

Entwicklung von *vif*-Elongin-C-Interaktionsinhibitoren als neuartige HIV-Therapeutika



DISSERTATION

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

vorgelegt von
Diplom-Chemiker
Ferdinand Matz
aus Serrfeld

Würzburg 2013

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:

II

Die vorliegende Dissertation wurde unter Anleitung von Prof. Dr. Tanja Schirmeister von Oktober 2010 bis Mai 2013 am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität Würzburg angefertigt.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Tanja Schirmeister für die angenehme Aufnahme in Ihren Arbeitskreis und die Möglichkeit, sehr interessante und abwechslungsreiche Themengebiete zu bearbeiten. Vor allem aber möchte ich mich für das äußerst freundliche und immer hilfsbereite Verhalten mir gegenüber bedanken. Außerdem ermöglichte Sie mir erfahrungsreiche Forschungsaufenthalte in Florida und auf Sizilien.

Ein großes Dankeschön geht an den gesamten Arbeitskreis für die stets nette Arbeitsatmosphäre, auch wenn wir am Ende nur noch zu zweit (Hi Simon!) die Stellung in Würzburg gehalten haben.

Besonders hervorzuheben ist natürlich mein langjähriger Kellerkollege Herr Menrath! Vielen Dank für die vielen spaßigen Stunden, die wir in unglaublich fröhlicher Zweisamkeit im Keller erleben durften. Egal ob wir uns mit hartnäckigen Syntheseproblemen, gemeinen Chemikalien oder anderen interessanten Dingen die Zeit vertrieben haben, die Freude an der Chemie ist dabei niemals zu kurz gekommen! Auch wenn man es kaum glauben mag, ich habe sogar zu Kellerzeiten einiges von Dir lernen können, weswegen du auch heute und in Zukunft noch ordentlich stampfen wirst! Danke für die wunderschöne Zeit und die tolle Freundschaft, die sich zwischen uns entwickelt hat! Ich hoffe, wir können diese Freundschaft unser gesamtes Leben aufrechterhalten! Hier noch kurz die wichtigsten Begriffe (die beiden Toiletten, gemeinsame Onkels, starre Spielfiguren und der netteste Buchstabe der Welt: „ö“!

Danke an Caro, Moni, Philipp, Verena, und und und..... für die vielen Gänge zum NMR. Auch Armin ist nicht zu vergessen: Dank Dir waren immer genügend Substanz-Ideen vorhanden, so dass die Arbeit stets vorangetrieben werden konnte.

Als nächstes möchte ich den folgenden Kooperationspartnern für die Unterstützung und Zusammenarbeit danken:

- Prof. Dr. Christoph Sotriffer (Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie, Universität Würzburg) für die Bereitstellung der Docking-Ergebnisse

- Prof. Dr. Axel Rethwilm, Dr. Boris Nowotny und PD Dr. Jochen Bodem (Institut für Virologie und Immunbiologie, Universität Würzburg) für die Durchführung der verschiedenen Testvarianten
- Prof. Dr. Caroline Kisker (Rudolf-Virchow-Zentrum, Universität Würzburg) für die Hilfe bei der Protein-Expressierung (Vielen Dank liebes Tinchen! Vielen Dank Hans!)

Vielen Dank auch der Bayerischen Staatsregierung für das bewilligte Promotionsstipendium nach dem Bayerischen Eliteförderungsgesetz (BayEFG) und der damit verbundenen Finanzierung meiner Promotion.

Vielen Dank Dir lieber Pups, dass es dich gibt!

Schlussendlich möchte ich mich noch bei allen bedanken, die ich jetzt nicht aufgelistet habe und sich vernachlässigt fühlen. Sicherlich habt auch ihr viel zum Durchstehen meiner universitären Laufbahn beigetragen!

VII

ABKÜRZUNGEN

abs.: absolut

Abz: 2-Aminobenzoessäure

AMC: 7-Amino-4-methylcumarin

Äq.: Äquivalent(e)

Bn: Benzyl

BOC: *tert*-Butoxycarbonyl

Bzl: Benzoyl

Cbz: Benzyloxycarbonyl

DabcyI: 4'-Dimethylaminoazobenzol-4-carboxylat

DBU: 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en

DC: Dünnschichtchromatographie

DCC: Dicyclohexylcarbodiimid

DIEA: Diisopropylethylamin

DMAP: 4-Dimethylaminopyridin

DMF: Dimethylformamid

DMSO: Dimethylsulfoxid

DTT: Dithiothreitol

DPPA: Diphenylphosphorylazid

EDTA: Ethylendiamintetraessigsäure

Eps: Epoxysuccinyl

Et: Ethyl

EtOAc: Ethylacetat

EtOH: Ethanol

Et₂O: Diethylether (Ether)

ges.: gesättigt

HATU : 2-(7-Aza-1H-benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluroniumhexafluorophosphat

HOBt: *N*-Hydroxybenzotriazol

VIII

IAA : Isoamylamid

IBCF: Isobutylchloroformiat

i. Vak.: im Vakuum

m-CPBA: *meta*-Chlorperbenzoesäure

Me: Methyl

Mts: 2,4,6-Trimethylphenylsulfonyl

NBS: *N*-Bromsuccinimid

NEt₃: Triethylamin

NMM: *N*-Methylmorpholin

Ph: Phenyl

Ph₃P: Triphenylphosphin

PLE: Pig liver esterase

*p*Tos: *para*-Toluolsulfonsäure

PE: Petrolether 40-60

PPA: *n*-Propylphosphonsäureanhydrid

PyBOP: 1-Benzotriazoloxyltrispyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat

RT: Raumtemperatur

RP: Reversed-Phase-Kieselgel

SAP: Sekretorische Aspartat-Protease

SC: Säulenchromatographie

TBAF: Tetrabutylammoniumfluorid

TBDMS: *Tert*butyldimethylsilyl

TEA: Triethylamin

TFA: Trifluoressigsäure

THF: Tetrahydrofuran

TMS: Tetramethylsilan

Inhalt

1	Einleitung	1
2	Kenntnisstand	7
2.1	Das Viruspartikel	7
2.2	Das HI-Virus.....	8
2.3	Die virale Replikation	10
2.4	Die HIV-Therapie: Highly active anti-retroviral therapy (HAART).....	14
2.5	Neuartiger HIV-Therapieansatz: Wahrung des humanen retroviralen Schutzmechanismus durch Inhibierung der <i>vif</i> -Elongin-C-Interaktion	21
3	Zielsetzung	25
4	Durchführung und Diskussion	26
4.1	Entwicklung von Elongin-C-Inhibitoren erster Generation.....	26
4.2	Entwicklung von Elongin-C-Inhibitoren zweiter Generation	54
4.3	Optimierung von A19.....	66
4.4	Direkter Interaktionsnachweis zwischen A19 und Elongin-C	77
5	Nebenprojekte	88
5.1	Nebenprojekt 1: Synthese von 5-(3,4-Dihydroxybenzyl)- γ -valerolacton (FM401)	88
5.2	Nebenprojekt 2: Synthese von Substanzen zur Mechanismusaufklärung der im Lebenszyklus von <i>Plasmodium falciparum</i> ablaufenden biologischen Prozesse.....	89
6	Routinetests	92
7	Zusammenfassung und Ausblick	98
8	Summary	101
9	Experimentalteil	103
9.1	Vorbemerkungen	103
9.2	Synthesemethoden.....	106
9.3	Bedingungen der Enzymassays	119
9.4	Zielverbindungen	123
9.5	Vorstufen	182
9.6	Elongin-B/C Aufreinigung.....	240
10	Literaturverzeichnis	241
11	Quellenverzeichnis	246

1 Einleitung

AIDS steht für „acquired immunodeficiency syndrome“, was übersetzt „erworbenes Immundefektsyndrom“ bedeutet. Wie der Name besagt, kommt es bei Menschen, die an AIDS erkrankt sind, zu opportunistischen Infektionen und Tumoren, die in fast jedem Fall zum Tode führen. An AIDS erkrankte Menschen sterben somit an Krankheiten, die für das intakte Immunsystem keine Gefahr darstellen würden. Grund dafür ist, dass das menschliche Immunsystem durch den Auslöser von AIDS, dem HI-Virus (**h**uman **i**mmunodeficiency **v**irus), fast vollkommen zerstört wird und somit keine Verteidigung für Krankheiten besteht, die für den gesunden Körper nahezu komplett harmlos erscheinen würden.

AIDS wurde 1981 als eigenständige Krankheit anerkannt. Weltweit waren Ende 2011 ca. 34 Millionen Menschen mit dem HI-Virus infiziert. Das entspricht durchschnittlich fast 1 % der 15 – 49-jährigen Menschen der gesamten Weltbevölkerung. In Mitteleuropa und Nordamerika liegt der Wert zwar weit darunter, in Schwarzafrika steigt die Prozentzahl der HIV-Infizierten jedoch bis auf 5 % an. Dort leben folglich 69 % aller infizierten Menschen. Nach Schwarzafrika gelten die Karibik, Ost-Europa und Zentral-Asien als die meist betroffenen Regionen. Dort beträgt die Infizierten-Rate 1 %. Allerdings sind auch andere Gebiete Asiens stark betroffen. In Süd-, Südost- und Ost-Asien leben 5 Millionen HIV-Patienten. ^[1 – 3]

Folgende Grafik (Abb. 1.1) zeigt den Anstieg der HIV-Infizierten bis 2011.

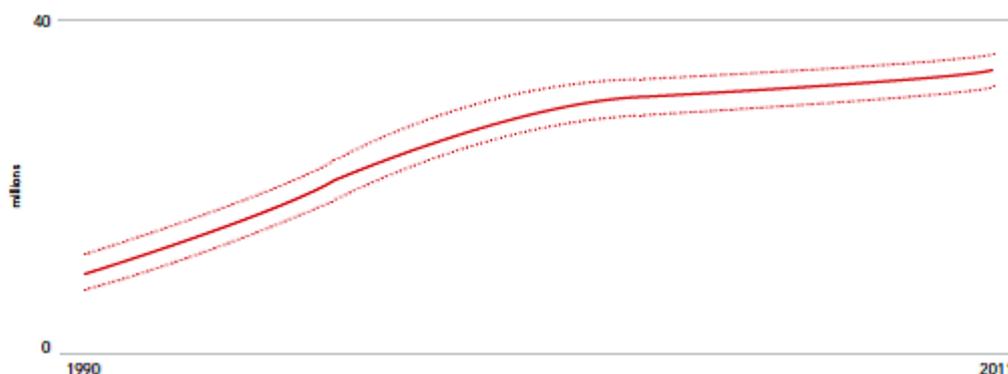


Abb. 1.1: Anzahl weltweiter HIV-Patienten (1990 – 2011); Quelle: siehe Quellenverzeichnis

Einleitung

Es wird allerdings auch ersichtlich, dass die Steigung der Kurve ab dem Jahr 2000 erheblich abfällt. Verdeutlicht wird dieser Sachverhalt in Abbildung 1.2. Die globale Neuinfizierten-Rate steigt bis 1996 auf das Maximum an, fällt dann aber kontinuierlich.^[2]

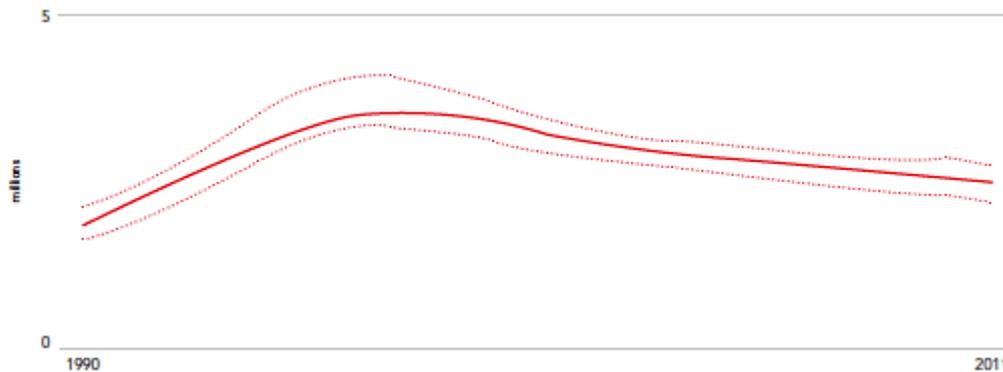


Abb. 1.2: Globale Neuinfizierten-Rate (1990 – 2011); Quelle: siehe Quellenverzeichnis

2011 beträgt die Anzahl der neuinfizierten Menschen weltweit ca. 2,5 Millionen. Das entspricht, verglichen zum Jahr 2001, einer Reduzierung um 20 %. Der größte Rückgang an Neuerkrankungen seit 2001 konnte in der Karibik (42 %) und Schwarzafrika (25 %) erzielt werden. Gegenteilig verhält es sich allerdings in Nord-Afrika. Dort stieg die Zahl der Neuinfizierten von ca. 27000 (Jahr 2001) auf 37000 (Jahr 2011) an. Abbildung 1.3 gibt einen Überblick über Neuinfizierten-Rate und Anzahl an HIV-Infizierten in einigen der wichtigsten Regionen der Erde im vergangenen Jahrzehnt.^[2]

Region	Jahr	HIV-Infizierte	Neuinfektionen
Schwarzafrika	2001	20,9 Millionen	2,4 Millionen
	2011	23,5 Millionen	1,8 Millionen
Süd/Südost-Asien	2001	3,7 Millionen	370.000
	2011	4,0 Millionen	280.000
Zentral-Asien	2001	970.000	130.000
	2011	1,4 Millionen	140.000
Nord-Amerika	2001	1,1 Millionen	50.000
	2011	1,4 Millionen	51.000
West/Zentral-Europa	2001	640.000	29.000
	2011	900.000	30.000

Abbildung 1.3: Neuinfizierten-Rate und HIV-Patienten im letzten Jahrzehnt

Einleitung

Der Grund für die rückläufigen Zahlen an Neuinfektionen liegt klar auf der Hand: Die vor allem in Schwarzafrika fortschreitende Aufklärung der Bevölkerung über die Möglichkeiten der Infektion und Prävention. Das HI-Virus überträgt sich mit dem Austausch von Körperflüssigkeiten. Vor allem Blut, Sperma, Vaginalsekret, Liquor cerebrospinalis und Muttermilch spielen hierbei die wichtigsten Rollen. In Tränen, Schweiß, Speichel und Urin ist die HIV-Konzentration zu gering und diese sind daher als Übertragungsmedien zu vernachlässigen.^[4]

Der ungeschützte vaginale oder anale Geschlechtsverkehr stellt den häufigsten Infektionsweg dar. Vor allem bei homosexuellen Männern ist die Übertragungswahrscheinlichkeit relativ groß, da einerseits ein erhöhter Partnerwechsel stattfindet und zum Anderen bei der Praktizierung von Analverkehr häufig Verletzungen an Schleimhäuten auftreten und so Blutkontakt hergestellt wird. Es ist festzuhalten, dass auch beim einmaligen Geschlechtsverkehr eine Übertragungswahrscheinlichkeit von bis zu 0,3 % besteht.^[1, 5, 6, 7]

Die Übertragung von HIV durch Blutkontakt stellt ein weiteres Risiko dar. Bei einer Bluttransfusion mit HIV-infiziertem Blut besteht ein Infektionsrisiko von 90 %. Vor Allem in den Folgejahren nach Entdeckung des Virus wurden viele Menschen auf diesem Weg mit HIV infiziert. Erst 4 Jahre nach der Entdeckung des Virus, 1985, wurde in Deutschland die Testung aller Blutprodukte durch einen HIV-Antikörpertest gesetzlich vorgeschrieben. Die Ansteckungsmöglichkeit wurde dadurch zwar minimiert, allerdings treten HIV-Antikörper erst einige Wochen nach der Infektion auf, weshalb der Antikörpertest nicht zu 100 % zuverlässig ist. Am 1. Mai 2004 wurde ein weiterer Test in Deutschland verpflichtend eingeführt: Der HIV-RNA-Test. Die HIV-RNA ist mit dem Moment der Infektion vorhanden und der Test somit nochmals genauer (geringere diagnostische Lücke), das Restrisiko wird vernachlässigbar gering. Wesentlich höher ist das Infektionsrisiko in der Drogenszene beim Gebrauch von benutzten Nadeln zur Injektion der Drogen. Zwar sinkt das Risiko mit dem zeitlichen Abstand zwischen Injektionen, mit dem Auskochen der Nadeln in kochendem Wasser oder mit Desinfektionen, allerdings wird das Infektionsrisiko mit durchschnittlich 0,3 % beziffert.^[1, 8]

Auch die Übertragung des Virus einer schwangeren Mutter auf ihr Kind ist möglich. Die Wahrscheinlichkeit hierbei beträgt bei einer natürlichen Geburt mit durchschnittlicher Stillzeit 10 % – 40 %. Dieses Risiko kann durch Behandlung der Mutter mit antiretroviralen

Einleitung

Arzneistoffen, Verzicht auf Stillen und einem Kaiserschnitt auf bis unter 2 % gesenkt werden.^[1, 5, 9]

AIDS-Tests

HIV-Antikörpernachweis

Bei dieser Testversion werden nicht speziell die HI-Viren nachgewiesen, sondern vielmehr die vom Körper zur Bekämpfung der Retroviren hergestellten IgG-Antikörper. Da der Körper erst mit der Zeit Antikörper produziert, ist der Test erst nach 12 Wochen aussagekräftig. Folglich besteht in den ersten 3 Monaten nach Infektion keine Nachweisgarantie, es entsteht somit eine „diagnostische Lücke“. Da bei diesem Test nur Antikörper nachgewiesen werden, und nicht die Viren direkt, ist bei einem positiven Ergebnis ein weiterer Test (aufwendiger Western-Blot) nötig, um sogenannte falsch-positive Ergebnisse auszuschließen. Erst dann wird den Patienten das Ergebnis „HIV-positiv“ übermittelt.^[1, 10]

HIV-Antigennachweis

Hier werden nicht die zur Verteidigung des Körpers hergestellten Antikörper, sondern ein Antigen, das HIV-1-p24-Antigen, nachgewiesen. Da gerade zu Beginn einer Infektion die Viruslast enorm ansteigt, eignet sich dieser Test vor allem in der Zeit direkt nach der Infizierung. Allerdings ist das Antigen nur für 3-4 Wochen im Körper nachweisbar, weshalb auch diese Methode kein lückenloses diagnostisches Verfahren darstellt. Kombiniert man den HIV-Antikörpernachweis mit dem HIV-Antigennachweis ist die diagnostische Lücke jedoch minimiert.^[1, 10]

HIV-Nucleinsäurenachweis

Bei diesem Test werden spezielle viruseigene Nucleinsäuresequenzen detektiert. Es handelt sich um eine sehr genaue Untersuchungsmethode für eine Infektion. Einerseits ist die provirale DNA im Genom der Wirtszelle selbst oder aber die virale RNA im Viruspartikel messbar. Die DNA wird mittels PCR nachgewiesen, zum Nachweis der viralen RNA wird diese *in-vitro* mithilfe einer zusätzlich zugegebenen Reversen Transkriptase zunächst in cDNA umgeschrieben und das Produkt der PCR unterzogen. Hier beträgt die diagnostische Lücke die ersten 14 Tage nach der Infektion.^[1, 11]

Krankheitsverlauf

Das HI-Virus benötigt zur Replikation Wirtszellen im Menschen, die an der Oberfläche CD4-Rezeptoren tragen. Dies sind im menschlichen Körper vor allem T-Lymphozyten, welche zur Immunabwehr und Unterstützung der Antikörperbildung gebraucht werden. Zur Verschmelzung mit der Wirtszelle bindet das virale Glycoprotein gp120 an die CD4-Rezeptoren. Es sind jedoch auch noch weitere Co-Rezeptoren an der Bindung des HIV an die T-Lymphozyten beteiligt. Die Bindung an die CD4-Rezeptoren ist nicht kovalent, das heißt, die Adsorption ist reversibel. Anschließend findet in der Zelle die Replikation des Virus statt. Bei diesem Prozess werden die CD4-tragenden T-Lymphozyten auf zwei Wegen zerstört, was eine wesentliche Schwächung des Immunsystems zur Folge hat. Einerseits können beim Ein- und Austritt der Viren durch die Zellmembran Schäden entstehen, die die Zelle schädigen und zerstören. Andererseits können T-Lymphozyten auch auf indirektem Weg eliminiert werden. Durch die Kopplung des HI-Virus an die Zellen werden diese vom Körper als fremdartig und somit körperföhrdend eingestuft und von eigenen Immunabwehrzellen zerstört. Zwar ist der menschliche Körper einige Zeit in der Lage, durch Reproduktion der T-Lymphozyten das Immunsystem aufrecht zu erhalten, jedoch überwiegt die Zerstörung der Zellen durch vermehrte Replikation des HIV nach mehreren Jahren. So sinkt die Zahl der aktiven CD4-T-Lymphozyten kontinuierlich, bis eine schwere Immundefizienz auftritt. Dies ist der Fall, wenn weniger als 200 aktive CD4-T-Lymphozyten / Mikroliter Blut vorhanden sind (Konzentration im gesunden Körper: 750 – 1350 Lymphozyten / Mikroliter). Die Abwehr des Körpers reicht nicht mehr aus, um sich gegen opportunistische Infektionen durch andere

Einleitung

Viren, Pilze, Bakterien oder Parasiten zu verteidigen. Eigentlich leicht abzuwehrende Krankheiten führen dann ohne Behandlung schnell zum Tod.^[1, 12]

Eine typische HIV-Infektion kann in 5 Stadien unterteilt werden:

Stadium I: In den ersten sechs Wochen nach der Infektion mit dem Virus treten grippeähnliche Symptome wie Fieber, Müdigkeit, Kopfschmerzen, Nachtschweiß oder Übelkeit auf. Nur in 20 % – 30 % aller Fälle treten vorübergehende Schwellungen der Lymphknoten auf. Da die Symptome die der Grippe ähneln, bleibt die Primärinfektion meistens unbemerkt.^[12]

Stadium II: Der Patient befindet sich in der Latenzphase. Hier treten keine körperlichen Beschwerden auf. Wissen die Patienten von ihrer Infektion kann es zu psychischen Depressionen kommen. Die Latenzzeit dauert bis zu zehn Jahre, in welchen sich das HI-Virus im Wirt vermehrt. In dieser Zeit ist der Körper noch in der Lage das Immunsystem aufrecht zu erhalten. Durch die sehr lange Inkubationszeit, in der die meisten Infizierten von ihrer Erkrankung noch nichts wissen, stecken diese unwissentlich weitere Menschen an und fördern so die Ausbreitung des Virus.

Stadium III: In dieser als Lymphadenopathie bezeichneten Phase zeigen sich häufig monatelange Schwellungen der Lymphknoten am gesamten Körper. Zusätzlich treten wieder grippeähnliche Symptome, wie Fieber, Müdigkeit oder Kopfschmerzen auf.

Stadium IV: „AIDS-related complex“; Es treten die ersten opportunistischen Infektionen auf, Fieberzustände werden chronisch, Diarrhöen und Nachtschweiß klingen nicht wieder ab und sind charakteristisch für diesen Zustand.

Stadium V: Das AIDS-Vollbild tritt ein, was sich durch eine Vielzahl opportunistischer Infektionen auszeichnet. Eine langwierige Lungenentzündung ist meistens das erste Symptom. Pilzbesiedlungen in der Mundhöhle treten ein und der Patient erleidet einen erheblichen Gewichtsverlust durch monatelangen Durchfall. Schwerwiegende Folgen sind die zerstörerischen Effekte des Virus im Zentralnervensystem: Sowohl Tumore, wie auch Hirnatrophie und zunehmender geistiger Verfall (Demenz) treten auf.^[1, 13]

2 Kenntnisstand

2.1 Das Viruspartikel

Viren sind definiert als infektiöse Partikel, die mindestens aus Nucleinsäuren und Proteinen bestehen. In manchen Viren lassen sich als zusätzliche Strukturkomponenten auch Lipide nachweisen. Viren dringen in Zellen anderer Organismen ein und verwenden die Bestandteile der infizierten Wirtszelle für die Bildung ihrer Nachkommenviren. Sie besitzen im Vergleich zu Bakterien keinen eigenen Stoffwechsel, sondern stellen zur Vermehrung nur die in ihrem Genom verankerten Informationen der Wirtszelle bereit. Zur Replikation sind Viren vollkommen auf die Energieerzeugung, Syntheseleitung und molekulare Bausteine der infizierten Zelle angewiesen. Viren sind kleine Partikel mit einem Durchmesser von 20 nm bis 300 nm. Durch ihre geringe Größe sind sie ultrafiltrierbar, sie werden also nicht durch bakteriendichte Filter zurückgehalten. Grundsätzlich sind alle Viren gleichermaßen aufgebaut. In den Nucleinsäuren im Viruspartikel sind die Erbinformationen des Virus gespeichert. Das Genom liegt entweder als RNA oder als DNA vor, niemals jedoch beides gemeinsam. Abhängig vom Virustyp liegt die Erbinformation einzel- oder doppelsträngig vor, linear, ringförmig oder segmentiert. DNA liegt in der Regel doppelsträngig (dsDNA) linear oder doppelsträngig zirkulär vor, wobei die Zirkel an den Enden kovalent geschlossen oder durch Basenpaarung nur kohäsiv aneinandergelagert sein können. RNA liegt meist einzelsträngig vor (ssRNA), wobei drei verschiedene RNA-Typen unterschieden werden: ss(+)RNA ist polarisiert wie mRNA, sie kann folglich direkt von der Zelle in ein Protein translatiert werden. Anders ist es bei ss(-)RNA. Sie besitzt eine anti-mRNA-Polarität, folglich muss eine virale RNA-Polymerase erst eine subgenomische (+)Strang-Kopie erstellen, welche dann als mRNA für die Herstellung des virusspezifischen Proteins dient. Des Weiteren ist es auch möglich, dass die RNA ambisensen Charakter aufweist, also sowohl als ss(+)RNA und als ss(-)RNA vorliegt. Umhüllt werden die Nucleinsäuren von Capsiden (Proteine, die sich zu Hohlkörpern zusammenschließen). In manchen Fällen werden die Capside weiterhin von Lipiden umschlossen, was zu einer Membran führt, in deren Hülle virale Membran- und Glycoproteine eingelagert sind.

Eingeteilt werden Viren in verschiedene Familien und Gattungen. Grundlagen für diese Einteilung sind die molekularen Charakteristika ihrer Erbinformationen und der Viruspartikel. Unterschieden werden drei Eigenschaften: Erstes Charakteristikum ist die Art und Form des Genoms: Liegt eine RNA oder DNA vor, ist diese einzel- oder doppelsträngig, positiv- oder negativstrangorientiert, segmentiert oder kontinuierlich, linear oder zirkulär geschlossen. Zweites charakteristisches Merkmal einer Virenfamilien /-gattung ist die Symmetriefform der Capside. Letztes Kriterium ist das Vorhandensein oder Fehlen einer Membranhülle.

Wie weiter oben erwähnt, sind Viren „Zellparasiten“. Sie infizieren Zellen und bilden dort Nachkommenviren aus. Der Ablauf der Virusreplikation kann in sieben Stadien unterteilt werden. Im ersten Schritt, der Adsorption, bindet das Virus spezifisch an bestimmte Rezeptoren auf der Zelloberfläche. In der Penetration werden die Viren in das Cytoplasma der Wirtszelle integriert, anschließend löst sich das Virusgenom von den Strukturproteinen (Uncoating). Durch Transkription und Translation der viralen Gene erfolgt die Synthese verschiedener Nichtstruktur- und Strukturproteine, welche im Folgeschritt vervielfältigt werden. In der Morphogenese lagern sich die neu gebildeten viralen Strukturproteine und Genome wieder zu Viruspartikeln zusammen und werden wieder von der infizierten Zelle abgeschieden.^[14 – 18]

2.2 Das HI-Virus

Das HI-Virus gehört zur Familie der Retroviren (Retroviridae; Reverse Transkriptase Onkoviren) und zur Gattung der Lentiviren. Damit gehört es zu den sog. komplexen Retroviren, welche eine Lipidschicht besitzen und neben den kanonischen retroviralen Genen gag, pol und env über weitere regulatorische und akzessorische Gene (tat, rev, vif, vpr, vpx, nef) verfügen. Das Virus besitzt eine Größe von 80 nm bis 100 nm. Abbildung 2.1 zeigt den schematischen Aufbau eines HI-Virus.^[18]

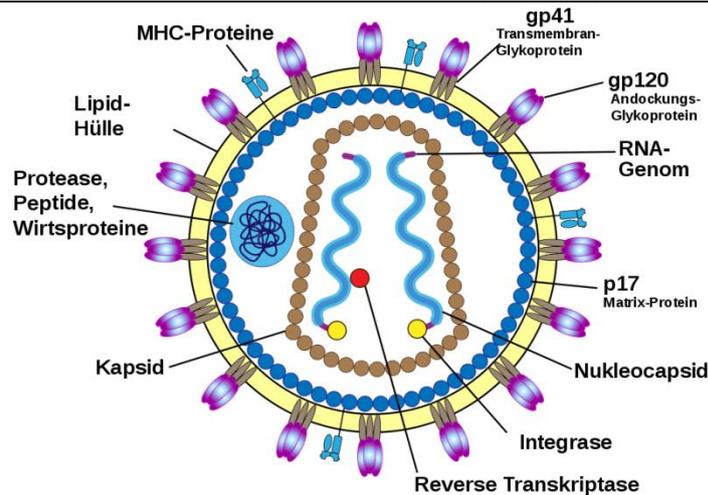


Abb. 2.1: Aufbau des HI-Virus; Quelle: siehe Quellenverzeichnis

Am äußeren Rand des Virus befinden sich die Glycoproteine gp120 und gp41, die für die Verbindung zur Wirtszelle benötigt werden. Von der Lipidschicht umhüllt liegen die zur Replikation (siehe unten) notwendigen verschiedenen Enzyme: Protease, Reverse Transkriptase und Integrase. Innerhalb des Capsids befindet sich das Erbgut in Form der RNA des Virus.

Für Retroviren typisch, liegt das Genom diploid vor, jedes Virus besitzt also zwei Kopien seines Genoms. Des Weiteren liegt die Erbinformation in Form von ss(+)RNA vor. Diese muss zur Replikation des Virus in provirale DNA translatiert werden. Für diesen Schritt ist ein Enzym, die Reverse Transkriptase, verantwortlich. Diese Umwandlung ist einzigartig in der Natur, bei allen anderen Organismen findet sonst nur eine Umwandlung von DNA in RNA statt. Die Reverse Transkriptase verfügt jedoch nicht über eine Korrekturlese-Funktion, was dazu führt, dass bei dieser Transkription relativ häufig Fehler auftreten und die Tochterviren Mutanten darstellen. Das ist der Grund dafür, dass Retroviren schnell resistente Stämme gegen antivirale Medikamente bilden und AIDS bis heute nicht geheilt werden kann.

Lentiviren bilden eine Gattung innerhalb der Familie der Retroviren. Sie verursachen langsam fortschreitende, chronisch degenerative Krankheiten, da sie das Immunsystem des Wirts umgehen und somit lebenslang im Körper des Infizierten verbleiben. Lentiviren unterscheiden sich von anderen Retroviren darin, dass sie die Regulation ihrer eigenen Gene beeinflussen können.^[9] Das bedeutet, dass das Virus die Konzentration des vom jeweiligen Gen kodierten Proteins in der Zelle modulieren kann. Das HI-Virus gehört zu den komplexen Retroviren, es besitzt neben den drei Hauptgenen *gag*, *pol* und *env* auch weitere akzessorischen Gene (*vif*, *vpr*, *vpu*, *tat*, *rev* und *nef*; siehe Abb. 2.2).

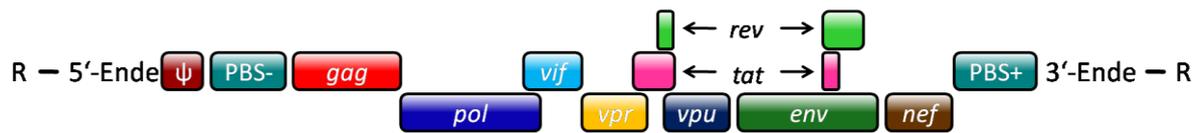


Abb. 2.2: Das virale Genom des HI-Virus; Quelle: siehe Quellenverzeichnis

Das Gruppenspezifische Antigen *gag* kodiert die Matrix- (MA p17; Hüllenprotein), Capsid- (CA p24, Capsid-Strukturprotein), Nucleocapsid- (NC p9) und Linkproteine (p6). Env-Proteine werden aus dem *env*-Vorläuferprotein gp160 geschnitten. Sie bilden die Struktur- und Membranproteine Glycoprotein gp120 und gp41. Das dritte der drei Hauptgene, *pol*, kodiert die verschiedenen viralen Enzyme, die Protease (PR p10), die Reverse Transkriptase (RT p66/51) und die Integrase (IN p34). Das für diese Arbeit weitaus wichtigste akzessorische Gen ist *vif*, es kodiert für das Vif-Protein. Dieses spielt für das Umgehen des zellulären Abwehrmechanismus eine entscheidende Rolle. *Tat* reguliert die Genexpression; *rev* ist für die Regulation des mRNA-Transports von einfach und ungespleißten Transkripten verantwortlich. *Nef* hält die Virusverbreitung aufrecht und *vpu* ist beteiligt an der Virusreifung und -freisetzung. ^[18-22]

2.3 Die virale Replikation

Adsorption

Viren sind in der Lage bestimmte Rezeptormoleküle auf der Oberfläche der Cytoplasmamembran zu erkennen und sich an diese anzuheften. Anschließend bilden sich Rezeptor-Liganden-Paare aus. Hier wird bereits darüber entschieden, welchen Zelltyp ein Virus infizieren kann. Bei membranbehüllten Viren, wie dem HI-Virus, wird die Wechselwirkung durch Proteine vermittelt, welche auf der Lipidschicht des Viruspartikels eingelagert sind. Hierbei handelt es sich um das Glycoprotein gp120. Auf zellulärer Seite tragen zum Rezeptor-Ligandenpaar CD4-Rezeptor tragende Zellen bei. Im Menschen sind dies vorwiegend T-Lymphocyten. Die Bindung des Viruspartikels an die Oberflächenstruktur ist hochspezifisch.

Aufnahme des Viruspartikels

Das nach der Adsorption an die Zelloberfläche gebundene Virus wird nun in das Cytoplasma der Zelle aufgenommen. Dies erfolgt durch Fusion der Virusmembran mit der Cytoplasmamembran. In der Virusmembran befindet sich das Fusionsprotein Glycoprotein 41, welches die Verschmelzung der Membran des Virus mit der Zellmembran einleitet.^[1, 15, 16, 17, 18, 23]

Das Uncoating, die Freisetzung der Nucleinsäure

Nach der Verschmelzung der Membranhüllen wird das Viruscapsid in das Cytoplasma der Wirtszelle freigesetzt. Wie das Capsid genau im Cytoplasma aufgespalten wird, ist noch nicht in allen Einzelheiten geklärt. Durch den Zerfall des Capsids werden die Virus-RNA, wie auch die verschiedenen viralen Enzyme freigesetzt.

Genexpression

In diesem Schritt des Infektionszyklus werden die Erbinformationen des Virus in Proteine umgesetzt. Die Viren enthalten jeweils zwei Kopien des einzelsträngigen RNA-Genoms, das alle Merkmale einer mRNA aufweist. Diese werden aber nicht sofort als Matrize-RNA in den Zellkern eingeschleust, sondern zuerst in eine cDNA umgewandelt. Dies geschieht durch ein Enzym, die **Reverse Transkriptase** (Abb. 2.3). Sie wandelt die ss(+)RNA in virale cDNA um, wobei die ss(+)RNA vollständig abgebaut wird. Bei diesem Vorgang tritt aufgrund einer fehlenden Korrekturlesefunktion eine große Fehlerhäufigkeit ein, was zu häufigen Mutationen in der DNA führt und somit eine Bekämpfung des Virus deutlich erschwert.

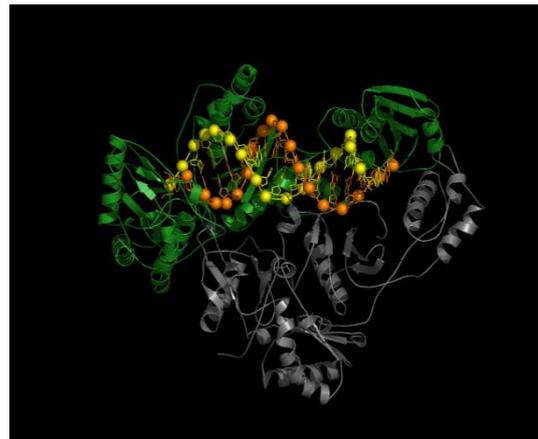


Abb. 2.3: Reverse Transkriptase; Quelle:

siehe Quellenverzeichnis

Die Hemmung der Reversen Transkriptase stellt eine Möglichkeit in der HIV-Bekämpfung dar, wie später genauer erläutert wird. Abbildung 2.4 zeigt die virale cDNA.

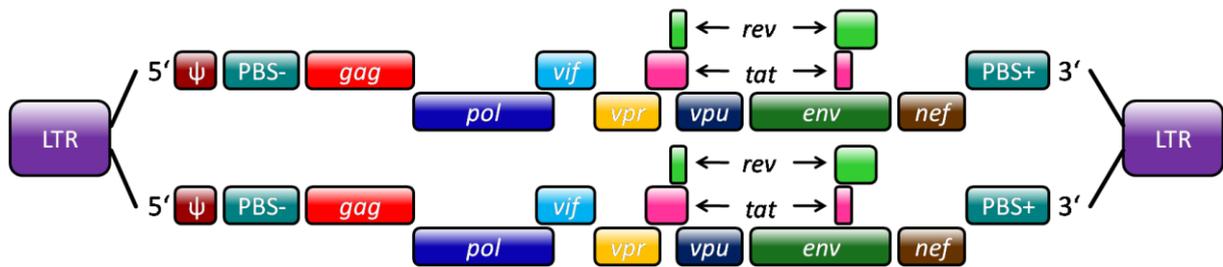


Abb. 2.4: Darstellung der Viralen cDNA des HI-Virus; *Gag*, *pol* und *env* sind Hauptgene, *tat*, *rev*, *vif*, *vpr*, *vpu* und *nef* akzessorische Gene; Quelle: siehe Quellenverzeichnis

Die doppelsträngige cDNA ist von beiden Seiten von identischen regulatorischen Sequenzen (LTRs) eingeschlossen. Diese wurden im Verlauf der reversen Transkription gebildet. Erst anschließend wird die nun gebildete cDNA in den Zellkern eingeführt. Beweis dafür ist, dass sowohl im Cytoplasma der infizierten Zelle, wie auch im Zellkern die provirale DNA detektiert werden kann. Ist die cDNA im Zellkern angelangt wird sie von einem weiteren viralen Enzym, der **Integrase** (Abb. 2.5), an willkürlichen Stellen in das Genom der Wirtszelle integriert. Ist die Virus-DNA in das Genom der Wirtszelle eingegliedert, wird dieser Zustand als Provirus bezeichnet. Das Provirus kann über einen langen Zeitraum (latente Phase) im Organismus verbleiben und an die Tochterzellen weitervererbt werden.^[1, 15, 16, 17, 18, 23]

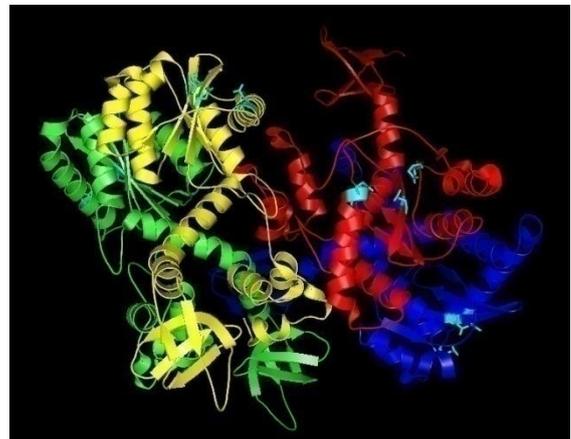


Abb. 2.5: Integrase; Quelle: siehe Quellenverzeichnis

Genomreplikation

Das Provirus verhält sich wie ein gewöhnliches Zellgen. Teilt sich die Zelle um sich zu vermehren, wird auch das Provirus vermehrt und an Tochterzelle weitergegeben. Im Anschluss daran finden die Transkription und Translation statt. Die Transkription wird von dem zelleigenen Enzym, der **RNA-Polymerase II** (Abb. 2.6), durchgeführt. Dabei wird die provirale cDNA in ss(+)RNA transkribiert und es entstehen gespleißte, ungespleißte wie auch mehrfach gespleißte mRNAs. Mehrfachgespleißte mRNAs sind für die Synthese verschiedener regulatorischer Proteine verantwortlich, einfach gespleißte mRNA dient zur Produktion viraler Membranproteine. Ungespleißte mRNA wird einerseits für die Synthese der Vorläuferproteine und für die Produktion der gruppenspezifischen Antigene *Gag* und *Gagpol* verwendet. Andererseits wird ungespleißte mRNA auch direkt als virales Genom in Viruspartikel verpackt. ^[18]

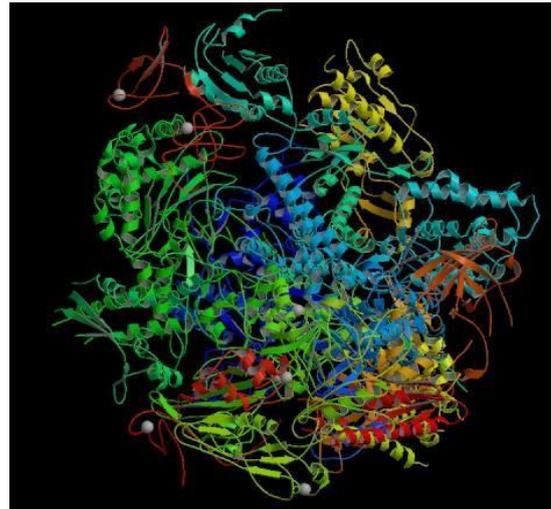


Abb. 2.6: RNA-Polymerase II
Quelle: siehe Quellenverzeichnis

Morphogenese

Nun liegen in der Zelle die viralen Strukturproteine wie auch die jeweiligen Genome in vielfachen Kopien vor. Daraus müssen sich partikuläre Strukturen, Capside und infektiöse Viren bilden. Dieser Zusammenbau findet an Membrankompartimenten in der Zelle statt, die den Infektionserregern auch die Membranhülle zur Verfügung stellen. Bei dem HI-Virus handelt es sich hierbei um die Cytoplasmamembran.

Freisetzung der Nachkommenviren

Die Knospung findet an der Cytoplasmamembran der Zelle statt. Dazu lösen sie sich von der Zelloberfläche und treten aus den Zellen aus. Nach der Freisetzung müssen noch einige Reifungsprozesse im Virus stattfinden. Erst in diesem Schritt spaltet sich die **Protease** aus dem Vorläuferprotein *Gagpol* heraus und zerschneidet die *Gag*- und *Gagpol*-Polyproteine in

die verschiedenen Strukturproteine und Enzyme, die später im infektiösen Virus wiederzufinden sind.^[1, 15, 16, 17, 18, 23]

2.4 Die HIV-Therapie: Highly active anti-retroviral therapy (HAART)

1996 wurde eine Methode zur Bekämpfung von HIV-Infektionen eingeführt, bei der der Patient zur Behandlung statt einem Wirkstoff einen „Medikamenten Cocktail“ verabreicht bekommt (HAART). Da bei der Verabreichung von nur einem Wirkstoff eine rasche Resistenzentwicklung beobachtet wird, besteht HAART aus der gleichzeitigen Einnahme von mindestens drei verschiedenen antiretroviral-wirkenden Hemmstoffen. So wird der Resistenzentwicklung von HIV effektiv entgegengewirkt und gleichzeitig die Replikation sehr stark gehemmt. Bis heute ist keine Therapie bekannt, die zu einer definitiven Eradikation des Virus führt. Das Ziel von HAART ist es daher nicht, das Virus aus dem Körper zu entfernen, sondern lediglich ein verzögertes Eintreten von AIDS zu erreichen. Die Konzentration des HI-Virus im Blut soll somit erniedrigt und die Konzentration der T-Lymphozyten erhöht werden. Es ist darauf zu achten, dass die Bekämpfung von HIV nicht zu früh begonnen wird, da einerseits starke Nebenwirkungen auftreten können und andererseits, wie bereits erwähnt, das Virus Resistenzen gegen die Medikamente entwickeln kann. Abbildung 2.7 zeigt die verschiedenen Angriffspunkte der antiretroviral-wirkenden Substanzen im Replikationsablauf des HI-Virus.^[24, 25]

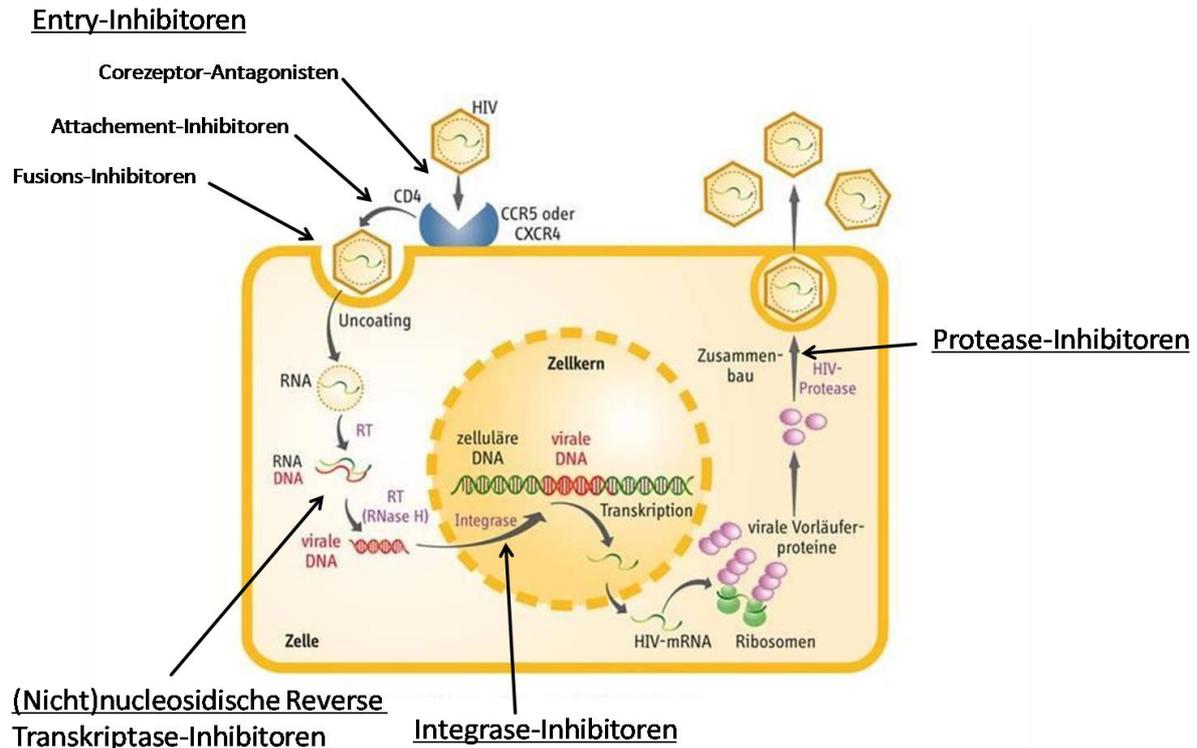


Abb. 2.7: Angriffspunkte der Proteininhibitoren; Quelle: siehe Quellenverzeichnis

Wie der Abbildung zu entnehmen ist, gibt es eine Vielzahl möglicher Angriffspunkte für Arzneistoffe gegen das HI-Virus:

- Die für die Replikation essentiellen Enzyme (Protease, Reverse Transkriptase oder Integrase, wobei bei letzterem zwischen nucleosidischen und nicht-nucleosidischen Wirkstoffen unterschieden wird),
- Die für die Adsorption des Virus wichtigen Corezeptoren
- Die für Verschmelzung von Virus und Zelle wichtigen Proteine der Zellemembran

Die aktuelle Therapieempfehlung besteht aus einer Kombination von zwei nucleosidischen Reverse Transkriptase Inhibitoren zusammen mit einem Protease-Inhibitor. Im Folgenden werden die wichtigsten Vertreter der einzelnen Inhibitorklassen genauer erläutert.

Nucleosidische Hemmstoffe der Reversen Transkriptase (NRTIs)

Die nucleosidischen Wirkstoffe stellen die am längsten angewandten Inhibitoren zur Bekämpfung von retroviralen Infektionen dar. Auch sind sie in der Kombinationstherapie

HAART unverzichtbar. Ihre Aufgabe besteht darin, wie der Name schon sagt, die Wirkung des viralen Enzyms Reverse Transkriptase zu unterbinden und so die Replikation zu verhindern. Auffällig ist, dass bei allen Inhibitoren die 3'-Hydroxylgruppe fehlt, was nach Einbau in die DNA zu einem Kettenabbruch führt. Eingesetzte Wirkstoffe sind in Abbildung 2.8 aufgezeigt.^[24, 26, 27]

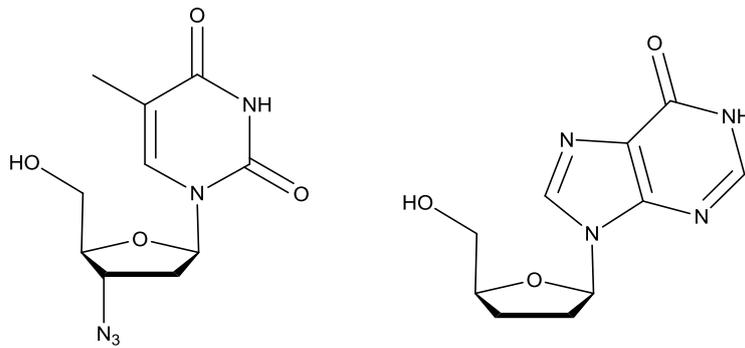


Abb. 2.8: Zidovudin (links) und Didanosin (rechts)

Nicht-Nucleosidische Hemmstoffe der Reversen Transkriptase (NNRTIs)

Diese Wirkstoffe besitzen keine strukturelle Ähnlichkeit zu Nucleosiden, wirken aber dennoch antiretroviral als Hemmstoff der Reversen Transkriptase. Der Unterschied im Wirkmechanismus zu den nucleosidischen Hemmstoffen liegt darin, dass die NNRTIs das Enzym allosterisch hemmen, also als nicht-kompetitive Inhibitoren fungieren. Sie führen somit nicht zum Kettenabbruch. Ein großer Nachteil der NNRTIs liegt jedoch darin, dass bereits wenige Mutationen der Reversen Transkriptase ausreichen die Affinität der Inhibitoren zum Enzym extrem abzusenken und die Arzneimittel somit wirkungslos zu machen. Eine Kombinationstherapie mit anderen Hemmstoffen ist daher dringend notwendig. Beispiele sind in Abbildung 2.9 aufgezeigt.^[24, 28, 29, 30]

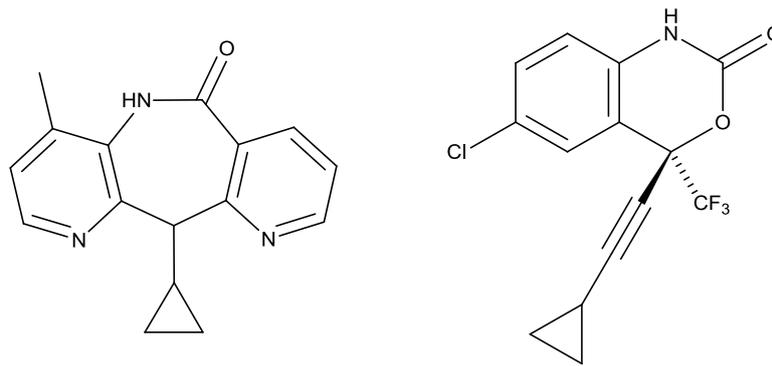


Abb. 2.9: *Nevirapin* (links) und *Efavirenz* (rechts)

Hemmstoffe der Integrase

Die Integration der viralen DNA in das zelluläre Genom verläuft in mehreren Schritten.

- (1) Es bildet sich eine Bindung zwischen dem Integrase-Enzym und der viralen DNA im Cytoplasma der Zelle, es entsteht somit ein Präintegrationskomplex.
- (2) Das Enzym katalysiert die Abtrennung eines Dinucleotids aus der DNA und bildet nun neue 3'-Hydroxylgruppen im Präintegrationskomplex.
- (3) Dieser neugebildete Präintegrationskomplex wird nun in den Zellkern eingeschleust und durch die katalytische Wirkung der Integrase wird die virale DNA irreversibel und kovalent in die Wirts-DNA transferiert (Strangtransfer).
- (4) Bei der Vereinigung von viraler DNA und Wirts-DNA bilden sich Lücken aus, die durch zelleigene Reparaturenzyme geschlossen werden.

Jeder dieser vier Schritte kann theoretisch gehemmt werden, wodurch sich Möglichkeiten zur Integrase-Hemmung ergeben. Raltegravir (Abb. 2.10) ist ein erster Inhibitor der HIV-Integrase, er fungiert in Schritt (3) als sogenannter Strangtransfer-Inhibitor.^[24, 31]

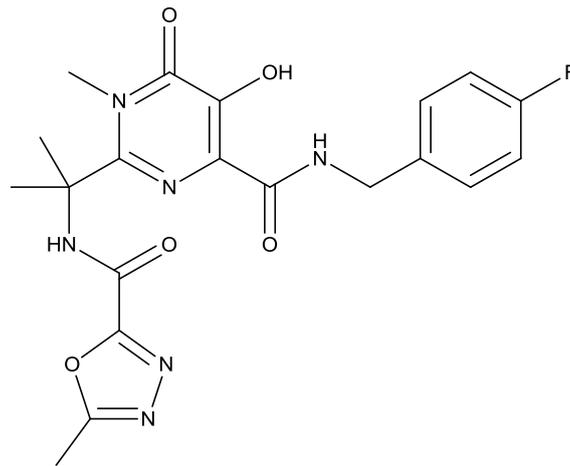


Abb. 2.10: Raltegravir

Hemmstoffe der Protease

Im Vergleich zur menschlichen Protease unterscheidet sich die HIV-Protease in Struktur und Substratspezifität wesentlich. Das macht sie zu einem gut geeigneten Ziel für Inhibitoren mit hoher Selektivität. Da die HIV-Protease hauptsächlich Bindungen zwischen Phenylalanin und Prolin spaltet, basieren die meisten Protease-Inhibitoren auf einer peptidischen Struktur, bei denen die vorkommende Phenylalanin-Prolin-Bindung durch einen Hydroxyethylen-Baustein ersetzt wurde, der den Übergangszustand der Hydrolyse nachahmt. Befindet sich der Inhibitor im katalytischen Zentrum kann die enzymatische Spaltung der viralen Protease nicht stattfinden und somit wird das Enzym gehemmt. Nahezu alle auf dem Markt befindlichen Proteaseinhibitoren wirken nach diesem Mechanismus. Wird die Wirkung der viralen Protease unterbunden, entstehen bei der Replikation nur funktionslose Polyproteine und keine infektiösen Viren. Es können sich jedoch Resistenzen gegen Proteaseinhibitoren bilden, wenn sich die Aminosäuresequenz der viralen Protease ändert. Daher ist die Kombinationstherapie mit Medikamenten aus anderen Wirkstoffgruppen für Protease-Inhibitoren sehr von Vorteil. Abbildung 2.11 zeigt einige typische HIV-Proteaseinhibitoren.^[24, 32, 33]

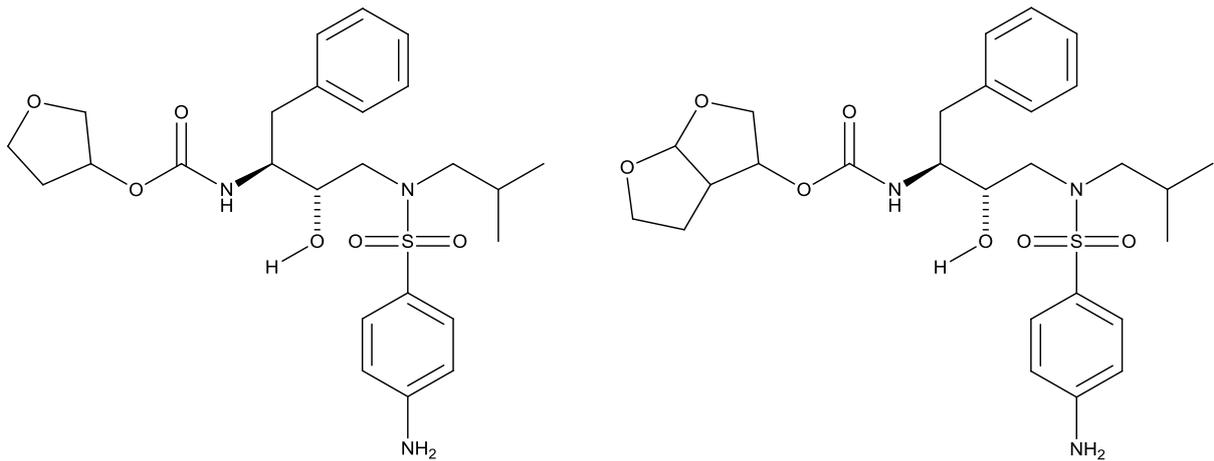


Abb. 2.11: Amprenavir (links) und Darunavir (rechts)

Corezeptorantagonisten

Zusätzlich zum CD4-Rezeptor benötigen HI-Viren weitere Corezeptoren um in Zellen eindringen zu können. Je nach HIV-Variante können das entweder CCR5- oder CXCR4-Rezeptoren sein. Nach diesem „Rezeptortropismus“ werden die HIV-Varianten als R5 (CCR5) oder X4 (CXCR4) bezeichnet. R5-Viren infizieren bevorzugt Makrophagen, X4-Viren dringen vorwiegend in T-Zellen ein. Für beide Corezeptoren bestehen heutzutage Antagonisten, wobei die Entwicklung von CCR5-Antagonisten bereits weiter fortgeschritten ist. Beispiel für einen solchen Wirkstoff ist Maraviroc (Abb. 2.13).^[24]

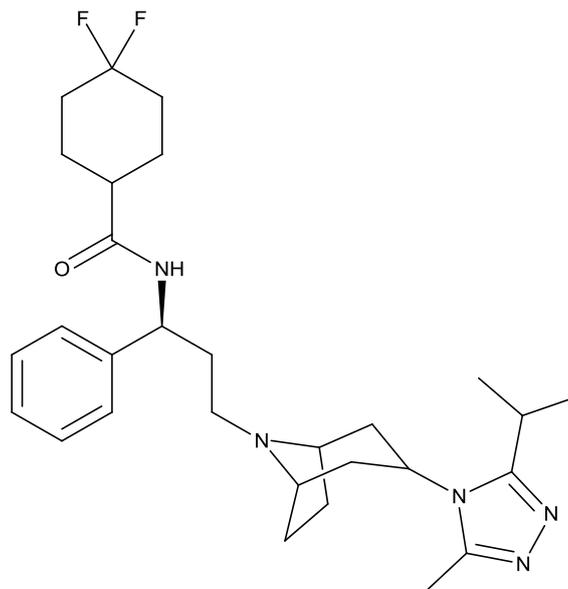


Abb. 2.13: Maraviroc

Fusionsinhibitoren

Fusionsinhibitoren sind Substanzen, die den Eintritt des Virus in die Wirtszelle verhindern, indem sie an das transmembranäre Glycoprotein gp41 selektiv binden und so die Verschmelzung der Virusmembran mit der Zellmembran verhindern. Enfuvirtid ist ein Vertreter dieser Inhibitor-Klasse und besteht aus 36 Aminosäuren. Allerdings wird dieser durch Peptidasen im Magen-Darm-Trakt abgebaut und ist daher nicht oral anwendbar; Es muss subcutan injiziert werden.^[24, 34]

2.5 Neuartiger HIV-Therapieansatz: Wahrung des humanen retroviralen Schutzmechanismus durch Inhibierung der *vif*-Elongin-C-Interaktion

Ob Hemmung von Protease, Reverse Transkriptase oder Integrase, bei den meisten etablierten HIV-Therapieansätzen steht die Hemmung von Replikations-essentiellen Enzymen im Vordergrund. Alle Ansätze sind darauf ausgelegt, die Konzentration des Virus so gering wie möglich zu halten. Durch Mutation ist dieser jedoch immer in der Lage sich dennoch im Körper zu vermehren und AIDS hervorzurufen. Besser wäre es, den retroviralen Erreger ganz aus dem menschlichen Körper zu entfernen, unabhängig von Mutationen Seitens des Virus. Wird die *vif*-Elongin-C-Interaktion durch Elongin-C-Inhibitoren gehemmt (siehe unten), bleibt der humane retrovirale Schutz erhalten und der Organismus kann die Viren auf natürlichem Weg beseitigen.

APOBEC3-Proteine (apolipoprotein B mRNA editing enzyme catalytic polypeptide 3) sind im humanen Immunsystem zur Abwehr von retroviralen Infektionen von entscheidender Bedeutung. Im Genom des Menschen sind 5 verschiedene APOBEC3 Proteine bekannt: APOBEC3A, B, C, F und G. Bei einer Infektion mit dem HI-Virus spielt APOBEC3G eine entscheidende Rolle. APOBEC3G (95 kDa) ist ein symmetrisch aufgebautes Enzym. Es besteht aus zwei C-terminal verbundenen homologen Untereinheiten, wobei beide in der Lage sind bei der Abwehr retroviraler Infektionen wirksam zu werden. Es wird im Replikationszyklus der Viren in die Erregerpartikel eingeschleust. Dort bewirkt es als Cytidin-Desaminase eine Desaminierung von Cytosin zu Uracil am viralen minus-cDNA-Strang, was zu Hypermutationen und schließlich zum Verlust der Replikationsfähigkeit der Viren führt. Bindet jedoch der HIV-eigene *viral infectivity factor* (*vif*) an APOBEC3G, so wird dieses polyubiquitiniert und durch das Proteasom abgebaut, was zum Verlust der antiviralen Desaminase-Eigenschaft von Apobec3G führt. In Abbildung 2.14 wird der Ablauf des durch *vif* initiierten Abbaus von APOBEC3G verdeutlicht.^[35-38]

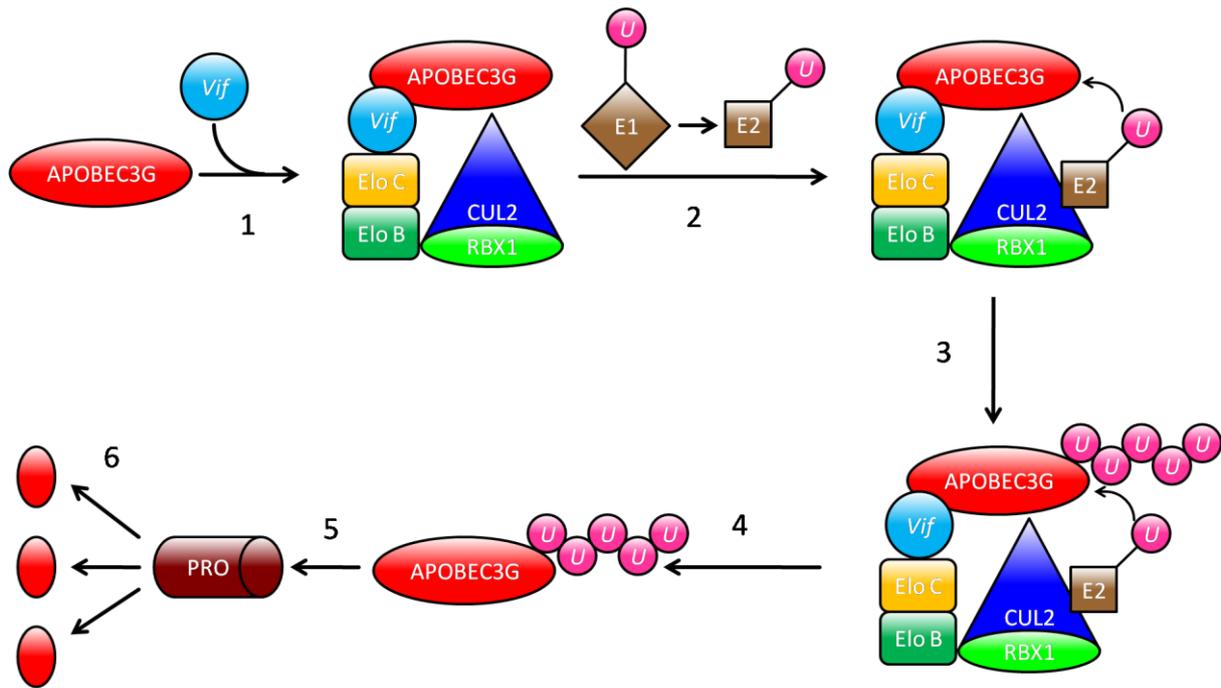


Abb. 2.14: Ablauf des *vif*-induzierten Abbaus von APOBEC3G (Elo C/B = Elongin-B/C; CUL2 = Cullin 2; RBX 1 = Ringbox 1; U = Ubiquitin; E 1/2: Modifikationsaktivierende Enzyme; PRO = Proteasom); Quelle: siehe Quellenverzeichnis

Als Erstes bilden *vif* und APOBEC3G einen Proteinkomplex, der zur Folge hat, dass Elongin-C und Elongin-B auch an *vif* binden. Das Protein Elongin-C besteht aus 112 Aminosäuren und ist Teil eines Multiproteinkomplexes zur Unterdrückung des Hoppel-Lindau-Syndroms. Es kommt ausschließlich in Säugetierzellen vor. Über Elongin-B bindet nun der Cullin-2-Ringbox-1 Proteinkomplex (Dieser Proteinkomplex reguliert in Säugetieren eine Vielzahl von dynamischen zellulären Prozessen. Hier dient es zur Vermittlung von Ubiquitineinheiten). Das wiederum führt dazu, dass das Ubiquitin-gebundene Modifikation-aktivierende Enzym E1 in das Modifikations-konjugierende Enzym E2 umgewandelt wird. Dieses kann anschließend an Cullin-2 binden und bewirkt mittels Ligasen eine Übertragung des Ubiquitins auf APOBEC3G. APOBEC3G bindet über einen Lysin-Rest am C-terminalen Glycin des Ubiquitins. Da Ubiquitin auch über einen Lysin-Rest verfügt (Lysin-48), können nun weitere Ubiquitin-Proteine über das C-terminale Glycin am vorherigen Ubiquitin binden und es bildet sich eine Ubiquitin-Kette aus mindestens fünf Ubiquitin-Proteinen. Dieser Vorgang wird Polyubiquitinierung genannt. Sind Proteine über eine solche Polyubiquitin-Kette markiert, werden diese im Folgeschritt dem Proteasom zugeführt. In diesem Fall ist APOBEC3G polyubiquitiniert und wird durch das Proteasom in Fragmente zerlegt. APOBEC3G verliert damit die antiretrovirale Wirkung.^[39, 40]

Kenntnisstand

Wird die im Ersten Schritt ablaufende Bindung zwischen *vif* und Elongin-C verhindert, ist der Abbaumechanismus unterbrochen (Abb. 2.15). APOBEC3G bleibt somit erhalten und damit auch die antiretrovirale Wirkung. Dazu müssen Substanzen gefunden werden, die sich selektiv und mit großer Affinität in die aktive Bindetasche von Elongin-C verankern. Dieser Ansatz bietet zwei Vorteile:

- Wird die Interaktion zwischen *vif* und Elongin-C gehemmt bleibt APOBEC3G aktiv.
- Da nicht *vif*, sondern die Bindetasche von Elongin-C mit Inhibitoren adressiert und blockiert wird, können auch Mutanten von *vif* den Therapieansatz nicht gefährden.

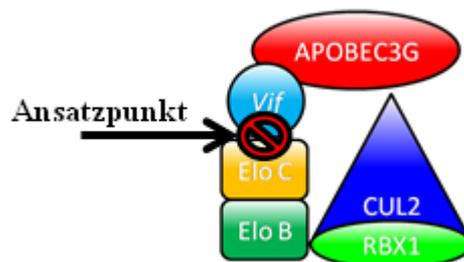


Abb. 2.15: Angriffspunkt der neuen HIV-Therapie; Quelle: siehe Quellenverzeichnis

Das Protein Elongin-C besteht aus 112 Aminosäuren und kommt in Säugetierzellen vor. Da die Struktur von Elongin-C sowie die der Bindetasche, in die *vif* bindet, durch Röntgenstrukturaufklärung ermittelt ist, können gezielt Inhibitoren entwickelt werden. In Abbildung 2.16 ist die Kristallstruktur von Elongin-C aufgezeigt.

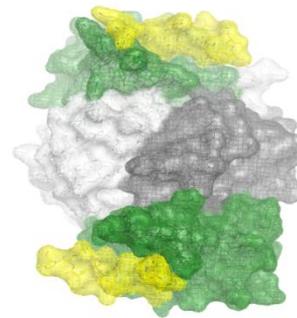


Abb. 2.16: Kristallstruktur von Elongin-C; Quelle: siehe Quellenverzeichnis

Abbildung 2.17 zeigt die Bindetasche von Elongin-C mit der dazugehörigen Bindungseinheit von *vif*.

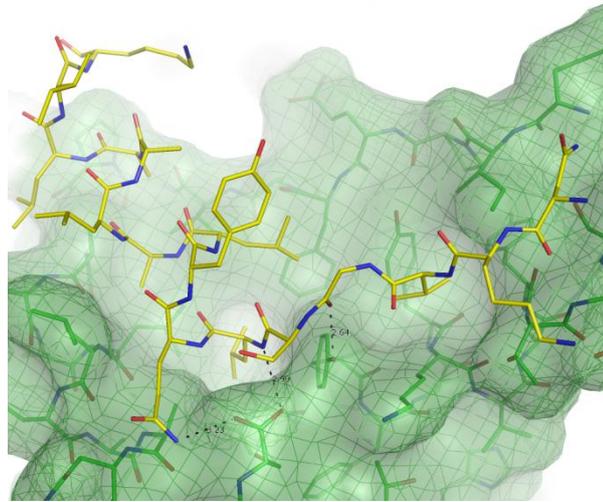


Abb. 2.17: Die Bindungseinheit von *vif* liegt in der Bindetasche von Elongin-C; Quelle: siehe Quellenverzeichnis

3 Zielsetzung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Grundlagen für einen neuartigen HIV-Therapieansatz zu legen. Wird die Interaktion zwischen *vif* und Elongin-C verhindert, so bleibt der humane antiretrovirale Schutzmechanismus bestehen und das HI-Virus kann durch APOBEC an der Replikation gehindert werden. Es ist dabei sinnvoll Elongin-C als Angriffspunkt für die Hemmung der Interaktion zu wählen, da die Struktur von Elongin-C und die essentielle Bindetasche bereits aufgeklärt sind. Dadurch wird es ermöglicht, durch Docking-Berechnungen *in-silico* gezielt Substanzen zu entwickeln, die theoretisch mit hoher Affinität in die Bindetasche von Elongin-C binden und so *vif* aus dieser verdrängen.

Apotheker Armin Welker aus den Arbeitskreisen von Prof. Dr. Christoph Sotriffer und Prof. Dr. Tanja Schirmeister führte im Rahmen seiner Promotionsarbeit diese Docking-Berechnungen durch. Basierend auf den Ergebnissen der Dockingstudien werden die berechneten Moleküle hergestellt und auf Hemmung des APOBEC-Abbaus getestet. Hierbei handelt es sich um eine zelluläre Testvariante, die im Arbeitskreis von Prof. Dr. Axel Rethwilm entwickelt wurde. Zur Bestätigung der erhaltenen Testergebnisse wird zusätzlich ein HIV-Replikationstest im Arbeitskreis von PD Dr. Jochen Bodem durchgeführt. Um ein breites Spektrum an möglichen Inhibitoren abzudecken werden vorerst Substanzen mit verschiedenen Grundgerüsten hergestellt. Erweist sich eine Substanz als wirksam, wird diese durch intensiverte Dockingberechnungen weiterentwickelt. Die so optimierten potentiellen Inhibitoren werden im Labor synthetisiert und wieder auf Hemmung des APOBEC-Abbaus getestet.

Da die Hemmung des APOBEC-Abbaus in ganzen Zellen jedoch noch kein Nachweis für die Bindung des Inhibitors an die *vif*-Bindetasche des Elongin-C ist, soll im weiteren Umfang dieser Arbeit das Protein Elongin-C exprimiert werden. Anschließend kann mithilfe von Mikrokalorimetrie- oder Surface Plasmon Resonance-Experimenten die Bindung des Inhibitors zum Protein nachgewiesen werden. Erst der Nachweis dieser Bindung beweist, dass eine Ursache der Hemmung des Abbaus von APOBEC die Bindung des Inhibitors an die *vif*-Bindestelle in Elongin-C ist.

4 Durchführung und Diskussion

4.1 Entwicklung von Elongin-C-Inhibitoren erster Generation

Dockingstudien

Die Dockingstudien wurden von Apotheker Armin Welker im Rahmen dessen Promotionsarbeit durchgeführt.^[41] Aufgrund der bekannten Struktur der Bindetasche von Elongin-C lassen sich durch Docking-Berechnungen potentielle Inhibitoren ermitteln. Diese Berechnungen stellten die Grundlagen für die folgenden Synthesearbeiten.

Die Dockingstudien wurden mit dem Programm GOLD auf Basis genetischer Algorithmen durchgeführt. Pro Ligand wurden 10-30 Docking-Läufe mittels der Chemscore-Scoring-Funktion durchgeführt. Die Substanzen, die in ihrem besten Lauf einen Chemscore zwischen 44 und 46 aufwiesen, wurden als potentielle Inhibitoren festgehalten und *in-silico* weiterentwickelt.

Die Bindetasche in Elongin-C besteht aus zwei lipophilen Zentren, die von Tyrosin-50 als Trennwand getrennt werden. Das erste Zentrum (Darstellung mit gelb-markierten Aminosäuren) wird von Cystein-86, Alanin-81, Valin-47, Leucin-77, Phenylalanin-67, Isoleucin-69 und Tyrosin-50 (Trennwand) aufgespannt. Das zweite Zentrum (Darstellung mit orange-markierten Aminosäuren) bilden Isoleucin-64, Tyrosin-57, Threonin-56, Lysin-54, Tyrosin-53 und Thyrosin-50 (Trennwand). Abbildung 4.0 macht die Bindetasche mit den beiden beschriebenen lipophilen Zentren deutlich.

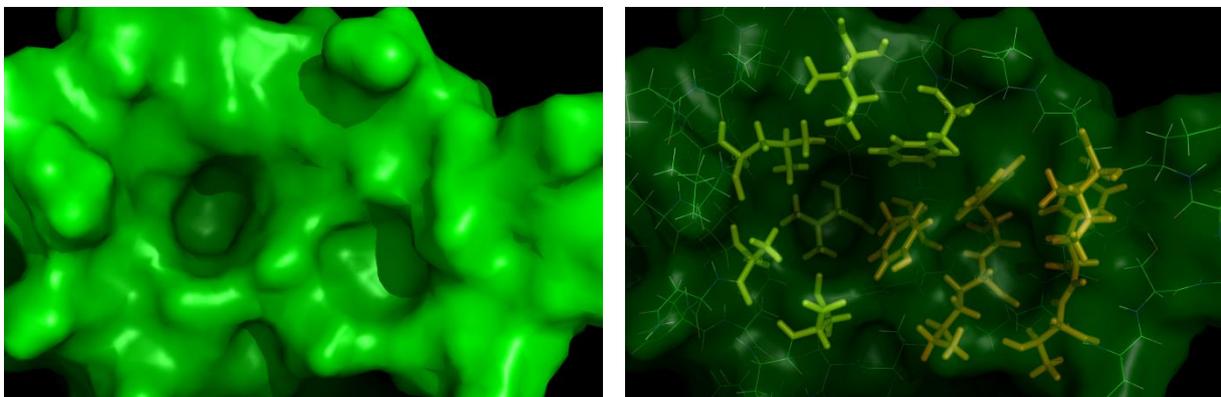


Abb. 4.0: Links: Blick von oben auf die Bindetasche in Elongin-C ohne Darstellung der Aminosäuren; Rechts: Gleiche Blickrichtung, mit Sicht auf die Aminosäuren

In folgenden Abbildungen sind die Ergebnisse der ersten Dockingstudien dargestellt. Abbildung 4.1 bis Abbildung 4.8 zeigen Substanzen, die nach Docking-Berechnungen potentielle Inhibitoren darstellen und aufgrund dessen im Rahmen dieser Promotionsarbeit synthetisiert wurden. Den meisten der Substanzen dieser ersten Generation liegen folgende Wechselwirkungen mit den Aminosäuren der Bindestelle zugrunde:

- Wechselwirkung zwischen einem Protonenakzeptor im Inhibitor mit der phenolischen Hydroxygruppe von Tyrosin-50 von Elongin-C
- Wechselwirkung zwischen einem Protonenakzeptor im Inhibitor mit der phenolischen Hydroxygruppe von Tyrosin-53 von Elongin-C
- Wechselwirkung zwischen einem lipophilen Fragment des Inhibitors mit dem phenolischen Benzolring von Tyrosin-50
- Van-der-Waals-Wechselwirkungen der hydrophoben Enden der Inhibitoren mit den beiden großflächigen hydrophoben Bindezentren der Bindestelle
- Zusätzlich treten bei verschiedenen Substanzen weitere spezifische Wechselwirkungen mit Aminosäuren der Bindestelle auf

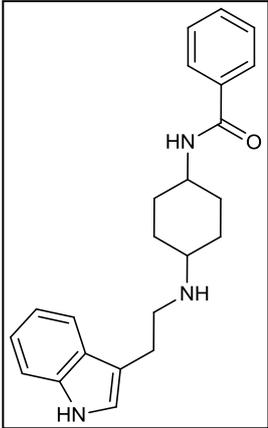
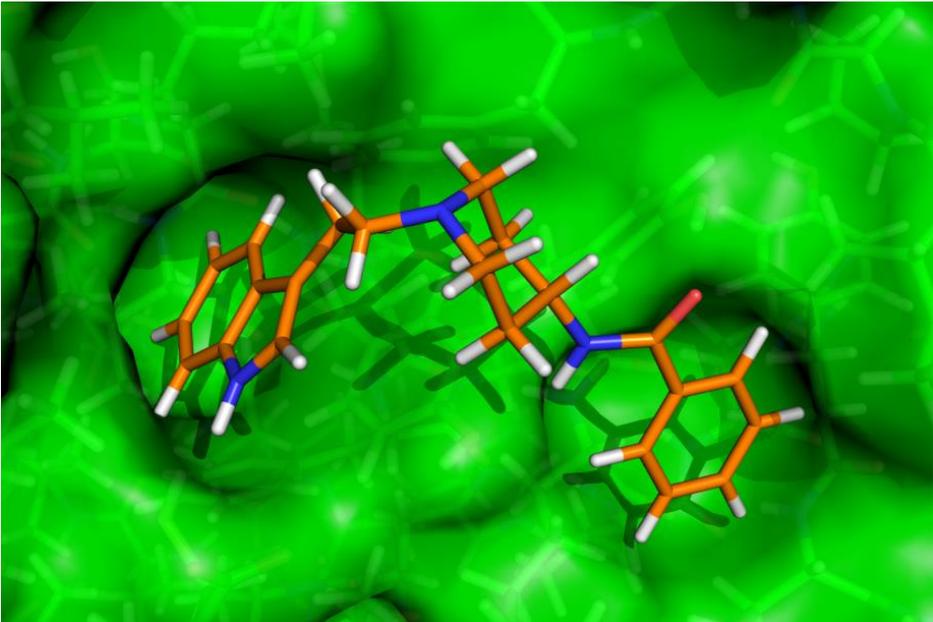


Abb. 4.1: Bindemodus (links) und Struktur von FM141 (rechts)

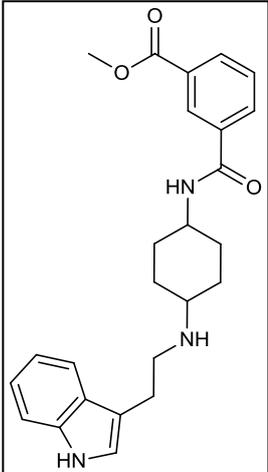
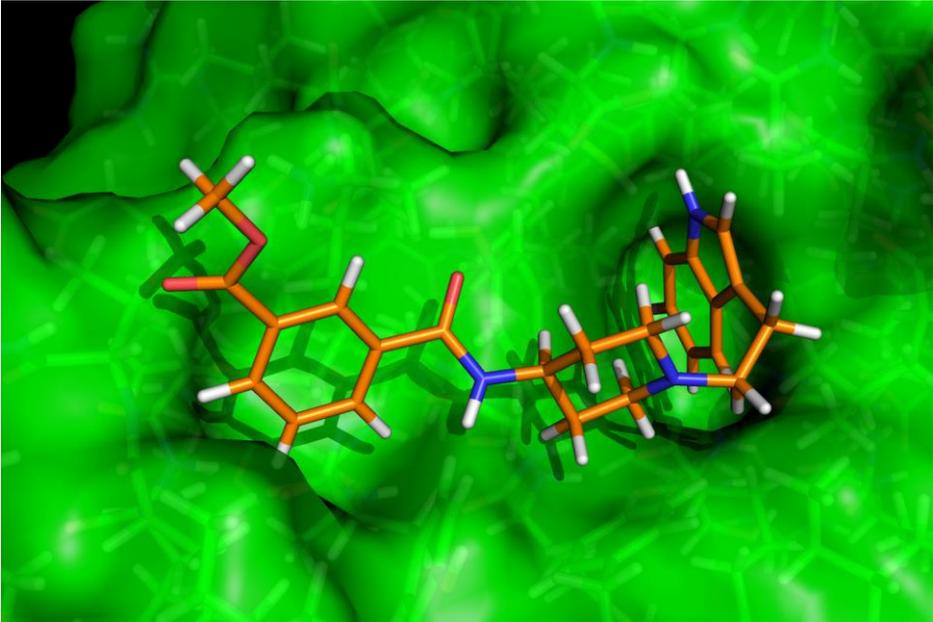


Abb. 4.2: Bindemodus (links) und Struktur von FM149 (rechts)

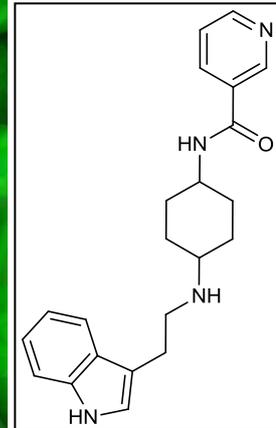
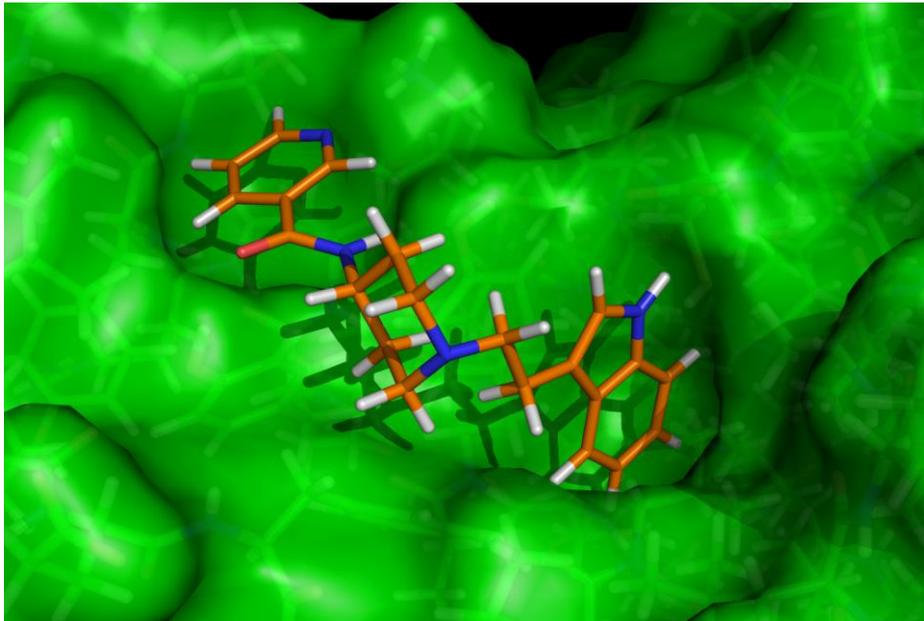


Abb. 4.3: Bindemodus (links) und Struktur von FM156 (rechts)

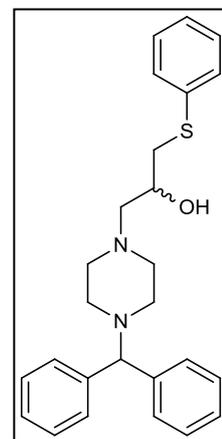
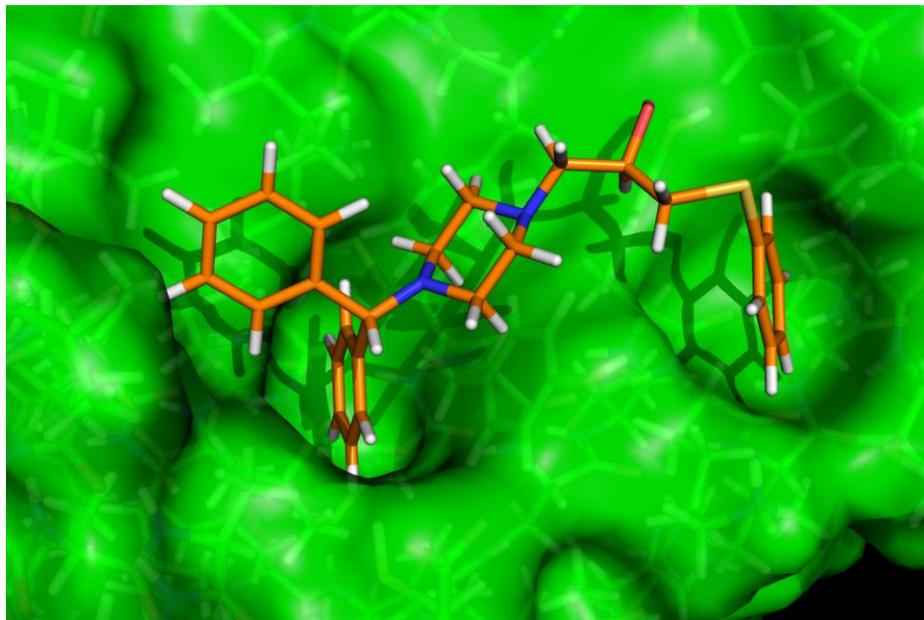


Abb. 4.4: Bindemodus (links) und Struktur von FM166 (rechts)

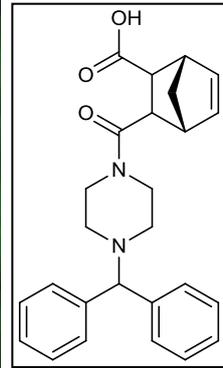
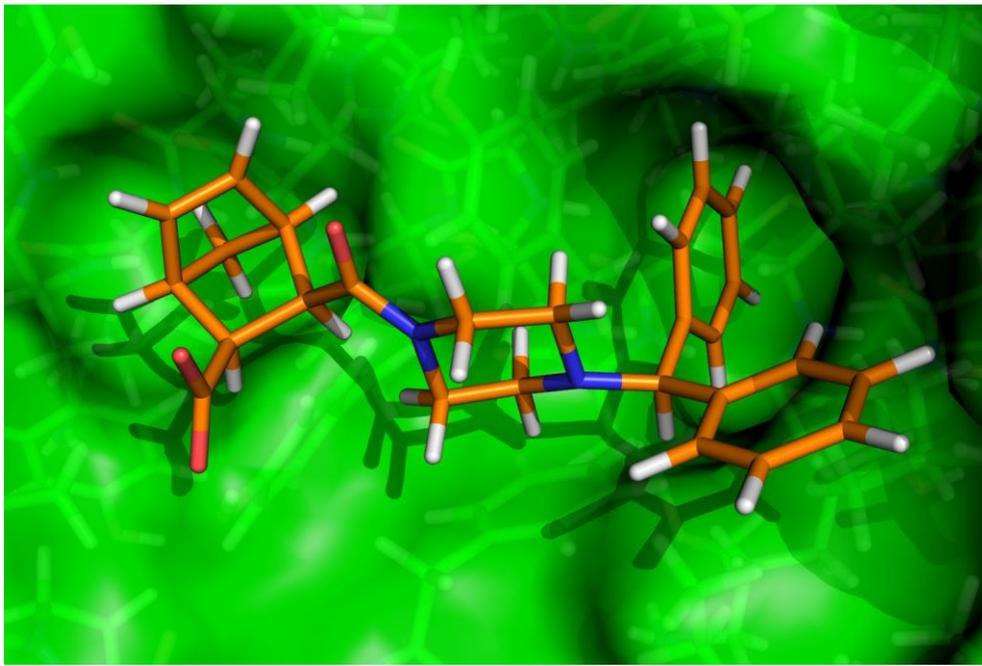


Abb. 4.5: Bindemodus (links) und Struktur von FM169 (rechts)

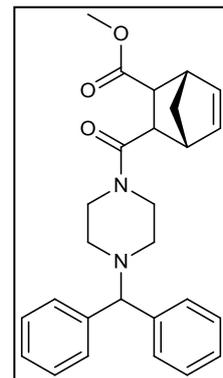
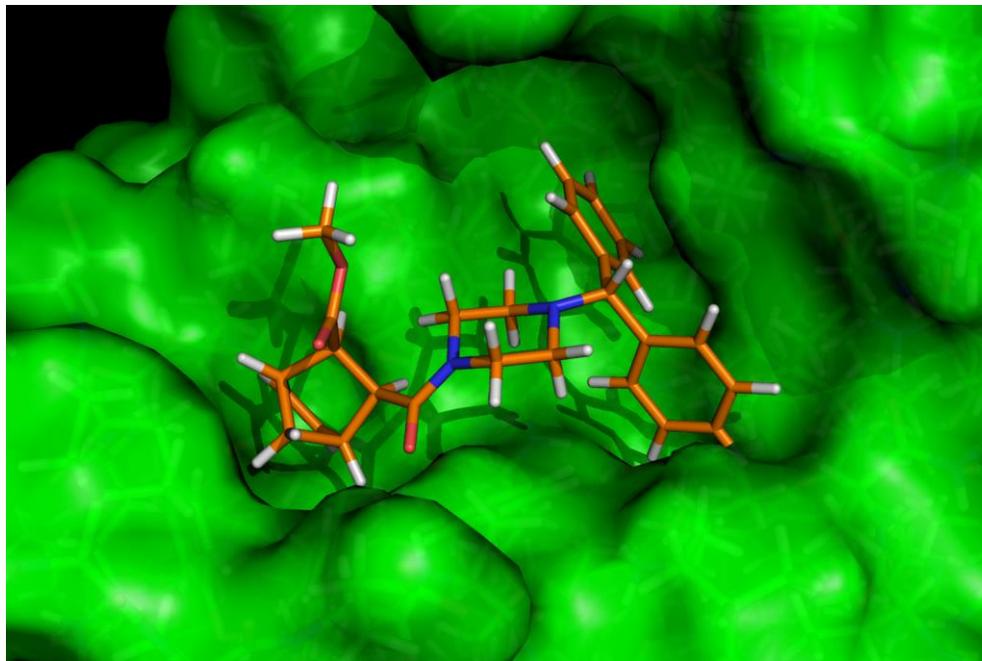


Abb. 4.6: Bindemodus (links) und Struktur von FM180 (rechts)

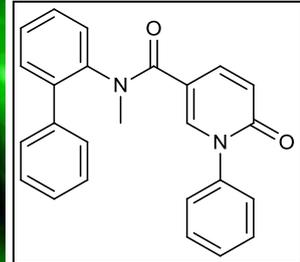
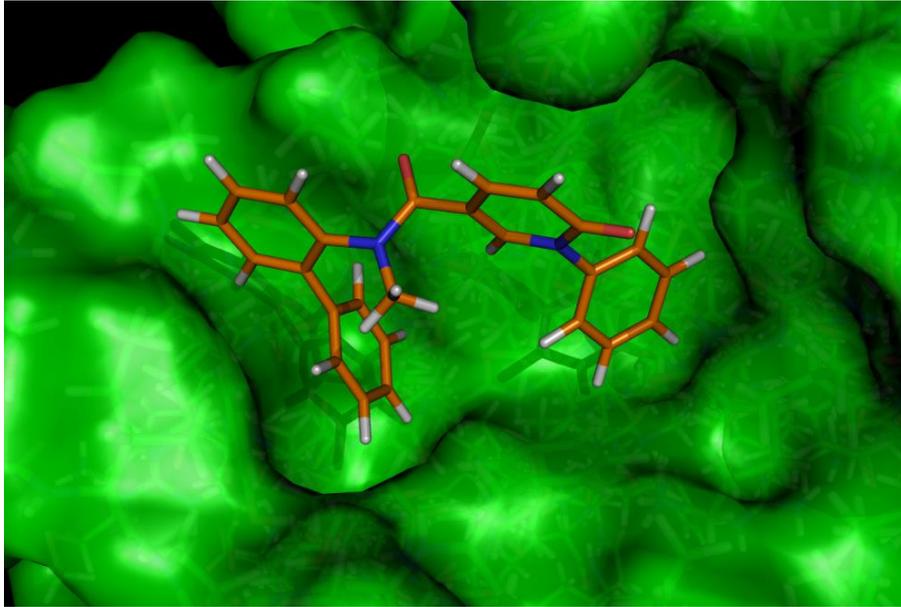


Abb. 4.7: Bindemodus (links) und Struktur von FM173 (rechts)

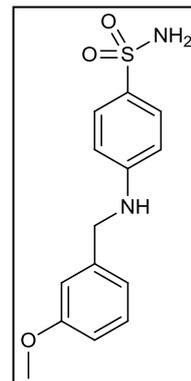
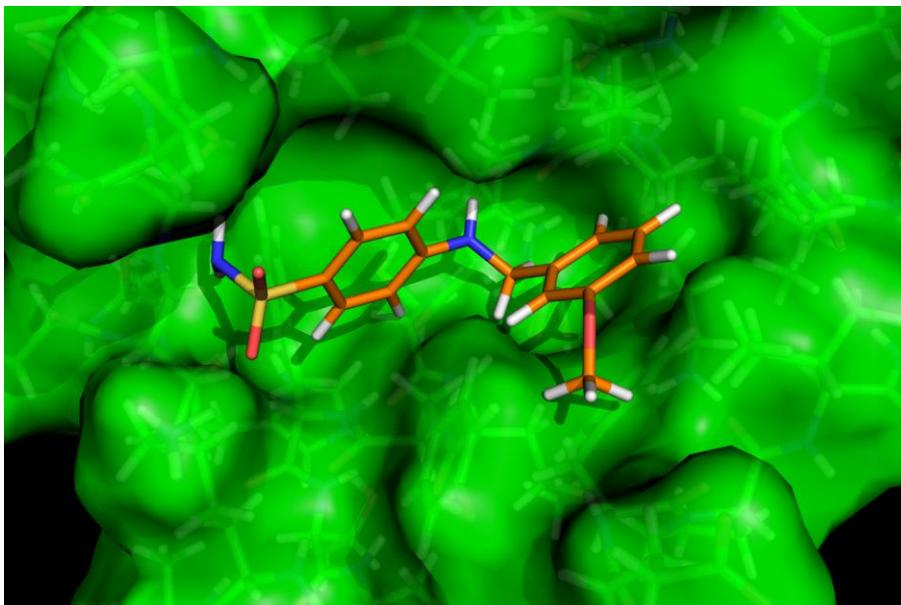
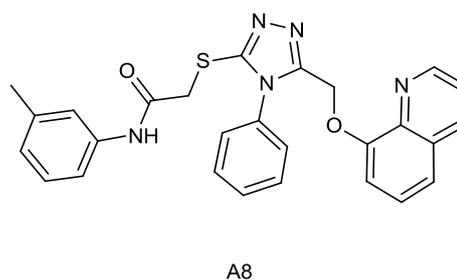
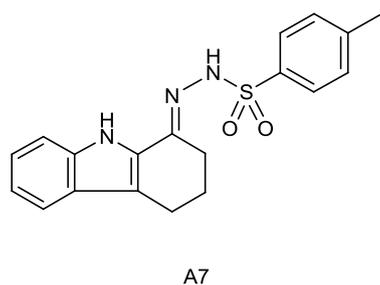
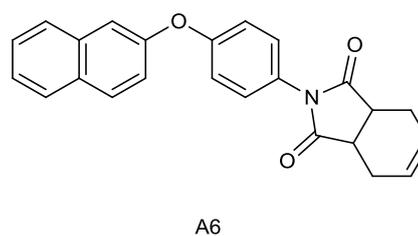
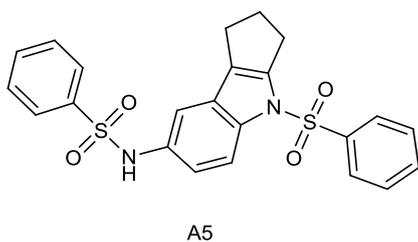
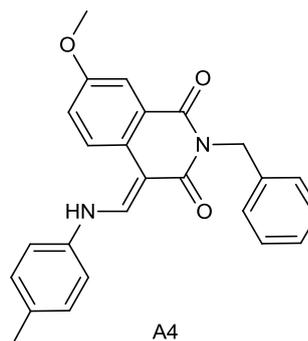
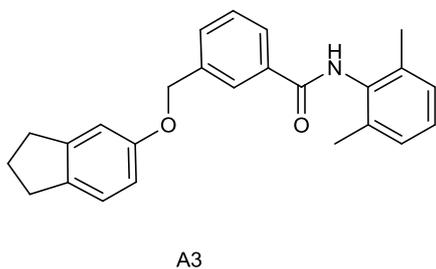
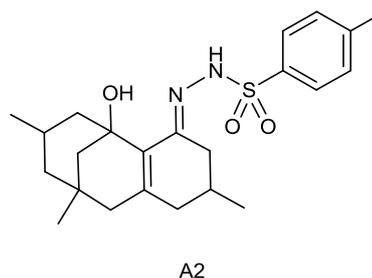
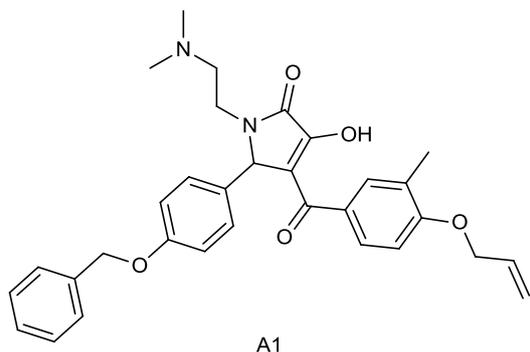
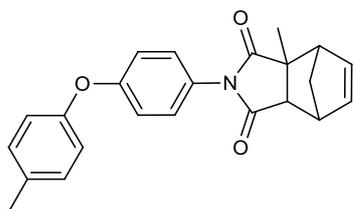


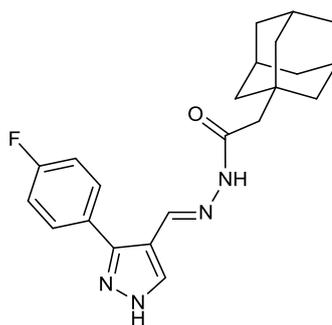
Abb. 4.8: Bindemodus (links) und Struktur von FM175 (rechts)

Zusätzlich zu den bisher vorgestellten Substanzen ergaben sich aus den Docking-Berechnungen eine Reihe weiterer Moleküle als potentielle Inhibitoren. Diese sind kommerziell erhältlich und mussten daher nicht selbst dargestellt werden. Die folgende Abbildung gibt eine Übersicht über die kommerziell erworbenen Substanzen.

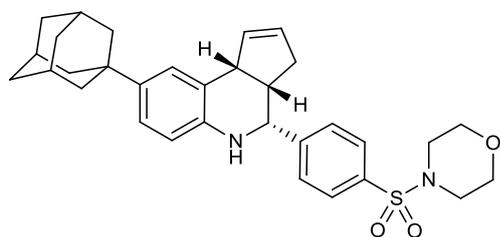




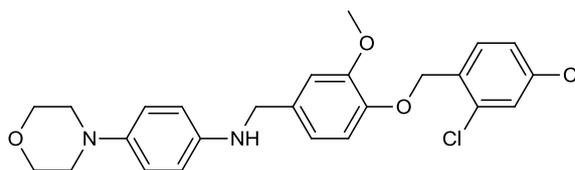
A9



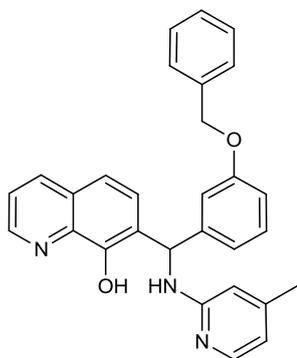
A10



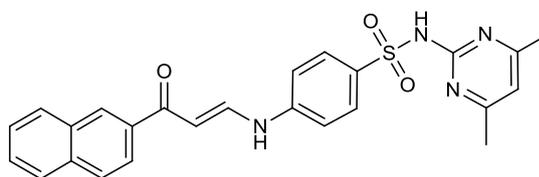
A11



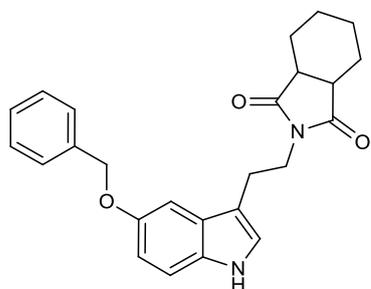
A12



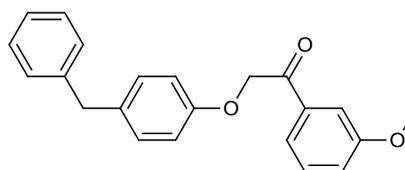
A13



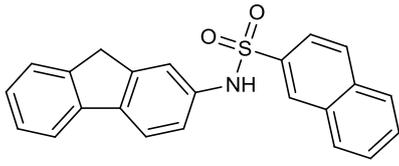
A14



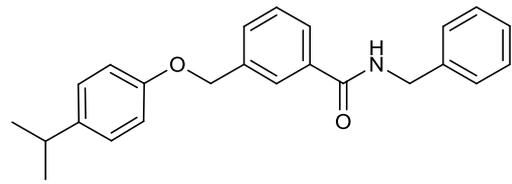
A15



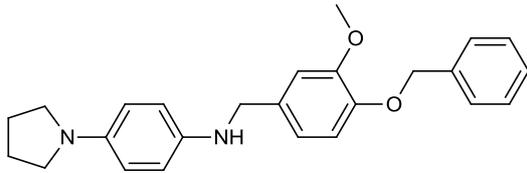
A16



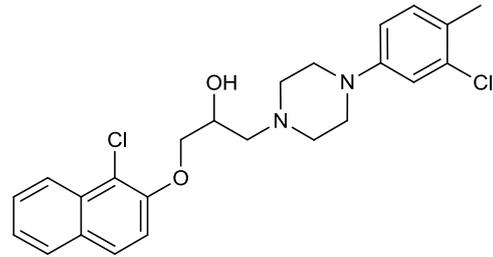
A17



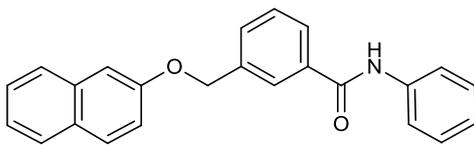
A18



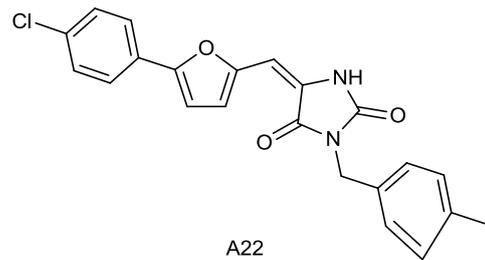
A19



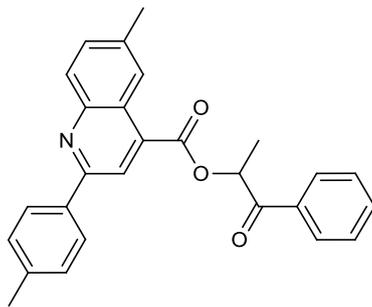
A20



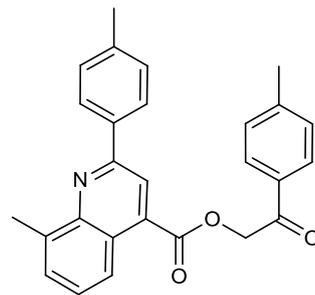
A21



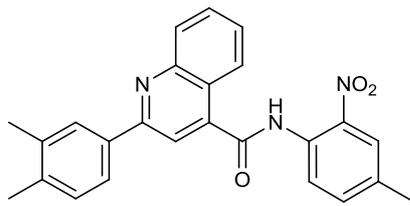
A22



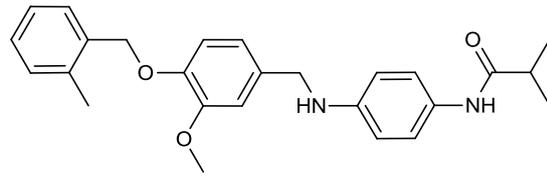
A23



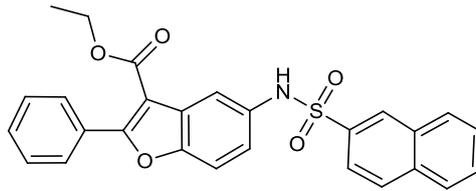
A24



A25



A26



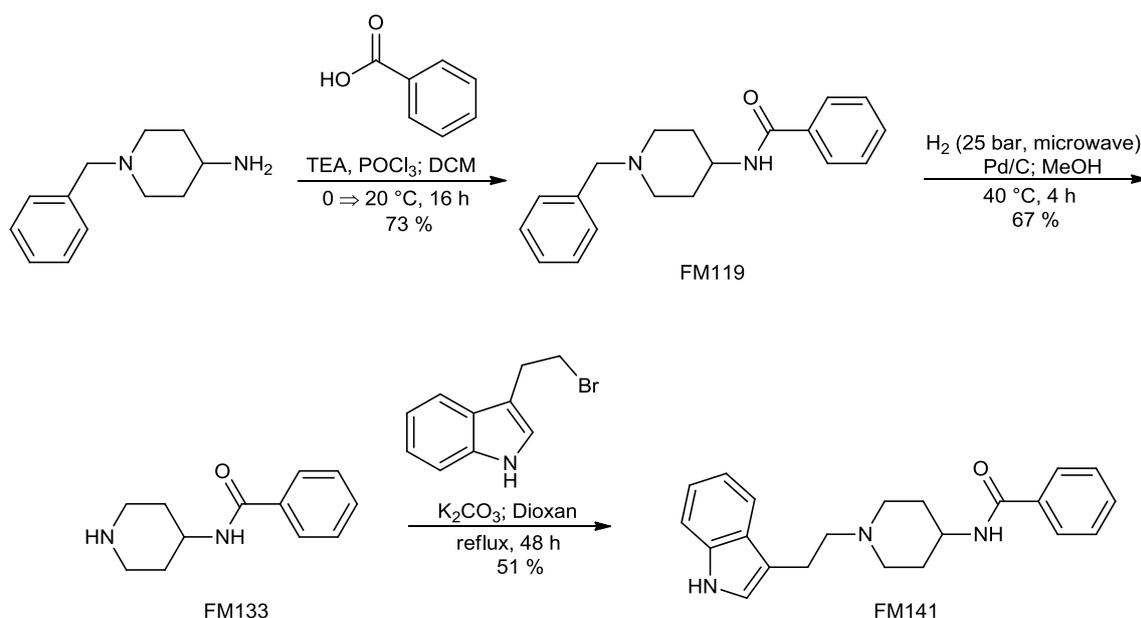
A27

Abb. 4.9: Übersicht über kommerziell erworbene potentielle Elongin-C-Inhibitoren

Synthesen

Inhibitoren basierend auf einem Indol-Grundgerüst

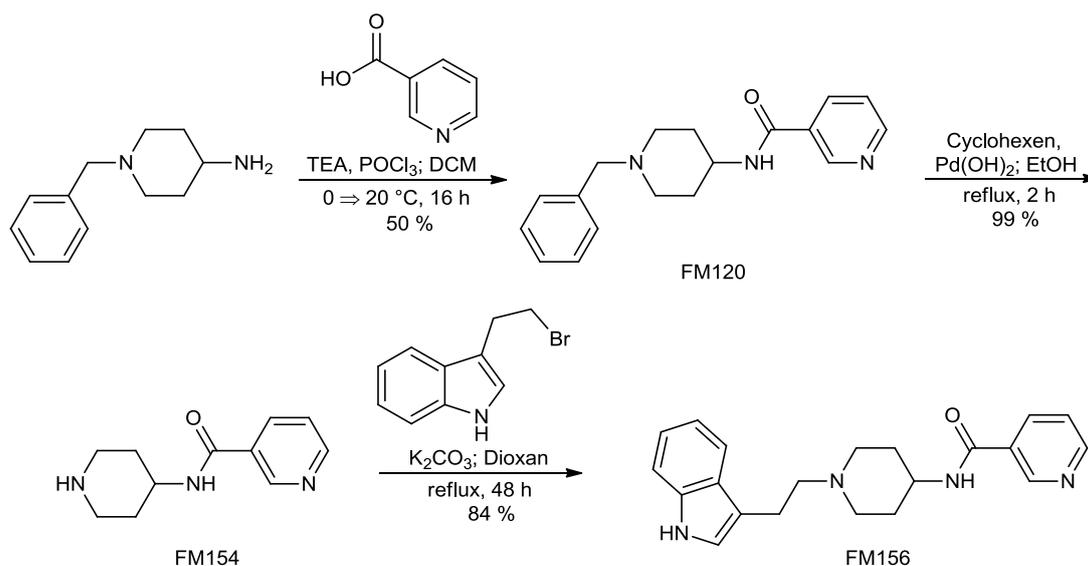
Die drei auf einem Indolgerüst basierenden Inhibitoren (siehe Abbildung 4.1, 4.2 und 4.3) wurden nach verschiedenen Syntheserouten dargestellt. In Schema 4.1 ist die Darstellung von FM141 abgebildet.



Schema 4.1: Syntheseroute von FM141

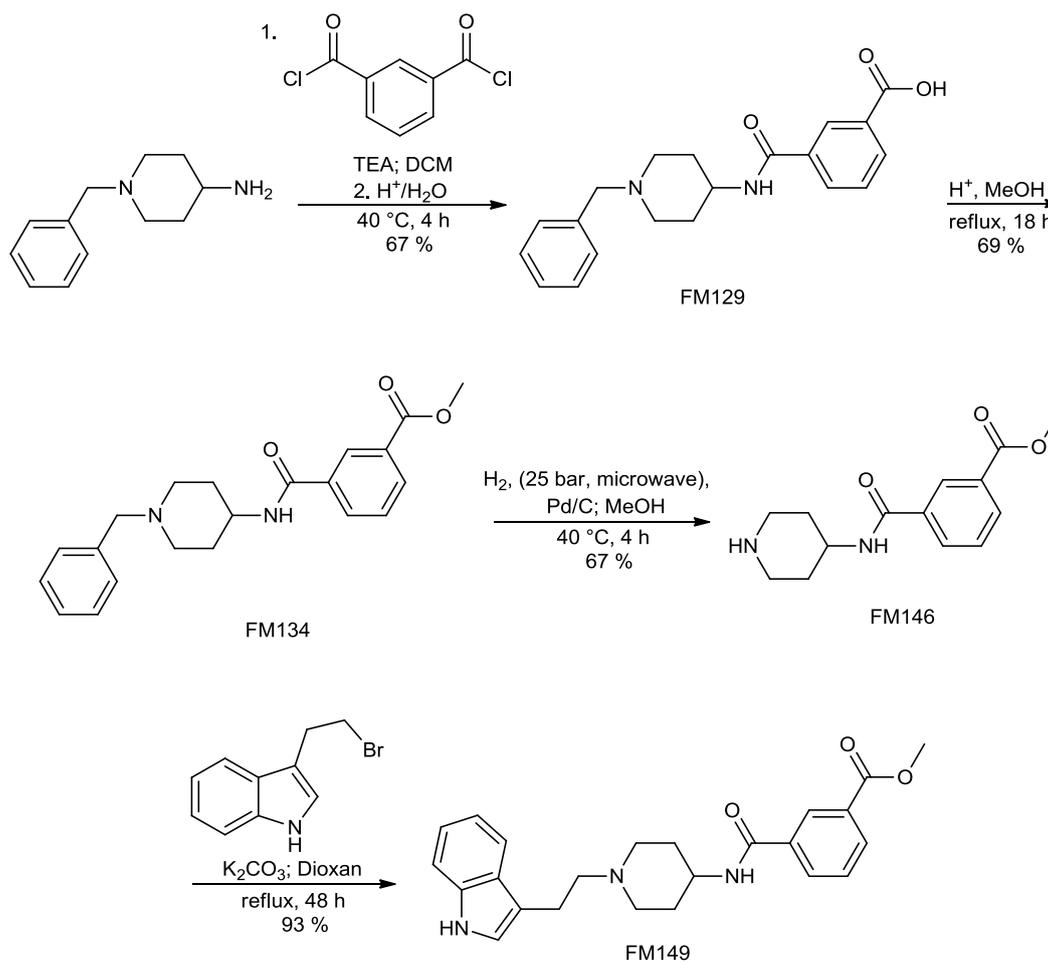
Das Benzyl-geschützte Piperidinyl-4-amin wird im ersten Schritt über Phosphorylchlorid als Kupplungsreagenz mit Benzoesäure zum Amid FM119 umgesetzt. Nach hydrogenolytischer Abspaltung der Benzylschutzgruppe reagiert das entstandene Amin mit dem bromierten Indol-Derivat in einer nucleophilen Substitutionsreaktion zum Produkt FM141.

Die Darstellung von FM156 verlief in ähnlicher Weise. Der wesentliche Unterschied besteht jedoch im zweiten Schritt, der Abspaltung der Benzylschutzgruppe. Bei allen Variationen von Druck, Temperatur und Katalysator wurde stets neben der Abspaltung der Benzylgruppe auch der Pyridinring zu Piperidin reduziert. Erst bei der Verwendung von Cyclohexen, Ethanol und Palladiumhydroxid als Katalysator konnte die Schutzgruppe selektiv unter Erhalt des aromatischen Pyridinrings abgespalten werden. Die beiden anderen Schritte sind, bis auf den Einsatz von Nicotinsäure statt Benzoesäure, identisch mit denen der Synthese von FM141.



Schema 4.2: Darstellung vom FM156

FM149 wurde wiederum nach einem anderen Synthesepfad dargestellt (Schema 4.3).



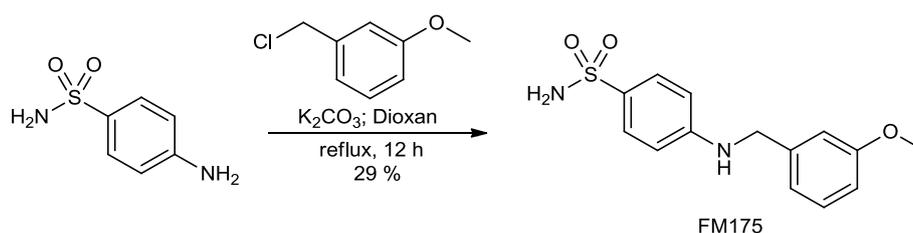
Schema 4.3: Syntheseroute von FM149

Durchführung und Diskussion

Im ersten Schritt wird keine Carbonsäure als Edukt eingesetzt, sondern das bereits aktivierte Isophthalsäuredichlorid. Um die doppelte Reaktion desamins mit dem Säuredichlorid zu vermeiden, muss dieses im Überschuss vorgelegt und dazu das Amin langsam zugetropft werden. Nach saurer wässriger Aufarbeitung entsteht im Anschluss die Carbonsäure FM129, die in einer säurekatalysierten Veresterung in den Carbonsäureester FM134 überführt wird. Die Benzyl-Schutzgruppe wird hydrogenolytisch entfernt und das entstandene Amin mit dem bromierten Indol-Derivat zu FM149 umgesetzt.

Ein Sulfonamid-Derivat als Inhibitor

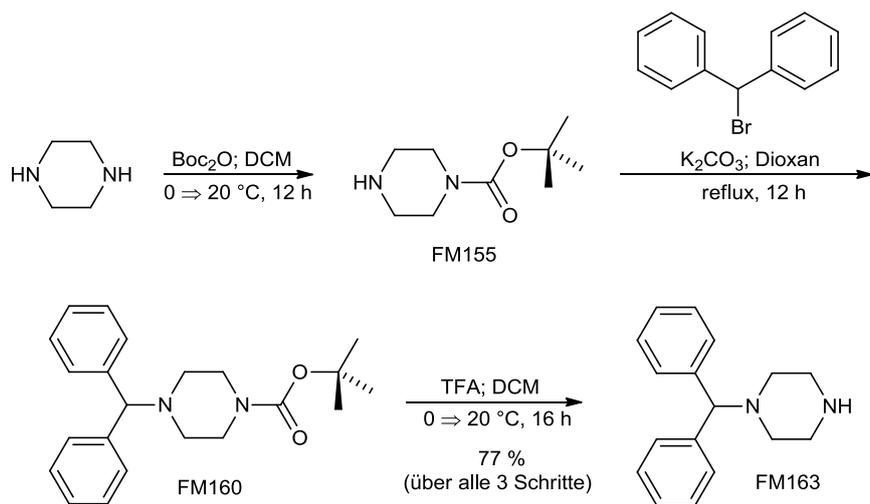
Das Sulfonamid FM175 konnte in einer Einstufensynthese hergestellt werden (Schema 4.4). Dazu wird das 4-Aminobenzolsulfonamid direkt mit dem Chloralkan vorgelegt und zum Sieden erhitzt. Um die entstehende Salzsäure abzufangen wird der Reaktionslösung Kaliumcarbonat beigelegt.



Schema 4.4: Darstellung des Sulfonamids FM175

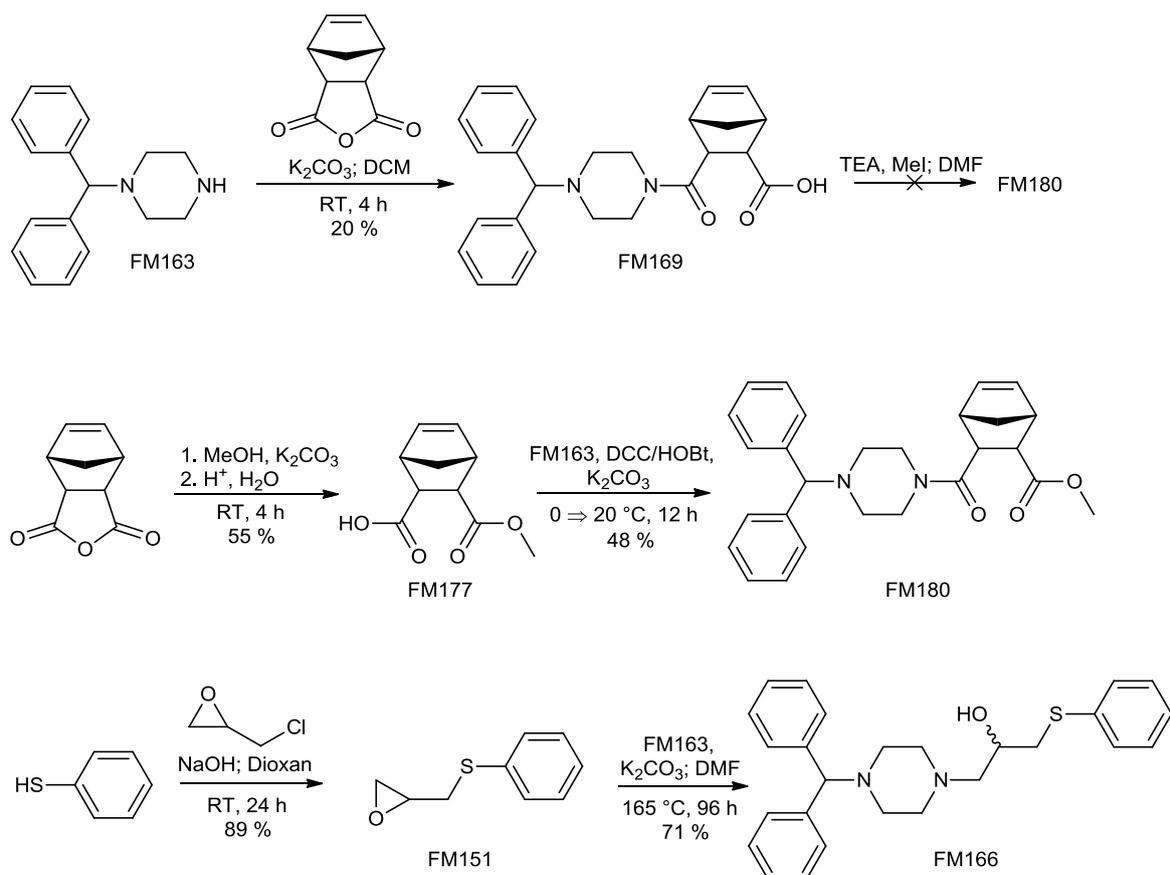
Inhibitoren basierend auf einem Piperazin-Grundgerüst

Allen folgenden Piperazin-Derivaten FM169, FM166 und FM180 liegt das gleiche Piperazin-gerüst FM163 zugrunde. Dessen Synthese wird in folgendem Schema erläutert (Schema 4.5). Im ersten Schritt wird das Diamin auf einer Seite mit einer Boc-Schutzgruppe geschützt. Entscheidend bei der Herstellung diesesamins ist, dass das Diamin im Überschuss vorgelegt und anschließend Di-*tert*-butyldicarbonat langsam zugetropft wird. So kann eine doppelte Addition vermieden werden. Anschließend wird das Amin FM155 mit Diphenylbrommethan umgesetzt und die Boc-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure wieder entfernt. Bei allen Schritten wird auf eine Aufreinigung verzichtet und stets das Rohprodukt umgesetzt. Es wird eine Ausbeute von 77 % über alle drei Schritte erreicht.



Schema 4.5: Synthese des Piperazingrundgerüsts

Mit diesem synthetisierten Grundbaustein können nun die Zielmoleküle in wenigen weiteren Stufen dargestellt werden (Schema 4.6).



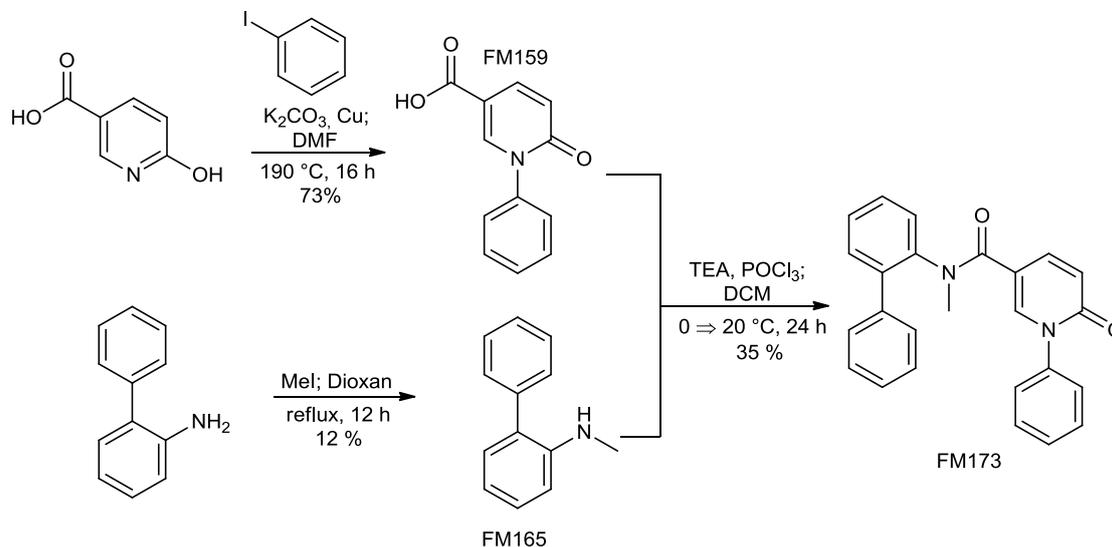
Schema 4.6: Syntheserouten unter Verwendung von FM163

Durchführung und Diskussion

Die Carbonsäure FM169 wird in einer Stufe aus der Umsetzung von FM163 mit Nadicanhydrid gewonnen. Dieses sollte wie in Schema 4.6 ersichtlich weiter mit Triethylamin und Methyljodid zu FM180 umgesetzt werden. Leider zeigte sich in diesem Versuchsaufbau keinerlei Umsetzung, weshalb für die Darstellung von FM180 eine andere Route eingeschlagen werden musste. Dabei wird die Anhydrid-Funktion des Nadicanhydrids in einem vorgeschobenen Schritt unter der Verwendung von Methanol als Nucleophil angegriffen und damit die Carbonsäure FM177 gebildet. Diese wird mit DCC/HOBt als Kupplungsreagenzien aktiviert und mit FM163 zum Amid FM180 umgesetzt. Auch FM166 wird unter Verwendung des Grundbausteins FM163 dargestellt. Dazu wird vorab Thiophenol mit 2-(Chloromethyl)oxiran zu FM151 umgesetzt. Unter Aufspaltung des Oxiranrings reagiert dieses als Elektrophil und wird im finalen Schritt von FM163 nucleophil angegriffen. Daraus entsteht Zielmolekül FM166 als Racemat.

Synthese des *N*-Phenylpyridin-2-on-Derivates FM173

FM173 konnte in einer Dreistufensynthese hergestellt werden (Schema 4.7).



Schema 4.7: Synthesepfad von FM173

Im ersten Reaktionsschritt reagiert 6-Hydroxynicotinsäure in Gegenwart der Base Kaliumcarbonat und Kupferpulver mit Benzyljodid bei hohen Temperaturen zum *N*-Phenylpyridin-2-on-Derivat FM159. Zusätzlich wird in einer anderen Reaktion das Amin FM165 durch einfache Methylierung von [1,1'-Biphenyl]-2-amin dargestellt. Werden diese

Durchführung und Diskussion

beiden Vorstufen unter Zugabe von einem Aktivierungsreagenz wie Phosphorylchlorid miteinander umgesetzt, ergibt sich das Zielmolekül FM173.

Testergebnisse

Zunächst wurde zur Bestimmung der Aktivität der Hemmstoffe der Elongin-C-*vif*-Interaktion ein zellulärer Assay verwendet. Das Testverfahren wurde von Dr. Boris Nowotny aus der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Axel Rethwilm, Institut für Virologie und Immunbiologie, Würzburg im Rahmen seiner Promotionsarbeit entwickelt und durchgeführt.

Testverfahren 1: Testung auf *vif*-Elongin-C-Interaktionshemmung durch Messung des APOBEC3G-Abbaus mittels des 293-*vif*-Tet-Off/EYFP-A3G-Assay

Abbildung 4.10 zeigt den schematischen Aufbau des Testverfahrens. Es werden *vif*-exprimierende Zellen einer HEK293T-Zelllinie verwendet, wobei die Expression von *vif* über die Zugabe des Tetracyclin-Antibiotikums Doxycyclin (Dox) gesteuert werden kann. Wird das Antibiotikum dazugegeben, ist die Expression von *vif* unterbunden, in Abwesenheit von Dox wird *vif* maximal exprimiert.

Die Fluoreszenzemission wurde an einem Safire²-Semi-HTS-Fluoreszenzspektrometer der Firma *TECAN* gemessen. Als Lichtquelle dienten hierbei Leuchtdioden, die Fluoreszenzdetektion erfolgte mit einem low-dark-current-Photomultiplier. Die Wellenlänge des eingestrahlichten Lichtes und diejenige des Fluoreszenzlichtes betragen 510 bzw. 535 nm.

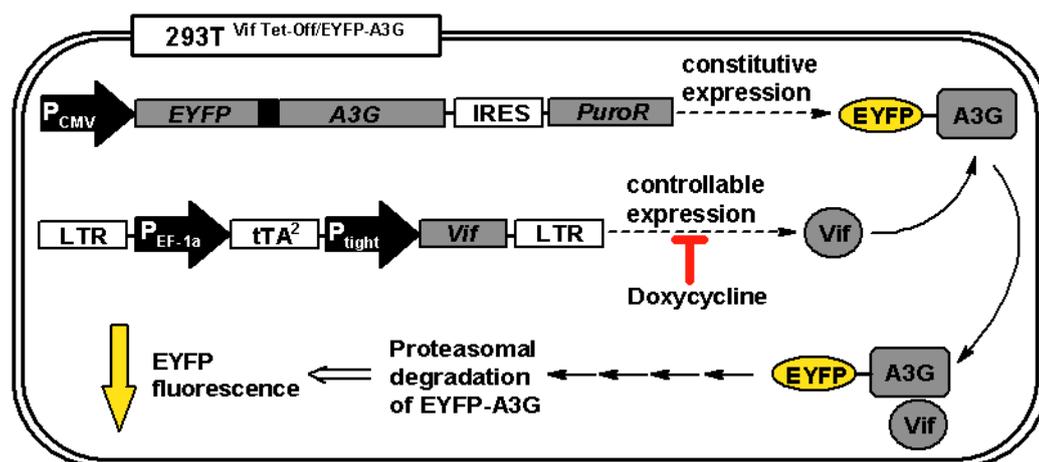


Abb. 4.10: 293-*vif*-Tet-Off/EYFP-A3G-Assay; Quelle: Siehe Quellenverzeichnis, Copyright eingeholt

Tritt *vif* in Interaktion mit dem gelb fluoreszierenden Protein EYFP-A3G (enhanced yellow fluorescent protein-APOBEC3G) wird EYFP-A3G durch das Proteasom abgebaut und verliert somit seine Fluoreszenzeigenschaft.^[42] Dieser Sachverhalt kann genutzt werden, um, abhängig von der Stärke der emittierten Fluoreszenzstrahlung, die Hemmung von Substanzen auf den APOBEC3G-Abbau aufzuzeigen. Wird in der Zelle einerseits *vif* exprimiert, andererseits diese aber auch mit einem Inhibitor versetzt, so unterbindet der Inhibitor die Interaktion zwischen *vif* und Elongin-C, was zur Folge hat, dass APOBEC3G nicht mehr abgebaut wird und somit die Fluoreszenz in Abhängigkeit von der Affinität des Inhibitors aufrecht erhalten bleibt. Inhibitoren mit hoher Affinität ergeben eine starke Fluoreszenz, Substanzen mit niedriger Affinität eine schwache Fluoreszenz. Dieser Sachverhalt ist in Abbildung 4.11 nochmals graphisch dargestellt.

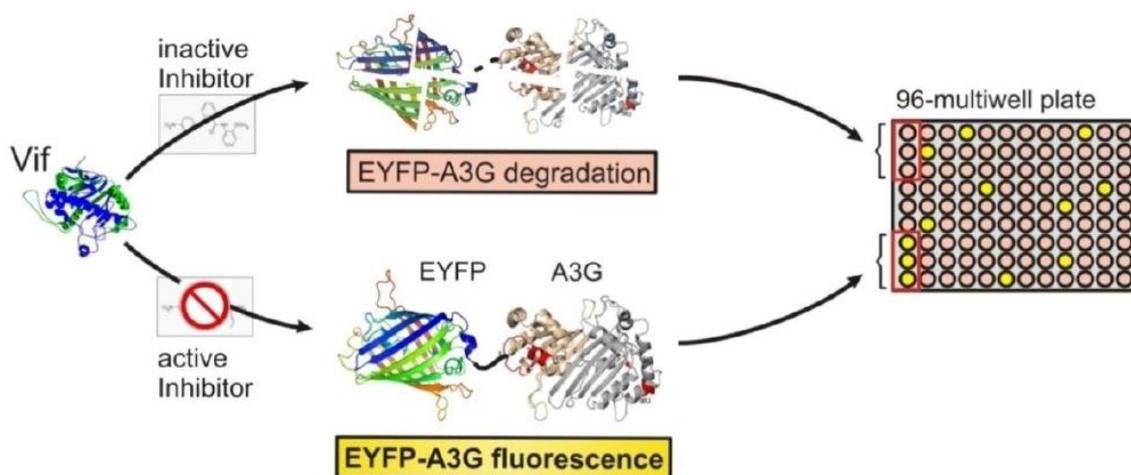


Abb. 4.11: Graphische Darstellung des Testverfahrens (EYFP-A3G = fluoreszierendes Fusionsprotein aus EYFP und APOBEC3G“); Quelle: siehe Quellenverzeichnis, Copyright eingeholt

Testverfahren 2: Testung auf Toxizität mittels MTT-Assay

Bei diesem Test wird die Toxizität von Substanzen gegenüber lebenden Zellen getestet. Dazu werden Zellen mit der zu testenden Substanz und dem gelben Farbstoff MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid) versetzt. Vitale Zellen reduzieren MTT zu einem blau-violetten wasserunlöslichen Formazan. Für diese Reduktion werden zum

Durchführung und Diskussion

einen die Cofaktoren NADH und NADPH benötigt, andererseits aber auch Enzyme des Endoplasmatischen Retikulums. Umso höher der Anteil des blau-violetten Formazans, desto weniger toxisch wirkt die Testsubstanz auf die Zellen.

Durchführung und Diskussion

Die hergestellten potentiellen *vif*-Elongin-C-Inhibitoren wurden mittels des *293T-vif-Tet-Off/EYFP-A3G*-Assays auf Hemmung des APOBEC3G-Abbaus getestet (links). Die Tests erfolgen bei acht verschiedenen Konzentrationen (6, 9, 13, 20, 30, 44, 67 und 100 μM). Um den Tests Aussagekraft zu verleihen, wurden zusätzlich zwei weitere Vergleichswerte gemessen: „+ Dox“ entspricht einer weiteren Messung, bei der weder *vif* noch Inhibitor der Testzelle zur Verfügung stehen. Damit steht „+ Dox“ für die maximale APOBEC3G-Konzentration. Diesen Wert gilt es mit einem Inhibitor zu erreichen. „- Dox“ steht für die Anwesenheit von *vif* ohne Inhibitor. Hier wird also der Minimalwert der APOBEC3G-Konzentration angegeben.

Neben den Graphen für die APOBEC3G-Konzentration ist ein Weiterer zu finden. Jede Substanz wurde auch auf Cytotoxizität (rechts) getestet. Es wurden hier die gleichen Substanzkonzentrationen wie auch beim *293T-vif-Tet-Off/EYFP-A3G*-Assays verwendet. Umso mehr sich die Werte der verschiedenen Substanzkonzentrationen den Referenzwerten („+ Dox“ und „- Dox“; in diesem Fall gleiche Werte) annähern, desto weniger toxisch ist der potenzielle Inhibitor.

Inhibitoren basierend auf einem Indol-Grundgerüst

In den folgenden Abbildungen sind die Ergebnisse der auf einem Indol-Gerüst basierenden Inhibitoren gezeigt.

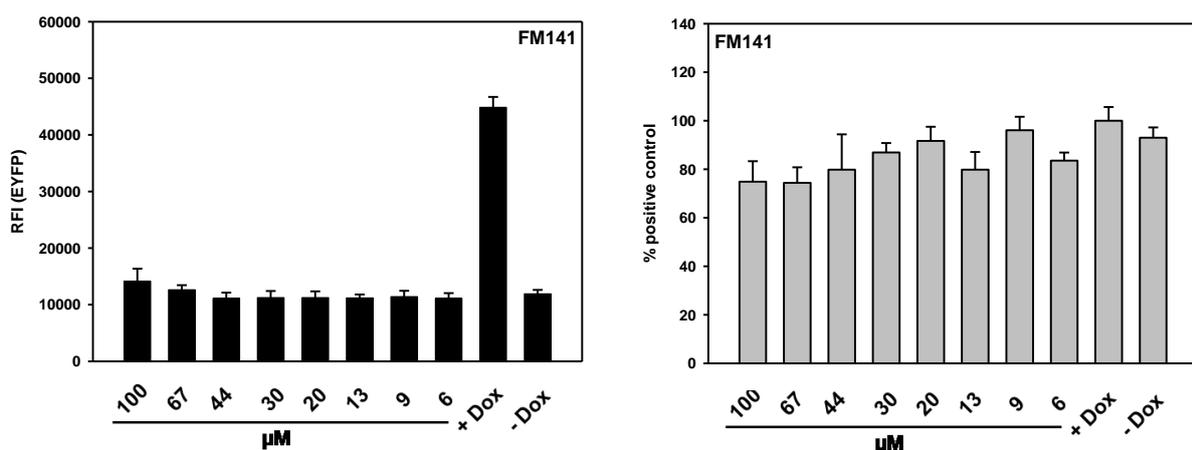


Abbildung 4.12: Testergebnisse von FM141: Links: Hemmung des APOBEC3G-Abbaus.

Rechts: Ergebnis des Cytotoxizitäts-Test

FM141 zeigt bei 100 und 67 μM nur ein geringes Potential zur Hemmung des APOBEC3G-Abbaus. Die Substanz ist in den getesteten Konzentrationen nicht cytotoxisch.

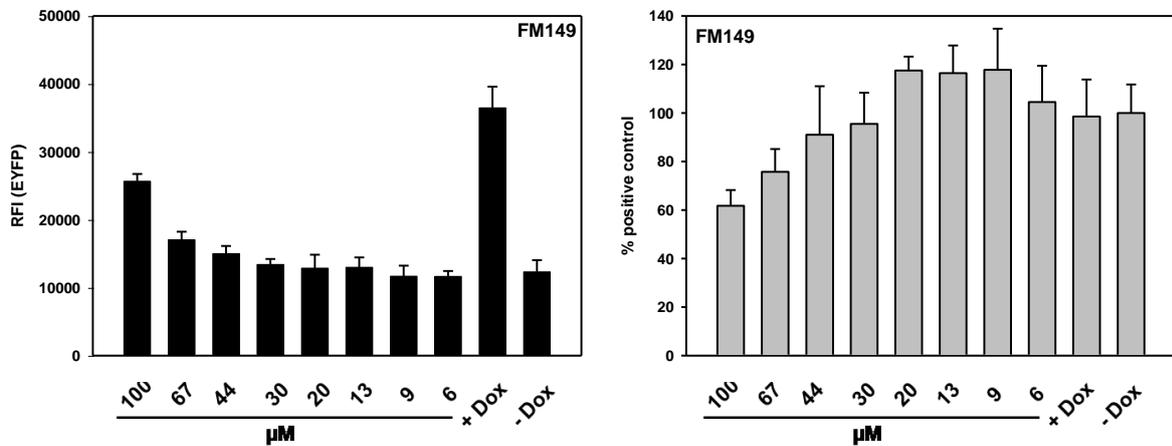


Abbildung 4.13: Testergebnisse von FM149: Links: Hemmung des APOBEC3G-Abbaus.

Rechts: Ergebnis des Cytotoxizitäts-Test

FM149 zeigt einen für einen schwachen Inhibitor typischen Kurvenverlauf. Bei einer Konzentration von 100 μM wird ca. die Hälfte des APOBEC3G-Abbaus gehemmt. Mit sinkender Konzentration lässt aber auch die Hemmleistung stark nach. Bei hohen Konzentrationen ist die Substanz leicht toxisch.

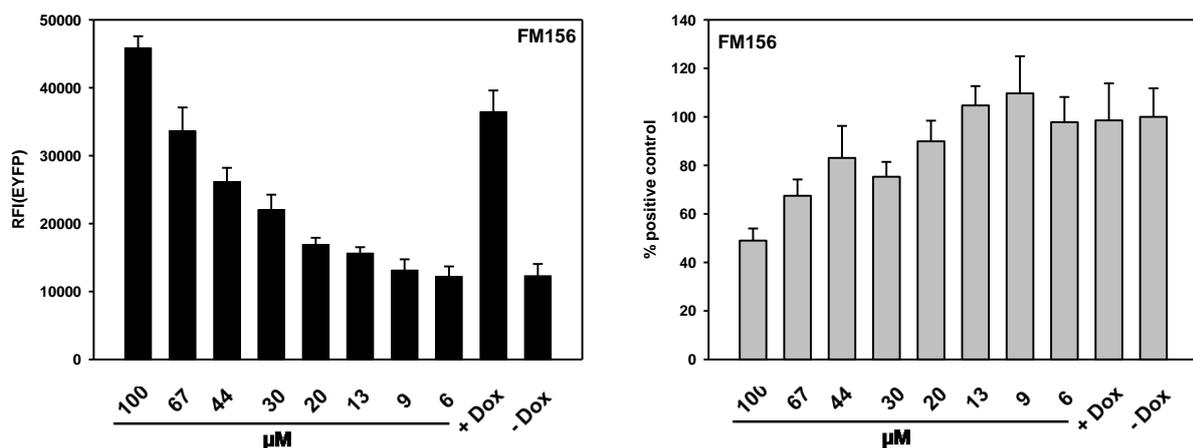


Abb. 4.14: Testergebnisse von FM156: Links: Hemmung des APOBEC3G-Abbaus. Rechts:

Ergebnis des Cytotoxizitäts-Test

FM156 zeigt als letzte der getesteten Substanzen mit Indol-Grundgerüst die beste Hemmung. Bei einer Konzentration von 44 μM wird noch ca. 50 % des Abbaus von APOBEC3G

gehemmt. Außerdem zeigt die Substanz bei diesem Wert nur eine sehr geringe Toxizität gegenüber der Testzelle. Um als Leitstruktur für weitere Untersuchungen dienen zu können ist die Hemmung allerdings noch nicht ausreichend.

Fazit: Alle synthetisierten Substanzen mit einem Indol-Grundgerüst wirken zwar kaum toxisch auf Zellen, eignen sich aber aufgrund ihrer schwach oder nicht vorhandenen Hemmung des APOBEC3G-Abbaus nicht als Inhibitoren der *vif*-Elongin-C-Interaktion.

Inhibitoren basierend auf einem Piperazin-Grundgerüst

In den folgenden Abbildungen sind die Ergebnisse der auf einem Piperazin-Gerüst basierenden Inhibitoren gezeigt.

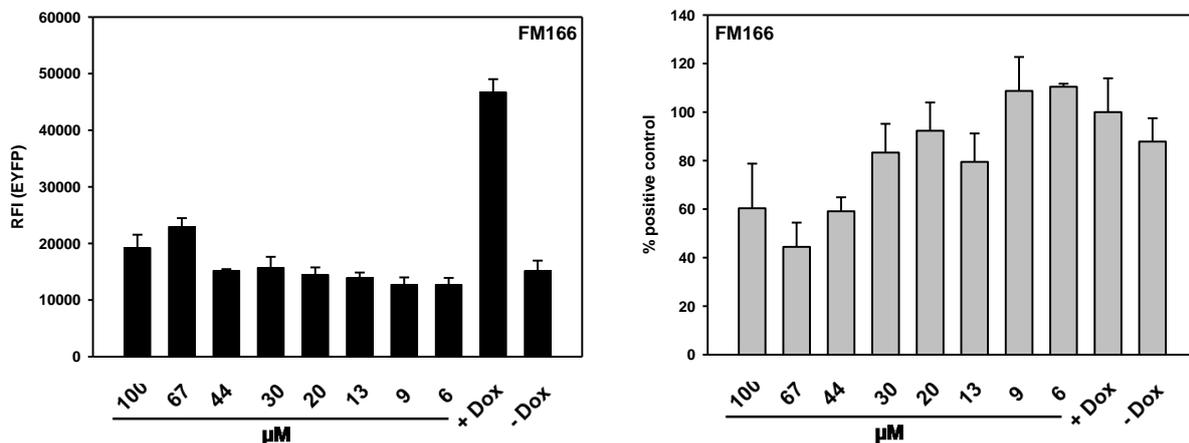


Abb. 4.15: Testergebnisse von FM166: Links: Hemmung des APOBEC3G-Abbaus. Rechts: Ergebnis des Cytotoxizitäts-Test

Als erster Vertreter von Inhibitoren der Piperazin-Klasse ist dieses Testergebnis wenig erfolgsversprechend. Kaum vorhandene Hemmung bei geringer Toxizität zeichnen die Substanz FM166 aus. Sie ist daher als potentieller Inhibitor nicht für eine Weiterentwicklung geeignet.

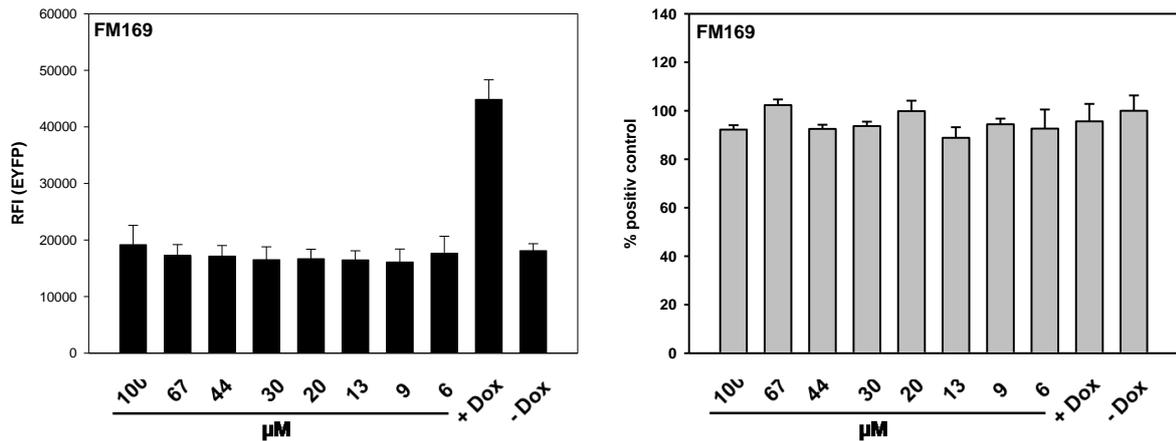


Abb. 4.16: Testergebnisse von FM169: Links: Hemmung des APOBEC3G-Abbaus. Rechts: Ergebnis des Cytotoxizitäts-Test

Auch FM169 eignet sich keinesfalls als Inhibitor. Selbst bei einer Konzentration von 100 µM ist keine Hemmung zu beobachten. Die Substanz wirkt nicht toxisch.

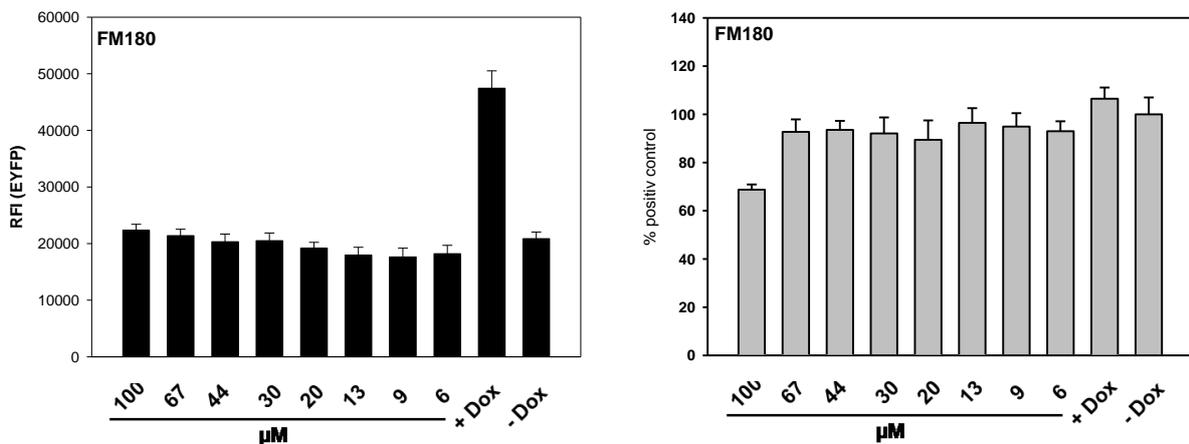


Abb. 4.17: Testergebnisse von FM180: Links: Hemmung des APOBEC3G-Abbaus. Rechts: Ergebnis des Cytotoxizitäts-Test

Wie seine Vorgänger der auf Piperazin-basierenden Substanzen weist auch FM180 keine positiven Ergebnisse auf. Offensichtlich typisch für diese Substanzklasse wirkt auch FM180 weder hemmend auf den APOBEC3G-Abbau noch ist sie toxisch.

Fazit: Keine der Substanzen hemmt den Abbau von APOBEG3G. Auch trotz der sehr geringen Toxizität sind die auf Piperazin-basierenden Substanzen nicht für eine Weiterentwicklung geeignet.

FM175: Inhibitor mit Sulfonamid-Gruppe

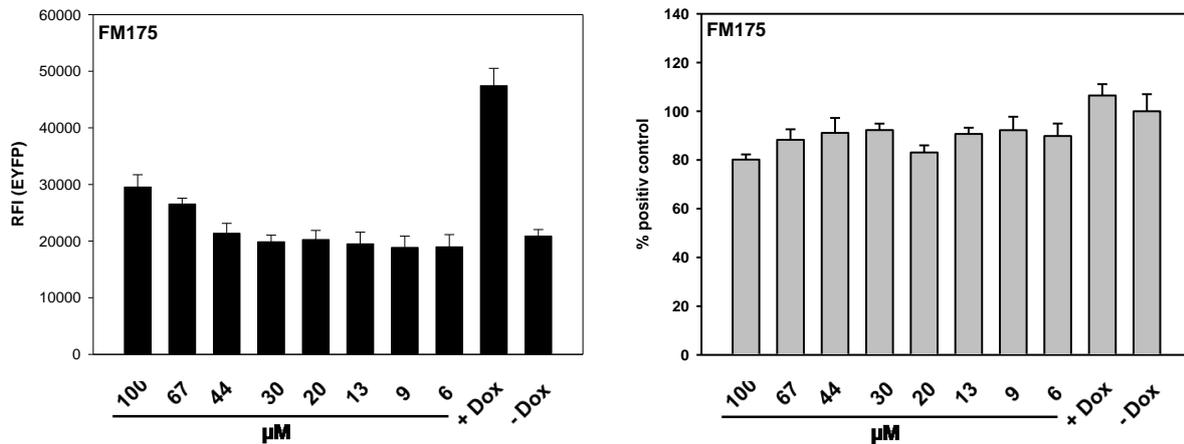


Abb. 4.18: Testergebnisse von FM175: Links: Hemmung des APOBEC3G-Abbaus. Rechts: Ergebnis des Cytotoxizitäts-Test

In Abbildung 4.18 sind die Ergebnisse von FM175 dargestellt. Er wirkt nicht toxisch und weist eine geringe Hemmung bei hohen Konzentrationen von 100 und 67 µM auf. Diese ist jedoch zu gering, als dass FM175 als Inhibitor in Frage kommt.

Ergebnisse des *N*-Phenylpyridin-2-on-Derivates FM173

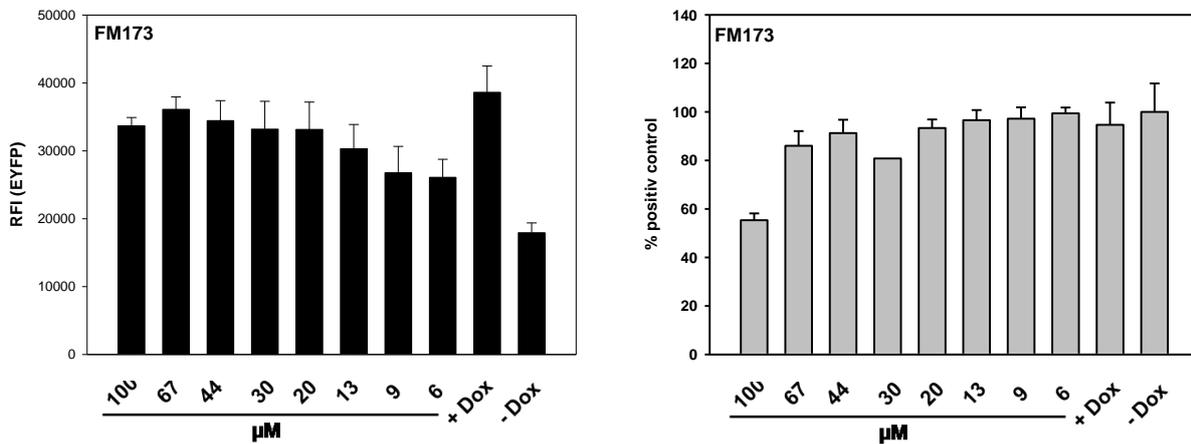


Abb. 4.19: Testergebnisse von FM173: Links: Hemmung des APOBEC3G-Abbaus. Rechts: Ergebnis des Cytotoxizitäts-Test

FM173 wirkt nur in der hohen Konzentration von 100 µM toxisch. Ab einer Konzentration von 67 µM ist kein Effekt auf das Zellwachstum vorhanden, weshalb FM173 als nicht-toxisch eingestuft werden kann. Die Substanz weist in hohen Konzentrationen, abnehmend bis 20 µM

eine fast vollständige Hemmung des APOBEC3G-Abbaus auf. Auch bei der geringsten gemessenen Konzentration von 6 μM fällt die Hemmung auf nur ca. 50 % ab. FM173 ist damit der erfolgversprechendste Inhibitor bisher.

Testergebnisse der kommerziell erworbenen Substanzen

Aufgrund der großen Anzahl an kommerziell erworbenen Substanzen werden im Folgenden nur die Ergebnisse der Stoffe aufgeführt, mit denen Hemmung des APOBEC3G-Abbaus beobachtet wurde. Die beiden Graphen für Hemmung und Cytotoxizität wurden für jede Substanz in ein Diagramm zusammengefasst. Der weiße Balken stellt die Hemmung des APOBEC3G-Abbaus dar, der Schwarze zeigt die Toxizität.

Abbildung 4.20 zeigt die Testergebnisse der Substanzen A7 und A8.

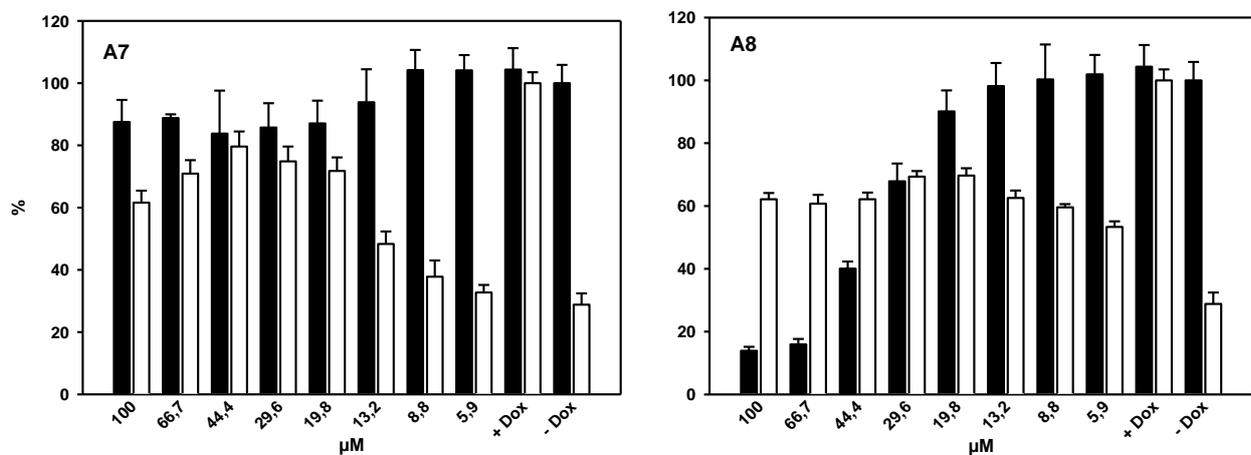


Abb. 4.20: Testergebnisse von A7 und A8 (weiß: Hemmung des APOBEC3G-Abbaus; Schwarz: Ergebnisse des Cytotoxizitäts-Tests)

A7 zeigt bei allen Konzentrationen keine toxische Wirkung, A8 hingegen wirkt nur bis 20 μM nicht toxisch. Bei einer Konzentration von 30 μM sind nur noch 50 % der Zellen funktionstüchtig. Ab hier steigt die toxische Wirkung rapide an. A7 hemmt bei 44 μM den APOBEC3G-Abbau zu 75 %, ist bei niedrigeren Konzentrationen jedoch nicht mehr wirksam. A8 weist bei allen Konzentrationen untypischerweise eine relativ gleichmäßige Hemmung des Abbaus von 50 % auf. Beide Substanzen sind daher als Inhibitoren nicht geeignet.

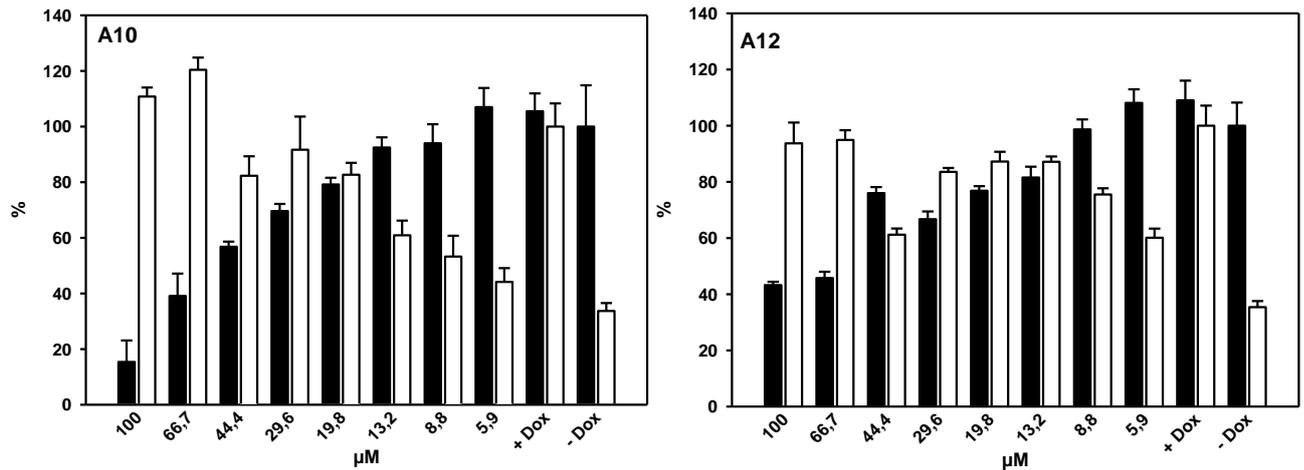


Abb. 4.21: Testergebnisse von A10 und A12 (weiß: Hemmung des APOBEC3G-Abbaus; Schwarz: Ergebnisse des Cytotoxizitäts-Tests)

A10 zeigt bei hohen Konzentrationen eine hohe Hemmung des APOBEC3G-Abbaus. Diese Hemmung fällt jedoch ab 20 μM schnell auf 0 % ab und macht die Substanz damit nicht erfolgsversprechend. Anders ist es bei A12: Sie führt bei hohen Konzentrationen zu 100 % Hemmung, welche auch bei der niedrigsten der gemessenen Konzentrationen von 6 μM nur auf 40% abfällt. Auch die Toxizität ist relativ gering. Diese beiden Tatsachen machen A12 zu einem guten Inhibitor.

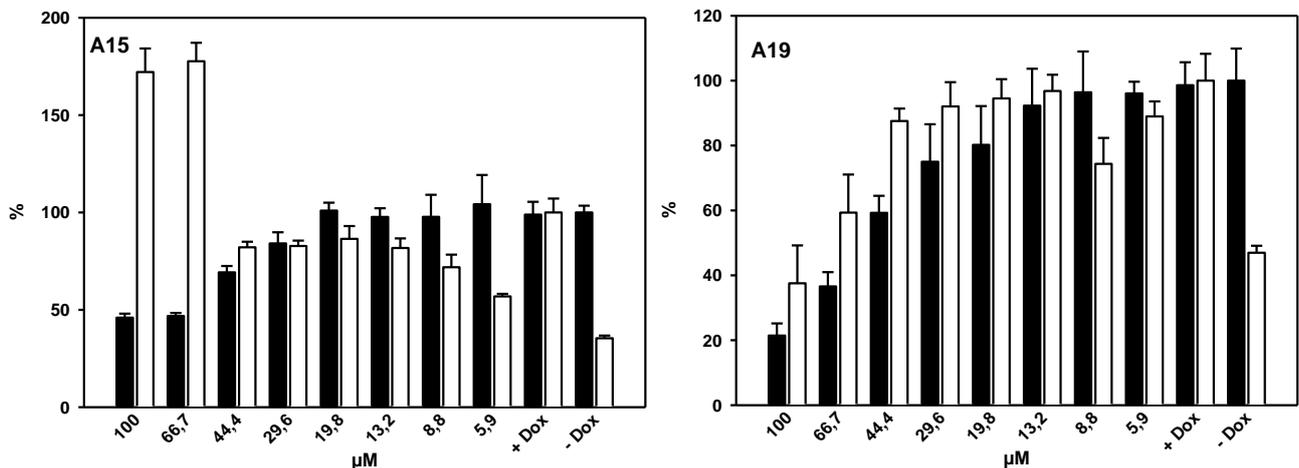


Abb. 4.22: Testergebnisse von A15 und A19 (weiß: Hemmung des APOBEC3G-Abbaus; Schwarz: Ergebnisse des Cytotoxizitäts-Tests)

A15 weist bei einer Konzentration von 20 μM eine Hemmung von 90 % auf. Diese sinkt bei niedrigeren Konzentrationen ab, beträgt bei 6 μM allerdings noch ca. 35 %. Auch wirkt die Substanz nicht toxisch. Damit stellt A15 ebenfalls einen Hemmstoff dar, der für eine Weiterentwicklung in Betracht zu ziehen ist. Nicht zu vergleichen ist A15 jedoch mit der nächsten Substanz. A19 hemmt selbst bei der geringsten Konzentration von 6 μM den Abbau von APOBEG3G zu 100 %. Dazu kommt eine geringe Toxizität bis ca. 40 μM . Damit weist A19 fast ideale Testwerte auf und bietet gute Voraussetzungen für eine weitere Entwicklung. Warum A15 und A19 bei 100 und 66,7 μM erhöhte (A15) oder niedrige Aktivität (A19) aufweisen, konnte noch nicht aufgeklärt werden.

Zusammenfassung der Ergebnisse der Tests mit Inhibitoren der ersten Generation und Ausblick

Tabelle 4.1 gibt einen Überblick über die Testergebnisse der synthetisierten sowie kommerziell erworbenen Substanzen.

Substanzklasse	Substanzname	Hemmung des APOBEG3G-Abbaus (20 μM) [%]	Hemmung des APOBEG3G-Abbaus (6 μM) [%]	Toxizität (20 μM) [%]
Indol	FM141	0	0	0
	FM149	0	0	0
	FM156	10	0	0
Piperazin	FM166	0	0	0
	FM169	0	0	0
	FM180	0	0	0
Sulfonamid	FM175	0	0	0
<i>N</i> -Phenylpyridin-2-on	FM173	80	50	0
	A12	80	40	20
	A15	80	30	0
	A19	100	100	0

Tabelle 4.1: Überblick über Testergebnisse mit Substanzen der ersten Generation

Durchführung und Diskussion

Es wird ersichtlich, dass Indol-, Piperazin- wie auch Sulfonamid-Derivate keine Hemmung zeigen, und somit als Inhibitoren nicht in Frage kommen. FM173 (Phenylpyridin-2-on-Grundgerüst) zeigt dagegen Aktivität. Auch die kommerziell erworbenen Substanzen A12, A15 und A19 sind gute Inhibitoren. Da FM173 und A19 die besten Ergebnisse erzielten, wird die zweite Generation von Inhibitoren folgendermaßen geplant:

- Intensivierende Dockingstudien zu FM173 mit anschließender Synthese der Derivate
- Intensivierende Dockingstudien zu A19 mit anschließender Synthese der Derivate
- Weitere grundlegende Dockingstudien zum Auffinden neuer Grundbausteine und Synthese verschiedener Derivate der neuen Substanzklassen

4.2 Entwicklung von Elongin-C-Inhibitoren zweiter Generation

Dockingstudien

Da sich FM173 in den ersten Tests als Hemmstoff des APOBEC3G-Abbaus erwiesen hat, wurden basierend auf dieser Struktur intensivierende Dockingstudien durchgeführt. Die folgenden Abbildungen zeigen die neuen Moleküle, die im weiteren Verlauf dieser Arbeit synthetisiert wurden.

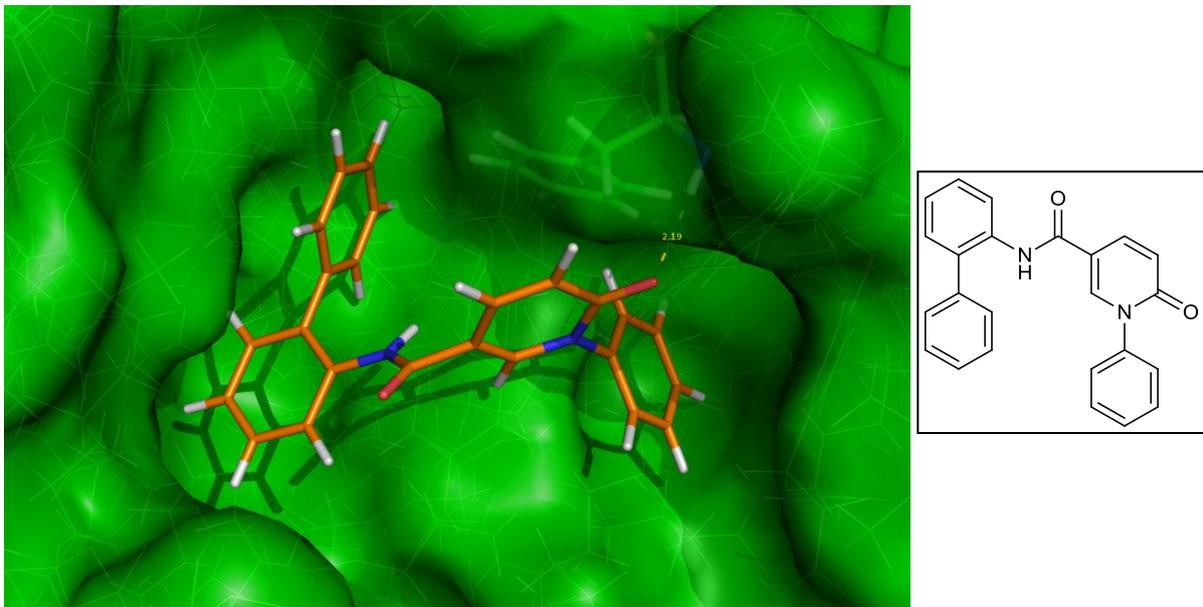


Abb. 4.23: Bindemodus (links) und Struktur von FM161 (rechts)

Unterschiede im Bindemodus von FM 161 und FM173: Das Entfernen der Methylgruppe, als sterisch-anspruchsvoller Substituent, führt im Bindezustand zu einer Drehung an der Amid-Achse um 180°. Aufgrund dieser Drehung geht die Wasserstoff-Brücken-Bindung des Sauerstoffs der Amidfunktion verloren. Wie in der Abbildung ersichtlich, bleibt die Wasserstoffbrückenbindung zwischen der Carbonylfunktion des Pyridin-2-on-Gerüsts und dem Wasserstoffatom am Phenylalanin-195 erhalten.

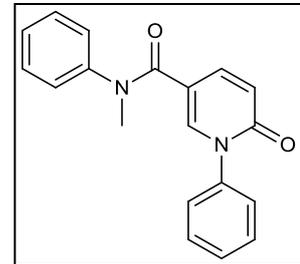
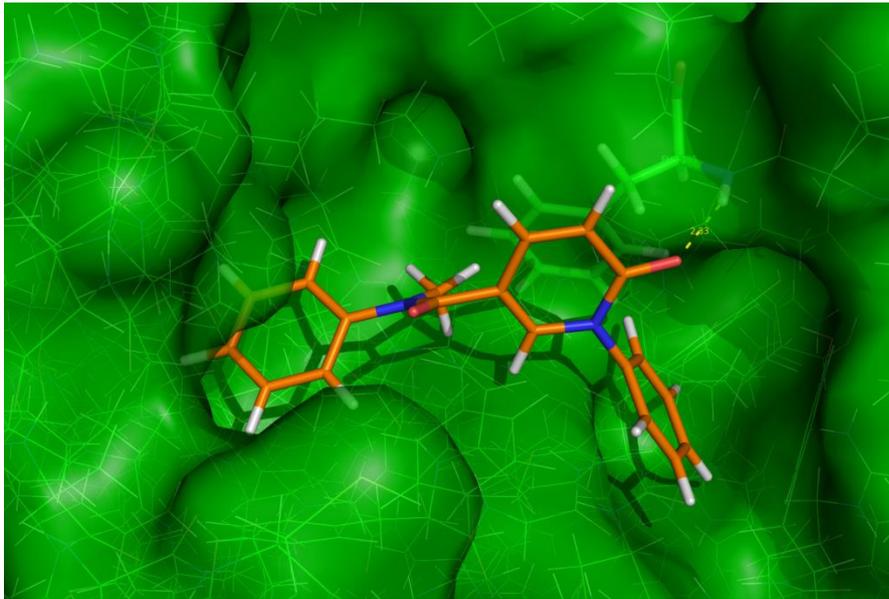


Abb. 4.24: Bindemodus (links) und Struktur von FM230 (rechts)

Aufgrund der Reduktion des Biaryl- zum Phenyl-Substituenten verändern sich die sterischen Verhältnisse im Vergleich zu FM173 erheblich. Der Chemscore-Wert von FM230 liegt allerdings ähnlich hoch wie der von FM173 (ca. 44). Die Wasserstoffbrückenbindung des Carbonylsauerstoffs des Pyridin-2-on-Gerüsts zu Phenylalanin-195 bleibt auch bei diesem Bindemodus erhalten. Dieser Sachverhalt macht FM230 ebenfalls zu einem potentiellen Elongin-C-Inhibitor.

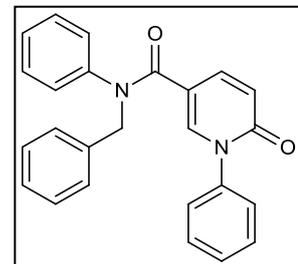
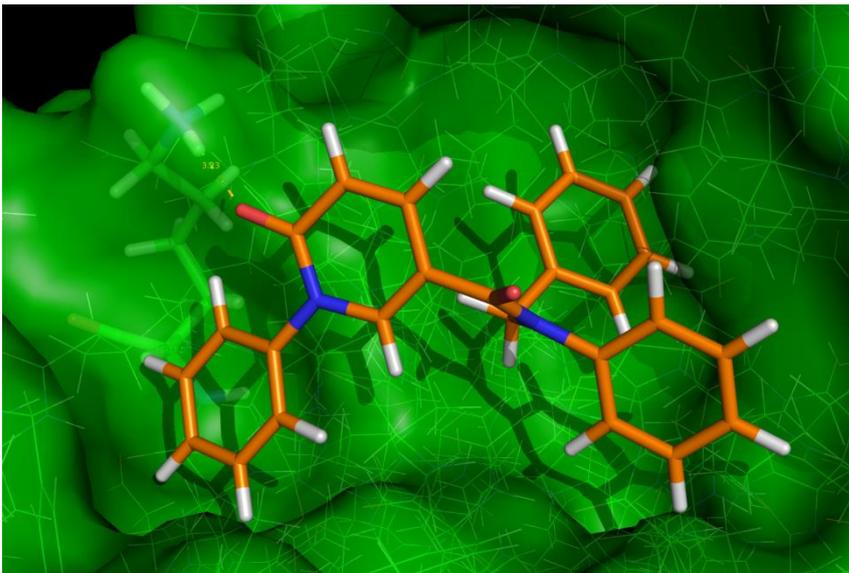


Abb. 4. 25: Bindemodus (links) und Struktur von FM228 (rechts)

Durchführung und Diskussion

Durch das Anbringen des Benzyl-Substituenten erhöht sich die Ausprägung der π -Wechselwirkungen im Bindestand erheblich. Zusätzlich bildet der Carbonylsauerstoff des Pyridin-2-on-Fragments nicht wie bisher eine Bindung zu Phenylalanin 195 aus, sondern zu einem amidgebundenen Wasserstoffatom von Lysin-182.

Weitere Berechnungen ergaben eine neue Substanzklasse als potentielle Inhibitoren. Grundstruktur hiervon ist eine Diphenylether-Achse zur Überbrückung der Tyrosin-50-Trennwand im Protein. Abbildung 4.26 und 4.27 zeigen die postulierten Bindemodi der beiden synthetisierten Diphenylether-Derivate.

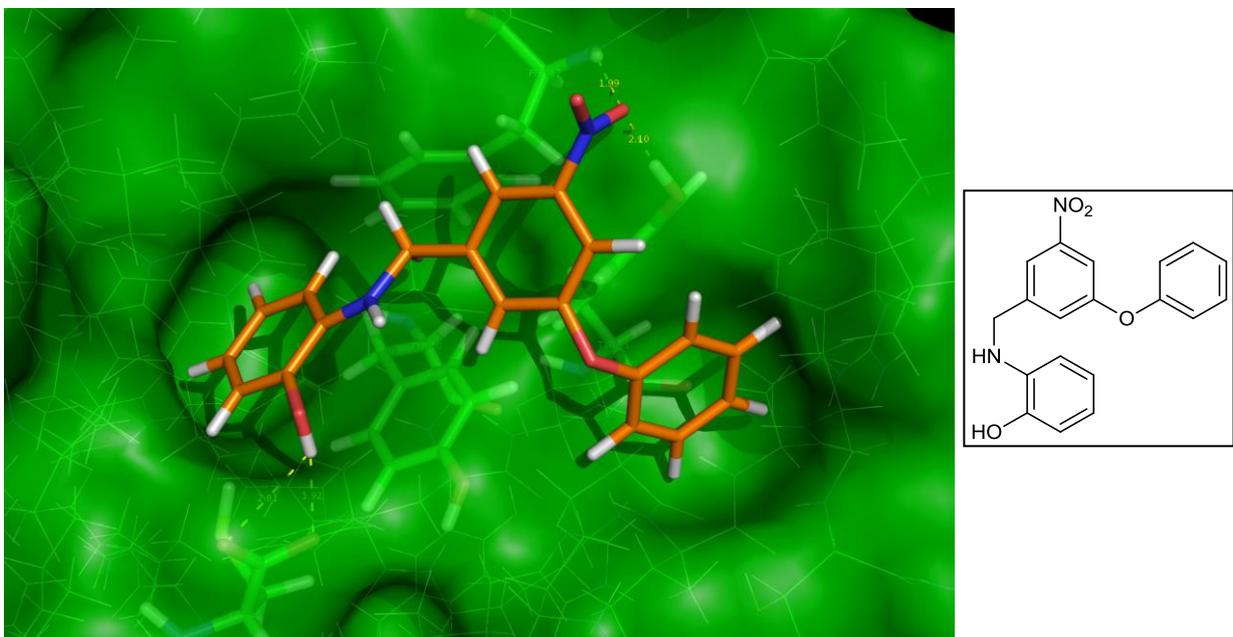


Abb. 4.26: Bindemodus (links) und Struktur von FM205 (rechts)

Neben den auch hier auftretenden erheblichen π -Wechselwirkungen zwischen den lipophilen Fragmenten der beteiligten Partner bildet FM205 mehrere Wasserstoffbrückenbindungen aus:

- Ein Sauerstoffatom der Nitrofunktion des Liganden mit der phenolischen Hydroxygruppe in Tyrosin-53 wie auch mit dem amidgebundenen Wasserstoffatom aus Phenylalanin-57
- Die Hydroxygruppe des Liganden mit der Carbonsäurefunktion der endständigen Aminosäure Cystein-86

Durchführung und Diskussion

Da sich FM242 (Abb. 4.27) nur in einer funktionellen Gruppe von FM205 unterscheidet (Methylsäureester in FM242 statt der Nitrofunktion in FM205), sind auch die Wechselwirkungen der beiden Substanzen mit dem Protein sehr ähnlich.

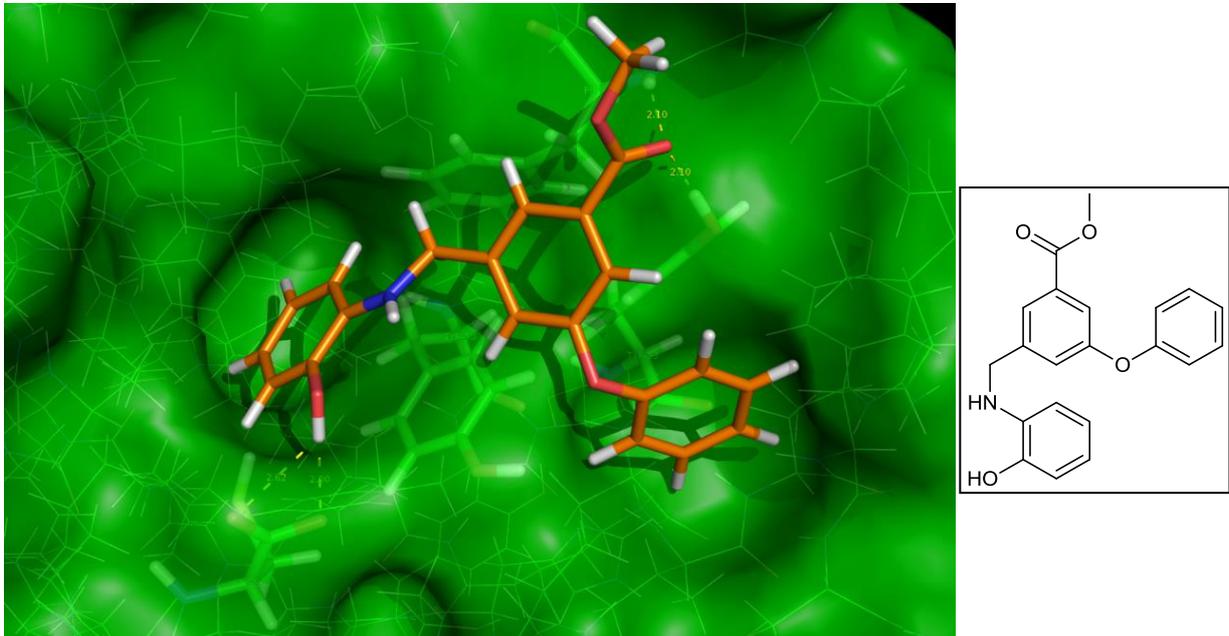


Abb. 4.27: Bindemodus (links) und Struktur von FM242 (rechts)

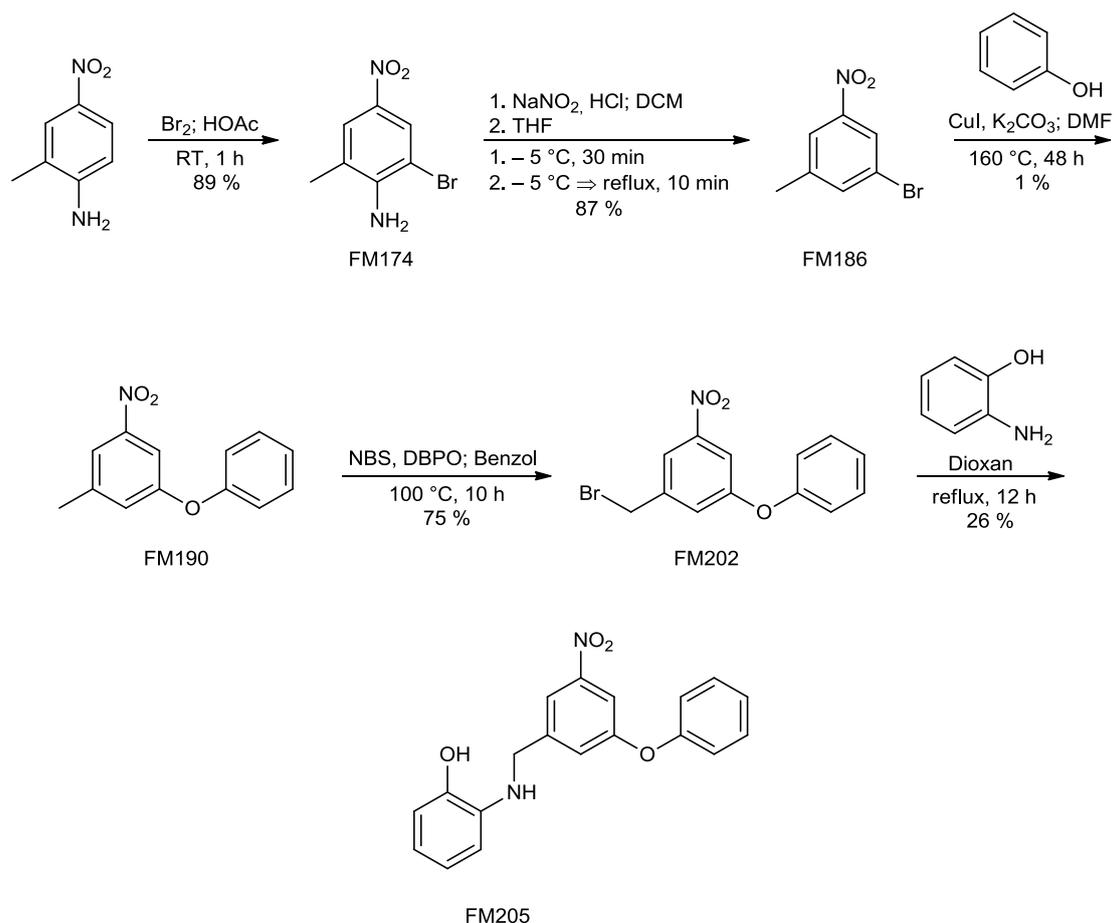
Neben den auftretenden π -Wechselwirkungen bildet FM242 analog zu FM205 auch mehrere Wasserstoffbrückenbindungen aus:

- Das Sauerstoffatom der Carbonylfunktion des Carbonsäureesters im Liganden mit der phenolischen Hydroxygruppe in Tyrosin-53 wie auch mit dem amidgebundenen Wasserstoffatom aus Phenylalanin-57
- Die Hydroxygruppe des Liganden mit der Carbonsäurefunktion der endständigen Aminosäure Cystein-86

Synthesen

Synthese von potentiellen Inhibitoren auf Diphenylether-Basis

Die beiden Zielmoleküle wurden nach verschiedenen Routen synthetisiert. FM205 konnte in einer Fünfstufensynthese aus 2-Methyl-4-nitroanilin dargestellt werden (Schema 4.9).



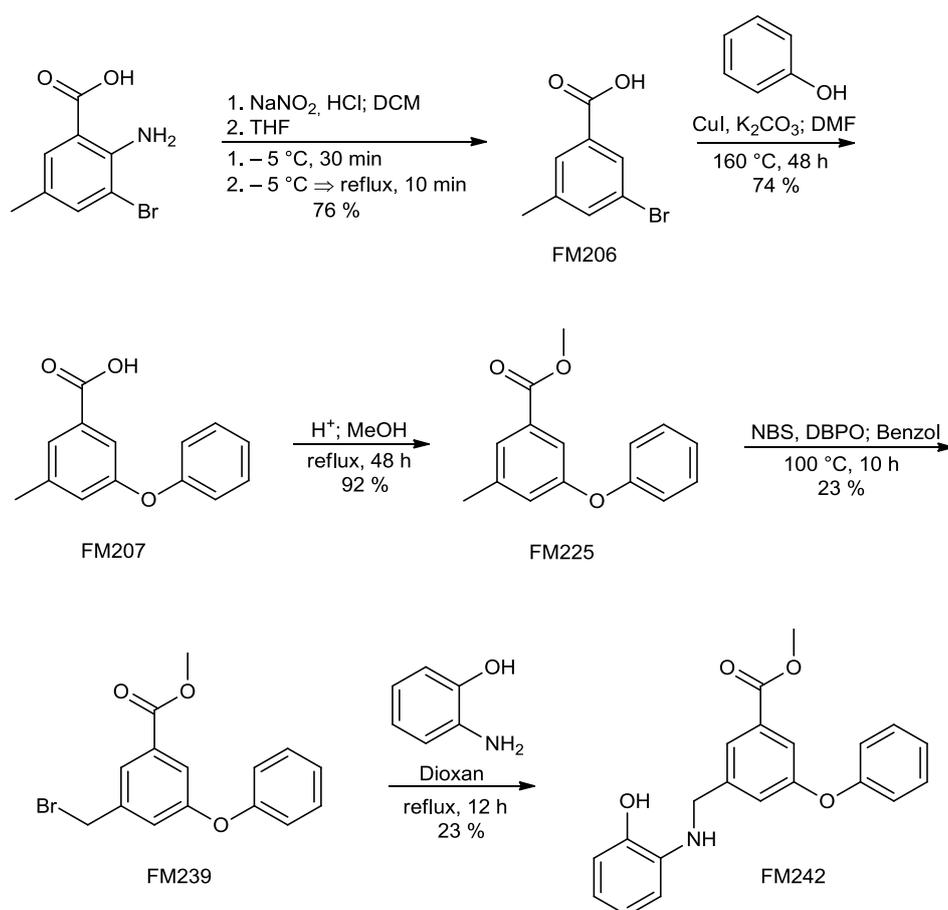
Schema 4.9: Synthese von FM205

Im ersten Schritt reagiert Brom in einer elektrophilen aromatischen Substitution mit der Ausgangssubstanz 2-Methyl-4-nitroanilin zu FM174. Aufgrund des +M-Effektes der Aminfunktion wird der Ring in ortho-Position relativ zu dieser substituiert. Anschließend bildet sich aus dem Amin mit Natriumnitrit und Salzsäure ein Diazoniumsalz. Wichtig ist, dass die Temperatur in diesem Schritt -5°C nicht überschreitet. Bei höheren Temperaturen ist das Diazoniumsalz nicht stabil, Stickstoff wird abgespalten und es bildet sich das Phenol. Wird die Temperatur allerdings unter -5°C gehalten und im Anschluss reduktiv

Durchführung und Diskussion

aufgearbeitet, bildet sich das gewünschte reduzierte Produkt FM186. Bei der Umsetzung mit Phenol, einer Base und Kupferiodid wird dieses bei hohen Temperaturen in einer nucleophilen aromatischen Substitution zu FM190 umgesetzt. Im nächsten Schritt wird die Methylgruppe in einer Wohl-Ziegler-Reaktion bromiert. Als letztes greift die Aminfunktion des 2-Aminophenols nucleophil am zuvor gebildeten Bromalkan an und das Zielmolekül FM205 entsteht.

Der Syntheseplan zur Darstellung von FM242 ähnelt dem von FM205 (Schema 4.10).



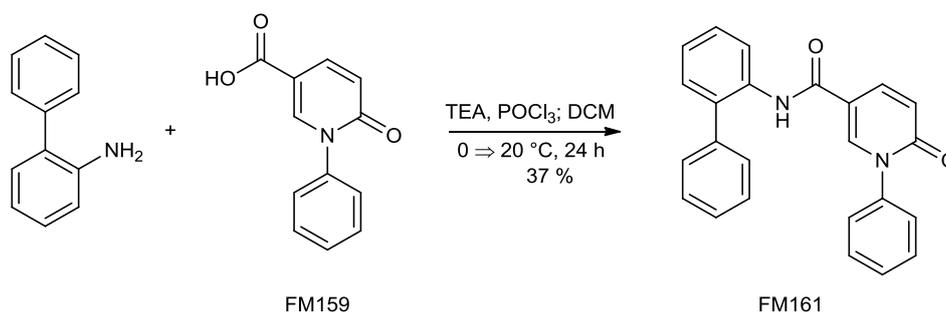
Schema 4.10: Synthese von FM242

Die Synthese beginnt mit der Umsetzung von 2-Amino-3-bromo-5-methylbenzoesäure zu FM206. Dazu wird eine Diazotierung unter Verwendung von Natriumnitrit und Salzsäure, mit anschließender reduktiver Aufarbeitung, durchgeführt. FM206 reagiert im Folgenden in einer nucleophilen aromatischen Substitution mit Phenol zum Diphenylether-Derivat FM207. In einer säurekatalysierten Esterbildung wird die Carbonsäure nun in einen Methylester umgewandelt. Die letzten beiden Schritte sind mit denen zur Darstellung von FM205

identisch: Zuerst wird die Methylgruppe in einer Wohl-Ziegler-Reaktion bromiert. Darauf folgt eine nucleophile Substitution mit 2-Aminophenol.

Synthese weiterer Inhibitoren mit *N*-Phenylpyridin-2-on-Grundgerüst

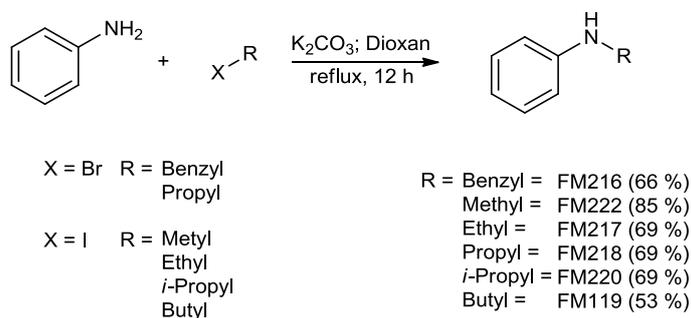
Ein weiterer potentieller Inhibitor basierend auf *N*-Phenylpyridin-2-on mit Biarylkomponente ist FM161 (Schema 4.11).



Schema 4.11: Synthese von FM161

[1,1'-Biphenyl]-2-amin wird unter Einsatz von Phosphorylchlorid als Aktivierungsreagenz mit FM159 in einer Amidbildung zu FM161 umgesetzt.

Um eine kleine Substanzbibliothek von *N*-Phenylpyridin-2-on-Derivaten zu erstellen, wurden folgende Reaktionen zu verschiedenen aromatischen Aminen durchgeführt (Schema 4.12).

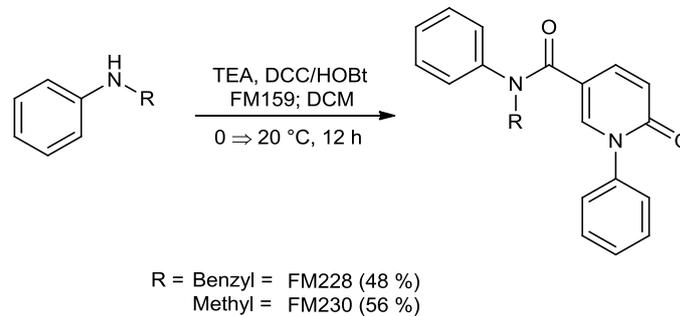


Schema 4.12: Alkylierungen von Anilin

Anilin wird mit verschiedenen Alkylhalogeniden einfach alkyliert.

Durchführung und Diskussion

Diese sechs Anilinderivate wurden anschließend mit FM159 umgesetzt (Schema 4.13) werden.

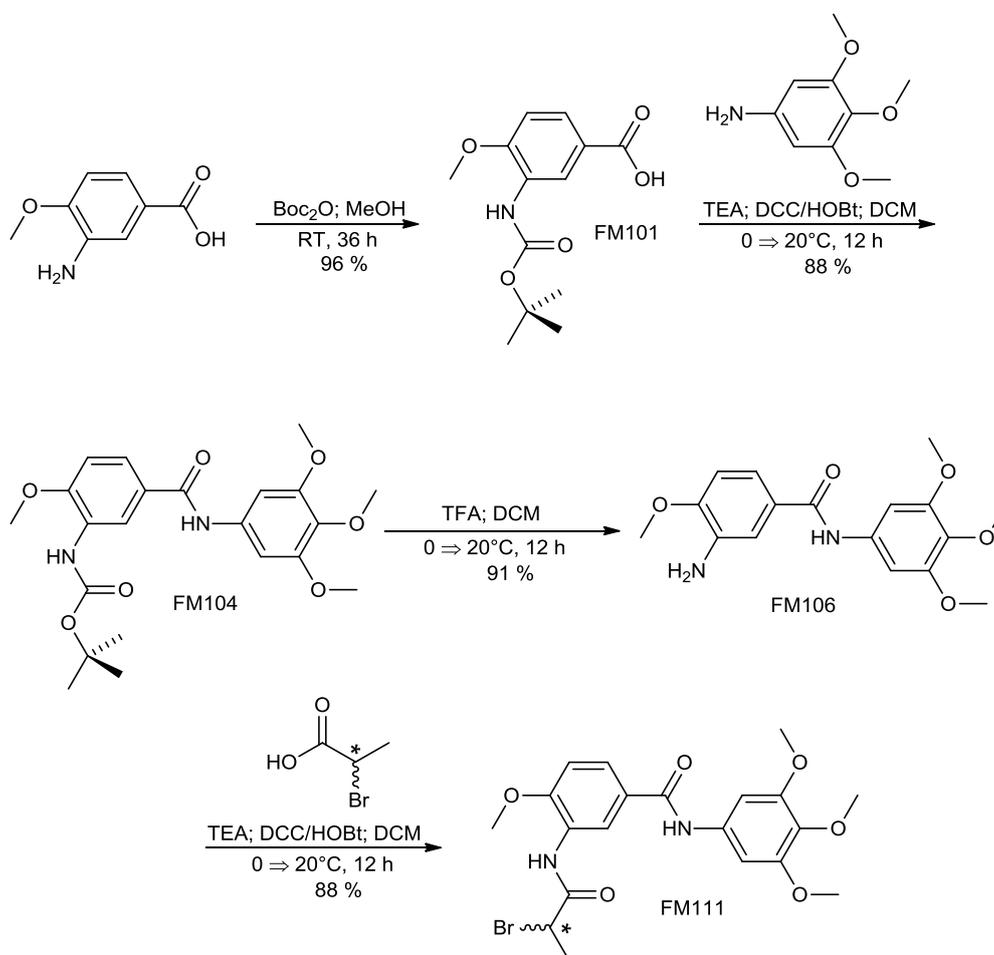


Schema 4.13: Darstellung von FM228 und FM230

Allerdings wurden die Arbeiten nach den beiden in Abb. 4.13 dargestellten Synthesen vorläufig eingestellt, da sich zu diesem Zeitpunkt herausstellte, dass der bisher verwendete und in Kap. 4.1 beschriebene *293T-vif-Tet-Off/EYFP-A3G*-Assays zur Testung der Hemmung des APOBEC3G-Abbaus keine eindeutigen Ergebnisse liefert. Vor weiteren Synthesearbeiten sollten zusätzliche Assays die Wirksamkeit der bisherigen Inhibitoren bestätigen. Dazu wurde ein HIV-Replikations-Test herangezogen. Dieser wird in der Arbeitsgruppe von PD Dr. Jochen Bodem am Institut für Virologie und Immunbiologie der Universität Würzburg durchgeführt. Dabei wird direkt die Anzahl der Viren in infektiösen Zellen gemessen. Anschließend können Rückschlüsse über die Hemmung der Replikation gezogen werden. Es wurden die wichtigsten kommerziell erworbenen Substanzen (im *293T-vif-Tet-Off/EYFP-A3G*-Assays als gut bezeichnet), die bisher synthetisierten Substanzen der zweiten Syntheserunde, wie auch eine Substanz aus jeder Substanzklasse der ersten Syntheserunde getestet.

Synthese des 3,4,5-Trimethoxyphenylbenzamid-Derivats FM111

Von Z. G. Peng *et al.* wurde das 3,4,5-Trimethoxyphenylbenzamid-Derivat FM111 als erste Substanz mit hemmender Wirkung des APOBEG3G-Abbaus publiziert.^[43, 44] Um die Wirksamkeit auch in den im Rahmen dieser Arbeit zur Verfügung stehenden Tests zu überprüfen wurde FM111 synthetisiert (Schema 4.8).



Schema 4.8: Syntheseroute zur Darstellung von FM111

Im ersten Schritt wird die Ausgangssubstanz 3-Amino-4-methoxybenzoesäure mit Boc_2O an der Aminfunktion geschützt. Anschließend wird FM101 in einer Amidknüpfungsreaktion mit DCC/HOBt als Aktivierungsreagenzien zum 3,4,5-Trimethoxyphenylbenzamid-Derivat FM104 umgesetzt. Nach Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure wird FM111 als Racemat durch eine weitere DCC/HOBt-vermittelte Amidsynthese dargestellt. Die Ausbeute über alle vier Schritte beträgt 68 %.

Testergebnisse

Die folgenden Graphen geben die Ergebnisse der HIV-Replikations-Tests mit den Substanzen der zweiten Generation wieder. Jede Substanz wurde mit zwei verschiedenen HIV-infizierten Zellen versetzt, einmal ohne Zugabe von APOBEC3G und einmal mit. Als Vergleich wurde eine reine DMSO-Kontrolle gemessen, unter Abwesenheit von Inhibitor-Substanz. Ohne APOBEC3G sollten sich die Viren ohne Einschränkung vermehren können (Schwarze Balken), die Viruslast ist also maximal. Wie in der DMSO-Kontrolle zu erkennen ist, vermehren sich die Viren bei der Zugabe von APOBEC3G nur noch eingeschränkt (DMSO-Kontrolle/Grauer Balken). APOBEC3G wirkt also antiretroviral, jedoch umgeht das HI-Virus diesen Abwehrmechanismus indem es durch *vif* APOBEC3G abbaut. Somit kann sich das Virus zwar eingeschränkt, allerdings weiterhin replizieren. Wirkt nun eine der Substanzen als Elongin-C-Inhibitor, kann das Virus APOBEG3G nicht mehr dem Proteasom zuführen und die Replikation wird verhindert. Gemessen wird bei einer Substanzkonzentration von 30 μ M.

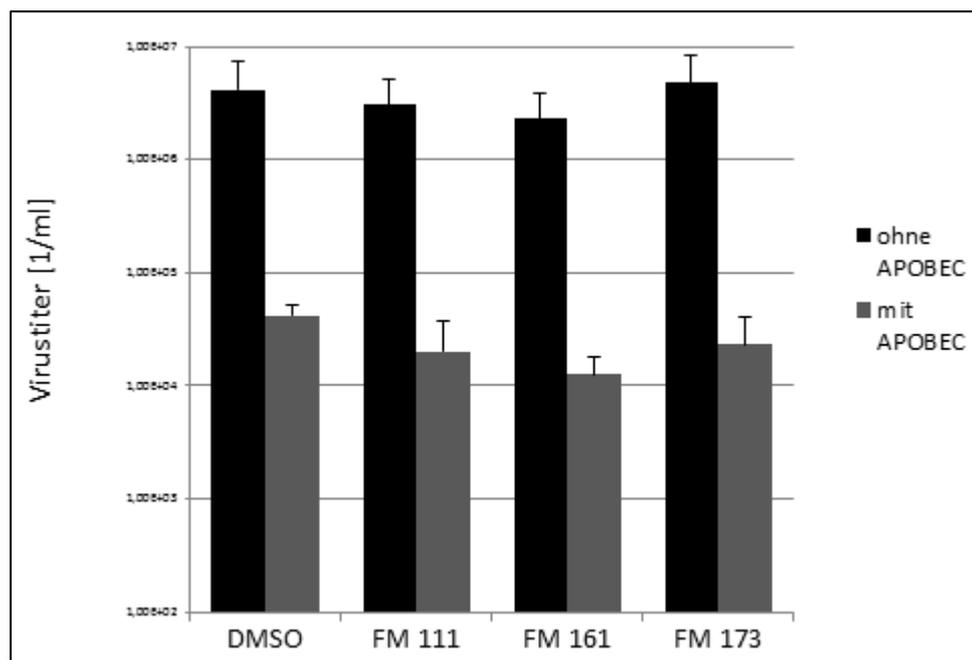


Abb. 4.28: Testergebnisse der Substanzen FM111, FM161 und FM173 (schwarz: Viruslast ohne APOBEC3G Zugabe; Grau: Viruslast mit Zugabe von APOBEG3G)

Wie in der Grafik zu erkennen ist, kann sich das Virus auch unter Zugabe von APOBEC3G bei allen drei Substanzen (FM111, FM161, FM173) genauso replizieren wie in der DMSO-Kontrolle. FM173 wurde bisher als guter Inhibitor gehandelt. Dem wird hiermit

widersprochen. Damit sind die Substanzen wirkungslos, was die Hemmung des APOBEC3G-Abbaus betrifft. Sie dienen somit nicht als Elongin-C-Inhibitoren.

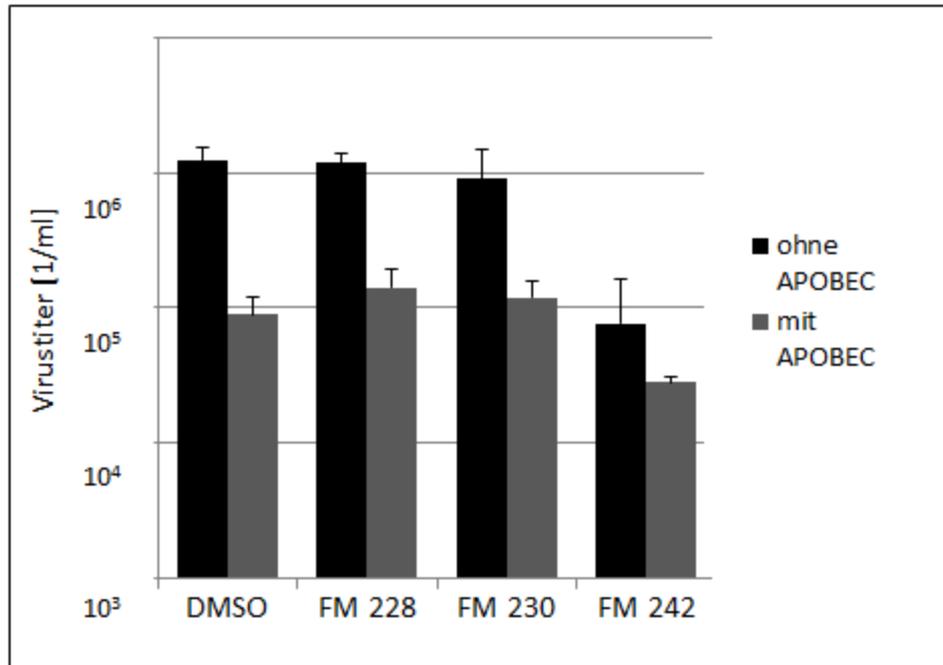


Abb. 4.29: Testergebnisse der Substanzen FM228, FM230 und FM242 (schwarz: Viruslast ohne APOBEC3G Zugabe; Grau: Viruslast mit Zugabe von APOBEG3G)

Auch bei den Substanzen FM228, FM230 und FM242 sieht der Sachverhalt gleichermaßen aus. Die Viruslast unter Zugabe der Testsubstanzen ist genauso hoch wie bei der DMSO-Kontrolle. Damit wirken die Substanzen nicht hemmend auf den APOBEG3G-Abbau und somit auch nicht als Elongin-C-Inhibitoren.

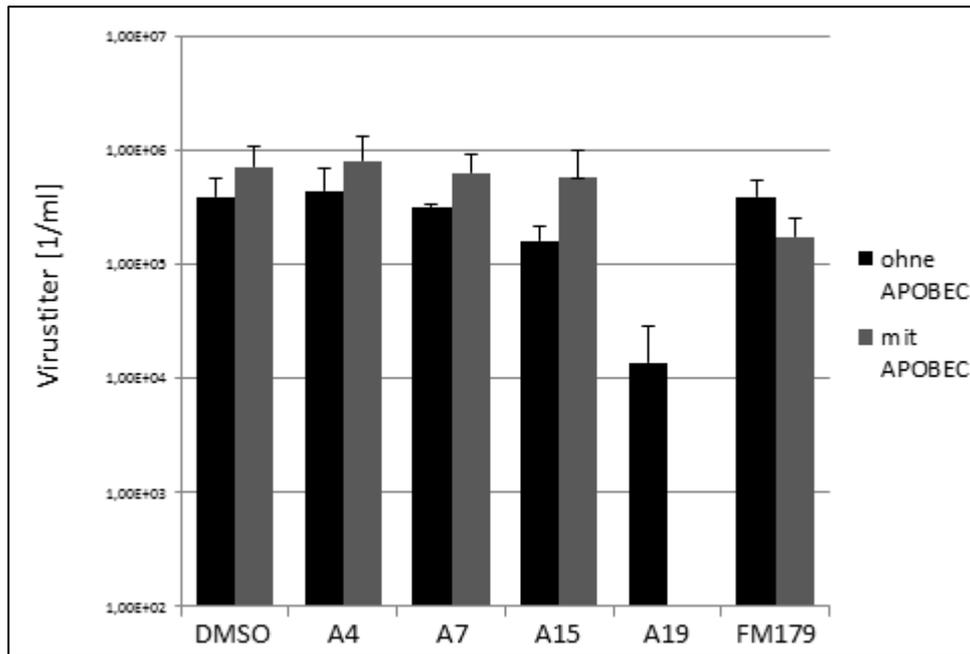


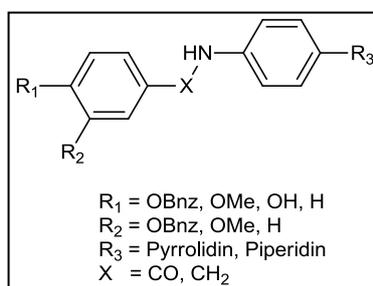
Abb. 4.30: Testergebnisse der Substanzen A4, A7, A15, A19 und FM279 (schwarz: Viruslast ohne APOBEC3G Zugabe; Grau: Viruslast mit Zugabe von APOBEG3G)

Wie in Abbildung 4.30 zu erkennen ist, wirken die Substanzen A4, A7 und A15 nicht hemmend. Das gleiche Ergebnis ergab sich für die übrigen Substanzen der A-Klasse, die aus diesem Grund nicht aufgeführt sind. Auch FM179 (identisch zu FM180) beeinflusst die Replikation der Viren nicht. Anders ist es jedoch bei A19. Dieses hatte im *293T-vif-Tet-Off/EYFP-A3G*-Assays schon die besten Ergebnisse erzielt. Auch im HIV-Replikationstest hemmt A19 die Replikation der Viren vollkommen.

Auf Grundlage dieser Testergebnisse wird sich diese Arbeit im Weiteren auf die Optimierung dieser Substanz fokussieren.

Durchführung und Diskussion

Das Ergebnis von umfangreichen Dockingstudien ist in Schema 4.14 dargestellt.^[41] Durch Variation von R_1 und R_2 mit verschiedenen Sauerstoffhaltigen Substituenten wird versucht, den Energiegewinn durch die gebildete Wasserstoffbrücke zu maximieren. Zusätzlich werden durch die Variationen der Reste die Einflüsse des sterischen Faktors wie auch die der hydrophoben Wechselwirkungen mit dem Target-Protein erforscht. Durch das Ersetzen des Brückenatoms „X“ mit einer Carbonylfunktion sollte die Acidität des Amin/Amid-gebundenen Wasserstoffs erhöht werden. Dies hat die Generierung einer stärkeren Wasserstoff-Brücken-Bindung zur Folge. Mit Variation des Restes R_3 soll der sterische Faktor des Pyrrolidin-Rings untersucht werden. Insgesamt können so theoretisch 48 Derivate von A19 synthetisiert werden.

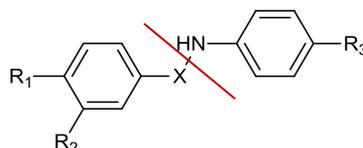


Schema 4.14: Derivatisierungsmöglichkeiten von A19

Um die Beiträge einzelner Strukturmodifikationen zu einer guten Bindung an das Target-Protein herauszufiltern, wurden die folgenden der Strukturkombinationen hergestellt (siehe Abbildungen 4.20, 4.22 und 4.23).

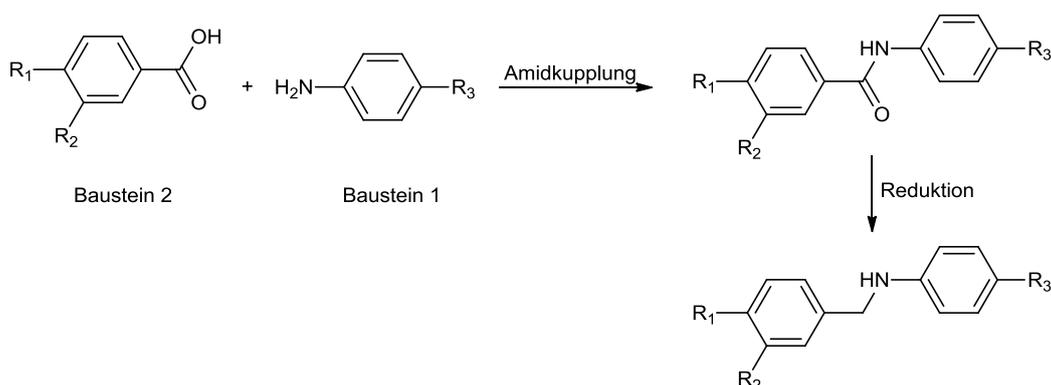
Synthese

Die einfachste Möglichkeit, die verschiedenen Derivate von A19 zu erstellen, besteht darin, das Molekül in zwei Bausteine zu zerlegen (Schema 4.15).



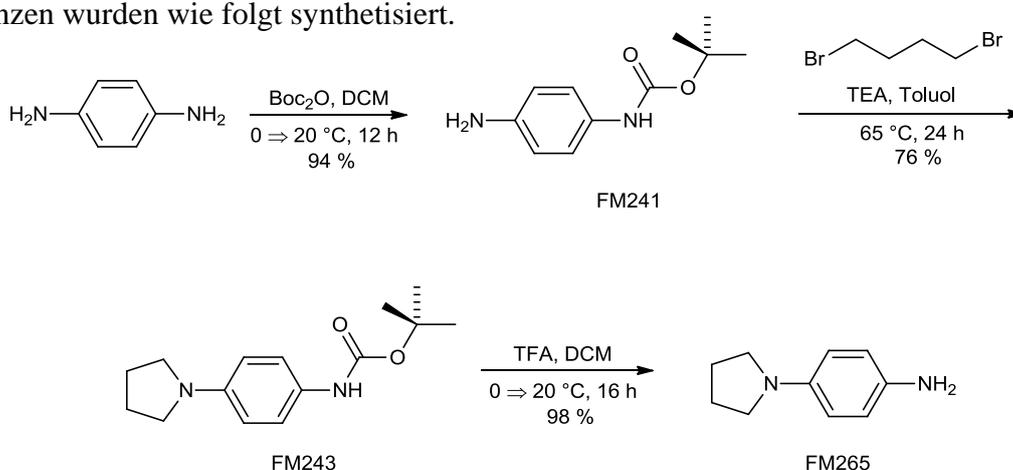
Schema 4.15: Retrosynthetische Schnittstelle von A19-Derivaten

Werden die beiden Molekülfragmente durch eine Amidkupplung aus Amin (rechter Baustein, Baustein 1) und einer Carbonsäure (linker Baustein, Baustein 2) zusammengestellt, entsteht bereits das erste Zielmolekül mit $X = \text{CO}$. Durch eine folgende Reduktion des Amids zum Amin kann eine weitere Derivatisierung durchgeführt werden. (Schema 4.16).



Schema 4.16: Syntheseroute zur Darstellung der A19-Derivate

Baustein 1 besteht entweder aus einem Pyrrolidin- oder Piperidin-Derivat. Diese beiden Substanzen wurden wie folgt synthetisiert.

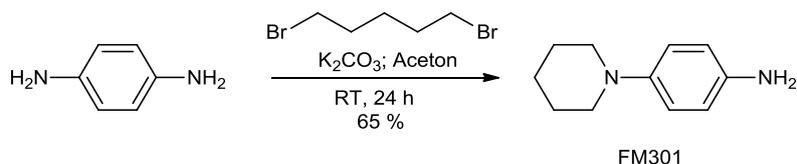


Schema 4.17: Synthese des Pyrrolidin-Bausteins

Durchführung und Diskussion

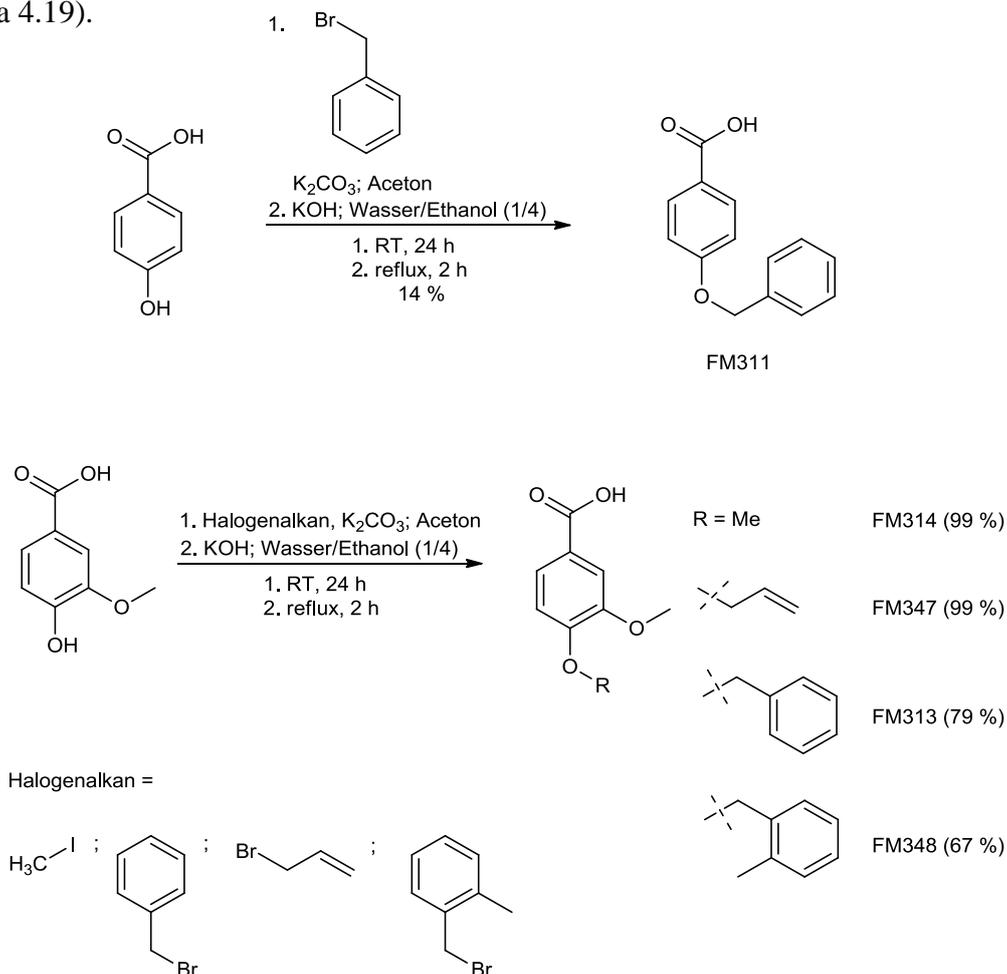
Im ersten Schritt wird eine Aminfunktion des Phenylendiamins mit einer Boc-Schutzgruppe versehen. Im Anschluss wird das Pyrrolidin-Gerüst aufgebaut. Dazu wird das Amin mit 1,4-Dibrombutan umgesetzt. Der letzte Schritt besteht aus der Abspaltung der vorher eingeführten Boc-Schutzgruppe.

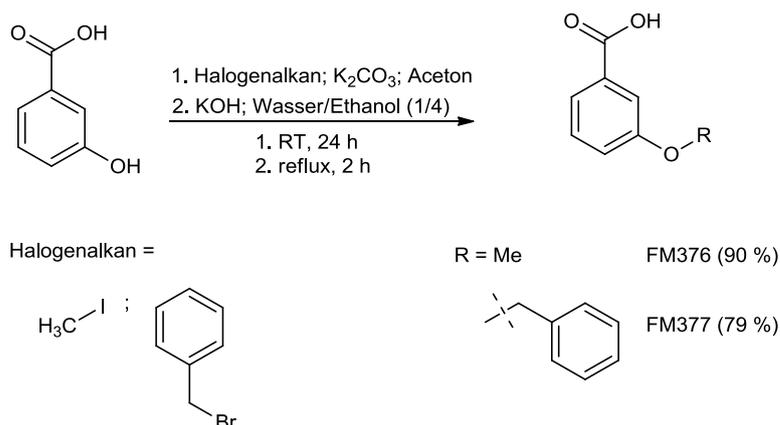
Bei der Synthese des Piperidin-Bausteins wurde versucht die Synthese auf einen Schritt zu begrenzen (Schema 4.18). Dabei ist entscheidend, das Amin im Überschuss vorzulegen und auf Temperaturerhöhung zu verzichten.



Schema 4.18: Synthese des Piperidin-Bausteins

Die Synthesen der verschiedenen Varianten von Baustein 2 verliefen nach folgendem Schema (Schema 4.19).

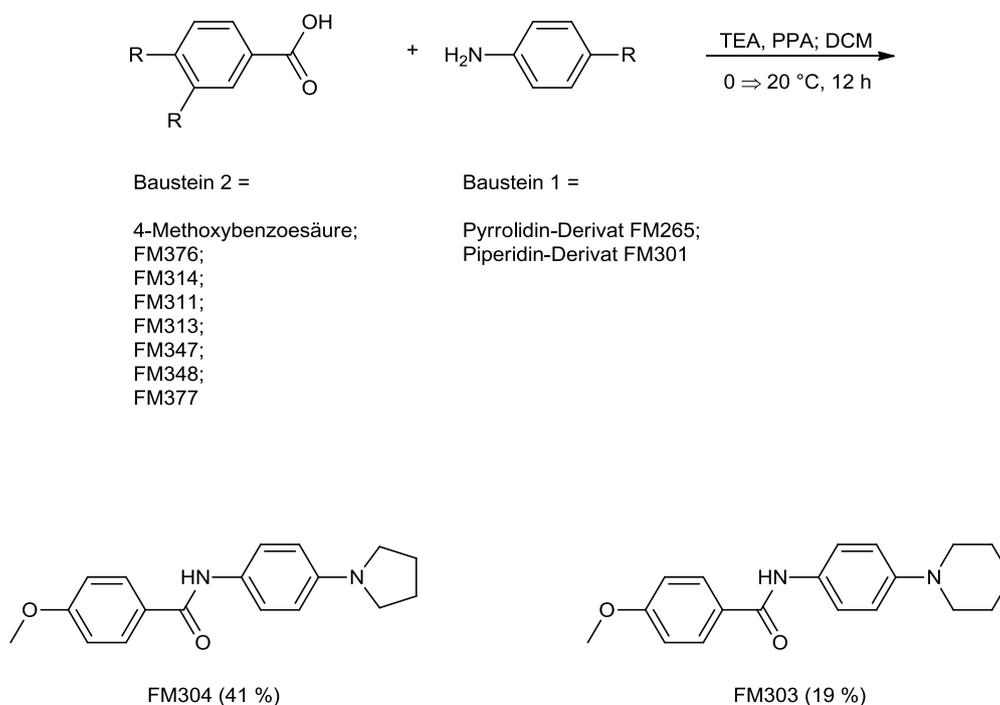


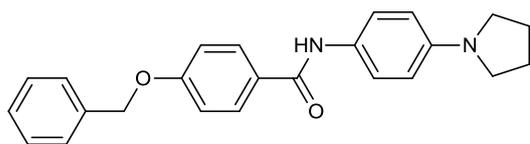


Schema 4.19: Darstellung von verschiedenen Varianten von Baustein 2

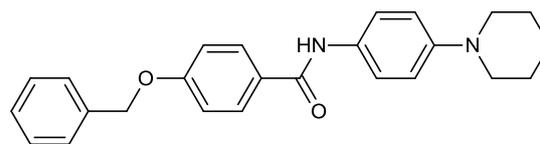
Bei jeder der Synthesen werden im ersten Schritt sowohl die Carbonsäure, wie auch die Hydroxylgruppe durch Kaliumcarbonat deprotoniert. Die so entstandenen nucleophilen Zentren greifen am Halogenalkan an und es entstehen Carbonbonsäureester und Ether. Im zweiten Schritt wird der Carbonsäureester mit Kaliumhydroxid wieder zur ursprünglichen Säure umgesetzt und es entstehen die verschiedenen Derivate von Baustein 2.

Durch Kombination von Baustein 1 und Baustein 2 mittels Amidsynthese konnten folgende A19-Derivate synthetisiert werden (Schema 4.20).

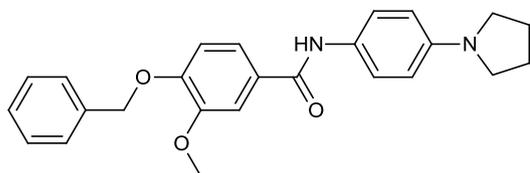




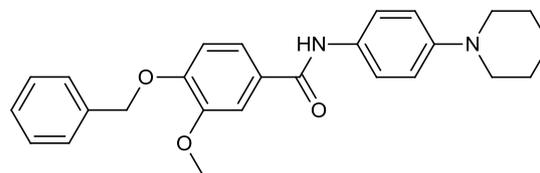
FM327 (62 %)



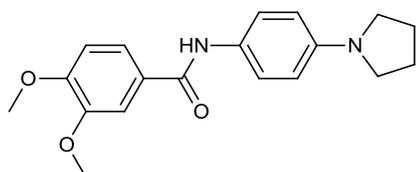
FM322 (74 %)



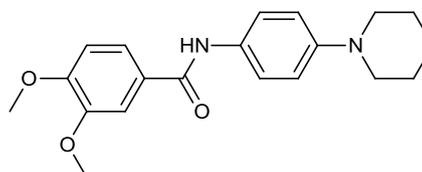
FM325 (72 %)



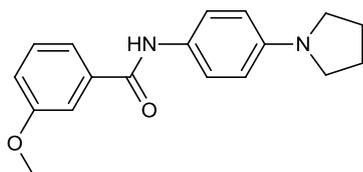
FM317 (63 %)



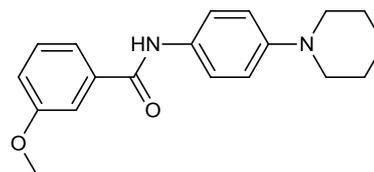
FM326 (67 %)



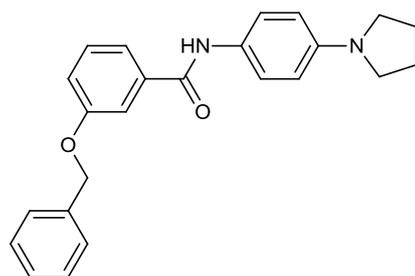
FM321 (36 %)



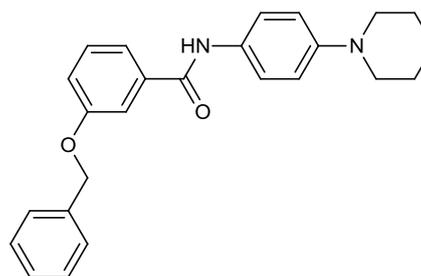
FM379 (23 %)



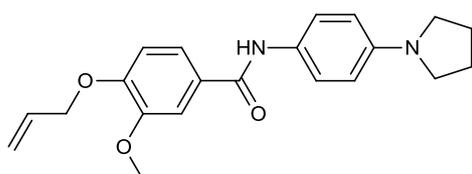
FM380 (41 %)



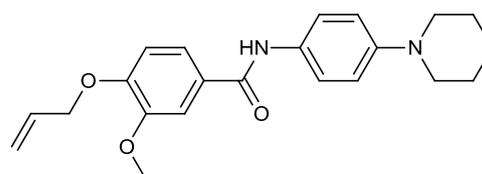
FM381 (29 %)



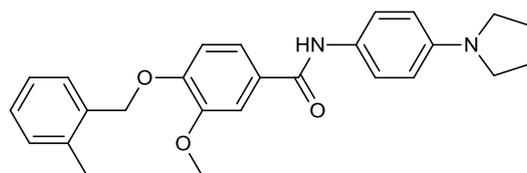
FM382 (27 %)



FM350 (68 %)



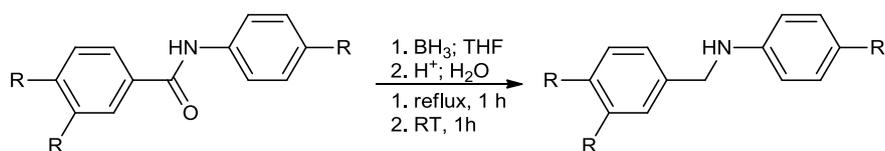
FM349 (49 %)



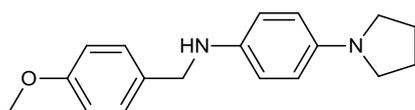
FM352 (59 %)

Schema 4.20: Strukturen der A19-Derivate auf Amidbasis

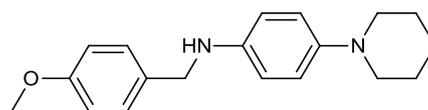
In einer Reduktion mit Boran wurden die Substanzen weiter zu den entsprechenden Aminen umgesetzt (Schema 4.21).



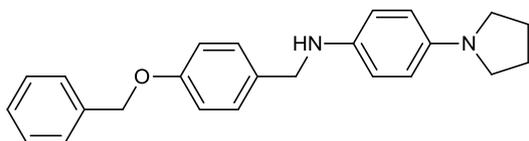
Schema 4.21: Schematische Darstellung der Reduktion zum Amin



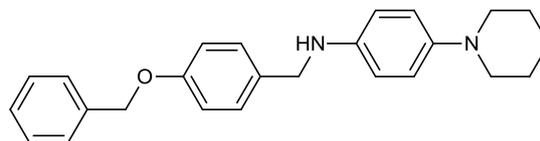
FM307 (43 %)



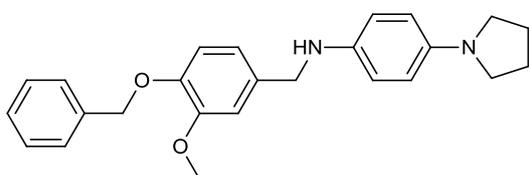
FM306 (54 %)



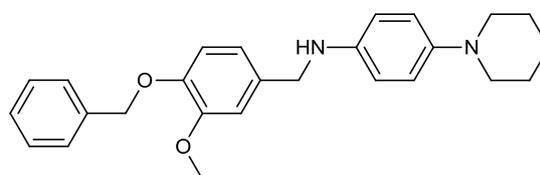
FM332 (61 %)



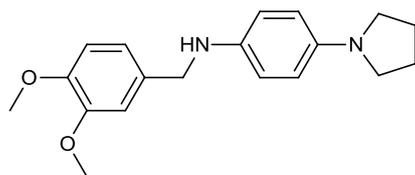
FM333 (61 %)



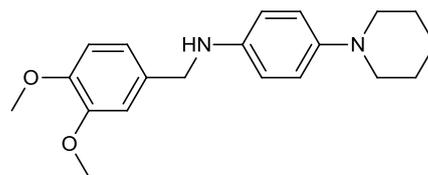
FM329 (69 %)



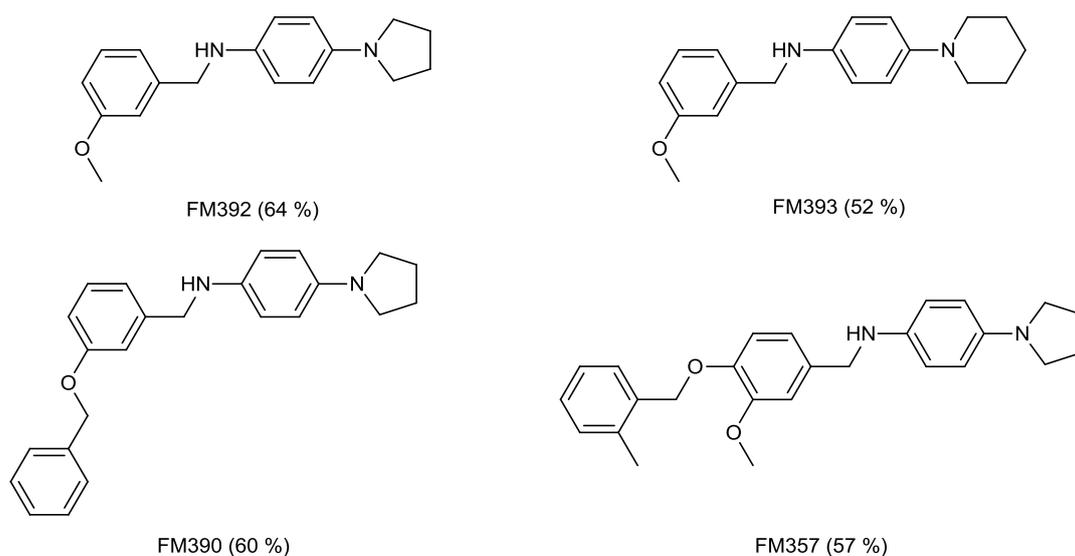
FM338 (62 %)



FM335 (46 %)

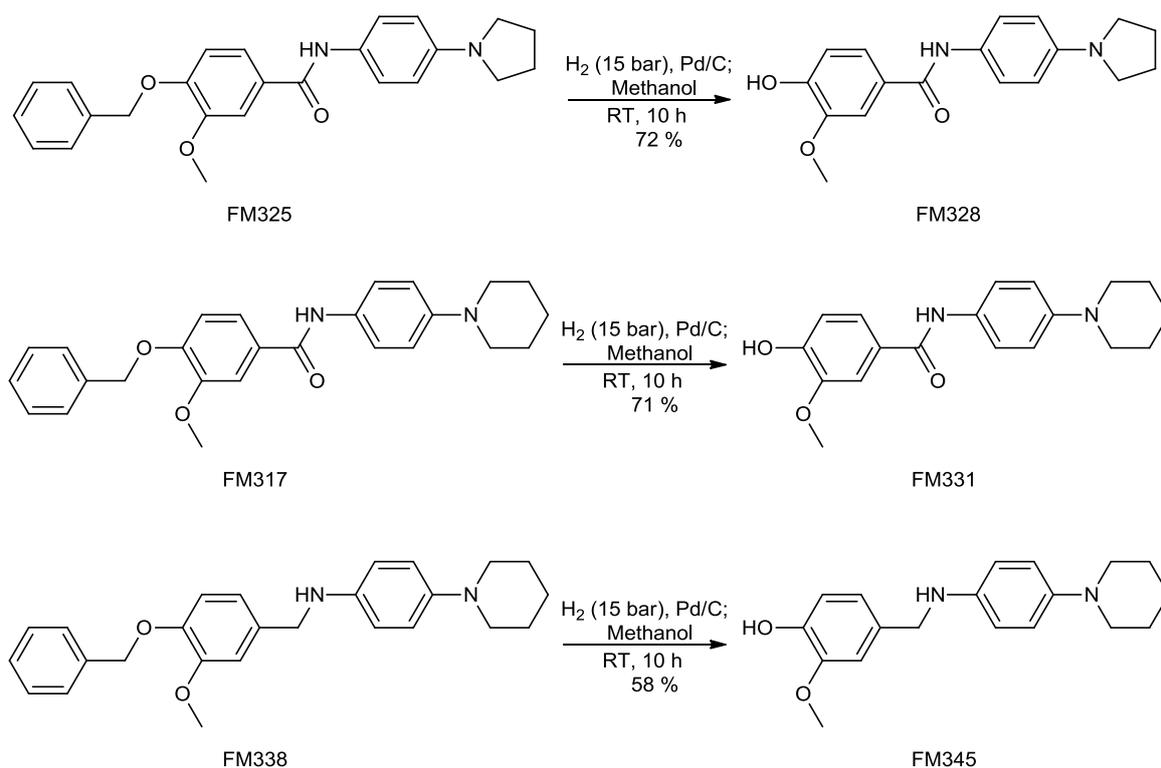


FM336 (57 %)



Schema 4.22: Übersicht über synthetisierte Amine

Drei weitere Derivate wurden über folgenden Weg zugänglich (Schema 4.23).



Schema 4.23: Durch Reduktion mit Wasserstoff erhaltene Derivate

Bei der Darstellung von FM328, FM331 und FM345 wurde der Benzylether durch den Einsatz von Wasserstoff und Palladium abgespalten.

Es konnten insgesamt 30 Derivate von A19 synthetisiert werden.

Zu diesem Zeitpunkt wurde der erste Elongin-C-Inhibitor publiziert.^[46] (Abb. 4.32). In der genannten Publikation erweist sich die Substanz in SPR-Untersuchungen als aktiv. Allerdings wird nicht die direkte Interaktion zwischen dem Inhibitor und dem Protein Elongin-C nachgewiesen. Bei Anwesenheit der in Abb. 4.32 gezeigten Substanz kann lediglich eine verminderte Wechselwirkung zwischen *vif* und Elongin-C detektiert werden. Aus diesem Sachverhalt schlussfolgern die Verfasser die Aktivität der Substanz.

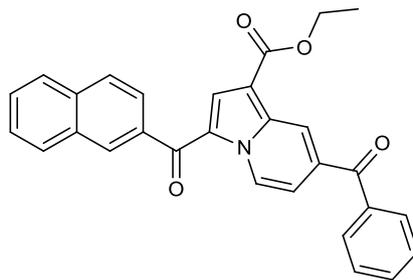
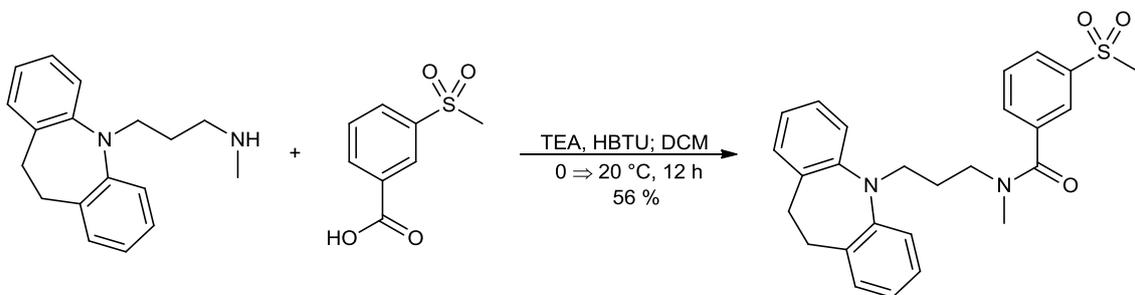


Abb. 4.32: Erster publizierter Elongin-C-Inhibitor

Basierend auf der Struktur dieser Substanz wurden weitere Dockingstudien durchgeführt. In der folgenden Abbildung wird eine Verbindung hergestellt, deren Chemscore-Wert deutlich höher liegt als der der publizierten Substanz.



Schema 4.24: Synthese von FM402

FM402

FM402 stellt somit einen weiteren potentiellen Inhibitor für Elongin-C dar.

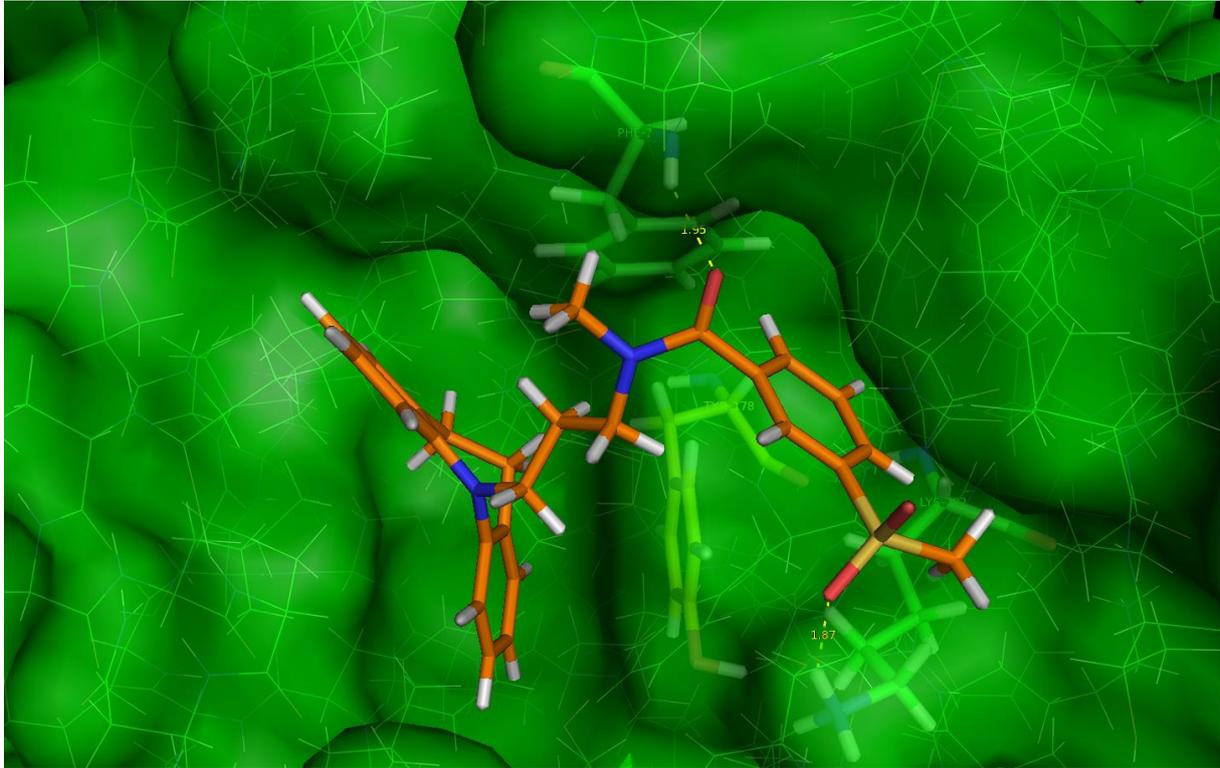


Abb. 4.33: FM402 in der Bindetasche von Elongin-C

Die Tyrosin-Trennwand in der Bindetasche wird durch die C₃-Kette überbrückt. Die Aromaten des Desipramin-Fragmentes leisten durch π -Wechselwirkung mit dem Protein einen erheblichen Teil der Ligand-Target-Bindung. Zusätzlich bilden sowohl das Amid-Sauerstoffatom des Liganden mit dem amidgebundenen Wasserstoffatom aus Phenylalanin-195, wie auch eines der Sulfonamid-Sauerstoffatome mit einem Wasserstoffatom aus Lysin-182 jeweils eine Wasserstoff-Brücken-Bindung aus.

Testergebnisse

In einer ersten Testrunde wurden die folgenden Derivate von A19 dem HIV-Replikations-Test unterzogen. Dieser wurde wieder in der Arbeitsgruppe von PD Dr. Jochen Bodem am Institut für Virologie und Immunbiologie der Universität Würzburg durchgeführt:

FM307, FM328, FM331, FM332, FM333, FM303, FM304, FM306, FM317, FM321, FM322, FM325, FM326, FM327.

Keine der aufgeführten Substanzen weist eine Hemmung der Replikation der HI-Viren auf. Um die Wirkung und den Wirkmechanismus von A19 aufzuklären wurde im Folgenden dieser Arbeit die Erbringung eines Bindungsnachweises zwischen A19 und dem Protein priorisiert. Die Testungen auf Replikationshemmung der weiteren Derivate wurden vorerst eingestellt.

4.4 Direkter Interaktionsnachweis zwischen A19 und Elongin-C

Proteinexpression und Aufreinigung

Sowohl die Messung der Hemmung des APOBEC3G-Abbaus wie auch die Hemmung der Replikation der HI-Viren sind kein direkter Nachweis dafür, dass A19 auch wirklich die Bindetasche in Elongin-C adressiert. Es ist allerdings möglich, in ITC-(Isothermal Titration Calorimeter, Mikrokalorimetrie) oder SPR(Surface Plasmon Resonance)-Experimenten diesen direkten Nachweis einer Interaktion zwischen Substanz und Protein zu erbringen. Grundvoraussetzung dafür ist jedoch, dass das Protein in aufgereinigter Form vorhanden ist. Elongin-C allein ist jedoch nicht stabil, es liegt im menschlichen Körper immer als Proteinkomplex zwischen Elongin-B und Elongin-C vor. Somit war es das Ziel, diesen Proteinkomplex zu exprimieren. Die experimentellen Arbeiten wurden im Labor und unter Anleitung des Arbeitskreises von Prof. Dr. Caroline Kisker am Rudolf-Virchow-Zentrum der Universität Würzburg durchgeführt.

Die Expression des Proteinkomplexes erfolgte aus *E.coli*-Bakterien des BL21-DE3-Stammes unter Verwendung des pACYCDUET-EICB-Vectors (siehe Experimentalteil). Die folgende Abbildung zeigt die SDS-PAGE nach der Aufreinigung des Proteinkomplexes.

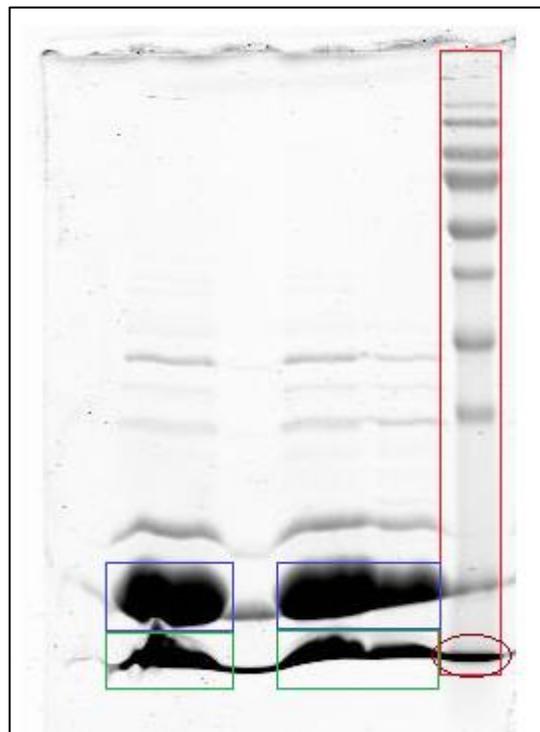


Abbildung 4.4.1: SDS-PAGE der Elongin-B/C-Proteinkomplex Fraktionen

Abbildung 4.4.1 zeigt eine SDS-PAGE der bereits aufkonzentrierten sauberen Fraktionen des Proteinkomplexes mit Markierungsbande. Die Markierungsbande (rechts, rotes Fenster) gibt Aussagekraft über die Masse der aufgereinigten Proteine. Die unterste Bande im Marker (braun markiert) entspricht einem Molekulargewicht von 10 kDa. Elongin-B (grün markiert) hat ein Gewicht von ca. 11 kDa und verhält sich im Laufverhalten somit etwa genauso wie die braun markierte Markerbande (10 kDa). Das etwas schwerere Elongin-C (ca. 14 kDa, blau markiert) liegt etwas darüber. Das Laufverhalten der zwei Proteine, wie auch die etwa gleich starke Konzentration der beiden Elongin-Banden zeigen, dass es sich bei den aufkonzentrierten Fraktionen um den Elongin-B/C-Komplex handelt.

Mikrokalorimetrie (ITC)

Bei den meisten chemischen oder biologischen Prozessen wird Wärme freigesetzt oder aufgenommen, so auch bei der Interaktion zwischen einem Inhibitor und einem Protein. Diese kann mit Hilfe eines Mikrokalorimeters gemessen werden. Dazu wurde in einem typischen Mikrokalorimetrie-Experiment in der Messeinheit der Elongin-B/C-Komplex gelöst in einem 20 mM HEPES (pH = 7.0) Puffer vorgelegt. Die Probenkammer hat ein Volumen von 200 μ l. In diese Messeinheit wurde eine Lösung (40 μ l) aus A19 als Inhibitor in exakt dem gleichen Puffer ($c = 10 \mu$ M, maximale Konzentration, limitiert durch sehr schlechte Löslichkeit der organischen Verbindung in der wässrigen Pufferlösung) eingeführt und die dabei entstehende Wärme detektiert. Als Referenz wurde der gleiche Versuch unternommen, mit der Ausnahme, dass in der zugegebenen Lösung beim Kontroll-Experiment kein Inhibitor gelöst wurde. Dem Unterschied der gemessenen Wärme zwischen den beiden Versuchen liegt somit in der Interaktion zwischen Inhibitor und Protein zugrunde. Abbildung 4.4.2 zeigt das Ergebnis des beschriebenen Experiments.

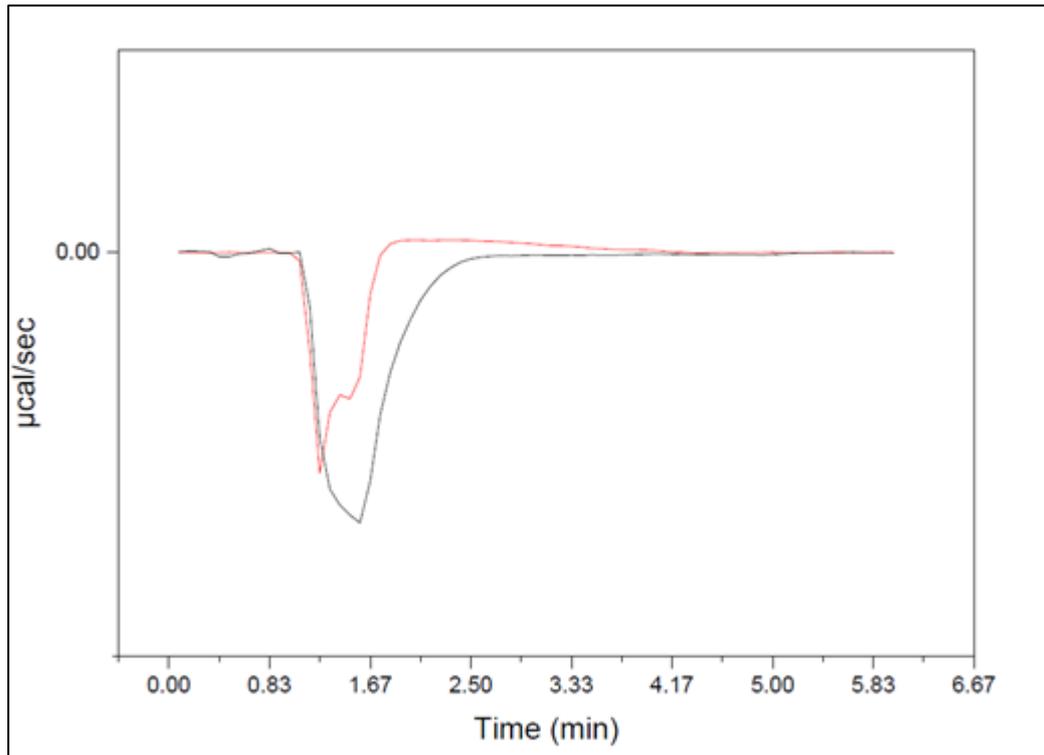


Abbildung 4.4.2: Ergebnis des Mikrokalorimetrie-Experiments (rote Kurve: Referenzmessung; schwarze Kurve: Probenmessung)

Die Fläche unter der rot-markierten Kurve entspricht der gemessenen Wärmeenergie des Kontrollversuchs ohne Inhibitor, die Fläche der schwarzen Kurve der entstandenen Wärme beim Experiment mit Inhibitor in der Einspritzlösung. Es ist eine Energiedifferenz feststellbar, was als Indiz auf eine Wechselwirkung zwischen Inhibitor und Protein dient. Diese ist allerdings sehr gering und unspezifisch und damit kein Beweis für die tatsächliche Affinität des Inhibitors zur Bindetasche im Protein.

Dieser Beweis wird erbracht, wenn in einem weiteren Versuch unter stöchiometrischen Bedingungen zwischen Protein und Hemmstoff durch stufenweise Zugabe von Inhibitorlösung eine Sättigung der Bindetasche erreicht wird. Erst wenn bei weiterer Zugabe des Liganden, nach Erreichen des Äquivalenzpunktes, keine Wärmeenergie freigesetzt wird, ist bewiesen, dass es sich bei der Interaktion um eine Ligand-Protein-Wechselwirkung handelt.

Die Löslichkeit von A19 in der Pufferlösung (pH = 7.0) ist allerdings mit 10 µM zu gering um einen solchen Titrationsversuch durchzuführen. Um die Löslichkeit zu erhöhen bieten sich zwei Möglichkeiten:

- Da es sich beim Grundgerüst von A19 um eine Amin-Struktur handelt, kann eine erhöhte Wasserlöslichkeit durch Protonierung des Amin-Stickstoffs erreicht werden. Dazu muss der pH-Wert des Puffers gesenkt werden. Problematisch dabei ist jedoch, dass durch die Protonierung des Stickstoffs die Raumstruktur des Moleküls verändert wird, und somit die Affinität zur Bindetasche möglicherweise abfällt. Daher wird diese Möglichkeit nicht in Betracht gezogen.

- In weiteren Dockingstudien wurde ein Molekül auf A19-Basis berechnet, das einerseits die gleiche Affinität zur Bindetasche im Protein besitzen, andererseits aber in einem Puffer mit einem pH-Wert von 7 sehr gut löslich sein sollte, da die Carbonsäurefunktionen in diesem Milieu hauptsächlich deprotoniert vorliegen. Dies führt zu einer Erhöhung der Polarität und damit zu einer besseren Wasserlöslichkeit. Da die Carbonsäurefunktionen aus der Bindetasche in das Umgebungsmedium hinauszeigen, haben sie nur einen geringen Einfluss auf das Bindeverhalten des Liganden. Abbildung 4.4.3 zeigt diese berechnete Molekülstruktur.

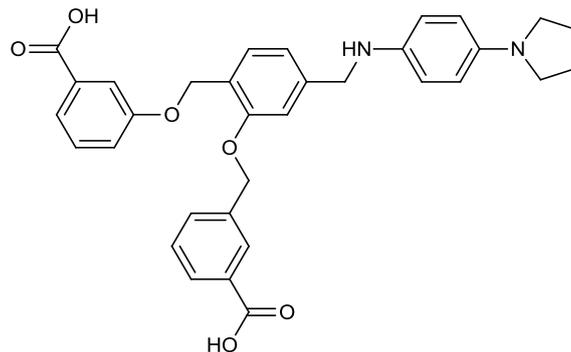
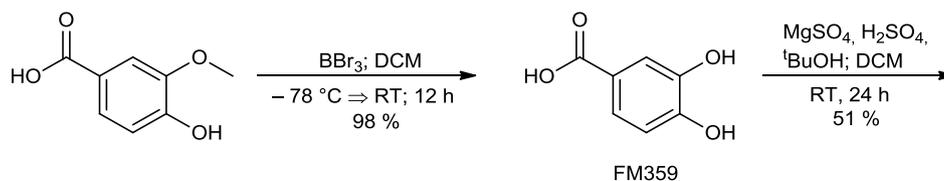


Abbildung 4.4.3: Struktur des besser wasserlöslichen A19-Derivates FM412

Dieses Derivat wurde nach folgendem Synthesepfad synthetisiert.



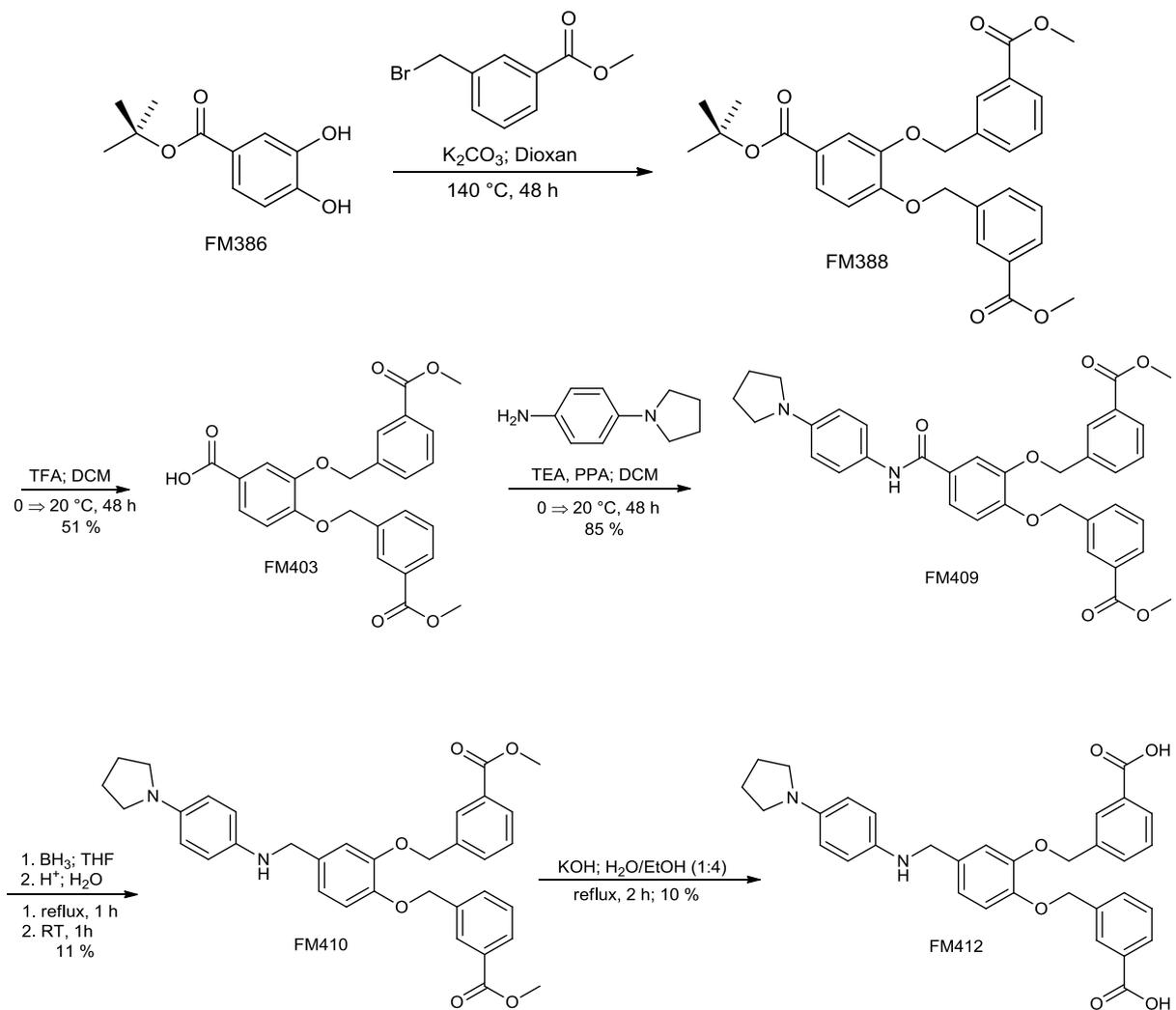


Abbildung 4.4.4: Darstellung von FM412

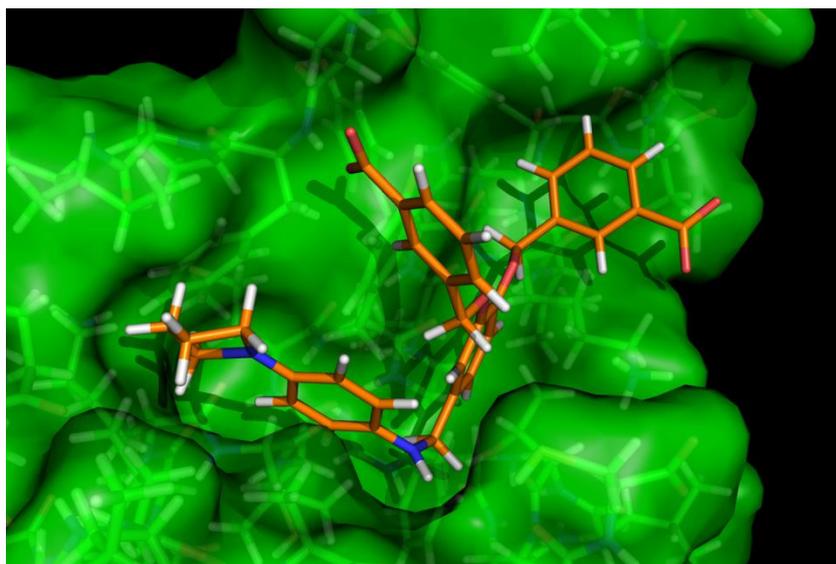


Abbildung 4.4.5: FM412 in der Bindetasche von Elongin-C

Durchführung und Diskussion

Da der Protein-Verbrauch bei Mikrokalorimetrie-Experimenten sehr hoch ist und noch keine Kenntnisse von FM412 über Hemmung des APOBEG3G-Abbaus bzw. der Replikation der HI-Viren bestanden, wurden die ITC-Testversuche mit FM412 vorerst zweitrangig behandelt.

Surface Plasmon Resonance (SPR, Oberflächenplasmonenresonanz)

Funktionsweise

Durch SPR-Experimente wird es ermöglicht, ein Bindungsereignis zwischen zwei unmarkierten Molekülen in Echtzeit zu verfolgen. In Abbildung 4.4.6 wird die Funktionsweise erläutert.

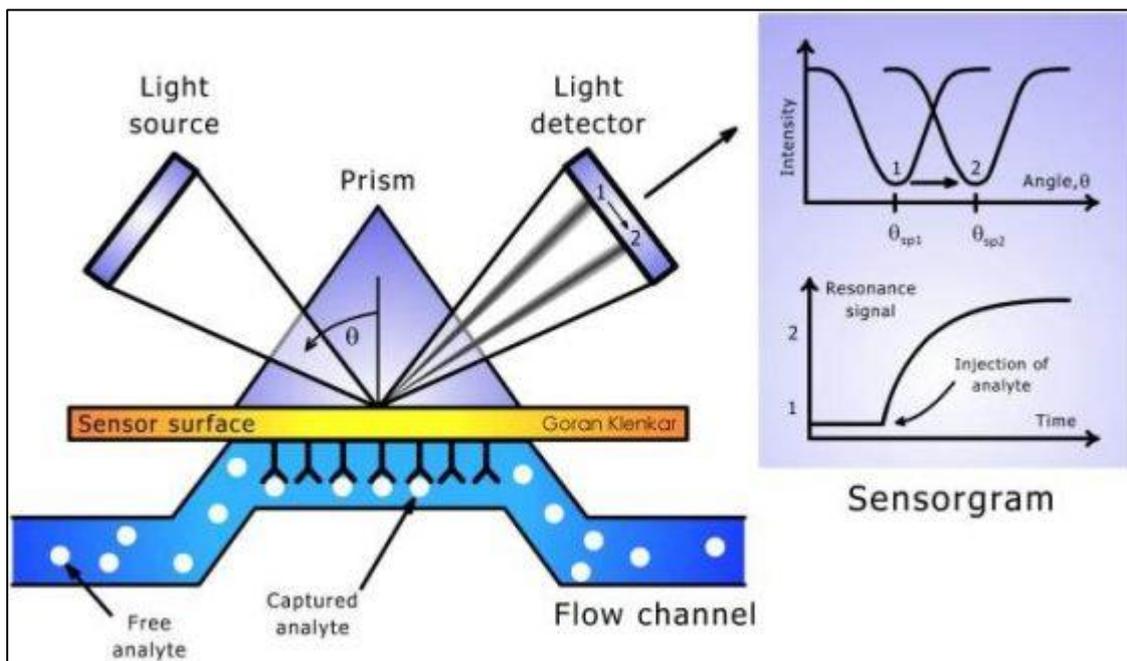


Abbildung 4.4.6: Funktionsprinzip der Surface Plasmon Resonanz-Spektroskopie

Polarisiertes Licht wird durch ein Prisma auf einen Biosensorchip gestrahlt. Dieser besteht aus einer Glasoberfläche, die mit einem dünnen Goldfilm überzogen ist. Dort werden an der Grenzfläche zwischen Metall und Analyt Oberflächenplasmonen angeregt. Diese bewirken im totalreflektierten Licht Intensitätsminima. Die Ausfallwinkel der Intensitätsminima reagieren bei Oberflächenplasmonen stark auf die Brechzahländerungen in der unmittelbaren Nähe der Metalloberfläche. Dadurch verändert sich der Winkel des totalreflektierten Lichtes in Abhängigkeit zu den auf der Seite des Analyten an der Goldfolie/Goldchip gebundenen Molekülen. Umso mehr Analyt am Biosensorchip gebunden ist, desto größer ist die Veränderung des Winkels der Intensitätsminima im ausfallenden Licht. Wird dieser Winkel detektiert, kann somit eine Aussage über gebundenen Analyten getroffen werden.

Die Chips tragen an der Goldoberfläche eine carboxymethylierte Dextranoberfläche, die ca. 100 nm in das umgebende Medium hineinragt. Diese werden zur Bindung mit einem Protein aktiviert und reagieren mit Stickstoffatomen der Oberfläche des Proteins unter Ausbildung einer kovalenten Bindung. Dadurch wird das Protein in komplett nicht-denaturierter Form gebunden und ist noch voll funktionstüchtig. Durch ein in den Chip integriertes kontinuierliches Flusssystem, das einen direkten Kontakt zur Goldoberfläche besitzt, gelangt die injizierte Probe in Kontakt zum Protein. Interagiert eine Substanz mit dem immobilisierten Protein, so führt das zu einer Massenveränderung, die wiederum eine Verschiebung des Winkels der Intensitätsminima des ausfallenden Lichts zur Folge hat. Diese wird durch den Lichtdetektor aufgenommen und kann am Bildschirm in Form eines Diagramms beobachtet werden. Die Signalstärke ist somit proportional zu gebundenen Massen an der Chipoberfläche. Jeder Goldchip verfügt über zwei Messeinheiten. Eine wird für die injizierte Probe als Messzelle genutzt, die andere dient als Referenzzelle, die zwar auch mit Testsubstanz gespült wird, in der allerdings vorher kein Protein immobilisiert wurde. Zieht man die Winkelveränderung der beiden Zellen voneinander ab, kann daraus die Affinität von der Substanz zum Protein bestimmt werden. Umso größer der Winkelunterschied der ausfallenden Strahlung, desto größer ist die Massenzunahme am Protein, was auf die Bindung von Inhibitor am Protein zurückzuführen ist.

Messung der Interaktion der Testsubstanzen mit dem Elongin-B/C-Komplex

Bevor die Messungen durchgeführt werden können, muss der Proteinkomplex in der Messzelle auf dem Chip immobilisiert werden. Abbildung 4.4.7 gibt den Verlauf der Immobilisierung wieder.

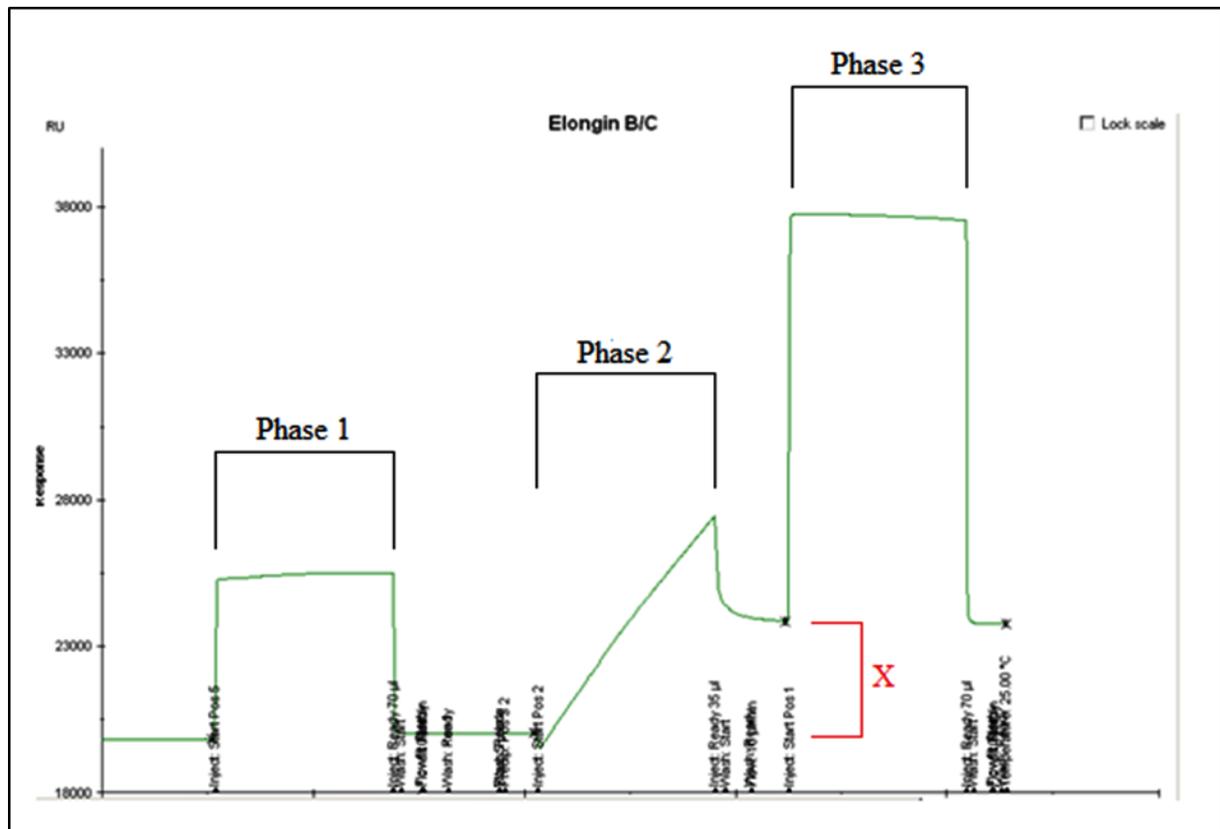


Abbildung 4.4.7: Immobilisierung des Proteinkomplexes

Phase 1: Spülung der Messzelle mit Aktivierungsreagenzien, die die Carboxylgruppen an der Dextranoberfläche aktivieren

Phase 2: Spülung der Messzelle mit Protein-Lösung. Es bilden sich kovalente Bindungen zwischen Stickstoffatomen im Proteinkomplex mit den aktivierten Carboxylgruppen aus.

Nach Phase 2 ist eine deutliche Veränderung des Ausfallwinkels zu erkennen (rot markiert, X). Das ist der Beweis dafür, dass Protein auf dem Chip immobilisiert wurde. Durch Bindung des Proteins an der Dextranoberfläche resultiert eine Massenzunahme, welche die Änderung des Ausfallswinkels des Lichtes bewirkt.

Durchführung und Diskussion

Phase 3: Deaktivierung der nicht Protein-gebundenen Dextranoberfläche. Die vorher aktivierten Carbonylgruppen werden wieder in Carbonsäurefunktionen umgewandelt.

In der Messzelle ist der Elongin-B/C-Komplex erfolgreich immobilisiert.

In Abbildung 4.4.8 ist der Testlauf mit FM329 (=A19) dargestellt.

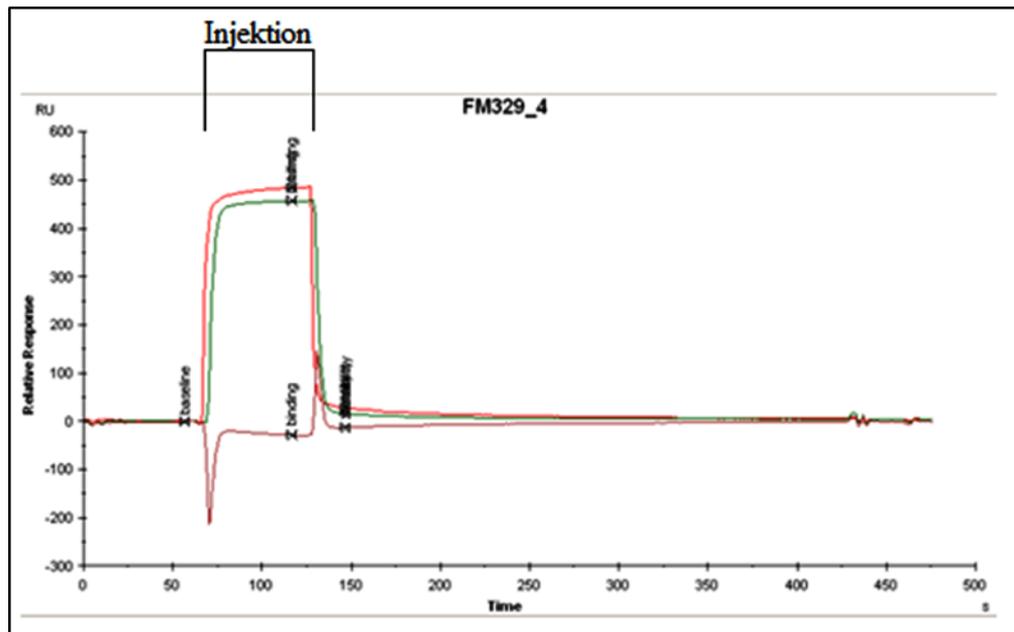


Abbildung 4.4.8: Testlauf von FM329 (A19)

Die rote Linie entspricht dem Ausfallwinkel des Lichts der Referenzzelle, die grüne Linie dem Ausfallwinkel des Lichts der Messzelle. Die braune Linie (unten) entspricht der Differenz der beiden Messzellen. Die Veränderung des Winkels während der Injektion in Referenz- und Messzelle ist dem Injektionsvorgang zuzuschreiben und ist in beiden Zellen nahezu identisch.

Ein positiver Bindungsnachweis wäre erbracht, wenn nach der Injektion in der Messzelle eine größere Winkeländerung vorzufinden wäre als in der Referenzzelle. Das ließe darauf schließen, dass Ligand am Protein gebunden ist und somit die Masse zugenommen hat. Dies ist jedoch nicht der Fall, die braune Differenzlinie liegt genau wie vor der Injektion auf der Höhe von 0 RU. Damit konnte keine Bindung zwischen FM329 und Elongin-C nachgewiesen werden.

Durchführung und Diskussion

Im weiteren Verlauf sollten einige A19-Derivate getestet werden. Abbildung 4.4.9 zeigt die Ergebnisse.

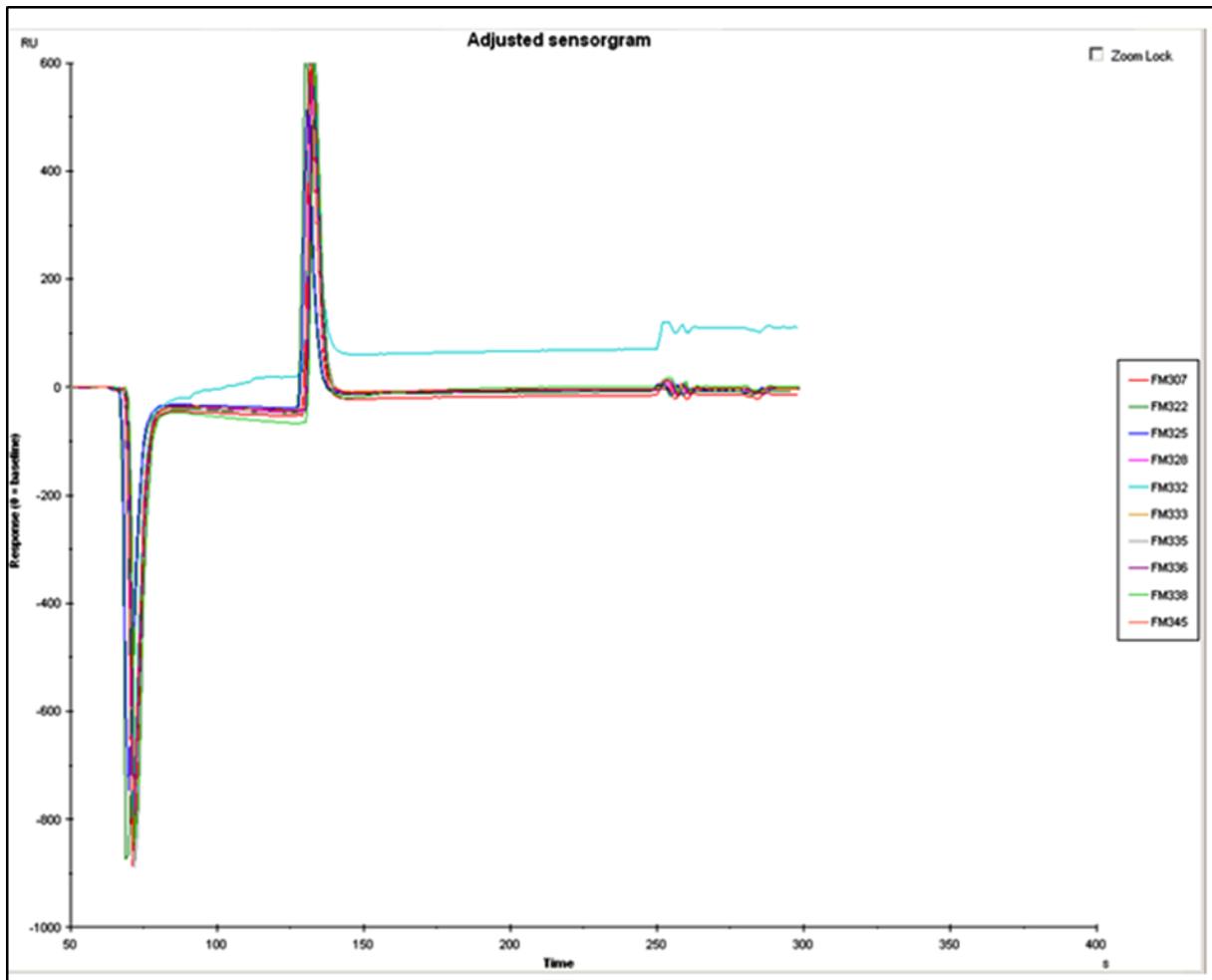


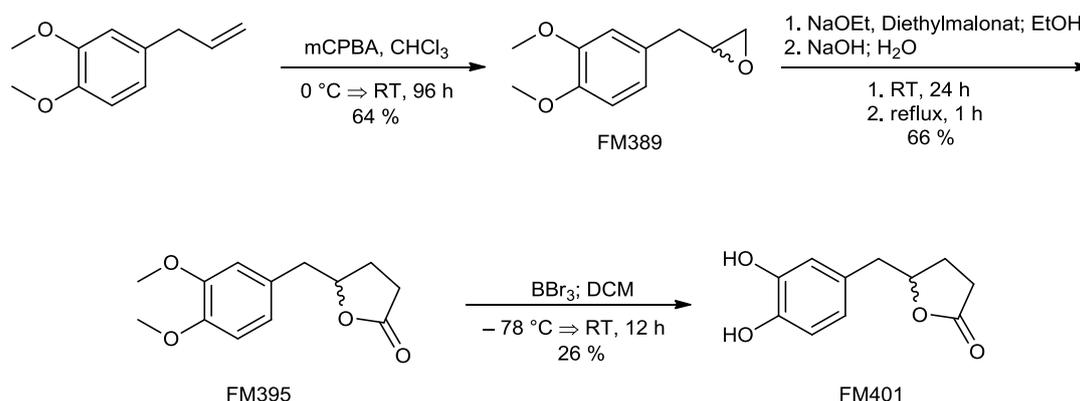
Abbildung 4.4.9: Test von 10 weiteren A19-Derivaten

Getestet wurden die Substanzen FM307, FM322, FM325, FM328, FM332, FM333, FM335, FM336, FM338 und FM345. In der Grafik ist jeweils ausschließlich die Differenzlinie der Ausfallwinkel von Referenz- und Messzelle angegeben. Bei keinem der Derivate ist eine Wechselwirkung zwischen Protein und Inhibitor zu erkennen.

5 Nebenprojekte

5.1 Nebenprojekt 1: Synthese von 5-(3,4-Dihydroxybenzyl)- γ -valerolacton (FM401)

Für den Arbeitskreis von Frau Prof. Dr. Petra Högger, Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie, Universität Würzburg, wurden folgende Synthese durchgeführt (Schema 5.1). Die Substanz FM401 dient als Standardsubstanz für die Quantifizierung von Studienproben aus biologischer Matrix nach oraler Einnahme eines standardisierten Kiefernendenextraktes.



Schema 5.1: Syntheseroute zu 5-(3,4-Dihydroxybenzyl)- γ -valerolacton

Im ersten Schritt wird die Doppelbindung der Ausgangsverbindung mit *meta*-Chlorperbenzoesäure in das Epoxid FM389 umgewandelt. Als nächstes reagiert Diethylmalonat als Nucleophil und öffnet mit einem Angriff das Epoxid. Im Anschluss findet eine Verseifung statt. Die entstandene Carbonsäurefunktion wird decarboxyliert und es entsteht die Zwischenstufe FM395. Diese wird in einer typischen Demethylierungsreaktion mit Bortribromid umgesetzt.

5.2 Nebenprojekt 2: Synthese von Substanzen zur Mechanismusaufklärung der im Lebenszyklus von *Plasmodium falciparum* ablaufenden biologischen Prozesse

Für den Arbeitskreis von Frau Priv.-Doz. Dr. Gabriele Pradel, Institut für Molekulare Biotechnologie, RWTH Aachen, wurden nachfolgend beschriebene Synthesen durchgeführt. Ziel der Arbeiten war es mit Hilfe markierter Xanthurensäure, den Lebenszyklus von *Plasmodium falciparum* zu erforschen. Xanthurensäure spielt in der Fortpflanzung der Parasiten eine entscheidende Rolle. Sie bewirkt einen Anstieg der Calcium-Konzentration in den Gametozyten, was die Voraussetzung für eine erfolgreiche Gametogenese darstellt. Wie genau die Xanthurensäure für einen Calciumanstieg sorgt, ist derzeit noch nicht bekannt. Es ist daher von wissenschaftlichem Interesse mehr über die Wirkung der Xanthurensäure und deren Analoga in den Gametozyten zu erfahren.

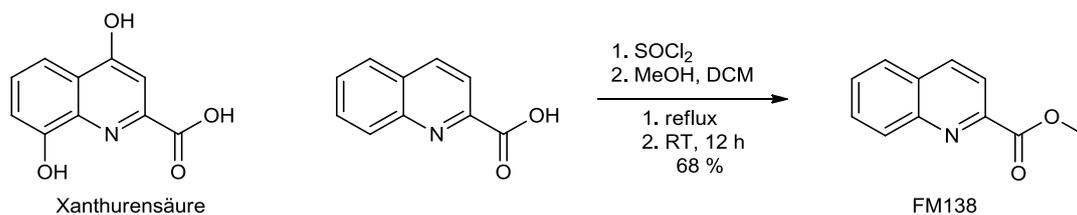
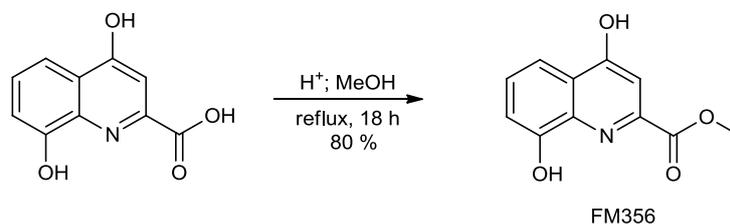
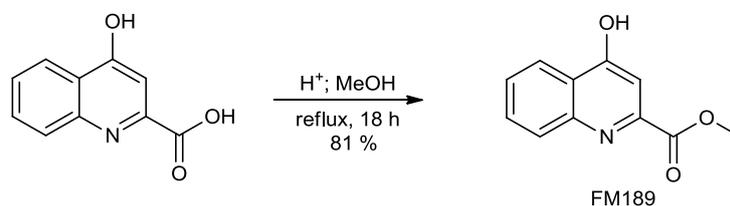


Abb. 5.2: Links: Xanthurensäure; Rechts: Synthese von FM138

FM138 wurde über eine Thionylchlorid induzierte Veresterung dargestellt.



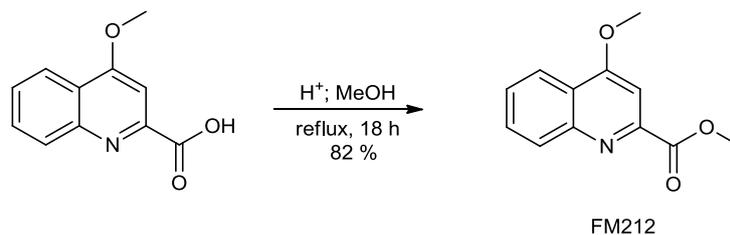


Abb. 5.3: Synthese von FM189, FM356 und FM212

FM189, FM356 und FM212 wurden jeweils in einer säurekatalysierten Veresterungsreaktion hergestellt.

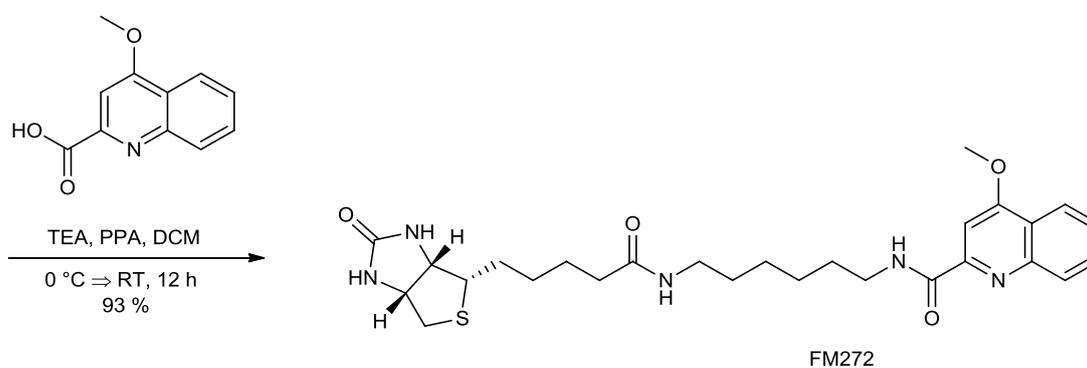
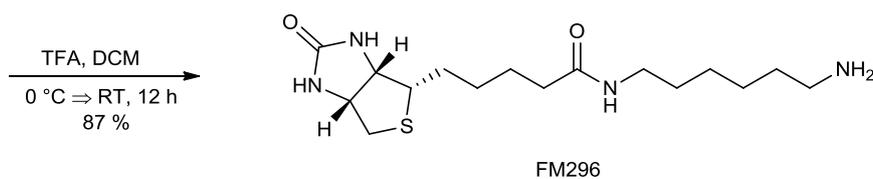
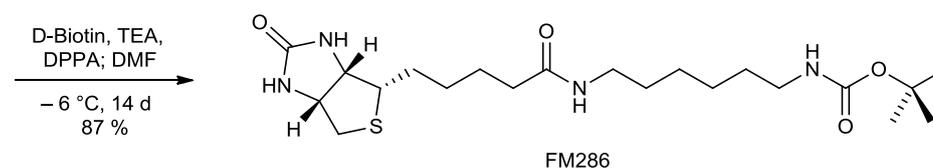
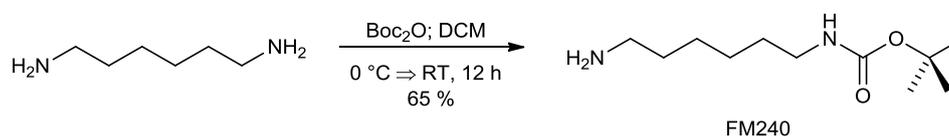


Abb. 5.4: Synthese zur Darstellung von FM272

Nebenprojekte

Im ersten Schritt wird die Ausgangssubstanz auf einer Seite mit einer Boc-Schutzgruppe geschützt. Die andere Seite wird in einer DPPA-vermittelten Amidknüpfungsreaktion mit Biotin gekuppelt. Daraufhin wird die anfangs eingeführte Schutzgruppe wieder entfernt und das entstandene Amin mittels PPA mit 4-Methoxy-2-quinolincarbonsäure zum Amid umgesetzt.

6 Routinetests

Stichprobenartig ausgewählte Vertreter jeder synthetisierten Substanzklasse wurden in Routinetests auf Aktivitäts-Hemmung verschiedener Enzymen getestet. Dabei wurden insgesamt 24 Substanzen auf Hemmung von sieben Enzymen untersucht. Die Ergebnisse des Screenings und Verdünnungsreihen sind in folgenden Tabellen aufgezeigt.

Zur genauen Bestimmung der Hemmwerte wurde eine Doppelbestimmung der Werte durchgeführt und daraus der Mittelwert gebildet. Das Screening fand bei einer Inhibitor-Konzentration von 20 μM statt. Die angegebenen Werte sind Prozentangaben der Inhibitoren bezogen auf DMSO.

Routinetests

	Cathepsin L	Cathepsin B	Sars-PI ^{pro}	Falcipain
FM34	12	40	0	8
FM80	7	5	0	1
FM90	5	8	1	0
FM111	20	7	9	3
FM141	5	31	7	7
FM149	6	36	16	3
FM161	3	0	0	0
FM166	14	0	0	0
FM169	10	8	0	0
FM173	15	17	0	0
FM175	11	21	0	0
FM230	6	33	0	6
FM242	15	0	0	15
FM303	21	30	0	8
FM304	86	9	14	14
FM306	16	0	10	18
FM307	5	6	5	35
FM321	9	13	13	34
FM325	37	8	0	15
FM329	50	3	5	4
FM331	23	0	6	11
FM333	20	13	9	18
FM345	13	6	16	21
FM350	24	17	18	29

Tabelle 6.1: Screening-Ergebnisse stichprobenartig ausgewählter Substanzen an den Enzymen Cathepsin L, Cathepsin B, Sars-PL^{pro} und Falcipain (Inhibitorkonzentration = 20 µM, Ergebnisse sind Prozentangaben bezogen auf DMSO)

	Cruzain	Leishmania CPB	Rhodesain
FM34	17	43	55
FM80	0	2	9
FM90	0	1	0
FM111	0	8	4
FM141	6	20	12
FM149	4	17	18
FM161	0	0	0
FM166	13	0	10
FM169	12	0	0
FM173	12	4	4
FM175	15	20	2
FM230	9	23	9
FM242	24	6	34
FM303	5	1	10
FM304	93	64	91
FM306	10	5	11
FM307	17	20	7
FM321	27	28	18
FM325	27	93	52
FM329	90	79	19
FM331	2	0	2
FM333	11	45	21
FM345	10	20	12
FM350	18	51	20

Tabelle 6.2: Screening-Ergebnisse stichprobenartig ausgewählter Substanzen an den Enzymen Cruzain, Leishmania CPB und Rhodesain (InhibitorKonzentration = 20 µM, Ergebnisse sind Prozentangaben bezogen auf DMSO)

Von allen Substanzen, die eine Hemmung von über 40 % ergaben, wurden Verdünnungsreihen gemessen und K_i -Werte ermittelt. Die Bestimmung der Dissoziationskonstanten K_i erfolgte über die vorherige Berechnung der IC_{50} -Werte. Diese wurden mit dem Enzymkinetik-Programm Grafit^{®[47]} in nicht-linearer Regressionsanalyse berechnet. Da der Inhibitor mit dem Substrat um die Bindestelle konkurriert, müssen anschließend sowohl die Substratkonzentration als auch die Affinität des Substrates zum Enzym (K_m -Wert) in die Bestimmung des K_i -Wertes mit einbezogen werden. Dies geschieht durch folgende Korrekturgleichung:

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

Bei den Verdünnungsreihen wurden acht verschiedenen Konzentrationen vermessen (0, 10, 20, 40, 50, 60, 80, 100 μ M) und ebenfalls Doppelbestimmungen durchgeführt. In Tabelle 6.3 sind die Ergebnisse aufgelistet. „H [%]“ gibt die prozentuale Hemmung durch die Substanz bei einer Konzentration von 20 μ M am entsprechenden Enzym an.

		Cat L	Cat B	Sars	Falc.	Cru.	Leish.	Rhod.
FM34	H [%]	--	40	--	--	--	43	55
	K _i [μM]	--	27.3	--	--	--	25.4	9.06
FM141	H [%]	--	31	--	--	--	--	--
	K _i [μM]	--	32.3	--	--	--	--	--
FM149	H [%]	--	36	--	--	--	--	--
	K _i [μM]	--	25.7	--	--	--	--	--
FM242	H [%]	--	--	--	--	--	--	34
	K _i [μM]	--	--	--	--	--	--	2.32
FM303	H [%]	--	30	--	--	--	--	--
	K _i [μM]	--	82.7	--	--	--	--	--
FM304	H [%]	86	--	--	--	93	64	91
	K _i [μM]	39.6	--	--	--	10.8	21.7	5.13
FM325	H [%]	37	--	--	--	27	93	52
	K _i [μM]	23.2	--	--	--	8.55	12.5	2.41
FM329	H [%]	50	--	--	--	90	79	--
	K _i [μM]	39.6	--	--	--	20.7	14.3	--

Tabelle 6.3: Zusammenfassung der Testergebnisse der aktiven Substanzen

Von den elf getesteten A19-Derivaten lassen sich drei Substanzen aufgrund ähnlicher Hemmung zusammenfassen: FM304, FM325 und FM329. Die Aktivitäten der Substanzen sind zum Teil beachtlich hoch, jedoch unspezifisch, da jedes der Moleküle mehrere Proteasen mit relativ gleichbleibender Affinität bindet. Diese unspezifische Hemmung von Substanzen ist typisch für die betroffenen Enzyme, da sowohl Cruzain, wie auch Leishmania CPB und Rhodesain eine Cathepsin L-ähnliche Cysteinproteasen-Struktur aufweisen.

Im Gegensatz zu den eben angesprochenen Substanzen ist die Aktivität von FM242 bemerkenswert. Die Substanz wirkt einerseits selektiv an Rhodesain, zudem ist die Dissoziationskonstante mit 2.32 μM sehr gering. Da FM242 nur auf Rhodesain, und nicht auf eine der eben angesprochenen weiteren Cathepsin L-ähnlichen Proteasen hemmend wirkt,

könnte FM242 als Ausgangssubstanz für detailliertere Studien dienen. Die Struktur von FM242 sollte in diesen Studien als Leitstruktur fungieren und weitere Modifikationen der Substanz synthetisiert und getestet werden.

Auch FM149 weist eine Spezifität auf, allerdings gegen Cathepsin B. Die Affinität ist mit einem K_i -Wert von 25.7 μM allerdings um einen Faktor von 10 geringer als die von FM242 an Rhodesain. Die Substanzen FM149 und FM141 besitzen ein identisches Grundgerüst, sie unterscheiden sich lediglich in einer Methylester-Funktion. Passend dazu wurde die beschriebene Selektivität gegenüber Cathepsin B von FM141 bestätigt.

Mit FM34 wurde ein weiterer unspezifischer Hemmstoff ermittelt. Die Dissoziationskonstanten sind mit beispielsweise 9.06 μM an Rhodesain gering, allerdings macht die geringe Selektivität die Substanz für weitere Entwicklungsstudien uninteressant. Hervorzuheben ist allerdings, dass nicht das zu erwartende Cathepsin L – wie oben beschrieben besitzen Rhodesain und Leishmania CPB Cathepsin L-ähnliche Strukturen – sondern Cathepsin B vom Inhibitor angesprochen wird.

7 Zusammenfassung und Ausblick

Weltweit sind über 34 Millionen Menschen mit dem HI-Virus infiziert, täglich steigt die Zahl weiter an. Es liegt auf der Hand, dass die Forschung zur Bekämpfung der Replikation des Virus stetig weiter geführt werden muss. In dieser Arbeit wurden die Grundlagen für einen neuartigen HIV-Therapieansatz geschaffen. Dabei steht nicht die Hemmung von Replikations-essentiellen Enzymen wie Protease, Reverse Transkriptase oder Integrase im Vordergrund, sondern die Aufrechterhaltung des humanen retroviralen Schutzes. Durch Hemmung der *vif*-Elongin-C-Interaktion mit Elongin-C-Inhibitoren bleibt der Organismus in der Lage, sich mithilfe von APOBEC3G auf natürlichem Wege vor dem HI-Virus zu schützen, unabhängig von viralen Mutationen.

Aufgrund der Tatsachen, dass die Kristallstruktur von Elongin-C und der Bindemodus von *vif* in der essentiellen Bindetasche des Proteins aufgeklärt sind, konnten durch Docking-Berechnungen in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Christoph Sotriffer *in-silico* Substanzen bestimmt werden, die theoretisch mit hoher Affinität in die Bindetasche binden und so *vif* aus dieser verdrängen. Basierend auf diesen Docking-Studien wurden im Rahmen dieser Arbeit ca. 50 potentielle Inhibitoren synthetisiert und weitere 27 Substanzen kommerziell erworben. Diese wurden anschließend zum größten Teil in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Axel Rethwilm in einer zellulären Testvariante auf Hemmung des APOBEC3G-Abbaus getestet. Dabei erwies sich die Substanz A19 (FM329, Abb. 7.1) als sehr effektiv.

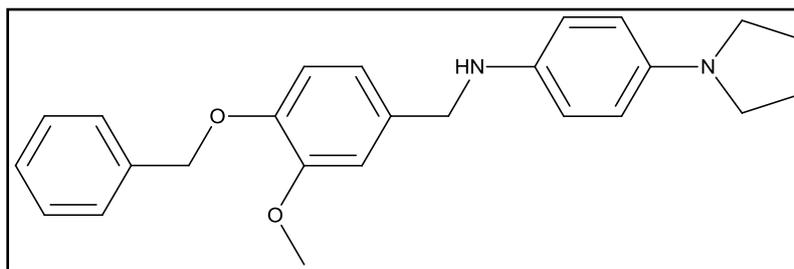


Abb. 7.1: Struktur von A19

Zur Bestätigung dieses Testergebnisses wurde A19 weiterhin in der Arbeitsgruppe von PD Dr. Jochen Bodem auf Hemmung der Replikation der Viren untersucht. Auch hier hemmt A19 die Replikation des Virus bei einer Konzentration von 30 μM zu 100%. Da allerdings die Hemmung des Abbaus von APOBEC3G bzw. der Replikation des Virus kein Nachweis auf die tatsächliche postulierte Interaktion zwischen dem Inhibitor und der Bindetasche des

Proteins ist, wurde im weiteren Verlauf versucht diese Interaktion nachzuweisen. Dazu wurde zunächst unter Anleitung von Mitarbeitern des Arbeitskreises von Prof. Dr. Caroline Kisker das Targetprotein exprimiert und isoliert. Damit konnten erste Versuche zur Bindungsaufklärung durchgeführt werden. Diese beliefen sich auf Mikrokalorimetrie-Experimente und Surface-Plasmon-Resonance Untersuchungen. Erste Indizien für eine Wechselwirkung zwischen dem Inhibitor und dem Protein konnten damit bereits ermittelt werden, ein eindeutig positives Ergebnis wurde allerdings noch nicht erzielt.

Erstes Ziel der fortführenden Arbeiten sollte sein, die Affinität von A19 zur essentiellen Bindetasche im Targetprotein zu fundieren. Dazu bieten sich verschiedene Möglichkeiten: Es können intensivierete Experimente im Rahmen der Mikrokalorimetrie in Betracht gezogen werden. Allerdings wird die Mikrokalorimetrie typischerweise eher für eine Bindungscharakterisierung als für Bindungsnachweise genutzt. Weiterhin kommt hinzu, dass in der Mikrokalorimetrie der Proteinverbrauch relativ hoch anzusetzen ist. Deshalb bietet es sich eher an die Surface-Plasmon-Resonance Untersuchungen weiter fortzuführen. Sowohl sehr geringer Proteinverbrauch wie auch eine hohe Durchsatzzahl zeichnen diese Methode aus.

Alternativ besteht die Möglichkeit, anstatt die bisher durchgeführten Methoden zu intensivieren, ganz andere Prinzipien zur Bindungsaufklärung zu nutzen. Die Thermophorese stellt eine Möglichkeit dar. Dabei wird der Bewegungsdrang von Teilchen aufgrund von Temperaturunterschieden ausgenutzt. Die Thermophorese ist eine bewährte Methode zur Affinitätsbestimmung zwischen allen Arten von Molekülen, sei es DNA, RNA oder einfachen chemischen Verbindungen.

Bestätigt sich dadurch die Theorie, dass die Hemmung der Replikation der HI-Viren tatsächlich an der Hemmung des Abbaus von APOBEG3G, und damit auf der Interaktionsstörung der Inhibitoren von *vif* und Elongin-C beruht, eröffnet sich für die HIV-Forschung ein komplett neues Forschungsgebiet.

Es muss allerdings in Betracht gezogen werden, dass die Hemmung von Elongin-C auch weitere tiefgreifende Folgen mit sich bringen kann. Der in Kapitel 2.5 beschriebene Protein-Abbau-Mechanismus dient nicht ausschließlich der Abführung von APOBEG3G. Er dient eigentlich eher dazu, körpereigene Proteine durch die sogenannte *Ubiquitylierung* zu

markieren und anschließend so durch das Proteasom zerstören zu lassen. Wird dieser Effekt durch die Hemmung von Elongin-C unterdrückt, kann die *Ubiquitinylierung* nur noch eingeschränkt zur Regulation menschlicher Proteine genutzt werden. Dies wiederum kann einen erheblichen Einfluss auf die Zellerstellung, -wachstum und -differenzierung haben. Dies kann am Wirkmechanismus des VHL-Proteins (Von-Hippel-Lindau Protein) deutlich gemacht werden. Dieses wirkt im menschlichen Körper als Tumorsuppressor, indem es an den Transkriptionsfaktor HIF1a (*hypoxia inducible factor 1a*; Verantwortlich für die Durchblutung von Tumoren und damit bestimmend für deren Wachstum) bindet und anschließend über die *Ubiquitinylierung* zur Regulation dessen beisteuert. Wird die Bindestelle in Elongin-C durch die Inhibitoren blockiert, kann diese Regulation des Transkriptionsfaktors HIF1a nicht in vollem Umfang vollzogen werden (gleicher Effekt wie im Von-Hippel-Lindau-Syndrom: Anhäufung von HIF1a-Proteinen) und führt damit zu einer erhöhten Wahrscheinlichkeit zur Ausbildung von bösartigen Tumoren. ^[48–52]

Daher gilt es in weiterführenden Arbeiten, ist erst ein geeigneter Elongin-C-Inhibitor entwickelt, dessen Einfluss auf den menschlichen Organismus generell zu untersuchen.

8 Summary

Worldwide, more than 34 million people are infected with the HI virus and this number is increasing more and more. Obviously, the scientific research needs to be continued to prevent the replication of this virus. This PhD thesis deals with the design of new therapeutics basics against HIV. In our case, the inhibition of essential enzymes like the HIV protease, reverse transcriptase or integrase do not play the main role. Our aim is the upkeep of the human retroviral protective mechanism. The inhibition of the interaction between *vif* and elongin C with elongin C inhibitors makes it possible for the human organism to defend itself from the virus by the assistance of APOBEC3G.

Due to the knowledge about the crystal structure of elongin C and the binding mode of *vif* into the essential binding pocket of the protein, we were able to do *in-silico* calculations to identify compounds with potentially high affinities for the target binding pocket. Based on these docking calculations (done in the working group of Prof. Dr. Christoph Sotriffer), approximately 50 compounds were synthesized and further 27 were purchased. In the working group of Prof. Dr. Axel Rethwilm these substances were tested in a cell-mediated method for the inhibition of the reduction of APOBEC3G. One substance, in the following parts named A19, revealed as a very effective compound (see figure 8.1).

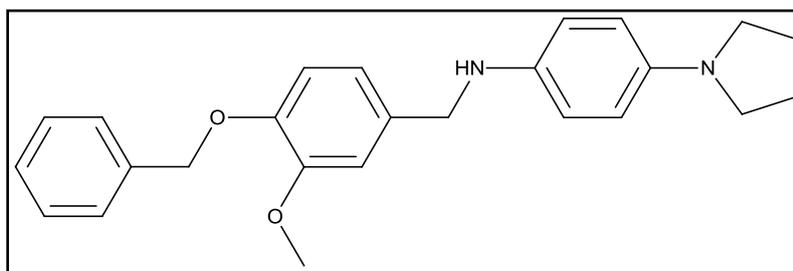


Figure 8.1: Structure of A19

To confirm this result, A19 was tested additionally for the inhibition of the HI virus' replication in the working group of Dr. Jochen Bodem. In this test, A19 stopped the replication of the HIV at a concentration of 30 μ M up to 100 %. However, the inhibition of the reduction of APOBEC3G or the replication of the virus is not a proof of the postulated interaction between the compound and the protein. This should be proved in following

Summary

studies. Therefore, the target protein elongin C was expressed and isolated. Using different ITC-(isothermal titration calorimeter) and SPR-(surface plasmon resonance) experiments, we found indications of a direct binding of the compound A19 to the protein but unfortunately, the explicit proof is still missing.

9 Experimentaltteil

9.1 Vorbemerkungen

Schmelzpunkte (Smp.)

Die Schmelzpunkte wurden an einem Schmelzpunktgerät 530 der Firma *Stuart* in offener Kapillare gemessen. Die so bestimmten Werte sind nicht korrigiert.

Infrarotspektroskopie (IR)

Die IR-Spektren wurden an einem PharmalyzIR FT-IR-Spektrometer der *Fa. Bio-Rad* mittels einer diamondATR-Einheit aufgenommen. Die Angabe der Werte erfolgt in Wellenzahlen $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]. Die Intensität der Signale wird durch folgende Abkürzungen angegeben: s = stark, m = mittel, w = schwach, br = breit.

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

Die Spektren wurden an einem AVANCE 400 MHz Spektrometer der *Fa. Bruker Biospin GmbH* aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen δ sind in ppm angegeben und die Kopplungskonstanten J in Hertz (Hz). Als interner Standard dienten bei allen NMR-Spektren die Restprotonensignale der eingesetzten deuterierten Lösungsmittel CDCl_3 ($^1\text{H-NMR}$: $\delta = 7.26$ ppm, $^{13}\text{C-NMR}$: $\delta = 77.00$ ppm), MeOD-d_4 ($^1\text{H-NMR}$: $\delta = 3.31$ ppm, $^{13}\text{C-NMR}$: $\delta = 49.05$ ppm) und DMSO-d_6 ($^1\text{H-NMR}$: $\delta = 2.50$ ppm, $^{13}\text{C-NMR}$: $\delta = 39.52$ ppm). Die Multiplizitäten der Signale werden durch folgende Abkürzungen angegeben: br = breit, s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, dt = Dublett von Triplett, dd = Dublett von Dublett, ddd = Dublett von Dublett von Dublett, q = Quartett, dq = Dublett von Quartett, qui = Quintett, sex = Sextett, sep = Septett, m = Multiplett.

Mikrowelle

Es wurde mit einer Mikrowelle der Firma MLS GmbH (Ethos 1600) gearbeitet.

LC/MS

Die Aufnahmen der ESI-Massenspektren erfolgten an einer Agilent 1100 LC / MSD-Trap ausgerüstet mit einem HPLC-System 1100 von *Agilent*. Die Reinheiten einiger Verbindungen wurden durch LC-MS ermittelt. Dafür wurden eine *Phenomenex* Jupiter 4 μ Proteo 90A RP C-18-Säule (2.0 x 150 mm) und eine *Agilent* Zorbax SB-Aq (4.6 x 150 mm) verwendet. Die dafür verwendeten Gradienten und Fließgeschwindigkeiten sind in nachstehender Tabelle aufgeführt.

Zeit [min]	Solvens B [%]	Fluss [ml/min]
5	40	0.6
25	95	0.6
45	95	0.6

Solvens A: Millipore-Wasser mit 0.1 % Ameisensäure, Solvens B: Acetonitril mit 0.1 % Ameisensäure

Die Detektion wurde mittels eines UV-Detektors in einem Wellenlängenbereich von 246 nm – 262 nm durchgeführt. Die Kapillarspannung betrug dabei standardmäßig 2.6 kV, als Trockengas wurde Stickstoff eingesetzt.

Dünnschichtchromatographie (DC)

Es wurden Fertigfolien aus Aluminium, beschichtet mit 0.20 mm Kieselgel 60 F254 der Firma *Merck* verwendet. Zur Detektion der Substanzen dienten die Fluoreszenzlöschung bei 254 nm sowie das Anfärbeverhalten der Substanzen gegenüber Ioddampf, *Ehrlich's Reagenz* (Amine) und gesättigter wässriger Kaliumpermanganat-Lösung.

Säulenchromatographie (SC)

Als Säulenfüllmaterial wurde Kieselgel 60 (0.063 – 0.2 mm) und Kieselgel 60 (35 – 63 μ m) der Firma *Merck* verwendet. Die Säulen wurden nass befüllt. Die Laufmittel-

Experimentaltteil

zusammensetzung für DC und SC sind in Volumenprozent angegeben. Je nach Trennproblem wurden Säulen verschiedener Durchmesser und Länge verwendet.

Verwendete Chemikalien

Die verwendeten Chemikalien wurden von *Bachem*, *Acros*, *Aldrich*, *Fluka*, *Allessachemie*, *Clariant*, *Alfa Aesar* oder *Merck* bezogen.

Ehrlich's Reagenz: Hellgelbes Sprühreagenz aus 1 g *p*-Dimethylaminobenzaldehyd in 100 ml konz. Salzsäure/Methanol (1:1); Detektion durch Erhitzen auf ca. 130 °C.

Arbeitsmethoden

Alle verwendeten Lösungsmittel wurden zuvor durch Destillation gereinigt und getrocknet (KOH, Molekularsieb 4 Å, CaCl₂, Na₂SO₄, K₂CO₃). Absolute Lösungsmittel wurden durch mehrstündiges Refluxieren über gängigen Trockenmitteln (Natrium, P₄O₁₀, K₂CO₃, KOH, Molekularsieb 4 Å) nach Literaturangaben hergestellt und anschließend über Molekularsieb 4 Å, KOH oder Natrium aufbewahrt. Als Schutzgas wurde Argon verwendet, welches zuvor durch Calciumchlorid getrocknet wurde.

Reinheitsbestimmungen

Üblicherweise wurden die Reinheiten der Verbindungen durch Kernresonanzspektroskopie nachgewiesen. Bei einigen ausgewählten Verbindungen wurde zusätzlich die Reinheit durch LC-MS bestätigt.

9.2 Synthesemethoden

Methoden A: Vorschriften zur Darstellung von Carbonsäureamiden aus Carbonsäuren

Methoden A1: Verwendung von Phosphorylchlorid als Aktivierungsreagenz

1.0 Äq. Carbonsäure wird in Dichlormethan unter Rühren suspendiert. Anschließend werden 3.0 Äq. Triethylamin und 2.0 Äq. Amin hinzugefügt. Die Reaktionsmischung wird auf 0 °C abgekühlt und es werden 3.0 Äq. Phosphorylchlorid langsam zugetropft. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur wird für weitere 24 Stunden gerührt. Es wird gesättigte wässrige Natriumhydrogencarbonat-Lösung hinzugefügt und 3 × mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, der Feststoff abfiltriert und das Filtrat im Vakuum getrocknet. Im Anschluss wird das Rohprodukt durch Säulenchromatographie aufgereinigt.

Methoden A2: Verwendung von DCC/HOBt als Aktivierungsreagenzien

1.1 Äq. Carbonsäure, 1.1 Äq. Triethylamin, 1.1 Äq. HOBt und 1.0 Äq. Amin werden unter Rühren bei 0 °C in Dichlormethan suspendiert und anschließend 1.1 Äq. DCC hinzugefügt. Die Reaktionslösung wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, mit gesättigter wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung versetzt und 3 × mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, der Feststoff abfiltriert und das Filtrat im Vakuum getrocknet. Im Anschluss wird das Rohprodukt durch Säulenchromatographie aufgereinigt.

Methoden A3: Verwendung von DPPA als Aktivierungsreagenz

1.0 Äq. Aminkomponente und 1.0 Äq. Carbonsäure werden in Dimethylformamid gelöst, auf 0 °C abgekühlt und unter Rühren mit 1.2 Äq. Triethylamin und 1.3 Äq. DPPA versetzt. Anschließend wird die Reaktionsmischung für 14 Tage bei –6 °C aufbewahrt. Es wird Dichlormethan zugefügt und 2 × mit Zitronensäure (10%-ig) gewaschen. Nach Hinzufügen von Wasser fällt das Produkt als Feststoff aus und wird im Vakuum getrocknet.^[53]

Methode A4: Verwendung von PPA als Aktivierungsreagenz

1.0 Äq. Carbonsäure, 3.0 Äq. Triethylamin und 3.0 Äq. Amin werden in Dichlormethan (Ethylacetat) unter Rühren gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Anschließend wird 3.0 Äq. PPA-Lösung (50 Gew.-% in Dichlormethan (Ethylacetat)) langsam zugetropft und die Reaktionsmischung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird gesättigte wässrige Natriumhydrogencarbonat-Lösung hinzugefügt, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase 3 × mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, der Feststoff abfiltriert und das Filtrat im Vakuum getrocknet. Im Anschluss wird das Rohprodukt durch Säulenchromatographie aufgereinigt.

Methode A5: Verwendung von HBTU als Aktivierungsreagenz

1.0 Äq. Carbonsäure, 2.2 Äq. Triethylamin, 1.1 Äq. HBTU und 1.0 Äq. Amin werden unter Rühren bei 0 °C in Dichlormethan suspendiert. Die Reaktionslösung wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, mit gesättigter wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung versetzt und 3 × mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, der Feststoff abfiltriert und das Filtrat mittels Vakuum getrocknet. Im Anschluss wird das Rohprodukt durch Säulenchromatographie aufgereinigt.

Methoden B: Darstellung von Carbonsäureestern

Methode B1: Darstellung von Methylestern unter Säurekatalyse

Eine Carbonsäure wird in Methanol gelöst und unter Rühren werden einige Tropfen Schwefelsäure hinzugefügt. Die Reaktionslösung wird für 48 Stunden zum Sieden erhitzt und anschließend nach Abkühlen das Lösemittel im Vakuum eingeengt. Es wird gesättigte wässrige Natriumhydrogencarbonat-Lösung zugefügt und 3 × mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Bei Bedarf wird das Rohprodukt durch Säulenchromatographie aufgereinigt.

Methode B2: Darstellung von Methylestern unter Verwendung von Thionylchlorid

1.0 Äq. Carbonsäure und 10.0 Äq. Thionylchlorid werden ohne weiteres Lösungsmittel vorgelegt. Es wird unter Rückfluss bis zum Ende der Gasentwicklung erhitzt und anschließend nach Abkühlen der Reaktionslösung überschüssiges Thionylchlorid im Vakuum entfernt. Das verbliebene Carbonsäurechlorid wird in wasserfreiem Dichlormethan aufgenommen und anschließend 10.0 Äq. Methanol unter Rühren zugetropft. Die Lösung wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Es wird gesättigte wässrige Natriumhydrogencarbonat-Lösung hinzugefügt und 3 × mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, der Feststoff abfiltriert und das Filtrat mittels Vakuum getrocknet. Im Anschluss wird das Rohprodukt durch Säulenchromatographie aufgereinigt.

Methode B3: Darstellung von *tert*-Butylestern

4.0 Äq. trockenes Magnesiumsulfat wird in Dichlormethan vorgelegt und anschließend 1.0 Äq. Schwefelsäure unter heftigem Rühren hinzugefügt. Nach 15 Minuten Reaktionsdauer werden weiterhin 1.0 Äq. Carbonsäure und 5.0 Äq. *tert*-Butylalkohol zugegeben und für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird gesättigte wässrige Natriumhydrogencarbonat-Lösung zugefügt und bis zur vollständigen Auflösung des Magnesiumsulfates weitergerührt. Die wässrige Phase wird abgetrennt und 3 × mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösemittel im Vakuum entfernt und das entstandene Rohprodukt durch Säulenchromatographie aufgereinigt.^[54]

Methoden C: Vorschriften zur Gewinnung von Carbonsäuren aus Carbonsäureestern

Methode C1: Verseifung unter Verwendung von Kaliumhydroxid

Zu einer Lösung aus Carbonsäureester (1.0 Äq.) in einem Wasser/Ethanol(1/4)-Gemisch wird 5.0 Äq. Kaliumhydroxid gegeben und die Lösung für 2 Stunden zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen wird die Reaktionsmischung im Vakuum eingeeengt, mit Wasser versetzt, 2 × mit

Dichlormethan gewaschen und filtriert. Das Filtrat wird mit Salzsäure angesäuert und das ausfallende Produkt im Vakuum getrocknet.

Methode C2: Synthese von Carbonsäuren aus *tert*-Butylestern

1.0 Äq. Carbonsäureester wird in Dichlormethan bei 0 °C gelöst und unter Rühren werden vorsichtig 10.0 Äq. Trifluoressigsäure dazugegeben. Die Reaktionslösung wird für 48 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit gesättigter, wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung versetzt. Die wässrige Phase wird abgetrennt, gefiltert und das Filtrat vorsichtig mit Salzsäure angesäuert. Das ausfallende Produkt wird im Vakuum getrocknet.

Methoden D: Vorschriften zur Einführung von Schutzgruppen

Methode D1: Einführung einer Boc-Schutzgruppe an symmetrische Diamine

Zu einer Lösung aus 5.0 Äq. Diamin in Dichlormethan wird bei 0 °C sehr langsam eine Lösung aus 1.0 Äq. Di-*tert*-butyldicarbonat in Dichlormethan getropft. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur wird die Mischung über Nacht gerührt und der entstandene Feststoff abfiltriert. Das Filtrat wird im Vakuum eingengt, in Ethylacetat aufgenommen, 3 × mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das entstandene Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie aufgereinigt.^[55]

Methode D2: Einführung einer Boc-Schutzgruppe an Amine

1.0 Äq. Amin wird in wenig Methanol gelöst, mit 1.5 Äq. Di-*tert*-butyldicarbonat versetzt und für 36 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wird im Vakuum eingengt, mit Wasser versetzt und 3 × mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösemittel im Vakuum entfernt und das entstandene Rohprodukt durch Säulenchromatographie aufgereinigt.

Methoden E: Vorschriften zur Entfernung von Schutzgruppen

Methode E1: Hydrogenolytische Entfernung einer Benzylgruppe von Benzylethern

1.0 Äq. Benzylether wird in Methanol vorgelegt und mit Palladium/Kohle (15 Gew.-%) versetzt. Die Reaktionsmischung wird für 10 Stunden bei Raumtemperatur und einem Druck von 15 bar hydriert. Anschließend wird der Katalysator abfiltriert und 3 × mit Methanol nachgewaschen. Das Lösemittel wird im Vakuum entfernt und bei Bedarf das Rohprodukt durch Säulenchromatographie aufgereinigt.

Methode E2: Hydrogenolytische Entfernung einer Benzylgruppe von Aminen

1.0 Äq. Benzyl-geschütztes Amin wird in Methanol vorgelegt und mit Palladium/Kohle (30 Gew.-%) versetzt. Die Reaktionsmischung wird für 4 Stunden bei 40 °C und einem Druck von 25 bar in der Mikrowelle hydriert. Anschließend wird der Katalysator abfiltriert und 3 × mit Methanol nachgewaschen. Das Lösemittel wird im Vakuum entfernt und bei Bedarf das Rohprodukt durch Säulenchromatographie aufgereinigt.

Methode E3: Entfernung einer Benzylgruppe von Aminen unter Verwendung von Ethanol/Cyclohexen

1.0 Äq. Benzyl-geschütztes Amin, Palladiumhydroxid/Kohle (10 Gew.-%) und 20.0 Äq. Cyclohexen werden in Ethanol suspendiert und für 2 Stunden zum Sieden erhitzt. Anschließend wird der Katalysator abfiltriert und 3 × mit Ethanol nachgewaschen. Das Lösemittel wird im Vakuum entfernt und bei Bedarf das Rohprodukt durch Säulenchromatographie aufgereinigt.^[56]

Methode E4: Entfernung einer Boc-Schutzgruppe von Aminen unter Verwendung von Trifluoressigsäure

1.0 Äq. Boc-geschütztes Amin wird in Dichlormethan vorgelegt, bei 0 °C werden 10.0 Äq. Trifluoressigsäure langsam zugetropft und die Lösung wird für 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird der Reaktionslösung gesättigte wässrige

Natriumhydrogencarbonat-Lösung zugefügt und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wird 5 × mit Ethylacetat extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, das Lösemittel im Vakuum entfernt und das entstandene Rohprodukt durch Säulenchromatographie aufgereinigt.

Methoden F: Reduktionen

Methode F1: Reduktion von Carbonsäureamiden zu Amin

1.0 Äq. Aminkomponente wird in wasserfreiem Tetrahydrofuran unter Argon bei 0 °C vorgelegt. Anschließend werden 5.0 Äq. Boran-Tetrahydrofuran-Komplex langsam zugetropft und die Reaktionslösung für 1 Stunde zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird die Mischung vorsichtig mit Salzsäure angesäuert und für 1 Stunde bei Raumtemperatur geführt. Es wird wässrige Natriumhydroxid-Lösung (1 M, bis pH-Wert 9) zugefügt und 3 × mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösemittel im Vakuum entfernt und das entstandene Rohprodukt durch Säulenchromatographie aufgereinigt.^[57]

Methode F2: Reduktion aromatischer Nitrogruppen

1.0 Äq. Nitroverbindung wird in Ethanol vorgelegt, mit 3.5 Äq. Zinn(II)-chlorid-dihydrat und 7.0 Äq. Salzsäure versetzt und für 2 Stunden auf 80 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird die Reaktionslösung mit wässriger Natriumhydroxid-Lösung (3 M, bis pH-Wert 9) verdünnt und der ausgefallene Feststoff abfiltriert, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Das entstandene Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie aufgereinigt.^[58]

Methode F3: Reduktion von Anilinderivaten durch Darstellung eines Diazoniumsalzes und anschließende reduktive Aufarbeitung

1.0 Äq. Anilinkomponente und 2.5 Äq. Salzsäure (6 M) werden in Dichlormethan vorgelegt und auf – 5 °C abgekühlt. Dazu wird langsam eine ebenfalls auf – 5 °C gekühlte wässrige Natriumnitrit-Lösung (1.3 Äq.) getropft. Nach 30 Minuten Rühren bei – 5 °C wird trockenes THF (Überschuss) dazugegeben und die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur erwärmt.

Anschließend wird die Lösung 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, für 10 Minuten refluxiert und nach erneutem Abkühlen mit gesättigter wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung versetzt, 3 × mit Dichlormethan extrahiert, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie aufgereinigt.

Methoden G: Nucleophile Substitutionen an nicht-aromatischen Systemen

Methoden G1: Substitutionen von Aminen

Methode G1A: An Alkylhalogeniden

1.0 Äq. Aminkomponente, 2.0 Äq. Kaliumcarbonat und 2.0 Äq. Bromalkan werden in Dioxan vorgelegt und für 12 Stunden refluxiert. Nach Abkühlen wird das Lösemittel im Vakuum eingengt, dem Rückstand gesättigte wässrige Natriumhydrogencarbonat-Lösung hinzugefügt und 3 × mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das entstandene Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie aufgereinigt.^[59]

Methode G1B: An Carbonsäureanhydriden

1.0 Äq. Aminkomponente, 5.0 Äq. Kaliumcarbonat und 5.0 Äq. Carbonsäureanhydrid werden in Dichlormethan vorgelegt und für 96 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird Wasser hinzugefügt, mit Salzsäure ein pH-Wert von 2 eingestellt und 3 × mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das entstandene Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie aufgereinigt.^[60]

Methode G1C: An Epoxiden

1.0 Äq. Aminkomponente, 4.0 Äq. Kaliumcarbonat und 2.0 Äq. Epoxid werden in wenig DMF vorgelegt und für 96 Stunden auf 165 °C erhitzt. Nach Abkühlen wird wässrige gesättigte Natriumhydrogencarbonat-Lösung hinzugefügt und 3 × mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das

Lösemittel im Vakuum entfernt. Das entstandene Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie aufgereinigt.^[61]

Methode G1D: An 1,4-Dibrombutan zu Pyrrolidinderivaten

1.0 Äq. Aminkomponente, 3.2 Äq. Triethylamin und 1.2 Äq. 1,4-Dibrombutan werden in Toluol vorgelegt und für 24 Stunden auf 65 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Lösemittel im Vakuum eingeengt, dem Rückstand gesättigte wässrige Natriumhydrogencarbonat-Lösung hinzugefügt und 3 × mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das entstandene Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie aufgereinigt.

Methode G1E: An Carbonsäuredichloride

3.0 Äq. Carbonsäuredichlorid und 2.0 Äq. Triethylamin werden in Dichlormethan vorgelegt und anschließend langsam 1.0 Äq. Amin zugetropft. Die Reaktionslösung wird für 4 Stunden auf 40 °C erwärmt und für 72 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Der Lösung wird Wasser zugefügt und 3 × mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden im Vakuum eingeengt, das ausgefallene Produkt wird abfiltriert und im Vakuum getrocknet. Bei Bedarf wird das Rohprodukt durch Säulenchromatographie aufgereinigt.^[62]

Methode G2: Substitution von 1,4-Diaminobenzol mit Dibromalkanen unter Ringbildung

3.0 Äq. 1,4-Diaminobenzol, 3.0 Äq. Kaliumcarbonat und 1.0 Äq. 1,4-Dibrombutan (1,5-Dibrompentan) werden in Aceton vorgelegt und für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abkühlen wird das Lösemittel im Vakuum eingeengt, dem Rückstand gesättigte wässrige Natriumhydrogencarbonat-Lösung hinzugefügt und 3 × mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das entstandene Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie aufgereinigt.

Methoden G3: Substitutionen von Alkoholen

Methode G3A: An Alkylbromiden

1.0 Äq. Alkohol, 2.2 Äq. Kaliumcarbonat und 1.1 Äq. Bromalkan werden in Dioxan vorgelegt und für 48 Stunden auf 140 °C erhitzt. Nach Abkühlen wird das Lösemittel im Vakuum eingeengt, dem Rückstand gesättigte wässrige Natriumhydrogencarbonat-Lösung hinzugefügt und 3 × mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das entstandene Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie aufgereinigt.

Methode G3B: An Carbonsäureanhydriden

1.0 Äq. Carbonsäureanhydrid und 3.0 Äq. Kaliumcarbonat werden in einem Alkohol (Überschuss) vorgelegt und für 4 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Lösemittel im Vakuum eingeengt, der Rückstand mit Wasser versetzt und mit Salzsäure ein pH-Wert von 2 eingestellt. Die wässrige Phase wird 5 × mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das entstandene Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie aufgereinigt.

Methode G4: Nucleophile Substitution phenolischer Hydroxygruppen unter Erhalt einer Carbonsäurefunktion

1.0 Äq. einer Komponente, die sowohl eine phenolische Hydroxygruppe als auch eine Carbonsäurefunktion enthält, wird mit 3.0 Äq. Kaliumcarbonat und 3.0 Äq. Alkylbromid in Aceton vorgelegt und für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösemittel wird im Vakuum eingeengt, dem Rückstand Wasser hinzugefügt und 3 × mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden im Vakuum eingeengt, der Rückstand mit einem Wasser/Ethanol(1/4)-Gemisch verdünnt und 5.0 Äq. Kaliumhydroxid hinzugefügt. Die Reaktionslösung wird für 2 Stunden unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Anschließend wird das Lösemittel im Vakuum eingeengt, der Rückstand mit Wasser versetzt und filtriert. Mit Salzsäure wird ein pH-Wert von 2 eingestellt, das entstehende Produkt abfiltriert, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.^[63]

Methoden G5: Substitutionen von Thiolen

Methode G5A: An Epoxiden

1.0 Äq. Epoxid und 0.1 Äq. *N*-Bromsuccinimid werden in Acetonitril bei 0 °C vorgelegt und für 1 Stunde gerührt. Anschließend wird 1.0 Äq. Thiol zugegeben, die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur erwärmt und für eine Stunde gerührt. Es wird Wasser hinzugegeben, 3 × mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das entstandene Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie aufgereinigt.^[64]

Methode G5B: An Alkylchloriden

3.0 Äq. Alkylchlorid und 3.0 Äq. Natriumhydroxid werden in Dioxan vorgelegt, 1.0 Äq. Thiol dazugegeben und für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Der entstandene Feststoff wird abfiltriert und das Filtrat unter vermindertem Druck fraktionierend destilliert.^[65]

Methoden H: Reaktionen an aromatischen Systemen

Methode H1: Bromierung

1.0 Äq. Brom wird langsam zu einer Lösung aus 1.0 Äq. Benzolkomponente in Essigsäure getropft. Die Reaktionslösung wird für 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt und mit Wasser versetzt. Der entstandene Feststoff wird abfiltriert, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Zusätzlich wird das Filtrat eingeeengt und über Nacht bei 1 °C aufbewahrt. Der ausgefallene Feststoff wird erneut abfiltriert, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.^[66]

Methode H2: Demethylierung von Phenyl-Methyl-Ethern

1.0 Äq. Etherkomponente wird in Dichlormethan vorgelegt und auf –78 °C abgekühlt. Anschließend werden 2 Äq. Bortribromid unter ständigem Rühren langsam zugetropft und die Lösung wird für 1 Stunde bei –78 °C gerührt. Die Reaktionsmischung erwärmt sich über Nacht auf Raumtemperatur, wird anschließend mit Wasser versetzt und 3 × mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter wässriger Natriumchlorid-Lösung gewaschen und anschließend über Natriumsulfat

getrocknet. Der Feststoff wird filtriert und das Filtrat im Vakuum getrocknet. Das entstandene Rohprodukt wird säulenchromatographisch aufgereinigt.^[67]

Methode H3: Kupferkatalysierte Kupplung von Aryliodiden mit Ammoniak

0.1 Äq. rotes Eisen(III)-oxid und 0.1 Äq. Kupfer(I)-iodid werden zu einer Lösung aus 1.0 Äq. Aryliodid in Ethanol gegeben und anschließend mit 5.0 Äq. wässriger Ammoniaklösung (25%-ig) und 2.0 Äq. Natriumhydroxid versetzt. Das Glasbombenrohr wird verschlossen und für 16 Stunden auf 90 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird 3 × mit Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das entstandene Rohprodukt wird säulenchromatographisch aufgereinigt.^[68]

Methode H4: Kupferkatalysierte Kupplung von Aryliodiden mit 6-Hydroxynicotinsäure

1.0 Äq. 6-Hydroxynicotinsäure, 0.1 Äq. Kupferpulver, 1.0 Äq. Aryliodid und 3.0 Äq. Kaliumcarbonat werden in Dimethylsulfoxid gelöst und 16 Stunden auf 190 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird gesättigte wässrige Natriumhydrogencarbonat-Lösung zugegeben und 2 × mit Dichlormethan gewaschen. Die wässrige Phase wird mit Salzsäure angesäuert und der ausgefallene Feststoff abfiltriert, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.^[59]

Methode H5: Phenolverkochung

1.0 Äq. Anilinderivat wird bei 0 °C in Schwefelsäure (5 M) gelöst und anschließend eine wässrige Natriumnitrit-Lösung (1.0 Äq.) so langsam zugetropft, dass die Temperatur 5 °C nicht überschreitet. Diese Diazoniumsalz-Mischung wird einer kochenden wässrigen Schwefelsäure-Lösung (5 M) zugetropft. Die Reaktionsmischung wird danach auf 0 °C abgekühlt und für 2 Stunden in einem Eisbad aufbewahrt. Der entstehende Feststoff wird abfiltriert, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.^[69]

Methode H6: Kupferkatalysierte Kupplung von Arylbromiden mit Phenol

1.2 Äq. Phenol, 0.1 Äq. Kupferiodid, 1.0 Äq. Arylbromid und 1.2 Äq. Kaliumcarbonat werden in Dimethylformamid gelöst und 48 Stunden auf 160 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Lösemittel im Vakuum eingeeengt, der Rückstand mit gesättigter wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung verdünnt und 3 × mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel

Experimentalteil

im Vakuum entfernt. Das entstandene Rohprodukt wird säulenchromatographisch aufgereinigt.^[70]

Methode I: Wohl-Ziegler-Bromierung

1.0 Äq. Toluolkomponente, 1.2 Äq. *N*-Bromsuccinimid und 0.1 Äq. Dibenzoylperoxid werden in Benzol gelöst und für 10 Stunden auf 100 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird 3 × mit Ethylacetat extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das entstandene Rohprodukt wird säulenchromatographisch aufgereinigt.

Methode J: Suzuki-ähnliche Kupplung von Organoborsäuren mit Carbonsäurechloriden

1.6 Äq. Natriumcarbonat und 0.1 Äq. Palladiumacetat/Kohle werden in einem Gemisch aus PEG2000/Wasser (50/50; Gew.-%) auf 60 °C erwärmt und anschließend werden 1.0 Äq. Carbonsäurechlorid und 1.2 Äq. Organoborsäure hinzugefügt. Die Reaktionsmischung wird für 2 Stunden auf 60 °C erwärmt, auf Raumtemperatur abgekühlt und 4 × mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das entstandene Rohprodukt wird säulenchromatographisch aufgereinigt.^[71]

Methode K: Darstellung von Epoxiden

1.0 Äq. Olefinderivat wird in Chloroform gelöst, auf 0 °C abgekühlt, 1.0 Äq. *meta*-Chlorperbenzoesäure wird hinzugefügt und die Reaktionsmischung für 96 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Es wird gesättigte wässrige Natriumhydrogencarbonat-Lösung hinzugegeben und 3 × mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das entstandene Rohprodukt wird säulenchromatographisch aufgereinigt.

Methode L: Epoxidöffnung unter Bildung eines Lactons

15.0 Äq. Natriumethanolat wird in Ethanol gelöst, es werden 15.0 Äq. Diethylmalonat hinzugegeben und es wird für 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird eine Lösung aus 1.0 Äq. Epoxid in Ethanol langsam zugetropft und für weitere 24 Stunden gerührt. Es wird wässrige Natriumhydroxid-Lösung (3 M, 50 Äq.) zugegeben, für eine Stunde zum Sieden erhitzt und weitere 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösemittelgemisch wird im Vakuum eingeeengt, der Rückstand mit Diethylether gewaschen und die wässrige Phase mit Salzsäure angesäuert (pH 1). Anschließend wird diese 3 × mit Dichlormethan extrahiert, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird für 6 Stunden in Xylol zum Sieden erhitzt. Im Anschluss wird das Xylol im Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch aufgereinigt.

9.3 Bedingungen der Enzymassays

Ist keine Enzymendkonzentration angegeben wird die Stammlösung soweit verdünnt, bis eine Fluoreszenzzunahme/min von ca. 20 resultiert.

Tabelle 9.1: Assaybedingungen für den Rhodessain-Assay

Volumina	180 μ L P, 5 μ L E, 10 μ L I, 5 μ L S
Substrat	Z-Phe-Arg-7-amino-4-methylcumarin / [S] = 10 μ M / K_m = 826.5 nM
Enzym	Rhodessain-Lyophilisat (11 μ g/ml; Acetat-Puffer, pH = 5.5)
Puffer	50 mM Acetat-Puffer, pH = 5.5; 5 mM DTT, 5 mM EDTA, 200 mM NaCl
Temperatur	25 °C
Detektion	Anregungswellenlänge: 380 nm, Detektionswellenlänge: 460 nm
Gerät	Varian Cary Eclipse

Tabelle 9.2: Assaybedingungen für den Cathepsin B-Assay

Volumina	180 μ L P, 5 μ L E, 10 μ L I, 5 μ L S
Substrat	Z-Phe-Arg-7-amino-4-methylcumarin / [S] = 100 μ M / K_m = 150 μ M
Enzym	Cathepsin B (human liver) von Calbiochem
Puffer	50 mM Tris-Puffer, pH = 6.5; 2 mM DTT, 5 mM EDTA, 200 mM NaCl
Temperatur	25 °C
Detektion	Anregungswellenlänge: 380 nm, Detektionswellenlänge: 460 nm
Gerät	Varian Cary Eclipse

Tabelle 9.3: Assaybedingungen für den Cathepsin L-Assay

Volumina	180 μ L P, 5 μ L E, 10 μ L I, 5 μ L S
Substrat	Z-Phe-Arg-7-amino-4-methylcumarin / [S] = 6.25 μ M / K_m = 6.50 μ M
Enzym	Cathepsin L von Calbiochem (Paramecium tetraurelia)
Puffer	50 mM Tris-Puffer, pH = 6.5; 2 mM DTT, 5 mM EDTA, 200 mM NaCl
Temperatur	25 °C
Detektion	Anregungswellenlänge: 380 nm, Detektionswellenlänge: 460 nm
Gerät	Varian Cary Eclipse

Tabelle 9.4: Assaybedingungen für den Cruzain-Assay

Volumina	180 μ L P, 5 μ L E, 10 μ L I, 5 μ L S
Substrat	Z-Phe-Arg-7-amino-4-methylcumarin / [S] = 5.00 μ M / K_m = 1.50 μ M
Enzym	Cruzain-Lösung (0.1 mg/ml; Puffer: siehe nächste Zeile)
Puffer	50 mM Acetat-Puffer, pH = 5.5; 5 mM DTT, 5 mM EDTA, 200 mM NaCl
Temperatur	25 °C
Detektion	Anregungswellenlänge: 380 nm, Detektionswellenlänge: 460 nm
Gerät	Varian Cary Eclipse

Tabelle 9.5: Assaybedingungen für den Falcipain-Assay

Volumina	180 μ L P, 5 μ L E, 10 μ L I, 5 μ L S
Substrat	Z-Phe-Arg-7-amino-4-methylcumarin / [S] = 25.0 μ M / K_m = 21.5 μ M
Enzym	Falcipain-2 Lösung (Puffer: siehe nächste Zeile, statt DTT: 0.005 % Brij 35)
Puffer	50 mM Acetat-Puffer, pH = 5.5; 5 mM DTT, 5 mM EDTA, 200 mM NaCl
Temperatur	25 °C
Detektion	Anregungswellenlänge: 380 nm, Detektionswellenlänge: 460 nm
Gerät	Varian Cary Eclipse

Tabelle 9.6: Assaybedingungen für den Leishmania CPB-Assay

Volumina	180 μ L P, 5 μ L E, 10 μ L I, 5 μ L S
Substrat	Z-Phe-Arg-7-amino-4-methylcumarin / [S] = 10.0 μ M / K_m = 5.00 μ M
Enzym	Leishmania LmCPB (Puffer: siehe nächste Zeile, kein DTT)
Puffer	50 mM Phosphat-Puffer, pH = 6.5; 5 mM DTT, 5 mM EDTA
Temperatur	25 °C
Detektion	Anregungswellenlänge: 380 nm, Detektionswellenlänge: 460 nm
Gerät	Varian Cary Eclipse

Tabelle 9.7: Assaybedingungen für den SARS-PI^{pro}-Assay

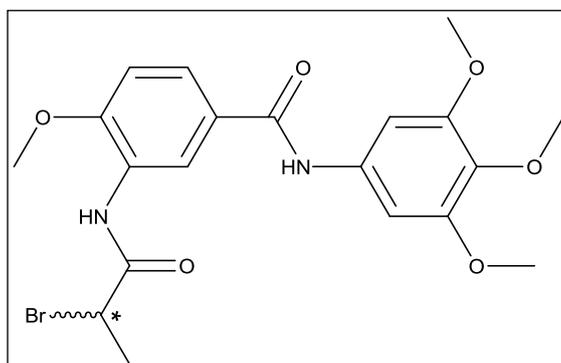
Volumina	170 µL P, 10 µL E, 10 µL I, 10 µL S
Substrat	Z-Arg-Leu-Arg-Gly-Gly-AMC-Acetat / [S] = 50.0 µM / K _m = 850 µM
Enzym	SARS-PL ^{pro} (Puffer: siehe nächste Zeile; Protein im AK eigens exprimiert)
Puffer	20 mM Tris-Puffer, pH = 7.5; 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 200 mM NaCl
Temperatur	25 °C
Detektion	Anregungswellenlänge: 360 nm, Detektionswellenlänge: 460 nm
Gerät	Varian Cary Eclipse

Tabelle 9.8: Verwendete Enzyme und Substrate

Cathepsin L (Paramecium tetraurelia)	Calbiochem
Cathepsin B (human liver)	Calbiochem
Falcipain (Plasmodium falciparum)	Dr. M. Stempka, AK Schirmeister, Universität Mainz
Rhodesain (Trypanosoma brucei rhodesiense)	U. Dietzel, AK Kisker, Universität Würzburg
Cruzain (Trypanosoma cruzi)	Dr. P. Selzer, Universität Tübingen
Leishmania (Leishmania mexicana)	Prof. Dr. J. Mottram, University of Glasgow, UK
SARS-PI^{pro}	Dr. M. Stempka, AK Schirmeister, Universität Mainz
Z-Phe-Arg-AMC	Bachem
Z-Arg-Leu-Arg-Gly-Gly-AMC-Acetat	Bachem

9.4 Zielverbindungen

1. FM111: 3-(2-Bromopropanamido)-4-methoxy-*N*-(3,4,5-trimethoxyphenyl)benzamid



Methode: A2

Ansatz:

- 2-Bromopropansäure: 100 mg, 60 μ l, 660 μ mol (1.1 Äq.)
- Triethylamin: 48.6 mg, 70 μ l, 480 μ mol (0.8 Äq.)
- DCC: 135 mg, 660 μ mol (1.1 Äq.)
- HOBT: 90.0 mg, 660 μ mol (1.1 Äq.)
- 3-Amino-4-methoxy-*N*-(3,4,5-trimethoxyphenyl)benzamid (FM106): 200 mg, 600 μ mol (1.0 Äq.)

SC: Dichlormethan/Methanol [199/1] \rightarrow [10/1]

Ausbeute: 115 mg, 246 μ mol (41 %)

Summenformel: C₂₀H₂₃N₂O₆Br

Molare Masse: 467.32 g/mol

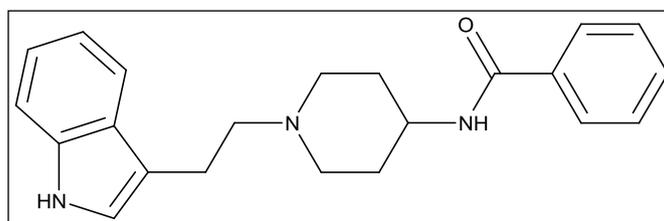
R_f: 0.10 (Dichlormethan/Methanol [99/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.80 (d, ⁴J = 2.2 Hz, 1 H, NC(CH)CCO), 8.72 (br s, 1 H, NH), 8.02 (br s, 1 H, NH), 7.83 (dd, ³J = 8.6 Hz, ⁴J = 2.2 Hz, 1 H, COC(CH)CH), 7.02 – 6.99 (m, 3 H, COC(CH)CH, NC(CH)₂), 4.59 (q, ³J = 7.0 Hz, 1 H, CHBr), 3.99 (s, 3 H,

OCH_3), 3.87 (s, 6 H, $(\text{OCH}_3)_2$), 3.83 (s, 3 H, OCH_3), 1.98 (d, $^3J = 7$ Hz, 3 H, CHCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$: (CDCl_3 , 100.62 MHz), δ [ppm] = 167.80 ($\underline{\text{CO}}$), 165.04 ($\underline{\text{CO}}$), 153.43 ($\underline{\text{COCH}_3}$), 151.04 (2 C, $\underline{\text{COCH}_3}$), 134.90 ($\underline{\text{COCH}_3}$), 134.36 ($\underline{\text{C}_q\text{CO}}$), 127.49 ($\underline{\text{CNH}}$), 126.77 ($\underline{\text{CNH}}$), 125.77 ($\underline{\text{C}_{Ar}\text{H}}$), 116.93 ($\underline{\text{C}_{Ar}\text{H}}$), 110.50 ($\underline{\text{C}_{Ar}\text{H}}$), 98.19 (2 C, $\underline{\text{C}_{Ar}\text{H}}$), 61.11 ($\underline{\text{OCH}_3}$), 56.39 ($\underline{\text{OCH}_3}$), 56.30 (2 C, $\underline{\text{OCH}_3}$), 45.13 ($\underline{\text{CHBr}}$), 23.00 ($\underline{\text{CHCH}_3}$).

2. FM141: *N*-(1-(2-(1*H*-Indol-3-yl)ethyl)piperidin-4-yl)benzamid



Methode: G1A (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz:

- 3-(2-Bromoethyl)-1*H*-indol: 54.9 mg, 245 μmol (1.0 Äq.)
- *N*-(Piperidin-4-yl)benzamid (FM133): 50.0 mg, 245 μmol (1.0 Äq.)
- Kaliumcarbonat: 101 mg, 735 μmol (3.0 Äq.)

SC: Dichlormethan/Methanol [99/1] \rightarrow [10/1]

Ausbeute: 43 mg, 124 μmol (51 %)

Summenformel: $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}$

Molare Masse: 347.46 g/mol

R_f : 0.10 (Dichlormethan/Methanol [99/1])

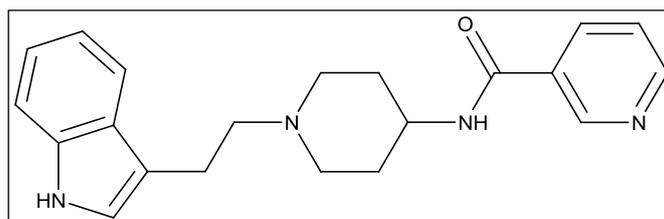
Schmelzpunkt: 180 °C – 200 °C

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3312 (m), 2922 (m), 2854 (m), 2801 (m), 1629 (s), 1537 (s), 1489 (s), 713 (s), 693 (s).

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.43 (br s, 1 H, NH_{Indol}), 8.78 (d, ³J = 8.5 Hz, 2 H, COC(CH)₂), 7.60 (d, ³J = 7.8 Hz, 1 H, NC(CH)), 7.48 (t, ³J = 7.3 Hz, 1 H, COC(CH)₂(CH)_{2CH), 7.41 (t, ³J = 7.7 Hz, 2 H, COC(CH)₂(CH)₂), 7.36 (d, ³J = 8.0 Hz, 1 H, NC(CH)(CH)(CH)(CH)), 7.18 (td, ³J = 7.2 Hz, ⁴J = 1.1 Hz, 1 H, NC(CH)(CH)(CH)), 7.10 (td, ³J = 8.0 Hz, ⁴J = 1.0 Hz, 1 H, NC(CH)(CH)), 7.03 (d, ³J = 2.0 Hz, 1 H, NH_{Indol}CH), 6.33 (d, ³J = 7.8 Hz, 1 H, NHCO), 4.07 (m, 1 H, CONHCH), 3.13 (d, ³J = 11.8 Hz, 2 H, N(CHH)₂), 3.05 (t, ³J = 7.6 Hz, 2 H, NCH₂), 2.81 (t, ³J = 7.6 Hz, 2 H, NCH₂CH₂), 2.37 (t, ³J = 11.5 Hz, 2 H, N(CHH)₂), 2.08 (d, ³J = 10.4 Hz, 2 H, N(CHH)₂(CHH)₂), 1.81 (q, ³J = 9.6 Hz, 2 H, N(CHH)₂(CHH)₂).}

¹³C-NMR: (CDCl₃, 100.62 MHz), δ [ppm] = 167.05 (CO), 136.31 (N_{Indol}C_q), 134.53 (N_{Indol}CH), 131.52 (COCC), 128.58 (COC(CH)₂), 127.26 (C_{Indol}), 126.98 (COC(CH)₂(CH)₂), 122.05 (COC(CH)₂(CH)₂(CH)), 121.88, 119.35, 118.68, 113.10, 111.33 (5 C, C_{Indol}), 58.75 (NCH₂), 52.30 (N(CH)₂), 46.51 (CONCH), 31.40 (N(CH₂)₂(CH)₂), 22.44 (NCH₂CH₂).

3. FM156: *N*-(1-(2-(1*H*-Indol-3-yl)ethyl)piperidin-4-yl)nicotinamid



Methode: G1A (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz:

- 3-(2-Bromoethyl)-1*H*-indol: 218 mg, 974 μmol (1.0 Äq.)
- *N*-(Piperidin-4-yl)nicotinamid (Roh) (FM154): 200 mg, 974 μmol (1.0 Äq.)
- Kaliumcarbonat: 404 mg, 2.92 mmol (3.0 Äq.)

Experimentalteil

SC: Dichlormethan/Methanol [99/1] → [0/1]

Ausbeute: 343 mg, 821 μmol (84 %)

Summenformel: $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}$

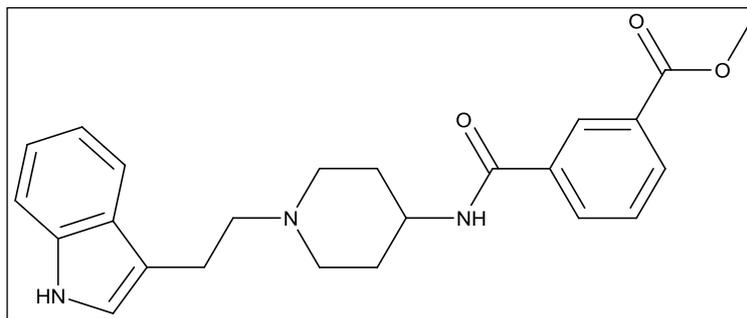
Molare Masse: 347.46 g/mol

R_f: 0.10 (Dichlormethan/Methanol [99/1])

¹H-NMR: (CDCl_3 , 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.98 (d, $^4\text{J} = 1.6$ Hz, 1 H, $\text{COC}(\underline{\text{CH}})\text{N}$), 8.71 (dd, $^3\text{J} = 4.8$ Hz, $^4\text{J} = 1.7$ Hz, 1 H, $\text{N}(\underline{\text{CH}})(\text{CH})$), 8.23 (br s, 1 H, NH_{Indol}), 8.10 (dt, $^3\text{J} = 7.9$ Hz, $^4\text{J} = 2.1$ Hz, 1 H, $\text{COC}(\underline{\text{CH}})(\text{CH})$), 7.61 (d, $^3\text{J} = 7.9$ Hz, 1 H, $\text{NC}(\underline{\text{CH}})$), 7.39 – 7.34 (m, 2 H, $\text{N}(\text{CH})(\underline{\text{CH}})$, $\text{NC}(\text{CH})(\text{CH})(\underline{\text{CH}})$), 7.19 (td, $^3\text{J} = 7.1$ Hz, $^4\text{J} = 1.2$ Hz, 1 H, $\text{NC}(\text{CH})(\text{CH})(\underline{\text{CH}})$), 7.12 (td, $^3\text{J} = 7.1$ Hz, $^4\text{J} = 1.0$ Hz, 1 H, $\text{NC}(\text{CH})(\underline{\text{CH}})$), 7.03 (d, $^3\text{J} = 2.2$ Hz, 1 H, $\text{NH}_{\text{Indol}}\underline{\text{CH}}$), 6.27 (d, $^3\text{J} = 7.5$ Hz, 1 H, NHCO), 4.07 (m, 1 H, $\text{CONH}\underline{\text{CH}}$), 3.06 (d, $^3\text{J} = 12.0$ Hz, 2 H, $\text{N}(\underline{\text{CHH}})_2$), 2.99 (t, $^3\text{J} = 7.5$ Hz, 2 H, NCH_2), 2.75 (t, $^3\text{J} = 8.5$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\underline{\text{CH}_2}$), 2.28 (td, $^3\text{J} = 11.6$ Hz, $^3\text{J} = 1.9$ Hz, 2 H, $\text{N}(\underline{\text{CHH}})_2$), 2.10 (d, $^3\text{J} = 9.4$ Hz, 2 H, $\text{N}(\text{CHH})_2(\underline{\text{CHH}})_2$), 1.68 (q, $^3\text{J} = 11.8$ Hz, 2 H, $\text{N}(\text{CHH})_2(\underline{\text{CHH}})_2$).

¹³C-NMR: (CDCl_3 , 100.62 MHz), δ [ppm] = 165.02 ($\underline{\text{CO}}$), 152.19 ($\text{N}(\underline{\text{CH}})\text{C}_q$), 147.84 ($\text{N}(\underline{\text{CH}})(\text{CH})$), 136.27 ($\text{N}_{\text{Indol}}\underline{\text{C}}_q$), 135.13 ($\text{N}_{\text{Indol}}\underline{\text{CH}}$), 130.43 ($\text{CO}\underline{\text{C}}$), 127.43 ($\text{COC}(\underline{\text{CH}})(\text{CH})$), 123.51 ($\text{COC}(\text{CH})(\underline{\text{CH}})$), 122.04, 121.54, 119.30, 118.78, 114.13, 111.17 (6 C, $\underline{\text{C}}_{\text{Indol}}$), 59.11 (NCH_2), 52.38 ($\text{N}(\underline{\text{CH}_2})_2$), 47.23 (CONCH), 32.07 ($\text{N}(\text{CH}_2)_2(\underline{\text{CH}_2})_2$), 23.01 ($\text{NCH}_2\underline{\text{CH}_2}$).

4. FM149: Methyl-3(1-(2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl)piperidin-4-ylcarbamoyl)benzoat



Methode: G1A (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz: - 3-(2-Bromoethyl)-1*H*-indol: 100 mg, 447 μmol (2.3 Äq.)
 - Methyl-3-(piperidin-4-ylcarbamoyl)benzoat (Roh) (FM146):
 50.0 mg, 191 μmol (1.0 Äq.)
 - Kaliumcarbonat: 200 mg, 1.46 mmol (7.6 Äq.)

SC: Dichlormethan/Methanol [99/1] \rightarrow [10/1]

Ausbeute: 72.0 mg, 178 μmol (93 %)

Summenformel: $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_3$

Molare Masse: 405.50 g/mol

R_f : 0.10 (Dichlormethan/Methanol [99/1])

Schmelzpunkt: 149.0 $^{\circ}\text{C}$

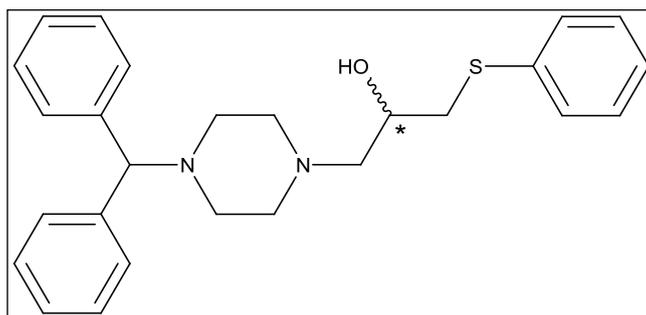
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3408 (m), 3247 (m), 3054 (m), 2924 (m), 2852 (s), 1722 (s), 1644 (s), 1538 (s), 1455 (s), 1439 (s).

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3 , 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.77 (br s, 1 H, NH_{Indol}), 8.39 (s, 1 H, $\text{COC}(\underline{\text{CH}})\text{CCO}$), 8.10 (d, $^3\text{J} = 7.8$ Hz, 1 H, $\text{OCOC}(\underline{\text{CH}})\text{CH}$), 8.02 (d, $^3\text{J} = 7.9$ Hz, 1 H, $\text{NCOC}(\underline{\text{CH}})\text{CH}$), 7.55 (d, $^3\text{J} = 7.8$ Hz, 1 H, $\text{NC}(\underline{\text{CH}})$), 7.44 (t, $^3\text{J} = 7.8$ Hz, 1 H, $\text{OCOC}(\text{CH})\underline{\text{CH}}$), 7.35 (d, $^3\text{J} = 8.1$ Hz, 1 H, $\text{NC}(\text{CH})(\text{CH})(\underline{\text{CH}})$), 7.13 (t, $^3\text{J} = 7.0$ Hz, 1 H, $\text{NC}(\text{CH})(\text{CH})(\underline{\text{CH}})$), 7.05 (t, $^3\text{J} = 7.3$ Hz, 1 H, $\text{NC}(\text{CH})(\underline{\text{CH}})$), 6.97 (d, $^3\text{J} = 1.9$ Hz, 1 H, $\text{NH}_{\text{Indol}}\underline{\text{CH}}$), 6.84 ((d, $^3\text{J} = 6.2$ Hz, 1 H, $\text{N}\underline{\text{HCO}}$), 4.09 (m, 1 H,

CONHCH), 3.88 (s, 3 H, OCH₃), 3.16 (d, ³J = 11.3 Hz, 2 H, N(CHH)₂), 3.02 (t, ³J = 7.2 Hz, 2 H, NCH₂), 2.82 (t, ³J = 8.7 Hz, 2 H, NCH₂CH₂), 2.28 (t, ³J = 10.9 Hz, 2 H, N(CHH)₂), 2.06 (d, ³J = 10.3 Hz, 2 H, N(CHH)₂(CHH)₂), 1.91 (q, ³J = 10.5 Hz, 2 H, N(CHH)₂(CHH)₂).

¹³C-NMR: (CDCl₃, 100.62 MHz), δ [ppm] = 169.39 (CO), 166.19 (CO), 136.32 (N_{Indol}Cq), 134.75 (N_{Indol}CH), 132.38 (COC), 131.87(COC), 130.40 (COC(CH)CO), 128.80 (OCO(CH)(CH)), 127.90 (NCO(CH)(CH)), 127.10 (NCO(CH)(CH)), 122.17, 122.03, 119.35, 118.57, 112.17, 11.46 (6 C, C_{Indol}), 58.24 (OCH₃), 52.36 (N(CH₂)₂), 52.07 (NCH₂), 46.36 (CONCH), 30.92 (N(CH₂)₂(CH₂)₂), 30.67 (NCH₂CH₂).

5. FM166: 1-(4-Benzhydrylpiperazin-1-yl)-3-(phenylthio)propan-2-ol



Methode: G1C

Ansatz:

- 1-Benzhydrylpiperazin (FM163): 300 mg, 1.19 mmol (1.0 Äq.)
- 2-(Phenylthiomethyl)oxiran (FM151): 396 mg, 2.38 mmol (2.0 Äq.)
- Kaliumcarbonat: 657 mg, 4.76 mmol (4.0 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [1/0] → [1/1]

Ausbeute: 352 mg, 841 µmol (71 %)

Summenformel: C₂₆H₃₀N₂OS

Molare Masse: 418.60 g/mol

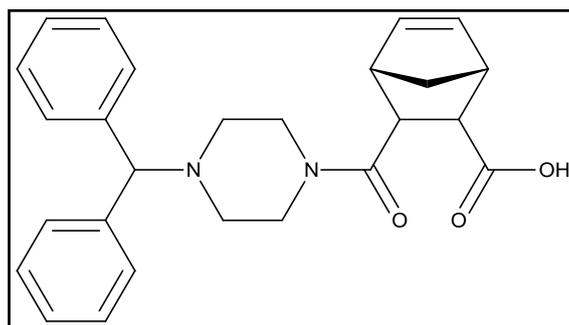
Experimentaltteil

R_f: 0.32 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])
Schmelzpunkt: 123.4 °C
IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3446 (w), 3057 (m), 3025 (m), 2943 (m), 2911 (w), 2875 (w), 2800 (s), 2754 (m), 1581 (s), 1482 (s), 1449 (s).

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.40 (m, 6 H, (C(CH)₂)₃), 7.27 (t, ³J = 7.3 Hz, 6 H, (C(CH)₂(CH)₂)₃), 7.18 (t, ³J = 7.4 Hz, 3 H, (C(CH)₂(CH)₂(CH)₃), 4.23 (s, 1 H, NCH), 3.56 (m, 1 H, OCH), 3.33 (br s, 1 H, OH), 3.07 (dd, ²J = 13.4 Hz, ³J = 6.1 Hz, 1 H, O(CH)(CHH)N), 2.99 (dd, ²J = 13.6 Hz, ³J = 5.8 Hz, 1 H, O(CH)(CHH)N), 2.65 (m, 2 H, O(CH)CH₂S), 2.55 – 2.32 (m, 8 H, (N(CH)₂)₂).

¹³C-NMR: (CDCl₃, 100.62 MHz), δ [ppm] = 142.66 (N(CH)(C_q)₂), 136.24 (SC_q), 129.41 (SC_q(CH)₂), 128.96 (SC_q(CH)₂(CH)₂), 128.51 (C(C_q(CH)₂(CH)₂)₂), 127.92, 127.90 (C(C_q(CH)₂)₂), 126.98 (C(C_q(CH)₂(CH)₂(CH)₂), 126.19 (SC_q(CH)₂(CH)₂CH), 76.17 (NCH), 65.60 (HOCH), 62.80 (O(CH)CH₂N), 51.88 ((N(CH)₂)₂), 38.75 (SCH₂).

6. FM169: (1R,4S)-3-(4-bezhydrylpiperazin-1-carbonyl)bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-carbonsäure



Methode: G1B

Experimentaltteil

Ansatz: - 1-Benzylhydriylpiperazin (FM163): 500 mg, 1.98 mmol (1.0 Äq.)
- Nadicanhydrid: 1.63 g, 9.90 mmol (5.0 Äq.)
- Kaliumcarbonat: 1.37 g, 9.90 mmol (5.0 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [1/1] → Methanol [100%]

Ausbeute: 160 mg, 384 μ mol (20 %)

Summenformel: $C_{26}H_{28}N_2O_3$

Molare Masse: 416.52 g/mol

R_f: 0.12 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

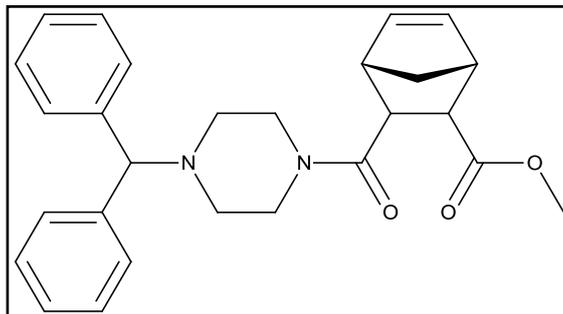
Schmelzpunkt: 70.1 °C

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3396 (m), 3060 (m), 2962 (m), 2828 (m), 2722 (m), 2499 (m), 1709 (s), 1492 (s), 1451 (s).

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.42 (d, 4 H, ³J = 7.2 Hz, (C(CH)₂)₂), 7.30 (t, ³J = 7.3 Hz, 4 H, (C(CH)₂(CH)₂)₂), 7.22 (tt, ³J = 7.3 Hz, ⁴J = 2.0 Hz, 2 H, (C(CH)₂(CH)₂(CH)₂), 6.18 (s, 2 H, (C_{Alken}H)₂), 4.39 (s, 1 H, NCH), 3.28 – 3.22 (m, 6 H, N(CHH)₄, (COCH)₂), 3.16 (s, 2 H, (CO(CH)CH)₂), 2.72 (s, 4 H, N(CHH)₄), 1.47 (d, ²J = 8.4 Hz, 1 H, C_{Brücke}HH), 1.33 (d, ²J H = 8.4 Hz, 1 H, C_{Brücke}HH).

¹³C-NMR: (CDCl₃, 100.62 MHz), δ [ppm] = 177.27 (CO), 171.36 (CO), 140.97 (CH(C_q)₂), 134.95 ((C_{Alken})₂), 128.88 ((C_q(CH)₂(CH)₂)₂), 127.74 (C_q(CH)₂)₂), 127.58 ((C_q(CH)₂(CH)₂(CH)₂)₂), 75.68 (NCH), 67.05 (C_{Brücke}), 48.74 ((COCH)₂), 48.40 ((NCH)₂)₂), 46.43 ((CO(CH)CH)₂), 43.80 ((NCH)₂)₂).

7. FM180: (1R,4S)-Methyl-3-(4-benzylpiperazin-1-carbonyl)bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-carboxylat



Methode: A2 (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz:

- 1-Benzylhydriylpiperazin (FM163): 200 mg, 793 μmol (1.0 Äq.)
- (1S,4R)-3-(Methoxycarbonyl)bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-carbonsäure (FM177): 429 mg, 2.38 mmol (3.0 Äq.)
- Kaliumcarbonat: 241 mg, 1.74 mmol (2.2 Äq.)
- DCC: 176 mg, 872 μmol (1.1 Äq.)
- HOBt: 118 mg, 872 μmol (1.1 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [10/1] \rightarrow [1/1]

Ausbeute: 163 mg, 379 μmol (48 %)

Summenformel: $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_3$

Molare Masse: 430.55 g/mol

R_f: 0.26 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

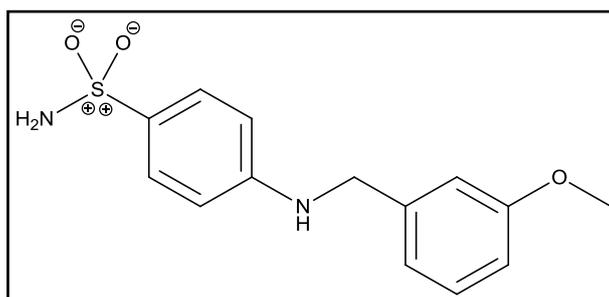
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3325 (m), 2961 (m), 2917 (m), 2853 (m), 2808 (m), 1736 (s), 1636 (s), 1507 (s), 1449 (s), 1440 (s).

¹H-NMR: (CDCl_3 , 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.32 (d, 4 H, $^3\text{J} = 7.7$ Hz, $(\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H})_2)_2$), 7.18 (t, $^3\text{J} = 7.4$ Hz, 4 H, $(\text{C}(\text{CH})_2(\underline{\text{C}}\text{H})_2)_2$), 7.09 (tt, $^3\text{J} = 7.4$ Hz, $^4\text{J} = 2.0$ Hz, 2 H, $(\text{C}(\text{CH})_2(\text{CH})_2(\underline{\text{C}}\text{H}))_2$), 6.29 (dd, $^3\text{J} = 5.5$ Hz, $^3\text{J} = 3.0$ Hz, 1 H, $\text{C}_{\text{Alken}}\underline{\text{H}}$), 6.07 (dd, $^3\text{J} = 5.5$ Hz, $^3\text{J} = 2.6$ Hz, 1 H, $\text{C}_{\text{Alken}}\underline{\text{H}}$), 4.14 (s, 1 H, $\text{N}\underline{\text{C}}\text{H}$), 3.66 (m, 1 H, $\text{CO}(\text{CH})\underline{\text{C}}\text{H}$), 3.45 (m, 4 H,

OCH_3 , $\text{CO}(\text{CH})\text{CH}$, 3.25 (m, 3 H, COCH , $\text{N}(\text{CHH})_2$), 3.11 (m, 2 H, $\text{N}(\text{CHH})_2$), 2.97 (s, 1 H, COCH), 2.38 (m, 2 H, $\text{N}(\text{CHH})_2$), 2.16 (m, 2 H, $\text{N}(\text{CHH})_2$), 1.34 (dt, $^2J = 8.5 \text{ Hz}$, $^3J = 1.7 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{C}_{\text{Brücke}}\text{HH}$), 1.20 (d, $^2J_{\text{H}} = 8.6 \text{ Hz}$, 1 H, $\text{C}_{\text{Brücke}}\text{HH}$).

^{13}C -NMR: (CDCl_3 , 100.62 MHz), δ [ppm] = 172.84 (CO), 170.56 (CO), 142.23, 137.62 ($\text{CH}(\text{C}_q)_2$), 136.19, 133.44 ($(\text{C}_{\text{Alken}})_2$), 128.63 ($(\text{C}_q(\text{CH})_2(\text{CH})_2)_2$), 127.90, 127.87 ($\text{C}_q(\text{CH})_2$), 127.18 ($(\text{C}_q(\text{CH})_2(\text{CH})_2(\text{CH}))_2$), 76.05 (NCH), 51.84 ($(\text{NCH}_2)_2$), 51.55 ($\text{C}_{\text{Brücke}}$), 51.55 (OCH_3), 48.85 (COCH), 48.43 ($(\text{NCH}_2)_2$), 46.90 (COCH), 46.88, 46.80 ($(\text{COCHCH})_2$).

8. FM175: 4-((3-Methoxybenzyl)amino)benzolsulfonamid



Methode: G1A (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz:

- 4-Aminobenzolsulfonamid: 1.30 g, 7.54 mmol (2.6 Äq.)
- 1-(Chloromethyl)-3-methoxybenzol: 454 mg, 0.42 ml, 2.90 mmol (1.0 Äq.)
- Kaliumcarbonat: 802 mg, 5.80 mmol (2.0 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [10/1] \rightarrow [1/1]

Ausbeute: 249 mg, 852 μmol (29 %)

Summenformel: $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$

Molare Masse: 292.36 g/mol

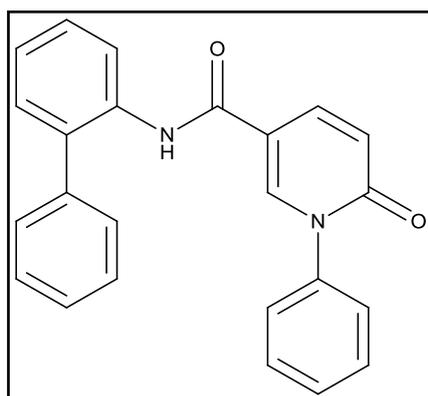
Experimentaltteil

R_f: 0.42 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])
Schmelzpunkt: 101.9 °C
IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3415 (m), 3343 (m), 3254 (m), 3018 (w), 2958 (m), 2925 (m), 2835 (m), 1595 (s), 1525 (s), 1491 (s), 1136 (s).

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.67 (d, ³J = 8.4 Hz, 2 H, SC(CH)₂), 7.27 (t, ³J = 7.9 Hz, 1 H, OC(CH)(CH)(CH), 6.91 (d, ³J = 7.5 Hz, 1 H, OC(CH)(CH)(CH), 6.87 (s, 1 H, OC(CH)C_q), 6.83 (dd ³J = 8.2 Hz, ⁴J = 2.1 Hz, 1 H, OC(CH)(CH)(CH), 6.60 (d, ³J = 8.3 Hz, 2 H, SC(CH)₂(CH)₂), 4.78 (br s, 2 H, NH₂), 4.35 (s, 2 H, CH₂), 3.79 (s, 3 H, OCH₃).

¹³C-NMR: (CDCl₃, 100.62 MHz), δ [ppm] = 160.04 (C_q), 151.42 (C_q), 139.71 (C_q), 129.92 (OC(CH)(CH)(CH), 128.54 (SC(CH)₂), 119.51 (OC(CH)(CH)(CH), 113.07 (OC(CH)C_q), 112.78 (OC(CH)(CH)(CH), 111.98 (SC(CH)₂(CH)₂), 55.28 (OCH₃), 47.55 (CH₂).

9. FM161: *N*-([1,1'-Biphenyl]-2-yl)-6-oxo-1-phenyl-1,6-dihydropyridin-3-carboxamid



Methode: A1 (Geänderte Ansatzgrößen)

Experimentaltteil

Ansatz: - 6-Oxo-1-phenyl-1,6-dihydropyridin-3-carbonsäure (FM159):
200 mg, 929 μmol (1.0 Äq.)
- [1,1'-Biphenyl]-2-amin: 235 mg, 1.39 mmol (1.5 Äq.)
- Triethylamin: 206 mg, 0.23 ml, 2.04 mmol (2.2 Äq.)
- Phosphorylchlorid: 285 mg, 0.17 ml, 1.86 mmol (2.0 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [8/1] \rightarrow [1/1]

Ausbeute: 126 mg, 344 μmol (37 %)

Summenformel: $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$

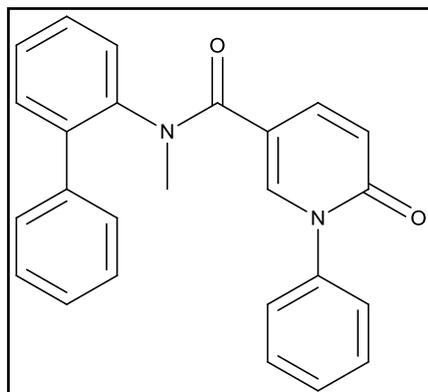
Molare Masse: 366.42 g/mol

R_f: 0.42 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

¹H-NMR: (CDCl_3 , 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.33 (d, $^3J = 8.2$ Hz, 1 H, NHCCH), 7.95 (d, $^4J = 2.5$ Hz, 1 H, NCH), 7.75 (s, 1 H, NH), 7.51–7.21 (m, 14 H, CH_{Ar}), 6.52 (d, $^3J = 9.6$ Hz, $\text{COC}(\text{CH})(\text{CH})$).

¹³C-NMR: (CDCl_3 , 100.62 MHz), δ [ppm] = 161.72 ($\underline{\text{CO}}$), 161.66 ($\underline{\text{CO}}$), 141.16 (NCH), 140.13 ($\underline{\text{C}}_q$), 137.98 ($\underline{\text{C}}_q$), 136.27 ($\underline{\text{C}}_{\text{ArH}}$), 134.45 ($\underline{\text{C}}_q$), 132.71 ($\underline{\text{C}}_q$), 129.96, 129.45, 129.28, 129.06, 128.67, 128.28, 126.32, 124.79 ($\underline{\text{C}}_{\text{ArH}}$), 121.56 (NHCCH), 120.95 ($\text{COC}(\text{CH})(\text{CH})$), 113.66 ($\underline{\text{C}}_q$).

10. FM173: *N*-([1,1'-Biphenyl]-2-yl)-*N*-methyl-6-oxo-1-phenyl-1,6-dihydropyridin-3-carboxamid

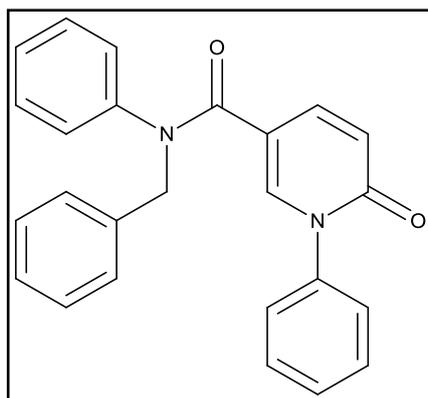


- Methode: A1 (Geänderte Ansatzgrößen)
- Ansatz:
- 6-Oxo-1-phenyl-1,6-dihydropyridin-3-carbonsäure (FM159):
220 mg, 1.00 mmol (1.0 Äq.)
 - *N*-Methyl-[1,1'-biphenyl]-2-amin (FM165):
400 mg, 2.18 mmol (2.2 Äq.)
 - Triethylamin: 432 mg, 0.60 ml, 4.27 mmol (4.3 Äq.)
 - Phosphorylchlorid: 672 mg, 0.40 ml, 4.32 mmol (4.3 Äq.)
- SC: Petrolether/Ethylacetat [8/1] → [1/1]
- Ausbeute: 132 mg, 347 µmol (35 %)
- Summenformel: C₂₅H₂₀N₂O₂
- Molare Masse: 380.45 g/mol
- R_f: 0.40 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])
- Schmelzpunkt: 157.2 °C
- IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3283 (w), 3055 (w), 3014 (w), 2922 (m), 2852 (w), 1673 (s), 1643 (s), 1629 (s), 1591 (s), 736 (s).

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.47 – 7.25 (m, 10 H, CH_{Ar}), 7.09 – 7.03 (m, 5 H, CH_{Ar}), 6.75 (d, ³J = 9.4 Hz, 1 H, COC(CH)(CH)), 6.18 (d, ³J = 9.5 Hz, 1 H, COC(CH)(CH)), 3.47 (s, 3 H, NCH₃).

¹³C-NMR: (CDCl₃, 100.62 MHz), δ [ppm] = 165.76 (CO), 161.35 (CO), 142.02 (C_q), 141.49 (NCH), 140.19 (C_q), 139.29 (C_q), 138.68 (COC(CH)(CH)), 135.45 (C_q), 131.77, 129.21, 129.18, 128.88, 128.65, 128.23, 128.22, 127.65, 126.17 (C_{Ar}H), 119.07 (COC(CH)(CH)), 114.40 (C_q), 39.44 (NCH₃).

11. FM228: *N*-Benzyl-6-oxo-*N*,1-diphenyl-1,6-dihydropyridin-3-carboxamid



Methode: A2 (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz: - 6-Oxo-1-phenyl-1,6-dihydropyridin-3-carbonsäure (FM159):

50.0 mg, 232 μmol (1.0 Äq.)

- *N*-Benzylanilin (FM216): 300 mg, 1.64 mmol (7.0 Äq.)

- Triethylamin: 25.9 mg, 0.04 ml, 256 μmol (1.1 Äq.)

- DCC: 52.3 mg, 256 μmol (1.1 Äq.)

- HOBt: 35.0 mg, 256 μmol (1.1 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [8/1] → [1/1]

Ausbeute: 44.0 mg, 112 μmol (48 %)

Experimentalteil

Summenformel: C₂₅H₂₀N₂O₂

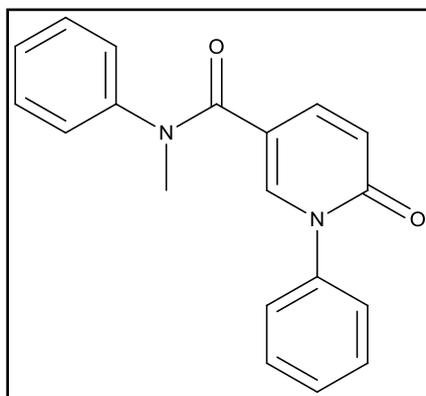
Molare Masse: 380.45 g/mol

R_f: 0.40 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.15 (s, 1 H, NCH), 7.67 (d, ³J = 8.4 Hz, COC(CH)(CH)), 7.37 (t, ³J = 7.7 Hz, 2 H, CH_{Ar}), 7.28 (m, 4 H, CH_{Ar}), 7.21 – 7.15 (m, 5 H, CH_{Ar}), 7.05 (d, ³J = 7.8 Hz, 2 H, CH_{Ar}), 6.93 (d, ³J = 7.2 Hz, 2 H, CH_{Ar}), 6.68 (d, ³J = 8.5 Hz, 2 H, COC(CH)(CH)), 5.11 (s, 2 H, CH₂).

¹³C-NMR: (CDCl₃, 100.62 MHz), δ [ppm] = 167.66 (C=O), 163.95 (C=O), 153.50 (C_q), 148.95 (NCH), 143.11 (C_q), 140.28 (COC(CH)(CH)), 137.17 (C_q), 129.70, 129.44, 128.51, 128.49, 127.81, 127.51, 127.23, 125.09 (C_{Ar}H), 110.28 (COC(CH)(CH)), 54.15 (CH₂).

12. FM230: *N*-Methyl-6-oxo-*N*,1-diphenyl-1,6-dihydropyridin-3-carboxamid



Methode: A2 (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz: - 6-Oxo-1-phenyl-1,6-dihydropyridin-3-carbonsäure (FM159):

50.0 mg, 232 μmol (1.0 Äq.)

- *N*-Methylanilin (FM222): 300 mg, 2.80 mmol (10.2 Äq.)

- Triethylamin: 25.9 mg, 0.04 ml, 256 μmol (1.1 Äq.)

- DCC: 52.3 mg, 256 μmol (1.1 Äq.)

- HOBt: 35.0 mg, 256 μmol (1.1 Äq.)

Experimentalteil

SC: Petrolether/Ethylacetat [8/1] → [1/1]

Ausbeute: 39.6 mg, 130 μmol (56 %)

Summenformel: $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$

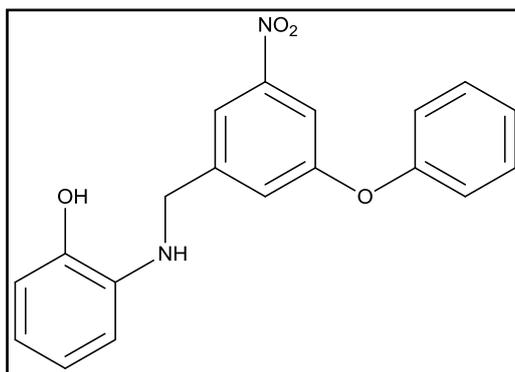
Molare Masse: 304.34 g/mol

R_f: 0.40 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

¹H-NMR: (CDCl_3 , 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.10 (d, $^4J = 2.2$ Hz, 1 H, NCH), 7.62 (dd, $^3J = 8.5$ Hz, $^4J = 2.5$ Hz, COC(CH)(CH)), 7.36 (t, $^3J = 7.5$ Hz, 2 H, C(CH)₂(CH)₂), 7.27 (t, $^3J = 7.3$ Hz, 2 H, C(CH)₂(CH)₂), 7.18 (m, 2 H, (C(CH)₂(CH)₂CH)₂), 7.04 (m, 4 H, (C(CH)₂)₂), 6.68 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 2 H, COC(CH)(CH)), 3.48 (s, 3 H, NCH₃).

¹³C-NMR: (CDCl_3 , 100.62 MHz), δ [ppm] = 167.82 (CO), 163.94 (CO), 153.50 (C_q), 148.89 (NCH), 144.54 (C_q), 140.14 (COC(CH)(CH)), 129.69 C(CH)₂(CH)₂, 129.58 (C(CH)₂(CH)₂), 127.06 C(CH)₂, 126.99 (C(CH)₂(CH)₂(CH)), 126.55 (C_q), 125.07 (C(CH)₂(CH)₂(CH)), 121.23 (C(CH)₂), 110.25 (COC(CH)(CH)), 38.58 (NCH₃).

13. FM205: 2-((3-Nitro-5-phenoxybenzyl)amino)phenol



Methode: G1A (Geänderte Ansatzgrößen)

Experimentaltteil

Ansatz: - 1-(Bromomethyl)-3-nitro-5-phenoxybenzol (FM202):
121 mg, 393 μmol (1.0 \AA q.)
- 2-Aminophenol: 51.0 mg, 471 μmol (1.2 \AA q.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [1/0] \rightarrow [1/1]

Ausbeute: 35.0 mg, 104 μmol (26 %)

Summenformel: $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4$

Molare Masse: 336.35 g/mol

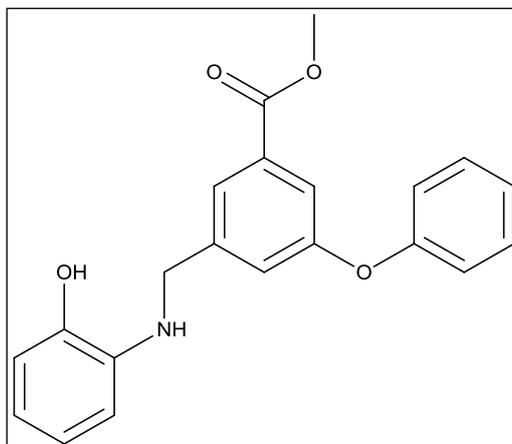
R_f: 0.25 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3428 (s), 2993 (w), 2952 (w), 2922 (s), 2849 (s), 1593 (s), 1582 (s), 1511 (s), 1488 (s), 1445 (s).

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3 , 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.96 (br s, 1 H, $\text{C}\underline{\text{H}}_{\text{Ar}}$), 7.64 (t, $^4\text{J} = 2.2$ Hz, 1 H, $\text{C}\underline{\text{H}}_{\text{Ar}}$), 7.38 (t, $^3\text{J} = 7.5$ Hz, 2 H, $\text{C}(\text{CH})_2(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})_2\text{CH}$), 7.36 (s, 1 H, $\text{C}\underline{\text{H}}_{\text{Ar}}$), 7.20 (t, $^3\text{J} = 7.5$ Hz, 1 H, $\text{C}(\text{CH})_2(\text{CH})_2\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}$), 7.02 (d, $^3\text{J} = 7.6$ Hz, 2 H, $\text{C}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})_2(\text{CH})_2\text{CH}$), 6.80 (t, $^3\text{J} = 7.6$ Hz, 1 H, $\text{HOC}(\text{CH})(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})$), 7.73 (d, $^3\text{J} = 7.5$ Hz, 1 H, $\text{HNC}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})(\text{CH})$), 6.64 (t, $^3\text{J} = 7.0$ Hz, 1 H, $\text{HNC}(\text{CH})(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})$), 6.51 (d, $^3\text{J} = 7.5$ Hz, 1 H, $\text{HOC}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})(\text{CH})$), 4.44 (s, 2 H, $\text{C}\underline{\text{H}}_2$).

$^{13}\text{C-NMR}$: (CDCl_3 , 100.62 MHz), δ [ppm] = 158.70, 155.47, 149.53, 143.73, 143.27, 136.07, (6 $\underline{\text{C}}_{\text{q}}$), 130.24 ($\text{C}(\text{CH})_2(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})_2\text{CH}$), 124.79 ($\text{C}(\text{CH})_2(\text{CH})_2\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}$), 122.80 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_{\text{Ar}}$), 121.73 ($\text{HOC}(\text{CH})(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})$), 119.74 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})_2(\text{CH})_2\text{CH}$), 118.22 ($\text{HNC}(\text{CH})(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})$), 116.28 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_{\text{Ar}}$), 114.54 ($\text{HNC}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})(\text{CH})$), 112.12 ($\text{HOC}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})(\text{CH})$), 111.41 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_{\text{Ar}}$), 47.62 ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2$).

14. FM242: Methyl-3-(((2-hydroxyphenyl)amino)methyl)-5-phenoxybenzoat



Methode: G1A (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz: - Methyl-3-(bromomethyl)-5-phenoxybenzoat (FM239):
76.0 mg, 237 μmol (1.0 Äq.)
- 2-Aminophenol: 103 mg, 947 μmol (4.0 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [1/0] \rightarrow [1/1]

Ausbeute: 19.0 mg, 54.4 μmol (23 %)

Summenformel: $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{NO}_4$

Molare Masse: 349.39 g/mol

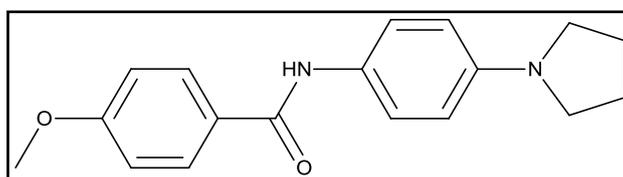
R_f : 0.30 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3429 (w), 3327 (w), 2946 (w), 2916 (w), 1720 (s), 1609 (w), 1583 (s), 1487 (s), 1303 (s), 1231 (s), 1204 (s).

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3 , 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.81 (s, 1 H, CH_{Ar}), 7.53 (t, $^4J = 2.3$ Hz, 1 H, CH_{Ar}), 7.32 (t, $^3J = 7.5$ Hz, 2 H, $\text{C}(\text{CH})_2(\text{CH})_2\text{CH}$), 7.25 (s, 1 H, CH_{Ar}), 7.12 (t, $^3J = 7.5$ Hz, 1 H, $\text{C}(\text{CH})_2(\text{CH})_2\text{CH}$), 7.98 (d, $^3J = 7.6$ Hz, 2 H, $\text{C}(\text{CH})_2(\text{CH})_2\text{CH}$), 6.79 (t, $^3J = 7.6$ Hz, 1 H, $\text{HOC}(\text{CH})(\text{CH})$), 7.73 (d, $^3J = 7.5$ Hz, 1 H, $\text{HNC}(\text{CH})(\text{CH})$), 6.63 (t, $^3J = 7.0$ Hz, 1 H, $\text{HNC}(\text{CH})(\text{CH})$), 6.59 (d, $^3J = 7.5$ Hz, 1 H, $\text{HOC}(\text{CH})(\text{CH})$), 4.38 (s, 2 H, CH_2), 3.88 (s, 3 H, OCH_3).

¹³C-NMR: (CDCl₃, 100.62 MHz), δ [ppm] = 166.56 (CO), 157.75, 156.60, 143.52, 142.07, 132.08 (5 C_q), 129.91 (C(CH)₂(CH)₂CH), 125.38 (C_q), 123.73 (C(CH)₂(CH)₂CH), 123.29 (CH_{Ar}), 122.31 (CH_{Ar}), 121.69 (HOC(CH)(CH)), 119.07 (C(CH)₂(CH)₂CH), 118.27 (CH_{Ar}), 118.20 (HNC(CH)(CH)), 144.49 (HNC(CH)(CH)), 112.64 (HOC(CH)(CH)), 52.28 (OCH₃), 48.10 (CH₂).

15A. FM304: 4-Methoxy-N-(4-(pyrrolidin-1-yl)phenyl)benzamid



Methode: A4 (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz: - 4-(Pyrrolidin-1-yl)anilin (FM265):

1.07 g, 6.60 mmol (1.0 Äq.)

- 4-Methoxybenzoesäure: 1.51 g, 9.90 mmol (1.5 Äq.)

- PPA: 6.30 g, 19.8 mmol (3.0 Äq.)

- Triethylamin: 1.67 g, 2.30 ml, 16.5 mmol (2.5 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [20/1] → [1/1]

Ausbeute: 807 mg, 2.72 mmol (41 %)

Summenformel: C₁₈H₂₀N₂O₂

Molare Masse: 296.36 g/mol

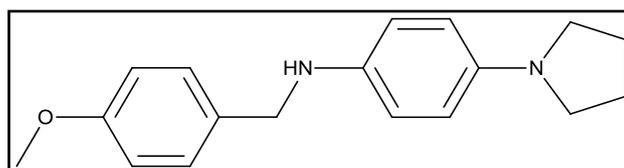
R_f: 0.40 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

Schmelzpunkt: 208.7 °C

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3330 (s), 2965 (s), 2840 (s), 1631 (s), 1604 (s), 1582 (s), 1517 (s), 1497 (s).

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.83 (d, ³J = 8.7 Hz, 2 H, COC(CH)₂), 7.59 (br s, 1 H, NH), 7.45 (d, ³J = 8.0 Hz, 2 H, NHC(CH)₂), 6.95 (d, ³J = 8.7 Hz, 2 H, OC(CH)₂), 6.57 (br s, 2 H, (CH₂)₂NC(CH)₂), 3.87 (s, 3 H, OCH₃), 3.29 (br s, 4 H, N(CH)₂), 2.02 (br s, 4 H, N(CH₂)₂(CH)₂).

15B. FM307: N-(4-Methoxybenzyl)-4-(pyrrolidin-1-yl)anilin



Methode: F1
 Ansatz: - 4-Methoxy-N-(4-(pyrrolidin-1-yl)phenyl)benzamid (FM304):

493 mg, 1.66 mmol (1.0 Äq.)

- Boran-THF-Lösung: 11.6 ml, 11.6 mmol (7.0 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [20/1] → [1/1]

Ausbeute: 203 mg, 719 μmol (43 %)

Summenformel: C₁₈H₂₂N₂O

Molare Masse: 282.38 g/mol

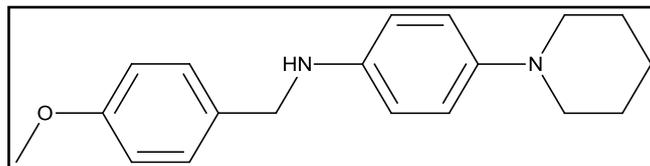
R_f: 0.20 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

Schmelzpunkt: 112.1 °C

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3383 (w), 3284 (w), 3052 (w), 3007 (m), 2952 (m), 2830 (m), 1608 (m), 1509 (s), 808 (s).

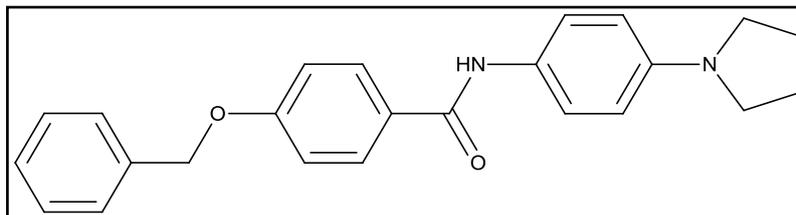
¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.30 (d, ³J = 7.7 Hz, 2 H, H₂CC(CH)₂), 6.87 (d, ³J = 7.7 Hz, 2 H, OC(CH)₂), 6.80–6.15 (br s, 3 H, NC(CH)₂(CH)₂CN), 4.60–3.90 (br s, 2 H, HNCCH), 3.80 (s, 3 H, OCH₃), 3.40–2.60 (br s, 4 H, N(CH)₂), 2.00 (br s, 4 H, N(CH₂)₂(CH)₂).

15D. FM306: *N*-(4-Methoxybenzyl)-4-(piperidin-1-yl)anilin



- Methode: F1
- Ansatz: - 4-Methoxy-*N*-(4-(piperidin-1-yl)phenyl)benzamid (FM303):
 168 mg, 541 μmol (1.0 \AA q.)
 - Boran-THF-Lösung: 3.79 ml, 3.79 mmol (7.0 \AA q.)
- SC: Petrolether/Ethylacetat [20/1] \rightarrow [1/1]
- Ausbeute: 86.0 mg, 290 μmol (54 %)
- Summenformel: $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}$
- Molare Masse: 296.41 g/mol
- R_f : 0.20 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])
- Schmelzpunkt: 68.4 $^{\circ}\text{C}$
- IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3286 (s), 2927 (s), 2850 (m), 2803 (m), 1699 (m), 1644 (m), 1609 (m), 1588 (m), 1562 (m), 1509 (s).
- $^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3 , 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.29 (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2 H, $\text{H}_2\text{CC}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})_2$), 6.89 (d, $^3J = 8.7$ Hz, 4 H, $\text{NHC}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})_2$, $\text{OC}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})_2$), 6.60 (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2 H, $(\text{CH}_2)_2\text{NC}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})_2$), 4.20 (s, 2 H, $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2$), 3.80 (s, 3 H, $\text{O}\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3$), 2.99 (br s, 4 H, $\text{N}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2)_2$), 1.72 (br s, 4 H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2)_2$), 1.52 (br s, 2 H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2$).
- $^{13}\text{C-NMR}$: (CDCl_3 , 100.62 MHz), δ [ppm] = 158.83 ($\text{H}_3\text{CO}\underline{\text{C}}_q$), 142.60 ($\text{H}_2\text{CC}\underline{\text{C}}_q$), 131.86 (2 $\text{N}\underline{\text{C}}_q$), 128.89 ($\text{H}_2\text{CC}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})_2$), 119.35 ($\text{OC}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})_2$), 113.99 ($\text{NHC}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})_2$), 113.86 ($(\text{CH}_2)_2\text{NC}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})_2$), 55.30 ($\text{O}\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3$), 52.81 $\text{N}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2)_2$, 48.61 ($\text{HN}\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2$), 26.23 ($\text{N}(\text{CH}_2)_2(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2)_2$), 24.23 ($\text{N}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2$).

16A. FM327: 4-(Benzyloxy)-N-(4-(pyrrolidin-1-yl)phenyl)benzamid



Methode: A4 (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz: - 4-(Pyrrolidin-1-yl)anilin (FM265):

1.10 g, 8.76 mmol (2.0 Äq.)

- 4-(Benzyloxy)benzoesäure (FM311):

1.00 g, 4.38 mmol (1.0 Äq.)

- PPA: 5.00 g, 15.7 mmol (3.6 Äq.)

- Triethylamin: 2.18 g, 3.00 ml, 21.5 mmol (5.0 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [20/1] → [1/1]

Ausbeute: 1.02 g, 2.73 mmol (62 %)

Summenformel: C₂₄H₂₄N₂O₂

Molare Masse: 372.47 g/mol

R_f: 0.40 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

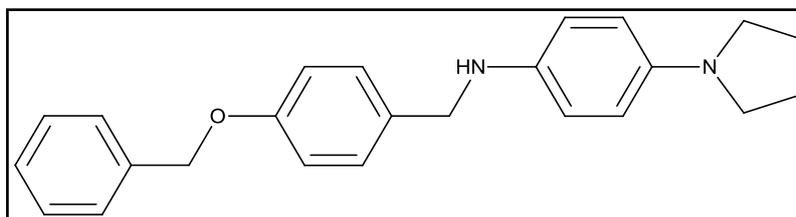
Schmelzpunkt: 280 °C (Zersetzung)

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3062 (w), 3049 (w), 2911 (w), 2865 (w), 1592 (s), 1555 (s), 1544 (s), 1503 (s).

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.82 (d, ³J = 8.8 Hz, 2 H, COC(CH)₂), 7.56 (br s, 1 H, NH), 7.45 –7.34 (m, 7 H, NHC(CH)₂, (5 CH_{Benzyl}), 7.03 (d, ³J = 8.8 Hz, 2 H, OC(CH)₂), 6.55 (d, ³J = 6.9 Hz, 2 H, (CH₂)₂NC(CH)₂), 5.13 (s, 2 H, OCH₂), 3.28 (m, 4 H, N(CH₂)₂), 2.01 (m, 4 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂).

^{13}C -NMR: (CDCl_3 , 100.62 MHz), δ [ppm] = 161.29 (C_O), 145.59 (C_q), 136.40 (C_q), 128.75 ($\text{COC}(\text{CH})_2$), 128.58 (2 C_Benzyl), 128.18 (C_Benzyl), 127.48 (2 C_Benzyl), 126.66 (C_q), 122.39 ($\text{NHC}(\text{CH})_2$), 114.77 ($\text{OC}(\text{CH})_2$), 111.77 ($(\text{CH}_2)_2\text{NC}(\text{CH})_2$), 70.14 (OCH_2), 47.83 ($\text{N}(\text{CH}_2)_2$), 25.45 ($\text{N}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2$).

16B. FM332: *N*-(4-(Benzyloxy)benzyl)-4-(pyrrolidin-1-yl)anilin



Methode: F1
 Ansatz: - 4-(Benzyloxy)-*N*-(4-(pyrrolidin-1-yl)phenyl)benzamid (FM327):
 180 mg, 483 μmol (1.0 Äq.)
 - Boran-THF-Lösung: 2.50 ml, 2.50 mmol (5.0 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [20/1] \rightarrow [1/1]

Ausbeute: 105 mg, 293 μmol (61 %)

Summenformel: $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}$

Molare Masse: 358.48 g/mol

R_f : 0.20 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

Schmelzpunkt: 143.6 $^\circ\text{C}$

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3366 (m), 2943 (w), 2802 (m), 1596 (m), 1513 (s), 1232 (s), 1026 (s), 808 (s).

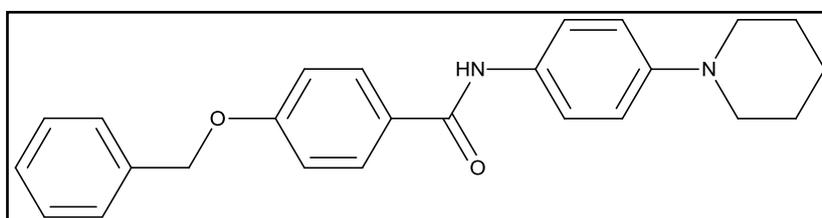
^1H -NMR: (CDCl_3 , 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.45 – 7.28 (m, 7 H, $\text{HN}(\text{CH}_2)\text{C}(\text{CH})_2$), (5 CH_Benzyl), 6.94 (d, $^3\text{J} = 8.6$ Hz, 2 H, $\text{OC}(\text{CH})_2$), 6.73 – 6.44 (br s, 4 H,

Experimentalteil

NC(CH)₂(CH)₂CN), 5.08 (s, 2 H, OCH₂), 4.30 – 4.15 (br s, 2 H, HNCH₂), 3.35 – 3.10 (br s, 4 H, N(CH₂)₂), 2.01 (s, 4 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂).

¹³C-NMR: (CDCl₃, 100.62 MHz), δ [ppm] = 157.95 (C_q), 137.11 (C_q), 128.90 HN(CH₂)C(CH)₂, 128.58 (2 C_{Benzyl}), 127.93 (C_{Benzyl}), 127.46 (2 C_{Benzyl}), 114.91 (OC(CH)₂), 70.07 (OCH₂), 25.27 (N(CH₂)₂(CH₂)₂).

16C. FM322: 4-(Benzyloxy)-N-(4-(piperidin-1-yl)phenyl)benzamid



Methode: A4 (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz: - 4-(Piperidin-1-yl)anilin (FM301):

1.54 g, 8.76 mmol (2.0 Äq.)

- 4-(Benzyloxy)benzoesäure (FM311):

1.00 g, 4.38 mmol (1.0 Äq.)

- PPA: 5.00 g, 15.7 mmol (3.6 Äq.)

- Triethylamin: 2.18 g, 3.00 ml, 21.5 mmol (5.0 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [20/1] → [1/1]

Ausbeute: 1.26 g, 3.26 mmol (74 %)

Summenformel: C₅₄H₂₆N₂O₂

Molare Masse: 386.49 g/mol

R_f: 0.40 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

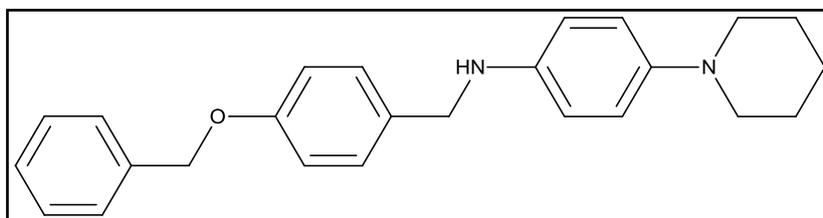
Schmelzpunkt: 213.6 °C

Experimentarteil

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3361 (m), 3030 (w), 2979 (w), 2938 (m), 2857 (w), 2806 (w), 1646 (s), 1603 (s), 1590 (s), 1515 (s), 1501 (s).

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3 , 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.83 (d, $^3J = 8.9$ Hz, 2 H, $\text{COC}(\underline{\text{CH}})_2$), 7.63 (br s, 1 H, NH), 7.50 (d, $^3J = 7.9$ Hz, 2 H, $\text{NHC}(\underline{\text{CH}})_2$), 7.45–7.34 (m, 5 H, $\underline{\text{CH}}_{\text{Benzyl}}$), 7.04 (d, $^3J = 8.9$ Hz, 2 H, $\text{OC}(\underline{\text{CH}})_2$), 7.00 (br s, 2 H, $(\text{CH}_2)_2\text{NC}(\underline{\text{CH}})_2$), 5.13 (s, 2 H, OCH_2), 3.15 (s, 4 H, $\text{N}(\underline{\text{CH}}_2)_2$), 1.75 (s, 4 H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2(\underline{\text{CH}}_2)_2$), 1.59 (s, 2 H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2\underline{\text{CH}}_2$).

16D. FM333: *N*-(4-(Benzyloxy)benzyl)-4-(piperidin-1-yl)anilin



Methode: F1
Ansatz: - 4-(Benzyloxy)-*N*-(4-(piperidin-1-yl)phenyl)benzamid (FM322):
193 mg, 500 μmol (1.0 \AA q.)
- Boran-THF-Lösung: 2.00 ml, 2.00 mmol (5.0 \AA q.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [20/1] \rightarrow [1/1]

Ausbeute: 121 mg, 293 μmol (61 %)

Summenformel: $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}$

Molare Masse: 372.50 g/mol

R_f : 0.20 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

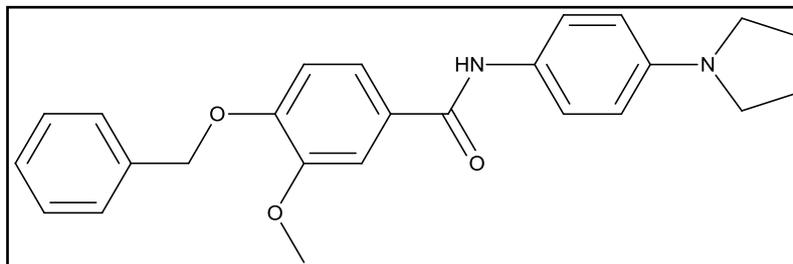
Schmelzpunkt: 120.2 $^\circ\text{C}$

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3367 (m), 3029 (w), 2939 (m), 2852 (w), 2804 (w), 1610 (m), 1582 (w), 1510 (s), 1464 (m), 1448 (m).

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.45 – 7.33 (m, 5 H, CH_{Benzyl}), 7.28 (d, ³J = 8.7 Hz, 2 H, HN(CH₂)C(CH)₂), 6.95 (d, ³J = 8.7 Hz, 2 H, OC(CH)₂), 6.91 (d, ³J = 8.4 Hz, 2 H, HNC(CH)₂), 6.61 (d, ³J = 8.4 Hz, 2 H, (CH₂)₂NC(CH)₂), 5.06 (s, 2 H, OCH₂), 4.21 (s, 2 H, HNCH₂), 2.99 (s, 4 H, N(CH₂)₂), 1.75 (s, 4 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂), 1.54 (s, 2 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂CH₂).

¹³C-NMR: (CDCl₃, 100.62 MHz), δ [ppm] = 158.04 (C_q), 137.07 (C_q), 132.09 (C_q), 128.89 HN(CH₂)C(CH)₂), 128.59 (2 C_{Benzyl}), 127.95 (C_{Benzyl}), 127.46 (2 C_{Benzyl}), 119.42 (HNC(CH)₂), 114.96 (OC(CH)₂), 113.82 (CH₂)₂NC(CH)₂), 70.08 OCH₂), 52.91 (N(CH₂)₂), 48.58 (HNCH₂), 26.13 (N(CH₂)₂(CH₂)₂), 24.15 (N(CH₂)₂(CH₂)₂CH₂).

17A. FM325: 4-(Benzyloxy)-3-methoxy-N-(4-(pyrrolidin-1-yl)phenyl)benzamid

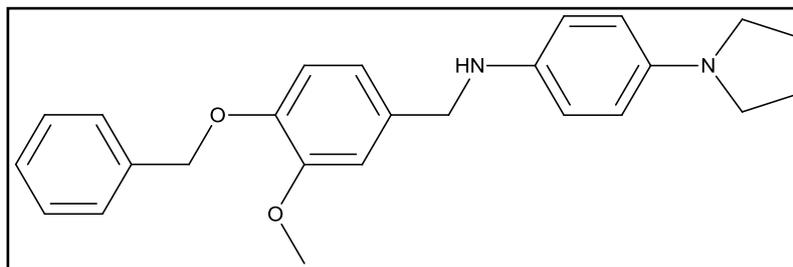


Methode: A4 (Geänderte Ansatzgrößen)

Experimentaltteil

Ansatz:	- 4-(Pyrrolidin-1-yl)anilin (FM265): 1.10 g, 8.76 mmol (2.3 Äq.) - 4-(Benzyloxy)-3-methoxybenzoesäure (FM313): 1.00 g, 3.87 mmol (1.0 Äq.) - PPA: 5.00 g, 15.7 mmol (4.1 Äq.) - Triethylamin: 2.18 g, 3.00 ml, 21.5 mmol (5.5 Äq.)
SC:	Petrolether/Ethylacetat [20/1] → [1/1]
Ausbeute:	1.12 g, 2.78 mmol (72 %)
Summenformel:	C ₂₅ H ₂₆ N ₂ O ₃
Molare Masse:	402.49 g/mol
R _f :	0.40 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])
Schmelzpunkt:	122.8 °C
IR:	$\tilde{\nu}$ [cm ⁻¹] = 3326 (m), 3068 (w), 2960 (m), 2871 (m), 2839 (w), 1640 (s), 1582 (s), 1552 (s), 1501 (s).
¹ H-NMR:	(CDCl ₃ , 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.59 (br s, 1 H, NH), 7.51 (d, ⁴ J = 1.9 Hz, 1 H, COC _q (CH)C _q), 7.45–7.27 (m, 8 H, 5 CH _{Benzyl} , COC(CH)(CH), NHC(CH ₂) ₂), 6.89 (d, ³ J = 8.3 Hz, 1 H, COC(CH)(CH)), 6.55 (d, ³ J = 8.8 Hz, 2 H, (CH ₂) ₂ NC(CH ₂) ₂), 5.22 (s, 2 H, OCH ₂), 3.95 (s, 3 H, OCH ₃), 3.28 (m, 4 H, N(CH ₂) ₂), 2.01 (m, 4 H, N(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₂).
¹³ C-NMR:	(CDCl ₃ , 100.62 MHz), δ [ppm] = 165.01 (CO), 150.79 (C _q), 149.74 (C _q), 145.57 (C _q), 136.54 (C _q), 128.65 (2 C _{Benzyl}), 128.47 (C _q), 128.04 (C _{Benzyl}), 127.23 (2 C _{Benzyl}), 126.65 (C _q), 122.35 NHC(CH ₂) ₂ , 118.98 COC(CH)(CH), 112.85 (COC(CH)(CH)), 111.77 (CH ₂) ₂ NC(CH ₂) ₂ , 111.27 COC _q (CH)C _q , 70.93 (OCH ₂), 56.16 (OCH ₃), 47.83 (N(CH ₂) ₂), 25.45 N(CH ₂) ₂ (CH ₂) ₂ .

17B. FM329: *N*-(4-(Benzyloxy)-3-methoxybenzyl)-4-(pyrrolidin-1-yl)anilin

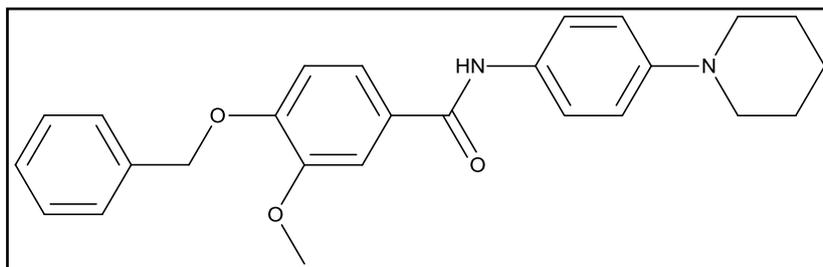


- Methode: F1
- Ansatz: - 4-(Benzyloxy)-3-methoxy-*N*-(4-(pyrrolidin-1-yl)phenyl)benzamid
 (FM325): 100 mg, 250 μ mol (1.0 $\ddot{\text{A}}$ q.)
 - Boran-THF-Lösung: 1.75 ml, 1.75 mmol (7.0 $\ddot{\text{A}}$ q.)
- SC: Petrolether/Ethylacetat [20/1] \rightarrow [1/1]
- Ausbeute: 65.0 mg, 167 μ mol (69 %)
- Summenformel: C₂₅H₂₈N₂O₂
- Molare Masse: 388.50 g/mol
- R_f: 0.20 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])
- Schmelzpunkt: 98.8 °C
- ESI-MS: Berechnet für C₂₅H₂₈N₂O₂: 388.50 g/mol; Gefunden: 388.4 g/mol (96 %
 Reinheit)
- IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3067 (w), 3034 (w), 2952 (m), 2933 (m), 2869 (m), 2846 (m),
 1605 (m), 1589 (m), 1511 (s), 1456(s).
- ¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.44 (d, ³J = 8.4 Hz, 2 H, OCH₂C_q(CH₂)₂), 7.36 (t, ³J = 8.5 Hz, 2 H, OCH₂C_q(CH)₂(CH₂)₂), 7.29 (t, ³J = 8.5 Hz, 1 H, OCH₂C_q(CH)₂(CH)₂(CH₂)₂), 6.96 (s, 1 H, OC_q(CH)), 6.84 (s, 2 H, OC_q(CH), H₂CC_q(CH)(CH)), 6.75 – 6.35 (br s, 3 H, NC(CH₂)₂(CH₂)₂CN), 5.14 (s, 2 H, OCH₂), 4.45 – 4.00 (br s, 2 H, HNC_q(CH₂)),

3.88 (s, 3 H, OCH_3), 3.40–2.90 (br s, 4 H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2$), 1.97 (s, 4 H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2$).

^{13}C -NMR: (CDCl_3 , 100.62 MHz), δ [ppm] = 149.80 (C_q), 147.42 (C_q), 137.26 (C_q), 128.52 (2 C_{Benzyl}), 127.79 (C_{Benzyl}), 127.27 (2 C_{Benzyl}), 120.15 ($\text{OC}_q(\text{CH})$), 114.07 ($\text{H}_2\text{CC}_q(\text{CH})(\text{CH})$), 111.94 ($\text{OC}_q(\text{CH})$), 111.84 ($\text{HNC}_q(\text{CH})_2(\text{CH})_2$), 71.14 (OCH_2), 56.04 (OCH_3), 47.79 ($\text{N}(\text{CH}_2)_2$), 25.50 ($\text{N}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2$).

17C. FM317: 4-(Benzyloxy)-3-methoxy-N-(4-(piperidin-1-yl)phenyl)benzamid



Methode: A4 (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz: - 4-(Piperidin-1-yl)anilin (FM301):

682 mg, 3.87 mmol (1.0 Äq.)

- 4-(Benzyloxy)-3-methoxybenzoesäure (FM313):

1.00 g, 3.87 mmol (1.0 Äq.)

- PPA: 4.93 g, 15.5 mmol (4.0 Äq.)

- Triethylamin: 1.17 g, 1.60 ml, 11.6 mmol (3.0 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [20/1] → [1/1]

Ausbeute: 1.02 g, 2.45 mmol (63 %)

Summenformel: $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3$

Molare Masse: 416.52 g/mol

Experimentalteil

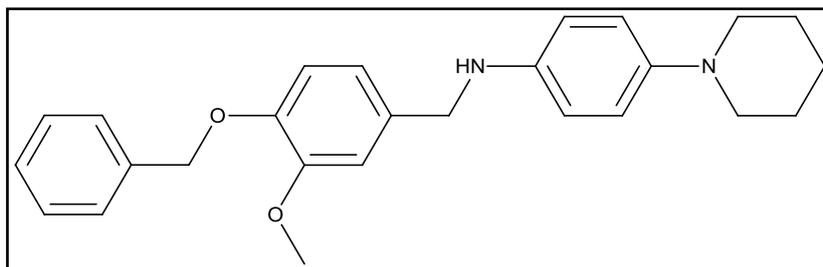
R_f: 0.40 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

Schmelzpunkt: 235.4 °C

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3344 (m), 3073 (w), 3044 (w), 2939 (w), 2856 (w), 2811 (w), 1645 (s), 1584 (s), 1516 (s), 1504 (s).

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.66 (br s, 1 H, NH), 7.52 (m, 2.7 H, COC(CH)C_q, NHC(CH)₂), 7.44 (d, ³J = 8.4 Hz, 2 H, CH₂C_q(CH)₂), 7.37 (t, ³J = 7.1 Hz, 2 H, CH₂C_q(CH)₂(CH)₂), 7.32 (m, 2 H, CH₂C_q(CH)₂(CH)₂CH, COC(CH)(CH)), 7.00 (br s, 1.6 H, (CH₂)₂NC(CH)₂), 6.91 (d, ³J = 8.4 Hz, 1 H, COC(CH)(CH)), 5.22 (s, 2 H, OCH₂), 3.96 (s, 3 H, OCH₃), 3.15 (s, 4 H, N(CH₂)₂), 1.76 (s, 4 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂), 1.59 (s, 2 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂CH₂).

17D. FM338: *N*-(4-(Benzyloxy)-3-methoxybenzyl)-4-(piperidin-1-yl)anilin



Methode: F1

Ansatz: - 4-(Benzyloxy)-3-methoxy-*N*-(4-(piperidin-1-yl)phenyl)benzamid
(FM317): 200 mg, 480 μ mol (1.0 Äq.)
- Boran-THF-Lösung: 2.50 ml, 2.50 mmol (5.2 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [20/1] \rightarrow [1/1]

Ausbeute: 120 mg, 298 μ mol (62 %)

Summenformel: C₂₆H₃₀N₂O₂

Molare Masse: 402.53 g/mol

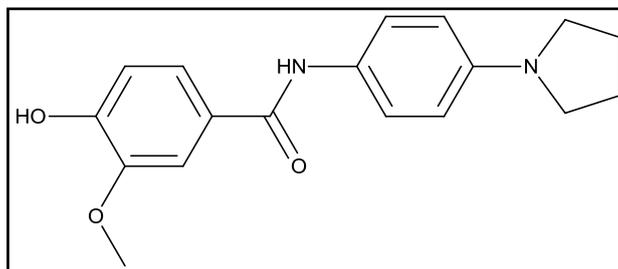
Experimentaltteil

R_f: 0.20 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])
Schmelzpunkt: 90.4 °C
IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3371 (m), 2932 (m), 2843 (w), 2783 (w), 1592 (w), 1509 (s), 1462 (s), 1228 (s), 1024 (s).

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.46 (d, ³J = 8.5 Hz, 2 H, OCH₂C_q(CH₂)), 7.37 (t, ³J = 8.5 Hz, 2 H, OCH₂C_q(CH)₂(CH₂)), 7.32 (t, ³J = 8.5 Hz, 1 H, OCH₂C_q(CH)₂(CH)₂CH), 6.96 (s, 1 H, OC_q(CH)), 6.89 (d, ³J = 8.8 Hz, 2 H, HNC(CH₂)), 6.85 (s, 2 H, OC_q(CH)), H₂CC_q(CH)(CH)), 6.62 (d, ³J = 8.7 Hz, 2 H, (CH₂)₂NC(CH₂)), 5.15 (s, 2 H, OCH₂), 4.20 (s, 2 H, HNCCH₂), 3.88 (s, 3 H, OCH₃), 3.00 (m, 4 H, N(CH₂)₂), 1.74 (m, 4 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂), 1.55 (m, 2 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂CH₂).

¹³C-NMR: (CDCl₃, 100.62 MHz), δ [ppm] = 149.86 (C_q), 147.35 (C_q), 144.96 (C_q), 142.59 (C_q), 137.30 (C_q), 133.04 (C_q), 128.56 (2 C_{Benzyl}), 127.82 (C_{Benzyl}), 127.30 (2 C_{Benzyl}), 119.76 (OC_q(CH)), 119.35 (HNC(CH₂)), 114.18 H₂CC_q(CH)(CH)), 114.08 ((CH₂)₂NC(CH₂)), 111.52 (OC_q(CH)), 71.18 (OCH₂), 56.02 (OCH₃), 52.80 (N(CH₂)₂), 49.06 (HNCCH₂), 26.22 (N(CH₂)₂(CH₂)₂), 24.23 ((N(CH₂)₂(CH₂)₂CH₂).

17E. FM328: 4-Hydroxy-3-methoxy-N-(4-(pyrrolidin-1-yl)phenyl)benzamid



Methode: E1

Experimentaltteil

Ansatz: - 4-(Benzyloxy)-3-methoxy-*N*-(4-(pyrrolidin-1-yl)phenyl)benzamid
(FM325): 100 mg, 250 μmol (1.0 Äq.)
- Palladium/Kohle: 15.0 mg

SC: Dichlormethan/Methanol [10/1] \rightarrow [3/1]

Ausbeute: 56.0 mg, 179 μmol (72 %)

Summenformel: $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$

Molare Masse: 312.36 g/mol

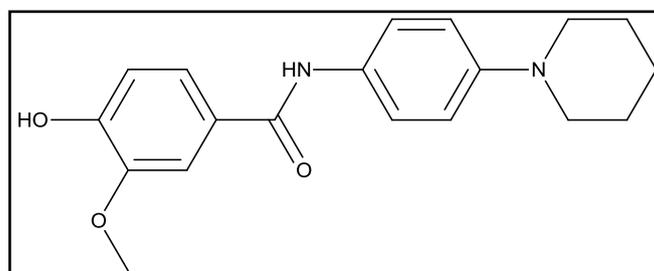
R_f: 0.40 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

Schmelzpunkt: 295.1 °C

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3439 (m), 3287 (m), 2960 (m), 2836 (m), 1635 (s), 1607 (s), 1594 (s), 1519 (s), 1500(s).

¹H-NMR: (CDCl_3 , 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.60 (br s, 1 H, NH), 7.53 (d, ⁴J = 1.8 Hz, 1 H, COC_q(CH)C_q), 7.44 (d, ³J = 8.7 Hz, 2 H, NHC(CH)₂), 7.30 (dd, ³J = 8.2 Hz, ⁴J = 1.9 Hz, 1 H, COC(CH)(CH)), 6.95 (d, ³J = 8.2 Hz, 1 H, COC(CH)(CH)), 6.56 (d, ³J = 7.8 Hz, 2 H, (CH)₂NC(CH)₂), 5.93 (s, 1 H, OH), 3.95 (s, 3 H, OCH₃), 3.28 (s, 4 H, N(CH)₂), 2.01 (m, 4 H, N(CH)₂(CH)₂).

17F. FM331: 4-Hydroxy-3-methoxy-*N*-(4-(piperidin-1-yl)phenyl)benzamid

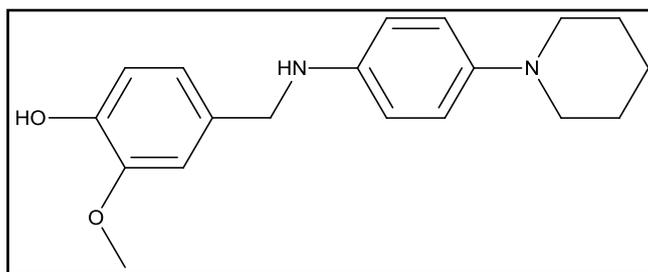


Methode: E1

Experimentaltteil

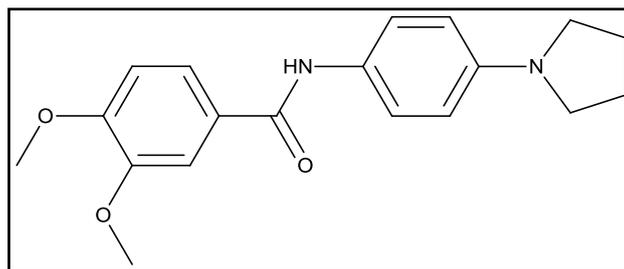
Ansatz:	- 4-(Benzyloxy)-3-methoxy- <i>N</i> -(4-(piperidin-1-yl)phenyl)benzamid (FM317): 200 mg, 480 μmol (1.0 Äq.) - Palladium/Kohle: 30.0 mg
SC:	Dichlormethan/Methanol [10/1] \rightarrow [3/1]
Ausbeute:	112 mg, 343 μmol (71 %)
Summenformel:	$\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$
Molare Masse:	326.39 g/mol
R _f :	0.40 (Dichlormethan/Methanol [9/1])
Schmelzpunkt:	295 °C
IR:	$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3422 (m), 3402 (m), 3298 (m), 3077 (m), 2938 (m), 2860 (m), 2803 (m), 1630 (s), 1605 (s), 1590 (s), 1513 (s), 1451 (s).
¹ H-NMR:	(CDCl_3 , 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.87 (br s, 1 H, <u>NH</u>), 7.53 (m, 3 H, $\text{COC}(\underline{\text{CH}})\text{C}_q$, $\text{NHC}(\underline{\text{CH}})_2$), 7.33 (d, $^3J = 7.3$ Hz, 1 H, $\text{COC}(\underline{\text{CH}})(\text{CH})$), 6.99 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2 H, $(\text{CH}_2)_2\text{NC}(\underline{\text{CH}})_2$), 6.94 (d, $^3J = 8.1$ Hz, 1 H, $\text{COC}(\text{CH})(\underline{\text{CH}})$), 4.45 (s, 1 H, <u>OH</u>), 3.94 (s, 3 H, <u>OCH</u> ₃), 3.14 (m, 4 H, $\text{N}(\underline{\text{CH}}_2)_2$), 1.74 (m, 4 H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2(\underline{\text{CH}}_2)_2$), 1.58 (m, 2 H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2(\underline{\text{CH}}_2)$).
¹³ C-NMR:	(CDCl_3 , 100.62 MHz), δ [ppm] = 165.15 (<u>CO</u>), 148.94 (<u>C</u> _q), 146.80 (<u>C</u> _q), 127.19 (<u>C</u> _q), 121.60 ($\text{HNC}(\underline{\text{CH}})_2$), 119.81 $\text{COC}(\underline{\text{CH}})(\text{CH})$, 117.49 $(\text{CH}_2)_2\text{NC}(\underline{\text{CH}})_2$, 114.01 ($\text{COC}(\text{CH})(\underline{\text{CH}})$), 110.63 ($\text{COC}_q(\underline{\text{CH}})\text{C}_q$), 56.11 (<u>OCH</u> ₃), 51.60 ($\text{N}(\underline{\text{CH}}_2)_2$), 25.61 ($\text{N}(\text{CH}_2)_2(\underline{\text{CH}}_2)_2$), 24.03 ($(\text{N}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2(\underline{\text{CH}}_2))$).

17G. FM345: 2-Methoxy-4-(((4-(piperidin-1-yl)phenyl)amino)methyl)phenol



- Methode: E1
- Ansatz: - *N*-(4-(Benzyloxy)-3-methoxybenzyl)-4-(piperidin-1-yl)anilin
 (FM338): 100 mg, 248 μmol (1.0 \AA q.)
 - Palladium/Kohle:: 15.0 mg
- SC: Petrolether/Ethylacetat [20/1] \rightarrow [1/1]
- Ausbeute: 45 mg, 144 μmol (58 %)
- Summenformel: $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2$
- Molare Masse: 312.41 g/mol
- R_f : 0.10 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])
- Schmelzpunkt: 107.5 $^{\circ}\text{C}$
- IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3422 (m), 2937 (m), 2853 (w), 2805 (w), 1614 (m), 1509 (s), 1459 (s), 1444 (s), 1271 (s).
- $^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3 , 400.13 MHz), δ [ppm] = 6.95 – 6.83 (m, 5 H, $\text{HNC}(\underline{\text{CH}})_2$, $\text{H}_2\text{CC}(\underline{\text{CH}})_2(\underline{\text{CH}})$), 6.62 (d, $^3J = 6.2$ Hz, 2 H, $(\text{CH}_2)_2\text{NC}(\underline{\text{CH}})_2$), 4.19 (s, 2 H, NCH_2), 3.84 (s, 3 H, OCH_3), 3.00 (m, 4 H, $\text{N}(\underline{\text{CH}_2})_2$), 1.74 (m, 4 H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2(\underline{\text{CH}_2})_2$), 1.55 (m, 2 H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2\underline{\text{CH}_2}$).
- $^{13}\text{C-NMR}$: (CDCl_3 , 100.62 MHz), δ [ppm] = 146.71 ($\underline{\text{C}}_q$), 144.84 ($\underline{\text{C}}_q$), 120.53, 119.42, 114.36 $\text{H}_2\text{CC}(\underline{\text{CH}})_2(\underline{\text{CH}})$, 113.92 $(\text{CH}_2)_2\text{NC}(\underline{\text{CH}})_2$, 110.34 $\text{HNC}(\underline{\text{CH}})_2$, 55.92 ($\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 52.90 ($\text{N}(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_2$), 49.19 (NCH_2), 26.12 ($\text{N}(\text{CH}_2)_2(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_2$), 24.16 ($\text{N}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2\underline{\text{C}}\text{H}_2$).

18A. FM326: 3,4-Dimethoxy-N-(4-(pyrrolidin-1-yl)phenyl)benzamid



Methode: A4 (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz: - 4-(Pyrrolidin-1-yl)anilin (FM265):

1.10 g, 8.76 mmol (1.6 Äq.)

- 3,4-Dimethoxybenzoesäure (FM314):

1.00 g, 5.49 mmol (1.0 Äq.)

- PPA: 10.0 g, 31.4 mmol (5.7 Äq.)

- Triethylamin: 2.18 g, 3.00 ml, 21.5 mmol (4.0 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [20/1] → [1/1]

Ausbeute: 1.21 g, 3.70 mmol (67 %)

Summenformel: C₁₉H₂₂N₂O₃

Molare Masse: 326.39 g/mol

R_f: 0.40 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

Schmelzpunkt: 220.4 °C

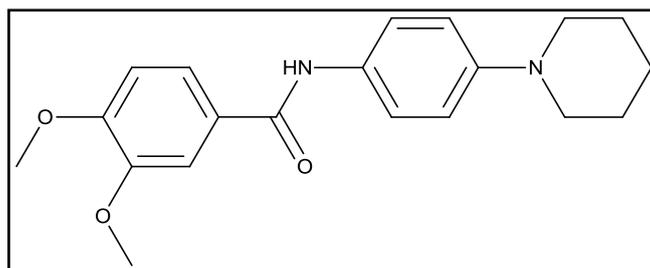
IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3306 (m), 3082 (w), 3003 (w), 2960 (m), 2934 (m), 2846 (m), 1636 (s), 1579 (s), 1520 (s), 1501 (s).

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.68 (br s, 1 H, NH), 7.50 (d, ⁴J = 1.7 Hz, 1 H, COC_q(CH)C_q), 7.44 (d, ³J = 8.7 Hz, 2 H, NHC(CH₂)₂), 7.37 (dd, ³J = 8.3 Hz, ⁴J = 1.7 Hz, 1 H, COC(CH)(CH)), 6.88 (d, ³J = 8.4 Hz, 1 H, COC(CH)(CH)), 6.55 (d, ³J = 8.9 Hz, 2 H, (CH₂)₂NC(CH₂)₂), 3.93 (s, 6 H, (OCH₃)₂), 3.28 (m, 4 H, N(CH₂)₂), 2.01 (m, 4 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂).

6.83 (d, $^3J = 8.1$ Hz, 1 H, COC(CH)(CH)), 6.67 (br d, $^3J = 6.7$ Hz, 2 H, NHC(CH)₂), 6.54 (br d, $^3J = 7.6$ Hz, 2 H, (CH₂)₂NC(CH)₂), 4.21 (br s, 2 H, CH₂), 3.87 (s, 6 H, (OCH₃)₂), 3.22 (br s, 4 H, N(CH₂)₂), 1.98 (m, 4 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂).

¹³C-NMR: (CDCl₃, 100.62 MHz), δ [ppm] = 149.10 (C_q), 148.13 (C_q), 142.01 (C_q), 139.12 (C_q), 132.71 (C_q), 119.80 (H₂CC_q(CH)(CH)), 115.22 (NHC(CH)₂), 113.21 ((CH₂)₂NC(CH)₂), 111.21 (COC(CH)(CH)), 111.02 (COC_q(CH)C_q), 55.96 (OCH₃), 55.88 (OCH₃), 49.86 (HNCH₂), 48.42 (N(CH₂)₂), 25.27 (N(CH₂)₂(CH₂)₂).

18C. FM321: 3,4-Dimethoxy-N-(4-(piperidin-1-yl)phenyl)benzamid



Methode: A4 (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz: - 4-(Piperidin-1-yl)anilin (FM301):

968 mg, 5.49 mmol (1.0 Äq.)

- 3,4-Dimethoxybenzoesäure (FM314):

1.00 g, 5.49 mmol (1.0 Äq.)

- PPA: 7.00 g, 22.0 mmol (4.0 Äq.)

- Triethylamin: 2.23 g, 3.10 ml, 22.0 mmol (4.0 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [20/1] → [1/1]

Ausbeute: 681 mg, 2.00 mmol (36 %)

Summenformel: C₂₀H₂₄N₂O₃

Molare Masse: 340.42 g/mol

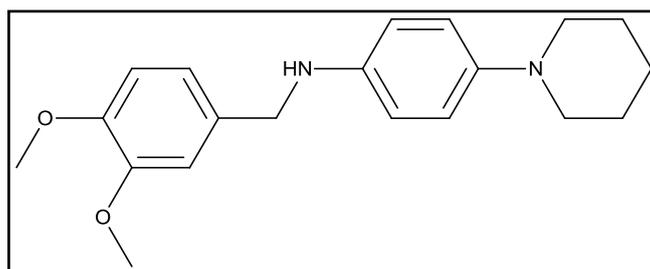
Experimentaltteil

R_f: 0.40 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])
Schmelzpunkt: 222.1 °C
IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3322 (m), 3055 (w), 2992 (m), 2979 (m), 2962 (m), 2948 (w), 2919 (w), 2844 (w), 1634 (s), 1581 (s), 1507 (s).

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.81 (br s, 1 H, NH), 7.49 (m, 3 H, NHC(CH)₂, COC_q(CH)C_q), 7.37 (dd, ³J = 8.4 Hz, ⁴J = 2.1 Hz, 1 H, COC(CH)(CH), 6.93 (d, ³J = 9.0 Hz, 2 H, (CH₂)₂NC(CH)₂), 6.86 (d, ³J = 8.4 Hz, 1 H, COC(CH)(CH)), 3.91 (s, 6 H, (OCH₃)₂), 3.12 (m, 4 H, N(CH₂)₂), 1.70 (m, 4 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂), 1.57 (m, 2 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂(CH₂)).

¹³C-NMR: (CDCl₃, 100.62 MHz), δ [ppm] = 165.12 (CO), 151.84 (C_q), 149.33 (C_q), 149.13 (C_q), 130.12 (C_q), 127.82 (C_q), 121.60 (NHC(CH)₂), 119.35 (COC(CH)(CH), 117.09 ((CH₂)₂NC(CH)₂), 110.76 (COC_q(CH)C_q), 110.33 (COC(CH)(CH)), 56.03 (OCH₃), 56.03 (OCH₃), 51.10 (N(CH₂)₂), 28.82 (N(CH₂)₂(CH₂)₂), 24.22 (N(CH₂)₂(CH₂)₂(CH₂)).

18D. FM336: *N*-(3,4-Dimethoxybenzyl)-4-(piperidin-1-yl)anilin

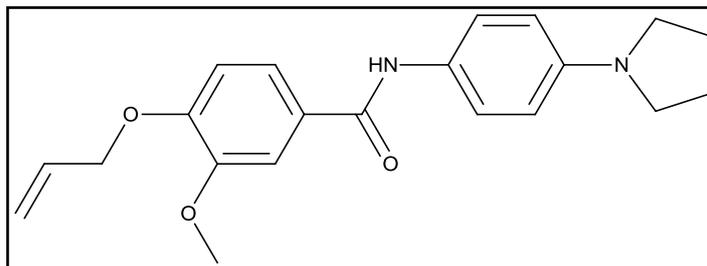


Methode: F1
Ansatz: - 3,4-Dimethoxy-*N*-(4-(piperidin-1-yl)phenyl)benzamid
(FM321): 200 mg, 588 μ mol (1.0 Äq.)
- Boran-THF-Lösung: 2.50 ml, 2.50 mmol (4.2 Äq.)

Experimentaltteil

SC:	Petrolether/Ethylacetat [20/1] → [1/1]
Ausbeute:	109 mg, 334 μmol (57 %)
Summenformel:	$\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2$
Molare Masse:	326.43 g/mol
R _f :	0.20 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])
Schmelzpunkt:	107.5 °C
IR:	$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3370 (s), 2995 (m), 2932 (m), 2844 (m), 2783 (m), 1592 (s), 1509 (s), 1461 (s), 1228 (s), 1024 (s).
¹H-NMR:	(CDCl_3 , 400.13 MHz), δ [ppm] = 6.92 – 6.80 (m, 5 H, $\text{COC}_q(\underline{\text{CH}})\text{C}_q$, $\text{COC}(\underline{\text{CH}})(\text{CH})$, $\text{COC}(\text{CH})(\underline{\text{CH}})$, $\text{NHC}(\underline{\text{CH}})_2$), 6.61 (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2 H, $(\text{CH}_2)_2\text{NC}(\underline{\text{CH}})_2$), 4.21 (br s, 2 H, $\underline{\text{CH}}_2$), 3.87 (s, 3 H, $\text{O}\underline{\text{CH}}_3$), 3.86 (s, 3 H, $\text{O}\underline{\text{CH}}_3$), 2.98 (m, 4 H, $\text{N}(\underline{\text{CH}}_2)_2$), 1.71 (m, 4 H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2(\underline{\text{CH}}_2)_2$), 1.53 (m, 2 H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2\underline{\text{CH}}_2$).
¹³C-NMR:	(CDCl_3 , 100.62 MHz), δ [ppm] = 149.13 ($\underline{\text{C}}_q$), 148.19 ($\underline{\text{C}}_q$), 145.01 ($\underline{\text{C}}_q$), 142.54 ($\underline{\text{C}}_q$), 132.38 ($\underline{\text{C}}_q$), 119.75 ($\text{NHC}(\underline{\text{CH}})_2$), 119.32 ($\text{H}_2\text{CC}_q(\underline{\text{CH}})(\text{CH})$), 113.90 ($(\text{CH}_2)_2\text{NC}(\underline{\text{CH}})_2$), 111.21 ($\text{COC}(\text{CH})(\underline{\text{CH}})$), 110.94 ($\text{COC}_q(\underline{\text{CH}})\text{C}_q$), 55.96 ($\text{O}\underline{\text{CH}}_3$), 55.87 ($\text{O}\underline{\text{CH}}_3$), 52.76 ($\text{N}(\underline{\text{CH}}_2)_2$), 49.08 ($\text{HN}\underline{\text{CH}}_2$), 26.20 ($\text{N}(\text{CH}_2)_2(\underline{\text{CH}}_2)_2$), 24.20 ($\text{N}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2\underline{\text{CH}}_2$).

19A. FM350: 4-(Allyloxy)-3-methoxy-N-(4-(pyrrolidin-1-yl)phenyl)benzamid



Methode: A4 (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz: - 4-(Pyrrolidin-1-yl)anilin (FM265):

1.10 g, 8.76 mmol (1.6 Äq.)

- 4-(Allyloxy)-3-methoxybenzoesäure (FM347):

1.14 g, 5.49 mmol (1.0 Äq.)

- PPA: 10.0 g, 31.4 mmol (5.7 Äq.)

- Triethylamin: 2.18 g, 3.00 ml, 21.5 mmol (4.0 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [20/1] → [1/1]

Ausbeute: 1.32 g, 3.75 mmol (68 %)

Summenformel: C₂₁H₂₄N₂O₃

Molare Masse: 352.43 g/mol

R_f: 0.40 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

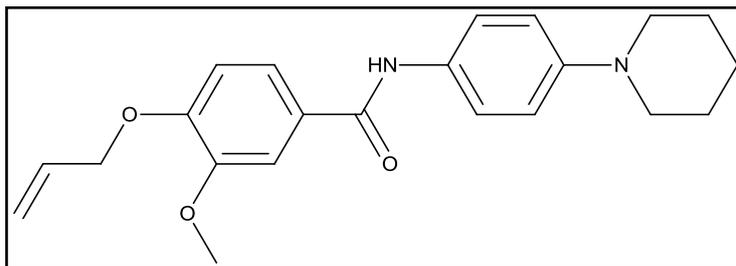
Schmelzpunkt: 196.1 °C

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3294 (m), 3081 (w), 3024 (w), 2923 (m), 2853 (m), 1633 (s), 1579 (s), 1506 (s), 1147 (s), 808 (s).

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.67 (br s, 1 H, NH), 7.50 (m, 3 H, COC_q(CH)C_q, NHC(CH₂)₂), 7.35 (d, ³J = 6.6 Hz, 1 H, COC(CH)(CH)), 6.89 (d, ³J = 7.7 Hz, 1 H, COC(CH)(CH)), 6.61 (br s, 2 H, (CH₂)₂NC(CH₂)₂), 6.08 (m, 1 H, OCH₂CH), 5.43 (dd, ³J = 17.2 Hz,

$^4J = 1.2 \text{ Hz}$, 1 H, OCH_2CHCHH), 5.32 (dd, $^3J = 10.5 \text{ Hz}$, $^4J = 1.2 \text{ Hz}$, 1 H, OCH_2CHCHH), 4.66 (d, $^3J = 5.3 \text{ Hz}$, 2 H, OCH_2), 3.94 (s, 3 H, OCH_3), 3.31 (s, 4 H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2$), 2.03 (s, 4 H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2$).

19B. FM349: 4-(Allyloxy)-3-methoxy-N-(4-(piperidin-1-yl)phenyl)benzamid



Methode: A4 (Geänderte Ansatzgrößen)
 Ansatz: - 4-(Piperidin-1-yl)anilin (FM301):
 968 mg, 5.49 mmol (1.0 Äq.)
 - 4-(Allyloxy)-3-methoxybenzoesäure (FM347):
 1.14 g, 5.49 mmol (1.0 Äq.)
 - PPA: 7.00 g, 22.0 mmol (4.0 Äq.)
 - Triethylamin: 2.23 g, 3.10 ml, 22.0 mmol (4.0 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [20/1] → [1/1]

Ausbeute: 985 mg, 2.69 mmol (49 %)

Summenformel: $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$

Molare Masse: 366.45 g/mol

R_f : 0.40 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

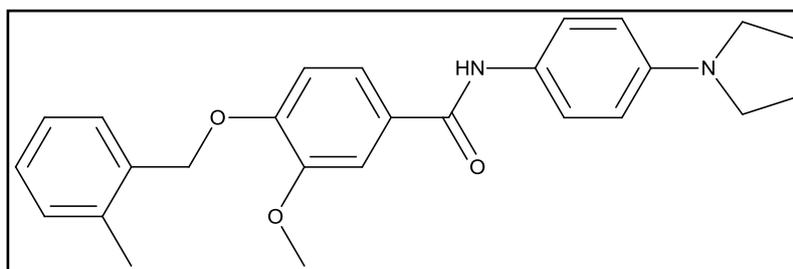
Schmelzpunkt: 185.7 °C

IR: $\tilde{\nu} [\text{cm}^{-1}] = 3297 \text{ (m)}$, 2934 (s), 2849 (w), 2813 (w), 1637 (s), 1598 (s), 1580 (s), 1506 (s), 1213 (s), 817 (s).

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.76 (br s, 1 H, NH), 7.50 (m, 3 H, COC(CH)C_q, NHC(CH)₂), 7.35 (dd, ³J = 8.3 Hz, ⁴J = 2.0 Hz, 1 H, COC(CH)(CH)), 6.97 (d, ³J = 8.7 Hz, 2 H, (CH₂)₂NC(CH)₂), 6.89 (d, ³J = 8.4 Hz, 1 H, COC(CH)(CH)), 6.08 (m, 1 H, OCH₂CH), 5.44 (dq, ³J = 17.3 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, 1 H, OCH₂CHCHH), 5.40 (dd, ³J = 9.2 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, 1 H, OCH₂CHCHH), 4.66 (dt, ³J = 5.5 Hz, ⁴J = 1.8 Hz, 1 H, OCH₂), 3.93 (s, 3 H, OCH₃), 3.14 (m, 4 H, N(CH₂)₂), 1.73 (m, 4 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂), 1.58 (m, 2 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂CH₂).

¹³C-NMR: (CDCl₃, 100.62 MHz), δ [ppm] = 165.08 (CO), 150.85 (C_q), 149.41 (C_q), 132.68 (OCH₂CH), 127.99 (C_q), 121.55 NHC(CH)₂, 119.17 (COC(CH)(CH)), 118.46 OCH₂CHCH₂, 117.30 ((CH₂)₂NC(CH)₂), 112.20 (COC(CH)(CH)), 111.11 (COC_q(CH)C_q), 69.81 (OCH₂), 56.11 (OCH₃), 51.37 (N(CH₂)₂), 25.27 (N(CH₂)₂(CH₂)₂), 24.13 (N(CH₂)₂(CH₂)₂CH₂).

20A. FM352: 3-Methoxy-4-((2-methylbenzyl)oxy)-N-(4-(pyrrolidin-1-yl)phenyl)benzamid



Methode: A4 (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz: - 4-(Pyrrolidin-1-yl)anilin (FM265):

1.10 g, 8.76 mmol (2.3 Äq.)

- 3-Methoxy-4-((2-methylbenzyl)oxy)benzoesäure (FM348):

1.05 g, 3.87 mmol (1.0 Äq.)

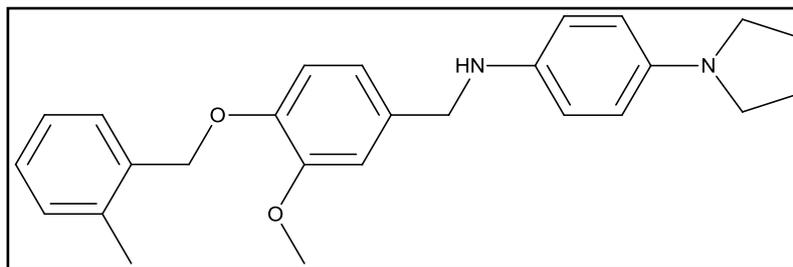
- PPA: 5.00 g, 15.7 mmol (4.1 Äq.)

- Triethylamin: 2.18 g, 3.00 ml, 21.5 mmol (5.5 Äq.)

Experimentalteil

SC:	Petrolether/Ethylacetat [20/1] → [1/1]
Ausbeute:	956 mg, 2.30 mmol (59 %)
Summenformel:	C ₂₆ H ₂₈ N ₂ O ₃
Molare Masse:	416.51 g/mol
R _f :	0.40 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])
Schmelzpunkt:	185 °C
IR:	$\tilde{\nu}$ [cm ⁻¹] = 3299 (s), 3080 (w), 3060 (w), 3012 (w), 2954 (m), 1928 (m), 2854 (m), 1636 (s), 1600 (s), 1580 (s), 1518 (s), 1500 (s).
¹ H-NMR:	(CDCl ₃ , 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.69 (br s, 1 H, <u>NH</u>), 7.52 (s, 1 H, COC(<u>CH</u>)C _q), 7.47 (d, ³ J = 6.9 Hz, 2 H, HNC(<u>CH</u>) ₂), 7.40 (d, ³ J = 7.3 Hz, 1 H, CH ₃ C _q <u>CH</u>), 7.33 (d, ³ J = 7.9 Hz, COC(<u>CH</u>)(CH)), 7.21 (m, 3 H, CH ₂ C _q (<u>CH</u>)(<u>CH</u>)(<u>CH</u>)), 6.91 (d, ³ J = 8.3 Hz, 1 H, COC(CH)(<u>CH</u>)), 6.61 (br s, 2 H, (CH ₂) ₂ NC(<u>CH</u>) ₂), 5.16 (s, 2 H, O <u>CH</u> ₂), 3.93 (s, 3 H, O <u>CH</u> ₃), 3.30 (m, 4 H, N(<u>CH</u> ₂) ₂), 2.39 (s, 3 H, C _q <u>CH</u> ₃), 2.04 (m, 4 H, N(CH ₂) ₂ (<u>CH</u> ₂) ₂).
¹³ C-NMR:	(CDCl ₃ , 100.62 MHz), δ [ppm] = 165.05 (<u>CO</u>), 151.00 (<u>C</u> _q), 149.85 (<u>C</u> _q), 136.41 (<u>C</u> _q), 134.32 (<u>C</u> _q), 130.42 (<u>CH</u> _{Benzyl}), 128.38 (<u>C</u> _q), 128.29 (<u>CH</u> _{Benzyl}), 128.24 (<u>CH</u> _{Benzyl}), 126.05 (<u>CH</u> _{Benzyl}), 122.35 (NHC(<u>CH</u>) ₂), 119.114 COC(<u>CH</u>)(CH), 111.85 (COC(CH)(<u>CH</u>)), 111.31 (COC _q (<u>CH</u>)C _q), 69.56 (O <u>CH</u> ₂), 56.14 (O <u>CH</u> ₃), 48.12 (N(<u>CH</u> ₂) ₂), 25.39 N(CH ₂) ₂ (<u>CH</u> ₂) ₂), 18.92 (C _q <u>CH</u> ₃).

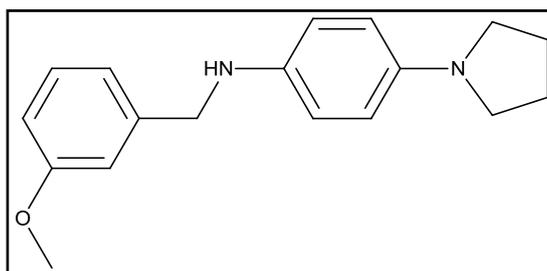
20B. FM357: *N*-(3-Methoxy-4-((2-methylbenzyl)oxy)benzyl)-4-(pyrrolidin-1-yl)anilin



- Methode: F1
- Ansatz: - 4-(Benzyloxy)-3-methoxy-*N*-(4-(pyrrolidin-1-yl)phenyl)benzamid
 (FM325): 104 mg, 250 μ mol (1.0 $\ddot{\text{A}}$ q.)
 - Boran-THF-Lösung: 1.75 ml, 1.75 mmol (7.0 $\ddot{\text{A}}$ q.)
- SC: Petrolether/Ethylacetat [20/1] \rightarrow [1/1]
- Ausbeute: 57.0 mg, 142 μ mol (57 %)
- Summenformel: C₂₆H₃₀N₂O₂
- Molare Masse: 402.53 g/mol
- R_f: 0.20 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])
- IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2955 (m), 2923 (s), 2854 (m), 1642 (w), 1598 (s), 1513 (s), 1484 (s), 1453 (s), 1175 (s), 1137 (s), 812 (s).
- ¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.41 (d, ³J = 7.3 Hz, 1 H, CH₃C_qCH), 7.21 (m, 3 H, CH₂C_q(CH)(CH)(CH)), 6.98 (s, 1 H, COC_q(CH)C_q), 6.86 (s, 2 H, COC(CH)(CH)), 6.70 – 6.30 (br s, 4 H, NC(CH₂)₂(CH₂)₂CN), 5.09 (s, 2 H, OCH₂), 4.12 (br s, 2 H, HNCH₂), 3.86 (s, 3 H, OCH₃), 3.40 – 3.00 (br s, 4 H, N(CH₂)₂), 2.38 (s, 3 H, C_qCH₃), 2.00 (m, 4 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂).

$^{13}\text{C-NMR}$: (CDCl_3 , 100.62 MHz), δ [ppm] = 165.25 (CO), 159.91 (C_q), 145.65 (C_q), 136.93 (C_q), 129.60 ($\text{OC}_q(\text{CH})(\text{CH})(\underline{\text{CH}})$), 126.52 (C_q), 122.39 ($\text{NHC}(\underline{\text{CH}})_2$), 118.66 ($\text{OC}_q(\text{CH})\underline{\text{CH}}$), 117.67 ($\text{OC}_q(\underline{\text{CH}})$), 112.36 ($\text{COC}_q(\underline{\text{CH}})\text{C}_q$), 111.73 ($(\text{CH}_2)_2\text{NC}(\text{CH})_2$), 56.46 (OCH_3), 47.81 ($\text{N}(\underline{\text{CH}}_2)_2$), 25.46 ($\text{N}(\text{CH}_2)_2(\underline{\text{CH}}_2)_2$).

21B. FM392: *N*-(3-Methoxybenzyl)-4-(pyrrolidin-1-yl)anilin



Methode: F1

Ansatz: - 3-Methoxy-*N*-(4-(pyrrolidin-1-yl)phenyl)benzamid (FM379):
170 mg, 574 μmol (1.0 Äq.)
- Boran-THF-Lösung: 3.50 ml, 3.50 mmol (6.1 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [20/1] \rightarrow [1/1]

Ausbeute: 104 mg, 368 μmol (64 %)

Summenformel: $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}$

Molare Masse: 282.38 g/mol

R_f : 0.20 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

Schmelzpunkt: 65.5 $^\circ\text{C}$

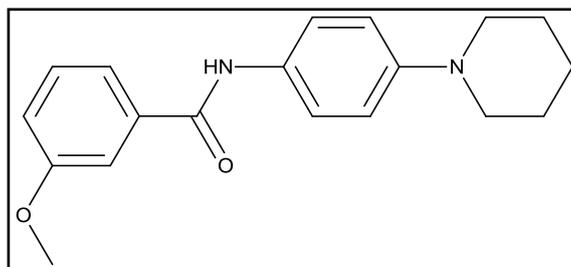
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3370 (s), 3168 (m), 3053 (m), 3026 (m), 3005 (m), 2958 (m), 2833 (m), 2818 (m), 1594 (s), 1572 (s), 1513 (s), 1465 (s).

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3 , 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.28 (t, $^3J = 7.9$ Hz, 1 H, $\text{OC}_q(\text{CH})(\underline{\text{CH}})$), 7.01 (m, 2 H, $\text{OC}_q(\text{CH})(\text{CH})(\underline{\text{CH}})$, $\text{COC}_q(\underline{\text{CH}})\text{C}_q$), 6.85

(d, $^3J = 8.8$ Hz, 1 H, $\text{OC}_q(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})$), 6.75 – 6.50 (br m, 4 H, $\text{NC}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})_2(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})_2\text{CN}$), 4.30 (br s, 2 H, $\text{N}\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2$), 3.83 (s, 3 H, $\text{O}\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3$), 3.28 (br s, 4 H, $\text{N}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2)_2$), 2.01 (m, 4 H, $\text{N}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2)_2(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2)_2$).

^{13}C -NMR: (CDCl_3 , 100.62 MHz), δ [ppm] = 159.91 ($\underline{\text{C}}_q$), 141.95 ($\underline{\text{C}}_q$), 139.23 ($\underline{\text{C}}_q$), 129.55 ($\text{OC}_q(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})$), 119.93 ($\text{OC}_q(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})$), 115.10 ($\text{NHC}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})_2$), 113.26 ($(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2)_2\text{NC}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})_2$), 113.10 ($\text{COC}_q(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})\underline{\text{C}}_q$), 112.63 ($\text{OC}_q(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})$), 55.23 ($\text{O}\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3$), 49.91 ($\text{N}\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2$), 48.42 ($\text{N}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2)_2$), 25.31 ($\text{N}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2)_2(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2)_2$).

21C. FM380: 3-Methoxy-N-(4-(piperidin-1-yl)phenyl)benzamid



Methode: A4 (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz: - 4-(Piperidin-1-yl)anilin (FM301):

968 mg, 5.49 mmol (1.0 Äq.)

- 3-Methoxybenzoesäure (FM376):

500 mg, 3.29 mmol (1.0 Äq.)

- PPA: 5.00 g, 15.7 mmol (4.8 Äq.)

- Triethylamin: 332 mg, 0.45 ml, 3.29 mmol (1.0 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [20/1] → [1/1]

Ausbeute: 423 mg, 1.36 mmol (41 %)

Summenformel: $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$

Molare Masse: 310.40 g/mol

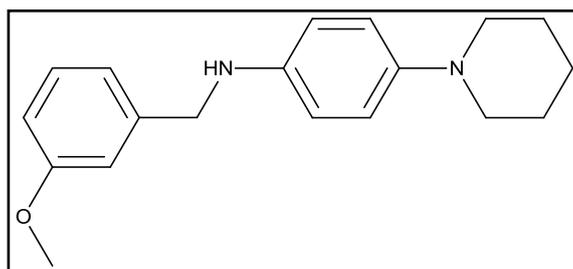
Experimentaltteil

R_f: 0.40 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])
Schmelzpunkt: 134.5 °C
IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3334 (w), 3067 (w), 2969 (w), 2932 (m), 2829 (w), 1642 (s), 1579 (s), 1515 (s), 1483 (s).

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.73 (br s, 1 H, NH), 7.49 (d, ³J = 8.9 Hz, 2 H, NHC(CH₂)₂), 7.43 (s, 1 H, COC_q(CH)C_q), 7.36 (m, 2 H, OC_q(CH)(CH)(CH)), 7.06 (m, 1 H, OC_q(CH)(CH)), 6.93 (d, ³J = 9.0 Hz, 2 H, (CH₂)₂NC(CH₂)₂), 3.86 (s, 3 H, OCH₃), 3.12 (t, ³J = 5.4 Hz, 4 H, N(CH₂)₂), 1.72 (m, 4 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂), 1.58 (m, 2 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂CH₂).

¹³C-NMR: (CDCl₃, 100.62 MHz), δ [ppm] = 165.29 (CO), 159.96 (C_q), 149.54 (C_q), 136.74 (C_q), 129.82 (C_q), 129.68 (OC_q(CH)), 121.54 (NHC(CH₂)₂), 118.62 (OC_q(CH)(CH)(CH)), 117.80 (OC_q(CH)(CH)), 117.06 ((CH₂)₂NC(CH₂)₂), 112.41 (COC_q(CH)C_q), 55.47 (OCH₃), 51.03 (N(CH₂)₂), 28.83 (N(CH₂)₂(CH₂)₂), 24.25 (N(CH₂)₂(CH₂)₂CH₂).

21D. FM393: *N*-(3-Methoxybenzyl)-4-(piperidin-1-yl)anilin



Methode: F1
Ansatz: - 3-Methoxy-*N*-(4-(piperidin-1-yl)phenyl)benzamid (FM380):
140 mg, 451 μ mol (1.0 \ddot{A} q.)
- Boran-THF-Lösung: 3.00 ml, 3.00 mmol (6.7 \ddot{A} q.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [20/1] \rightarrow [1/1]

Ausbeute: 69.0 mg, 233 μ mol (52 %)

Experimentaltteil

Summenformel: C₁₉H₂₄N₂O

Molare Masse: 296.41 g/mol

R_f: 0.20 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

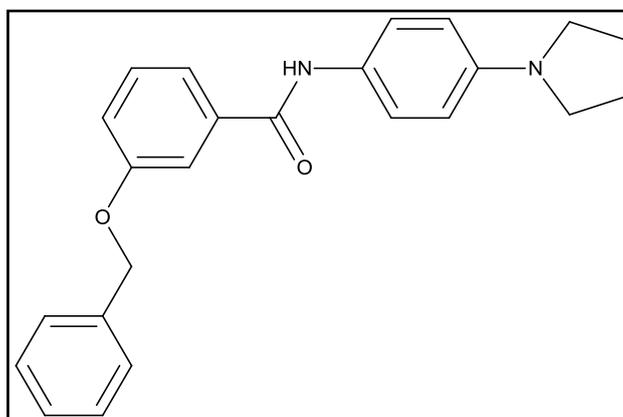
Schmelzpunkt: 70.0 °C

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3364 (s), 2927 (s), 2852 (m), 2831 (m), 2800 (m), 1596 (s), 1511 (s), 1489 (s), 1460 (s), 1450 (s).

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.26 (t, ³J = 7.9 Hz, 1 H, OC_q(CH)(CH)), 6.97 (m, 2 H, OC_q(CH)(CH)(CH), COC_q(CH)C_q), 6.87 (d, ³J = 8.8 Hz, 2 H, NHC(CH₂)₂), 6.82 (dd, ³J = 8.4 Hz, ⁴J = 2.3 Hz, 1 H, OC_q(CH)), 6.61 (d, ³J = 8.9 Hz, 2 H, (CH₂)₂NC(CH₂)₂), 4.27 (s, 2 H, HNCH₂), 3.81 (s, 3 H, OCH₃), 2.99 (t, ³J = 5.3 Hz, 4 H, N(CH₂)₂), 1.73 (m, 4 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂), 1.55 (m, 2 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂CH₂).

¹³C-NMR: (CDCl₃, 100.62 MHz), δ [ppm] = 159.89 (C_q), 145.10 (C_q), 142.40 (C_q), 141.58 (C_q), 129.57 (OC_q(CH)(CH)), 119.85 (OC_q(CH)(CH)(CH)), 119.31 (NHC(CH₂)₂), 113.87 ((CH₂)₂NC(CH₂)₂), 113.07 (COC_q(CH)C_q), 112.64 (OC_q(CH)), 55.22 (OCH₃), 52.72 (N(CH₂)₂), 49.15 (NCH₂), 26.24 (N(CH₂)₂(CH₂)₂), 24.23 (N(CH₂)₂(CH₂)₂CH₂).

22A. FM381: 3-(Benzyloxy)-N-(4-(pyrrolidin-1-yl)phenyl)benzamid

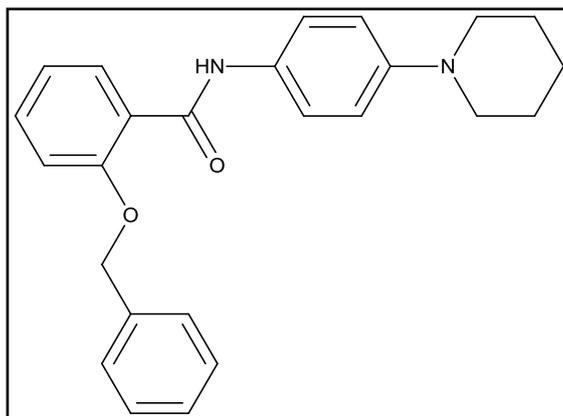


Experimentaltteil

Methode:	A4 (Geänderte Ansatzgrößen)
Ansatz:	- 4-(Pyrrolidin-1-yl)anilin (FM265): 1.50 g, 9.87 mmol (2.3 Äq.) - 3-(Benzyloxy)benzoesäure (FM377): 1.00 g, 4.38 mmol (1.0 Äq.) - PPA: 5.00 g, 15.7 mmol (3.6 Äq.) - Triethylamin: 738 mg, 1.00 ml, 7.31 mmol (1.7 Äq.)
SC:	Petrolether/Ethylacetat [20/1] → [1/1]
Ausbeute:	467 mg, 1.25 mmol (29 %)
Summenformel:	C ₂₄ H ₂₄ N ₂ O ₂
Molare Masse:	372.46 g/mol
R _f :	0.40 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])
Schmelzpunkt:	206.8 °C
IR:	$\tilde{\nu}$ [cm ⁻¹] = 3281 (s), 3030 (w), 2965 (m), 2935 (m), 2874 (m), 2834 (w), 1638 (s), 1585 (s), 1523 (s), 1509 (s).
¹ H-NMR:	(CDCl ₃ , 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.62 (br s, 1 H, <u>NH</u>), 7.53 (s, 1 H, COC _q (<u>CH</u>)C _q), 7.46 – 7.34 (m, 9 H, <u>H_{Ar}</u>), 7.13 (d, ³ J = 7.8 Hz, 1 H, OC _q (<u>CH</u>)(CH)), 6.56 (d, ³ J = 8.8 Hz, 2 H, (CH ₂) ₂ NC(<u>CH</u>) ₂), 5.13 (s, 2 H, O <u>CH</u> ₂), 3.29 (m, 4 H, N(<u>CH</u> ₂) ₂), 2.01 (m, 4 H, N(CH ₂) ₂ (<u>CH</u> ₂) ₂).
¹³ C-NMR:	(CDCl ₃ , 100.62 MHz), δ [ppm] = 165.10 (<u>CO</u>), 159.09 (<u>C_q</u>), 145.67 (<u>C_q</u>), 136.96 (<u>C_q</u>), 136.60 (<u>C_q</u>), 129.71 (<u>C_{Ar}H</u>), 128.65 (<u>C_{Ar}H</u>), 128.12 (<u>C_{Ar}H</u>), 127.58 (<u>C_{Ar}H</u>), 126.46 (<u>C_q</u>), 122.30 (<u>C_{Ar}H</u>), 118.96 (<u>C_{Ar}H</u>), 118.39 (OC _q (<u>CH</u>)(CH)), 111.75 (COC _q (<u>CH</u>)C _q), 110.05 ((CH ₂) ₂ NC(<u>CH</u>) ₂), 70.02 (O <u>CH</u> ₂), 47.82 (N(<u>CH</u> ₂) ₂), 25.46 (N(CH ₂) ₂ (<u>CH</u> ₂) ₂).

¹³C-NMR: (CDCl₃, 100.62 MHz), δ [ppm] = 159.11 (C_q), 141.93 (C_q), 137.09 (C_q), 129.56 (OC_q(CH)(CH)), 128.58 (C_{Bnz}H), 127.93 (C_{Bnz}H), 127.55 (C_{Bnz}H), 120.17 (OC_q(CH)(CH)(CH)), 115.08 (NHC(CH)₂), 114.01 (COC_q(CH)C_q), 113.50 (OC_q(CH)(CH)), 113.22 ((CH₂)₂NC(CH)₂), 69.97 (OCH₂), 49.83 (NCH₂), 48.25 (N(CH₂)₂), 25.28 (N(CH₂)₂(CH₂)₂).

22C. FM382: 2-(Benzyloxy)-N-(4-(piperidin-1-yl)phenyl)benzamid



Methode: A4 (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz:

- 4-(Piperidin-1-yl)anilin (FM301):
968 mg, 5.49 mmol (1.3 Äq.)
- 3-(Benzyloxy)benzoesäure (FM377):
1.00 g, 4.38 mmol (1.0 Äq.)
- PPA:
5.00 g, 15.7 mmol (3.6 Äq.)
- Triethylamin:
738 mg, 0.45 ml, 7.31 mmol (1.7 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [20/1] → [1/1]

Ausbeute: 456 mg, 1.18 mmol (27 %)

Summenformel: C₂₅H₂₆N₂O₂

Molare Masse: 386.49 g/mol

R_f: 0.40 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

Schmelzpunkt: 163.2 °C

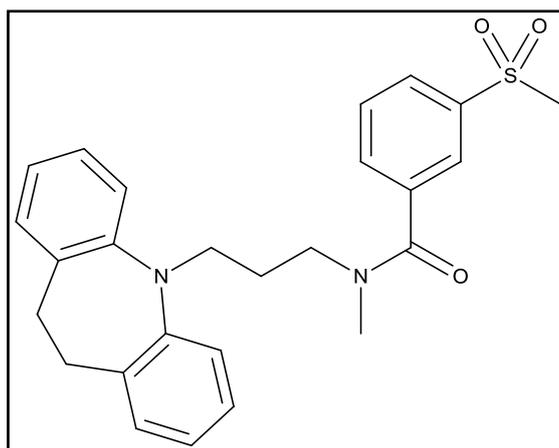
Experimentaltteil

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3362 (w), 3020 (w), 2914 (w), 1645 (s), 1577 (s), 1523 (s), 1483 (s), 745 (s), 693 (s), 681 (s).

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.03 (br s, 1 H, NH), 7.50 (m, 3 H, NHC(CH)₂, COC_q(CH)C_q), 7.43 – 7.25 (m, 7 H, 5 CH_{Bnz}, OC_q(CH)(CH)(CH)), 7.10 (dd, ³J = 8.1 Hz, ⁴J = 1.8 Hz, 1 H, OC_q(CH)(CH)), 6.90 (d, ³J = 8.9 Hz, 2 H, (CH₂)₂NC(CH)₂), 5.04 (s, 2 H, OCH₂), 3.12 (t, ³J = 5.3 Hz, 4 H, N(CH₂)₂), 1.71 (m, 4 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂), 1.58 (m, 2 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂CH₂).

¹³C-NMR: (CDCl₃, 100.62 MHz), δ [ppm] = 165.45 (CO), 159.04 (C_q), 149.50 (C_q), 136.72 (C_q), 136.60 (C_q), 129.93 (C_q), 129.69 (OC_q(CH)(CH)), 128.64 (C_{Bnz}H), 128.11 (C_{Bnz}H), 127.59 (C_{Bnz}H), 121.72 (NHC(CH)₂), 119.18 (OC_q(CH)(CH)(CH)), 118.57 (OC_q(CH)(CH)), 116.99 ((CH₂)₂NC(CH)₂), 113.38 (COC_q(CH)C_q), 70.14 (OCH₂), 51.01 (N(CH₂)₂), 25.86 (N(CH₂)₂(CH₂)₂), 24.28 (N(CH₂)₂(CH₂)₂CH₂).

23C. FM402: *N*-(3-(10,11-Dihydro-5*H*-dibenzoazepin-5-yl)propyl)-*N*-methyl-3-(methylsulfonyl)benzamid



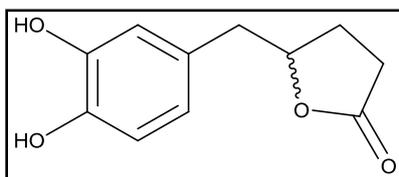
Methode: A5

Experimentaltteil

Ansatz:	- 3-(10,11-Dihydro-5H-dibenzoazepin-5-yl)-N-methylpropan-1-Aminhydrochlorid (Desipramin): 300 mg, 995 μmol (1.0 Äq.) - 3-(Methylsulfonyl)benzoesäure: 199 mg, 995 μmol (1.0 Äq.) - HBTU: 413 mg, 1.09 mmol (1.1 Äq.) - Triethylamin: 221 mg, 0.30 ml, 2.18 mmol (2.2 Äq.)
SC:	Petrolether/Ethylacetat [20/1] \rightarrow [1/1]
Ausbeute:	250 mg, 557 μmol (56 %)
Summenformel:	$\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$
Molare Masse:	448.58 g/mol
R _f :	0.25 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])
Schmelzpunkt:	76.8 °C
IR:	$\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3017 (w), 2919 (w), 1628 (s), 1597 (w), 1572 (w), 1485 (s), 1314 (s), 1142 (s), 741 (s).
¹ H-NMR:	(CDCl_3 , 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.91 (m, 2 H, $\text{SC}_q(\underline{\text{CH}})(\underline{\text{CH}})(\text{CH})$), 7.61 (m, 1 H, $\text{SC}_q(\text{CH})(\text{CH})(\underline{\text{CH}})$), 7.37 (s, 1 H, $\text{SC}_q(\underline{\text{CH}})\text{C}_q$), 7.20 – 6.90 (m, 8 H, $\underline{\text{CH}}_{\text{Desipramin}}$), 3.84 (m, 1 H, $\text{CONC}(\underline{\text{HH}})$), 3.60 (m, 2 H, $\text{CONC}(\underline{\text{HH}})$, $(\text{C}_q)_2\text{NC}(\underline{\text{HH}})$), 3.26 (t, $^3\text{J} = 7.1$ Hz, 1 H, $(\text{C}_q)_2\text{NC}(\underline{\text{HH}})$), 3.15 (s, 2 H, $(\text{C}_q(\underline{\text{CHH}}))_2$), 3.03 (s, 3 H, SCH_3), 2.98 (s, 2 H, NCH_3), 2.88 (s, 2 H, $(\text{C}_q(\underline{\text{CHH}}))_2$), 2.77 (s, 1 H, NCH_3), 1.95 (m, 1 H, $\text{NCH}_2(\underline{\text{CHH}})$), 1.80 (m, 1 H, $\text{NCH}_2(\underline{\text{CHH}})$).
¹³ C-NMR:	(CDCl_3 , 100.62 MHz), δ [ppm] = 169.75 ($\underline{\text{CO}}$), 147.52 ($\underline{\text{C}}_q$), 140.87 ($\underline{\text{C}}_q$), 137.88 ($\underline{\text{C}}_q$), 134.10 ($\underline{\text{C}}_q$), 132.07 ($\text{SC}_q(\text{CH})(\text{CH})(\underline{\text{CH}})$), 131.57 ($\text{SC}_q(\underline{\text{CH}})\text{C}_q$), 130.05 ($\underline{\text{CH}}_{\text{Desipr.}}$), 127.95 ($\text{SC}_q(\underline{\text{CH}})(\text{CH})(\text{CH})$), 126.46 ($\underline{\text{CH}}_{\text{Desipr.}}$), 152.42 ($\text{SC}_q(\text{CH})(\underline{\text{CH}})(\text{CH})$), 122.87 ($\underline{\text{CH}}_{\text{Desipr.}}$), 119.89 ($\underline{\text{CH}}_{\text{Desipr.}}$), 119.43 ($\underline{\text{CH}}_{\text{Desipr.}}$), 49.62 ($(\text{C}_q)_2\text{NCH}_2$), 47.98 CONCH_2), 44.48 (SCH_3), 33.00 (NCH_3), 32.19 ($(\text{CH}_2)_{\text{Desipr.}}$), 31.91 ($(\text{CH}_2)_{\text{Desipr.}}$), 26.18 ($\text{NCH}_2\underline{\text{CH}}_2$).

(s, 2 H, OCH_2), 5.35 (s, 2 H, OCH_2), 3.36 (m, 4 H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2$), 2.07 (m, 4 H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_2$).

28 FM401: 5-(3,4-Dihydroxybenzyl)dihydrofuran-2(3H)-on

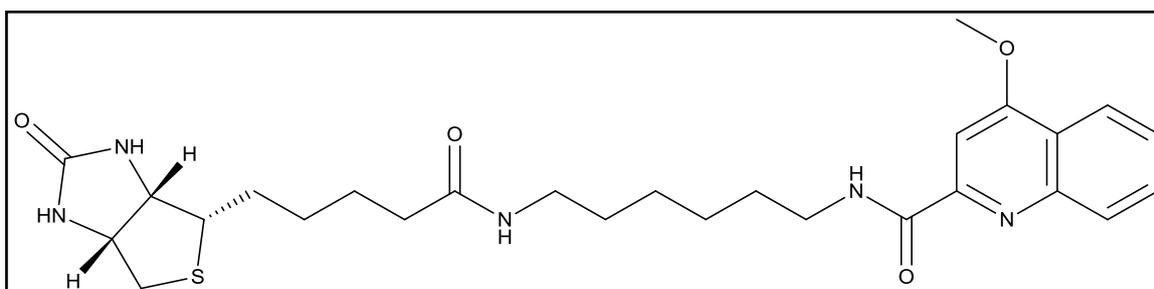


- Methode: H2 (Geänderte Ansatzgrößen);
 Zusätzlicher Aufreinigungsschritt: Nach säulenchromatographischer Aufreinigung wird das Rohprodukt in einem Dichlormethan/Chloroform-[1:1]-Gemisch aufgenommen und bei Raumtemperatur mit geöffnetem Deckel stengelassen. Das kontinuierlich ausfallende Produkt wird stets abfiltriert und im Vakuum getrocknet.
- Ansatz: - 5-(3,4-Dimethoxybenzyl)dihydrofuran-2(3H)-on (FM395):
 2.35 g, 9.93 mmol (1.0 Äq.)
 - Bortribromid: 7.46 g, 2.83 ml, 29.8 mmol (3.0 Äq.)
- SC: Petrolether/Ethylacetat [9/1] → [1/1]
- Ausbeute: 530 mg, 2.55 mmol (26 %)
- Summenformel: $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_4$
- Molare Masse: 208.21 g/mol
- R_f : 0.30 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])
- Schmelzpunkt: 135.9 °C
- IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3271 (s), 2932 (m), 1703 (s), 1619 (m), 1594 (m), 1518 (s), 1457 (s).

¹H-NMR: (MeOD-d₄, 400.13 MHz), δ [ppm] = 6.70 – 6.67 (m, 2 H, HOC_q(CH)(CH)C_q, HO(CH)C_q), 6.55 (dd, ³J = 8.0 Hz, ⁴J = 1.9 Hz, 1 H, HOC_q(CH)(CH)C_q), 4.71 (qui, ³J = 6.2 Hz, 1 H, OCH), 2.86 (dd, ²J = 14.0 Hz, ³J = 6.1 Hz, 1 H, Ph(CHH)), 2.83 (dd, ²J = 14.1 Hz, ³J = 6.1 Hz, 1 H, Ph(CHH)), 2.52 – 2.43 (m, 1 H, CO(CHH)), 2.36 – 2.18 (m, 2 H, CO(CHH), CO(CHH)(CHH)), 1.99 – 1.89 (m, 1 H, CO(CHH)(CHH)).

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[72]

30 FM272: *N*-Biotin-*N'*-(4-methoxy-2-quinolincarbonsäure)-1,6-hexandiamin



Methode: A4 (Geänderte Ansatzgrößen)

Variation im Aufreinigungsschritt: Das Produkt fällt beim Einengen der organischen Extraktionsphasen aus Ethylacetat aus und wird im Vakuum getrocknet.

Ansatz:

- 4-Methoxy-2-quinolincarbonsäure: 593 mg, 2.92 mmol (1.0 Äq.)
- *N*-Biotin-1,6-hexandiamin (FM296): 1.00 g, 2.92 mmol (1.0 Äq.)
- PPA: 2.79 g, 8.76 mmol (3.0 Äq.)
- Triethylamin: 0.41 ml, 8.76 mmol (3.0 Äq.)

SC: Wurde nicht durch Säulenchromatographie aufgereinigt

Ausbeute: 895 mg, 2.72 mmol (93 %)

Summenformel: C₂₇H₃₇N₅O₄S

Experimentaltteil

Molare Masse: 527.68 g/mol

R_f: 0.35 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

Schmelzpunkt: 130.7 °C

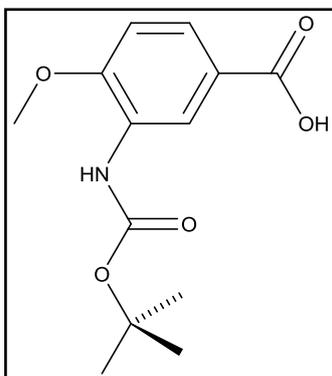
ESI-MS: Berechnet für C₂₇H₃₇N₅O₄S: 527.68 g/mol; Gefunden: 526.6 g/mol (89 % Reinheit)

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3427 (m), 3276 (s), 3089 (s), 2927 (s), 2855 (s), 1700 (s), 1634 (s), 1589 (s), 1542 (s), 1505 (s).

¹H-NMR: (DMSO-d₆, 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.87 (t, ³J = 6.0 Hz, 1 H, NH), 8.20 (dd, ³J = 8.4 Hz, ⁴J = 0.9 Hz, 1 H, CH_{Ar}), 8.07 (d, ³J = 8.1 Hz, 1 H, CH_{Ar}), 7.85 (m, 1 H, CH_{Ar}), 7.72 (t, ³J = 5.6 Hz, 1 H, NH), 7.66 (m, 1 H, CH_{Ar}), 7.62 (s, 1 H, CH_{Ar}), 6.40 (s, 1 H, NH), 6.34 (s, 1 H, NH), 4.29 (m, 1 H, HNCH), 4.20 – 4.10 (m, 4 H, HNCH, OCH₃), 3.17 (m, 1 H, S(CHH)), 3.09 (m, 1 H, S(CH)), 3.02 (m, 2 H, NCH₂), 2.81 (m, 1 H, S(CHH)), 2.58 (m, 2 H, NCH₂), 2.05 (t, ³J = 7.4 Hz, 2 H, COCH₂), 1.60 – 1.25 (m, 14 H, H_{Aliph.}).

9.5 Vorstufen

1.1 FM101: 3-(tert-Butoxycarbonylamino)-4-methoxybenzoesäure



Methode: D2

Ansatz: - Di-*tert*-butyldicarbonat: 1.96 g, 8.97 mmol (1.5 Äq.)
 - 3-Amino-4-methoxybenzoesäure: 1.00 g, 5.98 mmol (1.0 Äq.)

SC: Dichlormethan/Methanol [99/1] → [10/1]

Ausbeute: 1.53 g, 5.72 mmol (96 %)

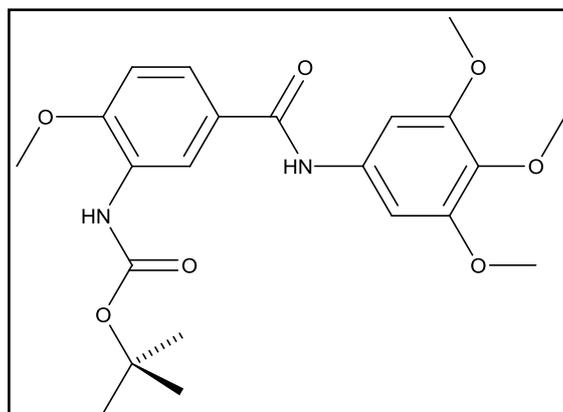
Summenformel: C₁₃H₁₇NO₅

Molare Masse: 267.28 g/mol

R_f: 0.43 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.79 (br s, 1 H, NH), 7.79 (dd, ³J = 8.5 Hz, ⁴J = 2.1 Hz, 1 H, COC(CH)CH), 7.07 (s, 1 H, NC(CH)CCO), 6.89 (d, ³J = 8.7 Hz, 1 H, COC(CH)CH), 3.94 (s, 3 H, OCH₃), 1.55 (s, 9 H, C(CH₃)₃).

1.2 FM104: *tert*-Butyl-(2-methoxy-5-((3,4,5-trimethoxyphenyl)carbamoyl)phenyl)-carbamate



Methode: A3

Ansatz:

- 3,4,5-Trimethoxyanilin: 1.13 g, 6.17 mmol (1.1 Äq.)
- Triethylamin: 456 mg, 0.63 ml, 4.51 mmol (0.8 Äq.)
- DCC: 1.26 g, 6.17 mmol (1.1 Äq.)
- HOBT: 834 mg, 6.17 mmol (1.1 Äq.)
- 3-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-4-methoxybenzoesäure (FM101): 1.50 g, 5.61 mmol (1.0 Äq.)

SC: Dichlormethan/Methanol [99/1]

Ausbeute: 2.13 g, 4.96 mmol (88 %)

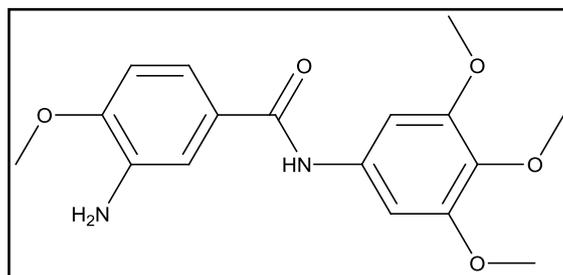
Summenformel: C₂₂H₂₅N₂O₇

Molare Masse: 429.45 g/mol

R_f: 0.23 (Dichlormethan/Methanol [99/1])

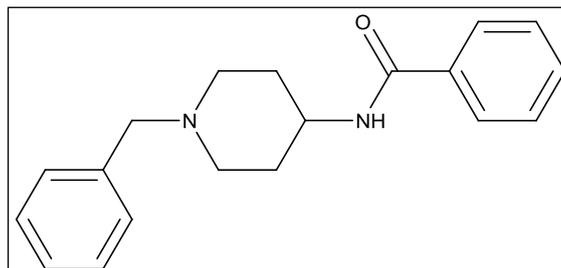
¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.56 (d, ⁴J = 1.8 Hz, 1 H, NC(CH)CCO), 7.87 (br s, 1 H, NH), 7.68 (dd, ³J = 8.6 Hz, ⁴J = 1.8 Hz, 1 H, COC(CH)CH), 7.15 (br s, 1 H, NH), 6.97 (s, 2 H, NC(CH)₂), 6.94 (d, ³J = 8.6 Hz, 1 H, COC(CH)CH), 3.94 (s, 3 H, OCH₃), 3.87 (s, 6 H, (OCH₃)₂), 3.83 (s, 3 H, OCH₃), 1.54 (s, 9 H, C(CH₃)₃).

1.3 FM106: 3-Amino-4-methoxy-*N*-(3,4,5-trimethoxyphenyl)benzamid



- Methode: E4
- Ansatz: - *tert*-Butyl-(2-methoxy-5-((3,4,5-trimethoxyphenyl)carbamoyl)phenyl)-
 carbamat (FM104): 100 mg, 230 μ mol (1.0 Äq.)
 - Trifluoressigsäure: 262 mg, 0.18 ml, 2.30 mmol (10.0 Äq.)
- SC: Dichlormethan/Methanol [99/1] \rightarrow [10/1]
- Ausbeute: 70.1 mg, 211 μ mol (91 %)
- Summenformel: C₁₇H₂₀N₂O₅
- Molare Masse: 332.35 g/mol
- R_f: 0.12 (Dichlormethan/Methanol [99/1])
- ¹H-NMR:** (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.20 (br s, 1 H, NH), 7.29 – 7.25 (m, 2 H, NC(CH)CCO, COC(CH)CH), 6.98 (s, 2 H, NC(CH)₂), 6.75 (d, ³J = 8.9 Hz, 1 H, COC(CH)CH), 3.87 (s, 3 H, OCH₃), 3.81 (s, 3 H, OCH₃), 3.78 (s, 6 H, (OCH₃)₂).

2.1 FM119: *N*-(1-Benzylpiperidin-4-yl)benzamid



Methode: A1 (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz:

- 1-Benzylpiperidin-4-amin: 1.56 g, 1.67 ml, 8.19 mmol (1.0 Äq.)
- Benzoessäure: 1.00 g, 8.19 mmol (1.0 Äq.)
- Phosphorylchlorid: 3.77 g, 2.24 ml, 24.6 mmol (3.0 Äq.)
- Triethylamin: 2.49 g, 3.46 ml, 24.6 mmol (3.0 Äq.)

SC: Dichlormethan/Petrolether [1/4] → Dichlormethan/Methanol [99/1]

Ausbeute: 1.77 g, 6.01 mmol (73 %)

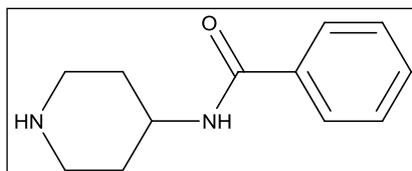
Summenformel: C₁₉H₂₂N₂O

Molare Masse: 294.40 g/mol

R_f: 0.43 (Dichlormethan)

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.75 (d, ³J = 7.0 Hz, 2 H, COC(CH)₂), 7.50 – 7.29 (m, 8 H, CH_{Ar}), 6.20 (d, ³J = 6.3 Hz, 1 H, NH), 4.07 (m, 1 H, CONHCH), 3.68 (s, 2 H, NCH₂), 3.02 (d, ³J = 11.9 Hz, 2 H, N(CHH)₂), 2.32 (td, ³J = 11.7 Hz, ³J = 2.1 Hz, 2 H, N(CHH)₂), 2.05 (d, ³J = 10.0 Hz, 2 H, N(CHH)₂(CHH)₂), 1.77 (q, ³J = 11.4 Hz, 2 H, N(CHH)₂(CHH)₂).

2.2 FM133: *N*-(Piperidin-4-yl)benzamid



Methode: E2

Ansatz: - *N*-(1-Benzylpiperidin-4-yl)benzamid (FM119):
 374 mg, 1.27 mmol (1.0 Äq.)
 - Palladium/Kohle: 80 mg,

SC: Rohprodukt wurde ohne Reinigung umgesetzt

Ausbeute: Rohprodukt: 175 mg, 857 μ mol (67 %)

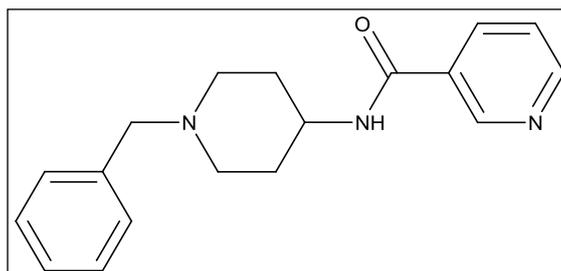
Summenformel: $C_{12}H_{16}N_2O$

Molare Masse: 204.27 g/mol

R_f : 0.23 (Dichlormethan/Methanol [99/1])

$^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.86 (d, $^3J = 7.3$ Hz, 2 H, COC(CH) $_2$), 7.50 – 7.42 (m, 3 H, CH_{Ar}), 3.91 (m, 1 H, CONHCH), 3.12 (d, $^3J = 10.7$ Hz, 2 H, N(CHH) $_2$), 2.70 (t, $^3J = 11.4$ Hz, 2 H, N(CHH) $_2$), 1.83 (d, $^3J = 12.0$ Hz, 2 H, N(CHH) $_2$ (CHH) $_2$), 1.60 (d, $^3J = 10.9$ Hz, 2 H, N(CHH) $_2$ (CHH) $_2$).

3.1 FM120: *N*-(1-Benzylpiperidin-4-yl)nicotinamid



Experimentaleil

Methode: A1 (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz:

- 1-Benzylpiperidin-4-amin: 1.56 g, 1.67 ml, 8.19 mmol (1.0 Äq.)
- Nicotinsäure: 1.00 g, 8.19 mmol (1.0 Äq.)
- Phosphorylchlorid: 3.77 g, 2.24 ml, 24.6 mmol (3.0 Äq.)
- Triethylamin: 2.49 g, 3.46 ml, 24.6 mmol (3.0 Äq.)

SC: Dichlormethan/Methanol [1/0] → Dichlormethan/Methanol [10/1]

Ausbeute: 1.72 g, 4.09 mmol (50 %)

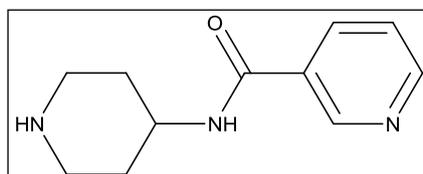
Summenformel: C₁₈H₂₁N₃O

Molare Masse: 295.38 g/mol

R_f: 0.52 (Dichlormethan/Methanol [5/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.93 (dd, ⁴J = 2.3 Hz, ⁵J = 0.7 Hz, 1 H, COC(CH)N), 8.66 (dd, ³J = 4.8 Hz, ⁴J = 1.7 Hz, 1 H, N(CH)(CH)), 8.07 (dt, ³J = 7.9 Hz, ⁴J = 2.2 Hz, 1 H, COC(CH)(CH)), 7.35 – 7.23 (m, 6 H, N(CH)(CH), 5 H_{Phenyl}), 6.45 (d, ³J = 7.4 Hz, 1 H, NHCO), 4.01 (m, 1 H, CONHCH), 3.51 (s, 2 H, NCH₂) 2.86 (d, ³J = 12.1 Hz, 2 H, N(CHH)₂), 2.16 (td, ³J = 11.8 Hz, ⁴J = 2.2 Hz, 2 H, N(CHH)₂), 2.00 (d, ³J = 10.9 Hz, 2 H, N(CHH)₂(CHH)₂), 1.68 (qd, ³J = 11.4 Hz, ⁴J = 3.8 Hz, 2 H, N(CHH)₂(CHH)₂).

3.2 FM154: N-(Piperidin-4-yl)nicotinamid



Methode: E3

Experimentaltteil

Ansatz: - *N*-(1-Benzylpiperidin-4-yl)nicotinamid (FM120):
500 mg, 1.70 mmol (1.0 Äq.)
- Cyclohexen: 2.0 ml (Überschuss)
- Palladiumhydroxid/Kohle: 50.0 mg, (10 Gew.-%)

SC: Rohprodukt wurde ohne Reinigung umgesetzt

Ausbeute: Rohprodukt: 339 mg, 1.65 mmol (99 %)

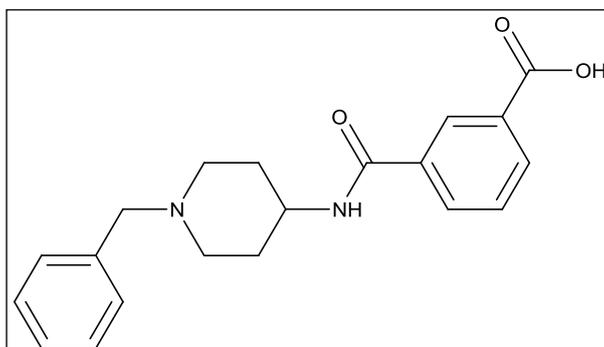
Summenformel: C₁₁H₁₅N₃O

Molare Masse: 205.26 g/mol

R_f: 0.13 (Dichlormethan/Methanol [10/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.94 (dd, ⁴J = 2.3 Hz, ⁵J = 0.7 Hz, 1 H, COC(CH)N), 8.69 (dd, ³J = 4.9 Hz, ⁴J = 1.7 Hz, 1 H, N(CH)(CH)), 8.08 (dt, ³J = 7.9 Hz, ⁴J = 2.2 Hz, 1 H, COC(CH)(CH)), 7.36 (ddd, ³J = 8.0 Hz, ³J = 4.9 Hz, ⁵J = 0.9 Hz, N(CH)(CH)), 6.18 (d, ³J = 76.7 Hz, 1 H, NHCO), 4.09 (m, 1 H, CONHCH), 3.11 (dt, ³J = 12.6 Hz, ³J = 3.2 Hz, 2 H, N(CHH)₂), 2.74 (td, ³J = 12.4 Hz, ⁴J = 2.6 Hz, 2 H, N(CHH)₂), 2.04 (d, ³J = 12.1 Hz, 2 H, N(CHH)₂(CHH)₂), 1.77 (br s, 1 H, NH), 1.43 (qd, ³J = 11.5 Hz, ⁴J = 4.1 Hz, 2 H, N(CHH)₂(CHH)₂).

4.1 FM129: 3-(1-Benzylpiperidin-4-ylcarbamoyl)benzoesäure



Methode: G1E

Experimentaltteil

Ausbeute: 434 mg, 1.23 mmol (69 %)

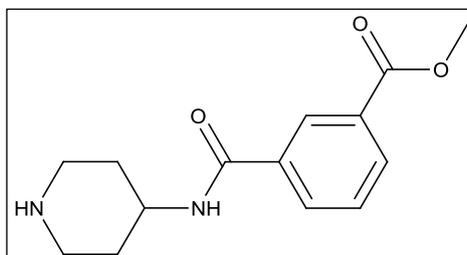
Summenformel: C₂₁H₂₄N₂O₃

Molare Masse: 352.44 g/mol

R_f: 0.50 (Dichlormethan)

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.28 (t, ⁴J = 1.6 Hz, 1 H, COC(CH)CCO), 8.06 (td, ³J = 7.8 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, 1 H, OCOC(CH)CH), 7.95 (td, ³J = 7.8 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, 1 H, NCOC(CH)CH), 7.42 (t, ³J = 7.8 Hz, 1 H, OCOC(CH)CH), 7.30 – 7.15 (m, 5 H, H_{Phenyl}), 6.32 (d, ³J = 7.7 Hz, 1 H, NHCO), 4.00 – 3.83 (m, 4 H, CONHCH, OCH₃), 3.47 (s, 2 H, NCH₂), 2.82 (d, ³J = 12.1 Hz, 2 H, N(CHH)₂), 2.11 (t, ³J = 11.5 Hz, 2 H, N(CHH)₂), 1.95 (d, ³J = 12.1 Hz, 2 H, N(CHH)₂(CHH)₂), 1.57 (qd, ³J = 11.6, ³J = 3.8 Hz, 2 H, N(CHH)₂(CHH)₂).

4.3 FM146: Methyl-3-(piperidin-4-ylcarbamoyl)benzoat



Methode: E2

Ansatz: - Methyl-3-(1-benzylpiperidin-4-ylcarbamoyl)benzoat (FM134):

100 mg, 284 μmol

- Palladium/Kohle: 30 mg,

SC: Rohprodukt wurde ohne Reinigung umgesetzt

Ausbeute: Rohprodukt: 50 mg, 191 μmol (67 %)

Experimentalteil

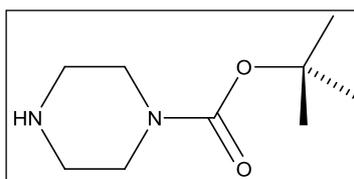
Summenformel: $C_{14}H_{18}N_2O_3$

Molare Masse: 262.31 g/mol

R_f: 0.20 (Dichlormethan/Methanol [10/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.28 (s, 1 H, COC(CH)CCO), 8.05 (m, 1 H, OCOC(CH)CH), 7.98 (t, ³J = 8.2 Hz, 1 H, NCOC(CH)CH), 7.42 (m, 1 H, OCOC(CH)CH), 7.04 (d, ³J = 7.4 Hz, 1 H, NHCO), 4.10 (m, 1 H, CONHCH), 3.84 (s, 3 H, OCH₃), 3.20 (d, ³J = 12.6 Hz, 2 H, N(CHH)₂), 2.78 (t, ³J = 12.0 Hz, 2 H, N(CHH)₂), 2.03 (m, 2 H, N(CHH)₂(CHH)₂), 1.63 (m, 2 H, N(CHH)₂(CHH)₂).

5.1 FM155: *tert*-Butylpiperazin-1-carboxylat



Methode: D1

Ansatz: - Piperazin: 10.0 g, 116 mmol (5.0 Äq.)
- Di-*tert*-butyldicarbonat: 5.07 g, 23.2 mmol (1.0 Äq.)

SC: Rohprodukt wurde ohne Reinigung umgesetzt

Ausbeute: Rohprodukt: 4.32 g, 23.2 mmol (100 %)

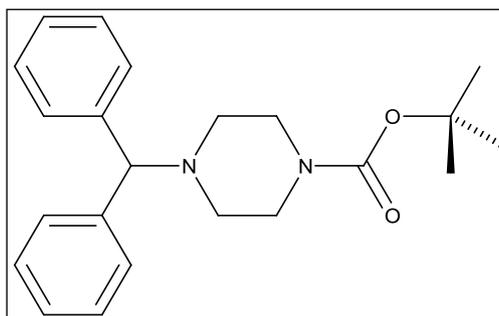
Summenformel: $C_9H_{18}N_2O_2$

Molare Masse: 186.25 g/mol

R_f: 0.14 (Dichlormethan/Methanol [10/1])

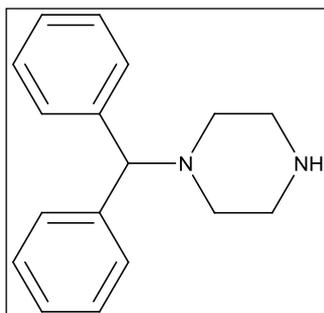
¹H-NMR: Wurde nicht bestimmt

5.2 FM160: *tert*-Butyl-4-benzhydrylpiperazin-1-carboxylat



- Methode: G1A (Geänderte Ansatzgrößen)
- Ansatz:
- *tert*-Butylpiperazin-1-carboxylat (Roh) (FM155):
4.32 g, 23.2 mmol (1.0 Äq.)
 - Bromodiphenylmethan: 6.18 g, 25.0 mmol (1.1 Äq.)
 - Kaliumcarbonat: 7.00 g, 50.0 mmol (2.2 Äq.)
- SC: Rohprodukt wurde ohne Reinigung umgesetzt
- Ausbeute: Rohprodukt: 8.18 g, 23.2 mmol (100 %)
- Summenformel: $C_{22}H_{28}N_2O_2$
- Molare Masse: 352.47 g/mol
- R_f: 0.32 (Dichlormethan/Methanol [99/1])
- ¹H-NMR: Wurde nicht bestimmt

5.3 FM163: 1-Benzhydrylpiperazin



- Methode: E4
-

Experimentalteil

Ansatz: - *tert*-Butyl-4-benzhydrylpiperazin-1-carboxylat (Roh) (FM160):
8.18 g, 23.2 mmol (1.0 Äq.)
- Trifluoressigsäure: 26.2 g, 230 mmol (10.0 Äq.)

SC: Dichlormethan/Methanol [99/1] → [10/1]

Ausbeute: 4.50 g, 17.8 mmol (77 %)

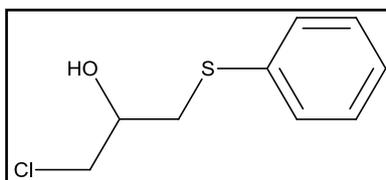
Summenformel: C₁₇H₂₀N₂

Molare Masse: 252.36 g/mol

R_f: 0.25 (Dichlormethan/Methanol [10/1])

¹H-NMR: (MeOD-d₄, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.45 (m, 4 H, (C(CH)₂)₂), 7.30 (t, ³J = 7.3 Hz, 4 H, (C(CH)₂(CH)₂)₂), 7.21 (tt, ³J = 6.7 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, 2 H, (C(CH)₂(CH)₂(CH)₂), 4.41 (s, 1 H, CH), 3.24 (m, 4 H, (N(CHH)₂)₂), 2.64 (m, 4 H, (N(CHH)₂)₂).

5.4 FM116: 1-Chloro-3-(phenylthio)propan-2-ol



Methode: G5A

Ansatz: - Thiophenol: 500 mg, 4.54 mmol (1.0 Äq.)
- *N*-Bromsuccinimid: 80.0 g, 454 μmol (0.1 Äq.)
- 2-(Chloromethyl)oxiran: 420 mg, 360 μl, 4.54 mmol (1.0 Äq.)

SC: Dichlormethan/Methanol [1/0] → [19/1]

Ausbeute: 443 mg, 2.19 mmol (48 %)

Summenformel: C₉H₁₁SOCl

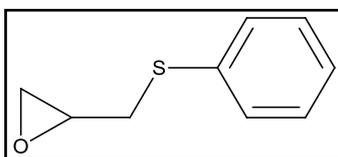
Molare Masse: 202.70 g/mol

Experimentaltteil

R_f: 0.40 (Dichlormethan)

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.39 (m, 2 H, SC(CH)₂), 7.30 (t, ³J = 7.2 Hz, 2 H, SC(CH)₂(CH)₂), 7.22 (t, ³J = 7.3 Hz, 1 H, SC(CH)₂(CH)₂CH), 3.93 (m, 1 H, OCH), 3.67 (m, 2 H, ClCH₂), 3.16 (dd, ²J = 13.9 Hz, ³J = 5.6 Hz, 1 H, SCHH), 3.07 (dd, ²J = 13.9 Hz, ³J = 6.9 Hz, 1 H, SCHH).

5.5 FM151: 2-(Phenylthiomethyl)oxiran



Methode: G5B

Ansatz:

- Thiophenol: 10.0 g, 9.6 ml, 90.7 mmol (1.0 Äq.)
- Natriumhydroxid: 10.9 g, 272 mmol (3.0 Äq.)
- 2-(Chloromethyl)oxiran: 25.2 g, 21.4 ml, 272 mmol (3.0 Äq.)

SC: Aufreinigung erfolgt per Destillation

Ausbeute: 13.9 g, 83.6 mmol (89 %)

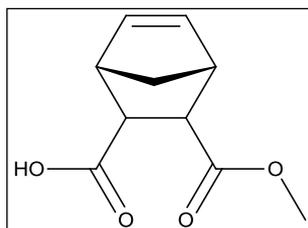
Summenformel: C₉H₁₀SO

Molare Masse: 166.24 g/mol

R_f: 0.40 (Dichlormethan)

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.42 (m, 2 H, SC(CH)₂), 7.29 (t, ³J = 7.2 Hz, 2 H, SC(CH)₂(CH)₂), 7.21 (tt, ³J = 7.3 Hz, ⁴J = 1.2 Hz, 1 H, SC(CH)₂(CH)₂CH), 3.18 – 3.13 (m, 2 H, OCH, OCHH), 2.94 (dd, ²J = 15.4 Hz, ³J = 7.2 Hz, 1 H, OCHH), 2.75 (m, 1 H, SCHH), 2.50 (dd, ³J = 4.9 Hz, ³J = 2.4 Hz, 1 H, SCHH).

7.1 FM177: (1S,4R)-3-(Methoxycarbonyl)bicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-carbonsäure



Methode: G3B

Ansatz:

- Methanol: Überschuss
- Kaliumcarbonat: 12.6 g, 91.5 mmol (3.0 Äq.)
- Nadicanhydrid: 5.00 g, 30.5 mmol (1.0 Äq.)

SC: Dichlormethan/Methanol [1/0] → [9/1]

Ausbeute: 3.32 g, 16.9 mmol (55 %)

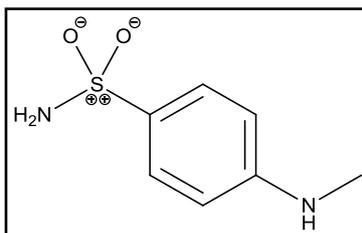
Summenformel: C₁₀H₁₂O₄

Molare Masse: 196.20 g/mol

R_f: 0.21 (Dichlormethan/Methanol [10/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 11.28 (s, 1 H, COOHH), 6.20 (dd, ³J = 5.5 Hz, ³J = 2.9 Hz, 1 H, C_{Alken}H), 6.10 (dd, ³J = 5.5 Hz, ³J = 2.9 Hz, 1 H, C_{Alken}H), 3.49 (s, 3 H, OCH₃), 3.22 (qd, ³J = 10.2 Hz, ³J = 3.1 Hz, 2 H, (CO(CH)CH₂)₂), 3.08 (br d, ³J = 12.8 Hz, 2 H, (COCH₂)₂), 1.38 (dt, ²J = 8.6 Hz, ³J = 1.7 Hz, 1 H, C_{Brücke}HH), 1.26 (d, ²J H = 8.6 Hz, 1 H, C_{Brücke}HH).

8.1 FM181: 4-(Methylamino)benzolsulfonsäureamid



Methode: G1A (Geänderte Ansatzgrößen)
 Ansatz: - 4-Aminobenzolsulfonamid: 1.00 g, 5.81 mmol (2.5 Äq.)
 - Kaliumcarbonat: 802 mg, 5.81 mmol (2.5 Äq.)
 - Methyljodid: 329 mg, 0.15 ml, 2.32 mmol (1.0 Äq.)

SC: Dichlormethan/Methanol [1/0] → [9/1]

Ausbeute: 215 mg, 1.15 mmol (50 %)

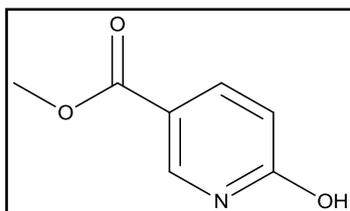
Summenformel: $C_7H_{10}SN_2O_2$

Molare Masse: 186.24 g/mol

R_f: 0.20 (Dichlormethan/Methanol [10/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.63 (d, ³J = 8.7 Hz, 2 H, SC(CH)₂), 6.69 (d, ³J = 8.7 Hz, 2 H, SC(CH)₂(CH)₂), 4.17 (br s, 2 H, NH₂), 2.62 (d, ³J = 5.4 Hz, 3 H, CH₃).

9.1 FM158: Methyl-6-hydroxynicotinat



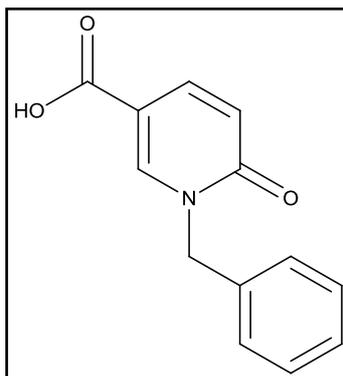
Methode: B1

Ansatz: - 6-Hydroxynicotinsäure: 2.00 g, 14.4 mmol
 - Schwefelsäure: Katalytische Mengen

Experimentaltteil

SC:	Wurde nicht durch Säulenchromatographie aufgereinigt
Ausbeute:	1.85 mg, 12.1 mmol (84 %)
Summenformel:	$C_7H_7NO_3$
Molare Masse:	153.14 g/mol
R _f :	0.20 (Dichlormethan/Methanol [10/1])
¹ H-NMR:	Wurde nicht vermessen, Zwischenverbindung wurde ohne Aufreinigung weiter umgesetzt.

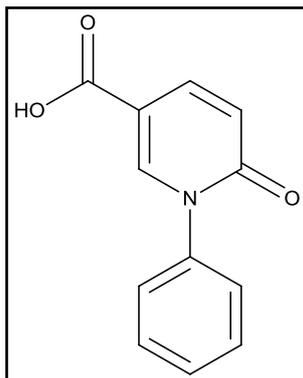
9.2 FM214: 1-Benzyl-6-oxo-1,6-dihydropyridin-3-carbonsäure



Methode:	G1A (Geänderte Ansatzgrößen)
Ansatz:	- 6-Hydroxynicotinsäure: 1.00 g, 7.19 mmol (1.0 Äq.) - Benzylbromid: 1.23 g, 0.81 ml, 7.19 mmol (1.0 Äq.) - Kaliumcarbonat: 2.64 g, 21.6 mmol (3.0 Äq.)
SC:	Petrolether/Ethylacetat [8/1] → [1/1]
Ausbeute:	1.15 g, 5.02 mmol (70 %)
Summenformel:	$C_{13}H_{11}NO_3$
Molare Masse:	229.23 g/mol
R _f :	0.32 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 13.29 (s, 1 H, COOH), 8.25 (s, 1 H, NCH), 8.06 (d, ³J = 8.0 Hz, 1 H, COC(CH)(CH)), 7.40 – 7.32 (m, 5 H, CH_{Benzyl}), 6.58 (br s, 1 H, COC(CH)(CH)), 5.29 (s, 2 H, CH₂).

9.3 FM159: 6-Oxo-1-phenyl-1,6-dihydropyridin-3-carbonsäure



Methode: H4

Ansatz:

- 6-Hydroxynicotinsäure: 1.00 g, 7.19 mmol (1.0 Äq.)
- Iodbenzol: 4.41 g, 0.81 ml, 7.19 mmol (1.0 Äq.)
- Kaliumcarbonat: 2.64 g, 21.6 mmol (3.0 Äq.)
- Kupferpulver: Katalytische Mengen

SC: Petrolether/Ethylacetat [8/1] → [1/1]

Ausbeute: 1.13 g, 5.25 mmol (73 %)

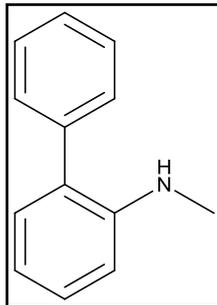
Summenformel: C₁₂H₉NO₃

Molare Masse: 215.21 g/mol

R_f: 0.30 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

¹H-NMR: (MeOD-d₄, 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.30 (d, ⁴J = 2.3 Hz, 1 H, NCH), 8.04 (dd, ³J = 9.6 Hz, ⁴J = 2.5 Hz, 1 H, COC(CH)(CH)), 7.58 – 7.51 (m, 3 H, NC(CH)₂(CH)₂CH), 7.43 (d, ³J = 8.5 Hz, 2 H, COC(CH)(CH)).

9.4 FM165: N-Methyl-[1,1'-biphenyl]-2-amin



Methode: G1A (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz: - [1,1'-Biphenyl]-2-amin: 12.0 g, 70.5 mmol (10.0 Äq.)
 - Methyljodid: 1.00 g, 0.44 ml, 7.05 mmol (1.0 Äq.)

SC: Petrolether/Dichlormethan [8/1] → [1/1]

Ausbeute: 162 mg, 880 µmol (12 %)

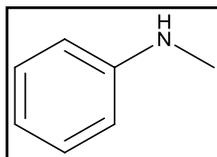
Summenformel: C₁₃H₁₃N

Molare Masse: 183.26 g/mol

R_f: 0.10 (Petrolether/Dichlormethan [4/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.37–7.34 (m, 4 H, C(CH)₂(CH)₂(CH)), 7.28 (m, 1 H, C(CH)₂(CH)₂(CH)), 7.20 (td, ³J = 7.4 Hz, ⁴J = 1.6 Hz, 1 H, NC(CH)(CH)(CH)(CH)), 7.03 (dd, ³J = 7.4 Hz, ⁴J = 1.6 Hz, 1 H, NC(CH)(CH)(CH)(CH)), 6.71 ((td, ³J = 7.4 Hz, ⁴J = 1.1 Hz, 1 H, NC(CH)(CH)(CH)(CH)), 7.63 (dd, ³J = 8.1 Hz, ⁴J = 0.7 Hz, 1 H, NC(CH)(CH)(CH)(CH)), 3.86 (br s, 1 H, NH), 2.71 (s, 3 H, CH₃).

9.4 FM222: *N*-Methylanilin



Methode: G1A (Geänderte Ansatzgrößen)
Ansatz: - Anilin: 500 mg, 5.37 mmol (1.0 Äq.)
- Methyljodid: 1.14 g, 0.50 ml, 8.00 mmol (1.5 Äq.)
- Kaliumcarbonat: 978 mg, 8.01 mmol (1.5 Äq.)

SC: Petrolether/Dichlormethan [8/1] → [1/1]

Ausbeute: 486 mg, 4.54 mmol (85 %)

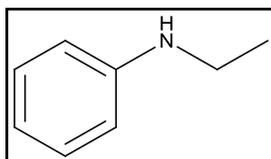
Summenformel: C₇H₉N

Molare Masse: 107.15 g/mol

R_f: 0.10 (Petrolether/Dichlormethan [4/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.23 (t, ³J = 7.3 Hz, 2 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 6.75 (tt, ³J = 7.3 Hz, ⁴J = 1.0 Hz, 1 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 6.65 (d, ³J = 7.6 Hz, 2 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 2.86 (s, 3 H, CH₃).

9.5 FM217: *N*-Ethylanilin



Methode: G1A (Geänderte Ansatzgrößen)

Experimentaltteil

Ansatz: - Anilin: 500 mg, 5.37 mmol (1.0 Äq.)
 - Ethyliodid: 838 mg, 0.43 ml, 5.37 mmol (1.0 Äq.)
 - Kaliumcarbonat: 978 mg, 8.01 mmol (1.5 Äq.)

SC: Petrolether/Dichlormethan [8/1] → [1/1]

Ausbeute: 452 mg, 3.73 mmol (69 %)

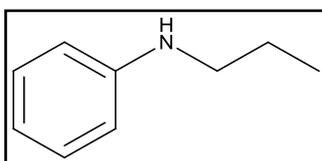
Summenformel: C₈H₁₁N

Molare Masse: 121.18 g/mol

R_f: 0.10 (Petrolether/Dichlormethan [4/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.18 (t, ³J = 7.3 Hz, 2 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 6.70 (tt, ³J = 7.3 Hz, ⁴J = 1.0 Hz, 1 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 6.61 (d, ³J = 7.6 Hz, 2 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 3.16 (q, ³J = 7.2 Hz, 2 H, CH₂CH₃), 0.93 (t, ³J = 7.2 Hz, 3 H, CH₂CH₃).

9.6 FM218: *N*-Propylanilin



Methode: G1A (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz: - Anilin: 500 mg, 5.37 mmol (1.0 Äq.)
 - Propylbromid: 660 mg, 0.49 ml, 5.37 mmol (1.0 Äq.)
 - Kaliumcarbonat: 978 mg, 8.01 mmol (1.5 Äq.)

SC: Petrolether/Dichlormethan [8/1] → [1/1]

Ausbeute: 480 mg, 3.73 mmol (69 %)

Summenformel: C₉H₁₃N

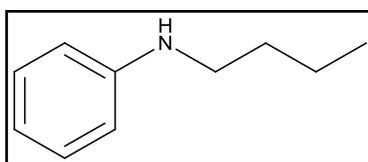
Molare Masse: 135.21 g/mol

Experimentalteil

R_f: 0.10 (Petrolether/Dichlormethan [4/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.18 (t, ³J = 7.3 Hz, 2 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 6.70 (tt, ³J = 7.3 Hz, ⁴J = 1.0 Hz, 1 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 6.61 (d, ³J = 7.6 Hz, 2 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 3.09 (t, ³J = 7.3 Hz, 2 H, CH₂CH₂CH₃), 1.70 (m, 2 H, CH₂CH₂CH₃), 0.93 (t, ³J = 7.5 Hz, 3 H, CH₂CH₂CH₃).

9.7 FM219: N-Butylanilin



Methode: G1A (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz:

- Anilin: 500 mg, 5.37 mmol (1.0 Äq.)
- Butyliodid: 988 mg, 0.61 ml, 5.37 mmol (1.0 Äq.)
- Kaliumcarbonat: 978 mg, 8.01 mmol (1.5 Äq.)

SC: Petrolether/Dichlormethan [8/1] → [1/1]

Ausbeute: 423 mg, 2.82 mmol (53 %)

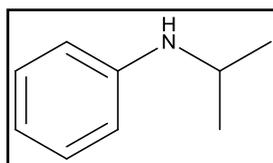
Summenformel: C₁₀H₁₅N

Molare Masse: 149.90 g/mol

R_f: 0.15 (Petrolether/Dichlormethan [4/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.18 (t, ³J = 7.3 Hz, 2 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 6.70 (tt, ³J = 7.3 Hz, ⁴J = 1.0 Hz, 1 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 6.61 (d, ³J = 7.6 Hz, 2 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 3.13 (t, ³J = 7.1 Hz, 2 H, CH₂CH₂CH₂CH₃), 1.63 (qui, ³J = 7.2 Hz, 2 H, CH₂CH₂CH₂CH₃), 1.46 (sex 0.93 (t, ³J = 7.5 Hz, 2 H, CH₂CH₂CH₂CH₃), 0.99 (t, ³J = 7.5 Hz, 3 H, CH₂CH₂CH₂CH₃).

9.8 FM220: *N*-Isopropylanilin



Methode: G1A (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz:

- Anilin: 500 mg, 5.37 mmol (1.0 Äq.)
- Isopropyljodid: 913 mg, 0.54 ml, 5.37 mmol (1.0 Äq.)
- Kaliumcarbonat: 978 mg, 8.01 mmol (1.5 Äq.)

SC: Petrolether/Dichlormethan [8/1] → [1/1]

Ausbeute: 503 mg, 3.72 mmol (69 %)

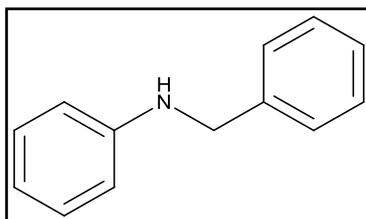
Summenformel: C₉H₁₃N

Molare Masse: 135.21 g/mol

R_f: 0.10 (Petrolether/Dichlormethan [4/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.22 (t, ³J = 7.3 Hz, 2 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 6.73 (tt, ³J = 7.3 Hz, ⁴J = 1.0 Hz, 1 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 6.64 (d, ³J = 7.6 Hz, 2 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 3.68 (sep, ³J = 6.7 Hz, 2 H, CH(CH₃)₂), 3.31 (br s, 1 H, NH), 1.26 (d, ³J = 6.3 Hz, 6 H, CH(CH₃)₂).

9.9 FM216: *N*-Benzylanilin



Methode: G1A (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz:

- Anilin: 500 mg, 5.37 mmol (1.0 Äq.)
- Benzylbromid: 918 mg, 0.64 ml, 5.37 mmol (1.0 Äq.)
- Kaliumcarbonat: 978 mg, 8.01 mmol (1.5 Äq.)

SC: Petrolether/Dichlormethan [8/1] → [1/1]

Ausbeute: 654 mg, 3.57 mmol (66 %) (Edukt/Produkt-Gemisch = 3/4)

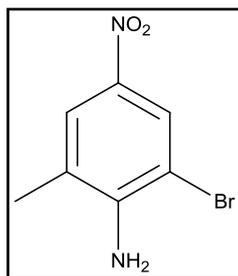
Summenformel: C₁₃H₁₃N

Molare Masse: 183.25 g/mol

R_f: 0.20 (Petrolether/Dichlormethan [4/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.56 – 7.34 (m, 6 H, (CH_{Benzyl})₅), C(CH)₂(CH)₂CH), 6.93 (m, 2 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 6.81 (dt, ³J = 7.6 Hz, ⁴J = 1.1 Hz, 2 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 4.47 (s, 2 H, CH₂), 4.41 (br s, 1 H, NH).

13.1 FM174: 2-Bromo-6-methyl-4-nitroanilin



Methode: H1
 Ansatz: - 2-Methyl-4-nitroanilin: 10.0 g, 65.7 mmol (1.0 Äq.)
 - Brom: 10.5 g, 3.37 ml, 65.7 mmol (1.0 Äq.)

SC: Wurde nicht durch Säulenchromatographie aufgereinigt

Ausbeute: 13.5 g, 58.4 mmol (89 %)

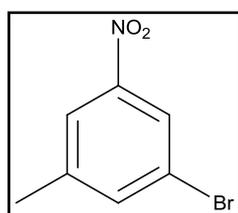
Summenformel: $C_7H_7N_2O_2Br$

Molare Masse: 231.05 g/mol

R_f: 0.25 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.26 (d, ⁴J = 2.5 Hz, 1 H, BrCCH), 7.94 (d, ⁴J = 1.9 Hz, 1 H, CH₃CCH), 2.27 (s, 3 H, CH₃), 1.75 (br s, 2 H, NH₂).

13.2 FM186: 1-Bromo-3-methyl-5-nitrobenzol

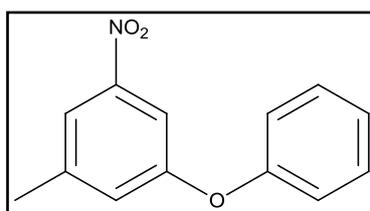


Methode: F3
 Ansatz: - 2-Bromo-6-methyl-4-nitroanilin (FM174): 10.3 g, 44.6 mmol (1.0 Äq.)
 - Salzsäure: 9.00 ml, 111 mmol (2.5 Äq.)
 - Natriumnitrit: 4.00 g, 58.0 mmol (1.3 Äq.)

Experimentalteil

SC:	Petrolether/Ethylacetat [8/1] → [1/1]
Ausbeute:	8.45 g, 39.1 mmol (87 %) (verunreinigtes Produkt)
Summenformel:	C ₇ H ₆ NO ₂ Br
Molare Masse:	216.03 g/mol
R _f :	0.41 (Petrolether/Ethylacetat [4/1])
¹ H-NMR:	(CDCl ₃ , 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.14 (br s, 1 H, <u>CH</u> _{Ar}), 7.95 (br s, 1 H, <u>CH</u> _{Ar}), 7.64 (br s, 1 H, <u>CH</u> _{Ar}), 2.44 (s, 3 H, CH ₃).

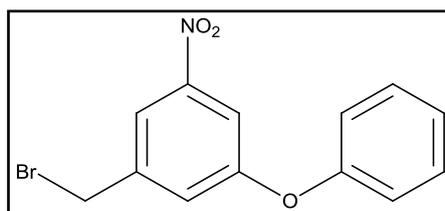
13.3 FM190: 1-Methyl-3-nitro-5-phenoxybenzol



Methode:	H6
Ansatz:	- 1-Bromo-3-methyl-5-nitrobenzol (FM186): 10.1 g, 46.8 mmol (1.0 Äq.) - Kaliumcarbonat: 19.3 g, 140 mmol (3.0 Äq.) - Phenol: 13.2 g, 140 mmol (3.0 Äq.) - Kupferiodid: Katalytische Mengen
SC:	Petrolether
Ausbeute:	130 mg, 567 μmol (1 %)
Summenformel:	C ₁₃ H ₁₁ NO ₃
Molare Masse:	229.23 g/mol
R _f :	0.50 (Petrolether/Ethylacetat [8/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.76 (br s, 1 H, CH_{Ar}), 7.59 (t, ⁴J = 2.1 Hz, 1 H, CH_{Ar}), 7.40 (t, ³J = 7.6 Hz, 2 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 7.21 (t, ³J = 7.5 Hz, 1 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 7.14 (br s, 1 H, CH_{Ar}), 7.05 (d, ³J = 7.7 Hz, 2 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 2.43 (s, 3 H, CH₃).

13.4 FM202: 1-(Bromomethyl)-3-nitro-5-phenoxybenzol



Methode: I

Ansatz: - 1-Methyl-3-nitro-5-phenoxybenzol (FM190):

120 mg, 523 μmol (1.0 Äq.)

- N-Bromsuccinimid: 112 mg, 628 μmol (1.2 Äq.)

- Dibenzoylperoxid: Katalytische Mengen

SC: Petrolether/Ethylacetat [1/0] → [1/1]

Ausbeute: 121 mg, 393 μmol (75 %) (Edukt/Produkt-Gemisch = 1/3)

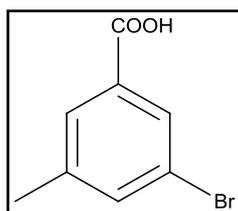
Summenformel: C₁₃H₁₀NO₃Br

Molare Masse: 308.13 g/mol

R_f: 0.50 (Petrolether/Ethylacetat [8/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.95 (t, ⁴J = 1.8 Hz, 1 H, CH_{Ar}), 7.70 (t, ⁴J = 2.3 Hz, 1 H, CH_{Ar}), 7.42 (t, ³J = 7.6 Hz, 2 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 7.34 (t, ⁴J = 1.9 Hz, 1 H, CH_{Ar}), 7.26 (t, ³J = 7.5 Hz, 1 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 7.06 (d, ³J = 7.6 Hz, 2 H, C(CH)₂(CH)₂CH), 4.47 (s, 2 H, CH₂).

14.1 FM206: 3-Bromo-5-methylbenzoesäure



Methode: F3
Ansatz: - 2-Amino-3-bromo-5-methylbenzoesäure: 2.00 g, 8.68 mmol (1.0 Äq.)
- Salzsäure: 3.62 ml, 21.7 mmol (2.5 Äq.)
- Natriumnitrit: 898 mg, 13.0 mmol (1.5 Äq.)

SC: Wurde nicht durch Säulenchromatographie aufgereinigt

Ausbeute: 1.42 g, 6.60 mmol (76 %)

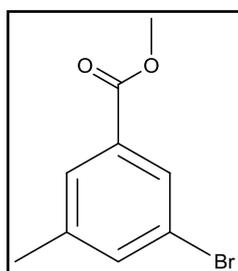
Summenformel: C₈H₇O₂Br

Molare Masse: 215.05 g/mol

R_f: 0.10 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.03 (s, 1 H, CH_{Ar}), 7.84 (s, 1 H, CH_{Ar}), 7.56 (s, 1 H, CH_{Ar}), 2.40 (s, 3 H, CH₃).

14.2 FM208: Methyl-3-bromo-5-methylbenzoat



Methode: B1

Ansatz: - 3-Bromo-5-methylbenzoesäure (FM206): 200 mg, 930 μmol (1.0 Äq.)
- Schwefelsäure: Katalytische Mengen

Experimentaltteil

SC: Petrolether/Ethylacetat [1/0] → [1/1]

Ausbeute: 177 mg, 773 μmol (83 %)

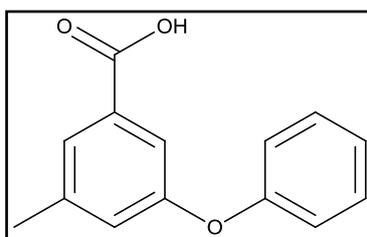
Summenformel: $\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_2\text{Br}$

Molare Masse: 229.07 g/mol

R_f: 0.35 (Petrolether/Ethylacetat [4/1])

¹H-NMR: (CDCl_3 , 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.94 (s, 1 H, CH_{Ar}), 7.75 (s, 1 H, CH_{Ar}), 7.47 (s, 1 H, CH_{Ar}), 3.89 (s, 3 H, OCH_3), 2.35 (s, 3 H, CCH_3).

14.3 FM207: 3-Methyl-5-phenoxybenzoesäure



Methode: H6 (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz: - 3-Bromo-5-methylbenzoesäure (FM206):

1.00 g, 4.65 mmol (1.0 Äq.)

- Kaliumcarbonat: 965 mg, 6.98 mmol (1.5 Äq.)

- Phenol: 656 mg, 6.98 mmol (1.5 Äq.)

- Kupferiodid: Katalytische Mengen

SC: Petrolether/Ethylacetat [4/1] → [1/1]

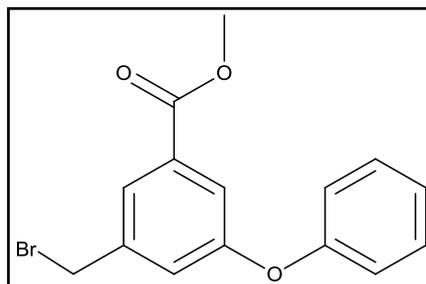
Ausbeute: 784 mg, 3.43 mmol (74 %)

Summenformel: $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_3$

Molare Masse: 228.24 g/mol

R_f: 0.20 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

14.5 FM239: Methyl-3-(bromomethyl)-5-phenoxybenzoat



Methode: I

Ansatz: - Methyl-3-methyl-5-phenoxybenzoat (FM225):

136 mg, 561 μmol (1.0 Äq.)

- N-Bromsuccinimid: 120 mg, 674 μmol (1.2 Äq.)

- Dibenzoylperoxid: Katalytische Mengen

SC: Petrolether/Ethylacetat [1/0] \rightarrow [1/1]

Ausbeute: 115 mg, 358 μmol (64 %)

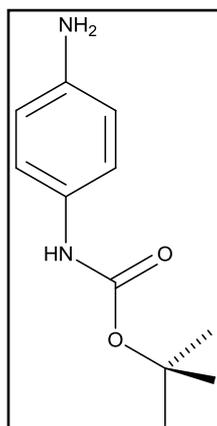
Summenformel: $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{Br}$

Molare Masse: 321.17 g/mol

R_f : 0.20 (Petrolether/Ethylacetat [4/1])

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3 , 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.79 (t, $^4J = 1.4$ Hz, 1 H, CH_{Ar}), 7.57 (t, $^4J = 1.4$ Hz, 1 H, CH_{Ar}), 7.37 (t, $^3J = 7.5$ Hz, 2 H, $\text{C}(\text{CH})_2(\text{CH})_2\text{CH}$), 7.23 (t, $^4J = 1.4$ Hz, 1 H, CH_{Ar}), 7.15 (t, $^3J = 7.5$ Hz, 1 H, $\text{C}(\text{CH})_2(\text{CH})_2\text{CH}$), 7.02 (d, $^3J = 7.5$ Hz, 2 H, $\text{C}(\text{CH})_2(\text{CH})_2\text{CH}$), 4.46 (s, 2 H, CH_2Br), 3.89 (s, 3 H, OCH_3).

15.1 FM241: *tert*-Butyl-(4-aminophenyl)carbamate



Methode: D1

Ansatz: - Di-*tert*-butyldicarbonat: 5.00 g, 22.9 mmol (1.0 Äq.)
 - 1,4-Diaminobenzol: 7.43 g, 68.7 mmol (3.0 Äq.)

SC: Dichlormethan/Methanol [99/1] → [10/1]

Ausbeute: 4.50 g, 21.6 mmol (94 %)

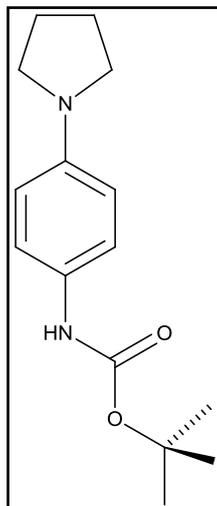
Summenformel: C₁₁H₁₆N₂O₂

Molare Masse: 208.26 g/mol

R_f: 0.20 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.13 (d, ³J = 8.1 Hz, 2 H, HNC(CH)₂), 6.62 (d, ³J = 8.6 Hz, 2 H, H₂NC(CH)₂), 6.32 (br s, 1 H, NH), 3.48 (br s, 2 H, NH₂), 1.50 (s, 9 H, C(CH)₃)₃).

15.2 FM243: *tert*-Butyl-(4-pyrrolidin-1-yl)phenyl)carbammat



Methode: G1D

Ansatz: - *tert*-Butyl-(4-aminophenyl)carbammat (FM241):

300 mg, 1.44 mmol (1.0 Äq.)

- Triethylamin: 466 mg, 0.64 ml, 4.61 mmol (3.2 Äq.)

- 1,4-Dibrombutan: 374 mg, 0.21 ml, 1.73 mmol (1.2 Äq.)

SC: Dichlormethan/Methanol [1/0] → [10/1]

Ausbeute: 288 g, 1.10 mmol (76 %)

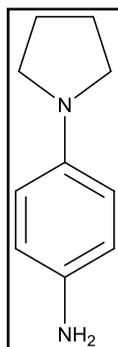
Summenformel: C₁₅H₂₂N₂O₂

Molare Masse: 262.35 g/mol

R_f: 0.25 (Dichlormethan/Methanol [99/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.19 (d, ³J = 7.5 Hz, 2 H, HNC(CH)₂), 6.50 (d, ³J = 8.9 Hz, 2 H, (CH₂)₂NC(CH)₂), 6.35 (br s, 1 H, NH), 3.24 (s, 4 H, N(CH)₂(CH₂)₂), 1.98 (m, 4 H, N(CH₂)₂(CH)₂), 1.52 (s, 9 H, C(CH)₃)₃).

15.3 FM265: 4-(Pyrrolidin-1-yl)anilin



Methode: E4

Ansatz: - *tert*-Butyl-(4-pyrrolidin-1-yl)phenyl)carbammat (FM243):

200 mg, 762 μmol (1.0 \AA q.)

- Trifluoressigsäure: 868 mg, 0.57 ml, 7.62 mmol (10.0 \AA q.)

SC: Dichlormethan/Methanol [99/1] \rightarrow [10/1]

Ausbeute: 122 mg, 750 μmol (98 %)

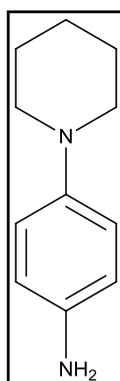
Summenformel: $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2$

Molare Masse: 162.23 g/mol

R_f : 0.20 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3 , 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.70 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 2 H, $\text{H}_2\text{NC}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})_2$), 6.52 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2 H, $(\text{CH}_2)_2\text{NC}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})_2$), 3.24 (m, 6 H, $\text{N}(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})_2(\text{CH}_2)_2$, NH_2), 2.00 (m, 4 H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}})_2$).

16.1 FM301: 4-(Piperidin-1-yl)anilin



Methode: G2

Ansatz:

- 1,4-Diaminobenzol: 1.41 g, 13.1 mmol (3.0 Äq.)
- 1,5-Dibrompentan: 1.00 g, 0.59 ml, 4.35 mmol (1.0 Äq.)
- Kaliumcarbonat: 1.80 g, 13.1 mmol (3.0 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat/Methanol [1/1/0] → [1/5/1]

Ausbeute: 497 mg, 2.82 mmol (65 %)

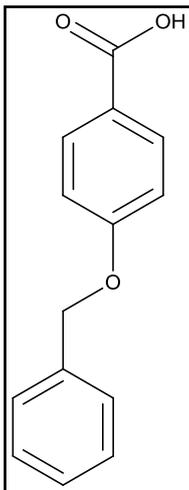
Summenformel: C₁₁H₁₆N₂

Molare Masse: 176.26 g/mol

R_f: 0.20 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 6.84 (d, ³J = 8.8 Hz, 2 H, H₂NC(CH)₂), 6.62 (d, ³J = 8.8 Hz, 2 H, (CH₂)₂NC(CH)₂), 3.46 (s, 2 H, NH₂), 2.99 (t, ³J = 5.2 Hz, 4 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂(CH₂)), 1.72 (q, ³J = 5.6 Hz, 4 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂(CH₂)), 1.55 (m, 2 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂(CH₂)).

17.1 FM311: 4-(Benzyloxy)benzoesäure



Methode: G4

Ansatz:

- 4-Hydroxybenzoesäure: 3.00 g, 21.7 mmol (1.0 Äq.)
- Benzylbromid: 4.46 g, 3.10 ml, 26.1 mmol (1.2 Äq.)
- Kaliumcarbonat: 9.01 g, 65.2 mmol (3.0 Äq.)

SC: Wurde nicht durch Säulenchromatographie aufgereinigt

Ausbeute: 633 mg, 2.93 mmol (14 %)

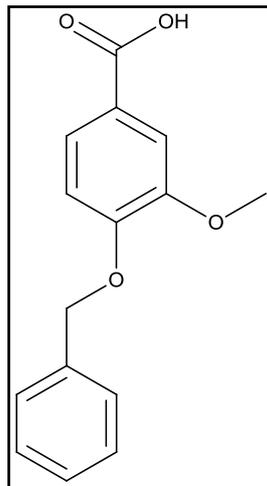
Summenformel: $C_{14}H_{12}O_3$

Molare Masse: 216.24 g/mol

R_f : 0.25 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

1H -NMR: (MeOD- d_4 , 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.70 (dt, $^3J = 8.9$ Hz, $^4J = 2.8$ Hz, 2 H, COC(CH)₂), 8.27 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 2 H, CH₂C(CH)₂(CH)₂CH), 8.21 (t, $^3J = 7.0$ Hz, 2 H, CH₂C(CH)₂(CH)₂CH), 8.15 (tt, $^3J = 7.1$ Hz, $^4J = 1.4$ Hz, 1 H, CH₂C(CH)₂(CH)₂CH), 7.90 (dt, $^3J = 9.0$ Hz, $^4J = 2.7$ Hz, 2 H, OC(CH)₂), 5.99 (s, 2 H, CH₂).

18.1 FM313: 4-(Benzyloxy)-3-methoxybenzoesäure



Methode: G4

Ansatz: - 4-Hydroxy-3-methoxybenzoesäure:

3.00 g, 17.8 mmol (1.0 Äq.)

- Benzylbromid: 3.65 g, 2.53 ml, 21.4 mmol (1.2 Äq.)

- Kaliumcarbonat: 8.63 g, 62.4 mmol (3.5 Äq.)

SC: Wurde nicht durch Säulenchromatographie aufgereinigt

Ausbeute: 3.62 g, 14.0 mmol (79 %)

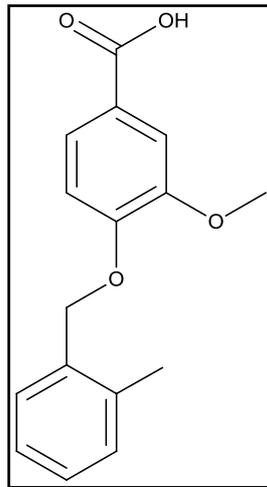
Summenformel: C₁₅H₁₄O₄

Molare Masse: 258.27 g/mol

R_f: 0.25 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

¹H-NMR: (MeOD-d₄, 400.13 MHz), δ [ppm] = 12.67 (s, 1 H, COOH), 7.55 (dd, ³J = 8.4 Hz, ⁴J = 1.9 Hz, 1 H, OC(CH)(CH)), 7.46 (m, 3 H, COC(CH)C_q, CH₂C(CH)₂(CH)₂CH), 7.40 (t, ³J = 7.0 Hz, 2 H, CH₂C(CH)₂(CH)₂CH), 7.33 (tt, ³J = 7.1 Hz, ⁴J = 2.5 Hz, 1 H, CH₂C(CH)₂(CH)₂CH), 7.13 (d, ³J = 8.5 Hz, 1 H, OC(CH)(CH)), 5.16 (s, 2 H, CH₂), 3.81 (s, 3 H, CH₃).

19.1 FM348: 3-Methoxy-4-((2-methylbenzyl)oxy)benzoessäure



Methode: G4

Ansatz: - 4-Hydroxy-3-methoxybenzoessäure:

3.00 g, 17.8 mmol (1.0 Äq.)

- 1-(Bromomethyl)-2-methylbenzol:

9.90 g, 7.20 ml, 53.4 mmol (3.0 Äq.)

- Kaliumcarbonat:

7.40 g, 53.4 mmol (3.0 Äq.)

SC: Wurde nicht durch Säulenchromatographie aufgereinigt

Ausbeute: 3.23 g, 11.9 mmol (67 %)

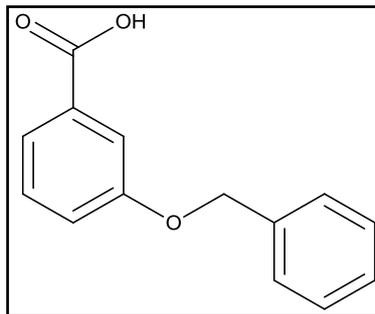
Summenformel: C₁₆H₁₆O₄

Molare Masse: 272.30 g/mol

R_f: 0.25 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

¹H-NMR: (MeOD-d₄, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.74 (dd, ³J = 8.4 Hz, ⁴J = 2.0 Hz, 1 H, OC(CH)(CH)), 7.63 (d, ⁴J = 2.0 Hz, 1 H, COC(CH)C_q) 7.41 (d, ³J = 7.2 Hz, 1 H, H₃CC(CH)), 7.22 (m, 3 H, 3 CH_{Benzyl}), 6.96 (d, ³J = 8.5 Hz, 1 H, OC(CH)(CH)), 5.19 (s, 2 H, CH₂), 3.94 (s, 3 H, OCH₃), 2.40 (s, 3 H, CCH₃).

20.1 FM377: 3-(Benzyloxy)benzoesäure



Methode: G4

Ansatz:

- 2-Hydroxybenzoesäure: 5.00 g, 36.2 mmol (1.0 Äq.)
- Benzylbromid: 13.6 g, 9.44 ml, 79.6 mmol (2.2 Äq.)
- Kaliumcarbonat: 11.0 g, 79.6 mmol (2.2 Äq.)

SC: Wurde nicht durch Säulenchromatographie aufgereinigt

Ausbeute: 6.56 g, 28.7 mmol (79 %)

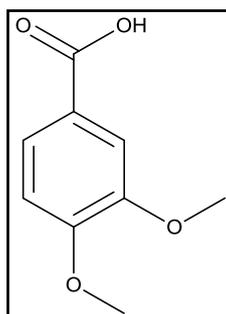
Summenformel: C₁₄H₁₂O₃

Molare Masse: 228.24 g/mol

R_f: 0.25 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.74 (m, 2 H, HOCC(CH)₂), 7.46 (d, ³J = 8.9 Hz, 2 H, H₂CC(CH)₂(CH)₂CH), 7.41 (m, 3 H, H₂CC(CH)₂(CH)₂CH, OC(CH)(CH), 7.34 (m, 1 H, H₂CC(CH)₂(CH)₂CH), 7.23 (ddd, ³J = 8.3 Hz, ⁴J = 2.7 Hz, ⁴J = 1.0 Hz, 1 H, OC(CH)(CH), 5.13 (s, 2 H, CH₂).

21.1 FM314: 3,4-Dimethoxybenzoesäure



Methode: G4

Ansatz: - 4-Hydroxy-3-methoxybenzoesäure:

3.00 g, 17.8 mmol (1.0 Äq.)

- Methyljodid: 7.58 g, 3.34 ml, 53.4 mmol (3.0 Äq.)

- Kaliumcarbonat: 7.38 g, 53.4 mmol (3.0 Äq.)

SC: Wurde nicht durch Säulenchromatographie aufgereinigt

Ausbeute: 3.21 g, 17.6 mmol (99 %)

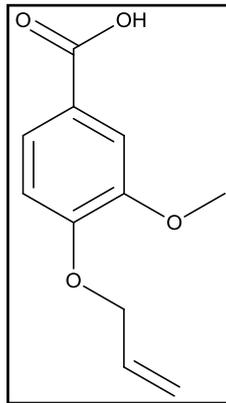
Summenformel: $C_9H_{10}O_4$

Molare Masse: 182.17 g/mol

R_f: 0.25 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.56 (dd, ³J = 8.3 Hz, ⁴J = 1.9 Hz, 1 H, HOCC(CH)(CH)), 7.44 (d, ⁴J = 1.9 Hz, 1 H, HOCC(CH)C_q), 7.02 (d, ³J = 8.3 Hz, 1 H, HOCC(CH)(CH)), 3.81 (s, 3 H, OCH₃), 3.79 (s, 3 H, OCH₃).

22.1 FM347: 4-(Allyloxy)-3-methoxybenzoesäure



Methode: G4

Ansatz: - 4-Hydroxy-3-methoxybenzoesäure:

3.00 g, 17.8 mmol (1.0 Äq.)

- 3-Bromopropen: 6.47 g, 4.62 ml, 53.4 mmol (3.0 Äq.)

- Kaliumcarbonat: 7.38 g, 53.4 mmol (3.0 Äq.)

SC: Wurde nicht durch Säulenchromatographie aufgereinigt

Ausbeute: 3.52 g, 17.6 mmol (99 %)

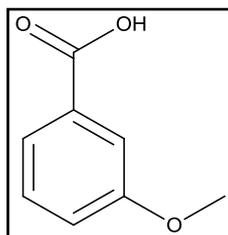
Summenformel: $C_{11}H_{12}O_4$

Molare Masse: 208.21 g/mol

R_f: 0.25 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.74 (dd, ³J = 8.3 Hz, ⁴J = 1.9 Hz, 1 H, HOCC(CH)(CH)), 7.61 (d, ⁴J = 1.9 Hz, 1 H, HOCC(CH)C_q), 6.91 (d, ³J = 8.3 Hz, 1 H, HOCC(CH)(CH)), 6.08 (m, 1 H, OCH₂CHCH₂), 5.44 (dq, ³J = 17.3 Hz, ⁴J = 2.5 Hz, 1 H, OCH₂CHCH₂), 5.33 (dq, ³J = 10.5 Hz, ⁴J = 1.2 Hz, 1 H, OCH₂CHCH₂), 4.69 (dt, ³J = 15.5 Hz, ⁴J = 1.5 Hz, 2 H, OCH₂), 3.94 (s, 3 H, OCH₃).

23.1 FM376: 3-Methoxybenzoesäure



Methode: G4

Ansatz:

- 3-Hydroxybenzoesäure: 5.00 g, 36.2 mmol (1.0 Äq.)
- Methyljodid: 11.3 g, 5.00 ml, 79.6 mmol (2.2 Äq.)
- Kaliumcarbonat: 11.0 g, 79.6 mmol (2.2 Äq.)

SC: Wurde nicht durch Säulenchromatographie aufgereinigt

Ausbeute: 4.96 g, 32.6 mmol (90 %)

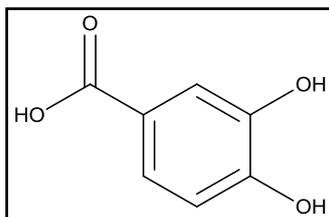
Summenformel: C₈H₈O₃

Molare Masse: 152.15 g/mol

R_f: 0.20 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.73 (dt, ³J = 7.6 Hz, ⁴J = 1.1 Hz, 1 H, HOCC(CH)(CH)(CH), 7.63 (m, 1 H, HOCC(CH)C_q), 7.38 (t, ³J = 8.0 Hz, 1 H, HOCC(CH)(CH)(CH), 7.16 (ddd, ³J = 8.3 Hz, ⁴J = 2.7 Hz, ⁴J = 0.9 Hz, 1 H, HOCC(CH)(CH)(CH), 3.87 (s, 3 H, OCH₃).

24.1 FM359: 3,4-Dihydroxybenzoesäure



Methode: H2 (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz: - 3-Hydroxy-4-methoxybenzoesäure:

1.14 g, 5.95 mmol (1.0 Äq.)

- Bortribromid: 7.45 g, 2.82 ml, 29.8 mmol (5.0 Äq.)

SC: Wurde nicht durch Säulenchromatographie aufgereinigt

Ausbeute: 899 mg, 5.83 mmol (98 %)

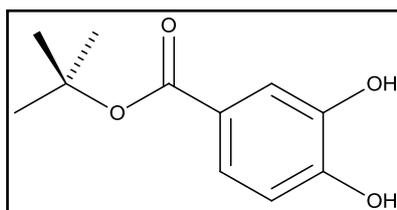
Summenformel: C₇H₆O₄

Molare Masse: 154.12 g/mol

R_f: 0.10 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

¹H-NMR: (DMSO-d₆, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.34 (d, ⁴J = 2.0 Hz, 1 H, C_q(CH)C_q), 7.28 (dd, ³J = 8.3 Hz, ⁴J = 2.1 Hz, 1 H, COC_q(CH)(CH)), 6.78 (d, ³J = 8.2 Hz, 1 H, COC_q(CH)(CH)).

24.2 FM386: *tert*-Butyl-3,4-dihydroxybenzoat



Methode: B3

Experimentalteil

Ansatz: - 3,4-Dihydroxybenzoesäure (FM359): 1.54 g, 10.0 mmol (1.0 Äq.)
- Schwefelsäure: 0.55 ml, 10.0 mmol (1.0 Äq.)
- Magnesiumsulfat: 4.81 g, 40.0 mmol (4.0 Äq.)
- *tert*-Butylalkohol: 4.78 ml, 50.0 mmol (5.0 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [10/1] → [1/1]

Ausbeute: 1.08 g, 5.14 mmol (51 %)

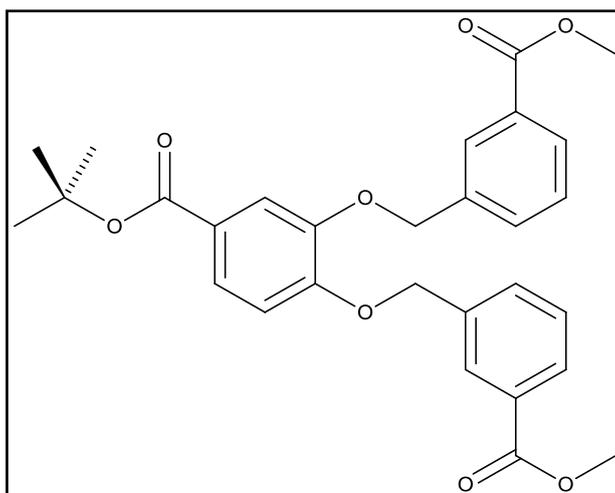
Summenformel: C₁₁H₁₄O₄

Molare Masse: 210.23 g/mol

R_f: 0.10 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

¹H-NMR: (DMSO-d₆, 400.13 MHz), δ [ppm] = 9.64 (br s, 1 H, OH), 9.27 (br s, 1 H, OH), 7.30 (d, ⁴J = 2.0 Hz, 1 H, C_q(CH)C_q), 7.24 (dd, ³J = 8.3 Hz, ⁴J = 2.1 Hz, 1 H, COC_q(CH)(CH)), 6.77 (d, ³J = 8.2 Hz, 1 H, COC_q(CH)(CH)), 1.50 (s, 9 H, OC(CH₃)₃).

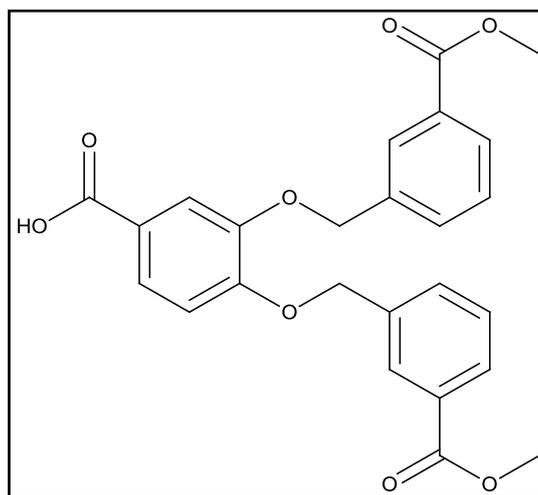
24.3 FM388A: Dimethyl-3,3'-(((4-(*tert*-butoxycarbonyl)-1,2-phenylen)bis(oxy))bis(methylen))dibenzoat



Experimentalteil

Methode:	G3A (Geänderte Ansatzgrößen)
Ansatz:	- <i>tert</i> -Butyl-3,4-dihydroxybenzoat (FM386): 900 mg, 4.28 mmol (1.0 Äq.) - Kaliumcarbonat: 1.48 g, 10.7 mmol (2.5 Äq.) - Methyl-3-(bromomethyl)benzoat: 2.16 g, 9.42 mmol (2.2 Äq.)
SC:	Wurde nicht durch Säulenchromatographie aufgereinigt
Ausbeute:	Wurde direkt weiter umgesetzt
Summenformel:	C ₂₉ H ₃₀ O ₈
Molare Masse:	506.54 g/mol
R _f :	Wurde nicht bestimmt
¹ H-NMR:	Wurde nicht bestimmt

24.4 FM403: 3,4-Bis((3-(methoxycarbonyl)benzyl)oxy)benzoesäure



Methode:	C2
Ansatz:	- Dimethyl-3,3'-(((4-(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-1,2-phenylen)bis(oxy))bis-(methylene))dibenzoat (FM403A) (Roh): 3.00 g, 4.28 mmol (1.0 Äq.) - Trifluoressigsäure: 5.00 ml, 43.8 mmol (10.0 Äq.)

Experimentalteil

SC: Wurde nicht durch Säulenchromatographie aufgereinigt

Ausbeute: 1.08 g, 5.14 mmol (51 %)

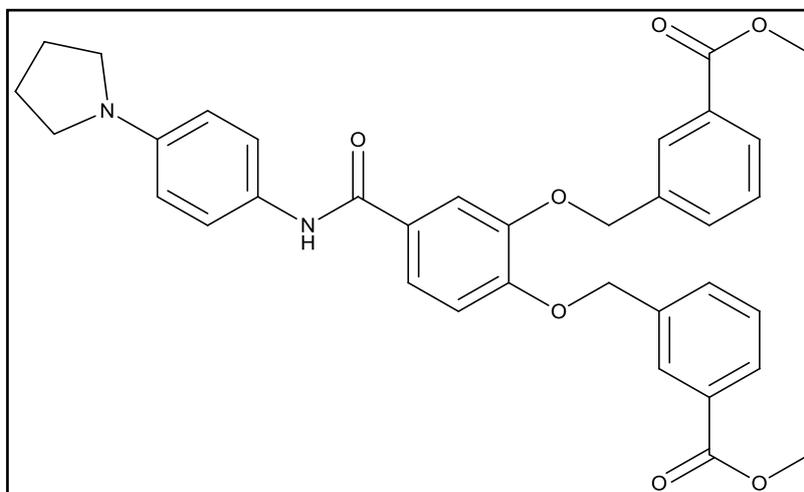
Summenformel: C₂₅H₂₂O₈

Molare Masse: 450.44 g/mol

R_f: 0.20 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

¹H-NMR: (DMSO-d₆, 400.13 MHz), δ [ppm] = 12.68 (br s, 1 H, COOH), 8.09 (s, 2 H, (H₂CC_q(CH)C_q)₂), 7.92 (m, 2 H, H_{Ar}), 7.75 (d, ³J = 7.7 Hz, 2 H, H_{Ar}), 7.60 – 7.52 (m, 4 H, H_{Ar}), 7.19 (d, ³J = 8.3 Hz, 1 H, HOCC_q(CH)(CH)), 5.32 (s, 2 H, OCH₂), 5.28 (s, 2 H, OCH₂), 3.82 (s, 6 H, (OCH₃)₂).

24.5 FM409: Dimethyl-3,3'-(((4-((4-(pyrrolidin-1-yl)phenyl)carbamoyl)-1,2-phenylen)-bis(oxy))bis(methylen))dibenzoat



Methode: A4 (Geänderte Ansatzgrößen)

Ansatz: - 4-(Pyrrolidin-1-yl)anilin (FM265):

400 mg, 2.47 mmol (1.1 Äq.)

- 3,4-Bis((3-(methoxycarbonyl)benzyl)oxy)benzoesäure (FM403):

1.00 g, 2.22 mmol (1.0 Äq.)

- PPA: 5.00 g, 15.7 mmol (7.0 Äq.)

- Triethylamin: 738 mg, 1.00 ml, 7.31 mmol (3.3 Äq.)

Experimentaltteil

SC: Petrolether/Ehtylacetat [10/1] → [1/1]

Ausbeute: 1.12 g, 1.88 mmol (85 %)

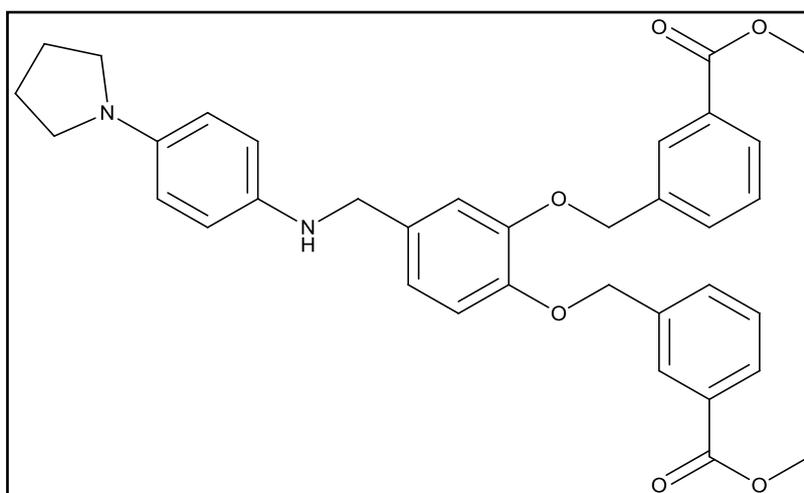
Summenformel: C₃₅H₃₄O₇

Molare Masse: 594.65 g/mol

R_f: 0.35 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

¹H-NMR: (DMSO-d₆, 400.13 MHz), δ [ppm] = 9.79 (s, 1 H, NH), 8.11 (d, ³J = 6.2 Hz, 2 H, (CH₂C_q(CH)(CH)(CH)₂), 7.92 (d, ³J = 7.8 Hz, 2 H, (CH₂C_q(CH)(CH)(CH))₂), 7.76 (m, 2 H, (CH₂C_q(CH)C_q)₂), 7.68 (d, ⁴J = 1.9 Hz, 1 H, HNCOC_q(CH)C_q), 7.60 (dd, ³J = 8.4 Hz, ⁴J = 2.0 Hz, 1 H, HNCOC_q(CH)(CH)), 7.55 (t, ³J = 7.6 Hz, 2 H, (CH₂C_q(CH)(CH)(CH))₂), 7.50 (d, ³J = 8.9 Hz, 2 H, HNC_q(CH)₂), 7.20 (d, ³J = 8.6 Hz, 1 H, HNCOC_q(CH)(CH)), 6.52 (d, ³J = 9.0 Hz, 2 H, (H₂C)₂NC_q(CH)₂), 5.33 (s, 2 H, OCH₂), 5.30 (s, 2 H, OCH₂), 3.83 (s, 6 H, (OCH₃)₂), 3.21 (t, ³J = 6.5 Hz, 4 H, N(CH₂)₂), 1.95 (m, 4 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂).

24.6 FM410: Dimethyl-3,3'-(((4-(((4-(pyrrolidin-1-yl)phenyl)amino)methyl)-1,2-phenylen)bis(oxy))bis(methylen))dibenzoat



Methode: C1

Experimentalteil

Ansatz: - Dimethyl-3,3'-(((4-((4-(pyrrolidin-1-yl)phenyl)carbamoyl)-1,2-phenylen)-bis(oxy))bis(methylen))dibenzoat (FM409):

1.00 g, 1.68 mmol (1.0 Äq.)

- Boran-THF-Lösung: 24.0 ml, 24.0 mmol (14.3 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [10/1] → [1/1]

Ausbeute: 110 mg, 189 μ mol (11 %)

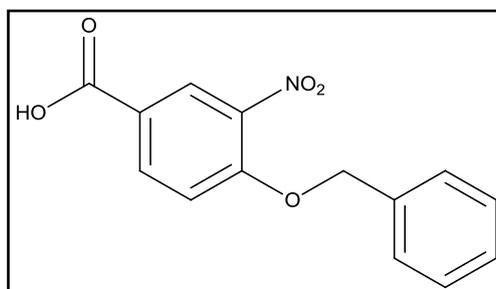
Summenformel: $C_{35}H_{36}O_6$

Molare Masse: 580.67 g/mol

R_f: 0.25 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.13 (s, 2 H, (CH₂C_q(CH)C_q)₂), 7.99 (d, ³J = 7.7 Hz, 2 H, (CH₂C_q(CH)(CH)(CH))₂), 7.67 (t, ³J = 7.6 Hz, 2 H, (CH₂C_q(CH)(CH)(CH))₂), 7.43 ((td, ³J = 7.8 Hz, ⁴J = 2.6 Hz, 2 H, (CH₂C_q(CH)(CH)(CH))₂), 7.03 (s, 1 H, HNCOC_q(CH)C_q), 6.91 (s, 2 H, HNCOC_q(CH)(CH)), 6.75 – 6.35 (br m, 3.5 H, NC_q(CH)₂(CH)₂C_qN), 5.17 (s, 2 H, OCH₂), 5.16 (s, 2 H, OCH₂), 4.20 (br s, 1.2 H, NCH₂), 3.90 (s, 6 H, (OCH₃)₂), 3.20 (br s, 3.8 H, N(CH₂)₂), 1.97 (m, 4 H, N(CH₂)₂(CH₂)₂).

25.1 FM361: 4-(Benzyloxy)-3-nitrobenzoesäure



Methode: G4

Experimentaltteil

Ansatz: - 4-Hydroxy-3-nitrobenzoesäure: 3.00 g, 16.4 mmol (1.0 Äq.)
- Kaliumcarbonat: 6.79 g, 49.1 mmol (3.0 Äq.)
- Benzylbromid: 8.40 g, 5.83 ml, 49.1 mmol (3.0 Äq.)

SC: Wurde nicht durch Säulenchromatographie aufgereinigt

Ausbeute: 1.91 g, 7.00 mmol (43 %)

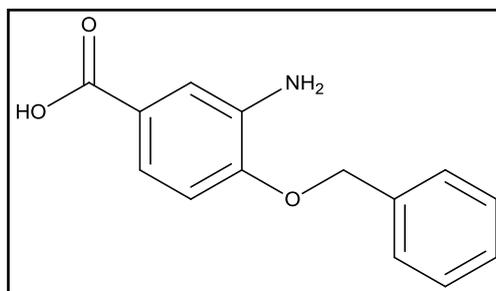
Summenformel: C₁₄H₁₁NO₅

Molare Masse: 273.24 g/mol

R_f: 0.20 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

¹H-NMR: (DMSO-d₆, 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.36 (d, ⁴J = 2.0 Hz, 1 H, C_q(CH)C_q), 8.17 (dd, ³J = 8.8 Hz, ⁴J = 1.8 Hz, 1 H, HOOC C_q(CH)(CH)), 7.55 (d, ³J = 8.8 Hz, 1 H, HOOC C_q(CH)(CH)), 7.42 (m, 5 H, CH_{Benzyl}), 5.40 (OCH₂).

25.2 FM362: 3-Amino-4-(benzyloxy)benzoesäure



Methode: F2

Ansatz: - 4-(Benzyloxy)-3-nitrobenzoesäure (FM361):
1.80 g, 6.59 mmol (1.0 Äq.)
- Zinn(II)-chlorid-dihydrat: 5.20 g, 23.1 mmol (3.5 Äq.)
- Salzsäure: 4.00 ml, 46.1 mmol (7.0 Äq.)

SC: Dichlormethan/Methanol [99/1] → [9/1]

Experimentaltteil

Ausbeute: 1.60 g, 6.58 mmol (99 %)

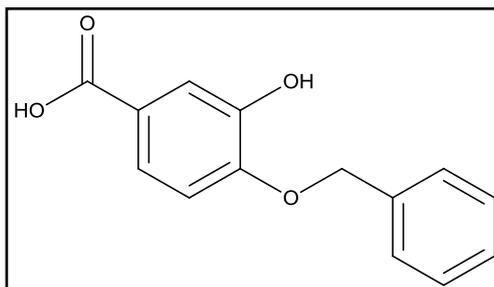
Summenformel: C₁₄H₁₃NO₃

Molare Masse: 243.26 g/mol

R_f: 0.10 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

¹H-NMR: (DMSO-d₆, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.83 (s, 1 H, C_q(CH)C_q), 7.74 (d, ³J = 8.6 Hz, 1 H, HOCC_q(CH)(CH)), 7.55 (d, ³J = 7.1 Hz, 2 H, H₂CC_q(CH)₂), 7.41 (t, ³J = 7.1 Hz, 2 H, H₂CC_q(CH)₂(CH)₂), 7.35 (tt (³J = 7.1 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, 1 H, H₂CC_q(CH)₂(CH)₂CH), 7.25 (d, ³J = 8.7 Hz, 1 H, HOCC_q(CH)(CH)), 5.30 (OCH₂).

25.3 FM368: 4-(Benzyloxy)-4-hydroxybenzoesäure



Methode: H5

Ansatz: - 3-Amino-4-(benzyloxy)benzoesäure (FM362):

1.24 g, 5.10 mmol (1.0 Äq.)

- Natriumnitrit: 350 mg, 5.10 mmol (1.0 Äq.)

SC: Wurde nicht durch Säulenchromatographie aufgereinigt

Ausbeute: 1.01 g, 4.14 mmol (81 %)

Summenformel: C₁₄H₁₂NO₄

Molare Masse: 244.24 g/mol

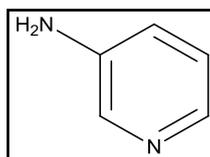
ESI-MS: Berechnet für C₁₄H₁₂NO₄: 244.24 g/mol; Gefunden: 245.3 g/mol

Experimentaltteil

R_f: 0.15 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

¹H-NMR: (MeOD-d₄, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.47 – 7.31 (m, 7 H, CH_{Ar}), 6.93 (d, ³J = 8.5 Hz, 1 H, HOCC_q(CH)(CH)), 5.16 (s, 2 H, OCH₂).

26.1 FM404: Pyridin-3-amin



Methode: H3

Ansatz:

- 3-Iodpyridin: 205 mg, 1.00 mmol (1.0 Äq.)
- Eisen(III)-oxid: 16.0 mg, 100 μmol (0.1 Äq.)
- Kupfer(I)-iodid: 19.1 mg, 100 μmol (0.1 Äq.)
- Natriumhydroxid: 80.0 mg, 2.00 mmol (2.0 Äq.)
- Ammoniaklösung: 340 mg, 5.00 mmol (5.0 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [10/1] → [1/1]

Ausbeute: 87 mg, 924 μmol (92 %)

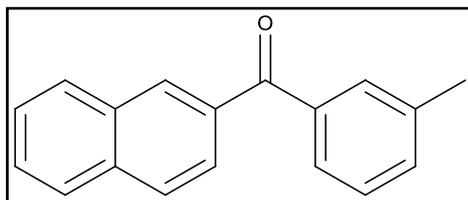
Summenformel: C₅H₆N₂

Molare Masse: 94.11 g/mol

R_f: 0.30 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 7.92 – 7.80 (m, 2 H, N(CH)₂), 6.89 – 6.79 (m, 2 H, N(CH)(CH)(CH)), 4.19 (s, 2 H, NH₂).

27.1 FM407: Naphtalen-2-yl(*m*-tolyl)methanon



Methode: J

Ansatz:

- Naphtalen-2-ylboronsäure: 1.72 g, 10.0 mmol (1.0 Äq.)
- 3-Methylbenzoylchlorid: 1.86 g, 1.60 ml, 12.0 mmol (1.2 Äq.)
- Natriumcarbonat: 1.70 g, 16.0 mmol (1.6 Äq.)
- Palladiumacetat/Kohle: 10.0 mg, (0.1 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [40/1] → [1/1]

Ausbeute: 1.46 g, 5.93 mmol (59 %)

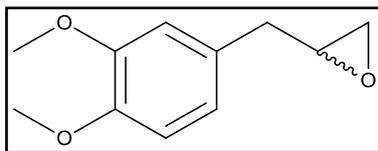
Summenformel: C₁₈H₁₄O

Molare Masse: 246.30 g/mol

R_f: 0.40 (Petrolether/Ethylacetat [9/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.29 (s, 1 H, COC_q(CH)C_q), 7.99 – 7.90 (m, 4 H, CH_{Ar}), 7.72 (s, 1 H, COC_q(CH)C_q), 7.67 – 7.55 (m, 3 H, CH_{Ar}), 7.44 – 7.40 (m, 2 H, CH_{Ar}), 2.45 (s, 3 H, H₃).

28.1 FM389: 2-(3,4-Dimethoxybenzyl)oxiran



Methode: K
 Ansatz: - 4-Allyl-1,2-dimethoxybenzol: 13.4 g, 75.0 mmol (1.0 Äq.)
 - *meta*-Chlorperbenzoesäure: 13.3 g, 77.0 mmol (1.0 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [40/1] → [1/1]

Ausbeute: 9.38 g, 48.0 mmol (64 %)

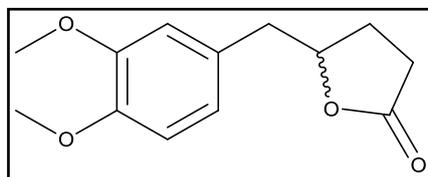
Summenformel: C₁₁H₁₄O₃

Molare Masse: 194.23 g/mol

R_f: 0.30 (Petrolether/Ethylacetat [9/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 6.74 (m, 3 H, CH_{Ar}), 3.83 (s, 3 H, OCH₃), 3.81 (s, 3 H, OCH₃), 3.08 (m, 1 H, OCHH), 2.74 (m, 3 H, OCHH, O(CH)(CHH)), 2.48 (m, 1 H, O(CH)(CHH)).

28.2 FM395: 5-(3,4-Dimethoxybenzyl)dihydrofuran-2(3H)-on



Methode: L (Geänderte Ansatzgrößen)

Experimentaltteil

Ansatz: - 2-(3,4-Dimethoxybenzyl)oxiran (FM389): 3.00 g, 15.4 mmol (1.0 Äq.)
- Natriumethanolat: 7.62 g, 141 mmol (7.0 Äq.)
- Diethylmalonat: 26.3 g, 164 mmol (8.0 Äq.)
- Natriumhydroxid: 32.8 g, 820 mmol (53.0 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [40/1] → [1/1]

Ausbeute: 2.54 g, 10.1 mmol (66 %)

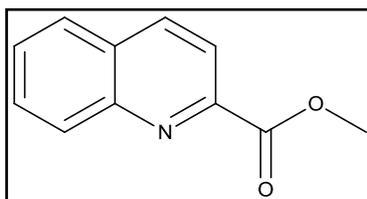
Summenformel: C₁₃H₁₆O₄

Molare Masse: 236.26 g/mol

R_f: 0.40 (Petrolether/Ethylacetat [4/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 6.77 – 6.70 (m, 3 H, CH_{Ar}), 4.66 (m, 1 H, OCH), 3.80 (s, 3 H, OCH₃), 3.79 (s, 3 H, OCH₃), 2.91 (dd, ²J = 14.2 Hz, ³J = 6.0 Hz, 1 H, Ph(CHH)), 2.83 (dd, ²J = 14.2 Hz, ³J = 6.0 Hz, 1 H, Ph(CHH)), 2.42 – 2.14 (m, 3 H, CO(CH₂)(CHH)), 1.91 – 1.83 (m, 1 H, CO(CH₂)(CHH)).

29.1 FM138: Methyl-quinolin-2-carboxylat



Methode: B2

Ansatz: - Quinolin-2-carbonsäure: 100 mg, 580 μmol (1.0 Äq.)
- Thionylchlorid: 484 mg, 0.30 ml, 5.80 mmol (7.0 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [40/1] → [1/1]

Ausbeute: 74.0 mg, 395 μmol (68 %)

Summenformel: C₁₁H₉NO₂

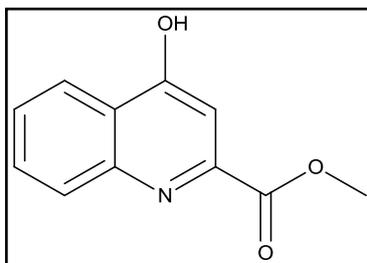
Experimentalteil

Molare Masse: 187.19 g/mol

R_f: 0.45 (Petrolether/Ethylacetat [9/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.23 (d, ³J = 8.7 Hz, 1 H, CH_{Ar}), 8.20 (d, ³J = 8.6 Hz, 1 H, CH_{Ar}), 8.09 (d, ³J = 8.5 Hz, 1 H, CH_{Ar}), 7.77 (d, ³J = 8.1 Hz, 1 H, CH_{Ar}), 7.69 (m, 1 H, CH_{Ar}), 7.54 (m, 1 H, CH_{Ar}), 4.00 (s, 3 H, OCH₃).

29.2 FM189: Methyl-4-hydroxyquinolin-2-carboxylat



Methode: B1

Ansatz: - 4-Hydroxyquinolin-2-carbonsäure: 100 mg, 529 μmol (1.0 Äq.)

- Schwefelsäure: Katalytische Menge

SC: Petrolether/Ethylacetat [9/1] → [1/1]

Ausbeute: 87.0 mg, 428 μmol (81 %)

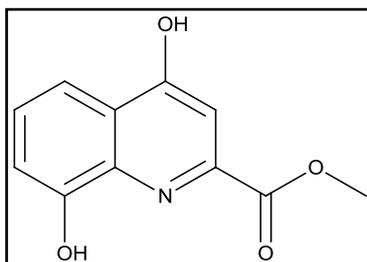
Summenformel: C₁₁H₉NO₃

Molare Masse: 203.19 g/mol

R_f: 0.40 (Petrolether/Ethylacetat [4/1])

¹H-NMR: (MeOD-d₄, 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.23 (ddd, ³J = 8.2 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, ⁵J = 0.5 Hz, 1 H, CH_{Ar}), 7.83 (d, ³J = 8.0 Hz, 1 H, CH_{Ar}), 7.75 (m, 1 H, CH_{Ar}), 7.45 (m, 1 H, CH_{Ar}), 6.93 (s, 1 H, CH_{Ar}), 4.04 (s, 3 H, OCH₃).

29.3 FM356: Methyl-4,8-dihydroxyquinolin-2-carboxylat

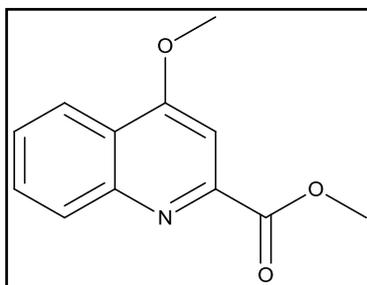


Methode: B1
 Ansatz: - 4,8-Dihydroxyquinolin-2-carbonsäure: 175 mg, 853 μmol (1.0 Äq.)
 - Schwefelsäure: Katalytische Menge
 SC: Petrolether/Ethylacetat [9/1] \rightarrow [1/1]
 Ausbeute: 150 mg, 684 μmol (80 %)
 Summenformel: $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{NO}_4$
 Molare Masse: 219.19 g/mol

R_f : 0.35 (Petrolether/Ethylacetat [4/1])

$^1\text{H-NMR}$: (DMSO- d_6 , 400.13 MHz), δ [ppm] = 11.02 (br s, 1 H, OH), 9.79 (br s, 1 H, OH), 7.54 (d, $^3\text{J} = 8.1$ Hz, 1 H, CH_{Ar}), 7.25 (br s, 1 H, CH_{Ar}), 7.15 (dd, $^3\text{J} = 7.7$ Hz, $^4\text{J} = 1.3$ Hz, 1 H, CH_{Ar}), 6.62 (br s, 1 H, CH_{Ar}), 3.95 (s, 3 H, OCH_3).

29.4 FM212: Methyl-4-methoxyquinolin-2-carboxylat



Methode: B1
 Ansatz: - 4-Methoxyquinolin-2-carbonsäure: 100 mg, 492 μmol (1.0 Äq.)
 - Schwefelsäure: Katalytische Menge

Experimentaltteil

SC: Petrolether/Ethylacetat [19/1] → [1/1]

Ausbeute: 87 mg, 401 μmol (82 %)

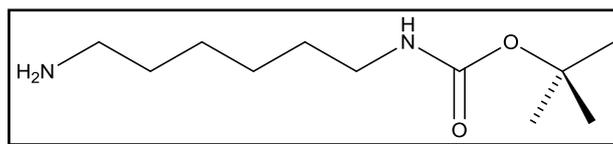
Summenformel: C₁₂H₁₁NO₃

Molare Masse: 217.22 g/mol

R_f: 0.25 (Petrolether/Ethylacetat [9/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 8.20 (d, ³J = 8.6 Hz, 2 H, CH_{Ar}), 7.73 (m, 1 H, CH_{Ar}), 7.56 (m, 2 H, CH_{Ar}), 4.09 (s, 3 H, OCH₃), 4.06 (s, 3 H, OCH₃).

30.1 FM240: *tert*-Butyl-(6-aminohexyl)carbammat



Methode: D1

Ansatz: - Hexan-1,6-Diamin: 6.65 g, 57.2 mmol (5.6 Äq.)

- Di-*tert*-butyldicarbonat: 2.25 g, 10.2 mmol (1.0 Äq.)

SC: Petrolether/Ethylacetat [9/1] → [1/1]

Ausbeute: 1.44 g, 6.66 mmol (65 %)

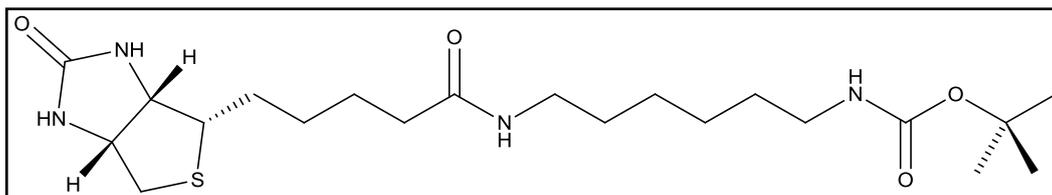
Summenformel: C₁₁H₂₄N₂O₂

Molare Masse: 216.32 g/mol

R_f: 0.20 (Petrolether/Ethylacetat [2/1])

¹H-NMR: (CDCl₃, 400.13 MHz), δ [ppm] = 4.69 (br s, 1 H, NH), 3.03 (s, 2 H, HNCH₂), 2.62 (s, 2 H, H₂NCH₂), 1.99 (s, 2 H, NH₂), 1.45 – 1.26 (m, 17 H, (CH₂)₄, C(CH₃)₃).

30.2 FM286: *N*-Biotin-*N*'-boc-1,6-hexandiamin



Methode: A3

Ansatz: - *tert*-Butyl-(6-aminohexyl)carbamate (FM240):

1.77 g, 8.19 mmol (1.0 Äq.)

- D-Biotin: 2.00 g, 8.19 mmol (1.0 Äq.)

- Triethylamin: 995 mg, 1.36 ml, 9.83 mmol (1.2 Äq.)

- DPPA: 2.93 g, 2.30 ml, 10.6 mmol (1.3 Äq.)

SC: Wurde nicht durch Säulenchromatographie aufgereinigt

Ausbeute: 3.16 g, 7.14 mmol (87 %)

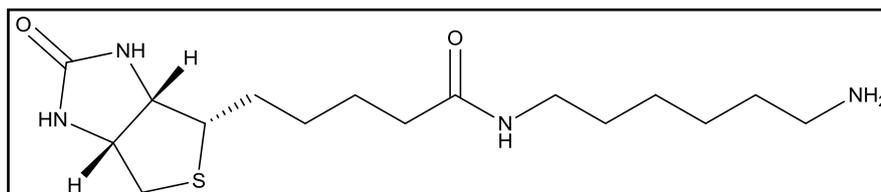
Summenformel: C₂₁H₃₈N₄O₄S

Molare Masse: 442.62 g/mol

R_f: 0.15 (Petrolether/Ethylacetat [1/1])

¹H-NMR: Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[47]

30.3 FM296: *N*-Biotin-1,6-hexandiamin



Methode: E4

Experimentalteil

Ansatz: - *N*-Biotin-*N'*-*boc*-1,6-hexandiamin (FM286):
3.10 g, 7.00 mmol (1.0 Äq.)
- Trifluoressigsäure: 7.98 g, 70.0 mmol (10.0 Äq.)

SC: Dichlormethan/Methanol [99/1] → [9/1]

Ausbeute: 2.34 g, 6.83 mmol (97 %)

Summenformel: C₁₆H₃₀N₄O₂S

Molare Masse: 342.50 g/mol

R_f: 0.20 (Dichlormethan/Methanol [9/1])

¹H-NMR: Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[47]

9.6 Elongin-B/C Aufreinigung

Der menschliche Elongin-B/C-Proteinkomplex wurde mittels pACYCDUET-EICB-Vector aus BL21 (DE3) Zellen exprimiert. Dazu wurden zunächst 50 ml pACYCDUET-EICB-Vector enthaltende BL21 (DE3) Starter-Kultur-Zellen über Nacht bei 37 °C in Gegenwart angemessener Antibiotika angezüchtet. Diese Zellen wurden anschließend zur Impfung von 500 ml LB (mit Antibiotika) genutzt. In 1 L-Kolben wuchsen diese für ungefähr 1-2 Stunden bei 37 °C. Die Proteinexpression wurde durch die Zugabe von 50 µL IPTG (1 M) gestartet. Nachdem die Lösung so über Nacht bei 18 °C geruht hatte, wurde anschließend eine Kontrolle per SDS-PAGE durchgeführt. Entscheidend ist, dass bei der Analyse zwei Banden, eine bei 11 kDA und eine bei 14 kDA, gefunden werden. Anschließend wurden die Zellen zentrifugiert und bis zur Aufreinigung bei – 80 °C aufbewahrt. Im Anschluss wurden die Elongin-B/C Pallets in 10 ml Puffer A (siehe unten) resuspendiert, mit PMSF versetzt und im Ultraschallbad lysiert. Zur Vervollständigung der Lyse wurde Lysozyme hinzugegeben und die Zellen für 30 Minuten auf Eis gerührt. Die lösliche Proteinfraction wurde durch Zentrifugation bei 30.000 g (40 Minuten) abgetrennt. Der Proteinkomplex wurde zunächst durch Ionen-Austausch-Chromatographie aufgereinigt (HiTrap QHP Säule, FPLC Flussrate von 0.25 ml/min, 0 – 1 M NaCl-Gradient über 15 Säulenvolumen). Genutzt wurden folgende Puffer: Puffer A (50 mM Tris HCl, 1 mM MgCl₂ pH 8.0); Puffer B (50 mM Tris HCl, 1 M NaCl, 1 mM MgCl₂ pH 8.0) Die einzelnen Fraktionen wurden wieder per SDS-PAGE analysiert, Elongin-B/C enthaltende Fraktionen vereinigt und auf ca. 500 µL aufkonzentriert. Weitere Aufreinigung des Proteinkomplexes erfolgte durch Größen-Ausschluss-Chromatographie. Dazu wurde eine Superose 12 10/300 Säule (GE Healthcare, FPLC Flussrate von 0.25 ml/min) und folgender Puffer genutzt: 20 mM HEPES, 150 mM NaCl, 1 mM DTT, 10 % Glycerol, pH 7.0. Elongin-B/C enthaltende Fraktionen wurden wieder vereinigt und bei – 80 °C aufbewahrt.

10 Literaturverzeichnis

- [1] *Medizinische Mikrobiologie*, H. Hof, R. Dörries, 4. vollst. überarb. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart; **2009**.
- [2] Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS): „Global report“; UNAIDS report on the global AIDS epidemics; **2012**.
- [3] J. L. Marx, *Science* **1982**, 217, 618 – 621.
- [4] D. K. Smith, L. A. Grohskopf, *MMWR. Recommendations and reports: Morbidity and mortality weekly report. Recommendations and reports / Center for Disease Control* **2005**, 54, 1 – 20.
- [5] A. Plettenberg, *Bundesgesundheitsblatt – Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz* **2000**, 13, 18 – 25.
- [6] O. Dosekun, J. Fox, *Current opinion in HIV and AIDS* **2010**, 5, 291 – 297.
- [7] R. F. Baggaley, R. G. White, M. C. Boily, *International Journal of Epidemiology* **2008**, 37, 1255 – 1265.
- [8] *Ratgeber für Ärzte: HIV/AIDS*, Robert Koch Institut **2011**.
- [9] K. M. de Cock, *Jama* **2000**, 283, 1175 – 1182.
- [10] *Mikrobiologische Diagnostik*, L. Gürtler, 2. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York; **2009**.
- [11] Kleinmann, *Jama* **1998**, 280, 1080 – 1085.
- [12] F. M. Hecht, *AIDS* **2002**, 8, 1119 – 1129.
- [13] B. Navia, *Oxford University Press* **1990**, 181 – 198.
- [14] W. Levinson, *Review of Medical Microbiology and Immunology* **2010**.
- [15] H. Deng, *Nature* **1996**, 381 (6584), 661 – 666.

- [16] C. E. Cameron, M. Gotte, K. D. Raney, *Viral Genome Replication*, 1. Auflage, Springer Verlag; **2009**.
- [17] J. Morales-Ramirez, H. Teppler, C. Kovacs, *ART-naïve* **2005**, 6, 17 – 20.
- [18] *Basiswissen Biochemie*, G. Löffler, 7. Auflage, Springer Verlag; **2008**.
- [19] P. Zhu, *Nature* **2006**, 441, 847 – 852.
- [20] K. H. Roux, K. A. Taylor, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2007**, 17, 109 – 113.
- [21] J. Liu, *Nature* **2008**, 455, 109 – 113.
- [22] D. C. Chan, *Cell* **1997**, 89, 263 – 273.
- [23] Y. Suzuki, R. Craigie, *Nat. Rev. Microbiol.* **2007**, 5, 187 – 196.
- [24] *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, K. Aktories, 10. Auflage, Urban und Fischer Verlag; **2009**.
- [25] S3-Leitlinie: *Antiretrovirale Therapie der HIV-Infektion*; AWMF-Registernummer 055/001; **2008**.
- [26] K. Brinkman, *Lancet* **1999**, 9184, 1112 – 1115.
- [27] S. C. Piscitelli, K. D. Gallicano, *N. Engl. J. Med.* **2001**, 334, 984 – 996.
- [28] Robbins, *N. Engl. J. Med.* **2003**, 349, 2293 – 2303.
- [29] “A novel pattern of lipocaccumulation in HIV-infected men”, *Jama* **2006**, 296, 766 – 768.
- [30] D. Torre, *HIV Clinical Trials 2* **2001**, 2, 113 – 121.
- [31] R. T. Steigbigel, D. A. Cooper, P. N. Kumar, *N. Engl. J. Med.* **2008**, 4, 339 – 354.
- [32] B. Dauer, *J. of HIV Therapy* **2005**, 4, 72 – 74.
- [33] G. Abbenante, D. P. Fairlie, *Med. Chem.* **2005**, 1, 71 – 104.
- [34] J. P. Lalezari, *N. Engl. J. Med.* **2003**, 22, 2175 – 2185.

- [35] K. N. Bishop, R. K. Holmes, A. M. Sheehy, M. H. Malim, *Science* **2004**, 305 (5684), 645.
- [36] M. H. Malim, *Comptes Rendus Biologies* **2006**, 329 (11), 871 – 875.
- [37] S. L. Sawyer, M. Emerman, H. S. Malik, *PLoS. Biol.* **2004**, 2 (9), 275.
- [38] A. M. Sheehy, N. C. Gaddis, J. D. Choi, M. H. Malim, *Nature* **2002**, 418 (6898), 646 – 650.
- [39] R. S. Harris, M. T. Liddament, *Nature Reviews Immunology* **2004**, 4, 868 – 877.
- [40] M. J. Wichroski, K. Ichiyama, T. M. Rana, *J. Biol. Chem.* **2005**, 280 (9), 8387 – 8396.
- [41] Dissertation von Armin Welker, **2013**, Würzburg.
- [42] R. Nathans, H. Cao, N. Sharova, A. Ali, M. Sharkey, R. Stranksa, M. Stevensen, T. M. Rana, *Nat. Biotechnol.* **2008**, 26 (10), 166 – 170.
- [43] Z. G. Peng, Z. Y. Zhao, Y. P. Li, Y. X. Han, *Hepatology* **2011**, 53 (4), 1080 – 1089.
- [44] S. Cen, Z. G. Peng, Y. X. Li, *Journal of Biological Chemistry* **2010**, 285 (22), 16546 – 16552.
- [45] Diplomarbeit von Christoph Menrath, **2011**, Würzburg.
- [46] T. Zuo, D. Liu, W. Lv, X. Wang, J. Wang, M. Lv, W. Huang, *Journal of Virology* **2012**, 86 (10), 5497 – 5507.
- [47] Grafit Version 5.0.13; Erithacus Software Ltd.: London, 2006.
- [48] P. L. Choyke, G. M. Glenn, M. M. Walther *et al.*, *Radiology*, **1995**, 194, 629 – 642.
- [49] E. R. Maher, L. Iselius, J. R. Yates *et al.*, *J Med Genet*, **1991**, 28, 443 – 447
- [50] W. G. Kaelin, *Clinical Cancer Research*, **2007**, 13 (2), 680 – 684.
- [51] Y. Takagi, A. Pause, R. C. Conaway, J. W. Conaway, *The Journal of Biological Chemistry*, **1997**, 272 (43), 27444 – 27449.

- [52] S. L. Kroll, W. R. Paulding, P. O. Schnell, M. C. Barton, J. W. Conaway, R. C. Conaway, M. F. Czyzyk-Krzeska, *The Journal of Biological Chemistry*, **1999**, 274 (44), 30109 – 30114.
- [53] Dissertation von Christian Büchold, **2009**, Würzburg.
- [54] S. W. Wright, D. L. Hageman, A. S. Wright, L. D. McClure, *Tetrahedron Letters* **1997**, 38 (42), 7345 – 7348.
- [55] Dissertation von Markus Schiller, **2009**, Würzburg.
- [56] World Intellectual Property Organization; International Publication Number: WO 2006/128803 A1
- [57] C. Pardo, E. Sesimo, E. Gutierrez-Puebla, A. Monge, J. Elguero, A. Fruchier, *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 1607 – 1611.
- [58] A. V. Smirnov, L. S. Kalandadze, V. N. Sakharov, M. V. Dorogov, A. V. Ivachtchenko, *J. Heterocyclic Chem* **2007**, 44, 1247 – 1251.
- [59] World Intellectual Property Organization; International Publication Number: WO 2008/157786 A1
- [60] V.A.Pal`chikov, I. N. Tarabara, S. V. Shishkina, O. V. Shishkin, N. Yu. Kol`tsov, L. I. Kas`yan, *Russian Journal of Organic Chemistry* **2007**, 43 (5), 660 – 673.
- [61] D. Bradley, G. Williams, A. Cullen, *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 9509 – 9512.
- [62] World Intellectual Property Organization; International Publication Number: WO 2007/026140 A2
- [63] Y. Catel, F. Aladedunye, R. Przybylski, *J. Agric. Food Chem.* **2010**, 58, 11081 – 11089.
- [64] A. Rostami, H. Jafari, *S. Afr. J. Chem* **2008**, 61, 115 – 118.
- [65] C. Liu, K. Kudo, Y. Hashimoto, K. Saigo, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 494 – 502.
- [66] World Intellectual Property Organization; International Publication Number: WO 2007/117465 A2
- [67] S. J. Gould, B. Shen, Y. G. Whittle, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 7932 – 7938.

- [68] X.F. Wu, C. Darcel, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 4753 – 4756.
- [69] R. N. Icke, C. E. Redemann, B. B. Wisegarver, G. A. Alles, *Organic Syntheses* **1955**, 3, 564.
- [70] B. Sreedhar, R. Arundhati, P. L. Reddy, M. L. Kantam, *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 7951 – 7954.
- [71] B. Xin, Y. Zhang, K. Cheng, *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 5725 – 5731.
- [72] Diplomarbeit von Matthias Rappold, **2010**, Würzburg.

11 Quellenverzeichnis

Abbildung 1.1, 1.2:

http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiol_epi/2012/gr2012/20121120_UNAIDS_Global_Report_2012_with_annexes_en.pdf

Abbildung 2.1:

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/6/66/HIV_Virion_de.svg/1000px-HIV_Virion_de.svg.png

Abbildung 2.3: http://www.chem.ucsb.edu/~molvisual/Img/142C/HIV_rev_trans.png

Abbildung 2.5: <http://biomacs.kuleuven.be/tetrameer-integrase-large.jpg>

Abbildung 2.6: <http://www.organische-chemie.ch/chemie/2007jan/polyme1.jpg>

Abbildung 2.2, 2.4, 2.7, 2.14; 2.16, 2.17:

Diplomarbeit von Christoph Menrath, **2011**, Würzburg. Diplomarbeit von Ferdinand Matz **2010**, Würzburg (Copyright eingeholt)

Abbildung 4.4.6: https://www.ifm.liu.se/applphys/molphys/equipment/spr/SPR_schem2.jpg

Abbildung 4.10: DFG-Antrag für Fördermittel **2011** (Prof. Schirmeister, Prof Rethwilm, Copyright eingeholt)