

**SYNTHESE VON REVERSIBLEN UND
KOVALENT-REVERSIBLEN
CYSTEINPROTEASE-INHIBITOREN**



**DISSERTATION ZUR ERLANGUNG DES
NATURWISSENSCHAFTLICHEN DOKTORGRADES
DER JULIUS-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT WÜRZBURG**

VORGELEGT VON

DIPLOM-CHEMIKER THOMAS SCHNEIDER

AUS MARKTHEIDENFELD

WÜRZBURG 2011

meiner Familie

Eingereicht am:

bei der Fakultät für Chemie und Pharmazie der Universität Würzburg.

1. Gutachter:

2. Gutachter:

der Dissertation.

1. Prüfer:

2. Prüfer:

3. Prüfer:

des öffentlichen Promotionskolloquiums.

Tag des öffentlichen Promotionskolloquiums:

Doktorurkunde ausgehändigt am:

Die vorliegende Dissertation wurde in der Zeit von Oktober 2008 bis Juni 2011 am Institut für
Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität Würzburg angefertigt.

DANKSAGUNG

Allen voran möchte ich Prof. Dr. Tanja Schirmeister für die attraktive, interdisziplinäre Themenstellung in einem praxisorientierten Forschungsgebiet danken. Der fortwährende Dialog und das angenehme Arbeitsklima trugen dabei entscheidend zum Gelingen dieser Arbeit bei. Ihre großzügige Unterstützung ermöglichte einen Forschungsaufenthalt in Toronto.

Weiterhin danke ich Prof. Dr. Christoph Sotriffer für das mir entgegengebrachte Vertrauen, die Praktikumsleitung des 2. Semesters übernehmen zu dürfen und dass er mir ermöglichte den Studenten das Leben in vieler Hinsicht zu erleichtern.

Folgenden Kooperationspartnern und Wissenschaftlern danke ich für ihre Unterstützung und Zusammenarbeit:

- Prof. Dr. Knut Baumann und Markus Kossner, Institut für Pharmazeutische Chemie, TU Braunschweig, für die Durchführung der Docking-Experimente.
- Prof. Dr. Caroline Kisker und Uwe Dietzel, Rudolf-Virchow-Zentrum, Universität Würzburg, für die Überlassung von SARS-CoV-M^{pro} und SARS-CoV-PL^{pro}.
- Armin Welker für die Durchführung von Docking-Experimenten, Diskussionen, Anregungen, Mithilfe beim Upgraden der Laborausstattung und beim Entwickeln neuer präparativer Methoden, Speis und Trank zu später Abendstunde und für die Unterhaltung, wenn es abends etwas länger wurde, die Einführung in die HPLC und die Durchführung der LC/MS-Experimente.
- Caroline Schad, Monika Herb, Philip Fey für das Messen unzähliger Spektren.
- Cornelia Heindl für die Testung der großen Anzahl an Verbindungen.

- Georg Walter, Matthias Völker und Karl Vollmuth, meinen Heimwerkern, danke ich für die Unterstützung bei technischen und handwerklichen Problemen, sowie die vielen spaßigen Unterhaltungen. Danke, dass ihr meine Labortechnik immer am Leben erhalten habt. Ihr wart großartig!
- Berthold Fertig für all die schönen Sachen aus Glas, die mir das Laborleben so erleichtert haben und natürlich die unterhaltsamen Gespräche, wenn du mal Zeit hattest.
- Meinen alten Laborkollegen Dr. Binh Nguyen, Dr. Friedrich „Fritz“ Popp, Markus Fischer, Dr. Matthias Büchner, Dr. Stefan Metz und Dr. Steffen Falgner für die schöne Zeit in einer vollkommen anderen Welt. Danke dafür, dass ihr mich auf den richtigen Weg gebracht habt.
- Dr. Martin Stempka für die Co-Kristallisationsversuche und die vielen witzigen Geschichten.
- Dr. Martin Stempka, Dipl.-Chem. Carolin Schad, sowie Silke Güntzelmann und Renate Hümpfner für die Unterstützung im zweiten Semester.
- Dem Team Uni-Döner für die Herstellung der besten Döner weit und breit zu (fast) jeder Zeit.
- Bianca Lange, Mario Meckel, Martin Möckel, Katrin Schreiber und Joachim Wlaka für den reibungslosen Ablauf vor und hinter dem Chemikalienschalter.

Dank gilt allen aktuellen und ehemaligen Mitgliedern des AK Schirmeister: Markus Schiller, Thomas Pfeuffer, Caroline Schad, Monika Herb, Magdalena Schneider, Armin Welker, Martin Stempka, Cornelia Heindl, Thilo Waag, Philipp Fey, Hongmei Wu, Swarna Oli, sowie dem AK Sotriffer: Michael Hein, Monika Nocker, Uli Pain, Benjamin Schaefer, Steffen Wagner, Armin Welker, David Zilian.

Danke auch an meinen F-Praktikanten Martin Bauer, der mit seinem Eifer weitere Bausteine zu dieser Arbeit geliefert hat.

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

SARS	Schweres Akutes Atemwegssyndrom (Severe acute respiratory syndrome)
CoV	Corona-Virus
M ^{pro}	Hauptprotease (main proteinase)
PL ^{pro}	Papain-like Protease
LC/MS	Liquid-Chromatographie/Massenspektrometrie
DNA	Desoxyribonukleinsäure
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
AIDS	Erworbenes Immundefektsyndrom (Acquired Immune Deficiency Syndrome)
Phe	Phenylalanin
Leu	Leucin
Arg	Arginin
Cys	Cystein
His	Histidin
Asp	Asparaginsäure
TGEV	Transmissible Gastroenteritis Virus
Gln	Glutamin
Ser	Serin
Ala	Alanin
Gly	Glycin
Asn	Asparagin
ORF	Offener Leserahmen (open reading frame)
RNA	Ribonukleinsäure
ACE	Angiotensin-konvertierendes Enzym (Angiotensin Converting Enzyme)
mRNA	Boten-RNA (messenger RNA)
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie (nuclear magnetic resonance)
Boc ₂ O	Di- <i>tert</i> -butyldicarbonat
HBTU	2-(1H-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium Hexafluorophosphat
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
HATU	O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium Hexafluorophosphat
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HCTU	2-(6-Chloro-1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethylamonium Hexafluorophosphat
TFA	Trifluoressigsäure
AS	Aminosäure

Met	Methionin
Val	Valin
Ile	Isoleucin
Glu	Glutaminsäure
AMP	Aminomethylpyridin
PPA	Propylphosphorsäureanhydrid
Pfp	Pentafluorphenol
NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin
DIPEA	Diisopropylethylamin
ESI	Elektronenspray-Ionisation
Bn	Benzyl
Ph	Phenyl
Me	Methyl
SSIP	Solvensgetrenntes Ionenpaar
CIP	Kontaktionenpaar
Bu	Butyl
AMC	7-Amino-4-methylcumarin

INHALTSVERZEICHNIS

1	Einleitung.....	13
1.1	Vorkommen, Funktion und Bedeutung von Cysteinproteasen.....	13
1.2	Katalytische Aktivität von Cysteinproteasen.....	15
1.3	Coronaviren.....	18
1.4	Schweres Akutes Atemwegssyndrom (SARS).....	20
1.5	Proteasen des SARS-CoV als Targets für Inhibitoren.....	22
1.6	Zielsetzungen der Arbeit.....	24
1.6.1	Inhibitoren für die SARS-CoV-M ^{pro}	24
1.6.2	Kovalent-reversible Inhibitoren.....	27
2	Darstellung von Inhibitoren der SARS-CoV-M ^{pro}	29
2.1	Retrosynthesen.....	29
2.2	Darstellung der Aminomethylpyridinderivate.....	31
2.2.1	Darstellung von alkylsubstituierten (3-Aminomethyl)-pyridinderivaten (AMP).....	31
2.2.2	Versuchte Darstellung von Pyridyl-substituierten Ketoaminen über Oxazole.....	33
2.2.3	Darstellung von Amino(pyridin-3-yl)essigsäure.....	34
2.2.4	Darstellung von 3-(Amino-3-pyridyl)propionsäure.....	39
2.3	Darstellung der Cyc-Leu-Amp-Derivate.....	45
2.4	Darstellung von pyridinhaltigen Sulfonamiden.....	50
2.5	Übersicht über die dargestellten Zielverbindungen.....	51
3	Darstellung der Vinylsulfone und Edukte.....	54
3.1	Retrosynthesen.....	54
3.2	Versuchte Darstellung eines Isothiocyanats.....	54
3.3	Darstellung der Thiocarbonsäureester.....	55
3.4	Darstellung der Dithioester.....	57
3.5	Darstellung der Vinylsulfone.....	58
3.5.1	Darstellung von Verbindung 44	58

3.5.2	Darstellung der N,S-Vinylsulfone.....	59
3.5.3	Darstellung der C,S-Vinylsulfone	60
3.6	Übersicht über die dargestellten Zielverbindungen.....	66
4	Biochemische und biologische Untersuchungen	67
4.1	Enzym-Kinetik.....	67
4.1.1	Allgemeines	67
4.1.2	Reversible Hemmung	71
4.1.3	Irreversible Hemmung.....	73
4.1.4	Durchführung der fluorimetrischen Enzym-Assays.....	77
4.1.5	Durchführung der Viabilitätstests an <i>P. falciparum</i>	79
4.2	Testergebnisse.....	80
4.2.1	Testung der AMP-Inhibitoren an SARS-CoV-M ^{pro} und SARS-CoV-PL ^{pro}	80
4.2.2	Testung der AMP-Inhibitoren gegen den Malaria-Erreger <i>P. falciparum</i>	81
4.2.3	Testung der Sulfonamide an SARS-CoV-M ^{pro} und SARS-CoV-PL ^{pro}	82
4.2.4	Testung der Vinylsulfone.....	83
4.2.5	Weitere Testergebnisse.....	87
4.3	Co-Kristallisation mit SARS-CoV-M ^{pro}	94
4.3.1	Co-Kristallisation von Verbindung 54 mit SARS-CoV-M ^{pro}	94
4.3.2	Co-Kristallisation von Verbindung 58 mit SARS-CoV-M ^{pro}	95
4.3.3	Co-Kristallisation von Verbindung 34e mit SARS-CoV-M ^{pro}	95
4.4	Diskussion der Ergebnisse der biologischen Testungen.....	99
5	Kinetische Untersuchungen mittels NMR-Spektroskopie	100
5.1	Quantenchemische Berechnungen	100
5.1.1	Modellsystem der Berechnungen	100
5.1.2	Ergebnisse der quantenchemischen Berechnungen	101
5.2	NMR-Kinetische Untersuchungen	105
5.2.1	Modellverbindungen und Reaktionsbedingungen.....	105
5.2.2	Kinetik.....	106
5.2.3	Ergebnisse der NMR-Experimente	109

5.3	Diskussion der Ergebnisse	123
6	Kristallstrukturanalyse.....	124
6.1	Kristallstruktur von Verbindung 45d	124
6.2	Kristallstruktur von Verbindung 45b	126
7	Zusammenfassung.....	127
8	Summary	130
9	Experimenteller Teil	133
9.1	Allgemeiner Teil.....	133
9.1.1	Schmelzpunkte (Smp.).....	133
9.1.2	Massenspektrometrie	133
9.1.3	Kernresonanzspektroskopie ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$).....	134
9.1.4	Infrarotspektroskopie (IR)	134
9.1.5	Dünnschichtchromatographie (DC).....	135
9.1.6	Säulenchromatographie (SC).....	135
9.1.7	Chemikalien	135
9.1.8	Kugelrohrdestillation	135
9.1.9	Lösungsmittel	136
9.2	Enzymatische Assays	136
9.3	Allgemeine Synthesemethoden	139
	<i>Anhang: Daten zu den Kristallstrukturanalysen</i>	322
	<i>Literaturverzeichnis</i>	327

1 EINLEITUNG

Zur Behandlung einer Krankheit bieten Enzyme in Krankheitserregern wie Viren, Bakterien oder Parasiten ein attraktives Ziel. In der modernen Medizin findet sich diese Strategie bereits in vielen antiviralen und antibakteriellen Arzneimitteln (Tabelle 1-1).

Tabelle 1-1: Ausgewählte Enzyminhibitoren im klinischen Einsatz.^[1]

Verbindung	Target	Klinische Verwendung
Aciclovir	Virale DNA-Polymerase	Herpes-Infektion
Amprenavir, Ritonavir, Saquinavir	HIV-Protease	AIDS
Efavirenz, Nevirapin	HIV Reverse Transkriptase	AIDS
Norfloxacin	DNA-Gyrase	Harnwegsinfektionen
Clavulanat	β -Lactamase	Bakterielle Resistenz
Trimethoprim	Bakterielle Dihydrofolatreduktase	Bakterielle Infektionen

In einem Report von 2000 wurde berichtet, dass bereits bei 30 % der eingesetzten Wirkstoffe die therapeutische Wirkung auf Enzyminhibition beruht.^[1] Im Jahr 2002 waren es bereits 47 %.^[2] Die Attraktivität von Enzymen als „Target“ liegt v.a. darin, dass bereits kleine Moleküle eine Hemmung der Enzymaktivität auslösen können.

Enzyme sind Proteine, die biologische Reaktionen katalysieren. Die Einteilung der Enzyme erfolgt in sechs Klassen, je nach der von ihnen katalysierten Reaktion: Oxidoreduktasen, Transferasen, Hydrolasen, Lyasen, Isomerasen und Ligasen. Die in dieser Arbeit behandelten Cysteinproteasen gehören zur Klasse der Hydrolasen. Sie spalten Peptide durch Hydrolyse.

1.1 VORKOMMEN, FUNKTION UND BEDEUTUNG VON CYSTEINPROTEASEN

Es wurden bereits über 20 Proteasefamilien mit einem Cysteinrest im aktiven Zentrum gefunden (Tabelle 1-2). Die katalytische Aktivität der Cysteinproteasen liegt in der katalytischen Diade aus Cystein und Histidin begründet. Die Familien C1, C2, C10, C16 und C48 können als Papain-ähnlich beschrieben werden und bilden den Clan CA. Nahezu die Hälfte der bekannten Familien der Cysteinproteasen sind nur in Viren vorhanden.

Die am besten untersuchte Familie der Cysteinproteasen ist die Papainfamilie. Sie beinhaltet Peptidasen mit einer großen Bandbreite an Aktivitäten. Dazu zählen Endopeptidasen mit einer breiten Spezifität, Endopeptidasen mit sehr genauer Spezifität, Amino-peptidasen, Dipeptidylpeptidasen und Peptidasen mit

sowohl Endopeptidase- als auch Exopeptidase-Aktivität. Es gibt sogar Familienmitglieder, die keine katalytische Aktivität zeigen.

Enzyme der Papainfamilie finden sich in einer Vielzahl von Lebensformen, z.B. Baculoviren, Eubakterien (*Porphyromonas* und *Lactococcus*), Hefen und Protozoen, Pflanzen und Tieren.^[3,4]

Tabelle 1-3 gibt eine kleine Übersicht über die in Krankheitserregern vorkommenden Cysteinproteasen.

Tabelle 1-2: Ausgewählte Cysteinproteasen mit pharmazeutischer Bedeutung.^[5]

Clan	Fam.	Protease	Katalyse	Spezifität des Enzyms	Herkunft
CA	C1	Papain		S2: lipophil, z.B. Phe, Leu	<i>Carica papaya</i>
		Cathepsin B		S2: Arg	<i>Homo sapiens</i>
		Cathepsine L, S, K, P, Q, X...	Cys ⁻ , HisH ⁺	S2: lipophile AS, z.B. Phe, Leu	<i>Homo sapiens</i>
		Falcipain 1-3			<i>Plasmodium falciparum</i>
		Rhodesain			<i>Trypanosoma brucei</i>
		Cruzipain 1+2			<i>Trypanosoma cruzi</i>
C2		Calpain-2 (Ca ²⁺ -abhängig)	Cys ⁻ , HisH ⁺	S2: Tyr, Met, Leu, Val, Arg	<i>Homo sapiens</i>
C10		Streptopain	Cys ⁻ , HisH ⁺	S2: lipophile AS	<i>Strept. pyogenes</i>
C16		SARS-CoV-PL ^{pro}	Cys ⁻ , HisH ⁺ , Asp	LXGG↓A LXGG↓K	<i>Humanes SARS-Coronavirus</i>
C47		Staphopain A+B	Cys ⁻ , HisH ⁺	S2: lipophile AS	<i>Staphylococcus aureus</i>
CD	C11	Clostripain	Cys ⁻ , HisH ⁺	S1: Arg	<i>Clostridium histolyticum</i>
	C14	Capase-1=ICE	Cys ⁻ , HisH ⁺	Aps↓X	<i>Homo sapiens</i>
CL	C60	Sortase A	Cys, His, Arg	LPXT↓G	<i>Staphylococcus aureus</i>
PA	C3	Poliovirus-Typ	Cys, His		Humanes Poliovirus Typ 1
		Picornain 3C			
		HAV-Typ	Cys, His, Asp/Glu	Q↓G	
	Picornain 3C				Hepatitis A-Virus
C30	SARS-CoV-M ^{pro}	Cys, His		LQ↓A/S	Humans SARS-Coronavirus
	TGEV-M ^{pro}	Cys, His		LQ↓A	Porcine Transmissible Gastroenteritis Virus

↓: Spaltstelle im Peptid; HAV: Hepatitis-A-Virus; TGEV-M^{pro}: Transmissible Gastroenteritis Virus Hauptprotease; ICE: Interleukin 1beta converting enzyme.

Tabelle 1-3: Parasitäre, virale und bakterielle Cysteinproteasen verschiedener Krankheitserreger.

Erreger	Enzym	Funktion	Erkrankung
Parasit			
<i>Plasmodium falciparum</i>	Falcipain 1-3	Ernährung/Vermehrung des Parasiten	Malaria
<i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i>	Rhodesain	Replikation des Parasiten	Schlafkrankheit
<i>Trypanosoma cruzi</i>	Cruzain	Ernährung des Parasiten	Chagas-Krankheit
Virus			
TGEV	TGEV-M ^{pro}	Virale Replikation	Gastroenteritis bei Schweinen
SARS-Coronavirus	SARS-CoV-M ^{pro}	Virale Replikation	SARS
	SARS-CoV-PL ^{pro}	Virale Replikation/Deubiquitinierung	
Bakterium			
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sortase	Transpeptidase-Aktivität bei Zellwandaufbau, Virulenzfaktor	Bakterielle Infektion

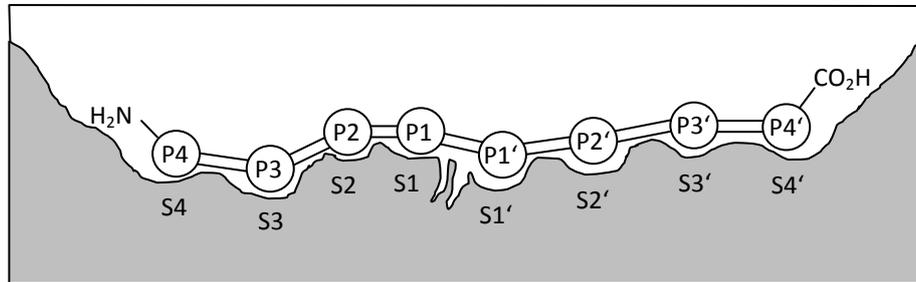
TGEV-M^{pro}: Transmissible Gastroenteritis Virus Hauptprotease.

1.2 KATALYTISCHE AKTIVITÄT VON CYSTEINPROTEASEN

Cysteinproteasen repräsentieren eine der sechs Protease-Hauptgruppen (Serin-, Threonin-, Aspartat-, Metallo- und Glutaminsäureproteasen). Sie verwenden alle ein Cystein bei der Hydrolyse einer Peptidbindung und werden auch als Thiol-Peptidasen bezeichnet.

Der Teil eines Proteinsubstrats, der besonders empfindlich für eine Protease ist, ist meist ein Oligopeptid ...P₃P₂P₁P₁'P₂'P₃'...^[6] Dabei liegt die Schnittstelle des Proteins durch die Protease zwischen P₁ und P₁' und wird für gewöhnlich als P₁↓P₁' gekennzeichnet. Die Nummerierung P₁P₂P₃ erfolgt dabei in Richtung des N-Terminus. Die Nummerierung P₁'P₂'P₃' erfolgt in Richtung des C-Terminus des Substrats (Schema 1-1). Die SARS-CoV-M^{pro} zeigt dabei besondere Spezifität für Gln↓(Ser, Ala, Gly).^[7] Entsprechend dem Schlüssel-Schloss-Prinzip muss das Peptid eine gute Affinität zum aktiven Zentrum aufweisen. Die anderen Teile des Substrats lagern sich während dieses Vorgangs an die anderen Bindetaschen an und erfahren dort Wechselwirkungen in Form von Wasserstoffbrückenbindungen, hydrophober oder hydrophiler Wechselwirkungen und ionischer

Wechselwirkungen. Erst die Summe all dieser Wechselwirkungen zwischen Substratbindungstaschen und Substrat ermöglicht den Spaltprozess durch die Protease.

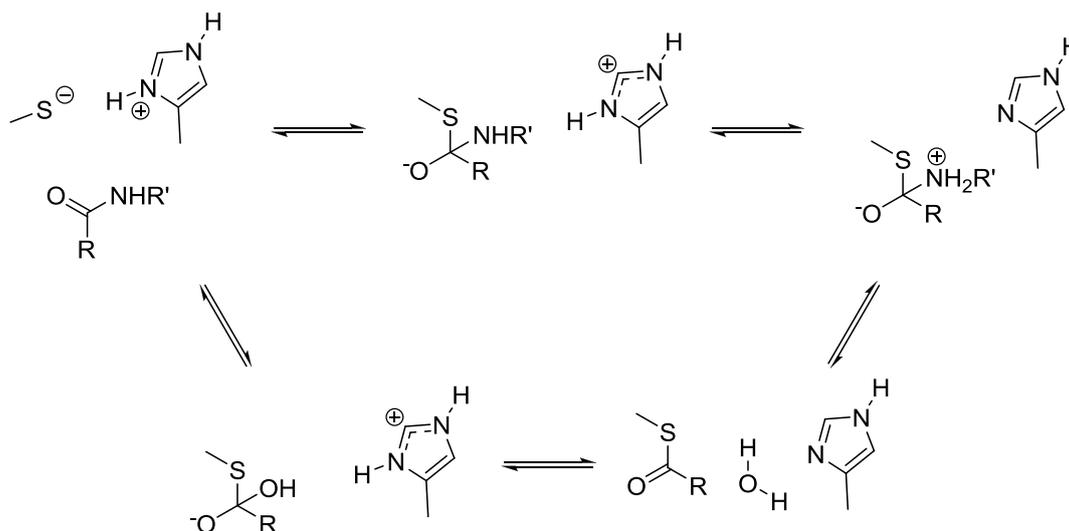


Schema 1-1: Terminologie der Protease und Substrat nach Berger und Schechter.^[6]

Ist man jedoch in der Lage die Spaltstelle so zu modifizieren, dass das Substrat nicht mehr gespalten werden kann, so erhält man einen Inhibitor. Dieser wäre in der Lage, genug Wechselwirkungen mit dem aktiven Zentrum einzugehen und es zu blockieren.^[8]

Der katalytische Mechanismus am Beispiel von Papain ist in Schema 1-2 dargestellt. Papain besitzt eine Triade aus einem nucleophilen Cystein (Cys-25, Cys⁻), einem Histidin (His-159, HisH⁺) und einem Asparagin (Asn-175). Das Asparagin übernimmt dabei die Aufgabe des Aspartats der Serin-Proteasen und ist nicht direkt an der Katalyse beteiligt.^[9] Im Gegensatz zu Serin-Proteasen mit einer katalytischen Ser-His-Asp-Triade besitzt die SARS-CoV-M^{pro} eine katalytische Cys-His-Diade (His-41 und Cys-145). Im Gegensatz zu Papain liegen die Aminosäuren des aktiven Zentrums neutral vor (Cys/His statt Cys⁻/HisH⁺)

Cysteinproteasen der Papainfamilie katalysieren die Hydrolyse von Peptiden, Amiden, Thioestern, Estern und Thionoestern.^[10] Der katalytische Mechanismus ist ähnlich dem der Serinproteasen.^[11] Im Enzym sind Cystein und Histidin verknüpft durch eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem Cystein-Thiol und dem Histidin-Imidazolring. Schon früh wurde vermutet, dass sich Histidin in unmittelbarer Nähe des Cysteins befindet.^[12] Diese Vermutung wurde durch die erste Kristallstruktur des Enzyms bestätigt.^[13] Nähert sich ein Amid dem Thiolat, so kann der Schwefel mit dem Carbonylkohlenstoff eine Bindung eingehen (Schema 1-2). Das sp²-hybridisierte C-Atom geht über in einen sp³-hybridisierten Zustand und bildet mit seinen vier Nachbaratomen einen Tetraeder. Die negative Ladung am entstehenden Intermediat wird dabei durch Wechselwirkungen der Nachbargruppen im aktiven Zentrum stabilisiert („oxyanion hole“). Anschließend kann das protonierte Imidazol sein Proton auf die Aminofunktion der Zwischenstufe übertragen und ermöglicht so die Abspaltung des Amins. Der entstehende Thioester wird im Anschluss durch Wasser hydrolysiert. Cystein-Thiolat und Histidin-Imidazolium-Ion bilden danach wieder ein Ionenpaar aus.



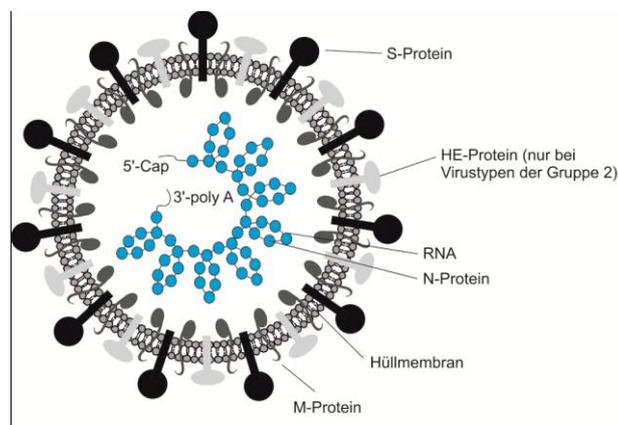
Schema 1-2: Vorgeschlagener katalytischer Mechanismus von Papain.^[14]

Die hohe Nucleophilie der Thiolgruppe am Cystein im aktiven Zentrum spielt für die Katalyse in Cysteinproteasen eine wesentliche Rolle. Unter neutralen Bedingungen bilden Cystein und Histidin im aktiven Zentrum ein Thiolat-Imidazolium-Ionenpaar. Wodurch dieses Ionenpaar stabilisiert wird, wurde in verschiedenen Studien untersucht.^[15] Ein Grund wäre die Lage der Thiolgruppe am Ende einer α -Helix, die genug Stabilität bietet, dass das Ionenpaar über einen weiten pH-Bereich stabil bleibt.^[16] Eine weitere Stabilisierung könnte durch die Nachbargruppen ausgeübt werden. Dabei spielt die Nähe von Asparagin Asn-175 eine besondere Rolle. Der Sauerstoff von Asn-175 bildet eine Wasserstoffbrückenbindung zum His-159 aus und bildet so eine Cys-His-Asn-Triade. Asn-175 hält dabei den Imidazolring in einer günstigen Position für das Thiolat-Imidazolium-Ionenpaar.

Neue QM/MM-MD-Studien haben gezeigt, dass in der Papain-ähnlichen Cysteinprotease Cathepsin B das Ionenpaar His-199H⁺/Cys-29S⁻ durch ein komplexes Wasserstoffbrücken-Netzwerk stabilisiert wird. Dieses Netzwerk besteht aus 2-4 Wassermolekülen und mehreren verschiedenen Aminosäuren (Cys-29, Ala-200 und Trp-30) in der Nähe des aktiven Zentrums. Die Berechnungen haben gezeigt, dass das HisH⁺/CysS⁻-Ionenpaar in diesem Netzwerk ca. 32-36 kJ/mol stabiler ist als im neutralen Zustand und ohne Netzwerk. Die Wassermoleküle am aktiven Zentrum tragen eine Stabilisierung von ca. 30 kJ/mol bei. Wird dieses Netzwerk durch ein Substrat unterbrochen, sollte die Nucleophilie des Thiolats zunehmen. Die Simulationen zeigten außerdem, dass beim Entfernen von einem einzelnen Wassermolekül das Ionenpaar so weit destabilisiert wird, dass ein Protonentransfer stattfinden kann, der zu einem neutralen Zustand führt.^[17]

1.3 CORONAVIREN

Die humanen Coronaviren wurden von David A. J. Tyrell und seinen Mitarbeitern 1965 bei Erkältungskrankheiten entdeckt. 1968 wurden sie wegen ihrer Unterschiede zu anderen Viren als eine eigene Familie definiert. Elektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen Virenkörper, die von einer Strahlenkranz-ähnlichen Membran umhüllt werden (lat. *corona*). Die Virionen haben einen Durchmesser von 80 bis 160 nm. Das einzelsträngige RNA-Genom hat Plusstrangorientierung und ist assoziiert mit den N-Proteinen. Dieses Nucleocapsid liegt als Helix vor und besitzt einen Durchmesser von 10 bis 20 nm. Zwischen bestimmten Aminosäuren des N-Proteins (*nucleocapsid*) und der carboxyterminalen Domäne des M-Proteins (*membrane*) kommt es zu Wechselwirkungen. Nucleocapsid und innere Membranhülle liegen somit ebenfalls assoziiert vor. Das S-Protein (*spike*) liegt als keulenförmiges Trimer vor, das aus der Membranoberfläche herausragt und so für den Strahlenkranz verantwortlich ist. Das E-Protein (*envelope*) ist nur in geringen Mengen vorhanden, das HE-Protein (*haemagglutinin-esterase*) nur bei Coronaviren der Gruppe 2. Coronaviren besitzen das größte Genom aller bekannten RNA-haltigen Viren (27000 bis 32000 Basen). Am 5'-Ende sitzt eine Cap-Gruppe, gefolgt von einer kurzen Leader-Sequenz und zwei langen „open reading frames“ (ORFs). Am 3'-Ende ist sie polyadenyliert (Schema 1-3).



Schema 1-3: Aufbau eines Coronaviruspartikels. Innen liegt das RNA-Genom als helikales Nucleocapsid vor. In die Membranhülle sind die Glycoproteine S und HE, sowie das nichtglycosylierte M-Protein eingelagert.

Coronaviren können Krankheiten in Säugetieren und Vögeln verursachen und wechseln problemlos die Spezies. Die Viren sind dabei nicht auf einzelne Organe beschränkt. Zielgewebe der Viren sind u.a. das Nervensystem, Immunsystem, Nieren, Darm und Atemwege. Beim Menschen verursachen die Viren größtenteils Erkältungskrankheiten und Infektionen im Darmtrakt.

Die Coronaviren werden in zwei Genera eingeteilt: Coronavirus und Torovirus. Coronaviren werden weiter gemäß ihren Antigen-Antikörper-Reaktionen in drei Gruppen eingeteilt (Tabelle 1-4).

Tabelle 1-4: Genera und Gruppeneinteilung der Coronaviren.^[18]

Genus	Mensch	Tier
Coronavirus	Gruppe 1	
	humanes Coronavirus 229E	Virus des transmissiblen Gastroenteritis der Schweine
	humanes Coronavirus NL63	(TGE-Virus)
		felines Coronavirus (FeCoV, FIP-Virus)
		Fledermaus-Coronavirus-HKU2, 6-8
	Gruppe 2	
	humanes Coronavirus OC43	Maus-Hepatitis-Virus (MHV), Serotypen 1-3
	humanes Coronavirus HKU1	Coronavirus des Rindes (BHV)
	SARS-Coronavirus	SARS-Coronavirus der Schleichkatze
		SARS-Coronavirus der Fledermaus
	Gruppe 3	
	-	Virus der infektiösen Bronchitis des Huhns (IBV)
Torovirus	-	equines Torovirus (Brenavirus)
		bovines Torovirus (Bredavirus)
		porcines Torovirus

Die Replikation und Transkription der CoV-RNA findet in dem Zytoplasma der infizierten Zelle statt. Dabei heftet sich der Virenkörper zuerst mit seinen S-Proteinen an die Zelloberfläche. Das SARS-Coronavirus bindet über eine Domäne der S1-Proteine an das Protein ACE-2 (ACE = Angiotensin converting enzyme) auf der Oberfläche von Pneumocyten oder Enterocyten. Der Zelleintritt des CoV wird verstärkt durch Bindungen an Lektine wie DC-SIGN, L-SIGN oder LSECtin (DC-Sign = Dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin, L-SIGN = Liver/lymph node-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing integrin, LSECtin = Liver and lymph node sinusoidal endothelial cell C-type lectin). Besitzt ein Coronavirus zusätzlich zum S-Protein auch ein HE-Protein, so ist es zudem in der Lage mit 9-O-acetylierten Neuraminsäureestern zu interagieren.^[18] Die Aufnahme der Partikel erfolgt vermutlich durch eine rezeptorvermittelte Endocytose und anschließende Fusion von Endosomen- und Virusmembran. Im Cytoplasma der Zelle wird aus der genomischen RNA das Nichtstrukturprotein pp1a und das Vorläuferprotein pp1ab translatiert. In der Sequenz des Vorläuferproteins sind die Proteasen PL1^{pro}, PL2^{pro} und 3CL^{pro} enthalten und spalten es in 16 Nichtstrukturproteine. Der Gegenstrang der genomischen RNA besitzt negative Orientierung und dient zum einen für die Synthese neuer Virusgenome und zur Bildung subgenomischer mRNA-Spezies. Im SARS-CoV gibt es 8 subgenomische mRNAs, die alle das gleiche 3'-Ende besitzen, jedoch unterschiedlich beginnen. Die Startpunkte befinden sich zwischen dem Ende von Polyprotein 1ab und dem 3'-Ende des Genoms.

Die helikalen Nucleocapside werden durch Zusammenlagern von N-Proteinen mit den genomischen RNA-Strängen gebildet. Sie verbinden sich mit den E- und M-Proteinen und der „Budding“-Prozess (Sprossung) wird gestartet. Als „Budding“ bezeichnet man den Austritt eines Nucleocapsids durch eine zelluläre Membran. Es wird von M-, S- und HE-Protein umhüllt. Durch die Golgi-Vesikel werden die Partikel zur Zelloberfläche transportiert und dort ausgeschieden.

1.4 SCHWERES AKUTES ATEMWEGSSYNDROM (SARS)

Der bekannteste Fall einer SARS-Infektion trat bei einem 48-jährigen Geschäftsmann, Johnny Cheng, Februar 2003 in Hanoi auf. Wenige Tage zuvor kam er mit dem Flugzeug aus Hong Kong und zeigte nun Symptome einer schweren Lungenentzündung, litt zudem an Kurzatmigkeit und hohem Fieber. Dr. Carlos Urbani, ein Spezialist für Infektionskrankheiten der World Health Organization (WHO), wurde hinzugezogen und beobachtete den Zustand des Kranken über mehrere Wochen. Er erkannte, dass es sich hierbei um eine neue Krankheit handelte, die seit dem 15. März 2003 als „severe acute respiratory syndrome“ oder SARS bezeichnet wird. Als Urbani selbst erkrankte, begab er sich in Quarantäne und versuchte so eine Verbreitung zu verhindern. Er verstarb an der Krankheit, die er entdeckt und benannt hatte nur wenige Tage später.

Währenddessen hatte sich die Krankheit bereits weiter ausgebreitet. Insgesamt 62 Infektionen traten in Vietnam auf, die mit Johnny Cheng in Zusammenhang gebracht werden konnten. Im April 2003 wurden bereits aus mehreren Ländern Infektionen gemeldet. Im Dezember 2003 waren bereits 800 Menschen gestorben und ca. 8400 Menschen infiziert.

SARS wird durch ein spezielles Coronavirus verursacht. Es ist höchst infektiös und wird leicht von einer Person auf die andere übertragen. Das Virus verbleibt in Urin und Kot bis zu 48 Stunden aktiv und kann Infektionen verursachen. Im Falle von Durchfall kann das Virus sogar bis zu 4 Tage aktiv bleiben. Das Virus kann bis zu 24 Stunden außerhalb eines Wirts überleben und somit auch Oberflächen kontaminieren.

Man vermutet heute, die Ursache für die Krankheit in der Guangdong-Provinz im Südwesten Chinas gefunden zu haben. Dort wird überwiegend Ackerbau und Viehzucht betrieben und der Kontakt zu Tieren ist sehr eng, die bekannt dafür sind, Krankheiten auf den Menschen zu übertragen.^[19] Auf den Tiermärkten in Guangdong wurden verschiedene Tierspezies untersucht und es konnten ähnliche Coronaviren bei Schleichkatzen und Waschbären gefunden werden. Vermutlich waren aber Fledermäuse der Gattung *Rhinolophus spp.* (Große Huftisennase) die natürlichen Wirte des Virus. Bei ihnen fand man die höchsten Konzentrationen. Sie schießen die Erreger über ihren Kot aus, die zunächst auf die Nutztiere und dann auf den Menschen weitergegeben wurden. Die Übertragung von Mensch zu Mensch erfolgt v.a. durch Tröpfchen- und Schmierinfektion.^[18]

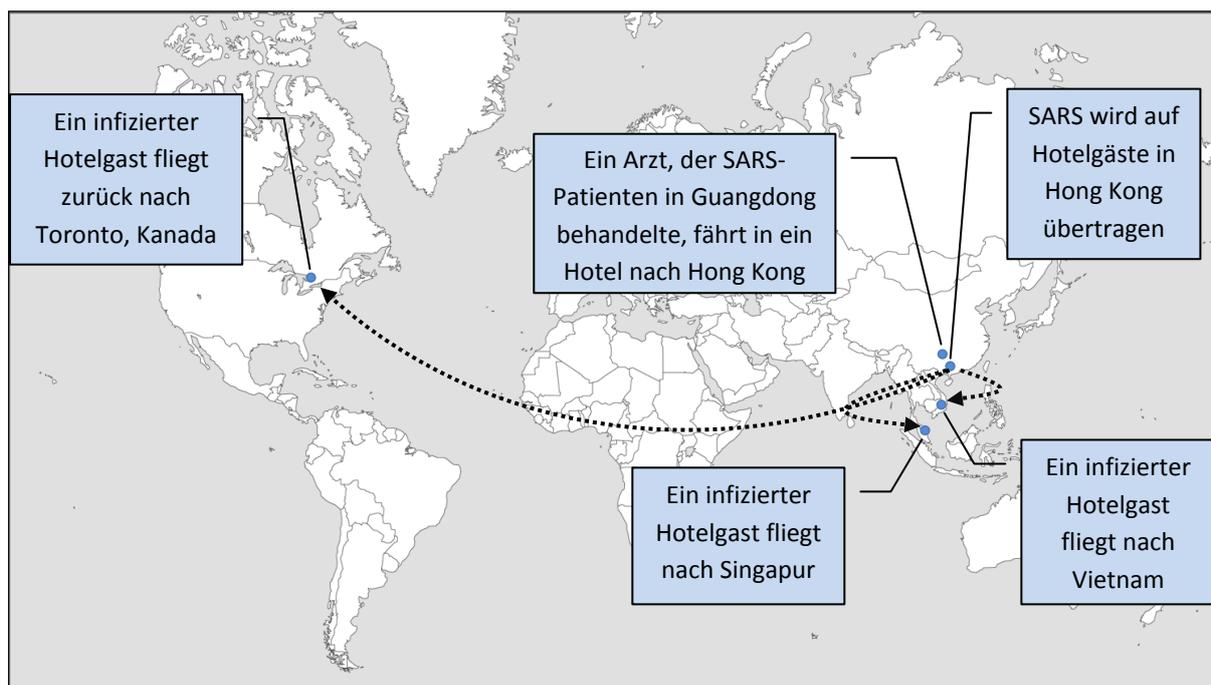


Abbildung 1-1: Frühe Ausbreitung der SARS-Epidemie durch modernen Flugverkehr.

Obwohl die Öffentlichkeit erst zwischen Februar und März 2003 von SARS erfuhr, gab es bereits November 2002 die ersten Fälle dieser Krankheit in Guangdong. Ein Arzt, der die Krankheit behandelte, brachte wahrscheinlich das Virus nach Hong Kong, wo er auch Johnny Chen infizierte. Die chinesische Regierung schwieg lange aus Angst vor einer Panik und vor einer ökonomischen Krise über diese Epidemie, so dass sich die Krankheit leicht über den gesamten Globus ausbreiten konnte (Abbildung 1-1). Besonders Bedienstete im Gesundheitssektor waren betroffen, da sie sich nicht ausreichend geschützt hatten.

August 2003 hatten sich laut WHO bereits mehr als 8422 Menschen weltweit infiziert und 908 waren daran verstorben (Abbildung 1-2). Die Sterblichkeitsrate liegt bei 15 %. Kinder erfahren eine mildere Form der Krankheit mit geringerer Sterblichkeit. Besonders hoch ist die Sterblichkeit in der älteren Bevölkerungsschicht, aufgrund deren schwächeren Immunsystems und geringerer Lungenkapazität.

Die Eindämmung der Epidemie gelang durch die Isolierung der Menschen, die typische Symptome zeigten und durch Quarantäne der Menschen, die evtl. infiziert wurden. Durch Reiseverbote und Anweisungen, sowie die intensive Beobachtung der SARS-Patienten konnte eine weitere Verbreitung des Virus verhindert werden.^[19]

Hemmstoffe der viralen Protease sind noch in der Entwicklung. Impfstoffe gibt es noch nicht. Zur Behandlung der Symptome wurden die Patienten mit Ribavirin behandelt. Bei schweren Fällen kamen zudem Corticosteroide oder hoch dosierte Immunglobuline zum Einsatz.^[18]

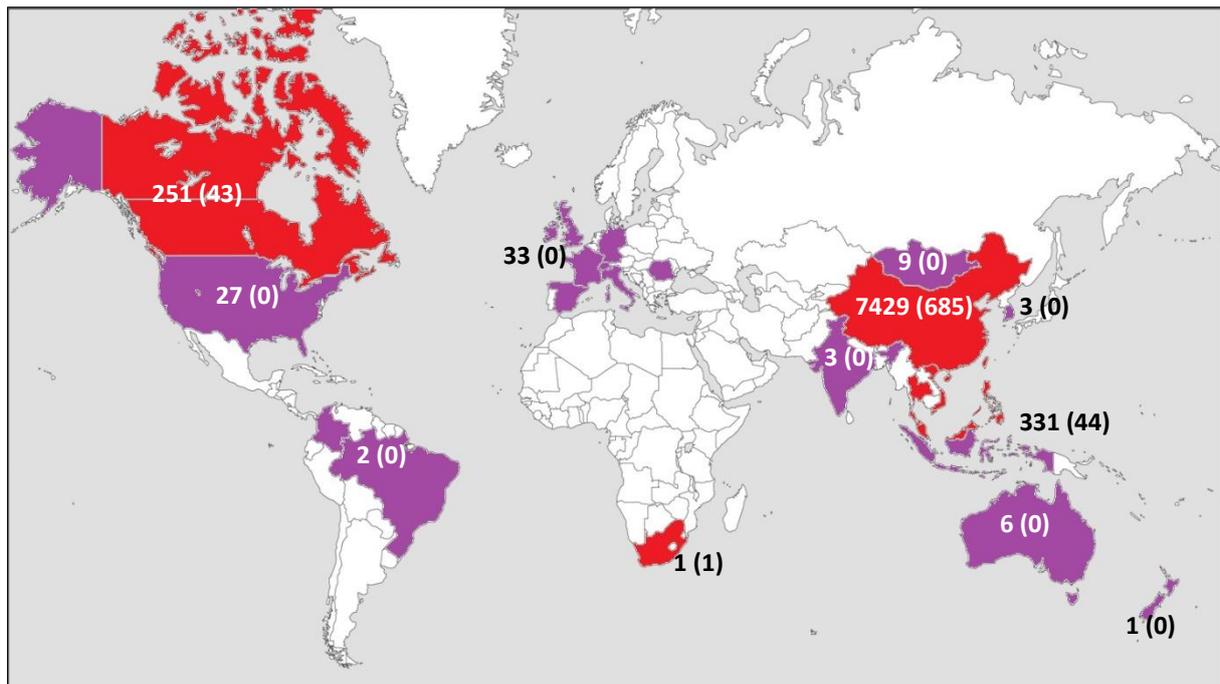


Abbildung 1-2: SARS-Daten der WHO im Dezember 2003: Anzahl der bekannten Infektionen (Zahl der Todesopfer).^[20]

1.5 PROTEASEN DES SARS-CoV ALS TARGETS FÜR INHIBITOREN

Im SARS-Coronavirus wird durch die mRNA das Replikase-Polyprotein pp1a (486 kDa) gebildet. Dieses Protein wird in elf Abschnitte gespalten (NSP1 bis NSP11). Dabei handelt es sich um Sequenzen einer Papain-ähnlichen Protease PL2^{pro} (NSP3) und eines Enzym, das der 3C-Protease der Picornaviren ähnelt (3CL^{pro}, M^{pro}, NSP5). Die PL2^{pro} besteht aus 1922 Aminosäuren und hat ein Molekulargewicht von 180 bis 200 kDa. Sie spaltet pp1a und pp1ab zwischen NSP2 und NSP3 und bewirkt die Deubiquitylierung von Proteinen. Die 3CL^{pro} (M^{pro}) ist für elf Spaltungen in den Vorläuferproteinen verantwortlich und ist damit die hauptsächlich aktive Protease. Diese Funktion macht die Protease zu einem wichtigen Target bei der Entwicklung von Wirkstoffen gegen SARS und andere Coronaviren. Beide Proteasen findet man bei allen Coronaviren.

Die 3CL^{pro} spaltet im Substrat die Sequenz Thr-Ser-Ala-Val-Leu-Gln↓(Ser, Gly, Phe, Arg, Lys, Met) (P6-P6'; ↓ zeigt die Spaltstelle). In aktuellen Untersuchungen wurde auch herausgefunden, dass Substrate mit den Peptiden Val-Val-Arg-Leu-Gln↓(Ser, Gly, Phe), Thr-Val-Arg-Leu-Gln↓(Ser, Gly, Phe) und Phe-Val-Arg-Leu-Gln↓(Ser, Gln, Phe) in Position P5 bis P3' zu einer erhöhten relativen Aktivität führen.^[21]

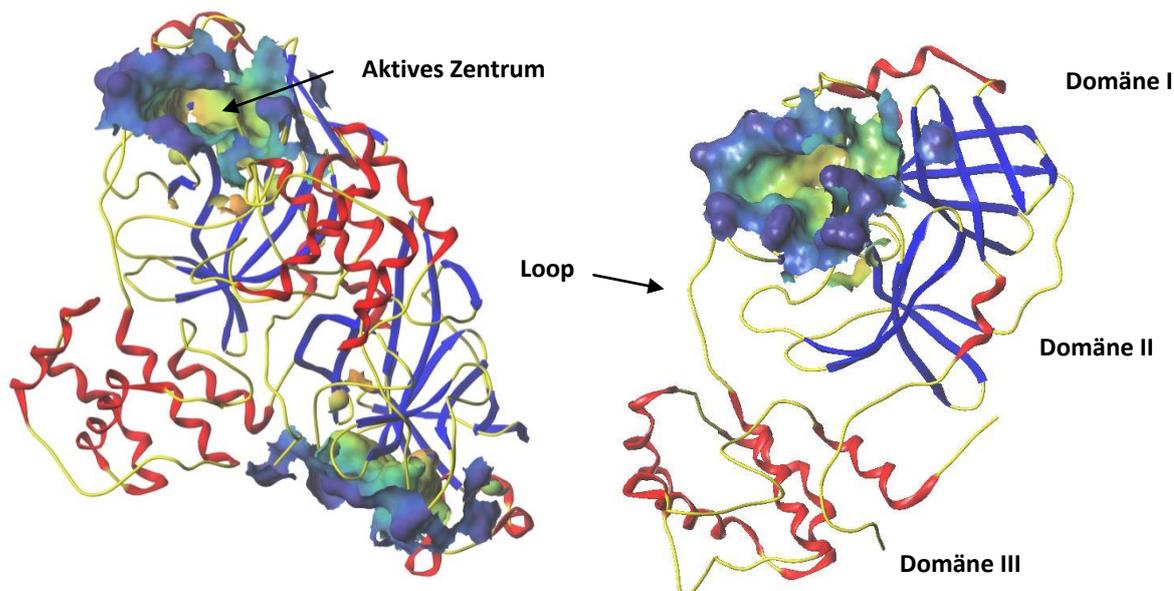


Abbildung 1-3: Links: Struktur des SARS-CoV-M^{pro}-Dimers (pdb-code: 2AMD); Rechts: Struktur des SARS-CoV-M^{pro}-Monomers.

Die SARS CoV-M^{pro} besitzt ein Molekulargewicht von 33.8 kDa und liegt in der aktiven Form als Homodimer vor (Abbildung 1-3). Beide Monomere (Protomere A und B) ordnen sich senkrecht zueinander an. Sie besteht insgesamt aus 306 Aminosäuren. Man unterteilt ein Monomer in drei Domänen (I-III). Die Domänen I und II besitzen antiparallele β -Faltblattstrukturen und Domäne III bildet einen kugelförmigen Cluster aus fünf α -Helix-Einheiten. Ein „loop“ aus den Aminosäuren 185 bis 200 verbindet Domäne II mit der C-terminalen Domäne III. Die Kontaktfläche der beiden Monomere beträgt ca. 1300 Å². Das N-terminale Ende liegt zwischen Domäne II und III des einen Protomers und zwischen Domäne II des anderen Protomers und spielt bei der Bildung des Dimers eine wichtige Rolle.^[7] Das aktive Zentrum liegt zwischen den Domänen I und II.

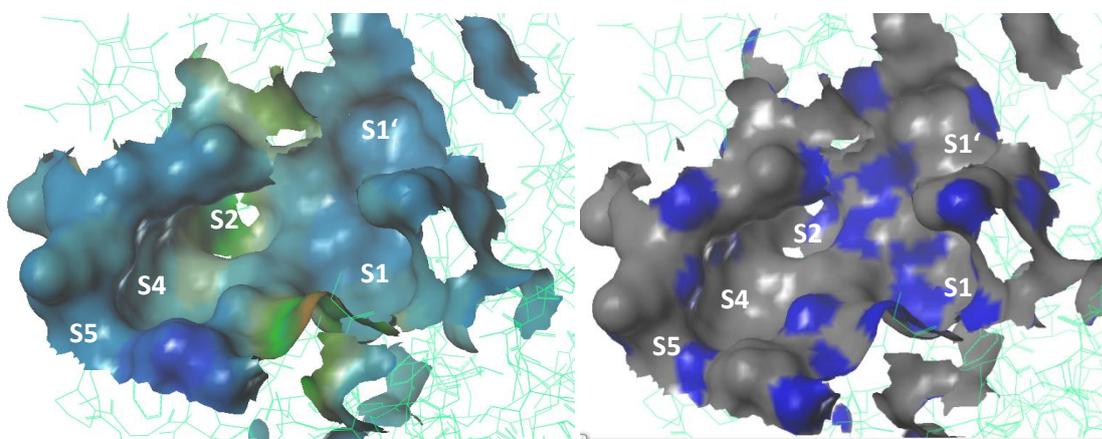


Abbildung 1-4: Aktives Zentrum der SARS-CoV-M^{pro}. Links: lipophiles Potential; Rechts: H-bonding-sites (blau).

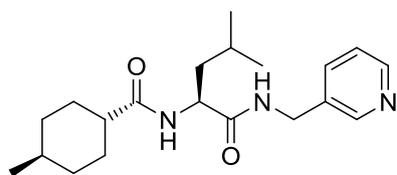


Abbildung 1-6: Möglicher neuer Inhibitor **1** (34j) mit Pyridin-Einheit in P1-Position.

Der Dockingmodus für dieses Molekül postuliert, dass der Pyridinring an die Stelle des Lactamrings in der S1 Tasche tritt und dort mit seinem N-Atom eine H-Brücke zu His-165 ausbilden kann. Da im Dockingergebnis der neuen Verbindung **1** die S1' Tasche unbesetzt blieb und die Peptidkette, bestehend aus Leucin und 4-Methylcyclohexancarbonsäure, bereits ausreichend gut in die Bindetaschen S2 und S4 passt (Abbildung 1-7), sollten in dieser Arbeit verschiedene Seitenketten R an der Methylgruppe des Pyridins eingefügt werden (B, Schema 1-4). Damit sollte die noch unbesetzte Bindetasche S1' gefüllt werden.

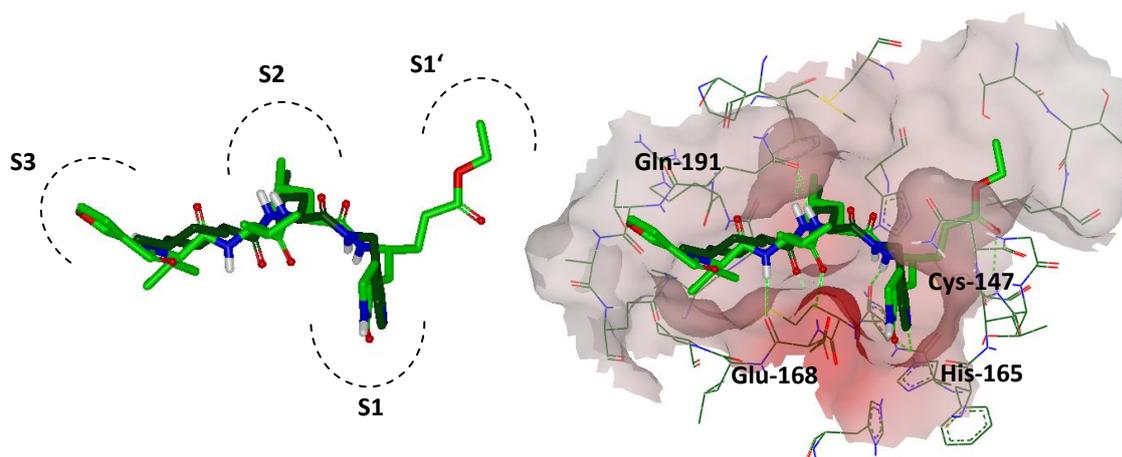
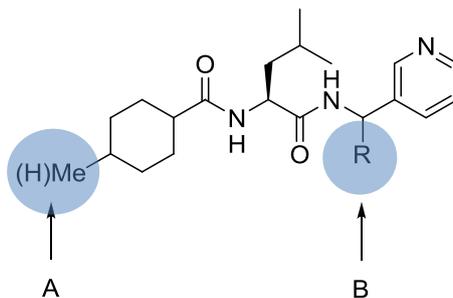


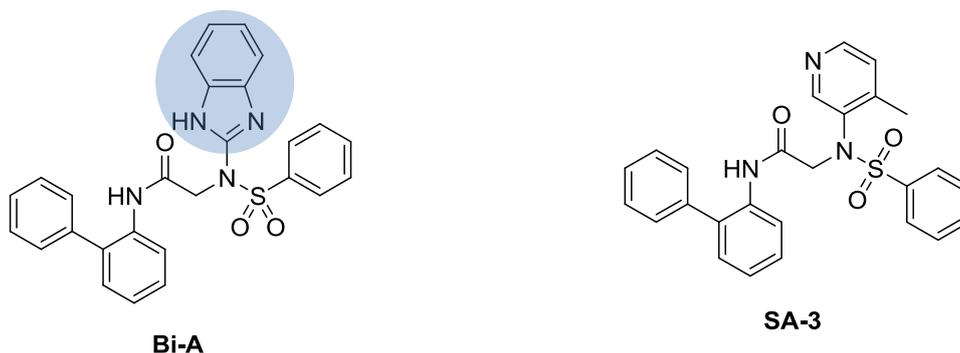
Abbildung 1-7: Überlagerung des postulierten Bindungsmodus von Verbindung **1** (dunkel) mit dem Bindungsmodus von Ligand 9IN (hell).

Um konfigurative Möglichkeiten einzuschränken, sollte im Laufe der Arbeit außerdem die Methylgruppe der Cyclohexancarbonsäure durch Wasserstoff ersetzt werden (A, Schema 1-4).



Schema 1-4: Postulierte Leitstruktur für Inhibitoren gegen SARS-CoV-M^{pro}.

In einem weiteren Docking-Experiment an der SARS-M^{pro} wurde eine weitere Verbindung als aussichtsreicher Inhibitor gefunden (Programm: GOLD, CCDC Software Limited^[25]). Die Verbindung besteht aus einem Biphenylring, der sich sehr gut in die S2-Tasche dreht. In den beiden Taschen S1 und S1' liegt ein mit einem Phenylsulfon *N*-verknüpftes 1H-2-Aminobenzimidazol (Abbildung 1-8). Beide Fragmente sind durch eine Acetylkette verknüpft. Die postulierte gute Wechselwirkung lässt sich einerseits durch die lipophile Eigenschaft der Benzolringe, andererseits durch Wasserstoffbrückenbindungen erklären.



Durch gezielten Austausch des Benzimidazolrings durch Pyridin (**SA-3a**) sollte eine erneute Wasserstoffbrückenbindung mit Histidin-167 ermöglicht werden. Um die Position des Pyridins zu fixieren wurde in 4-Position eine Methylgruppe eingefügt. Mit dieser Änderung ergaben sich zusätzliche Wasserstoffbrückenbindungen zu Cystein-149, Glycin-147 und Histidin-167. Die Durchführung der Dockingexperimente wurde freundlicherweise von Herrn Apotheker Armin Welker (AK Prof. C. Sotriffer, Univ. Würzburg) durchgeführt.

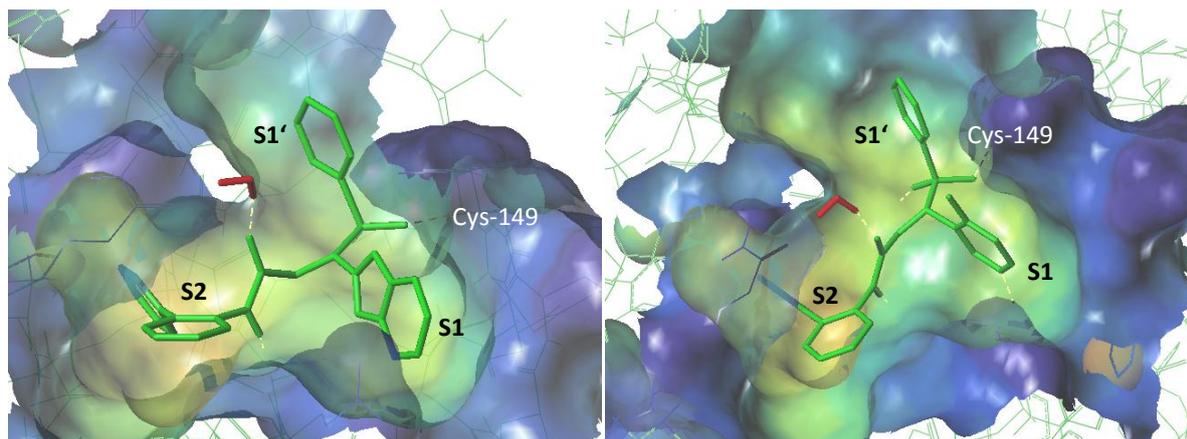


Abbildung 1-8: Links: Dockingmodus des 1H-2-Aminobenzimidazols Bi-A ($C=O \cdots H_2O = 1.62$ A, $NH \cdots HIS168.O = 2.06$ A; $S=O_2 \cdots HIS45.HE2 = 2.22$ A); Rechts: Dockingmodus des 3-Amino-4-methylpyridins SA-3a ($C=O \cdots H_2O = 1.55$ A; $NH \cdots HIS168.O = 2.11$ A; $S=O_1 \cdots CYS149.H = 2.10$ A; $S=O_1 \cdots GLY147.H = 1.96$ A; $S=O_2 \cdots HIS45.HE2 = 2.11$ A; $N \cdots HIS167.HE2 = 2.45$ A).

1.6.2 KOVALENT-REVERSIBLE INHIBITOREN

Ein weiteres Projekt war die Darstellung von verschiedenen Vinylsulfonen und die Untersuchung der Kinetik ihrer Reaktionen mit niedermolekularen Thiolen durch NMR-Spektroskopie.

Die Wirkung von Vinylsulfonen auf einige Cysteinproteasen wurde bereits durch Palmer *et al.* untersucht. Ihr Ziel war es, einen Inhibitor zu entwickeln, der gegenüber Serinproteasen, Metalloproteasen und Aspartylproteasen nicht reaktiv ist. Da substituierte Vinylsulfone weniger reaktiv gegenüber Nucleophilen sind als analoge Vinylketone oder Vinylester wurden peptidomimetische, irreversibel hemmende Inhibitoren auf der Grundlage eines Vinylsulfons entwickelt (vgl. Abbildung 1-9). Die gezeigte Verbindung wies an den Cathepsinen B, L und S K_i -Werte von ca. 11, 1.0 und 0.011 μM auf.^[26]

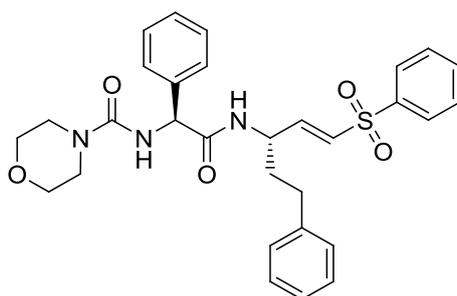
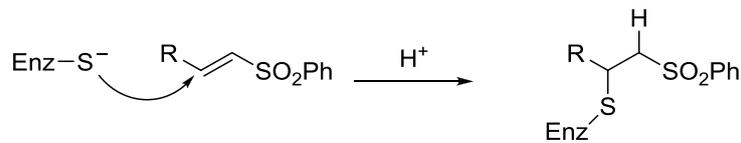


Abbildung 1-9: Vinylsulfon als irreversibler Inhibitor.

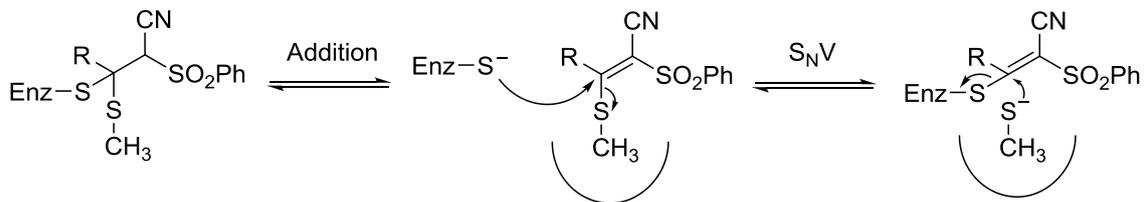
In anschließenden Testungen wurde ihre Wirkung gegen die Malariaerreger *P. falciparum* und *P. vinckeii* genauer untersucht. Die in Abbildung 1-9 dargestellte Verbindung zeigte an *P. falciparum* und *P. vinckeii* eine

Hemmung im mittleren nanomolaren Bereich. Sowohl die Hämoglobin-Degradierung durch den Erreger als auch dessen metabolische Aktivität wurden durch den Inhibitor im nanomolaren Bereich verringert.^[27]

Da bislang nur Vinylsulfone mit einem irreversiblen Mechanismus (Schema 1-5) bekannt sind, war das Ziel dieser Arbeit, zu zeigen, dass bestimmte Vinylsulfone mit Cysteinproteasen eine kovalent-reversible Bindung eingehen können (Schema 1-6). Entsprechende QM-Rechnungen wurden zuvor in der Arbeitsgruppe Prof. Bernd Engels (Univ. Würzburg) durchgeführt. Ziel zukünftiger Arbeiten ist es dann, diese substituierten Vinylsulfone in Form peptidomimetischer Inhibitoren einzusetzen und zu testen.



Schema 1-5: Irreversible Hemmung durch Vinylsulfone.

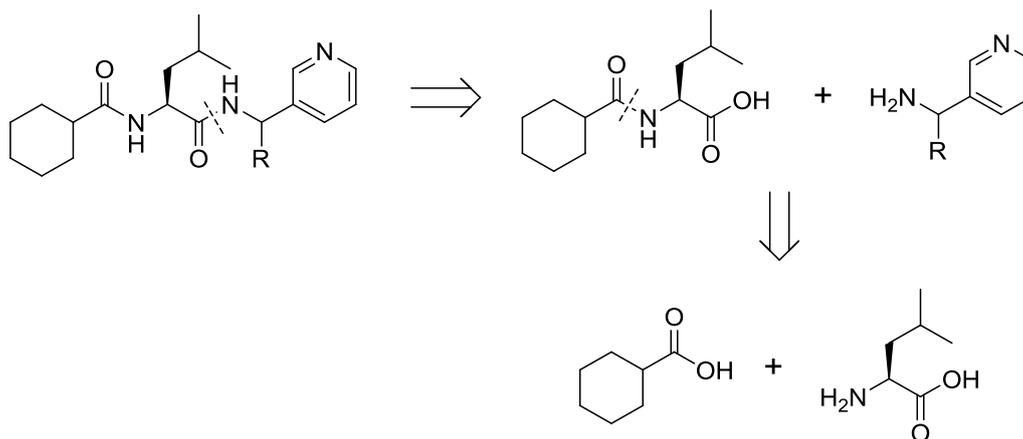


Schema 1-6: Reversible vinyloge Substitution oder Addition an Vinylsulfonen.

2 DARSTELLUNG VON INHIBITOREN DER SARS-CoV-M^{PRO}

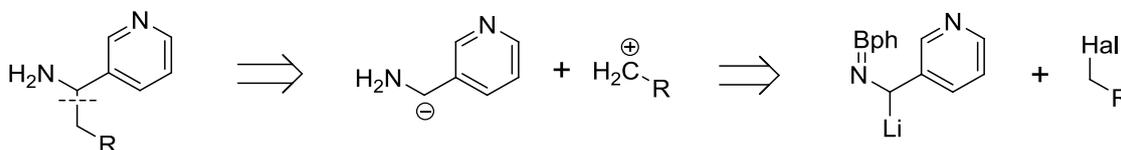
2.1 RETROSYNTHESEN

Die Leitstrukturen der Pyridinamide lassen sich generell in zwei Fragmente aufteilen: Einerseits in das Fragment Cyc-Leu-OH und andererseits in das Fragment der Aminomethylpyridine. Das Leucinamid lässt sich durch eine einfache Peptidkupplung von Cyclohexancarbonsäure und H-Leu-OBn darstellen. Das Fragment kann im letzten Schritt mit (2-Aminomethyl)pyridin oder seinen Derivaten verknüpft werden (Schema 2-1).



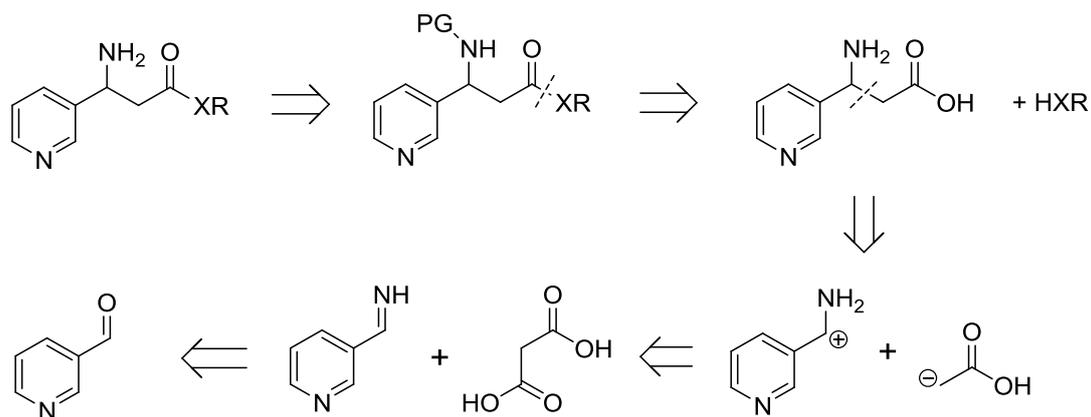
Schema 2-1: Retrosynthese der Pyridinamide.

Die (2-Aminomethyl)pyridine sollen unterschiedlich substituiert sein. Die erste große Klasse bilden dabei die alkylsubstituierten Verbindungen. Eine Darstellung dieser Verbindungen erfolgt nach dem Schützen der Aminofunktion durch Benzophenon unter Ausbildung einer Schiff'schen Base. Durch Deprotonierung und anschließende Umsetzung mit Alkylhalogeniden lässt sich eine Vielzahl verschieden substituiertes darstellen. Die Aminofunktion kann durch Hydrolyse wieder aus dem Imin freigesetzt werden (Schema 2-2).



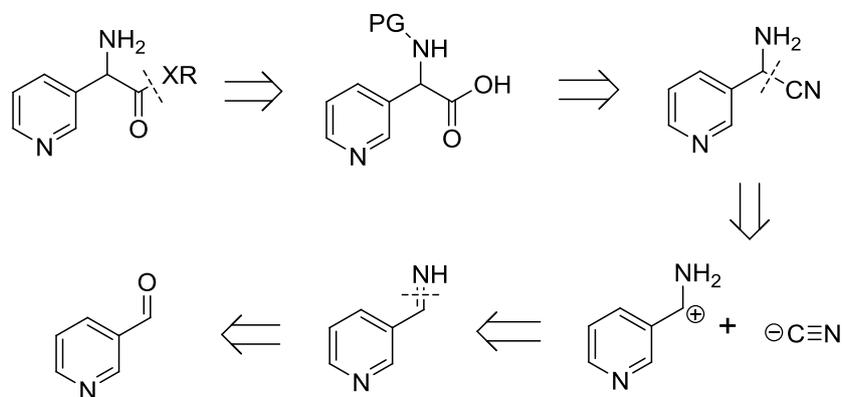
Schema 2-2: Retrosynthese der Derivate des (2-Aminomethyl)pyridins (Hal = Cl, Br; R = Alkyl, O; Bph = Benzophenon).

Die zweite große Klasse potentieller Inhibitoren basiert auf der β -Aminosäure 3-(Amino-3-pyridyl)propionsäure. Die Darstellung dieser Verbindung erfolgt durch Umsetzung von 3-Pyridincarbaldehyd, Ammoniumchlorid und Malonsäure. Malonsäure bildet in diesem Fall den eingefügten C2-Baustein, da bei der Synthese eine der Carbonsäuregruppen als Kohlendioxid abgespalten wird. Ausgehend von dieser Verbindung kann eine Vielzahl verschiedener Amide und Ester hergestellt werden (Schema 2-3).



Schema 2-3: Retrosynthese der Derivate der β -Aminosäure 3-(Amino-3-pyridyl)propionsäure (R = Alkyl; X = NH, O; PG = Schutzgruppe).

Die dritte große Klasse wird durch Derivate der α -Aminosäure Amino(pyridin-3-yl)essigsäure gebildet. Die Darstellung der Aminosäure soll durch eine Streckersynthese erfolgen. Ausgehend von 3-Pyridincarbaldehyd und Kaliumcyanid ist es so möglich, zunächst ein Cyanhydrin darzustellen, das anschließend zur Aminosäure hydrolysiert werden kann (Schema 2-4).



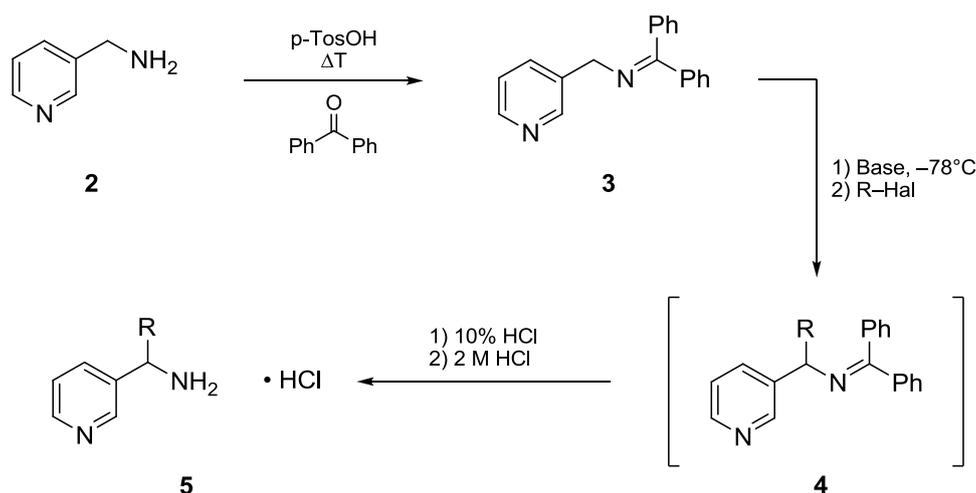
Schema 2-4: Retrosynthese der Derivate der Amino(pyridin-3-yl)essigsäure (R = Alkyl; X = NH, O; PG = Schutzgruppe).

In den beiden nachfolgenden Kapiteln 2.2 und 2.3 wird zunächst auf die Darstellung der Pyridinamide eingegangen. Kapitel 2.2 beschäftigt sich mit der Synthese der dargestellten 3-(Aminomethyl)pyridine. Das anschließende Kapitel 2.3 zeigt die Darstellung des zweiten Fragments und die Darstellung der Zielverbindungen.

2.2 DARSTELLUNG DER AMINOMETHYLPYRIDINDERIVATE

2.2.1 DARSTELLUNG VON ALKYLSUBSTITUIERTEN (3-AMINOMETHYL)-PYRIDINDERIVATEN (AMP)

Die Synthese der alkylsubstituierten (3-Aminomethyl)pyridin-Derivate erfolgte gemäß Schema 2-5.



Schema 2-5: Darstellung der (3-Aminomethyl)pyridinderivate 5a-x.

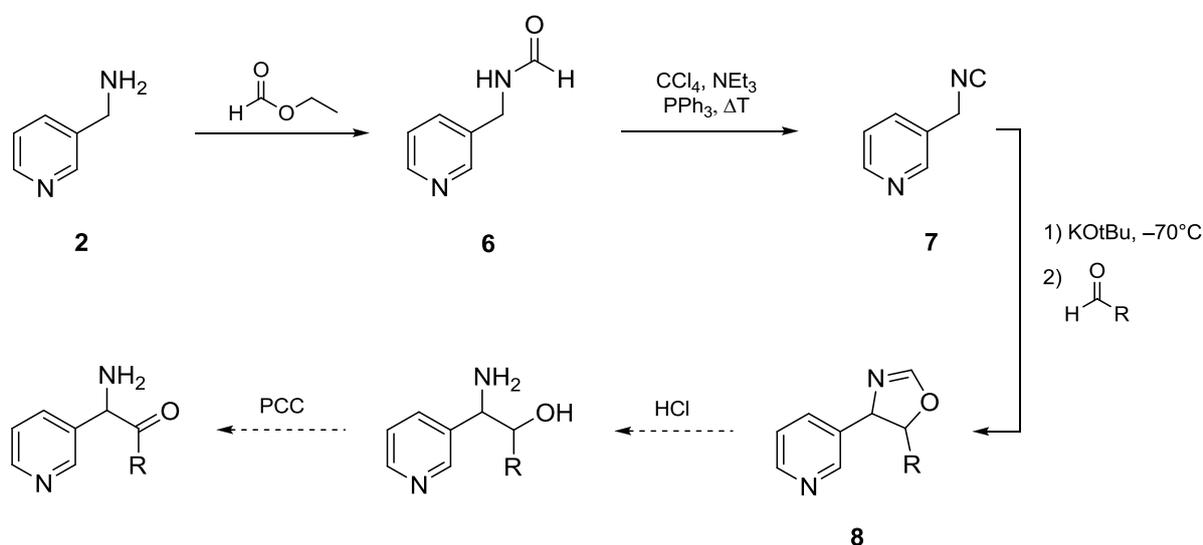
Das Imin **3** wurde durch Kondensation von (3-Aminomethyl)pyridin (**2**) mit Benzophenon in Anwesenheit einer katalytischen Menge 4-Toluolsulfonsäure in Toluol mit einer Ausbeute von 99 % dargestellt. Die erhaltene Verbindung wurde durch die Base Butyllithium bzw. Lithiumdiisopropylamin in Tetrahydrofuran bei -78°C deprotoniert und anschließend bei -40°C mit einem Halogenalkan zur racemischen Verbindung **4** umgesetzt. Durch anschließende Hydrolyse mit Salzsäurelösung wurde die entsprechende Aminoverbindung als Öl isoliert und durch Versetzen mit 2 M etherischer Salzsäurelösung als Hydrochlorid **5** gefällt. Eine Übersicht über die dargestellten Verbindungen ist in Tabelle 2-1 gegeben.

Tabelle 2-1: Übersicht über die dargestellten (3-Aminomethyl)pyridine.

Verbindung	R	Ausbeute (%)
5a	Cyclohexyl	76
5b	Cyclohexylmethyl	60
5c	(3-Phenyl)-propyl	38
5d	(3-Methyl)-butyl	37
5e	3-(Phenyl)-prop-2-en-yl	50
5f	But-2-en-yl	49
5g	(2-Phenoxy)-ethyl	50
5h	Ethyl	44
5i	Butyl	56
5j	(1-Methyl)-ethyl	50
5k	(2-Methyl)-propyl	82
5l	(1,1-Dimethyl)-propyl	65
5m	Octyl	39
5n	Pentyl	36
5o	Propyl	72
5p	Cyclopentyl	61
5q	Cyclopropyl-methyl	69
5r	(2,2-Dimethyl)-propyl	63
5s	Cyclobutyl-methyl	73
5t	(2-Ethyl)-butyl	91
5u	(3-Methyl)-butyl	74
5v	(2-Methyl)-prop-1-en-3-yl	54
5w	(2-Methyl)-but-2-en-4-yl	50
5x	Cyclohexa-2-en-1-yl	75

2.2.2 VERSUCHTE DARSTELLUNG VON PYRIDYL-SUBSTITUIERTEN KETOAMINEN ÜBER OXAZOLE

Die Synthese der Oxazole erfolgte gemäß Schema 2-6 ausgehend von (3-Aminomethyl)-pyridin (**2**). Im ersten Schritt erfolgt dabei eine Aminolyse des eingesetzten Ameisensäureethylesters zu Verbindung **6** mit einer Ausbeute von 94 %. Durch anschließende Umsetzung mit Tetrachlorkohlenstoff, Triethylamin und Triphenylphosphin konnte die Isonitril-Verbindung **7** mit einer Ausbeute von 54 % durch Destillation gewonnen werden. Diese Verbindung reagierte mit Kalium-*tert*-butanolat und den verwendeten Aldehyden durch eine Ringschlussreaktion zu diastereomeren Oxazolen **8a-c**. Im Anschluss sollte der Oxazolring in Salzsäurelösung gespalten und dadurch der entsprechende Aminoalkohol gewonnen werden. Im Folgenden sollte die Alkoholfunktion zum Keton oxidiert werden, um auf diese Weise racemische Aminoketon-Verbindungen isolieren zu können. Diese Route wurde aufgrund geringer Ausbeuten nicht weiter verfolgt.



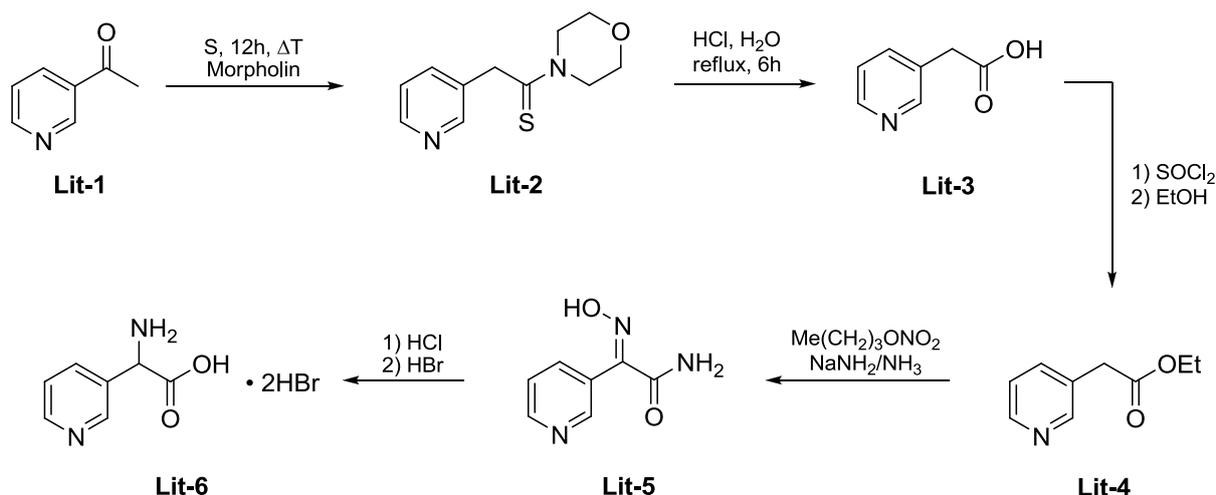
Schema 2-6: Versuchte Darstellung von Aminoketonen.

Tabelle 2-2: Überblick über die hergestellten Oxazolverbindungen.

Verbindung	R	Ausbeute (%)
8a	(2-Methyl)-propyl	42
8b	Isopropyl	60
8c	Thiophen-2-yl	38

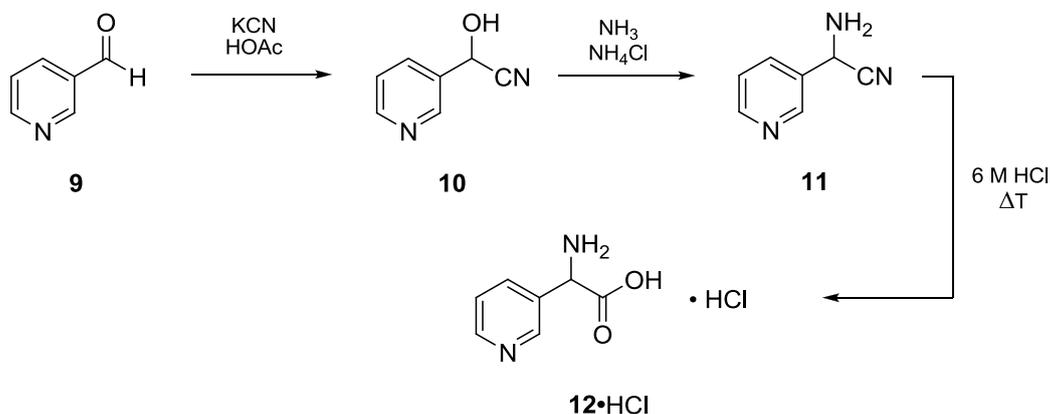
2.2.3 DARSTELLUNG VON AMINO(PYRIDIN-3-YL)ESSIGSÄURE

Die in der Literatur beschriebene Methode zur Darstellung von Amino(pyridin-3-yl)essigsäure beginnt bei der Umsetzung von 3-Acetylpyridin (**Lit-1**) mit Schwefel und Morpholin zu dem Thioamid **Lit-2**.^[28] Durch anschließende Hydrolyse mit Salzsäurelösung erhält man die entsprechende Carbonsäure **Lit-3**. Nach Veresterung und Einführung der Aminofunktion in zwei weiteren Schritten wird die gewünschte Verbindung als Hydrobromid (**Lit-6**) isoliert (Schema 2-7). Diese Route wurde jedoch aufgrund zu geringer Ausbeuten nicht verfolgt.



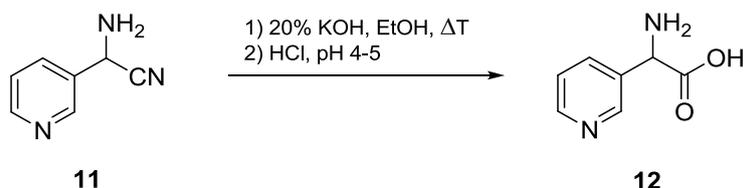
Schema 2-7: Literaturbekannte Darstellung von Amino(pyridin-3-yl)essigsäure.

Die in der vorliegenden Arbeit durchgeführte Syntheseroute nach Schema 2-8 basiert auf der Streckersynthese. Ausgangspunkt war dabei 3-Pyridincarboxaldehyd (**9**). Durch Umsetzung mit Kaliumcyanid in essigsaurer Lösung wurde das entsprechende Cyanhydrin **10** mit einer Ausbeute von 78 – 80 % isoliert. Die anschließende Umsetzung zu Verbindung **11** erfolgte in einer Lösung von Ammoniak und Ammoniumchlorid mit einer Ausbeute von 60 – 79 %.^[29] Durch Hydrolyse in 6 M wässriger Salzsäurelösung konnte Amino(pyridin-3-yl)essigsäure (**12**·HCl) als Hydrochlorid mit einer Ausbeute von 99 % dargestellt werden.



Schema 2-8: Darstellung von Amino(pyridin-3-yl)essigsäure (**12**·HCl).

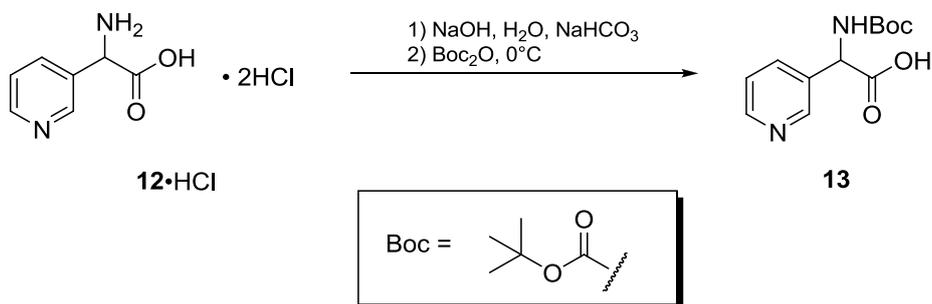
Ausgehend von der Verbindung **11** wurde noch vor der Aufreinigung des Edukts in einem weiteren Versuch nach Schema 2-9 die Aminosäure **12** auch durch basische Hydrolyse mit Kaliumhydroxid in Ethanol dargestellt. Nach Versetzen mit Salzsäurelösung konnte die Aminosäure mit einer Ausbeute von 44% isoliert werden, indem das Produkt aus wässrig-ethanolischer Lösung bei pH 4 – 5 durch Zugabe von Salzsäurelösung ausgefällt wurde.



Schema 2-9: Basische Hydrolyse von Verbindung 11.

Nachteil bei diesen beiden Methoden war jedoch, dass Salze als Nebenprodukte anfielen, die nur aufwendig entfernt werden konnten. Bei beiden Hydrolysen blieb nach dem Eindampfen der wässrigen Lösung Ammoniumchlorid als Nebenprodukt zurück, bei der basischen Hydrolyse verblieb zusätzlich Kaliumchlorid als Nebenprodukt zurück. An einer geringen Menge Rohprodukt ließen sich beide Salze durch Anwendung eines Kationenaustauschers entfernen.

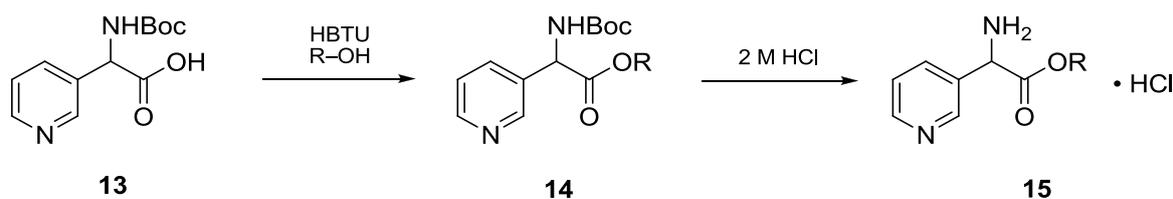
Bei größeren Mengen erwies es sich als geeignetere Methode, das Rohprodukt mit Di-*tert*-butyldicarbonat weiter umzusetzen und die so erhaltene Boc-geschützte Aminosäure **13** durch Extraktion zu isolieren. Die Ausbeute betrug dabei 30 – 52% (Schema 2-10).



Schema 2-10: Darstellung von N-Boc-Amino(pyridin-3-yl)essigsäure.

2.2.3.1 DARSTELLUNG VON AMINO(PYRIDIN-3-YL)ESSIGSÄUREESTERN

Die Darstellung der 3-Pyridylglycinester erfolgte nach Schema 2-11. Dabei wurde die Boc-geschützte Aminosäure **13** zuerst mit HBTU (HBTU = 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluroniumhexafluorophosphat) zum Aktivester und anschließend mit dem entsprechenden Alkohol zum Ester umgesetzt. Anschließend wurden die dargestellten Ester-Verbindungen **14a-h** durch etherische Chlorwasserstofflösung entschützt und so die Aminoverbindungen **15a-h** als Hydrochloride erhalten.

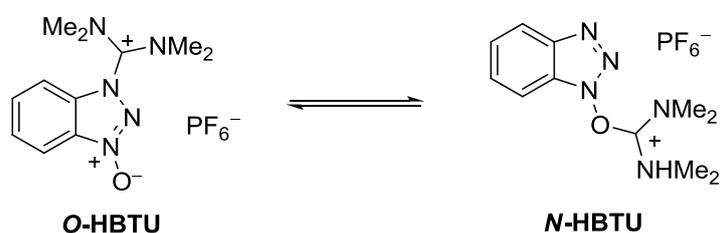


Schema 2-11: Darstellung der Amino(pyridin-3-yl)essigsäureester.

Tabelle 2-3: Übersicht über die dargestellten Amino(pyridin-3-yl)essigsäureester.

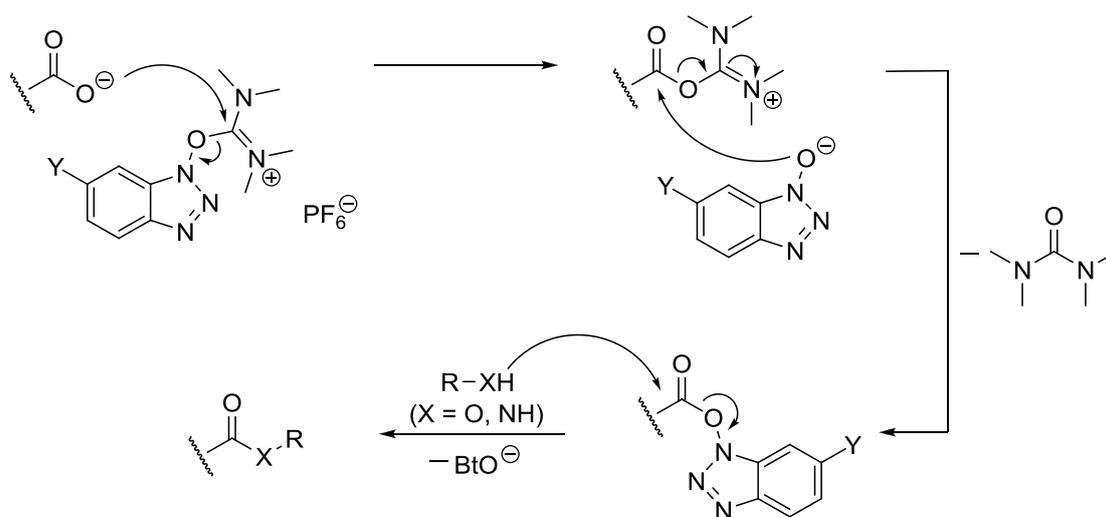
Verbindung	R	Ausbeute (%)
15a	Cyclohexyl	45
15b	Cyclohexylmethyl	65
15c	Butyl	90
15d	Prop-2-yl	75
15e	Propyl	91
15f	Ethyl	95
15g	Methyl	95
15h	Cyclopentyl	32

Für die Kupplungen mit Verbindung **13** wurden das Kupplungsreagenz HBTU verwendet. HBTU hat den Vorteil, dass es im Gegensatz zu DCC keine Nebenreaktionen eingeht. In aktuellen Studien wurde anhand der Kristallstrukturen von HBTU und HATU gezeigt, dass beide Verbindungen im kristallinen Zustand nicht wie früher angenommen als Uronium-Salz vorliegen, sondern die Guanidiniumform bevorzugen.^[30] Rechnungen zeigten zudem, dass die *N*-Form 4.9 kcal/mol stabiler ist als die *O*-Form.^[31] In Lösung liegen beide Formen aber im Gleichgewicht vor (Schema 2-12). Uroniumspezies finden außerdem Verwendung zur Herstellung von substituierten Guanidinen durch Reaktion mit Aminen. Diese Seitenreaktion kann durch Einsatz von HOBT als Additiv verringert werden. Das Gegenion hat keinen Einfluss auf die Reaktivität.^[32] Die Vorteile von HBTU sind die sehr geringe Racemisierungsrate, einfache Reaktionsbedingungen, kurze Reaktionszeiten und hohe Ausbeuten.^[33,34]



Schema 2-12: Isomere von HBTU.

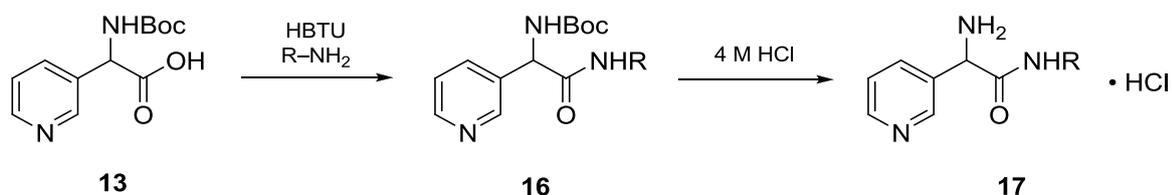
Schema 2-13 zeigt den Kupplungsmechanismus mit HBTU. Das Carboxylat greift im ersten Schritt an HBTU nucleophil an und setzt dabei ein Äquivalent N-Hydroxybenzotriazol (HOBT) frei. Dieses reagiert anschließend mit dem gebildeten Intermediat zu einem Aktivester unter Abspaltung von Tetramethylharnstoff. Die Bildung des Harnstoffs als Nebenprodukt ist dabei die treibende Kraft der Reaktion.^[32] Dieser Aktivester wird leicht von Nucleophilen wie Alkoholen oder Aminen angegriffen und bildet auf diese Weise Ester oder Amide.



Schema 2-13: Kupplungsmechanismus mit *O*-HBTU ($Y = \text{H}$) und *O*-HCTU ($Y = \text{Cl}$).

2.2.3.2 DARSTELLUNG VON AMINO(PYRIDIN-3-YL)ESSIGSÄUREAMIDE

Auf gleiche Weise wie die Ester-Verbindungen **15a-g** wurden auch die Amino(pyridin-3-yl)essigsäureamide **17** hergestellt. Anstelle von Alkoholen wurden hier jedoch primäre Amine eingesetzt. Die erhaltenen Boc-geschützten Amide **16** wurden im Anschluss durch 4 M methanolische Chlorwasserstofflösung entschützt und die entsprechenden Verbindungen als Hydrochloride isoliert (Schema 2-14).



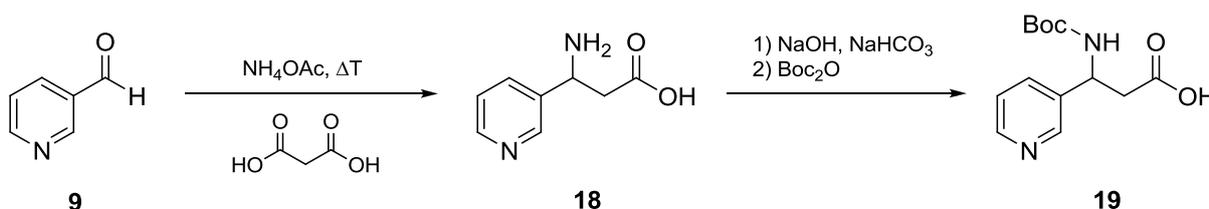
Schema 2-14: Darstellung der Amino(pyridin-3-yl)essigsäureamide.

Tabelle 2-4: Übersicht über die dargestellten Amino(pyridin-3-yl)essigsäureamide 17a-n mit HBTU (* Kupplung mit HCTU).

Verbindung	R	Ausbeute (%)
17a	(2-Methyl)but-2-yl	74
17b	Cyclopropyl	52
17c	Propyl	71
17d	Heptan-4-yl	85
17e	Cyclohexyl	61
17f	Prop-2-yl	74
17g	Benzyl	78*
17h	(3-Methyl)butyl	69*
17i	Cyclopentyl	70*
17j	Cyclohexylmethyl	73*
17k	Pentan-3-yl	78*
17l	(2-Methyl)propyl	74*
17m	Pentan-1,5-diyl	90
17n	Hexyl	57

2.2.4 DARSTELLUNG VON 3-(AMINO-3-PYRIDYL)PROPIONSÄURE

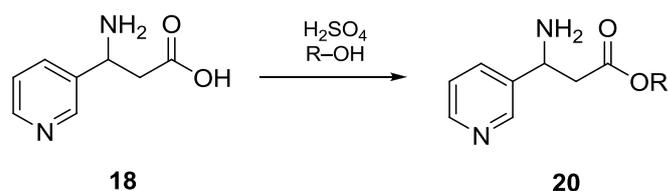
Die β -Aminosäure 3-(Amino-3-pyridyl)-propionsäure (**19**) wurde nach einer bekannten Methode als Racemat dargestellt (Schema 2-15).^[35,36] Dabei wurde 3-Pyridincarboxaldehyd (**9**) mit Malonsäure und Ammoniumacetat in Ethanol mit einer Ausbeute von 47 % umgesetzt. Die so erhaltene β -Aminosäure **18** wurde anschließend mit Di-*tert*-butyldicarbonat zur Verbindung **19** *N*-geschützt. Die Ausbeute dabei betrug 62 %.



Schema 2-15: Darstellung der Boc-geschützten 3-(Amino-3-pyridyl)propionsäure (**19**).

2.2.4.1 DARSTELLUNG DER 3-(AMINO-3-PYRIDYL)PROPIONSÄUREESTER

Die Verbindung **18** bot einen leichten Zugang zu entsprechenden Esterverbindungen **20**. Dazu wurde die ungeschützte Aminosäure in den jeweiligen Alkoholen in Anwesenheit von Schwefelsäure verestert (Schema 2-16, Tabelle 2-5). Obwohl bei einfachen Veresterungen nur eine katalytische Menge an Schwefelsäure nötig ist, musste hier ein Überschuss an Schwefelsäure eingesetzt werden, da sowohl der Pyridylrest, als auch das primäre Amin als Base die Säure abfangen.

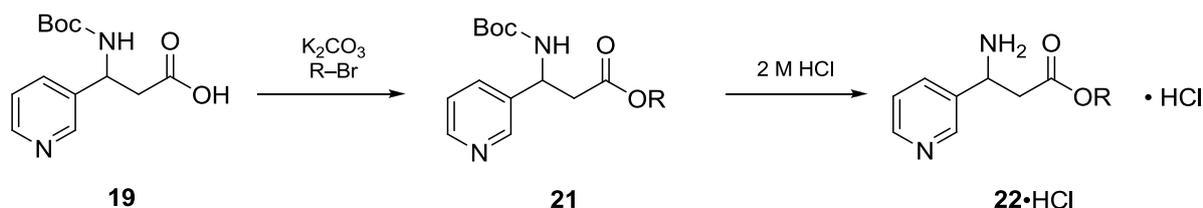


Schema 2-16: Veresterung von 3-(Amino-3-pyridyl)propionsäure (**18**).

Tabelle 2-5: Übersicht über die dargestellten 3-(Amino-3-pyridyl)propionsäureester (20a-e).

Verbindung	R	Ausbeute (%)
20a	Ethyl	88
20b	Methyl	40 – 60
20c	Propyl	93
20d	Propan-2-yl	90
20e	(2-Methyl)propyl	80

Zusätzlich wurde Verbindung **19** nach Schema 2-17 durch Kaliumcarbonat deprotoniert und mit Halogenalkanen zu weiteren Estern **21** umgesetzt. Die Schutzgruppe wurde anschließend durch 2 M etherischer Chlorwasserstofflösung entfernt und die Verbindungen **22** als Hydrochloride mit einer Ausbeute von 99 % isoliert (Tabelle 2-6).

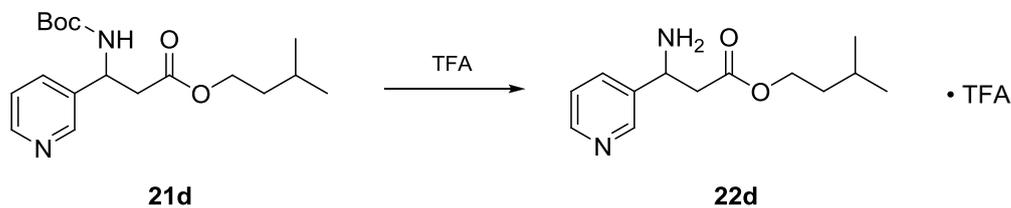


Schema 2-17: Darstellung der 3-(Amino-3-pyridyl)propionsäureester.

Tabelle 2-6: Übersicht über die dargestellten 3-(Amino-3-pyridyl)propionsäureester (22), bzw. die Verbindungen 21a-e [* nicht entschützt].

Verbindung	R	Ausbeute für 21 (%)	
21a	22a	Cyclopropylmethyl	92
21b	22b	Cyclobutylmethyl	24 – 29
21c	22c	2-Methylprop-2-en	40
21d	22d	(3-Methyl)butyl	62–81
21e	–*	Benzyl	46

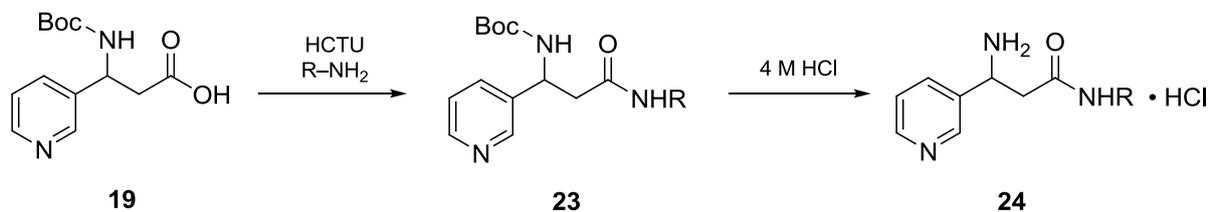
Die Boc-Schutzgruppe der Verbindung **21c** bzw. **21d** wurde zusätzlich mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit einer Ausbeute von 99 % entfernt (Schema 2-18).



Schema 2-18: Entschützen von Verbindung 21d durch Trifluoressigsäure.

2.2.4.2 DARSTELLUNG DER 3-(AMINO-3-PYRIDYL)PROPIONSÄUREAMIDE (**24**)

Die Amide **23a-h** wurden nach Aktivierung der Verbindung **19** mit HCTU und Umsetzung mit den entsprechenden Aminen in Dimethylformamid dargestellt (Schema 2-19). Die erhaltenen Boc-geschützten Verbindungen wurden mit 4 M methanolischer Salzsäure mit einer Ausbeute von 99 % zu den Verbindungen **24a-h** umgesetzt. Tabelle 2-7 bietet eine Übersicht über die entsprechenden Ausbeuten.



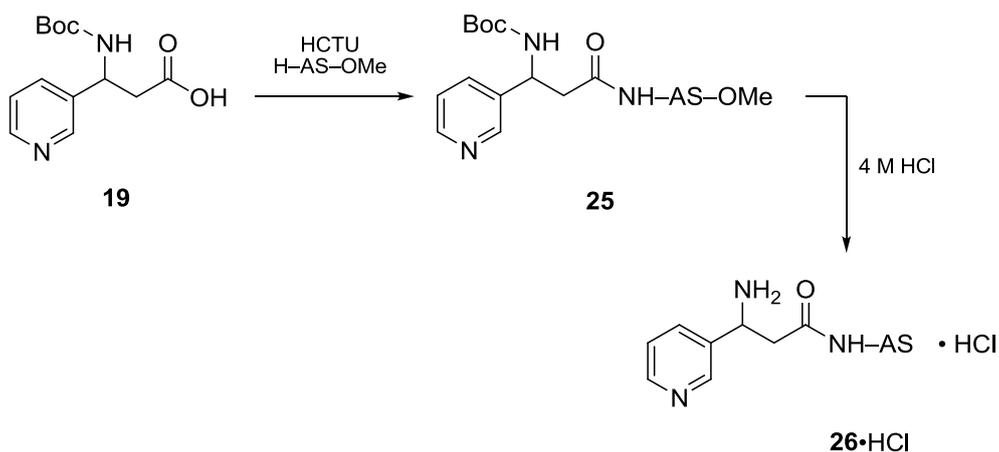
Schema 2-19: Darstellung der 3-(Amino-3-pyridyl)propionsäureamide.

Tabelle 2-7: Übersicht über die dargestellten 3-(Amino-3-pyridyl)propionsäureamide (*) *in situ* weiter umgesetzt).

Verbindung	R	Ausbeute für 23 (%)
24a	Pentan-3-yl	64
24b	(2-Methyl)butan-2-yl	90
24c	(5-Methyl)hexan-2-yl*	73
24d	Pentan-2-yl*	70
24e	Heptan-4-yl	93
24f	(2-Methyl)propyl	69
24g	Propyl	60
24h	Cyclohexyl	58
24i	Cyclopropyl	64
24j	Propan-2-yl*	90
24k	3-Picolyl	50
24l	Pentan-1,5-diyl	50
24m	Cyclohexylmethyl	87
24n	3-Methylbutan-1-yl	79
24o	Benzyl*	82
24p	Hexyl	21
24q	Cyclopentyl	24
24r	<i>R</i> -(2-Methyl)butan-2-yl*	13
24s	<i>S</i> -(3-Methyl)butan-2-yl*	24
24t	<i>S</i> -(2,2-Dimethyl)butan-2-yl	<10
24u	<i>R</i> -(2,2-Dimethyl)butan-2-yl	<10

2.2.4.3 DARSTELLUNG DER 3-(AMINO-3-PYRIDYL)PROPIONSÄUREAMIDE (26)

Verbindung **19** wurde mit dem Kupplungsreagenz HCTU und verschiedenen Aminosäureestern zu verschiedenen *N*-Boc-3-(Amino-3-pyridyl)propionsäurepeptiden (**25**) umgesetzt. Im Anschluss daran wurde die Boc-Schutzgruppe durch 4 M alkoholische Salzsäurelösung entfernt und die Verbindungen **26** als Hydrochloride isoliert (Schema 2-20, Tabelle 2-8).



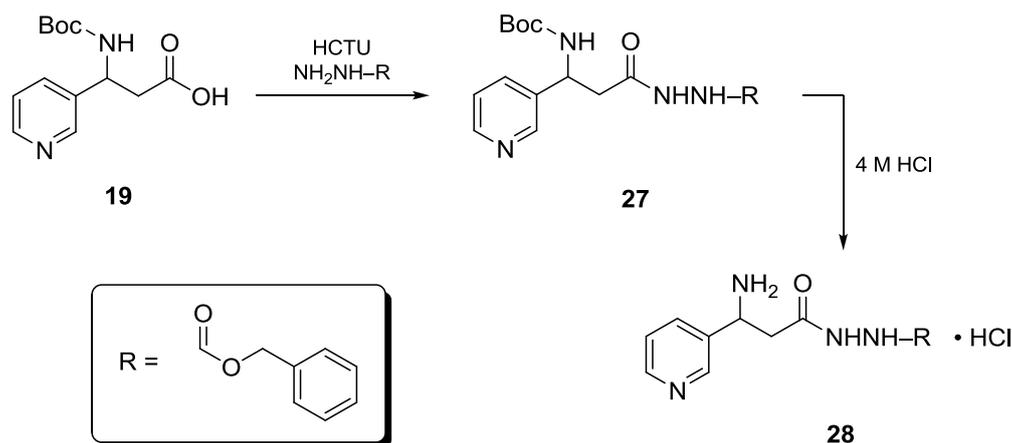
Schema 2-20: Darstellung der 3-(Amino-3-pyridyl)propionsäureamide 26a-i.

Tabelle 2-8: Übersicht über die dargestellten Verbindungen 26a-i (* direkt weiter umgesetzt).

Verbindung	AS	Ausbeute (%)
26a	Gly-OMe	79
26b	Gly-OEt	65
26c	L-Met-OMe*	59
26d	D-Phe-OMe	78
26e	L-Leu-OMe	55
26f	L-Val-OMe	53
26g	L-Ile-OMe	85
26h	D-Ala-OMe	40
26i	L-Glu(OMe) ₂	50

2.2.4.4 DARSTELLUNG DER 3-(AMINO-3-PYRIDYL)PROPIONSÄUREHYDRAZIDE

Die Darstellung der Hydrazinderivate erfolgte gemäß Schema 2-21. Die dargestellte Boc-geschützte β -Aminosäure **19** wurde mit Hydrazinderivaten ($R = \text{CH}_3, \text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$) und HCTU umgesetzt. Die Umsetzung mit Methylhydrazin gelang nicht. Die Boc-Schutzgruppe der Verbindung **27** wurde im Anschluss durch 4 M methanolische HCl entfernt. Verbindung **28** konnte mit einer Gesamtausbeute von 68 % isoliert werden.

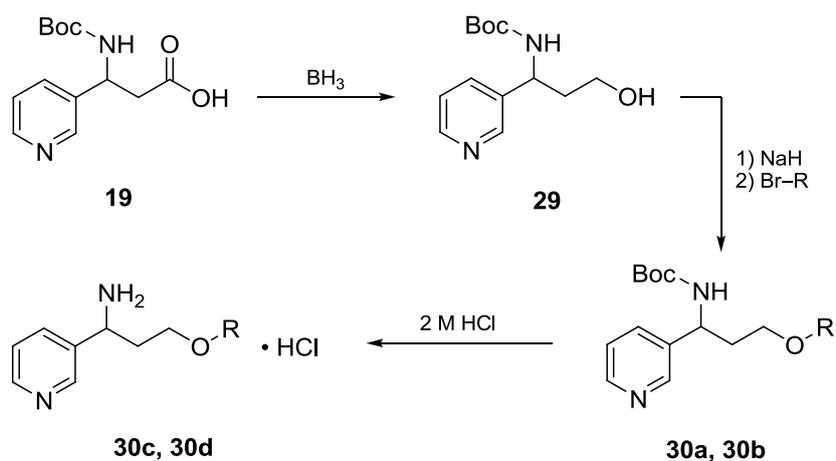


Schema 2-21: Darstellung von Verbindung **28**.

2.2.4.5 DARSTELLUNG DER ETHERSUBSTITUIERTEN 3-(AMINOMETHYL)PYRIDINE

Die Darstellung der Etherverbindungen gelang über die Umsetzung von Alkoholen mit Vinylbromiden (Schema 2-22). Dazu wurde im ersten Schritt Verbindung **19** mit Boran in Dimethylsulfid oder Tetrahydrofuran zum Alkohol mit 70-%iger Ausbeute reduziert.^[37-42] Anschließend wurde der Alkohol mit Natriumhydrid deprotoniert und mit Allylbromid bzw. 3-Brom-1-cyclohexen zu den entsprechenden Ethern umgesetzt. Anschließend wurde die Schutzgruppe durch 2 M etherische HCl entfernt.

Ähnliche Versuche zur Reduktion der Carbonsäure zum Alkohol durch Natriumborhydrid in Methanol oder Natriumborhydrid in Kombination mit Chlortrimethylsilan blieben laut LC/MS-Analyse erfolglos. Versuche mit Lithiumborhydrid / Chlortrimethylsilan, Natriumborhydrid / *N*-Methylmorpholin / Ethylchloroformiat oder Natriumborhydrid / Iod zeigten zwar laut LC/MS-Analyse die gewünschten Produkte, jedoch waren diese sehr stark verunreinigt im Vergleich zur Reduktion mit Boran.^[43-48]



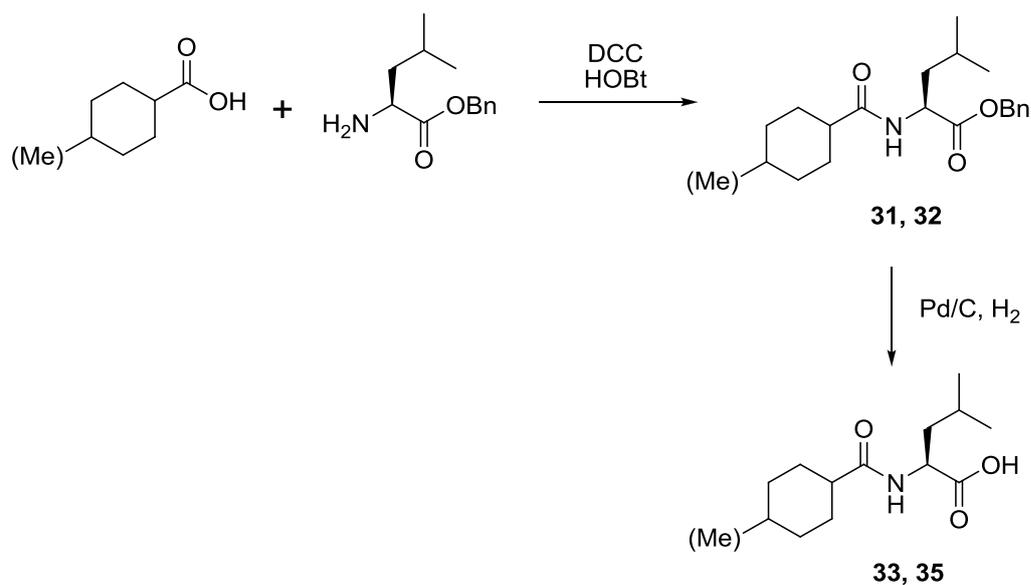
Schema 2-22: Reduktion von Verbindung 19 und anschließende Etherbildung (R= Allyl, 2-Cyclohexenyl).

Tabelle 2-9: Übersicht über die dargestellten Verbindungen.

Verbindung	R	Ausbeute (%)
29	H	40–74
30c	CH ₂ CH=CH ₂	36
30d	2-Cyclohexenyl	15

2.3 DARSTELLUNG DER CYC-LEU-AMP-DERIVATE

Die Verbindungen **31** bzw. **32** wurden aus dem kommerziell erhältlichen Isomerengemisch 4-Methylcyclohexancarbonsäure bzw. aus Cyclohexancarbonsäure und L-Leu-OBn durch eine Kupplung mit DCC/HOBt dargestellt. Die Benzylschutzgruppen in den Verbindungen **31** bzw. **32** wurden in einem Bombenrohr durch Hydrierung an Palladiumkohle entfernt (Schema 2-23).

Schema 2-23: Darstellung der Verbindungen **33** und **35**.

Verbindung **33** wurde mit dargestellten Aminomethylpyridylfragmenten **5** zu den Verbindungen **34a-t** umgesetzt. Die Darstellung der Inhibitoren **34a-t** erfolgte wahlweise mit den Kupplungsreagenzien PPA, HBTU oder HCTU (Schema 2-24, Schema 2-25). Wenige Verbindungen wurden mit dem *in situ* hergestellten Aktivester Me-Cyc-Leu-Pfp umgesetzt. Die Darstellung des Aktivesters erfolgte durch Umsetzung von Verbindung **31** mit DCC und Pentafluorphenol (Pfp).^[49] Alle Verbindungen wurden als Diastereomergemische isoliert. Bei den Methylcyclohexanderivaten liegen somit vier verschiedene Isomere vor. Einerseits besitzt der Methylcyclohexancarbonsäurerest *cis/trans*-Konfiguration, andererseits wurden die Aminomethylpyridinreste als Racemate eingesetzt. Bei den Cyclohexanderivaten sind es nur zwei Diastereomere. Nach der ersten Inhibitorenreihe wurde 4-Methylcyclohexancarbonsäure durch die günstigere Cyclohexancarbonsäure ersetzt (Tabelle 2-10, Tabelle 2-11).

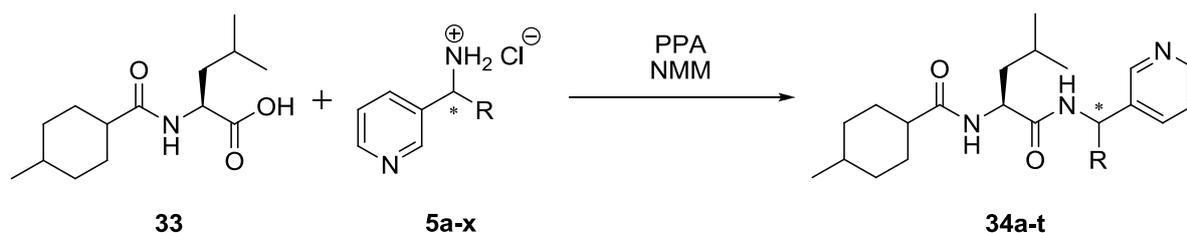
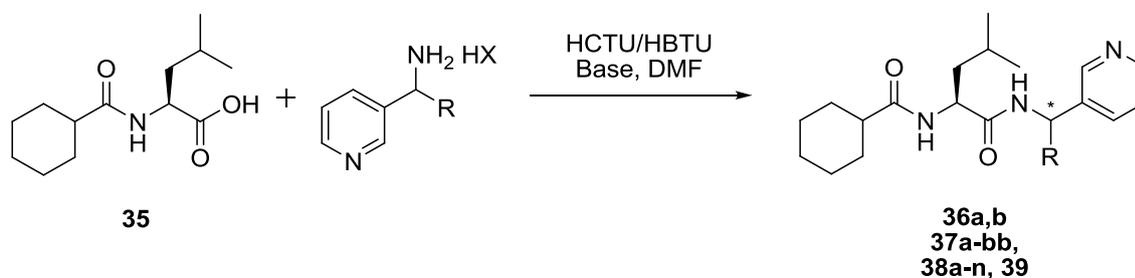
Schema 2-24: Darstellung der Me-Cyc-Leu-Amp-Derivate **34a-t**.

Tabelle 2-10: Übersicht über die dargestellten Verbindungen (Pfp: Pentafluorphenol).

Verbindung	R	Kupplungsreagenz	Ausbeute (%)
34a	(CH ₂) ₃ (C ₆ H ₅)	Pfp/DCC	40
34b	CH ₂ (C ₆ H ₁₁)	PPA	31
34c	CH ₂ CH ₂ CH(CH ₃) ₂	PPA	52
34d	CH ₂ CH=CH(C ₆ H ₅)	Pfp/DCC	31
34e	CH ₂ CH=CHCH ₃	Pfp/DCC	25
34f	CH ₂ (C ₃ H ₅)	Pfp/DCC	20
34g	CH ₂ CH(CH ₂ CH ₃)	PPA	47
34h	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	PPA	56
34i	C ₆ H ₁₁	PPA	58
34j	H	PPA	39
34k	CH ₂ CH ₂ CH ₃	PPA	39
34l	CH ₂ C(CH ₃) ₃	PPA	37
34m	CH ₂ (C ₄ H ₇)	PPA	43
34n	C ₅ H ₉	PPA	37
34o	(CH ₂) ₄ CH ₃	PPA	25
34p	(CH ₂) ₇ CH ₃	PPA	40
34q	C(CH ₃) ₂ CH ₂ CH ₃	PPA	40
34r	CH(CH ₃) ₂	PPA	33
34s	(CH ₂) ₃ CH ₃	PPA	33
34t	CH ₂ CH ₃	PPA	17



Schema 2-25: Darstellung der Cyc-Leu-Amp-Derivate (Base: NMM, DIPEA).

Tabelle 2-11: Übersicht über die dargestellten Verbindungen.

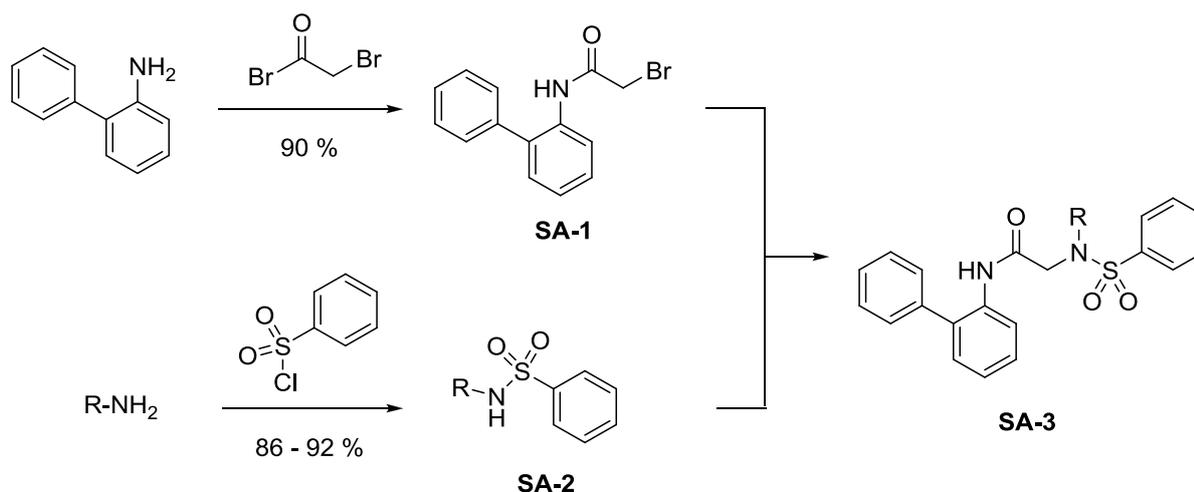
Verbindung	R	HX	Base	Reagenz	Ausbeute (%)
36a	-CH ₂ CH(CH ₂) ₂	HCl	NMM	HCTU	85
36b	-CH ₂ CH=CHCH ₃ (E)	HCl	NMM	HCTU	78
37a	-CH ₂ C(O)NHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	HCl	NMM	HCTU	70
37b	-CH ₂ C(O)NHCH(CH ₂ CH ₃) ₂	HCl	NMM	HCTU	59
37c	-CH ₂ C(O)NHCH(CH ₃) ₂	HCl	NMM	HCTU	31
37d	-CH ₂ C(O)NH(C ₆ H ₁₁)	HCl	DIPEA	HCTU	72
37e	-CH ₂ C(O)NHCH ₂ CH ₂ CH ₃	HCl	DIPEA	HCTU	63
37f	-CH ₂ C(O)N(CH) ₅	HCl	DIPEA	HCTU	74
37g	-CH ₂ C(O)NHCH(CH ₂) ₂	HCl	DIPEA	HCTU	44
37h	-CH ₂ C(O)NHCH(CH ₂ CH ₂ CH ₃) ₂	HCl	DIPEA	HCTU	69
37i	-CH ₂ C(O)NH(C ₅ H ₉)	HCl	DIPEA	HCTU	74
37j	-CH ₂ C(O)NHCH ₂ (C ₆ H ₁₁)	HCl	DIPEA	HCTU	65
37k	-CH ₂ C(O)NH(CH ₂) ₅ CH ₃	HCl	DIPEA	HCTU	72
37l	-CH ₂ C(O)NHC(CH ₃) ₂ CH ₂ CH ₃	HCl	DIPEA	HCTU	53
37m	-CH ₂ C(O)NHCH(CH ₃)CH(CH ₃) ₂	HCl	DIPEA	HCTU	63
37n	-CH ₂ C(O)NHCH(CH ₃)CH(CH ₃) ₂	HCl	DIPEA	HCTU	63
37o	-CH ₂ C(O)NHCH ₂ (C ₆ H ₅)	HCl	DIPEA	HCTU	61
37p	-CH ₂ C(O)NHCH(CH ₃)CO ₂ CH ₃	HCl	DIPEA	HCTU	93
37q	-CH ₂ C(O)NHCH(CO ₂ CH ₃)CH(CH ₃) ₂	HCl	DIPEA	HCTU	48
37r	-CH ₂ C(O)NHCH(C ₆ H ₅)C(O)OCH ₃	HCl	DIPEA	HCTU	53
37s	-CH ₂ C(O)NHCH(CO ₂ CH ₃)CH ₂ CH(CH ₃) ₂	HCl	DIPEA	HCTU	70
37t	-CH ₂ C(O)NHNHC(O)OCH ₂ (C ₆ H ₅)	HCl	DIPEA	HCTU	67
37u	-CH ₂ C(O)OCH ₂ (C ₄ H ₇)	HCl	NMM	HBTU	50
37v	-CH ₂ C(O)OCH ₂ CH ₃	–	NMM	HCTU	58
37w	-CH ₂ C(O)OCH ₃	–	NMM	HCTU	45
37x	-CH ₂ C(O)OCH ₂ CH ₂ CH ₃	–	NMM	HCTU	84
37y	-CH ₂ C(O)OCH ₂ (C ₃ H ₅)	HCl	NMM	HBTU	76
37z	-CH ₂ C(O)OCH ₂ CH ₂ CH(CH ₃) ₂	HCl	NMM	HBTU	70
37aa	-CH ₂ C(O)OCH ₂ CH(CH ₃)	–	NMM	HCTU	54
37bb	-CH ₂ C(O)OCH(CH ₃) ₂	–	NMM	HCTU	81

Tabelle 2-11: Übersicht über die dargestellten Verbindungen. [Fortsetzung]

Verbindung	R	HX	Base	Reagenz	Ausbeute (%)
38a	-C(O)NHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	HCl	NMM	HBTU	41
38b	-C(O)NHCH ₂ (C ₆ H ₁₁)	HCl	NMM	HBTU	85
38c	-C(O)NHCH ₂ (C ₅ H ₄ N)	HCl	NMM	HBTU	91
38d	-C(O)NHCH(CH ₃) ₂	HCl	NMM	HBTU	82
38e	-C(O)NHCH ₂ CH ₂ CH ₃	HCl	NMM	HBTU	82
38f	-C(O)NH(CH ₂) ₅ CH ₃	HCl	NMM	HBTU	85
38g	-C(O)NH(C ₅ H ₉)	HCl	NMM	HBTU	72
38h	-C(O)NHCH(CH ₂ CH ₂ CH ₃) ₂	HCl	NMM	HBTU	99
38i	-C(O)NH(C ₆ H ₁₁)	HCl	NMM	HBTU	90
38j	-C(O)NHCH ₂ CH ₂ CH(CH ₃) ₂	HCl	NMM	HBTU	87
38k	-C(O)NHCH(CH ₂ CH ₃) ₂	HCl	NMM	HBTU	75
38l	-C(O)NH(C ₃ H ₅)	HCl	NMM	HBTU	45
38m	-C(O)NHC(CH ₃) ₂ CH ₂ CH ₃	HCl	NMM	HBTU	82
38n	-C(O)O(C ₅ H ₉)	HCl	NMM	HBTU	30
39	-CH ₂ CH ₂ OCH ₂ CH=CH ₂	HCl	NMM	HBTU	78

2.4 DARSTELLUNG VON PYRIDINHALTIGEN SULFONAMIDEN

Die Darstellung der Verbindungen erfolgte aus zwei Fragmenten. 2-Aminobiphenyl wurde im ersten Schritt mit 2-Bromoessigsäurebromid mit einer Ausbeute von 90 % umgesetzt. Das zweite Fragment wurde aus verschiedenen substituierten Aminopyridinen und Phenylsulfonsäurechlorid mit ca. 90-%iger Ausbeute dargestellt. Beide Fragmente wurden anschließend über eine nucleophile Substitution miteinander verknüpft (Schema 2-16, Tabelle 2-12).



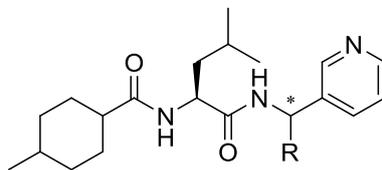
Schema 2-26: Darstellung der Sulfonamide.

Tabelle 2-12: Übersicht über die dargestellten Sulfonamide.

Verbindung	R	Ausbeute (%)
SA-3a	4-Methylpyrid-3-yl	24
SA-3b	Pyrid-3-yl	33
SA-3c	Pyrid-4-yl	42
SA-3d	2-Chloropyrid-3-yl	10

2.5 ÜBERSICHT ÜBER DIE DARGESTELLTEN ZIELVERBINDUNGEN

Me-Cyc-Leu-Amp

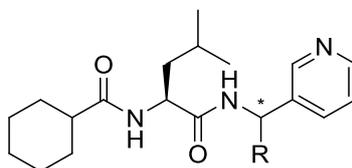


34a-t

Tabelle 2-13: Übersicht über die dargestellten Verbindungen.

Verbindung	R	Verbindung	R
34a	(CH ₂) ₃ (C ₆ H ₅)	34k	CH ₂ CH ₂ CH ₃
34b	CH ₂ (C ₆ H ₁₁)	34l	CH ₂ C(CH ₃) ₃
34c	CH ₂ CH ₂ CH(CH ₃) ₂	34m	CH ₂ (C ₄ H ₇)
34d	CH ₂ CH=CH(C ₆ H ₅)	34n	C ₅ H ₉
34e	CH ₂ CH=CHCH ₃	34o	(CH ₂) ₄ CH ₃
34f	CH ₂ (C ₃ H ₅)	34p	(CH ₂) ₇ CH ₃
34g	CH ₂ CH(CH ₂ CH ₃)	34q	C(CH ₃) ₂ CH ₂ CH ₃
34h	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	34r	CH(CH ₃) ₂
34i	C ₆ H ₁₁	34s	(CH ₂) ₃ CH ₃
34j	CH ₂ (C ₅ H ₄ N)	34t	CH ₂ CH ₃

Cyc-Leu-Amp



36a,b
37a-bb,
38a-n, 39

Tabelle 2-14: Übersicht über die dargestellten Verbindungen.

Verbindung	R	Verbindung	R
36a	-CH ₂ CH(CH ₂) ₂	37w	-CH ₂ C(O)OCH ₃
36b	-CH ₂ CH=CHCH ₃ (E)	37x	-CH ₂ C(O)OCH ₂ CH ₂ CH ₃
37a	-CH ₂ C(O)NHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	37y	-CH ₂ C(O)OCH ₂ (C ₃ H ₅)
37b	-CH ₂ C(O)NHCH(CH ₂ CH ₃) ₂	37z	-CH ₂ C(O)OCH ₂ CH ₂ CH(CH ₃) ₂
37c	-CH ₂ C(O)NHCH(CH ₃) ₂	37aa	-CH ₂ C(O)OCH ₂ CH(CH ₃)
37d	-CH ₂ C(O)NH(C ₆ H ₁₁)	37bb	-CH ₂ C(O)OCH(CH ₃) ₂
37e	-CH ₂ C(O)NHCH ₂ CH ₂ CH ₃	38a	-C(O)NHCH ₂ CH(CH ₃) ₂
37f	-CH ₂ C(O)N(CH) ₅	38b	-C(O)NHCH ₂ (C ₆ H ₁₁)
37g	-CH ₂ C(O)NHCH(CH ₂) ₂	38c	-C(O)NHCH ₂ (C ₅ H ₄ N)
37h	-CH ₂ C(O)NHCH(CH ₂ CH ₂ CH ₃) ₂	38d	-C(O)NHCH(CH ₃) ₂
37i	-CH ₂ C(O)NH(C ₅ H ₉)	38e	-C(O)NHCH ₂ CH ₂ CH ₃
37j	-CH ₂ C(O)NHCH ₂ (C ₆ H ₁₁)	38f	-C(O)NH(CH ₂) ₅ CH ₃
37k	-CH ₂ C(O)NH(CH ₂) ₅ CH ₃	38g	-C(O)NH(C ₅ H ₉)
37l	-CH ₂ C(O)NHC(CH ₃) ₂ CH ₂ CH ₃	38h	-C(O)NHCH(CH ₂ CH ₂ CH ₃) ₂
37m	-CH ₂ C(O)NHCH(CH ₃)CH(CH ₃) ₂	38i	-C(O)NH(C ₆ H ₁₁)
37n	-CH ₂ C(O)NHCH(CH ₃)CH(CH ₃) ₂	38j	-C(O)NHCH ₂ CH ₂ CH(CH ₃) ₂
37o	-CH ₂ C(O)NHCH ₂ (C ₆ H ₅)	38k	-C(O)NHCH(CH ₂ CH ₃) ₂
37p	-CH ₂ C(O)NHCH(CH ₃)CO ₂ CH ₃	38l	-C(O)NH(C ₃ H ₅)
37q	-CH ₂ C(O)NHCH(CO ₂ CH ₃)CH(CH ₃) ₂	38m	-C(O)NHC(CH ₃) ₂ CH ₂ CH ₃
37r	-CH ₂ C(O)NHCH(C ₆ H ₅)C(O)OCH ₃	38n	-C(O)O(C ₅ H ₉)
37s	-H ₂ C(O)NHCH(CO ₂ CH ₃)CH ₂ CH(CH ₃) ₂	39	-CH ₂ CH ₂ OCH ₂ CH=CH ₂
37t	-CH ₂ C(O)NHNHC(O)OCH ₂ (C ₆ H ₅)		
37u	-CH ₂ C(O)OCH ₂ (C ₄ H ₇)		
37v	-CH ₂ C(O)OCH ₂ CH ₃		

Sulfonamide

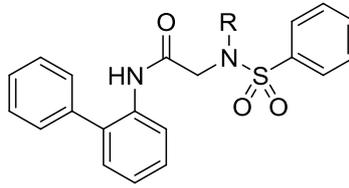
**SA-3**

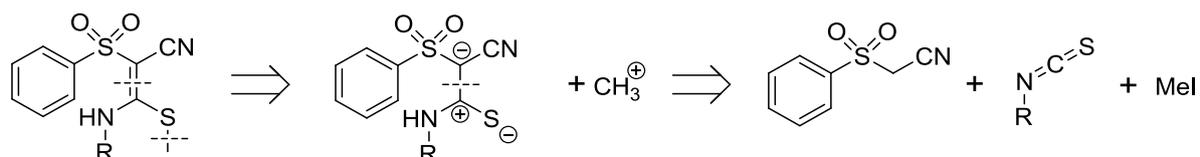
Tabelle 2-15: Übersicht über die dargestellten Sulfonamide.

Verbindung	R
SA-3a	4-Methylpyrid-3-yl
SA-3b	Pyrid-3-yl
SA-3c	Pyrid-4-yl
SA-3d	2-Chloropyrid-3-yl

3 DARSTELLUNG DER VINYLSULFONE UND EDUKTE

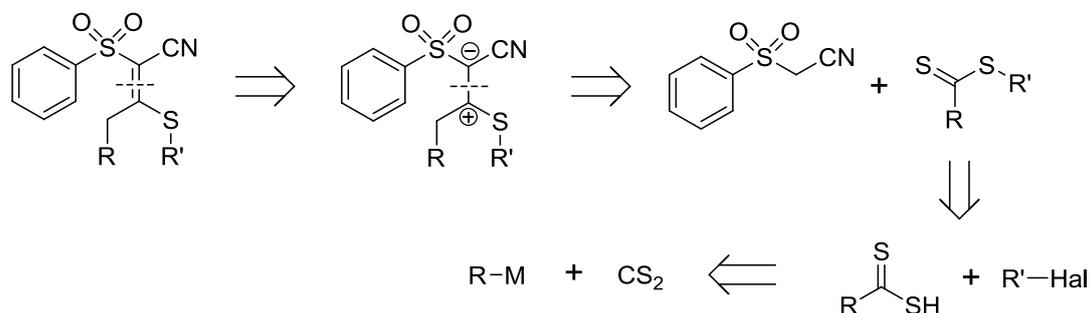
3.1 RETROSYNTHESEN

Es war geplant, die N,S-Vinylsulfone aus 2-Phenylsulfonylacetonitril darzustellen. Nach Deprotonieren der CH₂-Gruppe durch eine Base sollte das Fragment an ein Isothiocyanat addieren. Mit einem zweiten Äquivalent Base lässt sich so auch eine Doppelbindung ausbilden. Das gebildete Thiolat soll durch eine Substitutionsreaktion mit Methyljodid methyliert werden (Schema 3-1).



Schema 3-1: Retrosynthese der N,S-Vinylsulfone (R = Alkyl).

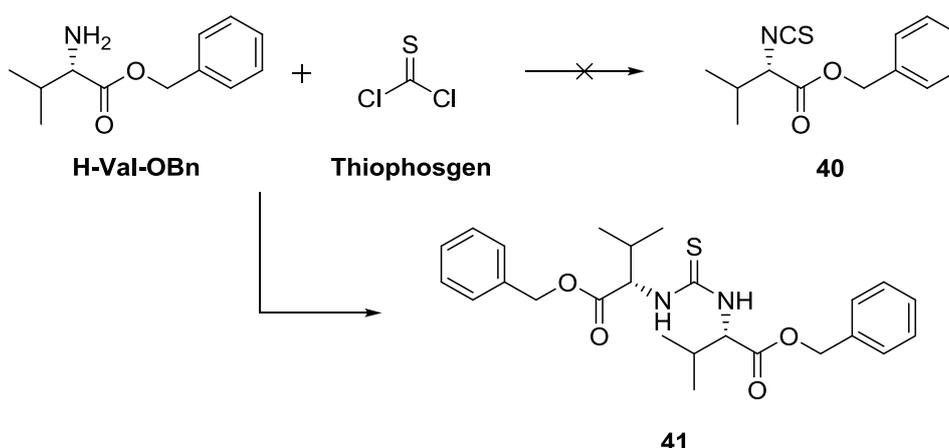
Die Darstellung der C,S-Vinylsulfone sollte durch Addition von deprotoniertem 2-Phenylsulfonylacetonitril an Dithiocarbonsäureester erfolgen. Die jeweiligen Dithiocarbonsäureester werden dabei aus verschiedenen Organometallverbindungen, Kohlenstoffdisulfid und Halogenalkanen dargestellt (Schema 3-2).



Schema 3-2: Retrosynthese der C,S-Vinylsulfone (R', R = Alkyl; Hal = Halogenid; M = MgHal oder Li).

3.2 VERSUCHTE DARSTELLUNG EINES ISOTHIOCYANATS

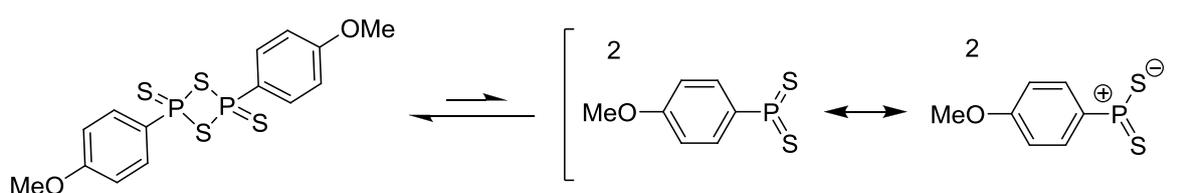
Die Darstellung von Isothiocyanaten aus Aminosäuren sollte nach Literaturvorschrift erfolgen.^[50] Ziel war es, eine Methode zu finden, aus Aminosäuren Isothiocyanate herzustellen, um sie im Anschluss zu N,S-Vinylsulfonen umzusetzen (vgl. Schema 3-1). Dazu wurde die Aminosäure in einer zwei-Phasen-Lösung aus Dichlormethan und gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung vorgelegt. Thiophosgen wurde in die organische Phase eingeleitet. Freiwerdendes HCl wird von der darüber liegenden Natriumhydrogencarbonatlösung sofort neutralisiert. Dabei sollte ausschließlich das Isothiocyanat entstehen, jedoch ergab eine Kontrolle durch ESI-MS, dass nur der dimere Thioharnstoff entstanden war (Schema 3-3). Die Route wurde daher nicht weiter verfolgt.



Schema 3-3: Versuchte Darstellung von Isothiocyanaten durch Thiophosgen.

3.3 DARSTELLUNG DER THIOCARBONSÄUREESTER

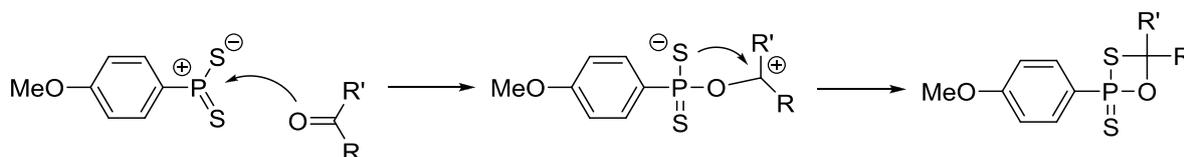
Die Darstellung der Thiocarbonsäureester erfolgte zunächst durch den Einsatz von Lawessons-Reagenz. Die Thiocarbonsäuren sollten im Anschluss mit 2-Phenylsulfonylacetonitril zu C,S-Vinylsulfonen umgesetzt werden. Bei Lawessons-Reagenz handelt es sich um eine Phosphor-Schwefel-Verbindung, die durch Umsetzung von Anisol mit Phosphorpentasulfid erhalten wird.^[51,52] In Lösung befindet sich die Verbindung im Gleichgewicht mit dem reaktiveren Dithiophosphin-Ylid (Schema 3-4).



Schema 3-4: Gleichgewichtsreaktion des Lawessons-Reagenz in Lösung.

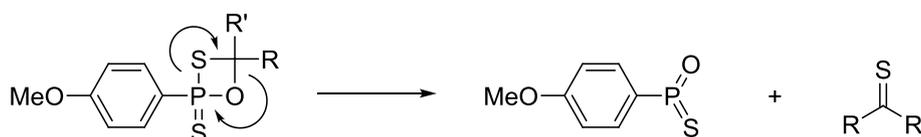
Durch Lawessons Reagenz erhält man einen relativ leichten Zugang zu Dithiocarbonsäuren und Thiocarbonsäureestern. So können beispielsweise Carbonsäuren, Carbonsäurechloride, Ester oder Thioester eingesetzt werden.^[53,54] Auch von der Umsetzung von *N*-geschützten Aminosäuren zur Darstellung von Thiopeptiden bei milden Bedingungen wurde bereits berichtet.^[56] Nachteil von diesem Reagenz ist jedoch, dass entstehende Nebenprodukte nicht durch Extraktion entfernt werden können, sondern nur durch Säulenchromatographie.

Der Mechanismus der Reaktion von Lawessons-Reagenz mit einer Carbonylverbindung verläuft über die Bildung eines Thioxaphosphetans (Schema 3-5).



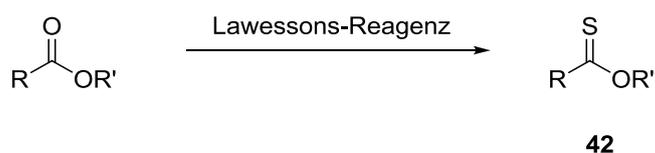
Schema 3-5: Bildung des Thioxaphosphetans (R, R' = Alkyl, Aryl).

Die Triebkraft der Reaktion ist die Bildung einer stabilen P=O-Bindung. Sie verläuft damit ähnlich wie eine Wittig-Reaktion (Schema 3-6).



Schema 3-6: Umlagerung und Bildung einer stabilen P=O-Bindung (R, R' = Alkyl, Aryl).

Die Darstellung der Thiocarbonsäureester erfolgte ausgehend von Esterverbindungen und Lawessons-Reagenz in Xylol durch Erhitzen unter Rückfluss (Schema 3-7).



Schema 3-7: Reaktion von Esterverbindungen mit Lawessons Reagenz zu Thioestern (R = Ph, Me, H).

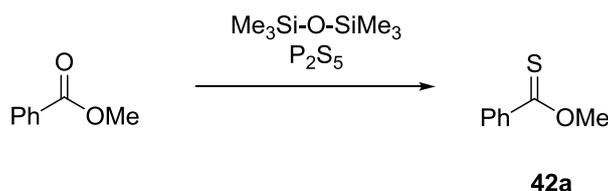
Auf diese Weise konnte der Benzoesäuremethylester in den entsprechenden Thionomethylester umgewandelt werden. Bei Essigsäureethylester war das Problem, dass das entstandene Produkt mit Xylol abdestilliert wurde, wodurch eine Abtrennung nicht möglich war (Tabelle 3-1).

Tabelle 3-1: Mit Lawessons Reagenz umgesetzte Ester.

Verbindung	R	R'	Ausbeute
42a	Phenyl	Methyl	52 %
42b	Methyl	Ethyl	*)
42c	H	Benzyl	**)

*) Konnte nicht isoliert werden. **) Zeigte keine Reaktion

Ein weiterer Zugang zu Thiocarbonsäureestern ist gegeben durch die Umsetzung von Esterverbindungen mit der Kombination Phosphorpentasulfid/Hexamethyldisiloxan. Jedoch wurde der Einsatz von Phosphorpentasulfid als Sulfurierungsmittel in den letzten Jahren immer mehr durch Lawessons-Reagenz ersetzt. Hexamethyldisiloxan wurde als gutes Additiv zu Phosphorpentasulfid beschrieben, um die Ausbeute zu erhöhen. Vorteil dieser Kombination ist, dass die Ausbeuten mit denen von Lawessons-Reagenz vergleichbar sind und dass entstehende Nebenprodukte leicht durch Extraktion entfernt werden können.^[57]



Schema 3-8: Reaktion von Benzoessäuremethylester mit Phosphorpentasulfid und Hexamethyldisiloxan zu Thionoestern.

Benzoessäuremethylester konnte durch Phosphorpentasulfid und Hexamethyldisiloxan zum entsprechenden Thionomethylester (**42a**) mit einer Ausbeute von 63 % umgesetzt werden (Schema 3-8).

3.4 DARSTELLUNG DER DITHIOESTER

Einen weiteren Zugang zu den erwünschten C,S-Vinylsulfonen bieten Dithioester. Die Darstellung erfolgte dabei über Organometallverbindungen (3.5.2).^[58] Es wurden Organomagnesiumverbindungen mit Kohlenstoffdisulfid zum entsprechenden Dithiosäuresalz umgesetzt. Auf eine Isolierung der Zwischenstufe wurde verzichtet. Stattdessen wurde die Verbindung direkt mit Methyljodid umgesetzt und so der gewünschte Dithioester erhalten (Schema 3-9, Tabelle 3-2). Die Reinigung erfolgte in allen Fällen durch eine Destillation.

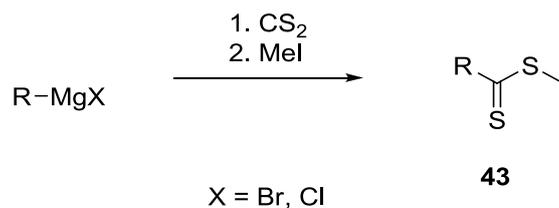
Schema 3-9: Darstellung der Dithioester (R = Me, *i*-Pr, Ph).

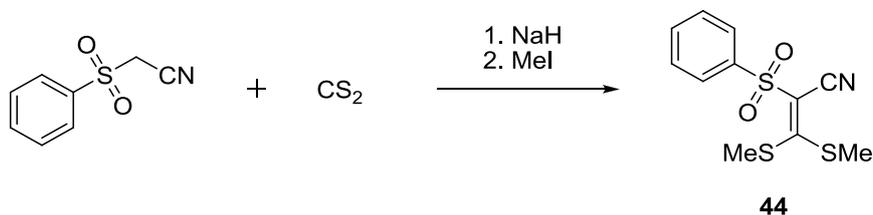
Tabelle 3-2: Übersicht über die dargestellten Dithioester.

Verbindung	R	Ausbeute
43a	Methyl	52 %
43b	<i>i</i> -Propyl	53 %
43c	Phenyl	76 %

3.5 DARSTELLUNG DER VINYLSULFONE

3.5.1 DARSTELLUNG VON VERBINDUNG 44

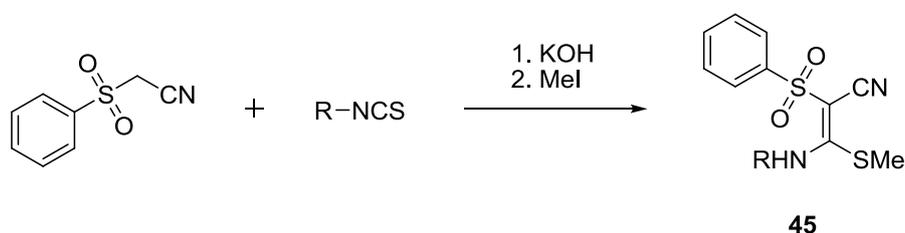
Den Zugang zu *S,S*-Vinylsulfonen bietet die literaturbekannte Umsetzung von Phenylsulfonylacetonitril mit Kohlenstoffdisulfid und anschließende Methylierung durch Iodmethan (Schema 3-10). Die so dargestellte Verbindung bietet die Möglichkeit, einen der beiden Thiomethansubstituenten durch verschiedene primäre Amine zu ersetzen.^[59a,59b] Auf diese Weise sollte es auch leicht möglich sein, Aminosäuren oder Peptide an die Vinylsulfongrundstruktur zu knüpfen.^[60]



Schema 3-10: Darstellung des Vinylsulfons 44.

3.5.2 DARSTELLUNG DER N,S-VINYLSULFONE

Die Darstellung der N,S-Vinylsulfone erfolgte gemäß Schema 3-11. Dabei wurde Phenylsulfonylacetonitril zunächst mit Kaliumhydroxid deprotoniert und mit verschiedenen Isothiocyanatverbindungen umgesetzt. Die dabei entstehende Thioverbindung wird anschließend mit Iodmethan methyliert.^[61-62]



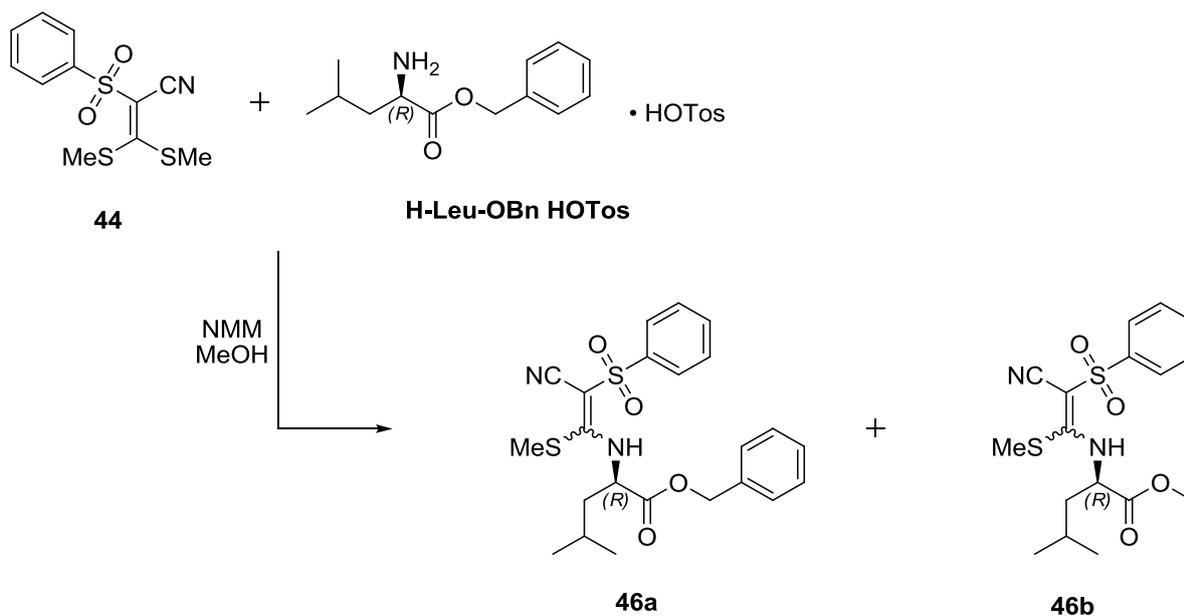
Schema 3-11: Darstellung der N,S-Vinylsulfone.

Tabelle 3-3 bietet eine Übersicht über die dargestellten Verbindungen.

Tabelle 3-3: Übersicht über die dargestellten N,S-Vinylsulfone.

Verbindung	R	Ausbeute (%)
45a	Ethyl	49
45b	4-Nitrophenyl	70
45c	4-Fluorophenyl	84
45d	Methyl	36
45e	4-Methylphenyl	51
45f	Benzyl	32
45g	4-Methoxyphenyl	53
45h	4-Iodophenyl	68
45i	Phenyl	45

Einen weiteren Zugang zu N,S-Vinylsulfonen bietet die vinyloge Substitution am S,S-Vinylsulfon (**44**, Schema 3-10) durch Amine. Bekannte Umsetzungen mit primären und sekundären Aminen sind in der Literatur bereits bekannt.^[59a,59b] Da ein zukünftiges Ziel dieses Projekts die Verknüpfung des Vinylsulfon-„warheads“ mit Aminosäuren bzw. Peptiden ist, wurde eine Reaktion mit benzylgeschütztem Leucin durchgeführt. Als Lösungsmittel wurde Methanol gewählt. Es konnten zwei verschiedene Verbindungen isoliert werden. Ein Produkt war die erwünschte Verbindung mit einer intakten Benzylgruppe. Das Nebenprodukt **46b** konnte als Methylester identifiziert werden. Verbindung **46a** unterlag offensichtlich in Methanol auch einer Umesterung (Schema 3-12). Die Konfiguration der Doppelbindung konnte noch nicht eindeutig bestimmt werden. Eine vollständige Trennung beider Verbindungen wurde bislang noch nicht durchgeführt.

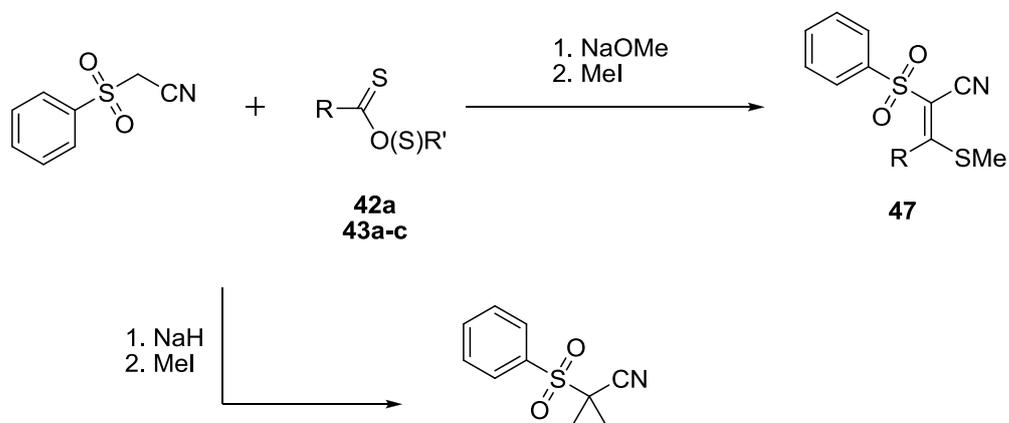


Schema 3-12: Umsetzung des S,S-Vinylsulfons mit der Aminosäuren H-Leu-OBn.

3.5.3 DARSTELLUNG DER C,S-VINYLSULFONE

3.5.3.1 UMSETZUNG MIT DITHIOESTERN UND THIONOESTERN

Die Darstellung der C,S-Vinylsulfone sollte durch die Deprotonierung von Phenylsulfonylacetonitril mit Natriummethanolat und anschließende Kondensation mit den dargestellten Dithiocarbonsäureestern bzw. Thiocarbonsäureestern erfolgen (Schema 3-13). Die Methylierung sollte in beiden Fällen mit Methyljodid durchgeführt werden.

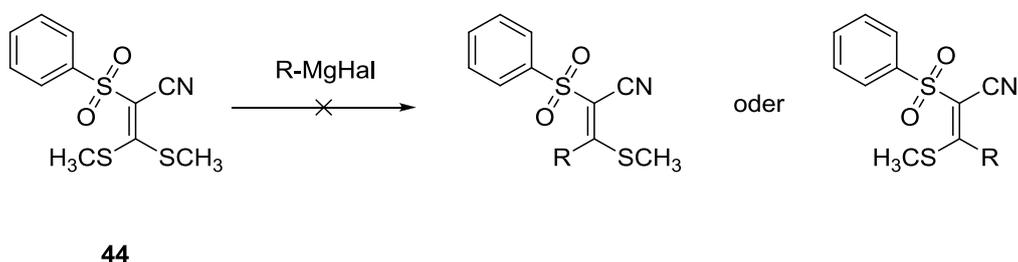


Schema 3-13: Versuchte Darstellung von C,S-Vinylsulfonen unter Verwendung von Thiocarbonsäureestern (R = Me, iPr, Ph, R' = Me).

Eine Umsetzung von 2-Phenylsulfonylacetonitril mit **42a** und Natriummethanolat in Methanol zum entsprechenden Vinylsulfon konnte nicht beobachtet werden. Auch Erhitzen unter Rückfluss in Tetrahydrofuran und Verwendung von Natriumhydrid brachte keine Umsetzung. Es konnte aber der Dithioessigsäuremethylester **43a** mit Natriummethanolat in Methanol erfolgreich zum gewünschten Vinylsulfon **47** mit einer Ausbeute von 14 % umgesetzt werden (Schema 3-13), eine Umsetzung mit 2-Methyl-dithiopropansäuremethylester (**43b**) und Dithiobenzoessäuremethylester (**43c**) zum gewünschten Produkt konnte jedoch nicht beobachtet werden. Auch eine Umsetzung mit Natriumhydrid in Tetrahydrofuran brachte nicht den gewünschten Erfolg. Stattdessen konnten aus den Reaktionsgemischen der Thionobenzoessäuremethylester und der Dithioester nach Umsetzung mit Natriumhydrid/Methyliodid und nach anschließender Aufreinigung durch Säulenchromatographie nur die zweifach alkylierte Verbindung als Produkt mit einer Ausbeute von 53 % isoliert werden (Schema 3-13). Da dieser Weg keinen Zugang zu weiteren Verbindungen gab, wurde eine andere Route gewählt.

3.5.3.2 VERSUCHTE UMSETZUNG MIT MAGNESIUMORGANYLEN

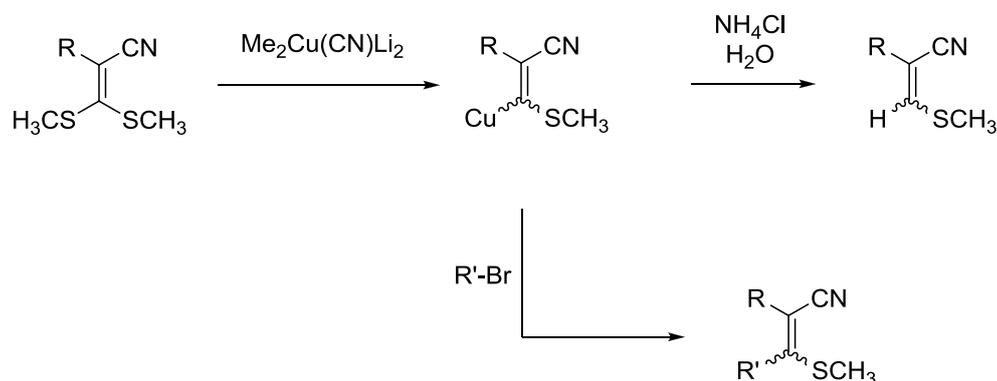
Es ist bereits bekannt, dass einer der Thiomethylreste in Verbindung **44** leicht durch Amine substituiert werden kann. Außerdem ist bekannt, dass so auch C-C-Verknüpfungen mit CH-aciden Verbindungen durchgeführt werden können.^[63,64] Auch von Verknüpfungen durch metallorganische Verbindungen wird berichtet. So ist es möglich durch Organomagnesiumverbindungen eine Substitution durchzuführen.^[65,66] Reaktionen von Verbindung **44** mit Grignardverbindungen (R = *i*-Propyl, Methyl, Ethyl, Hal = Chlorid, Bromid) in Tetrahydrofuran mit oder ohne katalytischer Menge Kupferhalogenid (Iodid und Bromid) in Kombination mit Lithiumchlorid führten nach LC/MS-Analyse jedoch nicht zu dem gewünschten Produkt (Schema 3-14). Die Route wurde nicht weiter verfolgt.



Schema 3-14: Versuchte Umsetzung des Vinylsulfons **44** mit metallorganischen Verbindungen (R = Alkyl).

3.5.3.3 VERSUCHE ZUR TRANSMETALLIERUNG MIT EINEM HÖHEREN CUPRATREAGENZ

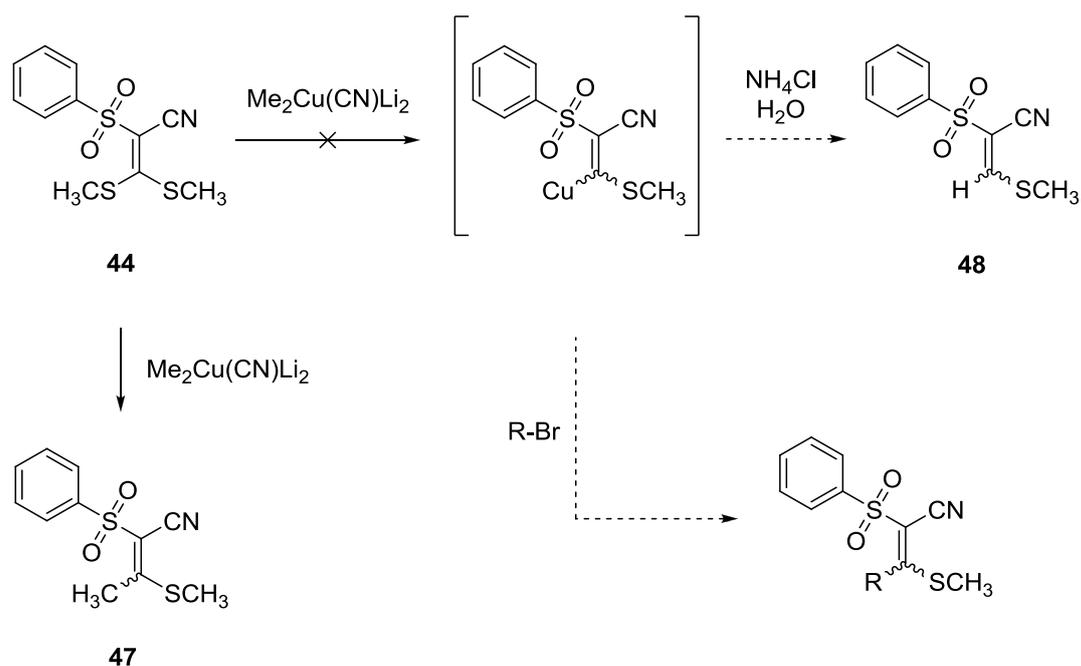
Ein anderer Weg führt in einigen bekannten Fällen über die Transmetallierung zu Organocupraten.^[67] Unter Verwendung des Cyanocuprats $\text{Me}_2\text{Cu}(\text{CN})\text{Li}_2$ ist es so auch möglich, durch Hydrolyse des intermediär gebildeten Vinylcuprats eine Reduktion des Dithioacetals oder eine Substitution an Organohalogeniden durchzuführen. Dabei werden zwei Äquivalente Cupratreagenz eingesetzt, um eine nahezu vollständige Umsetzung zu erreichen. Eine Überreduktion wurde dabei nicht beobachtet. Experimente mit äquimolarer Menge Cupratreagenz ergeben nur einen Umsatz von ca. 50 %. Es wird vermutet, dass es sich bei dieser Reaktion um einen Ein-Elektronen-Transfer-Mechanismus handelt.^[68,69]



Schema 3-15: Literaturbekannte Darstellung der C,S-Vinylsulfone durch Transmetallierung (R = Alkyl, R' = COOMe oder CN).

Schema 3-15 zeigt die Transmetallierung (R = Ethyl, Butyl, Allyl, Phenyl) zum Cuprat und die anschließende Umsetzung mit Organohalogeniden bzw. wässriger Ammoniumchlorid-Lösung (R = Alkyl). Das Cupratreagenz wird dabei *in situ* aus zwei Äquivalenten Methyllithium und einem Äquivalent Kupfercyanid in Diethylether hergestellt.

Alkylcyanocuprate können sowohl als solvensgetrenntes Ionenpaar (SSIP) oder Kontaktionenpaar (CIP) vorliegen.^[70] Dabei wird der Reaktionsverlauf durch das Lösungsmittel bestimmt. So liegen solvensgetrennte Ionenpaare vorwiegend in gut solvatisierenden Lösungsmitteln wie Tetrahydrofuran vor. Kontaktionenpaare bilden häufig dimere Formen in schlecht solvatisierenden Lösungsmitteln wie Diethylether oder Chloroform. CIP und SSIP liegen in einem schnellen Gleichgewicht vor und können reversibel durch Temperaturänderungen beeinflusst werden. Kinetik-Untersuchungen der Reaktion von Lithium-Cupraten mit Enonen zeigten, dass die Reaktion in Diethylether schneller verläuft als in Tetrahydrofuran.^[71-73] Durch quantenchemische Berechnungen der Geometrie des Übergangszustands wurde gezeigt, dass das Dimer die reaktive Spezies ist.^[74]

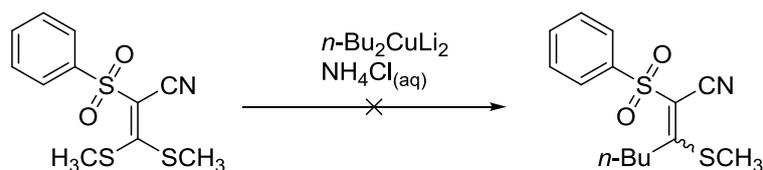


Schema 3-16: Versuchte Darstellung der C,S-Vinylsulfone durch Transmetallierung.

Als großes Problem stellte sich die geringe Löslichkeit des S,S-Vinylsulfons in Diethylether dar. Bei Umsetzungen von **44** mit $\text{Me}_2\text{Cu}(\text{CN})\text{Li}_2$ über Nacht bei -30°C oder Raumtemperatur zum Cuprat bildete sich ein schwarzer Feststoff, der mit Brombutan oder Allylbromid nicht weiter umgesetzt werden konnte. Ersatz von Diethylether durch Tetrahydrofuran bei -20°C führte zu Produkten, die nicht identifiziert werden konnten. Zutropfen einer Lösung der hergestellten Organometallverbindung in Tetrahydrofuran bei -20° und Umsetzung mit NH_4Cl -Lösung oder Alkylhalogeniden in Diethylether ergab nach säulenchromatographischer Aufreinigung die methylsubstituierte Verbindung **47** mit einer Ausbeute von 14 %. Ob die Schwefelatome des Vinylsulfons **47** *cis* oder *trans* zueinander stehen, ist bislang nicht weiter untersucht. Weitere Nebenprodukte konnten nicht identifiziert werden.

Da diese Route ebenfalls nicht zu den gewünschten C,S-Vinylsulfonen führte, sondern zu einer Substitution durch Metallorganyle, die bereits das Ziel mit kupferkatalysierten Grignardverbindungen waren (Kap. 3.5.3.2), wurde nun versucht, eine gezielte Umsetzung mit Organocupraten zu erreichen.

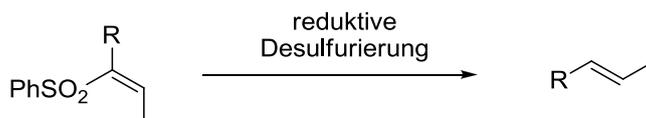
Die Darstellung des Cuprats Bu_2CuLi_2 erfolgte nach Literaturvorschrift ausgehend von Butyllithium und Kupferiodid. Im ersten Versuch wurde eine Lösung des Vinylsulfons **44** zu der Suspension getropft. Im zweiten Versuch wurde das frisch hergestellte Cupratreagenz zu einer Lösung von **44** zugetropft. In beiden Fällen konnte die gewünschte Umsetzung nicht beobachtet werden. Stattdessen erfolgte eine Zersetzung zu mehreren Produkten, die nicht identifiziert werden konnten.



44

Schema 3-17: Versuchte Darstellung von C,S-Vinylsulfonen.

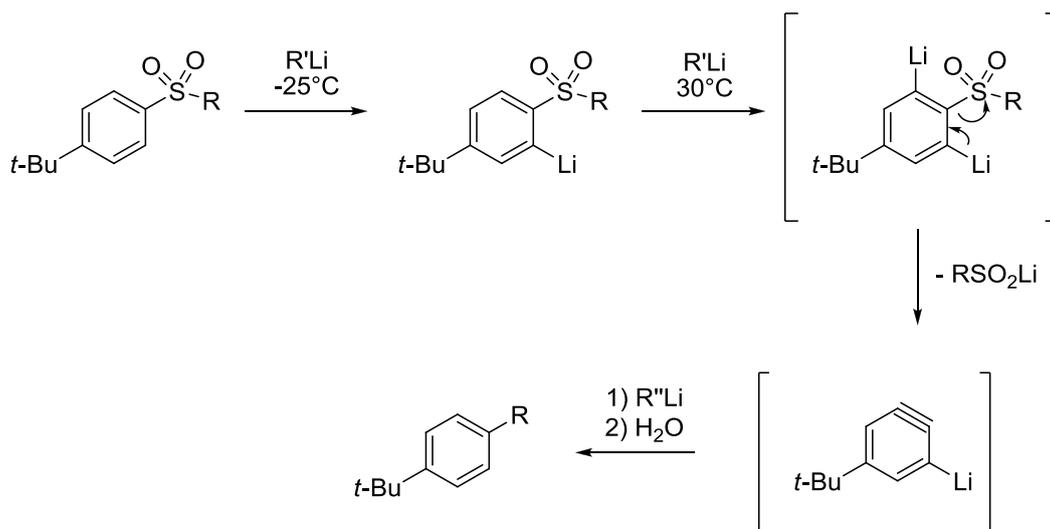
Der Grund für das Scheitern der Transmetallierung könnte im Reaktionsmechanismus liegen. Eine bekannte Reaktion ist die reduktive Desulfurierung durch Kaliumgraphit.^[75] Da bei der Reduktion ein Elektronentransfer stattfindet, wie er auch für die Transmetallierungsreaktion (Schema 3-17) postuliert wird, könnte dieser ein Grund für die Zersetzung sein. Statt der Reaktion zum gewünschten Cuprat würde so eine Desulfurierung des α,β -ungesättigten Sulfons erfolgen, was zur Entstehung des Alkens führt (Schema 3-18).^[76]



Schema 3-18: Reaktion der reduktiven Desulfurierung.

Das Scheitern der Substitution eines Thiomethansubstituenten durch Grignardverbindungen könnte daran liegen, dass der Nitrilsubstituent als weiteres elektrophiles Zentrum zur Verfügung steht und dieses in erster Linie mit den eingesetzten Grignardreagenzien reagiert. Eine Identifizierung der zu erwartenden Ketone wurde jedoch nicht durchgeführt.

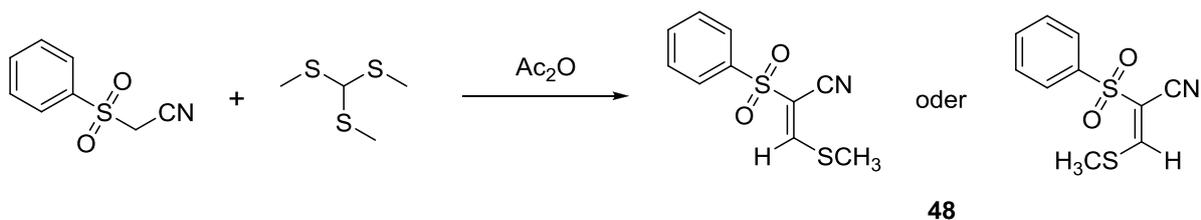
Ein weiterer Grund könnte auch sein, dass unter den gewählten Reaktionsbedingungen der Phenylring deprotoniert werden kann (Schema 3-19). Die metallierte *ortho*-Position des Phenylrings kann bei Verwendung von Lithiumreagenzien stabilisiert werden. Im weiteren Reaktionsverlauf wird das Sulfinatanion abgespalten und der Phenylring alkyliert.^[76]



Schema 3-19: Abspaltung einer Sulfongruppe durch Lithiumreagenzien.

3.5.3.4 VERSUCHTE DARSTELLUNG VON H,S-VINYLSULFONEN

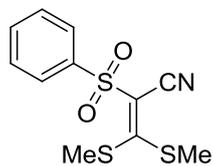
Eine bekannte Methode zur Darstellung von alkylierten H,S-Vinylsulfonen verläuft über die Transmetallierung durch $Me_2Cu(CN)Li_2$ und anschließende Umsetzung mit wässriger Ammoniumchloridlösung in Diethylether (vgl. Schema 3-16). Aufgrund der schlechten Löslichkeit in Diethylether konnte dieser Reaktionsverlauf nicht beobachtet werden. Stattdessen wurde eine Umsetzung von (Phenylsulfonyl)acetonitril mit Tris(methylthio)methan in Essigsäureanhydrid (Ac_2O) versucht (Schema 3-20).



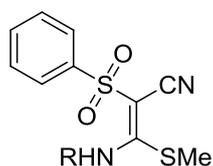
Schema 3-20: Versuchte Darstellung von H,S-Vinylsulfonen.

Nach Umsetzung mit wässriger Ammoniumchloridlösung und Aufreinigung des Produkts durch Säulenchromatographie konnte jedoch nur ein Produktgemisch isoliert werden. Eine LC/MS-Untersuchung der isolierten Mischfraktion zeigte eine Mischung aus Produkt **48** ($[M+H]^+ = 420.2$) und einer weiteren unbekanntem Verbindung ($[M+H]^+ = 257.1$). Ob die S-Atome in Verbindung **48** *cis* oder *trans* zueinander stehen, ist bislang noch nicht näher untersucht. Dieser Weg wurde nicht weiter verfolgt.

3.6 ÜBERSICHT ÜBER DIE DARGESTELLTEN ZIELVERBINDUNGEN

S,S-Vinylsulfon

44

N,S-Vinylsulfone

45

Tabelle 3-4: Übersicht über die dargestellten *N,S*-Vinylsulfone.

Verbindung	R
45a	Ethyl
45b	4-Nitrophenyl
45c	4-Fluorophenyl
45d	Methyl
45e	4-Methylphenyl
45f	Benzyl
45g	4-Methoxyphenyl
45h	4-Iodophenyl
45i	Phenyl
46a	N-Leu-OBn
46b	N-Leu-OMe

4 BIOCHEMISCHE UND BIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN

4.1 ENZYM-KINETIK

4.1.1 ALLGEMEINES

Enzyme sind Biokatalysatoren, es handelt sich in den meisten Fällen um Proteine. Die wichtigsten Eigenschaften eines Enzyms sind seine katalytische Wirkung und seine Spezifität. Katalyse bedeutet, dass das Enzym an einer Reaktion teilnimmt, dabei aber selbst nicht umgesetzt wird. Die Katalyse findet dabei an einer spezifischen Stelle am Enzym statt, der sogenannten „active site“ (aktives Zentrum). Proteine sind hoch effektive Katalysatoren, die für eine Vielzahl an Reaktionen eingesetzt werden können, weil sie in ihren Bindetaschen eine Vielzahl an Molekülen spezifisch umsetzen. Diese Substratspezifität bedeutet, dass jedes Enzym bestimmte Substrate zu bestimmten Produkten umsetzt. Im Fall von hochspezifischen Enzymen wird sogar nur ein Substrat umgesetzt.

Die Triebkraft für eine Reaktion, bei der ein Substrat in ein Produkt umgewandelt wird, ist die freie Enthalpie ΔG . Diese freie Enthalpie setzt sich zusammen aus der Wärme die freigesetzt wird (ΔH) und der Entropie (ΔS). Der genaue Zusammenhang spiegelt sich in der Gibbs-Helmholtz-Gleichung wieder:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (T = \text{Temperatur})$$

Ist ΔG negativ, dann wird Energie in Form von Wärme oder Entropie freigesetzt, und eine Reaktion verläuft freiwillig. Entscheidend für die Geschwindigkeit einer Reaktion ist jedoch nicht ΔG , sondern die Aktivierungsenthalpie ΔG_a (die freie Enthalpie, die im ersten Schritt vom Substrat aufgenommen werden muss). Je höher diese Barriere ist, desto langsamer verläuft eine Reaktion. Am Scheitelpunkt der Energiekurve liegen die beiden Reaktanden im Übergangszustand vor.

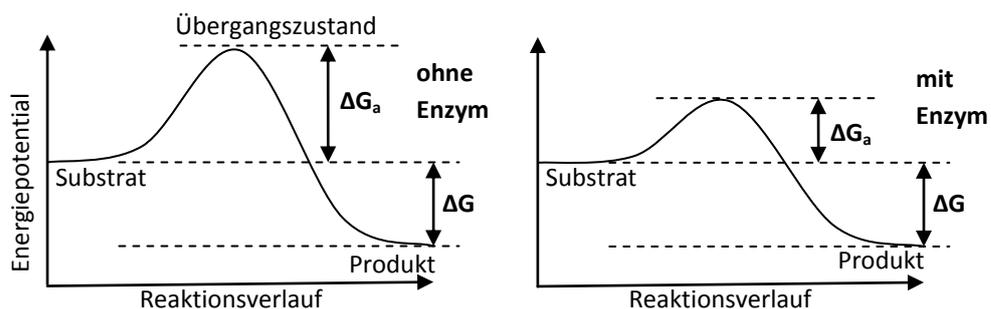


Abbildung 4-1: Verlauf der Energiepotentialkurve während der Reaktion.

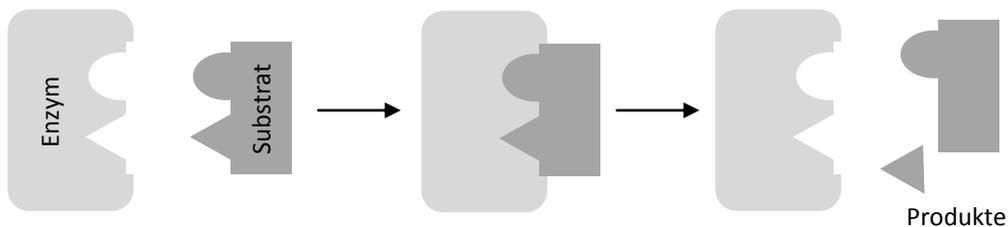
Katalysatoren bewirken, dass diese Aktivierungsenthalpie ΔG_a herabgesetzt wird. Dadurch wird die Reaktion beschleunigt. ΔG wird dabei nicht verändert und hängt nur ab von der molaren Substrat- und

Produktkonzentration [S] und [P]. Die Reaktion verläuft nur bis zu einem bestimmten Punkt ($\Delta G = 0$), ab dem sich das Verhältnis von [S] und [P] nicht mehr verändert und die Reaktion im Gleichgewicht vorliegt. Der Zusammenhang von ΔG^0 und ΔG ist in der allgemeinen Gasgleichung beschrieben:

$$\Delta G = \Delta G^0 - R T \ln\left(\frac{[P]}{[S]}\right) \quad (R = \text{Gaskonstante})$$

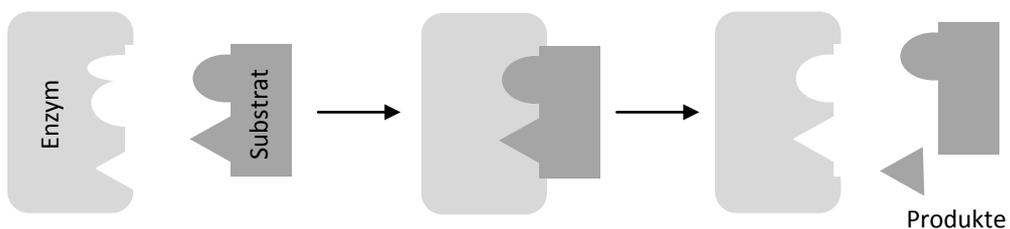
Das Enzym hat als Katalysator keinen Einfluss auf ΔG oder ΔG^0 , sondern nur auf die Geschwindigkeit mit der das Gleichgewicht zwischen Substrat und Produkt erreicht wird.

Damit das Enzym die Reaktion katalytisch beschleunigen kann, ist die Ausbildung eines Enzym-Substrat-Komplexes notwendig. Dabei gibt es zwei Möglichkeiten zur Ausbildung eines solchen Komplexes: erstens nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip und zweitens nach dem „Induced-Fit-Modell“. Beim Schlüssel-Schloss-Prinzip liegt die Bindetasche so vor, dass das Substrat dazu passt wie Schlüssel zum Schloss:



Schema 4-1: Schlüssel-Schloss-Prinzip.

Im „Induced-Fit-Modell“ ist die Bindestelle nur vorgeformt und bildet erst bei Anwesenheit des Substrats die dazu passende Bindestelle:



Schema 4-2: Induced-Fit-Modell.

Die Produktbildung aus dem Substrat erfolgt bei einfachen Enzymreaktionen nach Michaelis-Menten in zwei Stufen: 1. Es wird ein Enzym-Substrat-Komplex (ES) mit der Geschwindigkeitskonstanten k_1 gebildet, der wieder zu E und S zerfallen (k_{-1}) kann, oder 2. zu Enzym und Produkt mit der Geschwindigkeitskonstanten k_{cat} zerfällt:



Wird eine bestimmte Menge Enzym mit Substrat vermischt, dann nimmt mit der Zeit [S] ab und [P] zu. Direkt nach dem Vermischen von E und S wird der Enzym-Substrat-Komplex ES gebildet und [ES] steigt bis zu einer bestimmten Konzentration an. Ist diese ES-Konzentration erreicht, so befindet sich die Reaktion im Steady-State/Fließgleichgewicht und [ES] ändert sich nicht mehr, bis nur noch wenig Substrat vorhanden ist:

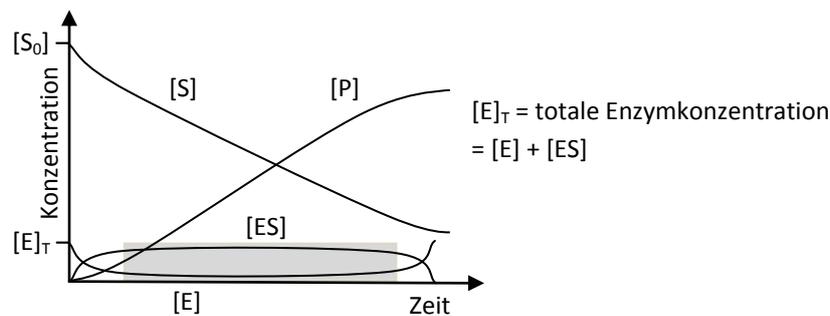


Abbildung 4-2: Produktbildung aus dem Substrat bei einfachen Enzymreaktionen (grau: Steady-state).

Die Michaelis-Menten-Konstante

$$K_m = \frac{k_{cat} + k_{-1}}{k_1} \quad (1)$$

ist ein Maß für die Affinität des Enzyms zum Substrat. Wird das Enzym bei einer hohen Konzentration an Substrat gesättigt, so sind alle aktiven Zentren belegt und die maximale Umsatzgeschwindigkeit V_{max} ist erreicht. Die maximale Reaktionsgeschwindigkeit kann mit Hilfe der Lineweaver-Burk-Linearisierung grafisch ermittelt werden. Diese Linearisierung ist zwar die meistgenutzte Methode, zugleich jedoch auch die am wenigsten brauchbare, da hier die Daten ungleichmäßig verzerrt werden.^[54]

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{K_m}{V_{max}} \cdot \frac{1}{c_S} \quad (2)$$

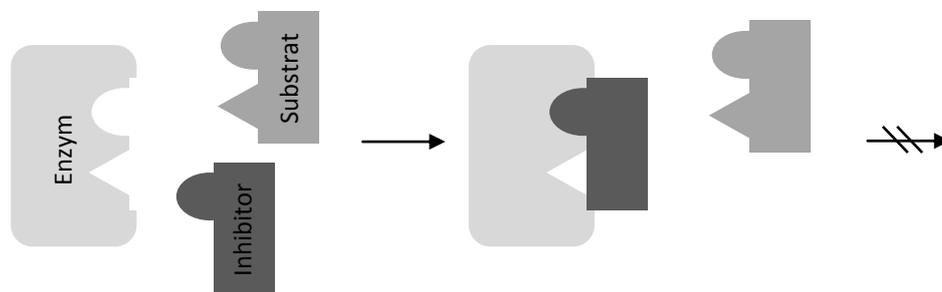
Die reziproke Michaelis-Menten-Konstante ($1/K_m$) ergibt sich dann aus dem Schnittpunkt der Gerade mit der X-Achse und $1/V_{max}$ aus dem Schnittpunkt der Gerade mit der Y-Achse. Die Michaelis-Menten-Konstante beschreibt die Substratkonzentration, bei der die Hälfte der maximalen Umsatzgeschwindigkeit ($\frac{1}{2} V_{max}$) erreicht ist.

Die Aktivität von Enzymen hängt von mehreren Faktoren ab: 1. der Substratkonzentration, 2. oft auch von der Produktkonzentration, da in vielen Fällen auch Produkthemmung auftreten kann, 3. dem pH-Wert, weil sich in den aktiven Zentren mancher Enzyme Aminosäuren befinden, die im Sauren protoniert werden, wodurch

Gerüstverformung auftritt und 4. der Temperatur, da die Aktivität bei steigender Temperatur steigt, bei zu hoher Temperatur jedoch Denaturierung der Enzyme auftritt.

Beeinflusst werden können Enzymaktivitäten auch durch andere Moleküle. Wird die Aktivität des Enzyms durch körpereigene oder körperfremde Substanzen (Inhibitoren) herabgesetzt, so spricht man von Inhibition oder Hemmung.

Man unterscheidet zwischen kompetitiven Inhibitoren und nichtkompetitiven Inhibitoren. Kompetitive Inhibitoren konkurrieren mit dem Substrat um die Bindetasche am Enzym. Der Inhibitor wird dabei zwar an die Bindetasche gebunden, aber nicht weiter umgesetzt. Der Inhibitor kann durch Substrat wieder verdrängt werden und bleibt beim Abdissoziieren vollständig intakt. Man spricht auch von einer reversiblen Hemmung (Schema 4-3).



Schema 4-3: Kompetitive Inhibition.

Nichtkompetitive Inhibitoren binden zusammen mit dem Substrat an das Enzym und bilden so einen Enzym-Inhibitor-Substrat-Komplex (Schema 4-4). Dieser Komplex bildet kein Produkt. Im Gegensatz zum kompetitiven Inhibitor kann Substrat den Inhibitor nicht mehr verdrängen, wodurch die maximale Substratsättigung nicht mehr erreicht werden kann.



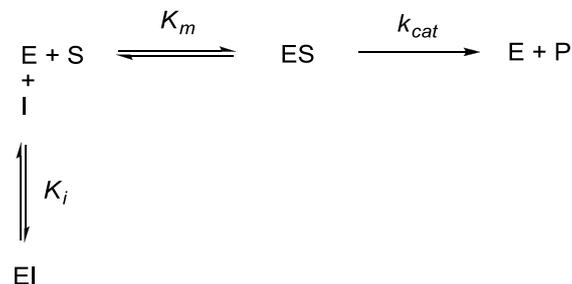
Schema 4-4: Nicht-kompetitive Inhibition.

Man kann weiterhin zwischen irreversibler und reversibler Hemmung unterscheiden. Bei irreversibler Hemmung wird der Inhibitor kovalent an die Bindetasche gebunden und kann nicht mehr verdrängt werden. Das aktive Zentrum am Enzym wird dauerhaft und irreversibel gehemmt. Dazu zählt auch der Fall der

Suizidsubstrate, die am aktiven Zentrum katalytisch gespalten werden, jedoch dabei eine kovalente Bindung mit dem aktiven Zentrum ausbilden und es so blockieren.

4.1.2 REVERSIBLE HEMMUNG

Bei der kompetitiven Hemmung konkurrieren Substrat und Inhibitor um die Bindetasche (Schema 4-5). Es kommt zur Bildung eines reversiblen Enzym-Substrat-Komplexes (E-S), der zum Enzym (E) und zum Produkt (P) mit der Ratenkonstante k_{cat} zerfallen kann. Ist ein Inhibitor (I) anwesend, so konkurriert dieser mit dem Substrat um das Enzym und bildet einen reversiblen Enzym-Inhibitor-Komplex (EI).



Schema 4-5: Reversible Bildung eines Enzym-Inhibitor-Komplexes in Konkurrenz mit einem Substrat.

Wird ein Enzym-Inhibitor-Komplex gebildet, so steigt die Enzym-Substrat-Dissoziationskonstante K_m scheinbar, da die Affinität der Enzyme zum Substrat abnimmt, ohne Einfluss auf die maximale Geschwindigkeit V_{max} zu nehmen.

$$v = k_{cat} [ES] = \frac{V_{max} \times [S]}{\alpha \times K_m + [S]}$$

$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_i}$$

$$K_m = \frac{[E] \times [S]}{[ES]} = \frac{k_1}{k_{-1}} \qquad K_i = \frac{[E] \times [I]}{[EI]}$$

$$[E_T] = [E] + [ES] + [EI] = [E] + \frac{[E] \times [S]}{K_m} + \frac{[E] \times [I]}{K_i}$$

$$[E_T] = \text{Gesamtzymkonzentration}$$

Linearisierung nach Lineweaver-Burk:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{K_m}{V_{max}} \cdot \frac{\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)}{[S]} \qquad (3)$$

Nach Dixon:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{max}} \cdot \left(1 + \frac{K_m}{[S]}\right) + \frac{[I] \cdot K_m}{V_{max} \cdot K_i \cdot [S]} \quad (4)$$

Nach Lineweaver-Burk erhält man durch Auftragen von $1/v$ gegen $1/[S]$ für verschiedene Inhibitorkonzentrationen Geraden, die die Y-Achse im Punkt $1/V_{max}$ schneiden. Mit steigender Inhibitorkonzentration nimmt die Steigung zu und der Schnittpunkt der Geraden mit der X-Achse $-1/(K_m(1 + [I]/K_i))$ wandert gegen Null.

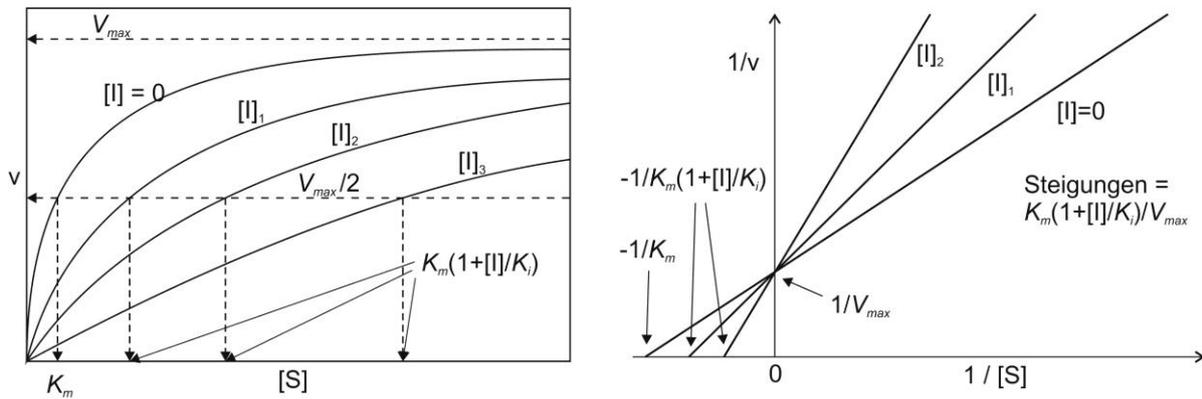


Abbildung 4-3: Kompetitive Hemmung. Links: direkte Darstellung. Rechts: doppel-reziprokes Diagramm.

Nach Dixon erhält man bei Auftragen von $1/v$ gegen $[I]$ Geraden, die sich alle in dem Punkt $-K_i$ als X-Koordinate schneiden. Die Steigungen der Geraden besitzen den Wert $K_m/(V_{max} \cdot K_i \cdot [S])$ und die Geraden schneiden die Y-Achse in den jeweiligen Punkten $(1 + K_m/[S])/V_{max}$.

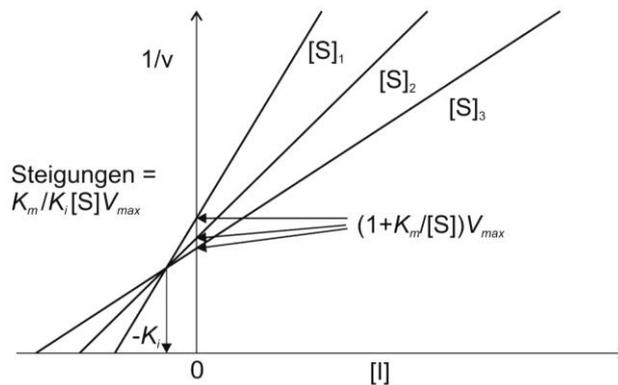


Abbildung 4-4: Diagramm nach Dixon.

Durch die Restenzymaktivität v/V_{max} erhält man das Konzentrationsverhältnis von freiem Enzym und Gesamtzymkonzentration. Damit ist die Konzentration der durch den Inhibitor gebundenen

Enzymkonzentration durch den Term $1 - v/V_{max}$ gegeben. Somit nimmt bei einer bestimmten Konzentration von Enzym und Substrat und bei steigender Inhibitorkonzentration die Reaktionsgeschwindigkeit ab, bis keine Aktivität mehr messbar ist. Trägt man die Restenzymaktivität gegen die logarithmische Inhibitorkonzentration auf, so erhält man eine sigmoidale Kurve. Der Mittelpunkt dieser Kurve zeigt die Inhibitorkonzentration, bei der 50 % des Enzyms gehemmt vorliegen. Der Wert zu dieser Inhibitorkonzentration wird als IC_{50} -Wert bezeichnet.

Der IC_{50} -Wert besitzt nur eine Aussagekraft, wenn man eine konsistente Messreihe betrachtet, da weder die Affinität zum Enzym (K_m) noch die Substratkonzentration im Assay berücksichtigt werden. Die Abhängigkeit des IC_{50} -Werts von $[S]$, K_m und K_i ist durch die *Cheng-Prusoff-Gleichung* gegeben.^[55]

$$IC_{50} = K_i \cdot \left(1 + \frac{[S]}{K_m}\right) \quad (5)$$

4.1.3 IRREVERSIBLE HEMMUNG

Bei der irreversiblen Hemmung bindet der Inhibitor an die Bindetasche des Enzyms und blockiert die Umsetzung von Substrat zum Produkt. Eine Unterscheidung zwischen reversiblen und irreversiblen Inhibitoren erfolgt durch Dialyse, Gelfiltration, Ultrafiltration u.ä.. Unter der Voraussetzung, dass die Inhibitorkonzentration wesentlich größer als die Enzymkonzentration ist ($[I] \gg [E]$, $[I] \approx [I_0]$) kann mit dem Modell der Kinetik erster Ordnung gerechnet werden:

$$[EI^*] = [E_T] \times (1 - e^{-k't}) \quad (6)$$

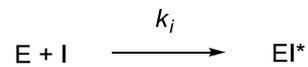
$[EI^*]$ entspricht dabei der Konzentration des irreversiblen Enzym-Inhibitor-Komplexes und $[E_T]$ der totalen Enzymkonzentration. Die Ratenkonstante k' [s^{-1}] erster Ordnung kann durch Linearisierung dieser Gleichung graphisch ermittelt werden:

$$\ln\left(1 - \frac{[EI^*]}{[E_T]}\right) = -k' \times t \quad (7)$$

Die Bedeutung von k' hängt ab vom exakten Hemmmechanismus.

Einfache irreversible Hemmung:

Bei der einfachen irreversiblen Hemmung interagieren Enzym (E) und Inhibitor (I) unter Bildung eines irreversiblen Inhibitor-Enzym-Komplexes (EI^*). Dabei handelt es sich um eine Reaktion zweiter Ordnung, wobei k_i [$M^{-1} s^{-1}$] die Ratenkonstante zweiter Ordnung für die Hemmung ist.



Die Differenzialgleichung für den irreversiblen Enzym-Inhibitor-Komplex [EI^*] lautet:

$$\frac{d[EI^*]}{dt} = k_i \times [I] \times [E] \quad (8)$$

Die Gesamtkonzentration an Enzym [E_T] ist die Summe aus den Konzentrationen von freiem Enzym [E] und Enzym-Inhibitor-Komplex [EI^*]

$$[E_T] = [E] + [EI^*] \quad (9)$$

Gilt $[I_0] = [I]$ und wird $[E]$ durch $[E_T - EI^*]$ ersetzt, erhält man folgende Differenzialgleichung:

$$\frac{d[EI^*]}{dt} = k_i \times [I_0] \times [E_T - EI^*] = k' \times [E_T - EI^*] \quad (10)$$

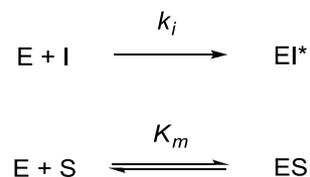
$$k' = k_i \times [I_0] \quad (11)$$

nach der Integration der Gleichung erhält man ein kinetisches Modell für die Reaktion erster Ordnung:

$$[EI^*] = [E_T] \times (1 - e^{-k't}) \quad (12)$$

Einfache irreversible Hemmung in Anwesenheit von Substrat:

Bei der einfachen irreversiblen Hemmung in Anwesenheit von Substrat sind folgende Reaktionen zu berücksichtigen:



Die Gleichungen zur Beschreibung des irreversiblen Enzym-Inhibitor-Komplexes, der Dissoziationskonstante für den Enzym-Substrat-Komplex und der gesamten Enzymkonzentration sind:

$$\frac{d[EI^*]}{dt} = k_i \times [I] \times [E] \quad (13)$$

$$K_m = \frac{[E] \times [S]}{[ES]} \quad (14)$$

$$[E_T] = [E] + [EI^*] + [ES] \quad (15)$$

Durch Umformung der Gleichungen erhält man

$$\frac{d[EI^*]}{dt} = k_i \times [I_0] \times \frac{[E - EI^*] \times K_m}{K_m + [S]} = k' \times [E_T - EI^*] \quad (16)$$

$$k' = \frac{k_i \times K_m}{K_m + [S]} \times [I_0] \quad (17)$$

Durch Integration der Gleichung erhält man ein Modell erster Ordnung, das die zeitabhängige Veränderung der Konzentration $[EI^*]$ in Anwesenheit von Substrat beschreibt:

$$[EI^*] = [E_T] \times (1 - e^{-k't}) \quad (18)$$

Trägt man k' gegen $[I_0]$ bei konstanter Substratkonzentration $[S]$ auf, so erhält man eine Gerade mit der Steigung

$$\frac{k_i \times K_m}{K_m + [S]}$$

Ist K_m bekannt, so ist es möglich k_i zu lösen.^[78]

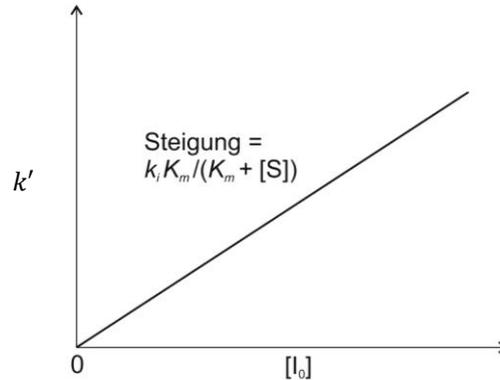
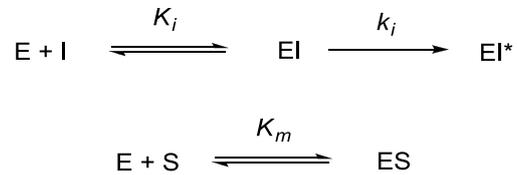


Abbildung 4-5: Auftragung von k' gegen $[I_0]$ zur Bestimmung von k_i

Zeitabhängige irreversible Hemmung in Anwesenheit von Substrat:

Bei der zeitabhängigen irreversiblen Hemmung in Anwesenheit von Substrat sind folgende Reaktionen zu berücksichtigen:



Die Differenzialgleichung, die die Bildung des irreversiblen Enzym-Inhibitor-Komplexes beschreibt und die Dissoziationskonstanten K_m und K_i setzen sich folgendermaßen zusammen:

$$\frac{d[EI^*]}{dt} = k_i \times [EI] \quad (19)$$

$$K_i = \frac{[E] \times [I]}{[EI]} \quad (20)$$

$$K_m = \frac{[E] \times [S]}{[ES]} \quad (21)$$

$$[E_T] = [E] + [EI] + [EI^*] + [ES] \quad (22)$$

Durch Umstellen der Gleichung (20) erhält man den Ausdruck

$$[EI] = \frac{[E_T] - [EI^*]}{1 + \frac{K_i}{[I_0]} \left(1 + \frac{[S]}{K_m}\right)} \quad (23)$$

Setzt man diesen Ausdruck in die Differenzialgleichung (19) ein, erhält man

$$\frac{d[EI^*]}{dt} = k_i \times [EI] = \frac{k_i \times ([E_T] - [EI^*])}{1 + \frac{K_i}{[I_0]} \left(1 + \frac{[S]}{K_m}\right)} = k' \times ([E_T] - [EI^*]) \quad (24)$$

mit

$$k' = \frac{k_i}{1 + \frac{K_i}{[I_0]} \left(1 + \frac{[S]}{K_m}\right)} = \frac{k_i \times [I_0]}{K_i \times \left(1 + \frac{[S]}{K_m}\right) + [I_0]} \quad (25)$$

Charakteristische Konstanten:

Charakteristische Konstanten zur Beschreibung der irreversiblen Enzym-Inhibitor-Komplex-Bildung sind die Hemmkonstanten k_i , K_i und k_{2nd} .

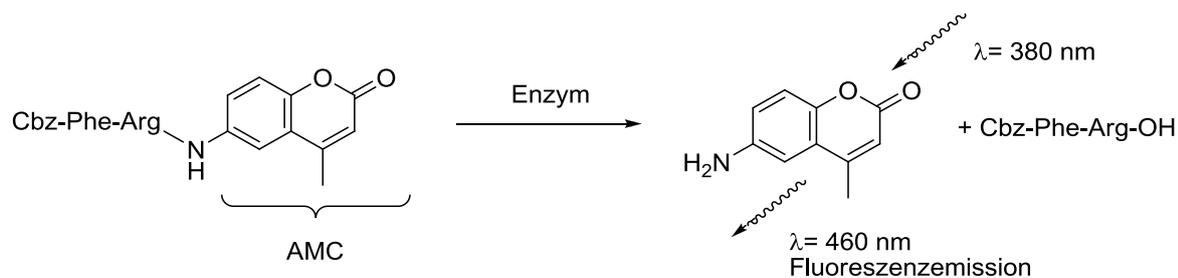
- k_i [min^{-1}] ist die Geschwindigkeitskonstante erster Ordnung der Bildung des inaktivierten Enzyms E-I
- K_i [M] ist die Dissoziationskonstante des Enzym-Inhibitor-Komplexes und ergibt sich aus dem Massenwirkungsgesetz. Da der irreversible Schritt geschwindigkeitsbestimmend ist, erhält man die Gleichung $K_i = k_{-1}/k_1$. Je kleiner der K_i -Wert ist, desto höher ist die Affinität des Inhibitors zum Enzym.
- k_{2nd} [$\text{M}^{-1} \text{min}^{-1}$] ist die Geschwindigkeitskonstante zweiter Ordnung der Inaktivierung und lässt sich aus dem Quotienten von k_i und K_i berechnen:

$$k_{2nd} = \frac{k_i}{K_i} \quad (26)$$

Die Bildung des E-I-Komplexes (K_i) wird berücksichtigt, sowie die irreversible Inaktivierung (k_i). Ist die Affinität des Inhibitors zum Enzym hoch, wird K_i klein. Wird das Enzym schnell inaktiviert (großer k_i - Wert), so erhält man einen großen k_{2nd} -Wert und die Inaktivierung des Enzyms durch den Inhibitor wird besser.

4.1.4 DURCHFÜHRUNG DER FLUORIMETRISCHEN ENZYM-ASSAYS

Die Bestimmung der prozentualen Hemmung sowie der K_i -Werte der synthetisierten Verbindungen erfolgten mithilfe fluorimetrischer Enzymassays. Als Substrat wurde Z-Phe-Arg-7-Amino-4-methylcumarin (Cat-B, Fal-2, Rho, Cat-L) bzw. Z-Arg-Leu-Arg-Gly-Gly-7-Amino-4-methylcumarin (SARS-CoV-PL^{pro}) verwendet. Das Substrat wird durch das Enzym mittels Hydrolyse gespalten. Dabei wird fluoreszierendes 7-Amino-4-methylcumarin (AMC) freigesetzt. Die Spaltung erfolgt dabei zwischen Arg und AMC bzw. Gly und AMC. Die Substrate selbst zeigen nur geringe Fluoreszenz. Das freigesetzte AMC-Molekül ist jedoch in der Lage, nach Anregung Licht der Wellenlänge von 480 nm zu emittieren. Dadurch steigt die Fluoreszenz im Verlauf der Reaktion an. Wird das Enzym durch einen Inhibitor gehemmt, nimmt die Fluoreszenz langsamer zu. Schema 4-6 zeigt den Mechanismus der Substratspaltung durch das Enzym.



Schema 4-6: Enzymatische Spaltung von Cbz-Phe-Arg-AMC.

Zur Bestimmung der prozentualen Hemmung der dargestellten Inhibitoren an SARS-CoV-M^{pro} wurde ein FRET-Assay durchgeführt (FRET = *fluorescence resonance energy transfer*). Das Substrat besitzt sowohl einen Fluoreszenz-Donor, sowie einen Fluoreszenz-Akzeptor. Donor und Akzeptor sind durch eine Peptidkette verbunden. Der Akzeptor absorbiert das vom Donor emittierte Licht, so dass Lichtemission nach außen unterdrückt wird (inneres Quenching). Wird das Substrat durch das Enzym gespalten, entfernen sich Donor und Akzeptor so weit voneinander, dass kein inneres Quenching mehr stattfinden kann und die Fluoreszenz messbar zunimmt.

Die Durchführung erfolgt bei 25°C in weißen 96-Well-Mikrotiterplatten. Die Anregungswellenlänge von AMC liegt bei 380 nm, die Detektionswellenlänge des Fluorimeters bei 460 nm. Beim FRET-Substrat liegt die Anregungswellenlänge bei 325 nm und die Emissionswellenlänge bei 425 nm. Eine Übersicht über die Enzymassay-Bedingungen, sowie die Substratkonzentrationen [S] und die Michaelis-Menten-Konstanten K_m wird durch Tabelle 4-1 gegeben.

Tabelle 4-1: Bedingungen der Enzymassays.

Enzym	Puffer	[S]	K_m
Cathepsin L	Tris-Puffer (pH 6.5)	6.25 μ M	6.5 μ M
Cathepsin B	Tris-Puffer (pH 6.5)	100 μ M	150 μ M
Falcpain-2	Acetat-Puffer (pH 5.5)	25 μ M	21.5 μ M
Rhodesain	Acetat-Puffer (pH 5.5)	10 μ M	1.5 μ M
SARS-CoV-M ^{pro}	Tris-Puffer (pH 7.5)	150 μ M	190 μ M
SARS-CoV-PL ^{pro}	Tris-Puffer (pH 7.5)	50 μ M	850 μ M

4.1.5 DURCHFÜHRUNG DER VIABILITÄTSTESTS AN *P. FALCIPARUM*

Um die inhibitorische Wirkung der Verbindungen auf den Parasiten *P. falciparum* zu testen, wurden Viabilitätstests durchgeführt.^[79] Dabei wird über den DNS-Gehalt das Überleben der Parasiten bestimmt. Dazu wird der Fluoreszenzfarbstoff SYTOX® *Green* eingesetzt. Hierbei ist der DNS-Gehalt proportional zur messbaren Fluoreszenz.

Als Ausgangsmaterial werden synchrone Kulturen mit Ringstadien oder Trophozoiten eingesetzt, deren Parasitämie bei ca. 2 % und der HTC (Hämatokrit) bei ca. 5 % (w/v) liegt. Die zu untersuchenden Substanzen werden zu 50 mM in DMSO gelöst. Es erfolgt die Verdünnung auf 5 mM mit 50 % (v/v) Ethanol. Um die finale Konzentration von 200 µM in der ersten Reihe einer sterilen 96-Boch-Flachbodenplatte zu erhalten, wird die jeweilige Substanz mit Zellkulturmedium auf 400 µM in einem Volumen von 200 µl verdünnt. Anschließend erfolgt eine serielle 1:2 Verdünnung der Substanz mit Zellkulturmedium, so dass sich in jeder Kavität ein Volumen von 100 µl befindet. Schließlich erfolgt die Zugabe von je 100 µl der Zellsuspension in jede Kavität. Die inhibitorische Wirkung der Substanz wurde vierfach bestimmt. Als Negativkontrolle wurde DMSO mit 50 % (v/v) Ethanol 1:5 in der ersten Reihe der sterilen 96-Loch-Flachbodenplatte in einem Volumen von 200µl verdünnt und dann 1:2 seriell mit Zellkulturmedium verdünnt. Das Volumen pro Kavität beträgt 100 µl, zu denen je 100 µl der Zellsuspension zugefügt werden. Es erfolgt eine Doppelbestimmung. Die Zellen werden für 48 Stunden, d.h. einem Entwicklungszyklus von *P. falciparum* inkubiert. Danach wird in jede Kavität 20 µl 1.1 % (v/v) Igepal + 11 µM SYTOX® *Green* gegeben und die Zellen resuspendiert. Nach einer Inkubation von 30 min. im Dunkeln bei Raumtemperatur werden je 110 µl der Kavitäten in eine neue 96-Loch-Flachbodenplatte überführt. Die Auswertung des Viabilitätstests erfolgt am Photometer *Fluoroscanner II* (Labsystems, Frankfurt am Main). Die Fluoreszenz des SYTOX® *Green* wurde mit einer Wellenlänge von 485 nm angeregt und die Emission bei einer Wellenlänge von 530 nm gemessen.

Die Durchführung und Auswertung erfolgte freundlicherweise durch Frau Anne Luzius und Herrn M. sc. Stephan Philipp an der Universität Kiel (Ak Prof. Dr. M. Leippe).

4.2 TESTERGEBNISSE

4.2.1 TESTUNG DER AMP-INHIBITOREN AN SARS-COV-M^{PRO} UND SARS-COV-PL^{PRO}

Die dargestellten Leucinamidderivate wurden auf Hemmung von SARS-CoV-M^{PRO} und PL^{PRO} getestet. Die Inhibitorkonzentration lag bei allen Testungen bei 20 μ M. Die Messungen wurden zweifach durchgeführt und der Mittelwert berechnet.

Tabelle 4-2: Hemmaktivitäten der Leucinamidderivate an SARS-CoV-M^{PRO} und PL^{PRO} (Abweichung <10 %).

Verbindung	% Hemmung bei [I] = 20 μ M		Verbindung	% Hemmung bei [I] = 20 μ M	
	SARS-M ^{PRO}	SARS-PL ^{PRO}		SARS-M ^{PRO}	SARS-PL ^{PRO}
34a	<10	11.1	37m	<10	22
34b	18	<10	37n	18	13
34c	20	<10	37o	18	13
34d	14	16	37p	<10	<10
34e	20.5	<10	37q	<10	<10
34f	33	22	37r	18	34
34g	21	14	37s	17	16
34h	<10	<10	37t	24	15
34i	<10	<10	37u	24	14
34j	12	21	37v	<10	<10
34k	14	27	37w	<10	<10
34l	12	<10	37x	<10	19
34m	17	<10	37y	25	16
34n	23	10	37z	12	<10
34o	30	15	37aa	<10	15
34p	<10	<10	37bb	<10	24
34q	12	<10	38a	18	<10
34r	13	<10	38b	<10	<0
34s	16	11	38c	<10	<10
34t	22	13	38d	10	<10
36a	<10	10	38e	11	<10
37a	22	19	38f	24	<10
37b	21	21	38g	23	14
37c	21	25	38h	25	<10
37d	12	17	38i	<10	<10
37e	18	21	38j	<10	<10

Fortsetzung Tab. 4.2: Hemmaktivitäten der Leucinamidderivate an SARS-CoV-M^{pro} und PL^{pro} (Abweichung <10 %).

Verbindung	% Hemmung bei [I] = 20 µM		Verbindung	% Hemmung bei [I] = 20 µM	
	SARS-M ^{pro}	SARS-PL ^{pro}		SARS-M ^{pro}	SARS-PL ^{pro}
37f	13	<10	38k	<10	<10
37g	20	16	38l	13	<10
37h	28	20	38m	14	<10
37i	26	20	38n	<10	<10
37j	<10	<10	39	21	<10
37k	<10	<10			
37l	<10	24			

Keine der getesteten Verbindungen wies eine besonders hohe Aktivität auf. Die Verbindungen wurden als Diastereomeregemisch mit einer Inhibitorkonzentration von 20 µM untersucht. Auf eine Trennung wurde aufgrund der geringen Aktivität verzichtet. Verbindung **34e** konnte trotz der geringen Aktivität mit dem Enzym (SARS CoV-M^{pro}) co-kristallisiert werden. (Kap. 4.3.3)

4.2.2 TESTUNG DER AMP-INHIBITOREN GEGEN DEN MALARIA-ERREGER *P. FALCIPARUM*

Einige der dargestellten (3-Aminomethyl)pyridinderivate wurden zusätzlich am Stamm FCBR von *Plasmodium falciparum* auf ihre inhibitorische Wirkung untersucht. Fast alle untersuchten Verbindungen weisen eine inhibitorische Wirkung gegen *P. falciparum* auf (Abbildung 4-6). Die Testungen wurden freundlicherweise in der Arbeitsgruppe Prof. Dr. Matthias Leippe (Kiel) durchgeführt (siehe Kap. 4.1.5).

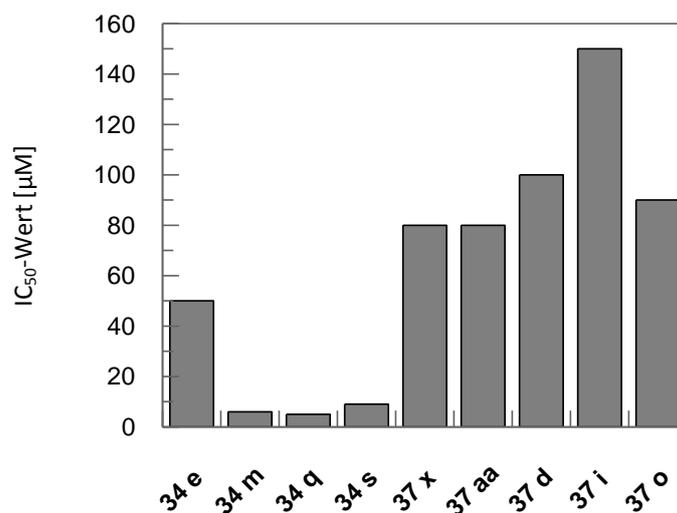


Abbildung 4-6: Ermittelte IC₅₀-Werte an *P. falciparum*.

Lediglich für Verbindung **37e** konnte keine Wirkung auf die Viabilität des Parasiten festgestellt werden. Für die Verbindungen **34m**, **34q** und **34s** konnten IC₅₀-Werte < 10 µM ermittelt werden. Die niedrigsten IC₅₀-Werte liegen für die Verbindungen **34m** und **34q** bei ca. 5 µM. Zusätzlich wurde bei diesen Verbindungen auch ein optimaler sigmoidaler Kurvenverlauf sichtbar. Auffällig ist, dass von den getesteten Verbindungen nur die mit Alkylsubstituenten einen niedrigen IC₅₀-Wert besitzen. Bei den getesteten β-Aminosäurederivate liegen die IC₅₀-Werte immer über 10 µM.

4.2.3 TESTUNG DER SULFONAMIDE AN SARS-CoV-M^{PRO} UND SARS-CoV-PL^{PRO}

Die Testung der dargestellten Sulfonamide erfolgte an SARS-CoV-M^{PRO} und PL^{PRO} bei einer Inhibitorkonzentration von 20 µM. Die erhaltenen Messwerte sind in Tabelle 4-3 zusammengefasst.

Tabelle 4-3: Hemmaktivitäten der Sulfonamide (Abweichung <10 %).

Verbindung	% Hemmung bei [I] = 20µM	
	SARS-M ^{PRO}	SARS-PL ^{PRO}
51a	<10	12
51b	<10	14
51c	24	27
51d	<10	<10

Alle dargestellten Verbindungen zeigen nur eine geringe Aktivität gegen SARS-M^{PRO} und PL^{PRO}.

4.2.4 TESTUNG DER VINYLSULFONE

Die Testung der synthetisierten Vinylsulfone erfolgte an den Cysteinproteasen Falcipain 2, Rhodesain, Cathepsin B und L.

Es wurden zwei Messreihen durchgeführt und Mittelwerte gebildet. Die erhaltenen Messwerte bei einer Inhibitorkonzentration von 20 μM sind in Tabelle 4-4 zusammengefasst.

Tabelle 4-4: Hemmdaten der dargestellten Vinylsulfone (Abweichung <10 %).

Verbindung	% Hemmung bei [I] = 20 μM			
	Falcipain 2	Rhodesain	Cathepsin B	Cathepsin L
44	<10	<10	<10	15
45a	<10	<10	<10	<10
45b*	43	28	67	-
45c	25	31	35	26
45d	12	<10	19	16
45e	23	24	34	30
45f	30	17	40	26
45g	22	22	29	-
45h	16	29	24	-
45i	38	23	19	-
46a	33	44	22	12
46b	<10	<10	14	11
47	<10	<10	<10	10

^{*)} korrigierte Werte: Quenching der Fluoreszenz durch den Inhibitor wurde durch Korrekturmessung (AMC+Inhibitor) berücksichtigt.

Viele der synthetisierten Verbindungen zeigen eine gute Hemmung zwischen 30 und 45 % bei 20 μM und bieten so eine gute Ausgangslage für weitere Inhibitoren.

Verbindung **45b** zeigte eine ungewöhnlich hohe Hemmung von Cathepsin B von 67 %. Daher wurde mit dieser Verbindung ein Enzymassay nach Tian und Tsou (Kap. 4.1.4) durchgeführt. Dazu wurde Substrat, Enzym und Inhibitor vermischt und die Produktentwicklung über einen bestimmten Zeitraum kontinuierlich beobachtet.

Abbildung 4-7 zeigt das Umsatz-Zeit-Diagramm der zeitabhängigen Hemmung von Cathepsin B durch Verbindung **45b** für die ersten 30 Minuten. Die Fluoreszenzzunahme wurde über 30 Minuten mit Inhibitorkonzentrationen zwischen 1 und 10 μM gemessen.

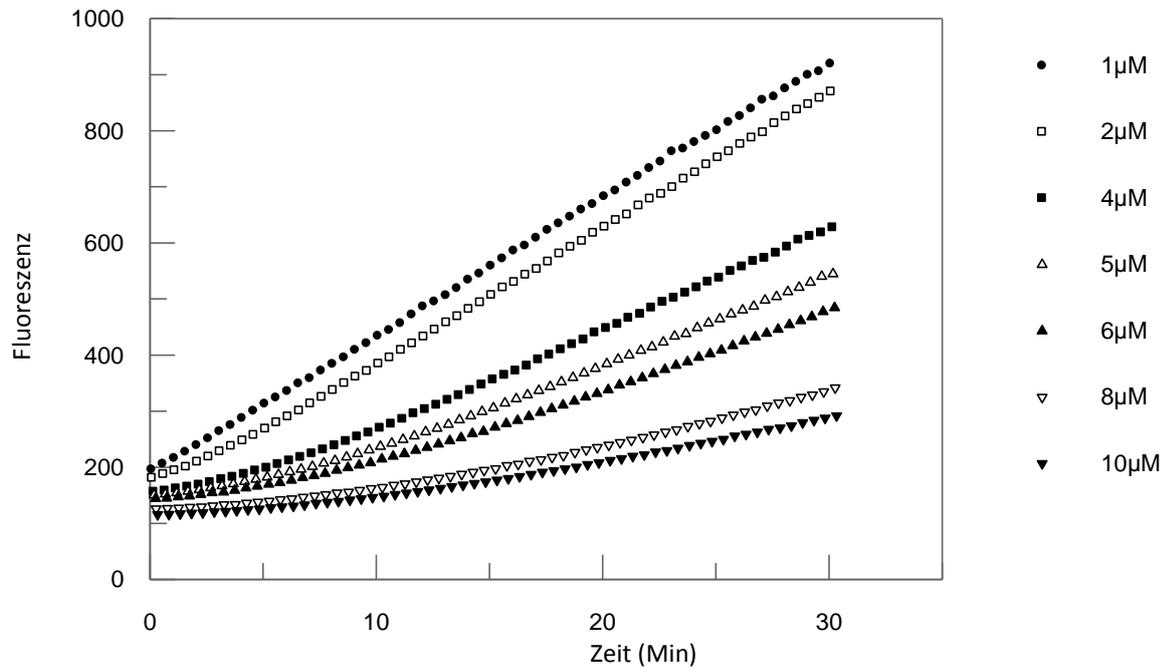


Abbildung 4-7: Verdünnungsassay von Verbindung 45b an Cathepsin B für 30 Minuten.

Auffällig ist der Verlauf der Kurven bei höheren Inhibitor-Konzentrationen. Es werden keine Geraden erhalten wie erwartet, sondern es wird nach ca. 4 Minuten ein Anstieg der Aktivität ($\Delta F/t$) beobachtet (Abbildung 4-8).

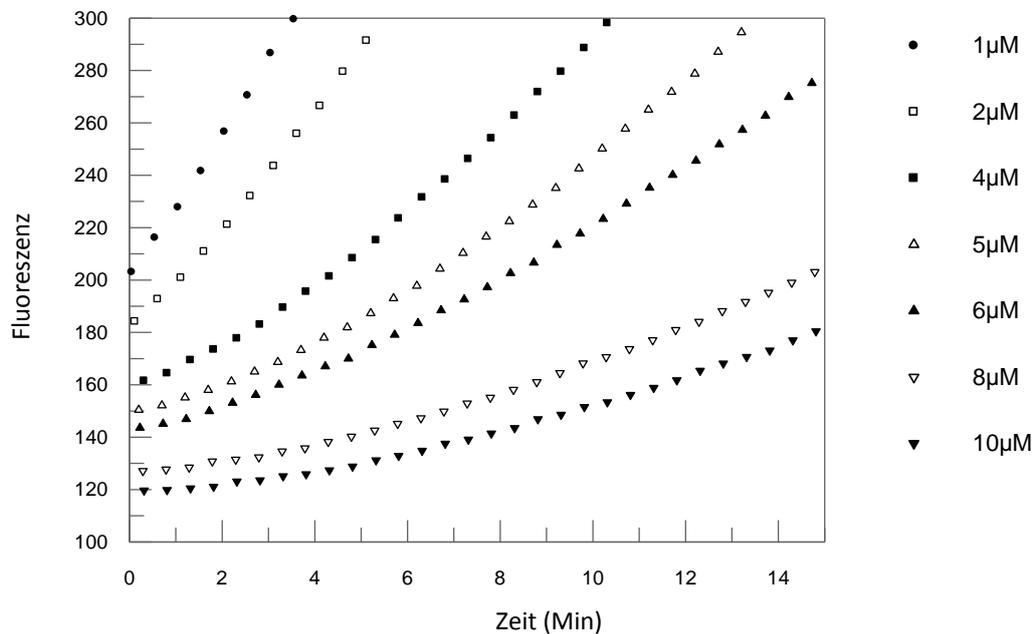


Abbildung 4-8: Vergrößerter Ausschnitt aus Abbildung 4-4.

Dieser Kurvenverlauf kann ein Hinweis auf eine langsame reversible Hemmung sein.^[1] Der Gleichgewichtszustand zwischen Inhibitor und Enzym stellt sich erst langsam ein. Dies ist der Fall, wenn der Inhibitor eine hohe Affinität zum Enzym besitzt und nur langsam aus dem Enzym-Inhibitor-Komplex dissoziiert.

Diese Verzögerung im Kurvenverlauf ist solange sichtbar, bis sich der Gleichgewichtszustand eingestellt hat und in einem linearen Verlauf endet. Dies wird hier nach 5 Minuten (1 und 2 μM), 10 Minuten (4, 5, 6 μM) bzw. 20 Minuten (8 und 10 μM) beobachtet. Andere Gründe für den verzögerten Kurvenverlauf könnten einerseits eine Temperaturveränderung nach der Inhibitorzugabe und andererseits eine Störung durch Partikel in der Lösung sein.

Aufgrund des nicht-linearen Kurvenverlaufs bei der Messung wurde eine zweite Messung durchgeführt. Dabei wurden vor der Substratzugabe Enzym und Inhibitor zunächst für 20 Minuten inkubiert und anschließend für 10 Minuten die Fluoreszenzzunahme gemessen. Die Umsatzzeitkurven zeigen einen linearen Verlauf, was ein Hinweis auf eine langsame Gleichgewichtseinstellung ist. Aus den erhaltenen Steigungen wurde der IC_{50} -Wert bestimmt.

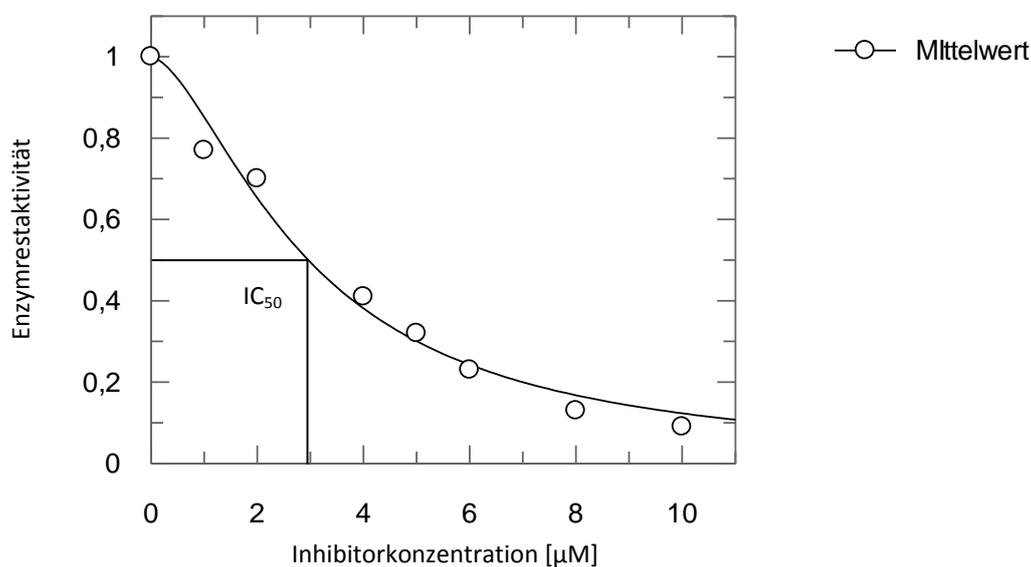


Abbildung 4-9: Enzymrestaktivität nach 20 min. Inkubationszeit und 10 min. Messung.

Es ergab sich nach der Inkubation ein IC_{50} -Wert von 2.96 μM (Tabelle 4-5).

Tabelle 4-5: Hemmkonstante für Verbindung 45b nach 20 Minuten vorheriger Inkubation mit Cathepsin B.

Verbindung	IC_{50} [μM]
45b	2.96 \pm 0.19

Da Verbindung **45b** eine besonders hohe Hemmung von Cathepsin B aufweist, wurde die Verbindung in einem Modell-Versuch unter den gleichen Bedingungen wie im Kinetik-Experiment (Kapitel 5.2.1) mit einem Überschuss Phenylethanthiol für ca. 20 Stunden inkubiert und anschließend durch LC/MS-Experiment untersucht. Das Spektrum (negativ-Modus) zeigt ein Edukt-Produkt-Verhältnis von 41:59 (Abbildung 4-11). Die jeweiligen Massen entsprechen denen des Edukts Verbindung **45e** sowie des zu erwartenden Substitutionsprodukts **45e-sub** (Abbildung 4-12).

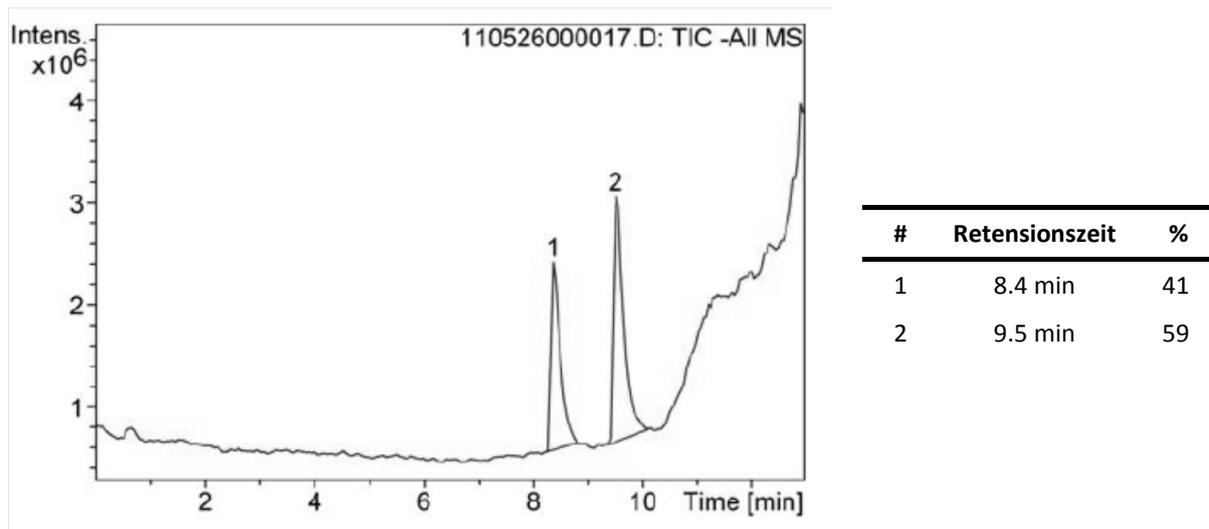


Abbildung 4-10: LC/MS-Spektrum von Verbindung **45b** nach 20 Stunden Inkubation mit Phenylethanthiol (negativ-Modus).

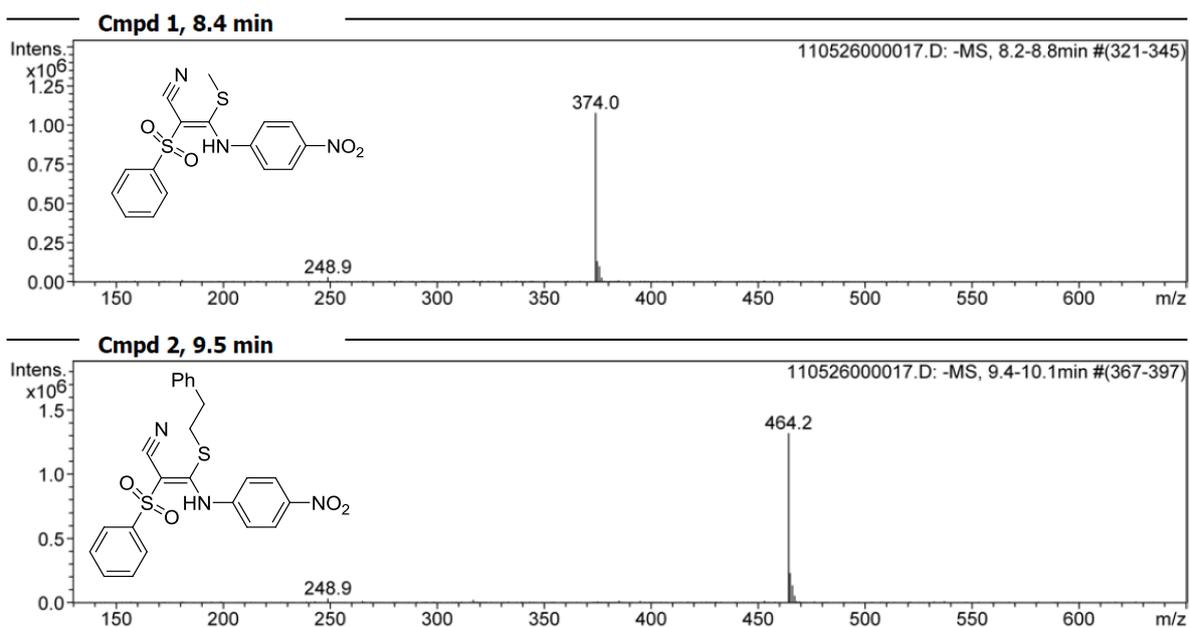
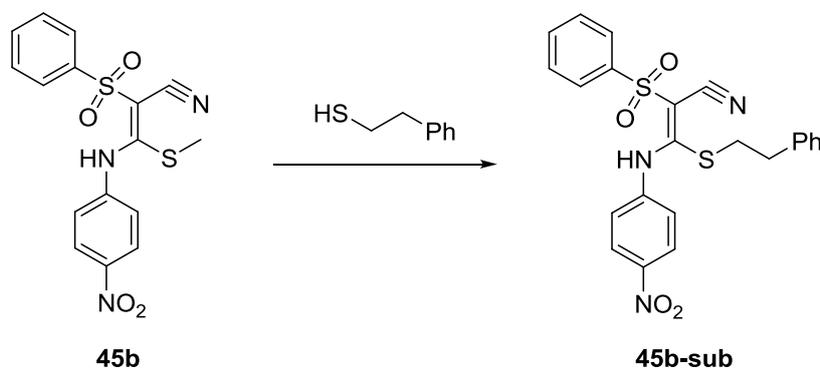


Abbildung 4-11: Massenspektren der Peaks 1 und 2.

Peak #1 entspricht der eingesetzten Verbindung **45b** ($[M-H]^- = 374.0 \text{ g/mol}$). Peak #2 entspricht einer Verbindung mit der Masse $[M-H]^- = 464.2 \text{ g/mol}$ und kann somit dem Substitutionsprodukt **45b-sub** zugeordnet werden.



Schema 4-7: Reaktionsverlauf von Verbindung **45b** und Phenylethanthiol in methanolischer Lösung.

Ob diese Reaktion auch im Enzym stattfindet oder ob die Nähe zu einem HisH^+ -Rests eine andere Reaktion induziert, kann erst nach einer Co-Kristallisation geklärt werden. Ebenfalls bleibt noch zu klären, ob es sich im Enzym um eine kovalent-reversible Hemmung handelt. Dazu müssen MS-Daten des Enzym-Inhibitor-Komplexes aufgenommen werden. Dies erwies sich jedoch als schwierig, da das Enzym Cat B bislang nicht für dieses Experiment durch Dialyse aufgereinigt werden konnte.

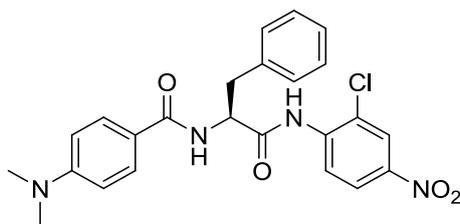
4.2.5 WEITERE TESTERGEBNISSE

Im Folgenden sind Ergebnisse einiger kleinerer Projekte zusammengefasst, die einerseits zur Überprüfung von publizierten Verbindungen, andererseits auch als Grundlage für Diplomarbeiten in unserem Arbeitskreis (**52**, bzw. RN-18) dienen. Die Synthesen der Verbindungen sind im Experimentellen Teil ausführlich beschrieben.

4.2.5.1 VERBINDUNG **53**

Verbindung **53** wurde in der Literatur aus einer Bibliothek von *p*-Nitroaniliden als einer der stärksten Inhibitoren für die SARS-CoV-M^{pro} mit einem K_i -Wert von $0.03 \mu\text{M}$ beschrieben.^[80] Ursprünglich sollte mit diesen Verbindungen ein colorometrischer Assay ermöglicht werden. Die Verbindungen wurden jedoch nicht von der Protease zersetzt, sondern zeigten stattdessen eine Hemmung.

Genauere Untersuchungen der dargestellten Verbindung **53** in unserem Arbeitskreis ergaben, dass es sich bei dem Nitroaromaten um einen Fluoreszenzquencher handelt. Diese Tatsache wurde in der Publikation nicht berücksichtigt.



53

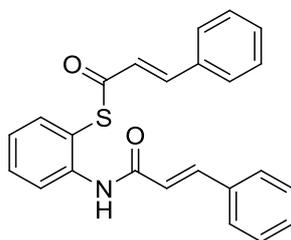
Tabelle 4-6: Publierte und eigene Hemmdaten von Verbindung 53 (*) nach Zugabe von 0.001 % Triton-X).

Verbindung	Publizierte Hemmdaten	Eigene Hemmdaten
53	IC ₅₀ = 0.06 μM K _i = 0.03 μM	IC ₅₀ = 35.0±7.0 μM (unkorr.) IC ₅₀ = 107.1±31.5 μM*

Auch nach Zugabe von 0.001 % nicht-ionischem Tensid (Triton X-100) verlor die Verbindung **53** einen Großteil ihrer Aktivität (Tabelle 4-6). Dies ist ein Zeichen dafür, dass dieser Inhibitor das Enzym SARS-CoV-M^{pro} durch nicht-spezifische Aggregation hemmt.^[81] Diese Hypothese konnte durch weitere Experimente untermauert werden. Dabei wurde die Partikelbildung durch „dynamic light scattering“ (DLS) nachgewiesen.

4.2.5.2 VERBINDUNG 54

Die literaturbekannte Verbindung **54** wird als reversibler Inhibitor der SARS-CoV-M^{pro} mit einem IC₅₀-Wert von 1.06 μM beschrieben.^[82] Nach der Darstellung wurde die Verbindung mit dem Enzym umgesetzt und anschließend durch Massenspektrometrie untersucht.



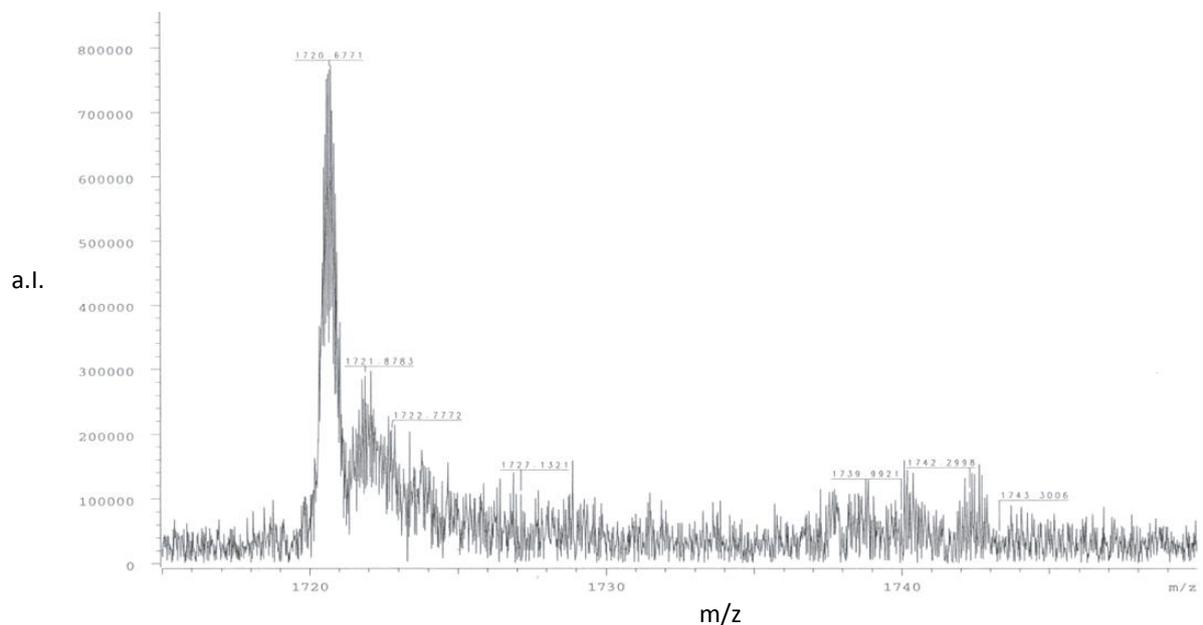
54

Dabei zeigte sich, dass die molare Masse des Enzyms um 131 Da zunahm (Abbildung 4-13 und Abbildung 4-14). Somit konnte bewiesen werden, dass es sich hierbei nicht, wie in der Publikation postuliert, um einen reversiblen Inhibitor, sondern um einen irreversiblen Inhibitor handeln muss. Die molare Masse, die dabei übertragen wurde, entspricht mit 131 Da der Masse eines Zimtsäurebausteins.

Tabelle 4-7: Gegenüberstellung der publizierten und der eigenen Hemmdaten.

Verbindung	Publizierte Hemmdaten	Eigene Hemmdaten
54	IC ₅₀ = 1.06 µM	K _i = 46.1 µM

Eines der beiden Zimtsäure-Fragmente wird folglich auf das Enzym übertragen. Ungewiss war zunächst, um welches der beiden Fragmente es sich dabei handelt. Da sich hier jedoch Amidbindung und Thioester gegenüberstehen, ist es aus chemischer Sicht wahrscheinlicher, dass die schwächere Thioesterbindung durch das Enzym gespalten wird und von hier das übertragene Fragment stammen muss. Thioester sind bekannt für ihre schwache Bindung. Sie spielen eine wichtige Rolle in biologischen Prozessen (vgl. Acetyl-Coenzym-A) und werden auch in vielen Fällen als Aktivester zur Synthese von Peptiden eingesetzt.^[83,84]

Abbildung 4-12: ESI-Massenspektrum der SARS-CoV-M^{pro}. Gezeigt ist vergrößert der 20⁺-Ladungszustand des Enzyms.

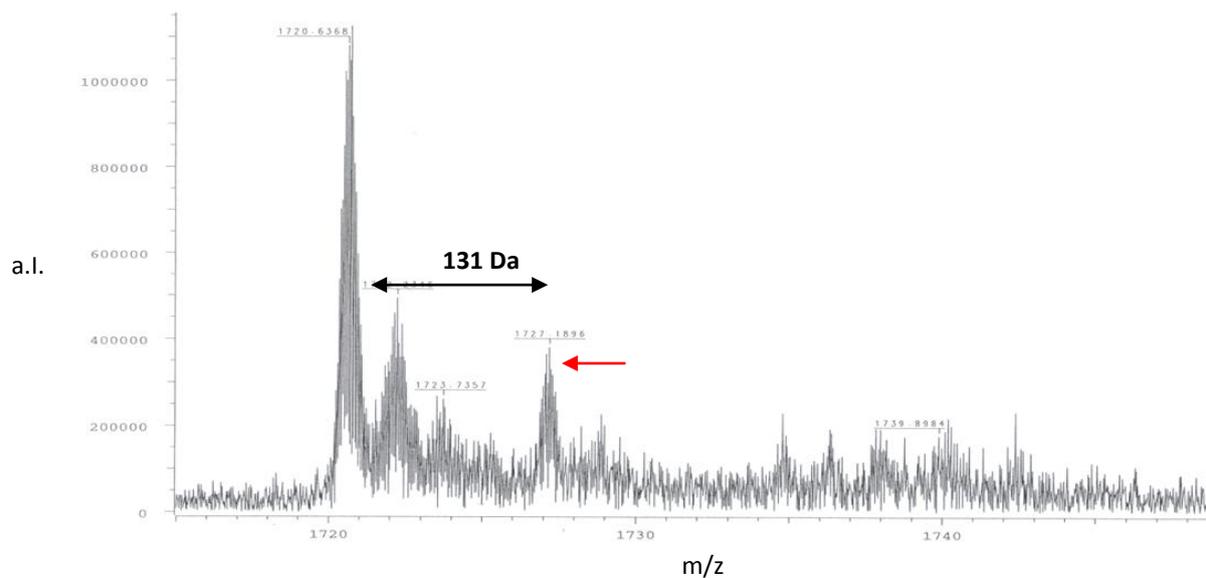
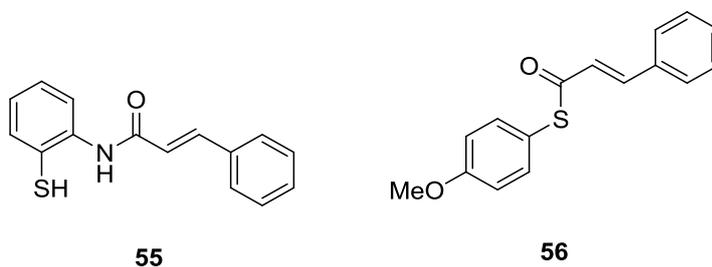
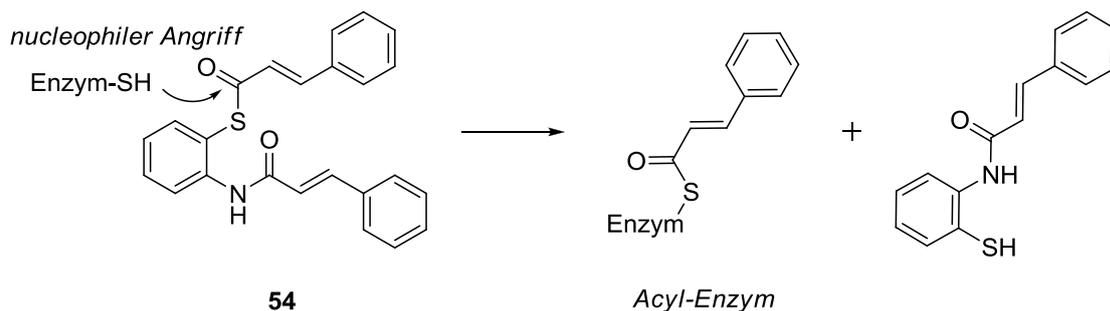


Abbildung 4-13: ESI-Massenspektrum der SARS-CoV-M^{pro}, inkubiert mit Verbindung 54. Gezeigt ist vergrößert der 20⁺-Ladungszustand des Enzyms. Der rote Pfeil kennzeichnet den Enzym-Inhibitor-Komplex.

Um herauszufinden, um welches Fragment es sich handelt, wurden die Verbindungen **55** und **56** dargestellt, die beiden Molekülhälften entsprechen sollten.



Nach Inkubation mit Verbindung **55** zeigte die massenspektrometrische Untersuchung, dass keine kovalente Bindung an der Protease auftritt. Erste Versuche mit dem Thioester **56** deuteten darauf hin, dass tatsächlich eine Fragmentübertragung auftritt und der Zimtsäurerest kovalent an die Protease bindet.

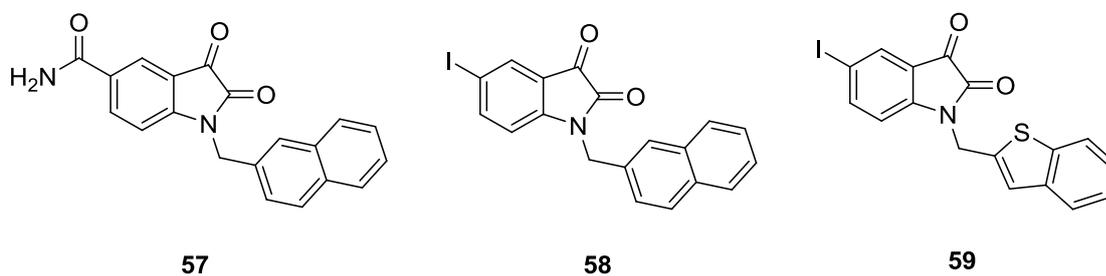


Schema 4-8: Nucleophiler Angriff an Verbindung 54.

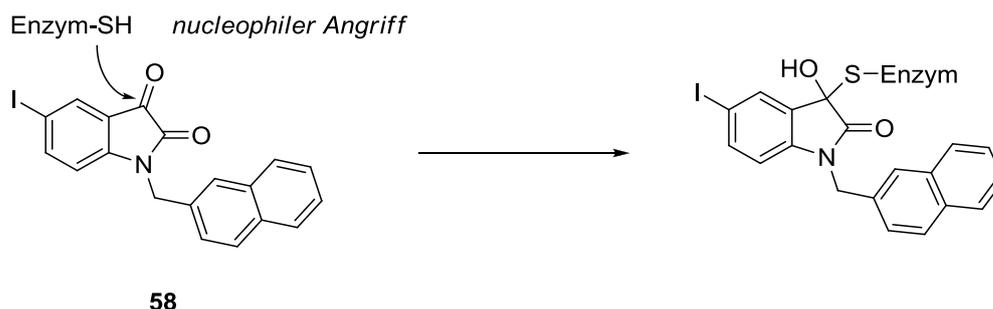
Ein Co-Kristall der Protease mit Verbindung **54** wurde ebenfalls erhalten. Die Vermessung der Kristalle zeigte, dass im aktiven Zentrum tatsächlich eine zusätzliche Ladungsdichte zu finden ist. Jedoch gelang bislang keine Verfeinerung.

4.2.5.3 VERBINDUNG 58

Verbindung **58** wurde in Anlehnung an die literaturbekannte Verbindung **57** dargestellt und untersucht. Verbindung **59** wurde durch unseren Kooperationspartner hergestellt. In der Literatur wurde Verbindung **57** als nicht-kovalent-reversibler Inhibitor beschrieben.^[85] Durch umfangreiche Untersuchungen in unserem Arbeitskreis und unserer Kooperationspartner konnte jedoch eindeutig der kovalent-reversible Bindungsmodus des Isatin-Derivats an die SARS-CoV-M^{pro} belegt werden.^[86]



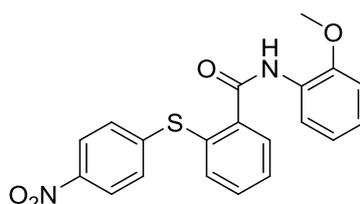
Eine genauere Untersuchung durch Co-Kristallisation von Verbindung **58** mit SARS-CoV-M^{pro} konnte noch nicht durchgeführt werden. Es liegt jedoch nahe, dass die Bindung an das Enzym auf die gleiche Weise erfolgt, wie bei Verbindung **59**, für die die Co-Kristallisation erfolgreich war und die den kovalenten Bindemodus bewies.



Schema 4-9: Mechanismus der kovalent-reversiblen Hemmung durch Verbindung 58.

4.2.5.4 VERBINDUNG 52 (RN-18)

Die Verbindung **52** (RN-18) wurde in der Literatur als ein kleiner Vif-Inhibitor (Vif = *Virion infectivity factor*) gegen HIV beschrieben.^[87] Das Vif-Protein hat beim HIV-1 eine Länge von 192 Aminosäuren und ein Gewicht von ca. 23 kDa. Es ist ein Bestandteil des Nucleoproteinkomplexes der infektiösen Viruspartikel. Es ist mit der RNA assoziiert und beeinflusst die Infektiosität der Nachkommenviren. Das Vif-Protein wechselwirkt mit den humanen Cytosindeaminasen APOBEC3G und APOBEC3F und hebt durch Komplexbindung deren antivirale Aktivität auf. Die Proteine APOBEC3G und APOBEC3F sind Elemente des Immunsystems und verändern bei der reversen Transkription die Sequenz einzelsträngiger DNA-Abschnitte. Dadurch entstehen fehlerhafte Nucleinstränge, die durch Nucleasen abgebaut werden.^[88]



52

Die Testung von Verbindung **52** wurde in der Arbeitsgruppe Prof. Rethwilm (Virologie, Univ. Würzburg) von Herrn B. Nowotny durchgeführt. Dabei wurden 293T^{Vif Tet-Off/EYFP-A3G}-Zellen in einer 96-Mikrotiterplatte für 48 Stunden inkubiert. Anschließend wurden die Zellen mit Lösungen von **52** (RN-18) in verschiedenen Konzentrationen zwischen 30 μM und 0.46 μM versetzt und für 24 Stunden inkubiert. Es konnte eine halbmaximale Inhibitorkonzentration (EC_{50}) von 5.8 μM für Vif bestimmt werden.^[89]

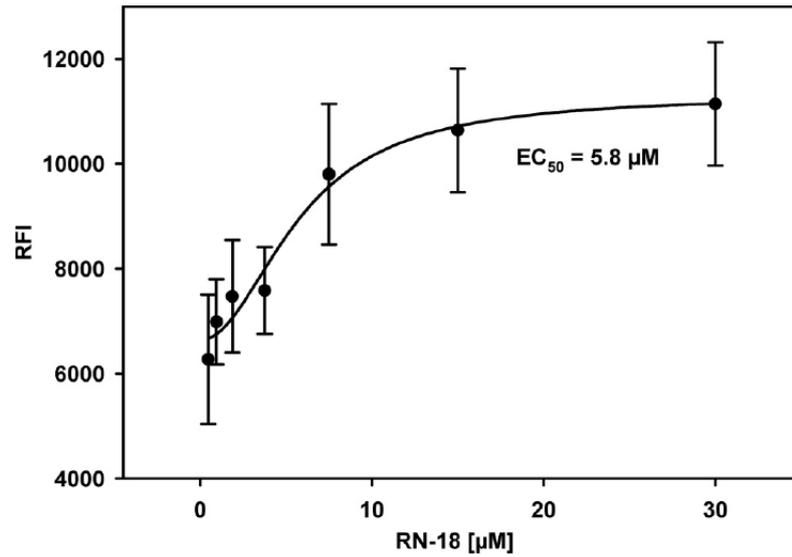


Abbildung 4-14: Titration des Vif-Antagonisten RN-18 (RFI = Relative Fluoreszenz Intensität). Methode: 293T^{Vif Tet-Off/EYFP-A3G} Zellen wurden auf eine 96-Mikrotiterplatte für 48 Stunden in Anwesenheit von Doxycyclin kultiviert. RN-18 wurde in den angegebenen Konzentrationen in Abwesenheit von Doxycyclin zugegeben. Nach 24 Stunden wurde die Fluoreszenz mit einem Safire Plattenreader quantifiziert. Der EC₅₀ wurde mit der Software *SigmaPlot* (*Systat Software Inc.*) unter Verwendung der 4-Parameter Hill-Gleichung berechnet. Die Datenpunkte sind Mittelwerte für 12 parallele Wells.

4.3 CO-KRISTALLISATION MIT SARS-COV-M^{PRO}

Die Co-Kristallisation der Inhibitoren **54** und **34e** wurden freundlicherweise von Herrn Dr. Martin Stempka (Ak Schirmeister, Univ. Würzburg) im Labor von Prof. Dr. C. Kisker (Rudolf-Virchow-Zentrum, Univ. Würzburg) durchgeführt.^[86] Die Elektronendichtemessungen, sowie die Strukturaufklärungen wurden freundlicherweise von Herrn Uwe Dietzel durchgeführt.

4.3.1 CO-KRISTALLISATION VON VERBINDUNG **54** MIT SARS-COV-M^{PRO}

Die Inkubation der aufgereinigten SARS-CoV-M^{PRO} (8 mg/ml) wurde in einer Pufferlösung mit dem Inhibitor **54** (molares Verhältnis 1:20) gelöst in 100 % DMSO oder ungelöst durchgeführt. Dabei wurde die erhaltene Lösung für eine Stunde bei 4 °C geschüttelt und anschließend zentrifugiert und von unlöslichen Niederschlägen getrennt. Die Kristallisation wurde in einer 24-well Platte nach der *Hanging-drop*-Methode durchgeführt. Dabei wurde 1 µL Proteinlösung (8 mg/mL) mit demselben Volumen an Reservoirlösung gemischt und gegen ein Reservoir von 500 µL äquilibriert. Die Deckgläschen, worauf die Tropfen pipettiert wurden, waren silikonisiert. Mit Silikonfett oder schwerem Paraffinöl wurde der Spalt zwischen Deckglas und Well dann luftdicht verschlossen (Abbildung 4-15).

Mit der anschließenden Kristallisation wechselte das Protein von der ursprünglichen P4 Raumgruppe zur C2 Raumgruppe, was ein erster Hinweis sein kann für einen Inhibitor-Einschluss.^[86]

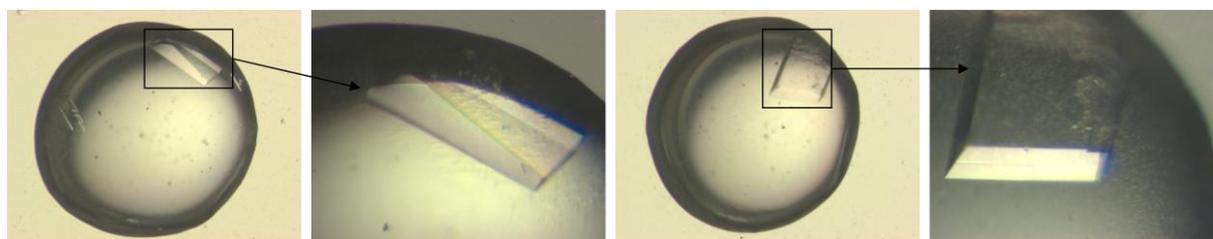


Abbildung 4-15: Kristallisationsbedingungen: 4-5 % PEG 6000, 3-4 % DMSO, 1 mM DTT, 0.1 M MES-Puffer (pH 6.0), Proteinkonzentration: 8 mg/mL, Temperatur: 18 °C.

Die Elektronendichtemessungen wurden durch Herrn Uwe Dietzel durchgeführt und zeigten eine Veränderung der Elektronendichte im aktiven Zentrum (Abbildung 4-16). Eine Verfeinerung ist bislang noch nicht gelungen:

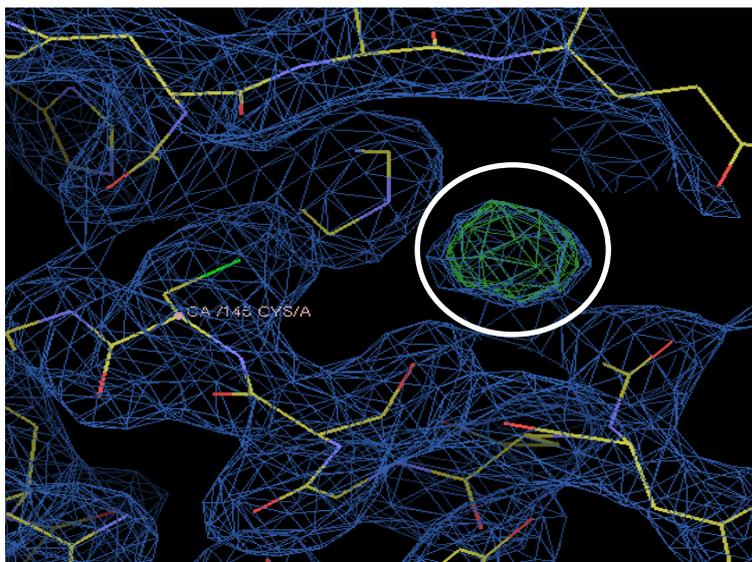


Abbildung 4-16: Veränderte Elektronendichte im aktiven Zentrum der SARS-CoV-M^{PRO}.

4.3.2 CO-KRISTALLISATION VON VERBINDUNG **58** MIT SARS-COV-M^{PRO}

Eine Co-Kristallisation von Verbindung **58** mit SARS-CoV-M^{PRO} wurde bislang noch nicht erfolgreich durchgeführt.

4.3.3 CO-KRISTALLISATION VON VERBINDUNG **34e** MIT SARS-COV-M^{PRO}

Die Co-Kristallisation der SARS-CoV-M^{PRO} mit Verbindung **34e** wurde unter Apoprotein-Kristallisationsbedingungen durchgeführt. Die entstehenden Co-Kristalle wurden mit dem jeweiligen Inhibitor (2 mM Lösung) bis zu 36 Stunden im hängenden Tropfen inkubiert. Die Kryo-Lösung enthielt ebenfalls den Inhibitor (30 % (w/v) PEG400 in 0.1 MES-Puffer (pH 6.0) und 2 mM Inhibitor). Die so erhaltenen, nahezu kubischen Kristalle wurden durch Elektronendichtemessungen näher untersucht.^[86]

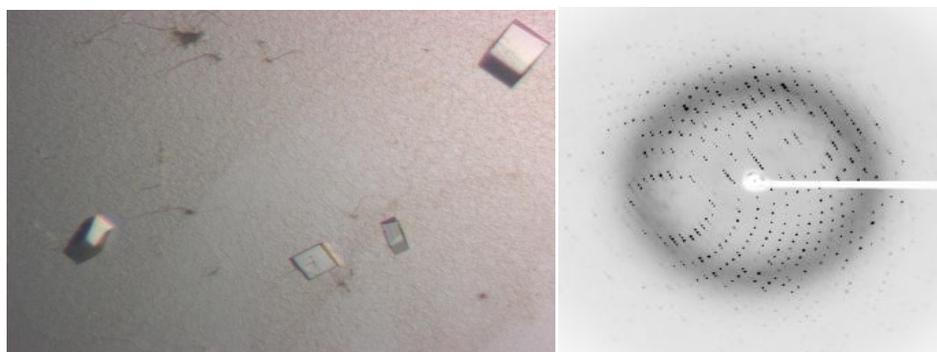


Abbildung 4-17: Links: SARS-CoV-M^{PRO}-34e-Co-Kristalle; Rechts: Diffractionsmuster des SARS-CoV-M^{PRO}-34e-Co-Kristalls.

Das Ergebnis der Elektronendichtemessung ergab eine Veränderung der Elektronendichte im aktiven Zentrum. Bislang war es jedoch noch nicht möglich, eine eindeutige Lage der Verbindung im aktiven Zentrum zuzuordnen. Dies kann einerseits an einer geringen Okkupanz aufgrund der schwachen Hemmung liegen, oder daran, dass die Verbindung zu viele Freiheitsgrade besitzt und so nur ein diffuses Streumuster produziert. Eine weitere Ursache ist, dass der Inhibitor als ein Gemisch von vier verschiedenen Isomeren eingesetzt wurde. Es ist demnach möglich, dass mehrere Isomere in unterschiedlichen Orientierungen in der Bindetasche liegen. Insgesamt wurden drei potentielle Orientierungen des Moleküls in der Bindetasche gefunden, wobei Abbildung 4-18 die wahrscheinlichste Orientierung widerspiegelt. In den überlagerten Strukturformeln wurde jedoch eine ungünstige Twistform des Methylcyclohexylrings verwendet. Die Methylgruppe wurde in die ungünstigere axiale Position gesetzt.

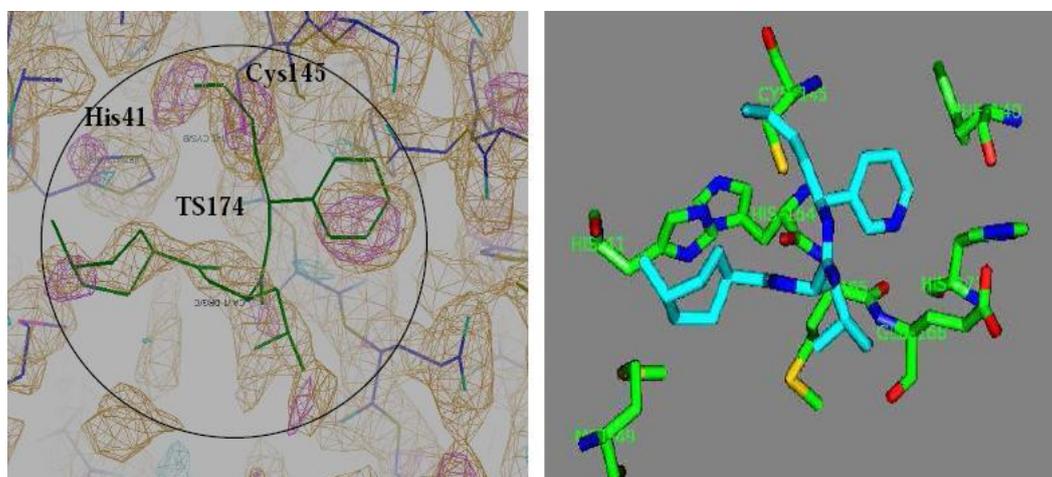


Abbildung 4-18: Erste mögliche Orientierung von Verbindung 34e im aktiven Zentrum der SARS-CoV-M^{pro}. Links: Elektronendichten von Verbindung 34e (TS174) und der angrenzenden Aminosäurereste des aktiven Zentrums der SARS-CoV-M^{pro}. Rechts: 3D-Ansicht der Lage von Verbindung 34e (blau) im aktiven Zentrum der SARS-CoV-M^{pro}.^[86]

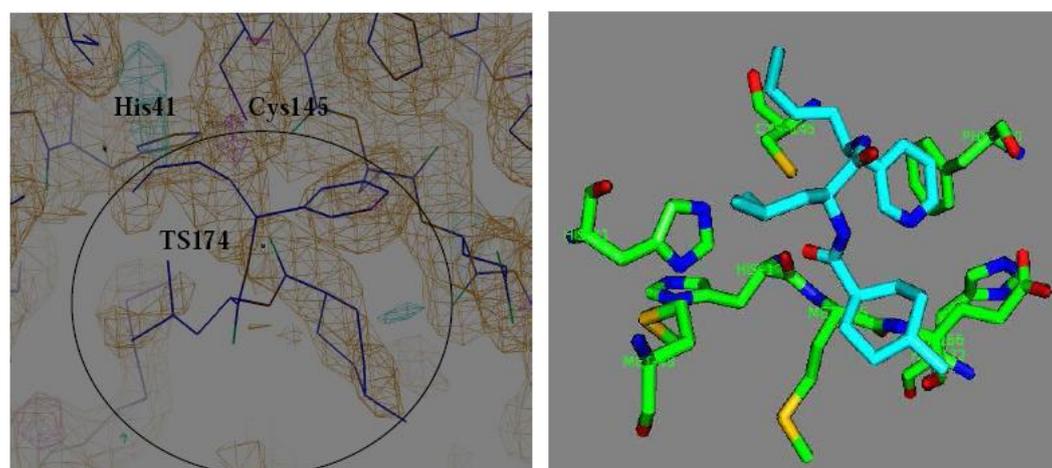


Abbildung 4-19: Zweite mögliche Orientierung von Verbindung 34e im aktiven Zentrum der SARS-CoV-M^{pro}. Links: Elektronendichten von Verbindung 34e (TS174) und der angrenzenden Aminosäurereste des aktiven Zentrums der SARS-CoV-M^{pro}. Rechts: 3D-Ansicht der Lage von Verbindung 34e (blau) im aktiven Zentrum der SARS-CoV-M^{pro}.^[86]

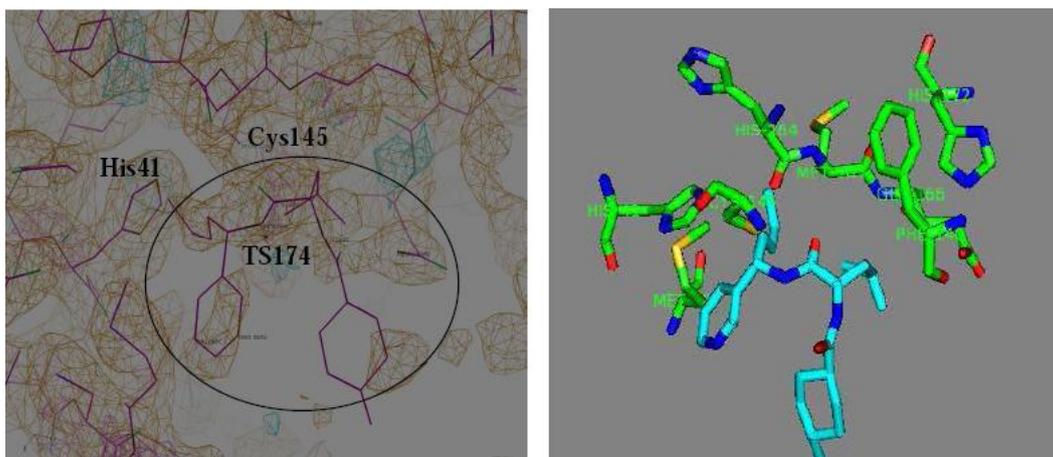


Abbildung 4-20: Dritte mögliche Orientierung von Verbindung 34e im aktiven Zentrum der SARS-CoV-M^{pro}. Links: Elektronendichten von Verbindung 34e (TS174) und der angrenzenden Aminosäurereste des aktiven Zentrums der SARS-CoV-M^{pro}. Rechts: 3D-Ansicht der Lage von Verbindung 34e (blau) im aktiven Zentrum der SARS-CoV-M^{pro}.^[86]

In den möglichen Orientierungen befindet sich der Cystein-Schwefel in nächster Nähe zur Doppelbindung, woraus sich auf den ersten Blick schließen lässt, dass es sich hierbei um eine kovalente Bindung handeln könnte. Jedoch wurde solch eine Addition durch ein Enzym noch nicht beobachtet. Eine Reaktion dieser Art von Thiolen an isolierten Doppelbindungen ist allerdings bereits bekannt und verläuft unter ähnlichen Bedingungen wie die der Kristallisation.^[90]

Verbindung **34e** wurde ebenfalls im Komplex mit dem Enzym massenspektrometrisch untersucht. Die gemessenen MS-Spektren entsprachen den jeweiligen gemessenen Referenzspektren. Somit kann von einem reversiblen Hemmmechanismus ausgegangen werden.

Tabelle 4-8: Datensammlung und Verfeinerungsstatistik nach röntgendiffraktometrischer Analyse des SARS-CoV-M^{pro}-34e-Co-Kristalls.

SARS-CoV-M ^{pro} -34e-Co-Kristall	
Datensammlung	
Raumgruppe	P2 ₁
<i>Elementarzellparameter</i>	
a, b, c (Å)	52.1, 97.5, 67.6
α, β, γ (°)	90.0, 103.6, 90.0
Auflösungsbereich (Å)	55-2, 26 (2,39-2,26)
Vollständigkeit (%)	100.0 (100.0)
R _{Sym}	0.076 (0.351)
<I / σI>	10.6 (3.1)
Redundanz	3.7 (3.6)
Verfeinerung	
Auflösungsbereich (Å)	55-2.26
Reflexe	29100
R _{cryst} / R _{free}	0.20 / 0.25
<i>Anzahl der Atome</i>	
Protein/Co-Faktoren/Ionen	4889
Inhibitor	29
Wasser	144
<i>Standardabweichungen (rmsd)</i>	
Bindungslängen (Å)	0.019
Bindungswinkel (°)	1.74
Ramachandran-Statistiken (%)	99.7/2.7/0.3

Die Zahlen beziehen sich auf die Daten aus der Schale mit der höchsten Auflösung. <I / σI> gibt die durchschnittliche Intensität der Reflexe geteilt durch ihre Standardabweichung an.

$$R_{Sym} = \frac{\sum_h \sum_i |I(h, i) - \langle I(h) \rangle|}{\sum_h \sum_i I(h, i)}$$

$R_{Cryst} = \sum ||F_0| - |F_c|| / |F_0|$ wobei F_0 und F_c die beobachteten und berechneten Strukturaktoren sind.

4.4 DISKUSSION DER ERGEBNISSE DER BIOLOGISCHEN TESTUNGEN

Trotz der großen Anzahl an dargestellten Inhibitoren auf der Grundlage einer computergestützten Verbindung **34j** konnte kein Inhibitor gefunden werden, der eine aussichtsreiche Hemmung aufwies. Bei der Entwicklung des Grundgerüsts mittels Molecular Modelling wurde besonderer Wert auf eine geometrische und elektronische Übereinstimmung gelegt. Als Grundlage für die Verbindung diente dabei der irreversibel gebundene Inhibitor 9IN. Das Entfernen des reaktiven Michaelsystems ergab eine Struktur, die nur noch durch wenige Wasserstoffbrückenbindungen oder lipophile Wechselwirkungen an das aktive Zentrum hätte binden können. Die Entwicklung eines nicht-kovalenten Inhibitors blieb daher ohne Erfolg. Jedoch ist zu vermerken, dass Verbindung **34e** mit dem Enzym SARS-CoV-M^{pro} erfolgreich co-kristallisiert werden konnte (Kap. 4.3.3). Die Besetzung im aktiven Zentrum ist zwar noch zu gering, um eine genaue Lage der Verbindung zu bestimmen, jedoch kann man dies bereits als ersten Erfolg sehen, da es bislang noch nicht gelungen war, einen nicht-kovalenten Inhibitor mit der SARS-CoV-M^{pro} zu kristallisieren. Aktuelle Testergebnisse am Parasiten *P. falciparum* zeigen ausbaufähige Hemmwerte für die alkylsubstituierten Verbindungen **34**. In zukünftigen Projekten wird untersucht werden, worauf diese Hemmung zurückzuführen ist.

Desweiteren wurde nach weiteren Dockingrechnungen an der SARS-CoV-M^{pro} neue Sulfonamide dargestellt, die jedoch ebenfalls keine nennenswerte Hemmung aufweisen konnten.

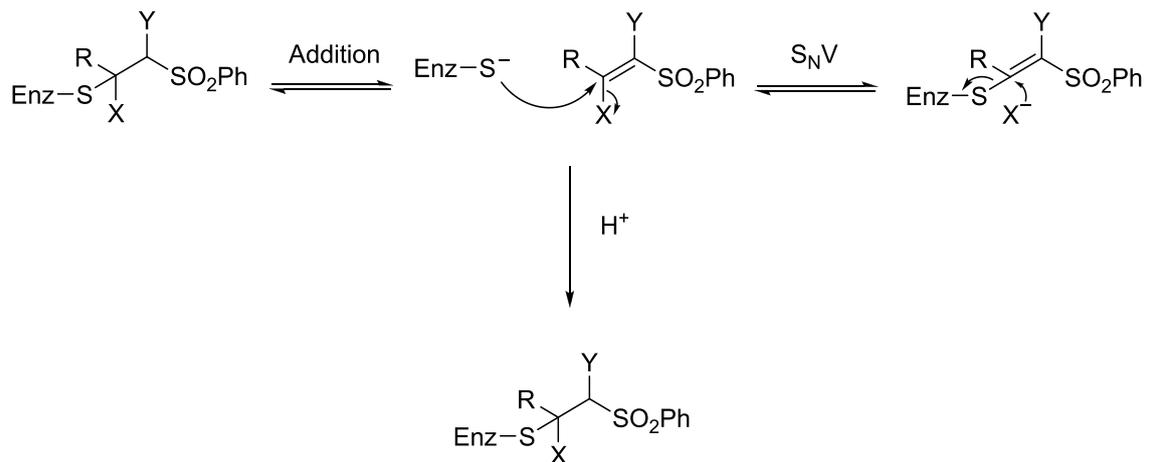
Die dargestellten Vinylsulfone als Grundkörper neuer kovalent-reversibler Inhibitoren zeigten gute Hemmeigenschaften an den getesteten Cysteinproteasen. Es wurde Verbindung **46a** als erster Vertreter mit einem Aminosäuresubstituenten dargestellt und getestet. Durch eine geeignete Wahl der Aminosäure oder durch Verwendung eines Peptids sollte man so in der Lage sein die Hemmung zu steigern.

5 KINETISCHE UNTERSUCHUNGEN MITTELS NMR-SPEKTROSKOPIE

5.1 QUANTENCHEMISCHE BERECHNUNGEN

5.1.1 MODELLSYSTEM DER BERECHNUNGEN

Bei den bisher bekannten Vinylsulfon-Derivaten (Schema 5-1, $X = Y = H$, $R =$ peptidische/peptidomimetische Kette) erfolgt die Protonierung des Carbanions nach Addition eines Thiolats an die β -Position. Folglich handelt es sich dabei um eine irreversible Michael-Addition.



Schema 5-1: Mögliche Reaktionen von Vinylsulfonen

Steert *et al.* beschreiben für analoge Verbindungen ($Y = F$), dass hier ebenfalls eine irreversible Addition stattfindet.^[91] Dieses System ist jedoch weniger reaktiv gegenüber nucleophilen Angriffen, wodurch eine geringere Hemmung relevanter Enzyme auftritt. Berechnungen durch Engels *et al.* sagen für bestimmte Substituenten in β -Position ($X = \text{Hal}$, $Y = H$) eine vinyloge Substitution vorher, die auf Grund sehr großer Reaktionsenergien (-35 kcal/mol) irreversibel ablaufen sollte. Wählt man die Abgangsgruppe so, dass die Substitutionsreaktion thermoneutral ($\Delta G_{\text{Hin}}^{\#} = \Delta G_{\text{Rück}}^{\#}$ bzw. $\Delta G_{\text{R}}^0 = 0 \text{ kJ/mol}$) oder nur schwach exergon ($\Delta G_{\text{R}}^0 < 20 \text{ kJ/mol}$) verläuft, dann könnte so auch eine Rückreaktion stattfinden (Abbildung 5-1).

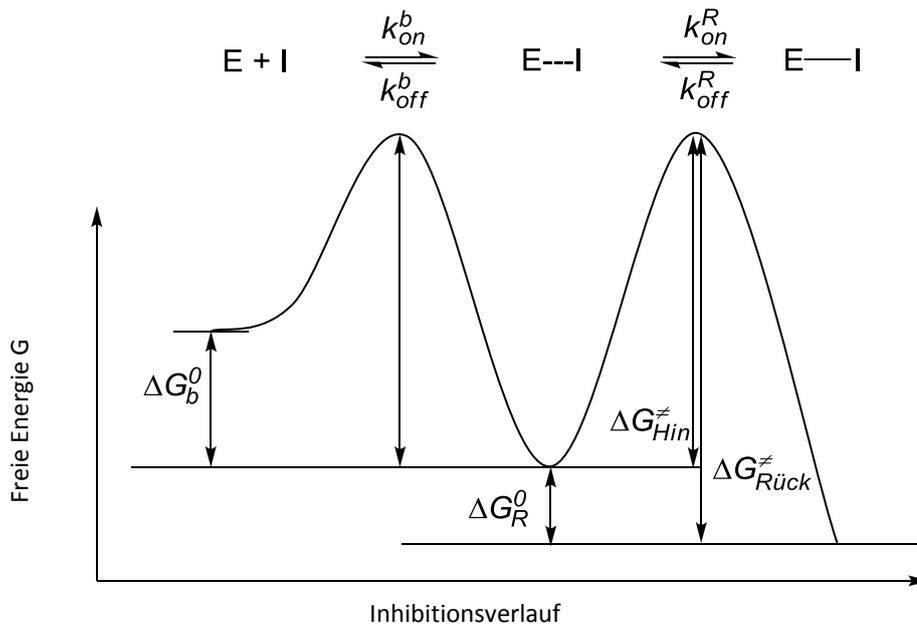
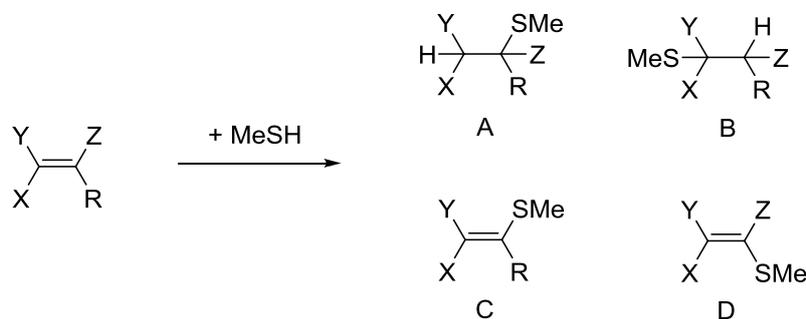


Abbildung 5-1: Energiediagramm für eine kovalent-reversible Enzyminhibition durch Vinylsulfone.

5.1.1.2 ERGEBNISSE DER QUANTENCHEMISCHEN BERECHNUNGEN

In den quantenchemischen Berechnungen wurden vier mögliche Reaktionen der Vinylsulfone untersucht. (Schema 5-2). Zum Einen wäre möglich, dass ein angreifendes Nucleophil (hier: Methanthiol) in α - oder β -Position (Weg A bzw. B) addiert. Andererseits wurde untersucht, ob die α -Substituenten durch das Nucleophil ersetzt werden können. Die jeweiligen Reaktionsenergien ΔH sind in Tabelle 5-1 zusammengefasst. Die Berechnungen wurden freundlicherweise im Arbeitskreis Prof. Dr. Engels (Univ. Würzburg) durchgeführt.



Schema 5-2: Quantenchemisch untersuchte Reaktionswege von Vinylsulfonen.

Tabelle 5-1: Berechnete Energien für die untersuchten Reaktionswege für X = N(H)Me.

Reaktionsweg	X	Y	Z	R	Nucleophil	ΔH (kcal/mol)
A	N(H)Me	MeS	CN	SO ₂ Ph	MeSH	19.3
B	N(H)Me	MeS	CN	SO ₂ Ph	MeSH	19.7
C	N(H)Me	MeS	CN	SO ₂ Ph	MeSH	16.1
D	N(H)Me	MeS	CN	SO ₂ Ph	MeSH	4.4

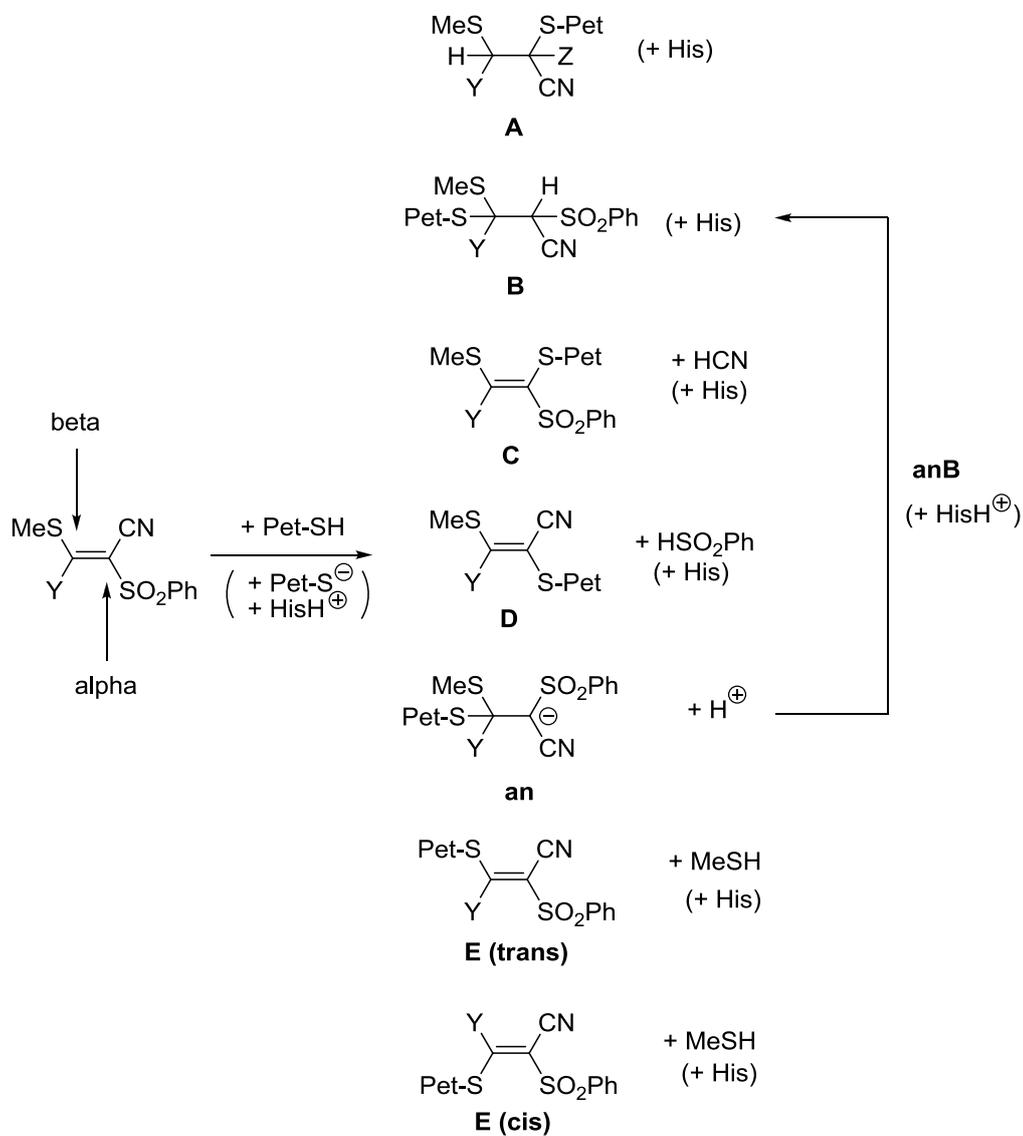
Aus Tabelle 5-1 ist ersichtlich, dass sowohl die Substitution von HCN oder PhSO₂H, als auch die Addition an die Doppelbindung endergone Reaktionen sind. Relativ gering ist die Reaktionsenergie für die Substitution von PhSO₂⁻ mit nur 4.4 kcal/mol. Die Energien sind jedoch alle höher als die Substitution von Y = MeS gegen MeS⁻, die per Definition $\Delta H = 0$ kcal/mol beträgt. Damit ist aus thermodynamischer Sicht jeweils die Substitution von Y = MeS durch MeS am günstigsten.

Weitere Berechnungen an ähnlichen Systemen (X = *t*-Butyl/Phenyl) postulieren im Gegensatz zu den oben genannten Ergebnissen, dass bevorzugt eine Substitution von HSO₂Ph (Reaktionsweg D) stattfinden könnte (Tab. 5-2). Ein synthetischer Zugang zu diesen Verbindungen war jedoch bislang noch nicht möglich.

Tabelle 5-2: Ergebnisse der Berechnungen für X = *t*-Butyl/Phenyl.

Reaktionsweg	X	Y	Z	R	Nucleophil	ΔH (kcal/mol)
A	<i>t</i> -Butyl	MeS	CN	SO ₂ Ph	MeSH	2.4
B	<i>t</i> -Butyl	MeS	CN	SO ₂ Ph	MeSH	12.5
C	<i>t</i> -Butyl	MeS	CN	SO ₂ Ph	MeSH	11.8
D	<i>t</i> -Butyl	MeS	CN	SO ₂ Ph	MeSH	-3.0
A	Phenyl	MeS	CN	SO ₂ Ph	MeSH	4.1
B	Phenyl	MeS	CN	SO ₂ Ph	MeSH	7.3
C	Phenyl	MeS	CN	SO ₂ Ph	MeSH	8.8
D	Phenyl	MeS	CN	SO ₂ Ph	MeSH	-1.7

Die Berechnungen mit den dargestellten Verbindungen in Anwesenheit und Abwesenheit eines protonierten Histidins als Protonenquelle lieferte neue Ergebnisse. Simuliert wurden dafür Reaktionen von Methylamin- und Anilin-substituierten N,S-Vinylsulfonen (vgl. Verbindung **45d** und **45i**) mit 2-Phenylethanthiol (Pet-SH) und 2-Phenylethanthiolat (Pet-S⁻)/HisH⁺. Schema 5-3 zeigt die verschiedenen berechneten Produkte und Tabelle 5-3 zeigt die berechneten Enthalpien ΔH in kcal/mol.



Schema 5-3: Quantenchemisch untersuchte Reaktionsmöglichkeiten für Y = NHMe, NHPH.

Die Enthalpie der Protonierung von 2-Phenylethanthiolat durch HisH^+ dabei auf -69.8 kcal/mol berechnet.

Tabelle 5-3: Berechnete Reaktionsenthalpien ΔH für die Verbindungen 45d ($Y=\text{NHMe}$) und 45i ($Y=\text{NHPH}$) in kcal/mol.

Reaktionsweg	Pet-SH		Pet-S ⁻ /HisH ⁺	
	NHMe	NHPH	NHMe	NHPH
A	14.7	6.9	-55.1	-62.8
an	-10.7	-18.6	-10.7	-18.6
B	11.3	11.6	-58.5	-58.1
C	9.4	14.3	-60.3	-55.5
D	9.4	14.3	-71.5	-71.2
E_{cis}	4.1	2.0	-65.7	-67.7
E_{trans}	-5.5	-4.4	-75.3	-74.2
anB	-	-	-47.8	-39.6

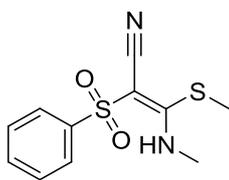
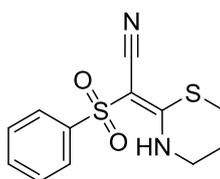
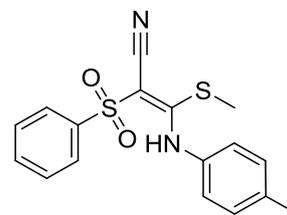
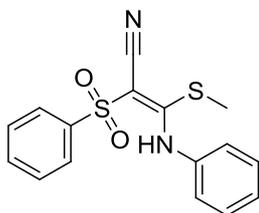
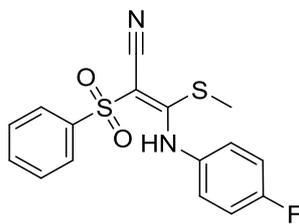
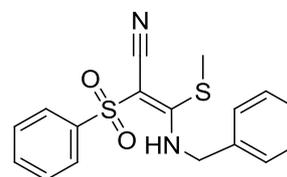
Im System Pet-SH ist damit die Anlagerung zum Anion (**an**) mit -10.7 bzw. -18.6 kcal/mol der exothermste Schritt und das entstehende Anion wäre genug stabilisiert (Tab. 5-3). Die geforderte Eliminierung von Thiomethan (**E_{cis}** bzw. **E_{trans}**) folgt an zweiter Stelle in einem leicht exothermen Schritt (-5.5 bzw. -4.4 kcal/mol). Da das Anion genug stabilisiert ist und am wahrscheinlichsten gebildet werden kann, dient dieses als Zwischenstufe für die Eliminierung oder könnte so zum Vinylsulfon zurückreagieren.

In der Bindetasche des Enzyms liegen jedoch andere Bedingungen vor als in Lösung. Die Thiolgruppe des Cystein liegt deprotoniert als Thiolat vor und als Protonendonator fungiert ein protonierter Histidinrest HisH^+ . Eine entsprechende Simulation wurde mit 2-Phenylethanthiolat und HisH^+ durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tab. 5-3 zusammengefasst. Am thermodynamisch günstigsten wäre hier die β -Substitution von SMe (**E_{trans}**) mit -75.3 bzw. -74.2 kcal/mol. Die irreversible Substitution in α -Position von Phenylsulfonsäure durch das Thiolat steht mit -71.5 bzw. -71.2 kcal/mol an zweiter Stelle, während die Bildung des Produkts **E_{cis}** mit -65.7 bzw. -67.7 kcal/mol etwas ungünstiger ist.

5.2 NMR-KINETISCHE UNTERSUCHUNGEN

5.2.1 MODELLVERBINDUNGEN UND REAKTIONSBEDINGUNGEN

Zur Untersuchung der Reaktion von Thiolen [T] mit substituierten Vinylsulfonen [S] wurden verschiedene N,S-Vinylsulfone mit 2-Phenylethanthiol umgesetzt.

**45d****45a****45e****45i****45c****45f**

Für die Reaktionen wurden jeweils Stammlösungen von 2-Phenylethanthiol und Vinylsulfon in Methanol- d_4 hergestellt. Die Konzentrationen der Stammlösungen betragen für das Vinylsulfon jeweils 0.02 M und für das 2-Phenylethanthiol 0.156 M. Für den Start der Reaktion wurden jeweils 350 μl in ein NMR-Röhrchen pipettiert und gut gemischt. Die erhaltenen Endkonzentrationen im Endvolumen von 700 μl betragen somit $[S] = 10 \text{ mM}$ bzw. $[T] = 78 \text{ mM}$. Dieses Konzentrationsverhältnis ($[T] \gg [S]$) entspricht damit einer Reaktion pseudo-erster Ordnung.^[92]

Die Aufnahme der ^1H -NMR-Spektren erfolgte an einem „Avance-400“-Spektrometer der Firma Bruker (Rheinstetten) bei 300 K. Die Messung des Reaktionsverlaufs erfolgte direkt im Anschluss an das Mischen der Reaktionspartner. Als Startzeit für die Auswertung ($t = 0 \text{ min}$) wurde der Zeitpunkt des Mischens angenommen. Die Spektren wurden mit einer Scanzahl von 16 Scans/Spektrum aufgenommen. Es wurden zunächst kontinuierlich über 60 Minuten Spektren aufgezeichnet. Bei langsameren Reaktionen wurden Spektren in größeren Abständen aufgenommen. In allen Experimenten war die Stabilität der getesteten Verbindung ohne Thiol über einen längeren Zeitraum gewährleistet.

5.2.2 KINETIK

5.2.2.1 KINETIK ZWEITER ORDNUNG

Eine Reaktion folgt der Kinetik zweiter Ordnung, wenn zwei Edukte A und B zu Produkt C reagieren:



Dadurch gilt die Geschwindigkeitsgleichung:

$$-\frac{d[A]}{dt} = k_2 [A][B] \quad (2)$$

Da bei der Reaktion mit jedem Teilchen A auch ein Teilchen B umgesetzt wird, nehmen die Konzentrationen beider Reaktanden auf gleiche Weise ab. Somit ergibt sich:

$$[A]_0 - [A] = [B]_0 - [B] \quad (3)$$

Formt man (3) nach [B] um und setzt den erhaltenen Ausdruck in (2) ein, so erhält man eine Gleichung, die nach Integration über die Zeit t folgende Geradengleichung liefert:

$$\ln \frac{[A]}{[B]} = \ln \frac{[A]_0}{[B]_0} + ([A]_0 - [B]_0)k_2 t \quad (4)$$

Durch Auftragen von $\ln \frac{[A]}{[B]}$ gegen die Zeit t erhält man im Fall einer Kinetik zweiter Ordnung eine Gerade mit der Steigung $([A]_0 - [B]_0)k_2$ und dem Achsenabschnitt $\ln \frac{[A]_0}{[B]_0}$. Da die Anfangskonzentrationen $[A]_0$ und $[B]_0$ bekannt sind und sich das Verhältnis beider Edukte durch die $^1\text{H-NMR}$ -Integrale bestimmen lässt, kann so k_2 leicht bestimmt werden.

5.2.2.2 KINETIK PSEUDO-ERSTER ORDNUNG

Liegt in einer Reaktion zweiter Ordnung einer der beiden Reaktionspartner im Überschuss vor, so dass die Anfangskonzentration etwa gleich der Endkonzentration dieses Reaktanden ist, so folgt die Reaktion dem Gesetz der Kinetik pseudo-erster Ordnung. Gleichung (2) vereinfacht sich zu

$$-\frac{d[A]}{dt} = k'_2 [A] \quad (5)$$

mit

$$[B] = [B]_0 = \textit{konstant} \quad (6)$$

$$k'_2 = k_2 [B]_0 \quad (7)$$

Nach Integration erhält man:

$$A = A_0 \exp^{-k'_2 t} \quad (8)$$

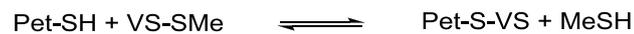
Linearisierung von Gleichung (6) liefert folgende Geradengleichung:

$$\ln \frac{A}{A_0} = -k'_2 t \quad (9)$$

Trägt man $\ln \frac{A}{A_0}$ gegen die Zeit t auf, so erhält man eine Gerade mit der Steigung $-k'_2$. Da die Anfangskonzentration $[B]_0$ bekannt ist, erhält man durch Einsetzen die Geschwindigkeitskonstante k_2 .

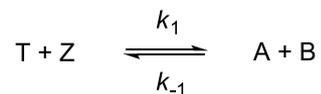
5.2.2.3 KINETIK REVERSIBLER REAKTIONEN

Da die untersuchten Reaktionen jedoch als reversible Gleichgewichtsreaktionen postuliert wurden, muss eine Strategie verwendet werden, die Hin- und Rückreaktion berücksichtigt. Die Reaktion unter normalen Bedingungen verläuft folgendermaßen:

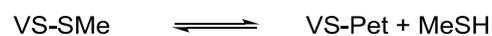


(Pet-SH: Phenylethanthiol, VS-SMe: Vinylsulfon mit Substituenten SMe)

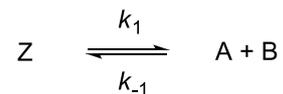
bzw.



Unter der Bedingung, dass die Konzentration von Pet-SH (T) fast konstant bleibt, vereinfacht sich die Reaktion zu



bzw.



Somit ergibt sich die Geschwindigkeitsgleichung zu

$$-\frac{d[Z]}{dt} = k_1 [Z] - k_{-1} [A][B]$$

$$\frac{d[Z]}{dt} = k_{-1} [A][B] - k_1 [Z] \quad (10)$$

und die Gleichgewichtskonstante zu

$$K = \frac{[A][B]}{[Z]} = \frac{c_A^e c_B^e}{c_Z^e} = \frac{k_1}{k_{-1}}. \quad (11)$$

Durch Einsetzen von $c_A = c_A^e - \Delta$, $c_B = c_B^e - \Delta$ und $c_Z = c_Z^e + \Delta$ in Gleichung (10) ergibt sich die Geschwindigkeit der Reaktion, wobei Δ die Differenz der Konzentration $[A]$, $[B]$ und $[Z]$ im Gleichgewichtszustand (c^e) und der jeweiligen Konzentration c zum Zeitpunkt t ist.^[93]

$$\frac{d[\Delta]}{dt} = k_{-1} (c_A^e - \Delta)(c_B^e - \Delta) - k_1 (c_Z^e + \Delta) \quad (12)$$

Unter Berücksichtigung, dass $c_A^e = c_B^e$ erhält man den vereinfachten Ausdruck

$$\frac{d[\Delta]}{dt} = k_{-1} (c_A^e - \Delta)^2 - k_1 (c_Z^e + \Delta) \quad (13)$$

Nach Auflösen und Umstellen erhält man die Gleichung

$$\frac{d[\Delta]}{dt} = k_{-1} \Delta^2 - (k_1 + 2c_A^e k_{-1}) \Delta - k_1 c_Z^e + k_{-1} (c_A^e)^2 \quad (14)$$

Da im Gleichgewichtszustand gilt $k_1 c_Z^e = k_{-1} (c_A^e)^2$, vereinfacht sich die Gleichung zu

$$\frac{d[\Delta]}{dt} = k_{-1} \Delta^2 - (k_1 + 2c_A^e k_{-1}) \Delta \quad (15)$$

Unter der Bedingung, dass die Reaktion schnell genug verläuft, ist der Term Δ^2 zu klein und kann vernachlässigt werden.^[94] Man erhält eine Gleichung erster Ordnung:^[95]

$$\frac{d[\Delta]}{dt} = -\tau^{-1} \cdot \Delta \quad (16)$$

mit

$$\tau^{-1} = (k_1 + 2c_A^e k_{-1}) \quad (17)$$

Durch Integration erhält man die Geradengleichung

$$\ln |\Delta| = \tau^{-1} \cdot t \quad (18)$$

bzw.

$$\ln |(c_A^e - c_A)| = \tau^{-1} \cdot t \quad (19)$$

Auftragen von $\ln |\Delta|$ gegen die Zeit t ergibt somit eine Gerade mit Steigung τ^{-1} und man kann k_1 und k_{-1} unter Verwendung der Gleichgewichtskonstanten berechnen.

Da jedoch in den durchgeführten Experimenten die Konzentration von 2-Phenylethanthiol als nicht-konstant angenommen werden kann, muss für die Berechnung der Geschwindigkeitskonstanten eine Reaktion zweiter Ordnung angenommen werden. Dadurch ergibt sich für die Steigung der Ausdruck:

$$\tau^{-1} = k_1 (c_T^e + c_Z^e) + 2c_A^e k_{-1} \quad (20)$$

Auf eine Herleitung von Gleichung (20) wird an dieser Stelle verzichtet und auf die Literatur verwiesen.^[95]

5.2.3 ERGEBNISSE DER NMR-EXPERIMENTE

In der Literatur wurden bereits Vinylsulfone untersucht und dabei die relativen Raten der Michael-Addition von 2-Phenylethanthiol in Anwesenheit von Triethylamin als Base bestimmt. Es wurde dabei der Einfluss des Substituenten am Schwefelatom untersucht und herausgefunden, dass das Vinylsulfon mit dem Substituenten OPh ca. 3000-mal schneller reagiert als mit dem Substituenten NHBn.^[93] Unter ähnlichen Bedingungen wie in der Literatur wurden auch die nachfolgenden Versuche durchgeführt.

5.2.3.1 UNTERSUCHUNG VON VERBINDUNG 45d

In der ersten Untersuchung wurde das Vinylsulfon **45d** unter den unten genannten Bedingungen (Abb. 5-3) mit 2-Phenylethanthiol umgesetzt und der Reaktionsverlauf durch $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie verfolgt. Verbindung **45d** mit Methylamin als Substituenten zeigte hohe Reaktivität gegenüber 2-Phenylethanthiol, so dass das Vinylsulfon innerhalb einer Stunde nahezu vollständig reagierte. Abb. 5-2 zeigt Ausschnitte aus den erhaltenen $^1\text{H-NMR}$ -Spektren. Für die kinetische Untersuchung von Verbindung **45d** wurden die Signale des Aminomethylsubstituenten (s, 3.05 ppm und s, 3.19 ppm) herangezogen. Alternativ lassen sich auch die Signale des Methylthiolat-Substituenten (s, 2.50 ppm) und des freigesetzten Thiomethans (s, 2.01 ppm) verwenden. Eine Übersicht über den zeitlichen Verlauf der Reaktion ist in Abb. 5-3 und Tab. 5-4 dargestellt.

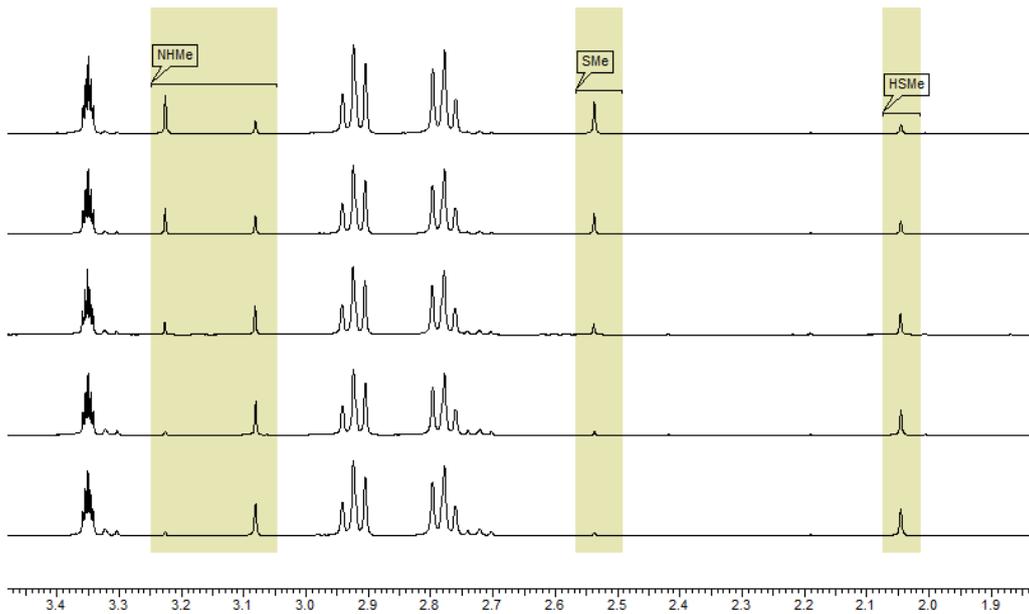


Abbildung 5-2: Ausschnitte der $^1\text{H-NMR}$ -Spektren bei der Umsetzung von 2-Phenylethanthiol mit Verbindung 45d nach 5, 8, 18, 65, 120 Min.

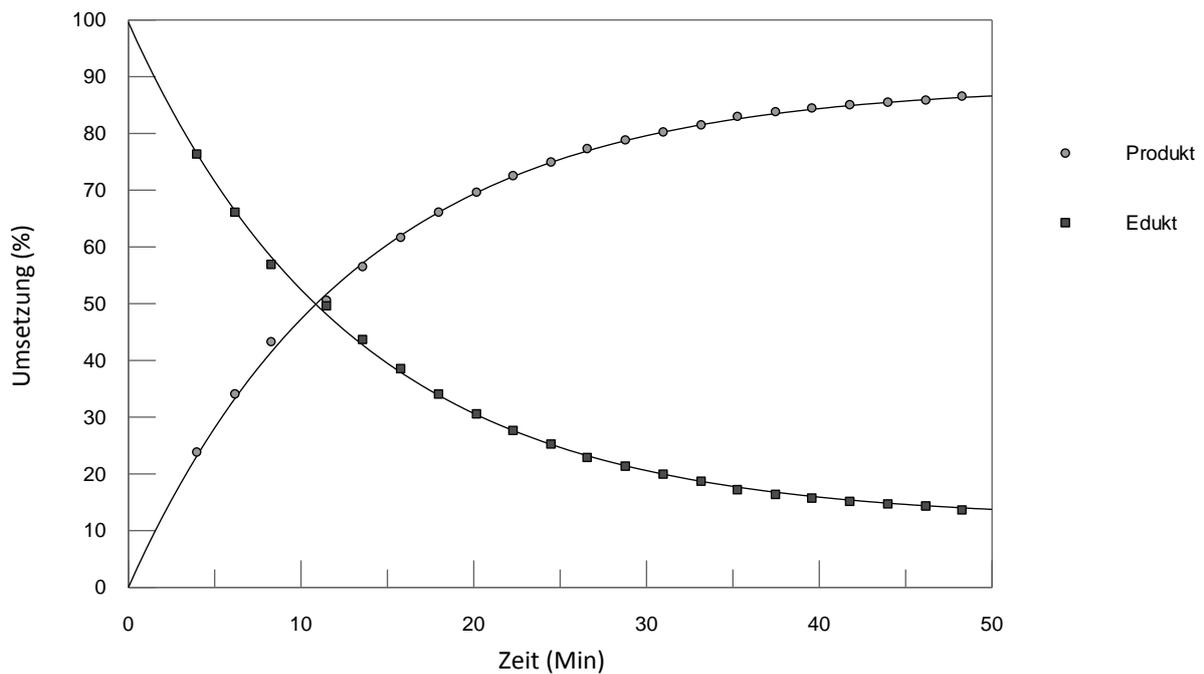


Abbildung 5-3: Reaktionsverlauf von Verbindung 45d und 2-Phenylethanthiol; Lösung 1: 10 ml MeOD, 27.0 mg Verbindung 45d ($c = 20 \text{ mM}$); Lösung 2: 27.0 μl TMS ($c = 10 \text{ mM}$), 209 μl 2-Phenylethanthiol ($c = 156 \text{ mM}$). $V(\text{NMR-Probe}) = 350 \mu\text{l}$ Lösung 1 + 350 μl Lösung 2; $c(\text{Gesamt, Verbindung 45d}) = 10.0 \text{ mM}$, $c(\text{Gesamt, 2-Phenylethanthiol}) = 78 \text{ mM}$.

Tabelle 5-4: Verlauf der Reaktion von Verbindung 45d und 2-Phenylethanthiol (Pet-SH) unter den Bedingungen einer Reaktion pseudo-erster Ordnung.

Zeit	Edukt (%)	Produkt (%)
4 Min.	76	24
8 Min.	43	57
16 Min.	38	62
33 Min.	19	81
60 Min.	12	88
2 Std.	12	88

Nach einer Umsetzung von ca. 88 % konnte keine weitere nennenswerte Veränderung des Produkt-Edukt-Verhältnisses mehr beobachtet werden. Damit lässt sich die Gleichgewichtskonstante berechnen:

$$K = \frac{c_A^e c_B^e}{c_Z^e c_T^e} = \frac{k_1}{k_{-1}} = \frac{0.88 \cdot 10mM \cdot 0.88 \cdot 10mM}{0.12 \cdot 10mM \cdot (78mM - 0.88 \cdot 10mM)} = \frac{77.44}{83.04} = 0.93$$

Auftragen von $-\ln |\Delta|$ gegen die Zeit t ergibt eine Gerade mit Steigung $\tau^{-1} = 0.0860$.

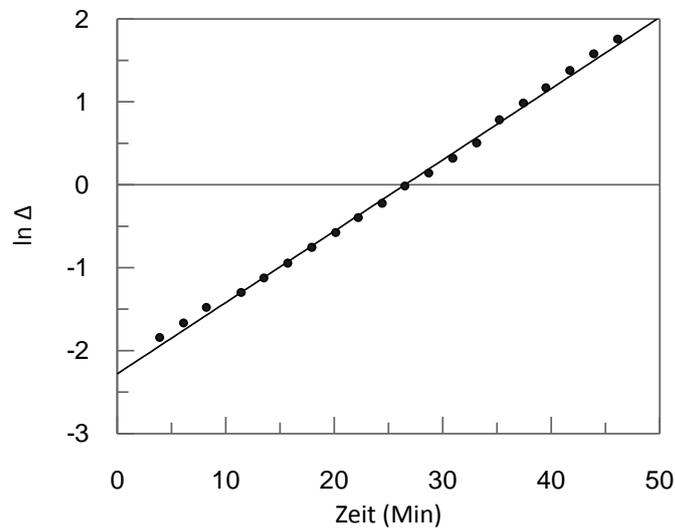


Abbildung 5-4: Auftragung von $-\ln |\Delta|$ gegen die Zeit t zur Ermittlung der Steigung τ^{-1} der Reaktion von Verbindung 45d mit 2-Phenylethanthiol.

Die Geschwindigkeitskonstanten k_1 und k_{-1} wurden unter Verwendung von Gleichung (20) und der Gleichgewichtskonstanten erhalten:

$$0.0860 = k_1 (c_T^e + c_Z^e) + 2c_A^e k_{-1}$$

Mit $k_1 = K \cdot k_{-1}$ erhält man den Ausdruck:

$$0.0860 = K \cdot k_{-1} (c_T^e + c_Z^e) + 2c_A^e k_{-1}$$

Durch Einsetzen von $K = 0.93$, $c_T^e = 69.2 \text{ mM}$, $c_Z^e = 1.2 \text{ mM}$ und $c_A^e = 8.8 \text{ mM}$ ergibt sich für k_{-1} ein Wert von $1.04 \cdot 10^{-3} \text{ mM}^{-1}$. Dadurch ergibt sich für k_1 ein Wert von $9.63 \cdot 10^{-4} \text{ mM}^{-1}$.

Tabelle 5-5: Ergebnisse der Berechnungen für Verbindung 45d.

	Wert	Standardfehler
Limit [%]	88.555	0.2007
τ^{-1}	0.0860	
K	0.93	
$k_1 [\text{mM}^{-1}]$	$9.63 \cdot 10^{-4}$	
$k_{-1} [\text{mM}^{-1}]$	$1.04 \cdot 10^{-3}$	

In einem weiteren Experiment konnte gezeigt werden, dass die Umsetzung konzentrationsabhängig ist. Es sollte sich damit um eine Gleichgewichtsreaktion handeln. Dazu wurde eine äquimolare Menge an 2-Phenylethanthiol zugegeben wurde. Die Umsetzung wurde durch NMR-Spektroskopie verfolgt und dabei die Veränderung der ^1H -NMR-Signale für den Methylamin-Substituenten beobachtet. Das Ergebnis der Untersuchung ist in Abbildung 5-5 dargestellt.

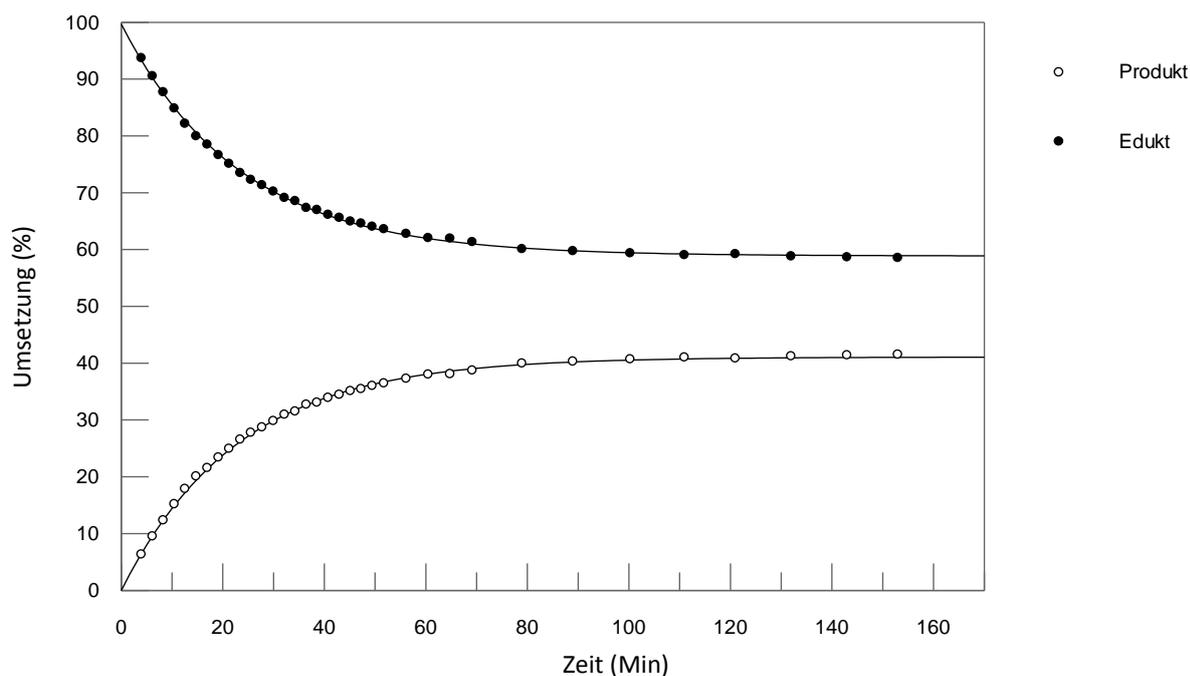


Abbildung 5-5: Reaktionsverlauf von 45d unter den Bedingungen einer Reaktion zweiter Ordnung. NMR-Probe: 350 μ l Lösung 1 (2.57 ml MeOD; 13.8 mg 45d, $c = 20.0$ mM), 350 μ l Lösung 2 (10.0 ml MeOD; 27.0 μ l 2-Phenylethanthiol, $c = 20.0$ mM, 27.0 μ l TMS, $c = 20.0$ mM); $c(\text{Gesamt, 45d}) = 10.0$ mM, $c(\text{Gesamt, 2-Phenylethanthiol}) = 10.0$ mM.

Wie zu erwarten war, zeigte sich, dass die Reaktion bei äquivalenter Konzentration eingesetzter Edukte wesentlich langsamer verlief. Das Limit der Reaktion wurde nach fünf Stunden erreicht und lag bei ca. 44 % Umsetzung. Danach konnte keine weitere nennenswerte Veränderung des Produkt-Edukt-Verhältnisses beobachtet werden.

Tabelle 5-6: Verlauf der Reaktion von Verbindung 45d und 2-Phenylethanthiol (Pet-SH) unter den Bedingungen einer Reaktion zweiter Ordnung.

Zeit	Edukt (%)	Produkt (%)
4 Min.	94	6
10 Min.	85	15
20 Min.	77	33
40 Min.	66	34
100 Min.	59	41
5 Std.	56	44
>12 Std.	55	45

Da sich das Gleichgewicht abhängig von der Konzentration der Reaktanden einstellt, konnte somit gezeigt werden, dass es sich hierbei um eine Reaktion zweiter Ordnung handeln muss.

Tabelle 5-7: Ergebnisse der Berechnungen für Verbindung 45d bei Bedingungen zweiter Ordnung.

	Wert
Limit [%]	44.514
K	1.62

5.2.3.2 UNTERSUCHUNG VON VERBINDUNG 45a

Der Reaktionsverlauf von Verbindung **45a** mit 2-Phenylethanthiol wurde unter den Bedingungen pseudo-erster Ordnung durch $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie verfolgt. Verbindung **45a** mit Ethylamin als Substituenten zeigte eine verminderte Reaktivität im Vergleich mit Verbindung **45d**, reagierte jedoch schneller als die übrigen N,S-Vinylsulfone und konnte somit ausreichend untersucht werden. Das Limit von 80 % wurde nach ca. drei Stunden erreicht. Für die kinetische Untersuchung von Verbindung **45a** wurden die Signale des Methylthiolatsubstituenten (δ , 2.50 ppm) und des freigesetzten Thiomethans (δ , 2.01 ppm) verwendet. Eine Übersicht über den zeitlichen Verlauf der Reaktion ist in Abb. 5-6 und Tab. 5-8 dargestellt.

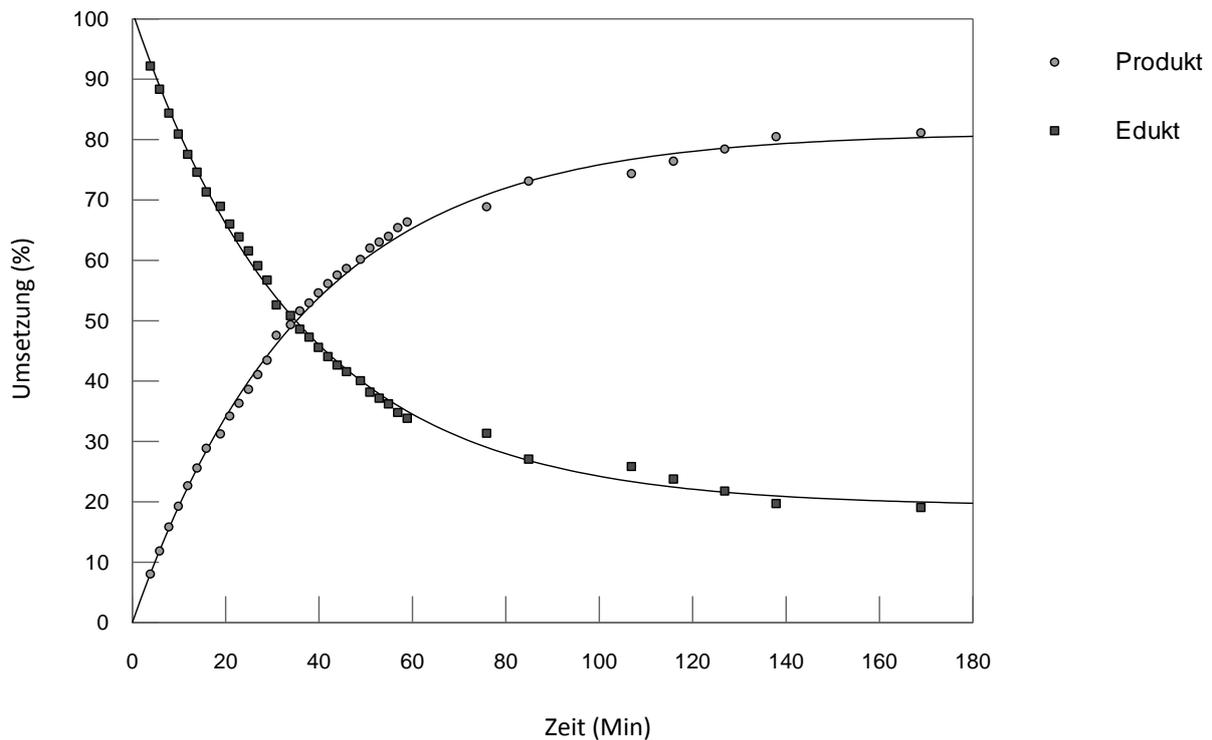


Abbildung 5-6: Reaktionsverlauf von Verbindung 45a mit 2-Phenylethanthiol.

Tabelle 5-8: Verlauf der Reaktion von Verbindung 45a mit 2-Phenylethanthiol.

Zeit	Edukt (%)	Produkt (%)
4 Min.	92	8
8 Min.	84	16
16 Min.	71	68
34 Min.	51	49
59 Min.	34	66
2 Std.	22	78

Auftragen von $-\ln |c_A^e - c_A|$ gegen die Zeit t ergibt eine Gerade mit Steigung τ^{-1} (Abb. 5-7). Die Geschwindigkeitskonstanten k_1 und k_{-1} wurden unter Verwendung von Gleichung (20) und der Gleichgewichtskonstanten erhalten (Tab 5-9).

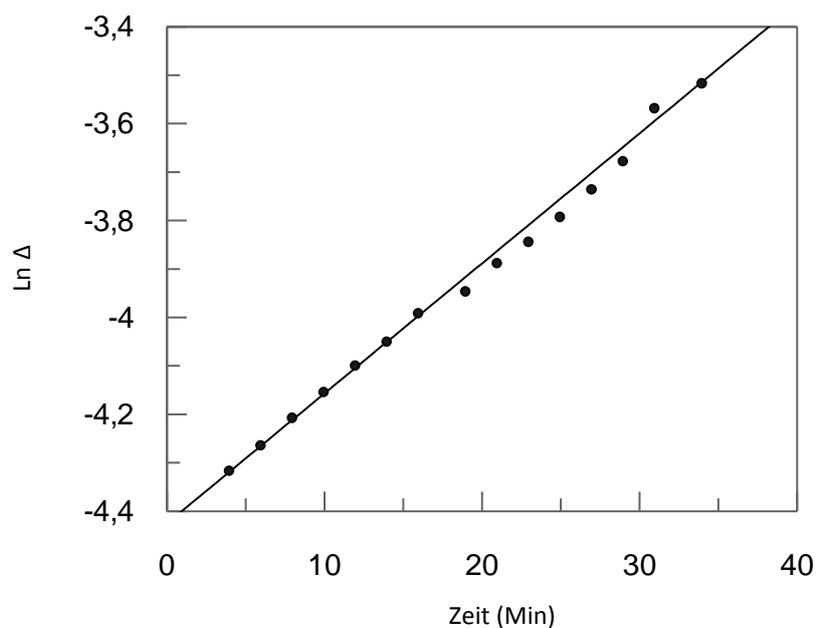


Abbildung 5-7: Auftragung von $-\ln |\Delta|$ gegen die Zeit t zur Ermittlung der Steigung τ^{-1} der Reaktion von Verbindung 45a mit 2-Phenylethanthiol.

Tabelle 5-9: Ergebnisse der Untersuchung von Verbindung 45a.

	Wert	Standardfehler
Limit [%]	81.144	0.5562
τ^{-1}	0.0268	
K	0.581	
k_1 [mM ⁻¹]	$2.68 \cdot 10^{-4}$	
k_{-1} [mM ⁻¹]	$4.61 \cdot 10^{-4}$	

5.2.3.3 UNTERSUCHUNG VON VERBINDUNG 45g

Während bei Verbindung **45d** eine Untersuchung in kurzer Zeit möglich war, mussten die Reaktionen weiterer N,S-Vinylsulfone über einen längeren Zeitraum untersucht werden. Die Zeitspanne bis zum Erreichen des Endpunkts belief sich bei den getesteten Verbindungen auf bis zu mehreren Stunden (Tab. 5-10). Eine kontinuierliche Beobachtung durch ¹H-NMR-Spektroskopie war unter den gegebenen Umständen daher nicht möglich. Stattdessen wurde der Reaktionsverlauf durch NMR-Spektroskopie durch Messung von NMR-Spektren in bestimmten Zeitabständen ermittelt. Für die kinetische Untersuchung wurden die Signale des Methanthiolat-Substituenten (δ , 2.11 ppm) sowie des freigesetzten Methanthiols (δ , 2.00 ppm) vermessen.

Tabelle 5-10: Verlauf der Reaktion von Verbindung 45g mit 2-Phenylethanthiol.

Zeit	Edukt (%)	Produkt (%)
4 Min.	95	5
22 Min.	77	23
52 Min.	60	40
2 Std.	48	52
5 Std.	27	73
>4 Tage	15	85

Die Geschwindigkeitskonstanten k_1 und k_{-1} wurden aus den Daten der ersten 80 Minuten bestimmt. Dazu wurde $-\ln |\Delta|$ gegen die Zeit t aufgetragen zur Ermittlung der Steigung τ^{-1} . Die Konstanten wurden unter Verwendung der Gleichgewichtskonstanten K nach 4 Tagen und Gleichung (20) erhalten.

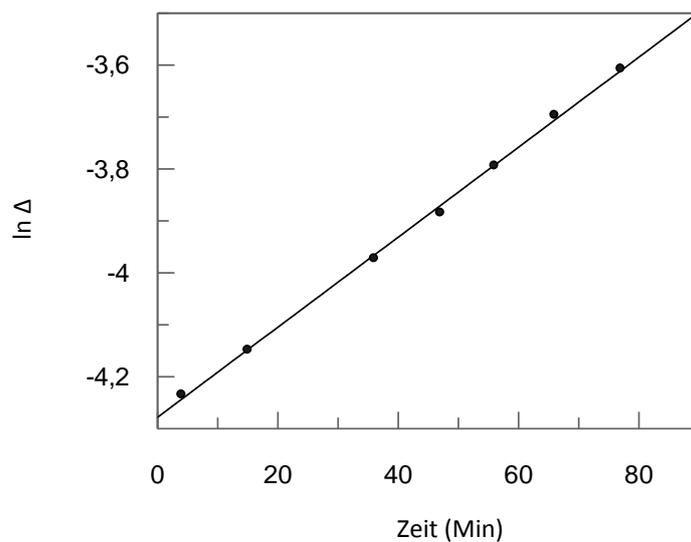


Abbildung 5-8: Auftragung von $-\ln |\Delta|$ gegen die Zeit t zur Ermittlung der Steigung τ^{-1} von Verbindung 45g mit 2-Phenylethanhol.

Tabelle 5-11: Ergebnis der Untersuchung von Verbindung 45g mit 2-Phenylethanhol.

	Wert
Limit [%]	81.081
τ^{-1}	0.0087
K	0.693
k_1 [mM ⁻¹]	$9.11 \cdot 10^{-5}$
k_{-1} [mM ⁻¹]	$1.31 \cdot 10^{-4}$

Bei Zugabe von Triethylamin als Base bei der Untersuchung von Verbindung **45g** konnte bereits nach ca. neun Minuten keine wesentliche Veränderung der Produkt/Edukt-Verhältnisses (80:20) mehr beobachtet werden (Abb. 5-9).

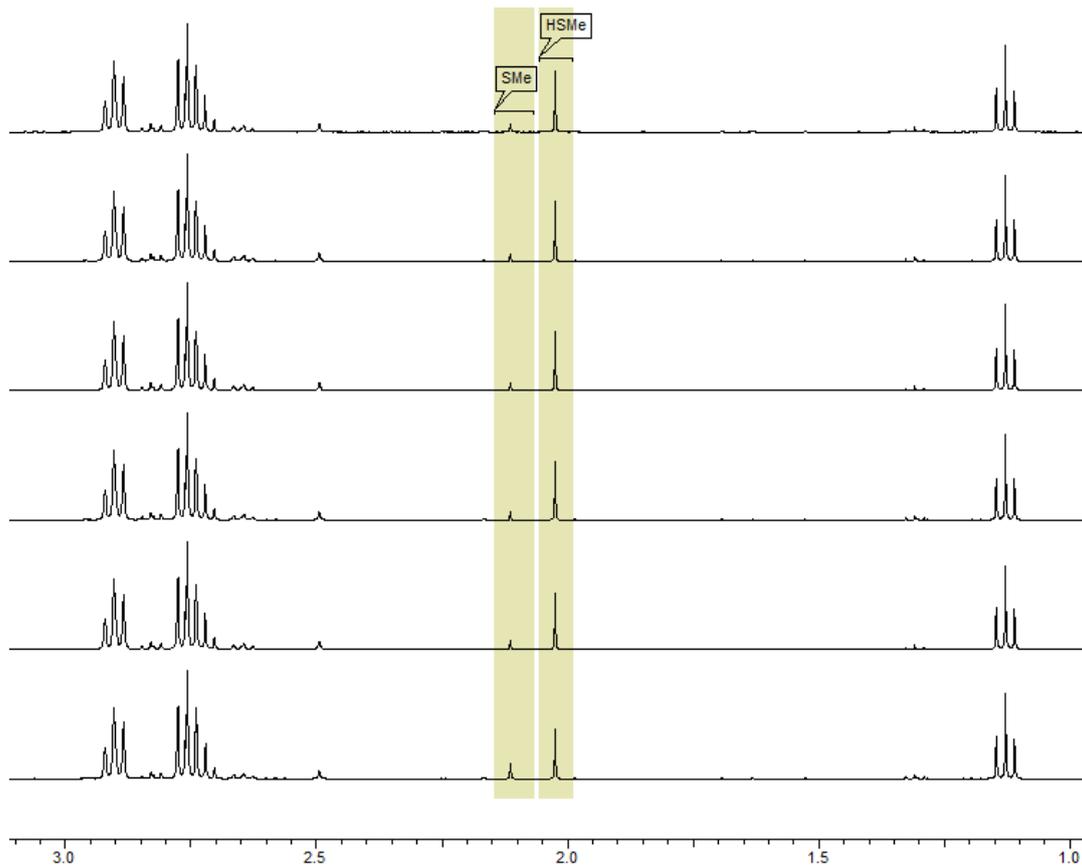


Abbildung 5-9: NMR-Probe: 700 μl Lösung (4.4 mg Verbindung 45g in 1.20 ml MeOD, $c = 10.2 \text{ mM}$; 1.7 μl NEt_3 , $c = 10.2 \text{ mM}$; 7.5 μl 2-Phenylethanthiol, $c = 78 \text{ mM}$).

Tabelle 5-12: Verlauf der Reaktion von Verbindung 45g mit 2-Phenylethanthiol.

Zeit	Edukt (%)	Produkt (%)
4 Min.	34	66
6 Min.	25	75
8 Min.	22	78
10 Min.	21	79
45 Min.	21	79

Die Auswertung der Spektren ergab, dass bei Zusatz einer äquimolaren Menge Triethylamin ($c = 10 \text{ mM}$) bereits nach der Aufnahme ($t = 4 \text{ Minuten}$) des ersten Spektrums eine Umsetzung von 66 % erfolgte. Das Limit der Umsetzung war bereits nach ca. 7 Minuten erreicht. Die Gleichgewichtskonstante wurde auf $K = 0.424$ berechnet.

Zum Abschluss wurde eine LC/MS-Analyse der NMR-Probe durchgeführt und somit sichergestellt, dass tatsächlich eine vinyloge Substitution des Methylthiolrestes stattgefunden hat:

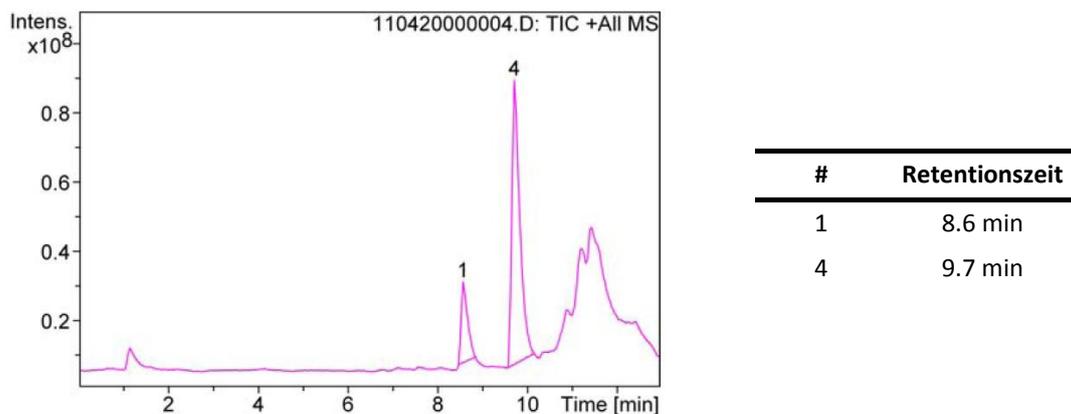


Abbildung 5-10: LC/MS-Analyse der Reaktionslösung von Verbindung 45g mit 2-Phenylethanthiol (positiv-Modus).

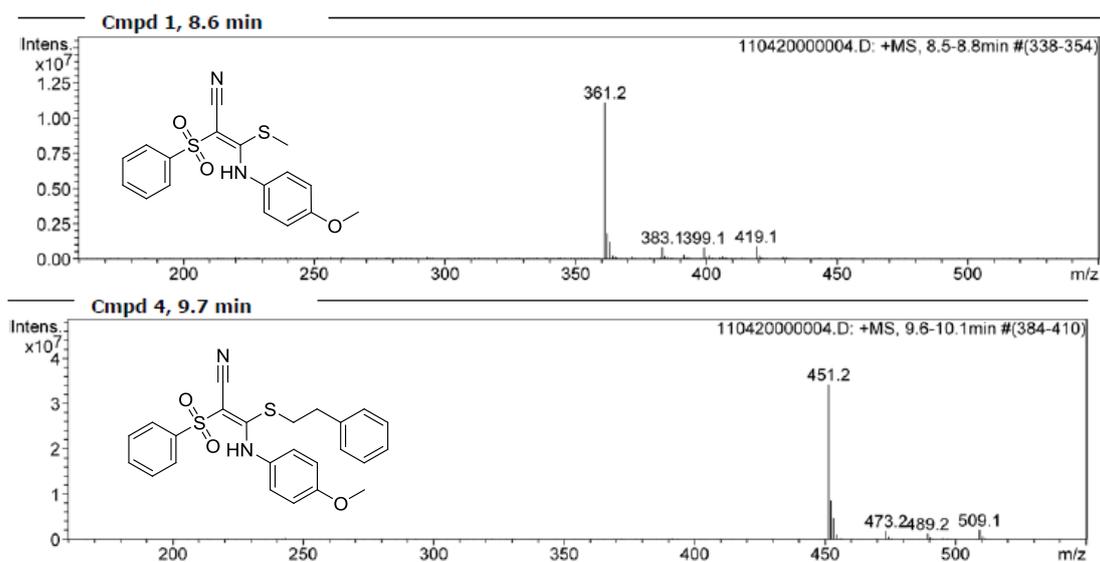


Abbildung 5-11: Massenspektren (positiv-Modus) der Reaktionslösung von Verbindung 45g mit 2-Phenylethanthiol. Oben: #1 (Verbindung 45g, $[M+H]^+ = 361.2$ m/z); Unten: Substitutionsprodukt ($[M+H]^+ = 451.2$ m/z).

5.2.3.4 WEITERE ERGEBNISSE UND ÜBERSICHT

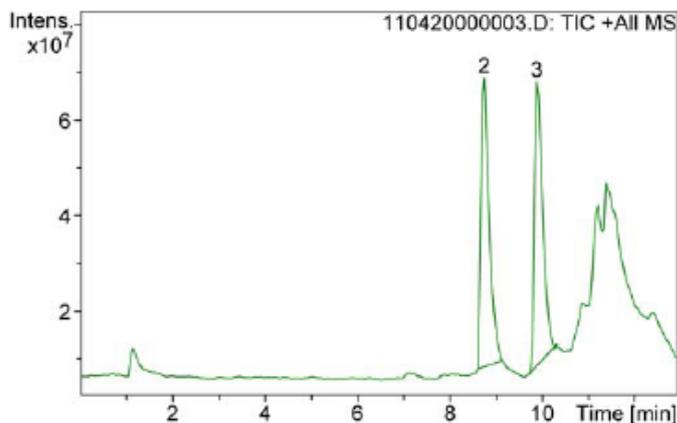
Die kinetischen Untersuchungen der Verbindungen **45f**, **45c** und **45e** wurden bei Konzentrationen von 10 mM Vinylsulfon und 78 mM 2-Phenylethanthiol durchgeführt. Eine kontinuierliche Untersuchung durch NMR-Spektroskopie war nicht möglich. Es wurden daher nur NMR-Spektren nach definierten Zeitabständen aufgenommen, um festzustellen, bei welchen Edukt/Produkt-Verhältnissen sich das Reaktionsgleichgewicht eingestellt hatte.

Tabelle 5-13: Ergebnisse der Kinetikuntersuchungen.

	Zeit	Edukt (%)	Produkt (%)	τ^{-1}	k_1 [mM ⁻¹]	k_{-1} [mM ⁻¹]	K	ΔG^0 (kJ/mol) ³⁾
45c	9 Std.	30	70	n.b.	n.b.	n.b.	0.279	3.18
	5 Tage ⁴⁾	27	73					
45e	9 Std.	60	40	n.b.	n.b.	n.b.	0.029	8.8
	4 Tage ⁴⁾	63	37					
45f	30 Min.	94	6	n.b.	n.b.	n.b.	0.039	8.1
	4 Std.	86	14					
	>4 Tage ⁴⁾	59	41					
45a	30 Min.	52	48	0.0268	$2.68 \cdot 10^{-4}$	$4.61 \cdot 10^{-4}$	0.581	1.35
	60 min	34	66					
	>5 Std. ⁴⁾	17	83					
45g	22 Min.	77	23	0.0087	$9.11 \cdot 10^{-5}$	$1.31 \cdot 10^{-4}$	0.693	0.915
	52 Min.	60	40					
	>4 Tage ⁴⁾	15	85					
45g¹⁾ (+NEt₃)	8 Min.	34	66	n.b.	n.b.	n.b.	0.424	2.14
	>14 Min. ⁴⁾	21	79					
45d	8 Min.	76	24	0.0860	$9.63 \cdot 10^{-4}$	$1.04 \cdot 10^{-3}$	0.933	0.173
	>60 Min. ⁴⁾	12	88					
45d²⁾	10 Min.	85	15	–	–	–	1.62	–1.20
	>5 Std. ⁴⁾	44	56					

¹⁾ Equimolare Menge an Verbindung 45g und Triethylamin eingesetzt. ²⁾ Equimolare Menge an Verbindung 45d und 2-Phenylethanthiol verwendet. ³⁾ $\Delta G^0 = -R \cdot T \cdot \ln K$ (T = 300 K). ⁴⁾ Zeiten, nach denen sich die Reaktionen im Gleichgewicht befinden. N.b. = nicht bestimmt.

Verbindung **45f** wurde ebenfalls mittels LC/MS Analyse untersucht. Das Produkt der Umsetzung besitzt eine Masse von $[M+H]^+ = 435.3$ m/z und bestätigt damit die Substitution von Methylthiolat.



#	Retentionszeit
2	8.7 min
3	9.9 min

Abbildung 5-12: LC/MS-Analyse von Reaktionslösung von Verbindung **45f** mit 2-Phenylethanthiol (positiv-Modus).

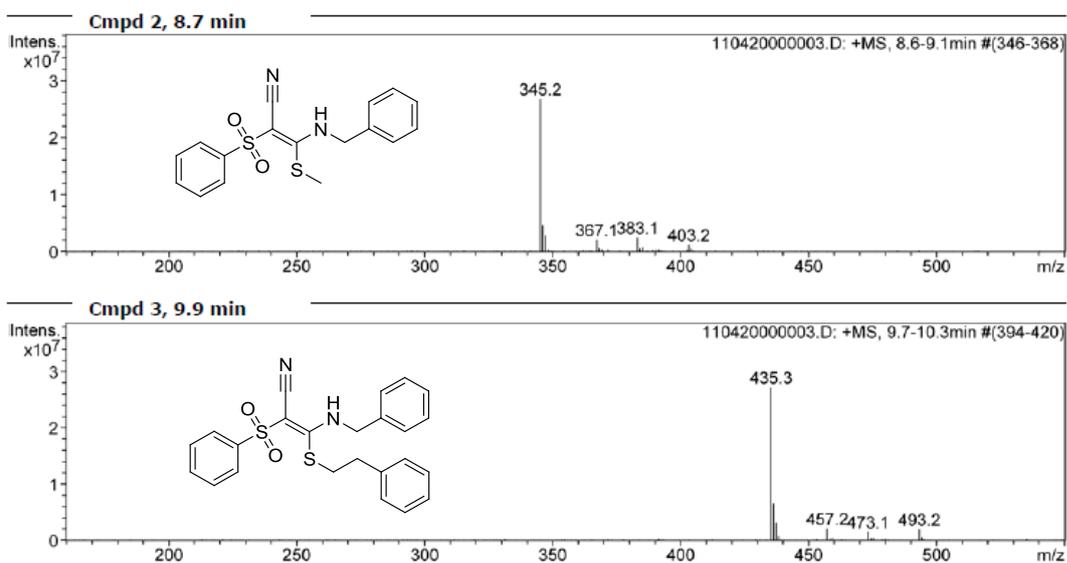
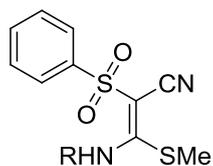


Abbildung 5-13: Massenspektren (positiv-Modus) der Reaktionslösung von Verbindung **45f** mit 2-Phenylethanthiol. Oben: Verbindung **45f** ($[M+H]^+ = 345.2$ m/z); Unten: Substitutionsprodukt ($[M+H]^+ = 435.3$ m/z).

Die LC/MS-Ergebnisse zu den Kinetikmessungen sind in Tabelle 5-14 zusammengefasst.



45a-g

Tabelle 5-14: LC/MS-Ergebnisse der Kinetikmessungen $[M+H]^+$. (^a) Methode A, ^b) Methode B, *¹) Gerät defekt, Messung konnte nicht durchgeführt werden.)

Verbindung	R	Eduktmasse [m/z]	Edukt Retentionszeit (min)	Produktmasse (m/z)	Produkt Retentionszeit (min)	Verhältnis Edukt/Produkt
45a	Et	283.1	7.6 ^a	373.2	9.2 ^a	28/72
45b	C ₆ H ₄ -NO ₂	374.0	8.4 ^a	464.2	9.5 ^a	41/59
45c	C ₆ H ₄ -F	349.0	12.3 ^b	439.2	14.3 ^b	39/61
45d	Me	269.1	8.7 ^a	—*	—*	—*
45e	C ₆ H ₄ -Me	345.1	12.8 ^b	—*	—*	—*
45f	CH ₂ C ₆ H ₅	345.2	8.7 ^a	435.3	9.9 ^a	51/49
45g	C ₆ H ₄ -OMe	361.2	8.6 ^a	451.2	9.7 ^a	19/81

5.3 DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Mit Hilfe der ^1H -NMR-Spektroskopie konnte die vinyloge Substitution von Methanthiol durch 2-Phenylethanthiol an mehreren N,S-Vinylsulfonen beobachtet werden. Der beobachtete Reaktionsverlauf bestätigte damit die quantenchemischen Berechnungen. Es konnte in allen untersuchten Fällen die Umsetzung durch Detektion der Integrale des Methanthiol-Substituenten sowie des freigesetzten, gelösten Methanthiols verfolgt werden. Im Fall von Methylamin als zweiten geminalen Substituenten konnte ebenfalls die Umsetzung durch Detektion der verschiedenen Methylamin-Signale verfolgt werden. Dabei reagierte das System mit Methylamin-Substituenten (**45d**) am schnellsten. Zusätzlich zu der Messung mit einem Überschuss an Phenylethanthiol wurde eine zweite Messung mit äquimolarer Menge durchgeführt und ergab einen maximalen Umsatz von ca. 60 %. Etwas langsamer reagierte die ähnliche Verbindung **45a** mit einem Ethylaminsubstituenten. Die weiteren Verbindungen mit aromatischen Substituenten reagierten wesentlich langsamer und erreichten ihr Gleichgewicht teilweise erst nach mehreren Stunden. Zur Beschleunigung der Reaktion von **45g** wurde eine äquimolare Menge an Triethylamin als Base eingesetzt. Die anschließende Substitution mit dem Thiol verlief jedoch so schnell, dass nur noch das Ende der Reaktion beobachtet werden konnte. Ob es sich bei dem Substituenteneinfluss um einen sterischen oder elektronischen Einfluss handelt, muss noch weiter untersucht werden. Da jedoch die Reaktion an kleinen Alkylaminen merkbar schneller verläuft als die der anilinsubstituierten Vinylsulfone, deutet alles auf einen sterischen Einfluss hin. Verschiedene Substituenten mit mesomeren oder induktiven Effekten hatten keinen erkennbaren Einfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeit. Anhand der Gleichgewichtskonstanten konnte die freie Reaktionsenergie ΔG berechnet werden. Die Ergebnisse der freien Energien haben gezeigt, dass die Reaktionen mit Energien zwischen -1.20 kJ/mol und $+8.8$ kJ/mol nur schwach endergon bzw. nahezu thermoneutral verlaufen und stimmen so gut mit den quantenchemischen Berechnungen überein. Verläuft diese Substitutionsreaktion im aktiven Zentrum des Enzyms, so sollte es möglich sein, dass die Substitution des Methanthiols reversibel verlaufen kann. Voraussetzung dabei ist jedoch, dass das Methanthiol nicht zu weit abdiffundieren kann. Demnach sollte es möglich sein, neuartige kovalent-reversible Inhibitoren für Cysteinproteasen auf diesen Grundlagen aufzubauen. Verbindung **45b** zeigte bereits eine erstaunlich hohe Hemmung von Cathepsin B (Kapitel 4.2.4) und soll durch MS-Experimente näher untersucht werden. Dadurch könnte bewiesen werden, ob Verbindung **45b** eine kovalente Bindung zum Enzym ausbilden kann. Ob jedoch diese kovalente Bindung auch tatsächlich am aktiven Zentrum erfolgt, kann erst nach einer erfolgreichen Co-Kristallisation oder nach Verdau und MS-Experiment mit dem Enzym bestätigt werden.

6 KRISTALLSTRUKTURANALYSE

Die Verbindungen **45a**, **45b**, **45d**, **45e**, **45f**, **45g**, **45h** und **45i** konnten aus Ethanol kristallisiert werden. Die vorläufigen Ergebnisse der Untersuchung der Verbindungen **45b** und **45d** werden in diesem Kapitel näher erörtert. Die Durchführung der Elektronendichtebestimmung wurde freundlicherweise von Dr. Simon Grabowsky an der University of Western Australia durchgeführt.

6.1 KRISTALLSTRUKTUR VON VERBINDUNG 45D

Die Kristallstruktur (Abbildung 6-1) von Verbindung **45d** besitzt eine nicht-planar-substituierte Doppelbindung. S2 bildet mit der Doppelbindungsebene C9–C7–C8 einen Winkel von -17.86° . N2 bildet einen Winkel von $+22.49^\circ$ mit dieser Ebene. S1 ist um -2.62° aus dieser Ebene herausgedreht. Während die Reste an S1 und S2 die Unterseite der Doppelbindung recht gut sterisch vor einem Angriff abschirmen können, ist die Oberseite sehr gut zugänglich für einen vinylogenen Angriff.

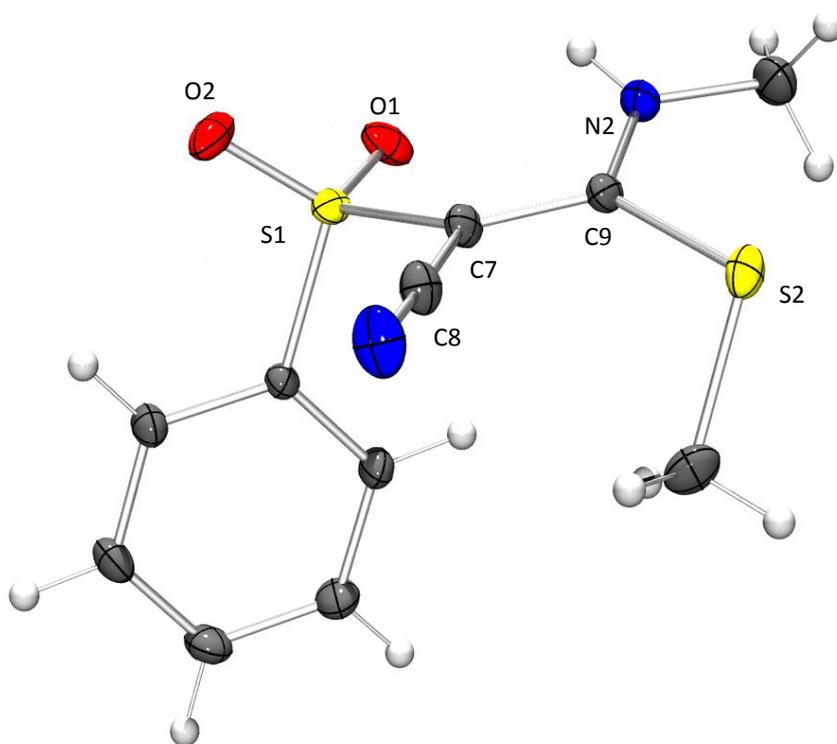


Abbildung 6-1: Kristallstruktur von Verbindung 45d.

Betrachtet man die Zelle und erweitert man den Blick auf den direkten Nachbarn, so erkennt man eine Vielzahl an möglichen Wasserstoffbrückenbindungen, die zwischen N2–H und S1', O1', O2' gebildet werden (Abbildung 6-2). Die Abstände (Winkel) von N2–H...O1' bzw. N2–H...O2' betragen dabei 2.366 Å (150.45°) bzw. 2.828 Å (128.73°). Der intramolekulare Abstand (Winkel) N2–H...O1 beträgt 2.261 Å (120.97°). Die Abstände sind für Wasserstoffbrückenbindungen einerseits mit 2.366 Å und 2.261 Å zu kurz und andererseits sind die Winkel von

128.73° und 120.97° zu spitz. Zusätzlich kann man eine mögliche Wasserstoffbrückenbindung N2–H···S1' mit einer Länge von 3.024 Å und einem Winkel von 149.41° finden.

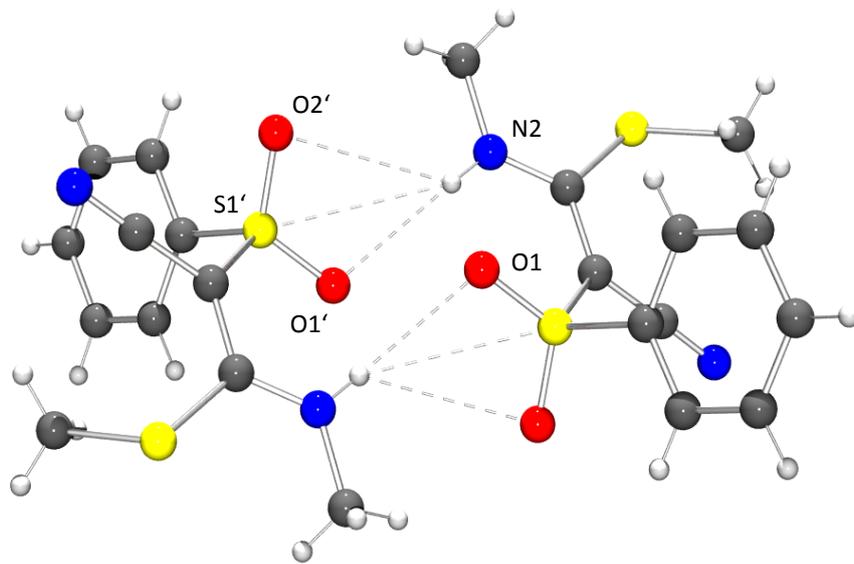


Abbildung 6-2: Kristallstruktur von Verbindung 45d mit möglichen intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen.

6.2 KRISTALLSTRUKTUR VON VERBINDUNG 45B

Die Kristallstruktur (Abbildung 6-3) von Verbindung **45b** besitzt ebenfalls eine nicht-planar-substituierte Doppelbindung. S2 bildet mit der Doppelbindungsebene C3–C1–C5 einen Winkel von -3.65° . N2 bildet einen Winkel von $+24.33^\circ$ mit dieser Ebene. S1 ist um -22.80° aus dieser Ebene herausgedreht. Während der Phenylrest an S2 die Unterseite der Doppelbindung recht gut abschirmen kann und der Phenylrest an N2 sich zum Teil oberhalb und unterhalb der Ebene befindet, dreht sich der Methylrest an S1 aus der Doppelbindungsebene heraus. Ein Angriff auf die Doppelbindung wäre demnach auf der Seite von N2 und CH₃ sterisch am wenigsten gehindert. Ein großer Einfluss auf die sterische Abschirmung durch den Anilinrest ist nicht zu erkennen.

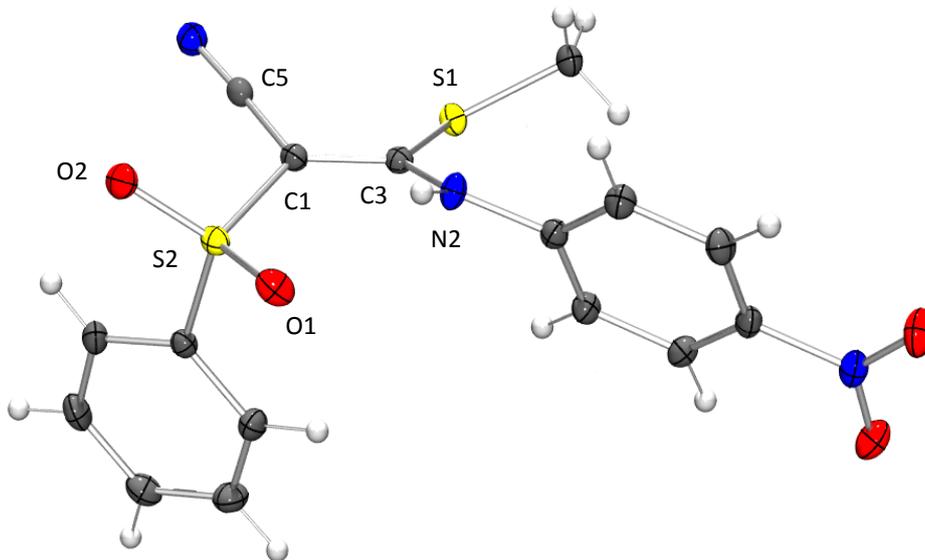


Abbildung 6-3: Kristallstruktur von Verbindung 45b.

7 ZUSAMMENFASSUNG

SARS ist eine der neuen und gefährlichen Krankheiten des 21. Jahrhunderts. Innerhalb der ersten Monate nach Auftreten der ersten Infektionen trat die Krankheit in 29 Ländern bei mehr als 8000 Patienten auf, von denen etwa 800 verstarben. SARS wird durch eine bestimmte Art von Coronaviren übertragen und wurde während des Ausbruchs 2003 mit Ribavirin behandelt. Einen Impfstoff gibt es bislang noch nicht.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Synthese einer Reihe peptidomimetischer Inhibitoren für das Enzym SARS-CoV-M^{pro}.

Leucinamide

Als Vorlage für diese Inhibitoren diente der kovalent gebundene Inhibitor 9IN aus der Kristallstruktur 2AMD. Die Entwicklung der neuen Leitstruktur (Abbildung 7-1) erfolgte dabei durch Fragmentierung mit dem Programm FRED im Arbeitskreis Prof. Knut Baumann (Univ. Braunschweig). Die dargestellten Verbindungen wurden als nicht-kovalent gebundene Inhibitoren entwickelt und sowohl an SARS-CoV-M^{pro} als auch an SARS-CoV-PL^{pro} getestet.

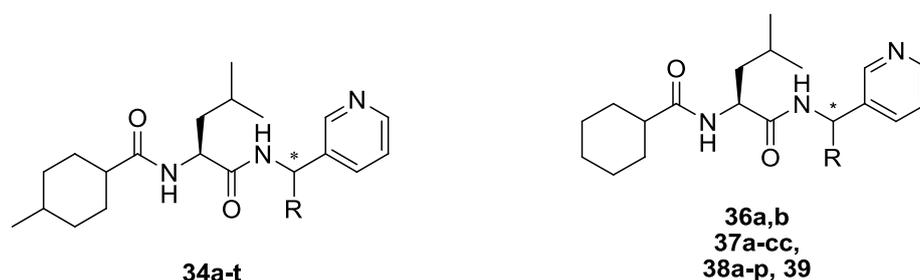


Abbildung 7-1: Grundstruktur der Leucinamide.

Da die Basisverbindung **34j** (R = H) in durchgeführten Dockingstudien die Enzym-Bindetaschen S1, S2 und S4 bereits ausreichend besetzt hatte, war das Ziel v.a. die noch freie Bindetasche S1' mit eingefügten Resten R zu besetzen. Dazu wurden in der Reihe **34a-t** verschiedene Alkylreste eingefügt. Die Verbindungen **37a-cc** bzw. **38a-p** besitzen hingegen die Reste C(O)NHR, CO₂R, CH₂C(O)NHR und CH₂CO₂R. Im Verlauf der Synthese wurde der teure Baustein 4-Methylcyclohexancarbonsäure durch die günstigere Verbindung Cyclohexancarbonsäure ersetzt. Keine der dargestellten Verbindungen wies eine besondere Hemmung auf. Trotz geringer Hemmung konnte Verbindung **34e** mit dem Enzym SARS-CoV-M^{pro} co-kristallisiert werden. Die genaue Lage des Inhibitors in der Bindetasche ist bislang noch nicht eindeutig geklärt.

Im weiteren Verlauf der Arbeit wurden Verbindungen aus diesen Reihen ebenfalls am Malaria-Erreger *P. falciparum* getestet. Dabei konnten für die alkylsubstituierten Verbindungen **34m**, **34q** und **34s** IC₅₀-Werte

<10 μM gefunden werden. Die Verbindungen der Reihe **37** weisen dagegen nur geringe oder keine Hemmung auf. Weitere Untersuchungen stehen noch aus.

Sulfonamide

In einem weiteren Docking-Experiment an der SARS-CoV-M^{pro} wurde Verbindung **SA-3a** als aussichtsreicher Inhibitor gefunden. Der Pyridin-Stickstoff im Rest R bildet dabei mit Histidin-165 in der Bindetasche eine Wasserstoffbrückenbindung aus. Der Phenylsulfonsäurerest liegt in der Tasche S1' und der Biphenylrest in der Tasche S2. Die Verbindungen **SA-3a-d** wurden dargestellt und an SARS-CoV-M^{pro} getestet. Es konnte keine besonders hohe Hemmung gefunden werden.

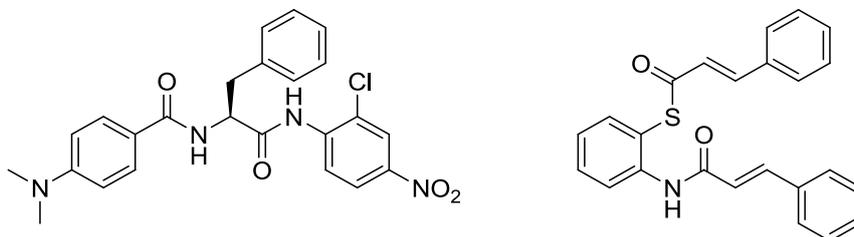


SA-3

Abbildung 7-2: Grundstruktur der Sulfonamide.

Darstellung von literaturbekannten Inhibitoren

Im Verlauf der Arbeit wurden die publizierten Verbindungen **53** bzw. **54** synthetisiert und auf ihre Hemmwirkung an SARS-CoV-M^{pro} getestet. Dabei konnten veröffentlichte Hemmdaten widerlegt werden. Verbindung **54** konnte mit SARS-CoV-M^{pro} co-kristallisiert werden. Zusammen mit den massenspektrometrischen Untersuchungen legten diese Ergebnisse nahe, dass ein Zimtsäurefragment auf das aktive Zentrum übertragen wird und dort kovalent gebunden wird. Damit konnte der publizierte Bindemodus ebenfalls widerlegt werden.



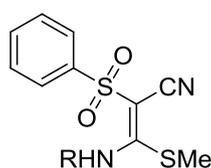
53

54

Abbildung 7-3: Literaturbekannte Inhibitoren.

Vinylsulfone

Der zweite Teil der vorliegenden Arbeit beschäftigt sich mit der Entwicklung von kovalent-reversiblen Inhibitoren von Cysteinproteasen auf Grundlage von Vinylsulfonen. Bisherige bekannte Vinylsulfone reagieren wie ein Michaelssystem in einer irreversiblen Addition. Es wurden durch QM-Rechnungen in der Arbeitsgruppe Prof. Bernd Engels substituierte Vinylsulfone vorgeschlagen, die fähig sein sollten, mit Cysteinproteasen eine kovalent-reversible Bindung eingehen zu können. Durch die Wahl sowohl eines geeigneten Substituenten als auch einer geeigneten Abgangsgruppe sollte die Reaktion reversibel sein, wenn sie thermoneutral bis schwach endergon verläuft. Um diese Berechnungen zu bestätigen, wurden die dargestellten Verbindungen mit einem Überschuss 2-Phenylethanthiol umgesetzt und der Reaktionsverlauf durch NMR-Spektroskopie verfolgt. Dabei konnte die Einstellung eines Gleichgewichts und damit auch die Reversibilität der Reaktion beobachtet werden. Aus den berechneten Gleichgewichtskonstanten konnten die freien Reaktionsenergien ΔG berechnet werden. Die Ergebnisse zeigen, dass die Reaktionen nahezu thermoneutral verlaufen und bestätigen damit die QM-Berechnungen.



45

Abbildung 7-4: Grundstruktur der Vinylsulfone.

Die dargestellten N,S-Vinylsulfone wurden an den Cysteinproteasen Cathepsin B, Cathepsin L, Rhodesain-2 und Falcipain-2 getestet. Verbindung **45b** wies dabei eine ungewöhnlich gute Hemmung und Spezifität gegenüber Cathepsin B auf. Der IC_{50} -Wert der Verbindung wurde auf ca. $3 \mu M$ bestimmt. Anhand des Verlaufs der erhaltenen Umsatz-Zeit-Kurve konnte ebenfalls gezeigt werden, dass es sich hierbei um einen Inhibitor handelt, bei dem sich das Gleichgewicht der Reaktion mit dem Enzym nur langsam einstellt.

8 SUMMARY

SARS is a new and dangerous disease of the 21st centuries. Within few months after the first infection the virus appeared in over 8000 patients in 29 countries. Nearly 800 patients died. SARS is transmitted by a certain kind of coronavirus and was treated with ribavirin. Up to now there is no vaccine available.

The aim of this work was the synthesis of series of peptidomimetic inhibitors against the enzyme SARS-CoV-M^{pro}.

Leucinamides

The covalently bound inhibitor 9IN (pdb-code: 2AMD) was the basis of these new synthesized inhibitors (figure 8-1). The development of this new lead structure was achieved in the group of Knut Baumann (Univ. Braunschweig) by fragmentation using the program FRED. The compounds were developed as non-covalent inhibitors and were tested against both SARS-CoV-M^{pro} and SARS-CoV-PL^{pro}.

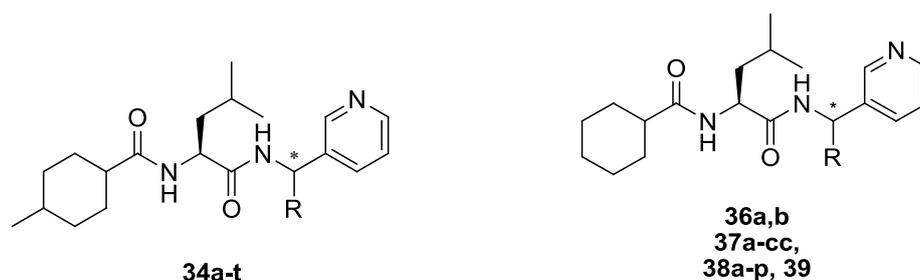


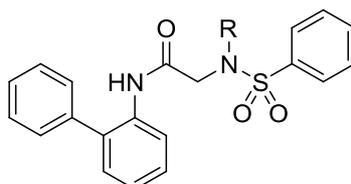
Figure 8-1: Structure of the leucinamides.

In the docking studies compound **34j** (R=H) occupied the binding pockets S1, S2 and S4 of the enzyme sufficiently. So the aim was to fill the remaining binding pocket S1' with a side-chain (R). Different alkyl side-chains were attached yielding compounds **34a-t**. The compounds **37a-cc** and **38a-p** are carrying the side-chains C(O)NHR, CO₂R, CH₂C(O)NHR and CH₂CO₂R. Furthermore, the expensive building block 4-methylcyclohexanecarboxylic acid was replaced by the cheaper cyclohexanecarboxylic acid. None of the synthesized compounds showed good inhibition. But despite the low inhibition potency compound **34e** was successfully co-crystallized with SARS-CoV-M^{pro}. Up to now the binding mode of the inhibitor in the binding pocket is not clear. Ongoing studies will clarify the exact binding mode of the inhibitor.

In addition, some of these compounds were tested against the malaria causing parasite *P. falciparum*. The compounds **34m**, **34q** and **34s** showed IC₅₀-values <10 μM. The compounds **37d**, **37i**, **37o**, **37x** and **37aa** showed low or no inhibition. Additional experiments will have to be done in order to analyze the mode of action.

Sulfonamides

In an additional docking-study on SARS-CoV-M^{pro} compound **SA-3a** was suggested as a promising inhibitor. Histidine-165 is postulated to form a hydrogen-bond with the nitrogen of the pyridine in the residue R inside of the binding-pocket. The phenylsulfonic acid and biphenyl are moieties occupying the S1' and S2 pockets, respectively. The compounds **SA-3a-d** were synthesized and tested on SARS-CoV-M^{pro}, but no inhibition was found.

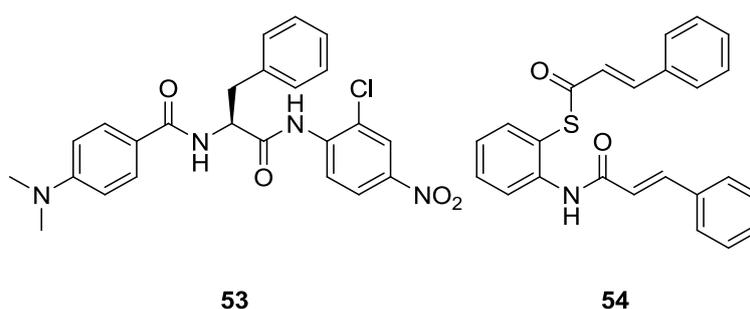


SA-3

Picture 8-2: Structure of the sulfonamides.

Synthesis of known inhibitors

In the progress of this work the published compounds **53** and **54** were synthesized and inhibition on SARS-CoV-M^{pro} was measured. Published data of inhibition were disproved. Compound **54** was also co-crystallized with SARS-CoV-M^{pro}. In addition with experimental MS-measurements these results indicate that the cinnamic acid is transferred to the active center and covalently bound to the cysteine sulfur. With this data the published binding mode was disproved.



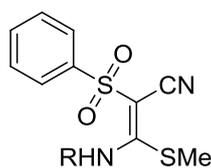
53

54

Picture 8-3: Published inhibitors.

Vinylsulfones

The second part of this work consists of the development of covalent-reversible inhibitors of cysteine-proteases based on vinylsulfones. Known inhibitors with a vinylsulfone-system react via an irreversible addition with the active center similar to a Michael-system. Substituted vinylsulfones were developed by QM-calculations in the group of Prof. Bernd Engels (Univ. Wuerzburg). These systems were postulated to be able to form a covalent-reversible bond with the cysteine sulfur in the active site. The reversible reaction should be possible by choosing a suitable substituent and a suitable leaving group. The reaction energy must be thermoneutral or weakly endergonic. To confirm these calculations the synthesized compounds were reacted with 2-phenylethanethiol and the reaction paths and progress were observed by NMR-spectroscopy. The reaction was found to be reversible. The reaction energies ΔG were calculated from the measured equilibrium constants. The results show that the measured vinylsulfones are reacting nearly thermoneutral. Thus they verify the QM-calculations.



45

Picture 8-4: Structure of the vinylsulfones.

The synthesized compounds were tested against the cysteine proteases cathepsin B, cathepsin L, rhodesain-2 and falcipain-2. Compound **45b** was showing an extraordinary inhibition and selectivity towards cathepsin B. The IC_{50} -value of this compound was determined to ca. 3 μ M (Table 4-6). Based on the progress curves this compound must be a slow-binding inhibitor.

9 EXPERIMENTELLER TEIL

9.1 ALLGEMEINER TEIL

9.1.1 SCHMELZPUNKTE (SMP.)

Die Schmelzpunkte wurden in offener Kapillare an einem Schmelzpunktgerät SMP3 der Firma Stuart bestimmt. Die angegebenen Werte sind unkorrigiert.

9.1.2 MASSENSPEKTROMETRIE

Die Aufnahmen der ESI-Massenspektren und die LC/MS-Analysen erfolgten an einer Agilent 1100 LC/MSD-Trap ausgerüstet mit einem HPLC-System 1100 von Agilent. Die Analyse der Reinheit der Verbindungen fand mittels LC/MS statt. Dafür wurde eine Phenomenex Gemini 5 μ C18 110^a Säule (150 x 2.00 mm, 5 micron) verwendet. Der dafür verwendete Gradient und der Fluss der Lösungsmittelgemische sind in Tabelle 9-1 aufgeführt. Die Detektion wurde mittels eines UV-Detektors bei 254 nm durchgeführt. Die Kapillarspannung betrug dabei standardmäßig 2.6 kV und als Trockengas wurde N₂ eingesetzt. Die Verbindungen wurden im positiven oder negativen Modus vermessen. Angegeben werden die bei der LC/MS erhaltenen Retentionszeiten (R_t) in min und die Reinheit in Prozent über die gesamte Fläche aller auftretenden Peaks.

Tabelle 9-1: Eingesetzte LC/MS-Methoden (A = Wasser + 0.1% Ameisensäure; B = Acetonitril + 0.1% Ameisensäure).

LC/MS-Methode: 1 min.: 30% B (0.30 ml/min); 15.0 min.: 100% B (0.30 ml/min); 18.0 min.: 100% B (0.30 ml/min); 18.5 min.: 10% B (0.45 ml/min); 20.0 min.: 30% B (0.30 ml/min); 20.5 min.: 30% B (0.30 ml/min).

9.1.3 KERNRESONANZSPEKTROSKOPIE ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$)

$^1\text{H-NMR-Spektren}$:

Die NMR-Spektren wurden an einem Spektrometer der Firma *Bruker*, Typ *Avance 400* aufgenommen. Die Frequenzen der aufgenommenen Spektren betragen für $^1\text{H-NMR-Spektren}$ 400.13 MHz. Lösungsmittel und Lock-Substanzen: $\text{DMSO-}d_6$ (interner Standard $\text{DMSO-}d_5$, $\delta = 2.49$), CDCl_3 (interner Standard CHCl_3 , $\delta = 7.21$), D_2O (interner Standard DHO , $\delta = 4.70$), $\text{MeOD-}d_4$ (interner Standard $\text{CHD}_2\text{OD-}d_3$, $\delta = 4.84$), CD_2Cl_2 (interner Standard CDHCl_2 , $\delta = 5.32$); Messtemperatur 27 °C. Die Signalzuordnungen wurden durch $^1\text{H,}^1\text{H-COSY-}$ und $^{13}\text{C,}^1\text{H-Korrelationsexperimente}$ (HMQC bzw. HMBC) unterstützt; die Ergebnisse sind in den entsprechenden Zuordnungen enthalten. Die chemische Verschiebung δ wird in ppm angegeben und die Kopplungskonstanten J in Hertz (Hz). Die Multiplizität der Signale wird mit folgenden Abkürzungen wiedergegeben: s = Singulett, d = Dublett, dd = Dublett vom Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multipllett, br = breit.

$^{13}\text{C-NMR-Spektren}$:

Die NMR-Spektren wurden an einem Spektrometer der Firma *Bruker*, Typ *Avance 400* aufgenommen. Die Frequenzen der aufgenommenen Spektren betragen für $^{13}\text{C-NMR-Spektren}$ 100.61 MHz. Lösungsmittel und Lock-Substanzen: $\text{DMSO-}d_6$ (interner Standard $\text{DMSO-}d_6$, $\delta = 39.5$), CDCl_3 (interner Standard CDCl_3 , $\delta = 77.0$), D_2O (externer Standard TMS, $\delta = 0$), $\text{MeOD-}d_4$ (interner Standard $\text{MeOD-}d_4$, $\delta = 77.00$), CD_2Cl_2 (interner Standard CD_2Cl_2 , $\delta = 53.8$); Messtemperatur 27 °C. Alle $^{13}\text{C-NMR-Spektren}$ wurden $^1\text{H-breitbandentkoppelt}$ aufgenommen. Die Signalzuordnungen wurden durch DEPT-135-Experimente und $^{13}\text{C,}^1\text{H-Korrelations-}$ experimente unterstützt; die Ergebnisse sind in den entsprechenden Zuordnungen enthalten. Die chemische Verschiebung δ wird in ppm angegeben.

Die Auswertung der NMR-Daten erfolgte mithilfe der Freeware NMR-Processor® Academic Edition der Firma ACD/Labs.^[96]

9.1.4 INFRAROTSPEKTROSKOPIE (IR)

Die Aufnahme der IR-Spektren erfolgte an einem PharmalyzIR FT-IR-Spektrometer der Firma *Bio-Rad* mittels einer ATR-Einheit. Die angegebenen Werte sind Wellenzahlen in der Einheit cm^{-1} .

9.1.5 DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHIE (DC)

Es wurden Fertigfolien aus Aluminium, beschichtet mit 0.20 mm Kieselgel 60 F254 der Firma Merck verwendet. Zur Detektion der Substanzen diente die Fluoreszenzlöschung bei 254 nm, die Eigenfluoreszenz bei 366 nm, sowie das Anfärbeverhalten der Substanzen gegenüber Ioddampf und Draggendorff's Reagenz (Pyridin; Zusammensetzung: 1 % basisches Wismutnitrat, 16.5 % Weinsäure, 20 % Kaliumiodid, Wasser).

9.1.6 SÄULENCHROMATOGRAPHIE (SC)

Als Säulenfüllmaterial wurde Kieselgel 60 (0.063-0.2 mm) der Firma Merck verwendet. Die Säulen wurden nass gefüllt. Die Laufmittelzusammensetzungen für DC und SC sind in Volumenprozent angegeben. Je nach Trennproblem wurden Säulen verschiedener Dicke und Länge verwendet.

9.1.7 CHEMIKALIEN

Eine Übersicht über die verwendeten Kupplungsreagenzien bietet Tabelle 9-2.

Tabelle 9-2: Übersicht über kommerziell erworbene Kupplungsreagenzien.

Kupplungsreagenzien	Lieferant
PPA (Allessan© CAP)	AllessaChemie
HCTU	Sigma-Aldrich
DCC	Sigma-Aldrich
HBTU	IRIS Biochem

Alle verwendeten Aminosäuren werden mit dem 3-Buchstaben-Code abgekürzt. Sie besitzen L-Konfiguration und wurden von Bachem bezogen. D-konfigurierte Aminosäuren werden explizit genannt. Alle übrigen verwendeten Chemikalien wurden von Sigma-Aldrich, Iris-Biochem, Acros Organics, Fluka, Alfa Aesar, ABCR oder Merck erworben und ohne weitere Aufreinigung verwendet.

9.1.8 KUGELROHRDESTILLATION

Es wurde ein Kugelrohrverdampfer des Typs GRK-50 mit Glasrohröfen der Firma Büchi verwendet. Die angegebenen Temperaturen entsprechen der Innentemperatur des Ofens.

9.1.9 LÖSUNGSMITTEL

Alle verwendeten Lösungsmittel wurden zuvor durch Destillation gereinigt und getrocknet (KOH, Molekularsieb 3 Å und 4 Å, CaCl₂, Na₂SO₄, K₂CO₃). Absolute Lösungsmittel wurden durch mehrstündiges Refluxieren über gängigen Trockenmitteln (Natrium, P₄O₁₀, K₂CO₃) nach Literaturangaben hergestellt und anschließend über Molekularsieb 4 Å oder KOH unter Argon-Atmosphäre aufbewahrt.

9.2 ENZYMATISCHE ASSAYS

Die fluorimetrischen Enzymassays wurden an einem Cary Eclipse Fluorimeter der Firma Varian mit weißen 96-Well-Mikrotiterplatten und einer Heizeinheit durchgeführt. Die angegebenen Konzentrationen sind Endkonzentrationen bei einem Gesamtvolumen von 200 µl. Das Screening an den Enzymen erfolgte mit einer Inhibitor-Konzentration von jeweils 20 µM, wobei jede Inhibitor-Konzentration zweimal vermessen wurde. Die Negativkontrolle erfolgte ohne Zugabe von Inhibitor. Die Steigung der Geraden dieser Messung entspricht 100 % Enzymaktivität. Die Steigungen der Geraden der Messungen mit Inhibitoren entsprechen den Restenzymaktivitäten. Die folgende Tabelle fasst die Assaybedingungen des Screenings und der kontinuierlichen Assays zusammen.

Cathepsin B	(humane Leber)
Volumina	180 µl Puffer, 5 µl Enzym, 10 µl DMSO bzw. 2mM Inhibitor, 5 µl Substrat
Substrat	Z-Phe-Arg↓(7-amino-4-methylcumarin), HCl (100 µM), K _m =150 µM
Enzympuffer	Tris-Puffer (pH 6.5): 50 mM Tris, 5 mM EDTA, 200 mM NaCl, 2 mM DTT
Assaypuffer	Tris-Puffer (pH 6.5): 50 mM Tris, 5 mM EDTA, 200 mM NaCl, 0.005 % Brij 35
Temperatur	25 °C
Detektion	Ex: 380 nm / Em: 460 nm, 10 min
Screening	[I]: 20 µM
Verdünnungsreihen	[I]: 10-100 µM oder 1-10 µM

Cathepsin L	(<i>Paramecium tetraurelia</i>)
Volumina	180 µl Puffer, 5 µl Enzym, 10 µl DMSO bzw. 2 mM Inhibitor, 5 µl Substrat
Substrat	Z-Phe-Arg↓(7-amino-4-methylcumarin), HCl (6.25 µM), $K_m=6.5 \mu\text{M}$
Enzypuffer	Tris-Puffer (pH 6.5): 50 mM Tris, 5 mM EDTA, 200 mM NaCl, 2 mM DTT
Assaypuffer	Tris-Puffer (pH 6.5): 50 mM Tris, 5 mM EDTA, 200 mM NaCl, 0.005 % Brij 35
Temperatur	25 °C
Detektion	Ex: 380 nm / Em: 460 nm, 10 min
Screening	[I]: 20 µM

Falcpain-2	(<i>Plasmodium falciparum</i>)
Volumina	180 µl Puffer, 5 µl Enzym, 10 µl DMSO bzw. 2 mM Inhibitor, 5 µl Substrat
Substrat	Z-Phe-Arg↓(7-amino-4-methylcumarin), HCl (25 µM), $K_m=21.5 \mu\text{M}$
Enzypuffer	Acetat-Puffer (pH 5.5): 50 mM Natriumacetat, 5 mM EDTA, 200 mM NaCl, 2 mM DTT
Assaypuffer	Acetat-Puffer (pH 5.5): 50 mM Natriumacetat, 5 mM EDTA, 200 mM NaCl, 0.005 % Brij 35
Temperatur	25 °C
Detektion	Ex: 380 nm / Em: 460 nm, 10 min
Screening	[I]: 20 µM

Rhodesain	(<i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i>)
Volumina	180 µl Puffer, 5 µl Enzym, 10 µl DMSO bzw. 2 mM Inhibitor, 5 µl Substrat
Substrat	Z-Phe-Arg↓(7-amino-4-methylcumarin), HCl (10 µM), $K_m=826.5 \text{ nM}$
Enzypuffer	Acetat-Puffer (pH 5.5): 50 mM Natriumacetat, 5 mM EDTA, 200 mM NaCl, 2 mM DTT
Assaypuffer	Acetat-Puffer (pH 5.5): 50 mM Natriumacetat, 5 mM EDTA, 200 mM NaCl, 0.005 % Brij 35
Temperatur	25 °C
Detektion	Ex: 380 nm / Em: 460 nm, 10 min
Screening	[I]: 20 µM

SARS-CoV-PL^{pro}

Volumina	160 µl Puffer, 10 µl Enzym, 20 µl DMSO bzw. 2 mM Inhibitor, 10 µl Substrat
Substrat	Z-Arg-Leu-Arg-Gly-Gly↓(7-amino-4-methylcumarin), Acetat Salz (50 µM), $K_m=850 \mu\text{M}$
Enzypuffer	Tris-Puffer (pH 7.5): 20 mM Tris, 100 µM EDTA, 200 mM NaCl, 1 mM DTT
Assaypuffer	Tris-Puffer (pH 7.5): 20 mM Tris, 100 µM EDTA, 200 mM NaCl
Temperatur	25 °C
Detektion	Ex: 320 nm / Em: 420 nm, 10 min
Screening	[I]: 20 µM

SARS-CoV-M^{pro}

Volumina	160 µl Puffer, 10 µl Enzym, 20 µl DMSO bzw. 2 mM Inhibitor, 10 µl Substrat
Substrat	Abz-Ser-Val-Thr-Leu-Gln↓(Ser-Gly-[3-(NO ₂)Tyr]-Arg(Mts)-OH) (TFA-Salz), ($150 \mu\text{M}$), $K_m=190 \mu\text{M}$
Enzypuffer	Tris-Puffer (pH 7.5): 20 mM Tris, 100 µM EDTA, 200 mM NaCl, 1 mM DTT
Assaypuffer	Tris-Puffer (pH 7.5): 20 mM Tris, 100 µM EDTA, 200 mM NaCl
Temperatur	25 °C
Detektion	Ex: 320 nm / Em: 420 nm, 10 min
Screening	[I]: 20 µM

Enzyme

Cathepsin B	Calbiochem
Cathepsin L	Calbiochem
Rhodesain	Prof. Dr. C. Kisker, Würzburg
Falcipain-2	Prof. Dr. P. Rosenthal, UCSF, USA
SARS-CoV-M ^{pro}	Prof. Dr. C. Kisker, Würzburg
SARS-CoV-PL ^{pro}	Prof. Dr. C. Kisker, Würzburg

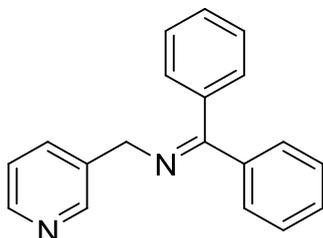
Substrate

Z-Arg-Leu-Arg-Gly-Gly↓(7-amino-4-methylcumarin), Acetatsalz	Bachem
Z-Phe-Arg↓(7-amino-4-methylcumarin), HCl	Bachem
Abz-Ser-Val-Thr-Leu-Gln↓(Ser-Gly-[3-(NO ₂)Tyr]-Arg(Mts)-OH), HCl	Genscript Corporation, New Jersey, USA

9.3 ALLGEMEINE SYNTHESEMETHODEN

N-(DIPHENYLMETHYLENE)-1-(PYRIDIN-3-YL)METHANAMIN (3)

Struktur:



Molare Masse: 272.34

Summenformel: $C_{19}H_{16}N_2$

Methode: In einer Dean-Stark-Apparatur werden 18.4 g (170 mmol) 3-Aminomethylpyridin, 30.4 g (167 mmol) Benzophenon und 3.23 g (17.0 mmol) *p*-Toluolsulfonsäure in 140 ml Toluol unter Rückfluss für 14 Stunden zum Sieden erhitzt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Öl wird in Dichlormethan gelöst und zweimal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das erhaltene Öl wird ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet.

Ausbeute: 45.8 g (168 mmol, 99%)

1H -NMR: (400.13 MHz, CD_2Cl_2): δ (ppm) = 4.57 (s, 2 H, $\underline{CH_2}$), 7.12 – 7.80 (m, 12 H, Ph oder 5/4-Pyr- \underline{CH}), 8.46 (dd, $J = 4.80, 1.52$ Hz, 1 H, 6-Pyr- \underline{CH}), 8.53 (d, $J = 1.52$ Hz, 1 H, 2-Pyr- \underline{CH}).

LOOP-ESI-MS: gef.: 273.3 (23%, Zersetzung) [ber.: 272.13]

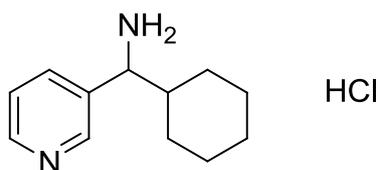
PYR-CH(NH₂)-ALKYL

Allgemeine Methode:

Zu einer Lösung von **3** (1 eq) in 20 ml THF werden bei $-72\text{ }^{\circ}\text{C}$ unter Schutzgas LDA (1.0–1.1 eq) bzw. Butyllithium (1.0–1.1 eq) zugetropft. Die Reaktionsmischung wird auf $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ erwärmt. Es wird langsam das Alkylhalogenid (1.0–1.1 eq) zugetropft. Die Reaktionsmischung wird langsam auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mit 2 M Salzsäurelösung versetzt. Das Gemisch wird eine Stunde lang gerührt und dann dreimal mit Ethylacetat gewaschen. Die wässrige Phase wird mit Natriumcarbonat neutralisiert und dreimal mit Chloroform extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Öl wird in Diethylether gelöst und mit etherischen Hydrochlorid-Lösung versetzt. Der erhaltene Feststoff wird filtriert und im Vakuum getrocknet.

3-PYR-CH(NH₂)-C₆H₁₁ HCl (**5A**)

Struktur:



Molare Masse:

226.75

Summenformel:

C₁₂H₁₈N₂ HCl

Methode:

2.00 g (7.34 mmol) **3**; 20 ml THF; 4.1 ml (1.8 M, 7.34 mmol) LDA; 1.44 g (8.81 mmol) Cyclohexylbromid; 4 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute:

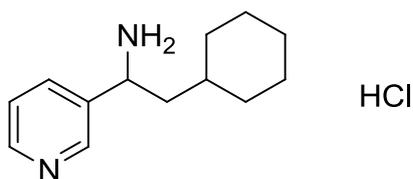
1.26 g (5.56 mmol, 76%)

¹H-NMR:

(400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.79 – 1.29 (m, 6 H, C₆H₁₁), 1.54 – 1.65 (m, 2 H, C₆H₁₁), 1.73 (d, 1 H, C₆H₁₁), 1.94 – 2.10 (m, 2 H, C₆H₁₁), 4.28 – 4.35 (m, 1 H, CH-NH₃⁺), 8.02 (dd, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.64 (d, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.87 (d, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.05 – 9.10 (m, 4 H, 2-Pyr-CH, NH₃⁺, überlagertes Signal).

3-PYR-CH(NH₂)-CH₂C₆H₁₁ HCl (**5B**)

Struktur:



Molare Masse: 240.77

Summenformel: C₁₃H₂₂N₂ HCl

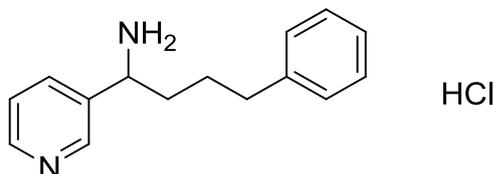
Methode: 2.00 g (7.34 mmol) **3**; 20 ml THF; 4.1 ml (1.8 M, 7.34 mmol) LDA; 1.56 g (8.81 mmol) (Bromomethyl-)cyclohexan; 4 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 1.07 g (4.44 mmol, 60%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 0.81 – 1.14 (m, 6 H, C₆H₁₁), 1.50 – 1.79 (m, 5 H, C₆H₁₁), 1.80 – 1.96 (m, 2 H, CHCH₂CH), 4.47 – 4.49 (m, 1 H, CHNH₃⁺), 7.78 (dd, J = 7.95 Hz, 5.24 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.41 (d, J = 8.09 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.74 (dd, J = 5.05 Hz, 1.12 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.65 (br. s, 3 H, NH₃⁺), 8.95 (d, J = 1.79 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

3-PYR-CH(NH₂)-(CH₂)₃C₆H₅ HCl (**5C**)

Struktur:



Molare Masse: 262.78

Summenformel: C₁₅H₁₈N₂ HCl

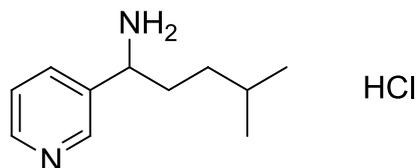
Methode: 1.00 g (3.67 mmol) **3**; 20 ml THF; 1.84 ml (2 M, 3.67 mmol) LDA; 783 mg (3.67 mmol) 3-Phenylpropylbromid; 4 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 365 mg (1.39 mmol, 38%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 1.49 – 1.61 (m, 1 H, CHCH₂), 1.31 – 1.41 (m, 1 H, CHCH₂), 1.92 – 2.13 (m, 2 H, CH₂CH₂CH₂), 2.56 (dd, 2 H, J = 8.56 Hz, 7.60 Hz, C₆H₅CH₂), 4.55 – 4.57 (m, 1 H, CHNH₃⁺), 7.13 – 7.26 (m, 5 H, C₆H₅), 8.05 (dd, 1 H, J = 8.08 Hz, 5.81 Hz, 5-Pyr-CH), 8.71 (d, 1 H, J = 8.34 Hz, 4-Pyr-CH), 8.89 (d, 1 H, J = 5.31 Hz, 6-Pyr-CH), 9.06 (br. s, 3 H, NH₃⁺), 9.10 (d, 1 H, J = 1.26 Hz, 2-Pyr-CH).

3-PYR-CH(NH₂)-(CH₂)₂CH(CH₃)₂ HCl (**5D**)

Struktur:



Molare Masse: 214.73

Summenformel: C₁₁H₁₈N₂ HCl

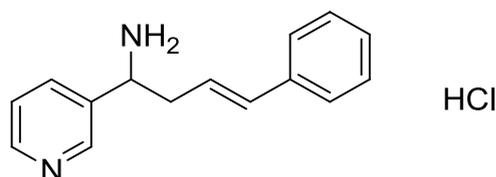
Methode: 1.00 g (3.67 mmol) **3**; 20 ml THF; 1.84 ml (2 M, 3.67 mmol) LDA; 555 mg (3.67 mmol) 1-Bromo-3-methylbutan; 4 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 295 mg (1.37 mmol, 37%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.79 – 0.82 (m, 6 H, CH(CH₃)₂), 0.85 – 0.95 (m, 1 H, CH₂CH(CH₃)₂), 1.09 – 1.20 (m, 1 H, CH₂CH(CH₃)₂), 1.48 – 1.52 (m, 1 H, CH(CH₃)₂), 1.86 – 1.97 (m, 1 H, CH(NH₃⁺)CH₂), 2.04 – 2.13 (m, 1 H, CH(NH₃⁺)CH₂), 4.47 – 4.51 (m, 1 H, CHNH₃⁺), 8.05 (dd, 1 H, *J* = 7.83 Hz, 5.50 Hz, 5-Pyr-CH), 8.74 (d, 1 H, *J* = 8.08 Hz, 4-Pyr-CH), 8.89 (d, 1 H, *J* = 5.56 Hz, 6-Pyr-CH), 9.04 (br. s, 3 H, CH-NH₃⁺), 9.10 (br. s, 1 H, 2-Pyr-CH).

3-PYR-CH(NH₂)-CH₂CH=CHC₆H₅ HCl (**5E**)

Struktur:



Molare Masse: 260.76

Summenformel: C₁₅H₁₆N₂ HCl

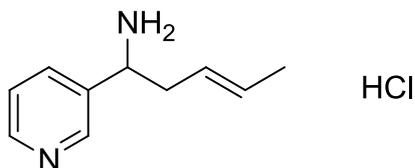
Methode: 1.00 g (3.67 mmol) **3**; 20 ml THF; 1.84 ml (2 M, 3.67 mmol) LDA; 724 mg (3.67 mmol) 3-Bromo-1-phenyl-1-propen; 4 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 476 mg (1.83 mmol, 50%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.84 – 2.91 (m, 1 H, CH₂), 2.97 – 3.04 (m, 1 H, CH₂), 4.66 – 4.70 (m, CHNH₃⁺), 6.13 – 6.21 (m, 1 H, C₆H₅-CH=CH), 6.42 (d, 1 H, *J* = 15.66 Hz, C₆H₅-CH=CH), 7.20 – 7.34 (m, 5 H, C₆H₅), 7.89 (dd, 1 H, *J* = 7.83 Hz, 5.31 Hz, 5-Pyr-CH), 8.55 (d, 1 H, *J* = 8.08 Hz, 4-Pyr-CH), 8.78 (dd, 1 H, *J* = 5.31 Hz, 1.26 Hz, 6-Pyr-CH), 9.02 (d, 1 H, *J* = 1.77 Hz, 2-Pyr-CH), 9.08 (br. s, 3 H, NH₃⁺).

3-PYR-CH(NH₂)-CH₂CH=CHCH₃ HCl (**5F**)

Struktur:



Molare Masse: 198.69

Summenformel: C₁₀H₁₄N₂ HCl

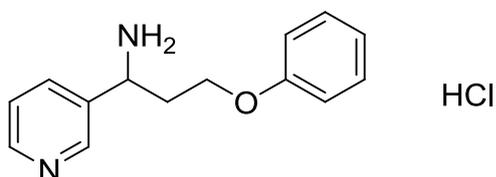
Methode: 1.00 g (3.67 mmol) **3**; 20 ml THF; 1.84 ml (2 M, 3.67 mmol) LDA; 496 mg (3.67 mmol) Crotylbromid; 4 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 357 mg (1.80 mmol, 49%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.53 (d, 3 H, *J* = 6.27 Hz, CHCH₃), 2.60 – 2.68 (m, 1 H, CHCH₂), 2.74 – 2.83 (m, 1 H, CHCH₂), 4.53 – 4.57 (m, 1 H, CHNH₃⁺), 5.18 – 5.30 (m, 1 H, CH₂CH=CH), 5.42 – 5.52 (m, 1 H, CH₂CH=CH), 7.97 (dd, 1 H, *J* = 8.08 Hz, 5.56 Hz, 5-Pyr-CH), 8.60 (d, 1 H, *J* = 8.08 Hz, 4-Pyr-CH), 8.84 (d, 1 H, *J* = 5.31 Hz, 6-Pyr-CH), 9.01 (d, 1 H, *J* = 1.77 Hz, 2-Pyr-CH), 8.96 – 9.04 (br. s, 3 H, NH₃⁺).

3-PYR-CH(NH₂)-CH₂CH₂OC₆H₁₁ HCl (**5G**)

Struktur:



Molare Masse: 264.75

Summenformel: C₁₄H₁₇N₂O HCl

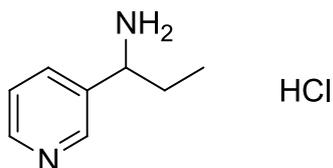
Methode: 1.00 g (3.67 mmol) **3**; 20 ml THF; 1.84 ml (2 M, 3.67 mmol) LDA; 775 mg (3.85 mmol) β-Bromophenetol; 4 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 487 mg (1.84 mmol, 50%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.43 – 2.64 (m, 2 H, CH₂CH), 3.87 – 4.05 (m, 2 H, OCH₂), 4.75 – 7.81 (m, 1 H, CHNH₃⁺), 6.78 (d, 2 H, *J* = 7.84 Hz, 2/6-Ph-CH), 6.89 (t, 1 H, *J* = 7.32 Hz, 4-Ph-CH), 7.23 (dd, 2 H, *J* = 8.50 Hz, 7.28 Hz, 3/5-Ph-CH), 8.05 (dd, 1 H, *J* = 8.02 Hz, 5.62 Hz, 5-Pyr-CH), 8.78 (d, 1 H, *J* = 8.08 Hz, 4-Pyr-CH), 8.89 (d, 1 H, *J* = 5.34 Hz, 6-Pyr-CH), 9.15 (d, 1 H, *J* = 1.52 Hz, 2-Pyr-CH), 9.19 (br. s, 3 H, NH₃⁺).

3-PYR-CH(NH₂)-CH₂CH₃ HCl (5H)

Struktur:



Molare Masse: 172.65

Summenformel: C₈H₁₂N₂ HCl

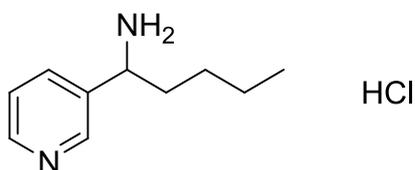
Methode: 1.00 g (3.67 mmol) **3**; 20 ml THF; 1.84 ml (2 M, 3.67 mmol) LDA; 610 mg (3.67 mmol) Ethyliodid; 2 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 280 mg (1.62 mmol, 44%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.79 (t, *J* = 7.38 Hz, 3 H, CH₃), 1.90 – 2.17 (m, 2 H, CH₂), 4.47 – 4.51 (m, 1 H, CHNH₃⁺), 8.12 (d, *J* = 8.11 Hz, 5.70 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.83 (d, *J* = 8.08 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.94 (d, *J* = 5.53 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.15 (d, *J* = 1.55 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH), 9.15 (br. s, 3 H, NH₃⁺).

3-PYR-CH(NH₂)-(CH₂)₃CH₃ HCl (5I)

Struktur:



Molare Masse: 200.71

Summenformel: C₁₀H₁₆N₂ HCl

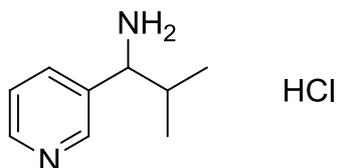
Methode: 1.00 g (3.67 mmol) **3**; 20 ml THF; 1.84 ml (2 M, 3.67 mmol) LDA; 676 mg (3.67 mmol) *n*-Butyliodid; 4 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 415 mg (2.07 mmol, 56%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.81 (t, *J* = 7.00 Hz, 3 H, CH₃), 0.97 – 1.31 (m, 4 H, CH₂), 1.87 – 2.09 (m, 2 H, CH₂), 4.46 – 4.50 (m, 1 H, CHNH₃⁺), 7.99 (dd, *J* = 7.90 Hz, 5.53 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.64 (d, *J* = 8.19 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.86 (dd, *J* = 5.34 Hz, 1.06 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.97 (br. s, 3 H, NH₃⁺), 9.06 (d, *J* = 1.57 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

3-PYR-CH(NH₂)-CH(CH₃)₂ HCl (**5J**)

Struktur:



Molare Masse: 186.68

Summenformel: C₉H₁₄N₂ HCl

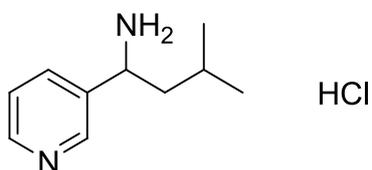
Methode: 1.00 g (3.67 mmol) **3**; 20 ml THF; 1.84 ml (2 M, 3.67 mmol) LDA; 624 mg (3.67 mmol) *i*-Propyliodid; 4 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 340 mg (1.82 mmol, 50%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.74 (d, *J* = 6.71 Hz, 3 H, CH₃), 1.06 (d, *J* = 6.80 Hz, 3 H, CH₃), 2.33 – 2.38 (m, 1 H, CH(CH₃)₂), 4.32 – 4.38 (m, CHNH₃⁺), 8.11 (dd, *J* = 8.08 Hz, 5.60 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.78 (d, *J* = 7.98 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.93 (d, *J* = 5.56 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.14 (s, 1 H, 2-Pyr-CH), 9.17 (br. s, 3 H, NH₃⁺).

3-PYR-CH(NH₂)-CH₂CH(CH₃)₂ HCl (**5K**)

Struktur:



Molare Masse: 200.71

Summenformel: C₁₀H₁₆N₂ HCl

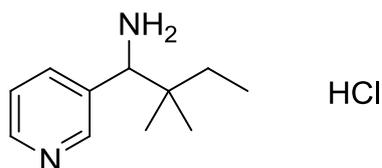
Methode: 2.00 g (7.34 mmol) **3**; 20 ml THF; 4.1 ml (1.8 M, 7.34 mmol) LDA; 1.21 g (8.81 mmol) 1-Bromo-2-methylpropan; 4 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 1.21 g (6.03 mmol, 82%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.86 (d, *J* = 6.57 Hz, 3 H, CH₃), 0.89 (d, *J* = 6.57 Hz, 3 H, CH₃), 1.36 (dt, *J* = 13.39, 6.69 Hz, 1 H, CH(CH₃)₂), 1.83 – 1.96 (m, 2 H, CH₂), 4.51 – 4.62 (m, 1 H, CHN), 8.03 (dd, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.73 (d, *J* = 8.08 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.89 (d, *J* = 4.55 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.02 (br. s., 3 H, NH₃⁺), 9.15 (d, *J* = 1.52 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

3-PYR-CH(NH₂)-C(CH₃)₂CH₂CH₃ HCl (**5L**)

Struktur:



Molare Masse: 214.73

Summenformel: C₁₁H₁₈N₂ HCl

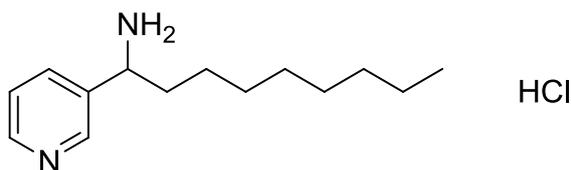
Methode: 1.00 g (3.67 mmol) **3**; 20 ml THF; 1.84 ml (2 M, 3.67 mmol) LDA; 555 mg (3.67 mmol) 2-Bromo-2-methylbutan; 4 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 510 mg (2.38 mmol, 65%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.84 (t, *J* = 6.44 Hz, 3 H, CH₂CH₃), 1.16 – 1.24 (m, 8 H), 4.55 (br. s., 1 H, CHN), 8.01 – 8.18 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.83 (d, *J* = 7.58 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.93 (d, *J* = 5.31 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.14 (d, *J* = 12.63 Hz, 4 H, 2-Pyr-CH, NH₃⁺).

3-PYR-CH(NH₂)-(CH₂)₇CH₃ HCl (**5M**)

Struktur:



Molare Masse: 256.81

Summenformel: C₁₄H₂₄N₂ HCl

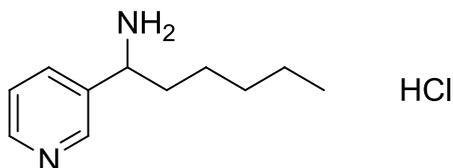
Methode: 1.00 g (3.67 mmol) **3**; 20 ml THF; 1.84 ml (2 M, 3.67 mmol) LDA; 709 mg (3.67 mmol) Bromooctan; 4 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 370 mg (1.44 mmol, 39%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.83 (t, *J* = 6.97 Hz, 3 H, CH₃), 1.33 – 1.00 (m, 12 H, CH₂), 2.08 – 1.87 (m, 2 H, CHCH₂CH₂), 4.48 – 4.50 (m, 1 H, CH-NH₃⁺), 8.01 (dd, *J* = 7.92 Hz, 5.47 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.67 (d, *J* = 8.18 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.88 (d, *J* = 5.36 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.99 (br. s., 3 H, NH₃⁺), 9.06 (s, 1 H, 2-Pyr-CH).

3-PYR-CH(NH₂)-(CH₂)₄CH₃ HCl (**5N**)

Struktur:



Molare Masse: 214.73

Summenformel: C₁₁H₁₈N₂ HCl

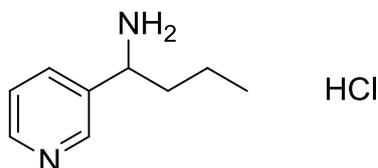
Methode: 1.00 g (3.67 mmol) **3**; 20 ml THF; 1.84 ml (2 M, 3.67 mmol) LDA; 555 mg (3.67 mmol) Brompentan; 4 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 280 mg (1.30 mmol, 36%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.81 (t, *J* = 6.12 Hz, 3 H, CH₃), 1.16 – 1.31 (m, 6 H, CH₂), 1.88 – 2.11 (m, 2 H, CH₂), 4.48 – 4.53 (m, 1 H, CHNH₃⁺), 8.02 – 8.07 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.72 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 9.05 (m, 4 H, NH₃⁺, 6-Pyr-CH), 9.10 (s, 1 H, 2-Pyr-CH).

3-PYR-CH(NH₂)-CH₂CH₂CH₃ HCl (**5O**)

Struktur:



Molare Masse: 186.68

Summenformel: C₉H₁₄N₂ HCl

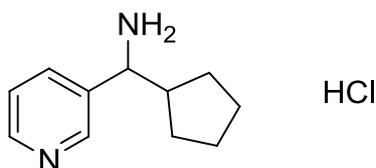
Methode: 2.00 g (7.34 mmol) **3**; 20 ml THF; 4.1 ml (1.8 M, 7.34 mmol) LDA; 1.08 g (8.81 mmol) 1-Brompropan; 4 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 0.99 g (5.30 mmol, 72%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.86 (t, *J* = 7.34 Hz, 3 H, CH₃), 1.02–1.32 (m, 2 H, CH₂CH₃), 1.89 – 2.10 (m, 2 H, CH₂CH), 4.50 – 4.58 (m, 1 H, CH-NH₃⁺), 8.06 – 8.12 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.67 – 8.82 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.92 (d, *J* = 5.39 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.11 (br. s, 3 H, NH₃⁺, überlagertes Signal), 9.14 (s, 1 H, 2-Pyr-CH, überlagertes Signal).

3-PYR-CH(NH₂)-C₅H₉ HCl (5P)

Struktur:



Molare Masse: 212.72

Summenformel: C₁₁H₁₆N₂ HCl

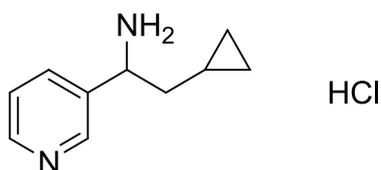
Methode: 1.00 g (3.67 mmol) **3**; 20 ml THF; 1.84 ml (2 M, 3.67 mmol) LDA; 720 mg (3.67 mmol) Iodocyclopentan; 4 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 474 mg (2.23 mmol, 61%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.02 – 1.72 (m, 8 H, CH₂), 1.91 – 1.97 (m, 1 H, CH(NH₃⁺)CH), 4.34 -4.41 (m, 1 H, CHNH₃⁺), 8.07 (dd, *J* = 8.06 Hz, 5.62 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.76 (d, *J* = 8.11 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.91 (dd, *J* = 5.52 Hz, 0.93 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.10 (br. s, 3 H, NH₃⁺), 9.13 (d, *J* = 1.57 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

3-PYR-CH(NH₂)-CH₂C₃H₅ HCl (5Q)

Struktur:



Molare Masse: 198.69

Summenformel: C₁₀H₁₄N₂ HCl

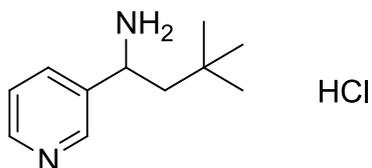
Methode: 4.00 g (14.7 mmol) **3**; 40 ml Et₂O; 6 ml (2.5 M, 3.67 mmol) n-Butyllithium; 1.98 g (14.7 mmol) (Bromomethyl)cyclopropan; 8 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 2.0 g (10.1 mmol, 69%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = -0.17 – -0.09 (m, 1 H), 0.08 – 0.14 (m, 1 H), 0.24 – 0.31 (m, 1 H), 0.36 – 0.42 (m, 1 H), 0.55 – 0.63 (m, 1 H), 1.82 – 2.02 (m, 2 H, CH₂CH(NH₃⁺)), 4.60 – 4.66 (m, 1 H, CHN), 8.11 (br. s, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.85 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.93 (d, *J* = 5.30 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.10 – 9.30 (br. s, 4 H, überlagertes Signal, 2-Pyr-CH, NH₃⁺)

3-PYR-CH(NH₂)-CH₂C(CH₃)₃ HCl (**5R**)

Struktur:



Molare Masse: 214.73

Summenformel: C₁₁H₁₈N₂ HCl

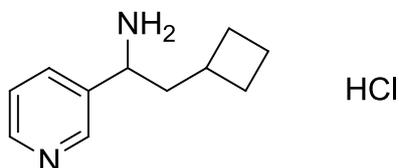
Methode: 2.00 g (7.34 mmol) **3**; 20 ml THF; 4.1 ml (1.8 M, 7.34 mmol) LDA; 1.75 g (8.81 mmol) 1-iodo-2,2-dimethylpropan; 4 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 990 mg (4.61 mmol, 63%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.76 (s, 9 H, C(CH₃)₃), 1.99 (dd, 1 H, CH₂), 2.15 (dd, 1 H, CH₂), 4.60 – 4.65 (m, 1 H, CHNH₃⁺), 8.08 (dd, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.88 – 9.00 (m, 5 H, 4/6-Pyr-CH, NH₃⁺), 9.28 (d, 1 H, 2-Pyr-CH).

3-PYR-CH(NH₂)-CH₂C₄H₇ HCl (**5S**)

Struktur:



Molare Masse: 212.72

Summenformel: C₁₁H₁₆N₂ HCl

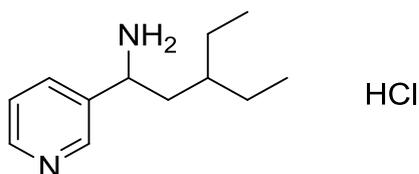
Methode: 2.00 g (7.34 mmol) **3**; 20 ml THF; 4.1 ml (1.8 M, 7.34 mmol) LDA; 1.31 g (8.00 mmol) (Bromomethyl)cyclobutan; 4 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 1.14 g (5.36 mmol, 73%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.39 – 2.22 (m, 9 H, CH₂-C₄H₇, überlagertes Signal), 4.41 – 4.48 (m, 1 H, CHN), 8.11 (dd, *J* = 8.08 Hz, 5.56 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.87 (d, *J* = 8.08 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.94 (d, *J* = 5.05 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.19 (s, 1 H, 2-Pyr-CH).

3-PYR-CH(NH₂)-CH₂CH(CH₂CH₃)₂ HCl (**5T**)

Struktur:



Molare Masse: 228.76

Summenformel: C₁₂H₂₀N₂ HCl

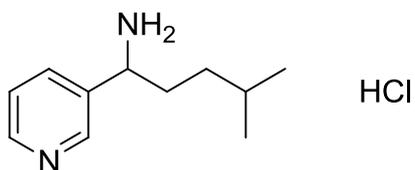
Methode: 2.00 g (7.34 mmol) **3**; 20 ml THF; 4.1 ml (1.8 M, 7.34 mmol) LDA; 1.46 g (8.81 mmol) 1-Bromo-2-ethylbutan; 4 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 1.53 g (6.69 mmol, 91%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.70 (t, *J* = 7.44 Hz, 3 H, CH₃), 0.78 (t, *J* = 7.51 Hz, 3 H, CH₃), 0.95 – 1.05 (m, 1 H, CH(CH₂)₃), 1.35 – 1.14 (m, 2 H, CH₂CH₃), 2.04 – 1.87 (m, 2 H, CH₂CH), 4.55 (m, 1 H, CHNH₃⁺), 8.02 – 8.07 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.76 – 8.80 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.89 (d, *J* = 5.56 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.07 (br. s, 3 H, NH₃⁺), 9.16 (s, 1 H, 2-Pyr-CH).

3-PYR-CH(NH₂)-CH₂CH₂CH(CH₃)₂ HCl (**5U**)

Struktur:



Molare Masse: 214.73

Summenformel: C₁₁H₁₈N₂ HCl

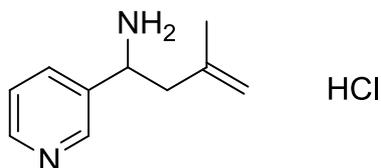
Methode: 2.00 g (7.34 mmol) **3**; 20 ml THF; 4.1 ml (1.8 M, 7.34 mmol) LDA; 1.33 g (8.81 mmol) 1-Bromo-3-methylbutan; 4 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 1.16 g (5.40 mmol, 74%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.83 (dd, *J* = 6.60 Hz, 3.06 Hz, 6 H, CH₃), 0.90 – 1.19 (m, 2 H, CH₂-CH), 1.47 – 1.57 (dt, *J* = 13.39 Hz, 6.69 Hz, 1 H, CH(CH₃)₂), 1.89 – 2.14 (m, 2 H, CH(NH₃⁺)CH₂), 4.45 – 4.52 (m, 1 H, CHNH₃⁺), 8.04 (dd, *J* = 8.08 Hz, 5.56 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.72 (d, *J* = 8.34 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.90 (dd, *J* = 5.56 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.04 (br. s, 3 H, NH₃⁺), 9.10 (d, *J* = 1.77 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

3-PYR-CH(NH₂)-CH₂C(CH₃)CH₂ HCl (5V)

Struktur:



Molare Masse: 162.23

Summenformel: C₁₂H₁₄N₂

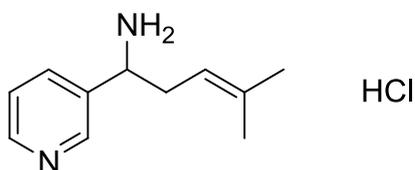
Methode: 2.00 g (7.34 mmol) **3**; 20 ml THF; 3 ml (2.5 M, 7.50 mmol) Butyllithium; 1.33 g (8.81 mmol) 3-Bromo-2-methylprop-1-en; 4 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 620 mg (3.12 mmol, 43%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.69 (s, 3 H, CH₃), 2.64 – 2.90 (m, 2 H, CH₂), 4.66 (s, 1 H, C=CH_(trans)), 4.68 – 4.75 (m, 1 H, CHN), 4.75 (s, 1 H, C=CH_(cis)), 7.96 (dd, *J* = 8.08, 5.31 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.65 (d, *J* = 8.08 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.84 (dd, *J* = 5.43 Hz, 0.88 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.01 (br. s, 3 H, NH₃⁺), 9.08 (d, *J* = 1.52 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

3-PYR-CH(NH₂)-CH₂CHC(CH₃)₂ HCl (5W)

Struktur:



Molare Masse: 212.72

Summenformel: C₁₁H₁₇ClN₂

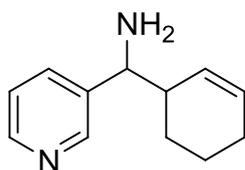
Methode: 2.00 g (7.34 mmol) **3**; 20 ml THF; 3 ml (2.5 M, 7.50 mmol) Butyllithium; 1.33 g (8.81 mmol) 1-Bromo-3-methylbut-2-en; 4 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 780 mg (3.67 mmol, 50%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.46 (s, 3 H, CH_{3(cis)}), 1.60 (s, 3 H, CH_{3(trans)}), 2.60 – 2.85 (m, 2 H, CH₂), 4.42 – 4.58 (m, 1 H, CHN), 4.97 (t, *J* = 7.33 Hz, 1 H, C=CH), 7.96 (dd, *J* = 7.96, 5.43 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.60 (d, *J* = 8.08 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.81 – 8.88 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.02 (d, *J* = 1.77 Hz, 4 H, überlagertes Signal, 2-Pyr-CH, NH₃⁺).

3-PYR-CH(NH₂)-C₆H₉ HCl (**5X**)

Struktur:



HCl

Molare Masse: 189.28

Summenformel: C₁₂H₁₇N₂

Methode: 2.00 g (7.34 mmol) **3**; 20 ml THF; 3 ml (2.5 M, 7.50 mmol) Butyllithium; 1.33 g (8.81 mmol) 3-Bromocyclohex-1-en; 4 ml HCl (2 M, in Diethylether)

Ausbeute: 1.24 g (5.52 mmol, 75%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.29 – 2.01 (m, 6 H), 2.81 – 2.98 (m, 1 H, CHCH=CH), 4.35 – 4.47 (m, 1 H, CHN), 5.28 – 5.81 (m, 1 H, CHCH=CH), 5.81 – 6.02 (m, 1 H, CHCH=CH), 7.94 (dd, *J* = 7.83, 5.56 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.57 (t, *J* = 8.84 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.84 (d, *J* = 5.30 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.02 (2 d, *J* = 1.64 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH), 9.10 – 9.20 (2 br. s, 3 H, NH₃⁺).

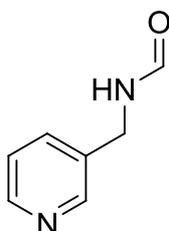
PYR-OXAZOLIDINE

Allgemeine Methode:

Es werden Kalium-*tert*-butanolat (1 Eq) in 10 ml Tetrahydrofuran gelöst und auf -70°C abgekühlt. Zu der Lösung wird eine Lösung aus **7** (1 Eq) und 3-Methylbutanal (1 Eq) in 15 ml Tetrahydrofuran getropft und die Reaktionsmischung langsam auf -10°C erwärmt. Es werden 20 ml Methanol zugegeben und für 5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird mit 50 ml Wasser und aufgenommen und dreimal mit 50 ml Diethylether extrahiert. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Öl wird durch Kugelrohrdestillation gereinigt.

PYR-CH₂-NHCHO (**6**)

Struktur:



Molare Masse: 136.15

Summenformel: C₇H₈N₂O

Methode: Es wurden 31.9 g (295 mmol) (3-Pyridyl)methylamin in 25.5 ml (317 mmol) Ethylformiat gelöst und sechs Stunden unter Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde destillativ aufgereinigt.

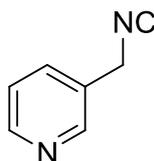
Ausbeute: 37.7 g (277 mmol, 94%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 4.43 (d, *J* = 6.06 Hz, 2 H, CH₂), 6.40 (d, *J* = 2.02 Hz, 1 H, NH), 7.19 – 7.23 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.59 (dt, *J* = 7.83, 1.89 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.21 (s, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.45 (br. s., 2 H, HCO, 2-Pyr-CH).

Siedepunkt: 160°C (0.16 mbar)

PYR-CH₂-NC (7)

Struktur:



Molare Masse: 120.15

Summenformel: C₇H₈N₂

Methode: In einem Rundkolben wurden 37.7 g (144 mmol) PPh₃ in 120 ml Dichlormethan und 16.8 ml (120 mmol) Triethylamin gelöst. Es wurden 16.3 g (120 mmol) **6** in 11.6 ml (120 mmol) Tetrachlorkohlenstoff dazugegeben. Die erhaltene Lösung wurde sechs Stunden unter Rückfluss erhitzt. Der erhaltene Feststoff wurde abfiltriert und mit Diethylether gewaschen. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde destillativ aufgereinigt.

Ausbeute: 7.76 g (64.6 mmol, 54%) klare Flüssigkeit

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 4.63 (s, 2 H, CH₂), 7.32 (dd, J = 7.96, 4.93 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.69 (dd, J = 7.96, 0.63 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.54 (d, J = 1.77 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH), 8.57 (d, J = 4.80 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH)

Siedepunkt: 80 °C (1.9*10⁻¹ mbar)

5-ISOBUTYL-4-(PYRIDIN-3-YL)-4,5-DIHYDROOXAZOL (8A)

Struktur:



Molare Masse: 204.27

Summenformel: C₁₂H₁₆N₂O

Methode: 950 mg (8.46 mmol) Kalium-*tert*-butanolat, 1.00 g (8.46 mmol) **7**, 729 mg (8.46 mmol) 3-Methylbutanal

Ausbeute: 730 mg (3.57 mmol, 42%) farbloses Öl

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.87 – 0.89 (m, 6 H, CH₃), 1.43 – 1.73 (m, 2 H, CH₂), 1.74 – 1.87 (m, 1 H, CH(CH₃)₂), 4.26 (m, 1 H, CH₂CHO), 4.59 – 4.68 (m, 1 H, PhCHN), 6.98 (d, J = 1.52 Hz, 1 H, NCHO), 7.24 (dd, J = 7.20, 4.93 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.48 (dt, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.45 (d, 1 H, 2-Pyr-CH), 8.50 (dd, J = 4.80, 1.77 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH).

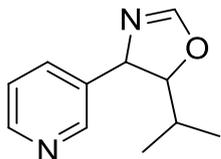
¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 22.07 (CH₃), 22.86 (CH₃), 25.06 (CH(CH₃)₂), 44.48 (CH₂), 72.53 (CHCHO), 85.03 (CHCHO), 123.71 (5-Pyr-CH), 134.06 (4-Pyr-CH), 137.10 (C_q, 3-Pyr-C).

148.28 (6-Pyr-CH), 149.19 (2-Pyr-CH), 155.67 (NCHO).

Siedepunkt 120 °C (0.3 mbar)

5-ISOPROPYL-4-(PYRIDIN-3-YL)-4,5-DIHYDROOXAZOL (**8B**)

Struktur:



Molare Masse: 190.24

Summenformel: C₁₁H₁₄N₂O

Methode: 2.00 g (16.9 mmol) **7**, 1.22 mg (16.9 mmol) Pivalaldehyd, 2.00 g (16.9 mmol) Kalium-*tert*-butanolat

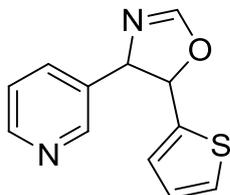
Ausbeute: 680 mg (3.57 mmol, 21%) farbloses Öl

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.92 (dd, *J* = 6.69, 3.66 Hz, 6 H, CH₃), 1.53 – 1.64 (m, 1 H, CH), 4.99 (d, *J* = 6.06 Hz, 1 H, CHO), 5.07 (dd, *J* = 8.97, 2.65 Hz, 1 H, CHN), 7.35 (dd, *J* = 7.83, 4.80 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.71 (d, *J* = 7.83 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.12 (s, 1 H, NCHO), 8.44 (dd, *J* = 4.80, 1.52 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.50 – 8.55 (m, 1 H, 2-Pyr-CH).

Siedepunkt: 80°C (0.3 mbar)

4-(PYRIDIN-3-YL)-5-(THIOPHEN-2-YL)-4,5-DIHYDROOXAZOL (**8C**)

Struktur:



Molare Masse: 230.29

Summenformel: C₁₂H₁₀N₂OS

Methode: 1.50 g (12.7 mmol) **7**, 1.42 g (12.7 mmol) Thiophen-2-carbaldehyd, 1.43 g (12.7 mmol) Kalium-*tert*-butanolat

Ausbeute: 2.76 g (12.0 mmol, 94 %) gelber Feststoff

¹H-NMR: 1. Diastereomer:
(400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 5.19 (dd, *J* = 9.09, 4.04 Hz, 1 H), 6.17 (d, *J* = 4.80 Hz, 1

H), 6.92 – 7.00 (m, 2 H), 7.31 – 7.35 (ddd, $J = 7.83, 4.80, 0.76$ Hz, 1 H), 7.38 (dd, $J = 4.80, 1.26$ Hz, 1 H), 7.72 (dt, $J = 7.89, 1.86$ Hz, 1 H), 8.07 (d, $J = 1.26$ Hz, 1 H), 8.44 (dd, $J = 4.80, 1.52$ Hz, 1 H), 8.52 (d, $J = 2.27$ Hz, 1 H), 8.75 (s, 1 H).

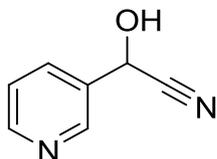
2. Diastereomer

(400.13 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 5.00 – 5.14 (m, 1 H), 6.13 (d, $J = 4.80$ Hz, 1 H), 6.17 (d, 1 H), 6.92 – 7.00 (m, 2 H), 7.30 (ddd, $J = 7.83, 4.80, 0.76$ Hz, 1 H), 7.36 (dd, $J = 4.80, 1.26$ Hz, 1 H), 7.68 (dt, $J = 7.83, 2.02$ Hz, 1 H), 8.00 (d, $J = 1.01$ Hz, 1 H), 8.40 (d, $J = 1.77$ Hz, 1 H), 8.42 (dd, $J = 4.80, 1.52$ Hz, 1 H), 8.73 (s, 1 H).

2-HYDROXY-2-(PYRIDIN-3-YL)ACETONITRIL (**10**)

Die Darstellung erfolgte nach Literatur [29].

Struktur:



Molare Masse: 134.14

Summenformel: C₇H₆N₂O

Methode: Es werden 15.0 g (230 mmol) Kaliumcyanid in 60 ml Wasser gelöst und auf 0–5 °C im Eisbad abgekühlt. Es werden langsam 20.0 g (188 mmol) 3-Pyridincarbaldehyd und 15 ml Eisessig so zugetropft, dass die Temperatur nicht über 10 °C steigt. Die Lösung wird weitere 2.5 Stunden im Eisbad gerührt. Der ausgefallene Feststoff wird abfiltriert und mit wenig kaltem Wasser und kaltem Pentan gewaschen und im Vakuum getrocknet.

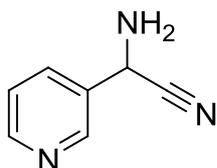
Ausbeute: 19.7 g (147 mmol, 78%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 5.88 (s, 1 H, CH), 7.50 (ddd, $J = 7.91, 4.83, 0.69$ Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.85 – 7.96 (m, $J = 7.91, 1.98, 1.98, 0.56$ Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.62 (dd, $J = 4.77, 1.63$ Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.69 (d, $J = 2.26$ Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

2-AMINO-2-(PYRIDIN-3-YL)ACETONITRIL (11)

Die Darstellung erfolgte nach Literatur [29].

Struktur:



Molare Masse: 133.15

Summenformel: C₇H₇N₃

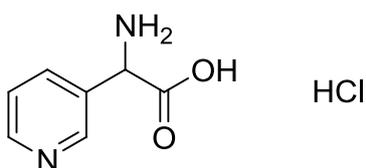
Methode: Zu einer Lösung aus 25 ml Ammoniak (26%) und 39.0 g (729 mmol) Ammoniumchlorid in 150 ml Wasser wird portionsweise 19.6 g (146 mmol) **10** gegeben. Die Mischung wird für 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und dann mit Dichlormethan extrahiert (3x150ml). Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wird durch Filtration an Kieselgel gereinigt (Ethylacetat).

Ausbeute: 12.0 g (90.0 mmol, 62%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 2.94 (br. s., 2 H, NH₂), 5.15 (s, 1 H, CH), 7.46 (ddd, J = 7.97, 4.77, 0.69 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.93 (dddd, J = 7.94, 2.35, 1.63, 0.63 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.57 (dd, J = 4.77, 1.63 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.70 (d, J = 2.26 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

H-ALPHA-PYR-AS-OH *HCL (12·HCL)

Struktur:



Molare Masse: 225.07

Summenformel: C₇H₉ClN₂CO₂

Methode: Es werden 6.30 g (47.3 mmol) **11** in 100 ml Salzsäure (6 M) gelöst und für 12 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Produkt ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet.

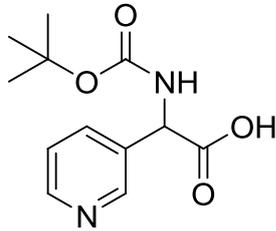
Ausbeute: 10.54 g (46.8 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, D₂O): δ (ppm) = 5.49 (s, 1 H, CH), 8.18 (dd, J = 8.16, 6.02 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.72 (dt, J = 8.28, 1.57 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.89 (d, J = 5.77 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.00 (d, J = 1.76 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, D₂O): δ (ppm) = 53.7 (CH), 128.3 (5-Pyr-CH), 132.7 (3-Pyr-C), 141.5 (4-Pyr-CH), 142.5 (6-Pyr-CH), 146.4 (2-Pyr-CH), 168.5 (COOH).

BOC-ALPHA-PYR-AS-OH (**13**)

Struktur:



Molare Masse: 252.27

Summenformel: $C_{12}H_{16}N_2O_4$

Methode: Es werden 11.9 g (53.0 mmol) **12**·HCl, 4.24 g (106 mmol) Natriumhydroxid und 4.45 g (53.0 mmol) Natriumhydrogencarbonat in 70 ml Wasser gelöst. Eine Lösung von 13.9 g (63.6 mmol) Di-*tert*-butyl-dicarbonat in 70 ml Dioxan werden bei 0 °C zugetropft. Die Mischung wird langsam auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck auf die Hälfte reduziert. Die wässrige Phase wird mit Natriumhydroxid-Lösung basisch gemacht und dann mit Diethylether (2x 50 ml) gewaschen. Die organische Phase wird verworfen und die wässrige Phase mit Kaliumhydrogensulfatlösung leicht angesäuert. Die wässrige Phase wird mehrmals mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der erhaltene Rückstand im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 7.00 g (27.7 mmol, 52%)

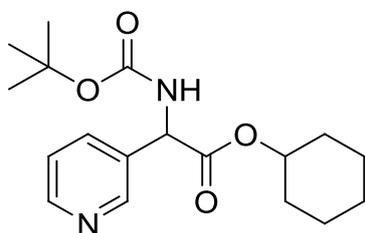
$^1\text{H-NMR}$: (400.13 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 1.39 (s, 9 H, CH_3), 5.19 (d, $J = 8.16$ Hz, 1 H, CH), 7.38 (dd, $J = 7.78, 4.89$ Hz, 1 H, 5-Pyr- CH), 7.80 (dt, $J = 7.91, 1.76$ Hz, 1 H, 4-Pyr- CH), 8.51 (dd, $J = 4.71, 1.57$ Hz, 1 H, 6-Pyr- CH), 8.60 (d, $J = 2.01$ Hz, 1 H, 2-Pyr- CH).

BOC-ALPHA-PYR-AS-OR (14)Allgemeine Methode:

Es wird Verbindung **13** in 10 ml DMF gelöst und mit NMM (3 Eq) versetzt. Zur erhaltenen Lösung wird HCTU oder HBTU (1.0-1.1 Eq) gegeben und anschließend mit dem entsprechenden Alkohol versetzt. Die Mischung wird 10 Stunden bei 25 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit 100 ml Wasser versetzt und mit Ethylacetat (6 x 30 ml) extrahiert. Die organischen Phasen wird vereint und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

BOC-ALPHA-PYR-AS-OC₆H₁₁ (14A)

Struktur:



Molare Masse: 334.41

Summenformel: C₁₈H₂₆N₂O₄

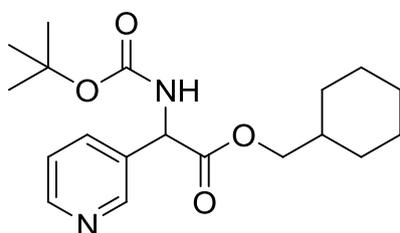
Methode: 752 mg (1.98 mmol) HBTU, 500 mg (1.98 mmol) **13**, 601 mg (5.95 mmol) NMM, 235 mg (2.35 mmol) Cyclohexanol

Ausbeute: 300 mg (0.897 mmol, 45%)

Das erhaltene Produkt wurde direkt weiterverwendet.

BOC-ALPHA-PYR-AS-OCH₂C₆H₁₁ (14B)

Struktur:



Molare Masse: 348.44

Summenformel: C₁₉H₂₈N₂O₄

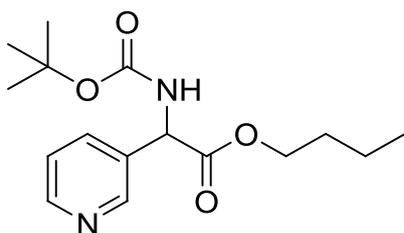
Methode: 902 mg (2.38 mmol) HBTU, 500 mg (1.98 mmol) **13**, 601 mg (5.95 mmol) NMM, 249 mg (2.18 mmol) Cyclohexylmethanol

Ausbeute: 450 mg (1.29 mmol, 65%)

$^1\text{H-NMR}$: (400.13 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 0.75 – 1.21 (m, 5 H), 1.40 (s, 9 H, CH_3), 1.46 – 1.69 (m, 6 H), 3.80 – 3.96 (m, 2 H, OCH_2), 5.30 (d, $J = 8.03$ Hz, 1 H, CHN), 7.39 (dd, $J = 7.91, 5.14$ Hz, 1 H, 5-Pyr- CH), 7.82 (ddd, $J = 7.91, 1.63, 1.38$ Hz, 1 H, 4-Pyr- CH), 7.91 (d, $J = 9.16$ Hz, 1 H, NH), 8.52 (dd, $J = 4.83, 1.44$ Hz, 1 H, 6-Pyr- CH), 8.61 (d, $J = 2.25$ Hz, 1 H, 2-Pyr- CH).

BOC-ALPHA-PYR-AS-O(CH₂)₃CH₃ (14C)

Struktur:



Molare Masse: 308.37

Summenformel: C₁₆H₂₄N₂O₄

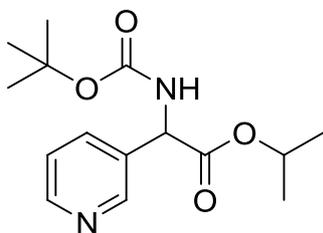
Methode: 902 mg (2.38 mmol) HBTU, 500 mg (1.98 mmol) **13**, 601 mg (5.95 mmol) NMM, 147 mg (1.98 mmol) 1-Butanol

Ausbeute: 550 mg (1.78 mmol, 90%)

$^1\text{H-NMR}$: (400.13 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 0.81 (t, $J = 7.40$ Hz, 3 H, CH_2CH_3), 1.16 – 1.27 (m, 2 H, CH_2CH_3), 1.40 (s, 9 H, CH_3), 1.44 – 1.54 (m, 2 H, OCH_2CH_2), 4.00 – 4.13 (m, 2 H, OCH_2), 5.29 (d, $J = 8.53$ Hz, 1 H, CHN), 7.40 (dd, $J = 7.78, 5.14$ Hz, 1 H, 5-Pyr- CH), 7.82 (d, $J = 7.78$ Hz, 1 H, 4-Pyr- CH), 7.90 (d, $J = 8.03$ Hz, 1 H, NH), 8.53 (d, $J = 4.64$ Hz, 1 H, 6-Pyr- CH), 8.61 (d, $J = 2.01$ Hz, 1 H, 2-Pyr- CH).

BOC-ALPHA-PYR-AS-OCH(CH₃)₂ (14D)

Struktur:



Molare Masse: 294.35

Summenformel: C₁₅H₂₂N₂O₄

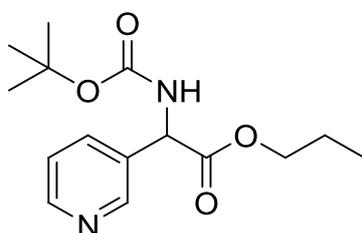
Methode: 902 mg (2.38 mmol) HBTU, 500 mg (1.98 mmol) **13**, 601 mg (5.95 mmol) NMM, 119 mg (1.98 mmol) iso-Propanol

Ausbeute: 440 mg (1.50 mmol, 85%)

- ¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.07 (d, *J* = 6.15 Hz, 3 H, CH₃), 1.19 (d, *J* = 6.27 Hz, 3 H, CH₃), 1.40 (s, 9 H, C(CH₃)₃), 4.92 (quin, 1 H, OCH), 5.21 (d, *J* = 7.91 Hz, 1 H, CHN), 7.39 (dd, *J* = 7.91, 4.77 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.79 (dt, *J* = 7.94, 1.93 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 7.85 (d, *J* = 7.78 Hz, 1 H, NH), 8.52 (dd, *J* = 4.77, 1.38 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.59 (d, *J* = 2.01 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).
- ¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 21.20 (2 C, CH₂CH₃), 28.09 (3 C, CCH₃), 55.71 (OCH), 68.62 (CHN), 78.67 (C(CH₃)₃), 123.46 (5-Pyr-CH), 132.42 (3-Pyr-C), 135.31 (4-Pyr-CH), 149.08 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 155.23 (NCO₂), 169.81 (CHN).

BOC-ALPHA-PYR-AS-OCH₂CH₂CH₃ (**14E**)

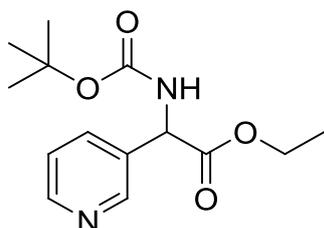
Struktur:



- Molare Masse: 294.35
- Summenformel: C₁₅H₂₂N₂O₄
- Methode: 902 mg (2.38 mmol) HBTU, 500 mg (1.98 mmol) **13**, 601 mg (5.95 mmol) NMM, 119 mg (1.98 mmol) 1-Propanol
- Ausbeute: 530 mg (1.80 mmol, 91%)
- ¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.77 (t, *J* = 7.40 Hz, 2 H, CH₂CH₃), 1.40 (s, 9 H, CH₃), 1.52 (dq, *J* = 13.98, 6.97 Hz, 2 H, CH₂CH₃), 4.03 (q, *J* = 6.15 Hz, 2 H, OCH₂), 5.30 (d, *J* = 8.03 Hz, 1 H, CHN), 7.40 (dd, *J* = 7.84, 4.83 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.82 (dt, *J* = 7.91, 1.76 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 7.91 (d, *J* = 7.91 Hz, 1 H, NH), 8.53 (d, *J* = 3.76 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.61 (d, 1 H, 2-Pyr-CH).
- ¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 10.00 (CH₃), 21.39 (CH₂CH₃), 28.09 (3 C, C(CH₃)₃), 55.54 (CHN), 66.41 (OCH₂), 78.72 (C(CH₃)₃), 123.48 (5-Pyr-CH), 132.54 (3-Pyr-C), 135.38 (4-Pyr-CH), 149.09 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 155.25 (NCO₂), 170.44 (NCO).

BOC-ALPHA-PYR-AS-OCH₂CH₃ (**14F**)

Struktur:



Molare Masse: 280.32

Summenformel: C₁₄H₂₀N₂O₄

Methode: 902 mg (2.38 mmol) HBTU, 500 mg (1.98 mmol) **13**, 601 mg (5.95 mmol) NMM, 91 mg (1.98 mmol) Ethanol

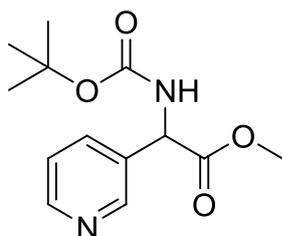
Ausbeute: 530 mg (1.89 mmol, 95%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.13 (t, *J* = 7.03 Hz, 3 H, CH₂CH₃), 1.40 (s, 9 H, CH₃), 4.11 (q, *J* = 7.03 Hz, 2 H, OCH₂), 5.28 (d, *J* = 8.03 Hz, 1 H, CHN), 7.39 (dd, *J* = 7.78, 4.77 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.80 (dt, *J* = 7.91, 1.88 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 7.90 (d, *J* = 7.91 Hz, 1 H, NH), 8.53 (dd, *J* = 4.71, 1.32 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.60 (d, *J* = 2.13 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 13.89 (CH₂CH₃), 28.09 (3 C, C(CH₃)₃), 55.50 (CHN), 61.06 (OCH₂), 78.72 (C(CH₃)₃), 123.49 (5-Pyr-CH), 132.47 (4-Pyr-CH), 135.35 (3-Pyr-C), 149.09 (2 C, 2/6-Pyr-CH) 155.22 (NCO₂), 170.34 (NCO).

BOC-ALPHA-PYR-AS-OCH₃ (**14G**)

Struktur:



Molare Masse: 266.29

Summenformel: C₁₃H₁₈N₂O₄

Methode: 902 mg (2.38 mmol) HBTU, 500 mg (1.98 mmol) **13**, 601 mg (5.95 mmol) NMM, 64 mg (1.98 mmol) Methanol

Ausbeute: 500 mg (1.88 mmol, 95%)

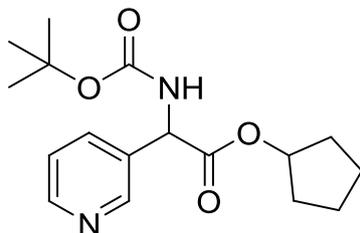
¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.40 (s, 9 H, CH₃), 3.65 (s, 3 H, OCH₃), 5.32 (d, *J* = 8.03 Hz, 1 H, CHN), 7.40 (dd, *J* = 7.78, 4.77 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.80 (dt, *J* = 7.97, 1.91 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 7.93 (d, *J* = 7.91 Hz, 1 H, NH), 8.53 (dd, *J* = 4.77, 1.38 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.60 (d, *J* = 2.13 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 28.10 (3 C, CH₃), 52.38 (OCH₃), 55.34 (CHN), 78.77

($\underline{C}(\text{CH}_3)_3$), 123.53 (5-Pyr- $\underline{\text{C}}\text{H}$), 132.51 (3-Pyr- $\underline{\text{C}}$), 135.38 (4-Pyr- $\underline{\text{C}}\text{H}$), 149.11 (2 C, 2/6-Pyr- $\underline{\text{C}}\text{H}$)
155.20 ($\underline{\text{N}}\underline{\text{C}}\text{O}_2$), 170.90 ($\underline{\text{N}}\underline{\text{C}}\text{O}$).

BOC-ALPHA-PYR-AS-OC₅H₉ (**14H**)

Struktur:



Molare Masse: 320.38

Summenformel: C₁₇H₂₄N₂O₄

Methode: 902 mg (2.38 mmol) HBTU, 500 mg (1.98 mmol) **13**, 601 mg (5.95 mmol) NMM, 171 mg (1.98 mmol) Cyclohexanol

Ausbeute: 200 mg (0.624 mmol, 32 %)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.30 – 1.90 (m, 8 H, $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2$), 1.40 (s, 9 H, $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3$), 5.10 (t, $J = 5.58$ Hz, 1 H, $\underline{\text{O}}\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}$), 5.21 (d, $J = 7.65$ Hz, 1 H, $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}\underline{\text{N}}$), 7.39 (dd, $J = 7.65, 4.89$ Hz, 1 H, 5-Pyr- $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}$), 7.79 (d, $J = 7.91$ Hz, 1 H, 4-Pyr- $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}$), 7.86 (d, $J = 7.40$ Hz, 1 H), 8.52 (d, $J = 3.89$ Hz, 1 H, 6-Pyr- $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}$), 8.59 (s, 1 H, 2-Pyr- $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}$).

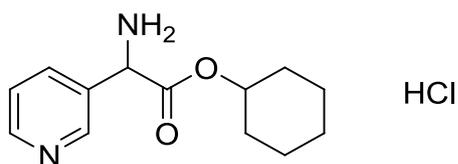
¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 23.01, 23.12 (2 C, $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2$), 28.08 (3 C, $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3$), 31.85, 31.97 (2 C, $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2$), 55.68 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}\underline{\text{N}}$), 77.76 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}\text{O}$), 78.68 ($\underline{\text{C}}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3)_3$), 123.42 (5-Pyr- $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}$), 132.45 (3-Pyr- $\underline{\text{C}}$), 135.27 (4-Pyr- $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}$), 149.07 (2 C, 2/6-Pyr- $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}$), 155.26 ($\underline{\text{N}}\underline{\text{C}}\text{O}_2$), 169.98 ($\underline{\text{N}}\underline{\text{C}}\text{O}$).

H-ALPHA-PYR-AS-OR (**15**·HCl)Allgemeine Methode:

Es wird Verbindung **14** in 10 ml Ether gelöst und bei 0 °C mit 2 ml etherischer Salzsäurelösung (2 M) versetzt. Die Mischung wird eine Stunde bei 25 °C gerührt. Der erhaltene Feststoff wird abfiltriert, mit Diethylether gewaschen und im Vakuum getrocknet.

H-ALPHA-PYR-AS-OC₆H₁₁ HCl (**15A**·HCl)

Struktur:



Molare Masse: 270.76

Summenformel: C₁₃H₁₉ClN₂O₂

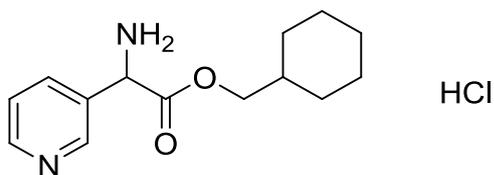
Methode: 207 mg (0.619 mmol) **14a**, 2 ml HCl (2 M in Diethylether)

Ausbeute: 166 mg (0.613 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.71 – 1.70 (m, 10 H, CH₂), 3.98 (br. s., 1 H, OCH), 5.61 (br. s., 1 H, CHN), 7.87 (br. s., 1 H, 5-Pyr-CH), 8.39 (br. s., 1 H, 4-Pyr-CH), 8.84 (br. s., 1 H, 6-Pyr-CH), 8.99 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH), 9.43 (br. s., 3 H, NH₃⁺).

H-ALPHA-PYR-AS-OCH₂C₆H₁₁ HCl (**15B**·HCl)

Struktur:



Molare Masse: 284.78

Summenformel: C₁₄H₂₁ClN₂O₂

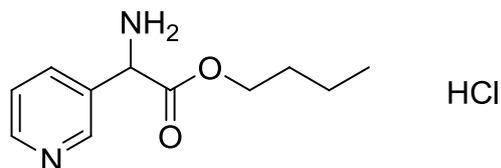
Methode: 450 mg (1.29 mmol) **14b**, 4 ml HCl (2 M in Diethylether)

Ausbeute: 397 mg (1.96 mmol, 99%)

Das erhaltene Produkt wurde direkt weiter umgesetzt.

H-ALPHA-PYR-AS-O(CH₂)₃CH₃ HCl (**15C**· HCl)

Struktur:



Molare Masse: 244.72

Summenformel: C₁₁H₁₇ClN₂O₂

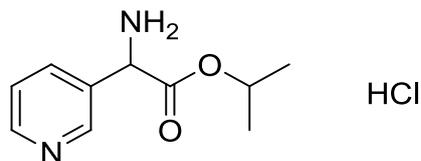
Methode: 202 mg (0.655 mmol) **14c**, 2 ml HCl (2 M in Diethylether)

Ausbeute: 159 mg (0.649 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.80 (br. s., 3 H, CH₃), 1.19 (br. s., 2 H, CH₂CH₃), 1.50 (br. s., 2 H, OCH₂CH₂), 4.16 (br. s., 2 H, OCH₂), 5.60 (br. s., 1 H, CHN), 7.87 (br. s., 1 H, 5-Pyr-CH), 8.39 (br. s., 1 H, 4-Pyr-CH), 8.84 (br. s., 1 H, 6-Pyr-CH), 8.98 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH), 9.44 (d, *J* = 1.00 Hz, 3 H, NH₃⁺).

H-ALPHA-PYR-AS-OCH(CH₃)₂ HCl (**15D**· HCl)

Struktur:



Molare Masse: 230.69

Summenformel: C₁₀H₁₅ClN₂O₂

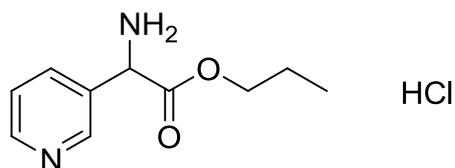
Methode: 208 mg (0.707 mmol) **14d**, 2 ml HCl (2 M in Diethylether)

Ausbeute: 161 mg (0.700 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.10 (d, *J* = 6.27 Hz, 3 H, CH₃), 1.24 (d, *J* = 6.27 Hz, 3 H, CH₃), 5.03 (dt, *J* = 12.45, 6.26 Hz, 1 H, OCH), 5.51 (br. s., 1 H, CHN), 7.75 – 7.89 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.19 – 8.38 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.82 (br. s., 1 H, 6-Pyr-CH), 8.92 (d, *J* = 2.26 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH), 9.34 (d, *J* = 3.89 Hz, 3 H, NH₃⁺).

H-ALPHA-PYR-AS-OCH₂CH₂CH₃ HCl (**15E**·HCl)

Struktur:



Molare Masse: 230.69

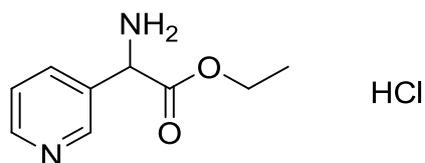
Summenformel: C₁₀H₁₅ClN₂O₂Methode: 208 mg (0.707 mmol) **14e**, 2 ml HCl (2 M in Diethylether)

Ausbeute: 161 mg (0.700 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.76 (br. s., 3 H, CH₃), 1.52 (br. s., 2 H, CH₂CH₃), 4.10 (br. s., 2 H, OCH₂), 5.69 (br. s., 1 H, CHN), 8.04 (br. s., 1 H, 5-Pyr-CH), 8.62 (br. s., 1 H, 4-Pyr-CH), 8.93 (br. s., 1 H, 6-Pyr-CH), 9.11 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH), 9.59 (br. s., 3 H, NH₃⁺).

H-ALPHA-PYR-AS-OCH₂CH₃ HCl (**15F**·HCl)

Struktur:



Molare Masse: 216.66

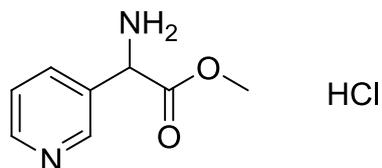
Summenformel: C₉H₁₃ClN₂O₂Methode: 206 mg (0.735 mmol) **14f**, 2 ml HCl (2 M in Diethylether)

Ausbeute: 158 mg (0.728 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.17 (t, *J* = 7.09 Hz, 3 H, CH₃), 4.14 – 4.30 (m, 2 H, OCH₂), 5.58 (br. s., 1 H, CHN), 7.84 (br. s., 1 H, 5-Pyr-CH), 8.35 (br. s., 1 H, 4-Pyr-CH), 8.83 (br. s., 1 H, 6-Pyr-CH), 8.96 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH), 9.42 (br. s., 3 H, NH₃⁺).

H-ALPHA-PYR-AS-OCH₃ HCl (**15G**· HCl)

Struktur:



Molare Masse: 202.64

Summenformel: C₈H₁₁ClN₂O₂

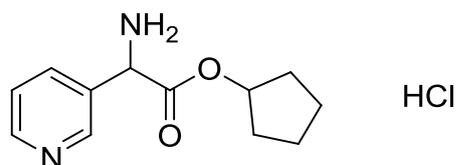
Methode: 214 mg (0.804 mmol) **14g**, 2 ml HCl (2 M in Diethylether)

Ausbeute: 161 mg (0.796 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 3.73 (br. s., 3 H, OCH₃), 5.74 (br. s., 1 H, CHN), 8.08 (br. s., 1 H, 4-Pyr-CH), 8.68 (br. s., 1 H, 6-Pyr-CH), 8.96 (br. s., 1 H, NH), 9.13 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH), 9.64 (br. s., 3 H, NH₃⁺).

H-ALPHA-PYR-AS-OC₅H₉ HCl (**15H**· HCl)

Struktur:



Molare Masse: 256.73

Summenformel: C₁₂H₁₇ClN₂O₂

Methode: 156 mg (0.487 mmol) **14h**, 2 ml HCl (2 M in Diethylether)

Ausbeute: 124 mg (0.482 mmol, 99%)

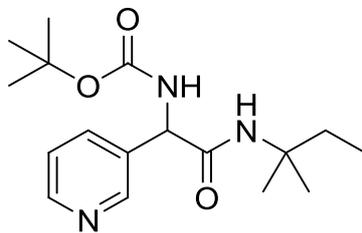
¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.34 – 1.92 (m, 8 H, CH₂), 5.18 (br. s., 1 H, CHN), 5.55 (br. s., 1 H, OCH), 7.93 (br. s., 1 H, 5-Pyr-CH), 8.47 (br. s., 1 H, 4-Pyr-CH), 8.77 – 8.94 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.01 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH), 9.29 – 9.65 (m, 3 H, NH₃⁺).

BOC-ALPHA-PYR-AS-NHR (**16**)Allgemeine Methode:

Es wird Verbindung **13** in 10 ml DMF gelöst und mit NMM (3 Eq) versetzt. Zur erhaltenen Lösung wird HCTU oder HBTU (1.0-1.1 Eq) gegeben und anschließend mit dem entsprechenden Alkohol versetzt. Die Mischung wird 10 Stunden bei 25 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit 100 ml Wasser versetzt und mit Ethylacetat (6 x 30 ml) extrahiert. Die organischen Phasen werden vereint und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

BOC-ALPHA-PYR-AS-NH-C(CH₃)₂CH₂CH₃ (**16A**)

Struktur:



Molare Masse: 321.41

Summenformel: C₁₇H₂₇N₃O₃

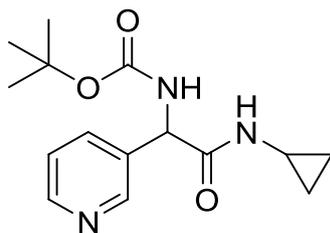
Methode: 820 mg (1.98 mmol) HCTU, 500 mg (1.98 mmol) **13**, 601 mg (5.95 mmol) NMM, 190 mg (2.18 mmol) 2-Methylbutan-2-amin

Ausbeute: 480 mg (1.49 mmol, 75%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.61 (t, *J* = 7.28 Hz, 3 H, CH₂CH₃), 1.14 (s, 3 H, CCH₃), 1.18 (s, 3 H, CCH₃), 1.38 (br. s., 9 H, C(CH₃)₃), 1.47 – 1.72 (m, 2 H, CH₂), 5.23 (d, *J* = 8.16 Hz, 1 H, CHN), 7.26 (d, *J* = 7.78 Hz, 1 H, NH), 7.36 (dd, *J* = 7.78, 4.77 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.65 (br. s., 1 H, NH), 7.80 (d, *J* = 7.91 Hz, 1 H, NH), 8.47 (d, *J* = 3.64 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.62 (s, 1 H, 2-Pyr-CH).

BOC-ALPHA-PYR-AS-NH-C₃H₅ (**16B**)

Struktur:



Molare Masse: 291.35

Summenformel: C₁₅H₂₁N₃O₃

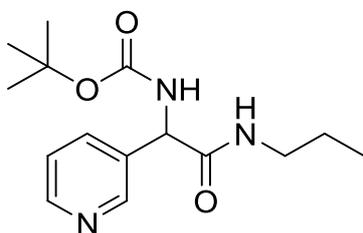
Methode: 902 mg (2.38 mmol) HBTU, 500 mg (1.98 mmol) **13**, 601 mg (5.95 mmol) NMM, 113 mg (1.98 mmol) Cyclopropylamin

Ausbeute: 300 mg (1.03 mmol, 52%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.28 – 0.51 (m, 2 H, CH₂), 0.58 – 0.73 (m, 2 H, CH₂), 1.43 (s, 9 H, CH₃), 2.67 (td, *J* = 7.34, 3.76 Hz, 1 H, NCH(CH₂)₂), 5.16 (d, *J* = 8.16 Hz, 1 H, CHN), 7.42 (dd, *J* = 7.84, 4.83 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.77 – 7.86 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.53 (dd, *J* = 4.77, 1.51 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.61 (d, *J* = 2.01 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

BOC-ALPHA-PYR-AS-NH-(CH₂)₂CH₃ (**16C**)

Struktur:



Molare Masse: 293.36

Summenformel: C₁₅H₂₃N₃O₃

Methode: 752 mg (1.98 mmol) HBTU, 500 mg (1.98 mmol) **13**, 601 mg (5.95 mmol) NMM, 129 mg (2.18 mmol) 1-Aminopropan

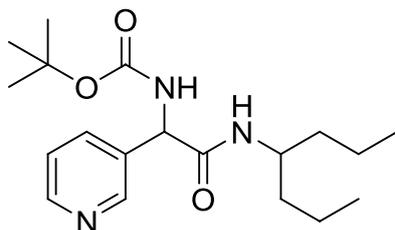
Ausbeute: 410 mg (1.40 mmol, 71%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.76 (t, *J* = 7.40 Hz, 3 H, CH₂CH₃), 1.32 – 1.42 (m, 2 H, CH₂CH₃), 1.38 (s, 9 H, CH₃), 3.01 (dd, *J* = 5.77, 3.64 Hz, 2 H, NCH₂), 5.17 (d, 1 H, CHN), 7.36 (dd, *J* = 7.91, 4.77 Hz, 1 H, NH), 7.41 (d, *J* = 7.91 Hz, 1 H, NH), 7.79 (dt, *J* = 7.91, 1.88 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.18 (t, *J* = 5.52 Hz, 1 H, NH), 8.48 (dd, *J* = 4.77, 1.63 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.60 (d, *J* = 2.13 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 11.15 (CH₂CH₃), 22.11 (CH₂CH₃), 28.08 (3 C, CH₃), 40.38 (NCH₂), 55.73 (CHN), 78.50 (C(CH₃)₃), 123.35 (5-Pyr-CH), 134.57, 134.63 (2 C, 3-Pyr-C, 4-Pyr-CH), 148.54, 148.65 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 154.86 (NCO₂), 169.27 (NCO).

BOC-ALPHA-PYR-AS-NH-CH(CH₂CH₂CH₃)₂ (**16D**)

Struktur:



Molare Masse: 349.47

Summenformel: C₁₉H₃₁N₃O₃Methode: 752 mg (1.98 mmol) HBTU, 500 mg (1.98 mmol) **13**, 601 mg (5.95 mmol) NMM, 251 mg (2.18 mmol) 4-Aminoheptan

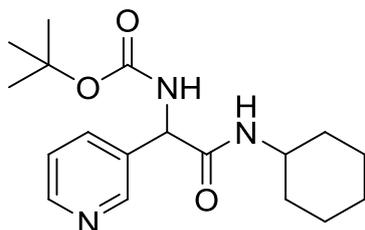
Ausbeute: 590 mg (1.69 mmol, 85%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.68 (t, *J* = 7.28 Hz, 3 H, CH₃), 0.79 – 0.89 (m, 3 H, CH₃), 0.90 – 1.36 (m, 8 H, CH₂), 1.39 (s, 9 H, C(CH₃)₃), 3.61 – 3.74 (m, 1 H, CHCH₂), 5.17 (d, *J* = 8.16 Hz, 1 H, CHN), 7.31 – 7.36 (m, 1 H, NH), 7.35 (dd, *J* = 7.59, 4.83 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.80 (d, *J* = 7.91 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 7.85 (d, *J* = 8.78 Hz, 1 H, NH), 8.48 (dd, *J* = 4.71, 1.32 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.61 (d, *J* = 1.76 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 13.59, 13.79 (2 C, CH₂CH₃), 18.30, 18.62 (2 C, CH₂CH₃), 28.05 (3 C, CH₃), 36.57, 36.80 (2 C, CHCH₂), 47.71 (CHCH₂), 55.91 (CHN), 78.50 (C(CH₃)₃), 123.24 (5-Pyr-CH), 134.44, 134.66 (2 C, 3-Pyr-C, 4-Pyr-CH), 148.46, 148.61 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 154.83 (NCO₂), 168.93 (NCO).

BOC-ALPHA-PYR-AS-NH-C₆H₁₁ (**16E**)

Struktur:



Molare Masse: 333.43

Summenformel: C₁₈H₂₇N₃O₃Methode: 752 mg (1.98 mmol) HBTU, 500 mg (1.98 mmol) **13**, 601 mg (5.95 mmol) NMM, 216 mg (2.18 mmol) Aminocyclohexan

Ausbeute: 400 mg (1.20 mmol, 61%)

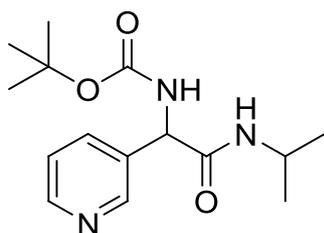
¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.98 – 1.83 (m, 10 H), 1.38 (s, 9 H, C(CH₃)₃), 3.46 – 3.53 (m, 1 H, CHCH₂), 5.19 (d, *J* = 8.28 Hz, 1 H, CHN), 7.36 (dd, *J* = 7.78, 4.64 Hz, 2 H, NH, 5-Pyr-CH), 7.78 (dt, *J* = 8.00, 1.84 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.07 (d, *J* = 7.65 Hz, 1 H, NH), 8.48 (dd,

$J = 4.77, 1.51 \text{ Hz}, 1 \text{ H}, 6\text{-Pyr-CH}$, $8.59 \text{ (d, } J = 1.88 \text{ Hz, 1 H, 2-Pyr-CH)}$.

$^{13}\text{C-NMR}$: (100.61 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 24.24, 24.36, 25.08 (3 C, $\underline{\text{CH}_2}$), 28.08 (3 C, $\underline{\text{CH}_3}$) 32.03, 32.10 (2 C, NCH_2), 47.67 (NCHCH_2), 55.56 ($\underline{\text{CHN}}$), 78.52 ($\underline{\text{C(CH}_3)_3}$), 123.35 (5-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 134.44 (4-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 134.73 (3-Pyr- $\underline{\text{C}}$), 148.43, 148.60 (2 C, 2/6-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 154.84 (NCO_2), 168.31 (NCO).

BOC-ALPHA-PYR-AS-NH-CH(CH₃)₂ (16F)

Struktur:



Molare Masse: 293.36

Summenformel: C₁₅H₂₃N₃O₃

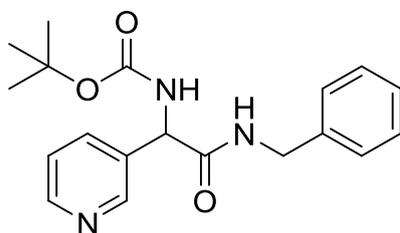
Methode: 752 mg (1.98 mmol) HBTU, 500 mg (1.98 mmol) **13**, 601 mg (5.95 mmol) NMM, 129 mg (2.18 mmol) 2-Aminopropan

Ausbeute: 430 mg (1.47 mmol, 74 %)

$^1\text{H-NMR}$: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.99 (d, $J = 6.53 \text{ Hz}, 3 \text{ H}, \text{CHCH}_3$), 1.10 (d, $J = 6.53 \text{ Hz}, 3 \text{ H}, \text{CHCH}_3$), 1.36 (s, 9 H, $\underline{\text{CH}_3}$), 4.00 (dt, $J = 7.84, 6.62 \text{ Hz}, 1 \text{ H } \underline{\text{CH(CH}_3)_2}$), 5.07 (br. s., 1 H, $\underline{\text{CHN}}$), 5.75 (br. s., 1 H, $\underline{\text{NH}}$), 5.83 (br. s., 1 H, $\underline{\text{NH}}$), 7.24 (dd, $J = 7.84, 4.83 \text{ Hz}, 1 \text{ H}, 5\text{-Pyr-CH}$), 7.65 (dt, $J = 7.91, 1.88 \text{ Hz}, 1 \text{ H}, 4\text{-Pyr-CH}$), 8.51 (dd, $J = 4.77, 1.51 \text{ Hz}, 1 \text{ H}, 6\text{-Pyr-CH}$), 8.55 (d, $J = 1.88 \text{ Hz}, 1 \text{ H}, 2\text{-Pyr-CH}$).

BOC-ALPHA-PYR-AS-NH-CH₂C₆H₅ (16G)

Struktur:



Molare Masse: 341.40

Summenformel: C₁₉H₂₃N₃O₃

Methode: 820 mg (1.98 mmol) HCTU, 500 mg (1.98 mmol) **13**, 601 mg (5.95 mmol) NMM, 234 mg (2.18 mmol) Benzylamin

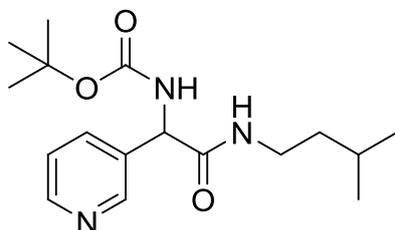
Ausbeute: 530 mg (1.55 mmol, 78%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.40 (s, 9 H, CH₃), 4.28 (d, *J* = 5.90 Hz, 2 H, NCH₂), 5.26 (d, *J* = 8.03 Hz, 1 H, CHN), 7.12 – 7.31 (m, 5 H, C₆H₅), 7.38 (dd, *J* = 7.91, 4.77 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.54 (d, *J* = 7.91 Hz, 1 H, NH), 7.82 (d, *J* = 7.91 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.50 (br. s., 1 H, 6-Pyr-CH), 8.63 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH), 8.72 (t, *J* = 5.90 Hz, 1 H, NH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 28.11 (3 C, CCH₃), 42.16 (CCH₂), 55.93 (CHN), 78.59 (C(CH₃)₃), 123.39 (5-Pyr-CH), 126.80, 127.02, 128.19 (5 C, Ph), 134.31, 134.80 (2 C, 3-Pyr-C, 4-Pyr-CH), 138.95 (1-Ph-C), 148.72, 148.77 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 154.98 (NCO₂), 169.60 (NCO).

BOC-ALPHA-PYR-AS-NH-CH₂CH₂CH(CH₃)₂ (**16H**)

Struktur:



Molare Masse: 321.41

Summenformel: C₁₇H₂₇N₃O₃

Methode: 820 mg (1.98 mmol) HCTU, 500 mg (1.98 mmol) **13**, 601 mg (5.95 mmol) NMM, 190 mg (2.18 mmol) 3-Methylbutan-1-amin

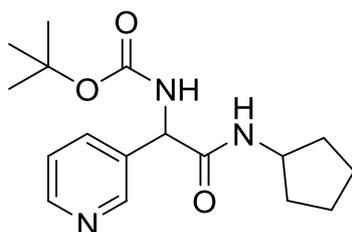
Ausbeute: 440 mg (1.37 mmol, 69%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.81 (dd, *J* = 6.59, 5.33 Hz, 6 H, CH(CH₃)₂), 1.25 (q, *J* = 7.11 Hz, 2 H, CH₂), 1.38 (s, 9 H, CH₃), 1.47 (dq, *J* = 13.43, 6.73 Hz, 1 H, CHCH₂), 3.00 – 3.13 (m, 2 H, NCH₂), 5.17 (d, *J* = 8.28 Hz, 1 H, CHN), 7.36 (dd, *J* = 7.72, 4.71 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.41 (d, *J* = 8.03 Hz, 1 H, NH), 7.78 (d, *J* = 7.91 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.15 (t, *J* = 5.52 Hz, 1 H, NH), 8.49 (br. s., 1 H, 6-Pyr-CH), 8.59 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 22.22, 22.26 (2 C, CHCH₃), 24.94 (C(CH₃)₃), 28.08 (3 C, CH₃), 36.88 (NCH₂), 37.78 (CHCH₂), 55.76 (CHN), 78.52 (C(CH₃)₃), 123.36 (5-Pyr-CH), 134.57 (2 C, 3-Pyr-C, 4-Pyr-CH), 148.54, 148.64 (2/6-Pyr-CH), 154.87 (NCO₂), 169.15 (NCO).

BOC-ALPHA-PYR-AS-NH-C₅H₉ (**16I**)

Struktur:



Molare Masse: 319.40

Summenformel: C₁₇H₂₅N₃O₃

Methode: 820 mg (1.98 mmol) HCTU, 500 mg (1.98 mmol) **13**, 601 mg (5.95 mmol) NMM, 190 mg (2.23 mmol) Cyclopentylamin

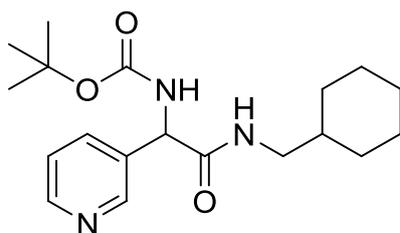
Ausbeute: 440 mg (1.38 mmol, 70%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.10 – 1.97 (m, 8 H, CH₂), 1.33 – 1.37 (m, 9 H, C(CH₃)₃), 3.93 – 4.00 (m, 1 H, NCHCH₂), 5.19 (d, *J* = 8.28 Hz, 1 H, CHN), 7.36 (dd, *J* = 7.72, 4.71 Hz, 2 H, NH, 5-Pyr-CH), 7.78 (d, *J* = 7.91 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.17 (d, *J* = 7.03 Hz, 1 H, NH), 8.48 (d, *J* = 3.26 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.59 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 23.34, 23.41 (2 C, CH₂), 28.09 (3 C, CH₃), 32.04, 32.09 (2 C, CH₂), 50.48, 55.54 (2 C, CHN), 78.53 (C(CH₃)₃), 123.39 (5-Pyr-CH), 134.45 (4-Pyr-CH), 134.73 (3-Pyr-C), 148.41, 148.62 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 154.86 (NCO₂), 168.71 (NCO).

BOC-ALPHA-PYR-AS-NH-CH₂C₆H₁₁ (**16J**)

Struktur:



Molare Masse: 347.45

Summenformel: C₁₉H₂₉N₃O₃

Methode: 500 mg (1.98 mmol) **13**, 601 mg (5.95 mmol) N-Methylmorpholin, 820 mg (1.98 mmol) HCTU, 250 mg (2.18 mmol) Aminomethylcyclohexan

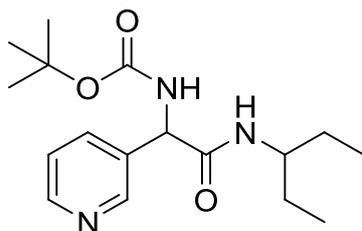
Ausbeute: 500 mg (1.44 mmol, 73%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.69 – 1.70 (m, 20 H), 2.81 – 3.01 (m, 2 H, NCH₂), 5.20 (d, *J* = 7.78 Hz, 1 H, CHN), 7.36 (dd, *J* = 7.84, 4.83 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.41 (d, *J* = 7.91 Hz, 1 H, NH), 7.80 (d, *J* = 7.91 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.14 (t, *J* = 5.58 Hz, 1 H, NH), 8.48 (dd, *J* = 4.71, 1.44 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.61 (d, *J* = 1.88 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 25.30, 25.91 (3 C, CH₂), 28.06 (3 C, CH₃), 30.11 (2 C, CHCH₂), 37.33 (CH2CH), 44.81 (NCH₂), 55.77 (CHN), 78.51 (C_q, C(CH₃)₃), 123.29 (5-Pyr-CH), 134.56, 134.62 (2 C, 3-Pyr-C, 4-Pyr-CH), 148.54, 148.62 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 154.85 (NCO₂), 169.37 (NCO).

BOC-ALPHA-PYR-AS-NH-CH(CH₂CH₃)₂ (**16K**)

Struktur:



Molare Masse: 321.41

Summenformel: C₁₇H₂₇N₃O₃

Methode: 820 mg (1.98 mmol) HCTU, 500 mg (1.98 mmol) **13**, 601 mg (5.95 mmol) NMM, 190 mg (2.18 mmol) 3-Aminohexan

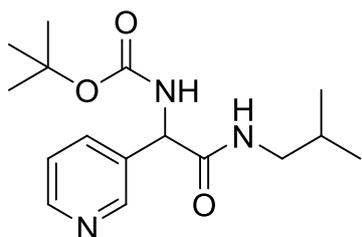
Ausbeute: 500 mg (1.56 mmol, 78%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.60 (t, *J* = 7.47 Hz, 3 H, CH₃), 0.83 (t, *J* = 7.47 Hz, 3 H, CH₃), 1.06 – 1.57 (m, 4 H, CH₂), 1.35 (s, 9 H, C(CH₃)₃), 3.59 – 3.81 (m, 1 H, CH(CH₂)), 5.10 – 5.15 (m, 1 H, CHN), 5.74 (br. s., 1 H, NH), 5.91 (br. s., 1 H, NH), 7.17 – 7.31 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.67 (d, *J* = 7.91 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.51– 8.57 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 9.97, 10.32 (2 C, CH2CH₃), 26.74, 26.95 (2 C, CH2CH₃), 28.06 (3 C, C(CH₃)₃), 51.54 (NCHCH₂), 55.90 (CHN), 78.50 (C(CH₃)₃), 123.29 (5-Pyr-CH), 134.45 (4-Pyr-CH), 134.79 (3-Pyr-C), 148.48, 148.63 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 154.83 (NCO₂), 169.16 (CO).

BOC-ALPHA-PYR-AS-NH-CH₂CH(CH₃)₂ (**16L**)

Struktur:

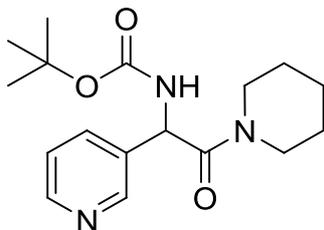


Molare Masse: 307.39

Summenformel: C₁₆H₂₅N₃O₃

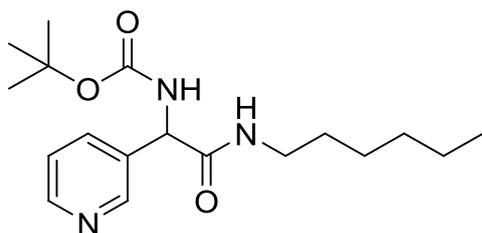
Methode: 820 mg (1.98 mmol) HCTU, 500 mg (1.98 mmol) **13**, 601 mg (5.95 mmol) NMM, 159 mg

(2.18 mmol) 2-Methylpropan-1-amin

Ausbeute: 450 mg (1.46 mmol, 74%)**¹H-NMR:** (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.84 (dd, *J* = 6.71, 1.94 Hz, 6 H, CHCH₃), 1.47 (s, 9 H, C(CH₃)₃), 1.72 (dt, *J* = 13.43, 6.71 Hz, 1 H, CHCH₂), 2.87 – 3.08 (m, 2 H, NCH₂), 5.31 (d, *J* = 8.03 Hz, 1 H, CHN), 7.45 (dd, *J* = 7.78, 4.77 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.51 (d, *J* = 7.78 Hz, 1 H, NH), 7.90 (dt, *J* = 7.97, 1.66 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.25 – 8.31 (m, 1 H, NH), 8.57 (dd, *J* = 4.58, 1.07 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.71 (d, *J* = 1.51 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).**¹³C-NMR:** (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 19.84 (2 C, CH₃), 27.96 (CH₂CH), 28.09 (3 C, C(CH₃)₃), 46.02 (NCH₂), 55.78 (CHN), 78.51 (OC(CH₃)₃), 123.33 (5-Pyr-CH), 134.60 (4-Pyr-CH), 134.89 (3-Pyr-C), 148.54, 148.65 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 154.88 (NCO), 169.41 (CHCO).**BOC-ALPHA-PYR-AS-N(CH₂)₅ (16M)****Struktur:****Molare Masse:** 319.40**Summenformel:** C₁₇H₂₅N₃O₃**Methode:** 752 mg (1.98 mmol) HBTU, 500 mg (1.98 mmol) **13**, 601 mg (5.95 mmol) NMM, 186 mg (2.18 mmol) Piperidin**Ausbeute:** 570 mg (1.78 mmol, 90%)**¹H-NMR:** (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.25 – 1.60 (m, 15 H), 3.36 – 3.59 (m, 4 H, NCH₂), 5.62 (d, *J* = 8.03 Hz, 1 H, CHN), 7.38 – 7.41 (m, 2 H, NH, 5-Pyr-CH), 7.75 (dt, *J* = 7.97, 1.91 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.50 (dd, *J* = 4.71, 1.32 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.58 (s, 1 H, 2-Pyr-CH)**¹³C-NMR:** (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 23.78, 25.16, 25.54 (3 C), 28.12 (3 C, CH₃), 42.81, 45.77 (2 C), 52.49 (CHN), 78.48 (C(CH₃)₃), 123.53 (5-Pyr-CH), 133.86 (4-Pyr-CH), 135.54 (3-Pyr-C), 148.78, 149.27 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 154.74 (CO₂), 167.23 (CO).

BOC-ALPHA-PYR-AS-NH(CH₂)₅CH₃ (16N)

Struktur:



Molare Masse: 335.44

Summenformel: C₁₈H₂₉N₃O₃

Methode: 902 mg (2.38 mmol) HBTU, 500 mg (1.98 mmol) **13**, 601 mg (5.95 mmol) NMM, 201 mg (1.98 mmol) Hexylamin

Ausbeute: 380 mg (1.13 mmol, 57 %)

Das erhaltene Produkt wurde direkt weiter umgesetzt.

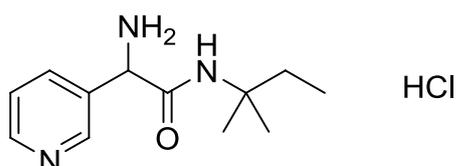
H-ALPHA-PYR-AS-NHR (17·HCl)

Allgemeine Methode:

Verbindung **16** wird in 10 ml Ether gelöst und bei 0 °C mit methanolischer Salzsäurelösung (4 M) versetzt. Die Mischung wird eine Stunde bei 25 °C gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

H-ALPHA-PYR-AS-NH-C(CH₃)₂CH₂CH₃ HCl (**17A**)

Struktur:



Molare Masse: 257.76

Summenformel: C₁₂H₂₀ClN₃O

Methode: 200 mg (0.622 mmol) **16a**, 2 ml HCl (4 M in Methanol)

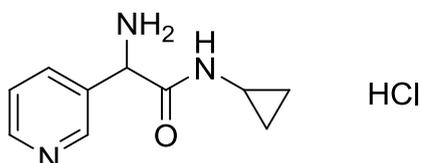
Ausbeute: 62.0 mg (0.241 mmol, 39%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.62 (t, *J* = 7.47 Hz, 3 H, CH₂CH₃), 1.18 (d, *J* = 15.06 Hz, 6 H, CH₃), 1.49 – 1.69 (m, 2 H, CH₂), 5.36 (br. s., 1 H, CHN), 7.86 – 8.00 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.38 – 8.59 (m, 2 H, NH, 4-Pyr-CH), 8.79 – 8.93 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.03 (d, *J* = 1.63 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH), 9.05 (br. s., 3 H, NH₃⁺).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 8.07 (CH₂CH₃), 25.87, 25.95 (2 C, C(CH₃)₂), 31.72 (CH₂CH₃), 52.69 (CHN), 53.89 (NCH₂), 125.92 (5-Pyr-CH), 133.02 (4-Pyr-CH), 141.25 (3-Pyr-C), 144.06, 144.85 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 165.03 (NCO).

H-ALPHA-PYR-AS-NH-C₃H₅ HCl (**17B**)

Struktur:



Molare Masse: 227.69

Summenformel: C₁₀H₁₄ClN₃O

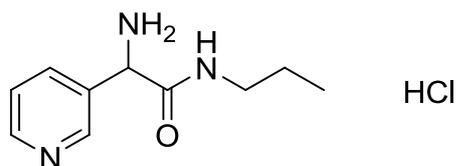
Methode: 200 mg (0.686 mmol) **16b**, 2 ml HCl (4 M in Methanol)

Ausbeute: 182 mg (0.594 mmol, 99%)

Das erhaltene Produkt wurde direkt weiter umgesetzt.

H-ALPHA-PYR-AS-NH-(CH₂)₂CH₃ HCl (**17C**)

Struktur:



Molare Masse: 229.71

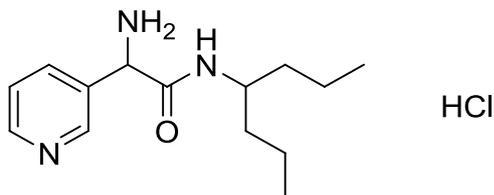
Summenformel: C₁₀H₁₆ClN₃OMethode: 200 mg (0.682 mmol) **16c**, 2 ml HCl (4 M in Methanol)

Ausbeute: 155 mg (0.675 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.77 (t, 3 H, CH₃), 1.39 (q, *J* = 7.11 Hz, 2 H, CH₂CH₃), 2.98 – 3.13 (m, 2 H, NHCH₂), 5.27 (br. s., 1 H, CHN), 7.78 – 7.94 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.36 (br. s., 1 H, 4-Pyr-CH), 8.83 (d, *J* = 4.64 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.91 (br. s., 1 H, NH), 8.97 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH), 9.00 (br. s., 3 H, NH₃⁺).

H-ALPHA-PYR-AS-NH-CH(CH₂CH₂CH₃)₂ HCl (**17D**)

Struktur:



Molare Masse: 285.81

Summenformel: C₁₄H₂₄ClN₃OMethode: 200 mg (0.572 mmol) **16d**, 2 ml HCl (4 M in Methanol)

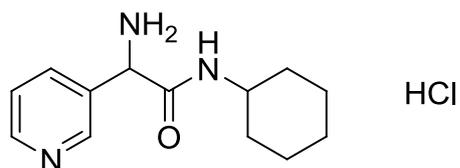
Ausbeute: 162 mg (0.567 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.64 (t, *J* = 7.34 Hz, 3 H, CH₃), 0.79 – 1.45 (m, 11 H), 3.69 (d, *J* = 4.02 Hz, 1 H, NCH), 5.32 (d, *J* = 0.75 Hz, 1 H, CHNH₃⁺), 7.82 – 8.01 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.37 – 8.53 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.77 (d, *J* = 8.66 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.82 – 8.93 (m, 1 H, NH), 9.04 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH), 9.10 (br. s., 3 H, NH₃⁺).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 13.46, 13.83 (2 C, CH₂CH₃), 18.26, 18.60 (2 C, CH₂CH₃), 36.17, 36.55 (2 C, CHCH₂), 48.40 (NCH), 52.76 (CHNH₃⁺), 125.81 (5-Pyr-CH), 132.85 (4-Pyr-CH), 141.03 (3-Pyr-C), 144.40 (6-Pyr-CH), 145.14 (2-Pyr-CH), 165.40 (NCO).

H-ALPHA-PYR-AS-NH-C₆H₁₁ HCl (**17E**)

Struktur:



Molare Masse: 306.23

Summenformel: C₁₃H₂₁ClN₃O

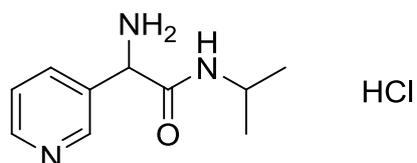
Methode: 200 mg (0.600 mmol) **16e**, 2 ml HCl (4 M in Methanol)

Ausbeute: 131 mg (0.428 mmol, 71%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.94 – 1.87 (m, 10 H, CH₂), 3.48 – 3.62 (m, 1 H, NCH), 5.30 (br. s., 1 H, CHNH₃⁺), 7.88 (br. s., 1 H, 5-Pyr-CH), 8.39 (br. s., 1 H, 4-Pyr-CH), 8.83 – 8.95 (m, 2 H, NH, 6-Pyr-CH), 8.98 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH), 9.05 (br. s., 3 H, NH₃⁺).

H-ALPHA-PYR-AS-NH-CH(CH₃)₂ HCl (**17F**)

Struktur:



Molare Masse: 229.71

Summenformel: C₁₀H₁₆ClN₃O

Methode: 200 mg (0.682 mmol) **16f**, 2 ml HCl (4 M in Methanol)

Ausbeute: 155 mg (0.675 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.96 (d, *J* = 6.65 Hz, 3 H, CH₃), 1.12 (d, *J* = 6.53 Hz, 3 H, CH₃), 3.84 (ddd, *J* = 13.18, 6.53, 6.40 Hz, 1 H, NCH), 5.11 – 5.34 (m, 1 H, CHN), 7.77 – 7.99 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.25 – 8.53 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.75 – 8.90 (m, 2 H, NH, 6-Pyr-CH), 8.99 (br. s., 4 H, 2-Pyr-CH, NH₃⁺).

H-ALPHA-PYR-AS-NH-CH₂C₆H₅ HCl (**17G**)

Struktur:



Molare Masse: 314.21

Summenformel: C₁₄H₁₆ClN₃O

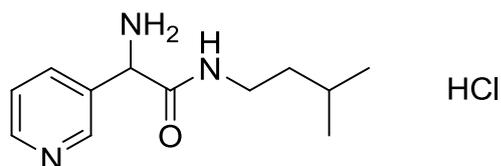
Methode: 200 mg (0.586 mmol) **16g**, 2 ml HCl (4 M in Methanol)

Ausbeute: 161 mg (0.580 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 4.23 – 4.40 (m, 2 H, NCH₂), 5.26 (br. s., 1 H, NH), 7.15 – 7.33 (m, 5 H, Ph), 7.75 (br. s., 1 H, 5-Pyr-CH), 8.21 (br. s., 1 H, 4-Pyr-CH), 8.78 (br. s., 1 H, 6-Pyr-CH), 8.89 (br. s., 1 H, NH), 8.97 (br. s., 3 H, NH₃⁺), 9.27 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH).

H-ALPHA-PYR-AS-NH-(CH₂)₂CH(CH₃)₂ HCl (**17H**)

Struktur:



Molare Masse: 257.76

Summenformel: C₁₂H₂₀ClN₃O

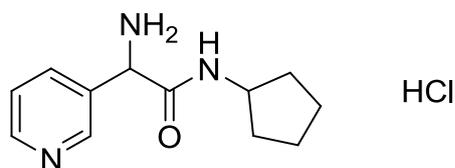
Methode: 200 mg (0.622 mmol) **17h**, 2 ml HCl (4 M in Methanol)

Ausbeute: 159 mg (0.616 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.81 (dd, *J* = 6.40, 5.52 Hz, 6 H, CH₃), 1.27 (q, *J* = 7.03 Hz, 2 H, CH₂CH), 1.47 (dt, *J* = 13.36, 6.74 Hz, 1 H, CH₂CH), 3.11 (q, *J* = 6.69 Hz, 2 H, NCH₂), 5.26 (br. s., 1 H, CHN), 7.76 – 7.90 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.33 (t, *J* = 7.65 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.74 – 8.84 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.84 – 8.99 (m, 2 H, NH, 2-Pyr-CH), 9.02 (br. s., 3 H, NH₃⁺).

H-ALPHA-PYR-AS-NH-C₅H₉ HCl (**17I**)

Struktur:



Molare Masse: 255.74

Summenformel: C₁₂H₁₈ClN₃O

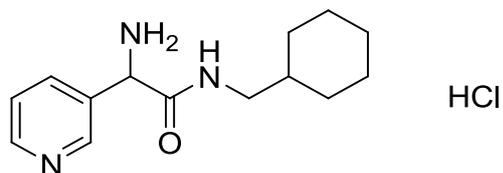
Methode: 200 mg (0.626 mmol) **16i**, 2 ml HCl (4 M in Methanol)

Ausbeute: 159 mg (0.620 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.14 – 1.91 (m, 8 H, CH₂), 3.90 – 4.08 (m, 1 H, NCH), 5.32 (br. s., 1 H, CHNH₃⁺), 7.91 (br. s., 1 H, 5-Pyr-CH), 8.44 (br. s., 1 H, 4-Pyr-CH), 8.84 (br. s., 1 H, 6-Pyr-CH), 9.01 (br. s., 1 H, NH), 9.07 (br. s., 4 H, NH₃⁺, 2-Pyr-CH).

H-ALPHA-PYR-AS-NH-CH₂C₆H₁₁ HCl (**17J**)

Struktur:



Molare Masse: 283.80

Summenformel: C₁₄H₂₂ClN₃O

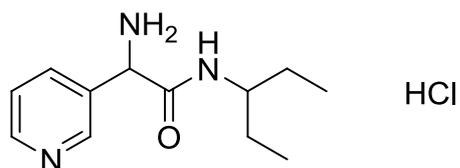
Methode: 200 mg (0.576 mmol) **16j**, 2 ml HCl (4 M in Methanol)

Ausbeute: 162 mg (0.570 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.68 – 1.67 (m, 11 H), 2.89 – 2.99 (m, 2 H, NCH₂), 5.38 (br. s., 1 H, CHN), 7.98 (d, *J* = 4.77 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.50 (d, *J* = 1.51 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.89 (d, *J* = 3.89 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.95 (br. s., 1 H, NH), 9.05 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH), 9.08 (br. s., 3 H, NH₃⁺).

H-ALPHA-PYR-AS-NH-CH(CH₂CH₃)₂ HCl (**17K**)

Struktur:



Molare Masse: 257.76

Summenformel: C₁₂H₂₀ClN₃OMethode: 200 mg (0.622 mmol) **16k**, 2 ml HCl (4 M in Methanol)

Ausbeute: 159 mg (0.616 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.51 (t, 3 H, CH₃), 0.87 (t, *J* = 7.40 Hz, 3 H, CH₃), 1.12 – 1.54 (m, 4 H, CH₂), 3.45 – 3.62 (m, 1 H, CH), 5.33 (br. s., 1 H, CHN), 7.90 (br. s., 1 H, 5-Pyr-CH), 8.42 (br. s., 1 H, 4-Pyr-CH), 8.71 (br. s., 1 H, 6-Pyr-CH), 8.84 (br. s., 1 H, NH), 9.02 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH), 9.07 (br. s., 3 H, NH₃⁺).

H-ALPHA-PYR-AS-NH-CH₂CH(CH₃)₂ HCl (**17L**)

Struktur:



Molare Masse: 243.73

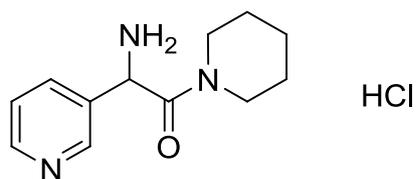
Summenformel: C₁₁H₁₈ClN₃OMethode: 200 mg (0.651 mmol) **16l**, 2 ml HCl (4 M in Methanol)

Ausbeute: 157 mg (0.644 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.76 (dd, *J* = 6.59, 4.08 Hz, 6 H, CH₃), 1.58 – 1.73 (m, 1 H, CH(CH₃)₂), 2.92 (t, *J* = 6.21 Hz, 2 H, NCH₂), 5.52 (br. s., 1 H, CHN), 8.14 (br. s., 1 H, 5-Pyr-CH), 8.73 (br. s., 1 H, 4-Pyr-CH), 8.98 (d, *J* = 5.52 Hz, 1 H, NH), 9.17 (br. s., 2 H, 2/6-Pyr-CH), 9.19 – 9.32 (m, 3 H, NH₃⁺).

H-ALPHA-PYR-AS-N(CH₂)₅ HCl (**17M**)

Struktur:



Molare Masse: 307.24

Summenformel: C₁₃H₂₂ClN₃O

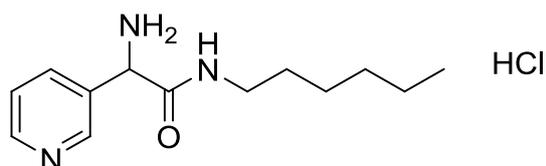
Methode: 200 mg (0.651 mmol) **16m**, 2 ml HCl (4 M in Methanol)

Ausbeute: 168 mg (0.620 mmol, 99 %)

Das erhaltene Produkt wurde direkt weiter umgesetzt.

H-ALPHA-PYR-AS-NH-(CH₂)₅CH₃ HCl (**17N**)

Struktur:



Molare Masse: 271.79

Summenformel: C₁₃H₂₂N₃O

Methode: 200 mg (0.596 mmol) **16n**, 2 ml HCl (4 M in Methanol)

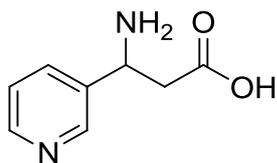
Ausbeute: 160 mg (590 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.78 – 0.84 (m, 3 H, CH₃), 1.10 – 1.25 (m, 6 H, CH₂), 1.31 – 1.42 (m, 2 H, NCH₂CH₂), 3.03 – 3.12 (m, 2 H, NCH₂), 5.34 (br. s., 1 H, CHN), 7.92 – 8.02 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.50 (d, *J* = 8.03 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.85 – 8.92 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.97 (t, *J* = 4.89 Hz, 1 H, NH), 9.04 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH), 9.07 (br. s., 3 H, NH₃⁺).

BETA-PYR-AS-OH (18)

Die Darstellung erfolgte gemäß Literatur [36].

Struktur:



Molare Masse: 166.18

Summenformel: $C_8H_{10}N_2O_2$

Methode: In einem 500 ml Rundkolben werden 10.0 g (96.0 mmol) Pyridincarbaldehyd, 9.72 g (93.0 mmol) Malonsäure und 14.4 g (187 mmol) Ammoniumacetat in 150 ml Ethanol suspendiert und für 6 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Der erhaltene Feststoff wird abfiltriert und mit wenig Ethanol und wenig Diethylether gewaschen und anschließend im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 7.30 g (43.9 mmol, 47%)

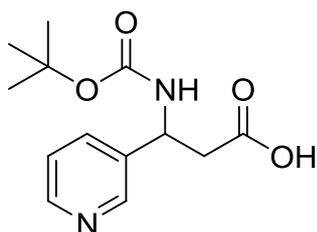
1H -NMR: (400.13 MHz, D_2O): δ (ppm) = 2.77 – 2.97 (m, 2 H, $\underline{CH_2}$), 4.64 – 4.85 (m, 1 H, \underline{CHN}), 7.50 (dd, $J = 8.08, 5.05$ Hz, 1 H, 5-Pyr- \underline{CH}), 7.93 (d, $J = 8.08$ Hz, 1 H, 4-Pyr- \underline{CH}), 8.52 (d, $J = 5.05$ Hz, 1 H, 6-Pyr- \underline{CH}), 8.57 (d, $J = 2.02$ Hz, 1 H, 2-Pyr- \underline{CH}).

^{13}C -NMR: (100.61 MHz, D_2O): δ (ppm) = 39.9 ($\underline{CH_2}$), 50.4 (\underline{CHN}), 124.7 (5-Pyr- \underline{CH}), 132.4 (3-Pyr- \underline{C}), 136.0 (4-Pyr- \underline{CH}), 147.6 (6-Pyr- \underline{CH}), 149.5 (2-Pyr- \underline{CH}), 176.6 (\underline{CO}).

Schmelzpunkt: 202°C (Lit. 205-206°C)

BOC-BETA-PYR-AS-OH (**19**)

Struktur:



Molare Masse: 266.29

Summenformel: $C_{13}H_{18}N_2O_4$

Methode: Es werden 10.0 g (60.2 mmol) **18**, 12.0 g (143 mmol) Natriumhydrogencarbonat in 120 ml Wasser gelöst und im Eisbad auf 0-5°C abgekühlt. Zu der Lösung wird portionsweise eine Lösung aus 13.6 g (62.3 mmol) Di-*tert*-butyl-dicarbonat in 120 ml Dioxan zugegeben. Die Mischung wird langsam auf Raumtemperatur erwärmt und für 8 Stunden gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck auf die Hälfte reduziert und mit Ethylacetat gewaschen. Die wässrige Phase wird mit Kaliumhydrogensulfat leicht angesäuert (pH 4-5) und mit Ethylacetat (5x 100 ml) extrahiert. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Ausbeute: 10.0 g (37.6 mmol, 62%) farbloser Feststoff

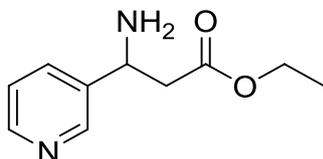
¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.33 (s, 9 H, CH₃), 2.56 – 2.77 (m, 2 H, CH₂), 4.89 (q, *J* = 7.07 Hz, 1 H, CHN), 7.34 (dd, *J* = 7.83, 4.80 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.51 (d, *J* = 8.34 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 7.70 (dt, *J* = 7.89, 1.86 Hz, 1 H, NH), 8.43 (dd, *J* = 4.67, 1.39 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.49 (d, *J* = 1.77 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

H-BETA-PYR-AS-OR (20)Allgemeine Methode:

Eine Lösung von **18** im jeweiligen Alkohol wird bei 10 °C mit 2.0 ml Schwefelsäure versetzt. Die Reaktionsmischung wird auf Raumtemperatur erwärmt und für zwei Tage gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mit Natriumhydrogencarbonatlösung neutralisiert. Die Lösung wird mit Dichlormethan extrahiert und die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

H-BETA-PYR-AS-OCH₂CH₃ (20A)

Struktur:



Molare Masse: 194.23

Summenformel: C₁₀H₁₄N₂O₂

Methode: 1.00 g (6.02 mmol) **18**, 25 ml Ethanol, 2 ml Schwefelsäure

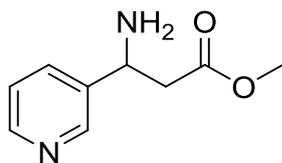
Ausbeute: 620 mg (3.19 mmol, 53%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.12 (t, *J* = 7.20 Hz, 3 H, CH₃), 2.55 – 2.74 (m, 2 H, CH₂CO), 4.01 (q, *J* = 7.07 Hz, 2 H, OCH₂), 4.24 (t, *J* = 7.20 Hz, 1 H, CHN), 7.33 (dd, *J* = 7.83, 4.80 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.80 (ddd, *J* = 7.96, 1.89, 1.77 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.43 (dd, *J* = 4.80, 1.77 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.56 (d, *J* = 2.27 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 14.0 (CH₃), 43.69 (CH₂), 50.5 (CHN), 59.7 (OCH₂), 123.3 (5-Pyr-CH), 133.9 (4-Pyr-CH), 140.9 (C_q, 3-Pyr-C), 147.9 (6-Pyr-CH), 148.2 (2-Pyr-CH), 170.9 (CO).

H-BETA-PYR-AS-OCH₃ (**20B**)

Struktur:



Molare Masse: 180.20

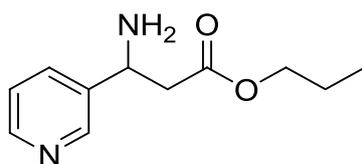
Summenformel: C₉H₁₂N₂O₂Methode: 600 mg (3.61 mmol) **18**, 25 ml Methanol, 2 ml H₂SO₄

Ausbeute: 390 mg (2.16 mmol, 60%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.56 – 2.71 (m, 2 H, CH₂), 3.63 (s, 3 H, OCH₃), 4.38 – 4.46 (m, 1 H, CHN), 7.22 (d, J = 4.80 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.67 (d, J = 7.83 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.46 (dd, J = 4.80, 1.77 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.55 (d, J = 2.27 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

H-BETA-PYR-AS-OCH₂CH₂CH₃ (**20C**)

Struktur:



Molare Masse: 208.26

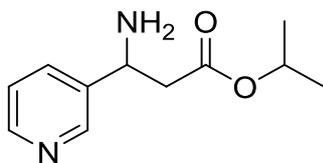
Summenformel: C₁₁H₁₆N₂O₂Methode: 600 mg (3.61 mmol) **18**, 25 ml 1-Propanol, 2 ml H₂SO₄

Ausbeute: 700 mg (3.36 mmol, 93%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.72 – 0.95 (m, 3 H, CH₃), 1.45 – 1.63 (m, 2 H, CH₂CH₃), 2.56 – 2.69 (m, 2 H, CH₂), 4.00 (t, J = 6.69 Hz, 1 H, OCH₂), 4.43 (t, J = 6.82 Hz, 2 H, CHN), 7.17 – 7.29 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.68 (dd, J = 7.83, 1.77 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.42 – 8.52 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.56 (s, 1 H, 2-Pyr-CH).

H-BETA-PYR-AS-OCH(CH₃)₂ (20D)

Struktur:



Molare Masse: 208.26

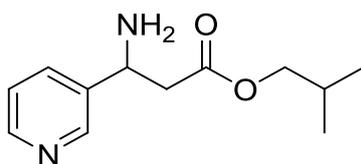
Summenformel: C₁₁H₁₆N₂O₂Methode: 600 mg (3.61 mmol) **18**, 25 ml 2-Propanol, 2 ml H₂SO₄

Ausbeute: 677 mg (3.25 mmol, 90%)

Das erhaltene Produkt wurde direkt weiter umgesetzt.

H-BETA-PYR-AS-OCH₂CH(CH₃)₂ (20E)

Struktur:



Molare Masse: 222.28

Summenformel: C₁₂H₁₈N₂O₂Methode: 600 mg (3.61 mmol) **18**, 15 ml *i*-Butanol, 2 ml H₂SO₄

Ausbeute: 642 mg (2.89 mmol, 80%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.85 (d, *J* = 6.57 Hz, 6 H, CH₃), 1.80 – 1.91 (m, 1 H, CH), 2.62 – 2.68 (m, 2 H, CH₂CO), 3.82 (d, *J* = 6.57 Hz, 2 H, OCH₂), 4.43 (dd, *J* = 7.33, 6.06 Hz, 1 H, CHN), 7.19 – 7.26 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.68 (d, *J* = 8.08 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.47 (dd, *J* = 4.80, 1.52 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.57 (d, *J* = 2.02 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

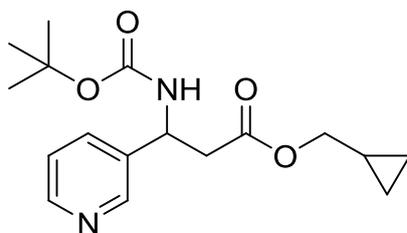
BOC-BETA-PYR-AS-OR (21)

Allgemeine Methode:

Es werden **19** (1 eq), Halogenalkan (1.1-1.2 eq) und Kaliumcarbonat (2.2 eq) in Aceton suspendiert und für 10 Stunden unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in Wasser gelöst und mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wird mit Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Öl im Vakuum getrocknet. Der erhaltene Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt (Ethylacetat/Cyclohexan 1:1).

BOC-BETA-PYR-AS-OCH₂C₃H₅ (21A)

Struktur:



Molare Masse: 320.38

Summenformel: C₁₇H₂₄N₂O₄

Methode: 1.00 g (3.76 mmol) **19**, 700 mg (4.63 mmol) (Bromomethyl)cyclopropan, 1.10 g (7.96 mmol) Kaliumcarbonat, 70 ml Aceton

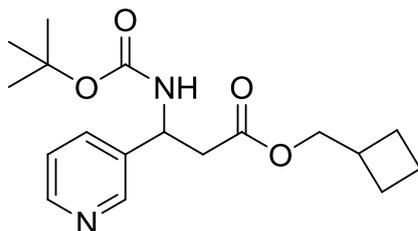
Ausbeute: 1.16 g (3.47 mmol, 92%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.13 – 0.27 (m, 2 H, CH₂), 0.40 – 0.54 (m, 2 H, CH₂), 0.92 – 1.09 (m, 1 H, CH), 1.35 (s, 9 H, CH₃), 2.67 – 2.92 (m, 2 H, CH₂CO), 3.82 (d, *J* = 7.15 Hz, 2 H, OCH₂), 4.96 (q, *J* = 7.57 Hz, 1 H, CHN), 7.36 (dd, *J* = 7.91, 4.77 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.71 – 7.77 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.45 (dd, *J* = 4.77, 1.51 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.53 (d, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 3.00 (2 C, CH₂), 9.57 (OCH₂CH), 28.11 (3 C, CH₃), 40.56 (CH₂CO), 49.16 (CHN), 68.51 (OCH₂), 78.12 (C(CH₃)₃), 123.43 (5-Pyr-CH), 134.01 (4-Pyr-CH), 137.88 (3-Pyr-C), 148.12, 148.32 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 154.65 (NCO), 170.29 (CH₂CO).

BOC-BETA-PYR-AS-OCH₂C₄H₇ (**21B**)

Struktur:



Molare Masse: 334.41

Summenformel: C₁₈H₂₅N₂O₄

Methode: 1.00 g (3.76 mmol) **19**, 1.14 g (8.26 mmol) Kaliumcarbonat, 70 ml Aceton, 672 mg (4.51 mmol) (Bromomethyl)cyclobutan

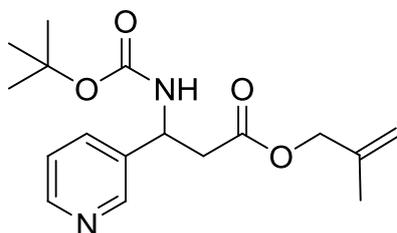
Ausbeute: 500 mg (1.49 mmol, 40%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.29 – 1.43 (m, 9 H, CH₃), 1.51 – 1.97 (m, 6 H, CH₂), 2.44 (dt, J = 14.93, 7.47 Hz, 1 H, OCH₂CH), 2.80 (t, J = 6.15 Hz, 2 H, CH₂C(=O)), 3.96 (d, 2 H, OCH₂), 5.05 (br. s., 1 H, CHN), 7.18 (dd, J = 7.91, 4.77 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.57 (dt, J = 7.94, 1.74 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.44 (d, J = 4.02 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.51 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 18.3 (CH₂CH₂CH₂), 24.6 (CH₂), 24.6 (CH₂), 28.3 (3 C, CH₃), 33.8 (OCH₂CH), 40.4 (CH₂CHN), 49.3 (CH₂CHN), 68.7 (OCH₂), 80.0 (C(CH₃)₃), 123.4 (5-Pyr-CH), 133.9 (6-Pyr-CH), 136.9 (C_q, 3-Pyr-C), 148.1 (4-Pyr-CH), 148.8 (2-Pyr-CH), 154.9 (N(C=O)O), 170.7 (CH₂C(=O)).

R_f-Wert: 0.60 (EE)BOC-BETA-PYR-AS-OCH₂C(=CH₂)CH₃ (**21C**)

Struktur:



Molare Masse: 320.38

Summenformel: C₁₇H₂₄N₂O₄

Methode: 1.00 g (3.76 mmol) **19**, 1.14 g (8.26 mmol) Kaliumcarbonat, 70 ml Aceton, 670 mg (4.96 mmol) 3-Bromo-2-methylprop-1-en

Ausbeute: 500 mg (1.50 mmol, 40%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 1.40 (s, 9 H, C(CH₃)₃), 1.67 (s, 3 H, CCH₃), 2.82 – 2.99 (m, 2 H, CHCH₂), 4.45 (s, 2 H, OCH₂), 4.83 – 4.93 (m, 2 H, C=CH₂), 5.10 (br. s., 1 H, CHN), 7.26 (ddd, J = 7.91, 4.77, 0.75 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.58 – 7.70 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.49 (dd,

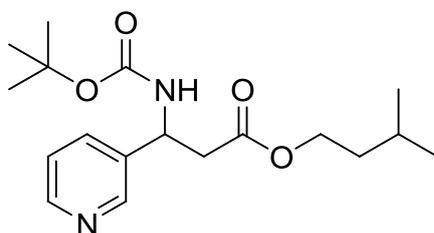
$J = 4.77, 1.51 \text{ Hz}, 1 \text{ H}, 6\text{-Pyr-CH}$), $8.56 \text{ (d, } J = 2.38 \text{ Hz, 1 H, 2-Pyr-CH)}$.

$^{13}\text{C-NMR}$: (100.61 MHz, CD_2Cl_2): $\delta \text{ (ppm)} = 19.5 \text{ (C(CH}_3\text{))}$, $28.4 \text{ (3 C, C(CH}_3\text{))}_3$), $40.7 \text{ (CHCH}_2\text{)}$, 49.7 (CHN) , $68.4 \text{ (OCH}_2\text{)}$, $80.1 \text{ (C(CH}_3\text{))}_3$), $113.3 \text{ (C=CH}_2\text{)}$, 123.7 (5-Pyr-CH) , 134.1 (6-Pyr-CH) , $137.3 \text{ (C}_q\text{, 3-Pyr-C)}$, $140.2 \text{ (C}_q\text{, C=CH}_2\text{)}$, $148.6, 149.2 \text{ (2 C, 2/4-Pyr-CH)}$, $155.2 \text{ (C}_q\text{, N(C=O)O)}$, $170.6 \text{ (C}_q\text{, CH}_2\text{C(=O)O)}$.

R_f -Wert: 0.60 (EE)

BOC-BETA-PYR-AS-OCH₂CH₂CH(CH₃)₂ (**21D**)

Struktur:



Molare Masse: 336.4259

Summenformel: $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$

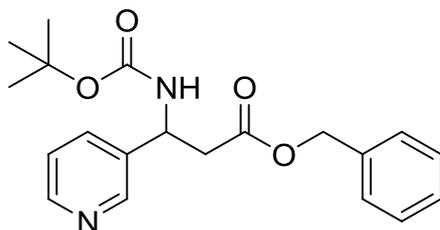
Methode: 1.00 g (3.76 mmol) **19**, 700 mg (4.63 mmol) 3-Methylbutan-1-bromid, 1.10 g (7.96 mmol) Kaliumcarbonat, 70 ml Aceton

Ausbeute: 1.02 g (3.05 mmol, 81%)

$^1\text{H-NMR}$: (400.13 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta \text{ (ppm)} = 0.84 \text{ (dd, } J = 6.59, 3.58 \text{ Hz, 6 H, CH(CH}_3\text{))}_2$), $1.35 \text{ (s, 9 H, CH}_3\text{)}$, $1.37 - 1.43 \text{ (m, 2 H, OCH}_2\text{CH}_2\text{)}$, $1.56 \text{ (dt, } J = 13.52, 6.73 \text{ Hz, 1 H, CH}_2\text{CH)}$, $2.67 - 2.86 \text{ (m, 2 H, CH}_2\text{CO)}$, $3.94 - 4.08 \text{ (m, 2 H, OCH}_2\text{)}$, $4.94 \text{ (q, } J = 7.91 \text{ Hz, 1 H, CHN)}$, $7.36 \text{ (dd, } J = 7.84, 4.83 \text{ Hz, 1 H, 5-Pyr-CH)}$, $7.56 \text{ (d, } J = 8.53 \text{ Hz, 1 H, NH)}$, $7.73 \text{ (dt, } J = 7.87, 1.84 \text{ Hz, 1 H, 4-Pyr-CH)}$, $8.45 \text{ (dd, } J = 4.71, 1.57 \text{ Hz, 1 H, 6-Pyr-CH)}$, $8.51 \text{ (d, } J = 1.88 \text{ Hz, 1 H, 2-Pyr-CH)}$.

BOC-BETA-PYR-AS-OBN (**21E**)

Struktur:



Molare Masse: 356.42

Summenformel: C₂₀H₂₄N₂O₄

Methode: 5.00 g (18.8 mmol) **19**, 3.11 g (22.5 mmol) Kaliumcarbonat, 3.85 g (22.5 mmol) Benzylbromid, 100 ml Aceton.

Ausbeute: 3.10 g (8.70 mmol, 46%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.37 (br. s., 9 H, CH₃), 2.75 – 2.97 (m, 2 H, CH₂CO), 5.00 (s, 2 H, OCH₂), 7.13 – 7.34 (m, 6 H, 5-Pyr-CH, C₆H₅), 7.50 – 7.64 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.42 – 8.49 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.52 (d, *J* = 1.77 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

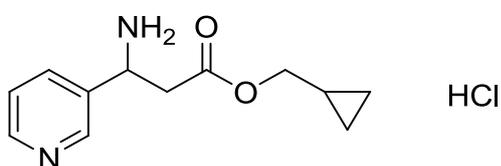
R_f-Wert: 0.20 (EE/Cy 1/1)

H-BETA-PYR-AS-OR (**22**)Allgemeine Methode:

Es wird Verbindung **21** in 10 ml Ether gelöst und bei 0 °C mit 2 ml etherischer Salzsäurelösung (2 M) versetzt. Die Mischung wird eine Stunde bei 25 °C gerührt. Der erhaltene Feststoff wird abfiltriert, mit Diethylether gewaschen und im Vakuum getrocknet.

H-BETA-PYR-AS-OCH₂C₃H₅ HCL (**22A**·HCL)

Struktur:



Molare Masse: 256.73

Summenformel: C₁₂H₁₇ClN₂O₂

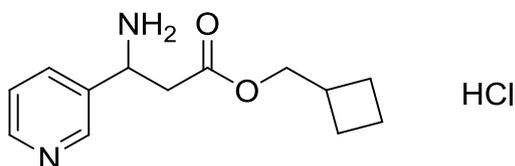
Methode: 204 mg (0.914 mmol) **21a**, 1.0 ml HCl (2N in Diethylether), 10 ml Diethylether

Ausbeute: 162 mg (0.630 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.10 – 0.26 (m, 2 H, CH₂), 0.38 – 0.52 (m, 2 H, CH₂), 0.88 – 1.06 (m, 1 H, OCH₂CH), 3.18 – 3.42 (m, 2 H, CH₂CO), 3.73 – 3.90 (m, 2 H, OCH₂), 4.86 (br. s., 1 H, CHN), 7.92 (dd, *J* = 7.78, 5.52 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.60 (d, *J* = 7.91 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.83 (d, *J* = 4.64 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.06 (br. s., 4 H, 2-Pyr-CH, NH₃⁺).

H-BETA-PYR-AS-OCH₂C₄H₇ HCL (**22B**·HCL)

Struktur:



Molare Masse: 270.76

Summenformel: C₁₃H₁₉ClN₂O₂

Methode: 210 mg (0.628 mmol) **21b**, 1.0 ml HCl (2N in Diethylether), 10 ml Diethylether

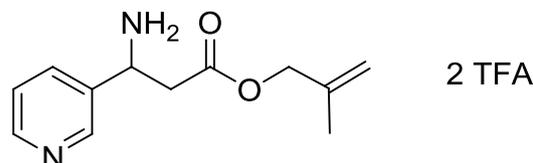
Ausbeute: 168 mg (0.622 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.50 – 2.00 (m, 6 H, CH₂), 2.40 – 2.56 (m, 1 H, OCH₂CH), 3.16 – 3.42 (m, 2 H, OCH₂), 3.86 – 4.03 (m, 2 H, CH₂CO), 4.86 (d, *J* = 1.76 Hz, 1 H, CHN), 7.94

(dd, $J = 7.91, 5.40$ Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.62 (d, $J = 8.03$ Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.84 (d, $J = 4.39$ Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.09 (br. s., 3 H, NH_3^+), 9.06 (s, 1 H, 2-Pyr-CH).

H-BETA-PYR-AS-OCH₂C(=CH₂)CH₃ TFA (**22C**·TFA)

Struktur:



Molare Masse: 448.31

Summenformel: C₁₆H₁₈F₆N₂O₆

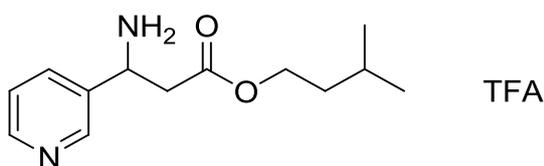
Methode: 500 mg (1.57 mmol) **21c**, 1.0 ml TFA, 10 ml Dichlormethan

Ausbeute: 697 mg (1.55 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.60 (s, 3 H, CH₃), 3.10 – 3.29 (m, 2 H, CHCH₂), 4.44 (s, 2 H, OCH₂), 4.69 – 4.81 (m, 1 H, CHCH₂), 4.83 (1 H, C=CH₂), 4.86 (1 H, C=CH₂), 7.58 (dd, $J = 7.84, 4.96$ Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.06 (dt, $J = 8.00, 1.84$ Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.60 (br. s., 3 H, NH_3^+), 8.65 (dd, $J = 4.89, 1.51$ Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.75 (d, $J = 1.88$ Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

H-BETA-PYR-AS-OCH₂CH₂CH(CH₃)₂ TFA (**22D**·HCl)

Struktur:



Molare Masse: 464.36

Summenformel: C₁₇H₂₂F₆N₂O₆

Methode: 387 mg (0.914 mmol) **21d**, 1.0 ml TFA, 10 ml Dichlormethan

Ausbeute: 2.57 g (5.53 mmol, 93%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.82 (dd, $J = 6.53, 3.89$ Hz, 6 H, CH₃), 1.32 – 1.40 (m, 2 H, OCH₂CH₂), 1.41 – 1.54 (m, 1 H, CH), 3.00 – 3.20 (m, 2 H, CH₂), 4.01 (t, 2 H, OCH₂), 4.74 (br. s., 1 H, CHN), 7.54 (dd, $J = 7.91, 4.77$ Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.00 (dt, $J = 8.00, 1.90$ Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.52 (br. s., 3 H, NH_3^+), 8.64 (dd, $J = 4.89, 1.51$ Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.72 (d, $J = 1.88$ Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

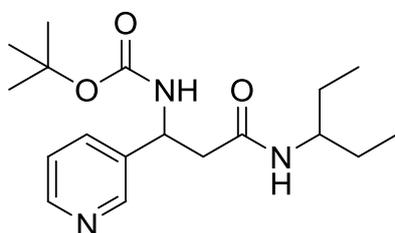
BOC-BETA-PYR-AS-NHR (23)

Allgemeine Methode:

Es wird Verbindung **19** in 10 ml DMF gelöst und mit NMM (3 Eq) versetzt. Zur erhaltenen Lösung wird HCTU oder HBTU (1.0-1.1 Eq) gegeben und anschließend mit dem entsprechenden Amin versetzt. Die Mischung wird drei Stunden bei 25 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit 100 ml Wasser versetzt und mit Ethylacetat (6 x 30 ml) extrahiert. Die organischen Phasen werden vereint und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt.

BOC-BETA-PYR-AS-NHCH(ET)₂ (23A)

Struktur:



Molare Masse: 335.44

Summenformel: C₁₈H₂₉N₃O₃

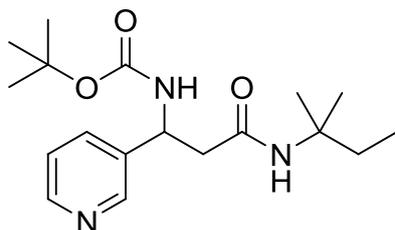
Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 912 mg (9.01 mmol) *N*-Methylmorpholin, 10 ml DMF, 340 mg (3.91 mmol) 3-Aminopentan

Ausbeute: 646 mg (1.93 mmol, 64%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.54 (t, *J* = 6.69 Hz, 3 H, CH₃), 0.74 (t, *J* = 7.45 Hz, 3 H, CH₃), 1.02 – 1.45 (m, 4 H, CH₂CH₃), 1.31 – 1.37 (br. s, 9 H, C(CH₃)₃), 2.51 – 2.73 (m, 2 H, CH₂), 3.51 – 3.65 (m, 1 H, NCH(CH₂CH₃)₂), 4.98 (d, *J* = 4.55 Hz, 1 H, CHN), 7.19 (dd, *J* = 8.08, 5.05 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.61 (dt, *J* = 7.83, 1.77 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.37 – 8.42 (m, 2 H, 6/2-Pyr-CH).

BOC-BETA-PYR-AS-NHC(CH₃)₂(CH₂CH₃) (**23B**)

Struktur:



Molare Masse: 335.44

Summenformel: C₁₈H₂₉N₃O₃

Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 912 mg (9.01 mmol) *N*-Methylmorpholin, 10 ml DMF, 340 mg (3.91 mmol) 2-Methylbutan-2-amin

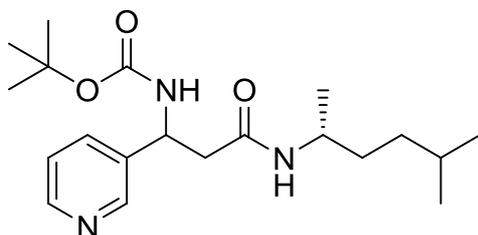
Ausbeute: 907 mg (2.70 mmol, 90%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.56 (t, *J* = 7.45 Hz, 3 H, CH₂CH₃), 1.06 (d, *J* = 3.28 Hz, 6 H, C(CH₃)₂), 1.15 (t, *J* = 7.20 Hz, 2 H, CH₂CH₃), 1.30 (br. s., 9 H, C(CH₃)₃), 1.49 (q, *J* = 7.58 Hz, 2 H, CH₂CH₃), 2.42 – 2.63 (m, 2 H, CH₂), 4.92 (br. s., 1 H, CHN), 5.85 (br. s., 1 H, NH), 6.63 (br. s., 1 H, NH), 7.15 (dd, *J* = 7.83, 4.80 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.58 (dt, *J* = 7.83, 1.77 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.36 (dd, *J* = 4.80, 1.52 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.39 (d, *J* = 2.27 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.13 (CH₂CH₃), 25.18, 25.21 (2 C, C(CH₃)₂), 27.3 (3 C, C(CH₃)₃), 31.5 (CH₂CH₃), 41.6 (CH₂), 49.1 (C_q, CHN), 53.3 (C_q, C(CH₃)₂CH₂), 78.6 (C_q, C(CH₃)₃), 122.4 (5-Pyr-CH), 133.2 (4-Pyr-CH), 136.7 (C_q, 3-Pyr-C), 147.0, 147.3 (2/6-Pyr-CH), 154.4 (NC(=O)O), 168.6 (CO).

BOC-BETA-PYR-AS-NHCH(CH₃)CH₂CH₂CH(CH₃)₂ (**23C**)

Struktur:



Molare Masse: 363.49

Summenformel: C₂₀H₃₃N₃O₃

Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 912 mg (9.01 mmol) *N*-Methylmorpholin, 10 ml DMF, 450 mg (3.91 mmol) (*R*)-5-Methylhexan-2-amin

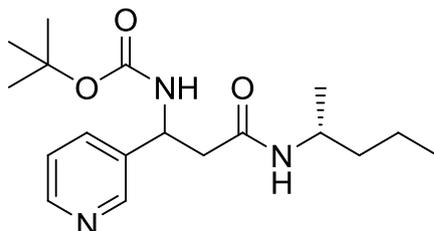
Ausbeute: 800 mg (2.20 mmol, 73%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.74 (2 d, *J* = 2.91 Hz, 3 H, CH₃), 0.77 (2 d, *J* = 2.27 Hz, 3 H, CH₃), 0.80 – 1.45 (m, 8 H), 1.35 (br. s., 9 H, C(CH₃)₃), 2.46 – 2.72 (m, 2 H, CH₂), 3.75 (dt, *J* = 13.45, 6.79 Hz, 1 H, NCH(CH₃)), 4.97 (m, 1 H, CHN), 5.76 (br. s., 1 H, NH), 6.57 (br. s., 1

H, NH), 7.17 – 7.23 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.62 (dt, $J = 7.83, 1.89$ Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.39 – 8.43 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH).

BOC-BETA-PYR-AS-NHCH(CH₃)CH₂CH₂CH₃ (**23D**)

Struktur:



Molare Masse: 335.44

Summenformel: C₁₈H₂₉N₃O₃

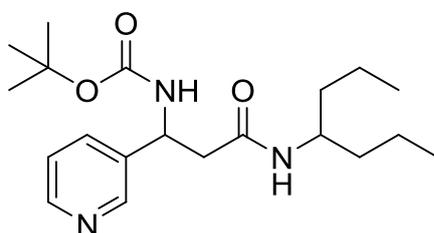
Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 912 mg (9.01 mmol) *N*-Methylmorpholin, 10 ml DMF, 450 mg (3.91 mmol) (*R*)-Pentan-2-amin

Ausbeute: 800 mg (2.20 mmol, 73%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.70 – 0.83 (m, 3 H, CH₂CH₃), 0.83 – 1.00 (m, 3 H, CH₃), 1.08 – 1.30 (m, 3 H), 1.35 (br. s., 9 H, CH₃), 2.45 – 2.72 (m, 2 H, CH₂), 3.74 – 3.87 (m, 1 H, NCH(CH₃)), 4.92 – 5.04 (m, 1 H, CHN), 5.59 – 5.72 (m, 1 H, NH), 6.43 – 6.64 (m, 1 H, NH), 7.18 – 7.24 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.62 (d, $J = 7.33$ Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.41 (ddd, $J = 3.60, 2.27, 1.96$ Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.44 (d, $J = 2.02$ Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

BOC-BETA-PYR-AS-NHCH(CH₂CH₂CH₃)₂ (**23E**)

Struktur:



Molare Masse: 363.49

Summenformel: C₂₀H₃₃N₃O₃

Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 912 mg (9.01 mmol) *N*-Methylmorpholin, 10 ml DMF, 450 mg (3.91 mmol) Heptan-4-amin

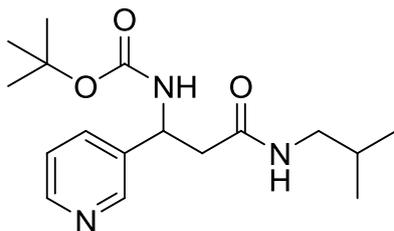
Ausbeute: 983 mg (2.70 mmol, 90%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.70 (t, $J = 7.07$ Hz, 3 H, CH₃), 0.79 (t, $J = 7.07$ Hz, 3 H, CH₃),

0.83 – 1.31 (m, 8 H), 1.35 (br. s., 9 H, $\underline{\text{CH}}_3$), 2.52 – 2.73 (m, 2 H), 3.68 – 3.79 (m, 1 H, $\underline{\text{NHCH}}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 4.98 (d, $J = 5.31$ Hz, 1 H, $\underline{\text{CHN}}$), 5.69 (d, $J = 6.82$ Hz, 1 H, $\underline{\text{CHN}}$), 6.67 (br. s., 1 H, $\underline{\text{NH}}$), 7.18 – 7.23 (m, 1 H, 5-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 7.64 (dt, $J = 8.02, 1.67$ Hz, 1 H, $\underline{\text{NH}}$), 8.39 (dd, $J = 4.80, 1.52$ Hz, 1 H, 6-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 8.42 (d, $J = 2.27$ Hz, 1 H, 2-Pyr- $\underline{\text{CH}}$).

BOC-BETA-PYR-AS-NHCH₂CH(CH₃)₂ (23F)

Struktur:



Molare Masse: 321.41

Summenformel: C₁₇H₂₇N₃O₃

Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 912 mg (9.01 mmol) *N*-Methylmorpholin, 10 ml DMF, 330 mg (4.51 mmol) 2-Methylpropan-1-amin

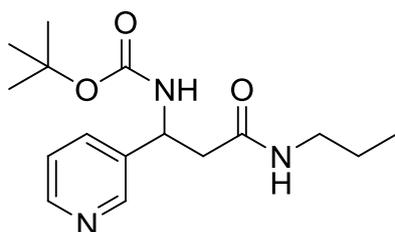
Ausbeute: 670 mg (2.09 mmol, 69%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.68 (d, $J = 4.29$ Hz, 3 H, $\underline{\text{CH}}_3$), 0.70 (d, $J = 4.29$ Hz, 3 H, $\underline{\text{CH}}_3$), 1.34 (br. s., 9 H, $\underline{\text{CH}}_3$), 1.45 – 1.65 (m, 1 H, $\underline{\text{CH}}(\text{CH}_3)_2$), 2.47 – 2.70 (d, 2 H, $\underline{\text{NCH}}_2\text{CH}$), 2.78 – 3.00 (m, 2 H, $\underline{\text{CH}}_2$), 4.97 (d, $J = 3.54$ Hz, 1 H, $\underline{\text{CHN}}$), 6.26 (br. s., 1 H, $\underline{\text{NH}}$), 6.56 (br. s., 1 H, $\underline{\text{NH}}$), 7.11 – 7.28 (m, 1 H, 5-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 7.60 (d, $J = 7.83$ Hz, 1 H, 4-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 8.40 (br. s., 2 H, 2/6-Pyr- $\underline{\text{CH}}$).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 19.9 ($\underline{\text{CH}}_2\underline{\text{CH}}_3$), 28.26 ($\underline{\text{CH}}_2$), 28.30 ((3 C, $\underline{\text{CH}}_3$), 41.9 ($\underline{\text{CH}}_2$), 46.6 ($\underline{\text{CHN}}$), 50.0 ($\underline{\text{CH}}_2\text{N}$), 79.7 ($\underline{\text{CHN}}$), 123.54, 123.58 (5-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 133.9 (4-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 137.6 (3-Pyr- $\underline{\text{C}}$), 147.8, 148.3 (2 C, 2/6-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 155.3 ($\underline{\text{C}}=\text{O}$), 169.9 ($\underline{\text{N}}\underline{\text{C}}(\text{=O})\text{O}$).

BOC-BETA-PYR-AS-NHCH₂CH₂CH₃ (**23G**)

Struktur:



Molare Masse: 307.39

Summenformel: C₁₆H₂₅N₃O₃

Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 912 mg (9.01 mmol) *N*-Methylmorpholin, 10 ml DMF, 300 mg (5.08 mmol) Propylamin

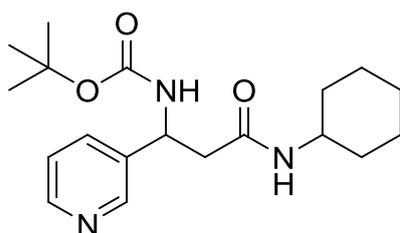
Ausbeute: 550 mg (1.79 mmol, 60%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.73 (t, *J* = 7.33 Hz, 3 H, CH₂CH₃), 1.16 – 1.45 (m, 11 H), 2.56 (d, *J* = 5.81 Hz, 2 H, NCH₂), 2.93 – 3.11 (m, 2 H, CH₂), 4.98 (br. s., 1 H, CHN), 7.13 – 7.33 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.61 (d, *J* = 7.83 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.43 (br. s., 2 H, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 11.2 (CH₃), 22.6 (CH₂CH₃), 29.3 (3 C, C(CH₃)₃), 41.2 (CH₂), 41.9 (NCH₂), 49.9 (CHN), 79.8 (C_q, C(CH₃)₃), 123.5 (5-Pyr-CH), 134.0 (6-Pyr-CH), 137.6 (C_q, 3-Pyr-C), 147.8 (6-Pyr-CH), 148.4 (2-Pyr-CH), 155.3 (NC(=O)O), 168.8 (CO).

BOC-BETA-PYR-AS-NHC₆H₁₁ (**23H**)

Struktur:



Molare Masse: 347.45

Summenformel: C₁₉H₂₉N₃O₃

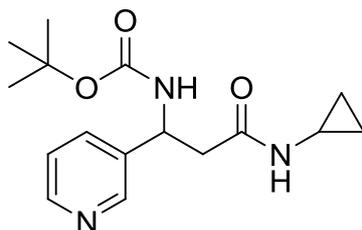
Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.80 g (17.8 mmol) *N*-Methylmorpholin, 10 ml DMF, 387 mg (3.91 mmol) Cyclohexylamin

Ausbeute: 600 mg (1.28 mmol, 58%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.68 – 1.95 (m, 19 H), 2.38 – 2.75 (m, 2 H, CH₂CO), 3.47 – 3.74 (m, 1 H, C(=O)NCH), 4.98 (d, *J* = 5.05 Hz, 1 H, OC(=O)CHN), 5.50 (d, *J* = 6.57 Hz, 1 H, NH), 6.46 (br. s., 1 H, NH), 7.06 – 7.30 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.61 (d, *J* = 8.08 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.45 (d, *J* = 7.33 Hz, 2 H, 2/6-Pyr-CH).

BOC-BETA-PYR-AS-NHC₃H₅ (**23I**)

Struktur:



Molare Masse: 305.37

Summenformel: C₁₆H₂₃N₃O₃

Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.80 g (17.8 mmol) *N*-Methylmorpholin, 10 ml DMF, 223 mg (3.91 mmol) Cyclopropylamin

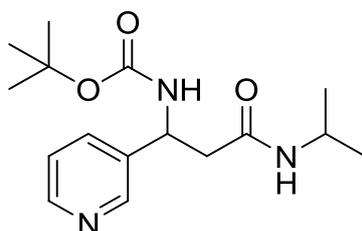
Ausbeute: 590 mg (1.93 mmol, 64%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.15 -0.63 (dd, *J* = 7.07, 1.77 Hz, 4 H, CH₂), 1.35 (br. s., 9 H, CH₃), 2.38 – 2.75 (m, 3 H, CH₂CO, CH), 4.96 (d, *J* = 5.81 Hz, 1 H, OC(=O)NHCH), 6.21 (br. s., 1 H, NH), 6.40 (br. s., 1 H, NH), 7.21 (br. s., 1 H, 5-Pyr-CH), 7.61 (d, *J* = 7.83 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.42 (br. s., 2 H, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 6.4 (2 C, CH₂), 22.4 (NCH), 28.3 (3 C, CH₃), 41.7 (CH₂CO), 49.9 (OC(=O)NHCH), 79.9 (C(CH₃)₃), 123.5 (5-Pyr-CH), 134.0 (4-Pyr-CH), 137.6 (C_q, 3-Pyr-C), 147.7, 148.4 (2/6-Pyr-CH), 155.3 (NCO₂), 171.4 (CO).

BOC-BETA-PYR-AS-NHCH(CH₃)₂ (**23J**)

Struktur:



Molare Masse: 307.39

Summenformel: C₁₆H₂₅N₃O₃

Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.80 g (17.8 mmol) *N*-Methylmorpholin, 10 ml DMF, 231 mg (3.91 mmol) 2-Aminopropan

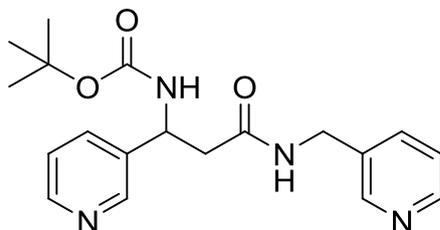
Ausbeute: 831 mg (2.70 mmol, 90%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.89 (d, *J* = 6.57 Hz, 3 H, CH₃), 0.98 (d, *J* = 6.57 Hz, 3 H, CH₃), 1.35 (br. s., 9 H, C(CH₃)₃), 2.50 (dd, *J* = 14.40, 6.06 Hz, 1 H, CH₂), 2.65 (d, *J* = 11.37 Hz, 1 H, CH₂), 3.75 – 4.02 (m, 1 H, CH(CH₃)₂), 4.96 (d, *J* = 4.55 Hz, 1 H, OC(=O)NHCH), 5.84 (d,

$J = 3.54$ Hz, 1 H, NH), 6.46 (d, $J = 1.26$ Hz, 1 H, NH), 7.20 (dd, $J = 7.71, 4.67$ Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.60 (d, $J = 7.83$ Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.28 – 8.54 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH).

BOC-BETA-PYR-AS-NHCH₂(C₅H₄N) (23K)

Struktur:



Molare Masse: 356.42

Summenformel: C₁₉H₂₄N₄O₃

Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.80 g (17.8 mmol) *N*-Methylmorpholin, 10 ml DMF, 422 mg (3.91 mmol) 3-Picolylamin

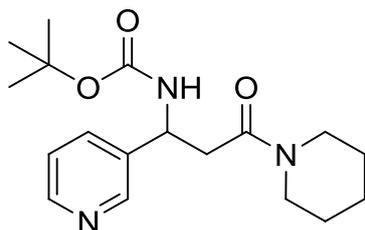
Ausbeute: 530 mg (1.49 mmol, 50%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.34 (br. s., 9 H, CH₃), 2.58 – 2.79 (m, 2 H, CH₂), 4.12 – 4.35 (m, 2 H, NCH₂), 4.99 (d, $J = 6.32$ Hz, 1 H, CHN), 6.46 (br. s., 1 H, NH), 7.13 (dd, $J = 7.71, 4.93$ Hz, 1 H, 5-Pyr_A-CH), 7.16 (dd, $J = 8.08, 5.05$ Hz, 1 H, 5-Pyr_B-CH), 7.32 (d, $J = 7.83$ Hz, 1 H, 6-Pyr_A-CH), 7.57 (dt, $J = 7.89, 1.74$ Hz, 1 H, 6-Pyr_B-CH), 8.17 (d, $J = 2.02$ Hz, 1 H, 2-Pyr_A-CH), 8.26 (d, $J = 1.77$ Hz, 1 H, 2-Pyr_B-CH), 8.38 (dd, $J = 4.80, 1.52$ Hz, 1 H, 4-Pyr_B-CH), 8.40 (dd, $J = 4.93, 1.64$ Hz, 1 H, 4-Pyr_A-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 28.3 (CH₃), 40.8 (CH₂), 41.8 (NCH₂), 49.9 (CHN), 79.9 (C_q, C(CH₃)₃), 123.6, 123.7 (2 C, 5-Pyr-CH), 133.6 (C_q, 3-Pyr_A-C), 134.2 (4-Pyr_A-CH), 135.6 (4-Pyr-CH), 137.5 (C_q, 3-Pyr_B-C), 147.6, 148.2, 148.7, 149.0 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 155.3 (NCO₂), 170.1 (CO).

BOC-BETA-PYR-AS-N(CH₂)₅ (**23L**)

Struktur:



Molare Masse: 333.43

Summenformel: C₁₈H₂₇N₃O₃

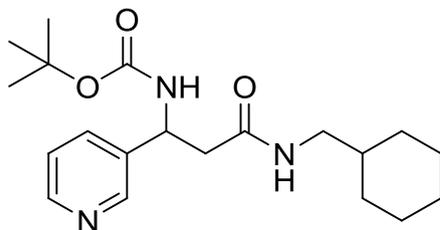
Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.80 g (17.8 mmol) *N*-Methylmorpholin, 10 ml DMF, 307 mg (3.61 mmol) Piperidin

Ausbeute: 500 mg (3.61 mmol, 50%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.15 – 1.56 (m, 15 H), 2.74 (dd, *J* = 15.54, 5.18 Hz, 1 H, C(=O)CH₂), 2.92 (dd, *J* = 15.66, 5.05 Hz, 1 H, C(=O)CH₂), 3.10 – 3.27 (m, 2 H, NCH₂), 3.29 – 3.49 (m, 2 H, NCH₂), 5.03 (d, *J* = 7.33 Hz, 1 H, NH), 6.40 (d, *J* = 1.77 Hz, 1 H, NH), 7.14 – 7.24 (m, *J* = 7.58, 4.80 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.59 – 7.67 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.43 (br. s., 1 H, 6-Pyr-CH), 8.51 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH).

BOC-BETA-PYR-AS-NHCH₂C₆H₁₁ (**23M**)

Struktur:



Molare Masse: 361.48

Summenformel: C₂₀H₃₁N₃O₃

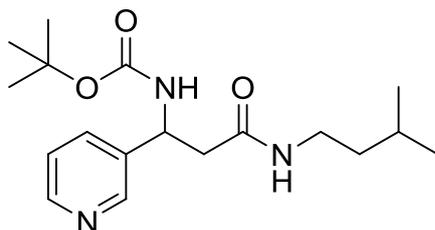
Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.80 g (17.8 mmol) *N*-Methylmorpholin, 10 ml DMF, 584 mg (3.61 mmol) Cyclohexylmethylamin

Ausbeute: 945 mg (2.61 mmol, 87%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.56 – 0.86 (m, 2 H), 0.97 – 1.14 (m, 3 H), 1.16 – 1.31 (m, 2 H), 1.31 – 1.50 (m, 10 H), 1.50 – 1.68 (m, 3 H), 2.55 (dd, *J* = 14.40, 5.81 Hz, 1 H, C(=O)CH₂), 2.71 (d, *J* = 10.61 Hz, 1 H, C(=O)CH₂), 2.78 – 2.89 (m, 1 H, NHCH₂), 2.89 – 3.03 (m, 1 H, NHCH₂), 4.98 (d, *J* = 5.56 Hz, 1 H, CHN), 5.99 (br. s., 1 H, NH), 6.54 (br. s., 1 H, NH), 7.13 – 7.26 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.60 (d, *J* = 8.08 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.42 (br. s., 2 H, 2/6-Pyr-CH).

BOC-BETA-PYR-AS-NHCH₂CH₂CH(CH₃)₂ (**23N**)

Struktur:



Molare Masse: 335.44

Summenformel: C₁₈H₂₉N₃O₃

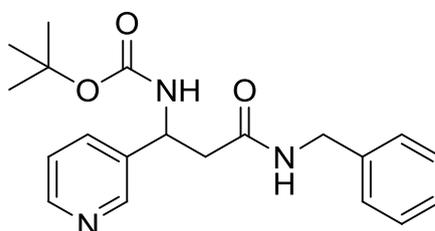
Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.80 g (17.8 mmol) *N*-Methylmorpholin, 7 ml DMF, 314 mg (3.61 mmol) 3-Methylbutan-1-amin

Ausbeute: 800 mg (2.39 mmol, 79%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.78 (d, *J* = 4.04 Hz, 3 H, CHCH₃), 0.79 (d, *J* = 4.04 Hz, 3 H, CHCH₃), 1.14 (q, *J* = 7.07 Hz, 2 H, CHCH₂), 1.20 – 1.31 (m, 10 H), 2.51 – 2.72 (m, 2 H, C(=O)CH₂), 3.05 – 3.13 (m, 2 H, NCH₂), 4.92 (d, *J* = 7.07 Hz, 1 H, CHN), 7.32 (dd, *J* = 7.45, 4.67 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.66 (d, *J* = 7.83 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.43 (br. s., 2 H, 2/6-Pyr-CH).

BOC-BETA-PYR-AS-NHCH₂(C₆H₅) (**23O**)

Struktur:



Molare Masse: 365.43

Summenformel: C₂₀H₂₅N₃O₃

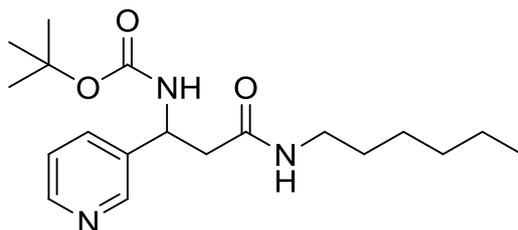
Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.80 g (17.8 mmol) *N*-Methylmorpholin, 7 ml DMF, 386 mg (3.61 mmol) Benzylamin

Ausbeute: 878 mg (2.47 mmol, 82%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.36 (br. s., 9 H, CH₃), 2.64 (d, *J* = 7.33 Hz, 2 H, CH₂), 4.09 – 4.29 (m, 2 H, NCH₂), 4.90 – 5.05 (m, 1 H, CHN), 7.01 (d, *J* = 6.57 Hz, 2 H, Ph), 7.16 – 7.27 (m, 3 H, Ph), 7.34 (dd, *J* = 7.71, 4.67 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.69 (d, *J* = 7.83 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.47 (d, *J* = 3.03 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.51 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH).

BOC-BETA-PYR-AS-NHCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃ (**23P**)

Struktur:



Molare Masse: 335.44

Summenformel: C₁₈H₂₉N₃O₃

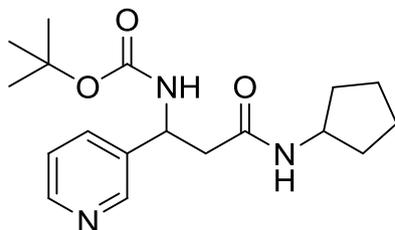
Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.80 g (17.8 mmol) *N*-Methylmorpholin, 7 ml DMF, 314 mg (3.61 mmol) 1-Aminohexan

Ausbeute: 248 mg (0.710 mmol, 21 %)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.84 (t, *J* = 7.07 Hz, 3 H, CH₂CH₃), 1.03 – 1.26 (m, 8 H, CH₂), 1.35 (br. s., 9 H, CH₃), 2.43 – 2.59 (m, 2 H, CH₂CO), 2.83 – 3.02 (m, 2 H, CH₂N), 4.92 (d, *J* = 7.58 Hz, 1 H, CHN), 7.32 (dd, *J* = 7.45, 4.67 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.49 (d, *J* = 7.83 Hz, 1 H, CHNH), 7.66 (d, *J* = 7.58 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 7.77 (t, *J* = 5.43 Hz, 1 H, CH₂NH), 8.45 (d, *J* = 19.71 Hz, 2 H, 2/6-Pyr-CH).

BOC-BETA-PYR-AS-NHC₅H₉ (**23Q**)

Struktur:



Molare Masse: 333.43

Summenformel: C₁₈H₂₇N₃O₃

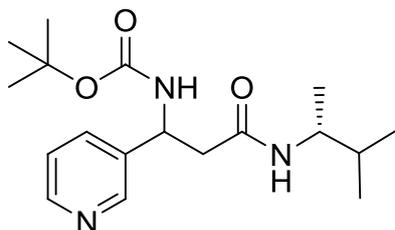
Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.80 g (17.8 mmol) *N*-Methylmorpholin, 7 ml DMF, 307 mg (3.61 mmol) Cyclopentanamin

Ausbeute: 243 mg (0.729 mmol, 24 %)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.13 – 1.59 (m, 15 H), 1.66 – 1.78 (m, 2 H), 2.52 – 2.60 (m, 2 H, CH₂CHN), 3.88 – 4.00 (m, 1 H, CHN), 4.97 (d, *J* = 7.33 Hz, 1 H, CH₂CHN), 7.39 (dd, *J* = 7.83, 4.80 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.54 (d, *J* = 8.08 Hz, 1 H, NH), 7.72 (d, *J* = 7.83 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 7.79 (d, *J* = 7.07 Hz, 1 H, NH), 8.48 (dd, *J* = 4.67, 1.39 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.53 (d, *J* = 1.01 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

BOC-BETA-PYR-AS-NHCH(*R*-CH₃)CH(CH₃)₂ (**23R**)

Struktur:



Molare Masse: 335.44

Summenformel: C₁₈H₂₉N₃O₃

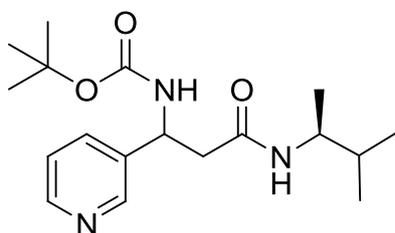
Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.80 g (17.8 mmol) *N*-Methylmorpholin, 7 ml DMF, 314 mg (3.61 mmol) (*R*)-3-Methylbutan-2-amin

Ausbeute: 130 mg (0.388 mmol, 13%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.56 – 0.93 (m, 9 H, CH₃), 1.26 – 1.41 (m, 9 H, C(CH₃)₃), 1.40 – 1.58 (m, 1 H, CH(CH₃)₂), 2.43 – 2.60 (m, 2 H, CH₂), 3.43 – 3.59 (m, 1 H, NHCH(CH₃)), 4.91 (d, *J* = 7.33 Hz, 1 H, CHN), 7.50 – 7.61 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.67 (d, *J* = 7.58 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.43 (br. s., 1 H, 6-Pyr-CH), 8.48 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH).

BOC-BETA-PYR-AS-NHCH(*S*-CH₃)CH(CH₃)₂ (**23S**)

Struktur:



Molare Masse: 335.44

Summenformel: C₁₈H₂₈N₃O₃

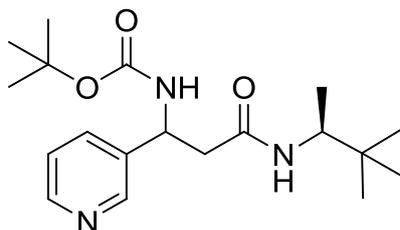
Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.80 g (17.8 mmol) *N*-Methylmorpholin, 7 ml DMF, 314 mg (3.61 mmol) (*S*)-3-Methylbutan-2-amin

Ausbeute: 240 mg (0.715 mmol, 24 %)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.53 – 0.95 (m, 9 H, CH₃), 1.34 (br. s., 9 H, C(CH₃)₃), 1.38 – 1.56 (m, 1 H, CH(CH₃)₂), 2.44 – 2.76 (m, 2 H, CH₂CO), 3.66 (ddd, *J* = 8.72, 6.57, 6.44 Hz, 1 H, NHCH(CH₃)), 4.98 (br. s., 1 H, CHN), 5.60 (br. s., 1 H, NH), 6.42 – 6.65 (m, 1 H, NH), 7.18 – 7.26 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.64 (d, *J* = 7.58 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.40 (br. s., 1 H, 6-Pyr-CH), 8.45 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH).

BOC-BETA-PYR-AS-NHCH(S-CH₃)C(CH₃)₃ (**23T**)

Struktur:



Molare Masse: 349.47

Summenformel: C₁₉H₃₁N₃O₃

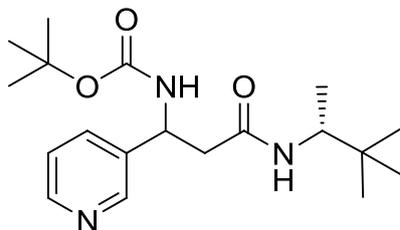
Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.80 g (17.8 mmol) *N*-Methylmorpholin, 7 ml DMF, 314 mg (3.61 mmol) (*S*)-3,3-Dimethylbutan-2-amin

Ausbeute: 51 mg (0.146 mmol, 5%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.60 – 0.77 (m, 9 H, CH₃), 0.73 – 0.96 (m, 3 H, NCHCH₃), 1.38 (br. s., 9 H, OC(CH₃)₃), 2.48 – 2.79 (m, 2 H, CH₂), 3.61 – 3.80 (m, 1 H, NCH(CH₃)), 5.00 (br. s., 1 H, NH), 5.42 (dd, *J* = 18.95, 9.35 Hz, 1 H, CHN), 6.46 (br. s., 1 H, NH), 7.16 – 7.26 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.63 (d, *J* = 7.83 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.44 (br. s., 1 H, 6-Pyr-CH), 8.51 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH).

BOC-BETA-PYR-AS-NHCH(R-CH₃)C(CH₃)₃ (**23U**)

Struktur:



Molare Masse: 349.47

Summenformel: C₁₉H₃₁N₃O₃

Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.80 g (17.8 mmol) *N*-Methylmorpholin, 7 ml DMF, 314 mg (3.61 mmol) (*R*)-3,3-Dimethylbutan-2-amin

Ausbeute: 86 mg (0.246 mmol, 8%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.60 – 0.77 (m, 9 H, C(CH₃)₃), 0.74 – 0.95 (m, 3 H, CH₃), 1.35 (br. s., 9 H, OC(CH₃)₃), 2.46 – 2.78 (m, 2 H, CH₂), 3.71 (ddd, *J* = 9.66, 6.76, 5.56 Hz, 1 H, NCH(CH₃)), 4.99 (br. s., 1 H, CHN), 5.47 – 5.61 (m, 1 H, NH), 6.38 – 6.61 (m, 1 H, NH), 7.13 – 7.26 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.62 (d, *J* = 7.83 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.43 (br. s., 1 H, 6-Pyr-CH), 8.46 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH).

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.60 (t, *J* = 7.34 Hz, 3 H, CH₂CH₃), 1.16 (d, *J* = 16.44 Hz, 6 H, C(CH₃)₂), 1.38 (br. s., 9 H, CH₃), 1.59 (td, *J* = 14.09, 6.71 Hz, 2 H, CH₂), 5.22 (d, *J* = 8.16 Hz,

1 H, $\underline{\text{CHN}}$), 7.36 (dd, $J = 7.91, 4.77$ Hz, 1 H, 5-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 7.80 (d, $J = 7.91$ Hz, 1 H, 4-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 8.47 (dd, $J = 4.77, 1.51$ Hz, 1 H, 6-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 8.61 (d, $J = 1.88$ Hz, 1 H, 2-Pyr- $\underline{\text{CH}}$).

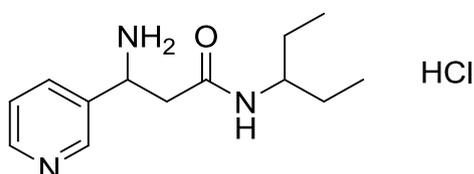
H-BETA-PYR-AS-NHR (24)

Allgemeine Methode:

Verbindung **23** wird in 10 ml Methanol gelöst und bei 0 °C mit methanolischer Salzsäurelösung versetzt. Das Gemisch wird eine Stunde bei 25 °C gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

H-BETA-PYR-AS-NHCH(CH₂CH₃)₂ HCl (24A)

Struktur:



Molare Masse: 271.79

Summenformel: C₁₃H₂₂ClN₃O

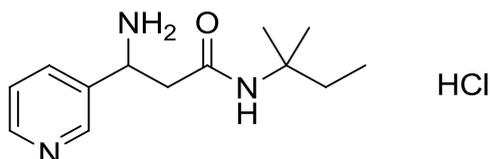
Methode: 500 mg (1.56 mmol) **23a**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 401 mg (1.48 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.46 (t, $J = 7.45$ Hz, 3 H, $\underline{\text{CH}_3}$), 0.72 (t, $J = 7.33$ Hz, 3 H, $\underline{\text{CH}_3}$), 1.02 – 1.43 (m, 4 H, $\underline{\text{CH}_2\text{CH}_3}$), 3.04 (d, $J = 7.58$ Hz, 2 H, $\underline{\text{CH}_2}$), 3.31 – 3.46 (m, 1 H, $\underline{\text{NCH}}$), 4.83 (d, $J = 5.05$ Hz, 1 H, $\underline{\text{CHNH}_3^+}$), 7.90 – 8.04 (m, 2 H, NH, 5-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 8.64 (d, $J = 7.33$ Hz, 1 H, 4-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 8.85 (d, $J = 5.31$ Hz, 1 H, 6-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 9.05 (s, 1 H, 2-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 9.09 (br. s., 3 H, $\underline{\text{NH}_3^+}$).

H-BETA-PYR-AS-NHC(CH₃)CH₂CH₃ HCl (24B)

Struktur:



Molare Masse: 271.79

Summenformel: C₁₃H₂₂ClN₃O

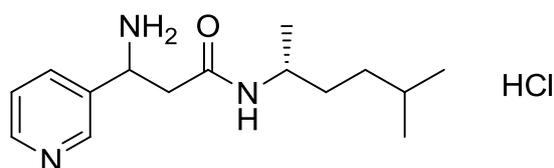
Methode: 500 mg (1.40 mmol) **23b**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 401 mg (1.78 mmol, 99 %)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.52 (t, *J* = 7.45 Hz, 3 H, CH₂CH₃), 1.05 (d, *J* = 13.14 Hz, 6 H, C(CH₃)₂), 1.36 – 1.57 (m, 2 H, CH₂CH₃), 2.94 – 3.12 (m, 2 H, CH₂), 4.83 (d, *J* = 4.55 Hz, 1 H, CHN), 7.73 (s, 1 H, NH), 8.10 (dd, *J* = 8.08, 5.56 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.79 (d, *J* = 8.34 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.92 (d, *J* = 4.80 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.13 (d, *J* = 1.52 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH), 9.17 (d, *J* = 3.28 Hz, 3 H, NH₃⁺).

H-BETA-PYR-AS-NHCH(CH₃)CH₂CH₂CH(CH₃)₂ HCl (**24C**)

Struktur:



Molare Masse: 299.18

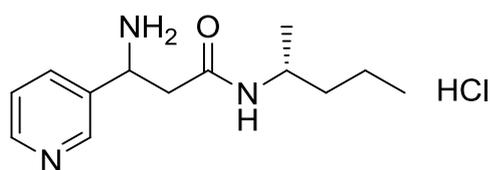
Summenformel: C₁₅H₂₆ClN₃O

Methode: 500 mg (1.38 mmol) **23c**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: Das erhaltene Produkt wurde direkt weiter umgesetzt.

H-BETA-PYR-AS-NHCH(CH₃)CH₂CH₂CH₃ HCl (**24D**)

Struktur:



Molare Masse: 271.15

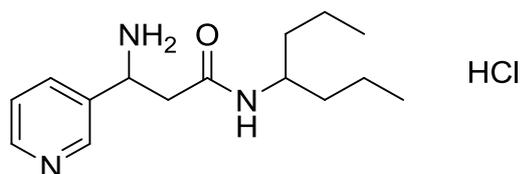
Summenformel: C₁₃H₂₂ClN₃O

Methode: 500 mg (1.49 mmol) **23d**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: Das erhaltene Produkt wurde direkt weiter umgesetzt.

H-BETA-PYR-AS-NHCH(CH₂CH₂CH₃)₂ HCl (**24E**)

Struktur:



Molare Masse: 241.72

Summenformel: C₁₁H₁₆ClN₃O

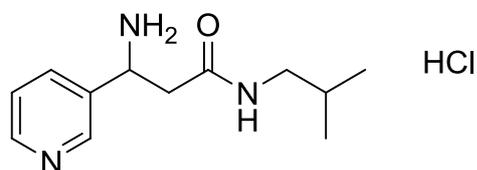
Methode: 430 mg (1.38 mmol) **23e**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 337 mg (1.37 mmol, 99%)

¹H-NMR: ¹H-NMR (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.64 (t, *J* = 7.07 Hz, 3 H, CH₃), 0.71 – 0.80 (m, 2 H), 0.79 (t, *J* = 7.07 Hz, 3 H, CH₃), 1.00 – 1.30 (m, 6 H), 2.94 – 3.07 (m, 2 H, CH₂), 3.56 (dt, *J* = 8.34, 4.17 Hz, 1 H, CH), 4.82 (d, *J* = 5.31 Hz, 1 H, CHNH₃⁺), 7.85 – 8.04 (m, 2 H, 5-Pyr-CH, NH), 8.64 (d, *J* = 7.83 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.86 (d, *J* = 5.31 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.04 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH), 9.07 (d, *J* = 2.78 Hz, 3 H, NH₃⁺).

H-BETA-PYR-AS-NHCH₂CH(CH₃)₂ HCl (**24F**)

Struktur:



Molare Masse: 257.76

Summenformel: C₁₂H₂₀ClN₃O

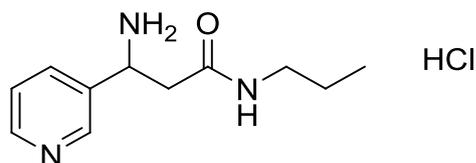
Methode: 500 mg (1.56 mmol) **23f**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 397 mg (1.54 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.68 (dd, *J* = 6.82, 3.03 Hz, 6 H, CH₃), 1.51 (ddd, *J* = 13.52, 6.69, 6.57 Hz, 1 H, CH(CH₃)₂), 2.66 – 2.87 (m, 2 H, CH₂), 3.01 – 3.09 (m, 2 H, NCH₂), 4.86 – 4.91 (m, 1 H, CHN), 8.06 (dd, *J* = 8.08, 5.56 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.26 (t, *J* = 5.81 Hz, 1 H, NH), 8.73 (d, *J* = 8.08 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.90 (d, *J* = 5.30 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.05 (d, *J* = 3.79 Hz, 3 H, NH₃⁺), 9.11 (s, 1 H, 2-Pyr-CH).

H-BETA-PYR-AS-NHCH₂CH₂CH₃ HCl (**24G**)

Struktur:



Molare Masse: 243.73

Summenformel: C₁₁H₁₈ClN₃O

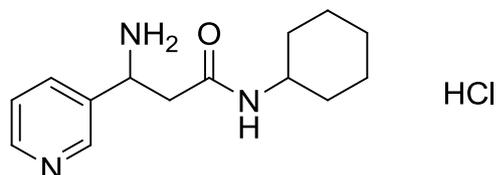
Methode: 500 mg (1.63 mmol) **23g**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 392 mg (1.61 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.68 (t, *J* = 7.33 Hz, 3 H, CH₃), 1.16 – 1.34 (m, *J* = 7.33, 7.20, 7.20, 7.20, 7.20 Hz, 2 H, CH₂CH₃), 2.79 – 2.96 (m, 2 H, CH₂), 2.97 – 3.09 (m, 2 H, NCH₂), 4.87 (d, *J* = 4.80 Hz, 1 H, CHN), 8.05 (dd, *J* = 7.96, 5.68 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.28 (t, *J* = 5.43 Hz, 1 H, NH), 8.74 (d, *J* = 8.34 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.89 (d, *J* = 4.80 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.11 (br. s., 4 H, 2-Pyr-CH, NH₃⁺).

H-BETA-PYR-AS-NHC₆H₁₁ HCl (**24H**)

Struktur:



Molare Masse: 283.80

Summenformel: C₁₄H₂₂ClN₃O

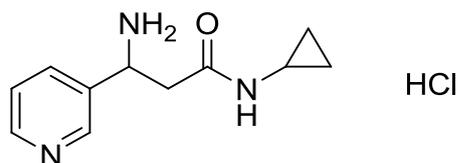
Methode: 500 mg (1.44 mmol) **23h**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 404 mg (1.43 mmol, 99 %)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.85 – 1.68 (m, 10 H, CH₂), 2.94 – 3.05 (m, 2 H, CH₂C(=O)), 3.32 – 3.48 (m, 1 H, CHN), 4.84 (d, *J* = 5.05 Hz, 1 H, CHNH₃⁺), 8.00 (dd, *J* = 8.08, 5.56 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.15 (d, *J* = 7.83 Hz, 1 H, NH), 8.66 (d, *J* = 8.08 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.86 (d, *J* = 4.55 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.06 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH), 9.08 (d, *J* = 3.54 Hz, 3 H, CHNH₃⁺).

H-BETA-PYR-AS-NHC₃H₅ HCl (**24I**)

Struktur:



Molare Masse: 241.72

Summenformel: C₁₁H₁₆ClN₃O

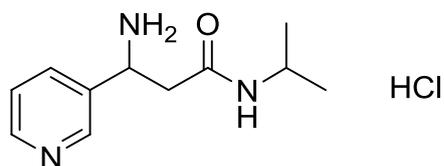
Methode: 430 mg (1.38 mmol) **23i**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 330 mg (1.37 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.16 – 0.77 (m, 4 H, (CH₂)₂), 2.92 – 3.04 (m, 2 H, CH₂), 4.84 – 4.94 (m, 1 H, CHN), 8.07 (dd, *J* = 8.08, 5.81 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.37 (d, *J* = 3.79 Hz, 1 H, NH), 8.71 (d, *J* = 8.34 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.90 (d, *J* = 4.55 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.03 (d, *J* = 2.53 Hz, 3 H, NH₃⁺), 9.10 (d, *J* = 1.01 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

H-BETA-PYR-AS-NHCH(CH₃)₂ HCl (**24J**)

Struktur:



Molare Masse: 243.11

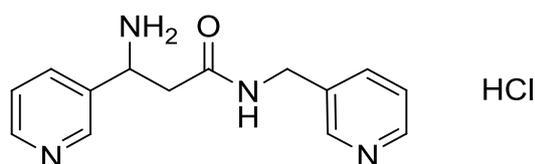
Summenformel: C₁₁H₁₈ClN₃O

Methode: 500 mg (1.63 mmol) **23j**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: Das erhaltene Produkt wurde direkt weiter umgesetzt.

H-BETA-PYR-AS-NHCH₂(C₅H₄N) HCl (**24K**)

Struktur:



Molare Masse: 269.77

Summenformel: C₁₃H₂₀ClN₃O

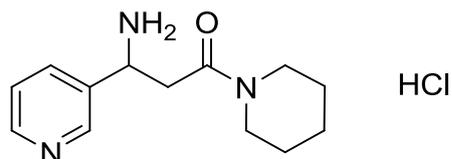
Methode: 500 mg (1.46 mmol) **23k**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 406 mg (1.39 mmol, 99%)

$^1\text{H-NMR}$: (400.13 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 3.06 – 3.21 (m, 2 H), 4.03 – 4.29 (m, 2 H), 4.92 (d, J = 5.05 Hz, 1 H), 6.94 – 7.07 (m, 2 H, 2/6-Ph-CH), 7.13 – 7.31 (m, 3 H, 3/4/5-Ph-CH), 8.08 (dd, J = 7.96, 5.68 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.81 (d, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.84 – 8.86 (m, 1 H, NH), 8.93 (d, J = 5.56 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.17 (d, J = 9.60 Hz, 4 H, 2-Pyr-CH, NH_3^+).

H-BETA-PYR-AS-N(CH₂)₅ HCl (**24L**)

Struktur:



Molare Masse: 269.77

Summenformel: C₁₃H₂₀ClN₃O

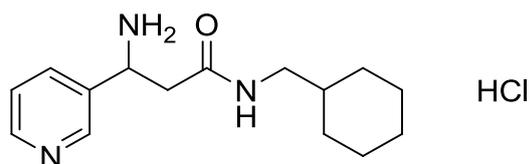
Methode: 450 mg (1.35 mmol) **23l**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 360 mg (1.34 mmol, 99%)

$^1\text{H-NMR}$: (400.13 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 1.29 – 1.64 (m, 6 H, CH₂), 3.21 – 3.47 (m, 6 H, CH₂NCH₂, CHCH₂), 4.91 (d, J = 5.31 Hz, 1 H, CHNH₂), 8.13 (dd, J = 7.96, 5.94 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.86 – 8.95 (m, 2 H, 4/6-Pyr-CH), 9.11 (br. s., 3 H, NH₃⁺), 9.20 (d, J = 1.26 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

H-BETA-PYR-AS-NHCH₂C₆H₁₁ HCl (**24M**)

Struktur:



Molare Masse: 297.82

Summenformel: C₁₅H₂₄ClN₃O

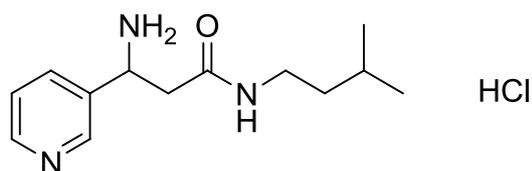
Methode: 500 mg (1.38 mmol) **23m**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 408 mg (1.48 mmol, 99%)

$^1\text{H-NMR}$: (400.13 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 0.59 – 1.56 (m, 11 H), 2.64 – 2.90 (m, 2 H, CH₂), 3.04 (d, J = 7.58 Hz, 2 H, NCH₂), 4.86 (br. s., 1 H, CHN), 7.99 – 8.11 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.25 (br. s., 1 H, NH), 8.68 – 8.79 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.85 – 8.94 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.10 (br. s., 4 H, NH₃⁺, 2-Pyr-CH).

H-BETA-PYR-AS-NHCH₂CH₂CH(CH₃)CH₃ HCl (**24N**)

Struktur:



Molare Masse: 271.79

Summenformel: C₁₃H₂₂ClN₃O

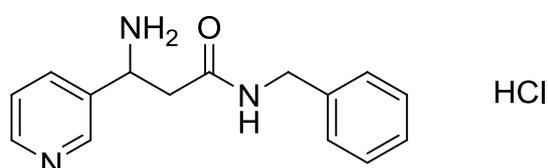
Methode: 500 mg (1.49 mmol) **23n**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 401 mg (1.48 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.75 (dd, *J* = 9.60, 6.57 Hz, 6 H, CH(CH₃)₂), 1.12 (q, *J* = 7.07 Hz, 2 H, CHCH₂), 1.27 (ddd, *J* = 13.52, 6.69, 6.57 Hz, 1 H, CH(CH₃)₂), 2.84 – 3.11 (m, 4 H, CH₂CO, CH₂NH), 4.87 (d, *J* = 4.55 Hz, 1 H, CHNH₃⁺), 8.08 (dd, *J* = 7.83, 5.56 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.27 (t, *J* = 5.43 Hz, 1 H, CH₂NH), 8.79 (d, *J* = 8.08 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.92 (d, *J* = 5.31 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.13 (s, 1 H, 2-Pyr-CH), 9.18 (br. s., 3 H, NH₃⁺).

H-BETA-PYR-AS-NHCH₂(C₆H₅) HCl (**24O**)

Struktur:



Molare Masse: 291.11

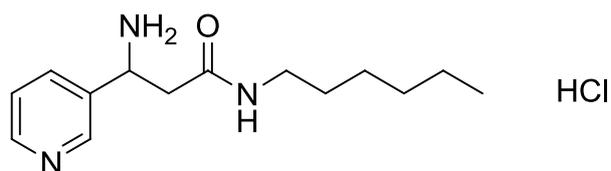
Summenformel: C₁₅H₁₈ClN₃O

Methode: 500 mg (1.41 mmol) **23o**, 1.0 ml HCl (4 N in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: Das Produkt wurde direkt weiter umgesetzt.

H-BETA-PYR-AS-NH(CH₂)₅CH₃ HCl (**24P**)

Struktur:



Molare Masse: 250.36

Summenformel: C₁₄H₂₄N₃O

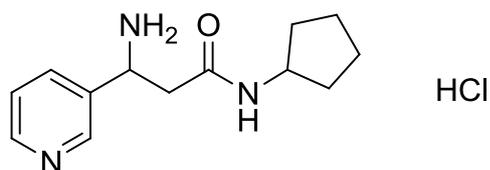
Methode: 500 mg (1.40 mmol) **23p**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 405 mg (1.42 mmol, 99%)

$^1\text{H-NMR}$: (400.13 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 0.81 (t, J = 7.07 Hz, 3 H, CH_3), 1.00 – 1.30 (m, 8 H, CH_2), 2.82 – 3.00 (m, 2 H, CH_2CO), 3.06 (d, J = 7.58 Hz, 2 H, CH_2NH), 4.89 (d, J = 5.31 Hz, 1 H, CHN), 8.13 (dd, J = 8.08, 5.81 Hz, 1 H, 5-Pyr- CH), 8.30 (t, J = 5.43 Hz, 1 H, NH), 8.85 (d, J = 8.08 Hz, 1 H, 4-Pyr- CH), 8.94 (d, J = 5.30 Hz, 1 H, 6-Pyr- CH), 9.16 (s, 1 H, 2-Pyr- CH), 9.20 (d, J = 3.28 Hz, 3 H, NH_3^+).

H-BETA-PYR-AS-NHC₅H₉ HCl (24Q)

Struktur:



Molare Masse: 269.77

Summenformel: C₁₃H₂₀ClN₃O

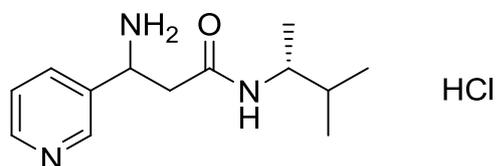
Methode: 500 mg (1.50 mmol) **23q**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 400 mg (1.49 mmol, 99%)

$^1\text{H-NMR}$: (400.13 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 1.01 – 1.77 (m, 8 H, CH_2), 3.03 (d, J = 7.33 Hz, 2 H, CH_2CO), 3.72 – 3.94 (m, 1 H, CHN), 4.87 (d, J = 4.55 Hz, 1 H, CHNH_3^+), 8.11 (dd, J = 8.08, 5.56 Hz, 1 H, 5-Pyr- CH), 8.30 (d, J = 7.07 Hz, 1 H, NH), 8.82 (d, J = 8.08 Hz, 1 H, 4-Pyr- CH), 8.92 (d, J = 5.05 Hz, 1 H, 6-Pyr- CH), 9.14 (d, J = 1.26 Hz, 1 H, 2-Pyr- CH), 9.21 (d, J = 1.77 Hz, 3 H, NH_3^+).

H-BETA-PYR-AS-NHCH(CH₃)CH(CH₃)₂ HCl (24R)

Struktur:



Molare Masse: 271.79

Summenformel: C₁₃H₂₂ClN₃O

Methode: 500 mg (1.40 mmol) **23r**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

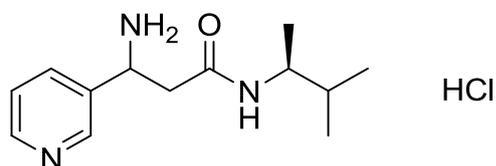
Ausbeute: 401 mg (1.48 mmol, 99%)

$^1\text{H-NMR}$: (400.13 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 0.50 – 0.93 (m, 9 H, CH_3), 1.30 – 1.59 (m, 1 H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2.96 – 3.12 (m, 2 H, CH_2), 3.40 – 3.53 (m, 1 H, $\text{NCH}(\text{CH}_3)$), 4.85 (d, J = 5.31 Hz, 1 H, CHN), 7.98 – 8.12 (m, 2 H, 5-Pyr- CH , NH), 8.68 – 8.72 (m, 1 H, 4-Pyr- CH), 8.89 (br. s., 1 H, 6-Pyr-

CH), 9.11 (br. s., 4 H, 2-Pyr-CH, NH₃⁺).

H-BETA-PYR-AS-NHCH(CH₃)CH(CH₃)₂ HCl (**24S**)

Struktur:



Molare Masse: 271.79

Summenformel: C₁₃H₂₂ClN₃O

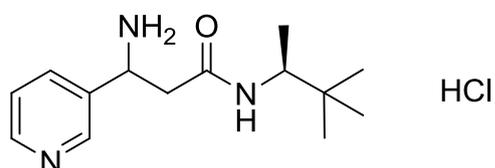
Methode: 500 mg (1.40 mmol) **23s**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 401 mg (1.38 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.48 – 0.93 (m, 9 H, CH₃), 1.28 – 1.59 (m, 1 H, CH(CH₃)₂), 2.97 – 3.11 (m, 2 H, CH₂), 3.37 – 3.52 (m, 1 H, NCH(CH₃)), 4.87 (br. s., 1 H, CHN), 8.05 – 8.13 (m, 2 H, 5-Pyr-CH, NH), 8.78 – 8.82 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.91 (d, *J* = 5.31 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.13 (s, 1 H, 2-Pyr-CH), 9.18 (br. s., 3 H, NH₃⁺).

H-BETA-PYR-AS-NHCH(CH₃)C(CH₃)₃ HCl (**24T**)

Struktur:



Molare Masse: 285.81

Summenformel: C₁₄H₂₄ClN₃O

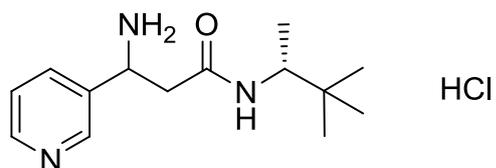
Methode: 500 mg (1.43 mmol) **23t**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 405 mg (1.42 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.52 – 0.91 (m, 12 H, CH₃), 2.97 – 3.20 (m, 2 H, CH₂C(=O)), 3.46 – 3.59 (m, 1 H, CHNH), 4.86 (d, *J* = 4.29 Hz, 1 H, CHNH₃⁺), 7.97 (t, *J* = 8.59 Hz, 1 H, NH), 8.03 – 8.12 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.78 (dd, *J* = 13.39, 8.34 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.90 (d, *J* = 5.56 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.12 (s, 1 H, 2-Pyr-CH), 9.17 (br. s., 3 H, CHNH₃⁺)

H-BETA-PYR-AS-NHCH(CH₃)C(CH₃)₃ HCl (**24U**)

Struktur:



Molare Masse: 285.81

Summenformel: C₁₄H₂₄ClN₃O

Methode: 500 mg (1.43 mmol) **23u**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 382 mg (1.34 mmol, 93%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.46 – 0.97 (m, 12 H, C(CH₃)₃), 2.99 – 3.24 (m, 2 H, CH₂), 3.51 (dd, *J* = 8.72, 7.20 Hz, 1 H, CHCH₃), 4.86 (br. s., 1 H, CHNH₃⁺), 7.98 (t, *J* = 8.46 Hz, 1 H, NH), 8.10 (dd, *J* = 8.08, 5.56 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.82 (dd, *J* = 14.53, 8.21 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.91 (d, *J* = 5.31 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.13 (s, 1 H, 2-Pyr-CH), 9.21 (br. s., 3 H, CHNH₃⁺).

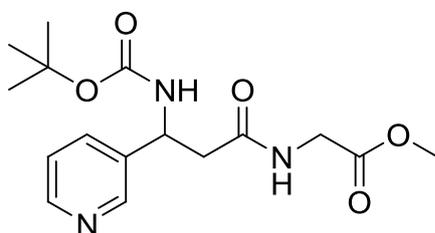
BOC-BETA-PYR-AS-AS-OR (25)

Allgemeine Methode:

Es wird Verbindung **19** in 10 ml DMF gelöst und mit NMM (3 Eq) versetzt. Zur erhaltenen Lösung wird HCTU oder HBTU (1.0-1.1 Eq) gegeben und anschließend mit der entsprechenden Aminosäure versetzt. Die Mischung wird 2 Stunden bei 25 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit 100 ml Wasser versetzt und mit Ethylacetat (6 x 30 ml) extrahiert. Die organischen Phasen werden vereint und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Produkt wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Cyclohexan/Ethylacetat 9/1).

BOC-BETA-PYR-AS-NH-GLY-OCH₃ (25A)

Struktur:



Molare Masse: 337.37

Summenformel: C₁₆H₂₃N₃O₅

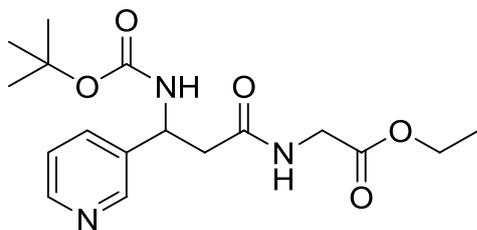
Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.16 g (9.00 mmol) DIPEA, 7 ml DMF, 377 mg (3.61 mmol) H-Gly-OMe*HCl

Ausbeute: 950 mg (2.37 mmol, 79%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.32 – 1.38 (m, 9 H, CH₃), 2.63 (d, 3 H, OCH₃), 3.59 (s, 2 H, Gly-CH₂), 3.77 (d, *J* = 5.81 Hz, 1 H, CH₂), 4.94 (d, 1 H, CHN), 7.30 – 7.36 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.65 – 7.73 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.43 (dd, *J* = 4.67, 1.39 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.49 (d, *J* = 1.77 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

BOC-BETA-PYR-AS-NH-GLY-OCH₂CH₃ (25B)

Struktur:



Molare Masse: 351.40

Summenformel: C₁₇H₂₅N₃O₅

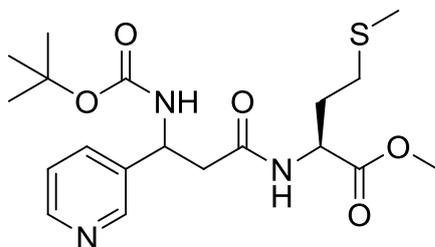
Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.16 g (9.00 mmol) DIPEA, 7 ml DMF, 419 mg (3.00 mmol) H-Gly-OEt*HCl

Ausbeute: 684 mg (1.95 mmol, 65%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.16 (t, *J* = 7.20 Hz, 3 H, CH₂CH₃), 1.19 – 1.30 (m, 2 H), 1.29 – 1.41 (m, 9 H, CH₃), 2.55 – 2.67 (m, 2 H, CH₂CO), 3.75 (dd, *J* = 5.81, 1.77 Hz, 2 H, CH₂N), 3.93 – 4.18 (m, 2 H, OCH₂), 4.94 (d, *J* = 7.07 Hz, 1 H, CHN), 7.33 (dd, *J* = 7.83, 4.80 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.41 – 7.55 (m, 1 H, NH), 7.63 – 7.73 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.32 (t, *J* = 5.68 Hz, 1 H, NH), 8.43 (dd, *J* = 4.80, 1.52 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.48 (d, *J* = 1.77 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

BOC-BETA-PYR-AS-NH-MET-OCH₃ (25C)

Struktur:



Molare Masse: 411.52

Summenformel: C₁₉H₂₉N₃O₅S

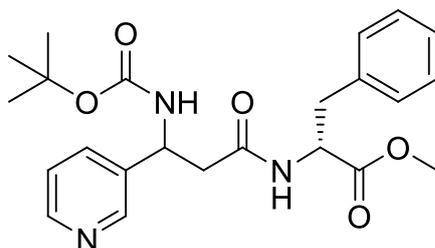
Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.16 g (9.01 mmol) DIPEA, 7 ml DMF, 600 mg (3.00 mmol) H-Met-OMe*HCl

Ausbeute: 800 mg (1.94 mmol, 65%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.29 – 1.40 (m, 9 H, CH₃), 1.82 (dd, *J* = 8.34, 5.56 Hz, 2 H, CH₂S), 1.94 – 2.05 (m, 3 H, SCH₃), 2.08 – 2.46 (m, 2 H, Met-CH₂), 2.54 – 2.67 (m, 2 H, CH₂CO), 4.24 – 4.37 (m, 1 H, Met-CHN), 4.93 (d, *J* = 7.58 Hz, 1 H, CHN), 7.29 – 7.35 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.61 – 7.70 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.24 – 8.36 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.48 (s, 1 H, 2-Pyr-CH).

BOC-BETA-PYR-AS-NH-D-PHE-OCH₃ (25D)

Struktur:



Molare Masse: 427.49

Summenformel: C₂₃H₂₉N₃O₅

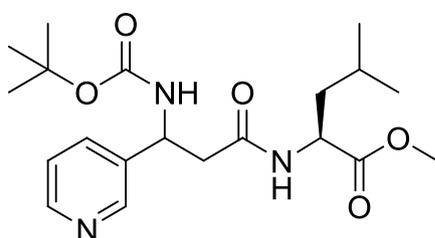
Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.16 g (9.01 mmol) DIPEA, 7 ml DMF, 648 mg (3.00 mmol) H-D-Phe-OMe*HCl

Ausbeute: 1.02 g (2.34 mmol, 78%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.25 – 1.43 (m, 9 H, CH₃), 2.54 – 2.64 (m, 2 H, CH₂), 2.75 – 3.04 (m, 2 H, Phe-CH₂), 3.46 – 3.62 (m, 3 H, OCH₃), 4.31 – 4.46 (m, 1 H, Phe-CHN), 4.82 – 4.98 (m, 1 H, CHN), 7.01 – 7.37 (m, 6 H), 7.39 – 7.51 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.35 – 8.50 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH).

BOC-BETA-PYR-AS-NH-LEU-OCH₃ (25E)

Struktur:



Molare Masse: 393.48

Summenformel: C₂₀H₃₁N₃O₅

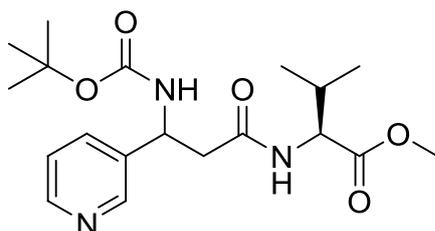
Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.16 g (9.01 mmol) DIPEA, 7 ml DMF, 546 mg (3.00 mmol) H-Leu-OMe*HCl

Ausbeute: 650 mg (1.65 mmol, 55%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.64 (d, *J* = 6.57 Hz, 3 H, Leu-CH₃), 0.75 (d, *J* = 6.57 Hz, 3 H, Leu-CH₃), 1.18 – 1.46 (m, 12 H, Leu-CH, CH₂, CH₃), 2.52 – 2.73 (m, 2 H, CH₂), 3.59 (s, 3 H, OCH₃), 4.18 (ddd, *J* = 10.23, 7.96, 4.80 Hz, 1 H, Leu-CHN), 4.91 (d, *J* = 6.57 Hz, 1 H, CHN), 7.32 (dd, *J* = 7.83, 4.80 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.53 (d, *J* = 7.83 Hz, 1 H, NH), 7.68 (d, *J* = 7.83 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.27 (d, *J* = 8.08 Hz, 1 H, NH), 8.42 (d, *J* = 3.79 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.47 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH).

BOC-BETA-PYR-AS-NH-VAL-OCH₃ (**25F**)

Struktur:



Molare Masse: 379.45

Summenformel: C₁₉H₂₉N₃O₅

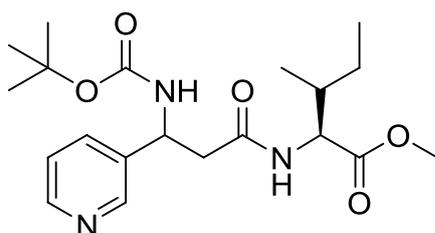
Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.16 g (9.01 mmol) DIPEA, 7 ml DMF, 548 mg (3.00 mmol) H-Val-OMe*HCl

Ausbeute: 599 mg (1.58 mmol, 53%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.65 (dd, *J* = 11.29, 6.82 Hz, 3 H, Val-CHCH₃), 0.83 (dd, *J* = 9.03, 6.78 Hz, 3 H, Val-CHCH₃), 0.93 (dd, *J* = 7.65, 7.03 Hz, 1 H, Val-CH), 1.26 – 1.41 (m, 9 H, C(CH₃)₃), 1.62 (ddd, *J* = 8.84, 4.29, 2.27 Hz, 1 H, Val-CHCH₃), 2.54 – 2.77 (m, 2 H, CH₂), 3.61 (s, 3 H, OCH₃), 4.08 – 4.15 (m, 1 H, Val-CHN), 4.88 – 4.95 (m, 1 H, CHN), 7.36 (dd, *J* = 7.83, 4.80 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.52 (d, *J* = 7.33 Hz, 1 H, NH), 7.74 (d, *J* = 7.83 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.23 (d, *J* = 8.34 Hz, 1 H, NH), 8.44 (d, *J* = 4.04 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.49 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH).

BOC-BETA-PYR-AS-NH-ILE-OCH₃ (**25G**)

Struktur:



Molare Masse: 393.48

Summenformel: C₂₀H₃₁N₃O₅

Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.16 g (9.01 mmol) DIPEA, 7 ml DMF, 548 mg (3.00 mmol) H-Ile-OMe*HCl

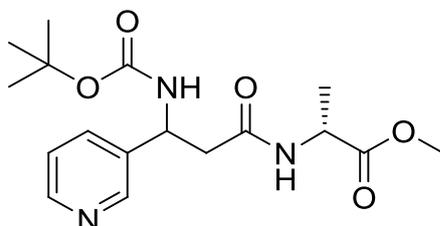
Ausbeute: 802 mg (2.54 mmol, 85%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.65 (d, *J* = 6.82 Hz, 3 H, Val-CHCH₃), 0.70 (t, *J* = 7.45 Hz, 3 H, Val-CH₂CH₃), 0.89 – 1.20 (m, 2 H, Val-CH₂), 1.26 – 1.41 (m, 9 H, C(CH₃)₃), 1.62 (ddd, *J* = 8.84, 4.29, 2.27 Hz, 1 H, Val-CHCH₃), 2.54 – 2.77 (m, 2 H, CH₂), 3.61 (s, 3 H, OCH₃), 4.08 – 4.16 (m, 1 H, Val-CHN), 4.86 – 7.93 (m, 1 H, CHN), 7.36 (dd, *J* = 7.83, 4.80 Hz, 1 H, 5-Pyr-

CH), 7.52 (d, $J = 7.33$ Hz, 1 H, NH), 7.74 (d, $J = 7.83$ Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.23 (d, $J = 8.34$ Hz, 1 H, NH), 8.44 (d, $J = 4.04$ Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.49 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH).

BOC-BETA-PYR-AS-NH-D-ALA-OCH₃ (25H)

Struktur:



Molare Masse: 287.74

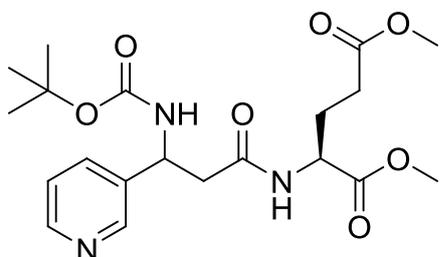
Summenformel: C₁₇H₂₅N₃O₅

Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.16 g (9.01 mmol) DIPEA, 7 ml DMF, 419 mg (3.00 mmol) H-D-Ala-OMe*HCl

Ausbeute: *In situ* weiter umgesetzt.

BOC-BETA-PYR-AS-NH-GLU(OME)₂ (25I)

Struktur:



Molare Masse: 423.46

Summenformel: C₂₀H₂₉N₃O₇

Methode: 1.24 g (3.00 mmol) HCTU, 800 mg (3.00 mmol) **19**, 1.16 g (9.01 mmol) DIPEA, 7 ml DMF, 636 mg (3.00 mmol) Dimethyl-Glutamat Hydrochlorid

Ausbeute: 639 mg (1.51 mmol, 50 %)

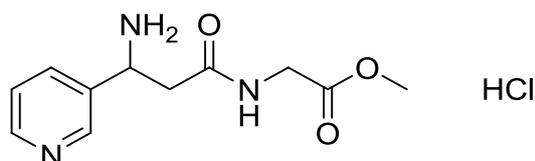
In situ weiter umgesetzt

H-BETA-PYR-AS-NHR (**26**)Allgemeine Methode:

Verbindung **25** wird in 10 ml Methanol gelöst und bei 0 °C mit alkoholischer Salzsäurelösung versetzt. Das Gemisch wird eine Stunde bei 25 °C gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

H-BETA-PYR-AS-NH-GLY-OCH₃ HCl (**26A**)

Struktur:



Molare Masse: 287.74

Summenformel: C₁₂H₁₈ClN₃O₃

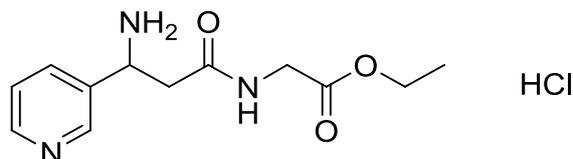
Methode: 440 mg (1.25 mmol) **25a**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 357 mg (1.24 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.97 – 3.17 (m, 2 H, CH₂), 3.57 (s, 3 H, OCH₃), 3.72 – 3.79 (m, 2 H, NCH₂), 4.71 (br. s., 1 H, CHN), 7.60 (dd, *J* = 7.83, 5.05 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.20 (d, *J* = 8.08 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.61 – 8.68 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.79 (d, *J* = 1.77 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH), 8.91 (br. s., 3 H, NH₃⁺).

H-BETA-PYR-AS-NH-GLY-OCH₂CH₃ HCl (**26B**)

Struktur:



Molare Masse: 287.74

Summenformel: C₁₂H₁₈ClN₃O₃

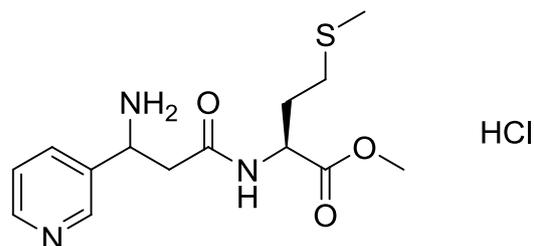
Methode: 440 mg (1.25 mmol) **25b**, 1.0 ml HCl (4 M in Ethanol), 10 ml Ethanol

Ausbeute: 357 mg (1.24 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.12 (t, *J* = 7.07 Hz, 3 H, CH₂CH₃), 3.16 (d, *J* = 7.58 Hz, 2 H, CH₂CO), 3.72 (dd, *J* = 5.81, 2.78 Hz, 2 H, CH₂N), 4.04 (q, *J* = 7.07 Hz, 2 H, OCH₂), 4.87 (d, *J* = 2.02 Hz, 1 H, CHN), 8.04 (dd, *J* = 8.08, 5.56 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.70 – 8.82 (m, 2 H, 4-Pyr-CH, NH), 8.89 (dd, *J* = 5.56, 1.01 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.09 (d, *J* = 1.52 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH), 9.19 (br. s., 3 H, NH₃⁺).

H-BETA-PYR-AS-NH-L-MET-OCH₃ (**26C**)

Struktur:



Molare Masse: 347.86

Summenformel: C₁₄H₂₂ClN₃O₃S

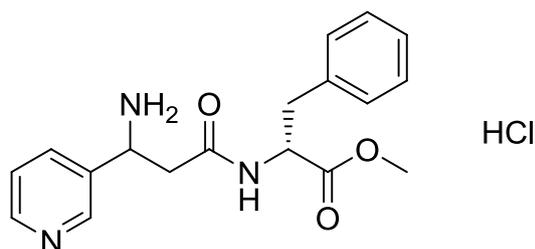
Methode: 800 mg (1.95 mmol) **25c**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 675 mg (1.94 mmol, 99%)

Das erhaltene Produkt wurde direkt weiter umgesetzt.

H-BETA-PYR-AS-NH-D-PHE-OCH₃ HCl (**26D**)

Struktur:



Molare Masse: 363.84

Summenformel: C₁₈H₂₂N₃O₃

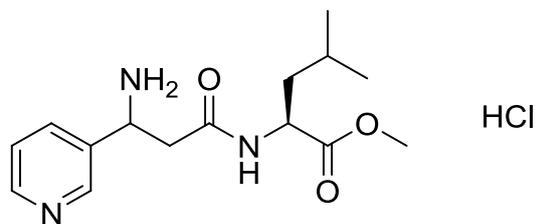
Methode: 410 mg (0.959 mmol) **25d**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 345 mg (0.949 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.72 – 3.19 (m, 4 H, CH₂), 3.45 und 3.55 (2 s, 3 H, OCH₃), 4.28 – 4.37 (m, 1 H, Phe-CHN), 4.82 (br. s, 1 H, CHN), 7.02 – 7.26 (m, 5 H, C₆H₅), 8.00 – 8.10 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.68 – 8.79 (m, 4-Pyr-CH), 8.84 – 8.93 (m, 2 H, 6-Pyr-CH, NH), 9.05 – 9.09 (m, 2-Pyr-CH), 9.23 (br. s., 3 H, NH₃⁺).

H-BETA-PYR-AS-NH-LEU-OCH₃ HCl (**26E**)

Struktur:



Molare Masse: 329.82

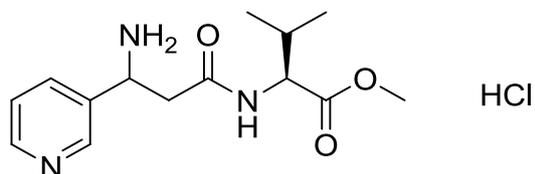
Summenformel: C₁₅H₂₄ClN₃O₃Methode: 410 mg (1.04 mmol) **25e**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 340 mg (1.03 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.56 – 0.73 (m, 6 H, CH₃), 1.05 – 1.11 (m, 1 H, Leu-CH), 1.28 – 1.43 (m, 2 H, Leu-CH₂), 3.06 – 3.23 (m, 2 H, CH₂), 3.57 (s, 3 H, OCH₃), 4.08 – 4.14 (m, 1 H, Leu-CHN), 4.89 (br. s, 1 H, CHN), 8.10 – 8.14 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.72 (d, *J* = 7.83 Hz, NH), 8.83 (d, 1 H, *J* = 8.08 Hz, 4-Pyr-CH), 8.96 (d, 1 H, *J* = 5.31 Hz, 6-Pyr-CH), 9.15 (s, 1 H, 2-Pyr-CH), 9.21 (br. s., 3 H, NH₃⁺).

H-BETA-PYR-AS-NH-VAL-OCH₃ HCl (**26F**)

Struktur:



Molare Masse: 315.80

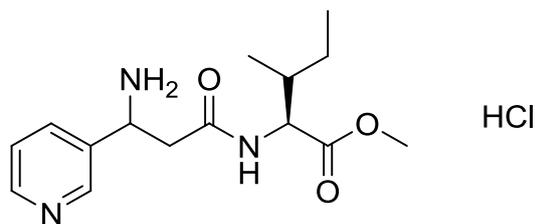
Summenformel: C₁₄H₂₂ClN₃O₃Methode: 377 mg (0.994 mmol) **25f**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 311 mg (984 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.58 - 0.83 (m, 6 H, CH₃), 1.82 – 2.02 (m, 1 H, CH), 3.07 – 3.33 (m, 2 H, CH₂CO), 3.45 – 3.64 (m, 3 H, OCH₃), 3.95 – 4.03 (m, 1 H, Val-CHN), 4.85 (br. s., 1 H, CHN), 8.02 – 8.10 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.60 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.87 – 8.94 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.10 (d, *J* = 1.77 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH), 9.21 (br. s., 3 H, NH₃⁺).

H-BETA-PYR-AS-NH-ILE-OCH₃ HCl (**26G**)

Struktur:



Molare Masse: 329.82

Summenformel: C₁₅H₂₄ClN₃O₃

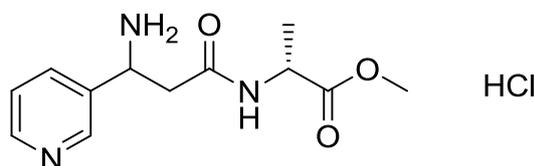
Methode: 387 mg (0.914 mmol) **25g**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 340 mg (1.02 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.63 (d, 3 H, *J* = 6.82 Hz, CHCH₃), 0.68 (t, 3 H, *J* = 7.33 Hz, CH₃), 0.88 – 1.13 (m, 2 H, CH₂CH₃), 1.59 – 1.63 (m, 1 H, CHCH₃), 3.06 – 3.24 (m, 2 H, CH₂), 3.61 (s, 3 H, OCH₃), 4.06 – 4.10 (m, 1 H, Ile-CHN), 4.87 (br. s, 1 H, CHN), 8.06 – 8.09 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.60 (d, 1 H, *J* = 8.08 Hz, NH), 8.71 – 8.73 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.93 (d, 1 H, *J* = 5.05 Hz, 6-Pyr-CH), 9.04 (br. s, 3 H, NH₃⁺), 9.11 (s, 1 H, 2-Pyr-CH).

H-BETA-PYR-AS-NH-D-ALA-OCH₃ HCl (**26H**)

Struktur:



Molare Masse: 287.74

Summenformel: C₁₂H₁₈ClN₃O₃

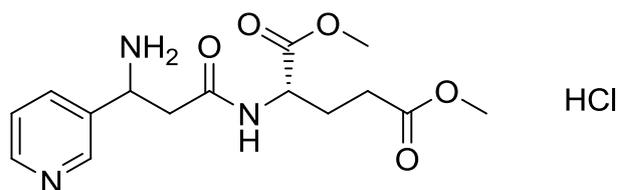
Methode: 200 mg (0.569 mmol) **25h**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 162 mg (0.563 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.16 (dd, *J* = 16.93, 7.33 Hz, 3 H, CH₃), 3.09 – 3.20 (m, 2 H, CH₂), 3.44 u. 3.58 (2s, 3 H, OCH₃), 4.03 – 4.17 (m, 1 H, CHN), 4.88 (br. s., 1 H, CHN), 8.08 – 8.15 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.80 (d, *J* = 6.82 Hz, 1 H, NH), 8.86 (dd, *J* = 15.79, 8.21 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.90 – 8.98 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 9.14 (s, 1 H, 2-Pyr-CH), 9.26 (d, *J* = 4.55 Hz, 3 H, NH₃⁺).

H-BETA-PYR-AS-NH-GLU(OME)₂ HCl (**26i**)

Struktur:



Molare Masse: 359.81

Summenformel: C₁₅H₂₂ClN₃O₅Methode: 387 mg (0.914 mmol) **25i**, 1.0 ml HCl (4 M in Methanol), 10 ml Methanol

Ausbeute: 326 mg (0.905 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.66 – 1.92 (m, 2 H, CH₂CH₂), 2.08 – 2.30 (m, 2 H, CH₂CH₂), 3.13 – 3.19 (m, 2 H, CH₂), 3.47 (s, 3 H, OCH₃), 3.57 (s, 3 H, OCH₃), 4.09 – 4.15 (m, 1 H, CHN), 4.85 (br. s, 1 H, CHNH₃⁺), 8.01 – 8.07 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.73 – 8.80 (m, 2 H, 6/4-Pyr-CH), 9.09 (s, 1 H, 2-Pyr-CH), 9.20 (br. s, 3 H, NH₃⁺).

BOC-BETA-PYR-AS-NHNHCO₂CH₂C₆H₅ (**27**)

Struktur:



Molare Masse: 414.45

Summenformel: C₂₁H₂₆N₄O₅

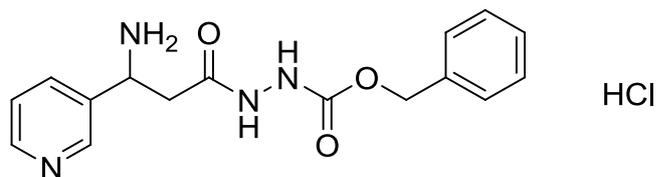
Methode: Es werden 1.24 g (3.00 mmol) HCTU und 800 mg (3.00 mmol) **19** in 7 ml DMF gelöst und mit 1.16 g (9.01 mmol) DIPEA versetzt. Zu der Mischung werden 500 mg (3.00 mmol) Benzylhydrazincarboxylat gegeben und die erhaltene Mischung für vier Stunden bei 25 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit Wasser versetzt und der erhaltene Feststoff abfiltriert und mit kaltem Wasser gewaschen.

Ausbeute: 850 mg (2.05 mmol, 68 %)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 1.35 (br. s., 9 H, CH₃), 2.54 – 2.73 (m, 2 H, CH₂), 4.96 (d, *J* = 7.07 Hz, 1 H, CHN), 5.06 (br. s., 2 H, OCH₂), 7.36 (br. s., 6 H, C₆H₅, 5-Pyr-CH), 7.52 (d, *J* = 7.83 Hz, 1 H, NH), 7.69 (d, *J* = 7.58 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.43 (d, *J* = 3.79 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.50 (s, 1 H, 2-Pyr-CH), 9.17 (br. s., 1 H, NHNH), 9.72 (br. s., 1 H, NHNH).

H-BETA-PYR-AS-NHNHCO₂BN HCl (**28**)

Struktur:



Molare Masse: 350.80

Summenformel: C₁₆H₁₉ClN₄O₃

Methode: Es werden 410 mg (0.914 mmol) **27** in 10 ml Methanol bei 0°C gelöst und mit 1.0 ml HCl (4 M in Methanol) versetzt. Die erhaltene Mischung wird für zwei Stunden bei 25°C gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

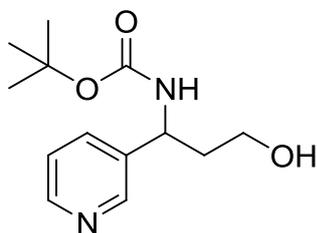
Ausbeute: 317 mg (0.905 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 3.11 (d, 2 H, *J* = 7.07 Hz, CH₂), 4.86 – 5.02 (m, 3 H, CH₂O, CHN), 7.31 – 7.39 (m, 5 H, C₆H₅), 7.97 – 8.00 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.66 (d, 1 H, *J* = 7.58 Hz, 4-Pyr-CH), 8.87 (d, 1 H, *J* = 4.55 Hz, 6-Pyr-CH), 9.05 (s, 1 H, 2-Pyr-CH), 9.11 (br. s, 3 H, NH₃⁺), 9.16 (s, 1 H, NH), 10.09 (s, 1 H, NH).

BETA-PYR-ALK

BOC-BETA-PYR-ALK-OH (**29**)

Struktur:



Molare Masse: 252.31

Summenformel: $C_{13}H_{20}N_2O_3$

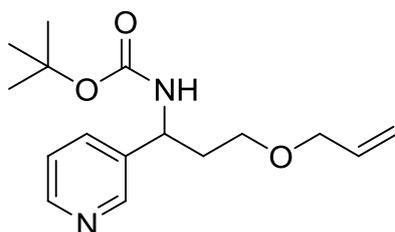
Methode: Es werden 12.8 g (152 mmol) $BH_3 \cdot Me_2S$ in 120 ml THF gelöst und die Mischung auf 0°C im Eisbad abgekühlt. Zu der Lösung werden 10.0 g (37.5 mmol) **19** portionsweise zugegeben. Die Reaktionsmischung wird bei 0-5°C für 10 Stunden gerührt und anschließend vorsichtig in Methanol getropft. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand für eine Stunde in 100 ml Natronlauge (20%) gerührt. Die erhaltene Mischung wird mit Dichlormethan extrahiert und die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand durch Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt (Dichlormethan/Methanol 50:1)

Ausbeute: 4.02 g (15.9 mmol, 42%)

1H -NMR: (400.13 MHz, $DMSO-d_6$): δ (ppm) = 1.36 (s, 9 H, CH_3), 1.68 – 1.96 (m, 2 H, $CHCH_2$), 3.24 – 3.48 (m, 2 H, CH_2OH), 4.50 – 4.65 (m, 1 H, OH), 4.73 (q, $J = 7.32$ Hz, 1 H, CHN), 7.59 (d, $J = 7.78$ Hz, 1 H, 5-Pyr- CH), 7.69 (dd, $J = 7.78, 5.77$ Hz, 1 H, 4-Pyr- CH), 8.04 (d, $J = 8.03$ Hz, 1 H, 6-Pyr- CH), 8.41 – 8.54 (m, 1 H, 2-Pyr- CH).

BOC-BETA-PYR-ALK-OCH₂CHCH₂ (30A)

Struktur:



Molare Masse: 292.37

Summenformel: C₁₆H₂₄N₂O₃

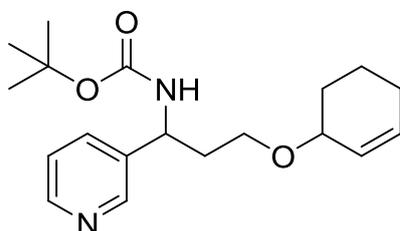
Methode: Es werden 2.00 g (7.93 mmol) **29** in 15 ml DMF gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Es werden 400 mg (10.3 mmol) Natriumhydrid (60%ige Suspension) zugegeben und die Reaktionsmischung für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Zu der erhaltenen Lösung werden 1.06 g (8.72 mmol) 3-Brompropen getropft und die Mischung für weitere 6 Stunden gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit Ammoniumchloridlösung versetzt und mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wird mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Ethylacetat/Cyclohexan 1:4) gereinigt.

Ausbeute: 830 mg (2.84 mmol, 36%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.36 (br. s., 9 H, CH₃), 1.83 – 2.12 (m, 2 H, OCH₂CH₂), 3.26 – 3.48 (m, 2 H, OCH₂CH₂), 3.90 (dt, 1 H, H₂C=CHO), 4.80 – 4.90 (m, 1 H, CHN), 5.08 – 5.32 (m, 2 H, H₂C=CHO), 5.74 (br. s., 1 H, NH), 5.78 – 5.91 (m, 1 H, H₂C=CHO), 7.40 (dd, J = 7.72, 5.83 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.79 (d, J = 8.03 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.43 (d, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.49 (s, 1 H, 2-Pyr-CH).

BOC-BETA-PYR-ALK-OC₆H₉ (30B)

Struktur:



Molare Masse: 332.44

Summenformel: C₁₉H₂₈N₂O₃

Methode: Es werden 2.00 g (7.93 mmol) **29** in 15 ml DMF gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Es werden 412 mg (10.3 mmol) Natriumhydrid (60%ige Suspension) zugegeben und die Reaktionsmischung für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Zu der Lösung werden 1.40 g

(8.72 mmol) 3-Bromocyclohexen zugetropft und für weitere 6 Stunden gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit Ammoniumchloridlösung versetzt und mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wird mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Ethylacetat/Cyclohexan 1:4) gereinigt.

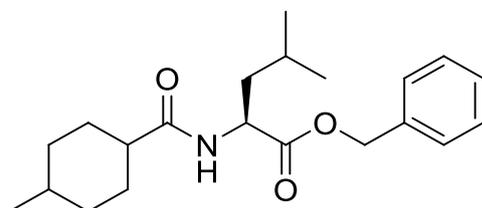
Ausbeute: 400 mg (1.20 mmol, 15 %)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.35 (br. s., 9 H, CH₃), 1.45 – 2.12 (m, 8 H), 3.34 – 3.51 (m, 2 H, CH₂O), 3.73 (br. s., 1 H, OCH), 4.83 (br. s., 1 H, CHN), 5.65 – 5.72 (m, 1 H, CHCH=CH), 5.81 – 5.89 (m, 1 H, CHCH=CH), 5.97 (d, *J* = 19.95 Hz, 1 H, NH), 7.39 (dd, *J* = 7.47, 6.09 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.79 (d, *J* = 7.78 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.42 (d, *J* = 5.40 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.49 (s, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 18.86 (CHCH₂CH₂), 24.65 (CH=CHCH₂), 28.08 (3 C, CH₃) 28.97 (OCHCH₂), 35.63 (br. s., 1 C) 49.24, 49.39 (CHN), 63.51, 63.76 (CH₂O), 71.89, 72.18 (OCH), 78.29 (C(CH₃)₃) 123.43 (5-Pyr-CH), 125.93 (CHCH=CH), 128.01, 128.18 (4-Pyr-CH), 129.82, 130.02 (CHCH=CH), 138.00 (3-Pyr-C), 145.17, 145.62 (2-Pyr-CH), 148.00 (6-Pyr-CH) 154.95 (NCO₂).

ME-CY-LEU-OBN (31)

Struktur:



Molare Masse: 345.48

Summenformel: C₂₁H₃₁NO₃

Methode: Es werden unter Argon 5.00 g (35.2 mmol) 4-Methylcyclohexancarbonsäure, 15.2 g (38.6 mmol) H-Leu-OBn und 5.90 g (38.5 mmol) HOBt-Hydrat in 80 ml THF gelöst und im Eisbad auf 0°C abgekühlt. Zu der Lösung werden 8.9 g (88.0 mmol) N-Methylmorpholin getropft. Anschließend werden portionsweise 8.00 g (38.8 mmol) DCC bei 0 °C zugegeben und die Reaktionsmischung für 3 Tage bei 20°C gerührt. Der ausgefallene Feststoff wird abfiltriert und mit Ethylacetat gewaschen. Der Feststoff wird verworfen und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt [Ethylacetat:Cyclohexan 1:4 (v/v)].

Ausbeute: 8.60 g (34.9 mmol, 71%)

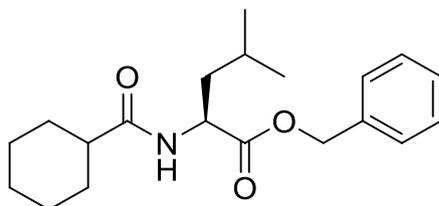
¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.79 – 0.92 (m, 9 H, CH₃), 1.22 – 1.36 (m, 2 H), 1.41 – 1.89 (m, 10 H), 2.18 – 2.27 (m, 1 H, CHC(=O)N), 4.59 – 4.70 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.03 – 5.17 (m, 2

H, OCH_2), 7.24 – 7.35 (m, 5 H, Ph- \underline{H}).

R_F-Wert: 0.61 (Ethylacetat/Cyclohexan (1:2))

CY-LEU-OBN (32)

Struktur:



Molare Masse: 331.45

Summenformel: $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{NO}_3$

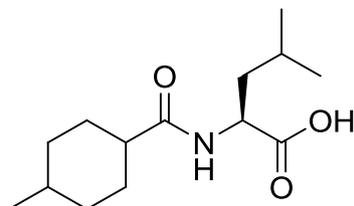
Methode: Es werden unter Argon 3.57 g (27.9 mmol) Cyclohexancarbonsäure, 11.0 g (28.0 mmol) H-Leu-OBn und 4.66 g (60.4 mmol) HOBT in 80 ml THF gelöst und im Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Zu der Lösung werden 6.1 ml (55.4 mmol) N-Methylmorpholin getropft. Anschließend werden portionsweise 6.28 g (30.4 mmol) DCC bei 0 °C zugegeben und die Reaktionsmischung für 3 Tage bei 20 °C gerührt. Der ausgefallene Feststoff wird abfiltriert und mit Diethylether gewaschen. Der Feststoff wird verworfen und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt [Ethylacetat:Cyclohexan 1:4 (v/v)].

Ausbeute: 6.00 g (18.1 mmol, 65 %)

$^1\text{H-NMR}$: (400.13 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 0.85 (dd, J = 6.27, 3.39 Hz, 6 H, CH_3), 1.05 – 1.85 (m, 13 H), 1.99 – 2.09 (m, 1 H, CHCO), 4.62 (m, 1 H, CHN), 5.01 – 5.14 (m, 2 H, CH_2O), 5.72 (d, J = 8.41 Hz, 1 H, NH), 7.21 – 7.36 (m, 5 H, C_6H_5).

ME-CY-LEU-OH (33)

Struktur:



Molare Masse: 255.35

Summenformel: $\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{NO}_3$

Methode: 1.50 g (4.34 mmol) **31** werden in 50 ml Methanol gelöst. Zu der Lösung wird 0.45 g (423 μmol , 10%) Pd/C gegeben und 8 h bei 9 bar hydriert. Der Pd/C Katalysator wird über

Celite filtriert und mit Methanol nachgewaschen. Das Filtrat und die Waschlösung werden vereinigt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Ausbeute: 1.10 g (4.30 mmol, 99%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.79 – 0.94 (m, 9 H, CH₃), 1.21 – 1.81 (m, 12 H), 2.02 – 2.33 (m, 1 H, CHC(=O)N), 4.09 – 4.37 (m, 1 H, CHN), 7.77 – 7.92 (m, 1 H, NH), 12.38 (br. s., 1 H, COOH).

ME-CY-LEU-PYR-ALKYL (**34**)

Allgemeine Methode A:

Es werden **33** (1 eq), Triethylamin (1 eq) und Pentafluorophenol (1 eq) in Dichlormethan gelöst und bei 0°C mit DCC (1 eq) versetzt. Die Mischung wird für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Der Feststoff wird abfiltriert und verworfen. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wird in Tetrahydrofuran gelöst und mit NMM (1-2 eq) versetzt. Zu der Mischung wird eine Lösung von **5** (1 eq) getropft und die Reaktionsmischung wird für 5 Stunden gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wird mit Dichlormethan aufgenommen und mit Natriumhydrogencarbonatlösung (3x) gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand durch Säulenchromatographie an Kieselgel aufgereinigt (Ethylacetat/Cyclohexan 1/4).

Allgemeine Methode B:

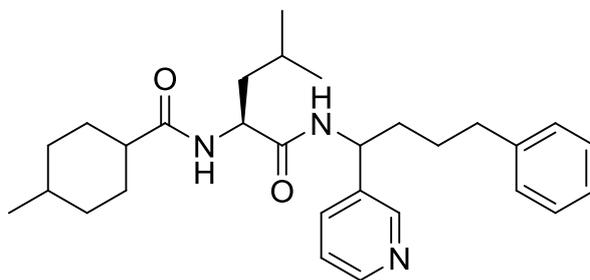
Es werden **33** (1 eq), Base (2 eq) und Amin (1 eq) in DMF gelöst und auf 0°C abgekühlt. Die Lösung wird langsam in PPA (50% in DMF, 10-20 eq) getropft und die Mischung für 10 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Mischung wird auf 100 ml halbgesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung gegeben und mit Ethylacetat (5x50 ml) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden zweimal mit 100 ml Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand chromatographisch an Kieselgel gereinigt (Ethylacetat/Cyclohexan 1/4).

Allgemeine Methode C:

Es wird Verbindung **33** bzw. **36** in 10 ml DMF gelöst und mit NMM, Triethylamin oder DIPEA (3 Eq) versetzt. Zur erhaltenen Lösung wird HCTU oder HBTU (1.0-1.1 Eq) gegeben und anschließend mit der Aminoverbindung versetzt. Die Mischung wird 4 Stunden bei 25 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit 100 ml Wasser versetzt und mit Ethylacetat (6 x 30 ml) extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Produkt wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Cyclohexan/Ethylacetat 9/1).

ME-CY-LEU-PYR-CH₂CH₂CH₂C₆H₅ (**34A**)

Struktur:



Molare Masse: 463.65

Summenformel: C₂₉H₄₁N₃O₂

Methode A: 142 mg (0.555 mmol) **33**, 102 mg (0.555 mmol) Pentafluorophenol, 120 mg (1.11 mmol) Triethylamin, 120 mg (0.555 mmol) DCC; 130 mg (1.28 mmol) N-Methylmorpholin, 150 mg (571 μmol) **5c**, 10 ml THF

Ausbeute: 100 mg (222 μmol, 40%) brauner Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3260, 2952, 2920, 2849, 2159, 2031, 1976, 1632, 1550, 1455, 1378, 698.

¹H-NMR: (400.13 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 0.80 – 0.92 (m, 9 H, CH₃), 1.46 – 1.83 (m, 16 H), 2.14 – 2.27 (m, 1 H, CHCO), 2.57 – 2.62 (m, 2 H, C₆H₅-CH₂), 4.41 – 4.50 (m, 1 H, Leu-CHN), 4.85 – 4.95 (m, 1 H, CHN), 7.11 – 7.26 (m, 6 H, 4-Pyr-CH, C₆H₅), 7.41 – 7.44 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.41 – 8.45 (m, 2 H, 6-Pyr-CH, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: ¹³C-NMR (101.61 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 22.2, 22.3 (CH₃), 23.0 (2 C, Leu-CH₃), 25.1, 25.2 (2 C, CH₂), 25.8, 25.9 (CH₂CH₂C₆H₅), 26.17, 26.23 (Leu-CH(CH₃)₂), 31.56, 31.52 (CHCH₃), 34.65, 34.72 (2 C, CH₂), 35.65, 35.7 (CH₂C₆H₅), 36.0, 36.13 (CHNCH₂), 40.9, 41.0 (Leu-CH₂), 43.04 (NHC(=O)), 51.53, 51.63, 51.74 (2 C, CHNH), 123.8 (5-Pyr-CH), 126.16, 126.19 (4-Ph-CH), 128.65, 128.68, 128.70 (4 C, 2/3/5/6-Ph-CH), 134.25, 134.33 (4-Pyr-CH), 138.66 (3-Pyr-C), 142.28, 142.32 (1-Ph-C), 148.70, 148.77 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 171.9, 172.1 (Leu-CO), 176.26, 176.30 (CO).

Diast.-Verhältnis: 55 / 45

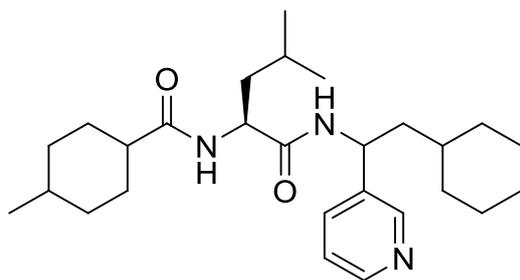
R_f-Wert: 0.25 (EE/Cy 1:2)

Schmelzpunkt: 180 – 183 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: 464.4 [M+H]⁺ [ber.: 465.32]LC-MS: R_t = 9.8 min (Diast. A), 10.2 min (Diast. B), Reinheit > 99%

ME-CY-LEU-PYR-CH₂C₆H₅ (**34B**)

Struktur:



Molare Masse: 441.65

Summenformel: C₂₇H₄₃N₃O₂

Methode B: 297 mg (2.94 mmol) N-Methylmorpholin, 300 mg (1.18 mmol) **33**, 311 mg (1.29 mmol) **5b**,
2 ml PPA (50% in DMF)

Ausbeute: 159 mg (360 μmol, 31%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3257, 2924, 2847, 2159, 2030, 1976, 1655, 1634, 1549, 714.

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.71 – 0.90 (10 H, 4-Cy-CH₂(1H), CH₃), 1.05 – 1.83 (m, 24 H, Leu-CH₂, Leu-CH, Cy-CH₂, C₆H₁₁(10H), C₆H₁₀(9H)), 2.13 – 2.27 (m, 1 H, CHCO), 4.53 – 4.61 (m, 1 H, Leu-CHN), 4.94 – 5.04 (m, 1 H, Pyr-CHN), 7.11 – 7.21 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.52 – 7.60 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.50 – 8.60 (m, 2 H, 6-Pyr-CH, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 19.5, 19.6 (CH₃), 22.6 (2 C, Leu-CH₃), 24.6 – 26.8 (6 C, C₆H₁₁, Leu-CH), 31.9 – 34.4 (6 C, C₆H₁₁, C₆H₁₀), 42.7 – 45.1 (3 C, Leu-CH₂, CHCO, C₆H₁₁CH₂), 48.9 (CHN), 51.2 (Leu-CHN), 123.6 (5-Pyr-CH), 134.4 (4-Pyr-CH), 138.8 (3-Pyr-C), 148.5, 148.6 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 172.1 (Leu-CO), 175.4 (CO).

Diast.-Verhältnis: 59 / 41

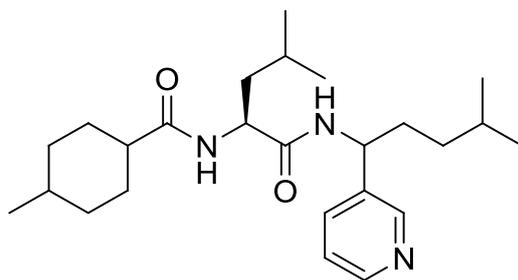
R_f-Wert: 0.28 (EE/Cy 1:2)

Schmelzpunkt: 194–195 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 442.4 [ber.: 441.34]LC-MS: R_t = 9.9 min (Diast. A), 10.3 min (Diast. B), Reinheit > 99%

ME-CY-LEU-PYR-CH₂CH₂CH(CH₃)₂ (**34C**)

Struktur:



Molare Masse: 415.61

Summenformel: C₂₅H₄₁N₃O₂

Methode B: 297 mg (2.94 mmol) N-Methylmorpholin, 300 mg (1.18 mmol) **33**, 278 mg (1.29 mmol) **5d**,
2 ml PPA (50% in DMF)

Ausbeute: 255 mg (614 μmol, 52%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3268, 2952, 2926, 2869, 2159, 2030, 1633, 1544, 715.

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.82 – 0.94 (m, 15 H, CH₃), 1.09 – 1.85 (m, 17 H, Leu-CH, CH₂, C₆H₁₀(9H), CH(CH₃)₂), 2.06 – 2.33 (m, 1 H, CHCO), 4.60 – 4.70 (m, 1 H, Leu-CHN), 4.80 – 4.90 (m, 1 H, CHN), 7.18 – 7.27 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.57 – 7.66 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.41 – 8.56 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 18.6, 18.7 (C₆H₁₀CH₃), 21.2, 21.3, 21.4, 21.5, 21.9 (4 C, CH₃), 23.9 – 25.0 (2 C, CH₂), 26.9, 27.0 (Leu-CH), 28.3 – 31.3 (2 C, CHCH₃, CH(CH₃)₂), 33.3 – 34.6 (4 C, CH₂), 41.9, 42.0 (Leu-CH₂), 44.2, 44.3 (CHCO), 50.4 – 51.0 (2 C, CHN, Leu-CHN), 122.6 (5-Pyr-CH), 132.8 – 133.2 (4-Pyr-CH), 137.9, 138.0 (3-Pyr-C), 147.4, 147.5, 147.7 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 171.1, 171.2 (Leu-CO), 175.0, 175.6 (CO).

Diast.-Verhältnis: 58 / 42

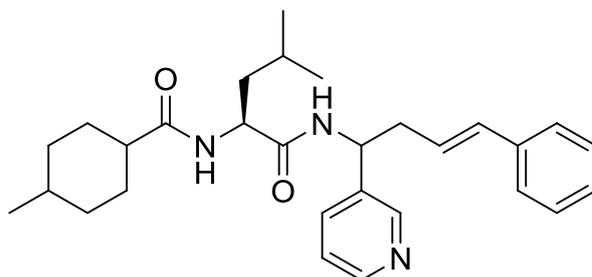
R_F-Wert: 0.27 (EE/Cy 1:2)

Schmelzpunkt: 143–144 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 416.4 [ber.: 415.32]LC-MS: R_t = 9.9 min (Diast. A), 10.3 min (Diast. B), Reinheit > 99%

ME-CY-LEU-PYR-CH₂CH=CHC₆H₅ (**34D**)

Struktur:



Molare Masse: 461.64

Summenformel: C₂₉H₃₉N₃O₂

Methode A: 150 mg (0.586 mmol) **33**, 108 mg (0.586 mmol) Pentafluorophenol, 120 mg (1.18 mmol) Triethylamin, 125 mg (0.606 mmol) DCC;
130 mg (1.28 mmol) N-Methylmorpholin, 153 mg (586 μ mol) **5e**, 10 ml THF

Ausbeute: 70 mg (181 μ mol, 31%) brauner FeststoffFT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3284, 2952, 2925, 2853, 2159, 2030, 1635, 1529, 743, 714, 692.

¹H-NMR: (400.13 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 0.75 – 0.95 (m, 9 H, CH₃), 1.26 – 1.85 (m, 12 H), 2.10 – 2.20 (m, 1 H, CHCO), 3.15 – 3.34 (m, 2 H, CH₂CHN), 4.45 – 4.54 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.05 – 5.10 (m, 1 H, CHN), 6.02 – 6.29 (m, 1 H, CH₂CHCH), 6.29 – 6.59 (m, 1 H, CH₂CHCH), 7.12 – 7.41 (m, 7 H, C₆H₅, 5/4-Pyr-CH), 7.58 – 7.68 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.43 – 8.65 (m, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 20.1, 21.3 (CH₃), 22.3, 23.3 (2 C, Leu-CH₃), 25.3 (Leu-CH), 26.0, 26.4 (2 C, CH₂), 29.8, 30.3 (2 C, CH₂), 31.7, 31.8 (CHCH₃), 40.1 (CH₂CHN), 41.2 (Leu-CH₂), 48.1 (CHCO), 49.3 (CHN), 51.8, 52.0 (Leu-CHN), 125.6 (5-Pyr-CH), 126.69, 126.73 (2 C, C₆H₅), 127.4, 127.6, 127.9 (2 C, CH=CHPh, 4-Ph-CH), 129.1 (2 C, C₆H₅), 133.9 (4-Pyr-CH), 134.7 (CH-C₆H₅), 137.7 (C_q, Ph), 138.2 (C_q, 3-Pyr-C), 149.0, 149.1 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 171.4, 172.5 (Leu-CO), 176.5 (CO).

Diast.-Verhältnis: 55 / 45

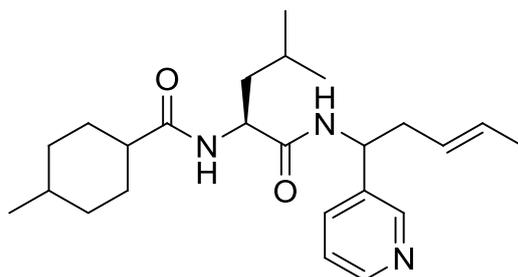
R_f-Wert: 0.17 (EE/Cy 1:2)

Schmelzpunkt: 168 – 170 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 462.2 [ber.: 461.30]LC-MS: R_t = 10.0 min, Reinheit > 99%

ME-CY-LEU-PYR-CH₂CH=CHCH₃ (**34E**)

Struktur:



Molare Masse: 399.57

Summenformel: C₂₄H₃₇N₃O₂Methode C: 648 mg (1.57 mmol) HBTU, 320 mg (1.61 mmol) **5f**, 607 mg (4.70 mmol) DIPEA, 400 mg (1.57 mmol) **33**

Ausbeute: 263 mg (0.658 mmol, 42%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3270, 2951, 2925, 2159, 2028, 1636, 1542, 714.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.81 – 1.01 (m, 9 H, Leu-CH₃, C₆H₁₀CH₃), 1.26 – 1.85 (m, 15 H), 2.10 – 2.44 (m, 3 H, CHCO, CH₂CH=CH), 4.30 – 4.43 (m, 1 H, CHN), 4.89 – 4.95 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.29 – 5.47 (m, 1 H, CH₂CH=CH), 5.49 – 5.63 (m, 1 H, CH₂CH=CH), 7.50 – 7.54 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.80 – 7.90 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.34 – 8.39 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.58 – 8.67 (m, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 17.7 (CH=CHCH₃), 19.7 (CHCH₃), 22.5, 22.77, 22.81, 24.2, 24.3 (3 C, Leu-CH₃ oder Leu-CH(CH₃)₂), 25.0, 25.4 (2 C, CH₂) 30.6, 30.7, 31.6 (3 C, CH₂, CHCH₃), 33.9 (CH₂CH=CH), 41.1 (Leu-CH₂), 43.3, 43.4 (CHCO) 50.3, 50.4 (Leu-CHCO), 51.7 (Leu-CHN), 123.8 (5-Pyr-CH), 126.8, 127.0 (CH=CHCH₃), 127.6, 127.7 (CH=CHCH₃), 135.5, 135.7 (4-Pyr-CH) 139.16, 139.21 (3-Pyr-C), 146.57, 146.63, 146.7 (2 C, 2/6-Pyr-CH) 171.61, 171.73, 171.92 (Leu-CO), 174.8, 175.2 (CO).

Diast.-Verhältnis: 50 / 50

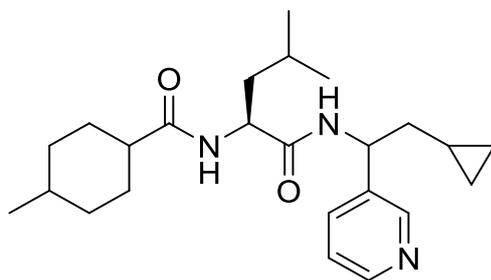
R_f-Wert: 0.22 (EE/Cy 1:1)

Schmelzpunkt: 160 – 164 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 400.4 [ber.: 399.29]LC-MS: R_t = 7.0 min, Reinheit > 99%

ME-CY-LEU-PYR-CH₂C₃H₅ (**34F**)

Struktur:



Molare Masse: 399.57

Summenformel: C₂₄H₃₇N₃O₂

Methode A: 150 mg (0.589 mmol) **33**, 108 mg (0.589 mmol) Pentafluorophenol, 120 mg (1.18 mmol) Triethylamin, 125 mg (0.606 mmol) DCC; 130 mg (1.28 mmol) N-Methylmorpholin, 117 mg (589 μ mol) **5q**, 10 ml THF

Ausbeute: 47 mg (0.118 mmol, 20%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3277, 2952, 2925, 2159, 2031, 1976, 1636, 1542, 713.

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.0 – 0.1 (m, 2 H, CH₂), 0.32 – 0.48 (m, 2 H, CH₂), 0.52 – 0.64 (m, 1 H, CH), 0.77 – 0.91 (m, 9 H, CH₃, Leu-CH₃), 1.27 – 1.85 (m, 14 H, CH₂, CH, Leu-CH₂, Leu-CH, C₃H₅-CH₂), 2.18 – 2.25 (m, 1 H, CHCO), 4.51 – 4.58 (m, 1 H, Leu-CHN), 4.94 – 5.01 (m, 1 H, CHN), 7.17 – 7.25 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.56 – 7.62 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.35 – 8.65 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 4.4, 4.6, 7.7, 7.9 (3 C, C₃H₅), 19.6, 19.7, 22.1, 22.2, 22.4, 22.8, (3 C, CH₃), 24.7, 24.8, 25.3, 25.5, 25.7, 25.8 (3 C, Leu-CH, CH₂), 28.9, 29.1, 29.4, 29.6, 29.8, 31.0, 31.1 (3 C, CH₂, CHCH₃), 34.2, 34.3 (CH₂CHN), 41.0, 41.1, 41.3 (Leu-CH₂), 42.7, 42.8 (CHCO), 51.3, 52.1, 52.2 (2 C, CHN, Leu-CHN), 123.3 (5-Pyr-CH), 134.0, 134.2 (4-Pyr-CH), 138.3 (3-Pyr-C), 148.2, 148.3 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 171.6, 171.8 (Leu-CO), 175.9, 176.0, 176.5, 176.6 (CO).

Diast.-Verhältnis: 60 / 40

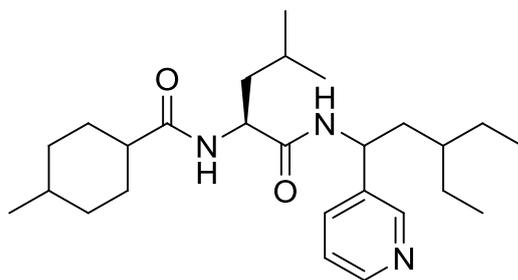
R_f-Wert: 0.20 (EE/Cy 1:2)

Schmelzpunkt: 171 – 173 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 400.4 [ber.: 399.29]LC-MS: R_t = 5.7 min, Reinheit > 99%

ME-CY-LEU-PYR-CH₂CH(CH₂CH₃)₂ (**34G**)

Struktur:



Molare Masse: 429.64

Summenformel: C₂₆H₄₃N₃O₂

Methode B: 297 mg (2.94 mmol) N-Methylmorpholin, 300 mg (1.18 mmol) **33**, 278 mg (1.29 mmol) **5t**,
2 ml PPA (50% in DMF)

Ausbeute: 96 mg (223 μmol, 29%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3270, 2954, 2925, 2870, 2159, 2029, 1976, 1631, 1543, 1456, 714.

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.78 – 0.96 (m, 15 H, CH₃), 1.17 – 2.28 (m, 20 H, CH₂, Leu-CH₂, CHCO, Leu-CH, CH₂CH), 4.44 – 4.52 (m, 1 H, Leu-CHN), 4.92 – 4.98 (m, 1 H, CHN), 7.16 – 7.23 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.53 – 7.61 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.42 – 8.48 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.50 – 8.55 (m, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 10.1, 10.2, 10.4, 10.6 (2 C, CH₂CH₃), 21.9, 22.2, 22.3, 22.4, 22.5, 22.7, 22.8 (3 C, CH₃, Leu-CH₃), 24.4, 24.5, 24.6, 24.7, 24.8, 24.9, 25.1, 25.3 (3 C, Leu-CH(CH₂)₂, CH₂), 29.3, 29.4, 29.5, 29.7, 29.8, 29.9 (2 C, CH₂CH₃), 31.1, 31.2 (CHCH₃), 31.9, 32.0 (CH(CH₂CH₃)₂), 34.2, 34.3, 34.4 (2 C, CH₂), 37.0 (CHNCH₂CH), 39.9, 40.2 (Leu-CH₂), 45.1, 45.2 (CHC=O), 49.47, 49.51 (CHN), 51.2, 51.3 (Leu-CHN), 123.38, 123.44 (5-Pyr-CH), 134.0, 134.1 (4-Pyr-CH), 138.7 (C_q, 3-Pyr-C), 148.3, 148.4, 148.5 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 171.4, 171.6 (Leu-CO), 176.0, 176.5 (CO).

Diast.-Verhältnis: 50 / 50

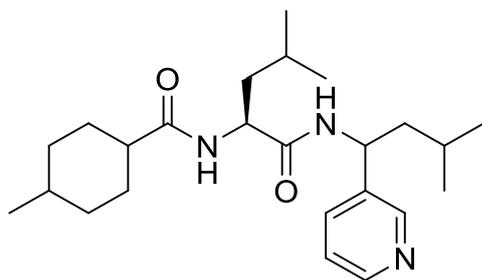
R_f-Wert: 0.16 (EE/Cy 1:2)

Schmelzpunkt: 175 – 178 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 430.4 [ber.: 429.33]LC-MS: R_t = 9.8 min (Diast. A), 10.1 min (Diast. B), Reinheit > 99%

ME-CY-LEU-PYR-CH₂CH(CH₃)₂ (**34H**)

Struktur:



Molare Masse: 401.59

Summenformel: C₂₄H₃₉N₃O₂

Methode B: 297 mg (2.94 mmol) N-Methylmorpholin, 300 mg (1.18 mmol) **33**, 296 mg (1.29 mmol) **5k**,
2 ml PPA (50% in DMF)

Ausbeute: 262 mg (0.652 mmol, 56%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3261, 2953, 2926, 2868, 2159, 2031, 1976, 1631, 1550, 714.

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.70 – 0.96 (m, 15 H, CH₃), 1.24 – 2.27 (m, 16, CH₂, Leu-CH,
Leu-CH₂, CHCH₃, CH₂CH, CH₂CH), 4.42 – 4.50 (m, 1 H, Leu-CHN), 4.87 – 4.92 (m, 1 H, CHN),
7.21 – 7.25 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.45 – 7.56 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.39 – 8.50 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 22.0, 22.1, 22.18, 22.29, 22.44, 22.69, 22.72, 22.77 (6 C, CH(CH₃)₂, CH₃), 24.6, 24.8, 25.0, 25.3, 25.5 (3 C, Leu-CH, CH₂), 31.06, 31.12, 31.17 (CHCH₃),
34.20, 34.27, 34.30, 34.34 (2 C, CH₂), 41.0, 41.1 (Leu-CH₂), 45.1, 45.2, 45.3, 45.5 (2 C, CHCO, CH₂CHN),
49.64, 49.66 (Leu-CHN), 51.20, 51.24, 51.27 (CHN), 123.4 (5-Pyr-CH), 134.0, 134.1 (4-Pyr-CH), 138.6 (C_q, 3-Pyr-C), 148.3, 148.36, 148.44 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 171.5, 171.7 (Leu-CO), 175.9, 176.0, 176.5 (CO).

Diast.-Verhältnis: 54 / 46

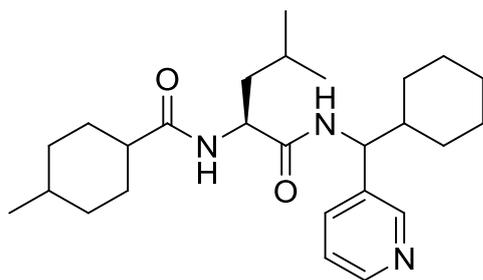
R_F-Wert: 0.14 (EE/Cy 1:2)

Schmelzpunkt: 170 – 172 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 402.0 [ber.: 401.30]LC-MS: R_t = 7.3 min (Diast. A), 7.7 min (Diast. B), Reinheit > 99%

ME-CY-LEU-PYR-C₆H₁₁ (**341**)

Struktur:



Molare Masse: 427.62

Summenformel: C₂₆H₄₁N₃O₂

Methode B: 297 mg (2.94 mmol) N-Methylmorpholin, 300 mg (1.18 mmol) **33**, 293 mg (1.29 mmol) **5a**,
2 ml PPA (50% in DMF)

Ausbeute: 293 mg (0.685 mmol, 58%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3267, 2925, 2851, 2159, 2098, 2030, 1977, 1630, 1545, 715.

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.71 – 2.30 (m, 33 H), 4.45 – 4.53 (m, 1 H, Leu-CHN), 4.64 – 4.72 (m, 1 H, CHN), 7.16 – 7.25 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.45 – 7.56 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.44 – 8.50 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 22.1, 22.2, 22.4, 22.8 (5 C, Leu-CH₃, CH₃, Cy-CH₂), 24.7, 24.8, 25.9, 26.1 (3 C, Leu-CH, CH₂), 29.0, 29.2, 29.4, 29.7, 30.0, 31.0 (3 C, Cy-CH₂), 31.9, 32.0 (CHCH₃), 34.2, 34.30, 34.34 (2 C, CH₂), 40.3 (Cy-CH), 42.7, 42.8 (Leu-CH₂), 45.17, 45.26 (CHCO), 51.27, 51.35 (Leu-CHN), 56.50, 56.61 (CHN), 123.19, 123.27 (5-Pyr-CH), 134.7 (4-Pyr-CH), 137.1 (C_q, 3-Pyr-C), 148.2, 148.4, 148.8, 148.9 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 171.4, 171.6 (Leu-CO), 176.7, 176.8 (CO).

Diast.-Verhältnis: 50 / 50

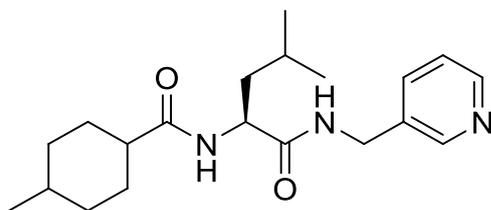
R_F-Wert: 0.14 (EE/Cy 1:2)

Schmelzpunkt: 202 – 204 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 428.4 [ber.: 427.32]LC-MS: R_t = 9.0 min (Diast. A), 9.3 min (Diast. B), Reinheit > 99%

ME-CY-LEU-PYR-H (34J)

Struktur:



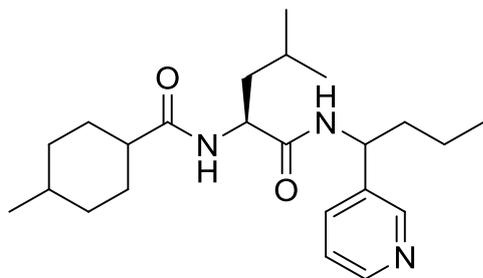
Molare Masse: 345.48

Summenformel: $C_{20}H_{31}N_3O_2$ Methode B: 297 mg (2.94 mmol) N-Methylmorpholin, 300 mg (1.18 mmol) **33**, 278 mg (1.29 mmol) 3-(Aminomethyl)pyridin, 2 ml PPA (50% in DMF)Ausbeute: 159 mg (460 μ mol, 39%) farbloser FeststoffFT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3269, 2952, 2925, 2869, 2159, 2032, 1676, 1636, 1542, 710. 1H -NMR: (400.13 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 0.81–0.89 (m, 9 H, CH_3), 1.23 – 1.80 (m, 12 H, CH_2CH_3 , Leu- CH_2 , Leu- CH_2 , CH_2), 2.15 – 2.25 (m, 1 H, $CHCO$), 4.33 – 4.43 (m, 2 H, CH_2NH), 4.50 – 4.60 (m, 1 H, Leu- CHN), 7.19 (m, 1 H, 5-Pyr- CH), 7.53 – 7.59 (m, 1 H, 4-Pyr- CH), 8.43 – 8.47 (m, 2 H, 2/6-Pyr- CH). ^{13}C -NMR: (100.61 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 19.7 (CH_3), 22.1, 22.4, 22.8, 24.8, 25.4, 25.8, 25.9 (5 C, Leu- CH , Leu- CH_3 , CH_2), 31.0, 31.1, 34.2, 34.3 (3 C, CH_2 , $CHCH_3$), 40.8, 40.9, 41.2, 42.5 (2 C, CH_2N , Leu- CH_2), 45.0 ($CHCO$), 51.2, 51.3 (Leu- CHN), 123.4 (5-Pyr- CH), 134.0 (C_q , 3-Pyr- C), 135.3 (4-Pyr- CH), 148.6, 149.0 (2 C, 2/6-Pyr- CH), 172.6, 172.7 (Leu- CO), 176.0, 176.5, 176.6 (CO). R_f -Wert: 0.22 (EE)

Schmelzpunkt: 160 – 164 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: $[M+H]^+$ 346.3 [ber.: 345.24]LC-MS: R_t = 2.0 min, Reinheit > 99%ME-CY-LEU-PYR- $CH_2CH_2CH_3$ (34K)

Struktur:



Molare Masse: 387.58

Summenformel: $C_{23}H_{37}N_3O_2$ Methode B: 297 mg (2.94 mmol) N-Methylmorpholin, 300 mg (1.18 mmol) **33**, 278 mg (1.29 mmol) **5o**,

2 ml PPA (50% in DMF)

Ausbeute: 178 mg (459 μmol , 39%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3258, 2955, 2925, 2870, 2159, 2031, 1633, 1545, 713.

$^1\text{H-NMR}$: (400.13 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 0.94 – 0.98 (m, 12 H, CH_3), 1.22 – 2.28 (m, 17 H, CHCH_3 , Leu- CH , Leu- CH_2 , CH_2), 4.48 – 4.55 (m, 1 H, CHN), 4.85 – 4.92 (m, 1 H, Leu- CHN), 7.16 – 7.24 (m, 1 H, 5-Pyr- CH), 7.43 – 7.60 (m, 1 H, 4-Pyr- CH), 8.45 – 8.55 (m, 2 H, 2-Pyr- CH , 6-Pyr- CH).

$^{13}\text{C-NMR}$: (100.61 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 13.7 (CH_2CH_3), 19.3, 19.4 (CH_2CH_3), 22.2, 22.3, 22.5, 22.8, 24.7, 24.8 (6 C, Leu- CH , CH_2 , CH_3), 31.0, 31.1, 31.9, 32.0, 34.20, 34.27, 34.29, 34.33 (3 C, CHCH_3 , CH_2), 38.2, 38.4 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 40.83, 40.85, 40.90 (Leu- CH_2), 45.1, 45.2 (CHCO), 51.2, 51.3 (2 C, CHN , Leu- CHN), 123.33, 123.39 (5-Pyr- CH), 134.0, 134.1 (4-Pyr- CH), 138.2 (C_q , 3-Pyr- C), 148.36, 148.40, 148.48 (2 C, 2/6-Pyr- CH), 171.5, 171.8 (Leu- CO), 176.52, 176.58 (CO).

Diast.-Verhältnis: 41 / 59

R_f-Wert: 0.55 (EE)

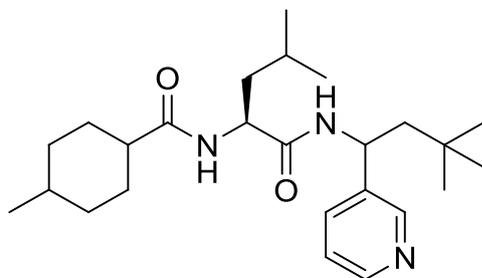
Schmelzpunkt: 137–138 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 388.4 [ber.: 387.29]

LC-MS: R_t = 4.9 min, Reinheit > 99%

ME-CY-LEU-PYR- $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_3$ (**34L**)

Struktur:



Molare Masse: 415.61

Summenformel: $\text{C}_{25}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_2$

Methode B: 297 mg (2.94 mmol) N-Methylmorpholin, 300 mg (1.18 mmol) **33**, 278 mg (1.29 mmol) **5r**, 2 ml PPA (50% in DMF)

Ausbeute: 120 mg (289 μmol , 37%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3261, 2952, 2926, 2869, 2159, 2029, 1976, 1628, 1550, 713.

$^1\text{H-NMR}$: (400.13 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 0.74 – 0.96 (m, 18 H, CH_3), 1.24 – 2.24 (m, 15 H, CHCH_3 , CHCO , Leu- CH_2 , Leu- CH , CH_2), 4.42 – 4.49 (m, 1 H, Leu- CHN), 4.98 – 5.05 (m, 1 H, CHN), 7.14 – 7.23 (m, 1 H, 5-Pyr- CH), 7.52–7.60 (m, 1 H, 4-Pyr- CH), 8.42 – 8.55 (m, 2 H, 2/6-Pyr- CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 22.2, 22.3, 22.4, 22.7, 24.6, 24.7 (6 C, CH₃, CH₂, Leu-CH), 29.8, 29.9 (3 C, C(CH₃)₃), 30.8, 30.9, 31.9, 32.0 (2 C, CHCH₃, C(CH₃)₃), 34.2, 34.3 (2 C, CH₂), 40.3, 40.7 (Leu-CH₂), 45.1, 45.2 (CHCO), 48.8, 49.0 (CH₂C), 50.3, 50.5, 51.2, 51.3 (2 C, CHN, Leu-CHN), 123.3, 123.4 (5-Pyr-CH), 133.8, 134.0 (4-Pyr-CH), 139.9, 140.0 (C_q, 3-Pyr-C), 148.1, 148.2, 148.3 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 170.8, 171.0 (Leu-CO), 176.4, 176.7 (CO).

Diast.-Verhältnis: 59 / 41

R_f-Wert: 0.12 (EE/Cy 1:2)

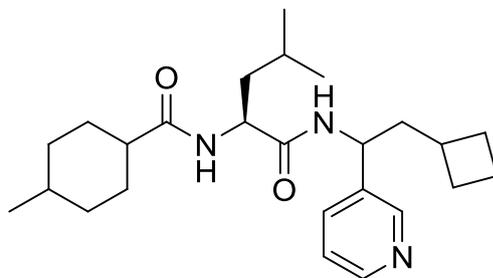
Schmelzpunkt: 201–203 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 416.4 [ber.: 415.32]

LC-MS: R_t = 8.6 min, Reinheit > 99%

ME-CY-LEU-PYR-CH₂C₄H₇ (**34M**)

Struktur:



Molare Masse: 413.60

Summenformel: C₂₅H₃₉N₃O₂

Methode B: 297 mg (2.94 mmol) N-Methylmorpholin, 300 mg (1.18 mmol) **33**, 278 mg (1.29 mmol) **5s**, 2 ml PPA (50% in DMF)

Ausbeute: 139 mg (336 μmol, 43%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3260, 2926, 2159, 2029, 1977, 1631, 1546, 714.

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.78 – 0.94 (m, 9 H, CH₃), 1.24 – 2.31 (m, 22 H, CH₂, CHCO, CHCH₃, CHCH₂, Leu-CH, Leu-CH₂), 4.44 – 4.50 (m, 1 H, Leu-CHN), 4.75 – 4.82 (m, 1 H, CHN), 7.16–7.23 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.50–7.58 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.44 – 8.50 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 18.5, 18.6 (CHCH₃), 22.2, 22.3, 22.4, 22.8, 24.7, 24.8, 28.2, 28.4, 31.0, 31.1, 31.2, 31.9, 32.0, 32.8, 33.0, 34.2, 34.3, 34.5 (12 C, CH, CH₂, Leu-CH₃), 40.4, 40.5, 40.8 (Leu-CH₂), 43.4, 43.2 (CH₂CHN), 45.2, 45.3 (CHCO), 50.1, 50.2, 51.2, 51.3 (2 C, Leu-CHN, CHN), 123.3, 123.4 (5-Pyr-CH), 134.0, 134.1 (4-Pyr-CH), 138.1 (C_q, 3-Pyr-C), 148.4, 148.5 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 171.3, 171.5 (Leu-CO), 178.5, 178.7 (CO).

Diast.-Verhältnis: 50 / 50

R_f-Wert: 0.10 (EE/Cy 1:2)

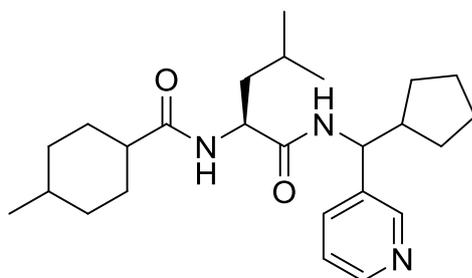
Schmelzpunkt: 175–176 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: $[M+H]^+$ 414.4 [ber.: 413.30]

LC-MS: $R_t = 8.3$ min, Reinheit > 99%

ME-CY-LEU-PYR-C₅H₉ (**34N**)

Struktur:



Molare Masse: 413.60

Summenformel: C₂₅H₃₉N₃O₂

Methode B: 297 mg (2.94 mmol) N-Methylmorpholin, 300 mg (1.18 mmol) **33**, 278 mg (1.29 mmol) **5p**, 2 ml PPA (50% in DMF)

Ausbeute: 120 mg (223 μ mol, 37%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3270, 2951, 2925, 2030, 1976, 1633, 1542, 1448, 714.

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.78 – 0.96 (m, 9 H, CH₃), 1.17 – 2.28 (m, 22 H, CH₂, CHCH₃, CHCO, CHCHN, Leu-CH₂, Leu-CH), 4.44 – 4.54 (m, 1 H, Leu-CHN), 4.62 – 4.68 (m, 1 H, CHN), 7.14 – 7.23 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.53 – 7.78 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.43 – 8.47 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.49 – 8.55 (m, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 22.1, 22.3, 22.4, 22.5, 22.7, 22.8 (3 C, CH₃), 24.6, 24.7, 24.8, 25.1, 25.2 (5 C, CH₂, Leu-CH), 29.3, 29.4, 29.7, 29.8, 30.1, 30.2 (2 C, CH₂), 31.0, 31.1, 31.9, 32.0 (CHCH₃), 34.2, 34.3 (2 C, CH₂), 40.6 (CHCHN), 41.1, 42.6 (Leu-CH₂), 45.1, 45.2, 45.3, 45.4 (CHCO), 51.2, 51.3 (Leu-CHN), 56.1, 56.2 (CHN), 123.25, 123.28 (5-Pyr-CH), 134.4, 134.5 (4-Pyr-CH), 138.1, 138.2 (C_q, 3-Pyr-C), 148.3, 148.4, 148.7, 148.8 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 171.3, 171.4, 171.6 (Leu-CO), 176.0, 176.5 (CO).

Diast.-Verhältnis: 57 / 43

R_F-Wert: 0.15 (EE/Cy 1:2)

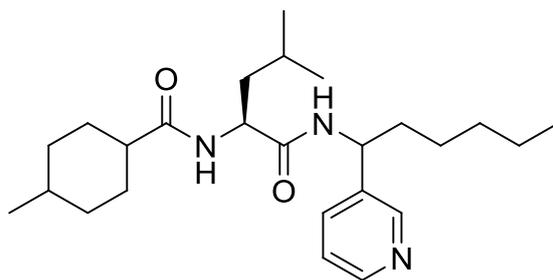
Schmelzpunkt: 170 – 172 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: $[M+H]^+$ 414.4 [ber.: 413.3]

LC-MS: $R_t = 7.9$ min, Reinheit > 99%

ME-CY-LEU-PYR-(CH₂)₄CH₃ (**340**)

Struktur:



Molare Masse: 415.61

Summenformel: C₂₅H₄₁N₃O₂

Methode B: 297 mg (2.94 mmol) N-Methylmorpholin, 300 mg (1.18 mmol) **33**, 278 mg (1.29 mmol) **5n**,
2 ml PPA (50% in DMF)

Ausbeute: 82 mg (197 μmol, 25%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3261, 2951, 2925, 2868, 2159, 1631, 1550, 1448, 714.

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.73 – 0.93 (m, 12 H, CH₃), 1.17 – 2.22 (m, 21 H, CHCO, CH₂, CHCH₃, Leu-CH₂, Leu-CH), 4.39 – 4.47 (m, 1 H, Leu-CHN), 4.78 – 4.84 (m, 1 H, CHN), 7.11 – 7.19 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.47 – 7.54 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.39 – 8.49 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 13.91, 13.94 (CH₂CH₃), 21.9, 22.14, 22.31, 22.42, 22.44, 22.74, 22.78 (4 C, CH₂CH₃, CHCH₃, Leu-CH₃), 24.69, 24.71, 24.8, 24.9, 25.7, 25.8 (4 C, CH₂, Leu-CH), 31.3, 31.4, 31.95, 32.00 (2 C, CH₂, CHCH₃), 34.20, 34.27, 34.29, 34.33, 36.1, 36.2 (3 C, CH₂), 40.6, 40.7 (Leu-CH₂), 45.1, 45.2 (CHCO), 51.3, 51.5 (2 C, CHN, Leu-CHN), 123.35, 123.39 (5-Pyr-CH), 134.0, 134.1 (4-Pyr-CH), 138.2 (C_q, 3-Pyr-C), 148.4, 148.5 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 171.4, 171.6 (Leu-CO), 174.1 (CO).

Diast.-Verhältnis: 51 / 49

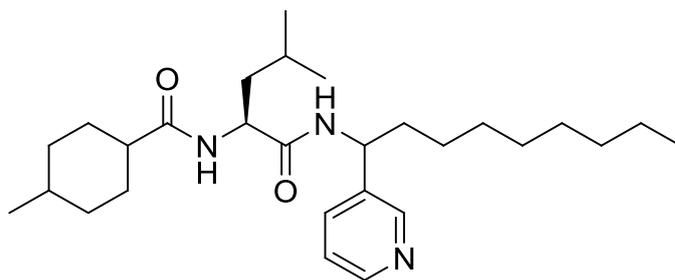
R_f-Wert: 0.15 (EE/Cy 1:2)

Schmelzpunkt: 168 – 169 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 416.4 [ber.: 415.32]LC-MS: R_t = 9.1 min (Diast. A), 9.3 (Diast. B), Reinheit > 99%

ME-CY-LEU-PYR-(CH₂)₇CH₃ (**34P**)

Struktur:



Molare Masse: 457.69

Summenformel: C₂₈H₄₇N₃O₂

Methode B: 198 mg (1.96 mmol) N-Methylmorpholin, 200 mg (783 μmol) **33**, 221 mg (862 μmol) **5m**, 2 ml PPA (50% in DMF)

Ausbeute: 145 mg (317 μmol, 40%) Öl

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3274, 2951, 2925, 2855, 2159, 2030, 1976, 1635, 1542, 714.

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.78 – 0.98 (m, 12 H, CH₃), 1.08 – 2.30 (m, 27 H, CH₂, CHCH₃, Leu-CH₂, Leu-CH), 4.45 – 4.53 (m, 1 H, Leu-CHN), 4.84–4.89 (m, 1 H, CHN), 7.16 – 7.25 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.52 – 7.59 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.44 – 8.54 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH).

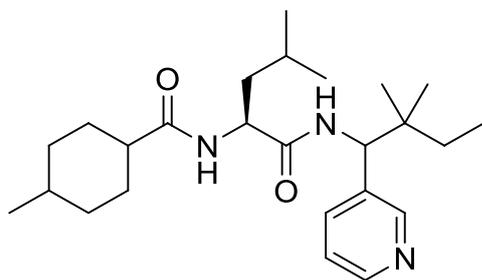
¹³C-NMR: (CDCl₃, 100.61 MHz): δ (ppm) = 13.9, 14.1, 14.2 (CH₃), 22.11, 22.14, 22.29, 22.32, 22.42, 22.44, 22.59, 22.61, 22.75, 22.78, 24.68, 24.70, 24.81, 24.92, 25.7, 25.8, 26.1, 26.2 (8 C, CH₂, CH₃, Leu-CH, CH₂CH₃), 29.2, 29.4, 29.5, 29.7 (3 C, CH₂), 31.0, 31.1, 31.3, 31.4, 31.8, 31.9, 32.0 (2 C, CHCH₃, CH₂), 34.20, 34.25, 34.29, 34.32 (2 C, CH₂), 36.11, 36.17, 36.24, 36.3 (CH₂CHN), 40.7 (Leu-CH₂), 45.1, 45.2, 45.3 (CHCO), 51.22, 51.24, 51.29, 51.46, 51.51 (2 C, Leu-CHN, CHN), 123.33, 123.39 (5-Pyr-CH), 133.97, 134.06 (4-Pyr-CH), 136.2, 136.3 (C_q, 3-Pyr-C), 148.4, 148.5 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 171.4, 171.7 (Leu-CO), 176.54, 176.59 (CO).

Diast.-Verhältnis: 51 / 49

R_F-Wert: 0.18 (EE/Cy 1:2)LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 458.4 [ber.: 457.37]LC-MS: R_t = 12.3 min (Diast. A), 12.6 (Diast. B), Reinheit > 99%

ME-CY-LEU-PYR-C(CH₃)₂CH₂CH₃ (**34Q**)

Struktur:



Molare Masse: 415.61

Summenformel: C₂₅H₄₁N₃O₂Methode B: 198 mg (1.96 mmol) N-Methylmorpholin, 200 mg (783 μmol) **33**, 185 mg (862 μmol) **5I**, 2 ml PPA (50% in DMF)

Ausbeute: 130 mg (313 μmol, 40%) Öl

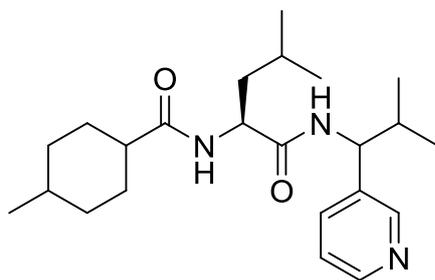
FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3277, 2951, 2924, 2854, 1635, 1542, 714.¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.75 – 2.27 (m, 33 H, CH₃, CH₂CH₃, Leu-CH, Leu-CH₂, CH₂, CHCH₃), 4.50 – 4.59 (m, 1 H, Leu-CHN), 4.83 – 4.89 (m, 1 H, CHN), 7.14 – 7.24 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.52 – 7.60 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.43 – 8.54 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH).¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 14.0 (CH₂CH₃), 22.1, 22.2, 22.3, 22.4, 22.5, 22.6, 22.7, 22.8, 24.6, 24.7, 26.09, 26.2 (8 C, Leu-CH, CH₃, CH₂), 29.3, 29.4 (CH₂), 31.95, 32.00 (CHCH₃), 34.17, 34.23, 34.28, 34.31, 36.2, 36.4 (3 C, CCHN, CH₂), 41.0, 41.1, 41.2, 41.3 (Leu-CH₂), 45.1, 45.16, 45.20 (CHCO), 51.16, 51.20, 51.4, 51.5 (2 C, Leu-CHN, CHN), 123.30, 123.34 (5-Pyr-CH), 133.95, 133.97, 134.1 (4-Pyr-CH), 138.28, 138.38 (C_q, 3-Pyr-C), 148.3, 148.37, 148.42 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 171.54, 171.56, 171.78, 171.80 (Leu-CO), 176.38, 176.41, 176.43 (CO).

Diast.-Verhältnis: 53 / 47

R_F-Wert: 0.18 (EE/Cy 1:2)LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 416.4 [ber.: 415.32]LC-MS: R_t = 9.1 min (Diast. A), 9.3 (Diast. B), Reinheit > 99%

ME-CY-LEU-PYR-CH(CH₃)CH₃ (**34R**)

Struktur:



Molare Masse: 387.56

Summenformel: C₂₃H₃₇N₃O₂

Methode B: 198 mg (1.96 mmol) N-Methylmorpholin, 200 mg (783 μmol) **33**, 185 mg (862 μmol) **5j**, 2 ml PPA (50% in DMF)

Ausbeute: 100 mg (313 μmol, 33%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3269, 2953, 2925, 2869, 2159, 2030, 1977, 1631, 1542, 716.

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.73 – 1.00 (m, 15 H), 1.19 – 2.31 (m, 14 H), 4.51 – 4.56 (m, 1 H, Leu-CHN), 4.63 – 4.70 (m, 1 H, CHN), 7.14 – 7.24 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.49 – 7.58 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.52 – 8.73 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1 8.54, 18.76, 19.6, 19.7 (2 C, CH₃), 22.1, 22.2, 22.4, 22.8 (3 C, CH₃), 24.6, 24.8 (CH), 29.4, 29.5, 29.7, 29.8 (2 C, CH₂), 31.97, 32.00, 33.3 (2 C, CHCHN, CHCHCH₃), 34.2, 34.27, 34.32, 34.36 (2 C, CH₂), 40.5, 40.6, 40.9, 41.0 (Leu-CH₂), 45.15, 45.21 (CHCO), 51.3, 51.4 (Leu-CHN), 57.27, 57.35 (CHN), 123.20, 123.23 (5-Pyr-CH), 134.5, 134.6 (4-Pyr-CH), 137.20, 137.23 (C_q, 3-Pyr-C), 148.3, 148.4 (6-Pyr-CH), 148.8, 148.9 (2-Pyr-CH), 171.7, 171.8, 171.9 (Leu-CO), 176.66, 176.67 (CO).

Diast.-Verhältnis: 57 / 43

R_F-Wert: 0.20 (EE/Cy 1:2)

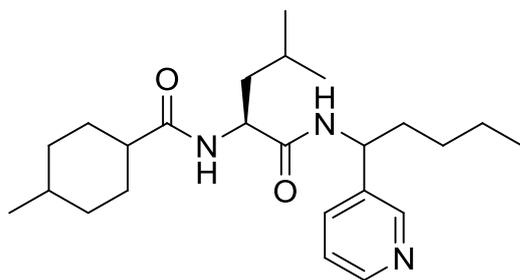
Schmelzpunkt: 173 – 175 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 388.4 [ber.: 387.29]

LC-MS: R_t = 5.0 min, Reinheit > 99%

ME-CY-LEU-PYR-(CH₂)₃CH₃ (**34S**)

Struktur:



Molare Masse: 401.58

Summenformel: C₂₄H₃₉N₃O₂

Methode B: 240 mg (2.37 mmol) N-Methylmorpholin, 242 mg (948 μ mol) **33**, 195 mg (1.04 mmol) **5i**,
2 ml PPA (50% in DMF)

Ausbeute: 120 mg (310 μ mol, 33%) farbloser FeststoffFT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3261, 2953, 2925, 2868, 2159, 2030, 1977, 1633, 1543, 714.

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.63 – 0.96 (m, 12 H, CH₃), 1.07 – 2.26 (m, 19 H, CH₂, CH),
4.42 – 4.56 (m, 1 H, Leu-CHN), 4.78 – 4.84 (m, 1 H, CHN), 7.08 – 7.20 (m, 1 H, 5-Pyr-CH),
7.46 – 7.57 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.35 – 8.42 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.44 – 8.52 (m, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 13.84, 13.88 (CH₂-CH₃), 22.2, 22.28, 22.32, 22.5, 22.8 (4 C, CH₂CH₃, CH₃), 24.7, 24.8 (Leu-CH), 28.2, 28.3, 29.4, 29.5 (3 C, CH₂), 31.97, 32.02 (CHCH₃),
34.2, 34.26, 34.31, 34.34 (2 C, CH₂), 35.9, 36.0 (CH₂CHN), 41.09, 41.12, 41.18 (Leu-CH₂),
45.1, 45.2 (CHCO), 51.2, 51.3, 51.4, 51.5 (2 C, Leu-CHN, CHN), 123.3, 123.4 (5-Pyr-CH),
134.0, 134.1 (4-Pyr-CH), 138.3, 138.4 (C_q, 3-Pyr-C), 148.33, 148.38, 148.43, 148.46 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 171.6, 171.8 (Leu-CO), 176.5 (C=O).

Diast.-Verhältnis: 50 / 50

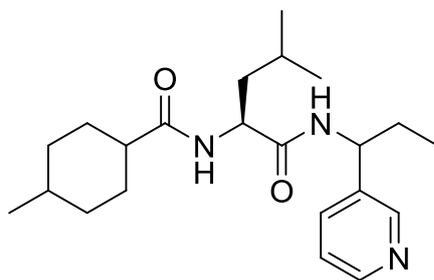
R_F-Wert: 0.20 (EE/Cy 1:2)

Schmelzpunkt: 174 – 176 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 402.4 [ber.: 401.30]LC-MS: R_t = 7.7 min (Diast. A), 8.0 (Diast. B), Reinheit > 99%

ME-CY-LEU-PYR-CH₂CH₃ (**34T**)

Struktur:



Molare Masse: 373.53

Summenformel: C₂₂H₃₅N₃O₂

Methode B: 277 mg (2.74 mmol) N-Methylmorpholin, 280 mg (1.10 mmol) **33**, 208 mg (1.21 mmol) **5h**, 3 ml PPA (50% in DMF)

Ausbeute: 70 mg (187 μmol, 16%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3263, 2947, 2926, 2867, 2159, 2030, 1977, 6133, 1547, 714

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.67 – 0.99 (m, 12 H, CH₃), 1.14 – 2.32 (m, 15 H, CH, CH₂), 4.41 – 4.57 (m, 1 H, Leu-CHN), 4.72 – 4.80 (m, 1 H, CHN), 7.09 – 7.23 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.45 – 7.62 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.36 – 8.56 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: ¹³C-NMR (CDCl₃, 100.61 MHz): δ (ppm) = 10.6, 10.8 (CH₂CH₃), 22.1, 22.3, 22.5, 22.8 (3 C, CH₃), 24.7, 24.8 (Leu-CH), 29.1, 29.3, 29.4, 29.5, 29.68, 29.72 (3 C, CH₂), 31.96, 32.01 (CHCH₃), 34.21, 34.27, 34.31, 34.35, 34.40 (2 C, CH₂), 40.91, 40.96, 40.99 (Leu-CH₂), 45.13, 45.20 (CHCO), 51.25, 51.31 (CHN), 53.0 (Leu-CHN), 123.3, 123.4 (5-Pyr-CH), 134.0, 134.1 (4-Pyr-CH), 138.1, 138.1 (C_q, 3-Pyr-C), 148.37, 148.42, 148.45, 148.50 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 171.7, 171.9 (Leu-CO), 176.6 (CO).

Diast.-Verhältnis: 59 / 41

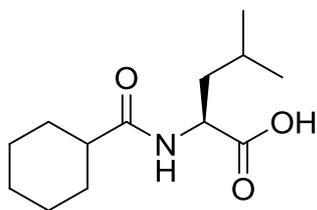
R_f-Wert: 0.18 (EE/Cy 1:2)

Schmelzpunkt: 165 – 168 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 374.3 [ber.: 373.27]LC-MS: R_t = 3.0 min, Reinheit > 99%

CY-LEU-OH (35)

Struktur:



Molare Masse: 241.33

Summenformel: $C_{13}H_{23}NO_3$

Methode: In einem Bombenrohr werden 5.90 g (17.8 mmol) Cy-Leu-OBn in 50 ml Methanol gelöst und mit 1.89 g (1.78 mmol, 10% auf Kohle) Palladium versetzt und 8 h bei 9 bar hydrolysiert. Der Pd/C Katalysator wird über Celite filtriert und mit Methanol nachgewaschen. Das Filtrat und die Waschlösung werden vereinigt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

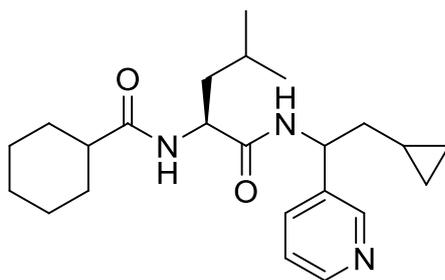
Ausbeute: 4.25 g (17.62 mmol, 99%)

1H -NMR: (400.13 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 0.82 – 0.99 (m, 6 H, CH_3), 1.11 – 1.83 (m, 13 H), 2.12 – 2.25 (m, 1 H, $CHCO$), 4.26 (ddd, $J = 9.94, 8.13, 5.14$ Hz, 1 H, Leu- CHN), 7.92 (d, $J = 8.03$ Hz, 1 H, NH), 12.43 (br. s., 1 H, CO_2H).

CY-LEU-PYR-ALKYL (36)

CY-LEU-BETA-PYR- $CH_2C_3H_5$ (36A)

Struktur:



Molare Masse: 385.54

Summenformel: $C_{23}H_{35}N_3O_2$

Methode C: 200 mg (0.829 mmol) **35**, 350 mg (0.846 mmol) HCTU, 251 mg (2.49 mmol) NMM, 181 mg (0.912 mmol) **5q**

Ausbeute: 270 mg (0.700 mmol, 85%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3277, 2952, 2925, 2159, 2031, 1976, 1636, 1542, 713.

1H -NMR: (400.13 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = -0.04 – 0.22 (m, 2 H, $CH(CH_2)_2$), 0.22 – 0.46 (m, 2 H, $CH(CH_2)_2$), 0.65 – 0.78 (m, 1 H, $CH(CH_2)_2$), 0.79 – 0.93 (m, 6 H, CH_3), 1.05 – 1.94 (m, 15 H),

2.13 – 2.28 (m, 1 H, $\underline{\text{CHCO}}$), 4.25 – 4.36 (m, 1 H, Leu- $\underline{\text{CHN}}$), 4.96 – 5.12 (m, 1 H, $\underline{\text{CHN}}$), 7.92 – 8.04 (m, 2 H, $\underline{\text{NH}}$, 5-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 8.44 – 8.57 (m, 1 H, 4-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 8.66 – 8.78 (m, 1 H, $\underline{\text{NH}}$), 8.80 (d, $J = 5.05$ Hz, 1 H, 6-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 8.84 – 8.96 (2 s, 1 H, 2-Pyr- $\underline{\text{CH}}$).

$^{13}\text{C-NMR}$: (100.61 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) = 3.91, 4.20, 4.39, 4.65 (2 C, $\underline{\text{CH}}(\underline{\text{CH}_2})$), 7.86, 8.04 ($\underline{\text{CH}}(\underline{\text{CH}_2})_2$), 21.57, 21.71, 24.27, 25.15, 25.27, 25.42, 28.79, 28.82, 29.42 (8 C), 38.22 ($\underline{\text{CH}_2\text{CHN}}$), 40.46, 40.57 (Leu- $\underline{\text{CH}_2}$), 43.56, 43.63 ($\underline{\text{CHCO}}$), 50.86, 50.94, 51.05, 51.21 (2 C, $\underline{\text{CHN}}$, Leu- $\underline{\text{CHN}}$), 126.59, 126.63 (5-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 140.22, 140.38, 140.67, 140.85 (2 C, 3-Pyr- $\underline{\text{C}}$, 4-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 142.92, 143.13, 143.29, 143.45 (2 C, 2/6-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 172.18, 172.49 (Leu- $\underline{\text{CO}}$), 175.20, 175.31 ($\underline{\text{CHCO}}$).

Diast.-Verhältnis: 47 / 53

R_f -Wert: 0.40 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:24)

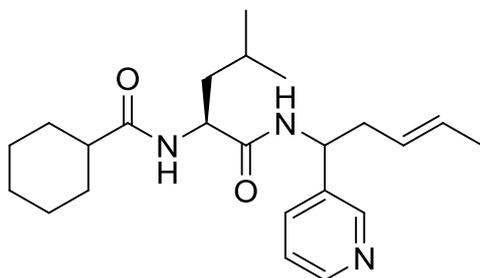
Schmelzpunkt: 170 – 172 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 386.3 [ber.: 385.27]

LC-MS: R_t = 3.0 min, Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-CH₂CH=CHCH₃ (36B)

Struktur:



Molare Masse: 385.54

Summenformel: C₂₃H₃₅N₃O₂

Methode C: 200 mg (0.829 mmol) **22a**, 350 mg (0.846 mmol) HCTU, 251 mg (2.49 mmol) NMM, 181 mg (0.912 mmol) **5f**

Ausbeute: 270 mg (0.700 mmol, 85%) Öl

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3270, 2951, 2925, 2159, 2028, 1636, 1542, 714.

$^1\text{H-NMR}$: (400.13 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) = 0.76 – 1.00 (m, 6 H, Leu- $\underline{\text{CH}_3}$), 1.00 – 1.80 (m, 16 H), 2.15 – 2.33 (m, 1 H, $\underline{\text{CHCO}}$), 2.48 – 2.52 (m, 2 H, $\underline{\text{CH}_2\text{CH=CH}}$), 4.27 – 4.38 (m, 1 H, Leu- $\underline{\text{CHN}}$), 5.00 – 5.10 (m, 1 H, $\underline{\text{CHN}}$), 5.34 – 5.61 (m, 2 H, $\underline{\text{CH}_2\text{CH=CH}}$), 7.95 (d, $J = 8.08$ Hz, 1 H, $\underline{\text{NH}}$), 8.07 (dd, $J = 12.63, 4.80$ Hz, 1 H, 5-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 8.46 – 8.70 (m, 2 H, $\underline{\text{NH}}$, 4-Pyr- $\underline{\text{CH}}$), 8.80 – 9.01 (m, 2 H, 2/6-Pyr- $\underline{\text{CH}}$).

$^{13}\text{C-NMR}$: (100.61 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) = 17.71 (C= $\underline{\text{CH}}\underline{\text{CH}_3}$), 21.56, 21.80, 22.70, 22.79, 24.24, 25.15, 25.26, 25.42, 28.83, 28.86 (6 C), 29.32, 29.38 (2 C, $\underline{\text{CH}_2}$), 38.21 ($\underline{\text{CH}_2\text{CH=CH}}$), 40.46

(Leu- $\underline{\text{C}}\text{H}_2$), 43.54, 43.59 ($\underline{\text{C}}\text{HCO}$), 50.17, 50.98 (2 C, $\underline{\text{C}}\text{HN}$), 126.24, 126.45, 126.67, 128.37 (4 C, $\text{CH}_2\underline{\text{C}}\text{H}=\underline{\text{C}}\text{H}$, 4/5-Pyr- $\underline{\text{C}}\text{H}$), 136.34 (3-Pyr- $\underline{\text{C}}$), 140.25, 140.79, 142.77, 143.20 (2 C, 2/6-Pyr- $\underline{\text{C}}\text{H}$), 172.23 (Leu- $\underline{\text{C}}\text{O}$), 175.23 ($\underline{\text{C}}\text{O}$).

Diast.-Verhältnis: 50 / 50

R_f-Wert: 0.36 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:24)

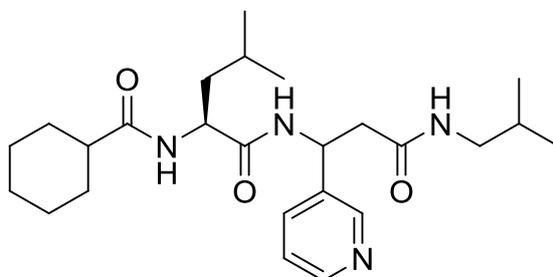
LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 386.3 [ber.: 385.27]

LC-MS: R_t = 3.8 min, Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-NH-R (37)

CY-LEU-BETA-PYR-AS-NHCH₂CH(CH₃)₂ (37A)

Struktur:



Molare Masse: 444.61

Summenformel: C₂₅H₄₀N₄O₃

Methode C: 206 mg (0.854 mmol) **35**, 385 mg (0.931 mmol) HCTU, 0.30 ml (2.67 mmol) NMM, 200 mg (0.776 mmol) **24f**

Ausbeute: 240 mg (0.540 mmol, 70%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3298, 3280, 2952, 2926, 2159, 1976, 1636, 2546, 1533, 721.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.58 – 0.92 (m, 12 H, $\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 1.06 – 1.80 (m, 14 H), 2.10 – 2.28 (m, 1 H, $\underline{\text{C}}\text{HCO}$), 2.55 – 2.62 (m, 2 H, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CO}$), 2.75 – 2.78 (m, 2 H, NCH_2), 4.19 – 4.30 (m, 1 H, Leu- $\underline{\text{C}}\text{HN}$), 5.12 – 5.22 (m, 1 H, $\underline{\text{C}}\text{HN}$), 7.28 – 7.33 (m, 1 H, NH), 7.58 – 7.69 (m, 1 H, 5-Pyr- $\underline{\text{C}}\text{H}$), 7.80 – 7.89 (m, 2 H, NH, 4-Pyr- $\underline{\text{C}}\text{H}$), 8.38 – 8.62 (m, 3 H, NH , 2/6-Pyr- $\underline{\text{C}}\text{H}$).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 19.89, 19.96, 21.45, 21.51 (2 C, $\text{CH}\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 22.90, 22.94 (2 C, Leu- $\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 24.24 (Leu- $\underline{\text{C}}\text{H}$), 25.15, 25.20, 25.30, 25.44, 25.47 (3 C, CH_2), 27.84, 27.88 ($\underline{\text{C}}\text{HCH}_3$), 28.84, 29.37 (2 C, $\text{CH}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2$), 40.55 (Leu- $\underline{\text{C}}\text{H}_2$), 43.64, 43.69 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CO}$), 45.92, 45.94 ($\underline{\text{C}}\text{HCO}$), 47.95, 47.97 ($\underline{\text{C}}\text{HN}$), 50.76, 50.90 (Leu- $\underline{\text{C}}\text{HN}$), 123.15 (5-Pyr- $\underline{\text{C}}\text{H}$), 133.97 (4-Pyr- $\underline{\text{C}}\text{H}$), 137.65 (3-Pyr- $\underline{\text{C}}$), 147.96, 148.06 (2 C, 2/6-Pyr- $\underline{\text{C}}\text{H}$), 169.02 ($\text{CH}_2\underline{\text{C}}\text{O}$), 171.48 (Leu- $\underline{\text{C}}\text{O}$), 175.30 ($\underline{\text{C}}\text{O}$).

Diast.-Verhältnis: 54 / 46

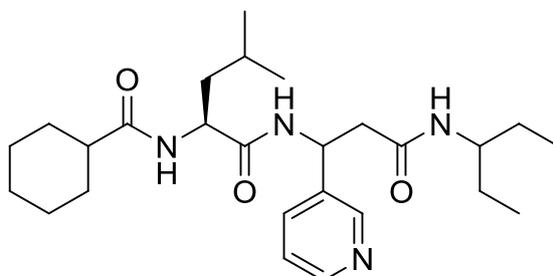
R_f-Wert: 0.20 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:24)

Schmelzpunkt: >220 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: $[M+H]^+$ 445.4 [ber.: 444.31]
 LC-MS: R_t = 2.7 min (Diast. A), 3.0 (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-NHCH(CH₂CH₃)₂ (**37B**)

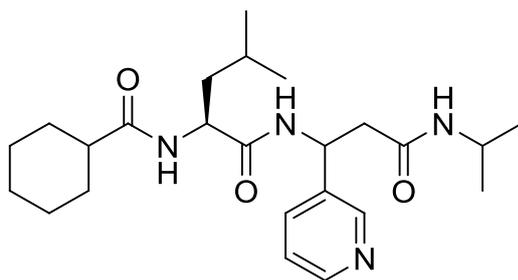
Struktur:



Molare Masse: 458.64
 Summenformel: C₂₆H₄₂N₄O₃
 Methode C: 100 mg (0.368 mmol) **24a**, 183 mg (0.442 mmol) HCTU, 112 mg (1.10 mmol) NMM, 98 mg (0.405 mmol) **35**
 Ausbeute: 100 mg (0.218 mmol, 59 %) farbloser Feststoff
 FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3660 3278, 2969, 2926, 1634, 1536, 1075, 713.
¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.48 – 0.95 (m, 12 H, CH₃), 1.02 – 1.83 (m, 17 H), 2.06 – 2.31 (m, 1 H, CHCO), 2.55 – 2.62 (m, 2 H, CH₂CO), 3.36 – 3.49 (m, 1 H, CH(CH₂CH₃)₂), 4.23 – 4.27 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.17 – 5.19 (m, 1 H, CHN), 7.32 (br. s., 1 H, NH), 7.47 – 7.58 (m, 1 H, NH), 7.61 – 7.67 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.85 – 7.87 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.27 – 8.72 (m, 3 H, NH, 2/6-Pyr-CH).
¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 10.03, 10.08, 10.16, 10.21 (2 C, CH₂CH₃), 21.41, 21.42, 22.90, 22.97 (2 C, Leu-CH₃), 24.23, 25.15, 25.19, 25.25, 25.28, 25.43, 26.54, 26.64, 26.69, 28.81, 29.37 (8 C), 40.40, 40.53 (Leu-CH₂), 41.17, 41.28 (CH₂CO), 43.64, 43.68 (CHCO), 48.00, 48.06, 48.18 (CHN), 50.75, 51.12 (2 C, Leu-CHN, NCH(CH₂CH₃)₂), 128.22 (5-Pyr-CH), 134.21 (4-Pyr-CH), 141.47 (3-Pyr-C), 147.63, 147.81 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 168.74 (CH₂CO), 171.47 (Leu-CO), 175.25, 175.30 (CHCO).
 Diast.-Verhältnis: 50 / 50
 R_f -Wert: 0.24 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:24)
 Schmelzpunkt: >220 °C
 LOOP-ESI-MS: gef.: $[M+H]^+$ 459.4 [ber.: 458.33]
 LC-MS: R_t = 3.8 min (Diast. A), 4.2 min (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-NHCH(CH₃)₂ (**37C**)

Struktur:



Molare Masse: 430.58

Summenformel: C₂₄H₃₈N₄O₃Methode C: 92 mg (0.377 mmol) **24j**, 187 mg (0.452 mmol) HCTU, 270 mg (2.67 mmol) NMM, 100 mg (0.405 mmol) **35**

Ausbeute: 50 mg (0.116 mmol, 31%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3661, 3284, 2971, 2926, 1636, 1536, 1065, 713.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.73 – 1.00 (m, 12 H, CH₃), 1.10 – 1.82 (m, 13 H), 2.09 – 2.29 (m, 1 H, CHCO), 2.50 – 2.54 (2 H, CH₂CHN), 3.63 – 3.80 (m, 1 H, (CH₃)₂CHN), 4.19 – 4.33 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.13 – 5.20 (m, 1 H, CHN), 7.33 (br. s., 1 H, NH), 7.61 – 7.70 (m, 2 H, NH, 5-Pyr-CH), 7.82 – 7.85 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.28 – 8.70 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 21.5, 21.5, 22.1, 22.2, 22.9, 22.9 (4 C, CH₃), 24.2, 25.1, 25.2, 28.8, 29.4 (6 C, Leu-CH, CH₂), 40.5, 40.6, 41.4, 41.5 (3 C, CH₂CO, Leu-CH₂, CHCH₃), 43.7 (CHCO), 48.0 (CH₂CHN), 50.7, 50.8 (Leu-CHN), 123.2 (5-Pyr-CH), 133.9 (4-Pyr-CH), 137.8 (3-Pyr-C), 147.9, 148.0 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 167.98, 168.04, 171.4, 175.2 (3 C, CO).

Diast.-Verhältnis: 55 / 45

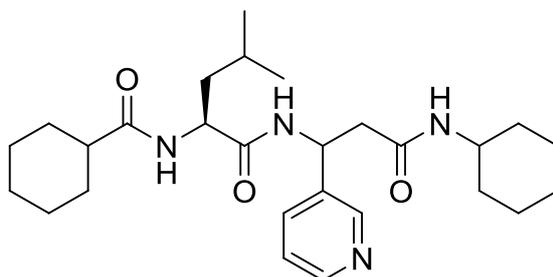
R_f-Wert: 0.16 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:24)

Schmelzpunkt: >220 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 431.4 [ber.: 430.58]LC-MS: R_t = 2.2 min, Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-NHC₆H₁₁ (**37D**)

Struktur:



Molare Masse: 470.65

Summenformel: C₂₇H₄₂N₄O₃Methode C: 124 mg (0.414 mmol) **24h**, 206 mg (0.497 mmol) HCTU, 216 mg (1.67 mmol) DIPEA, 100 mg (0.414 mmol) **35**

Ausbeute: 140 mg (0.297 mmol, 72%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3674, 3286, 2970, 2927, 2855, 1636, 1541, 1076, 714.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.74 – 0.90 (m, 6 H, CH₃), 0.92 – 1.82 (m, 23 H), 2.10 – 2.27 (m, 1 H, CHCO), 2.46 – 2.57 (m, 2 H, CH₂), 3.36 – 3.48 (m, 1 H, NHCH), 4.22 – 4.29 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.12 – 5.20 (m, 1 H, CH₂CHN), 7.57 – 7.66 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.82 – 7.86 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.37 – 8.51 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.56 u. 8.58 (2 s, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 21.49 (2 C, CH₃), 22.86, 22.94, 24.22, 24.39, 24.43, 25.14, 25.20, 25.25, 25.28, 25.45 (7 C), 28.86, 29.37, 32.14, 32.26 (4 C, CH₂), 40.41, 40.60 (Leu-CH₂), 43.61, 43.67 (CH₂), 47.32 (2 C, CH), 48.00 (CHN), 50.72, 50.83 (Leu-CHN), 123.11 (5-Pyr-CH), 133.90 (4-Pyr-CH), 138.54 (3-Pyr-C), 147.92, 147.97 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 167.96, 168.03 (CO), 171.43 (Leu-CO), 175.19 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 53 / 47

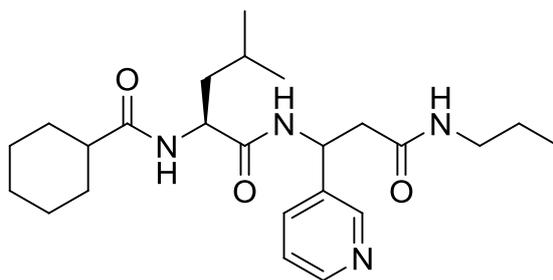
R_F-Wert: 0.24 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:24)

Schmelzpunkt: >220 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 471.4 [ber.: 470.33]LC-MS: R_t = 4.5 min (Diast. A), 5.3 min (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-NH(CH₂)₂CH₃ (**37E**)

Struktur:



Molare Masse: 430.58

Summenformel: C₂₄H₃₈N₄O₃

Methode C: 101 mg (0.414 mmol) **24g**, 206 mg (0.497 mmol) HCTU, 214 mg (1.66 mmol) DIPEA, 100 mg (0.414 mmol) **35**

Ausbeute: 112 mg (0.260 mmol, 63%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3668, 2968, 2926, 2159, 1636, 1535, 715.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.66–0.72 (m, 3 H, CH₂CH₃), 0.76–0.93 (m, 6 H, CH₃), 1.06–1.80 (m, 15 H), 2.17–2.21 (m, 1 H, CHCO), 2.52–2.62 (m, 2 H, CHCH₂), 2.82–3.01 (m, 2 H, NHCH₂), 4.19–4.31 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.18 (dd, *J* = 7.07, 3.28 Hz, 1 H, CHN), 7.61–7.64 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.76–7.89 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.44–8.48 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.55–8.60 (m, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 11.17, 11.22 (CH₂CH₃), 21.45, 21.53, 22.12, 22.16, 22.89, 22.91 (3 C, CH₂CH₃, CH₃), 24.21 (Leu-CH), 25., 25.28, 25.44 (3 C), 28.83, 29.37 (2 C), 40.51, 40.57, 41.26, 41.36, 43.64 (4 C), 47.88 (CHCO), 50.75–50.83 (Leu-CHN), 123.15 (5-Pyr-CH), 133.90 (4-Pyr-CH), 137.65 (3-Pyr-C), 147.95, 148.02 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 168.88 (CH₂CO), 171.45 (Leu-CO), 175.19, 175.23 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 54 / 46

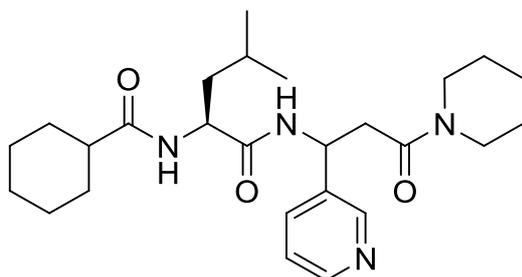
R_F-Wert: 0.20 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:24)

Schmelzpunkt: >220 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 431.4 [ber.: 430.29]LC-MS: R_t = 2.3 min, Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-N(CH₂)₅ (**37F**)

Struktur:



Molare Masse: 456.62

Summenformel: C₂₆H₄₀N₄O₃Methode C: 112 mg (0.414 mmol) **24I**, 206 mg (0.497 mmol) HCTU, 214 mg (1.66 mmol) DIPEA, 100 mg (0.414 mmol) **35**

Ausbeute: 140 mg (0.307 mmol, 74%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3267, 2926, 2856, 1637, 1539, 842, 713.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.76 – 0.92 (m, 6 H, CH₃), 1.05 – 1.81 (m, 18 H), 2.10 – 2.28 (m, 1 H, CHCO), 2.72 – 2.98 (m, 2 H, CH₂), 3.26 – 3.41 (m, 4 H, CH₂NCH₂), 4.19 – 4.32 (m, 1 H, Leu-CH), 5.15 – 5.29 (m, 1 H, CHN), 7.30 – 7.35 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.64 – 7.75 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 7.87 (t, *J* = 8.97 Hz, 1 H, NH), 8.34 – 8.47 (m, 2 H, NH, 6-Pyr-CH), 8.51 (2 d, *J* = 2.27 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 21.41, 21.52, 22.88, 22.91, 23.86, 23.91, 24.22, 25.14, 25.16, 25.25, 25.42, 25.84, 25.93 (9 C), 28.84, 29.32, 29.36 (2 C), 37.78, 37.87, 40.48, 40.59, 41.89, 41.94, 43.65, 43.69, 46.00, 47.53, 47.67 (6 C), 50.83 (Leu-CHN), 123.16 (5-Pyr-CH), 134.10, 134.15 (4-Pyr-CH), 137.95, 138.06 (3-Pyr-C), 147.84, 148.14 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 167.36, 167.39 (NCO), 171.50, 171.53 (Leu-NCO), 175.25, 175.29 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 55 / 45

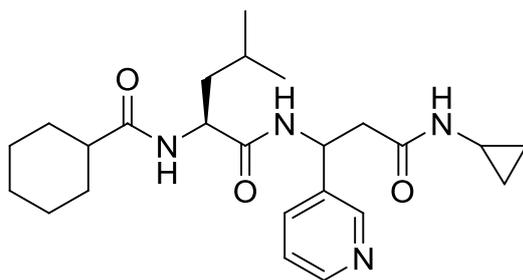
R_F-Wert: 0.26 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:24)

Schmelzpunkt: 143 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 457.4 [ber.: 456.31]LC-MS: R_t = 2.7 min, Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-NHC₃H₅ (**37G**)

Struktur:



Molare Masse: 428.57

Summenformel: C₂₄H₃₆N₄O₃

Methode C: 100 mg (0.414 mmol) **24i**, 206 mg (0.497 mmol) HCTU, 214 mg (1.66 mmol) DIPEA, 100 mg (0.414 mmol) **35**

Ausbeute: 80 mg (0.187 mmol, 45%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3685, 3283, 2928, 1658, 1636, 1537.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.13 – 0.61 (m, 4 H, CH₂), 0.75 – 0.92 (m, 6 H, CH₃), 1.02 – 1.87 (m, 13 H), 2.15 – 2.20 (m, 1 H, CHCO), 2.43 – 2.58 (m, 3 H, (CH₂)₂CHN, CH₂), 4.27 (d, *J* = 6.06 Hz, 1 H, Leu-CHN), 5.17 (d, *J* = 7.58 Hz, 1 H, CHN), 7.30 – 7.33 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.56 – 7.70 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 7.82 (t, *J* = 7.45 Hz, 1 H, NH), 7.89 – 7.91 (m, 1 H, NH), 8.34 – 8.59 (m, 3 H, NH, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 5.51 (2 C, NCH(CH₂)₂), 21.48, 21.58, 22.02, 22.90, 24.24, 25.14, 25.25, 25.45 (6 C), 28.83 (NCH(CH₂)₂), 29.36 (2 C, CHCH₂), 40.56, 41.27 (2 C, CH₂, Leu-CH₂), 43.60 (CHN), 47.82 (CHCO), 50.73 (Leu-CHN), 123.14 (5-Pyr-CH), 133.92 (4-Pyr-CH), 137.73 (3-Pyr-C), 147.97 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 170.17 (CO), 171.47 (Leu-CO), 175.17 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 59 / 41

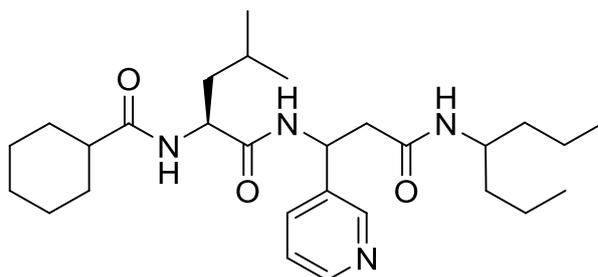
R_f-Wert: 0.38 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: >220 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 429.3 [ber.: 428.28]LC-MS: R_t = 1.8 min, Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-NHCH(CH₂CH₂CH₃)₂ (**37H**)

Struktur:



Molare Masse: 486.69

Summenformel: C₂₈H₄₆N₄O₃Methode C: 124 mg (0.414 mmol) **24e**, 206 mg (0.497 mmol) HCTU, 214 mg (1.66 mmol) DIPEA, 100 mg (0.414 mmol) **35**

Ausbeute: 140 mg (0.288 mmol, 69%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3670, 3283, 2957, 2929, 1637, 1535, 714.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.61 – 1.89 (m, 33 H), 2.08 – 2.29 (m, 1 H, CHCO), 2.54 – 2.66 (m, 2 H, CH₂CO), 3.55 – 3.63 (m, 1 H, CHN), 4.20 – 4.27 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.15 – 5.18 (m, 1 H, CH₂CHN), 7.28 – 7.32 (1 H, NH), 7.50 – 7.58 (m, 1 H, NH), 7.60 – 7.64 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.87 – 7.90 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.34 – 8.73 (m, 3 H, NH, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 13.68 (2 C, CH₂CH₃), 18.40 (2 C, CH₂CH₃), 22.92 (2 C, Leu-CH₃), 24.25 (Leu-CH), 25.16, 25.28, 25.43, 28.80, 29.35 (5 C, CH₂), 36.68 (2 C, CHCH₂CH₂), 40.3, 40.4, 41.05, 41.17 (2 C, Leu-CH₂, CH₂CO), 43.66, 43.70 (CHN), 47.04, 47.18 (CHCO), 48.00 (CHN), 50.76, 50.98 (Leu-CHN), 123.0 (5-Pyr-CH), 133.96 (4-Pyr-CH), 137.39 (3-Pyr-C), 147.88, 148.13 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 168.63 (CH₂CO), 171.41 (Leu-CO), 175.35 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 50 / 50

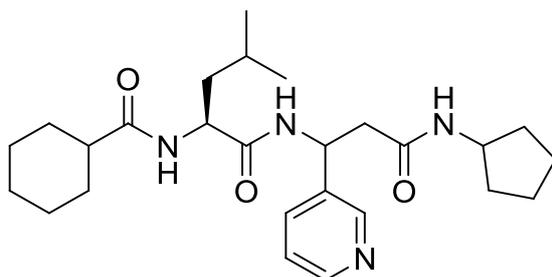
R_f-Wert: 0.48 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: >220 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 487.4 [ber.: 486.36]LC-MS: R_t = 8.7 min (Diast. A), 8.8 min (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-NHC₅H₉ (**37I**)

Struktur:



Molare Masse: 456.62

Summenformel: C₂₆H₄₀N₄O₃Methode C: 112 mg (0.414 mmol) **24q**, 206 mg (0.497 mmol) HCTU, 214 mg (1.66 mmol) DIPEA, 100 mg (0.414 mmol) **35**

Ausbeute: 140 mg (0.307 mmol, 74%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3670, 3285, 2953, 2927, 2854, 1635, 1541, 1433.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.74 – 0.91 (m, 6 H, CH₃), 1.08 – 1.79 (m, 21 H), 2.11 – 2.27 (m, 1 H, CHCO), 2.51 – 2.58 (m, 2 H, CH₂CO), 3.80 – 3.93 (m, 1 H, (CH₂)₂CHN), 4.18 – 4.32 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.13 – 5.18 (m, 1 H, CH₂CHN), 7.29 – 7.33 (m, 1 H, NH), 7.57 – 7.68 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.71 – 7.80 (m, 1 H, NH), 7.80 – 7.88 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.35 – 8.61 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 21.44, 21.51, 22.88, 22.93, 23.25, 23.28 (4 C), 24.22 (Leu-CH), 25.14, 25.18, 25.28, 25.44, 28.84, 29.37, 31.93, 32.01 (7 C, CH₂), 40.49, 40.59 (Leu-CH₂), 41.25 (CH₂CO), 43.61, 43.67 (CHCO), 47.99 (CH₂CHN), 50.12 (CHN), 50.73, 50.83 (Leu-CHN), 123.07 (2-Pyr-CH), 133.90 (4-Pyr-CH), 137.65 (3-Pyr-C), 147.93, 148.01 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 168.43 (CH₂CO), 171.46 (Leu-CO), 175.23 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 57 / 43

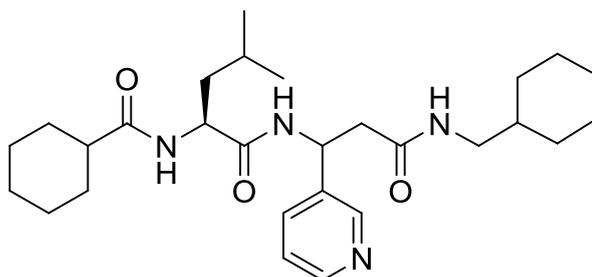
R_f-Wert: 0.41 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: >220 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 457.4 [ber.: 456.31]LC-MS: R_t = 2.9 min (Diast. A), 3.3 min (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-NHCH₂C₆H₁₁ (**37J**)

Struktur:



Molare Masse: 484.67

Summenformel: C₂₈H₄₄N₄O₃Methode C: 123 mg (0.414 mmol) **24m**, 206 mg (0.497 mmol) HCTU, 214 mg (1.66 mmol) DIPEA, 100 mg (0.414 mmol) **35**

Ausbeute: 130 mg (0.268 mmol, 65%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3288, 2922, 2852, 1638, 1540, 1445, 714.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.77 – 0.92 (m, 6 H, Leu-CH₃), 0.97 – 1.84 (m, 24 H), 2.10 – 2.28 (m, 1 H, CHCO), 2.54 – 2.62 (m, 2 H, NCH₂), 2.71 – 2.85 (m, 2 H, CH₂CO), 4.18 – 4.29 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.12 – 5.23 (m, 1 H, CHN), 7.24 – 7.35 (m, 1 H, NH), 7.56 – 7.68 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.77 – 7.89 (m, 2 H, NH, 4-Pyr-CH), 8.36 – 8.66 (m, 3 H, NH, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 21.40, 22.89, 24.23, 25.19, 25.3, 25.91 (9 C, Leu-CH, CH₃, CH₂), 28.81, 29.37, 30.1, 30.16 (4 C, CH₂), 37.14, 37.19 (CHCH₂N), 40.47, 41.13, 41.26 (2 C, CH₂), 43.67 (CH₂N), 44.56 (CHCO), 47.99 (CHN), 50.93 (Leu-CHN), 123.04 (5-Pyr-CH), 133.97 (4-Pyr-CH), 137.49 (3-Pyr-C), 147.91, 148.10 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 164.89, 168.96 (CH₂CO), 171.44 (Leu-CO), 175.31 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 54 / 46

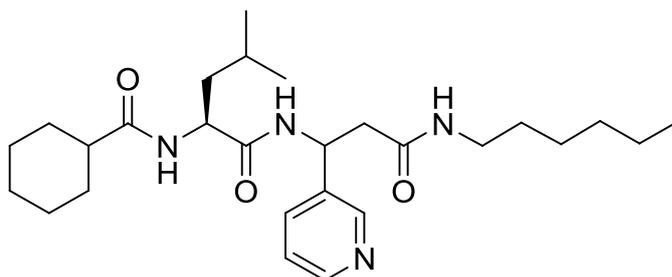
R_F-Wert: 0.41 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: 219 – 221 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 485.4 [ber.: 484.34]LC-MS: R_t = 7.9 min, Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-NH(CH₂)₅CH₃ (**37K**)

Struktur:



Molare Masse: 472.66

Summenformel: C₂₇H₄₄N₄O₃Methode C: 118 mg (0.414 mmol) **24p**, 206 mg (0.497 mmol) HCTU, 214 mg (1.66 mmol) DIPEA, 100 mg (0.414 mmol) **35**

Ausbeute: 140 mg (0.296 mmol, 72%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3292, 2956, 2926, 2854, 1636, 1541, 713.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.74 – 0.92 (m, 9 H, CH₃), 1.00 – 1.80 (m, 21 H), 2.10 – 2.28 (m, 1 H, CHCO), 2.52 – 2.60 (m, 2 H, CH₂N), 2.85 – 2.98 (m, 2 H, CH₂CO), 4.19 – 4.31 (m, 1 H, Leu-CH), 5.11 – 5.24 (m, 1 H, CHN), 7.26 – 7.36 (m, 1 H, NH), 7.63 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.76 – 7.88 (m, 2 H, 4-Pyr-CH, NH), 8.35 – 8.61 (m, 3 H, NH, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 13.87 (CH₂CH₃), 21.43, 21.96, 22.88 (3 C, CH₂CH₃, Leu-CH₃), 24.22 (Leu-CH), 25.15, 25.28, 25.42, 25.91, 28.83, 29.37, 30.92 (8 C, CH₂), 38.28, 38.35 (CH₂N), 40.52, 41.18 (2 C, CH₂) 43.67 (CHCO), 47.90 (CHN), 50.88 (Leu-CHN) 123.12 (5-Pyr-CH), 133.89 (4-Pyr-CH), 137.24 (3-Pyr-C), 147.99, 148.03 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 168.83 (CH₂CO), 171.45 (Leu-CO), 175.28 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 56 / 44

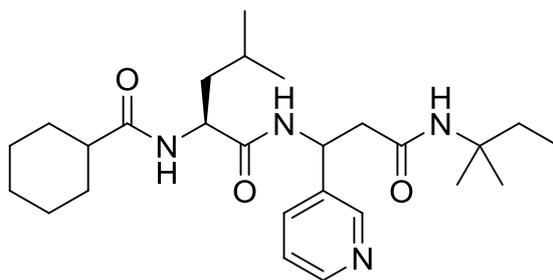
R_F-Wert: 0.41 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: 206–208°C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 473.4 [ber.: 472.34]LC-MS: R_t = 7.9 min (Diast. A), 8.2 min (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-NHC(CH₃)₂CH₂CH₃ (**37L**)

Struktur:



Molare Masse: 458.64

Summenformel: C₂₆H₄₂N₄O₃

Methode C: 113 mg (0.414 mmol) **24b**, 206 mg (0.497 mmol) HCTU, 214 mg (1.66 mmol) DIPEA, 100 mg (0.414 mmol) **35**

Ausbeute: 100 mg (0.218 mmol, 53%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3269, 2960, 2927, 2856, 1637, 1542, 1449, 1386, 1259.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.50 – 0.65 (m, 3 H, CH₃), 0.85 (m, 6 H, Leu-CH₃), 0.98 – 1.78 (m, 21 H), 2.14 – 2.25 (m, 1 H, CHCO), 2.55 – 2.74 (m, 2 H, CH₂CO), 4.07 – 4.32 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.15 – 5.26 (m, 1 H, CHN), 7.34 – 7.53 (m, 1 H, NH), 7.76 – 8.10 (m, 2 H, NH, 5-Pyr-CH), 8.15 – 8.40 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.56 – 8.91 (m, 3 H, NH, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 8.06 (CH₃), 21.35 (2 C, Leu-CH₃), 22.9 (Leu-CH), 24.15, 25.06, 25.34 (3 C, CH₂), 25.91 (2 C, CH₃), 28.71, 29.25 (2 C, CH₂), 31.65 (CH₂CH₃), 40.65 (Leu-CH₂), 43.55 (CH₂CO), 45.73 (CHCO), 47.94 (CHN), 50.89 (Leu-CHN), 52.83 (C_q, CNH), 123.37 (5-Pyr-CH), 133.79 (4-Pyr-CH), 137.80 (3-Pyr-C), 147.61, 147.64 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 168.48 (CH₂CO), 171.84 (Leu-CO), 175.28 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 50 / 50

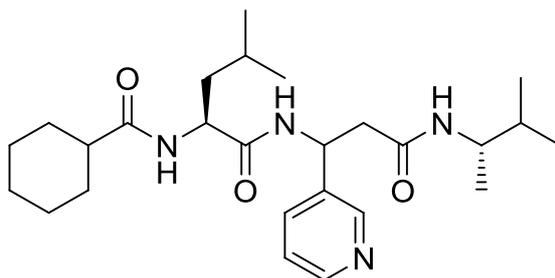
R_f-Wert: 0.41 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: >220 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 459.4 [ber.: 458.33]LC-MS: R_t = 4.8 min (Diast. A), 5.5 min (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-NHCH(CH₃)CH(CH₃)₂ (**37M**)

Struktur:



Molare Masse: 458.64

Summenformel: C₂₆H₄₂N₄O₃Methode C: 113 mg (0.414 mmol) **24s**, 190 mg (0.459 mmol) HCTU, 214 mg (1.66 mmol) DIPEA, 100 mg (0.414 mmol) **35**

Ausbeute: 684 mg (0.262 mmol, 63%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3281, 2928, 2855, 1658, 1636, 1541, 1446, 714.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.54 – 0.95 (m, 15 H, CH₃), 1.00 – 1.86 (m, 14 H), 2.06 – 2.29 (m, 1 H, CHCO), 2.55 – 2.70 (m, 2 H, CH₂CO), 3.38 – 3.61 (m, 1 H, (CH₃)CHN), 4.14 – 4.34 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.09 – 5.24 (m, 1 H, CHN), 7.23 – 7.43 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.52 – 7.75 (m, 2 H, NH, 4-Pyr-CH), 7.75 – 7.96 (m, 1 H, NH), 8.26 – 8.54 (m, 3 H, NH, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 16.91, 18.21, 18.32, 18.64 (2 C, CH₃), 21.40, 21.46, 22.88, 22.99 (3 C, CH₃), 24.22 (Leu-CH), 25.14, 25.18, 25.25, 25.44 (3 C, CH₂), 28.82, 29.35 (2 C, CH₂), 32.09, 32.19 (CH(CH₃)₂), 40.30, 41.21 (Leu-CH₂), 43.63 (CH₂), 47.89 (CHCO), 49.06 (CH₂-CHN), 50.79 (CHN), 53.85 (Leu-CHN), 123.22 (5-Pyr-CH), 134.27 (4-Pyr-CH), 137.78 (3-Pyr-C), 147.60, 147.66 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 168.29 (CH₂-CO), 171.47 (Leu-CO), 175.26 (CH-CO).

Diast.-Verhältnis: 42 / 58

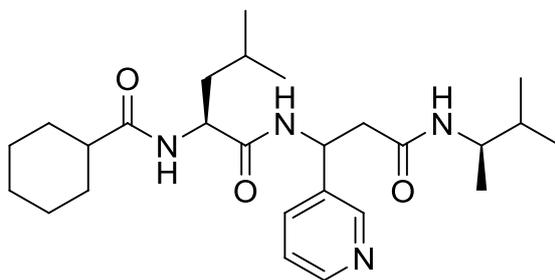
R_f-Wert: 0.43 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: >220 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 459.4 [ber.: 458.33]LC-MS: R_t = 4.0 min (Diast. A), 4.3 min (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-NH-(R)-CH(CH₃)CH(CH₃)₂ (**37N**)

Struktur:



Molare Masse: 458.64

Summenformel: C₂₆H₄₂N₄O₃Methode C: 113 mg (0.414 mmol) **24r**, 190 mg (0.459 mmol) HCTU, 214 mg (1.66 mmol) DIPEA, 100 mg (0.414 mmol) **35**

Ausbeute: 120 mg (0.262 mmol, 63%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3288, 2967, 2927, 2852, 2159, 1637, 1542, 719.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.47 – 0.99 (m, 15 H, CH₃), 1.04 – 1.87 (m, 14 H), 2.03 – 2.34 (m, 1 H, CHCO), 2.52 – 2.70 (m, 2 H, CH₂CO), 3.40 – 3.58 (m, 1 H, CH₃CHN), 4.12 – 4.35 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.15 – 5.20 (m, 1 H, CHN), 7.25 – 7.35 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.60 – 7.70 (m, 2 H, NH, 4-Pyr-CH), 7.82 – 7.97 (m, 1 H, NH), 8.42 – 8.79 (m, 3 H, NH, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 16.78, 18.19, 18.61 (2 C, CH₃CHN, CHCH₃), 21.36, 21.50 (CHCH₃), 22.91 (2 C, Leu-CH₃), 24.25 (Leu-CH), 25.15, 25.20, 25.28, 25.42, 25.45 (3 C, CH₂), 28.79, 29.37 (2 C, CH₂), 32.10 (Leu-CH), 40.45 (Leu-CH₂), 41.48 (CH₂CO), 43.69 (CHCO), 47.93 (CHN), 49.07 (CH₃CHN), 51.01 (Leu-CHN), 123.08 (6-Pyr-CH), 133.87 (4-Pyr-CH), 137.45 (3-Pyr-C), 147.86, 148.04 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 168.40 (CH₂CO), 171.46 (Leu-CO), 175.36 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 60 / 40

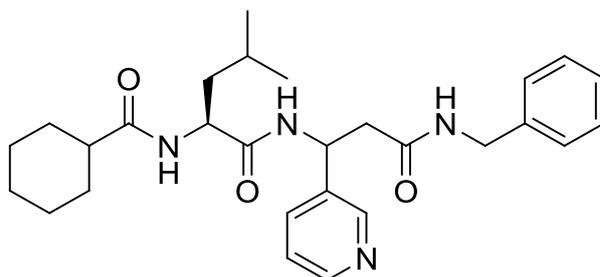
R_F-Wert: 0.46 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: >220 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 459.3 [ber.: 458.33]LC-MS: R_t = 3.8 min (Diast. A), 4.4 min (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-NHBN (370)

Struktur:



Molare Masse: 478.63

Summenformel: $C_{28}H_{38}N_4O_3$ Methode C: 113 mg (0.414 mmol) **24o**, 190 mg (0.459 mmol) HCTU, 214 mg (1.66 mmol) DIPEA, 100 mg (0.414 mmol) **35**

Ausbeute: 121 mg (0.253 mmol, 61%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3284, 2926, 2159, 2033, 1976, 1636, 1541, 712.

1H -NMR: (400.13 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 0.78 – 0.88 (m, 6 H, CH_3), 1.03 – 1.85 (m, 13 H), 2.08 – 2.31 (m, 1 H, $CHCO$), 2.64 – 2.75 (m, 2 H, CH_2), 4.06 – 4.36 (m, 3 H, Leu- CHN , NCH_2), 5.22 – 5.25 (m, 1 H, CHN), 6.96 – 7.03 (m, 2 H, 2/6-Ph- CH), 7.13 – 7.40 (m, 4 H, 3/4/5-Ph- CH , 5-Pyr- CH), 7.60 – 7.70 (m, 1 H, 4-Pyr- CH), 7.84 (dd, J = 7.83, 5.56 Hz, 1 H, NH), 8.36 – 8.62 (m, 4 H, NH , 2/6-Pyr- CH).

^{13}C -NMR: (100.61 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 21.44, 21.52, 22.89, 22.93 (2 C, Leu- CH_3), 24.24 (Leu- CH), 25.15, 25.17, 25.26, 25.28, 25.44, 28.83, 29.37, 29.40 (5 C, CH_2), 40.49 (Leu- CH_2), 41.22 (NCH_2), 41.85 (CH_2CO), 43.63, 43.67 ($CHCO$), 47.88, 47.93 (CHN), 50.73, 50.82 (Leu- CHN), 123.20 (5-Pyr- CH), 126.62 (3-Ph- CH), 126.93 (2 C, 2/6-Ph- CH), 128.12 (2 C, 3/5-Ph- CH), 134.08 (4-Pyr- CH), 137.56 (3-Pyr- C), 139.02 (1-Ph- CH), 148.03, 148.15 (2 C, 2/6-Pyr- CH), 169.07, 169.13 (CH_2CO), 171.48 (Leu- CO), 175.20, 175.24 ($CHCO$).

Diast.-Verhältnis: 53 / 47

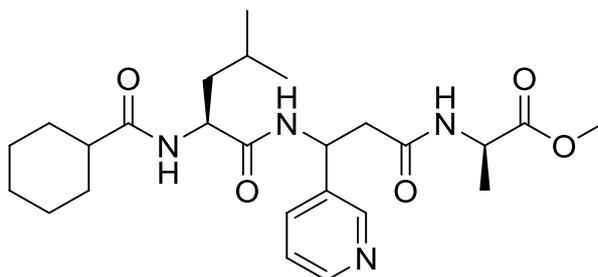
 R_f -Wert: 0.41 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: 170 °C (Zersetzung)

LOOP-ESI-MS: gef.: $[M+H]^+$ 479.3 [ber.: 478.29]LC-MS: R_t = 3.9 min (Diast. A), 4.4 min (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-NH-(D)-ALA-OME (37P)

Struktur:



Molare Masse: 474.59

Summenformel: $C_{25}H_{38}N_4O_5$ Methode C: 119 mg (0.414 mmol) **26h**, 190 mg (0.459 mmol) HCTU, 214 mg (1.66 mmol) DIPEA, 100 mg (0.414 mmol) **35**

Ausbeute: 180 mg (0.379 mmol, 93%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3281, 2928, 2854, 2160, 2032, 1976, 1734, 1635, 1535, 1437, 1345, 810.
 $^1\text{H-NMR}$: (400.13 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) = 0.82 – 0.99 (m, 6 H, CH_3), 1.14 – 1.84 (m, 16 H), 2.19 – 2.32 (m, 1 H, CHCO), 2.72 – 2.82 (m, 2 H, CH_2CO), 3.66 (s, 3 H, OCH_3), 4.24 – 4.36 (m, 1 H, Leu- CHN), 4.58 – 4.62 (m, 1 H, Ala- CHN), 5.26 – 5.35 (m, 1 H, CHN), 7.64 – 7.67 (m, 1 H, 5-Pyr- CH), 7.93 – 7.95 (m, 1 H, 4-Pyr- CH), 8.55 – 8.71 (m, 2 H, 2/6-Pyr- CH).

 $^{13}\text{C-NMR}$: (100.61 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) = 21.20, 21.46 (Ala- CH_3), 22.87 (2 C, Leu- CH_3), 24.37 (Leu- CH), 25.17, 25.25, 25.45, 28.85, 29.33, 29.41 (5 C, CH_2), 40.40, 40.70 (2 C, CH_2CO , Leu- CH_2), 43.61 (CHCO), 48.33 (Ala- CHN), 49.83 (CHN), 51.63 (OCH_3), 52.10 (Leu- CHN), 123.32 (5-Pyr- CH), 131.65 (4-Pyr- CH), 137.63 (3-Pyr- C), 147.66 (2 C, 2/6-Pyr- CH), 169.19, 170.29, 170.85, 171.49 (3 C, CO), 174.35, 175.24, 175.29 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 50 / 50

 R_f -Wert: 0.41 (MeOH: CH_2Cl_2 = 1:12)

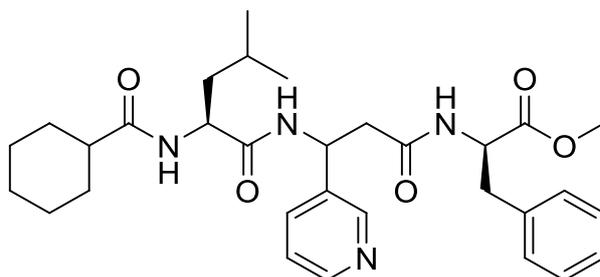
Schmelzpunkt: 129 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: – (Gerät defekt) [ber.: 474.28]

LC-MS: R_t = 3.7 min, Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-NH-(R)-PHE-OCH₃ (37R)

Struktur:



Molare Masse: 550.69

Summenformel: C₃₁H₄₂N₄O₅Methode C: 151 mg (0.414 mmol) **26d**, 180 mg (0.435 mmol) HCTU, 216 mg (1.67 mmol) DIPEA, 100 mg (0.414 mmol) **35**

Ausbeute: 120 mg (0.218 mmol, 53%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3285, 2927, 2854, 1741, 1637, 1540, 1448, 847.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.77 – 0.86 (m, 6 H, Leu-CH₃), 1.05 – 1.75 (m, 13 H), 2.09 – 2.26 (m, 1 H, CHCO), 2.61 (d, *J* = 7.33 Hz, 2 H, CH₂CO), 2.74 – 3.01 (m, 2 H, CH₂C₆H₅), 3.46 – 3.57 (m, 3 H, OCH₃), 4.18 – 4.31 (m, 1 H, Leu-CHN), 4.32 – 4.43 (m, 1 H, CHN), 5.09 – 5.22 (m, 1 H, Phe-CHN), 7.00 – 7.34 (m, 6 H, Ph, 5-Pyr-CH), 7.53 – 7.62 (m, 1 H, NH), 7.75 – 7.86 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.40 – 8.55 (m, 4 H, NH, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 21.49, 22.88 (2 C, Leu-CH₃), 24.20, 25.17, 25.24, 25.43 (4 C), 28.81, 29.35 (2 C, CH(CH₂)₂), 36.64 (Leu-CH₂), 38.64 (Leu-CH₂), 40.55, 40.65 (CH₂CO), 43.66 (CHCO), 47.55 (CH₂CHN), 50.20, 50.72, 51.72, 53.39 (3 C), 122.00 (5-Pyr-CH), 126.51 (4-Ph-CH), 128.19 (2 C, Ph), 128.87 (2 C, Ph), 129.00 (4-Pyr-CH), 133.94 (1-Ph-C), 136.99 (3-Pyr-C), 147.97, 148.04, 148.13 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 169.22 (CH₂CO), 171.46, 171.60 (2 C, Leu-CO, Phe-CO), 175.25 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 54 / 46

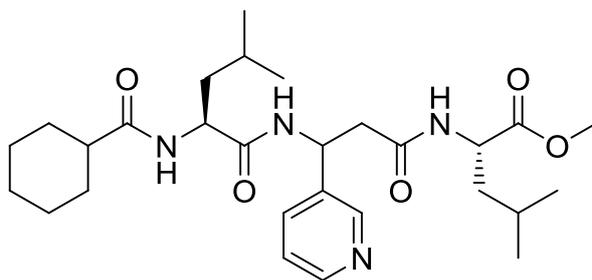
R_F-Wert: 0.38 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: 184–186 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 551.0 [ber.: 550.32]LC-MS: R_t = 6.6 min (Diast. A), 7.0 (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-NH-(S)-LEU-OCH₃ (**37S**)

Struktur:



Molare Masse: 516.67

Summenformel: C₂₈H₄₄N₄O₅Methode C: 140 mg (0.414 mmol) **26e**, 180 mg (0.435 mmol) HCTU, 216 mg (1.67 mmol) DIPEA, 100 mg (0.414 mmol) **35**

Ausbeute: 150 mg (0.290 mmol, 70%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3283, 2952, 2928, 2852, 1748, 1635, 1536, 1207, 846, 711.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.64 – 0.99 (m, 12 H, CH₃), 1.11 – 1.86 (m, 16 H), 2.12 – 2.30 (m, 1 H, CHCO), 2.60 – 2.73 (m, 2 H, CH₂), 3.63 (s, 3 H, OCH₃), 4.18 – 4.38 (m, 2 H, Leu-CHN), 5.21 – 5.25 (m, 1 H, CHN), 7.33 – 7.38 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.62 – 7.92 (m, 2 H, 4-Pyr-CH, NH), 8.36 (d, *J* = 7.83 Hz, 1 H, NH), 8.41 – 8.57 (m, 3 H, NH, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 21.03, 21.55 (2 C, Leu-CH₃), 22.76, 22.99 (2 C, Leu-CH₃), 23.93, 24.30, 25.19, 25.30, 25.47 (5 C), 28.87, 29.42 (2 C, (CH₂)₂CHCO), 38.26 (Leu-CH₂), 40.52 (CH₂CO), 41.00 (Leu-CH₂), 43.68 (CHCO), 47.99 (CH₂CHN), 49.94 (Leu-CHN), 50.75 (Leu-OCH₃), 51.81 (Leu-CHN), 123.17 (5-Pyr-CH), 134.21 (4-Pyr-CH), 137.37 (3-Pyr-C), 148.07, 148.22 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 169.27 (CH₂CO), 171.53 (Leu-CO), 172.80 (Leu-CO), 175.28 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 50 / 50

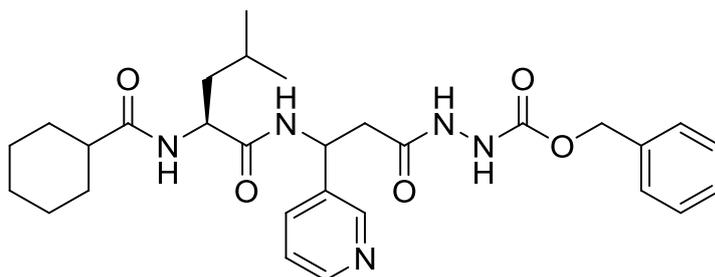
R_f-Wert: 0.34 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: 187 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 517.0 [ber.: 516.33]LC-MS: R_t = 6.1 min (Diast. A), 6.6 min (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-NHNHCO₂BN (37T)

Struktur:



Molare Masse: 537.65

Summenformel: C₂₉H₃₉N₅O₅Methode C: 145 mg (0.414 mmol) **28**, 180 mg (0.435 mmol) HCTU, 216 mg (1.67 mmol) DIPEA, 100 mg (0.414 mmol) **35**

Ausbeute: 150 mg (0.279 mmol, 67%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3271, 2928, 2855, 1742, 1634, 1533, 1220, 712.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.80 – 0.85 (m, 6 H, CH₃), 0.99 – 1.82 (m, 13 H), 2.06 – 2.28 (m, 1 H, CHCO), 2.64 – 2.70 (m, 2 H, CH₂CO), 4.26 (br. s., 1 H, Leu-CHN), 4.90 – 5.20 (2 H, OCH₂), 5.22 (d, *J* = 7.07 Hz, 1 H, CHN), 7.17 – 7.44 (m, 5 H, Ph), 7.55 – 7.72 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.77 – 7.80 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.34 – 8.60 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH), 9.16 (br. s., 1 H, NHNH), 9.77 (br. s., 1 H, NHNH).

¹³C-NMR: (100.64 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 21.44, 21.49, 22.90, 22.95 (2 C, Leu-CH₃), 24.20, 24.24, 25.14, 25.26, 25.43 (4 C, Leu-CH, CH₂), 28.82, 29.39, 29.43 (2 C, CH₂CHCO), 40.07, 40.60 (2 C, CH₂CO, Leu-CH₂), 43.61, 43.64 (CHCO), 47.30, 47.38 (CHN), 50.67, 50.74 (Leu-CHN), 65.83 (OCH₂), 123.24 (5-Pyr-CH), 127.71, 127.91, 128.32 (5 C, C₆H₅), 134.06, 134.13 (4-Pyr-CH), 136.55 (1-Ph-C), 137.48 (3-Pyr-C), 148.09, 148.15 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 155.93 (NC(=O)O), 168.86 (CH2CO), 171.46 (Leu-CO), 175.22, 175.25 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 52 / 48

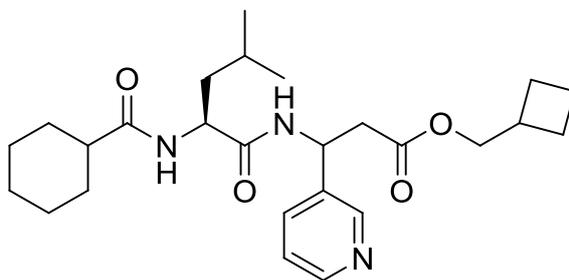
R_f-Wert: 0.27 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: 192–195 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 538.0 [ber.: 537.30]LC-MS: R_t = 4.3 min (Diast. A), 5.2 min (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-O-CH₂C₄H₇ (**37U**)

Struktur:



Molare Masse: 457.61

Summenformel: C₂₆H₃₉N₃O₄Methode C: 200 mg (0.739 mmol) **22b**, 280 mg (0.735 mmol) HBTU, 224 mg (2.22 mmol) NMM, 178 mg (0.739 mmol) **35**

Ausbeute: 208 mg (0.455 mmol, 62 %) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3287, 2954, 2931, 2855, 1732, 1638, 1541, 1286, 1254, 1160, 717.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.72 – 0.92 (m, 6 H, Leu-CH₃), 1.04 – 2.02 (m, 19 H), 2.19 (br. s., 1 H, CHCO), 2.42 – 2.51 (m, 1 H, OCH₂CH), 2.76 – 2.91 (m, 2 H, CH₂CO), 3.88 – 4.03 (m, 2 H, OCH₂), 4.20 – 4.35 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.23 (dq, *J* = 8.16, 7.91 Hz, 1 H, CHN), 7.34 – 7.41 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.70 – 7.80 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.41 – 8.59 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 17.80 (OCH₂CHCH₂CH₂), 21.54, 21.60, 22.82, 22.85 (2 C, Leu-CH₃), 24.09, 24.16, 24.18, 25.16, 25.27, 25.44 (4 C, CH₂, Leu-CH), 28.85, 29.36, 29.42 (4 C, OCH₂CHCH₂, CH₂CHCO), 33.36, 33.42 (CHCH₂O), 40.71, 40.80 (CH₂CO), 43.56, 43.62 (Leu-CH₂), 47.28, 47.39 (2 C, CHCO, CH₂CHN), 50.62 (Leu-CHN), 67.60, 67.69 (OCH₂CH), 123.50 (5-Pyr-CH), 134.19, 134.32 (4-Pyr-CH), 137.28 (3-Pyr-C), 147.85, 148.08 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 169.95, 170.04 (CH₂CO), 171.57, 171.67 (Leu-CO), 175.04, 175.11 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 50 / 50

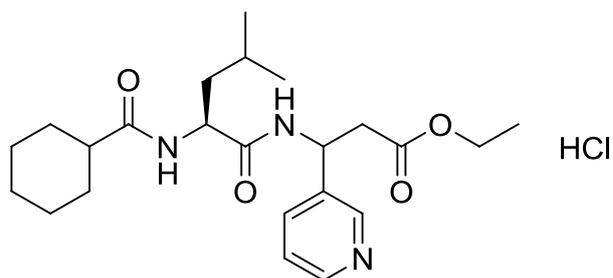
R_f-Wert: 0.48 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: 150–152°C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 458.4 [ber.: 457.29]LC-MS: R_t = 8.4 min (Diast. A), 8.6 min (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-O-CH₂CH₃ HCL (**37V**)

Struktur:



Molare Masse: 454.00

Summenformel: C₂₃H₃₆ClN₃O₄

Methode C: 200 mg (0.829 mmol) **35**, 343 mg (0.829 mmol) HCTU, 251 mg (2.49 mmol) NMM, 177 mg (0.912 mmol) **20a**

Ausbeute: 218 mg (0.481 mmol, 58%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2929, 2855, 1732, 1647, 1541, 1469, 1256, 1205, 1179, 1025, 686.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.77 – 0.97 (m, 6 H, Leu-CH₃), 1.10 – 1.83 (m, 16 H), 2.17 – 2.31 (m, 1 H, CHCO), 2.91 – 3.08 (m, 2 H, CH₂CO), 4.06 – 4.13 (m, 2 H, OCH₂CH₃), 4.21 – 4.34 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.32 – 5.47 (m, 1 H, CHN), 7.94 (dd, *J* = 10.61, 8.08 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.99 – 8.10 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.46 – 8.62 (m, 1 H, NH), 8.73 – 8.87 (m, 2 H, NH, 6-Pyr-CH), 8.87 – 8.99 (m, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 13.92, 13.95 (CH₂CH₃), 21.49, 21.68, 22.76, 22.80, 24.16, 25.12, 25.23, 25.28, 25.42, 28.72, 28.81, 29.28, 29.42 (8 C), 38.21 (CH₂CO), 40.40, 40.48 (Leu-CH₂), 43.50, 43.58 (CHN), 47.02 (CHCO), 50.91, 51.02 (Leu-CHN), 60.24 (OCH₂), 128.44 (5-Pyr-CH), 140.96, 141.14, 141.37, 141.55, 142.69, 142.94 (4 C, 3-Pyr-C, 2/4/6-Pyr-CH), 169.56 (CO₂), 172.10, 172.26 (NCO), 175.27, 175.31 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 55 / 45

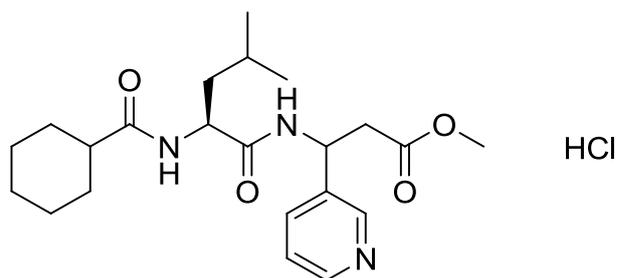
R_f-Wert: 0.51 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: 140 – 142 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 418.3 [ber.: 417.26]LC-MS: R_t = 3.0 min (Diast. A), 3.2 min (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-O-CH₃ HCL (**37W**)

Struktur:



Molare Masse: 439.98

Summenformel: C₂₂H₃₄ClN₃O₄

Methode C: 200 mg (0.829 mmol) **35**, 350 mg (0.846 mmol) HCTU, 251 mg (2.49 mmol) NMM, 164 mg (0.912 mmol) **20b**

Ausbeute: 164 mg (0.373 mmol, 45%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2929, 2855, 1733, 1646, 1534, 1469, 1449, 1257, 1207, 1173, 685.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.81 – 1.03 (m, 6 H, CH₃), 1.11 – 1.89 (m, 13 H), 2.18 – 2.34 (m, 1 H, CHCO), 2.77 (s, 3 H, OCH₃), 2.94 – 3.14 (m, 2 H, CH₂CO), 4.24 – 4.34 (m, 1 H, CHN), 5.30 – 5.50 (m, 1 H, Leu-CHN), 7.90 – 8.00 (m, 1 H, NH), 8.06 (br. s., 1 H, 5-Pyr-CH), 8.48 – 8.63 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.74 – 9.03 (m, 3 H, NH, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 21.50, 21.70, 22.68, 22.76, 24.13, 25.09, 25.19, 25.24, 25.39 (6 C), 28.70, 28.77, 29.22, 29.38 (2 C, CHCH₂), 38.19, 38.70 (CH₂CO), 40.32, 40.38 (Leu-CH₂), 43.47, 43.55 (CHN), 46.96 (CHCO), 50.89, 51.05, 51.53 (2 C, Leu-CHN, OCH₃), 126.46 (5-Pyr-CH), 139.84, 140.99, 141.27, 141.38, 141.44, 142.97 (4 C, 3-Pyr-C, 2/4/6-Pyr-CH), 170.06, 172.08, 172.26 (2 C, CHN, Leu-CHN), 175.28 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 55 / 45

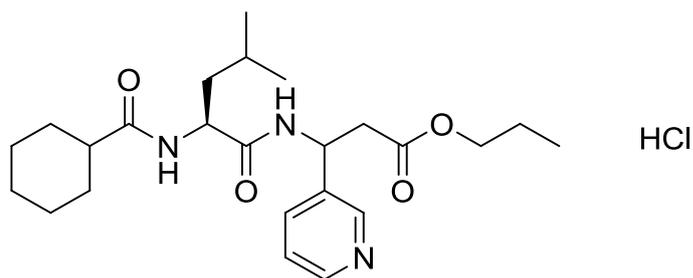
R_f-Wert: 0.46 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: 142 – 145 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 404.3 [ber.: 403.25]LC-MS: R_t = 2.4 min, Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-O-CH₂CH₂CH₃ HCL (37X)

Struktur:



Molare Masse: 468.03

Summenformel: C₂₄H₃₈ClN₃O₄Methode C: 200 mg (0.829 mmol) **35**, 350 mg (0.846 mmol) HCTU, 251 mg (2.49 mmol) NMM, 190 mg (0.912 mmol) **20c**

Ausbeute: 326 mg (0.696 mmol, 84%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3281, 2958, 2928, 2854, 1733, 1637, 1534, 1470, 1261, 1208, 1173, 1066, 684.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.75 – 0.92 (m, 9 H, CH₃), 1.01 – 1.77 (m, 15 H), 2.10 – 2.27 (m, 1 H, CHCO), 2.86 – 3.04 (m, 2 H, CH₂CO), 3.90 – 4.02 (m, 2 H, CH₂O), 4.17 – 4.29 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.27 – 5.40 (m, 1 H, CHN), 7.86 (dd, *J* = 10.99, 7.96 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.90 – 7.98 (m, 1 H, NH), 8.36 – 8.48 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.64 – 8.75 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.77 (t, *J* = 5.05 Hz, 1 H, NH), 8.80 – 8.90 (2 s, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 10.15, 10.18 (CH₂CH₃), 21.34, 21.38, 21.46, 21.62, 22.74, 22.77, 24.12, 25.10, 25.25, 25.40 (7 C), 28.69, 28.77, 29.26, 29.40 (2 C, CHCH₂), 38.19 (Leu-CH₂), 40.40, 40.46 (CH₂CO), 43.48, 43.55 (CHCO), 47.02 (CHN), 50.89, 51.01 (Leu-CHN), 65.69 (OCH₂), 126.48 (5-Pyr-CH), 140.83, 140.99, 141.23, 141.42, 142.78, 142.89 (4 C, 3-Pyr-C, 2/4/6-Pyr-CH), 169.60 (Leu-NCO), 172.07, 172.27 (CO₂), 175.23, 175.28 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 53 / 47

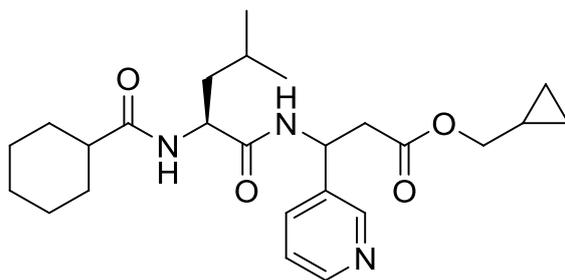
R_f-Wert: 0.46 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: 135– 138 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 432.3 [ber.: 431.28]LC-MS: R_t = 5.2 min (Diast. A), 5.6 (Diast. B), Reinheit > 90%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-O-CH₂C₃H₅ (**37Y**)

Struktur:



Molare Masse: 443.58

Summenformel: C₂₅H₃₇N₃O₄Methode C: 204 mg (0.696 mmol) **22a**, 252 mg (0.664 mmol) HBTU, 305 mg (3.02 mmol) NMM, 160 mg (0.663 mmol) **35**

Ausbeute: 235 mg (0.530 mmol, 76%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3284, 2930, 2845, 1724, 1639, 1540, 1285, 1161, 717.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.15 – 0.26 (m, 2 H, C₃H₅), 0.42 – 0.54 (m, 2 H, C₃H₅), 0.78 – 0.88 (m, 6 H, Leu-CH₃), 0.91 – 1.74 (m, 14 H), 2.05 – 2.26 (m, 1 H, CHCO), 2.80 – 2.92 (m, 2 H, CH₂CO), 3.73 – 3.87 (m, 2 H, OCH₂), 4.22 – 4.33 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.25 (t, *J* = 6.90 Hz, 1 H, CHN), 7.41 (dd, *J* = 6.78, 1.00 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.68 – 7.85 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.38 – 8.67 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 3.02, 3.05 (2 C, OCH₂CH(CH₂)₂), 9.53, 9.54 (OCH₂CH), 21.54, 21.63 (2 C, Leu-CH₃), 24.16, 24.19, 25.13, 25.15, 25.24, 25.24, 25.27, 25.42, 25.44 (4 C, Leu-CH, CH₂), 29.36, 29.42 (2 C, CH₂), 38.21 (CH₂CO₂), 40.71, 40.80 (Leu-CH₂), 43.56, 43.62 (CHCO), 47.27, 47.40 (CHN), 50.62, 50.64 (Leu-CHN), 68.58, 68.66 (OCH₂), 123.30, 123.34 (5-Pyr-CH), 134.00, 134.10 (4-Pyr-CH), 137.16, 137.33 (3-Pyr-C), 148.05, 148.11, 148.23, 148.27 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 169.94, 170.02 (CH₂CO), 171.55, 171.63 (Leu-CO), 175.0, 175.1 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 55 / 45

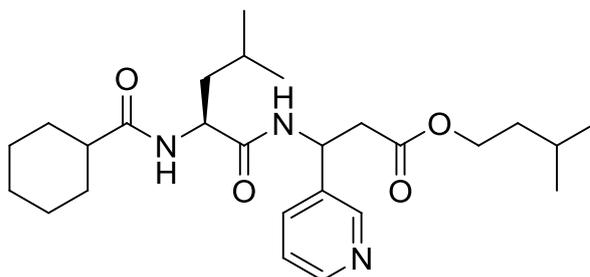
R_f-Wert: 0.46 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: 128–130°C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 444.3 [ber.: 443.28]LC-MS: R_t = 5.7 min (Diast. A), 6.2 min (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-O-CH₂CH₂CH(CH₃)₂ (**37Z**)

Struktur:



Molare Masse: 459.62

Summenformel: C₂₆H₄₁N₃O₄Methode C: 204 mg (0.650 mmol) **22d**, 237 mg (0.625 mmol) HBTU, 287 mg (2.84 mmol) NMM, 151 mg (0.626 mmol) **35**

Ausbeute: 210 mg (0.457 mmol, 70%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3292, 2954, 2929, 2855, 1810, 1731, 1645, 1541.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.69 – 0.95 (m, 12 H, CH₃), 1.04 – 2.25 (m, 17 H), 2.59 – 2.73 (m, 2 H, CH₂CO), 4.15 – 4.34 (m, 1 H, Leu-CHN), 4.96 – 5.12 (m, 2 H, OCH₂), 5.16 – 5.30 (m, 1 H, CHN), 7.20 – 7.26 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.57 – 7.71 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.33 – 8.56 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 21.42, 21.47, 22.89, 22.94 (4 C, CH₃), 24.19, 24.23, 25.13, 25.27, 25.42 (5 C), 28.81, 29.38, 29.42 (2 C, (CH₂)₂CH), 38.07, 40.35, 40.57 (3 C, Leu-CH₂, CH₂CO, OCH₂CH₂), 43.61 (CHCO), 47.38 (CH₂CHN), 50.75 (Leu-CHN), 65.83 (OCH₂), 123.26 (5-Pyr-CH), 127.72 (4-Pyr-CH), 134.07, 134.14 (3-Pyr-C), 148.08, 148.12 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 168.87 (CH₂CO), 171.49 (Leu-CO), 175.27, 175.30 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 52 / 48

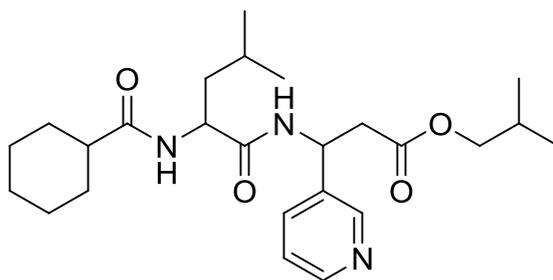
R_F-Wert: 0.46 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: 140 – 144 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 460.4 [ber.: 459.31]LC-MS: R_t = 9.8 min (Diast. A), 9.9 min (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-O-CH₂CH(CH₃)₂ (37AA)

Struktur:



Molare Masse: 445.59

Summenformel: C₂₅H₃₉N₃O₄Methode C: 203 mg (0.912 mmol) **20e**, 350 mg (0.846 mmol) HBTU, 251 mg (2.49 mmol) NMM, 200 mg (0.829 mmol) **35**

Ausbeute: 200 mg (0.449 mmol, 54%) Öl

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3252, 2930, 2856, 1726, 1646, 1541, 1469, 1450, 1375, 1106, 686.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.76 – 0.92 (m, 6 H, CH₃), 1.05 – 1.80 (m, 20 H), 2.11 – 2.26 (m, 1 H, CHCO), 2.79 – 3.01 (m, 2 H, CH₂CO), 4.18 – 4.32 (m, 2 H, OCH₂), 4.76 – 4.92 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.25 – 5.40 (m, 1 H, CHN), 7.86 – 8.01 (m, 2 H, 5-Pyr-CH, NH), 8.35 – 8.49 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.70 – 8.89 (m, 3 H, NH, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 21.40, 21.42, 21.46, 21.49 (4 C, Leu-CH₃, CH₃), 22.80 (OCH₂CH), 24.16, 24.19, 25.12, 25.28, 25.40, 25.42, (4 C), 28.71, 28.80, 29.30, 29.44 (2 C, CH(CH₂)₂), 38.22 (Leu-CH₂), 40.48, 40.55 (CH₂CO), 43.53, 43.59 (CHCO), 47.07 (CHN), 50.96, 51.02 (Leu-CHN), 67.76 (OCH₂CH), 126.54 (5-Pyr-CH), 134.61 (3-Pyr-C), 140.81, 140.97, 141.21, 141.42 (2 C, 4/6-Pyr-CH), 142.90, 143.13 (2-Pyr-CH), 169.03 (CH₂CO), 172.08, 172.28 (Leu-CO), 175.24, 175.29 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 53 / 47

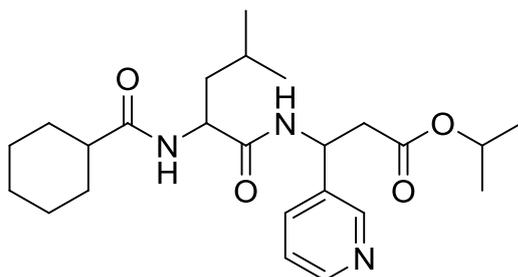
R_f-Wert: 0.46 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

LOOP-ESI-MS: gef.: -* (Gerät defekt) [ber.: 445.29]

LC-MS: R_t = 4.2 min, Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-AS-O-CH₂CH(CH₃)₂ (**37BB**)

Struktur:



Molare Masse: 431.57

Summenformel: C₂₄H₃₇N₃O₄Methode C: 190 mg (0.829 mmol) **20d**, 350 mg (0.846 mmol) HCTU, 251 mg (2.49 mmol) NMM, 200 mg (0.829 mmol) **35**

Ausbeute: 290 mg (0.672 mmol, 81%) Öl

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3243, 2930, 2856, 1726, 1647, 1541, 1469, 1374, 1258, 1105, 687.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.75 – 0.93 (m, 6 H, Leu-CH₃), 1.06 – 1.80 (m, 19 H), 2.09 – 2.27 (m, 1 H, CHCO), 2.82 – 3.00 (m, 2 H, CH₂CO), 4.18 – 4.29 (m, 1 H, Leu-CHN), 4.81 – 4.90 (m, 1 H, OCH), 5.29 – 5.40 (m, 1 H, CHN), 7.88 (dd, *J* = 10.61, 8.08 Hz, 1 H, NH), 7.96 – 8.02 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.44 – 8.56 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.74 – 8.93 (m, 3 H, NH, 2/6-Pyr-CH).

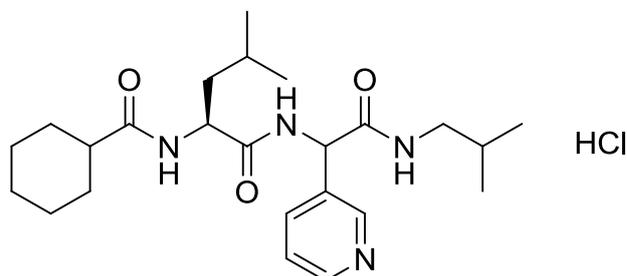
¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 21.40, 21.48, 21.63 (2 C, CH₃), 22.80 (2 C, Leu-CH₃), 24.19 (Leu-CH), 25.12, 25.28, 25.43 (3 C, CH₂), 28.71, 28.80, 29.30, 29.44 (2 C, CH₂CHCO), 38.21 (CH₂CO), 40.54 (Leu-CH₂), 43.53, 43.59 (CHCO), 47.05 (CHN), 50.92, 51.03 (Leu-CHN), 67.77 (OCH(CH₃)₂), 126.66 (5-Pyr-CH), 136.31 (3-Pyr-C), 140.51, 140.64, 141.07, 141.59, 141.67, 143.30, 143.50 (3 C, 2/4/6-Pyr-CH), 169.01 (CH₂CO), 172.11, 172.31 (Leu-CO), 175.30 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 55 / 45

R_f-Wert: 0.46 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 432.3 [ber.: 431.28]LC-MS: R_t = 6.6 min (Diast. A), 6.9 min (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-ALPHA-PYR-AS-R (**38**)CY-LEU-ALPHA-PYR-AS-NH-CH₂CH(CH₃)₂ HCL (**38A**)

Struktur:



Molare Masse: 467.04

Summenformel: C₂₄H₃₉ClN₄O₃

Methode C: 182 mg (0.747 mmol) **17I**, 275 mg (0.725 mmol) HBTU, 334 mg (3.30 mmol) NMM, 180 mg (0.747 mmol) **35**, 2 ml HCl (2 M in Diethylether)

Ausbeute: 143 mg (0.306 mmol, 41%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3278, 2954, 2927, 2854, 2159, 1977, 1683, 1625, 1532, 1213, 710.

¹H-NMR: (400.13 MHz, MeOD): δ (ppm) = 0.78 – 1.03 (m, 12 H, CH₃), 1.14 – 1.95 (m, 14 H), 2.18 – 2.40 (m, 1 H, CHCO), 2.94 – 3.15 (m, 2 H, NCH₂), 4.23 – 4.40 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.73 (2 s, 1 H, CHN), 8.14 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.68 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.86 (br. s., 1 H, 6-Pyr-CH), 8.95 (2 s, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, MeOD): δ (ppm) = 20.59, 20.62, 20.67 (2 C, CH(CH₃)₂), 21.96, 22.07 (2 C, Leu-CH₃), 23.47, 23.50 (Leu-CH), 26.12, 26.79, 26.89, 27.00 (3 C, CH₂), 29.65, 29.71, 30.56, 30.68, 30.96 (3 C, CH(CH₃)₂, CHCH₂), 41.06, 41.36 (Leu-CH₂), 45.96, 45.99 (CHCO), 48.46, 48.60 (NCH₂), 53.50, 53.86 (CHN), 55.70, 55.90 (Leu-CHN), 128.90, 128.96 (5-Pyr-CH), 140.59, 140.67, 142.29, 142.32, 142.40, 142.49 (2 C, 3/4-Pyr-CH), 147.18 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 169.32, 169.36 (Leu-NCO), 175.25, 175.33 (NCO), 179.79, 180.01 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 57 / 43

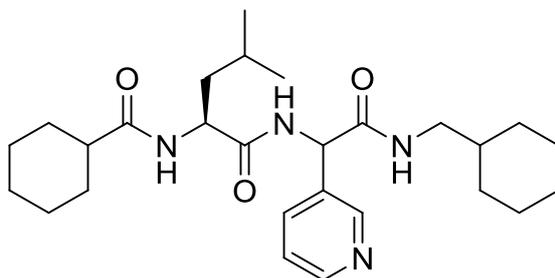
R_f-Wert: 0.47 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: >220 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 431.3 [ber.: 430.29]LC-MS: R_t = 8.1 min (Diast. A), 8.4 min (Diast. B), Reinheit > 99 %

CY-LEU-ALPHA-PYR-AS-NH-CH₂C₆H₁₁ (**38B**)

Struktur:



Molare Masse: 470.65

Summenformel: C₂₇H₄₂N₄O₃Methode C: 184 mg (0.648 mmol) **17j**, 249 mg (0.657 mmol) HBTU, 292 mg (2.89 mmol) NMM, 153 mg (0.634 mmol) **35**

Ausbeute: 230 mg (0.489 mmol, 75%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3279, 2925, 2852, 2159, 2032, 1977, 1627, 1533, 1447, 1213, 710.

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.66 – 1.84 (m, 30 H), 1.96 – 2.16 (m, 1 H, CHCO), 2.92 – 3.10 (m, 2 H, NCH₂), 4.47 – 4.77 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.53 – 5.72 (m, 1 H, CHN), 7.09 – 7.13 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.59 – 7.72 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.38 – 8.51 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.55 (d, $J = 2.26$ Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 22.13, 22.17 (2 C, Leu-CH₃), 22.79, 22.90 (2 C, CH₂), 24.77, 24.85, 25.59, 25.88, 25.72, 26.29 (5 C), 29.30, 29.46, 29.75, 29.82, 30.70, 30.76 (4 C, CH(CH₂)₂), 37.70 (NCH₂CH), 41.43, 41.91 (Leu-CH₂), 45.10 (CH₂N), 46.13 (CHCO), 51.56 (CHN), 54.96 (Leu-CHN), 123.72 (5-Pyr-CH), 134.12, 134.17, 134.59, 134.83 (2 C, 3/4-Pyr-CH), 148.86, 149.34 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 168.78 (Pyr-CHCO), 172.21 (Leu-CO), 176.41, 176.58 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 60 / 40

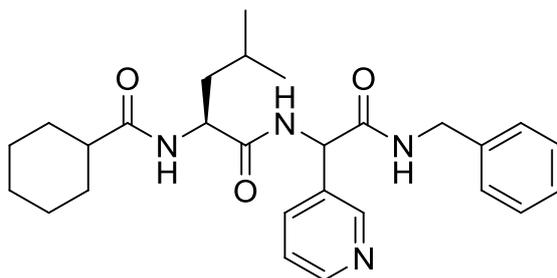
R_f-Wert: 0.38 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: >220 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 471.3 [ber.: 470.33]LC-MS: R_t = 10.6 min (Diast. A), 10.7 min (Diast. B), Reinheit > 99 %

CY-LEU-ALPHA-PYR-AS-NH-CH₂C₆H₅ (**38C**)

Struktur:



Molare Masse: 464.60

Summenformel: C₂₇H₃₆N₄O₃Methode C: 184 mg (0.655 mmol) **17g**, 262 mg (0.691 mmol) HBTU, 318 mg (3.14 mmol) NMM, 167 mg (0.692 mmol) **35**

Ausbeute: 245 mg (0.527 mmol, 80%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3274, 2928, 2854, 2160, 2026, 1977, 1627, 1534, 1212, 709.¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.62 – 2.05 (m, 20 H), 4.21 – 4.40 (m, 2 H, NCH₂), 4.50 – 4.87 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.75 – 5.85 (m, 1 H, CHN), 7.02 – 7.19 (m, 6 H, C₆H₅, 5-Pyr-CH), 7.51 – 7.70 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.32 – 8.60 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH).¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 22.13, 22.24, 22.70, 22.87 (2 C, Leu-CH₃), 24.74, 24.83 (Leu-CH), 25.42, 25.52, 25.61 (3 C, CH₂), 29.11, 29.28, 29.65, 29.71 (2 C, CH(CH₂)₂), 42.16 (Leu-CH₂), 43.68 (NCH₂), 44.91 (CHCO), 51.58 (CHN), 54.3, 54.8 (Leu-CHN), 123.72 (5-Pyr-CH), 127.47, 127.54, 128.60, 128.64 (5 C, Ph), 134.91 (3-Pyr-C), 136.10 (4-Pyr-CH), 137.63 (1-Ph-C), 148.58, 148.87 (6-Pyr-CH), 153.74, 153.96 (2-Pyr-CH), 168.94 (NCHCO), 172.42, 172.54 (Leu-CO), 176.56, 176.79 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 50 / 50

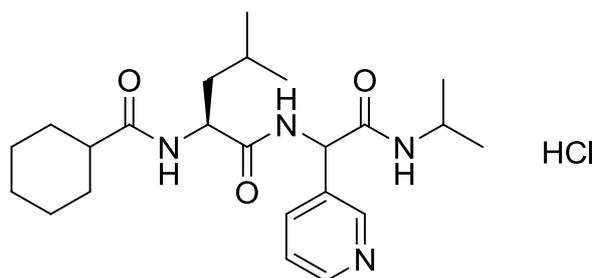
R_f-Wert: 0.52 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: 205–210 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 465.3 [ber.: 464.28]LC-MS: R_t = 9.1 min (Diast. A), 9.4 min (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-ALPHA-PYR-AS-NH-CH(CH₃)₂ HCL (**38D**)

Struktur:



Molare Masse: 453.02

Summenformel: C₂₃H₃₇ClN₄O₃Methode C: 181 mg (0.788 mmol) **17f**, 262 mg (0.691 mmol) HBTU, 318 mg (3.14 mmol) NMM, 167 mg (0.692 mmol) **35**

Ausbeute: 233 mg (0.559 mmol, 71%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3276, 2929, 2854, 2159, 2032, 1976, 1626, 1534, 1210, 707.¹H-NMR: (400.13 MHz, MeOD): δ (ppm) = 0.63 – 0.85 (m, 6 H, Leu-CH₃), 0.86 – 1.75 (m, 19 H), 2.00 – 2.22 (m, 1 H, CHCO), 3.73 – 3.89 (m, 1 H, NCH(CH₃)₂), 4.02 – 4.21 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.49 (2 s, 1 H, CHN), 7.96 (br. s., 1 H, 5-Pyr-CH), 8.46 – 8.52 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.68 (br. s., 1 H, 6-Pyr-CH), 8.74 (2 s, 1 H, 2-Pyr-CH).¹³C-NMR: (100.61 MHz, MeOD): δ (ppm) = 21.93, 21.98, 22.33, 22.39, 22.43, 22.48, 23.34, 23.38 (4 C, CH₃), 26.02, 26.70, 26.80, 26.91, 26.94 (4 C, CH₂, Leu-CH), 30.50, 30.64, 30.89 (2 C, CH(CH₂)₂), 40.95, 41.24 (Leu-CH₂), 43.37, 43.50 (NCH(CH₃)₂), 45.83, 45.89 (CH(CH₂)₂), 53.41, 53.83 (NCHCO), 55.51, 55.70 (Leu-CHN), 128.74, 128.80 (5-Pyr-CH), 140.40, 140.60 (3-Pyr-C), 142.04, 142.20, 142.32, 142.39 (2 C, 4/6-Pyr-CH), 147.03, 147.05 (2-Pyr-CH), 168.12 (NCHCO), 175.19, 175.24 (Leu-CO), 179.7, 179.8 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 55 / 45

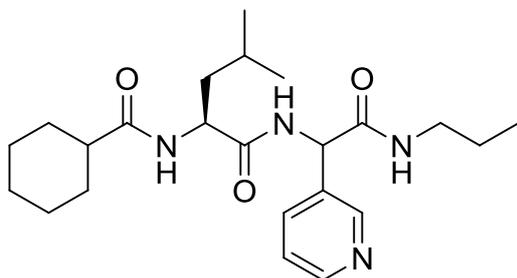
R_f-Wert: 0.54 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: >220 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 417.3 [ber.: 416.28]LC-MS: R_t = 5.7 min (Diast. A), 6.4 min (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-ALPHA-PYR-AS-NH-(CH₂)₂CH₃ (**38E**)

Struktur:



Molare Masse: 416.56

Summenformel: C₂₃H₃₆N₄O₃Methode C: 181 mg (0.788 mmol) **17c**, 239 mg (0.630 mmol) HBTU, 290 mg (2.87 mmol) NMM, 190 mg (0.788 mmol) **35**

Ausbeute: 170 mg (0.559 mmol, 71%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3273, 2928, 2854, 1682, 1626, 1533, 1479, 1465, 1447, 1427, 1212, 710.¹H-NMR: (400.13 MHz, MeOD): δ (ppm) = 0.76 – 1.02 (m, 9 H, CH₃), 1.13 – 1.91 (m, 15 H), 2.20 – 2.34 (m, 1 H, CHCO), 3.09 – 3.21 (m, 2 H, NCH₂), 4.27 – 4.51 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.46 (d, J = 3.01 Hz, 1 H, CHN), 7.34 – 7.53 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.85 – 7.91 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.34 – 8.73 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH).¹³C-NMR: (100.61 MHz, MeOD): δ (ppm) = 11.59 (CH₂CH₃), 21.88, 23.29, 23.47 (3 C, Leu-CH₃, CH₂CH₃), 26.01, 26.80, 26.88 (4 C, Leu-CH, CH₂), 30.53, 30.80 (2 C, CH(CH₂)₂), 41.27, 41.38 (NCH₂), 42.41, 42.52 (Leu-CH₂), 45.95, 46.11 (CHCO), 52.93, 53.46 (CHN), 56.14, 56.44 (Leu-CHN), 125.42 (5-Pyr-CH), 135.95 (3-Pyr-C), 137.17, 137.38 (4-Pyr-CH), 149.33, 149.57, 149.70 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 170.93, 171.06 (NCHCO), 174.49, 174.85 (Leu-CO), 179.47, 179.58 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 60 / 40

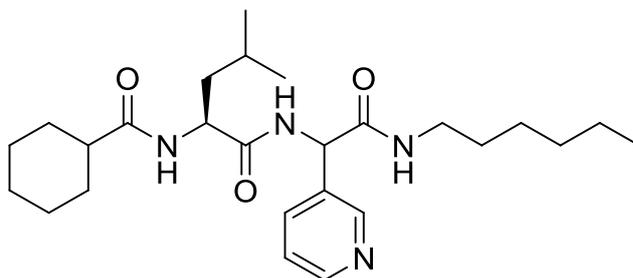
R_f-Wert: 0.55 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: >220 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 417.3 [ber.: 416.28]LC-MS: R_t = 6.3 min (Diast. A), 6.8 min (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-ALPHA-PYR-AS-NH-(CH₂)₅CH₃ (**38F**)

Struktur:



Molare Masse: 458.64

Summenformel: C₂₆H₄₂N₄O₃Methode C: 184 mg (0.677 mmol) **17n**, 292 mg (0.770 mmol) HBTU, 354 mg (3.50 mmol) NMM, 186 mg (0.771 mmol) **35**

Ausbeute: 233 mg (0.508 mmol, 75%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3273, 2928, 2854, 2160, 1626, 1533, 1212, 710.

¹H-NMR: (400.13 MHz, MeOD): δ (ppm) = 0.65 – 0.92 (m, 9 H, CH₃), 0.98 – 1.83 (m, 21 H), 2.05 – 2.28 (m, 1 H, Leu-CH₂), 2.93 – 3.16 (m, 2 H, NCH₂), 4.05 – 4.27 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.57 (d, J = 12.05 Hz, 1 H, CHN), 8.01 (br. s., 1 H, 5-Pyr-CH), 8.52 – 8.58 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.65 – 8.86 (m, 2 H, 2/6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, MeOD): δ (ppm) = 14.49 (CH₂CH₃), 22.04, 22.06, 23.45, 23.51, 23.74 (3 C, CH₂CH₃, Leu-CH₃), 26.12, 26.81, 26.82, 26.90, 27.01, 27.04, 27.75, 27.78 (6 C, NCH₂CH₂CH₂, CH₂, Leu-CH), 30.28, 30.31, 30.59, 30.72, 30.96, 30.97, 32.72, 32.76 (3 C, CH₂CH₂CH₃, CH(CH₂)₂), 41.04, 41.09, 41.25, 41.34 (2 C, Leu-CH₂, NCH₂), 45.94, 45.99 (CHCO), 53.53, 53.95 (CHN), 55.66, 55.82 (Leu-CHN), 128.83 (5-Pyr-CH), 140.65 (3-Pyr-C), 142.29, 142.46, 142.58, 147.18 (3 C, 2/4/6-Pyr-CH), 169.15 (NCHCO), 175.30, 175.37 (Leu-CO), 179.82, 180.04 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 53 / 47

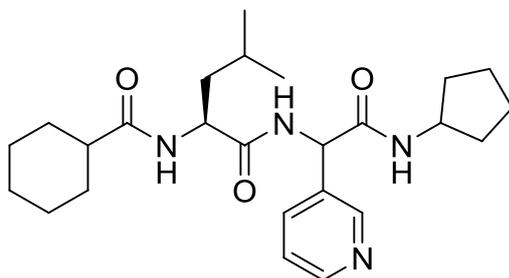
R_f-Wert: 0.51 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: 184–186 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 459.3 [ber.: 458.33]LC-MS: R_t = 10.8 min (Diast. A), 10.9 min (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-ALPHA-PYR-AS-NH-C₅H₉ (**38G**)

Struktur:



Molare Masse: 442.59

Summenformel: C₂₅H₃₈N₄O₃Methode C: 60 mg (0.235 mmol) **17i**, 98.0 mg (0.258 mmol) HBTU, 119 mg (1.17 mmol) NMM, 62.3 mg (0.258 mmol) **35**

Ausbeute: 65.0 mg (0.147 mmol, 63%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3276, 2929, 2855, 2160, 1977, 1681, 1625, 1539, 1213, 710.

¹H-NMR: (400.13 MHz, MeOD): δ (ppm) = 0.84 – 1.02 (m, 6 H, CH₃), 1.15 – 2.01 (m, 21 H), 2.19 – 2.38 (m, 1 H, CHCO), 4.06 – 4.16 (m, 1 H, NCH(CH₂)₂), 4.20 – 4.38 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.67 (d, *J* = 12.80 Hz, 1 H, CHN), 8.10 – 8.15 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.60 – 8.70 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.82 – 8.86 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.90 (2 d, *J* = 1.44 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, MeOD): δ (ppm) = 22.04, 22.10, 23.40, 23.46, 24.93, 25.03, 26.15, 26.82, 26.86, 26.91, 27.01, 27.02, 27.08 (8 C), 30.61, 30.77, 30.97 (2 C, CH(CH₂)₂), 33.43, 33.67 (2 C, NCH(CH₂)₂), 41.04, 41.37 (Leu-CH₂), 46.00 (CHCO), 53.16, 53.27, 53.55, 53.99, 54.00 (2 C, NCHCO, CHN), 55.54, 55.77 (Leu-CHN), 128.74, 128.79 (5-Pyr-CH), 139.70, 140.24, 140.55, 140.74, 142.08, 142.26, 142.32, 142.38 (3 C, 3/4/6-Pyr-CH), 147.06 (2 C, 2-Pyr-CH), 168.71, 168.77 (NCHCO), 175.34, 175.42 (Leu-CO), 179.82, 179.98 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 57 / 43

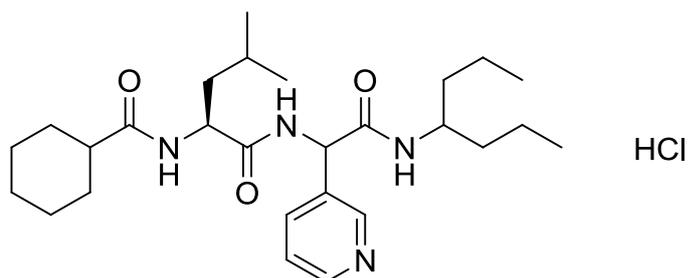
R_f-Wert: 0.52 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: >220 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 443.3 [ber.: 442.29]LC-MS: R_t = 8.3 min (Diast. A), 8.6 min (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-ALPHA-PYR-AS-NH-CH₂CH(CH₃)₂ HCL (**38H**)

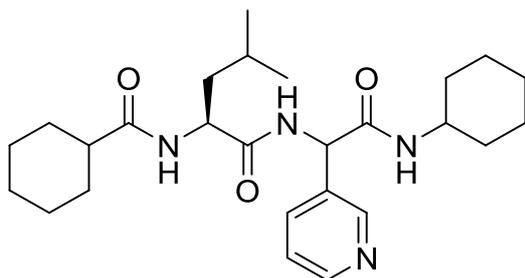
Struktur:



- Molare Masse:** 509.12
- Summenformel:** C₂₇H₄₅ClN₄O₃
- Methode C:** 100 mg (0.350 mmol) **17d**, 146 mg (0.385 mmol) HBTU, 177 mg (1.75 mmol) NMM, 93.0 mg (0.385 mmol) **35**
- Ausbeute:** 157 mg (0.332 mmol, 95%) farbloser Feststoff
- FT-IR:** $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3274, 2955, 2928, 2855, 2159, 2032, 1976, 1628, 1535, 710.
- ¹H-NMR:** (400.13 MHz, MeOD): δ (ppm) = 0.64 – 0.93 (m, 12 H, CH₃), 0.98 – 1.81 (m, 21 H), 2.09 – 2.30 (m, 1 H, CHCO), 3.69 – 3.83 (m, 1 H, (CH₂)₂CHN), 4.11 – 4.29 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.52 – 5.65 (m, 1 H, CHN), 8.03 (br. s., 1 H, 5-Pyr-CH), 8.52 – 8.58 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.76 (br. s., 1 H, 6-Pyr-CH), 8.78 – 8.90 (m, 1 H, 2-Pyr-CH).
- ¹³C-NMR:** (100.61 MHz, MeOD): δ (ppm) = 14.18, 14.34 (2 C, CH₂CH₃), 20.29, 20.31, 20.40, 21.96, 22.06, 23.34 (4 C, Leu-CH₃, CH₂CH₃), 26.01, 26.03, 26.71, 26.79, 26.91 (4 C, Leu-CH, CH₂), 30.52, 30.68, 30.83 (2 C, (CH₂)₂CHCO), 38.15, 38.50 (2 C, CH₂CH₂CH₃), 40.91, 41.34 (Leu-CH₂), 45.83, 45.89 (CHCO), 50.79, 50.99 (CHN), 53.41, 53.86 (NCHCO), 55.65, 55.86 (Leu-CHN), 128.65 (5-Pyr-CH), 140.59, 142.25, 142.51, 142.67, 142.76 (3 C, 3-Pyr-C, 4/6-Pyr-CH), 146.64 (2-Pyr-CH), 168.85, 168.89 (NCHCO), 175.17 (Leu-CO), 179.64, 179.82 (CHCO).
- Diast.-Verhältnis:** 51 / 49
- R_f-Wert:** 0.45 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)
- Schmelzpunkt:** >220 °C
- LOOP-ESI-MS:** gef.: [M+H]⁺ 473.4 [ber.: 472.34]
- LC-MS:** R_t = 11.4 min (Diast. A), R_t = 11.5 min (Diast. B), Reinheit > 99%

CY-LEU-ALPHA-PYR-AS-NH-C₆H₁₁ (**381**)

Struktur:



Molare Masse: 456.62

Summenformel: C₂₆H₄₀N₄O₃

Methode C: 80.0 mg (0.297 mmol) **17e**, 125 mg (0.330 mmol) HBTU, 152 mg (1.50 mmol) NMM, 80.0 mg (0.332 mmol) **35**

Ausbeute: 107 mg (0.234 mmol, 79%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3277, 2928, 2853, 2159, 2032, 1976, 1626, 1536, 1210, 706.

¹H-NMR: (400.13 MHz, MeOD): δ (ppm) = 0.62 – 0.85 (m, 6 H, CH₃), 0.94 – 1.80 (m, 23 H), 2.03 – 2.22 (m, 1 H, CHCO), 3.40 – 3.53 (m, *J* = 10.42, 6.96, 3.54, 3.54 Hz, 1 H, CHN), 4.03 – 4.23 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.50 – 5.52 (m, 1 H, NCHCO), 7.90 – 8.01 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 8.43 – 8.55 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.65 – 8.70 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.71 – 8.81 (m, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, MeOD): δ (ppm) = 21.90, 21.97 (2 C, CH₃), 23.33, 23.37 (2 C, CH₂), 26.02, 26.09, 26.54, 26.57, 26.69, 26.79, 26.91, 26.96 (5 C, Leu-CH, CH₂), 30.50, 30.67, 30.86 (2 C, (CH₂)₂CHCO), 33.38, 33.44, 33.47, 33.57 (2 C, NCH(CH₂)₂), 40.92, 41.23 (Leu-CH₂), 45.80, 45.88 (CHN), 50.51, 50.67 (CHCO), 53.41, 53.82 (NCHCO), 55.50, 55.64 (Leu-CHN), 128.65, 128.71 (5-Pyr-CH), 140.41, 140.63, 141.96, 142.11, 142.17, 142.25 (3 C, 3-Pyr-C, 4/6-Pyr-CH), 146.96, 146.99 (2-Pyr-CH), 168.13, 168.20 (NCHCO), 175.17, 175.20 (Leu-CO), 179.68, 179.83 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 55 / 45

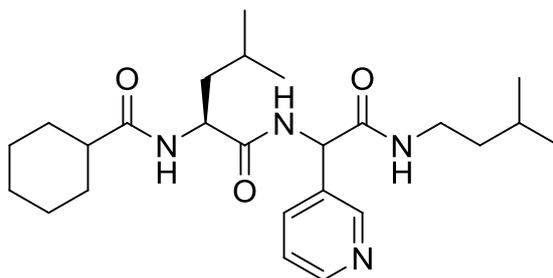
R_f-Wert: 0.43 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: >220 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 457.3 [ber.: 456.31]LC-MS: R_t = 9.3 min (Diast. A), 9.6 min (Diast. B), Reinheit > 99 %

CY-LEU-ALPHA-PYR-AS-NH-CH₂CH₂CH(CH₃)₂ (**38J**)

Struktur:



Molare Masse: 444.61

Summenformel: C₂₅H₄₀N₄O₃

Methode C: 110 mg (0.427 mmol) **17h**, 150 mg (0.396 mmol) HBTU, 182 mg (1.80 mmol) NMM, 95.0 mg (0.394 mmol) **35**

Ausbeute: 144 mg (0.324 mmol, 82%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3274, 2928, 2854, 2159, 2033, 1977, 1626, 1532, 1211, 709.

¹H-NMR: (400.13 MHz, MeOD): δ (ppm) = 0.84 – 0.97 (m, 12 H, CH₃), 1.14 – 1.90 (m, 16 H), 2.18 – 2.36 (m, 1 H, CHCO), 3.16 – 3.28 (m, 2 H, NCH₂), 4.25 – 4.48 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.43 – 5.45 (m, 1 H, CHN), 7.41 – 7.46 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.82 – 7.88 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.49 (br. s., 1 H, 6-Pyr-CH), 8.58 (m, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, MeOD): δ (ppm) = 21.87, 22.02, 22.71, 22.74, 22.78, 22.81, 23.25, 23.40 (4 C, CH₃), 26.01, 26.72, 26.72, 26.79, 26.87, 26.92 (5 C, CHCH₃, Leu-CH, CH₂), 30.54, 30.63, 30.78, 30.81 (2 C, CH₂), 36.90 (NHCH₂), 39.09, 39.10, 39.15 (NCH₂CH₂), 41.20, 41.34 (Leu-CH₂), 45.92, 46.11 (CHCO), 52.97, 53.52 (NCHCO), 56.15, 56.46 (Leu-CHN), 125.34, 125.38 (5-Pyr-CH), 133.18 (3-Pyr-C), 137.10, 137.37 (4-Pyr-CH), 149.37, 149.63, 149.71, 149.76 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 170.80, 170.96 (NCHCO), 174.50, 174.90 (Leu-CO), 179.52, 179.63 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 55 / 45

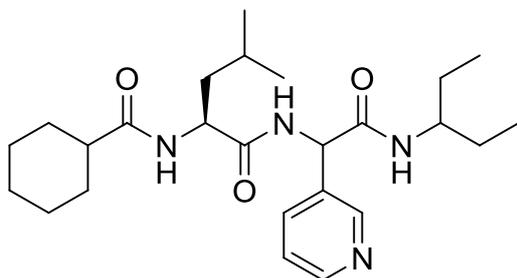
R_f-Wert: 0.43 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: >220 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 445.3 [ber.: 444.31]LC-MS: R_t = 9.5 min (Diast. A), 9.7 min (Diast. B), Reinheit > 99 %

CY-LEU-ALPHA-PYR-AS-NH-CH(CH₂CH₃)₂ (**38K**)

Struktur:



Molare Masse: 444.61

Summenformel: C₂₅H₄₀N₄O₃

Methode C: 110 mg (0.427 mmol) **17h**, 146 mg (0.385 mmol) HBTU, 177 mg (1.75 mmol) NMM, 93.0 mg (0.385 mmol) **35**

Ausbeute: 124 mg (0.279 mmol, 72%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3272, 2962, 2929, 2159, 2031, 1976, 1627, 1536, 710.

¹H-NMR: ¹H-NMR (400.13 MHz, MeOD): δ (ppm) = 0.60 – 0.98 (m, 12 H, CH₃), 1.15 – 1.90 (m, 17 H), 2.19 – 2.34 (m, 1 H, CHCO), 3.56 – 3.70 (m, 1 H, NCH(CH₂CH₃)₂), 4.26 – 4.45 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.44 – 5.48 (m, 1 H, CHN), 7.40 – 7.47 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.82 – 7.95 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.46 – 8.52 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.58 – 8.65 (m, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, MeOD): δ (ppm) = 10.62, 10.75, 10.88, 11.01 (2 C, CH₂CH₃), 21.89, 21.98 (2 C, Leu-CH₃), 23.26, 23.38 (Leu-CH), 26.02, 26.72, 26.78, 26.87, 26.92 (3 C, C₆H₁₁), 28.39, 28.57 (2 C, CH₂CH₃), 30.56, 30.76 (2 C, C₆H₁₁), 41.35 (Leu-CH₂), 45.96, 46.11 (CHCO), 53.00 (Leu-CHN), 54.23, 54.42 (NCH(CH₂CH₃)₂), 56.26, 56.53 (CHN), 124.84 (5-Pyr-CH), 133.02 (3-Pyr-C), 137.08 (4-Pyr-CH), 149.36, 149.61, 149.71, 149.74 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 169.36 (NCHCO), 172.55 (Leu-CO), 174.46, 174.46 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 58 / 42

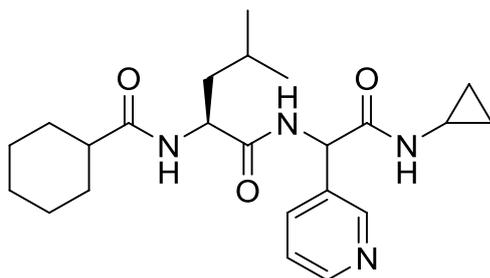
R_f-Wert: 0.42 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: >220 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 445.3 [ber.: 444.31]LC-MS: R_t = 9.2 min (Diast. A), 9.4 min (Diast. B), Reinheit > 99 %

CY-LEU-ALPHA-PYR-AS-NH-C₃H₅ (**38L**)

Struktur:



Molare Masse: 414.54

Summenformel: C₂₃H₃₄N₄O₃Methode C: 180 mg (0.791 mmol) **17b**, 284 mg (0.749 mmol) HBTU, 345 mg (3.41 mmol) NMM, 181 mg (0.750 mmol) **35**

Ausbeute: 127 mg (0.306 mmol, 41%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3292, 2954, 2929, 2855, 1810, 1731, 1637, 1541, 1285, 1254, 1161, 717.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.26 – 0.69 (m, 4 H, C₃H₅), 0.76 – 0.90 (m, 6 H, Leu-CH₃), 1.07 – 1.75 (m, 13 H), 2.12 – 2.26 (m, 1 H, NCH₂C₂H₄), 2.58 – 2.71 (m, 1 H, CHCO), 4.25 – 4.37 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.36 (dd, *J* = 15.18, 7.91 Hz, 1 H, CHN), 7.38 (dd, *J* = 7.53, 4.64 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.72 (d, *J* = 7.91 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 7.91 – 7.96 (m, 1 H, NH), 8.26 (d, *J* = 7.78 Hz, 1 H, NH), 8.32 – 8.44 (m, 1 H, 2-Pyr-CH), 8.45 – 8.64 (m, 2 H, NH, 6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 5.45, 5.49, 5.56, 5.68 (2 C, C₃H₅), 21.31, 21.40, 22.39, 22.53, 22.90, 23.03 (3 C, NCH(CH₂)₂, Leu-CH₃), 24.26, 25.17, 25.21, 25.42, (4 C, Leu-CH, CH₂), 28.94, 28.96, 29.28, 29.31 (2 C, CH(CH₂)), 38.48 (Leu-CH₂), 43.57, 43.76 (CHCO), 50.68, 51.13 (Leu-CHN), 53.77 (CHN), 123.42 (5-Pyr-CH), 133.48 (3-Pyr-C), 134.24, 134.42 (4-Pyr-CH), 148.16, 148.37, 148.64, 148.69 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 169.86, 169.99 (NCHCO), 171.79, 172.05 (Leu-CO), 175.43, 175.67 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 58 / 42

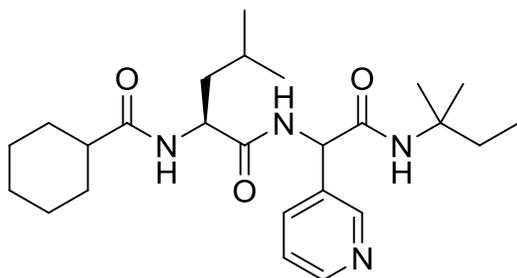
R_f-Wert: 0.28 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: >220 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 415.3 [ber.: 414.26]LC-MS: R_t = 4.5 min (Diast. A), 5.1 min (Diast. B), Reinheit > 99 %

CY-LEU-ALPHA-PYR-AS-NH-C(CH₃)₂CH₂CH₃ (**38M**)

Struktur:



Molare Masse: 444.61

Summenformel: C₂₅H₄₀N₄O₃Methode C: 180 mg (0.698 mmol) **17a**, 255 mg (0.672 mmol) HBTU, 309 mg (3.05 mmol) NMM, 162 mg (0.671 mmol) **35**

Ausbeute: 222 mg (0.499 mmol, 74%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3282, 2960, 2929, 2856, 2159, 2027, 1976, 1630, 1541, 711.

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 0.59 – 0.63 (2 t, *J* = 7.43, 3 H, CH₃), 0.74 – 0.94 (m, 6 H, Leu-CH₃), 1.08 – 1.77 (m, 21 H), 2.10 – 2.26 (m, 1 H, CHCO), 4.24 – 4.39 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.47 (dd, *J* = 7.72, 6.34 Hz, 1 H, CHN), 7.37 (dd, *J* = 7.84, 4.71 Hz, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.69 – 7.77 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.48 (br. s., 1 H, 6-Pyr-CH), 8.59 (br. s., 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 7.99 (CH₂CH₃), 21.31, 21.37 (2 C, Leu-CH₃), 24.28, 25.17, 25.41, 26.07, 26.17 (6 C), 29.02 (2 C), 31.60 (CH₂CH₃), 40.23 (Leu-CH₂), 43.65, 43.75 (CHCO), 50.79 (CHN), 53.20 (Leu-CHN), 54.03 (NCH₃), 123.37 (5-Pyr-CH), 129.82 (3-Pyr-C), 134.05 (4-Pyr-CH), 148.00, 150.01 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 168.22 (NCHCO), 171.68, 171.92 (Leu-CO), 175.41 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 53 / 47

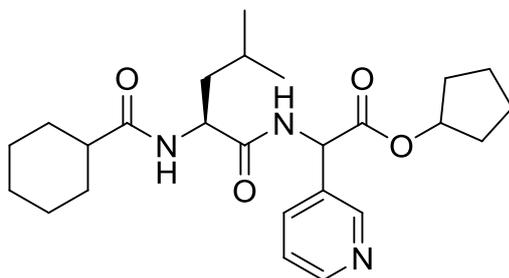
R_f-Wert: 0.47 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: >220 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 445.3 [ber.: 444.31]LC-MS: R_t = 9.3 min (Diast. A), 9.5 min (Diast. B), Reinheit > 99 %

CY-LEU-ALPHA-PYR-AS-OC₅H₉ (**38N**)

Struktur:



Molare Masse: 443.58

Summenformel: C₂₅H₃₇N₃O₄Methode C: 156 mg (0.608 mmol) **15h**, 252 mg (0.664 mmol) HBTU, 305 mg (3.02 mmol) NMM, 160 mg (0.663 mmol) **35**

Ausbeute: 81 mg (0.182 mmol, 30%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3273, 2955, 2928, 2853, 1727, 1633, 1540, 1215, 717.

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.88 – 1.00 (m, 6 H, CH₃), 1.17 – 1.96 (m, 21 H), 2.05 – 2.18 (m, 1 H, CHCO), 4.48 – 4.59 (m, 1 H, OCH), 5.19 – 5.27 (m, 1 H, Leu-CHN), 5.44 – 5.54 (m, 1 H, CHN), 5.67 – 5.80 (m, 1 H, NH), 7.25 – 7.39 (m, 2 H, NH, 5-Pyr-CH), 7.64 – 7.70 (m, 1 H, 4-Pyr-CH), 8.54 – 8.61 (m, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.62 (2 s, 1 H, 2-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 21.41, 22.94, 23.03, 23.06, 23.13, 23.27 (4 C, Leu-CH₃, CH₂), 24.21, 25.11, 25.53, 25.69 (4 C, Leu-CH, CH₂), 28.87, 29.42 (2 C, CH(CH₂)), 31.88, 31.93, 32.07 (2 C, OCH(CH₂)₂), 38.57 (Leu-CH₂), 40.73 (CHCO), 50.21 (Leu-CHN), 54.29 (CHN), 77.91 (OCH), 123.52 (5-Pyr-CH), 132.12 (3-Pyr-C), 135.32 (4-Pyr-CH), 148.99, 149.25 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 169.44 (CO₂), 172.50 (Leu-CO), 175.12 (CHCO).

Diast.-Verhältnis: 64 / 36

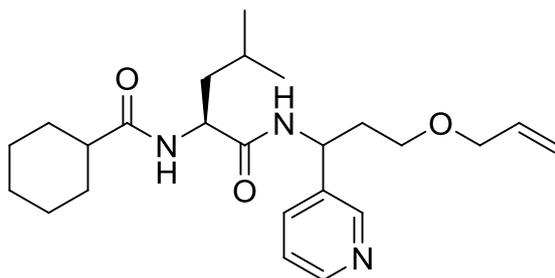
R_f-Wert: 0.61 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: 187–189°C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 444.3 [ber.: 443.28]LC-MS: R_t = 10.6 min, Reinheit > 99%

CY-LEU-BETA-PYR-ALK-CH₂CHCH₂ (**39**)

Struktur:



Molare Masse: 415.57

Summenformel: C₂₄H₃₇N₃O₃Methode C: 275 mg (0.939 mmol) **30a**, 319 mg (0.841 mmol) HBTU, 387 mg (3.83 mmol) NMM, 203 mg (0.841 mmol) **35**

Ausbeute: 260 mg (0.626 mmol, 78%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3261, 2928, 2853, 1634, 1550, 1448, 1256, 714.

¹H-NMR: (400.13 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 0.69 – 2.25 (m, 22 H), 3.35 – 3.46 (m, 2 H, CH₂CH₂O), 3.81 – 3.96 (m, 2 H, OCH₂CH=CH₂), 4.23 – 4.35 (m, 1 H, Leu-CHN), 4.86 – 4.99 (m, 1 H, CHN), 5.05 – 5.17 (m, 1 H, CH=CH₂), 5.20 – 5.26 (m, 1 H, CH=CH₂), 5.80 – 5.91 (m, 1 H, CH=CH₂), 7.29 – 7.42 (m, 1 H, 5-Pyr-CH), 7.62 – 7.81 (m, 2 H, 4-Pyr-CH, NH), 8.28 – 8.56 (m, 3 H, 2/6-Pyr-CH, NH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 22.37, 22.55 (2 C, Leu-CH₃), 25.34, 25.38, 26.14, 26.27, 26.34 (4 C, Leu-CH, CH₂), 30.00, 30.07, 30.41 (2 C, CH₂), 36.12, 36.30 (CH₂CH₂O), 41.56, 41.86 (Leu-CH₂), 45.76, 45.80 (CHCO), 50.23 (CHN), 51.99 (Leu-CHN), 67.20, 67.27 (CH₂CH₂O), 72.55, 72.60 (OCH₂CH=CH), 117.25, 117.28 (CH=CH₂), 123.97, 124.00 (5-Pyr-CH), 134.74 (4-Pyr-CH), 135.36 (CH=CH₂), 138.36, 138.37, 138.42, 138.47 (3-Pyr-C), 148.80, 148.83, 148.93 (2 C, 2/6-Pyr-CH), 172.21, 172.37 (Leu-CO), 176.68 (CO).

Diast.-Verhältnis: 55 / 45

R_f-Wert: 0.70 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: >150 °C (Zersetzung)

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 416.3 [ber.: 415.28]LC-MS: R_t = 4.7 min, Reinheit > 99 %

PHENYLSULFONAMIDE

Allgemeine Methode 1:

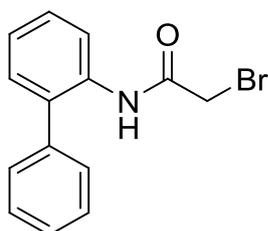
Unter Schutzgasatmosphäre werden 3-Amino-4-methylpyridin (1 eq) in 10 ml Pyridin gelöst und mit Benzolsulfonsäurechlorid (1–1.1 eq) versetzt. Die erhaltene Lösung wird für zwei Stunden unter Rückfluss erhitzt. Das Reaktionsgemisch wird auf 20 °C abgekühlt und mit 100 ml Wasser versetzt. Der erhaltene Feststoff wird abfiltriert, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Allgemeine Methode 2:

Es werden Bromoacetamid (**49**, 1 eq) und Sulfonamin (**50**, 1 eq) in 20 ml DMF gelöst, mit Cäsiumcarbonat (1.5 eq) versetzt und bei Raumtemperatur für 48 Stunden gerührt. Die erhaltene Suspension wird auf 100 ml Wasser gegeben. Der erhaltene Niederschlag wird abfiltriert und aus Ethylacetat umkristallisiert.

(2-AMINOBIHENYL)(2-BROMO)ACETAMID (SA-1)

Struktur:



Molare Masse: 290.16

Summenformel: C₁₄H₁₂BrNO

Methode: Es wurden 4.00 g (23.6 mmol) 2-Aminobiphenyl und 3.35 ml (23.8 mmol) Triethylamin in 100 ml Dichlormethan gelöst. Zu der Lösung werden 5.25 g (26.0 mmol) 2-Bromoacetylbromid getropft und die erhaltene Mischung für drei Stunden bei 20 °C gerührt. Die Reaktionsmischung wird mit Wasser versetzt und die organische Phase mit 1 M Salzsäurelösung und Natriumhydrogencarbonatlösung extrahiert. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der erhaltene Feststoff wird ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet.

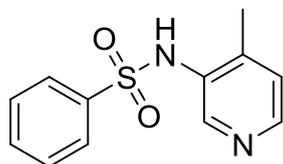
Ausbeute: 6.16 g (21.2 mmol, 90%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 3.85 (s, 2 H, CH₂), 7.09 – 7.51 (m, 8 H, Ph), 8.27 (d, J = 8.28 Hz, 1 H, Ph).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 29.52 (CH₂Br), 120.59, 124.90, 128.17, 128.44 (4 C), 129.12 (2 C), 129.38 (2 C), 130.07, 132.65, 134.14, 137.42 (4 C, Ph), 163.08 (C=O).

VERBINDUNG SA-2A

Struktur:



Molare Masse: 248.30

Summenformel: $C_{12}H_{12}N_2O_2S$

Methode 1: 2.00 g (18.5 mmol) 3-Amino-4-methylpyridin, 3.27 g (18.5 mmol) Benzolsulfonsäurechlorid

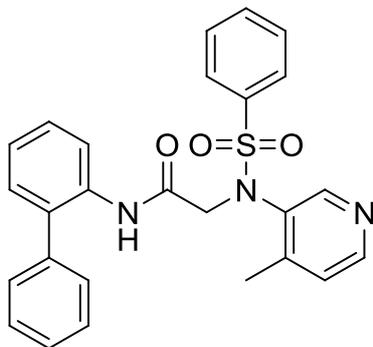
Ausbeute: 4.13 g (16.6 mmol, 90%)

1H -NMR: (400.13 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 1.97 (s, 3 H, CH_3), 7.20 (d, J = 4.89 Hz, 1 H, 5-Pyr- CH), 7.53 – 7.71 (m, 5 H, Ph), 8.07 (s, 1 H, 2-Pyr- CH), 8.25 (d, J = 4.89 Hz, 1 H, 6-Pyr- CH).

^{13}C -NMR: (100.61 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 18.75 (CH_3), 125.64 (5-Pyr- CH), 126.52 (2 C, 2/6-Ph- CH), 129.34 (2 C, 3/5-Ph- CH), 131.88 (4-Pyr- C), 133.00 (4-Ph- CH), 140.00 (2-Pyr- CH), 143.82 (3-Pyr- C), 147.27 (1-Ph- C), 147.60 (6-Pyr- CH).

VERBINDUNG SA-3A

Struktur:



Molare Masse: 457.54

Summenformel: $C_{26}H_{23}N_3O_3S$

Methode 2: 1.45 g (5.00 mmol) Bromoacetamid (**49**), 1.24 g (5.00 mmol) Sulfonamid (**50a**), 2.50 g (7.67 mmol) Cäsiumcarbonat

Ausbeute: 550 mg (1.20 mmol, 24 %) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3202, 2159, 2033, 1976, 1691, 1498, 1346, 1244, 1125, 1083, 906, 746

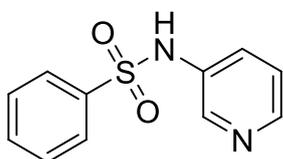
1H -NMR: (400.13 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 2.26 (s, 3 H, CH_3), 5.15 (s, 2 H, CH_2), 7.32 – 7.58 (m, 13 H, Ph oder Pyr), 7.76 – 7.82 (m, 3 H, Ph oder Pyr), 8.21 (br. s., 1 H, 2-Pyr- CH).

^{13}C -NMR: (100.61 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 17.54 (CH_3), 49.15 (CH_2), 125.75 (2 C, CH), 126.31,

	126.42, 127.37, 127.83 (4 C, CH), 128.23 (2 C, CH), 128.56 (2 C, CH), 128.70 (2 C, CH), 130.09, 130.46, 131.62 (3 C, CH), 133.55 (C _q), 136.23 (C _q), 138.41 (C _q), 145.46 (C _q), 148.25 (C _q), 148.52 (C _q), 164.01 (C=O).
R _f -Wert:	0.46 (MeOH:CH ₂ Cl ₂ = 1:12)
Schmelzpunkt:	205 °C (Zersetzung)
LOOP-ESI-MS:	gef.: [M+H] ⁺ 458.2 [ber.: 457.15]
LC-MS:	R _t = 4.8 min, Reinheit > 99 %

VERBINDUNG SA-2B

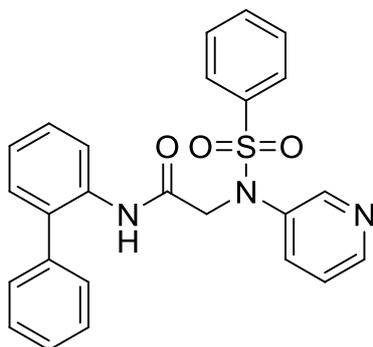
Struktur:



Molare Masse:	234.27
Summenformel:	C ₁₁ H ₁₀ N ₂ O ₂ S
Methode 1:	2.00 g (21.3 mmol) 3-Aminopyridin, 3.75 g (21.3 mmol) Benzolsulfonsäurechlorid
Ausbeute:	4.30 g (18.4 mmol, 86%)
¹ H-NMR:	(400.13 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆): δ (ppm) = 7.32 (dd, <i>J</i> = 8.28, 4.77 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 7.52 – 7.61 (m, 3 H, 3/5-Ph-CH oder 5-Pyr-CH), 7.61 – 7.68 (m, 1 H, 4-Ph-CH), 7.75 – 7.81 (m, 2 H, 2/6-Ph-CH), 8.27 (dd, <i>J</i> = 4.77, 1.38 Hz, 1 H, 6-Pyr-CH), 8.30 (d, <i>J</i> = 2.51 Hz, 1 H, 2-Pyr-CH).
¹³ C-NMR:	(100.61 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆): δ (ppm) = 124.15 (5-Pyr-CH), 126.62 (2 C, 2-Ph-CH oder 6-Ph-CH), 127.79 (4-Pyr-CH), 129.40 (2 C, 3-Ph-CH oder 5-Ph-CH), 133.20 (4-Ph-CH), 134.49 (C _q , 3-Pyr-C), 138.99 (C _q , Ph), 141.26 (2-Pyr-CH), 144.88 (6-Pyr-CH).

VERBINDUNG SA-3B

Struktur:



Molare Masse: 443.52

Summenformel: $C_{25}H_{21}N_3O_3S$ Methode 2: 1.45 g (5.00 mmol) Bromoacetamid (**49**), 1.17 g (5.00 mmol) Sulfonamid (**50b**), 2.50 g (7.67 mmol) Cäsiumcarbonat

Ausbeute: 740 mg (1.67 mmol, 33%) farbloser Feststoff

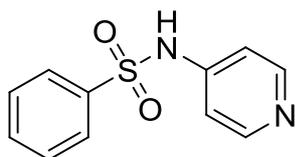
FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3061, 2159, 2032, 1977, 1700, 1501, 1312, 1248, 1130, 1088, 888 1H -NMR: (400.13 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 5.18 (s, 2 H, NCH_2), 7.23 – 7.51 (m, 11 H, Ph oder Pyr), 7.51 – 7.63 (m, 2 H, Ph oder Pyr), 7.71 – 7.91 (m, 4 H, Ph oder Pyr), 8.09 (s, 1 H, 2-Pyr- CH). ^{13}C -NMR: (100.61 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 61.53 (CH_2), 125.85 (2 C), 126.43 (1 C), 126.54 (2 C), 127.34 (1 C), 127.81 (1 C), 128.37 (2 C), 128.54 (2 C), 128.73 (2 C), 130.25, 130.45, 131.00, 132.17, 133.56, 136.30, 137.11, 138.46, 145.15, 150.81 (10 C, Ph oder Pyr), 163.90 ($C=O$). R_f -Wert: 0.39 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

Schmelzpunkt: >230 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: $[M+H]^+$ 444.2 [ber.: 443.13]LC-MS: R_t = 4.4 min, Reinheit > 99 %

VERBINDUNG SA-2C

Struktur:



Molare Masse: 234.27

Summenformel: $C_{11}H_{10}N_2O_2S$

Methode 1: 2.00 g (21.3 mmol) 3-Aminopyridin, 3.75 g (21.3 mmol) Benzolsulfonsäurechlorid

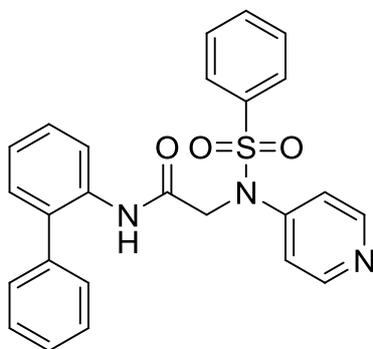
Ausbeute: 3.40 g (14.5 mmol, 68%)

1H -NMR: (400.13 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 6.95 (d, J = 7.28 Hz, 2 H, 3/5-Pyr-CH), 7.45 – 7.60 (m, 3 H, 3-Ph-CH oder 4/5-Ph-CH), 7.78 – 7.87 (m, 2 H, 2/6-Ph-CH), 8.03 (d, J = 7.28 Hz, 2 H, 2/6-Pyr-CH).

^{13}C -NMR: (100.61 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 114.24 (2 C, 3/5-Pyr-CH), 126.08 (2 C, 2/6-Ph-CH), 128.79 (2 C, 3/5-Ph-CH), 131.49 (4-Ph-CH), 140.61 (2 C, 1-Ph-C oder 4-Pyr-CH), 143.03 (2 C, 2/6-Pyr-CH).

VERBINDUNG SA-3C

Struktur:



Molare Masse: 443.52

Summenformel: $C_{25}H_{21}N_3O_3S$

Methode 2: 1.45 g (5.00 mmol) Bromoacetamid (49), 1.17 g (5.00 mmol) Sulfonamid (50c), 2.50 g (7.67 mmol) Cäsiumcarbonat

Ausbeute: 920 mg (2.07 mmol, 42%) farbloser Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3152, 3061, 2973, 2159, 2033, 1977, 1693, 1641, 1503, 1352, 1276, 1204, 1141, 1085, 937

1H -NMR: (400.13 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 4.83 (s, 2 H, CH₂), 6.90 (d, J = 7.40 Hz, 2 H, 3/5-Pyr-CH), 7.25 – 7.62 (m, 12 H, Ph oder Pyr), 7.73 – 7.89 (m, 4 H, Pyr, 2/6-Ph_s-CH), 9.79 (s, 1 H, NH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 58.08 (CH₂), 114.68 (2 C), 125.98, 126.43, 126.59, 127.29, 127.80 (5 C), 128.51 (2 C), 128.63 (2 C), 128.72 (2 C), 130.41, 131.09, 133.71, 136.36, 138.55 (5 C), 142.53 (2 C), 143.90 (1 C), 161.79 (2 C, Ph oder Pyr), 165.12 (C=O).

R_f-Wert: 0.48 (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:12)

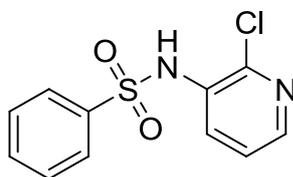
Schmelzpunkt: 217 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 444.2 [ber.: 443.13]

LC-MS: R_t = 8.1 min, Reinheit > 99 %

VERBINDUNG SA-2D

Struktur:



Molare Masse: 268.72

Summenformel: C₁₁H₉ClN₂O₂S

Methode 1: 2.38 g (18.5 mmol) 3-Amino-2-Chloropyridin, 3.27 g (18.5 mmol) Benzolsulfonsäurechlorid

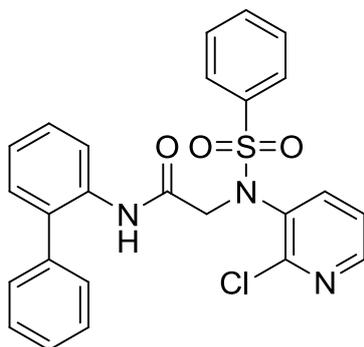
Ausbeute: 4.50 g (16.8 mmol, 90%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 7.41 (dd, J = 8.03, 4.64 Hz, 1 H, 4-Pyr-CH), 7.55 – 7.61 (m, 2 H, 3/5-Ph-CH), 7.63 – 7.70 (m, 1 H, 4-Ph-CH), 7.70 – 7.78 (m, 3 H, 2/6-Ph-CH oder 5-Pyr-CH), 8.23 (dd, 1 H, 6-Pyr-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 123.67 (5-Pyr-CH), 126.58 (2 C, 2/6-Ph-CH), 129.34 (2 C, 3/5-Ph-CH), 130.77 (2-Pyr-C), 133.19 (4-Ph-CH), 135.60 (4-Pyr-CH), 139.96 (1-Ph-C), 145.70 (3-Pyr-C), 146.75 (6-Pyr-CH).

VERBINDUNG SA-3D

Struktur:



Molare Masse: 477.96

Summenformel: $C_{25}H_{20}ClN_3O_3S$

Methode 2: 1.45 g (5.00 mmol) Bromoacetamid (**49**), 1.34 g (5.00 mmol) Sulfonamid (**50d**), 2.50 g (7.67 mmol) Cäsiumcarbonat

Ausbeute: 239 mg (0.500 mmol, 10%) hellbrauner kristalliner Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 2159, 2027, 1976, 1673, 1636, 1502, 1264, 1135, 1081, 971, 747, 731, 687, 637

1H -NMR: (400.13 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 4.59 (s, 2 H, CH_2), 7.10 – 7.44 (m, 12 H, Ph oder Pyr), 7.61 (d, $J = 9.03$ Hz, 1 H, 5-Pyr- CH), 7.73 – 7.80 (m, 3 H, 2/6-Ph $_5$ - CH oder 6-Pyr- CH), 8.00 (d, $J = 8.03$ Hz, 1 H, 2-Ph $_N$ - CH).

^{13}C -NMR: (100.61 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 56.62 (CH_2N), 110.98, 117.87, 122.22, 125.32 (4 C), 126.17 (2 C), 127.80, 128.22 (2 C), 128.51 (2 C), 128.99 (2 C), 129.08 (2 C), 130.25, 131.40, 133.63 (2 C), 137.71, 139.66, 140.89, 143.12, 155.55 (5 C, Ph oder Pyr), 163.51 ($C=O$).

R_f -Wert: 0.70 (MeOH:CH $_2$ Cl $_2$ = 1:12)

Schmelzpunkt: 160–161 °C

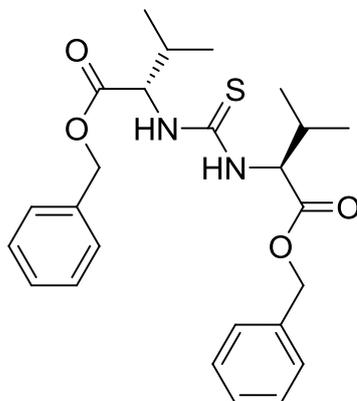
LOOP-ESI-MS: gef.: – (Gerät defekt) [ber.: 477.09]

LC-MS: R_t = 8.1 min, Reinheit > 99 %

ISOTHIOCYANATE

VERBINDUNG 41

Struktur:



Molare Masse: 249.33

Summenformel: $C_{13}H_{15}NO_2S$

Methode: Es wurden 4.00 g (16.4 mmol) L-Valinbenzylester-HCl in einer Mischung aus 50 ml Dichlormethan und 50 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gelöst und auf 0 °C abgekühlt. In die organische Phase wurden 1.90 g (16.5 mmol) Thiophosgen gegeben und das erhaltene Reaktionsgemisch für sechs Stunden bei 20 °C gerührt. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das erhaltene Öl durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Ethylacetat:Cyclohexan = 1:4) aufgereinigt.

Ausbeute: 3.03 g (6.64 mmol, 40%) gelbes Öl

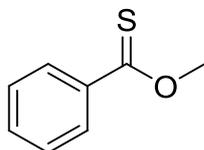
1H -NMR: (400.13 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 0.82 (dd, $J = 9.03, 6.90$ Hz, 6 H, CH_3), 2.10 – 2.23 (m, $J = 6.85, 6.85, 6.85, 6.85, 5.08$ Hz, 1 H, $CHCH_3$), 5.03 – 5.22 (m, 2 H, OCH_2), 6.59 (d, $J = 8.53$ Hz, 1 H, CHN), 7.21 – 7.34 (m, 5 H, Ph).

THIONOESTER

BENZYLTHIONOMETHYLESTER (42A)

Darstellung mit P₄S₁₀

Struktur:



Molare Masse: 142.21

Summenformel: C₈H₈OS

Methode 1: Unter Schutzgasatmosphäre wurden 3.0 g Benzoesäuremethylester zu einer Suspension aus 6.1 ml Hexamethyldisiloxan und 2.5 g Phosphorpentasulfid in 80 ml Xylol zugetropft. Die Mischung wurde 30 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde auf 0 °C abgekühlt und anschließend mit 7 ml gesättigter Kaliumcarbonatlösung und 40 ml Aceton versetzt und für 2 Stunden gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Öl durch Kugelrohrdestillation aufgereinigt.

Ausbeute: 2.10 g (13.8 mmol, 63%) rote Flüssigkeit

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 4.33 (s, 3 H, OCH₃), 7.41 (t, 2 H, 3/5-Ph-CH), 7.52 – 7.61 (m, 1 H, 4-Ph-CH), 8.23 (dd, J = 8.34, 1.44 Hz, 2 H, 2/6-Ph-CH).

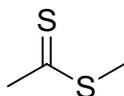
Methode 2: Unter Schutzgasatmosphäre wurden 9.09 g (66.8 mmol) Benzoesäuremethylester zu einer Suspension 30 g (74.2 mmol) Lawessons Reagenz in 150 ml Xylol zugetropft. Die Mischung wurde 48 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde mit leichtem Petrolether durch Kieselgel filtriert und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Öl wurde durch Destillation aufgereinigt.

Ausbeute: 5.90 g (36.8 mmol, 52%) rote Flüssigkeit

DITHIOESTER

ESSIGSÄUREDITHIOMETHYLESTER (43A)

Struktur:



Molare Masse: 106.21

Summenformel: C₃H₆S₂

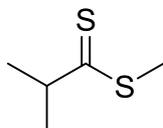
Methode: Es wurden 40 ml Methylmagnesiumbromid (3 M in Et₂O) in 40 ml THF gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Zu dieser Lösung wurden 9.59 g (126 mmol) Carbondisulfid getropft und das Reaktionsgemisch für eine Stunde unter Rückfluss erhitzt und anschließend erneut auf 0 °C abgekühlt. Es wurden 17.9 g (126 mmol) Iodmethan zugetropft und eine weitere Stunde unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde mit Eiswasser versetzt und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase dreimal mit Diethylether extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereint und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand durch eine Destillation aufgereinigt.

Ausbeute: 6.65 g (62.6 mmol, 52%)

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.57 (s, 3 H, SCH₃), 2.81 (s, 3 H, CH₃).¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 20.56, 38.99, 234.00 (C=S).Siedepunkt: 98°C (350 mbar) [Lit: 70-71 °C, 91 mbar]^[101]

2-METHYLPROPIONSÄUREDITHIOMETHYLESTER (43B)

Struktur:



Molare Masse: 134.26

Summenformel: C₅H₁₀S₂

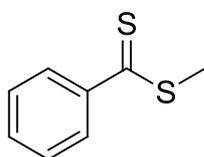
Methode: Es wurden 40 ml 2-Propylmagnesiumchlorid (2 M in THF) in 40 ml THF gelöst und auf -15 °C abgekühlt. Zu dieser Lösung wurden 6.09 g (80.0 mmol) Carbondisulfid getropft. Die Mischung wurde langsam auf Raumtemperatur erwärmt und für 6 Stunden gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde zwei Stunden unter Rückfluss erhitzt und auf 0 °C abgekühlt. Es wurden 11.4 g (80.0 mmol) Iodmethan zugetropft und weitere 6 Stunden gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 0.1 N Salzsäurelösung versetzt und anschließend mit

halbgesättigter NaHCO_3 -Lösung neutralisiert. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase dreimal mit Diethylether extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereint und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand durch eine Destillation aufgereinigt.

<i>Ausbeute:</i>	5.70 g (42.5 mmol, 53%)
$^1\text{H-NMR}$:	(400.13 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 1.32 (d, $J = 6.65$ Hz, 6 H, CH_3), 2.61 (s, 3 H, SCH_3), 3.45 (spt, $J = 6.67$ Hz, 1 H, CH).
Siedepunkt:	90°C (80mbar)

BENZYL-DITHIOMETHYLESTER (43C)

Struktur:

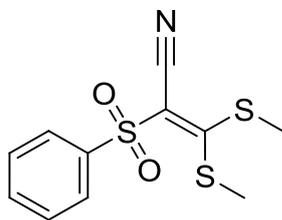


<i>Molare Masse:</i>	168.28
<i>Summenformel:</i>	$\text{C}_8\text{H}_8\text{S}_2$
<i>Methode:</i>	Es wurden 40 ml Phenylmagnesiumbromid (3 M in Et_2O) in 80 ml THF gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Zu dieser Lösung wurden 10.0 g (131 mmol) Carbondisulfid getropft und das Reaktionsgemisch für eine Stunde unter Rückfluss erhitzt und anschließend auf 0 °C abgekühlt. Es wurden 18.8 g (132 mmol) Iodmethan zugetropft und eine weitere Stunde unter Rückfluss erhitzt und für 10 Stunden bei 20 °C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit Eiswasser versetzt und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase dreimal mit Diethylether extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereint und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand durch eine Destillation aufgereinigt.
<i>Ausbeute:</i>	15.3 g (91.0 mmol, 76 %) rote Flüssigkeit
$^1\text{H-NMR}$:	(400.13 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 2.74 (s, 3 H, SCH_3), 7.34 (t, $J = 7.72$ Hz, 2 H, 3/5-Ph- CH), 7.45 – 7.51 (m, 1 H, 4-Ph- CH), 7.96 (dd, $J = 8.47, 1.19$ Hz, 2 H, 2/6-Ph- CH).
$^{13}\text{C-NMR}$:	20.7 (SCH_3), 126.8, 128.3 (4 C, Ph), 132.3 (4-Ph- CH), 145.1 (1-Ph- C), 229.3 ($\text{C}_q, \text{C}(=\text{S})\text{SCH}_3$).
<i>R_f-Wert:</i>	0.62 (Cyclohexan)
Siedepunkt:	140°C (15 mbar)

S,S-VINYLSULFONE

VERBINDUNG 44

Struktur:



Molare Masse: 285.41

Summenformel: $C_{11}H_{11}NO_2S_3$

Methode: Es wurden 18.1 g (100 mmol) 2-(Phenylsulfonyl)acetonitril in 50 ml DMSO gelöst und portionsweise mit 8.00 g (200 mmol, 60%) Natriumhydrid versetzt. Zu der erhaltenen Suspension wurden 7.61 g (100 mmol) Carbondisulfid getropft und die erhaltene Lösung für eine Stunde gerührt. Zu der Reaktionsmischung wurden 14.2 g (100 mmol) Methyljodid gegeben und die erhaltene Mischung für zwei Stunden gerührt. Anschließend wurde die Mischung mit 100 ml Wasser versetzt und der Feststoff abfiltriert.

Ausbeute: 12.3 g (43.1 mmol, 43 %) gelbe Kristalle

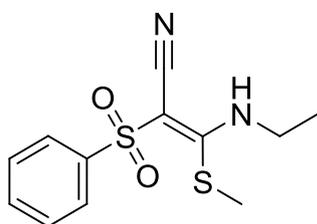
1H -NMR: (400.13 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 2.51 (s, 3 H, SCH_3), 2.66 (s, SCH_3), 7.58 – 7.62 (m, 2 H, 3/5-Ph- CH), 7.70 – 7.74 (m, 1 H, 4-Ph- CH), 7.97 – 7.99 (m, 2 H, 2/6-Ph- CH).

Schmelzpunkt: 100–102 °C

R_f -Wert: 0.33 (CH_2Cl_2)

S,N-VINYLSULFONE (45)Allgemeine Methode:

Unter Argon werden Isothiocyanat und (Phenylsulfonyl)-acetonitril (1.0–1.2 Eq.) in 40 ml Dioxan bei 0 °C gelöst. Es werden Kaliumhydroxid (2.0–2.6 Eq.) zugegeben und die erhaltene Mischung für 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zu der erhaltenen Suspension werden Methyljodid (1.0–1.2 Eq.) zugetropft und die erhaltene Reaktionsmischung für 10 Stunden gerührt. Die Mischung wird auf Eiswasser gegeben und der ausgefallene Feststoff abfiltriert und verworfen. Das Filtrat wird mit Eisessig neutralisiert und der erhaltene Niederschlag abfiltriert und in Ethanol umkristallisiert.

VERBINDUNG 45AStruktur:

Molare Masse: 282.38

Summenformel: C₁₂H₁₄N₂O₂S₂

Methode: 4.50 g (24.8 mmol) (Phenylsulfonyl)acetonitril, 1.80 g (20.7 mmol) Ethylisothiocyanat, 3.08 g (54.9 mmol) Kaliumhydroxid, 3.55 g (25.0 mmol) Methyljodid

Ausbeute: 3.45 g (12.2 mmol, 59 %) kristalliner Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3304, 2182, 2033, 1976, 1557, 1415, 1134, 825, 717, 684

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 1.22 (t, *J* = 7.22 Hz, 3 H, CH₃), 2.47 (s, 3 H, SCH₃), 3.53 (qd, *J* = 7.24, 5.65 Hz, 2 H, NCH₂), 7.43 – 7.52 (m, 2 H, 3/5-Ph-CH), 7.52 – 7.60 (m, 1 H, 4-Ph-CH), 7.81 – 7.88 (m, 2 H, 2/6-Ph-CH)

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 15.43 (CH₃), 18.09 (SCH₃), 41.39 (CH₂), 83.13 (C=CN), 116.29 (C_q, C₂N), 126.42 (2 C, 2/6-Ph-CH), 129.23, (2 C, 3/5-Ph-CH) 133.35 (4-Ph-CH), 141.98 (1-Ph-C), 169.07 (C=CSCH₃).

R_f-Wert: 0.28 (CH₂Cl₂)

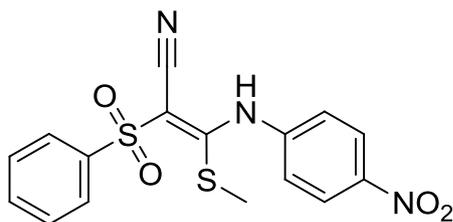
Schmelzpunkt: 85 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 283.1 [ber.: 282.05]

LC-MS: R_t = 9.8 min, Reinheit > 99 %

VERBINDUNG 45B

Struktur:



Molare Masse: 375.42

Summenformel: $C_{16}H_{13}N_3O_4S_2$

Methode: 1.99 g (11.0 mmol) 4-Nitrophenylisothiocyanat, 2.00 g (11.0 mmol) (Phenylsulfonyl)-acetonitril, 1.24 g (22.1 mmol) Kaliumhydroxid, 1.49 g (10.5 mmol) Methyljodid

Ausbeute: 2.90 g (7.72 mmol, 70%) gelber kristalliner Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3283, 2186, 2026, 1978, 1552, 1523, 1343, 1144, 857, 721

1H -NMR: (400.13 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 2.24 (br. s., 3 H, SCH_3), 7.30 – 7.35 (m, 2 H, 2/6- Ph_N-CH), 7.60 – 7.69 (m, 2 H, 3/5- Ph_S-CH), 7.74 (t, J = 7.28 Hz, 1 H, 4- Ph_S-CH), 7.84 – 7.88 (m, 2 H, 2/6- Ph_S-CH), 8.19 (d, J = 8.78 Hz, 2 H, 3/5- Ph_N-CH).

^{13}C -NMR: (100.61 MHz, DMSO- d_6): δ (ppm) = 16.10 (SCH_3), 66.34 ($C=C-N$), 115.20 (CN), 121.50 (2 C, 2/6- Ph_N-CH), 125.06 (2 C, 3/5- Ph_N-CH), 126.79 (2 C, 2/6- Ph_S-CH), 129.51 (2 C, 3/5- Ph_S-CH), 133.80 (4- Ph_S-CH), 141.13 (1- Ph_S-C), 143.39 (1- Ph_N-C), 145.79 (4- Ph_N-C), 154.69 ($C=C-N$).

R_f -Wert: 0.21 (CH_2Cl_2)

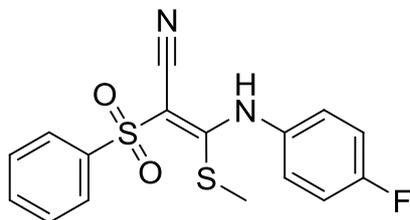
Schmelzpunkt: 161–162°C

LOOP-ESI-MS: gef.: $[M-H]^-$ 374.1 [ber.: 375.03]

LC-MS: R_t = 11.7 min, Reinheit > 99 %

VERBINDUNG 45C

Struktur:



Molare Masse: 348.42

Summenformel: $C_{16}H_{13}FN_2O_2S_2$

Methode: 1.69 g (11.0 mmol) 4-Fluorphenylisothiocyanat, 2.00 g (11.0 mmol) (Phenylsulfonyl)-acetonitril, 1.24 g (22.1 mmol) Kaliumhydroxid, 1.49 g (10.5 mmol) Methyljodid

Ausbeute: 3.23 g (9.27 mmol, 84%) kristalliner Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3276, 2192, 2033, 1977, 1535, 1506, 1426, 1403, 1208, 1078, 721

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.10 (s, 3 H, SCH₃), 7.01 – 7.09 (m, 2 H, 3/5-Ph_F-CH), 7.11 – 7.18 (m, 2 H, 2/6-Ph_F-CH), 7.48 – 7.55 (m, 2 H, 3/5-Ph-CH), 7.57 – 7.66 (m, 1 H, 4-Ph_S-CH), 7.89 (dd, J = 8.41, 1.13 Hz, 2 H, 2/6-Ph-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 17.14 (SCH₃), 88.27 (C=C-CN), 115.14 (CN), 116.58, 116.81 (2 C, 3/5-Ph_N-CH), 126.68, 126.76 (2 C, 2/6-Ph_N-CH), 126.88 (2 C, 2/6-Ph_S-CH), 129.54 (2 C, 3/5-Ph_S-CH), 133.47, 133.50 (1-Ph_N-C), 133.93 (4-Ph_S-CH), 141.32 (1-Ph_S-C), 160.19, 162.66 (4-Ph_N-CF), 167.12 (C=C-SCH₃).

R_f-Wert: 0.28 (CH₂Cl₂)

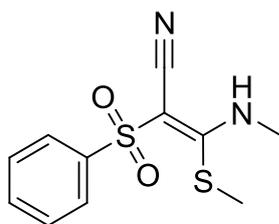
Schmelzpunkt: 137–138 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 349.0 [ber.: 348.04]

LC-MS: R_t = 12.3 min, Reinheit > 99 %

VERBINDUNG 45D

Struktur:



Molare Masse: 268.36

Summenformel: C₁₁H₁₂N₂O₂S₂

Methode: 1.21 g (16.6 mmol) Methylisothiocyanat, 3.00 g (16.6 mmol) (Phenylsulfonyl)-acetonitril, 1.86 g (33.1 mmol) Kaliumhydroxid, 2.23 g (15.7 mmol) Methyljodid

Ausbeute: 1.60 g (5.96 mmol, 36%)

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3322, 2184, 2032, 1977, 1587, 1443, 1392, 1286, 1133, 842, 753, 718, 686

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.50 (s, 3 H, SCH₃), 3.14 (s, 3 H, NCH₃), 7.46 – 7.52 (m, 2 H, 3/5-Ph-CH), 7.54 – 7.60 (m, 1 H, 4-Ph-CH), 7.86 (dd, J = 8.41, 1.38 Hz, 2 H, 2/6-Ph-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 18.07 (SCH₃), 32.92 (NCH₃), 83.47 (C=C-N), 116.30 (CN), 126.62 (2 C, 2/6-Ph-CH), 129.33 (2 C, 3/5-Ph-CH), 133.47 (4-Ph-CH), 141.94 (1-Ph-C), 170.00 (C=C-N).

R_f-Wert: 0.17 (CH₂Cl₂)

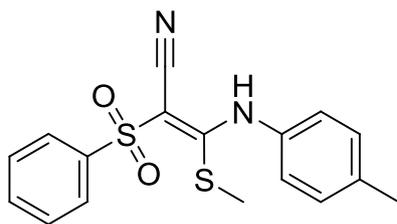
Schmelzpunkt: 137 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 269.1 [ber.: 268.03]

LC-MS: R_t = 8.7 min, Reinheit > 99 %

VERBINDUNG 45E

Struktur:



Molare Masse: 344.45

Summenformel: C₁₇H₁₆N₂O₂S₂

Methode: 2.47 g (16.6 mmol) 4-Methylphenylisothiocyanat, 3.00 g (16.6 mmol) (Phenylsulfonyl)-acetonitril, 1.86 g (33.1 mmol) Kaliumhydroxid, 2.23 g (15.7 mmol) Methyljodid

Ausbeute: 2.90 g (8.42 mmol, 51%)

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3279, 2186, 2032, 1977, 1538, 1509, 1419, 1342, 1138, 1078, 808, 719

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.06 (s, 3 H, CH₃), 2.33 (s, 3 H, SCH₃), 7.01 – 7.07 (m, 2 H, 3/5-Ph-CH), 7.12 – 7.18 (m, 2 H, 2/6-Ph-CH), 7.50 (t, J = 7.65 Hz, 2 H, 3/5-Ph_S-CH), 7.56 – 7.64 (m, 1 H, 4-Ph_S-CH), 7.80 – 7.98 (m, 2 H, 2/6-Ph_S-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 17.08 (SCH₃), 21.06 (CH₃), 87.55 (C=CN), 115.37 (CN), 124.52 (2/6-Ph-CH), 126.62 (2/6-Ph_S-CH), 129.47 (2 C, 3/5-Ph_S-CH), 130.29 (2 C, 3/5-Ph-CH), 133.74 (4-Ph_S-CH), 134.91 (1-Ph-C), 137.68 (4-Ph-C), 141.59 (1-Ph_S-C), 167.05 (C=CSCH₃).

R_f-Wert: 0.26 (CH₂Cl₂)

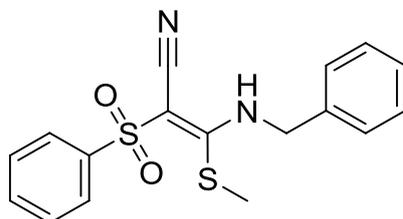
Schmelzpunkt: 167 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 345.1 [ber.: 344.07]

LC-MS: R_t = 13.1 min, Reinheit > 99 %

VERBINDUNG 45F

Struktur:



Molare Masse: 344.45

Summenformel: C₁₇H₁₆N₂O₂S₂

Methode: 1.65 g (11.0 mmol) Benzylisothiocyanat, 2.00 g (11.0 mmol) (Phenylsulfonyl)-acetonitril, 1.24 g (22.1 mmol) Kaliumhydroxid, 1.49 g (10.5 mmol) Methyljodid

Ausbeute: 1.20 g (3.48 mmol, 32%) nadelförmiger, kristalliner Feststoff

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3297, 2185, 2032, 1976, 1570, 1449, 1412, 1350, 1286, 1142, 1085, 835, 717, 685

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.49 (s, 3 H, SCH₃), 4.70 (d, J = 5.90 Hz, 2 H, NCH₂), 7.19 (dd, J = 7.84, 1.57 Hz, 2 H, Ph), 7.27 – 7.39 (m, 3 H, Ph), 7.41 – 7.50 (m, 2 H, 3/5-Ph₅-CH), 7.53 – 7.61 (m, 1 H, 4-Ph₅-CH), 7.77 (dd, J = 8.47, 1.19 Hz, 2 H, 2/6-Ph₅-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 18.34 (SCH₃), 50.08 (CH₂), 85.03 (C=CCN), 116.05 (CN), 126.72 (2/6-Ph₅-CH), 127.33 (2/6-Ph-CH), 128.46 (4-Ph-CH), 129.22, 129.31 (4 C, 3/5-PhS-CH, 3/5-Ph-CH), 133.49 (4-Ph-CH), 136.07 (1-Ph-C), 141.76 (1-Ph₅-C), 169.04 (C=CSCH₃)

R_f-Wert: 0.21 (CH₂Cl₂)

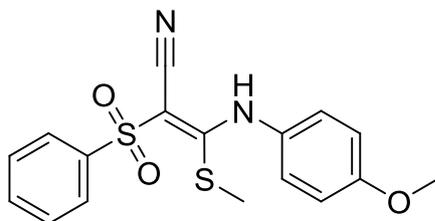
Schmelzpunkt: 84°C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 345.1 [ber.: 344.07]

LC-MS: R_t = 12.2 min, Reinheit > 99 %

VERBINDUNG 45G

Struktur:



Molare Masse: 360.45

Summenformel: C₁₇H₁₆N₂O₃S₂

Methode: 1.85 g (11.0 mmol) 4-Methoxyphenylisothiocyanat, 2.00 g (11.0 mmol) (Phenylsulfonyl)-acetonitril, 1.24 g (22.1 mmol) Kaliumhydroxid, 1.49 g (10.5 mmol) Methyljodid

Ausbeute: 2.10 g (5.83 mmol, 53%)

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3278, 2187, 2032, 1977, 1541, 1508, 1429, 1409, 1342, 1212, 1128, 831, 721

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 2.08 (s, 3 H, SCH₃), 3.78 (s, 3 H, OCH₃), 6.83 – 6.89 (m, 2 H, 2/6-Ph-CH), 7.02 – 7.11 (m, 2 H, 3/5-Ph-CH), 7.47 – 7.55 (m, 2 H, 3/5-Ph₅-CH), 7.56 – 7.64 (m, 1 H, 4-Ph₅-CH), 7.87 – 7.92 (m, 2 H, 2/6-Ph₅-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 16.20 (SCH₃), 55.33 (OCH₃), 75.78 (C=C-N), 114.35 (2 C, 2/6-Ph_N-CH), 115.65 (CN), 125.64 (2 C, 3/5-Ph-CH), 126.42 (2 C, 2/6-Ph₅-CH), 129.48 (2 C, 3/5-Ph-CH), 131.38 (4-Ph_N-C), 133.46 (4-Ph₅-CH), 142.04 (1-Ph₅-C), 157.71 (1-Ph_N-C), 167.71 (C=C-N).

R_f-Wert: 0.21 (CH₂Cl₂)

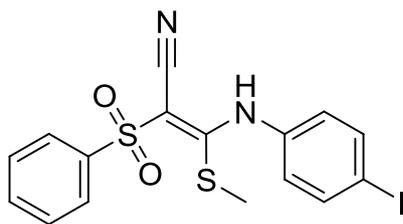
Schmelzpunkt: 131 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 361.1 [ber.: 360.06]

LC-MS: R_t = 11.9 min, Reinheit > 99 %

VERBINDUNG 45H

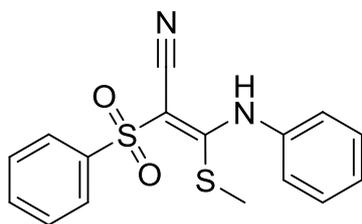
Struktur:



- Molare Masse:** 456.32
- Summenformel:** C₁₆H₁₃IN₂O₂S₂
- Methode:** 2.88 g (11.0 mmol) 4-Iodphenylisothiocyanat, 2.00 g (11.0 mmol) (Phenylsulfonyl)-acetonitril, 1.24 g (22.1 mmol) Kaliumhydroxid, 1.49 g (10.5 mmol) Methyljodid
- Ausbeute:** 3.40 g (7.45 mmol, 68%)
- FT-IR:** $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3251, 2190, 2161, 2027, 1977, 1543, 1525, 1128, 1075
- ¹H-NMR:** (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.10 (s, 3 H, SCH₃), 6.63 (d, *J* = 8.41 Hz, 2 H, 2/6-Ph_I-CH), 7.49 – 7.64 (m, 5 H, Ph), 7.73 – 7.90 (m, 2 H, 2/6-Ph₅-CH).
- ¹³C-NMR:** (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 15.90 (SCH₃), 66.37 (C=C-NH), 86.93 (C_q, 4-Ph-C), 119.09 (C_q, CN), 124.39 (2 C, 2/6-Ph-CH), 126.48 (2/6-Ph₅-CH), 128.66 (2C, 3/5-Ph₅-CH), 131.99 (4-Ph₅-CH), 137.33 (2 C, 3/5-Ph-CH), 144.15 (1-Ph-C), 145.48 (1-Ph₅-C), 168.89 (C=C-NH).
- R_f-Wert:** 0.30 (CH₂Cl₂)
- Schmelzpunkt:** 169 °C
- LOOP-ESI-MS:** gef.: [M-H]⁻ 455.0 [ber.: 455.95]
- LC-MS:** R_t = 13.5 min, Reinheit > 99 %

VERBINDUNG 45I

Struktur:



- Molare Masse:** 330.42
- Summenformel:** C₁₆H₁₄N₂O₂S₂
- Methode:** 1.49 g (11.0 mmol) Phenylisothiocyanat, 2.00 g (11.0 mmol) (Phenylsulfonyl)acetonitril, 1.24 g (22.1 mmol) Kaliumhydroxid, 1.49 g (10.5 mmol) Methyljodid
- Ausbeute:** 1.64 g (4.97 mmol, 45 %)
- FT-IR:** $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3277, 2187, 2032, 1976, 1541, 1410, 1144, 753, 720, 685, 607
- ¹H-NMR:** (400.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 2.13 (s, 3 H, CH₃) 7.18 (d, *J* = 7.53 Hz, 2 H, 2/6-Ph-CH),

7.25 (t, $J = 7.40$ Hz, 1 H, 4-Ph-CH), 7.38 (t, $J = 7.78$ Hz, 2 H, 3/5-Ph-CH), 7.61 – 7.70 (m, 2 H, 3/5-Ph_S-CH), 7.71 – 7.79 (m, 1 H, 4-Ph_S-CH), 7.84 – 7.94 (m, 2 H, 2/6-Ph_S-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 16.15 (CH₃), 87.16 (C=C-NH), 115.46 (CN), 123.49 (4-Ph-CH), 126.30 (2 C, 2/6-Ph-CH), 126.56 (2 C, 2/6-Ph_S-CH), 129.30 (2 C, 3/5-Ph_S-CH), 129.54 (2 C, 3/5-Ph-CH), 133.59 (4-Ph-CH), 138.81 (1-Ph-C), 141.85 (1-Ph_S-C).

R_f-Wert: 0.39 (CH₂Cl₂)

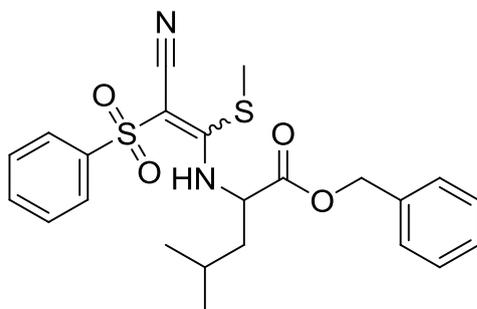
Schmelzpunkt: 116 °C

LOOP-ESI-MS: gef.: [M+H]⁺ 331.1 [ber.: 330.05]

LC-MS: R_t = 12.2 min, Reinheit > 99 %

VERBINDUNG 46A

Struktur:



Molare Masse: 458.59

Summenformel: C₂₃H₂₆N₂O₄S₂

Methode: Es werden 500 mg (1.75 mmol) **44** und 689 mg (1.75 mmol) H-Leu-OBn-HOTos in 10 ml Methanol gelöst und mit 354 mg (3.50 mmol) NMM versetzt. Die Reaktionsmischung wird für 10 Stunden gerührt. Das Lösungsmittel wird entfernt und der Rückstand mit 50 ml Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wird mit Natriumhydrogencarbonatlösung (3x 50 ml) gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand durch Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt (Ethylacetat / Cyclohexan 1:4).

Ausbeute: 200 mg (0.436 mmol, 25%) Öl

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3269, 2958, 2872, 2197, 1739, 1558, 1446, 1301, 1163, 1136, 1079, 720

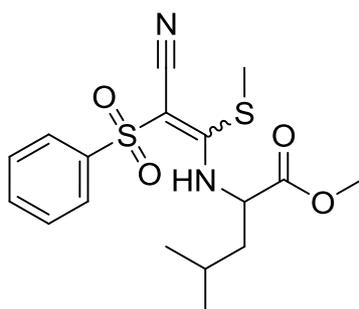
¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.88 (d, $J = 6.40$ Hz, 3 H, Leu-CH₃), 0.92 (d, $J = 6.40$ Hz, 3 H, Leu-CH₃), 1.58 – 1.69 (m, 1 H, Leu-CH), 1.69 – 1.76 (m, 2 H, Leu-CH₂), 2.34 (s, 3 H, SCH₃), 4.65 (td, $J = 8.13, 5.71$ Hz, 1 H, Leu-CHCO), 5.15 (s, 2 H, OCH₂), 7.25 – 7.36 (m, 5 H, Ph), 7.44 – 7.49 (m, 2 H, 3/5-Ph_S-CH), 7.53 – 7.63 (m, 1 H, 4-Ph_S-CH), 7.85 – 7.93 (m, 2 H, 2/6-Ph_S-CH).

¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 18.2 (S-CH₃), 21.6 (Leu-CH₃), 22.6 (Leu-CH₃), 24.8 (Leu-CH(CH₃)₂), 41.4 (Leu-CH₂), 57.4 (Leu-CHCO), 67.7 (CH₂C₆H₅), 86.2 (C_q, C-CN), 115.68 (C_q, C-CN), 126.8 (2 C, Ph), 128.5 (2 C, Ph), 128.7 (2 C, Ph), 129.2 (2 C, Ph), 129.3 (Ph), 130.7 (Ph), 134.8 (C_q, 1-Ph-C), 141.5 (C_q, C(SO₂)), 168.5 (C_q, C=C(S)NH), 170.8 (C_q, C=O).

R_f-Wert: 0.77 (EE/Cy 1/1)

Verbindung 46b

Struktur:



Molare Masse: 382.50

Summenformel: C₁₇H₂₂N₂O₄S₂

Methode: Isoliertes Nebenprodukt

Ausbeute: 100 mg (0.261 mmol, 15%) Öl

FT-IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3271, 2957, 2872, 2197, 1741, 1558, 1446, 1300, 1136, 719, 687

¹H-NMR: (400.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 0.89 (d, J = 6.40 Hz, 3 H, Leu-CH₃), 0.93 (d, J = 6.40 Hz, 3 H, Leu-CH₃), 1.59 – 1.79 (m, 3 H, Leu-CH, Leu-CH₂), 2.45 (s, 3 H, S-CH₃), 3.72 (s, 3 H, O-CH₃), 4.57 – 4.70 (m, 1 H, Leu-CHN), 7.46 – 7.52 (m, 2 H, 3/5-Ph-CH), 7.54 – 7.60 (m, 1 H, 4-Ph-CH), 7.88 – 7.94 (m, 2 H, 2/6-Ph-CH).

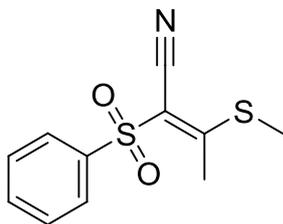
¹³C-NMR: (100.61 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 18.4 (S-CH₃), 21.7, 22.7 (2 C, Leu-CH₃), 24.9 (Leu-CH), 41.7 (Leu-CH₂), 52.9 (O-CH₃), 57.3 (Leu-CHN), 86.4 (C=C(CN)), 115.8 (C=C(CN)), 126.9 (2 C, 2/6-Ph-CH), 129.3 (2 C, 3/5-Ph-CH), 133.6 (4-Ph-CH), 141.6 (C_q, 1-Ph-C), 168.5 (C=C(CN)), 171.5 (C(=O)OCH₃).

R_f-Wert: 0.62 (EE/Cy 1/1)

C,S-VINYLSULFONE

METHYLVINYLSULFON (47)

Struktur:



Molare Masse: 253.34

Summenformel: $C_{11}H_{11}NO_2S_2$

Methode: Es werden 1.00 g (5.52 mmol) Phenylsulfonylacetonitril in 15 ml Methanol bei 0 °C gelöst und mit 550 mg (10.2 mmol) Natriummethanolat versetzt. Die Mischung wird für 30 Minuten gerührt. Es werden 590 mg (5.52 mmol) **43a** innerhalb von 10 Minuten zugetropft. Die Reaktionsmischung wird langsam auf Raumtemperatur erwärmt und für 5 Stunden gerührt. Es werden 900 mg (6.34 mmol) Methyljodid zugetropft und für 5 Stunden gerührt. Das Lösungsmittel wird entfernt und der Rückstand mit 50 ml Diethylether und 50 ml Wasser aufgenommen. Die wässrige Phase wird mit Diethylether (3x 100 ml) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und durch Säulenchromatographie gereinigt (Gradient: Ethylacetat/Cyclohexan 1/4 → 1/2).

Ausbeute: 200 mg (0.789 mmol, 14%)

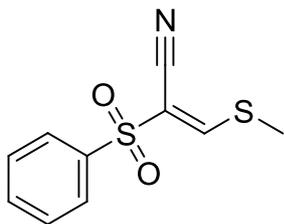
1H -NMR: (400.13 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 2.42 (s, 3 H, CCH_3), 2.45 (s, 3 H, SCH_3), 7.53 (t, $J = 7.72$ Hz, 2 H, 3/5-Ph- \underline{CH}), 7.58 – 7.72 (m, 1 H, 4-Ph- \underline{CH}), 7.97 – 8.02 (m, 2 H, 2/6-Ph- \underline{CH}).

^{13}C -NMR: (100.61 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 16.11 ($S\underline{C}H_3$), 24.02 ($C\underline{C}H_3$), 109.62 ($\underline{C}=\underline{C}H_3$), 113.99 ($C\underline{C}N$), 127.97 (2 C, 2/6-Ph- \underline{CH}), 129.28 (2 C, 3/5-Ph- \underline{CH}), 134.35 (4-Ph- \underline{CH}), 139.59 (C_q , 1-Ph- \underline{C}), 174.18 ($C=\underline{C}H_3$).

R_f -Wert: 0.40 (EE/Cy 1:2)

H-VINYLSULFON (48)

Struktur:



Molare Masse: 239.31

Summenformel: C₁₀H₉NO₂S₂

Methode: Es werden 1.50 g (8.28 mmol) Phenylsulfonylacetonitril und 1.30 g (8.42 mmol) Tris-(methylthio)methan in 20 ml Essigsäureanhydrid gelöst und für 48 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Das Reaktionsgemisch wird auf Eiswasser gegeben und der ausgefallene Feststoff abfiltriert. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel aufgereingt (Gradient Ethylacetat Cyclohexan 1/9 → 1/4).

Ausbeute: –

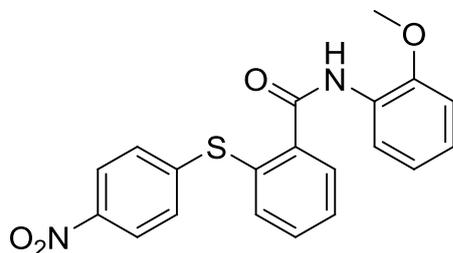
LOOP-ESI-MS: gef.: [M-H]⁻ 238.0 [ber.: 239.01]

LC-MS: R_t = 3.4 min

WEITERE VERBINDUNGEN

VERBINDUNG 52

Struktur:



Molare Masse: 380.42

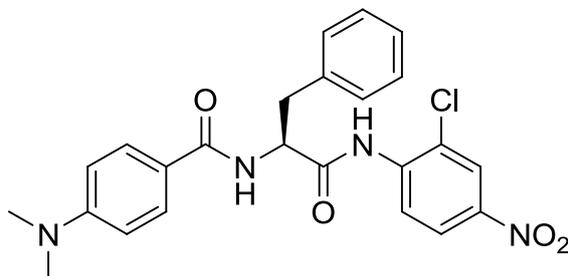
Summenformel: $C_{20}H_{16}N_2O_4S$

Methode: Die Darstellung erfolgte nach Literatur [97].

Die spektroskopischen Daten entsprechen der Literatur.

VERBINDUNG 53

Struktur:



Molare Masse: 466.92

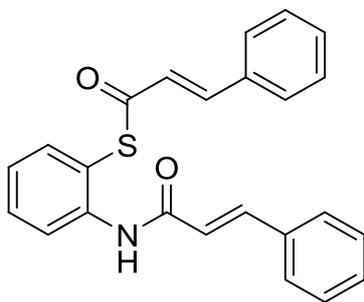
Summenformel: $C_{24}H_{23}ClN_4O_4$

Methode: Die Darstellung erfolgte nach Literatur [80].

Die spektroskopischen Daten entsprechen der Literatur.

VERBINDUNG 54

Struktur:



Molare Masse: 385.48

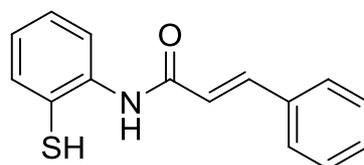
Summenformel: C₂₄H₁₉NO₂S

Methode: Die Darstellung erfolgte nach Literatur [82].

Die spektroskopischen Daten entsprechen der Literatur.

VERBINDUNG 55

Struktur:



Molare Masse: 255.07

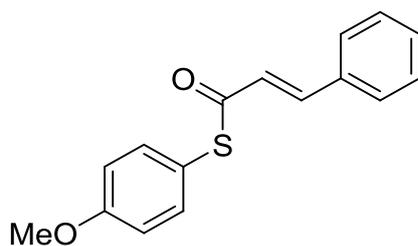
Summenformel: C₁₅H₁₃NOS

Methode: Die Verbindung konnte als Nebenprodukt der Darstellung von Verbindung 54 isoliert werden.

Die spektroskopischen Daten entsprechen der Literatur [98, 99].

VERBINDUNG 56

Struktur:



Molare Masse: 270.35

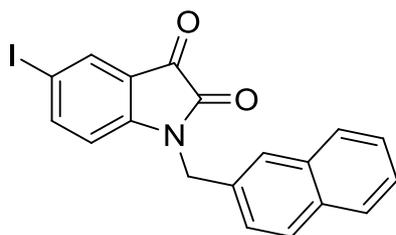
Summenformel: $C_{16}H_{14}O_2S$

Methode: Die Darstellung erfolgte nach Literatur [82].

Die spektroskopischen Daten entsprechen der Literatur [100].

VERBINDUNG 58

Struktur:



Molare Masse: 413.21

Summenformel: $C_{19}H_{12}INO_2$

Methode: Die Darstellung erfolgte nach Literatur [85].

Die spektroskopischen Daten entsprechen der Literatur.

ANHANG: DATEN ZU DEN KRISTALLSTRUKTURANALYSEN

VERBINDUNG 45D

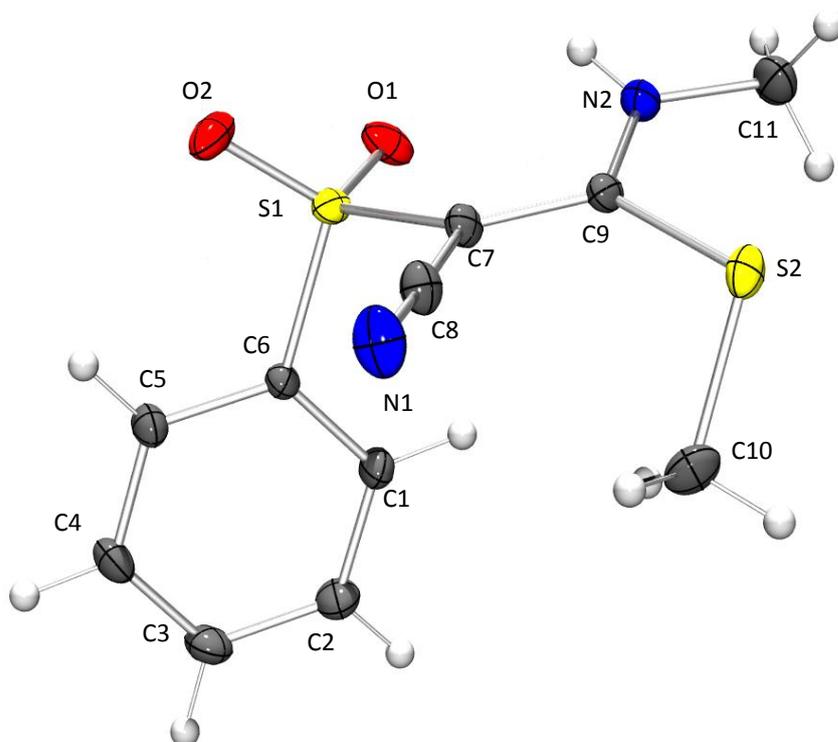


Tabelle A-1: Bindungslängen [Å] von Verbindung 45d.

Atom1	Atom2	Length	Atom1	Atom2	Length	Atom1	Atom2	Length
C5	C4	1.3949(7)	C7	C9	1.4097(6)	C8	N1	1.1623(7)
C6	C1	1.3962(6)	C7	C8	1.4099(7)	C9	N2	1.3227(7)
S2	C9	1.7550(6)	S1	O2	1.4446(6)	C3	C4	1.3873(7)
S1	C6	1.7668(7)	S1	O1	1.4456(5)	C6	C5	1.3907(5)
S2	C10	1.8098(7)	N2	C11	1.4599(8)	C1	C2	1.3919(7)
C3	C2	1.3963(8)	S1	C7	1.7355(5)			

Tabelle A-2: Bindungswinkel [°] in Verbindung 45d.

Atom1	Atom2	Atom3	Winkel [°]	Atom1	Atom2	Atom3	Winkel [°]
C6	S1	C7	105.12(2)	C6	C1	C2	118.47(4)
C6	S1	O1	108.28(2)	C6	C5	C4	118.88(4)
C6	S1	O2	106.90(2)	S2	C9	N2	116.26(3)
C7	S1	O1	107.92(2)	C7	C8	N1	178.23(5)
C7	S1	O2	109.99(2)	C2	C3	C4	120.37(5)
O1	S1	O2	117.90(3)	C7	C9	N2	123.47(4)
C9	S2	C10	102.75(2)	C9	N2	C11	126.28(4)
S1	C6	C5	119.31(3)	C1	C2	C3	120.34(5)
S1	C6	C1	118.87(3)	C9	C7	C8	120.95(4)
C5	C6	C1	121.81(4)	S2	C9	C7	120.11(3)
S1	C7	C9	125.16(3)	C5	C4	C3	120.12(4)
S1	C7	C8	113.84(3)				

Tabelle A-3: Orthogonale Koordinaten von Verbindung 45d.

Label	X _{orth}	Y _{orth}	Z _{orth}	U _{equiv}	Label	X _{orth}	Y _{orth}	Z _{orth}	U _{equiv}
C1	-0.029	5.433	4.575	0.0183	C8	-2.573	3.386	2.549	0.0183
C10	-4.206	5.464	3.992	0.0236	C9	-2.660	5.681	1.686	0.0147
C11	-2.814	7.897	0.576	0.0262	N1	-3.078	2.417	2.946	0.0270
C2	0.361	5.380	5.910	0.0227	N2	-2.204	6.599	0.850	0.0200
C3	1.048	4.268	6.401	0.0221	O1	0.335	5.634	1.475	0.0235
C4	1.343	3.201	5.565	0.0202	O2	0.207	3.161	1.452	0.0260
C5	0.958	3.234	4.225	0.0162	S1	-0.193	4.415	2.047	0.0155
C6	0.280	4.351	3.748	0.0131	S2	-4.314	5.883	2.234	0.0196
C7	-1.924	4.539	2.062	0.0152					

VERBINDUNG 45B

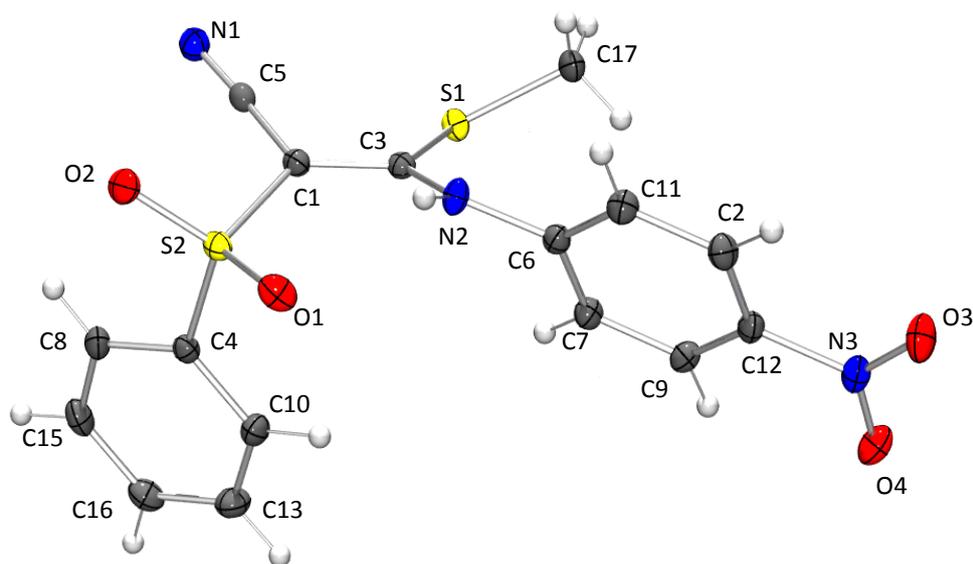


Tabelle A-4: Bindungslängen [Å] von Verbindung 45b.

Atom1	Atom2	Abstand [Å]	Atom1	Atom2	Abstand [Å]	Atom1	Atom2	Abstand [Å]
C12	C2	1.389(2)	N1	C5	1.153(2)	C1	C5	1.418(2)
C12	N3	1.465(2)	N2	C3	1.341(2)	C2	C11	1.383(2)
C12	C9	1.384(2)	N2	C6	1.413(2)	O4	N3	1.229(2)
C13	C16	1.391(2)	O3	N3	1.229(2)	C4	C8	1.393(2)
C13	C10	1.388(3)	C1	C3	1.396(2)	C4	C10	1.394(2)
C15	C16	1.384(2)	S2	C1	1.753(2)	C6	C7	1.396(2)
C15	C8	1.389(3)	S2	O2	1.436(1)	C6	C11	1.393(2)
C17	S1	1.806(2)	S2	C4	1.763(2)	C7	C9	1.386(2)
S1	C3	1.741(1)	S2	O1	1.442(1)			

Tabelle A-5: Bindungswinkel [°] in Verbindung 45b.

Atom1	Atom2	Atom3	Winkel [°]	Atom1	Atom2	Atom3	Winkel [°]
C2	C12	N3	118.3(1)	S2	C4	C10	119.0(1)
C2	C12	C9	122.6(1)	C8	C4	C10	121.5(1)
N3	C12	C9	119.1(1)	C12	N3	O3	118.2(1)
C16	C13	C10	120.1(2)	C12	N3	O4	117.9(1)
C16	C15	C8	120.5(2)	O3	N3	O4	123.9(1)
C13	C16	C15	120.4(2)	N1	C5	C1	175.0(2)
C17	S1	C3	105.04(7)	N2	C6	C7	121.7(1)
O1	S2	C1	108.87(7)	N2	C6	C11	117.3(1)
O1	S2	O2	119.46(7)	C7	C6	C11	120.9(1)
O1	S2	C4	108.15(7)	C6	C7	C9	119.5(1)
C1	S2	O2	107.76(7)	C15	C8	C4	118.6(1)
C1	S2	C4	103.89(7)	C12	C9	C7	118.7(1)
O2	S2	C4	107.62(7)	C13	C10	C4	118.9(1)
C3	N2	C6	129.3(1)	C2	C11	C6	119.9(1)
S2	C1	C3	124.5(1)	S1	C3	N2	123.1(1)
S2	C1	C5	113.2(1)	S1	C3	C1	115.7(1)
C3	C1	C5	122.2(1)	N2	C3	C1	121.2(1)
C12	C2	C11	118.5(1)	S2	C4	C8	119.4(1)

Tabelle A-6: orthogonale Koordinaten von Verbindung 45b.

Label	X _{orth}	Y _{orth}	Z _{orth}	U _{equiv}	Label	X _{orth}	Y _{orth}	Z _{orth}	U _{equiv}
C12	10.305	11.162	5.208	0.0152	C2	10.286	12.002	4.102	0.0175
C13	2.871	9.269	5.379	0.0221	O4	12.315	12.077	5.892	0.0267
C15	1.188	8.881	3.701	0.0214	C3	6.554	9.810	1.962	0.0136
C16	1.670	8.690	4.985	0.0218	C4	3.108	10.214	3.191	0.0144
C17	9.039	8.538	1.605	0.0180	N3	11.399	11.305	6.171	0.0186
S1	7.274	8.231	1.832	0.0155	C5	4.733	9.032	0.497	0.0147
S2	4.081	11.104	2.020	0.0144	C6	8.268	10.906	3.395	0.0145
O1	4.773	12.159	2.720	0.0206	C7	8.306	10.067	4.511	0.0161
N1	4.259	8.383	-0.330	0.0194	C8	1.900	9.649	2.789	0.0180
N2	7.198	10.869	2.474	0.0161	C9	9.340	10.193	5.425	0.0164
O3	11.352	10.644	7.206	0.0240	C10	3.601	10.036	4.482	0.0184
C1	5.254	9.926	1.466	0.0138	C11	9.254	11.870	3.192	0.0170
O2	3.231	11.433	0.910	0.0217					

Tabelle A-7: Kristallographische Daten von Verbindung 45b und 45d.

	45d	45b
Empirische Formel	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂ S ₂	C ₁₆ H ₁₃ N ₃ O ₄ S ₂
Molekülmasse [g·mol ⁻¹]	268.35	375.41
Messtemperatur [K]	293(2)	293(2)
Wellenlänge [Å]	0.71073	0.71073
Kristallsystem	Monoklin	Monoklin
Raumgruppe (Nr.)	P 2 ₁ /n (14)	P 2 ₁ /n (14)
a [Å]	7.9295(16)	11.218(2)
b [Å]	11.306(2)	10.791(2)
c [Å]	14.113(3)	14.904(3)
α [°]	90.00	90.00
β [°]	99.94(3)	110.25(3)
γ [°]	90.00	90.00
Volumen [Å ³]	1246.3(4)	1692.7(6)
Z	4	4
ρ _{ber} [g·cm ⁻³]	1.430	1.473
μ [mm ⁻¹]	0.418	0.341
F (000)	560	776
Messbereich 2θ [°]	2.93-52.16	2.91-30.51
Index-Breite	-17 ≤ h ≤ 17	-16 ≤ h ≤ 15
	0 ≤ k ≤ 25	0 ≤ k ≤ 15
	0 ≤ l ≤ 31	0 ≤ l ≤ 21
Gemessene Reflexe	14320	5161
Unabhängige Reflexe	13010	4558
Zur Verfeinerung benutzt	13010	4558
Verfeinerte Parameter	202	278
Restraints	0	0
Goodness of fit ^{a)}	1.107	1.065
R-Werte ^{b)} [I > 2σ(I)]	R ₁ = 0.0368, wR ₂ = 0.1036	R ₁ = 0.0402, wR ₂ = 0.0989
R-Werte ^{c)} (alle Daten)	R ₁ = 0.0412, wR ₂ = 0.1068	R ₁ = 0.0472, wR ₂ = 0.1032
Restelektronendichte [eÅ ⁻³]	+1.030/-0.233	+1.158/-0.302

$$R_1 = \frac{\sum_{hkl} ||F_o| - |F_c||}{\sum_{hkl} |F_o|}$$

$$wR_2 = \left[\frac{\sum_{hkl} w(F_o^2 - F_c^2)^2}{\sum_{hkl} w(F_o^2)^2} \right]^{1/2}$$

$$\text{Goodness of fit} = \left[\frac{\sum_{hkl} w(F_o^2 - F_c^2)^2}{(N_{obs} - N_{parameter})} \right]^{1/2}$$

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] R.A. Copeland, "Evaluation of Enzyme Inhibitors in Drug Discovery", 1. Auflage, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, **2005**.
- [2] A.L. Hopkins, C.R. Groom, *Nat. Rev. Drug. Disc.* **2002**, *1*, 727-730.
- [3] N.D. Rawlings, L.H. Pearl, D.J. Buttle, *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* **1992**, *373* (12), 1211-1215.
- [4] C. Enenkel, D.H. Wolf, *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*(10), 7036-7043.
- [5] MEROPS – The Peptidase Database; <http://merops.sanger.ac.uk>
- [6] I. Schechter, A. Berger, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1967**, *27*, 2, 157-162.
- [7] K. Anand *et al.*, *From Science (New York, N.Y.)* **2003**, *300*, 5626, 1763-1767.
- [8] Qi-Shi Du *et al.*, *Peptides* **2004**, *25*, 1857-1864.
- [9] H. H. Otto, T. Schirmeister, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 133-172.
- [10] K. Brocklehurst, F. Willenbrock, E. Salih in „Hydrolytic Enzymes“ (A. Neuberger und K. Brocklehurst, eds.), Elsevier, Amsterdam, **1987**, S. 39.
- [11] G. Klebe „Wirkstoffdesign. Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen“, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **2009**, S.376.
- [12] G. Lowe, A. Williams, *Biochem. J.* **1965**, *96*, 1, 194-198.
- [13] J. Drenth *et al.*, *Nature* (London) **1968**, *218*, 5145, 929-932.
- [14] G. Lowe, *Tetrahedron* **1976**, *32*, 3, 291-302.
- [15] J.A.C. Rullmann, M.N. Bellido, P.Th. van Duijnen, *J. Mol. Biol.* **1989**, *206*, 1, 101-118.
- [16] P. Th. Van Duijnen, B.Th. Thole, W.G. J. Hol, *Biophys. Chem.* **1979**, *9*, 3, 273-280.
- [17] M. Mladenovic *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8696-8705.
- [18] S. Modrow, D. Falke, U. Truyen, H. Schätzl, „Molekulare Virologie“, 3. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **2010**, S. 246ff.
- [19] J. Serradell, „SARS – Deadly diseases and epidemics“, 2. Auflage, Chelsea House, New York (N.Y.), **2010**.
- [20] WHO: Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003. http://www.who.int/csr/sars/country/table2004_04_21/en/index.html. (02.07.2011)
- [21] Chuck C-P, Chong L-T, Chen C, Chow H-F, Wan DC-C *et al.*, *PloS ONE* **2010**, *5*, *10*, e13197.
- [22] H. Yang *et al.*, *PloS biology* **2005**, *3*, *10*, e324.
- [23] H. Yang *et al.*, *PNAS* **2003**, *100*, *23*, 13190-5.
- [24] FRED, openeye Sci. Software Inc.
- [25] GOLD, CCDC Software Limited, 2009.
- [26] J. T. Palmer *et al.*, *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 3193-3196.
- [27] P. J. Rosenthal *et al.*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **1996**, *40*, *7*, 1600–1603.

- [28] P. Jacobsen *et al.*, *Acta Chem. Scand.* **1981**, B35, 4, 289-294.
- [29] P. Sauerberg *et al.*, *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 12, 2274-2283.
- [30] I. Abdelmoty *et al.*, *Lett. Pept. Sci.* **1994**, 1, 2, 57-67.
- [31] T. Wada, Y. Sato, F. Honda, S.-I. Kawahara, M. Sekine, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 52, 12710-12721.
- [32] C.A.G.N. Montalbetti, V. Falque, *Tetrahedron* **2005**, 61, 46, 10827-10852.
- [33] L.A. Carpino *et al.* *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 41, 3, 441-445.
- [34] R. Knorr *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 15, 1927-1930.
- [35] Z. Guo *et al.*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2005**, 15, 16, 3685-3690.
- [36] G. Tasnadi *et al.*, *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, 20, 15, 1771-1777.
- [37] X. Caldentey *et al.*, *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 8, 2628-2644.
- [38] V. Jadhav *et al.*, *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 3, 1077-1087.
- [39] F. Dolle *et al.*, *Austr. J. Chem.* **2008**, 61, 6, 438-445.
- [40] P.G.M. Wuts *et al.*, *Synthesis* **1989**, 8, 622-3.
- [41] M.E. Jung *et al.*, *Tetrahedron Letters* **1989**, 30, 32, 4211-14.
- [42] T. Shinozuka *et al.*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2006**, 14, 20, 6789-6806.
- [43] A. Giannis *et al.*, *Angewandte Chemie* **1989**, 101, 2, 220-2.
- [44] A. Bernecker *et al.*, *Langmuir* **2010**, 26, 16, 13422-13428.
- [45] R. Hili *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 9, 2889-2891.
- [46] R. Hili *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 45, 16404-16406.
- [47] J. Dugal-Tessier *et al.*, *Angewandte Chemie, Int. Ed.* **2008**, 47, 42, 8064-8067.
- [48] S. Sakaguchi *et al.*, *Angewandte Chemie, Int. Ed.* **2008**, 47, 48, 9326-9329.
- [49] P. Yang, Y. Song, *Prep. Biochem. Biotech.* **2002**, 32, 4, 381-391.
- [50] H. Peng *et al.*, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, 4, 9, 1768-1784.
- [51] H.Z. Lecher *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 5018.
- [52] P. Fay, H.P. Lankelma, *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, 74, 4933.
- [53] T. Ozturk, E. Ertas, O. Mert, *Chem. Rev.* **2007**, 107, 11, 5210-5278.
- [54] M.P. Cava, M.I. Levinson, *Tetrahedron* **1985**, 41, 22, 5061-5087.
- [55] Y. Cheng, W.H. Prusoff, *Biochem. Pharmacol.* **1973**, 22, 23, 3099-108.
- [56] M. Thorsen *et al.*, *Tetrahedron* **1985**, 41, 5633.
- [57] T.J. Curphey, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 6461-6473.
- [58] P. Metzner, A. Thuillier, "Sulfur Reagents in organic Synthesis", Academic Press, New York, **1994**, S.40.
- [59a] J.A. Crawford *et al.*, *Synthesis* **2009**, 8, 1271-1278.
- [59b] N.C. Misra *et al.*, *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 4, 1246-1251.
- [60] J. Gante, G. Mohr, *Chemische Berichte* **1975**, 108, 1, 174-180.
- [61] A.V. Ivachtchenko *et al.*, *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 14, 5186-5196.
- [62] C.J. Shishoo *et al.*, *Ind. J. Chem.* **1989**, 28B, 1, 42, 7.
- [63] Y. Masataka *et al.*, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, **1988**, 2309-2314.

- [64] W.D. Rudorf, M. Augustin, *Synthesis* **1980**, 12, 1022-1023.
- [65] G. Singh et al., *Synthesis* **1986**, 9, 744.
- [66] X.Huang, B. Chen, *Synthesis* **1987**, 5, 480-481.
- [67] N. Krause in „*Modern organocopper chemistry*“, Wiley-VCH, Weinheim, **2002**, S.69.
- [68] M. Hojo, S. Tanimoto, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 18, 1284-1285.
- [69] H.O. House, *Accounts of Chemical Research* **1976**, 9, 2, 59-67.
- [70] G. Boche, *Angew. Chemie* **1998**, 110, 1779.
- [71] G. Boche et al., *Chem. Eur.Chem.* **2000**, 6, 16, 3060-3068.
- [72] S.H. Bertz, G. Miao, B.E. Rossiter, J.P. Snyder, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 11023-4.
- [73] S.H. Bertz, A. Chopra, M. Erikson, C.A. Ogle, P. Seagle, *Chem. Eur. J.* **1999**, S. 2680-91.
- [74] E. Nakamura, S. Mori, *Angew. Chem.* **2000**, 112, 3902-3924.
- [75] D.E. Bergbreiter, J.M. Killough, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 7, 2126–2134.
- [76] R.J. Cremllyn, „*An Introduction to Organosulfur Chemistry*“, John Wiley & Sons, New Jersey, **1996**, S. 77.
- [77] H. Bisswanger, „*Enzyme Kinetics – principles and methods*“, 2. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim, **2008**, S.66.
- [78] A.G. Marangoni, „*Enzyme kinetics – a modern approach*“, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, **2003**, S.61-93.
- [79] Evers et al., *Biol. Chem.* **2008**, 389, 1523-1525.
- [80] J. J. Shie et al., *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 13, 4469-4473.
- [81] S.L. McGovern et al., *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 8, 1712-1722.
- [82] Q. Yang et al., *Chem. Pharm. Bull.* **2008**, 56, 10, 1400-1405.
- [83] C. Haase, O. Seitz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 9, 1533-1556.
- [84] D. Macmillan, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 46, 7668-7672.
- [85] L. Zhou et al., *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 12, 3440-3443.
- [86] M. Stempka, *Dissertation* **2011**, Univ. Würzburg.
- [87] R. Nathans et al., *Nature Biotechnology* **2008**, 26, 10, 1187-1192.
- [88] S. Modrow „*Molekulare Virologie*“, 3. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **2010**, S. 428.
- [89] B. Nowotny, T. Schneider, G. Pradel, T. Schirmeister, A. Rethwilm, M. Kirschner, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2010**, 78-87.
- [90] Brindaban C. Ranu, Tanmay Mandal, *Synlett* **2007**, 6, 925-8.
- [91] K. Steert, I. El-Sayed, P. van der Veken, A. Krishtal, C. Van Alsenoy, G.D. Westrop, J.C. Mottram, G.H. Coombs, K. Augustyns, A. Haemers, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 6563-6566.
- [92] J. J. Reddick, J. Cheng, W.R. Roush, *Org. Lett.* **2003**, 5 (11), 1967-70.
- [93] Kenneth A. Connors in „*Chemical Kinetics. The Study of Reaction Rates in Solution*“, John

- Wiley & Sons Inc., New Jersey, **1997**, S. 61.
- [94] Kenneth A. Connors in „*Chemical Kinetics. The Study of Reaction Rates in Solution*“, John Wiley & Sons Inc., **1997**, S. 139.
- [95] J. Espenson in „*Chemical Kinetics and Reaction Mechanisms*“, McGraw-Hill Science/Engineering/Math, **2002**, 2.Auflage, S. 260.
- [96] ACD/NMR Processor™ Academic Edition, version 12.00, Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, ON, Canada, www.acdlabs.com, 2010.
- [97] T.M. Rana, *PCT Int. Appl.* **2007**, WO 2007044565 A2 20070419
- [98] G. Pappalardo, *Annali di Chimica* **1963**, 53, 5, 630-40.
- [99] Wm.H. Mills, J.B. Whitworth, *J. Chem. Soc.* **1927**, 2738-53.
- [100] S. Perumal et al., *Magnetic Resonance in Chemistry* **1998**, 36, 10, 720-6.
- [101] R. Mayer, *Chem. Ber.* **1966**, V99, 4, P1398-413.