

**Synthese kleiner Substanzbibliotheken
zur Untersuchung von Polyamin-Bindungsstellen
des NMDA-Rezeptors**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften

vorgelegt beim Fachbereich Chemische und Pharmazeutische Wissenschaften
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
in Frankfurt am Main

von
Thomas Pöhler
aus Offenbach/Main

Frankfurt am Main 2003
(D F 1)

Vom Fachbereich Chemische und Pharmazeutische Wissenschaften der Johann Wolfgang Goethe-Universität als Dissertation angenommen.

Dekan: Prof. Dr. W. E. Müller

1. Gutachter: Prof. Dr. C. R. Noe

2. Gutachter: Prof. Dr. M. Schubert-Zsilavecz

3. Prüfer: Prof. Dr. H. Stark

4. Prüfer: Prof. Dr. D. Steinhilber

Datum der Disputation: 28.07.2003

Je planmäßiger die Menschen vorgehen,
desto wirksamer trifft sie der Zufall.

Friedrich Dürrenmatt

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Mai 1998 bis Mai 2001 am Institut für Pharmazeutische Chemie der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main, sowie in der Zeit von Juni 2001 bis Mai 2002 am Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Wien in Wien unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. C. R. Noe angefertigt. Herrn Prof. Dr. Noe danke ich für die herausfordernde und interessante Themenstellung, die fachliche Betreuung sowie für die Möglichkeit zum selbständigen wissenschaftlichen Arbeiten.

Meinem Laborkollegen Herrn Dipl.-Chem. Muhamed Jasic danke ich für eine andauernde Diskussionsbereitschaft und eine hervorragende und freundschaftliche Arbeitsatmosphäre. Im Besonderen sei auch den anderen Mitgliedern meiner Arbeitsgruppe aus Frankfurt zu danken, unter anderem Herrn Dr. Adil Duran, Frau Apothekerin Christa Edling, Frau Dipl.-Chem. Ina Frank, Herrn Dr. Michael Kock, Herrn Dr. Jens Kruse, Herrn Dr. Bodo Lachmann, Herrn Apotheker Ralf Lyssy, Herrn Dr. Oliver Schadt, Herrn Apotheker Wolfgang Schlags, Herrn Dr. Carsten Siebert, Herrn Dipl.-Chem. Martin Walter, Herrn Dr. Michael Walther und darüber hinaus allen nicht namentlich genannten Mitarbeitern unseres Arbeitskreises sowie des Graduiertenkollegs in Frankfurt, als auch meinen Kollegen in Wien für ihre stetige Hilfsbereitschaft und das besondere Arbeitsklima.

Frau Christoph aus dem Institut für Organische Chemie danke ich für die Anfertigung der Elementaranalysen sowie Frau Prieß, Frau Brill und Herrn Dr. Bodo Lachmann für die Aufnahme zahlreicher Massenspektren.

Auch Frau Ros und Herrn Dipl.-Ing. S. Bihler danke ich für die Anfertigung der NMR-Spektren während meiner Zeit in Frankfurt.

Herrn Dr. Michael Berger, Herrn Dr. Michael Kock, Herrn Dr. Bodo Lachmann, Frau Magistra Daniela Niepel sowie meiner Schwester Dipl.-Betriebswirtin H. Falkenberg danke ich für die sorgfältige Durchsicht der vorliegenden Arbeit.

Frau Apothekerin Christa Edling und Herrn Dr. Bodo Lachmann danke ich für die Aufnahme zahlreicher Elektropherogramme.

Ein besonderer Dank gilt an Herrn Dr. Michael Berger für die Durchführung zahlreicher Bindungsexperimente und die stete Diskussionsbereitschaft.

Herrn Dr. Dominik Kaiser danke ich für die computerunterstützten 3D-Graphiken.

Meinem Laborkollegen in Wien Herrn Dr. Hermann Kollmann gilt mein Dank für die zahlreichen fachlichen Diskussionen und aus den verschiedenen Forschungsprojekten entstandene konstruktive Zusammenarbeit.

Zu guter Letzt gilt ein besonderer Dank meiner Familie, die mich sowohl während der Promotion, als auch in der gesamten Zeit meines Studiums in vielerlei Hinsicht tatkräftig unterstützt hat.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Allgemeiner Teil	1
1 Einleitung.....	1
2 Die biogenen Polyamine.....	2
2.1 Spezifische Polyamin-Interaktionen.....	4
2.2 Der Polyamin-Metabolismus.....	6
2.3 Glutamat-Rezeptoren.....	9
2.3.1 Die Klassifizierung der Glutamat-Rezeptoren.....	10
2.4 Der NMDA-Rezeptor.....	12
2.4.1 Struktureller Aufbau.....	13
2.4.2 Neurologische Krankheiten in Zusammenhang mit Glutamat-Exzitotoxizität.....	15
2.4.3 Bindungsstellen und Liganden.....	18
2.4.3.1 Liganden der Glutamat-Bindungsstelle.....	19
2.4.3.2 Liganden der Glycin-Bindungsstelle.....	20
2.4.3.3 Kanalblockierende Liganden.....	21
2.4.3.4 Die Polyamin-Bindungsstellen.....	23
2.5 Pharmakologische Bindungsstudien.....	30
2.5.1 Das Prinzip der verwendeten Radioligand-Bindungsstudien.....	30
2.5.2 Ligand-Bindungsstellen-Wechselwirkung.....	31
2.5.3 Die unspezifische Bindung.....	33
2.5.4 Ligand-Bindungsstellen-Wechselwirkung bei Vorhandensein eines Inhibitors.....	34
2.6 Das Festphasensynthese-Konzept.....	36
2.6.1 Einführung.....	36
2.6.2 Allgemeine Festphasenpeptidsynthese.....	38
2.6.3 Schutzgruppen in der Peptidsynthese.....	40
2.6.4 Kopplungsmethoden.....	42
2.6.5 Die Herstellung molekularer Vielfalt.....	46
2.6.5.1 Die parallel serielle Synthese an fester Phase.....	46
2.6.5.2 Die parallel divergente Synthese an fester Phase.....	48
2.6.5.3 Die kombinatorische Festphasensynthese.....	49
2.7 Problemstellung.....	50
Spezieller Teil	52
3 Vorarbeiten.....	52
3.1 Die Leitstruktur.....	53
3.2 Die Variation der kurzen Alkylseitenkette.....	54
3.2.1 Chemische Synthese von N-3-T-8-N.....	54
3.2.2 Struktur-Wirkungs-Beziehungen.....	58
3.3 Die Variation der Arylsubstruktur.....	58
3.3.1 Chemische Synthese von N-4-A-8-N.....	59

3.3.2	Chemische Synthese von N-4-P-8-N.....	63
3.3.3	Struktur-Wirkungs-Beziehungen.....	64
3.4	Variationen der langen Alkylseitenkette.....	66
3.4.1	Insertion amidischer Strukturelemente.....	66
3.4.1.1	Vorarbeiten.....	66
3.4.2	Festphasensynthese von Liganden mit einer Amidinsertion.....	67
3.4.2.1	Synthese des Diaminbausteins.....	68
3.4.2.2	Auswahl und Synthese der geschützten β -Alaninderivate.....	70
3.4.2.3	Reaktionsschema der durchgeführten Festphasensynthese.....	72
3.4.2.4	Die Reaktionskontrolle der kombinatorischen Syntheseschritte.....	75
3.4.2.5	Struktur-Wirkungs-Beziehungen.....	77
3.4.3	Festphasensynthese von Liganden mit mehreren Amidinsertionen.....	80
3.4.3.1	Vorarbeiten.....	80
3.4.3.2	Erweiterte Zielstrukturen.....	81
3.4.3.3	Die Synthese der monogeschützten Diaminbausteine.....	83
3.4.3.4	Die Auswahl der geschützten Aminosäurederivate.....	89
3.4.3.5	Reaktionsschema der geplanten Festphasensynthese.....	91
3.4.3.6	Die Reaktionskontrolle der kombinatorischen Syntheseschritte.....	99
3.4.3.7	Die resultierenden Ligandenbibliotheken.....	101
3.4.3.8	Struktur-Wirkungs-Beziehungen.....	102
3.4.3.8.1	Pharmakologie der Thienylanaloga.....	102
3.4.3.8.2	Pharmakologischer Vergleich der Benzolanaloga.....	107
3.4.4	Festphasensynthese von Liganden mit basischen Seitenketten-funktionen.....	110
3.4.4.1	Vorarbeiten.....	110
3.4.4.2	Neue Zielstrukturen.....	110
3.4.4.3	Die Auswahl der geschützten Aminosäuren.....	111
3.4.4.4	Das Schema der geplanten Festphasensynthese.....	112
3.4.4.5	Die Auswertung der kombinatorischen Syntheseschritte.....	114
3.4.4.6	Die resultierende Ligandenbibliothek.....	115
3.4.4.7	Struktur-Wirkungs-Beziehungen.....	116
3.4.5	Festphasensynthese von Liganden mit variierten Amidinsertionen.....	119
3.4.5.1	Die Auswahl der geschützten Aminosäuren.....	122
3.4.5.2	Das Festphasensynthese-Schema.....	123
3.4.5.3	Die Pharmakologie der resultierenden Liganden.....	128
3.5	Variation der terminalen Aminfunktionen.....	131
3.5.1	Chemische Synthese.....	131
3.5.2	Struktur-Wirkungs-Beziehungen.....	138
3.6	Zusammenfassung.....	140
	Experimenteller Teil.....	143
4	Allgemeine experimentelle Bedingungen.....	143

5	Verwendete Abkürzungen	146
6	Materialien	148
7	Allgemeine Arbeitsvorschriften für die Synthesen in Lösung	149
7.1	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 1) für die Bildung von Methylestern	149
7.2	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 2) für eine Wolff-Kishner-Reduktion	149
7.3	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 3) für eine Friedel-Crafts-Acylierung	150
7.4	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 4) für die Bildung eines Amides aus einer Carbonsäure	150
7.5	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 5) für die LiAlH_4 -Reduktion eines Amides zum Amin	151
7.6	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 6) für die Bildung eines Carbamates	151
7.7	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 7) für die saure Hydrogenolyse einer Carbonyl-Funktion (Desoxygenierung)	152
7.8	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 8) für die alkalische Verseifung von Estern	152
7.9	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 9) für die <i>N</i> -Boc-Schutzgruppenabspaltung	152
7.10	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 10) für die <i>N</i> -Fmoc-Schätzung von Aminosäuren	153
7.11	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 11) für die Guanidierung einer primären Aminofunktion	153
8	Festphasensynthetische Arbeitsvorschriften	154
8.1	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 12) für die Silylierung von Glasgeräten	154
8.2	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 13) für die Aktivierung des Wang [®] -Harzes	154
8.3	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 14) für die Kopplung eines monogeschützten Diaminbausteins an das <i>p</i> -Nitrophenyl-carbonat-Wang [®] -Harz	155
8.4	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 15) für die Ankopplung symmetrischer, aliphatischer Diamine an Tritylharze	155
8.5	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 16) zur Durchführung eines qualitativen Kaiser-Tests	156
8.6	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 17) für die Bestimmung der Harzbelegung mit Hilfe eines quantitativen Kaiser-Tests	156
8.7	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 18) für einen quantitativen Fmoc-Test	157
8.8	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 19) für die Ankopplung von <i>N</i> -geschützten Aminosäuren	158
8.9	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 20) für die reduktive Aminierung am polymeren Träger	159
8.10	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 21) für die Boran-Reduktion am Polymer	159
8.11	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 22) für die Abspaltung vom Wang [®] -Polymer	159
8.12	Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 23) für die Abspaltung vom Chlortrityl-Harz	160
9	Synthesevorschriften	161
9.1	Synthese von Methyl-4-phenylbutanoat 44	161
9.2	Synthese von Ethyl-8-[4-(4-methoxy-4-oxobutyl)phenyl]-8-oxooctanoat 45	163
9.3	Synthese von 8-[4-(3-Carboxypropyl)phenyl]-8-oxooctansäure 46	165
9.4	Synthese von 8-[4-(3-Carboxypropyl)phenyl]octansäure 47	167
9.5	Synthese von 8-[4-(4-Amino-4-oxobutyl)phenyl]octanamid 48	169
9.6	Synthese von 4-[4-(8-Ammoniooctyl)phenyl]butyl-ammonium-dichlorid 23	171
9.7	Synthese von 4-(Tritylamino)-1-butanol 30	173
9.8	Synthese von (4-Bromobutyl)ammoniumchlorid 26	175

9.9	Synthese von 4-Brombutan-1-ol 33	177
9.10	Synthese von 2-(4-Bromobutoxy)-tetrahydro-2H-pyran 34.....	179
9.11	Synthese von 2-(5-Hexenyloxy)tetrahydro-2H-pyran 35.....	181
9.12	Synthese von 8-Bromooctan-1-ol 37.....	183
9.13	Synthese von 2-[(8-Bromooctyl)oxy]tetrahydro-2H-pyran 38.....	185
9.14	Synthese von 2-[[14-Tetrahydro-2H-2-pyraniloxy]-5-tetradecinyloxy]tetrahydro-2H-pyran 39.....	187
9.15	Synthese von 5-Tetradecin-1,14-diol 40	189
9.16	Synthese von 14-[(Methylsulfonyl)oxy]-9-tetradecylmethan-sulfonat 41	191
9.17	Synthese von 1,14-Diazido-5-tetradecin 42	193
9.18	Synthese von (14-Ammonio-9-tetradecyl)ammoniumdichlorid 24	195
9.19	Synthese von Methyl 4-(2-thienyl)butanoat 56.....	197
9.20	Synthese von 4-[5-(4-Methoxy-4-oxobutyl)-2-thienyl]-4-oxobutansäure 57.....	199
9.21	Synthese von 4-[5-(3-Carboxypropyl)-2-thienyl]butansäure 58	201
9.22	Synthese von 4-[5-(Amino-4-oxobutyl)-2-thienyl]butanamid 59	203
9.23	Synthese von {4-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]butyl}-ammoniumdichlorid 52	205
9.24	Synthese von Methyl-N-phenethylcarbammat 99	207
9.25	Synthese von Methyl-5-(4-{2-[(methoxycarbonyl)amino]ethyl}-phenyl)-5-oxopentanoat 100	209
9.26	Synthese von Methyl-5-(4-{2-[(methoxycarbonyl)amino]ethyl}-phenyl)-5-oxopentansäure 101..	211
9.27	Synthese von 5-(4-{2[(methoxycarbonyl)amino]ethyl}phenyl)-pentansäure 102	213
9.28	Synthese von 5-[4-(2-{[9H-9-Fluorenylmethoxy]carbonyl}amino)ethyl]phenyl]pentansäure 104	215
9.29	Synthese von 9H-9-Fluorenylmethyl N-[4-(5-amino-5-oxopentyl)-phenethyl]carbammat 105.....	218
9.30	Synthese von 9H-9-Fluorenylmethyl N-[4-(4-ammoniobutyl)-phenethyl]carbammat 2,2,2-trifluoracetat 106.....	220
9.31	Synthese von 9H-9-Fluorenylmethyl N-[4-(tert-butoxycarbonyl-4-aminobutyl)phenethyl]carbammat 107.....	222
9.32	Synthese von 9H-9-Fluorenylmethyl-N-[4-(4-ammoniobutyl)-phenethyl]carbamatchlorid 108	224
9.33	Synthese von Methyl-5-(5-{2-[(methoxycarbonyl)amino]ethyl}-2-thienyl)-5-oxopentanoat 89.....	226
9.34	Synthese von 5-(2-[(Methoxycarbonyl)amino]ethyl)-2-thienyl)-5-oxopentansäure 90.....	228
9.35	Synthese von 5-(2-[(Methoxycarbonyl)amino]ethyl)-2-thienyl)-pentansäure 91	230
9.36	Synthese von 5-[5-(2-{[(9H-9-Fluorenylmethoxy)-carbonyl]amino}ethyl)-2-thienyl]pentansäure 93	232
9.37	Synthese von 9H-9-Fluorenylmethyl N-{2-[5-(5-amino-5-oxopentyl)-2-thienyl]ethyl}carbammat 94	234
9.38	Synthese von 9H-9-Fluorenylmethyl N-{2-[5-(4-ammoniobutyl)-2-thienyl]ethyl}carbammat 2,2,2-trifluoracetat 95	236
9.39	Synthese von 9H-9-Fluorenylmethyl N-{2-[5-(tert-butoxy-carbonyl-4-aminobutyl)-2-thienyl]ethyl}carbammat 96.....	238
9.40	Synthese von 9H-9-Fluorenylmethyl N-{2-[5-(4-ammoniobutyl)-2-thienyl]ethyl}carbammat chlorid 97	240
9.41	Synthese von 2-Phenylacrylsäure 61.....	242

9.42	Synthese von <i>DL</i> -3-Amino-2-phenyl-propionsäure 62.....	244
9.43	Synthese von <i>DL</i> -3-{{(9 <i>H</i> -9-Fluorenylmethoxy)carbonyl}amino}-2-phenylpropansäure 63.....	246
9.44	Synthese von <i>DL</i> -3-{{(9 <i>H</i> -9-Fluorenylmethoxy)carbonyl}amino}-2-methylpropansäure 65	248
9.45	Synthese von <i>DL</i> -3-{{(9 <i>H</i> -9-Fluorenylmethoxy)carbonyl}amino}-3-phenylpropansäure 67.....	250
9.46	Synthese von <i>DL</i> -3-{{(9 <i>H</i> -9-Fluorenylmethoxy)carbonyl} amino}-3-methylpropansäure 69	252
9.47	Synthese von 1 <i>H</i> -Pyrazol-1-[<i>N,N</i> '-bis(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)]carboxamidin 205	254
9.48	Synthese von <i>tert</i> -Butyl- <i>N</i> -({[8-(5-{4-[2,3-bis(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-guanidino]butyl}-2-thienyl)octyl]amino}{(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-amino)methyliden}carbamat 206.....	256
9.49	Synthese von [(4-[5-(8-{[Ammonio(imino)methyl]amino}octyl)-2-thienyl]butyl}amino)(imino)methyl]ammoniumdichlorid 206.....	258
9.50	Synthese von 2,2-Dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion 16.....	260
9.51	Synthese von Ethyl-3-oxo-3-(2-thienyl)propanoat 14	262
9.52	Synthese von 3-(2-Thienyl)propansäure.....	264
9.53	Synthese von Methyl-3-(2-thienyl)propanoat.....	266
9.54	Synthese von Ethyl 8-[5-(3-methoxy-3-oxopropyl)-2-thienyl]-8-oxooctanoat 19.....	268
9.55	Synthese von 8-[5-(2-carboxyethyl)-2-thienyl]-8-oxooctansäure 20.....	270
9.56	Synthese von 8-[5-(2-carboxyethyl)-2-thienyl]octansäure 21	272
9.57	Synthese von 8-[5-(3-Amino-3-oxopropyl)-2-thienyl]octanamid 22.....	274
9.58	Synthese von {3-[5-(8-Ammoniooctyl)-2-thienyl] propyl}-ammoniumdichlorid 9	276
9.59	Synthese von <i>tert</i> -Butyl- <i>N</i> -({[8-(5-{3-[2,3-bis(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-guanidino]propyl}-2-thienyl)octyl]amino}{(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-amino)methyliden}carbamat.....	278
9.60	Synthese von [(3-[5-(8-{[Ammonio(imino)methyl]amino}octyl)-2-thienyl]propyl}amino)(imino)methyl]ammoniumdichlorid 207.....	280
9.61	Synthese von Ethyl-7-[5-(3-methoxy-3-oxopropyl)-2-thienyl]-7-oxoheptanoat 212	282
9.62	Synthese von 7-[5-(2-Carboxyethyl)-2-thienyl]-7-oxoheptansäure 213	284
9.63	Synthese von 7-[5-(2-Carboxyethyl)-2-thienyl]heptansäure 214	286
9.64	Synthese von 7-[5-(3-Amino-3-oxopropyl)-2-thienyl]heptanamid 215.....	288
9.65	Synthese von <i>tert</i> -Butyl- <i>N</i> -({[7-(5-{3-[2,3-bis(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-guanidino]propyl}-2-thienyl)heptyl]amino}{(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-amino)methyliden}carbamat 216.....	290
9.66	Synthese von [(7-[5-(3-{[Ammonio(imino)methyl]amino}propyl)-2-thienyl]heptyl}amino)(imino)methyl]ammoniumdichlorid 208	292
9.67	Synthese von Methyl-6-[5-(2-ethoxy-2-oxoethyl)-2-thienyl]-6-oxohexanoat 218	294
9.68	Synthese von 6-[5-(Carboxymethyl)-2-thienyl]-6-oxohexansäure 219	296
9.69	Synthese von 6-[5-(Carboxymethyl)-2-thienyl]hexansäure 220.....	298
9.70	Synthese von 6-[5-(2-Amino-2-oxoethyl)-2-thienyl]hexanamid 221	300
9.71	Synthese von <i>tert</i> -Butyl- <i>N</i> -({[6-(5-{2-[2,3-bis(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-guanidino]ethyl}-2-thienyl)hexyl]amino}{(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-amino)methyliden}carbamat 222.....	302
9.72	Synthese von [(2-[5-(6-{[Ammonio(imino)methyl] amino}hexyl)-2-thienyl]ethyl}amino)(imino)methyl]ammoniumdichlorid 209	304
10	Lokanden	306

11 Analytik der festphasensynthetisch hergestellten Verbindungen	307
11.1 [3-(4-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]butylamino)-1-methyl-3-oxopropyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 77	307
11.2 [3-(4-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]butylamino)-2-methyl-3-oxopropyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 78	308
11.3 [3-(4-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]butylamino)-3-oxo-1-phenylpropyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 79	309
11.4 [3-(4-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]butylamino)-3-oxo-2-phenylpropyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 80	310
11.5 ((1 <i>R</i>)-2-[(1 <i>R</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-2-oxo-1-phenylethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)ammonium-di(2,2,2-trifluoroacetat) 127	311
11.6 ((1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-2-oxo-1-phenylethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl)ammonium- di(2,2,2-trifluoroacetat) 128	312
11.7 [(1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-2-oxo-1-phenylethyl]amino-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 129	313
11.8 [(1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-2-oxo-1-phenylethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolymethyl)-2-oxoethyl]-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 130	314
11.9 [(1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-2-oxo-1-phenylethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -3-indolymethyl)-2-oxoethyl]-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 131	315
11.10 ((1 <i>R</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-benzyl-2-oxoethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 132	316
11.11 ((1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-benzyl-2-oxoethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl)ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 133	317
11.12 [(1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-benzyl-2-oxoethyl]amino-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 134	318
11.13 [(1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-benzyl-2-oxoethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolymethyl)-2-oxoethyl]-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 135	319
11.14 [(1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-benzyl-2-oxoethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -3-indolymethyl)-2-oxoethyl]-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 136	320
11.15 ((1 <i>R</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 137	321
11.16 ((1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl)-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 138	322
11.17 [(1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]amino-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 139	323
11.18 [(1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolymethyl)- 2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 140	324
11.19 [(1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -3-indolymethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 141	325

11.20 ((1 <i>R</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)-ammoniumdi(2,2,2-trifluoroacetat) 142	326
11.21 ((1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl)-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 143	327
11.22 [(1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 125	328
11.23 [(1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolyl-methyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 144	329
11.24 [(1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -3-indolyl-methyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 145	330
11.25 ((1 <i>R</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(1 <i>H</i> -3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 146	331
11.26 ((1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(1 <i>H</i> -3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl)-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 147	332
11.27 [(1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(1 <i>H</i> -3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 148	333
11.28 [(1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(1 <i>H</i> -3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolyl-methyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 149	334
11.29 [(1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(1 <i>H</i> -3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 150.....	335
11.30 (1 <i>S</i>)-2-(((1 <i>R</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)amino)-2-oxo-1-phenylethylammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 151	336
11.31 (1 <i>R</i>)-2-(((1 <i>R</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)amino)-1-benzyl-2-oxoethylammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 152.....	337
11.32 [(1 <i>R</i>)-2-(((1 <i>R</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)amino)-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 153.....	338
11.33 [(1 <i>R</i>)-2-(((1 <i>R</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)amino)-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 154	339
11.34 [(1 <i>R</i>)-2-(((1 <i>R</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)amino)-1-(1 <i>H</i> -3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 155	340
11.35 (1 <i>S</i>)-2-(((1 <i>S</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl)amino)-2-oxo-1-phenylethylammonium di(2,2,2-trifluoro-acetat) 156.....	341
11.36 (1 <i>R</i>)-2-(((1 <i>S</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl)amino)-1-benzyl-2-oxoethylammonium di(2,2,2-trifluoro-acetat) 157	342
11.37 [(1 <i>R</i>)-2-(((1 <i>S</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl)amino)-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 158.....	343
11.38 [(1 <i>R</i>)-2-(((1 <i>S</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl)amino)-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 159	344

11.39 [(1 <i>R</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl]amino]-1-(1 <i>H</i> -3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 160.....	345
11.40 ((1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(4-hydroxy-benzyl)-2-oxoethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 161	346
11.41 ((1 <i>R</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(4-hydroxy-benzyl)-2-oxoethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl)-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 162	347
11.42 [(1 <i>R</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]amino-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 163	348
11.43 [(1 <i>R</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 164	349
11.44 [(1 <i>R</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 165.....	350
11.45 ((1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 166	351
11.46 ((1 <i>R</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl)-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 167.....	352
11.47 [(1 <i>R</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 126.....	353
11.48 [(1 <i>R</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 168	354
11.49 [(1 <i>R</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 169.....	355
11.50 ((1 <i>S</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 170	356
11.51 ((1 <i>R</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl)ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 171	357
11.52 [(1 <i>R</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 172.....	358
11.53 [(1 <i>R</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 173.....	359
11.54 [(1 <i>R</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1 <i>H</i> -3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 174	360
11.55 {(1 <i>S</i>)-4- {[Amino(imino)methyl]amino}-1-[(1 <i>R</i>)-4- {[amino-(imino)methyl]amino}-1-[(2-[5-(4-ammoniobutyl)-2-thienyl]-ethyl)amino]carbonyl]butyl}amino)carbonyl]-1-methylbutyl}-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 178.....	361
11.56 [(1 <i>S</i>)-2-({(1 <i>R</i>)-4- {[Amino(imino)methyl]amino}-1-[(2-[5-(4-ammoniobutyl)-2-thienyl]ethyl)amino]carbonyl]butyl}amino)-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolylmethyl)-1-methyl-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 179.....	362

11.57	{(1 <i>S</i>)-5-Amino-1-[(1 <i>R</i>)-4-{[amino(imino)methyl]amino}-1-[(2-[5-(4-ammoniobutyl)-2-thienyl]ethyl)amino]carbonyl]butyl}amino)-carbonyl]pentyl}ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 180	363
11.58	[(1 <i>R</i>)-4-{[Amino(imino)methyl]amino}-1-[(1 <i>R</i>)-2-({2-[5-(4-ammoniobutyl)-2-thienyl]ethyl}-amino)-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino}carbonyl]butyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 181	364
11.59	[(1 <i>S</i>)-5-Amino-1-({[(1 <i>R</i>)-2-({2-[5-(4-ammoniobutyl)-2-thienyl]-ethyl}amino)-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino}-carbonyl]pentyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 182	365
11.60	((1 <i>R</i>)-1-[(1 <i>S</i>)-5-Amino-1-[(2-[5-(4-ammoniobutyl)-2-thienyl]-ethyl)amino]carbonyl]-pentyl}amino)carbonyl]-4-{[amino(imino)-methyl]amino}butyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 183	366
11.61	[(1 <i>R</i>)-2-({(1 <i>S</i>)-5-Amino-1-[(2-[5-(4-ammoniobutyl)-2-thienyl]-ethyl)amino]carbonyl]pentyl}-amino)-1-(1 <i>H</i> -4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 184	367
11.62	{(1 <i>S</i>)-5-Amino-1-[(1 <i>S</i>)-5-amino-1-[(2-[5-(4-ammoniobutyl)-2-thienyl]ethyl)amino]carbonyl]-pentyl}amino)carbonyl]pentyl} ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 185	368
11.63	{(1 <i>R</i>)-5-Amino-1-[(1 <i>S</i>)-5-amino-1-[(2-[5-(4-ammoniobutyl)-2-thienyl]ethyl)amino]carbonyl]-pentyl}amino)carbonyl]pentyl} ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 186	369
11.64	(1 <i>S</i>)-3-[4-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]butyl(benzyl)amino]-1-benzyl-3-oxopropylammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 189	370
11.65	(1 <i>S</i>)-3-[4-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]butyl(benzyl)amino]-1-benzylpropylammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 190	371
11.66	(1 <i>R</i>)-2-[4-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]butyl(benzyl)amino]-1-benzyl-2-oxoethylammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 200	372
11.67	(1 <i>R</i>)-2-[4-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]butyl(benzyl)amino]-1-benzylethylammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 201	373
12	Literaturverzeichnis	374

Allgemeiner Teil

1 Einleitung

Neurodegenerative Erkrankungen des Alters können mit großer Wahrscheinlichkeit als „neue Geißel“ des 21. Jahrhunderts angesehen werden. Durch die erfolgreiche Behandlung von Infektionskrankheiten sowie eine verbesserte Therapierbarkeit von Volkskrankheiten wie z. B. Diabetes melitus und Hypertonie führen in der Bevölkerung der westlichen Industrienationen zu einem beträchtlichen Anstieg der Lebenserwartung. Wie das statistische Bundesamt in Deutschland mitteilt¹, liegt die durchschnittliche Lebenserwartung für einen neugeborenen Jungen bei 74,8 Jahren und für ein Mädchen bei 80,8 Jahren. Aufgrunddessen verschiebt sich die Bevölkerungspyramide zugunsten höherer Alterstufen, sodaß altersabhängig auftretende Erkrankungen langsam in den Vordergrund rücken. Hierzu zählen vor allem neurodegenerative Erkrankungen. Viele Erkrankungen des zentralen Nervensystems (ZNS) des Menschen sind darauf zurückzuführen, daß Nervenzellen oder die sie umgebenden Umhüllungszellen (Oligodendrozyten) absterben. Beispiele für solche Erkrankungen sind u. a. der Morbus Parkinson, die Alzheimersche Demenz, die Chorea Huntington oder auch die Multiple Sklerose. Leider ist bis dato in den meisten Fällen eine kausale und kurative Therapie noch nicht möglich, wobei auch die diagnostischen Möglichkeiten häufig stark eingeschränkt sind. Heutzutage geht man davon aus, daß bei diesen Erkrankungen das Immunsystem fehlgeleitet wird, sodaß dieses die für die Erregungsfortleitung der Nervenzelle wichtigen Axone zerstört. Bei den komplexen pathologischen Vorgängen dieser Erkrankungen kommt es u. a. zu einer Überstimulation beteiligter Glutamatrezeptoren. Diese Rezeptoren sind Sensoren der Nervenzellen für den erregenden Neurotransmitter Glutamat. Eine herausragende Vorrangstellung in der Klasse der Glutamat-Rezeptoren nimmt der sogenannte N-Methyl-D-Aspartat-(NMDA)-Rezeptor ein. Aufgrund der Vielzahl seiner regulatorischen Bindungsstellen ergeben sich zahlreiche Möglichkeiten, in die Funktionen dieses Ionenkanals regulatorisch einzugreifen. Aus diesem Grund werden zahlreiche Bemühungen unternommen, unterschiedliche pathologische Prozesse durch die Verwendung geeigneter Liganden gezielt zu beeinflussen. Die Synthese und Untersuchung von Liganden für die modulatorisch wirkende Polyaminbindungsstelle des NMDA-Rezeptors steht im Mittelpunkt dieser Arbeit.

2 Die biogenen Polyamine

Die biogenen Polyamine Spermidin, Spermin und deren Vorstufe Putrescin sind in allen Geweben von fast allen lebenden Spezies auffindbar^{2,3}. Während prokaryotische Zellen hauptsächlich Putrescin und Spermidin aufweisen, enthalten eukaryotische Zellen zusätzlich noch Spermin⁴. Einige Pflanzen sowie Algen und einige Arten von Bakterien können auch Analoge von Putrescin, Spermidin oder Spermin auf Basis der Struktur von Cadaverin oder 1,3-Propandiamin aufweisen.

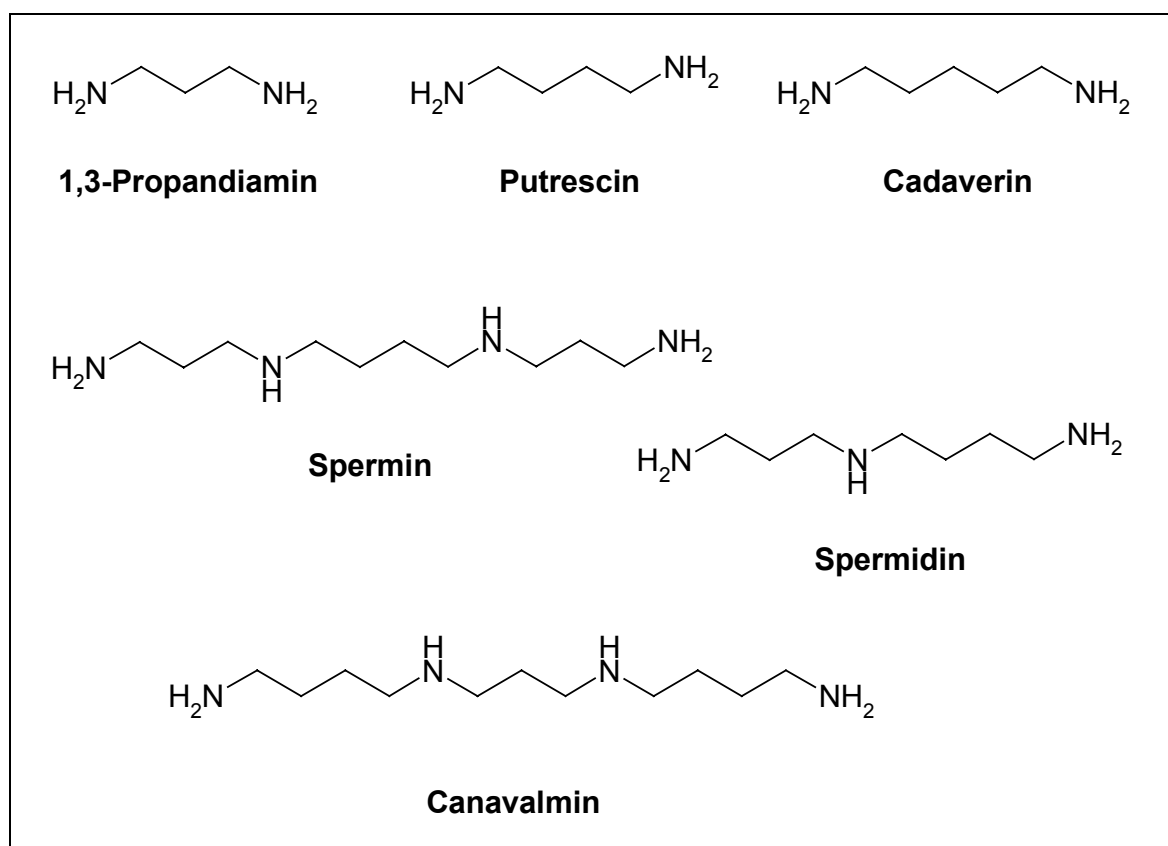


Abb. 1: Weit verbreitete natürliche Polyamine

Spermin wurde zum ersten Mal 1678 von Leeuwenhoek⁵ beschrieben, wobei das Verständnis über die Bedeutung von Polyaminen in biologischen Prozessen erst in den 70er Jahren Fortschritte machte.

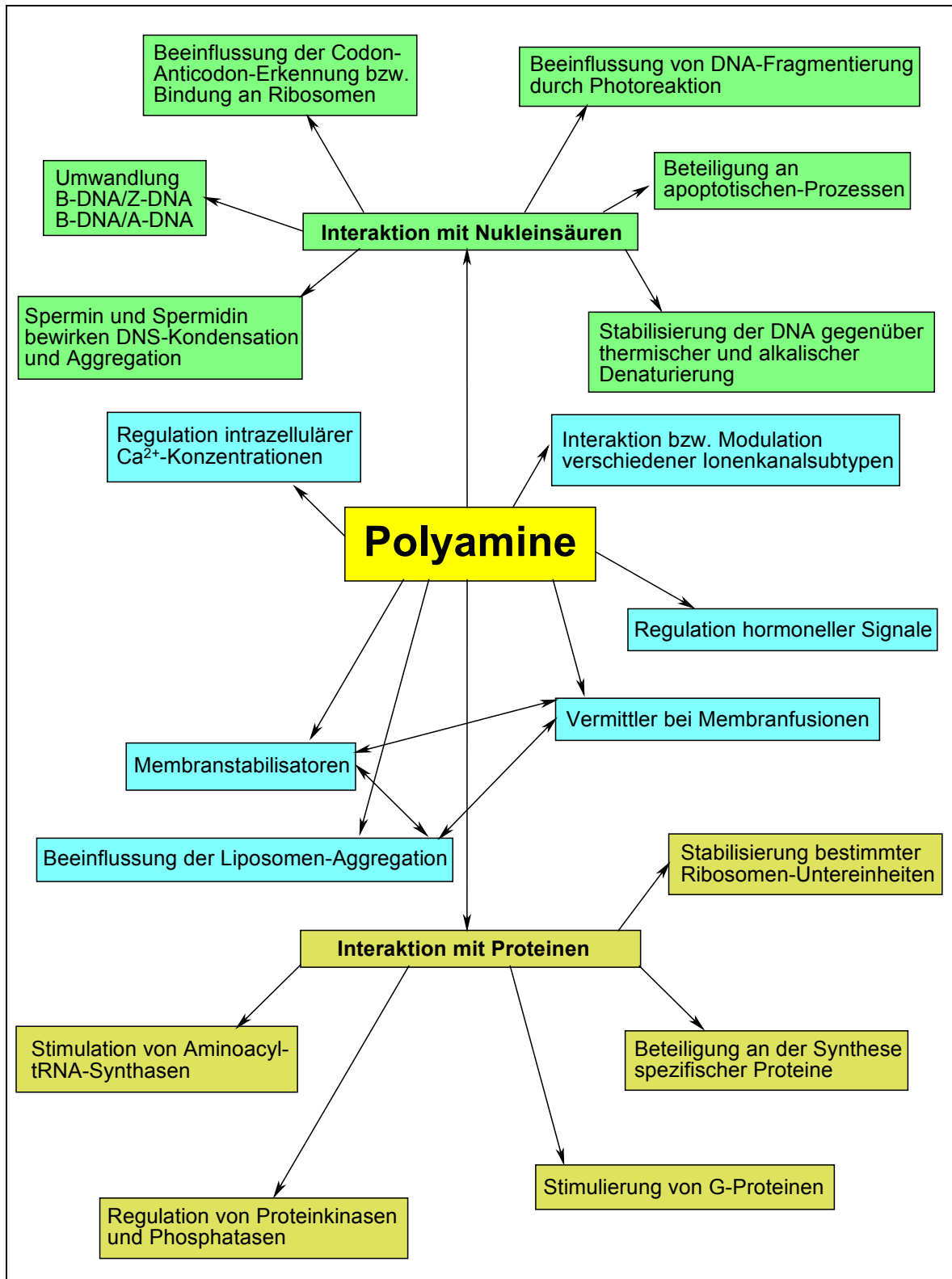


Abb. 2: Beispiele für Interaktionen der Polyamine in biologischen Systemen

Eine Reihe von bekannten Funktionen der Polyamine inkludieren Zellwachstum^{3,6-9}, Zellbindung^{10,11}, Zellmigration^{9,12-14} und Zellzyklusregulation¹⁵. Zusätzlich kennt man den genaueren Einfluß der Polyamine bezogen auf Chromatinstruktur, Immunsystemfunktionen^{16,17}, Ionenkanäle, Membranstabilisierung^{18,19}, Neurochemie²⁰, Nukleinsäuren und verschiedenste Zellsignalisierungen^{21,22}. Ein Überschuß an Polyaminen kann in Zellsystemen Apoptose^{23,24} auslösen, während ein entsprechender Mangel apoptotische Prozesse verzögern kann^{24,25}. Diese Aktivitäten sind essentiell für normale embryonale Entwicklung²⁶, Differenzierung, Zellstabilisierung und Wundheilung. Polyamine können aufgrund ihrer proliferativen Eigenschaften metastasierend auf das Wachstum von Krebszellen wirken^{8,27,28}. Im Hinblick auf Chemoprevention und chemotherapeutische Interventionen bestehen zahlreiche therapeutische Bemühungen darin, in den Polyamin-Metabolismus selektiv einzugreifen^{29,30}.

2.1 Spezifische Polyamin-Interaktionen

Polyamine stellen strukturell aliphatische Amine dar, wobei bei physiologischem pH-Wert sowohl die primären, als auch die sekundären Aminfunktionen protoniert vorliegen. Diese hochgeladenen, flexiblen Polykationen ermöglichen elektrostatische Interaktionen mit einer Vielzahl von polyanionischen Makromolekülen.

Beispielsweise nehmen Polyamine im Zellzyklus Einfluß auf Zellmigration durch Bindung an ATP (Adenosintriphosphat). ATP ist ein integraler Bestandteil von Signal-Transduktions-Kaskaden, die eine Phosphorylierung spezifischer Proteine zur Folge haben. Diese Signaltransduktionen ermöglichen eine Restrukturierung des Zytoskeletts, welches essentiell für Zellwachstum (Mitose) und Zellmigration ist. Einige Kationen, vor allem Mg^{2+} , erzwingen eine konformationelle Strukturänderung des ATP's, welche wichtig für dessen Enzymerkennung ist. Sowohl ATP, als auch Mg^{2+} und Polyamine⁶ kommen in tierischen Zellen in vergleichbaren millimolaren Konzentrationen vor. Mit Hilfe NMR-spektroskopischer Analysen konnte eine Interaktion von Polyaminen mit ATP und ATP- Mg^{2+} bewiesen werden. Speziell Spermin ermöglicht durch Bindung an den ATP- Mg^{2+} -Komplex die Bildung eines ternären Komplexes, wodurch wiederum eine konformationelle Umwandlung des ATP's induziert wird. Dieser Struktur-„shift“ führt schließlich zu einer Steigerung der Phosphorylierungs-Aktivität von ATP gegenüber spezifischen Enzymen,

die in die Signalwege für Wachstum, Differenzierung, Apoptoseinhibition und transkriptionale- und translationale Kontrolle involviert sind. Beispiele hierfür sind die Proteinkinase A, die Proteinkinase C und die Caseinkinase 2.

Ein weiteres spezifisches Eingreifen der Polyamine in den Zellstoffwechsel besteht durch das Vorhandensein von Polyamin-RNA-Komplexen in der Zelle. Diese Komplexbildung kann Einfluß auf Translationsvorgänge durch Veränderung der RNA-Struktur mit sich ziehen. Polyamine stimulieren in besonderem Maße die Synthese von Oligopeptid-Bindungsproteinen (OppA) auf der Stufe der Translations-Initiierung³¹. Die Untersuchung von verschiedenen OppA-RNA-Spezies bezüglich Sensitivität gegenüber RNase konnte aufzeigen, daß spezifische Bindungsstellen für Polyamine in mRNA, tRNA und rRNA nach Bindung von Polyaminen Positionsveränderungen aufwies. Die resultierenden Strukturveränderungen der RNA können darüber entscheiden, welche Protein- oder Peptid-Instruktionen schließlich übersetzt werden.

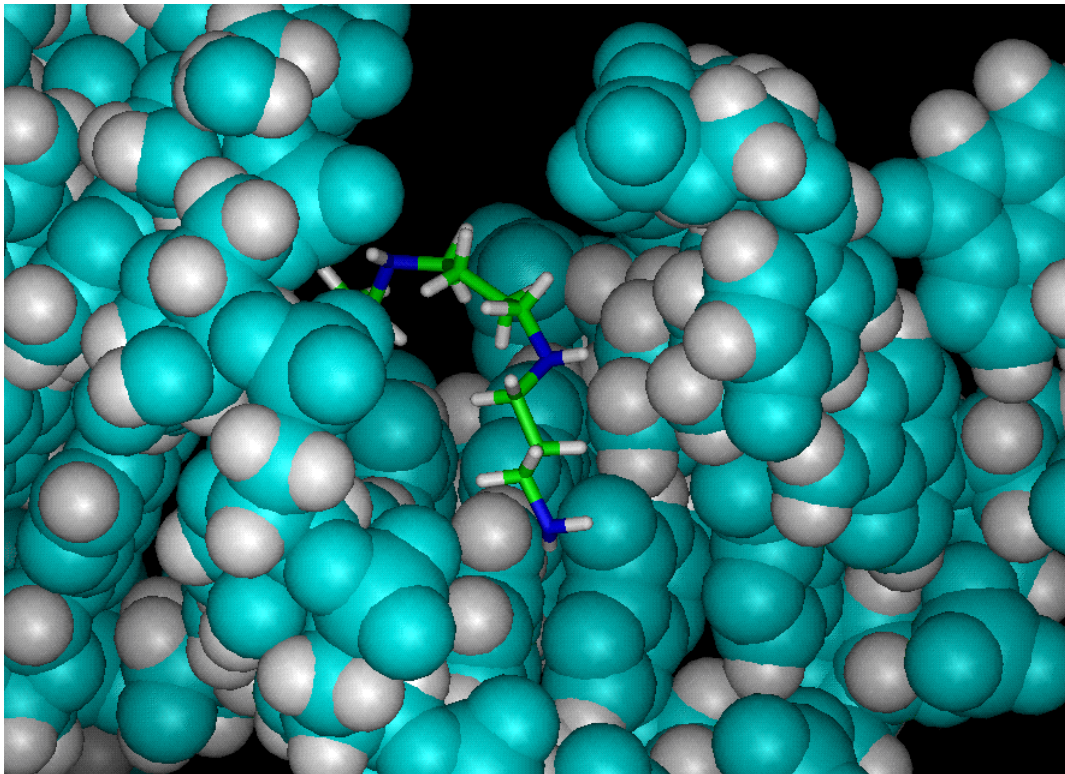


Abb. 3: Interaktion von Spermin mit t-RNA³²

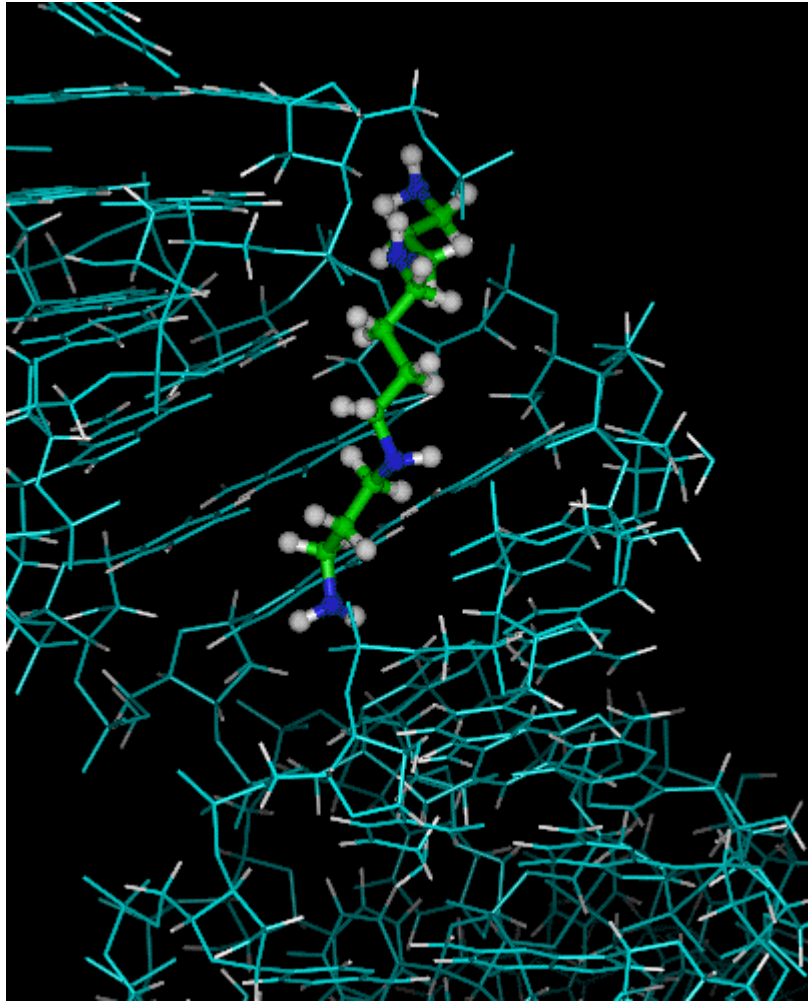


Abb. 4: Interaktion von Spermin mit t-RNA³²

2.2 Der Polyamin-Metabolismus

Die endogenen Polyamine Putrescin, Spermidin und Spermin sind Produkte des Ornithin-Metabolismus. Ornithin wird durch die Ornithindecarboxylase (ODC), einem Pyridoxal-5-phosphat verbrauchendem Enzym, zu Putrescin (Diaminobutan) decarboxyliert. Die sukzessive Addition von Aminopropylfunktionen durch die Enzyme Spermidinsynthase (SpdSyn) und Sperminsynthase (SpmSyn) resultiert schließlich in der Bildung von Spermin über die Herstellung des Triamins Spermidin. Der zu übertragene Aminopropylrest stammt aus der decarboxylierten Form (dcAdoMet) des S-Adenosylmethionins (AdoMet) durch Aktion des Enzyms S-Adenosylmethionin-Decarboxylase (AdoMetDC).

Das Antizym ist ein zentrales Element des Rückkopplungsmechanismus zur Kontrolle zellulärer Polyamin-Konzentrationen³³. Es ist in der Lage, ein Schlüsselenzym der Polyaminbiosynthese (ODC) zu inhibieren bzw. zu zerstören und beeinflusst gleichzeitig die Polyamin-Exkretion und -Aufnahme^{34,35}. Weiterhin vermag es verschiedene zelluläre Aufnahmemechanismen^{33,36,37} für Polyamine zu verhindern. Mittlerweile kennt man drei verschiedene Isoformen des Antizyms.

Die Polyamin-Biosynthese kann durch eine Abfolge katabolischer Serien von Oxidationen wieder rückgängig gemacht werden. Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt bei dieser Rückumwandlung ist hierbei das Enzym Spermidin/Spermin-Acetyltransferase (SSAT)³⁸. Dieses Enzym überträgt eine Acetylfunktion eines Acetylcoenzym A auf die N¹-Position eines Spermin- bzw. eines Spermidinmoleküls. Ein solches acetyliertes Spermin kann durch ein weiteres Enzym, genannt Polyaminoxidase (PAO), zu Spermidin bzw. ein N-acetyliertes Spermidin kann schließlich zu Putrescin degradiert werden. Methylthioadenosin (MTA), ein Nebenprodukt der Polyamin-Biosynthese, kann über einen Multi-Enzym-Weg durch Umwandlung zu S-Adenosylmethionin wieder zurückgewonnen werden.

Hauptsächlich drei Enzyme bestimmen über das Ausmaß der Bildung- bzw. des Abbaus von Polyaminen. Es sind dies die Enzyme ODC, AdoMetDC und SSAT, deren Fluktuation in einem für Enzyme extrem kurzen Zeitfenster erfolgt ($t_{1/2} = 5-35 \text{ min}$)³⁹. Intrazelluläre Polyamin-Level werden auch über aktive Transportsysteme ständig verändert. Der Polyamin-Transport in Säugetierzellen ist spezifisch, energieabhängig, Carrier-unterstützt und benötigt in einigen Fällen die Synthese von Proteinen und das Vorhandensein von RNA. Eine erhöhte Transportaktivität kann durch wachstumsfördernde Bedingungen erzielt werden. Viele Zellsysteme besitzen sowohl allgemeine Transportsysteme für Polyamine, als auch eigene Transporter für Spermidin und Spermin⁸.

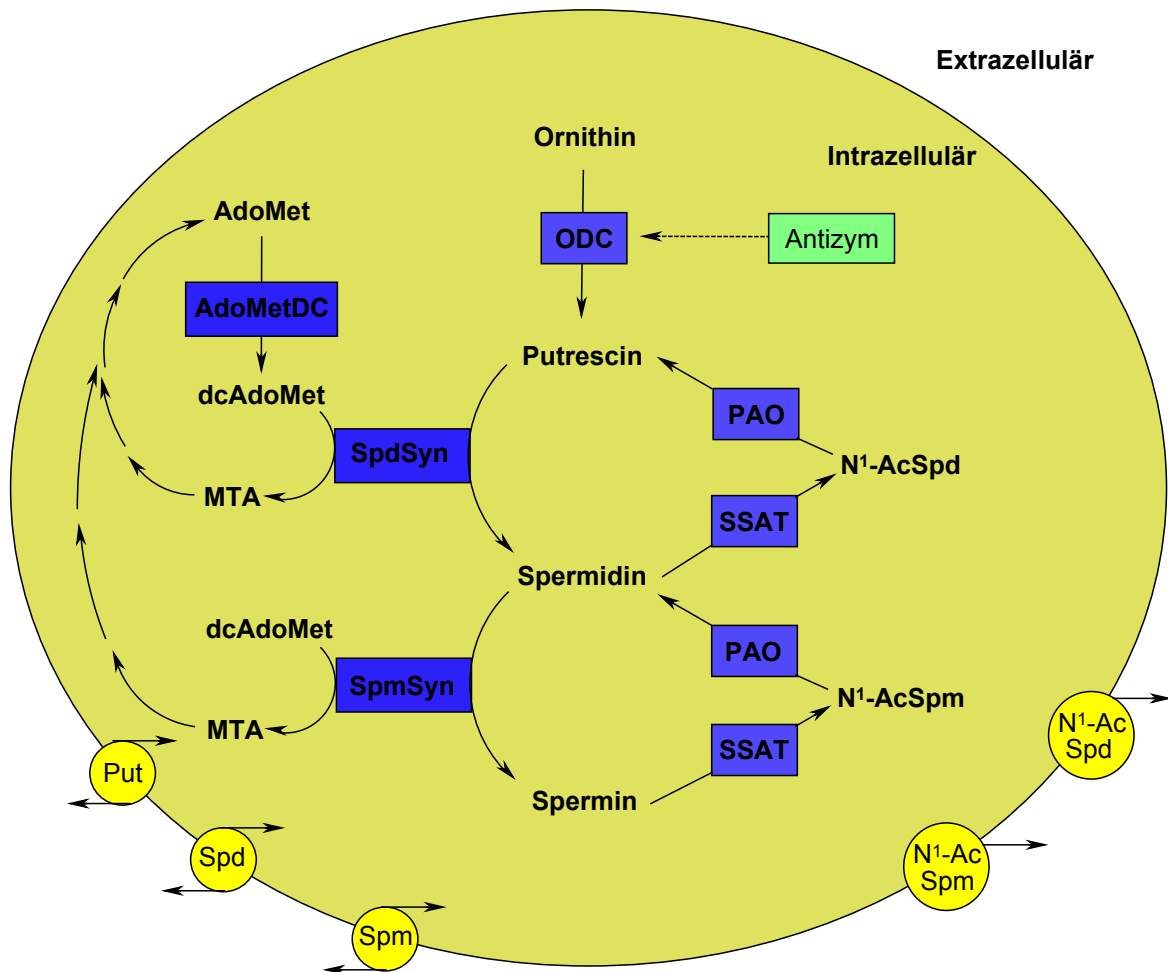


Abb. 5: Biosynthese der wichtigsten, physiologischen Polyamine

- AdoMet**.....Adenosylmethionin
AdoMetDC..Adenosylmethionin-Decarboxylase
dcAdoMet....decarboxyliertes Adenosylmethionin
MTA.....Methylthioadenosin
N¹-AcSpd.....N¹-acetyliertes Spermidin
N¹-AcSpm....N¹-acetyliertes Spermin
ODC.....Ornithindecarboxylase
PAO.....Polyaminoxidase
Put.....Putrescin
SSAT.....Spermidin/Spermin-Acetyltransferase
Spd.....Spermidin
Spm.....Spermin

2.3 Glutamat-Rezeptoren

Die Reiz- und Informationsübertragung im Gehirn basiert auf der Erregung von Nervenzellen. Die Nervenzellen („Neuronen“) sind das kleinste morphologische und funktionelle Element des Nervensystems. Durch Weiterleitung von Aktionspotentialen sind diese in der Lage miteinander Informationen auszutauschen. Die Reizweiterleitung von einer Nervenzelle zur nächsten erfolgt über die Kontaktstelle zweier Neuronen, den sogenannten Synapsen. Während exzitatorische (erregende) Synapsen die Auslösung eines Aktionspotentials fördern, sind inhibitorische Synapsen in der Lage, der Auslösung eines Aktionspotentials entgegen zu wirken, indem sie die Potentialdifferenz erhöhen. Damit erhöht sich auch gleichzeitig die Anzahl der Depolarisierungsereignisse die notwendig sind, um die Schwelle der Reizauslösung zu erreichen.

Bei der Auslösung eines Aktionspotentials wird ein Botenstoff („Neurotransmitter“) in den synaptischen Spalt ausgeschüttet, wobei dieser nach Diffusion zur benachbarten Nervenzelle an den für ihn spezifischen Rezeptor bindet. Mit dem Rezeptor kann auch anstelle des körpereigenen Botenstoffes ein exogener Naturstoff oder ein artifizielles Pharmakon interagieren. Eine der wichtigsten Neurotransmitter im zentralen Nervensystem (ZNS) von Säugetieren ist die Aminosäure *L*-Glutaminsäure (*L*-Glutamat). Diese ist in der Lage nahezu 70 % der sich im ZNS befindlichen exzitatorischen Aminosäure-Rezeptoren zu aktivieren.

2.3.1 Die Klassifizierung der Glutamat-Rezeptoren

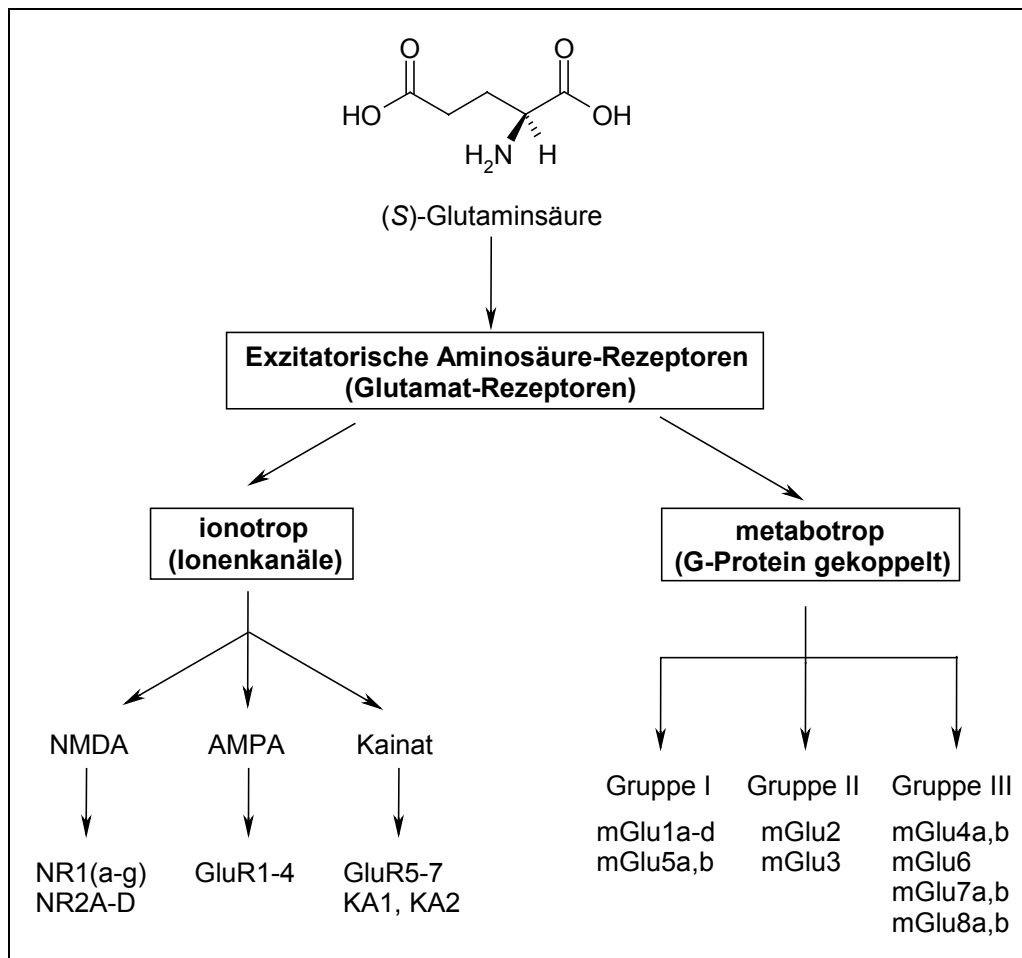


Abb. 6: Glutamat-Rezeptor-Subtypen, Untereinheiten und Splice-Varianten

Die postsynaptischen exzitatorischen Aminosäure-Rezeptoren lassen sich in sogenannte ionotrope und metabotrope Rezeptoren unterteilen. Metabotrope Rezeptoren⁴⁰ sind G-Protein gekoppelt, wobei deren Wirkung über ein „second-messenger“-System in der Zelle vermittelt wird. Mittlerweile existieren acht verschiedene klonierte metabotrope Glutamat-Rezeptoren (mGlu1-8), wobei die Einteilung in drei verschiedene Gruppen darauf basiert, welche Art von Zielprotein schließlich beeinflusst wird.

Der größte Anteil der Neurotransmission verläuft über ionotrope Glutamat-Rezeptoren⁴¹. Hierbei handelt es sich um ligandengesteuerte Ionenkanäle, deren Wirkungsweise auf der Permeabilität von einfachen Kationen (Na^+ , K^+ , Ca^{2+}) und der damit verbundenen Depolarisation der Zellmembran beruht. Die weitere Unterteilung der ionotropen Glutamat-Rezeptoren erfolgt in der Zuteilung zu NMDA-Rezeptoren und nicht(non)-

NMDA-Rezeptoren, wobei die Einteilung letzterer aufgrund der für sie selektiven Liganden in die Kainsäure- und AMPA-Rezeptoren erfolgt.

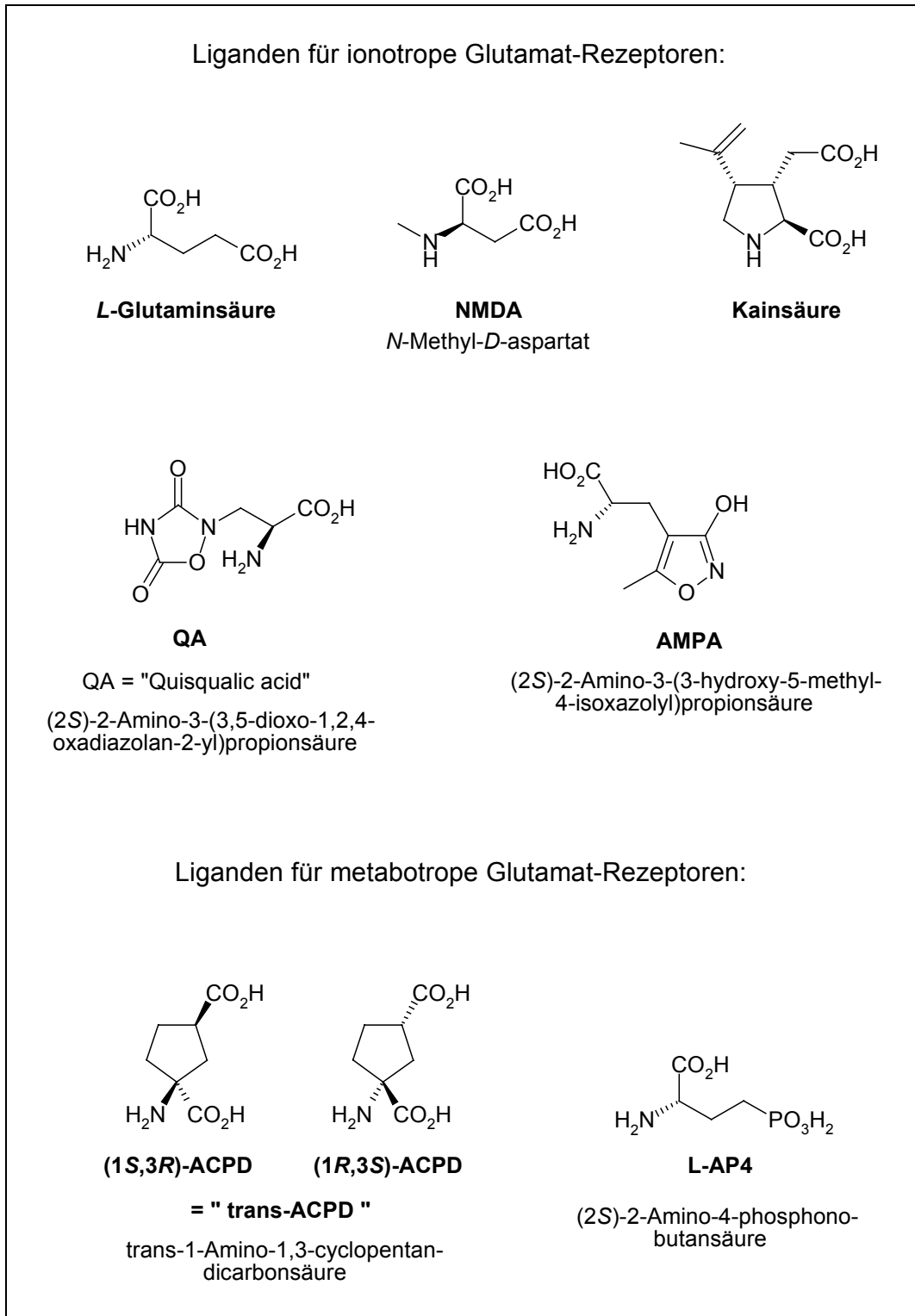


Abb. 7: Beispiele für physiologische Liganden von Glutamat-Rezeptoren

2.4 Der NMDA-Rezeptor

Ionotrope Glutamat-Rezeptoren sind im gesamten zentralen Nervensystem weit verbreitet. Sie sind prinzipiell durchlässig für Na^+ - und K^+ -Ionen. Nur einige bestimmte AMPA- und Kainat-Rezeptoren erlauben den Durchtritt von Ca^{2+} -Ionen in die Zelle, während alle Arten von NMDA-Rezeptoren^{42,43} dafür vollständig permeabel sind. Ca^{2+} -Ionen sind nicht nur durch Depolarisation der Membran in der Lage Zellsignale zu transferieren, sondern sie beeinflussen selbst Enzyme wie z.B. Proteinkinasen und Phosphatasen durch Aktivierung von *second messenger*-Systemen. Aufgrund dieser Eigenschaft unterscheidet sich der NMDA-Rezeptor deutlich von den erwähnten non-NMDA-Rezeptoren. Im Vergleich zu anderen Ionenkanälen ist er in einer einzigartigen dualen Weise sowohl spannungsabhängig, als auch durch unterschiedliche Liganden beeinflussbar.

Der NMDA-Rezeptor ist ein ligandengesteuerter Ionenkanal, für dessen Öffnung der Agonist Glutamat und der Coagonist Glycin gleichzeitig benötigt wird. Magnesium agiert hierbei als ein spannungsabhängiger Antagonist, der sich bei normalem Membranpotential (-70 mV) im Ionenkanal befindet. Eine partielle Membrandepolarisation, beispielsweise ausgelöst durch einen benachbarten Ionenkanal (z.B. AMPA-Rezeptor), ermöglicht die Freisetzung der Mg^{2+} -Ionen aus der Pore und ermöglicht damit den notwendigen Ionenfluß.

Somit benötigt die Öffnung des Ionenkanals mindestens drei verschiedene Ereignisse, nämlich die Bindung von zwei Agonisten und zusätzlich die Membrandepolarisierung. Es zeigt sich eine substanzielle, pharmakologische Heterogenität zwischen unterschiedlichen natürlichen NMDA-Rezeptoren. Es ist mittlerweile bekannt, daß die pharmakologischen, elektrophysikalischen und biochemischen Eigenschaften des NMDA-Rezeptors in verschiedenen Hirnregionen und Entwicklungsstadien variieren können. Beispielsweise konnte durch Bindungsstudien gezeigt werden, daß NMDA-Rezeptoren, die sich im Cerebellum befinden, weniger sensitiv auf hochaffine Kanalblocker wie Dizocilpin reagieren^{44,45}.

Neonatale NMDA-Rezeptoren zeigen hingegen eine erhöhte Sensitivität auf NR2B-Antagonisten wie Ifenprodil und scheinen weniger empfänglich für eine spannungsabhängige Mg^{2+} -Blockade zu sein als NMDA-Rezeptoren von Erwachsenen⁴⁶⁻⁴⁸. Der NMDA-Rezeptor ist an einer Reihe von Prozessen beteiligt, die als Langzeit-Potenzierung (long-term-potential, LTP), einem Modell für Informationsspeicherung auf

neuronaler Basis, bekannt sind. LTP gilt als Grundlage für Lernvorgänge und Gedächtnisbildung. Auch die Involvierung in LTD (long-term-depression), die u.a. auch Prozesse des Vergessens beinhaltet, zeigt den NMDA-Rezeptor-Einfluß in wichtigen neuronalen Geschehnissen⁴⁹. Der Begriff der „Synaptischen Plastizität“ (*plastikos* = zum Formen geeignet) beschreibt eine Art der Konditionierbarkeit von Neuronen, indem im Bereich der Synapsen interzelluläre Kontakte aufgebaut, verfestigt oder gelöst werden können⁵⁰.

2.4.1 Struktureller Aufbau

Der humane NMDA-Rezeptor-Komplex besteht aus einem Heteromultimär, aufgebaut aus mehreren Proteinuntereinheiten. Hierbei werden zwischen zwei Klassen von Untereinheiten unterschieden, nämlich der NR1- und der NR2-Untereinheit, die aus jeweils ca. 900-1500 Aminosäuren zusammengesetzt sind. Die erstmalige Klonierung mit anschließender Reproduktion einer NR1-Untereinheit in *Xenopus* Oozyten gelang 1991 der Arbeitsgruppe von Nakanishi, nach kurzer Zeit gefolgt von der Arbeitsgruppe um Mishina^{51,52}. Mittlerweile kennt man aufgrund von alternativem Splicen acht verschiedene Isoformen der NR1-Untereinheit, sowie vier individuelle NR2-Untereinheiten ohne bekannte Splicevarianten (NR2A-D) (siehe Abbildung 8).

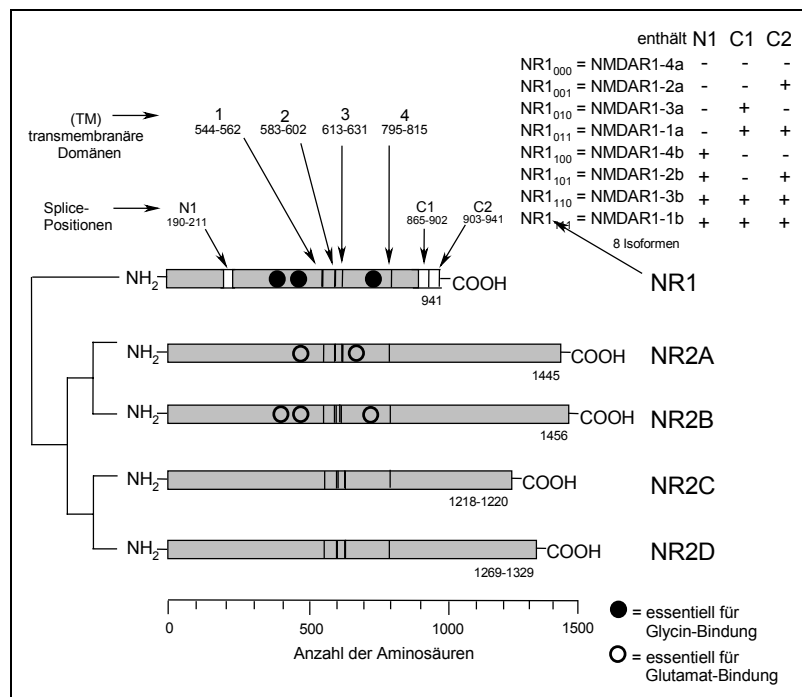


Abb. 8: Die NMDA-Rezeptor-Untereinheiten

Über die genaue Anzahl der Untereinheiten, die einen funktionellen NMDA-Rezeptor repräsentieren, existieren unterschiedliche Theorien. In der Literatur wird sowohl die Struktur eines Tetramers⁵³, als auch die eines Pentamers⁵⁴ aus NMDAR1 und NMDAR2-Untereinheiten beschrieben, wobei die Existenz von mindestens einer NR1-Untereinheit als essentiell für die Ausbildung des Rezeptor-Komplexes angesehen wird. Durch Permutation der vier- bzw. fünf heteromultimären Anordnungen der Untereinheiten resultiert eine Vielzahl von unterschiedlichen NMDA-Rezeptor-Komplexen, die sich sowohl in ihren pharmakologischen, als auch in ihren physiologischen Eigenschaften unterscheiden können.

Beide Untereinheiten sind transmembranäre Proteine mit drei transmembranären Regionen (M1, M2 und M3) und einem intramembranären „Loop“(M2) zwischen der ersten und zweiten transmembranären Region, wobei dieser an der Bildung der Kanalpore maßgeblich beteiligt ist. Die große N-terminale Region ist extrazellulär und enthält multiple Glykosylierungsstellen^{55,56}, während sich der kürzere Carboxy-terminale Bereich intrazellulär befindet und in vivo unterschiedliche Phosphorylierungsstellen⁵⁷ aufweist.

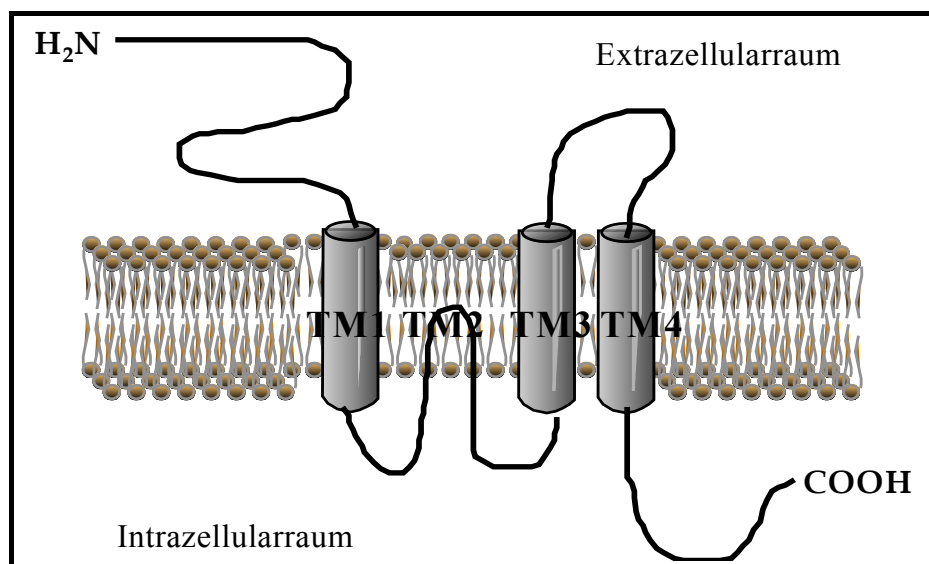


Abb. 9: Postulierte Transmembranstruktur

Trotz einiger struktureller Übereinstimmungen unterscheiden sich prinzipiell die NR1 und die NR2-Untereinheiten. Das NR1-Protein ist bereits fünfhundert Aminosäuren kürzer als die NR2A und NR2B- bzw. dreihundert Aminosäuren kürzer als die NR2C und NR2D-Untereinheit. Die verlängerte Peptidsequenz in der NR2-Untereinheit befindet sich intrazellulär in der C-terminalen Region, wobei diese Region die geringste Übereinstimmung zwischen den verschiedenen NR2-Untereinheiten aufweist. Die Funktion dieser intrazellulären Domäne ist immer noch nicht geklärt. Man nimmt an, daß sie wahrscheinlich die Fähigkeit besitzt, den NMDA-Rezeptor spezifisch im Cytoskelett zu „verankern“^{58,59}. Das Entfernen dieser Region läßt einen Rezeptor entstehen, dessen synaptische Verankerung Mängel aufweist. Mäuse, die einen Defizit dieser Region in NR2A- oder NR2C-Untereinheiten aufwiesen, zeigten phenotypisch die gleichen Veränderungen wie solche Tiere, deren Untereinheit vollständig entfernt wurde^{60,61}.

2.4.2 Neurologische Krankheiten in Zusammenhang mit Glutamat-Exzitotoxizität

In der Gruppe der Glutamat-Rezeptoren wird insbesondere der ionotrope NMDA-Rezeptor mit einer Reihe von pathologischen Geschehnissen im zentralen Nervensystem in Zusammenhang gebracht. Der pathologische Prozeß, der hierbei von zentraler Bedeutung ist, ist die sogenannte Exzitotoxizität. Dieser Begriff wurde 1971 von Olney⁶² geprägt, der nachweisen konnte, daß exzitatorische Aminosäuren wie L-Glutamat in der Lage sind, nach Durchlaufen mehrerer komplizierter neurodegenerativer Prozesse, schlußendlich den Zelltod von Neuronen zu induzieren.

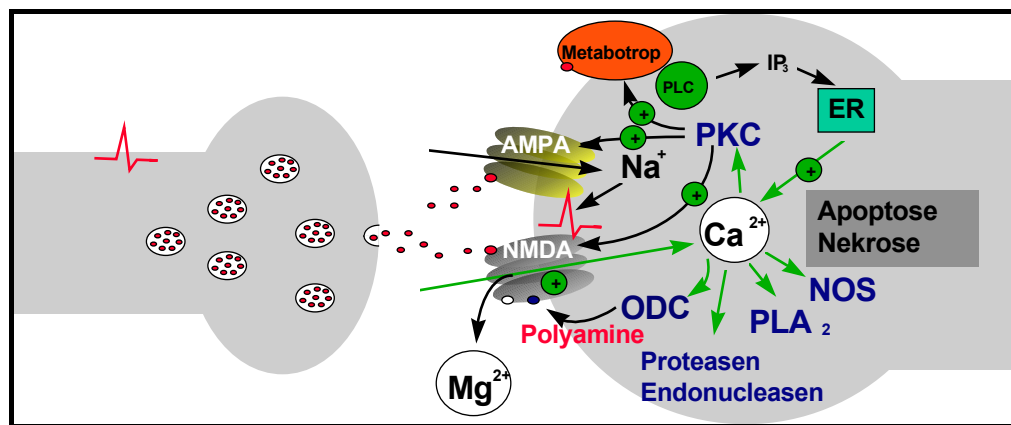


Abb. 10: Vereinfachtes Schema der Exzitotoxizität

Am Beispiel der Beschreibung einer akuten zerebralen Ischämie sollen die komplexen biochemischen Vorgänge und die daraus resultierenden neurodegenerativen Prozesse exemplarisch erläutert werden:

Ausgangspunkt jeder Ischämie ist die Verminderung des Blutflusses durch Verengung oder Verschluss eines Gefäßes. Das Gehirngewebe ist fast vollständig abhängig von der oxidativen Phosphorylierung. Unter einem Blutdurchfluß von 0,1 ml/g/min. tritt ein Substratmangel auf, und es versagen die energieabhängigen Ionenpumpen in der Zellmembran. Durch diesen Energiemangel können die Ionengradienten zwischen dem Extrazellulär- und Intrazellulärraum nicht mehr aufrechterhalten werden. In der Folge bricht das Membranpotential zusammen. Durch die ausgelöste anoxische Depolarisation strömt Ca^{2+} in das Zellinnere. Kalziumkanäle werden aktiviert und exzitatorische Aminosäuren, insbesondere die Aminosäure Glutamat, werden in den Extrazellulärraum freigesetzt. Glutamat aktiviert daraufhin die Glutamatrezeptoren der umliegenden, noch lebenden Zellen. Insbesondere über den NMDA-Rezeptor wird der Ca^{2+} -Einstrom weiter verstärkt. Hieraus entsteht eine Glutamat-induzierte Überaktivierung (Exzitation) bei gleichzeitigem Energiemangel aufgrund der Minderperfusion. Die Exzitation führt zu einem Na^+ - und Wassereinstrom in das Zellinnere, woraus ein zytotoxisches Ödem resultiert. Eine Erhöhung der *second messenger*- Ca^{2+} -Konzentration führt zu einer Verstärkung der zytoplasmatischen und nukleären Zellvorgänge. Dazu gehören u.a. die Aktivierung von proteolytischen Enzymen, die daraufhin das Zytoskelett schädigen. Eine erhöhte Konzentration von Ca^{2+} aktiviert auch das Enzym Stickoxidsynthase wodurch die Konzentration von Stickoxid (NO) ansteigt. NO reagiert in der Zelle mit Superoxid zu Peroxynitrit, eine für Neurone hochtoxische Substanz. Weiterhin werden Phospholipasen aktiviert, durch deren Aktivität freie Radikale entstehen, die Inflammation und Apoptose induzieren und schlußendlich durch Schädigung der Zellmembran zur Zerstörung der Zellen beitragen.

Neben den akuten Schadensereignissen wie Ischämie, einer Hypoglykämie oder einem zerebralen Trauma, spielt der NMDA-Rezeptor auch bei chronischen neurodegenerativen Erkrankungen im Rahmen der Glutamat-Exzitotoxizität eine wichtige Rolle⁶³⁻⁶⁵. Hierbei existieren weitere Indikationsgebiete wie u. a. AIDS-Demenz⁶⁶, Amyotrophe Lateralsklerose⁶⁷, Chorea Huntington^{68,69}, Epilepsie⁶⁴, Entzugssyndrom⁷⁰, Glaukom^{71,72},

mitochondriale Stoffwechselerkrankungen^{73,74}, Morbus Alzheimer^{63,75,76}, Morbus Parkinson⁷⁷⁻⁷⁹ und der neuropathische Schmerz⁸⁰⁻⁸².

Fehlfunktionen der glutamatergen Neurotransmission werden auch in Zusammenhang gebracht mit der Pathophysiologie der Schizophrenie^{70,77,83,84}. Hierbei könnte der NMDA-Rezeptor eine besondere Rolle spielen. Studien berichten von Schizophrenie-ähnlichen Symptomen bei gesunden Menschen, ausgelöst durch Blockade entsprechender Rezeptoren im Gehirn bei Gabe von dissoziativ wirkenden Anästhetika. Dazu gehören auch Einschränkungen der kognitiven Fähigkeiten und die vermehrte Freisetzung von Dopamin in das mesolimbische System, die schließlich zur Auslösung psychischer Störungen („Ich-Störungen“) führen.

Umgekehrt erhofft man sich von Substanzen, die indirekt eine NMDA-Rezeptorfunktion verstärken, eine Minderung der Symptomatik von Schizophrenieerkrankten.

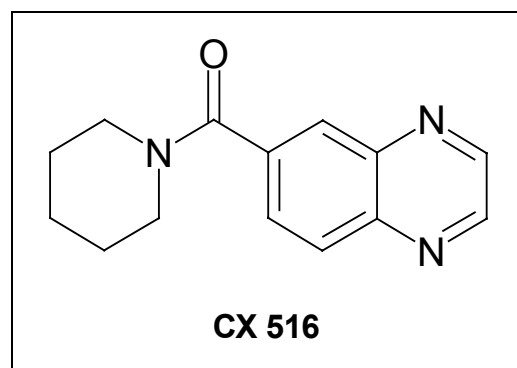


Abb. 11: Struktur von Ampakin®

Beispiele für solche Verbindungen repräsentiert die Substanzklasse der Ampakine, mit denen am Menschen erstmals das glutamaterge System verstärkt wird. Einige pharmazeutische Unternehmen in den U.S.A (z.B. Irvine, CA, USA) versuchten in klinischen Studien am Menschen aufzuzeigen, daß Ampakin CX 516 (Ampakin®) zur Stimulation von Lernen, Gedächtnis und Aufmerksamkeit bei schizophrenen Patienten geeignet ist. Zur Zeit werden weitere Studien zur Wirksamkeit von Ampakinen durchgeführt⁸⁵.

Aufgrund der zahlreichen Indikationsgebiete werden zahlreiche Bemühungen unternommen, die physiologischen Unterschiede zwischen einzelnen Gruppen von Glutamat- und insbesondere von NMDA-Rezeptor-Komplexen zu studieren, um subtypselektive Liganden für die entsprechenden Bindungsstellen zu entwickeln.

2.4.3 Bindungsstellen und Liganden

Agonisten	Antagonisten	Modulatoren	Kanalblocker
○ Glutamat NMDA	● APV	◡ Polyamine	⊕ Memantine
Coagonisten	■ Mrz 2/576	▽ Zn ²⁺	⊕ Zn ²⁺
□ Glycin D-Serin	◆ Ifenprodil		
	▼ Zn ²⁺		

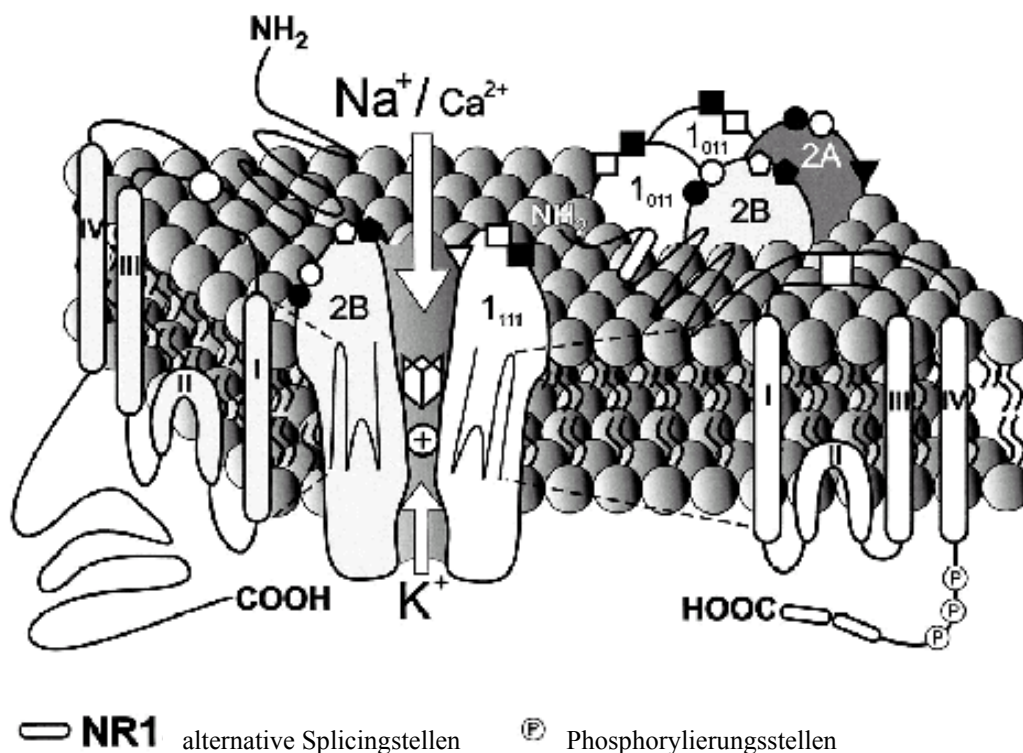


Abb. 12: Bindungsstellen des NMDA-Rezeptors

Aufgrund der vielfältigen Involvierung in neuronales Zellgeschehen weist der NMDA-Rezeptor eine Vielzahl von unterschiedlichen Bindungsstellen für Liganden auf, die ihn in seiner Funktion beeinflussen. Neben den Bindungsstellen für die endogenen Agonisten bzw. Coagonisten Glutamat und Glycin existieren im Bereich der Kanalpore Bindungsstellen für Zn²⁺-Ionen und für kanalblockierende Verbindungen, die den Ionenkanal in einer spannungsabhängigen Weise blockieren. Desweiteren existieren eine Reihe von selektiven Antagonisten wie APV (*DL*-2-Amino-5-phosphonovaleriansäure),

deren Bindungsstellen von den zusammengesetzten Untereinheiten des Rezeptorkomplexes abhängig sind. Zusätzlich existieren eine Reihe von allosterischen Modulations-Bindungsstellen für Protonen^{86,87}, Polyamine, Redox-Wirkstoffe^{88,89} wie Dithiothreitol⁹⁰, Stickstoffmonoxid⁹¹, Zink(II)-Ionen^{92,93}, Ethanol^{94,95}, sowie für einige Proteine und Steroide, deren Bindungs-Wirkungsmechanismen zum Teil noch nicht ausreichend studiert sind.

In den folgenden Kapiteln werden einige ausgewählte Bindungsstellen und deren Liganden in einer ausführlicheren Weise vorgestellt.

2.4.3.1 Liganden der Glutamat-Bindungsstelle

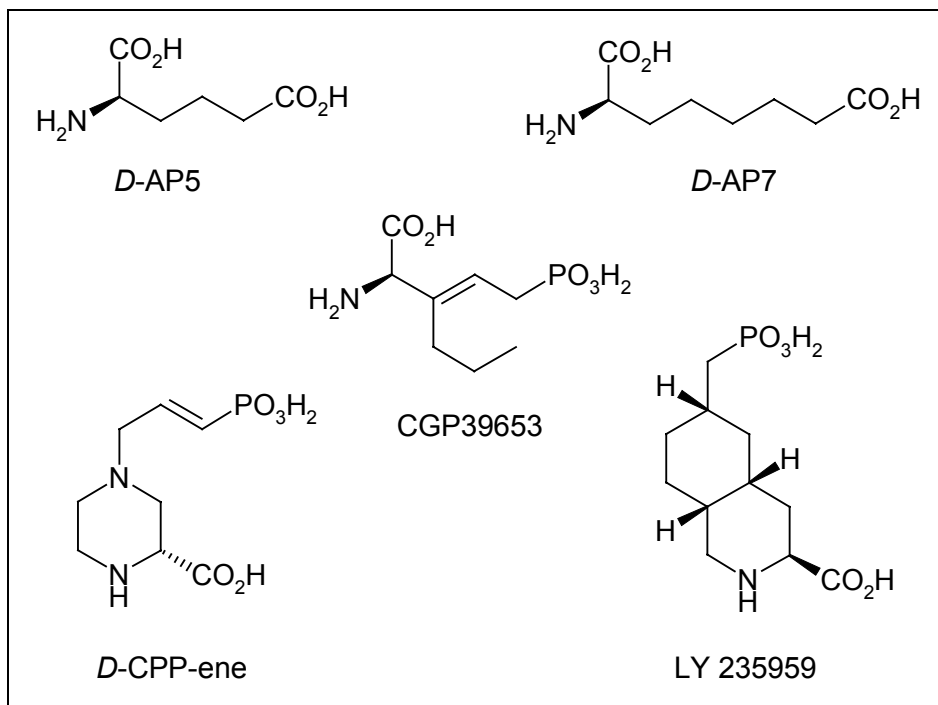


Abb. 13: Potente NMDA-Antagonisten der Glutamat-Bindungsstelle

Glutamat gilt als schnellster exzitatorischer Neurotransmitter im Gehirn. Man geht davon aus, daß nahezu 70 % der exzitatorischen Synapsen im Gehirn Glutamat als Transmitter verwenden. Es ist ein empfindliches Element im physiologischen Gleichgewicht des zentralen Nervensystems, denn eine übermäßige Aktivierung von Glutamat-Rezeptoren kann neurotoxische Prozesse nach sich ziehen. Aufgrund dessen beschränkten sich die

ersten Versuche, den NMDA-Rezeptor zu beeinflussen, auf die Glutamat-Bindungsstelle. Antagonisten dieser Bindungsstelle sind längerkettige Strukturanaloga der nativen Agonisten L-Glutamat bzw. L-Aspartat, bei denen eine Säurefunktionalität gegen eine ebenfalls sauer wirkende Phosphonsäuregruppierung ausgetauscht wurde. Verbindungen wie D-AP5 und D-AP7 zeigten eindeutige neuroprotektive Eigenschaften, wobei aufgrund ihrer hohen Polarität nur eine schlechte Hirngängigkeit zu beobachten war. Affinere Liganden sind komplexere Weiterentwicklungen dieser Strukturklasse, wie z.B. D-CPP-ene (K_i : 44 nM) oder LY 235959 (K_i : 25 nM).

2.4.3.2 Liganden der Glycin-Bindungsstelle

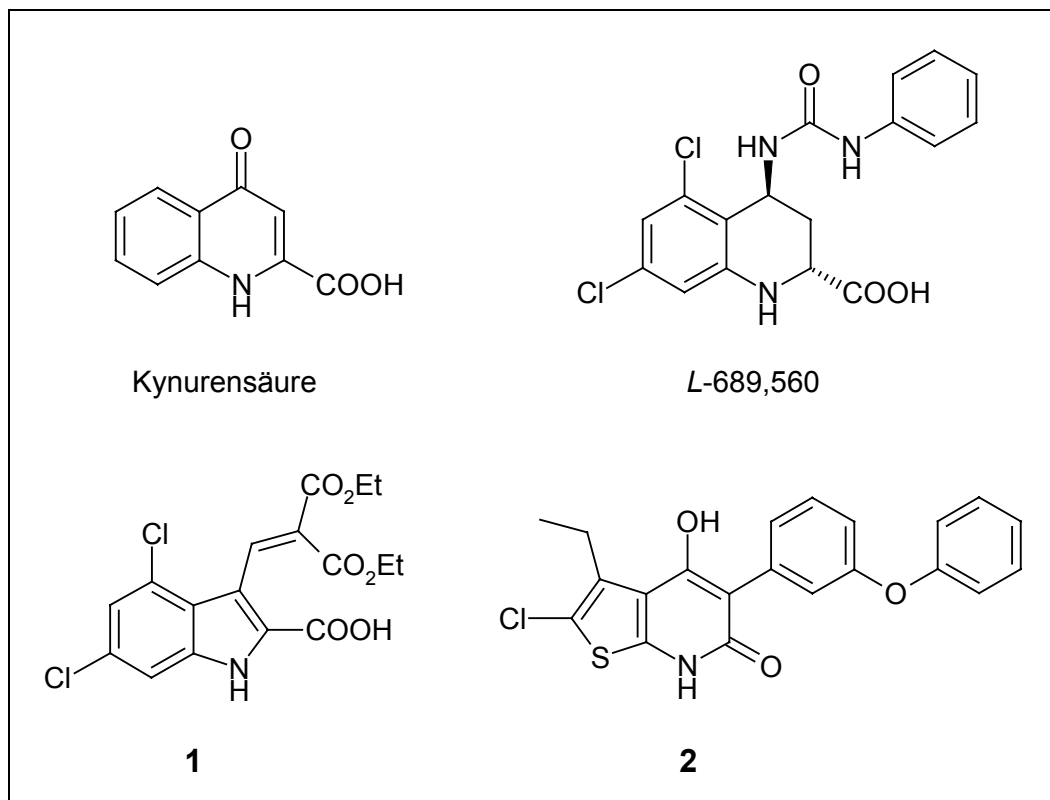


Abb. 14: Potente Antagonisten der Glycin-Bindungsstelle

Glycin ist als Coagonist neben dem Agonisten Glutamat essentiell für die Aktivierung des NMDA-Rezeptors. Johnson und Ascher⁹⁶ zeigten im Jahre 1987 zum ersten Mal den potenzierenden Effekt von Glycin auf die exzitatorische Wirkung von N-Methyl-D-asparaginsäure (NMDA). Zwei weitere Arbeitsgruppen (Watson et al.⁹⁷ und Birch⁹⁸ et al.) zeigten die antagonistische Wirkung von Kynurensäure an der Glycin-Bindungsstelle. Mit

der Verbindung L-689,560 publizierten Kemp und Leeson⁹⁹ im Jahre 1993 zum ersten Mal einen antagonistischen Liganden auf der Basis eines Harnstoffderivats, welcher mit einem IC_{50} -Wert von 7,8 nM im [3H]Glycin-Bindungsassay eine um etwa den Faktor tausend höhere Affinität zur Glycin-Bindungsstelle aufwies als Kynurensäure. Auch in unserer eigenen Arbeitsgruppe werden potente Glycin-Antagonisten auf der Basis von Indolcarbonsäure **1**- und Thienopyridinonderivaten **2** bearbeitet, wobei, trotz hoher Affinitäten in vitro, leider nur geringe Bioverfügbarkeit in vivo erzielt werden konnte.

2.4.3.3 Kanalblockierende Liganden

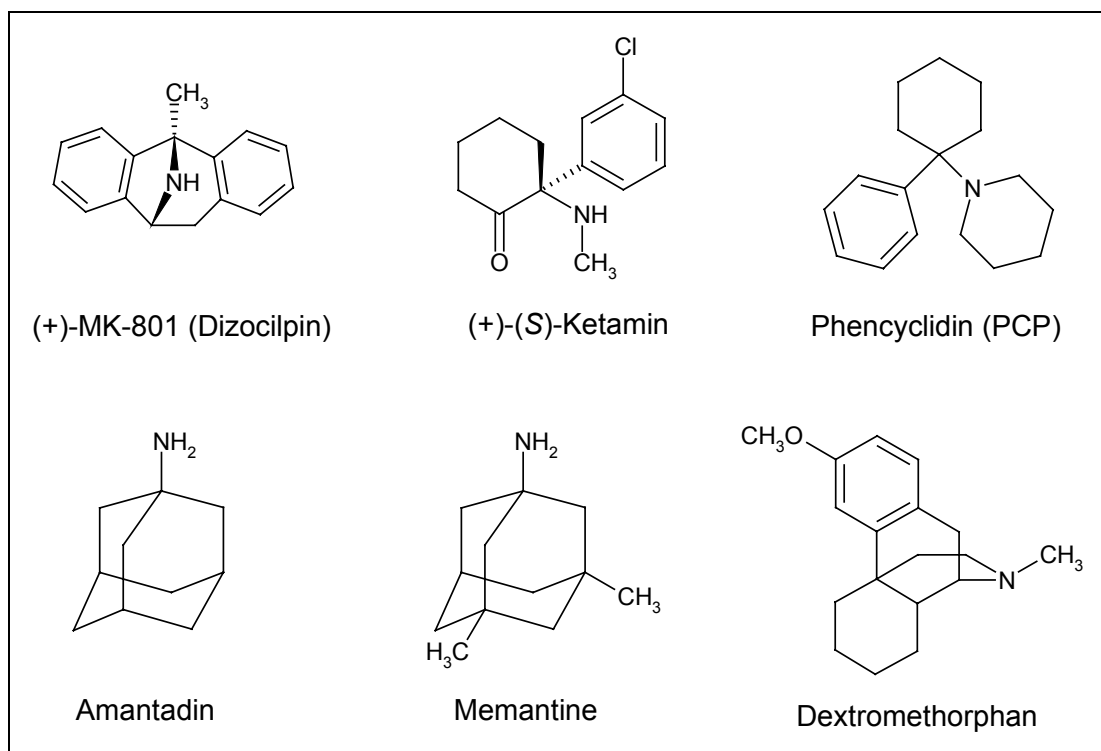


Abb. 15: Kanalblocker des NMDA-Rezeptors

Der NMDA-Rezeptor besitzt in der Region innerhalb des Ionenkanals eine Bindungsstelle, an der sogenannte „open channel blocker“ (Kanalblocker) binden. Diese Liganden sind in der Lage den Ionenfluß durch den Ionenkanal zu unterbinden, wobei die Kanalblocker nur dann zu ihrer Bindungsstelle gelangen können, solange die Kanalpore in geöffneter Form vorliegt. Diese Voraussetzung eröffnet gleichzeitig die Möglichkeit, radioaktiv-markierte Liganden in Bindungsstudien einzusetzen. Die Verwendung eines solchen funktionellen Bindungstests ermöglicht die Unterscheidung zwischen agonistisch, invers-agonistisch

oder antagonistisch-wirkenden Liganden an den unterschiedlichen Bindungsstellen des NMDA-Rezeptors. Agonisten erhöhen die Öffnungswahrscheinlichkeit des Ionenkanals, sodaß ein vermehrter Einbau des Radioliganden in den Ionenkanal erfolgt. Antagonisten bzw. inverse Agonisten hingegen verringern die Öffnungsdauer, woraus ein geringerer Einbau des radioaktiven Kanalblockers resultiert. Ein Radioligand der häufig in Bindungsstudien Verwendung findet, ist der in tritiiertes Form vorliegende Ligand Dizocilpin ($[^3\text{H}]$ -MK-801)⁴⁴.

Dizocilpin zeigte in klinischen Studien zur Neuroprotektion als nicht-kompetitiver NMDA-Antagonist psychotomimetische Nebenwirkungen.

Einige Adamantan-Derivate, wie z.B. Amantadin, werden schon seit längerer Zeit zur Behandlung des Parkinson-Syndroms eingesetzt. Im Zuge eines präklinischen und klinischen Forschungsprogrammes konnte die Firma Merz Pharma (Frankfurt/Main) die Wirksamkeit von Memantine (Axura[®]; Zulassung August 2002) in der Alzheimertherapie über einen Zeitraum von 52 Wochen belegen. In einer 24-wöchigen „open-label“-Erweiterungsphase zeigten die Patienten, die von Placebo auf Memantine wechselten, Verbesserungen der kognitiven, funktionalen und allgemeinen Fähigkeiten im Vergleich zur erwarteten Verschlechterung. Memantine scheint in der Lage zu sein, die für die kognitiven Fähigkeiten wichtigen Gehirnfunktionen im Hippocampus zu modulieren, aber nicht dauerhaft zu blockieren. Das neuroprotektive Potential wurde hierbei durch drei präklinische Studien verdeutlicht, wobei die Ergebnisse darauf hinwiesen, daß Memantine dem Zelltod durch Glutamat-Neurotoxizität vorbeugt. Therapieoptionen bei der Indikation für mittelschwere bis schwere Alzheimer-Erkrankungen waren bisher nur Acetylcholinesterase-Inhibitoren wie Donepezil. Memantine soll die therapeutische Lücke dieser Patientengruppe schließen, für die bisher keine zugelassene Therapie verfügbar war. Es ist der erste einer neuen Klasse von Wirkstoffen aus der Familie von NMDA-Rezeptorantagonisten zur Therapie der Alzheimer-Erkrankung¹⁰⁰.

2.4.3.4 Die Polyamin-Bindungsstellen

Im Jahre 1988 beschrieben Ransom und Stec¹⁰¹ die Effekte von Spermin und Spermidin als Liganden für einen ionotropen Glutamatrezeptor, den NMDA-Rezeptor. Dabei beobachteten sie einen vermehrten Einbau des radioaktiv markierten Kanalblockers [³H]-MK-801 im Ionenkanal. Die induzierte Diffusionserhöhung des Radioliganden zu seiner Bindungsstelle erfolgte bei gleichzeitiger Anwesenheit von sättigenden Konzentrationen an Glutamat und Glycin. Aufgrund dieser Untersuchungen bewiesen sie eine Interaktionsstelle für Polyamine unabhängig von der Bindungsstellen für Agonist und Coagonist.

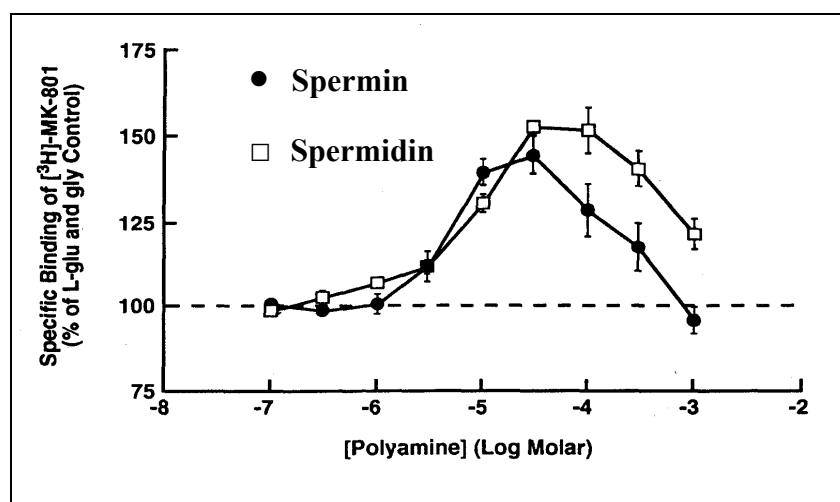


Abb. 16: Biphasischer Kurvenverlauf der Polyamine Spermin und Spermidin

Brackley et al.¹⁰² konnten elektrophysiologisch nachweisen, daß Spermin und Spermidin als Agonisten in der Lage sind, bei geringen Konzentrationen (1-100 μ M) potenzierend und bei höheren Konzentrationen (>100 μ M) inhibierend auf den NMDA-Rezeptorkomplex zu wirken. Sie konnten damit eine biphasische Konzentrations-Effekt-Kurve aufzeigen. Aufgrund dieser Beobachtungen wurde vermutet, daß der NMDA-Rezeptor mindestens zwei modulatorische Bindungsstellen für Polyamine aufweist, nämlich eine potenzierende und eine inhibitorische.

Weitere elektrophysiologische Untersuchungen von Spermin zeigten eine spannungsabhängige Blockade¹⁰³⁻¹⁰⁵ des Ionenflusses, ausgelöst durch eine zuverigere Hyperpolarisierung des Zellpotentials (-70 bis -100 mV). Unter diesen Bedingungen werden u. a. polykationische Strukturen wie Spermin förmlich in den Ionenkanal gezogen und behindern den Ionenfluß indem sie den Kanal blockieren.

Etwa zur gleichen Zeit machte die Entdeckung von Polyamin-enthaltenen Neurotoxinen, isoliert aus dem Gift verschiedener Spinnen- und Wespenarten, Neurowissenschaftler darauf aufmerksam, daß exogene Polyamine in der Lage sind, als Modulatoren mit ionotropen Transmitter-Rezeptoren zu interagieren, indem sie starke spannungsabhängige kanalblockierende Eigenschaften aufwiesen¹⁰⁶. Einige wichtige Vertreter von Naturstoffen gehören zur Substanzklasse der Polyaminamide⁷⁴. Die meisten niedermolekularen Vertreter dieser Strukturen sind Arylamine, die sich aus einem aromatischen Teil, einer oder mehreren Aminosäuren und einem Polyaminteil zusammensetzen. Polyaminamide zeigen allgemein höhere Affinitäten, wodurch sie oftmals für eine indirekte Charakterisierung von Polyamin-Interaktionen mit Transmitter-Rezeptoren eingesetzt wurden.

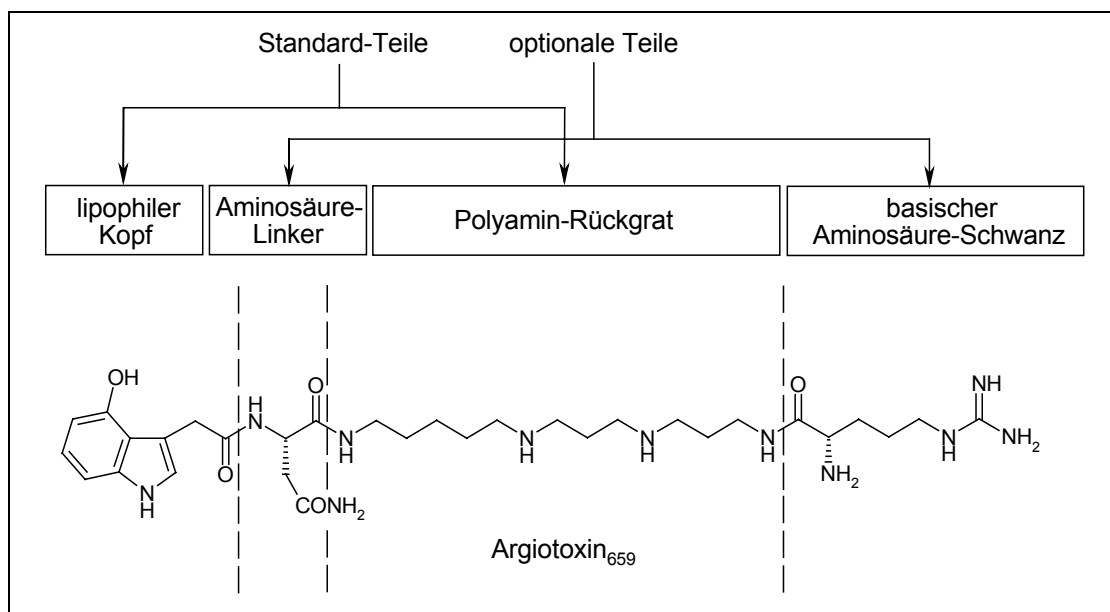


Abb. 17: Allgemeiner Aufbau der Spinnen- und Wespen-Polyamin-Toxine

Man unterscheidet prinzipiell vier verschiedene Klassen von Spinnen- und Wespen-Toxinen, bezogen auf Polyamin-verwandte Strukturen mit niedrigerem Molekulargewicht.

Klassifizierung	Beispiele
1. Argiotoxin-Derivate	Argiotoxin ₆₃₆ , Argiopinin 3
2. Joro Spinnen-Toxine	JSTX, JSTX-3, Biotinyl-JSTX-3
3. α -Agatoxine	α -Agatoxin, Agel-489, Agel-505
4. Philanthotoxine	PhTX, PTX-433, PhTX-343

Tab. 1

Einige bekannte Vertreter der Substanzklasse der Argiotoxine können aus *Argiope*-Arten (Radnetzspinnen) wie *Argiope trifasciata* oder *Argiope lobata* isoliert werden. JSTX ist ein Joro-Spinnengift der Gattung *Nephila clavata*. Weiterhin kennt man Gifte wie Agel-505, isoliert aus *Agelenopsis aperta* (Trichternetzspinne) und PhTX, das zur Familie der Philanthotoxine gehört und aus *Philanthus triangulum* (ägyptische Gräber-Wespe) isoliert werden kann.

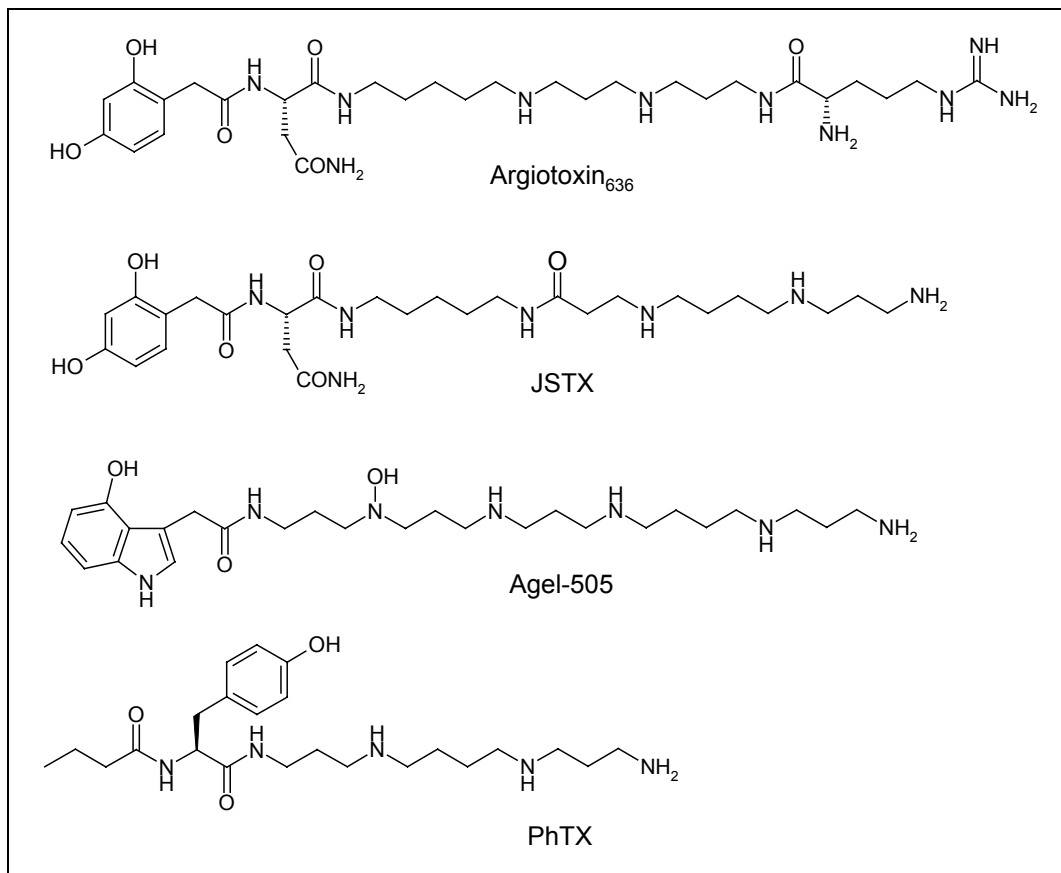


Abb. 18: Beispiele für Polyamin-verwandte Spinnen- und Wespen-Toxine

Diese zum Teil hoch affinen Substanzen sind im Gegensatz zu Spermin (Inhibition $\sim 100 \mu\text{M}$) schon in niederen mikromolaren Konzentrationen in der Lage, den Einstrom von Kationen durch den Ionenkanal des NMDA-Rezeptors spannungsabhängig zu inhibieren. Diese kanalblockierenden Eigenschaften werden oftmals mit einer Bindungsstelle für Polyamine in Zusammenhang gebracht, die sich nahe der externen Mündung des Ionenkanals befinden soll. Aromatische Strukturelemente der Polyaminamide sind in der Lage an, eine hydrophobe Tasche in der Nähe zu binden, während der positiv geladene Polyaminteil mit nukleophilen Carbonyl- und Hydroxylfunktionen innerhalb des Ionenkanals in Wechselwirkung tritt¹⁰⁷.

Mittlerweile weiß man, daß Polyamine in der Lage sind, den NMDA-Rezeptor sowohl in einer stimulierenden, als auch in einer inhibitorischen Weise zu modulieren, wobei wenigstens vier unterschiedliche Modulierungsmechanismen bekannt sind. Potenzierende Effekte von Polyaminen können in eine Glycin-unabhängige Stimulation und in eine Glycin-abhängige Stimulation unterteilt werden. Inhibitorische Effekte der Polyamine können unterschieden werden in einer Verminderung der Affinität von Agonisten zu ihren jeweiligen Bindungsstellen und in eine spannungsabhängige Inhibition. Beide Möglichkeiten sind beiderseits abhängig von der Art der NR1-Splicevariante und des Subtyps der NR2-Untereinheit^{103,108}.

In Gegenwart von sättigenden Konzentrationen des Coagonisten Glycin (Glycin-unabhängige Stimulation) bei gleichzeitiger Anwesenheit des natürlichen Agonisten Glutamat, bewirken Polyamine eine Erhöhung der Öffnungsfrequenz bei gleichzeitiger Herabsetzung der Desensitisierungsrate des NMDA-Rezeptorkanals¹⁰³.

Die Glycin-unabhängige Stimulation ist ausschließlich abhängig von der Anwesenheit einer NR2B-Untereinheit, wobei bei heteromeren NR1/NR2-Kanälen nur solche NMDA-Komplexe von Polyaminen stimulierbar sind, deren NR1-Splicevarianten das Fehlen der sogenannten N1-Kassette aufweisen^{109,110}. Diese Insertionskassette in der Nähe des N-Terminus, auch bekannt unter dem Namen „exon 5“, besteht aus insgesamt 21 Aminosäuren. Das darin enthaltene Insert von mehreren basischen Aminosäuren, bestehend aus Lysinen und Argininen, verhindert durch teilweise Imitierung positiv geladener polyaminischer Strukturelemente, daß natürliche Polyamine zu ihrer Bindungsstelle gelangen können. So bewirkt eine Gabe von Spermin keine zusätzliche Stimulation. Eine durch Polyamine ausgelöste Steigerung der Affinität des Rezeptors für Glycin (Glycin-abhängige Stimulation) wird bei homomeren NR1-Kanälen und bei heteromeren NR1/NR2A und NR1/NR2B-Kanälen beobachtet, wobei Rezeptorkomplexe bestehend aus NR1/NR2C und NR1/NR2D-Untereinheiten keine Glycin-abhängige Stimulation aufweisen¹¹¹.

Die Glycin-abhängige Stimulation durch Polyamine kann durch extrazelluläre pH-Wert-Veränderungen stark beeinflusst werden. Allgemein ist die Aktivität des NMDA-Rezeptors außerordentlich pH-sensitiv, übereinstimmend mit einer physiologischen Inhibition durch Protonen. Bei einem physiologischen pH-Wert von 7,3-7,5 werden etwa 50 % der NMDA-Rezeptoren durch Bindung der Protonen an einen sogenannten „Protonen-Sensor“ inhibiert. Endogene polykationische Polyamine wie Spermin und Spermidin sind in einer Glycin-unabhängigen Weise in der Lage, durch Abschirmen des Protonensensors den NMDA-Rezeptor zu potenzieren. Diese Beobachtungen sind übereinstimmend mit der Hypothese, daß das positiv geladene Insert der N1-Kassette in der gleichen Weise abschirmend auf den Protonensensor wirkt, wie vergleichbare polyaminische Teilstrukturen⁸⁷.

Man vermutet Interaktionen zwischen endogenen Modulatoren und einigen bekannten selektiven Antagonisten des Ifenprodil-Typs eines NR2B-enhaltenen Rezeptorkomplexes. Hierbei existieren subtypspezifische Interaktionen zwischen der NR2B-Untereinheit und Regionen der NR1-Untereinheit, verantwortlich für Protonensensitivierung und Glycin-unabhängiger Polyaminpotenzierung. Man vermutet separate aber auch potenziell überlappende Bindungsstellen für Polyamine und Protonen. Liganden des Ifenprodil-Typs verstärken durch allosterische Interaktion die Sensitivität für Protonen, welches eine Inhibierung des Rezeptor-Subtyps zur Folge hat¹¹².

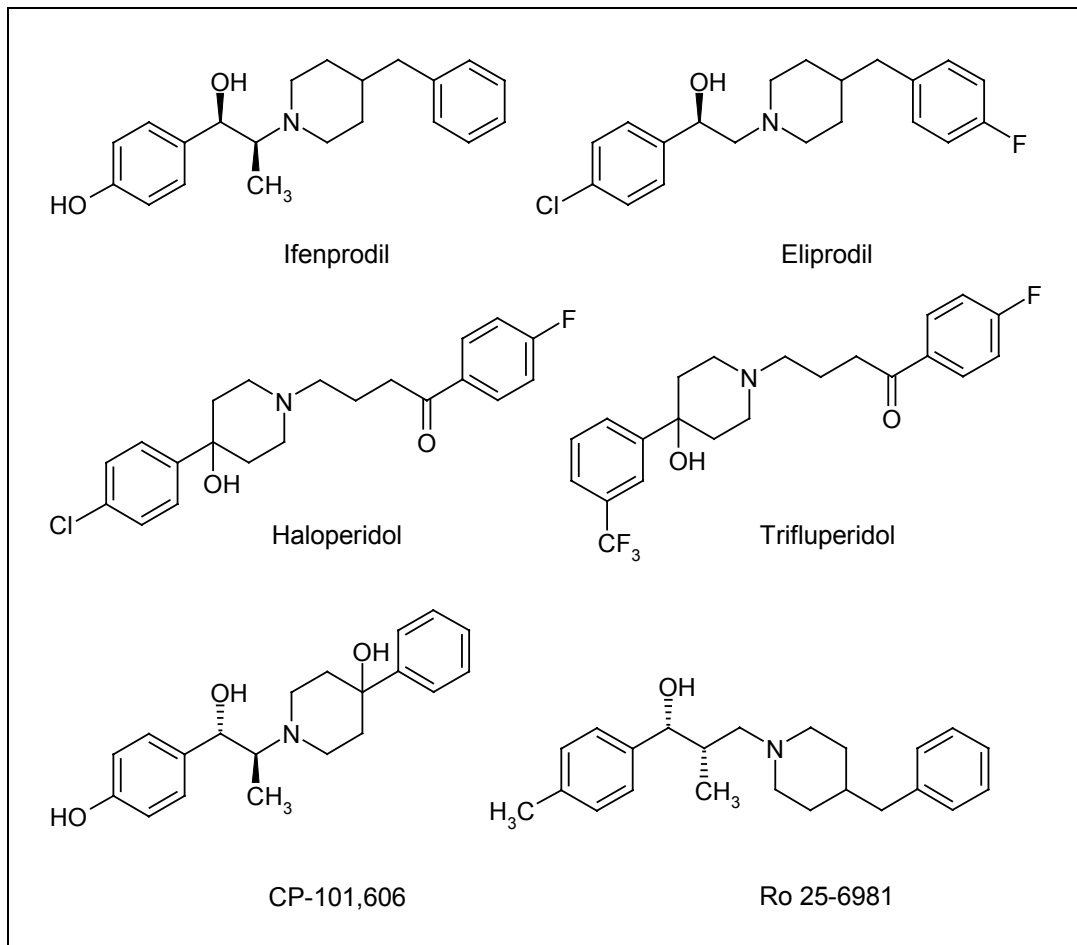


Abb. 19: Selektive NR2B-Antagonisten des Ifenprodil-Typs

Ifenprodil, ein Phenylethanolaminderivat, gehört zur Gruppe der subtypselektiven NR2B-Antagonisten. Zuerst wurde allgemein angenommen, daß Ifenprodil mit der Polyamin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors interagiert¹¹³.

Neuere Berichte vermuten aber eine Bindungsstelle getrennt von der Polyamin-Bindungsstelle, wobei eine allosterische Verknüpfung beider Interaktionsstellen nicht ausgeschlossen wird. Die ersten Zweidrittel der aminoterminalen Domäne der NR2B-Untereinheit sind sowohl verantwortlich für eine Polyamin-Stimulation, als auch für eine Ifenprodil-Inhibition¹¹⁴.

Punktmutationsstudien ergaben eine Verantwortlichkeit der Aminosäure Arginin³³⁷ auf der NR2B-Untereinheit für eine Ifenprodil-Inhibition, aber nicht für eine Polyamin-Stimulation. Die Aminosäure Glutamat²⁰¹ auf derselben Untereinheit zeigte hingegen essentielle Eigenschaften für eine Polyamin-Stimulation, ohne eine Ifenprodil-Inhibition zu beeinflussen¹¹⁵.

Aufgrund dieser Ergebnisse werden auf der NR2B-Domäne eine diskrete Bindungsstelle für Ifenprodil und eine Interaktionsstelle für Polyamine vermutet. Das eigentliche Bindungsareal für Polyamine vermutet man aber auf der NR1-Untereinheit. Im Gegensatz zur NR2B-Untereinheit, betrafen auf dieser Untereinheit mindestens 9 verschiedene Punktmutationen die Stimulation des Rezeptorkomplexes, ausgelöst durch Polyamine¹¹⁶.

Strukturell verwandte Verbindungen wie Eliprodil, Haloperidol, Trifluoperidol und auch neuere Strukturen wie RO 25-6981 und CP-101,606 zeigen hohe Selektivitäten in Bezug auf den NR1/NR2B-Rezeptorkomplex^{117,118}. In klinischen Studien wurden unerwünschte Nebenreaktionen wie u.a. psychotomimetische Effekte, Erinnerungs-Beeinträchtigungen, Neurotoxizität und Hypertension durch Verwendung von Ifenprodil-Analoga als Neuroprotektiva¹¹⁹ kaum beobachtet. Die Reduzierung der Nebenwirkungen wird den hohen Subtypspezifitäten zur NR2B-Untereinheit und den aktivitätsabhängigen, blockierenden Eigenschaften dieser Verbindungen zugeschrieben.

In den letzten Jahren wurden gerade NR2B-Antagonisten mit analgetischen und antinociceptiven Aktivitäten in Zusammenhang gebracht, wobei in Kombination mit standardmäßig eingesetzten Schmerzmitteln geringere Nebenwirkungen erwartet werden¹²⁰.

Neben den bisher besprochenen Verbindungsklassen der biogenen Polyamine, den Polyaminamiden, sowie den Liganden des Ifenprodiltyps, weisen auch Verbindungen mit Alkandiaminstruktur¹²¹⁻¹²³ eindeutige pharmakologische Aktivitäten bezüglich der Polyamin-Bindungsstelle auf. Speziell die α,ω -Diaminoalkane zeigen im [³H]-(+)-MK-801-Bindungsexperiment ab einer Mindestanzahl von acht Methyleneinheiten eindeutige invers-agonistische Eigenschaften, die im Hinblick auf Entwicklung neuroprotektiver Wirkstoffe therapeutisch von Nutzen sein könnten.

2.5 Pharmakologische Bindungsstudien

Als Rezeptoren bezeichnet man intrazelluläre oder membranständige Proteine, die nach Bindung spezifischer chemischer Botenstoffe ("Transmitter"), meist in Form eines niedermolekularen Bindungspartners, ein intrazelluläres Signal empfangen und dieses in eine Reizantwort der Zelle umsetzen können. Um neue Liganden pharmakologisch zu charakterisieren, unterscheidet man prinzipiell zwischen funktionellen Bindungsexperimenten und Radioligandbindungsstudien. Bei den funktionellen Bindungsstudien wird die Wirkung eines Liganden als Effekt in direkter Form gemessen, beispielsweise durch Ausmaß der Kontraktion von Muskelpräparaten. Bei den Radioligandbindungsexperimenten wird im Vergleich zur funktionellen Pharmakologie nicht der Effekt des Liganden auf den Rezeptor untersucht, sondern es wird die Affinität eines Liganden zu seiner Bindungsstelle bestimmt. Die pharmakologische Charakterisierung erfolgt hierbei durch Verdrängen einer bekannten radioaktiv markierten Verbindung.

2.5.1 Das Prinzip der verwendeten Radioligand-Bindungsstudien

Bis dato existiert noch kein affiner Radioligand für die Polyamin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors. Aufgründessen erfolgt die Untersuchung von agonistisch, invers-agonistisch und partiell invers-agonistisch wirkenden Liganden durch Verdrängungsexperimente eines sogenannten „open channel blockers“. In Gegenwart von sättigenden Konzentrationen des Agonisten Glutamat und des Coagonisten Glycin kann dieser Kanalblocker ($[^3\text{H}]$ -MK-801) zu seiner Bindungsstelle innerhalb des Ionenkanals gelangen. Die Anwesenheit eines Agonisten an der modulatorischen Polyamin-Bindungsstelle führt in Gegenwart sättigender Konzentrationen an Glutamat und Glycin zu einer konzentrationsabhängigen Erhöhung der Öffnungsfrequenz und damit zu einem gesteigerten Einbau des Kanalblockers in die Kanalpore. Die Anwesenheit eines inversen Agonisten führt in Gegenwart sättigender Konzentrationen an Glycin und Glutamat über eine Verringerung der Öffnungsdauer-(frequenz) zu einem verminderten Einbau von $[^3\text{H}]$ -MK-801 in den Ionenkanal. Ein partiell inverser Agonist stabilisiert im Vergleich zum inversen Agonist ebenfalls die inaktive Form des Rezeptors, besitzt aber eine geringere

intrinsische Aktivität (maximale Wirkstärke). Die Selektivität der zu untersuchenden Liganden bezüglich der Sperminbindungsstelle wird durch Bestimmung von IC_{50} -Werten im [3H]MK-801-Bindungsexperiment sowohl in Anwesenheit, als auch in Abwesenheit des biogenen Polyamin-Agonisten Spermin untersucht. Der stärkere Einfluß von Spermin auf die inhibitorische Potenz des zu untersuchenden Liganden kann als Hinweis auf eine kompetitive Interaktion zur Polyaminbindungsstelle angesehen werden. Die Cheng-Prusoff-Gleichung¹²⁴ beschreibt die lineare Abhängigkeit des IC_{50} -Wertes eines Inhibitors von der Konzentration eines kompetitiven Agonisten:

$$IC_{50} [\text{Agonist}] = IC_{50} ([\text{Agonist}] = 0) \times (1 + [\text{Agonist}] / EC_{50}) \quad (\text{Cheng-Prusoff-Gleichung})$$

Der stimulierende Effekt von Spermin beträgt im [3H]MK-801-Bindungsexperiment in Form eines EC_{50} -Wertes $4,2 \pm 1,9 \mu\text{M}$. Aufgrund dieses Wertes sollte beispielsweise durch Zugabe von $30 \mu\text{M}$ Spermin der IC_{50} -Wert eines zur Polyaminbindungsstelle kompetitiven Inhibitors um den Faktor $8,1 = (1 + 30/4,2)$ ansteigen. Ein Sperminfaktor von ~ 8 würde in diesem Fall einen Liganden beschreiben, der mit Spermin gleichermaßen um die Polyaminbindungsstelle konkurriert.

2.5.2 Ligand-Bindungsstellen-Wechselwirkung¹²⁵

Für die Wechselwirkung eines Liganden mit seiner Bindungsstelle gilt nach dem Massenwirkungsgesetz:



$$k_A = \frac{[BL]}{[B] \cdot [L]} \quad k_D = \frac{[B] \cdot [L]}{[BL]} \quad (1)$$

[B] = Konzentration der freien Bindungsstellen

k_A = Assoziationskonstante

[L] = Konzentration des Liganden

k_D = Dissoziationskonstante

[BL] = Konzentration des Ligand-Bindungsstellen-Komplexes

Die maximale Anzahl der Bindungsstellen, zusammengesetzt aus der Anzahl an besetzten und unbesetzten Bindungsstellen, wird mit B_{\max} bezeichnet.

$$[B_{\max}] = [BL] + [B] \quad (2)$$

B_{\max} hängt ausschließlich von der Menge des eingesetzten Rezeptormaterials und nicht von der Ligandkonzentration $[B]$ oder $[BL]$ ab. Aufgründessen stellt sie eine Konstante dar.

Die Konzentrationen von $[BL]$ und $[B]$ sind von der Ligandkonzentration abhängig. $[BL]$ ist prinzipiell meßbar, wenn der Ligand markiert ist $[L^*]$ und ein geeignetes Verfahren zur Verfügung steht, $[BL^*]$ und $[L^*]$ voneinander zu trennen. Die Definition für die Gleichgewichtskonstante k_D erhält man durch Umformen des Massenwirkungsgesetzes:

$$k_D = \frac{([B_{\max}] - [BL]) \cdot [L]}{[BL]} \quad (3)$$

Durch Auflösen letzterer Gleichung nach der Konzentration des Ligand-Bindungsstellen-Komplexes, erhält man ein Formeläquivalent der sogenannten „Langmuirschen-Isotherme“:

$$[BL] = [B_{\max}] \cdot \frac{[L]}{[L] + k_D} \quad \text{Äquivalent der Langmuirschen Isotherme} \quad (4)$$

Dieser funktionelle Zusammenhang entspricht einer Sättigungsfunktion bei Enzym-Substrat-Komplexen und ist vergleichbar mit der Michaelis-Menten-Enzymkinetik.

2.5.3 Die unspezifische Bindung

Das für die Radioligand-Bindungsstudien verwendete biologische Material besteht außer den gewünschten Rezeptoren aus einer Vielzahl von Proteinen und Membranbestandteilen, die mit den Liganden in Wechselwirkung treten können. Deshalb muß obige Gleichung, welche die zu ermittelnde spezifische Bindung beschreibt, um den Anteil der unerwünschten unspezifischen Bindung ergänzt werden:

$$[BL] = [B_s] \cdot \frac{[L]}{[L] + k_s} + [B_u] \cdot \frac{[L]}{[L] + k_u} \quad (5)$$

$[B_s]$ = Spezifischer Teil von $[B_{\max}]$

$[B_u]$ = Unspezifischer Teil von $[B_{\max}]$

k_s = Gleichgewichtsdissoziationskonstante
der spezifischen Bindung

k_u = Gleichgewichtsdissoziationskonstante
der unspezifischen Bindung

$[BL]$ = Konzentration des Ligand-
Bindungsstellen-Komplexes

$[L]$ = Ligandkonzentration

Mit steigender Ligand-Konzentration nimmt der Anteil der unspezifischen Bindung zu. Wird bei niedrigen Konzentrationen des Radioliganden nahe der Gleichgewichtsdissoziationskonstanten gearbeitet,

$$L \approx k_s \text{ und } L \ll k_u$$

so vereinfacht sich die Funktion zu:

$$[BL] = [B_s] \cdot \frac{[L]}{[L] + k_s} + \frac{[B_u]}{k_u} [L] \quad (6)$$

Diese zusammengesetzte Funktion besteht aus einem asymptotischen Teil, der die spezifische Bindung beschreibt, und einem linearen Teil, der die unspezifische Bindung darstellt. Der unerwünschte Anteil der unspezifischen Bindung muß in jeder Bindungsstudie ermittelt und von der gemessenen Gesamtbindung abgezogen werden.

2.5.4 Ligand-Bindungsstellen-Wechselwirkung bei Vorhandenseins eines Inhibitors

Bei der Suche von neuen Liganden für Bindungsstellen bestimmter Rezeptoren untersucht man den Einfluß der Testsubstanz auf die Bindung eines radioaktiv markierten Liganden zu seiner Bindungsstelle.

Zeigt sich eine Hemmung, so kann dieser Umstand unterschiedliche Ursachen haben:

1. Die Testverbindung konkurriert mit dem Radioliganden um dessen Bindungsstelle. In diesem Fall spricht man von einem kompetitiven Verdrängungsmechanismus.
2. Im Falle, daß die Testverbindung an einer anderen Stelle bindet, wobei eine dadurch induzierte Konformationsänderung des Rezeptors den Radioliganden aus seiner Bindungsstelle verdrängt, spricht man von einer allosterischen oder auch nicht-kompetitiven Interaktion.

Im Idealfall läßt sich die Inhibitorkonzentration, die zu einer halbmaximalen Hemmung führt (IC_{50} -Wert), durch folgende Gleichung beschreiben:

$$BL(I) = [BL_0] \cdot \frac{IC_{50}}{IC_{50} + [I]} \quad (7)$$

$[BL]$ = Konzentration des Ligand-Bindungsstellen-Komplexes

$[BL_0]$ = Konzentration an Ligand-Bindungsstellen-Komplex
in Abwesenheit des Inhibitors

$[I]$ = Inhibitorkonzentration

IC_{50} = Inhibitorkonzentration, die zur halbmaximalen Hemmung bzw.
halbmaximalen Verdrängung des Liganden führt

Eine Bestimmung der halbmaximalen Hemmung kann sowohl rechnerisch, als auch mit Hilfe graphischer Auswertungsmethoden erfolgen. Bei der graphischen Auswertung einer Bindungsstudie kann man wiederum zwischen einer einfach oder doppelt logarithmischen Darstellung unterscheiden. Folgende Abbildungen zeigen die Konzentrationskurven eines hypothetischen Bindungsexperimentes. Abbildung 20 repräsentiert einen nicht transformierten Kurvenverlauf, während Abbildung 21 und Abbildung 22 eine einfach- bzw. doppelt logarithmische Darstellung aufzeigen:

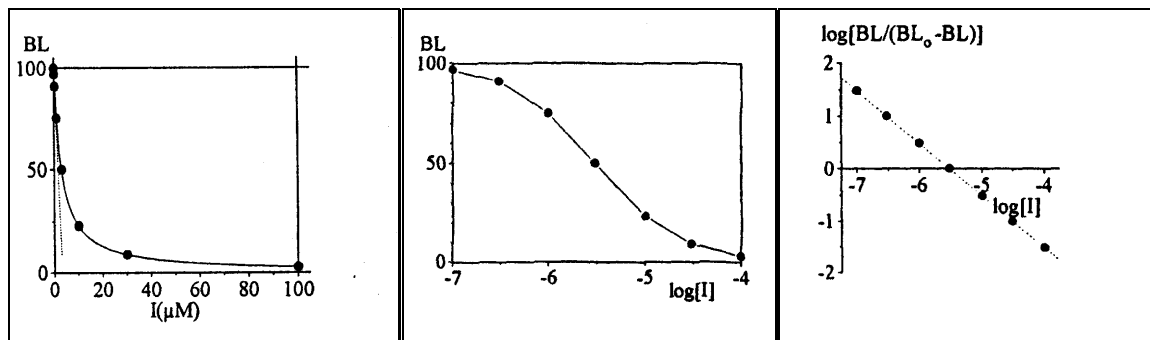


Abb. 20

Abb. 21

Abb. 22

Folgende Transformationen führen zu einer doppelt logarithmischen Darstellung:

$$[BL] = [BL_0] \cdot \frac{IC_{50}}{IC_{50} + [I]}$$

$$[BL] \cdot [IC_{50}] + [BL] \cdot [I] = [BL_0] \cdot IC_{50}$$

$$IC_{50} \cdot ([BL_0] - [BL]) = [BL] \cdot [I] \quad (8)$$

$$\frac{[BL]}{[BL_0] - [BL]} = \frac{IC_{50}}{[I]}$$

$$\log \frac{[BL]}{[BL_0] - [BL]} = \log IC_{50} - \log [I]$$

In letzterer Darstellungsweise in Form einer einfachen Geradengleichung kann der IC_{50} -Wert direkt als Abszissenabschnitt abgelesen werden.

2.6 Das Festphasensynthese-Konzept

2.6.1 Einführung

Fortschritte in der Molekularbiologie und Gentechnik haben in den letzten Jahrzehnten die biomedizinische Forschung grundlegend revolutioniert. Mit diesen Methoden ist es möglich geworden, Proteine, wie beispielsweise Enzyme oder Rezeptoren, zu identifizieren bzw. bereitzustellen, die mit Krankheiten ursächlich und nachweislich in Verbindung stehen. Gerade diese Entwicklung führte fast schon zu einem Paradigmenwechsel bezüglich der Synthese von Testverbindungen. Mittlerweile gewinnen neben der klassischen Vorgehensweise, eine Substanz nach der anderen herzustellen, solche Methoden zunehmend an Bedeutung, mit denen es möglich wird, viele Testverbindungen gleichzeitig zu synthetisieren. In diesem Zusammenhang ermöglicht die Festphasensynthese-Technik durch unterschiedliche Strategien die Herstellung einer großen Anzahl an Produkten, bis zur Synthese von ganzen „Verbindungsbibliotheken“.

Pionierarbeit in der Entwicklung von Festphasensynthese-Strategien leistete R.B. Merrifield, der 1963 zum ersten Mal die Synthese eines Tetrapeptids auf Basis eines unlöslichen Trägermaterials beschrieb¹²⁶. Der Aufbau gelang durch sukzessive Verknüpfung von *N*-Benzyloxycarbonyl geschützten Aminosäuren an einem chlormethylierten Polystyrolpolymer. Die zu diesem Zeitpunkt verwendete Synthesetechnik führte durch unvollständige Reaktionsumsetzungen zur Akkumulation von Nebenprodukten, sodaß die Synthese längerer Oligopeptide aufgrund komplexer Reinigungsschritte unwirtschaftlich erschien. Schon kurze Zeit später (1964) ermöglichte Merrifield durch Verbesserung der Synthesetechniken innerhalb kürzester Zeit die Herstellung eines hochreinen Nonapeptids (Bradykinin) in einer Gesamtausbeute von 68 %¹²⁷. Diese Ergebnisse übertrafen zu diesem Zeitpunkt alle zeitgenössischen Synthesebemühungen in Lösung und führten geradezu zu einer explosionsartigen Aktivität bezüglich der Festphasenpeptidsynthese. Inzwischen ist sogar die Festphasensynthese von Polypeptiden, Oligonukleotiden und Oligosacchariden automatisierbar.

Mittlerweile stehen dem organisch-präparativ arbeitendem Chemiker für diese Methode nahezu alle Standardreaktionen der organischen Chemie zur Verfügung und lassen sich durch Wahl geeigneter Träger-, Linker- und Schutzgruppen mit den Vorteilen der

Festphasensynthese durchführen. Vergleicht man die klassische Synthese mit dem Konzept der allgemeinen Festphasensynthese, so ergeben sich für letztere folgende Vorteile:

1. Die klassischen mehrstufigen Synthesen in Lösung nehmen inklusive Isolierung und Reinigung meist mehrere Wochen in Anspruch. Ist die Reaktion an fester Phase erst einmal etabliert, so vereinfacht sich die Synthesedurchführung meist durch den Wegfall aufwendiger Trennschritte.
2. Bei Trägermaterialien mit geringer Beladung werden Nebenreaktionen wie Mehrfachkupplung oder auch Quervernetzung der Zielverbindungen untereinander weitgehend unterdrückt (Prinzip der hohen Verdünnung).
3. Durch Einsatz von einem Überschuß an Reagenz kann der Reaktionsverlauf dahingehend beeinflusst werden, daß eine vollständige Umsetzung erfolgt.
4. Es ist möglich, eine im Vergleich zur klassischen Synthesestrategie in Lösung, eine größere Anzahl unterschiedlicher Moleküle innerhalb kürzester Zeit herzustellen.

2.6.2 Allgemeine Festphasenpeptidsynthese

Festphasenpeptidsynthese („Solid Phase Peptide Synthesis“ (SPPS)) basiert auf einer sequenziellen Addition von Aminosäuren (bzw. Seitenketten geschützten Aminosäureresten) an eine unlösliche Polymer-Basis. Zwischen diesem Träger und der eigentlichen Peptidkette befindet sich in der Regel ein Molekülabschnitt, der eine erleichterte Diffusion, eine bessere Zugänglichkeit der anwachsenden Kette und damit eine erhöhte Reaktionsgeschwindigkeit ermöglicht. Dieser sogenannte Abstandshalter wird als „Spacer“ bezeichnet. In den meisten Fällen ist die Einführung eines sogenannten „Linkers“ notwendig, dessen Abschnitt über eine spaltbare Gruppe (z.B. Ester- oder Ether-Funktionalität) verfügt, durch die das fertige Peptid durch Zugabe entsprechender Reagenzien freigesetzt werden kann. Ob nach der Abspaltung eine peptidische Säure¹²⁸, ein Amid¹²⁹ oder eine andere terminale Funktionalität erhalten wird, hängt vom verwendeten Linker bzw. vom Abspaltungsreagenz ab.

Die Harzanbindung kann in Abhängigkeit von dem verwendeten Polymer bzw. dessen Anker- oder Verknüpfungsstruktur („Linker“) entweder über den N-Terminus, oder, wie in den meisten Fällen, über die C-terminale Carboxylfunktion der endständigen Aminosäure erfolgen. Diese Kupplungsstrategie ist aufgrund zahlreicher kommerziell erhältlicher N-geschützter Aminosäuren zu favorisieren. Die Schutzgruppen der Aminosäure-Seitenketten müssen so gewählt werden, daß sie während den Reaktionsbedingungen des Peptidaufbaus nicht angegriffen werden („permanente“ Schutzgruppen siehe Kapitel 2.6.3). Beispiele für solche Schutzgruppen sind die basenlabile Fluorenylmethyloxycarbonyl-Schutzgruppe (Fmoc) und die säurelabile *tert*-Butyloxycarbonyl-Schutzgruppe (Boc). Nach Abspaltung der temporären Amino-Schutzgruppe wird die nächste Aminosäure entweder durch Verwendung eines Kopplungsreagenzes oder einer voraktivierten, geschützten Aminosäure (siehe Kapitel 2.6.4) unter Kettenverlängerung gekoppelt. Dieser Zyklus, bestehend aus Schutzgruppen-Abspaltung und Aminosäure-Kopplung, wird so lange wiederholt, bis die gewünschte Peptidsequenz aufgebaut worden ist. Um schließlich das freie Peptid zu erhalten, muß dieses vom Harz abgespalten werden. In einigen Fällen können die permanenten Seitenketten-Schutzgruppen so gewählt werden, daß diese simultan mit den gleichen Abspaltbedingungen abgepalten werden wie das Peptid vom Harz selbst.

Folgende Abbildung zeigt den systematischen Ablauf einer allgemeinen Festphasenpeptidsynthese (SPPS) (Abb. 23):

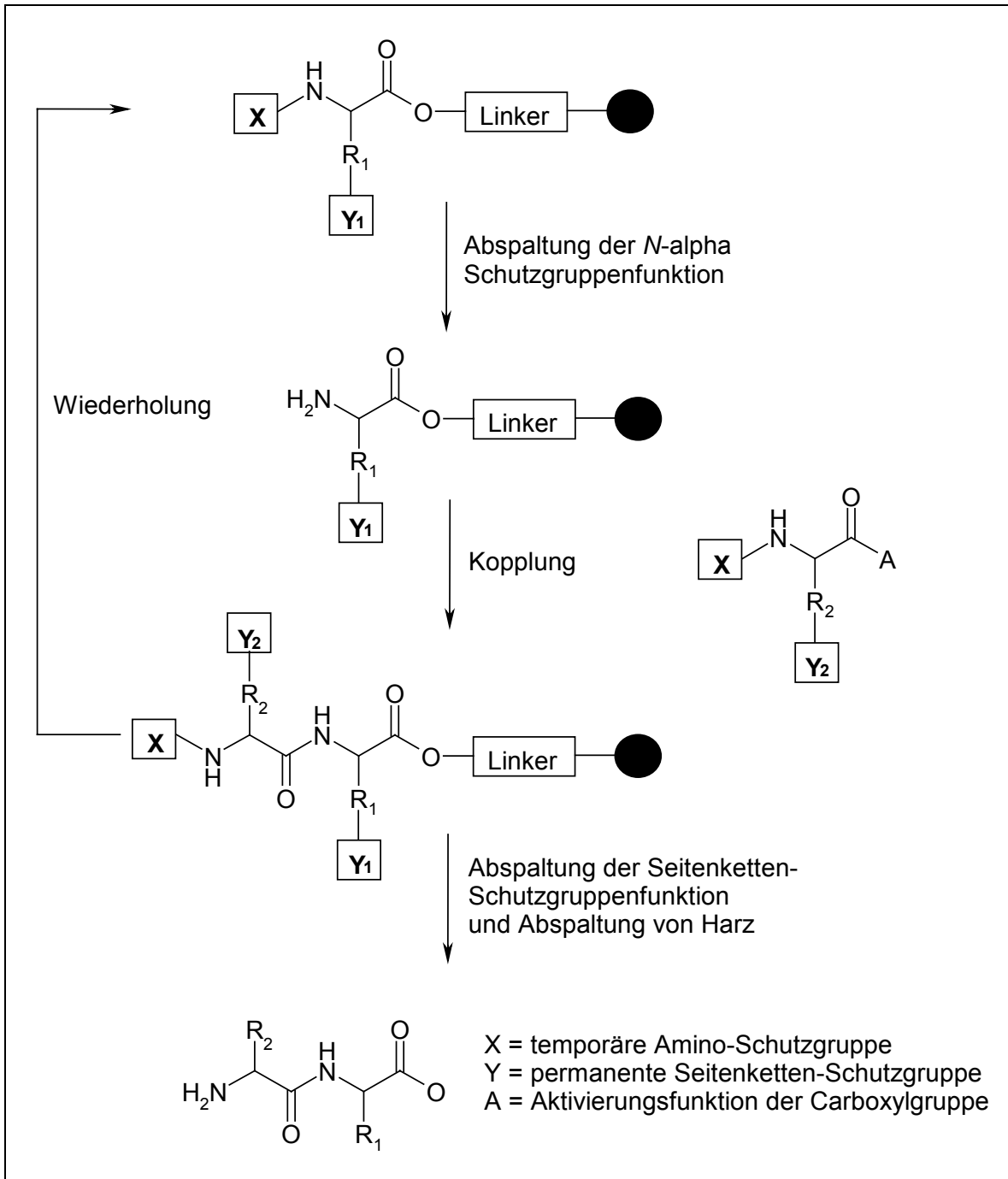


Abb. 23: Konzept der Festphasen-Peptid-Synthese

2.6.3 Schutzgruppen in der Peptidsynthese

Bei Betrachtung der Reaktion von zwei Aminosäuren mit zwei funktionellen Gruppen (Amino- und Carboxylfunktion) sind eine Reihe von Reaktionsprodukten denkbar. Neben Reaktion der Aminosäuren miteinander (AB-Produkt bzw. BA-Produkt) kann es auch zur Dimerisierung der Aminosäuren untereinander kommen (AA-Produkt bzw. BB-Produkt). Mit jedem zusätzlichen Kopplungsschritt wächst die Anzahl möglicher Reaktionsprodukte exponentiell an. Da in der Regel nur ein einziges Reaktionsprodukt erwünscht ist, sollten alle anderen reaktionsfähigen Gruppen in geschützter Form vorliegen.

Prinzipiell werden zwei Klassen von Schutzgruppen unterschieden.

1. Die „temporären“ Schutzgruppen:

Diese Gruppe blockiert vorübergehend bestimmte Funktionalitäten im Molekül, die im folgenden Syntheseschritt wieder zur Reaktion gebracht werden sollen. Wichtige Anforderungen an solche Schutzgruppen sind die selektive, quantitative und möglichst milde Abspaltung, um Nebenreaktionen unterschiedlichster Art zu minimieren.

Beispiel für eine derartige temporäre-Aminoschutzgruppe ist die Benzyloxycarbonyl-Gruppe¹³⁰. Die früher als Cbz- abgekürzte Schutzgruppe wird heute meist nach ihrem Entwickler *Zervas* als Z-Gruppe bezeichnet und gehört zur Substanzklasse der Urethane. Abspaltungsbedingungen sind Acidolyse oder katalytische Hydrierung, wobei letztere Methode unter besonders milden und selektiven Bedingungen abläuft. Bei beiden Abspaltungsmethoden erfolgt die Freisetzung der Aminofunktion durch vorherige Benzylesterspaltung über eine intermediäre Carbaminsäure unter CO₂-Freisetzung. Trotzdem wird diese Schutzgruppe in der Festphasensynthese eher selten eingesetzt. Ein Grund hierfür ist die Notwendigkeit der Verwendung eines festen Hydrierungskatalysators, der oft zu Problemen bezüglich Zugänglichkeit der zu entschützenden Funktionalität führt.

Die ebenfalls zur Klasse der Urethane (Carbamate) gehörende *tert*-Butoxycarbonylgruppe (Boc) ist hingegen stabil gegenüber katalytischer Hydrierung und Basen, stattdessen wird sie leicht durch starke Säuren abgespalten¹³¹. Unter Verwendung von Trifluoressigsäure

oder HCl/1,4-Dioxan zerfällt die Boc-Schutzgruppe unter Freisetzung eines *tert*-Butylkations und der freien Carbaminsäure, die analog zur Z-Schutzgruppe decarboxyliert. Zur Vermeidung von unerwünschten Nebenreaktionen muß das gebildete, elektrophile Carbokation mit nukleophilen „scavengern“ (oft Alkylsilane) abgefangen werden. Die Einführung dieser Schutzgruppe erfolgt aufgrund der Instabilität von Boc-Cl nicht über Chlorameisensäure-*tert*-butylester, sondern über die stabileren Anhydrid¹³²- oder Azid-Derivate.

Die von L. Carpino¹³³ entwickelte Fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc)-Schutzgruppe repräsentiert eine weitere Schutzgruppe aus der Urethanreihe. Im Gegensatz zur Boc-Gruppe ist sie säurestabil und kann leicht durch Basen abgespalten werden. Oft finden hier sekundäre Amine wie Piperidin in Verbindung mit einem Lösungsmittel (20 % in DMF, 10 % in MeOH) zur Abspaltung Verwendung. Der Abspaltungsmechanismus liegt einer β -Eliminierung zugrunde (siehe Kapitel 3.4.2.4). Die Einführung dieser Schutzgruppe erfolgt durch Chlorameisensäure-fluorenylmethyl-esterchlorid (Fmoc-Cl) oder durch O-Succinimid-Derivate (Fmoc-OSu) in 1,4-Dioxan/Wasser oder in Dichlormethan unter Basenzusatz (Na₂CO₃, DIPEA)¹³⁴.

2. Die permanenten („orthogonalen“) Schutzgruppen:

Während bei bifunktionellen Aminosäuren temporäre Schutzgruppen in der Synthese ausreichen, wird bei trifunktionellen Aminosäuren zusätzlich eine Schutzgruppe für die Seitenkettenfunktion benötigt, die in der Phase des Peptidaufbaus ausreichende Stabilität besitzt. Man unterscheidet zwischen permanenten Schutzgruppen, deren Reaktivität bezüglich den Abspaltbedingungen der temporären Schutzgruppen wesentlich geringer ist, und solchen, die durch einen differenzierten Mechanismus abgespalten werden. In letzterem Fall spricht man von orthogonalen Schutzgruppenklassen.

Ein Beispiel für solch ein orthogonales Konzept ist die Fmoc-Strategie (Abb. 24). Die permanenten Schutzgruppen werden hier nicht, wie die basenlabile Fmoc-Schutzgruppe, durch eine β -Eliminierung abgespalten. Hierzu bietet sich die Acidolyse als orthogonaler Abspaltmechanismus an, bei dem eine starke Säure wie Trifluoressigsäure zur Abspaltung eingesetzt wird. Als permanenter Schutz für die Seitenkettenfunktionen der Aminosäuren kann z. B. eine *tert*-Butylgruppe in Form eines Ethers bzw. Esters angewendet werden. Aufgründessen ist für dieses Schutzgruppensystem die Bezeichnung Fmoc/*t*Bu-Strategie

gebräuchlich, wobei gerne *p*-Oxobenzylether-Derivate als Linker Gebrauch finden, die ebenfalls unter TFA-Behandlung zerfallen und das Peptid schließlich freisetzen.

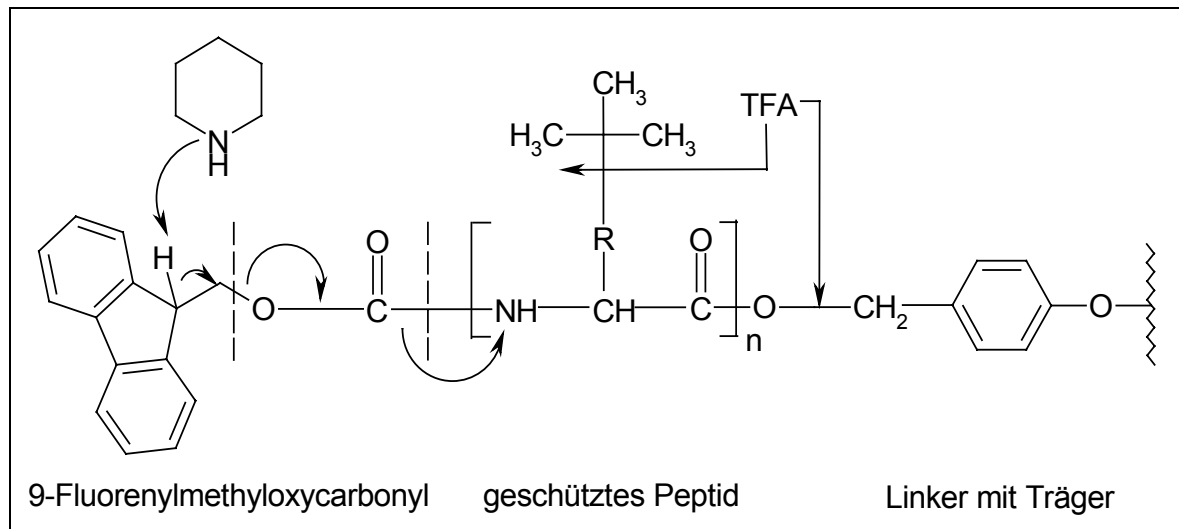


Abb. 24: Fmoc/tBu-Strategie

2.6.4 Kopplungsmethoden

Die Kondensationsreaktion eines Amins mit einer Carbonsäure zu einem Amid verläuft unter sauren Reaktionsbedingungen bei erhöhter Temperatur ab, wodurch Nebenreaktionen fast unvermeidlich sind. Daher ist es insbesondere für Reaktionen an der festen Phase erforderlich, die Carboxylfunktion der zu koppelnden Aminosäure zu aktivieren, um ein reaktionsfähigeres Derivat zu erhalten.

Im Laufe der Zeit sind eine Vielzahl von Methoden zur Aktivierung des C-Terminus entwickelt worden, wobei im Folgenden einige spezielle Aktivierungsmethoden näher beschrieben werden.

Eine Methode, die schon seit längerem bekannt ist, basiert auf dem Einsatz von Anhydriden¹³⁵ (siehe Abbildung 25). Hierbei wird durch Reaktion von Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) mit der Aminosäure (AS-COOH) und einer weiteren Säure bzw. eines Carbonats (R₂-OCOOH) das entsprechende gemischte Anhydrid gebildet. Das entstehende Harnstoffderivat wird aufgrund von Löslichkeitsproblemen vor der eigentlichen Kopplung abfiltriert. Durch Verwendung von Diisopropylcarbodiimid (DIC)

erhält man in den meisten verwendeten Lösungsmitteln lösliche Harnstoffderivate, die nicht mehr abgetrennt werden müssen. Um die Reaktion der Aminkomponente am gewünschten Carbonyl-Kohlenstoff zu gewährleisten, muß der Teil des Anhydrids, der nicht abreagieren soll, durch Gruppen mit +I-Effekt in seiner Elektrophilie herabgesetzt werden. Um dies zu umgehen, können auch zwei Äquivalente der Säurekomponente eingesetzt werden, da auf diese Weise das symmetrische Anhydrid gebildet wird. Nachteil hierbei ist der Verlust eines Äquivalents an Aminosäure, die verworfen oder aufwendig wieder zurückgewonnen werden muß. Aufgründessen eignet sich diese Kopplungsmethode nur bei preisgünstigen Aminosäure-Derivaten.

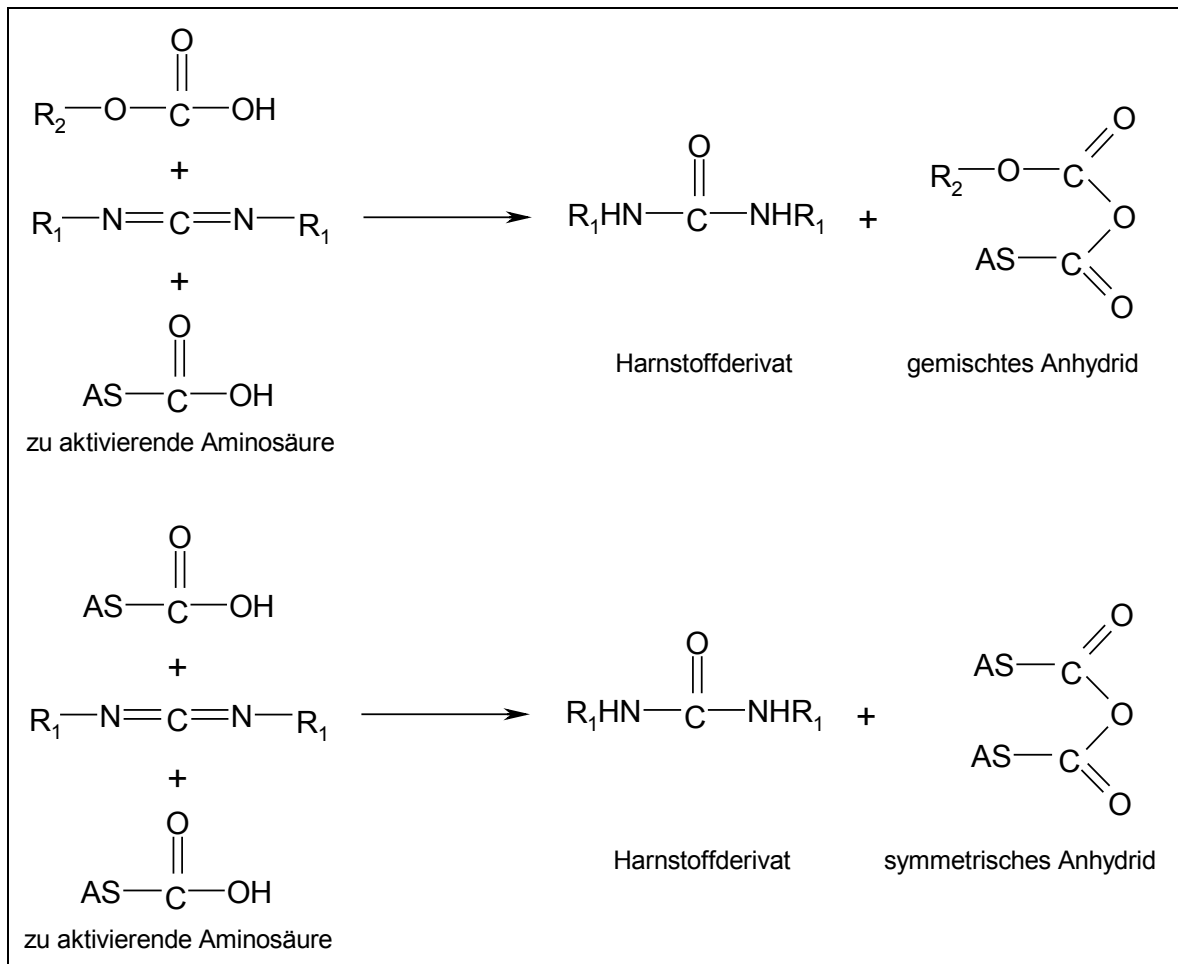


Abb. 25: Aminosäureaktivierung über gemischte oder symmetrische Anhydride

Eine elegantere Kopplungsmethode ist die Verwendung von sogenannten Aktivestern, die bereits elektronenziehende Funktionalitäten enthalten. Der so erleichterte nukleophile

Angriff der Aminofunktion erhöht die Reaktionsgeschwindigkeit und verringert die Gefahr einer Racemisierung¹³⁶.

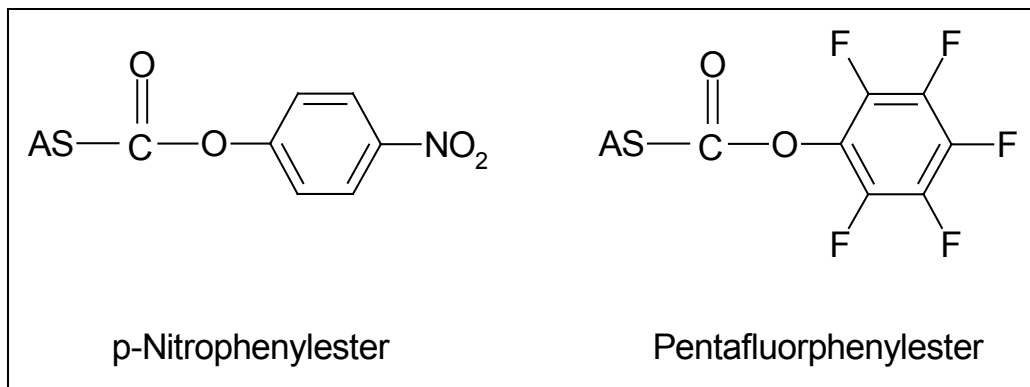


Abb. 26: Beispiele für gebräuchliche Aktivester

Als Alkoholkomponente sind oft stark elektronenziehende Funktionen wie p-Nitrophenyl- oder Pentafluorophenylgruppen im Gebrauch. Diese Aktivester haben den Vorteil, über längere Zeit stabil und lagerfähig zu sein und können bei Bedarf direkt eingesetzt werden. Der Nachteil liegt im hohen Kostenfaktor solcher kommerziell erhältlicher Aminosäure-Aktivester.

Die häufigste Methode zur Aminosäurekopplung ist die sogenannte „in situ“-Aktivierung, bei der der Aktivester vor bzw. während der Aminosäure-Umsetzung gebildet wird (Abb. 27). Diese Methode kann prinzipiell auf zwei Wegen erfolgen. Zum Ersten kann die Aminosäure mit einem Hilfsnukleophil wie Hydroxybenzotriazol (HOBt) unter Mitwirkung eines Carbodiimides direkt oder über das symmetrische Anhydrid zum Benzotriazol-Aktivester (DIC/HOBt-Methode)¹³⁷ umgesetzt werden. Die zweite Möglichkeit besteht darin, den HOBt-Ester durch Reaktion der Aminosäure mit einem Phosphonium- bzw. einem Uronium-Derivat des Hydroxybenzotriazols (BOP bzw. TBTU) unter Mitwirkung eines tertiärenamins (*N*-Methylmorpholin oder *N,N*-Diisopropylethylamin) zu bilden.

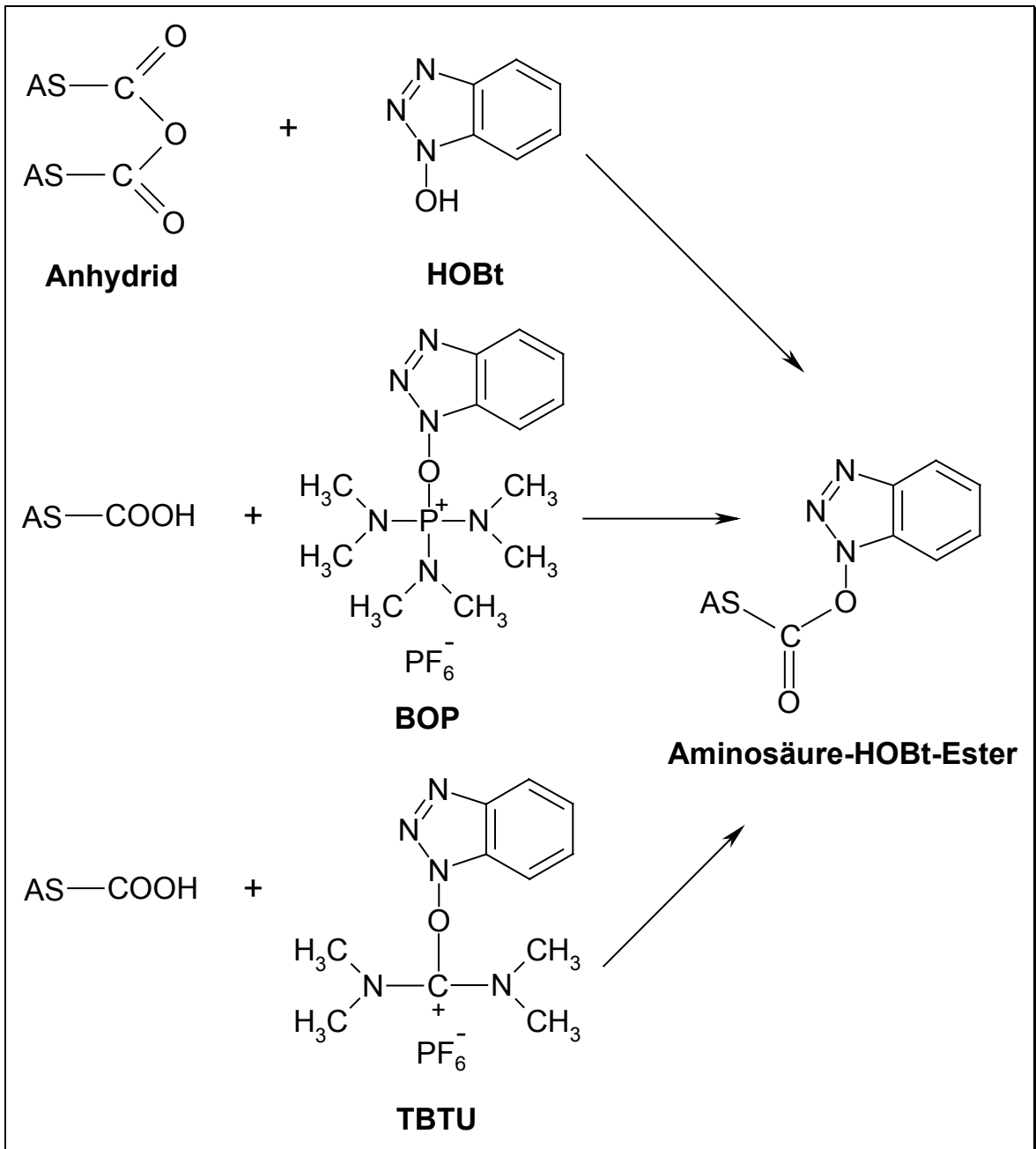


Abb. 27: Aminosäure-Aktivierung über HOBt-Ester

2.6.5 Die Herstellung molekularer Vielfalt

Durch Entwicklungen der letzten Jahre, basierend auf der von Merrifield¹²⁶ eingeführten Festphasensynthesetechnik, existieren eine Vielzahl von Methoden zur Erzeugung molekularer Vielfalt. Hierbei bedient man sich der allgemeinen Methode, eine entsprechend geschützte Verbindung an ein Polymer zu koppeln, die Schutzgruppe zu entfernen, um durch Kopplung weiterer geeignet geschützter Synthesebausteine eine Kettenverlängerung zu erzielen. Eine Vielzahl strukturell unterschiedlicher Verbindungen, sogenannte Verbindungsbibliotheken, können durch parallele (lineare) bzw. kombinatorische Synthese hergestellt werden. Die parallele Synthesestrategie läßt sich zusätzlich in seriell und divergent unterteilen.

Am Beispiel einer Substanzbibliothek, bestehend aus 27 Tripeptiden und in Kombination aus 3 unterschiedlichen Aminosäuren, sollen im Folgenden die unterschiedlichen Synthesestrategien näher erläutert werden.

2.6.5.1 Die parallel serielle Synthese an fester Phase

Bei dieser Synthesestrategie (Abb. 28) wird jeder einzelne Syntheseschritt in der jeweiligen Syntheserunde separat durchgeführt. Beispielsweise benötigt die Synthese eines Tripeptids mit jeweils 3 verschiedenen Aminosäure-Bausteinen $27 \times 3 = 81$ Reaktionsschritte, wobei die $3^3 = 27$ am Harz gebundenen Tripeptide räumlich voneinander getrennt vorliegen.

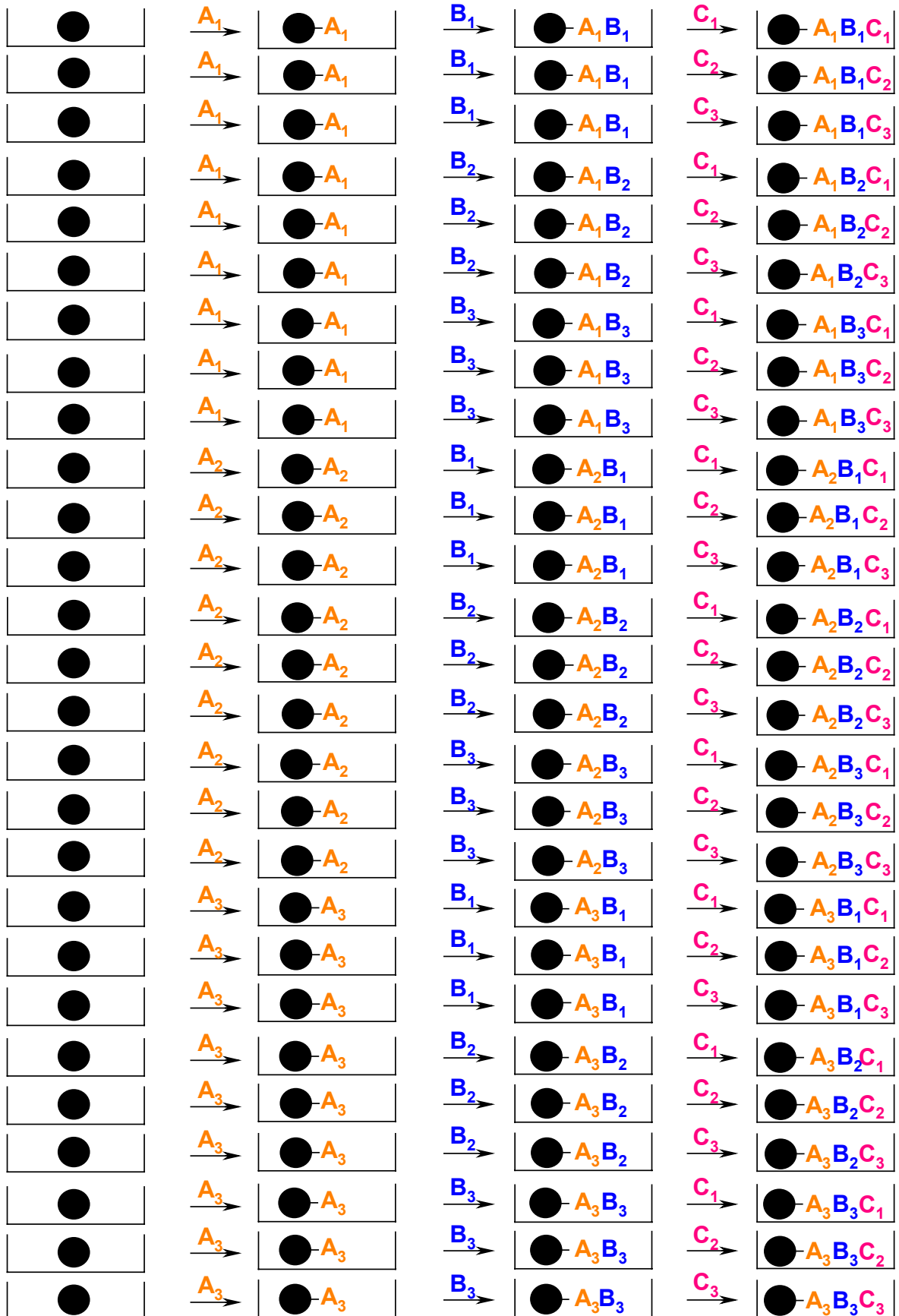


Abb. 28: Darstellung der parallel seriellen Synthesestrategie

2.6.5.2 Die parallel divergente Synthese an fester Phase

Die divergente Synthese (Abb. 29) stellt eine Weiterentwicklung der parallelen Synthesestrategie dar. Hierbei erfolgt zuerst eine Aufteilung des Harzes in 3 Portionen, wobei die Ankopplung der ersten drei Bausteine A₁, A₂, A₃ in räumlich voneinander getrennten Reaktionsräumen stattfindet. Anschließend erfolgt eine weitere Aufteilung auf insgesamt 9 Reaktionsräume, in denen die Bausteine B₁, B₂ und B₃ getrennt gekoppelt werden. Nach einer weiteren Aufteilung und Kopplung der Bausteine C₁, C₂, C₃ erhält man 27 Trimere auf 27 verschiedenen Harzportionen räumlich voneinander getrennt. Auf diese Weise konnten 27 Tripeptide mit nur 39 Reaktionsschritten hergestellt werden.

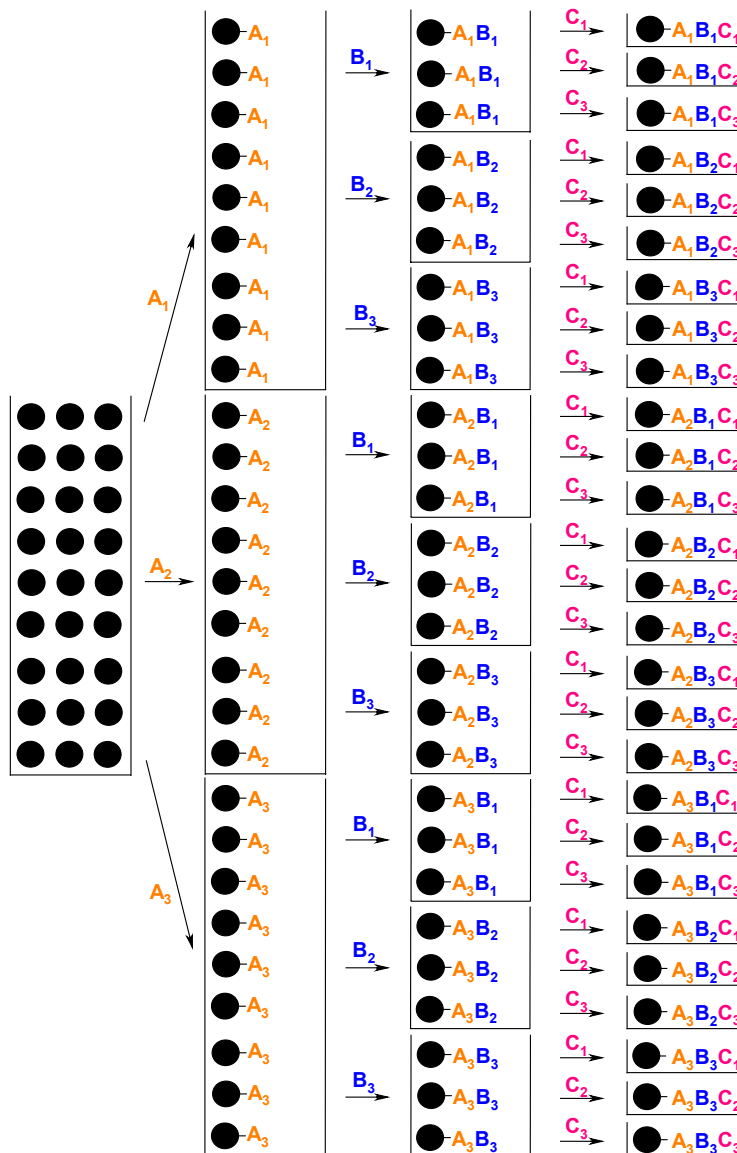


Abb. 29: Schematische Darstellung der parallel divergenten Synthesestrategie

2.6.5.3 Die kombinatorische Festphasensynthese

Mit Hilfe der kombinatorischen Synthese (Abb. 30), eingeführt durch Furka¹³⁸ und Lam¹³⁹, ist eine weitere Reduzierung der Anzahl an Reaktionsschritten möglich. Bei dieser Technik werden die Arbeitsvorgänge nach einem Drei-Takt-Verfahren durchgeführt. Zuerst erfolgt das Aufteilen des festen Trägers in drei gleich große Teile, wonach jedes der drei Aliquote mit dem Synthesebaustein des Typs A umgesetzt wird. Nach dem Zusammenmischen der Harzportionen werden wiederum drei Gemische aufgeteilt, in denen die harzgebundenen Komponenten A_1 , A_2 und A_3 in äquimolaren Mengen enthalten sind. Diese werden danach einzeln mit den Synthesebausteinen des Typs B_1 - B_3 umgesetzt, woraus nun insgesamt neun definierte Produkte resultieren. Durch diese sich jeweils wiederholenden Arbeitsvorgänge reduziert sich die Anzahl für die Synthese von 27 harzgebundenen Trimeren, auf $3+3+3 = 9$ Syntheseschritte. Bei der Synthese von Einzelsubstanzen (siehe parallel serielle Synthesestrategie 2.6.5.1) würden insgesamt 81 Reaktionsschritte benötigt werden.

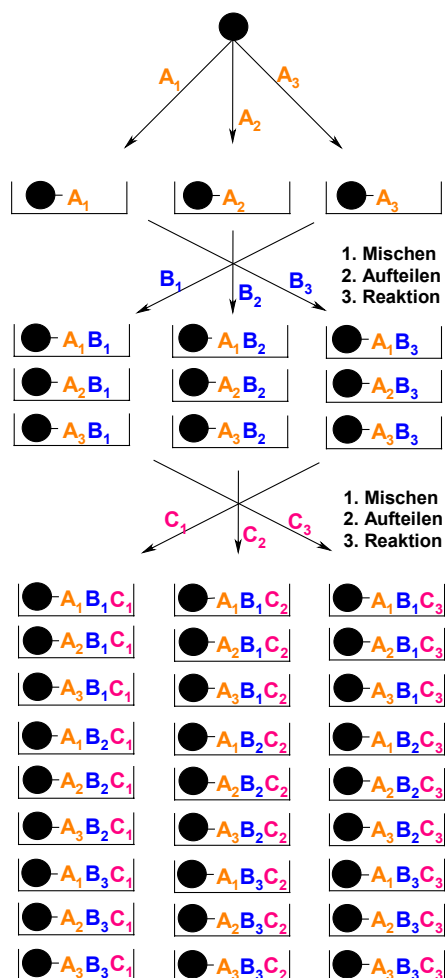


Abb. 30: Darstellung der kombinatorischen Synthesestrategie

2.7 Problemstellung

In der vorliegenden Arbeit sollten, aufbauend auf den Ergebnissen von C. Schödl¹⁴⁰, Verbindungen mit der allgemeinen Struktur **3**, einem potenten invers-agonistisch wirkenden Liganden der Polyamin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors strukturell variiert werden. O. Schadt¹⁴¹ konnte basierend auf dieser Struktur **3** durch Amidinsertion einen Liganden synthetisieren (**4**, R=H), der sich bei ähnlicher Affinität durch eine höhere Selektivität zur Polyamin-Bindungsstelle auszeichnete. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde Verbindung **4** fortan als gleichberechtigte Leitstruktur für weitere Optimierungsbemühungen herangezogen.

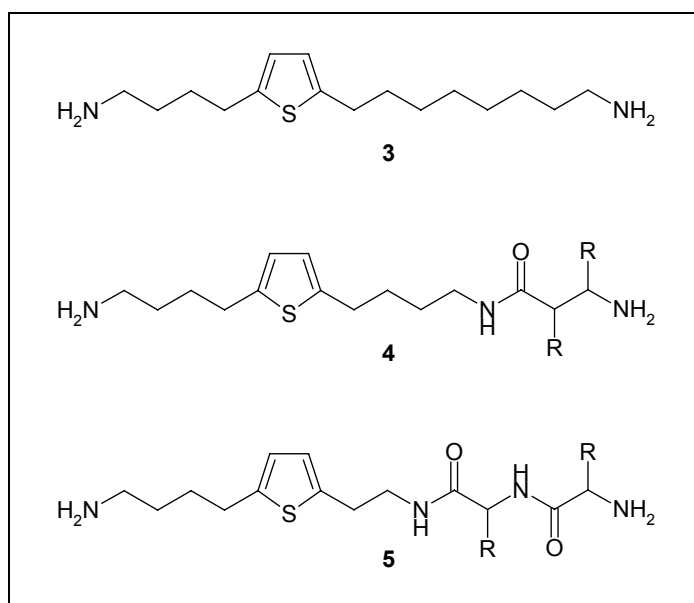


Abb. 31: Leitstrukturen auf Basis von Thiophenalkandiaminen

Im Mittelpunkt der strukturellen Variationen stand sowohl eine Affinitätssteigerung zur Bindungsstelle, als auch die Steigerung des sogenannten Sperminfaktors, der ein Maß für die Selektivität des Liganden zur Polyaminbindungsstelle darstellt.

Im Rahmen dieser Arbeit sollte vor allem die konformationelle Einschränkung der langen Kohlenwasserstoffkette durch Insertion einer- bzw. mehrerer amidischer Strukturelemente, repräsentiert durch die Leitstrukturen **4** bzw. **5**, untersucht werden. Die Verwendung von Aminosäuren mit unterschiedlichen Seitenkettenfunktionen sollte dabei neue Wechselwirkungen am Rezeptor aufzeigen, die in einer Affinitäts- und/oder Selektivitätssteigerung resultiert.

Aufbauend auf der Entwicklung festphasensynthetischer Konzepte sollten kleine Substanzbibliotheken verfügbar werden, die im Hinblick auf ihre pharmakologische Potenz zur Polyamin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors untersucht werden können. Eine weitere Optimierung der pharmakologischen Eigenschaften sollte in einem iterativen Verfahren auf Basis bereits erhaltener Ergebnisse unter Einsatz bzw. Etablierung weiterer kleiner Substanzbibliotheken erfolgen.

Spezieller Teil

3 Vorarbeiten

Im Rahmen der Dissertation von Clemens Schödl¹⁴⁰ zeigten länger-kettige, aliphatische α,ω -Diamine schwache invers-agonistische Effekte im [³H]-MK-801 Bindungsassay der Polyamin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors. Durch Insertion des Heteroaromaten Thiophen in die Alkylkette konnte deren strukturelle Flexibilität eingeschränkt werden und zusätzlich eine neue Haftstelle für die Rezeptor-Ligand-Interaktion postuliert werden. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde die relative Lage der Arylsubstruktur unter Beibehalt der Alkylkettenlänge variiert, wobei das unsymmetrische, terminale Diamin **3** mit einer IC₅₀ von 0,33 μ M und einer Sperminsensitivität von 12,0 als potentester, inverser Agonist im [³H]MK-801-Bindungstest identifiziert wurde (Tab. 2).

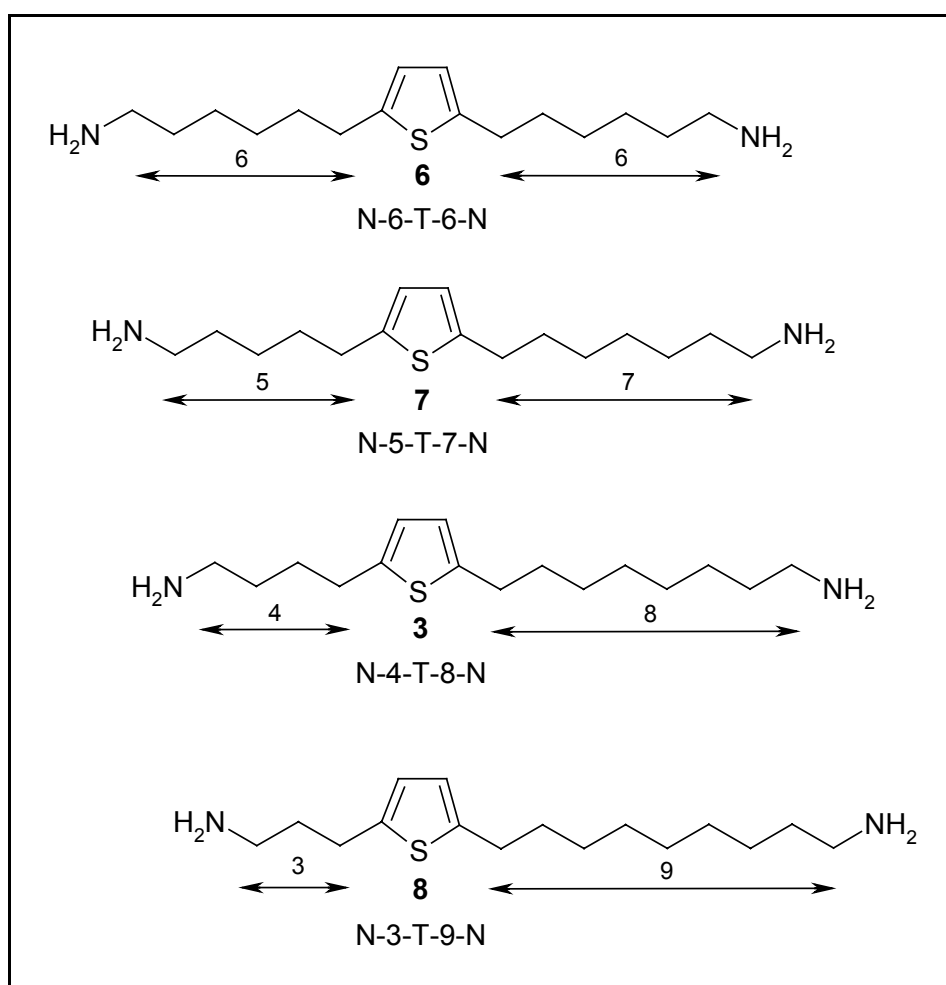


Abb. 32: Terminale Diamine mit Thiopheninsektion

Struktur	IC ₅₀ [μM]	$\frac{IC_{50}(\text{Spn})}{IC_{50}}$ [μM]
N-6-T-6-N 6	2.2	8.9
N-5-T-7-N 7	1.6	7.8
N-4-T-8-N 3	0.33	12,0
N-3-T-9-N 8	5.0	5.4

Tab. 2

3.1 Die Leitstruktur

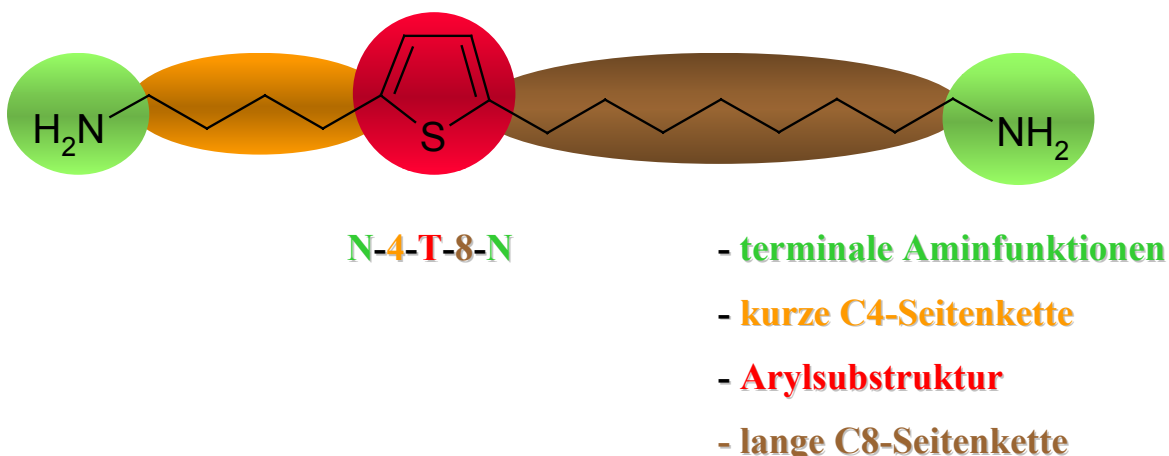


Abb. 33: Allgemeiner Aufbau der Leitstruktur 3

Die in Abbildung 33 gezeigte Struktur lässt sich grob in vier Segmente unterteilen. Zum einen in die Arylsubstruktur in Form eines Thiophenringes, der in 2- bzw. in 5-Position durch zwei weitere Teilsegmente in Form einer kurzen und einer langen Alkylkette substituiert ist, und zum anderen in Form zweier Aminfunktionen, die sich jeweils terminal an den entsprechenden Kohlenwasserstoffketten befinden.

Im Rahmen dieser Dissertation wurden alle Teilsegmente in die Untersuchungen miteinbezogen, wobei das Hauptaugenmerk auf der strukturellen Variation der langen C8-Seitenkette lag. Die Festphasensynthesetechnik ermöglichte hierbei die Herstellung einer Vielzahl an Verbindungen, wobei durch Kombination aus pharmakologischen Bindungsstudien und iterativer Synthese kleiner Substanzbibliotheken neue potentielle Haftstellen gefunden werden sollten.

3.2 Die Variation der kurzen Alkylseitenkette

Die Variation der kurzen Alkylseitenkette umfaßte die Synthese einer einzelnen Verbindung in Form von N-3-T-8-N **9**.

Die von Clemens Schödl synthetisierten Verbindungen **6**, **7** und **8** zeigen im direkten Vergleich zum N-4-T-8-N **3**, unter Beibehalt der Gesamtalkylkettenlänge, eine geringere Affinität. Im Hinblick auf eine mögliche Affinitätssteigerung war die Reduktion einer einzelnen Methylenfunktion im Bereich der kurzen Alkylkette zu untersuchen.

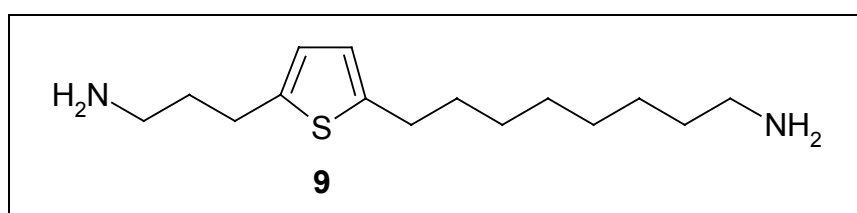


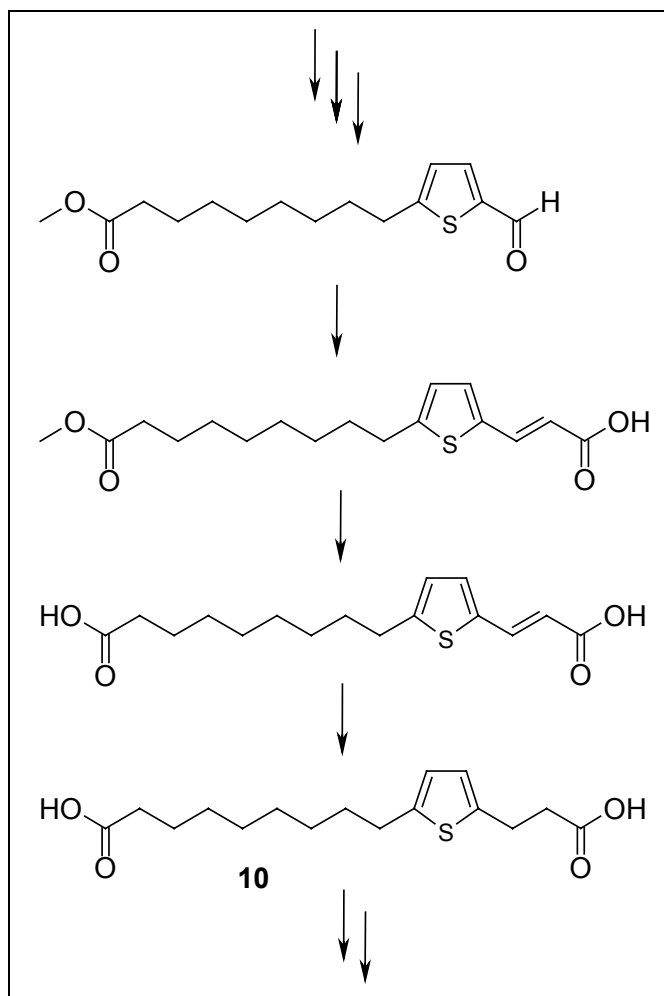
Abb. 34: Struktur von N-3-T-8-N **9**

3.2.1 Chemische Synthese von N-3-T-8-N

Das allgemeine Synthesekonzept zum Aufbau von *N,N*-disubstituierten Diaminen geht z.T. auf ein während der Dissertation von Clemens Schödl entworfenes Synthesekonzept zurück. Hierbei wird die 2`-Position des Thiophens unter Friedel-Crafts-Bedingungen mit dem entsprechenden Säurechlorid acyliert.

Die direkte Umsetzung von Thiophen **11** mit Propansäure-monomethylesterchlorid zum gewünschten acylierten Ester **12** gelang unter Friedel-Crafts-Bedingungen mit Hilfe von Aluminiumtrichlorid in 1,2-Dichlorethan allerdings nicht (siehe Abbildung 36).

Auch der von Clemens Schödl durchgeführte Syntheseansatz zum Aufbau der kurzen Seitenkette von Verbindung **8** durch eine Friedel-Crafts-Acylierung schlug fehl. Infolgedessen wurde ein Syntheseweg in Kauf genommen, der ausgehend von einer Formylierung des Thiophenrings, Kettenverlängerung durch eine Aldolkondensation mit anschließender Decarboxylierung und schließlich durch Clemmensen-Reduktion das benötigte Intermediat **10** zum Aufbau von N-3-T-9-N **8** lieferte (siehe Abbildung 35).

Abb. 35: Intermediate in der Synthese von N-3-T-9-N **8**

Zum Aufbau der kurzen Seitenkette von Zielverbindung N-3-T-8-N **9** wurden unterschiedliche Synthesestrategien in Erwägung gezogen. Eine alternative Synthese von (2'-Thienyl)-ethanon **13** mit Natriumamid¹⁴² in Diethylether und anschließender Umsetzung mit Kohlensäurediethylester lieferte zwar den gewünschten Diethylester **14**, dieser konnte aber durch saure Desoxygenierung mit anschließender Esterverseifung leider nicht zur gewünschten Carbonsäure **17** umgesetzt werden. Die dritte Variante verlief über die sogenannte Meldrum-Säure¹⁴³, die durch Reaktion von Malonsäure mit Acetanhydrid unter Säurekatalyse in 49 % Ausbeute erhalten wurde. Die Umsetzung mit Thiophen-2-carbaldehyd unter Zusatz von Triethylammoniumformiat generierte schließlich in nur zwei Reaktionsschritten die gewünschte Zwischenverbindung **17**¹⁴⁴.

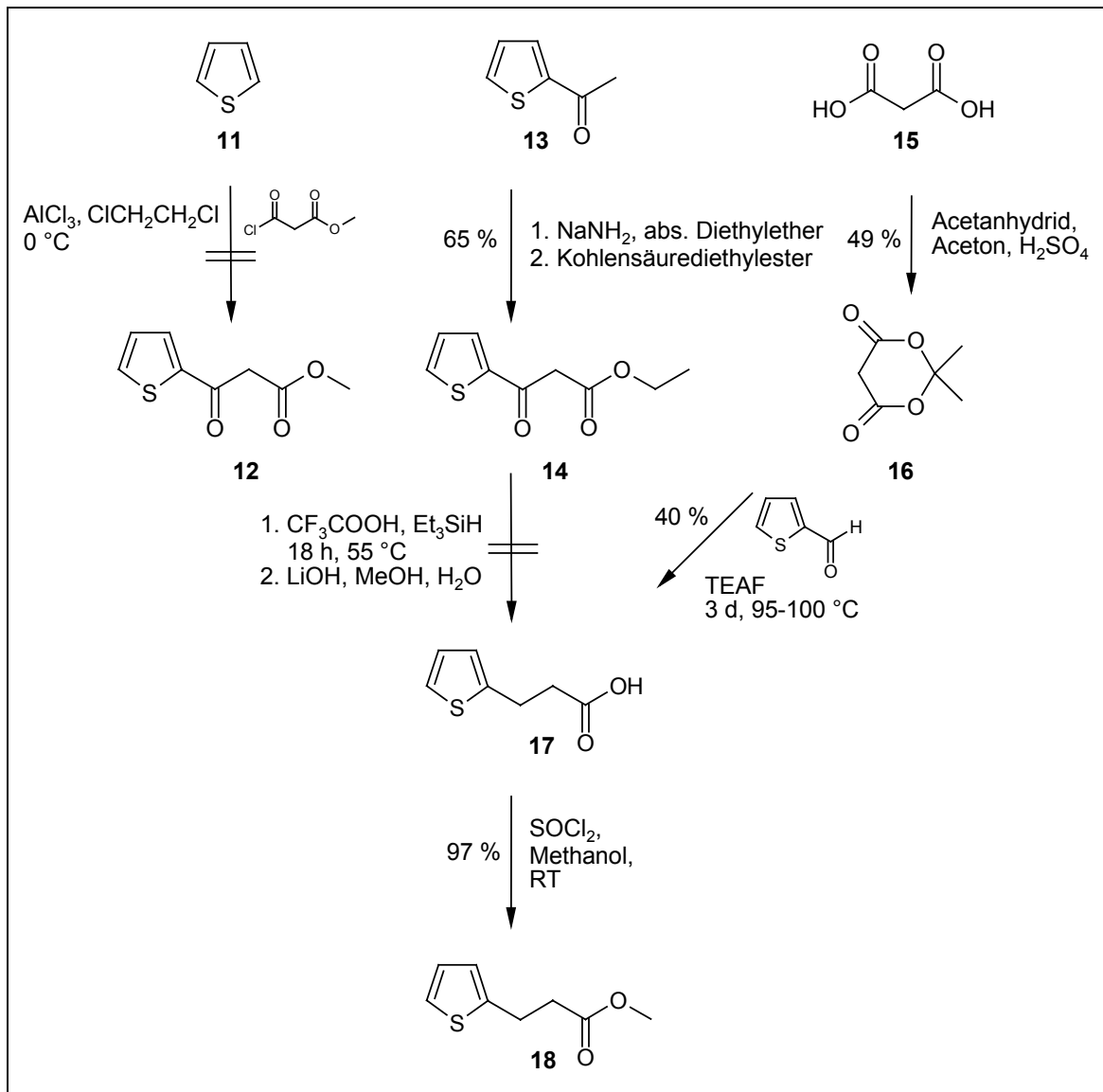


Abb. 36: Synthese der 3-(2'-Thienyl)propansäure **17** und deren Methylester **18**

Nach Veresterung der Säure **17** zum entsprechenden Methylester **18** erfolgte der Aufbau der langen Seitenkette durch Fiedel-Crafts-Acylierung mit Octandisäuremonoethylesterchlorid. Die anschließende Esterverseifung lieferte in guten Ausbeuten eine Dicarbonsäure, woraus nach entsprechender sauren Desoxygenierung die gewünschte decarbonylierte Verbindung **21** in 72% Ausbeute erhalten werden konnte. Die beiden Carbonsäurefunktionen wurden mittels Thionylchlorid in die korrespondierenden Säurechloride übergeführt und durch Einleiten von Ammoniak direkt zum Diamid **22** umgesetzt. Anschließend erfolgte die Reduktion der Amidfunktionen mit Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran, sodaß schließlich das gewünschte Diamin generiert wurde, das durch Aufnahme in abs. Diethylether und Einleiten von HCl -Gas als Dihydrochloridsalz in eine stabile, lagerfähige Form überführt werden konnte.

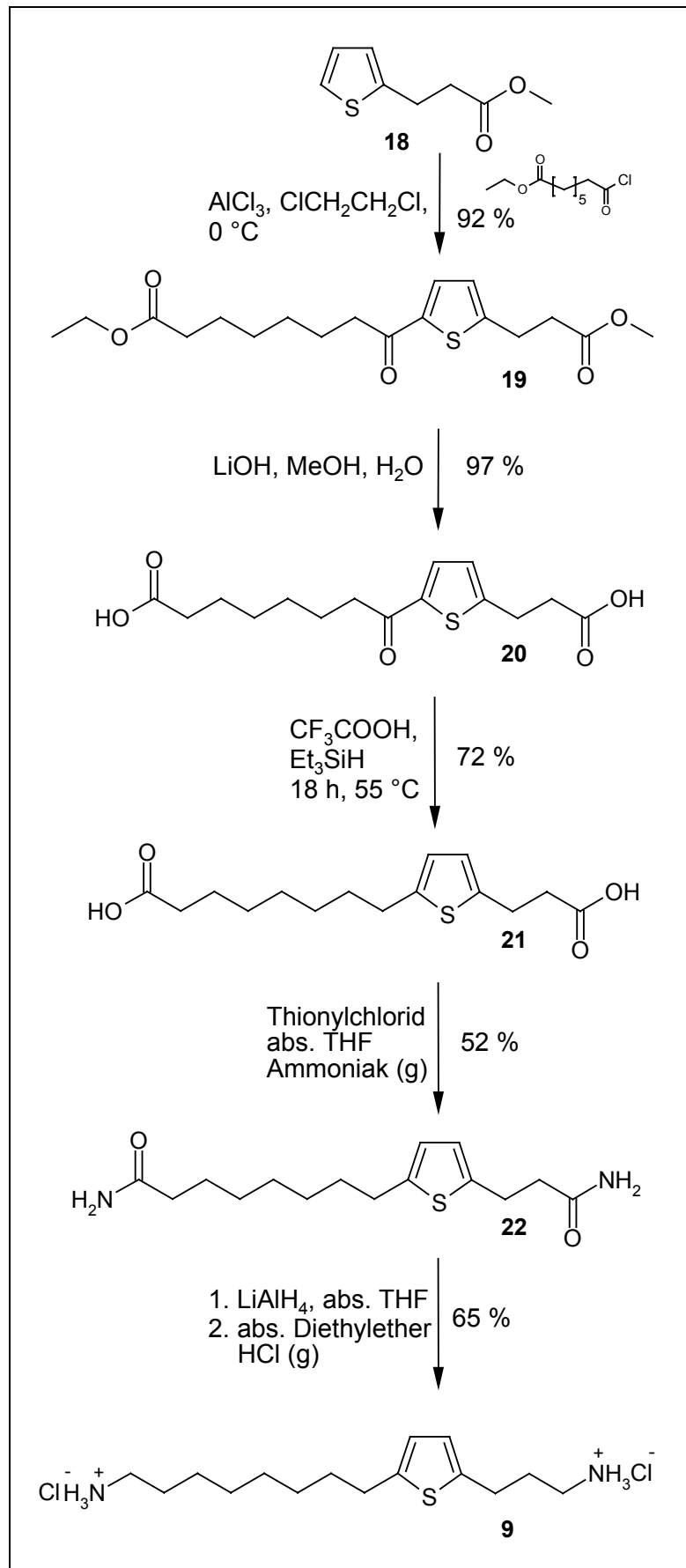


Abb. 37: Synthesesequenz von Verbindung 9

3.2.2 Struktur-Wirkungs-Beziehungen

Die Reduktion einer Methyleneinheit in der C4-Seitenkette führte im direkten Vergleich zum N-4-T-8-N **3** zu einem Verlust an Affinität, wobei eine Erhöhung der Spermin-Sensitivität um den Faktor 2 zu beobachten war. Die Verringerung des Abstands zwischen den beiden essentiellen Aminhaftstellen führte eindeutig zu einem Affinitätsverlust ohne wesentlichen Gewinn an Selektivität.

Struktur	IC ₅₀ [μM]	$\frac{\text{IC}_{50}(\text{Spn}) [\mu\text{M}]}{\text{IC}_{50} [\mu\text{M}]}$
N-4-T-8-N 3	1,4	4,1
N-3-T-8-N 9	5,1	9,4

Tab. 3

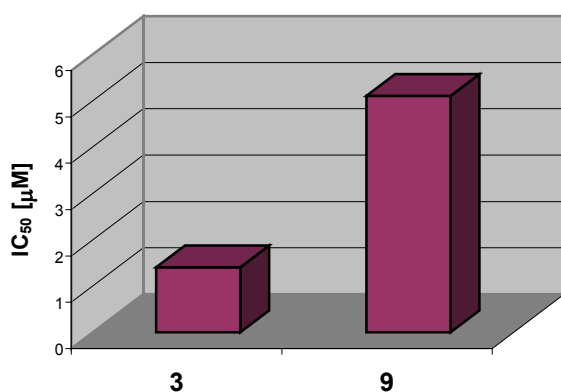
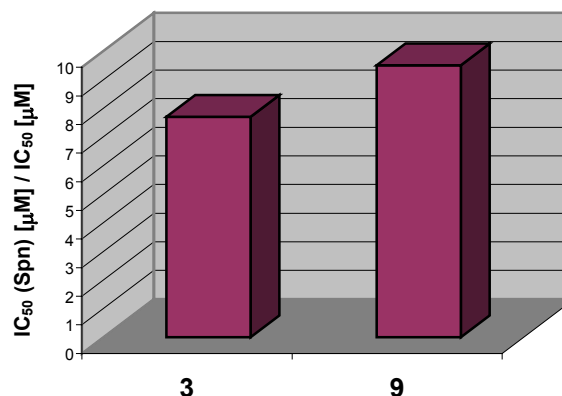
Abb. 38: IC₅₀-Werte

Abb. 39: Sperminsensitivitäten

3.3 Die Variation der Arylsubstruktur

Durch Variation der Arylsubstruktur sollte untersucht werden, ob das Vorhandensein von Aromatizität, beschrieben durch das Hückel-System ($4n+2$ π -Elektronen), essentiell für die Bindung am Rezeptor anzusehen ist. Hierfür wurde zum einen durch Austausch des Thiophenrings gegen Benzol ein bioisosteres Analogon **23** zu Verbindung **3** geschaffen und zum anderen ein Alkandiamin **24** synthetisiert, dessen Substruktur durch eine nicht aromatische Alkinfunktion repräsentiert wird.

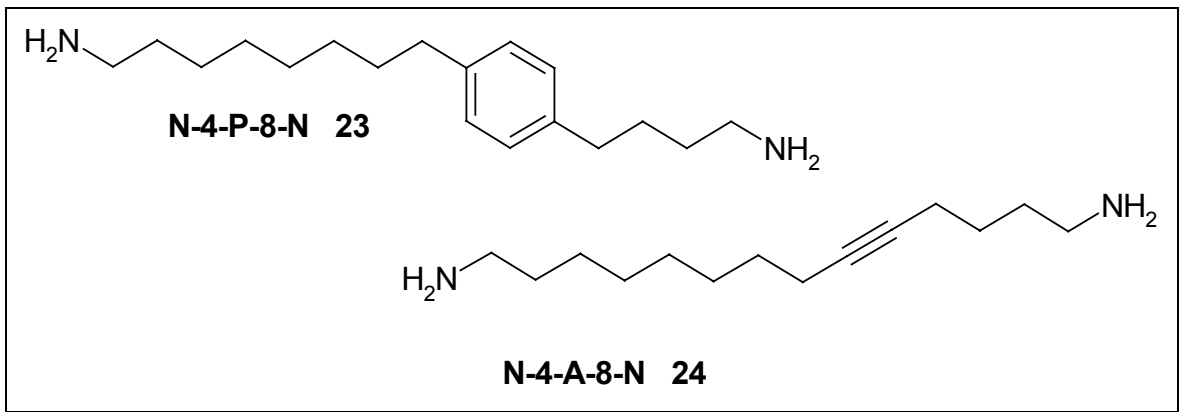


Abb. 40: Arylstrukturderivate

3.3.1 Chemische Synthese von N-4-A-8-N

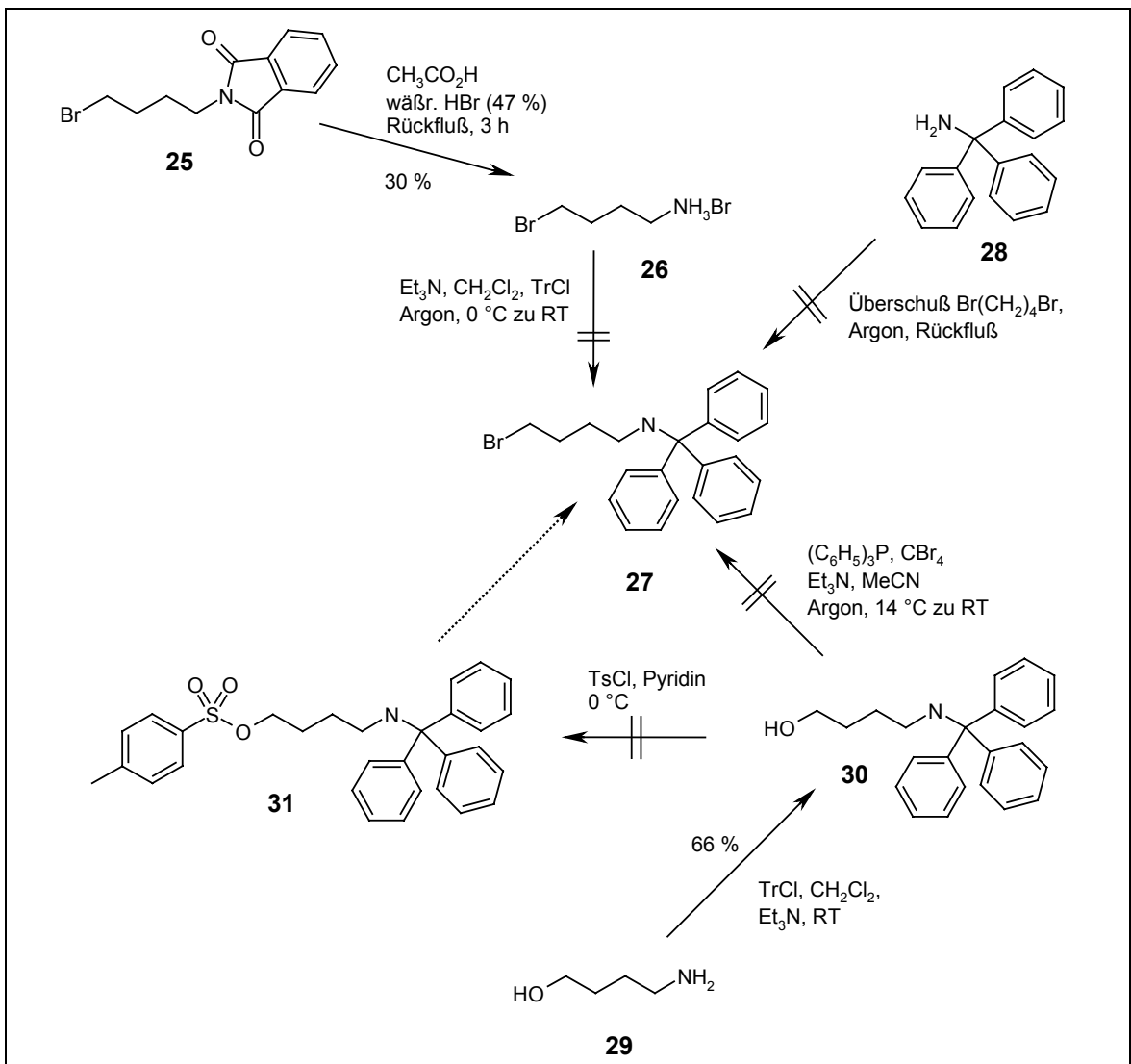


Abb. 41: Synthesestrategie zur Synthese von Verbindung 27 unter Verwendung der Trityl-Schutzgruppe

Das erste Synthesekonzept beinhaltete die Herstellung eines *N*-Tritylgeschützten Brombutanamins **27** zum Aufbau der kurzen Seitenkette. Hierfür wurden unterschiedliche Synthesestrategien verfolgt, die aber letztendlich nicht zum gewünschten Zwischenprodukt führten. Folgende Synthesemethoden wurden verwendet (Abb. 41):

1. Nach Überführung des Phthalimid-geschützten 4-Brombutanamins **25** in das freie Amin in Form des Hydrobromides¹⁴⁵ **26**, konnte die freigesetzte Aminofunktion nach literaturbekannten Verfahren¹⁴⁶ (TrCl, Et₃N, CH₂Cl₂) nicht trityliert werden.
2. Die direkte Umsetzung von Triphenylmethylamin **28** mit einem hohen Überschuß an 1,4-Dibrombutan in der Siedehitze führte ebenfalls nicht zum gewünschten Produkt¹⁴⁶.
3. Die Tritylierung von 4-Aminobutanol **29** gelang zwar mit einer Ausbeute von 66 % zur *N*-Trityl-geschützten Verbindung **30**, die Bromierung des Alkohols aber, unter Zuhilfenahme von Tetrabromkohlenstoff und Triphenylphosphin in Acetonitril¹⁴⁶, generierte auch nicht den benötigten Synthesebaustein.
4. Ein weiterer Versuch scheiterte an der Tosylierung der primären Hydroxylfunktion von Verbindung **31**, die dann über eine anschließende nucleophile Substitution zur entsprechenden Bromverbindung **27** führen sollte.

Ein Grund für die Erfolglosigkeit der Synthese von Zwischenverbindung **27** bei gegebenen Reaktionsbedingungen lag voraussichtlich in der nicht ausreichenden Stabilität der Tritylschutzgruppe. Der Verlust der Schutzgruppe ermöglichte sowohl intramolekulare Substitutionsreaktionen, begünstigt durch die Bildung von Pyrrolidin, als auch intermolekulare Kettenvernetzungen durch das Vorhandensein einer geeigneten Abgangsgruppe. Aufgrund dieser Erfahrungen zur Synthese des *N*-Tritylgeschützten Brombutanamins **27** wurde eine neue Synthesestrategie unter Verwendung einer anderen Schutzgruppe konzipiert (Abb. 42).

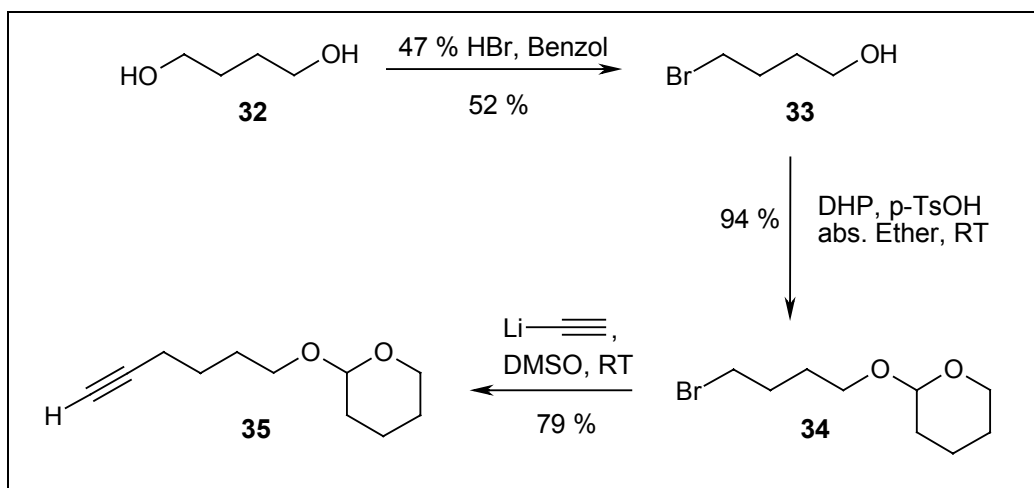


Abb. 42: Synthesesequenz der kurzen Seitenkette unter der Verwendung der THP-Schutzgruppe

Hierfür wurde zuerst wiederum die kurze Seitenkette aufgebaut. Die Synthese begann mit der Monobromierung von 1,4-Butandiol **32** mit Bromwasserstoffsäure in Benzol. Danach erfolgte die Schützung der verbleibenden Alkoholfunktion als entsprechender THP-Ether **34** durch Umsetzung in Diethylether mit 3,4-Dihydropyran und katalytischen Mengen an p-Toluolsulfonsäure¹⁴⁷. Die Anknüpfung der Alkinfunktion gelang in 55 %iger Ausbeute durch Reaktion mit Lithiumacetylid in Dimethylsulfoxid als polares, aprotisches Lösungsmittel¹⁴⁸. Die lange Seitenkette wurde mit der gleichen Synthesestrategie bis zur THP-geschützten Bromoctanolstruktur **38** aufgebaut.

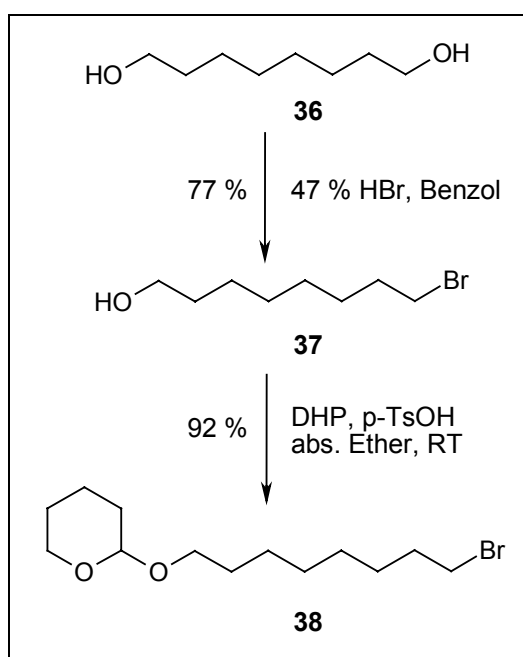
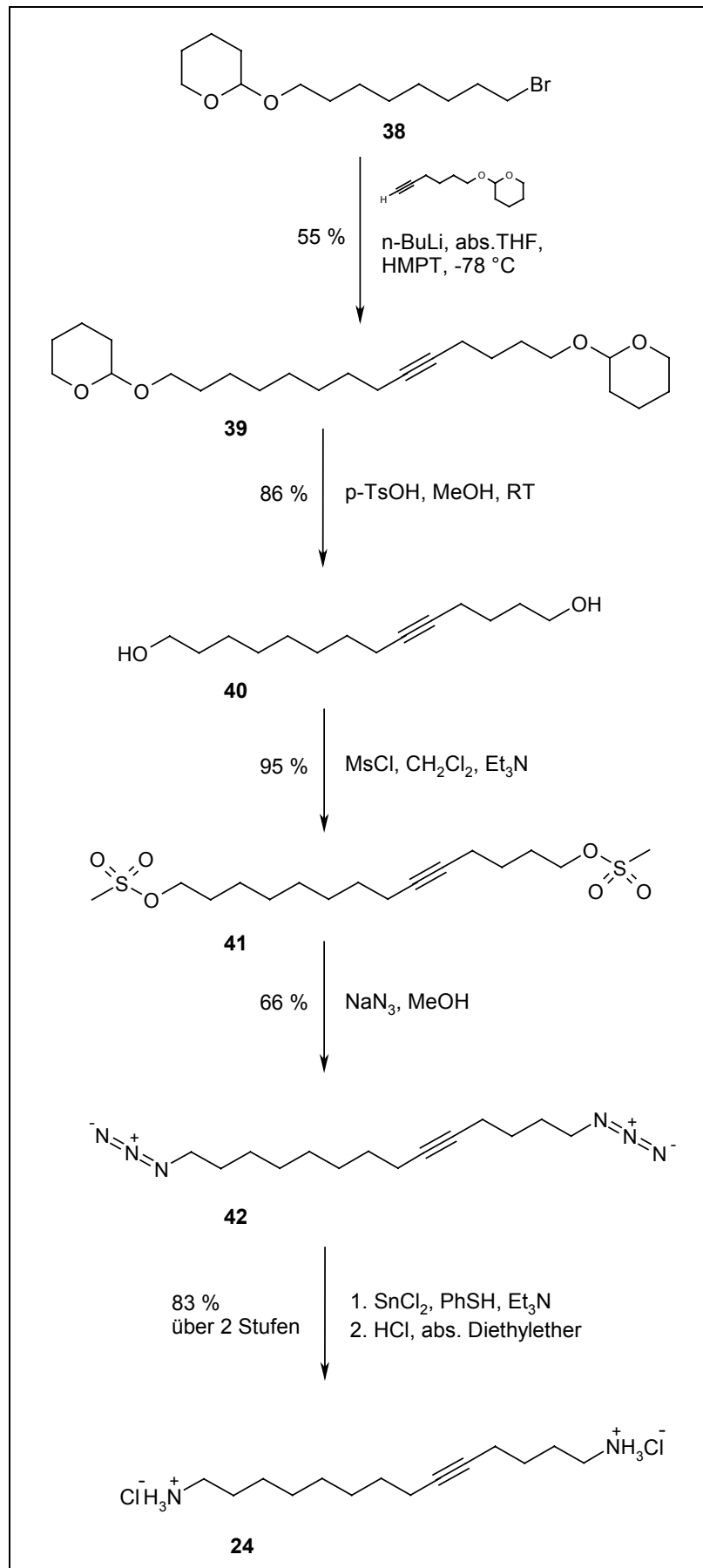


Abb. 43: Aufbau der langen Seitenkette

Abb. 44: Synthese von N-4-A-8-N **24**

Die Verknüpfung beider Teilstrukturen zum Zielprodukt erfolgte durch Deprotonierung des Alkins mit anschließender Umsetzung mit dem THP-geschützten Bromoctanol **38** bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ in THF unter Zusatz von Hexamethylphosphorsäuretriamid als polares, aprotisches Lösungsmittel¹⁴⁹. Unter Verwendung eines sauren Katalysators in Methanol erhielt man Struktur **40** mit terminalen Hydroxylfunktionen in einer Ausbeute von 86 %. Durch Mesylierung¹⁵⁰ in Dichlormethan wurden die beiden Alkoholfunktionen in bessere Abgangsgruppen überführt, die durch Umsetzung mit Natriumazid in Methanol zur entsprechenden Diazidstruktur **42** führte. Unter reduktiven Bedingungen¹⁵¹, in einem Gemisch aus Zinn-II-chlorid, Thiophenol und Triethylamin, wurde schließlich die gewünschte terminale Diaminstruktur **24** erhalten, die wiederum durch Dihydrochlorierung in eine stabile Lagerform umgewandelt werden konnte.

3.3.2 Chemische Synthese von N-4-P-8-N

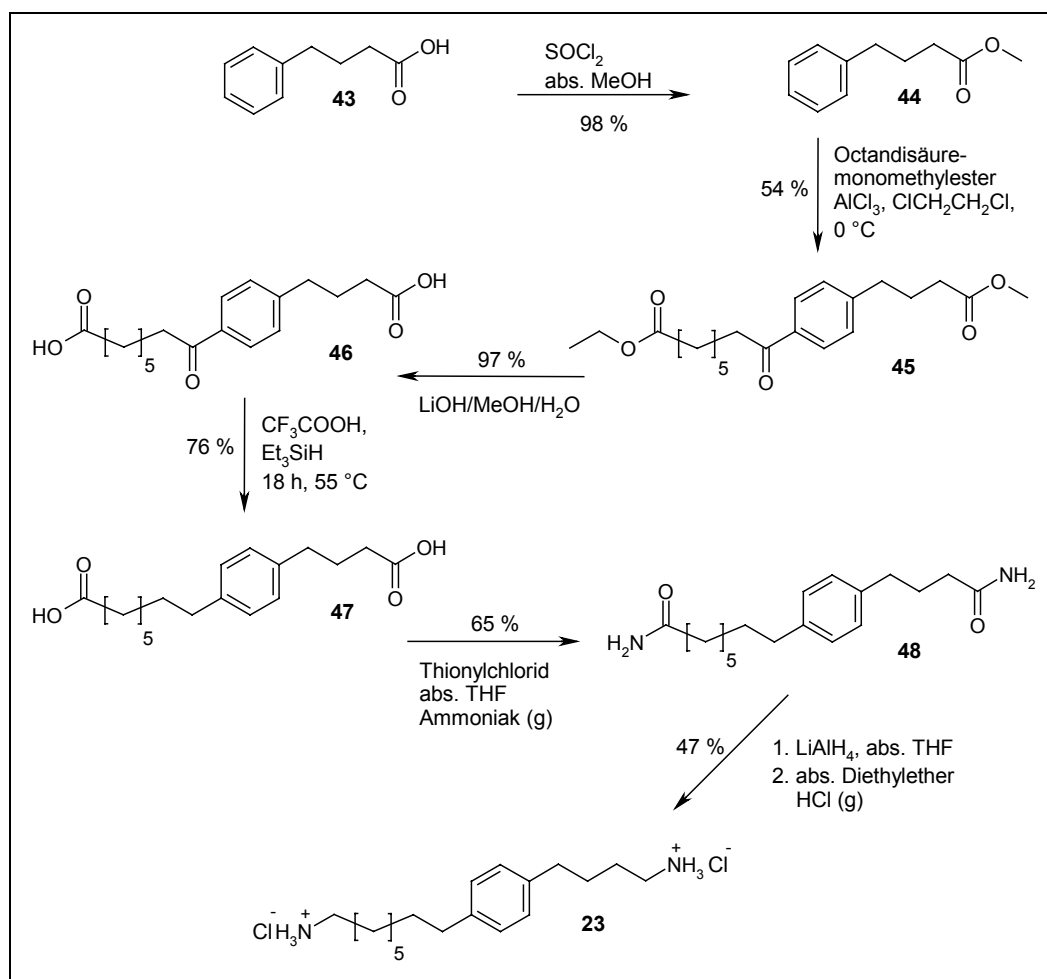
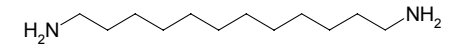
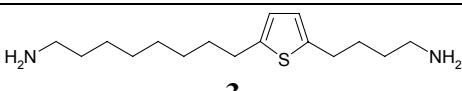
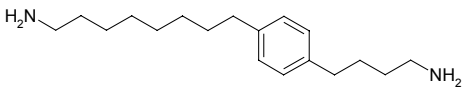
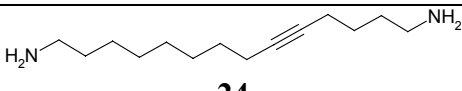


Abb. 45: Synthesesequenz von N-4-P-8-N **23**

Im ersten Syntheseschritt wurde 4-Phenylbutansäure **43** durch Umsetzung mit Thionylchlorid in absolutem Methanol zum entsprechenden Methylester **44** umgesetzt. Die Einführung der langen C8-Seitenkette erfolgte durch Friedel-Crafts-Acylierung mit Hilfe von Octandisäure-monomethylesterchlorid als zweite Eduktkomponente in einer Ausbeute von 54 %. Nach Verseifung der terminalen Esterfunktionen in einem Gemisch aus Lithiumhydroxid, Methanol und Wasser konnte die gewünschte Dicarbonsäure **46** in nahezu quantitativer Ausbeute erhalten werden. Die anschließende saure Desoxygenierung lieferte schließlich die decarbonylierte Dicarbonsäure **47**, die nach Überführung in das entsprechende Disäurechlorid und nach Umsetzung mit gasförmigen Ammoniak, die gewünschte Diamidstruktur **48** erzeugte. Nach Lithiumaluminiumhydrid-Reduktion in absolutem Tetrahydrofuran erhielt man das angestrebte Diamin **23**, das durch Hydrochlorierung in absolutem Diethylether in ein stabiles Diamindihydrochlorid umgesetzt wurde.

3.3.3 Struktur-Wirkungs-Beziehungen

Struktur	IC ₅₀ [μM]	IC ₅₀ (Spn) [μM]	$\frac{\text{IC}_{50} \text{ (Spn) } [\mu\text{M}]}{\text{IC}_{50} [\mu\text{M}]}$
 49	16,5	171,6	10,4
 3	0,33	3,96	12,0
 23	0,98	8,31	8,48
 24	5,8	59,2	10,2

Tab. 4: Bindungsdaten

Alle pharmakologisch erhaltenen Daten wurden mit dem einfachsten Alkandiamin **49** ohne Arylsubstruktur verglichen. Ein Austausch der Thienylsubstruktur gegen eine Phenylstruktur führte nur in geringem Maße zu einem Verlust an Affinität. Durch

Substitution mit einer Alkinfunktionalität sank die Affinität allerdings um den Faktor 17. Ein vollständiger Verlust an Affinität war nicht zu beobachten. Das Vorhandensein einer einfachen π -Donorfunktion scheint für die Ligand-Rezeptor-Interaktion durchaus vorteilhaft zu sein, wohingegen ein Fehlen einer solchen Funktion ungünstig ist. Der Unterschied zwischen den Sperminfaktoren der verschiedenen Liganden kann als nicht signifikant angesehen werden. Das zeigt, daß ein Verlust an Affinität nicht immer zwangsläufig mit einer Abnahme an Selektivität einhergehen muß.

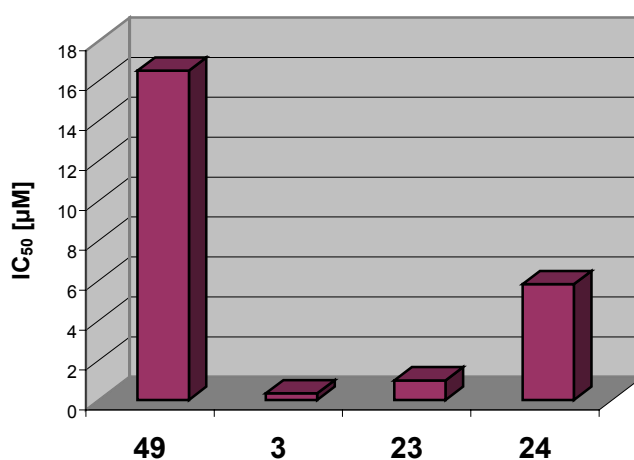
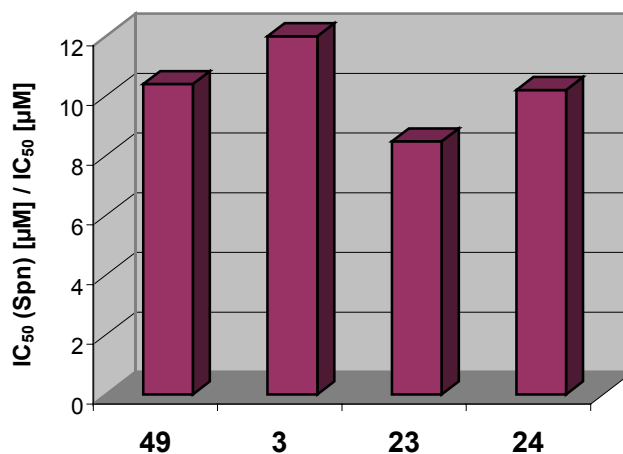
Abb. 46: IC₅₀-Werte

Abb. 47: Spermin-Sensitivitäten

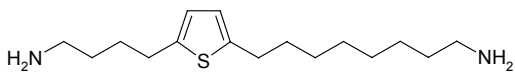
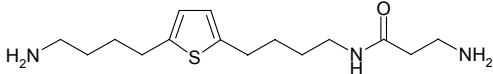
3.4 Variationen der langen Alkylseitenkette

Im Rahmen dieser Dissertation stand vor allen Dingen die Untersuchung der Rigidisierung der C8-Seitenkette durch Insertion einer bzw. mehrerer amidischer Funktionalitäten in Form von Aminosäuren im Vordergrund. Die Verwendung von Aminosäuren mit unterschiedlichen Seitenresten sollte mögliche neue Wechselwirkungsstellen an der Polyamin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors aufzeigen.

3.4.1 Insertion amidischer Strukturelemente

3.4.1.1 Vorarbeiten

O. Schadt konnte in seiner Dissertation zeigen¹⁴¹, daß durch den Einbau einer Amidfunktionalität in die lange Seitenkette von Verbindung **50** erstmals ein Ligand erzeugt wurde, der einen Spermin-Sensitivitätsfaktor mit einer Ratio von 59 weit über der bis dato sensitivsten Verbindung mit einer Spermin-Ratio von 13,8 besaß. Im direkten Vergleich zur Leitstruktur **3** verlor diese Verbindung im [³H]-MK801-Bindungsassay etwa um den Faktor 3,5 an Affinität, trotzdem wurde durch die Amidinsertion eine neue Verbindungsklasse geschaffen, die in Bezug auf Selektivität zur Sperminbindungsstelle ganz neue Dimensionen aufwies. Aufgründessen wurde die Verbindung **50** mit Amidinsertion fortan als gleichberechtigte Leitstruktur für weitere Optimierungsbemühungen herangezogen.

Struktur	IC ₅₀ [μM]	$\frac{\text{IC}_{50}(\text{Spn}) [\mu\text{M}]}{\text{IC}_{50} [\mu\text{M}]}$
 <p style="text-align: center;">3</p>	0,52	13,8
 <p style="text-align: center;">50</p>	1,84	59,0

Tab. 5

3.4.2 Festphasensynthese von Liganden mit einer Amidinsertion

Aufgrund der interessanten Bindungsdaten des terminalen Diamins mit Amidinsertion **50** sollten weitere strukturelle Variationen in der C8-Seitenkette vorgenommen werden. Verbindung **51** wurde als erweiterte Zielstruktur ausgewählt und liefert retrosynthetisch ein symmetrisches, terminales Diamin **52** und ein substituiertes β_1 - bzw. ein β_2 - Alaninderivat mit variabler Seitenkettenfunktion. Die Verwendung von β -Alaninderivaten ermöglichte ein Synthesekonzept, in der die exakte Kettenlänge des Diaminamids **50** beibehalten werden konnte und die Generierung der Amidfunktion durch eine einfache Peptidkopplung erfolgte. Durch Auswahl unterschiedlicher Seitenreste in β_1 - bzw. β_2 -Position sollten im pharmakologischen Bindungsexperiment mögliche neue Haftstellen aufgezeigt werden. Zur Untersuchung wurden zuerst eine aliphatische Seitenkette in Form einer Methylfunktionalität und eine aromatische Seitenkette in Form eines Phenylrests ausgewählt, wobei der Einfluß der Stereodiskriminierung in einem ersten Ansatz vernachlässigt wurde.

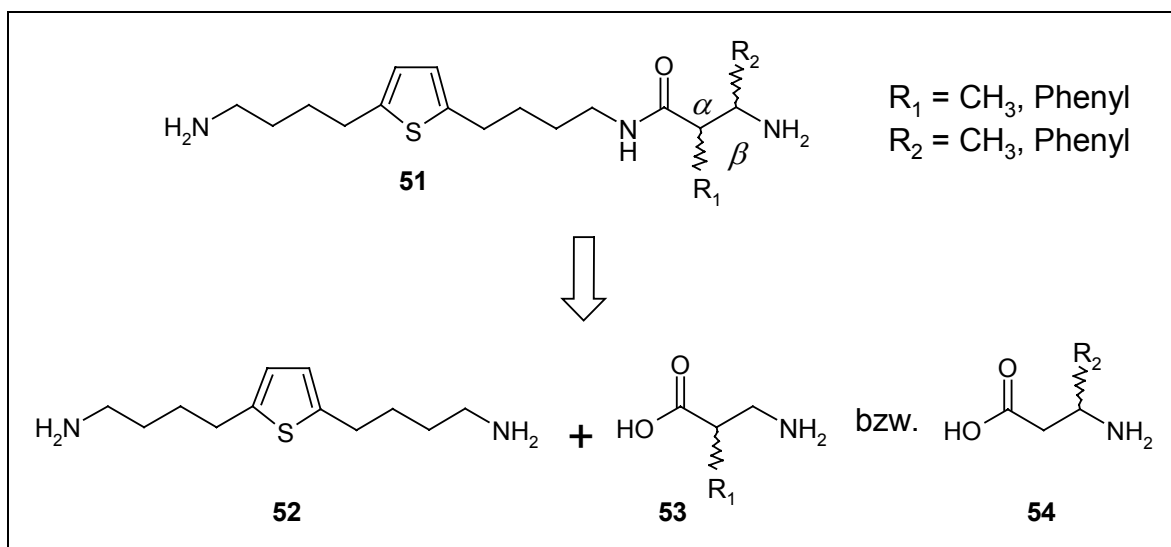


Abb. 48: Retrosynthetische Analyse der erweiterten Zielstruktur **51**

Für die Synthese in Lösung wären multiple Schutzgruppenstrategien nötig gewesen, um zwischen den in Verbindung **52** äquivalenten, terminalen Diaminfunktionen unterscheiden zu können. Die Verwendung eines geeigneten polymeren Trägers ermöglichte eine vereinfachte Reaktionsdurchführung mit einem Minimalaufwand an notwendiger Schutzgruppentechnik. Es wurde hierfür ein sogenanntes Tritylchlorid-Harz ausgewählt.

Dieses bestand aus Copolystyrol mit 1 % Divinylbenzol als Quervernetzung und besaß einen sogenannten Tritylchlorid-Anker. Die Beladungsdichte an verfügbaren Ankergruppierungen betrug 1,0 mmol/g.

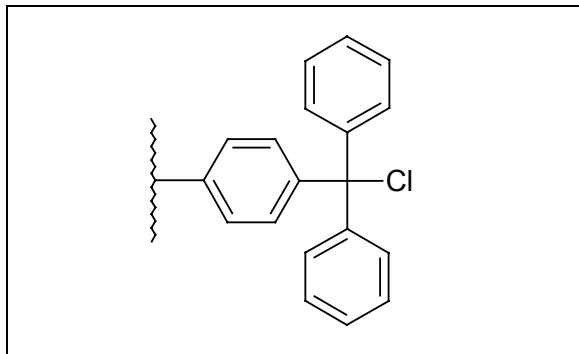


Abb. 49: Ankergruppierung des Tritylchlorid-Harzes

Folgende Vorteile sprachen für die Verwendung des Tritylchlorid-Harzes:

- An dieses Harz können fast alle nukleophilen Funktionalitäten unter extrem milden Bedingungen gekoppelt werden
- Symmetrische, bifunktionelle Komponenten, wie z.B. das Diamin **52**, können fast selektiv nur mit einer Funktionalität an das Harz gekoppelt werden (keine zusätzliche Schutzgruppenstrategie notwendig)
- Die Abspaltung der Produkte erfolgt unter sehr milden Bedingungen (z. B. 1-5 % Trifluoressigsäure in Dichlormethan)

3.4.2.1 Synthese des Diaminbausteins

Die Herstellung des benötigten, terminalen Diaminbausteins **52** verlief über insgesamt 7 Synthesestufen mit einer zufriedenstellenden Gesamtausbeute von 15 %, wobei das Synthesekonzept dem schon des öfteren besprochenen Aufbau von Thiophendialkandiaminen entsprach. Ausgangspunkt ist die Friedel-Crafts-Acylierung von Thiophen **11** mit Bernsteinsäureanhydrid zur Butansäure **55**. Die Desoxygenierung der Carbonylfunktion unter Wolff-Kishner-Bedingungen mit nachfolgender Veresterung erzeugte den gewünschten Methylester in einer Ausbeute von 80 % über zwei Stufen. Nach erneuter Acylierung mit Bernsteinsäureanhydrid, als benötigter C4-Baustein, mit

anschließender erneuter alkalischer Decarbonylierung, wurde schließlich die symmetrische Dicarbonsäure **58** erhalten. Das Diamid **59** wurde über das entsprechende Disäurechlorid und anschließender Reaktion mit gasförmigem Ammoniak in absolutem THF hergestellt. Die Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid in abs. THF lieferte das gewünschte Diamin, das durch Umsetzung mit gasförmigem HCl in abs. Ether zum entsprechenden Dihydrochlorid-Salz **52** überführt werden konnte.

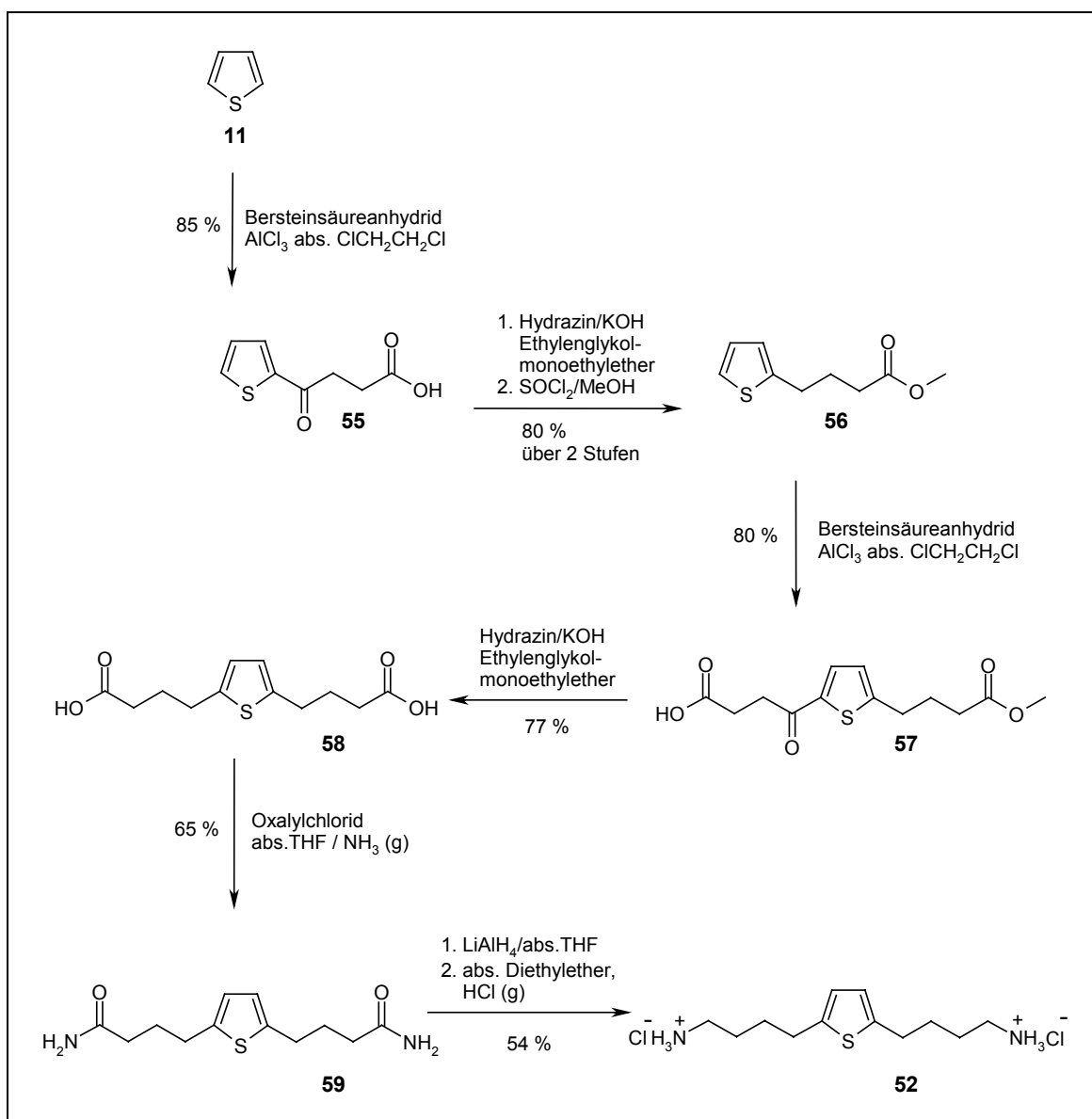


Abb. 50: Synthese des terminalen Diamins **52**

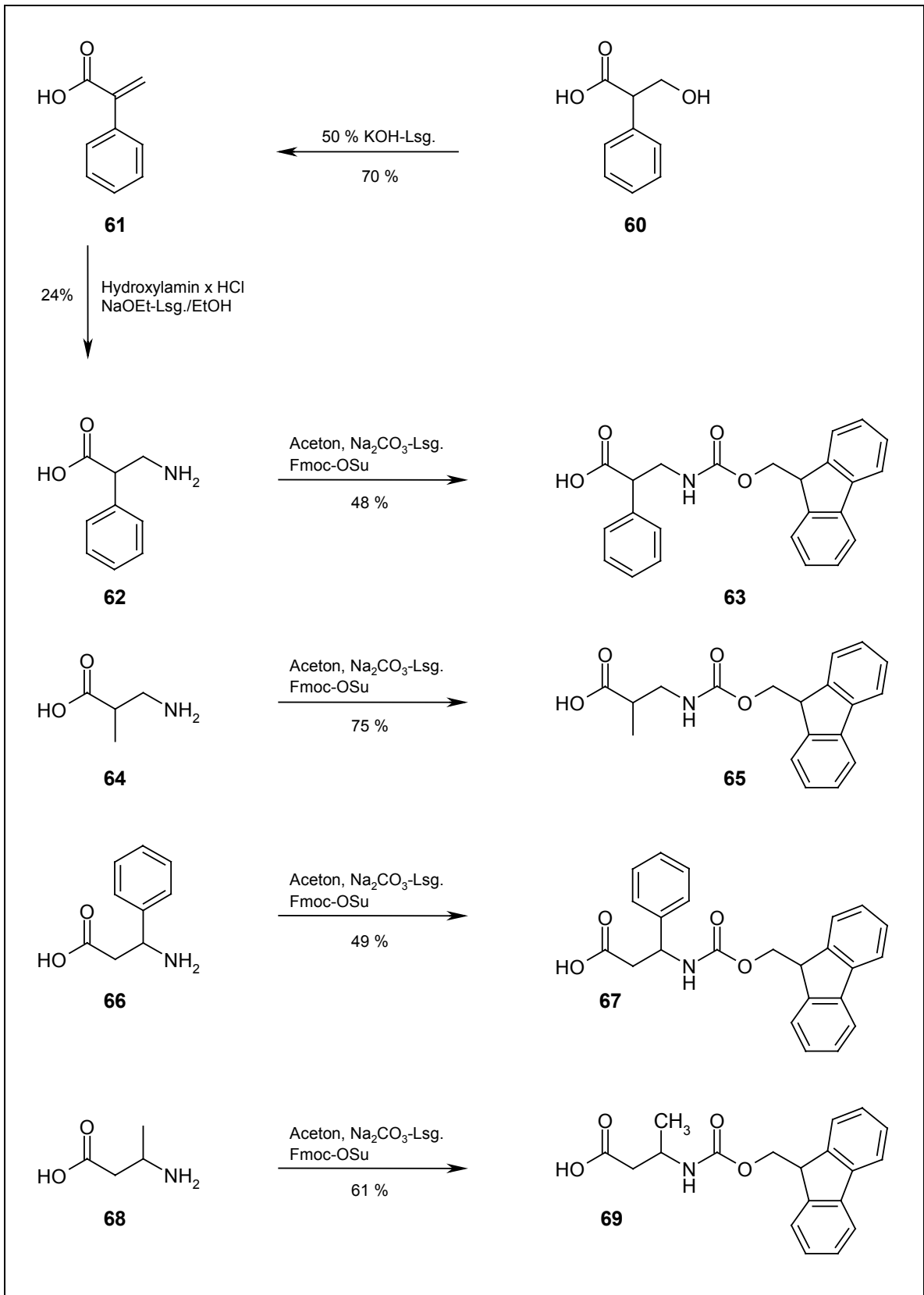
3.4.2.2 Auswahl und Synthese der geschützten β -Alaninderivate

Es wurde zuerst eine kleine Bibliothek von 4 Liganden angestrebt, für die 4 verschiedene β -Alaninderivate benötigt wurden.

Um die Synthese an fester Phase durchführen zu können, mußte die Aminofunktion der Aminosäuren zuvor mit einer entsprechenden Schutzgruppe versehen werden. Ausgewählt wurde hierfür die Schützung als entsprechendes Fluorenylmethylcarbammat (*N*-Fmoc), da aufgrund der Wahl des Tritylchlorid-Harzes eine basenlabile Schutzgruppenstrategie benötigt wurde und diese in der Festphasensynthesetechnik speziell bei Amidkopplungen etabliert ist.

Die Synthese von 3-Amino-2-phenylpropansäure **62** erfolgte durch basische Dehydratisierung von Tropasäure **60** mit anschließender Umsetzung der entstandenen Phenylacrylsäure **61** mit Hydroxylaminhydrochlorid in einer Lösung aus Natriumethanolat in Ethanol mit einer Gesamtausbeute von 24 %¹⁵². Durch Umsetzung der entstandenen Aminosäure mit 9-Fluorenylmethyl-succinimidyl-carbonat (Fmoc-OSu) in einem Gemisch aus wässriger Natriumcarbonatlösung und Aceton erfolgte die Schützung¹⁵³ der *N*- β -Funktionalität zur gewünschten Fmoc-Verbindung **63**.

Auch die Umsetzungen der Aminosäuren 3-Amino-2-Methylpropansäure **64**, 3-Amino-3-phenylpropansäure **66** und 3-Amino-3-methylpropansäure **68** erfolgte mit Fmoc-OSu zur Herstellung der entsprechenden Fmoc-Aminosäuren in ausreichenden Ausbeuten zwischen 49 % und 75 %.

Abb. 51: Synthese der Fmoc-geschützten β -Alaninderivate

3.4.2.3 Reaktionsschema der durchgeführten Festphasensynthese

Die Reaktionen an der immobilisierten Phase wurden ausnahmslos in Einwegspritzen, versehen mit einem Filterboden aus Cellpor und einem Verschlußkonus aus Polypropylen, durchgeführt.

Zu Beginn der Festphasensynthese ließ man die Harzportion 10 Minuten bei Raumtemperatur in absolutem Dichlormethan vorquellen. In der Zwischenzeit wurde das benötigte terminale Diamin aus der geschützten Dihydrochloridstruktur **52** freigesetzt, indem man das Salz in wenig Wasser aufnahm, mit 2N NaOH basisch stellte und zweimal gegen Ethylacetat extrahierte. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und schließlich unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Zurück blieb ein farbloses Öl, das, gelöst in Dichlormethan, direkt zur vorgequollenen Harzportion **70** gegeben wurde. Nach Reaktion über Nacht folgten mehrere Waschstschritte mit verschiedenen Lösungsmitteln. Die eigentliche Peptidkopplung an der festen Phase erfolgte durch Zugabe des entsprechenden Fmoc-geschützten β -Alaninderivats unter Zusatz von DIC (Diisopropylcarbodiimid) und HOBt (Hydroxybenzotriazol) in Dimethylformamid (DMF). Die Aktivierung der Carboxyfunktionen der benötigten Aminosäuren wurden „in situ“ über sogenannte Aktivester erreicht, sodaß bereits nach 3 h bei Raumtemperatur eine vollständige Kopplung erzielt wurde. Nach Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe durch mehrmalige Zugabe von 40 %iger Piperidinlösung in DMF, erfolgte schlußendlich die Abspaltung der fertigen Liganden **74** von der festen Phase, siehe Allgemeine Arbeitsvorschrift 23 (AAV 23 siehe Kapitel 8.12) im experimentellen Teil. Zur weiteren Aufreinigung der Verbindungen wurde das erhaltene Öl in wenig Wasser aufgenommen und zweimal mit dem gleichen Volumenanteil an Diethylether gewaschen. Die organischen Phasen wurden verworfen, wobei die wäßrige Phase durch Lyophilisierung vom Lösungsmittel befreit und so die Verbindungen in aufgereinigter Form in Ausbeuten zwischen 85 und 98 % erhalten werden konnten.

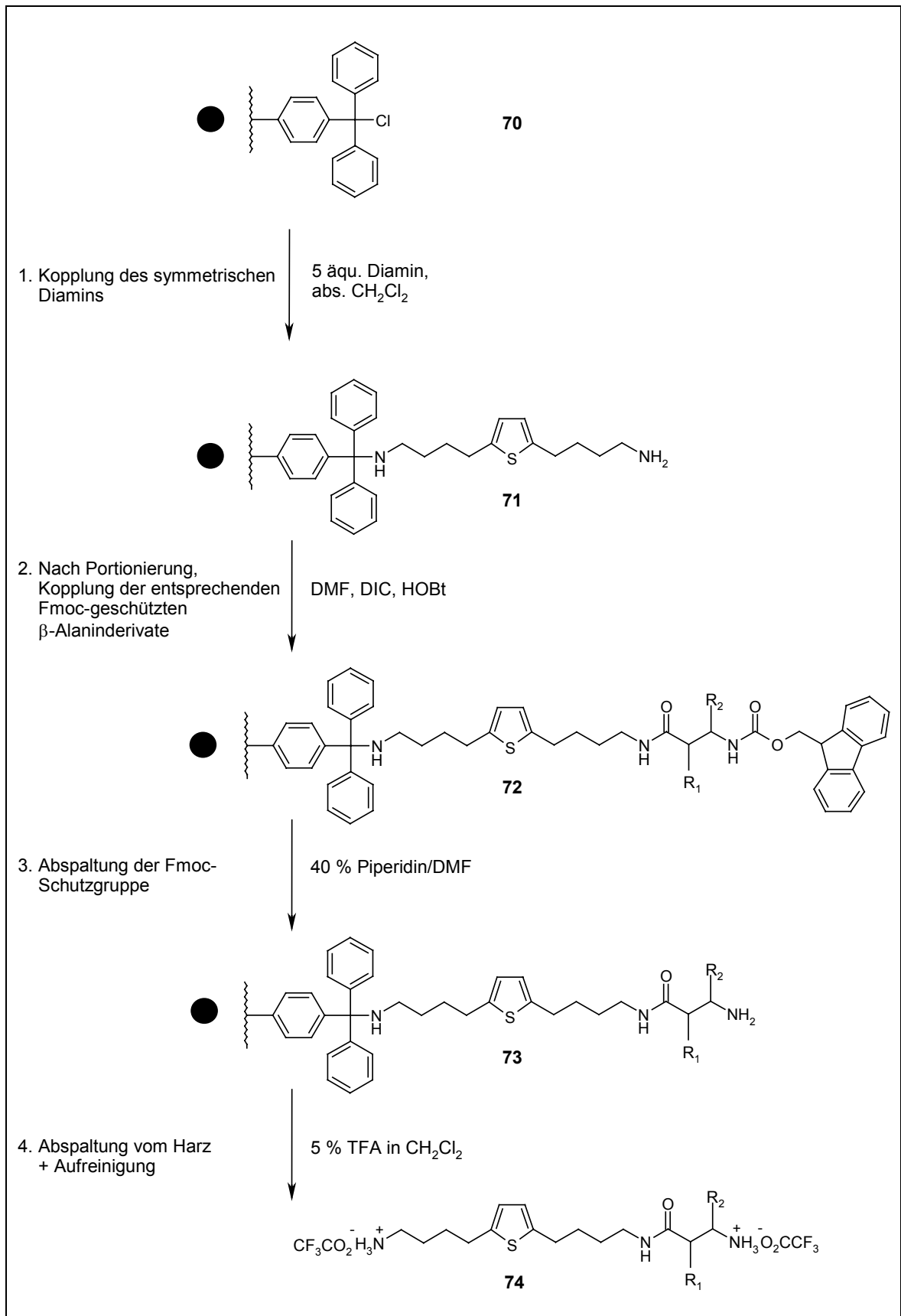


Abb. 52: Festphasensynthese-Konzept

Nr.	Arbeitsschritt	Reagenz	Dauer	Bemerkung
1.	Harz vorquellen	abs. CH ₂ Cl ₂	ca. 10 min	
2.	Kopplung des Synthesebausteins 52	5 äqu. zuvor freigesetzter Diaminbaustein 52 Lsm. CH ₂ Cl ₂	ca. 14 h	Äquivalente bezogen auf Harzbelegung
3.	Waschen	CH ₂ Cl ₂ /MeOH/DIPEA (17:2:1) CH ₂ Cl ₂ DMF CH ₂ Cl ₂	3x 5 min 3x 5 min 2x 5 min 3x 5 min	
4.	Kopplung der AS	3,0 äqu. Fmoc-AS-OH 3,0 äqu. DIC 3,0 äqu. HOBt	3 h	Kopplung bei RT
5.	Waschen	DMF	5x 3 min	
6.	Fmoc-Abspaltung	40 % Piperidin/DMF	2x 20 min	Dazwischen je 2x 3 min mit DMF waschen
7.	Fmoc-Abspaltung	40 % Piperidin/DMF	1x 20 min	
8.	Waschen	DMF	8x 3 min	
9.	Fmoc-Abspaltung	40 % Piperidin/DMF	1x 20 min	Auffangen der Abspalt- Lösungen und UV- Messung: Wenn negativ dann 10., wenn positiv dann 6.
10.	Waschen	DMF THF CH ₂ Cl ₂ MeOH DE	8x 3 min 3x 5 min 3x 5 min 3x 5 min 3x 5 min	
11.	Abspaltung der Liganden 74 + Aufreinigung	5 % TFA/CH ₂ Cl ₂	3x 1 h	1. Lösungen vereinigen und vom Lsm. i.V. befreien. 2. Wäbbrig aufnehmen, 2x organisch waschen. 3. Wäbriige Phase lyophilisieren

Tab. 6: Protokollarischer Ablauf der Synthese am Harz

3.4.2.4 Die Reaktionskontrolle der kombinatorischen Syntheseschritte

Einer der Nachteile der Festphasensynthese ist die Schwierigkeit der analytischen Kontrolle. Um die Reaktionsausbeuten an der festen Phase verfolgen zu können, stehen derzeit leider nur eine geringe Anzahl von Methoden zur Verfügung. Die direkte, routinemäßige Charakterisierung einzelner Harzportionen ist auch mit Hilfe geeigneter FT-IR- bzw. NMR-Methoden in den meisten Labors mangels Verfügbarkeit noch nicht möglich. Aufgrunddessen gibt es neben den direkten Analysemethoden auch indirekte Methoden zur Bestimmung der Harzbelegung. In einigen Fällen bedient man sich hierbei der Detektion bestimmter funktioneller Gruppen bzw. Abspaltung von Schutzgruppen mit anschließender quantitativer Bestimmung.

1. **Auswaage**
2. **Quantitativer Kaiser-Test** (siehe AAV 17, Kapitel 8.6)
3. **Quantitativer Fmoc-Test** (siehe AAV 18, Kapitel 8.7)

Der quantitative Fmoc-Test stellt in der kombinatorischen Chemie ein Quantifizierungsverfahren dar, mit dessen Hilfe verhältnismäßig genau und ohne großen Zeitaufwand die Kopplungsausbeuten bestimmt werden können. Diese Methode beruht auf der wiederholten und damit möglichst quantitativen Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe von einer polymergebundenen Verbindung mit anschließender UV-spektroskopischen Untersuchung. Hierbei wird die Absorption der Abspalllösung bei einer Wellenlänge von 301 nm gemessen und mit Hilfe einer Eichgeraden die entsprechende Konzentration an Piperidin-Fluoren-Addukt **76** bestimmt. Diese stellt ein Maß für die Menge an harzgebundener Substanz dar. Die Verdünnung der Abspalllösung ist dann erforderlich, wenn die Konzentration des Piperidin-Fluoren-Adduktes zu hoch und damit die Absorption größer 1 ist. Optimale Werte liegen hierbei zwischen 0,3 und 0,8. Der gemessene Wert wird zur Ermittlung der Belegung und damit der Kopplungsausbeute in folgende Gleichung eingesetzt.

$$x = \frac{Y_{301} \cdot 1000}{7,097} \cdot V \quad (9)$$

V = Verdünnungsfaktor

X = Belegung der eingesetzten Harzmenge

Y_{301} = Absorption bei 301 nm

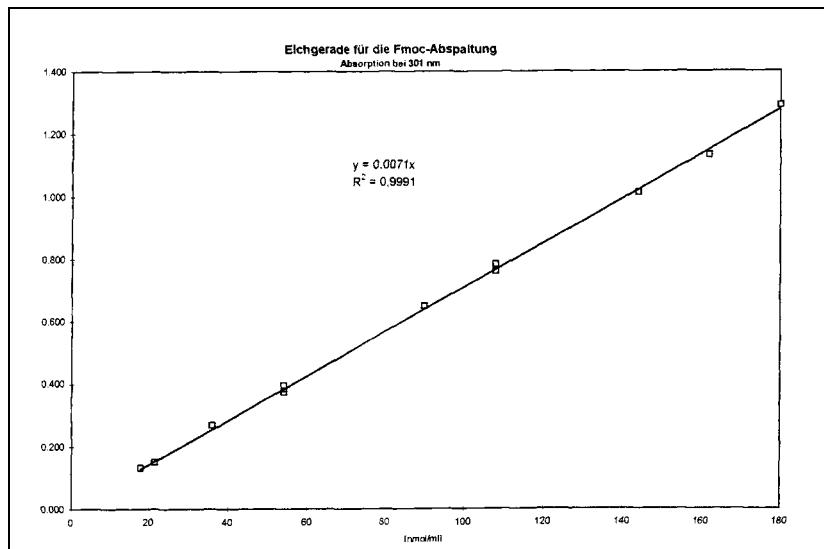
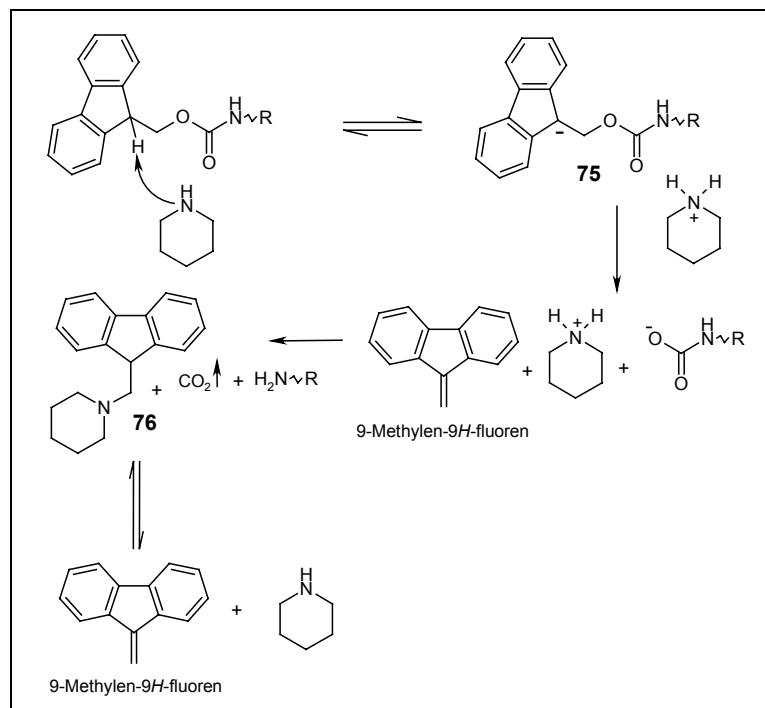


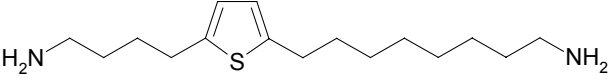
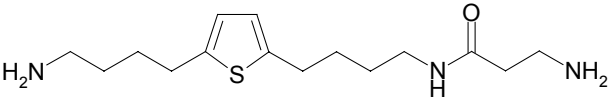
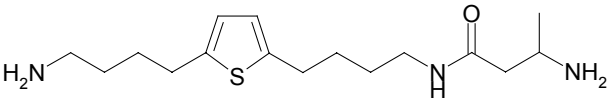
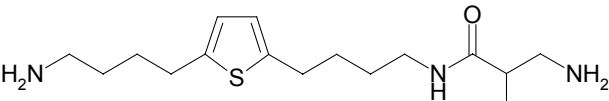
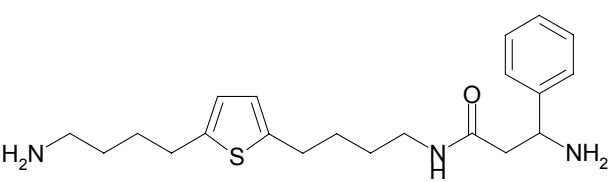
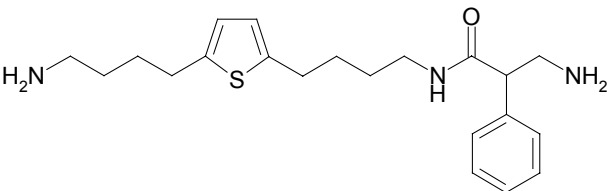
Abb. 53: Die Fmoc-Eichgerade

Folgende Abbildung zeigt den Mechanismus der Fmoc-Abspaltung durch Zusatz einer 20-50 %igen Lösung von Piperidin in DMF. Der Schlüsselschritt ist die initialisierende Deprotonierung des Fluorenrings, wodurch ein aromatisches Cyclopentadien-ähnliches Intermediat **75** entsteht. Die schnelle Eliminierung führt zur Bildung von Fluoren, das durch Adduktbildung mit Piperidin ein stark UV-absorbierendes Produkt **76** entstehen läßt. Beide Verbindungen, sowohl 9-Methylen-9*H*-fluoren, als auch dessen Addukt **76** können UV-spektroskopisch analysiert werden.

Abb. 54: Abspaltungsmechanismus der *N*-Fmoc-Schutzgruppe

3.4.2.5 Struktur-Wirkungs-Beziehungen

Die pharmakologischen Experimente der amidischen Derivate zeigen interessante Bindungsdaten:

Struktur	IC ₅₀ [μM]	$\frac{IC_{50}(\text{Spn}) [\mu\text{M}]}{IC_{50}[\mu\text{M}]}$
 <p style="text-align: center;">3</p>	0,39 ± 0,12	14 ± 6
 <p style="text-align: center;">50</p>	1,37 ± 0,4	75 ± 17
 <p style="text-align: center;">77</p>	2,64 ± 1,5	77 ± 56
 <p style="text-align: center;">78</p>	24,7 ± 3,8	14 ± 9
 <p style="text-align: center;">79</p>	7,2 ± 3,1	15 ± 8
 <p style="text-align: center;">80</p>	11,6 ± 1,0	11 ± 3

Tab. 7: Bindungsdaten

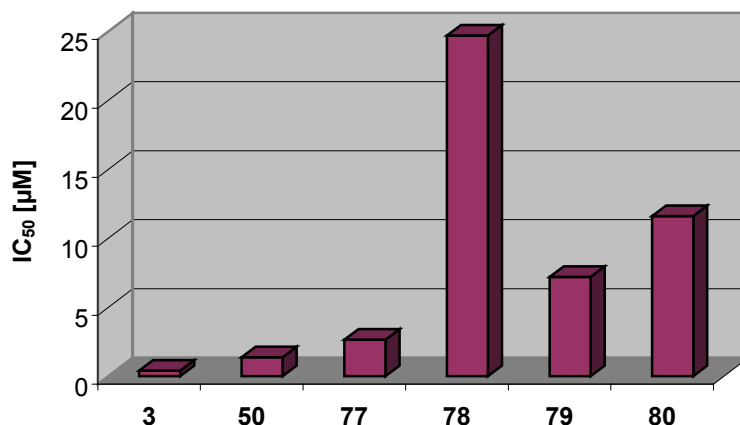
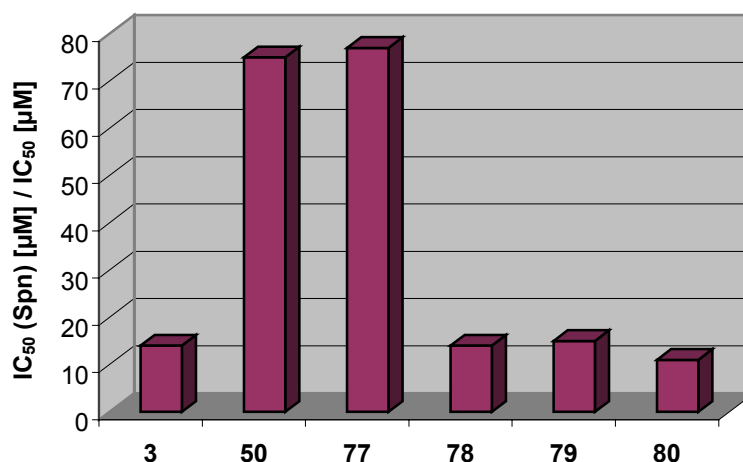
Abb. 55: IC₅₀-Werte

Abb. 56: Spermin-Sensitivitätsfaktor

Das Amidderivat **50** galt bis dato als einzige Verbindung, deren sinkende Affinität nicht gleichzeitig mit einer sinkenden Spermin-Sensitivität einherging. Zwar wurde im [³H]-MK801-Bindungstest eine verminderte Affinität relativ zur Referenzverbindung **3** um den Faktor 3,5 beobachtet, trotzdem lag der Spermin-Faktor mit einer Ratio von 75 weit über den Sensitivitäten allen bislang untersuchten Verbindungen.

Ligand **77** zeigte nun, daß durch kleine strukturelle Veränderungen die hohe Sensitivität der Amidstruktur **50** noch erhalten blieb. Eine Methylsubstitution in β -Position hatte keinen Einfluß auf den Wert des Sperminfaktors unter gleichzeitigem Erhalt der Ligand-

Rezeptor-Affinität. Im Gegensatz dazu zeigte Verbindung **78** im direkten Vergleich der beiden methylsubstituierten Derivate untereinander, daß die Einführung einer Methylgruppe in α -Position sowohl zu einer um den Faktor 9 geringere Affinität, als auch zu einer Erniedrigung des Sperminfaktors um den Faktor 5,5 führte. Die Positionierung einer Methylfunktion in der Aminosäure-Teilstruktur scheint die Ligand-Rezeptor-Interaktion maßgeblich zu beeinflussen. Die Strukturvariation mit Hilfe einer Phenylsubstitution zeigte hingegen sowohl in α - als auch in β -Position kaum pharmakologische Unterschiede bezüglich der Positionierung. Im Fall der α -Positionierung **80** verringerte sich die Affinität um den Faktor 30 relativ zur Referenzverbindung **3**, im Fall der β -Positionierung **79** um den Faktor 18. Auch die Sensitivität zur Spermin-Bindungsstelle nahm in beiden Fällen, im Vergleich zur unsubstituierten amidischen Struktur **50**, deutlich ab.

Allgemein läßt sich bei allen untersuchten β -Alaninderivaten sowohl innerhalb der IC_{50} -Werte, als auch für die Spermin-Faktoren eine große Schwankungsbreite feststellen. Die hohen Standardabweichungen der Mittelwerte zeugen von großen Unterschieden zwischen den Absolutwerten der Einzelmessungen verschiedener Bindungsexperimente. Weder aus chemischer noch auch aus pharmakologischer Sicht konnte ein plausibler Grund für das unterschiedliche Verhalten dieser Verbindungsklasse im MK-801-Bindungsexperiment gefunden werden.

Die Methylsubstitution in α -Position schien auf die Ligand-Rezeptor-Interaktion keinen negativen Einfluß auszuüben. Diese strukturelle Modifikation wurde sozusagen toleriert, während eine Methylfunktion in β -Position sowohl die Affinität zum Rezeptor verschlechterte, als auch die Selektivität zur Sperminbindungsstelle verringerte. Die Einführung einer Phenylgruppe wirkte sich sowohl in Bezug auf die Affinität als auch in Bezug auf die Selektivität bei Positionierung in α - oder β -Position gleichermaßen ungünstig aus.

3.4.3 Festphasensynthese von Liganden mit mehreren Amidinsertionen

3.4.3.1 Vorarbeiten

Der Einbau von mehreren amidischen Strukturelementen in die C8-Seitenkette von Thiophendialkandiaminen wurde von O. Schadt untersucht. Es resultierte eine Ligandenbibliothek von insgesamt 49 Verbindungen mit der allgemeinen Struktur **81**, wobei die Amidstrukturen durch je 2 Aminosäuren mit unterschiedlichen Seitenresten gebildet wurden (siehe Tabelle 8). Durch die Diversität der eingesetzten Aminosäuren sollten neue Ligand-Rezeptor-Wechselwirkungen aufgezeigt werden, wobei auch der Einfluß einer möglichen Stereodifferenzierung der Polyamin-Bindungsstelle untersucht werden sollte.

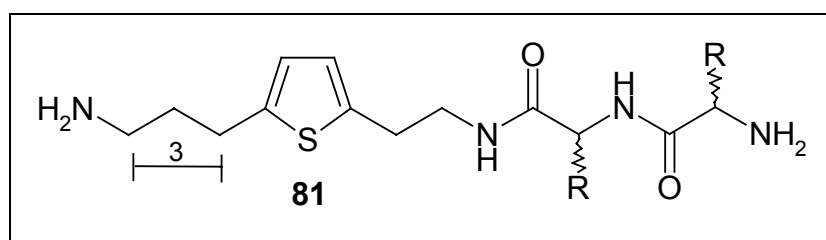


Abb. 57: Struktur der ersten Ligandenbibliothek

Aminosäure	Seitenkette (R)
Glycin	neutral
(D)-Lysin	basisch
(L)-Lysin	basisch
(D)-Leucin	lipophil, aliphatisch
(L)-Leucin	lipophil, aliphatisch
(D)-Phenylalanin	lipophil, aromatisch
(L)-Phenylalanin	lipophil, aromatisch

Tab. 8: Ausgesuchte Aminosäuren und deren Eigenschaften

Aufgrund der verwendeten Synthesestrategie wurde eine Ligandenbibliothek erzeugt, in der die Einzelsubstanzen im kurzen Seitenkettensegment statt ursprünglich geplanten 4 Methyleneinheiten nur 3 Methylfunktionen aufwiesen. Diese Degradierung wurde zunächst in Kauf genommen, da die pharmakologische Aussage der resultierenden Liganden zueinander weiterhin gegeben war.

Die pharmakologische Analyse konnte sowohl agonistisch, invers-agonistisch als auch partiell invers-agonistisch wirkende Liganden aufzeigen. Ein inverser Agonismus trat vor allem bei Verbindungen auf, deren Aminosäure-Teilstrukturen lipophile Seitenketten, wie Phenylalanin, aufwiesen. Ein antagonistisches Wirkprofil wurde bei Liganden beobachtet, deren Aminosäure-Teilstrukturen zusätzliche basische Funktionalitäten, wie bei Lysin, aufwiesen. Einige Verbindungen zeigten sogar einen partiellen inversen Agonismus, und zwar solche, die aus einer Kombination von basischen und lipophilen Aminosäuren aufgebaut waren. Im direkten Vergleich zwischen (*D*)- und (*L*)-Aminosäuren wurde keine nennenswerte Stereodiskriminierung beobachtet.

3.4.3.2 Erweiterte Zielstrukturen

Basierend auf den pharmakologischen Ergebnissen der ersten Ligandenbibliothek (Abb. 57) wurden neue Zielstrukturen ausgewählt. Diese sollten möglichst nach Optimierung der Kettenlänge (nun 4 Methyleneinheiten in der kurzen Seitenkette) und Auswahl von Aminosäuren mit geeigneten Seitenresten ein stärkeres invers-agonistisches Wirkprofil aufweisen.

Neben einer Ligandenbibliothek mit Thiophen als zentraler Substruktur wurde eine weitere Zielstruktur mit Benzol als zentralem Teilsegment miteinbezogen, um die Rolle einer bioisosteren Substruktur bei gleicher Kettenlänge und gleicher Wahl an Aminosäuren in Bezug auf die Ligand-Rezeptor-Interaktion zu studieren.

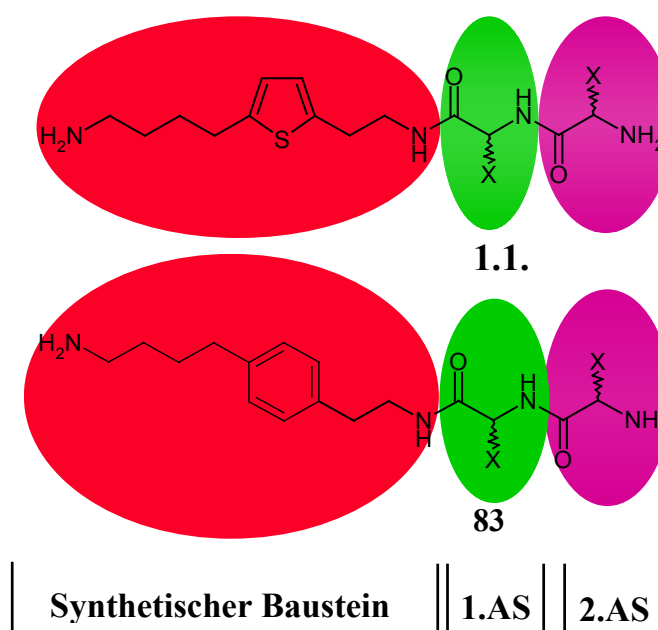


Abb. 58: Darstellung der erweiterten Zielstrukturen

Die allgemeinen Zielstrukturen **82** und **83** lassen sich retrosynthetisch in ein Dialkandiaminbaustein **84** bzw. **85** mit einer arylischen Substruktur und zwei variablen Aminosäuren zerlegen. Diese Diaminbausteine wurden vor der eigentlichen festphasensynthetischen Kopplung naßchemisch hergestellt. Zur Differenzierung der terminalen Aminfunktionen mußte in einer geeigneten Synthesestrategie eine Amin-Schutzgruppe regioselektiv eingeführt werden. In beiden Fällen wurde auf eine basenlabile Fmoc-Schutzgruppe zurückgegriffen, die in der kombinatorischen Chemie, speziell in der Festphasenpeptidsynthese, häufige Verwendung findet.

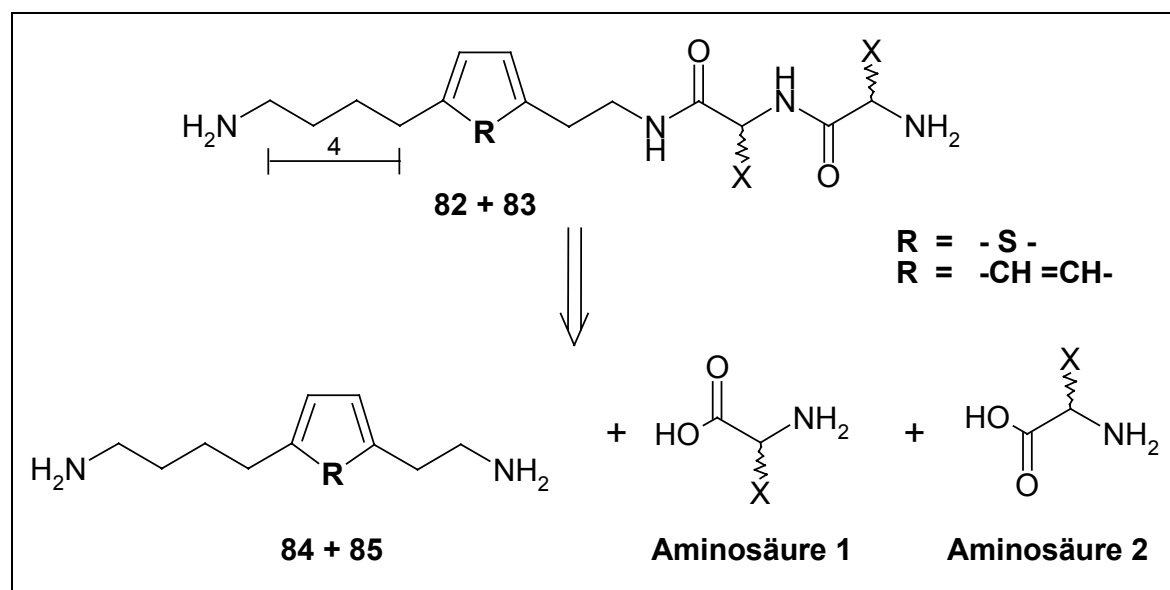


Abb. 59: Retrosynthetische Analyse der beiden Zielstrukturen **82** und **83**

3.4.3.3 Die Synthese der monogeschützten Diaminbausteine

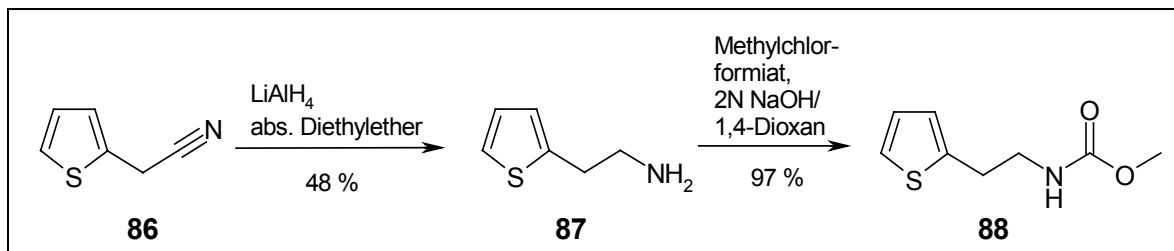


Abb. 60: Synthese und Schützung des Amins **87**

Die Synthese beginnt mit der Generierung von Thienylethanamin **87** aus Thienylacetonitril durch Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid¹⁵⁴. Die entstandene primäre Aminfunktion mußte für die nachfolgenden Syntheseschritte mit einer Schutzgruppe versehen werden, wobei die Methylcarbamatschutzgruppe Verwendung fand.

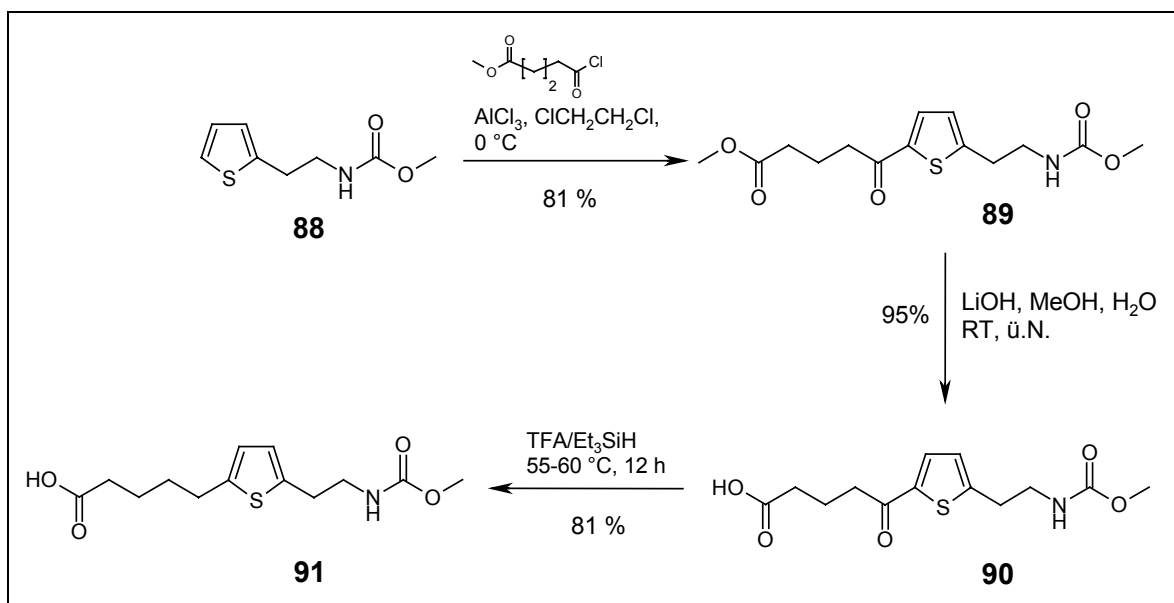


Abb. 61: Synthesesequenz

Die Verknüpfung mit einem C5-Baustein gelang durch Friedel-Crafts-Acylierung mit Glutarsäure-monomethylesterchlorid und Aluminiumtrichlorid in 1,2-Dichlorethan mit einer Ausbeute von 81 %. Der entstandene Ester **90** wurde durch Verwendung von Lithiumhydroxid in Methanol verseift, woraus die Carbonsäure **91** in guter Ausbeute resultierte. Aufgrund der Basenlabilität der Carbamatfunktion wurde zur darauffolgenden notwendigen Desoxygenierung, der zum Thiophenring α -ständigen Carbonylfunktion, eine saure Hydrogenolyse mittels Triethylsilan und Trifluoessigsäure präferiert¹⁵⁵. Durch

Reaktionsoptimierung konnte bereits nach 12 h bei einer Temperatur von 55-60 °C ein vollständiger Reaktionsumsatz mit einer Gesamtausbeute von 81 % erzielt werden.

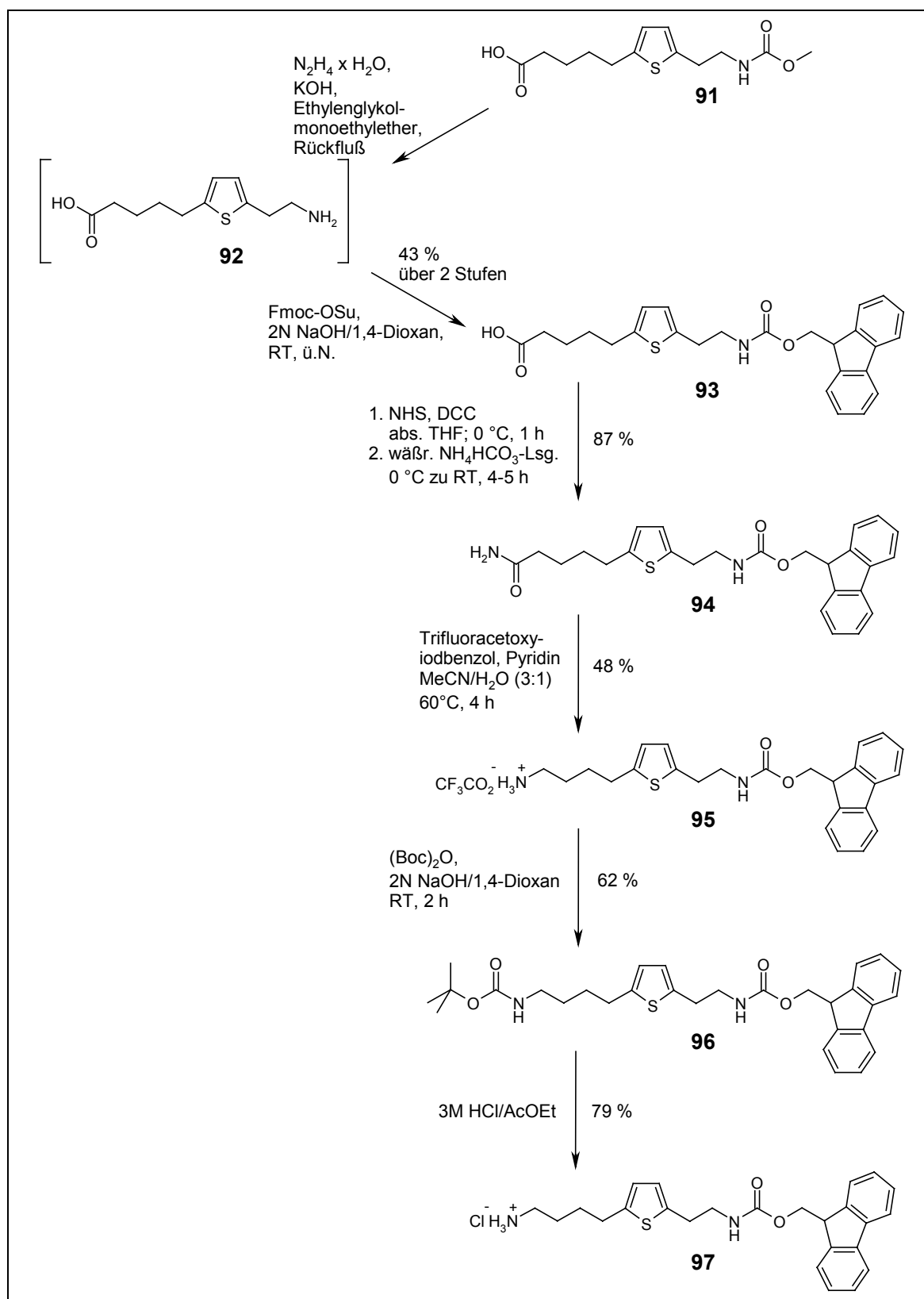


Abb. 62: Synthesesequenz der terminalen Diamine **95** und **97**

Als nächster Schritt folgte der Austausch der Methylcarbamat-Schutzgruppe gegen eine Fmoc (9-Fluorenylmethyloxycarbonyl)-Schutzgruppe, da diese den Vorteil besitzt, schon unter leicht alkalischen Bedingungen spezifisch und nahezu quantitativ abspaltbar zu sein. Zusätzlich ist durch sie eine Reaktionsverlaufskontrolle der Festphasensyntheseschritte mittels UV-spektroskopischer Analyse möglich (siehe Kapitel 3.4.3.6: Die Reaktionskontrolle der kombinatorischen Syntheseschritte). Die Abspaltung der Methylcarbamatfunktion konnte leider nur unter extrem basischen Bedingungen mit Hilfe einer Wolff-Kishner-Reduktion erfolgen. Hierfür wurde Verbindung **91** unter Verwendung von Ethylenglykol-monoethylether, Hydrazinhydrat und Kaliumhydroxid 3 h zum Sieden erhitzt. Nach Abdestillation des Lösungsmittels unter Normaldruck wurde versucht, die entstandene Aminosäure **92** in reiner Form zu isolieren. Leider gelang dies nur in unbefriedigenden Ausbeuten, sodaß stattdessen eine „in situ“-Schützung vorgenommen wurde, indem der Rückstand in H₂O/1,4-Dioxan aufgenommen und mit 9-Fluorenylmethoxycarbonyl-*N*-hydroxysuccinimid (Fmoc-OSu) zur Reaktion gebracht wurde¹⁵⁶. Nach Aufarbeitung konnte die nun Fmoc-geschützte Verbindung **93** in einer Ausbeute von 43 % über 2 Stufen erhalten werden. Die Überführung der Carbonsäurefunktionalität von Verbindung **93** in eine entsprechende Amidfunktion erfolgte unter milden Reaktionsbedingungen durch zuvorige Aktivesterbildung mit Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) und *N*-Hydroxysuccinimid (NHS) in absolutem Tetrahydrofuran mit anschließender Substitution mit Ammoniak durch Zugabe einer wäßrigen Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung. Die Reduktion der terminalen Amidfunktion erfolgte durch eine Hofmann-Degradation¹⁵⁷. Hierbei erzeugte man durch Umsetzung mit I,I-Bis[trifluoracetoxy]-iodbenzol und Pyridin in einem Gemisch aus Acetonitril/Wasser ein primäres Amin, das in seiner Kohlenwasserstoffkette um eine Methyleneinheit degradiert wurde. Durch eine neutrale Aufarbeitung erhielt man Verbindung **95** als Trifluoracetatsalz. Dieser Synthesebaustein war nun Voraussetzung für die geplanten Festphasenreaktionen. Zusätzlich zu dieser Verbindung wurde ein Ligand synthetisiert, dessen Trifluoracetatsalz gegen ein entsprechendes Hydrochloridsalz ausgetauscht wurde. Hierzu erfolgte zuvor die basische Freisetzung aus dem Acetatsalz bei gleichzeitiger „in situ“-Schützung der freien Aminfunktion mit Di-*tert*-butyl-dicarbonat zu einer zusätzlich Boc (*tert*-butyl-oxycarbonyl)-geschützten Struktur **96**. Durch 30 minütiges Rühren letzterer Verbindung in einem Gemisch aus Salzsäure/Ethylacetat mit anschließender Entfernung der verwendeten Lösungsmittel unter vermindertem Druck

konnte schließlich der Baustein **97** ohne zusätzliche Aufreinigung in einer Ausbeute von 79 % erhalten werden.

Die Synthese des für die zweite Ligandenbibliothek benötigten mono-Fmoc-geschützten Phenyldialkandiaminbausteins **85** begann mit der Umsetzung von Phenylethylamin **98** mit Chlorameisensäuremethylester zur Methylcarbamat-geschützten Verbindung **99**. Durch die Verwendung einer Friedel-Crafts-Acylierung mit Glutarsäure-monomethylesterchlorid als Acylierungsmittel konnte die benötigte C5-Kohlenstoffkette in para-Position zum Phenylring eingeführt werden. Die anschließende Esterverseifung mit Lithiumhydroxid in wässrigem Methanol lieferte Carbonsäure **101** in guter Ausbeute von 93 %. Die Desoxygenierung der zum Phenylring α -ständigen Carbonylfunktion erfolgte mittels saurer Hydrogenolyse unter Zusatz von Trifluoressigsäure/Triethylsilan und führte zu Verbindung **102**.

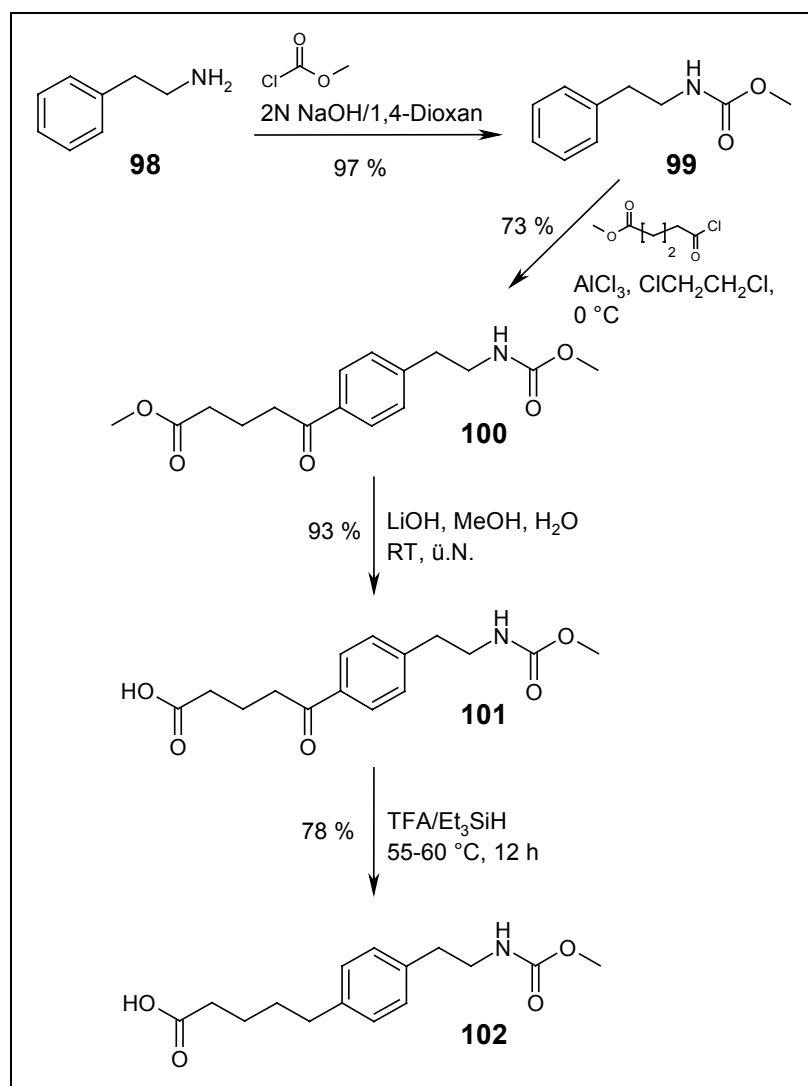


Abb. 63: Synthesesequenz des Phenylbausteins

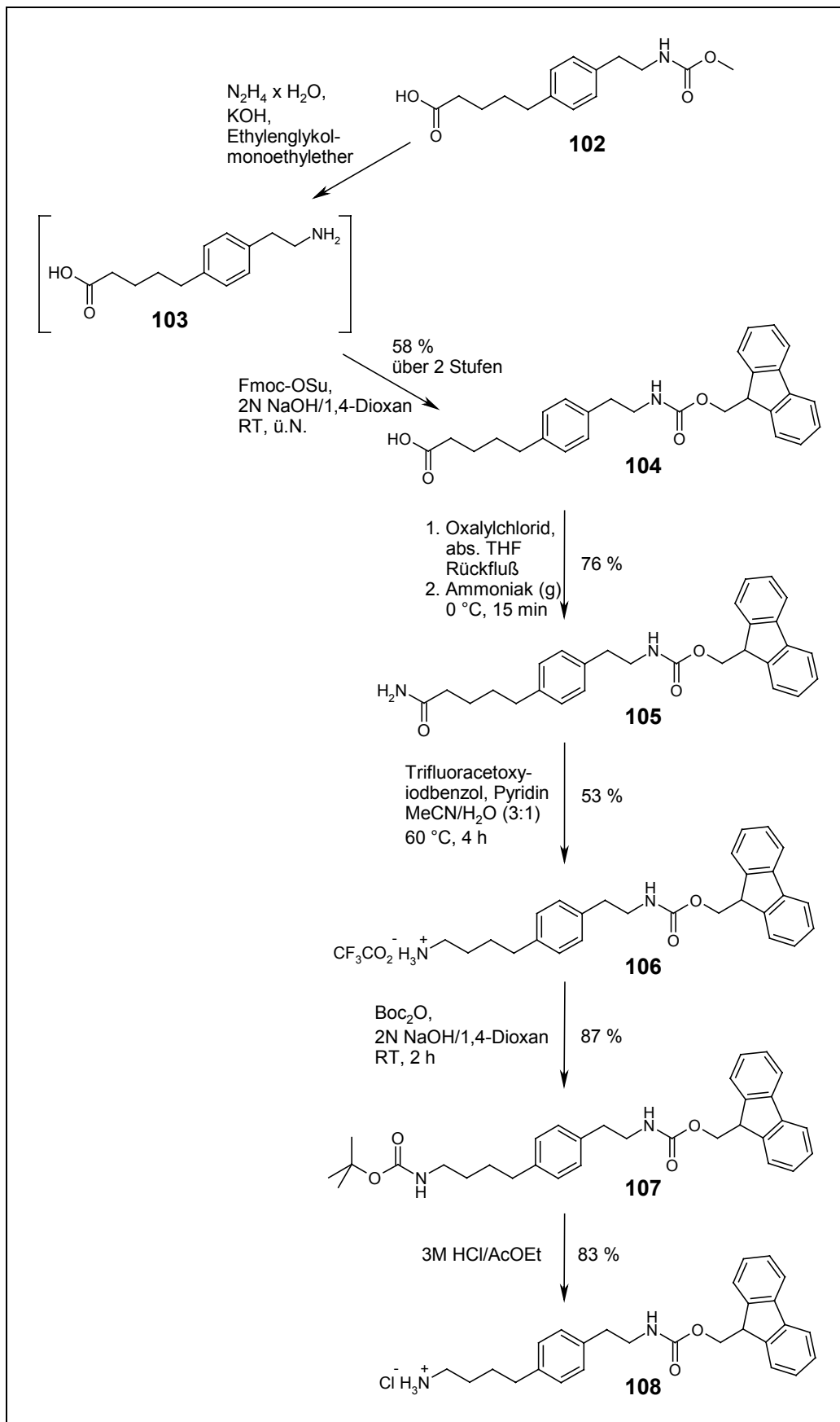


Abb. 64: Synthesesequenz des Phenylbausteins

Mit einer Ausnahme erfolgte die weitere Syntheseführung analog zu der des Thienylderivates (Abb. 62). Die Methode der Amidierung des Carbonsäurederivates **104** über eine Aktivesterbildung führte am Beispiel des Phenylanalogons nicht zu einer zufriedenstellenden Ausbeute. Aufgründessen wurde die Methode einer Carbonsäureaktivierung über ein entsprechendes Säurechlorid mit anschließender Reaktion mit gasförmigem Ammoniak bevorzugt.

Nach der Methylcarbammat-Abspaltung unter Wolff-Kishner-Bedingungen zur nicht isolierbaren Zwischenverbindung **103** erfolgte die Umschätzung zur Fmoc-Carbonsäure **104** in einer Ausbeute von 58 % über 2 Stufen. Die Herstellung des Amides erfolgte, wie oben erwähnt, durch zuvoriges Überführen der Carbonsäure **104** in sein Säurechlorid mit anschließender Substitution bei 0 °C mit gasförmigem Ammoniak. Das Gaseinleiten mußte hierbei zeitlich begrenzt werden (10 min), da Ammoniak als Base in der Lage ist, die Fmoc-Schutzgruppe teilweise abzuspalten. Aufgründessen mußte zusätzlich eine zügige Reaktionsaufarbeitung erfolgen, woraufhin das gewünschte Amid schließlich in einer Ausbeute von 76 % erhalten wurde. Die Generierung der terminalen Aminofunktion wurde durch einen Hofmann-Abbau unter der gewünschten Degradation einer Methyleneinheit in nur 53 %iger Ausbeute erzeugt. Das resultierende Produkt **106** konnte nun, wie unter Kapitel 3.4.3.5 beschrieben, der Festphasensynthese zugeführt werden. Zusätzlich wurde auch hier ein entsprechendes Hydrochlorid-Derivat **108** synthetisiert. Hierzu erfolgte, nach zuvoriger basischer Freisetzung der Trifluoracetat-geschützten Verbindung **106**, die „in situ“-Schätzung mit $(\text{Boc})_2\text{O}$ in 1,4-Dioxan/NaOH zu Verbindung **107** und darauffolgend die saure Schutzgruppen-Abspaltung in einem Gemisch aus konzentrierter Salzsäure und Essigsäureethylester zur direkten Bildung von **108** in einer Ausbeute von 83 %.

3.4.3.4 Die Auswahl der geschützten Aminosäurederivate

Die nächsten Ligandenbibliotheken sollten eine überschaubare Anzahl von jeweils 25 Verbindungen umfassen, da die iterative Entwicklung kleinerer Substanzbibliotheken und deren pharmakologische Auswertungen im Vergleich zu großen Bibliotheken von einigen tausend Verbindungen einen geringeren logistischen und auch zeitlichen Aufwand benötigen. Die Herstellung von tausend bis millionen von Molekülen durch kombinatorische Synthese widerspricht in gewisser Weise einer sinnvollen Synthesepaltung, da in diesem Fall der statistische Faktor immer mehr an Bedeutung gewinnt.

Mit Hilfe der divergenten Festphasensynthesetechnik wurde die Herstellung einer überschaubaren Anzahl von Liganden einer Substanzmenge (20-80 mg) in Betracht gezogen, sodaß sowohl die Durchführung differenzierter pharmakologischer Bindungsstudien, als auch diverse analytische Nachweisverfahren möglich wurden.

Zur Herstellung der einzelnen Liganden stellt der in Lösung hergestellte Synthesebaustein **84** bzw. **85** eine Konstante dar, während die beiden amidischen Funktionalitäten durch Permutation von fünf verschiedene Aminosäuren an zwei Positionen gebildet wurden.

Die Auswahlkriterien der Aminosäuren für die geplante Ligandenbibliothek basieren auf folgende Erkenntnissen aus vorangegangenen Untersuchungen und Fragestellungen:

- Es wurden bei der Auswahl der Seitenketten aromatische Funktionalitäten als Basis berücksichtigt.
- Um die Liganden der geplanten Bibliothek mit Verbindungen vorangegangener Bibliotheken in ihrer pharmakologischen Wirkung vergleichen zu können, mußte die Aminosäure Phenylalanin enthalten sein.
- Der Einfluß einer möglichen Stereodiskriminierung der Polyamin-Bindungsstelle sollte vernachlässigt werden.

Aminosäure	Seitenkettenfunktion
(D)-Phenylglycin	unpolar, aromatisch
(L)-Phenylalanin	unpolar, aromatisch
(L)-Tyrosin	polar, aromatisch, H-Brücken-Akzeptor
(L)-Histidin	schwach basisch, aromatisch, H-Brücken-Donator
(L)-Tryptophan	unpolar, aromatisch, H-Brücken-Donator

Tab. 9

Für die Durchführung der Festphasenpeptidkopplungen wurden neben der basenlabilen Fmoc-Schutzgruppe für die Protektion der *N*- α -Aminofunktionen, die Seitenkettenfunktionalitäten der Aminosäuren Tryptophan, Histidin und Tyrosin zusätzlich mit einer säurelabilen Schutzgruppe ausgestattet. Der Indolstickstoff der Aminosäure Tryptophan und der τ -Stickstoff im Imidazolring in der Seitenkette der Aminosäure Histidin wurden mit der schon beschriebenen Boc-Schutzgruppe versehen. Die Hydroxylfunktion in der Seitenkette der Aminosäure Tyrosin enthielt die unter leicht sauren Bedingungen abspaltbare *O*-2-Chlorotrityl-Schutzgruppe.

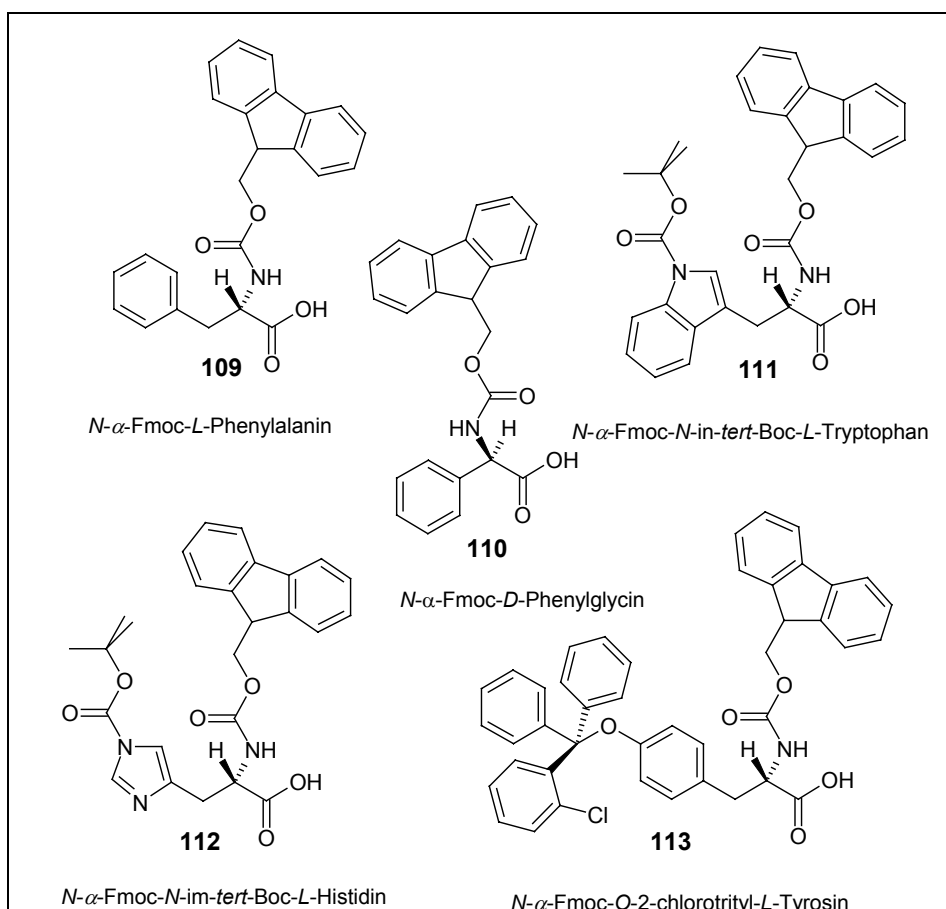


Abb. 65: Die Auswahl an geschützten Aminosäuren

3.4.3.5 Reaktionsschema der geplanten Festphasensynthese

Für die folgenden Festphasensynthesen wurde ein Wang[®]-Harz verwendet. Es besteht aus Copolystyrol mit 1 % Divinylbenzol als Quervernetzer und besitzt einen sogenannten Wang-Anker. Hierbei handelt es sich um p-Benzyloxybenzylalkohol-Anker, der speziell für die Peptidkopplungen mit Hilfe der Fmoc-Schutzgruppenstrategie entwickelt wurde. Die Beladungsdichte an verfügbaren Ankergruppierungen betrug 1,07 mmol/g.

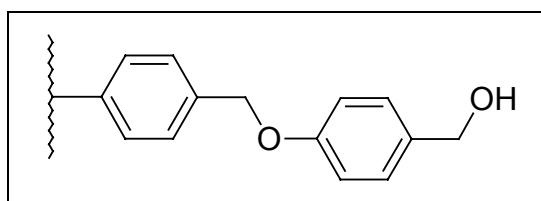


Abb. 66: Ankergruppierung des Wang-Harzes

Die Reaktionen an der festen Phase wurden, mit Ausnahme der Aktivierung der Harzportionen und Ankopplung der Diaminbausteine **95**, **97**, **106** und **108**, in Einwegspritzen mit einem Filterboden aus Cellpor und mit einem Verschlußkonus aus Polypropylen durchgeführt.

Um das Konzept der geplanten Festphasensynthese zu verdeutlichen, werden alle notwendigen Einzelschritte am Beispiel der Synthese von N4T2N-(L)-His-(L)-Tyr **125** und N4P2N-(L)-His-(L)-Tyr **126** besprochen.

Zu Beginn der Festphasensynthese ließ man die Harzportion 10 Minuten bei Raumtemperatur in absolutem Tetrahydrofuran vorquellen. Danach mußten die Ankergruppierungen des Wang-Harzes aktiviert werden. Dies geschah durch Umsetzung der freien Alkoholfunktionen unter Zusatz von 4-Nitrophenylcarbonat und 4-Methylmorpholin in wasserfreiem Dichlormethan^{158,159}. Die Kopplung der monogeschützten Diaminbausteine an das voraktivierte Harz konnte auf zwei Wegen erfolgen.

Methode 1:

Man setzte den benötigten terminalen Diaminbaustein aus den geschützten Trifluoracetat-**95** und **97** bzw. Hydrochlorid-Strukturen **106** und **108** frei, indem man das jeweilige Salz

in wenig Wasser aufnahm, mit 2N NaOH basisch stellte und zweimal mit Dichlormethan extrahierte. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Zurück blieb jeweils ein farbloses Öl, das, gelöst in Dichlormethan, direkt zur vorgequollenen, aktivierten Harzportion **115** gegeben wurde. Nach Reaktion über Nacht folgten mehrere Waschschrte mit verschiedenen Lösungsmitteln.

Methode 2:

Der Nachteil der obigen Freisetzungsmethode war das Vorhandensein primärer Aminfunktionen im Beisein basenlabiler Fmoc-Funktionalitäten, sodaß Moleküle entstanden, die die Abspaltung ihrer eigenen Schutzgruppe katalysieren. In Abhängigkeit von pH, Temperatur und Wahl des Lösungsmittels kam es, mehr oder weniger schnell, zur Schutzgruppenabspaltung.

Aus diesem Grund wurde eine weitere Kopplungs-Strategie verfolgt, in der die Freisetzung der Fmoc-geschützten Diamine in Gegenwart des Harzes erfolgte, um so eine direkte Abreaktion der freien Amine mit dem Harz zu erwirken, um Nebenreaktionen zu vermeiden. Die in-situ-Neutralisation und damit Freisetzung erfolgte aus den Trifluoracetat (**95, 97**)- bzw. aus den entsprechenden Hydrochlorid-Salzen **106** und **108**. Hierfür legte man das in absolutem Tetrahydrofuran vorgequollene Nitrophenylcarbonat-Wangharz vor, gab 2 Äquivalente des geschützten Diaminbausteins hinzu und tropfte bei Raumtemperatur innerhalb eines Zeitraums von 2 Stunden ebenfalls 2 Äquivalente einer Base (Diisopropylethylamin) hinzu. Nach dem angegebenen Zeitraum wurde die Harzportion durch Verwendung verschiedener Lösungsmittel gewaschen.

Nach erfolgreicher Ankopplung mußte die Fmoc-Schutzgruppe des sich nun auf dem Harz befindlichen Synthesebausteins **116** abgespalten werden, um eine freie primäre Aminofunktion zu generieren. Dies geschah unter UV-spektroskopischer Kontrolle mit Hilfe einer 40 %igen Lösung von Piperidin in Dimethylformamid.

Gefolgt von mehreren Waschschrten erfolgte die Ankopplung der ersten geschützten Aminosäure **118**, in diesem Fall unter Verwendung von *N*- α -Fmoc-*N*-im-*tert*-Boc-*L*-Histidin **112**. Hierfür bildete man zuerst den entsprechenden Aktivester aus der Carboxyfunktion der Aminosäure, indem diese 10 Minuten in einem Gemisch aus der berechneten Menge an DIC (Diisopropylcarbodiimid) und HOBt (Hydroxybenzotriazol) in

Dimethylformamid (DMF) gerührt und anschließend das Reaktionsgemisch der Harzportion zugesetzt wurde.

Die Fmoc-Schutzgruppe der Aminosäure wurde danach wiederum durch mehrmalige Zugabe von Piperidin/DMF entfernt und führte zu Struktur **117**. Über die Bildung eines Aktivesters in Analogie zur ersten Aminosäure Histidin erfolgte die Kopplung der zweiten geschützten Aminosäure *N*- α -Fmoc-*O*-2-chlorotryl-(*L*)-Tyrosin **113**. Danach wurden durch Zugabe eines Gemisches, bestehend aus Dichlormethan, Triisopropylsilan (TIS) und Trifluoressigsäure (TFA), die Chlorotryl-Seitenkettenschutzgruppen vom Tyrosin selektiv abgespalten. Triisopropylsilan diente hierbei als sogenanntes Scavenger-Molekül, welches die bei der Abspaltung der Chlorotryl-Schutzgruppe entstandenen reaktiven Tritylkationen abfangen sollte. Die terminale Fmoc-Schutzgruppe der zuvor gekoppelten Aminosäure Tyrosin wurde in Analogie zur ersten Aminosäure unter UV-spektroskopischer Kontrolle durch Zusatz von Piperidin/DMF entfernt, woraus Struktur **124** resultierte. Nach mehreren Waschschritten mit verschiedenen Lösungsmitteln und Trocknen der Harzportion im Hochvakuum erfolgte schließlich die Abspaltung der Liganden **125** und **126** von den Wang-Ankergruppierungen durch Zusatz eines Gemisches aus Trifluoressigsäure (TFA), Triisopropylsilan (TIS) und Wasser im Verhältnis 95 : 2,5 : 2,5. Gleichzeitig erfolgte hierbei die Abspaltung der Boc-Seitenkettenschutzgruppe des Histidins.

Die Abspalllösungen wurden schließlich vereinigt und unter vermindertem Druck vollständig vom Lösungsmittel befreit. Das verbleibende Öl wurde in wenig Wasser aufgenommen und mehrmals mit Diethylether gewaschen, um eventuell vorhandene nicht-basische Verunreinigungen zu entfernen. Durch Lyophilisierung erhielt man schließlich die gewünschten Liganden in Form ihrer Trifluoracetatsalze.

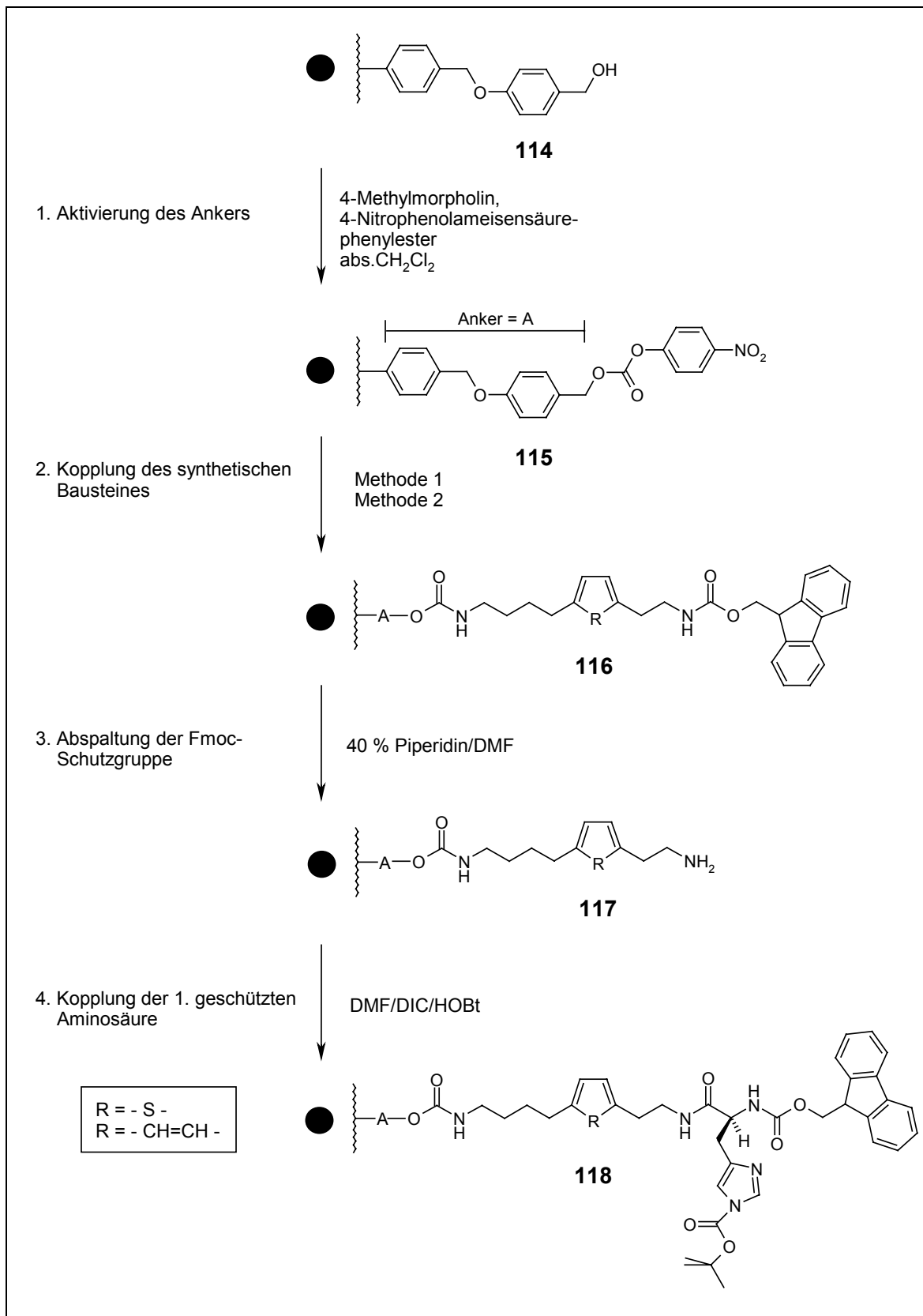


Abb. 67: Festphasensynthetische Sequenz

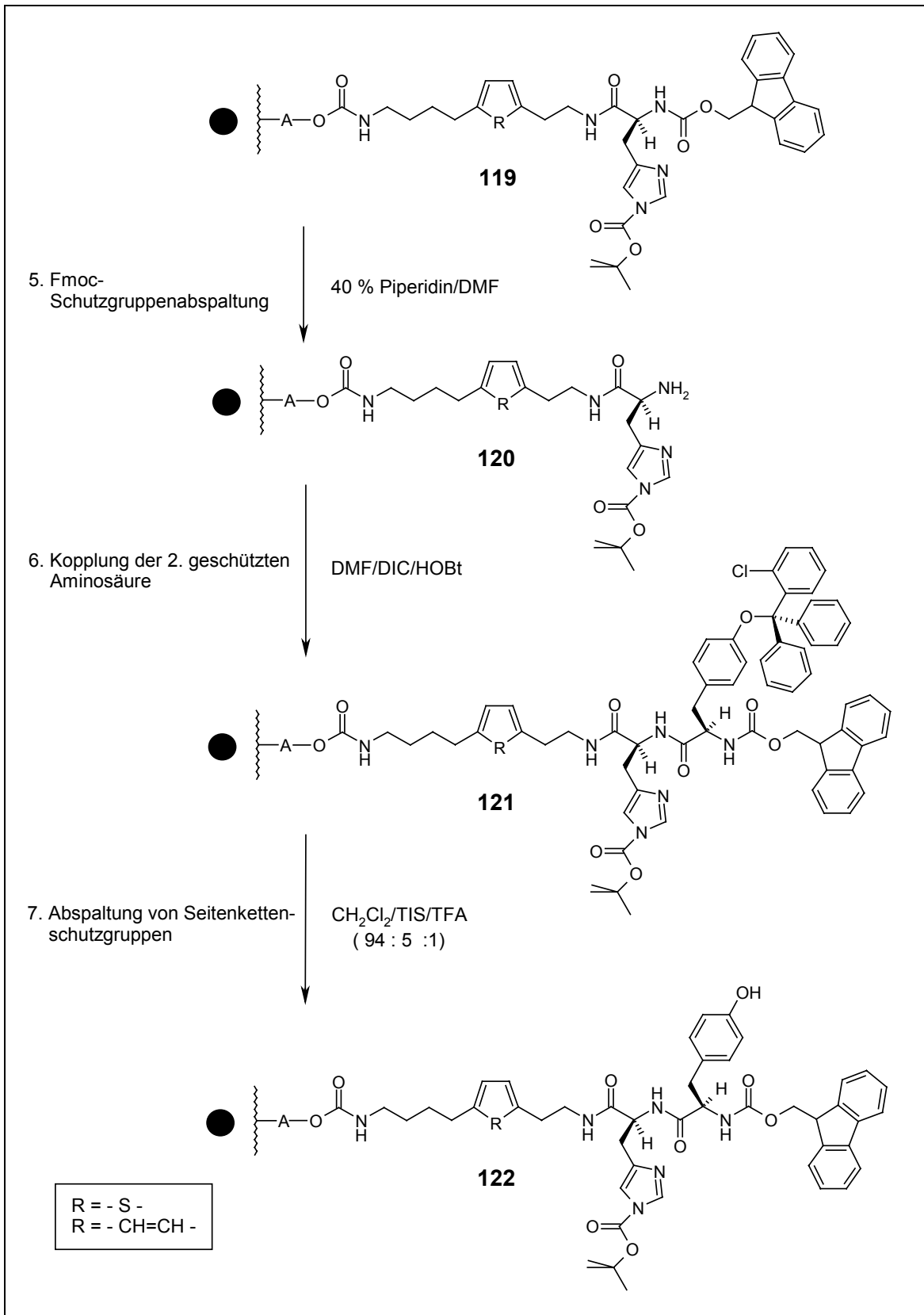


Abb. 68: Festphasensynthetische Sequenz

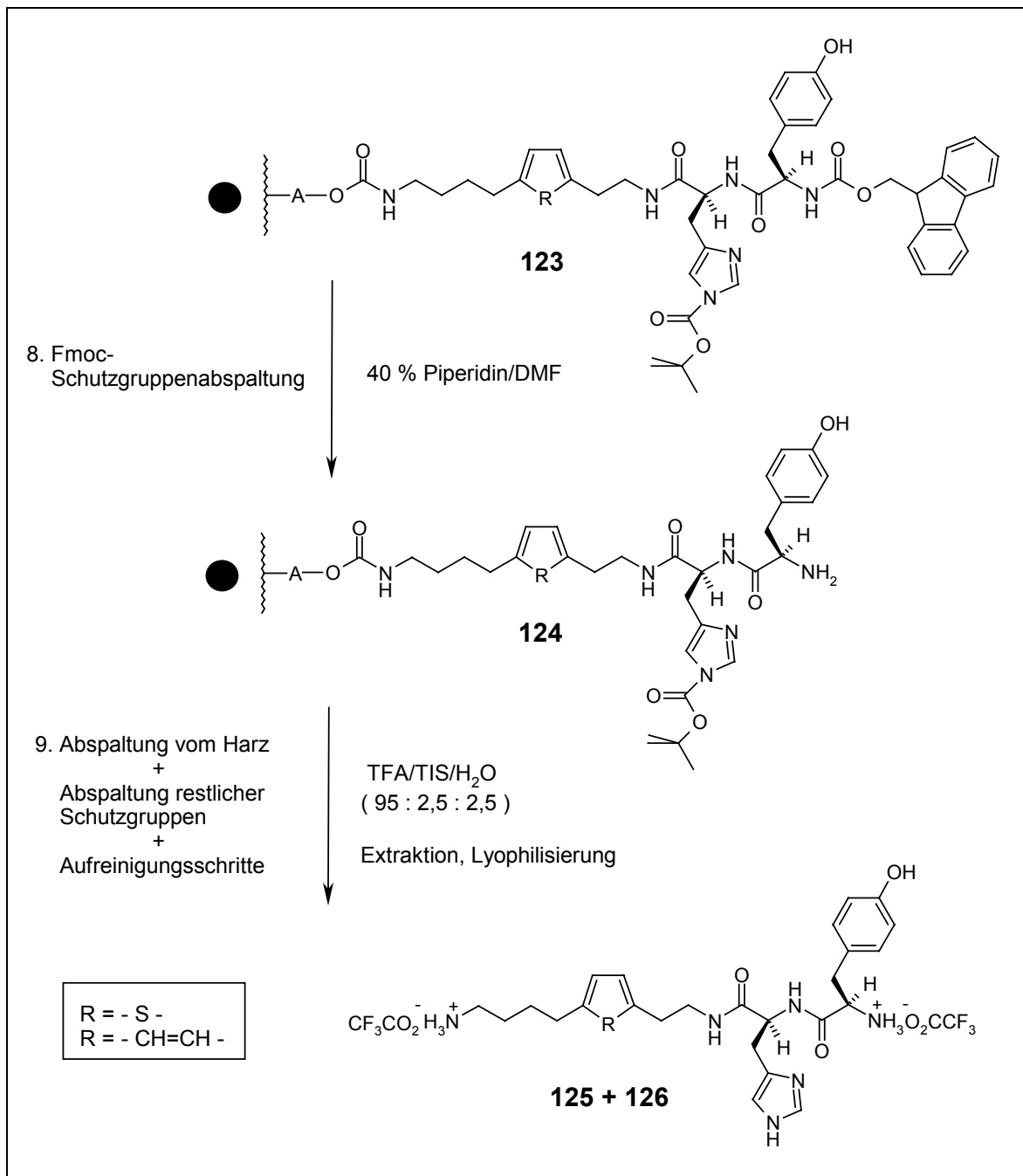


Abb. 69: Festphasensynthetische Sequenz

Nr.	Arbeitsschritt	Reagenz	Dauer	Bemerkung
1.	Harz vorquellen	abs. CH ₂ Cl ₂	ca. 10 min	
2.	Harz aktivieren	2 äqu. 4-Methylmorpholin 2 äqu. 4-Nitrophenyl- chlorameisensäure- phenylester CH ₂ Cl ₂	12 h	Zugabe bei 0 °C, danach Kühlung entfernen
3.	Kopplung der Synthesebausteine	2 äqu. zuvor freigesetzter Diaminbaustein nach Methode 1-bzw. 2 Lsm. CH ₂ Cl ₂ , THF	ca. 14 h	
4.	Waschen	THF CH ₂ Cl ₂ DMF	3x 5 min 3x 5 min 3x 5 min	
5.	Kopplung der 1.geschützten AS	3,0 äqu. Fmoc-AS-OH 3,0 äqu. DIC 3,0 äqu. HOBT	3 h	
6.	Waschen	DMF	5x 3 min	
7.	Fmoc-Abspaltung	40 % Piperidin/DMF	2x 20 min	Dazwischen je 2x 3 min mit DMF waschen
8.	Fmoc-Abspaltung	40 % Piperidin/DMF	1x 20 min	
9.	Waschen	DMF	8x 3 min	
10.	Fmoc-Abspaltung	40 % Piperidin/DMF	1x 20 min	Auffangen der Abspalt- Lösungen und UV- Messung: Wenn negativ dann 11., wenn positiv dann 7.
11.	Waschen	DMF	8x 3 min	
12.	Kopplung der 2.geschützten AS	3,0 äqu. Fmoc-AS-OH 3,0 äqu. DIC 3,0 äqu. HOBT	3 h	

Tab. 10: Protokollarischer Ablauf der Synthese am Harz

Nr.	Arbeitsschritt	Reagenz	Dauer	Bemerkung
13.	Waschen	DMF CH ₂ Cl ₂	8x 3 min 3x 5 min	
14.	Abspaltung der Trityl- Seitenketten- schutzgruppen	CH ₂ Cl ₂ /TIS/TFA (94 : 5 : 1)	5x 2 min	
15.	Waschen	CH ₂ Cl ₂ DMF	8x 3 min 3x 5 min	
16.	Fmoc-Abspaltung	40 % Piperidin/DMF	2x 20 min	Dazwischen je 2x 3 min mit DMF waschen
17.	Fmoc-Abspaltung	40 % Piperidin/DMF	1x 20 min	
18.	Waschen	DMF	8x 3 min	
19.	Fmoc-Abspaltung	40 % Piperidin/DMF	1x 20 min	Auffangen der Abspalt- Lösungen und UV- Messung: Wenn negativ dann 20., wenn positiv dann 16.
20.	Waschen	DMF THF CH ₂ Cl ₂ MeOH DE	8x 3 min 3x 5 min 3x 5 min 3x 5 min 3x 5 min	
21.	Abspaltung der Liganden + Abspaltung der Boc- Schutzgruppen + Aufreinigung	TFA/TIS/H ₂ O (95 : 2,5 : 2,5)	3x 3 h	1. Lösungen vereinigen und vom Lsm. i.V. befreien. 2. Wässrig aufnehmen, 2x organisch ausschütteln. 3. Wässrige Phase lyophilisieren

Tab. 11: Protokollarischer Ablauf der Synthese am Harz

3.4.3.6 Die Reaktionskontrolle der kombinatorischen Syntheseschritte

Die Berechnung der Harzbelegung über der unter 3.4.2.4 befindlichen Eichgerade ergab für die Substitutionsreaktionen der Trifluoracetat- (**95** und **106**) bzw. der entsprechenden Hydrochlorid-Bausteine (**97** und **108**) nach Methode 1 bzw. Methode 2 unterschiedliche Kopplungsausbeuten.

Kopplungsausbeuten nach Methode 1:

Die Substitutionen an das Nitrophenylcarbonat-Wangharz nach der basischen Freisetzungsmethode ergaben sowohl für die Trifluoracetat- (**95** und **106**), als auch für die Hydrochloridbausteine (**97** und **108**) zufriedenstellende Kopplungsausbeuten von 85 ± 10 Prozent.

Kopplungsausbeuten nach Methode 2:

Aufgrund der überraschend schlechten Löslichkeit der beiden Hydrochloridverbindungen **97** und **108** in Tetrahydrofuran konnte selbst nach langsamen Zutropfen der doppelten Menge an Base (4 Äquivalente Diisopropylethylamin) zur Freisetzung der entsprechenden freien Amine nur Kopplungsausbeuten von 45 ± 10 Prozent erhalten werden, die als unzureichend zu bewerten sind.

Die Aminschtzung durch deren Trifluoracetatsalze **95** und **106** erhöhte die Löslichkeit in Tetrahydrofuran beträchtlich, sodaß nach Zutropfen der Base eine klare Lösung erhalten wurde. Die „in situ“-Aktivierungen ergaben in diesem Fall Kopplungsausbeuten im Bereich 75 ± 10 Prozent.

Nach Testung der beiden Kopplungsmethoden konnte gezeigt werden, daß aufgrund der besseren Ausbeuten ein präoperativer Mehraufwand nach Methode 1 in Kauf genommen werden muß, um möglichst viel des benötigten, synthetischen Bausteins am Harz zu immobilisieren.

Folgende Abbildungen zeigen schematisch die Substitutionreaktionen am Nitrophenylcarbonat-Wangharz.

Abbildung 70 zeigt im Wellenlängenbereich zwischen 360 und 480 nm eine breite p-Nitrophenyl-Absorptionsbande, die den Bereich am Harz widerspiegelt, der nicht durch den jeweils verwendeten Fmoc-Synthesebaustein substituiert werden konnte, sodaß nach Zugabe der Fmoc-Abspaltung von Piperidin/DMF größtenteils nur das durch die Aktivierung gekoppelte p-Nitrophenol substituiert wurde.

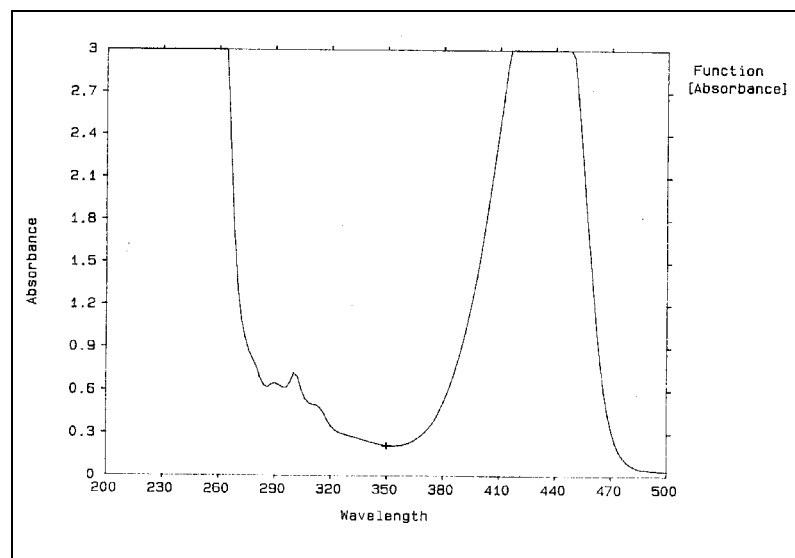


Abb. 70: UV-VIS-Spektrum der Piperidin-DMF-Abspaltung

Im Gegensatz dazu zeigt Abbildung 71 eine nahezu vollständige Substitution mit dem gewünschten Synthesebaustein durch das Ausbleiben der Nitrophenol-Absorptionsbande und dem Vorhandensein der gewünschten Piperidin-Fluoren-Absorptionsbande bei 301 nm.

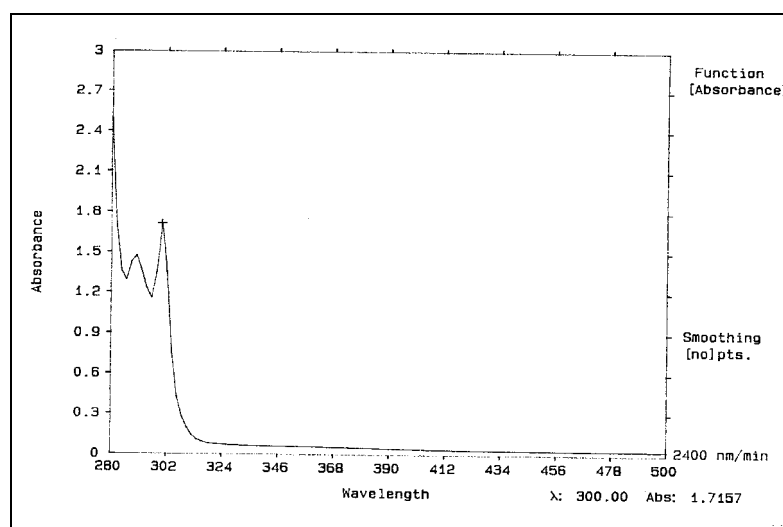
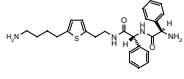
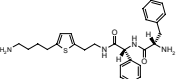
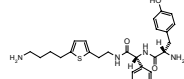
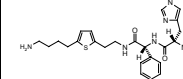
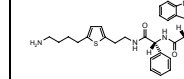
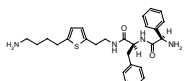
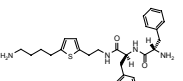
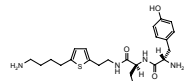
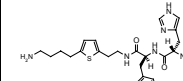
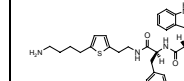
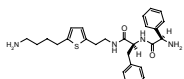
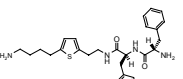
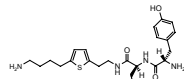
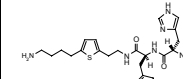
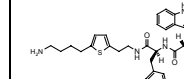
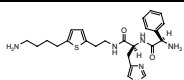
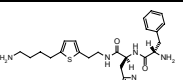
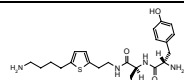
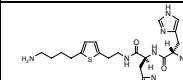
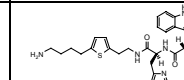
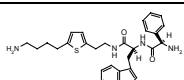
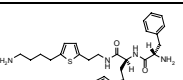
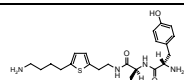
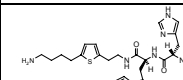
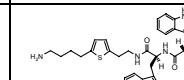
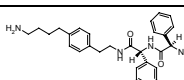
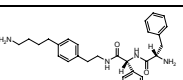
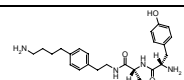
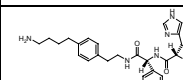
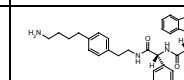
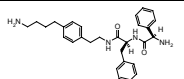
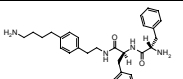
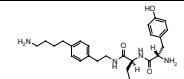
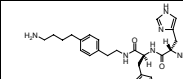
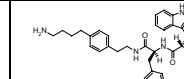
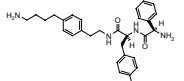
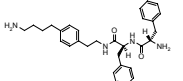
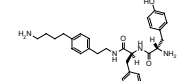
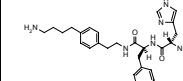
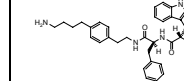
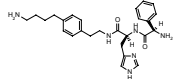
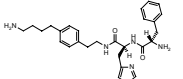
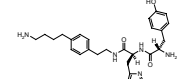
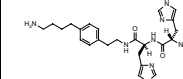
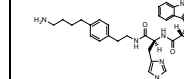
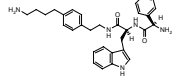
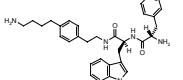
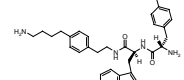
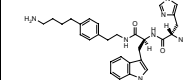
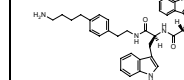


Abb. 71: UV-VIS-Spektrum der Piperidin-DMF-Abspaltung

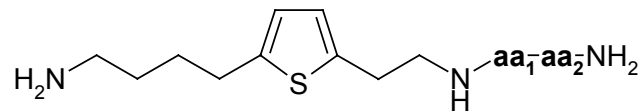
3.4.3.7 Die resultierenden Ligandenbibliotheken

1.AS/ 2.AS	(L)-Phg	(L)-Phe	(L)-Tyr	(L)-His	(L)-Trp
(L)-Phg	 127	 128	 129	 130	 131
(L)-Phe	 132	 133	 134	 135	 136
(L)-Tyr	 137	 138	 139	 140	 141
(L)-His	 142	 143	 145	 144	 145
(L)-Trp	 146	 147	 148	 149	 150
(D)-Phg	 151	 152	 153	 154	 155
(L)-Phe	 156	 157	 158	 159	 160
(L)-Tyr	 161	 162	 163	 164	 165
(L)-His	 166	 167	 126	 168	 169
(L)-Trp	 170	 171	 172	 173	 174

Tab. 12: Ligandenbibliotheken der Thiophen- und Benzolanaloga
(Alle Substanzen liegen als Trifluoracetat vor)

3.4.3.8 Struktur-Wirkungs-Beziehungen

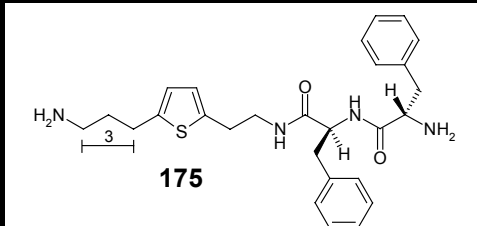
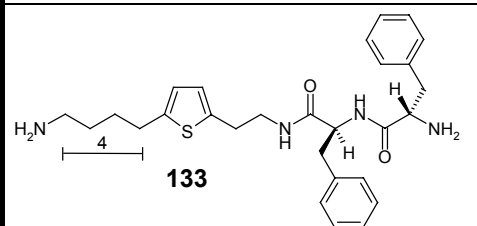
3.4.3.8.1 Pharmakologie der Thienylanaloga



aa₁	aa₂	IC₅₀[μM]	$\frac{IC_{50} \text{ (Spn)} [\mu M]}{IC_{50} [\mu M]}$
(D)-Phg	(D)-Phg	53	2,13
(D)-Phg	(L)-Phe	56	5,39
(D)-Phg	(L)-Tyr	70	6,30
(D)-Phg	(L)-His	>1 mM	nicht bestimmt
(D)-Phg	(L)-Trp	26	6,10
(L)-Phe	(D)-Phg	55	3,72
(L)-Phe	(L)-Phe	28	7,85
(L)-Phe	(L)-Tyr	33	11,3
(L)-Phe	(L)-His	149	7,48
(L)-Phe	(L)-Trp	39	4,29
(L)-Trp	(D)-Phg	56	3,73
(L)-Trp	(L)-Phe	25	3,47
(L)-Trp	(L)-Tyr	23	4,96
(L)-Trp	(L)-His	62	4,25
(L)-Trp	(L)-Trp	15	4,66
(L)-Tyr	(D)-Phg	40	8,74
(L)-Tyr	(L)-Phe	47	8,89
(L)-Tyr	(L)-Tyr	53	15,0
(L)-Tyr	(L)-His	62	23,2
(L)-Tyr	(L)-Trp	31 ± 11	8,39
(L)-His	(D)-Phg	>1 mM	nicht bestimmt
(L)-His	(L)-Phe	242	3,46
(L)-His	(L)-Tyr	159	3,91
(L)-His	(L)-His	55	7,24
(L)-His	(L)-Trp	101	3,48

Tab. 13

Die folgenden Interpretationen der erhaltenen Bindungsdaten beziehen sich auf die Messung in einem 10 mM Tris-Puffersystem. Eine Angabe des Puffersystems ist zum direkten Vergleich der Affinitäten bzw. Spermin-Sensitivitäten als wichtig anzusehen, da viele Polyamin-Derivate im MK-801-Bindungsexperiment eine deutliche pH-Abhängigkeit aufweisen. Die Wirkungsweise der Liganden ließ sich wie vermutet mit den Aminosäureresten der gekoppelten Aminosäuren korrelieren. Keiner der Verbindungen zeigte im geprüften Konzentrationsbereich einen agonistischen Effekt. Alle Substanzen zeigten einen mehr oder weniger starken inversen agonistischen Wirkmechanismus. Im Vergleich zu dem schon vorher untersuchten, um eine Methyleneinheit verkürzten, Liganden mit der Aminosäureabfolge (L)-Phe-(L)-Phe **175**, wies das Derivat der neuen Bibliothek mit 4 Methyleneinheiten im kurzen Seitenkettensegment **133** eine um den Faktor 4 höhere Affinität am Rezeptor auf. Dies zeigt noch einmal die Notwendigkeit der Wahl der optimalen Kettenlänge von ausgewählten Verbindungen.

Struktur	IC ₅₀ [μM]	$\frac{\text{IC}_{50}(\text{Spn}) [\mu\text{M}]}{\text{IC}_{50}[\mu\text{M}]}$
 <p>175</p>	113 ± 44	5,83
 <p>133</p>	28	7,85

Tab. 14

Der potenteste inverse Agonist wird durch die Kombination (L)-Tryptophan/(L)-Tryptophan **150** mit einem IC₅₀-Wert von 15 und einem Sperminfaktor von 4,66 repräsentiert. Allgemein zeigt sich bei der alleinigen oder gleichzeitigen Anwesenheit der Aminosäuren Tryptophan und/oder Phenylalanin eine Verschiebung hin zu niedrigeren IC₅₀-Werten, d. h. zu relativ hohen Bindungsaffinitäten. Folgende Abbildungen zeigen die Affinitäten der Ligandenbibliothek mit einem bestimmten Seitenkettenrest in der 1. Aminosäureposition und Variation der 2. Aminosäureposition:

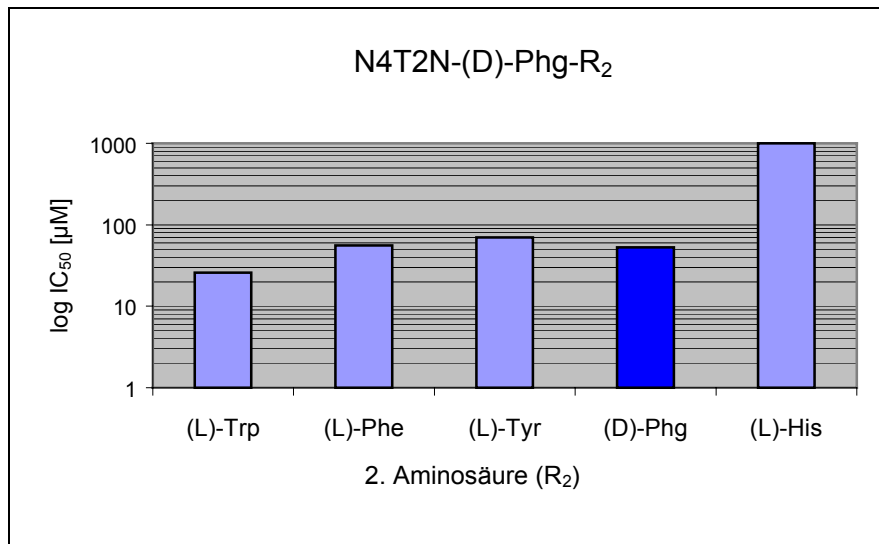


Abb. 72: Affinitäten mit (D)-Phenylglycin in Aminosäureposition 1

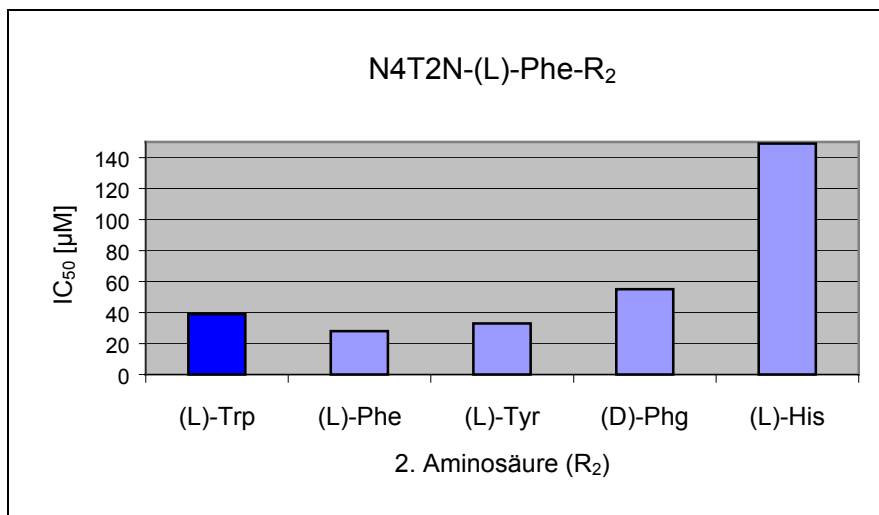


Abb. 73: Affinitäten mit (L)-Phenylalanin in Aminosäureposition 1

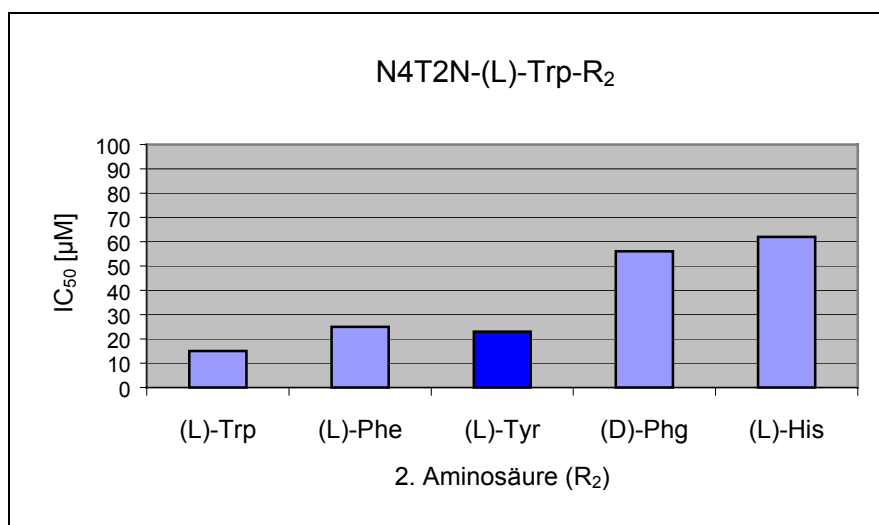


Abb. 74: Affinitäten mit (L)-Tryptophan in Aminosäureposition 1

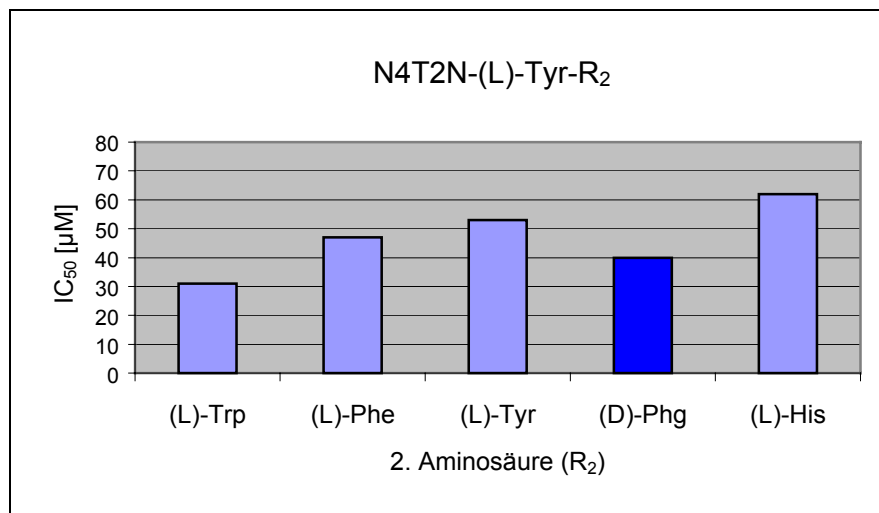


Abb. 75: Affinitäten mit (L)-Tyrosin in Aminosäureposition 1

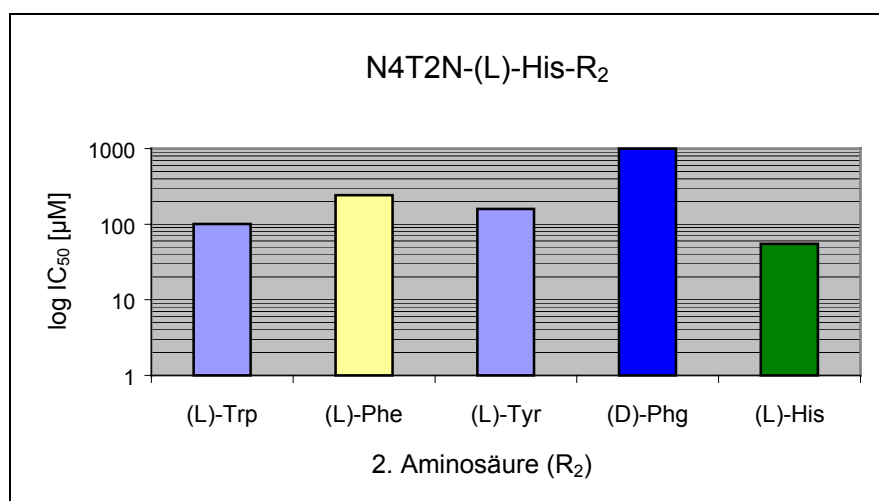


Abb. 76: Affinitäten mit (L)-Histidin in Aminosäureposition 1

Die Positionierung der 2. Aminosäure in der Reihenfolge (L)-Tryptophan, (L)-Phenylalanin, (L)-Tyrosin, (D)-Phenylglycin und (L)-Histidin zeigte im allgemeinen ein Ansteigen der Affinität. Eine Ausnahme repräsentierten Verbindungen mit (L)-Histidin in der 1. Aminosäureposition (siehe Abbildung 76). Hier konnte in der hier gewählten Aminosäureabfolge kein linearer Zusammenhang bezüglich der Ligand-Rezeptor-Affinität gefunden werden.

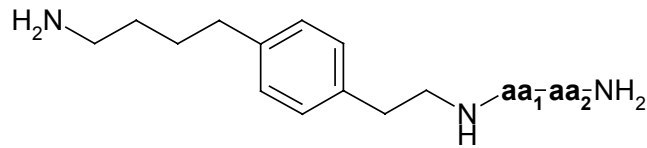
Allgemein zeigten Substanzen, die die Aminosäure Histidin beinhaltenen, im direkten Vergleich zu allen anderen Verbindungen eine niedrigere Bindungsaffinität. Offensichtlich scheint sich eine relativ stark basische Hetero-Funktionalität in dieser Position ungünstig auf die Bindungsaffinität auszuwirken.

Die Verbindungen mit den höchsten Spermin-Sensitivitätsfaktoren enthielten die Aminosäure Tyrosin, wobei, außer in der Kombination (*L*)-Phe/(*L*)-Tyr **134**, alle anderen Derivate mit Tyrosin an erster Stelle die höchsten Sperminsensitivitäten aufwiesen. Möglicherweise scheint sich eine Wasserstoffbrücken-Bindung an dieser Position positiv auf die Selektivität der Liganden auszuwirken.

Die relative Abfolge der Aminosäuren spielte nur bei einigen wenigen Kombinationen eine Rolle. So besaß Verbindung **140** ((*L*)Tyr-(*L*)His) mit einem Wert von 23,2 den höchsten Sperminfaktor, während die Substanz mit der Kombination ((*L*)His-(*L*)Tyr) **125** eine um den Faktor 6 niedrigere Sensitivität aufwies.

Die Verbindungen mit der geringsten Affinität wurden repräsentiert durch die Aminosäuren-Kombination, bestehend aus (*D*)-Phenylglycin und (*L*)-Histidin. Beide Liganden wiesen einen IC₅₀-Wert oberhalb von 1 mM auf, wobei im Bindungsexperiment aufgrund der hohen eingesetzten Konzentrationen der Sperminfaktor erst gar nicht bestimmt werden konnte.

3.4.3.8.2 Pharmakologischer Vergleich der Benzolanaloga



aa ₁	aa ₂	IC ₅₀ [μM]	$\frac{\text{IC}_{50}(\text{Spn})}{\text{IC}_{50}} [\mu\text{M}]$
(D)-Phg	(D)-Phg	80	2,91
(D)-Phg	(L)-Phe	30	6,38
(D)-Phg	(L)-Tyr	29	7,60
(D)-Phg	(L)-His	>1 mM	nicht bestimmt
(D)-Phg	(L)-Trp	30	5,91
(L)-Phe	(D)-Phg	59	3,95
(L)-Phe	(L)-Phe	49	6,43
(L)-Phe	(L)-Tyr	47	7,57
(L)-Phe	(L)-His	>1 mM	9,72
(L)-Phe	(L)-Trp	35	4,10
(L)-Trp	(D)-Phg	24	5,19
(L)-Trp	(L)-Phe	57	2,34
(L)-Trp	(L)-Tyr	45	3,35
(L)-Trp	(L)-His	48	4,22
(L)-Trp	(L)-Trp	33	2,39
(L)-Tyr	(D)-Phg	63	4,99
(L)-Tyr	(L)-Phe	52	6,91
(L)-Tyr	(L)-Tyr	42	10,44
(L)-Tyr	(L)-His	191	6,01
(L)-Tyr	(L)-Trp	38	3,86
(L)-His	(D)-Phg	>1 mM	nicht bestimmt
(L)-His	(L)-Phe	>1 mM	nicht bestimmt
(L)-His	(L)-Tyr	105	4,74
(L)-His	(L)-His	>1 mM	nicht bestimmt
(L)-His	(L)-Trp	85	3,02

Tab. 15

Verbindungen der Benzolanaloga zeigten prinzipiell einen weniger stark ausgeprägten inversen Agonismus. Die potentesten Verbindungen enthielten die Aminosäure Phenylglycin unabhängig der Aminosäureposition und besaßen einen IC_{50} -Wert im Bereich von 24 bis 30 μM . Beim Vergleich der beiden Bibliotheken zeigte sich in 84 % der Fälle eine geringere Affinität bei Verbindungen mit benzylischer Substruktur, relativ zu den entsprechenden Thiophen-Derivaten (Tab.16).

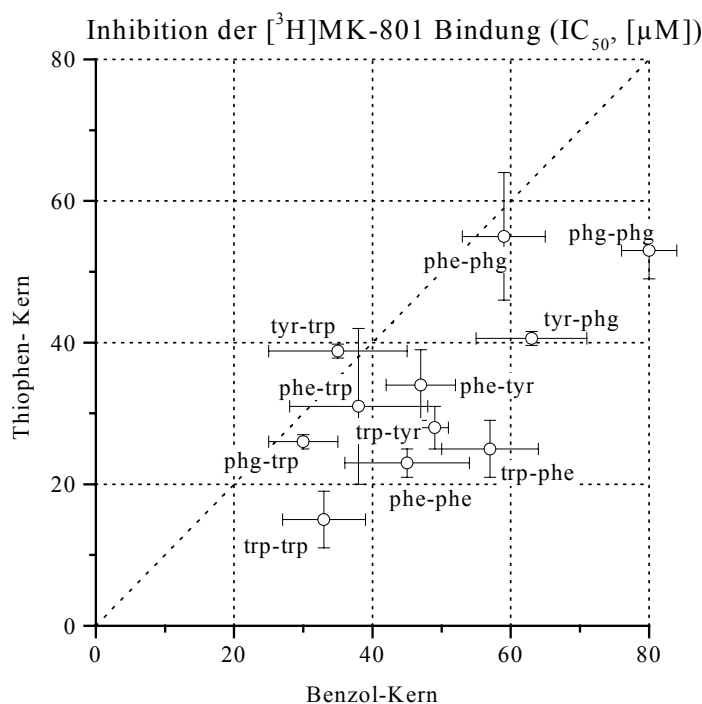
IC_{50} (Benzolkern \rightarrow Thiophenkern)

1.AS/2.AS	Phenylglycin	Phenylalanin	Tyrosin	Tryptophan
Phenylglycin	80 \rightarrow 53			30 \rightarrow 26
Phenylalanin	59 \rightarrow 55	49 \rightarrow 28	47 \rightarrow 34	35 \rightarrow 39
Tyrosin	63 \rightarrow 40	52 \rightarrow 47		38 \rightarrow 31
Tryptophan		57 \rightarrow 25	45 \rightarrow 23	33 \rightarrow 15

Tab. 16: Vergleich der IC_{50} -Werte

Folgende Abbildung 77 zeigt bei einer Auswahl an Verbindungen graphisch das Verhältnis des IC_{50} -Wertes in Abhängigkeit von der Arylsubstruktur. Substanzen, die sich auf der Diagonalen bewegen, weisen unabhängig von der Arylsubstruktur bei übereinstimmender Aminosäureabfolge den gleichen IC_{50} -Wert auf. Oberhalb der Diagonalen besitzt im direkten Vergleich die Verbindung mit benzylischer Substruktur einen niedrigeren IC_{50} -Wert und damit eine höhere Bindungsaffinität. Unterhalb der Diagonalen liegen Liganden mit Thierylsubstruktur, die eine höhere Bindungsaffinität aufweisen.

Abb. 77



Auch in der Bibliothek der Benzolanaloge führte das Vorhandensein der Aminosäure Histidin zu einem eindeutigen Anstieg des IC₅₀-Wertes.

Die höchsten Spermin-Sensitivitäten zeigten wiederum Verbindungen, in der mindestens eine Aminosäure durch Tyrosin substituiert wurde (**153**, **158**, **163**). Die Thienylanaloga, die Tyrosin enthielten, zeigten im Vergleich zu den Benzol-Derivaten höhere Sperminfaktoren. In den meisten anderen Fällen (66 %) wiesen die analogen Verbindungen mit Benzolkern eine höhere Selektivität bezüglich der Sperminbindungsstelle des NMDA-Rezeptors auf.

Vergleich der Sperminfaktoren (Benzolkern→*Thiophenkern*)

1.AS/2.AS	Phenylglycin	Phenylalanin	Tyrosin	Tryptophan
Phenylglycin	2.91→2.13	6,38→5,39	7,60→6,30	5.91→6.10
Phenylalanin	3.95→3.72	6.43→7.85	7.57→9.75	4.10→4.29
Tyrosin	4,99→8.74	6,91→8,89	10,44→15,0	3.86→8.39
Tryptophan	5,19→3,73	2.34→3.47	3.35→4.99	2.39→4,66

Tab. 17: Sperminfaktoren

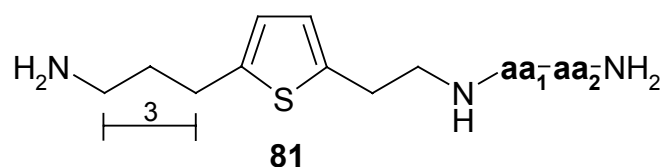
(Abschwächung der Wirkung des inversen Agonisten durch Zugabe von 10 µM Spermin)

Die obige Tabelle zeigt eine Abschwächung der Wirkung des inversen Agonisten durch Zugabe des biogenen Agonisten Spermin. Im Gegensatz zu vorangegangenen pharmakologischen Experimenten wurde hier statt mit einer Konzentration von 30 µM Spermin mit einer Sperminkonzentration von 10 µM gearbeitet.

3.4.4 Festphasensynthese von Liganden mit basischen Seitenkettenfunktionen

3.4.4.1 Vorarbeiten

Aufgrund des pharmakologischen Interesses an der Untersuchung von agonistisch wirkenden Liganden wurde eine neue Serie von Verbindungen in Betracht gezogen. Frühere Ergebnisse konnten aufzeigen, daß potente Agonisten zusätzliche basische Seitenketten in Form von Aminfunktionen aufwiesen. Diese Tetramine mit der allgemeinen Struktur **81**, zeigten EC_{50} -Werte im Bereich von 3,5-4,9 μM auf (siehe Tab. 18).

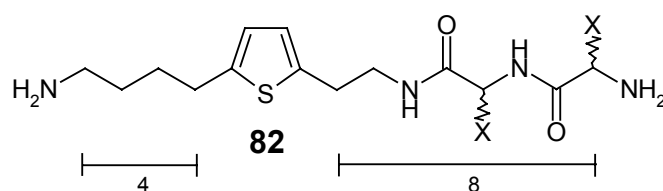


aa₁	aa₂	EC₅₀[μM]	IC₅₀[μM]
(L)-Lys	(L)-Lys	4,95	1313
(L)-Lys	(D)-Lys	4,62	1227
(D)-Lys	(L)-Lys	5,22	990
(D)-Lys	(D)-Lys	3,57	1243

Tab. 18: Agonisten

3.4.4.2 Neue Zielstrukturen

Die Auswahlkriterien der Zielstrukturen für die geplante Agonisten-Ligandenbibliothek basierten auf folgenden Überlegungen und Fragestellungen:



- In Bezug auf die Referenzverbindung **3** wurden nur Liganden mit der allgemeinen Zielstruktur **82** berücksichtigt, deren Kettenlänge 4 Methyleneinheiten im kurzen und 8 Methyleneinheiten im langen Seitenkettensegment aufwies.
- Es wurden bei der Auswahl nur basische Funktionen in der Seitenkette der Aminosäuren berücksichtigt.
- Um die Liganden in ihrer pharmakologischen Wirkung mit den Liganden vorangegangener Bibliotheken vergleichen zu können, mußte die Aminosäure Lysin enthalten sein.
- Der Einfluß einer möglichen Stereodiskriminierung der Polyamin-Bindungsstelle sollte in dieser Ligandenbibliothek vernachlässigt werden.

Aufgrund letzterer Auswahlkriterien wurden folgende Zielstrukturen mit den darin enthaltenen Aminosäuren ausgewählt:

Aminosäure	Seitenkettenfunktion (R)
(L)-Arginin	stark basisch
(D)-Lysin	basisch
(L)-Histidin	schwach basisch

Tab. 19

3.4.4.3 Die Auswahl der geschützten Aminosäuren

Um die Reaktionen an der festen Phase durchführen zu können, mußten die Aminfunktionen durch Wahl geeigneter Schutzgruppen chemisch unterscheidbar sein. Die α -Aminofunktion wurde jeweils mit einer basenlabilen Fmoc-Schutzgruppe versehen, während die Schutzgruppen der Aminofunktionen in der Seitenkette zur Differenzierung säurelabil sein mußten. Für die Seitenketten der Aminosäure Lysin und Histidin wurde eine Boc-Schutzgruppe ausgewählt. Zur Schützung der stark basischen Guanidinfunktion in der Seitenkette der Aminosäure Arginin wurde eine sogenannte Pbf- (2,2,4,6,7-

Pentamethyl-dihydrobenzofuran-5-sulfonyl) Gruppe verwendet, die simultan zur Boc-Schutzgruppe unter stark sauren Bedingungen abgespalten werden konnte^{160,161}.

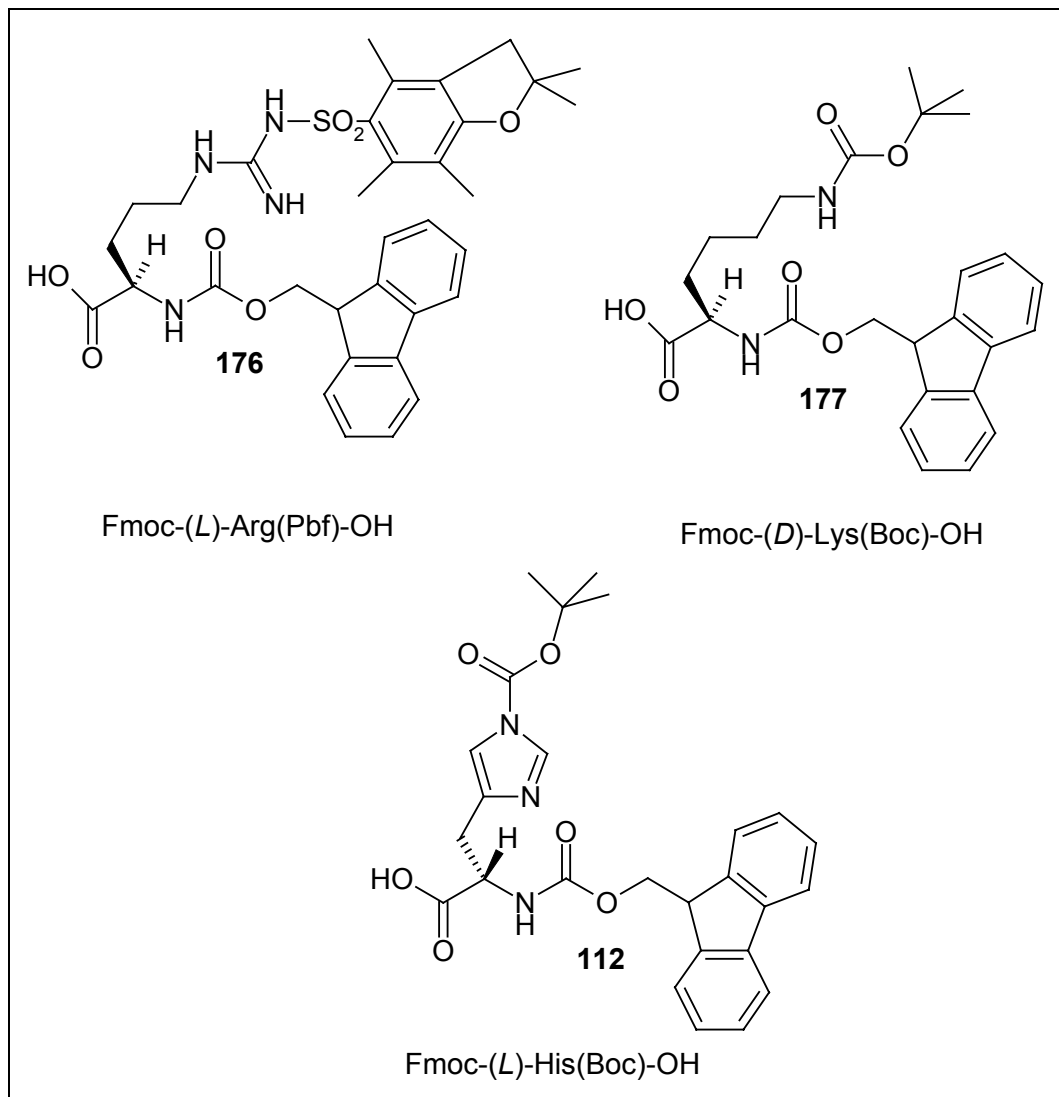


Abb. 78: Die Auswahl der geschützten Aminosäuren

3.4.4.4 Das Schema der geplanten Festphasensynthese

Das Konzept zur Synthese der Agonisten-Bibliothek entsprach dem unter Kapitel 3.4.3.5 besprochen allgemeinen Konzept zur Herstellung von diamidischen Verbindungsbibliotheken unter Verwendung des zuvor in Lösung hergestellten, monogeschützten Thiophendialkandiamin-Bausteins **95**.

Nr.	Arbeitsschritt	Reagenz	Dauer	Bemerkung
1.	Harz vorquellen	abs. CH ₂ Cl ₂	ca. 10 min	
2.	Harz aktivieren	2 äqu. 4-Methylmorpholin 2 äqu. 4-Nitrophenyl- chlorameisensäure- phenylester CH ₂ Cl ₂	12 h	Zugabe bei 0 °C, danach Kühlung entfernen
3.	Kopplung des Thienyl- Synthesebausteins	2 äqu. zuvor freigesetzter Diaminbaustein 95 nach Methode 1 Lsm. CH ₂ Cl ₂	ca. 14 h	
4.	Waschen	THF CH ₂ Cl ₂ DMF	3x 5 min 3x 5 min 3x 5 min	
5.	Kopplung der 1.geschützten AS	3,0 äqu. Fmoc-AS-OH 3,0 äqu. DIC 3,0 äqu. HOBt	3 h	
6.	Waschen	DMF	5x 3 min	
7.	Fmoc-Abspaltung	40 % Piperidin/DMF	2x 20 min	Dazwischen je 2x 3 min mit DMF waschen
8.	Fmoc-Abspaltung	40 % Piperidin/DMF	1x 20 min	
9.	Waschen	DMF	8x 3 min	
10.	Fmoc-Abspaltung	40 % Piperidin/DMF	1x 20 min	Auffangen der Abspalt- Lösungen und UV- Messung: Wenn negativ dann 11., wenn positiv dann 7.
11.	Waschen	DMF	8x 3 min	
12.	Kopplung der 2.geschützten AS	3,0 äqu. Fmoc-AS-OH 3,0 äqu. DIC 3,0 äqu. HOBt	3 h	
13.	Waschen	DMF	5x 3 min	
14.	Fmoc-Abspaltung	40 % Piperidin/DMF	2x 20 min	Dazwischen je 2x 3 min mit DMF waschen

Tab. 20: Protokollarischer Ablauf der Synthese am Harz

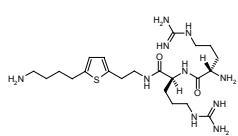
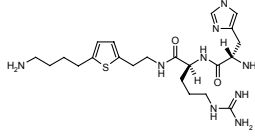
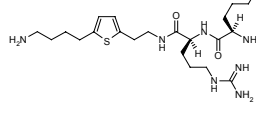
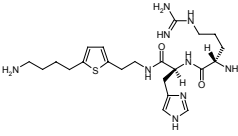
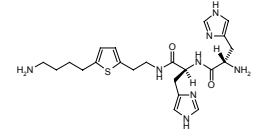
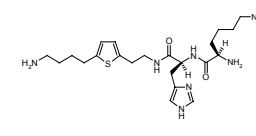
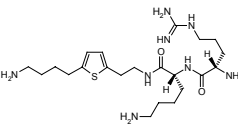
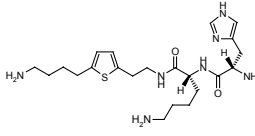
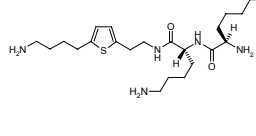
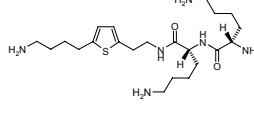
Nr.	Arbeitsschritt	Reagenz	Dauer	Bemerkung
15.	Fmoc-Abspaltung	40 % Piperidin/DMF	1x 20 min	
16.	Waschen	DMF	8x 3 min	
17.	Fmoc-Abspaltung	40 % Piperidin/DMF	1x 20 min	Auffangen der Abspalt-Lösungen und UV-Messung: Wenn negativ dann 18., wenn positiv dann 14.
18.	Waschen	DMF THF CH ₂ Cl ₂ MeOH DE	8x 3 min 3x 5 min 3x 5 min 3x 5 min 3x 5 min	
19.	Abspaltung der Liganden + Abspaltung der Boc- und Pbf- Schutzgruppen + Aufreinigung	TFA/TIS/H ₂ O (95 : 2,5 : 2,5)	3x 3 h	1. Lösungen vereinigen und vom Lsm. i.V. befreien. 2. Wässrig aufnehmen, 2x organisch ausschütteln. 3. Wässrige Phase lyophilisieren

Tab. 21: Protokollarischer Ablauf der Synthese am Harz

3.4.4.5 Die Auswertung der kombinatorischen Syntheseschritte

Die Substitution des Mono-Fmoc-geschützten Diaminbausteins **95** nach Methode 1 der beiden möglichen Freisetzungsmethoden ergab nach Quantifizierung des freiwerdenden 4-Nitrophenols eine Kopplungsausbeute von 85 ± 10 %. Laut des quantitativen Fmoc-Tests lagen die berechneten Kopplungsausbeuten der geschützten Aminosäuren im Bereich zwischen 90 ± 10 %.

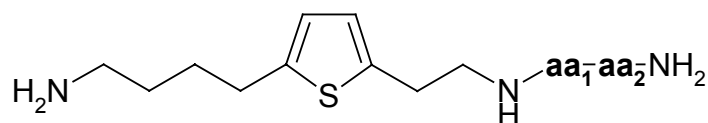
3.4.4.6 Die resultierende Ligandenbibliothek

1.AS / 2.AS	(L)-Arg	(L)-His	(D)-Lys	(L)-Lys
(L)-Arg	 178	 179	 180	
(L)-His	 181	 144	 182	
(D)-Lys	 183	 184	 185	 186

Tab. 22: Ligandenbibliothek*

(* Alle Aminofunktionen liegen als Trifluoracetatsalze vor)

3.4.4.7 Struktur-Wirkungs-Beziehungen



Nr.	aa ₁	aa ₂	EC ₅₀ [μM]	IC ₅₀ [μM]	$\frac{IC_{50}(\text{Spn}) [\mu\text{M}]}{IC_{50} [\mu\text{M}]}$
178	(L)-Arg	(L)-Arg		42	1,56
179	(L)-Arg	(L)-His		16	17,78
180	(L)-Arg	(D)-Lys	1,5	86	0,90
181	(L)-His	(L)-Arg		64	2,58
144	(L)-His*	(L)-His*		55	7,24
182	(L)-His	(D)-Lys		232	2,57
183	(D)-Lys	(L)-Arg	0,97	103	1,28
184	(D)-Lys	(L)-His		126	3,01
185	(D)-Lys	(D)-Lys	2,1	258	1,19
186	(D)-Lys	(L)-Lys	1,8	506	0,7

Tab. 23: Pharmakologische Daten der Agonisten-Bibliothek

(*siehe Pharmakologie der Thienylanaloga, Kapitel 3.4.3.8.1)

Die Kettenverlängerung von ursprünglich drei auf insgesamt vier Methylenheiten in der kurzen Seitenkette der Liganden zeigte eine allgemeine Verschiebung hin zu höher affinen Agonisten.

Der direkte Vergleich von Verbindungen mit zwei Lysin-Aminosäuren ließ diesen Trend bestätigen. Analysiert man Lysin-Lysin-Liganden mit verkürzten Seitenketten (siehe Tab. 18) mit Verbindungen, die eine Methylenheit mehr in der kurzen Seitenkette besitzen, so ergibt sich bei den neuen Liganden **186** und **185** ein Affinitätsgewinn von 3 bzw. von 1,7, wobei ein zusätzlicher invers-agonistischer Effekt schon bei niedrigeren Konzentrationen um den Faktor 2 bis 5 erkennbar war (siehe Abb. 79).

Die zu Vergleichszwecken synthetisierte Verbindung **186** bestätigte die vermutete untergeordnete Rolle einer Stereodiskriminierung. Der Austausch der Aminosäure (*D*)-Lysin gegen (*L*)-Lysin in der 2. Aminosäureposition zeigte keinen Unterschied bezüglich der Affinität bzw. Selektivität der diastereomeren Verbindungen.

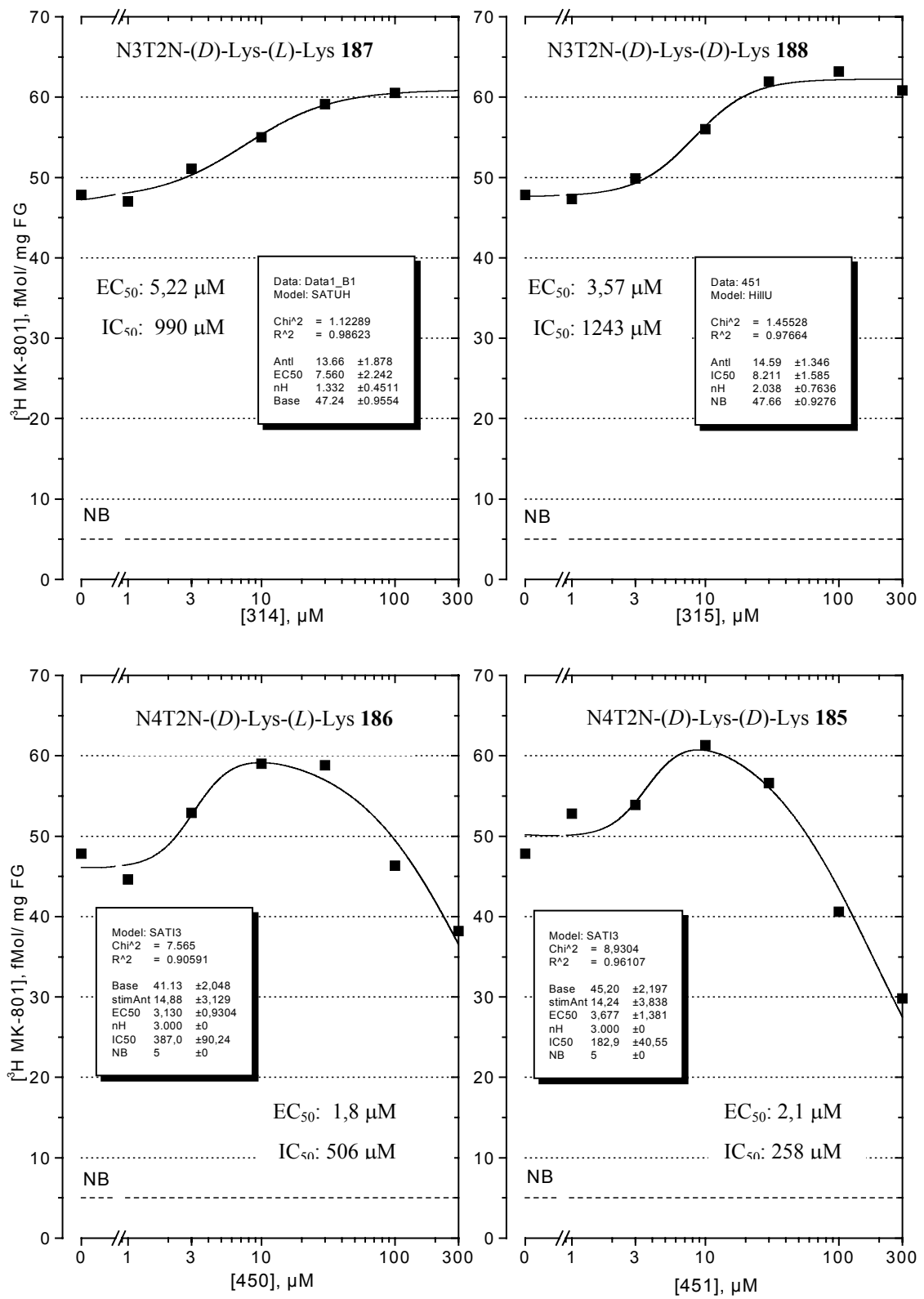


Abb. 79: Konzentrations-Wirkungs-Beziehungen der Verbindungen 185, 186, 187, 188

Ein Agonismus wurde nur bei Verbindungen beobachtet, die mindestens eine Aminosäure Lysin enthielten. Alle anderen Liganden zeigten einen reinen invers-agonistischen Wirkmechanismus. Speziell die Aminosäure Histidin scheint einen inversen-agonistischen Effekt zu bewirken, da auch in Verbindung mit der Aminosäure Lysin, repräsentiert durch die Liganden **182** und **184**, ein agonistischer Effekt zurückgedrängt wurde.

Ligand	IC₅₀[μM]	$\frac{IC_{50} \text{ (Spn)} [\mu M]}{IC_{50} [\mu M]}$
N4T2N-(L)-Arg-(L)-His 179	16	17,78
N4T2N-(L)-His-(L)-His 144	55	7,24

Tab. 24: Potente und selektive inverse Agonisten

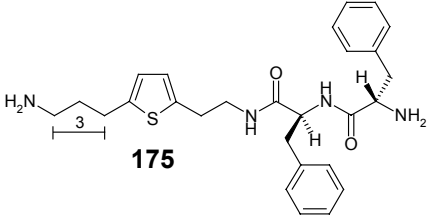
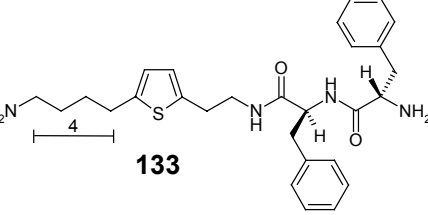
Die stärksten inversen Agonisten enthielten die Aminosäure Histidin und waren auch am sensitivsten bezüglich der Spermin-Bindungsstelle. Verbindung **179** besaß mit einem Sperminfaktor von 17,78 in der Reihe der diamidischen Liganden die zweithöchste Selektivität (siehe auch Kapitel 3.4.3.8.1) und gehörte mit einem IC₅₀-Wert von 16 auch zu den affinsten Substanzen dieser Verbindungsklasse.

Ligand	EC₅₀[μM]	$\frac{IC_{50} \text{ (Spn)} [\mu M]}{IC_{50} [\mu M]}$
N4T2N-(D)-Lys-(L)-Arg 183	0,97	1,28

Tab. 25: Potenter Agonist

Struktur N4T2N-(D)-Lys-(L)-Arg **183** repräsentiert mit einem EC₅₀-Wert von 0,97 μM den bis dato am stärksten agonistisch wirkenden Liganden, wobei dessen geringer Sperminfaktor von 1,28 eher darauf Hinweise gibt, nicht mit Spermin um dessen Bindungsstelle zu konkurrieren.

3.4.5 Festphasensynthese von Liganden mit variierten Amidinsertionen

Struktur	IC ₅₀ [μM]	$\frac{IC_{50}(\text{Spn}) [\mu\text{M}]}{IC_{50}[\mu\text{M}]}$
 <p>175</p>	113 ± 44	5,83
 <p>133</p>	28	7,85

Tab. 26: Bindungsdaten

Verbindung **133** zeigte im [³H]MK-801-Bindungsexperiment nach Optimierung der Gesamtkettenlänge von drei auf vier Methyleneinheiten im kurzen Seitenkettensegment vielversprechende Bindungsdaten.

In der Serie von Thiophendialkandiaminen mit dualer Amidinsertion repräsentiert dieser mit einem IC₅₀-Wert von 28 μM und einem Sperminfaktor von 7,8 einen der selektivsten und potentesten Inversagonisten.

Aus den bisher gewonnenen Erkenntnissen vergangener Ligandenbibliotheken ergaben sich folgende Fragestellungen:

- Kann die Erhöhung der Flexibilität der langen Seitenkette eine differenzierte Ligand-Rezeptor-Interaktion induzieren?
- Führt die Reduktion hydrophiler Interaktionsstellen unter Beibehaltung lipophiler Seitenreste zu einer Verstärkung, zu einer Verminderung oder zu einer Stabilisierung des Ligand-Rezeptor-Komplexes?

- Wie verändert sich durch Variation dieser Parameter die Selektivität der Liganden bezüglich der Sperminbindungsstelle?
- Führt die Reduktion von Amidfunktionen zu einer starken Änderung der pharmakologischen Eigenschaften (Inverser Agonist → Agonist)?

Zur Beantwortung obiger Fragestellungen wurde die Synthese von neuen Zielverbindungen **189** und **190**, ausgehend von der allgemeinen Zielstruktur **191**, angestrebt.

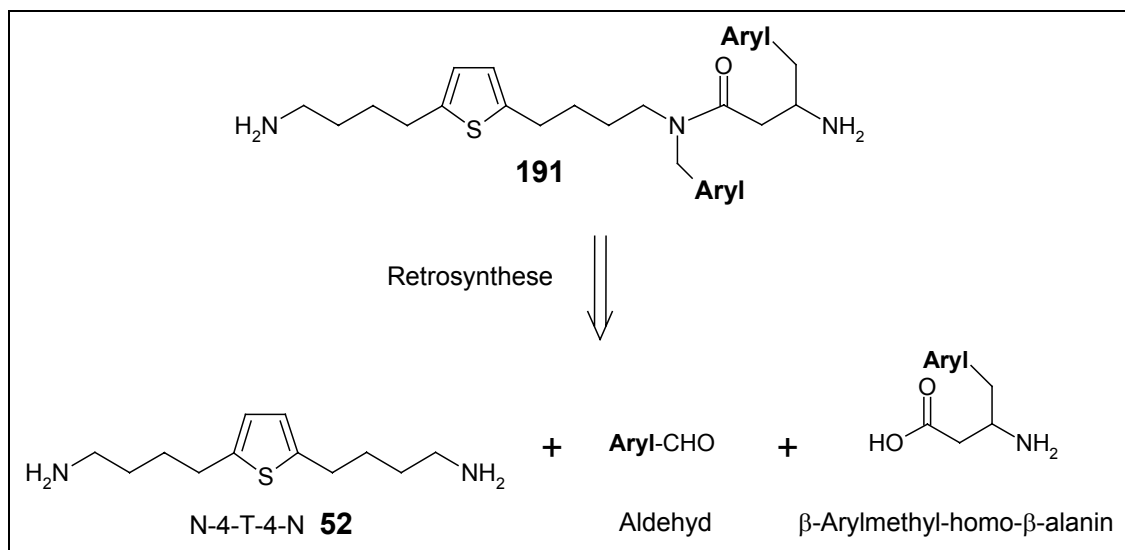
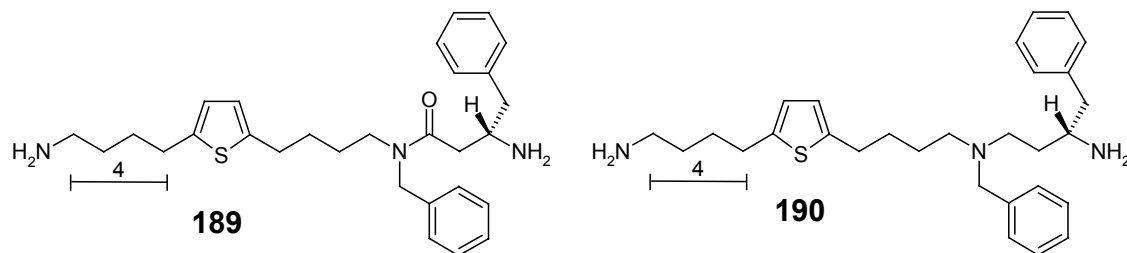
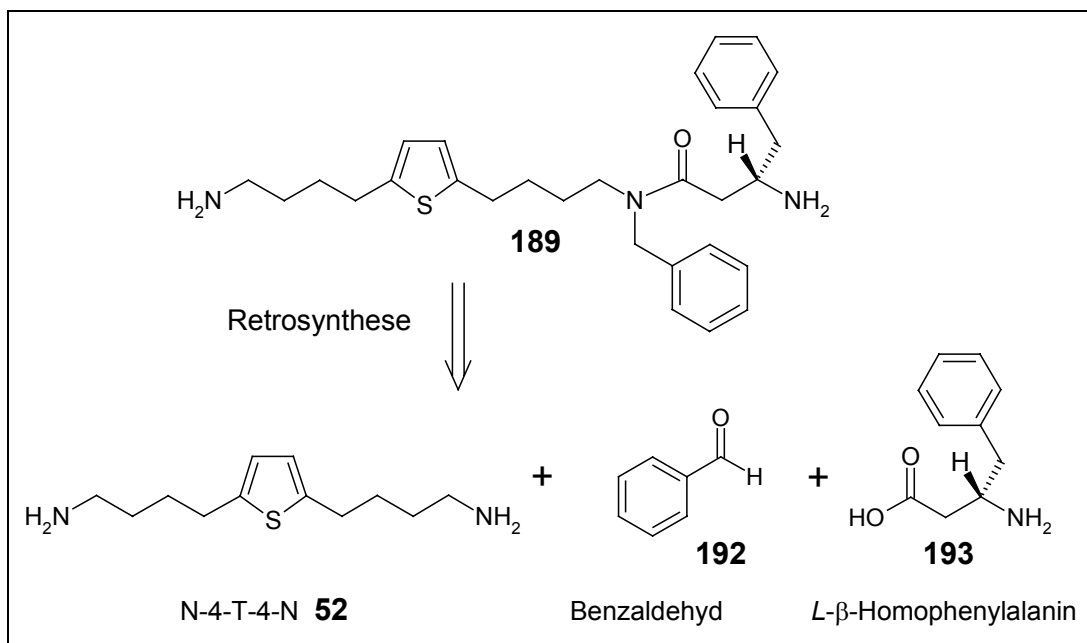


Abb. 80: Retrosynthese der allgemeinen Zielstruktur **191**

Verbindungen dieses Strukturtyps lassen sich retrosynthetisch in ein Thiophenalkandiamin **52**, einen aromatischen Aldehyden und in ein β -Arylmethyl-homo- β -alaninderivat zerlegen (siehe Abb. 80).

Da allgemein die Herstellung von β -Arylmethyl-homo- β -alaninderivaten als chemisch anspruchsvoll und zeitaufwendig anzusehen ist, wurde zur Beantwortung der pharmakologischen Fragestellungen vorerst das Hauptaugenmerk auf die Synthese von wenigen ausgewählten Verbindungen gelegt.

Abb. 81: Retrosynthese von Verbindung **189**

Zur Synthese der konkreten Zielverbindung **189** wurden nach retrosynthetischer Analyse das Thiophendialkandiamin N-4-T-4-N **52** als Aminobaustein, Benzaldehyd für eine reduktive Aminierung und *L*-β-Homophenylalanin als Aminosäurebaustein für die Bildung der Zielstruktur benötigt. Verbindung **190** konnte ausgehend von Struktur **189** durch eine entsprechende Reduktion der sekundären Amidfunktion erhalten werden.

Da die dazu notwendigen organischen Reaktionen an der festen Phase literaturbekannt waren, wurde ein entsprechendes Synthesekonzept auf Basis eines Wang[®]-Harzes etabliert. Durch Verwendung eines polymeren Trägers konnte die Herstellung der Liganden mit einem Minimalaufwand an notwendiger Schutzgruppentechnik durchgeführt werden.

3.4.5.1 Die Auswahl der geschützten Aminosäuren

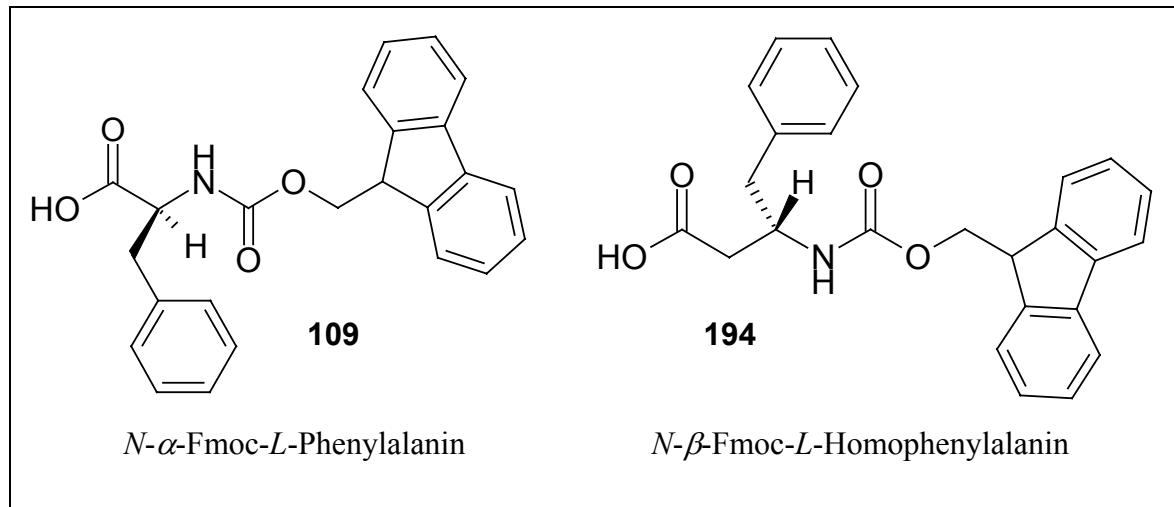


Abb. 82: Die geschützten Aminosäuren

Aufgrund der säurelabilen Linkerfunktion des Wang[®]-Harzes wurde erneut eine *N*-Fmoc-Schutzgruppenstrategie für die verwendeten Aminosäuren benötigt.

Zur Reaktionsoptimierung der organischen Syntheseschritte am polymeren Träger wurden zuerst eine Reihe von Testansätzen mit einer kostengünstigeren chiralen Aminosäure **109** durchgeführt, bevor die teure Fmoc-geschützte Aminosäure **194** zur Reaktion gebracht wurde.

3.4.5.2 Das Festphasensynthese-Schema

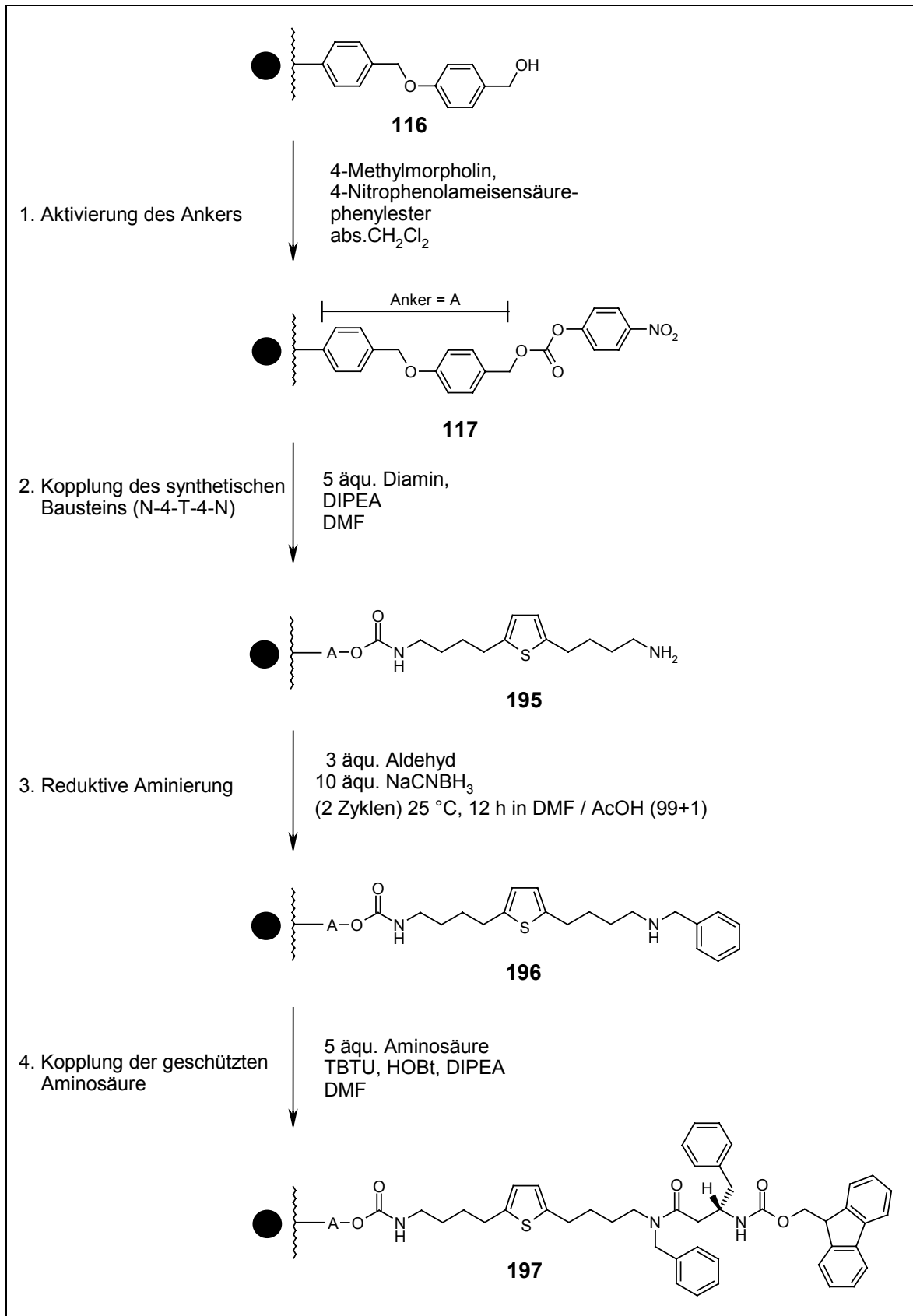


Abb. 83: Synthesesequenz

Die Festphasenreaktionen wurden sowohl in Einwegspritzen aus Polypropylen, als auch in silylierten Glasgefäßen durchgeführt.

Um das Synthesekonzept zu verdeutlichen, werden alle notwendigen Einzelschritte am Beispiel des Ligandenaufbaus von Verbindung **189** und **190** erläutert:

Zu Beginn der Synthese erfolgte die in Polypropylenspritzen durchgeführte Aktivierung des Wang[®]-Harzes (siehe Kapitel 3.4.3.5), wobei die Kopplung des zuvor basisch freigesetzten Diaminbausteins N-4-T-4-N **52** in Dimethylformamid unter Zusatz einer Hilfsbase in Form von Diisopropylethylamin erfolgte. Nach mehreren Waschschritten wurde die zuvor getrocknete Harzportion in einen silylierten 10 ml Rundkolben überführt. Nach Zugabe des Lösungsmittels, bestehend aus Essigsäure in Dimethylformamid, Benzaldehyd und Natriumcyanoborhydrid als Reduktionsmittel, wurde das Reaktionsgemisch 12 h bei 50 °C gehalten¹⁶². Nach diesem ersten Reaktionszyklus wurde die Harzportion zweimal mit dem zuvor verwendeten Lösungsmittel gewaschen und dann unter Verwendung aller Reaktanden einem weiteren Reaktionszyklus unterzogen, um eine möglichst quantitative Umsetzung zu erzielen. Gefolgt von mehreren Waschoperationen erfolgte dann die Peptidverknüpfung mit dem Fmoc-geschützten Aminosäurebaustein **194**, was zur Struktur **197** führte. Die Aktivierung der Säurefunktion erfolgte in situ durch Aktivesterbildung unter Zusatz einer nicht nukleophilen Base. Nach Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe durch mehrmalige Zugabe eines Gemisches aus 40 % Piperidin/Dimethylformamid folgte nach Trocknen im Hochvakuum die Aufteilung in zwei räumlich getrennte Harzportionen. Durch Zugabe einer Abspaltlösung, bestehend aus 50 % Trifluoressigsäure in Dichlormethan, konnte auf direktem Wege Struktur **189** freigesetzt werden.

Die zweite Harzportion wurde einem weiteren Reduktionsschritt unterzogen. Hierzu erfolgte die Umsetzung durch Zugabe einer Boran-Tetrahydrofuran-Lösung über 18 h bei 50 °C. Auch dieser Syntheseschritt wurde zur vollständigen Umsetzung einem erneuten Reaktionszyklus unterworfen. Die anschließende Freisetzung der sekundären Aminfunktion aus den generierten Boratkomplexen erfolgte durch basische Aufarbeitung in einem Gemisch aus 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU)/Methanol/*N*-Methyl-2-pyrrolidon (NMP), woraus das harzgebundene Amin **199** resultierte¹⁶³. Nach Waschen und Trocknen erfolgte auch hier schlußendlich die Abspaltung des fertigen Liganden **190** mittels Trifluoressigsäure/Dichlormethan.

Die vom Harz abgespaltenen, durch organisches Waschen und Lyophilisierung der wäßrigen Phase ausreichend aufgereinigten Verbindungen, konnten in Ausbeuten zwischen 75 und 85 % erhalten werden.

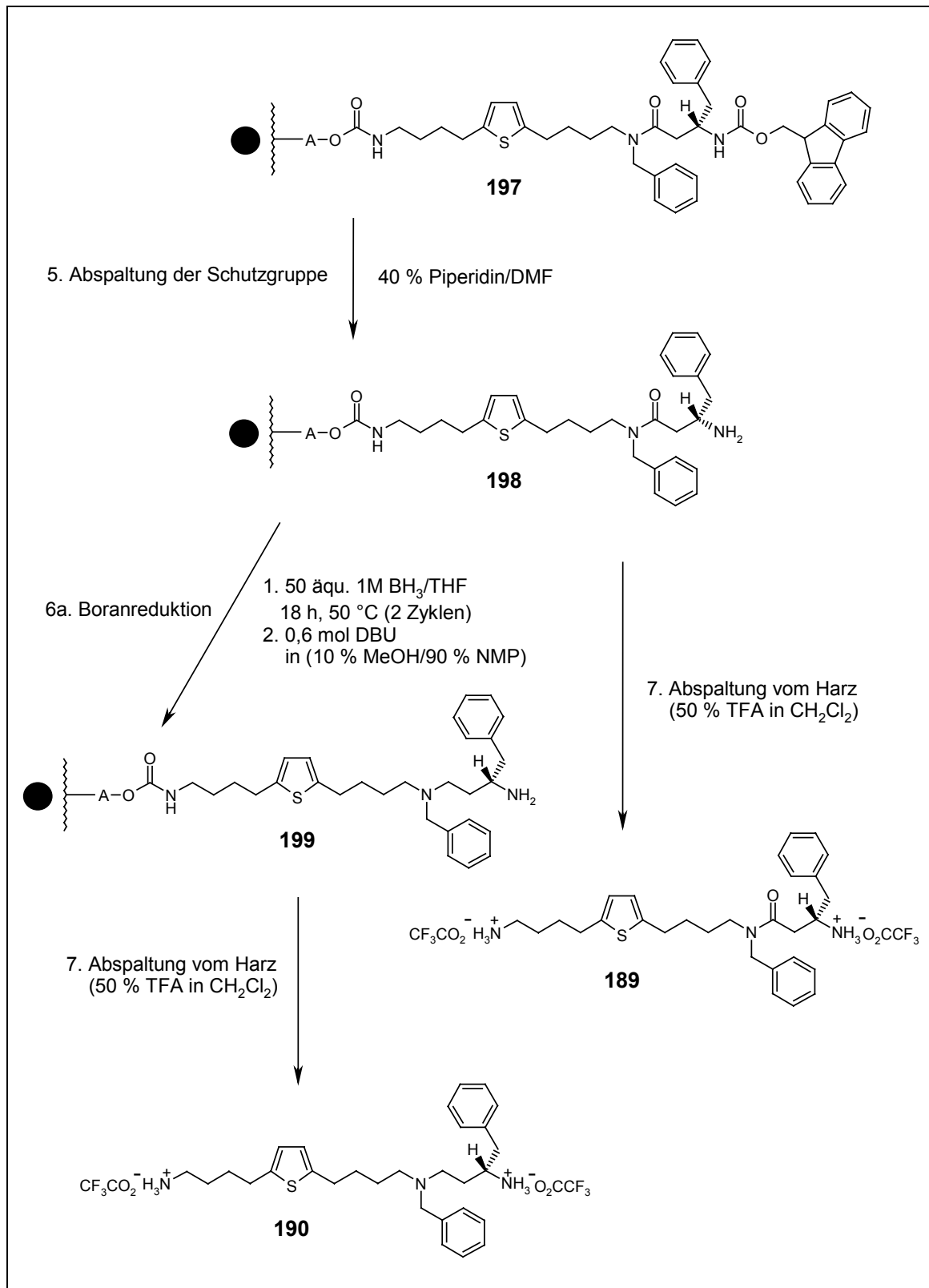


Abb. 84: Synthesesequenz zur Herstellung von Verbindung **189** und **190**

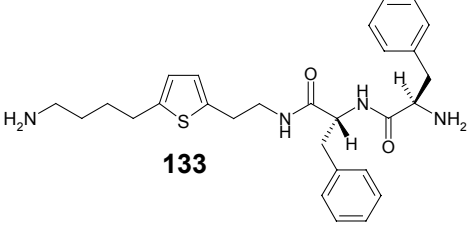
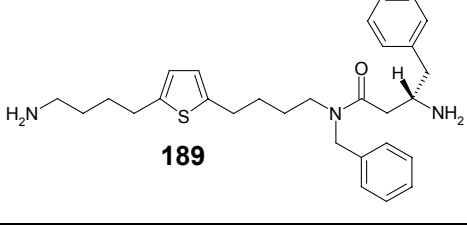
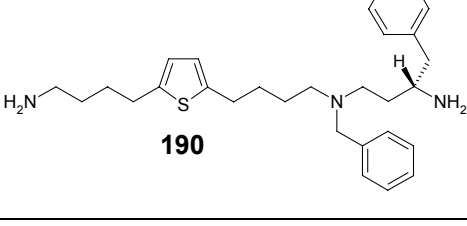
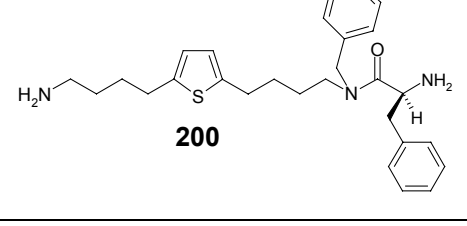
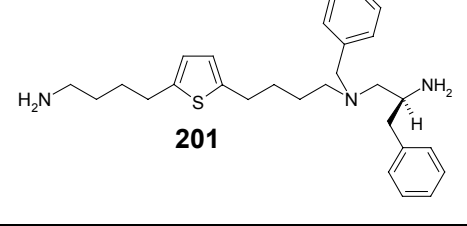
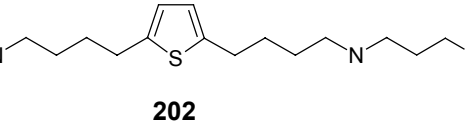
Nr.	Arbeitsschritt	Reagenz	Dauer	Bemerkung
1.	Harz vorquellen	abs. CH ₂ Cl ₂	ca. 10 min	
2.	Harz aktivieren	2 äqu. 4-Methylmorpholin 2 äqu. 4-Nitrophenyl- chlorameisensäure- phenylester Lsm. CH ₂ Cl ₂	12 h	Zugabe bei 0 °C, danach Kühlung entfernen
3.	Kopplung des Synthesebausteins	5 äqu. zuvor freigesetzter Diaminbaustein 52 5 äqu. DIPEA DMF	ca. 14 h	
4.	Waschen	DMF CH ₂ Cl ₂ DMF	3x 5 min 3x 5 min 3x 5 min	
5.	Reduktive Aminierung	3 äqu. Benzaldehyd 10 äqu. NaCNBH ₃ DMF/AcOH (99+1)	2x 18 h bei 25 °C 2 Zyklen	Nach dem 1.Red.-zyklus wird die Harzportion 2x 5 min mit DMF/AcOH (99+1) gewaschen
6.	Waschen	DMF THF CH ₂ Cl ₂ DMF	3x 5 min 3x 5 min 3x 5 min 3x 5 min	
7.	Aminosäure- Kopplung	5 äqu. Aminosäure 5 äqu. TBTU 5 äqu. HOBT 10 äqu. DIPEA DMF	3 h	
8.	Waschen	DMF	5x 3 min	
9.	Fmoc-Abspaltung	40 % Piperidin/DMF	2x 20 min	Dazwischen je 2x 3 min mit DMF waschen
10.	Fmoc-Abspaltung	40 % Piperidin/DMF	1x 20 min	
11.	Waschen	DMF	8x 3 min	
12.	Fmoc-Abspaltung	40 % Piperidin/DMF	1x 20 min	Auffangen der Abspalt- Lösungen und UV- Messung: Wenn negativ dann 13., wenn positiv dann 9.

Tab. 27: Protokollarischer Ablauf der Synthese von Verbindungen **189** und **190** am Harz

Nr.	Arbeitsschritt	Reagenz	Dauer	Bemerkung
13.	Waschen	DMF CH ₂ Cl ₂	8x 3 min 3x 5 min	Nach dem Waschen, trocknen im Vakuum
14.	Portionierung			Teil 1 der Harzportion geht zu 21 Teil 2 der Harzportion geht zu 15
15.	Boranreduktion	50 äqu. 1M Boran/THF	2x 18 h bei 50 °C 2 Zyklen	Nach dem 1.Red.-zyklus wird die Harzportion 2x 5 min mit abs. THF gewaschen
16	Waschen			
17.	Freisetzung der Borat-Komplexe	0,6 mol DBU in Gemisch aus (MeOH/NMP 9:1)	1x 20 min	
20.	Waschen	DMF THF CH ₂ Cl ₂ MeOH DE	8x 3 min 3x 5 min 3x 5 min 3x 5 min 3x 5 min	
21.	Abspaltung der Liganden + Aufreinigung	TFA/CH ₂ Cl ₂ (1 : 1)	3x 1 h	1. Lösungen vereinigen und vom Lsm. i.V. befreien. 2. Wäßrig aufnehmen, 2x organisch waschen. 3. Wäßrige Phase lyophilisieren

Tab. 28: Protokollarischer Ablauf der Synthese von Verbindungen **189** und **190** am Harz

3.4.5.3 Die Pharmakologie der resultierenden Liganden

Struktur	IC ₅₀ [μM]	$\frac{IC_{50} \text{ (Spn)}}{IC_{50} [\mu M]}$
 <p>133</p>	28	7,85
 <p>189</p>	16,2	1,7
 <p>190</p>	9,6	1,7
 <p>200</p>	10,7	1,7
 <p>201</p>	21,4	1,1
 <p>202</p>	28,6	3,8

Tab. 29: Bindungsdaten

Die monoamidische Struktur **189** mit benzylicchen Seitenresten zeigt im Vergleich zu ihrem diamidischen Vorläufer **133** nur eine geringfügige Verbesserung der Affinität unter fast vollständigem Verlust an Selektivität. Auch die zur Erhöhung der strukturellen Flexibilität durchgeführte Reduktion des verbleibenden amidischen Strukturelementes führte zu einer triaminischen Verbindung **190**, deren Affinität im Vergleich zum Diamid **133** eine um den Faktor 3 höhere Affinität aufwies, diese aber offensichtlich durch den Verlust notwendiger Interaktionsstellen keine Selektivität bezüglich der Sperminbindungsstelle mehr aufweist. Selbst Verbindungen **200** und **201**, die sowohl stereochemische Unterschiede der lipophilen Benzylseitenreste, als auch kurze Abstände zwischen den polaren Amid- und Aminfunktionen aufwiesen, zeigten vergleichbare Bindungsdaten. Die allgemein geringen Sperminfaktoren zwischen 1,1 und 1,7 weisen auf einen Wechselwirkungsmechanismus hin, der Interaktionen auf Basis der Spermin-Bindungsstelle eher ausschließt.

Folgende Abbildungen der drei miteinander verglichenen Strukturvarianten **133**, **189** und **190** mit benzylicchen Seitenresten zeigen durch unterschiedliche Farbbereiche differenzierte Hydrophobizitätsverteilungen im Molekül.

Bei dieser Hydrophobizitätsanalyse kennzeichnet die grüne Farbe Strukturbereiche mit vorherrschenden lipophilen Eigenschaften, während die blauen bis rosa-violetten Bereiche hydrophile bzw. polare Strukturelemente aufzeigen.

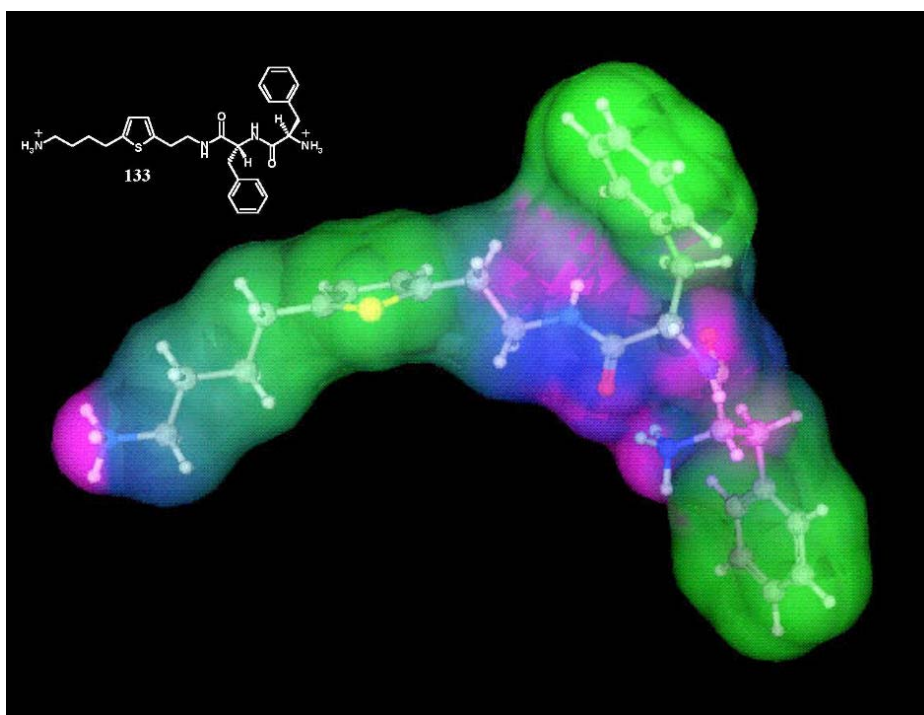


Abb. 85: Hydrophobizitätsverteilung von Struktur **133**

Die in Abbildung 85 aufgezeigte Hydrophobizitätsverteilung der diamidischen Struktur **133** zeigt im direkten Vergleich zu den Strukturvarianten **189** und **190** eine größere Anzahl an polaren Strukturelementen, die aufgrund der erhaltenen pharmakologischen Bindungsdaten als relevante Interaktionsstellen für die Polyamin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors angesehen werden müssen.

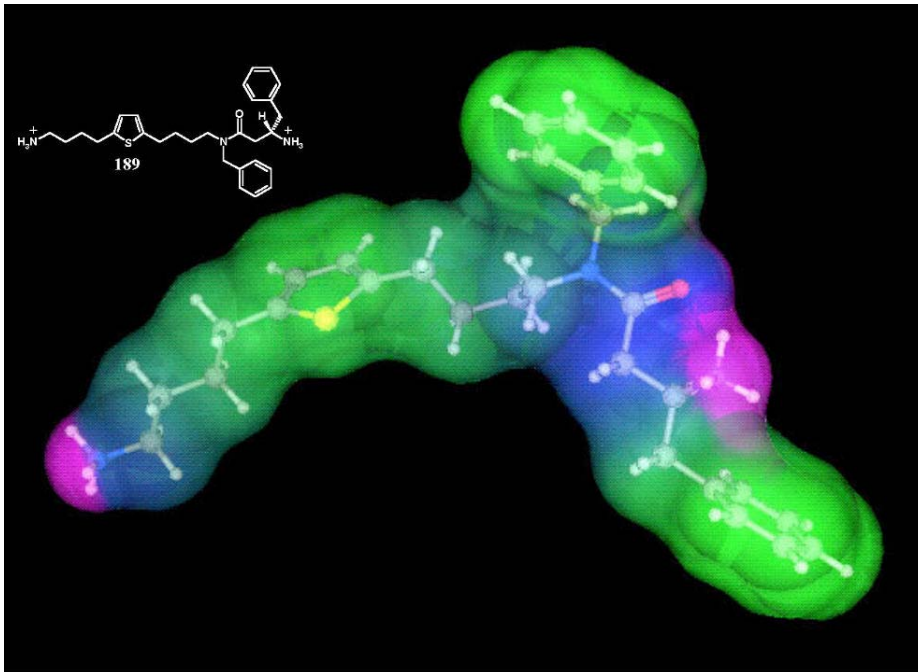


Abb. 86: Hydrophobizitätsverteilung von Struktur **189**

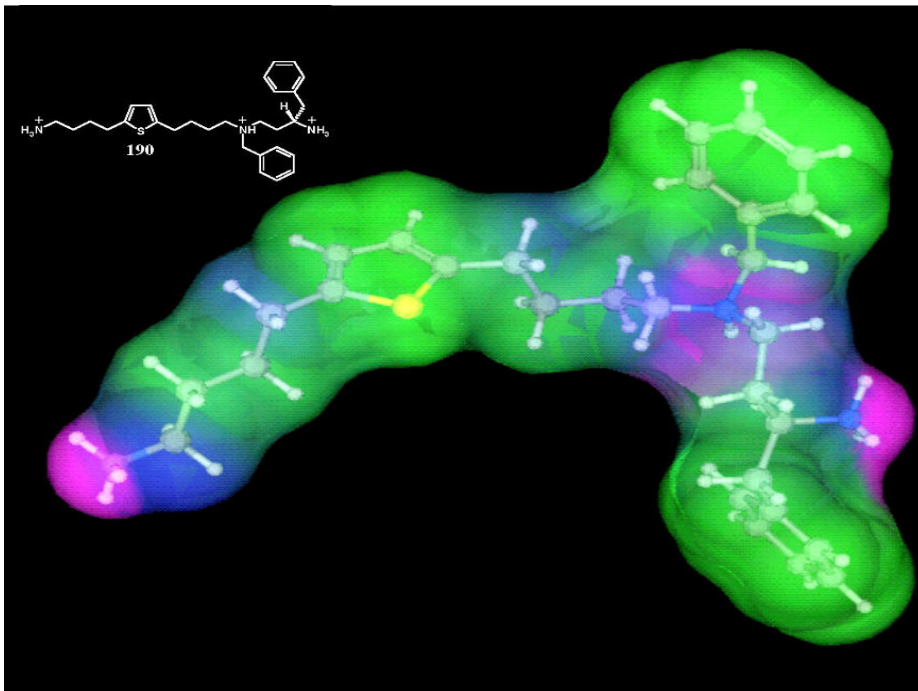


Abb. 87: Hydrophobizitätsverteilung von Struktur **190**

3.5 Variation der terminalen Aminfunktionen

Guanidine zeigen oft aufgrund ihrer stark basischen Carboxamidin-Funktion ($pK_a \sim 12$) signifikante Unterschiede in ihrer biologischen Aktivität gegenüber den entsprechenden Aminderivaten¹⁶⁴. Gründe hierfür sind u.a. die im protonierten Zustand vorliegende delokalisierte positive Ladung, die unterschiedliche Ladungsinteraktionen mit sauren Funktionalitäten in Proteinen ermöglicht. Aufgrund dessen wurden bestimmte Vertreter der allgemeinen Thiophendialkandiamin-Struktur mit unterschiedlichen Alkylkettenlängen synthetisiert, danach mit Hilfe eines speziellen Reagenzes guanidiert und schließlich auf ihre pharmakologische Aktivität hin untersucht.

3.5.1 Chemische Synthese

Die klassischen Synthesemethoden von Guanidinen, die in der Literatur beschrieben werden, beruhen auf der Reaktion von Ammoniakderivaten mit Cyanamiden¹⁶⁵, Carbodiimiden¹⁶⁶, Chloroformamidinen¹⁶⁷ oder auch mit Aminoiminomethansulfonsäuren¹⁶⁸. Der Nachteil dieser Synthesemethoden liegt größtenteils darin begründet, daß viele Reaktionsedukte korrosiv, toxisch oder auch z.T. höchst feuchtigkeitsempfindlich sind. Neuere Literatur beschreibt mildere Methoden, so z.B. die Preparation von Guanidinen durch Reaktion von acylierten Thioharnstoffderivaten¹⁶⁹ mit einem Amin, gefolgt von der Entfernung der Acylgruppe des intermediär entstehenden Acylguanidins. Die Synthese der eigenen Guanidin-Verbindungen verlief über die Herstellung von monosubstituierten *N,N'*-Di-(Boc)-geschützten Guanidinen. Als Guanidierungsreagenz wurde hierbei 1*H*-Pyrazol-1-[*N,N'*-Bis(*tert*-Butoxycarbonyl)]carboxamidin **205** eingesetzt, das leicht über sein Pyrazol-1-carbonsäureamidinderivat zugänglich war¹⁷⁰.

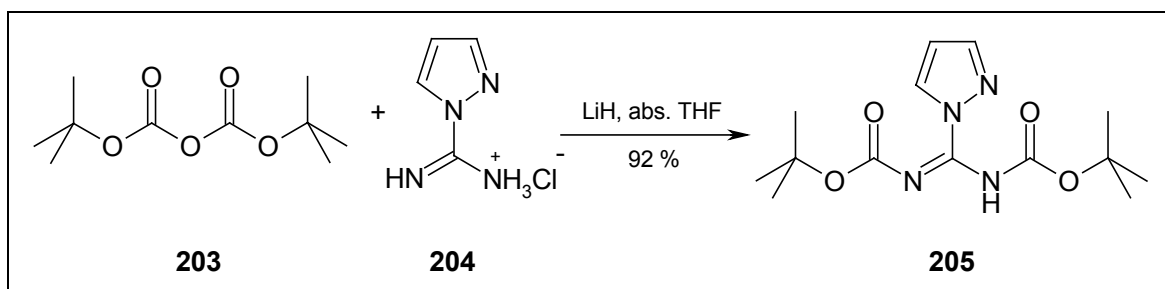


Abb. 88: Synthese des Guanidierungsreagenzes **205**

Die Guanidierung selbst verläuft dabei unter milden Bedingungen durch Reaktion des entsprechenden freien Amins mit dem Guanidierungsreagenz in Acetonitril bei Raumtemperatur über einen Zeitraum von 12-20 h.

Zur Untersuchung wurden insgesamt 4 Guanidine hergestellt, die sich ausschließlich durch Variation der Alkylkettenlänge unterscheiden:

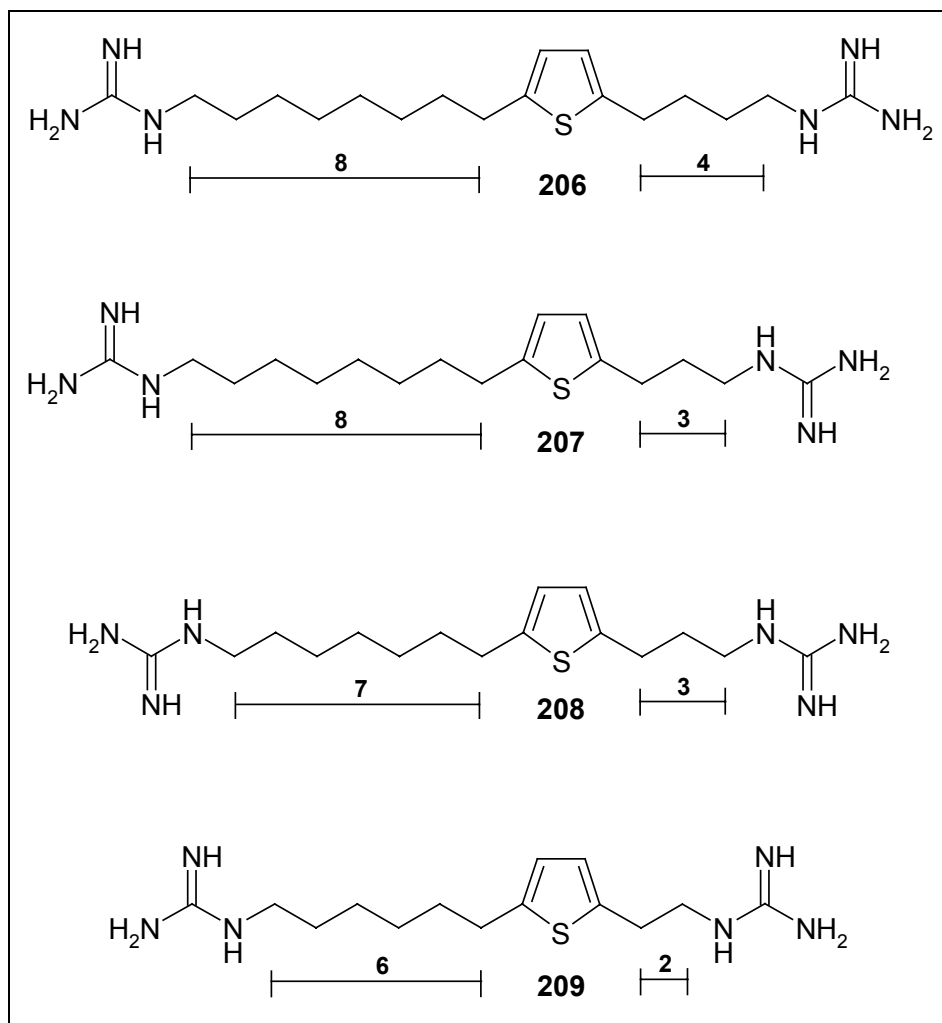


Abb. 89: Guanidinderivate der Thiophendialkylamin-Struktur

Die Herstellung des Guanidins **206** basiert auf der Synthese des Diamins **N-4-T-8-N**, welches in der Dissertation von C. Schödl genau beschrieben wurde¹⁴⁰. Die Guanidierung lieferte in befriedigender Ausbeute von 53 % das Boc-geschützte Zwischenprodukt **210**. Die Schutzgruppenabspaltung und damit die Freisetzung des Guanidins erfolgte schließlich durch Rühren in einer salzsauren Ethylacetat-Lösung. Nach Koevaporierung des Lösungsmittels erhielt man das Produkt in Form eines Dihydrochlorid-Salzes.

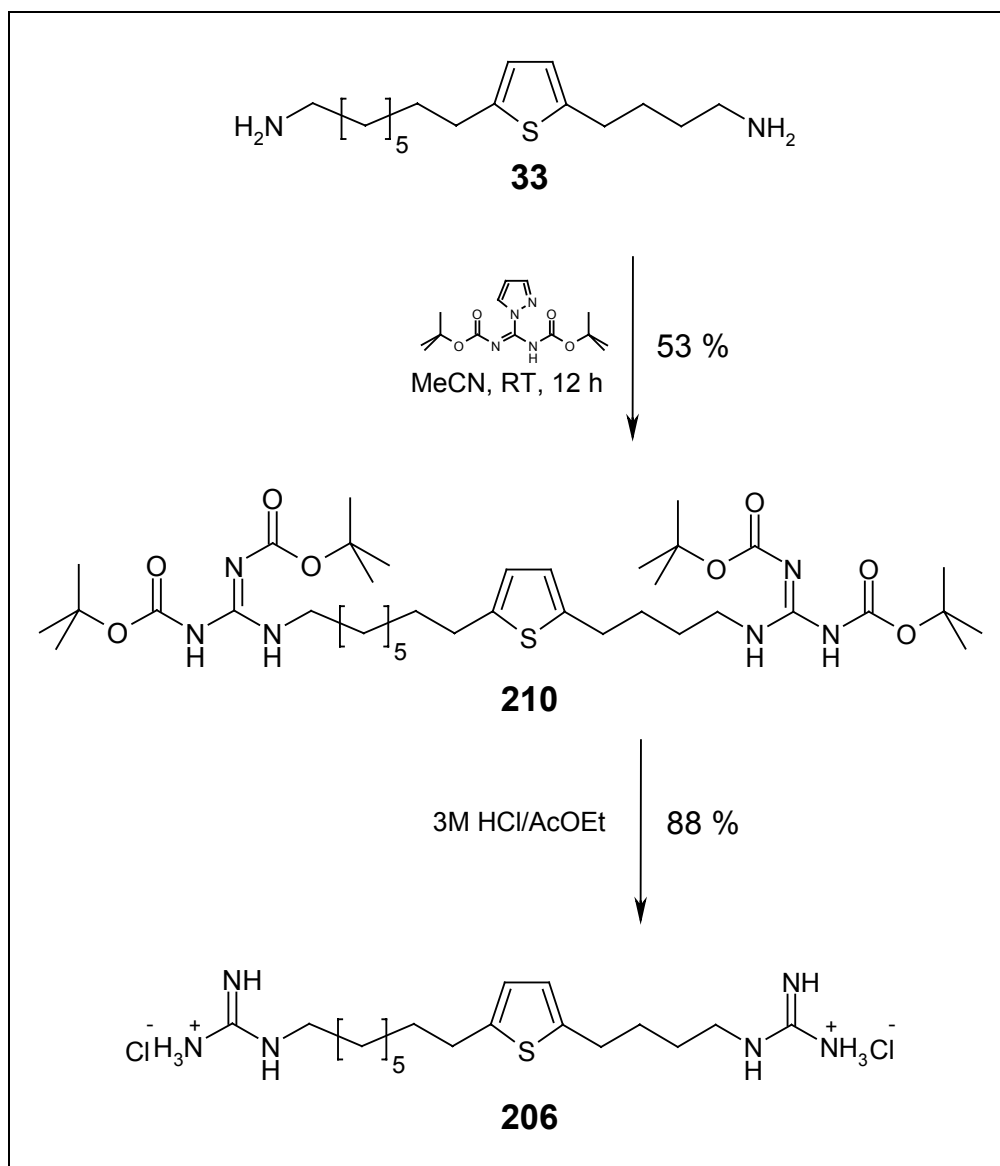
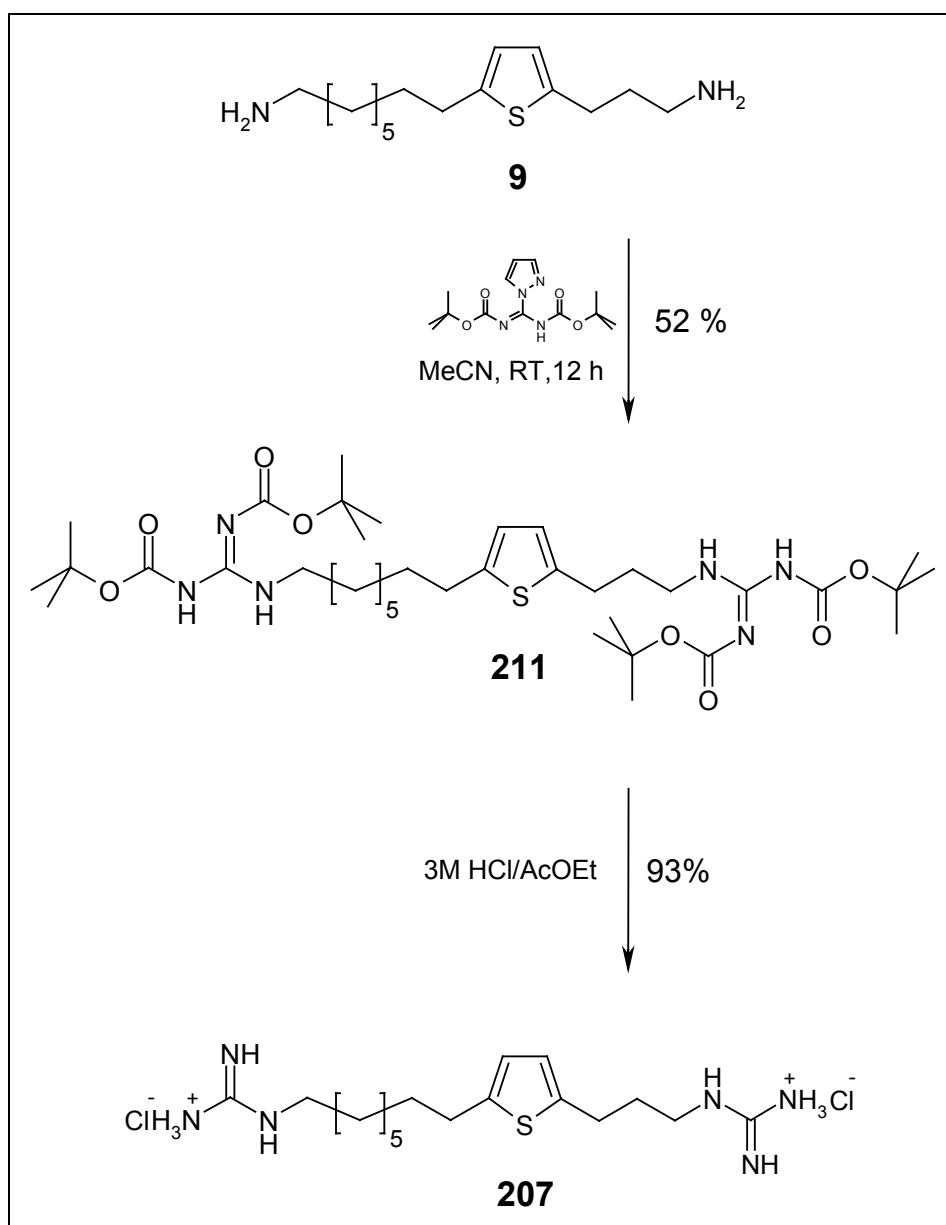
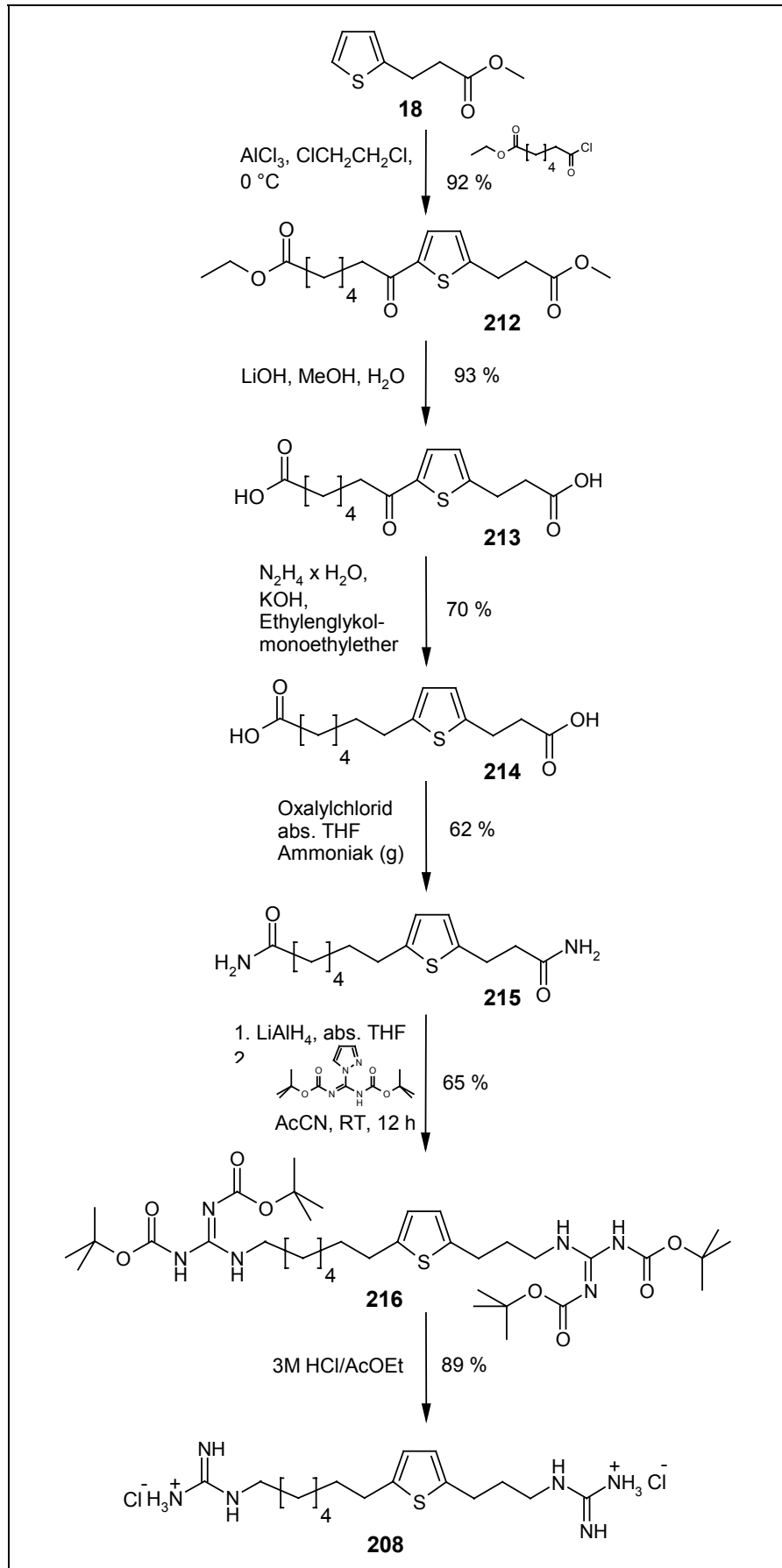


Abb. 90: Synthesesequenz von Guanidin 206

Die Synthese des Guanidins **207** basiert auf der unter Kapitel 3.2.1 besprochenen Synthesesequenz des terminalen Diamins **9**. Danach erfolgte wiederum die Generierung der benötigten Guanidinfunktionen mit anschließender Schutzgruppenabspaltung in akzeptablen Ausbeuten von 52 %- bzw. 93 % der Theorie.

Abb. 91: Syntheschema von Verbindung **207**

Die Synthese des dritten Guanidins **208** beginnt mit der unter Kapitel 3.2.1 beschriebenen Darstellung von Methyl 3-(2-Thienyl)propanoat **18** und verläuft über den schon besprochenen allgemeinen Synthesepfad von Thiophenalkandiaminen. Eine leichte Modifikation stellt die für Verbindung **213** verwendete basische Desoxygenierung nach Wolff-Kishner dar, welche in passabler Ausbeute von 70 % gelang. Die Gesamtausbeute über insgesamt 9 Syntheseschritte betrug 21,5 %.

Abb. 92: Synthesepfad von G-3-T-7-G **208**

Auch die Synthese des 4. Guanidinderivates **209** begann mit einer Friedel-Crafts-Acylierung, nämlich von Thienyl-essigsäureethylester **217** mit Hexandisäuremonomethylesterchlorid. Nach Verseifung der beiden Esterfunktionen und basischen Decarbonylierung nach Wolff-Kishner der in α -Position zum Thiophenring vorhandenen Ketofunktion erhielt man die terminale Dicarbonsäure **220**. Die Amidierung dieser beiden Carbonsäurefunktionen gelang in einer Ausbeute von 67 % und verlief über das entsprechende Disäurechlorid mit anschließender Substitution durch gasförmigem Ammoniak in absolutem Tetrahydrofuran. Die anschließende Reduktion beider Amidfunktionen mit Lithiumaluminiumhydrid gefolgt von der Guanidierung der entstandenen Aminfunktionen lieferte das Boc-geschützte Zwischenprodukt **222** in einer Ausbeute von 9 % über zwei Syntheseschritte. Die unbefriedigende Ausbeute ist wahrscheinlich weniger auf die Amidreduktion zurückzuführen, sondern vielmehr resultierend aus den geringen Abständen der *tert*-Butylgruppierungen zu dem aromatischen Ringsystem des Thiophens (siehe Abb. 93) und den sich daraus ergebenden sterischen Repulsionen.

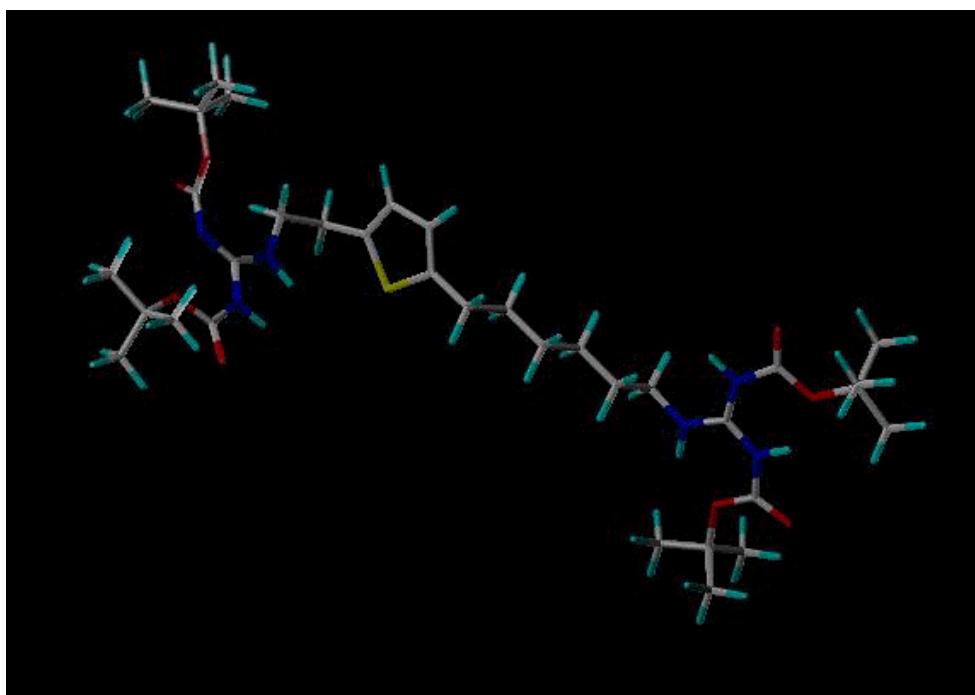
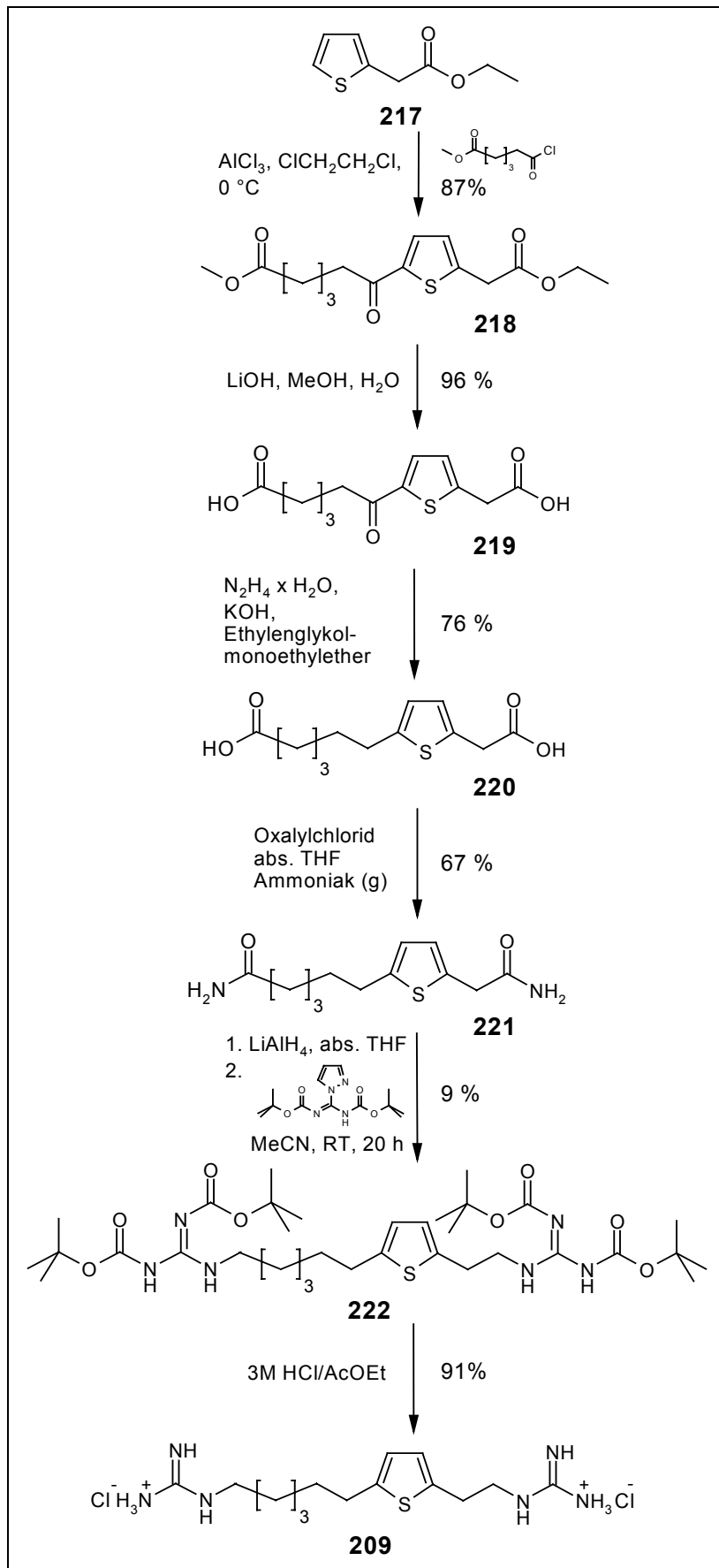


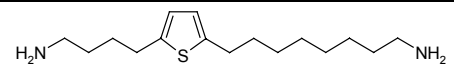
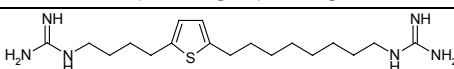
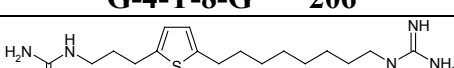
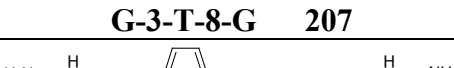
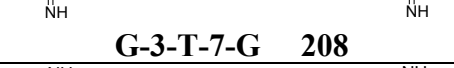
Abb. 93: Energieminimiertes, Boc-geschütztes Guanidin **222**

Nach Abspaltung der Schutzfunktionen erhielt man schließlich das gewünschte Zielmolekül in Form seines Dihydrochlorid-Salzes in einer Ausbeute von 91 %.

Abb. 94: Darstellung von Guanidin **209**

3.5.2 Struktur-Wirkungs-Beziehungen

Die Guanidierung von Thiophenalkandiamin-Strukturen zeigte sehr interessante pharmakologische Bindungsdaten auf. Eine Umwandlung von N-4-T-8-N in sein homologes Guanidinderivat G-4-T-8-G **206** führte sowohl zu einem Affinitätsverlust um den Faktor 2, als auch zu einem Verlust an Sensitivität um den gleichen Faktor. Die Kettenverkürzung um eine Methyleneinheit in der kurzen Seitenkette konnte schließlich, repräsentiert durch Guanidin **207** (G-3-T-8-G), einen Affinitätsgewinn um den Faktor 2 aufweisen. Eine Erhöhung der Sperminsensitivität konnte im Vergleich zur Referenzverbindung **3** nicht erzielt werden. Eine zusätzliche Kettenverkürzung um eine Methyleneinheit in der langen Seitenkette, repräsentiert durch Struktur **208**, führte relativ zur Referenzverbindung **3** zu keiner Erhöhung der Affinität, aber zu einer geringen Verbesserung des Spermin-Faktors. Schlußendlich konnte durch die Synthese von G-2-T-6-G **209** aufgezeigt werden, daß eine weitere Reduktion der Alkylkettenlängen zu einem deutlichen Verlust an Affinität führt, wobei letztere Verbindung in der Serie der hergestellten Guanidine aber mit einem Sperminfaktor von 16,1 die höchste Selektivität aufwies.

Struktur	IC ₅₀ [μM]	IC ₅₀ (Spn) [μM]	$\frac{\text{IC}_{50}(\text{Spn}) [\mu\text{M}]}{\text{IC}_{50} [\mu\text{M}]}$
 N-4-T-8-N 3	0,38	7,2	7,7
 G-4-T-8-G 206	0,76	2,9	3,9
 G-3-T-8-G 207	0,19	1,4	7,8
 G-3-T-7-G 208	0,39	4,4	11,3
 G-2-T-6-G 209	1,1	17,7	16,1

Tab. 30: Bindungsdaten der Guanidine

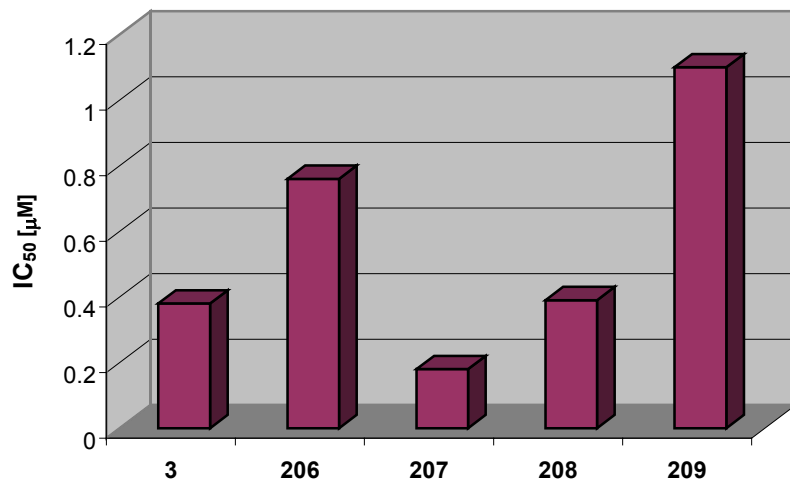
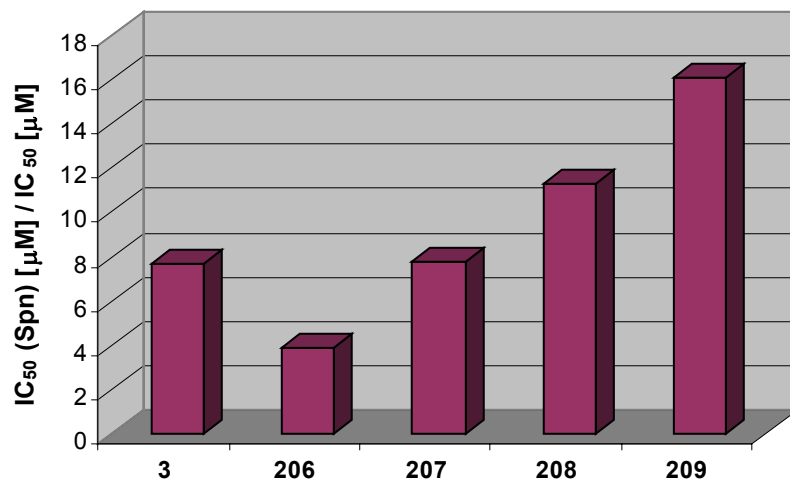
Abb. 95: IC₅₀-Werte

Abb. 96: Spermin-Sensitivität

Das Guanidin **207** repräsentiert mit einem IC₅₀-Wert von 190 nM den bislang potentesten invers-agonistisch wirkenden Liganden an der Polyamin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors.

3.6 Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte aufbauend auf naßchemischen und Festphasen-Synthesemethoden eine Vielzahl von pharmakologisch interessanten Verbindungen hergestellt werden, die als Liganden an der Polyamin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors wirken. Diese wurden mit Hilfe von Radioligand-Bindungsstudien sowohl als agonistisch, invers-agonistisch und partiell invers-agonistisch wirkende Liganden identifiziert.

Durch die iterative Entwicklung kleiner Substanzbibliotheken konnten sowohl Liganden mit gesteigerter Affinität, als auch Verbindungen mit erhöhter Selektivität zur Polyaminbindungsstelle synthetisiert werden.

Ausgehend von der Thiophendialkandiamin-Leitstruktur **3** wurden sowohl Strukturderivate mit verkürzten Alkylseitenketten, als auch Verbindungen mit bioisosteren Substrukturen hergestellt. Hierbei konnte analysiert werden, daß das Vorhandensein einer einfachen π -Donor-Substruktur, repräsentiert durch Verbindung **24**, durchaus für eine ausreichende Ligand-Rezeptor-Interaktion sorgt, während ein vollständiges Fehlen der Substruktur nicht toleriert wird.

Die Insertion eines amidischen Strukturelementes in die lange C8-Seitenkette von Verbindung **3** erzeugte Strukturen, die bis dato noch nicht dagewesene Selektivitätswerte zur Spermin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors aufweisen. Durch festphasensynthetische Derivatisierung konnten weitere Liganden synthetisiert werden, wobei durch Peptidkopplung unterschiedlich substituierter β -Alaninderivate an einem vorher naßchemisch generierten Precursor **52** interessante pharmakologische Bindungsdaten erhalten wurden. Beispielsweise konnte durch Einführung einer Methylsubstitution in R₂-Position, repräsentiert durch Struktur **77**, eine Stabilisierung unter gleichzeitiger Erhaltung der Ligand-Rezeptor-Affinität erzielt werden, während die R₁-Positionierung der Methylgruppe sowohl zu einem deutlichen Verlust an Affinität als auch an Selektivität führte. Die Strukturvariation am Beispiel einer Phenylgruppierung, repräsentiert durch die Liganden **79** und **80**, zeigte hingegen sowohl in R₁- als auch in R₂-Position kaum pharmakologische Unterschiede.

Aufbauend auf der Basis weiterentwickelter Festphasensynthesetechniken konnten weitere Ligandenbibliotheken durch Insertion mehrerer amidischer Strukturelemente in die C8-Seitenkette erzeugt werden, wobei die Amidfunktionen durch je zwei Aminosäuren mit unterschiedlichen Seitenresten gebildet wurden. Als Basis hierfür dienten die zuvor auf naßchemischem Wege hergestellten Synthesebausteine **95**, **97** bzw. **106** und **108**.

Die pharmakologische Wirkung der Liganden ließ sich mit den Aminosäureresten der gekoppelten Aminosäuren korrelieren. Hierbei konnten sowohl invers-agonistische, partiell invers-agonistische, als auch agonistisch wirkende Liganden identifiziert werden. Einer der potentesten inversen Agonisten, die identifiziert wurden, wird durch die Aminosäurekombination (*L*)-Tryptophan/(*L*)-Tryptophan **150** mit einem IC₅₀-Wert von 15 µM und einem Sperrfaktor von 4,66 repräsentiert. Speziell bei der ein- oder zweifachen Anwesenheit der Aminosäure (*L*)-Tryptophan zeigte sich eine Verschiebung zu niedrigeren IC₅₀-Werten, während Liganden mit insertierteren Aminosäure (*L*)-Histidin einen schwächer ausgeprägten inversen Agonismus aufwiesen.

Ein direkter Vergleich der Ligandenbibliothek mit Benzolsubstruktur mit der Bibliothek mit bioisosterer Thiophensubstruktur zeigte einen weniger stark ausgeprägten inversen Agonismus bezüglich der entsprechenden Benzolderivate.

Ein starker Agonismus wurde bei Verbindungen beobachtet, die mindestens eine basische Aminosäure in Form von Lysin enthielten. Struktur **184** mit der Kombination (*D*)-Lysin/(*L*)-Arg repräsentiert mit einem EC₅₀-Wert von 0,97 µM den bis heute affinsten agonistisch wirkenden Liganden.

Aus der Serie der Thiophenalkandiamine mit dualer Amidinsertion repräsentiert Verbindung **133** einen der selektivsten und potentesten Invers-Agonisten. Aufgrunddessen wurde ein neues Festphasensynthesekonzept erstellt, mit dessen Hilfe weitere Verbindungen hergestellt werden konnten, die nur noch eine bzw. keine amidische Interaktionsstelle unter Beibehaltung bestehender lipophiler, aromatischer Seitenreste aufweisen. Eine Erhöhung der Flexibilität der langen Seitenkette sollte eine verstärkte Ligand-Rezeptor-Interaktion induzieren. Die monoamidische Struktur **189** zeigte aber im direkten Vergleich zur diamidischen Vorläuferstruktur **133** nur eine geringfügige Affinitätserhöhung unter fast vollständigem Verlust an Selektivität. Die am Harz durchgeführte Boranreduktion der letzten verbleibenden Amidfunktionen führte zu einer triaminischen Verbindung **190**, deren IC₅₀-Wert im direkten Vergleich zur diamidischen Verbindung **133** zwar einen um den Faktor drei niedrigeren Wert aufzeigte, aber wohl durch den Verlust notwendiger

Interaktionsstellen nur noch geringe Selektivität bezüglich der Spermin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors aufwies.

Die Guanidierung einiger ausgewählter Thiophendialkandiaminstrukturen führte schließlich zu einer Struktur, die im direkten Vergleich zur Leitstruktur **3** eine Affinitätssteigerung um den Faktor zwei erzielte. Das Guanidin **207** repräsentiert mit einem IC_{50} -Wert von 190 nM und einem Sperminfaktor von 7,8 den bislang potentesten invers-agonistisch wirkenden Liganden an der Polyamin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors.

Experimenteller Teil

4 Allgemeine experimentelle Bedingungen

Schmelzpunkte (Smp.): Schmelzpunktapparatur Büchi 530, unkorrigiert.

Kernresonanzspektroskopie (NMR): Die Kernresonanzspektren wurden an den Geräten Bruker ARX 300 für 300 MHz-¹H-NMR-Spektren und 75 MHz-¹³C-NMR-Spektren sowie 200 MHz-¹H-NMR-Spektren und 50 MHz-¹³C-NMR-Spektren an einem Bruker AC 200 aufgenommen. Chemische Verschiebungen sind als δ -Werte in ppm, Kopplungen in Hz angegeben. Die Feinstruktur der Protonensignale wurde mit “s” für Singulett, “d” für Dublett, “dd” Dublett von Dublett, “t” für Triplett, “q” für Quartett, “qn” für Quintett und “m” für Multiplett angegeben. Alle Spektren wurden bei Raumtemperatur aufgenommen.

Interne Standards	¹ H-NMR (ppm)	¹³ C-NMR (ppm)
CDCl ₃	7,24	77
DMSO-d ₆	2,49	39,5
MeOH-d ₄	3,34	49,3

Tab. 31

Massenspektrometrie (MS): Die Massenspektren wurden am Institut für organische Chemie der Universität Frankfurt am Main aufgenommen.

ESI: Fisons Instruments VG Platform II, Elektrosprayionisationsmassenspektrometer.

MALDI-TOF: Fisons-Instruments, Matrix-Assistent-Laser-Desorption-Ionisations-Time-of-Flight-Massenspektrometer.

Elementaranalysen: Die Elementaranalysen wurden am Institut für organische Chemie der Universität Frankfurt am Main an einem Gerät der Firma Heraeus (CHN-O-Rapid) erstellt.

Dünnschichtchromatographie (DC): Dünnschichtchromatographien wurden auf Kieselgel beschichteten DC-Alufolien (60 F₂₅₄, Schichtdicke 0,25 mm) und auf RP-18 beschichteten Glasplatten (F₂₅₄, Schichtdicke 0,25 mm) der Firma Merck durchgeführt. Die Detektion erfolgte durch UV-Licht (254 nm) an einem Fluorotestgerät der Quarzlampengesellschaft Hanau bzw. durch Ansprühen mit folgenden Sprühagenzien und mit anschließendem Erhitzen:

- Ninhydrinlösung (0,3 g Ninhydrin in 100 ml Ethanol),
- Cer(IV)sulfat (1,05 g), Phosphormolybdänsäure (2,1 g), 10 ml 96 %ige Schwefelsäure, 90 ml Wasser

Präparative Säulenchromatographie: Substanzgemische wurden chromatographisch bei Normaldruck getrennt. Hierzu diente Kieselgel 60 als Trennmaterial mit einer Korngröße von 40-63 µm, 230-300 Mesh von der Firma Merck.

Vakuum-Flashchromatographie: Hierbei erfolgte zuerst das Aufschwemmen von Kieselgel mit dem entsprechenden Eluenten (Massenverhältnis: Masse_{Probe}:Masse_{Kieselgel} 1:20 bis 1:50). Das aufgeschwemmte Kieselgel wurde sodann in eine Glassinternutsche überführt und vom überschüssigen Eluent abgesaugt. Nach Aufbringen der Probe erfolgte eine chargenweise Zugabe des Eluenten unter gleichzeitigem Absaugen des Eluats in einen für diesen Zweck mit einem Dreiwegehahn ausgerüsteten Scheidetrichter. Je nach Trennproblem entsprach die Fraktionsgröße einem gewissen Volumenanteil (30-100 %) der stationären Phase.

Mitteldruckflüssigkeitschromatographie: Diese Chromatographiemethode wurde unter Verwendung einer LC-Pumpe der Fluid Metering Inc., einem UV-Detektor mit präparativer Durchflußzelle, einem Schreiber (Knauer) und mit einem automatischen Probensammler (Büchi B-681; Zeitprogrammierung) über Kieselgel durchgeführt. Das Verhältnis der Masse_{Probe} zu Masse_{Kieselgel} entsprach in etwa 1:100 bis 1:200.

Computerberechnungen: Die mit dem Softwareprogramm Sybyl 6.8 (MFF94S forcefield; 1000 Zyklen) berechneten Strukturoptimierungen und die unter Verwendung des Programmes MOE 20002.03 (Chemical Computing Group Inc.) durchgeführten Oberflächen-Hydrophobizitätsverteilungen erfolgten auf einer SGI Octane (2x R12000 CPU; 2 Gigabyte RAM) mit IRIX 6.5.16 Betriebssystem.

Kapillarelektrophorese: Die als Elektropherogramme aufgenommenen festphasen-synthetisch hergestellten Verbindungen wurden in einem 100 mM Phosphatpuffer (pH 2,5) bei einer Temperatur von 25 °C und einer Spannung von 25 kV auf 47/40, 57/50 und 67/60 cm Kapillaren mit einem Durchmesser von 50 µm vermessen.

Schüttelapparatur: Die bei Raumtemperatur durchgeführten Festphasenreaktionen erfolgten auf einem IKA-VIBRAX-VXA Schüttelapparat mit variabler Geschwindigkeitsregelung und einem Aufsatz (Typ: VX5) mit vier separaten Kolbenklemmen.

5 Verwendete Abkürzungen

AAV	allgemeine Arbeitsvorschrift
abs.	absolut/wasserfrei
AcOEt	Essigsäureethylester
AcOH	Essigsäure
äqu.	Moläquivalent(e)
AS	Aminosäure
ber.	berechnet
Boc	tert-Butoxycarbonyl
CH ₂ Cl ₂	Dichlormethan
d	Tag(e)
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
dest.	destilliert
DIC	Diisopropylcarbodiimid
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DE	Diethylether
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamin
DMSO	Dimethylsulfoxid
EC ₅₀	Konzentration eines Agonisten in der Bindungsstellenanalyse, der den halbmaximalen Effekt erzielt
ESI	Elektronenspray Ionisation
Et ₃ SiH	Triethylsilan
Fmoc	9-Fluorenylmethoxycarbonyl
Fmoc-OSu	9-Fluorenylmethoxycarbonyl- <i>N</i> -hydroxysuccinimid
g	Gramm
(g)	gasförmig
gef.	gefunden
ges.	gesättigt
gesch.	geschützt(en)
h	Stunde(n)
HF	Fluorwasserstoff

HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
Hz	Hertz
IC ₅₀	Inhibitorkonzentration, die in der Bindungsstellenanalyse zur halbmaximalen Hemmung der Radioliganden führt
i.V.	im Vakuum
konz.	konzentriert
l	Liter
LiAlH ₄	Lithiumaluminiumhydrid
Lsg.	Lösung
Lsm.	Lösungsmittel
M	molar(en), Mol pro Liter
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
mg	Milligramm
MHz	Megahertz
min	Minute(n)
ml	Milliliter
mmol	Millimol
μM	mikromolar
N	Normalität
NHS	<i>N</i> -Hydroxysuccinimid
NMP	<i>N</i> -Methyl-2-pyrrolidon
NMR	Nuclear magnetic resonance
org.	organische(n)
PE	Petrolether (Siedebereich: 40-60 °C)
RP	reversed phase
R _f	ratio of fronts
RT	Raumtemperatur
Smp.	Schmelzpunkt
tert	tertiär
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
ü.N.	über Nacht
wäBr.	wäßrig(e)

6 Materialien

Wasserfreie Lösungsmittel:

Dichlormethan und 1,2-Dichlorethan wurden über Phosphorpentoxid abdestilliert.

Diethylether wurde über KOH vorgetrocknet und über Natrium abdestilliert.

1,4-Dioxan wurde über KOH vorgetrocknet und anschließend über Natrium destilliert.

Methanol wurde über Magnesium destilliert.

Pyridin wurde über KOH abdestilliert.

Tetrahydrofuran wurde über KOH vorgetrocknet, anschließend über Natrium destilliert.

Toluol und Benzol wurden über Molekularsieb getrocknet.

Die verwendeten deuterierten Lösungsmittel entsprachen einem Deuterierungsgrad von mindestens 99,8 %.

Harze:

- Wang[®]-Harz der Firma Rapp/Tübingen

(Belegung: 1,07 mmol/g, Partikelgröße: 75-150 μm)

- Wang[®]-Harz der Firma Novabiochem/Basel

(Belegung: 1,10 mmol/g, Partikelgröße : 75-150 μm)

- Tritylchlorid-Harz der Firma Novabiochem/Basel

(Belegung: 1,50 mmol/g, Partikelgröße: 38-75 μm)

Filterfritten:

Die in den Einwegspritzen verwendeten Bodenfilter wurden von der Firma Elsters Filtertechnik/Aachen bezogen.

Spezifikation: Cellpor-Platte hydrophobe Ausführung

Pore: 40-100 μm bzw. 15-45 μm

Aminosäuren:

Aminosäuren wurden in den höchst möglichen Reinheitsgraden von der Firma Nova-Biochem/Basel bezogen.

Alle weiteren Chemikalien wurden von den Firmen Acros, Aldrich, Fluka und Merck bezogen und in der für organische Synthesen üblichen Qualität eingesetzt.

7 Allgemeine Arbeitsvorschriften für die Synthesen in Lösung

7.1 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 1) für die Bildung von Methylestern

In einem Einhalskolben wird die Carbonsäure zunächst in einem Überschuß an MeOH gelöst. Man gibt nun vorsichtig mittels einer Spritze Thionylchlorid zu, worauf zu achten ist, daß die Temperatur der Lsg. 40 °C nicht überschreitet. Nach erfolgter Zugabe wird das Reaktionsgemisch ü.N. bei RT weitergerührt. Zur Aufarbeitung entfernt man überschüssiges Thionylchlorid und MeOH am Rotationsverdampfer und verteilt den Rückstand zwischen DE und ges. wäßr. NaHCO₃-Lsg. Die wäßr. Phase wird nochmals mit DE extrahiert und die vereinigten org. Phasen über NaSO₄ getrocknet. Anschließend entfernt man das Lsm. und reinigt den Rückstand durch Chromatographie bzw. Destillation.

7.2 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 2) für eine Wolff-Kishner-Reduktion

In einem Einhalskolben mit Rückflußkühler wird das zu reduzierende Keton in Ethylglykolmonoethylether gelöst, mit Hydrazinhydrat versetzt und anschließend 1-1,5 h refluxiert. Daraufhin erfolgt die Zugabe von festem Kaliumhydroxid. Die Reaktionslösung wird weitere 3 h refluxiert und anschließend der Rückflußkühler gegen eine Destillationsbrücke ausgetauscht. Der Ansatz wird bei einer Ölbadtemperatur von 200-

230 °C bis zur Trockne eingedampft und der entstandene Rückstand nach dem Erkalten in wenig Wasser aufgenommen. Die wäßr. Lsg. wird mit einer ges. KHSO_4 -Lsg. sauer eingestellt, und man extrahiert zweimal mit AcOEt. Die vereinten org. Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und das Lsm. anschließend am Rotationsverdampfer entfernt. Die weitere Aufreinigung erfolgt durch Chromatographie.

7.3 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 3) für eine Friedel-Crafts-Acylierung

In einem Dreihalskolben wird unter Eiskühlung AlCl_3 und das entsprechende Säureanhydrid- bzw. Säurechlorid vorsichtig in wasserfreiem CH_2Cl_2 suspendiert und anschließend die zu acylierende, aromatische Substanz, gelöst in wasserfreiem 1,2-Dichlorethan, mittels eines Tropftrichters bei 0 °C langsam zugetropft. Nach vollendeter Zugabe wird die Kühlung entfernt und das Reaktionsgemisch ü.N. bei RT gerührt. Nach Hydrolyse von überschüssigem AlCl_3 mit 2N HCl wird die Reaktionslösung mit 2N HCl gewaschen, die wäßr. Phase nochmals mit CH_2Cl_2 extrahiert, die org. Phasen vereinigt, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lsm. am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird zur Reinigung umkristallisiert bzw. einer Chromatographie unterworfen.

7.4 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 4) für die Bildung eines Amides aus einer Carbonsäure

In einem ausgeheizten Dreihalskolben mit Septum, Rückflußkühler und unter Inertgasatmosphäre wird die Carbonsäure in abs. THF gelöst, wenige Tropfen abs. Pyridin zugegeben und mittels einer Spritze 1,2 äqu. Oxalylchlorid langsam bei RT zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird 30 min bei RT gerührt und anschließend refluxiert, bis keine Gasentwicklung mehr festzustellen ist (ca. 1 h). Der Ansatz wird daraufhin auf 15-20 °C abgekühlt und das Septum gegen ein Gaseinleitungsrohr ausgetauscht. Nun leitet man 30 min gasförmigen Ammoniak ein, gefolgt von weiteren 30 min nach Entfernen der Kühlung. Danach wird der Reaktionsansatz mit DE versetzt und 30 min bei RT gerührt. Der gebildete Feststoff wird abgesaugt und mehrmals mit ges. wäßr. NaHCO_3 -Lsg. und

ges. wäßr. NaCl-Lsg. gewaschen und schließlich i.V. getrocknet. Die weitere Aufreinigung erfolgt durch Chromatographie.

7.5 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 5) für die LiAlH₄-Reduktion eines Amides zum Amin

In einem ausgeheizten Dreihalskolben mit Septum, Inertgaszuleitung und Rückflußkühler wird LiAlH₄ unter Stickstoffatmosphäre und Eiskühlung in abs. THF suspendiert und anschließend das Amid portionsweise im Stickstoffgegenstrom zugegeben. Der Reaktionsansatz wird daraufhin bis zum völligen Verschwinden des Eduktes refluxiert, (Dauer ca. 15-30 h). Das Reaktionsgemisch wird auf 0 °C abgekühlt und die Lsg. mittels wäßr. Kaliumnatriumtartrat-Lsg. hydrolysiert. Anschließend reduziert man die Lsm.-Menge am Rotationsverdampfer bis auf ca. ein Fünftel des Ausgangsvolumens, nimmt in CH₂Cl₂ auf und filtriert über Celite. Der Celiterückstand wird intensiv mit CH₂Cl₂ gewaschen, die vereinten org. Phasen mit wenig H₂O gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und das Lsm. am Rotationsverdampfer i.V. entfernt. Der Rückstand mit dem enthaltenen Amin wird in wasserfreiem DE gelöst und mit HCl-Gas als entsprechendes Hydrochlorid gefällt. Eine weitere Aufreinigung erfolgt entweder durch Umkristallisation des Hydrochlorides oder Chromatographie des zuvor freigesetzten Amines.

7.6 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 6) für die Bildung eines Carbamates

In einem Einhalskolben wird das entsprechende Amin in 1,4-Dioxan und 2N NaOH gelöst und anschließend in 30 min eine Lsg. des gewünschten Chlorameisensäureesters in 1,4-Dioxan zugetropft. Der Reaktionsansatz wird ü.N. bei RT gerührt. Das Lsm. wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in ges. wäßr. KHSO₄-Lsg. aufgenommen. Anschließend extrahiert man die wäßr. Phase zweimal mit AcOEt, vereint die org. Phasen und wäscht diese zuerst einmal mit ges. wäßr. NaCl-Lsg. gefolgt von H₂O (dest.). Nach Trocknen über NaSO₄ und Entfernen des Lsm. erfolgt die weitere Aufreinigung durch Destillation oder Chromatographie.

7.7 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 7) für die saure Hydrogenolyse einer Carbonyl-Funktion (Desoxygenierung)

Eine Mischung aus der zu desoxygenierenden Verbindung, Et_3SiH und TFA werden bei 55-60 °C 15 h gerührt. Danach wird das Reaktionsgemisch mit H_2O versetzt, mit KHSO_4 sauer gestellt und dreimal mit AcOEt extrahiert. Die vereinten org. Phasen werden über NaSO_4 getrocknet, am Rotationsverdampfer vom Lsm. befreit und durch Chromatographie gereinigt.

7.8 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 8) für die alkalische Verseifung von Estern

Zu einer 10 %igen Lsg. des zu verseifenden Esters in MeOH/ H_2O (50:1) wird portionsweise Lithiumhydroxidmonohydrat (1,5 äqu.) zugesetzt. Es wird solange bei RT gerührt, bis kein Edukt mehr nachweisbar ist (ca. 24 h). Danach wird das Reaktionsgemisch am Rotationsverdampfer vom MeOH befreit. Der Rückstand wird in H_2O aufgenommen und mit 2N HCl angesäuert. Anschließend wird mit AcOEt erschöpfend extrahiert. Die vereinten org. Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lsm. befreit. Die weitere Aufreinigung erfolgt durch Umkristallisation.

7.9 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 9) für die N-Boc-Schutzgruppenabspaltung

1 äqu. des Boc-geschützten Amins wird in einem Gemisch aus (AcOEt/HCl(konz.): 4+1) gelöst und anschließend 30 min bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wird daraufhin am Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingedampft. Danach wird der Rückstand in wenig H_2O wieder aufgenommen und durch Gefriertrocknung vollständig vom Lsm. befreit. Das entstandene Hydrochlorid kann, falls notwendig, aus MeOH/DE umkristallisiert werden.

7.10 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 10) für die *N*-Fmoc-Schützung von Aminosäuren

Die freie Aminosäure wird in einer 0,15 M, wäßr. Na₂CO₃-Lsg. (2 äqu.) gelöst und mit einer Mischung von Fmoc-OSu (1,2 äqu.) in Aceton (0,1 M) versetzt. Nach 3 h Rühren bei RT wird das Gemisch am Rotationsverdampfer aufkonzentriert, mit Wasser versetzt und zweimal mit DE extrahiert. Danach kühlt man die wäßr. Phase auf 0 °C ab, säuert vorsichtig mit einer 1N HCl auf pH = 2-3 an und extrahiert erschöpfend mit AcOEt. Die vereinten AcOEt-Phasen werden über MgSO₄ getrocknet, filtriert und vom Lsm. befreit. Die weitere Aufreinigung erfolgt durch Umkristallisation oder Chromatographie.

7.11 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 11) für die Guanidierung einer primären Aminofunktion

Zu einer gerührten Lsg. des Guanidierungsreagenzes (*1H*-Pyrazol-1-[*N,N*-bis(*tert*-butoxycarbonyl)]carboxamidin in MeCN wird bei RT das entsprechende Amin, gelöst in MeCN, dazugegeben. Es wird solange bei RT gerührt, bis kein Edukt mehr nachweisbar ist (ca. 2-5 h). Nach beendeter Reaktion wird das Lsm. am Rotationsverdampfer entfernt und der verbleibende Rückstand durch Chromatographie gereinigt.

8 Festphasensynthetische Arbeitsvorschriften

8.1 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 12) für die Silylierung von Glasgeräten

Da polymere Träger die Glaswände von Reaktionsgefäßen benetzen, müssen an den Glasoberflächen befindliche reaktive Hydroxylfunktionen vorher silyliert werden. Hierzu werden die zuvor gründlich gereinigten Glasgeräte 15 min lang bei RT mit einer 10 %igen Lsg. von Dichlordimethylsilan in abs. Toluol behandelt. Danach wird jeweils zweimal mit abs. Toluol, abs. MeOH und abs. Aceton gespült. Dieser Waschvorgang ist wichtig, da Rückstände von Dichlordimethylsilan die Freisetzung von HCl ermöglichen, welche sowohl Seitenkettenschutzgruppen, als auch die synthetisierte Verbindung vom Harz trennen könnte. Nach dem Waschen werden die Glasgeräte noch eine Stunde bei 100 °C getrocknet, bevor sie verwendet werden können.

8.2 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 13) für die Aktivierung des Wang[®]-Harzes

In einem Einhalskolben unter Stickstoff-Atmosphäre läßt man das Harz in abs. CH₂Cl₂ 10 min vorquellen und kühlt dann die Suspension auf 0 °C ab. Nach Zugabe der berechneten Menge an 4-Methylmorpholin (2 äqu.) und p-Nitrophenylchlorameisensäurephenylester (2 äqu.), rührt man das Reaktionsgemisch bei 0 °C weitere 2 h. Danach entfernt man die Eiskühlung und läßt ü.N.iterrühren. Das Harz wird daraufhin je 3x mit abs. DMF und 3x mit abs. CH₂Cl₂ gewaschen und schließlich im Hochvakuum getrocknet.

8.3 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 14) für die Kopplung eines monogeschützten Diaminbausteins an das p-Nitrophenyl-carbonat-Wang[®]-Harz

Methode 1:

2 äqu. des jeweiligen Diaminbausteins wird in CH₂Cl₂ suspendiert (~1 g Diamin/20 ml). Nach einmaligem Hinzufügen eines gleichen Volumenanteils an 1N NaOH wird 3x mit je 20 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinten org. Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Diese Lsg. wird nun schnell der zuvor aktivierten und in CH₂Cl₂ vorgequollenen Harzportion zugesetzt. Die Kopplung erfolgt ü.N. Danach wird das Harz jeweils 5x mit abs. CH₂Cl₂ und 5x mit abs. DMF gewaschen.

Methode 2:

In einem 10 ml Rundkolben wird p-Nitrophenyl-carbonat-Wang[®]-Harz in abs. THF suspendiert. Daraufhin werden 2 äqu. des jeweiligen Diaminbausteins hinzugegeben. Die Freisetzung der primären Aminfunktion erfolgt durch tropfenweise Zugabe von DIPEA (2 äqu.) über einen Zeitraum von 2 h bei RT. Zur Vollständigkeit der Kopplung wird ü.N. bei RT weitergerührt. Die Aufreinigung erfolgt durch Waschen mit abs. CH₂Cl₂ und abs. DMF (jeweils 5x, 3 min).

8.4 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 15) für die Ankopplung symmetrischer, aliphatischer Diamine an Tritylharze

In einem silylierten Glasgefäß wird zu einer Suspension des Polymers in CH₂Cl₂ (7 ml/mmol Harz) tropfenweise eine Lsg. des Diamins in CH₂Cl₂ (3 äqu./mmol Harz) zugegeben. Dieses Gemisch wird ü.N. bei RT gerührt. Danach wäscht man das Harz 3x mit CH₂Cl₂/MeOH/DIPEA (17:2:1), 3x mit CH₂Cl₂, 2x mit DMF und erneut 2x mit CH₂Cl₂ (3 min). Schließlich wird i.V. über KOH getrocknet.

8.5 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 16) zur Durchführung eines qualitativen Kaiser-Tests

Der Kaiser- oder Ninhydrin-Test dient zur Überprüfung auf Vollständigkeit der Kopplung der einzelnen Aminosäuren. Er wird nach jeder Kopplung durchgeführt und zeigt die eventuelle Notwendigkeit des Nachkoppelns durch eine blaue Färbung an. Für die Durchführung des Kaiser-Tests werden drei Lösungen benötigt:

1. 0,85 mol (80 g) Phenol in 20 ml Ethanol,
2. 2,8 mmol (500 mg) Ninhydrin in 10 ml Ethanol,
3. 33 mg KCN in 50 ml Wasser (0,01 M); von dieser Lsg. werden 2 ml mit Pyridin auf 100 ml aufgefüllt.

Eine kleine Menge Harz wird aus dem Reaktionsgefäß genommen und in eine Mikrofritte überführt. Die Probe wird jeweils dreimal mit DMF und Isopropanol gewaschen und dann i.V. getrocknet. Einige Körnchen gibt man in ein Reaktionsgefäß und setzt jeweils 2 Tropfen der Lösungen 1-3 zu. Das Reaktionsgemisch wird dann im Wasserbad 5 min lang auf 100 °C erhitzt. Ist das Harz danach gelb, d.h. der Test negativ, so ist die Kopplung vollständig. Eine dunkelblaue bis schwarze Färbung zeigt die Anwesenheit von primären Aminogruppen an.

8.6 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 17) für die Bestimmung der Harzbelegung mit Hilfe eines quantitativen Kaiser-Tests

Die Menge der an das Harz gebundenen Aminosäure wird durch einen quantitativen Kaiser-Test bestimmt. Zunächst muß hierzu die Fmoc-Schutzgruppe entfernt werden, um die für den Test notwendige freie Aminogruppe zu erzeugen. Dies geschieht, indem man 15 ml einer Lösung von 40 % Piperidin in DMF zusetzt und 40 min bei RT schüttelt. Man wäscht dann das Harz jeweils dreimal mit DMF und Isopropanol. Danach werden ca. 10-50 mg Harz entnommen und in einer Mikrofritte mit DE gewaschen. Anschließend trocknet man das Harz i.V. In einem tarierten Reagenzglas wird nun eine bestimmte Harzmenge eingewogen und folgende Mengen an Kaiser-Test-Reagenzien zugesetzt:

4 Tropfen von Lösung 1, ebenfalls 4 Tropfen von Lösung 2 und 8 Tropfen von Lösung 3. Das Reaktionsgemisch wird sodann exakt sieben min im Heizblock auf 100 °C erhitzt. Die blaue Suspension überführt man in einen 50 ml Meßkolben und füllt mit einer Lösung von 60 % Ethanol in Wasser bis zur Eichmarke auf. Am UV-Spektrometer mißt man die Extinktion bei 570 nm und berechnet die Harzbelegung nach folgender Formel:

$$\text{Harzbelegung [mmol/g]} = \frac{\text{Extinktion} * \text{Verdünnung [ml]} * 1000}{\text{Extinktionskoeffizient} * \text{Einwaage [mg]}}$$

Der Extinktionskoeffizient bei 570 nm hat für Glycin den Wert 10000 [l/mol x cm] und für alle anderen Aminosäuren 15000 [l/mol x cm].

8.7 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 18) für einen quantitativen Fmoc-Test

Die Harzbelegung bzw. die Kopplungsausbeute kann durch einen quantitativen Fmoc-Test bestimmt werden. Hierzu muß die Fmoc-Schutzgruppe durch Zusatz von Piperidin/DMF abgespalten werden, um das entsprechende Fluoren-Piperidin-Addukt UV-spektroskopisch vermessen zu können. Die Abspaltung erfolgt, indem man zum gewaschenen Harz eine Lsg. von 40 % Piperidin in DMF gibt und 20 min bei RT schütteln läßt. Danach wird das Harz 5 x 3 min mit DMF gewaschen und die erhaltenen Waschlösungen werden in einen Meßkolben überführt. Die Fmoc-Abspaltung erfolgt insgesamt 4 mal, bevor durch Zugabe von DMF der Meßkolben bis zur Eichmarke aufgefüllt wird. Am UV-Spektrometer mißt man dann bei 301 nm die Extinktion und berechnet die Harzbelegung nach folgender Formel:

$$\text{Harzbelegung [mol/ml]} = \text{Absorption} / 7,097 \text{ [Steigung der Fmoc-Eichgerade]}$$

8.8 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 19) für die Ankopplung von *N*-geschützten Aminosäuren

Die Kopplung wird mit Hilfe eines Schüttelapparates, in den man das Reaktionsgefäß einspannt, durchgeführt. Bei Letzterem handelt es sich um eine Einwegspritze mit einem Innenvolumen von 2, 5, 10- oder 20 ml, die jeweils mit einem Frittenboden (Porendurchmesser: 50 μ m) ausgestattet ist. Nachdem das Harz mit dem benötigten Aminbaustein gekoppelt und die Fmoc-Schutzgruppe abgespalten wurde, erfolgt die Kopplung der ersten Fmoc-geschützten Aminosäure. Hierfür werden die erforderlichen Mengen an Aminosäure, HOBt und DIC durch Zugabe von wenig DMF gelöst, 10 min bei RT gerührt und schließlich durch eine Kanüle aufgezogen. Man läßt sodann 3 h bei RT schütteln. Danach wird das Harz 6 x 3 min mit DMF gewaschen und die Kopplungsausbeute mit Hilfe eines Fmoc-Tests quantifiziert. Man überprüft die Abspaltung der Fmoc-Gruppe mittels allgemeiner Arbeitsvorschrift AAV 18 und beginnt bei quantitativer Abspaltung mit dem nächsten Syntheszyklus. Folgende Tabelle 32 zeigt den schematischen Ablauf der Peptidsynthese am Harz:

Nr.	Arbeitsschritt	Reagenz	Dauer	Bemerkung
1.	Waschen	DMF	8x 3 min	
2.	Kopplung	3.0 äqu. Fmoc-AS-OH 3.0 äqu. DIC 3.0 äqu. HOBt	180 min	
3.	Waschen	DMF	6x 3 min	
4.	Fmoc-Abspaltung	20 % Piperidin/DMF	2x 20 min	Dazwischen je 2x 3 min mit DMF waschen
5.	Fmoc-Abspaltung	20 % Piperidin/DMF	1x 20 min	
6.	Waschen	DMF	8x 3 min	
7.	Fmoc-Abspaltung	20 % Piperidin/DMF	1x 20 min	Auffangen der Abspatlösungen und UV-Messung: Wenn negativ dann 1., wenn positiv dann 4.

Tab. 32: Protokolarischer Ablauf der Peptidsynthese am jeweiligen Harz

8.9 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 20) für die reduktive Aminierung am polymeren Träger

Das derivatisierte Harz (1,1 g \approx 1,2 mmol Harzbelegung) mit terminaler Aminfunktion wird nach mehrmaligem Waschen mit DMF 2x mit einer Lsg. von HOAc-DMF (1:99, 15 ml) gespült. Danach erfolgt die Zugabe des Benzaldehyds (382 mg (3 äqu.)) in einer Lsg. von HOAc-DMF (15 ml). Die berechnete Menge an NaCNBH₃ (754 mg (10 äqu.)) wird hinzugefügt und das Gemisch reagiert daraufhin 18 h bei 25 °C. Die Harzportion wird schließlich 5x mit DMF (10 ml), 5x mit CH₂Cl₂ (10 ml), 5x mit DIPEA/DMF (1:10, 10 ml) und 5x mit DMF (10 ml) gewaschen.

8.10 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 21) für die Boran-Reduktion am Polymer

Das derivatisierte Harz (500 mg (0,6 mmol)) mit insertierter Amidfunktion wird in einem silylierten Glasgefäß in abs. THF (10 ml) suspendiert. Nach 10 min Vorquellen des Harzes erfolgt die Zugabe einer 1,0 M Lsg. von Boran in THF (40-50 äqu.). Dieses Gemisch wird 18 h bei 50 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wird durch vorsichtige Zugabe von MeOH (10 ml) überschüssiges Boranreagenz zerstört. Nach dreimaligem Waschen mit NMP (5 ml, 3 min) erfolgt nun die Freisetzung der Aminfunktionen durch alkalische Aufarbeitung. Hierfür versetzt man die Harzportion mit 3 äqu. einer 0,6 M Lsg. von DBU in NMP/MeOH (9:1) bei RT für 6 h, gefolgt von intensivem Waschen mit CH₂Cl₂ (8x 3 min).

8.11 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 22) für die Abspaltung vom Wang[®]-Polymer

Die Fmoc-entschützte Verbindung wird mit einer Mischung von CH₂Cl₂/TFA (1:1) vom Harz bzw. von der Ankergruppierung abgespalten. Man gibt diese Abspalllösung zu der zuvor 5x mit MeOH und 5x mit DE gewaschenen und i.V. getrockneten Harzportion, und läßt 3 h bei RT reagieren. Die Reaktionslösung wird sodann in einen Rundkolben gespritzt.

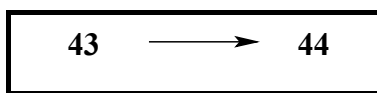
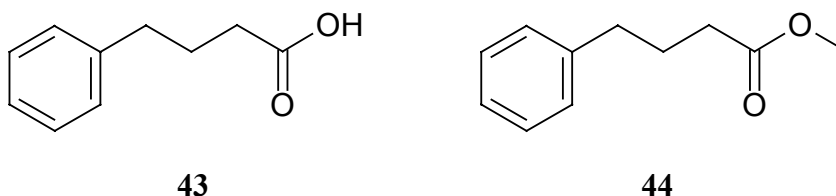
Diesen Abspaltvorgang wiederholt man noch zweimal, bevor das Lsm. am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt wird.

8.12 Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 23) für die Abspaltung vom Chlortrityl-Harz

Die Fmoc-entschützte Verbindung wird mit einer Mischung von $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{TFA}$ (95:5) vom Harz bzw. von der Ankergruppe abgespalten. Man gibt diese Abspatlösung zu der zuvor 5x mit MeOH und 5x mit DE gewaschenen und i.V. getrockneten Harzportion und läßt 3 h bei RT reagieren. Die Reaktionslösung wird in einen Rundkolben gespritzt. Diesen Abspaltvorgang wiederholt man noch zweimal, bevor das Lsm. am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt wird.

9 Synthesevorschriften

9.1 Synthese von Methyl-4-phenylbutanoat 44



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 1) für eine Methylesterbildung.

Edukte: Phenylbutansäure **43**: 10,0 g (61 mmol)
Thionylchlorid: 9,42 g (79,3 mmol)
MeOH: 100 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Destillation: (116-117 °C/12-13 mbar).

Ausbeute: 10,63 g als farblose Flüssigkeit (98 %)

Analytik:

DC: (PE/DE: 15 + 1) $R_f = 0,58$

¹H-NMR: (300 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 1,97 (qn, $^3J = 7,5$ Hz, 2H, CH₂-(3)); 2,35 (t, $^3J = 7,5$ Hz, 2H, CH₂-(2)); 2,66 (t, $^3J = 7,6$ Hz, 2H, CH₂-(4)); 3,68 (s, 3H, O-CH₃); 7,18-7,32 (m, 5H, Aromaten-H).

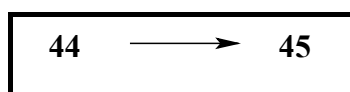
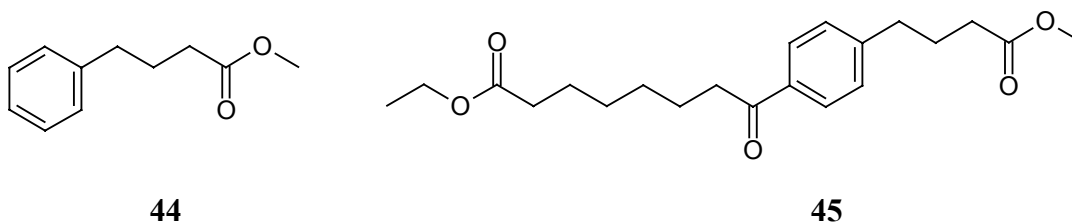
^{13}C -NMR: (50 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 26,44 (C(3)); 33,35 (C(2)); 35,09 (C(4)); 51,45 (O- CH_3); 125,94 (C(4')); 128,34/128,44 (4C, C(2')), C(3'), C(5'), C(6')); 141,33 (C(1')); 173,89 (COOCH_3).

Analyse: $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_2$ [178,23 g/mol]
ber.: C: 74,13 H: 7,92
gef.: C: 73,95 H: 7,95

Beilstein-Registry-Number: 2049063

CAS-Registry-Number: 2046-17-5

9.2 Synthese von Ethyl 8-[4-(4-methoxy-4-oxobutyl)phenyl]-8-oxooctanoat 45



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 3) für eine Friedel-Crafts-Acylierung.

Edukte:

Methyl-4-phenylbutanoat 44 :	8,00 g (45 mmol)
Octandisäure-monomethylesterchlorid:	11,9 g (54 mmol)
Aluminiumtrichlorid:	18,00 g (135 mmol)
1,2-Dichlorethan:	150 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Chromatographie: (PE/DE: 3 + 1).

Ausbeute: 8,78 g als weißes Pulver (54 %)

Analytik:

Smp.: 41-42 °C

DC: (PE/DE: 3 + 1) $R_f = 0,24$

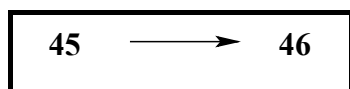
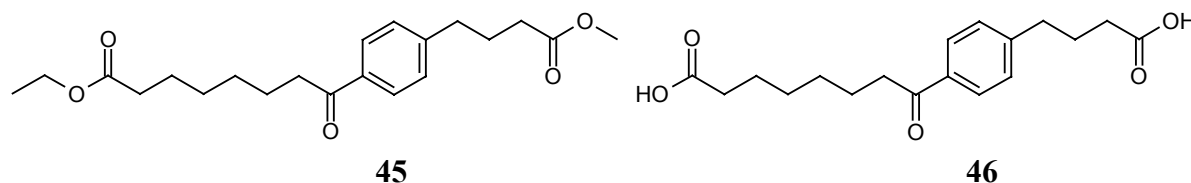
$^1\text{H-NMR}$: (300 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 1,26 (t, $^3J = 7,1$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$); 1,38-1,40 (m, 4H, CH_2 -(4'), CH_2 -(5')); 1,63-1,76 (m, 4H, CH_2 -(3')),

CH₂-(6'')); 1,98 (qn, ³J = 7,5 Hz, 2H, CH₂-(3)); 2,28-2,37 (m, 4H, CH₂-(2), CH₂-(2'')); 2,71 (t, ³J = 7,6 Hz, 2H, CH₂-(4)); 2,94 (t, ³J = 7,3 Hz, 2H, CH₂-(7'')); 3,68 (s, 3H, CH₃-O); 4,13 (q, ³J = 7,1 Hz, 2H, CH₃CH₂-O); 7,27 (d, ³J = 8,1 Hz, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(5')); 7,89 (d, ³J = 8,2 Hz, 2H, 1H-C(2'), 1H-C(6')).

¹³C-NMR: (50 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 14,20 (CH₃CH₂-O); 24,16/24,77 (C(3''), C(6'')); 26,04 (C(3)); 28,94 (C(4''), C(5'')); 33,21/34,24 (C(2''), C(7'')); 35,02 (C(4)); 38,35 (C(2)); 51,51 (CH₃-O); 60,13 (CH₃CH₂-O); 128,27/128,63 (C(2'), C(3'), C(5'), C(6')); 135,11 (C(4')); 146,88 (C(1')); 173,62/173,72 (COOCH₃, COOCH₂CH₃); 199,97 (C=O).

Analyse: C₂₁H₃₀O₅ [362,46 g/mol]
ber.: C: 69,59 H: 8,34
gef.: C: 69,60 H: 8,26

9.3 Synthese von 8-[4-(3-Carboxypropyl)phenyl]-8-oxooctansäure 46



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 8) für eine Esterverseifung.

Edukte:

Diester 45:	8,00 g (22,1 mmol)
Lithiumhydroxidmonohydrat:	3,70 g (88,3 mmol)
MeOH/H ₂ O (50+1):	100 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Umkristallisation aus AcOEt/PE.

Ausbeute: 6,93 g als weißes Pulver (98 %)

Analytik:

Smp.: 118-120 °C

DC: (CH₂Cl₂/MeOH: 10 + 1) R_f = 0,35

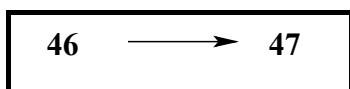
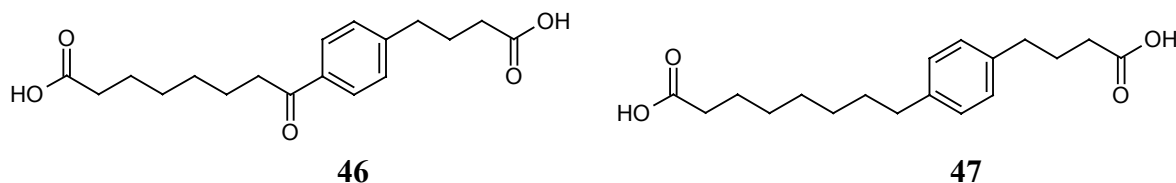
¹H-NMR: (300 MHz; CD₃OD) δ (ppm) = 1,39-1,42 (m, 4H, CH₂-(4''), CH₂-(5'')); 1,60-1,74 (4H, CH₂-(3''), CH₂-(6'')); 1,94 (qn, ³J = 7,6 Hz, 2H, CH₂-(3)); 2,27-2,35 (m, 4H, CH₂-(2), CH₂-(2'')); 2,73 (t, ³J = 7,6 Hz, 2H, CH₂-(4)); 3,01 (t, ³J = 7,2 Hz, 2H, CH₂-(7'')); 7,34 (d, ³J =

8,1 Hz, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(5')); 7,93 (d, $^3J = 8,2$ Hz, 2H, 1H-C(2'), 1H-C(6')).

^{13}C -NMR: (50 MHz; CD_3OD) δ (ppm) = 25,40/25,90 (C(3''), C(6'')); 27,44 (C(3)); 30,00/30,02 (C(4''), C(5'')); 34,13/34,84 (C(2), C(2'')); 35,99 (1C(4)); 39,27 (C(7'')); 129,45/129,85 (C(2'), 1C(3'), 1C(5'), 1C(6')); 136,27 (C(4')); 148,99 (C(1')); 177,07/177,62 (2x $\underline{\text{COOH}}$); 202,50 (C=O).

Analyse: $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_5$ [320,38 g/mol]
ber.: C: 67,48 H: 7,55
gef.: C: 67,23 H: 7,51

9.4 Synthese von 8-[4-(3-Carboxypropyl)phenyl]octansäure 47



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 7) für eine saure Desoxygenierung.

Edukte:

Dicarbonsäure 46 :	12,3 g (38,4 mmol)
Triethylsilan:	13,4 g (115 mmol)
Trifluoressigsäure:	21,9 g (192 mmol)

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Chromatographie:
(CH₂Cl₂/MeOH: 20 + 1).

Ausbeute: 7,03 g als weißes Pulver (76 %)

Analytik:

Smp.: 121-122 °C

DC: (CH₂Cl₂/MeOH: 10 + 1) R_f = 0,45

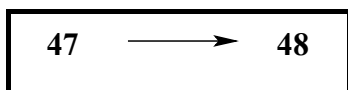
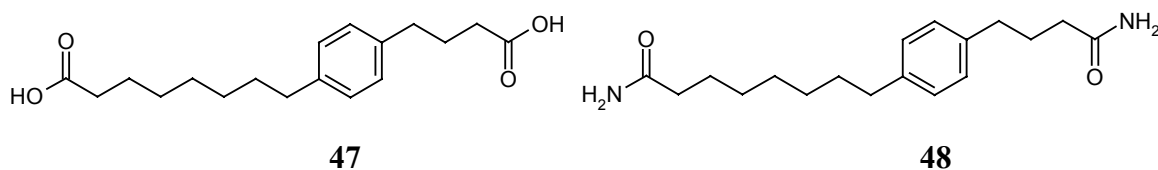
¹H-NMR: (300 MHz; CD₃OD) δ (ppm) = 1,28-1,32 (m, 6H, CH₂-(4''), CH₂-C(5''), CH₂-(6'')); 1,54-1,60 (m, 4H, CH₂-(3''), CH₂-(7'')); 1,86 (qn, ³J = 7,5 Hz, 2H, CH₂-(3)); 2,23-2,29 (m, 4H, CH₂-(2), CH₂-

(2''); 2,52-2,61 (m, 4H, CH₂-(4), CH₂-(8'')); 7,07 (s, 4H, Aromaten-H).

¹³C-NMR: (50 MHz; CD₃OD) δ (ppm) = 26,04/32,68 (C(3''), C(7'')); 27,96 (C(3)); 30,14/30,22 (C(4''), C(5''), C(6'')); 34,23/34,92 (C(2), C(2'')); 35,68/36,47 (C(4), C(8'')); 129,36/129,41 (C(2') C(3'), C(5'), C(6')); 140,05/141,50 (C(1'), C(4'')); 177,44/177,71 (2x COOH).

Analyse: C₁₈H₂₆O₄ [306,40 g/mol]
ber.: C: 70,56 H: 8,55
gef.: C: 70,31 H: 8,45

9.5 Synthese von 8-[4-(4-Amino-4-oxobutyl)phenyl]octanamid 48



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 4) für die Bildung eines Amides aus einer Carbonsäure.

Edukte:

Dicarbonsäure 47 :	3,0 g (9,8 mmol)
Oxalylchlorid:	3,1 g (24,5 mmol)
abs. THF:	60 ml
NH ₃ (g)	

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Chromatographie:
(CH₂Cl₂/MeOH: 10 + 1).

Ausbeute: 1,94 g als weißes Pulver (65 %)

Analytik:

Smp.: 168-172 °C

DC: (CH₂Cl₂/MeOH: 10 + 1) R_f = 0,38

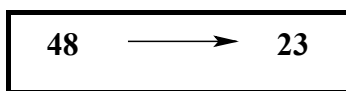
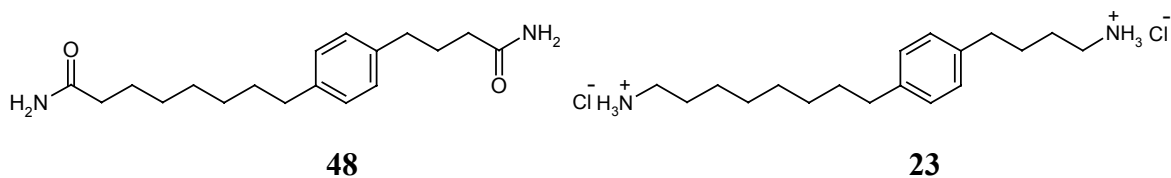
¹H-NMR: (300 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 1,23 (s, 6H, CH₂-(4''), CH₂-(5''), CH₂-(6'')); 1,40-1,50 (m, 4H, CH₂-(3''), CH₂-(7'')); 1,71 (qn, ³J = 7,5 Hz, 2H, CH₂-(3)); 1,95-2,03 (m, 4H, CH₂-(2), CH₂-(2'')); 2,45-

2,51 (m, 4H, CH₂-(4), CH₂-(8'')); 6,68 (s, 2H, CH₂-(1'')); 7,23 (s, 2H, CH₂-(1)).

¹³C-NMR: (50 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 25,07/30,99 (C(3''), C(7'')); 26,88 (C(3)); 28,59/28,63 (C(4''), C(5''), C(6'')); 34,27/34,54/34,72/35,07 (C(2), C(4), C(2''), C(8'')); 128,12 (1C(2'), C(3'), C(5'), C(6'')); 138,91/139,56 (C(1'), C(4')); 174,03/174,30 (2x CONH₂).

Analyse: C₁₈H₂₈N₂O₂ [304,43 g/mol]

9.6 Synthese von 4-[4-(8-Ammoniooctyl)phenyl]butyl-ammonium-dichlorid 23



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 5) für die Reduktion eines Amides zum Amin.

Edukte:

Diamid 48 :	1,3 g (4,3 mmol)
LiAlH ₄ :	810 mg (21,3 mmol)
abs. THF:	20 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch das Fällern als Dihydrochlorid-Salz.

Ausbeute: 0,7 g als grünlich-weißes Pulver (47 %)

Analytik:

Smp. : Zersetzung $\geq 300^\circ\text{C}$

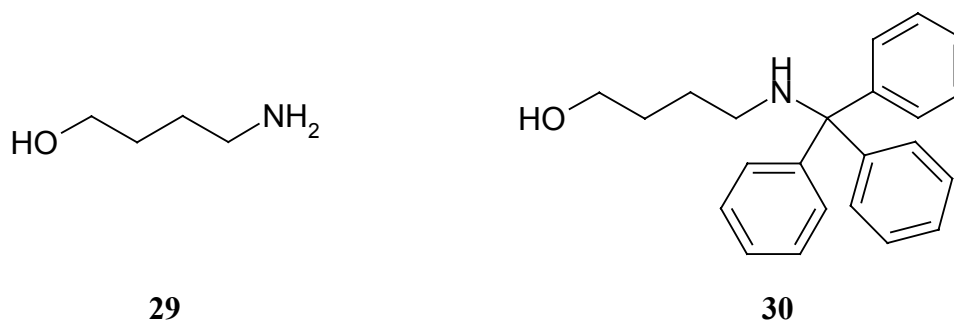
DC : (CH₂Cl₂/MeOH (ges. NH₃(g))): 10 + 1) R_f = 0,45

¹H-NMR : (300 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 1,35 (s, 8H, CH₂-(3''), CH₂-(4''), CH₂-(5''), CH₂-(6'')); 1,58-,68 (m, 8H, CH₂-(2), CH₂-(3), CH₂-(2''), CH₂-(7'')); 2,52-2,65 (m, 4H, CH₂-(4), CH₂-(8'')); 2,87-2,91 (m, 4H, CH₂-(1), CH₂-(1'')); 7,05-7,11 (m, 4H, Aromaten-H).

^{13}C -NMR : (50 MHz; CD_3OD) δ (ppm) = 27,42/30,14/30,18/30,32 (C(3''), C(4''), C(5''), C(6'')); 28,07/28,52/29,32/32,74 (C(2), C(3), C(2''), C(7'')); 35,77/36,45 (C(4), C(8'')); 40,66/40,76 (C(1), C(1'')); 129,35/129,42 (C(2'), C(3'), C(5'), C(6')); 140,04/141,52 (C(1'), C(4')).

Analyse : $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{Cl}_2$ [349,38 g/mol]
ber.: C: 61,88 H: 9,81 N: 8,02
gef.: C: 61,64 H: 9,62 N: 7,80

9.7 Synthese von 4-(Tritylamino)-1-butanol **30**



Durchführung: Die Mischung aus Amin, Triphenylmethylchlorid und Triethylamin wird in trockenem CH_2Cl_2 12 h bei RT unter Schutzgas (N_2) gerührt. Danach wird das Reaktionsgemisch mit H_2O gewaschen, die org. Phase über Na_2SO_4 getrocknet und schließlich vom Lsm. i.V. befreit. Die Aufreinigung erfolgte durch Chromatographie.

Edukte:	4-Aminobutanol 29 :	4,9 g (55 mmol)
	Triphenylmethylchlorid:	15,3 g (55 mmol)
	Triethylamin:	5,6 g (55 mmol)
	abs. CH_2Cl_2 :	190 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Chromatographie: (PE/DE: 1 + 1).

Ausbeute: 12,1 g als farbloses Öl (66 %)

Analytik:

DC: (PE/DE: 1 + 1) $R_f = 0,27$

¹H-NMR: (300 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 1,53-1,69 (m, 4H, CH₂-(2), CH₂-(3)); 2,20 (t, ³J = 6,4 Hz, 1H, 1H-C(1)); 3,63 (t, ³J = 6,4 Hz, 1H, 1H-C(4)); 7,16-7,30 (m, 9H, Aromaten-H); 7,44-7,47 (m, 6H, Aromaten-H).

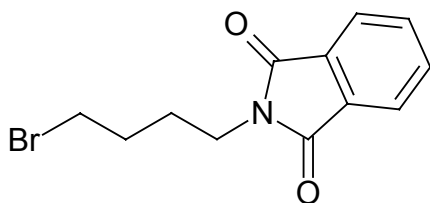
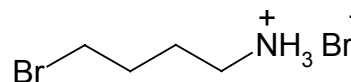
¹³C-NMR: (50 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 27,57 (C(2)); 30,92 (C(3)); 43,41 (C(1)); 62,95 (C(4)); 71,03 (C(C₆H₅)₃); 126,25 (3x C(4')); 127,77/128,62 (3x (C(2'), C(3'), C(5'), C(6'))); 145,99 (3x C(1')).

Analyse: C₂₃H₂₅NO [331,46 g/mol]

MS: ESI⁺(M+1): [332,2 g/mol]

Beilstein-Registry-Number: 2761185

9.8 Synthese von (4-Bromobutyl)ammoniumchlorid **26**

**25****26****Durchführung:**

Ein Gemisch aus Brombutylphthalimid **25**, wäbr. HBr und AcOH wird 48 h zum Sieden erhitzt. Danach wird zur noch heißen Reaktionslösung 500 ml H₂O zugesetzt. Dieses Gemisch wird daraufhin ü.N. bei 4 °C im Kühlschrank stengelassen. Am nächsten Tag wird von der ausgefallenen Phthalsäure abgesaugt und das Filtrat unter vermindertem Druck eingedampft. Der verbleibende Rückstand wird fünfmal mit H₂O koevaporiert und anschließend in wenig CH₂Cl₂ aufgenommen und durch Zugabe von DE gefällt. Der abgesaugte Niederschlag wird i.V. getrocknet.

Edukte:

Brombutylphthalimid 25 :	49,37 g (175 mmol)
47 % Bromwasserstoffsäure (wäbr.):	105 g (612 mmol)
AcOH:	150 ml

Ausbeute:

13,04 g als hellbraune Kristallplättchen (32 %)

Analytik:**Smp.:**

139-140 °C

DC: (CH₂Cl₂/MeOH/Et₃N: 20 + 1 + 1) R_f = 0,49

¹H-NMR: (300 MHz; MeOD) δ (ppm) = 1,76-1,99 (m, 4H, CH₂-(2), CH₂-(3));
2,96 (t, ³J = 7,3 Hz, 2H, CH₂-(4)); 3,50 (t, ³J = 6,3 Hz, 2H, CH₂-(1)).

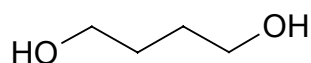
¹³C-NMR: (50 MHz; MeOD) δ (ppm) = 27,22 (C(3)); 30,58 (C(2)); 33,26
(C(4)); 39,98 (C(1)).

Analyse: C₄H₁₀BrN x HBr [232,94 g/mol]

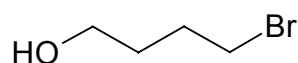
Beilstein-Registry-Number: 3668742

CAS-Registry-Number: 24566-81-2

9.9 Synthese von 4-Brombutan-1-ol 33



32



33



Durchführung: Eine Mischung aus Butandiol, wäbr. Bromwasserstoffsäure in Benzol wird 16 h am Wasserabscheider erhitzt.

Edukte:

Butandiol 32:	30,0 g (332 mmol)
47 %-Bromwasserstoffsäure (wäbr.):	62,8 g (365 mmol)
Benzol:	300 ml

Reinigung: Nach dem Erkalten des Reaktionsgemisches wird das Lsm. am Rotationsverdampfer entfernt. Der verbleibene Rückstand wird in DE aufgenommen und mit einer 10 %igen NaHCO₃-Lsg. gewaschen. Die wäbr. Phase wird daraufhin noch zweimal mit DE extrahiert bevor die org. Phasen schließlich vereinigt und über K₂CO₃ getrocknet werden. Nach dem Abfiltrieren des Trockenmittels wird der DE am Rotationsverdampfer entfernt. Der verbleibende Rückstand wird im Hochvakuum destilliert (b.p. 58-60 °C/0,4 Torr).

Ausbeute: 26,6 g als farblose Flüssigkeit (52 %)

Analytik:

DC: (PE/DE: 3 + 1) R_f = 0,13

$^1\text{H-NMR}$: (300 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 1,75 (q, $^3\text{J} = 6,3$ Hz, 2H, CH_2 -(3));
1,97 (q, $^3\text{J} = 6,7$ Hz, 2H, CH_2 -(2)); 3,46 (t, $^3\text{J} = 6,6$ Hz, 2H, CH_2 -(4));
3,74 (t, $^3\text{J} = 6,3$ Hz, 2H, CH_2 -(1)); 4,82 (s, OH).

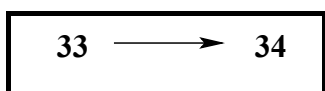
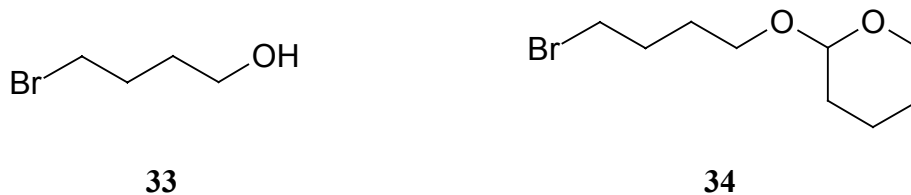
$^{13}\text{C-NMR}$: (50 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 30,05 (C(3)); 31,29 (C(2)); 32,88
(C(4)); 62,40 (C(1)).

Analyse: $\text{C}_4\text{H}_9\text{BrO}$ [153,02 g/mol]

Beilstein-Registry-Number: 1839430

CAS-Registry-Number: 33036-62-3

9.10 Synthese von 2-(4-Bromobutoxy)-tetrahydro-2H-pyran 34



Durchführung: Zu einer auf 0 °C abgekühlten Lsg., bestehend aus Brombutanol **33** und p-Toluolsulfonsäuremonohydrat in abs. DE, wird langsam 2,3-Dihydropyran zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird daraufhin ü.N. bei RT gerührt und danach zuerst mit ges. Kaliumcarbonat-Lsg. (2x 40 ml) und mit ges. NaCl-Lsg. (1x 40 ml) gewaschen. Die org. Phase wird über Kaliumcarbonat getrocknet und unter vermindertem Druck vom Lsm. befreit.

Edukte:	4-Brombutanol 33 :	20,0 g (130 mmol)
	2,3-Dihydropyran:	14,2 g (170 mmol)
	p-Toluolsulfonsäure- monohydrat:	2,5 g (13 mmol)
	abs. DE:	100 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Destillation: (74-75 °C/0,4 Torr).

Ausbeute: 29,1 g als braune Flüssigkeit (94 %)

Analytik:

DC: (PE/DE: 15 + 1) $R_f = 0,28$

¹H-NMR: (300 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 1,52-1,60/1,70-1,79/1,95-2,00 (3m, 10H, CH₂-(3), CH₂-(4), CH₂-(5), CH₂-(2'), CH₂-(3')); 3,40-3,52 (m, 4H, CH₂-(6), CH₂-(1'), CH₂-(4')); 3,73-3,85 (m, 2H, 1H-C(6), 1H-C(3')); 4,56-4,58 (m, 1H, 1H-C(2)).

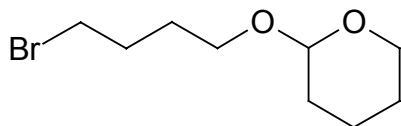
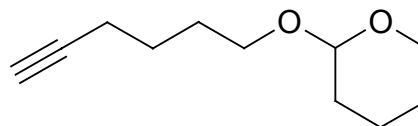
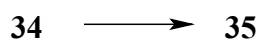
¹³C-NMR: (50 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 19,57 (C(2')); 25,41 (C(4)); 28,34 (C(5)); 29,79 (C(3)); 30,66 (C(3')); 33,68 (C(4')); 62,31 (C(1')); 66,42 (C(6)); 98,81 (C(2)).

Analyse: C₉H₁₇BrO₂ [237,14 g/mol]
ber.: C: 45,58 H: 7,22
gef.: C: 45,70 H: 7,22

Beilstein-Registry-Number: 1422220

CAS-Registry-Number: 31608-22-7

9.11 Synthese von 2-(5-Hexenyloxy)tetrahydro-2H-pyran **35**

**34****35**

Durchführung: Eine Suspension, bestehend aus Lithiumacetylid-ethylendiamin-komplex in 20 ml trockenem DMSO, wird auf 10 °C abgekühlt. Zu dieser Mischung fügt man Verbindung **34** in 30 ml DMSO hinzu, rührt dann noch 1 h bei 10 °C und ü.N. bei RT. Danach hydrolysiert man das Reaktionsgemisch mit 100 ml Eiswasser und extrahiert erschöpfend mit Hexan. Die vereinten org. Phasen werden mit Wasser gewaschen und danach über MgSO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Trockenmittels wird das Reaktionsgemisch unter vermindertem Druck vom Lsm. befreit.

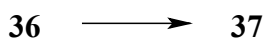
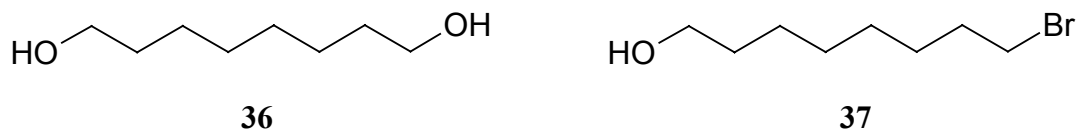
Edukte:	Verbindung 34 :	10,0 g (42,2 mmol)
	Lithiumacetylid-ethylendiaminkomplex:	4,65 g (50,5 mmol)
	Dimethylsulfoxid:	50 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Destillation: (60-65 °C/0,2 Torr).

Ausbeute: 36,5 g als farblose Flüssigkeit (79 %)

Analytik:**DC:** (PE/DE: 15 + 1) $R_f = 0,37$ **$^1\text{H-NMR}$:** (300 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 1,52-1,74 (m, 10H, CH_2 -(3), CH_2 -(4), CH_2 -(5), CH_2 -(2'), CH_2 -(3')); 2,23-2,26 (m, 2H, CH_2 -(4')); 3,39-3,50/3,74-3,86 (2m, 4H, CH_2 -(6), CH_2 -(1')); 4,56-4,59 (m, 1H, 1H-C(2)). **$^{13}\text{C-NMR}$:** (50 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 18,22 (C(3')); 19,57 (C(2')); 25,32/25,45 (C(4), C(4')); 28,78 (C(5)); 30,70 (C(3)); 62,25 (C(1')); 66,87 (C(6)); 68,31 (C(6')); 84,34 (C(5')); 98,77 (C(2)).**Analyse:** $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_2$ [182,26 g/mol]
ber.: C: 72,49 H: 9,95
gef.: C: 72,23 H: 9,72**Beilstein-Registry-Number:** 1423273**CAS-Registry-Number:** 1720-37-2

9.12 Synthese von 8-Bromooctan-1-ol **37**



Durchführung: Eine Mischung aus Octandiol **36**, wäbr. Bromwasserstoffsäure in Benzol wird 16 h am Wasserabscheider erhitzt.

Edukte:

Octandiol 36 :	14,6 g (99,8 mmol)
47 %-Bromwasserstoffsäure (wäbr.):	18,7 g (110 mmol)
Benzol:	200 ml

Reinigung: Nach dem Erkalten des Reaktionsgemisches wird das Lsm. am Rotationsverdampfer entfernt. Der verbleibene Rückstand wird in DE aufgenommen und mit einer 10 %igen NaHCO₃-Lsg. gewaschen. Die wäbr. Phase wird noch zweimal mit DE extrahiert, bevor die org. Phasen vereinigt und über K₂CO₃ getrocknet werden. Nach dem Entfernen des Trockenmittels wird das Lsm. am Rotationsverdampfer abdestilliert. Der verbleibende Rückstand wird schließlich im Hochvakuum destilliert (b.p. 81 °C/0,06 Torr).

Ausbeute: 16,0 g als farblose Flüssigkeit (77 %)

Analytik:

DC: (PE/DE: 3 + 1) R_f = 0,18

¹H-NMR: (300 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 1,31-1,46 (m, 8H, CH₂-(3), CH₂-(4), CH₂-(5), CH₂-(6)); 1,50-1,57 (m, 2H, CH₂-(2)); 1,84 (q, ³J = 7,3 Hz, 2H, CH₂-(7)); 3,39 (t, ³J = 6,8 Hz, 2H, CH₂-(8)); 3,62 (t, ³J = 6,5 Hz, 2H, CH₂-(1)).

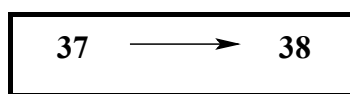
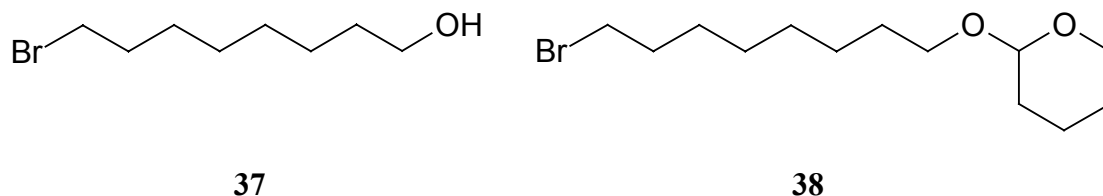
¹³C-NMR: (50 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 25,60 (C(3)); 28,05 (C(6)); 28,68 (C(5)); 29,18 (C(4)); 32,68/32,75 (C(2), C(8)); 33,93 (C(7)); 62,94 (C(1)).

Analyse: C₈H₁₇BrO [209,12 g/mol]
ber.: C: 45,94 H: 8,19
gef.: C: 46,17 H: 8,21

Beilstein-Registry-Number: 1900837

CAS-Registry-Number: 50816-19-8

9.13 Synthese von 2-[(8-Bromooctyl)oxy]tetrahydro-2H-pyran **38**



Durchführung: Zu einer auf 0 °C abgekühlten Lsg., bestehend aus Bromooctanol **37** und p-Toluolsulfonsäuremonohydrat in abs. DE, wird langsam 2,3-Dihydropyran hinzuge tropft. Das Reaktionsgemisch rührt ü.N. bei RT und wird danach zuerst mit ges. Kaliumcarbonat-Lsg. (2x 40 ml) und mit ges. NaCl-Lsg. (1x 40 ml) gewaschen. Die org. Phase wird über Kaliumcarbonat getrocknet und unter vermindertem Druck vom Lsm. befreit.

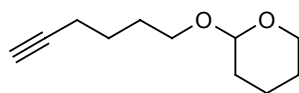
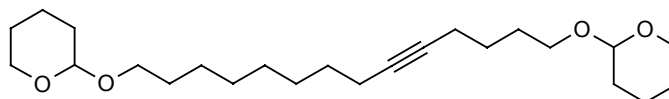
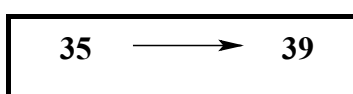
Edukte:	8-Bromooctanol 37 :	3,0 g (14,3 mmol)
	2,3-Dihydropyran:	1,56 g (18,6 mmol)
	p-Toluolsulfonsäure- monohydrat:	272 mg (1,4 mmol)
	abs. DE:	20 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Destillation:
(b.p.: 130-132 °C/0,6 Torr).

Ausbeute: 3,85 g als farblose Flüssigkeit (92 %)

Analytik:**DC:** (PE/DE: 15 + 1) $R_f = 0,37$ **$^1\text{H-NMR}$:** (300 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 1,33-1,47/1,52-1,59/1,70-1,75/1,80-1,87 (4m, 18H, CH_2 -(3), CH_2 -(4), CH_2 -(5), CH_2 -(2'), CH_2 -(3'), CH_2 -(4'), CH_2 -(5'), CH_2 -(6'), CH_2 -(7')); 3,36-3,43/3,48-3,52/3,69-3,75/3,86-3,89 (m, 6H, CH_2 -(6), CH_2 -(1'), CH_2 -(8')); 4,56-4,58 (m, 1H, 1H-C(2)). **$^{13}\text{C-NMR}$:** (50 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 19,68 (1C, 1C(4)); 25,48/26,11/28,08/28,66/29,22/29,67/30,76 (C(3), C(5), C(2'), C(3'), C(4'), C(5'), C(6'), C(7')); 62,34 (C(6)); 67,57 (C(1')); 98,84 (C(2)).**Analyse:** $\text{C}_{13}\text{H}_{25}\text{BrO}_2$ [293,24 g/mol]
ber.: C: 53,25 H: 8,59
gef.: C: 53,09 H: 8,51**Beilstein-Registry-Number:** 1306644**CAS-Registry-Number:** 50816-20-1

9.14 Synthese von 2-{{[14-Tetrahydro-2H-2-pyraniloxy)-5-tetradecinyloxy}}terahydro-2H-pyran **39**

**35****39**

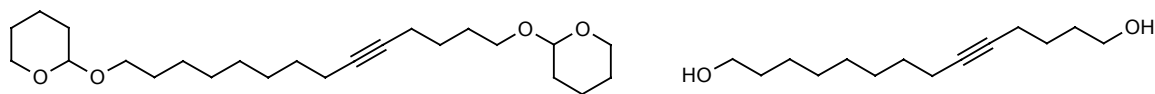
Durchführung: Zu einer Lsg. des Alkins **35** in 60 ml abs. THF wird unter Schutzgas bei -78 °C die Butyllithium-Lsg. langsam zugetropft. Innerhalb von 30 min läßt man das Reaktionsgemisch auf 0 °C auftauen, bevor es dann wieder auf -78 °C abgekühlt wird. Nach Zugabe des Hexamethylphosphorsäuretriamides wird innerhalb von 30 min der Tetrahydropyranylether **38**, gelöst in 10 ml abs. THF, hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch rührt bei RT ü.N. und wird dann langsam unter Eiskühlung mit Wasser hydrolysiert. Die org. Phase wird abgetrennt, über Na₂SO₄ getrocknet und schließlich vom Lsm. befreit.

Edukte:	Alkin 35 :	5,0g (27,4 mmol)
	2-[(8-Bromooctyl)oxy]- tetrahydro-2H-pyran 38 :	8,0 g (27,4 mmol)
	n-Butyllithium (1,6 M in THF):	17,1 ml (27,4 mmol)
	Hexamethylphosphorsäuretriamid:	4,9 g (27,4 mmol)
	abs. THF:	70 ml

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Chromatographie: (PE/DE: 5 + 1).

- Ausbeute:** 5,9 g als farblose Flüssigkeit (54,5 %)
- Analytik:**
- DC:** (PE/DE: 8 + 1) $R_f = 0,20$
- $^1\text{H-NMR}$:** (300 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 1,1,31-1,74 (1m, 28H, CH_2 -(3), CH_2 -(4), CH_2 -(5), CH_2 -(2'), CH_2 -(3'), CH_2 -(8'), CH_2 -(9'), CH_2 -(10'), CH_2 -(11'), CH_2 -(12'), CH_2 -(13'), CH_2 -(3''), CH_2 -(4''), CH_2 -(5'')); 2,10-2,18 (m, 4H, CH_2 -(4'), CH_2 -(7')); 3,36-3,39/3,42-3,51/3,71-3,76/3,86-3,89 (4m, 8H, CH_2 -(C6), CH_2 -(1'), CH_2 -(14'), CH_2 -(6'')); 4,57 (s, 2H, 1H-C(2), 1H-C(2'')).
- $^{13}\text{C-NMR}$:** (50 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 18,58/18,71/19,60/19,67 (C(4), C(4'), C(7'), C(4'')); 25,48/25,91/26,18/28,79/28,90/29,08/29,34/29,71/30,72/30,76 (C(3), C(5), C(2'), C(3'), C(8'), C(9'), C(10'), C(11'), C(12'), C(13'), C(3''), C(5'')); 62,24/62,29 (C(6), C(6'')); 67,04 (C(14'')); 67,63 (C(1'')); 79,80/80,45 (C(5'), C(6'')); 98,75/98,81 (C(2), C(2'')).
- Analyse:** $\text{C}_{24}\text{H}_{42}\text{O}_4$ [394,59 g/mol]
ber.: C: 73,05 H: 10,73
gef.: C: 73,19 H: 10,71

9.15 Synthese von 5-Tetradecin-1,14-diol **40**

**39****40**

Durchführung: Eine Lsg. des THP-geschützten Alkines **39**, versetzt mit p-Toluolsulfonsäure in MeOH, wird bei RT solange gerührt, bis kein Edukt mehr nachzuweisen ist. Danach wird 1,5 g Kaliumcarbonat hinzugefügt und 1 h bei RT gerührt. Nach Filtration, wird das Lsm. unter vermindertem Druck entfernt. Weitere Aufreinigung erfolgte durch Chromatographie.

Edukte:	Alkin 39 :	5,1 g (12,9 mmol)
	p-Toluolsulfonsäure- monohydrat:	13 mg (0,064 mmol)
	MeOH:	30 ml

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Chromatographie:
(PE/DE: 1 + 3).

Ausbeute: 2,50 g als weißes Pulver (86 %)

Analytik:

DC: (PE/DE: 1 + 3) $R_f = 0,25$

¹H-NMR: (300 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 1,32-1,67 (m, 16H, CH₂-(2), CH₂-(3), CH₂-(8), CH₂-(9), CH₂-(10), CH₂-(11), CH₂-(12), CH₂-(13)); 2,11-2,22 (m, 4H, CH₂-(4), CH₂-(7)); 3,61-3,69 (m, 4H, CH₂-(1), CH₂-(14)).

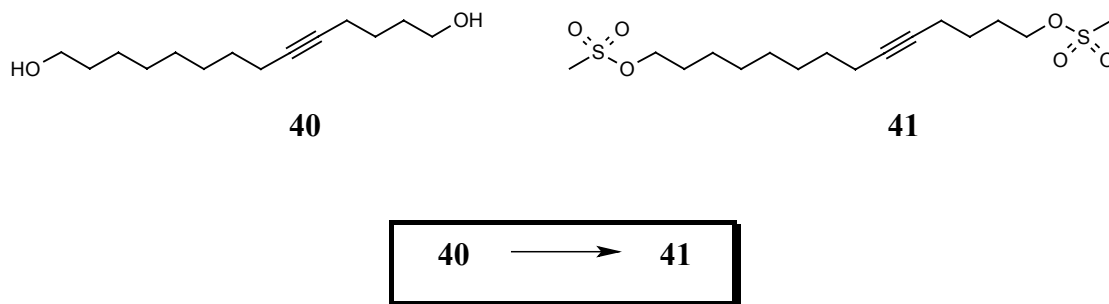
¹³C-NMR: (50 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 18,49/18,63 (C(4), C(7)); 25,31(C(3)); 25,58 (C(12)); 28,62/28,96/29,21/31,81 (C(8), C(9), C(10), C(11)); 31,81/32,67 (C(2), C(13)); 62,39/62,88 (C(1), C(14)); 79,79/80.61 (C(5), C(6)).

Analyse: C₁₄H₂₆O₂ [226,36 g/mol]

ber.: C: 74,29 H: 11,58

gef.: C: 74,01 H: 11,51

9.16 Synthese von 14-[(Methylsulfonyl)oxy]-9-tetradecinylmethansulfonat**41**



Durchführung: Zu einer Lsg. des Indioles **40** in abs. CH_2Cl_2 werden bei 0°C zuerst das Triethylamin und anschließend das Säurechlorid innerhalb von 5 min zugetropft. Die Mischung wird weitere 15 min bei 0°C und dann ü.N. bei RT gerührt. Nach Hydrolyse mit Wasser wird die org. Phase abgetrennt, über Na_2SO_4 getrocknet und nach dem Entfernen des Trockenmittels schließlich das Lsm. am Rotationsverdampfer abdestilliert.

Edukte:	Indiol 40 :	2,0 g (8,83 mmol)
	Methansulfonsäurechlorid:	2,22 g (19,4 mmol)
	Triethylamin:	1,78 g (17,6 mmol)
	abs CH_2Cl_2 :	20 ml

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Chromatographie: (PE/DE: 1 + 2).

Ausbeute: 3,21 g als braune Flüssigkeit (95 %)

Analytik:

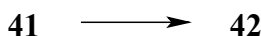
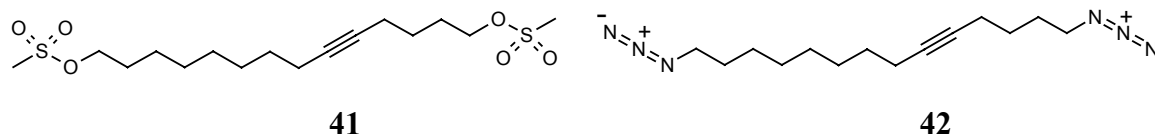
DC: (PE/DE: 1 + 2) $R_f = 0,29$

¹H-NMR: (300 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 1,32-1,47 (m, 10H, CH₂-(8), CH₂-(9), CH₂-(10), CH₂-(11), CH₂-(12)); 1,58-1,62 (m, 2H, CH₂-(3)); 1,75-1,77 (m, 2H, CH₂-(13)); 1,84-1,89 (m, 2H, CH₂-(2)); 2,11-2,14 (m, 2H, CH₂-(7)); 2,19-2,22 (m, 2H, CH₂-(4)); 3,00/3,01 (s, 6H, 2x OSO₂CH₃); 4,20-4,28 (m, 4H, CH₂-(1), CH₂-(14)).

¹³C-NMR: (50 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 18,12/18,59 (C(4), C(7)); 24,81(C(3)); 25,29 (C(12)); 28,13/28,61/28,83/28,87/29,03 (C(3), C(8), C(9), C(10), C(11), C(13)); 37,27-37,31 (2x OSO₂CH₃); 69,62/70,14 (C(1), C(14)); 78,93/81,04 (C(5), C(6)).

Analyse: C₁₆H₃₀O₆S₂ [382,5 g/mol]
ber.: C: 49,98 H: 7,82
gef.: C: 50,24 H: 7,90

9.17 Synthese von 1,14-Diazido-5-tetradecin **42**



Durchführung: Zu der in MeOH gelösten, dimesylierten Verbindung **41** wird das Natriumazid dazugegeben. Nach Rühren ü.N. bei RT wird das Reaktionsgemisch vollständig vom Lsm. befreit. Danach erfolgt die Aufnahme des verbleibenden Rückstands in Wasser mit anschließender erschöpfender Extraktion mit DE. Die vereinten org. Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und schließlich vom Lsm. befreit.

Edukte:	Alkin 41 :	12,5 g (32,6 mmol)
	Natriumazid:	5,51 g (84,7 mmol)
	MeOH:	150 ml

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Chromatographie: (PE/DE: 30 + 1).

Ausbeute: 5,9 g als gelbe Flüssigkeit (66 %)

Analytik:

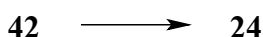
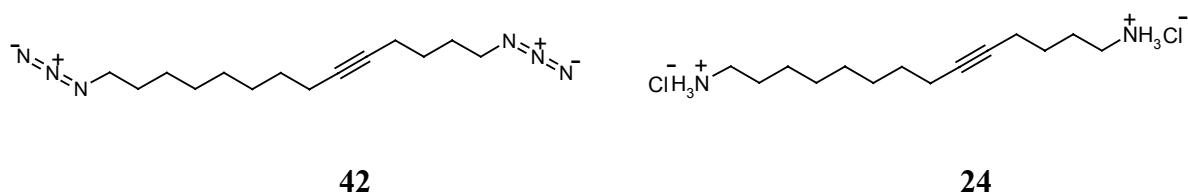
DC: (PE/DE: 30 + 1) R_f = 0,64

¹H-NMR: (300 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 1,32-1,71 (m, 14H, CH₂-(2), CH₂-(3), CH₂-(8), CH₂-(9), CH₂-(10), CH₂-(11), CH₂-(12), CH₂-(13)); 2,11-2,22 (m, 4H, CH₂-(4), CH₂-(7)); 3,23-3,31 (m, 4H, CH₂-(1), CH₂-(14)).

¹³C-NMR: (50 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 18,49/18,63 (C(4), C(7)); 26,08 (C(3)); 26,65 (C(12)); 27,91/28,71/28,80/28,97/29,02 (C(2), C(8), C(9), C(10), C(11), C(13)); 51,02/51,44 (C(1), C(14)); 79,20/80,92 (C(5), C(6)).

Analyse: C₁₄H₂₄N₆ [276,38 g/mol]
ber.: C: 60,84 H: 8,75 N: 30,40
gef.: C: 61,09 H: 8,86 N: 30,21

9.18 Synthese von (14-Ammonio-9-tetradecynyl)ammoniumdichlorid **24**



Durchführung: Zu einer Lsg. von wasserfreiem Zinnchlorid in 60 ml Acetonitril werden Thiophenol und Triethylamin vorgelegt. Nach langsamen Zutropfen des Azides **42** in 10 ml Acetonitril wird noch 1 h bei RT weiter gerührt. Danach werden zur Aufarbeitung 140 ml 2N NaOH und 140 ml CH₂Cl₂ hinzugefügt. Die wäßr. Phase wird zweimal mit jeweils 50 ml CH₂Cl₂ extrahiert. Die org. Phasen werden schließlich vereinigt, über Na₂SO₄ getrocknet und vom Lsm. befreit.

Edukte:	Azid 42 :	2,0 g (7,1 mmol)
	Zinn(II)-chlorid:	4,0 g (21,4 mmol)
	Thiophenol:	9,4 g (85,6 mmol)
	Triethylamin:	6,5 g (64,2 mmol)
	MeCN:	70 ml

Reinigung: Der ölige Rückstand wird in 5 ml einer mit HCl-Gas gesättigten methanolischen Lsg. aufgenommen und das Hydrochlorid durch Zugabe von 90 ml abs. DE ausgefällt. Nach Absaugen vom Lsm. wird der Rückstand im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: 1,33 g weißes Pulver (83 %)

Analytik:

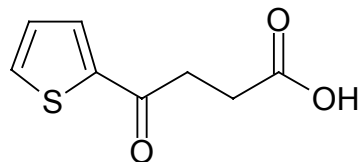
DC: (CH₂Cl₂/MeOH (NH₃ ges.): 10 + 1) R_f = 0,15

¹H-NMR: (200 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 1,27-1,69 (m, 16H, CH₂-(2), CH₂-(3), CH₂-(8), CH₂-(9), CH₂-(10), CH₂-(11), CH₂-(12), CH₂-(13)); 2,11-2,14 (m, 4H, CH₂-(4), CH₂-(7)); 2,70-2,77 (m, 4H, CH₁-(1), CH₂-(14)); 8,18 (s, 6H, 2x NH₃).

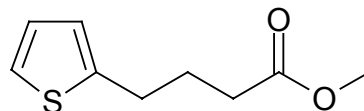
¹³C-NMR: (50 MHz; MeOD) δ (ppm) = 18,95/19,35 (C(4), C(7)); 26,99/27,41 (C(3),C(12)); 27,67/28,46/29,77/30,08/30,13 (C(2), C(8), C(9), C(10), C(11), C(13)); 40,39/40,74 (C(1), C(14)); 79,87/81,66 (C(5), C(6)).

Analyse: C₁₄H₃₀Cl₂N₂ [297,31 g/mol]
ber.: C: 56,55 H: 10,17 N: 9,42
gef.: C: 56,25 H: 9,97 N: 9,21

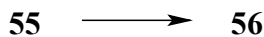
9.19 Synthese von Methyl-4-(2-thienyl)butanoat 56



55



56



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 2) für eine Wolff-Kishner-Reduktion. Auf die Aufreinigung des Rohgemisches wird verzichtet, woraufhin die Methylesterbildung nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift (AAV 1) erfolgt.

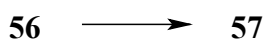
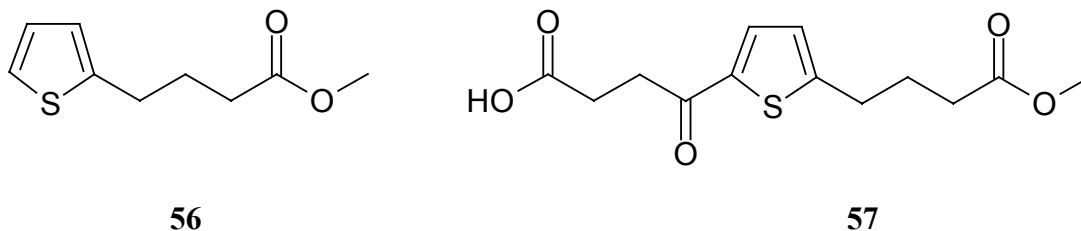
Edukte:	Carbonsäure 55 :	39,65 g (215 mmol)
	Hydrazinhydrat:	32,3 g (645 mmol)
	Kaliumhydroxid:	60,4 g (1,07 mol)
	Ethylenglykolmonoethylether:	400 ml
	Thionylchlorid:	28,16 g (237 mmol)
	MeOH:	400 ml

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Destillation:
(Sdp.: 67-70 °C/1,5 Torr).

Ausbeute: 37,7 g als klare Flüssigkeit (80 % über 2 Stufen)

Analytik:**DC:** (PE/DE: 15 + 1) $R_f = 0,37$ **$^1\text{H-NMR}$:** (300 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 2,01 (q, $^3J = 7,3$ Hz, 2H, CH_2 -(3)); 2,38 (t, $^3J = 7,5$ Hz, 2H, CH_2 -(2)), 2,85 (t, $^3J = 7,3$ Hz, 2H, CH_2 -(4)); 6,79-6,80 (m, 1H, CH_2 -(3`)); 6,90-6,92 (m, 1H, 1H-C(4`)); 7,11-7,13 (m, 1H, 1H-C(5`)). **$^{13}\text{C-NMR}$:** (50 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 26,77 (C(3)); 29,09 (C(4)); 33,10 (C(2)); 51,52 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{OCO}$); 123,21 (C(5`)); 124,51 (C(3`)); 126,75 (C(4`)); 144,03 (C(2`)); 173,67 (CH_3 - $\underline{\text{O}}\text{C}$).**Analyse:** $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_2\text{S}$ [184,25 g/mol]
ber.: C: 58,67 H: 6,56
gef.: C: 58,59 H: 6,75**Beilstein-Registry-Number:** 1241278**CAS-Registry-Number:** 20828-66-4

9.20 Synthese von 4-[5-(4-Methoxy-4-oxobutyl)-2-thienyl]-4-oxobutansäure **57**



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 3) für eine Friedel-Crafts-Acylierung.

Edukte:

Ester 56 :	16,0 g (87 mmol)
Bersteinsäureanhydrid:	8,7 g (87 mmol)
Aluminiumtrichlorid:	28,9 g (217 mmol)
1,2-Dichlorethan:	300 ml

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Chromatographie ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 20 + 1) und anschließendem Umkristallisieren aus DE/PE.

Ausbeute: 23,6 g als weißes Pulver (80 %)

Analytik:

Smp.: 78-79 °C

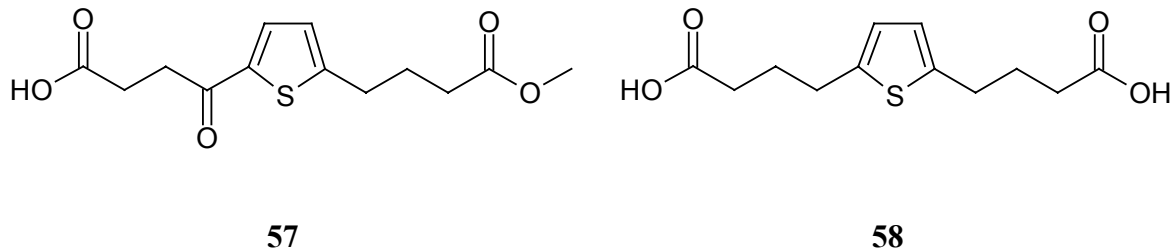
DC: ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 20 + 1) $R_f = 0,36$

$^1\text{H-NMR}$: (300 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 2,02 (q, $^3\text{J} = 7,4$ Hz, 2H, CH_2 -(3)); 2,38 (t, $^3\text{J} = 7,3$ Hz, 2H, CH_2 -(2)), 2,78 (t, $^3\text{J} = 6,6$ Hz, 2H, CH_2 -(2'')); 2,90 (t, $^3\text{J} = 7,5$ Hz, 2H, CH_2 -(4)); 3,20 (t, $^3\text{J} = 6,7$ Hz, 2H, CH_2 -(3'')); 6,84 (d, $^3\text{J} = 3,7$ Hz, 1H, 1H-C(4')); 7,59 (d, $^3\text{J} = 3,8$ Hz, 1H, 1H-C(3')).

$^{13}\text{C-NMR}$: (50 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 26,29 (C(3)); 28,02 (C(2')); 29,73 (C(4)); 32,91 (C(2)); 33,23 (C(3'')); 51,64 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{OCO}$); 126,06 (C(3')); 132,47 (C(4')); 141,25 (C(5')); 154,05 (C(2')); 173,42 ($\text{CH}_3\text{-O}\underline{\text{C}}\text{O}$); 178,27 ($\underline{\text{C}}\text{OOH}$); 190,38 (C=O).

Analyse: $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_5\text{S}$ [284,33 g/mol]
ber.: C: 54,92 H: 5,67
gef.: C: 54,90 H: 5,76

9.21 Synthese von 4-[5-(3-Carboxypropyl)-2-thienyl]butansäure **58**



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 2) für eine Wolff-Kishner-Reduktion.

Edukte:

Carbonsäure 57 :	19,0 g (70 mmol)
Hydrazinhydrat:	10,5 g (209 mmol)
Kaliumhydroxid:	19,55 g (348 mmol)
Ethylenglykolmonoethylether:	200 ml

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Umkristallisation aus Toluol.

Ausbeute: 14,22 g als weißes Pulver (77 %)

Analytik:

Smp.: 108-109 °C

DC: (CH₂Cl₂/MeOH: 20 + 1) R_f = 0,29

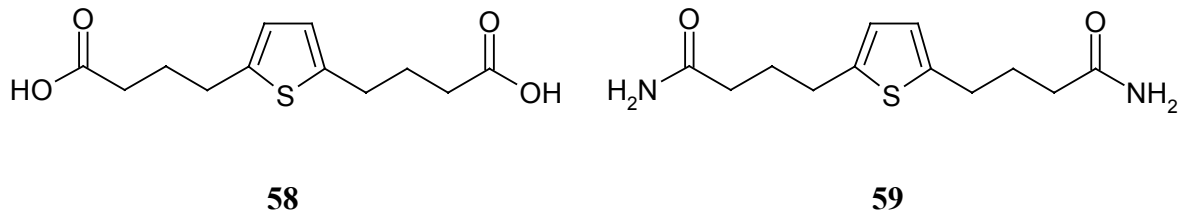
¹H-NMR: (300 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 1,77 (q, ³J = 7,4 Hz, 4H, CH₂-(3), CH₂-(3'')); 2,23 (t, ³J = 7,3 Hz, 4H, CH₂-(2), CH₂-(2'')); 2,71 (t, ³J = 7,6 Hz, 4H, CH₂-(4), CH₂-(4'')); 6,61 (s, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(4')); 12,06 (s, 2H, COOH).

¹³C-NMR: (50 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 26,55 (C(3), C(3')); 28,71 (C(4), C(4')); 32,82 (C(2), C(2')); 124,14 (C(3'), C(4')); 141,82 (C(2'), C(5')); 174,13 (2x COOH).

Analyse: C₁₂H₁₆O₄S [256,32 g/mol]
ber.: C: 56,23 H: 6,29
gef.: C: 56,45 H: 6,34

CAS-Registry-Number: 19983-53-0

9.22 Synthese von 4-[5-(Amino-4-oxobutyl)-2-thienyl]butanamid **59**



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 4) für die Bildung eines Amides aus einer Carbonsäure.

Edukte:

Dicarbonsäure 58 :	10,0 g (38 mmol)
Oxalylchlorid:	11,7 g (92 mmol)
abs. THF:	100 ml
NH ₃ (g)	

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Chromatographie in (CH₂Cl₂/MeOH: 5 + 1) mit anschließender Umkristallisation aus MeOH.

Ausbeute: 6,38 g als ockerfarbenes Pulver (65 %)

Analytik:

Smp.: 172-173 °C

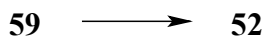
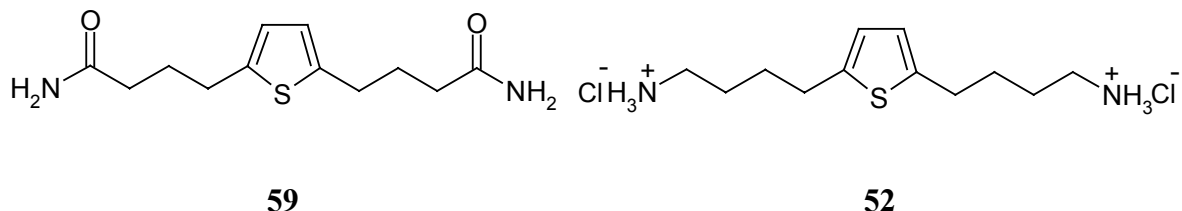
DC: (CH₂Cl₂/MeOH: 20 + 1) R_f = 0,31

¹H-NMR: (300 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 1,75 (q, ³J = 7,4 Hz, 4H, CH₂-(3), CH₂-(3'')); 2,07 (t, ³J = 7,4 Hz, 4H, CH₂-(2), CH₂-(2'')); 2,67 (t, ³J = 7,6 Hz, 4H, CH₂-(4), CH₂-(4'')); 6,59 (s, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(4')); 6,72/7,25 (2s, 4H, CONH₂).

¹³C-NMR: (50 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 27,06 (C(3), C(3')); 28,97 (C(4), C(4')); 34,25 (C(2), C(2')); 123,96 (C(3'), C(4')); 141,97 (C(2'), C(5')); 173,85 (2x CONH₂).

Analyse: C₁₂H₁₈N₂O₂S [254,35 g/mol]
ber.: C: 56,67 H: 7,13 N: 11,01
gef.: C: 56,69 H: 7,10 N: 11,17

9.23 Synthese von {4-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]butyl}- ammoniumdichlorid **52**



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 5) für die Reduktion eines Amides zum entsprechenden Amin.

Edukte:

Diamid 59 :	2,8 g (11 mmol)
LiAlH ₄ :	2,08 g (55 mmol)
abs. THF:	90 ml

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Fällung als Dihydrochlorid.

Ausbeute: 1,8 g als weißes Pulver (54 %)

Analytik:

Smp.: ≥ 285 °C unter Zersetzung

DC: (CH₂Cl₂/MeOH/Et₃N: 10 + 1 + 1) R_f = 0,19

¹H-NMR: (300 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 1,58-1,60 (m, 8H, CH₂-(1), CH₂-(4), CH₂-(1''), CH₂-(4'')); 2,69-2,76 (m, 8H, CH₂-(2), CH₂-(3), CH₂-(2''), CH₂-(3'')); 6,63 (s, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(4')); 8,01 (s, 6H, NH₃).

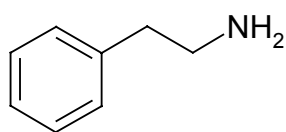
¹³C-NMR: (50 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 26,39 (C(3), C(3'')); 28,03 (C(2), C(2'')); 28,90 (C(4), C(4'')); 123,99/124,12 (C(3'), C(4')); 141,88/141,98 (C(2'), C(5')).

Analyse: C₁₂H₂₄Cl₂N₂S [299,30 g/mol]
ber.: C: 48,15 H: 8,08 N: 9,36
gef.: C: 48,32 H: 7,79 N: 9,13

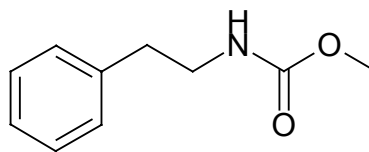
Beilstein-Registry-Number: 7890833

CAS-Registry-Number: 207908-55-2

9.24 Synthese von Methyl-*N*-phenethylcarbammat 99



98



99



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 6) für die Schützung eines Amines als Methylcarbammat.

Edukte:

Amin 98:	20 g (165 mmol)
Chlorameisensäuremethylester:	17,15 g (181,5 mmol)
1,4-Dioxan:	200 ml
2N NaOH:	124 ml (247,5 mmol)

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Destillation: (91-98 °C/2 Torr).

Ausbeute: 28,7 g als weiße Kristalle (97 %)

Analytik:

Smp.: 30-31 °C

DC: (PE/DE: 3 + 1) $R_f = 0,20$

$^1\text{H-NMR}$: (300 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 2,82 (t, $^3J = 6,9$ Hz, 2H, CH_2 -(2)); 3,42-3,49 (m, 2H, CH_2 -(1)); 3,67 (s, 3H, CH_3 -O); 4,69 (s, 1H, NH); 7,19-7,35 (m, 5H, Aromaten-H).

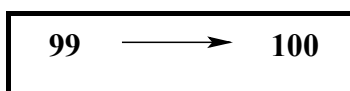
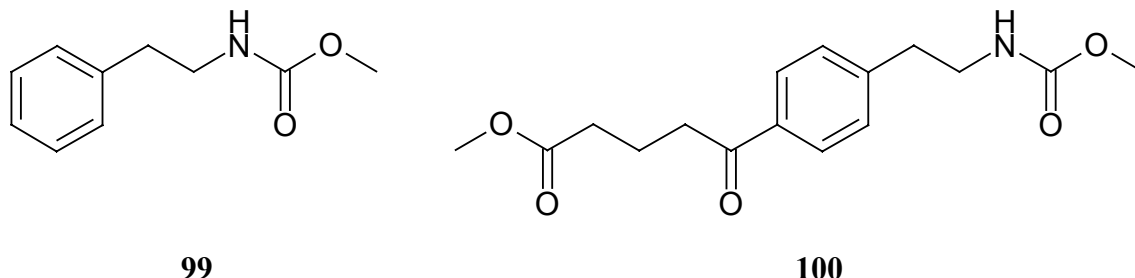
^{13}C -NMR: (50 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 36,15 (C(2)); 42,18 (C(1)); 52,02 (CH_3); 126,47 (C(4')); 128,59/128,74 (C(2'), C(3'), C(5'), C(6')); 138,72 (C(1')); 156,94 (NCOOCH_3).

Analyse: $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NO}_2$ [179,22 g/mol]
ber.: C: 67,02 H: 7,31 N: 7,81
gef.: C: 67,10 H: 7,28 N: 7,95

Beilstein-Registry-Number: 2102290

CAS-Registry-Number: 26011-68-7

9.25 Synthese von Methyl-5-(4-{2-[(methoxycarbonyl)amino]ethyl}-phenyl)-5-oxopentanoat 100



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 3) für eine Friedel-Crafts-Acylierung.

Edukte:	Methylcarbammat 99 :	5 g (27,9 mmol)
	Glutarsäure-	
	monomethylesterchlorid:	5,05 g (30,7 mmol)
	Aluminiumtrichlorid:	13,02 g (97,6 mmol)
	1,2-Dichlorethan:	80 ml

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Chromatographie: (PE/DE: 1 + 3).

Ausbeute: 6,26 g als weißes Pulver (73 %)

Analytik:

Smp.: 73-74 °C

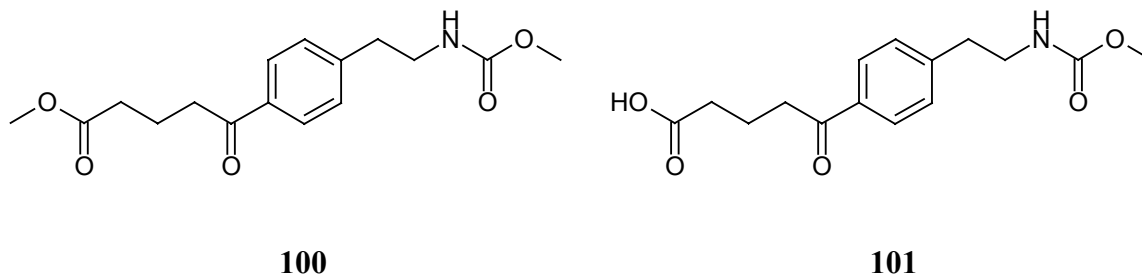
DC: (PE/DE: 1 + 5) $R_f = 0,39$

$^1\text{H-NMR}$: (300 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 2,08 (q, $^3\text{J} = 7,1$ Hz, $\text{CH}_2\text{-}(3'')$); 2,39-2,48 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-}(2'')$); 2,88 (t, $^3\text{J} = 6,9$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-}(2)$); 3,02-3,08 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-}(4'')$); 3,43-3,50 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-}(1)$); 3,67 (s, 3H, CH_3OCONH); 3,69 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{OC}(1'')\text{O}$); 4,71 (s, 1H, NH); 7,29 (d, $^3\text{J} = 8,3$ Hz, 2H, 1H-C($3'$), 1H-C($5'$)); 7,92 (d, $^3\text{J} = 8,2$ Hz, 2H, 1H-C($2'$), 1H-C($6'$)).

$^{13}\text{C-NMR}$: (50 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 19,31 (C($3''$)); 33,05 (C($2''$)); 36,15 (C(2)); 37,33 (C($4''$)); 41,81 (C(1)); 51,50 ($\text{CH}_3\text{OC}(1'')\text{O}$); 52,05 (CH_3OCONH); 128,36 (C($3'$), C($5'$)); 128,98 (C($2'$), C($6'$)); 135,23 (C($1'$)); 144,44 (C($4'$)); 156,88 (NCOOCH_3); 173,65 (CH_3OCO); 198,92 (C($5''$)O).

Analyse: $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_5$ [307,34 g/mol]
ber.: C: 62,52 H: 6,88 N: 4,55
gef.: C: 62,36 H: 6,91 N: 4,61

9.26 Synthese von Methyl-5-(4-{2-[(methoxycarbonyl)amino]ethyl}-phenyl)-5-oxopentansäure **101**



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 8) für die alkalische Verseifung eines Esters.

Edukte:

Methylester 100 :	3,5 g (11,4 mmol)
Lithiumhydroxid-monohydrat:	717 mg (17,1 mmol)
MeOH/H ₂ O (50+1):	40 ml

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Umkristallisation aus DE.

Ausbeute: 3,10 g als weißes Pulver (93 %)

Analytik:

Smp.: 113-115 °C

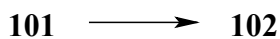
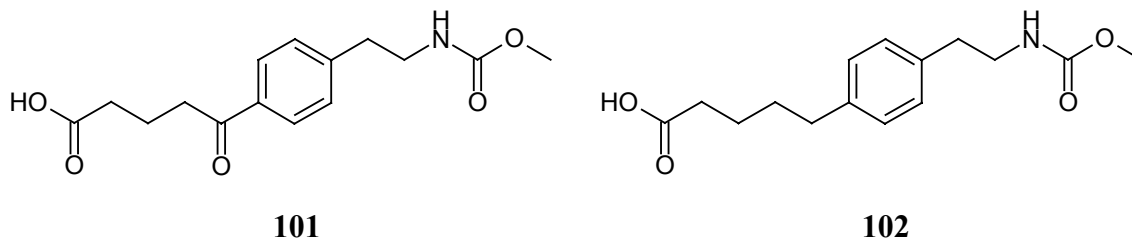
DC: (AcOEt/PE/AcOH: 1 + 1 + 1 %) $R_f = 0,22$

¹H-NMR: (300 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 2,08 (q, ³J = 7,0 Hz, 2H, CH₂-(3'')); 2,49 (t, ³J = 7,1 Hz, 2H, CH₂-(2'')); 2,88 (t, ³J = 6,7 Hz, 2H, CH₂-(2)); 3,06 (t, ³J = 7,1 Hz, 2H, CH₂-(4'')); 3,43-3,48 (m, 2H, CH₂-(1)); 3,67 (s, 3H, CH₃OC(=O)NH); 4,47 (s, 1H, NH); 7,29 (d, ³J = 9,0 Hz, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(5')); 7,91 (d, ³J = 8,1 Hz, 2H, 1H-C(2'), 1H-C(6')).

¹³C-NMR: (50 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 19,10 (C(3'')); 33,04 (C(2'')); 36,17 (C(2)); 37,28 (C(4'')); 41,83 (C(1)); 52,16 (CH₃O); 128,39 (C(3'), C(5')); 129,03 (C(2'), C(6')); 135,20 (C(1')); 144,50 (C(4'')); 157,04 (NCOOCH₃); 178,36 (COOH); 199,00 (C(5'')O).

Analyse: C₁₅H₁₉NO₅ [293,32 g/mol]
ber.: C: 61,42 H: 6,53 N: 4,77
gef.: C: 61,20 H: 6,47 N: 4,60

9.27 Synthese von 5-(4-{2[(methoxycarbonyl)amino]ethyl}phenyl)-pentansäure **102**



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 7) für eine saure Desoxygenierung.

Edukte:

Carbonsäure 101 :	16,6 g (56,6 mmol)
Trifluoressigsäure:	32,3 g (283 mmol)
Triethylsilan:	19,7 g (169,8 mmol)

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Chromatographie:
(AcOEt/PE/AcOH: 1 + 2 + 1 %).

Ausbeute: 12,3 g als gelbliches Pulver (78 %)

Analytik:

Smp.: 77-79 °C

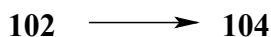
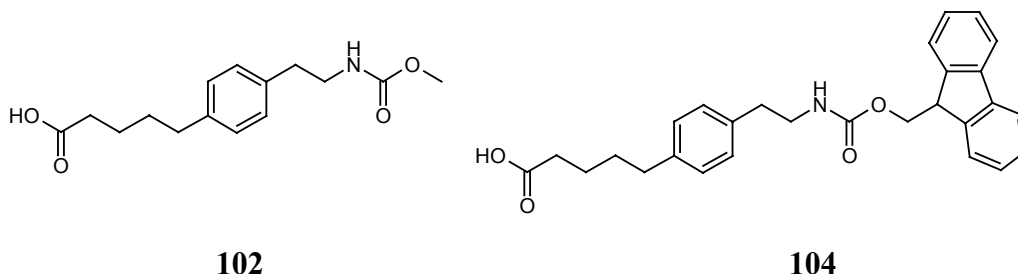
DC: (AcOEt/PE/AcOH: 1 + 1 + 1 %) $R_f = 0,41$

¹H-NMR: (300 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 1,67-,69 (m, 4H, CH₂-(3''), CH₂-(4'')); 2,38 (t, ³J = 6,7 Hz, 2H, CH₂-(2'')); 2,62 (t, ³J = 6,8 Hz, 2H, CH₂-(5'')); 2,78 (t, ³J = 6,8 Hz, 2H, CH₂-(2)); 3,40-3,44 (m, 2H, CH₂-(1)); 3,67 (s, 3H, CH₃O); 4,73 (s, 1H, NH); 7,11 (s, 4H, Aromaten-H).

¹³C-NMR: (50 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 24,27 (C(3'')); 30,72 (C(4'')); 33,83 (C(2'')); 35,06 (C(5'')); 35,67 (C(2)); 42,20 (C(1)); 52,05 (CH₃); 128,57/128,69 (C(2'), C(3'), C(5'), C(6')); 136,06 (C(1')); 140,18 (C(4')); 157,08 (NCOOCH₃); 179,08 (COOH).

Analyse: C₁₅H₂₁NO₄ [279,33 g/mol]
ber.: C: 64,49 H: 7,57 N: 5,01
gef.: C: 64,61 H: 7,44 N: 5,12

9.28 Synthese von 5-[4-(2-{[9H-9-Fluorenylmethoxy)carbonyl]amino}-ethyl)phenyl]pentansäure 104



Durchführung: Die allgemeine Arbeitsvorschrift für eine Wolff-Kishner-Reduktion (AAV 2) wird dahingehend modifiziert, daß nach destillativer Entfernung des Ethylenglykolmonoethylethers keine weitere Aufreinigung erfolgt. Diese Bedingungen generieren eine freie Aminofunktion, wobei die Umschützung in situ erfolgt. Zuerst nimmt man das Rohgemisch in 2N KOH auf. Danach erfolgt die Zugabe von 1,4-Dioxan. Fmoc-OSu, gelöst in 1,4-Dioxan, wird innerhalb einer Stunde bei RT zugetropft. Das Gemisch wird dann weiter bei RT ü.N gerührt. Zur Aufarbeitung entfernt man das 1,4-Dioxan am Rotationsverdampfer und verteilt den Rückstand unter Eiskühlung zwischen 1N HCl und AcOEt. Die wäbr. Phase wird nochmals mit AcOEt extrahiert und die vereinigten org. Phasen über Na₂SO₄ getrocknet. Anschließend entfernt man das Lsm. und reinigt den Rückstand durch Chromatographie.

Edukte:	Carbonsäure 102 :	12,4 g (44,4 mmol)
	Hydrazinhydrat:	6,8 g (213 mmol)
	Kaliumhydroxid:	7,47 g (133 mmol)
	Ethylenglykol- monoethylether	250 ml
	Fmoc-OSu:	14,97 g (44,4 mmol)
	H ₂ O:	60 ml
	1,4-Dioxan:	100 ml
Reinigung:	Die Aufreinigung erfolgte durch Chromatographie (CH ₂ Cl ₂ /MeOH: 40 + 1) mit anschließendem Umkristallisieren aus Toluol.	
Ausbeute:	11,4 g als weißes Pulver (58 % über 2 Stufen)	
Analytik:		
Smp.:	152-154 °C	
DC:	(AcOEt/PE/AcOH: 1 + 2 + 1 %) R _f = 0,26	
¹H-NMR:	(300 MHz; CDCl ₃) δ (ppm) = 1,65-1,68 (m, 4H, CH ₂ -(3''), CH ₂ -(4'')); 2,36 (t, ³ J = 10,2 Hz, 2H, CH ₂ -(2'')); 2,61 (s, 2H, CH ₂ -(5'')); 2,78 (t, ³ J = 10,2 Hz, 2H, CH ₂ -(2)); 3,99-3,45 (m, 2H, CH ₂ -(1)); 4,17-4,24 (m, 1H, 1H-(C9'')); 4,39-4,42 (m, 2H, CH ₂ -Fluorenyl); 4,82 (s, 1H, NH); 7,10 (s, 4H, 1H-C(2''), 1H-C(3''), 1H-C(5''), 1H-C(6'')); 7,30 (t, ³ J = 7,3 Hz, 2H, 1H-C(2''), 1H-C(7'')); 7,39 (t, ³ J = 7,3 Hz, 2H, 1H, 1H-C(3''), 1H-C(6'')); 7,55-7,57 (d, ³ J = 7,2 Hz, 2H, 1H-C(1''), 1H-C(8'')); 7,74-7,77 (d, ³ J = 7,4 Hz, 2H, 1H-C(4''), 1H-C(5'')).	
¹³C-NMR:	(50 MHz; CDCl ₃) δ (ppm) = 24,29 (C(3'')); 30,74 (C(4'')); 33,75 (C(2'')); 35,09 (C(5'')); 35,70 (C(2)); 42,25 (C(1)); 47,27 (C(9'')); 66, 55 (CH ₂ -Fluorenyl); 119,94 (C(4''), C(5'')), 125,00 (C(1'')),	

C(8''); 126,99 (C(2''), C(7'')); 127,64 (C(3''), 1C(6''));
128,59/128,76 (C(2'), C(3'), C(5'), C(6')); 136,09 (C(4a), C(4b));
140,21 (C(1')); 141,31 (C(4')); 143,93 (C(8a), C(9a)); 156,35
(NCOOCH₂-Fluorenyl); 178, 83 (COOH).

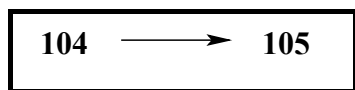
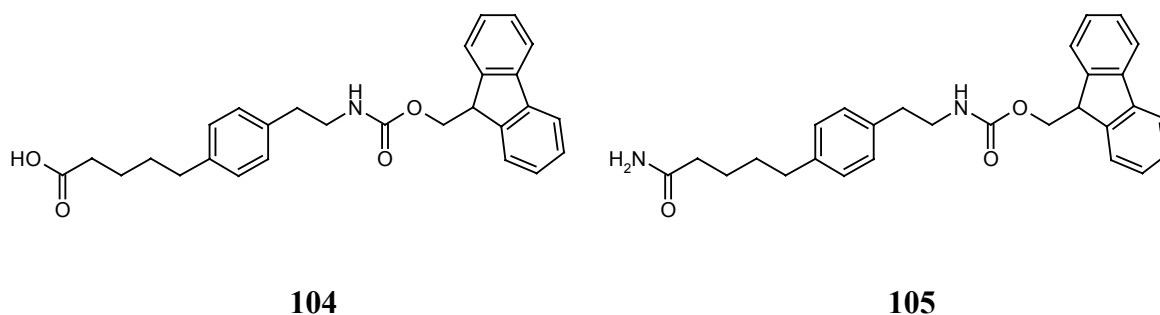
Analyse:

C₂₈H₂₉NO₄ [443,54 g/mol]

ber.: C: 75,82 H: 6,59 N: 3,16

gef.: C: 75,73 H: 6,53 N: 3,43

9.29 Synthese von 9H-9-Fluorenylmethyl N-[4-(5-amino-5-oxopentyl)-phenethyl]carbammat 105



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 4) für die Bildung eines Amides aus einer Carbonsäure.

Edukte:

Carbonsäure 104 :	2,9 g (6,5 mmol)
Oxalylchlorid:	995 mg (7,8 mmol)
abs. THF:	30 ml
NH ₃ (g)	

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Chromatographie (CH₂Cl₂/MeOH: 50 + 1) mit anschließender Umkristallisation aus MeOH.

Ausbeute: 2,2 g als weißes Pulver (76 %)

Analytik:

Smp.: 167-168 °C

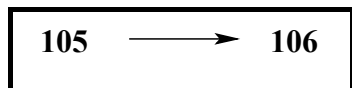
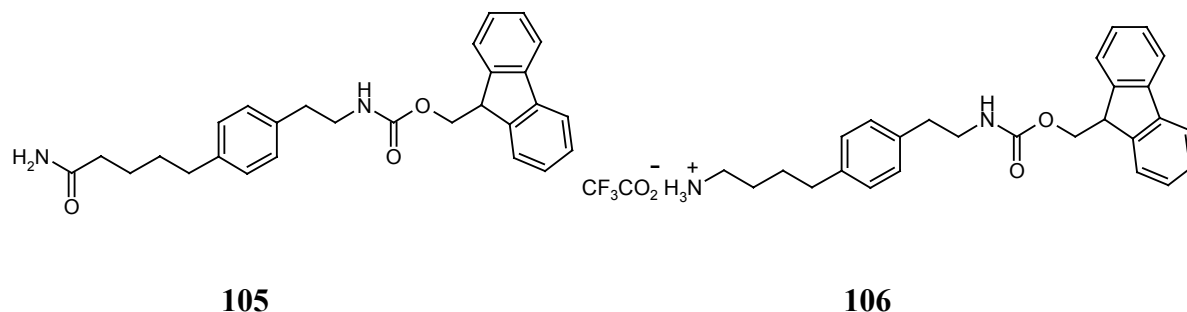
DC: (CH₂Cl₂/MeOH: 20 + 1) R_f = 0,40

¹H-NMR: (300 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 1,46-1,48 (m, 4H, CH₂-(3''), CH₂-(4'')); 2,03 (t, ³J = 7,3 Hz, 2H, CH₂-(2'')); 2,48-2,49 (m, 2H, CH₂-(5'')); 2,65 (t, ³J = 7,2 Hz, 2H, CH₂-(2)); 3,13-3,20 (m, 2H, CH₂-(1)); 4,15-4,20 (m, 1H, 1H-C(9''')); 4,26-4,29 (m, 2H, CH₂-Fluorenyl); 6,68 (s, 1H, CONH₂); 7,06 (s, 4H, 1H-C(2'), 1H-C(3'), 1H-C(5'), 1H-C(6')); 7,22 (s, 1H, CONH₂); 7,28-7,42 (m, 4H, 1H-C(2'''), 1H-C(3'''), 1H-C(6'''), 1H-C(7''')); 7,66 (d, ³J = 7,4 Hz, 2H, 1H-C(1'''), 1H-C(8''')); 7,87 (d, ³J = 7,4 Hz, 2H, 1H-C(4'''), 1H-C(5''')).

¹³C-NMR: (50 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 24,76 (C(3'')); 30,64 (C(4'')); 34,50 (C(2'')); 34,91 (C(2), C(5'')); 41,87 (C(1)); 46,75 (C(9''')); 65,17 (CH₂-Fluorenyl); 120,07 (C(4'''), C(5''')); 125,13 (C(1'''), C(8''')); 127,00 (C(2'''), C(7''')); 127,56 (C(3'''), C(6''')); 128,17/128,49 (C(2'), C(3'), C(5'), C(6')); 136,46 (C(4a), C(4b)); 139,75 (C(1')); 140,72 (C(4')); 143,89 (C(8a), C(9a)); 156,00 (NCOOCH₂-Fluorenyl); 174,28 (CONH₂).

Analyse: C₂₈H₃₀N₂O₃ [442,56 g/mol]
ber.: C: 75,99 H: 6,83 N: 6,33
gef.: C: 75,76 H: 6,85 N: 6,40

9.30 Synthese von 9*H*-9-Fluorenylmethyl *N*-[4-(4-ammoniobutyl)phenethyl]carbamat 2,2,2-trifluoracetat **106**



Durchführung: Zu einer Lsg. des Pentanamids **105** in Acetonitril/Wasser (3+1) gibt man bei RT II-bis[Trifluoracetoxy]-iodbenzol und erhitzt dann langsam auf 60 °C. Nach Erreichen der Temperatur erfolgt die Zugabe des Pyridins. Die leicht gelblich gefärbte Lsg. rührt man nun 4 h bei 60 °C. Zur Aufarbeitung wird das Acetonitril am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die org. Phasen werden vereinigt und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach dem Entfernen des Lsm. wird der verbleibende Rückstand einer Chromatographie unterworfen.

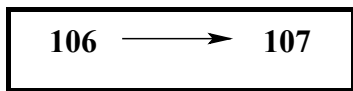
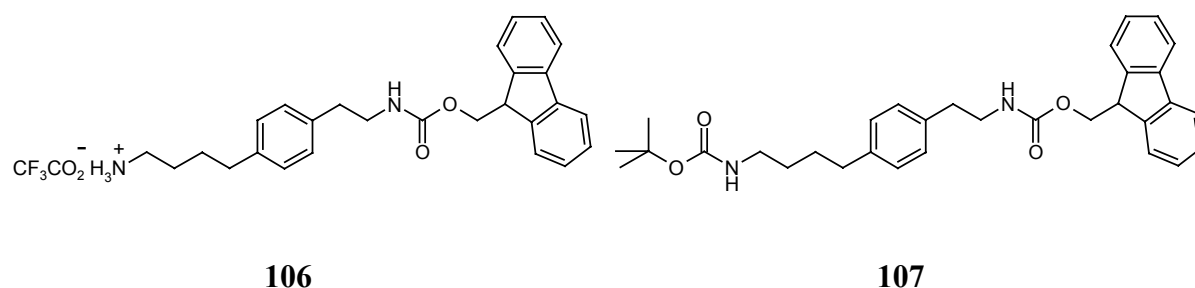
Edukte:	Amid 105 :	1,9 g (4,3 mmol)
	II-bis[Trifluoracetoxy]- iodbenzol:	2,40 g (5,6 mmol)
	Pyridin:	0,51 g (6,4 mmol)
	MeCN/H ₂ O (3+1):	100 ml

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Chromatographie (CH₂Cl₂/MeOH: 5 + 1) mit anschließender Umkristallisation aus MeOH.

Ausbeute: 1,2 g als weißes Pulver (53 %)

Analytik:**Smp.:** 81-84 °C**DC:** (CH₂Cl₂/MeOH: 5 + 1) R_f = 0,44**¹H-NMR:** (200 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 1,54 (s, 4H, CH₂-(2''), CH₂-(3'')); 2,49-2,52 (m, 2H, CH₂-(4'')); 2,66 (t, ³J = 7,7 Hz, 2H, CH₂-(2)); 2,77-2,80 (m, 2H, CH₂-(1'')); 3,16-3,19 (m, 2H, CH₂-(1)); 4,10-4,29 (m, 3H, 1H-C(9'''), CH₂-Fluorenyl); 7,09 (s, 4H, Aromaten-H); 7,27-7,46 (m, 4H, 1H-C(2'''), 1H-C(3'''), 1H-C(6'''), 1H-C(7''')); 7,66 (d, ³J = 7,3 Hz, 2H, 1H-C(1'''), 1H-C(8''')); 7,87 (d, ³J = 7,1 Hz, 2H, 1H-C(4'''), 1H-C(5''')).**¹³C-NMR:** (50 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 26,72 (C(2'')); 27,65 (C(3'')); 34,15 (C(4'')); 35,01 (C(2)); 38,45 (C(1'')); 41,93 (C(1)); 46,76 (C(9''')); 65,22 (CH₂-Fluorenyl); 120,11 (C(4'''), C(5''')); 125,16 (C(1'''), C(8''')); 127,04 (C(2'''), C(7''')); 127,60 (C(3'''), C(6''')); 128,26/128,55 (C(2'), C(3'), C(5'), C(6')); 136,68 (C(4a), C(4b)); 139,32 (C(1'')); 140,75 (C(4')); 143,91 (C(8a), C(9a)); 156,04 (NCOOCH₂-Fluorenyl).**Analyse:** C₂₉H₃₁F₃N₂O₄ [528,57 g/mol]**MS:** ESI⁺(M+1): [415,2386 g/mol]
Hochauflösende Masse des Amines entspricht.
(Abweichung: 2,03 ppm).

9.31 Synthese von 9H-9-Fluorenylmethyl N-[4-(*tert*-butoxycarbonyl-4-aminobutyl)phenethyl]carbammat **107**



Durchführung: Das Trifluoracetatsalz und Di-*tert*-Butyldicarbonat werden in 1,4-Dioxan vorgelegt. 1N NaOH wird innerhalb von 5 min bei RT zugegeben. Das Gemisch wird nun weitere 2 h bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wird das überschüssige 1,4-Dioxan am Rotationsverdampfer entfernt, der entstandene Rückstand zwischen CH₂Cl₂ und H₂O verteilt und mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinten org. Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, vom Lsm. befreit und durch Chromatographie (PE/DE: 1+1) gereinigt.

Edukte:	Trifluoracetat 106 :	138 mg (0,26 mmol)
	Di- <i>tert</i> -Butyldicarbonat:	171 mg (783 mmol)
	1N NaOH:	26 mg (0,65 mmol)
	1,4-Dioxan:	2 ml

Ausbeute: 117 mg als weißes Pulver (87 %)

Analytik:

Smp.: 153-155 °C

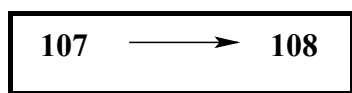
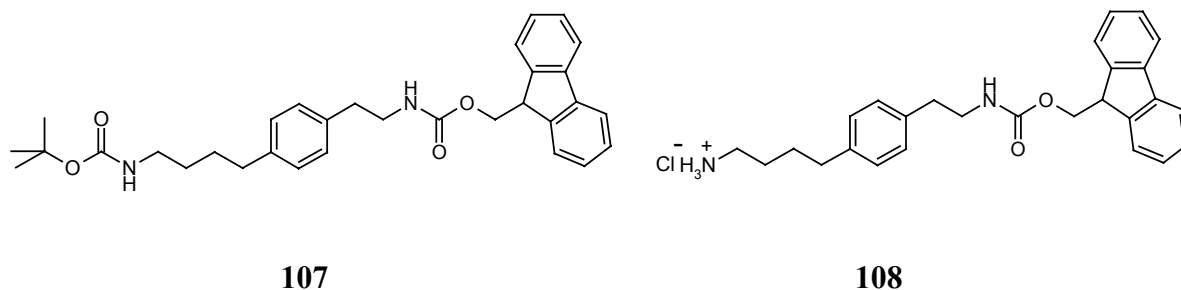
DC: (PE/DE: 1 + 1) $R_f = 0,19$

$^1\text{H-NMR}$: (200 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm) = 1,35-1,48 (m, 13H, 9H-((CH₃)₃C-O), CH₂-(2''), CH₂-(3'')); 2,49 (m, 2H, CH₂-(4'')); 2,65 (t, $^3J = 7,2$ Hz, 2H, CH₂-(2)); 2,88-2,91 (m, 2H, CH₂-(1'')); 3,15-3,18 (m, 2H, CH₂-(1)); 4,18-4,29 (m, 3H, 1H-C(9''), CH₂-Fluorenyl); 7,06 (s, 4H, Aromaten-H); 7,27-7,44 (m, 4H, 1H-C(2''), 1H-C(3''), 1H-C(6''), 1H-C(7'')); 7,66 (d, $^3J = 7,0$ Hz, 2H, 1H-C(1''), 1H-C(8'')); 7,87 (d, $^3J = 7,2$ Hz, 2H, 1H-C(4''), 1H-C(5'')).

$^{13}\text{C-NMR}$: (50 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm) = 28,41 ((CH₃)₃C-O); 28,55 (C(2'')); 29,69 (C(3'')); 35,07 (C(4'')); 35,72 (C(2)); 40,43 (C(1'')); 42,26 (C(1)); 47,30 (C(9'')); 66,53 (CH₂-Fluorenyl); 77,20 (((CH₃)₃C-O)); 119,95 (C(4''), C(5'')); 125,01 (C(1''), C(8'')); 127,00 (C(2''), C(7'')); 127,65 (C(3''), C(6'')); 128,62/128,76 (C(2'), C(3'), C(5'), C(6')); 136,10 (C(4a), C(4b)); 140,41 (C(1')); 141,31 (C(4')); 143,97 (C(8a), C(9a)); 155,95/156,28 (NHCOO).

Analyse: C₃₂H₃₈N₂O₄ [514,67 g/mol]

9.32 Synthese von 9H-9-Fluorenylmethyl-N-[4-(4-ammoniobutyl)-phenethyl]carbamatchlorid **108**



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 9) für eine BOC-Schutzgruppenabspaltung.

Edukte: Dicarbamat **107**: 800 mg (1,55 mmol)
AcOEt/HCl(konz.) (4+1): 10 ml

Ausbeute: 580 mg als weißes Pulver (83 %)

Analytik:

Smp.: $\geq 179^{\circ}\text{C}$ unter Zersetzung

DC: ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{Et}_3\text{N}$: 20 + 1 + 1) $R_f = 0,18$

$^1\text{H-NMR}$: (200 MHz; DMSO-d_6) δ (ppm) = 1,54 (s, 4H, CH_2 -(2''), CH_2 -(3'')); 2,49 (m, 2H, CH_2 -(4'')); 2,62-2,72 (m, 4H, CH_2 -(2), 2H, CH_2 -(1'')); 3,15-3,18 (m, 2H, CH_2 -(1)); 4,18-4,29 (m, 3H, CH_2 -(9'')), CH_2 -Fluorenyl); 7,09 (s, 4H, Aromaten-H); 7,27-7,44 (m, 4H, 1H-C(2''), 1H-C(3''), 1H-C(6''), 1H-C(7'')); 7,66 (d, $^3J = 6,9$ Hz, 2H, 1H-

C(1''), 1H-C(8'')); 7,88 (d, $^3J = 7,2$ Hz, 2H, 1H-C(4''), 1H-C(5'')).

$^{13}\text{C-NMR}$: (50 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm) = 26,58 (C(2'')); 27,68 (C(3'')); 34,14 (C(4'')); 34,97 (C(2)); 38,40 (C(1')); 41,89 (C(1)); 46,71 (C(9'')); 65,15 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$ -Fluorenyl); 120,09 (C(4''), C(5'')); 125,12 (C(1''), C(8'')); 127,01 (C(2''), C(7'')); 127,57 (C(3''), C(6'')); 128,24/128,53 (C(2'), C(3'), C(5'), C(6')); 136,64 (C(4a), C(4b)); 139,30 (C(1')); 140,70 (C(4')); 143,88 (C(8a), C(9a)); 155,98 ($\underline{\text{N}}\underline{\text{C}}\text{OOCH}_2$ -Fluorenyl).

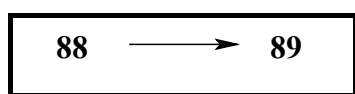
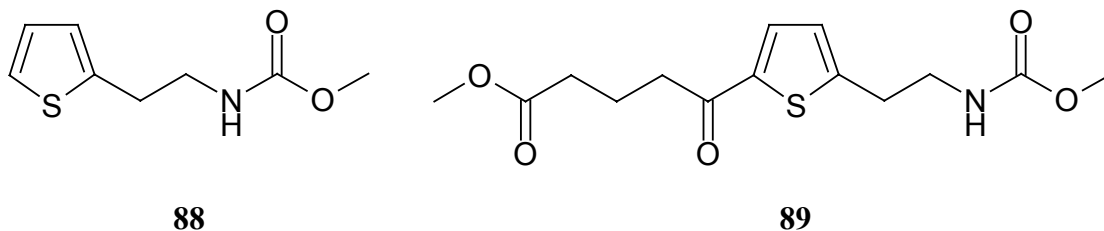
Analyse: $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{ClN}_2\text{O}_2$ [450,0 g/mol]

MS: ESI $^+$ (M+1): [415,2386 g/mol]

Hochauflösende Masse des Amines entspricht.

(Abweichung: 1,55 ppm).

9.33 Synthese von Methyl 5-(5-{2-[(methoxycarbonyl)amino]ethyl}-2-thienyl)-5-oxopentanoat **89**



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 3) für eine Friedel-Crafts-Acylierung.

Edukte:	Methylcarbammat 88 :	8,8 g (47,5 mmol)
	Glutarsäure-	
	monomethylesterchlorid:	8,6 g (52,2 mmol)
	Aluminiumtrichlorid:	22,2 g (166 mmol)
	1,2-Dichlorethan:	150 ml

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Chromatographie: (PE/DE: 1 + 5).

Ausbeute: 12,0 g als weißes Pulver (81 %)

Analytik:

Smp.: 60-61 °C

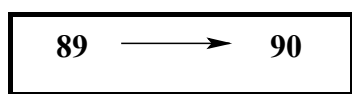
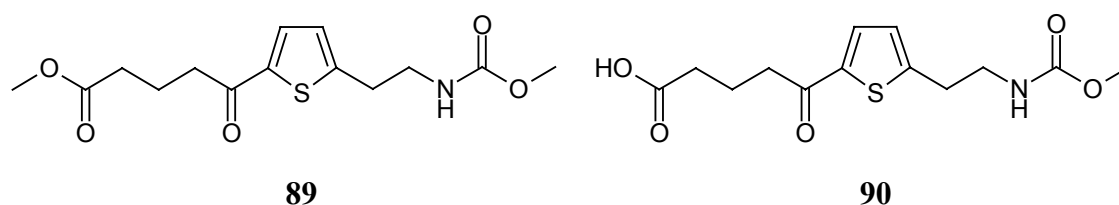
DC: (PE/DE: 1 + 5) $R_f = 0,27$

$^1\text{H-NMR}$: (300 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 2,04 (q, $^3\text{J} = 7,1$ Hz, 2H, CH_2 -(3'')); 2,42 (t, $^3\text{J} = 7,1$ Hz, 2H, CH_2 -(2'')); 2,92 (t, $^3\text{J} = 7,2$ Hz, 2H, CH_2 -(4'')); 3,04 (t, $^3\text{J} = 6,5$ Hz, 2H, CH_2 -(2)); 3,45-3,47 (m, 2H, CH_2 -(1)); 3,66/3,67 (2s, 6H, 2x CH_3O); 6,85 (d, $^3\text{J} = 3,7$ Hz, 1H, 1H-C(3')); 7,56 (d, $^3\text{J} = 3,74$, 1H, 1H-C(4')).

$^{13}\text{C-NMR}$: (50 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 19,69 (C(3'')); 31,06 (C(2)); 32,98 (C(2'')); 37,67 (C(4'')); 41,93 (C(1)); 51,49 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{OCO}$); 52,11 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{OCONH}$); 126,69 (C(3')); 132,27 (C(4')); 142,59 (C(1')); 150,73 (C(5')); 156,83 ($\text{NH}\underline{\text{C}}\text{OOCH}_3$); 173,52 ($\underline{\text{C}}\text{OOCH}_3$); 192,00 (C(5'')O).

Analyse: $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_4\text{S}$ [313,37 g/mol]
ber.: C: 53,66 H: 6,11 N: 4,47
gef.: C: 53,80 H: 6,21 N: 4,52

9.34 Synthese von 5-({2-[(Methoxycarbonyl)amino]ethyl}-2-thienyl)-5-oxopentansäure **90**



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 8) für die alkalische Verseifung eines Esters.

Edukte:

Methylester 89 :	5,0 g (16 mmol)
Lithiumhydroxidmonohydrat:	1,0 g (24 mmol)
MeOH/H ₂ O (50+1):	60 ml

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Chromatographie:
(CH₂Cl₂/MeOH: 20 + 1).

Ausbeute: 4,5 g als gelbliches Pulver (95 %)

Analytik:

Smp.: 103-108 °C

DC: (CH₂Cl₂/MeOH: 20 + 1) R_f = 0,15

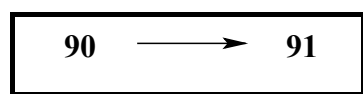
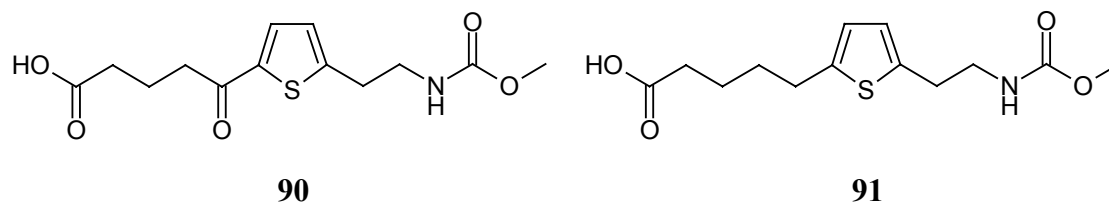
¹H-NMR: (300 MHz; MeOD) δ (ppm) = 1,97 (q, ³J = 7,2 Hz, 2H, CH₂-(3'')); 2,39 (t, ³J = 7,3 Hz, 2H, CH₂-(2'')); 2,96-3,06 (m, 4H, CH₂-(4''));

6,96 (d, $^3J = 3,8$ Hz, 1H, 1H-C(3'')); 7,73 (d, $^3J = 3,8$ Hz, 1H, 1H-C(4')).

^{13}C -NMR: (50 MHz; MeOD) δ (ppm) = 21,15 (C(3'')); 31,75 (C(2)); 33,93 (C(2'')); 38,62 (C(4'')); 42,94 (C(1)); 52,48 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{OCONH}$); 128,11 (C(3'')); 134,41 (C(4'')); 143,52 (C(5'')); 159,46 (C(2'')); 159,54 ($\text{CH}_3\text{O}\underline{\text{C}}\text{ONH}$); 176,87 (COOH); 194,63 (C(5'')O).

Analyse: $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_5\text{S}$ [299,34 g/mol]
ber.: C: 52,16 H: 5,72 N: 4,68
gef.: C: 52,23 H: 5,63 N: 4,67

9.35 Synthese von 5-(2-[(Methoxycarbonyl)amino]ethyl)-2-thienyl)-pentansäure **91**



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 7) für eine saure Desoxygenierung.

Edukte:

Carbonsäure 90 :	15,0 g (5 mmol)
Trifluoressigsäure:	28,5 g (250 mmol)
Triethylsilan:	17,4 g (150 mmol)

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Chromatographie (CH₂Cl₂/MeOH: 20 + 1) mit anschließender Umkristallisation aus DE.

Ausbeute: 14,3 g als weißes Pulver (81 %)

Analytik:

Smp.: 62-64 °C

DC: (CH₂Cl₂/MeOH: 20 + 1) R_f = 0,30

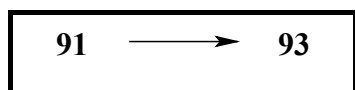
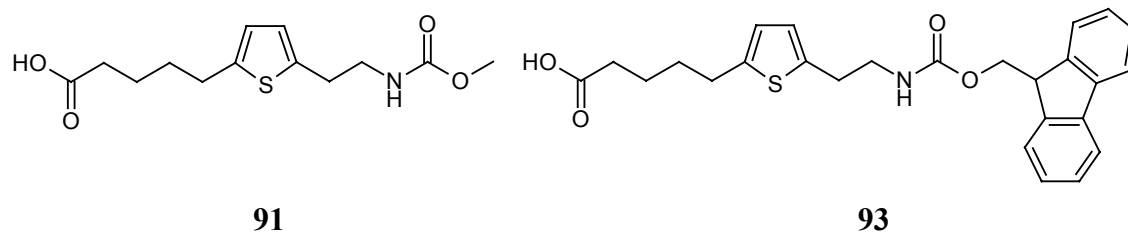
¹H-NMR: (300 MHz; MeOD) δ (ppm) = 1,63-1,65 (m, 4H, CH₂-(3''), CH₂-(4'')); 2,29 (t, ³J = 6,8 Hz, 2H, CH₂-(2'')); 2,75 (t, ³J = 6,5 Hz, 2H,

CH₂-(5'')); 2,88 (t, ³J = 7,2 Hz, 2H, CH₂-(2)); 3,26-3,30 (m, 2H, CH₂-(1)); 3,60 (s, 3H, CH₃); 6,57-6,61 (m, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(4')).

¹³C-NMR: (50 MHz; MeOD) δ (ppm) = 25,43 (C(3'')); 30,62 (C(5'')); 31,31 (C(2)); 32,26 (C(4'')); 34,60 (C(2'')); 43,52 (C(1)); 52,42 (CH₃); 125,02 (C(4')); 125,81 (C(3')); 140,22 (C(5')); 144,54 (C(2')); 159,47 (NHCOOCH₃); 177,38 (COOH).

Analyse: C₁₃H₁₉NO₄S [285,36 g/mol]
ber.: C: 54,72 H: 6,71 N: 4,90
gef.: C: 54,86 H: 6,73 N: 4,97

9.36 Synthese von 5-[5-(2-{{(9H-9-Fluorenyl)ethoxy}amino)ethyl-2-thienyl]pentansäure 93

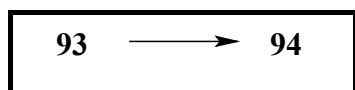
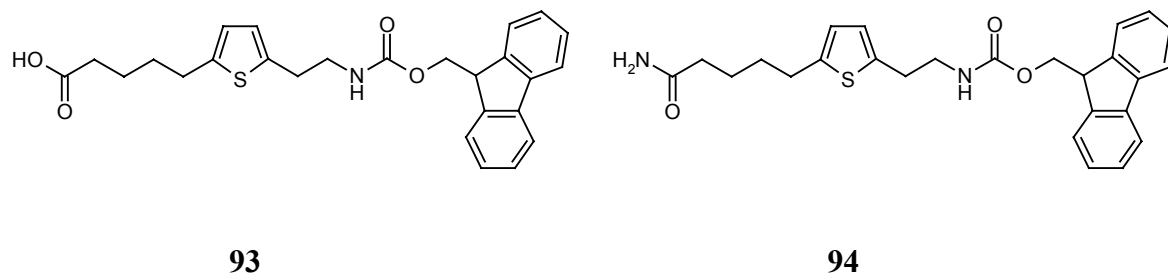


Durchführung: Die allgemeine Arbeitsvorschrift für eine Wolff-Kishner-Reduktion (AAV 2) wird dahingehend modifiziert, daß nach destillativer Entfernung des Ethylenglykolmonoethylethers keine weitere Aufreinigung erfolgt. Diese Bedingungen generieren eine freie Aminofunktion, wobei die Umschützung in situ vorgenommen wird. Zuerst nimmt man das Rohgemisch in 2N KOH auf. Danach erfolgt die Zugabe von 1,4-Dioxan. Fmoc-OSu, gelöst in 1,4-Dioxan, wird innerhalb einer Stunde bei RT zugetropft. Das Gemisch wird dann weiter bei RT ü.N gerührt. Zur Aufarbeitung entfernt man das 1,4-Dioxan am Rotationsverdampfer und verteilt den Rückstand unter Eiskühlung zwischen 1N HCl und AcOEt. Die wäßr. Phase wird nochmals mit AcOEt extrahiert und die vereinigten org. Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet. Anschließend entfernt man das Lsm. und reinigt den Rückstand durch Chromatographie.

Edukte:	Carbonsäure 91 :	10,0 g (35 mmol)
	Hydrazinhydrat:	7,0 g (175 mmol)
	Kaliumhydroxid:	5,9 g (105 mmol)
	Ethylenglykol- monoethylether:	250 ml
	Fmoc-OSu:	13,0 g (38,5 mmol)
	H ₂ O:	50 ml
	1,4-Dioxan:	90 ml

- Reinigung:** Die Aufreinigung erfolgte durch Chromatographie (CH₂Cl₂/MeOH: 20 + 1) und anschließender Umkristallisation aus DE.
- Ausbeute:** 6,77 g als weißes Pulver (43 %)
- Analytik:**
- Smp.:** 97-99 °C
- DC:** (PE/AcOEt/AcOH: 1 + 1 + 1 %) R_f = 0,35
- ¹H-NMR:** (300 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 1,70 (m, 4H, CH₂-(3''), CH₂-(4'')); 2,36 (s, 2H, CH₂-(2'')); 2,77 (s, 2H, CH₂-(5'')); 2,95 (t, ³J = 6,4 Hz, 2H, CH₂-(2)); 3,41-3,47 (m, 2H, CH₂-(1)); 4,19-4,24 (m, 1H, 1H-C(9''')); 4,39-4,48 (m, 2H, CH₂-Fluorenyl); 4,93 (s, 1H, NH); 6,60 (s, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(4')); 7,30 (t, ³J = 7,3 Hz, 2H, 1H-C(2'''), 1H-C(7''')); 7,40 (t, ³J = 7,2 Hz, 2H, 1H-C(3'''), 1H-C(6''')); 7,58 (d, ³J = 7,4 Hz, 2H, 1H-C(1'''), 1H-C(8''')); 7,76 (d, ³J = 7,5 Hz, 2H, 1H-C(4'''), 1H-C(5''')).
- ¹³C-NMR:** (50 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 24,07 (C(3'')); 29,74 (C(5'')); 30,55 (C(2)); 30,91 (C(4'')); 33,68 (C(2'')); 42,33 (C(1)); 47,25 (C(9''')); 66,66 (CH₂-Fluorenyl); 119,98 (C(4'''), C(5''')); 124,08/125,05 (C(3'), C(4'), C(1'''), C(8''')); 127,03 (C(2'''), C(7''')); 127,68 (C(3'''), C(6''')); 138,74 (C(4a), C(4b)); 141,32 (C(5'')); 143,59 (C(8a), C(9a)); 143,92 (C(2'')); 156,33 (NHCOOCH₂-Fluorenyl); 179,00 (COOH).
- Analyse:** C₂₆H₂₇NO₄S [449,56 g/mol]
ber.: C: 69,46 H: 6,05 N: 3,11
gef.: C: 69,70 H: 6,03 N: 3,28

9.37 Synthese von 9*H*-9-Fluorenylmethyl *N*-{2-[5-(5-amino-5-oxo-pentyl)-2-thienyl]ethyl}carbammat **94**



Durchführung: In einem Einhalskolben werden die Carbonsäure **93**, NHS und DCC in abs. THF bei 0 °C 1 h gerührt. Nach Zugabe der wäbr. NH₄HCO₃-Lsg. entfernt man die Eiskühlung und rührt solange weiter, bis das Gemisch wieder RT angenommen hat (~4,5-5 h). Anschließend wird das THF am Rotationsverdampfer entfernt und extrahiert mit AcOEt. Die vereinten org. Phasen werden daraufhin sukzessive mit 1N HCl und ges. NaHCO₃-Lsg. gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und schließlich vom Lsm. befreit. Der verbleibende Rückstand wird einer Chromatographie unterworfen.

Edukte:	Carbonsäure 93 :	1,0 g (2,2 mmol)
	NHS:	256 mg (2,2 mmol)
	DCC:	688 mg (3,3 mmol)
	abs. THF:	10 ml
	NH ₄ HCO ₃ -Lsg. (ges.):	10 ml

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Chromatographie: (CH₂Cl₂/MeOH: 20 + 1).

Ausbeute: 660 mg als weißes Pulver (66 %)

Analytik:

Smp.: 145-146 °C

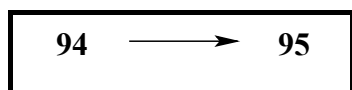
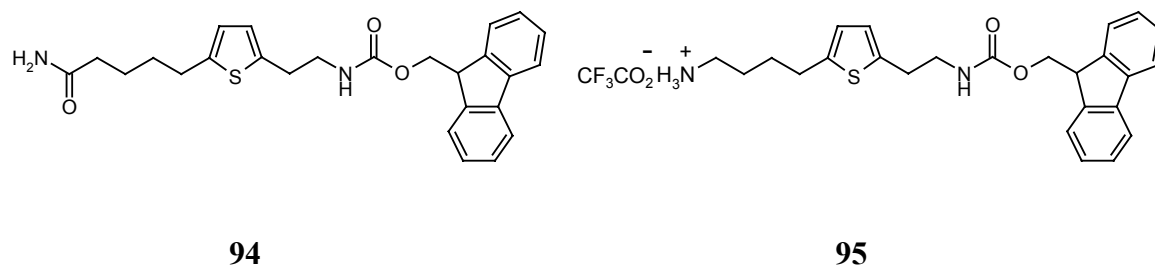
DC: (AcOEt/PE: 10 + 1) $R_f = 0,25$

$^1\text{H-NMR}$: (300 MHz; MeOD) δ (ppm) = 1,64-1,72 (m, 4H, CH_2 -(3''), CH_2 -(4'')); 2,22 (t, $^3J = 6,8$ Hz, 2H, CH_2 -(2'')); 2,78 (s, 2H, CH_2 -(5'')); 2,95 (t, $^3J = 6,4$ Hz, 2H, CH_2 -(2)); 3,41-3,45 (m, 2H, CH_2 -(1)); 4,20-4,24 (m, 1H, 1H-C(9''')); 4,39-4,41 (m, 2H, CH_2 -Fluorenyl); 4,99 (s, 1H, NHCOOCH_2 -Fluorenyl); 5,40 (s, 2H, NH_2); 6,60 (s, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(4')); 7,31 (t, $^3J = 7,1$ Hz, 2H, 1H-C(2''), 1H-C(7'')); 7,40 (t, $^3J = 7,3$ Hz, 2H, 1H-C(3'''), 1H-C(6''')); 7,59 (d, $^3J = 7,3$ Hz, 2H, 1H-C(1'''), 1H-C(8''')); 7,77 (d, $^3J = 7,5$ Hz, 2H, 1H-C(4'''), 1H-C(5''')).

$^{13}\text{C-NMR}$: (50 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm) = 24,56 (C(3'')); 29,64 (C(5'')); 30,47 (C(2)); 30,80 (C(4'')); 33,48 (C(2'')); 42,73 (C(1)); 47,76 (C(9''')); 65,23 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$ -Fluorenyl); 120,01 (C(4'''), C(5''')); 124,19/125,08 (C(3'), C(4'), C(1'''), C(8''')); 127,12 (C(2''), C(7'')); 127,54 (C(3'''), C(6''')); 138,34 (C(4a), C(4b)); 140,82 (C(5')); 143,51 (C(8a), C(9a)); 143,81 (C(2')); 156,35 (NHCOOCH_2 -Fluorenyl); 174,13 (CONH₂).

Analyse: $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ [448,58 g/mol]
ber.: C: 69,62 H: 6,29 N: 6,24
gef.: C: 69,87 H: 6,42 N: 6,44

9.38 Synthese von 9*H*-9-Fluorenylmethyl *N*-{2-[5-(4-ammoniobutyl)-2-thienyl]ethyl}carbammat 2,2,2-trifluoracetat **95**



Durchführung: Zu einer Lsg. des Pentanamids **94** in Acetonitril/Wasser (3+1) gibt man bei RT II-bis[Trifluoracetoxy]-iodbenzol und erhitzt dann langsam auf 60 °C. Nach Erreichen der Temperatur erfolgt die Zugabe des Pyridins. Die leicht gelblich gefärbte Lsg. wird nun 4 h bei 60 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wird das Acetonitril am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die org. Phasen werden vereinigt und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach dem Entfernen des Lsm. wird der verbleibende Rückstand einer Chromatographie unterworfen.

Edukte:	Amid 94 :	6,0 g (13,3 mmol)
	II-bis[Trifluoracetoxy]- iodbenzol:	7,47 g (17,4 mmol)
	Pyridin:	2,1 g (26,7 mmol)
	MeCN/H ₂ O (3+1):	300 ml

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Chromatographie (CH₂Cl₂/MeOH: 5 + 1) mit anschließendem Umkristallisieren aus CH₂Cl₂/DE.

Ausbeute: 3,44 g als ockerfarbenes Pulver (48 %)

Analytik:

Smp.: 91-93 °C

DC: (CH₂Cl₂/MeOH: 10 + 1) R_f = 0,24

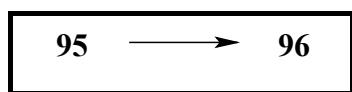
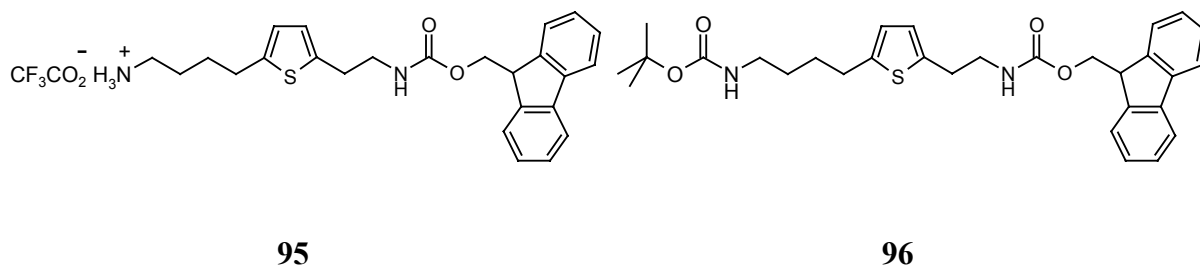
¹H-NMR: (300 MHz; MeOD) δ (ppm) = 1,65 (s, 4H, CH₂-(2''), CH₂-(3'')); 2,72 (s, 2H, CH₂-(4'')); 2,78-2,91 (m, 4H, CH₂-(2''), CH₂-(1'')); 3,37-,39 (m, 2H, CH₂-(1)); 4,16-4,20 (m, 1H, 1H-C(9''')); 4,35-4,37 (m, 2H, CH₂-Fluorenyl); 5,01 (s, 1H, NHCOOCH₂-Fluorenyl); 6,54 (s, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(4')); 7,28 (t, ³J = 7,2 Hz, 2H, 1H-C(2'''), 1H-C(7''')); 7,38 (t, ³J = 7,3 Hz, 1H-C(3'''), 1H-C(6''')); 7,55 (d, ³J = 7,4 Hz, 2H, 1H-C(1'''), 1H-C(8''')); 7,74 (d, ³J = 7,4 Hz, 2H, 1H-C(4'''), 1H-C(5''')), 7,93 (s, 3H, NH₃).

¹³C-NMR: (50 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 26,55 (C(2'')); 27,91 (C(3'')); 28,81 (C(4'')); 29,78 (C(2)); 38,58 (C(1')); 41,91 (C(1)); 46,73 (C(9''')); 65,28 (CH₂-Fluorenyl); 120,02/120,12 (C(4'''), C(5''')); 124,17/124,70 (C(3'), C(4')); 125,15 (C(1'''), C(8''')); 127,28 (C(2'''), C(7''')); 127,60 (C(3'''), 1C(6''')); 138,98 (C(4a), C(4b)); 140,75 (C(5')); 142,31 (C(8a), C(9a)); 143,98 (C(2'')); 156,04 (NCOOCH₂-Fluorenyl).

Analyse: C₂₇H₂₉F₃N₂O₄S [534,60 g/mol]
ber.: C: 60,66 H: 5,47 N: 5,24
gef.: C: 60,39 H: 5,52 N: 5,16

MS: ESI⁺(M+1): [421,3 g/mol]
ESI(M-1): [112,7 g/mol]

9.39 Synthese von 9*H*-9-Fluorenylmethyl *N*-{2-[5-(*tert*-butoxy-carbonyl)-4-aminobutyl]-2-thienyl}ethyl}carbammat **96**



Durchführung: Das Trifluoracetatsalz **95** und das Di-*tert*-Butyldicarbonat werden in 1,4-Dioxan vorgelegt. Dazu wird nun innerhalb von 5 min 1N NaOH bei RT zugegeben wobei das Gemisch noch weitere 2 h bei RT gerührt wird. Zur Aufarbeitung wird das überschüssige 1,4-Dioxan am Rotationsverdampfer entfernt, der entstehende Rückstand zwischen CH₂Cl₂ und H₂O verteilt und mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinten org. Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, vom Lsm. befreit und durch Chromatographie (PE/E:1+1) gereinigt.

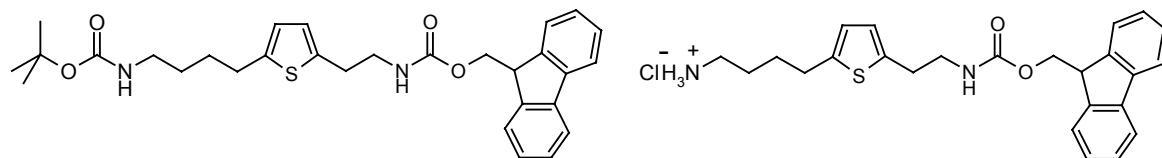
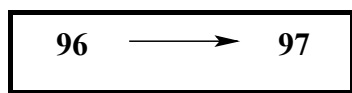
Edukte:	Trifluoracetat 95 :	3,0 g (5,6 mmol)
	Di- <i>tert</i> -Butyldicarbonat:	3,7 g (16,8 mmol)
	1N NaOH:	561 mg (14 mmol)
	1,4-Dioxan:	15 ml

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Chromatographie (PE/DE: 1+ 1) mit anschließendem Umkristallisieren aus DE/PE.

Ausbeute: 1,8 g als weißes Pulver (62 %)

Analytik:**Smp.:** 124-127 °C**DC:** (PE/DE: 1 + 1) $R_f = 0,32$ **$^1\text{H-NMR}$:** (300 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 1,44 (s, 9H, 9H-((CH_3) $_3$ C-O)); 1,51-1,72 (m, 4H, CH_2 -(2''), CH_2 -(3'')); 2,78 (t, $^3J = 7,3$ Hz, 2H, CH_2 -(4'')); 2,96 (t, $^3J = 6,4$ Hz, 2H, CH_2 -(2)); 3,12-3,16 (m, 2H, CH_2 -(1'')); 3,42-3,49 (m, 2H, CH_2 -(1)); 4,22-4,25 (m, 1H, 1H-(9''')); 4,39-4,41 (m, 2H, CH_2 -Fluorenyl); 4,80 (s, 1H, NH-Boc); 4,95 (s, 1H, NH-Fmoc); 6,60 (s, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(4')); 7,31 (t, $^3J = 7,1$ Hz, 2H, 1H-C(2''), 1H-C(7''')); 7,43 (t, $^3J = 7,3$ Hz, 2H, 1H-C(3''), 1H-C(6'')); 7,59 (d, $^3J = 7,3$ Hz, 2H, 1H-C(1'''), 1H-C(8''')); 7,77 (d, $^3J = 7,4$ Hz, 2H, 1H-C(4'''), 1H-C(5''')). **$^{13}\text{C-NMR}$:** (50 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 28,39 ((CH_3) $_3$ C-O); 28,73 (C(3'')); 29,47 (C(2)); 29,69 (C(4'')); 30,55 (C(2)); 40,28 (C(1'')); 42,31 (C(1)); 66,61 (CH_2 -Fluorenyl); 79,10 ((CH_3) $_3$ C-O); 119,94 (C(4''), C(5'')); 124,00/125,03 (C(3'), C(4'), C(1'''), C(8''')); 126,99 (C(2''), C(7'')); 127,64 (C(3''), C(6'')); 138,70 (C(4a), C(4b)); 141,29 (C(5')); 143,77 (C(8a), C(9a)); 143,94 (C(2'')); 155,94/156,24 (NHCOO).**Analyse:** $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ [520,70 g/mol]
ber.: C: 69,20 H: 6,97 N: 5,37
gef.: C: 69,10 H: 6,85 N: 5,39

9.40 Synthese von 9*H*-9-Fluorenylmethyl *N*-{2-[5-(4-ammoniobutyl)-2-thienyl]ethyl}carbammat chlorid **97**

**96****97**

Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 9) für eine Boc-Schutzgruppenabspaltung.

Edukte: Dicarbammat **96**: 550 mg (1,05 mmol)
AcOEt/HCl (konz.) (4+1): 10 ml

Ausbeute: 382 mg als weißes Pulver (79 %)

Analytik:

Smp.: 140-141 °C

DC: (CH₂Cl₂/MeOH/Et₃N: 20 + 1 + 1) R_f = 0,19

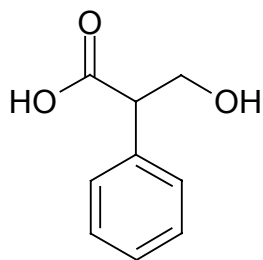
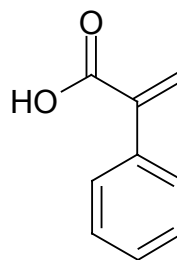
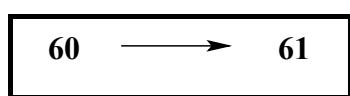
¹H-NMR: (200 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 1,58 (s, 4H, CH₂-(2''), CH₂-(3'')); 2,70 (m, 6H, CH₂-(2), CH₂-(1''), CH₂-(4'')); 3,13-3,20 (m, 2H, CH₂-(1)); 4,19-4,30 (m, 3H, 1H-C(9'''), CH₂-Fluorenyl); 6,64 (s, 2H, 1H-C(3''), 1H-C(4'')); 7,27-7,46 (m, 4H, 1H-C(2'''), 1H-C(3'''), 1H-C(6'''), 1H-C(7''')); 7,67 (d, ³J = 7,0 Hz, 2H, 1H-C(1'''), 1H-

C(8''); 7,88 (d, $^3J = 7,3$ Hz, 2H, 1H-C(4''), 1H-C(5'')); 8,02 (s, 3H, NH₃).

¹³C-NMR: (50 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 26,41 (C(2'')); 27,96 (C(3'')); 28,83 (C(4'')); 29,75 (C(2)); 38,40 (C(1')); 41,89 (C(1)); 46,72 (C(9'')); 65,26 (CH₂-Fluorenyl); 120,12 (C(4''), C(5'')); 124,15/124,69/125,14 (C(3'), C(4'), C(1''), C(8'')); 127,02 (C(2''), C(7'')); 127,59 (C(3''), C(6'')); 138,96 (C(4a), C(4b)); 140,72 (C(5')); 142,32 (C(8a), C(9a)); 143,88 (C(2')); 156,01 (NCOOCH₂-Fluorenyl).

Analyse: C₂₅H₂₉ClN₂O₂S x H₂O [466,04 g/mol]
ber.: C: 64,18 H: 6,51 N: 5,99
gef.: C: 64,21 H: 6,37 N: 5,96

9.41 Synthese von 2-Phenylacrylsäure **61**

**60****61**

Durchführung: Das Gemisch, bestehend aus Tropasäure **60** und der wäbr. KOH-Lsg., wird für 1 h zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Lsg. mit DE gewaschen. Danach wird die wäbr. Phase mit 1N HCl angesäuert und mit DE erschöpfend extrahiert. Die org. Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und schließlich i.V. vom Lsm. befreit. Der erhaltene Rückstand wird durch Umkristallisation aufgereinigt.

Edukte:

<i>DL</i> -3-Hydroxy-2-phenylpropionsäure 60 :	9,5 g (57,2 mmol)
KOH-Lsg. (50 % wäbr.):	60 ml

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Umkristallisation aus Ethanol.

Ausbeute: 5,9 g als weißes Pulver (70 %)

Analytik:

Smp.: 103-105 °C

DC: (PE/AcOEt/AcOH: 1 + 4 + 1Vol %) R_f = 0,68

¹H-NMR: (300 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 5,94 (d, ²J = 1,0 Hz, 1H, 1H-C(3)); 6,21 (d, ²J = 0,96 Hz, 1H, 1H-C(3)); 7,22-7,42 (m, 5H, Aromaten-H); 12,81 (s, 1H, COOH).

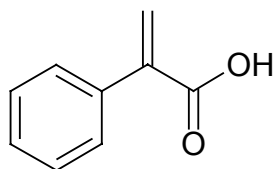
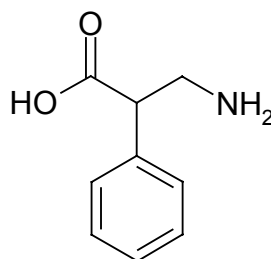
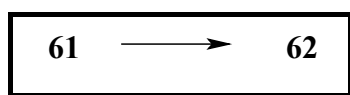
¹³C-NMR: (50 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 128,16/128,48 (C(2'), C(3')), C(5'), C(6')); 128,38 (C(3)); 129,50 (C(4')); 136,11 (C(1')); 140,67 (C(2)); 172,37 (C=O).

Analyse: C₉H₈O₂ [148,16 g/mol]
ber.: C: 72,96 H: 5,44
gef.: C: 72,70 H: 5,54

Beilstein-Registry-Number: 1906418

CAS-Registry-Number: 492-38-6

9.42 Synthese von *DL*-3-Amino-2-phenyl-propionsäure **62**

**61****62**

Durchführung: Hydroxylaminhydrochlorid wird in 6 ml H₂O gelöst und zu einer NaOEt-Lsg. (0,67 M) gegeben. Anschließend wird die Säure **61** hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wird nun für 2 h zum Sieden erhitzt. Danach kühlt man auf -10 °C ab. Der sich ü.N. bildende Feststoff wird abgesaugt und i. V. getrocknet.

Edukte:	2-Phenylacrylsäure 61 :	5,7 g (38,4 mmol)
	Hydroxylaminhydrochlorid:	6g (86,4 mmol)
	Natriumethanolat in Ethanol (21 %):	6,05 g (89 mmol)
	abs. Ethanol:	100 ml
	H ₂ O:	6 ml

Ausbeute: 1,51 g als weißes Pulver (24 %)

Analytik:

Smp.: 117 °C

$^1\text{H-NMR}$: (300 MHz; D_2O) δ (ppm) = 3,12-3,19 (m, 1H, 1H-C(3)); 3,30-3,37 (m, 1H, 1H-C(3)); 3,66 (t, $^3\text{J} = 7,5$ Hz, 2H, CH_2 -(2)); 7,19-7,34 (m, 5H, Aromaten-H).

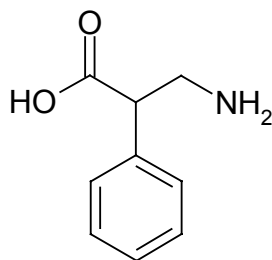
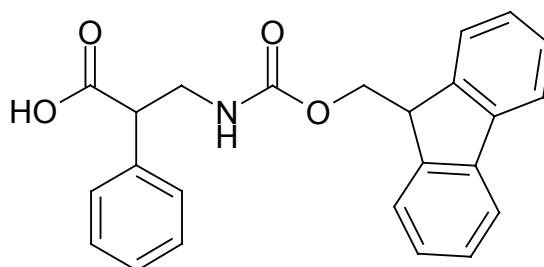
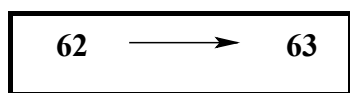
$^{13}\text{C-NMR}$: (50 MHz; D_2O) δ (ppm) = 44,94 (C(3)); 53,97 (C(2)); 130,59/130,79/131,89/139,84 (Aromaten-C); 180,86 (COOH).

Analyse: $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2$ [165,19 g/mol]

Beilstein-Registry-Number: 2803707

CAS-Registry-Number: 4370-95-0

9.43 Synthese von *DL*-3-[[*(9H*-9-Fluorenylmethoxy)carbonyl]amino]-2-phenylpropansäure **63**

**62****63**

Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 10) für die Fmoc-Schätzung von Aminosäuren.

Edukte:

3-Amino-2-phenylpropionsäure 62 :	1,0 g (6,05 mmol)
Fmoc-OSu:	2,45 g (7,3 mmol)
Aceton:	73 ml
Na ₂ CO ₃ -Lsg. (0,15 M):	121 ml (18,15 mmol)

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Umkristallisation aus AcOEt/PE.

Ausbeute: 1,1 g als weißes Pulver (48 %)

Analytik:

Smp.: 187 °C

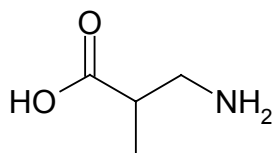
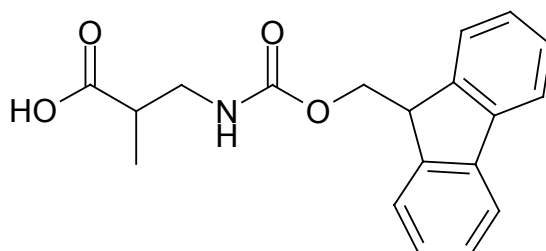
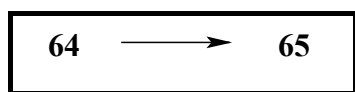
DC: (PE/AcOEt/AcOH: 1 + 4 + 1 %) $R_f = 0,69$

$^1\text{H-NMR}$: (200 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm) = 3,21-3,62 (m, 2H, CH_2 -(3)); 3,78 (t, $^3J = 7,4$ Hz, 1H, 1H-C(2)); 4,16-4,23 (m, 3H, 1H-C(9'')), $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ -Fluorenyl); 7,27-7,47 (m, 9H, 1H-C(2''), 1H-C(3''), 1H-C(4''), 1H-C(5''), 1H-C(6''), 1H-C(2'''), 1H-C(3'''), 1H-C(6'''), 1H-C(7'')); 7,63 (d, $^3J = 7,2$ Hz, 2H, 1H-C(1''), 1H-C(8'')); 7,87 (d, $^3J = 7,3$ Hz, 2H, 1H-C(4''), 1H-C(5'')); 12,52 (1H, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$: (50 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm) = 43,27 (C(3)); 46,66 (C(9'')); 50,76 (C(2)); 65,38 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$ -Fluorenyl); 120,08 (C(4''), C(5'')); 125,20 (C(1''), C(8'')); 127,03 (C(2''), C(7'')); 127,24 (C(4'')); 127,59 (C(3''), C(6'')); 127,97 (C(2''), C(6'')); 128,53 (C(3''), C(5'')); 137,29 (C(1'')); 140,69 (C(4a), C(4b)); 143,83 (C(8a), C(9a)); 156,08 ($\underline{\text{N}}\text{COO-CH}_2$ -Fluorenyl); 173,42 (COOH).

Analyse : $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{NO}_4 \times 0,3 \text{ H}_2\text{O}$ [392,8 g/mol]
ber.: C: 73,17 H: 5,54 N: 3,56
gef.: C: 73,37 H: 5,54 N: 3,57

9.44 Synthese von *DL*-3-[[*(9H*-9-Fluorenylmethoxy)carbonyl]amino]-2-methylpropansäure **65**

**64****65**

Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 10) für die Fmoc-Schützung von Aminosäuren.

Edukte:

<i>DL</i> -3-Aminoisobuttersäure 64 :	1,0 g (8,25 mmol)
Fmoc-OSu:	3,34 g (8,85 mmol)
Aceton:	100 ml
Na ₂ CO ₃ -Lsg. (0,15 M):	165 ml (24,7 mmol)

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Umkristallisation aus AcOEt/PE.

Ausbeute: 2,0 g als weißes Pulver (75 %)

Analytik:

Smp.: 167-168 °C

DC: (PE/AcOEt/AcOH: 1 + 4 + 1 %) R_f = 0,63

¹H-NMR : (300 MHz; DMSO) δ (ppm) = 1,03 (d, $^3J = 7,0$ Hz, 3H, CH₃); 2,93-3,02 (m, 1H, 1H-C(2)); 3,18-3,32 (m, 2H, CH₂-(3)); 4,17-4,33 (m, 3H, 1H-C(9'')), CH₂-Fluorenyl); 7,28-7,33 (m, 3H, 1H-C(2'')), 1H-C(7''), NHCOOCH₂-Fluorenyl); 7,40 (t, $^3J = 7,2$ Hz, 2H, 1H-C(3''), 1H-C(6'')); 7,68 (d, $^3J = 7,4$ Hz, 2H, 1H-C(1''), 1H-C(8'')); 7,87 (d, $^3J = 7,4$ Hz, 2H, 1H-C(4''), 1H-C(5'')); 12,19 (s, 1H, COOH).

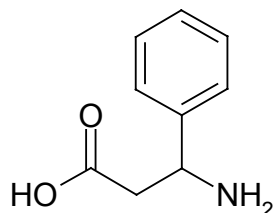
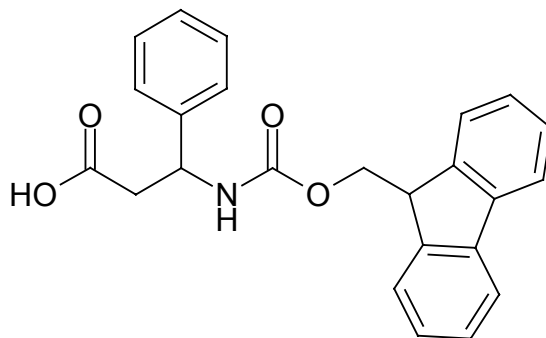
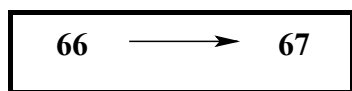
¹³C-NMR: (50 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 14,63 (CH₃) 39,30 (C(2)); 43,30 (C(3)); 46,76 (C(9'')), 65,38 (CH₂-Fluorenyl); 120,11 (C(4''), C(5'')); 125,22 (C(1''), C(8'')); 127,06 (C(2''), C(7'')); 127,62 (C(3''), C(6'')); 140,75 (C(4a), C(4b)); 143,91 (C(8a), C(9a)); 156,23 (NCOO-CH₂-Fluorenyl); 175,93 (COOH).

Analyse: C₁₉H₁₉NO₄ [325,37 g/mol]
ber.: C: 70,13 H: 5,88 N: 4,30
gef.: C: 69,87 H: 5,84 N: 4,19

Beilstein-Registry-Number: 7827140

CAS-Registry-Number: 186320-19-4

9.45 Synthese von *DL*-3-[[*(9H*-9-Fluorenylmethoxy)carbonyl]amino]-3-phenylpropansäure **67**

**66****67**

Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 10) für die Fmoc-Schützung von Aminosäuren.

Edukte:

<i>DL</i> -3-Amino-3-phenylpropionsäure 66 :	2,0 g (12,1 mmol)
Fmoc-OSu:	4,9 g (14,5 mmol)
Aceton:	145 ml
Na ₂ CO ₃ -Lsg. (0,15 M):	242 ml (36,3 mmol)

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Umkristallisation aus AcOEt/PE.

Ausbeute: 2,3 g als weißes Pulver (50 %)

Analytik:

Smp.: 196-197 °C

DC: (PE/AcOEt/AcOH: 1 + 4 + 1 %) $R_f = 0,63$

$^1\text{H-NMR}$: (300 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm) = 2,63-2,69 (m, 2H, CH_2 -(2)); 4,17-4,27 (m, 3H, 1H-C(9'')), CH_2 -Fluorenyl); 4,91-4,93 (m, 1H, 1H-C(3)); 7,21-7,40 (m, 9H, 1H-C(2''), 1H-C(3''), 1H-C(4''), 1H-C(5''), 1H-C(6''), 1H-C(2'''), 1H-C(3'''), 1H-C(6'''), 1H-C(7''')); 7,65 (d, $^3J = 7,3$ Hz, 2H, 1H-C(1''), 1H-C(8'')); 7,86 (d, $^3J = 7,4$ Hz, 2H, 1H-C(4''), 1H-C(5'')).

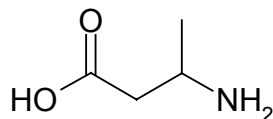
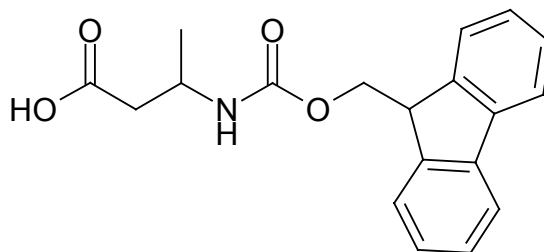
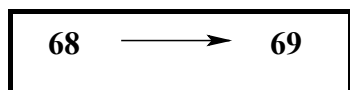
$^{13}\text{C-NMR}$: (50 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm) = 41,14 (C(2)); 46,68 (C(9'')); 51,65 (C(3)); 65,33 (CH_2 -Fluorenyl); 120,08 (C(4''), C(5'')); 125,11 (C(1''), C(8'')); 126,32 (C(2''), C(7'')); 126,96 (C(4'')); 127,02 (C(3''), C(6'')); 127,58 (C(2''), C(6'')); 128,26 (C(3''), C(5'')); 140,69 (C(1''), C(4a), C(4b)); 143,71 (C(8a), C(9a)); 155,31 (NCOO- CH_2 -Fluorenyl); 171,76 (COOH).

Analyse: $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{NO}_4$ [387,44 g/mol]
ber.: C: 74,40 H: 5,46 N: 3,61
gef.: C: 74,30 H: 5,84 N: 3,56

Beilstein-Registry-Number: 8935128

CAS-Registry-Number: 180181-93-5

9.46 Synthese von *DL*-3-[[*(9H*-9-Fluorenylmethoxy)carbonyl] amino]-3-methylpropansäure **69**

**68****69**

Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 10) für die Fmoc-Schätzung von Aminosäuren.

Edukte:

<i>DL</i> -3-Aminobuttersäure 68 :	2,0 g (19,4 mmol)
Fmoc-OSu:	7,85 g (23,3 mmol)
Aceton:	230 ml
Na ₂ CO ₃ -Lsg. (0,15 M):	388 ml (58,2 mmol)

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Umkristallisation aus AcOEt/PE.

Ausbeute: 3,8 g als weißes Pulver (61 %)

Analytik:

Smp.: 164-165 °C

DC: (PE/AcOEt/AcOH: 1 + 4 + 1 %) R_f = 0,69

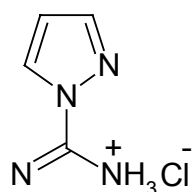
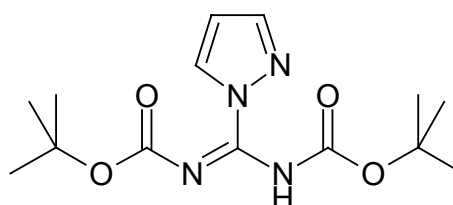
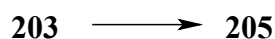
¹H-NMR: (300 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 1,06 (d, ³J = 7,0 Hz, 3H, CH₃); 2,38-2,44 (m, 2H, CH₂-(2)); 3,78-3,85 (m, 1H, 1H-C(3)); 4,19-4,28 (m, 3H, 1H-C(9'')), CH₂-Fluorenyl); 7,25-7,33 (m, 3H, 1H-C(2'')), 1H-C(7'')), NHCOOCH₂-Fluorenyl); 7,40 (t, ³J = 7,2 Hz, 2H, 1H-C(3'')), 1H-C(6'')); 7,67 (d, ³J = 7,3 Hz, 2H, 1H-C(1'')), 1H-C(8'')); 7,87 (d, ³J = 7,4 Hz, 2H, 1H-C(4'')), 1H-C(5'')); 12,17 (s, 1H, COOH).

¹³C-NMR: (50 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 20,48 (CH₃) 40,83 (C(2)); 43,78 (C(3)); 46,75 (C(9'')), 65,16 (CH₂-Fluorenyl); 120,11 (C(4'')), C(5'')); 125,15 (C(1'')), C(8'')); 127,05 (C(2'')), C(7'')); 127,59 (C(3'')), C(6'')); 140,69 (C(4a), C(4b)); 143,87/143,95 (C(8a), C(9a)); 155,22 (NCOO-CH₂-Fluorenyl); 172,40 (COOH).

Analyse: C₁₉H₁₉NO₄ [325,37 g/mol]
ber.: C: 70,13 H: 5,88 N: 4,30
gef.: C: 70,08 H: 5,86 N: 4,25

CAS-Registry-Number: 186320-18-3

9.47 Synthese von 1*H*-Pyrazol-1-[*N,N'*-bis(*tert*-butoxycarbonyl)]carboxamidin **205**

**203****205**

Durchführung: Di-*tert*-Butyldicarbonat wird in abs. THF gelöst und mit LiH (95%) versetzt. Zu der unter Schutzgas (N₂) befindlichen Reaktionslösung wird in der Siedehitze 1*H*-Pyrazol-1-carboxamidin x HCl portionsweise über 2 h zugesetzt. Diese Mischung wird nun 5 h in der Siedehitze gerührt. Nach kompletter Umsetzung wird bei 10-15 °C Eisessig zugegeben. Dann wird das Gemisch durch Zusatz von NaHCO₃-Lsg. (ges.) gepuffert und weitere 15 min bei RT gerührt. Die org. Phase wird abgetrennt und die wäßr. Phase dreimal mit je 20 ml Hexan extrahiert. Die vereinten org. Phasen werden mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und i.V. evaporiert.

Edukte:	Di- <i>tert</i> -Butyldicarbonat:	18,6 g (85 mmol)
	1 <i>H</i> -Pyrazol-1-carboxamidin-	
	hydrochlorid 204 :	5,0 g (34 mmol)
	Lithiumhydrid:	1,1 g (136 mmol)
	abs. THF:	140 ml

Reinigung: Das Rohprodukt wurde durch Chromatographie in (PE/DE: 2 + 1) aufgereinigt.

Ausbeute: 9,7 g als weißes Pulver (92 %)

Analytik:

Smp.: 87-88 °C

DC: (PE/DE: 3 + 1) $R_f = 0,24$

$^1\text{H-NMR}$: (300 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 1,54 (s, 18H, (4x $(\text{CH}_3)_3\text{-O}$)); 6,44 (dd, $^3J_1 = 2,7$ Hz, $^3J_2 = 1,6$ Hz, 1H, 1H-C(4)); 7,65 (d, $^3J = 0,9$ Hz, 1H, 1H-C(3)); 8,33 (d, $^3J = 2,7$ Hz, 1H, 1H-C(5)); 8,93 (s, 1H, NH).

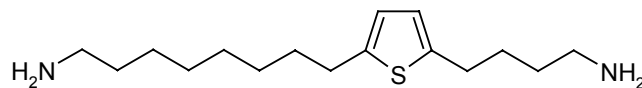
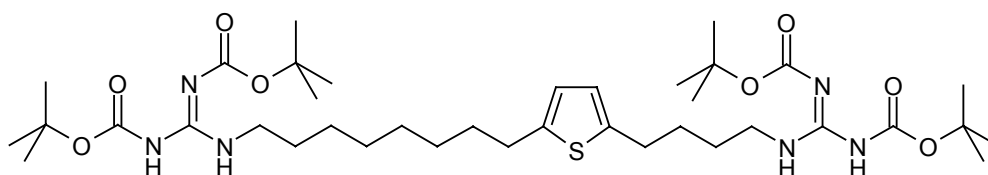
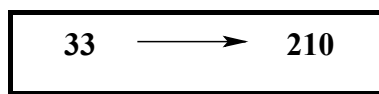
$^{13}\text{C-NMR}$: (50 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 28,06 (2x $(\text{OC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3)$); 76,74/76,99 (2x $(\text{NHCOOC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3)$); 109,71 (C(4)); 128,96 (C(3)); 139,03 (NC=NNH); 142,66 (C(5)); 149,29/157,35 (2x C=O).

Analyse: $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_4$ [310,35 g/mol]

Beilstein-Registry-Number: 6151899

CAS-Registry-Number: 152120-54-2

9.48 Synthese von *tert*-Butyl-*N*-({[8-(5-{4-[2,3-bis(*tert*-butoxycarbonyl)-guanidino]butyl}-2-thienyl)octyl]amino}{(*tert*-butoxycarbonyl)-amino]methyliden)carbammat **206**

**33****210**

Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 11) für die Guanidierung einer primären Aminofunktion.

Edukte:

Diamin 33 :	415 mg (1,47 mmol)
Guanidierungsreagenz 205 :	1,36 g (4,4 mmol)
MeCN:	20 ml

Reinigung: Die Aufreinigung erfolgte durch Chromatographie: (PE/DE: 3+1).

Ausbeute: 1,12 g als gelbes Harz (53 %)

Analytik:

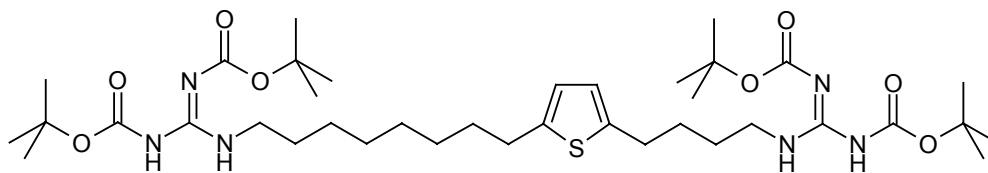
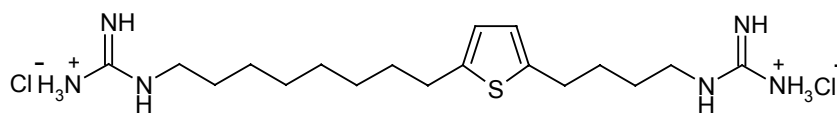
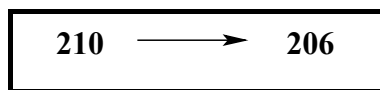
DC: (PE/DE: 3 + 1) $R_f = 0,30$

¹H-NMR: (300 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 1,27-1,32 (m, 8H, CH₂-(3''), CH₂-(4''), CH₂-(5''), CH₂-(6'')); 1,49-1,50 (m, 36H, (4x ((CH₃)₃-O))); 1,55-1,70 (m, 8H, CH₂-(2), CH₂-(3), CH₂-(2''), CH₂-(7'')); 2,70-2,80 (m, 4H, CH₂-(4), CH₂-(8'')); 3,39-3,44 (m, 4H, CH₂-(1), CH₂-(1'')); 6,56 (s, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(4')); 8,30 (s, 2H, NH-C(1), NH-C(1'')); 11,50 (s, 2H, 2x (CH₃)₃-OCO-NH).

¹³C-NMR: (50 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 26,13/27,56/27,72/28,38/28,49 (C(3), C(4), C(2''), C(3''), C(4''), C(5''), C(6'')); 27,95/28,21 (4x (OC(CH₃)₃)); 28,95 (C(8'')); 29,38 (C(2)); 31,16 (C(7'')); 40,18 (C(1), C(1'')); 77,98 (2x (NHCOOC(CH₃)₃)); 82,80 (2x C=NCOOC(CH₃)₃); 123,63/123,83 (C(3'), C(4')); 141,99/142,44 (C(2'), C(5')); 152,12 (2x NHCOOC(CH₃)₃); 155,18/155,23 (2x C=NCOOC(CH₃)₃); 163,10 (2x C=NCOOC(CH₃)₃).

Analyse: C₃₈H₆₆N₆O₈S [767,04 g/mol]
ber.: C: 59,50 H: 8,67 N: 10,96
gef.: C: 59,33 H: 8,53 N: 10,75

9.49 Synthese von [(4-[5-(8-[[Ammonio(imino)methyl]amino)octyl]-2-thienyl]butyl)amino)(imino)methyl]ammoniumdichlorid **206**

**210****206**

Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 9) für eine Boc-Schutzgruppenabspaltung.

Edukte: Di-Guanidin **210**: 520 mg (0,678 mmol)
3M HCl in AcOEt: 20 ml

Ausbeute: 262 mg als ockerfarbenes Pulver (88 %)

Analytik:

Smp.: 105-106 °C

RP-DC: (MeCN/wäbr. NH₄OAc-Puffer (10 mM): 40 + 60) R_f = 0,13

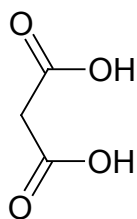
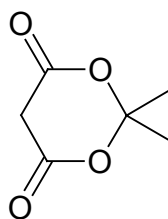
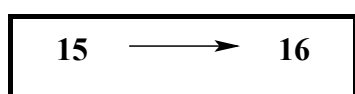
¹H-NMR: (200 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 1,25 (m, 8H, CH₂-(3''), CH₂-(4''), CH₂-(5''), CH₂-(6'')); 1,43-1,58 (m, 8H, CH₂-(2), CH₂-(3), CH₂-(2''), CH₂-(7'')); 2,64-2,74 (m, 4H, CH₂-(4), CH₂-(8'')); 3,01-3,12 (m, 4H, CH₂-(1), CH₂-(1'')); 6,59/6,61 (s, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(4')); 7,20-7,33 (breit, 8H, 2x ((H₂N(C=NH)) x HCl)); 7,79-7,88 (m, 2H, NH-C(1), NH-C(1'')).

¹³C-NMR: (50 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 25,99/28,38/28,44/28,52/28,62 (C(2''), C(3''), C(4''), C(5''), C(6'')); 27,97/28,19 (C(3), C(4)); 28,92 (C(8'')); 29,35 (C(2)); 31,17 (C(7'')); 40,61 (C(1), C(1'')); 123,75/123,89 (C(3'), C(4')); 141,84/142,50 (C(2'), C(5')); 157,03 (2x C=NCOOC(CH₃)₃).

Analyse: C₁₈H₃₆Cl₂N₆S [439,48 g/mol]
ber.: C: 49,19 H: 8,25 N: 19,12
gef.: C: 49,01 H: 8,18 N: 19,18

MS: ESI⁺(M+2): [184,3 g/mol]

9.50 Synthese von 2,2-Dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion **16**

**15****16**

Durchführung: In einem 250 ml Erlenmeyerkolben werden Malonsäure **15** und Essigsäureanhydrid vorgelegt und 1,5 ml H₂SO₄ (konz.) zugesetzt. Danach wird Aceton langsam bei RT zugetropft. Nach weiteren 2 h Rühren bei RT kühlt man das Reaktionsgemisch auf 4 °C, saugt den ausgefallenen Feststoff ab und trocknet i.V. Nach Aufnahme in Aceton wird der Feststoff durch Zugabe von H₂O ausgefällt. Nach erneutem Absaugen erfolgt die Trocknung über Phosphorpentoxid.

Edukte:	Malonsäure 15 :	52 g (0,5 mol)
	Acetanhydrid:	60 ml (0,6 mol)
	H ₂ SO ₄ (konz.):	1,5 ml
	Aceton:	40 ml

Ausbeute: 22,14 g als farblose Kristalle (31 %)

Analytik:

Smp.: 94-95 °C

DC : (PE/DE: 1 + 1) $R_f = 0,27$

$^1\text{H-NMR}$: (300 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 1,76 (s, 6H, 2x CH_3); 3,61 (s, 2H, CH_2).

$^{13}\text{C-NMR}$: (50 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 27,51 (CH_3); 36,09 (CH_2); 106,21 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_2\text{O}$); 162,87 (2x $\text{C}=\text{O}$).

Analyse: $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_4$ [144,12 g/mol]

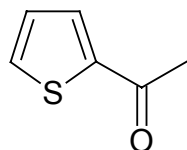
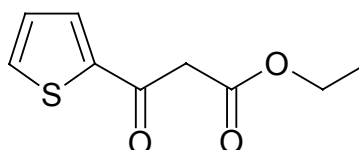
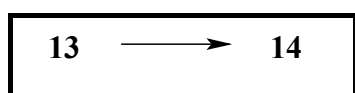
ber.: C: 50,00 H: 5,59

gef.: C: 49,86 H: 5,65

Beilstein-Registry-Number: 117310

CAS-Registry-Number: 2033-24-1

9.51 Synthese von Ethyl-3-oxo-3-(2-thienyl)propanoat **14**

**13****14**

Durchführung: In einem 500 ml Rundkolben wird die Menge an Natriumamid in 100 ml DE vorgelegt. Nun wird das Keton **13**, gelöst in 50 ml DE, in der Art und Weise zugetropft, daß der Ether kontinuierlich siedet. Nach kompletter Zugabe wird noch etwa 1 h in der Siedehitze gerührt. Danach wird zu der schnell gerührten Suspension der in 50 ml DE gelöste Ester zugetropft. Die Lsg. wird daraufhin noch 2 h unter Reflux erhitzt. Zur Aufarbeitung gießt man das abgekühlte Reaktionsgemisch auf eine Mischung aus Eis und konzentrierter HCl. Die entstehenden beiden Phasen werden separiert und die wäbr. Phase wird mehrmals mit DE extrahiert. Die DE-Phasen werden vereinigt, über Na₂SO₄ getrocknet und anschließend vom Lsm. befreit.

Edukte:	2-Acetylthiophen 13 :	25,2 g (0,2 mol)
	Diethylcarbonat:	47,25 g (0,4 mol)
	Natriumamid:	9,2 g (0,23 mol)
	DE (abs.):	200 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Destillation: (150-153 °C/5 mm).

Ausbeute: 25,6 g als leicht gelbliche Flüssigkeit (65 %)

Analytik:

DC: (PE/DE: 3 + 1) $R_f = 0,33$

$^1\text{H-NMR}$: (300 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm) = 1,16 (t, $^3J = 7,0$ Hz, 3H, CH_3); 4,05-4,15 (m, 4H, CH_2 -(2), O- CH_2CH_3); 7,23-7,28 (m, 1H, 1H-C(4')); 7,97-8,00 (m, 1H, 1H-C(5')); 8,05-8,08 (m, 1H, 1H-C(3')).

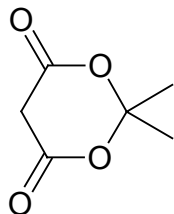
$^{13}\text{C-NMR}$: (50 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 14,00 (CH_3); 46,43 (C(2)); 61,52 (O- CH_2CH_3); 127,87 (C(4')); 133,18 (C(3')); 134,84 (C(5')); 143,18 (C(2')); 166,89 (C(3)); 184,86 (C(1)).

Analyse: $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3\text{S}$ [198,23 g/mol]

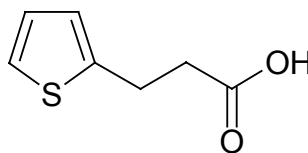
Beilstein-Registry-Number: 141140

CAS-Registry-Number: 13669-10-8

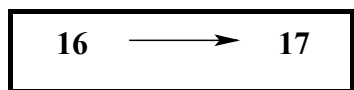
9.52 Synthese von 3-(2-Thienyl)propansäure



16



17



Durchführung: Die Mischung von Aldehyd, Meldrums-Säure **16** und Triethylammoniumformat werden 3 d auf 95-100 °C erhitzt. Danach wird das Lsm. am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in H₂O aufgenommen. Die wäßr. Phase wird nun mit 1N HCl angesäuert und mehrmals mit AcOEt extrahiert. Die org. Phasen werden schließlich vereinigt, über Na₂SO₄ getrocknet und anschließend vom Lsm. befreit.

Edukte:

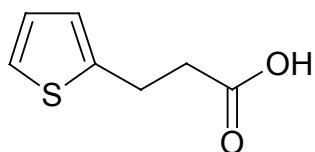
Thiophen-2-carbaldehyd:	61,1 g (0,544 mol)
2,2-Dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion 16 :	78,40 g (0,544 mol)
Triethylammoniumformat:	200 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Destillation: (151-155 °C/16 mbar).

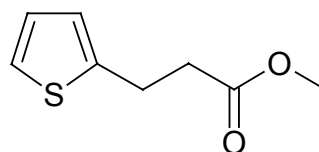
Ausbeute: 29,8 g als gelbe Kristalle (35 %)

Analytik:**Smp.:** 45-47 °C**DC:** (PE/DE: 2 + 1) $R_f = 0,47$ **$^1\text{H-NMR}$:** (300 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 2,75 (t, $^3J = 7,4$ Hz, 2H, CH_2 -(2)); 3,18 (t, $^3J = 7,5$ Hz, 2H, CH_2 -C(3)); 6,84-6,85 (m, 1H, 1H-C(3')); 6,91-6,94 (m, 1H, 1H-C(4')); 7,13-7,15 (m, 1H, 1H-C(5')). **$^{13}\text{C-NMR}$:** (50 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 24,80 (C(3)); 35,89 (C(2)); 123,63 (C(5')); 124,74 (C(3')); 126,88 (C(4')); 142,63 (C(2')); 178,73 (COOH).**Analyse:** $\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_2\text{S}$ [156,20 g/mol]
ber.: C: 53,83 H: 5,16
gef.: C: 53,97 H: 5,23**Beilstein-Registry-Number:** 117118**CAS-Registry-Number:** 5928-51-8

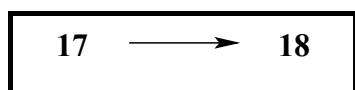
9.53 Synthese von Methyl 3-(2-thienyl)propanoat



17



18



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 1) für die Bildung von Methylestern.

Edukte:

Carbonsäure 17:	15,4 g (98,6 mmol)
Thionylchlorid:	14,04 g (118 mmol)
MeOH:	150 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Chromatographie: (PE/DE: 15+1).

Ausbeute: 15,77 g als farblose Flüssigkeit (94 %)

Analytik:

DC: (PE/DE: 15 + 1) $R_f = 0,40$

$^1\text{H-NMR}$: (300 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 2,68 (t, $^3\text{J} = 7,4$ Hz, 2H, CH_2 -(2)); 3,16 (t, $^3\text{J} = 7,5$ Hz, 2H, CH_2 -(3)); 3,68 (s, 3H, CH_3); 6,80-6,81 (m, 1H, 1H-C(3`)); 6,89-6,91 (m, 1H, 1H-C(4`)); 7,11-7,12 (m, 1H, 1H-C(5`)).

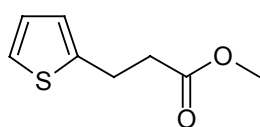
^{13}C -NMR: (50 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 25,13 (C(3)); 35,67 (C(2)); 51,67 (CH_3); 123,48 (C(5')); 124,60 (C(3')); 126,80 (C(4')); 143,01 (C(2')); 172,77 (COOH).

Analyse: $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_2\text{S}$ [170,23 g/mol]
ber.: C: 56,44 H: 5,92
gef.: C: 56,56 H: 6,00

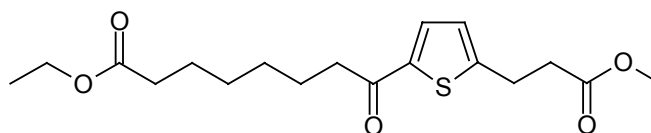
Beilstein-Registry-Number: 1637513

CAS-Registry-Number: 16862-05-8

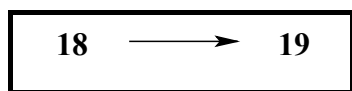
9.54 Synthese von Ethyl 8-[5-(3-methoxy-3-oxopropyl)-2-thienyl]-8-oxooctanoat 19



18



19



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 3) für eine Friedel-Crafts-Acylierung.

Edukte:

Methylester 18 :	18,5 g (108 mmol)
Octandisäure-	
monoethylesterchlorid:	23,5 g (127 mmol)
Aluminiumtrichlorid:	42,3 g (317 mmol)
1,2-Dichlorethan:	320 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Chromatographie: (PE/DE: 3+1).

Ausbeute: 38,5 g als gelbe Flüssigkeit (94 %)

Analytik:

DC: (PE/DE: 1 + 1) $R_f = 0,41$

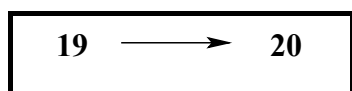
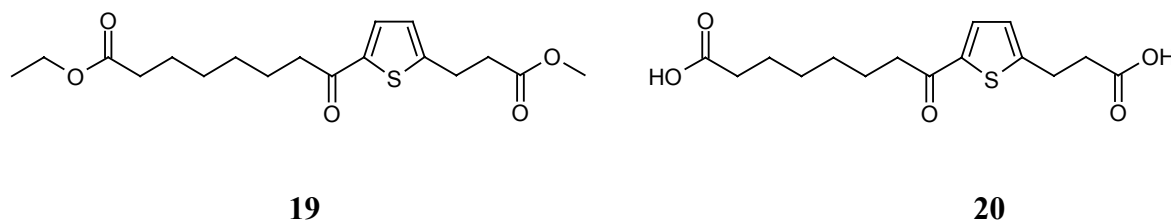
$^1\text{H-NMR}$: (300 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 1,23 (t, $^3J = 7,1$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$); 1,34-1,36 (m, 4H, CH_2 -(4''), CH_2 -(5'')); 1,59-1,73 (m, 4H, CH_2 -(3''), CH_2 -(6'')); 2,27 (t, $^3J = 7,5$ Hz, 2H, CH_2 -(2'')); 2,69 (t, $^3J = 7,4$ Hz, 2H, CH_2 -(2)); 2,81 (t, $^3J = 7,5$ Hz, 2H, CH_2 -(7''));

3,16 (t, $^3J = 7,5$ Hz, 2H, CH₂-(3)); 3,68 (s, 3H, CH₃OCO); 4,10 (q, $^3J = 7,1$ Hz, 2H, CH₃CH₂OCO); 6,84 (d, $^3J = 3,7$ Hz, 1H, 1H-C(3')); 7,51 (d, $^3J = 3,7$ Hz, 1H, 1H-C(4')).

¹³C-NMR: (50 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 14,21 (CH₃CH₂OCO); 24,59/24,74 (C(3''), C(6'')); 25,74 (C(3)); 28,86/28,91 (C(4''), C(5'')); 34,23 (C(2'')); 35,26 (C(2)); 38,80 (C(7'')); 51,83 (CH₃O); 60,15 (CH₃CH₂OCO); 126,08 (C(3')); 132,00 (C(4')); 142,58 (C(5')); 152,31 (C(2'')); 172,29/173,70 (C(1), C(1'')); 193,01 (C(8'')).

Analyse: C₁₈H₂₆O₅S [354,46 g/mol]
ber.: C: 60,99 H: 7,39
gef.: C: 61,15 H: 7,52

9.55 Synthese von 8-[5-(2-carboxyethyl)-2-thienyl]-8-oxooctansäure **20**



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 8) für die alkalische Verseifung von Estern.

Edukte:

Diester 19 :	34,5 g (97,3 mmol)
Lithiumhydroxidmonohydrat:	10,2 g (243 mmol)
MeOH/H ₂ O (50+1):	400 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Umkristallisation aus DE/PE.

Ausbeute: 29,3 g als weißes Pulver (96,5 %)

Analytik:

Smp.: 131 °C

DC: (CH₂Cl₂/MeOH: 20 + 1) R_f = 0,21

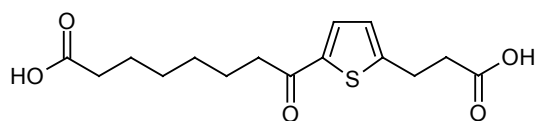
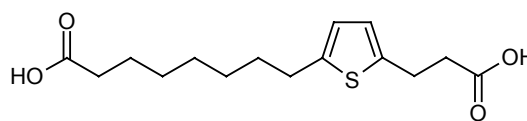
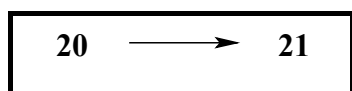
¹H-NMR: (200 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 1,27 (s, 4H, CH₂-(4''), CH₂-(5'')); 1,43-1,60 (m, 4H, CH₂-(3''), CH₂-(6'')); 2,17 (t, ³J = 7,2 Hz, 2H, CH₂-(2'')); 2,59 (t, ³J = 7,1 Hz, 2H, CH₂-(2)); 2,84 (t, ³J = 7,2 Hz, 2H, CH₂-(1)); 3,04 (t, ³J = 7,2 Hz, 2H, CH₂-(7'')); 6,98 (d, ³J = 3,8

Hz, 1H, 1H-C(3`)); 7,75 (d, $^3J = 3,8$ Hz, 1H, 1H-C(4`)); 12,11 (s, 2H, COOH).

^{13}C -NMR: (50 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm) = 24,17/24,35 (C(3), C(3`)); 25,32 (C(6`)); 28,35 (C(4`), C(5`)); 33,60 (C(2`)); 34,87 (C(7`)); 37,79 (C(2)); 126,62 (C(3`)); 133,29 (C(4`)); 141,80 (C(5`)); 153,09 (C(2`)); 173,15/174,50 (C(1), C(1`)); 192,85 (C(8`)).

Analyse: $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_5\text{S}$ [312,38 g/mol]
ber.: C: 57,67 H: 6,45
gef.: C: 57,71 H: 6,57

9.56 Synthese von 8-[5-(2-carboxyethyl)-2-thienyl]octansäure **21**

**20****21**

Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 7) für die saure Hydrogenolyse einer Carbonyl-Funktion (Desoxygenierung).

Edukte:

Dicarbonsäure 20 :	10,0 g (32 mmol)
TFA:	18,25 g (160 mmol)
Et ₃ SiH:	11,2 g (96 mmol)

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Chromatographie:
(CH₂Cl₂/MeOH: 20 + 1).

Ausbeute: 6,8 g als weißes Pulver (72 %)

Analytik:

Smp.: 108 °C

DC: (CH₂Cl₂/MeOH: 20 + 1) R_f = 0,23

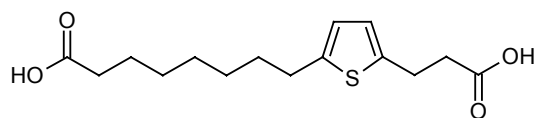
¹H-NMR: (200 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 1,26 (s, 6H, CH₂-(4''), CH₂-(5''), CH₂-(6'')); 1,43-1,57 (m, 4H, CH₂-(3''), CH₂-(7'')); 2,17 (t, ³J = 7,2 Hz, 2H, CH₂-(2'')); 2,48-2,55 (m, 2H, CH₂-(2)); 2,67 (t, ³J = 7,3 Hz,

2H, CH₂-(8'')); 2,92 (t, ³J = 7,3 Hz, 2H, CH₂-(3)); 6,57-6,62 (m, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(4')); 12,06 (s, 2H, COOH).

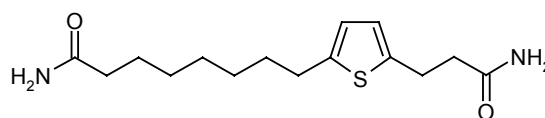
¹³C-NMR: (50 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 24,45 (C(3'')); 24,84 (C(3)); 28,31/28,41/28,45 (C(4''), C(5''), C(6'')); 29,30 (C(8'')); 31,15 (C(7'')); 33,61 (C(2'')); 35,42 (C(2)); 123,75/124,08 (C(3'), C(4')); 140,66 (C(5')); 142,80 (C(2')); 173,37/174,49 (C(1), C(1')).

Analyse: C₁₅H₂₂O₄S [298,39 g/mol]
ber.: C: 60,38 H: 7,43
gef.: C: 60,41 H: 7,52

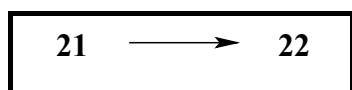
9.57 Synthese von 8-[5-(3-Amino-3-oxopropyl)-2-thienyl]octanamid 22



21



22



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 4) für die Bildung eines Amides aus einer Carbonsäure.

Edukte:

Dicarbonsäure 21 :	5,0 g (16,7 mmol)
Oxalylchlorid:	5,7 g (45 mmol)
THF abs.:	70 ml
NH ₃ (g)	

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Chromatographie:
(CH₂Cl₂/MeOH: 15+1).

Ausbeute: 2,58 g als weißes Pulver (52 %)

Analytik:

Smp.: 165-166 °C

DC: (CH₂Cl₂/MeOH: 10 + 1) R_f = 0,45

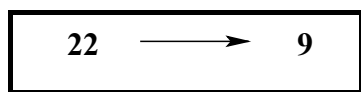
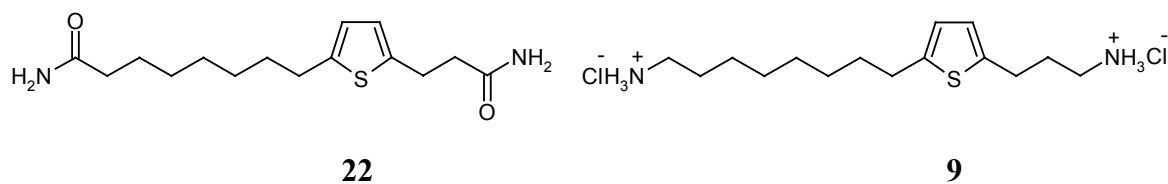
¹H-NMR: (300 MHz; DMSO) δ (ppm) = 1,24 (s, 6H, CH₂-(4''), CH₂-(5''), CH₂-(6'')); 1,39-1,55 (4H, CH₂-(3''), CH₂-(7'')); 1,99 (t, ³J = 7,5

Hz, 2H, CH₂-(2'')); 2,34 (t, ³J = 7,2 Hz, 2H, CH₂-(2)); 2,67 (t, ³J = 7,5 Hz, 2H, CH₂-(8'')); 2,89 (t, ³J = 7,5 Hz, 2H, CH₂-(3)); 6,56-6,60 (m, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(4')); 6,67/6,80/7,21/7,32 (4s, 4H, 2x NH₂).

¹³C-NMR: (50 MHz; DMSO) δ (ppm) = 25,04/25,24 (C(3), C(3'')); 28,33/28,45 /28,60 (C(4''), C(5''), C(6'')); 29,31 (C(8'')); 31,17 (C(7'')); 35,06 (C(2'')); 36,67 (C(2)); 123,66/123,83 (C(3'), C(4')); 141,29/142,61 (C(2'), C(5')); 172,95/174,33 (C(1), C(1'')).

Analyse : C₁₅H₂₄N₂O₂S [296,43 g/mol]
ber.: C: 60,78 H: 8,16 N: 9,45
gef.: C: 60,71 H: 8,08 N: 9,54

9.58 Synthese von {3-[5-(8-Ammoniooctyl)-2-thienyl] propyl}- ammoniumdichlorid **9**



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 5) für die LiAlH₄-Reduktion eines Amides zum Amin.

Edukte:

Diamid 22 :	820 mg (2,75 mmol)
LiAlH ₄ :	417 mg (11 mmol)
THF abs.:	10 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch das Fällern als Dihydrochlorid-Salz.

Ausbeute: 610 mg als bräunliches Pulver (65 %)

Analytik:

Smp.: ≥ 180 °C

DC: (CH₂Cl₂/(MeOH ges. mit NH₃): 10 + 1) R_f = 0,28

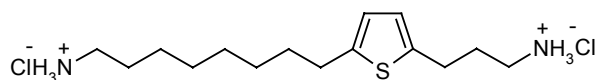
¹H-NMR: (300 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 1,25 (s, 8H, CH₂(3''), CH₂-(4''), CH₂-(5''), CH₂-(6'')); 1,52-1,54 (m, 4H, CH₂-(2''), CH₂-(7'')); 1,85 (qn, ³J = 7,5 Hz, 2H, CH₂-(2)); 2,66-2,80 (m, 8H, CH₂-(1), CH₂-(3),

CH₂-(1''), CH₂-(8'')); 6,60-6,64 (m, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(4')); 7,98-8,09 (m, 6H, 2x NH₃).

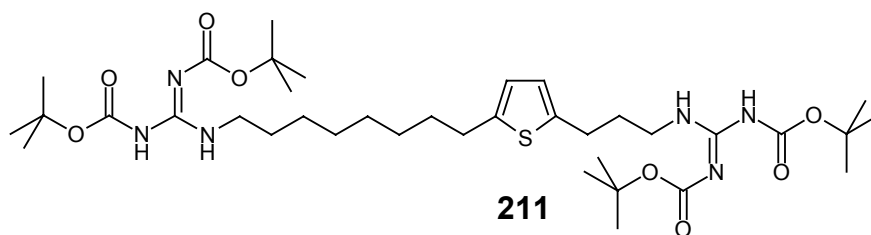
¹³C-NMR: (50 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 25,79/28,28/28,41/28,46 (4C, C(3''), C(4''), C(5''), C(6'')); 26,35/38,04/38,64 (C(1), C(3), C(1''), C(8'')); 26,85/31,13 (C(2''), C(7'')); 28,87 (C(2)); 123,86/124,25 (C(3'), C(4')); 140,69/142,84 (C(2'), C(5')).

Analyse: C₁₅H₃₀Cl₂N₂S [341,38 g/mol]
ber.: C: 52,77 H: 8,86 N: 8,20
gef.: C: 52,57 H: 8,73 N: 7,91

9.59 Synthese von *tert*-Butyl-*N*-({[8-(5-{3-[2,3-bis(*tert*-butoxycarbonyl)-guanidino]propyl}-2-thienyl)octyl]amino}[(*tert*-butoxycarbonyl)-amino]methyliden)carbammat



9



211



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 11) für die Guanidierung einer primären Aminofunktion.

Edukte:	Diamin 9 :	520 mg (1,86 mmol)
	Guanidierungsreagenz 205 :	1,73 g (5,6mmol)
	MeCN:	20 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Chromatographie: (PE/DE: 3 + 1).

Ausbeute: 758 mg als weißer Schaum (52 %)

Analytik:

Smp.: 35-36 °C

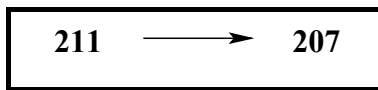
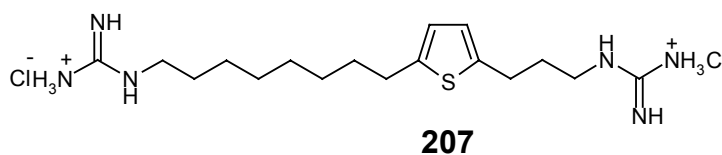
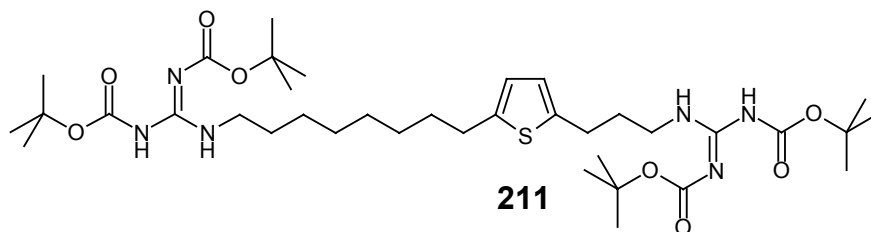
DC: (PE/DE: 3 + 1) $R_f = 0,28$

$^1\text{H-NMR}$: (300 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 1,32 (s, 8H, CH_2 -(3''), CH_2 -(4''), CH_2 -(5''), CH_2 -(6'')); 1,49-1,50 (38H, CH_2 -(2''), 4x ($\text{OC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$)); 1,58-1,61 (m, 2H, CH_2 -(7'')); 1,93 (q, $^3J = 7,3$ Hz, 2H, CH_2 -(2)); 2,73 (t, $^3J = 7,6$ Hz, 2H, CH_2 -(8'')); 2,82 (t, $^3J = 7,6$ Hz, 2H, CH_2 -(3)); 3,39-3,48 (m, 4H, CH_2 -(1), CH_2 -(1'')); 6,55/6,59 (2d, $^3J_1 = 3,3$ Hz, $^3J_2 = 3,3$ Hz, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(4')); 8,32-8,39 (m, 2H, NH-C(1), NH-C(1'')); 11,50 (s, 2H, 2x (CH_3)₃-OCO-NH).

$^{13}\text{C-NMR}$: (50 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 26,77/28,89/28,97/29,11/29,12 (C(2''), C(3''), C(4''), C(5''), C(6'')); 27,35 (C(3)); 28,02/28,26 (4x ($\text{OC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$)); 30,06 (C(8'')); 30,85 (C(2)); 31,59 (C(7'')); 40,05/40,91 (C(1), C(1'')); 79,13/79,17 (2x $\text{NHCOOC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); 82,91/83,00 (2x $\text{C}=\text{NCOOC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); 123,41/123,91 (C(3'), C(4')); 141,21/143,67 (C(2'), C(5')); 153,27 (2x $\text{NHCOOC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); 156,04/156,14 (2x $\text{C}=\text{NCOOC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); 163,57/163,60 (2x $\underline{\text{C}}=\text{NCOOC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$).

Analyse: $\text{C}_{37}\text{H}_{64}\text{N}_6\text{O}_4\text{S}$ [753,01 g/mol]
ber.: C: 59,01 H: 8,56 N: 11,16
gef.: C: 59,19 H: 8,52 N: 11,08

9.60 Synthese von [(3-[5-(8-[[Ammonio(imino)methyl]amino]octyl)-2-thienyl]propyl)amino](imino)methylammoniumdichlorid 207



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 9) für eine Boc-Schutzgruppenabspaltung.

Edukte: Diguanidin **211**: 720 mg (0,956 mmol)
3 M HCl in AcOEt: 30 ml

Ausbeute: 0,38 g als weißes Pulver (93 %)

Analytik:

Smp.: nicht bestimmbar, extrem hygroskopisch

RP-DC: (MeCN/wäßr. NH₄OAc-Puffer (10 mM): 40 + 60) R_f = 0,19

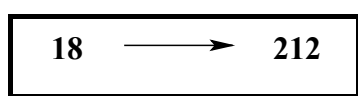
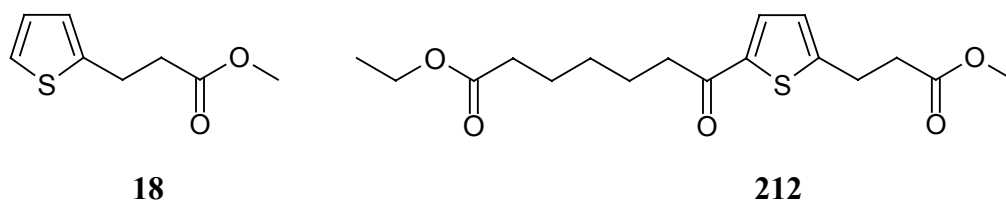
¹H-NMR: (300 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 1,25 (m, 8H, CH₂-(3''), CH₂-(4''), CH₂-(5''), CH₂-(6'')); 1,39-1,42 (m, 2H, CH₂-(2'')); 1,51-1,57 (m,

2H, CH₂-(7'')); 1,74 (qn, ³J = 7,6 Hz, 2H, CH₂-(2)); 2,64-2,79 (m, 4H, CH₂-(3), CH₂-(8'')); 3,05-3,11 (m, 4H, CH₂-(1), CH₂-(1'')); 6,58-6,63 (m, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(4')); 7,26 (breit, 8H, 2x ((H₂N(C=NH)) x HCl)); 7,83 (t, ³J = 5,2 Hz, 1H, NH-C(1'')); 8,01 (t, ³J = 5,3 Hz, 1H, NH-C(1)).

¹³C-NMR: (50 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 26,02/28,39/28,46/28,54/28,65 (C(2''), C(3''), C(4''), C(5''), C(6'')); 26,41 (C(3)); 29,36 (C(8'')); 30,54 (C(2)); 31,18 (C(7'')); 40,64 (C(1), C(1'')); 123,86/124,14 (C(3'), C(4')); 141,00/142,73 (C(2'), C(5')); 157,08/157,17 (2x NH-(C=NH)-NH₂).

Analyse: C₁₇H₃₄Cl₂N₆S x 0,5 H₂O [433,47 g/mol]
ber.: C: 47,11 H: 7,91 N: 19,39
gef.: C: 47,32 H: 8,01 N: 19,11

9.61 Synthese von Ethyl-7-[5-(3-methoxy-3-oxopropyl)-2-thienyl]-7-oxoheptanoat 212



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 3) für eine Friedel-Crafts-Acylierung.

Edukte:

Ester 18 :	23,6 g (138 mmol)
Heptansäure-	
monoethylesterchlorid:	30,4 g (152 mmol)
Aluminiumtrichlorid:	55,2g (414 mmol)
1,2-Dichlorethan:	300 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Umkristallisation aus DE/PE.

Ausbeute: 43,1 g als gelbe Flüssigkeit (92 %)

Analytik:

DC: (PE/DE: 1 + 1) $R_f = 0,38$

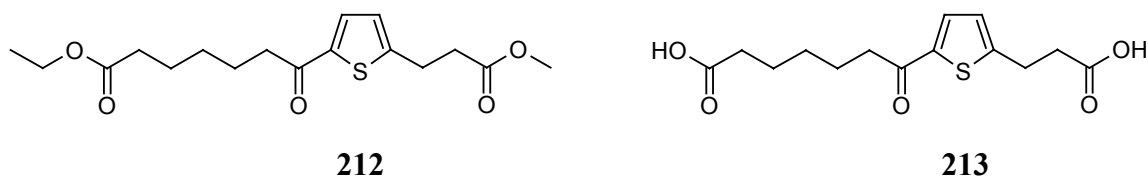
$^1\text{H-NMR}$: (300 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 1,24 (t, $^3J = 7,1$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{-O}$); 1,37-1,45 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-(4'')}$); 1,61-1,79 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-(3'')}$, $\text{CH}_2\text{-(5'')}$); 2,30 (t, $^3J = 7,5$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-(2'')}$); 2,70 (t, $^3J = 7,4$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-(2)}$); 2,84 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-(6'')}$); 3,17 (t, $^3J = 7,5$ Hz,

2H, CH₂-(3)); 3,69 (s, 3H, CH₃-O); 4,11 (q, ³J = 7,1 Hz, 2H, CH₃CH₂-O); 6,85 (d, ³J = 3,7 Hz, 1H, 1H-C(3'')); 7,52 (d, ³J = 3,8 Hz, 1H, 1H-C(4'')).

¹³C-NMR: (50 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 14,20 (CH₃CH₂-O); 24,33/24,69 (C(3''), C(5'')); 25,75 (C(3)); 28,73 (C(4'')); 34,10 (C(2'')); 35,26 (C(2)); 38,64 (C(6'')); 51,83 (CH₃-O), 60,19 (CH₃CH₂-O); 126,08 (C(3')); 131,99 (C(4'')); 142,51 (C(2'')); 152,37 (C(5'')); 172,29/173,62 (2x COO); 192,84 (C=O).

Analyse: C₁₇H₂₄O₅S [340,43 g/mol]
ber.: C: 59,98 H: 7,10
gef.: C: 59,99 H: 7,07

9.62 Synthese von 7-[5-(2-Carboxyethyl)-2-thienyl]-7-oxoheptansäure 213



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 8) für die alkalische Verseifung von Estern.

Edukte:

Diester 212 :	30,7 g (11 mmol)
Lithiumhydroxidmonohydrat:	9,46 g (225 mmol)
MeOH/H ₂ O (50 + 1):	400 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Umkristallisation aus DE.

Ausbeute: 24,9 g als farbloses Pulver (92,5 %)

Analytik:

Smp.: 147-148 °C

DC: (PE/AcOEt/AcOH: 1 + 4 + 1 %) $R_f = 0,52$

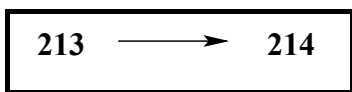
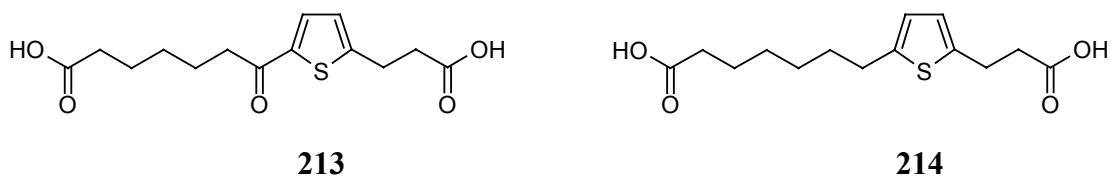
¹H-NMR: (300 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 1,25-1,31 (m, 2H, CH₂-(4'')); 1,47-1,60 (m, 4H, CH₂-(3''), CH₂-(5'')); 2,18 (t, ³J = 7,3 Hz, 2H, CH₂-(2'')); 2,60 (t, ³J = 7,2 Hz, 2H, CH₂-(2)); 2,85 (t, ³J = 7,3 Hz, 2H, CH₂-(6'')); 3,04 (t, ³J = 7,1 Hz, 2H, CH₂-(3)); 6,98 (d, ³J = 3,7

Hz, 1H, 1H-C(3')); 7,76 (d, $^3J = 3,8$ Hz, 1H, 1H-C(4')); 12,13 (s, 2H, 2x COOH).

^{13}C -NMR: (50 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm) = 23,99/24,31 (C(3''), C(5'')); 25,29 (C(3)); 28,18 (C(4'')); 33,54 (C(2'')); 34,85 (C(2)); 37,70 (C(6'')); 126,58 (C(3')); 133,26 (C(4')); 141,76 (C(2'')); 153,06 (C(5')); 173,08/174,39 (2x COOH); 192,73 (C=O).

Analyse: $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{S}$ [298,35 g/mol]
ber.: C: 56,36 H: 6,08
gef.: C: 56,47 H: 6,16

9.63 Synthese von 7-[5-(2-Carboxyethyl)-2-thienyl]heptansäure **214**



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 2) für eine Wolff-Kishner-Reduktion.

Edukte:

Disäure 213 :	23,0 g (77 mmol)
Hydrazinhydrat:	11,56 g (231 mmol)
KOH:	21,62 g (385 mmol)
Ethylenglykol-	
monoethylether:	200 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Chromatographie:
(CH₂Cl₂/MeOH: 20 + 1).

Ausbeute: 15,3 g als gelbes Pulver (70 %)

Analytik:

Smp : 134 °C

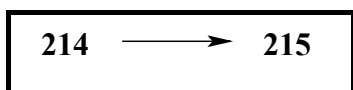
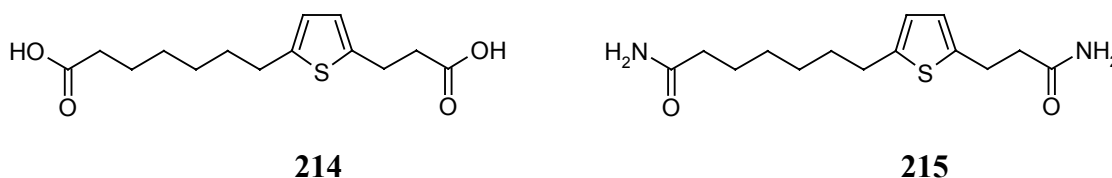
DC: (PE/AcOEt/AcOH: 1 + 4 + 1 %) R_f = 0,67

¹H-NMR: (200 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 1,28-1,30 (m, 4H, CH₂-(4''), CH₂-(5'')); 1,41-1,58 (m, 4H, CH₂-(3''), CH₂-(6'')); 2,18 (t, ³J = 7,2 Hz, 2H, CH₂-(2'')); 2,52 (t, ³J = 7,3 Hz, 2H, CH₂-(2)); 2,68 (t, ³J = 7,3 Hz, 2H, CH₂-(7'')); 2,93 (t, ³J = 7,3 Hz, 2H, CH₂-(3)); 6,58-6,63 (m, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(4')); 12,08 (s, 2H, 2x COOH).

¹³C-NMR: (50 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 24,40/24,87 (C(3), C(3'')); 28,17/28,23 (C(4''), C(5'')); 29,28 (C(7'')); 31,08 (C(6'')); 33,62 (C(2'')); 35,45 (C(2)); 123,78/124,10 (C(3'), C(4')); 140,70/142,77 (C(2'), C(5')); 173,39/174,48 (2x COOH).

Analyse: C₁₄H₂₀O₄S [284,37 g/mol]
ber.: C: 59,13 H: 7,09
gef.: C: 59,21 H: 7,15

9.64 Synthese von 7-[5-(3-Amino-3-oxopropyl)-2-thienyl]heptanamid 215



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 4) für die Bildung eines Amides aus einer Carbonsäure.

Edukte:

Dicarbonsäure 214 :	13,8 g (48,5 mmol)
Oxalylchlorid:	16,6 g (131 mmol)
THF abs.:	200 ml
NH ₃ (g)	

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Chromatographie (CH₂Cl₂/MeOH: 10 + 1) mit anschließender Umkristallisation aus 1,4-Dioxan.

Ausbeute: 8,5 g als weißes Pulver (62 %)

Analytik:

Smp.: 174-175 °C

DC: (CH₂Cl₂/MeOH: 10 + 1) R_f = 0,29

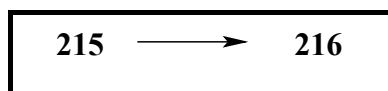
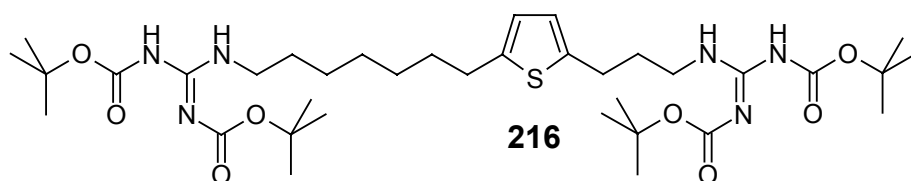
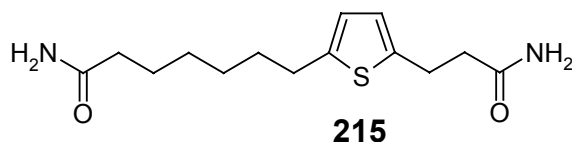
¹H-NMR: (300 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 0,97-1,27 (m, 4H, CH₂-(4''), CH₂-(5'')); 1,42-1,56 (m, 4H, CH₂-(3''), CH₂-(6'')); 2,00 (t, ³J = 7,5 Hz,

2H, CH₂-(2'')); 2,34 (t, ³J = 7,3 Hz, 2H, CH₂-(2)); 2,67 (t, ³J = 7,5 Hz, 2H, CH₂-(7'')); 2,89 (t, ³J = 7,5 Hz, 2H, CH₂-(3)); 6,79/6,95/7,20/7,31 (4s, 4H, 2x CONH₂).

¹³C-NMR: (50 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 24,43/25,25 (C(3), C(3'')); 28,19/28,38 (C(4''), C(5'')); 29,29 (C(7'')); 31,07 (C(6'')); 35,06 (C(2'')); 36,69 (C(2)); 123,65/123,82 (C(3'), C(4')); 141,31/142,57 (C(2'), C(5')); 172,92/174,26 (2x CONH₂).

Analyse: C₁₄H₂₂N₂O₂S [282,40 g/mol]
ber.: C: 59,54 H: 7,85 N: 9,92
gef.: C: 59,82 H: 7,89 N: 10,08

9.65 Synthese von *tert*-Butyl-*N*-({[7-(5-{3-[2,3-bis(*tert*-butoxycarbonyl)-guanidino]propyl}-2-thienyl)heptyl]amino}{(*tert*-butoxycarbonyl)-amino]methyliden)carbammat **216**



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV 5) für die LiAlH₄-Reduktion eines Amides zum Amin und (AAV 11) für die Guanidierung einer primären Aminofunktion.

Edukte:	Diamid 215 :	1,7 g (6,0 mmol)
	LiAlH ₄ :	1,83 g (48,2 mmol)
	THF (abs.):	150 ml
	erhaltenes Diamin:	1,5 g (5,89 mmol)
	Guanidierungsreagenz 205 :	4,6 g (14,7 mmol)
	MeCN:	50 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Chromatographie: (PE/DE: 5 + 1).

Ausbeute: 2,2 g als weißer Schaum (51 %)

Analytik:

Smp.: 37-39 °C

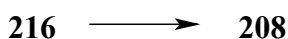
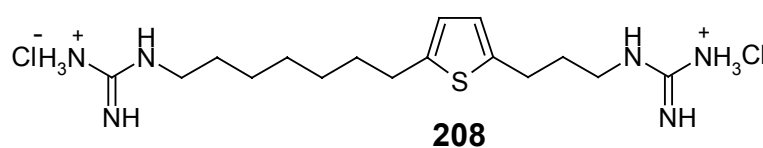
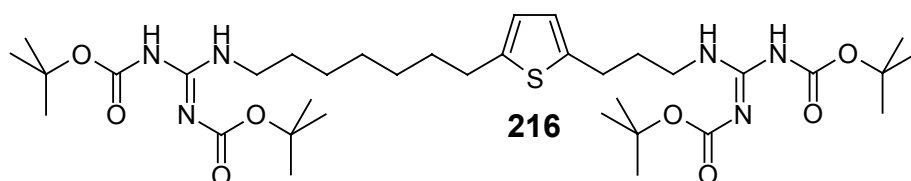
DC: (PE/DE: 2 +1) $R_f = 0,60$

$^1\text{H-NMR}$: (300 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm) = 1,35 (m, 6H, CH_2 -(3''), CH_2 -(4''), CH_2 -(5'')); 1,48-1,55 (m, 38H, CH_2 -(2''), 4x ($\text{OC}(\underline{\text{CH}_3})_3$)); 1,60 (s, 2H, CH_2 -(6'')); 1,92 (q, $^3J = 7,3$ Hz, 2H, CH_2 -(2)); 2,72 (t, $^3J = 7,7$ Hz, 2H, CH_2 -(7'')); 2,81 (t, $^3J = 7,6$ Hz, 2H, CH_2 -(3)); 3,40 (q, $^3J = 7,2$ Hz, 2H, CH_2 -(1'')); 3,47 (q, $^3J = 7,1$ Hz, 2H, CH_2 -(1)); 6,54/6,59 (2d, $^3J_1 = 3,3$ Hz, $^3J_2 = 3,3$ Hz, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(4')); 8,29/8,36 (2s, 2H, NH-C(1), NH-C(1'')); 11,50 (s, 2H, 2x (CH_3)₃-OCO-NH).

$^{13}\text{C-NMR}$: (50 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm) = 26,69 (C(3'')); 27,34 (C(3)); 28,01/28,25 (4x ($\text{OC}(\underline{\text{CH}_3})_3$)); 28,85/28,90 (C(4''), C(5''), C(7'')); 30,01 (C(2'')); 30,85 (C(6'')); 31,50 (C(2)); 40,04 (C(1)); 40,87 (C(1'')); 79,09/79,13 (2x $\text{NHCOOC}(\underline{\text{CH}_3})_3$); 82,89/82,98 (2C, 2x $\text{C}=\text{NCOOC}(\underline{\text{CH}_3})_3$); 123,44/123,90 (C(3'), C(4')); 141,24/143,56 (C(2'), C(5')); 153,26 (2x $\text{NH}\underline{\text{C}}\text{OOC}(\underline{\text{CH}_3})_3$); 156,04/156,13 (2x $\text{C}=\text{N}\underline{\text{C}}\text{OOC}(\underline{\text{CH}_3})_3$); 163,57/163,60 (2x $\underline{\text{C}}=\text{NCOOC}(\underline{\text{CH}_3})_3$).

Analyse: $\text{C}_{36}\text{H}_{62}\text{N}_6\text{O}_8\text{S}$ [738,04 g/mol]
ber.: C: 58,59 H: 8,47 N: 11,39
gef.: C: 58,84 H: 8,51 N: 11,13

9.66 Synthese von [(7-[5-(3-{[Ammonio(imino)methyl]amino}propyl)-2-thienyl]heptyl)amino)(imino)methyl]ammoniumdichlorid **208**



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 9) für die Boc-Schutzgruppenabspaltung.

Edukte: Diguanidin **216**: 898 mg (1,22 mmol)
3M HCl in AcOEt: 10 ml

Ausbeute: 446 mg als weißes Pulver (89 %)

Analytik:

Smp.: nicht bestimmbar, extrem hygroskopisch

RP-DC: (MeCN/wäßr. NH₄OAc-Puffer (10 mM): 40 + 60) R_f: 0,21

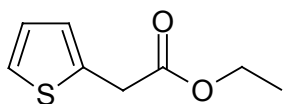
¹H-NMR: (300 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 1,28 (s, 6H, CH₂-(3''), CH₂-(4''), CH₂-(5'')); 1,40-1,42 (m, 2H, CH₂-(2'')); 1,53-1,55 (m, 2H, CH₂-

(6''); 1,75 (q, $^3J = 7,4$ Hz, 2H, CH₂-(2)); 2,66-2,81 (m, 4H, CH₂-(3), CH₂-(7'')); 3,03-3,15 (m, 4H, CH₂-(1), CH₂-(1'')); 6,60-6,78 (m, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(4')); 6,85-7,46 (m, 8H, 2x NH-(C=NH)-NH₂ x HCl); 7,77 (t, $^3J = 5,3$ Hz, 1H, NH-(C=NH)-NH₂); 7,94 (t, $^3J = 5,2$ Hz, 1H, NH-(C=NH)-NH₂).

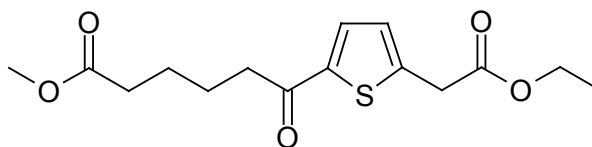
¹³C-NMR: (50 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 25,91/28,24/28,26 (C(3''), C(4''), C(5'')); 26,37/29,29 (C(3), C(7'')); 28,41 (C(2'')); 30,49 (C(2)); 31,05 (C(6'')); 39,87/40,58 (C(1), C(1'')); 123,82/124,10 (C(3'), C(4')); 140,97/142,65 (C(2'), C(5')); 157,10/157,19 (2x NH-(C=NH)-NH₂).

Analyse: C₁₆H₃₂Cl₂N₆S x 0,5 H₂O [420,45 g/mol]
ber.: C: 45,71 H: 7,91 N: 19,99
gef.: C: 45,71 H: 7,79 N: 20,24

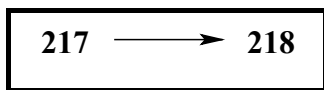
9.67 Synthese von Methyl 6-[5-(2-ethoxy-2-oxoethyl)-2-thienyl]-6-oxohexanoat 218



217



218



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 3) für eine Friedel-Crafts-Acylierung.

Edukte:

Thienylester 217 :	25 g (146 mmol)
Hexansäure-	
monomethylesterchlorid:	28 g (170 mmol)
Aluminiumtrichlorid:	58,4 g (438 mmol)
1,2-Dichlorethan:	300 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Chromatographie: (PE/DE: 1 + 1).

Ausbeute: 39,7 g als orange-braune Flüssigkeit (87 %)

Analytik:

DC: (PE/DE: 2 + 1) $R_f = 0,19$

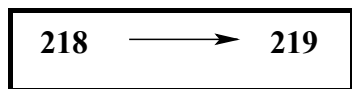
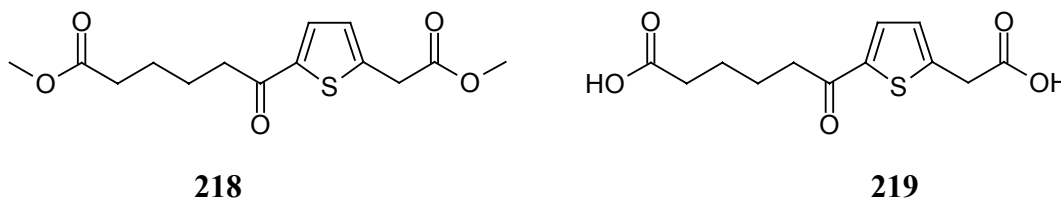
$^1\text{H-NMR}$: (300 MHz; CDCl_3) δ (ppm) = 1,28 (t, $^3J = 7,1$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{-O}$); 1,58-1,82 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-(3'')}$, $\text{CH}_2\text{-(4'')}$); 2,36 (t, $^3J = 7,1$ Hz, 2H,

CH₂-(2'')); 2,88 (t, ³J = 7,1 Hz, 2H, CH₂-(5'')); 3,66 (s, 3H, CH₃-O); 3,90 (s, 2H, CH₂-(2)); 4,19 (q, ³J = 7,1 Hz, 2H, CH₃CH₂-O); 6,97 (d, ³J = 3,7 Hz, 1H, 1H-C(3')); 7,56 (d, ³J = 3,8 Hz, 1H, 1H-C(4')).

¹³C-NMR: (50 MHz; CDCl₃) δ (ppm) = 14,07 (CH₃CH₂-O); 23,99/24,50 (C(3''), C(4'')); 33,78 (C(2'')); 36,03 (C(2)); 38,51 (C(5'')); 51,47 (CH₃-O); 61,49 (CH₃CH₂-O); 127,92 (C(3')); 131,70 (C(4')); 143,57/144,12 (C(2'), 1C(5')); 169,39 (CH₃CH₂-OCO); 173,77 (CH₃-OCO); 192,50 (1C(6'')).

Analyse: C₁₅H₂₀O₅S [312,38 g/mol]
ber.: C: 57,67 H: 6,45
gef.: C: 57,65 H: 6,73

9.68 Synthese von 6-[5-(Carboxymethyl)-2-thienyl]-6-oxohexansäure 219



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 8) für die alkalische Verseifung von Estern.

Edukte:

Diester 218 :	13,4 g (43 mmol)
Lithiumhydroxidmonohydrat:	4,5 g (107 mmol)
MeOH/H ₂ O (50+1):	150 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Umkristallisation aus AcOEt.

Ausbeute: 11,1 g als ockerfarbenes Pulver (96 %)

Analytik:

Smp.: 151-153 °C

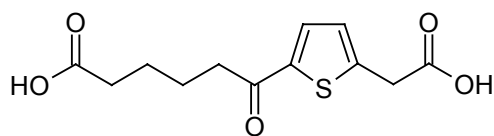
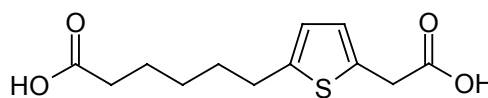
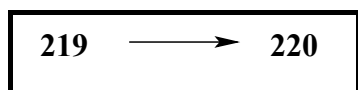
DC: (PE/AcOEt/AcOH: 1 + 4 + 1 %) $R_f = 0,31$

¹H-NMR: (300 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 1,52-1,59 (m, 4H, CH₂-(3'')), CH₂-(4'')); 2,22 (t, ³J = 6,7 Hz, 2H, CH₂-(2'')); 2,89 (t, ³J = 7,1 Hz, 2H, CH₂-(5'')); 3,89 (s, 2H, CH₂-(2)); 7,04 (d, ³J = 3,7 Hz, 1H, 1H-C(3'')); 7,78 (d, ³J = 3,7 Hz, 1H, 1H-C(4'')); 12,76 (s, 2H, COOH).

¹³C-NMR: (50 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 23,75/24,08 (C(3''), C(4'')); 33,43 (C(2'')); 35,39 (C(2)); 37,62 (C(5'')); 128,39 (C(3')); 132,78 (C(4')); 142,88 (C(5')); 145,55 (C(2'')); 170,98/174,31 (C(1), C(1'')); 192,80 (C(6'')).

Analyse: C₁₂H₁₄O₅S [270,30 g/mol]
ber.: C: 53,32 H: 5,22
gef.: C: 53,50 H: 5,24

9.69 Synthese von 6-[5-(Carboxymethyl)-2-thienyl]hexansäure **220**

**219****220**

Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 2) für eine Wolff-Kishner-Reduktion.

Edukte:

Dicarbonsäure 219 :	17,1 g (63 mmol)
Hydrazinhydrat:	9,5 g (190 mmol)
Kaliumhydroxid:	17,7 g (316 mmol)
Ethylenglykolmonoethylether:	200 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Umkristallisation aus CH_2Cl_2 .

Ausbeute: 12,3 g als weißes Pulver (76 %)

Analytik:

Smp.: 81-83 °C

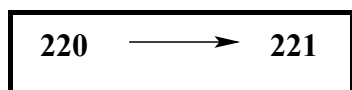
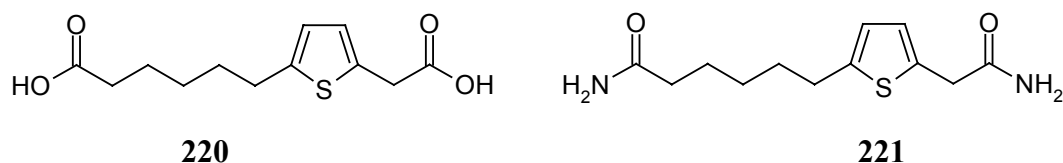
DC: (PE/AcOEt/AcOH: 1 + 1 + 1 %) $R_f = 0,30$

$^1\text{H-NMR}$: (300 MHz; DMSO-d_6) δ (ppm) = 1,25-1,34 (m, 2H, CH_2 -(4'')); 1,45-1,61 (m, 4H, CH_2 -(3''), CH_2 -(5'')); 2,18 (t, $^3J = 7,3$ Hz, 2H, CH_2 -(2'')); 2,70 (t, $^3J = 7,5$ Hz, 2H, CH_2 -(6'')); 3,69 (s, 2H, CH_2 -

(2)); 6,62/6,69 (2d, $^3J_1 = 3,3$ Hz, $^3J_2 = 3,3$ Hz, 1H-C(3'), 1H-C(4'));
12,21 (s, 2H, COOH).

^{13}C -NMR: (50 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm) = 24,18 (C(3'')); 27,99 (C(4'')); 29,18 (C(6'')); 30,90 (C(5'')); 33,56 (C(2'')); 35,16 (C(2)); 123,62 (C(4')); 126,23 (C(3')); 133,50 (C(5'')); 144,09 (C(2'')); 171,71 (C(1)); 174,39 (C(1'')).

Analyse: $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{S}$ [256,32 g/mol]
ber.: C: 56,23 H: 6,29
gef.: C: 56,10 H: 6,34

9.70 Synthese von 6-[5-(2-Amino-2-oxoethyl)-2-thienyl]hexanamid 221

Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 4) für die Bildung eines Amides aus einer Carbonsäure.

Edukte:

Dicarbonsäure 220 :	5,5 g (21,4 mmol)
Oxalylchlorid:	7,08 g (55,6 mmol)
THF abs.:	100 ml
NH ₃ (g)	

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Umkristallisation aus MeOH.

Ausbeute: 3,66 g als rosafarbenes Pulver (67 %)

Analytik:

Smp.: 184-186 °C

DC: (CH₂Cl₂/MeOH: 10 + 1) R_f = 0,41

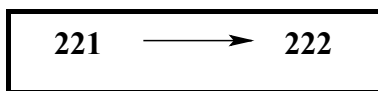
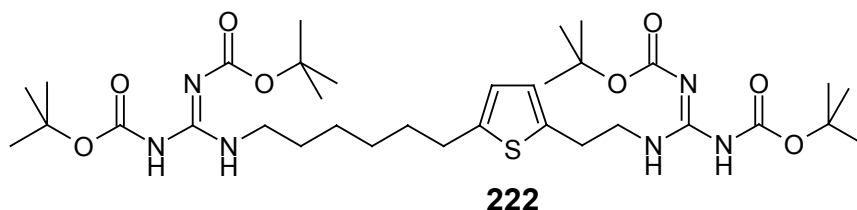
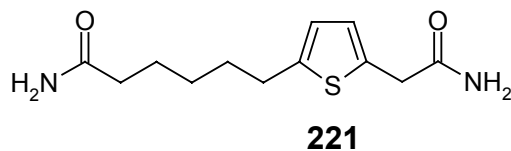
¹H-NMR: (300 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 1,22-1,1,32 (m, 2H, CH₂-(4'')); 1,43-1,60 (m, 4H, CH₂-(3''), CH₂-(5'')); 2,00 (t, ³J = 7,4 Hz, 2H, CH₂-(2'')); 2,68 (t, ³J = 7,5 Hz, 2H, CH₂-(6'')); 3,70 (s, 2H, CH₂-

(2)); 6,60-6,65 (m, 3H, 1H-C(3'), 1H-C(4'), NH); 6,91/7,21/7,44 (3s, 3x NH).

¹³C-NMR: (50 MHz; DMSO-d₆) δ (ppm) = 24,79 (C(3'')); 28,12 (C(4'')); 29,24 (C(6'')); 30,99 (C(5'')); 34,99 (C(2'')); 36,61 (C(2)); 123,49 (C(4')); 125,50 (C(3')), 135,11 (C(5'')); 143,68 (C(2'')); 171,20 (C(1)); 174,21 (C(1'')).

Analyse: C₁₂H₁₈N₂O₂S [254,35 g/mol]
ber.: C: 56,67 H: 7,13 N: 11,01
gef.: C: 56,55 H: 7,06 N: 11,01

9.71 Synthese von *tert*-Butyl-*N*-({[6-(5-{2-[2,3-bis(*tert*-butoxycarbonyl)-guanidino]ethyl}-2-thienyl)hexyl]amino}[(*tert*-butoxycarbonyl)-amino]methyliden)carbammat **222**



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV 5) für die LiAlH₄-Reduktion eines Amides zum Amin und (AAV 11) für die Guanidierung einer primären Aminofunktion.

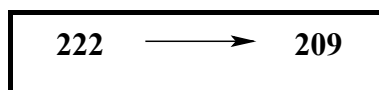
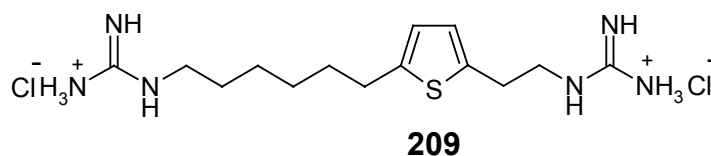
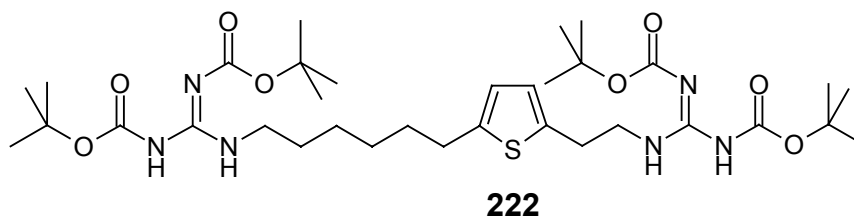
Edukte:	Diamid 221 :	500 mg (1,96 mmol)
	LiAlH ₄ :	597 mg (15,7 mmol)
	THF (abs.):	50 ml
	erhaltenes Diamin:	220 mg (0,97 mmol)
	Guanidierungsreagenz 205 :	754 mg (2,4 mmol)
	MeCN:	50 ml

Reinigung: Die Reinigung erfolgte durch Chromatographie: (PE/DE: 1 + 1).

Ausbeute: 125 g als farblos transparenter Schaum (9 %)

Analytik:**Smp.:** 40-43 °C**DC:** (PE/DE: 2 + 1) $R_f = 0,65$ **$^1\text{H-NMR}$:** (300 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm) = 1,36-1,38 (m, 4H, CH_2 -(3''), CH_2 -(4'')); 1,47-1,70 (m, 40H, CH_2 -(2''), CH_2 -(5''), 4x ($\text{OC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$)); 2,73 (t, $^3J = 7,5$ Hz, 2H, CH_2 -(6'')); 2,99 (t, $^3J = 6,8$ Hz, 2H, CH_2 -(2)); 3,39 (q, $^3J = 7,0$ Hz, 2H, CH_2 -(1'')); 3,66 (q, $^3J = 6,8$ Hz, 2H, CH_2 -(1)); 6,56/6,63 (2d, $^3J_1 = 3,2$ Hz, $^3J_2 = 3,2$ Hz, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(4')); 8,29/8,43 (2s, 2H, NH-C(1), NH-C(1'')); 11,47-11,49 (m, 2H, 2x (CH_3) $_3$ -OCO-NH). **$^{13}\text{C-NMR}$:** (50 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm) = 26,55 ($\text{C}(3'')$); 28,01/28,05 (4x ($\text{OC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$)); 28,63 ($\text{C}(4'')$); 28,88 ($\text{C}(2'')$); 29,71 ($\text{C}(6'')$); 29,96 ($\text{C}(2)$); 31,44 ($\text{C}(5'')$); 40,88 ($\text{C}(1'')$); 42,19 ($\text{C}(1)$); 79,136/79,21 (2x $\text{NHCOC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); 82,96 (2x $\text{C}=\text{NCOOC}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$); 123,78/124,93 ($\text{C}(3')$, $\text{C}(4')$); 138,21 ($\text{C}(2')$), 144,14 ($\text{C}(5')$); 153,09/153,31 (2x $\text{NH}\underline{\text{C}}\text{OOC}(\text{CH}_3)_3$); 156,10 (2x $\text{C}=\text{N}\underline{\text{C}}\text{OOC}(\text{CH}_3)_3$); 163,57/163,64 (2x $\underline{\text{C}}=\text{NCOOC}(\text{CH}_3)_3$).**Analyse:** $\text{C}_{34}\text{H}_{58}\text{N}_6\text{O}_8\text{S}$ [710,93 g/mol]
ber.: C: 57,44 H: 8,22 N: 11,82
gef.: C: 57,21 H: 8,21 N: 11,58

9.72 Synthese von [(2-[5-(6-[[Ammonio(imino)methyl] amino}hexyl)-2-thienyl]ethyl)amino)(imino)methyl]ammoniumdichlorid **209**



Durchführung: Siehe allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV 9) für die Boc-Schutzgruppenabspaltung.

Edukte: Diguanidin **222**: 288 mg (0,40 mmol)
3M HCl in AcOEt: 10 ml

Ausbeute: 141 mg als weißes Pulver (91 %)

Analytik:

Smp.: nicht bestimmbar, da extrem hygroskopisch

RP-DC: (MeCN/wäßr. NH₄OAc-Puffer (10 mM): 40 + 60) R_f = 0,24

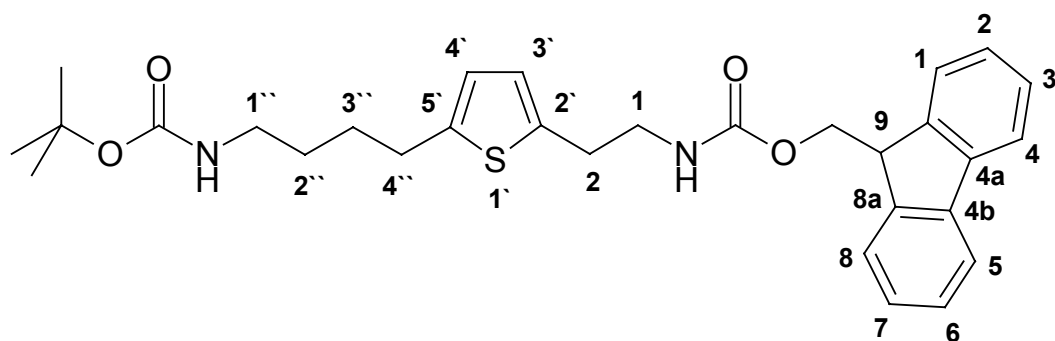
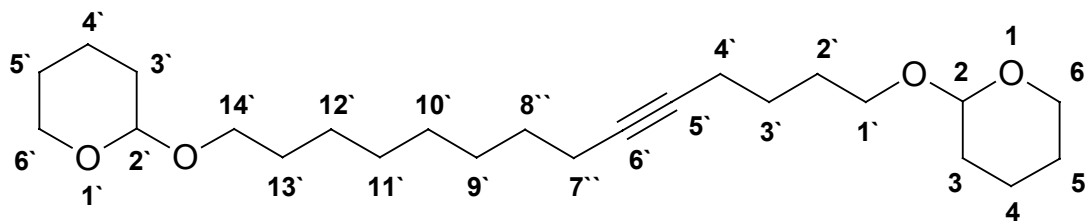
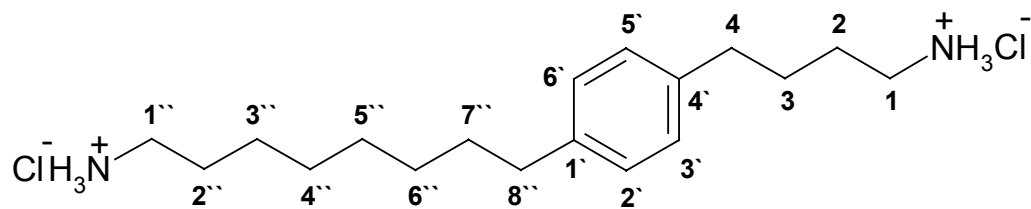
$^1\text{H-NMR}$: (300 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm) = 1,30 (s, 4H, CH_2 -(3''), CH_2 -(4'')); 1,56 (m, 2H, CH_2 -(2'')); 1,65 (m, 2H, CH_2 -(5'')); 2,70 (t, $^3J = 7,4$ Hz, 2H, CH_2 -(6'')); 2,90 (t, $^3J = 7,1$ Hz, 2H, CH_2 -(2)); 3,06 (q, $^3J = 6,1$ Hz, 2H, CH_2 -(1'')); 3,30-3,33 (m, 2H, CH_2 -(1)); 6,64/6,72 (2d, $^3J_1 = 3,3$ Hz, $^3J_2 = 3,2$ Hz, 2H, 1H-C(3'), 1H-C(4')); 7,12-7,60 (m, 8H, 2x (NH-(C=NH)-NH $_2$ x HCl)); 7,74-7,81 (m, 2H, 2x NH-(C=NH)-NH $_2$).

$^{13}\text{C-NMR}$: (50 MHz; DMSO- d_6) δ (ppm) = 25,66 (C(3'')); 27,94 (C(4'')); 28,34 /28,98/29,20/31,04 (C(2), C(2''), C(5''), C(6'')); 40,56 (C(1'')); 42,01 (C(1)); 124,00 (C(4')); 125,27 (C(3'')); 137,66 (C(2'')); 143,27 (C(5'')); 157,04/157,10 (2x NH-(C=NH)-NH $_2$).

Analyse: $\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{Cl}_2\text{N}_6\text{S} \times 0,5 \text{ H}_2\text{O}$ [392,39 g/mol]
ber.: C: 42,85 H: 7,45 N: 21,42
gef.: C: 42,80 H: 7,34 N: 21,25

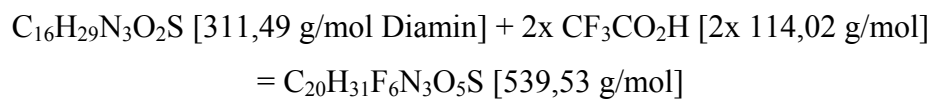
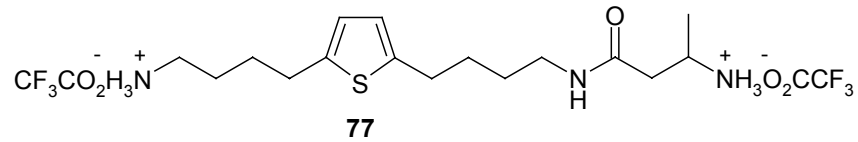
MS: ESI $^+$ (M+1): [311,2 g/mol]
ESI $^{2+}$ (M+1): [156,2 g/mol]

10 Lokanden



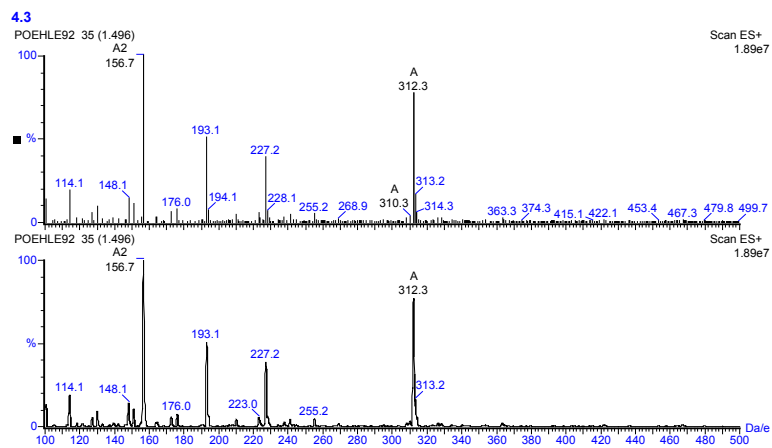
11 Analytik der festphasensynthetisch hergestellten Verbindungen

11.1 [3-(4-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]butylamino)-1-methyl-3-oxopropyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 77

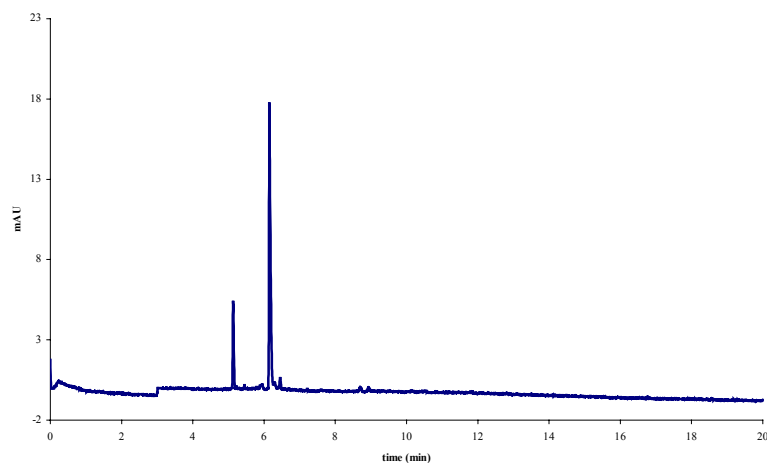


Aussehen: braunes Öl

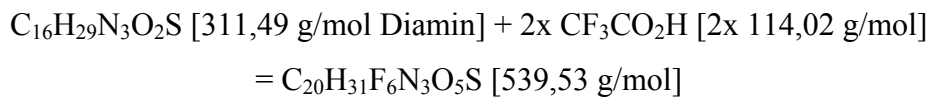
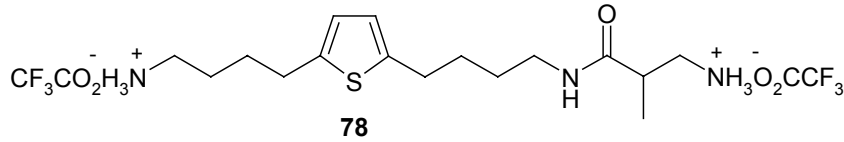
Massenspektrum:



Elektropherogramm:

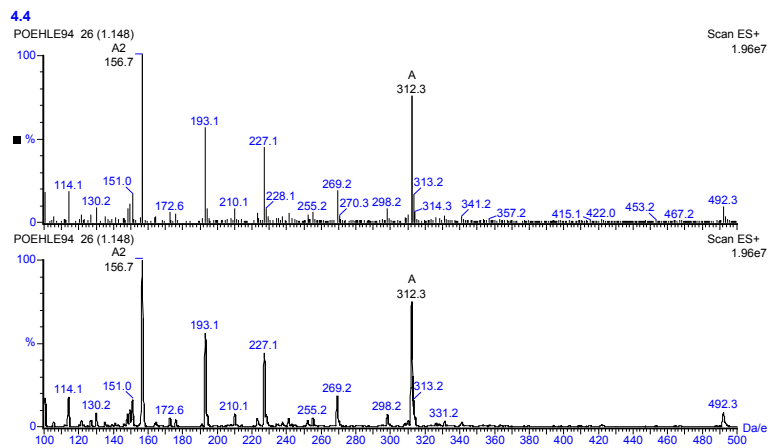


11.2 [3-(4-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]butylamino)-2-methyl-3-oxopropyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 78

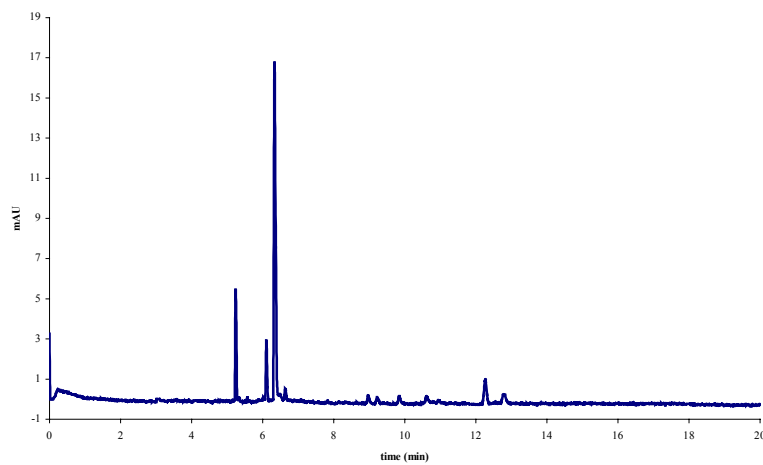


Aussehen: braunes Öl

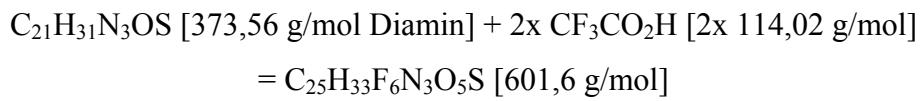
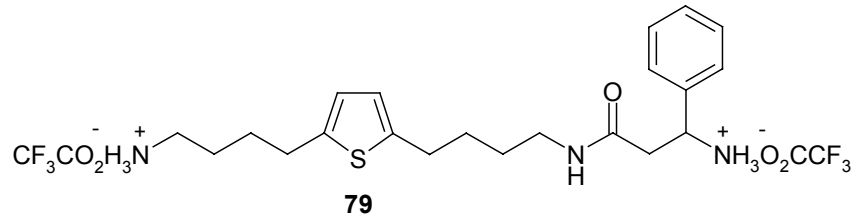
Massenspektrum:



Elektropherogramm:

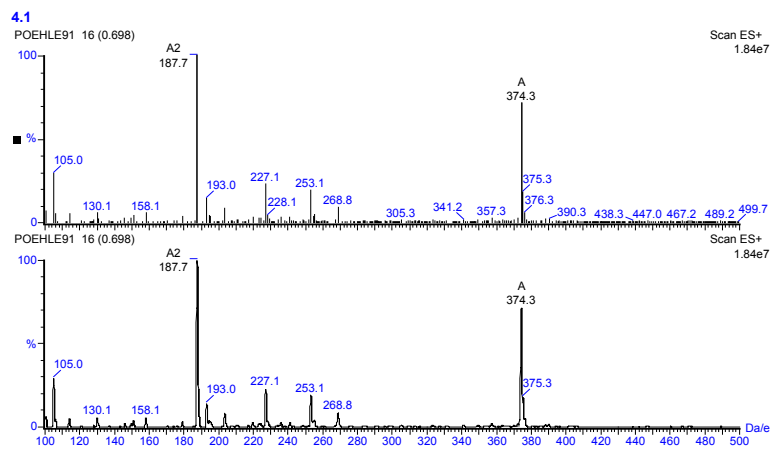


11.3 [3-(4-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]butylamino)-3-oxo-1-phenylpropyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 79

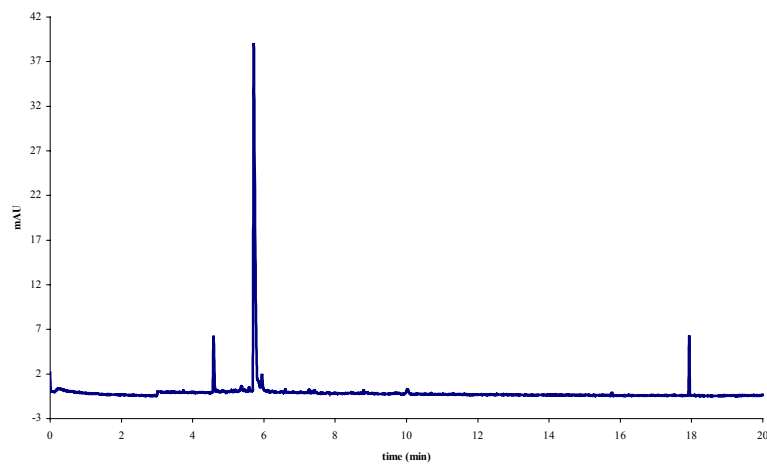


Aussehen: braunes Öl

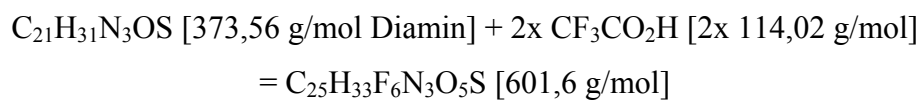
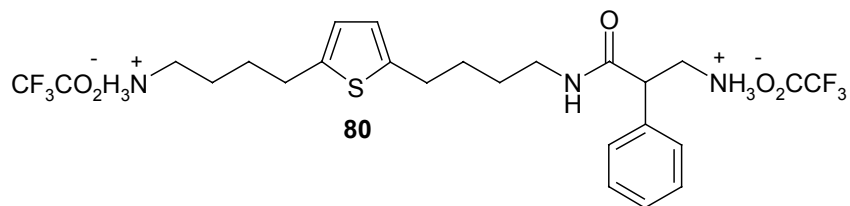
Massenspektrum:



Elektropherogramm:

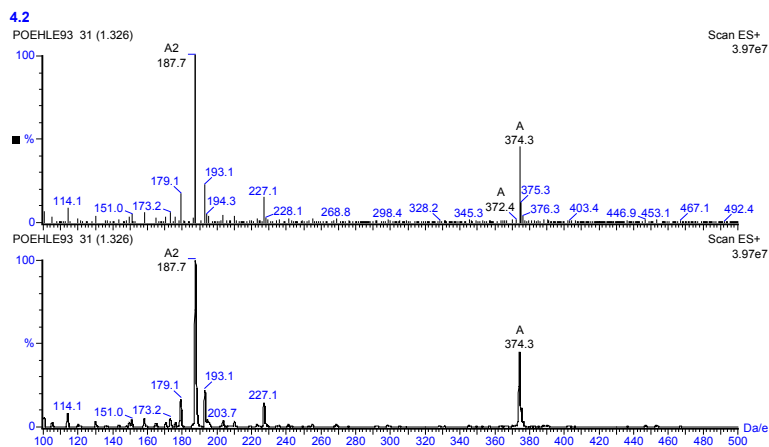


11.4 [3-(4-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]butylamino)-3-oxo-2-phenylpropyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 80

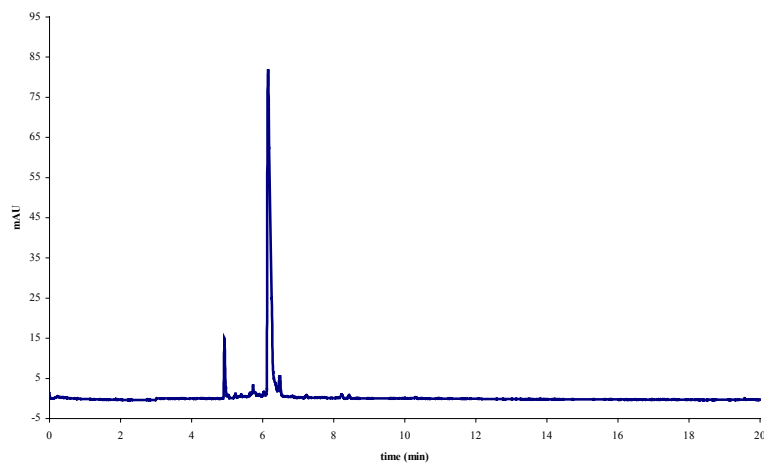


Aussehen: braunes Öl

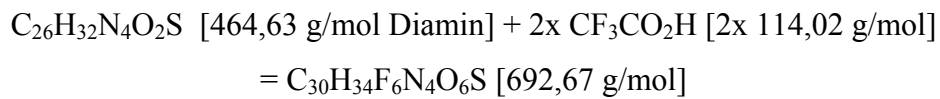
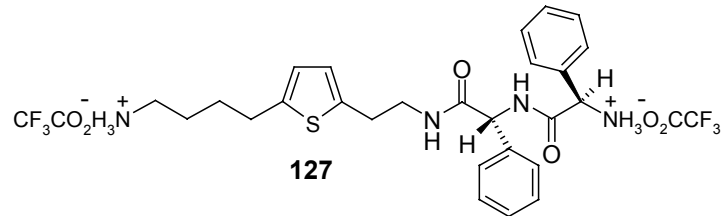
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



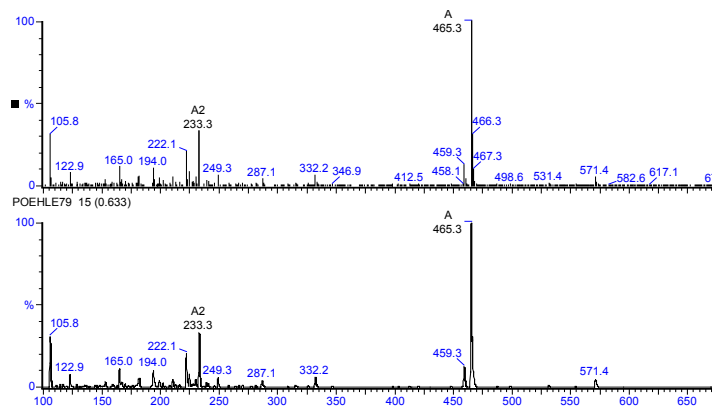
11.5 ((1*R*)-2-[(1*R*)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-2-oxo-1-phenylethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)ammonium-di(2,2,2-trifluoroacetat) 127



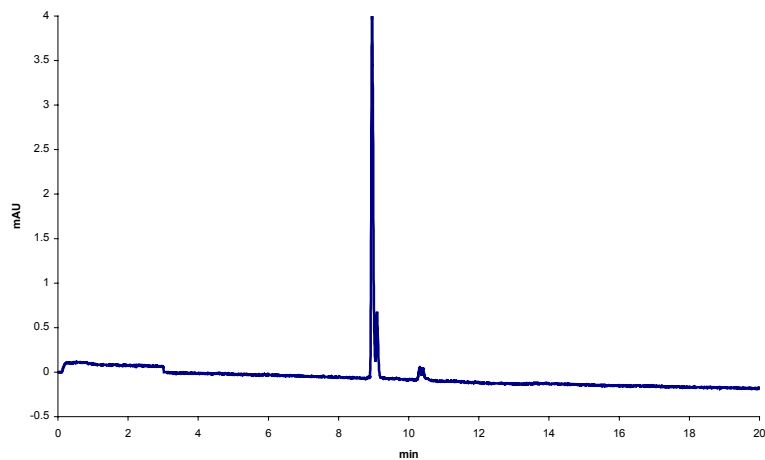
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

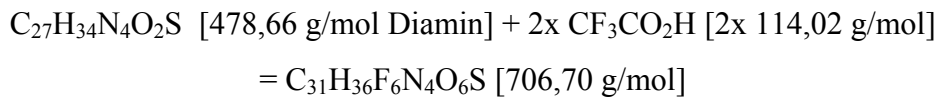
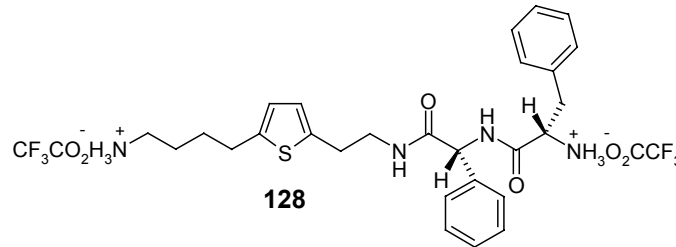
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



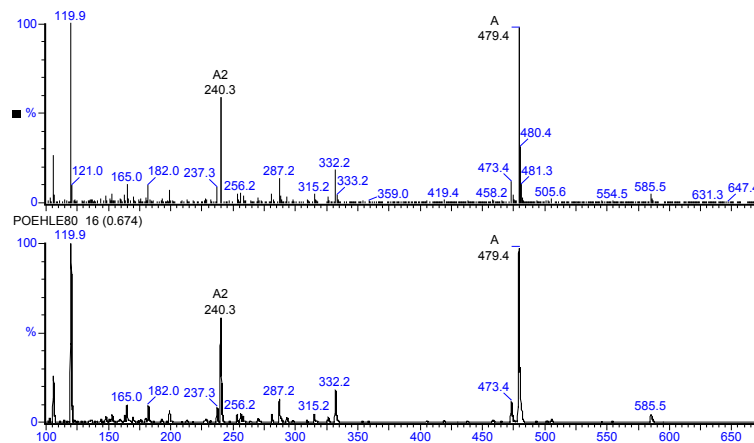
11.6 ((1S)-2-[(1R)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-2-oxo-1-phenylethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl)ammonium-di(2,2,2-trifluoroacetat) 128



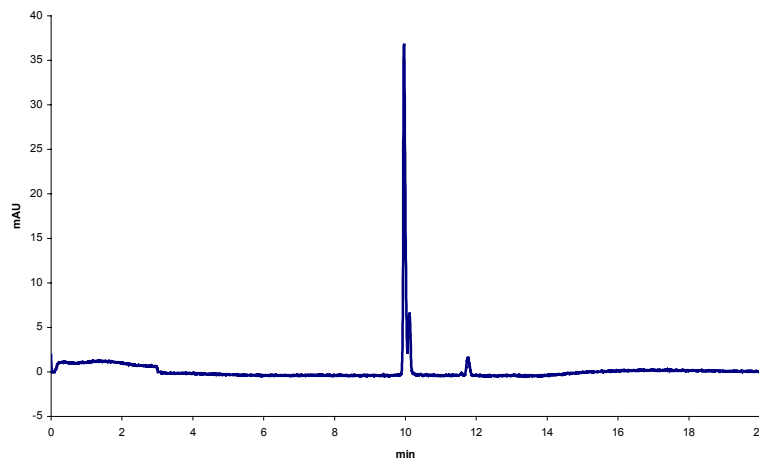
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

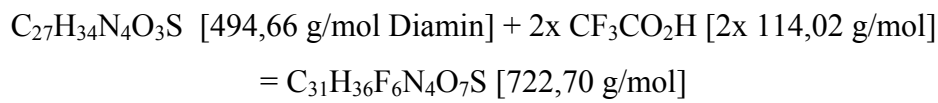
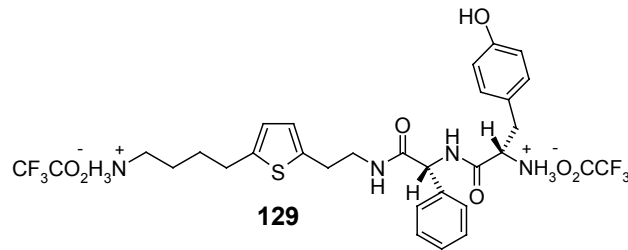
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



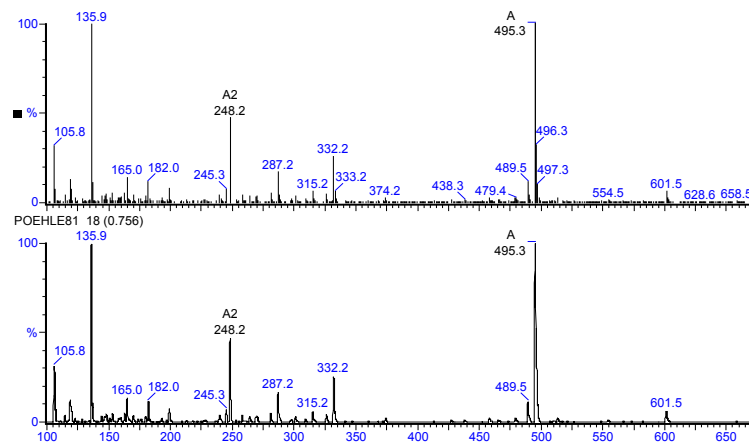
11.7 [(1S)-2-[(1R)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-2-oxo-1-phenylethyl]amino-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 129



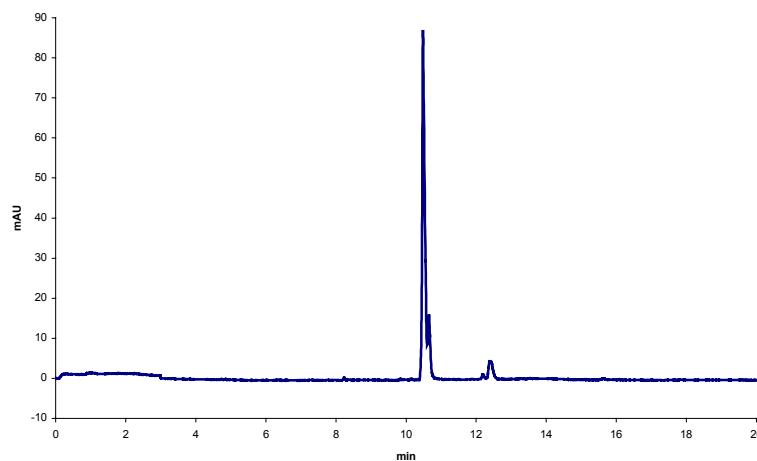
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

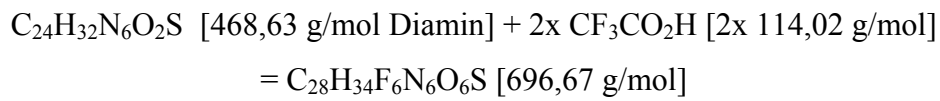
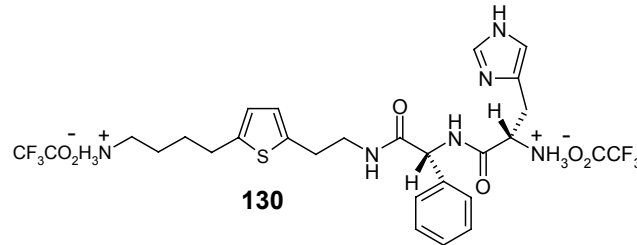
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



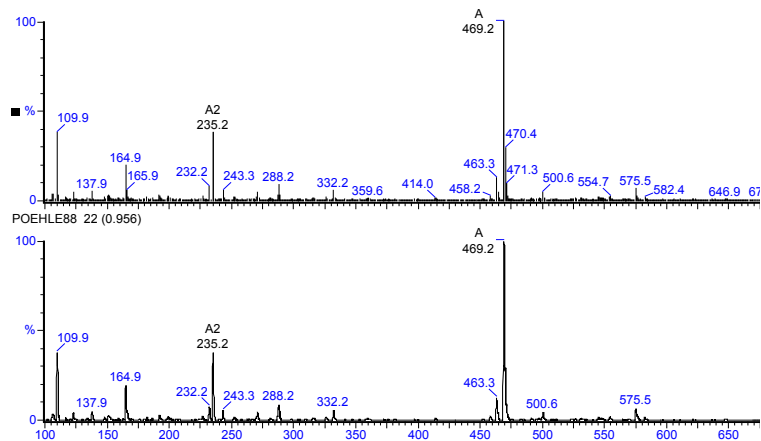
11.8 [(1S)-2-[(1R)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-2-oxo-1-phenylethyl]amino-1-(1H-4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 130



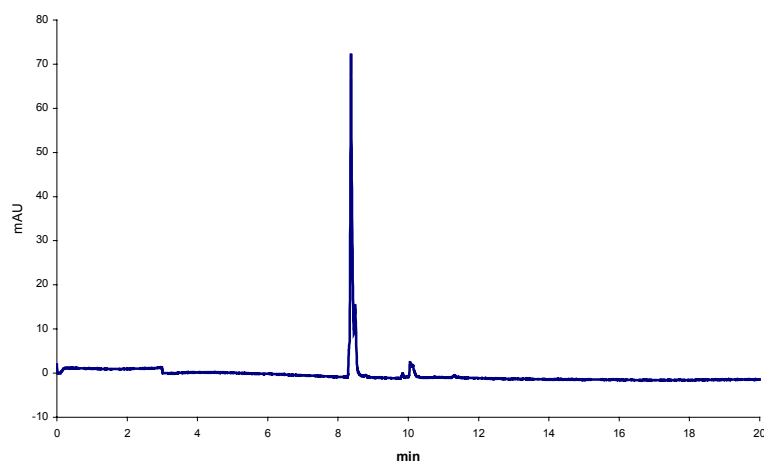
Aussehen: gelbliches Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

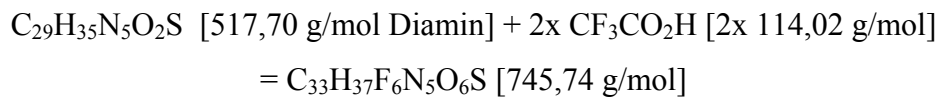
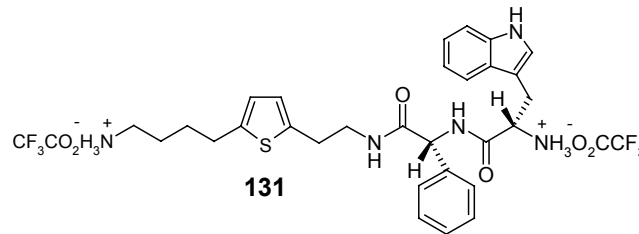
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



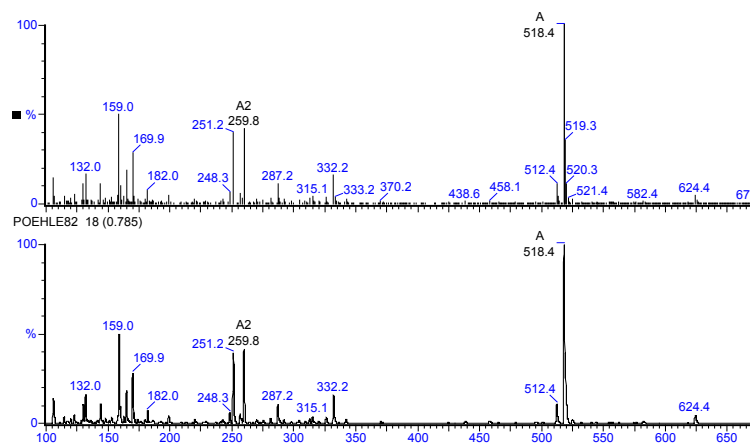
11.9 [(1*S*)-2-[(1*R*)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-2-oxo-1-phenylethyl]amino-1-(1*H*-3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 131



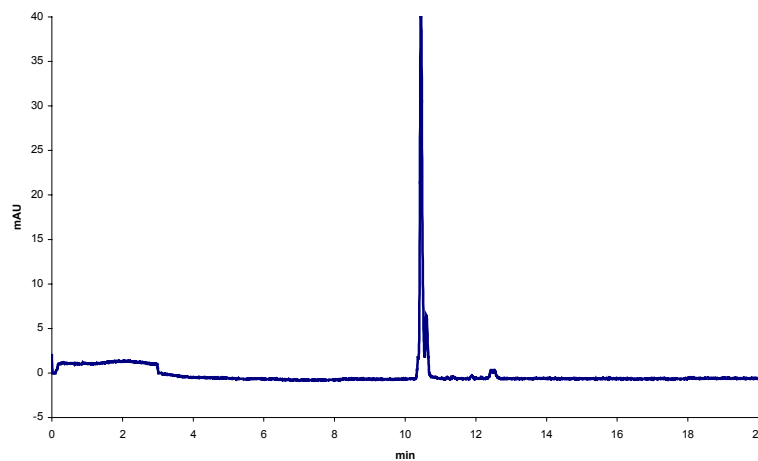
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

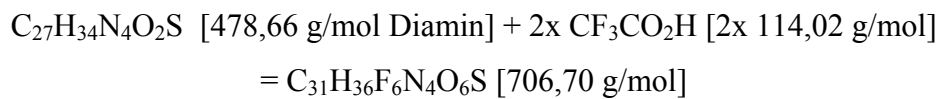
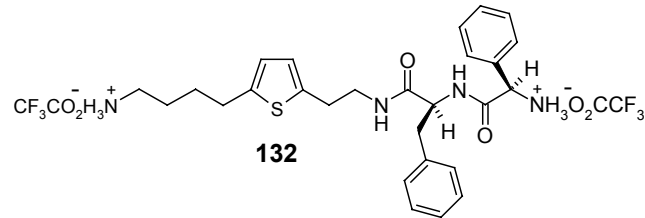
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



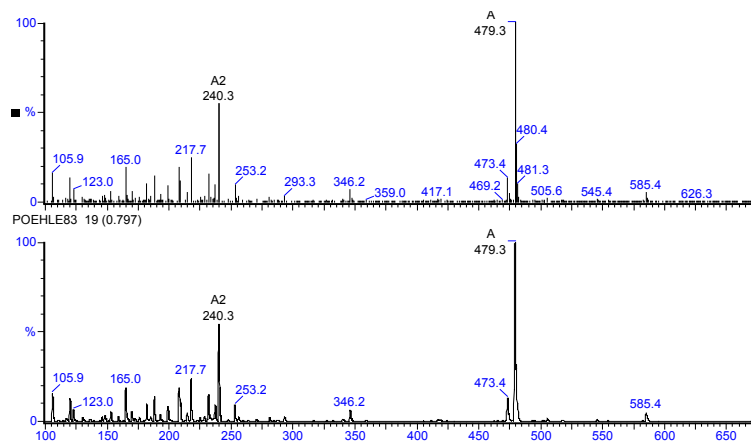
11.10 ((1*R*)-2-[(1*S*)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-benzyl-2-oxoethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 132



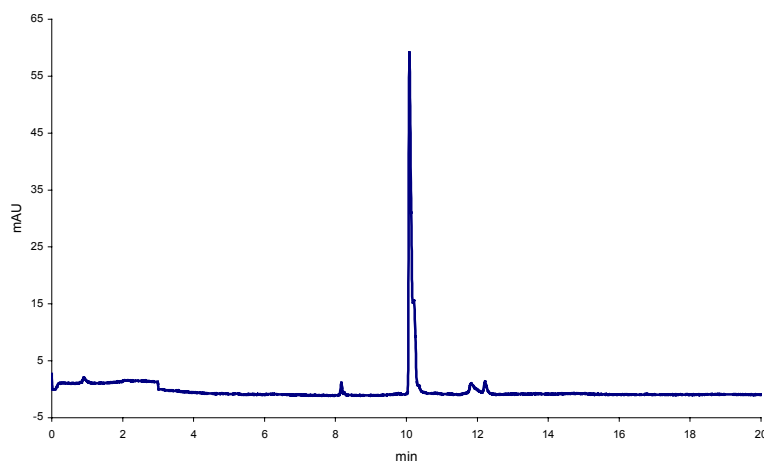
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

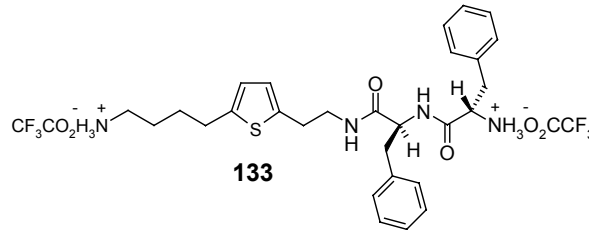
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



11.11 ((1S)-2-[(1S)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-benzyl-2-oxoethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl)ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 133



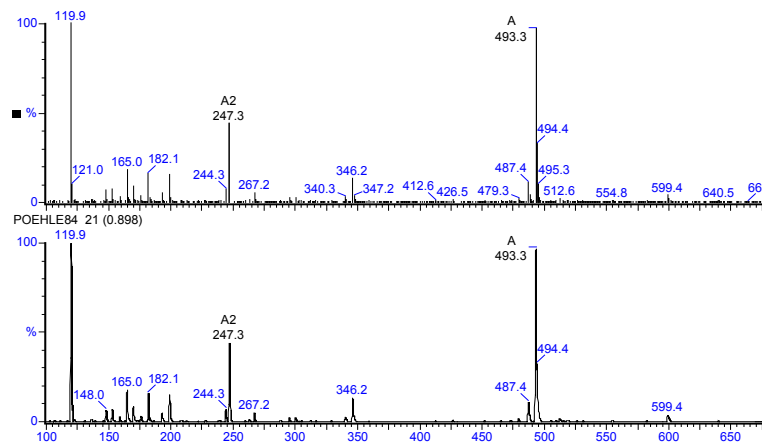
$C_{28}H_{36}N_4O_2S$ [492,69 g/mol Diamin] + 2x CF_3CO_2H [2x 114,02 g/mol]

= $C_{31}H_{38}F_6N_4O_6S$ [720,73 g/mol]

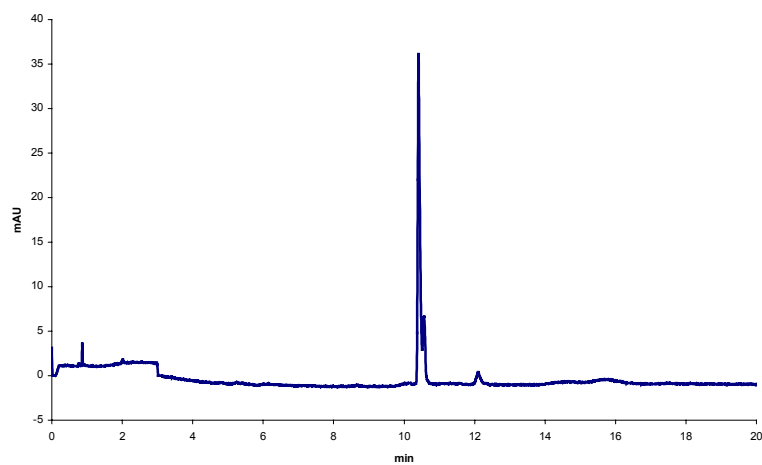
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

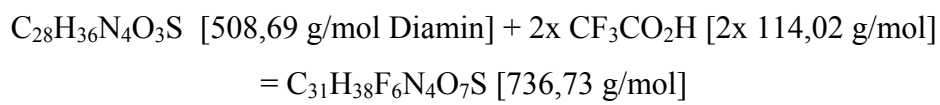
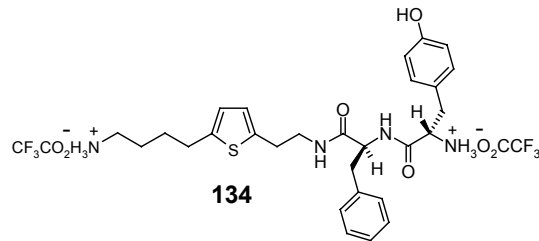
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



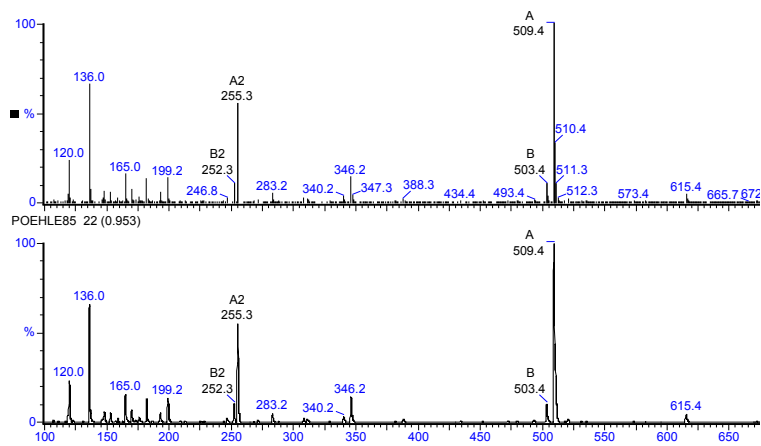
11.12 [(1S)-2-[(1S)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-benzyl-2-oxoethyl]amino-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 134



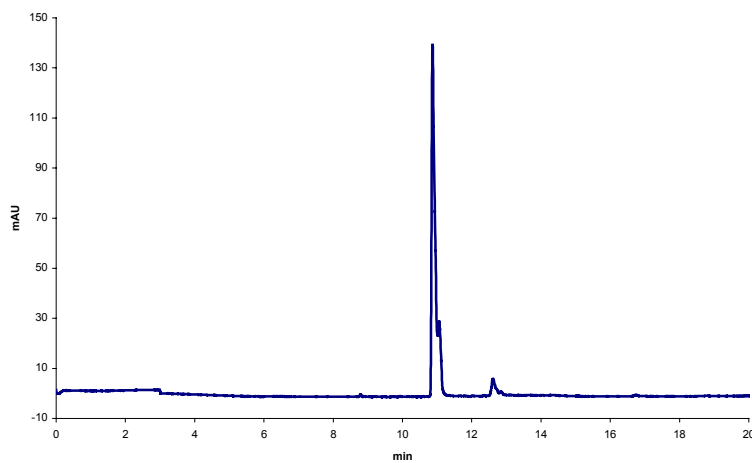
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

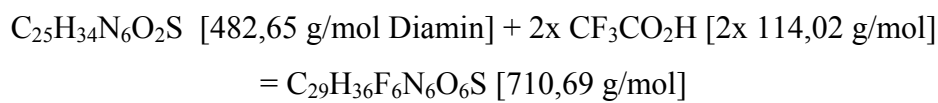
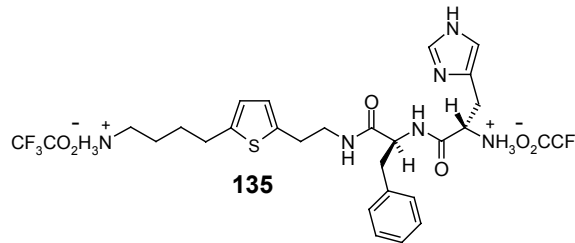
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



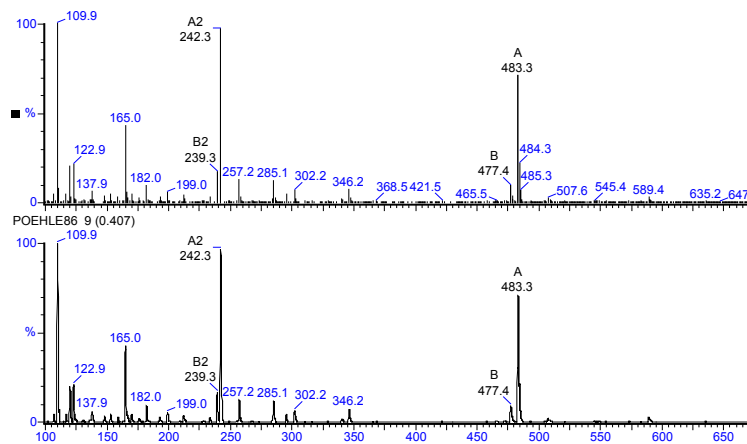
11.13 [(1*S*)-2-[(1*S*)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-benzyl-2-oxoethyl]amino-1-(1*H*-4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]-ammoniumdi(2,2,2-trifluoroacetat) 135



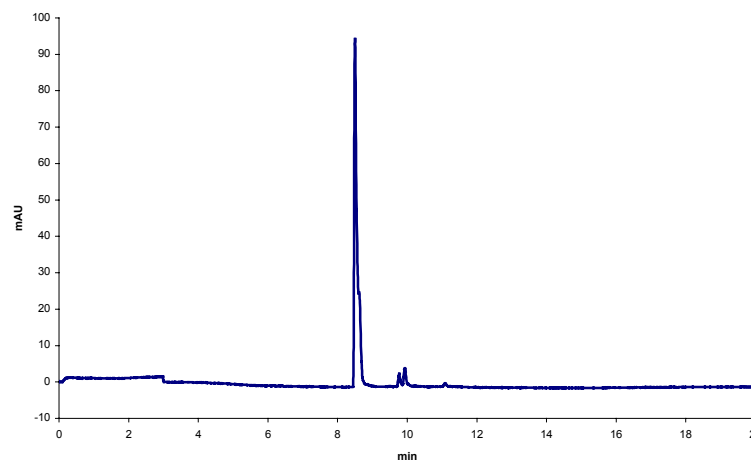
Aussehen: gelbes Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

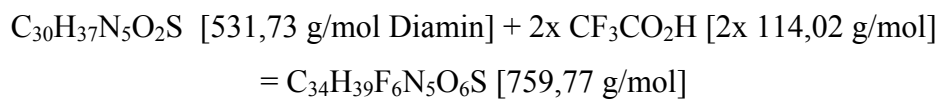
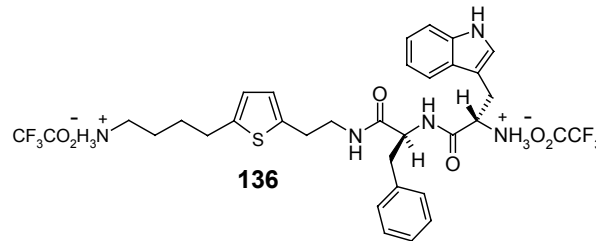
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



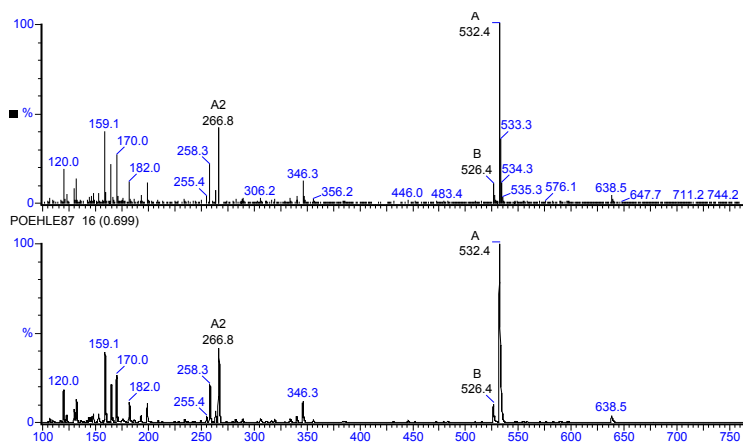
11.14 [(1S)-2-[(1S)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-benzyl-2-oxoethyl]amino-1-(1H-3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 136



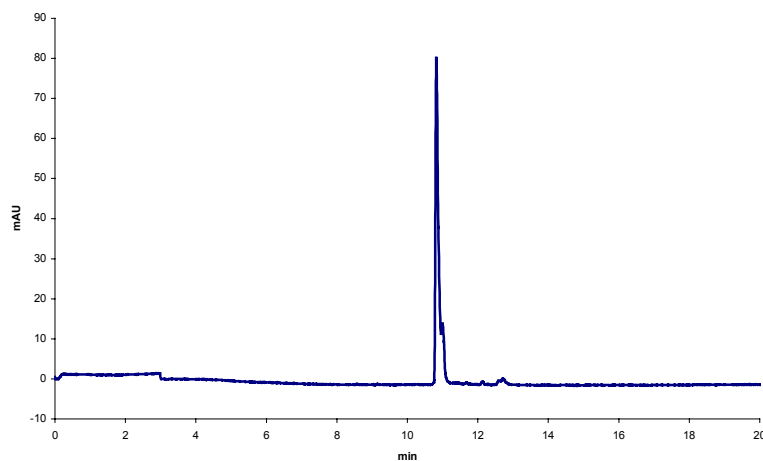
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

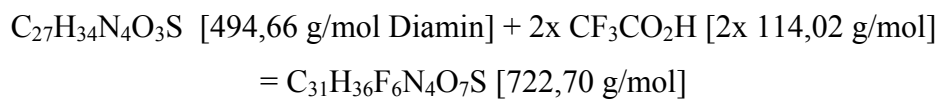
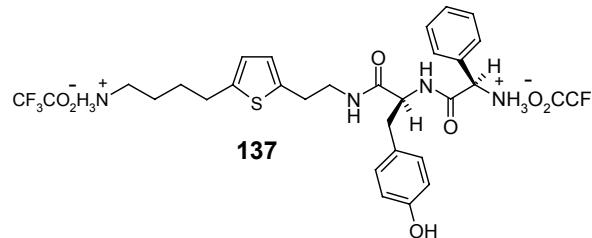
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



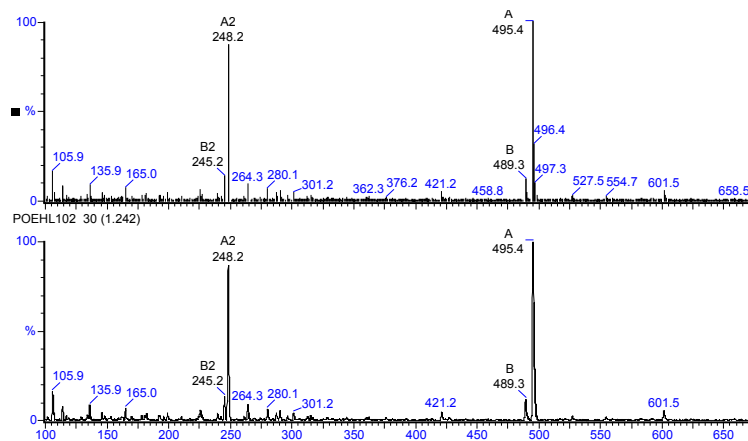
11.15 ((1*R*)-2-[(1*S*)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 137



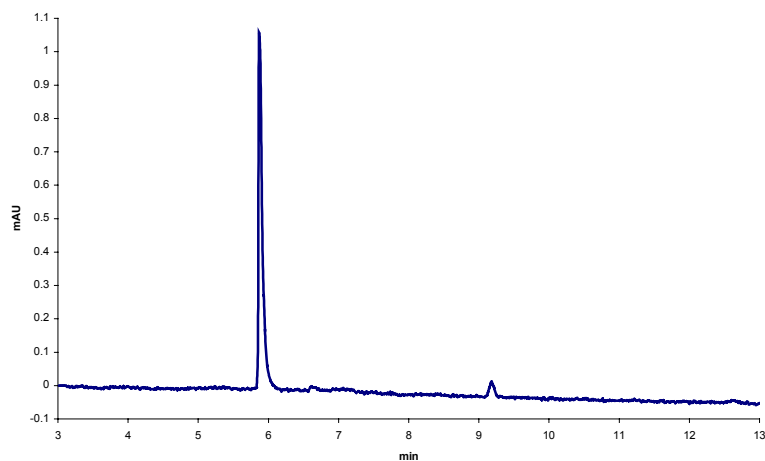
Aussehen: gelbes Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

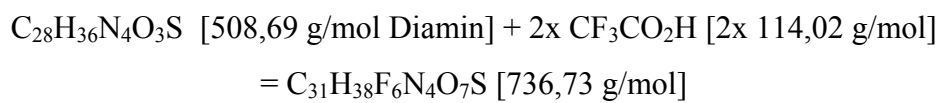
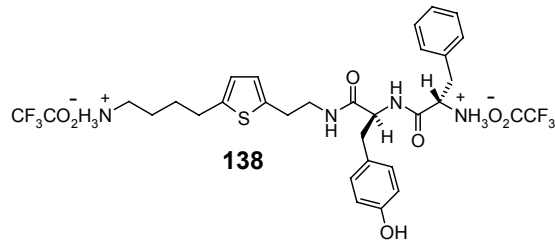
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



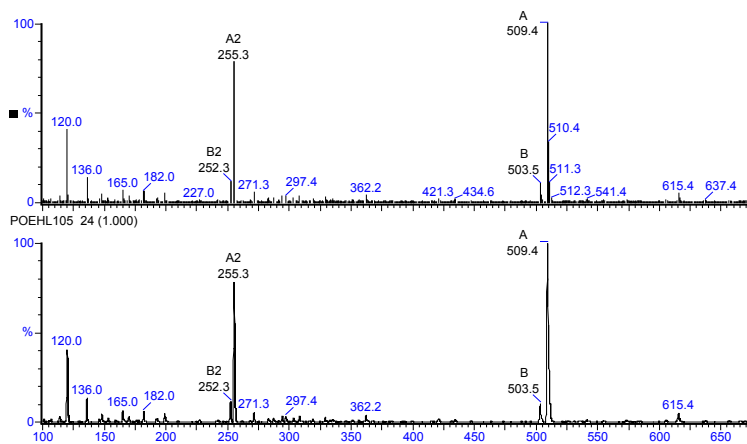
11.16 ((1S)-2-[(1S)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl)-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 138



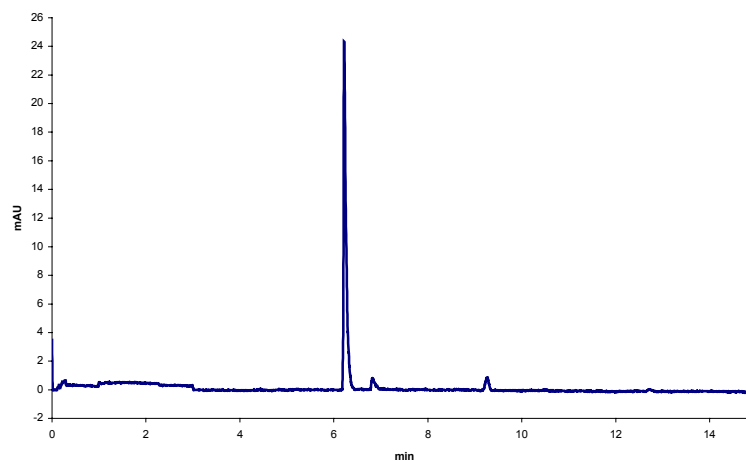
Aussehen: gelbes Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

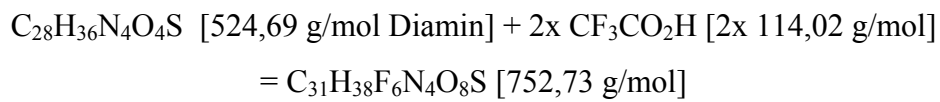
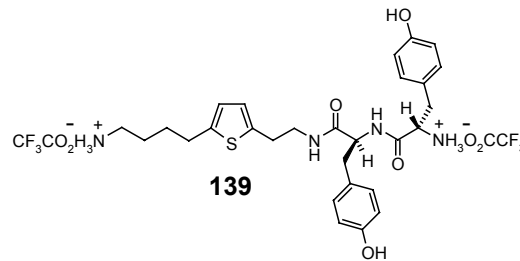
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



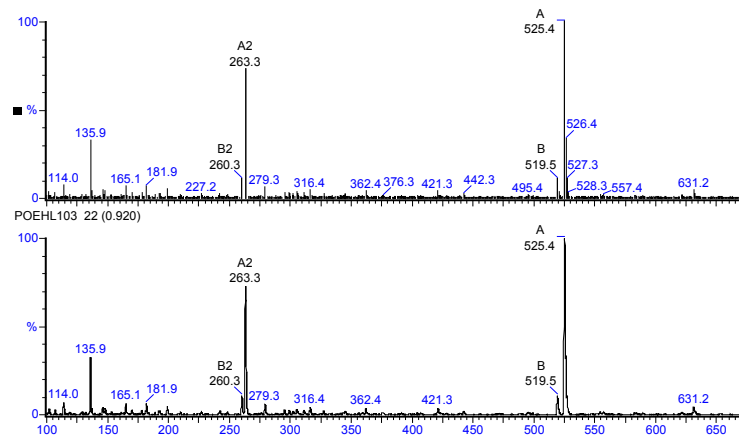
11.17 [(1S)-2-[(1S)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]amino-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 139



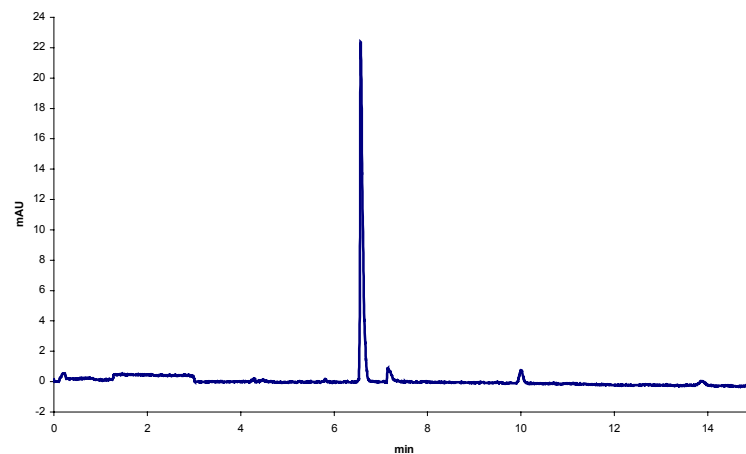
Aussehen: gelbes Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

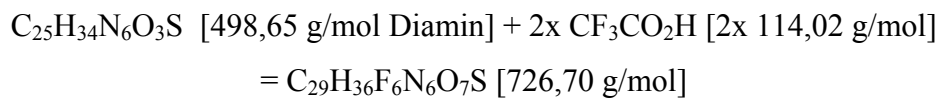
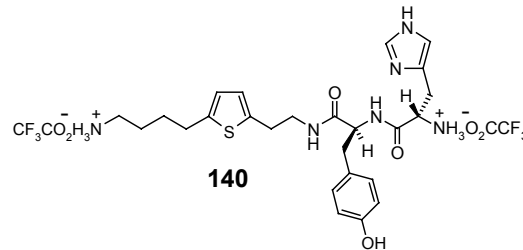
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



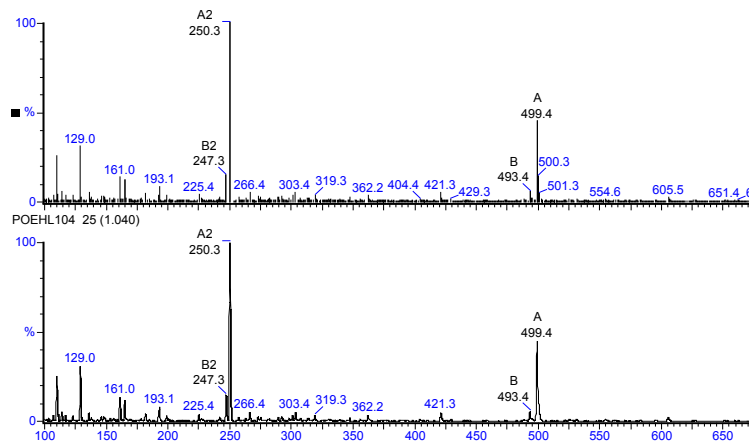
11.18 [(1S)-2-[(1S)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1H-4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 140



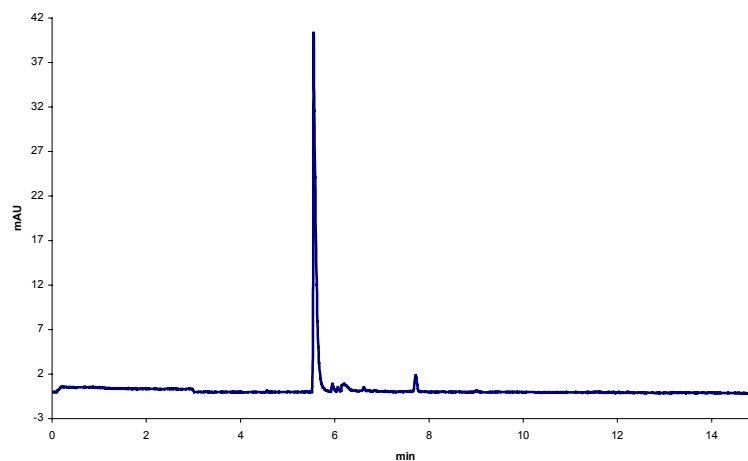
Aussehen: gelbes Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

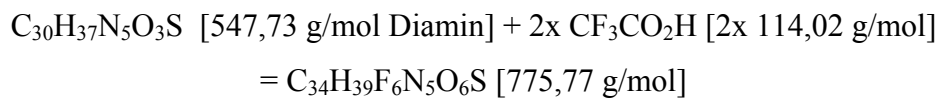
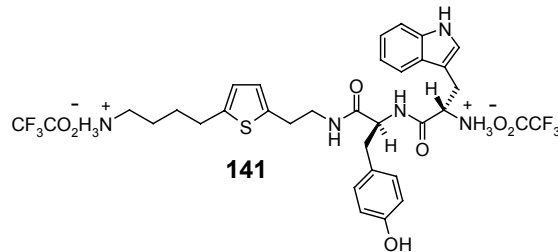
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



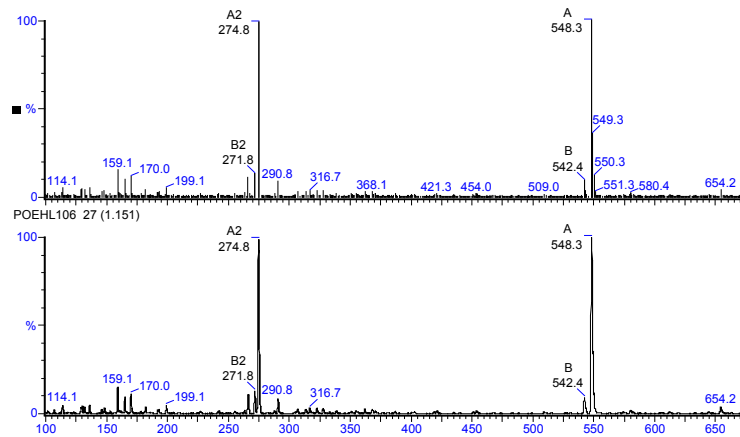
11.19 [(1*S*)-2-[(1*S*)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1*H*-3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 141



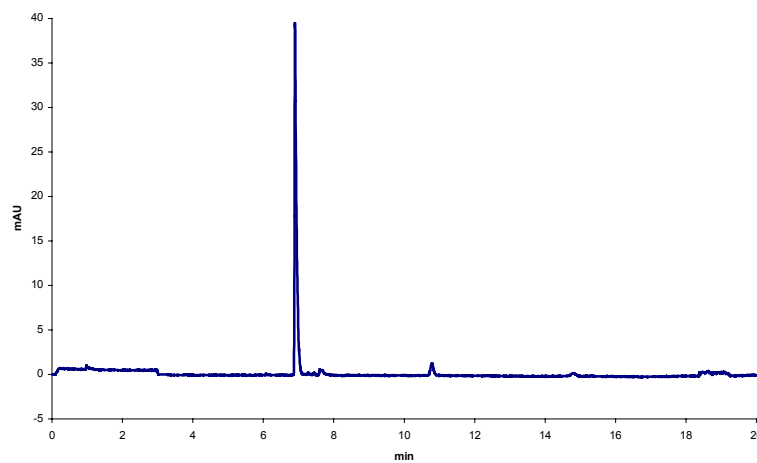
Aussehen: gelbes Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

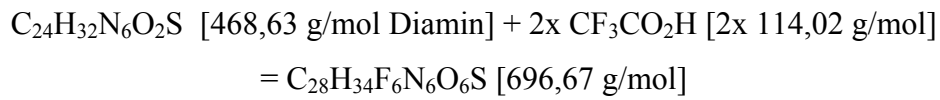
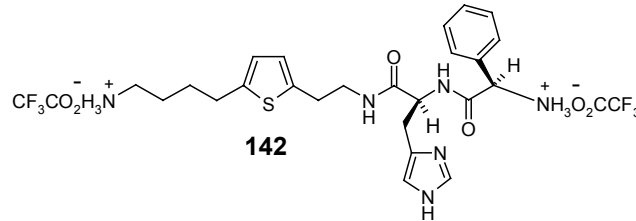
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



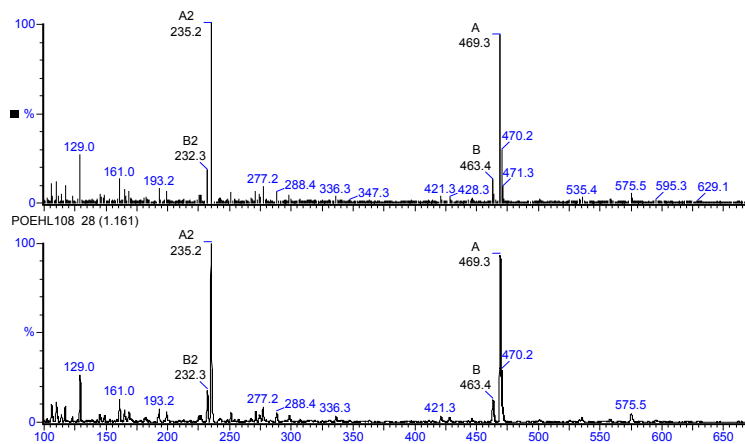
11.20 ((1*R*)-2-[(1*S*)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(1*H*-4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)-ammoniumdi(2,2,2-trifluoroacetat) 142



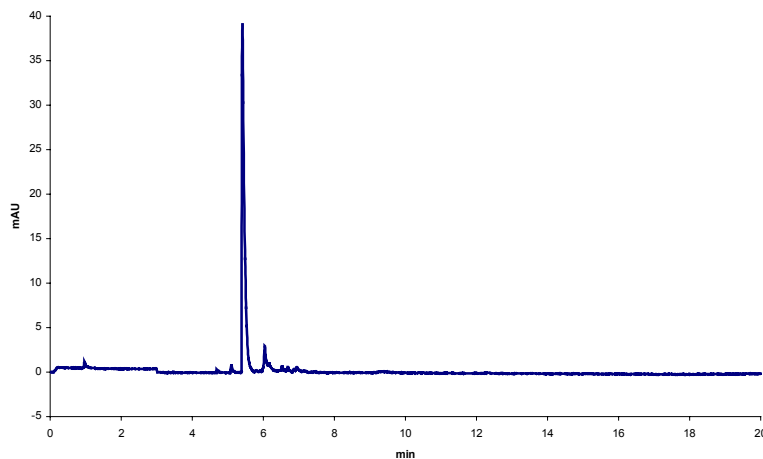
Aussehen: gelbes Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

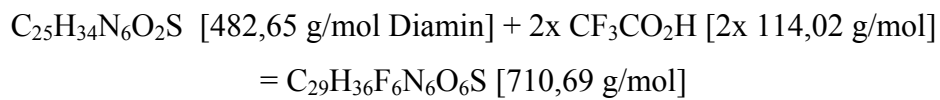
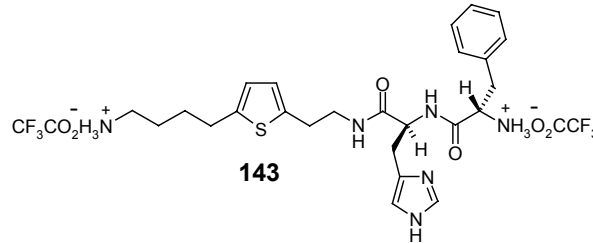
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



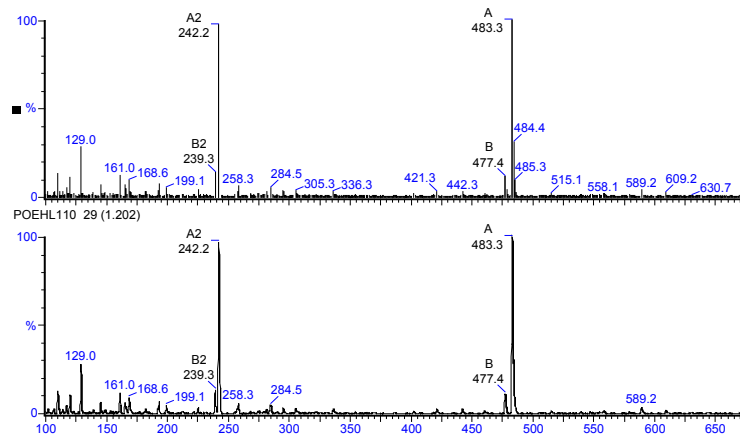
11.21 ((1*S*)-2-[(1*S*)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(1*H*-4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl)-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 143



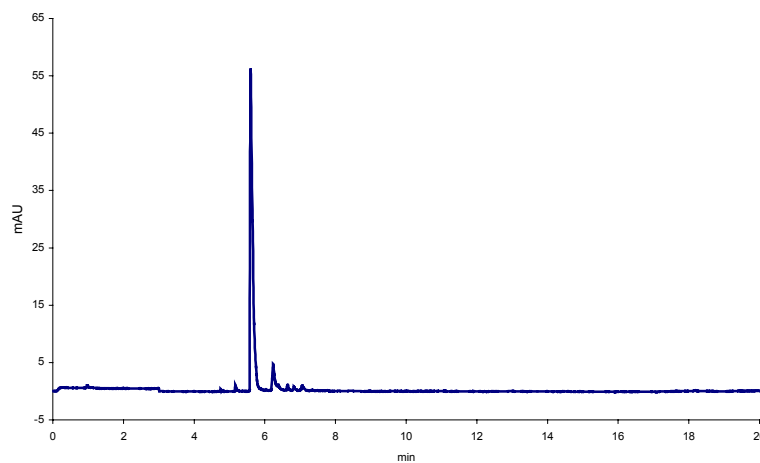
Aussehen: gelbes Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

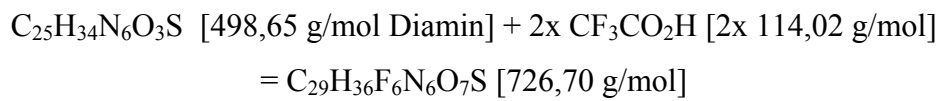
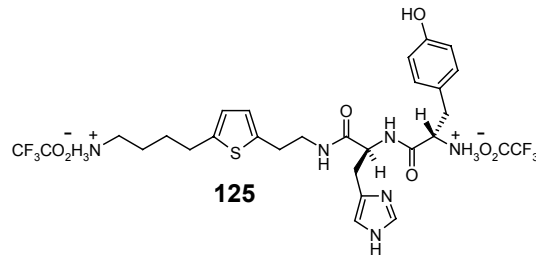
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



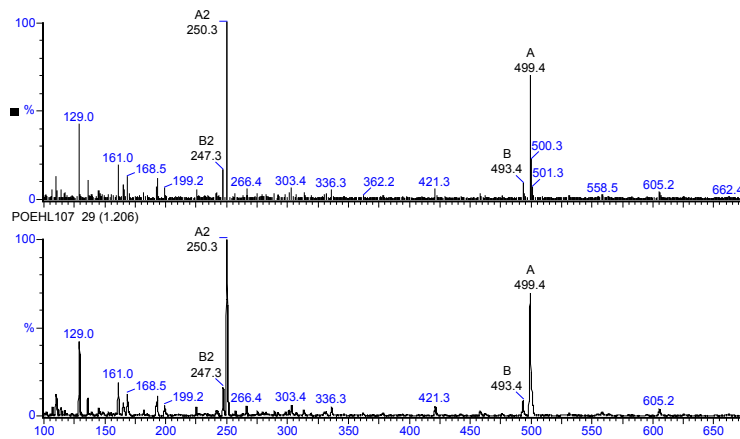
11.22 [(1S)-2-[(1S)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(1H-4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 125



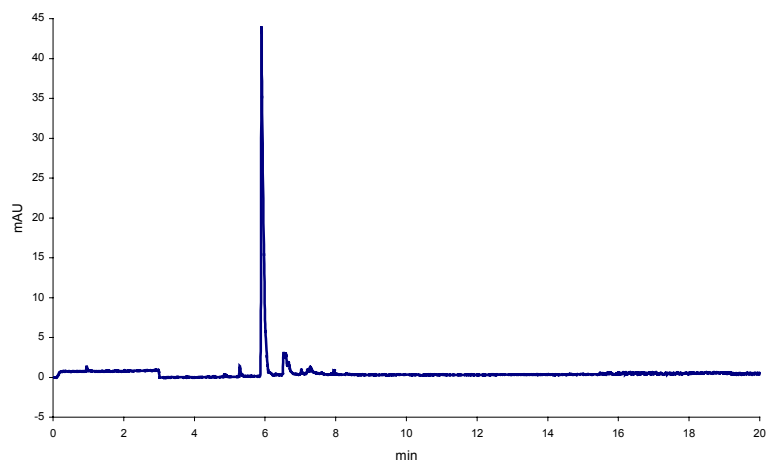
Aussehen: gelbes Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

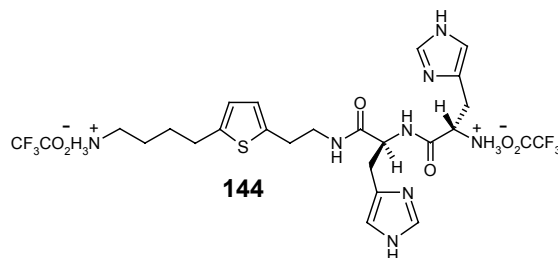
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



11.23 [(1S)-2-[(1S)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(1H-4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1H-4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 144



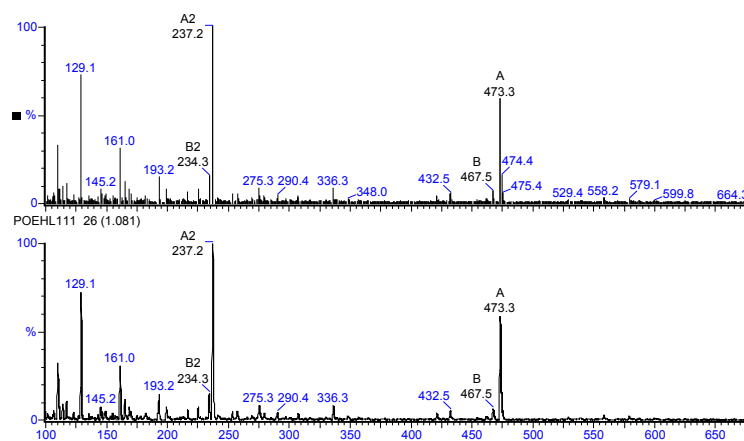
$C_{22}H_{32}N_8O_2S$ [472,62 g/mol Diamin] + 2x CF_3CO_2H [2x 114,02 g/mol]

= $C_{26}H_{34}F_6N_8O_6S$ [700,66 g/mol]

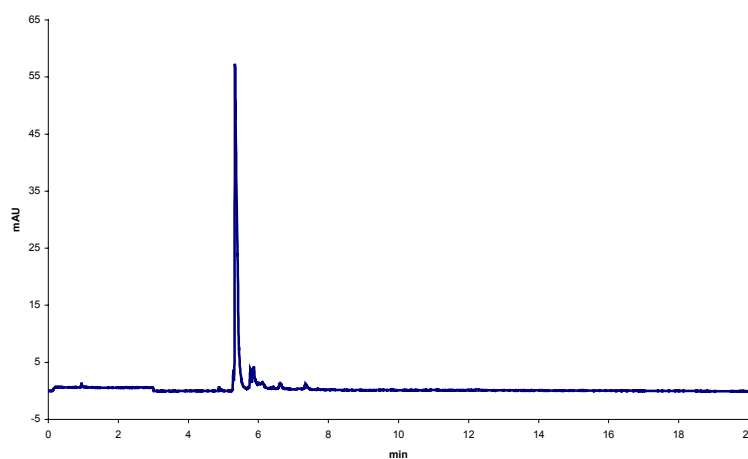
Aussehen: gelbes Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

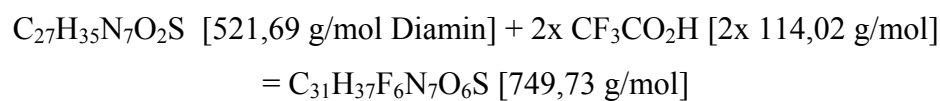
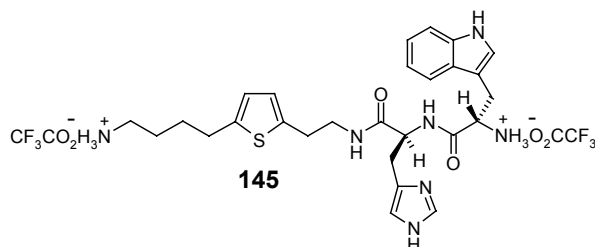
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



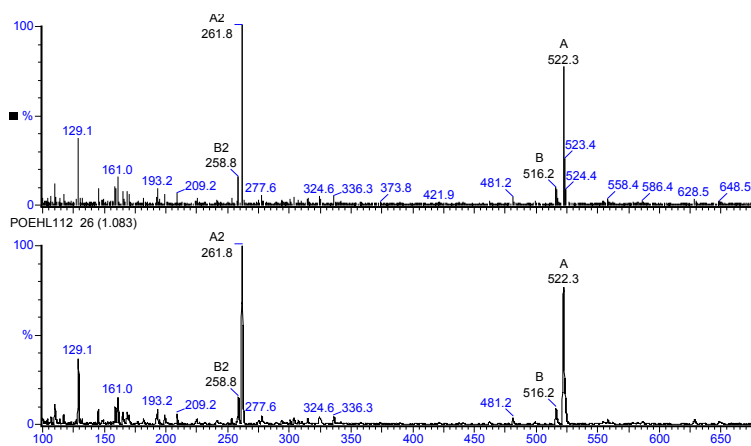
11.24 [(1S)-2-[(1S)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(1H-4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1H-3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 145



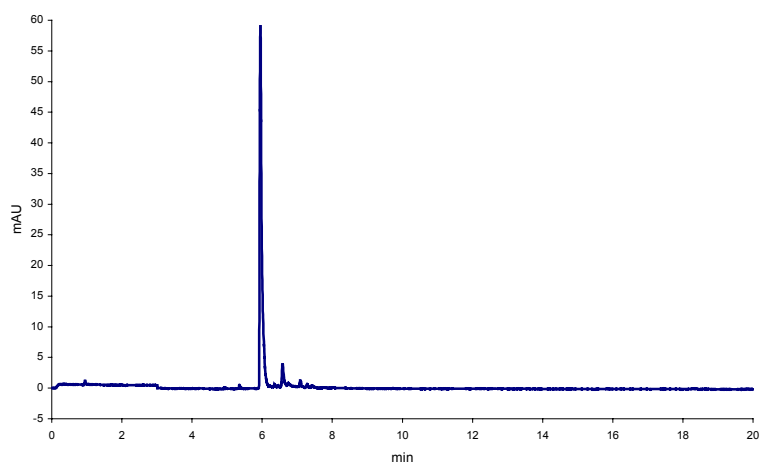
Aussehen: gelbes Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

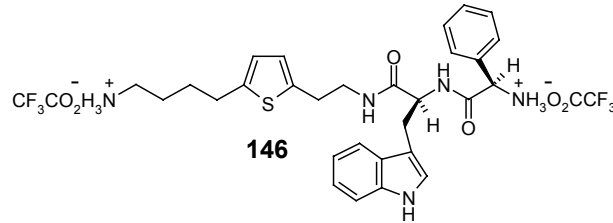
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



11.25 ((1*R*)-2-[(1*S*)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(1*H*-3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 146



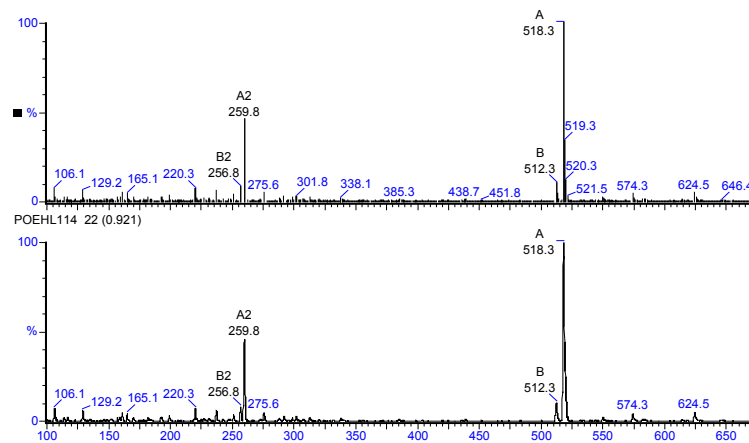
$C_{29}H_{35}N_5O_2S$ [517,70 g/mol Diamin] + 2x CF_3CO_2H [2x 114,02 g/mol]

= $C_{33}H_{37}F_6N_5O_6S$ [745,74 g/mol]

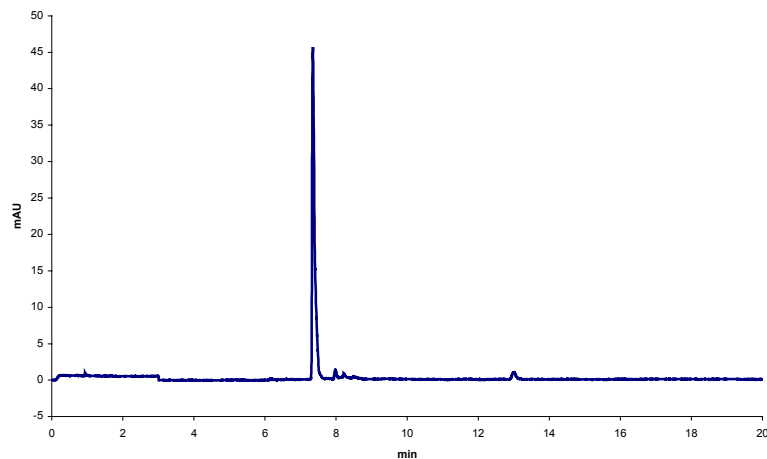
Aussehen: gelbes Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

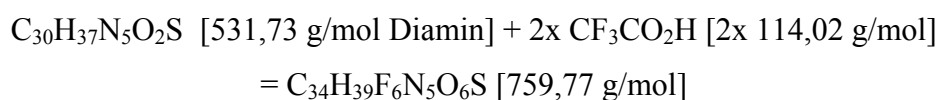
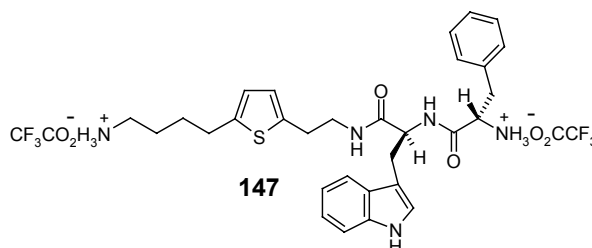
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



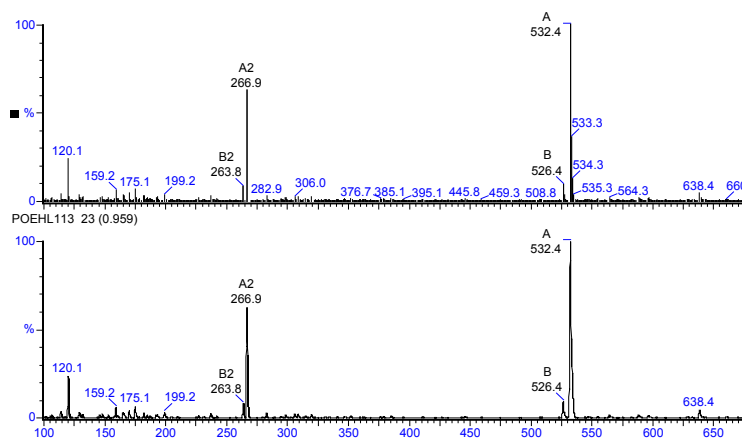
11.26 ((1S)-2-[(1S)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(1H-3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl)-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 147



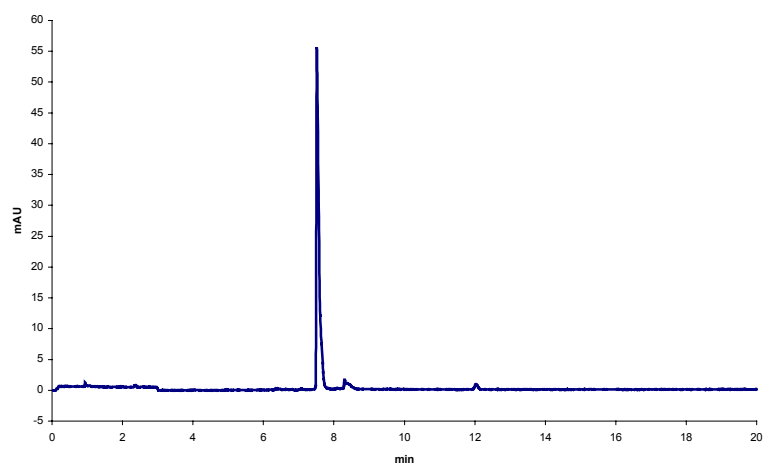
Aussehen: gelbes Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

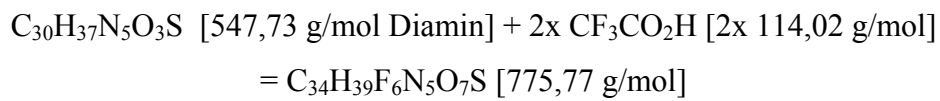
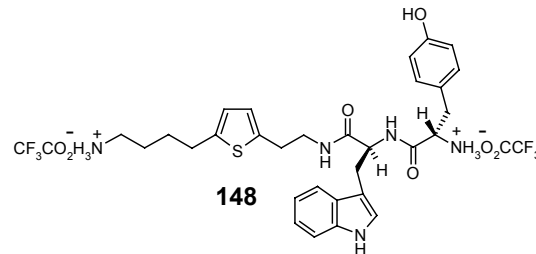
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



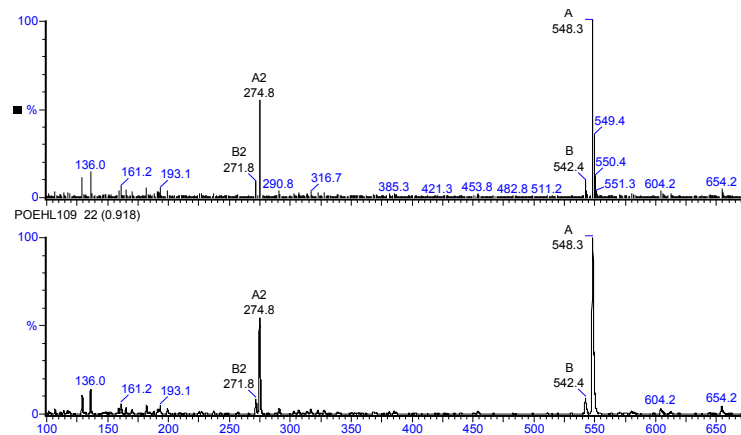
11.27 [(1S)-2-[(1S)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(1H-3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 148



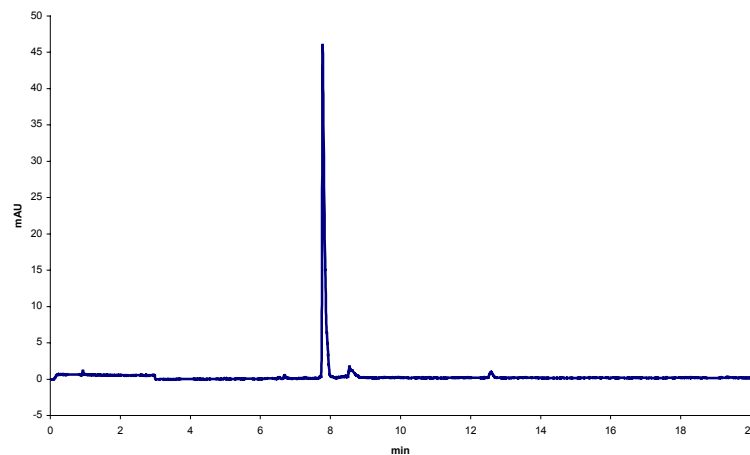
Aussehen: gelbes Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

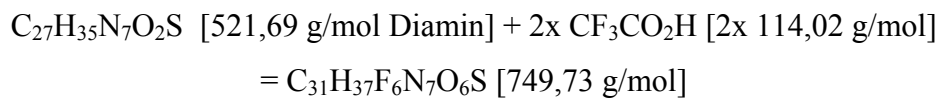
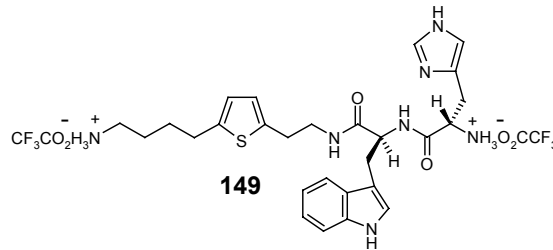
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



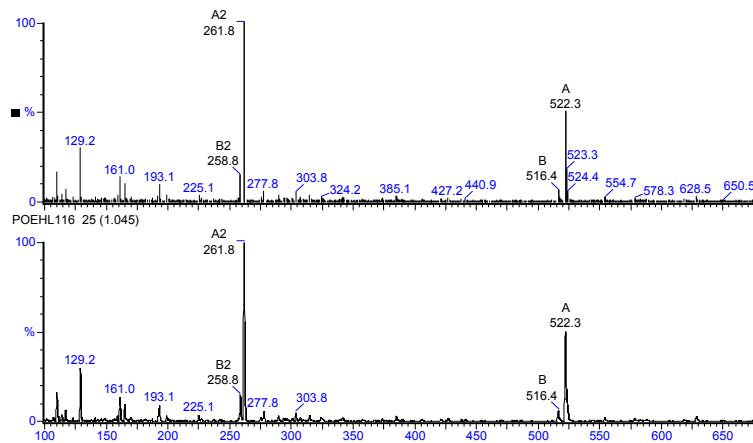
11.28 [(1S)-2-[(1S)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(1H-3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1H-4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 149



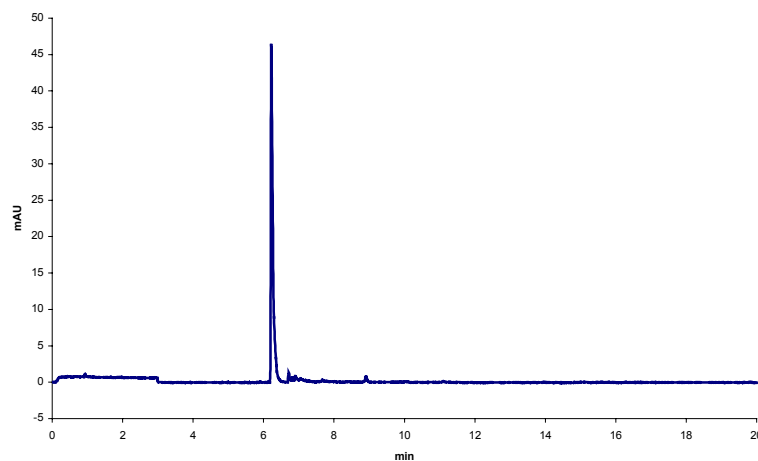
Aussehen: gelbes Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

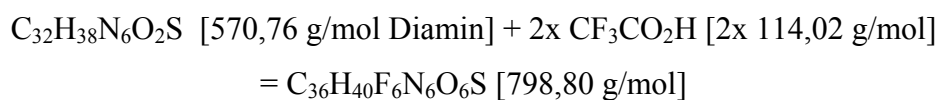
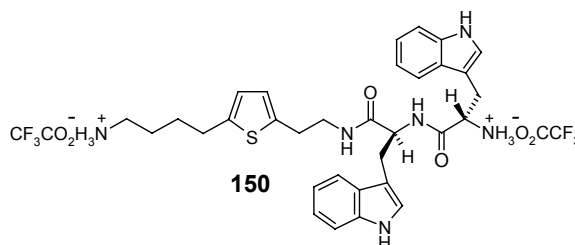
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



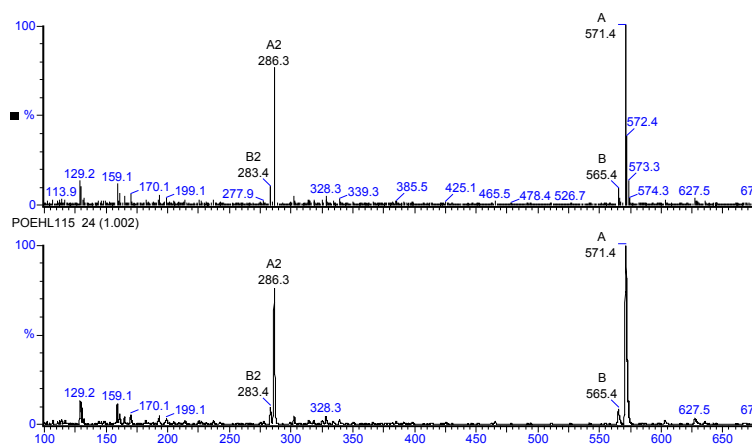
11.29 [(1S)-2-[(1S)-2-(2-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]ethylamino)-1-(1H-3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1H-3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 150



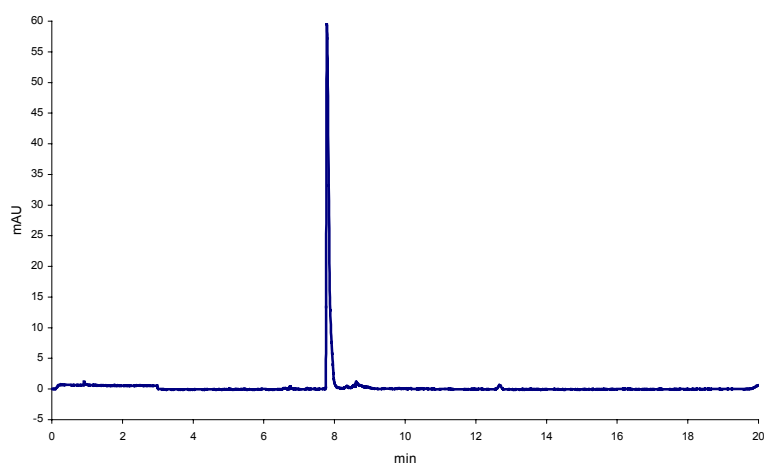
Aussehen: gelbes Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

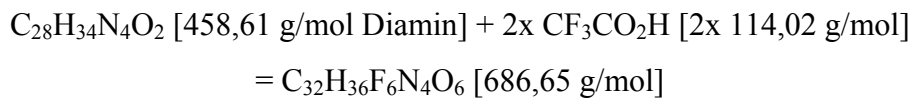
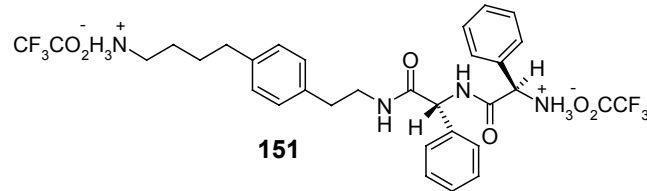
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



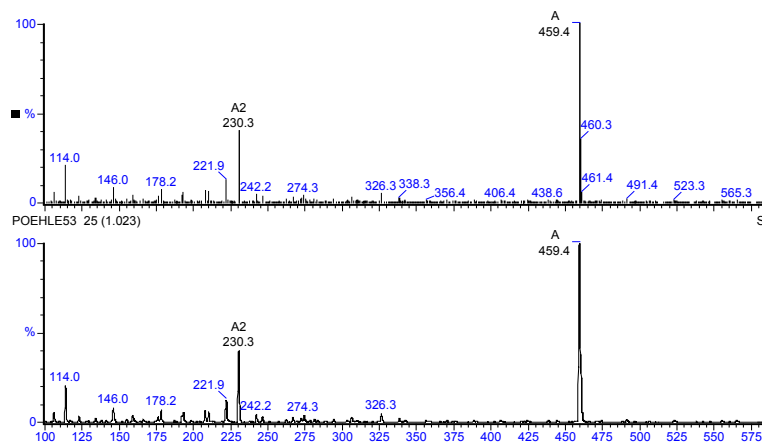
11.30 (1S)-2-(((1R)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino)-2-oxo-1-phenylethylamino)-2-oxo-1-phenylethylammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 151



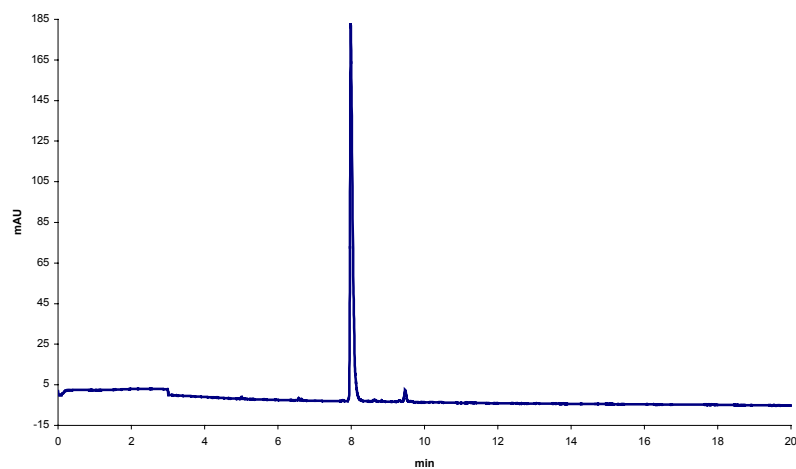
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

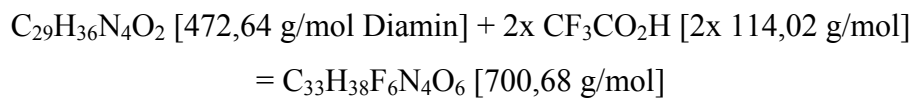
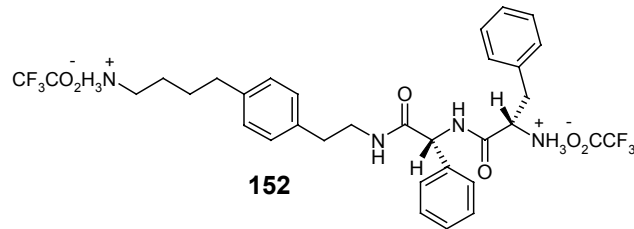
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



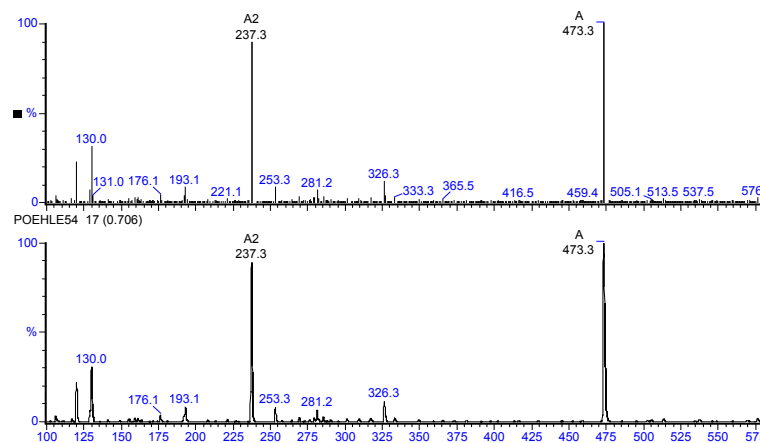
11.31 (1*R*)-2-(((1*R*)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)amino)-1-benzyl-2-oxoethylammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 152



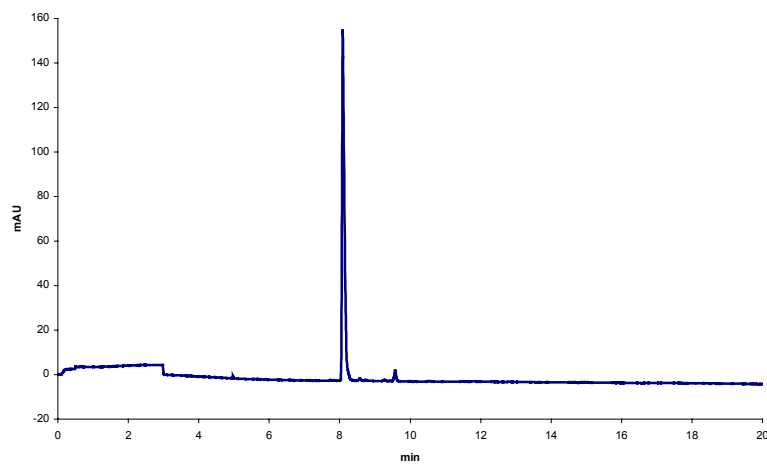
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

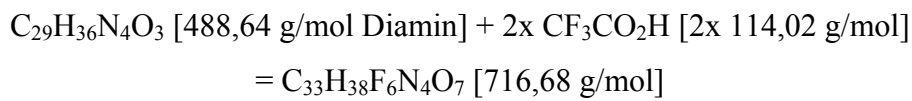
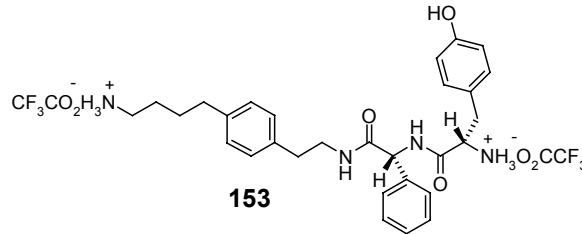
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



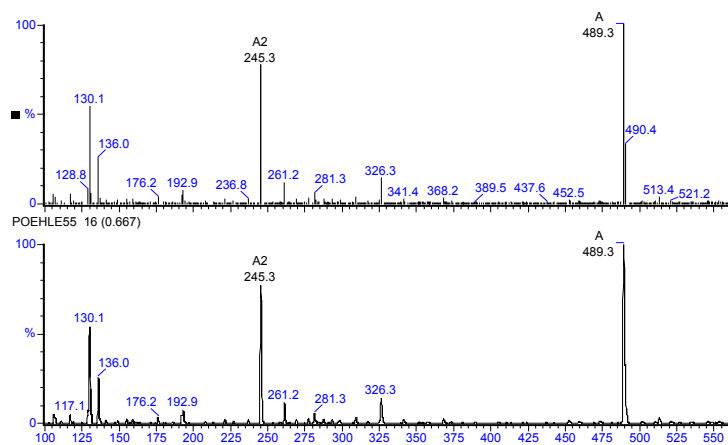
11.32 [(1*R*)-2-(((1*R*)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)amino)-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 153



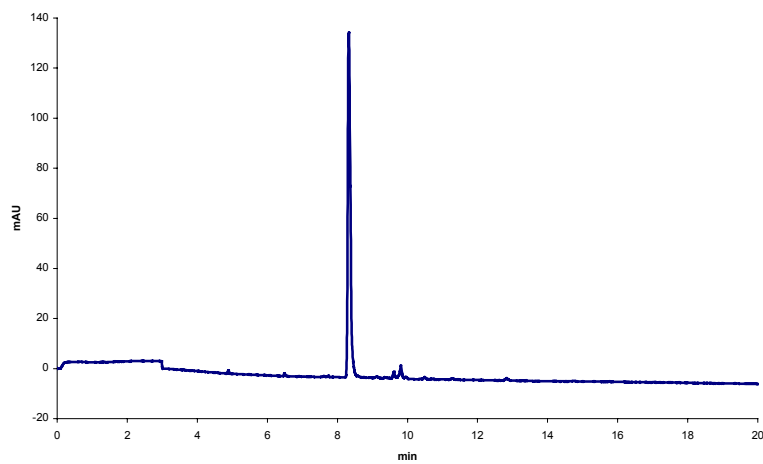
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

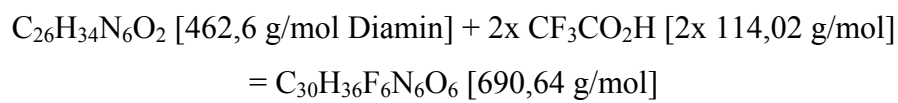
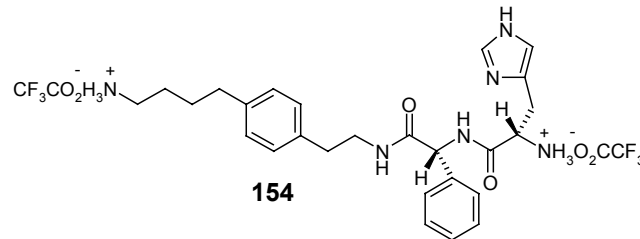
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



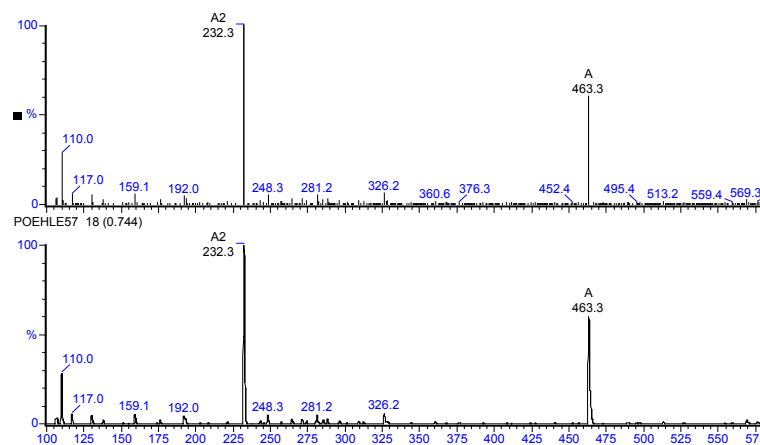
11.33 [(1*R*)-2-(((1*R*)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)amino)-1-(1*H*-4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 154



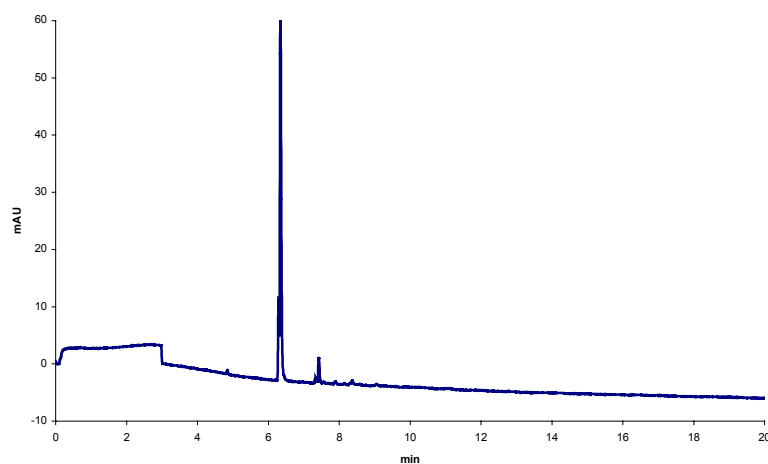
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

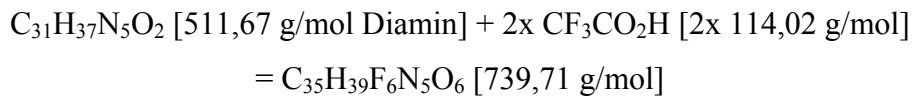
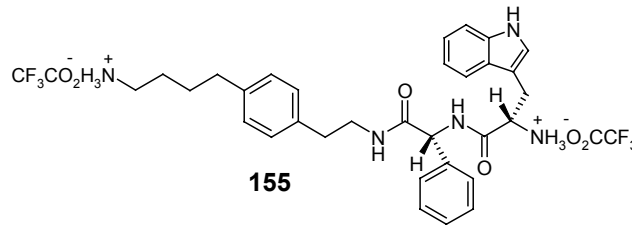
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



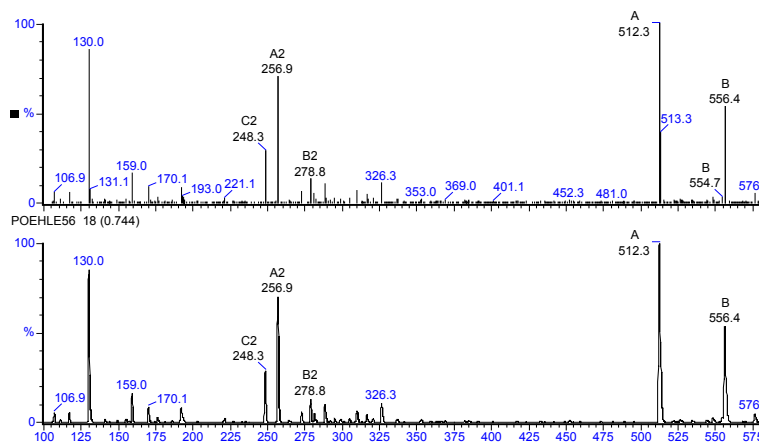
11.34 [(1*R*)-2-(((1*R*)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino)-2-oxo-1-phenylethyl)amino]-1-(1*H*-3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 155



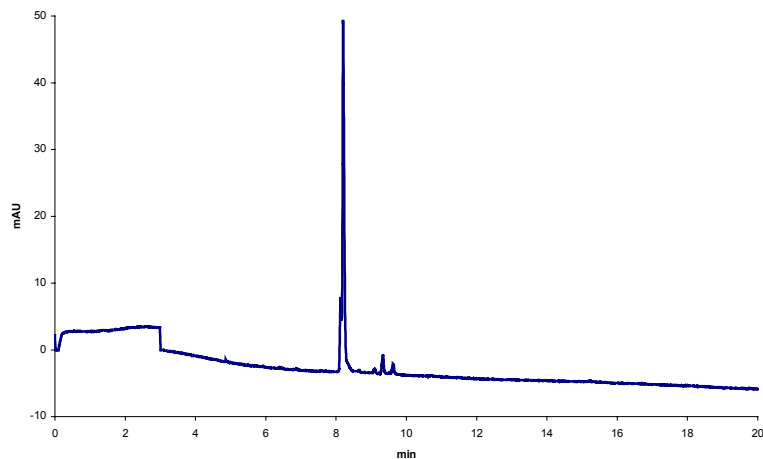
Aussehen: gelbliches Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

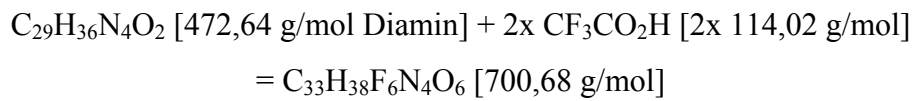
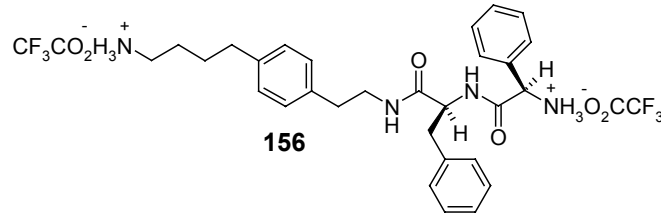
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



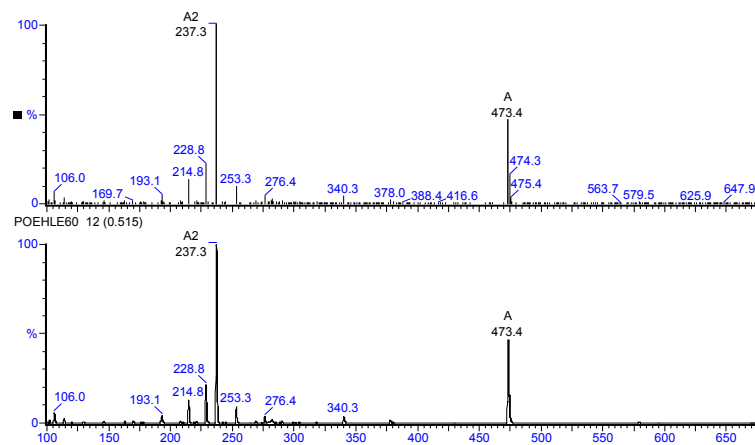
11.35 (1S)-2-[[[(1S)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl]amino]-2-oxo-1-phenylethylammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 156



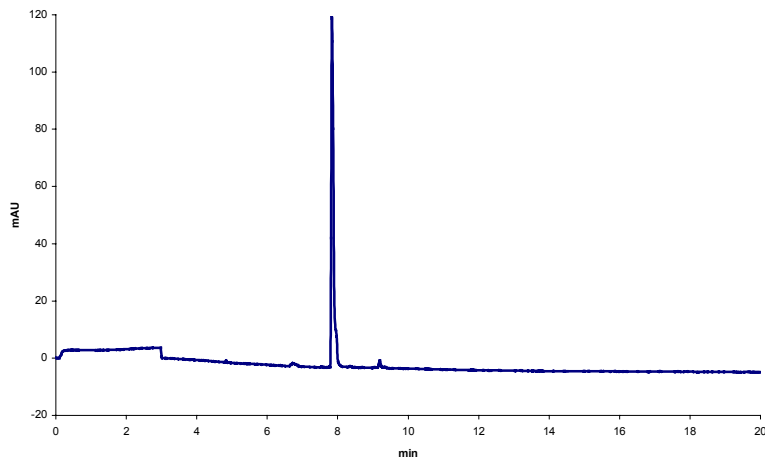
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

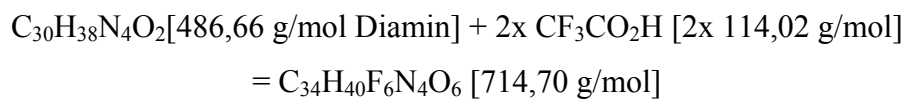
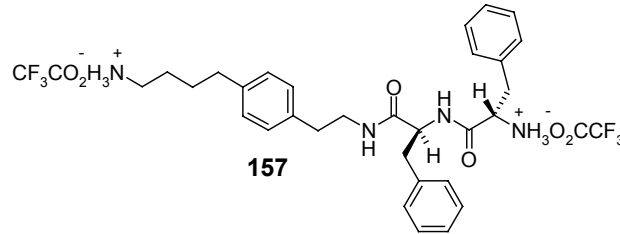
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



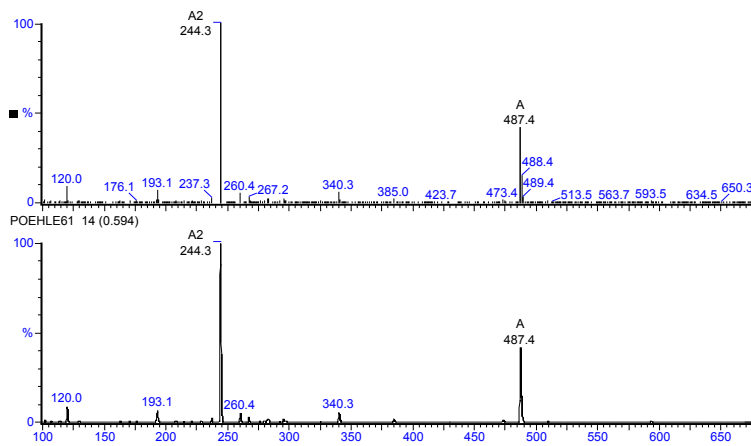
11.36 (1R)-2-(((1S)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl)amino)-1-benzyl-2-oxoethylammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 157



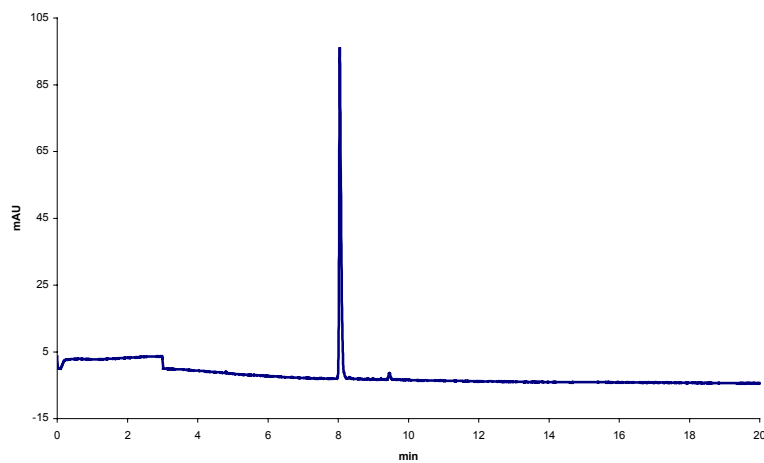
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

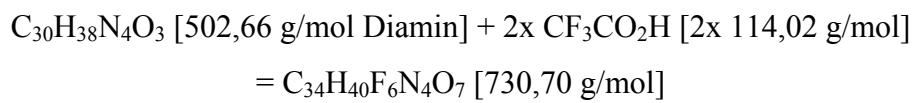
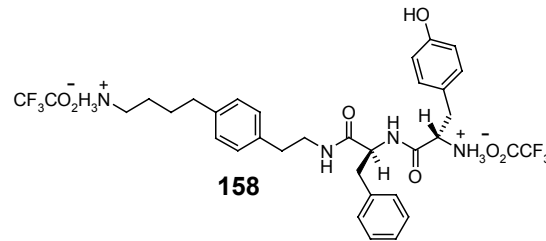
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



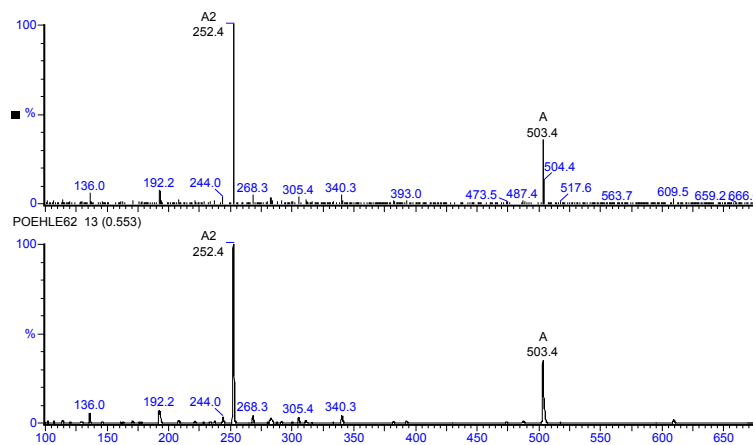
11.37 [(1*R*)-2-[[[(1*S*)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl]amino]-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 158



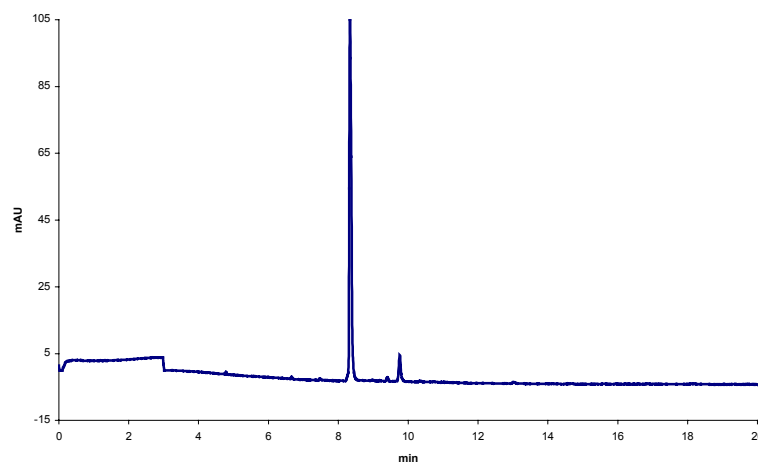
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

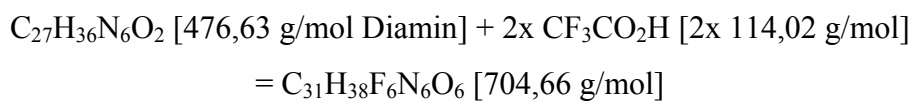
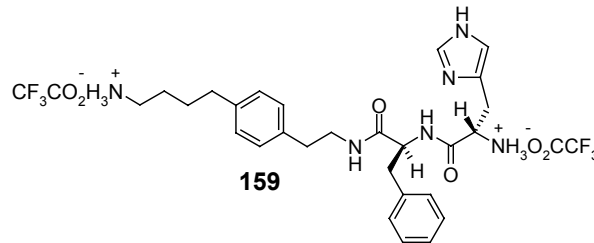
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



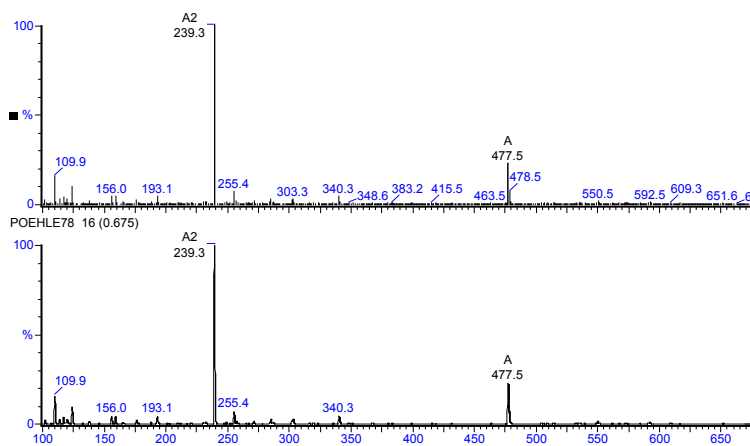
11.38 [(1*R*)-2-(((1*S*)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino)-1-benzyl-2-oxoethyl)amino]-1-(1*H*-4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 159



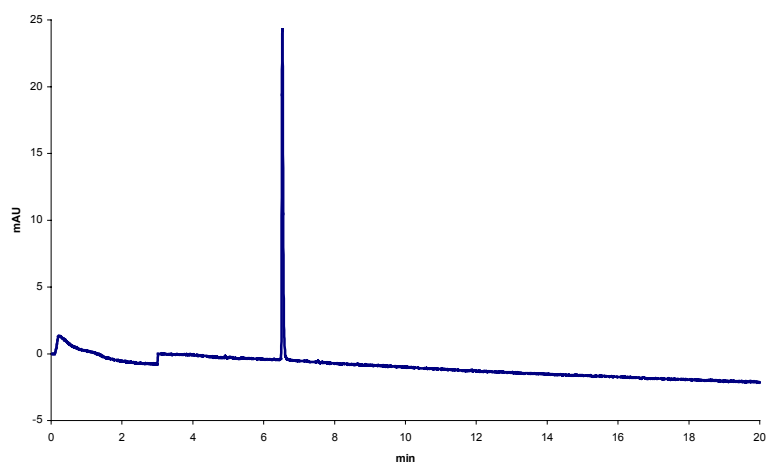
Aussehen: gelbliches Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

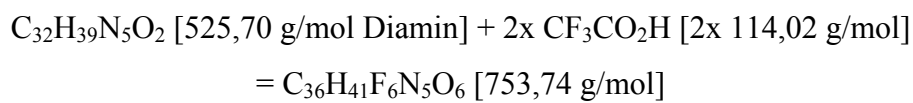
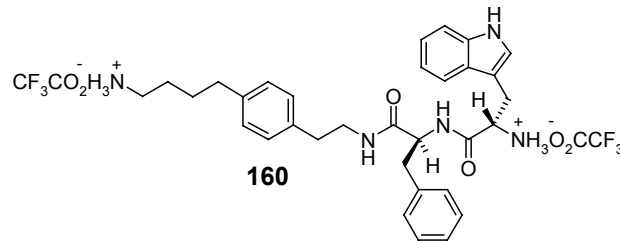
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



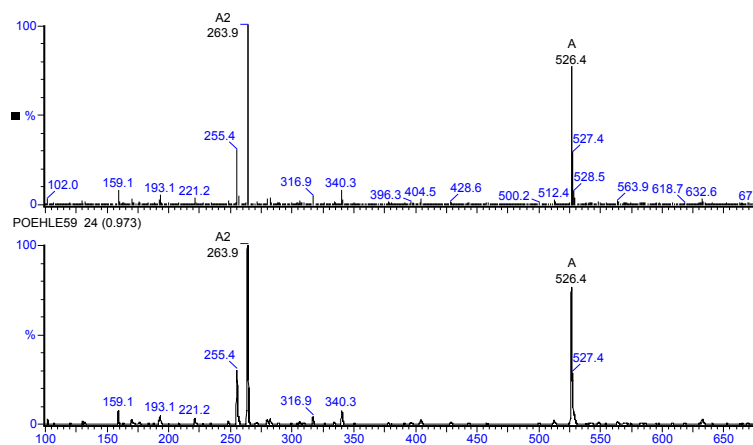
11.39 [(1*R*)-2-[[[(1*S*)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl]amino]-1-(1*H*-3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 160



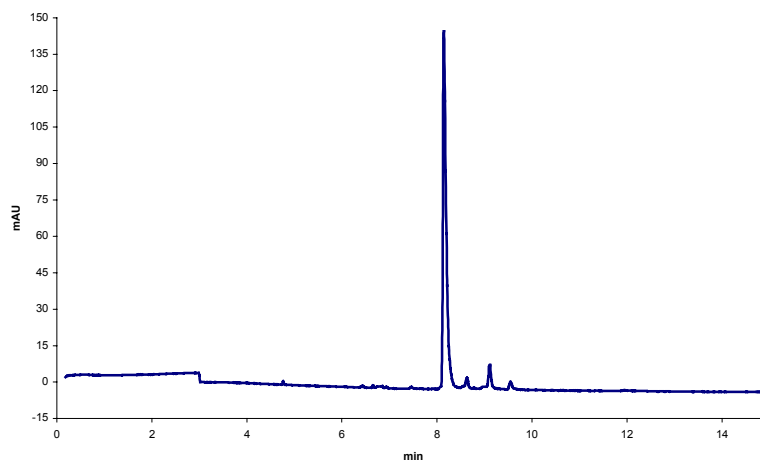
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

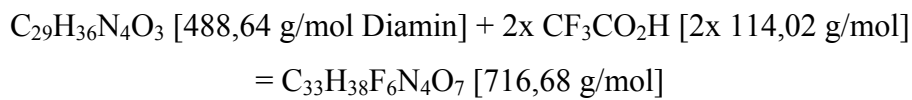
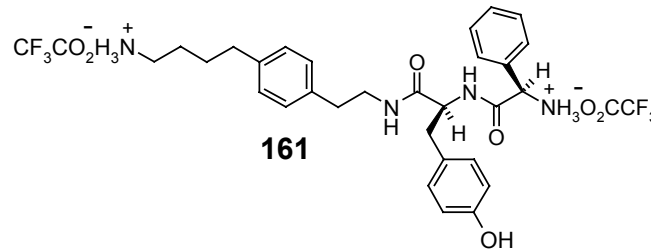
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



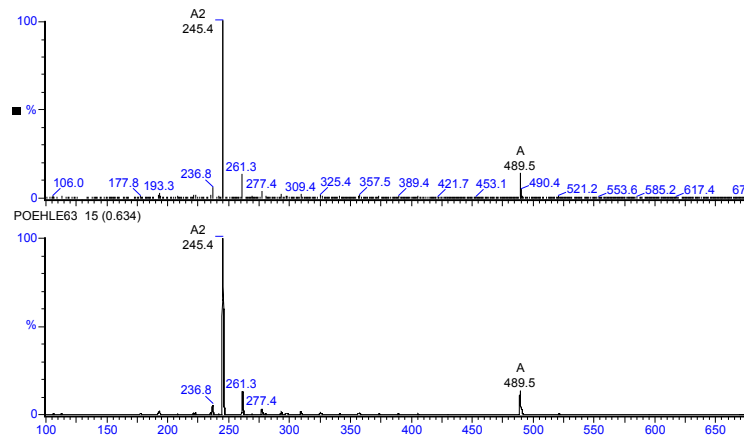
11.40 ((1S)-2-[(1S)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(4-hydroxy-benzyl)-2-oxoethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 161



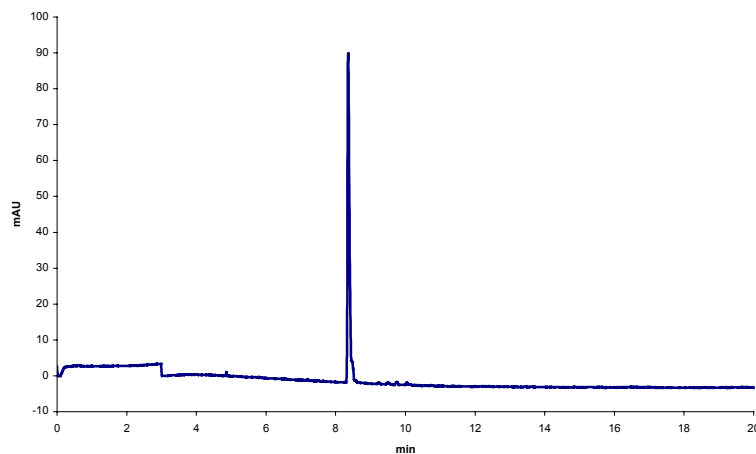
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

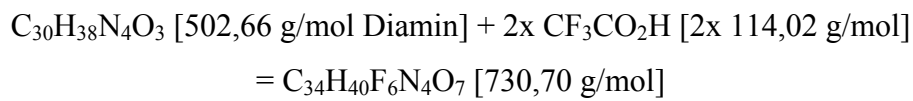
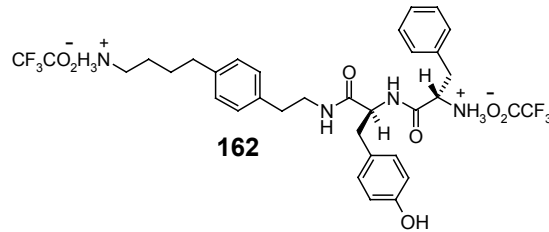
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



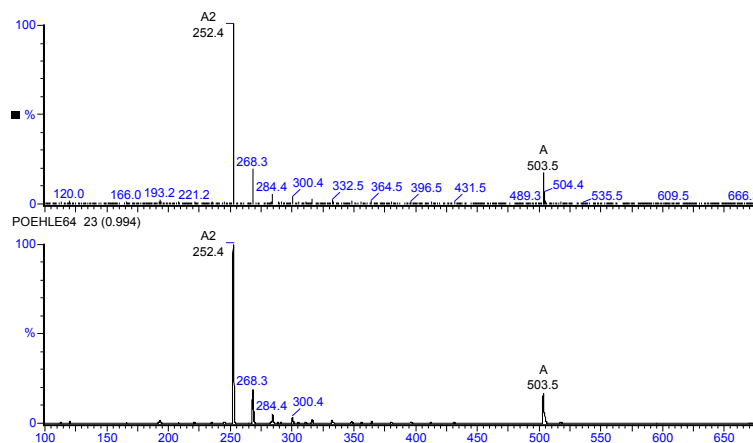
11.41 ((1*R*)-2-[(1*S*)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(4-hydroxy-benzyl)-2-oxoethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl)-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 162



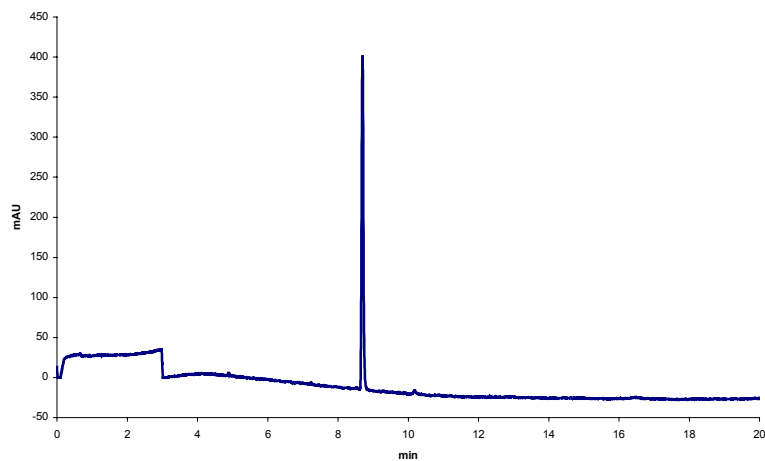
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

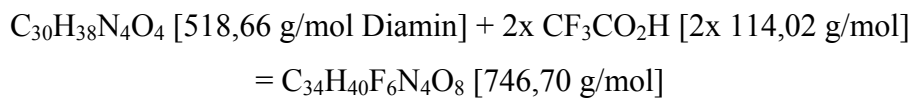
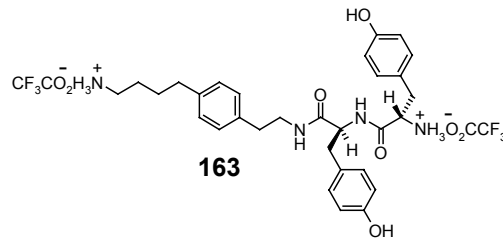
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



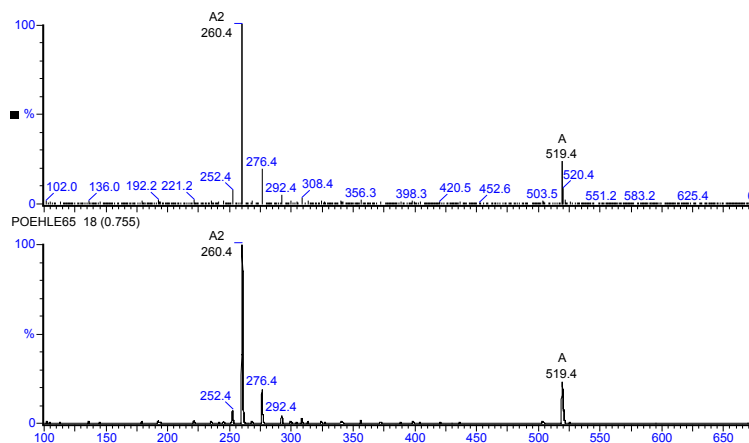
11.42 [(1R)-2-[(1S)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]amino-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 163



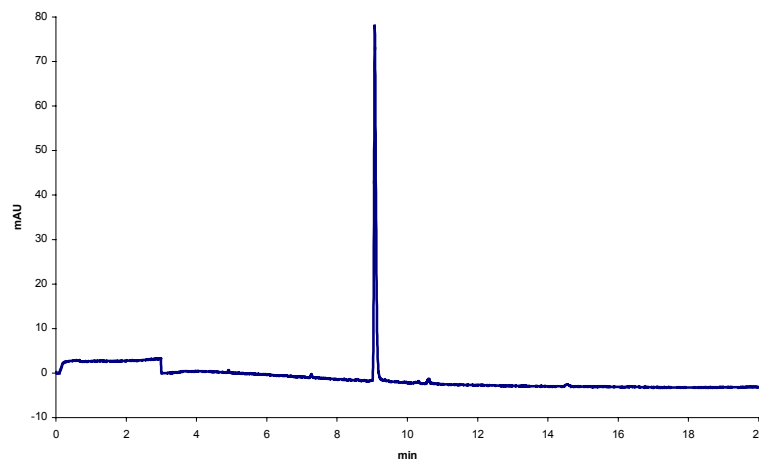
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

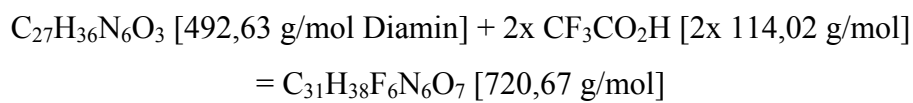
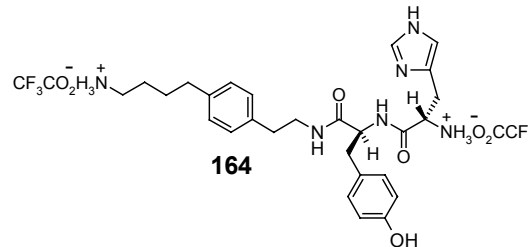
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



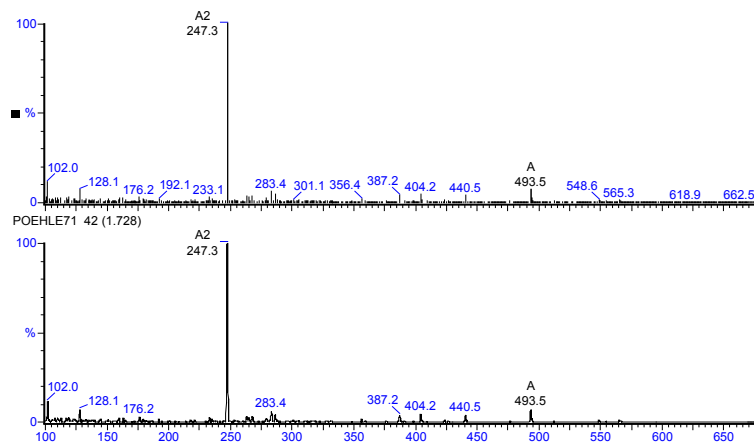
11.43 [(1*R*)-2-[(1*S*)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1*H*-4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 164



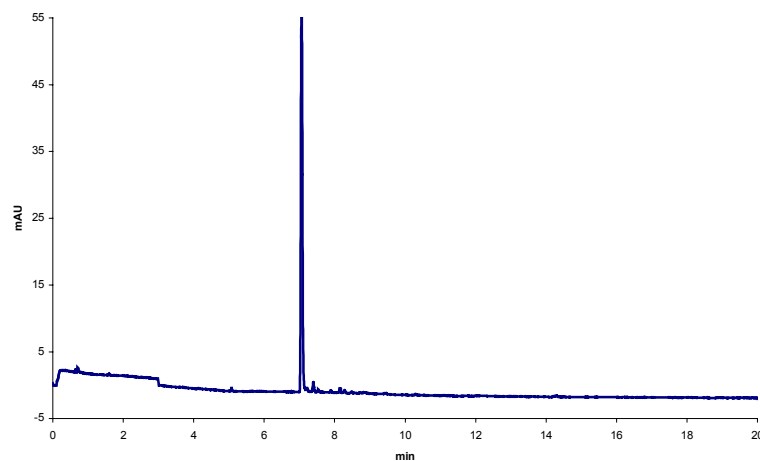
Aussehen: gelbliches Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

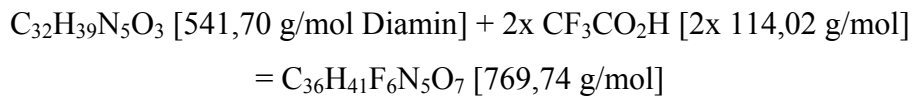
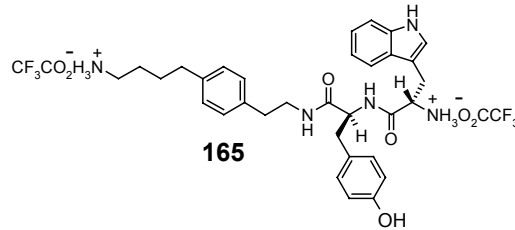
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



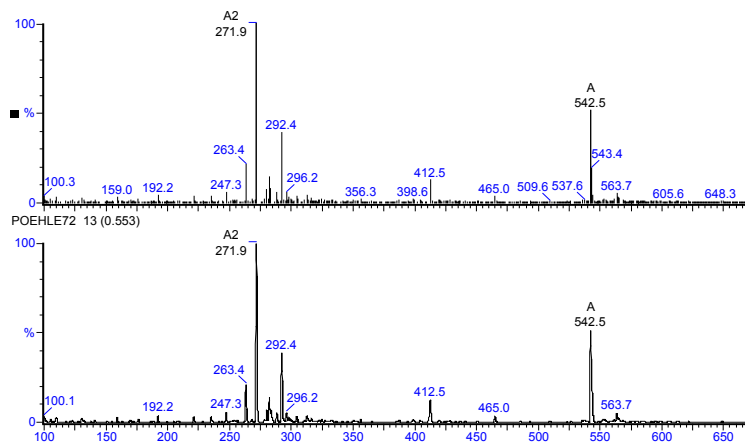
11.44 [(1*R*)-2-[(1*S*)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1*H*-3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 165



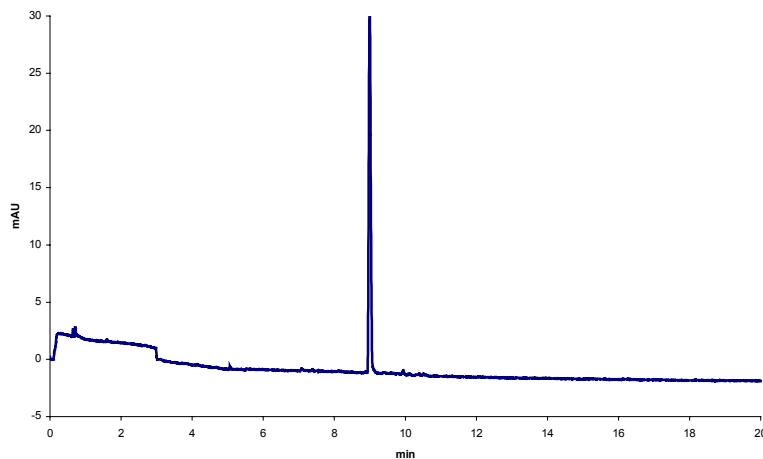
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

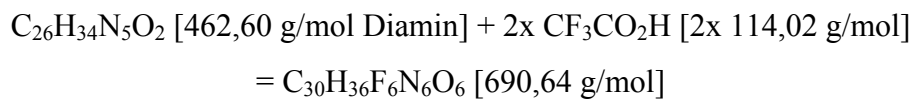
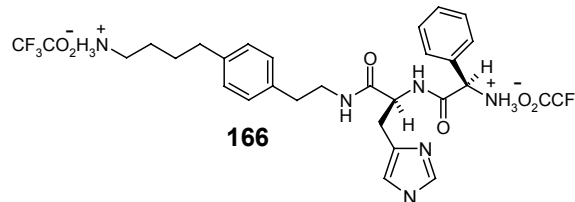
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



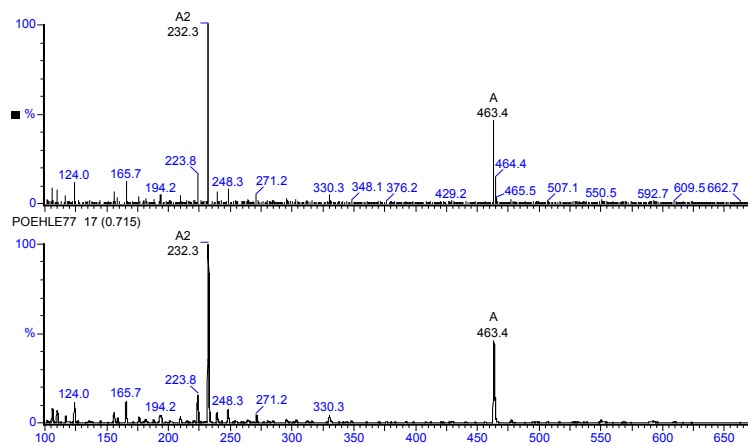
11.45 ((1S)-2-[(1S)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(1H-4-imidazolymethyl)-2-oxoethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 166



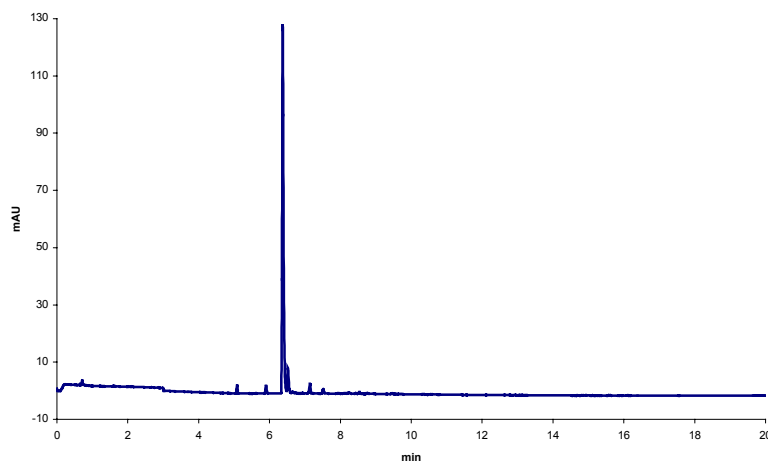
Aussehen: gelbes Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

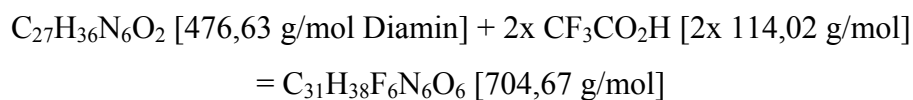
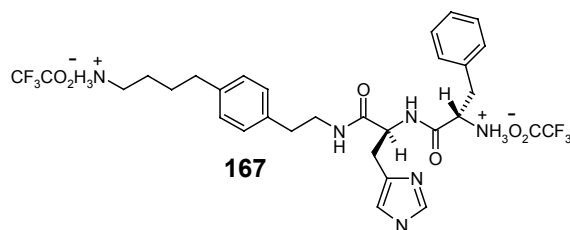
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



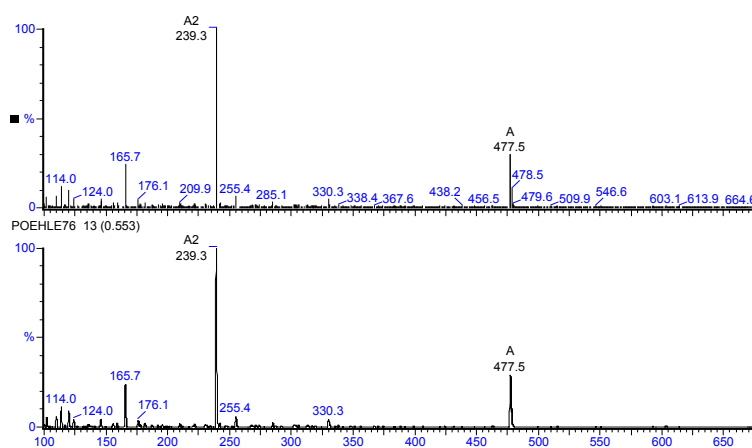
11.46 ((1*R*)-2-[(1*S*)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(1*H*-4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl)-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 167



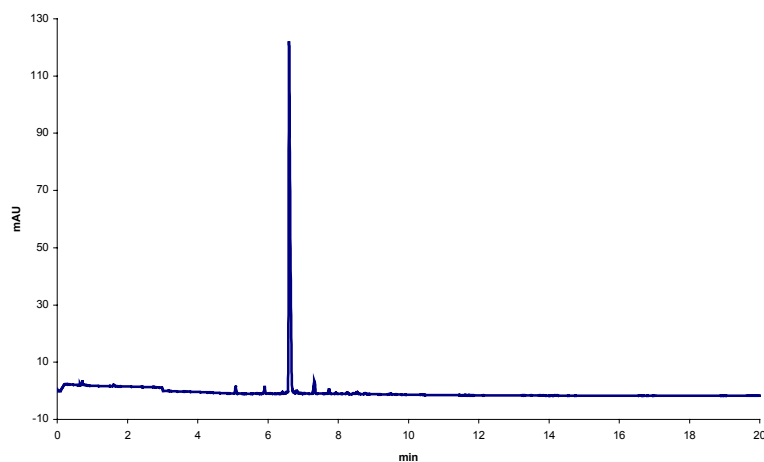
Aussehen: gelbes Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

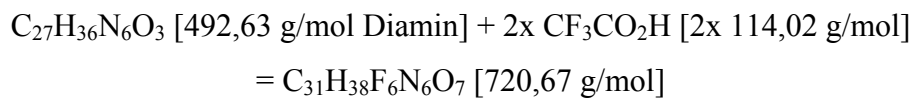
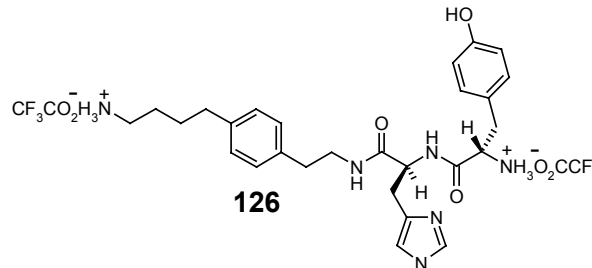
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



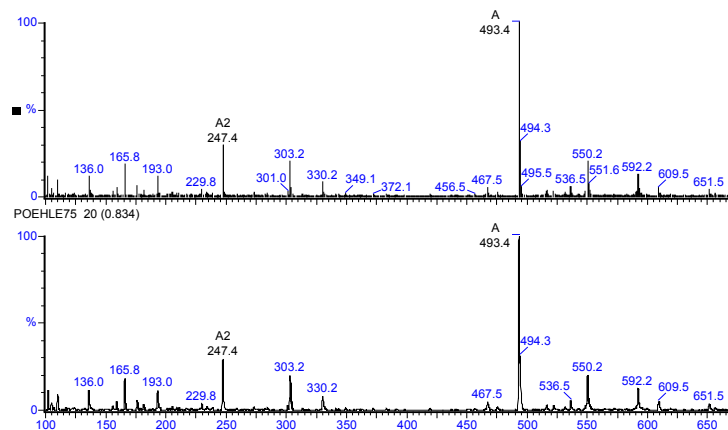
11.47 [(1*R*)-2-[(1*S*)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(1*H*-4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 126



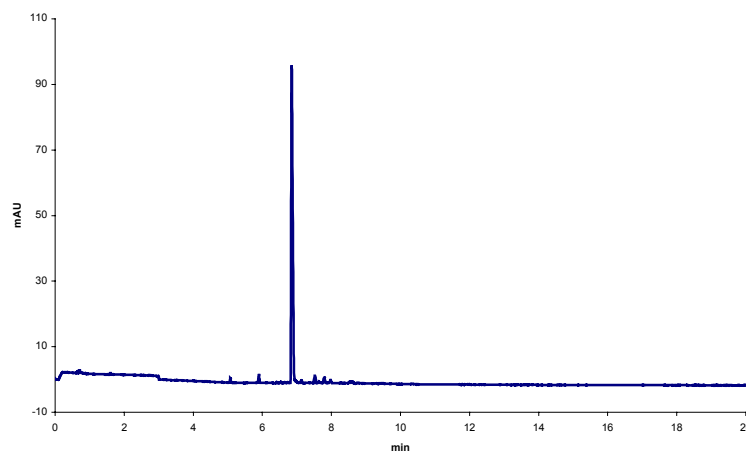
Aussehen: gelbes Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

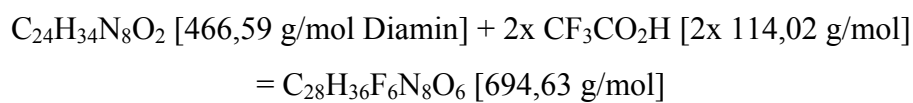
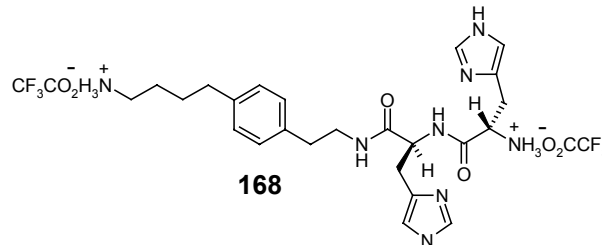
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



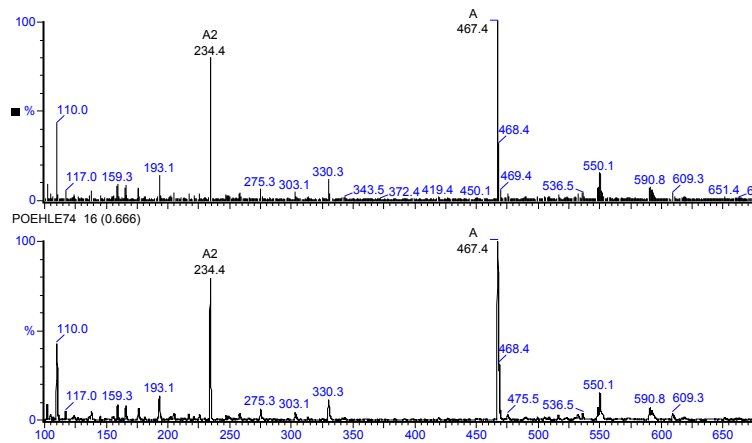
11.48 [(1*R*)-2-[(1*S*)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(1*H*-4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1*H*-4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 168



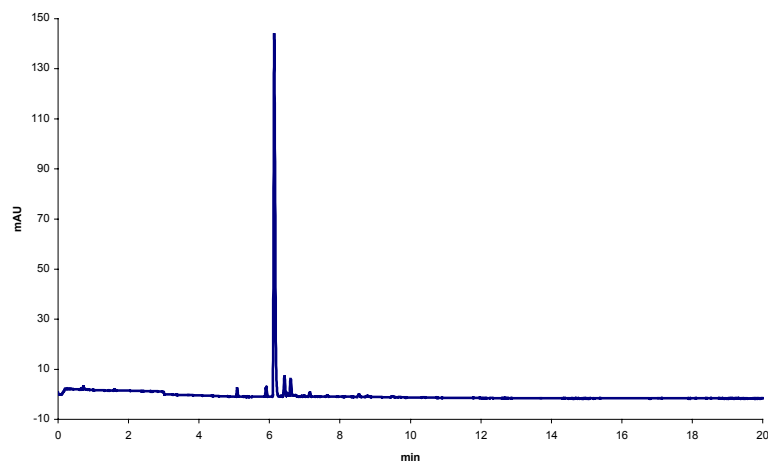
Aussehen: gelbe Kristalle

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

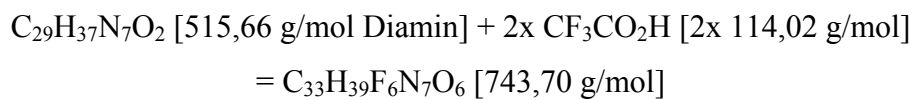
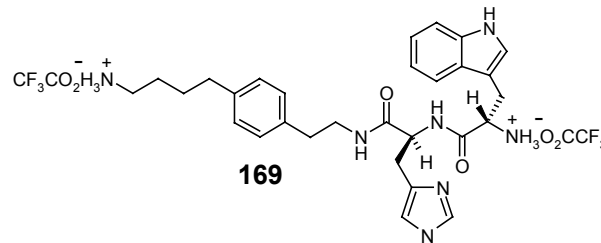
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



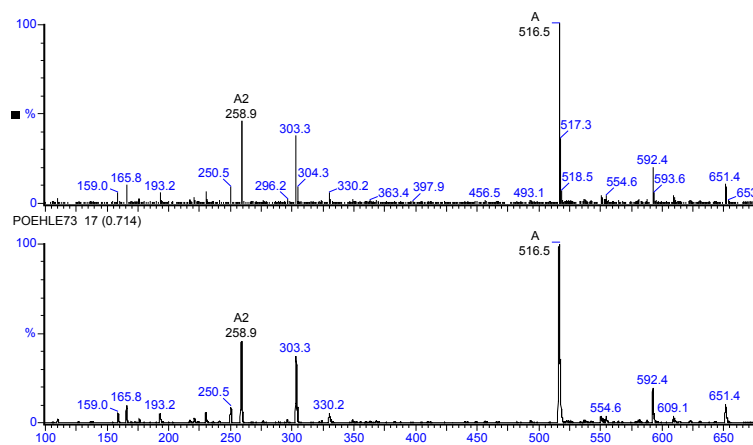
11.49 [(1*R*)-2-[(1*S*)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(1*H*-4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1*H*-3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 169



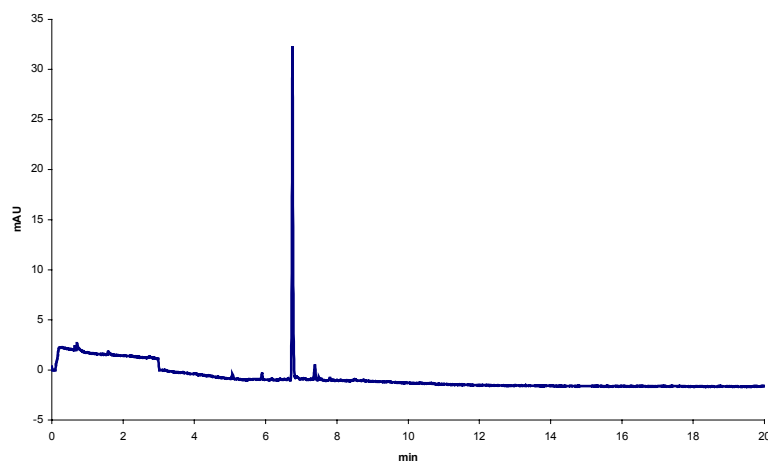
Aussehen: gelbliches Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

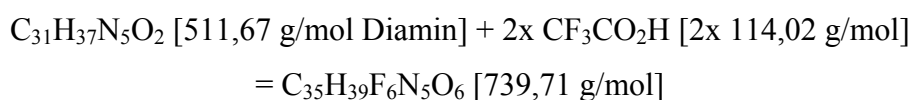
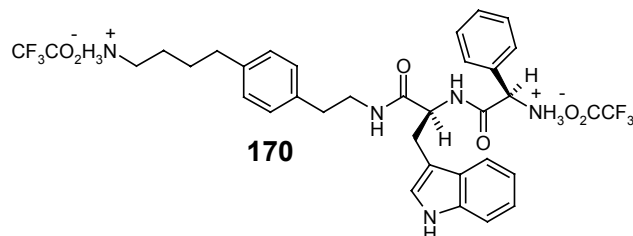
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



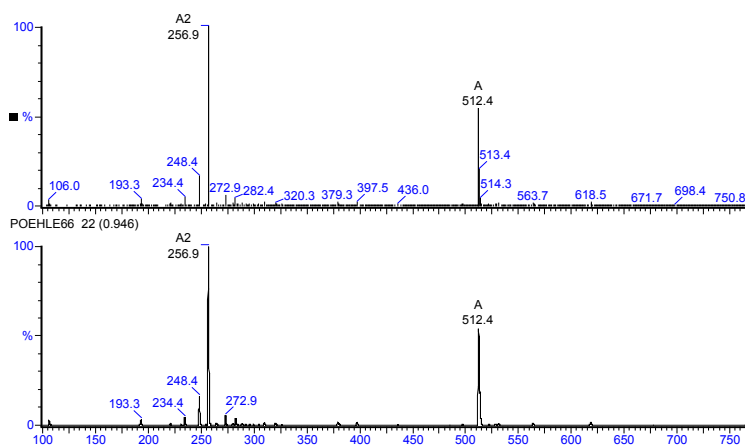
11.50 ((1*S*)-2-[(1*S*)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(1*H*-3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-2-oxo-1-phenylethyl)ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 170



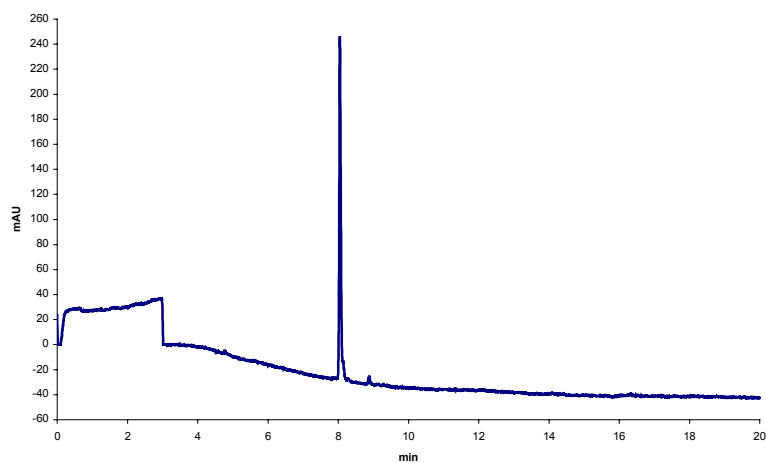
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

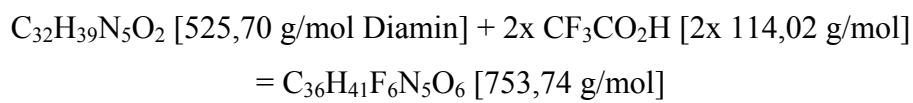
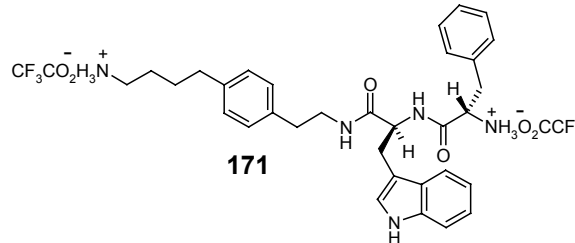
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



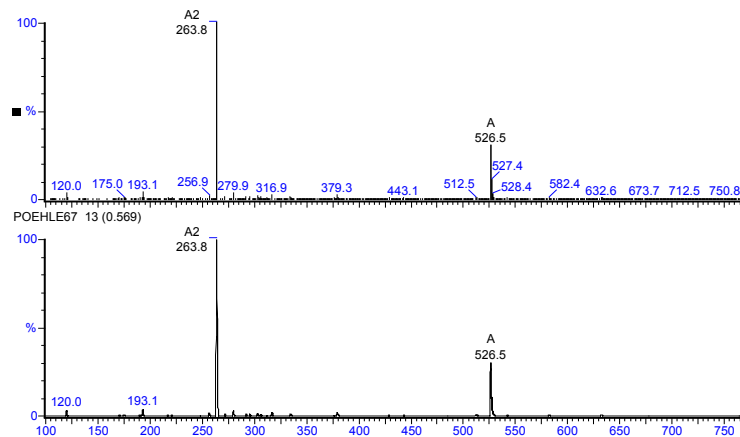
11.51 ((1*R*)-2-[(1*S*)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(1*H*-3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-benzyl-2-oxoethyl)ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 171



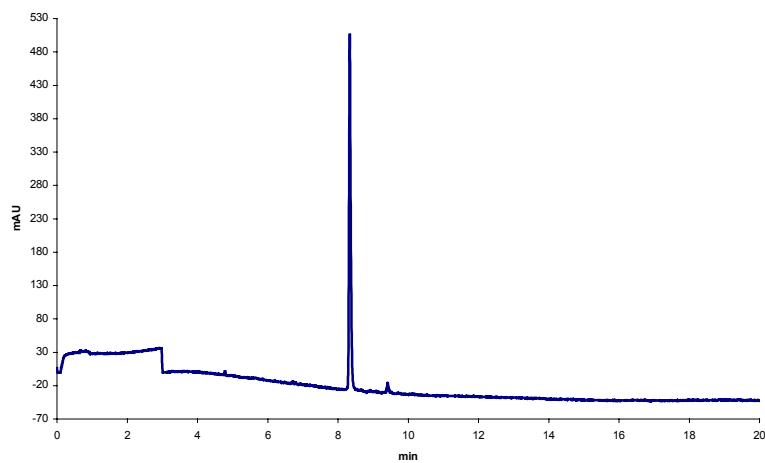
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

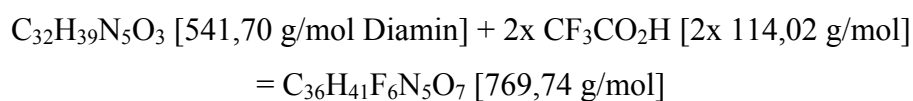
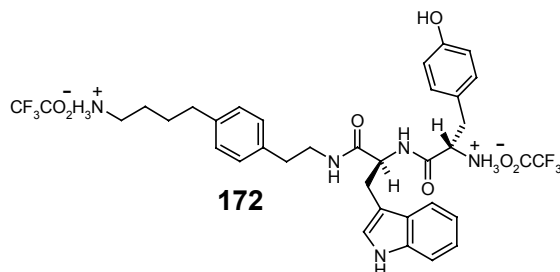
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



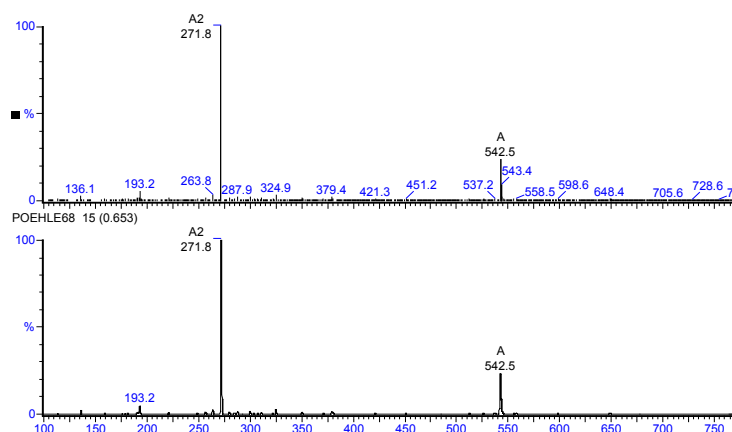
11.52 [(1*R*)-2-[(1*S*)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(1*H*-3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(4-hydroxybenzyl)-2-oxoethyl]-ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 172



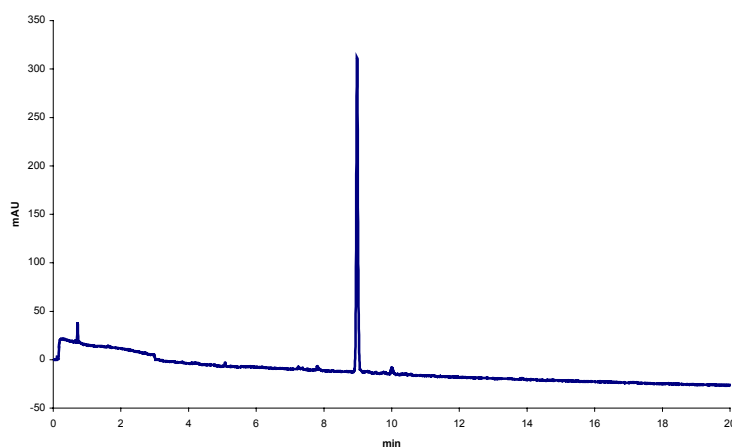
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

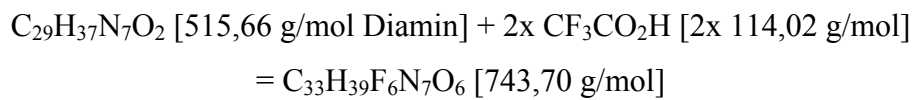
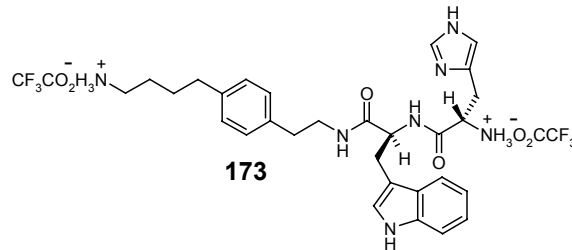
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



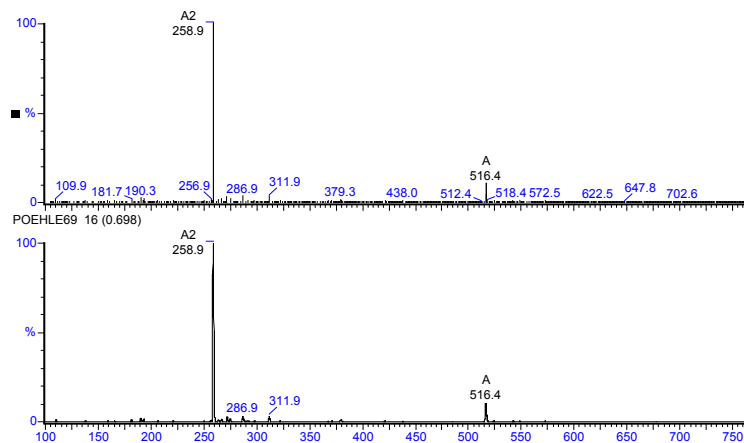
11.53 [(1*R*)-2-[(1*S*)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(1*H*-3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1*H*-4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 173



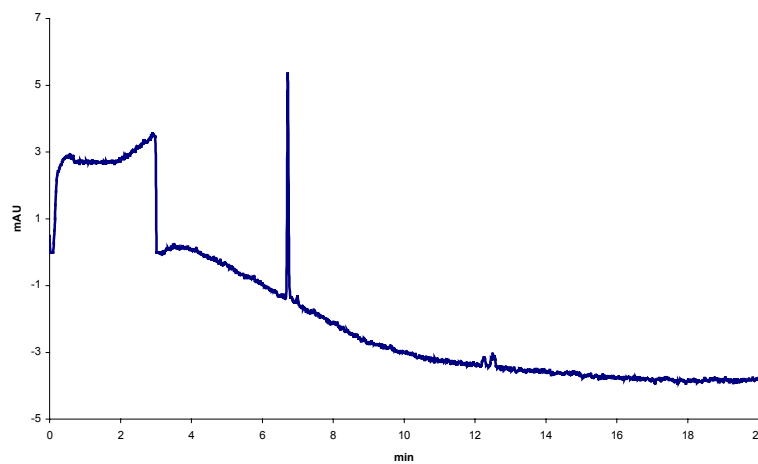
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

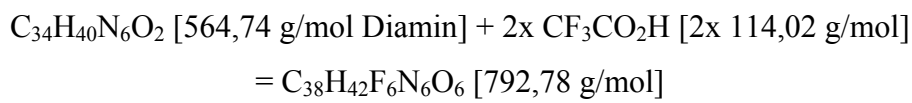
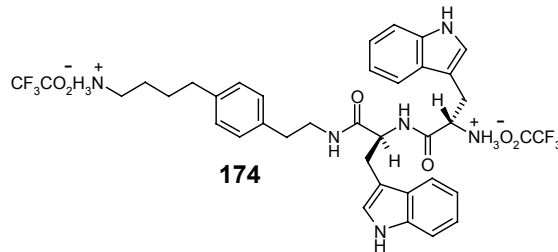
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



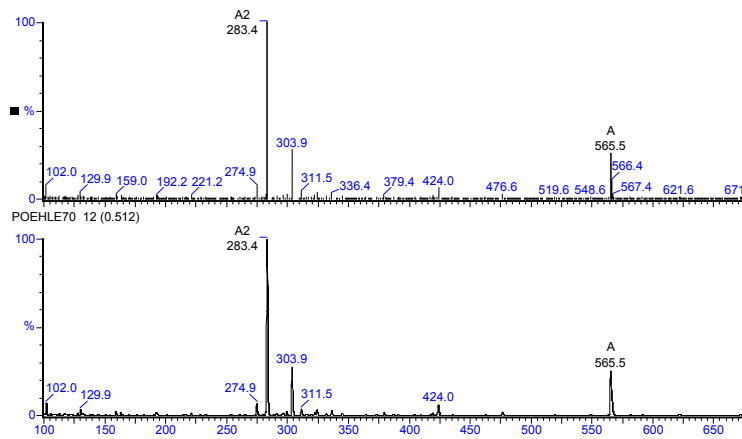
11.54 [(1R)-2-[(1S)-2-[4-(4-Ammoniobutyl)phenethyl]amino-1-(1H-3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]amino-1-(1H-3-indolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 174



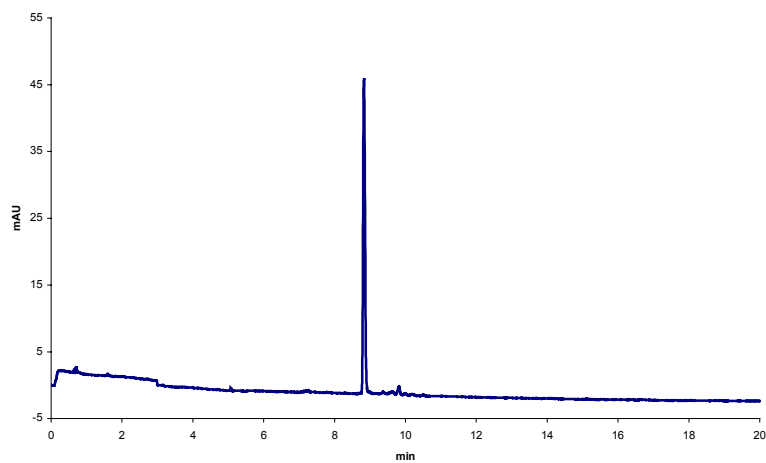
Aussehen: weisses Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

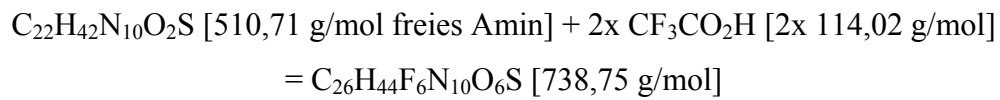
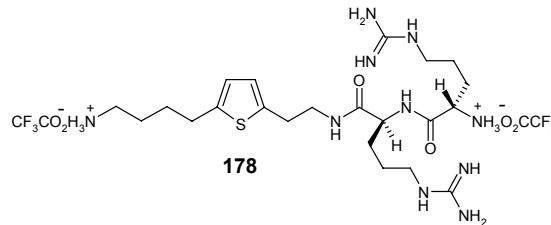
Massenspektrum:



Elektropherogramm:

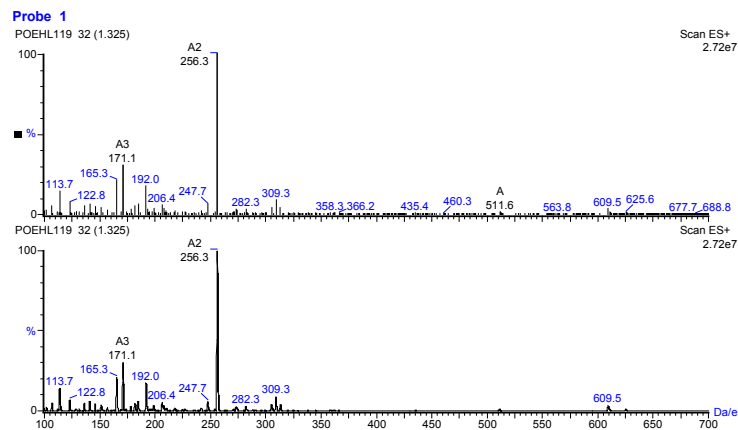


11.55 {(1*S*)-4-[[Amino(imino)methyl]amino]-1-[(1*R*)-4-[[amino(imino)methyl]amino]-1-[(2-[5-(4-ammonioethyl)-2-thienyl]ethyl)amino)carbonyl]butyl}amino)carbonyl]-1-methylbutyl}-ammonium di(2,2,2-trifluoacetat) **178**

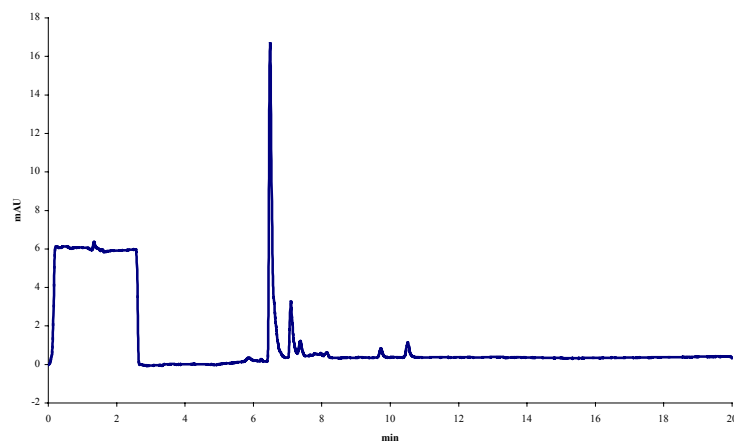


Aussehen: weißes, flockiges Pulver **Smp.:** nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

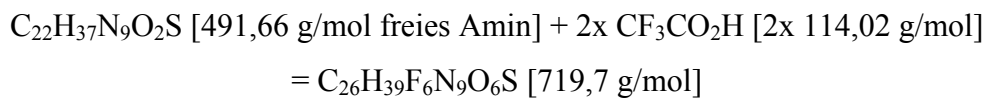
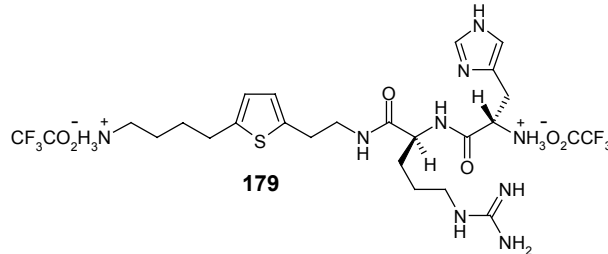
Massenspektrum:



Elektropherogramm:

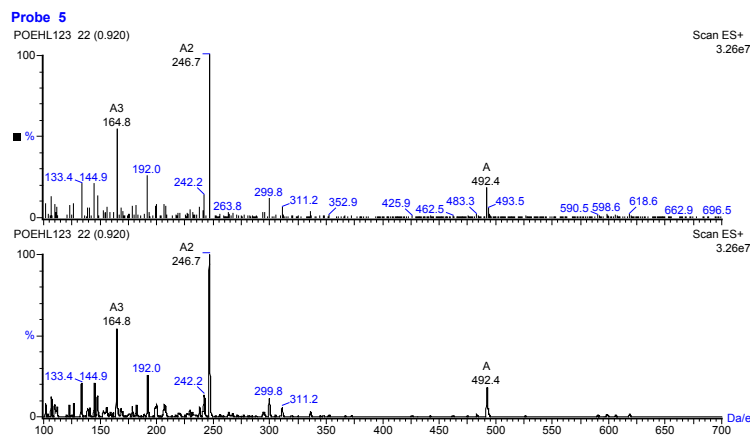


11.56 [(1S)-2-((1R)-4-[[Amino(imino)methyl]amino]-1-[(2-[5-(4-ammoniobutyl)-2-thienyl]ethyl)amino)carbonyl]butyl}amino)-1-(1H-4-imidazolylmethyl)-1-methyl-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoracetat) 179

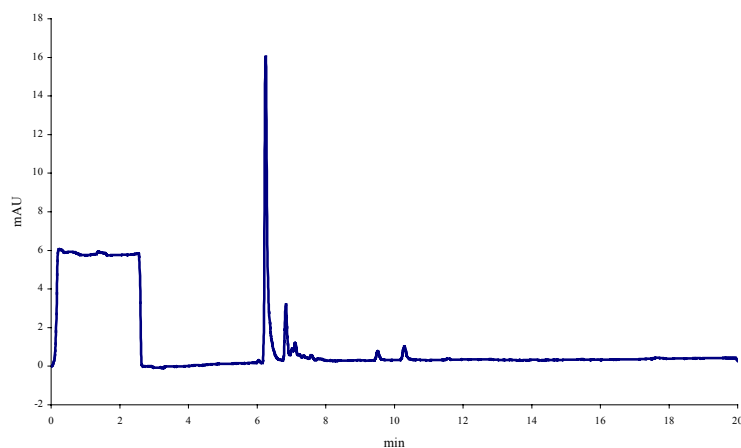


Aussehen: leicht gelbliches Pulver **Smp.:** nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

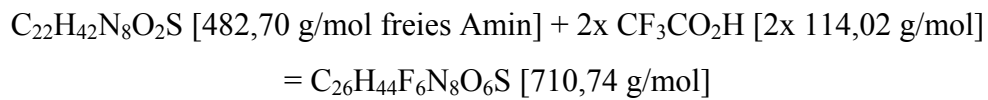
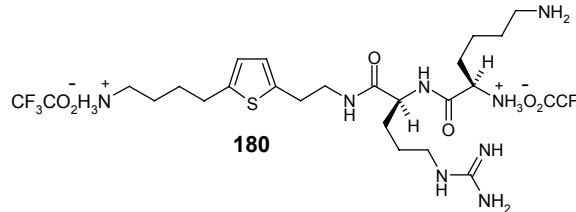
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



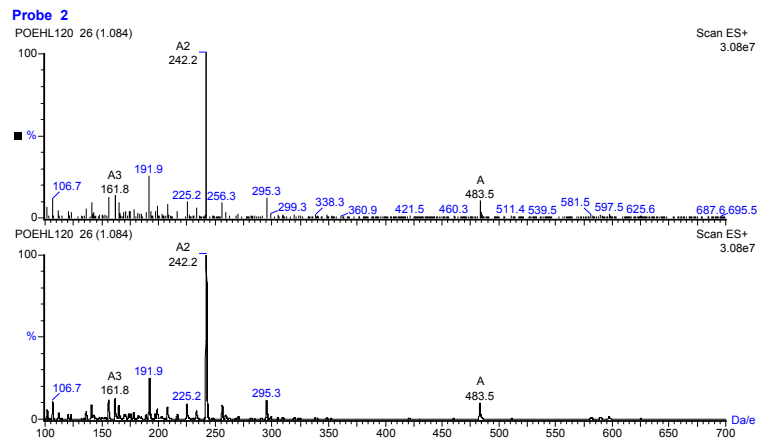
11.57 {(1*S*)-5-Amino-1-[(*(1R)*-4-[[amino(imino)methyl]amino]-1-[(2-[5-(4-ammonioethyl)-2-thienyl]ethyl)amino)carbonyl]butyl)amino)-carbonyl]pentyl}ammonium di(2,2,2-trifluoracetat) 180



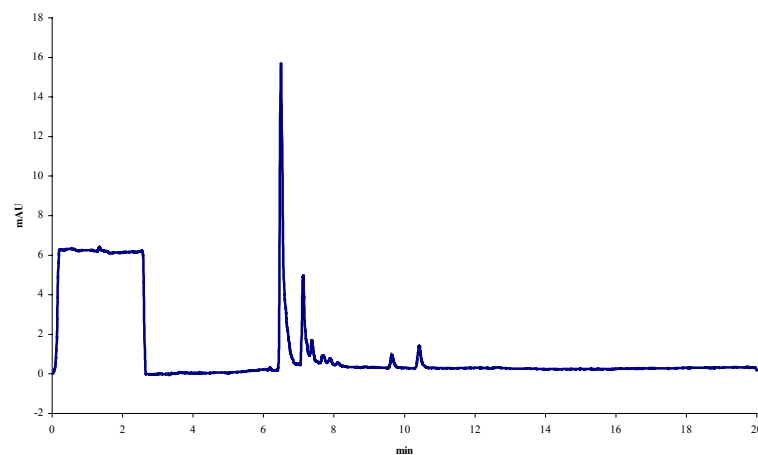
Aussehen: gelbliche Kristalle

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

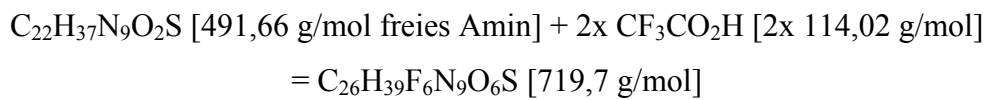
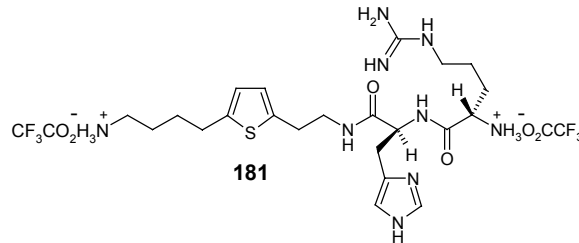
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



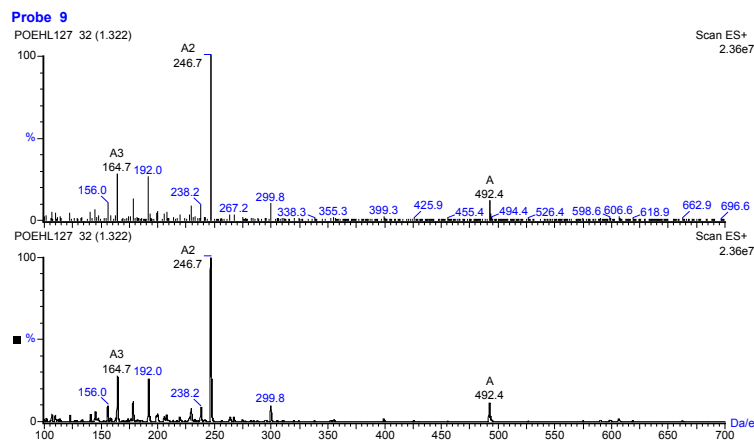
11.58 [(1*R*)-4-[[Amino(imino)methyl]amino]-1-({[(1*R*)-2-(2-[5-(4-ammoniobutyl)-2-thienyl]ethyl)amino]-1-(1*H*-4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino}carbonyl)butyl]ammonium di(2,2,2-trifluoracetat) 181



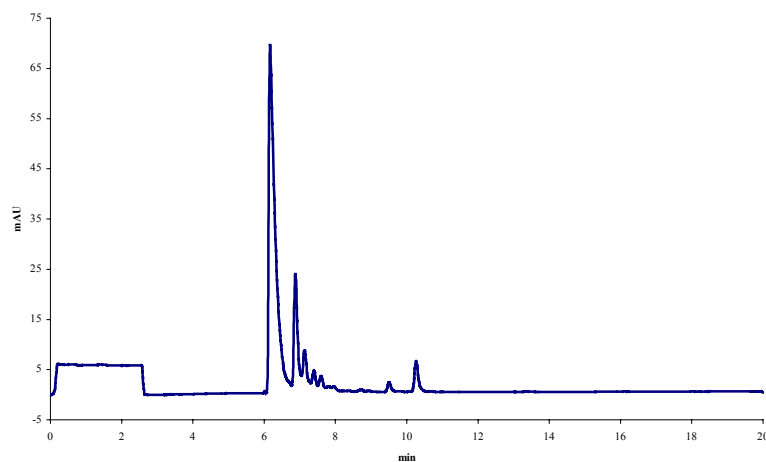
Aussehen: gelbliche Kristalle

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

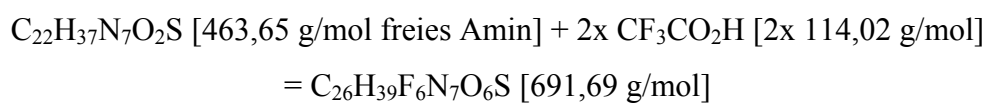
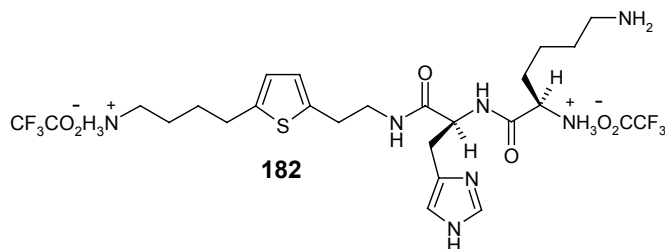
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



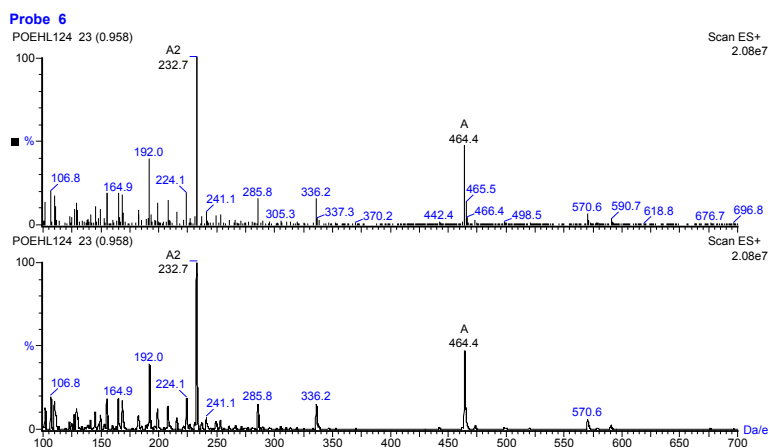
11.59 [(1S)-5-Amino-1-({[(1R)-2-({2-[5-(4-ammoniobutyl)-2-thienyl]-ethyl}amino)-1-(1H-4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]amino}-carbonyl)pentyl]ammonium di(2,2,2-trifluoracetat) 182



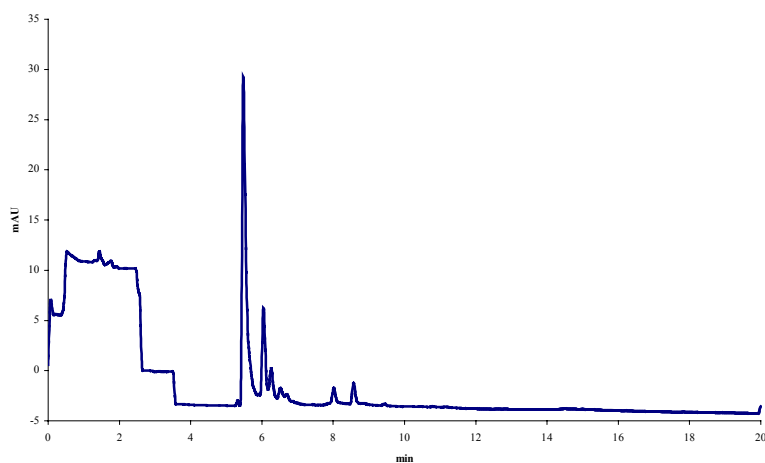
Aussehen: gelbliche Kristalle

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

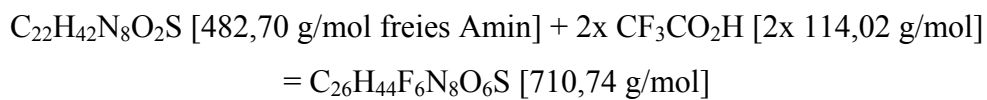
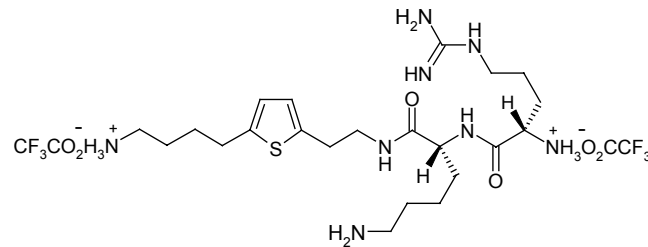
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



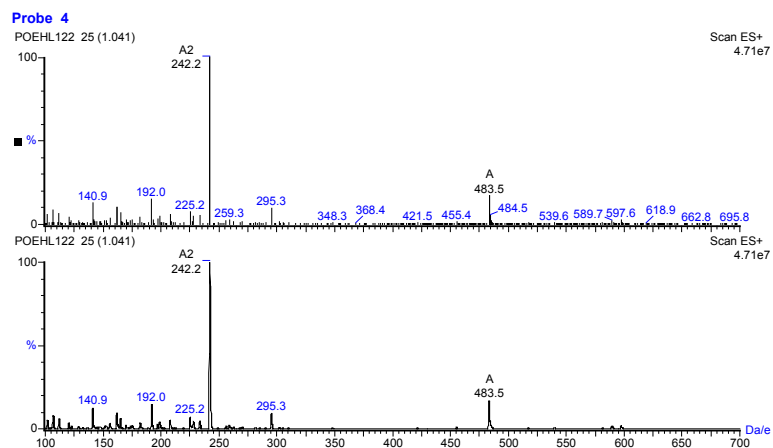
11.60 ((1*R*)-1-[(*(1S)*-5-Amino-1-[(*(2*-[5-(4-ammonioethyl)-2-thienyl)-ethyl]amino)carbonyl]pentyl]amino)carbonyl]-4-[[amino(imino)-methyl]amino]butyl)ammonium di(2,2,2-trifluoracetat) 183



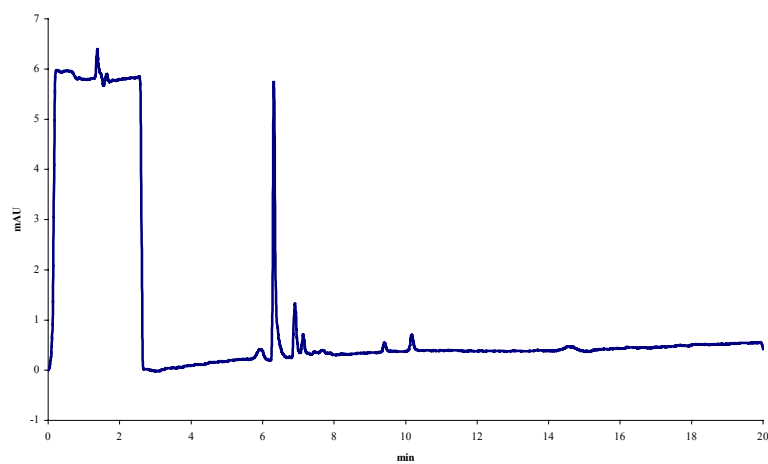
Aussehen: gelbliches Pulver

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

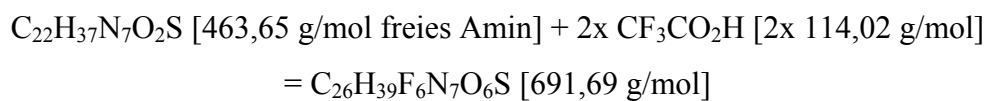
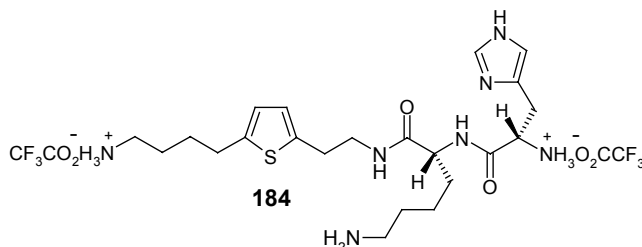
Massenspektrum:



Elektropherogramm:



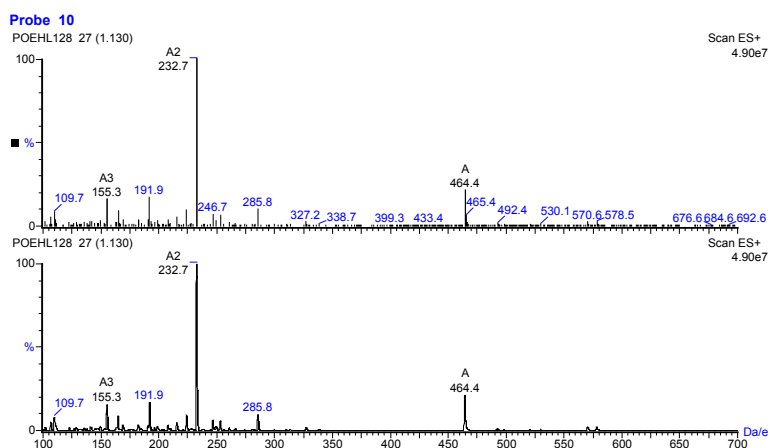
11.61 [(1*R*)-2-((1*S*)-5-Amino-1-[(2-[5-(4-ammoniobutyl)-2-thinyl]-ethyl)amino)carbonyl]pentyl)amino)-1-(1*H*-4-imidazolylmethyl)-2-oxoethyl]ammonium di(2,2,2-trifluoacetat) 184



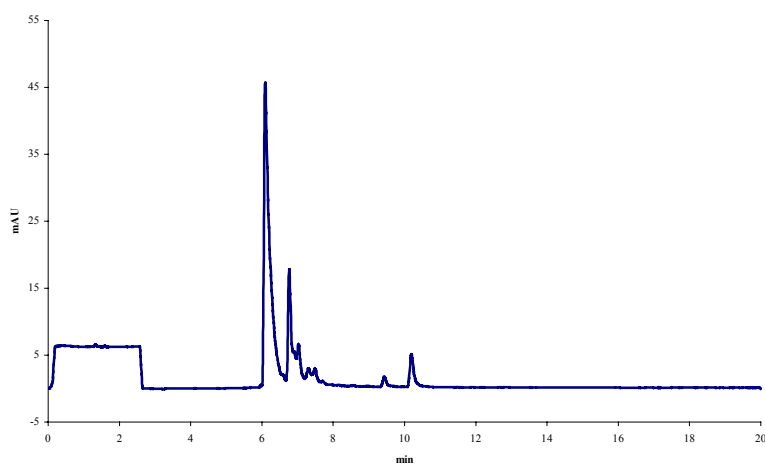
Aussehen: gelbliche Kristalle

Smp.: nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

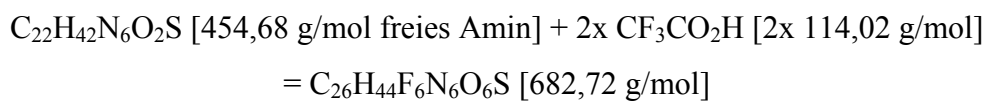
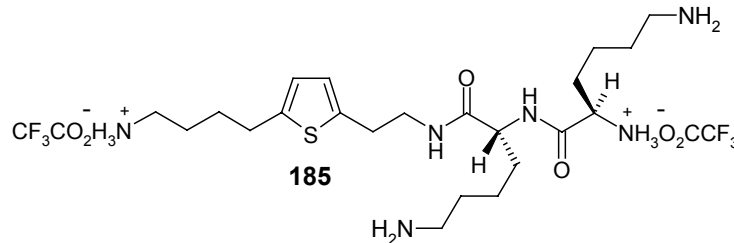
Massenspektrum:



Elektropherogramm:

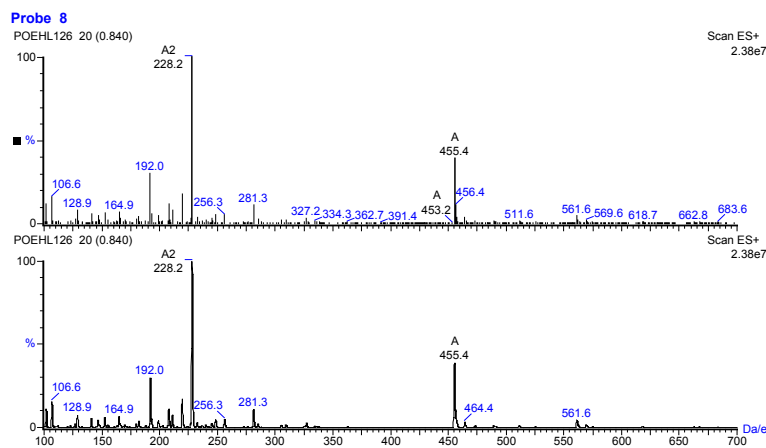


11.62 {(1*S*)-5-Amino-1-[(1*S*)-5-amino-1-[(2-[5-(4-ammonioethyl)-2-thienyl]ethyl]amino)carbonyl]pentyl}amino)carbonyl]pentyl} ammonium di(2,2,2-trifluoracetat) **185**

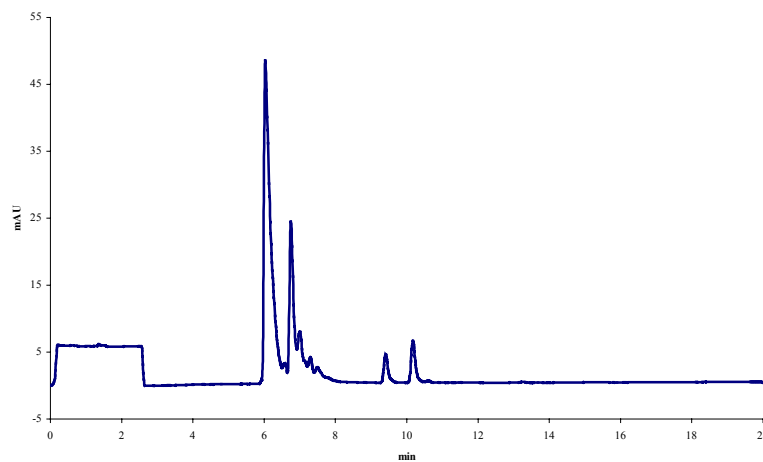


Aussehen: gelblich-braune Kristalle **Smp.:** nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

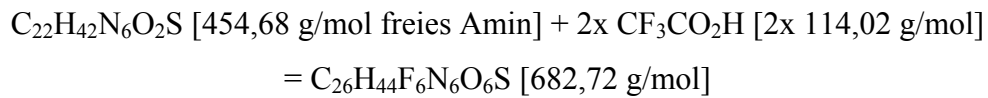
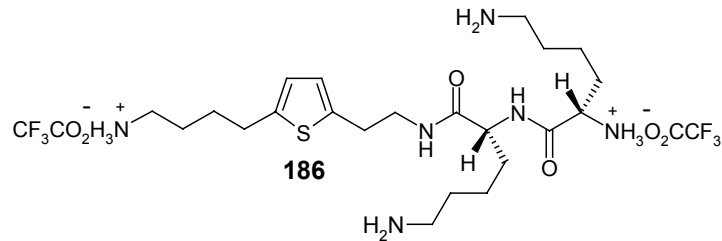
Massenspektrum:



Elektropherogramm:

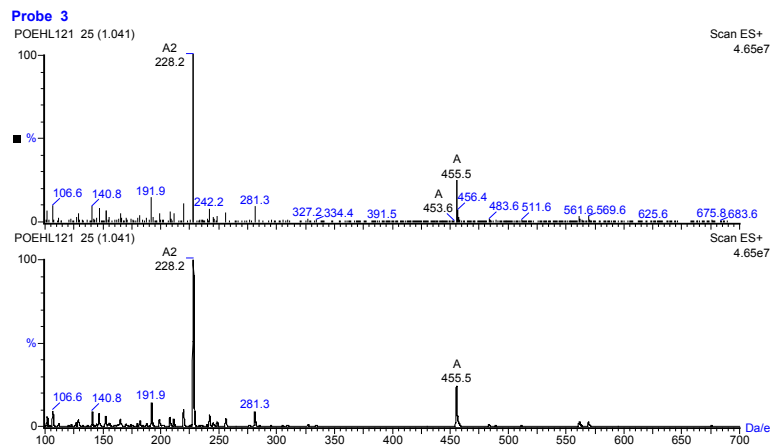


11.63 {(1*R*)-5-Amino-1-[(1*S*)-5-amino-1-[(2-[5-(4-ammonioethyl)-2-thienyl]ethyl)amino)carbonyl]pentyl}amino)carbonyl]pentyl}ammonium di(2,2,2-trifluoracetat) 186

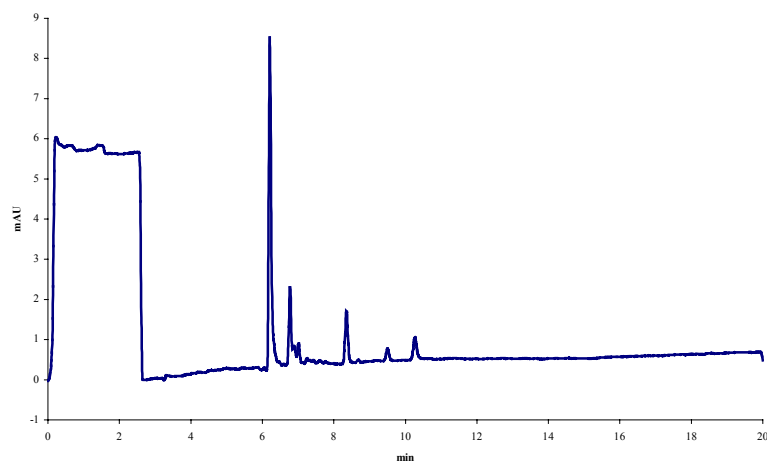


Aussehen: gelblich-braune Kristalle **Smp.:** nicht bestimmbar, stark hygroskopisch

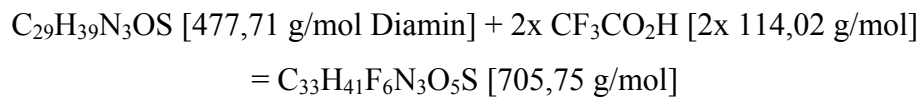
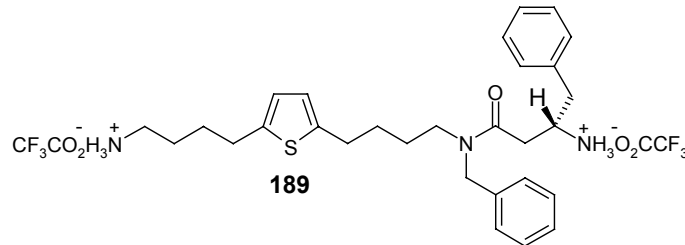
Massenspektrum:



Elektropherogramm:

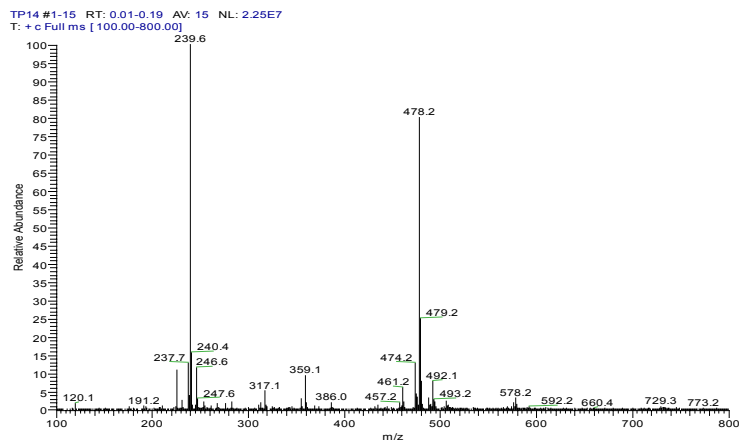


11.64 (1S)-3-[4-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]butyl]butyl(benzylamino)-1-benzyl-3-oxopropylammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 189

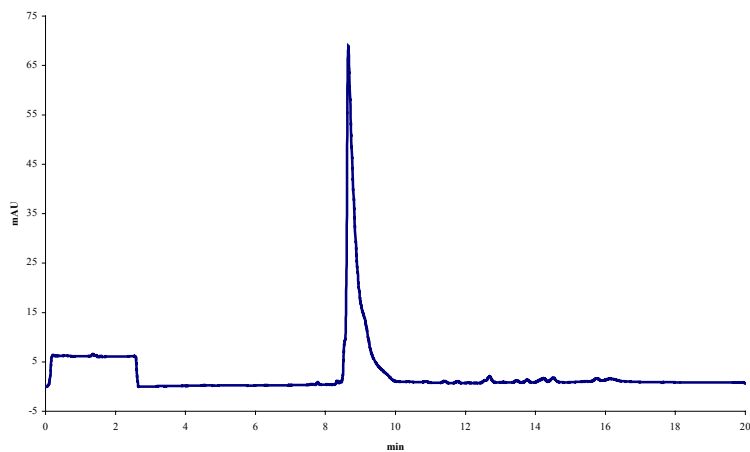


Aussehen: braunes Öl

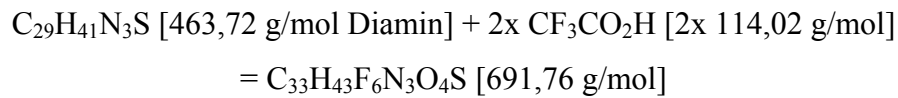
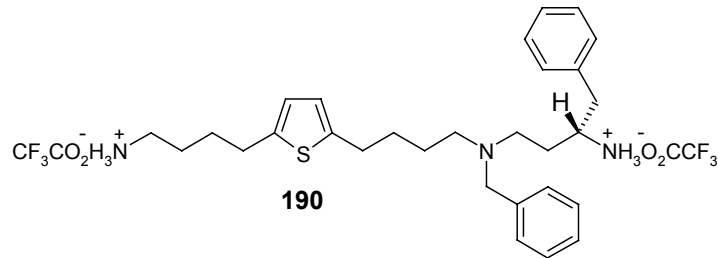
Massenspektrum:



Elektropherogramm:

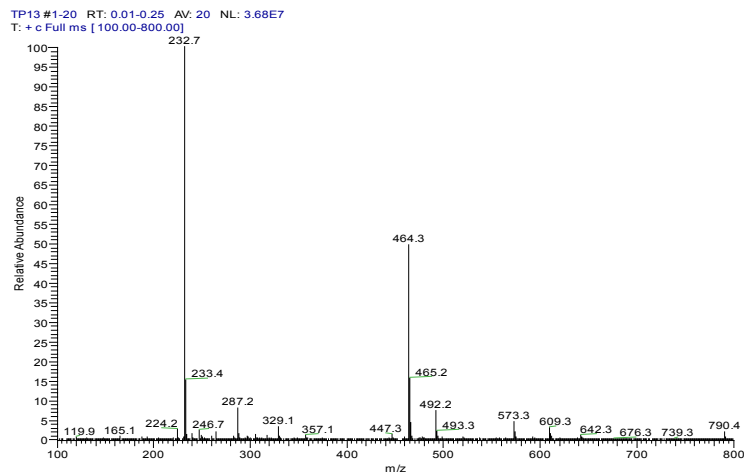


11.65 (1*S*)-3-[4-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]butyl]butyl(benzylamino)-1-benzylpropylammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 190

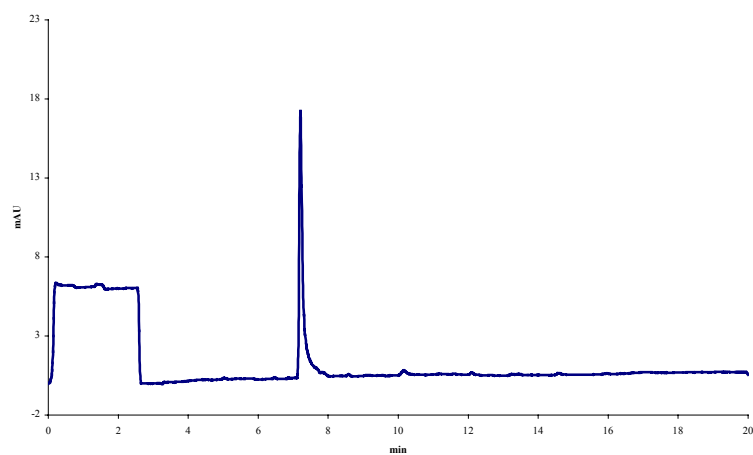


Aussehen: braunes Öl

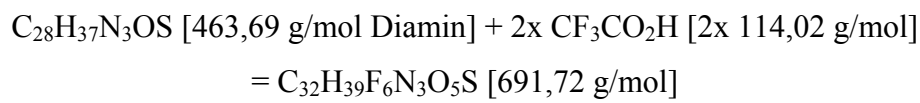
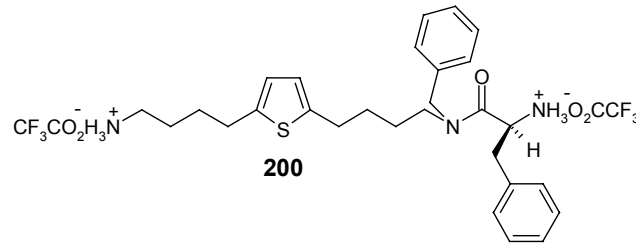
Massenspektrum:



Elektropherogramm:

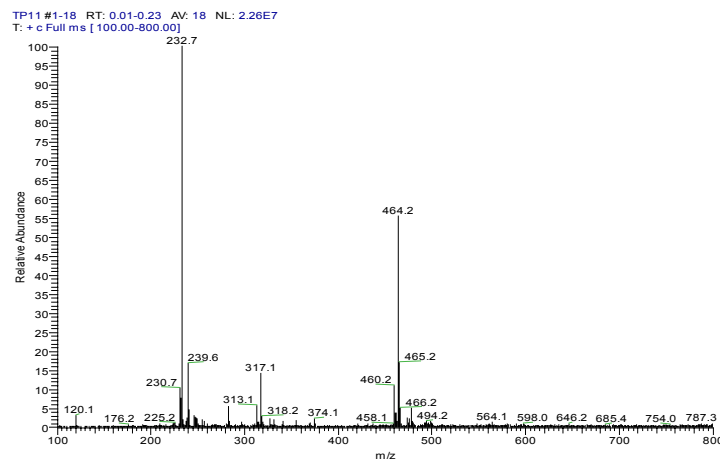


11.66 (1*R*)-2-[4-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]butyl(benzyl)amino]-1-benzyl-2-oxoethylammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 200

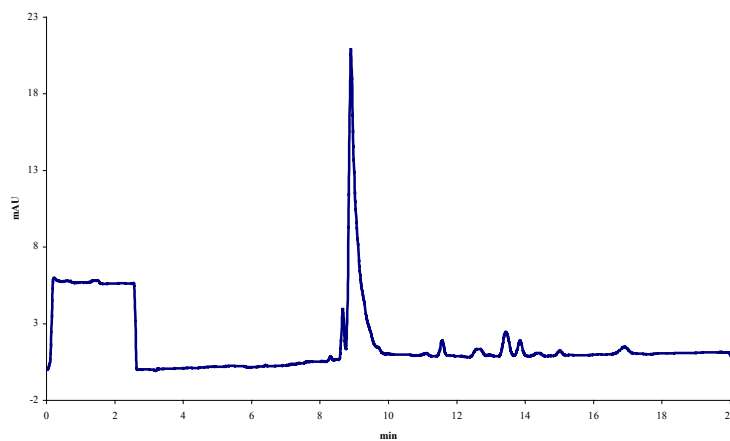


Aussehen: braunes Öl

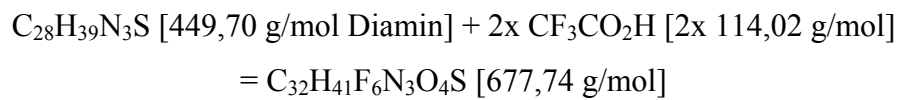
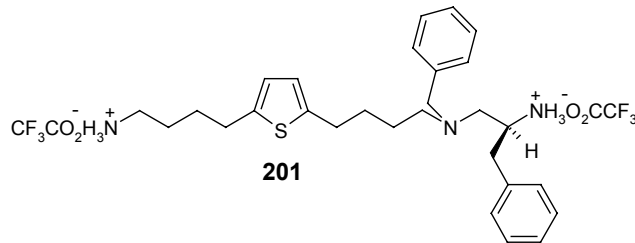
Massenspektrum:



Elektropherogramm:

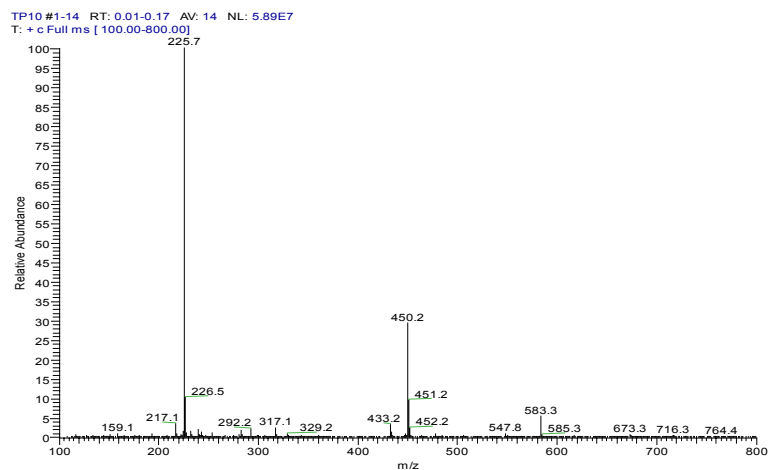


11.67 (1*R*)-2-[4-[5-(4-Ammoniobutyl)-2-thienyl]butyl(benzyl)amino]-1-benzylethylammonium di(2,2,2-trifluoroacetat) 201

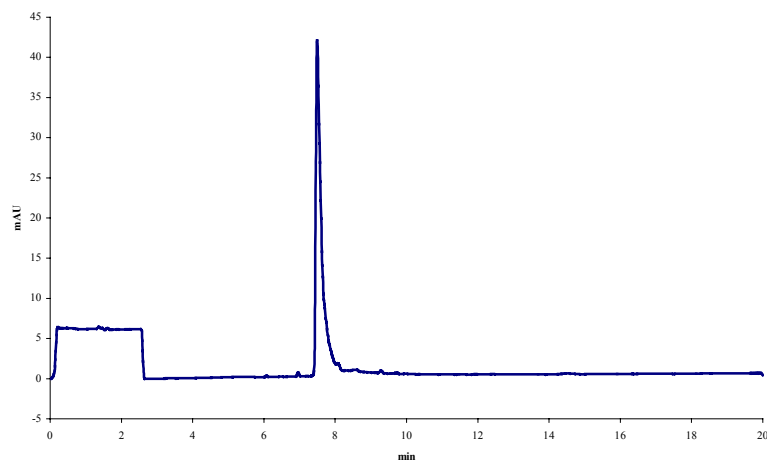


Aussehen: braunes Öl

Massenspektrum:



Elektropherogramm:



12 Literaturverzeichnis

1. *Siehe Pressemitteilung des statistischen Bundesamtes, <http://www.destatis.de>.*
2. C.W. Tabor and H. Tabor, *Polyamines in microorganisms*. Microbiological Reviews, **1985**. 49(1): p. 81-99.
3. A.E. Pegg and P.P. McCann, *Polyamine metabolism and function*. American Journal of Physiology, **1982**. 243(5): p. C212-21.
4. A.E. Pegg, *Recent advances in the biochemistry of polyamines in eukaryotes*. Biochemical Journal, **1986**. 234(2): p. 249-62.
5. A. Lewenhoeck, *Observations D. Anthonii Leeuwenhoek, de Natis e semine genitali Animalculis*. Philos. Trans. R. Soc. London, **1678**. 12: p. 1040.
6. C.W. Tabor and H. Tabor, *Polyamines*. Annual Review of Biochemistry, **1984**. 53: p. 749-90.
7. P. Pohjanpelto, E. Holtta, and O.A. Janne, *Mutant strain of Chinese hamster ovary cells with no detectable ornithine decarboxylase activity*. Molecular and Cellular Biology, **1985**. 5(6): p. 1385-90.
8. N. Seiler and F. Dezeure, *Polyamine transport in mammalian cells*. International Journal of Biochemistry, **1990**. 22(3): p. 211-8.
9. S.A. McCormack, M.J. Viar, and L.R. Johnson, *Polyamines are necessary for cell migration by a small intestinal crypt cell line*. American Journal of Physiology, **1993**. 264(2 Pt 1): p. G367-74.
10. V. Gentile, *et al.*, *Expression of tissue transglutaminase in Balb-C 3T3 fibroblasts: effects on cellular morphology and adhesion*. Journal of Cell Biology, **1992**. 119(2): p. 463-74.
11. M.F. Santos, *et al.*, *Polyamines are important for attachment of IEC-6 cells to extracellular matrix*. American Journal of Physiology, **1997**. 273(1 Pt 1): p. G175-83.
12. C.S. Melendrez, *et al.*, *Polyamines in ejaculated ram spermatozoa and their relationship with sperm motility*. Journal of Andrology, **1992**. 13(4): p. 293-6.
13. S.A. McCormack, M.J. Viar, and L.R. Johnson, *Migration of IEC-6 cells: a model for mucosal healing*. American Journal of Physiology, **1992**. 263(3 Pt 1): p. G426-35.

14. S.A. McCormack and L.R. Johnson, *Polyamines and cell migration*. Journal of Physiology and Pharmacology, **2001**. 52(3): p. 327-49.
15. R.M. Ray, *et al.*, *Polyamine depletion arrests cell cycle and induces inhibitors p21(Waf1/Cip1), p27(Kip1), and p53 in IEC-6 cells*. American Journal of Physiology, **1999**. 276(3 Pt 1): p. C684-91.
16. N. Seiler and C.L. Atanassov, *The natural polyamines and the immune system*. Progress in Drug Research, **1994**. 43: p. 87-141.
17. T.J. Thomas, U.B. Gunnia, and T. Thomas, *Reversal of the abnormal development of T cell subpopulations in the thymus of autoimmune MRL-lpr/lpr mice by a polyamine biosynthesis inhibitor*. Autoimmunity, **1992**. 13(4): p. 275-83.
18. M. Schindler, D.E. Koppel, and M.P. Sheetz, *Modulation of membrane protein lateral mobility by polyphosphates and polyamines*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, **1980**. 77(3): p. 1457-61.
19. F. Schuber, *Influence of polyamines on membrane functions*. Biochemical Journal, **1989**. 260(1): p. 1-10.
20. N. Seiler, *Oxidation of polyamines and brain injury*. Neurochemical Research, **2000**. 25(4): p. 471-490.
21. J.Y. Wang, *et al.*, *Role of K(+) channel expression in polyamine-dependent intestinal epithelial cell migration*. American Journal of Physiology. Cell Physiology, **2000**. 278(2): p. C303-14.
22. S. Wallis, *et al.*, *The alpha isoform of protein kinase C is involved in signaling the response of desmosomes to wounding in cultured epithelial cells*. Molecular Biology of the Cell, **2000**. 11(3): p. 1077-92.
23. K.E. Tobias and C. Kahana, *Exposure to ornithine results in excessive accumulation of putrescine and apoptotic cell death in ornithine decarboxylase overproducing mouse myeloma cells*. Cell Growth and Differentiation, **1995**. 6(10): p. 1279-85.
24. R. Poulin, G. Pelletier, and A.E. Pegg, *Induction of apoptosis by excessive polyamine accumulation in ornithine decarboxylase-overproducing L1210 cells*. Biochemical Journal, **1995**. 311(Pt 3): p. 723-7.
25. R.M. Ray, *et al.*, *Polyamine depletion delays apoptosis of rat intestinal epithelial cells*. American Journal of Physiology. Cell Physiology, **2000**. 278(3): p. C480-9.
26. S. Kusunoki and I. Yasumasu, *Inhibitory effect of alpha-hydrazinoornithine on egg cleavage in sea urchin eggs*. Developmental Biology, **1978**. 67(2): p. 336-45.

27. J. Janne, H. Poso, and A. Raina, *Polyamines in rapid growth and cancer*. *Biochemica et Biophysica Acta*, **1978**. 473(3-4): p. 241-93.
28. A.P. Soler, *et al.*, *Polyamines regulate expression of the neoplastic phenotype in mouse skin*. *Cancer Research*, **1998**. 58(8): p. 1654-1659.
29. A.E. Pegg, *Polyamine metabolism and its importance in neoplastic growth and a target for chemotherapy*. *Cancer Research*, **1988**. 48(4): p. 759-74.
30. N. Seiler, C.L. Atanassov, and F. Raul, *Polyamine metabolism as target for cancer chemoprevention (review)*. *International Journal of Oncology*, **1998**. 13(5): p. 993-1006.
31. K. Igarashi, *et al.*, *Molecular mechanism of polyamine stimulation of the synthesis of oligopeptide-binding protein*. *Journal of Biological Chemistry*, **1997**. 272(7): p. 4058-64.
32. E. Westhof, P. Dumas, and D. Moras, *Restrained refinement of two crystalline forms of yeast aspartic acid and phenylalanine transfer RNA crystals*. *Acta Crystallographica, Section A: Foundations of Crystallography*, **1988**. A44(2): p. 112-23.
33. J.L. Mitchell, *et al.*, *Feedback repression of polyamine transport is mediated by antizyme in mammalian tissue-culture cells*. *Biochemical Journal*, **1994**. 299(Pt 1)): p. 19-22.
34. J.J. Almrud, *et al.*, *Crystal structure of human ornithine decarboxylase at 2.1 Å resolution: structural insights to antizyme binding*. *Journal of Molecular Biology*, **2000**. 295(1): p. 7-16.
35. Y. Murakami, *et al.*, *Degradation of ornithine decarboxylase by the 26S proteasome*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **2000**. 267(1): p. 1-6.
36. Y. He, *et al.*, *Antizyme delays the restoration by spermine of growth of polyamine-deficient cells through its negative regulation of polyamine transport*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **1994**. 203(1): p. 608-14.
37. K. Sakata, K. Kashiwagi, and K. Igarashi, *Properties of a polyamine transporter regulated by antizyme*. *Biochemical Journal*, **2000**. 347 Pt 1: p. 297-303.
38. R.A. Casero, Jr. and A.E. Pegg, *Spermidine/spermine N1-acetyltransferase--the turning point in polyamine metabolism*. *FASEB Journal*, **1993**. 7(8): p. 653-61.

39. C.S. Coleman and A.E. Pegg, *Proteasomal degradation of spermidine/spermine N1-acetyltransferase requires the carboxyl-terminal glutamic acid residues*. Journal of Biological Chemistry, **1997**. 272(18): p. 12164-9.
40. P.J. Conn and J.P. Pin, *Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors*. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, **1997**. 37: p. 205-37.
41. R. Dingledine, *et al.*, *The glutamate receptor ion channels*. Pharmacological Reviews, **1999**. 51(1): p. 7-61.
42. W. Danysz and A.C. Parsons, *Glycine and N-methyl-D-aspartate receptors: physiological significance and possible therapeutic applications*. Pharmacological Reviews, **1998**. 50(4): p. 597-664.
43. H. Stark, U. Reichert, and S. Grassmann, *Structure, function and potential therapeutic possibilities of NMDA receptors. 2. Therapy concepts and new receptor ligands*. Pharmazie in unserer Zeit, **2000**. 29(4): p. 228-36.
44. J.E. Huettner and B.P. Bean, *Block of N-methyl-D-aspartate-activated current by the anticonvulsant MK-801: selective binding to open channels*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, **1988**. 85(4): p. 1307-11.
45. S.Y. Sakurai, J.B. Penney, and A.B. Young, *Regionally distinct N-methyl-D-aspartate receptors distinguished by quantitative autoradiography of [3H]MK-801 binding in rat brain*. Journal of Neurochemistry, **1993**. 60(4): p. 1344-53.
46. K. Williams, *et al.*, *Developmental switch in the expression of NMDA receptors occurs in vivo and in vitro*. Neuron, **1993**. 10(2): p. 267-78.
47. K. Williams, *et al.*, *Modulation of the NMDA receptor by polyamines*. Life Sciences, **1991**. 48(6): p. 469-98.
48. M.A. Bowe and J.V. Nadler, *Developmental increase in the sensitivity to magnesium of NMDA receptors on CA1 hippocampal pyramidal cells*. Brain Research, **1990**. 56(1): p. 55-61.
49. G.L. Collingridge and R.A. Lester, *Excitatory amino acid receptors in the vertebrate central nervous system*. Pharmacological Reviews, **1989**. 41(2): p. 143-210.
50. C.W. Cotman, D.T. Monaghan, and A.H. Ganong, *Excitatory amino acid neurotransmission: NMDA receptors and Hebb-type synaptic plasticity*. Annual Review of Neuroscience, **1988**. 11: p. 61-80.

51. K. Moriyoshi, *et al.*, *Molecular cloning and characterization of the rat NMDA receptor*. *Nature*, **1991**. 354(6348): p. 31-7.
52. H. Meguro, *et al.*, *Functional characterization of a heteromeric NMDA receptor channel expressed from cloned cDNAs*. *Nature*, **1992**. 357(6373): p. 70-4.
53. P. Behe, *et al.*, *Determination of NMDA NR1 subunit copy number in recombinant NMDA receptors*. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, **1995**. 262(1364): p. 205-13.
54. L.S. Premkumar and A. Auerbach, *Stoichiometry of recombinant N-methyl-D-aspartate receptor channels inferred from single-channel current patterns*. *Journal of General Physiology*, **1997**. 110(5): p. 485-502.
55. M. Hollmann, C. Maron, and S. Heinemann, *N-glycosylation site tagging suggests a three transmembrane domain topology for the glutamate receptor GluR1*. *Neuron*, **1994**. 13(6): p. 1331-43.
56. Z.G. Wo and R.E. Oswald, *Unraveling the modular design of glutamate-gated ion channels*. *Trends in Neurosciences*, **1995**. 18(4): p. 161-8.
57. W.G. Tingley, *et al.*, *Regulation of NMDA receptor phosphorylation by alternative splicing of the C-terminal domain*. *Nature*, **1993**. 364(6432): p. 70-3.
58. J.E. Brenman, *et al.*, *Cloning and characterization of postsynaptic density 93, a nitric oxide synthase interacting protein*. *Journal of Neuroscience*, **1996**. 16(23): p. 7407-15.
59. M. Niethammer, E. Kim, and M. Sheng, *Interaction between the C terminus of NMDA receptor subunits and multiple members of the PSD-95 family of membrane-associated guanylate kinases*. *Journal of Neuroscience*, **1996**. 16(7): p. 2157-63.
60. R. Sprengel, *et al.*, *Importance of the intracellular domain of NR2 subunits for NMDA receptor function in vivo*. *Cell*, **1998**. 92(2): p. 279-89.
61. F. Steigerwald, *et al.*, *C-Terminal truncation of NR2A subunits impairs synaptic but not extrasynaptic localization of NMDA receptors*. *Journal of Neuroscience*, **2000**. 20(12): p. 4573-81.
62. J.W. Olney, O.L. Ho, and V. Rhee, *Cytotoxic effects of acidic and sulphur containing amino acids on the infant mouse central nervous system*. *Experimental Brain Research*, **1971**. 14(1): p. 61-76.
63. G.J. Lees, *Contributory mechanisms in the causation of neurodegenerative disorders*. *Neuroscience (Oxford, United Kingdom)*, **1993**. 54(2): p. 287-322.

64. B. Meldrum and J. Garthwaite, *Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease*. Trends in Pharmacological Sciences, **1990**. 11(9): p. 379-87.
65. P. Andine, *et al.*, *Intra- and extracellular changes of amino acids in the cerebral cortex of the neonatal rat during hypoxic-ischemia*. Brain Research. Developmental Brain Research, **1991**. 64(1-2): p. 115-20.
66. S.A. Lipton, *HIV-related neuronal injury. Potential therapeutic intervention with calcium channel antagonists and NMDA antagonists*. Molecular Neurobiology, **1994**. 8(2-3): p. 181-96.
67. G. Bensimon, L. Lacomblez, and V. Meininger, *A controlled trial of riluzole in amyotrophic lateral sclerosis. ALS/Riluzole Study Group*. New England Journal of Medicine, **1994**. 330(9): p. 585-91.
68. M.F. Beal, *et al.*, *Kynurenine pathway measurements in Huntington's disease striatum: evidence for reduced formation of kynurenic acid*. Journal of Neurochemistry, **1990**. 55(4): p. 1327-39.
69. A.B. Young, *et al.*, *NMDA receptor losses in putamen from patients with Huntington's disease*. Science, **1988**. 241(4868): p. 981-3.
70. M. Toru, A. Kurumaji, and M. Ishimaru, *Excitatory amino acids: implications for psychiatric disorders research*. Life Sciences, **1994**. 55(22): p. 1683-99.
71. J. Kilpatrick Gavin and S. Tilbrook Gary, *Memantine. Merz*. Current Opinion in Investigational Drugs, **2002**. 3(5): p. 798-806.
72. A. Schroder and C. Erb, *Use of memantine in progressive glaucoma*. Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde, **2002**. 219(7): p. 533-6.
73. J.T. Greenamyre, *et al.*, *Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease*. Biochemical Society Symposia, **1999**. 66: p. 85-97.
74. J.B. Schulz, *et al.*, *The role of mitochondrial dysfunction and neuronal nitric oxide in animal models of neurodegenerative diseases*. Molecular and Cellular Biochemistry, **1997**. 174(1-2): p. 193-7.
75. J.E. Steele, *et al.*, *The N-methyl-D-aspartate receptor complex in Alzheimer's disease: reduced regulation by glycine but not zinc*. Brain Research, **1989**. 500(1-2): p. 369-73.
76. P.T. Francis, *et al.*, *Cortical pyramidal neurone loss may cause glutamatergic hypoactivity and cognitive impairment in Alzheimer's disease: investigative and therapeutic perspectives*. Journal of Neurochemistry, **1993**. 60(5): p. 1589-604.

77. M. Carlsson and A. Carlsson, *Interactions between glutamatergic and monoaminergic systems within the basal ganglia--implications for schizophrenia and Parkinson's disease*. Trends in Neurosciences, **1990**. 13(7): p. 272-6.
78. W.J. Schmidt, M. Bubser, and W. Hauber, *Behavioral pharmacology of glutamate in the basal ganglia*. Journal of Neural Transmission, Supplement, **1992**. 38(Pathobiology and Clinics of Basal Ganglia Disorders): p. 65-89.
79. T. Klockgether and L. Turski, *Toward an understanding of the role of glutamate in experimental parkinsonism: agonist-sensitive sites in the basal ganglia*. Annals of Neurology, **1993**. 34(4): p. 585-93.
80. T.J. Coderre, *The role of excitatory amino acid receptors and intracellular messengers in persistent nociception after tissue injury in rats*. Molecular Neurobiology, **1993**. 7(3-4): p. 229-46.
81. A. Dray, L. Urban, and A. Dickenson, *Pharmacology of chronic pain*. Trends in Pharmacological Sciences, **1994**. 15(6): p. 190-7.
82. M. Williams, E.A. Kowaluk, and S.P. Arneric, *Emerging molecular approaches to pain therapy*. Journal of Medicinal Chemistry, **1999**. 42(9): p. 1481-500.
83. A. Carlsson, *The current status of the dopamine hypothesis of schizophrenia*. Neuropsychopharmacology, **1988**. 1(3): p. 179-86.
84. M. Ishimaru, A. Kurumaji, and M. Toru, *Increases in strychnine-insensitive glycine binding sites in cerebral cortex of chronic schizophrenics: evidence for glutamate hypothesis*. Biological Psychiatry, **1994**. 35(2): p. 84-95.
85. S.A. Johnson and V.F. Simmon, *Randomized, double-blind, placebo-controlled international clinical trial of the Ampakine CX516 in elderly participants with mild cognitive impairment. A progress report*. Journal of Molecular Neuroscience, **2002**. 19(1/2): p. 197-200.
86. C.M. Tang, M. Dichter, and M. Morad, *Modulation of the N-methyl-D-aspartate channel by extracellular H⁺*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, **1990**. 87(16): p. 6445-9.
87. S.F. Traynelis and S.G. Cull-Candy, *Proton inhibition of N-methyl-D-aspartate receptors in cerebellar neurons*. Nature, **1990**. 345(6273): p. 347-50.
88. E. Aizenman, S.A. Lipton, and R.H. Loring, *Selective modulation of NMDA responses by reduction and oxidation*. Neuron, **1989**. 2(3): p. 1257-63.

89. H. Gozlan and Y. Ben-Ari, *NMDA receptor redox sites: are they targets for selective neuronal protection?* Trends in Pharmacological Sciences, **1995**. 16(11): p. 368-74.
90. I.J. Reynolds, E.A. Rush, and E. Aizenman, *Reduction of NMDA receptors with dithiothreitol increases [3H]-MK-801 binding and NMDA-induced Ca²⁺ fluxes.* British Journal of Pharmacology, **1990**. 101(1): p. 178-82.
91. K.R. Hoyt, *et al.*, *Nitric oxide modulates NMDA-induced increases in intracellular Ca²⁺ in cultured rat forebrain neurons.* Brain Research, **1992**. 592(1-2): p. 310-6.
92. C.W. Christine and D.W. Choi, *Effect of zinc on NMDA receptor-mediated channel currents in cortical neurons.* Journal of Neuroscience, **1990**. 10(1): p. 108-16.
93. T.G. Smart, X. Xie, and B.J. Krishek, *Modulation of inhibitory and excitatory amino acid receptor ion channels by zinc.* Progress in Neurobiology, **1994**. 42(3): p. 393-41.
94. V. Koltchine, *et al.*, *Homomeric assemblies of NMDAR1 splice variants are sensitive to ethanol.* Neuroscience Letters, **1993**. 152(1-2): p. 13-6.
95. K. Masood, *et al.*, *Differential ethanol sensitivity of recombinant N-methyl-D-aspartate receptor subunits.* Molecular Pharmacology, **1994**. 45(2): p. 324-9.
96. J.W. Johnson and P. Ascher, *Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brain neurons.* Nature (London), **1987**. 325(6104): p. 529-31.
97. G.B. Watson, *et al.*, *Kynurenate antagonizes actions of N-methyl-D-aspartate through a glycine-sensitive receptor.* Neuroscience Research Communications, **1988**. 2(3): p. 169-74.
98. P.J. Birch, C.J. Grossman, and A.G. Hayes, *Kynurenic acid antagonises responses to NMDA via an action at the strychnine-insensitive glycine receptor.* European Journal of Pharmacology, **1988**. 154(1): p. 85-7.
99. A.C. Foster, *et al.*, *Kynurenic acid analogues with improved affinity and selectivity for the glycine site on the N-methyl-D-aspartate receptor from rat brain.* Molecular Pharmacology, **1992**. 41(5): p. 914-22.
100. Deutsche-Apotheker-Zeitung, *"NMDA-Rezeptorantagonist: Memantine zur Behandlung der Alzheimer-Demenz"*. **2002**. 12: p. 1482.
101. R.W. Ransom and N.L. Stec, *Cooperative modulation of [3H]MK-801 binding to the N-methyl-D-aspartate receptor-ion channel complex by L-glutamate, glycine, and polyamines.* Journal of Neurochemistry, **1988**. 51(3): p. 830-6.

102. P. Brackley, *et al.*, *Spermine and philanthotoxin potentiate excitatory amino acid responses of Xenopus oocytes injected with rat and chick brain RNA*. Neuroscience Letters, **1990**. 114(1): p. 51-6.
103. D.M. Rock and R.L. Macdonald, *The polyamine spermine has multiple actions on N-methyl-D-aspartate receptor single-channel currents in cultured cortical neurons*. Molecular Pharmacology, **1992**. 41(1): p. 83-8.
104. D.M. Rock and R.L. MacDonald, *Spermine and related polyamines produce a voltage-dependent reduction of N-methyl-D-aspartate receptor single-channel conductance*. Molecular Pharmacology, **1992**. 42(1): p. 157-64.
105. R.C. Araneda, R.S. Zukin, and M.V. Bennett, *Effects of polyamines on NMDA-induced currents in rat hippocampal neurons: a whole-cell and single-channel study*. Neuroscience Letters, **1993**. 152(1-2): p. 107-12.
106. H. Jackson and P.N. Usherwood, *Spider toxins as tools for dissecting elements of excitatory amino acid transmission*. Trends in Neurosciences, **1988**. 11(6): p. 278-83.
107. P.N. Usherwood, *Natural and synthetic polyamines: modulators of signalling proteins*. Farmaco, **2000**. 55(3): p. 202-5.
108. T.D. Johnson, *Modulation of channel function by polyamines*. Trends in Pharmacological Sciences, **1996**. 17(1): p. 22-7.
109. K. Williams, *et al.*, *Sensitivity of the N-methyl-D-aspartate receptor to polyamines is controlled by NR2 subunits*. Molecular Pharmacology, **1994**. 45(5): p. 803-9.
110. L. Zhang, *et al.*, *Spermine potentiation of recombinant N-methyl-D-aspartate receptors is affected by subunit composition*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, **1994**. 91(23): p. 10883-7.
111. G.M. Durand, M.V. Bennett, and R.S. Zukin, *Splice variants of the N-methyl-D-aspartate receptor NR1 identify domains involved in regulation by polyamines and protein kinase C*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, **1993**. 90(14): p. 6731-5.
112. B.A. Chizh, P.M. Headley, and T.M. Tzschentke, *NMDA receptor antagonists as analgesics: focus on the NR2B subtype*. Trends in Pharmacological Sciences, **2001**. 22(12): p. 636-42.
113. C.J. Carter, *et al.*, *Ifenprodil and SL 82.0715 as cerebral antiischemic agents. III. Evidence for antagonistic effects at the polyamine modulatory site within the N-*

- methyl-D-aspartate receptor complex*. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, **1990**. 253(2): p. 475-82.
114. M.J. Gallagher, *et al.*, *Interactions between ifenprodil and the NR2B subunit of the N-methyl-D-aspartate receptor*. Journal of Biological Chemistry, **1996**. 271(16): p. 9603-11.
115. M.J. Gallagher, *et al.*, *The NR2B-specific interactions of polyamines and protons with the N-methyl-D-aspartate receptor*. Journal of Biological Chemistry, **1997**. 272(40): p. 24971-9.
116. J.M. Sullivan, *et al.*, *Identification of two cysteine residues that are required for redox modulation of the NMDA subtype of glutamate receptor*. Neuron, **1994**. 13(4): p. 929-36.
117. D.R. Lynch, *et al.*, *Pharmacological characterization of interactions of RO 25-6981 with the NR2B (epsilon2) subunit*. European Journal of Pharmacology, **2001**. 416(3): p. 185-95.
118. P.L. Chazot, S. Lawrence, and C.L. Thompson, *Studies on the subtype selectivity of CP-101,606: evidence for two classes of NR2B-selective NMDA receptor antagonists*. Neuropharmacology, **2002**. 42(3): p. 319-324.
119. B. Scatton, *et al.*, *Neuroprotective potential of the polyamine site-directed NMDA receptor antagonists ifenprodil and eliprodil*. Direct Allosteric Control Glutamate Recept., **1994**: p. 139-54.
120. K. Taniguchi, *et al.*, *Antinociceptive activity of CP-101,606, an NMDA receptor NR2B subunit antagonist*. British Journal of Pharmacology, **1997**. 122(5): p. 809-12.
121. I.J. Reynolds, *Arcaïne uncovers dual interactions of polyamines with the N-methyl-D-aspartate receptor*. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, **1990**. 255(3): p. 1001-7.
122. K. Williams, J.L. Hanna, and P.B. Molinoff, *Developmental changes in the sensitivity of the N-methyl-D-aspartate receptor to polyamines*. Molecular Pharmacology, **1991**. 40(5): p. 774-82.
123. M.L. Berger, *et al.*, *Interaction of long chain n-alkyl diamines with the NMDA receptor complex*. Neuroscience Letters, **1992**. 142(1): p. 85-8.
124. Y.-C. Cheng and W.H. Prusoff, *Relation between the inhibition constant K_i and the concentration of inhibitor which causes fifty per cent inhibition (I_{50}) of an enzymic reaction*. Biochemical Pharmacology, **1973**. 22(23): p. 3099-108.

125. M.L. Berger, *Zusammengestellt aus der an der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt gehaltenen Vorlesungsreihe von Dr. M. L. Berger (Hirnforschungsinstitut, Universität Wien)*. **2000**.
126. R.B. Merrifield, *Solid phase peptide synthesis. I. The synthesis of a tetrapeptide*. J. Am. Chem. Soc., **1963**. 85(14): p. 2149-54.
127. R.B. Merrifield, *Solid phase peptide synthesis. II. Synthesis of bradykinin*. J. Am. Chem. Soc., **1964**. 86(2): p. 304-5.
128. E. Atherton, C.J. Logan, and R.C. Sheppard, *Peptide synthesis. Part 2. Procedures for solid-phase synthesis using N.alpha.-fluorenylmethoxycarbonyl amino acids on polyamide supports. Synthesis of substance P and of acyl carrier protein 65-74 decapeptide*. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, **1981**(2): p. 538-46.
129. H. Rink, *Solid-phase synthesis of protected peptide fragments using a trialkoxy-diphenyl-methyl ester resin*. Tetrahedron Letters, **1987**. 28(33): p. 3787-90.
130. M. Bergmann and L. Zervas, *A general process for the synthesis of peptides*. Ber., **1932**. 65B: p. 1192-1201.
131. F.C. McKay and N.F. Albertson, *New amine-masking groups for peptide synthesis*. J. Am. Chem. Soc., **1957**. 79: p. 4686-90.
132. B.M. Pope, Y. Yamamoto, and D.S. Tarbell, *Di-tert-butyl dicarbonate*. Org. Syn., **1973**. 53: p. 1851.
133. L.A. Carpino and G.Y. Han, *9-Fluorenylmethoxycarbonyl function, a new base-sensitive amino-protecting group*. J. Amer. Chem. Soc., **1970**. 92(19): p. 5748-9.
134. G.B. Fields and R.L. Noble, *Solid-phase peptide synthesis utilizing 9-fluorenylmethoxycarbonyl amino acids*. International Journal of Peptide & Protein Research, **1990**. 35(3): p. 161-214.
135. R.A. Boissonnas, *A new method of peptide synthesis*. Helv. Chim. Acta, **1951**. 34: p. 874-9.
136. A. Bodanszky, *et al.*, *Active esters of 9-fluorenylmethoxyloxycarbonyl amino acids and their application in the stepwise lengthening of a peptide chain*. J. Org. Chem., **1980**. 45(1): p. 72-6.
137. W. Koenig and R. Geiger, *N-Hydroxy compounds as catalysts for the aminolysis of activated esters*. Chemische Berichte, **1973**. 106(11): p. 3626-35.
138. A. Furka, *et al.*, *General method for rapid synthesis of multicomponent peptide mixtures*. International Journal of Peptide & Protein Research, **1991**. 37(6): p. 487-93.

139. K.S. Lam, *et al.*, *A new type of synthetic peptide library for identifying ligand-binding activity*. NATURE, **1991**. 354(6348): p. 82-4.
140. C. Schödl, *Dissertation (Universität Wien)*. **1992**.
141. O. Schadt, *Dissertation (Universität Frankfurt am Main)*. **1998**.
142. G.R. Zellars and R. Levine, *Condensations effected by the alkali amides. I. The use of lithium amide in the synthesis of certain .beta.-keto esters and symmetrical .beta.-diketones*. Journal of Organic Chemistry, **1948**. 13: p. 160-3.
143. L. Lermer, *et al.*, *The synthesis of .beta.-keto lactones via cyclization of .beta.-keto ester dianions or the cyclization of Meldrum's acid derivatives*. Canadian Journal of Chemistry, **1992**. 70(5): p. 1427-45.
144. G. Toth and K.E. Koeber, *Simple, safe, large scale synthesis of 5-arylmethyl-2,3-dimethyl-1,3-dioxane-4,6-diones and 3-arylpropanoic acids*. Synthetic Communications, **1995**. 25(19): p. 3067-74.
145. D.L. Klayman, M.M. Grenan, and D.P. Jacobus, *Potential antiradiation agents. I. Primary aminoalkanethiosulfuric acids*. Journal of Medicinal Chemistry, **1969**. 12: p. 510-12.
146. P. Huszthy, *et al.*, *Efficient synthesis of azetidine through N-trityl- or N-dimethoxytritylazetidines starting from 3-amino-1-propanol or 3-halopropylamine hydrohalides*. Journal of Heterocyclic Chemistry, **1993**. 30(5): p. 1197-207.
147. R. Rossi, A. Carpita, and M.L. Gaudenzi, *Highly stereoselective synthesis of (Z)-9,11-dodecadien-1-yl acetate; a sex pheromone component of Diparopsis castanea Hmps.* Synthesis, **1981**(5): p. 359-61.
148. R. Rossi and A. Carpita, *Insect pheromones. Synthesis of chiral sex pheromone components of several species of Trogoderma (Coleoptera: Dermestidae)*. Tetrahedron, **1977**. 33(18): p. 2447-50.
149. J.K. Stille and J.H. Simpson, *Stereospecific palladium-catalyzed coupling reactions of vinyl iodides with acetylenic tin reagents*. Journal of the American Chemical Society, **1987**. 109(7): p. 2138-52.
150. M. Malacria and K.P.C. Vollhardt, *Stereospecific cobalt-mediated enediyne cyclization involving a tetrasubstituted double bond: one-step construction of the hydrophenanthrene nucleus incorporating two adjacent quaternary centers*. Journal of Organic Chemistry, **1984**. 49(25): p. 5010-12.

151. M. Bartra, *et al.*, *A fast procedure for the reduction of azides and nitro compounds based on the reducing ability of Sn(SR)₃-species [Erratum to document cited in CA113(7):58582j]*. Tetrahedron, **1990**. 46(15): p. 5027.
152. A. McKenzie and R.C. Strathern, *Reactions of displacement in the tropic acid group. I*. J. Chem. Soc., **1925**. 127: p. 82-8.
153. S. Abele, G. Guichard, and D. Seebach, *(S)-.beta.3-homolysine- and (S)-.beta.3-homoserine-containing .beta.-peptides. CD spectra in aqueous solution*. Helvetica Chimica Acta, **1998**. 81(12): p. 2141-2156.
154. W. Herz and L. Tsai, *Sulfur analogs of isoquinolines. IV. The Pictet-Gams reactions and attempts to prepare analogs of papaverine*. Journal of the American Chemical Society, **1955**. 77: p. 3529-33.
155. D.N. Kursanov, Z.N. Parnes, and N.M. Loim, *Applications of ionic hydrogenation to organic synthesis*. Synthesis, **1974**(9): p. 633-51.
156. L. Lapatsanis, *et al.*, *Synthesis of N-(2,2,2-trichloroethoxycarbonyl) L-amino acids and N-(9-fluorenylmethoxycarbonyl) L-amino acids involving succinimidoxy anion as a leaving group in amino acid protection*. Synthesis, **1983**(8): p. 671-3.
157. C. Thurieau, *et al.*, *A new somatostatin analog with optimized ring size inhibits neointimal formation induced by balloon injury in rats without altering growth hormone release*. European Journal of Medicinal Chemistry, **1995**. 30(2): p. 115-22.
158. S. Tomasi, *et al.*, *Solid phase organic synthesis of polyamine derivatives and initial biological evaluation of their antitumoral activity*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, **1998**. 8(6): p. 635-640.
159. C.Y. Ho and M.J. Kukla, *Carbamate linkers as latent N-methylamines in solid phase synthesis*. Tetrahedron Letters, **1997**. 38(16): p. 2799-2802.
160. C.G. Fields and G.B. Fields, *Minimization of tryptophan alkylation following 9-fluorenylmethoxycarbonyl solid-phase peptide synthesis*. Tetrahedron Letters, **1993**. 34(42): p. 6661-4.
161. L.A. Carpino, *et al.*, *The 2,2,4,6,7-pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl group (Pbf) as arginine side chain protectant*. Tetrahedron Letters, **1993**. 34(49): p. 7829-32.
162. A.W. Czarnik and Editor, *Solid-Phase Organic Syntheses, Volume 1*. 2001. 164 pp.
163. S.J. Paikoff, *et al.*, *The solid phase synthesis of N-alkylcarbamate oligomers*. Tetrahedron Letters, **1996**. 37(32): p. 5653-5656.

164. S. Ekelund, P. Nygren, and R. Larsson, *Guanidino-containing drugs in cancer chemotherapy: biochemical and clinical pharmacology*. *Biochemical Pharmacology*, **2001**. 61(10): p. 1183-1193.
165. T.L. Davis, *Guanidine nitrate*. *Org. Syntheses*, **1927**. 7: p. 46-8.
166. M. Mikolajczyk and P. Kielbasinski, *Recent developments in carbodiimide chemistry*. *Tetrahedron*, **1981**. 37(2): p. 233-84.
167. H. Bredereck and K. Bredereck, *Acid amide reactions. XXVII. Reactions with acid amide-phosphorus oxychloride adducts and amide chlorides*. *Chem. Ber.*, **1961**. 94: p. 2278-95.
168. K. Kim, Y.T. Lin, and H.S. Mosher, *Monosubstituted guanidines from primary amines and aminoiminomethanesulfonic acid*. *Tetrahedron Letters*, **1988**. 29(26): p. 3183-6.
169. M.A. Poss, *et al.*, *A mild and efficient method for the preparation of guanidines*. *Tetrahedron Letters*, **1992**. 33(40): p. 5933-6.
170. B. Drake, M. Patek, and M. Lebl, *A convenient preparation of monosubstituted N,N'-di(BOC)-protected guanidines*. *Synthesis*, **1994**(6): p. 579-82.

Lebenslauf

Thomas Pöhler
geboren 28.05.1972 in Offenbach
ledig

Schulbildung

1978 - 1982	Grundschule in Offenbach
1982 - 1992	Albert-Schweitzer-Gymnasium Offenbach
Abschluss	Abitur im Juni 1991

Hochschulbildung

Okt. 1991 - März 1998	Studium der Chemie an der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main
Sept. 1997 - März 1998	Diplomarbeit unter der Anleitung von Prof. Dr. C. R. Noe am Institut für Pharmazeutische Chemie der Johann-Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main mit dem Thema „Festphasensynthetische Ansätze zur Modifikation von Liganden der Polyamin-Bindungsstelle des NMDA-Rezeptors

Promotion

Mai 1998 - Mai 2001	Promotions-Stipendiat der Deutschen Forschungsgemeinschaft am Institut für Pharmazeutische Chemie der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main unter der Anleitung von Prof. Dr. C. R. Noe
Juni 2001 - März 2003	Promotion unter der Anleitung von Prof. Dr. C. R. Noe am Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Wien zum Thema „Synthese kleiner Substanzbibliotheken zur Optimierung von Liganden für Polyamin-Bindungsstellen des NMDA-Rezeptors“

Berufstätigkeit:

Sept. 1997 - März 1998	Studentische Hilfskraft am Institut für Pharmazeutische Chemie der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main
Dez. 2001 - April 2002	Beschäftigung als freier Mitarbeiter der Firma PharmaCon-Forschung und Entwicklung GmbH in Wien
April 2002 - April 2003	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Pharmazeutische Chemie an der Fakultät für Naturwissenschaften und Mathematik der Universität Wien

Meine akademischen Lehrer waren:

Prof. Dr. H. Bock, Prof. Dr. B. Brutschy, Prof. Dr. F. J. Comes, Prof. Dr. Th. Dingermann, Prof. Dr. E. Egert, Prof. Dr. J. W. Engels, Prof. Dr. M. Göbel, Prof. Dr. C. Griesinger, Prof. Dr. K. Hensen, Prof. Dr. M. Karas, Prof. Dr. G. Kohlmaier, Prof. Dr. G. Lambrecht, Prof. Dr. R. Marschalek, Prof. Dr. W. Martienssen, Prof. Dr. W. E. Müller, Prof. Dr. C. R. Noe, Prof. Dr. G. Quinkert, Prof. Dr. M. Reggelin, Prof. Dr. D. Rehm, Prof. Dr. R. Schlögl, PD Dr. G. Schmalzing, Prof. Dr. M. Schubert-Zsilavec, Prof. Dr. H. Stark, Prof. Dr. D. Steinhilber, Prof. Dr. Sterzel, Prof. Dr. Stelzer, Prof. Dr. H. Zimmermann