

DERIVATISIERUNG TERPENOIDER LEITSTRUKTUREN

Dissertation

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

der

Naturwissenschaftlichen Fakultät II
Chemie, Physik und Mathematik

der Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg

vorgelegt von

Frau Jana Wiemann
geb. am 19.07.1989 in Buxtehude

Gutachter:

1. Prof. Dr. René Csuk (Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg)
2. Prof. Dr. Hans-Peter Deigner (Hochschule Furtwangen)

Halle (Saale), den 7. August 2018

Datum der Verteidigung: 9. Januar 2019

Die vorliegende Arbeit wurde von November 2014 bis August 2018 am Institut für Chemie im Bereich für Organische Chemie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg im Arbeitskreis von Prof. Dr. René Csuk angefertigt. Die Dissertation wurde in kumulativer Form verfasst und die Forschungsergebnisse wurden bereits in internationalen „peer-reviewed“ Fachzeitschriften publiziert.

Danksagung

Mein erster Dank richtet sich an meinen Doktorvater, Prof. Dr. R. Csuk. Ich möchte mich herzlichst für die Möglichkeit und vor allem die Ermutigung diese Arbeit anzugehen bedanken. Des Weiteren möchte ich mich für das mir entgegengebrachte Vertrauen und den daraus resultierenden Freiraum sowie die unschätzbaren Ratschläge und neuen Blickrichtungen bedanken.

Der gesamten Arbeitsgruppe möchte ich für eine unvergessliche Zeit danken. Ein großer Dank geht vor allem an Dr. L. Fischer und M.Sc. A. Loesche, die mit der Durchführung der biologischen Evaluierung einen großen Teil zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Des Weiteren möchte ich mich bei M.Sc. A. Loesche und M.Sc. I. Serbian für eine unvergessliche Laborzeit und die unzähligen, langen Gespräche bedanken. In diesem Zusammenhang bedanke ich mich auch bei Dr. S. Sommerwerk, Dr. A. Kramell, Dr. L. Fischer und M.Sc. M. Kahnt für die zahlreichen Diskussionen und vor allem die kurzen Auszeiten in den Kaffeepausen.

Des Weiteren möchte ich mich bei allen Studenten bedanken, die ich während ihrer Abschlussarbeiten begleiten durfte. Ein besonderer Dank geht dabei vor allem an Dipl.-LMChem. A. Deckelmann und B.Sc. M. Rohmer, die durch ihre synthetischen Arbeiten einen Beitrag zum Gelingen meiner Arbeit beigetragen haben.

Des Weiteren bedanke ich mich bei Dr. R. Schäfer für die wertvollen Anregungen und stete Hilfsbereitschaft bei Problemen jeglicher Art. Dr. D. Ströhl und seinem Team danke ich für die Anfertigung der zahlreichen NMR-Spektren und für die Ratschläge zum Lösen NMR-spektroskopischer Fragestellungen. Bei Dr. R. Kluge möchte ich mich für die Messung der unzähligen ESI-Massenspektren sowie die gute Zusammenarbeit während des Praktikums bedanken. Ferner danke ich M.Sc. J. Wiese und B.Sc. V. Simon für die Messung der IR- und UV-vis-Spektren sowie der optischen Drehwerte.

Des Weiteren möchte ich mich auch bei den Menschen bedanken, die Halle für mich in den letzten neun Jahren zu einer zweiten Heimat gemacht haben; danke für eine unvergessliche Zeit während des Studiums und für den nötigen Ausgleich in all den Höhen und Tiefen.

Abschließend möchte ich meiner Familie für ihren Rückhalt in allen Phasen dieser Zeit danken; danke für das entgegengebrachte Verständnis, die unendliche Geduld und die immer aufbauenden Worte!

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Von der Heilpflanze zum pharmakologisch aktiven Wirkstoff	1
1.2	Die ubiquitäre Naturstoffklasse der Terpene	2
1.2.1	Diterpene	4
1.2.2	Triterpene	7
1.3	Multikomponentenreaktionen – Eine Optimierung von Leitstrukturen	10
1.3.1	Isocyanid-basierte Multikomponentenreaktionen	12
2	Zielstellung	17
3	Forschungsergebnisse – Zusammenfassung und Einordnung	18
3.1	Terpene als potentielle Zytostatika	18
3.1.1	Einführung: Entstehung maligner Tumore und die Wirkung von Zytostatika	18
3.1.2	Pentazyklische Triterpene und deren potentielle zytotoxische Wirkung	20
3.1.3	Diterpene und deren potentielle zytotoxische Wirkung	26
3.2	Terpene als potentielle Cholinesterase-Inhibitoren	31
3.2.1	Einführung: Therapeutische Verwendung von Cholinesterase-Inhibitoren bei Morbus Alzheimer	31
3.2.2	Derivate des Dehydroabietylamins als potentielle Cholinesterase-Inhibitoren	32
4	Zusammenfassung	34
5	Literaturverzeichnis	36
6	Abbildungsverzeichnis	44
7	Tabellenverzeichnis	45
Anhang	A-1
Publikationen	A-1
Publikation P-1	A-2
Publikation P-2	A-3
Publikation P-3	A-4
Publikation P-4	A-5
Publikation P-5	A-6
Publikation P-6	A-7
Publikation P-7	A-8

Lebenslauf	A-9
Publikationsliste.....	A-10
Posterbeiträge	A-11
Selbstständigkeitserklärung.....	A-13

Abkürzungsverzeichnis

Ac	Acetyl
ACh	Acetylcholin
AChE	Acetylcholinesterase
AK	Alzheimer-Krankheit
Apaf1	apoptotic protease activating factor
BA	Betulinsäure
Bak	Bcl-2-homologous antagonist killer
Bax	Bcl-2-associated X protein
BChE	Butyrylcholinesterase
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
BN	Betulin
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
ChE	Cholinesterase
DA	Dehydroabietylamin
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EC ₅₀	mittlere effektive Konzentration
FDA	U.S. Food and Drug Administration
GGPP	Geranylgeranyldiphosphat
GH	Galantamin Hydrobromid
HAT	Histonacetyltransferase
HDAC	Histondeacetylase
I	Inhibierungsprozent
IMCR	Isocyanid-basierte Multikomponentenreaktion
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
MA	Maslinsäure
MCR	Multikomponentenreaktion
NAD	Nicotinamidadenindinukleotid
OA	Oleanolsäure
OPP	Diphosphat-Rest
P-3CR	PASSERINI-Dreikomponentenreaktion
p21	Inhibitor der Cyclin-abhängigen Kinasen
p53	Tumorsuppressorgen

PA	Pomolsäure
PT	pentazyklisches Triterpen
SAR	Struktur-Wirkungsbeziehung
SI	Selektivitätsindex
SRB	Sulforhodamin B
U-4CR	UGI-Vierkomponentenreaktion
UA	Ursolsäure

1 Einleitung

Pflanzliche Naturstoffe bilden seit Jahrtausenden eine Grundlage für die Medizin.¹ Durch eine Vielzahl historischer Schriften kann die weit zurückreichende, universelle Anwendung von Heilpflanzen in unterschiedlichen Kulturen nachvollzogen werden. Mesopotamische Tontafeln aus dem Jahr 2600 v. Chr. gelten heutzutage als die ältesten Aufzeichnungen². In den über 1000 niedergeschriebenen pflanzlichen Rezepturen, wird unter anderem auch die Anwendung verschiedener Öle zum Beispiel der *Cupressus sempervirens* (Zypresse), der *Papaver somniferum* (Schlafmohn) sowie der *Glycyrrhiza glabra* (Süßholz) beschrieben.³ Weitere Heilpflanzen hingegen wurden als Aufguss, alkoholischer Extrakt der Wurzeln, der Rinde sowie der Blätter oder als Salbe angewendet. Häufig wurde die Verabreichung durch zusätzliche folkloristische, magische Rituale unterstützt.^{1,4} Viele der beschriebenen Rezepturen wurden beispielsweise ebenfalls in der bekanntesten Sammlung der ägyptischen Medizin dem *Papyrus Ebers*⁵, datiert auf 1555 v. Chr., sowie in verschiedenen Schriften der chinesischen *Materia Medica* und der indischen Ayurveda dokumentiert.⁶ Die Kenntnisse zur Behandlung der verschiedenen Krankheitssymptome beruhen dabei vor allem auf den gesammelten Erfahrungen und Beobachtungen.

1.1 Von der Heilpflanze zum pharmakologisch aktiven Wirkstoff

Zu Beginn des 19. Jahrhunderts führte die Isolierung des Alkaloids Morphin aus *Papaver somniferum*, als erste pharmakologisch aktive Reinsubstanz, zur Entdeckung der Einzelsubstanz als Wirkprinzip pflanzlicher Arzneimittelzubereitungen und somit zu einer Revolution der naturwissenschaftlich-orientierten Medizin.¹ Im Verlauf des 19. Jahrhunderts folgte die Isolierung weiterer Wirkstoffe aus Arzneimittelpflanzen, beispielsweise von Chinin (1820)⁷, Codein (1820)⁷, Papaverin (1848)⁸ sowie Digitoxin (1874)⁹, deren Anwendungen noch in der heutigen modernen Medizin etabliert sind.

Allerdings werden die isolierten Wirkstoffe heute selten in ihrer genuinen Form eingesetzt¹⁰, vielmehr dienen sie in den meisten Fällen als Leitstrukturen. In umfangreichen Studien wird versucht das pharmakologische Potential dieser Substanzen durch häufig einfache chemische Modifikationen zu optimieren; im Zentrum stehen dabei beispielsweise die Erhöhung der inhärenten biologischen Aktivität oder der Selektivität.¹¹ Diese Strategie der Arzneimittelentwicklung hat ihren Ursprung ebenfalls bereits im 19. Jahrhundert; ohne genaue Kenntnisse über die Konstitution des Morphins versuchten Chemiker durch einfache Derivatisierungen (s. Abbildung 1) des Moleküls dessen Abhängigkeitspotential zu

vermindern. Bereits 1874 synthetisierte WRIGHT¹² somit das erste semisynthetische Opioid, das Diacetylmorphin, heute bekannt als Heroin. Über 100 weitere Derivatisierungen des Molekülgerüsts folgten, darunter auch die Synthese von Oxycodon und Hydrocodon, welche noch heute als starke Schmerzmittel eingesetzt werden.¹¹

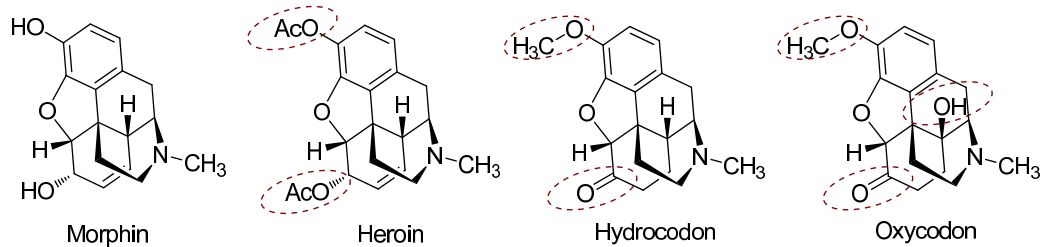


Abbildung 1: Morphin und ausgewählte Derivate.

Im Laufe der Zeit ermöglichten die Fortschritte der analytischen Methoden, vor allem im Bereich der Spektroskopie, die Strukturaufklärung der Wirkstoffe. Dieser Zugang zu der Konstitution der Moleküle ermöglichte neben der Durchführung zielgerichteter Modifikationen der potentiellen Leitstrukturen auch Rückschlüsse auf die pharmakologisch relevanten Partialstrukturen der Wirkstoffe, der Pharmakophore, sowie die Aufklärung möglicher Wirkmechanismen.

Heutzutage sind 50%¹⁰ aller zugelassenen Arzneimittel auf einen Naturstoff zurückzuführen, wovon nur 4% einem Naturstoff in genuiner Form entsprechen. Der Anteil der Naturstoffderivate (25%) als auch der synthetischen Verbindungen, die auf dem Pharmakophor eines Naturstoffes basieren (21%), zeigt indes den Erfolg der Arzneimittelentwicklung ausgehend von Leitstrukturen.¹⁰ Eine Erklärung für das große pharmakologische Potential der Naturstoffe ist vor allem in ihrer - im Vergleich zu rein synthetischen Verbindungen - hohen chemischen Diversität sowie ihrer biochemischen Spezifität zu finden.^{13,14}

1.2 Die ubiquitäre Naturstoffklasse der Terpene


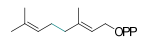
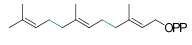
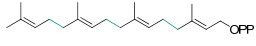
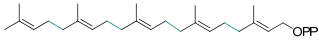
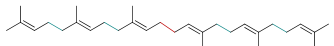
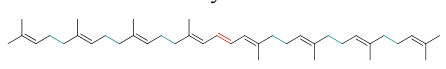

Der Begriff des Naturstoffes umfasst pflanzliche Primär- als auch Sekundärmetaboliten¹⁵; im Kontext der medizinischen Chemie wird der Begriff jedoch häufig synonym zu dem Begriff des Sekundärmetabolits verwendet.¹⁶

Während Primärmetaboliten (wie z.B. Kohlenhydrate, Lipide, Proteine) direkt in den Stoffwechsel und somit in Wachstums- sowie Entwicklungsprozesse involviert sind, konnten die vielfältigen Funktionen pflanzlicher Sekundärmetaboliten noch nicht vollständig aufgeklärt werden. Bekannt ist jedoch, dass viele Sekundärmetaboliten hauptsächlich als essentielle Signal- und Abwehrstoffe in Bezug auf biotische und abiotische Stressfaktoren fungieren.¹⁷ Aufgrund der biologischen Wechselwirkungen mit anderen Organismen sind diese

Verbindungen besonders im Hinblick auf eine potentielle medizinische Anwendung interessant.¹⁸

Die Sekundärmetaboliten können in drei unterschiedliche Klassen eingeteilt werden: die Terpene, die Alkaloide und die phenolischen Verbindungen.¹⁹ Die große Naturstoffklasse der Terpene umfasst circa 25,000 bekannte Vertreter^{19,20}, deren Klassifizierung auf der Anzahl der Isopren-Untereinheiten der Molekülgrundgerüste erfolgt (s. Tabelle 1).

Tabelle 1: Klassifizierung der Terpene.

Klassifizierung		biosynthetisches Intermediat
Hemiterpen	C ₅	Isopentenylidiphosphat 
Monoterpen	C ₁₀	Geranyldiphosphat 
Sesquiterpen	C ₁₅	Farnesyldiphosphat 
Diterpen	C ₂₀	Geranylgeranyldiphosphat 
Sesterterpen	C ₂₅	Geranylarnesyldiphosphat 
Triterpen	C ₃₀	Squalen 
Tetraterpen	C ₄₀	Phytoen 
Polyterpen	(C ₅) _n n > 8	<i>all-trans</i> -Polyisopren 

Die Grundlage bildet die biogenetische Isopren-Regel, welche auf die Arbeiten von WALLACH²¹ und RUŽIČKA²² zurückgeht. Die strukturelle Diversität dieser umfangreichen Naturstoffklasse basiert auf der Komplexität der Biosynthese, welche in den grundlegenden Aspekten aufgeklärt werden konnte. Formal kann die Biosynthese der Terpene in drei Abschnitte unterteilt werden: (a) die Synthese der universellen Vorstufe Isopentenylidiphosphat (IPP) und dessen Doppelbindungsisomer, dem elektrophilen γ,γ -Dimethylallyldiphosphat (DMAPP), (b) die konsekutive Kondensation von IPP und DMAPP zu den biosynthetischen Intermediaten, den Stammkohlenwasserstoffdiphosphaten (vgl. Tabelle 1) und (c) die komplexen enzymkatalysierten Zyklisierungskaskaden und Umlagerungsreaktionen, die den Zugang zu der charakteristischen strukturellen Produktdiversität der Terpene ermöglichen.^{14,19,23}

Die inhärente biologische Aktivität dieser Naturstoffklasse kann als Reflexion ihrer strukturellen Diversität betrachtet werden; ein Ausschnitt des umfangreichen pharmakologischen Spektrums der Terpene ist in Abbildung 2 dargestellt.

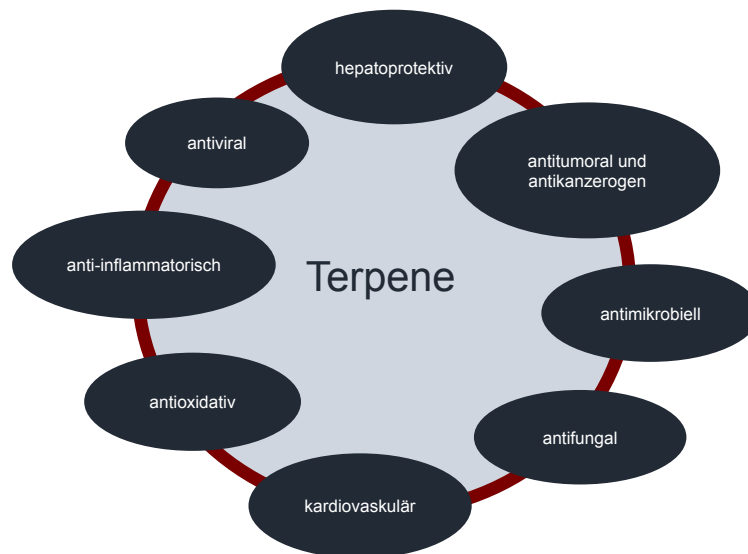


Abbildung 2: Ausgewählte pharmakologische Eigenschaften der Terpene.

Das wissenschaftliche Interesse speziell an der Naturstoffklasse der Diterpene und Triterpene als potentielle multipotente Leitstrukturen zur Entwicklung neuer pflanzlicher Arzneimittelwirkstoffe unterstreicht die pharmakologische Vielfalt dieser Naturstoffklasse.

1.2.1 Diterpene

Strukturell sind die Diterpene auf den biosynthetischen Vorläufer Geranylgeranyldiphosphat (GGPP) zurückzuführen, welches biosynthetisch durch unterschiedliche Diterpen-Zyklastasen in eine Vielzahl zyklischer sowie azyklischer Molekülstrukturen überführt wird. Insgesamt wurden bis *dato* über 3,000 natürliche Vertreter dieser Naturstoffklasse aus einer Vielzahl pflanzlicher Organismen isoliert.²³⁻³⁰

Besonderes Interesse gilt nachfolgend den lipophilen Diterpenoiden der Abietane. Allein in den letzten acht Jahren erschienen 58% aller Publikationen (SciFinder-Recherche zum Stichwort „Abietane“) in Bezug auf diese Naturstoffklasse; im Zentrum der Forschungen stand neben der Isolierung, wie bereits erwähnt, vor allem deren Bioaktivität.

1.2.1.1 Abietane

Ausgehend von GGPP erfolgt in Gegenwart einer Abietadien-Synthase die Biosynthese der Abietane (s. Abbildung 3). Zunächst erfolgt eine Proton-induzierte Zyklisierungskaskade des GGPP unter Bildung des (+)-Copalyldiphosphates, gefolgt von einer ionischen Zyklisierung zum Pimaradien-Intermediat und einer 1,2-Methylverschiebung zum Grundgerüst des Abietadiens.^{31,32} Die anschließende Funktionalisierung des Grundgerüsts erfolgt beispielsweise durch Zytochrom P450-abhängige Oxygenasen oder NAD⁺-abhängige Dehydrogenasen.³³ Bislang wurden 200 Vertreter der Abietane aus einer Vielzahl höherer Pflanzen isoliert.^{24,23,34}

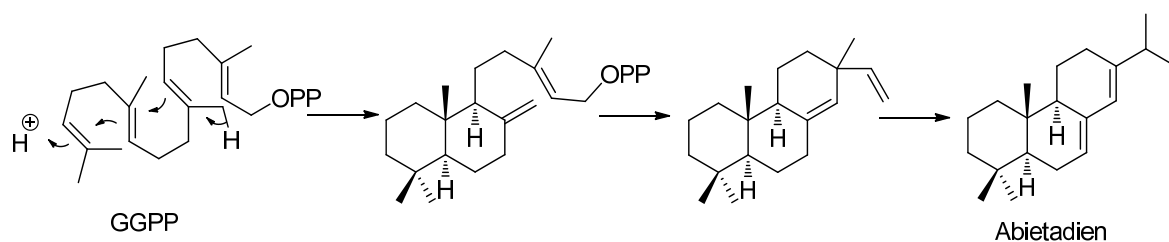


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Biosynthese der Abietane.

Die Diterpen-Klasse der Abietane kommt als Hauptbestandteil des Kolophoniums der Baumharze verschiedener Koniferen der Familie der Kieferngewächse (*Pinaceae*) als auch der Familie der Araukarien (*Araucariaceae*), der Zypressen (*Cupressaceae*) sowie der Steineiben (*Podocarpaceae*) vor.³⁴

Baumharze besitzen eine entscheidende Funktion in der Wundheilung der Bäume. Nach dem Verdampfen des flüchtigen Terpentinöls wird die Baumwunde durch oxidative Polymerisation der im Kolophonium enthaltenen Diterpene verschlossen.³³ Gleichzeitig wirken die enthaltenen Harzsäuren als Schutz vor pathogenen Mikroorganismen.^{17,35-37}

In der traditionellen Medizin werden diese Baumharze bei der Behandlung einer Vielzahl von Krankheiten verwendet.^{38,39} In der norwegischen Volksmedizin finden sie beispielsweise Anwendung als Salbe gegen chronische Wunden und Hautgeschwüre.⁴⁰ Die antibakterielle Wirkung wird dabei vor allem auf die Harzsäuren zurückgeführt.³⁹ Die Analyse der Harzsäuren weist auf eine komplexe Zusammensetzung an Diterpencarbonsäuren hin. In Abbildung 4 sind die vier tricyclischen Abietane dargestellt; diese machen den größten Anteil der Harzsäuren aus. Der prozentuale Anteil der einzelnen isomeren Abietane zeigt, neben einer beträchtlichen geographischen als auch gattungsspezifischen Abhängigkeit, eine ausgeprägte Abhängigkeit von den Bedingungen der Gewinnung des Kolophoniums als auch dessen Lagerbedingungen.^{37,41-43} Beispielsweise führt eine thermische Belastung oder die Gegenwart

starker Mineralsäuren zur Umlagerung der Levopimarsäure, der Palustrinsäure und der Neoabietinsäure zu über 90% in die stabilere Abietinsäure.⁴⁴⁻⁴⁷

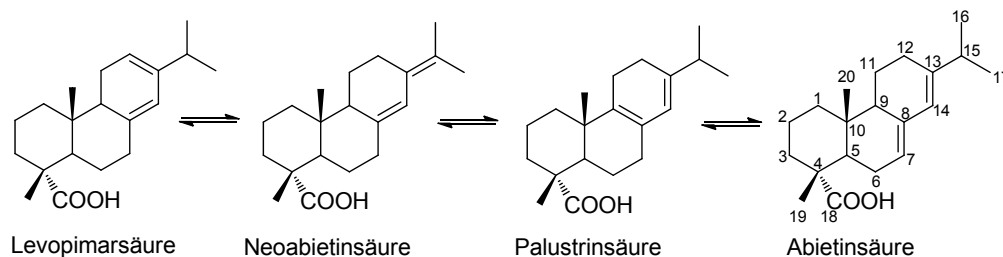


Abbildung 4: Hitze- und Säureisomerisierung der Harzsäuren.

Der Name „Abietinsäure“ wurde erstmals 1826 von BAUP für die Beschreibung eines isolierten Produktes der *Pinus abies* verwendet.⁴⁵ Die weite Verbreitung und relative Stabilität der Abietinsäure bewirkten in den darauffolgenden 100 Jahren intensive Untersuchungen des Moleküls bis zur vollständigen Aufklärung seiner Konstitution.⁴⁵

Durch erste Untersuchungen von VESTERBERG⁴⁸ konnte durch die Dehydrierung von Abietinsäure zum aromatischen 7-Isopropyl-1-methylphenanthrene, dessen Strukturaufklärung weiter fortgeschritten war, eine strukturelle Beziehung beider Moleküle festgestellt werden. Unter Berücksichtigung der Isopren-Regel führten diese ersten Hinweise zur Hypothese, dass die Abietinsäure ein Vertreter der Diterpene sei.⁴⁵ Die Hochzeit der Strukturaufklärung der Abietinsäure erfolgte zwischen 1920 und 1940.⁴⁵ In diesem Zeitraum wurde eine Vielzahl an Untersuchungen durchgeführt, die letztlich bereits im Jahr 1932 zur zweifelsfreien Bestimmung der Konstitution der Abietinsäure durch RUŽIČKA⁴⁹ und VOCKE⁵⁰ führten, lediglich die Lage der Doppelbindungen konnte erst weitere drei Jahre später aufgeklärt werden.⁵¹ Einen Abschluss fand die Strukturaufklärung durch Ermittlung der absoluten Konfiguration durch BARTON⁵². Die Molekülstruktur der Abietinsäure ist in Abbildung 4 unter Angabe der offiziellen Nummerierung nach IUPAC dargestellt.⁵³

Des Weiteren konnten während der Untersuchungen zur Konstitutionsaufklärung bei erhöhter Temperatur weitere charakteristische Disproportionierungen der Abietinsäure zu der Dehydroabietinsäure, der Dihydroabietinsäure sowie der Tetrahydroabietinsäure (s. Abbildung 5) beobachtet werden.⁴⁵

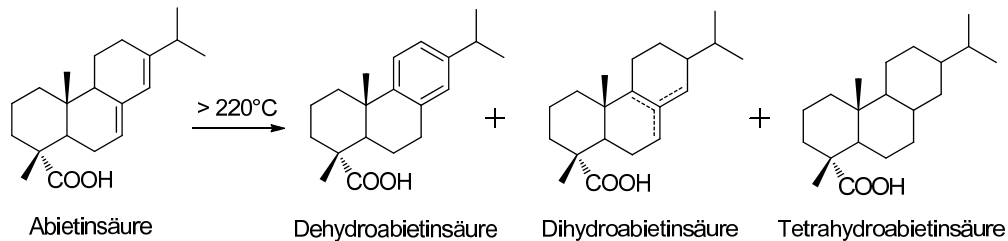


Abbildung 5: Disproportionierung der Abietinsäure.

1938 gelang FIESER *et al.*⁵⁴ die erstmalige Darstellung der Dehydroabietinsäure durch die Oxidation der Abietinsäure mithilfe von Selendioxid und anschließender Umsetzung in heißem Eisessig. Dehydroabietinsäure zeichnet sich im Vergleich zur Abietinsäure durch eine Stabilität gegenüber Autoxidationen aus.^{45-47,55} Bei der Autoxidation erfolgt unter anderem die Bildung von Endo- und Hydroperoxiden sowie Hydroxy- als auch Ketogruppen; diese standen im Zentrum der kontroversen Diskussion über die allergene Wirkung des Kolophoniums und insbesondere der Harzsäuren. Studien konnten belegen, dass die allergene Wirkung auf diese Oxidationsprodukte zurückgeht.⁵⁵ Deswegen bieten die Dehydroabietane aufgrund ihrer höheren oxidativen Stabilität einen vielversprechenden Zugang zu einer Vielzahl interessanter Leitstrukturen, deren antimikrobiellen, zytotoxischen, antiviralen, anti-inflammatorischen, antifungalen und antioxidativen Eigenschaften durch geeignete Derivatisierungen optimiert werden können.³⁴

1.2.2 Triterpene

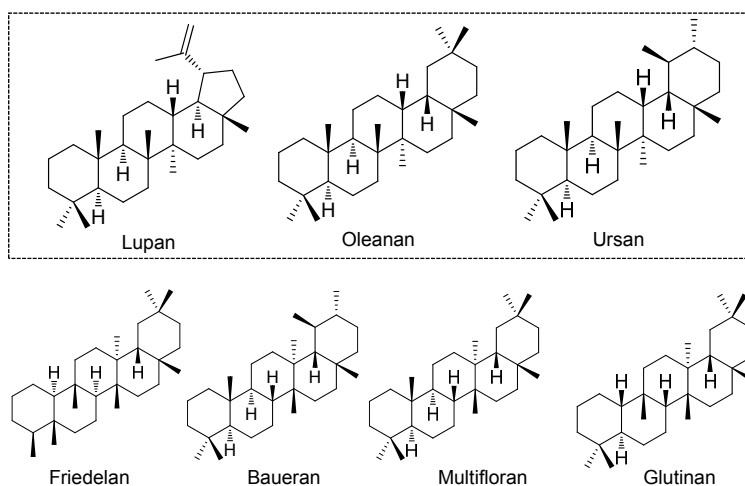
Die Triterpene bilden mit 4,000 natürlichen Vertretern²³ eine weitere mannigfaltige Naturstoffklasse, welche ubiquitär im Pflanzenreich anzufinden ist; besonders weit verbreitet sind die pentazyklischen Triterpene. Die meist als Saponin vorliegenden Sekundärmetaboliten sind vor allem in der Rinde, dem Kork sowie der Wachsschicht von Blättern und Schalen unterschiedlichster Pflanzen nachgewiesen worden. In der Wachsschicht führt ein hoher Gehalt dieser Verbindungen zu einer Festigung der Struktur und fungiert als Barriere für atmosphärische, mikrobielle und mechanische Schäden.^{56,57}

Einer der ersten isolierten Naturstoffe war das pentazyklische Triterpen Betulin, welches 1788 von LOWITZ⁵⁸ bei der Sublimation von weißer Birkenrinde entdeckt wurde. Bis *dato* konnte Betulin in Rinden verschiedener Bäume der Familie der *Betulaceae*, der *Platanaceae* sowie der *Oleaceae* nachgewiesen werden. Des Weiteren folgte über Jahre hinweg die Isolierung weiterer pentazyklischer Triterpene; eine Übersicht der erstmaligen Isolierung bedeutender Vertreter ist in Tabelle 2 zu finden.

Tabelle 2: Erstmalige Isolierung ausgewählter Triterpene.

Triterpen	Erstmalige Isolierung
Betulin	LOWITZ (1788): Rinde der Birke
Ursolsäure	TROMMSDORF (1854): Blätter der Bärentraube
Oleanolsäure	SCHEIBLER (1874): Plasma von Zuckerrübenzellen
Betulinsäure	RETZLAFF (1902): Blätter des Gottesgnadenkrauts
Maslinsäure	BÄCHLER (1927): Blätter des Zweigriffeligen Weißdorns
Pomolsäure	BRIESKORN, WUNDERER (1966): Schale des Apfels

Die eindeutige Bestimmung der Konstitution der Moleküle gestaltete sich zunächst aufgrund fehlender analytischer Methoden als schwierig, Doppelbenennungen und fehlerhafte Zuordnungen waren die Folge. Bis sich zu Beginn des 20. Jahrhunderts ein Konzept um charakteristische Abbau- und Umlagerungsreaktionen entwickelte. Zusammengefasst von RUŽIČKA und FURTER^{59,60} boten diese prinzipiellen Methoden in Kombination mit der Isopren-Regel die Grundlage für die umfassende Strukturaufklärung der Triterpen-Grundgerüste. Die Grundstruktur der pentazyklischen Triterpene bilden fünf anellierte Kohlenwasserstoffzyklen mit unterschiedlichen Substitutionsmustern der acht terminalen Methylgruppen. Die Ringe A bis D sind hierbei *trans*-verknüpfte Cyclohexan-Ringe, der Ring E ist ein *cis*-verknüpfter Cyclopentan- oder Cyclohexan-Ring. Diese Analogie in den Grundstrukturen unterschiedlicher pentazyklischer Triterpene wurde erstmals 1940 von RUŽIČKA und MARXER⁶¹ erkannt. Aufbauend auf diesem Konzept erfolgt die Einteilung der Triterpene heutzutage auf der Grundlage ihrer Grundgerüste in die Oleanane, die Ursane und die Lupane (s. Abbildung 6, oben), ferner konnten unter anderem die weit weniger verbreiteten Grundgerüste des Multiflorans, des Bauerans, des Friedelans und des Glutinans ergänzt werden (s. Abbildung 6, unten).²³

**Abbildung 6:** Strukturen ausgewählter Triterpen-Grundgerüste.

Die Ursache der bemerkenswerten strukturellen Diversität der pentazyklischen Triterpene liegt in ihrer Biosynthese begründet. Die allgemeine Muttersubstanz aller Triterpene ist das azyklische *all-trans* Squalen, welches biosynthetisch in allen Organismen durch hydrierende Dimerisierung des Farnesyldiphosphates gebildet wird.⁶² Die Biosynthese der pentazyklischen Triterpene wird durch die stereospezifische Epoxidierung einer endständigen Doppelbindung des Squalens, vermittelt durch eine Monooxygenase, eingeleitet.^{63,64} Die anschließenden komplexen Zyklisierungskaskaden des (*S*)-2,3-Oxidosqualens werden durch vielfältige Oxidosqualen-Zyklasen induziert.⁶⁵ Die unterschiedlichen, auch als Triterpen-Synthasen bezeichneten, Enzyme kennzeichnen somit den Startpunkt der Diversität dieser Naturstoffklasse. Ein Charakteristikum fast aller pflanzlichen pentazyklischen Triterpene ist die äquatoriale Hydroxygruppe an Position C-3, welche obligat aus dem biosynthetischen Vorläufer (*S*)-2,3-Oxidosqualen resultiert.^{65,56} Eine axialständige Hydroxygruppe tritt hingegen selten auf und entsteht infolge einer Epimerisierung der 3 β -Hydroxygruppe.⁵⁶ Zusätzliche hydrophile Funktionalisierungen der meist angulären Methylgruppen des jeweiligen Grundgerüsts erfolgen durch Zytochrom P450-katalysierte Oxidationen, welche durch die Einführung weiterer Hydroxy- sowie Carboxygruppen den Ausbau der strukturellen Diversität dieser Naturstoffklasse ermöglichen.⁵⁶

Die pentazyklischen Triterpene der Lupane, Oleanane und Ursane konnten als aktive Inhaltsstoffe vieler Heilpflanzen sowie Nahrungsmittel(-pflanzen), die mit einer gesunden Ernährung assoziiert werden, identifiziert werden. In der Volksmedizin ist beispielsweise die heilende Wirkung der weißen Birkenrinde seit langer Zeit bekannt. Angewendet als Wundauflage oder Birkenrindenöl wird sie zur Behandlung von Hautkrankheiten eingesetzt. Das Trockenextrakt der Rinde weist einen Triterpengehalt von über 80% (**BN**: 77.8%; **BA**: 3.1%)⁶⁶ auf. In Zusammenhang mit einer gesunden Ernährung wird häufig der Verzehr von Oliven oder Äpfeln genannt. Im Trockenextrakt von Oliventretern konnte ein Triterpengehalt von über 60% (**OA**: 34.2%; **MA**: 28.2%)⁶⁶ nachgewiesen werden. Ein ähnlicher Gehalt (**UA**: 49.7%; **OA**: 13.9%)⁶⁶ konnte ebenfalls in Apfeltrestern bestimmt werden.

In umfangreichen Studien zeigten Vertreter dieser Triterpen-Klassen antikanzerogene, antifungale, anti-inflammatorische, antioxidative, antivirale, antibakterielle sowie ausgeprägt zytotoxische Eigenschaften.^{67,68} Eine Vielzahl semisynthetischer Derivate natürlicher pentazyklischer Triterpene zeigte in *in vitro* und *in vivo* Studien sogar eine Aktivitätssteigerung hinsichtlich der Bioaktivität.¹⁸

1.3 Multikomponentenreaktionen – Eine Optimierung von Leitstrukturen

Der Begriff „Kombinatorische Chemie“ beschreibt die Generierung einer chemischen Bibliothek synthetischer Verbindungen durch die kovalente Verknüpfung sogenannter Bausteine. Eine systematische Kombination dieser Bausteine ermöglicht den Zugang zu Substanzen hoher struktureller Diversität. Diese Synthesestrategie findet ihren Ursprung in der Mitte der 1980er in der Multipin-Technik von GEYSEN⁶⁹ sowie der „Teebeutel“-Methode von HOUGHTEN⁷⁰. Die hohen Erwartungen der pharmazeutischen Industrie in Bezug auf die Anwendung vielfältiger Methoden der kombinatorischen Chemie zur Generierung einer Vielzahl neuer, rein synthetischer Wirkstoffe erfüllten sich zunächst jedoch nicht; die rein synthetischen Verbindungsbibliotheken schienen strukturell zu simpel und nicht fundiert.⁷¹

Dennoch bieten die Methoden der kombinatorischen Chemie umfangreiche Möglichkeiten für die Arzneimittelforschung. Eine vielversprechende und effiziente Strategie ist die Modifikation von Naturstoffen oder deren Pharmakophor mit den kraftvollen Techniken der kombinatorischen Chemie.^{72,73} Die auf der Basis von Naturstoffen aufgebauten diversitätsorientierten Bibliotheken zeigen ein höheres Potential mit den untersuchten molekularen Targets zu interagieren und weisen folglich eine höhere biologische Aktivität auf als rein-synthetisch aufgebaute Moleküle. Auf der Grundlage dieser Strategie konnten bereits zahlreiche Verbindungen synthetisiert werden, welche sich in den unterschiedlichen Stadien der Arzneimittelentwicklung befinden.^{74,75}

Die Anwendung von Multikomponentenreaktionen (MCR) stellt heutzutage eine sehr wirkungsvolle Methode der kombinatorischen Chemie dar; über diesen Reaktionstyp kann der Aufbau neuer Substanzbibliotheken effizienter als über andere bis *dato* bekannte Methoden realisiert werden.^{76,77} Das generelle Prinzip dieses Reaktionstyps weist zudem ausgeprägte Vorteile gegenüber der konventionellen Mehrstufen-Synthese auf. Bei einem konventionellen, linearen Syntheseweg werden für den Aufbau eines Produktmoleküls aus N Edukten N-1 Synthesestufen benötigt (vgl. Abbildung 7), wobei jede dieser Stufen mit einem erhöhten Aufwand in Bezug auf die Isolierung sowie Reinigung der Zwischenprodukte und infolgedessen mit einer Abnahme der Ausbeute verbunden ist. Über eine MCR können hingegen komplexe, definierte Produktstrukturen in einer Eintopf-Reaktion aufgebaut werden;

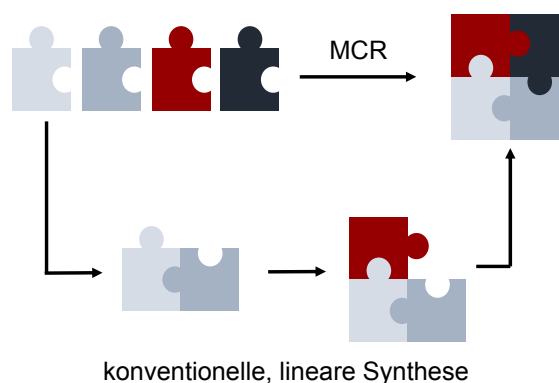


Abbildung 7: Schematische Gegenüberstellung einer MCR und einer linearen Synthese.

die Reaktionen verlaufen dabei im Wesentlichen über Kondensationsreaktionen von mehr als zwei Edukten mit reaktiven funktionellen Gruppen. Die Reaktionen sind neben der einfachen praktischen Durchführung durch eine hohe Atom- sowie Stufenökonomie gekennzeichnet und entsprechen weitestgehend der Idee der idealen Synthese.⁷⁸ Bis *dato* wurden zahlreiche MCR entwickelt, eine Übersicht ausgewählter, klassischer MCR ist in Tabelle 3 zu finden.

Tabelle 3: Übersicht ausgewählter klassischer MCR.

Reaktion	Reaktionsgleichung
STRECKER ⁷⁹ (1850)	
HANTZSCH Dihydropyridin ⁸⁰ (1882)	
HANTZSCH Pyrrol ⁸¹ (1890)	
BIGINELLI ⁸² (1891)	
MANNICH ⁸³ (1912)	
PASSERINI ⁸⁴ (1921)	
BUCHERER-BERGS ^{85,86} (1929)	
KABACHNIK-FIELDS ^{87,88} (1952)	
ASINGER ⁸⁹ (1956)	
UGI ⁹⁰ (1959)	
GEWALD ⁹¹ (1966)	
PETASIS ⁹² (1993)	

Historisch betrachtet kann die 1838 von LAURENT und GERHARDT⁹³ publizierte Reaktion von Bittermandelöl (reaktive Inhaltsstoffe: Benzaldehyd und Cyanwasserstoff) und Ammoniak, welche 12 Jahre später in verallgemeinerter Form als STRECKER-Synthese⁷⁹ von α -Aminonitrilen beschrieben wurde, als erste MCR der präparativen Chemie bezeichnet werden. Diese Zusammenstellung der MCR (vgl. Tabelle 3) kann durch eine Vielzahl von Variationen und Kombinationen der einzelnen Reaktionen ergänzt werden.⁷⁶

Eine allgemeine Klassifizierung der MCR kann unter anderem auf den zugrundeliegenden Konsektivreaktionen erfolgen (s. Tabelle 4).^{94,95}

Tabelle 4: Klassifizierung der MCR nach UGI⁹⁵.

MCR	Konsektivreaktionen
Typ I	$E_1 + E_2 \rightleftharpoons \dots \rightleftharpoons I_n \rightleftharpoons \dots \rightleftharpoons P$
Typ II	$E_1 + E_2 \rightleftharpoons \dots \rightleftharpoons I_n \rightleftharpoons \dots \rightarrow P$
Typ III	$E_1 + E_2 \rightarrow \dots \rightarrow I_n \rightarrow \dots \rightarrow P$

Der Umsatz und die Reinheit des Produktes der MCR sind stark von der Natur der einzelnen Konsektivreaktionen abhängig. Die MCR des Typs II sind für die präparative Anwendung von erhöhtem Interesse. Durch den letzten irreversiblen Reaktionsschritt erfolgt die vollständige Verschiebung des Gleichgewichtes auf die Seite des Produktes, sodass - im Gegensatz zu einer MCR des Typs I - die Produkte in hoher Ausbeute isoliert werden können.

1.3.1 Isocyanid-basierte Multikomponentenreaktionen

Heutzutage umfasst die Klasse der Isocyanid-basierten MCR (IMCR) mit der PASSERINI-Dreikomponentenreaktion (P-3CR) und der UGI-Vierkomponentenreaktion (U-4CR) zwei der wichtigsten und populärsten MCR. Die Entwicklung der IMCR wurde dabei maßgeblich vom Fortschritt der Chemie der Isocyanide geprägt. Über lange Zeit hinweg herrschte ein nur begrenzter synthetischer Zugang zu dieser funktionellen Gruppe. Die ersten Synthesen konnten zwar von LIEKE (1859)⁹⁶, MEYER (1866)⁹⁷ und GAUTIER (1867)⁹⁸ durch Substitutionsreaktionen eines Alkylhalogenids und Silbercyanid zum entsprechenden Alkylisocyanid und von HOFFMANN (1867)⁹⁹ durch die Umsetzung von primären Aminen mit Kaliumhydroxid und Chloroform realisiert werden, doch zeichnen sich diese Methoden durch komplizierte Durchführungen und Aufreinigungen sowie geringe Ausbeuten aus. Erst 100 Jahre später gelang UGI¹⁰⁰ die Darstellung der Isocyanide durch Dehydratisierung von Formamiden;

eingesetzt werden dazu unter anderem Reagenzien wie Phosgen, Triphosgen oder Phosphorylchlorid in Gegenwart von Basen.⁹⁷

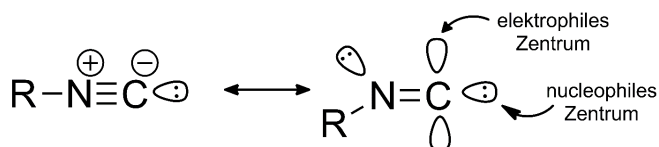


Abbildung 8: Resonanzstrukturen des Isocyanids unter Berücksichtigung relevanter Atomorbitale.

Die Struktur der Isocyanide kann durch zwei Resonanzformeln (s. Abbildung 8) dargestellt werden. Die Besonderheit dieser funktionellen Gruppe liegt in dem formal divalenten Charakter des Kohlenstoffatoms. Diese Strukturanalogie zu den Carbenen spiegelt sich ebenfalls in der hohen Reaktivität und der Fähigkeit zu vielseitigen, einzigartigen Reaktionen wider; exemplarisch ist in diesem Zusammenhang die α -Addition von Nucleophilen und Elektrophilen am Kohlenstoffatom des Isocyanids (s. Abbildung 8) zu nennen.⁹⁷ Diese charakteristische Reaktion kennzeichnet den Übergang vom formal divalenten zum tetravalenten Kohlenstoffatom, welcher in IMCRs die exotherme Triebkraft darstellt.

Im Jahr 1921 beschrieb PASSERINI⁸⁴ die erste IMCR; die nach ihm benannte Dreikomponentenreaktion einer Carbonsäure, einer Oxoverbindung (Aldehyd oder Keton) und eines Isocyanids ermöglicht die einstufige Synthese von α -Acyloxy-carbonsäureamiden (s. Abbildung 9).

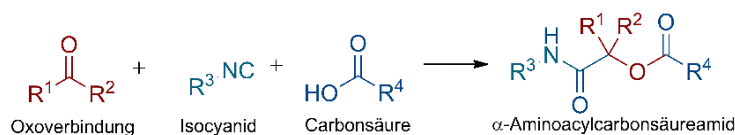
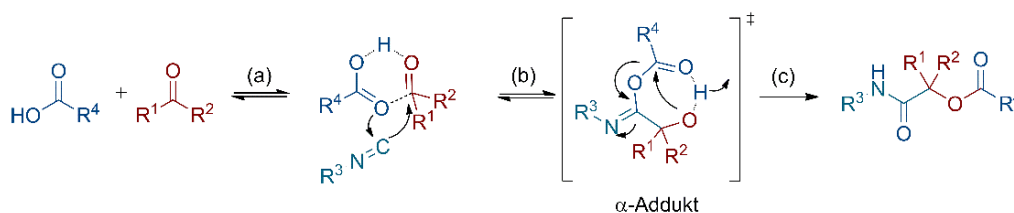


Abbildung 9: Reaktionsgleichung der P-3CR.

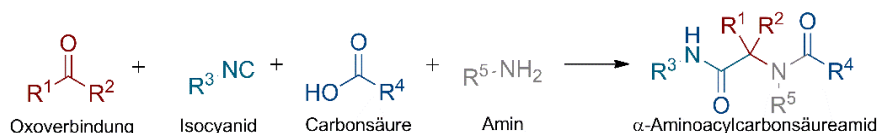
Die P-3CR kann im Hinblick auf die allgemeinen Reaktionsbedingungen variabel an die Edukte angepasst werden¹⁰¹; neben den klassisch verwendeten aprotischen Lösungsmitteln (z.B. CH_2Cl_2) ist die P-3CR bereits ebenfalls in protischen Lösungsmitteln (z.B. Wasser), ionischen Flüssigkeiten oder gänzlich lösungsmittelfrei durchgeführt worden. Des Weiteren besteht auch in Bezug auf die Reaktionstemperatur eine Variationsbreite: Während die klassische P-3CR bei Raumtemperatur durchgeführt wird, konnte in einigen Beispielen eine Erhöhung der Temperatur unter Verwendung von Mikrowellen-Strahlung zu einer Optimierung hinsichtlich der Reaktionszeit und der Ausbeute führen.¹⁰¹

Für die P-3CR wird ein nicht-ionischer Mechanismus, analog zu Abbildung 10, angenommen; die Abfolge der drei Konsekutivreaktionen steht dabei in Übereinstimmung mit den experimentell gesammelten Daten.⁷⁶

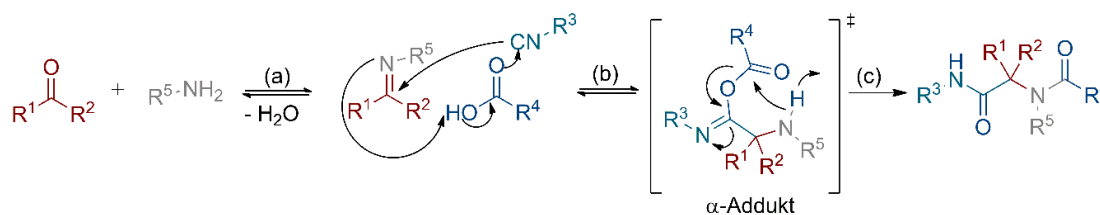

Abbildung 10: Postulierter Mechanismus der P-3CR.⁷⁶

Zunächst erfolgt durch Ausbildung zweier Wasserstoffbrückenbindungen (a) die Aktivierung der Oxoverbindung und der Carbonsäure. Anschließend folgt die kovalente Verknüpfung der drei Reaktanden über eine α -Addition (b) des elektrophilen Carbonylkohlenstoffatoms der Oxoverbindung und des nucleophilen Sauerstoffatoms der Carbonsäure an das Kohlenstoffatom des Isocyanids zum α -Addukt. Abschließend erfolgt durch irreversible, intramolekulare Transacylierung (c), welche auch als Mumm-Umlagerung bezeichnet wird^{102,103}, die Bildung des stabilen α -Acyloxycarbonsäureamids. Die P-3CR ist aufgrund des letzten irreversiblen Reaktionsschrittes zum Typ II der MCR zu zählen.

1959 beschrieb UGI erstmals die klassische UGI-Vierkomponentenreaktion (U-4CR), die heutzutage bedeutendste IMCR. Die Kondensationsreaktion umfasst die Umsetzung einer Carbonsäure, einer Oxoverbindung (Aldehyd oder Keton), eines Isocyanids und eines Amins unter der Bildung eines α -Acylaminocarbonsäureamids (s. Abbildung 11).


Abbildung 11: Reaktionsgleichung der U-4CR.

Die klassische U-4CR wird bei hohen Konzentrationen (0.5 bis 2M)⁹⁷ der Reaktanden in einem protischen Lösungsmittel (z.B. Methanol, Ethanol) durchgeführt. Aber auch die U-4CR weist, analog zu der P-3CR, eine Variationsbreite in Bezug auf Optimierung der Reaktionsbedingungen auf; neben der Verwendung von aprotischen Lösungsmitteln (z.B. DMF, Chloroform) oder der lösungsmittelfreien Durchführung⁹⁷ ist für die U-4CR ebenfalls eine Umsetzung in Gegenwart von Mikrowellen-Strahlung¹⁰⁴ bekannt. Zudem stellte sich im Hinblick auf die Ausbeute der Reaktion eine Präkondensation des Amins und der Oxoverbindung als besonders vorteilhaft heraus.⁹⁷


Abbildung 12: Postulierter Mechanismus der U-4CR.^{76,105}

Der allgemein anerkannte Mechanismus (s. Abbildung 12) setzt sich aus den folgenden drei Reaktionsschritten zusammen. Zunächst erfolgt die Kondensation (a) der Oxoverbindung und des Amins unter Bildung einer Schiff'schen Base. Anschließend folgt die α -Addition des Kohlenstoffatoms der Schiff'schen Base sowie des Sauerstoffatoms der Carbonsäure an das Kohlenstoffatom des Isocyanids zum α -Addukt. Die Bildung des α -Acylaminocarbonsäureamids erfolgt durch irreversiblen, intramolekularen Acyltransfer (Mumm-Umlagerung). Dementsprechend kann die U-4CR ebenfalls zum Typ II der MCR zugeordnet werden.

Die U-4CR weist die höchste Variationsbreite aller MCR auf. Beispielsweise kann die klassische Carbonsäure-Komponente durch Wasser, Selenwasserstoff, Stickstoffwasserstoffsäure, Ammoniumsalsze, Cyanate oder auch Thiocyanate ersetzt werden.^{76,94,106} Des Weiteren kann diese Variationsbreite durch die Mannigfaltigkeit der verwendeten Amin-Komponente ergänzt werden; neben primären Aminen, können auch sekundäre Amine, Ammoniak, Hydroxylamine oder Hydrazine verwendet werden.^{76,94,106} Die Diversität der möglichen Produktstrukturen der U-4CR ist in Abbildung 13 illustriert.

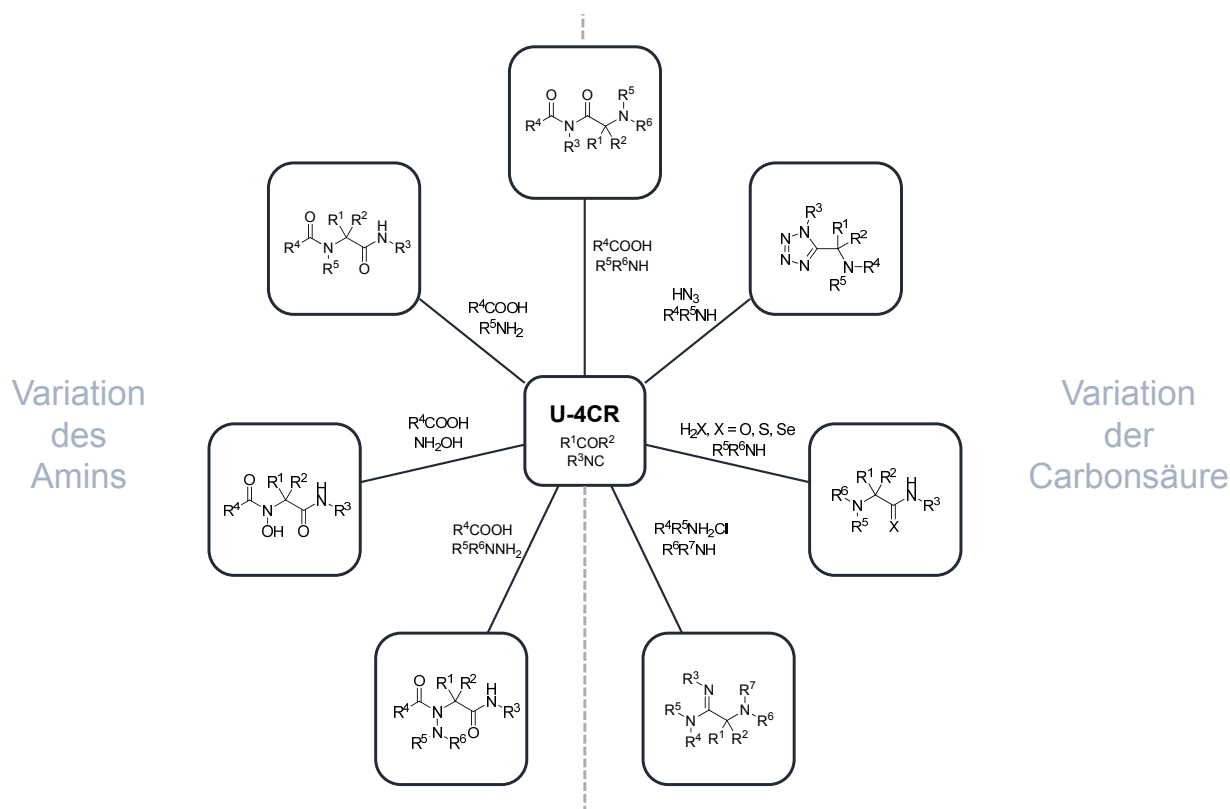


Abbildung 13: Auszug der strukturellen Diversität der Ugi-Vierkomponentenreaktion.

Bereits kurz nach der Entdeckung der U-4CR bildete diese die Grundlage für die einstufige Synthese des Lokalanästhetikums Xylocain; durch Variation von unter anderem der Amin-Komponente konnte im Zuge dessen eine kleine Substanzbibliothek von zwölf weiteren, neuen

Wirkstoffen generiert werden.¹⁰⁷ Heutzutage sind IMCR vor allem aufgrund der großen Variabilität der Reaktanden, der damit verbundenen Produktdiversität und dem geringen zeitlichen sowie präparativen Aufwand für die pharmazeutische Industrie von besonderem Interesse und bieten einen effizienten Zugang zu neuartigen Wirkstoffbibliotheken.⁷⁶

2 Zielstellung

Die Naturstoffklasse der Terpene zieht aufgrund ihrer inhärenten biologischen Aktivität seit geraumer Zeit das Interesse der chemisch-medizinischen Forschung auf sich.

Der Schwerpunkt dieser Arbeit soll dementsprechend auf der Synthese neuartiger Terpen-Derivate liegen. Vordergründig soll die Derivatisierung vor allem *in vitro* zu einer Erhöhung der zytotoxischen sowie selektiven Wirkung gegenüber humanen, malignen Tumorzelllinien führen.

Die weit verbreiteten pentazyklischen Triterpene, wie beispielsweise die Betulinsäure, die Oleanolsäure oder die Maslinsäure, sollen als Leitstrukturen dienen. Zum einen soll ihre Derivatisierung über klassische Synthesemethoden erfolgen. Der Schwerpunkt soll dabei auf die Synthese der bislang wenig untersuchten Strukturelemente der Carbamate und Hydroxamate gelegt werden; letztere stehen hinsichtlich einer möglichen zielgerichteten Tumorthherapie zur Diskussion. Zum anderen soll eine Derivatisierung der pentazyklischen Triterpencarbonsäuren über Multikomponentenreaktionen erfolgen; insbesondere soll über die UGI- und PASSERINI-Reaktion eine kleine Substanzbibliothek aufgebaut werden, auf deren Grundlage eine Untersuchung möglicher Struktur-Wirkungsbeziehungen erfolgen soll.

Des Weiteren soll am Beispiel der Pomolsäure, einem Vertreter der pentazyklischen Triterpencarbonsäuren, verdeutlicht werden, wie Partialsynthesen den Zugang zu bioaktiven Naturstoffen ermöglichen, welche nur in geringen Mengen verfügbar sind oder nur unter großem Aufwand isoliert werden können.

Die Naturstoffklasse der Diterpene rückte durch die Entdeckung der zytotoxischen Eigenschaften des Paclitaxels in den Fokus der Forschung. Die Abietane wurden dabei bislang in vergleichsweise geringem Maß untersucht, obwohl diese Verbindungen ebenfalls ein breites Spektrum biologischer Aktivität aufweisen. Um weitere Erkenntnisse zum pharmakologischen Potential dieser Diterpenklasse zu erhalten, soll in weiteren Untersuchungen der Einfluss unterschiedlicher Derivatisierungen des Diterpens Dehydroabietylamin beleuchtet werden. Die Angriffspunkte sollen dabei der C-Ring des Abietan-Grundgerüsts als auch die Aminogruppe, welche ebenfalls über klassische Synthesemethoden als auch über Multikomponentenreaktionen derivatisiert werden soll, sein.

In diesem Zusammenhang soll auch das Potential von Dehydroabietylamin-Derivaten hinsichtlich der Inhibierung von Cholinesterasen untersucht werden; diesbezüglich wurden bis *dato* keine Untersuchungen durchgeführt.

3 Forschungsergebnisse – Zusammenfassung und Einordnung

3.1 Terpene als potentielle Zytostatika

3.1.1 Einführung: Entstehung maligner Tumore und die Wirkung von Zytostatika

Die Krankheit Krebs ist ein zentrales Thema in der medizinischen und pharmazeutischen Forschung. Seit Jahrzehnten werden der Ursprung und das Voranschreiten der Krankheit intensiv erforscht und es wird nach neuen, potentiellen Wirkstoffen gesucht, um der kontinuierlich ansteigenden Zahl der Todesfälle entgegenzuwirken.

Krebs stellt in der Medizin einen Sammelbegriff für maligne Tumorerkrankungen dar; gemeinsam sind diesen Tumorerkrankungen der Verlust der Differenzierung und das unkontrollierte sowie autonome Wachstum der Tumorzellen. Während in gesunden Zellen eine ausgewogene Steuerung der Zellproliferation und des Zelltods durch Protoonkogene (Förderung des Zellwachstums) und Tumorsuppressorgene (Unterdrückung des Zellwachstums) erfolgt, zeigen entartete Krebszellen eine nachhaltige Störung des geregelten Gleichgewichts durch Schädigung dieser genetischen Informationen, hervorgerufen durch beispielsweise ionisierende Strahlung (z.B. UV-/Röntgen-/radioaktive Strahlung), karzinogene Substanzen oder auch Tumoviren (z.B. Hepatitis-B-Virus, humaner Papilloma-Virus). Die Schädigung der Erbsubstanz einer einzigen Zelle wird als grundsätzlicher Ursprung der Entstehung von Krebs angenommen, dessen Ausbruch letztlich auf der Akkumulation zahlreicher genetischen Veränderungen beruht.^{108,109}

Die Unterteilung maligner Tumore erfolgt auf der Grundlage des betroffenen Gewebetyps in epitheliale (Deck- und Drüsengewebe), mesenchymale (Bindegewebe), hämatopoetische (Blut(bildendes)-System) und neuroektodermale (Nervengewebe) Neoplasien.

Die Diversität der malignen Tumorerkrankungen erfordert unterschiedliche, zielgerichtete Therapieformen. Die allgemeinen Therapiemöglichkeiten bestehen heutzutage in der chirurgischen Entfernung oder der Radiotherapie des betroffenen Gewebes sowie der Pharmakotherapie. Bei der Pharmakotherapie kann zwischen der Verwendung klassischer zytotoxischer Chemotherapeutika (Zytostatika) und gezielten onkologischen Therapiekonzepten („Targeted Therapy“) wie beispielsweise dem Einsatz von Antikörpern, Proteasominhibitoren, Tyrosinkinaseinhibitoren oder Histondeacetylaseinhibitoren unterschieden werden.^{110,111} Häufig findet auch ein multimodales Vorgehen Anwendung, um die Heilung der Patienten zu erwirken. Der Einsatz wirksamer Zytostatika führt zur Hemmung der unkontrollierten Zellproliferation und induziert den Zelltod der malignen Tumorzellen. Die einzelnen Wirkstoffe greifen in unterschiedlichen Phasen des Zellzyklus ein; dabei kann generell in zellzyklusspezifische und zellzyklusunspezifische Zytostatika unterschieden

werden.¹¹⁰ Eine schematische Übersicht ausgewählter, zugelassener Zytostatika und deren Wirkprinzipien ist in Abbildung 14 dargestellt.^{108,110-112}

Die mit der Verwendung von Zytostatika verbundenen Nebenwirkungen, wie beispielsweise Myelo-, Nephro- und Kardiotoxizität, sind derzeit leider noch unvermeidlich.¹¹⁰ Die Ursache ist in der allgemein hohen Toxizität dieser Substanzen gegenüber Zellen mit hoher Proliferationsgeschwindigkeit zu finden.

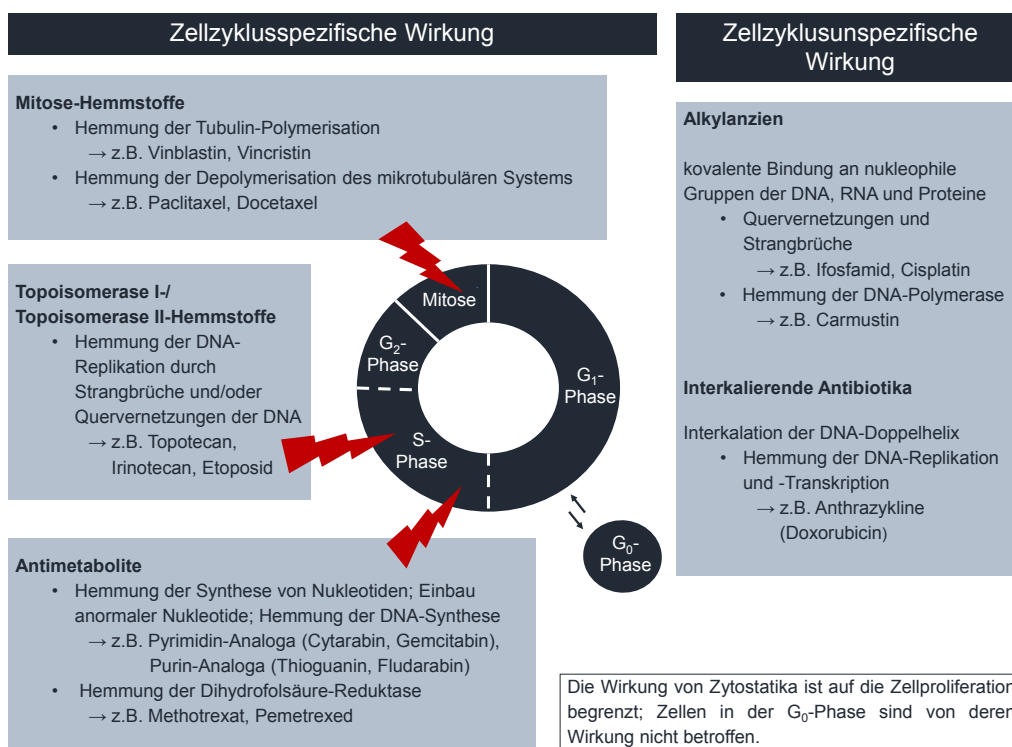


Abbildung 14: Schematische Übersicht ausgewählter Zytostatika und deren Wirkprinzipien.

Der Zelltod kann über unterschiedliche Mechanismen eingeleitet werden; eine Vielzahl der Zytostatika löst Apoptose aus, wodurch eine Verringerung der Anzahl an Tumorzellen erreicht wird. Der Begriff der Apoptose wurde von KERR *et al.*¹¹³ eingeführt und beschreibt neben dem autophagischen Zelltod und der regulierten Nekrose eine der Hauptformen des programmierten Zelltods.^{114,115} Dem programmierten Zelltod steht die Nekrose als pathologischer Zelltod gegenüber. Der Begriff der Nekrose beschreibt das Anschwellen einer Zelle bis zum Verlust der Membranintegrität.¹¹⁶

Der apoptotische Zelltod ist hingegen ein stark regulierter biochemischer Prozess, der durch charakteristische morphologische Veränderungen der Zelle wie die Reduktion des Zellvolumens, Chromatinkondensation, Fragmentierung des Zellkerns, Abschnürung von Membranvesikeln (engl. *blebbing*) sowie durch die Fragmentierung der Zelle in apoptotische Partikel gekennzeichnet ist. Durch weitere biochemische Veränderungen wie die

Externalisierung von Phosphatidylserin erfolgt eine Markierung der apoptotischen Partikel, wodurch deren gezielter Abbau über Phagozytose ermöglicht wird.¹¹⁵

Die Auslösung des apoptotischen Zelltods kann über verschiedene molekulare Signalkaskaden erfolgen. Ein extrinsischer Signalweg kann über die Aktivierung von Membranrezeptoren an der Zelloberfläche eingeleitet werden, während ein intrinsischer Signalweg über die Freisetzung proapoptotischer Faktoren aus den Mitochondrien verläuft.¹⁰⁸ Des Weiteren kann bei den intrinsischen Signalwegen eine Unterteilung in caspase-abhängige und caspase-unabhängige Prozesse erfolgen.¹¹⁵⁻¹¹⁷

3.1.2 Pentazyklische Triterpene und deren potentielle zytotoxische Wirkung

Das erhöhte Interesse an der potentiellen, zytotoxischen Wirksamkeit der Triterpene begann 1995 mit der Beobachtung der *in vitro* und *in vivo* antineoplastischen Wirkung von Betulinsäure gegenüber verschiedenen humanen Melanomzellen durch PISHA *et al.*¹¹⁸. Darauf folgten intensive Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus und zur biologischen Aktivität weiterer pentazyklischer Triterpene; zahlreiche Derivatisierungen der Triterpen-Grundgerüste zur Optimierung deren pharmakologischen Potentials folgten.

3.1.2.1 Hydroxamate und Carbamate der pentazyklischen Triterpene

Eine mögliche Ursache der unkontrollierten Proliferation maligner Zellen stellt das beobachtete, anormale Gleichgewicht der Histonacetyltransferase (HAT) und der Histondeacetylase (HDAC) dar.¹¹⁹ In Folge der erhöhten Aktivität der HDAC werden signifikante Änderungen der Chromatinmodifikation maligner Zellen beobachtet, aufgrund derer eine Regulierung der Gentranskription weitestgehend unzugänglich ist. Der Einsatz von HDAC-Inhibitoren führt zur Hemmung der HDAC-Aktivität und ermöglicht infolgedessen bei einer Vielzahl von Tumorzelllinien *in vitro* die Induktion des Zellzyklussarrests und/oder der Apoptose. In diesem Zusammenhang konnten charakteristische biochemische Veränderungen wie eine erhöhte Konzentration an p21, eine Aktivierung der p53-Acetylierung sowie eine Stimulation der Transkription proapoptotischer Gene wie Bax, Bak und Apaf1 beobachtet werden.¹²⁰ Die Verwendung von HDAC-Inhibitoren steht aufgrund dessen hinsichtlich einer zielgerichteten Tumor-Therapie zur Diskussion.

HDAC-Inhibitoren werden in Hydroxamsäuren, Carbonsäuren, Benzamide und zyklische Peptide eingeteilt; die Hydroxamsäuren stellen dabei die bis *dato* am weitesten erforschte und potenteste Klasse der HDAC-Inhibitoren dar. Bislang sind drei Hydroxamsäure-Derivate (Vorinostat, Belinostat und Panobinostat) durch die FDA zur Behandlung verschiedener

maligner Tumorerkrankungen zugelassen.¹²⁰ Ihre Wirkung wird unter anderem durch ihre hohe Bindungsaffinität zum Zink-Kation im aktiven Zentrum des Enzyms begründet.¹²¹ Hydroxamsäuren bieten somit einen vielversprechenden Ansatz zur Entwicklung neuer zytotoxischer Wirkstoffe.

Dementsprechend konzentrierten wir uns auf die Synthese einer Bibliothek an Triterpen-Hydroxamsäure-Derivaten. Zur Aufklärung möglicher Struktur-Wirkungsbeziehungen legten wir die Schwerpunkte auf eine systematische Variation des Triterpen-Grundgerüsts, der funktionellen Gruppe an Position C-3 und der Substitution der Hydroxamsäure-Funktion an Position C-28 (s. Abbildung 15). In der anschließenden biologischen Evaluierung ermittelten wir mithilfe des photometrischen SRB-Assays deren Zytotoxizität gegenüber humanen malignen Tumorzelllinien und einer embryonalen Mausfibroblasten-Zelllinie, welche als non-maligne Referenzzelllinie diente.

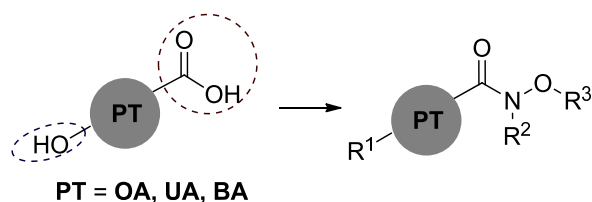


Abbildung 15: Allgemeines Syntheschema der Triterpen-Hydroxamate.

Grundsätzlich zeigen die Triterpen-Hydroxamsäure-Derivate im Vergleich zu den freien Triterpencarbonsäuren (**BA**, **OA**, **UA**) erhöhte Zytotoxizität gegenüber den untersuchten Zelllinien. Die zytotoxische Wirkung zeigt eine Abhängigkeit von der Anzahl der aciden Wasserstoffatome des Hydroxamats. Während die freien Hydroxamsäure-Derivate die höchste antiproliferative Aktivität aufweisen, zeigen die bisalkylierten Derivate hingegen die geringste Aktivität. Im Gegensatz zu anderen Studien¹²²⁻¹²⁴ kann für die untersuchten Hydroxamate keine signifikante Beeinflussung der Zytotoxizität durch die Modifikation der Position C-3 beobachtet werden. Möglicherweise weist dies, zusammen mit der deutlich geringeren zytotoxischen Aktivität der freien Amide der Triterpene, auf eine entscheidende Rolle der Hydroxamat-Funktion im Wirkungsmechanismus der Verbindungen hin.

Ergänzend zu den Hydroxamaten untersuchten wir in diesem Zusammenhang auch Triterpen-Carbamat-Derivate. Als Peptid-Bindungssurrogat sind Carbamat-Strukturen in einer Vielzahl von Wirkstoffen, wie beispielsweise dem antitumoralen Antibiotikum Mitomycin C, zu finden; ihnen wird unter anderem eine verbesserte Target-Spezifität und infolgedessen eine erhöhte Wirksamkeit zugesprochen.¹²⁵ KOMMERA *et al.*¹²⁶ führten bereits erste Untersuchungen hinsichtlich des zytotoxischen Potentials von Carbamaten des Betulins durch. Auf diese Ergebnisse aufbauend konzentrierten wir uns auf eine Variation der Substituenten des

Carbamat-Restes sowie abermals auf die Untersuchung des Einflusses der Modifikation an Position C-3 (s. Abbildung 16). Aufgrund der tendenziell erhöhten Aktivität der Hydroxamate des Lupan-Grundgerüsts, diente Betulin (BN) in unserer Untersuchung ebenfalls als Leitstruktur zur Synthese der triterpenoiden Mono- und Biscarbamate.



Abbildung 16: Allgemeines Syntheschema der Carbamate des Betulins.

Im Vergleich zu den Hydroxamaten weisen die Carbamate lediglich eine moderate zytotoxische Aktivität auf. Unter den untersuchten Carbamaten zeigte jeweils das *N*-Ethyl-substituierte Derivat unabhängig von der Modifikation an Position C-3 die höchste Zytotoxizität. Eine Verlängerung des Alkylsubstituenten (Propyl, Butyl, Hexyl) führte generell zu einer Abnahme der zytotoxischen Wirkung; eine Ausnahme bilden jedoch die *N*-Alkyl-substituierten Carbamate, welche an Position C-3 eine freie Hydroxygruppe tragen, diese sind durch eine erhöhte Zytotoxizität gekennzeichnet. Im Vergleich zu den synthetisierten Hydroxamaten zeigen die Carbamate dementsprechend eine signifikante Abhängigkeit von der Modifikation der Position C-3.

Die detaillierte Beschreibung der experimentellen Vorgehensweise sowie die Ergebnisse des SRB-Assays können den Publikationen „*Targeting cancer cells with oleanolic and ursolic acid derived hydroxamates*“ (Anhang, Publikation P-1) und „*Betulinic acid derived hydroxamates and betulin derived carbamates are interesting scaffolds for the synthesis of novel cytotoxic compounds*“ (Anhang, Publikation P-2) entnommen werden.

3.1.2.2 Derivatisierung der Triterpencarbonsäuren über IMCR

Pentazyklische Triterpencarbonsäuren stellen seit der Beobachtung der zytotoxischen Eigenschaften der Betulinsäure vielversprechende Leitstrukturen dar, welche bereits in einer Vielzahl von Studien durch unterschiedlichste chemische Modifikationen hinsichtlich ihrer biologischen Aktivität optimiert wurden. Obwohl MCR wichtige Synthesemethoden der organischen als auch der medizinischen Chemie darstellen, begrenzen sich die Veröffentlichungen zur Derivatisierung von pentazyklischen Triterpenen durch MCR auf nur zwei Beispiele.^{127,128} Aufgrund dessen synthetisierten wir über U-4CR und P-3CR eine Substanzbibliothek bestehend aus 34 α -Acylamino- und drei α -Acyloxycarbonsäureamiden.

Sowohl α -Acylamino- als auch α -Acyloxycarbonsäureamide sind als Peptidomimetika ein bedeutendes Strukturelement bei der Entwicklung neuer pharmakologischer Wirkstoffe.⁹⁷

Der Aufbau der Substanzbibliothek erfolgte durch eine systematische Variation der in Abbildung 17 dargestellten Reagenzien. Die Reaktionen wurden zunächst ausgehend von der kommerziell erhältlichen **OA** etabliert, um das pharmakologische Potential dieser Verbindungen zu evaluieren.

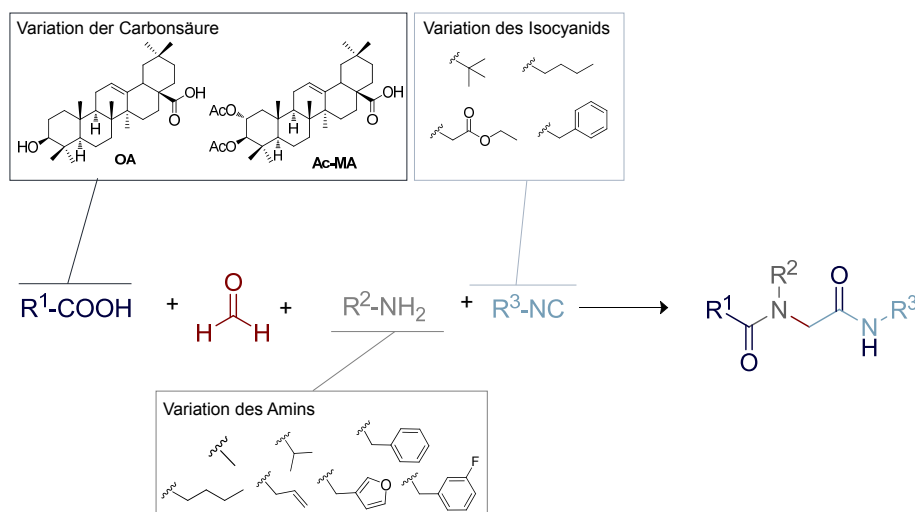


Abbildung 17: Syntheschema der Triterpen-UGI-Derivate.

Die Ergebnisse des SRB-Assays ermöglichen in Bezug auf mögliche SAR der α -Acylaminocarbonsäureamide erste Rückschlüsse. Besonders hervorzuheben ist die Auswirkung der Acetylierung der freien Hydroxygruppe der **OA**-UGI-Derivate; diese Modifikation führt zu einer signifikanten Erhöhung der Zytotoxizität als auch der selektiven Wirkung der Verbindungen gegenüber den untersuchten malignen Tumorzelllinien. Der Einfluss der Substituenten der Stickstoffatome (R^2 und R^3) ist hingegen tendenziell geringer, lediglich für jene Derivate (**P3: 4a-4j**), welche strukturell durch ein terminales Benzylamid gekennzeichnet sind, kann grundsätzlich eine erhöhte Selektivität gegenüber den Zellen des Ovarialkarzinoms (A2780) nachgewiesen werden. Ein Selektivitätsverlust kann hingegen für die Derivate (**P3: 5a-5b**), welche eine terminale Ester-Funktion zeigen, beobachtet werden. Abschließend wurden ausgewählte α -Acylaminocarbonsäureamide der **MA** synthetisiert. **MA**-Derivate zeigten in vergangenen Studien^{129,130} im Vergleich zu analogen Derivaten der **OA** ein erhöhtes zytotoxisches Potential. Dies bestätigte sich auch für die synthetisierten **MA**-UGI-Produkte; Verbindung **P3-7b** (s. Abbildung 18) zeigt in dieser Studie die höchste zytotoxische Wirkung verbunden mit der höchsten Selektivität. Auf der Grundlage von fluoreszenz-

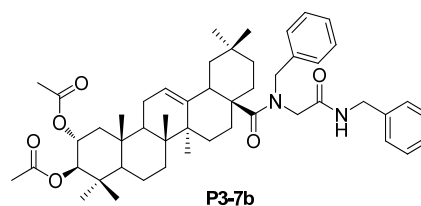


Abbildung 18: Strukturformel des aktivsten **MA**-UGI-Derivates (**P3-7b**).

mikroskopischen Untersuchungen der Zellmorphologie und -membranintegrität sowie ergänzenden Zellzyklusanalysen der mit **P3-7b** behandelten Zellen konnten Hinweise auf den Wirkungsmechanismus der Verbindung erhalten werden; die intakten Zellmembranen sowie die Beobachtung einer subG1-Phase weisen auf die Induktion eines programmierten, anteilig apoptotischen Zelltod hin.

Eine detaillierte Beschreibung der experimentellen Vorgehensweise sowie der Ergebnisse des SRB-Assays ist der Veröffentlichung „*An access to a library of novel triterpene derivatives with a promising pharmacological potential by Ugi and Passerini multicomponent reactions*“ (Anhang, Publikation P-3) zu entnehmen.

3.1.2.3 Partialsynthese der triterpenoiden Pomolsäure

Eine Übersicht der *in vitro* Zytotoxizität verschiedener Triterpene ist in Tabelle 5 zu finden. Im Vergleich zeigt die Pomolsäure (**PA**) *in vitro* eine hohe antiproliferative Aktivität gegenüber verschiedenen humanen Krebszelllinien^{68,131}; sie bildet somit einen idealen Startpunkt für die Entwicklung neuer Zytostatika.

Tabelle 5: Zytotoxizität ausgewählter Triterpene.^{129,132}

EC ₅₀ [µM]	518A2	A2780	HT29	MCF7	A549	NIH 3T3
BA	9.4 ± 0.7	8.8 ± 0.9	14.4 ± 2.3	10.2 ± 1.2	17.1 ± 1.1	16.1 ± 1.4
BN	> 30	> 30	> 30	> 30	> 30	> 30
OA	> 30	14.0 ± 2.3	> 30	> 30	> 30	> 30
MA	13.7 ± 0.9	19.5 ± 0.8	28.8 ± 0.5	> 30	23.4 ± 0.5	21.1 ± 0.2
UA	14.7 ± 0.1	11.7 ± 0.6	10.6 ± 0.7	12.7 ± 0.1	15.5 ± 1.7	18.7 ± 1.6
PA^a	11.7 ± 0.2	8.3 ± 0.3	7.0 ± 0.1	11.9 ± 0.6	6.5 ± 0.5	8.1 ± 0.8
TA^a	18.6 ± 1.4	> 30	> 30	> 30	27.9 ± 2.8	> 30

^a unpublizierte Ergebnisse

Dennoch wurde die **PA** im Vergleich zu anderen pentazyklischen Triterpenen nur in geringem Maß untersucht; dies ist hauptsächlich durch ihre geringe biologische Verfügbarkeit begründet. Nachfolgend lag dementsprechend die Konzentration auf der Entwicklung einer semisynthetischen Darstellung der **PA**, um dadurch zukünftige Untersuchungen und umfangreiche Derivatisierungen zu erleichtern. Die bis *dato* einzige Partialsynthese der **PA** gelang 1989 NAKATANI *et al.*¹³³ ausgehend von Rotungensäure; dieser synthetische Zugang bietet allerdings aufgrund der geringen Verfügbarkeit des Ausgangsstoffes keine Alternative zur direkten Isolierung der **PA** beispielsweise aus den Blättern der Goldpflaumengewächse (*Licania pittieri*)¹³⁴, der Schale von Birnen (*Pyrus communis*)¹³⁵ sowie der Schale von Äpfeln

(*Pyrus malus*)¹³⁵. Als Ausgangsstoffe der semisynthetischen PA dienen die pentazyklischen Triterpene Tormentill- (TA) und Euscaphsäure (EA), welche in größeren Mengen (ca. 0.2%) aus Blutwurz (*Potentilla erecta*) extrahiert werden können. Die strukturellen Unterschiede dieser pentazyklischen Triterpencarbonsäuren sind im A-Ring des Grundgerüsts zu finden. Ausgehend von EA ist für die synthetische Transformation zur PA neben der Desoxygenierung der sekundären Hydroxygruppe (C-2) - analog zur TA - eine zusätzliche Inversion der Konfiguration eines stereogenen Zentrums (C-3) notwendig. Der realisierte Syntheseweg ist in Abbildung 19 dargestellt. Die ersten Synthesestufen verlaufen unabhängig von der Konfiguration des stereogenen Zentrums (C-3); nach der Umsetzung von TA/EA zu den entsprechenden Benzylestern erfolgt eine selektive Tosylierung der Hydroxygruppe (C-2). Anschließend wird die Hydroxygruppe (C-3) deprotoniert; die *anti*-Orientierung der Tosylatgruppe (C-2) und des Alkoholatanions (C-3) der TA ermöglicht eine nucleophile Substitution unter Bildung eines Epoxids (P4-7). Während im Fall der EA die *syn*-Orientierung der Substituenten den nucleophilen Angriff unterbindet, erfolgt hingegen eine C-3→C-2 Hydrid-Verschiebung¹³⁶ und die Bildung der 3-Oxo-PA (P4-8). An dieser Stelle bietet sich die leichte säulenchromatographische Trennung der Zwischenprodukte an. Ausgehend von P4-7 wird PA nach der Hydrierung des Benzylesters sowie der stereoselektiven Ringöffnung des Epoxids erhalten. Aus P4-8 erfolgt die Synthese der PA in zwei Stufen durch die stereoselektive Reduktion der Carbonylgruppe (C-2) und anschließende Hydrierung des Benzylesters.

Die detaillierte Erläuterung der Durchführung der einzelnen Synthesestufen sowie eine vollständige Charakterisierung sämtlicher Produkte kann der Veröffentlichung „*A remarkably simple and convergent partial synthesis of pomolic acid*“ (Anhang, Publikation P-4) entnommen werden.

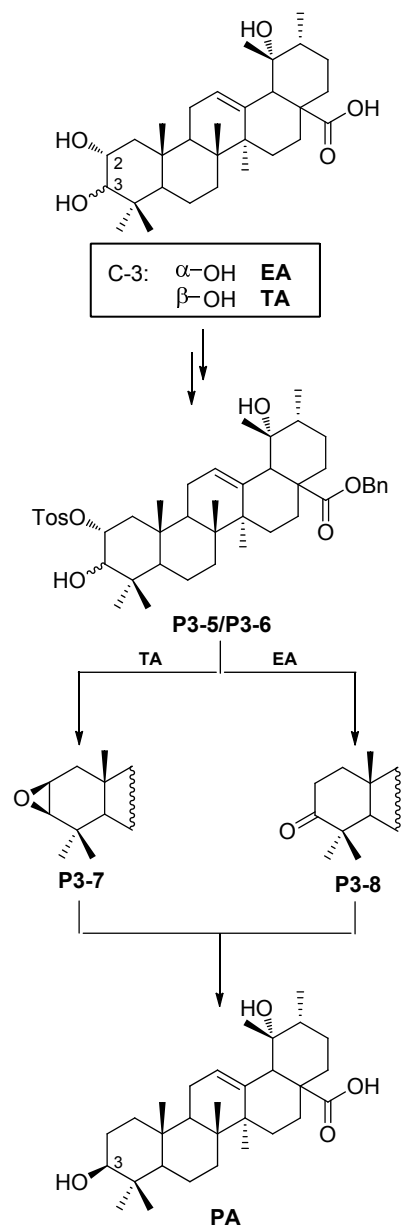


Abbildung 19: Syntheschema der Partialsynthese von PA.

Diese Partialsynthese ermöglicht die effiziente Darstellung von **PA** in vier (ausgehend von **TA**, 53%) bzw. fünf (ausgehend von **EA**, 29%) Synthesestufen; dies verdeutlicht exemplarisch, wie durch einfache semisynthetische Ansätze ein guter Zugang zu Triterpenen begrenzter natürlicher Verfügbarkeit ermöglicht werden kann.

3.1.3 Diterpene und deren potentielle zytotoxische Wirkung

Insbesondere das Diterpen Paclitaxel, welches in 1971 aus der pazifischen Eibe (*Taxus brevifolia*) isoliert¹³⁷ und in den Jahren 1992 bzw. 1994 durch die FDA als Medikament zur Behandlung von Ovarial- bzw. Mammakarzinomen zugelassen wurde¹³⁸, schürt das chemisch-medizinische Interesse an der Naturstoffklasse der Diterpene. In diesem Zusammenhang stellen unter anderem auch die Vertreter der diterpenoiden Abietane, aufgrund ihrer großen biologischen Verfügbarkeit sowie deren Spektrum biologischer Aktivität, interessante Leitstrukturen zur Entwicklung pharmakologisch aktiver Verbindungen dar.

3.1.3.1 SAR-Untersuchung an Derivaten des Dehydroabietylamins

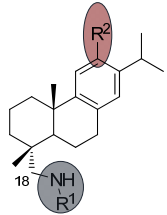
Dehydroabietylamin (**DA**), ein Vertreter der Diterpen-Klasse der Dehydroabietane, kann über Ammonoylse und anschließende Dehydrierung der Abietinsäure gewonnen werden. **DA** zeigt ein umfangreiches Spektrum biologischer Eigenschaften, hervorzuheben ist vor allem die hohe Zytotoxizität gegenüber malignen Brustkrebs-Zelllinien¹³⁹ sowie Melanomen *in vitro* und *in vivo*.^{140,141} Ergänzend konnten wir ebenfalls eine zytotoxische Wirkung gegenüber Zellen des Hypopharynx-, Ovarial-, Schilddrüsenkarzinoms sowie des kolorektalen Karzinoms nachweisen. Das pharmakologische Potential des **DA** wird allerdings durch dessen erhöhte Zytotoxizität gegenüber embryonalen Mausfibroblasten, welche als non-maligne Referenzzellen verwendet wurden, eingeschränkt.

Ausgehend von **DA** sollte dementsprechend über geeignete Modifikationen neben einer unveränderten oder erhöhten Zytotoxizität vor allem eine Erhöhung der Selektivität der Verbindung gegenüber den humanen Krebszelllinien erreicht werden. Hinsichtlich der Aufklärung möglicher Struktur-Wirkungsbeziehungen konzentrierte sich unsere Untersuchung auf eine systematische Derivatisierung der Aminogruppe (C-18) sowie eine Funktionalisierung des C-Rings (s. Abbildung 20).

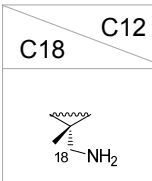
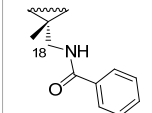
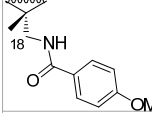
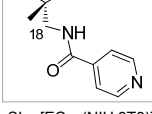
Durch die Synthese unterschiedlicher *para*-substituierter Benzoylamide des **DA** und das anschließende Screening der Verbindungen hinsichtlich ihrer zytotoxischen Wirkung konnte das pharmakologische Potential von **DA**-Amiden¹⁴²⁻¹⁴⁴ bestätigt werden. Die Verbindungen

zeigen im Vergleich vor allem in Bezug auf die humane Brustkrebszelllinie (MCF7) erhöhte antiproliferative Aktivität.

Der Einfluss der C-Ring-Modifikationen auf die zytotoxische Wirkung des **DA** und deren Derivate ermöglicht allerdings keine allgemeingültigen Aussagen über Struktur-Wirkungsbeziehungen. Während die Funktionalisierung des C-Rings des **DA** zu einer Abnahme der Zytotoxizität und einer nur geringen Erhöhung der Selektivität führt, kann dieser Trend nicht für **DA**-Amide beobachtet werden: Deren Zytotoxizität und Selektivität zeigt eine starke Abhängigkeit vom *para*-Substituenten des aromatischen Restes (s. Abbildung 20). Beispielsweise kann für das Benzoylamid **P5-1**, welches mit einem $EC_{50} > 30 \mu\text{M}$ als zytotoxisch inaktiv bezeichnet werden kann, durch die C-Ring-Funktionalisierung eine signifikante Zytotoxizitäts- als auch Selektivitätssteigerung beobachtet werden. Gegenteilig verhält es sich für das 4-Methoxybenzoylamid **P5-3**, welches eine zum **DA** vergleichbare Zytotoxizität gegenüber der malignen Brustkrebszelllinie und eine erhöhte Selektivität aufweist. Die Einführung der Hydroxygruppe führt in diesem Fall zu einer Abnahme der Zytotoxizität und Selektivität; der Einfluss der anschließenden Acetylierung konnte aufgrund der geringen Löslichkeit der Verbindung nicht ermittelt werden.



Derivatisierung der NH₂-Gruppe

		C-Ring-Modifikationen		
C18 \ C12		H 12	OH 12	OAc 12
	DA EC_{50} (MCF7) = $3.0 \pm 0.2 \mu\text{M}$ SI = 0.8	P5-10 EC_{50} (MCF7) = $8.9 \pm 0.3 \mu\text{M}$ SI = 2.9	P5-23 EC_{50} (MCF7) = $10.7 \pm 0.6 \mu\text{M}$ SI > 3.0	
	P5-1 EC_{50} (MCF7) = > $30 \mu\text{M}$ SI = n.d.	P5-12 EC_{50} (MCF7) = $4.8 \pm 0.3 \mu\text{M}$ SI = 4.2	P5-18 EC_{50} (MCF7) = $4.5 \pm 0.3 \mu\text{M}$ SI = 4.5	
	P5-3 EC_{50} (MCF7) = $4.5 \pm 1.5 \mu\text{M}$ SI = 8.8	P5-15 EC_{50} (MCF7) = $8.5 \pm 1.1 \mu\text{M}$ SI = 2.7	P5-20 nicht löslich	
	P5-6 EC_{50} (MCF7) = $7.9 \pm 1.9 \mu\text{M}$ SI = 1.9	P5-17 EC_{50} (MCF7) = $4.3 \pm 0.2 \mu\text{M}$ SI = 6.2	P5-24 EC_{50} (MCF7) = $5.7 \pm 0.8 \mu\text{M}$ SI = 6.5	

SI = $[EC_{50}(\text{NIH 3T3})]/[EC_{50}(\text{MCF7})]$

Abbildung 20: Ausgewählte Ergebnisse des SRB-Assays der synthetisierten **DA**-Amide.

Des Weiteren erfolgte die Synthese biotinylierter **DA**-Derivate. Biotinylierte Verbindungen stehen im Zusammenhang mit der vitamin-basierten (Targeted-)Tumor-Therapie zur Diskussion. Dieser Therapieansatz resultiert aus der beobachteten, erhöhten Anzahl Biotinspezifischer Rezeptoren auf der Zelloberfläche unterschiedlicher Krebszelllinien, welche für den erhöhten Vitaminbedarf schnell wachsender, maligner Zellen und der Aufrechterhaltung

ihrer grundlegenden Zellfunktionen von essentieller Bedeutung sind. Über diese Rezeptoren kann die gezielte Aufnahme biotinylierter Verbindungen erreicht werden und somit eine Optimierung ihrer Tumorspezifität erfolgen. Die untersuchten, biotinylierten **DA**-Derivate zeigten im SRB-Assay allerdings im Vergleich zu **DA** eine deutliche Abnahme der Zytotoxizität und keine Erhöhung der Spezifität in Bezug auf die untersuchten Krebszelllinien. Eine detaillierte Beschreibung der synthetischen Vorgehensweise sowie eine Übersicht der EC₅₀-Werte ist der Veröffentlichung „*Syntheses of C-ring modified dehydroabietylarnides and their cytotoxic activity*“ (Anhang, Publikation P-5) zu entnehmen.

3.1.3.2 Derivatisierung des Dehydroabietylarnins über U-4CR

Aufgrund der zytotoxischen Aktivität der untersuchten Triterpen-UGI-Derivate entschieden wir uns ausgehend vom **DA** zur Synthese einer weiteren Substanzbibliothek *via* U-4CR. Obwohl die U-4CR, wie bereits erwähnt, durch ihre hohe Variationsbreite eine wirkungsvolle Methode zur Synthese pharmakologisch interessanter Verbindungen darstellt, sind in Bezug auf **DA**, und Abietane im Allgemeinen, bislang keine Untersuchungen bekannt.

Die detaillierte Erläuterung der experimentellen Vorgehensweise sowie die Ergebnisse der biologischen Evaluierung können der Publikation „*Ugi multicomponent-reaction: Syntheses of cytotoxic dehydroabietylamine derivatives*“ (Anhang, Publikation P-6) entnommen werden.

Bei der Synthese - analog zu dem in Abbildung 21 illustrierten Syntheschema - konzentrierten wir uns zunächst auf eine systematische Variation der Säurekomponente (*para*-substituierte Benzoesäuren, Boc-geschützte L-Aminosäuren und Rhodamin B).

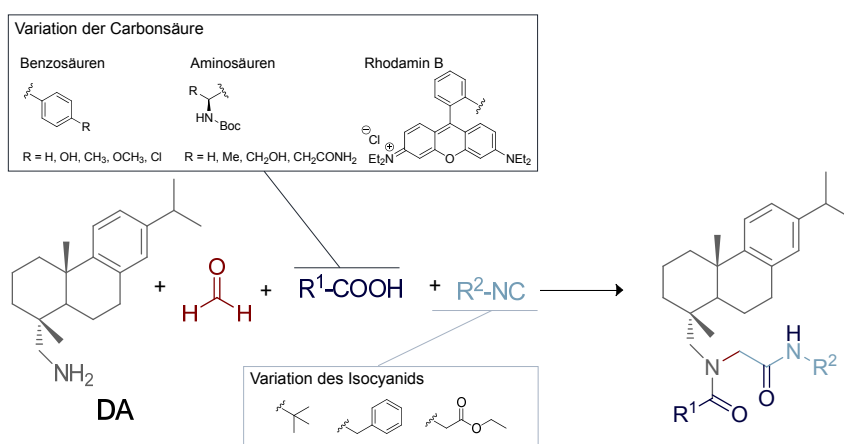


Abbildung 21: Syntheschema der **DA**-UGI-Derivate.

Auf der Grundlage der Ergebnisse des SRB-Assays kann ein allgemeiner Trend des zytotoxischen Potentials der **DA**-UGI-Derivate beobachtet werden (s. Abbildung 22). Hervorzuheben ist die außergewöhnlich hohe zytotoxische Wirksamkeit der synthetisierten

Rhodamin B-Konjugate (**P6-14** – **P6-16**), welche bis *dato* die zytotoxisch aktivsten **DA**-Derivate darstellen. Diese Ergebnisse bestätigen somit das allgemein hohe pharmakologische Potential von terpenoiden Rhodamin B-Konjugaten, welches bereits in den Untersuchungen von SOMMERWERK *et al.*¹²⁹ und WOLFRAM *et al.*^{145,146} herausgestellt wurde. Die Variation der Isocyanid-Komponente führt hinsichtlich der Zytotoxizität des Rhodamin B-Konjugates zu keiner signifikanten Veränderung.

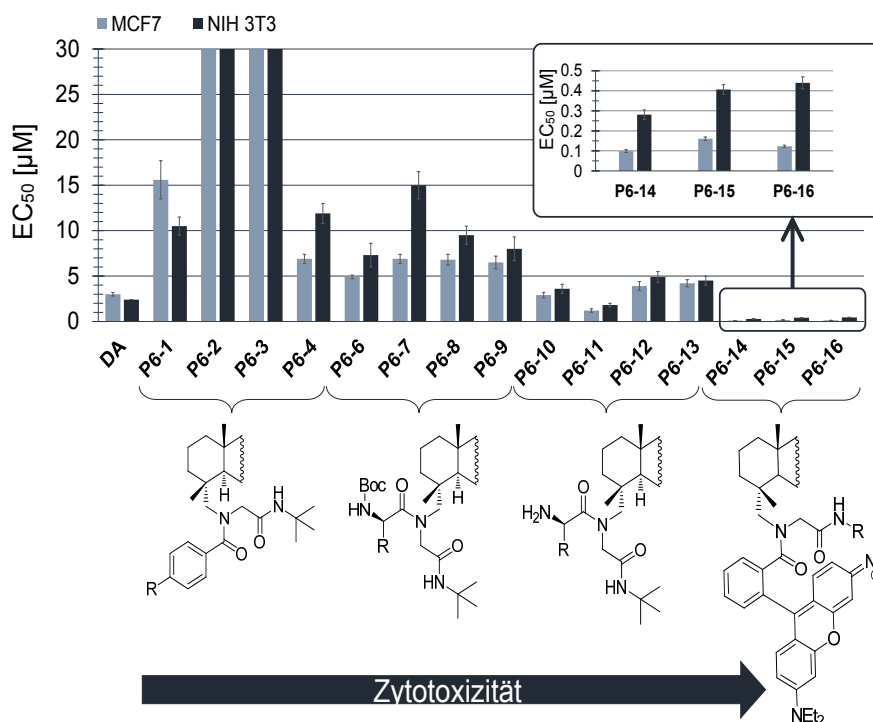


Abbildung 22: Graphische Darstellung der Ergebnisse des SRB-Assays der **DA**-UGI-Derivate.

In diesem Zusammenhang haben wir auch **P6-17a**, welches über eine SCHOTTEN-BAUMANN-Reaktion synthetisiert wurde, untersucht. **P6-17a** ist ein Derivat der Rhodamin B-Spirolactame, welches im Gegensatz zu der offenkettigen Form (**P6-17b**) keine fluoreszierenden Eigenschaften aufweist (s. Abbildung 23). Die beiden Strukturen liegen im Gleichgewicht vor; durch Bestrahlung (UV und sichtbares Licht) erfolgt die Öffnung des Lactams und somit die Ausbildung des Rhodamin-Chromophors.¹⁴⁷

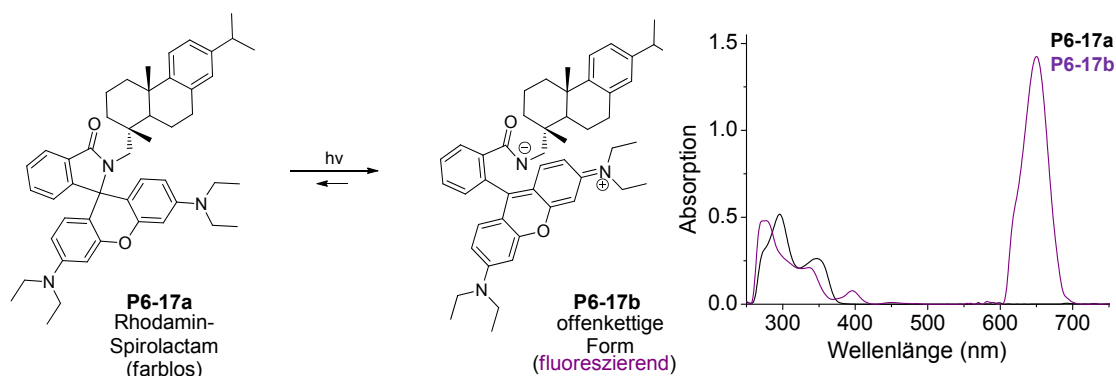


Abbildung 23: Photoinduzierte Ringöffnung der Verbindung **P6-17a**.

Das pharmakologische Potential von **P6-17a** bzw. **P6-17b** ist deutlich geringer und kann hinsichtlich der zytotoxischen Wirkung gegenüber den untersuchten Zelllinien als inaktiv bezeichnet werden. Dies verdeutlicht, dass in Bezug auf die untersuchten Rhodamin B-Derivate nicht einzig der Rhodamin B-Rest zu einer erhöhten Zytotoxizität führt, sondern eine geeignete Verknüpfung mit dem Diterpen-Grundgerüst notwendig ist.

3.2 Terpene als potentielle Cholinesterase-Inhibitoren

3.2.1 Einführung: Therapeutische Verwendung von Cholinesterase-Inhibitoren bei Morbus Alzheimer

Die Alzheimer-Krankheit (AK) ist die am häufigsten auftretende neurodegenerative Erkrankung, deren charakteristischer Krankheitsverlauf durch einen progressiven Verlust des Gedächtnisses und der kognitiven Funktionen sowie durch signifikante Verhaltensänderungen geprägt ist.

Die komplexe Pathogenese der AK ist durch neuropathologische Veränderungen, wie die Bildung seniler Plaques, resultierend aus der extrazellulären Akkumulation von Amyloid β -Proteinen sowie neurofibrillären Bündeln, welche aus der intrazellulären Aggregation des hyperphosphorylierten Tau-Proteins entstehen, gekennzeichnet.¹⁴⁸ Diese multifaktoriellen Vorgänge erschweren bis *dato* die Entwicklung eines effizienten Wirkstoffes zur Behandlung der AK.¹⁴⁹

Der erste Versuch die vielfältige Pathogenese der AK zu erklären, wurde bereits 1976 durch DAVIES und MALONEY¹⁵⁰ unternommen; ihrer cholinergen Hypothese entsprechend korreliert die progressive Abnahme der kognitiven Leistungsfähigkeit der an der AK erkrankten Patienten mit dem Untergang der cholinergen Neurotransmission, im Speziellen mit einer stark verminderten Konzentration des Neurotransmitters Acetylcholin (ACh).

Basierend auf der cholinergen Hypothese werden Cholinesterase (ChE)-Inhibitoren, wie beispielsweise Galantamin, Donepezil oder Rivastigmin, als Wirkstoffe zur Behandlung der AK eingesetzt. Galantamin sowie Donepezil hemmen selektiv die Acetylcholinesterasen (AChE), während Rivastigmin ebenfalls zur Inhibierung der Butyrylcholinesterase (BChE) führt. Beide Enzyme sind fähig ACh zu Acetat und Cholin zu hydrolysieren. Während im gesunden menschlichen Gehirn die AChE vorherrschend für die Hydrolyse des ACh verantwortlich sind, konnte die Funktion der substratspezifischen BChE bis *dato* nicht vollständig aufgeklärt werden. Bei den an der AK erkrankten Patienten konnte jedoch in der Großhirnrinde und im Hippocampus eine signifikante Abnahme der AChE-Aktivität und eine Zunahme der BChE-Aktivität, welche unter anderem auch mit der Akkumulation des Amyloid β -Proteins und infolgedessen mit der Bildung neuritischer Plaques im frühen Stadium der AK, assoziiert wird, nachgewiesen werden.¹⁵¹ Die Verwendung dualer ChE-Inhibitoren weist hinsichtlich einer therapeutischen Anwendung dementsprechend ein hohes Potential auf^{151,152}; dies konnte bislang allerdings durch keine Studie bestätigt werden.

Bei AK-Patienten kann durch die Inhibierung der ChE das Defizit an ACh kompensiert werden, wodurch dessen Fähigkeit zur Stimulation nikotinischer und muskarinischer ACh-Rezeptoren

und somit die synaptische Transmission erhalten bleibt. Dies führt zu einer signifikanten Verlangsamung des kognitiven Niedergangs der AK-Patienten und somit zur entscheidenden Verbesserung ihrer Lebensqualität.^{148,153,154} Obwohl die ChE-Inhibitoren lediglich eine symptomatische Behandlung der Krankheit ermöglichen, stellen diese Wirkstoffe bis *dato* noch die primäre, therapeutische Strategie zur Behandlung der AK im frühen bis mittleren Stadium dar.¹⁵⁵

Des Weiteren stehen neben der cholinergen Hypothese sowohl die Amyloid-Hypothese¹⁵⁶⁻¹⁵⁸ als auch die Tau-Protein-Hypothese^{159,160} zur Erklärung der Pathogenese der AK zur Diskussion. Diese bieten Ansatzpunkte zur Entwicklung alternativer Therapiestrategien, jedoch konnte für diese Wirkstoffe bis *dato* keine Zulassung erreicht werden.^{149,154} Neue Erkenntnisse zum Einfluss von Inflammasomen¹⁶¹ oder von humanen Herpesviren¹⁶² könnten beispielsweise Ansatzpunkte für weitere, neuartige Behandlungs- bzw. Heilungsstrategien darstellen.

3.2.2 Derivate des Dehydroabietylamins als potentielle Cholinesterase-Inhibitoren

Eine Untersuchung von CAO *et al.*¹⁶³ wies erstmals auf das Potential von **DA**-Derivaten zur Behandlung von Alzheimer hin; im Mittelpunkt der Untersuchung stand deren antioxidative Aktivität sowie deren Fähigkeit der Inhibierung der A β ₄₂-Aggregation. Eine potentielle inhibitorische Wirksamkeit von **DA**-Derivaten gegenüber Cholinesterasen wurde bis *dato* nicht untersucht, weshalb wir diesbezüglich weiterführende biologische Evaluierungen ausgewählter **DA**-Derivate vornahmen.

Eine detaillierte Beschreibung der synthetischen Vorgehensweise sowie der Ergebnisse der Bestimmung der ChE-Inhibierung nach ELLMAN¹⁶⁴ ist der Veröffentlichung „*Novel dehydroabietylamine derivatives as potent inhibitors of acetylcholinesterase*“ (Anhang, Publikation P-7) zu entnehmen.

Der Schwerpunkt der Derivatisierung des **DA** lag auf der Modifikation der Aminogruppe sowie der Funktionalisierung des C-Rings des Diterpen-Grundgerüsts. Die nachfolgende biologische Evaluierung der Derivate ermöglicht allgemeine Rückschlüsse auf Struktur-Wirkungsbeziehungen.

Die inhibitorische Aktivität der Amid-Derivate wird signifikant von Substituenten beeinflusst (s. Abbildung 24); während Alkanoyl-Substituenten zu einer unselektiven Hemmung der ChE führen, zeigen Benzoyl-Substituenten eine selektive Inhibierung der AChE. Eine weitere Steigerung der AChE-Inhibierung wird durch zusätzliche unpolare Substituenten (R¹; vgl. Abbildung 24) in *para*-Position des aromatischen Rings erreicht. Die ermittelten

Inhibierungsprozente sind mit denen des verwendeten Standards Galantamin Hydrobromid (**GH**) vergleichbar.

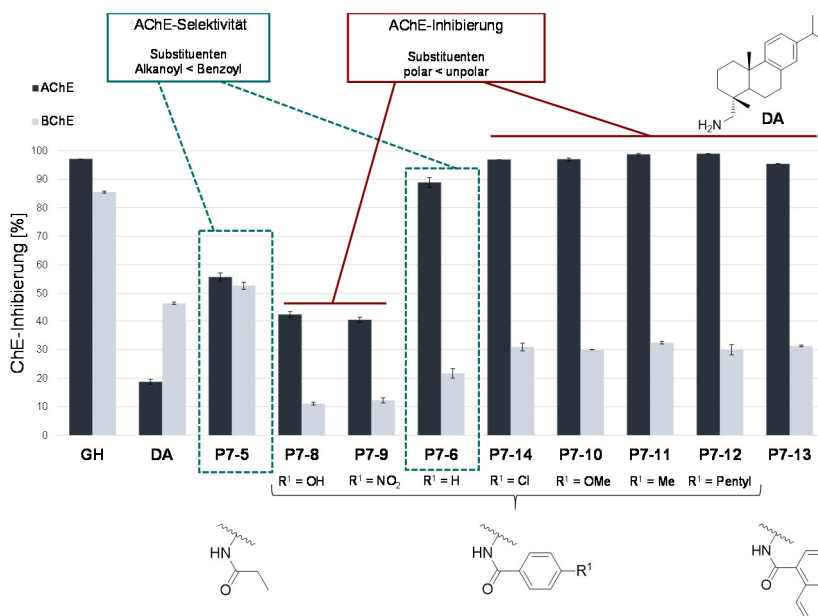


Abbildung 24: Schematische Übersicht des inhibitorischen Potentials ausgewählter **DA**-Derivate.

Die inhibitorische Aktivität wird vermutlich entscheidend von der Polarität des Substituenten beeinflusst; dies kann ebenfalls für die **DA**-Amide, welche einen Isochinolin-, Chinolin- oder Pyridin-Rest tragen, bestätigt werden. Eine periphere Position des Stickstoffatoms im aromatischen Rest des Substituenten führt zu einer Verringerung der inhibitorischen Aktivität, während ein Stickstoffatom in direkter Nachbarschaft zur Amid-Funktion keinen Einfluss auf mögliche unpolare Wechselwirkungen zeigt und dementsprechend deren Aktivität mit der der Verbindungen **P7-6** bzw. **P7-13** vergleichbar ist.

Der Einfluss der C-Ring-Modifikationen wurde am Beispiel des *N*-Phthaloyl-dehydroabietylamins untersucht; deren Derivate, welche an Position C-12 mit einer Acyl-, einer Acetyl- bzw. einer Hydroxygruppe funktionalisiert sind, zeigten eine signifikante Verringerung der inhibitorischen Aktivität und Selektivität. Nachfolgende, bis *dato* unpublizierte, Untersuchungen, in denen der Einfluss einer ergänzenden Derivatisierung der Aminogruppe (C-18) evaluiert wurde, bestätigen die Abnahme der inhibitorischen Wirkung gegenüber AChE. Für einzelne Derivate (z.B. 12-Hydroxy-*N*-(4-nitro)benzoyldehydroabietylamin und 12-Hydroxy-*N*-isonicotinoyldehydroabietylamin) konnte zudem eine signifikante Steigerung der BChE-Inhibierung (I = 71.37% bzw. I = 88.54%) beobachtet werden.

4 Zusammenfassung

Seit vielen Jahrzehnten dienen Naturstoffe als Leitstrukturen für die Entwicklung neuer und effizienter Wirkstoffe; einfache chemische Derivatisierungen ihres Molekülgerüsts ermöglichen häufig eine signifikante Optimierung ihrer inhärenten biologischen Aktivität.

Im ersten Teil dieser Arbeit lag der Fokus auf einer Derivatisierung der weitverbreiteten Naturstoffklasse der pentazyklischen Triterpene. Ausgewählte Vertreter des Oleanan-, des Ursan- und des Lupan-Typs wurden über konventionelle, lineare Synthesewege sowie unter Verwendung von Multikomponentenreaktionen derivatisiert und nachfolgend im Sulforhodamin B-Assay im Hinblick auf eine potentielle Steigerung der zytotoxischen Wirkung gegenüber malignen Tumorzelllinien untersucht.

Durch die Synthese der Triterpen-Hydroxamate sowie -Carbamate konnten Struktureinheiten in das Molekülgerüst eingeführt werden, welche in einer Vielzahl von aktiven Wirkstoffen zu finden sind. Die beobachtete zytotoxische Aktivität der synthetisierten Hydroxamate ist besonders hervorzuheben. Diese Zytotoxizität wird dabei signifikant von den Substituenten beziehungsweise der Anzahl acider Wasserstoffatome des Hydroxamat-Restes beeinflusst; so konnten für die Hydroxamsäuren EC_{50} -Werte im unteren mikromolaren Bereich bestimmt werden. Weitere Modifikationen des Triterpen-Grundgerüsts zeigen für diese Derivate keinen signifikanten Einfluss auf deren zytotoxische Wirkung.

Des Weiteren erfolgte eine Derivatisierung pentazyklischer Triterpencarbonsäuren über Multikomponentenreaktionen. Über diese Reaktionen, im Speziellen über UGI- und PASSERINI-Reaktionen, konnte im Rahmen dieser Arbeit eine Substanzbibliothek ausgewählter Oleanol- und Maslinsäure-Derivate synthetisiert und erstmals auf ihre potentielle Zytotoxizität gegenüber malignen Tumorzelllinien untersucht werden. Für einige Derivate konnte eine signifikante Steigerung der Aktivität der triterpenoiden Leitstrukturen und deren Selektivität erreicht werden. In diesem Zusammenhang konnten Rückschlüsse auf mögliche Struktur-Wirkungsbeziehungen gezogen werden. Während eine Acetylierung des Triterpen-Grundgerüsts eine signifikante Steigerung der Selektivität zur Folge hat, scheinen beispielsweise Ester-Funktionen in der peptidomimetischen Struktur der Verbindungen deren Selektivität signifikant zu senken. Dies zeigte unter anderem auch der Vergleich der UGI- und PASSERINI-Derivate, welche somit ein verringertes pharmakologisches Potential besitzen. Besonders hervorzuheben ist die hohe Zytotoxizität der Maslinsäure-Derivate, welche im Vergleich zu den Derivaten der Oleanolsäure-Derivate eine Steigerung der zytotoxischen Wirkung um eine Zehnerpotenz aufweisen. Das aktivste Derivat der Untersuchung (**P3-7b**), welches zudem den höchsten Selektivitätsindex ($SI = 73.0$) zeigt, wurde in Hinsicht auf den

Wirkungsmechanismus untersucht. Dabei konnte unter anderem die Änderung der Zellmorphologie, welche charakteristisch für das Eintreten von Apoptose ist, beobachtet werden.

Des Weiteren konnte eine Partialsynthese der Pomolsäure entwickelt werden. Diese ermöglicht ausgehend vom Epimeren-Gemisch der Tormentill- und Euscaphsäure die erste Darstellung dieser triterpenoiden Leitstruktur im großen Maßstab, welches den Ausgangspunkt für weitere Derivatisierungen und Untersuchungen des hohen zytotoxischen Potentials bietet.

Der zweite Schwerpunkt der Arbeit lag auf der Derivatisierung des Diterpens Dehydroabietylamin, welches im Vergleich zu den pentazyklischen Triterpencarbonsäuren ein erhöhtes inhärentes zytotoxisches Potential aufweist. Zunächst konnte durch die systematische Kombination einer Amidierung durch *para*-substituierte Benzoesäuren und der Modifikation des C-Rings die geringe Selektivität des Dehydroabietylamins erhöht werden. Das biologische Screening der Verbindungen zeigte eine starke Abhängigkeit der potentiellen zytotoxischen Wirksamkeit von den Substituenten des Benzoesäurerestes.

Anschließend erfolgte, aufgrund der vielversprechenden Ergebnisse der Derivatisierung der pentazyklischen Triterpene, die Umsetzung in MCR, im Speziellen in Ugi-Vierkomponentenreaktionen. Die systematische Variation der Säurekomponente zeigte, neben einer signifikanten Abhängigkeit der zytotoxischen Wirkung, einen starken Einfluss auf das Auftreten von *cis-trans* Rotameren. Vor allem für die Rhodamin B-Konjugate konnte eine ausgeprägte Zytotoxizität beobachtet werden; sie stellen die bis *dato* aktivsten Derivate des Dehydroabietylamins dar. Der Wirkungsmechanismus dieser zytotoxischen Verbindungen konnte bislang jedoch noch nicht vollständig aufgeklärt werden und bietet dementsprechend einen Ansatzpunkt für weitere Untersuchungen.

Abschließend wurden ausgewählte Derivate des Dehydroabietylamins erstmals hinsichtlich einer potentiellen inhibitorischen Wirksamkeit gegenüber Cholinesterasen untersucht. Auf der Grundlage der Ergebnisse des Ellman Assays konnten einige Strukturwirkungsbeziehungen abgeleitet werden. Generell führt die Derivatisierung der Amino-Funktion des Dehydroabietylamins zu einer signifikanten Änderung der inhibitorischen Wirkung. Insbesondere die Einführung unpolarer Reste zeigt ein erhöhtes Potential der Acetylcholinesterase-Inhibierung; deren bestimmten Inhibierungsprozente sind mit denen des verwendeten Standards Galantamin Hydrobromid vergleichbar. Dies verdeutlicht das vielfältige Potential terpenoider Naturstoffe für die Wirkstoffforschung.

Die Ergebnisse, die dieser Arbeit zugrunde liegen, wurden in Form von sechs Publikationen und einem Manuskript veröffentlicht bzw. zusammengefasst.

5 Literaturverzeichnis

1. G. Samuelsson *Drugs of Natural Origin: A Textbook of Pharmacognosy*, Swedish Pharmaceutical Press, Stockholm, **1999**.
2. J.K. Borchardt *Drug News Perspect.* **2002**, *15*, 187-192.
3. G.M. Cragg, D.J. Newman *Pharm. Biol.* **2001**, *39*, 8-17.
4. D.S. Fabricant, N.R. Farnsworth *Environ. Health Perspect.* **2001**, *109*, 69-75.
5. U. Heidelberg, Papyrus Ebers: Das Hermetische Buch über die Arzneimittel der alten Ägypter in hieratischer Schrift; <http://digi.ub.uni-heidelberg.de/diglit/ebers1875ga> (zuletzt aufgerufen am 18.04.2018).
6. G.M. Cragg, P.G. Grothaus, D.J. Newman In *Plant Bioactives and Drug Discovery - Principles, Practice, and Perspectives*; V. Cechinel-Filho Ed., John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, USA, **2012**.
7. D.J. Newman, G.M. Cragg In *Natural Product Chemistry for Drug Discovery* A.D. Buss, M.S. Butler Eds., RSC Publishing, Cambridge, UK, **2009**, 3-27.
8. G. Merck *Liebigs Ann.* **1848**, *66*, 125-128.
9. O. Schmiedeberg *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* **1874**, *3*, 16-43.
10. D.J. Newman, G.M. Cragg *J. Nat. Prod.* **2016**, *79*, 629-661.
11. R. Hänsel, T. Dingermann In *Pharmakognosie - Phytopharmazie*; R. Hänsel, O. Sticher Eds., Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2010**, 145-182.
12. C.R.A. Wright *J. Chem. Soc.* **1874**, *27*, 1031-1043.
13. F.E. Koehn, G.T. Carter *Nat. Rev. Drug Discov.* **2005**, *4*, 206-20.
14. A.L. Demain, L. Zhang In *Natural Products: Drug Discovery and Therapeutic Medicine*; L. Zhang, A.L. Demain Eds., Humana Press, Totowa, NJ, USA, **2005**, 3-29.
15. J.R. Hanson In *Natural Products: The Secondary Metabolites*; E.W. Abel Ed., RSC Publishing, Cambridge, UK, **2003**, 1-34.
16. A. Clark In *Foye's Principles of Medicinal Chemistry*; W.O. Foye, T.L. Lemke, D.A. Williams Eds., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, USA, **2008**.
17. J. Gershenzon, N. Dudareva *Nat. Chem. Biol.* **2007**, *3*, 408-414.
18. T. Moses, J. Pollier, J.M. Thevelein, A. Goossens *New Phytol.* **2013**, *200*, 27-43.
19. R. Croteau, T.M. Kutchan, N.G. Lewis In *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*; B. Buchanan, W. Gruissem, R. Jones Eds., John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, USA, **2000**, 1250-1318.
20. J. Buckingham *Dictionary of natural products*, Chapman and Hall, London, UK, **1994**.

-
21. O. Wallach *Liebigs Ann.* **1887**, 239, 1-54.
 22. L. Ruzicka *Experientia* **1953**, 9, 357-367.
 23. E. Breitmaier *Terpene: Aromen, Düfte, Pharmaka, Pheromone*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2012**.
 24. J.R. Hanson *Nat. Prod. Rep.* **2013**, 30, 1346-1356.
 25. J.R. Hanson *Nat. Prod. Rep.* **2011**, 28, 1755-72.
 26. J.R. Hanson *Nat. Prod. Rep.* **2009**, 26, 1156-71.
 27. J.R. Hanson *Nat. Prod. Rep.* **2017**, 34, 1233-1243.
 28. J.R. Hanson *Nat. Prod. Rep.* **2015**, 32, 1654-1663.
 29. J.R. Hanson *Nat. Prod. Rep.* **2012**, 29, 890-898.
 30. J.R. Hanson *Nat. Prod. Rep.* **2016**, 33, 1227-1238.
 31. L. Barriault In *From Biosynthesis to Total Synthesis: Strategies and Tactics for Natural Products*; A.L. Zografos Ed., John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, USA, **2016**, 279-295.
 32. B. Stofer Vogel, M.R. Wildung, G. Vogel, R. Croteau *J. Biol. Chem.* **1996**, 271, 23262-23268.
 33. M.A. Phillips, R.B. Croteau *Trends Plant Sci.* **1999**, 4, 184-190.
 34. M.A. Gonzalez *Nat. Prod. Rep.* **2015**, 32, 684-704.
 35. P.J. Kersten, B.J. Kopper, K.F. Raffa, B.L. Illman *J. Chem. Ecol.* **2006**, 32, 2679-85.
 36. M. Himejima, K.R. Hobson, T. Otsuka, D.L. Wood, I. Kubo *J. Chem. Ecol.* **1992**, 18, 1809-1818.
 37. S. Trapp, R. Croteau *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **2001**, 52, 689-724.
 38. J.H. Langenheim *Plant resins : chemistry, evolution, ecology, and ethnobotany*, Timber Press, Cambridge, UK, **2003**.
 39. T.A. Söderberg, R. Gref, S. Holm, T. Elmros, G. Hallmans *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Hand Surg.* **2009**, 24, 199-205.
 40. A. Sipponen, M. Rautio, J.J. Jokinen, T. Laakso, P. Saranpaa, J. Lohi *Drug Metab. Lett.* **2007**, 1, 143-145.
 41. E. Lewinsohn, J. Savage Thomas, M. Gijzen, R. Croteau *Phytochemical Anal.* **2007**, 4, 220-225.
 42. W.E. Hillis *Wood Extractives and Their Significance to the Pulp and Paper Industries*, Academic Press Inc., New York, USA, **1962**.
 43. N.M. Joye, R.V. Lawrence *J. Chem. Eng. Data* **1967**, 12, 279-282.
-

-
44. U. Bahr, P. Müller, H. Müller-Dolezal, R. Stoltz, H. Söll *Houben-Weyl Methods of Organic Chemistry Vol. V/1c, 4th Edition: Conjugated Dienes, Diels-Alder Reactions*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **2014**.
 45. L.F. Fieser, M. Fieser *Natural Products Related to Phenanthrene*, Reinhold Publishing Corporation, New York, USA, **1949**.
 46. S. Kaufmann Dissertation, ETH Zürich, **1941**.
 47. A. Enoki *Wood Research: Bulletin of the Wood Research Institute Kyoto University* **1976**, 59/60, 49-57.
 48. A. Vesterberg *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1903**, 36, 4200-4202.
 49. L. Ruzicka, G.B.R. de Graaft, H.J. Müller *Helv. Chim. Acta* **1932**, 15, 1300-1303.
 50. F. Vocke *Liebigs Ann.* **1932**, 497, 247-264.
 51. K. Kraft *Liebigs Ann.* **1935**, 520, 133-143.
 52. D. Barton, G. Schmeidler *J. Chem. Soc.* **1948**, 1197-1203.
 53. A.W. Burgstahler, J.N. Marx *J. Org. Chem.* **1969**, 34, 1562-1566.
 54. L.F. Fieser, W.P. Campbell *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, 60, 159-170.
 55. S. Prinz, U. Müllner, J. Heilmann, K. Winkelmann, O. Sticher, E. Haslinger, A. Hufner *J. Nat. Prod.* **2002**, 65, 1530-1534.
 56. C.H. Brieskorn *Pharm. Unserer Zeit* **2006**, 16, 161-180.
 57. A. Szakiel, C. Pączkowski, M. Henry *Phytochem. Rev.* **2011**, 10, 471-491.
 58. J.T. Lowitz *Crell Ann.* **1788**, 1, 312-317.
 59. L. Ruzicka, M. Furter *Helv. Chi. Acta* **1932**, 15, 472-482.
 60. L. Ruzicka, H. Silbermann, M. Furter *Helv. Chim. Acta* **1932**, 15, 482-490.
 61. L. Ruzicka, A. Marxer *Helv. Chim. Acta* **1940**, 23, 144-152.
 62. O. Sticher In *Pharmakognosie — Phytopharmazie*; R. Hänsel, O. Sticher Eds., Springer, Berlin, Heidelberg, **2010**, 833-938.
 63. I. Abe, M. Rohmer, G.D. Prestwich *Chem. Rev.* **1993**, 93, 2189-2206.
 64. D.M. Harrison *Nat. Prod. Rep.* **1985**, 2, 525-560.
 65. R. Xu, G.C. Fazio, S.P.T. Matsuda *Phytochemistry* **2004**, 65, 261-291.
 66. S. Jager, H. Trojan, T. Kopp, M.N. Laszczyk, A. Scheffler *Molecules* **2009**, 14, 2016-31.
 67. M. Chudzik, I. Korzonek-Szlacheta, W. Krol *Molecules* **2015**, 20, 1610-25.
 68. P. Dzubak, M. Hajduch, D. Vydra, A. Hustova, M. Kvasnica, D. Biedermann, L. Markova, M. Urban, J. Sarek *Nat. Prod. Rep.* **2006**, 23, 394-411.
-

-
69. H.M. Geysen, R.H. Meloen, S.J. Barteling *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1984**, *81*, 3998-4002.
70. R.A. Houghten *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1985**, *82*, 5131-5135.
71. S.T.U. Borman *Chem. Eng. News* **2003**, *81*, 45-56.
72. J.P. Kennedy, L. Williams, T.M. Bridges, R.N. Daniels, D. Weaver, C.W. Lindsley *J. Comb. Chem.* **2008**, *10*, 345-354.
73. R. Liu, X. Li, K.S. Lam *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2017**, *38*, 117-126.
74. G.M. Cragg, D.J. Newman *Biochim. Biophys. Acta* **2013**, *1830*, 3670-3695.
75. A.M. Rouhi *Chem. Eng. News* **2003**, *81*, 77-91.
76. I. Ugi, A. Dömling, B. Ebert In *Combinatorial Chemistry*; G. Jung Ed., WILEY-VCH Verlag GmbH, Weinheim, **1999**.
77. A. Dömling, W. Wang, K. Wang *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 3083-3135.
78. E. Ruijter, R.V.A. Orru *Discovery of MCRs*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2014**.
79. A. Strecker *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1850**, *75*, 27-45.
80. A. Hantzsch *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1881**, *14*, 1637-1638.
81. A. Hantzsch *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1890**, *23*, 1474-1476.
82. P. Biginelli *Gazz. Chim. Ital.* **1983**, *23*, 360-413.
83. C. Mannich, W. Krösche *Arch. Pharm.* **1912**, *250*, 647-667.
84. M. Passerini *Gazz. Chim. Ital.* **1921**, *51*, 126-129.
85. H.T. Bucherer, V.A. Lieb *J. prakt. Chem.* **1934**, *141*, 5-43.
86. H. Bergs *Ger. Pat.* 566094 **1929**.
87. E.K. Fields *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 1528-1531.
88. M.I. Kabachnik, T.Y. Medved *Dokl. Akad. Nauk SSSR* **1952**, *83*, 689.
89. F. Asinger *Angew. Chem.* **1956**, *68*, 413-413.
90. I. Ugi, R. Meyr, U. Fetzer, C. Steinbrückner *Angew. Chem.* **1959**, *71*, 386.
91. K. Gewalt, E. Schinke, H. Böttcher *Chem. Ber.* **1966**, *99*, 94-100.
92. N.A. Petasis, I. Akritopoulou *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 583-586.
93. A. Laurent, C.F. Gerhardt *Annalen Phar.* **1838**, *28*, 265-269.
94. I. Ugi, B. Werner, A. Dömling *Molecules* **2003**, *8*, 53-66.
95. I. Ugi *J. prakt. Chem.* **1997**, *339*, 499-516.
96. W. Lieke *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1859**, *112*, 316-321.
97. A. Dömling, I. Ugi *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3168-3210.
98. A. Gautier *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1867**, *142*, 289-294.
-

-
99. A.W. Hofmann *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1867**, *144*, 114-120.
100. I. Ugi, R. Meyr *Angew. Chem.* **1958**, *70*, 702-703.
101. E. Marqués-López, R.P. Herrera In *Multicomponent Reactions*; E. Marqués-López, R.P. Herrera Eds., John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, USA, **2015**.
102. O. Mumm *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1910**, *43*, 886-893.
103. O. Mumm, H. Hesse, H. Volquartz *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1915**, *48*, 379-391.
104. A.M.L. Hoel, J. Nielsen *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 3941-3944.
105. H.G.O. Alvim, E.N. da Silva Junior, B.A.D. Neto *RSC Adv.* **2014**, *4*, 54282-54299.
106. I. Ugi *Angew. Chem. Int. Ed.* **1962**, *1*, 8-21.
107. I. Ugi, C. Steinbrückner *DE-B I* **1959**, *103*, 337.
108. W. Müller-Esterl In *Biochemie: Eine Einführung für Mediziner und Naturwissenschaftler*; W. Müller-Esterl Ed., Springer, Berlin, Heidelberg, **2018**, 527-548.
109. K.R. Aigner, F.O. Stephens, T. Allen-Mersh, G. Hortobagyi, D. Khayat, S.M. Picksley, P. Sugarbaker, T. Taguchi, J.F. Thompson In *Onkologie Basiswissen*; K.R. Aigner, F.O. Stephens Eds., Springer, Berlin, Heidelberg, **2016**, 3-13.
110. R. Böhm, N. Cimin-Bredée, J. Culman, P. Gohlke, L. Ley, G. Luippold, M. Ufer, V. Wätzig In *Kurzlehrbuch Pharmakologie und Toxikologie*; T. Herdegen Ed., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **2010**.
111. M.F. Fromm, M. Gramatzki In *Pharmakotherapie: Klinische Pharmakologie*; B. Lemmer, K. Brune Eds., Springer, Berlin, Heidelberg, **2010**, 155-166.
112. B. Brandt, P.E. Petrides In *Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie*; P.C. Heinrich, M. Müller, L. Graeve Eds., Springer, Berlin, Heidelberg, **2014**, 649-659.
113. J.F.R. Kerr, A.H. Wyllie, A.R. Currie *Br. J. Cancer* **1972**, *26*, 239-257.
114. L. Ouyang, Z. Shi, S. Zhao, F.T. Wang, T.T. Zhou, B. Liu, J.K. Bao *Cell Prolif.* **2012**, *45*, 487-498.
115. G. Kroemer, W.S. El-Deiry, P. Golstein, M.E. Peter, D. Vaux, P. Vandenabeele, B. Zhivotovsky, M.V. Blagosklonny, W. Malorni, R.A. Knight, M. Piacentini, S. Nagata, G. Melino *Cell Death Differ.* **2005**, *12*, 1463.
116. P.C. Heinrich, H.-G. Koch, J. Brix In *Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie*; P.C. Heinrich, M. Müller, L. Graeve Eds., Springer, Berlin, Heidelberg, **2014**, 633-637.
117. C. Constantinou, K.A. Papas, A.I. Constantinou *Current Cancer Drug Targets* **2009**, *9*, 717-728.
-

-
118. E. Pisha, H. Chai, I.-S. Lee, T.E. Chagwedera, N.R. Farnsworth, G.A. Cordell, C.W.W. Beecher, H.H.S. Fong, A.D. Kinghorn, D.M. Brown, M.C. Wani, M.E. Wall, T.J. Hieken, T.K. Das Gupta, J.M. Pezzuto *Nature Medicine* **1995**, *1*, 1046.
119. P. ten Holte, K. Van Emelen, M. Janicot, P.C. Fong, J.S. de Bono, J. Arts In *Cancer*; R.H. Bradbury Ed., Springer, Berlin, Heidelberg, **2007**, 293-331.
120. S. Yoon, G.H. Eom *Chonnam Med. J.* **2016**, *52*, 1-11.
121. P.W. Atadja In *Epigenetics and Disease: Pharmaceutical Opportunities*; S.M. Gasser, E. Li Eds., Springer, Basel, **2011**, 175-195.
122. L. Heller, V. Perl, J. Wiemann, A. Al-Harrasi, R. Csuk *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 2852-2854.
123. J. Wiemann, L. Heller, R. Csuk *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *150*, 176-194.
124. S. Sommerwerk, L. Heller, J. Kuhfs, R. Csuk *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *119*, 1-16.
125. A.K. Ghosh, M. Brindisi *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 2895-2940.
126. H. Kommera, G.N. Kaluđerović, S. Dittrich, J. Kalbitz, B. Dräger, T. Mueller, R. Paschke *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 3409-3412.
127. S. Gurrupu, W.J. Walsh, J.M. Brooks, S.C. Jonnalagadda, V.R. Mereddy *Nat. Prod. Ind. J.* **2012**, *8*, 115-120.
128. D.K. Classen-Houben, P.; Del Ruiz-Ruiz, M.; Amer, H.; Stanetty, C.; Jordis, U.; Beseda, I.; Czollner, L. In *Proceedings of the 13th Int. Electron. Conf. Synth. Org. Chem., 1 - 30 November 2009*; Sciforum Electronic Conference Series, **2009**.
129. S. Sommerwerk, L. Heller, C. Kerzig, A.E. Kramell, R. Csuk *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *127*, 1-9.
130. B. Siewert, E. Pianowski, A. Obernauer, R. Csuk *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 594-615.
131. K.H. Yoo, J.H. Park, D.K. Lee, Y.Y. Fu, N.I. Baek, I.S. Chung *Oncol. Lett.* **2013**, *5*, 386-390.
132. J. Wiemann, L. Heller, V. Perl, R. Kluge, D. Strohl, R. Csuk *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *106*, 194-210.
133. M. Nakatani, Y. Miyazaki, T. Iwashita, H. Naoki, T. Hase *Phytochemistry* **1989**, *28*, 1479-1482.
134. O. Estrada, C. Alvarado-Castillo, A.Z. Fernandez, M. Lopez, E. Romero-Vecchione, J. Vasquez, J. Mendez, D. Conde, A. Cardozo *Curr. Bioact. Compd.* **2009**, *5*, 219-225.
135. C.H. Brieskorn, H.P. Süss *Arch. Pharm.* **1974**, *307*, 949-960.
136. R. Müller, P. Rüedi *Helv. Chim. Acta* **2003**, *86*, 439-456.
-

-
137. M.C. Wani, H.L. Taylor, M.E. Wall, P. Coggon, A.T. McPhail *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 2325-2327.
138. M.C. Wani, S.B. Horwitz *Anti-cancer drugs* **2014**, *25*, 482-487.
139. A. Sehrawat, S.H. Kim, E.R. Hahm, J.A. Arlotti, J. Eiseman, S.S. Shiva, L.H. Rigatti, S.V. Singh *Mol. Carcinog.* **2017**, *56*, 337-348.
140. R. Gowda, S.V. Madhunapantula, O.F. Kuzu, A. Sharma, G.P. Robertson *Mol. Cancer Ther.* **2014**, *13*, 1679-1689.
141. O.F. Kuzu, R. Gowda, A. Sharma, G.P. Robertson *Mol. Cancer Ther.* **2014**, *13*, 1690-1703.
142. Y. Chen, Z.-X. Lin, A.-M. Zhou *Nat. Prod. Res.* **2012**, *26*, 2188-2195.
143. M.A. Mustufa, A. Aslam, C. Ozen, I. Ali Hashmi, N.u.H. Naqvi, M. Ozturk, F.I. Ali *Med. Chem. Res.* **2017**, *26*, 1367-1376.
144. T. Ling, M. Tran, M.A. Gonzalez, L.N. Gautam, M. Connelly, R.K. Wood, I. Fatima, G. Miranda-Carboni, F. Rivas *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *102*, 9-13.
145. R.K. Wolfram, L. Heller, R. Csuk *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *152*, 21-30.
146. R.K. Wolfram, L. Fischer, R. Kluge, D. Ströhl, A. Al-Harrasi, R. Csuk *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *155*, 869-879.
147. V.N. Belov, M.L. Bossi, J. Folling, V.P. Boyarskiy, S.W. Hell *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 10762-10776.
148. T.H. Ferreira-Vieira, I.M. Guimaraes, F.R. Silva, F.M. Ribeiro *Curr. Neuropharmacol.* **2016**, *14*, 101-115.
149. R. Anand, K.D. Gill, A.A. Mahdi *Neuropharmacology* **2014**, *76 Pt A*, 27-50.
150. P. Davies, A.J.F. Maloney *Lancet.* **1976**, *308*, 1403.
151. N.H. Greig, T. Utsuki, Q. Yu, X. Zhu, H.W. Holloway, T. Perry, B. Lee, D.K. Ingram, D.K. Lahiri *Curr. Med. Res. Opin.* **2001**, *17*, 159-65.
152. N.H. Greig, D.K. Lahiri, K. Sambamurti *Int. Psychogeriatr.* **2002**, *14*, 77-91.
153. G.T. Grossberg *Current Therapeutic Research*, *64*, 216-235.
154. J. Godyn, J. Jonczyk, D. Panek, B. Malawska *Pharmacol. Rep.* **2016**, *68*, 127-38.
155. D.B. Hogan *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* **2007**, *3*, 569-578.
156. K. Beyreuther, L. Masters Colin *Brain Pathol.* **1991**, *1*, 241-251.
157. J. Hardy, D. Allsop *Trends Pharmacol. Sci.* **1991**, *12*, 383-388.
158. J.A. Hardy, G.A. Higgins *Science* **1992**, *256*, 184.
159. K.S. Kosik, C.L. Joachim, D.J. Selkoe *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1986**, *83*, 4044.
-

160. I. Grundke-Iqbal, K. Iqbal, Y.C. Tung, M. Quinlan, H.M. Wisniewski, L.I. Binder *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1986**, *83*, 4913.
161. J. Yin, F. Zhao, J.E. Chojnacki, J. Fulp, W.L. Klein, S. Zhang, X. Zhu *Mol. Neurobiol.* **2018**, *55*, 1977-1987.
162. B. Readhead, J.-V. Haure-Mirande, C.C. Funk, M.A. Richards, P. Shannon, V. Haroutunian, M. Sano, W.S. Liang, N.D. Beckmann, N.D. Price, E.M. Reiman, E.E. Schadt, M.E. Ehrlich, S. Gandy, J.T. Dudley *Neuron* **2018**, *99*, 64-82.
163. Y. Cao, L. Wang, Z. Lin, F. Liang, Z. Pei, J. Xu, Q. Gu *Med. Chem. Commun.* **2014**, *5*, 1736-1743.
164. G.L. Ellman, K.D. Courtney, V. Andres, R.M. Featherstone *Biochem. Pharmacol.* **1961**, *7*, 88-95.

6 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Morphin und ausgewählte Derivate.....	2
Abbildung 2: Ausgewählte pharmakologische Eigenschaften der Terpene.....	4
Abbildung 3: Schematische Darstellung der Biosynthese der Abietane.....	5
Abbildung 4: Hitze- und Säureisomerisierung der Harzsäuren.....	6
Abbildung 5: Disproportionierung der Abietinsäure.....	7
Abbildung 6: Strukturen ausgewählter Triterpen-Grundgerüste.....	8
Abbildung 7: Schematische Gegenüberstellung einer MCR und einer linearen Synthese.....	10
Abbildung 8: Resonanzstrukturen des Isocyanids unter Berücksichtigung relevanter Atomorbitale.....	13
Abbildung 9: Reaktionsgleichung der P-3CR.....	13
Abbildung 10: Postulierter Mechanismus der P-3CR. ⁷⁶	14
Abbildung 11: Reaktionsgleichung der U-4CR.....	14
Abbildung 12: Postulierter Mechanismus der U-4CR. ^{76,105}	14
Abbildung 13: Auszug der strukturellen Diversität der UGI-Vierkomponentenreaktion.....	15
Abbildung 14: Schematische Übersicht ausgewählter Zytostatika und deren Wirk- prinzipien.....	19
Abbildung 15: Allgemeines Syntheschema der Triterpen-Hydroxamate.....	21
Abbildung 16: Allgemeines Syntheschema der Carbamate des Betulins.....	22
Abbildung 17: Syntheschema der Triterpen-UGI-Derivate.....	23
Abbildung 18: Strukturformel des aktivsten MA-UGI-Derivates (P3-7b).....	23
Abbildung 19: Syntheschema der Partialsynthese von PA	25
Abbildung 20: Ausgewählte Ergebnisse des SRB-Assays der synthetisierten DA -Amide....	27
Abbildung 21: Syntheschema der DA -UGI-Derivate.....	28
Abbildung 22: Graphische Darstellung der Ergebnisse des SRB-Assays der DA -UGI- Derivate.....	29
Abbildung 23: Photoinduzierte Ringöffnung der Verbindung P6-17a	29
Abbildung 24: Schematische Übersicht des inhibitorischen Potentials ausgewählter DA - Derivate.....	33

7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klassifizierung der Terpene.	3
Tabelle 2: Erstmalige Isolierung ausgewählter Triterpene.....	8
Tabelle 3: Übersicht ausgewählter klassischer MCR.....	11
Tabelle 4: Klassifizierung der MCR nach UGI ⁹⁵	12
Tabelle 5: Zytotoxizität ausgewählter Triterpene. ^{129,132}	24

Anhang

Publikationen

Im Folgenden werden die dieser Arbeit zugrunde liegenden Publikationen (P-1 bis P-7) aufgelistet.

P-1: „Targeting cancer cells with oleanolic and ursolic acid derived hydroxamates“

J. Wiemann, L. Heller, R. Csuk *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 907–909.

P-2: „Betulinic acid derived hydroxamates and betulin derived carbamates are interesting scaffolds for the synthesis of novel cytotoxic compounds“

J. Wiemann, L. Heller, V. Perl, R. Kluge, D. Ströhl, R. Csuk *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *106*, 194–210.

P-3: „An access to a library of novel triterpene derivatives with a promising pharmacological potential by Ugi and Passerini multicomponent reactions“

J. Wiemann, L. Heller, R. Csuk *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *150*, 176–194.

P-4: „A remarkably simple and convergent partial synthesis of pomolic acid“

J. Wiemann, A. Deckelmann, R. Csuk *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 3952–3953.

P-5: „Syntheses of C-ring modified dehydroabietyl amides and their anticancer potential“

J. Wiemann, L. Fischer, M. Rohmer, R. Csuk *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *156*, 861–870.

P-6: „Ugi multicomponent-reaction: Syntheses of cytotoxic dehydroabietylamine derivatives“

J. Wiemann, L. Fischer, J. Kessler, D. Ströhl, R. Csuk *Bioorg. Chem.* **2018**, *81*, 567–576.

P-7: „Novel dehydroabietylamine derivatives as potent inhibitors of acetylcholinesterase“

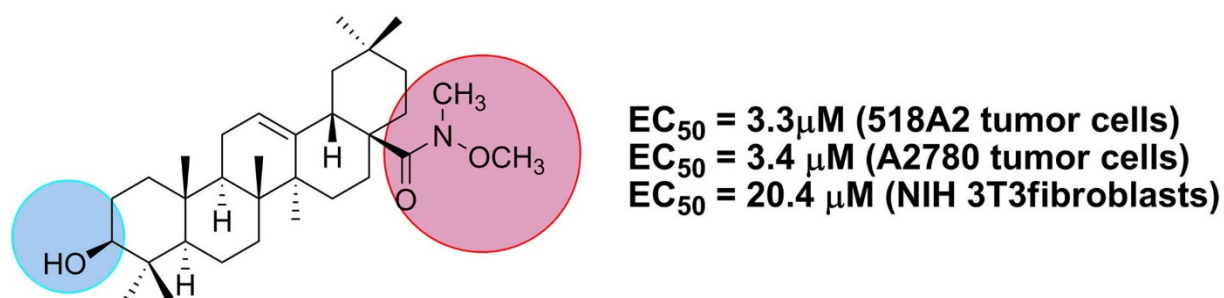
J. Wiemann, A. Loesche, R. Csuk *Bioorg. Chem.* **2017**, *74*, 145–157.

Publikation P-1

Targeting cancer cells with oleanolic and ursolic acid derived hydroxamates

J. Wiemann, L. Heller, R. Csuk *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 907–909.

Graphical Abstract



Abstract

Oleanolic and ursolic acid derived hydroxamates were easily obtained from their parent compounds; they were screened for their cytotoxicity applying SRB assays employing several human tumor cell lines. Low EC_{50} values were determined for compounds in which the nitrogen as well as the oxygen in the hydroxamic acid part still holds acidic hydrogens. Thus, ursolic acid derived compounds having at least an OH and/or NH moiety in the hydroxamate part of the molecule showed good cytotoxicity but they are significantly less selective for the tumor cells than oleanolic acid derived compounds. Good results were determined for oleanolic acid derived **7** for tumor cell lines 518A2 (melanoma, $EC_{50} = 3.3\mu\text{M}$), A2780 (ovarian carcinoma, $EC_{50} = 3.4\mu\text{M}$) and HT29 (colon adenocarcinoma, $EC_{50} = 5.6\mu\text{M}$) while being significantly less cytotoxic for fibroblasts ($EC_{50} = 20.4\mu\text{M}$).

Keywords

Triterpenes; Oleanolic acid; Ursolic acid; Hydroxamates; SRB assay; Cancer

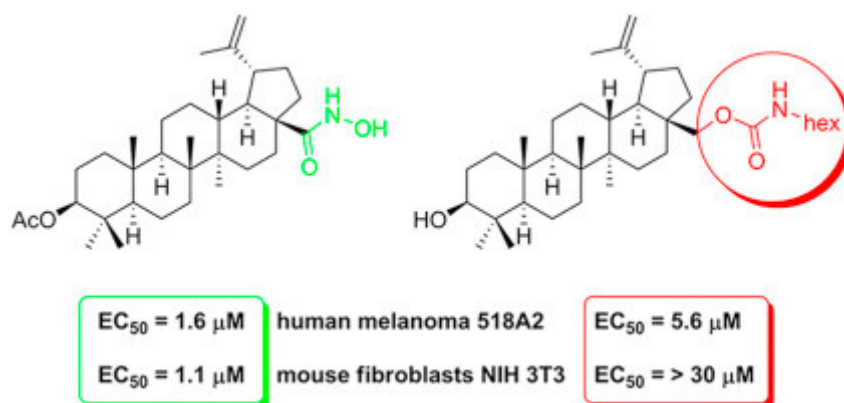
DOI: 10.1016/j.bmcl.2015.12.064

Publikation P-2

Betulinic acid derived hydroxamates and betulin derived carbamates are interesting scaffolds for the synthesis of novel cytotoxic compounds

J. Wiemann, L. Heller, V. Perl, R. Kluge, D. Ströhl, R. Csuk *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *106*, 194–210.

Graphical Abstract



Abstract

The betulinic acid-derived hydroxamates **5–18**, the amides **19–24**, and betulin-derived bis-carbamates **25–28** as well as the carbamates **31–40** and **44–48** were prepared and evaluated for their antiproliferative activity in a photometric sulforhodamine B (SRB) assay against several human cancer cell lines and nonmalignant mouse fibroblasts (NIH 3T3). While for 3-*O*-acetyl hydroxamic acid **5** EC_{50} values as low as $EC_{50} = 1.3 \mu\text{M}$ were found, *N,O*-bis-alkyl substituted hydroxamates showed lowered cytotoxicity ($EC_{50} = 16–20 \mu\text{M}$). In general, hydroxamic acid derivatives showed only reduced selectivity for tumor cells, except for allyl substituted compound **13** ($EC_{50} = 5.9 \mu\text{M}$ for A2780 human ovarian carcinoma cells and $EC_{50} > 30 \mu\text{M}$ for nonmalignant mouse fibroblasts). The cytotoxicity of betulinic acid derived amides **19–24** and of betulin derived bis-carbamates **25–28** was low, except for *N*-ethyl substituted **25**. Hexyl substituted **39** showed $EC_{50} = 5.6 \mu\text{M}$ (518A2 cells) while for mouse fibroblasts $EC_{50} > 30$ was determined.

Keywords

Triterpenes; Betulinic acid; Betulin; Hydroxamates; Carbamates; Tumor cells

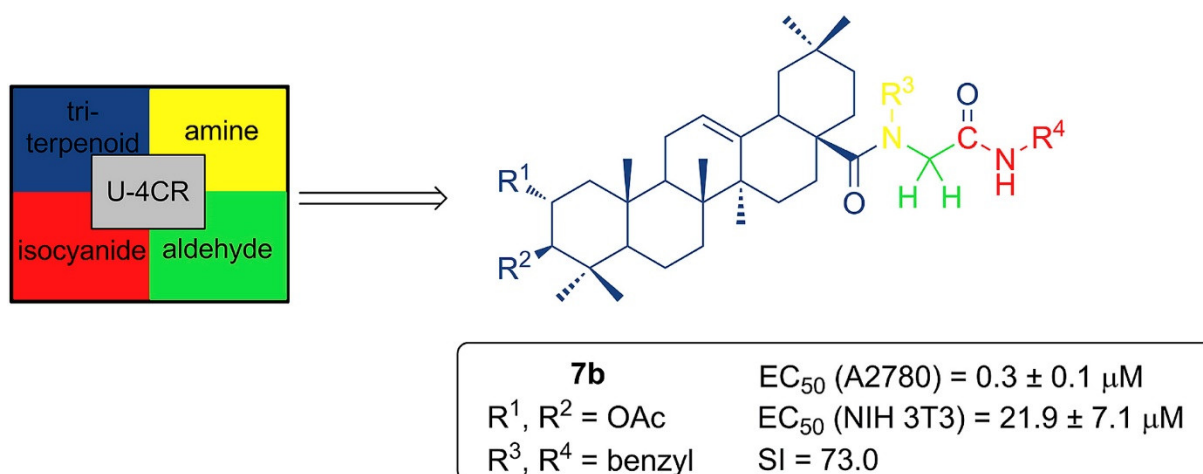
DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.10.043

Publikation P-3

An access to a library of novel triterpene derivatives with a promising pharmacological potential by Ugi and Passerini multicomponent reactions

J. Wiemann, L. Heller, R. Csuk *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *150*, 176–194.

Graphical Abstract



Abstract

The promising combination of natural product leads and their derivatization by isocyanide-based multicomponent reactions (IMCRs) has gained interest in accessing diversity-oriented libraries with auspicious pharmacological potential. Therefore, a set of 34 Ugi and 3 Passerini products was successfully synthesized starting from naturally occurring triterpenoids, i.e. oleanolic acid (OA) and maslinic acid (MA), followed by a biological evaluation of the novel α -acylamino carboxamides and the α -acyloxy carboxamides in colorimetric SRB assays to determine their cytotoxic potential. Especially, the MA-Ugi products **6a**, **6b** and **7b** showed a remarkable cytotoxicity for A2780 ovarian carcinoma cells in a low μM range. Compounds **6a** and **7b** induced programmed cell death in part through the apoptosis pathway.

Keywords

Multicomponent reaction; Ugi reaction; Passerini reaction; Triterpenoids; Maslinic acid; Cytotoxicity; Apoptosis

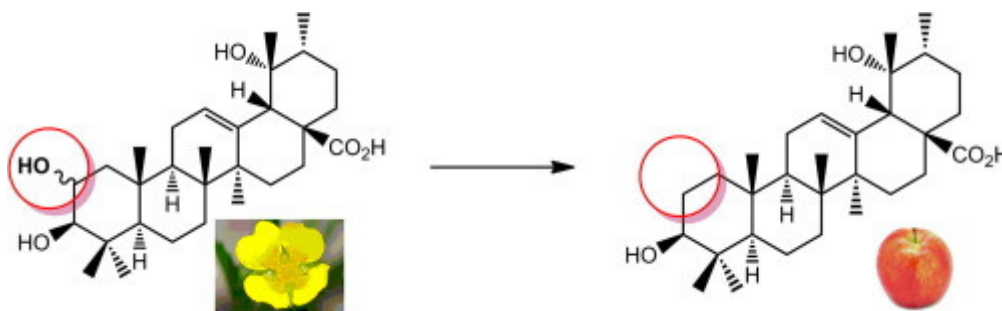
DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.02.060

Publikation P-4

A remarkably simple and convergent partial synthesis pomolic acid

J. Wiemann, A. Deckelmann, R. Csuk *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 3952–3953.

Graphical Abstract



Abstract

Mixtures of tormentonic and euscaphic acid can be used to access pomolic acid using a convergent synthetic approach. This approach constitutes at present the best and shortest route to pomolic acid.

Keywords

Triterpenes; Pomolic acid; Tormentonic acid; Euscaphic acid

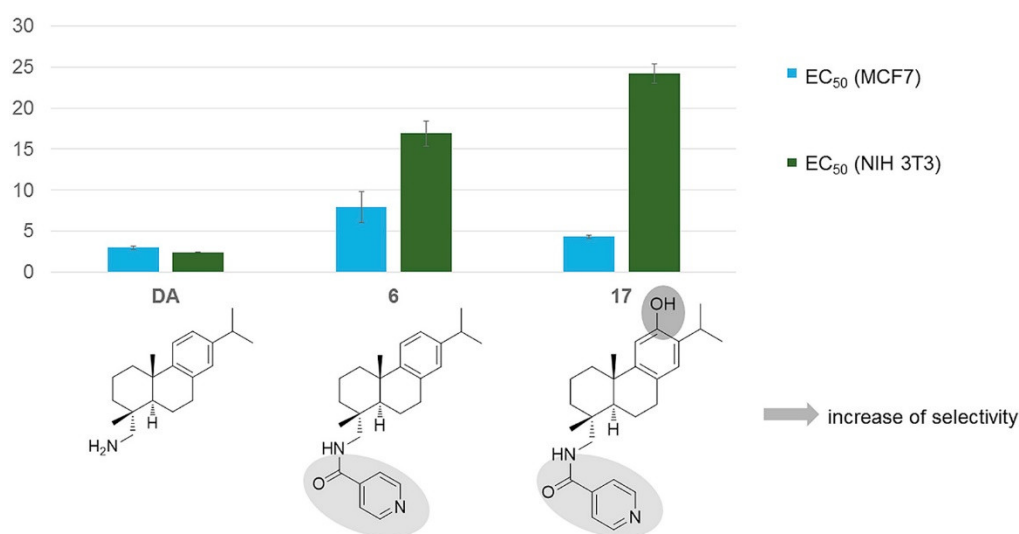
DOI: 10.1016/j.tetlet.2016.07.068

Publikation P-5

Syntheses of C-Ring modified dehydroabietylammides and their cytotoxic activity

J. Wiemann, L. Fischer, M. Rohmer, R. Csuk *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *156*, 861–870.

Graphical Abstract



Abstract

Due to their auspicious pharmacological efficacy as future drug candidates, natural products have been attracting scientific interest for centuries. An interesting field of research concerns the natural product class of terpenes. In this regard, a multitude of studies have already shown their promising biological potential. Therefore, a set of 27 derivatives of the diterpene dehydroabietylamine was synthesized, focusing on C-ring modifications and the derivatization of the amino moiety at C-18. Subsequent screening of the compounds in colorimetric sulforhodamine B-assays revealed an *in vitro* cytotoxicity especially towards malignant cell line MCF7. Particularly, 12-hydroxy-*N*-(isonicotinoyl)dehydroabietylamine and *N*-(4-methoxybenzoyl)dehydroabietylamine showed good cytotoxic activities ($EC_{50}(\text{MCF7}) = 4.3 \pm 0.2 \mu\text{M}$ and $EC_{50}(\text{MCF7}) = 4.5 \pm 1.5 \mu\text{M}$, respectively) and significant selectivities ($SI = 6.2$ and $SI = 8.8$, respectively) towards malignant cell lines.

Keywords

Dehydroabietylamine; Amides; Cytotoxicity

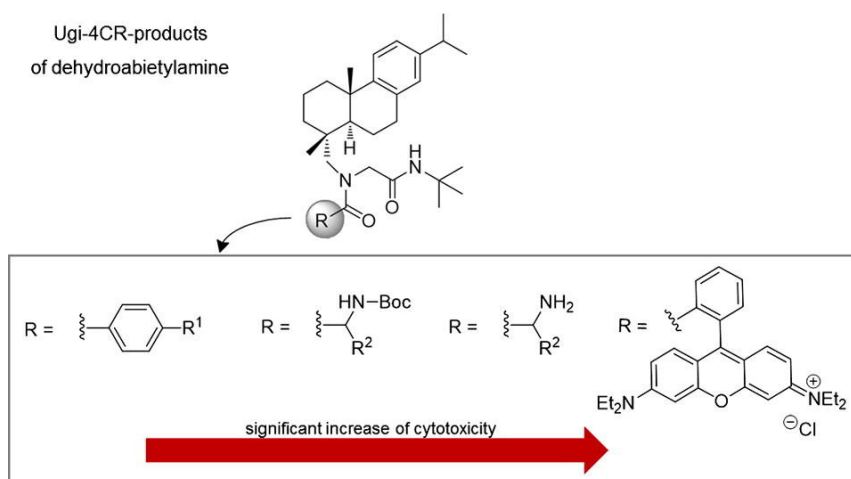
DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.07.051

Publikation P-6

Ugi multicomponent reactions: Syntheses of cytotoxic dehydroabietylamine derivatives

J. Wiemann, L. Fischer, J. Kessler, D. Ströhl, R. Csuk *Bioorg. Chem.* **2018**, *81*, 567–576.

Graphical Abstract



Abstract

Isocyanide-based multicomponent reactions – especially the standard four component Ugi reaction – provide an easy and powerful access to compounds with an auspicious pharmacological potential. Therefore, a set of 16 novel derivatives of the diterpene dehydroabietylamine was synthesized by the Ugi-4CR. The subsequent screening of the synthesized α -acylamino carboxamides in colorimetric sulforhodamine B assays revealed an *in vitro* cytotoxicity towards several human tumor cell lines. Particularly, the rhodamine B conjugates **14**–**16** showed a remarkable cytotoxic activity, characterized by EC_{50} values in a low three-digit nanomolar range. The screening of rhodamine B amide **17** that was obtained for comparison by a Schotten-Baumann reaction showed that the linkage of the rhodamine B moiety and the diterpene influences significantly its cytotoxic potency. While **14** was highly cytotoxic and acted as a mitocan, compound **17** was not cytotoxic at all. This observation underlines the importance of the type of coupling between the diterpene and the rhodamine part. The presence of a rhodamine B moiety in the molecules doesn't necessarily guarantee that the compound is cytotoxic.

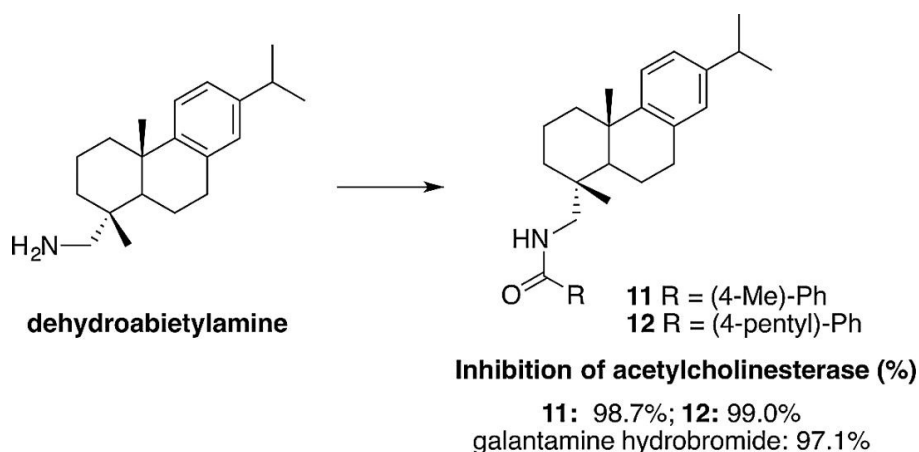
DOI: 10.1016/j.bioorg.2018.09.014

Publikation P-7

Novel dehydroabietylamine derivatives as potent inhibitors of acetylcholinesterase

J. Wiemann, A. Loesche, R. Csuk *Bioorg. Chem.* **2017**, *74*, 145–157.

Graphical Abstract



Abstract

Nowadays, the inhibition of acetylcholinesterase is one of the main pharmacological strategies for the treatment of Alzheimer's disease. Therefore, a set of thirty-four derivatives of the diterpenoid dehydroabietylamine has been synthesized and screened in colorimetric Ellman's assays to determine their ability to inhibit the enzymes acetylcholinesterase (AChE, from electric eel) and butyrylcholinesterase (BChE, from equine serum). A systematic variation of the substitution of dehydroabietylamides enabled an approach to analogs showing a remarkable inhibition potency for AChE. Particularly *N*-benzoyldehydroabietylamines **11**, **12** and **13** were excellent inhibitors for AChE, showing inhibition rates comparable to standard galantamine hydrobromide.

Keywords

Dehydroabietylamine; Acetylcholinesterase; Inhibitors

DOI: 10.1016/j.bioorg.2017.07.013

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Jana Wiemann
Geburtsdatum: 19.07.1989
Geburtsort: Buxtehude
Staatsangehörigkeit: deutsch

Bildungsweg

seit 11/2014 Promotionsstudium am Institut für Chemie im Bereich Organische Chemie,
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg unter der Leitung von Prof. Dr.
René Csuk

10/2012 – 09/2014 Master of Science Chemie (1,3)
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

10/2009 – 09/2012 Bachelor of Science Chemie (2,0)
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

08/2002 – 06/2009 Allgemeine Hochschulreife
Gymnasium Athenaeum Stade

Praxiserfahrung

seit 12/2014 Wissenschaftliche Mitarbeiterin
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (Institut für Chemie)

10/2015 – 2/2016 Lehrauftrag Hochschule Merseburg; Organische Chemie

11/2012 – 03/2013 Wissenschaftliche Hilfskraft
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (Institut für Chemie)

07/2009 Praktikum Chemische Fabrik Dr. Weigert GmbH & Co. KG, Hamburg

Publikationsliste

Publikationen in Fachzeitschriften

„Epimerization, Claisen and Vorländer reaction starting from methyl platanoate“

J. Wiemann, S. Sommerwerk, R. Kluge, D. Ströhl, R. Csuk *J. Mol. Struct.* **2019**, *1177*, 249-254.

“Transformation of asiatic acid into a mitocanic, bimodal-acting rhodamine B conjugate of nanomolar cytotoxicity“

M. Kahnt, **J. Wiemann**, L. Fischer, S. Sommerwerk, R. Csuk *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *159*, 143-148.

„Unexpected AChE inhibitory activity of (2*E*) α,β -unsaturated fatty acids“

A. Loesche, **J. Wiemann**, Z. Al Halabi, J. Karasch, W. Sippl, R. Csuk *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, *28*, 3315-3319.

„Ugi multicomponent-reaction: Syntheses of cytotoxic dehydroabietylamine derivatives“

J. Wiemann, L. Fischer, J. Kessler, D. Ströhl, R. Csuk *Bioorg. Chem.* **2018**, *81*, 567-576.

„Syntheses of C-ring modified dehydroabietylamides and their cytotoxic activity “

J. Wiemann, L. Fischer, M. Rohmer, R. Csuk *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *156*, 861-870.

„An access to a library of novel triterpene derivatives with a promising pharmacological potential by Ugi and Passerini multicomponent reactions“

J. Wiemann, L. Heller, R. Csuk *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *150*, 176-194.

„Novel dehydroabietylamine derivatives as potent inhibitors of acetylcholinesterase“

J. Wiemann, A. Loesche, R. Csuk *Bioorg. Chem.* **2017**, *74*, 145-157.

„Piperlongumine B and analogs are promising and selective inhibitors for acetylcholinesterase“

J. Wiemann, J. Karasch, A. Loesche, L. Heller, W. Brandt, R. Csuk *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *139*, 222-231.

„A remarkably simple and convergent partial synthesis of pomolic acid“

J. Wiemann, A. Deckelmann, R. Csuk *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 3952-3953.

„Amino(oxo)acetate moiety: A new functional group to improve the cytotoxicity of betulin derived carbamates”

L. Heller, V. Perl, **J. Wiemann**, A. Al-Harrasi, R. Csuk *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 2852-2854.

„Synthesis and proapoptotic activity of oleanolic acid derived amides”

L. Heller, A. Knorrscheidt, F. Flemming, **J. Wiemann**, S. Sommerwerk, I.Z. Pavel, A. Al-Harrasi, R. Csuk *Bioorg. Chem.* **2016**, *68*, 137-151.

„Targeting cancer cells with oleanolic and ursolic acid derived hydroxamates”

J. Wiemann, L. Heller, R. Csuk *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 907-909.

„Betulinic acid derived hydroxamates and betulin derived carbamates are interesting scaffolds for the synthesis of novel cytotoxic compounds”

J. Wiemann, L. Heller, V. Perl, R. Kluge, D. Ströhl, R. Csuk *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *106*, 194-210.

„First Occurrence of a Furano-glycyrrhetinoate and Its Cytotoxicity”

L. Heller, S. Sommerwerk, F. Tzschöckell, **J. Wiemann**, S. Schwarz, B. Siewert, A. Al-Harrasi, R. Csuk *Arch. Pharm. (Weinheim)* **2015**, *348*, 889-896.

„The chemical and biological potential of C ring modified triterpenoids”

B. Siewert, **J. Wiemann**, A. Koewitsch, R. Csuk *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *72*, 84-101.

„A bioassay-driven discovery of an unexpected selenophene and its cytotoxicity”

R. Csuk, B. Siewert, **J. Wiemann** *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 3542-3546.

Posterbeiträge

J. Wiemann, L. Heller, R. Csuk: Ugi multicomponent reactions: An access to a library of dehydroabietylamine derivatives with an *in vitro* anticancer potential, ORCHEM 2018, 10.-12.09.2018, Berlin, Deutschland.

J. Wiemann, A. Loesche, R. Csuk: Novel dehydroabietylamine derivatives as potent inhibitors of acetylcholinesterase, 18th Tetrahedron Symposium, 27.-30.06.2017, Budapest, Ungarn.

J. Wiemann, L. Heller, R. Csuk: Novel oleanolic acid derivatives and their selectivity towards ovarian carcinoma A2780 cells, Bioactive Natural Products: translating promise into practice, 11.-13.07.2016, Oxford, Großbritannien.

J. Wiemann, L. Heller, R. Csuk: Synthesis and biological screening of triterpenoic hydroxamic acids, 17. JCF-Frühjahrssymposium, 25.-28.03.2015, Münster, Deutschland.

Selbstständigkeitserklärung

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

Diese Arbeit wurde bisher an keiner anderen Universität oder Hochschule zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht.

Halle (Saale), den 7. August 2018

Jana Wiemann