 – 7.54 (m, 1H), 7.55 – 7.48 (m, 2H), 7.05 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.81 (s, 3H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 156.55, 150.29, 149.09, 149.01, 147.20, 142.69, 132.26, 130.94, 130.00, 129.56, 126.18, 125.43, 124.86, 123.67, 122.18, 119.95, 119.57, 118.88, 112.43, 111.83, 110.63, 100.53, 55.75, 55.69.

EA: berechnet: C, 75.57; H, 5.02; N, 11.02
 gefunden: C, 74.74; H, 5.21; N, 11.04

34 N-(3-Chlor-4-fluorphenyl)-2-(3,4-dimethoxyphenyl)chinolin-4-amin



Hergestellt nach Methode 2 aus 0,33 mmol (100 mg) **19** und 0,84 mmol (122 mg) 3-Chlor-4-fluoranilin.

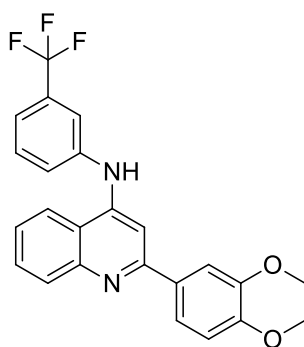
Löslich in DCM

Summenformel: $C_{23}H_{18}ClFN_2O_2$
 Molekulargewicht: 408,85 g/mol
 Aussehen: beiger Feststoff
 Ausbeute: 53 % (71 mg)

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 9.02 (s, 1H), 8.29 (dd, $J = 8.5, 1.5$ Hz, 1H), 7.94 (dd, $J = 8.6, 1.3$ Hz, 1H), 7.74 – 7.68 (m, 2H), 7.59 (dd, $J = 6.6, 2.0$ Hz, 1H), 7.54 – 7.48 (m, 2H), 7.48 – 7.43 (m, 2H), 7.42 (s, 1H), 7.04 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.80 (s, 3H).
 ^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 156.53, 154.36, 152.75, 150.24, 149.00, 148.11, 138.56 (d, $J = 2.9$ Hz), 132.39, 129.93, 129.53, 124.71, 123.80, 122.47 (d, $J = 7.0$ Hz), 122.02, 120.07 (d, $J = 18.7$ Hz), 119.86, 119.10, 117.71 (d, $J = 21.9$ Hz), 111.83, 110.60, 99.16, 55.76, 55.71.

EA: berechnet: C, 67.57; H, 4.44; N, 6.85
 gefunden: C, 66.94; H, 4.55; N, 6.83

35 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-N-(3-(trifluormethyl)phenyl)chinolin-4-amin



Hergestellt nach Methode 2 aus 0,33 mmol (100 mg) **19** und 0,84 mmol (135 mg) 3-(Trifluormethyl)anilin.

Löslich in DCM

Summenformel: $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_2$
 Molekulargewicht: 424,42 g/mol
 Aussehen: beiger Feststoff
 Ausbeute: 49 % (68 mg)

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 9,27(s,1H), 8.32 (dd, $J = 8.4, 1.3$ Hz, 1H), 7.96 (dd, $J = 8.5, 1.2$ Hz, 1H), 7.76 – 7.69 (m, 4H), 7.64 – 7.57 (m, 2H), 7.56 – 7.49 (m, 2H), 7.40 (dd, $J = 7.8, 1.6$ Hz, 1H), 7.05 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.80 (s, 3H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 156.45, 150.26, 149.13, 149.00, 147.45, 142.63, 132.28, 130.74, 130.31 (d, $J = 31.5$ Hz), 129.97, 129.52, 124.78, 124.33, 124.32 (q, $J = 272.4$ Hz), 122.19, 119.82, 119.57, 118.93 (q, $J = 3.8$ Hz), 117.12 (q, $J = 3.8$ Hz), 111.83, 110.47, 100.05, 55.74, 55.60.

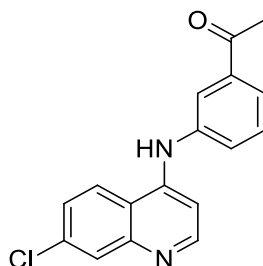
EA: berechnet: C, 67.92; H, 4.51; N, 6.60
 berechnet x 1 H_2O : C, 65.15; H, 4.78; N, 6.33
 gefunden: C, 65.89; H, 4.62; N, 6.31

7.1.2.7 Synthese der Chinolin-Chalkon Hybride

Vorstufe:

4,7-Dichlorchinolin (1 äq.) wurde mit dem entsprechenden Aminoacetophenon (1,1 äq.) in EtOH (5 ml/mmol) 8 Std. unter Reflux erhitzt. Eine Reaktionskontrolle erfolgte mittels DC. Nach Beendigung der Reaktion wurde der Ansatz auf RT abgekühlt und der entstandene Niederschlag abfiltriert. Der Niederschlag wurde in EtOH umkristallisiert und getrocknet.

36 1-(3-((7-Chlorchinolin-4-yl)amino)phenyl)ethanon

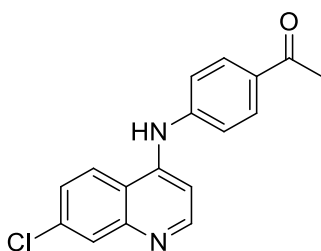


Hergestellt aus 4,7-Dichloroquinolin 10 mmol (1980 mg) und 3-Aminoacetophenon 11 mmol (1490 mg)

Summenformel: $C_{17}H_{13}ClN_2O$
Molekulargewicht: 296,75 g/mol
Aussehen: hellbeiger Feststoff
Ausbeute: 96 % (2850 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 11.36 (s, 1H), 8.94 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 8.54 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H), 8.22 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 8.03 (t, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.99 (dt, $J = 7.7, 1.4$ Hz, 1H), 7.87 (dd, $J = 9.1, 2.1$ Hz, 1H), 7.80 – 7.74 (m, 1H), 7.72 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.85 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H), 2.62 (s, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 197.38, 154.92, 143.71, 139.28, 138.55, 138.48, 137.73, 130.53, 129.93, 127.56, 127.25, 126.41, 124.84, 119.41, 116.27, 100.56, 26.99.

37 1-(4-((7-Chlorchinolin-4-yl)amino)phenyl)ethanon

Hergestellt aus 4,7-Dichloroquinolin 10 mmol (1980 mg) und 4-Aminoacetophenon 11 mmol (1490 mg)

Summenformel: $C_{17}H_{13}ClN_2O$
Molekulargewicht: 296,75 g/mol
Aussehen: beiger Feststoff
Ausbeute: 95 % (2823 mg)

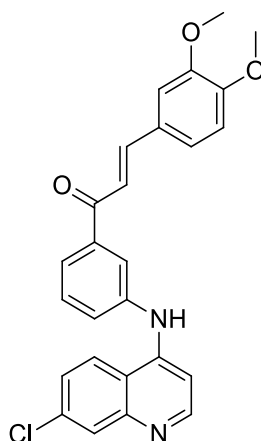
1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 11.37 (s, 1H), 8.95 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 8.59 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 8.22 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.13 – 8.08 (m, 2H), 7.87 (dd, $J = 9.1, 2.1$ Hz, 1H), 7.68 – 7.60 (m, 2H), 7.03 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 2.61 (s, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 196.98, 154.30, 143.96, 141.77, 139.43, 138.62, 135.10, 130.05 (2C), 127.68, 126.54, 124.55 (2C), 119.53, 116.67, 101.35, 26.86.

Endstufe:

Das entsprechende Benzaldehyd (1,1 äq.) wurde mit 10 %iger methanolischer KOH (20 ml/mmol) versetzt und unter Rühren das entsprechende Acetophenon Derivat (**36** oder **37**) (1 äq.) langsam hinzugegeben. Im Anschluss wurde der Ansatz 12-72 Std. bei RT gerührt. Eine Reaktionskontrolle erfolgte mittels DC. Nach Beendigung der Reaktion wurde der Ansatz mit Wasser versetzt. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Das Produkt wurde dann in EtOH/Wasser (2:1) umkristallisiert und getrocknet

38 1-(3-((7-Chlorchinolin-4-yl)amino)phenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on



Hergestellt aus **36** 1,68 mmol (500 mg) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd 1,84 mmol (305 mg)

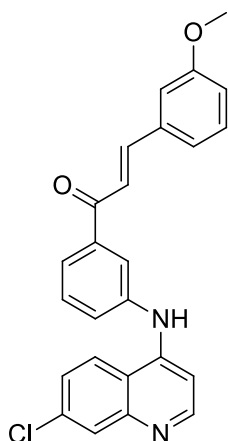
Summenformel: C₂₆H₂₁ClN₂O₃
 Molekulargewicht: 444,91 g/mol
 Aussehen: gelber Feststoff
 Ausbeute: 31 % (233 mg)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.26 (s, 1H), 8.51 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H), 8.44 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 8.03 (t, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.95 (dt, *J* = 7.6, 1.4 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.75 (q, *J* = 15.5 Hz, 2H), 7.68 – 7.64 (m, 1H), 7.63 – 7.58 (m, 2H), 7.52 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.39 (dd, *J* = 8.3, 2.0 Hz, 1H), 7.02 (dd, *J* = 6.9, 1.6 Hz, 2H), 3.83 (d, *J* = 15.4 Hz, 6H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 188.98, 152.20, 151.56, 149.78, 149.20, 147.72, 144.98, 141.05, 139.35, 134.15, 129.95, 127.89, 127.61, 126.53, 125.29, 124.60, 124.10, 121.88, 119.85, 118.65, 111.79, 111.14, 102.37, 55.93, 55.78. Ein Peak fehlt (CH)

EA: berechnet: C, 70.19; H, 4.76; N, 6.30
 berechnet x 1 H₂O: C, 67.46; H, 5.01; N, 6.05
 gefunden: C, 67.88; H, 4.99; N, 7.55

39 1-(3-((7-Chlorchinolin-4-yl)amino)phenyl)-3-(3-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on



Hergestellt aus **36** 1,68 mmol (500 mg) und 3-Methoxybenzaldehyd 1,84 mmol (251 mg)

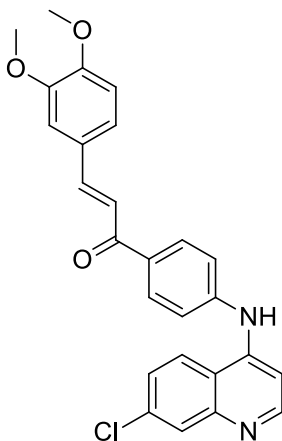
Summenformel: $C_{25}H_{19}ClN_2O_2$
 Molekulargewicht: 414,88 g/mol
 Aussehen: gelber Feststoff
 Ausbeute: 30 % (188mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 9.26 (s, 1H), 8.51 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 8.44 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 8.05 (t, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.96 (dt, $J = 7.6, 1.4$ Hz, 1H), 7.93 – 7.88 (m, 2H), 7.73 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.70 – 7.65 (m, 1H), 7.64 – 7.57 (m, 2H), 7.47 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.43 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.36 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.04 – 6.99 (m, 2H), 3.82 (s, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 189.13, 159.81, 152.19, 149.77, 147.68, 144.40, 141.12, 138.97, 136.16, 134.14, 130.07, 130.02, 127.88, 126.73, 125.29, 124.58, 124.19, 122.54, 121.98, 121.76, 118.65, 116.85, 113.69, 102.39, 55.45.

EA: berechnet: C, 72.37; H, 4.62; N, 6.75
 gefunden: C, 71.32; H, 4.58; N, 6.69

40 1-(4-((7-Chlorchinolin-4-yl)amino)phenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on



Hergestellt aus **37** 1,68 mmol (500 mg) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd 1,84 mmol (305 mg)

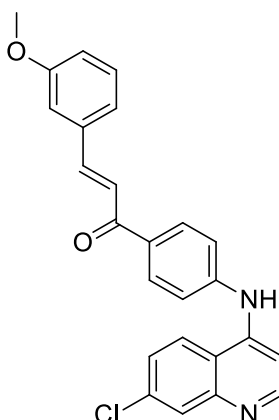
Summenformel: $C_{26}H_{21}ClN_2O_3$
 Molekulargewicht: 444,91 g/mol
 Aussehen: gelber Feststoff
 Ausbeute: 42% (317mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 9.45 (s, 1H), 8.62 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 8.40 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 8.23 – 8.18 (m, 2H), 7.97 (q, $J = 3.2, 2.5$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J = 15.4$ Hz, 1H), 7.63 (dd, $J = 9.0, 2.3$ Hz, 1H), 7.53 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.51 – 7.47 (m, 2H), 7.37 (dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.02 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.82 (s, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 187.24, 152.24, 151.34, 149.87, 149.21, 146.23, 145.74, 143.84, 134.34, 132.08, 130.47(2C), 127.96, 127.83, 125.69, 124.85, 123.93, 119.73, 119.45, 119.39(2C), 111.78, 110.90, 105.21, 55.92, 55.77.

EA: berechnet: C, 70.19; H, 4.76; N, 6.30
 berechnet x 1 H₂O: C, 67.46; H, 5.01; N, 6.05
 gefunden: C, 66.02; H, 4.74; N, 8.43

41 1-(4-((7-Chlorchinolin-4-yl)amino)phenyl)-3-(3-methoxyphenyl)prop-2-en-1-on



Hergestellt aus **37** 1,68 mmol (500 mg) und 3-Methoxybenzaldehyd 1,84 mmol (251 mg)

Summenformel: $C_{25}H_{19}ClN_2O_2$
 Molekulargewicht: 414,88 g/mol
 Aussehen: gelber Feststoff
 Ausbeute: 49 % (344 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 9.47 (s, 1H), 8.63 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 8.39 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 8.23 – 8.19 (m, 2H), 7.98 – 7.93 (m, 2H), 7.70 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.62 (dd, $J = 9.0, 2.2$ Hz, 1H), 7.51 – 7.46 (m, 3H), 7.42 (dt, $J = 8.0, 1.5$ Hz, 1H), 7.36 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 7.05 – 6.98 (m, 1H), 3.83 (s, 3H).

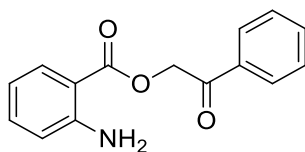
^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 187.35, 159.82, 152.24, 149.87, 146.13, 146.03, 143.32, 136.40, 134.35, 131.70, 130.64(2C), 130.05, 127.97, 125.72, 124.85, 122.46, 121.72, 119.50, 119.28(2C), 116.68, 113.43, 105.40, 55.46.

EA: berechnet: C, 72.37; H, 4.62; N, 6.75
 berechnet x 0,5 H₂O: C, 70.84; H, 4.76; N, 6.61
 gefunden: C, 70.67; H, 5.23; N, 6.38

7.1.2.8 Synthese der 2-Oxo-2-phenylethyl-2-aminobenzoate und des 2-Oxo-2-phenylethyl-2-aminonicotinat

Das Anthranilsäurederivat oder die 2-Aminopyridin-3-carbonsäure (1 äq.) wurde mit K_2CO_3 (1,1 äq.) in DMF (3 ml/mmol) 2 Std. bei 90 °C gerührt und anschließend auf RT abgekühlt. Das daraus entstandene Carboxylat wurde mit dem entsprechenden 2-Bromoacetophenonderivat versetzt und weitere 3 Std. bei 50 °C gerührt. Eine Reaktionskontrolle erfolgte mittels DC. Nach Beendigung der Reaktion wurde der Ansatz auf RT abgekühlt und auf Eiswasser gegeben. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Bei Bedarf wurde das entstandene Produkt in EtOH/Wasser umkristallisiert.

42 2-Oxo-2-phenylethyl 2-aminobenzoat



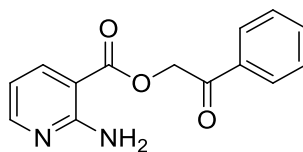
Hergestellt aus Anthranilsäure 10 mmol (1371 mg) und 2-Bromacetophenon 10 mmol (1990 mg)

Summenformel: $C_{15}H_{13}NO_3$
Molekulargewicht: 255,27 g/mol
Aussehen: hellbeiger Feststoff
Ausbeute: 76 % (1937 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8.00 (dd, $J = 8.4, 1.3$ Hz, 2H), 7.81 (dd, $J = 8.1, 1.7$ Hz, 1H), 7.72 – 7.66 (m, 1H), 7.60 – 7.52 (m, 2H), 7.32 – 7.25 (m, 1H), 6.79 (dd, $J = 8.5, 1.1$ Hz, 1H), 6.61 (s, 2H), 6.60 – 6.53 (m, 1H), 5.66 (s, 2H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 193.33, 166.81, 151.66, 134.47, 134.17, 134.03, 130.93, 129.04 (2C), 127.90 (2C), 116.74, 114.94, 108.40, 66.51.

43 2-Oxo-2-phenylethyl 2-aminonicotinat



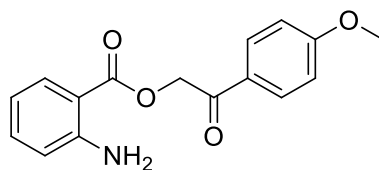
Hergestellt aus 2-Aminopyridine-3-carbonsäure 10 mmol (1381 mg) und 2-Bromaceto-phenon 10 mmol (1990 mg)

Summenformel: $C_{14}H_{12}N_2O_3$
 Molekulargewicht: 256,08 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 41 % (1049 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8.25 (dd, $J = 4.7, 2.0$ Hz, 1H), 8.16 (dd, $J = 7.8, 2.0$ Hz, 1H), 8.00 (dt, $J = 8.5, 1.5$ Hz, 2H), 7.73 – 7.68 (m, 1H), 7.61 – 7.55 (m, 2H), 7.13 (s, 2H), 6.67 (dd, $J = 7.8, 4.7$ Hz, 1H), 5.71 (s, 2H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 193.03, 166.02, 159.64, 154.50, 140.05, 134.15, 134.04, 129.09 (2C), 127.95 (2C), 112.17, 104.31, 67.03.

44 2-(4-Methoxyphenyl)-2-oxoethyl 2-aminobenzoat



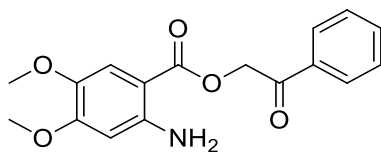
Hergestellt aus Anthranilsäure 5 mmol (686 mg) und 2-Brom-4'-methoxyacetophenon 5 mmol (1145 mg)

Summenformel: $C_{16}H_{15}NO_4$
 Molekulargewicht: 285,29 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 88 % (1260mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8.00 – 7.96 (m, 2H), 7.80 (dd, $J = 8.1, 1.6$ Hz, 1H), 7.31 – 7.24 (m, 1H), 7.11 – 7.05 (m, 2H), 6.81 – 6.76 (m, 1H), 6.61 (s, 2H), 6.56 (td, $J = 7.6, 7.1, 1.1$ Hz, 1H), 5.59 (s, 2H), 3.86 (s, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 191.57, 166.86, 163.78, 151.63, 134.42, 130.96, 130.26(2C), 127.07, 116.73, 114.94, 114.30(2C), 108.54, 66.22, 55.75.

45 2-Oxo-2-phenylethyl-2-amino-4,5-dimethoxybenzoat

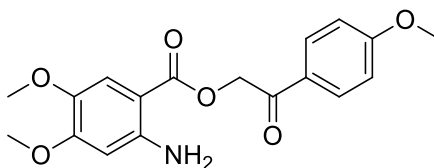


Hergestellt aus 2-Amino-4,5-dimethoxybenzoesäure 7 mmol (1380 mg) und 2-Bromacetophenon 7 mmol (1393 mg)

Summenformel: $C_{17}H_{17}NO_5$
 Molekulargewicht: 315,32 g/mol
 Aussehen: beiger Feststoff
 Ausbeute: 89 % (1957 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8.01 – 7.98 (m, 2H), 7.72 – 7.66 (m, 1H), 7.59 – 7.54 (m, 2H), 7.24 (s, 1H), 6.43 (s, 2H), 6.39 (s, 1H), 5.60 (s, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.66 (s, 3H).
 ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 193.64, 166.32, 155.41, 148.84, 139.64, 134.29, 133.98, 129.04(2C), 127.89(2C), 112.75, 99.33, 99.29, 66.23, 56.27, 55.42.

46 2-(4-Methoxyphenyl)-2-oxoethyl-2-amino-4,5-dimethoxybenzoat



Hergestellt aus 2-Amino-4,5-dimethoxybenzoesäure 7 mmol (1380 mg) und 2-Brom-4'-methoxyacetophenon 7 mmol (1603 mg)

Summenformel: $C_{18}H_{19}NO_6$
 Molekulargewicht: 345,35 g/mol
 Aussehen: beiger Feststoff
 Ausbeute: 90 % (2168 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 8.00 – 7.95 (m, 2H), 7.23 (s, 1H), 7.09 – 7.06 (m, 2H), 6.42 (s, 2H), 6.38 (s, 1H), 5.54 (s, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.66 (s, 3H).
 ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 191.87, 166.36, 163.73, 155.37, 148.79, 139.63, 130.23(2C), 127.17, 114.28(2C), 112.81, 99.46, 99.30, 65.93, 56.28, 55.75, 55.42.

7.1.2.9 Synthese der 3-Hydroxy-2-phenylchinolin-4-one/3-Hydroxy-2-phenyl-1,8-naphthyridin-4-on

Methode 1:

Wenn R = H

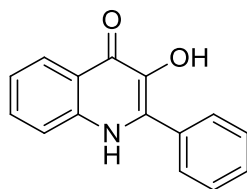
Das 2-Oxo-2-phenylethyl-2-aminobenzoat oder das 2-Oxo-2-phenylethyl-2-aminonicotinat wurde in vorgewärmte Polyphosphorsäure (6 ml/mmol) gegeben und bei 120 °C 2 Std. gerührt. Eine Reaktionskontrolle erfolgte mittels DC. Nach Beendigung der Reaktion wurde der Ansatz auf RT abgekühlt und vorsichtig mit Wasser versetzt, bis die Polyphosphorsäure abreagiert war und ein Niederschlag entsteht. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit reichlich Wasser gewaschen und anschließend getrocknet. Das Produkt wurde in DMF umkristallisiert.

Methode 2:

Wenn R = OCH₃

Das 2-Oxo-2-phenylethyl-2-aminobenzoat Derivat wurde mit Trifluoressigsäure (TFA) (6 ml/mmol) versetzt und 2-4 Std. refluxiert. Eine Reaktionskontrolle erfolgt mittels DC. Nach Beendigung der Reaktion wurde die TFA abrotiert und der Rückstand in Diethylether (5 ml/mmol) aufgenommen und 5 Min. ins Ultraschallbad gestellt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit Diethylether gewaschen und anschließend getrocknet.

47 3-Hydroxy-2-phenylchinolin-4(1H)-on



Hergestellt nach Methode 1 aus **42** 6 mmol (1532 mg)

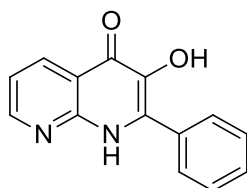
Summenformel: C₁₅H₁₁NO₂
Molekulargewicht: 237,25 g/mol
Aussehen: beiger Feststoff
Ausbeute: 51 % (723 mg)

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 11.53 (s, 1H), 8.15 (dd, $J = 8.2, 1.5$ Hz, 1H), 7.81 – 7.77 (m, 2H), 7.73 – 7.68 (m, 1H), 7.60 – 7.53 (m, 3H), 7.53 – 7.48 (m, 1H), 7.30 – 7.23 (m, 1H). Ein H fehlt (OH)

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 170.16, 138.19, 137.92, 132.49, 131.54, 130.66, 129.36 (3C), 128.41 (2C), 124.57, 121.99, 121.91, 118.56.

EA: berechnet: C, 75.94; H, 4.67; N, 5.90
 berechnet x 0,5 H₂O: C, 73.16; H, 4.91; N, 5.69
 gefunden: C, 73.74; H, 5.09; N, 7.04

48 3-Hydroxy-2-phenyl-1,8-naphthyridin-4(1H)-on



Hergestellt nach Methode 1 aus **43** 6 mmol (1536 mg)

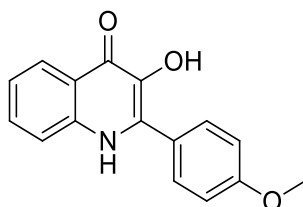
Summenformel: C₁₄H₁₀N₂O₂
 Molekulargewicht: 238,24 g/mol
 Aussehen: gelber Feststoff
 Ausbeute: 34 % (488 mg)

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 12.12 (s, 1H), 8.74 (dd, $J = 4.4, 1.9$ Hz, 1H), 8.54 (dd, $J = 8.1, 1.9$ Hz, 1H), 7.80 – 7.75 (m, 2H), 7.54 – 7.46 (m, 3H), 7.36 (dd, $J = 8.1, 4.4$ Hz, 1H). Ein H fehlt (OH)

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 170.71, 152.75, 148.00, 138.60, 134.41, 132.51, 131.83, 129.66 (2C), 129.36, 128.18 (2C), 118.63, 116.38.

EA: berechnet: C, 70.58; H, 4.23; N, 11.76
 gefunden: C, 70.74; H, 4.25; N, 11.63

49 3-Hydroxy-2-(4-methoxyphenyl)chinolin-4(1H)-on



Hergestellt nach Methode 2 aus **44** 2,85 mmol (815 mg)

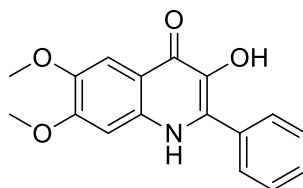
Summenformel: C₁₆H₁₃NO₃
 Molekulargewicht: 267,28 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 92 % (698 mg)

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 11.44 (s, 1H), 8.12 (dd, $J = 8.4, 1.1$ Hz, 1H), 7.78 – 7.74 (m, 2H), 7.72 – 7.68 (m, 1H), 7.59 – 7.52 (m, 1H), 7.28 – 7.21 (m, 1H), 7.13 – 7.08 (m, 2H), 3.83 (s, 3H). Ein H fehlt (OH)

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 169.85, 160.11, 138.09, 137.64, 131.53, 130.77 (2C), 130.52, 124.58, 124.50, 121.93, 121.77, 118.50, 113.88 (2C), 55.50.

EA: berechnet: C, 71.90; H, 4.90; N, 5.24
 gefunden: C, 70.99; H, 4.89; N, 5.09

50 3-Hydroxy-6,7-dimethoxy-2-phenylchinolin-4(1H)-on



Hergestellt nach Methode 2 aus **45** 5 mmol (1575 mg)

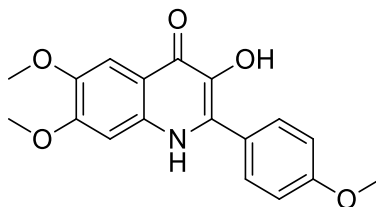
Summenformel: $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{NO}_4$
 Molekulargewicht: 297,31 g/mol
 Aussehen: hellbrauner Feststoff
 Ausbeute: 40 % (600 mg)

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 11.61 (s, 1H), 7.82 – 7.77 (m, 2H), 7.58 – 7.53 (m, 2H), 7.52 – 7.47 (m, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.86 (s, 3H). Ein H fehlt (OH)

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 167.58, 152.91, 146.78, 136.87, 134.24, 132.44, 131.05, 129.29, 129.17 (2C), 128.44 (2C), 115.78, 102.88, 99.18, 55.77, 55.71.

Keine EA bestimmt

51 3-Hydroxy-6,7-dimethoxy-2-(4-methoxyphenyl)chinolin-4(1H)-on



Hergestellt nach Methode 2 aus **46** 3 mmol (1035 mg).

Summenformel: $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{NO}_5$
 Molekulargewicht: 327,33 g/mol
 Aussehen: hellbrauner Feststoff
 Ausbeute: 66 % (648 mg)

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 11.29 (s, 1H), 7.79 – 7.75 (m, 2H), 7.42 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.13 – 7.06 (m, 2H), 3.85 (s, 6H), 3.83 (s, 3H). Ein H fehlt (OH)

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 168.29, 159.92, 152.65, 146.39, 136.74, 134.16, 130.45 (2C), 130.01, 124.74, 115.71, 113.87 (2C), 103.10, 99.15, 55.70, 55.64, 55.46.

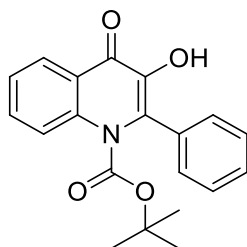
EA: berechnet: C, 66.05; H, 5.23; N, 4.28

gefunden: C, 65.31; H, 5.32; N, 4.22

7.1.2.10 Synthese der N-BOC-3-Hydroxy-2-phenylchinolin-4-one/ N-BOC-3-Hydroxy-2-phenyl-1,8-naphthyridin-4-on

Das 3-Hydroxy-2-phenylchinolin-4-on Derivat oder das 3-Hydroxy-2-phenyl-1,8-naphthyridin-4-on (1 äq.) wurde in Acetonitril (10 ml/mmol) gerührt und mit Dimethylammonopyridin (1,5 äq.) versetzt. Es entstand eine klare Lösung. Anschließend wurde das Di-*tert*-butyldicarbonat (BOC-Anhydrid) (1,5 äq.) hinzugefügt und der Ansatz 6 Std. bei RT und anschließend 4 Std. bei 60 °C gerührt. Eine Reaktionskontrolle erfolgte mittels DC. Nach Beendigung der Reaktion wurde der Ansatz auf RT abgekühlt, wobei die Verbindungen **52** und **53** bereits als Niederschlag ausfielen. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit Acetonitril gewaschen. Bei den Verbindungen **54**, **55** und **56** wurde der entstandene Niederschlag abfiltriert und verworfen. Das Filtrat wurde einrotiert und der entstandene Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und mit Wasser und wässriger HCl 1 mol/l ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde anschließend über MgSO_4 getrocknet und einrotiert, um die Produkte **54**, **55** und **56** zu erhalten.

52 *t*-Butyl-3-hydroxy-4-oxo-2-phenylchinolin-1(4H)-carboxylat



Hergestellt aus **47** 2,11 mmol (500 mg) und BOC-Anhydrid 3,17 mmol (691 mg)

Summenformel: $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{NO}_4$

Molekulargewicht: 337,37 g/mol

Aussehen: weißer Feststoff

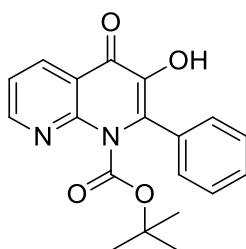
Ausbeute: 26 % (182 mg)

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 11.96 (s, 1H), 8.15 (dt, $J = 8.0, 1.1$ Hz, 1H), 7.72 – 7.68 (m, 2H), 7.59 (s, 5H), 7.40 – 7.33 (m, 1H), 1.37 (s, 9H).

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 170.12, 151.11, 143.02, 139.25, 132.03, 131.23, 131.18, 130.35, 128.77 (2C), 128.72 (2C), 125.20, 124.96, 123.33, 118.80, 82.72, 27.29 (3C).

EA: berechnet: C, 71.20; H, 5.68; N, 4.15
 gefunden: C, 71.23; H, 5.72; N, 4.25

53 *t*-Butyl-3-hydroxy-4-oxo-2-phenyl-1,8-naphthyridin-1(4H)-carboxylat



Hergestellt aus **48** 2,10 mmol (500 mg) und BOC-Anhydrid 3,17 mmol (691 mg)

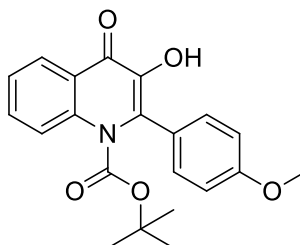
Summenformel: $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4$
 Molekulargewicht: 338,36 g/mol
 Aussehen: gelber Feststoff
 Ausbeute: 10 % (72 mg)

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 12.59 (s, 1H), 8.82 (dd, $J = 4.5, 1.9$ Hz, 1H), 8.54 (dd, $J = 8.0, 1.9$ Hz, 1H), 7.56 (s, 5H), 7.46 (dd, $J = 8.0, 4.5$ Hz, 1H), 1.36 (s, 9H).

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 170.54, 153.67, 150.86, 149.49, 144.28, 134.85, 131.90, 130.46, 130.38, 128.87(2C), 128.57(2C), 119.86, 119.51, 82.99, 27.24(3C).

Keine EA bestimmt

54 *t*-Butyl-3-hydroxy-2-(4-methoxyphenyl)-4-oxochinolin-1(4H)-carboxylat



Hergestellt aus **49** 1,92 mmol (513 mg) und BOC-Anhydrid 2,88 mmol (628 mg)

Summenformel: $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{NO}_5$
 Molekulargewicht: 367,40 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff

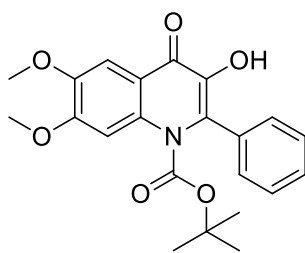
Ausbeute: 50 % (353 mg)

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 11.83 (s, 1H), 8.15 – 8.10 (m, 1H), 7.73 – 7.65 (m, 2H), 7.56 – 7.51 (m, 2H), 7.39 – 7.32 (m, 1H), 7.16 – 7.12 (m, 2H), 3.84 (s, 3H), 1.39 (s, 9H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 170.06, 160.88, 151.15, 142.76, 139.20, 131.94, 131.22, 130.28 (2C), 125.07, 124.94, 123.22, 123.19, 118.70, 114.26 (2C), 82.67, 55.60, 27.33 (3C).

EA: berechnet: C, 68.65; H, 5.76; N, 3.81
 gefunden: C, 67.97; H, 5.89; N, 3.83

55 *t*-Butyl 3-hydroxy-6,7-dimethoxy-4-oxo-2-phenylchinolin-1(4H)-carboxylat



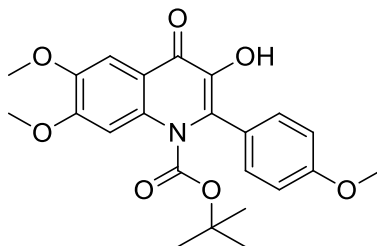
Hergestellt aus **50** 1,63 mmol (484 mg) und BOC-Anhydrid 2,44 mmol (532 mg)

Summenformel: $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{NO}_6$
 Molekulargewicht: 397,42 g/mol
 Aussehen: beiger Feststoff
 Ausbeute: 22 % (141 mg)

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 11.74 (s, 1H), 7.59 – 7.54 (m, 5H), 7.47 (s, 1H), 7.16 (s, 1H), 3.86 (s, 6H), 1.37 (s, 9H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 168.89, 153.28, 151.23, 146.92, 141.24, 135.00, 131.37, 130.68, 130.18, 128.77 (2C), 128.65 (2C), 119.22, 104.02, 99.55, 82.57, 55.83, 55.69, 27.31 (3C).

EA: berechnet: C, 66.49; H, 5.83; N, 3.52
 gefunden: C, 66.41; H, 5.85; N, 3.67

56 *t*-Butyl-3-hydroxy-6,7-dimethoxy-2-(4-methoxyphenyl)-4-oxochinolin-1(4H)-carboxylat

Hergestellt aus **51** 1,81 mmol (592 mg) und BOC-Anhydrid 2,71 mmol (591 mg)

Summenformel: C₂₃H₂₅NO₇
 Molekulargewicht: 427,45 g/mol
 Aussehen: beige-brauner Feststoff
 Ausbeute: 18 % (139 mg)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.63 (s, 1H), 7.53 – 7.48 (m, 2H), 7.46 (s, 1H), 7.16 (s, 1H), 7.14 – 7.10 (m, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 1.39 (s, 9H).

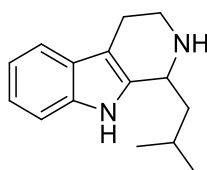
¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 168.80, 160.72, 153.20, 151.27, 146.83, 141.05, 134.97, 130.64, 130.14 (2C), 123.43, 119.06, 114.24 (2C), 104.03, 99.54, 82.52, 55.82, 55.68, 55.57, 27.35 (3C).

EA: berechnet: C, 64.63; H, 5.90; N, 3.28
 gefunden: C, 63.84; H, 5.96; N, 3.41

7.1.2.11 Synthese der 1-substituierten-Tetrahydro-β-carboline/1,6-substituierten-tetrahydro-beta-carbolin

Tryptamin oder 5-Methoxytryptamin (1 äq.) und das entsprechende Aldehyd (1,2 äq.) wurden in DCM (2 ml/mmol) gelöst. TFA (1,5 äq.) wurde tropfenweise hinzugefügt und der Ansatz 24 Std. bei RT gerührt. Eine Reaktionskontrolle erfolgte mittels DC. Nach Beendigung der Reaktion wurde der Ansatz einrotiert, der Rückstand mit wässriger, 5 %iger K₂CO₃ Lösung (3 ml/mmol) versetzt und mit DCM extrahiert. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, filtriert und einrotiert. Das erhaltene Produkt wurde bei Bedarf in EtOH umkristallisiert. Wenn das Produkt bereits im Reaktionsansatz ausgefallen war (unlöslich in DCM) wurde der Reaktionsansatz filtriert und der Niederschlag mit wässriger, 5 %iger K₂CO₃ Lösung und DCM gewaschen und getrocknet. Das erhaltene Produkt konnte dann ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet werden.

57 1-Isobutyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol



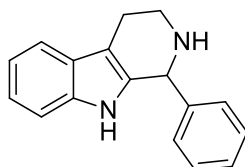
Hergestellt aus Tryptamin 7,5 mmol (1200 mg) und Isovaleraldehyd 9 mmol (775 mg).

Summenformel: $C_{15}H_{20}N_2$
 Molekulargewicht: 228,33 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 92 % (1575 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 11.10 (s, 1H), 9.25 (s, 1H), 7.51 – 7.32 (m, 2H), 7.15 – 6.97 (m, 2H), 4.70 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 3.59 (dt, J = 12.3, 4.6 Hz, 1H), 3.40 – 3.32 (m, 1H), 3.00 – 2.86 (m, 2H), 2.05 – 1.89 (m, 2H), 1.75 (t, J = 10.2 Hz, 1H), 1.00 (dd, J = 25.3, 6.0 Hz, 6H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 136.39, 130.72, 126.00, 121.86, 119.16, 118.12, 111.51, 105.76, 50.79, 41.08, 41.02, 23.53 (2C), 21.40, 18.34.

58 1-Phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol [193,205]



Hergestellt aus Tryptamin 5 mmol (800 mg) und Benzaldehyd 6 mmol (636 mg).

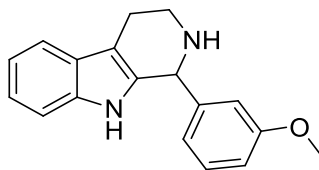
Summenformel: $C_{17}H_{16}N_2$
 Molekulargewicht: 248,32 g/mol
 Aussehen: hellbeiger Feststoff
 Ausbeute: 48 % (595 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.38 (s, 1H), 7.40 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.34 – 7.30 (m, 2H), 7.29 – 7.25 (m, 3H), 7.22 (dt, J = 8.0, 0.9 Hz, 1H), 7.03 – 6.96 (m, 1H), 6.98 – 6.90 (m, 1H), 5.08 (s, 1H), 3.06 (dt, J = 12.1, 5.3 Hz, 1H), 2.97 – 2.88 (m, 1H), 2.77 – 2.61 (m, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 143.39, 136.08, 135.50, 128.54 (2C), 128.20 (2C), 127.25, 127.01, 120.58, 118.27, 117.61, 111.16, 108.41, 56.71, 41.32, 22.40.

EA: berechnet: C, 82.22; H, 6.49; N, 11.28
 gefunden: C, 82.01; H, 6.54; N, 11.06

59 1-(3-Methoxyphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol [193]



Hergestellt aus Tryptamin 10 mmol (1600 mg) und 3-Methoxybenzaldehyd 12 mmol (1633 mg).

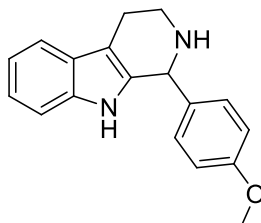
Summenformel: $C_{18}H_{18}N_2O$
 Molekulargewicht: 278,35 g/mol
 Aussehen: hellgelber Feststoff
 Ausbeute: 72 % (2004 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.36 (s, 1H), 7.40 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.26 – 7.20 (m, 2H), 7.02 – 6.91 (m, 2H), 6.89 – 6.82 (m, 3H), 5.05 (s, 1H), 3.72 (d, $J = 4.7$ Hz, 3H), 3.11 – 3.04 (m, 1H), 2.97 – 2.89 (m, 1H), 2.77 – 2.61 (m, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 159.33, 144.91, 136.06, 135.47, 129.21, 126.99, 120.75, 120.59, 118.28, 117.62, 114.34, 112.59, 111.17, 108.27, 56.75, 55.12, 41.47, 22.35.

EA: berechnet: C, 77.67; H, 6.52; N, 10.06
 gefunden: C, 77.96; H, 6.59; N, 10.02.

60 1-(4-Methoxyphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol



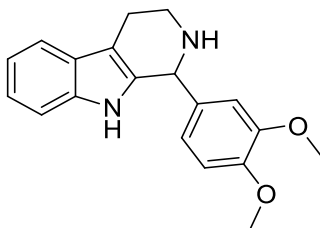
Hergestellt aus Tryptamin 5 mmol (800 mg) und 4-Methoxybenzaldehyd 6 mmol (817 mg).

Summenformel: $C_{18}H_{18}N_2O$
 Molekulargewicht: 278,35 g/mol
 Aussehen: hellgelber Feststoff
 Ausbeute: 45 % (626 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.86 (s, 1H), 9.48 (s, 1H), 7.52 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.33 – 7.24 (m, 3H), 7.14 – 7.07 (m, 1H), 7.06 – 7.01 (m, 3H), 5.89 (s, 1H), 3.48 – 3.39 (m, 2H), 3.30 (s, 3H), 3.14 – 3.04 (m, 1H), 3.04 – 2.89 (m, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 160.48, 136.65, 131.36 (2C), 128.87, 126.72, 125.83, 122.08, 119.17, 118.30, 114.37 (2C), 111.66, 107.39, 55.50, 55.32, 18.37, ein Peak fehlt.
 ^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ 161.04, 136.43, 131.22 (2C), 127.35, 126.03, 125.10, 123.24, 120.28, 118.66, 114.62 (2C), 111.35, 108.98, 56.15, 55.38, 40.38, 18.46.

61 1-(3,4-Dimethoxyphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol



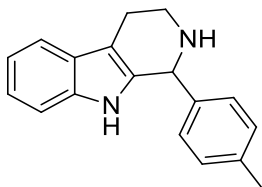
Hergestellt aus Tryptamin 5 mmol (800 mg) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd 6 mmol (997 mg).

Summenformel: $C_{19}H_{20}N_2O_2$
 Molekulargewicht: 308,37 g/mol
 Aussehen: hellgelber Feststoff
 Ausbeute: 84 % (1295 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.82 (s, 1H), 9.36 (s, 1H), 7.51 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.29 (dt, $J = 8.1, 0.9$ Hz, 1H), 7.14 – 6.99 (m, 4H), 6.82 (dd, $J = 8.3, 2.1$ Hz, 1H), 5.82 (s, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.46 (dt, $J = 12.5, 5.5$ Hz, 1H), 3.44 – 3.34 (m, 1H), 3.13 – 3.03 (m, 1H), 3.03 – 2.93 (m, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 150.01, 148.96, 136.63, 129.27, 127.38, 125.92, 122.42, 121.99, 119.11, 118.28, 113.38, 111.88, 111.66, 107.38, 55.86, 55.82, 55.73, 40.37, 18.60.

62 1-(p-Tolyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol



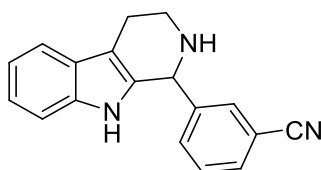
Hergestellt aus Tryptamin 5 mmol (800 mg) und 4-Methylbenzaldehyd 6 mmol (721 mg).

Summenformel: $C_{18}H_{18}N_2$
 Molekulargewicht: 262,35 g/mol
 Aussehen: beiger Feststoff
 Ausbeute: 43 % (564 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.32 (s, 1H), 7.42 – 7.37 (m, 1H), 7.21 (dd, $J = 7.9, 1.1$ Hz, 1H), 7.14 (q, $J = 8.0$ Hz, 4H), 7.01 – 6.91 (m, 2H), 5.03 (s, 1H), 3.06 (dt, $J = 12.2, 5.2$ Hz, 1H), 2.96 – 2.86 (m, 1H), 2.75 – 2.58 (m, 3H), 2.28 (s, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 140.38, 136.33, 136.06, 135.75, 128.76 (2C), 128.45 (2C), 127.03, 120.53, 118.25, 117.58, 111.15, 108.28, 56.52, 41.44, 22.42, 20.83.

63 3-(2,3,4,9-Tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-1-yl)benzonnitril



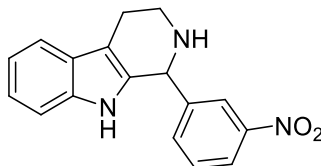
Hergestellt aus Tryptamin 5 mmol (800 mg) und 3-Formylbenzonnitril 6 mmol (787 mg).

Summenformel: $C_{18}H_{15}N_3$
 Molekulargewicht: 273,33 g/mol
 Aussehen: hellgelber Feststoff
 Ausbeute: 18 % (246 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.43 (s, 1H), 7.77 – 7.70 (m, 2H), 7.63 (dt, $J = 7.9, 1.5$ Hz, 1H), 7.53 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.42 (dd, $J = 7.8, 1.1$ Hz, 1H), 7.22 (dt, $J = 8.0, 1.0$ Hz, 1H), 7.05 – 6.97 (m, 1H), 6.99 – 6.92 (m, 1H), 5.16 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 3.07 – 2.91 (m, 3H), 2.79 – 2.69 (m, 1H), 2.70 – 2.61 (m, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 145.01, 136.13, 134.51, 133.42, 132.08, 131.13, 129.52, 126.91, 120.88, 119.07, 118.45, 117.80, 111.19, 111.16, 108.74, 55.92, 41.36, 22.21.

64 1-(3-Nitrophenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol



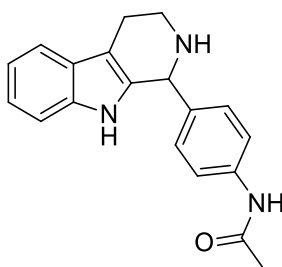
Hergestellt aus Tryptamin 5 mmol (800 mg) und 3-Nitrobenzaldehyd 6 mmol (907 mg).

Summenformel: $C_{17}H_{15}N_3O_2$
 Molekulargewicht: 293,32 g/mol
 Aussehen: gelber Feststoff
 Ausbeute: 60 % (880 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.94 (s, 1H), 9.85 (s, 1H), 8.37 – 8.34 (m, 1H), 8.33 – 8.29 (m, 1H), 7.83 – 7.75 (m, 2H), 7.56 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.32 – 7.27 (m, 1H), 7.17 – 7.10 (m, 1H), 7.09 – 7.04 (m, 1H), 6.18 (s, 1H), 3.55 – 3.40 (m, 2H), 3.18 – 3.09 (m, 1H), 3.04 (dt, $J = 10.3, 5.5$ Hz, 1H)

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 147.96, 136.91, 136.73, 136.70, 130.65, 127.74, 125.79, 124.97, 124.77, 122.39, 119.37, 118.51, 111.75, 108.00, 54.86, 40.41, 18.36.

65 N-(4-(2,3,4,9-Tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-1-yl)phenyl)acetamid



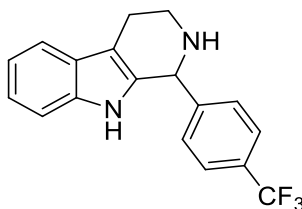
Hergestellt aus Tryptamin 5 mmol (800 mg) und 4-Acetamidobenzaldehyd 6 mmol (979 mg).

Summenformel: $C_{19}H_{19}N_3O$
 Molekulargewicht: 305,37 g/mol
 Aussehen: beiger Feststoff
 Ausbeute: 82 % (1252 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.78 (s, 1H), 10.10 (s, 1H), 7.66 – 7.61 (m, 2H), 7.52 – 7.48 (m, 1H), 7.30 – 7.24 (m, 3H), 7.13 – 7.05 (m, 1H), 7.06 – 6.99 (m, 1H), 5.74 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 3.41 – 3.29 (m, 3H), 3.08 – 2.99 (m, 1H), 2.98 – 2.92 (m, 1H), 2.04 (s, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 168.65, 140.42, 136.58, 130.40, 130.19 (2C), 129.78, 126.02, 121.86, 119.19 (2C), 119.04, 118.21, 111.60, 107.56, 55.56, 40.25, 24.13, 18.99.

66 1-(4-(Trifluormethyl)phenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol



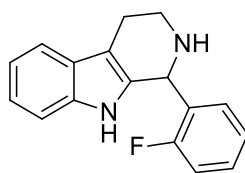
Hergestellt aus Tryptamin 5 mmol (800 mg) und 4-(Trifluormethyl)benzaldehyd 6 mmol (1045 mg).

Summenformel: $C_{18}H_{15}F_3N_2$
 Molekulargewicht: 316,12 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 97 % (1533 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.90 (s, 1H), 9.73 (s, 1H), 7.87 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.62 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.55 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.30 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.13 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.06 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 6.08 (s, 1H), 3.53 – 3.40 (m, 2H), 3.12 (dt, J = 13.0, 6.3 Hz, 1H), 3.03 (dt, J = 16.1, 5.6 Hz, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 139.1, 136.6, 130.9 (2C), 130.12 (q, J = 32.1 Hz), 127.7, 125.71 (d, J = 3.4 Hz, 2C), 125.6, 123.95 (q, J = 272.4 Hz), 122.1, 119.1, 118.3, 111.5, 107.6, 54.9, 40.2, 18.2.

67 1-(2-Fluorphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol

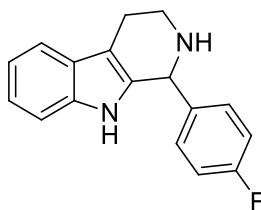


Hergestellt aus Tryptamin 5 mmol (800 mg) und 2-Fluorbenzaldehyd 6 mmol (745 mg).

Summenformel: C₁₇H₁₅FN₂
 Molekulargewicht: 266,31 g/mol
 Aussehen: hellbeiger Feststoff
 Ausbeute: 32 % (426 mg)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.94 (s, 1H), 9.72 (s, 1H), 7.60 – 7.51 (m, 2H), 7.45 – 7.37 (m, 1H), 7.32 – 7.23 (m, 2H), 7.16 – 7.10 (m, 2H), 7.10 – 7.02 (m, 1H), 6.16 (s, 1H), 3.58 – 3.49 (m, 1H), 3.48 – 3.40 (m, 1H), 3.17 – 3.07 (m, 1H), 3.07 – 2.97 (m, 1H).
¹³C NMR (126 MHz, DMSO- *d*₆) δ 160.77 (d, J = 249.1 Hz), 136.64, 132.38 (d, J = 8.5 Hz), 131.46, 127.48, 125.74, 125.06, 122.25, 121.89 (d, J = 13.2 Hz), 119.25, 118.37, 116.12 (d, J = 21.2 Hz), 111.67, 107.82, 48.88, 40.17, 18.30.

68 1-(4-Fluorphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol

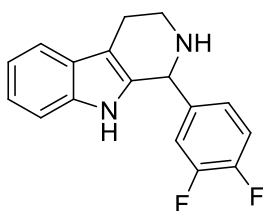


Hergestellt aus Tryptamin 5 mmol (800 mg) und 4-Fluorbenzaldehyd 6 mmol (745 mg).

Summenformel: C₁₇H₁₅FN₂
 Molekulargewicht: 266,31 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 76 % (1012 mg)

¹H NMR (500 MHz, DMSO- *d*₆) δ 10.89 (s, 1H), 9.62 (s, 1H), 7.56 – 7.49 (m, 1H), 7.48 – 7.39 (m, 2H), 7.37 – 7.26 (m, 3H), 7.16 – 7.08 (m, 1H), 7.09 – 7.01 (m, 1H), 5.98 (s, 1H), 3.49 – 3.39 (m, 2H), 3.16 – 3.05 (m, 1H), 3.06 – 2.96 (m, 1H).
¹³C NMR (126 MHz, DMSO- *d*₆) δ 163.00 (d, J = 246.6 Hz), 136.68, 132.37 (d, J = 8.7 Hz, 2C), 131.06 (d, J = 2.7 Hz), 128.36, 125.77, 122.20, 119.24, 118.37, 115.89 (d, J = 21.8 Hz, 2C), 111.68, 107.57, 54.94, 40.11, 18.30.

69 1-(3,4-Difluorphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol



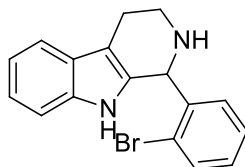
Hergestellt aus Tryptamin 10 mmol (1600 mg) und 3,4-Difluorbenzaldehyd 12 mmol (1705 mg).

Summenformel: $C_{17}H_{14}F_2N_2$
 Molekulargewicht: 284,30 g/mol
 Aussehen: hellgelber Feststoff
 Ausbeute: 91 % (2587 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.92 (s, 1H), 9.75 (s, 1H), 7.62 – 7.51 (m, 2H), 7.52 – 7.44 (m, 1H), 7.30 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.26 – 7.21 (m, 1H), 7.17 – 7.09 (m, 1H), 7.08 – 7.02 (m, 1H), 5.99 (s, 1H), 3.52 – 3.40 (m, 2H), 3.10 (dt, $J = 11.9, 5.9$ Hz, 1H), 3.01 (dt, $J = 16.0, 5.6$ Hz, 1H)

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 149.39 (dd, $J = 249.2, 12.2$ Hz), 148.45 (dd, $J = 240.2, 12.8$ Hz), 136.72, 132.36, 127.91, 127.39, 125.76, 122.33, 119.31, 119.31 (d, $J = 18.0$ Hz) 118.47, 111.72, 118.11 (d, $J = 17.4$ Hz), 107.77, 54.63, 40.19, 18.29.

70 1-(2-Bromphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol



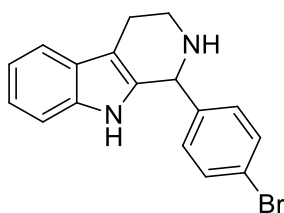
Hergestellt aus Tryptamin 6,25 mmol (1000 mg) und 2-Brombenzaldehyd 7,5 mmol (1388 mg).

Summenformel: $C_{17}H_{15}BrN_2$
 Molekulargewicht: 327,22 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 56 % (1145 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.95 (s, 1H), 9.65 (s, 1H), 7.89 – 7.79 (m, 1H), 7.55 (dd, $J = 7.7, 1.0$ Hz, 1H), 7.47 – 7.38 (m, 2H), 7.29 (dt, $J = 8.1, 1.0$ Hz, 1H), 7.19 – 6.99 (m, 3H), 6.15 (s, 1H), 3.60 – 3.51 (m, 1H), 3.43 – 3.34 (m, 1H), 3.18 – 3.09 (m, 1H), 3.05 – 2.96 (m, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 136.71, 133.89, 133.50, 132.05, 131.77, 128.47, 127.62, 125.65, 125.18, 122.36, 119.29, 118.44, 111.69, 108.06, 54.82, 39.78, 18.33.

71 1-(4-Bromphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol



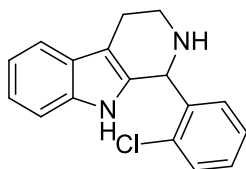
Hergestellt aus Tryptamin 7,5 mmol (1200 mg) und 4-Brombenzaldehyd 9 mmol (1665 mg).

Summenformel: $C_{17}H_{15}BrN_2$
 Molekulargewicht: 327,22 g/mol
 Aussehen: weißes Pulver
 Ausbeute: 33 % (810 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.88 (s, 1H), 9.64 (s, 1H), 7.73 – 7.67 (m, 2H), 7.53 (dd, $J = 7.7, 1.0$ Hz, 1H), 7.36 – 7.31 (m, 2H), 7.29 (dt, $J = 8.1, 1.0$ Hz, 1H), 7.16 – 7.09 (m, 1H), 7.08 – 7.01 (m, 1H), 5.96 (s, 1H), 3.48 – 3.39 (m, 2H), 3.14 – 3.06 (m, 1H), 3.05 – 2.97 (m, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 136.70, 134.11, 132.21 (2C), 131.96 (2C), 128.10, 125.76, 123.45, 122.25, 119.27, 118.39, 111.69, 107.63, 55.07, 40.21, 18.31.

72 1-(2-Chlorphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol



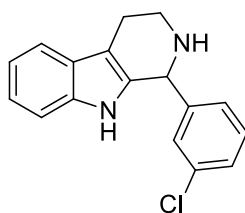
Hergestellt aus Tryptamin 5 mmol (800 mg) und 2-Chlorbenzaldehyd 6 mmol (843 mg).

Summenformel: $C_{17}H_{15}ClN_2$
 Molekulargewicht: 282,77 g/mol
 Aussehen: hellbeiger Feststoff
 Ausbeute: 56 % (792 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.95 (s, 1H), 9.67 (s, 1H), 7.68 (dd, $J = 8.1, 1.2$ Hz, 1H), 7.58 – 7.49 (m, 2H), 7.38 (td, $J = 7.6, 1.3$ Hz, 1H), 7.29 (dt, $J = 8.1, 1.0$ Hz, 1H), 7.16 – 7.07 (m, 2H), 7.09 – 7.02 (m, 1H), 6.21 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 3.55 (dt, $J = 12.1, 5.8$ Hz, 1H), 3.44 – 3.35 (m, 1H), 3.17 – 3.09 (m, 1H), 3.07 – 2.97 (m, 1H)

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 136.70, 134.34, 132.37, 131.80, 131.67, 130.17, 127.92, 127.64, 125.70, 122.33, 119.28, 118.43, 111.70, 108.11, 52.18, 39.92, 18.37.

73 1-(3-Chlorphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol



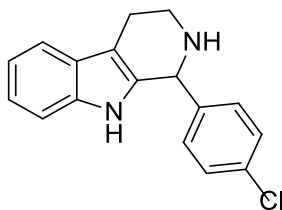
Hergestellt aus Tryptamin 5 mmol (800 mg) und 3-Chlorbenzaldehyd 6 mmol (843 mg).

Summenformel: $C_{17}H_{15}ClN_2$
 Molekulargewicht: 282,77 g/mol
 Aussehen: hellgelber Feststoff
 Ausbeute: 80 % (1131 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.92 (s, 1H), 9.66 (s, 1H), 7.59 – 7.47 (m, 4H), 7.34 – 7.28 (m, 2H), 7.16 – 7.09 (m, 1H), 7.09 – 7.02 (m, 1H), 5.98 (s, 1H), 3.52 – 3.37 (m, 2H), 3.16 – 3.06 (m, 1H), 3.01 (dt, $J = 10.3, 5.6$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 137.22, 136.70, 133.53, 130.92, 129.90, 129.84, 128.74, 127.97, 125.77, 122.29, 119.29, 118.44, 111.72, 107.77, 55.08, 40.30, 18.34.

74 1-(4-Chlorphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol



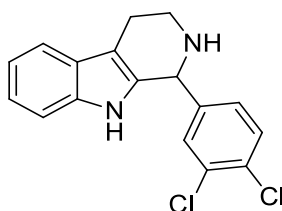
Hergestellt aus Tryptamin 5 mmol (800 mg) und 4-Chlorbenzaldehyd 6 mmol (843 mg).

Summenformel: $C_{17}H_{15}ClN_2$
 Molekulargewicht: 282,77 g/mol
 Aussehen: gelbes Feststoff
 Ausbeute: 37 % (523 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.89 (s, 1H), 9.64 (s, 1H), 7.59 – 7.51 (m, 3H), 7.42 – 7.38 (m, 2H), 7.29 (dt, $J = 8.1, 1.0$ Hz, 1H), 7.16 – 7.08 (m, 1H), 7.08 – 7.01 (m, 1H), 5.98 (s, 1H), 3.44 (td, $J = 7.0, 6.4, 4.3$ Hz, 2H), 3.15 – 3.05 (m, 1H), 3.06 – 2.97 (m, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 136.70, 134.75, 133.71, 131.95 (2C), 129.02 (2C), 128.15, 125.76, 122.25, 119.28, 118.40, 111.69, 107.63, 54.99, 40.21, 18.31.

75 1-(3,4-Dichlorphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol



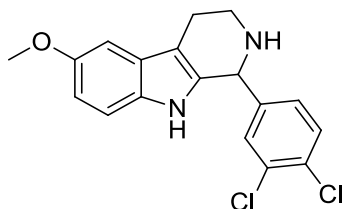
Hergestellt aus Tryptamin 15 mmol (2400 mg) und 3,4-Dichlorbenzaldehyd 18 mmol (3150 mg).

Summenformel: $C_{17}H_{14}Cl_2N_2$
 Molekulargewicht: 317,21 g/mol
 Aussehen: beiger Feststoff
 Ausbeute: 51 % (2426 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.90 (s, 1H), 9.71 (s, 1H), 7.77 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.54 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.36 – 7.27 (m, 2H), 7.13 (td, $J = 8.2$, 7.6, 1.3 Hz, 1H), 7.09 – 7.03 (m, 1H), 6.00 (s, 1H), 3.54 – 3.39 (m, 2H), 3.15 – 3.06 (m, 1H), 3.06 – 2.95 (m, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 136.70, 135.63, 132.76, 132.11, 131.55, 131.18, 130.33, 127.69, 125.73, 122.38, 119.35, 118.48, 111.72, 107.83, 54.57, 40.42, 18.29.

76 1-(3,4-Dichlorphenyl)-6-methoxy-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol



Hergestellt aus 5-Methoxytryptamin 1,8 mmol (342 mg) und 3,4-Dichlorbenzaldehyd 2,16 mmol (378 mg).

Summenformel: $C_{18}H_{16}Cl_2N_2O$
 Molekulargewicht: 347,24 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 45 % (281 mg)

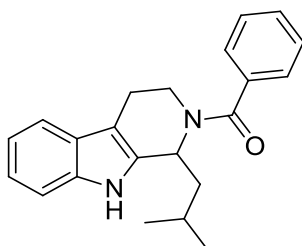
1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.72 (s, 1H), 9.68 (s, 1H), 7.76 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.32 (dd, $J = 8.3$, 2.2 Hz, 1H), 7.19 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.04 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 6.77 (dd, $J = 8.8$, 2.5 Hz, 1H), 5.97 (s, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.52 – 3.38 (m, 2H), 3.07 (dt, $J = 13.3$, 6.3 Hz, 1H), 3.02 – 2.93 (m, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 153.73, 135.70, 132.73, 132.07, 131.74, 131.54, 131.17, 130.30, 128.22, 126.09, 112.43 (2C), 107.60, 100.47, 55.60, 54.64, 40.46, 18.36.

7.1.2.12 Synthese der *N*2-Acyl-1-substituierten-tetrahydro- β -carbo- line

Die entsprechende Verbindung (**57-76**) (1 äq.) wurden in getrocknetem THF (10 ml/mmol) gelöst und mit TEA (1,2 äq.) versetzt. Unter Rühren und bei Eiskühlung wurde vorsichtig das entsprechende Benzoylchlorid (1,1 äq.) hinzugefügt und der Ansatz 1 Std. unter Eiskühlung und anschließend 12 Std. bei RT gerührt. Eine Reaktionskontrolle erfolgt mittels DC. Nach Beendigung der Reaktion wurde das ausgefallene Triethylamin-HCl abfiltriert, das Filtrat einrotiert und das erhaltene Produkt in EtOH oder EtOH/THF (9:1) umkristallisiert.

77 (1-Isobutyl-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(phenyl)methanon



Hergestellt aus **57** 2,19 mmol (500 mg) und Benzoylchlorid 2,41 mmol (339 mg).

Summenformel: C₂₂H₂₄N₂O
Molekulargewicht: 332,22 g/mol
Aussehen: weißer Feststoff
Ausbeute: 21 % (153 mg)

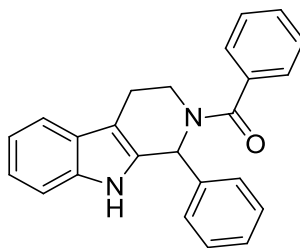
¹H NMR (500 MHz, DMSO- *d*₆) δ 10.93 (s, 1H), 7.50 – 7.45 (m, 3H), 7.40 – 7.36 (m, 2H), 7.33 (dd, *J* = 14.3, 7.9 Hz, 2H), 7.08 – 7.01 (m, 1H), 6.98 – 6.91 (m, 1H), 5.85 (dd, *J* = 10.5, 3.7 Hz, 1H), 3.70 (dd, *J* = 13.6, 4.6 Hz, 1H), 3.53 – 3.41 (m, 1H), 2.67 – 2.54 (m, 2H), 1.90 – 1.77 (m, 2H), 1.74 – 1.69 (m, 1H), 1.10 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H), 0.99 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO *d*₆) δ 170.30, 137.08, 136.05, 135.23, 129.37, 128.70 (2C), 126.48, 126.29 (2C), 120.97, 118.61, 117.69, 111.20, 105.86, 46.94, 43.43, 41.07, 24.94, 23.69, 22.46, 22.04.

EA: berechnet: C, 79.48; H, 7.28; N, 8.43
gefunden: C, 79.17; H, 7.67; N, 8.02.

Smp: 188-189 °C

78 Phenyl(1-phenyl-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)methanon [205]



Hergestellt aus **58** 1 mmol (248 mg) und Benzoylchlorid 1,1 mmol (155 mg).

Summenformel: C₂₄H₂₀N₂O
 Molekulargewicht: 352,43 g/mol
 Aussehen: weiß-beiger Feststoff
 Ausbeute: 63 % (222 mg)

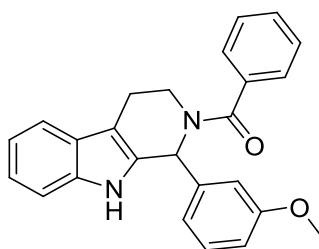
¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.05 (s, 1H), 7.47 (d, *J* = 5.9 Hz, 4H), 7.42 – 7.28 (m, 8H), 7.09 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H), 7.01 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 6.96 (s, 1H), 3.64 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.26 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H), 2.86 (t, *J* = 10.8 Hz, 1H), 2.74 (d, *J* = 15.2 Hz, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆) δ 169.71, 140.42, 136.39 (2C), 131.58, 129.65, 128.71 (2C), 128.66 (2C), 128.14, 127.96 (2C), 126.43 (2C), 126.32, 121.47, 118.79, 118.05, 111.38, 108.12, 51.65, 41.30, 21.83.

EA: berechnet: C, 81.79; H, 5.72; N, 7.95
 gefunden: C, 81.69; H, 5.48; N, 7.58.

Smp: 238-239 °C

79 (1-(3-Methoxyphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(phenyl)methanon



Hergestellt aus **59** 1,08 mmol (300 mg) und Benzoylchlorid 1,18 mmol (166 mg).

Summenformel: C₂₅H₂₂N₂O₂
 Molekulargewicht: 382,45 g/mol
 Aussehen: hellbeiger Feststoff
 Ausbeute: 77 % (318 mg)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.04 (s, 1H), 7.54 – 7.36 (m, 7H), 7.34 – 7.24 (m, 2H), 7.09 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.01 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 6.90 (d, *J* = 14.5 Hz, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.65 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H), ein Signal fehlt (liegt unter dem Wasserpeak), 2.84 (d, *J* = 13.0 Hz, 1H), 2.74 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H).

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 8.11 (s, 1H), 7.51 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.44 – 7.35 (m, 5H), 7.28 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.23 – 7.15 (m, 2H), 7.15 – 7.10 (m, 1H), 7.08 (s, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.95 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.83 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 3.78 (d, $J = 13.3$ Hz, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.40 (t, $J = 12.5$ Hz, 1H), 2.97 – 2.86 (m, 1H), 2.77 (d, $J = 15.3$ Hz, 1H).

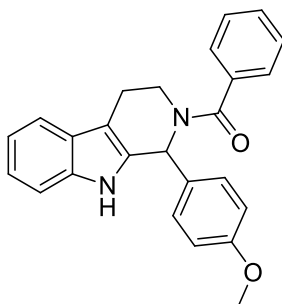
^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 169.77, 159.55, 141.97, 136.42 (2C), 131.56, 129.77, 129.70, 128.76 (2C), 126.47 (2C), 126.32, 121.52, 120.31, 118.83, 118.11, 114.36, 112.96, 111.41, 108.13, 55.22, 51.63, 41.48, 21.85.

EA: berechnet: C, 78.51; H, 5.80; N, 7.32

gefunden: C, 78.48; H, 5.92; N, 7.34.

Smp: 222-223 °C

80 (1-(4-Methoxyphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(phenyl)methanon [205]



Hergestellt aus **60** 1,0 mmol (278 mg) und Benzoylchlorid 1,1 mmol (155 mg).

Summenformel: $\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$

Molekulargewicht: 382,45 g/mol

Aussehen: weißer Feststoff

Ausbeute: 29 % (111 mg)

^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 11.00 (s, 1H), 7.50 – 7.44 (m, 4H), 7.40 – 7.35 (m, 2H), 7.27 (dd, $J = 46.7, 7.3$ Hz, 3H), 7.09 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.03 – 6.99 (m, 1H), 6.96 – 6.87 (m, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.62 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 3.27 (s, 1H), 2.85 (s, 1H), 2.74 (d, $J = 14.8$ Hz, 1H).

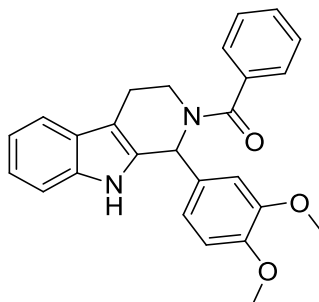
^{13}C NMR (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 169.60, 159.05, 136.53, 136.41, 132.55, 131.97, 129.64, 129.47 (2C), 128.73 (2C), 126.44 (2C), 126.37, 121.44, 118.78, 118.05, 114.03 (2C), 111.37, 108.06, 55.28, 51.18, 41.11, 21.89.

EA: berechnet: C, 78.51; H, 5.80; N, 7.32

gefunden: C, 78.62; H, 5.82; N, 7.29

Smp: 182-183 °C

81 (1-(3,4-Dimethoxyphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(phenyl)methanon



Hergestellt aus **61** 1,3 mmol (400 mg) und Benzoylchlorid 1,43 mmol (201 mg).

Summenformel: $C_{26}H_{24}N_2O_3$
 Molekulargewicht: 412,48 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 30 % (161 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 11.01 (s, 1H), 7.47 (dd, $J = 7.2, 4.1$ Hz, 4H), 7.39 (dd, $J = 6.4, 3.2$ Hz, 2H), 7.32 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.11 – 7.03 (m, 2H), 7.01 (td, $J = 7.5, 1.0$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 6.68 (s, 1H), 3.72 (d, $J = 8.2$ Hz, 6H), 3.66 – 3.57 (m, 1H), ein Signal fehlt (liegt unter dem Wasserpeak), 2.85 (s, 1H), 2.74 (d, $J = 13.4$ Hz, 1H).

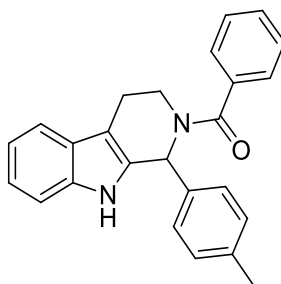
1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 8.27 (s, 1H), 7.52 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.45 – 7.36 (m, 5H), 7.29 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.21 – 7.15 (m, 2H), 7.15 – 7.10 (m, 1H), 7.03 (s, 1H), 6.70 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.78 (s, 4H), 3.38 (t, $J = 12.0$ Hz, 1H), 2.92 (d, $J = 10.6$ Hz, 1H), 2.78 (d, $J = 14.7$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 169.67, 148.97, 148.79, 136.55, 136.42, 132.97, 131.86, 129.62, 128.73 (2C), 126.44 (2C) 126.32, 121.44, 120.57, 118.76, 118.06, 112.10, 111.70, 111.36, 108.11, 55.71 (2C), 51.47, 41.25, 21.91.

EA: berechnet: C, 75.71; H, 5.86; N, 6.79
 gefunden: C, 75.96; H, 5.95; N, 6.35.

Smp: 238-239 °C

82 Phenyl(1-(p-tolyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)methanon [205]



Hergestellt aus **62** 1,14 mmol (300 mg) und Benzoylchlorid 1,25 mmol (175 mg).

Summenformel: C₂₅H₂₂N₂O
 Molekulargewicht: 366,45 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 34 % (1420 mg)

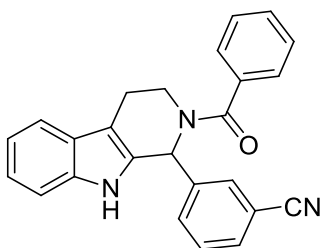
¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.00 (s, 1H), 7.46 (dt, *J* = 7.4, 3.0 Hz, 4H), 7.40 – 7.36 (m, 2H), 7.32 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.19 (t, *J* = 8.0 Hz, 4H), 7.11 – 7.06 (m, 1H), 7.03 – 6.98 (m, 1H), 6.92 (s, 1H), 3.62 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 3.24 (d, *J* = 19.8 Hz, 1H), 2.85 (s, 1H), 2.73 (d, *J* = 14.1 Hz, 1H), 2.29 (s, 3H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 169.64, 137.53, 137.25, 136.50, 136.42, 131.83, 129.63, 129.19(2), 128.73(2), 128.14(2), 126.43(2), 126.37, 121.44, 118.79, 118.04, 111.38, 108.07, 51.43, 41.23, 21.88, 20.79.

EA: berechnet: C, 81.94; H, 6.05; N, 7.64
 gefunden: C, 82.09; H, 5.94; N, 7.74.

Smp: 207 - 208°C

83 3-(2-Benzoyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-1-yl)benzonitril



Hergestellt aus **63** 0,84 mmol (230 mg) und Benzoylchlorid 0,92 mmol (130 mg).

Summenformel: C₂₅H₁₉N₃O
 Molekulargewicht: 377,44 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 73 % (231 mg)

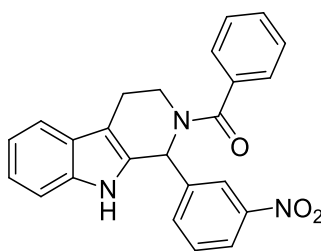
¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.00 (s, 1H), 7.83 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.70 (d, *J* = 14.2 Hz, 2H), 7.62 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.51 – 7.45 (m, 4H), 7.44 (s, 2H), 7.35 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.15 – 7.08 (m, 1H), 7.06 – 6.99 (m, 1H), 6.93 (s, 1H), 3.69 (s, 1H), 3.32 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 2.87 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H), 2.78 (d, *J* = 12.5 Hz, 1H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 170.12, 141.87, 136.50, 136.06, 132.92, 131.85, 131.54, 130.53, 130.09, 129.83, 128.71 (2C), 126.57 (2C), 126.24, 121.73, 118.94, 118.74, 118.21, 111.67, 111.51, 108.69, 51.41, 41.73, 21.63.

EA: berechnet: C, 79.55; H, 5.07; N, 11.13
 gefunden: C, 79.37; H, 5.19; N, 11.03.

Smp: 231 - 234 °C (Zers.)

84 (1-(3-Nitrophenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(phenyl)methanone



Hergestellt aus **64** 1,02 mmol (300 mg) und Benzoylchlorid 1,12 mmol (157 mg).

Summenformel: C₂₄H₁₉N₃O₃
 Molekulargewicht: 397,43 g/mol
 Aussehen: gelber Feststoff
 Ausbeute: 39 % (158 mg)

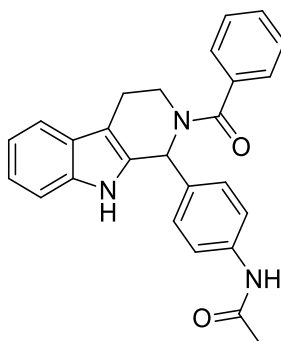
¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.05 (s, 1H), 8.22 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.70 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.53 – 7.45 (m, 4H), 7.43 (d, *J* = 6.2 Hz, 2H), 7.36 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.15 – 7.09 (m, 1H), 7.08 – 6.99 (m, 2H), 3.70 (s, 1H), ein Signal fehlt (liegt unter dem Wasserpeak), 2.91 (t, *J* = 10.6 Hz, 1H), 2.80 (d, *J* = 14.0 Hz, 1H).
 Kein ergänzendes Spektrum, da unlöslich in CDCl₃.

¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 170.2, 148.1, 142.5, 136.6, 136.0, 134.7, 130.5, 130.5, 129.9, 128.8 (2C), 126.6 (2C), 126.3, 123.1, 122.7, 121.9, 119.0, 118.3, 111.6, 108.8, 51.4, 41.8, 21.7.

EA: berechnet: C, 72.53; H, 4.82; N, 10.57
 gefunden: C, 72.42; H, 4.97; N, 10.48.

Smp: 284 - 286 °C (Zers.)

85 N-(4-(2-Benzoyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-1-yl)phenyl)acetamid



Hergestellt aus **65** 1,31 mmol (400 mg) und Benzoylchlorid 1,44 mmol (202 mg).

Summenformel: C₂₆H₂₃N₃O₂
 Molekulargewicht: 409,48 g/mol
 Aussehen: gelb-orangener Feststoff
 Ausbeute: 45 % (241 mg)

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 11.01 (s, 1H), 9.96 (s, 1H), 7.56 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.49 – 7.43 (m, 4H), 7.39 (d, $J = 3.3$ Hz, 2H), 7.32 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H), 7.11 – 7.06 (m, 1H), 7.04 – 6.97 (m, 1H), 6.90 (s, 1H), 3.63 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 3.28 (s, 1H), 2.85 (s, 1H), 2.74 (d, $J = 13.4$ Hz, 1H), 2.02 (s, 3H).

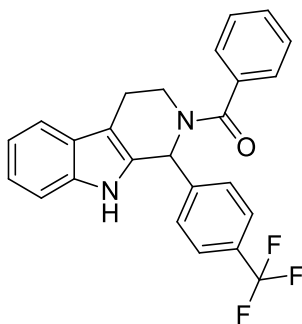
^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 169.62, 168.37, 139.05, 136.48, 136.40, 134.91, 131.82, 129.60, 128.70 (2C), 128.51 (2C), 126.44 (2C), 126.35, 121.41, 119.18 (2C), 118.76, 118.03, 111.37, 108.04, 51.31, 41.21, 24.03, 21.86.

EA: berechnet: C, 76.26; H, 5.66; N, 10.26

gefunden: C, 74.72; H, 5.66; N, 9.94.

Smp: ab 190 °C (Zers.)

86 Phenyl(1-(4-(trifluoromethyl)phenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)methanon



Hergestellt aus **66** 0,95 mmol (300 mg) und Benzoylchlorid 1,04 mmol (146 mg).

Summenformel: $\text{C}_{25}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}$

Molekulargewicht: 420,43 g/mol

Aussehen: weißer Feststoff

Ausbeute: 58 % (231 mg)

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 11.03 (s, 1H), 7.76 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.56 (d, $J = 6.5$ Hz, 2H), 7.51 – 7.44 (m, 4H), 7.42 (d, $J = 5.7$ Hz, 2H), 7.34 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.15 – 7.07 (m, 1H), 7.06 – 6.99 (m, 1H), 7.00 (s, 1H), 3.69 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 3.27 – 3.19 (m, 1H), 2.89 (s, 1H), 2.77 (d, $J = 14.5$ Hz, 1H).

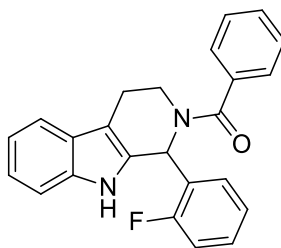
^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 169.83, 144.74, 136.33, 135.97, 130.63, 129.64 (2C), 128.88, 128.58 (2C), 128.16 (d, $J = 31.8$ Hz), 126.36 (2C), 126.13, 125.49 (d, $J = 3.9$ Hz, 2C), 124.27 (q, $J = 272.3$ Hz), 121.53, 118.78, 118.03, 111.33, 108.38, 51.27, 41.48, 21.58.

EA: berechnet: C, 71.42; H, 4.56; N, 6.66

gefunden: C, 71.61; H, 4.57; N, 6.77.

Smp: 260 - 261 °C

87 (1-(2-Fluorphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(phenyl)methanon



Hergestellt aus **67** 1,12 mmol (298 mg) und Benzoylchlorid 1,24 mmol (174 mg).

Summenformel: C₂₄H₁₉FN₂O
 Molekulargewicht: 370,42 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 50 % (207 mg)

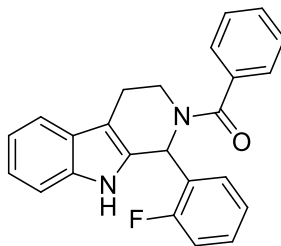
¹H NMR (500 MHz, DMSO- *d*₆) δ 10.92 (s, 1H), 7.51 – 6.96 (m, 14H), 3.72 (s, 1H), 3.37 (s, 1H), 2.74 (s, 2H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO *d*₆) δ 169.73, 160.14 (d, J = 248.2 Hz), 136.20 (d, J = 7.8 Hz), 130.70, 130.36, 130.09 (d, J = 7.5 Hz), 129.51, 128.48(2C), 126.91 (d, J = 17.0 Hz), 126.43(3C), 126.15, 124.19 (d, J = 3.0 Hz), 121.38, 118.67, 117.89, 115.68 (d, J = 21.4 Hz), 111.31, 108.19, 46.34, 41.68, 21.73.

EA: berechnet: C, 77.82; H, 5.17; N, 7.56
 gefunden: C, 77.66; H, 5.37; N, 7.50

Smp: 211 - 213 °C

88 (1-(4-Fluorphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(phenyl)methanon



Hergestellt aus **68** 1,88 mmol (500 mg) und Benzoylchlorid 2,07 mmol (291 mg).

Summenformel: C₂₄H₁₉FN₂O
 Molekulargewicht: 370,42 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 54 % (376 mg)

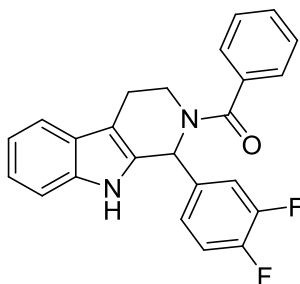
¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.16 (s, 1H), 7.52 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.45 – 7.34 (m, 7H), 7.28 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.22 – 7.16 (m, 1H), 7.15 – 7.12 (m, 1H), 7.09 (s, 1H), 6.97 (t, J = 8.5 Hz, 2H), 3.82 – 3.73 (m, 1H), 3.39 – 3.27 (m, 1H), 2.93 (s, 1H), 2.84 – 2.73 (m, 1H).

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 170.66, 162.54 (d, $J = 247.4$ Hz), 136.34, 136.18, 135.68, 131.06, 130.61 (d, $J = 7.0$ Hz, 2C), 129.71(2C), 128.56(2C), 126.54, 126.48, 122.36, 119.76, 118.21, 115.42 (d, $J = 21.4$ Hz, 2C), 111.18, 109.74, 51.55, 41.34, 22.26.

EA: berechnet: C, 77.82; H, 5.17; N, 7.56
 gefunden: C, 77.45; H, 5.44; N, 7.28

Smp: 153 - 156 °C

89 (1-(3,4-Difluorphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(phenyl)methanon



Hergestellt aus **69** 1,05 mmol (299 mg) und Benzoylchlorid 1,16 mmol (163 mg).

Summenformel: $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}$

Molekulargewicht: 388,41 g/mol

Aussehen: hellrosa Feststoff

Ausbeute: 44 % (179 mg)

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11.01 (s, 1H), 7.52 – 7.44 (m, 5H), 7.42 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.34 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.15 (s, 1H), 7.13 – 7.09 (m, 1H), 7.04 – 7.00 (m, 1H), 6.89 (s, 1H), 3.67 (s, 1H), ein Signal fehlt (liegt unter dem Wasserpeak), 2.87 (t, $J = 10.6$ Hz, 1H), 2.77 (d, $J = 13.4$ Hz, 1H).

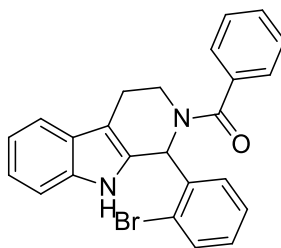
^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 8.29 (s, 1H), 7.52 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.46 – 7.39 (m, 3H), 7.39 – 7.34 (m, 2H), 7.28 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.23 – 7.18 (m, 2H), 7.16 – 7.11 (m, 2H), 7.09 – 7.01 (m, 2H), 3.79 (dd, $J = 14.1, 5.3$ Hz, 1H), 3.37 – 3.26 (m, 1H), 2.99 – 2.88 (m, 1H), 2.79 (dd, $J = 15.7, 4.1$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 170.01, 148.49 (dd, $J = 246.0, 12.7$ Hz), 148.19 (dd, $J = 247.8, 12.4$ Hz), 138.08, 136.50, 136.13, 130.86, 129.84, 128.75 (2C), 126.58 (2C), 126.26, 125.00, 121.73, 118.95, 118.23, 117.72 (d, $J = 17.1$ Hz), 117.15 (d, $J = 16.6$ Hz), 111.52, 108.57, 51.05, 41.54, 21.70.

EA: berechnet: C, 74.21; H, 4.67; N, 7.21
 gefunden: C, 73.95; H, 4.84; N, 7.09

Smp: 236 - 237 °C

90 (1-(2-Bromphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(phenyl)methanon



Hergestellt aus **70** 1,53 mmol (500 mg) und Benzoylchlorid 1,68 mmol (236 mg).

Summenformel: C₂₄H₁₉BrN₂O
 Molekulargewicht: 388,41 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 34 % (202 mg)

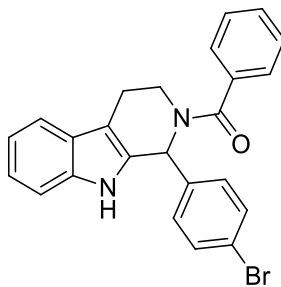
¹H NMR (500 MHz, DMSO- *d*₆) δ 10.96 (s, 1H), 7.75 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 7.51 – 7.38 (m, 6H), 7.34 – 7.27 (m, 3H), 7.13 – 7.06 (m, 1H), 7.06 – 6.97 (m, 2H), 6.82 – 6.78 (m, 1H), 3.68 (s, 1H), 3.27 – 3.19 (m, 1H), 2.70 (d, *J* = 15.2 Hz, 2H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO- *d*₆) δ 171.12, 139.12, 136.29, 136.12, 133.45, 131.36, 131.31, 130.08, 130.01, 128.64 (2C), 127.63, 127.02 (2C), 126.34, 123.70, 121.58, 118.85, 118.05, 111.50, 108.51, 51.96, 41.79, 22.12.

EA: berechnet: C, 66.83; H, 4.44; N, 6.49
 gefunden: C, 66.85; H, 4.51; N, 6.47

Smp: 268 - 273 °C (Zers.)

91 (1-(4-Bromphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(phenyl)methanon



Hergestellt aus **71** 0,83 mmol (271 mg) und Benzoylchlorid 0,92 mmol (129 mg).

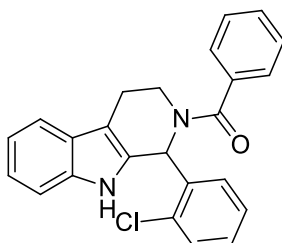
Summenformel: C₂₄H₁₉BrN₂O
 Molekulargewicht: 388,41 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 32 % (103 mg)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.01 (s, 1H), 7.58 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.50 – 7.44 (m, 4H), 7.40 (d, *J* = 5.4 Hz, 2H), 7.30 (dd, *J* = 25.7, 7.4 Hz, 3H), 7.12 – 7.07 (m, 1H), 7.05 – 6.98 (m, 1H), 6.90 (s, 1H), 3.66 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 3.27 – 3.19 (m, 1H), 2.86 (s, 1H), 2.75 (d, *J* = 14.4 Hz, 1H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 169.87, 139.82, 136.47, 136.26, 131.63 (2C), 131.12, 130.43 (2C), 129.77, 128.76 (2C), 126.51 (2C), 126.32, 121.64, 121.26, 118.91, 118.16, 111.47, 108.41, 51.23, 41.41, 21.80.

EA: berechnet: C, 66.83; H, 4.44; N, 6.49
 gefunden: C, 66.76; H, 4.36; N, 6.09
 Smp: 236 - 237 °C

92 1-(2-Chlorphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(phenyl)methanon



Hergestellt aus **72** 1,06 mmol (300 mg) und Benzoylchlorid 1,17 mmol (164 mg).

Summenformel: C₂₄H₁₉ClN₂O
 Molekulargewicht: 386,87 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 17 % (70 mg)

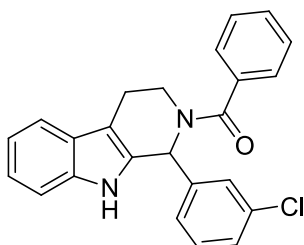
¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.96 (s, 1H), 7.57 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.51 – 7.42 (m, 4H), 7.38 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H), 7.32 (dt, *J* = 8.1, 0.8 Hz, 1H), 7.26 (td, *J* = 7.6, 1.1 Hz, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.13 – 7.06 (m, 1H), 7.02 (dd, *J* = 11.0, 3.9 Hz, 1H), 6.82 (dd, *J* = 7.7, 1.6 Hz, 1H), 3.68 (s, 1H), 3.25 (s, 1H), 2.66 (d, *J* = 34.5 Hz, 2H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 170.80, 137.51, 136.34, 136.22, 133.42, 131.19, 131.05, 130.08, 129.94, 129.89, 128.68, 127.14 (2C), 126.93 (2C), 126.38, 121.62, 118.89, 118.09, 111.53, 108.66, 49.66, 41.68, 22.10.

EA: berechnet: C, 74.51; H, 4.95; N, 7.24
 gefunden: C, 74.74; H, 5.16; N, 6.88.

Smp: 276 - 278 °C (Zers.)

93 1-(3-Chlorphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(phenyl)methanon



Hergestellt aus **73** 1,06 mmol (300 mg) und Benzoylchlorid 1,17 mmol (164 mg).

Summenformel: C₂₄H₁₉ClN₂O
 Molekulargewicht: 386,87 g/mol
 Aussehen: hellgelber Feststoff

Ausbeute: 27 % (111 mg)

$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 11.04 (s, 1H), 7.51 – 7.45 (m, 4H), 7.44 – 7.37 (m, 4H), 7.33 (t, $J = 13.7$ Hz, 3H), 7.13 – 7.09 (m, 1H), 7.04 – 7.00 (m, 1H), 6.91 (s, 1H), 3.68 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H), Ein Signal fehlt (liegt unter dem Wasserpeak), 2.86 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 2.77 (d, $J = 14.2$ Hz, 1H).

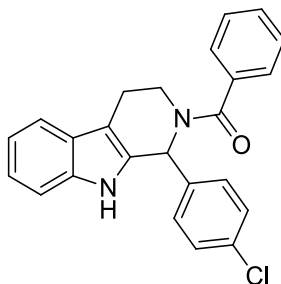
$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 8.21 (s, 1H), 7.52 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.45 – 7.38 (m, 3H), 7.39 – 7.33 (m, 4H), 7.30 – 7.25 (m, 2H), 7.24 – 7.18 (m, 2H), 7.14 (td, $J = 7.5, 1.0$ Hz, 1H), 7.09 (s, 1H), 3.83 – 3.75 (m, 1H), 3.39 – 3.30 (m, 1H), 2.93 (t, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.82 – 2.74 (m, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 170.29, 143.16, 136.80, 136.49, 133.69, 131.20, 131.05 (2C), 130.16, 129.10, 128.41, 128.31, 127.19, 126.87 (2C), 126.61, 122.04, 119.28, 118.55, 111.85, 108.84, 51.74, 41.92, 22.06.

EA: berechnet: C, 74.51; H, 4.95; N, 7.24
 gefunden: C, 74.24; H, 4.96; N, 7.12

Smp: 219 - 220 °C

94 (1-(4-Chlorphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(phenyl)methanon
 [205]



Hergestellt aus **74** 1,06 mmol (305 mg) und Benzoylchlorid 1,17 mmol (164 mg).

Summenformel: $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{ClN}_2\text{O}$
 Molekulargewicht: 386,87 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 16 % (66 mg)

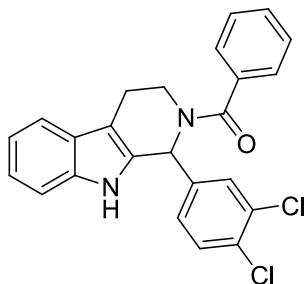
$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 11.02 (s, 1H), 7.51 – 7.42 (m, 6H), 7.36 (dd, $J = 35.1, 6.8$ Hz, 5H), 7.12 – 7.07 (m, 1H), 7.05 – 6.98 (m, 1H), 6.92 (s, 1H), 3.66 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H), 3.26 – 3.19 (m, 1H), 2.87 (s, 1H), 2.75 (d, $J = 14.7$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 169.80, 139.35, 136.41, 136.20, 132.62, 131.11, 130.01, 129.71 (2C), 128.70 (2C), 128.63 (2C), 126.45 (2C), 126.26, 121.57, 118.8, 118.09, 111.41, 108.33, 51.11, 41.34, 21.72.

EA: berechnet: C, 74.51; H, 4.95; N, 7.24
 gefunden: C, 74.75; H, 5.00; N, 7.40

Smp: 223 - 224 °C

95 (1-(3,4-Dichlorphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(phenyl)methanon



Hergestellt aus **75** 0,95 mmol (301 mg) und Benzoylchlorid 1,04 mmol (146 mg).

Summenformel: C₂₄H₁₈Cl₂N₂O
 Molekulargewicht: 421,32 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 40 % (160 mg)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.00 (s, 1H), 7.66 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.53 – 7.45 (m, 5H), 7.42 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H), 7.34 (t, *J* = 9.3 Hz, 2H), 7.15 – 7.08 (m, 1H), 7.06 – 6.99 (m, 1H), 6.88 (s, 1H), 3.68, ein Signal fehlt (liegt unter dem Wasserpeak), (s, 1H), 2.92 – 2.83 (m, 1H), 2.78 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H).

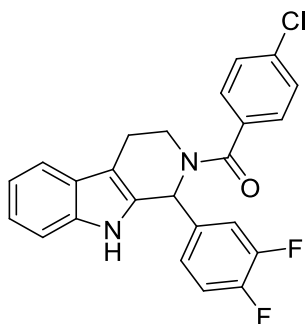
¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.27 (s, 1H), 7.47 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.41 – 7.34 (m, 4H), 7.32 – 7.27 (m, 3H), 7.26 – 7.20 (m, 2H), 7.18 – 7.12 (m, 1H), 7.12 – 7.06 (m, 1H), 7.00 (s, 1H), 3.74 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 3.25 (t, *J* = 12.5 Hz, 1H), 2.92 – 2.83 (m, 1H), 2.74 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 170.05, 141.38, 136.49, 136.04, 131.30, 130.99, 130.75, 130.54, 130.08, 129.85, 128.73 (2C), 128.48, 126.56 (2C), 126.22, 121.77, 118.97, 118.23, 111.52, 108.68, 51.04, 41.68, 21.63.

EA: berechnet: C, 68.42; H, 4.31; N, 6.65
 gefunden: C, 68.22; H, 4.47; N, 6.45

Smp: 209 - 210 °C

96 (4-Chlorphenyl)(1-(3,4-difluorphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)methanon



Hergestellt aus **69** 1,4 mmol (398 mg) und 4-Chlorbenzoylchlorid 1,54 mmol (270 mg).

Summenformel: C₂₄H₁₇ClF₂N₂O
 Molekulargewicht: 422,85 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 15 % (89 mg)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.00 (s, 1H), 7.55 – 7.50 (m, 2H), 7.49 – 7.40 (m, 4H), 7.34 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.15 (s, 1H), 7.10 (dd, *J* = 8.1, 1.1 Hz, 1H), 7.02 (td, *J* = 7.5, 1.0 Hz, 1H), 6.86 (s, 1H), 3.65 (s, 1H), ein Signal liegt unter dem Wasserpeak, 2.88 (t, *J* = 10.6 Hz, 1H), 2.77 (d, *J* = 12.5 Hz, 1H).

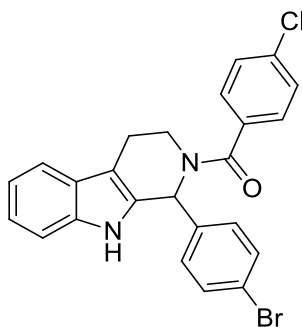
¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.02 (s, 1H), 7.53 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.43 – 7.36 (m, 2H), 7.36 – 7.28 (m, 3H), ein Signal liegt unter dem Chloroformpeak, 7.23 – 7.20 (m, 1H), 7.17 – 7.11 (m, 2H), 7.08 (dt, *J* = 9.9, 8.1 Hz, 1H), 7.02 (s, 1H), 3.76 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H), 3.39 – 3.29 (m, 1H), 2.93 (t, *J* = 11.0 Hz, 1H), 2.82 (dd, *J* = 15.6, 4.2 Hz, 1H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 169.02, 148.51 (dd, *J* = 245.3, 12.7 Hz), 148.22 (dd, *J* = 246.1, 12.7 Hz), 137.98, 136.51, 134.86, 134.57, 130.75, 128.85 (2C), 128.70 (2C), 126.25, 125.09, 121.76, 118.97, 118.23, 117.72 (d, *J* = 17.0 Hz), 117.22 (d, *J* = 17.0 Hz), 111.53, 108.56, 51.22, 41.63, 21.67.

EA: berechnet: C, 68.17; H, 4.05; N, 6.62
 gefunden: C, 67.99; H, 3.99; N, 6.43

Smp: 215 - 216 °C

97 (1-(4-Bromphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(4-chlorphenyl)methanon



Hergestellt aus **71** 0,83mmol (272 mg) und 4-Chlorbenzoylchlorid 0,92 mmol (161 mg).

Summenformel: C₂₄H₁₈BrClN₂O
 Molekulargewicht: 465,77 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 41 % (158 mg)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.01 (s, 1H), 7.57 (t, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.54 – 7.50 (m, 2H), 7.46 (dd, *J* = 13.2, 8.1 Hz, 3H), 7.32 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.27 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 7.12 – 7.08 (m, 1H), 7.05 – 6.98 (m, 1H), 6.88 (s, 1H), 3.64 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H), ein Signal liegt unter dem Wasserpeak, 2.87 (s, 1H), 2.75 (d, *J* = 14.2 Hz, 1H).

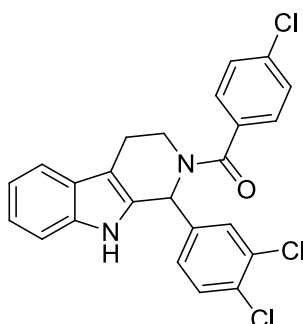
¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.09 (s, 1H), 7.52 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.43 – 7.37 (m, 4H), 7.32 – 7.24 (m, 5H), ein Signal liegt unter dem Chloroformpeak, 7.23 – 7.16 (m, 1H), 7.17 – 7.11 (m, 1H), 7.02 (s, 1H), 3.79 – 3.71 (m, 1H), 3.38 – 3.28 (m, 1H), 2.91 (t, *J* = 11.3 Hz, 1H), 2.80 (dd, *J* = 15.5, 4.1 Hz, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 168.86, 139.67, 136.47, 134.96, 134.49, 131.63 (2C), 130.99, 130.45 (2C), 128.86 (2C), 128.62 (2C), 126.29, 121.65, 121.31, 118.92, 118.15, 111.48, 108.39, 51.38, 41.49, 21.74.

EA: berechnet: C, 61.89; H, 3.90; N, 6.01
 gefunden: C, 61.52; H, 4.07; N, 5.77

Smp: 236 - 237 °C

98 (4-Chlorphenyl)(1-(3,4-dichlorphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)methanon



Hergestellt aus **75** 0,73mmol (232 mg) und 4-Chlorbenzoylchlorid 0,81 mmol (142 mg).

Summenformel: $\text{C}_{24}\text{H}_{17}\text{Cl}_3\text{N}_2\text{O}$
 Molekulargewicht: 455,76 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 42 % (140 mg)

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.99 (s, 1H), 7.65 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.57 – 7.42 (m, 6H), 7.32 (dd, $J = 20.9, 7.9$ Hz, 2H), 7.14 – 7.08 (m, 1H), 7.02 (td, $J = 7.5, 0.9$ Hz, 1H), 6.86 (s, 1H), 3.66 (s, 1H), ein Signal liegt unter dem Wasserpeak, 2.87 (dd, $J = 18.7, 7.9$ Hz, 1H), 2.78 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H).

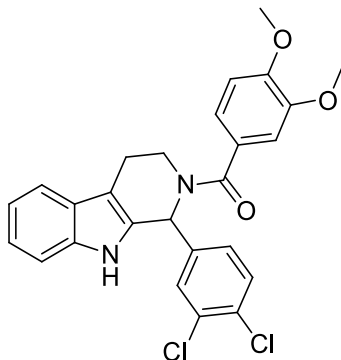
^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 8.16 (s, 1H), 7.53 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.41 – 7.38 (m, 2H), 7.35 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.34 – 7.25 (m, 4H), 7.25 – 7.19 (m, 1H), 7.18 – 7.12 (m, 1H), 7.01 (s, 1H), 3.76 (dd, $J = 12.5, 4.6$ Hz, 1H), 3.36 – 3.29 (m, 1H), 2.91 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H), 2.82 (dd, $J = 15.7, 4.1$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 169.08, 141.25, 136.51, 134.78, 134.61, 131.34, 131.25, 131.01, 130.83, 130.46, 130.14, 128.85 (2C), 128.71 (2C), 126.23, 121.81, 119.01, 118.26, 111.56, 108.69, 51.21, 41.78, 21.63.

EA: berechnet: C, 63.25; H, 3.76; N, 6.15
 gefunden: C, 62.89; H, 4.06; N, 6.09

Smp: 240 - 241 °C

99 (1-(3,4-Dichlorphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(3,4-dimethoxyphenyl)methanon



Hergestellt aus **75** 0,44 mmol (140 mg) und 3,4-Dimethoxybenzoylchlorid 0,49 mmol (98 mg).

Summenformel: $C_{26}H_{22}Cl_2N_2O_3$
 Molekulargewicht: 481,37 g/mol
 Aussehen: hellgelber Feststoff
 Ausbeute: 18 % (38 mg)

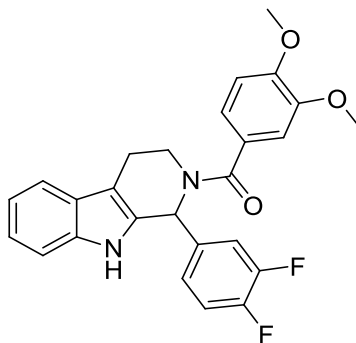
1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 8.20 (s, 1H), 7.53 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.35 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.22 – 7.18 (m, 1H), 7.17 – 7.11 (m, 1H), 7.00 – 6.93 (m, 3H), 6.86 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 3.97 – 3.84 (m, 7H), 3.32 (s, 1H), 2.96 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H), 2.83 (dd, $J = 15.4, 4.1$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ 170.61, 150.40, 149.01, 139.99, 136.41(2C), 132.75, 132.43, 130.53(2C), 130.23, 128.09, 126.45, 122.58, 119.88, 119.47, 118.31, 111.26, 110.59, 110.29(2C), 67.93, 56.01, 55.96, 55.93, 25.57.

EA: berechnet: C, 64.87; H, 4.61; N, 5.82
 gefunden: C, 64.80; H, 5.04; N, 5.42.

Smp: 131-134 °C

100 (1-(3,4-Difluorphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(3,4-dimethoxyphenyl)methanon



Hergestellt aus **69** 1,4 mmol (398 mg) und 3,4-Dimethoxybenzoylchlorid 1,54 mmol (309 mg).

Summenformel: C₂₆H₂₂F₂N₂O₃
 Molekulargewicht: 448,46 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 49 % (308 mg)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.97 (s, 1H), 7.49 (dd, *J* = 7.7, 1.1 Hz, 1H), 7.43 (dt, *J* = 10.6, 8.5 Hz, 1H), 7.36 – 7.30 (m, 2H), 7.14 (s, 1H), 7.14 – 7.07 (m, 1H), 7.04 – 6.96 (m, 4H), 6.82 (s, 1H), 3.78 (d, *J* = 14.4 Hz, 7H), ein Signal liegt unter dem Wasserpeak, 2.98 – 2.86 (m, 1H), 2.79 (dd, *J* = 15.8, 3.6 Hz, 1H).

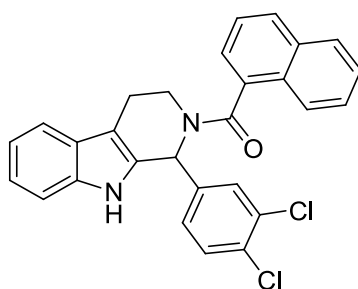
¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.27 (s, 1H), 7.53 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.31 – 7.25 (m, 1H), ein Signal liegt unter dem Chloroformpeak, 7.23 – 7.16 (m, 1H), 7.17 – 6.93 (m, 6H), 6.86 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 3.97 – 3.81 (m, 7H), 3.38 – 3.26 (m, 1H), 2.98 (t, *J* = 13.2 Hz, 1H), 2.83 (dd, *J* = 15.4, 4.1 Hz, 1H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 169.86, 150.15, 148.72, 148.46 (dd, *J* = 246.2, 12.8 Hz), 148.14 (dd, *J* = 245.0, 12.6 Hz), 138.10, 136.48, 131.10, 128.20, 126.29, 125.01, 121.70, 119.57, 118.92, 118.25, 117.65 (d, *J* = 16.9 Hz), 117.24, 111.49, 110.73 (2C), 108.61, 55.77, 55.73, 51.30, 41.77, 21.80.

EA: berechnet: C, 69.63; H, 4.94; N, 6.25
 gefunden: C, 69.54; H, 4.80; N, 5.99

Smp: 192 - 193 °C

101 (1-(3,4-Dichlorphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(naphthalin-1-yl)methanon



Hergestellt aus **75** 0,73 mmol (232 mg) und 1-Naphthoylchlorid 0,81 mmol (154 mg).

Summenformel: C₂₈H₂₀Cl₂N₂O
 Molekulargewicht: 471,38 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 44 % (151 mg)

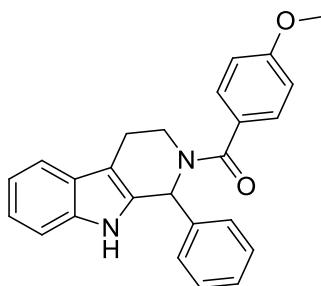
¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.05 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H), 8.02 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.79 – 7.66 (m, 1H), 7.61 – 7.51 (m, 4H), 7.51 – 7.40 (m, 3H), 7.36 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.11 (dd, *J* = 13.8, 5.8 Hz, 2H), 7.06 – 6.98 (m, 1H), 3.32 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 3.21 (dd, *J* = 15.2, 10.3 Hz, 1H), 2.81 (s, 1H), 2.69 (d, *J* = 13.5 Hz, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 169.16, 141.58, 136.58, 134.24, 133.76, 133.14, 131.46, 131.23, 130.97, 130.64, 130.07, 129.28, 128.60, 127.32, 126.69, 126.21, 125.62, 124.46, 123.70, 123.50, 121.83, 119.00, 118.27, 111.58, 108.96, 50.93, 41.30, 21.53.

EA: berechnet: C, 71.34; H, 4.28; N, 5.94
 gefunden: C, 71.00; H, 4.20; N, 5.73

Smp: 264 - 265 °C

102 (4-Methoxyphenyl)(1-phenyl-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)methanon [205]



Hergestellt aus **58** 1,2 mmol (298 mg) und 4-Methoxybenzoylchlorid 1,33 mmol (227 mg).

Summenformel: $\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$
 Molekulargewicht: 382,45 g/mol
 Aussehen: gelblich-beiger Feststoff
 Ausbeute: 48 % (220 mg)

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 11.01 (s, 1H), 7.47 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.40 – 7.27 (m, 8H), 7.11 – 7.07 (m, 1H), 7.04 – 6.98 (m, 3H), 6.92 (s, 1H), 3.77 (d, $J = 19.9$ Hz, 4H), ein Signal liegt unter dem Wasserpeak, 2.93 – 2.84 (m, 1H), 2.76 (dd, $J = 15.3, 3.2$ Hz, 1H).

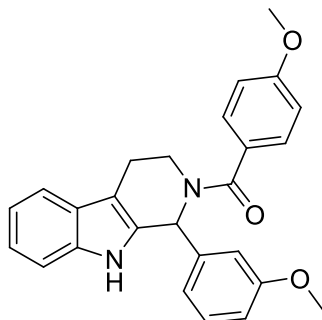
^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 8.04 (s, 1H), 7.53 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.43 – 7.33 (m, 4H), 7.32 – 7.26 (m, 4H), 7.21 – 7.15 (m, 1H), 7.16 – 7.10 (m, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.92 – 6.88 (m, 2H), 3.82 (s, 4H), 3.39 (s, 1H), 2.96 (s, 1H), 2.81 (dd, $J = 15.3, 4.0$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 169.66, 160.35, 140.46, 136.42, 131.84, 128.64 (2C), 128.57 (2C), 128.40, 128.21, 127.92 (2C), 126.38, 121.46, 118.81, 118.07, 113.99 (2C), 111.40, 108.17, 55.40, 51.83, 41.47, 21.94.

EA: berechnet: C, 78.51; H, 5.80; N, 7.32
 gefunden: C, 78.01; H, 5.97; N, 7.11

Smp: 190 - 191 °C

103 (4-Methoxyphenyl)(1-(3-methoxyphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)methanon



Hergestellt aus **59** 1,08 mmol (300 mg) und 4-Methoxybenzoylchlorid 1,18 mmol (201 mg).

Summenformel: $C_{26}H_{24}N_2O_3$
 Molekulargewicht: 412,48 g/mol
 Aussehen: hellbeiger Feststoff
 Ausbeute: 45 % (200 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 11.01 (s, 1H), 7.48 – 7.45 (m, 1H), 7.38 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.35 – 7.25 (m, 2H), 7.16 – 7.06 (m, 1H), 7.04 – 6.98 (m, 3H), 6.93 – 6.80 (m, 4H), 3.80 (s, 3H), 3.75 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 3.71 (s, 3H), ein Signal liegt unter dem Wasserpeak, 2.88 (s, 1H), 2.81 – 2.72 (m, 1H).

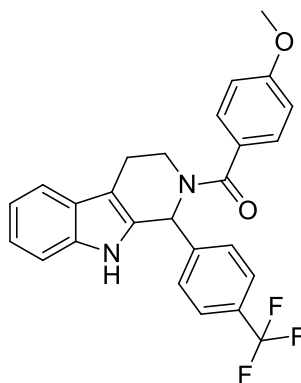
1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 8.08 (s, 1H), 7.51 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.39 – 7.34 (m, 2H), 7.28 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.22 – 7.15 (m, 2H), 7.15 – 7.09 (m, 1H), 7.06 – 6.88 (m, 5H), 6.82 (dd, $J = 8.3, 2.5$ Hz, 1H), 3.88 (s, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.45 – 3.36 (m, 1H), 3.00 – 2.88 (m, 1H), 2.84 – 2.75 (m, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 169.67, 160.35, 159.50, 142.00, 136.38, 131.75, 129.70, 128.55 (2C), 128.37, 126.32, 121.47, 120.32, 118.79, 118.07, 113.98 (2C), 112.85, 111.37 (2C), 108.11, 55.38, 55.18, 51.77, 41.53, 21.86.

EA: berechnet: C, 75.71; H, 5.86; N, 6.79
 gefunden: C, 75.71; H, 6.06; N, 6.64

Smp: 219 - 220 °C

104 (4-Methoxyphenyl)(1-(4-(trifluormethyl)phenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)methanon



Hergestellt aus **66** 0,95 mmol (300 mg) und 4-Methoxybenzoylchlorid 1,04 mmol (177 mg).

Summenformel: $C_{26}H_{21}F_3N_2O_2$
 Molekulargewicht: 450,45 g/mol
 Aussehen: hellgelber Feststoff
 Ausbeute: 56 % (240 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 11.01 (s, 1H), 7.75 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.54 (s, 2H), 7.48 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H), 7.40 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.33 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.14 – 7.07 (m, 1H), 7.05 – 6.97 (m, 3H), 6.96 (s, 1H), 3.80 (s, 4H), ein Signal liegt unter dem Wasserpeak, 2.91 (td, $J = 13.8, 11.6, 5.7$ Hz, 1H), 2.78 (dd, $J = 15.4, 4.1$ Hz, 1H).

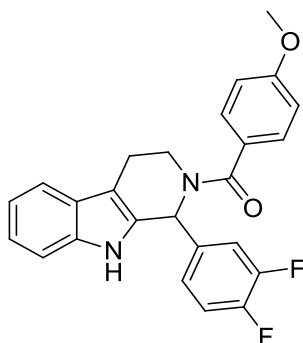
1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 8.44 – 8.34 (m, 1H), 7.53 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J = 7.6$ Hz, 4H), 7.37 – 7.32 (m, 2H), 7.29 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.22 – 7.18 (m, 1H), 7.16 – 7.10 (m, 2H), 6.93 – 6.88 (m, 2H), 3.89 (s, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.35 – 3.25 (m, 1H), 3.01 – 2.92 (m, 1H), 2.81 (dd, $J = 15.5, 4.1$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 169.7, 160.3, 144.8, 136.3, 130.8, 128.9 (2C), 128.5 (2C), 128.09 (d, $J = 31.7$ Hz), 127.9, 126.1, 125.42 (d, $J = 3.5$ Hz, 2C), 124.14 (q, $J = 272.1$ Hz), 121.5, 118.8, 118.0, 113.8 (2C), 111.3, 108.4, 55.4, 51.5, 41.6, 21.6.

EA: berechnet: C, 69.33; H, 4.70; N, 6.22
 gefunden: C, 69.14; H, 4.45; N, 5.87

Smp: 231 - 232 °C

105 (1-(3,4-Difluorphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(4-methoxyphenyl)methanon



Hergestellt aus **69** 1,4 mmol (398 mg) und 4-Methoxybenzoylchlorid 1,54 mmol (263 mg).

Summenformel: $C_{25}H_{20}F_2N_2O_2$
 Molekulargewicht: 418,44 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 54 % (316 mg)

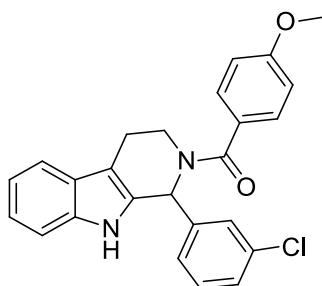
1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 8.24 (s, 1H), 7.52 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.36 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.28 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.20 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.14 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.04 (q, $J = 9.0, 8.4$ Hz, 2H), 6.91 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 3.89 (s, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.31 (s, 1H), 2.97 (t, $J = 10.6$ Hz, 1H), 2.81 (dd, $J = 15.4, 3.7$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, $DMSO-d_6$) δ 169.93, 160.50, 148.47 (dd, $J = 246.7, 12.8$ Hz), 148.15 (dd, $J = 245.7, 12.5$ Hz), 138.15, 136.49, 131.08, 128.71 (2C), 128.08, 126.29, 125.01, 121.70, 118.94, 118.22, 117.66 (d, $J = 17.1$ Hz, 117.10, 113.99 (2C), 111.51, 108.57, 55.42, 51.35, 41.64, 21.71.

EA: berechnet: C, 71.76; H, 4.82; N, 6.69
 gefunden: C, 71.89; H, 4.96; N, 6.60

Smp: 222 - 223 °C

106 (1-(3-Chlorphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(4-methoxyphenyl)methanon



Hergestellt aus **73** 1,06 mmol (300 mg) und 4-Methoxybenzoylchlorid 1,17 mmol (200 mg).

Summenformel: C₂₅H₂₁ClN₂O₂
 Molekulargewicht: 416,90 g/mol
 Aussehen: hellbeiger Feststoff
 Ausbeute: 57 % (252 mg)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.00 (s, 1H), 7.48 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.44 – 7.37 (m, 4H), 7.35 – 7.26 (m, 3H), 7.14 – 7.07 (m, 1H), 7.04 – 6.97 (m, 3H), 6.86 (s, 1H), 3.80 (s, 4H), ein Signal liegt unter dem Wasserpeak, 2.95 – 2.84 (m, 1H), 2.79 (dd, *J* = 15.4, 3.8 Hz, 1H).

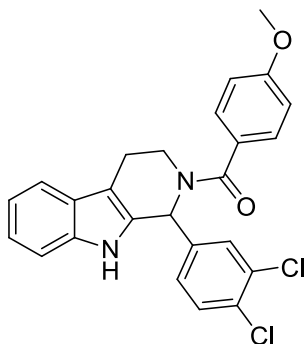
¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.26 (s, 1H), 7.53 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.38 – 7.25 (m, 6H), 7.22 – 7.17 (m, 2H), 7.17 – 7.11 (m, 1H), 7.04 (s, 1H), 6.93 – 6.89 (m, 2H), 3.89 (s, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.34 (s, 1H), 3.00 – 2.91 (m, 1H), 2.81 (dd, *J* = 15.5, 4.1 Hz, 1H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ 169.88, 160.48, 142.87, 136.46, 133.32, 131.10, 130.66, 128.67(3C), 128.12, 128.00, 126.81, 126.31, 121.68, 118.93, 118.20, 114.02 (2C), 111.50, 108.51, 55.42, 51.66, 41.62, 21.78.

EA: berechnet C, 72.02; H, 5.08; N, 6.72
 gefunden: C, 71.69; H, 4.91; N, 6.34

Smp: 225 - 226 °C (Zers.)

107 (1-(3,4-Dichlorphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(4-methoxyphenyl)methanon



Hergestellt aus **75** 0,73 mmol (232 mg) und 4-Methoxybenzoylchlorid 0,81 mmol (138 mg).

Summenformel: C₂₅H₂₀Cl₂N₂O₂
 Molekulargewicht: 451,34 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 55 % (181 mg)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.99 (s, 1H), 7.67 – 7.63 (m, 1H), 7.49 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.41 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.35 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.30 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.16 – 7.08 (m, 1H), 7.06 – 6.99 (m, 3H), 6.84 (s, 1H), 3.81 (s, 4H), ein Signal liegt unter dem Wasserpeak, 2.96 – 2.86 (m, 1H), 2.80 (dd, *J* = 15.5, 3.6 Hz, 1H).

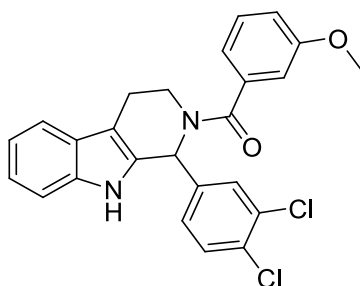
¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.19 (s, 1H), 7.53 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.38 – 7.32 (m, 3H), 7.29 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.24 – 7.17 (m, 1H), 7.17 – 7.11 (m, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.93 – 6.89 (m, 2H), 3.90 (s, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.36 – 3.26 (m, 1H), 2.96 (t, *J* = 12.0 Hz, 1H), 2.82 (dd, *J* = 15.5, 4.0 Hz, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 169.98, 160.53, 141.42, 136.50, 131.28, 130.96, 130.79, 130.71, 130.08, 128.73 (2C), 128.52, 128.00, 126.27, 121.76, 118.98, 118.25, 114.01 (2C), 111.54, 108.70, 55.42, 51.48, 41.87, 21.74.

EA: berechnet: C, 66.53; H, 4.47; N, 6.21
 gefunden: C, 66.49; H, 4.37; N, 5.77

Smp: 232 - 233 °C

108 (1-(3,4-Dichlorphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(3-methoxyphenyl)methanon



Hergestellt aus **75** 0,63 mmol (200 mg) und 3-Methoxybenzoylchlorid 0,69 mmol (118 mg).

Summenformel: $\text{C}_{25}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2$
 Molekulargewicht: 451,34 g/mol
 Aussehen: hellgelber Feststoff
 Ausbeute: 42 % (119 mg)

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 11.00 (s, 1H), 7.66 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.48 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.41 – 7.36 (m, 1H), 7.33 (dd, $J = 16.6, 7.9$ Hz, 2H), 7.11 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.06 – 7.00 (m, 2H), 6.95 (d, $J = 11.8$ Hz, 2H), 6.86 (s, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.70 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H), ein Signal liegt unter dem Wasserpeak, 2.85 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 2.77 (d, $J = 14.1$ Hz, 1H).

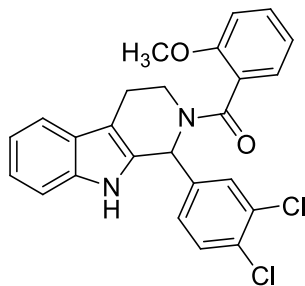
^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 8.26 (s, 1H), 7.52 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.37 – 7.26 (m, 4H), 7.23 – 7.18 (m, 1H), 7.16 – 7.12 (m, 1H), 7.03 (s, 1H), 6.99 – 6.94 (m, 1H), 6.92 (dt, $J = 7.5, 1.2$ Hz, 1H), 6.89 (dd, $J = 2.6, 1.4$ Hz, 1H), 3.80 (s, 4H), 3.34 – 3.25 (m, 1H), 2.98 – 2.88 (m, 1H), 2.80 (dd, $J = 15.2, 4.1$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 169.74, 159.40, 141.38, 137.42, 136.50, 131.31, 131.03, 130.77, 130.55, 130.13, 130.02, 128.56, 126.24, 121.79, 118.99, 118.52, 118.28, 115.67, 111.82, 111.54, 108.73, 55.44, 51.04, 41.65, 21.76.

EA: berechnet: C, 66.53; H, 4.47; N, 6.21
 gefunden: C, 66.44; H, 4.54; N, 6.27

Smp: 160 - 162 °C (Zers.)

109 (1-(3,4-Dichlorphenyl)-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(2-methoxyphenyl)methanon



Hergestellt aus **75** 0,63 mmol (200 mg) und 2-Methoxybenzoylchlorid 0,69 mmol (118 mg).

Summenformel: $C_{25}H_{20}Cl_2N_2O_2$
 Molekulargewicht: 451,34 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 37 % (104 mg)

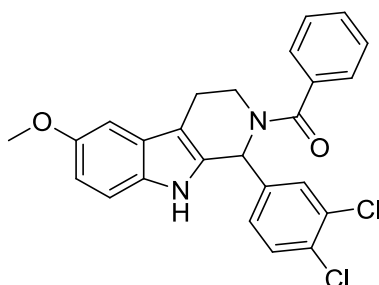
1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 11.15 (s, 1H), 7.67 (dd, $J = 15.7, 8.4$ Hz, 1H), 7.60 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.50 – 7.32 (m, 4H), 7.32 – 7.23 (m, 1H), 7.12 – 6.97 (m, 4H), 6.91 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.48 (q, $J = 9.7, 9.3$ Hz, 1H), 3.25 – 3.14 (m, 1H), 2.82 – 2.61 (m, 2H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 167.69, 155.08, 141.28, 136.44, 131.24, 130.76, 130.73, 130.65, 130.39, 129.30, 127.94, 127.09, 126.23, 125.53, 121.75, 120.99, 118.99, 118.22, 111.70, 111.53, 108.42, 55.86, 50.35, 41.16, 21.61.

EA: berechnet: C, 66.53; H, 4.47; N, 6.21
 gefunden: C, 66.18; H, 4.74; N, 6.22

Smp: 238 - 239 °C

110 (1-(3,4-Dichlorphenyl)-6-methoxy-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(phenyl)methanon



Hergestellt aus **76** 0,4 mmol (139 mg) und Benzoylchlorid 0,44 mmol (62 mg).

Summenformel: $C_{25}H_{20}Cl_2N_2O_2$
 Molekulargewicht: 451,34 g/mol
 Aussehen: hellbeiger Feststoff

Ausbeute: 28 % (51 mg)

$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 10.83 (s, 1H), 7.66 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.51 – 7.45 (m, 4H), 7.42 (s, 2H), 7.31 (s, 1H), 7.23 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.75 (dd, $J = 8.7, 2.4$ Hz, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.66 (s, 1H), ein Signal liegt unter dem Wasserpeak, 2.84 (s, 1H), 2.74 (d, $J = 13.2$ Hz, 1H).

Kein ergänzendes Spektrum, da unlöslich in CDCl_3 .

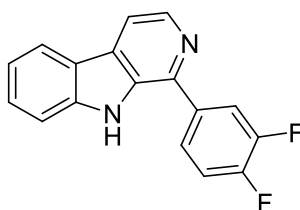
$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 170.21, 153.63, 141.55, 136.13, 131.63, 131.39, 131.27, 131.11, 130.84, 130.13, 129.99, 128.88, 128.53, 126.68 (2C), 126.65 (2C), 112.31, 111.79, 108.60, 100.56, 55.67, 51.20, 41.81, 21.80.

EA: berechnet: C, 66.53; H, 4.47; N, 6.21
 gefunden: C, 66.24; H, 4.59; N, 5.90

Smp: 262 - 263 °C

7.1.2.13 Synthesen des β -Carbolins und der Tetrahydro- β -carboline mit verändertem Substitutionsmuster

111 1-(3,4-Difluorphenyl)-9H-pyrido[3,4-b]indol



1,05 mmol (299 mg) der Verbindung **69** wurde in Dioxan (40 ml/mmol) gelöst und mit DDQ 2,10 mmol (477 mg) versetzt. Der Ansatz wurde 4 Std. unter Reflux erhitzt. Eine Reaktionskontrolle erfolgte mittels DC. Nach Beendigung der Reaktion wurde der Ansatz einrotiert und der Rückstand in DCM aufgenommen. Der erhaltene Niederschlag wurde abfiltriert und der Rückstand in EtOH/Wasser (1:2) umkristallisiert.

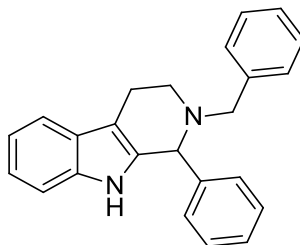
Summenformel: $\text{C}_{17}\text{H}_{10}\text{F}_2\text{N}_2$
 Molekulargewicht: 280,27 g/mol
 Aussehen: gelber Feststoff
 Ausbeute: 37 % (110 mg)

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 11.57 (s, 1H), 8.45 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 8.26 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 8.14 (dd, $J = 5.2, 0.6$ Hz, 1H), 8.06 – 7.98 (m, 1H), 7.91 – 7.86 (m, 1H), 7.68 – 7.62 (m, 2H), 7.60 – 7.53 (m, 1H), 7.31 – 7.23 (m, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 148.82 (dd, $J = 245.3, 10.6$ Hz), 148.72 (dd, $J = 244.8, 10.4$ Hz), 141.33, 139.93, 138.51, 136.02, 133.06, 129.72, 128.54, 125.47, 121.82, 120.92, 119.83, 117.91 (d, $J = 17.2$ Hz), 117.54 (d, $J = 17.9$ Hz), 114.56, 112.52.

EA: berechnet: C, 72.85; H, 3.60; N, 10.00
 gefunden: C, 72.19; H, 3.36; N, 9.32

112 2-Benzyl-1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol



1,24 mmol (308 mg) der Verbindung **58** wurden in getrockneten DMF (1 ml/mmol) gelöst, mit TEA 1,24 mmol (141 mg) und anschließend mit Benzylbromid 1,24 mmol (212 mg) versetzt. Der Ansatz wurde über Nacht bei RT gerührt. Eine Reaktionskontrolle erfolgte mittels DC. Nach Beendigung der Reaktion wurde tropfenweise eine wässrige 1 mol/l NaOH Lösung (12 ml) hinzugefügt. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen und getrocknet. Das entstandene Produkt wurde in EtOH umkristallisiert.

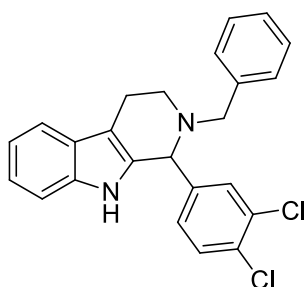
Summenformel: $C_{24}H_{22}N_2$
 Molekulargewicht: 338,44 g/mol
 Aussehen: weißer Feststoff
 Ausbeute: 30 % (126 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.30 (s, 1H), 7.41 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.36 – 7.20 (m, 11H), 7.03 – 6.96 (m, 1H), 6.98 – 6.91 (m, 1H), 4.74 (s, 1H), 3.71 (d, $J = 13.6$ Hz, 1H), 3.50 (d, $J = 13.6$ Hz, 1H), 3.01 (dt, $J = 11.9, 5.2$ Hz, 1H), 2.82 – 2.66 (m, 2H), 2.67 – 2.58 (m, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO d_6) δ 141.95, 139.55, 136.51, 134.71, 128.97(2C), 128.52(2C), 128.35 (2C), 128.33 (2C), 127.53, 126.99, 126.61, 120.69, 118.38, 117.77, 111.21, 107.16, 62.70, 57.36, 46.49, 20.31.

EA: berechnet: C, 85.17; H, 6.55; N, 8.28
 gefunden: C, 84.80; H, 6.60; N, 8.25

Smp: 165 - 166 °C

113 2-Benzyl-1-(3,4-dichlorphenyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol

1,58 mmol (501 mg) der Verbindung **75** wurde in getrockneten DMF (1 ml/mmol) gelöst, mit TEA 1,58 mmol (180 mg) und anschließend mit Benzylbromid 1,58 mmol (270 mg) versetzt. Der Ansatz wurde über Nacht bei RT gerührt. Eine Reaktionskontrolle erfolgte mittels DC. Nach Beendigung der Reaktion wurde tropfenweise eine wässrige 1 mol/l NaOH Lösung (12 ml) hinzugefügt. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen und getrocknet. Das entstandene Produkt wurde in EtOH umkristallisiert.

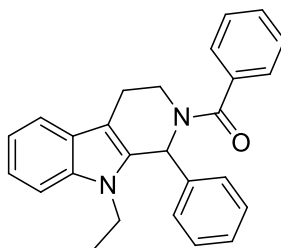
Summenformel: $C_{24}H_{20}Cl_2N_2$
Molekulargewicht: 407,33 g/mol
Aussehen: weißer Feststoff
Ausbeute: 48 % (309 mg)

1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 10.40 (s, 1H), 7.61 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.57 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.42 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.35 (dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, 1H), 7.33 – 7.29 (m, 4H), 7.26 – 7.23 (m, 1H), 7.22 (dt, $J = 8.1, 0.9$ Hz, 1H), 7.03 – 7.00 (m, 1H), 6.97 – 6.94 (m, 1H), 4.78 (s, 1H), 3.70 (d, $J = 13.6$ Hz, 1H), 3.51 (d, $J = 13.7$ Hz, 1H), 3.02 – 2.95 (m, 1H), 2.79 – 2.69 (m, 2H), 2.66 – 2.59 (m, 1H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6) δ 143.26, 139.17, 136.56, 133.74, 130.92, 130.82, 130.62, 130.04, 129.06, 128.48 (2C), 128.37 (2C), 127.08, 126.44, 120.98, 118.53, 117.93, 111.22, 107.53, 61.68, 57.41, 46.59, 20.22.

EA: berechnet: C, 70.77; H, 4.95; N, 6.88
gefunden: C, 70.44; H, 5.15; N, 6.84

Smp: 175 - 176 °C

114 (9-Ethyl-1-phenyl-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(phenyl)methanon

0,57 mmol (200 mg) der Verbindung **78** wurde in getrockneten DMF (5 ml/mmol) gelöst, mit Natriumhydrid (60% in Mineralöl) (1,5 mmol/mmol) und anschließend mit Iodethan 1,71 mmol (267 mg) versetzt. Der Ansatz wurde 30-60 Min. bei RT gerührt. Eine Reaktionskontrolle erfolgte mittels DC. Nach Beendigung der Reaktion wurde der Ansatz einrotiert und der Rückstand in Wasser (15 ml) aufgenommen. Die wässrige Suspension wurde mit Ethylacetat (3x 15 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser und gesättigter NaCl Lösung gewaschen und anschließend über Magnesiumsulfat (wasserfrei) getrocknet und abfiltriert. Die organische Lösung wurde einrotiert und das erhaltene Produkt in EtOH umkristallisiert.

Summenformel: $C_{26}H_{24}N_2O$
Molekulargewicht: 380,48 g/mol
Aussehen: weißer Feststoff
Ausbeute: 67 % (145 mg)

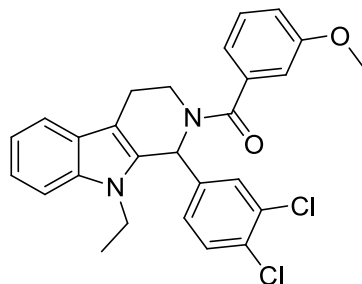
1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.55 – 7.29 (m, 12H), 7.20 – 7.13 (m, 1H), 7.09 – 7.02 (m, 2H), 4.06 – 3.94 (m, 1H), 3.75 (td, $J = 13.6, 6.4$ Hz, 1H), 3.66 – 3.56 (m, 1H), 3.35 – 3.30 (m, 1H), 2.94 – 2.75 (m, 2H), 0.99 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 169.57, 139.51, 136.27, 136.06, 131.81, 129.72, 128.86 (2C), 128.71 (2C), 128.60 (2C), 128.41, 126.49, 126.31, 121.66, 119.08 (2C), 118.39, 109.78, 108.19, 50.83, 40.73, 37.88, 21.72, 14.75.

EA: berechnet: C, 82.07; H, 6.36; N, 7.36
gefunden: C, 82.07; H, 6.79; N, 6.96

Smp: 118-120 °C

115 (1-(3,4-Dichlorphenyl)-9-ethyl-3,4-dihydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-2(9H)-yl)(3-methoxyphenyl)methanon



0,89 mmol (402 mg) der Verbindung **108** wurden in getrockneten DMF (5 ml/mmol) gelöst, mit Natriumhydrid (60% in Mineralöl) (1,5 mmol/mmol) und anschließend mit Iodethan 2,66 mmol (415 mg) versetzt. Der Ansatz wurde 30-60 Min. bei RT gerührt. Eine Reaktionskontrolle erfolgte mittels DC. Nach Beendigung der Reaktion wurde der Ansatz einrotiert und der Rückstand in Wasser (15 ml) aufgenommen. Die wässrige Suspension wurde mit Ethylacetat (3x 15 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser und gesättigter NaCl Lösung gewaschen und anschließend über Magnesiumsulfat (wasserfrei) getrocknet und abfiltriert. Die organische Lösung wurde einrotiert und das erhaltene Produkt in EtOH umkristallisiert.

Summenformel: $C_{27}H_{24}Cl_2N_2O_2$
Molekulargewicht: 479,40 g/mol
Aussehen: weißer Feststoff
Ausbeute: 62 % (264 mg)

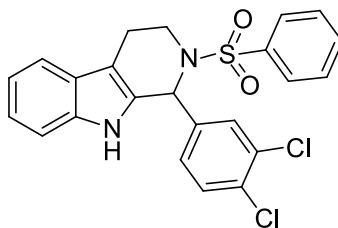
1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.66 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.53 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.44 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.37 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.28 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.22 – 7.15 (m, 1H), 7.10 – 6.96 (m, 3H), 6.95 – 6.91 (m, 2H), 4.09 – 3.98 (m, 1H), 3.77 (s, 4H), 3.67 (d, $J = 13.9$ Hz, 1H), 3.27 (s, 1H), 2.94 – 2.75 (m, 2H), 1.00 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 169.55, 159.39, 140.38, 137.30, 136.17, 131.52, 131.24, 131.11, 130.70, 130.51, 129.99, 128.97, 126.23, 121.95, 119.22, 118.60, 118.56, 115.79, 111.80, 109.96, 108.78, 55.45, 50.02, 40.88, 37.91, 21.56, 14.83.

EA: berechnet: C, 67.65; H, 5.05; N, 5.84
gefunden: C, 67.32; H, 5.33; N, 5.73

Smp: 165 - 167 °C

116 1-(3,4-Dichlorphenyl)-2-(phenylsulfonyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol



Hergestellt aus **75** 0,63 mmol (200 mg) und Benzolsulfonylchlorid 0,76 mmol (134 mg), nach der Synthesevorschrift im Kapitel 7.1.2.12

Summenformel: $C_{23}H_{18}Cl_2N_2O_2S$

Molekulargewicht: 457,37 g/mol

Aussehen: grauer Feststoff

Ausbeute: 37 % (107 mg)

1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 10.75 (s, 1H), 7.78 – 7.74 (m, 2H), 7.61 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.52 – 7.47 (m, 1H), 7.43 – 7.38 (m, 2H), 7.36 – 7.26 (m, 3H), 7.17 (dd, $J = 8.4, 2.2$ Hz, 1H), 7.09 – 7.00 (m, 1H), 6.97 – 6.90 (m, 1H), 6.23 (s, 1H), 4.02 (dd, $J = 14.6, 5.7$ Hz, 1H), 3.30 – 3.20 (m, 1H), 2.64 (dd, $J = 16.0, 3.6$ Hz, 1H), 2.45 – 2.34 (m, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6) δ 140.90, 140.27, 136.28, 133.02, 131.24, 130.93, 130.88, 129.95, 129.66, 129.27 (2C), 128.36, 126.59 (2C), 125.96, 121.79, 118.84, 118.14, 111.45, 108.10, 54.56, 39.82, 19.63.

EA: berechnet: C, 60.40; H, 3.97; N, 6.12

gefunden: C, 59.80; H, 3.96; N, 6.11

Smp: ab 165 °C (Zers.)

7.2 Biologische Untersuchungen

7.2.1 Material

7.2.1.1 Chemikalien für Zellkultur/Assays/Puffer

Chemikalien	Hersteller
Calcein AM	Sigma-Aldrich
Calciumchlorid-Dihydrat	Merck
Cyclosporin A	Sigma-Aldrich
Chloroquindiphosphat	Sigma-Aldrich
Chinin	Sigma-Aldrich
D-Glucose Monohydrat	Merck
Dimethylformamid (DMF)	Fisher
Dimethylsulfoxid (DMSO)	Sigma-Aldrich
Eisessig	VWR
HEPES (freie Säure)	Appllichem
Hoechst 33342	Sigma-Aldrich
Kaliumchlorid	Merck
Kaliumdihydrogenphosphat	Appllichem
Ko143	Tocris
Magnesiumsulfat Heptahydrat	Appllichem
Methanol	Sigma-Aldrich
Natriumchlorid	Merck
Natriumhydrogencarbonat	Merck
Natriumhydroxid Lösung (1 mol/l)	Grüssing
Natruimhydroxid Lösung (0,1 mol/l)	VWR
Natriumacetat	VWR
Pheophorbid A	Fontier Scientific
Pyridin	Prolabo
Salzsäure (1 mol/l)	Fluka
Salzsäure (0,1 mol/l)	Fluka
XR9577	Hergestellt von Sebastian Köhler

7.2.1.2 Instrumente für Zellkultur/Assays/Puffer

Instrumentenart	Bezeichnung	Hersteller
Durchflusszytometer	FACSCalibur	Becton Dickenson
Heizblock	ThermoStat plus	Eppendorf
Inkubator	CO2 water jacket incubator	IBS Interga Bioscience
	CO2 cell	Air liquide
Magnetrührer	RH basic magnetic stirrer	IKA Labortechnik
Microplaterereader	FLUOstar Optima fluorescence plate reader	BMG Lab Tech.
	POLARstar Galaxy fluorescence plate reader	BMG Lab Tech.
Mikroskop	Axiovert 25 microscope	Zeiss
pH-Meter	744 pH-Meter	Metrohm
Pipettierhilfe	Accu-Jet	Brand
Pipetten	2-20 µl	Eppendorf / Thermo Fisher Scientific
	10-100 µl	
	20-200 µl	
	100-1000 µl	
	500-5000 µl	
	Multikanalpipette (12) 15-300 µl	
Sterilbank	Laminar flow, Safe 2010	Holten LaminAir
Thermo Mixer (für Platten)	MKR 23	HLC
Trockenschrank/Wärmeschrank		Memmert
Vakuumpumpe	Typ BVC21	Vacuubrand
Vortexer	Minishaker SK1	IKA Labortechnik
Waage	Feinwaage R160P	Sartorius
Wasserbad	Typ 1083	GFL
Zellzähler	CASY1 Modell TT	Schärfe System
Zentrifuge	Avanti J-25	Beckmann
	Mikrozentrifuge 5417C	Eppendorf

7.2.1.3 Material für die Zellkultur/Assays/Puffer

Materialart	Bezeichnung	Hersteller
CASY Lösung	CASY@ton Lösung	Schärfe System
CASY Röhrchen		Schärfe System
Einmalpipetten	Serologische Pipetten 10 ml, steril	Sarstedt
	Serologische Pipetten 25 ml, steril	Sarstedt
Einmalspritze	Norm-Ject 10 ml	B.Braun
	Norm-Ject 20 ml	B.Braun
Falcons	Conical test tube PP 15 ml, sterile	Greiner bio-one
	Conical test tube PP 50 ml, sterile	Greiner bio-one
FKS	Fetales Kälberserum	Sigma-Aldrich
FACS Lösungen	FACSclean	Becton Dickenson
	FACSflow	Becton Dickenson
	FACSRinse	Becton Dickenson
Gewebekulturflaschen	Tissue culture flasks, 75 cm ² , filter cap, sterile	Greiner bio-one
	Tissue culture flasks, 175 cm ² , filter cap, sterile	Greiner bio-one
Glutamin	L-Glutamin 200 mmol/l	Sigma-Aldrich
Kryoröhrchen	Cryos PP with screw cap, sterile	Greiner bio-one
Mikrotiterplatten	96 Well, clear PS microplate, flat bottom	Greiner bio-one
	96 Well, clear PS microplate, U-shape bottom	Greiner bio-one
	96F untreated black microwell SH plate	Nunc
	96 Well tissue culture plate, flat bottom with lid, sterile	Starlab
	96 Well, 1,2ml, storage plate	ThermoFisher Scientific
Mikrozentrifugenröhrchen	1.5 ml natural microtubes with attached pp cap	
	2.0 ml MaxyClear microtubes	
Nährmedium	D-MEM 5671	Sigma-Aldrich
	RPMI-1640	PAN Biotech
P/S	Penicillin-Streptomycin Lösung	Sigma-Aldrich
Pasteurpipetten	Glasspasteurpipetten (230mm)	VWR international
PBS-Puffer	Phosphate buffered saline, sterile	PAN Biotech

Pipettenspitzen	TipOne 1-200 µl, yellow pipette tips	Starlab
	TipOne 101-1000 µl, blue pipette tips	Starlab
	1.0-5.0 ml Bulk, natural pipette tips	Starlab
Sterilfilter	Membranfilter 0.2 µmol/l, steril	Whatman
Trypsin/EDTA Lösung	Trypsin/EDTA Lösung	PAN Biotech

7.2.1.4 Verwendete Puffer

7.2.1.4.1 Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS)

PBS wurde vor allem zum Waschen der Zellen in der Zellkultur verwendet. Der Puffer wurde als fertige, sterile Lösung von der Firma PAN Biotech bezogen.

7.2.1.4.2 Krebs-HEPES-Puffer (KHP)

KHP wurde für alle Fluoreszenz Assays und Verdünnungsreihen (außer beim MTT Assay) verwendet. Der Vorteil lag darin, dass die Zellen über einen begrenzten Zeitraum in diesem Puffer überleben können, dieser aber nicht bei der Messung stört. Dieser Puffer wurde wie folgt hergestellt.

Herstellung KHP 5x:

Chemikalien	Einwaage in g/500ml KHP 5x
Natriumchlorid	17,33
Kaliumchlorid	0,876
Kaliumdihydrogenphosphat	0,408
Natriumhydrogencarbonat	0,882
D-Glucose Monohydrat	5,796
HEPES (freie Säure)	5,958
Wasser dem.	ad 500 ml

Für die Herstellung wurden alle Chemikalien zuvor eingewogen und in 450 ml Wasser dem. gelöst. Der pH-Wert der Lösung wurde mit Hilfe von wässriger NaOH 1 mol/l auf 7,4 eingestellt, der Ansatz in einen 500 ml Messkolben überführt und mit Wasser dem. auf 500 ml aufgefüllt. Das KHP 5x wurde dann zu je 100 ml aufgeteilt und bei -20 °C gelagert.

Herstellung KHP 1x:

100 ml KHP 5x wurde in einen 500 ml Messkolben überführt und mit 650 µl Calciumchloridlösung 1 mol/l versetzt. Der Ansatz wurde auf ca. 450 ml mit Wasser dem. aufgefüllt und anschließend 600 µl Magnesiumsulfatlösung 1 mol/l hinzugefügt. Das Volumen der Lösung wurde dann mit Wasser dem. bis auf 500 ml aufgefüllt. Nach kräftigem Mischen wurde die fertige KHP 1x Lösung in 50 ml Falcons steril filtriert (Porengröße 0,2 µmol/l) und bei -20 °C gelagert.

7.2.2 Zellkultur

7.2.2.1 Verwendete Zelllinien

7.2.2.1.1 MDCK II BCRP und MDCK II Wildtyp

Die MDCK II Zelllinie ist ein Subklon der MDCK (Madin Darby Canine Kidney) Zelllinie. Die MDCK II BCRP wurde durch retrovirale Transfektion der MDCK II Zelllinie mit humaner ABCG2 cDNA erzeugt. Das ABCG2 Gen ist dabei mit GFP (Green fluorescent protein) verknüpft, welches zur Kontrolle der ABCG2 Expression in den verwendeten Zellen verwendet werden kann. Das fluoreszierende GFP ($\lambda_{\text{ext.}} = 475\text{nm}$, $\lambda_{\text{em.}} = 509\text{nm}$) lässt sich dabei vor allem mit der Durchflusszytometrie erfassen. Die MDCK II BCRP und MDCK II Wildtyp Zelllinien wurden freundlicherweise von Dr. Alfred Schinkel (The Netherlands Cancer Institute, Amsterdam, Niederlande) zur Verfügung gestellt. Die Kultivierung erfolgte in DMEM mit 10 % FKS, 2 mmol/l L-Glutamin, 50 U/ml Penicillin G und 50 $\mu\text{g/ml}$ Streptomycin.

7.2.2.1.2 A2780 Adr und A2780 Sens.

Bei der A2780 Zelllinie handelt es sich um eine humane Ovarialkarzinomzelllinie. Durch kontinuierliche Behandlung mit Doxorubicin wurde die ABCB1 überexprimierende, resistente A2780 Adr Zelllinie erhalten. Die sensitive A2780 (No. 93112519) und die resistente A2780 Adr (No. 93112520) Zelllinien wurden bei der European Collection of Cell Cultures (ECACC, Salisbury, Wiltshire, UK) erworben. Die Kultivierung erfolgte in RPMI 1640 Medium mit 10 % FKS, 50 U/ml Penicillin G und 50 $\mu\text{g/ml}$ Streptomycin. Um die Zytostatikaresistenz der A2780 Adr Zelllinie zu erhalten wurden diese in regelmäßigen Abständen mit 1 $\mu\text{mol/l}$ Doxorubicin behandelt.

7.2.2.2 Kultivierung der Zellen

Je nach benötigter Anzahl von Zellen wurden diese in T75 (75 cm²) oder T175 (175 cm²) Gewebekulturflaschen, in dem im Kapitel 7.2.2.1 beschriebenen Nährmedien, im Inkubator bei 37 °C, 5 % CO₂ kultiviert. Alle verwendeten Zelllinien zeigten ein adhärentes Wachstum. Das Medium wurde, je nach Zelldichte, alle 2 - 3 Tage unter aseptischen Bedingungen gewechselt. Allgemein konnte die Notwendigkeit des Mediumwechsels durch den Farbumschlag des im Medium enthaltenen Indikators Phenolrot beobachtet werden, da das verbrauchte Nährmedium zu einer pH Erniedrigung führt. Bei T75 Gewebekulturflaschen wurde 15-20 ml und bei den T175 Gewebekulturflaschen 25-30 ml Nährmedium verwendet

Nach Erreichen einer Konfluenz von 80–90 % des Zellrasens wurden die Zellen in neuen Gewebekulturflaschen unter aseptischen Bedingungen subkultiviert. Dabei wurde vor dem Ablösen der Zellen das Nährmedium entfernt, die Zellen mit sterilem PBS (T75-Flaschen mit 3 ml, T175-Flaschen mit 5 ml) gewaschen und mit dem gleichen Volumen Trypsin-EDTA Lösung vom Boden der Kulturflasche abgelöst. Für den Zeitraum bis zum vollständigen Ablösen der Zellen (A2780 Zelllinie ca. 5 Min./ MDCK II Zelllinie ca. 10-15 Min.) wurden die Flaschen im Inkubator bei 37 °C, 5 % CO₂ inkubiert. Die vollständige Ablösung der Zellen konnte dabei unter dem Mikroskop beobachtet werden. Nach Beendigung der Inkubation wurden die Zellen, unter aseptischen Bedingungen, mit frischem Medium vom Flaschenboden gespült und die Zellsuspension (Gesamtvolumen 10 ml) in ein 50 ml Zentrifugenröhrchen überführt. Die Zellsuspension wurde bei 266 x g, 4 °C für 4 Min. zentrifugiert. Unter aseptischen Bedingungen wurde der Überstand abgesaugt und das Zellpellet in frischem Medium (T75 Flaschen mit 5 ml, T175 Flaschen mit 10 ml) resuspendiert und je nach gewünschter Zellzahl in einer neuen Gewebekulturflasche mit frischem Medium ausgesät. Die restliche Zellsuspension wurde entweder für einen Assay verwendet oder verworfen.

7.2.2.3 Kryokonservierung und Ausfrieren von Zellen

Für die Kryokonservierung von Zellen in flüssigem Stickstoff wurden die gewünschten Zellen zuvor in T175 Gewebekulturflaschen bis zu einer Konfluenz des Zellrasens von

80-90 % kultiviert. Das Ablösen der Zellen erfolgte nach gleichem Vorgehen wie im Kapitel 7.2.2.2 beschrieben. Nach dem resuspendieren der Zellen im frischen Medium wurden diese gezählt und erneut bei 266 x g, 4 °C für 4 Min. zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand abgesaugt und das Zellpellet in einer definierten Menge frischem Medium resuspendiert, so dass man eine Suspension von 10 Mio. Zellen/900 µl Medium erhielt. Je 900 µl dieser Zellsuspension wurden in ein Kryoröhrchen überführt und anschließend 100 µl DMSO hinzugefügt, um die Bildung von Eiskristallen beim Einfrieren zu vermeiden. Die Aliquots wurden für 24 Std. bei -80 °C eingefroren und anschließend im flüssigen Stickstoff gelagert.

Um eine kryokonservierte Zelllinie wieder in Kultur zu nehmen, wurde das Aliquot aus dem flüssigen Stickstoff entnommen und bei 37 °C im Wasserbad aufgetaut. Anschließend wurde der Inhalt des Aliquots zügig in Zentrifugenröhrchen überführt, mit 9 ml frischem Medium versetzt und bei 266 x g, 4 °C für 4 Min. zentrifugiert. Der Überstand wurde abgesaugt, das Zellpellet mit 15 - 20 ml frischen Medium resuspendiert und die Zellsuspension komplett in eine T75 Gewebekulturflasche überführt. Die Zellen wurden dann im Inkubator bei 37 °C, 5 % CO₂ kultiviert.

Alle Arbeiten der Kryokonservierung und des Ausfrierens der Zellen wurden unter aseptischen Bedingungen durchgeführt.

7.2.2.4 Zellzahlbestimmung

Die Zellzahlbestimmung wurde mit Hilfe des CASY[®]1 Model TT bestimmt. 20 µl der Zellsuspension wurden dabei mit 10 ml steril filtrierter CASY[®]ton Lösung gemischt und anschließend vermessen. Hierbei wurde eine Kapillare mit einem Innendurchmesser von 150 µmol/l verwendet. Bei der Messung wurde sowohl die Anzahl als auch die Größenverteilung der Zellen ermittelt.

7.2.3 Assays

7.2.3.1 Herstellung der Verdünnungsreihen der Testsubstanzen

Zuvor wurden von den zu testenden Verbindungen eine 10 mmol/l (10^{-2}) Stammlösung in DMSO hergestellt und bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert. Die Verdünnungsreihen wurden aus dieser Stammlösung in KHP hergestellt. Um die Löslichkeit zu verbessern wurde ein Anteil Methanol hinzugefügt, wobei der Methanolgehalt in der Endkonzentration auf der Mikrotiterplatte bei maximal 5 % lag. Die Verdünnungsreihen wurden unmittelbar vor dem Versuch hergestellt.

7.2.3.2 Verdünnungsschemata bzw. Endkonzentration der Testsubstanzen auf der Mikrotiterplatte

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0	$10^{-7,5}$	10^{-7}	$10^{-6,75}$	$10^{-6,5}$	$10^{-6,25}$	10^{-6}	$10^{-5,75}$	$10^{-5,5}$	$10^{-5,4}$	$10^{-5,25}$	10^{-5}
B	↓											
C	↓											
D	↓											
E	0	10^{-7}	$10^{-6,5}$	10^{-6}	$10^{-5,5}$	10^{-5}	0	10^{-7}	$10^{-6,5}$	10^{-6}	$10^{-5,5}$	10^{-5}
F	↓						↓					
G	↓						↓					
H	↓						↓					

Abbildung 7.1: Verdünnungsschemata auf Mikrotiterplatte für das Hoechst 33342-/ Pheophorbid A- und Calcein-AM Assay (Reihe A); Verdünnungsschemata für das Screening im Calcein-AM Assay (Reihe E)

7.2.3.3 Vorbereitung der Zellsuspensionen für den Assay

Nach Erreichen einer Konfluenz von 80–90 % des Zellrasens wurden diese wie im Kapitel 7.2.2.2 beschrieben abgelöst. Nach dem Zentrifugieren wurde das Zellpellet in 3-5 ml (T75 Flaschen) oder 6-10 ml (T175 Flaschen) frischen Medium resuspendiert und die Zellzahl der Suspension mittels des CASY[®]1 Model TT bestimmt. Das gewünschte Volumen der Zellsuspension wurde in ein 2 ml Cap überführt und der Rest der Zellsuspension weiter kultiviert oder verworfen. Die entnommene Zellsuspension wurde in der Eppendorfszentrifuge bei maximal 10000 x g 7 Sek. zentrifugiert, der Überstand abgesaugt und das Zellpellet in 1 ml KHP resuspendiert. Dieser Waschschrift wurde insgesamt 3x durchgeführt, um eine vollständige Entfernung des Mediums zu gewährleisten. Nach dem letzten Waschschrift wurde das Zellpellet in 1 ml KHP resuspendiert und mit der benötigten Menge KHP auf die gewünschte Zelldichte verdünnt. Zum Ausplattieren wurde die Zellsuspension dann in eine Pipettierschale überführt und mit einer Multikanalpipette auf die Mikrotiterplatte pipettiert. Die Zellsuspensionen wurden immer unmittelbar vor dem Ausplattieren hergestellt.

7.2.3.4 Hoechst 33342 Assay

Die Durchführung erfolgte nach der Literatur [172,204,205] mit kleinen Modifikationen. [173,206,207]

20 µl jeder Verdünnungsstufe wurden, nach dem im Kapitel 7.2.3.2 beschriebenen Schema, in das vorgesehene Well einer schwarzen 96 Well Mikrotiterplatte (flacher Boden) pipettiert. Für den Nullwert wurde 20 µl KHP in das erste Well jeder Reihe (A-H) vorgelegt. Im Anschluss wurden 160 µl der vorbereiteten Zellsuspension (MDCK II BCRP, MDCK II Wildtyp), Kapitel 7.2.3.3, auf die Platte pipettiert (~ 27000 Zellen pro Well) und die Mikrotiterplatte 30 Min bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert. Nach Beendigung der Inkubation wurden 20 µl einer frisch hergestellten 10 µmol/l Hoechst 33342 Lösung in KHP in jedes Well pipettiert (Endkonzentration Hoechst 33342 auf der Platte 1 µmol/l) und die Platte unmittelbar im Microplatereader unter folgenden Einstellungen 120 Min. vermessen.

Einstellung der Plattenreader	
Scan Modus	Platte
Inkubator Temperatur	37 °C
Anzahl der Zyklen	120
Zyklusdauer	60 Sek.
Anzahl der Lichtblitze	10/Sek.
Intervall zwischen den Reihen	0,2 Sek.
Meßrichtung	horizontal
Exzitationswellenlänge	355 nm
Emissionswellenlänge	460 nm
Gain FLUOstar	1500
Gain POLARstar	43-45
Required value	20 %

Für die Auswertung der erhaltenen Daten wurden diese in Microsoft® Excel kopiert und ein Mittelwert der Fluoreszenzwerte im Steady-State (Fluoreszenzplateau) von 100-109 Min. für jede Konzentration der Testsubstanz berechnet. Mit diesen Daten konnte dann in GraphPad Prism® 5.0 (San Diego, CA, USA) über eine nichtlineare Regression eine sigmoidale Konzentrations-Effekt-Kurve erstellt werden.

7.2.3.5 Pheophorbid A Assay

Die Durchführung erfolgte nach der Literatur [51,208] mit kleinen Modifikationen.

20 µl jeder Verdünnungsstufe wurden, nach dem im Kapitel 7.2.3.2 beschriebenen Schema, in das vorgesehene Well einer klaren 96 Well Mikrotiterplatte (U-Boden) pipettiert. Für den Nullwert wurden 20 µl KHP in das erste Well jeder Reihe (A-H) vorgelegt. Im Anschluss wurden 160 µl der vorbereiteten Zellsuspension (MDCK II BCRP, MDCK II Wildtyp), Kapitel 7.2.3.3, auf die Platte pipettiert (~ 36000 Zellen pro Well) und die Mikrotiterplatte 15-30 Min bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert. Nach Beendigung der Inkubation wurden 20 µl einer frisch hergestellten 5 µmol/l Pheophorbid A Lösung in KHP in jedes Well pipettiert (Endkonzentration Pheophorbid A auf der Platte 0,5 µmol/l) und

die Platte unter Lichtausschluss 120 Min. bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert. Nach Beendigung der Inkubation und Erreichen des Steady-State wurden die Zellen in der Platte mit einer Multikanalpipette resuspendiert und die zelluläre Fluoreszenz mit Hilfe der Durchflusszytometrie gemessen.

Einstellung des Durchflusszytometers	
Messmodus	Hochdurchsatz/Platte
Probenvolumen	10 µl
Probenflussgeschwindigkeit	3 µl/Sek.
Mischvolumen	100 µl
Mischgeschwindigkeit	200 µl/Sek.
Probenwaschvolumen	200 µl
Anzahl der Mischzyklen	2
Exzitationswellenlänge	488 nm
Emissionswellenlänge	650 nm (FL-3)

Für die Auswertung der Daten wurde der durch CellQuest Pro[®] 5.2.1 (BD Biosciences, San Jose, USA) ausgewertete geometrische Mittelwert der gemessenen Fluoreszenzwerte in Microsoft[®] Excel geöffnet und anschließend konnte in GraphPad Prism[®] 5.0 (San Diego, CA, USA) über eine nichtlineare Regression eine sigmoidale Konzentrations-Effekt-Kurve erstellt werden.

7.2.3.5.1 Durchflusszytometrie (FACS = fluorescence activated cell sorting)

Die Fluoreszenz einzelner Zellen wurde im Pheophorbid A Assay mit Hilfe eines Durchflusszytometers, dem FACScalibur[®] (BD Biosciences, San Jose, USA), bestimmt. Bei dieser spektroskopischen Methode wurde die Zellsuspension mit Hilfe einer Kanüle in eine schnell fließende Trägerflüssigkeit eingebracht und die Zellen einzeln an einem Laserstrahl vorbeiführt. Somit konnte jede Zelle einzeln optisch erfasst werden [209,210]. Bei dem verwendeten Laser handelte es sich um einen Argonlaser mit einer Anregungswellenlänge von 488 nm. Das Detektionssystem erfasste zum einen das Vorwärtsstreulicht (FSC = forward angle light scatter), welches proportional zur Zelloberfläche war, und das durch Reflexion und Brechung erzeugte Seitwärtsstreulicht (SSC = side scatter),

welches ein Maß für die Granularität der Zelle darstellte. Zum anderen wurde in drei unterschiedlichen Fluoreszenzkanälen (FL-1, FL-2, FL-3) die Fluoreszenzemmission der vermessenen Zellen detektiert [209,210]. Beim Pheophorbid A Assay wurde der Fluoreszenzkanal 3 (FL-3) genutzt, welcher einen Filter für 650 nm und höhere Wellenlängen hat. Die Auswertung der Daten erfolgt mit Hilfe der Software CellQuest Pro[®] 5.2.1 (BD Biosciences, San Jose, USA)

7.2.3.6 Calcein AM Assay

Die Durchführung erfolgte nach der Literatur [66] mit kleinen Modifikationen.

20 µl jeder Verdünnungsstufe wurden, nach dem im Kapitel 7.2.3.2 beschriebenen Schema, in das vorgesehene Well einer klaren 96 Well Mikrotiterplatte (flacher Boden) pipettiert. Für den Nullwert wurden 20 µl KHP in das erste Well jeder Reihe (A-H) vorgelegt. Im Anschluss wurden 160 µl der vorbereiteten Zellsuspension (A2780adr Zellen, A2780 Sens.), Kapitel 7.2.3.3, auf die Platte pipettiert (~ 27000 Zellen pro Well) und die Mikrotiterplatte 30 Min. bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert. Nach Beendigung der Inkubation wurden 20 µl einer frisch hergestellten 3,125 µmol/l Calcein AM (Calbiochem 206700) Lösung in KHP in jedes Well pipettiert (Endkonzentration Calcein AM auf der Platte 0,3125 µmol/l) und die Platte unmittelbar im Microplatereader unter folgenden Einstellungen 60 Min. vermessen.

Einstellung der Plattenreader	
Scan Modus	Platte
Inkubator Temperatur	37 °C
Anzahl der Zyklen	60
Zyklusdauer	60 Sek.
Anzahl der Lichtblitze	10/Sek.
Intervall zwischen den Reihen	0,2 Sek.
Meßrichtung	horizontal
Exzitationswellenlänge	485 nm
Emissionswellenlänge	520 nm
Gain FLUOstar	1500
Gain POLARstar	43-45
Required value	20 %

Für die Auswertung der erhaltenen Daten wurden diese in Microsoft® Excel kopiert und die Steigung der Fluoreszenz (10-29 Min.) für jede aufgetragene Konzentration der Testsubstanz berechnet. Mit diesen Daten konnte dann in GraphPad Prism® 5.0 (San Diego, CA, USA) über eine nichtlineare Regression eine sigmoidale Konzentrations-Effekt-Kurve erstellt werden.

7.2.3.7 MTT Assay (Zytotoxizität)

Die Durchführung erfolgte nach der Literatur [211] mit kleinen Modifikationen.

Die verwendeten Zellen (MDCK II BCRP, MDCK II Wildtyp) wurden wie in Kapitel 7.2.3.3 beschrieben aus der T75 Gewebekulturflasche abgelöst. Nach dem Zentrifugieren wurden die Zellen in 5 ml frischen Medium resuspendiert und die Zellzahl dieser Suspension bestimmt. Die Zellsuspension wurde mit frischem Medium verdünnt, so dass eine Zellkonzentration von ~16500 - 17000 Zellen/ml erhalten wurde. 180 µl dieser Zellsuspension wurden mit einer Multikanalpipette in jedes Well einer sterilen 96 Well Gewebekulturplatte pipettiert (~ 3000 Zellen/Well), deren Zwischenräume (zwischen den Wells) bereits mit sterilem PBS beschickt wurden (um eine Verdunstung des Mediums während der 72 Std. Inkubation zu reduzieren). Die Gewebekulturplatte wurde dann ca. 6 Std. bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert und das Anwachsen der Zellen an die Gewebekulturplatte mittels Mikroskop überprüft. In der Zwischenzeit wurden die Verdünnungsreihen der Testsubstanzen in dem verwendeten Zellmedium hergestellt (Verdünnungsschemata abweichend, siehe Abbildung 7.2). Im Anschluss wurden 20 µl jeder Verdünnungsstufe in das dafür vorgesehene Well pipettiert. Als Negativkontrolle wurden 20 µl Medium in das erste Well jeder Reihe (1A-1H) und als Positivkontrolle 20 µl DMSO in das letzte Well jeder Reihe (12A-12H) pipettiert und die Platte anschließend für 72 Std. bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert. Bis hier wurden alle Arbeiten unter aseptischen Bedingungen durchgeführt.

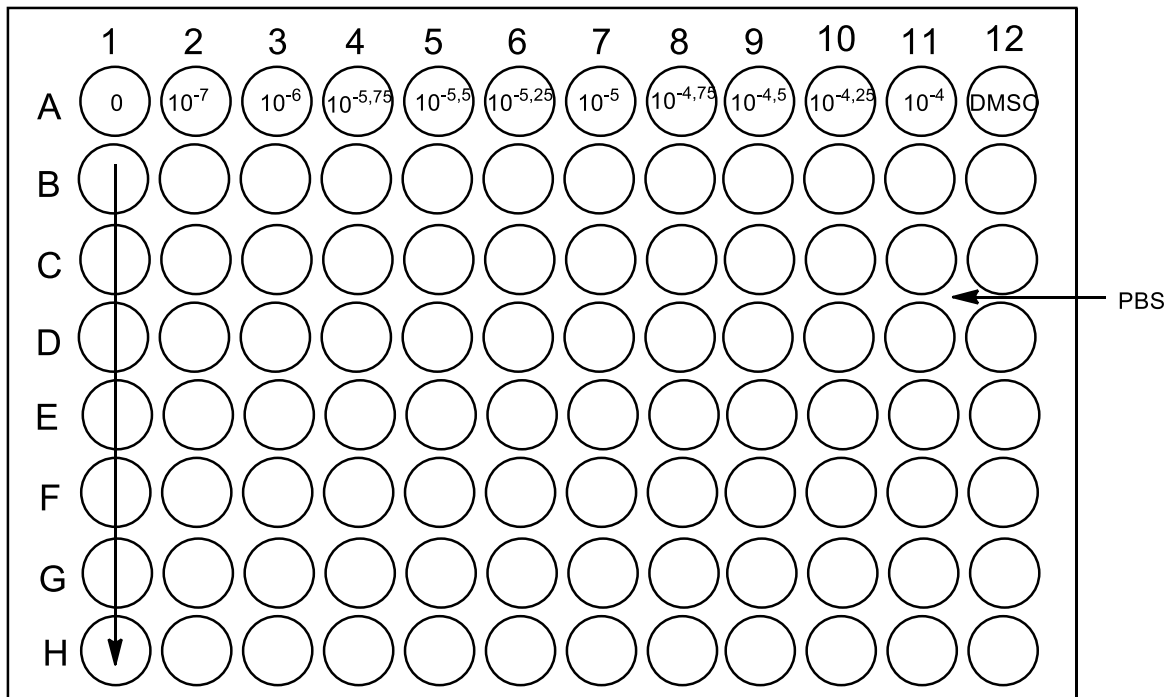


Abbildung 7.2: Verdünnungsschemata des MTT Assay auf der Mikrotiterplatte

Nach Beendigung der Inkubation von 72 Std. wurden 40 μ l einer frisch hergestellten MTT-Lösung 5 mg/ml in PBS mit einer Multikanalpipette in jedes Well pipettiert und die Platte erneut für ca. 1 Std. bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert. Die Bildung des blau gefärbten Formazans kann dabei unter dem Mikroskop beobachtet werden. Nach Beendigung der Inkubation wurde das Medium aus der Platte entfernt und das schwerlösliche Formazan in DMSO 100 μ l/Well gelöst. Die Absorption des gebildeten Formazans wurde unmittelbar bei 595 nm und RT im Microplatereader (FLUOstar[®] Optima, BMG Lab Technologies) vermessen. Eine Hintergrundmessung erfolgte bei 710 nm. Die Hintergrundabsorption wurde von den anderen Absorptionswerten abgezogen. Die Zellviabilität wurde dann in Bezug auf die Negativkontrolle (nur Medium) berechnet. Mit diesen Daten konnte dann in GraphPad Prism[®] 5.0 (San Diego, CA, USA) über eine nichtlineare Regression eine sigmoidale Konzentrations-Effekt-Kurve erstellt werden.

7.2.3.8 Berechnung der IC₅₀ und GI₅₀ Werte aus der Konzentrations-Effekt-Kurve mit Hilfe von GraphPad Prism[®] 5.0

Die IC₅₀ (halbmaximale inhibitorische Konzentration) Werte der verschiedenen Fluoreszenzassays und die GI₅₀ (halbmaximale Wachstumshemmungs Konzentration) Werte des MTT Assays wurden mit Hilfe von GraphPad Prism[®] 5.0 ermittelt. Dabei wurden in einer nichtlinearen Regression, unter Verwendung der 4-Parameter-logistischen Gleichung (variabler Hillkoeffizient) im Vergleich zur 3-Parameter-logistischen Gleichung (fixierter Hillkoeffizient bei 1), sigmoidale Konzentrations-Effekt-Kurven nach folgendem mathematischen Model erstellt.

$$Y = Bottom + \frac{Top - Bottom}{1 + 10^{((\log IC_{50} - \log X) * Hillkoeffizient)}}$$

X = Konzentration der Testsubstanz; Bottom = minimaler Effekt der Testsubstanz (Konzentration 0); Top = maximaler Effekt der Testsubstanz; Hillkoeffizient = Steigung im Wendepunkt der sigmoiden Kurve; IC₅₀ = halbmaximale inhibitorische Konzentration der Testsubstanz

Wenn der maximale Effekt der Testverbindungen (Topwert) unterhalb des Topwertes des verwendeten Standards lag wurde dieser auf den Topwert des Standards fixiert, um die Konzentrations-Effekt-Kurve zu ermitteln.

7.2.3.9 β-Hämatin Assay

Das Prinzip des Assays ist in Kapitel 4.1.3.3.1 beschrieben.

Der Assay wurde mit leichten Modifikation nach der Vorschrift von Sandra Vargas und Ralf Oskar Brunner durchgeführt [169,170]. Die Verbindungen **20**, **23**, **29** und **34** wurden für diesen Versuch verwendet (Testlösung).

Experimenteller Teil

Verwendete Lösungen	Herstellung
Testlösungen Variante 1	50 mmol/l in HCl 0,1 mol/l / MeOH / DMSO (5:3:2)
Testlösungen Variante 2	50 mmol/l in MeOH
Testlösungen Variante 3	50 mmol/l in DMSO
Hämatin Lösung	6,84 mg Rinder-Hämin in 10 ml NaOH 0,1 mol/l (frisch herstellen)
HEPES Lösung 20 mmol/l	238 mg HEPES in 50 ml Wasser
Pyridin-HEPES- Lösung (15%)	7,5 ml Pyridin auf 50 ml mit HEPES Lösung 20 mmol/l
Natriumacetat Puffer	18 g Natriumacetat + 23,4 ml Eisessig + 17 ml Wasser; mit NaOH 10 mol/l auf pH 5 einstellen
Positivkontrolle	Chloroquindiphosphat 50 mmol/l; Herstellung wie Testlösung 1-3
Negativkontrolle	Nur Lösungsmittel, der Testlösungen 1-3
Weitere: HCl 1 mol/l NaOH 10 mol/l	

Durchführung:

Die jeweiligen Pipettierschemata sind in Abbildung 4.6 und Abbildung 4.7 im Kapitel 4.1.3.3.2 dargestellt.

10 μ l der jeweiligen Testlösungen, der Positiv- und Negativkontrolle wurden in eine 96-Well Platte (1,2 ml) pipettiert. Anschließend wurde 100 μ l der frisch hergestellten Hämatin Lösung und 10 μ l der 1 mol/l HCl-Lösung auf die Platte pipettiert und diese dann bei 900 rpm, 10 Min. bei RT geschüttelt. 60 μ l des auf 60 °C temperierten Natriumacetatpuffers wurde auf die Platte gegeben und diese dann bei 900 rpm, 1 Min. bei RT geschüttelt. Die Platte wurde für 90 Min. bei 60 °C inkubiert. Nach Beendigung der Inkubation musste die Platte 10 Min. bei RT abkühlen und anschließend wurde entweder 750 μ l der Pyridin-HEPES- Lösung oder 750 μ l der 20 mmol/l HEPES-Lösung (als Negativkontrolle für den Pyridin-Ferrohämochrom Komplex) pipettiert und die Platte bei 900 rpm, 10 Min. geschüttelt.

Die Bildung eines roten Pyridin-Ferrohämochrom Komplex deutete auf eine Inhibition der β -Hämatin Bildung hin. Die Replikate die nur mit der 20 mmol/l HEPES-Lösung versetzt wurden sollten hingegen farblos bleiben.

Literaturverzeichnis

- [1] Holland, I.B; Cole, S.P.C; Kuchler, K; Higgins, C.F. (Eds.) ABC proteins: From bacteria to man, 1st ed., Academic Press, Amsterdam, Boston **2003**.
- [2] Vasiliou, V; Vasiliou, K; Nebert, D.W. Human ATP-binding cassette (ABC) transporter family. *Hum. Genomics* **2009**, 3, 281–290.
- [3] Dean, M; Hamon, Y; Chimini, G. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *J. Lipid Res.* **2001**, 42, 1007–1017.
- [4] Higgins, C.F. ABC transporters: from microorganisms to man. *Annu. Rev. Cell Biol.* **1992**, 8, 67–113.
- [5] Dawson, R.J.P; Hollenstein, K; Locher, K.P. Uptake or extrusion: crystal structures of full ABC transporters suggest a common mechanism. *Mol. Microbiol.* **2007**, 65, 250–257.
- [6] Locher, K.P. Review. Structure and mechanism of ATP-binding cassette transporters. *Philos.Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **2009**, 364, 239–245.
- [7] Wilkens, S. Structure and mechanism of ABC transporters. *F1000Prime Rep.* **2015**, 7, 14.
- [8] Hollenstein, K; Dawson, R.J.P; Locher, K.P. Structure and mechanism of ABC transporter proteins. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2007**, 17, 412–418.
- [9] Dean, M. The genetics of ATP-binding cassette transporters. *Methods Enzymol.* **2005**, 400, 409–429.
- [10] Leslie, E.M; Deeley, R.G; Cole, S.P.C. Multidrug resistance proteins: role of P-glycoprotein, MRP1, MRP2, and BCRP (ABCG2) in tissue defense. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2005**, 204, 216–237.
- [11] Krishnamurthy, P; Schuetz, J.D. Role of ABCG2/BCRP in biology and medicine. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2006**, 46, 381–410.
- [12] Gottesman, M.M; Ambudkar, S.V. Overview: ABC transporters and human disease. *J. Bioenerg. Biomembr.* **2001**, 33, 453–458.
- [13] Glavinas, H; Krajcsi, P; Cserepes, J; Sarkadi, B. The role of ABC transporters in drug resistance, metabolism and toxicity. *Curr. Drug Deliv.* **2004**, 1, 27–42.
- [14] Dean, M; Annilo, T. Evolution of the ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily in vertebrates. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* **2005**, 6, 123–142.
- [15] Gottesman, M.M; Fojo, T; Bates, S.E. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters. *Nat. Rev. Cancer* **2002**, 2, 48–58.
- [16] 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.
- [17] O'Connor, R. The pharmacology of cancer resistance. *Anticancer Res.* **2007**, 27, 1267–1272.

- [18] Deeley, R.G; Westlake, C; Cole, S.P.C. Transmembrane transport of endo- and xenobiotics by mammalian ATP-binding cassette multidrug resistance proteins. *Physiol. Rev.* **2006**, *86*, 849–899.
- [19] Chen, Z; Shi, T; Zhang, L; Zhu, P; Deng, M; Huang, C; Hu, T; Jiang, L; Li, J. Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family in multidrug resistance: A review of the past decade. *Cancer Lett.* **2016**, *370*, 153–164.
- [20] Ozben, T. Mechanisms and strategies to overcome multiple drug resistance in cancer. *FEBS Lett.* **2006**, *580*, 2903–2909.
- [21] Doyle, L.A; Yang, W; Abruzzo, L.V; Krogmann, T; Gao, Y; Rishi, A.K; Ross, D.D. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* **1998**, *95*, 15665–15670.
- [22] 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.
- [23] Miyake, K; Mickley, L; Litman, T; Zhan, Z; Robey, R; Cristensen, B; Brangi, M; Greenberger, L; Dean, M; Fojo, T; Bates, S.E. Molecular cloning of cDNAs which are highly overexpressed in mitoxantrone-resistant cells: demonstration of homology to ABC transport genes. *Cancer Res.* **1999**, *59*, 8–13.
- [24] 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.
- [25] Xu; Liu, Y; Yang, Y; Bates, S; Zhang, J.-T. Characterization of oligomeric human half-ABC transporter ATP-binding cassette G2. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 19781–19789.
- [26] Ozvegy, C; Litman, T; Szakacs, G; Nagy, Z; Bates, S; Varadi, A; Sarkadi, B. Functional characterization of the human multidrug transporter, ABCG2, expressed in insect cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2001**, *285*, 111–117.
- [27] Noguchi, K; Katayama, K; Sugimoto, Y. Human ABC transporter ABCG2/BCRP expression in chemoresistance: basic and clinical perspectives for molecular cancer therapeutics. *Pharmacogenomics Pers. Med.* **2014**, *7*, 53–64.
- [28] 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.
- [29] 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.
- [30] Fetsch, P.A; Abati, A; Litman, T. Morisaki, K; Honjo, Y; Mittal, K; Bates, S.E. Localization of the ABCG2 mitoxantrone resistance-associated protein in normal tissues. *Cancer Lett.* **2006**, *235*, 84–92.

- [31] van Herwaarden, A.E; Schinkel, A.H. The function of breast cancer resistance protein in epithelial barriers, stem cells and milk secretion of drugs and xenotoxins. *Trends Pharmacol. Sci.* **2006**, *27*, 10–16.
- [32] van Herwaarden, A.E; Wagenaar, E; Merino, G; Jonker, J.W; Rosing, H; Beijnen, J.H; Schinkel, A.H. Multidrug transporter ABCG2/breast cancer resistance protein secretes riboflavin (vitamin B2) into milk. *Mol. Cell. Biol.* **2007**, *27*, 1247–1253.
- [33] Jonker, J.W; Merino, G; Musters, S; van Herwaarden, A.E; Bolscher, E; Wagenaar, E; Mesman, E; Dale, T.C; Schinkel, A.H. The breast cancer resistance protein BCRP (ABCG2) concentrates drugs and carcinogenic xenotoxins into milk. *Nat. Med.* **2005**, *11*, 127–129.
- [34] 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.
- [35] Zhou, S; Morris, J.J; Barnes, Y; Lan, L; Schuetz, J.D; Sorrentino, B.P. Bcrp1 gene expression is required for normal numbers of side population stem cells in mice, and confers relative protection to mitoxantrone in hematopoietic cells in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* **2002**, *99*, 12339–12344.
- [36] Zhou, S; Schuetz, J.D; Bunting, K.D; Colapietro, A.M; Sampath, J; Morris, J.J; Lagutina, I; Grosveld, G.C; Osawa, M; Nakauchi, H; Sorrentino, B.P. The ABC transporter Bcrp1/ABCG2 is expressed in a wide variety of stem cells and is a molecular determinant of the side-population phenotype. *Nat. Med.* **2001**, *7*, 1028–1034.
- [37] Ross, D.D; Yang, W; Abruzzo, L.V; Dalton, W.S; Schneider, E; Lage, H; Dietel, M; Greenberger, L; Cole, S.P; Doyle, L.A. Atypical multidrug resistance: breast cancer resistance protein messenger RNA expression in mitoxantrone-selected cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.* **1999**, *91*, 429–433.
- [38] Maliepaard, M; van Gastelen, M.A; Jong, L.A. de; Pluim, D; van Waardenburg, R.C; Ruevekamp-Helmers, M.C; Froot, B.G; Schellens, J.H. Overexpression of the BCRP/MXR/ABCP gene in a topotecan-selected ovarian tumor cell line. *Cancer Res.* **1999**, *59*, 4559–4563.
- [39] Yang, C.H; Schneider, E; Kuo, M.L; Volk, E.L; Rocchi, E; Chen, Y.C. BCRP/MXR/ABCP expression in topotecan-resistant human breast carcinoma cells. *Biochem. Pharmacol.* **2000**, *60*, 831–837.
- [40] Diestra, J.E; Scheffer, G.L; Catala, I; Maliepaard, M; Schellens, J.H.M; 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.

- [41] Mao, Q; Unadkat, J.D. Role of the breast cancer resistance protein (ABCG2) in drug transport. *AAPS J.* **2005**, *7*, E118-33.
- [42] 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.
- [43] Doyle, L.A; Ross, D.D. Multidrug resistance mediated by the breast cancer resistance protein BCRP (ABCG2). *Oncogene* **2003**, *22*, 7340–7358.
- [44] Honjo, Y; Hrycyna, C.A; Yan, Q.W; Medina-Perez, W.Y; Robey, R.W; van de Laar, A; 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.
- [45] Marquez, B; van Bambeke, F. ABC multidrug transporters: target for modulation of drug pharmacokinetics and drug-drug interactions. *Curr. Drug Targets* **2011**, *12*, 600–620.
- [46] Haslam, I.S; Wright, J.A; O'Reilly, D.A; Sherlock, D.J; Coleman, T; Simmons, N.L. Intestinal ciprofloxacin efflux: the role of breast cancer resistance protein (ABCG2). *Drug Metab. Dispos.* **2011**, *39*, 2321–2328.
- [47] Janvilisri, T; Shahi, S; Venter, H; Balakrishnan, L; van Veen, H.W. Arginine-482 is not essential for transport of antibiotics, primary bile acids and unconjugated sterols by the human breast cancer resistance protein (ABCG2). *Biochem. J.* **2005**, *385*, 419–426.
- [48] Lee, Y.-J; Kusuhara, H; Jonker, J.W; Schinkel, A.H; Sugiyama, Y. Investigation of efflux transport of dehydroepiandrosterone sulfate and mitoxantrone at the mouse blood-brain barrier: a minor role of breast cancer resistance protein. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2005**, *312*, 44–52.
- [49] 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.
- [50] Bruin, M. de; Miyake, K; Litman, T; Robey, R; Bates, S.E. Reversal of resistance by GF120918 in cell lines expressing the ABC half-transporter, MXR. *Cancer Lett.* **1999**, *146*, 117–126.
- [51] 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.
- [52] Rabindran, S.K; Ross, D.D; Doyle, L.A; Yang, W; Greenberger, L.M. Fumitremorgin C reverses multidrug resistance in cells transfected with the breast cancer resistance protein. *Cancer Res.* **2000**, *60*, 47–50.
- [53] Allen, J.D; van Loevezijn, A; Lakhai, J.M; van der Valk, M; van Tellingen, O; 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.
- [54] 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.
- [55] Gupta, A; Zhang, Y; Unadkat, J.D; Mao, Q. HIV protease inhibitors are inhibitors but not substrates of the human breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2). *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2004**, *310*, 334–341.
- [56] Dohse, M; Scharenberg, C; Shukla, S; Robey, R.W; Volkmann, T; Deeken, J.F; Brendel, C; Ambudkar, S.V; Neubauer, A; Bates, S.E. Comparison of ATP-binding cassette transporter interactions with the tyrosine kinase inhibitors imatinib, nilotinib, and dasatinib. *Drug Metab. Dispos.* **2010**, *38*, 1371–1380.
- [57] Zhang, S; Yang, X; Morris, M.E. Flavonoids are inhibitors of breast cancer resistance protein (ABCG2)-mediated transport. *Mol. Pharmacol.* **2004**, *65*, 1208–1216.
- [58] Ma, Y; Wink, M. The beta-carboline alkaloid harmine inhibits BCRP and can reverse resistance to the anticancer drugs mitoxantrone and camptothecin in breast cancer cells. *Phytother. Res.* **2010**, *24*, 146–149.
- [59] Kühnle, M; Egger, M; Müller, C; Mahringer, A; Bernhardt, G; Fricker, G; König, B; 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.
- [60] Valdameri, G; Genoux-Bastide, E; Peres, B; Gauthier, C; Guitton, J; Terreux, R; Winnischofer, S.M.B; Rocha, M.E.M; Boumendjel, A; Di Pietro, A. Substituted chromones as highly potent nontoxic inhibitors, specific for the breast cancer resistance protein. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 966–970.
- [61] Valdameri, G; Gauthier, C; Terreux, R; Kachadourian, R; Day, B.J; Winnischofer, S.M.B; Rocha, M.E.M; Frchet, V; Ronot, X; Di Pietro, A; Boumendjel, A. Investigation of chalcones as selective inhibitors of the breast cancer resistance protein: critical role of methoxylation in both inhibition potency and cytotoxicity. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 3193–3200.
- [62] 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.
- [63] Yuan, J; Wong, I.L.K; Jiang, T; Wang, S.W; Liu, T; Wen, B.J; Chow, L.M.C; Wan Sheng, B. Synthesis of methylated quercetin derivatives and their reversal activities on P-gp- and BCRP-mediated multidrug resistance tumour cells. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *54*, 413–422.
- [64] Juvale, K; Gallus, J; Wiese, M. Investigation of quinazolines as inhibitors of breast cancer resistance protein (ABCG2). *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 7858–7873.

- [65] Juvale, K; Pape, V.F.S; Wiese, M. Investigation of chalcones and benzochalcones as inhibitors of breast cancer resistance protein. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 346–355.
- [66] Juvale, K; Wiese, M. 4-Substituted-2-phenylquinazolines as inhibitors of BCRP. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 6766–6769.
- [67] Schinkel, A.H. The physiological function of drug-transporting P-glycoproteins. *Semin. Cancer Biol.* **1997**, *8*, 161–170.
- [68] Huls, M; Russel, F.G.M; Masereeuw, R. The role of ATP binding cassette transporters in tissue defense and organ regeneration. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2009**, *328*, 3–9.
- [69] Ambudkar, S.V; Kimchi-Sarfaty, C; Sauna, Z.E; Gottesman, M.M. P-glycoprotein: from genomics to mechanism. *Oncogene* **2003**, *22*, 7468–7485.
- [70] Juliano, R.L; Ling, V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim. Biophys. Acta* **1976**, *455*, 152–162.
- [71] Chen, C.J; Chin, J.E; Ueda, K; Clark, D.P; Pastan, I; Gottesman, M.M; Roninson, I.B. Internal duplication and homology with bacterial transport proteins in the *mdr1* (P-glycoprotein) gene from multidrug-resistant human cells. *Cell* **1986**, *47*, 381–389.
- [72] Zhou, S.-F. Structure, function and regulation of P-glycoprotein and its clinical relevance in drug disposition. *Xenobiotica* **2008**, *38*, 802–832.
- [73] Kimura, Y; Morita, S.-Y; Matsuo, M; Ueda, K. Mechanism of multidrug recognition by MDR1/ABCB1. *Cancer Sci.* **2007**, *98*, 1303–1310.
- [74] Stenham, D.R; Campbell, J.D; Sansom, M.S.P; Higgins, C.F; Kerr, I.D; Linton, K.J. An atomic detail model for the human ATP binding cassette transporter P-glycoprotein derived from disulfide cross-linking and homology modeling. *FASEB J.* **2003**, *17*, 2287–2289.
- [75] Globisch, C; Pajeva, I.K; Wiese, M. Identification of putative binding sites of P-glycoprotein based on its homology model. *ChemMedChem* **2008**, *3*, 280–295.
- [76] Becker, J.-P; Depret, G; van Bambeke, F; Tulkens, P.M; Prevost, M. Molecular models of human P-glycoprotein in two different catalytic states. *BMC Struct. Biol.* **2009**, *9*, 3.
- [77] Loo, T.W; Bartlett, M.C; Clarke, D.M. Transmembrane segment 1 of human P-glycoprotein contributes to the drug-binding pocket. *Biochem. J.* **2006**, *396*, 537–545.
- [78] Loo, T.W; Bartlett, M.C; Clarke, D.M. Transmembrane segment 7 of human P-glycoprotein forms part of the drug-binding pocket. *Biochem. J.* **2006**, *399*, 351–359.
- [79] Pleban, K; Kopp, S; Csaszar, E; Peer, M; Hrebicek, T; Rizzi, A; Ecker, G.F; Chiba, P. P-glycoprotein substrate binding domains are located at the transmembrane domain/transmembrane domain interfaces: a combined photoaffinity labeling-protein homology modeling approach. *Mol. Pharmacol.* **2005**, *67*, 365–374.
- [80] O'Mara, M.L; Tieleman, D.P. P-glycoprotein models of the apo and ATP-bound states based on homology with Sav1866 and MalK. *FEBS Lett.* **2007**, *581*, 4217–4222.

- [81] Aller, S.G; Yu, J; Ward, A; Weng, Y; Chittaboina, S; Zhuo, R; Harrell, P.M; Trinh, Y.T; Zhang, Q; Urbatsch, I.L; Chang, G. Structure of P-glycoprotein reveals a molecular basis for poly-specific drug binding. *Science* **2009**, *323*, 1718–1722.
- [82] Jin, M.S; Oldham, M.L; Zhang, Q; Chen, J. Crystal structure of the multidrug transporter P-glycoprotein from *Caenorhabditis elegans*. *Nature* **2012**, *490*, 566–569.
- [83] Gerlach, J.H; Endicott, J.A; Juranka, P.F; Henderson, G; Sarangi, F; Deuchars, K.L; Ling, V. Homology between P-glycoprotein and a bacterial haemolysin transport protein suggests a model for multidrug resistance. *Nature* **1986**, *324*, 485–489.
- [84] Gottesman, M.M; Pastan, I. Biochemistry of multidrug resistance mediated by the multidrug transporter. *Annu. Rev. Biochem.* **1993**, *62*, 385–427.
- [85] Raviv, Y; Pollard, H.B; Bruggemann, E.P; Pastan, I; Gottesman, M.M. Photosensitized labeling of a functional multidrug transporter in living drug-resistant tumor cells. *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 3975–3980.
- [86] Higgins, C.F; Gottesman, M.M. Is the multidrug transporter a flippase? *Trends Biochem. Sci.* **1992**, *17*, 18–21.
- [87] Matsson, P; Englund, G; Ahlin, G; Bergstrom, C.A.S; 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.
- [88] Omote, H; Al-Shawi, M.K. Interaction of transported drugs with the lipid bilayer and P-glycoprotein through a solvation exchange mechanism. *Biophys. J.* **2006**, *90*, 4046–4059.
- [89] Szakacs, G; Varadi, A; Ozvegy-Laczka, C; Sarkadi, B. The role of ABC transporters in drug absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME-Tox). *Drug Discov. Today* **2008**, *13*, 379–393.
- [90] Mechetner, E; Kyshtoobayeva, A; Zonis, S; Kim, H; Stroup, R; Garcia, R; Parker, R.J; Fruehauf, J.P. Levels of multidrug resistance (MDR1) P-glycoprotein expression by human breast cancer correlate with in vitro resistance to taxol and doxorubicin. *Clin. Cancer Res.* **1998**, *4*, 389–398.
- [91] Schwarzenbach, H. Expression of MDR1/P-glycoprotein, the multidrug resistance protein MRP, and the lung-resistance protein LRP in multiple myeloma. *Med. Oncol.* **2002**, *19*, 87–104.
- [92] Dalton, W.S. Detection of multidrug resistance gene expression in multiple myeloma. *Leukemia* **1997**, *11*, 1166–1169.
- [93] Zhou, D.C; Zittoun, R; Marie, J.P. Expression of multidrug resistance-associated protein (MRP) and multidrug resistance (MDR1) genes in acute myeloid leukemia. *Leukemia* **1995**, *9*, 1661–1666.
- [94] Broxterman, H.J; Sonneveld, P; van Putten, W.J; Lankelma, J; Eekman, C.A; Ossenkoppele, G.J; Pinedo, H.M; Lowenberg, B; Schuurhuis, G.J. P-glycoprotein in primary acute

- myeloid leukemia and treatment outcome of idarubicin/cytosine arabinoside-based induction therapy. *Leukemia* **2000**, *14*, 1018–1024.
- [95] Kitazaki, T; Oka, M; N., Y; Tsurutani, J; Doi, S; Yasunaga, M; Takemura, M; Yabuuchi, H; Soda, H; Kohno, S. Gefitinib, an EGFR tyrosine kinase inhibitor, directly inhibits the function of P-glycoprotein in multidrug resistant cancer cells. *Lung cancer* **2005**, *49*, 337–343.
- [96] Wang, Y.-H; Li, Y; Yang, S.-L; Yang, L. Classification of substrates and inhibitors of P-glycoprotein using unsupervised machine learning approach. *J. Chem. Inf. Model.* **2005**, *45*, 750–757.
- [97] Breedveld, P; Beijnen, J.H; Schellens, J.H.M. Use of P-glycoprotein and BCRP inhibitors to improve oral bioavailability and CNS penetration of anticancer drugs. *Trends Pharmacol. Sci.* **2006**, *27*, 17–24.
- [98] Wilson, W.H; Jamis-Dow, C; Bryant, G; Balis, F.M; Klecker, R.W; Bates, S.E; Chabner, B.A; Steinberg, S.M; Kohler, D.R; Wittes, R.E. Phase I and pharmacokinetic study of the multidrug resistance modulator dexverapamil with EPOCH chemotherapy. *J. Clin. Oncol.* **1995**, *13*, 1985–1994.
- [99] Amin, M.L. P-glycoprotein Inhibition for Optimal Drug Delivery. *Drug target insights* **2013**, *7*, 27–34.
- [100] 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**, *42*, 13339–13346.
- [101] 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.
- [102] Adhikary, A; Buschmann, V; Muller, C; Sauer, M. Ensemble and single-molecule fluorescence spectroscopic study of the binding modes of the bis-benzimidazole derivative Hoechst 33258 with DNA. *Nucleic Acids Res.* **2003**, *31*, 2178–2186.
- [103] Parish, C.R. Fluorescent dyes for lymphocyte migration and proliferation studies. *Immunol. Cell. Biol.* **1999**, *77*, 499–508.
- [104] Shapiro, A.B; Ling, V. Reconstitution of drug transport by purified P-glycoprotein. *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 16167–16175.
- [105] Shapiro, A.B; Ling, V. Using purified P-glycoprotein to understand multidrug resistance. *J. Bioenerg. Biomembr.* **1995**, *27*, 7–13.
- [106] 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.
- [107] Jonker, J.W; Buitelaar, M; Wagenaar, E; Van Der Valk, M. A; Scheffer, G.L; Scheper, R.J; Plosch, T; Kuipers, F; Elferink, R.P; 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. U.S.A* **2002**, *99*, 15649–15654.
- [108] 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.
- [109] Feller, N; Broxterman, H.J; Wahrer, D.C; 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.
- [110] 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.
- [111] Tiberghien, F; Loor, F. Ranking of P-glycoprotein substrates and inhibitors by a calcein-AM fluorometry screening assay. *Anticancer Drugs* **1996**, *7*, 568–578.
- [112] 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.
- [113] Eneroth, A; Astrom, E; Hoogstraate, J; Schrenk, D; Conrad, S; Kauffmann, H.M; Gjellan, K. Evaluation of a vincristine resistant Caco-2 cell line for use in a calcein AM extrusion screening assay for P-glycoprotein interaction. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2001**, *12*, 205–214.
- [114] Homolya, L; Hollo, 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.
- [115] Juvale, K. Development of new breast cancer resistance protein inhibitors. Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn **2013**.
- [116] Alagarsamy, V; Salomon, V.R; Vanikavitha, G; Paluchamy, V; Chandran, M.R; Sujin, A.A; Thangathirupathy, A; Amuthalakshmi, S; Revathi, R. Synthesis, analgesic, anti-inflammatory and antibacterial activities of some novel 2-phenyl-3-substituted quinazolin-4(3H) ones. *Biol. Pharm. Bull* **2002**, *25*, 1432–1435.
- [117] Iino, T; Sasaki, Y; Bamba, M; Mitsuya, M; Ohno, A; Kamata, K; Hosaka, H; Maruki, H; Futamura, M; Yoshimoto, R; Ohyama, S; Sasaki, K; Chiba, M; Ohtake, N; Nagata, Y; Eiki, J.-I; Nishimura, T. Discovery and structure-activity relationships of a novel class of quinazoline glucokinase activators. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 5531–5538.

- [118] Jatav, V; Mishra, P; Kashaw, S; Stables, J.P. CNS depressant and anticonvulsant activities of some novel 3-5-substituted 1,3,4-thiadiazole-2-yl-2-styryl quinazoline-4(3H)-ones. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 1945–1954.
- [119] Micale, N; Postorino, G; Grasso, S; Zappala, M; Zuccala, G; Ferreri, G; Sarro, G. de Synthesis of novel 3-(alkylcarbamoyl)-2-aryl-1,2-dihydro-6,7-(methylenedioxy)-3H-quinazolin-4-ones as anticonvulsant agents. *Chem. Biodivers.* **2006**, *3*, 304–311.
- [120] Kohno, S.W; Murata, T; Kinoshita, T; Ohata, K. Effects of the new antiallergic drug 11-oxo-11H-pyrido2,1-b quinazoline-2-carboxylic acid on type I allergic reactions. *Arzneimittel-Forschung* **1986**, *36*, 1619–1627.
- [121] Guan, J; Zhang, Q; O'Neil, M; Obaldia, N; Ager, A; Gerena, L; Lin, A.J. Antimalarial activities of new pyrrolo3,2-fquinazoline-1,3-diamine derivatives. *Antimicrob. Agents Chemother* **2005**, *49*, 4928–4933.
- [122] Shibata, S; Satake, N; Suh, T.K; Ishida, Y; Ueda, S; Follmer, C; Flores, F. Potent alpha-adrenoceptor blocking action of SGB-1534, a new quinazoline antihypertensive agent in vitro experiments. *Gen. Pharmacol.* **1986**, *17*, 143–149.
- [123] Loev, B; Jen, T; McLean, R.A. A novel antihypertensive agent: 1,2,3,5-tetrahydroimidazo(2,1-b)quinazoline. *Experientia* **1971**, *27*, 875.
- [124] Selvam T. P; Kumar P.V. Quinazoline Marketed drugs – A Review. *Research in Pharmacy I* **2011**, *1*, 1–21.
- [125] Jiang, S; Zeng, Q; Gettayacamin, M; Tungtaeng, A; Wannaying, S; Lim, A; Hansukjariya, P; Okunji, C.O; Zhu, S; Fang, D. Antimalarial activities and therapeutic properties of febrifugine analogs. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, *49*, 1169–1176.
- [126] Lago, J; Rodriguez, L.P; Blanco, L; Vieites, J.M; Cabado, A.G. Tetrodotoxin, an Extremely Potent Marine Neurotoxin: Distribution, Toxicity, Origin and Therapeutical Uses. *Mar. Drugs* **2015**, *13*, 6384–6406.
- [127] Zhou, L; Schmidt, K; Nelson, F.R; Zelesky, V; Troutman, M.D; Feng, B. The effect of breast cancer resistance protein and P-glycoprotein on the brain penetration of flavopiridol, imatinib mesylate (Gleevec), prazosin, and 2-methoxy-3-(4-(2-(5-methyl-2-phenyloxazol-4-yl)ethoxy)phenyl)propanoic acid (PF-407288) in mice. *Drug Metab. Dispos.* **2009**, *37*, 946–955.
- [128] Enokizono, J; Kusuhara, H; Ose, A; Schinkel, A.H; Sugiyama, Y. Quantitative investigation of the role of breast cancer resistance protein (Bcrp/Abcg2) in limiting brain and testis penetration of xenobiotic compounds. *Drug Metab. Dispos.* **2008**, *36*, 995–1002.
- [129] 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.

- [130] Polli, J.W; Olson, K.L; Chism, J.P; John-Williams, L.S; Yeager, R.L; Woodard, S.M; Otto, V; Castellino, S; Demby, V.E. An unexpected synergist role of P-glycoprotein and breast cancer resistance protein on the central nervous system penetration of the tyrosine kinase inhibitor lapatinib (N-{3-chloro-4-(3-fluorobenzyl)oxyphenyl}-6-5-({2-(methylsulfonyl)ethylamino }methyl)-2-furyl-4-quinazolinamine; GW572016). *Drug Metab. Dispos.* **2009**, *37*, 439–442.
- [131] Agarwal, S; Sane, R; Gallardo, J.L; Ohlfest, J.R; Elmquist, W.F. Distribution of gefitinib to the brain is limited by P-glycoprotein (ABCB1) and breast cancer resistance protein (ABCG2)-mediated active efflux. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2010**, *334*, 147–155.
- [132] Vries, N.A. de; Buckle, T; Zhao, J; Beijnen, J.H; Schellens, J.H.M; van Tellingen, O. Restricted brain penetration of the tyrosine kinase inhibitor erlotinib due to the drug transporters P-gp and BCRP. *Invest. New Drugs* **2012**, *30*, 443–449.
- [133] Lainey, E; Sebert, M; Thepot, S; Scoazec, M; Bouteloup, C; Leroy, C; Botton, S. de; Galluzzi, L; Fenaux, P; Kroemer, G. Erlotinib antagonizes ABC transporters in acute myeloid leukemia. *Cell Cycle* **2012**, *11*, 4079–4092.
- [134] Leggas, M; Panetta, J.C; Zhuang, Y; Schuetz, J.D; Johnston, B; Bai, F; Sorrentino, B; Zhou, S; Houghton, P.J; Stewart, C.F. Gefitinib modulates the function of multiple ATP-binding cassette transporters in vivo. *Cancer Res.* **2006**, *66*, 4802–4807.
- [135] Yanase, K; Tsukahara, S; Asada, S; Ishikawa, E; Imai, Y; Sugimoto, Y. Gefitinib reverses breast cancer resistance protein-mediated drug resistance. *Mol. Cancer Ther.* **2004**, *3*, 1119–1125.
- [136] Wang, Y.-J; Zhang, Y.-K; Kathawala, R.J; Chen, Z.-S. Repositioning of Tyrosine Kinase Inhibitors as Antagonists of ATP-Binding Cassette Transporters in Anticancer Drug Resistance. *Cancers* **2014**, *6*, 1925–1952.
- [137] Pick, A; Wiese, M. Tyrosine kinase inhibitors influence ABCG2 expression in EGFR-positive MDCK BCRP cells via the PI3K/Akt signaling pathway. *ChemMedChem* **2012**, *7*, 650–662.
- [138] Pick, A.-K. Funktionelle Untersuchungen des ABC-Transporters breast cancer resistance protein (BCRP). Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn **2011**.
- [139] Garofalo, A; Farce, A; Ravez, S; Lemoine, A; Six, P; Chavatte, P; Goossens, L; Depreux, P. Synthesis and structure-activity relationships of (aryloxy)quinazoline ureas as novel, potent, and selective vascular endothelial growth factor receptor-2 inhibitors. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 1189–1204.

- [140] Zeng, Z.S; He, Q.-Q; Liang, Y.-H; Feng, X.-Q; Chen, F.-E; Clercq, E. de; Balzarini, J; Pannecouque, C. Hybrid diarylbenzopyrimidine non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors as promising new leads for improved anti-HIV-1 chemotherapy. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 5039–5047.
- [141] Furuta, T; Sakai, T; Senga, T; Osawa, T; Kubo, K; Shimizu, T; Suzuki, R; Yoshino, T; Endo, M; Miwa, A. Identification of potent and selective inhibitors of PDGF receptor autophosphorylation. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 2186–2192.
- [142] Sreedhar, B; Reddy, P; Reddy, M. Catalyst-Free and Base-Free Water-Promoted SNAr Reaction of Heteroaryl Halides with Thiols. *Synthesis* **2009**, *2009*, 1732–1738.
- [143] Hayeshi, R; Masimirembwa, C; Mukanganyama, S; Ungell, A.-L.B. The potential inhibitory effect of antiparasitic drugs and natural products on P-glycoprotein mediated efflux. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2006**, *29*, 70–81.
- [144] Ambudkar, S.V; Dey, S; Hrycyna, C.A; Ramachandra, M; Pastan, I; Gottesman, M.M. Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1999**, *39*, 361–398.
- [145] Pussard, E; Merzouk, M; Barennes, H. Increased uptake of quinine into the brain by inhibition of P-glycoprotein. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2007**, *32*, 123–127.
- [146] Rijpma, S.R; van den Heuvel, J. J; van der Velden, M; Sauerwein, R.W; Russel, F.G; Koenderink, J.B. Atovaquone and quinine anti-malarials inhibit ATP binding cassette transporter activity. *Malar. J.* **2014**, *13*, 359.
- [147] Merino, G; Alvarez, A.I; Pulido, M.M; Molina, A.J; Schinkel, A.H; Prieto, J.G. Breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) transports fluoroquinolone antibiotics and affects their oral availability, pharmacokinetics, and milk secretion. *Drug Metab. Dispos.* **2006**, *34*, 690–695.
- [148] Marques, E.F; Bueno, M.A; Duarte, P.D; Silva, L.R; Martinelli, A.M; dos Santos, C.Y; Severino, R.P; Bromme, D; Vieira, P.C; Correa, A.G. Evaluation of synthetic acridones and 4-quinolinones as potent inhibitors of cathepsins L and V. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *54*, 10–21.
- [149] Ding, D; Li, X; Wang, X; Du, Y; Shen, J. Microwave-assisted rapid and straightforward synthesis of 2-aryl-4-quinolones from acylated 2'-aminoacetophenones. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 6997–6999.
- [150] Jones, C.P; Anderson, K.W; Buchwald, S.L. Sequential Cu-catalyzed amidation-base-mediated camps cyclization: a two-step synthesis of 2-Aryl-4-quinolones from o-halophenones. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 7968–7973.
- [151] Reitsema, R.H. The chemistry of 4-hydroxyquinolines. *Chem. Rev.* **1948**, *43*, 43–68.
- [152] Ewing, G.W; Steck, E.A. Absorption spectra of heterocyclic compounds; quinolinols and isoquinolinols. *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, *68*, 2181–2187.

- [153] Horta, P; Kus, N; Henriques, M.S; Paixao, J.A; Coelho, L; Nogueira, F; O'Neill, P.M; Fausto, R; Cristiano, M.L. Quinolone-Hydroxyquinoline Tautomerism in Quinolone 3-Esters. Preserving the 4-Oxoquinoline Structure To Retain Antimalarial Activity. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 12244–12257.
- [154] Nakanishi, K; Solomon, P.H. Infrared absorption spectroscopy, 2nd ed., Holden-Day, San Francisco **1977**.
- [155] Saari, R; Torma, J.-C. Nevalainen, T. Microwave-assisted synthesis of quinoline, isoquinoline, quinoxaline and quinazoline derivatives as CB2 receptor agonists. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 939–950.
- [156] Eger, K; Troschütz, R; Roth, H.J. Arzneistoffanalyse: Reaktivität - Stabilität - Analytik ; mit 28 Tabellen, 4th ed., Dt. Apotheker-Verl., Stuttgart **1999**.
- [157] Hempelmann, E. Hemozoin biocrystallization in Plasmodium falciparum and the anti-malarial activity of crystallization inhibitors. *Parasitol. Res.* **2007**, *100*, 671–676.
- [158] Egan, T.J; Ross, D.C; Adams, P.A. Quinoline anti-malarial drugs inhibit spontaneous formation of beta-haematin (malaria pigment). *FEBS Lett.* **1994**, *352*, 54–57.
- [159] Staines, H.M; Krishna, S. Treatment and Prevention of Malaria: Antimalarial Drug Chemistry, Action and Use, 1st ed., Springer-Verlag, s.l. **2012**.
- [160] Egan, T.J. Interactions of quinoline antimalarials with hemozoin in solution. *J. Inorg. Biochem.* **2006**, *100*, 916–926.
- [161] Slater, A.F. Chloroquine: mechanism of drug action and resistance in Plasmodium falciparum. *Pharmacol. Ther.* **1993**, *57*, 203–235.
- [162] Olafson, K.N; Ketchum, M.A; Rimer, J.D; Vekilov, P.G. Mechanisms of hemozoin crystallization and inhibition by the antimalarial drug chloroquine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* **2015**, *112*, 4946–4951.
- [163] Dios, A.C. de; Casabianca, L.B; Kosar, A; Roepe, P.D. Structure of the amodiaquine-FPIX mu oxo dimer solution complex at atomic resolution. *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 8078–8084.
- [164] Schwedhelm, K.F; Horstmann, M; Faber, J.H; Reichert, Y; Buchner, M; Bringmann, G; Faber, C. Spin State of Chloroquine-Heme Complexes: Formation of a Hemin Tetramer Adduct. *TOSPECJ* **2008**, *2*, 10–18.
- [165] Leed, A; DuBay, K; Ursos, L.M.B; Sears, D; Dios, A.C. de; Roepe, P.D. Solution structures of antimalarial drug-heme complexes. *Biochemistry* **2002**, *41*, 10245–10255.
- [166] Dios, A.C. de; Tycko, R; Ursos, L.M.B; Roepe, P.D. NMR Studies of Chloroquine–Ferriprotoporphyrin IX Complex. *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 5821–5825.
- [167] Egan, T.J; Ncokazi, K.K. Effects of solvent composition and ionic strength on the interaction of quinoline antimalarials with ferriprotoporphyrin IX. *J. Inorg. Biochem.* **2004**, *98*, 144–152.

- [168] Ncokazi, K.K; Egan, T.J. A colorimetric high-throughput beta-hematin inhibition screening assay for use in the search for antimalarial compounds. *Anal. Biochem.* **2005**, 338, 306–319.
- [169] Brunner, R.O. A Novel Antimalarial Lead Compound: In Vitro Properties and Mode of Action Studies. Dissertation, Universität Basel **2011**.
- [170] Vargas, S. Développement d'une méthodologie et optimisation d'un test colorimétrique pour la recherche de substances antimalariques d'origine végétale. Dissertation, Genf **2009**.
- [171] Sharma, M; Chaturvedi, V; Manju, Y.K; Bhatnagar, S; Srivastava, K; Puri, S.K; Chauhan, P.M. Substituted quinolinyl chalcones and quinolinyl pyrimidines as a new class of anti-infective agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, 44, 2081–2091.
- [172] Sashidhara, K.V; Avula, S.R; Mishra, V; Palnati, G.R; Singh, L.R; Singh, N; Chhonker, Y.S; Swami, P; Bhatta, R.S; Palit, G. Identification of quinoline-chalcone hybrids as potential antiulcer agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, 89, 638–653.
- [173] Pick, A; Müller, H; Mayer, R; Haenisch, B; Pajeva, I.K; Weigt, M; Bönisch, H; Müller, C.E; Wiese, M. Structure-activity relationships of flavonoids as inhibitors of breast cancer resistance protein (BCRP). *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, 19, 2090–2102.
- [174] Imai, Y; Tsukahara, S; Asada, S; Sugimoto, Y. Phytoestrogens/flavonoids reverse breast cancer resistance protein/ABCG2-mediated multidrug resistance. *Cancer Res.* **2004**, 64, 4346–4352.
- [175] Zhang, S; Yang, X; Coburn, R.A; Morris, M.E. Structure activity relationships and quantitative structure activity relationships for the flavonoid-mediated inhibition of breast cancer resistance protein. *Biochem. Pharmacol.* **2005**, 70, 627–639.
- [176] 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.
- [177] Lopez, S.E; Rosales, M.E; Salazar, J; Urdaneta, N; Ferrer, R; Angel, J.E; Charris, J.E. Synthesis of 3-Hydroxy-2-Phenyl-1,8-Naphthyridin-4(1H)-one derivatives. *Heterocycl. Commun.* **2003**, 9.
- [178] Yushchenko, D.A; Shvadchak, V.V; Klymchenko, A.S; Duportail, G; Mély, Y; Pivovarenko, V.G. 2-Aryl-3-hydroxyquinolones, a new class of dyes with solvent dependent dual emission due to excited state intramolecular proton transfer. *New J. Chem.* **2006**, 30, 774–781.
- [179] Krupkova, S; Soural, M; Hlavac, J; Hradil, P. Solid-phase synthesis of 3-hydroxy-6-nitroquinolin-4(1H)-ones with two diversity positions. *J. Comb. Chem.* **2009**, 11, 951–955.
- [180] Kulago, A.A; Mes, E.M; Klok, M; Meetsma, A; Brouwer, A.M; Feringa, B.L. Ultrafast light-driven nanomotors based on an acridane stator. *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 666–679.

- [181] Shi, Z.-H; Li, N.-G; Tang, Y.-P; Wei-Li; Lian-Yin; Yang, J.-P; Hao-Tang; Duan, J.A. Metabolism-based synthesis, biologic evaluation and SARs analysis of O-methylated analogs of quercetin as thrombin inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *54*, 210–222.
- [182] Gobbi, S; Rampa, A; Bisi, A; Belluti, F; Piazzzi, L; Valenti, P; Caputo, A; Zampiron, A; Carrara, M. Synthesis and biological evaluation of 3-alkoxy analogues of flavone-8-acetic acid. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 3662–3669.
- [183] Budriesi, R; Bisi, A; Ioan, P; Rampa, A; Gobbi, S; Belluti, F; Piazzzi, L; Valenti, P; Chiarini, A. 1,4-Dihydropyridine derivatives as calcium channel modulators: the role of 3-methoxy-flavone moiety. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 3423–3430.
- [184] Bernini, R; Crisante, F; Ginnasi, M.C. A convenient and safe O-methylation of flavonoids with dimethyl carbonate (DMC). *Molecules* **2011**, *16*, 1418–1425.
- [185] Reza, V.R.M; Abbas H. Cytotoxicity and Antimicrobial Activity of Harman Alkaloids. *J. Pharmacol. Toxicol.* **2007**, *2*, 677–680.
- [186] Moloudizargari, M; Mikaili, P; Aghajanshakeri, S; Asghari, M.H; Shayegh, J. Pharmacological and therapeutic effects of Peganum harmala and its main alkaloids. *Pharmacogn. Rev.* **2013**, *7*, 199–212.
- [187] Patel, K; Gadewar, M; Tripathi, R; Prasad, S.K; Patel, D.K. A review on medicinal importance, pharmacological activity and bioanalytical aspects of beta-carboline alkaloid “Harmine”. *Asian Pac. J. Trop. Biomed* **2012**, *2*, 660–664.
- [188] Buckholtz, N.S; Boggan, W.O. Effects of tetrahydro- β -carbolines on monoamine oxidase and serotonin uptake in mouse brain. *Biochem. Pharmacol.* **1976**, *25*, 2319–2321.
- [189] Szolomajer-Csikos, O; Beery, E; Kosa, L; Rajnai, Z; Jani, M; Hetenyi, A; Jakab, K.T; Krajcsi, P; Toth, G.K. Synthesis and ABCG2 inhibitory activity of novel funitremorgin C analogs--specificity and structure activity correlations. *Med. Chem* **2013**, *9*, 494–509.
- [190] van Loevezijn, A; Allen, J.D; Schinkel, A.H; Koomen, G.J. Inhibition of BCRP-mediated drug efflux by funitremorgin-type indolyl diketopiperazines. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 29–32.
- [191] Abdelfatah, S.A.A; Efferth, T. Cytotoxicity of the indole alkaloid reserpine from *Rauwolfia serpentina* against drug-resistant tumor cells. *Phytomedicine* **2015**, *22*, 308–318.
- [192] Steggemann K. Design und Synthese neuartiger Inhibitoren für den ABC-Transporter Breast Cancer Resistance Protein. Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn **2011**.
- [193] Hadjaz, F; Yous, S; Lebegue, N; Berthelot, P; Carato, P. A mild and efficient route to 2-benzyl tryptamine derivatives via ring-opening of β -carbolines. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 10004–10008.
- [194] Möllmann, L. Benzimidazol-Analoga als Modulatoren von ABC-Transportern. Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn **2011**.

- [195] Chou, P.-T; Liu, Y.-I; Wu, G.-R; Shiao, M.-Y; Yu, W.-S; Cheng, C.-C; Chang, C.-P. Proton-Transfer Tautomerism of β -Carbolines Mediated by Hydrogen-Bonded Complexes. *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 10674–10683.
- [196] Jiang, W; Zhang, X; Sui, Z. Potassium superoxide as an alternative reagent for Winterfeldt oxidation of beta-carbolines. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 43–46.
- [197] Jiang, W; Sui, Z; Macielag, M.J; Walsh, S.P; Fiordeliso, J.J; Lanter, J.C; Guan, J; Qiu, Y; Kraft, P; Bhattacharjee, S; Craig, E; Haynes-Johnson, D; John, T.M; Clancy, J. Furoyl and benzofuroyl pyrroloquinolones as potent and selective PDE5 inhibitors for treatment of erectile dysfunction. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 441–444.
- [198] Cao, R; Chen, Q; Hou, X; Chen, H; Guan, H; Ma, Y; Peng, W; Xu, A. Synthesis, acute toxicities, and antitumor effects of novel 9-substituted beta-carboline derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 4613–4623.
- [199] 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**.
- [200] Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* **1983**, *65*, 55–63.
- [201] Kawabata, S; Oka, M; Shiozawa, K; Tsukamoto, K; Nakatomi, K; Soda, H; Fukuda, M; Ikegami, Y; Sugahara, K; Yamada, Y; Kamihira, S; Doyle, L.A; Ross, D.D; Kohno, S. Breast cancer resistance protein directly confers SN-38 resistance of lung cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2001**, *280*, 1216–1223.
- [202] 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.
- [203] Sarkadi, B; Telbisz, A. WO 2013/128217A1 **2013**.
- [204] Sarkadi, B; Price, E.M; Boucher, R.C; Germann, U.A; Scarborough, G.A. Expression of the human multidrug resistance cDNA in insect cells generates a high activity drug-stimulated membrane ATPase. *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 4854–4858.
- [205] Bamdad, C.C. US20090069367 A1 **2009**.
- [206] Müller, H; Klinkhammer, W; Globisch, C; Kassack, M.U; Pajeva, I.K; Wiese, M. New functional assay of P-glycoprotein activity using Hoechst 33342. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 7470–7479.
- [207] Müller, H; Pajeva, I.K; Globisch, C; Wiese, M. Functional assay and structure-activity relationships of new third-generation P-glycoprotein inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 2448–2462.

- [208] Sterz K. Funktionelle Untersuchung von Benzimidazolen und Acridonsäureamiden als Modulatoren des ABC-Transporters ABCB1. Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn **2012**.
- [209] Crosland-Taylor, P.J. A device for counting small particles suspended in a fluid through a tube. *Nature* **1953**, *171*, 37–38.
- [210] Macey, M.G. (Ed.) Flow Cytometry: Principles and Applications, Humana Press Inc, Totowa, NJ **2007**.
- [211] 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.

Anhang

Abkürzungsverzeichnis

ABC- Transporter	ATP-binding-casette-Transporter
ABCG2 (BCRP, ABCP, MXR)	Breast Cancer Resistance Protein
ABCB1(P-gp, MDR1)	P-Glycoprotein
ABCC1 (MRP1)	Multidrug resistance-associated protein 1
ADP	Adenosindiphosphat
ALD	Adrenoleukodystrophie
AML	Akute Myeloische Leukämie
ATP	Adenosintriphosphat
äq.	äquivalent
BOC-Anhydrid	Di- <i>tert</i> -butyldicarbonat
Calcein-AM	Calcein-Acetoxymethylester
Cs A	Cyclosporin A
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
DDQ	2,3-Dichlor-5,6-dicyano-1,4-benzochinon
DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EA	Elementaranalyse
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EtOH	Ethanol
FPIX	Ferriprotoporphyrin IX
FTC	Fumitremorgin C
FTIR	Fourier-Transformations-Infrarotspektrometer
GFP	green fluorescent protein
HCl	Salzsäure
HVC-Modell	Hydrophobic Vacuum Cleaner-Modell
IC ₅₀	halbmaximale inhibitorische Konzentration
Isoprop.	Isopropanol
k.A.	keine inhibitorische Aktivität
KHP	Krebs-HEPES-Puffer
<i>M</i>	Mittelwert
MDR	Multidrug Resistance
MeOH	Methanol
Min.	Minute

MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetra-
zolium-bromid	
MW	Mikrowelle
NBD	Nucleotidbindungsdomäne
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie
J	Kopplungskonstante
δ	chemische Verschiebung
ppm	parts per million
<i>s</i>	Singulett
<i>d</i>	Dublett
<i>dd</i>	Doppeldublett
<i>dt</i>	Dublett vom Triplett
<i>t</i>	Triplett
<i>m</i>	Multiplett
PBS	Phosphatgepufferte Kochsalzlösung
pIC ₅₀	negativen dekadischen Logarithmus des IC ₅₀
rpm	Umdrehungen pro Minute
RT	Raumtemperatur
SD	Standardabweichung
Sf9	<i>Spodoptera frugiperda</i> Ovarzellen
Smp.	Schmelzpunkt
SN-38	7-Ethyl-10-hydroxy-camptothecin
Std.	Stunde
TBAB	Tetrabutylammoniumbromid
<i>t</i> -BuOH	<i>tert</i> -Butanol
TEA	Triethylamin
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMD	transmembranäre Domäne
λ	Wellenlänge
π	Pi
σ	Sigma

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1: Topologiemodell von ABCG2.....	4
Abbildung 1.2: Strukturen ausgewählter Inhibitoren von ABCG2.....	8
Abbildung 1.3: Topologiemodell von ABCB1.	10
Abbildung 1.4: „HVC-Modell“.....	11
Abbildung 1.5: „Flippase Modell“.....	11
Abbildung 1.6: Schematische Darstellung des Hoechst 33342 Akkumulationsassays.....	15
Abbildung 1.7: Schematische Darstellung des Pheophorbid A Akkumulationsassay.....	16
Abbildung 1.8: Schematische Darstellung des Calcein AM Akkumulationsassay.....	17
Abbildung 2.1: Grundgerüst der 2-Phenyl-4-X-phenylchinazoline.....	19
Abbildung 2.2: Grundgerüst von Chinazolin und Chinolin.....	20
Abbildung 2.3: Struktur von Ko143 und Harmin; rot: Grundgerüst Tetrahydro- β -carbolin (links) und β -Carbolin (rechts).....	20
Abbildung 3.1: Strukturen von ABCG2-Modulatoren mit Chinazolingrundgerüst.....	22
Abbildung 3.2: Effekt der Chinazolinderivate gegenüber ABCB1 (in Prozent, bezogen auf Cyclosporin A (Cs A) als Standard) bei 10 μ mol/l, $n \geq 3$	27
Abbildung 4.1: Strukturen der Fluorchinolone Antibiotika und der Chinolinderivate Chloroquin und Chinin.....	32
Abbildung 4.2: Konzentrations-Effekt-Kurven von XR9577 als Standard (oben) und Verbindung 23 (unten) im Pheophorbid A Assay mit MDCK II BCRP (●) und Wildtyp (■) Zellen.....	39
Abbildung 4.3: Konzentrations-Effekt-Kurven von Chloroquindiphosphat (oben) und Chinin (unten) im Pheophorbid A Assay mit MDCK II BCRP (●) und Wildtyp (■) Zellen.....	40
Abbildung 4.4: Struktur von FPIX und Pheophorbid A.....	42
Abbildung 4.5: Darstellung der β -Hämatin- und Pyridin-Ferrohämochrom Komplexbildung [170].....	43
Abbildung 4.6: Versuchsschema, Versuch 1 (oben), Ergebnis, Versuch 1 (unten), LM: Lösungsmittel für die Herstellung der Testlösungen (50 mmol/l) der Verbindungen 20, 23, 29, 34 und der Positivkontrolle Chloroquindiphosphat (50 mmol/l); Negativkontrolle: nur LM.....	45
Abbildung 4.7: Versuchsschema, Versuch 2 (oben), Ergebnis, Versuch 2 (unten), LM: Lösungsmittel für die Herstellung der Testlösungen (50 mmol/l) der Verbindungen 20, 23, 29 und 34 und der Positivkontrolle: Chloroquindiphosphat (50 mmol/l); Negativkontrolle: nur LM... ..	46
Abbildung 4.8: Effekt der N,2-Diphenylchinolin-4-amine gegenüber ABCB1 (in Prozent, bezogen auf Cs A als Standard) bei 10 μ mol/l, $n \geq 3$	48
Abbildung 4.9: Effekt der Chinolin-Calkon Hybride gegenüber ABCB1 (in Prozent, bezogen auf Cs A als Standard) bei Konzentrationen bis 10 μ mol/l, $n \geq 3$	53

Abbildung 4.10: Grundstrukturen von Flavon und Chinolon	54
Abbildung 5.1: Beispiele natürlicher und synthetischer Verbindungen mit β -Carbolin und Tetrahydro- β -Carbolin Struktur	61
Abbildung 5.2: Strukturen der ABCG2 Inhibitoren Ko143 und FTC.....	62
Abbildung 5.3: Streudiagramm der pIC_{50} -Werte ($M \pm SD$, $n \geq 3$) der ABCG2 Inhibitoren 89, 93-95, 107, 108 und XR9577 im Hoechst 33342 und Pheophorbid A Assay, $r^2 = 0,95$ [199].....	66
Abbildung 5.4: Verteilung der Substituenten am Phenylringe (R^1) in einem σ - π Streudiagramm [199]	69
Abbildung 5.5: Effekt der Tetrahydro- β -carboliderivate und des β -Carbolins gegenüber ABCB1 (in Prozent, bezogen auf Cyclosporin A (Cs A) als Standard) bei Konzentrationen bis 10 μ mol/l, $n \geq 3$	74
Abbildung 5.6: Reduktion des gelben MTT zum blauviolett gefärbten Formazan.	76
Abbildung 5.7: Konzentrations-Effekt-Kurve von SN-38 erhalten im MTT-Assay, in An- und Abwesenheit verschiedener Konzentrationen der Inhibitoren 107 (oben) und Ko143 (unten), gemessen in MDCK II BCRP und Wildtyp Zellen. ● = Kontrolle; ■ = Konz. Inhibitor 0,01 μ mol/l; ▼ = Konz. Inhibitor 0,1 μ mol/l; ◆ = Konz. Inhibitor 1 μ mol/l; ○ = Wildtyp Zellen [199]	79
Abbildung 5.8: Effekt der Verbindungen 78, 91, 94, 95, 107, 108, 110 und Harmin auf die Vanadat sensitive ATPase Aktivität, isolierter ABCG2 enthaltender Sf9 Membranen. Positivkontrolle: Quercetin als Aktivator der ATPase; Negativkontrolle: Ko143 als Inhibitor der ATPase Aktivität. Alle Verbindungen wurden bei der Konzentration von 1 μ mol/l untersucht. ($n = 3$) [199].....	80
Abbildung 5.9: Konzentrations-Effekt-Kurven der Verbindung 110 (oben) und Ko143 (unten) auf die Vanadat sensitive ATPase Aktivität, isolierter ABCG2 enthaltender Sf9 Membranen. ● = Basale ATPase Aktivität; ■ = Quercetin (1 μ mol/l) stimulierte ATPase Aktivität [199]	82
Abbildung 6.1: Zusammenfassung der Struktur-Wirkungsbeziehung der	84
Abbildung 6.2: Zusammenfassung der Struktur-Wirkungsbeziehung der Chinazolin.....	85
Abbildung 6.3: Zusammenfassung der Struktur-Wirkungsbeziehung der substituierten Tetrahydro- β -carboline/ β -Carbolin. * [192], ** nicht alle Substituenten aufgeführt.....	88
Abbildung 7.1: Verdünnungsschemata auf Mikrotiterplatte für das Hoechst 33342-/ Pheophorbid A- und Calcein-AM Assay (Reihe A); Verdünnungsschemata für das Screening im Calcein-AM Assay (Reihe E).....	178
Abbildung 7.2: Verdünnungsschemata des MTT Assay auf der Mikrotiterplatte.....	184

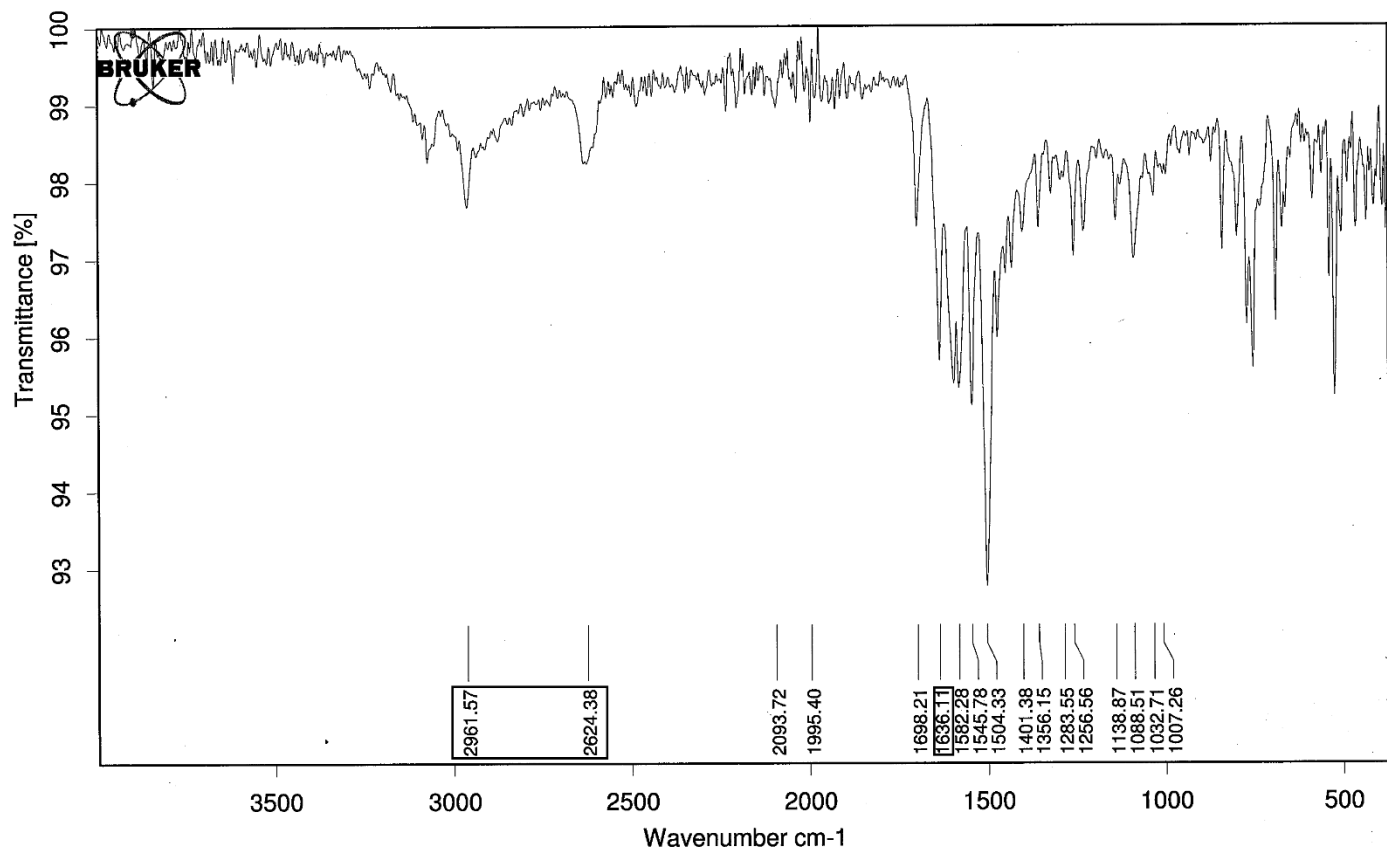
Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1: Beispiele von Zytostatika, die von drei der wichtigsten polyspezifischen ABC-Transportern transportiert werden [20].	3
Tabelle 1.2: Eine Auswahl von Substraten von ABCG2 [41–43,45–48].	6
Tabelle 1.3: Beispiele für Substrate von ABCB1 [45,72,95,96].	12
Tabelle 1.4: Beispiele von ABCB1 Inhibitoren [97–99].	13
Tabelle 3.1: Inhibitorische Aktivität der 4-Phenoxy-2-phenylchinazoline gegenüber ABCG2 im Hoechst 33342 Akkumulationsassay mit MDCK II BCRP Zellen.	25
Tabelle 3.2: Inhibitorische Aktivität der 4-Phenylthio-2-phenylchinazoline gegenüber ABCG2 im Hoechst 33342 Akkumulationsassay mit MDCK II BCRP Zellen.	26
Tabelle 3.3: Vergleich der inhibitorischen Aktivität der Chinazolin Derivate mit Amin*-, Sauerstoff- und Schwefellinker.	28
Tabelle 4.1: Inhibitorische Aktivität der N,2-diphenylchinolin-4-amine an ABCG2 im Hoechst 33342 Akkumulationsassay mit MDCK II BCRP Zellen	36
Tabelle 4.2: Vergleich der inhibitorischen Aktivität im Hoechst 33342 Assay (IC_{50} Werte als M; $n \geq 3$) der synthetisierten Chinolinderivate und den korrespondierenden Chinazolinderivaten von Kapil Juvale.	37
Tabelle 4.3: Inhibitorische Aktivität der synthetisierten N,2-Diphenylchinolin-4-amine gegenüber ABCB1 im Calcein AM Assay mit A2780 Adr Zellen.	49
Tabelle 4.4: Inhibitorische Aktivität der Chinolin-Chalkon Hybride gegenüber ABCG2 im Pheophorbid A Assay mit MDCK II BCRP Zellen	52
Tabelle 4.5: Inhibitorische Aktivität der Chinolin-Chalkon Hybride gegenüber ABCB1 im Calcein AM Assay mit A2780 Adr Zellen.	53
Tabelle 4.6: Inhibitorische Aktivität der synthetisierten Chinolonderivate gegenüber ABCG2 im Pheophorbid A Assay mit MDCK II BCRP Zellen	58
Tabelle 5.1: Inhibitorische Aktivität der Tetrahydro- β -carboline gegenüber ABCG2 im Hoechst 33342 und Pheophorbid A Akkumulationsassay mit MDCK II BCRP Zellen	67
Tabelle 5.2: Inhibitorische Aktivität der Tetrahydro- β -carboline mit verändertem Substitutionsmusters und des β -Carbolins gegenüber ABCG2 im Hoechst 33342 oder Pheophorbid A Assay mit MDCK II BCRP Zellen	73
Tabelle 5.3: Inhibitorische Aktivität der synthetisierten Tetrahydro- β -carboline und des β -Carbolins 111 gegenüber ABCB1 im Calcein AM Assay mit A2780 Adr Zellen.	75
Tabelle 5.4: Intrinsische Toxizität von Ko143, Harmin sowie der Verbindungen 78, 91, 94, 95, 107, 108 und 110 in MDCK II BCRP und Wildtyp Zellen im MTT-Assay [199]	77

Tabelle 5.5: Aufhebung der durch ABCG2 verursachten Zytostaikaresistenz gegenüber SN-38. Dargestellt am Beispiel der Verbindungen 78, 91, 94, 95, 107, 108 und 110 im Vergleich zu Harmin und Ko143 mit MDCK II BCRP und Wildtyp Zellen [199].....	78
Tabelle 5.6: Inhibitorischer Effekt der Verbindungen 78, 91, 94, 95, 107, 108, 110 und Ko143 auf die Vanadat sensitive ATPase Aktivität, isolierter ABCG2 enthaltender Sf9 Membranen, gemessen ausgehend von der basalen ATPase Aktivität und der Quercetin stimulierten ATPase Aktivität [199].....	81

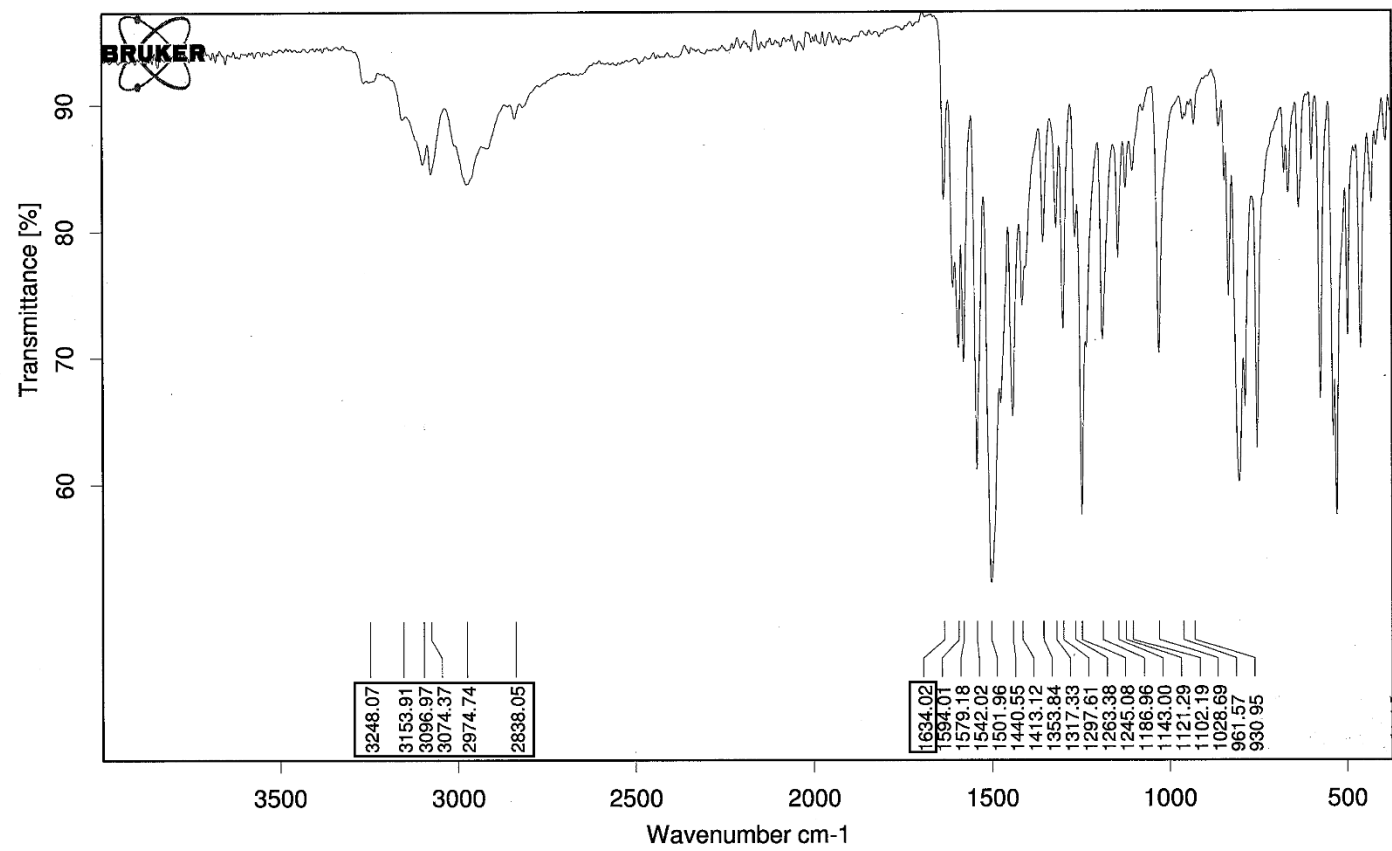
Schemataverzeichnis

Schema 3.1: Synthese der 4-Phenoxy-2-phenylchinazoline.	23
Schema 3.2: Synthese der 4-Phenylthio-2-phenylchinazoline.	24
Schema 4.1: Synthese der N,2-Diphenylchinolin-4-amin Derivate	34
Schema 4.2: Synthese der Chinolin-Chalkon Hybride.....	50
Schema 4.3: Synthese der 2-Phenylchinolin-4(1H)-one	55
Schema 4.4: Synthese der 3-Hydroxy-2-phenylchinolin-4-one und des 3-Hydroxy-2-phenyl-1,8-naphthyridin-4-on.....	56
Schema 4.5: Synthese der BOC-geschützten 3-Hydroxy-2-phenylchinolin-4-one und des 3-Hydroxy-2-phenyl-1,8-naphthyridin-4-on.....	57
Schema 5.1: Synthese der Tetrahydro- β -carbolinderivate	63
Schema 5.2: Synthese der Tetrahydro- β -carbolinderivate mit verändertem Substitutionsmuster und des β -Carbolin.....	64
Schema 6.1: Zusammenfassung der Synthese der 4-Phenoxy-2-phenylchinazolin- und.....	83
Schema 6.2: Zusammenfassung der Synthese der N,2-Diphenylchinolin-4-amine	84
Schema 6.3: Zusammenfassung der Synthese der Chinolin-Chalkon-Hybride	86
Schema 6.4: Zusammenfassung der Synthese der 3-Hydroxychinolinderivate	86
Schema 6.5: Zusammenfassung der Synthese der substituierten Tetrahydro- β -carboline/ β -Carbolin.....	87



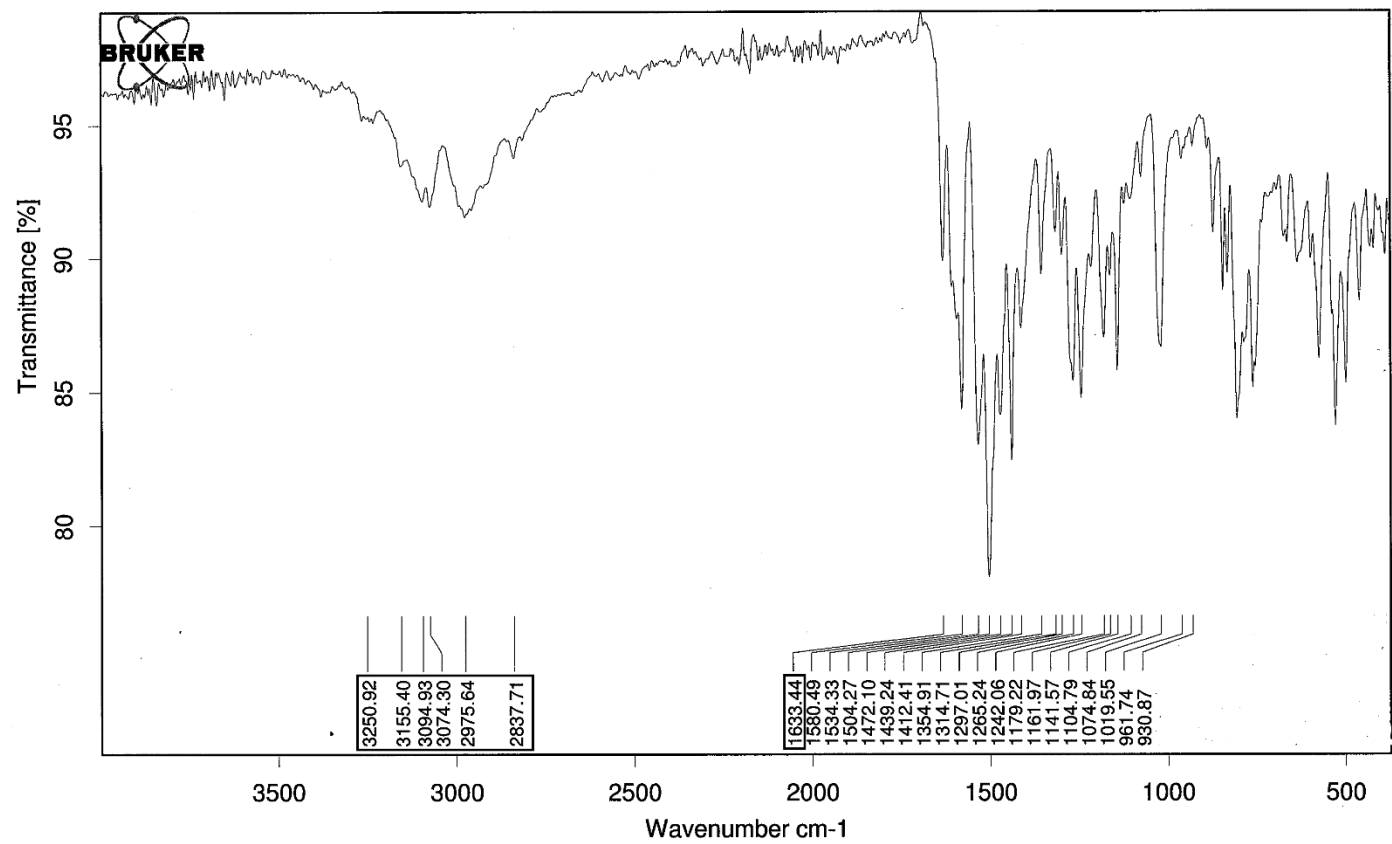
Verbindung 14

ATR platinum Diamond 1 Refl



Verbindung 15

ATR platinum Diamond 1 Refl



Verbindung 16

ATR platinum Diamond 1 Refl

Publikationen

Wissenschaftliche Originalarbeiten

A. Spindler, K. Stefan, M. Wiese, Synthesis and Investigation of Tetrahydro-beta-carboline Derivatives as Inhibitors of the Breast Cancer Resistance Protein (ABCG2), J. Med. Chem. (2016).

Kongressbeiträge

A. Spindler, K. Juvale, M. Wiese, Modulation of Breast Cancer Resistance Protein mediated multidrug resistance by quinazoline derivatives, 4th FEBS Special Meeting, Innsbruck, Poster (2012)