

SYNTHESE UND BIOLOGISCHE EVALUIERUNG VON AROMATISCHEN  
PFLANZENINHALTSSTOFFEN

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

Herrn Björn Alexander Weber

geb. am 21.09.1989 in Merseburg

Gutachter: Prof. Dr. R. Csuk (Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg)

Prof. Dr. M. Schmidt (Hochschule Furtwangen)

Datum der Verteidigung: 26. Mai 2020



## Danksagung

Einen ganz besonderen Dank möchte ich in erster Linie meinem Doktorvater Prof. Dr. René Csuk für die Überlassung des interessanten Themas aussprechen. Für die gute jahrelange Unterstützung, die unzähligen Ratschläge, die langen konstruktiven Gespräche und immer das Fünkchen Motivation zur richtigen Zeit, möchte ich mich hiermit bedanken. Mit Ihrer Begeisterung für chemische Reaktionen und neue Strukturen aller Art sind Sie ein großes Vorbild für mich. Sie hatten immer ein offenes Ohr für Probleme und dabei die richtige Lösung meistens bereits parat –so etwas ist in dieser Zeit nicht mehr alltäglich und für mich nicht selbstverständlich. Ich bin Ihnen zu tiefem Dank verpflichtet. Herzlichen Dank.

Weiterhin möchte ich der gesamten Arbeitsgruppe für die schöne gemeinsame Zeit und die gewährte Hilfe danken. Dabei möchte ich einen besonderen Dank an Frau Dr. L. Fischer, Dipl.-LMChem S. Hoenke und M.Sc. A. Loesche richten, für die zahlreichen biologischen Assays. Besonders Danke ich, M.Sc. Benjamin Brandes, Frau Dr. R. Wolfram und Herrn Dr. S. Oschatz, für die unzähligen Gespräche und Telefonate bei Problemen und Fragestellungen. Ich danke euch für euer offenes Ohr, zu jeder Tageszeit.

Ein großes Dankeschön geht auch an alle Studenten, durch deren direkte oder indirekte Hilfe ein Beitrag zum Gelingen dieser Arbeit geleistet wurde. Hier möchte ich mich zunächst bei Sander Friedrich, Paul Palme, Moritz Weiß, Hannes Knispel, Martin Christoph, Michael Türk, Niclas Starke und Frederik Rummel bedanken, einerseits für die synthesechemische Unterstützung aber vor allem für die sehr angenehme Zusammenarbeit und das enorme Interesse an meiner Arbeit.

Bei Dr. R. Schäfer möchte ich mich für die Unterstützung und die netten Gespräche während meiner gesamten Zeit in der Arbeitsgruppe bedanken. Für die Aufnahme der zahlreichen NMR-Spektren danke ich Dr. D. Ströhl, Yvonne Schiller und B.Sc. S. Kuring. Ein besonderer Dank geht an Dr. R. Kluge für die Anfertigung der ESI-MS-Spektren, die vielen hilfreichen Gespräche sowie für die angenehme gemeinsame Zeit und unzähligen bissigen Witze. Sie hinterlassen eine große Lücke. Bei B.Sc. V. Simon bedanke ich mich für die UV/Vis- und IR-Messungen.

Der größte Dank gebührt meinen besten Freunden Bernd Jahn, Christian Bernsen, Maik Spangenberg, sowie Christian Stach; ihrer Geduld und Aufmunterungen sei hier nochmals gedankt.

Meiner Omi, möchte ich diese Arbeit widmen. Sie kann leider den Abschluss dieser Arbeit und meinen weiteren Werdegang nicht mehr miterleben, doch ihrer Unterstützung in manch kniffliger Lage, ihrem Vertrauen auf meine Fähigkeiten und ihren ständigen aufmunternden Worten und ihrer Fürsorge möchte ich hier danken.

Zu guter Letzt möchte ich meiner Familie und meiner Freundin danken. Danke, dass ihr einfach nur für mich da seid.

## Vorwort

Diese vorliegende Arbeit entstand im Zeitraum von Dezember 2015 bis November 2019 am Institut für Chemie im Bereich Organische Chemie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg im Arbeitskreis von Prof. Dr. René Csuk. Die vorliegende Dissertation wurde in kumulativer Form angefertigt. Die Forschungsergebnisse sind bereits in internationalen englischsprachigen „peer-reviewed“ Fachzeitschriften erschienen. Dort sind alle experimentellen Daten, die Ergebnisse und deren Diskussion nachzulesen. Im Mittelpunkt dieser Dissertation stehen die Einordnung der Forschungsergebnisse, sowie eine übergreifende Diskussion der wissenschaftlichen Veröffentlichungen.

## Gliederung

	Seiten
1. Einleitung	1
a. Demografie	1
b. Volkskrankheiten	2
i. Alzheimer	2
ii. Krebs	3
iii. Diabetes mellitus	5
2. Bestimmung der biologischen Aktivität	8
a. SRB-Assay	8
b. Enzymtest	9
3. Phenylpropensäuren	10
a. Zimtsäure	10
i. Vorkommen und biologische Bedeutung	11
b. Sinapinsäure	15
i. Vorkommen und biologische Bedeutung	15
c. Pharmakologische Bedeutung von Phenylpropensäuren	16
4. Amorfrutin	21
a. Allgemein	21
b. Vorkommen und biologische Bedeutung	23
c. Pharmakologische Bedeutung	24
5. 2-Aminophenylphosphonsäure	25
a. Allgemein	25
b. Biologische und pharmakologische Bedeutung	26
6. Zielstellung	29

7. Darstellung der Ergebnisse	31
a. Publikation 1	31
b. Publikation 2	33
i. Nicht veröffentlichte Synthesen und Ergebnisse	35
c. Publikation 3	41
8. Zusammenfassung der Dissertation	44
9. Quellen	47
10. Abbildungsverzeichnis	55
11. Tabellenverzeichnis	56
12. Abbildungsverzeichnis	57
13. Experimenteller Teil	57
a. Allgemeine Angaben	57
b. Synthesevorschriften	58
14. Publikationsliste	68
Lebenslauf	IX
Selbstständigkeitserklärung	XI

## Abkürzungsverzeichnis

A2780	Eierstockkarzinom
A375	Epithelial Melanom
A549	Adenokarzinom der Lunge
ACh	Acetylcholin
AChE	Acetylcholinesterase
AMPK	aktivierte Proteinkinase
ATP	Adenosintriphosphat
B16	Mäusetumor (Hautkarzinom)
BCh	Butyrylcholin
BChE	Butyrylcholinesterase
CHA	Chorismat
DAHP	3-Desoxyarabinoheptulosanat-7-phosphat
DHQ	3 Dehydrochinat
DHS	3-Dehydroshikimat
DM	Diabetes mellitus
DMF	Dimethylformamid
DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin
DU-145	Prostatakarzinom
E1cB	Eliminierungsreaktion erster Ordnung
E4P	Erythrose-4-phosphat
EC <sub>50</sub>	Mittlere effektive Konzentration
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid
EPSP	5-Enolpyruvylshikimat-3-phosphat
et al.	und andere

FaDu	Plattenepithelkarzinom von Kopf und Nacken
ges.	gesättigt
H292	menschliche Atemwegsepithelzellen
HCT15	Kolorektales Adenokarzinom
HCT116	Dickdarmkarzinom
HL60	Leukämie-Zelllinie
HT29	Dickdarmkarzinom
HT-1080	Fibrosarkom
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
IC <sub>50</sub>	Mittlere effektive Konzentration
IDF	International Diabetes Federation
K <sub>i</sub>	Inhibitionskonstante
Lit.	Literatur
MALDI-MS	Matrix-Assistierte Laser-Desorption-Ionisierung mit Massenspektrometrie
MCF-7	Mammakarzinom
MDA-MB 231	Brustkrebs, Adenokarzinom
Me	Methyl
MeOH	Methanol
n.d.	nicht definiert
NADH/ NAD <sup>+</sup>	Nicotinamidadenindinukleotid
NADPH/ NADP <sup>+</sup>	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NCI-H23	Lungenkrebs, Adenokarzinom
NIH 3T3	nicht-maligne Mausfibroblasten
PC-3	Prostatakarzinom
PEP	Phosphoenolpyruvat



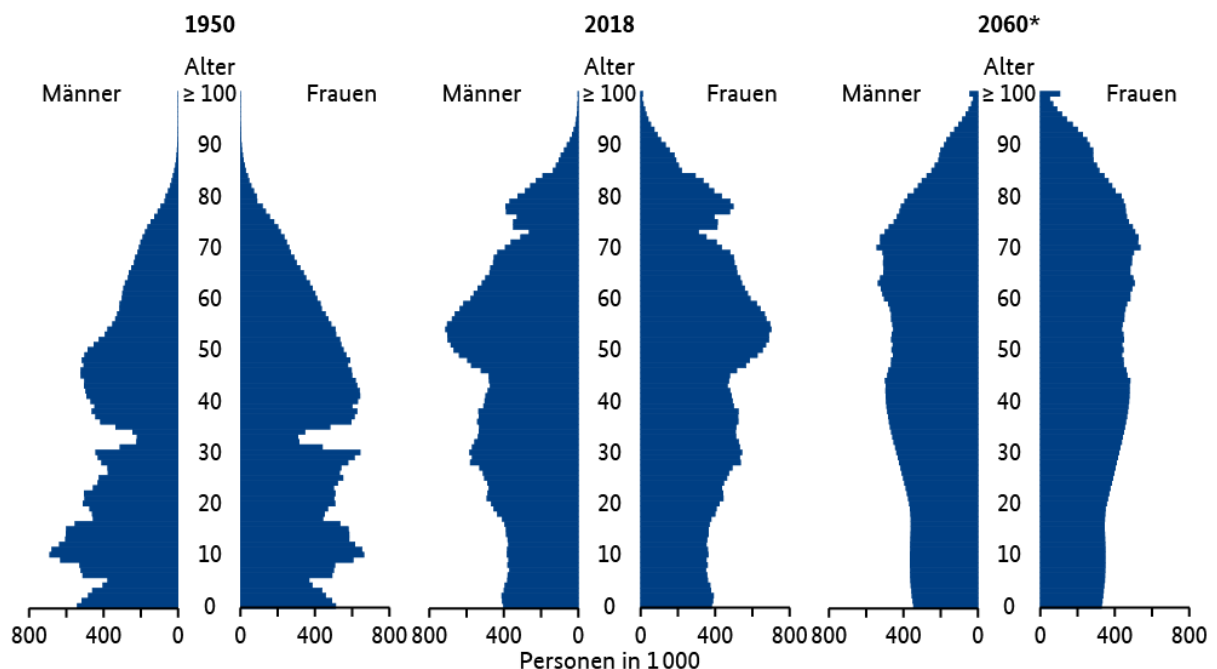
PPA	Prephenat
PPAR $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ , $\delta$	Peroxisom-Proliferator-Aktivierter Rezeptor Typ $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ , $\delta$
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
S3P	Shikimat-3-Phosphat
SHK	Shikimat
SER 641	Serin an Position 641
Smp	Schmelzpunkt
SRB	Sulforhodamin B
SW620	kolorektales Adenokarzinom
SW1736	Schilddrüsenkarzinom
T84	kolorektales Karzinom
THF	Tetrahydrofuran
TIPSCI	Chlor(triisopropyl)silan
TMEDA	Tetramethylethyldiamin
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
UV	Ultraviolettes (Licht)

# 1. Einleitung

## a. Demografie

Eine stetig älter werdende Bevölkerung stellt Medizin und Pharmakologie vor immer neue Herausforderungen. Bezogen auf Deutschland war 1950 nur jeder hundertste Einwohner 80 Jahre und älter. Heute ist schon jeder fünfzehnte hochaltrig und betrachten wir die Zeitspannen bis 2040, so könnte jeder Zehnte dieses hohe Alter erreichen.<sup>[1]</sup> Das demografische Modell der Altersstruktur in Deutschland mit Ausblick auf den zukünftigen Verlauf im Jahr 2060 ist in Abbildung 1 dargestellt.

**Altersstruktur der Bevölkerung in Deutschland, 1950–2060**



\* Ergebnis der aktualisierten 14. koordinierten Bevölkerungsvorausberechnung (Variante 2)  
Datenquelle: Statistisches Bundesamt

© BiB 2019/ demografie-portal.de

Abbildung 1: Altersstruktur in Deutschland.<sup>[1]</sup>

Bezogen auf die fortschreitende Altersstruktur werden neurodegenerative Krankheiten, Diabetes und Krebsneuerkrankungen stetig steigen. Diese Krankheitstypen sollten eine besondere Stellung in der Forschung und Pflege erhalten, um auf die steigenden Krankheitszahlen rechtzeitig entgegenwirken zu können.

## b. Volkskrankheiten

### i. Alzheimer

Die Zahl an Menschen, die derzeit in Deutschland an Demenz erkrankt sind, liegt bei ca. 1.2 Millionen. Bezogen auf ein Jahr, erkranken ca. 200.000 Menschen neu an dieser Krankheit.<sup>[2]</sup> Die bekannteste und häufigste Demenzerkrankung ist die Alzheimer-Krankheit. Bei den über 80-Jährigen leiden ca. 20% in den unterschiedlichsten Ausprägungen an dieser Krankheit. Die Entdeckung dieser Krankheit liegt nun schon über 100 Jahre zurück. 1907 berichtete A. Alzheimer bei mikroskopischen Untersuchungen von Gewebeproben aus dem Cortex über eine eigenartige Degeneration der Ganglienzellen der Hirnrinde. Er beobachtete, dass sich Fibrillen zusammenklebten und eigenartige fleckenförmige Herdchen ausbildeten.<sup>[3]</sup> Betrachtet man die komplexe Pathologie der Alzheimer-Krankheit, ist diese durch zwei wesentliche Merkmale charakterisiert: zum einen die Bildung seniler Plaques aufgrund der Aggregation von Amyloid- $\beta$ -Peptiden, ausgelöst durch eine gesteigerte Produktion, einen reduzierten Metabolismus oder genetisch bedingte Veränderungen dieser, zum anderen neurofibrillären Bündeln, welche durch die intrazelluläre Akkumulation hyperphosphorylierter Tau-Proteine entstehen.<sup>[4],[5]</sup> Da die Ausübung der eigentlichen Funktion des Tau-Proteins in diesem Zustand beeinträchtigt wird, tritt eine neuronale Dysfunktion ein, die schließlich zu einer irreversiblen neuronalen Degeneration führt. Diese multifaktoriellen Vorgänge erschweren bis dato die Entwicklung eines effizienten Wirkstoffes zur Behandlung der Alzheimer-Krankheit.<sup>[6],[7]</sup>

Eine erste Hypothese die komplexe Pathogenese der Alzheimer Krankheit zu erklären, konnte 1976 von DAVIES und MALONEY publiziert werden. Hierbei wird die progressive Abnahme der kognitiven Leistungsfähigkeit der an der Alzheimer-Krankheit betroffenen Patienten mit einer starken Abnahme des Neurotransmitters Acetylcholin (ACh) in Verbindung gebracht werden.<sup>[8]</sup> An dieser Stelle greift unsere Arbeitsgruppe diese Hypothese auf und untersucht selektiv die Blockierung der Hydrolyse des Acetylcholins (ACh) durch die beiden Enzyme Acetylcholinesterasen (AChE) und Butyrylcholinesterase (BChE). Zwar konnten in den letzten Jahren durchaus beträchtliche Fortschritte bei der Aufklärung der Pathogenese erzielt werden, jedoch gibt es bisher kein logisches Modell für den Entstehungsmechanismus der Alzheimer-Krankheit.

Bei der Einschätzung der Wirksamkeit, der in dieser Arbeitsgruppe synthetisierten Verbindungen dient dieser Wirkmechanismus als Zentrum der Untersuchungen. Somit wurden auch die in dieser Arbeit synthetisierten Substanzen auf ihre inhibitorische Wirkung auf die entsprechenden Enzyme und somit ihre Leistungsvermögen als potenzielle Alzheimerpharmaka getestet.

## ii. Krebs

Ein weiteres Krankheitsbild, welches in den nächsten Jahren immer präsenter in der Gesellschaft sein wird, ist Krebs. Lange Zeit wurde das Potenzial an Krebs zu erkranken versucht über das menschliche Genom zu erklären, doch 90-95% der Erkrankungen sind auf Lebensstil und Umweltgifte oder allgemein äußere Einflüsse zurückzuführen.<sup>[9]</sup> Entsprechend dem Alter werden Menschen auch anfälliger gegen diese sowohl selbst zugeführten als auch umweltbedingten Einflüsse. Krebs ist, trotz der enormen Menge an Forschung und den rasanten Entwicklungen von Medikamenten im letzten Jahrzehnt, die zweithäufigste Todesursache nach Herzkrankheiten.<sup>[10]</sup> Die Krankheit ist älter als die Menschheit. So litt schon vor zwei Millionen Jahren ein Junge der Vormenschenart *Australopithecus sediba* unter einem gutartigen Tumor in einem Wirbelknochen. Ein anderer Vormensch war vor rund 1.7 Millionen Jahren an einem aggressiven Knochenkrebs im Fuß erkrankt. In beiden Fällen konnten Rückschlüsse über die Erkrankung durch die fossilen Überreste getroffen werden.<sup>[11]</sup> Ein erster Meilenstein in der Krebsforschung war die Entdeckung von Rudolf Virchow im Jahre 1858, dass Tumore durch die Aktivierung ruhender embryonenähnlicher Zellen entstehen.<sup>[12]</sup> Die weitere Forschung begann dann erst wieder zu Jahrhundertwende und hat bis heute stetig zugenommen; dies zeigt, wie sensibel und etabliert dieses Thema unter Wissenschaftlern ist.

In einem gesunden Organismus ist die Homöostase nicht gestört; es ist ein Gleichgewicht zwischen Zellproliferation und dem apoptotischen Zelltod vorhanden. Bei der Ausbildung eines Krebsgeschwürs ist dieses Gleichgewicht zugunsten des Zellwachstums verschoben. Die Reduplikation wird über Tumorsuppressorgene überwacht und diese, leiten bei defekten Basenpaaren der DNA gegebenenfalls den Zelltod ein. Die Proto-Onkogene sind für das regelrechte Zellwachstum, insbesondere die Zellproliferation und die Zelldifferenzierung, verantwortlich. Erfolgt nun durch angeborene oder durch exogene Faktoren eine irreversible Mutation bzw. einen genetischen Defekt in den wachstumsregulierenden Abschnitten der DNA, so kommt es zu einem unkontrolliertem Zellwachstum oder einer erhöhte Vulnerabilität bestimmter Genloci. Somit können bereits geringe Belastungen zu einer genetischen Veränderung führen. Besonders sensibel für solche Schädigungen scheinen die Proto-Onkogene und Tumorsuppressorgene zu sein. Wie es zu dieser Karzinogenese kommt ist nicht endgültig geklärt. Das etablierte Dreistufenmodell spiegelt die Entwicklung des Tumors in den Abschnitten Tumorinitiation, -promotion und -progression wider. Durch Mutationen initiierte Zellen (Initiation) sind wesentlich anfälliger auf Tumorpromotoren. Sie weisen in den nächsten Jahren oder sogar über Jahrzehnte hinweg eine erhöhte Vermehrungsrate, durch klonale Amplifikation und Selektion zu präneoplastischen Zellpopulationen (Promotion), auf. Die Progression stellt den Übergang zum malignen, d.h. invasiven und metastasierenden Tumor, dar. Charakteristisch für die Tumorprogression sind

weitere genetische Schäden im Erbgut der Zellen, die Aktivierung von Proto-Onkogenen und die Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen. Das bisherige Konzept der Kanzerogenese ist weitgehend etabliert, doch weist es in Hinsicht der Zellkommunikation noch beträchtliche Lücken auf. Inzwischen kommt auch die onkologische Forschung immer mehr zur Erkenntnis, dass gestörte Zellsignal- und Zellkommunikationswege wichtiger als Mutationen sind. Tatsächlich kann eine Zelle eine große Vielzahl von krebserregenden DNA-Schäden aufweisen, ohne als Krebszelle aktiv zu werden. Bis zur Entstehung eines malignen Tumors sind mindesten sechs bis sieben Mutationen nötig. Es besteht sogar die Möglichkeit, dass selbst nach einer malignen Entartung, die Krebszelle in einem Umfeld von gesunden Zellen wieder phänotypisch normal werden kann.<sup>[13], [14], [15]</sup>

Maligne Zellen unterscheiden sich in den Eigenschaften, sich zu vermehren und die Krankheit zu auszuprägen. Die Krebszellen eines bösartigen Tumors sind nicht homogen. Es scheinen besonders aggressive Krebszellen für die Tumorprogression, -invasion und Metastasierung verantwortlich zu sein, die wesentliche Merkmale mit Stammzellen gemein haben.<sup>[16]</sup> Durch ihre unbegrenzte Lebensdauer, ihre Fähigkeit, so ziemlich jede Art von Zelltypen hervorzubringen und ihre extrem hohe Proliferationsfähigkeit besitzen diese so genannten Krebsstammzellen einen ganz besonderen Stellenwert bei der Tumorentstehung und Metastasierung. Ihr Entstehungsort dürfte wahrscheinlich in fehlregulierten geschädigten Stammzellen selbst oder in deren unmittelbaren Abkömmlingen liegen. Mit der Eigenschaft sich selbst unbegrenzt zu erneuern besitzen Krebsstammzellen dieselben Eigenschaften wie jede andere Stammzelle auch, zugleich kann sich theoretisch eine unbegrenzte Zahl jener abnorm differenzierten Zellen aus ihnen entwickeln. Diese abnormen Zellen stellen dann den Großteil eines Tumors dar. Hierbei ist aber anzumerken, dass sie nur von begrenzter Lebensdauer sind und selbst keinen Tumor neu bilden können. Durch ihre Fähigkeit der unbegrenzten Selbsterneuerung und Apoptoseresistenz kommt der Krebsstammzelle eine zentrale neue Rolle zu. Durch diese differenzierte Betrachtungsweise können Krebsneuerkrankungen oder seltene Tumorfelbildungen in den Ansätzen erklärt werden.<sup>[17], [18]</sup> In Abbildung 2 ist das Dreistufenmodell der Tumorbildung anschaulich dargestellt an der Entstehung eines Hautkarzinoms. Die Darstellung ist in einer Veröffentlichung von L. PEDRANZINI, A. LEITCH und J. BROMBERG zu finden.

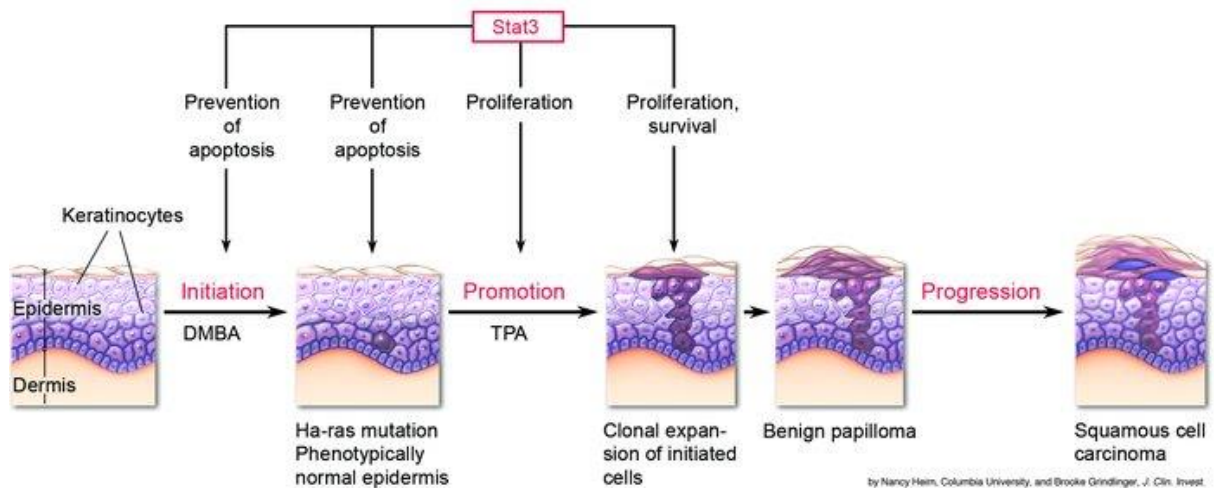


Abbildung 2: Tumorentstehung.<sup>[19]</sup>

Hinsichtlich dieser zwei Krankheiten ist es notwendig immer effektivere und selektivere Medikamente zu entwickeln oder den Zugang zu bereits bestehenden pharmakologisch relevanten Substanzen zu vereinfachen.

### iii. Diabetes mellitus

Vor 50 Jahren war Diabetes noch eine Randerscheinung, doch betrachtet man den Diabetes-Atlas der International Diabetes Federation (IDF) aus dem Jahr 2017, liegt Deutschland mit seinen 7.5 Millionen Menschen, die an Diabetes mellitus (DM) erkrankt sind, an zweiter Stelle in Europa und weltweit betrachtet an neunter Stelle bezogen auf Erkrankungen pro Einwohner.<sup>[20], [21]</sup> Global gesehen leiden 8.8% der Erwachsenen an diesem Krankheitsbild. Bis in das Jahr 2040 wird diese Zahl auf ca. 12 Millionen Menschen steigen.<sup>[22]</sup> Doch muss man dabei die verschiedenen Krankheitstypen unterscheiden. Bei einem gesunden Menschen erzeugt die Bauspeicheldrüse in den  $\beta$ - Zellen der Langerhansschen Inseln das Hormon Insulin. Insulin bewirkt, als Botenstoff, den Transport von Glukose in das Zellinnere und, diese dient anschließend als Energieträger. Darüber hinaus besitzt Insulin noch zwei weitere Eigenschaften; so bewirkt dieses Proteohormon eine Speicherung von Glukose in der Leber und in den Muskeln als Glykogen. Die dritte Eigenschaft ist, dass dieses Hormon den Körper veranlasst Fett aufzubauen und zu speichern.<sup>[23]</sup> In der nachfolgenden Abbildung 3 sind vereinfacht die zwei wesentlichen Typen von Diabetes mellitus dargestellt. In der Abbildung sind die Krankheitsbilder bezogen auf ihre Insulinproduktion und entsprechenden Wechselwirkungen veranschaulicht.<sup>[24]</sup>

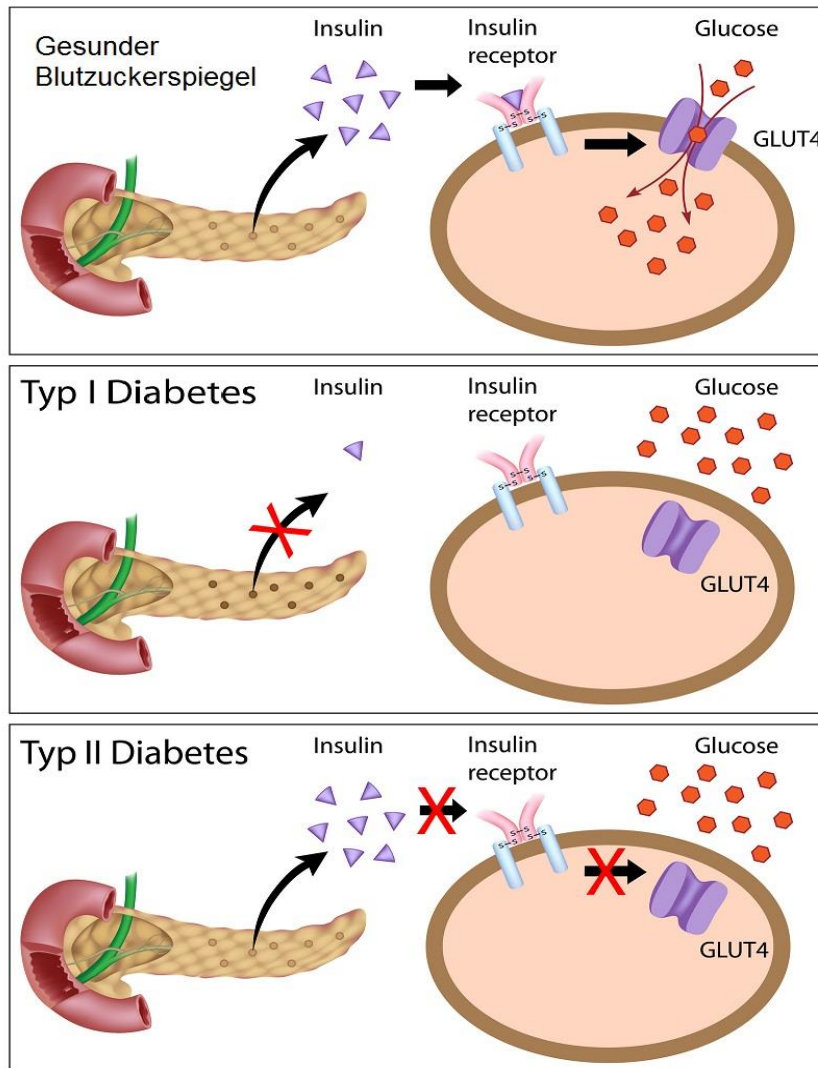


Abbildung 3: Vereinfachte Darstellung von Diabetes mellitus Type 1 und 2.<sup>[24]</sup>

Beim Diabetes mellitus Typ 1 handelt es sich um eine chronische Autoimmunerkrankung, welche durch einen erhöhten Blutzuckerspiegel gekennzeichnet ist, der sogenannten Hyperglykämie. Dieser Typ ist gekennzeichnet durch die körpereigene Zerstörung der in der Bauchspeicheldrüse befindlichen  $\beta$ -Zellen der Langerhansschen Inseln. Somit kommt es zu einem Rückgang der Produktion des Hormons Insulin im Körper. Der DM Typ 1 gehört zu den häufigsten endokrinen und metabolischen Erkrankungen im Kindesalter. Doch diese Krankheit kann bis zur Entdeckung durch Ärzte Monate oder sogar Jahre brauchen, weil die durch diesen Krankheitstyp gebildeten Autoantikörper nur langsam die  $\beta$ -Zellen zerstören und es dadurch zu einer schleichenden Dysglykämie und letztendlich zur Hyperglykämie kommt. Erst wenn ca. 80-90% der  $\beta$ -Zellen zerstört wurden können, die typischen Symptome sichtbar werden.<sup>[25]</sup> Eine wirksame Therapie gegen diesen Typ von Diabetes ist derzeit nicht bekannt; seine Therapie erfolgt durch die stetige Medikation des Hormons Insulins. Unter dem Krankheitsbild Diabetes mellitus Typ 3 sind

verschiedene Ursachen für den Ausbruch von DM zusammengefasst. Hierbei kann ein genetischer Defekt der Insulinwirkung im Körper bzw. der  $\beta$ -Zellen vorliegen. Die Insulinproduktion kann durch eine zerstörte oder erkrankte Bauchspeicheldrüse, durch eine hormonelle Störung oder durch Medikamente bzw. Chemikalien gestört sein. Dieser Spezialfall der DM macht prozentual den geringsten Anteil bei den Erkrankten aus. Betrachtet man nun wieder die fortschreitende Überalterung der Gesellschaft kommt der mit 95% am häufigsten vorkommende Typ der Diabeteserkrankungen zum Tragen.<sup>[21]</sup> Das durchschnittliche Alter bei einer Diabetes Typ 2 Diagnose liegt laut JACOBS *et al.* bei Männern durchschnittlich bei  $61.0 \pm 13.4$  Jahre und bei Frauen in einem Alter von  $63.4 \pm 14.9$  Jahren, somit ist auch dieser Krankheitstyp, einer, der die Wissenschaft durch die vorschreitende demografische Überalterung beschäftigen wird.<sup>[26]</sup> Sollte eine Erkrankung vom Typ Diabetes mellitus Typ 2 vorliegen, so besitzt der Betroffene eine Insulinresistenz. Das Hormon kann im Körper nicht richtig wirken. Zunächst wird die mangelnde Wirksamkeit durch eine Überproduktion bzw. eine Dauerproduktion ausgeglichen; diese führt aber allmählich zu einer Schädigung der  $\beta$ -Zellen. Sollte es zu einem postprandialen Anstieg des Glukosespiegels kommen, so produziert der Körper nur unzureichend Insulin und darüberhinaus ist der Wirkmechanismus gestört. Es kommt demzufolge zu einer unvollständigen Unterdrückung der Glukoseproduktion und zu einer verminderten Aufnahme in der Leber und den Muskeln.

Eine mögliche Therapie liegt in der Aktivierung des Peroxisom-Proliferator-Aktivierten Rezeptors Typ  $\gamma$ , PPAR $\gamma$ . Dieser  $\gamma$ - Untertyp beeinflusst zahlreiche Stoffwechselforgänge, unter anderen spielt er eine wichtige Rolle im Glucose- und Fettstoffwechsel von Muskel-, Fett- und Leberzellen. Durch die Aktivierung des PPAR $\gamma$  kann es nun wiederum zu einer Verbesserung des Glucosestoffwechsels sowie der Insulinsensitivität kommen und somit wird der Erkrankung entgegengewirkt.<sup>[27]</sup>

Die in dieser Arbeit untersuchten Substanzklassen sind bekannt dafür eine aktivierende Wirkung auf den PPAR $\gamma$  zu besitzen; somit lag der Verdacht einer weiterführenden biologischen Aktivität gegenüber verschiedenen Krebszelllinien bzw. die inhibitorische Wirkung gegenüber AChE und BChE nahe.



## 2. Bestimmung der biologischen Aktivität

Um eine etwaige Bioaktivität bestimmen zu können und entsprechend Rückschlüsse auf eine Struktur-Wirkungs-Beziehung machen zu können, wurden in dieser Arbeit zwei etablierte Methoden verwendet. Zum einen wurde eine zytotoxische Aktivität mittels SRB-Assays, an verschiedenen humanen Tumorzelllinien untersucht. Zum anderen, um eine Aktivität gegenüber neurodegenerativen Krankheiten nachweisen zu können, wurden die inhibitorischen Eigenschaften gegenüber Acetyl-(AChE) und Butyrylcholinesterase (BChE) untersucht.

### a. SRB-Assay

Tumoraktive Wirkungen von Zimtsäure- und Sinapinsäurederivaten sind in der Literatur bekannt, womit auch in dieser Arbeit ein großes Interesse daran bestand die Wirksamkeit der synthetisierten Verbindungen zu überprüfen. Bei den Amorfutinderivaten konnte man nicht auf schon bestehende Forschungsergebnisse zurückgreifen, um eine etwaige Aktivität abschätzen zu können. Umso interessanter sind die Ergebnisse in dieser Hinsicht. Das verwendete Verfahren wurde 1990 etabliert und ist das am

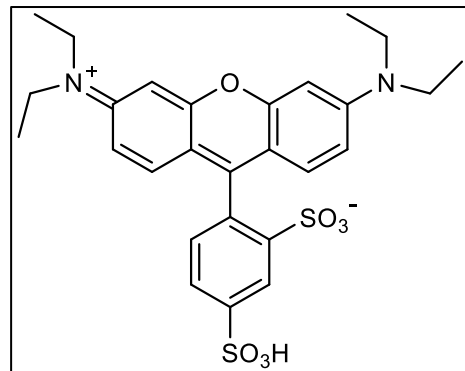


Abbildung 4: Sulforhodamin B.

häufigsten verwendete *in vitro* Zytotoxizitäts-Screening.<sup>[28]</sup> Es beruht auf den Eigenschaften der verwendeten Chemikalie Sulforhodamin B (SRB), Abbildung 4. Hierbei handelt es sich um einen Aminoxanthen-Farbstoff, welcher intramolekular zwei Sulfonsäuregruppen besitzt. Diese binden unter leicht sauren Bedingungen an Aminosäureresten von Zellproteinen. Unter alkalischen Bedingungen wird der Farbstoff wieder stöchiometrisch aus den Zellen extrahiert und ist damit direkt proportional zur Zellmasse.<sup>[29]</sup> Trägt man nun die erhaltene Zellmasse gegen die eingesetzte Konzentration der zu testenden Substanz grafisch auf, so erhält man eine Dosis-Wirkung-Kurve und kann somit den EC<sub>50</sub>-Wert ermitteln. Der EC<sub>50</sub>-Wert entspricht der Konzentration eines zytotoxischen Stoffes, bei der die Entwicklung der Zellkultur um 50%, bezogen auf die Referenz, verringert ist. Hierbei kann man aber keine Aussagen machen, inwiefern die Zellen absterben bzw. inhibiert werden. Idealerweise sollte bei den untersuchten Tumorzelllinien ein möglichst geringer EC<sub>50</sub>-Wert erreicht werden, aber zeitlich keine bzw. eine sehr geringe Aktivität gegenüber nicht-malignen Mausfibroblasten (NIH 3T3). Die Aktivität auf die genannten Mausfibroblasten lassen Rückschlüsse auf die Selektivität gegenüber Tumorzellen schließen. In Tabelle 1 werden die verwendeten Zelllinien mit Abkürzung aufgelistet.<sup>[30], [31]</sup>

Tabelle 1: Verwendete Zelllinien für das SRB-Assay.

Zelllinie	Krebsart
A2780	Eierstockkarzinom
A375	Epithelial Melanom
FaDu	Plattenepithelkarzinom von Kopf und Nacken
HT29	Dickdarmkarzinom
MCF-7	Mammakarzinom
SW1736	Schilddrüsenkarzinom
NIH 3T3	nicht-maligne Mausfibroblasten

### b. Enzymtest

Wie schon eingehend erklärt geht eine neurodegenerative Krankheit in unserem speziellen Fall die Alzheimer-Krankheit einher mit einer stark verminderten Konzentration des Neurotransmitters Acetylcholin (ACh). Um den weiteren Krankheitsverlauf zu verlangsamen, müssen zwei Enzyme im menschlichen Organismus inhibiert werden. Sowohl die Acetylcholinesterase als auch die Butyrylcholinesterase sind maßgeblich an der Hydrolyse von Acetylcholin zu Acetat und Cholin beteiligt. Während im gesunden menschlichen Gehirn die AChE primär für die hydrolytische Spaltung des Acetylcholins verantwortlich ist, konnte die Funktion der substratunspezifischen BChE bis zum heutigen Tag nicht vollständig aufgeklärt werden. Bei an Alzheimer erkrankten Personen konnte jedoch in der Großhirnrinde und im Hippocampus eine signifikante Abnahme der AChE-Aktivität und eine Zunahme der BChE-Aktivität nachgewiesen werden.<sup>[32]</sup> Somit muss eine duale Untersuchung beider inhibitorischen Eigenschaften der Substanzen erfolgen. Die Verwendung von Medikamenten mit diesen Eigenschaften, weisen in ihrer therapeutischen Anwendung ein hohes Potenzial auf, das Fortschreiten von degenerativen Krankheiten zu verlangsamen.<sup>[33], [34]</sup> Um diese Eigenschaften für zukünftige, potenzielle Wirkstoffe testen zu können wurde im Jahre 1961 ein photometrisches Verfahren zur Bestimmung der AChE-Aktivität

in einer Arbeit von ELLMAN *et al.* beschrieben.<sup>[35]</sup> Hierfür wird als Substrat Acetylthiocholin bzw. Butyrylthiocholin verwendet, welche durch die beiden jeweiligen Esterasen hydrolysiert werden. Das Produkt dieser enzymatischen Esterspaltung, Thiocholin (A), reagiert anschließend mit Dithiobisnitrobenzoat (B) unter Freisetzung des gelben Anions 5-Mercapto-2-nitrobenzoat (D).<sup>[36]</sup> Der Anstieg dieser Farbkonzentration ist nun photometrisch bei  $\lambda = 412 \text{ nm}$  zu quantifizieren. Hierbei ist von Vorteil, dass die Reaktion mit dem Thiol ausreichend schnell ist, um bei der Messung des Enzyms keine Geschwindigkeitsbeschränkung zu bewirken, und in den verwendeten Konzentrationen die enzymatische Hydrolyse nicht hemmt. In Abbildung 5 ist die photometrische Reaktion dargestellt.

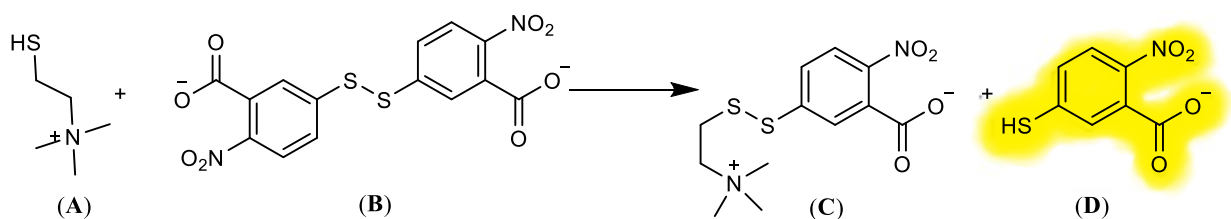


Abbildung 5: Ellmans photometrische Reaktion.

### 3. Phenylpropensäurederivate

Die Stoffklasse der Phenylpropensäuren umfassen zahlreiche Derivate, in dieser Arbeit werden die in den Publikationen wichtigen Derivate näher betrachtet. Hierbei handelt es sich zum einen um die Zimtsäure und zum anderen um die Sinapinsäure.

#### a. Zimtsäure

Zimtsäure (*trans*-3-Phenylpropensäure) ist ein weißer Feststoff mit einem charakteristischen Geruch; es handelt sich hierbei um eine aromatische *trans*-substituierte ungesättigte Carbonsäure (Abbildung 6). Synthetisch ist diese Verbindung unter anderen über eine KNOEVENAGEL-Kondensation mit DOEBNER-Variante zugänglich; hierbei wird mittels einer Base Malonsäure deprotoniert. Das entstehende Carbanion greift nucleophil an der Carbonylfunktion des Eduktes, Benzaldehyd, an und es bildet sich das Kondensationsprodukt. Die Decarboxylierung erfolgt als Fragmentierung des Pyridinium-substituierten Malonsäure-Carboxylates zur Zimtsäure. Eine weitere Variante ist die Reaktion nach PERKIN; hierbei erfolgt wiederum eine baseninduzierte Deprotonierung in  $\alpha$ -Stellung der Carbonylgruppe des

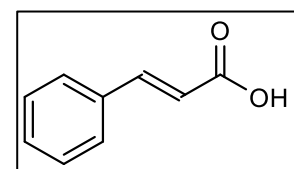


Abbildung 6: Strukturformel der Zimtsäure.

Acetanhydrides. Das gebildete Carbanion greift nucleophil am Benzaldehyd an, es kommt zu einem intramolekularen Ringschluss. Der gebildete Sechsring zerfällt und es wird Essigsäure abgespalten und man erhält nach basischer Aufarbeitung die gewünschte Zimtsäure.<sup>[37]</sup>

### i. Vorkommen und biologische Bedeutung

Zimtsäure ist in zahlreichen Pflanzen in geringen Konzentrationen vorhanden, unter anderen in den Ölen des Zimtbaumes der Gattung *Cinnamomum*, welcher in Abbildung 7 zu sehen ist. Ursprünglich stammt die Pflanze aus Ceylon, aber heutzutage findet man sie auch in anderen Teilen der Erde, unter anderen in Indien, China, Japan und Kamerun. Das charakteristische Zimtaroma beruht allerdings auf dem Zimtaldehyd; dieser bildet den Hauptbestandteil der meisten Zimtöle. Weiterhin ist Eugenol enthalten; diese Verbindung gibt dem Zimtöl bzw. dem Gewürz Zimt einen

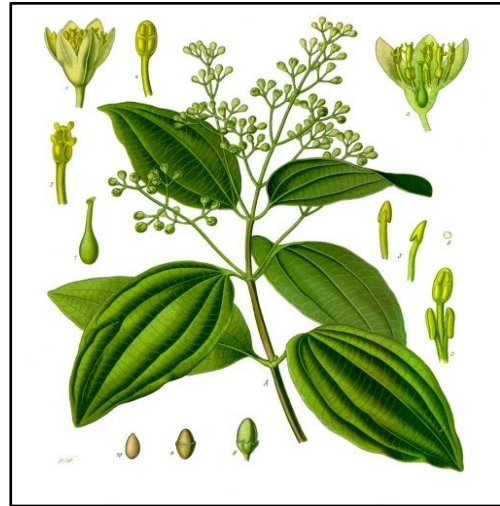


Abbildung 7: Zimtweig mit Frucht und Blüte.<sup>[39]</sup>

entsprechenden würzigen bis brennenden Geschmack. Je nach Herkunft des Zimtbaumes sind in den Blättern ca. 1 bis 4% ätherische Öle enthalten und hierbei spielt die freie Zimtsäure aber eine untergeordnete Rolle.<sup>[38]</sup>

In einer Arbeit von J. ADEDEJI *et al.*<sup>[40]</sup> wird die Zusammensetzung des Fruchtfleisches von Früchten der Gattung *Spondias* beschrieben. Hierbei wird ein hoher Anteil von 747 ppm an glykosidisch gebundene Zimtsäure detektiert. Zimtsäure liegt in den Pflanzen somit glykosidisch gebunden oder in Form ihrer Ester vor. Die Ester dienen häufig als Geruchsstoffe.

Die biologische Bedeutung von Zimtsäure nimmt eine sehr zentrale Rolle in der Biosynthese verschiedener Pflanzenstoffe ein. Eine Vielzahl von biosynthetischen Möglichkeiten, beruhend auf dem Shikimisäureweg, wird unter anderen von J. VOGT<sup>[41]</sup> beschrieben. In der folgenden Beschreibung und Abbildungen wurden bewusst die Salze genannt und abgebildet; aufgrund des in der Pflanze vorherrschenden Milieus und die entsprechenden Bindungszustände an den Enzymen wurde auf die Darstellung der freien Säuren verzichtet.

In Abbildung 8 ist der exemplarische Mechanismus der Biosynthese bis zum Shikimat abgebildet. Der erste Schritt besteht aus einer aldolartigen Kondensation ausgehend von Phosphoenolpyruvat (PEP) und Erythrose-4-phosphat (E4P) mit Hilfe des Enzyms 3-Desoxy arabinoheptulosanat-7-phosphat-Synthase bildet sich 3-Desoxyarabinoheptulosanat-7-phosphat (DAHP), welches unter Abspaltung von Orthophosphat mit katalytischer Anwesenheit von  $\text{NAD}^+$  und der

3-Dehydrochinat-Synthase, zu 3-Dehydrochinat (DHQ) zyklisiert. Diese Reaktion umfasst eine Oxidation, eine  $\beta$ -Eliminierung, eine Reduktion und schließlich eine intramolekulare Aldolkondensation. Der nächste Schritt im Shikimisäureweg ist eine Dehydratisierung mittels 3-Dehydrochinat-Dehydratase zu 3-Dehydroshikimat (DHS). Hiervon ausgehend besteht die Möglichkeit für verschiedene Pflanzen über Gallussäure unterschiedliche Gerbstoffe (Gallotannine) zu bilden.<sup>[24]</sup> Der vierte Schritt in der Biosynthese ist die Reduktion zu Shikimat (SHK) unter der Verwendung des Cosubstrates NADPH und dem Enzym Shikimatdehydrogenase.<sup>[42]</sup>

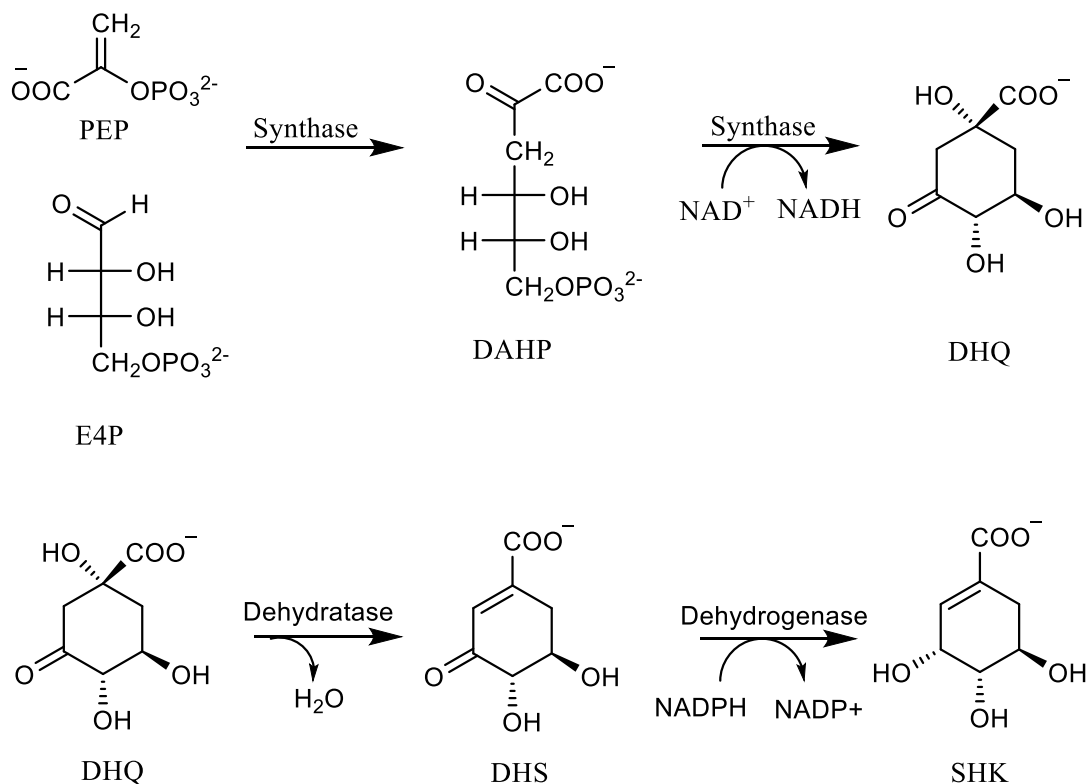


Abbildung 8: Biosynthese zum Shikimat (SHK).<sup>[43]</sup>

Die weitere Biosynthese erfolgt ausgehend von Shikimat (SHK) zu Shikimat-3-Phosphat (S3P). Hierfür erfolgt eine Phosphorylierung der an Position 3 befindlichen Hydroxylgruppe unter ATP-Verbrauch zu ADP. Im sechsten Schritt erfolgt eine Kondensationsreaktion mit einem Äquivalent Phosphoenolpyruvat (PEP) zu 5-Enolpyruvylshikimat-3-phosphat (EPSP) unter Abspaltung von Orthophosphat in Gegenwart der ESP-Synthase (Abbildung 9). In einer Arbeit von LILLO *et al.* werden die einzelnen Schritte dargestellt und die beteiligten Enzyme untersucht.<sup>[44]</sup>

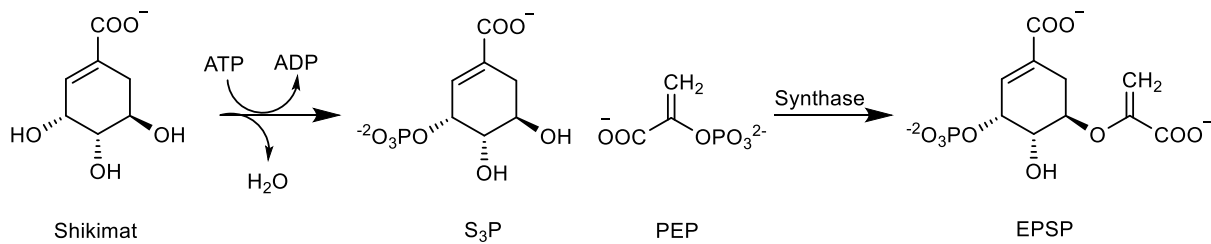


Abbildung 9: Bildung des 5-Enolpyruvylshikimat-3-phosphat (EPSP).<sup>[45]</sup>

Durch eine 1,4-Eliminierung von Orthophosphat am 5-Enolpyruvylshikimat-3-phosphat (EPSP) entsteht das Chorismat (CHA). Diese Reaktion wird durch die CHA-Synthase katalysiert. Hierbei wird eine zweite Doppelbindung in die hydroaromatische Verbindung eingeführt. Ausgehend vom Chorismat können je nach Organismus eine große Anzahl an möglichen Folgereaktionen stattfinden. Unter anderen zweigt hier die Biosynthese zum Tryptophan ab. Das gebildete Salz der Chorisminsäure wird mit Hilfe einer Chorismat-Mutase über eine [3,3]-sigmatrope-Claisen Umlagerung zum Prephenat (PPA) überführt.<sup>[46], [47]</sup> An dieser Stelle verzweigt sich die Biosynthese ein weiteres Mal. Ein weiterer Mechanismus führt zur Bildung von Tyrosin. In dieser Arbeit wird aber selektiv nur der Mechanismus zum Phenylalanin und weiterführend betrachtet. Prephenat wird unter Abspaltung der Hydroxylgruppe, mittels NAD<sup>+</sup>, einer oxidativen Decarboxylierung unterzogen. Das entstandene Phenylpyruvat wird unter Verwendung von Glutamat als Stickstoffquelle transaminiert, um Phenylalanin und  $\alpha$ -Ketoglutarat zu ergeben. Vorhandene Isoenzyme dienen als Kontrollmechanismen, welche durch andere aromatische Aminosäuren in Form einer negativen Rückkopplung allosterisch inhibieren<sup>[48], [49]</sup>. Mit Hilfe eines solchen Inhibitionssystemes können Abzweigungen im Metabolismus bei der Synthese der aromatischen Aminosäuren selektiv abgeschaltet werden. Ohne diesen Mechanismus würde es zu einer größeren Anreicherung von Intermediaten kommen.

Die Zimtsäure wird über eine Phenylalanin-Ammoniak-Lyase katalysierte Desaminierung aus Phenylalanin erhalten. Die Zimtsäure liegt glykosidisch gebunden vor und wird somit im weiteren als Cinnamat behandelt. Bei der Reaktion wird Ammoniak abgespalten und man erhält die im Molekül befindliche Doppelbindung. In einigen Pflanzen wird aus Tyrosin mittels Tyrosin-Ammoniak-Lyase die 4-Hydroxyzimtsäure (*p*-Cumarsäure) erhalten. Der freiwerdende Ammoniak wird wieder über Glutamin-Synthetase fixiert. Eine nachträgliche Hydroxyfunktionalisierung der Zimtsäure an Position 4 erfolgt mittels der Monooxygenase Cytochrom-P<sub>450</sub>. Hierbei dient das Enzym als Sauerstofffixierung und anschließender Desaktivierung des entstehenden Sauerstoffradikals zu Wasser.

Die Aktivierung der Carboxylgruppe für weitere Biosynthesen erfolgt über Bildung eines Thioester, unter Verbrauch von ATP. Hierfür wird das Coenzym A über eine Hydroxycinnamat-CoA-Ligase unter Wasserabspaltung an die Carbonylfunktion gebunden.<sup>[50]</sup> Die beschriebene Syntheseschritte sind in Abbildung 10 veranschaulicht.-

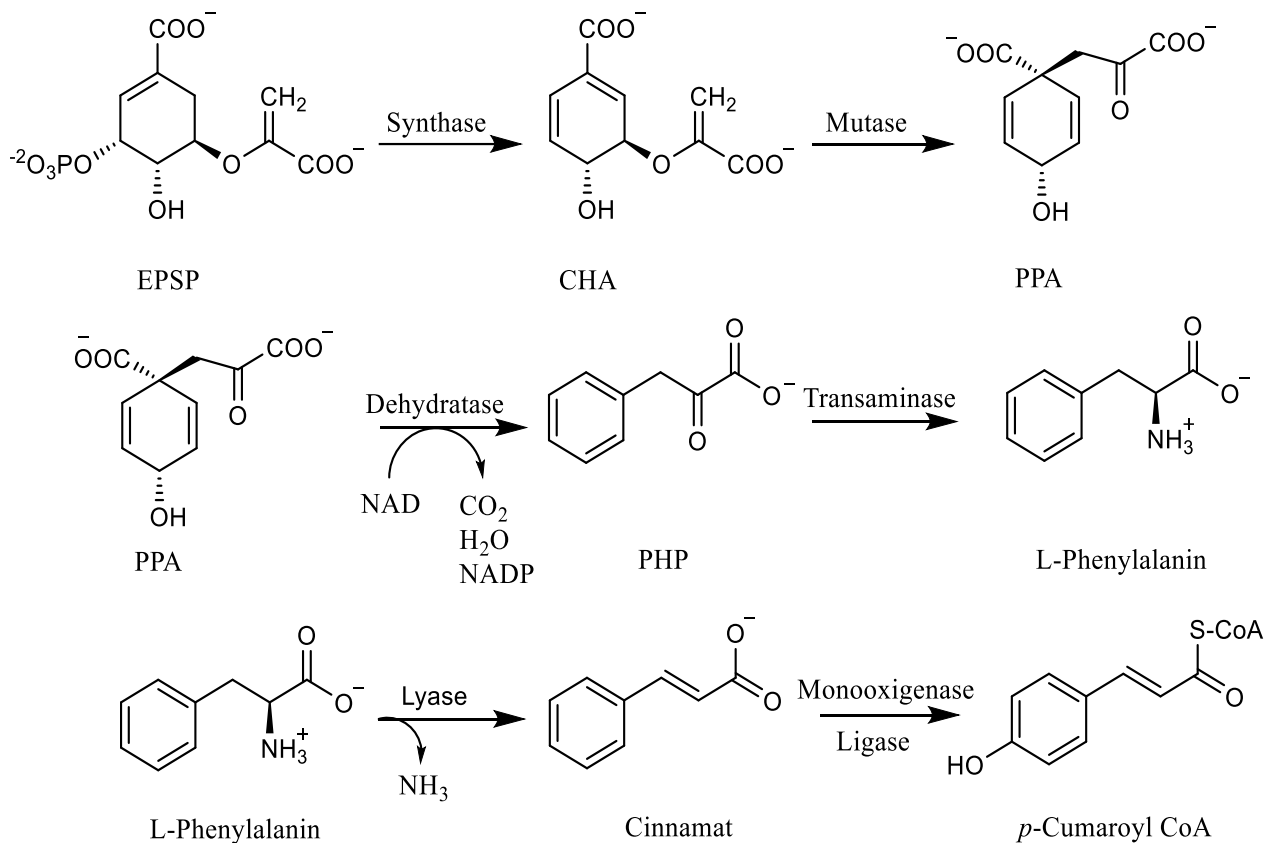


Abbildung 10: Bildung des *p*-Cumaroyl CoA.<sup>[45]</sup>

Ausgehend von *p*-Cumaroyl CoA erfolgt eine Vielzahl von verschiedenen Biosynthesen, unter anderen zu Flavonoiden, Cumarinen, Stilbenen, Sinapinsäure und die entsprechenden Ester, Lignin und Aurone.<sup>[43], [51]</sup>

## b. Sinapinsäure

Sinapinsäure (*trans*-3-(4-Hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-2-propensäure) ist ein gelber bis leicht beigefarbener Feststoff. Sie gehört wie Zimtsäure zu den Phenylpropanoiden. Im Gegensatz zur genannten Zimtsäure besitzt die Sinapinsäure eine Hydroxy-, sowie zwei Methoxy-Funktionalisierungen am Phenylring. (Abbildung 11) Die synthetische Darstellung erfolgt analog zur

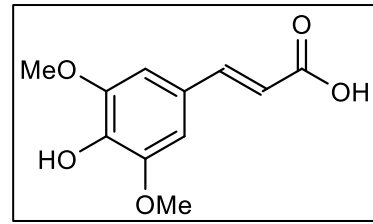


Abbildung 11: Strukturformel der Sinapinsäure.

Zimtsäure aus Syringaldehyd; hierbei ist einzig vor den entsprechenden Synthesen die freie Hydroxygruppe zu schützen. Die hauptsächliche Verwendung findet Sinapinsäure in der analytischen Chemie als organisches Trägermaterial für MALDI-MS.<sup>[52]</sup>

## i. Vorkommen und biologische Bedeutung

Sinapinsäure und deren Ester sind Hauptbestandteile in den Ölen von sogenannten Ölpflanzen. Hierbei wurden verschieden Pflanzensamen bzw. Bohnen in einer Arbeit von F. SHAHIDI und M. NACZK<sup>[54]</sup> auf den Phenolsäuregehalt pro 100 g ölextrahiertes Samenmehl analysiert. Dabei stellte sich heraus, dass in Raps eine zehnmal höhere Menge an Phenolsäuren zu finden sind als vergleichsweise in Erdnüssen (639.9 mg zu 63.6 mg je 100 g Mehl). Betrachtet man die Zusammensetzung der enthaltenen Phenolsäuren, stellt man fest, dass die freie Sinapinsäure eine untergeordnete Rolle spielt.<sup>[55]</sup>



Abbildung 12: Rapszweig mit Frucht und Blüte.<sup>[53]</sup>

Der Anteil an Sinapinsäureestern liegt dagegen, je nach Quelle, bei ca. 70<sup>[56], [57]</sup> bis 80%.<sup>[58], [59]</sup> In Abbildung 12

sind die verschiedenen Pflanzenbestandteile einer Rapspflanze, der Gattung *Brassica napus*, abgebildet. Sie gehört zur Familie der Kreuzblütengewächse (*Brassicaceae*).

Sinapinsäure ist ein Produkt der weiterführenden Biosynthese ausgehend von der Zimtsäure (Cinnamat). Ein weiterer möglicher Syntheseweg ist ausgehend von Tyrosin direkt zur *p*-Cumarinsäure (*p*-Cumarat). Die Einführung der Hydroxyfunktionen erfolgt jeweils über eine Hydroxylase, vom P<sub>450</sub>-Monooxygenase Typ. Hierbei erfolgt die Sauerstoffbindung über das Enzym. Unter Verbrauch von NADPH entsteht Wasser als Nebenprodukt. Die gebildeten Hydroxygruppen werden direkt durch eine O-Methyl-Transferase unter Verwendung von S-Adenosylmethionin als



Methyldonor verethert. Somit erfolgt die Biosynthese zu Sinapinsäure über Kaffeesäure, Ferulasäure, dem kurzlebigen Intermediat 5-Hydroxy-ferulasäure und letztlich entsteht Sinapinsäure (Abbildung 13).<sup>[60], [61], [62]</sup>

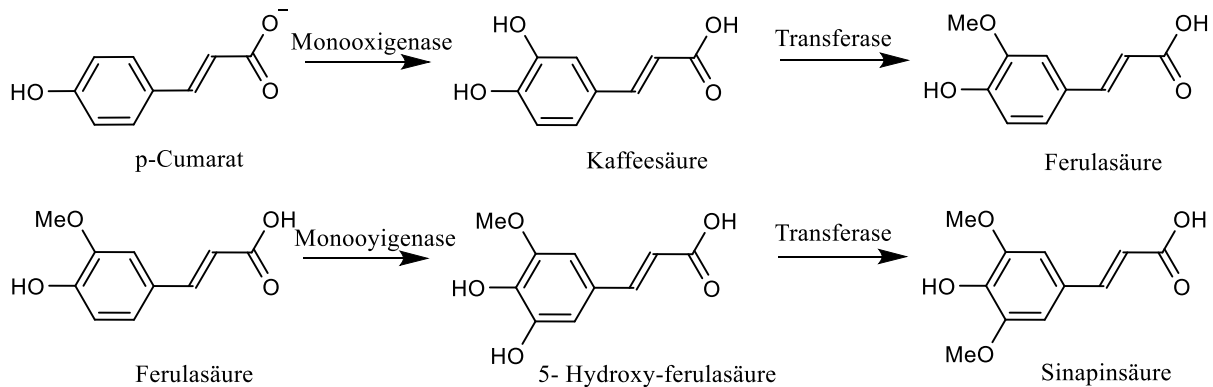


Abbildung 13: Biosynthese von Sinapinsäure.

Die Bedeutung von Sinapinsäure und ihren Estern, speziell der Cholin Ester, in Pflanzen ist in einer Arbeit von MILKOWSKI *et al.*<sup>[55]</sup> beschrieben. Hierbei werden Pflanzen der Gattung *Arabidopsis thaliana* untersucht und festgestellt, dass das gebildeten Sinapin als UV-Schutz in den Pflanzen dient. Warum die Samen große Mengen Sinapin speichern ist noch relativ unklar. Es wird jedoch vermutet, dass das Sinapin in den Samen als Sinapinsäure und Cholinspeicher für die nach Keimung einsetzende Lignin- und Membranlipidbiosynthese fungiert. Auf Grund der bitteren und adstringierenden Eigenschaften der Sinapinsäure und ihrer Ester kann eine fraßhemmende Wirkung oder eine antifungale Wirkung nicht ausgeschlossen werden.<sup>[63]</sup>

### c. Pharmakologische Bedeutung von Phenylpropensäuren

Die Ester von Zimtsäure und ihren weiteren Derivaten sind leicht flüchtig und besitzen je nach Funktionalisierung ein unterschiedliches Geruchsbild. Die Verwendung in der Kosmetikindustrie ist somit sehr naheliegend. Die verschiedenen Derivate werden zumeist als Parfümmittel in Körperlotionen, Gesichtscremes, Antitranspirantien, Shampoos, Badeprodukte oder Seifen verwendet. Hierbei soll dem Produkt eine charakteristische Geruchsnote gegeben werden oder den Grundgeruch maskieren.<sup>[64]</sup>

Auswirkungen auf die Haut durch UV-Strahlung, einschließlich Hautverbrennungen, Erytheme, vorzeitiges Hautaltern, Photodermatosen, Immunsuppressionen und Hautkarzinome sind ein

Massenthema geworden. Vor allem die erstgenannten werden durch den immer stärker werdenden Beautytrend aufgeputzt. Hierfür werden in der Pharmaindustrie vier Derivate als UV-Filter verwendet. Octinoxat, Amiloxat, Octocrylen und Cinoxat werden in verschiedenen Produkten eingesetzt. Diese Verbindungen sind in Abbildung 14 dargestellt.<sup>[64], [65], [66], [67], [68]</sup>

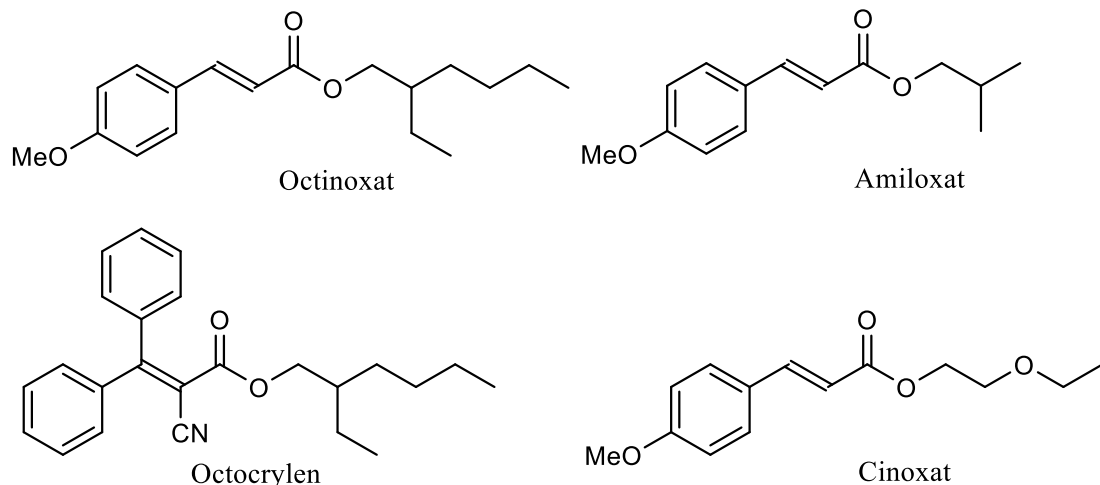


Abbildung 14: Zimtsäurederivate für UV-Filter in der Kosmetikindustrie.

Nicht nur UV-Strahlung führt zu Alterungsprozessen in tierischen Organismen, auch reaktive Sauerstoffspezies (ROS) sind maßgeblich an Alterungsprozessen beteiligt. Sie entstehen in den Mitochondrien als Nebenprodukt der Zellatmung. Ebenso produzieren Granulozyten diese reaktiven Sauerstoffvarianten, um so Viren und Bakterien bekämpfen zu können. In Pflanzen kommen ROS als Bestandteil des Abwehrmechanismus gegen Pathogenen zum Einsatz. Eine erhöhte Konzentration an ROS, z.B. durch Rauchen oder durch Umweltgifte aufgenommen, kann in Organismen zu sogenanntem oxidativem Stress führen; dieser stört das zelluläre Oxidationsgleichgewicht, die überschüssigen Sauerstoffspezies sind in der Lage Mitochondrien, Mikrofilamenten und Proteinen durch Oxidationsvorgänge zu schädigen. ROS stehen somit unter Verdacht, maßgeblich an verschiedensten Erkrankungen, wie z.B. Krebs, Diabetes, neurogenerativen Erkrankungen beteiligt zu sein und den allgemeinen Alterungsprozess zu fördern. Um diese reaktiven Spezies abzufangen werden Antioxidantien benötigt.<sup>[69]</sup> Dass Zimtsäurederivate diese Wirkung besitzen, wurde in den Arbeiten von M. SOVA<sup>[70]</sup> und TAOFIQ *et al.*<sup>[71]</sup> postuliert. Durch die genannten Eigenschaften ist die Verwendung dieser Substanzklassen in verschiedenen Schönheits- und Anti-Ageing-Produkten naheliegend; dabei muss aber die Konzentration möglichst gering gehalten werden. Zwar sind die verwendeten Derivate nicht toxisch, können aber bei

ca. 1.8- 4.2% der Bevölkerung eine allergischen Kontaktdermatitis hervorrufen. Aus diesem Grund sind Zimtsäurederivate kennzeichnungspflichtig.<sup>[64]</sup>

In einer Veröffentlichung von ALAM *et al.*<sup>[72]</sup> werden die Hydroxyzimtsäurederivate in ihren Eigenschaften, den Fettstoffwechsel im Körper, Übergewicht, Entzündungen und eine etwaige Insulinresistenz zu beeinflussen, untersucht. Hierbei konnte festgestellt werden, dass diese Verbindungsklasse eine präsentative Wirkung auf Stoffwechselstörungen, die mit Hyperglykämie und Diabetes assoziiert sind, haben. Die dahinterliegenden Wirkmechanismen sind stoffspezifisch, einige Substanzen verhinderten die Zerstörung der  $\beta$ -Zellen in der Bauchspeicheldrüse, wodurch die Insulinsekretion erhöht wurde. Andere umfassen die Hemmung von Kohlenhydrat-Verdauungsenzymen, welches eine erhöhte Glykogensynthese, eine erhöhte Glukoseaufnahme in Muskelgewebe und Adipozyten durch Phosphorylierung von AMPK und einen erhöhten GLUT4-Gehalt sowie eine Erhöhung des Glukosemetabolismus zur Folge hat. Spezifisch Zimtsäure verbesserte die Glukoseintoleranz und Insulinresistenz bei Streptozocin-induziertem diabetischen Ratten.<sup>[73]</sup> Zimtsäure erhöhte auch die Expression von Glykogensynthase, wohingegen die Expression von Glykogensynthasekinase und Phosphorylierung von Glykogensynthase an Ser 641 in Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) behandelten insulinresistenten Maushepatozyten verringert war.<sup>[74]</sup>

In einer Arbeit von GHAFARY *et al.* wurden neuartige Zimtsäurederivate auf ihre Eigenschaften als potenzielle Wirkstoffe für die Alzheimer Krankheit getestet. Hierfür wurden ihre inhibitorische Wirkung gegenüber Acetylcholin- und Butyrylcholinesterase getestet. Hierfür diente die ELLMANS Methode und die Ergebnisse wurden in einem  $IC_{50}$  Wert angegeben. Die getesteten Verbindungen wiesen eine moderate inhibitorische Wirkung gegenüber der Acetylcholinesterase auf. Die gemessenen Werte lagen zwischen  $13.42 \pm 1.19$  und  $39.1 \pm 2.37 \mu\text{M}$ , als Vergleichswert wurde die Wirkung des etablierten Medikaments Donepezil ( $0.027 \pm 0.0013 \mu\text{M}$ ) herangezogen. Bei der Butyrylcholinesteraseinhibition waren einige Verbindungen sogar besser als der verwendete Pharmastoff. Hierbei lagen die Werte zwischen  $0.55 \pm 0.0016$  und  $9.36 \pm 1.09 \mu\text{M}$  (Donepezil  $7.79 \pm 0.81 \mu\text{M}$ ).<sup>[75]</sup>

Ein sehr guter Überblick über die zytotoxische Wirkung von Zimt-, Sinapinsäure und deren Derivate ist in einer Publikation von DE *et al.*<sup>[76]</sup> gegeben. Hierbei betrachtet er die inhibitorische Wirkung auf Enzyme aber auch die Wirkung auf verschiedene Krebszelllinien. Der summarische Überblick umfasst Pflanzenaufarbeitungen und die erhaltenen Extrakte, sowie natürlich vorkommende als auch synthetische Derivate. Exemplarisch wurden einige Derivate herausgearbeitet und in Abbildung 15 dargestellt.

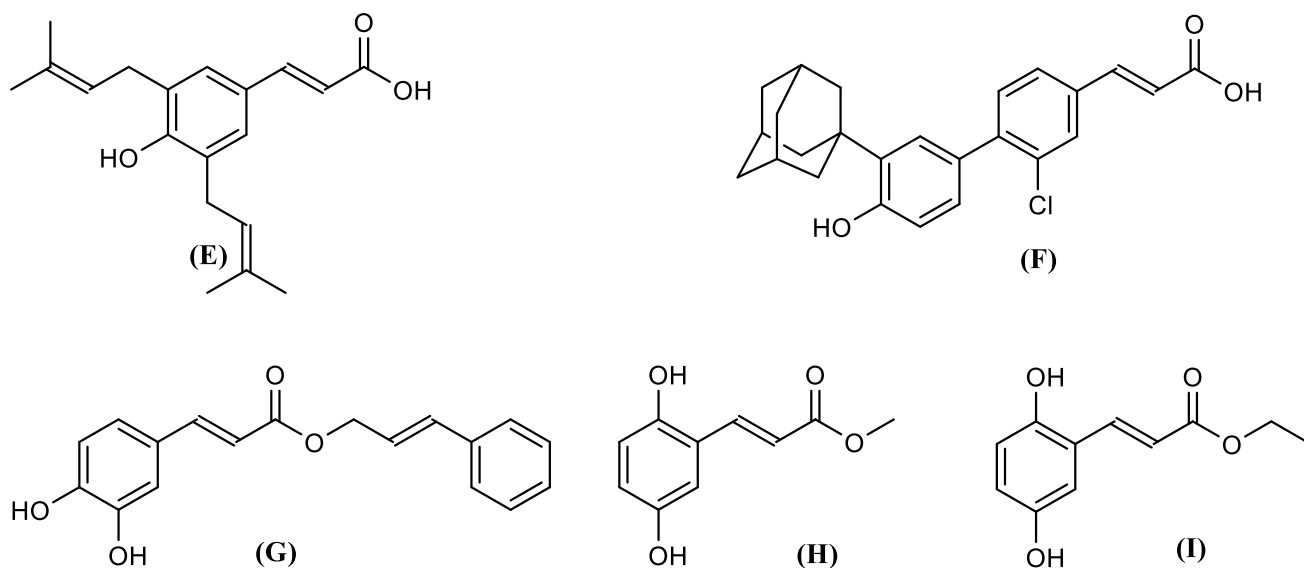


Abbildung 15: Beispiele für zytotoxisch aktive Zimtsäurederivate.

Die Derivate umfassen prenylsubstituierte *p*-Cumarsäure (**E**): diese Verbindung ist hinsichtlich ihrer Ähnlichkeit zu den Amorfrutinen besonders interessant und weist eine moderate Aktivität gegenüber menschlichen Leukämiezellen auf.<sup>[77]</sup> Ein Adamantanderivat der Zimtsäure (**F**) weist sehr gute zytotoxische Wirksamkeit gegenüber Brust-, Lungen- und Prostatakarzinomen auf.<sup>[78]</sup> Eine weitere interessante Klasse an Derivaten sind die zahlreichen Ester (**G**, **H**, **I**); diese werden nicht nur in der Kosmetikindustrie verwendet, sondern weisen auch signifikante Bioaktivität auf. Die Variation bestand hierbei nicht nur in der Kettenlänge und, der Art des substituierten Esters, auch die Positionen und Anzahl an Hydroxygruppen bzw. die veretherten Varianten sind von großem Interesse. So ist hierbei die zytotoxische Wirkung auf verschiedene Dickdarmkarzinome und die B16 Maus Tumorzelllinie, welche als Modell für den menschlichen Hautkrebs dient, hervorzuheben.<sup>[79], [80]</sup> Ausgewählte Ergebnisse sind in Tabelle 2 dargestellt

Tabelle 2: Zytotoxische Wirkung ausgewählter Zimtsäurederivate auf verschiedene Krebszelllinien.

Verbindung	Zelllinie und Aktivität			
(E) <sup>[57]</sup>	HL60 IC <sub>50</sub> (51,1±6,2 µM)			
(F) <sup>[58]</sup>	MDA-MB-231 IC <sub>50</sub> (1,8 µM)	H292 IC <sub>50</sub> (0,4 µM)	DU-145 IC <sub>50</sub> (0,5 µM)	
(G) <sup>[59]</sup>	HT-1080 EC <sub>50</sub> (9,45 µM)	A-549 EC <sub>50</sub> (18,9 µM)		
(H) <sup>[60]</sup>	NCI-H23 IC <sub>50</sub> (0,93 µg/mL)	HCT 116 IC <sub>50</sub> (0,17 µg/mL)	HCT 15 IC <sub>50</sub> (0,27 µg/mL)	SW620 IC <sub>50</sub> (0,39 µg/mL)
	B16 IC <sub>50</sub> (0,12 µg/mL)	MCF-7 IC <sub>50</sub> (0,37 µg/mL)	PC-3 IC <sub>50</sub> (0,42 µg/mL)	
(I) <sup>[60]</sup>	NCI-H23 IC <sub>50</sub> (0,65 µg/mL)	HCT 116 IC <sub>50</sub> (0,19 µg/mL)	HCT 15 IC <sub>50</sub> (0,26 µg/mL)	SW620 IC <sub>50</sub> (0,29 µg/mL)
	B16 IC <sub>50</sub> (0,21 µg/mL)	MCF-7 IC <sub>50</sub> (0,67 µg/mL)	PC-3 IC <sub>50</sub> (0,74 µg/mL)	

Eine zytotoxische Aktivität von Zimtsäurederivaten in Verbindung mit literaturbekannten, aktiven Grundgerüsten konnte von RUI *et al.* publiziert werden. Er untersuchte Verbindung mit Oleanol- und Glycyrrhetinsäure in Verbindung mit verschiedenen Zimtsäurederivaten. Hierbei konnte eine moderate bis gute Bioaktivität hinsichtlich der fetalen Hepatozytenlinie L-02, der Brustkrebszelllinie MCF-7 und der Zervixkarzinomzelllinie HeLa gemessen werden.<sup>[81]</sup>

## 4. Amorfrutin

### a. Allgemein

Bei den Amorfrutinen handelt es sich um eine Stoffklasse mit zahlreichen Vertretern. In Abbildung 16 wird das Grundgerüst mit verschiedenen Substitutionspositionen dargestellt. Bei den verschiedenen Variationen dieser Verbindungsklasse befindet sich immer eine Carbonsäurefunktion in *ortho*- und *para*-Position zu einer Hydroxygruppe. Hierbei kann es bei einigen Vertretern zu einer

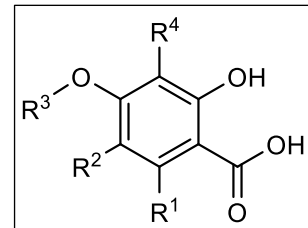


Abbildung 16: Vereinfachte Strukturformel der Amorfrutine.

Methoxy-Funktionalisierung kommen ( $R^3$ ). Das reine Grundgerüst ist analog der 2-Hydroxybenzoesäure. Der Rest  $R^1$  ist bei allen Amorfrutinen, mit Ausnahme des Amorfrutin 2, gleich. Hierbei handelt es sich um einen Phenylethanrest und somit erinnert die Gesamtstruktur stark an Dihydrostilbene. Bei dem erwähnten Amorfrutin 2 ist an dieser Position ein Pentylrest substituiert. Die Haupt-funktionalisierungen und somit die größten Unterscheidungen finden an den Resten  $R^2$  und  $R^4$  statt. Hierbei sind exemplarisch Prenyl-, Geranyl- und 2-Hydroxy-3-methylbut-3-enyl-Reste zu nennen.<sup>[82]</sup> Eine kurze Auflistung verschiedener Amorfrutinderivate sind in Abbildung 17 veranschaulicht.<sup>[82], [83]</sup> Amorfrutin A wird auch in einigen Publikationen als Amorfrutin 1 bezeichnet; es handelt sich hierbei aber um das identische Molekül.

Der biologische Zugang zu Amorfrutinen ist schwierig, da sie nur in sehr geringen Anteil in Pflanzen vorkommen. In einer Arbeit von MITSCHER *et al.*<sup>[82]</sup> werden die Samen von *Amorpha fruticosa* aufgearbeitet. Zunächst erfolgt eine ethanolische Aufschwemmung des organischen Materials. Der erhaltene, eingedampfte Extrakt wird mit Chloroform und 5% HCl extrahiert. Das erhaltene organische Produkt wird in Methanol/*n*-Hexan getrennt. Anschließend wird die *n*-Hexanphase mehrfach chromatographisch aufgearbeitet und man erhält 150 mg Amorfrutin A, 70 mg Amorfrutin B. Dies entspricht, ausgehend von den eingewogenen Samen, einer Ausbeute von 0.019% sowie 0.009%.

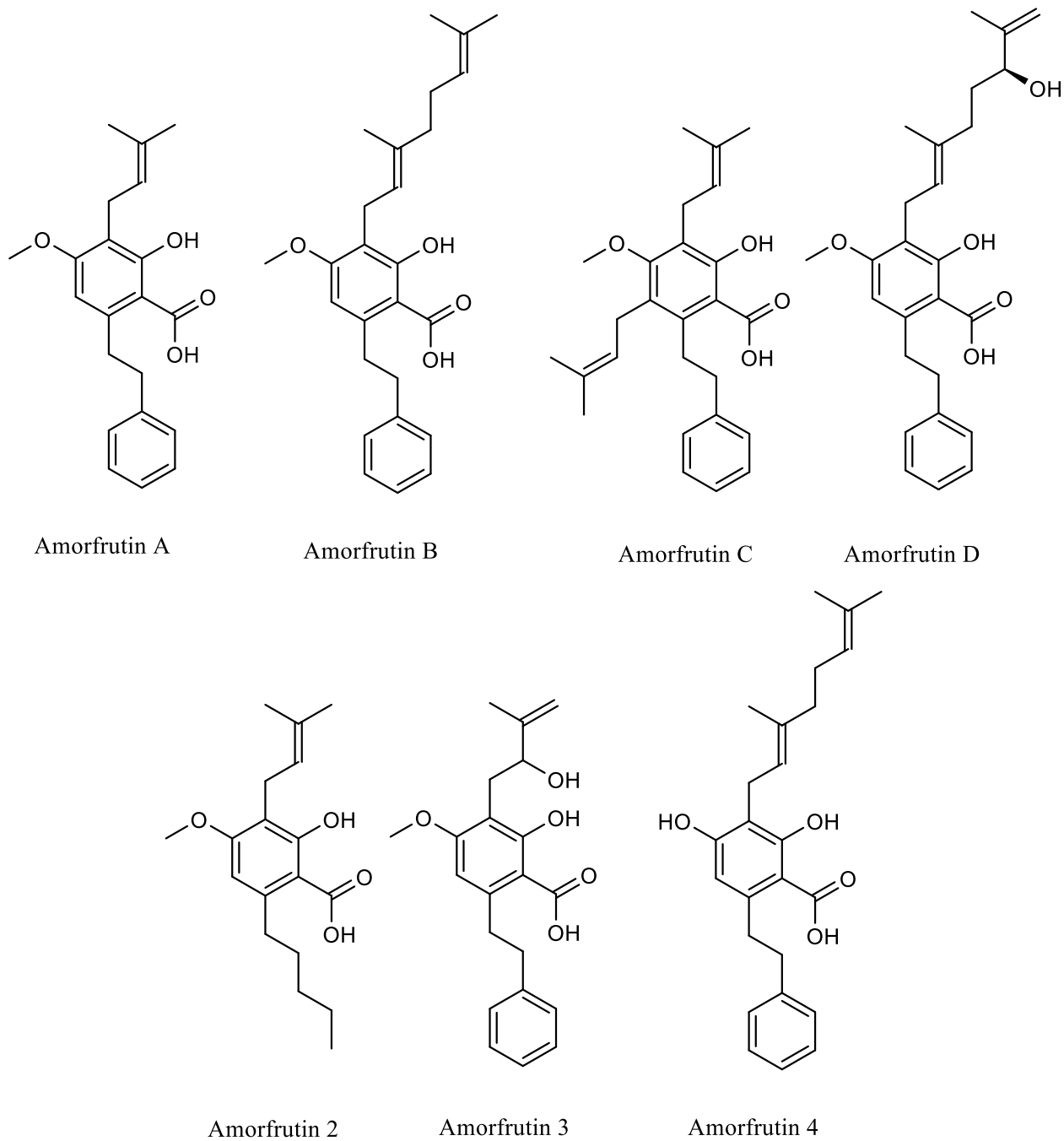


Abbildung 17: Darstellung verschiedener Amorfrutine.

Verschiedene Totalsynthesen wurden unter anderem von AIDHEN *et al.*<sup>[84]</sup>, Ji *et al.*, LACLEF *et al.*<sup>[85]</sup> und SONG *et al.*<sup>[86]</sup> durchgeführt. Hierbei sind jeweils unterschiedliche Syntheseansätze gewählt worden. Auffallend ist, dass die gewählten Varianten eine relative hohe Anzahl an Syntheseschritten besitzen, zum Teil teure oder sehr giftige Spezialchemikalien verwendet werden oder Zwischenschritte mit erheblichen Ausbeuteverlusten vorhanden sind.

## b. Vorkommen und biologische Bedeutung

In einer ersten Arbeit von MITSCHER *et al* aus dem Jahre 1972<sup>[87]</sup>, werden die ethanolischen Extrakte von Früchten, Blättern und Stängel von Pflanzen der Gattung *Amorpha fruticosa* (Abbildung 18) untersucht. Diese Pflanze ist ursprünglich in Nordamerika und Mexiko beheimatet, breitet sich aber mittlerweile über die ganze Welt aus. Hierbei stellte er fest, dass der gewonnene Extrakt eine *in vitro* Aktivität gegen *Mycobacterium smegmatis* und *Staphylococcus aureus* aufweist. In einer späteren Arbeit werden weitere Extrakte artverwandter Pflanzen untersucht. Seine Aufmerksamkeit widmete er den beiden Gattungen *Amorpha canescens* und *Amorpha nana*; dabei stellte er fest, dass die vorher gewonnen Erkenntnisse nicht auf diese zwei Gattungen extrapolierbar waren und keine bakterizide bzw. bioaktive



Abbildung 18: Blütenstil der *Amorpha fruticosa*.<sup>[88]</sup>

Wirkung vorzuweisen war.<sup>[89]</sup> Nun galt es die bioaktiven Substanzen zu identifizieren. Hierfür arbeitete MITSCHER *et al* in einer Arbeit von 1981 Samen der Gattung *Amorpha fruticosa* auf und identifizierte als wirksame Stoffe Amorfrutin A und Amorfrutin B. Der Anteil an den beiden Stoffen ist allerdings sehr gering und liegt weit unter einem Prozent.<sup>[82]</sup>

Wesentlich höhere Anteile an Amorfrutinen sind in den Wurzeln von Pflanzen der Gattung *Glycyrrhiza foetida* und *Glycyrrhiza glabra*. Diese Pflanze gehört zu den Süßhölzern und ist im Mittelmeerraum bis hin nach Westasien beheimatet. Diese Pflanzenart wird zur Herstellung von Lakritze oder aufgrund ihrer 50-fach höheren Süßkraft als vergleichbarer Rohrzucker, als Süßungsmittel verwendet. Bei der Aufarbeitung des Wurzelmaterials können einige Gramm an Amorfrutin A und Amorfrutin 2 aus einem Kilogramm Pflanzenmaterial gewonnen werden.<sup>[83]</sup>

Amorfrutine dienen in den Pflanzen als Sekundäremetaboliten und wirken durch ihre antimikrobielle Wirkung als Regulator für den Bakterienhaushalt der Pflanze, eine fungizide Wirkung ist hierbei nicht auszuschließen.<sup>[90]</sup>



### c. Pharmakologische Bedeutung

Pflanzen bzw. Pflanzenteile, die nachweislich Amorfrutin enthalten, wurden schon sehr früh als Heilkräuter verwendet. So wurden die Pflanzen der Gattung *Glycyrrhiza foetida* und *Glycyrrhiza glabra* eingesetzt, um Lungen- und Magenerkrankungen zu lindern.<sup>[91]</sup> Weiterhin wurden die Extrakte von *Amorpha fruticosa* auf verschiedene pharmakologische Eigenschaften getestet. Hierbei stellte sich eine Antitumoraktivität, speziell auf Hautkrebszellen bei Mäusen,<sup>[92]</sup> und eine TNF- $\alpha$  inhibitorische Wirkung<sup>[93]</sup> heraus. Hierbei ist anzumerken, dass die Extrakte eine Vielzahl an verschiedenen bioaktiven Molekülen enthalten; ob die Wirkung von den Amorfrutinen stammt konnte nicht nachgewiesen werden.

Jährliche sterben ca. 16 Millionen Menschen an multiresistenten Bakterienstämmen.<sup>[94]</sup> Hierbei sind 65% dieser Fälle auf Bakteriengemeinschaften, die sich durch Bildung von Biofilmen vermehren, zurückzuführen.<sup>[95]</sup> Als Beispiel ist hier *Pseudomonas aeruginosa*, eines der häufigsten vorkommenden, gramnegativen Bakterien zu nennen. Dieses Stäbchenbakterium ist sehr häufig Auslöser für Infektionskrankheiten, und ist zunehmend resistent gegen die meisten gängigen Antibiotika-Therapien. Bei den inhibitorischen Tests auf das Wachstum des Biofilms, konnte Amorfrutin B mit einer Konzentration von 50  $\mu\text{M}$  das Filmwachstum um  $50.3 \pm 2.7\%$  inhibieren. In weiteren konzentrationsabhängigen Untersuchungen wurde eine signifikante Steigerung der Wirkung bei einer Konzentration von 1  $\mu\text{M}$  gemessen. Hierbei lag die inhibitorische Wirkung bei über 90%; somit konnte für Amorfrutin B eine antimikrobielle Aktivität gegenüber *Pseudomonas aeruginosa* nachgewiesen werden.<sup>[96]</sup> Weiterhin weisen Amorfrutine eine antimikrobielle Aktivität, mit einer gewissen Spezifität für Gram-positive und säurefeste Mikroorganismen auf; hierbei wurden die größte antimikrobielle Aktivität bei Bakterienstämmen *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium smegmatis* und *Klebsiella pneumoniae* detektiert.<sup>[97]</sup>

Große wissenschaftliche Aufmerksamkeit erreichten Amorfrutine durch die Entdeckung ihrer Aktivität gegenüber PPAR $\gamma$ . Eine Besonderheit von Amorfrutin gegenüber anderen starken Antidiabetika (z.B. Thiazolidindion) ist seine hohe Selektivität gegenüber PPAR $\gamma$  ohne unangenehme Nebenwirkungen wie Gewichtszunahme, Ödeme, Osteoporose, Krebs und Herzinsuffizienz.<sup>[98], [99]</sup> Um eine Wirksamkeit auf PPAR $\gamma$  zu ermitteln, wurden hierfür Untersuchungen hinsichtlich der Bindungsaffinität der verschiedenen Amorfrutine gegenüber dieses Rezeptors getestet. Hierfür wurden die Gleichgewichtskonstanten ( $K_i$ ) der Dissoziation des Wirkstoff-Rezeptor-Komplexes ermittelt. Dabei konnte für Amorfrutin A eine Konstante von 236 nM ermittelt werden, zum Vergleich besitzt der etablierte Insulin-Sensitizer Pioglitazon eine Dissoziationskonstante von 584 nM. Somit besitzt Amorfrutin eine fast doppelt so starke Bindung zum PPAR $\gamma$  als das industrielle Pharmakon. Hinsichtlich der Bindung zu den andern PPAR Typen  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\delta$  wurden Werte von 27  $\mu\text{M}$  für  $K_i$  ermittelt. Somit liegt eine hinreichende Selektivität

gegenüber des Typ  $\gamma$  vor. Weiterhin wurden die Amorphrutine B, 3 und 4 getestet. Hierbei lagen die Werte zwischen 287 bis 352 nM für den Typ  $\gamma$  und 6 bis 115  $\mu\text{M}$  für die Typen  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\delta$ . Somit kommen Amorphrutine als potenzielle Wirkstoffe zur Therapie von Diabetes mellitus Typ 2 in Betracht.<sup>[100],[101]</sup> Eine potenzielle Antitumoraktivität bzw. eine cytotoxische Wirkung der Amorphrutine konnte von WEIDNER *et al.* anhand von Untersuchungen von Amorphrutin B und C nachgewiesen werden. Dafür wurden diese Verbindungen hinsichtlich ihrer inhibitorischen Wirkung auf das Wachstum von Darmkrebszelllinien (HT29 und T84), Prostatakarzinom (PC-3) und Brustkrebs (MCF-7) untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 als  $\text{IC}_{50}$  Werte in  $\mu\text{M}$  angegeben.<sup>[102]</sup>

Tabelle 3: Zytotoxische Wirkung von Amorphrutin B und C auf verschiedene Krebszelllinien.

	<b>HT29</b> ( $\text{IC}_{50}$ in $\mu\text{M}$ )	<b>T84</b> ( $\text{IC}_{50}$ in $\mu\text{M}$ )	<b>PC-3</b> ( $\text{IC}_{50}$ in $\mu\text{M}$ )	<b>MCF-7</b> ( $\text{IC}_{50}$ in $\mu\text{M}$ )
<b>Amorphrutin B</b>	$20 \pm 1$	$13 \pm 1$	$32 \pm 3$	$33 \pm 1$
<b>Amorphrutin C</b>	$8.1 \pm 0.5$	$11 \pm 1$	$16 \pm 2$	$14 \pm 1$

Die Antitumoraktivitäten von Amorphrutin B und C liegen in einem guten bis moderaten Bereich, wobei hier weiterführende Untersuchungen hinsichtlich der Selektivität der gewählten Verbindungen nicht vorhanden sind.

## 5. 2-Aminophenylphosphonsäure

### a. Allgemein

Organische Phosphonsäurederivate sind eine unterschätzte Gruppe bioaktiver Verbindungen mit vielversprechender Wirkung zur Behandlung von Erkrankungen beim Menschen und somit potenzielle pharmakologisch bedeutsame Verbindungen. Die Strukturformel der 2-Aminophenylphosphonsäure ist in Abbildung 19 dargestellt. Die Phosphorylierung von aromatischen Ringen ist eingehend untersucht und lange bekannt. Der Zugang zu diesen Verbindungen gelingt über entsprechende Arylhalogene und den entsprechenden Alkylphosphinite, -phosphonite bzw. Phosphite mittels einer MICHAELIS-ARBUSOW-Reaktion in Gegenwart eines Nickel- oder Kupferkatalysators. Eine weitere Synthesemethode erfolgt über eine HECK-kreuzkupplungsanaloge Reaktion unter Verwendung

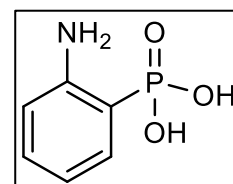


Abbildung 19: Strukturformel der 2-Aminophenylphosphonsäure.

eines Palladiumkatalysators.<sup>[103], [104], [105]</sup> Diese Reaktionen haben den Nachteil des zum Teil sehr teuren und anfälligen Palladiumkatalysators bzw. war eine *ortho*-Funktionalisierung von Anilin nicht möglich. Erst in einer Publikation von BESSMERTNYKH *et al.* aus dem Jahr 2009 wurden ortho-Substitutionen von Aminoarylderivaten beobachtet. Der Nachteil des teuren und empfindlichen Katalysators blieb bestehen.<sup>[106]</sup> Eine photochemische Variante wurde ebenfalls untersucht; hierbei wurde Iodbenzol mit verschiedenen Trialkylphosphiten mittels einer 450 W Quecksilberdampflampe zur Reaktion gebracht. Diese Reaktion erfolgt in moderaten bis guten Ausbeuten.<sup>[107]</sup> Weitere Präparationsstrategien erfolgen unter anderen über Aryldiazonium-tetrafluorborate,<sup>[108]</sup> elektrochemische Oxidation<sup>[109], [110]</sup> und Umlagerungsreaktionen. Die Strategie der Umlagerungsreaktion wurde auch in dieser Arbeit favorisiert.

## b. Biologische und pharmakologische Bedeutung

Biologisch betrachtet haben Aminophenylphosphonsäuren keinerlei Bedeutung. Betrachtet man aber die Derivate der Phosphonsäuren hat die Natur hier ihren Wert längst erkannt, wie die Biosynthese durch lebende Organismen zeigt. Zum Portfolio gehören phosphorylierte Makromoleküle wie Lipide, Exopolysaccharide und Glykoproteine, sowie eine faszinierende Reihe von bioaktiven Molekülen.<sup>[111]</sup> Bei einigen Organismen sind die



Abbildung 20: Schnecke der Art *Helisoma*.<sup>[112]</sup>

phosphorenhaltigen Verbindungen die vorherrschende Verbindungsklasse und repräsentieren den Phosphorhaushalt. Als Beispiele sind die Eier der Süßwasserschnecke *Helisoma* (Abbildung 20) zu nennen; diese bindet 95% ihres Phosphorhaushaltes als 2-Aminoethylphosphonat-modifizierte Phosphonoglycane.<sup>[113]</sup> Die Seeanemone *Tealia* speichert immerhin noch 50% ihres Phosphorhaushaltes als Phosphonolipide, Phosphonoglycane und Phosphonoglycoproteine.<sup>[114]</sup> Die Verbreitung von Phosphonsäurederivaten in der Natur lässt sich am besten durch die jüngste Entdeckung veranschaulichen, dass 20 bis 30% des verfügbaren Phosphors in den Weltmeeren aus Phosphonsäuren bestehen.<sup>[115]</sup> Da Phosphor häufig ein limitierender Nährstoff ist, deutet diese Tatsache darauf hin, dass C-P-Verbindungen eine wichtige, möglicherweise entscheidende Rolle in der globalen Umwelt spielen.

Pharmakologisch betrachtet wurden zum ersten Mal eine Aminophenylphosphorsäure, die 4-Dimethylaminophenylphosphonsäure, im Jahre 1890 von MICHAELIS und SCHENK synthetisiert.<sup>[116]</sup> Knapp 130 Jahre später kann diese Verbindungsklasse auf eine Vielzahl an

Verwendungen zurückblicken. Eine Anwendung liegt in der Verwendung eines Derivates als Angiogenese-Hemmer. Als Angiogenese (Neovaskularisation) bezeichnet man die Entwicklung und das Wachstum neuer Kapillarblutgefäße; dieser Vorgang ist besonders wichtig bei der Embryonalentwicklung, bei der normalen Wundheilung sowie der Entwicklung des Endometriums nach der Menstruation. Die Stimulierung neuer Blutgefäße kann auch krankheitsbedingt gestört sein, und kann somit Anteil an verschiedenen Krankheiten haben, unter anderen bei der diabetischen Retinopathie, rheumatoiden Arthritis, bei Hämangiomen und beim Wachstum von soliden Tumoren sowie in der Entwicklung von Metastasen. Onkologisch betrachtet, konnte bewiesen werden, dass das Wachstum von soliden Tumoren von der ständigen Entwicklung neuer Blutgefäße abhängt und für die Metastasen bestimmter Krebsarten mit der zunehmenden Größe des Primärtumors korreliert.<sup>[117]</sup> Eine pharmazeutische Behandlung mit einem Angiogenese-Hemmer kann daher das Wachstum von Primärtumoren stoppen, die Bildung von Metastasen verhindern oder verringern und das Auftreten von Sekundärtumoren unterbinden. Solche Angiogenese-Inhibitoren eignen sich auch zur Behandlung der oben genannten nicht-neoplastischen Erkrankungen, bei denen eine angiogene Aktivität auftritt. Die Erfordernisse der Therapie erfordern die ständige Entwicklung neuer angiogenesehemmender Verbindungen mit dem Ziel, Wirkstoffe zu erhalten, die sowohl aktiver als auch spezifischer und weniger toxisch sind.<sup>[118]</sup> Erweitert man die Derivate auf die Bedingung einer Phosphonssäure-C-N-Verknüpfung, so gelangt man zu einer Vielzahl an Verbindungen. Ein paar ausgewählte Verbindungen mit pharmakologischer Verwendung sind in Abbildung 21 aufgezeigt.<sup>[119], [120]</sup>

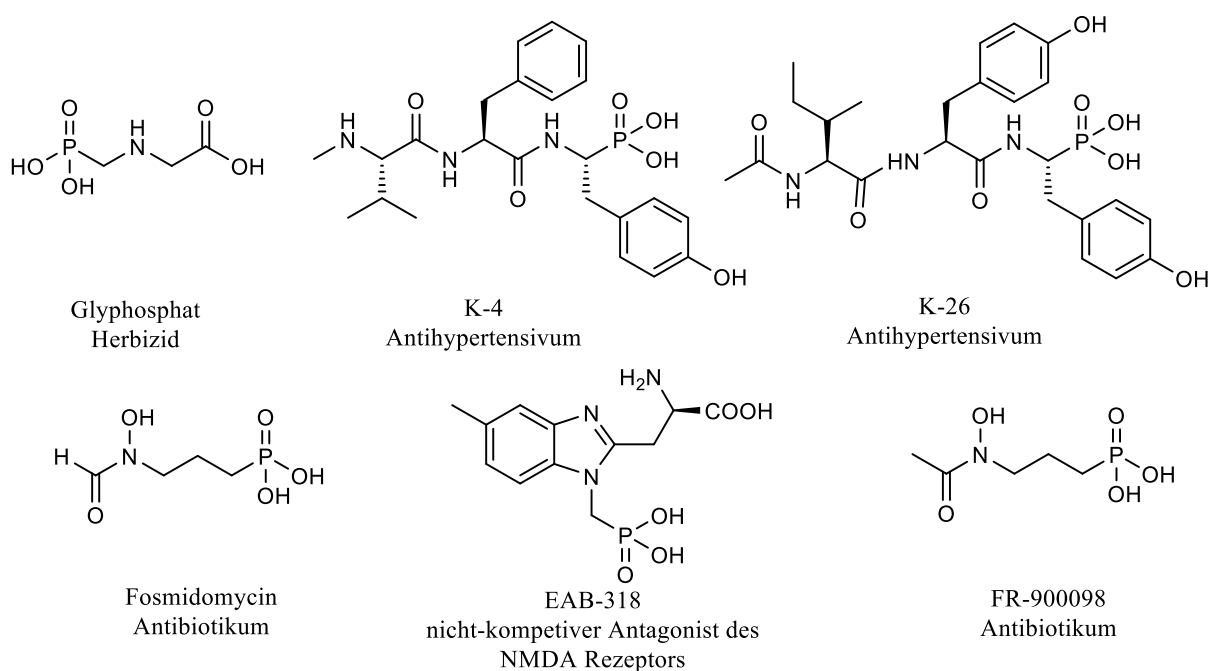


Abbildung 21 Verbindungsübersicht Aminophosphonsäuren.

Die Bioaktivität dieser Verbindungen liegt in ihrer strukturellen Ähnlichkeit zu Phosphateestern oder Carbonsäuren, welche selektiv an die *active site* von Enzymen binden können. Gerade diese Eigenschaften von Enzymen, eine hohe Affinität zu Phosphonaten und Phosphinaten auszubilden, wirken Verbindungsklassen mit einer C-P Strukturelement oft als starke kompetitive Inhibitoren.<sup>[111]</sup>

## 6. Zielstellung

Durch den stetig wachsenden Erkenntnisgewinn im Bereich der Alterserkrankungen, insbesondere bei neurodegenerativen, Tumor- sowie Autoimmunkrankheiten, besteht ein großes Interesse an neuartigen pharmakologisch aktiven Verbindungen, insbesondere mit Hinblick auf individualisierte Therapien. Dies ist u.a. begründet mit der systemischen, meist unspezifischen Wirkweise etablierter vollsynthetischer Pharmaka, welche mit erheblichen Nebenwirkungen für den Patienten einhergehen. Ein hochinteressanter Ansatz sind naturstoffanaloge Medikamente, deren Wirkweisen ungleich spezifischer und die auftretenden Nebenwirkungen wesentlich verringert sind.<sup>[98], [99]</sup> Allerdings ist der Zugang zu natürlich vorkommenden Verbindungsklassen beschränkt. Dies ist zum einen durch begrenzte natürliche Ressourcen begründet, zum anderen durch den hohen technischen Aufwand bei der Reinstoffgewinnung aus diesen Vorkommen. Synthetische Ansätze zur Generierung von Naturstoffen sind wiederum aufgrund vielstufiger Prozesse mit einem sehr hohem Syntheseaufwand bei gleichzeitig stark verringerten Ausbeuten verbunden.

Das Ziel dieser Arbeit ist für bereits bekannte natürlich vorkommende pharmakologisch bedeutsame Verbindungsklassen eine Totalsynthese zu entwickeln, welche sich durch die Verwendung möglichst günstiger und leicht zugänglicher Edukte auszeichnet. Zudem soll die Anzahl an Syntheseschritten möglichst gering sein, die Ausbeuten in den einzelnen Zwischenschritten möglichst hoch, und die Verwendung teurer Spezialchemikalien soll vermieden werden.

Als etablierte pharmakologisch bedeutsame Verbindungsklassen wurden die Phenylpropensäuren, insbesondere die Sinapinsäure und die Amorfrutine gewählt. In den anschließenden Derivatisierungen sollte unter anderem eine Modifikation mit Piperazin und Rhodamin B erfolgen. Diese Derivate zeichnen sich durch verbesserte pharmakologische Eigenschaften aus. So konnte für Piperazinderivate der Boswelliasäure eine wesentlich höhere Selektivität der Antitumoraktivität nachgewiesen werden.<sup>[121]</sup> Dementgegen stehen Rhodamin B-derivatisierte Verbindungen der Klasse der Maslinsäuren, welche eine Steigerung der Aktivität gegen unter anderen HT29, MCF-7 und A2780 aufweisen.<sup>[122]</sup> Im Rahmen dieser Arbeit soll der Einfluss sowohl von Piperazin-Funktionalisierungen an Phenylpropensäuren und Amorfrutinen untersucht und bewertet werden. Für die Amorfrutine wurden ebenfalls Derivate mit Rhodamin B synthetisiert. Parallel wird auch eine Abschätzung hinsichtlich der Selektivität dieser neuen potentiellen Pharmaka durchgeführt und die Wirkung auf gesunden Zellen analysiert. Zu diesem Zweck dienen nicht malignen Mausfibroblasten der Zelllinie NIH 3T3. Weiterführenden inhibitorische Eigenschaften werden über den Ellmans-Assay ermittelt.

Im abschließenden Teil dieser Arbeit wird eine neue Totalsynthese für den effektiven Zugang von 2-Aminophenylphosphonsäuren beschrieben. Diese ist deshalb interessant, weil dies einen effizienteren Syntheseweg für die Synthese weiterer Derivate darstellt.

## 7. Darstellung der Ergebnisse

### a. **Publikation 1:**

Unexpected cytotoxicity of a triisopropylsilylated syringaldehyde derived cinnamic acid amide.

Björn A. Weber, Ratna Kancana Wolfram, Sophie Hoenke, Lucie Fischer, Ahmed Al-Harrasi and René Csuk, *Mediterranean Journal of Chemistry* **2019**, 9(1), 45-51.

#### **Abstract:**

A small series of substituted cinnamic acid amides was prepared and screened for their cytotoxic activity. As a rather astonishing and unprecedented result, compound **5** holding a triisopropylsilyl (TIPS) protecting group at position 4 of the aromatic ring was highly cytotoxic ( $EC_{50} = 3.2 \mu\text{M}$  for HT29 human colon adenocarcinoma cells) while analogs with a methoxy or hydroxyl group at this position were of low cytotoxicity or not cytotoxic at all.

#### **Keywords:**

cinnamic acid amides; cytotoxicity; SRB assay; HT29 cells.

Dass Phenylpropensäurederivate eine sehr vielversprechende Verbindungsklasse mit zahlreichen pharmakologischen Anwendungsgebieten sind, wurde eingehend erklärt. Arbeiten von S. Sommerwerk<sup>[123]</sup> und J. Wiemann<sup>[124]</sup> an Piperlongumin-Derivaten in unserer Arbeitsgruppe zeigten eine zytotoxische Aktivität. Somit lag der Forschungsansatz nahe, weitere geeignete strukturelle Modifikationen zu finden, welche zytotoxische und inhibitorische Eigenschaften besitzen. Hierbei wurden die strukturverwandten Verbindungen Zimtsäure und Sinapinsäure gewählt. Die Synthese der entsprechenden Produkte beginnt, ausgehend von Syringaldehyd (1, 3,5-Dimethoxy-4-hydroxybenzaldehyd) und TIPSCl (Triisopropylsilylchlorid). Hierbei wird zunächst mittels einer nucleophilen Substitution die freie Hydroxylgruppe über einen Silylether geschützt. Weiterführend erfolgt eine KNOEVENAGEL-DOEBNER Kondensation zum (*E*)-konfigurierten Zimtsäurederivat **3**. Die Vorbereitung der Kupplungspartner erfolgt ausgehend von Piperidin und Piperazin **7**, wobei bei der letztgenannten Verbindung zunächst ein Stickstoff mittels Di-*tert*-butyldicarbonat für die nachfolgende Reaktion geschützt wird, man erhält Verbindung **8** mit einer Ausbeute von 71%. Die beiden cyclischen Amine werden mit 2-Chloroethanol funktionalisiert und anschließend mit dem Zimtsäurederivat verestert; hierbei erhält man die Verbindungen **5** und **10**. Um etwaige Struktur-Wirkungs-Beziehungen abschätzen zu können, wurden die Verbindungen **12**, **13** und **15**, **16** aus der kommerziell zugänglichen Zimtsäure bzw. aus 3,4,5-Trimethoxyzimtsäure



ebenfalls mit den entsprechenden Piperidin- bzw. Piperazin-Derivaten verestert. Das Syntheschema ist in Abbildung 22 dargestellt.

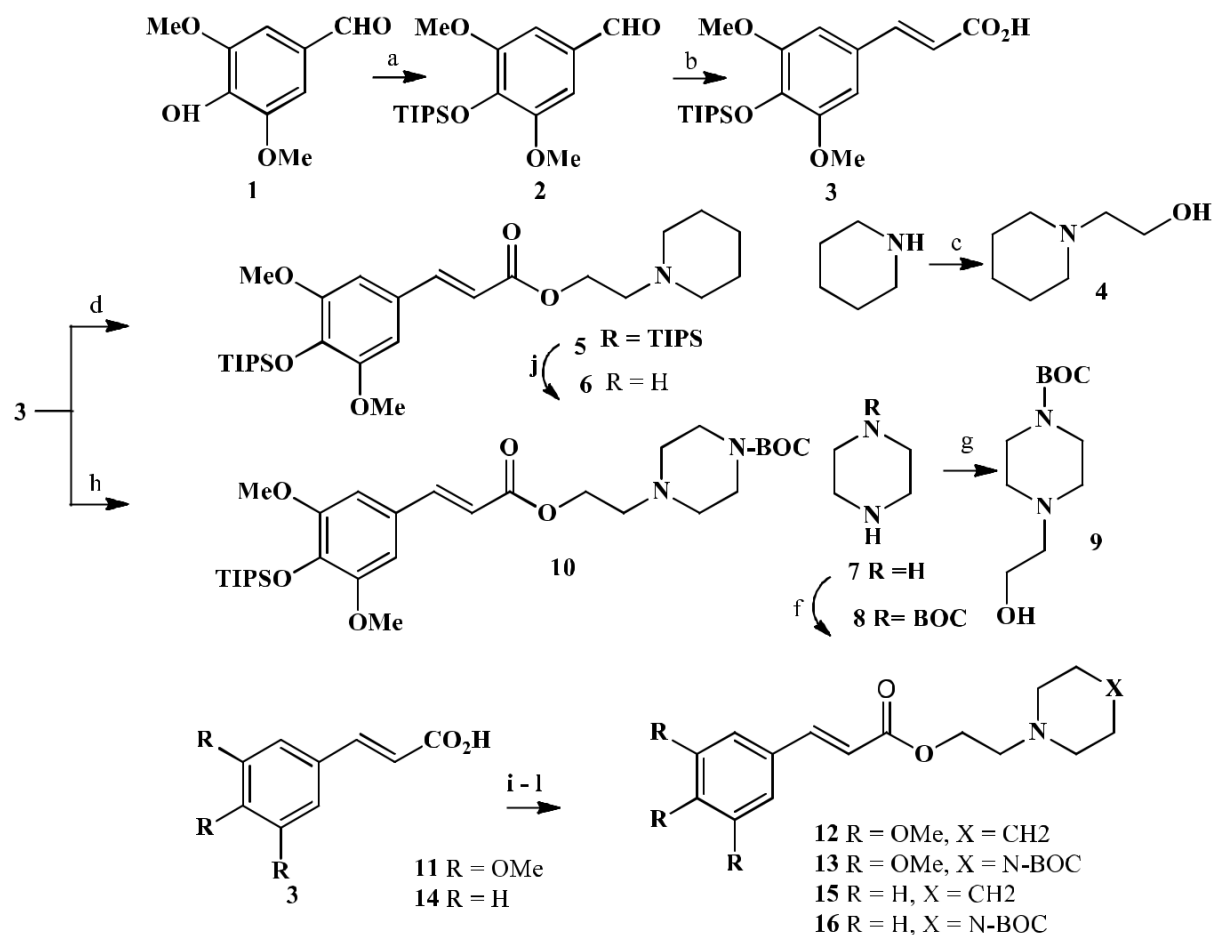


Abbildung 22: Synthese der Verbindungen 2-16.

Die erhaltenen Verbindungen wurden mittels SRB-Assay auf ihre zytotoxische Wirkung bei verschiedenen Krebszelllinien getestet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 als EC<sub>50</sub>-Werte in  $\mu\text{M}$  angegeben. Als Referenz wurde der Kinaseinhibitor Staurosporin verwendet.

Tabelle 4: Zytotoxizität der Verbindungen 1-3, 5, 6, 11-16.

#	FaDu	A2780	HT29	MCF-7	SW1736
<b>1-3</b>	> 30	> 30	> 30	> 30	> 30
<b>5</b>	6.0 ± 0.2	5.8 ± 0.3	3.2 ± 0.7	4.4 ± 0.4	9.3 ± 0.9
<b>6</b>	27.1 ± 1.7	28.3 ± 2.3	29.9 ± 2.4	25.1 ± 3.2	29.1 ± 3.0
<b>11-16</b>	> 30	> 30	> 30	> 30	> 30
<b>STS</b>	0.14 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.15 ± 0.02	0.10 ± 0.02	0.12 ± 0.02

## b. Publikation 2:

An efficient and robust synthesis of amorfrutin A.

Björn Weber, Benjamin Brandes, Danny Powroznik, Ralph Kluge, René Csuk, *Tetrahedron Letters* **2019**, *60*, 1379-1381, Doi: 10.1016/j.tetlet.2019.04.028.

### **Abstract:**

Amorfrutin A was synthesized via a short sequence in an overall yield of 41% using a green, aerobic oxidation/re-arrangement process as the key-step.

### **Keywords:**

Amorfrutin A, Hydroperoxide, Aerobic oxidation.

Amorfrutine sind eine Stoffklasse mit einem enormen und universalen Potenzial in pharmakologischer Hinsicht. Der Zugang zu diesen Verbindungen ist bisher noch sehr schwierig und somit eine breite Derivatisierung nicht umfassend möglich. Somit bestand die Aufgabe, eine effektive Totalsynthese, mit dem Verzicht auf teure Spezialchemikalien zu entwickeln.

Ausgehend von 3,5-Dimethoxybenzaldehyd (**1**) und Benzylcyanid (**2**) wird über eine KNOEVENAGEL-Kondensation die Verbindung **3** (Abbildung 23) erhalten. Diese Reaktion erfolgt mit einer Ausbeute von 92%. Anschließend erfolgt mittels Natriumborhydrid die Reduktion der im Molekül befindlichen Alkenbrücke und im Anschluss erfolgte eine Reaktion unter Mikrowellenstrahlung zu Verbindung **6**. Beide Reaktionen verlaufen mit quantitativen Ausbeuten. Der anschließende, intramolekulare Ringschluss erfolgt über eine FRIEDEL-CRAFTS Acylierung mittel Bortrichlorid wobei im selben Reaktionsschritt eine selektive Etherspaltung zu Verbindung **8** erfolgt.

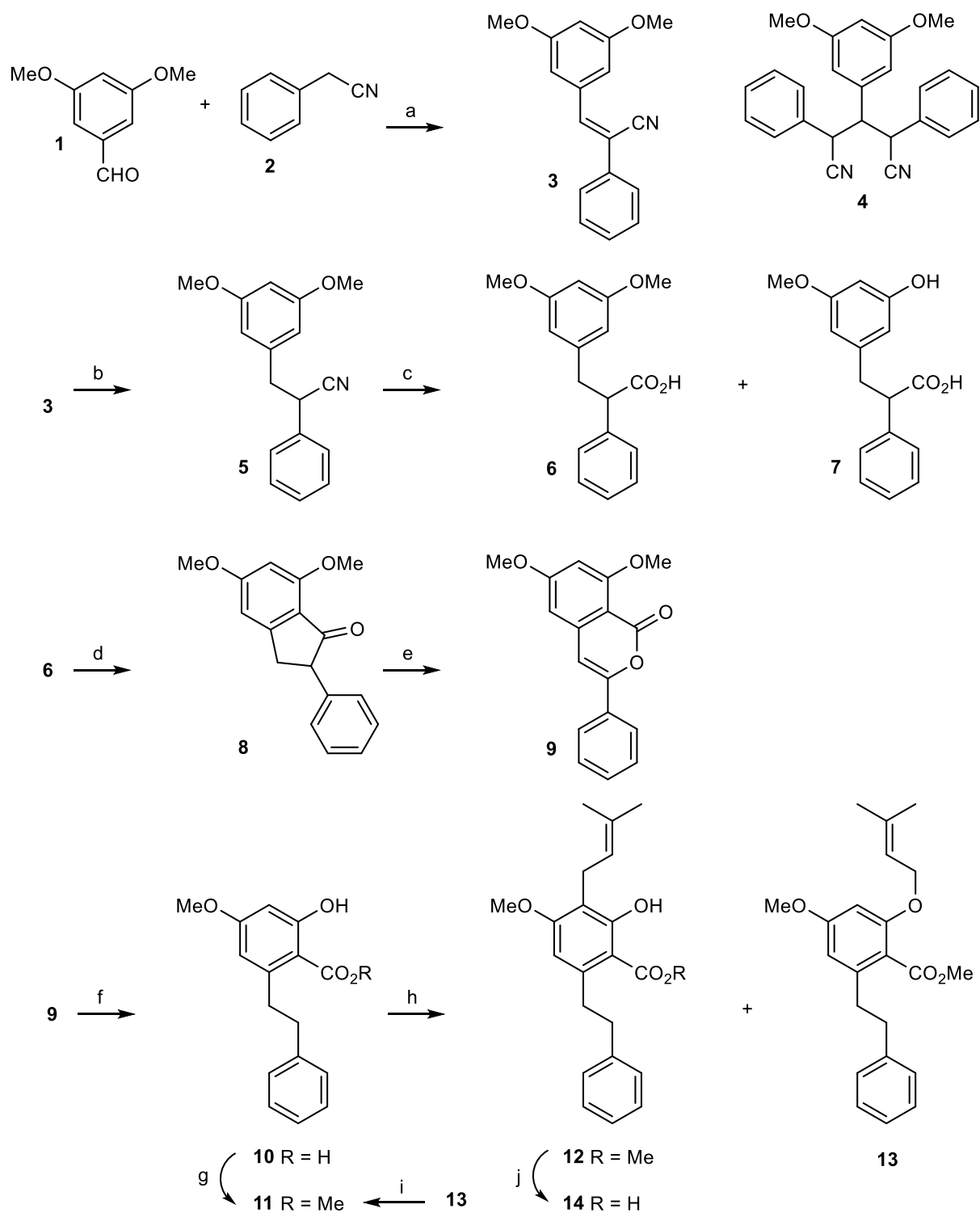


Abbildung 23: Synthese von Amorfrutin A (14): Chemikalien und Synthesebedingungen: a) NaOH, EtOH, 12 h, 25 °C, 92%; b) NaBH<sub>4</sub>, EtOH, 1 d, 50 °C, quant.; c) 1,2-propandiol, NaOH, Mikrowellenstrahlung (180 °C, 4 min, 160 W), 85% (6) + 10% (7); d) BCl<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0 °C → 25 °C, 98% (6); e) NaOMe, MeOH, Luft, 2 d, 40 °C, 89%; f) H<sub>2</sub> (75 psi), Pd/C (10%), EtOAc/MeOH, 6 h, 25 °C, 93%; g) Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeI, DMF, 12 h, 25 °C, 98%; h) KH, Toluol, Prenylchlorid, 20 min, 25 °C → 70 °C, 12 (72%) + 13 (25%); i) CeCl<sub>3</sub>, ACN, NaI, 3 h, 25 °C, 95%; j) KOH, MeOH, 7 h, 25 °C, 92%.

Der nächste Syntheseschritt erfolgt über die Bildung eines Hydroperoxides, welches durch Einleiten von Luftsauerstoff initiiert wird. Dieses Intermediat zerfällt und über eine baseninduzierte

E1cB-Eliminierung erhält man Verbindung 9 mit einer Ausbeute von 89%; diese Reaktion wird in Abbildung 24 näher betrachtet. Die im Anschluss durchgeführte Hydrierung erfolgt in Essigester/ Methanol in einer Wasserstoffatmosphäre unter Zuhilfenahme von Pd/ C (10%). Diese Reaktion erfolgt ebenfalls unter quantitativen Ausbeuten und ergibt Verbindung 10. Nach der Veresterung erhält man Verbindung 11,

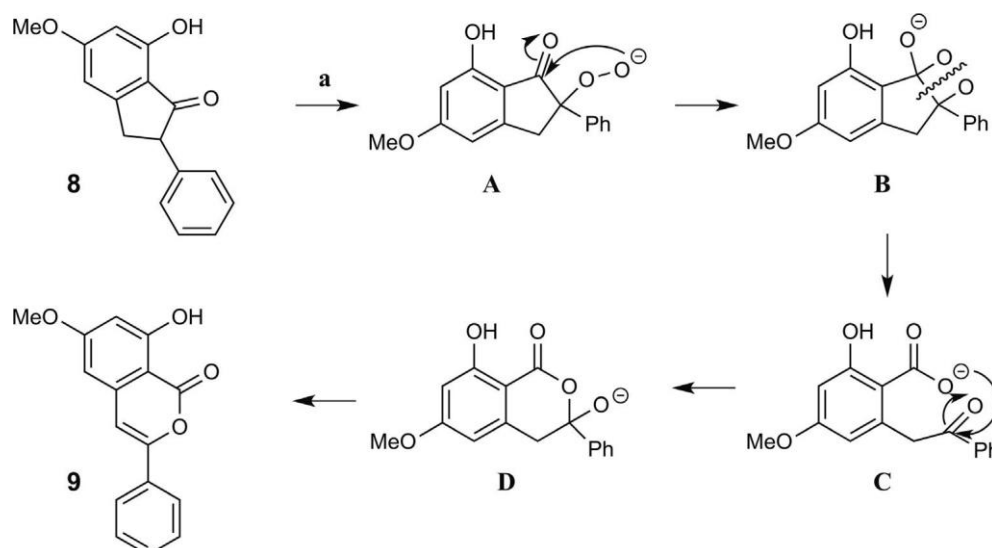


Abbildung 24: Vorgeschlagnene Reaktionsfolge für die Umwandlung von Keton **8** zu Lacton **9**:  
Reagenzien und Bedingungen: a) O<sub>2</sub>, NaOMe, MeOH b) H<sup>+</sup>, -H<sub>2</sub>O.

Zusammenfassend wurde Amorfrutin A aus günstigen, im Handel erhältlichen Ausgangsmaterialien unter Verwendung weniger Syntheseschritte erhalten. Diese Reaktionsfolge kann leicht reproduziert werden und liefert Amorfrutin A in einer Gesamtausbeute von 41%.

### i. Nicht veröffentlichte Synthesen und Ergebnisse

Die hier vorgestellten Ergebnisse wurden in einer von mir betreuten Bachelorarbeit von Michael Türk angefertigt. Diese Synthesen und biologischen Evaluierungen wurden zum Ende meiner Promotionszeit fertiggestellt und konnten bislang nicht veröffentlicht werden.

Im ersten Teil der Arbeit wurde die Notwendigkeit einer Veresterung der Carbonsäure für die Amorfrutinsynthese getestet; hierfür wurde die Verbindung **10** mit der publizierten Methode umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Aufarbeitung nach Beendigung der Reaktion wurde nicht umgesetzte Verbindung **10** und das Diprenylprodukt **15** erhalten. Ausgehend von Verbindung **15** sollte mittels Cer(III)Cl<sub>3</sub> und NaI in Acetonitril über eine Etherspaltung Amorfrutin A (**14**) erhalten werden. Diese Reaktion wurde unter Rückfluss durchgeführt; hierbei kam es zur gewünschten Etherspaltung, doch das gebildete Anion greift intramolekular am

Prenylrest an und es bildet sich Verbindung **17** mit einer Ausbeute von 82.4%. Weiterhin wurde ausgehend von Verbindung **11** mittels Kaliumhydrid und Geranylchlorid in trockenem Toluol unter einer Argonatmosphäre zunächst der Amorfrutin B Methylester (**17**) und der entsprechende Geranylether **18**, als Nebenprodukt erhalten. In einer anschließenden Esterhydrolyse wird das Amorfrutin B (**19**) erhalten. Die beschriebenen Synthesen sind in Abbildung 25 zusammengefasst dargestellt.

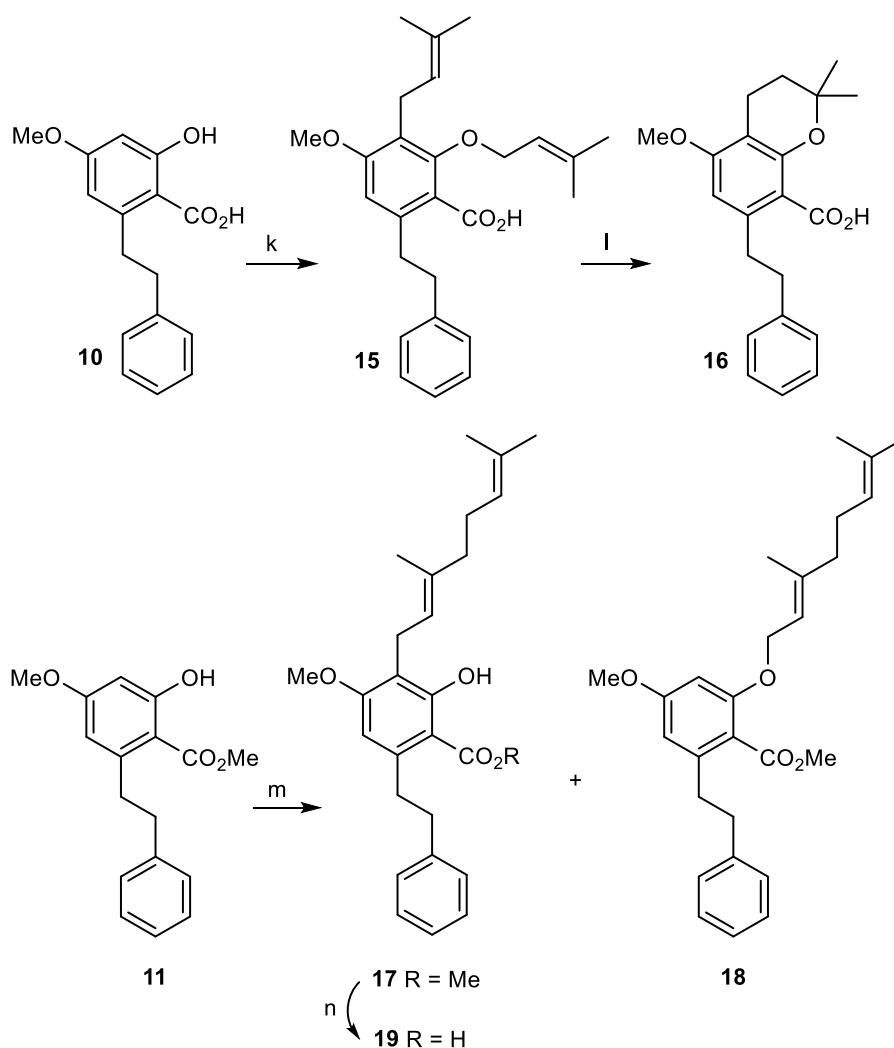


Abbildung 25: Bedingungen: k) KH, Toluol, Prenylchlorid, 20 min,  $25\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow 70\text{ }^\circ\text{C}$ , 41%; l)  $\text{CeCl}_3$ , ACN, NaI, 8 h,  $82\text{ }^\circ\text{C}$ , 82.4%; m) KH, Toluol, Geranylchlorid, 15 min,  $25\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow 70\text{ }^\circ\text{C}$ , **17** (27%) + **18** (11%); n) KOH, MeOH, 10 h,  $25\text{ }^\circ\text{C}$ , 84%.

Weiterhin wurden in dieser Arbeit verschiedene Amide ausgehend von Verbindung **10** synthetisiert. Dabei wurden in dieser Arbeitsgruppe etablierte Amine verwendet. Hierbei sollten erste Wirkungs-Struktur-Beziehungen hinsichtlich der zytotoxischen und inhibitorische Wirkung im Vergleich zu den Amorfrutinen A und B getroffen werden. Für die Synthese von Verbindungen **21**, **22**, und **23** (Abbildung 26) wurde eine in der Peptidsynthese etablierte Reaktion verwendet. Hierfür wurde Verbindung **10** mit den entsprechenden Aminen (Piperazin, Pyridin und Benzylamin) in

Anwesenheit von 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt) und 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (EDC) umgesetzt. Bei der Reaktion erfolgt zunächst eine Abstraktion des Protons an der Carbonsäure durch EDC; hierbei wird durch die Bildung einer Ammoniumstruktur die Elektrophilie des zentralen Kohlenstoffatoms soweit gesteigert, dass das gebildete Carbonsäureanion nucleophil angreift und sich das entsprechende Harnstoffesterderivat bildet. Dieser reaktive Ester wird nun selbst wiederum vom HOBt nucleophil angegriffen und es bildet sich eine quaternäre Zwischenstufe aus; diese zerfällt anschließend in das entsprechende Harnstoffderivat und Benzotriazolamid. Anschließend erfolgt die Bildung der entsprechenden Zielverbindung durch den Angriff des eingesetzten Amins am Carbonylkohlenstoff. Bei der Reaktion mit Piperazin wurde eine sehr interessante Verbindung als Nebenprodukt erhalten. Verbindung **21** repräsentiert ein Dimer von Verbindung **10**; während der Reaktion kommt es auch zu einer Decarboxylierung einer der beiden Carbonsäuren. Wobei in der Charakterisierung dieser Verbindung nur noch die Signale des abgebildeten Esters detektiert werden.

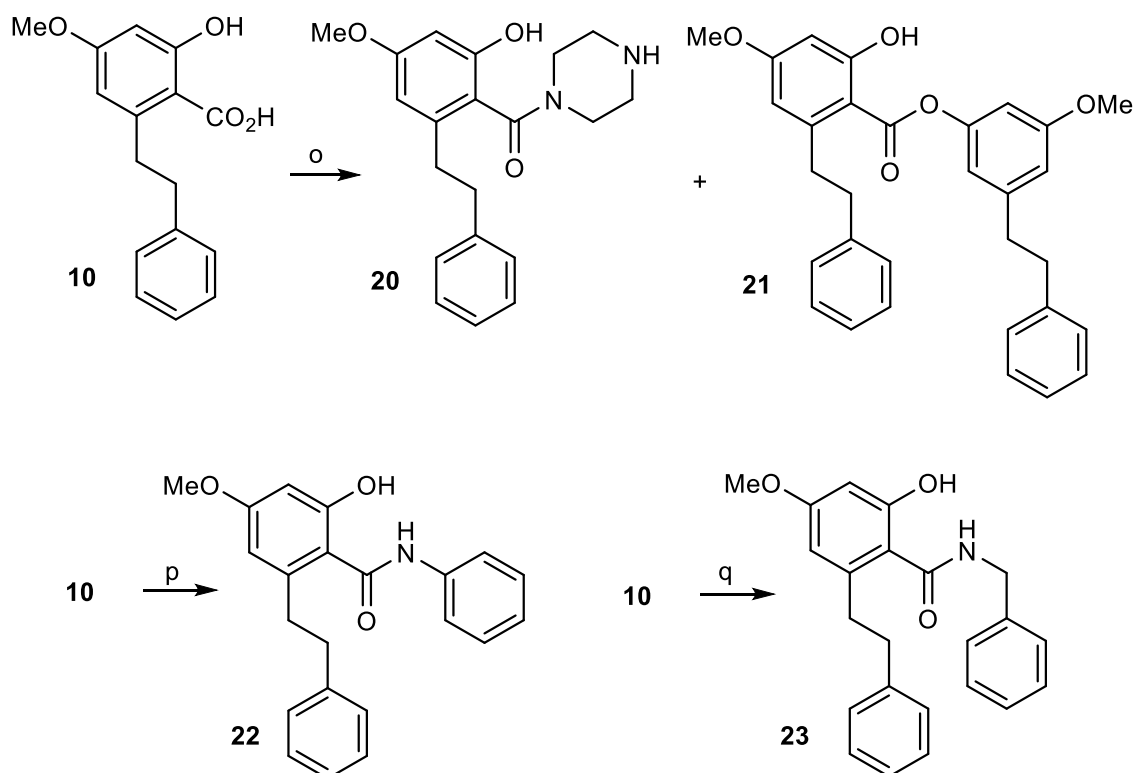


Abbildung 26: Bedingungen: o) EDC, HOBt, Piperazin, 8 h, 25 °C, **20** (20%) + **21** (10%); p) EDC, HOBt, Piperazin, 8 h, 25 °C, 31%; q) EDC, HOBt, Piperazin, 8 h, 25 °C, 24%.

Weiterhin sollte der Effekt von Rhodamin B in Verbindung mit dem Amorfrutin-Grundgerüst untersucht werden. Hierfür wurde zunächst das Piperazinadukt des Rhodamin B **25** synthetisiert.

Die Reaktion erfolgte über die Bildung des Säurechlorides und anschließender nucleophiler Reaktion mit dem Piperazin. Zur Bildung des Säurechlorides wurde Phosphoroxychlorid verwendet. Anschließend erfolgte die Reaktion mit Verbindung **10**; die Reaktion erfolgt analog zu den bisher gebildeten Amiden. Das Rhodamin B-Derivat ergibt sich aus dieser Reaktion mit einer Ausbeute von knapp 19%. Die Synthese ist in Abbildung 27 veranschaulicht.

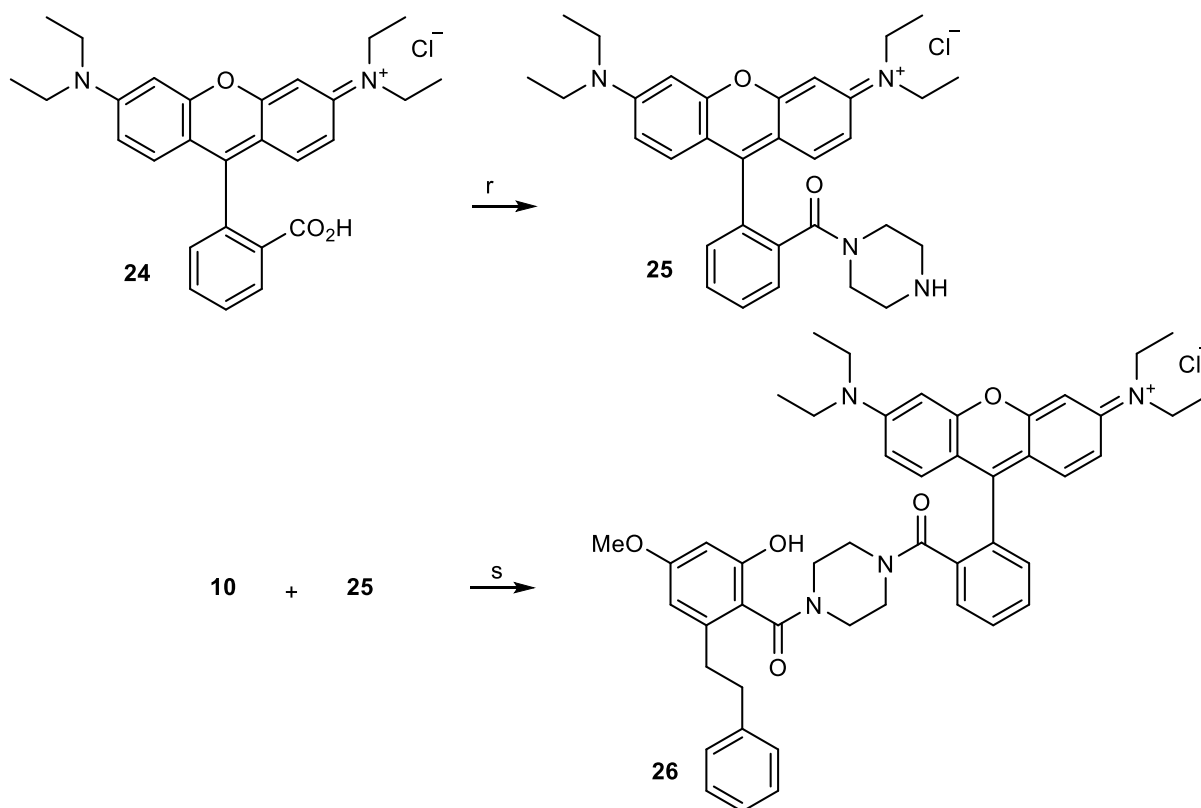


Abbildung 27: Bedingungen: r) POCl<sub>3</sub>, 85 °C, 58%; s) EDC, HOBt, **25**, 8 h, 25 °C, 18.5%.

Die erhaltenen Verbindungen wurden zunächst auf ihre Esteraseinhibition mit dem Ellmans-Essay getestet. Die Werte sind in Tabelle 5 zusammengefasst. Hierbei wurde als Referenz das etablierte Antidementivum Galantaminhydrobromid verwendet. Um eine Beurteilung auf die Wirksamkeit der eingesetzten Substanzen treffen zu können, wurde die prozentuale Hemmung der enzymatischen Esterspaltung angegeben. Bei der Rhodamin B-Verbindung **26** konnte durch die starke Eigenfarbe keine photometrische Messung durchgeführt werden. Diese Ergebnisse sind in der Tabelle mit nicht definiert (n.d.) angegeben.

Tabelle 5: Tabellarische Ergebnisse des Ellman's Assay für die Verbindungen **11-14**, **16-23** und **26** angegeben, n.d. (nicht definiert).

<b>Verbindung (10 <math>\mu</math>M)</b>	<b>AChE (%-INHIBIERUNG)</b>	<b>BChE (%-INHIBIERUNG)</b>
<b>Gal HBr</b>	89.67 $\pm$ 0.22	49.91 $\pm$ 0.13
<b>11</b>	10.84 $\pm$ 2.46	< 5
<b>12</b>	20.27 $\pm$ 0.91	< 5
<b>13</b>	18.86 $\pm$ 0.44	26.87 $\pm$ 0.05
<b>14</b>	12.50 $\pm$ 0.94	< 5
<b>16</b>	14.06 $\pm$ 1.34	< 5
<b>17</b>	40.36 $\pm$ 0.91	< 5
<b>18</b>	37.83 $\pm$ 1.12	< 5
<b>19</b>	29.81 $\pm$ 0.69	5.98 $\pm$ 0.09
<b>20</b>	9.39 $\pm$ 2.89	< 5
<b>21</b>	31.69 $\pm$ 1.34	< 5
<b>22</b>	18.03 $\pm$ 0.33	11.39 $\pm$ 0.22
<b>23</b>	10.59 $\pm$ 0.62	< 5
<b>26</b>	n.d.	n.d.



Für die zytotoxische Wirkung der synthetisierten Verbindungen, wurden diese mittels SRB-Assay auf ihre wachstumsinhibitorische Wirkung auf verschiedene Krebszelllinien getestet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 aufgelistet. Hierbei wurden Werte über 30  $\mu$ M nach 72 Stunden nicht mehr erfasst.

Tabelle 6: Mittlere effektive Konzentration  $EC_{50}$  für die Verbindungen **11-14**, **16-23** und **26** in  $\mu$ M nach 72 Stunden.

Verbindung	A375	HT29	MCF7	A2780	FADU	NIH-3T3
<b>11</b>	>30	>30	>30	>30	>30	-
<b>12</b>	>30	>30	>30	>30	>30	-
<b>13</b>	>30	>30	>30	<b>22.91 <math>\pm</math> 1.8</b>	>30	>30
<b>14</b>	>30	>30	>30	>30	>30	>30
<b>16</b>	>30	>30	>30	>30	>30	-
<b>17</b>	>30	>30	<b>28.96 <math>\pm</math> 3.8</b>	<b>20.45 <math>\pm</math> 1.9</b>	>30	>30
<b>18</b>	<b>19.62 <math>\pm</math> 2.3</b>	>30	<b>11.97 <math>\pm</math> 1.2</b>	<b>19.79 <math>\pm</math> 2.1</b>	<b>22.00 <math>\pm</math> 2.3</b>	>30
<b>19</b>	<b>23.81 <math>\pm</math> 2.0</b>	>30	<b>26.15 <math>\pm</math> 1.4</b>	<b>25.02 <math>\pm</math> 2.0</b>	<b>27.05 <math>\pm</math> 0.9</b>	>30
<b>20</b>	>30	>30	>30	>30	>30	-
<b>21</b>	>30	>30	>30	>30	>30	-
<b>22</b>	>30	>30	<b>20.74 <math>\pm</math> 2.3</b>	<b>21.76 <math>\pm</math> 0.5</b>	>30	>30
<b>23</b>	>30	>30	>30	>30	>30	-
<b>26</b>	<b>4.68 <math>\pm</math> 0.3</b>	<b>5.10 <math>\pm</math> 0.2</b>	<b>3.39 <math>\pm</math> 0.5</b>	<b>2.29 <math>\pm</math> 0.3</b>	<b>3.65 <math>\pm</math> 0.2</b>	<b>1.09 <math>\pm</math> 0.1</b>

### c. **Publikation 3:**

An alternative approach to 2-amino-phenylphosphonic acid.

Björn Weber, Manuel Schmidt and René Csuk *Mediterranean Journal of Chemistry* **2018**, 7 (3), 164-171, Doi: 10.13171/mjc731892812-csuk.

#### **Abstract:**

2-Amino-phenylphosphonic acid can easily be prepared in five steps from aniline in 38% over-all yield with a phosphoramidate-aminophosphate rearrangement reaction as the key-step.

#### **Keywords:**

2-Amino-phenylphosphonic acid; aniline; rearrangement reaction.

Während eines Projekts in dieser Arbeitsgruppe, welches sich mit der Synthese von magentafarbenen Farbstoffen und deren Verwendung beim Färben von menschlichen Tumorzellen befasste, interessierten wir uns für die Synthese von Azofarbstoffen, die 2-Amino-phenylphosphonsäure-Strukturelemente und Derivate davon, besitzen. Da der Zugang zu diesen Verbindungsklassen zwar lange bekannt ist aber die Synthesen dennoch Schwierigkeiten aufweisen, entwickelten wir eine eigene Synthesestrategie. Hierfür wurden zwei verschiedene Ansätze gewählt. Variante 1 geht von Anilin (**1**, Abbildung 28) aus. Hier wird zunächst über eine nucleophile Reaktion mittels Diethylchlorphosphat in Anwesenheit von Triethylamin, mit einer Ausbeute von 91%, das Phosphoramidat **2** erhalten. Weiterführend wird die freie Bindungsstelle am Stickstoff mittels Di-*tert*-butyldicarbonat in Anwesenheit katalytischer Mengen DMAP geschützt und die Umlagerungsreaktion mit *sec*-Butyllithium eingeleitet und man erhält Verbindung **4** mit einer Ausbeute von 83%. Die freie 2-Aminophenylphosphonsäure **6** erhält man durch Abspalten der Schutzgruppen mittels Trifluoressigsäure oder 3M Salzsäure in Essigester und anschließender saurer Esterspaltung.

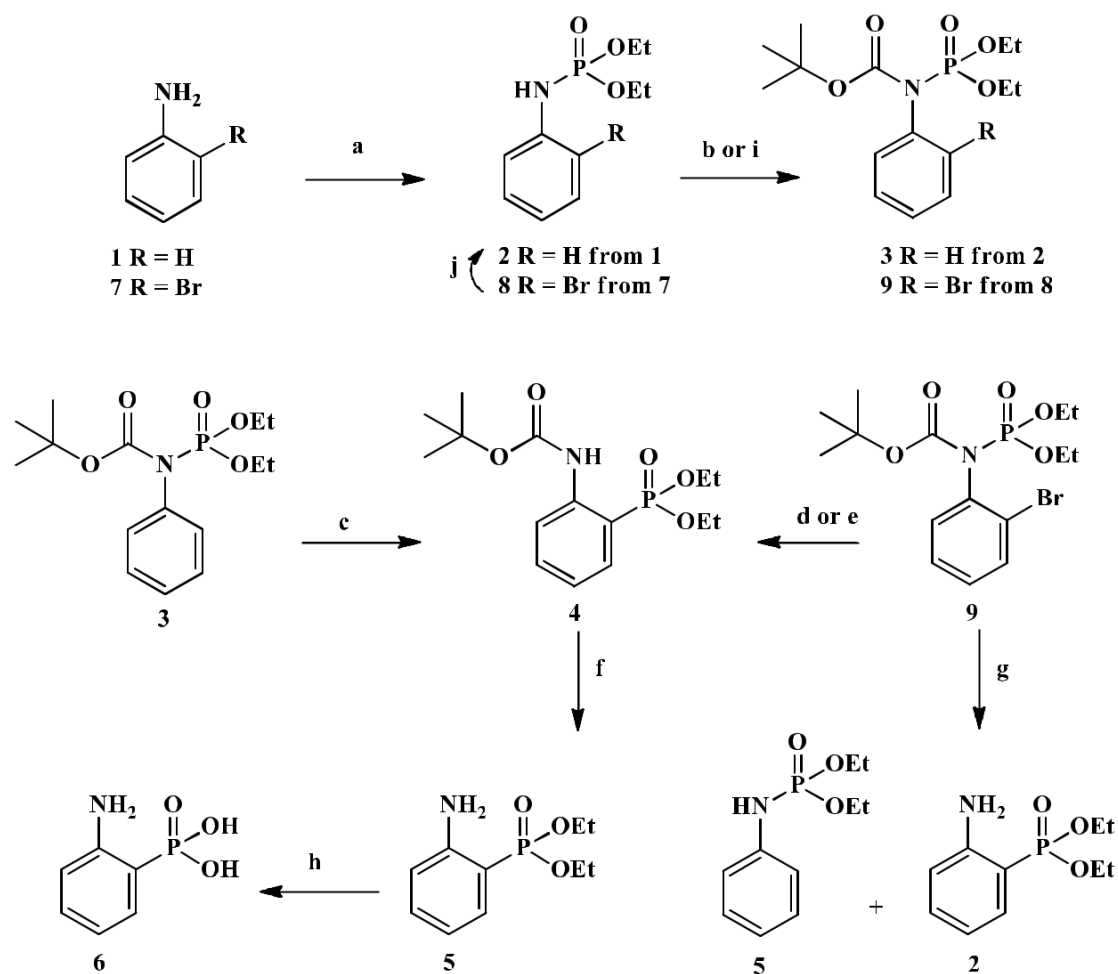


Abbildung 28: Bedingungen: a)  $\text{ClP(=O)(OEt)}_2$ ,  $\text{NEt}_3$ , DCM, 25 °C, 3 h, 91% (**2**) und 53% (**8**); b)  $\text{Boc}_2\text{O}$ , DMAP, MeCN, 25 °C, 2 h, 94%; c) *sec*-BuLi, TMEDA,  $\text{Et}_2\text{O}$ , -78 °C, 30 min, 83%; d) *sec*-BuLi, TMEDA,  $\text{Et}_2\text{O}$ , -78 °C, 30 min, 94%; e) Li, kat. CuI, THF, reflux, 3 h, 78%; f) EtOAc, aq. HCl, reflux, 3 h, 90%; g) Mg, kat. CuI, THF, reflux, 5 h, 21%; h) aq. HCl, 100 °C, 5 h, 63%; i)  $\text{Boc}_2\text{O}$ , DMAP, MeCN, 25 °C, 2 h, 89%.

Eine alternative Synthesestrategie geht von 2-Bromanilin (**7**) aus und dabei wird analog Verbindung **2** in das entsprechende Phosphoramidat **8** überführt. Nach der Einführung Schutzgruppe erhält man Verbindung **9**. Die anschließende Umsetzung mit *sec*-Butyllithium in Anwesenheit von TMEDA ergibt Verbindung **4** mit einer Ausbeute von 94%, für diesen Syntheseschritt wurde eine Alternativsynthese mit metallischem Lithium in Anwesenheit von Kupfer(I)iodid in THF durchgeführt, doch ergab diese Variante nur eine Ausbeute von 78%. Während der Reaktion von Verbindung **9** mit aktiviertem Zink und der anschließenden wässrigen Aufarbeitung konnte nur Verbindung **2** erhalten werden. Somit wurde Magnesium als Alternative verwendet; hierbei kam es zur Bildung von 21% von Verbindung **5**, als weiteres Nebenprodukt wurde wiederum Verbindung **2** erhalten. Diese wurde abgetrennt und konnte wieder für Synthesen verwendet werden

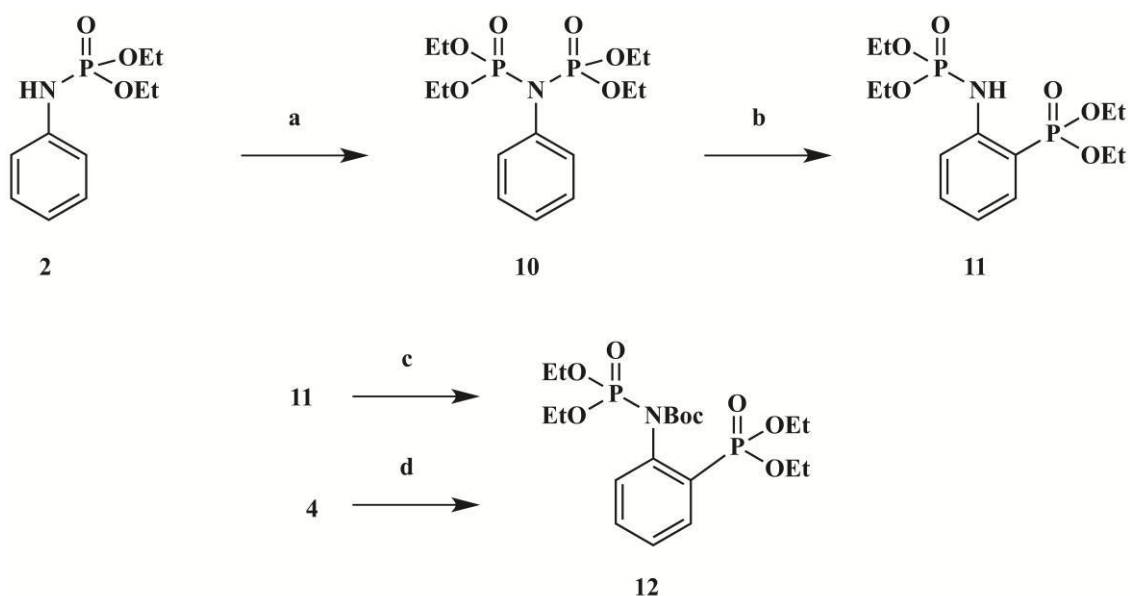


Abbildung 29: Bedingungen: a)  $i\text{Pr}_2\text{NH}$ ,  $\text{sec-BuLi}$ , THF,  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\text{ClP(=O)(OEt)}_2$ ,  $25\text{ }^\circ\text{C}$ , 16 h, 73%; b)  $\text{sec-BuLi}$ , TMEDA,  $\text{Et}_2\text{O}$ ,  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ , 3 h, 88%; c)  $\text{sec-BuLi}$ , TMEDA,  $\text{Et}_2\text{O}$ ,  $\text{ClP(=O)(OEt)}_2$ ,  $25\text{ }^\circ\text{C}$ , 1 h, 54%; d)  $\text{sec-BuLi}$ , TMEDA,  $\text{Et}_2\text{O}$ ,  $\text{Boc}_2\text{O}$ ,  $25\text{ }^\circ\text{C}$ , 30 min, 47%.

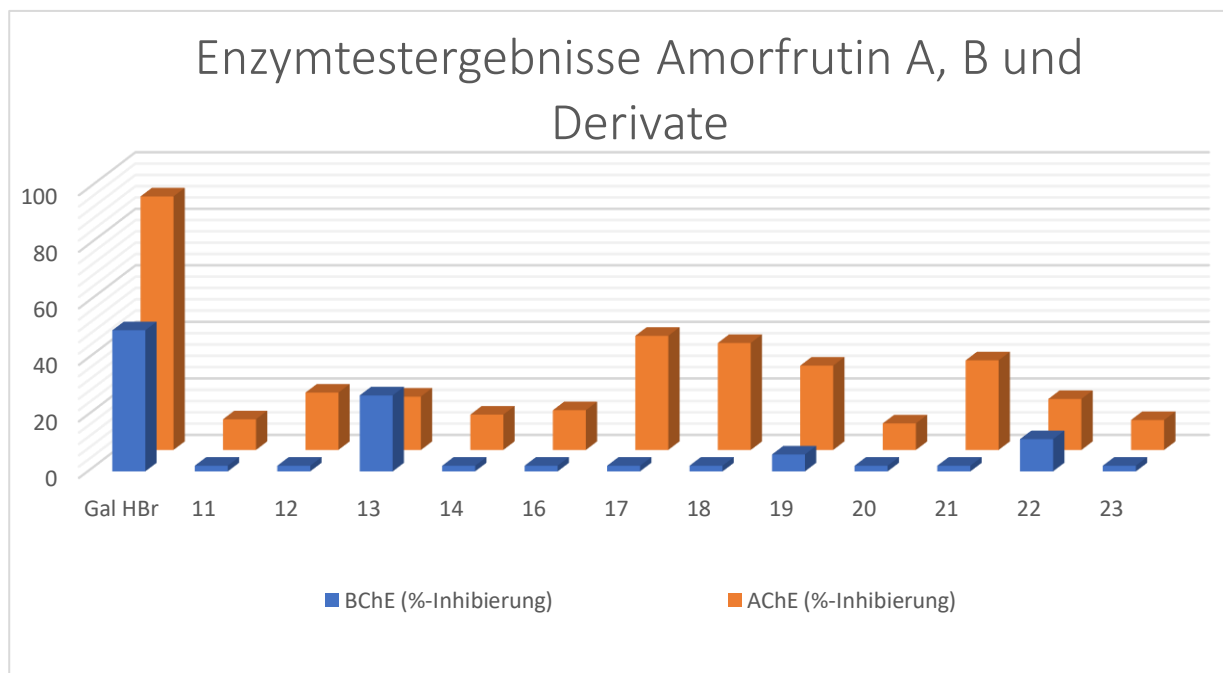
Ein weiterer interessanter Ansatz bestand darin eine Doppelfunktionalisierung stattfinden zu lassen und eine Umlagerungsreaktion durchzuführen, um das entsprechende Phosphonsäureesteramidat zu erhalten (Abbildung 29). Hierfür wurde Verbindung **2** mittels Isopropylamin, Diethylchlorphosphat und *sec*-Butyllithium zu Verbindung **10** umgesetzt und anschließend erfolgt die Umlagerungsreaktion zu Verbindung **11**. Um Verbindung **12** zu erhalten, ergaben sich zwei Reaktionsmöglichkeiten, einmal ausgehend von Verbindung **4** oder direkt aus Verbindung **11**. Die erhaltenen Verbindungen wurden mittels  $^{31}\text{P}$ -NMR und ESI-MS charakterisiert und identifiziert. Ausgehend von Anilin erfolgte die Synthese zur 2-Aminophenylphosphonsäure über fünf Stufen und ergab eine Gesamtausbeute von 38%.

## 8. Zusammenfassung der Dissertation

Betrachtet man die ersten zwei Teilgebiete dieser Arbeit konnte ein einfacher Zugang zu Sinapinsäure über die entsprechende KNOEVENAGEL-DOEBNER Kondensation mit einer Ausbeute von 58% geschaffen werden. Für Amorfrutin A und B wurde eine neuartige Synthesemethode entwickelt. Diese Synthese umfasst insgesamt acht Stufen und besitzt eine Gesamtausbeute von bis zu 48.7%. Diese Synthesevariante startet bei günstigen und kommerziell gut erhältlichen Verbindungen und verzichtet im weiteren Verlauf auf teure Spezialchemikalien. Somit konnte ein effektiver Zugang zu der Verbindungsklasse der Amorfrutine geschaffen werden. Hierbei können sogar über eine geschickte Synthesewahl die Ausgangsstoffe zurückgewonnen werden und somit stehen diese für eine erneute Synthese wieder zur Verfügung. Der erleichterte Zugang zu den beiden Verbindungsklassen ermöglicht nun eine breite Derivatisierung. Verschiedene Derivate wurden schon in einer von mir betreuten Bachelorarbeit erhalten. Zusammen mit den verschiedenen Phenylpropensäurederivaten können erste Struktur-Wirkungs-Beziehungen gesammelt werden.

Die Enzymaktivität wurde bislang nur für die Amorfrutine und deren Derivate durchgeführt. Die Ergebnisse wurden zur besseren Veranschaulichung in der Grafik 1 dargestellt. Ein Problem bei der Bearbeitung der Messlinien bestand in der schlechten Löslichkeit einiger Verbindungen.

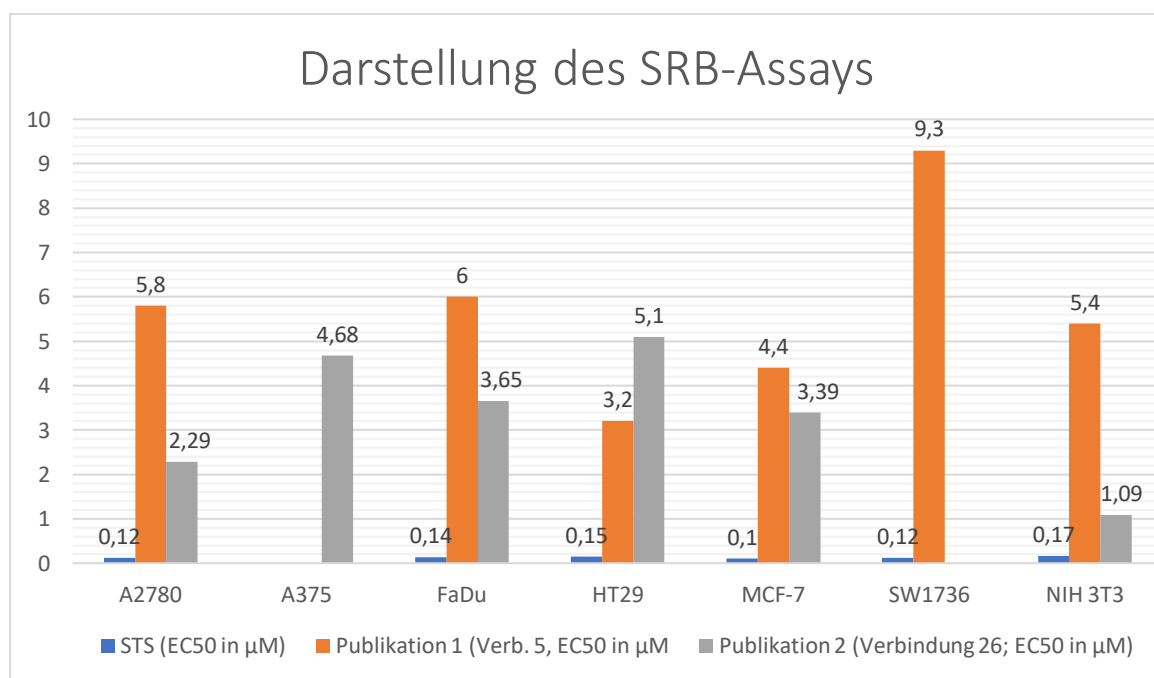
Grafik 1: Grafische Darstellung des Ellman´s Essay für die Verbindungen **11-14, 16-23** und **26**.



Zusammenfassend ist hierbei zuzusagen, dass für die getesteten Verbindungen nur eine moderate bis gar keine inhibitorische Wirkung vorliegt. Dies kann zum Teil auf die schlechte Löslichkeit zurückzuführen sein. Die besten Ergebnisse hinsichtlich der Acetylcholinesterase-Inhibition wurde mit dem Amrofrutin B Methylester (**17**) mit  $40.36 \pm 0.91\%$  erreicht, im Vergleich zu dem etablierten Pharmakon, welches  $89.67 \pm 0.22\%$  erreichte. Hinsichtlich der Butyrylcholinesterase-Inhibition erreichte die beste Verbindung **13** einen Wert von  $26.87 \pm 0.05\%$ ; hierbei erreichte das Antidementivum Galantaminhydrobromid eine Inhibierung von  $49.91 \pm 0.13\%$ . Weiterführend könnte man Verbindung **17** und **13** weiter derivatisieren und die Ergebnisse vergleichen.

Hinsichtlich der zytotoxischen Wirkungen wurden beide Verbindungsklassen getestet und dabei stellten sich einige Verbindungen als sehr vielversprechend heraus. Als Referent wurde der Kinaseinhibitor Staurosporin verwendet. Ausgewählte Ergebnisse wurden zur besseren Veranschaulichung grafisch dargestellt (Grafik 2).

Grafik 2: Grafische Darstellung des SRB-Assays mit ausgewählten Verbindungen.



Betrachtet man die Ergebnisse bezogen auf den Kinaseinhibitor Staurosporin konnte keine Verbindung an diese Wirksamkeit anknüpfen, doch betrachtet man anderen etablierten Wirkstoffen, sind die Ergebnisse vergleichbar oder sogar besser. Vergleicht man das bekannte Cisplatin auf seine Wirksamkeit bezogen auf HT29 ( $IC_{50} = 11 \pm 2 \mu M$ ) und MCF-7 ( $IC_{50} = >100 \mu M$ ) Zelllinien, besitzen die untersuchten Verbindungen eine signifikant bessere zytotoxische Wirkung auf die genannte Zelllinien. Betrachtet man den Wirkstoff 5-Fluoruracil (5-FU)<sup>[102]</sup> auf seine biologische

Aktivität hinsichtlich der Zelllinien HT29, so besitzt dieses Medikament einen  $IC_{50}$ -Wert von  $5.3 \pm 1.2 \mu\text{M}$ , somit ist Verbindung **5** (Publikation 1) hier ebenfalls signifikant besser als das entsprechend etablierte Pharmakon.

Hinsichtlich des Modellversuches eine Selektivität gegenüber gesunden nicht malignen Zellen zu treffen, ist schwierig, da die gewählten Modellzellen (NIH 3T3) wesentlich empfindlicher auf zytotoxische Verbindungen reagieren als vergleichbare menschliche Zellen. Dennoch können erste Abschätzungen getroffen werden und hierbei sind die ausgewählten Verbindungen bis zu 30-mal selektiver als das etablierte Pharmakon Staurosporin.

Zusammenfassend betrachtet konnten zwei Verbindungen isoliert werden, die in ihrer Wirksamkeit und Selektivität gegen bestimmte Krebszelllinien die etablierten Wirkstoffe um ein vielfaches übertreffen; somit wäre eine weitführende Untersuchung der Derivate und somit eine erweiterte Studien hinsichtlich der Struktur-Wirkungs-Beziehung durch die erhaltenen Ergebnisse zu betrachten.

Durch geschickte Synthesewahl, eine Umlagerung für die Darstellung der 2-Aminophenylphosphonsäuren zu verwenden, erschließt sich eine neue Methode effizient und mit hinreichenden Ausbeuten diese vielversprechende Substanzklasse der breiten Masse an Synthesen und Derivatisierungen zur Verfügung zu stellen. Die entwickelte Synthese beinhaltet fünf Stufen (hierbei sind Schutzgruppenreaktionen mit inbegriffen) und besitzt eine Gesamtausbeute von bis zu 40%.

## 9. Quellen

- [1] [https://www.demografieportal.de/SharedDocs/Informieren/DE/ZahlenFakten/Bevoelkerung\\_Altersstruktur.html](https://www.demografieportal.de/SharedDocs/Informieren/DE/ZahlenFakten/Bevoelkerung_Altersstruktur.html), 25.10.2019, 15:00 Uhr.
- [2] <https://www.deutsche-alzheimer.de/ueber-uns/presse/artikelansicht/artikel/neues-informationsblatt-der-deutschen-alzheimer-gesellschaft-alle-100-sekunden-erkrankt-in-deutsch.html>, 25.10.2019, 15:41 Uhr.
- [3] A. Alzheimer, *Z. Ges. Neurol. Psychiatr.* **1911**, 4, 356-385.
- [4] T.H. Ferreira-Vieira; I.M. Guimaraes; F.R. Silva; F.M. Ribeiro, *Curr. Neuropharmacol.* **2016**, 14, 101-115.
- [5] M. Freissmuth; S. Offermanns; S. Böhm, *Pharmakologie und Toxikologie: Von den molekularen Grundlagen zur Pharmakotherapie*, **2016**, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- [6] J. Q. Trojanowski; V. M. Lee, *FASEB J.* **1995**, 9, 1570-1576.
- [7] R. Anand; K. D. Gill; A. A. Mahdi, *Neuropharmacology* **2014**, 76, 27-50.
- [8] P. Davies; A. J. F. Maloney, *Lancet.* **1976**, 308, 1403.
- [9] P. Anand; A. B: Kunnumakkara; C. Sundaram; K.B. Harikumar; S. T. Tharakan; O. S. Lai; B. Sung; B. B. Aggarwal, *Pharm. Res.* **2008**, 25, 2097-2116.
- [10] A. Jemal; R. Siegel; E. Ward; T. Murray; J. Xu; M. J. Thun, *Cancer J. Clin.* **2007**, 57 43-66.
- [11] E. J Odes; P. S Randolph-Quinney; M. Steyn; Z. Throckmorton; J. S. Smilg; B. Zipfel; *S. Afr. J. Sci.* **2016** 112, 1-5.
- [12] F. von Luschan, *Virchows Arch. Pathol. Anat. Physiol.* 1. Auflage Springer-Verlag, 1921, ISBN 978-3-662-25072-3.
- [13] A. G. Knudson, *Cancer Res.* **1985**, 45, 1437-1443.
- [14] P. C. Heinrich; M. Mueller; L. Graeve, Löffler/Petrides: *Biochemie und Pathobiochemie.*, 9. Auflage., Springer Verlage, 2014, ISBN 978-3-642-17971-6, 646.
- [15] K. Chin; C. O. de Solorzano; D. Knowles; A. Jones; W. Chou; E.-G. Rodriguez; W.-L. Kuo; B.-M. Ljung; K. Chew; K. Myambo; M. Miranda; S. Krig; J. Garbe; M. Stampfer; P. Yaswen; J. W. Gray; S. J. Lockett, *Nat Genet.* **2004**; 36: 984-988.
- [16] T. Reya; S. J. Morrison; M. F. Clarke; I. L. Weissman, *Nature* **2001**; 414, 105-111.



- [17] D. Bonnet; J. E. Dick, *Nature Medicine* **1997**, *3*, 730-737, Doi:10.1038/nm0797-730.
- [18] B. Beck; C. Blanpain, *Nat. Rev. Cancer* **2013**, *13*, 727-738, Doi:10.1038/nrc3597.
- [19] L. Pedranzini; A. Leitch; J. Bromberg, *J. Clin. Invest.* **2004**, *114*, 619-622, Doi:10.1172/JCI22800.
- [20] International Diabetes Federation, *IDF Diabetes Atlas*, Eighth edition, 2017.
- [21] Deutscher Gesundheitsbericht Diabetes 2019. [https://www.deutsche-diabetes-gesellschaft.de/fileadmin/Redakteur/Stellungnahmen/Gesundheitspolitik/20181114gesundheitsbericht\\_2019.pdf](https://www.deutsche-diabetes-gesellschaft.de/fileadmin/Redakteur/Stellungnahmen/Gesundheitspolitik/20181114gesundheitsbericht_2019.pdf). 12.11.2019, 16:30.
- [22] Deutscher Gesundheitsbericht Diabetes 2020. [https://www.deutsche-diabetes-gesellschaft.de/fileadmin/Redakteur/Stellungnahmen/Gesundheitspolitik/Gesundheitsbericht\\_2020.pdf](https://www.deutsche-diabetes-gesellschaft.de/fileadmin/Redakteur/Stellungnahmen/Gesundheitspolitik/Gesundheitsbericht_2020.pdf), 12.11.2019, 16:42.
- [23] B. Freeland; M. S. Farber, *Home Healthc. Now.* **2016**, *34*, 416-423, Doi: 10.1097/NHH.0000000000000446.
- [24] <https://gesundpedia.de/images/Diabetesmellitus.jpg>, 01.11.2019, 19:54.
- [25] A. Katsarou; S. Gudbjörnsdottir; A. Rawshani; D. Dabelea; E. Bonifacio; B. J. Anderson; L. M. Jacobsen; D. A. Schatz; Å Lernmark, *Nat. Rev. Dis. Primers.* **2017**, *3*, 1-17, Doi: 10.1038/nrdp.2017.16.
- [26] E. Jacobs; W. Rathmann; T. Tönnes; D. Arendt; M. Marchowez; L. Veith, O. Kuss; R. Brinks; A. Hoyer, *Diabet. Med.* **2019**, Doi: 10.1111/dme.14100.
- [27] C. Janani, B. D. Ranjitha Kumari *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* **2015**, *9*, 46-50, Doi: 10.1016/j.dsx.2014.09.015.
- [28] P. Skehan; R. Storeng; D. Scudiero; A. Monks, J. McMahon; D. Vistica; J. T. Warren; H. Bokesch; S. Kenney, M. R. Boyd, *J. Natl. Cancer Inst.* **1990**, *82*, 1107-1112.
- [29] R. D. Lillie, *H.J. Conn's biological stains: a handbook on the nature and uses of the dyes employed in the biological laboratory*, 9. Auflage, Williams & Wilkins, Baltimore, **1977**.
- [30] V. Vichai; K Kirtikara, *Nat. Protoc.* **2006**, *1*, 1112-1116.
- [31] L. B. Cheol; S. H. CHOI; T. S. KIM, *J. Microbiol. Biotechnol.* **2004**, *14*, 350-355.
- [32] 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.

- [33] N.H. Greig; D.K. Lahiri; K. Sambamurti, *Int. Psychogeriatr.* **2002**, *14*, 77-91.
- [34] M. Mesulam; C. Geula, *Annals Neurol.* **1994**, *36*, 722-727.
- [35] G. L. Ellman; K. Courtney; V. Andreas; R. M. Featherstone, *Biochem. Pharmacol.* **1961**, *7*, 88-95.
- [36] G. L. Ellman, *Arch. Biochem. Biophys.* **1959**, *82*,70-77.
- [37] R. Brückner, *Reaktionsmechanismen*, 3. Aufl., Elsevier, München **2004**, 568-570.
- [38] J. Schormüller: *Alkaloidhaltige Genussmittel, Gewürze, Kochsalz*. Springer-Verlag, **2013**, 461, ISBN 978-3-642-46225-2.
- [39] [https://de.wikipedia.org/wiki/Zimt#/media/Datei:Cinnamomum\\_verum\\_-\\_K%C3%B6hler%E2%80%93s\\_Medizinal-Pflanzen-182.jpg](https://de.wikipedia.org/wiki/Zimt#/media/Datei:Cinnamomum_verum_-_K%C3%B6hler%E2%80%93s_Medizinal-Pflanzen-182.jpg), 17.10.2019, 14:37.
- [40] J. Adedeji; T. G. Hartman; R. T. Rosen; C.-T. Ho; *J. Agric, Food Chem.* **1991**, *39*, 1494-1497.
- [41] R. A. Werner; A. Rossmann; C. Schwarz; A. Bacher; H. L. Schmidt; W. Eisenreich, *Phytochemistry* **2004**, *65*, 2809-2813.
- [42] K. Herrmann; L. M. Weaver, *Plant. Mol. Biol.* **1999**, *50*, 472-503.
- [43] C. Lillo; U. S. Lea; P. Ruoff, *Plant Cell Environm.* **2008**, *31*, 582-601.
- [44] H. A. Lindner; G. Nadeau; A. Matte; G. Michel; R. Menard; M. Cygler, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 7162-7169.
- [45] U. Weiss, *The Shikimic Acid Pathway*, Springer US, **1986**, ISBN 978-1-4684-8056-6.
- [46] S. G. Sogo; T. S. Widlanski; J. H. Hoare; C. E. Grimshaw; G. A. Berchtold; J. R. Knowles, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 2701-2703.
- [47] R. Bentley, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **1990**, *25*, 307-84.
- [48] J. P. Akowski; R. Bauerle, *Biochem.* **1997**, *36*, 15817-22.
- [49] J. M. Ray; R. Bauerle, *J. Bacteriol.* **1991**, *173*, 1894-901.
- [50] H.W. Heldt; B. Piechulla, *Pflanzenbiochemie*, 5. Auflage, Springer-Verlag Berlin Heidelberg **2015**, Doi: 10.1007/978-3-662-44398-9\_19.
- [51] T. Vogt, *Molecular Plant.* **2010**, *3*, 2-20.

- [52] R. C. Beavis; B. T. Chait, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1989**, *3*, 436-439.
- [53] [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/57/Brassica\\_napus\\_-\\_K%C3%B6hler%E2%80%93Medizinal-Pflanzen-169.jpg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/57/Brassica_napus_-_K%C3%B6hler%E2%80%93Medizinal-Pflanzen-169.jpg), 21.10.2019, 10:12.
- [54] F. Shahidi; M. Naczki, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1992**, *69*, 917-924.
- [55] C. Milkowski; A. Baumert; D. Schmidt; L. Nehlin; D. Strack, *Plant J.* **2004**, *38*, 80-92, Doi: 10.1111/j.1365-3113X.2004.02036.x.
- [56] A. Bouchereau; J. Hamelin; I. Lamour; M. Renard; F. Larher, *Phytochemistry*, **1991**, *30* (6), 1873-1881, Doi: 10.1016/0031-9422(91)85031-T.
- [57] Thomas zum Felde, Genetische Variation und Vererbung von Sinapinsäure-Verbindungen im Raps (*Brassica napus* L.), Dissertation, Georg-August-Universität Göttingen, Göttingen **2005**.
- [58] K. J. Dabrowski; F.W. Sosulski, *J. Agric. Food Chem.* **1984**, *32*, 131-133, Doi: 10.1021/jf00121a033.
- [59] J. Pokorny; Z. Reblova. *Czech. J. Food. Sci.* **1995**, *13*, 155-168.
- [60] H. G. Jung; G. C. Fahey, *J. Anim. Sci.* **1983**, *57*, 206-219.
- [61] P. J. Van Soest, *Nutritional ecology of the ruminant.*, 2. Auflage, Cornell University Press, Ithaca, 1994, 476.
- [62] H. G. Jung; D. R. Buxton; R. D. Hatfield; J. Ralph, *Forage Cell Wall Structure and Digestibility*. American Society of Agronomy, Madison, **1993**, 621-683.
- [63] D. Strack; W. Knogge; B. Dahlbender, *Z. Naturforsch.* **1983**, *38c*, 21-27.
- [64] A. Gunia-Krzyżak; K. Słoczynska; J. Popioł; P. Koczurkiewicz; H. Marona; E. Pezkala *Int. J. Cosmetic Sci.* **2018**, *40*, 356–366.
- [65] S. Kim; K. Choi, *Environ. Int.* **2014**, *70*, 143-157.
- [66] T. Maier; H. C. Korting, *Pharmacol. Physiol.* **2005**, *18*, 253-262.
- [67] D. R. Sambandan; D. Ratner, *J. Am. Acad. Dermatol.* **2011**, *64*, 748-758.
- [68] C. Stiefel, W. Schwack, *Int. J. Cosmet. Sci.* **2015**, *37*, 2-30.
- [69] M. Valko; D. Leibfritz; J. Moncol; M. T. Cronin; M. Mazur; J. Telser, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2007**, *39*, 44-84.
- [70] M. Sova, *Mini Rev. Med. Chem.* **2012**, *12*, 749-767.

- [71] O. Taofiq; A. M. Gonzalez-Paramas; M. F. Barreiro; I. C. Ferreira, *Molecules* **2017**, *22*, 281-305.
- [72] A. Alam; N. Subhan; H. Hossain; M. Hossain; H. M. Reza; M. Rahmanand; M. O. Ullah, *Nut. Metab.* **2016**, *13*, Doi: 10.1186/s12986-016-0080-3.
- [73] R. B. Kasetti; S. A. Nabi; S. Swapna; C. Apparao, *Food Chem. Toxicol.* **2012**, *50*, 1425-1431.
- [74] D. W. Huang; S.C. Shen, *J. Funct. Foods.* **2012**;4, 358-366.
- [75] S. Ghafary; Z. Najafi; M. Mohammadi-Khanaposhtani; H: Nadri; N. Edraki; N. Ayashi; B. Larijani; M. Amini; M. Mahdavi, *Arch Pharm Chem Life Sci.* **2018**; *351*, 1-10, Doi: 10.1002/ardp.201800115.
- [76] P. De; M. Baltas; F. Bedos-Belval, *Curr. Med. Chem.* **2011**, *18*, 1672-1703.
- [77] Y. Akao; H. Maruyama; K. Matsumoto; K. Ohguchi; K. Nishizawa; T. Sakamoto; Y. Araki; S. Mishima; Y. Nozawa, *Bio. Pharm. Bull.* **2003**, *26*, 1057-1059.
- [78] M. I. Dawson; Z. Xia; G. Liu; J. A. Fontana; L. Farhana; B. B. Patel; S. Arumugarajah; M. Bhuiyan; X.-K. Zhang; Y.-H. Han; W. B. Stallcup; J. Fukushi; T. Mustelin; L. Tautz; Y. Su; D. L. Harris; N. Waleh; P. D. Hobbs; L. Jong; W. Chao; L. J. Schiff; B. P. Sani, *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2622-2639.
- [79] A. H. Banskota; T. Nagaoka; L. Y. Sumioka; Y. Tezuka; S. Awale; K. Midorikawa; K. Matsushige; S. Kadota, *J. Ethnopharmacol.* **2002**, *80*, 67-73.
- [80] N.-H. Nam; Y.-J. You; Y. Kim; D.-H. Hong; H.-M. Kim; B. Z. Ahn, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2001**, *11*, 1173-1176.
- [81] R. Wang; W. Yang; Y. Fan; W. Dehaen; Y. Li; H. Li; W. Wang; Q. Zheng, Q. Huai, *Bioorg. Chem.* **2019**, *88*, 102951, Doi: 10.1016/j.bioorg.2019.102951
- [82] L. A. Mitscher; Y. H. Park; A. Al-Shamma; P. B. Hudson; T. Haas, *Phytochemistry*, **1981**, *20*, 781-785.
- [83] S. Sauer, *ChemBioChem* **2014**, *15*, 1231-1238.
- [84] I. S. Aidhen; R. Mukkamala; C. Weidner; S. Sauer, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 194-197.
- [85] S. Laclef; K. Anderson; A. J. P. White; A. G. M. Barrett, *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 225-227.
- [86] Y. Y. Song; H. G. He; Y. Li; Y. Deng, *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 2658-2660.

- [87] L. A. Mitscher; R. Leu; M. S. Bathala; W.-N. Wu; J. L. Beal; R. White, *J. Nat. Prod.* **1972**, *35*, 157-166.
- [88] [https://de.wikipedia.org/wiki/Bastardindigo#/media/Datei:Amorpha\\_fruticosa\\_05.JPG](https://de.wikipedia.org/wiki/Bastardindigo#/media/Datei:Amorpha_fruticosa_05.JPG), 23.10.2019, 14:47.
- [89] L. A. Mitscher; A. Al-Shamma; T. Haas; P. B. Hudson; Y. H. Park, *Heterocycles* **1979**, *12*, 1033-1036.
- [90] [https://www.mpg.de/5924669/lebensgemeinschaft\\_pflanzenwurzel](https://www.mpg.de/5924669/lebensgemeinschaft_pflanzenwurzel), 23.10.2019, 16:48.
- [91] J. Bellakhdar, *La pharmacopée marocaine traditionnelle: Médecine arabe ancienne et savoirs populaires*, Ibis Press, Paris, **1997**.
- [92] T. Konoshima; H. Terada; M. Kokumai; M. Kozuka; H. Tokuda; J. R. Estes; L. Li; H. K. Wang; K. H. Lee, *J. Nat. Prod.* **1993**, *56*, 843-848.
- [93] J. Y. Cho; P. S. Kim; J. Park; E. S. Yoo; K. U. Baik; Y. K. Kim; M. H. J. Park, *Ethnopharmacol.* **2000**, *70*, 127-133.
- [94] V. C. Kalia *Biotechnol. Adv.* **2013**, *31*, 224-245.
- [95] K. Lewis, *Nat. Rev. Microbiol.* **2007**, *5*, 48-56.
- [96] X.-J. Xu; T. Zeng; Z.-X. Huang; X.-F. Xu; J. Lin; W.-M. Chen, *J. Nat. Prod.* **2018**, *81*, 2621-2629.
- [97] L. A. Mitscher; Y. H. Park; A. Al-Shamma; P. B. Hudson; H. A. Thomas, *Phytochemistry* **1981**, *20*, 781-785.
- [98] D. Jones, *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2010**, *9*, 828-829.
- [99] C. J. Rosen, *N. Engl. J. Med.* **2010**, *363*, 803-806.
- [100] C. Weidner; J. C. de Groot; A. Prasad; A. Freiwald; C. Quedenau; M. Kliem; A. Witzke; V. Kodelja; C. T. Han; S. Giegold; M. Baumann; B. Klebl; K. Siems, L. Müller-Kuhrt; A. Schürmann; R. Schüler; A. F. Pfeiffer; F. C. Schroeder; K. Büssow; S. Sauer, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2012**, *109*, 7257-7262, Doi:10.1073/pnas.1116971109.
- [101] S. E. Kahn; R. L. Hull, K. M. Utschneider, *Nature* **2006**, *444*, 840-846.
- [102] C. Weidner; S. J. Wowro; A. Freiwald; K. Kawamoto; A. Witzke; M. Kliem; K. Siems; L. Müller-Kuhrt; F. C. Schroeder; S. Sauer, *Diabetologia* **2013**, *56*, 1802-1812.
- [103] T. Hirao; T. Masunaga; Y. Ohshiro; T. Agawa; A Novel, *Synthesis* **1981**, *1*, 56-57.

- [104] X. Y. Lu; J. Y. Zhu, *Synthesis*, **1987**, *1*, 726-727.
- [105] N. Defacqz; B. de Bueger; R. Touillaux; A. Cordi; J. Marchand-Brynaert, *Synthesis* **1999**, *1*, 1368-1372.
- [106] A. Bessmertnykh, C. M. Douaihy, R. Guillard, *Chem. Lett.* **2009**, *38*, 738-739.
- [107] J. B. Plumb; R. Obrycki; C. E. Griffin, *J. Org. Chem.* **1966**, *31*, 2455-2458.
- [108] Z. E. Golubski; Z. Skrowaczewska *Synthesis*, **1979**, *1*, 21-23.
- [109] Y. M. Kargin; E. V. Nikitin; O. V. Parakin; G. V. Romanov; A. N. Pudovik, *Phosphorus Sulfur* **1980**, *8*, 55-58.
- [110] F. Effenberger; H. Kottmann, *Tetrahedron* **1985**, *41*, 4171-4182.
- [111] W. W. Metcalf; W. A. van der Donk, *Annu. Rev. Biochem.* **2009**, *78*, 65-94.
- [112] [http://www.fwgna.org/species/planorbidae/h\\_trivolvis.html](http://www.fwgna.org/species/planorbidae/h_trivolvis.html), 01.11.2019, 17:46.
- [113] M. V. Miceli; T. O. Henderson; T. C. Myers, *Science* **1980**, *209*, 1245-1247.
- [114] L. D. Quin, *Biochemistry* **1965**, *4*, 324-330.
- [115] L. L. Clark; E. D. Ingall; R. Benner, *Am. J. Sci.* **1999**, *299*, 724-737.
- [116] A. Michaelis; A. Schenk, *Liebigs Ann. Chem.* **1890**, *260*, 1-39.
- [117] J. Folkman, *New Engl. Med.* **1974**, *285*, 1182-1185.
- [118] A. Cordi; P. Desos; A. D. Morris, G. Atassi US5670493A.
- [119] A. Mucha; P. Kafarski; Y. Berlicki, *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 5955-5980.
- [120] C. M. Sevrain; M. Berchel; H. Couthon P.-A. Jaffrès, *Beilstein J. Org. Chem.* **2017**, *13*, 2186-2213.
- [121] R. K. Wolfram; A. Barthel-Niesen; R. Schäfer; L. Heller; A. Al-Harrasi; R. Csuk, *Medit. J. Chem.* **2017**, *6*, 180-190, Doi: 10.13171/mjc65/01710032249-csuk.
- [122] S. Sommerwerk; L. Heller; C. Kerzig; A. E. Kramell; R. Csuk, *Europ. J. Med. Chem.* **2017**, *127*, 1-9.
- [123] S. Sommerwerk; R. Kluge; D. Ströhl; L. Heller; A. E. Kramell; S. Ogiolda; P. Liebing; R. Csuk, *Tetrahedron* **2016**, *72*, 1447-1454, Doi: 10.1016/j.tet.2016.01.045.

- [124] J. Wiemann; J. Karasch; A. Loesche; L. Heller; W. Brandt; R. Csuk, *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *139*, 222-231, Doi: 10.1016/j.ejmech.2017.07.081.
- [125] J. S. Yadav; B. V. S. Reddy; C. Madan; S. R. Hashim, *Chem. Lett.* **2000**, *29*, 738-739.
- [126] M. Pan; J. Cui; L. Jiao; H. Ghaleb; C. Liao; J. Zhou; M. Kairuki; H. Lin; W. Huang; H. Qian, *Bioorg. Med. Chem.* **2017**, *25*, 4194-4202, Doi: 10.1016/j.bmc.2017.06.015.
- [127] X.-J. Xu; T. Zeng; Z.-X. Huang; X.-F. Xu; J. Lin; W.-M. Chen, *J. Nat. Prod.* **2018**, *81*, 2621-2629, Doi: 10.1021/acs.jnatprod.8b00315.
- [128] M. Kačenka; O. Kaman; S. Kikerlová; B. Pavlů; Z. Jiráček; D. Jiráček; V. Herynek; J. Černý; F. Chaput; S. Laurent; I. Lukeš, *J. Colloid Interface Sci.* **2015**, *447*, 97-106, Doi: 10.1016/j.jcis.2015.01.071.
- [129] X. Wang; L. Guo; L. Feng, *New J. Chem.* **2019**, *43*, 4181-4187, Doi: 10.1039/C8NJ05716H.

## 10. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Altersstruktur in Deutschland.<sup>[1]</sup>

Abbildung 2: Tumorentstehung.<sup>[19]</sup>

Abbildung 3: Vereinfachte Darstellung von Diabetes mellitus Type 1 und 2.<sup>[24]</sup>

Abbildung 4: Sulforhodamin B.

Abbildung 5: Ellmans photometrische Reaktion.

Abbildung 6: Strukturformel der Zimtsäure.

Abbildung 7: Zimtweig mit Frucht und Blüte.<sup>[39]</sup>

Abbildung 8: Biosynthese zum Shikimat (SHK).<sup>[43]</sup>

Abbildung 9: Bildung des 5-Enolpyruvylshikimat-3-phosphat (EPSP).<sup>[45]</sup>

Abbildung 10: Bildung des *p*-Cumaroyl CoA.<sup>[45]</sup>

Abbildung 11: Strukturformel der Sinapinsäure.

Abbildung 12: Rapszweig mit Frucht und Blüte.<sup>[53]</sup>

Abbildung 13: Biosynthese von Sinapinsäure.

Abbildung 14: Zimtsäurederivate für UV-Filter in der Kosmetikindustrie.

Abbildung 15: Beispiele für zytotoxisch aktive Zimtsäurederivate.

Abbildung 16: Vereinfachte Strukturformel der Amorfrutine.

Abbildung 17: Darstellung verschiedener Amorfrutine.

Abbildung 18: Blütenstil der *Amorpha fruticosa*.<sup>[88]</sup>

Abbildung 19: Struktur-formel der 2-Amino-phenylphosphonsäure.

Abbildung 20: Schnecke der Art *Helisoma*.<sup>[112]</sup>

Abbildung 21: Verbindungsübersicht: Aminophosphonsäuren.

Abbildung 22: Synthese der Verbindungen **2-16**.

Abbildung 23: Synthese von Amorfrutin A (14): Chemikalien und Synthesebedingungen: a) NaOH, EtOH, 12 h, 25 °C, 92%; b) NaBH<sub>4</sub>, EtOH, 1 d, 50 °C, quant.; c) 1,2-propandiol, NaOH, Mikrowellenstrahlung (180 °C, 4 min, 160 W), 85% (**6**) + 10% (**7**); d) BCl<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0 °C → 25 °C,



98% (**6**); e) NaOMe, MeOH, Luft, 2 d, 40 °C, 89%; f) H<sub>2</sub> (75 psi), Pd/C (10%), EtOAc/MeOH, 6 h, 25 °C, 93%; g) Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeI, DMF, 12 h, 25 °C, 98%; h) KH, Toluol, Prenylchlorid, 20 min, 25 °C → 70 °C, **12** (72%) + **13** (25%); i) CeCl<sub>3</sub>, ACN, NaI, 3 h, 25 °C, 95%; j) KOH, MeOH, 7 h, 25 °C, 92%.

Abbildung 24: Vorgeschlagene Reaktionsfolge für die Umwandlung von Keton **8** zu Lacton **9**:  
Reagenzien und Bedingungen: a) O<sub>2</sub>, NaOMe, MeOH b) H<sup>+</sup>, -H<sub>2</sub>O.

Abbildung 25: Bedingungen: k) KH, Toluol, Prenylchlorid, 20 min, 25 °C → 70 °C, 41%; l) CeCl<sub>3</sub>, ACN, NaI, 8 h, 82 °C, 82.4%; m) KH, Toluol, Geranylchlorid, 15 min, 25 °C → 70 °C, **17** (27%) + **18** (11%); n) KOH, MeOH, 10 h, 25 °C, 84%.

Abbildung 26: Bedingungen: o) EDC, HOBT, Piperazin, 8 h, 25 °C, **20** (20%) + **21** (10%); p) EDC, HOBT, Piperazin, 8 h, 25 °C, 31%; q) EDC, HOBT, Piperazin, 8 h, 25 °C, 24%.

Abbildung 27: Bedingungen: r) POCl<sub>3</sub>, 85 °C, 58%; s) EDC, HOBT, 25, 8 h, 25 °C, 18.5%.

Abbildung 28: Bedingungen: a) CIP(=O)(OEt)<sub>2</sub>, NEt<sub>3</sub>, DCM, 25 °C, 3 h, 91% (**2**) und 53% (**8**); b) Boc<sub>2</sub>O, DMAP, MeCN, 25 °C, 2 h, 94%; c) *sec*-BuLi, TMEDA, Et<sub>2</sub>O, -78 °C, 30 min, 83%; d) *sec*-BuLi, TMEDA, Et<sub>2</sub>O, -78 °C, 30 min, 94%; e) Li, kat. CuI, THF, reflux, 3 h, 78%; f) EtOAc, aq. HCl, reflux, 3 h, 90%; g) Mg, kat. CuI, THF, reflux, 5 h, 21%; h) aq. HCl, 100 °C, 5 h, 63%; i) Boc<sub>2</sub>O, DMAP, MeCN, 25 °C, 2 h, 89%.

Abbildung 29: Bedingungen: a) *i*Pr<sub>2</sub>NH, *sec*-BuLi, THF, -20 °C, CIP(=O)(OEt)<sub>2</sub>, 25 °C, 16 h, 73%; b) *sec*-BuLi, TMEDA, Et<sub>2</sub>O, -78 °C, 3 h, 88%; c) *sec*-BuLi, TMEDA, Et<sub>2</sub>O, CIP(=O)(OEt)<sub>2</sub>, 25 °C, 1 h, 54%; d) *sec*-BuLi, TMEDA, Et<sub>2</sub>O, Boc<sub>2</sub>O, 25 °C, 30 min, 47%.

## 11. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verwendete Zelllinien für das SRB-Assay.

Tabelle 2: Zytotoxische Wirkung ausgewählter Zimtsäurederivate auf verschiedene Krebszelllinien.

Tabelle 3: Zytotoxische Wirkung von Amorfrtuin B und C auf verschiedene Krebszelllinien.

Tabelle 4: Zytotoxizität der Verbindungen **1-3**, **5**, **6**, **11-16**.

Tabelle 5: Tabellarische Ergebnisse des Ellman's Assay für die Verbindungen **11-14**, **16-23** und **26** angegeben, n.d. (nicht definiert).

Tabelle 6: Mittlere effektive Konzentration  $EC_{50}$  für die Verbindungen **11-14**, **16-23** und **26** in  $\mu\text{M}$  nach 72 Stunden.

## 12. Grafikverzeichnis

Grafik 1: Grafische Darstellung des Ellman's Essay für die Verbindungen **11-14**, **16-23** und **26**.

Grafik 2: Grafische Darstellung des SRB-Assays mit ausgewählten Verbindungen.

## 13. Experimenteller Teil

### a. Allgemeine Angaben

Alle eingesetzten Lösungsmittel wurden vor dem Gebrauch destilliert und standardmäßig getrocknet. Methanol und Acetonitril wurden in HPLC-Reinheit (>99.9 %) verwendet.

Für die Aufnahme der NMR-Spektren wurden die Spektrometer Unity INOVA der Firma Varian (400 MHz, 500 MHz) verwendet. Als Referenzsignal in den NMR-Spektren wurden die Restsignale des undeuterten Lösungsmittels verwendet. Die Signale sind als chemische Verschiebung  $\delta$  in ppm angegeben. Die Multiplizität der Signale ist mit s (Singulett), d (Dublett), t (Triplett), q (Quartett), qi (Quintett), m (Multiplett) gekennzeichnet.

Die IR-Spektren wurden mittels des AT-IR-Spektrometers Spectrum 1000 der Firma PerkinElmer aufgenommen. Die gemessenen Absorptionen wurden als Wellenzahl in  $\text{cm}^{-1}$  angegeben. Die Stärke der Absorption wurde mit *w* (weak), *m* (medium), *s* (strong), *vs* (very strong), *b* (broad) indiziert.

Die Aufnahme der Massenspektren erfolgten am Gerät LCQ der Firma Finnigan.

Für die Bestimmung der Schmelzpunkte wurde das Heitztischmikroskop Galen III der Firma Leica genutzt hierbei wurde eine Aufheizrate von 5 K pro Minute gewählt.

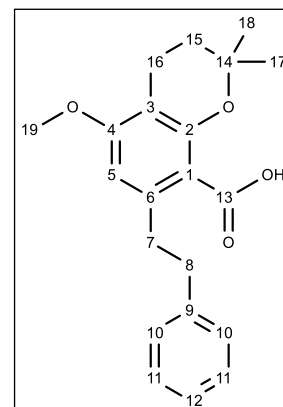
Für die säulenchromatographische Aufarbeitung wurde Kieselgel 60 der Firma Merck verwendet. Die automatische säulenchromatographische Reinigung erfolgte mittels des Systems Reveleris der Firma Büchi. Das Lösungsmittelverhältnis wurde hier von 5% des zweitgenannten Lösungsmittels mit einem Gradienten über die Zeit erhöht, so dass in den Synthesvorschriften lediglich die benutzten Lösungsmittel angeführt wurden. Alle Dünnschichtchromatogramme wurden auf Kieselgel 60 Aluminiumfolien mit Fluoreszenzindikator der Firma Merck aufgenommen. Für die Detektion wurde eine UV-Lampe der Wellenlänge  $\lambda = 254 \text{ nm}$  vollzogen. Ausgenommen hierbei

sind die Verbindungen **25** und **26**, hierfür wurden die Platten mit Ninhydrin-Sprühreagenz angefärbt.

## b. Synthesevorschriften

### Synthese von 5-Methoxy-2,2-dimethyl-7-phenethylchroman-8-carbonsäure (**16**)<sup>[125]</sup>

Verbindung **15** (150 mg, 0.367 mmol) wird in DMF (10 mL) gelöst und mit Cer(III)chlorid (136 mg, 0.55 mmol) sowie Natriumiodid (83 mg, 0.55 mmol) versetzt und unter Rückfluss erhitzt. Nach 8 Stunden wird der Reaktionslösung Wasser zugegeben und diese anschließend mehrmals mit Ether (3x 25 mL) extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird abdestilliert. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (*n*-Hexan/Essigester 4:1) aufgearbeitet. Verbindung **16** wird als weißer Feststoff (103 mg, 82.4%) erhalten.



$R_f = 0.43$  (*n*-Hexan/Essigester 3:1);

**Smp.** = 154-155 °C;

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 3063w, 3026w, 2969w, 2939w, 2924w, 2853w, 2675w, 2576w, 1677s, 1602m, 1577m, 1496w, 1456m, 1415m, 1399m, 1384m, 1369m, 1348m, 1321m, 1297s, 1269m, 1236m, 1218s, 1175m, 1159s, 1111vs, 1078m, 1058m, 1031m, 979w, 945m, 933m, 914m, 881m, 847m, 826m, 791m, 779w, 756m, 740m, 718m, 699s, 666w, 655w, 620w, 602m, 562m, 528w, 485m, 463w$   $\text{cm}^{-1}$ ;

**UV/vis (CHCl<sub>3</sub>):**  $\lambda_{\text{max}}$  (log $\epsilon$ ): 209 (4.47) nm;

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 7.32 - 7.23$  (m, 4H,  $\text{CH}_{\text{arom.}}$  (11, 10)), 7.21 - 7.14 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom.}}$  (12)), 6.25 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom.}}$  (5)), 3.78 (s, 3H, OCH<sub>3</sub> (19)), 3.34 - 3.27 (m, 2H, CH<sub>2</sub> (7)), 2.95 - 2.88 (m, 2H, CH<sub>2</sub> (8)), 2.66 (t,  $J = 6.9$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub> (16)), 1.86 (t,  $J = 6.9$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub> (15)), 1.44 (s, 6H, CH<sub>3</sub> (18, 17)) ppm;

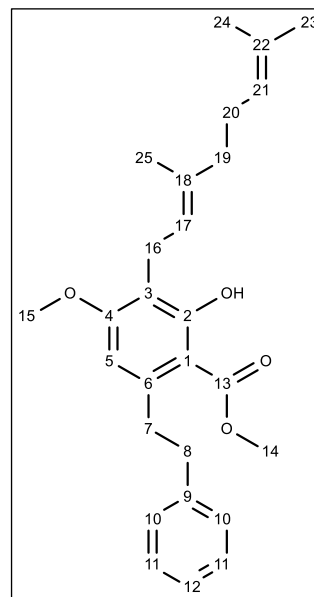
**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 166.1$  (COOR (C13)), 159.7 ( $C_{\text{quart.}}$  (C2)), 153.8 ( $C_{\text{quart.}}$  (C4)), 147.3 ( $C_{\text{quart.}}$  (C6)), 142.5 ( $C_{\text{quart.}}$  (C9)), 128.9 ( $\text{CH}_{\text{arom.}}$  (C10)), 128.3 ( $\text{CH}_{\text{arom.}}$  (C11)), 125.8 ( $\text{CH}_{\text{arom.}}$  (C12)), 110.3 ( $C_{\text{quart.}}$  (C3)), 108.4 ( $C_{\text{quart.}}$  (C1)), 106.7 ( $\text{CH}_{\text{arom.}}$  (C5)), 78.2 ( $C_{\text{quart.}}$  (C14)), 55.7 (OCH<sub>3</sub> (C19)), 38.9 (CH<sub>2</sub> (C8)), 38 (CH<sub>2</sub> (C7)), 31.6 (CH<sub>2</sub> (C15)), 26.8 CH<sub>3</sub> (C17, C18), 16.9 (CH<sub>2</sub> (C16)) ppm;

**MS** (ESI, MeOH, positiv):  $m/z = 323.2$  (24 %,  $[M+H-H_2O]^+$ ),  $341.00$  (74 %,  $[M+H]^+$ ),  $363.13$  (92 %,  $[M+Na]^+$ ),  $530.07$  (14 %,  $[3M+Ca]^{2+}$ )  $680.87$  (10 %,  $[2M+H]^+$ ),  $702.93$  (100 %,  $[2M+Na]^+$ );

**MS** (ESI, MeOH, negativ):  $m/z = 339.07$  (100 %,  $[M-H]^-$ ),  $407.07$  (46 %,  $[M-H+NaHCO_2]^-$ ).

**Synthese von Methyl-(E)-3-(3,7-dimethylocta-2,6-dien-1-yl)-2-hydroxy-4-methoxy-6-phenethylbenzoat [1422251-65-7] (17) und Methyl-(E)-2-((3,7-dimethylocta-2,6-dien-1-yl)oxy)-4-methoxy-6-phenethylbenzoat (18)<sup>[100]</sup>**

In einem sekurierten Kolben wird Kaliumhydrid (110 mg, 2.75 mmol) in trockenem Toluol (100 mL) suspendiert. Im Anschluss wird Verbindung **11** (714 mg, 2.5 mmol) in trockenem Toluol (50 mL) gelöst und vorsichtig hinzugegeben. Die Reaktionslösung wird für 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird Geranylchlorid (560  $\mu$ L, 3.04 mmol) hinzugetropft und die Reaktion für weitere 12 Stunden bei 70 °C gerührt. Die Reaktion wird mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (10 mL) gequench. Im Anschluss wird die Reaktionslösung mit Essigester (3x 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser und Kochsalzlösung (ges.) gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels wird das Rohprodukt mittels einer



säulenchromatographischen Aufarbeitung (*n*-Hexan/Essigester 12:1) getrennt. Man erhält Verbindung **17** mit einer Ausbeute von 284 mg (27%) und Verbindung **18** mit einer Ausbeute von 114 mg (11%). Es handelt sich bei beiden Verbindungen um farblose Öle.

**R<sub>f</sub>** = 0.67 (*n*-Hexan/Essigester 9:1);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 3085_{vw}$ ,  $3061_{vw}$ ,  $3027_w$ ,  $2952_w$ ,  $2916_w$ ,  $2854_w$ ,  $1725_w$ ,  $1651_s$ ,  $1609_m$ ,  $1573_m$ ,  $1496_w$ ,  $1452_m$ ,  $1436_m$ ,  $1404_m$ ,  $1376_m$ ,  $1280_{vs}$ ,  $1226_s$ ,  $1194_m$ ,  $1155_s$ ,  $1112_s$ ,  $1077_w$ ,  $1043_w$ ,  $1030_w$ ,  $1007_m$ ,  $962_w$ ,  $912_w$ ,  $882_w$ ,  $836_w$ ,  $807_m$ ,  $770_m$ ,  $748_m$ ,  $699_s$ ,  $659_w$ ,  $608_m$ ,  $557_w$ ,  $488_w$ ,  $470_w$   $cm^{-1}$ ;

**UV/vis (CHCl<sub>3</sub>):**  $\lambda_{max}$  (log $\epsilon$ ) = 232 (4.53), 272 (4.24), 310 (3.77) nm;

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 11.73$  (*s*, 1H, OH), 7.34 – 7.26 (*m*, 2H, CH<sub>arom.</sub> (11)), 7.25 – 7.17 (*m*, 3H, CH<sub>arom.</sub> (10, 12)), 6.22 (*s*, 1H, CH<sub>arom.</sub> (5)), 5.22 (*tq*,  $J = 7.0$ , 1.3 Hz, 1H, CH<sub>olef.</sub> (17)), 5.08 (*tqi*,  $J = 7.0$ , 1.4 Hz, 1H, CH<sub>olef.</sub> (21)), 3.96 (*s*, 3H, COOCH<sub>3</sub> (14)), 3.80 (*s*, 3H, OCH<sub>3</sub> (15)), 3.40 – 3.33 (*d*,  $J = 7.0$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub> (16)), 3.22 – 3.16 (*m*, 2H, CH<sub>2</sub> (7)), 2.90 – 2.83 (*m*, 2H, CH<sub>2</sub> (8)), 2.10 – 2.02 (*m*, 2H, CH<sub>2</sub> (20)), 2.00 – 1.94 (*m*, 2H, CH<sub>2</sub> (19)), 1.79 (*d*,  $J = 1.3$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub> (25)), 1.65 (*d*,  $J = 1.4$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub> (23)), 1.58 (*d*,  $J = 1.3$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub> (24)) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 172.1 (COOCH<sub>3</sub> (C13)), 161.9 (*C*<sub>quart.</sub> (C4)), 161.3 (*C*<sub>quart.</sub> (C2)), 144 (*C*<sub>quart.</sub> (C6)), 142 (*C*<sub>quart.</sub> (C9)), 135 (*C*<sub>quart.</sub> (C18)), 131.1 (*C*<sub>quart.</sub> (C22)), 128.4 (CH<sub>arom.</sub> (C10)), 125.9 (CH<sub>arom.</sub> (C11)), 124.5 (CH<sub>arom.</sub> (C12)), 122.9 (CH<sub>olef.</sub> (C21)), 122.2 (CH<sub>olef.</sub> (C17)), 115.3 (*C*<sub>quart.</sub> (C3)), 105.9 (*C*<sub>quart.</sub> (C1)), 105.2 (CH<sub>arom.</sub> (C5)), 55.4 (OCH<sub>3</sub> (C15)), 52 (COOCH<sub>3</sub> (C14)), 39.8 (CH<sub>2</sub> (C19)), 39.3 (CH<sub>2</sub> (C8)), 38.4 (CH<sub>2</sub> (C7)), 26.7 (CH<sub>2</sub> (C20)), 25.7 (CH<sub>3</sub> (C23)), 22 (CH<sub>2</sub> (C16)), 17.6 (CH<sub>3</sub> (C24)), 16.1 (CH<sub>3</sub> (C25)) ppm;

**MS** (ESI, MeOH, positiv): m/z = 391.2 (92 %, [M+H-MeOH]<sup>+</sup>), 423 (40 %, [M+H]<sup>+</sup>), 445.2 (80 %, [M+Na]<sup>+</sup>), 461.2 (40 %, [M+K]<sup>+</sup>), 477.1 (22 %, [M+Na+MeOH]<sup>+</sup>).

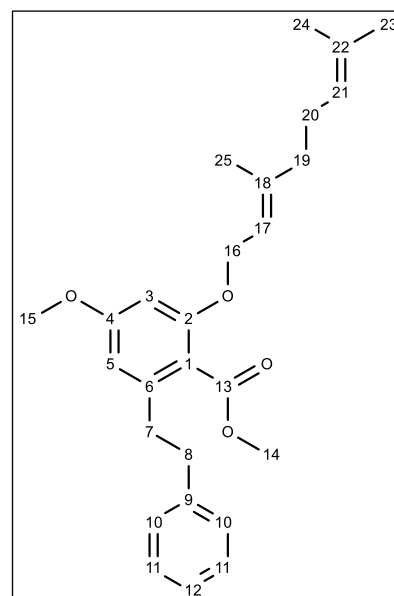
### Methyl-(*E*)-2-((3,7-dimethylocta-2,6-dien-1-yl)oxy)-4-methoxy-6-phenethylbenzoat (18)

**R<sub>f</sub>** = 0.46 (*n*-Hexan/Essigester 9:1);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  = 3086 $\nu$ w, 3062 $\nu$ w, 3026 $\nu$ w, 2931w, 2859w, 1725s, 1602s, 1584m, 1496w, 1453m, 1432m, 1382w, 1346w, 1317m, 1282m, 1260s, 1225m, 1195s, 1157vs, 1099s, 1081m, 1049s, 1030m, 993w, 949w, 923w, 881w, 827m, 817m, 788w, 748m, 700s, 639w, 609w, 574w, 561w, 490w, 461w cm<sup>-1</sup>;

**UV/vis (CHCl<sub>3</sub>):** λ<sub>max</sub> (logε) = 228 (4.52), 283 (3.71) nm;

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.32 – 7.24 (*m*, 2H, CH<sub>arom.</sub> (11)), 7.24 – 7.15 (*m*, 3H, CH<sub>arom.</sub> (10, 12)), 6.34 (*d*, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH<sub>arom.</sub> (5)), 6.25 (*d*, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH<sub>arom.</sub> (3)), 5.43 (*t*, *J* = 6.4 Hz, 1H, CH<sub>olef.</sub> (17)), 5.09 (*t*, *J* = 6.8 Hz, 1H, CH<sub>olef.</sub> (21)), 4.55 (*d*, *J* = 6.3 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub> (16)), 3.88 (*s*, 3H, COOCH<sub>3</sub> (14)), 3.74 (*s*, 3H, OCH<sub>3</sub> (15)), 2.93 – 2.78 (*m*, 4H, CH<sub>2</sub> (8), CH<sub>2</sub> (7)), 2.14 – 2.01 (*m*, 4H, CH<sub>2</sub> (20), CH<sub>2</sub> (19)), 1.71 (*s*, 3H, CH<sub>3</sub> (25)), 1.68 (*s*, 3H, CH<sub>3</sub> (23)), 1.60 (*s*, 4H, CH<sub>3</sub> (24)) ppm;

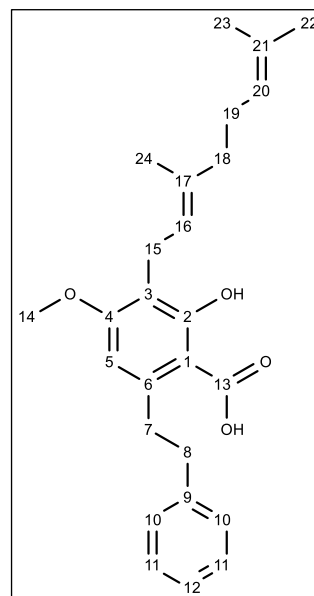


**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 168.8 (COOCH<sub>3</sub> (C13)), 161.2 (*C*<sub>quart.</sub> (C4)), 157.5 (*C*<sub>quart.</sub> (C2)), 141.8 (*C*<sub>quart.</sub> (C6)), 141.6 (*C*<sub>quart.</sub> (C18)), 140.6 (*C*<sub>quart.</sub> (C9)), 131.8 (*C*<sub>quart.</sub> (C22)), 128.4 (CH<sub>arom.</sub> (C10)), 128.3 (CH<sub>arom.</sub> (C11)), 126 (CH<sub>arom.</sub> (C12)), 123.8 (CH<sub>olef.</sub> (C21)), 119.6 (CH<sub>olef.</sub> (C17)), 116.8 (*C*<sub>quart.</sub> (C1)), 106.1 (CH<sub>arom.</sub> (C5)), 98 (CH<sub>arom.</sub> (C3)), 66 (OCH<sub>2</sub> (C16)), 55.3 (OCH<sub>3</sub> (C15)), 52 (COOCH<sub>3</sub> (C14)), 39.5 (CH<sub>2</sub> (C19)), 39.3 (CH<sub>2</sub> (C8)), 38.4 (CH<sub>2</sub> (C7)), 26.3 (CH<sub>2</sub> (C20)), 25.6 (CH<sub>3</sub> (C23)), 17.7 (CH<sub>3</sub> (C24)), 16.7 (CH<sub>3</sub> (C25)) ppm;

**MS** (ESI, MeOH, positiv):  $m/z = 391.2$  (22 %,  $[M+H-\text{MeOH}]^+$ ),  $423.1$  (12 %,  $[M+H]^+$ ),  $445.2$  (100 %,  $[M+\text{Na}]^+$ ),  $461.1$  (10 %,  $[M+\text{K}]^+$ ),  $477.1$  (14 %,  $[M+\text{Na}+\text{MeOH}]^+$ ).

**Synthese von (*E*)-3-(3,7-dimethylocta-2,6-dien-1-yl)-2-hydroxy-4-Methoxy-6-phenethylbenzoesäure [78916-42-4] (**19**)<sup>[100]</sup>**

Verbindung **17** (100 mg, 0.25 mmol) wird in Methanol (5 mL) gelöst und zu einer 40 °C warmen Lösung aus Kaliumhydroxid (84 mg, 1.5 mmol) in Methanol/Wasser 7:1 (40 mL) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 10 Stunden unter Rückfluss gekocht und dünnschicht-chromatographisch überwacht. Nach vollständigem Umsatz wird die Reaktion auf Raumtemperatur abgekühlt und der pH-Wert mit HCl (3 M) auf 3 eingestellt. Die wässrige Lösung wird anschließend mehrmals mit Essigester (3x 25 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser und Kochsalzlösung (ges.) gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Nach säulenchromatographischer Aufarbeitung (*n*-Hexan/Essig-ester 3:1) erhält man Verbindung **19** als farblosen Feststoff mit einer Ausbeute von 81 mg (84%).



**R<sub>f</sub>** = 0.23 (*n*-Hexan/Essigester 3:1);

**Smp.** = 44-45 °C (80.2–83.1 °C Lit. <sup>[127]</sup>);

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 3064w, 3028w, 2961m, 2925b, 2855w, 2671w, 2592w, 2537w, 1633s, 1607s, 1571m, 1496m, 1453m, 1430m, 1401m, 1380m, 1348w, 1266vs, 1221s, 1188m, 1170m, 1149m, 1113s, 1077m, 1046w, 1030w, 1003w, 983w, 923w, 902m, 858w, 837m, 819m, 804m, 773m, 749s, 734m, 696s, 679m, 663w, 608m, 562w, 533w, 494m \text{ cm}^{-1}$ ;

**UV/vis (CHCl<sub>3</sub>):**  $\lambda_{\text{max}}$  (log $\epsilon$ ) = 229 (4.07), 277 (3.76), 313 (3.26) nm;

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 7.33 - 7.27$  (*m*, 2H,  $\text{CH}_{\text{arom.}}$  (11)),  $7.23 - 7.18$  (*m*, 3H,  $\text{CH}_{\text{arom.}}$  (10, 12)),  $6.22$  (*s*, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom.}}$  (5)),  $5.21$  (*t*,  $J = 5.9$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{olef.}}$  (16)),  $5.08$  (*t*,  $J = 6.9$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{olef.}}$  (20)),  $3.79$  (*s*, 3H,  $\text{OCH}_3$  (14)),  $3.36$  (*d*,  $J = 7.0$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$  (15)),  $3.32 - 3.23$  (*m*, 2H,  $\text{CH}_2$  (7)),  $2.98 - 2.89$  (*m*, 2H,  $\text{CH}_2$  (8)),  $2.11 - 1.93$  (*m*, 4H,  $\text{CH}_2$  (19),  $\text{CH}_2$  (18)),  $1.81 - 1.76$  (*m*, 3H,  $\text{CH}_3$  (24)),  $1.68 - 1.62$  (*m*, 3H,  $\text{CH}_3$  (22)),  $1.60 - 1.56$  (*m*, 3H,  $\text{CH}_3$  (23)) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 176$  ( $\text{COOH}$  (C13)),  $162.9$  ( $C_{\text{quart.}}$  (C4)),  $162.2$  ( $C_{\text{quart.}}$  (C2)),  $145.8$  ( $C_{\text{quart.}}$  (C6)),  $141.9$  ( $C_{\text{quart.}}$  (C9)),  $135.2$  ( $C_{\text{quart.}}$  (C17)),  $131.1$  ( $C_{\text{quart.}}$  (C21)),  $128.5$  ( $\text{CH}_{\text{arom.}}$  (C10)),

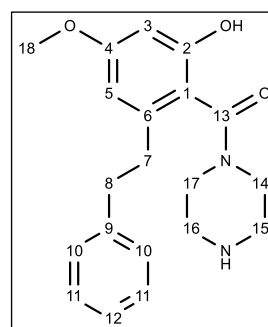
128.4 ( $\text{CH}_{\text{arom.}}$  (C11)), 125.9 ( $\text{CH}_{\text{arom.}}$  (C12)), 124.5 ( $\text{CH}_{\text{olef.}}$  (C20)), 122.1 ( $\text{CH}_{\text{olef.}}$  (C16)), 115.5 ( $\text{C}_{\text{quart.}}$  (C3)), 106.5 ( $\text{C}_{\text{quart.}}$  (C5)), 103.7 ( $\text{C}_{\text{quart.}}$  (C1)), 55.5 ( $\text{OCH}_3$  (C14)), 39.8 ( $\text{CH}_2$  (C18)), 39.2 ( $\text{CH}_2$  (C8)), 38.1 ( $\text{CH}_2$  (C7)), 26.8 ( $\text{CH}_2$  (C19)), 25.7 ( $\text{CH}_3$  (C22)), 21.9 ( $\text{CH}_2$  (C15)), 17.7 ( $\text{CH}_3$  (C23)), 16.1 ( $\text{CH}_3$  (C24)) ppm;

**MS** (ESI, MeOH, positiv):  $m/z = 391.2$  (100 %,  $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ ), 409 (46 %,  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ), 431.2 (98 %,  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ );

**MS** (ESI, MeOH, negativ):  $m/z = 363.2$  (22 %,  $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$ ), 407.2 (100 %,  $[\text{M}-\text{H}]^-$ ).

### Synthese von 2-Hydroxy-4-methoxy-6-phenethyl-phenyl-(piperazin-1-yl)-methanon (**20**)<sup>[126]</sup>

In einem sekurierten Kolben wird in trockenem Dichlormethan (30 mL) Verbindung **10** (150 mg, 0.55 mmol) vorgelegt. Anschließend werden EDC (127 mg, 0.66 mmol) und HOBt (90 mg, 0.66 mmol) zur Reaktionslösung hinzugegeben. Anschließend wird das Reaktionsgemisch mit Piperazin (189 mg, 2.2 mmol) versetzt. Der Reaktionsfortschritt wird dünnschichtchromatographisch überwacht, nach 8 Stunden wird die Reaktion durch die Zugabe von Wasser beendet. Die organische Phase wird nun mit Natriumhydrogencarbonatlösung (20 mL), Wasser und Kochsalzlösung (ges.) gewaschen. Die Aufarbeitung erfolgt über eine Flashchromatographie (1-15% Methanol/Chloroform). Man erhält Verbindung **20** (38 mg, 20.3%) als weißen Feststoff. Bei der Aufarbeitung der Reaktion konnte ebenfalls Verbindung **21** mit einer Ausbeute von 28 mg (10.5%) als weißer Feststoff gewonnen werden.



$R_f = 0.48$  (Chloroform/Methanol 4:1);

**Smp.** = 91.2°C;

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 2925_w, 2856_w, 1584_{vs}, 1496_m, 1432_s, 1365_s, 1347_s, 1320_s, 1276_{vs}, 1258_s, 1218_m, 1196_s, 1152_{vs}, 1113_m, 1078_m, 1047_s, 1015_s, 1006_s, 955_m, 882_m, 834_s, 827_s, 773_m, 748_s, 700_{vs}, 642_m, 607_m, 598_m, 581_m, 564_m, 525_m, 517_m, 484_m, 472_m \text{ cm}^{-1}$ ;

**UV/vis (CHCl<sub>3</sub>):**  $\lambda_{\text{max}}$  (log $\epsilon$ ) = 228 (4.24);

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta = 7.28 - 7.21$  (*m*, 2H,  $\text{CH}_{\text{arom.}}$  (11)), 7.20 - 7.12 (*m*, 3H,  $\text{CH}_{\text{arom.}}$  (10, 12)), 6.33 (*d*,  $J = 2.3$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom.}}$  (5)), 6.27 (*d*,  $J = 2.3$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom.}}$  (3)), 3.98 (*s*, 1H,  $\text{CH}_2$  (17a)), 3.71 (*s*, 3H,  $\text{OCH}_3$  (18)), 3.67 (*s*, 1H,  $\text{CH}_2$  (14a)), 3.35 (*s*, 1H,  $\text{CH}_2$  (17b)), 3.21 (*s*, 1H,  $\text{CH}_2$  (14b)), 2.98 (*s*, 4H,  $\text{CH}_2$  (15, 16)), 2.91 - 2.66 (*m*, 4H,  $\text{CH}_2$  (7, 8)) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ = 170.5 (CONR (C13)), 162.6 (*C<sub>quart.</sub>* (C4)), 156 (*C<sub>quart.</sub>* (C2)), 143 (*C<sub>quart.</sub>* (C9)), 142.4 (*C<sub>quart.</sub>* (C6)), 129.5 (CH<sub>arom.</sub> (C10)), 129.4 (CH<sub>arom.</sub> (C11)), 127.1 (CH<sub>arom.</sub> (C12)), 116.7 (*C<sub>quart.</sub>* (C1)), 107.4 (CH<sub>arom.</sub> (C5)), 100 (CH<sub>arom.</sub> (C3)), 55.7 (OCH<sub>3</sub> (C18)), 47.5 (CH<sub>2</sub> (C14)), 46.2 (CH<sub>2</sub> (C16)), 45.8 (CH<sub>2</sub> (C15)), 42.2 (CH<sub>2</sub> (C17)), 38.3 (CH<sub>2</sub> (C8)), 36.8 (CH<sub>2</sub> (C7)) ppm;

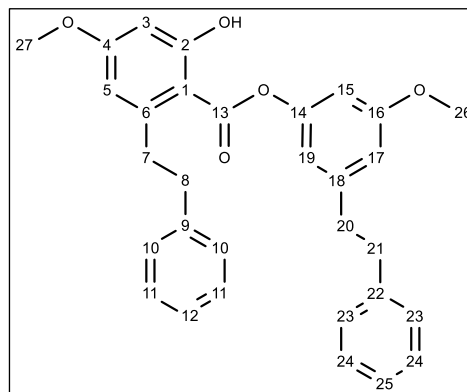
**MS** (ESI, MeOH, positiv): *m/z* = 255.1 (56 %, [M+H-C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>), 341.1 (100 %, [M+H]<sup>+</sup>), 353.1 (18 %, [M+H+HCHO-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>), 363.1 (4 %, [M+Na]<sup>+</sup>).

### 3-Methoxy-5-phenethylphenyl-2-hydroxy-4-methoxy-6-phenethylbenzoat (21)

**R<sub>f</sub>** = 0.38 (Hexan/Essigester 9:1);

**Smp.** = 95°C;

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  = 3021*w*, 2990*w*, 2973*w*, 2947*w*, 2931*w*, 2877*w*, 2860*w*, 2845*w*, 1647*s*, 1619*s*, 1584*m*, 1496*w*, 1456*m*, 1438*m*, 1377*m*, 1318*s*, 1299*s*, 1269*m*, 1251*vs*, 1206*s*, 1198*s*, 1163*s*, 1151*s*, 1138*s*, 1094*m*, 1077*w*, 1057*m*, 1041*m*, 1032*m*, 996*m*, 958*m*, 934*m*, 909*w*, 891*w*, 872*m*, 854*m*, 832*m*, 817*m*, 796*m*, 772*m*, 752*s*, 710*w*, 692*s*, 660*w*, 641*m*, 600*m*, 571*m*, 541*w*, 518*w*, 491*m*, 486*m* cm<sup>-1</sup>;



**UV/vis (CHCl<sub>3</sub>):** λ<sub>max</sub> (logε) = 229 (4.47), 271 (4.32), 308 (3.94) nm;

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 11.52 (*s*, 1H, OH), 7.31 – 7.11 (*m*, 10H, CH<sub>arom.</sub> (10, 11, 12, 23, 24, 25)), 6.67 (*t*, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH<sub>arom.</sub> (17)), 6.63 (*t*, *J* = 1.8 Hz, 1H, CH<sub>arom.</sub> (19)), 6.59 (*t*, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH<sub>arom.</sub> (15)), 6.42 (*d*, *J* = 2.6 Hz, 1H, CH<sub>arom.</sub> (3)), 6.36 (*d*, *J* = 2.6 Hz, 1H, CH<sub>arom.</sub> (5)), 3.82 (*s*, 3H, OCH<sub>3</sub> (27)), 3.77 (*s*, 3H, OCH<sub>3</sub> (26)), 3.34 – 3.27 (*m*, 2H, CH<sub>2</sub> (7)), 3.02 – 2.95 (*m*, 2H, CH<sub>2</sub> (8)), 2.93 (*s*, 4H, CH<sub>2</sub> (20,21)) ppm;

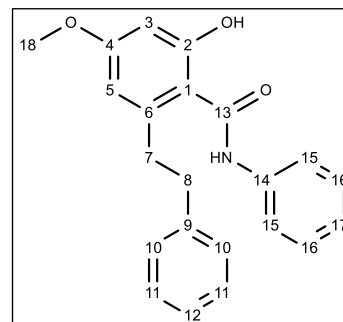
**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ = 170.3 (COOR (C13)), 166.6 (*C<sub>quart.</sub>* (C2)), 164.9 (*C<sub>quart.</sub>* (C4)), 160.7 (*C<sub>quart.</sub>* (C16)), 150.8 (*C<sub>quart.</sub>* (C14)), 147.2 (*C<sub>quart.</sub>* (C6)), 144.7 (*C<sub>quart.</sub>* (C18)), 141.8 (*C<sub>quart.</sub>* (C9)), 141.4 (*C<sub>quart.</sub>* (C22)), 128.6, 128.6, 128.6, 128.5, 126.2, 126.2 (CH<sub>arom.</sub> (C10, C11, C12, C23, C24, C25)), 114.2 (CH<sub>arom.</sub> (C19)), 112.7 (CH<sub>arom.</sub> (C17)), 111.7 (CH<sub>arom.</sub> (C5)), 105.4 (CH<sub>arom.</sub> (C15)), 104.2 (*C<sub>quart.</sub>* (C1)), 99.5 (CH<sub>arom.</sub> (C3)), 55.6 (OCH<sub>3</sub> (C26)), 55.6 (OCH<sub>3</sub> (C27)), 39.5 (CH<sub>2</sub> (C7)), 38.7 (CH<sub>2</sub> (C20)), 38.1 (CH<sub>2</sub> (C8)), 37.6 (CH<sub>2</sub> (C21)) ppm;



**MS** (ESI, MeOH, positiv):  $m/z = 255.1$  (30 %,  $[C_{16}H_{15}O_3]^+$ ), 483 (5 %,  $[M+H]^+$ ), 500 (10 %,  $[M+NH_4]^+$ ), 503.1 (100 %,  $[M+Na]^+$ ), 521 (10 %,  $[M+K]^+$ ), 986.9 (12 %,  $[2M+Na]^+$ ).

### Synthese von 2-Hydroxy-4-methoxy-6-phenethyl-N-benzylbenzamid (**22**)<sup>[126]</sup>

Unter Argonatmosphäre wird Verbindung **10** (150 mg, 0.55 mmol) in trockenem Dichlormethan (20 mL) vorgelegt. Anschließend werden EDC (127 mg, 0.66 mmol) sowie HOBt (90 mg, 0.66 mmol) und Anilin (51 mg, 0.55 mmol, 50  $\mu$ L) vorsichtig hinzugegeben. Der Reaktionsfortschritt wird dünnschichtchromatographisch verfolgt, nach 8 Stunden wird die Reaktion durch die Zugabe von Wasser beendet. Die organische Phase wird nun mit Natriumhydrogencarbonatlösung (20 mL), Wasser und Kochsalzlösung (ges.) gewaschen. Die Aufarbeitung erfolgt über Flashchromatographie (1-10% Essigester/*n*-Hexan). Es wurden 59 mg (30.9%) der Verbindung **22** als weißer Feststoff erhalten.



$R_f = 0.38$  (*n*-Hexan/Essigester 3:1);

**Smp.** = 71.2 °C;

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 3269w, 3137w, 3027w, 2925m, 2853w, 2735w, 2656w, 1616s, 1595s, 1583s, 1542s, 1497s, 1465m, 1442vs, 1378m, 1333vs, 1292m, 1273m, 1196s, 1156vs, 1119m, 1078w, 1044m, 1032m, 994m, 953w, 902m, 887w, 834m, 820s, 781m, 748vs, 697s, 684s, 630m, 573m, 554m, 506m, 489m, 468m \text{ cm}^{-1}$ ;

**UV/vis (CHCl<sub>3</sub>):**  $\lambda_{\text{max}}$  (log $\epsilon$ ) = 230 (4.26), 271 (4.15), 304 (4.02) nm;

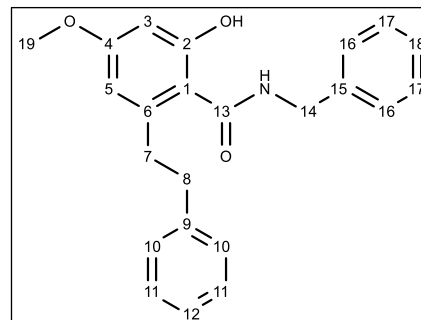
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 10.04$  (s, 1H, OH), 7.37 – 7.30 (m, 4H, CH<sub>arom.</sub> (11, 16)), 7.29 – 7.20 (m, 3H, CH<sub>arom.</sub> (10, 12)), 7.20 – 7.14 (m, 1H, CH<sub>arom.</sub> (17)), 7.13 – 7.06 (m, 2H, CH<sub>arom.</sub> (15)), 6.45 (d,  $J = 2.5$  Hz, 1H, CH<sub>arom.</sub> (5)), 6.41 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H, CH<sub>arom.</sub> (3)), 3.81 (s, 3H, OCH<sub>3</sub> (18)), 3.16 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub> (7)), 3.04 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub> (8)) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 168.4$  (CONH (C13)), 162.7 (C<sub>quart.</sub> (C4)), 161.3 (C<sub>quart.</sub> (C2)), 141.1 (C<sub>quart.</sub> (C6)), 140.6 (C<sub>quart.</sub> (C9)), 136.7 (C<sub>quart.</sub> (C14)), 129 (CH<sub>arom.</sub> (C16)), 128.9 (CH<sub>arom.</sub> (C10)), 128.6 (CH<sub>arom.</sub> (C11)), 126.6 (CH<sub>arom.</sub> (C12)), 125.2 (CH<sub>arom.</sub> (C17)), 121.1 (CH<sub>arom.</sub> (C15)), 112.1 (C<sub>quart.</sub> (C1)), 109.4 (CH<sub>arom.</sub> (C5)), 99.8 (CH<sub>arom.</sub> (C3)), 55.3 (OCH<sub>3</sub> (C18)), 37.6 (CH<sub>2</sub> (C8)), 36.3 (CH<sub>2</sub> (C7)) ppm;

**MS** (ESI, MeOH, positiv):  $m/z = 269.1$  (24 %,  $[M+H-H_7C_6N]^+$ ),  $362.2$  (100 %,  $[M+H]^+$ ),  $384.1$  (12 %,  $[M+Na]^+$ ),  $745$  (48 %,  $[2M+Na]^+$ ).

### Synthese von 2-Hydroxy-4-methoxy-6-phenethyl-N-benzylbenzamid (**23**) <sup>[126]</sup>

Verbindung **10** (150 mg, 0.55 mmol) wird in einem sekurierten Kolben vorgelegt und anschließend in trockenem Dichlormethan (20 mL) aufgenommen. Anschließend werden EDC (127mg, 0.66 mmol) und HOBT (90 mg, 0.66 mmol) zugegeben. Im Anschluss wird Benzylamin (59 mg, 0.55 mmol, 60  $\mu$ L) vorsichtig zugetropft. Der Reaktionsfortschritt wird dünnschichtchromatographisch



verfolgt, nach 8 Stunden wird die Reaktion durch die Zugabe von Wasser beendet. Die organische Phase wird nun mit Natriumhydrogencarbonatlösung (20 mL), Wasser und Kochsalzlösung (ges.) gewaschen. Die Aufarbeitung erfolgt über Flashchromatographie (1-10% Essigester/*n*-Hexan). Man erhält Verbindung **23** (47 mg, 23.6%) als weißen Feststoff.

**R<sub>f</sub>** = 0.36 (*n*-Hexan/Essigester 3:1);

**Smp.** = 131-132 °C;

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu} = 3389m, 3107m, 3023w, 2974w, 2931w, 2868w, 2649vw, 1615s, 1585s, 1534s, 1509s, 1495s, 1462m, 1452m, 1426s, 1365m, 1328s, 1314s, 1280s, 1191s, 1162s, 1155s, 1132s, 1080w, 1052m, 1039s, 1027m, 990m, 949m, 910w, 837s, 819m, 785s, 765m, 735vs, 722vs, 695s, 667w, 648m, 631m, 605s, 583m, 561m, 521m, 459s$   $cm^{-1}$ ;

**UV/vis (CHCl<sub>3</sub>):**  $\lambda_{max}$  (log $\epsilon$ ) = 228 (4.18), 259 (3.86), 299 (3.58) nm;

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 10.72$  (*s*, 1H, OH), 7.36 – 7.26 (*m*, 3H, CH<sub>arom.</sub> (10, 12)), 7.23 (*m*, 2H, CH<sub>arom.</sub> (11)), 7.21 – 7.15 (*m*, 2H CH<sub>arom.</sub> (16)), 7.15 – 7.10 (*m*, 1H, CH<sub>arom.</sub> (18)), 6.96 – 6.90 (*m*, 2H, CH<sub>arom.</sub> (17)), 6.39 (*m*, 2H, CH<sub>arom.</sub> (5, 3)), 4.45 (*d*,  $J = 5.7$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub> (14)), 3.80 (*s*, 3H, OCH<sub>3</sub> (19)), 3.05 – 2.98 (*m*, 2H, CH<sub>2</sub> (7)), 2.96 – 2.90 (*m*, 2H, CH<sub>2</sub> (8)) ppm;

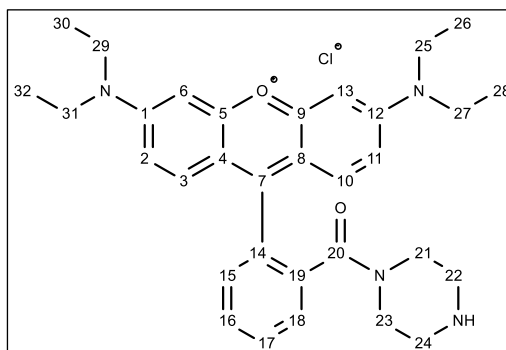
**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 169.8$  (CONH (C13)), 162.4 (*C*<sub>quart.</sub> (C4)), 161.6 (*C*<sub>quart.</sub> (C2)), 140.9 (*C*<sub>quart.</sub> (C6)), 140.4 (*C*<sub>quart.</sub> (C9)), 137.4 (*C*<sub>quart.</sub> (C15)), 128.8 (CH<sub>arom.</sub> (C10)), 128.7 (CH<sub>arom.</sub> (C11)), 128.4 (CH<sub>arom.</sub> (C17)), 128 (CH<sub>arom.</sub> (C18)), 127.7 (CH<sub>arom.</sub> (C16)), 126.6 (CH<sub>arom.</sub> (C12)), 111.2 (*C*<sub>quart.</sub> (C1)), 109.1 (CH<sub>arom.</sub> (C5)), 99.6 (CH<sub>arom.</sub> (C3)), 55.3 (OCH<sub>3</sub> (C19)), 44.1 (CH<sub>2</sub> (C14)), 37.6 (CH<sub>2</sub> (C8)), 36.2 (CH<sub>2</sub> (C7)) ppm;

MS (ESI, MeOH, positiv): m/z:

362.2 (60 %, [M+H]<sup>+</sup>), 384.2 (56 %, [M+Na]<sup>+</sup>), 744.9 (100 %, [2M+Na]<sup>+</sup>).

### Synthese von 3,6-Bis(diethylamino)-9-[2-(1-piperazinylcarbonyl)phenyl]-xanthyliumchlorid (25) [877212-89-0]<sup>[128]</sup>

Rhodamin B (1 g, 2.08 mmol) wird unter Argonatmosphäre in trockenem Dichlormethan (15 mL) gelöst. Anschließend wird Phosphoroxychlorid (0.95 mL, 1.597 g, 10.42 mmol) langsam hinzugegeben und die Reaktionslösung für 6 Stunden gekocht. Das Lösungsmittel wird nach der Reaktion abdestilliert und das erhaltene Säurechlorid



in Dichlormethan (50 mL) aufgenommen und mit Triethylamin (0.29 mL, 0.212 g, 2.08 mmol) versetzt. Im Anschluss wird Piperazin (0.718 g, 8.33 mmol) hinzugegeben und die Reaktionslösung für 12 Stunden gerührt. Nach der Reaktion wird mit Wasser, Kochsalzlösung (ges.) gewaschen und nach der Trocknung über Magnesiumsulfat das Lösungsmittel abdestilliert. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch aufgearbeitet (Chloroform/Methanol 9:1) und man erhält Verbindung **14** (653 mg, 57.4%) als violetten Feststoff.

**R<sub>f</sub>** = 0.5 (Chloroform/Methanol 6:1);

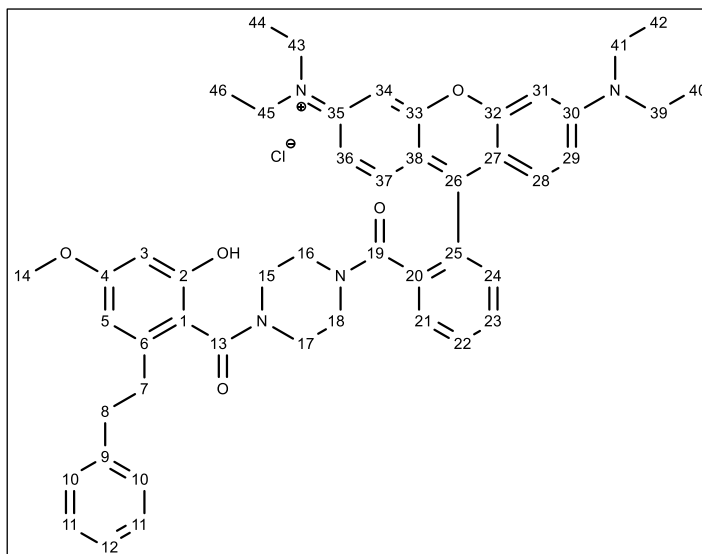
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.83 – 7.72 (*m*, 3H, CH<sub>arom.</sub> (15, 16, 18)), 7.56 – 7.48 (*m*, 1H, CH<sub>arom.</sub> (17)), 7.26 (*d*, *J* = 9.5 Hz, 2H, CH<sub>arom.</sub> (3, 10)), 7.09 (*dd*, *J* = 9.5, 2.5 Hz, 2H, CH<sub>arom.</sub> (11, 2)), 6.97 (*d*, *J* = 2.4 Hz, 2H, CH<sub>arom.</sub> (6, 13)), 3.79 – 3.63 (*m*, 12H, CH<sub>2</sub> (21, 23, 25, 27, 29, 31)), 3.12 (*t*, *J* = 5.2 Hz, 4H, CH<sub>2</sub> (22, 24)), 1.31 (*t*, *J* = 7.1 Hz, 12H, CH<sub>3</sub> (26, 28, 30, 32)) ppm;

**<sup>13</sup>C-NMR** (101MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ = 168.2 (COON (C20)), 157.8 (C<sub>quart.</sub> (C4, C8)), 155.9 (C<sub>quart.</sub> (C1, C12)), 155.2 (C<sub>quart.</sub> (C14)), 134.2 (C<sub>quart.</sub> (C19)), 131.6 (CH<sub>arom.</sub> (C3, C10)), 131 (C<sub>quart.</sub> (C7)), 130.5, 130.2, 130.1 (CH<sub>arom.</sub> (C17, C18, C16)), 127.5 (CH<sub>arom.</sub> (C15)), 114.1 (CH<sub>arom.</sub> (C2, C11)), 113.4 (C<sub>quart.</sub> (C5, C9)), 96 (CH<sub>arom.</sub> (C6, C13)), 45.5 (CH<sub>2</sub> (C21, C23, C25, C27, C29, C31)), 43 (CH<sub>2</sub> (C22, C24)), 11.5 (CH<sub>3</sub> (C26, C28, C30, C32)) ppm;

MS (ESI, MeOH, positiv): m/z = 511.4 (90 %, [C<sub>32</sub>H<sub>39</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>), 541.4 (100 %, [C<sub>32</sub>H<sub>39</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>+HCHO]<sup>+</sup>).

**Synthese von N-(6-(Diethylamino)-9-(2-(4-(2-hydroxy-4-methoxy-6-phenethyl-benzoyl)piperazin-1-Carbonyl)phenyl)-3H-xanthen-3-ylidene)-N-ethylethanaminiumchlorid (26)** [126], [129]

In einem sekurierten Kolben wird Verbindung **10** (181 mg, 0.66 mmol) in trockenem Dichlormethan (20 mL) vorgelegt. Anschließend werden EDC (153 mg, 0.79 mmol), HOBt (120 mg, 0.79 mmol) sowie Verbindung **25** (361 mg, 0.66 mmol) vorsichtig hinzugegeben. Der Reaktionsfortschritt wird dünnschichtchromatographisch überwacht, nach 8 Stunden wird die Reaktion durch die Zugabe von Wasser



beendet. Die organische Phase wird nun mit Natriumhydrogencarbonatlösung (20 mL), Wasser und Kochsalzlösung (ges.) gewaschen. Danach erfolgt säulenchromatographische Aufreinigung (1-15% Methanol/Chloroform). Man erhält Verbindung **15** (98 mg, 18.5%) als dunkelrot-violetten Feststoff.

**R<sub>f</sub>** = 0.2 (Chloroform/Methanol 9:1);

**Smp.** = 158°C;

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  = 3061<sub>w</sub>, 2974<sub>w</sub>, 2932<sub>w</sub>, 2869<sub>w</sub>, 1629<sub>m</sub>, 1584<sub>vs</sub>, 1558<sub>m</sub>, 1528<sub>m</sub>, 1506<sub>m</sub>, 1481<sub>m</sub>, 1464<sub>m</sub>, 1456<sub>m</sub>, 1410<sub>s</sub>, 1393<sub>s</sub>, 1333<sub>vs</sub>, 1271<sub>s</sub>, 1245<sub>s</sub>, 1196<sub>m</sub>, 1178<sub>vs</sub>, 1158<sub>s</sub>, 1130<sub>s</sub>, 1072<sub>s</sub>, 1048<sub>m</sub>, 1000<sub>s</sub>, 977<sub>m</sub>, 921<sub>m</sub>, 868<sub>m</sub>, 821<sub>s</sub>, 787<sub>m</sub>, 754<sub>m</sub>, 702<sub>m</sub>, 682<sub>s</sub>, 664<sub>m</sub>, 642<sub>m</sub>, 620<sub>m</sub>, 581<sub>m</sub>, 546<sub>m</sub>, 523<sub>m</sub>, 497<sub>m</sub> cm<sup>-1</sup>;

**UV/vis (CHCl<sub>3</sub>):**  $\lambda_{\max}$  (log $\epsilon$ ) = 229 (4.57), 261 (4.48), 357 (3.85), 563 (5.01) nm;

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 10.08 (s, 1H, OH), 7.66 (s, 1H, CH<sub>arom.</sub> (23)), 7.60 (dd, *J* = 5.9, 2.9 Hz, 2H, CH<sub>arom.</sub> (21, 24)), 7.43 (s, 1H, CH<sub>arom.</sub> (22)), 7.33 – 7.26 (m, 2H, CH<sub>arom.</sub> (11)), 7.25 – 7.20 (m, 2H, CH<sub>arom.</sub> (28, 37)), 7.20 – 7.12 (m, 3H, CH<sub>arom.</sub> (10, 12)), 6.78 (dd, *J* = 9.4, 2.4 Hz, 2H, CH<sub>arom.</sub> (29, 36)), 6.70 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, CH<sub>arom.</sub> (31, 34)), 6.66 (s, 1H, CH<sub>arom.</sub> (3)), 6.27 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH<sub>arom.</sub> (5)), 4.37 (s, 2H, CH<sub>2</sub> (15a, 17a)), 3.94 (s, 2H, CH<sub>2</sub> (16a, 18a)), 3.73 (s, 3H, OCH<sub>3</sub> (14)), 3.67 – 3.50 (m, 8H, CH<sub>2</sub> (39, 41, 43, 45)), 3.06 – 2.96 (m, 2H, CH<sub>2</sub> (7)), 2.89 (s, 4H, CH<sub>2</sub> (15b, 16b, 17b, 18b)), 1.32 (dt, *J* = 17.3, 7.0 Hz, 12H, CH<sub>3</sub> (40, 42, 44, 46)) ppm;

<sup>13</sup>C-NMR (101MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 173.2 (COON (C13)), 168.3 (COON (C19)), 167.4 (C<sub>quart.</sub> (C4)), 161 (C<sub>quart.</sub> (C2)), 157.8 (C<sub>quart.</sub> (C27, C38)), 157.5 (C<sub>quart.</sub> (C25)), 155.3 (C<sub>quart.</sub> (C30, C35)), 142 (C<sub>quart.</sub> (C6)), 140.8 (C<sub>quart.</sub> (C9)), 135.4 (C<sub>quart.</sub> (C20)), 132.3 (CH<sub>arom.</sub> (C28, C37)), 131.4 (CH<sub>arom.</sub> (C21)), 131.2 (C<sub>quart.</sub> (C26)), 130.3 (CH<sub>arom.</sub> (C10)), 129.8 (CH<sub>arom.</sub> (C22)), 128.6 (CH<sub>arom.</sub> (C23)), 128.3 (CH<sub>arom.</sub> (C11)), 127.4 (CH<sub>arom.</sub> (C24)), 125.8 (CH<sub>arom.</sub> (C12)), 115.2 (C<sub>quart.</sub> (C1)), 113.9 (C<sub>quart.</sub> (C32)), 113.5 (C<sub>quart.</sub> (C33)), 113.3 (CH<sub>arom.</sub> (C29, C36)), 107.6 (CH<sub>arom.</sub> (C5)), 99.1 (CH<sub>arom.</sub> (C3)), 96.1 (CH<sub>arom.</sub> (C31, C34)), 55.3 (OCH<sub>3</sub> (C14)), 45.9 (CH<sub>2</sub> (C39, C41, C43, C45)), 41.8 (CH<sub>2</sub> (C7)), 37.5 (CH<sub>2</sub> (C8)), 35.4 (CH<sub>2</sub> (C15, C16, C17, C18)), 12.6 (CH<sub>3</sub> (C40, C42, C44, C46)) ppm;

MS (ESI, MeOH, positiv): m/z = 511.4 (6 %, [C<sub>32</sub>H<sub>39</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>), 765.3 (100 %, [C<sub>48</sub>H<sub>53</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>]<sup>+</sup>).

## 14. Publikationsliste

Die für diese Arbeit relevanten Publikationen sind wie folgt gegliedert.

### **Publikation 1:**

**„Unexpected cytotoxicity of a triisopropylsilylated syringaldehyde derived cinnamic acid amide.“**

Björn A. Weber, Ratna Kancana Wolfram, Sophie Hoenke, Lucie Fischer, Ahmed Al-Harrasi and René Csuk, *Mediterranean Journal of Chemistry* 2019, 9(1), 45-51.

### **Publikation 2:**

**„An efficient and robust synthesis of amorfrutin A.“**

Björn Weber, Benjamin Brandes, Danny Powroznik, Ralph Kluge, René Csuk, *Tetrahedron Letters* 2019, 60, 1379-1381, doi: 10.1016/j.tetlet.2019.04.028.

### **Publikation 3:**

**„An alternative approach to 2-amino-phenylphosphonic acid.“**

Björn Weber, Manuel Schmidt and René Csuk *Mediterranean Journal of Chemistry* 2018, 7 (3), 164-171, doi: 10.13171/mjc731892812-csuk.

## Lebenslauf

### Persönliche Daten:

Name: Björn Alexander Weber  
Adresse: Geiseltalstraße 73  
06242 Braunsbedra  
Geburtsdatum: 21.09.1989 in Merseburg  
Staatsangehörigkeit: Deutsch  
Familienstand: ledig

### Ausbildung

12/2015-12/2019      Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Martin-Luther-Universität  
Halle-Wittenberg  
Doktorand in der AG Csuk Fachbereich Organische Chemie

10/2015-11/2015      Hilfwissenschaftler in der AG Csuk an der Martin-Luther-Universität  
Halle-Wittenberg

10/2013-09/2015      Master-Studiengang Chemie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg  
Masterarbeit: Synthese moderner Fotoleitersysteme (1,3)  
Abschluss Master of Science (2,0)

10/2009-09/2013      Bachelor-Studiengang Chemie, Martin-Luther-Universität  
Halle-Wittenberg  
Bachelorarbeit: Isolierung und Derivatisierung von Gypsogenin (1,3)  
Abschluss Bachelor of Science (2,7)

10/2008-06/2009 Grundwehrdienst Bundeswehr  
08/2005-09/2008 Gymnasium Querfurt  
Abschluss: Abitur  
07/2002-08/2005 Geiseltalgymnasium Querfurt

Halle (Saale), 02.12.2019

Björn Alexander Weber

## Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Die Arbeit wurde bisher an keiner anderen Universität oder Hochschule vorgelegt.

Halle (Saale), 02.12.2019

Björn Alexander Weber