

Neuartige bifunktionelle Hemithioindigo-Chromophore –  
Synthese, Einbau in biologisch relevante Strukturen und photochrome  
Eigenschaften

vorgelegt von

Diplom-Chemikerin

Wencke Steinle

aus Siefersheim

Fakultät II – Mathematik und Naturwissenschaften

der Technischen Universität Berlin

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Naturwissenschaften

- Dr. rer. nat. -

genehmigte Dissertation

Promotionsausschuß:

Vorsitzender: Prof. Dr. R. Schomäcker

1. Berichterin: Prof. Dr. K. Rück-Braun

2. Bericht: Prof. Dr. S. Blechert

Tag der wissenschaftlichen Aussprache: 03.09.2004

Berlin 2004

D 83

## **Abstract**

Steinle, Wencke

### **Neuartige bifunktionelle Hemithioindigo-Chromophore – Synthese, Einbau in biologisch relevante Strukturen und photochrome Eigenschaften**

In der vorliegenden Arbeit wurden mono- und bifunktionelle Hemithioindigo(HT)-Chromophore durch säure- und basenkatalysierte Aldolkondensationen in guten bis sehr guten Ausbeuten hergestellt. Diese Chromophore sind auf Grund ihrer Funktionalitäten zum Einbau in Biomoleküle geeignet, um deren Konformation und Funktion zu steuern.

Eine literaturbekannte Hemithioindigo-Synthese unter basischen Bedingungen wurde durch ein sequentielles Reaktionsprotokoll optimiert. Mit dieser Methode wurden erstmals Boc-geschützte HT- $\omega$ -Aminosäurederivate zugänglich, die in der Peptidsynthese in Lösung und an fester Phase zum Einsatz kommen können. Die Darstellung von freien HT-Dicarbonsäuren und freien Aminosäuren gelang unter wässrigen basischen Bedingungen in guten bis sehr guten Ausbeuten.

Fmoc-geschützte HT- $\omega$ -Aminosäurederivate konnten in sehr guten Ausbeuten durch säurekatalysierte Aldolkondensationen hergestellt werden. Unter sauren Bedingungen waren sowohl die Synthese von HT- $\omega$ -Aminosäuren mit freier Carbonsäure-Funktionalität als auch die Darstellung von Säurechloriden möglich.

Die Boc- und Fmoc-geschützten HT- $\omega$ -Aminosäurederivate wurden anschließend in Peptidkupplungsreaktionen zu Di- und Tripeptiden umgesetzt und an den synthetisierten Peptiden wurden Schutzgruppenabspaltungen vorgenommen, um sie auf ihre Stabilität unter Bedingungen der Peptidsynthese zu testen.

Einige ausgewählte HT-Verbindungen wurden auf ihre photochemischen Eigenschaften untersucht. Bei Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge  $\lambda = 406$  nm konnten hohe Umsätze zum *E*-Isomer für die Verbindungen erzielt werden (80-90%). Die untersuchten Verbindungen stellten sich alle als thermisch stabile Chromophore mit Halbwertszeiten von mehreren Stunden bis Tagen heraus. Außerdem zeigten die Verbindungen auch nach längerer Bestrahlung keine Zersetzung.

Hemithioindigo-Verbindungen sind interessante Photoschalter, deren photochemische Eigenschaften sie zu vielversprechenden Kandidaten für den Einbau in Biomoleküle machen.

Die vorliegende Arbeit wurde unter Leitung von Frau Prof. Dr. K. Rück-Braun in der Zeit von Juni 2000 bis März 2004 im Institut für Organische Chemie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz und im Institut für Chemie der Fakultät II der Technischen Universität Berlin angefertigt.

Für meine Familie in Liebe und Dankbarkeit.

## **Inhaltsverzeichnis**

1	Einleitung	1
2	Anwendungen photoschaltbarer Verbindungen	5
2.1	Rhodopsin - ein natürlicher Photorezeptor	5
2.2	Anwendung photochromer Verbindungen in biologischen Systemen und in der supramolekularen Chemie	6
2.3	Photoschaltbare Aminosäuren auf Azobenzolbasis	12
2.4	Photoschaltbare Hemithioindigos	14
3	Zielsetzung	19
4	Allgemeiner Teil	23
4.1	HT-Dicarbonsäure-Derivate	23
4.1.1	Synthese des Thioindoxyls (45)	23
4.1.2	Synthese der Aldehyde zum Aufbau von HT-Dicarbonsäure-Derivaten	24
4.1.3	HT-Dicarbonsäure-Derivate	25
4.1.4	Entschützungsreaktionen an HT-Dicarbonsäure-Derivaten	30
4.1.5	HT-Aktivester	34
4.2	HT- $\omega$ -Aminosäuren	37
4.2.1	Aldehyde zur Darstellung von HT- $\omega$ -Aminosäure-Derivaten	38
4.2.2	Boc-geschützte HT- $\omega$ -Aminosäure-Derivate	40
4.2.3	Fmoc-geschützte HT- $\omega$ -Aminosäure-Derivate	46
4.2.4	HT- $\omega$ -Aminosäurechlorid 65	47
4.3	Boc- und Fmoc-geschützte HT- $\omega$ -Aminosäuren in der Peptidsynthese	50
4.3.1	Synthesen in Lösung	50

Boc-basierende Peptidsynthese in Lösung	51
Fmoc-basierende Peptidsynthese in Lösung	55
4.3.2    Synthesen an fester Phase	57
Festphasensynthese mit Fmoc-geschützten HT- $\omega$ -Aminosäuren	58
4.4    HT-Verbindungen als Lipoxygenase-Inhibitoren	65
4.5    Photochemische Eigenschaften von HT-Dicarbonsäuren und HT- $\omega$ -Aminosäuren	72
4.6    Analytische Daten zu HT-Verbindungen	79
Röntgenstrukturanalyse des Dicarbonsäureesters Z-53	82
5    Zusammenfassung	85
5.1    HT-Dicarbonsäure-Derivate	85
5.2    HT- $\omega$ -Aminosäure-Derivate und Peptide	89
6    Experimenteller Teil	95
6.1    Arbeitsmittel und Geräte	95
6.2    Arbeitsvorschriften	98
6.3    Röntgenstrukturanalyse von Z-53	159
7    Anhang	161
7.1    Aufbau einer optischen Bank	161
7.2    UV-Vis-Spektren	161
7.3    NMR Spektren	166
8    Literaturverzeichnis	191

---

## Abkürzungen

Äq	Äquivalente
Alloc	Allyloxycarbonyl
Ar	Aryl
ATR	Attenuated Total Reflectance
ber.	berechnet
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
br	breit
Bu	Butyl
c	Konzentration
$\delta$	chemische Verschiebung
d	Dublett
d	Tag
$\Delta$	Siedehitze
DABCO	Diazabicyclooctan
DC	Dünnschichtchromatogramm
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DCE	Dichlorethan
DCM	Dichlormethan
DMF	N,N-Dimethylformamid
DPPA	Diphenylphosphorylazid
<i>E</i>	entgegen
$\epsilon$	molarer Extinktionskoeffizient
EDC	1-Ethyl-3-(3'-dimethylaminopropyl)carbodiimid x HCl
EDT	Ethandithiol
EE	Ethylacetat, Essigsäureethylester

## *Abkürzungen*

---

EI	Elektronenstoß-Ionisation
Et	Ethyl
EXAFS	Erweiterte Röntgenabsorptionsfeinstruktur (Extended X-ray Absorption Fine Structure)
FAB	Fast Atom Bombardment
Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl
gef.	gefunden
h	Stunden
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HRMS	hochaufgelöste Massenspektrometrie
HT	Hemithioindigo
Hz	Hertz
IR	Infrarotspektroskopie
<i>J</i>	Kopplungskonstante
konz.	konzentriert
$\lambda$	Wellenlänge
LOX	Lipoxygenase
m	mittel
m	meta
m	Multipllett
M	molar
Me	Methyl
MeOH	Methanol
min	Minunten
MS	Massenspektrometrie
m/z	Masse/Ladung
N	normal

---

NHS	N-Hydroxysuccinimid
NMR	Magnetische Kernresonanz
o	ortho
p	para
p.a.	pro analysis
Ph	Phenyl
ppm	parts per million
PSS	photostationärer Zustand
q	Quartett
quant.	quantitativ
R <sub>f</sub>	Retentionsfaktor
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
s	stark
Schmp	Schmelzpunkt
t	Triplett
t <sub>1/2</sub>	Halbwertszeit
<i>tert</i>	tertiär
<i>t</i> Bu	<i>tert</i> -Butyl
TEA	Triethylamin
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
Ts	Toluol-4-sulfonyl
UV	Ultraviolett, ultraviolettes Licht
verd.	verdünnt
Vis	sichtbares Licht
vs	sehr stark

## *Abkürzungen*

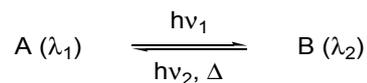
---

w	schwach
Z	Benzyloxycarbonyl
Z	zusammen

## 1 Einleitung

„Wahrscheinlich hat bereits *Alexander der Große* (356 - 323 v. Chr.) Farbveränderungen eines photochromen Farbstoffes benutzt, um den Angriff seiner Truppen zu koordinieren.<sup>1</sup> Die mazedonischen Krieger sollen an ihren Handgelenken Bänder, imprägniert mit einem unbekanntem photochromen Farbstoff, getragen haben. Bei gezielter Einwirkung von Sonnenlicht traten Farbveränderungen auf, die den Zeitpunkt des Angriffs signalisiert haben sollen.“<sup>2</sup>

Der Begriff „Photochromie“ beschreibt photochemische Isomerisierungen, bei denen durch Einstrahlen von Photonen der Energie  $h\nu_1$  eine Verbindung A in die isomere Verbindung B umgewandelt wird (Schema 1). B kann ebenfalls zu A mit Photonen der Energie  $h\nu_2$  oder thermisch ( $\Delta$ ) reisoomerisiert werden. A und B absorbieren demnach bei unterschiedlichen Wellenlängen  $\lambda_1$  und  $\lambda_2$  zumeist im UV- oder Vis-Bereich.<sup>2</sup>



*Schema 1: Photochemische Isomerisierung zweier Verbindungen A ( $\lambda_1$ ) und B ( $\lambda_2$ ).*

Die beiden Verbindungen A und B unterscheiden sich nicht nur in ihrer Farbe und ihren Absorptionsspektren. Die durch die photochemische Reaktion ausgelöste Strukturveränderung ist auch mit Änderungen des Brechungsindex, der dielektrischen Konstanten, des Dipolmoments und anderen physikalischen Eigenschaften verbunden.<sup>2</sup>

1950 wurde der Begriff „Photochromie“ von Hirshberg eingeführt.<sup>3,4</sup> Ter Meer beschrieb den Effekt selbst jedoch bereits im Jahre 1876.<sup>5</sup> Photochromie wurde seitdem an einer Reihe von anorganischen und organischen Verbindungen beobachtet, wobei man verschiedene Arten von Photochromie nach den zu Grunde liegenden Reaktionen, die in den betreffenden Substanzen ablaufen, unterscheiden muß:

➤ *cis/trans*-Isomerie:

Isomerisierung eines Molekülteils um eine Doppelbindung bewirkt eine Konformationsänderung. Diese Art der Photochromie wird u. a. an Thioindigos<sup>6</sup>, Stilbenen<sup>7</sup>, Azobenzolen<sup>8</sup> und Hemithioindigos<sup>9-12,56-59,73</sup> beobachtet.

➤ Elektrozyklische Reaktionen:

Strukturelle Veränderungen durch Öffnung oder Bildung kovalenter Bindungen bewirken Veränderungen im  $\pi$ -Elektronensystem von beispielsweise Spiropyranen<sup>13</sup>, Diarylethenen<sup>14</sup>, Fulgiden<sup>15</sup> etc.

➤ Tautomerisierung:

Bei der reversiblen Tautomerisierung unter H-Transfer (Prototopie) handelt es sich um eine spezielle Form der Keto-Enol-Tautomerie, die durch Licht „katalysiert“ wird. Sie kann am Beispiel von Salicylidenanilinen beobachtet werden.<sup>2,16</sup>

➤ Elektronentransfer/Redox-Photochromie:

Bei der Redox-Photochromie handelt es sich um einen reversiblen photochemisch induzierten Reduktions-/Oxidationsprozeß, wie er zum Beispiel bei der reversiblen Spaltung von AgCl beobachtet werden kann, die in Brillengläsern auf Silicatbasis Bedeutung hat.<sup>17,18</sup>

Durch die unmittelbaren Änderungen der Eigenschaften, die mit der Strukturänderung photochromer Verbindungen durch einfaches Bestrahlen mit Licht einhergehen, hat diese Substanzklasse großes Interesse auf sich gezogen. Ihre Anwendung im Bereich optoelektronischer Geräte, z. B. für die optische Datenspeicherung oder den Aufbau photooptischer Schalter und Displays wird bereits intensiv untersucht.<sup>19</sup> Die Entwicklung molekularer Schaltsysteme für die reversible Datenspeicherung ist ein wichtiges Forschungsgebiet; zusätzlich hat sich das Interesse an photoschaltbaren Verbindungen in jüngster Zeit auch auf die supramolekulare Chemie, Nanotechnologie und Optobioelektronik erweitert, um Kontrolle über Strukturen und Funktionen zu erhalten.<sup>20,21</sup>

Auch in der Natur sind photochrome Verbindungen vertreten. Sie repräsentieren molekulare Schalter für sehr wichtige photoregulierte biologische

Prozesse. Eine Gemeinsamkeit, die alle diese Systeme haben, ist das Vorhandensein von Chromophoren, die durch die Absorption von Licht, einem externen Reiz, eine Serie chemischer Transformationen auslösen, die von den umgebenden Biomembranen oder Proteinen erkannt werden. Die Antwort, die auf die primäre lichtinduzierte Transformation des Chromophors folgt, besteht in sekundären Biotransformationen und komplexen biologischen Vorgängen, wie neuronalen Reaktionen, Ionenpumpen, Elektronenflüssen etc.<sup>22</sup>

Der Sehprozeß ist der „Klassiker“ unter den lichtinduzierten biologischen Prozessen, die eine enzymatische Kaskade auslösen und in einer neuronalen Antwort enden. Die lichtinduzierte Isomerisierung des Chromophors wird durch Konformationsänderungen des mit ihm verbundenen Proteins reflektiert, die sich in einer elektrostatischen Wechselwirkung, neu gebildeten Wasserstoffbrücken-Bindungen oder auch sterischen Verzerrungen äußern können. Diese sekundären biologischen Funktionen können demnach durch den primären Prozeß der photochemischen Isomerisierung des Chromophors gesteuert werden.

Das Konzept des Einbaus photoschaltbarer Verbindungen in Biomoleküle wurde zum ersten Mal in den 60er Jahren des letzten Jahrhunderts in konformativen Studien des Nicotinischen Acetylcholin Rezeptors (AChR) angewandt, wobei die Wechselwirkung des AChR mit modifiziertem Azobenzol zu einer Modulation des Potentials über die Membran führte.<sup>23</sup> Seither ist aufbauend auf der Chemie der Azobenzole eine Reihe von Anwendungen auch anderer photoschaltbarer Verbindungen entwickelt worden.<sup>22,25</sup>

Anhand der Beispiele ist zu erkennen, daß die Herstellung und Untersuchung photochromer Verbindungen und ihre Anwendung in den Biowissenschaften eine große Aufgabe für die moderne Chemie und Biochemie ist.



## 2 Anwendungen photoschaltbarer Verbindungen

### 2.1 Rhodopsin - ein natürlicher Photorezeptor

Photochrome Proteine sind in der Natur nicht besonders häufig anzutreffen und dennoch spielen sie eine Schlüsselrolle in der Photosynthese und im Sehprozeß, z. B. als Photoreaktionszentren und Sehpigmente. Auf Grund ihrer enormen Bedeutung wurde eine Vielzahl von Studien durchgeführt, um die Funktion dieser Moleküle, ihre Wechselwirkung mit Licht und den Mechanismus der Umsetzung der Lichtenergie in chemische Energie oder physiologische Signale aufzuklären. Die molekularen Mechanismen stellen sich zum einen als äußerst kompliziert, doch andererseits auch als sehr effektiv heraus.<sup>24</sup>

Der Sehprozeß ist das eindrucksvollste Beispiel für einen lichtgesteuerten Prozeß, der eine enzymatische Kaskade aktiviert, die in einer neuronalen Antwort endet. Der Sehprozeß in Wirbeltieren beginnt mit der Absorption von Licht, die zur Photoisomerisierung des Chromophors im Rhodopsin, der Schiffischen Base des 11-*cis*-Retinals führt (Abbildung 1). Bei Rhodopsin handelt es sich um ein Membran-gebundenes Protein in Photorezeptoren.

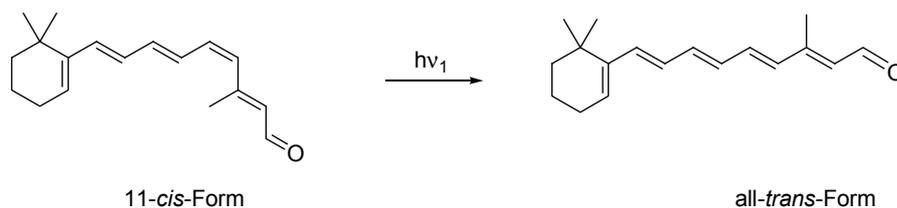


Abbildung 1: Photoisomerisierung von 11-*cis*-Retinal zu all-*trans*-Retinal.

11-*cis*-Retinal ist ein Derivat des Vitamin A, dessen Funktion bislang nur für den Sehprozeß bekannt ist. Durch die Absorption von Licht durch Rhodopsin kommt es zur *cis/trans*-Isomerisierung seines Chromophors, was zu einer Konformationsänderung im Rhodopsin führt. Die resultierende Konformationsänderung im photoaktivierten Rhodopsin bewirkt eine Aktivierung der Phototransduktionskaskade und die Einleitung des Sehvorgangs.

## 2.2 Anwendung photochromer Verbindungen in biologischen Systemen und in der supramolekularen Chemie

Für die Anwendung als molekulare Schalter wird eine Reihe von Anforderungen an photoschaltbare Verbindungen gestellt:

- Hohe Quantenausbeuten
- Hoher Anteil an *Z*- bzw. *E*-Isomer im photostationären Zustand
- Thermische Stabilität der beiden Isomere, d. h. die thermische Isomerisierung, die bei vielen Chromophoren auftritt, darf verglichen mit der photochemischen Rückreaktion, nicht oder nur langsam ablaufen
- Geringes Ausbleichen, d.h. eine große Anzahl an Schaltzyklen muß möglich sein, ohne daß photochemische oder thermische Zersetzung der Verbindungen eintritt
- Schnelle Schaltvorgänge beim photochemischen Schalten zwischen den Isomeren

Außerdem sind je nach Anwendung der Erhalt der photochemischen Eigenschaften der photochromen Verbindungen, wenn sie z. B. in eine polymere Matrix eingebettet sind oder auf einer Oberfläche angebracht sind, und ein zerstörungsfreier Auslesemechanismus, d.h. Daten dürfen durch den Lesevorgang nicht verloren gehen, zusätzliche Faktoren, die eine entscheidende Rolle spielen können.<sup>25,26</sup>

Künstliche funktionalisierte Chromophore, die, in biologische Systeme eingebaut, die Funktion der natürlichen Chromophore nachzuahmen in der Lage sind, können für Studien molekularer Details und Untersuchungen der Zusammenhänge zwischen Konformation und Funktion/Wirkung herangezogen werden.

Die so „maßgeschneiderten“ reversibel schaltbaren Chromophore müssen neben den oben genannten weitere Kriterien erfüllen, um sie für den Einbau in Biomaterialien interessant zu machen:

- Die Wellenlänge der Bestrahlung muß beispielsweise mit dem Protein kompatibel sein und darf nicht zu dessen Zersetzung führen.
- Die elektronischen und sterischen Veränderungen, die mit der Photoisomerisierung einhergehen, müssen so gewählt sein, daß eine maximale strukturelle Veränderung des Rückgrats des Biomaterials auftritt. Diese extremen Veränderungen sind essentiell, um zwischen aktiven und inaktiven Konformationen hin- und herschalten zu können.
- Photochemisch schaltbare Verbindungen sind oft dadurch charakterisiert, daß ein photostationäres Gleichgewicht der Photoisomere vorliegt. Das resultiert aus der Überlappung ihrer Absorptionsspektren. Um lichtstimulierte schaltbare Bioaktivität zu erreichen, müssen drastische strukturelle Veränderungen mit der Transformation vom aktiven (eingeschaltete Konformation) zum inaktiven (ausgeschaltete Konformation) Biomaterial einhergehen. Daher muß die Population des jeweiligen Isomers nach Bestrahlung möglichst groß sein, was durch die Verwendung photoschaltbarer Verbindungen mit nicht überlappenden Absorptionsspektren und die Verwendung von monochromatischen Lichtquellen erreicht werden kann.

Für Chemiker und Biochemiker ist die Kontrolle der Konformation über photochemisch reversible Vorgänge eine attraktive Strategie zur Steuerung der Aktivität von Biomolekülen. So sind Untersuchungen zur Steuerung der Konformation linearer<sup>27-30</sup> und zyklischer Peptide<sup>31-37</sup> vor allem mit photochromen Azobenzol-Aminosäuren<sup>38,39</sup> durchgeführt worden. *Cis/trans*-Isomerisierung im Subpicosekunden-Bereich kann strukturelle Veränderungen im Subnanosekunden-Bereich herbeiführen wie beispielsweise Übergänge zwischen Helix- und Zufallskonformation, die Umkehr des Drehsinns von Helices, Modulation von Redox-Prozessen oder Aggregations-/ Disaggregationseffekte. Im Folgenden werden einige Beispiele aufgezeigt, die neuste Anwendungen von photochromen Verbindungen verdeutlichen sollen.

Erste Arbeiten auf diesem Gebiet wurden von Goodman 1966 durchgeführt, der Polypeptide auf der Basis von *L*-para-Phenylazophenylalanin synthetisierte. Die Photoisomerisierung der Azobenzol-Seitenketten führte jedoch nicht zu einer Konformationsänderung im Peptidrückgrat.<sup>40,41</sup>

Konformationsübergänge konnten mit Azobenzol-modifizierten Polyaspartaten erreicht werden, da es auf Grund der *cis/trans*-Isomerisierung der Azobenzoleinheiten zu einer Umkehr der Händigkeit der Helix kam. Ein Copolymer aus  $\beta$ -Benzyl-*L*-aspartat und  $\beta$ -(*m*-Benzylazo)-benzyl-*L*-aspartat **1** (Abbildung 2) bevorzugte in der all-*trans* Form in Dichlorethan deutlich eine linkshändige Helix (Verhältnis 86 : 14). Die photochemische Isomerisierung von *trans*-**1** zu *cis*-**1** mit  $\lambda < 400$  nm führte zu einem Übergang zu rechtshändigen Helices (Verhältnis 30 : 70), wobei lediglich ein Anteil von 9.7 % Azobenzoleinheiten im Peptid notwendig war, um diesen Prozeß auszulösen. Bestrahlung bei  $\lambda > 400$  nm führte zur vollständigen Umkehr des Prozesses und damit der Umkehr des Drehsinnes der Helices.<sup>25</sup>

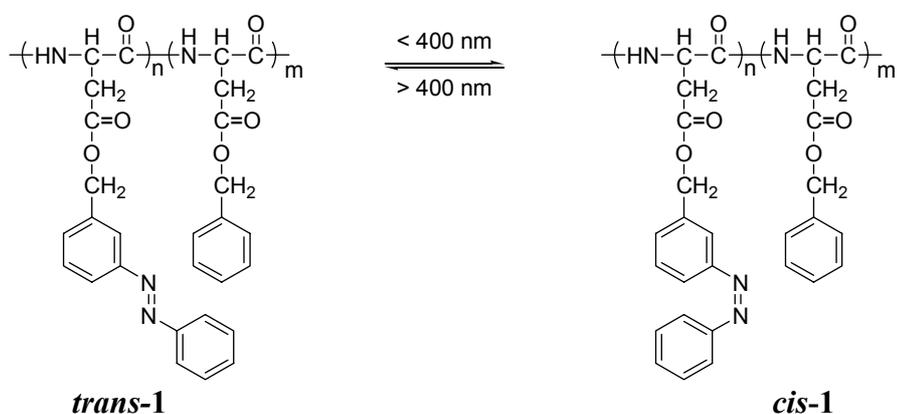


Abbildung 2: *cis/trans*-Isomerisierung des Copolymers **1** mit Azobenzol-Seitenketten.

Moroder et al. beschrieben 2002 die Synthese eines wasserlöslichen zyklischen Peptids mit dem Strukturmotiv Cys-Ala-Thr-Cys, abgeleitet von der Thioredoxin-Reduktase.<sup>33</sup> Im Zusammenhang mit der Effizienz der Faltung von RNase A wurde die *cis/trans*-Isomerie von **2** untersucht (Abbildung 3). Die Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge  $\lambda = 360$  nm zu *cis*-**2** führte zu einer deutlichen Änderung der Konformation des Peptidrückgrats, was mit einer signifikanten Erhöhung des Redoxpotentials verbunden war.

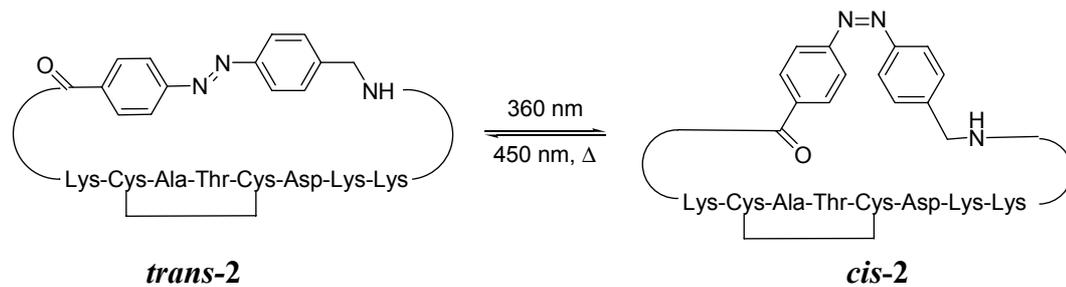


Abbildung 3: Zyklisches photoschaltbares Peptid **2** nach Moroder et al.<sup>29</sup>

Außerdem führte die Bestrahlung von *trans-2* zu *cis-2* zu einem Übergang von geordneten hin zu deutlich weniger geordneten Strukturen. Diese Übergänge sind mit dem Lösen von Wasserstoffbrücken und ihrer Neubildung verbunden, wodurch zeitaufgelöste Messungen der Konformationsübergänge möglich sind.

Die neusten Entwicklungen sind derzeit auf dem Gebiet der „molekularen Maschinen“ zu verzeichnen. In biologischen Systemen gibt es viele molekulare und/oder supramolekulare Maschinen, wie beispielsweise Enzyme, Antikörper und Viren. Eine Maschine ist definiert als „eine Anordnung von Bauteilen zur Änderung der Stärke oder Richtung einer angewandten Kraft“. Ersetzt man das Wort „Bauteile“ in dieser Definition durch das Wort „Moleküle“, dann wird aus der Maschine eine molekulare oder eine supramolekulare Maschine. Daher läßt sich eine molekulare Maschine als eine Anordnung einer bestimmten Anzahl an molekularen Komponenten definieren, die so konzipiert ist, daß sie als Antwort auf einen externen Reiz maschinenartige Bewegungen ausführen kann.<sup>42</sup> Die molekulare Maschine besitzt natürlich Eigenschaften, die charakteristisch für die sie aufbauenden Moleküle sind.

Dieses Konzept der molekularen Maschinen hat seit kurzem großes Interesse gefunden und Forscher widmen sich immer mehr der Konstruktion maschinenartiger Supramoleküle ausgehend von molekularen Komponenten.

Die Konstruktion, Synthese und Untersuchung eines molekularen Pendelzuges wurde 2002 von Stanier et al. berichtet.<sup>43</sup> Dieser molekulare Pendelzug besteht aus einer symmetrischen Stilben-Hantel, die in einen  $\alpha$ -Zyklodextrin-Ring eingebettet ist (Abbildung 4).

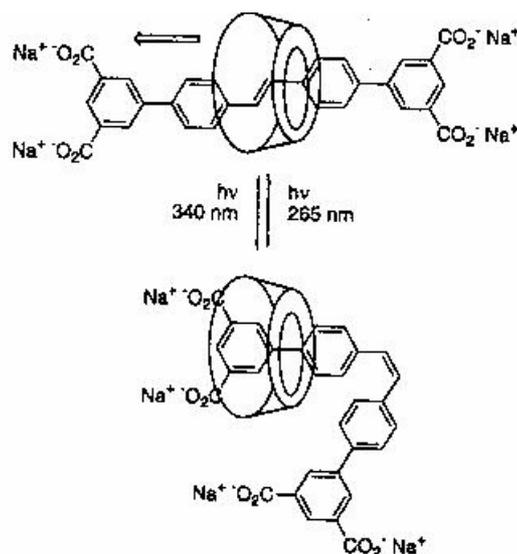


Abbildung 4: Molekularer Pendelzug nach Stanier et al.<sup>43</sup> (Abbildung aus Literaturstelle<sup>44</sup> entnommen)

Die Photoisomerisierung des Stilbens vom *trans*- zum *cis*-Isomer bei  $\lambda = 361 \text{ nm}$  resultiert in einer Bewegung des unsymmetrischen Zyklodextrins, die ausschließlich in eine Richtung verläuft, da die Bewegung in die andere Richtung auf Grund eines zu großen sterischen Anspruchs nicht möglich ist.

Ein weiteres Beispiel für eine molekulare Maschine ist erst kürzlich von Moroder et al. beschrieben worden.<sup>45</sup> Das photoaktive System war dabei ein Azobenzol-modifiziertes Polymer (Abbildung 5), das kovalent zwischen der Spitze eines Atomic-Force-Mikroskops und einer Glasplatte angebunden wurde.

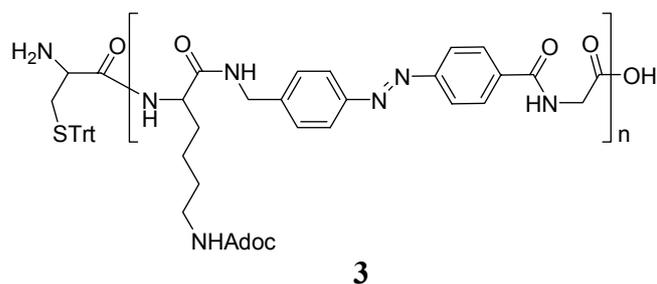


Abbildung 5: Polyazobenzol Peptid **3** als Schaltelement einer molekulare Maschine.

Die Anwendung dieses Systems wurde in einem Gedankenexperiment wie folgt dargestellt (Abbildung 6):

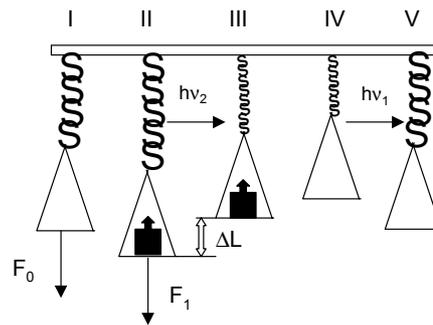


Abbildung 6: Gedankenexperiment - ein Polypeptid als molekulare Maschine.<sup>45</sup>

Die Punkte I bis IV stellen die Stationen des Arbeitszyklus dar, wobei das Polymer **3** in der Lage ist, reversibel zwischen einer ausgestreckten und einer zusammengezogenen Konformation durch Bestrahlung der Wellenlänge  $h\nu_1$  bzw.  $h\nu_2$  zu pendeln. Wird dem System eine Last auferlegt (I  $\rightarrow$  II), so wird das Polymer um eine bestimmte Länge gestreckt. Durch Bestrahlung bei der Wellenlänge  $h\nu_2$  wird das Polymer zusammengezogen (III) und die Last wird um  $\Delta L$  angehoben. Entfernt man die Last (IV), so kann das Polypeptid relaxieren. Erneute Bestrahlung, jetzt aber mit der Energie  $h\nu_1$  führt wieder zurück zum Ausgangszustand (V = I). Um diese mechanische Arbeit zu leisten, ist die Energie des externen Reizes notwendig, der hier durch Bestrahlung bei bestimmten Wellenlängen erbracht wird. Die Anwendung dieses Prinzips der molekularen Maschine ist mit Hilfe des Polypeptids **3** gelungen. Gemäß ab initio Rechnungen, die für das System durchgeführt wurden, sollte  $\Delta L$  maximal bei 6 nm liegen, wenn man davon ausgeht, daß lediglich 55 % der Azobenzole ihre Konfiguration ändern. Die gemachten Messungen zeigten eine Änderung  $\Delta L = 2.8$  nm. Daß der gemessene Wert um die Hälfte unter dem berechneten liegt, wurde unter anderem darauf zurückgeführt, daß Konformationsfreiheitsgrade des Polypeptidrückgrats die Verkürzungen, die durch die Isomerisierungen der Azobenzoleinheiten bewirkt werden, durch Rotationen um einzelne Bindungen des Peptidrückgrats wieder kompensiert werden.

## 2.3 Photoschaltbare Aminosäuren auf Azobenzolbasis

Photoschaltbare Verbindungen, die zum Einbau in Biomoleküle geeignet sein sollen, müssen, je nach Art des Einbaus, eine oder mehrere funktionelle Gruppen tragen, die eine kovalente Anbindung an funktionelle Gruppen im Biomolekül ermöglichen. Geeignet sind dafür insbesondere aminosäurefunktionalisierte Chromophore aber auch Carbonsäuren, Amine, Alkohole, Thiole oder Halogenide etc.

Photochrome Aminosäuren sind ganz besonders interessante Kandidaten für den Einbau in biologische Systeme. Angebunden an oder eingebaut in Peptide besteht die Möglichkeit, daß sie nicht nur durch die strukturelle Änderung ihrer Konformation bei Isomerisierung Einfluß auf das Peptid haben, sondern auch über Wasserstoffbrückenbindungen der Carbonylfunktion bzw. der Aminofunktion mit dem Peptid und der biologischen Umgebung in Wechselwirkung treten können.

Azobenzol-Verbindungen sind seit mehr als 100 Jahren bekannt und die Synthese ihrer Derivate ist bereits ausführlich untersucht worden.<sup>51</sup> Photochrome Aminosäuren auf der Basis von Azobenzolen sind bereits synthetisiert und ausführlich untersucht worden.<sup>46,47,51</sup> Sowohl  $\alpha$ -Aminosäuren wie N-Fluorenylmethyloxycarbonyl-phenylazophenylalanin (Fmoc-PAP, **4**) als auch  $\omega$ -Aminosäuren wie (4-Amino)-phenylazobenzoessäure (APB, **5**) und (4-Fluorenylmethoxycarbonylaminomethyl)-phenylazobenzoessäure (Fmoc-AMPB, **6**) sind bekannt und auf ihre photochromen Eigenschaften untersucht worden.

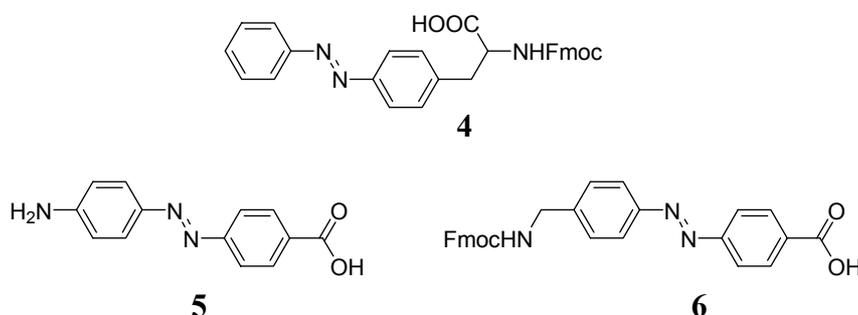


Abbildung 7: Photoschaltbare Aminosäuren auf Basis von Azobenzol.

Fmoc-PAP (**4**) ist eine  $\alpha$ -Aminosäure, die bereits mehrfach in Peptide und Enzyme eingebaut worden ist, um ihre Aktivität durch Licht zu kontrollieren.<sup>48-50</sup>

Woolley et al. untersuchten Fmoc-PAP (**4**) auf seine photochemischen Eigenschaften.<sup>50</sup> Das Peakmaximum liegt bei  $\lambda_{\max}(E) = 325$  nm für den  $\pi\text{-}\pi^*$ -Übergang und für den  $n\text{-}\pi^*$ -Übergang bei  $\lambda_{\max}(E) = 440$  nm und  $\lambda_{\max}(Z) = 420$  nm. Der Umsatz zum Z-Isomer im photostationären Zustand nach Bestrahlung bei  $\lambda = 350$  nm beträgt  $C_Z = 90\%$ . Eine Halbwertszeit für Fmoc-PAP (**4**) wurde nicht ermittelt.

Die Synthese von APB (**5**) wurde bereits 1965 von Schündehütte et al. veröffentlicht.<sup>51</sup> Seine photochemischen Eigenschaften wurden von Moroder et al. untersucht und das Chromophor wurde zum Einbau in zyklische Peptide verwandt.<sup>34,36,52</sup>

APB (**5**) kann bei  $\lambda = 415$  nm vom *trans*- in das *cis*-Isomer überführt werden. Die Peakmaxima der beiden Isomere liegen bei  $\lambda_{\max}(E) = 420$  nm und  $\lambda_{\max}(Z) = 360$  nm für den  $\pi\text{-}\pi^*$ -Übergang, für den  $n\text{-}\pi^*$ -Übergang bei  $\lambda_{\max}(Z) = 440$  nm. Verglichen mit Azobenzol<sup>8</sup> zeigt APB also eine deutliche Verschiebung hin zu längeren Wellenlängen, was darauf zurück zu führen ist, daß die Bathochromie<sup>53</sup> mit steigender Donorstärke eines Substituenten in 4-Position zur Azogruppe steigt. Die Halbwertszeit von APB (**5**) liegt bei  $t_{1/2} < 10$  min. Der Gehalt an *cis*-Isomer nach 30 min Bestrahlung in  $d^6$ -DMSO beträgt ca 10 %, was auf die hohe optische Dichte der Probe und die schnelle thermische Rückreaktion zurückgeführt wurde. Die Quantenausbeute beträgt ca.  $\Phi = 0.2 (\pm 0.1)$ , was im Einklang mit Quantenausbeuten für Azobenzol ist.<sup>8</sup>

Die Darstellung von Fmoc-AMPB (**6**) wurde 1994 von Chmielewski et al. publiziert.<sup>38</sup> Das entschützte Chromophor AMPB wurde von Moroder et al. auf seine photochemischen Eigenschaften untersucht und ebenfalls in zyklische Peptide eingebaut.<sup>32,35</sup> Die Peakmaxima der beiden Isomere für den  $\pi\text{-}\pi^*$ -Übergang liegen bei  $\lambda_{\max}(E) = 330$  nm und  $\lambda_{\max}(Z) = 260$  nm.<sup>54</sup> Die Halbwertszeit von Verbindung **6** wurde kürzlich in unserem Arbeitskreis zu  $t_{1/2} = 35$  h bestimmt, ebenso wie der Umsatz zum *cis*-Isomer, der  $C_Z = 98\%$  betrug.<sup>55</sup>

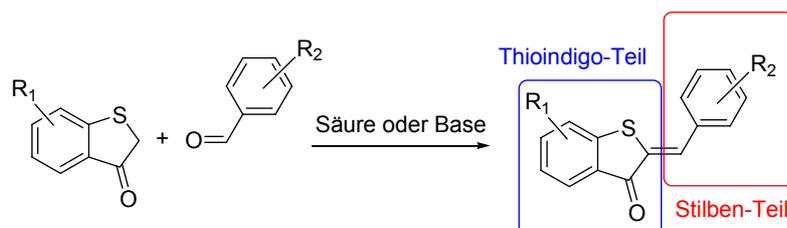
Im Vergleich zu APB hat AMPB einige Vorteile. AMPB besitzt verglichen mit APB eine deutlich bessere Halbwertszeit. Dies ist vor allem für den Einbau des Chromophors in ein Peptid zur Regulation der Konformation von Interesse<sup>32,34,35</sup>, da eine möglichst hohe Stabilität und Lebensdauer der jeweiligen Konformation

gewünscht ist. Auch der Umsatz zum *Z*-Isomer in AMPB ist deutlich größer als für APB.

Durch die Methylengruppe in AMPB ist außerdem nach Einbau in ein zyklisches Peptid dem Peptidrückgrat eine größere konformationelle Freiheit gegeben.<sup>32,34,35</sup>

## 2.4 Photoschaltbare Hemithioindigos

Obwohl die Synthese von Hemithioindigo-Verbindungen bereits seit Beginn des letzten Jahrhunderts bekannt ist<sup>62</sup>, gehören sie zu einer Klasse von photoschaltbaren Verbindungen, die bislang wenig untersucht worden ist. Hemithioindigo-Verbindungen sind über Aldolkondensationen sowohl im basischen als auch im sauren Medium zugänglich (Schema 2).<sup>57,61,62</sup>



Schema 2: Allgemeiner Syntheseweg zu HT-Verbindungen.

Dabei zeichnen Hemithioindigo-Verbindungen sich im Gegensatz zu vielen anderen photochromen Molekülen durch eine hohe thermische Stabilität ihrer photoisomeren Zustände aus und sie erfüllen die wichtige Anforderung einer hohen Reversibilität der Schaltprozesse. Zudem besitzen sie eine einfache, definierte Photochemie, da es bei der Photoreaktion ausschließlich zu einer *Z/E*-Isomerisierung kommt.<sup>9-12,56-60,73</sup>

1992 untersuchten Yamaguchi und Mitarbeiter die Synthese und das photochrome Verhalten von HT-Verbindungen mit unterschiedlichen Substitutionsmustern sowie deren Einbau in Doppelschicht Membranen.<sup>56-58</sup> Die Ausbeuten der hergestellten Verbindungen lagen für die 7-Carboxyl-Derivate (z.B. Verbindung 7) bei ca 20 %, für die 5-Hexyl-Derivate (z.B. Verbindung 8) zwischen 32% und 88%.

Alle HT-Chromophore konnten durch Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 406 nm *Z/E*-isomerisiert und bei 480 nm *E/Z*-isomerisiert werden. Die untersuchten HT-Verbindungen stellten sich alle als photochemisch sehr stabile Verbindungen heraus. Für Verbindung **7** beispielsweise wurden in Benzol unter Zusatz von DABCO  $> 4 \times 10^4$  Schaltzyklen realisiert, ohne daß ein nennenswertes Bleichen festgestellt wurde. Im Vergleich dazu liegt die Anzahl der Schaltzyklen anderer photoschaltbarer Verbindungen wie Fulgide ( $5 \times 10^2$ )<sup>15</sup> oder Azobenzole ( $1 \times 10^3$ )<sup>8</sup> deutlich niedriger.

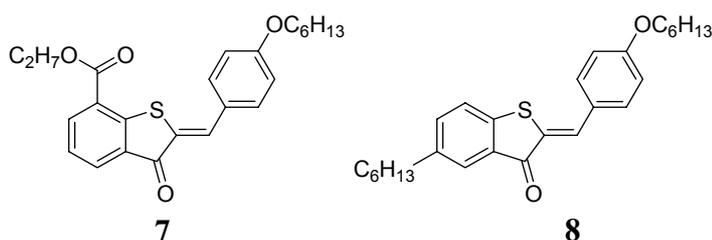


Abbildung 8: HT-Verbindungen **7** und **8** nach Yamaguchi et al.<sup>57</sup>

Der Gehalt an *E*-Isomer im photostationären Zustand (PSS) nach Bestrahlung bei 406 nm lag bei den einzelnen untersuchten Verbindungen in verschiedenen organischen Lösungsmitteln bei mindestens 80% und bei Verbindungen, die in Hexan vermessen wurden, bei 95%. Die untersuchten HT-Verbindungen zeigten in Abhängigkeit vom Lösungsmittel eine hohe thermische Stabilität. Die Halbwertszeit von Verbindung **8** in Ethanol betrug 1925 h ( $k \approx 1 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ ), in Benzol war sie sogar zwei Größenordnungen größer ( $k \approx 3 \times 10^{-9} \text{ s}^{-1}$ ). Die Quantenausbeuten für die *Z/E*- bzw. *E/Z*-Isomerisierung wurden zu 0.026 und 0.030 für Verbindung **7** und zu 0.012 und 0.019 für Verbindung **8** bestimmt, was verglichen mit den Quantenausbeuten anderer *E/Z*-isomerisierbarer Verbindungen<sup>17</sup> eher gering ist. Bei photochemischen Untersuchungen von in Wasser dispergierten HT-Verbindungen ergab sich eine hohe Beständigkeit der HT-Chromophore im wäßrigen Milieu.

Fyles und Mitarbeiter verwandten in ihren Arbeiten funktionalisierte HT-Verbindungen zum Aufbau photoschaltbarer Lipide.<sup>73</sup>

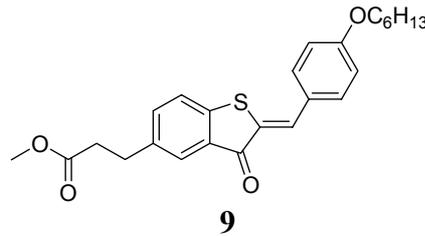


Abbildung 9: HT-Chromophor **9** nach Fyles.<sup>73</sup>

Die hergestellten HT-Chromophore zeigten viele Eigenschaften von zuvor publizierten HT-Verbindungen.<sup>56-59,62</sup> Abgesehen von einer Verbindung konnten alle durch Bestrahlung *Z/E*-isomerisiert werden. Die Chromophore zeigten eine ähnlich gute Beständigkeit gegen photoinduziertes Bleichen. Die Umsätze zum *E*-Isomer lagen abhängig vom Substitutionsmuster zwischen 59% und 65%, also deutlich unter den Werten, die von Yamaguchi et al. bestimmt worden waren. Auch die thermische Stabilität der von Fyles beschriebenen Verbindungen lag in verschiedenen organischen Lösungsmitteln mit  $t_{1/2} \approx 8-9$  h ( $k \approx 2 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ ) um drei bis fünf Größenordnungen unter den von Yamaguchi bestimmten Halbwertszeiten.

Aus den von Yamaguchi und Fyles erhaltenen Ergebnissen können allgemein folgende Eigenschaften von HT-Verbindungen ermittelt werden:

- Definierte Photochemie durch einfache *Z/E*-Isomerisierung (Photoreaktion 1. Ordnung)
- *Z/E*-Photoisomerisierung erfolgt in der Region um  $\lambda = 406$  nm, *E/Z*-Isomerisierung im Bereich um  $\lambda = 480$  nm.
- Niedrige Quantenausbeuten
- Umsätze zum *E*-Isomer im PSS liegen in Abhängigkeit vom Lösungsmittel und dem Substitutionsmuster bei 60-95%.
- Hohe thermische Stabilität (mehrere Stunden bis Tage)
- Kein nennenswertes Bleichen unter Bestrahlung bei  $\lambda = 406$  nm und  $\lambda = 480$  nm auch nach  $4 \times 10^4$  Schaltzyklen

HT-Verbindungen sind auf Grund dieser Eigenschaften Chromophore, die interessante Kandidaten für den Einbau in Biomoleküle darstellen. Durch Isomerisierung im sichtbaren Bereich ( $\lambda > 300$  nm) werden Interferenzen mit Chromophoren in biologischen Systemen vermieden. Die hohe thermische Stabilität,

die hohen Umsätze zum *E*-Isomer im PSS und die hohe Beständigkeit gegen photoinduziertes Bleichen unter Bestrahlung machen HT-Verbindungen mit geeignetem Substitutionsmuster zu vielversprechenden Chromophoren.



### 3 Zielsetzung

Der Entwicklung von photoschaltbaren Verbindungen, die zum Einbau in Peptide und Enzyme zur Steuerung ihrer Konformation geeignet sind, wird intensive Forschung gewidmet.<sup>22,27,28,31-39</sup>

Im Rahmen dieser Arbeit wurden daher bifunktionelle photochrome Hemithioindigo(HT)-Verbindungen synthetisiert, um Beiträge auf den folgenden Gebieten zu leisten:

- Erschließung neuartiger photochromer HT- $\omega$ -Aminosäuren mit verbesserten photochromen Eigenschaften: Herstellung neuartiger bifunktionaler Chromophore auf Hemithioindigo-Basis und ihre Anwendung in der Peptidsynthese.
- Photochemische Untersuchung der neuartigen funktionalisierten Hemithioindigo-Verbindungen mit Hilfe von NMR- und UV/Vis-Spektroskopie.

Für die praktische Anwendung von Hemithioindigo-Verbindungen als photoschaltbares Element in biologischen Systemen sind hohe Umsätze zum *E*-Isomer im photostationären Zustand (PSS) und eine hohe thermische Stabilität des *E*-Isomers wichtig. Dabei entscheidet das Substitutionsmuster am Stilben-Teil und am Kern des Thioindigo-Teils der Verbindungen über die photochromen Eigenschaften (vgl. Schema 2).

Nachdem die Synthese von HT-7-Carbonsäureestern bereits von Yamaguchi et al. beschrieben worden war, sollten nun ausgehend vom Benzo[*b*]thiophenon (Thioindoxyl) **45** neue photochrome HT-Dicarbonsäure-Derivate und HT- $\omega$ -Aminosäure-Derivate aufgebaut werden, die zum Einbau in Biomoleküle geeignet sein sollten.

HT-Dicarbonsäuren eignen sich für die Anbindung an Aminogruppen in den Seitenketten von Peptiden, aber auch für die Einbindung in zyklische Peptide. Sie können bei orthogonalem Schutzgruppenmuster sowohl bifunktionell - Anbindung beider Carbonsäurefunktionen - als auch monofunktionell - Anbindung einer Carbonsäurefunktion unter Beibehaltung einer Estergruppierung - eingebaut werden.

Die Ergebnisse von Yamaguchi et al. ergaben, daß HT-Verbindungen abgeleitet vom Thioindoxyl (**45**) eine hohe thermische Stabilität und hohe Konversion zum *E*-Isomer im PSS zeigten.<sup>56, 58</sup>

Es sollten daher donor- und akzeptorsubstituierte HT-Dicarbonsäure-Derivate mit und ohne Spacer aufgebaut werden. Die Darstellung von im Stilben-Teil akzeptor- und donorsubstituierter Verbindungen sollte Aufschluß über die Substituenteneinflüsse auf die photochromen Eigenschaften geben. Die Synthese von Verbindungen mit einem Spacer sollte durchgeführt werden, um bei Schaltvorgängen nach einem eventuellen Einbau in ein Biomolekül diesem eine größere konformationelle Freiheit zu ermöglichen.

Die Synthese von HT- $\omega$ -Aminosäure-Derivaten sollte sowohl mit Boc- als auch mit Fmoc-Schutzgruppen erfolgen, da diese Verbindungen in der Peptidsynthese sowohl in Lösung als auch an fester Phase zum Einsatz kommen sollten.

Es sollte eine Variation der Substituenten in meta- und para-Stellung am Aromaten des Stilben-Teils eingeführt werden, um die photochromen Eigenschaften der Verbindungen in Abhängigkeit vom Substituentenmuster zu untersuchen. Von einer o-Substitution wurde abgesehen, da hier unter anderem die Gefahr der Zyklisierung unter Kondensation der Aminogruppe mit der Carbonylfunktion des  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Ketons im *E*-Isomer besteht.<sup>59</sup>

Die Aminogruppe im Stilben-Teil sollte durch eine CH<sub>2</sub>-Gruppe vom Aromaten getrennt angebracht werden, damit für einen eventuellen Einbau in Biomoleküle die Rotation um die CH<sub>2</sub>-NH-Bindung dem Molekül konformationelle Freiheit ermöglichen kann.

Auf Grund der Säurelabilität der Boc-Schutzgruppe und der Basenlabilität der Fmoc-Schutzgruppe müssen unterschiedliche Verfahren zur Herstellung der Aminosäuren verwandt werden. Die Synthese von Boc-geschützten Aminosäuren sollte zunächst unter Verwendung der Bedingungen von Yamaguchi et al.<sup>56</sup> durchgeführt werden.<sup>60</sup> Da diese Methode teilweise nur geringe Ausbeuten liefert, sollte die Synthese optimiert werden. Die Synthese C-terminal ungeschützter Boc-Derivate sollte unter wäßrigen basischen Bedingungen untersucht werden. Für die Synthese der Fmoc-geschützten Verbindungen sollten neue säurekatalysierte Verfahren entwickelt werden.

Schließlich sollten die hergestellten Aminosäuren auf ihre Kompatibilität mit Verfahren der Peptidchemie untersucht werden. Es sollten insbesondere Verfahren zur Umsetzung mit natürlichen Aminosäuren getestet werden und die Abspaltung der Schutzgruppen an den Peptiden sollte untersucht werden, um ein Konzept für die Festphasensynthese entwickeln zu können. Im Anschluß an die Synthese in Lösung sollten die Ergebnisse auf die feste Phase übertragen werden, um ihrer Kompatibilität mit den Abspaltmethoden zu testen.

Abschließend sollten die synthetisierten Verbindungen auf ihre photochromen Eigenschaften untersucht werden. Die Untersuchung des Absorptionsverhaltens der Chromophore sollte durch UV/Vis-Spektroskopie (Ermittlung der Absorptionsmaxima bzw. Extinktionskoeffizienten und der isosbestischen Punkte) und  $^1\text{H}$  NMR-Spektroskopie [Umsätze im PSS ( $C_E$  bei  $\lambda = 406$  nm bzw.  $C_Z$  bei  $\lambda = 480$  nm), Halbwertszeiten der *E*-Isomere im PSS] erfolgen.

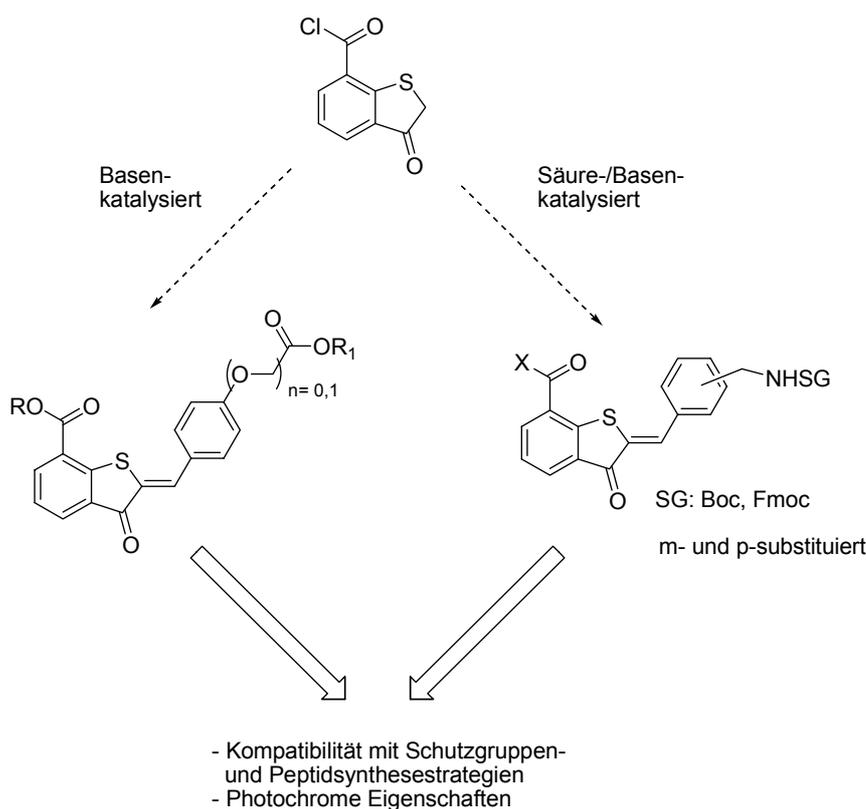


Abbildung 10: Synthesestrategien und Funktionalisierung bifunktionaler HT-Verbindungen.



## 4 Allgemeiner Teil

### 4.1 HT-Dicarbonsäure-Derivate

Für die Synthese von Hemithioindigo-Derivaten ist seit Anfang des letzten Jahrhunderts insbesondere die säurekatalysierte Aldolkondensation von Benzo[*b*]thiophen-3-onen (Thioindoxylen) sowie ihren Enolautomeren mit aromatischen Aldehyden etabliert.<sup>61-65</sup> Die säurekatalysierte Aldolkondensation zu Hemithioindigo-Verbindungen ist bereits 1909 von Auwers und Arndt unter Verwendung von konzentrierter Salzsäure in Ethanol beschrieben worden.<sup>61</sup> Aldolkondensationen können jedoch ebenso im basischen Medium durchgeführt werden (Schema 2).<sup>66,67</sup>

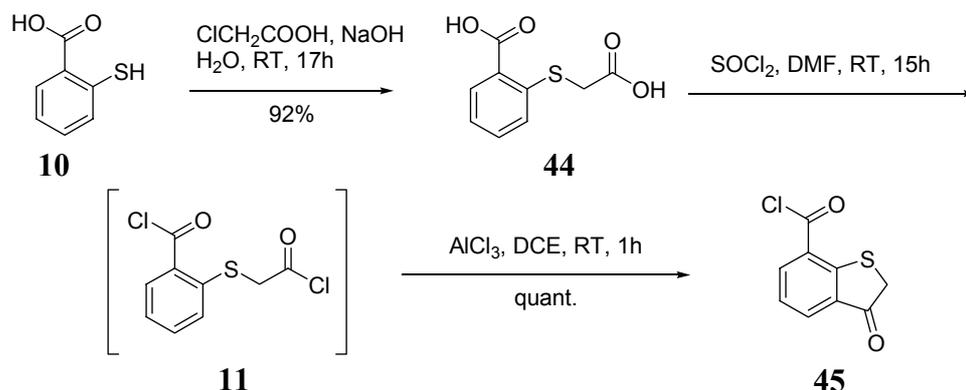
Yamaguchi et al. beschrieben 1992 die Synthese und Anwendung von HT-Carbonsäureestern unter Verwendung katalytischer Mengen Piperidin in Benzol als Lösungsmittel.<sup>57</sup>

Im vorliegenden Teil der Arbeit wurden HT-Dicarbonsäure-Derivate synthetisiert, die für die Anbindung an funktionelle Gruppen in den Seitenketten von Peptiden geeignet sind. An den synthetisierten HT-Bausteinen wurden Untersuchungen zu Schutzgruppenabspaltungen durchgeführt. Vorab wurde das Thioindoxyl (**45**) und die für die entsprechenden HT-Verbindungen notwendigen Aldehyde synthetisiert.

#### 4.1.1 Synthese des Thioindoxyls (**45**)

Als Ausgangsverbindung für die Synthese von HT-Dicarbonsäure-Derivaten wie auch für die der HT- $\omega$ -Aminosäure-Derivate (Kap. 4.2) diene das bereits mehrfach in der Literatur beschriebene 2,3-Dihydro-3-oxobenzo[*b*]thiophen-7-carbonsäurechlorid (**45**) (im Folgenden als Thioindoxyl bezeichnet); Schema 3), das in einer dreistufigen Synthese im 10 g Maßstab aufgebaut werden kann.<sup>56,68</sup> Thiosalicylsäure (**10**) wurde mit Chloressigsäure unter basischen Bedingungen zu 2-(Carboxymethylthio)benzoesäure (**44**) umgesetzt, die in einer nachfolgenden „Eintopfsynthese“ erst mit Thionylchlorid in das doppelte Säurechlorid **11** überführt und direkt im Anschluß in einer intramolekularen Friedel-Crafts-Acylierung mit äquimolaren Mengen Aluminiumchlorid zyklisiert wurde. Das Thioindoxyl (**45**)

wurde in quantitativer Ausbeute erhalten und konnte ohne weitere Reinigung für die folgenden Reaktionen verwandt werden.



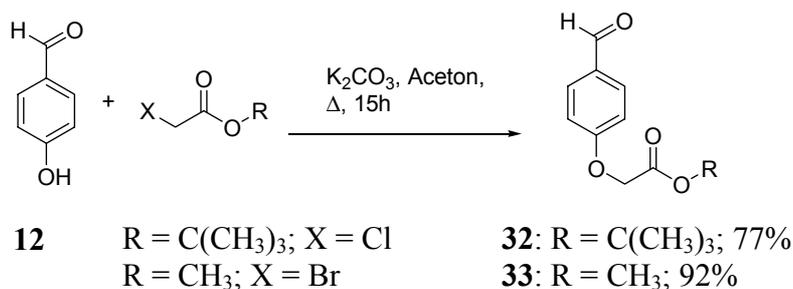
Schema 3: Synthese des Thioindoxyls (45).<sup>56,68</sup>

#### 4.1.2 Synthese der Aldehyde zum Aufbau von HT-Dicarbonsäure-Derivaten

Die Wahl der Aldehydkomponente ist für die photochemischen Eigenschaften der zu synthetisierenden HT-Verbindungen von entscheidender Bedeutung. Das Substitutionsmuster am Aromaten im Stilbenteil eines HT-Chromophors ist unter anderem mit dafür verantwortlich, wie stabil die photostationären Zustände einer Verbindung sind und wie hoch die Konversion zum gewünschten photoschaltbaren Produkt im PSS unter Bestrahlung ist (vgl. Schema 2).

Durch den Einbau eines Spacers zwischen dem Aromaten und der Carbonsäurefunktionalität sollte den zu synthetisierenden HT-Verbindungen eine gewisse Freiheit in der Rotation gegeben werden, die für die Schaltbarkeit von mit Chromophoren modifizierten Biomolekülen wichtig sein kann. Dadurch könnte bei zyklischen Peptiden das Rückgrat nach einem Schaltvorgang besser relaxieren und eventuelle Spannungen würden vermieden.<sup>32-36,54</sup>

Der Aufbau von (4-Formyl-phenoxy)-essigsäure-*tert*-butylester (32) und (4-Formyl-phenoxy)-essigsäuremethylester (33) erfolgte jeweils in einer einstufigen Synthese im 10 bis 20 g Maßstab.<sup>69</sup> Dazu wurde 4-Hydroxybenzaldehyd (12) mit Chloroessigsäure-*tert*-butylester bzw. Bromoessigsäuremethylester und Kaliumcarbonat als Base in Aceton umgesetzt (Schema 4).



Schema 4: Synthese der Aldehyde **32** und **33**.

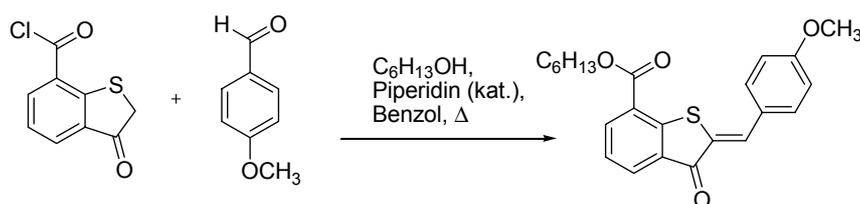
Die Reinigung der Verbindungen erfolgte durch Umkristallisation aus Ethylacetat : Pentan (2 : 1).

Wurde die Synthese von **33** mit Chloressigsäuremethylester durchgeführt, so konnten lediglich 63% des Rohproduktes und nach Umkristallisation Verbindung **33** in 50% Ausbeute isoliert werden. Die Verwendung von Bromessigsäureestern führt verglichen mit Chloressigsäureestern in  $\text{S}_\text{N}$ -Reaktionen zu höheren Ausbeuten, da Brom eine bessere nucleofuge Abgangsgruppe darstellt als Chlor. Andererseits sind die Chlor-Derivate verglichen mit den Brom-Derivaten wesentlich preisgünstiger. Da die Darstellung von **32** in recht guter Ausbeute verlief, obwohl Chloressigsäure-*tert*-butylester verwandt worden war, wurde davon abgesehen, die Synthese mit Bromessigsäure-*tert*-butylester zu wiederholen.

### 4.1.3 HT-Dicarbonsäure-Derivate

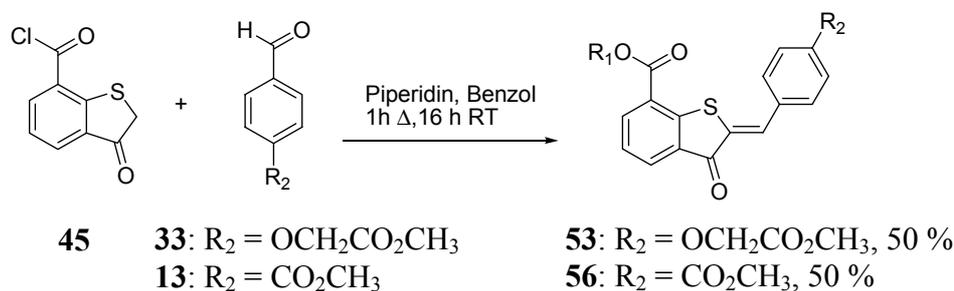
HT-Verbindungen sind sowohl im Hinblick auf ihre photochromen Eigenschaften wie auch im Bezug auf ihre Synthese und Reaktionen verglichen mit beispielsweise Azobenzolen<sup>17</sup> bislang nur wenig erforscht.<sup>56,58,60-62,73</sup> Beim Aufbau funktionalisierter HT-Verbindungen, die zum Einbau als Photoschalter in Biomoleküle geeignet sind, ist also eine Reihe von Reaktionen bezüglich ihrer Kompatibilität mit dem HT-Gerüst zu untersuchen, das heißt, es müssen einerseits Bedingungen für die Aldolkondensation gefunden werden, die das Substitutionsmuster am Stilben- und am Thioindigo-Teil intakt lassen und andererseits müssen Schutzgruppenabspaltungen unter Erhalt des HT-Grundgerüsts erprobt werden. Schutzgruppenmanipulationen stellen eine große Herausforderung dar, da verschiedene Nebenreaktionen am HT-Grundgerüst möglich sind (vgl. Abbildung 11).

Für erste Synthesen von HT-Dicarbonsäure-Derivaten wurde die basenkatalysierte Variante der Aldol-Kondensation nach Yamaguchi gewählt.<sup>56</sup> Bei dieser Eintopfsynthese wird das Thioindoxyl (**45**) mit dem entsprechenden Alkohol in 7-Position verestert und gleichzeitig die basenkatalysierte Aldolkondensation in 2-Position mit Piperidin als Base in Benzol durchgeführt (Schema 5). Da die Aldehydkomponente in dieser Synthese im Überschuß eingesetzt wird, wird mit Natriumhydrogensulfit-Lösung aufgearbeitet, um den Aldehyd als Bisulfitaddukt zu entfernen.



Schema 5: Hemithioindigo-Synthese nach Yamaguchi.<sup>56</sup>

Die Synthese der HT-Dimethylester (2Z)-7-Methyloxycarbonyl-2-[4'-(methyloxycarbonylmethoxy)phenylmetylen]benzo[b]thiophen(2H)on (**53**) und (2Z)-2-[(Methoxycarbonyl)phenylmetylen]-3-oxo-2,3-dihydrobenzo[b]thiophen-7-carbonsäuremethylester (**56**) wurde ausgehend vom Thioindoxyl (**45**) und dem Aldehyd **33** bzw. 4-Formylbenzoesäuremethylester (**13**) unter Zusatz von Methanol durchgeführt. Die Synthese von **53** und **56** konnte unter Zusatz von Piperidin glatt durchgeführt werden (Schema 6). Sowohl **53** als auch **56** wurden nach Umkristallisation in einer Ausbeute von 50% erhalten.

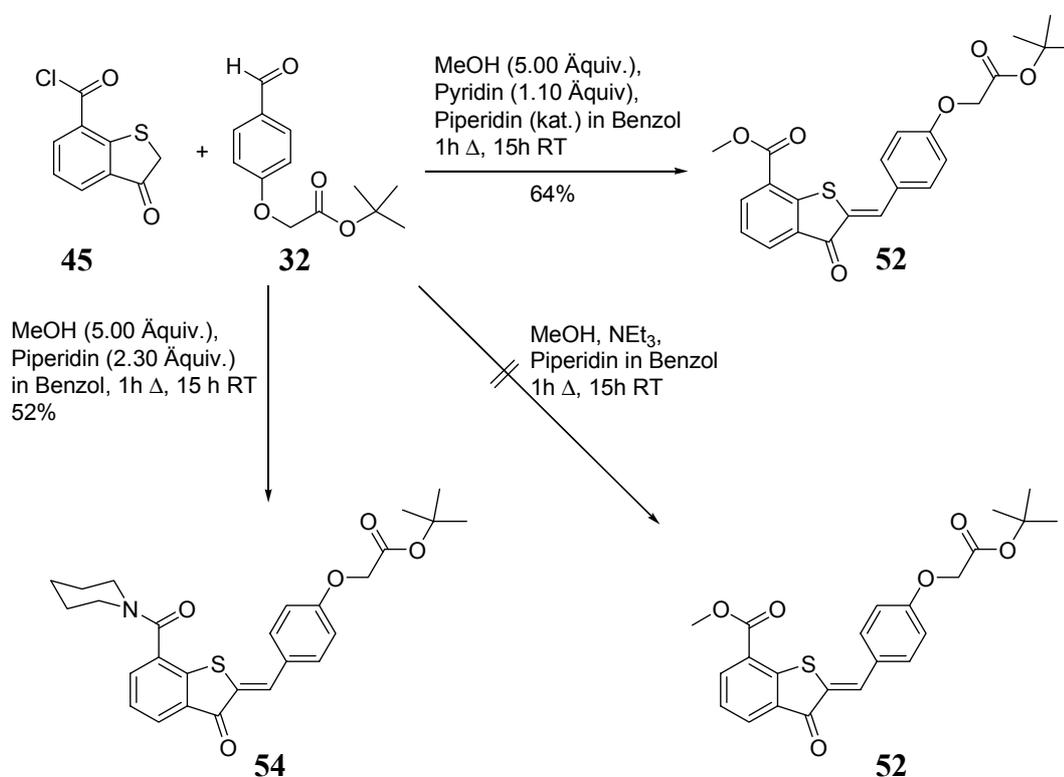


Schema 6: Synthese der HT-Dimethylester **53** und **56**.

Für den gezielten Einbau von bifunktionellen Molekülen in Biomoleküle ist ein orthogonales Schutzgruppenmuster unabdingbar. Der Begriff „Orthogonalität“ wurde 1977 von Barany und Merrifield geprägt.<sup>70</sup> Schutzgruppen sind zu einander

orthogonal, wenn sie chemoselektiv abgespalten werden können und unter Umständen die Reihenfolge der Abspaltung der Schutzgruppen frei gewählt werden kann.

Die Synthese des orthogonal geschützten Diesters (2*Z*)-7-Methyloxycarbonyl-2-[4'-(*tert*-butyloxycarbonylmethoxy)phenylmethyl]-benzo[*b*]thiophen(2*H*)on (**52**) erfolgte ausgehend vom Thioindoxyl (**45**) mit dem Aldehyd **32**, hier jedoch war der Zusatz von Pyridin als Abfangbase notwendig. Nach Umkristallisation aus Diethylether : Pentan (1:1) wurde Verbindung **52** in 64% Ausbeute erhalten (Schema 7).

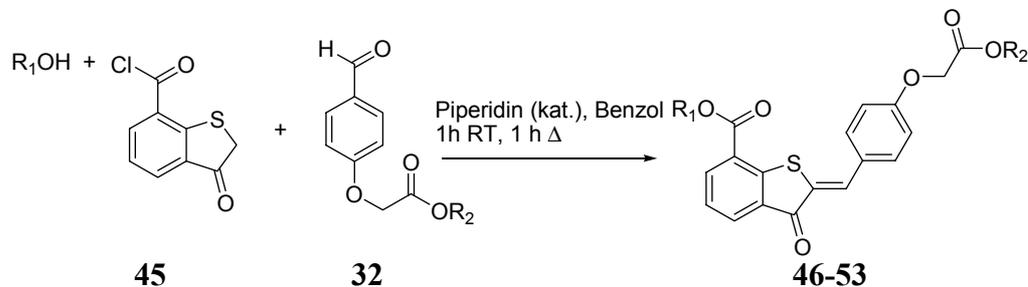


Schema 7: Untersuchungen zur Synthese der orthogonal geschützten HT-Verbindung **52**.

Ohne den Zusatz von Pyridin kam es zu einer Nebenreaktion am Stilbenteil. Der *tert*-Butylester wurde durch die bei der Reaktion frei werdende Salzsäure entschützt und es fand eine Umesterung mit dem zugesetzten Methanol zum HT-Dimethylester **53** statt (Tabelle 1, Eintrag 4). Bei analogen Synthesen unter Zusatz anderer Alkohole (Ethanol für **46**, Allylalkohol für **48** und Heptanol für **50**) kam es ebenfalls zu Umesterungsreaktionen mit unterschiedlichen Ausbeuten und Verhältnissen der Produktgemische. Einen Überblick zeigt Tabelle 1. Die geringe

Ausbeute für **48/49** ist wahrscheinlich auf einen Angriff der Salzsäure an der Doppelbindung des Allylesters zurückzuführen.

Tabelle 1: Versuche zur Darstellung orthogonal geschützter HT-Dicarbonsäuren.



$R_1OH$	Produkt		Nebenprodukt		Verhältnis	Gesamt- ausbeute
EtOH	<b>46</b>	$R_1 = Et$ $R_2 = 'Bu$	<b>47</b>	$R_1 = R_2 = Et$	4 : 1	75%
AllOH	<b>48</b>	$R_1 = All$ $R_2 = 'Bu$	<b>49</b>	$R_1 = R_2 = All$	4.4 : 1	26%
HepOH	<b>50</b>	$R_1 = Hep$ $R_2 = 'Bu$	<b>51</b>	$R_1 = R_2 = Hep$	2.8 : 1	75%
MeOH	<b>52</b>	$R_1 = Me$ $R_2 = 'Bu$	<b>53</b>	$R_1 = R_2 = Me$	1.7 : 1	64%

Der Versuch der Synthese des orthogonal geschützten Diesters **52** mit einem Überschuß an Piperidin als Abfangbase führte zur Bildung von (2Z)-{4-[3-Oxo-7-(piperidin-1-carbonyl)-3H-benzo[b]thiophen-2-ylidenmethyl]-phenoxy}-essigsäure-*tert*-butylester (**54**) in 52% Ausbeute nach Umkristallisation aus Methanol (Schema 7). Da Piperidin verglichen mit Methanol die größere Nukleophilie besitzt, kommt es in diesem Fall nicht zur Veresterung, sondern zur Amidbildung. Mit Triethylamin als Zusatz kam es zur Zersetzung des Thioindoxyls (**45**), es konnte lediglich der Aldehyd **32** zurück isoliert werden (Schema 7). Tabelle 2 liefert einen Überblick über die Versuche zur Optimierung der Darstellung des orthogonal geschützten Diesters **52** (Schema 7).

Tabelle 2: Versuche zur Synthese des orthogonal geschützten HT-Methyl-tert-butylesters **52**.

Eintrag	Basen	Produkt	Ausbeute
1	Piperidin (kat.)	<b>52/53</b>	64%
2	NEt <sub>3</sub> (1.10 Äquiv.), Piperidin (kat.)	-	- <sup>a</sup>
3	Piperidin (2.30 Äquiv.)	<b>54</b>	52 %
<b>4</b>	<b>Pyridin (1.10 Äquiv.), Piperidin (kat.)</b>	<b>52</b>	<b>64 %</b>

<sup>a</sup> Zersetzung des Thioindoxyls (**45**).

Die Synthesen wurden alle im 1g bis 2g Maßstab durchgeführt. Die Reinigung der hier beschriebenen HT-Verbindungen erfolgte größtenteils mittels Umkristallisation. Das Waschen mit Natriumhydrogensulfit-Lösung<sup>57</sup> erwies sich nicht als geeignete Methode, um die Aldehyde vollständig als Bisulfitaddukte zu entfernen. Versuche, das Gemisch aus den Verbindungen **46** und **47** nach Umkristallisation durch Flashchromatographie an Kieselgel zu trennen, führten zu Zersetzung. Lediglich die Mischung von **52** und **53** konnte durch Chromatographie an Florisil getrennt werden, das Laufverhalten der Verbindungen der anderen Gemische war für die chromatographische Trennung bei Normaldruck zu ähnlich. Ein von Harwood entwickeltes flashchromatographisches Verfahren mit Trockensäule<sup>71</sup> konnte dagegen erfolgreich angewandt werden. Hierbei wird mit Unterdruck gearbeitet und nach jeder Fraktion wird das Säulenmaterial trockengesaugt, wodurch die Trennwirkung erheblich verbessert wird.<sup>72</sup>

Sowohl bei Umkristallisationen als auch durch chromatographische Trennverfahren kam es bei der Reinigung auf Grund der schlechten Löslichkeiten teilweise zu erheblichen Substanzverlusten.

#### 4.1.4 Entschützungsreaktionen an HT-Dicarbonsäure-Derivaten

Da die bifunktionellen HT-Dicarbonsäure-Derivate für den Einbau in Peptide einsetzbar sein sollten, wurden parallel zur Synthese Entschützungsversuche durchgeführt. Bislang sind noch nicht viele Untersuchungen zu Modifikationen an HT-Verbindungen durchgeführt und in der Literatur berichtet worden.<sup>73</sup> So war es vor allem interessant zu erforschen, ob das HT-Grundgerüst unter den Bedingungen der Schutzgruppenabspaltungen stabil sein würde.

Der Schwefel im Thioindoxylteil kann von Elektrophilen angegriffen werden, während die Doppelbindung mit Nucleophilen oder Reduktionsmittel reagieren kann (Abbildung 11).

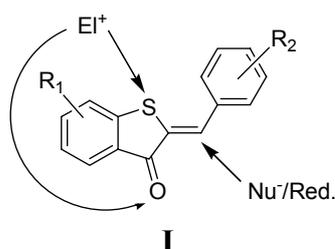
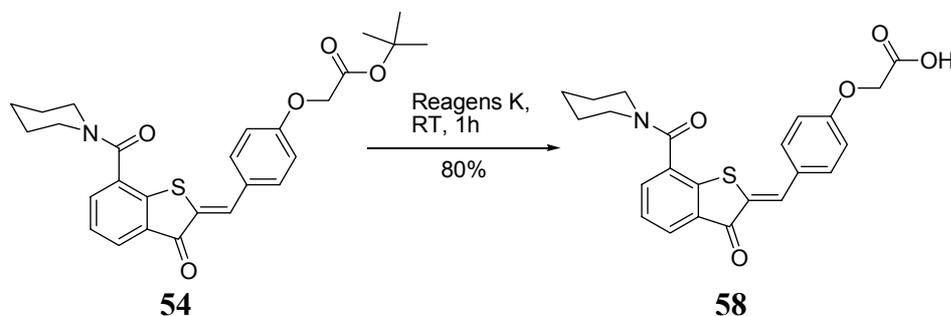


Abbildung 11: Mögliche Nebenreaktionen am HT-Grundgerüst **I**.

Zunächst wurde untersucht, ob die Abspaltung des *tert*-Butylesters am Stilbenteil gelingt. Es wurden gängige literaturbekannte Verfahren für die Entschützung des *tert*-Butylesters an (2*Z*)-7-Ethoxycarbonyl-2-[4'-(*tert*-butyloxycarbonylmethoxy)phenylmetylen]benzo-[*b*]thiophen(2*H*)on (**46**) und (2*Z*)-7-Heptyloxycarbonyl-2-[4'-(*tert*-butyloxycarbonylmethoxy)phenylmetylen]benzo-[*b*]thiophen(2*H*)on (**50**) geprüft: Umsetzung mit Trifluoressigsäure/Dichlormethan (1 : 1) sowie Umsetzung von mit Trifluoressigsäure/Wasser/Triisopropylsilan (90 : 8 : 2).<sup>74, 75</sup> Beide Methoden führten zur Zersetzung. Zurückzuführen ist dies wahrscheinlich auf einen elektrophilen Angriff des *tert*-Butylkations am Schwefel und/oder die Reduktion der  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Carbonyleinheit durch das Silan.

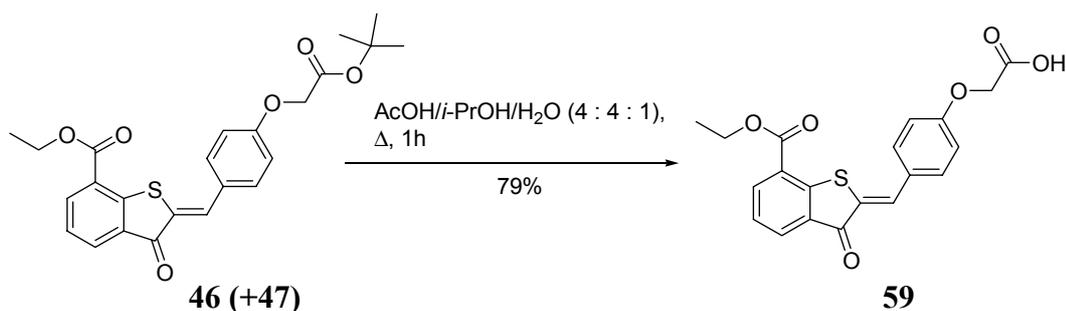
Die Umsetzung von Verbindung **54** mit Reagenz K (TFA/H<sub>2</sub>O/Phenol/Thioanisol/Ethandithiol; 82.5 : 5 : 5 : 2.5 : 2.5) führte schließlich zum Erfolg (Schema 8).<sup>60</sup> Die freie Carbonsäure (2*Z*)-{4-[3-Oxo-7-(piperidin-1-

carbonyl)-3*H*-benzo[*b*]thiophen-2-ylidenmethyl]phenoxy}essigsäure (**58**) konnte nach Umkristallisation aus Diethylether in einer Ausbeute von 80% erhalten werden. Durch die verschiedenen Abfangreagenzien, die in Reagenz K eingesetzt werden, wird der Angriff des *tert*-Butylkations und somit die Zersetzung des HT-Grundgerüsts offensichtlich effektiv unterbunden.



Schema 8: Entschützung des *tert*-Butylesters **54** mit Reagenz K.

Eine Abspaltung des *tert*-Butylesters gelang ebenfalls an (2*Z*)-7-Ethoxycarbonyl-2-[4'-(*tert*-butyloxycarbonylmethoxy)phenylmethyl]-benzo[*b*]thiophen(2*H*)on (**46**) mit Eisessig/*i*-PrOH/Wasser (1 : 4 : 4) unter Rückfluß<sup>76</sup>, wobei (2*Z*)-2-(4-Carboxymethoxy-benzyliden)-3-oxo-2,3-dihydro-benzo[*b*]thiophen-7-carbonsäureethylester (**59**) nach Chromatographie an Florisil [Ethylacetat : Pentan (2 : 1) → Ethylacetat : Eisessig (80 : 1)] in 79% Ausbeute erhalten wurde (Schema 9).



Schema 9: Entschützung des *tert*-Butylesters **46**.

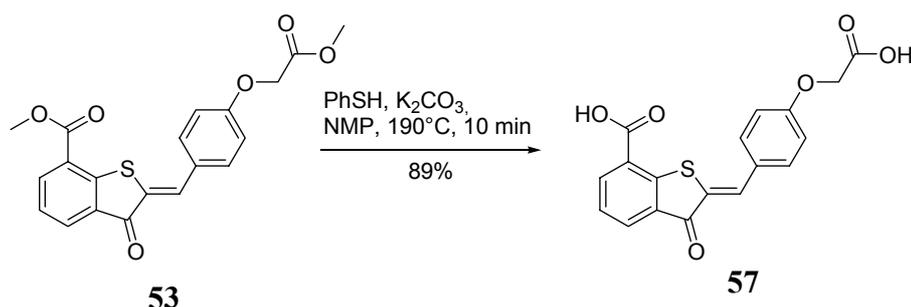
Diese Reaktion verläuft über eine Hydrolyse des *tert*-Butylesters, so daß bei dieser Methode Nebenreaktionen unter Angriff des *tert*-Butylkations vermieden werden. Diese Bedingungen sind jedoch sehr drastisch und somit für die Peptidsynthese nicht unbedingt geeignet.

Eine große Herausforderung stellte die selektive Entschützung des Ethyl- bzw. Methylesters dar. Es wurde eine Reihe von literaturbekannten Methoden

erprobt, wobei ausschließlich hochreine Ausgangsverbindungen verwandt wurden, um Nebenreaktionen zu vermeiden. Experimente unter basischen Bedingungen wie LiOH/THF, KO<sup>t</sup>Bu/Diethylether/H<sub>2</sub>O, NaOH/MeOH, Ba(OH)<sub>2</sub>/MeOH, NaOH/DMF/H<sub>2</sub>O<sup>74</sup> führten zu einer Umkehr der Bildungsreaktion durch Retroaldolreaktionen. Die Umsetzungen von Verbindung **53** mit Me<sub>3</sub>SiCl/NaI in Acetonitril oder NaCN/LiI in DMF bei erhöhter Temperatur<sup>60,74,77</sup> führte ebenfalls zur Zersetzung, wobei die Retroaldolreaktion ausgeschlossen werden konnte.

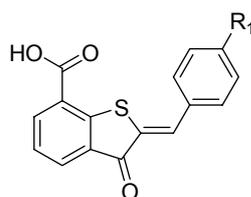
Die Abspaltung des Methylesters unter Bildung von (2*Z*)-2-(4-Carboxymethoxybenzyliden)-3-oxo-2,3-dihydrobenzo[*b*]thiophen-7-carbonsäure (**57**) gelang im 50 mg Maßstab durch Erhitzen von Verbindung **53** mit PhSH und K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in NMP für 10 min auf 190°C in 89% Ausbeute (Schema 10).<sup>60,78</sup>

Das Gelingen der Synthese von Verbindung **57** hängt in hohem Maße von der Reinheit der Ausgangsverbindung ab, enthält die Ausgangsverbindung mehr als 5 % Verunreinigungen, so kommt es auch hier zu Zersetzung.



Schema 10: Darstellung der Dicarbonsäure **57** durch Entschützung des Dimethylesters **53**.

Tabelle 3 liefert einen Überblick über die erprobten Reaktionen.



**14-16, 57**

Tabelle 3: Versuche zur Entschützung von Ethyl-/Methylestern.

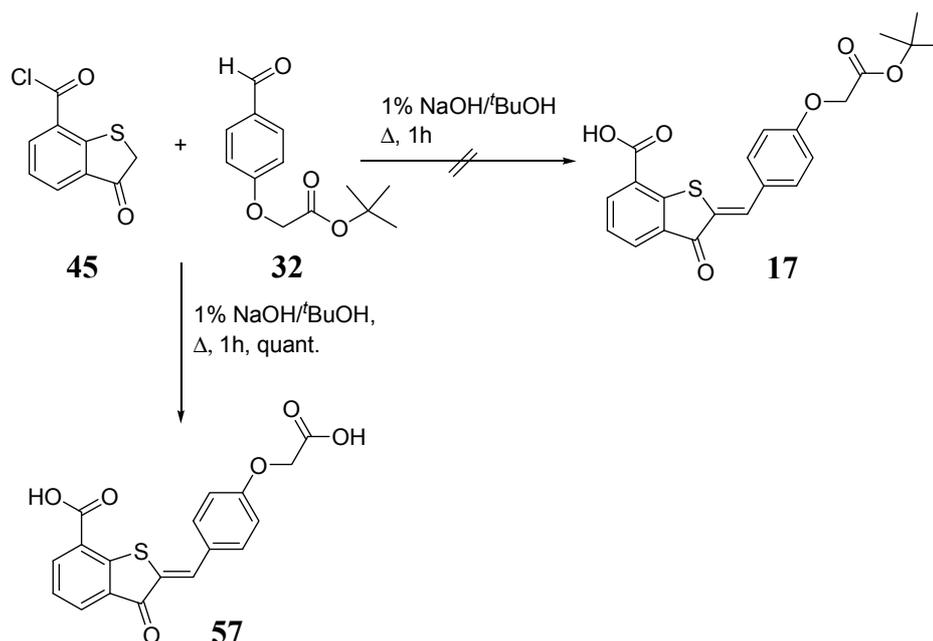
HT	Reaktionsbedingungen	Produkt	R <sub>1</sub>	Ausbeute
46/47	LiOH (2.30 Äquiv.), THF/H <sub>2</sub> O (2 : 1), RT	14/15	OCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H OCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> <sup>t</sup> Bu	- <sup>a</sup>
56	NaOH (18.0 Äquiv.), DMF/H <sub>2</sub> O (10 : 9), RT	16	CO <sub>2</sub> H	- <sup>a</sup>
53	KO <sup>t</sup> Bu (17.3 Äquiv.), Diethylether/H <sub>2</sub> O (100 : 1), RT	57	OCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	- <sup>a</sup>
53	NaOH (3.00 Äquiv.), MeOH, RT	57	OCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	- <sup>a</sup>
53	Ba(OH) <sub>2</sub> x 8 H <sub>2</sub> O (3.00 Äquiv.), MeOH, RT	57	OCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	- <sup>a</sup>
53	Me <sub>3</sub> SiCl (4.00 Äquiv.), NaI (4.00 Äquiv.), MeCN, Δ	57	OCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	- <sup>b</sup>
53	NaCN (2.0 Äquiv.), LiI (10.0 Äquiv.), DMF, Δ	57	OCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	- <sup>b</sup>
53	PhSH (1.50 Äquiv.), K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (3.00 Äquiv.), NMP, Δ	57	OCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> H	89 %

<sup>a</sup> Retroaldolreaktion, <sup>b</sup> Zersetzung.

Die Ergebnisse der Entschützungreaktionen veranlaßten dazu, die Synthese der einfach geschützten Dicarbonsäure (*Z*)-2-{4-[(*tert*-Butoxycarbonyl)methoxy]-benzyliden}-2,3-dihydro-3-oxobenzo[*b*]thiophen-7-carbonsäure (**17**) zu untersuchen. Mit der Synthese dieser einfach geschützten Dicarbonsäure würde man die Entschützung eines Esters in 7-Position umgehen können und die Verbindung wäre direkt in der Peptidsynthese einsetzbar. Es sollte daher untersucht werden, ob die Darstellung von **17** unter wäßrigen basischen Bedingungen gelingt.

Dazu wurde das Thioindoxyl (**45**) mit dem Aldehyd **32** in einer entgasten Mischung aus 1% wäßriger NaOH und *tert*-Butanol unter Rückfluß erhitzt und nach Abkühlen mit Eisessig bis pH 6 angesäuert. Während der Reaktion entstand jedoch nicht das gewünschte Produkt, sondern die Dicarbonsäure (*Z*)-2-[4-

(Carboxymethoxy)benzyliden]-2,3-dihydro-3-oxobenzo[*b*]thiophen-7-carbonsäure (57) (Schema 11).



Schema 11: Darstellung der Dicarbonsäure 57.

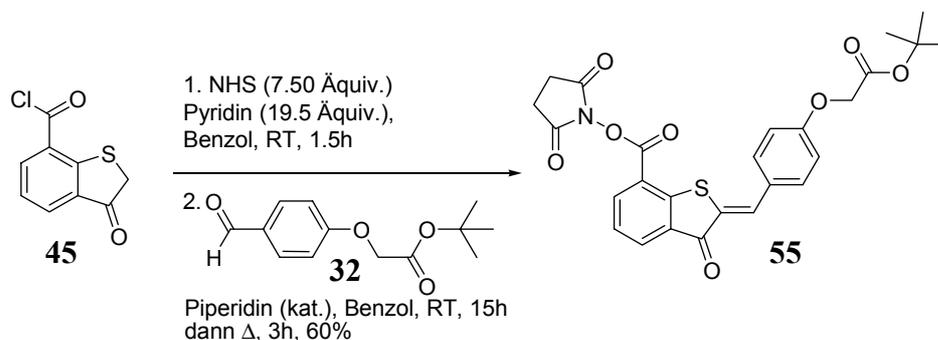
#### 4.1.5 HT-Aktivester

Eine effiziente Peptidbindungsbildung erfordert chemische Aktivierung der N-terminal geschützten Aminosäure. Die aktivierende Gruppe bzw. die Aktivierungsreaktion muß sorgfältig ausgewählt werden, um die Peptidkupplung in guten Ausbeuten und gleichzeitig unter Vermeidung von Nebenreaktionen durchzuführen.<sup>79</sup>

In der modernen Peptidsynthese werden HOBt-Aktivester aus der zu kuppelnden Aminosäure in situ generiert.<sup>96</sup> Früher waren Succinimidoester die am häufigsten verwandten Hydroxylamin-basierenden Aktivester. Ihre Entwicklung ist auf Anderson zurück zu führen, der eine hohe Reaktivität bei diesen Verbindungen beobachten konnte.<sup>80</sup> Diese Ester haben auf Grund der einfachen Darstellbarkeit und ihrer guten Reaktivität in Peptidkupplungsreaktionen eine breite Anwendung gefunden. Zudem sind sie wegen ihrer Stabilität sehr einfach zu handhaben und das als Nebenprodukt bei einer Peptidkupplung freigesetzte N-Hydroxysuccinimid kann auf Grund seiner Wasserlöslichkeit einfach entfernt werden.<sup>96</sup> Daher wurde die Synthese des Aktivesters (2*Z*)-2-(4-*tert*-Butoxycarbonylmethoxybenzyliden)-3-oxo-

2,3-dihydrobenzo[*b*]thiophen-7-carbonsäure-2,5-dioxopyrolidin-1-ylester (**55**) geplant und durchgeführt. Dieser Baustein bietet den Vorteil, daß er in der Peptidsynthese direkt einsetzbar ist und daß der *tert*-Butylester am Stilbenteil mit Reagenz K leicht abzuspalten ist, wie in Entschützungsexperimenten an Verbindung **54** gezeigt werden konnte.

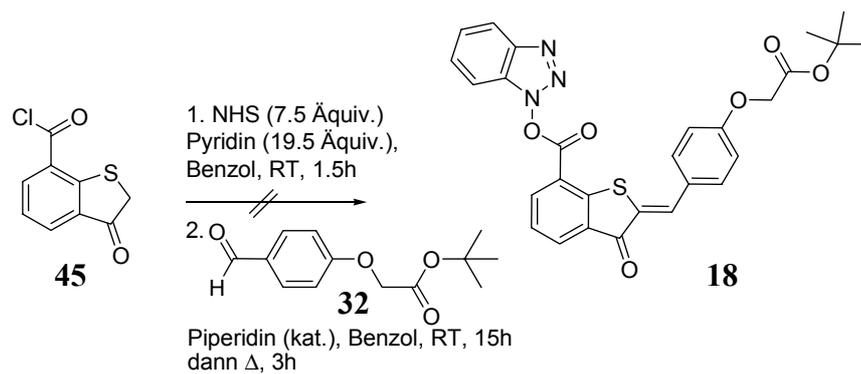
Die Synthese von Verbindung **55** wurde unter den optimierten Bedingungen der Darstellung von Verbindung **60** über ein sequentielles Reaktionsprotokoll durchgeführt. Dazu wurde das Thioindoxyl (**45**) zunächst mit N-Hydroxysuccinimid (NHS) unter Zusatz von Pyridin als Abfangbase für die bei der Reaktion entstehende Salzsäure zum entsprechenden NHS-Ester umgesetzt. Nachdem die Veresterung vollständig war, wurde in situ die Aldolkondensation mit Verbindung **32** unter Zusatz von katalytischen Mengen Piperidin durchgeführt (Schema 12).



Schema 12: Synthese des Aktivesters **55**.

Nach Chromatographie an Florisil (Pentan : Ethylacetat, 1 : 1) wurde Verbindung **55** in einer Ausbeute von 60 % erhalten. Substanzverluste bei der Chromatographie sind darauf zurückzuführen, daß die Verbindung auf Grund ihrer schlechten Löslichkeit im Laufmittel zuvor an Florisil adsorbiert werden mußte.

Wurde die Synthese unter Verwendung von Hydroxybenzotriazol (HOBt) ebenfalls über ein sequentielles Reaktionsprotokoll durchgeführt, so konnte der entsprechende Aktivester **18** jedoch nicht isoliert werden. Die Umsetzung führte zur Zersetzung der Reaktionskomponenten unter Bildung einer Reihe von Nebenprodukten, die jedoch nicht identifiziert werden konnten (Schema 13).



Schema 13: Versuch der Synthese von Verbindung **18**.

## 4.2 HT- $\omega$ -Aminosäuren

Die Entwicklung einer Vielzahl von Schutzgruppen und Methoden für die Bildung von Peptidbindungen macht es heute möglich, die beste Strategie für die Synthese einer Peptidsequenz aus einer Vielzahl an bekannten Methoden zusammenzustellen.

Sowohl Boc-geschützte als auch Fmoc-geschützte Aminosäuren finden eine breite Anwendung in der Synthese von Peptiden, in Lösung wie an fester Phase. Seit der Entwicklung der Festphasensynthese durch Merrifield 1962<sup>81</sup> wurde diese Technik in vielen Aspekten optimiert und findet heute nicht nur in der Peptidsynthese breite Anwendung.<sup>79</sup> Auf Grund der für die Peptidsynthese notwendige Orthogonalität von Schutzgruppen sind die Boc/Benzyl- und die Fmoc/<sup>t</sup>Bu-Strategie die beiden in der Festphasensynthese am häufigsten verwandten zum Aufbau von Peptiden.<sup>82</sup>

Auf Grund der photochemischen Vorteile, die HT-Verbindungen gegenüber anderen photoschaltbaren Verbindungen gezeigt haben, so vor allem Halbwertzeiten von mehreren Stunden bis zu Tagen und der Schaltbarkeit im sichtbaren Bereich<sup>56,58</sup>, ist die Darstellung von chromophoren Aminosäuren mit HT-Grundgerüst der allgemeinen Struktur **II** (Abbildung 12) unter Verwendung geeigneter Schutzgruppen und ihre Anwendung in der Peptidchemie ein interessantes Ziel für den organischen Chemiker wie für den Biochemiker.

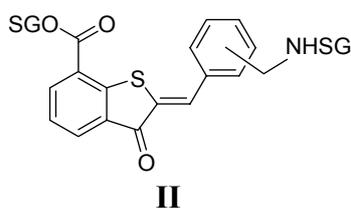


Abbildung 12: Allgemeine Struktur von HT- $\omega$ -Aminosäuren.

Im vorliegenden Teil der Arbeit sollten HT- $\omega$ -Aminosäure-Derivate aufgebaut werden, die für den Einsatz in der Peptidsynthese geeignet sind.

Um die Peptidsynthese sowohl mit der Fmoc/<sup>t</sup>Bu-Strategie als auch mit der Boc/Benzyl-Strategie zu erproben, wurden Fmoc- und Boc-geschützte HT-Aminosäure-Derivate aufgebaut. Für die Synthese dieser photochromen Aminosäuren sollten ausgehend von dem bereits vorgestellten Thioindoxyl (**45**)

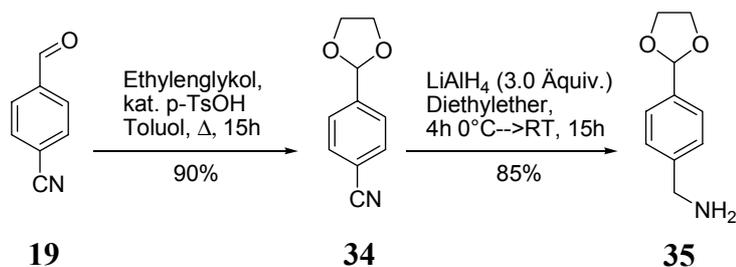
(Schema 3) unterschiedliche Methoden für die Aldolreaktion ausgelotet werden, die die Darstellung von HT-Aminosäure-Derivaten mit Boc- und Fmoc-Schutzgruppe erlauben. Zunächst wurden die entsprechenden Aldehyde für die Aldolkondensation hergestellt.

#### 4.2.1 Aldehyde zur Darstellung von HT- $\omega$ -Aminosäure-Derivaten

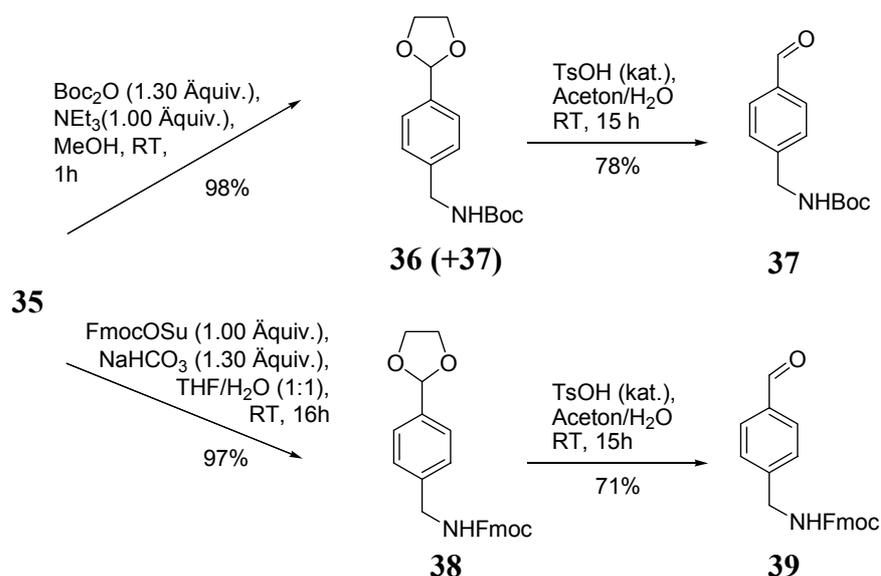
Da bei der Synthese von HT-Aminosäuren der Struktur **II** (Abbildung 12, Kap. 4.2) eine Amino-Funktion am Stilben-Teil benötigt wird, muß man verschiedene Schutzgruppen beim Aufbau des entsprechenden Aldehyds verwenden. Würde man die Amin-Funktion in Gegenwart einer Aldehydfunktion generieren, so könnten diese beiden Funktionen miteinander in einer Kondensationsreaktion unter Polymerisation reagieren. Daher benötigt man bei der Synthese des Amins eine geeignete Schutzgruppe für die Aldehydgruppe. Das Amin sollte ausgehend von einem Nitril durch Reduktion aufgebaut werden. Der Aldehyd wurde dazu als Dioxolan geschützt. Dieses Acetal ist einfach zu generieren, unter den Bedingungen der Reduktion ebenso stabil wie unter den Bedingungen der Fmoc- bzw. Boc-Schätzung und kann zudem unter milden sauren Bedingungen abgespalten werden, ohne daß es zu einer Abspaltung der Schutzgruppen kommt.

Die Synthese der Aldehyd-Vorstufen *tert*-Butyl(4-formylbenzyl)carbammat (**37**), 9*H*-Fluoren-9-ylmethyl(4-formylbenzyl)carbammat (**39**) und *tert*-Butyl(3-formylbenzyl)carbammat (**43**) für die Darstellung der HT-Aminosäure-Derivate **60-63**, erfolgte jeweils über vier Stufen ausgehend von 4-Formylbenzonnitril (**19**) für die Verbindungen **37** und **39** (Schema 14, Schema 15) und ausgehend von 3-Formylbenzonnitril (**20**) für Verbindung **43** (Schema 16).

4-Formylbenzonnitril (**19**) wurde zunächst mit Ethylenglykol unter Zusatz katalytischer Mengen 4-Toluolsulfonsäure zu 4-(1,3-Dioxolan-2-yl)benzonnitril (**34**) umgesetzt<sup>83</sup>, das nach Umkristallisation in 90 % Ausbeute erhalten werden konnte. Das Acetal **34** wurde im zweiten Schritt mit Lithiumaluminiumhydrid in Diethylether zu [4-(1,3-Dioxolan-2-yl)benzyl]amin (**35**) reduziert (Schema 14).<sup>83</sup>

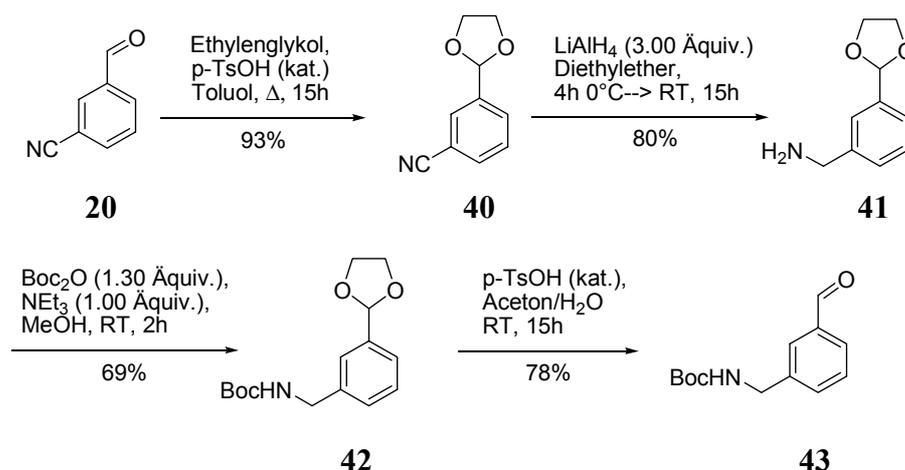
Schema 14: Synthese des Amins **35**.

Das Amin **35** wurde ohne weitere Reinigung für die folgenden Reaktionen verwandt. Für die Boc-Schutzung des Amins **35** wurde eine Standardmethode der Schutzgruppenchemie verwandt: Verbindung **36** wurde durch Umsetzung von Verbindung **35** mit Di-*tert*-butyldicarbonat mit Triethylamin in Methanol erhalten<sup>84</sup>. Beim Waschen der organischen Phase mit 1N Salzsäure zum Entfernen des Triethylamins, kam es zu einer teilweisen Entschützung des Acetals, so daß man ein Gemisch aus **36** und **37** (Verhältnis ca. 90:10) in 98% Rohausbeute erhielt. Da ansonsten keine Nebenprodukte entstanden waren, konnte das Gemisch ohne weitere Reinigung für die folgende Reaktion verwandt werden. Wurde die Synthese von Verbindung **36** mit Di-*tert*-butyldicarbonat in absolutem THF ohne Zusatz von Base durchgeführt<sup>85</sup>, so konnte Verbindung **36** rein erhalten werden, allerdings sank die Ausbeute bei dieser Synthese auf 70%, da hier auf Grund von geringen Verunreinigungen eine Umkristallisation notwendig wurde. Die anschließende Umsetzung des Gemisches aus **36** und **37** mit 4-Toluolsulfonsäure in einem 10:1-Gemisch aus Aceton und Wasser führt in 78 % Ausbeute zum gewünschten Aldehyd **37** (Schema 15).<sup>83</sup>

Schema 15: Synthese der Aldehyde **37** und **39**.

Der Fmoc-geschützte Aldehyd **39** wurde ebenfalls ausgehend von **35** dargestellt. Das Amin **35** wurde mit FmocOSu in THF/Wasser (1 : 1) mit Natriumhydrogencarbonat als Base umgesetzt.<sup>86</sup> Das entstandene Fmoc-geschützte Amin **38** wurde analog zu **36** mit katalytischen Mengen 4-Toluolsulfonsäure in 71 % Ausbeute zum Aldehyd **39** entschützt (Schema 15).<sup>83</sup>

Die Synthese des meta-substituierten Aldehyds **43** wurde analog zur Synthese von **37** ausgehend von 3-Formylbenzonnitril (**20**) durchgeführt (Schema 16).



Schema 16: Synthese des meta-substituierten Aldehyds **43**.

Die Ausbeuten der einzelnen Schritte sind denen der Synthese des para-substituierten Bausteins **37** vergleichbar, lediglich die Ausbeute des Boc-geschütztenamins **42** liegt deutlich niedriger verglichen mit dem para-substituierten Amin **36**.

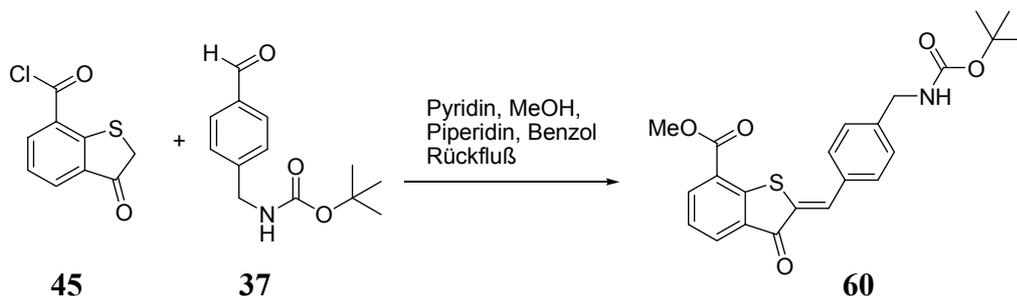
#### 4.2.2 Boc-geschützte HT- $\omega$ -Aminosäure-Derivate

Es gibt eine Vielzahl von Harzen, die eine Boc-Strategie in der Peptidsynthese erlauben, wie zum Beispiel Merrifield-Harz oder PAM-Harz. Für die Peptidsynthese in Lösung sind Boc-geschützte Aminosäuren vor allem wegen ihrer Löslichkeit verglichen mit Fmoc-Aminosäuren gut geeignet.

Für die Peptidsynthese und die photochemischen Untersuchungen wurden freie HT-Aminosäuren, orthogonal geschützte Derivate und ein Aktivester aufgebaut.

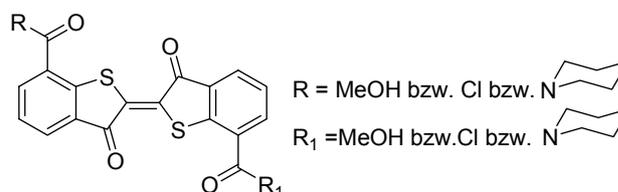
Da die Boc-Schutzgruppe ebenso säurelabil wie ein *tert*-Butylester ist, wurde die Synthese des orthogonal geschützten Bausteins (2*Z*)-2-[4-*tert*-Butoxycarbonylaminomethyl]-benzyliden]-3-oxo-2,3-dihydro-benzo[*b*]thiophen-7-

carbonsäuremethylester (**60**) aufbauend auf der optimierten Synthese von **52** begonnen (Schema 17).



Schema 17: Synthese des Boc-geschützten Aminosäure Bausteins **60**.

Das Thioindoxyl (**45**) wurde mit einem geringen Überschuß an Aldehyd **37** analog zu **52** unter Zusatz von Pyridin zum Abfangen der entstehenden Salzsäure und mit katalytischen Mengen Piperidin umgesetzt. Die Synthese verlief nicht zufriedenstellend in Bezug auf Umsatz des Aldehyds sowie Ausbeute und Reinheit des Produktes. Nach Aufarbeitung wurde eine Rohausbeute von 62% erhalten. Das  $^1\text{H}$  NMR des Rohproduktes zeigte ein (1 : 1)-Verhältnis von Produkt **60** und Ausgangsverbindung **37** an. Außerdem waren vermehrt Oxidationsprodukte des Thioindoxyls (**45**), wahrscheinlich unter Bildung von Thioindigo-Derivaten (Schema 18), entstanden (Eintrag 1, Tabelle 4).



Schema 18: Mögliche Thioindigo-Nebenprodukte.

Tabelle 4: Optimierungsversuche zur Synthese von **60**.

Eintrag	Äquiv. MeOH	Äquiv. 45	Äquiv. 37	Äquiv. Pyridin	Verhältnis 37 : 60	Rohausbeute [%]
1	5.0	1.00	1.10	1.10	50 : 50	62
2	5.0	1.00	1.00	1.10	60 <sup>a</sup> : 40	72
3	5.0	1.00	1.10	1.10	50 : 50	79 <sup>b</sup>
4	5.0	1.00	1.00	13.0	47 : 53	91 <sup>b</sup>
5	5.0	1.00	1.00	13.0	19 : 81	98 <sup>b,c</sup>
6	6.0	1.20	1.00	15.6	10 : 90	98 <sup>b,c</sup>
7	<b>7.5</b>	<b>1.50</b>	<b>1.00</b>	<b>19.5</b>	<b>2 : 98</b>	<b>98<sup>b,c</sup></b>

<sup>a</sup>Nebenprodukte durch Oxidation des Thioindoxyls. <sup>b</sup>Lösungsmittel wurden vor Gebrauch entgast. <sup>c</sup>Zusatz von Molsieb 4 Å.

Es bedurfte daher einer weiteren Optimierung der Reaktionsbedingungen. Es wurde zunächst untersucht, ob das Reduzieren der Menge an Aldehyd **37** zu einer Verbesserung der Ergebnisse führen könnte. Das Thioindoxyl (**45**) und der Aldehyd **37** wurden daher zunächst in äquimolaren Mengen eingesetzt. Bei diesem Versuch zeigte sich, daß die Bildung von Zersetzungs- und Oxidationsprodukten vermehrt auftrat (Eintrag 2; Tabelle 4), und das Produkt war im Rohspektrum nur zu etwa 40 % vorhanden.

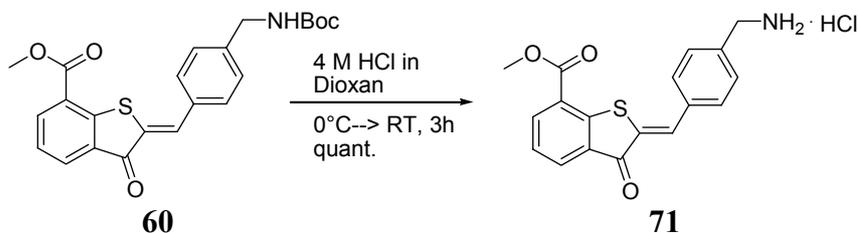
Im folgenden wurde die Reaktion sequentiell geführt, d.h. die Veresterung wurde in einem vorgelagerten Schritt durchgeführt und der in situ generierte Ester anschließend in der Aldolkondensation zum Hemithioindigo umgesetzt, um eventuelle Nebenreaktionen der entstehenden Salzsäure mit der Boc-Schutzgruppe zurückzudrängen. Dadurch ergab sich eine wesentliche Verbesserung der Ausbeute, jedoch keine Verbesserung des Umsatzes.

Die Bildung von Nebenprodukten durch Oxidation des Thioindoxyls (**45**) sollte sich durch Ausschluß von Sauerstoff vermeiden lassen. Für die Reaktion wurden im folgenden ausschließlich entgaste Lösungsmittel verwandt. Dies führte nur geringfügig zu einer Verbesserung; während der Reaktion nicht umgesetztes Thioindoxyl (**45**) wurde bei der wäßrigen Aufarbeitung schließlich oxidiert (Eintrag 3; Tabelle 4).

Unter Beibehaltung des sequentiellen Reaktionsprotokolls führte jedoch auch eine zusätzliche Erhöhung der Äquivalente Pyridin zum Abfangen der Salzsäure noch nicht zu einer merklichen Verbesserung der Produktbildung (Eintrag 4; Tabelle 4).

Da es sich bei der Aldolreaktion um eine Gleichgewichtsreaktion handelt, erschien es daher sinnvoll, das Gleichgewicht durch Entzug des Reaktionswassers auf die Produktseite zu verschieben. Unter den Bedingungen der vorangegangenen Reaktion wurde daher dem Reaktionsansatz Molsieb 4Å zugesetzt, was zu einer deutlichen Verbesserung des Umsatzes führte. Das  $^1\text{H}$  NMR-Spektrum zeigte einen Produktanteil von ca. 81% (Eintrag 5; Tabelle 4). Im weiteren Verlauf wurden die Äquivalente an Thioindoxyl (**45**), Pyridin und Alkohol sukzessiv erhöht, wodurch schließlich ein nahezu vollständiger Umsatz an Aldehyd **37** erreicht werden konnte (Einträge 6,7; Tabelle 4). Das an der Luft entstehende schwerlösliche dunkelrote Oxidationsprodukt des überschüssigen Thioindoxyls (**45**) konnte zum größten Teil bei Trocknung der Reaktionslösung mit Magnesiumsulfat abfiltriert werden. Geringe verbleibende Reste konnten bei der Säulenchromatographie abgetrennt werden. Die Chromatographie führt jedoch zu Substanzverlusten, da die Produkte auf Grund ihrer schweren Löslichkeit im Laufmittel zuvor an Florisil adsorbiert werden mußten. Dennoch lag die Ausbeute an reinem Produkt nach Chromatographie bei 87 %. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Tabelle 4 dargestellt.

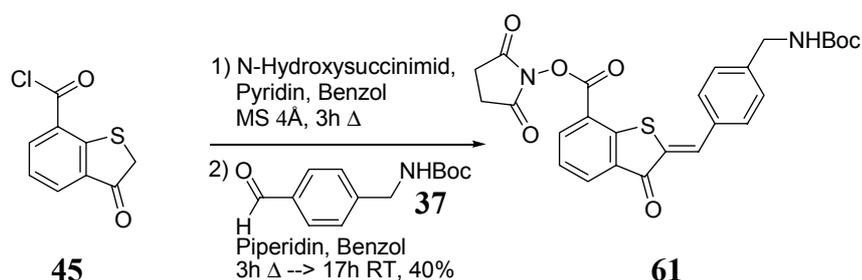
An der Boc-geschützten HT-Aminosäure **60** wurde die Kompatibilität von Methoden der Boc-Entschützung erprobt. Da das Produkt der Entschützung mit Reagenz K auf Grund des Zusatzes von Phenol in aufwendigen Umkristallisationen oder Umfällungen gereinigt werden muß, wurde die Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mit 4M HCl in Dioxan untersucht. Verbindung **60** wurde mit 4 M HCl in Dioxan 3 h bei Raumtemperatur umgesetzt. Das HCl-Salz 4-(7-Methoxycarbonyl-3-oxo-3*H*-benzo[*b*]thiophen-2-ylidenmethyl)-benzylammoniumchlorid (**71**) konnte in quantitativer Ausbeute erhalten werden, eine Aufreinigung des Produktes war nicht notwendig.



Schema 19: Boc-Entschützung von **60** zum HCl-Salz **71**.

Die für **60** optimierte Synthesemethode wurde nun auf die Synthese des Aktivesters (2*Z*)-{4-[7-(2,5-Dioxo-pyrrolidin-1-carbonyl)-3-oxo-3*H*-benzo[*b*]-

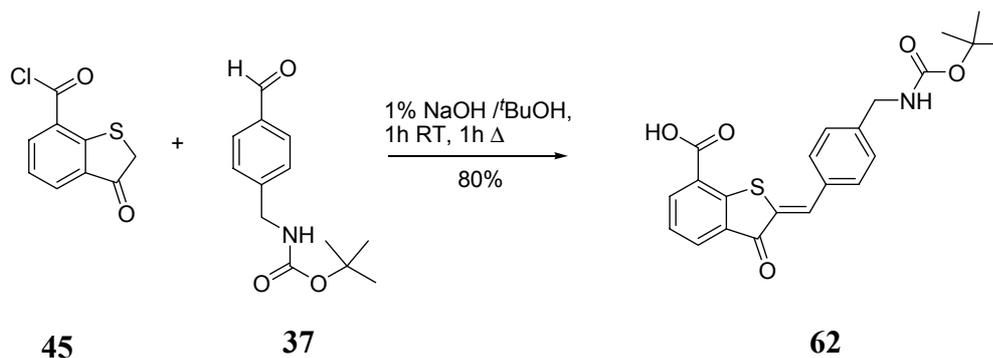
thiophen-2-ylidenmethyl]benzyl} carbamidsäure-*tert*-butylester (**61**) übertragen (Schema 20).



Schema 20: Synthese des Aktivesters **61** mit sequentielltem Reaktionsprotokoll.

Das Rohspektrum nach Aufarbeitung und die dünnschichtchromatographische Auftragung bei der Reaktion (Schema 20) zeigten allerdings die Bildung von Nebenprodukten an. Der Aktivester konnte nach Chromatographie an Florisil (Ethylacetat : Pentan, 1 : 1) in lediglich 40 % Ausbeute erhalten werden. Da das Produkt **61** im Lösungsmittel für die Chromatographie schwer löslich war, mußte die Verbindung zuvor an Florisil adsorbiert werden, was zusätzlich zu Substanzverlusten führte. Obwohl **61** einen Baustein darstellt, der für die Peptidsynthese geeignet ist, schien es doch wünschenswert, eine freie Carbonsäure herstellen zu können, zumal die Synthese von **61** mit Substanzverlusten durch Nebenreaktionen verbunden war.

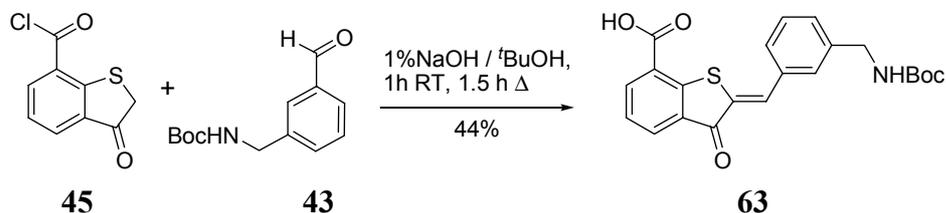
Obwohl die Synthese des einfach geschützten HT-Dicarbonsäurederivats **17** (Schema 11, S.34) durch Aldolkondensation mit 1%iger NaOH und *tert*-Butanol nicht gelungen war, wurde die Darstellung des entsprechenden Boc-geschützten HT- $\omega$ -Aminosäure-Bausteins (2*Z*)-2-[4-(*tert*-Butoxycarbonylamino)methyl]benzyliden]-3-oxo-2,3-dihydrobenzo[*b*]thiophen-7-carbonsäure (**62**) unter wäßrigen basischen Bedingungen untersucht. Das Thioindoxyl (**45**) wurde mit dem Aldehyd **37** in einer Mischung aus 1%iger NaOH und *tert*-Butanol unter Rückfluß umgesetzt (Schema 21).



Schema 21: Synthese der freien HT- $\omega$ -Aminosäure **62**.

Die Reaktion wurde in entgasten Lösungsmitteln durchgeführt, um die Oxidation des Thioindoxyls (**45**) möglichst zu vermeiden und das Thioindoxyl (**45**) wurde im Überschuß eingesetzt. Da der Überschuß an Thioindoxyl (**45**) dazu führt, daß bei der Aufarbeitung Oxidationsprodukte entstehen, mußte das Produkt chromatographisch gereinigt werden. Die Ausbeute lag nach einmaliger Chromatographie bei 80 % (Reinheit ca. 95%;  $^1\text{H NMR}$ ).

In Analogie zu **62** wurde der im Stilbenteil meta-substituierte Baustein (2Z)-2-(3-{{(tert-Butoxycarbonyl)amino}methyl}benzyliden)-3-oxo-2,3-dihydro-1-benzothiophen-7-carbonsäure (**63**) synthetisiert. Dabei wurde der Aldehyd **43** mit dem Thioindoxyl **45** in wäßriger basischer Lösung umgesetzt (Schema 22). Die Ausbeute bei dieser Synthese lag bei 70 % (80 % Reinheit). Um eine höhere Reinheit des Produkts zu erlangen, wurde die Substanz noch dreimal an Florisil chromatographiert, wobei **63** schließlich in 95 % Reinheit erhalten werden konnte. Die Chromatographie führte zu erheblichen Substanzverlusten, so daß die Ausbeute der Verbindung nach dem letzten Reinigungsschritt nur noch bei 44 % lag.

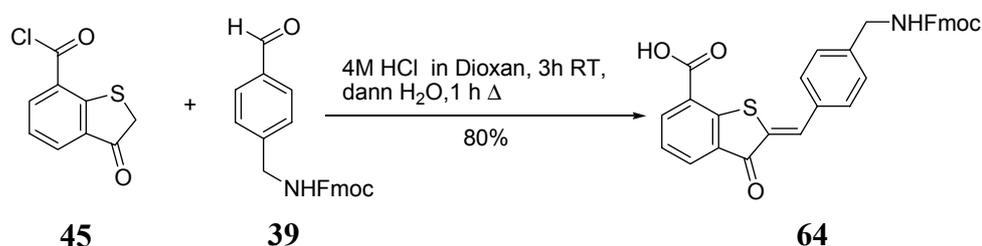


Schema 22: Synthese der meta-substituierten HT- $\omega$ -Aminosäure **63**.

### 4.2.3 Fmoc-geschützte HT- $\omega$ -Aminosäure-Derivate

Die Peptidsynthese mit Fmoc-geschützten Aminosäuren hat in den letzten Jahren immer mehr an Bedeutung gewonnen. In der Festphasensynthese bietet die Fmoc/<sup>t</sup>Bu-Strategie verglichen mit der Boc/Benzyl-Strategie eine wesentlich höhere Flexibilität für die Modifizierung der Peptide und eine größere Selektivität, was die Abspaltung von  $\alpha$ - gegenüber Seitenschutzgruppen betrifft.<sup>82</sup> Die Fmoc-Schutzgruppe läßt sich unter milden Bedingungen mit Morpholin oder Piperidin in DMF oder NMP leicht abspalten. Die Synthese von freien HT- $\omega$ -Aminosäure-Derivaten mit Fmoc-Schutzgruppe ist daher von großem Interesse für den Einsatz in der Peptidsynthese sowohl in Lösung als auch an der festen Phase. Da die Möglichkeit besteht, die Aldolkondensation zu HT-Verbindungen auch im sauren Milieu durchzuführen<sup>66,67</sup>, ist somit auch die Möglichkeit gegeben, Fmoc-geschützte HT-Aminosäure-Bausteine herzustellen.

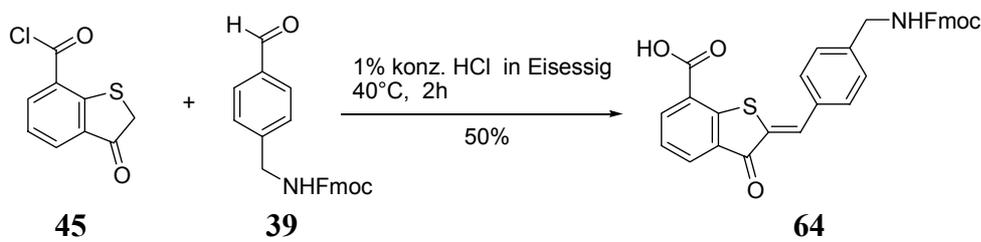
Die Synthese der freien Carbonsäure **64** wurde durch Aldolkondensation des Thioindoxyls (**45**) und des Aldehyds **39** im 500 mg Maßstab unter Verwendung einer entgasten Lösung von 4 M HCl in Dioxan bei Raumtemperatur und anschließender Hydrolyse unter Rückfluß in einer Eintopfsynthese durchgeführt (Schema 23). Die Reaktionskomponenten konnten äquimolar eingesetzt werden, da bei dieser Methode das Gleichgewicht der Aldolkondensation vollständig auf der Produktseite liegt. Die HT- $\omega$ -Aminosäure (2Z)-2-{4-[(9H-Fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)methyl]benzyliden}-3-oxo-2,3-dihydro-1-benzo[*b*]thiophen-7-carbonsäure (**64**) konnte in 80% Ausbeute in einer Reinheit von 95 % isoliert werden, und eine weitere Reinigung war nicht notwendig.



Schema 23: Synthese der Fmoc-geschützten HT-Aminosäure **64**.

Eine weitere Möglichkeit ist die Synthese im wässrigen Milieu. Die Synthese einer HT- $\omega$ -Aminosäure mit freier Carbonsäurefunktionalität ausgehend von den Vorschriften nach Auwers und Arndt<sup>61</sup> unter Verwendung von wässriger HCl in

Ethanol ist hier auf Grund des Säurechlorids nicht möglich, da unter diesen Bedingungen eine Veresterung mit dem zugesetzten Ethanol befürchtet werden muß. Allerdings kann das Lösungsmittel Ethanol gegen Eisessig ausgetauscht werden. Dabei kann es lediglich zu einer Anhydrid-Bildung mit der zugesetzten Essigsäure kommen. Das Anhydrid kann jedoch durch wäßrige Aufarbeitung wieder zur Säure hydrolysiert werden. Zur Darstellung der Fmoc-geschützten HT- $\omega$ -Aminosäure **64** wurde das Thioindoxyl (**45**) mit dem Aldehyd **39** ebenfalls unter Verwendung von HCl in Eisessig bei leicht erhöhten Temperaturen kondensiert (Schema 24). Vor Zusatz der Reaktionskomponenten wurde die fertige Lösung von 1% konz. HCl in Eisessig entgast, um Oxidation des Thioindoxyls (**45**) zu vermeiden. Das Thioindoxyl (**45**) mußte in dieser Reaktion im Überschuß eingesetzt werden, da sonst der Aldehyd nicht vollständig umgesetzt werden konnte.



Schema 24: Säurekatalysierte Darstellung der Fmoc-geschützten HT- $\omega$ -Aminosäure **64**.

Die HT- $\omega$ -Aminosäure **64** konnte nach beendeter Reaktion mit Wasser ausgefällt werden und wurde anschließend an Florisil chromatographiert. Die mäßige Ausbeute von 50% ist auf Substanzverluste bei der Chromatographie bedingt durch die schlechte Löslichkeit der Verbindung zurückzuführen. Wurde die Reaktion in größerem Maßstab durchgeführt, so führte das zu einer Verringerung der Ausbeute auf 30%. Verglichen mit der Synthese unter Verwendung von HCl in Dioxan lieferte diese Methode deutlich schlechtere Ausbeuten.

#### 4.2.4 HT- $\omega$ -Aminosäurechlorid **65**

Die Untersuchung einfacher Säurechlorid-Aktivierung zur Verknüpfung von Aminosäuren über Amidbindungen geht zurück auf erste Versuche in der Peptidchemie. 1903 beschrieb Fischer bereits die Synthese von N-Ethoxycarbonylglycinchlorid und seine Reaktion mit Aminosäureestern zu Peptiden.<sup>87</sup> Dabei gelang es jedoch nicht, die Ethoxycarbonylschutzgruppe zu

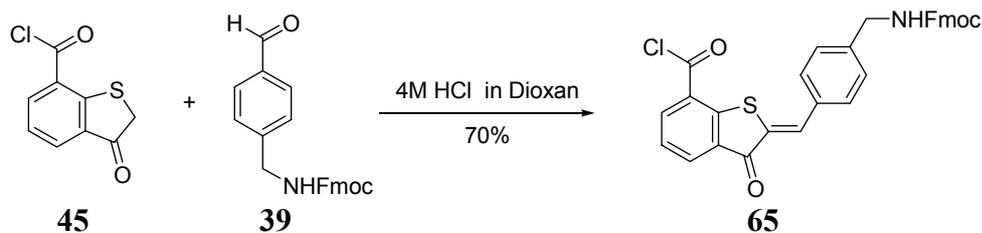
entfernen, ohne die Peptidbindung zu zerstören. Eine Reihe anderer N<sup>α</sup>-Schutzgruppen, die zur Herstellung von Säurechloriden untersucht wurden, wie beispielsweise die Z-Schutzgruppe<sup>88</sup>, besaßen nur eine begrenzte Stabilität, d.h. sie zersetzten sich mehr oder weniger schnell. Die Boc-Schutzgruppe stellte sich als noch labiler heraus.<sup>89</sup>

Erst die Entwicklung der Fmoc-Schutzgruppe<sup>90</sup> durch Carpino et al. 1972 erlaubte die Synthese stabiler Fmoc-geschützter Aminosäurechloride<sup>91</sup>, die nach erfolgter Peptidkupplung unter milden Bedingungen entschützt werden konnten.

Die hohe Aktivierung der Carboxylfunktion durch Überführen in ein Säurechlorid macht selbst die Kupplung sterisch stark gehinderter oder schwach nukleophiler Systeme möglich, wo andere Methoden versagen oder nur schlechte Ergebnisse liefern; daher sollte das Säurechlorid der Fmoc-geschützten HT- $\omega$ -Aminosäure auf Grund des erhöhten Aktivierungsgrades sehr gut in der Peptidsynthese einzusetzen sein. Säurechloride natürlicher Aminosäuren können auch ohne Kupplungsreagenzien in zweiphasigen Systemen unter Verwendung einer milden anorganischen Base in der wäßrigen Phase umgesetzt werden, wodurch der Kontakt mit dem Säurechlorid minimiert wird. Die Umsetzung ist meist innerhalb weniger Minuten beendet, ohne daß Racemisierung der Carboxylkomponente auftritt.<sup>92</sup>

Die Synthese des Säurechlorids **65** wurde analog zur Synthese von **64** durch Kondensation des Thioindoxyls (**45**) mit dem Aldehyd **39** in 4 M HCl in Dioxan durchgeführt. Da bei der Synthese lediglich ein Mol Reaktionswasser gebildet wird und da das Thioindoxyl verglichen mit aliphatischen Säurechloriden bei Raumtemperatur relativ hydrolysestabil ist, war sogar die Isolierung des Säurechlorides möglich.

Die Ausgangsverbindungen konnten bei dieser Synthese in äquimolaren Mengen eingesetzt werden, da die Umsetzung vollständig verläuft und das Gleichgewicht vollständig auf der Produktseite liegt.



Schema 25: Darstellung des HT- $\omega$ -Aminosäurechlorids **65**.

Unter diesen Bedingungen wurde das Säurechlorid (2Z)-[4-(7-Chlorocarbonyl-3-oxo(3H)benzo[b]thiophen-2-ylidenemethyl)benzyl]carbamidsäure-(9H)-fluoren-9-ylmethylester (**65**) in 70% Ausbeute isoliert (Schema 25). Diese Methode bietet den Vorteil, daß das Produkt nicht durch Chromatographie gereinigt werden muß, sondern allein durch Waschen mit heißem Ethylacetat zu reinigen ist. Da die Ausgangsverbindungen äquimolar eingesetzt werden können, wird auch die Nebenproduktbildung gering gehalten. Die Synthese konnte im 3-Gramm-Maßstab durchgeführt werden, wodurch auch anschließende Peptidkupplungsreaktionen in größeren Maßstäben möglich waren.

## 4.3 Boc- und Fmoc-geschützte HT- $\omega$ -Aminosäuren in der Peptidsynthese

### 4.3.1 Synthesen in Lösung

Es gibt im Prinzip zwei gebräuchliche Methoden, um Peptide herzustellen: Die Synthese in Lösung<sup>93</sup> und die Festphasensynthese.<sup>94</sup> Vor Beginn einer Peptidsynthese müssen beide Methoden in Hinsicht auf die zu synthetisierende Sequenz sorgfältig geprüft werden, da jede für sich wichtige Vorteile und Möglichkeiten für den Peptidchemiker bietet. Die Peptidstruktur, insbesondere ihre Länge, Lösungseigenschaften, Seitenkettenfunktionalitäten, gewünschte Schutzgruppen, Empfindlichkeit gegenüber Racemisierung<sup>95</sup> und die gewünschte Substanzmenge an Peptid, sollte genauestens bedacht werden.<sup>96</sup>

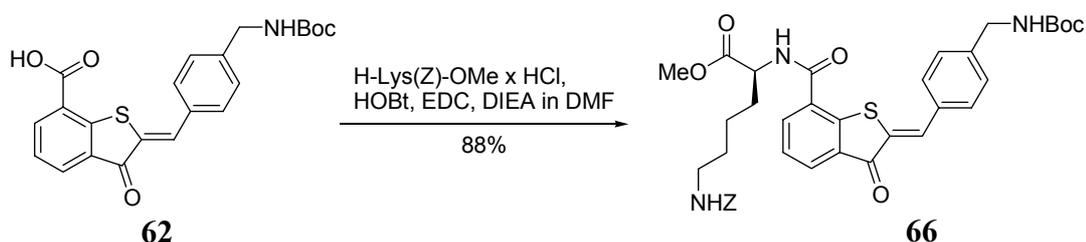
Die Peptidsynthese in Lösung kann durch schrittweise Kettenverlängerung mit Schutzgruppen vom Urethan-Typ durchgeführt werden, um Produktgemische zu vermeiden.<sup>95</sup> Die Effizienz dieser Methode wird auf Grund von Löslichkeitsproblemen in gleichem Maße geringer, in dem die Kettenlänge des wachsenden geschützten Peptids steigt. Bis zu einem gewissen Grad kann dieses Problem durch Lösungsmittel wie Trifluorethanol oder Hexafluorisopropanol umgangen werden.<sup>97</sup> Lange Peptide können effizienter durch Kondensation von kleineren Segmenten, auch mit minimalem Seitenkettenschutz, hergestellt werden.<sup>93</sup> Beide Strategien, die schrittweise Kondensation wie die Segmentkondensation, geben die Möglichkeit, nach jeder Stufe einen Reinigungsschritt einzulegen.

### 4.3.1.1 Boc-basierende Peptidsynthese in Lösung

Im folgenden Teil der Arbeit wurde die Boc-geschützte HT- $\omega$ -Aminosäure **62** in der Peptidsynthese in Lösung nach Standardverfahren umgesetzt. Es wurden Di- und Tripeptide mit HT-Chromophor im Rückgrat synthetisiert und an den synthetisierten Peptiden wurden Schutzgruppenabspaltungen untersucht.

Die Verwendung von EDC als Kupplungsreagenz hat gegenüber DCC den Vorteil, daß das während der Synthese als Nebenprodukt anfallende Harnstoffderivat wasserlöslich ist und somit durch einfaches Waschen der organischen Phase mit Wasser entfernt werden kann.

Verbindung **62** wurde nach literaturbekanntem Verfahren<sup>98,99</sup> mit H-Lys(Z)-OMe x HCl unter Verwendung von EDC, HOBT als Kupplungsreagenzien und DIEA als Base in DMF zum Dipeptid (2Z)-6-Benzyloxycarbonylamino-2-(2-[4-(tert-butoxycarbonylaminomethyl)benzyliden]-3-oxo-2,3-dihydrobenzo[*b*]thiophen-7-carbonyl}amino)hexansäuremethylester (**66**) gekuppelt.



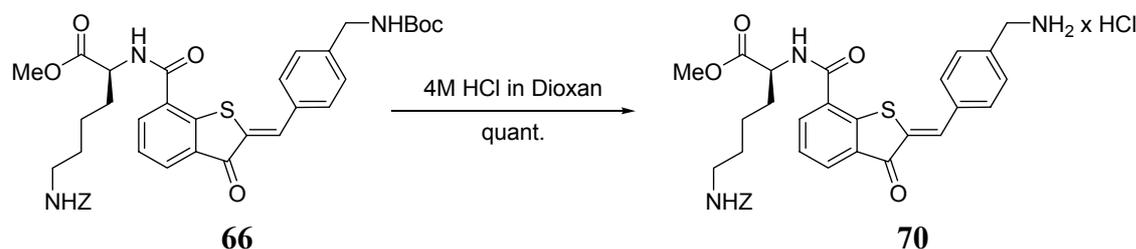
Schema 26: Synthese des Boc-geschützten Dipeptids **66**.

Das Dipeptid **66** konnte nach Chromatographie an Florisil (Ethylacetat : Pentan, 1 : 1) in 88 % Ausbeute erhalten werden.

Die Synthese des Dipeptids **66** konnte auch mit Hilfe der HT-Synthesemethode, die für Verbindung **60** optimiert worden war, durchgeführt werden. Das Thioindoxyl (**45**) wurde mit dem Aldehyd **37** unter Zusatz der Aminosäure H-Lys(Z)-OMe x HCl mit Piperidin in Benzol bei Raumtemperatur umgesetzt. Die Ausbeute an Dipeptid **66** betrug 36 % nach Chromatographie an Florisil.

Die Synthese des Dipeptids **66** über eine konventionelle Peptidkupplung ist der Eintopfsynthese im Bezug auf die Ausbeute deutlich überlegen, obwohl zwei Reaktionsschritte nötig sind.

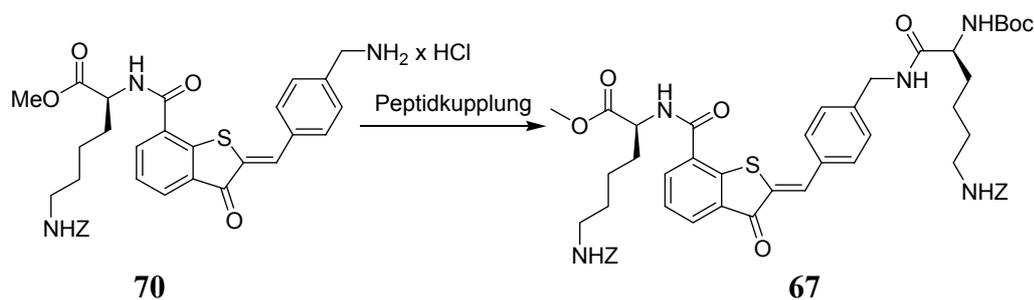
Im Anschluß an die Darstellung des Dipeptids **66** wurde die Boc-Schutzgruppe mit 4M HCl in Dioxan abgespalten (Schema 27).



Schema 27: Boc-Entschützung von **66** zum HCl-Salz **70**.

Die Boc-Entschützung verlief mit quantitativer Ausbeute, eine anschließende Reinigung war nicht notwendig, so daß das HCl-Salz 4-[7-(5-Benzyloxycarbonylamino-1-methoxycarbonylpentylcarbamoyl)-3-oxo-3*H*-benzo[*b*]-thiophen-2-ylidenemethyl]benzylaminhydrochlorid (**70**) direkt für die anschließenden Peptidkupplung zum Tripeptid (2*Z*)-6-Benzyloxycarbonylamino-2-[(2-{4-[(6-benzyloxycarbonylamino-2-*tert*-butoxycarbonylamino)hexanoylamino]-methyl]benzyliden}-3-oxo-2,3-dihydrobenzo[*b*]-thiophen-7-carbonyl)amino]hexansäuremethylester (**67**) weiterverwandt werden konnte. Diese stellte sich jedoch als weitaus problematischer heraus, als die vorangegangene Synthese des Dipeptids **66**.

Die Darstellung von **67** wurde zunächst unter Verwendung von **70** mit EDC/HOBt und HBTU/HOBt als Kupplungsreagenzien (Tabelle 5, Einträge 1, 2) versucht. Diese Verfahren waren jedoch ebenso wenig erfolgreich wie die Kupplung unter Verwendung eines Aktivesters der zu kuppelnden Aminosäure (Tabelle 5, Eintrag 3) und die Synthese mit DPPA, nach vorgelagerter Freisetzung des Amins mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung in Methanol (pH 8-9). In allen Versuchen kam es zur Zersetzung unter Bildung einer Reihe nicht definierbarer Produkte, wobei die Retroaldolreaktion jedoch <sup>1</sup>H NMR-spektroskopisch ausgeschlossen werden konnte. Einen Überblick über die verwandten Verfahren liefert Tabelle 5.

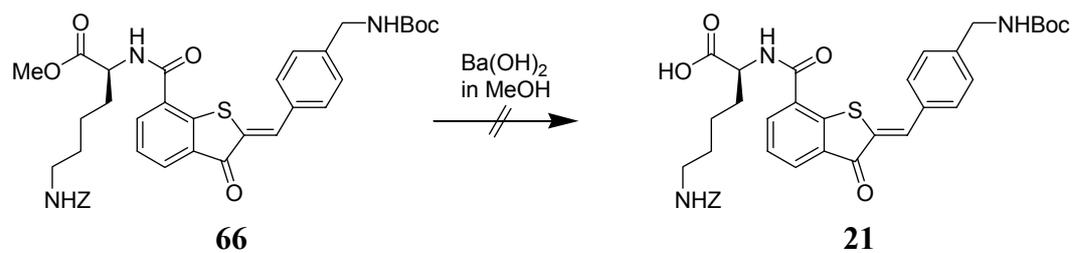
Tabelle 5: Untersuchungen zur Synthese des Tripeptids **67**.

Eintrag	Bedingungen	Ausbeute
1	Boc-Lys(Z)-OH (1.00 Äquiv.), EDC (1.10 Äquiv.), HOBt (1.10 Äquiv.), DIEA (1.00 Äquiv.), DMF, 0°C → RT, 15 h	- <sup>a</sup>
2	Boc-Lys(Z)-OH (1.00 Äquiv.), HBTU (1.00 Äquiv.), HOBt (1.00 Äquiv.), DIEA (1.00 Äquiv.), NMP, 0°C → RT, 15 h	- <sup>a</sup>
3	Boc-Lys(Z)-OSu (1.00 Äquiv.), DIEA (1.00 Äquiv.), DME, 0°C → RT, 15 h	- <sup>a</sup>
4	1. (10%)NaHCO <sub>3</sub> -Lösung 2. Boc-Lys(Z)-OH (1.10 Äquiv.), DPPA (1.20 Äquiv.), DIEA (1.30 Äquiv.), DMF, 0°C → RT, 15 h	- <sup>a</sup>
5	<b>Boc-Lys(Z)-OH (1.00 Äquiv.), DPPA (1.10 Äquiv.), DIEA (1.00 Äquiv.), DMF, RT, 15 h</b>	<b>76%</b>

<sup>a</sup> Zersetzung

Die Synthese von **67** gelang jedoch schließlich mit DPPA und DIEA in DMF ohne vorgelagerte Freisetzung des HCl-Salzes in 76% Ausbeute. Wurde die Reaktion mit TEA als Base durchgeführt, so konnte **67** in 73% Ausbeute erhalten werden. Eine Aufreinigung von **67** wurde durch Waschen mit MeOH erreicht.

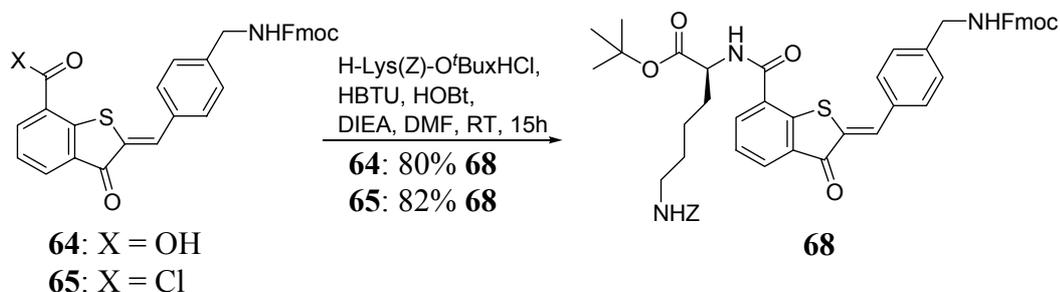
Obwohl die Methylester-Entschützung an den Dicarbonsäure-Derivaten (Tabelle 3) nur unter sehr harschen Bedingungen erfolgreich war, wurde die Entschützung des Methylesters noch einmal am Dipeptid **66** versucht (Schema 28), um zu überprüfen, ob die Abspaltung des Methylesters der aliphatischen Carbonsäure eventuell schneller verläuft als die Retroaldolreaktion des HT-Gerüsts. Daher wurde **66** unter milden Bedingungen mit Ba(OH)<sub>2</sub> zu **21** umgesetzt.<sup>75</sup> Es kam jedoch auch hier in erster Linie zur Retroaldolreaktion, was im <sup>1</sup>H NMR nachgewiesen werden konnte. Da bereits diese milde Methode versagte, wurde von weiteren Versuchen abgesehen.



Schema 28: Versuch der Entschützung des Dipeptids **66**.

### 4.3.1.2 Fmoc-basierende Peptidsynthese in Lösung

Die Umsetzung von **64** zum Dipeptid (2*Z*)-6-Benzylloxycarbonylamino-2-[(2-{4-[(9*H*-fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)methyl]benzyliden}-3-oxo-2,3-dihydrobenzo[*b*]thiophen-7-carbonyl)-amino]hexansäure-*tert*-butylester (**68**) wurde aufbauend auf der Synthese von **66** mit EDC/HOBt als Kupplungsreagenzien und DIEA als Base in DMF versucht.<sup>98,99</sup> Bei dieser Umsetzung konnte jedoch lediglich die Ausgangsverbindung **64** reisoliert werden. Die Umsetzung mit Hilfe von HBTU/HOBt als Kupplungsreagenzien und DIEA als Base in DMF war hingegen erfolgreich (Schema 29).<sup>98</sup> Die Aufreinigung des Rohproduktes erfolgte durch mehrfaches Digerieren der Substanz mit Methanol und Abdekantieren der Waschlösung. Das Dipeptid **68** konnte in einer Ausbeute von 80% erhalten werden.

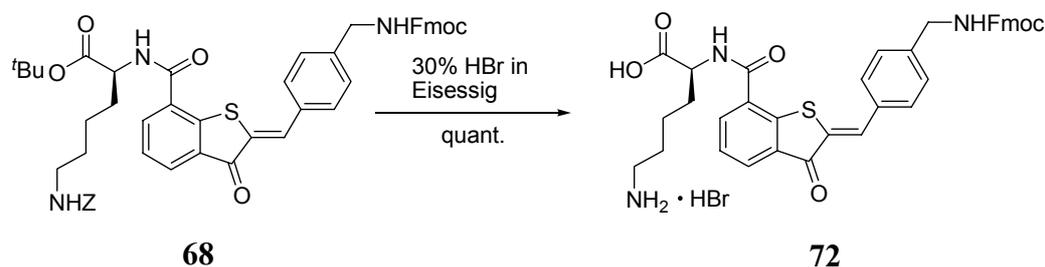


Schema 29: Synthese des Dipeptids **68**.

Die Verwendung von Säurechloriden natürlicher Aminosäuren in der Peptidsynthese kann im Zwei-Phasen-System unter Verwendung anorganischer Basen erfolgen, ohne daß eine weitere Aktivierung durch Kupplungsreagenzien notwendig wäre.<sup>92</sup> Da das Säurechlorid **65** jedoch in Chloroform oder Dichlormethan, den Lösungsmitteln, in denen Reaktionen im Zwei-Phasen-System durchgeführt werden, nicht löslich ist, wurde das Säurechlorid auf die gleiche Weise umgesetzt wie die Säure **64**. Analog konnte das Dipeptid **68** unter Verwendung des Säurechlorids **65** mit HBTU und HOBt als Kupplungsreagenzien in DMF in 82% Ausbeute synthetisiert werden.

Am Dipeptid **68** wurde die Abspaltung der *Z*-Schutzgruppe untersucht. Die *Z*-Schutzgruppe kann sowohl mittels katalytischer Hydrierung als auch mit sauren Methoden abgespalten werden. Da HT-Verbindungen eine Doppelbindung im Zentrum des Moleküls besitzen, ist die katalytische Hydrierung als Entschützungsverfahren nicht geeignet. Die saure Abspaltung sollte dagegen möglich

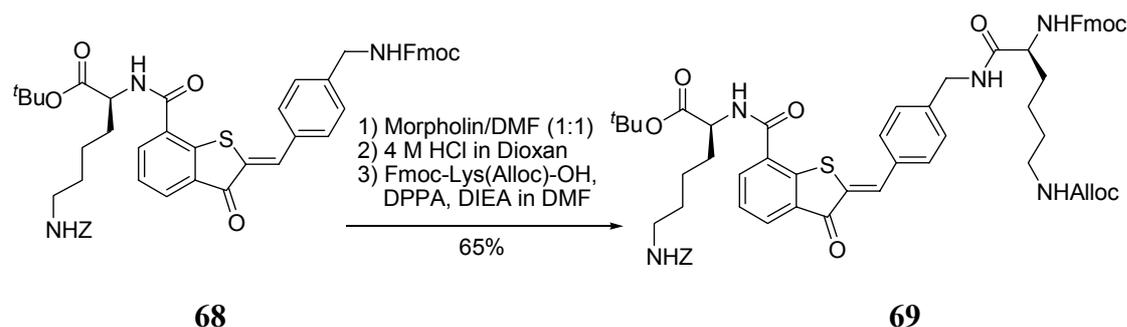
sein. Es wurde daher das Dipeptid **68** mit einer 30%igen Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig zum Dipeptid **72** umgesetzt (Schema 30).



Schema 30: Abspaltung der Z-Schutzgruppe am Dipeptid **68**.

Das entschützte Peptid **72** fiel in quantitativer Ausbeute an. Eine Aufreinigung des Salzes war nicht notwendig.

Das Dipeptid **68** wurde anschließend in das Tripeptid **69** überführt. Die Fmoc-Schutzgruppe wurde mit Morpholin/DMF (1 : 1) abgespalten und das entschützte Dipeptid mit 4 M HCl in Dioxan in das HCl-Salz überführt. Die anschließende Peptidkupplung erfolgte mit Fmoc-Lys(Alloc)-OH unter Verwendung von DPPA, wie bereits für das Boc-geschützte Tripeptid **67** beschrieben, zum Fmoc-geschützten Tripeptid **69** in einer Ausbeute von 65% (Schema 31). Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte durch mehrfaches Digerieren der Substanz mit Methanol und Abdekantieren der Waschlösung.



Schema 31: Synthese des Tripeptids **69**.

Wurde die Kupplung ohne Überführung in das HCl-Salz durchgeführt, so konnte das Tripeptid **69** lediglich in 30% Ausbeute isoliert werden. Dies ist wahrscheinlich auf eine geringere Stabilität des freien Amins verglichen mit dem entsprechenden HCl-Salz zurück zu führen.

### 4.3.2 Synthesen an fester Phase

Die schrittweise Synthese von Peptiden an fester Phase hat gegenüber der Peptidsynthese in Lösung wichtige Vorteile. Das Peptid ist kovalent an die unlösliche feste Phase gebunden, wodurch man durch hohe Überschüsse an Kupplungsreagenzien und der zu kuppelnden Aminosäure die Umsetzung vervollständigen kann, da überschüssige Reagenzien und Nebenprodukte durch einfache Waschvorgänge entfernt werden können. Eine ganze Reihe von Linkern und Harzen sind seit der Entdeckung der Festphasensynthese durch Merrifield<sup>81</sup> neu- und weiterentwickelt worden, die die Festphasentechnologie wesentlich verbessert haben. Nach Einführung der Boc/Benzyl-Strategie wurden auch andere Schutzgruppenstrategien entwickelt, wie z. B. Allyl-basierende Methoden oder die Fmoc/<sup>t</sup>Bu-Strategie, die alle ein wesentliches Element beinhalten: Orthogonalität. In Abhängigkeit vom jeweiligen Harz wurden unterschiedliche Abspaltmethoden von der festen Phase entwickelt, um die Peptide nach erfolgter Synthese vom Harz zu entfernen<sup>94, 95</sup>

Auf Grund der vielen Vorteile, die die Festphasenpeptidsynthese bietet, wurde die Fmoc-geschützte Aminosäure **64** bzw. das Säurechlorid **65** in der Festphasensynthese untersucht.

#### 4.3.2.1 Festphasensynthese mit Fmoc-geschützten HT- $\omega$ -Aminosäuren

E. Fischer formulierte bereits 1894 das sogenannte „Schlüssel-Schloß-Prinzip“<sup>100</sup> für die Wechselwirkung von Enzymen mit Substraten, demzufolge eine Reaktion und somit eine Wirkung nur dann eintreten kann, wenn das Substrat komplementär zur Bindungsstelle im Enzym ist. Dieses Konzept wird auch vielfach in der Erforschung und Synthese pharmakologischer Wirkstoffe angewandt. Peptide liegen aber nicht nur in *einer* bioaktiven Konformation vor, so daß unterschiedliche Konformationen desselben Peptids mit verschiedenen Rezeptoren in Wechselwirkung treten können.<sup>101</sup>

Der Einbau photochromer Aminosäuren in Peptide ist ein interessanter Ansatz zur gezielten konformativen Steuerung von Biomolekülen. Kann durch die photochemische Isomerisierung des Chromophors eine bestimmte Konformation im Peptid erhalten werden, so könnte dadurch die Wirkung gesteuert werden.

Das Grb2 (growth factor receptor binding) Protein spielt eine zentrale Rolle bei der Signalweiterleitung durch Rezeptortyrosinkinasen.<sup>99</sup> Grb2 ist notwendig für die Aktivierung des Ras Transduktionspfades durch Komplexbildung mit dem Ras Austauschfaktor Sos (nach dem Drosophila-Gen „son-of-sevenless“).<sup>102</sup> Die SH2 (Src homology) Domäne des Grb2 Proteins bindet bevorzugt an Phosphotyrosin-Peptide mit dem Sequenzmotiv pTyr-Val-Asn-Val. Für die Bindung von Phosphotyrosin-Peptiden an die SH2 Domäne ist eine notwendige Bedingung, daß das Bindungsmotiv als  $\beta$ -turn vorliegt.<sup>103</sup> Die beiden SH3 Domänen des Grb2 Proteins binden an Sos, das den GDP/GTP-Austausch am Ras-Protein katalysiert, wodurch die GTPase und „downstream“-Kinase-Kaskade aktiviert wird. Verbindungen, die die Bindung an die SH2 Domäne des Grb2 Proteins selektiv verhindern, sollten diese Signaltransduktionspfade unterbrechen und sind somit attraktive Ziele für die Tumorbekämpfung.<sup>104</sup>

Ettmayer et al. synthetisierten zyklische Peptide, mit dem Motiv pTyr-Val-Asn-Val-Pro als Antagonisten der SH2 Domäne.<sup>99</sup> Das Peptid [cyclo(Gly-pTyr-Val-Asn-Val-Pro)] **22** (Abbildung 13) nahm in wässriger Lösung einen Typ I  $\beta$ -turn im Bindungsmotiv pTyr-Val-Asn-Val an. Bei Substitution von L-Prolin im Peptid durch D-Prolin wurde eine 100-fache Abnahme der Bindungsaffinität zur SH2-Domäne festgestellt. Es ist daher anzunehmen, daß L-Prolin eine wichtige Rolle spielt bei der

Ausbildung des  $\beta$ -turns im Bindungsmotiv. Außerdem konnten Ettmayer et al. feststellen, daß das verwandte Phosphotyrosin unter metabolischen Bedingungen nicht stabil war, was einen Ersatz des Phosphotyrosinrestes durch hydrolysestabile Phosphonomethylphenylalaninreste **23** nahelegt.<sup>99</sup>

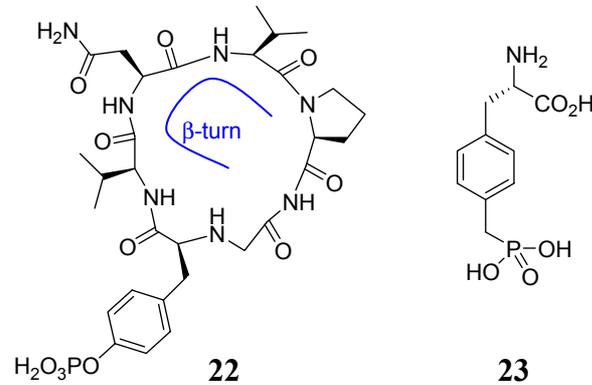


Abbildung 13: Zyklisches Peptid **22** nach Ettmayer<sup>99</sup> und Phosphonomethylalanin **23**.

Photoschaltbare Peptide, die das Bindungsmotiv pTyr-Val-Asn-Val<sup>99</sup> im Rückgrat tragen, können als Antagonisten der SH2 Domäne wirken.

Liegt das Bindungsmotiv als  $\beta$ -turn vor, so kann es zu einer Bindung an die SH2 Domäne kommen, wird dagegen das zyklische Peptid durch Licht geschaltet, so sollte dadurch das Peptid eine andere Konformation einnehmen und die Bindung an Grb2 würde unterbunden. Ein zyklisches Peptid mit einem Photoschalter im Rückgrat kann so aufgebaut werden, daß zwischen dem Bindungsmotiv und dem photoschaltbaren Element Lysin-Reste eingebaut werden, die für eine gute Wasserlöslichkeit sorgen sollten.<sup>32</sup>

Die Zyklisierung eines Peptids kann kurze Aminosäuresequenzen dazu zwingen, eine turn-Konformation einzunehmen<sup>105</sup>, wodurch die Anzahl an möglichen Konformationen des gesamten Peptids stark eingeschränkt wird. Die Wishart-Regeln für zyklische Peptide ermöglichen in einem gewissen Rahmen die Voraussage der Konformation zyklischer Peptide, die aus proteinogenen Aminosäuren aufgebaut sind. So wurde empirisch gefunden, daß Peptide mit 6, 10 und 14 Aminosäureresten bevorzugt eine  $\beta$ -turn-Konformation annehmen, während Peptide mit 8, 12 und 16 Resten eher in einer zufälligen Konformation vorliegen.<sup>106</sup>

Geht man davon aus, daß ein HT-Chromophor in seiner Länge in etwa zwei Aminosäuren ersetzt, so besteht die Möglichkeit, ein zyklisches Peptid mit HT-Chromophor im Rückgrat aufzubauen, das den obigen Anforderungen entspricht (Abbildung 14).<sup>32,46</sup>

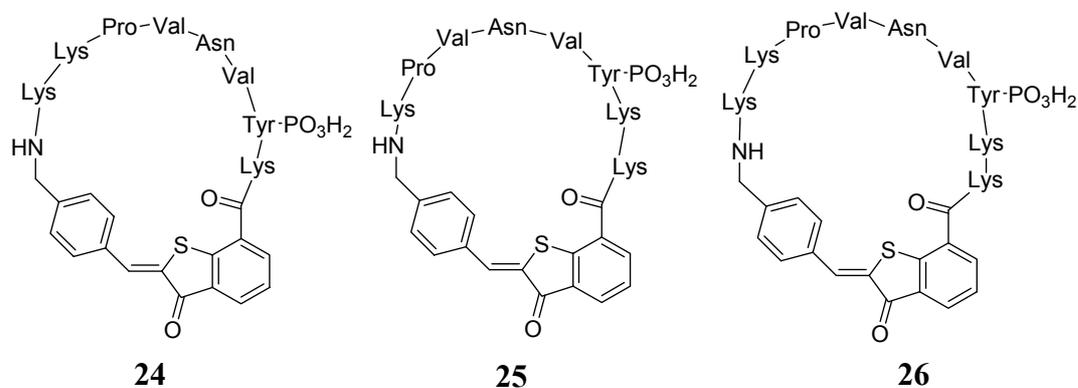


Abbildung 14: Beispiele für zyklische Peptide (**24**, **25** und **26**) mit Bindungsmotiv *pTyr-Val-Asn-Val*.

Die zyklischen Peptide **24** und **25** haben acht natürliche Aminosäuren und eine photochrome HT-Aminosäure im Peptidrückgrat, so daß Pseudodekapeptide resultieren. Das zyklische Peptid **26** dagegen hat auf beiden Seiten der photochromen Aminosäure zwei Lysin-Reste, so daß ein Pseudoundeca-Peptid resultiert. Als Ersatz für Phosphotyrosin (p-Tyr) könnte in diesen Peptiden auch das bereits erwähnte Phosphonomethylphenylalaninreste **23** dienen.

Bevor der Aufbau eines zyklischen Peptids mit HT-Chromophor im Rückgrat erfolgen sollte, mußte zunächst das Verhalten der Aminosäure **64** bzw. des Aminosäurechlorids **65** in der Peptidsynthese an der festen Phase evaluiert werden.

Das Verhalten der HT- $\omega$ -Aminosäure **64** in der Peptidsynthese wurde zunächst am 2-Cl-Trt-Harz untersucht (Schema 32). Das 2-Chlortritylharz wurde Ende der 80er Jahre von Barlos et al. entwickelt.<sup>107</sup> Es bietet den Vorteil, daß das Anbringen der ersten Aminosäure an der festen Phase racemisierungsfrei verläuft. Außerdem ist die Synthese von C-terminalen Prolylpeptiden mit diesem Harz sehr erfolgreich durchgeführt worden, wobei der sterisch anspruchsvolle Trityl-Linker die Bildung von Diketopiperazinen vollständig verhindert. Die milden Abspaltmethoden (Eisessig/TFE in DCM, 1 %TFA in DCM oder 30 % HFIP in DCM) sind vor allem geeignet für die Synthese schwieriger Sequenzen mit empfindlichen Aminosäuren wie Cystein oder Histidin.



ebenfalls nicht gefunden werden. Der Grund dafür, daß die Synthese am 2-Chlortritylharz nicht gelungen war, ist wahrscheinlich darauf zurück zu führen, daß HBTU und HOBt als Kupplungsreagenzien für eine Peptidkupplung am N-Terminus des Hemithioindigos nicht geeignet sind und auch darauf, daß der Chlortrityl-Anker sterisch zu anspruchsvoll ist.

Da die Tripeptidsynthese am 2-Cl-Trt-Harz nicht gelungen war, wurde der Versuch unternommen, das Tripeptid **81** am Fmoc-Lys(Alloc)-Wang-Harz aufzubauen (Abbildung 15). Vor jeder Kupplung wurde die Fmoc-Schutzgruppe mit Morpholin/DMF (1 : 1) abgespalten, im Anschluß an die Kupplungen wurden eventuell verbliebene freie Aminogruppen durch „Capping“ mit Eisessig/Pyridin (1:3) verschloßen. Die Kupplung des HT-Aminosäurechlorids **65** erfolgte unter Verwendung von HBTU und HOBt als Kupplungsreagenzien und DIEA als Base in DMF. Da die Kupplung mit HBTU und HOBt und DIEA als Base am 2-Chlortritylharz jedoch erfolglos verlaufen war, wurde die Kupplung von Fmoc-Lys(Alloc)-OH mit DPPA und DIEA in DMF in Anlehnung an die Tripeptidsynthesen in Lösung durchgeführt. Die Abspaltung des Tripeptids vom Harz erfolgte mit Reagenz K.

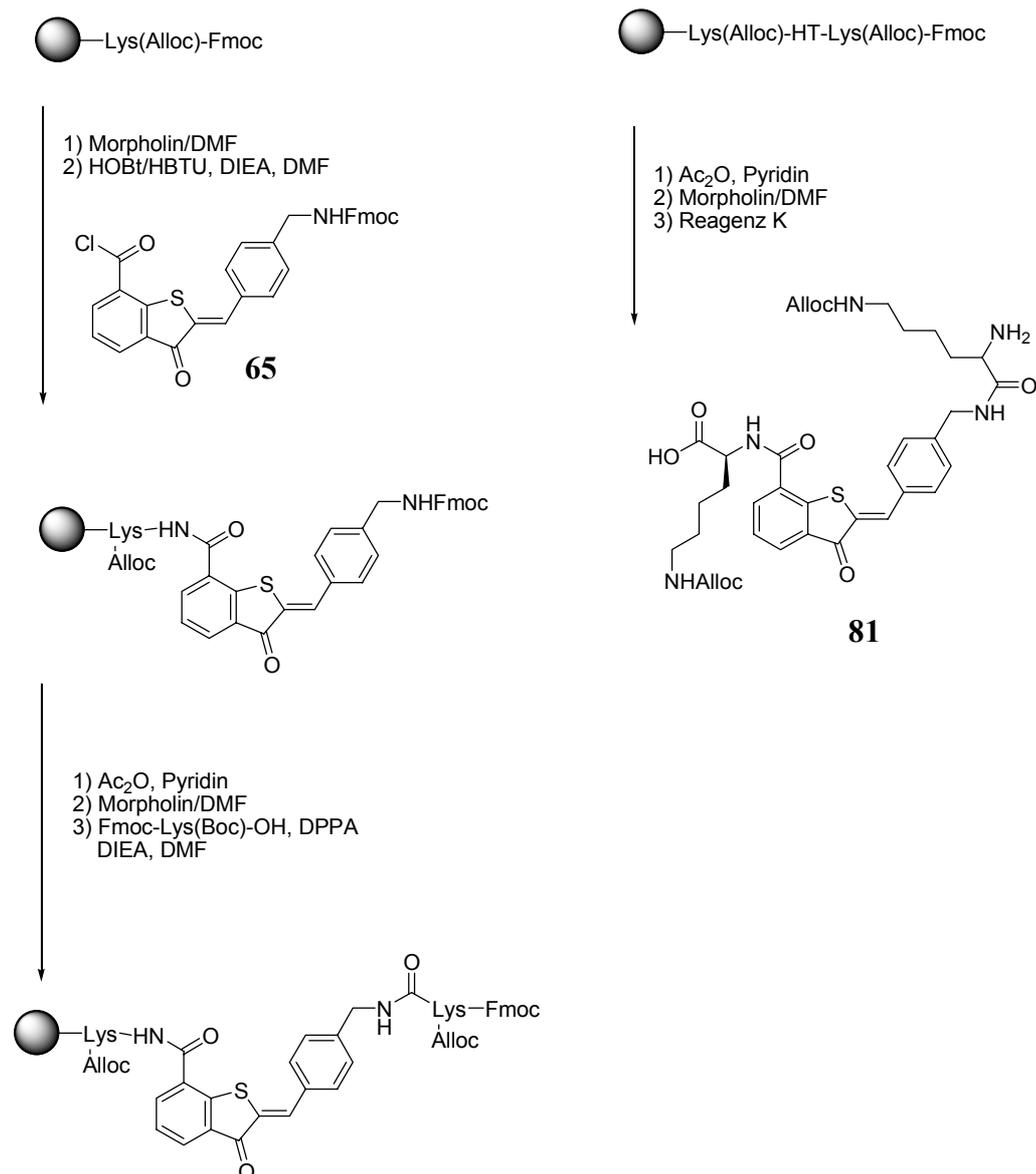


Abbildung 15: Synthese des Tripeptids **81** am Wang-Harz.

Der erhaltene Feststoff wurde  $^1\text{H}$  NMR-spektroskopisch vermessen, wobei das Spektrum einen Anteil an Tripeptid von  $\leq 50\%$  anzeigt. Die Masse des Tripeptids konnte ebenso wie die des Dipeptids im FAB-Massenspektrum gefunden werden. Die Synthese von Peptiden mit HT-Chromophor am Harz war demnach mit DPPA gelungen, jedoch bedarf es Untersuchungen zur Optimierung der Kupplung am N-Terminus der HT-Aminosäure. Da die Kupplung zum Tripeptid lediglich über 15 h geführt worden war, könnte eine Optimierung durch eine Verlängerung der Kupplungszeit oder durch sukzessive Kupplung erfolgen.

Parallel zu den Versuchen zum Aufbau von Tripeptiden mit HT-Chromophor an der festen Phase wurde mit dem Aufbau des Hexapeptids **82** (Abbildung 16) begonnen.

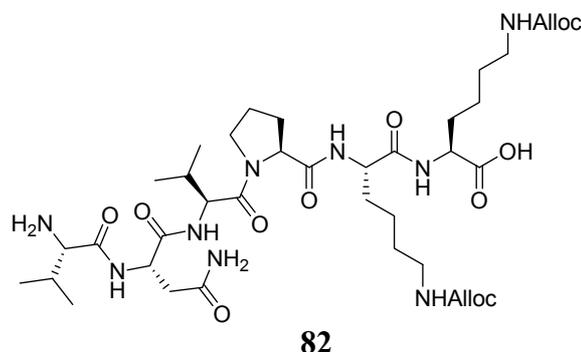


Abbildung 16: Hexapeptid **82**.

Das Hexapeptid **82** wurde am Wang-Harz aufgebaut. Dazu wurde Fmoc-Lys(Alloc)-Wang-Harz verwendet. Der Aufbau des Hexapeptids erfolgte durch ein Protokoll, bei dem erst eine Fmoc-Entschützung mit 20 % Piperidin in DMF, anschließend die Kupplung der nächsten Aminosäure mit DIC/HOBt als Kupplungsreagenzien und DIEA als Base und abschließend, zum Verschließen von eventuell verbliebenen freien Amin-Funktionen, ein „Capping“ mit Acetanhydrid/Pyridin (1:3) durchgeführt wurde. Die Kupplung der Aminosäuren wurde in folgender Reihenfolge durchgeführt: Fmoc-Lys(Alloc)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asn-Val-OH und Fmoc-Val-OH. Die Ausbeute an Hexapeptid **82** betrug 90%. Durch analytische HPLC [Acetonitril/Wasser (30/70),  $R_t = 10$  min] wurde ein Gehalt an Hexapeptid **82** von 56% bestimmt. Die Charakterisierung des Hexapeptids **82** erfolgte durch FAB-Massenspektrometrie und  $^1\text{H}$  NMR- sowie  $^{13}\text{C}$  NMR-spektroskopische Methoden.

Mit diesem Hexapeptid stand nun ein Baustein zur Verfügung, an dem sowohl der Phosphotyrosinrest bzw. der Phosphonomethylphenylalaninrest sowie die Anbindung des Chromophors und Zyklisierung evaluiert werden kann. Auf einen weiteren Aufbau wurde auf Grund der Probleme, die sich bei der Festphasensynthese unter Verwendung der HT- $\omega$ -Aminosäure-Bausteine ergeben hatten und aus Zeitgründen verzichtet.

## 4.4 HT-Verbindungen als Lipoxygenase-Inhibitoren

Lipoxygenasen (LOXn) sind nichthämeisenhaltige Dioxygenasen.<sup>108</sup> Sie wirken als Katalysatoren für den stereospezifischen Einbau von molekularem Sauerstoff in mehrfach ungesättigte Fettsäuren, wobei Hydroperoxyverbindungen entstehen. Diese Reaktion läuft mit hoher Stereo- und Positionsspezifität ab. Bei Säugetieren unterscheidet man 5-, 8-, 12- und 15-Lipoxygenasen entsprechend ihrer Eigenschaft, Arachidonsäure ([5Z,8Z,11Z,14Z]-Eicosa-5,8,11,14-tetraensäure) an unterschiedlichen Positionen zu oxygenieren.

Die mechanistische Ursache für diese Positionsspezifität ist noch nicht im Detail aufgeklärt. Als Grundlage dafür gelten spezifische Substrat-Enzym-Wechselwirkungen, zu denen unter anderem auch die Orientierung der Substratfettsäure im aktiven Zentrum der Lipoxygenase gezählt wird.<sup>108</sup> Lipoxygenasen sind sowohl im Tier- als auch im Pflanzenreich weit verbreitet.<sup>109-112</sup>

Die Klassifizierung von LOXn erfolgt allgemein gemäß ihrer Positionsspezifität, das heißt nach dem C-Atom der Arachidonsäure, an dem der molekulare Sauerstoff eingebaut wird.<sup>113,114</sup>

Bei Säugetieren unterscheidet man 5-, 8-, 12- und 15-LOXn, die die folgenden primären Produkte bilden:

- (5S,6E,8Z,11Z,14Z)-5-Hydroperoxyeicosa-6,8,11,14-tetraensäure (5S-HPETE)
- (8S,5Z,9E,11Z,14Z)-8-Hydroperoxyeicosa-5,9,11,14-tetraensäure (8S-HPETE)
- (12S,5Z,8Z,10E,14Z)-12-Hydroperoxyeicosa-5,8,10,14-tetraensäure (12S-HPETE)
- (12R,5Z,8Z,10E,14Z)-12-Hydroperoxyeicosa-5,8,10,14-tetraensäure (12R-HPETE)
- (15S,5Z,8Z,11Z,13E)-15-Hydroperoxyeicosa-5,8,11,13-tetraensäure (15S-HPETE).

In zellulären Systemen werden die gebildeten Hydroperoxide schnell zu den entsprechenden Hydroxyverbindungen (HETEs) reduziert.

Die erste vollständige Kristallstruktur einer LOX konnte 1993 für die Sojabohnen-LOX-1 aufgeklärt werden.<sup>115</sup> Die Kristallstruktur einer tierischen LOX wurde 1997 publiziert.<sup>116</sup> Es handelt sich dabei um einen Enzym-Inhibitor-Komplex mit einer Auflösung von 2.4 Å. Obwohl die Kristallstruktur nicht alle notwendigen Strukturdaten liefert, gibt sie dennoch einen guten Einblick in die strukturellen Gegebenheiten bei tierischen LOXn. Diese zeigen eine deutliche strukturelle Verwandtschaft zu der Sojabohnen-LOX-1 (Abbildung 17).

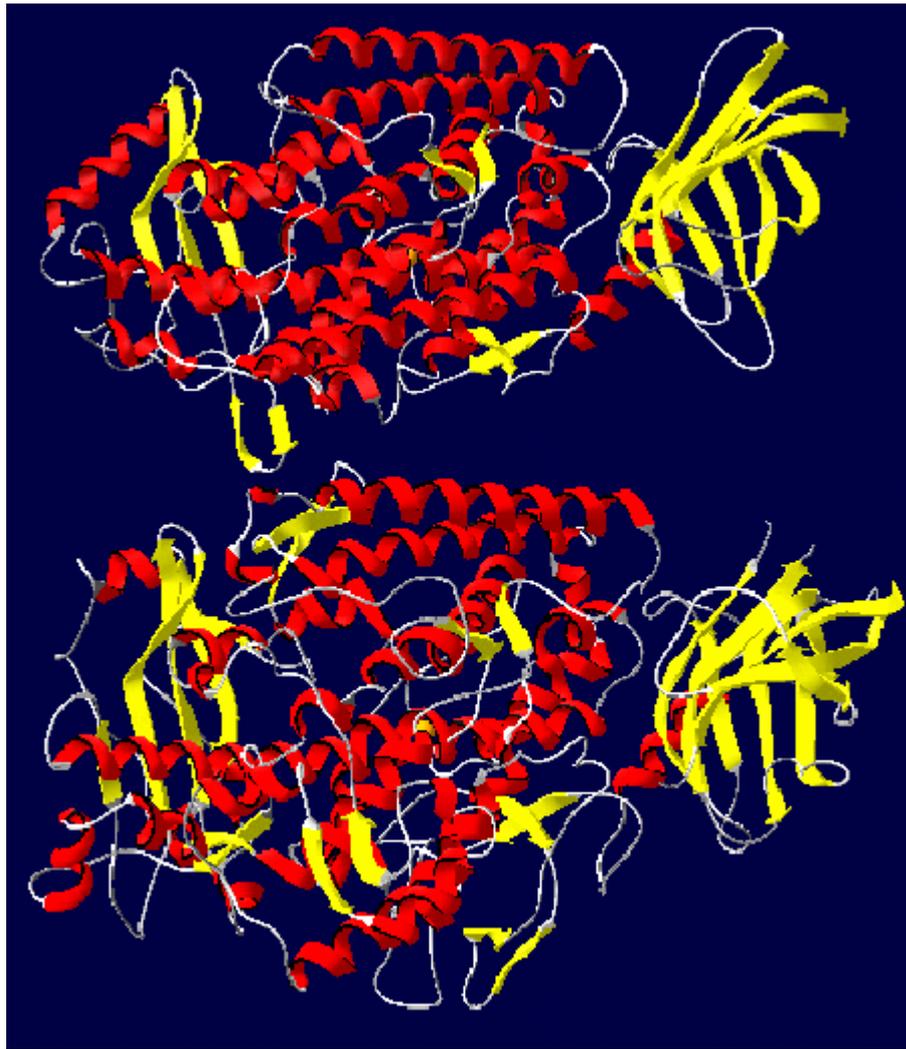


Abbildung 17: Kaninchen-Retikulozyten 15-LOX- (oben) und Sojabohnen-LOX-1-Struktur (unten) in der Backbone-Darstellung. Helix: rot,  $\beta$ -Faltblatt: gelb. Eine deutliche strukturelle Verwandtschaft ist trotz des Größenunterschieds zu erkennen. (Abbildung aus Literaturstelle<sup>108</sup> entnommen)

Aus den röntgenabsorptionsspektroskopischen Daten der Kaninchen-Retikulozyten LOX wurde geschlossen, daß *trans* zu His 541 ein Wassermolekül als sechster Eisenligand vorliegt.<sup>117</sup> Diese Position liegt an der Substratbindungstasche, einem großen Hohlraum, so daß eine Verdrängung des Wassermoleküls durch Substrate oder kompetitive Inhibitoren möglich wäre. In der Kristallstruktur sind die sechs Liganden am Eisenzentrum in einem annähernd regelmäßigen Oktaeder angeordnet.

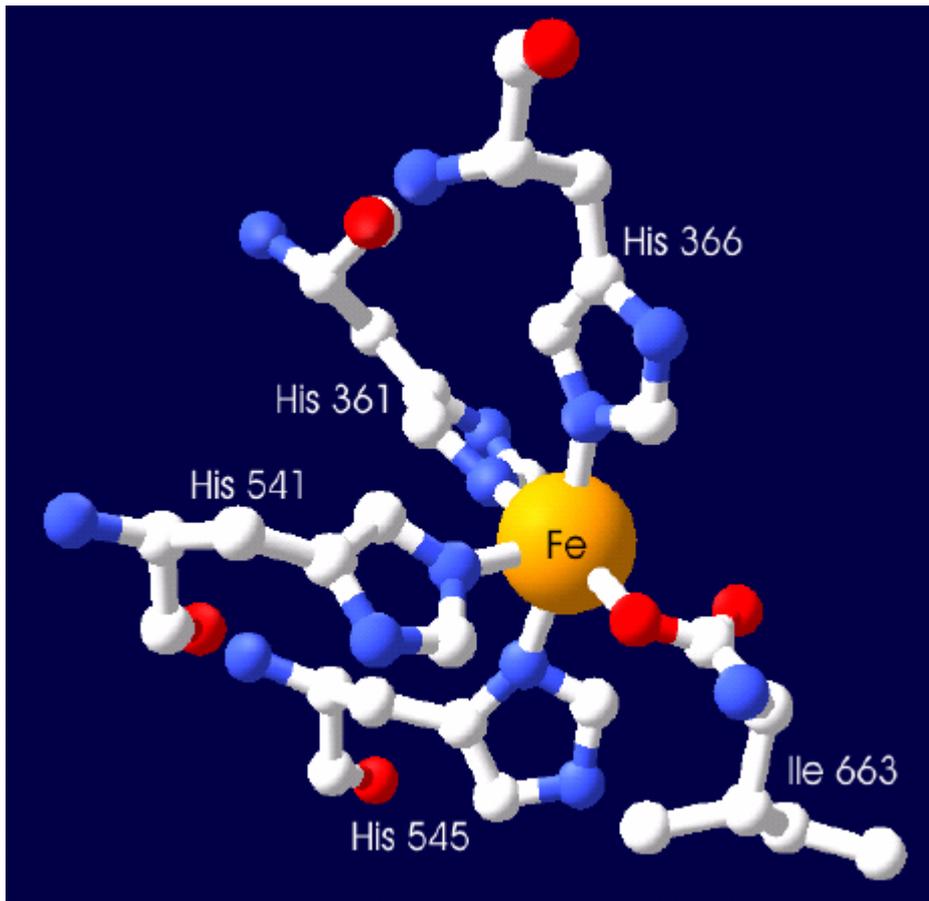


Abbildung 18: Die Eisenligandensphäre der Kaninchen-Retikulozyten 15-LOX. Vier Liganden bestehen aus Histidinen und ein Ligand aus dem C-terminalen Isoleucin. Als sechster Ligand kommt ein Wassermolekül in Frage (hier nicht dargestellt). (Abbildung aus Literaturstelle<sup>108</sup> entnommen)

In LOXn befindet sich, wie bereits erwähnt, ein großer Hohlraum. An der einen Seite dieses Hohlräum, der Substratbindungstasche, ist das katalytisch aktive Eisen lokalisiert.<sup>108</sup> Der Hohlraum besitzt eine trichterförmige Öffnung an der Oberfläche des Proteins und ist etwa in Höhe des Eisens gekrümmt, so daß eine einem Stiefel ähnliche Form entsteht. Abgesehen von zwei Ausnahmen sind die Aminosäuren, die diese Tasche begrenzen, hydrophob und hochkonserviert. Am Eingang der Substratbindungstasche liegt die positiv geladene Aminosäure Arg 403, die mit der Carboxylgruppe der Substratfettsäure in Wechselwirkung treten könnte. In der humanen 15-LOX bewirkt die Mutagenese der äquivalenten Position zu einem Leucin eine starke Verringerung von Reaktivität und Substrataffinität.<sup>118</sup>

LOX-Inhibitoren sind auf Grund der Beteiligung von tierischen LOXn an zahlreichen pharmakologisch relevanten Prozessen wie Arteriosklerose,

Entzündungsreaktion und Karzinogenese von großem Interesse. Sie spielen neben dem therapeutischen Einsatz in der Wissenschaft eine große Rolle. Der Einsatz LOX-Isoform-spezifischer Inhibitoren kann in *in vivo* Versuchen zur weiteren Aufklärung der Funktion von LOXn beitragen, indem nach gezieltem Ausschalten einer spezifischen LOX Veränderungen beobachtet werden.

Fehlende Kristallstrukturen haben lange Zeit eine gezielte Entwicklung potentieller Inhibitoren (rational drug design) verhindert. Dies änderte sich erst durch die 1997 veröffentlichte Struktur<sup>116</sup> des Kaninchen-Retikulozyten 15-LOX-Inhibitor-Komplexes. Inzwischen wurde jedoch eine Vielzahl von mehr oder weniger spezifischen LOX-Inhibitoren entdeckt, zu denen auch das Ebselen zählt (Abbildung 19).

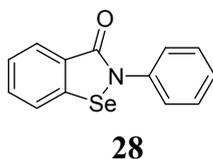


Abbildung 19: Ebselen **28**.

Ebselen [2-Phenyl-1,2-benziselenazol-3(2H)-on] (Abbildung 19) ist eine selenorganische Verbindung, die nur eine geringe Toxizität besitzt und ein breites Spektrum an pharmakologisch interessanten Wirkungen zeigt.<sup>119</sup>

Ebselen wurde ursprünglich als antiinflammatorischer Wirkstoff entwickelt.<sup>120</sup> Es ist darüber hinaus in der Lage, die Kaninchen-Retikulozyten 15-LOX<sup>121</sup> zu hemmen und besitzt zudem zellschützende<sup>122</sup> und antiarteriosklerotische<sup>123</sup> Eigenschaften. Ebselen ist außerdem geeignet für die effektive Reduktion von Hydroperoxiden beispielsweise in Biomembranen und Lipoproteinen. In einer 2003 veröffentlichten Dissertation wurde Ebselen als LOX-Inhibitor untersucht.<sup>108</sup>

Bei LOXn unterscheidet man den katalytisch inaktiven Grundzustand [das Nichthämeisen liegt in seiner reduzierten Form vor (Fe[II]-LOX)] und den katalytisch aktiven Zustand [enthält dreiwertiges Eisen enthält (Fe[III]-LOX)]. Ebselen kann mit SH-Gruppen reagieren.<sup>124</sup> Die Kaninchen-Retikulozyten 15-LOX enthält 15 freie Cysteine.<sup>125</sup>

Es wurden Untersuchungen zur Bindung von radioaktiv markiertem Ebselen an LOX durchgeführt, um herauszufinden, inwiefern die Bindung von Ebselen die

katalytisch inaktive Eisen[II]-LOX verändert. Es wurde festgestellt, daß es zu einer kovalenten Bindung von Ebselen an SH-Gruppen von Cysteinen im Enzym kommt und daß so die Aktivität der LOX inhibiert wird.<sup>108</sup> Diese Bindung konnte durch Zugabe von Glutathion wieder rückgängig gemacht werden, und der entstandene Glutathion-Ebselen-Komplex konnte entfernt werden. Im Anschluß wurde untersucht, ob nach Entfernen des Ebselens eine Wiederherstellung der Aktivität des Enzyms erfolgt; eine Aktivität konnte jedoch nicht mehr festgestellt werden, d.h. die LOX wurde irreversibel gehemmt. Die Bindung von Ebselen an freie SH-Gruppen des Enzyms ist also wahrscheinlich nicht die alleinige Ursache für seine Hemmwirkung.

Durch EXAFS-Messungen konnte die Struktur des LOX-Ebselen-Komplexes ermittelt werden (Abbildung 20).

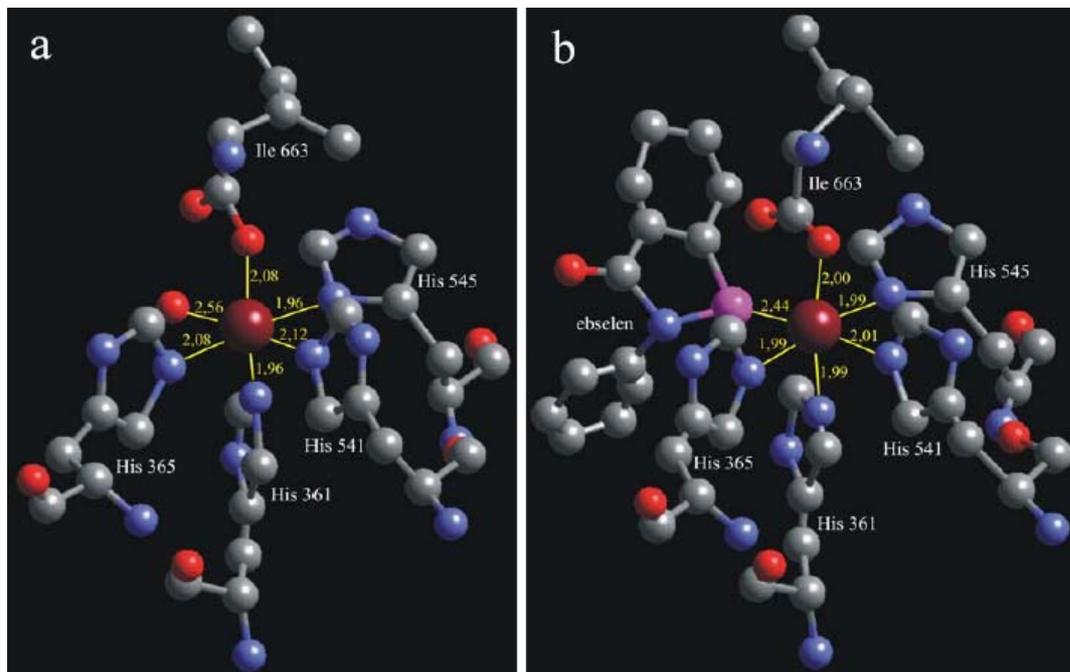


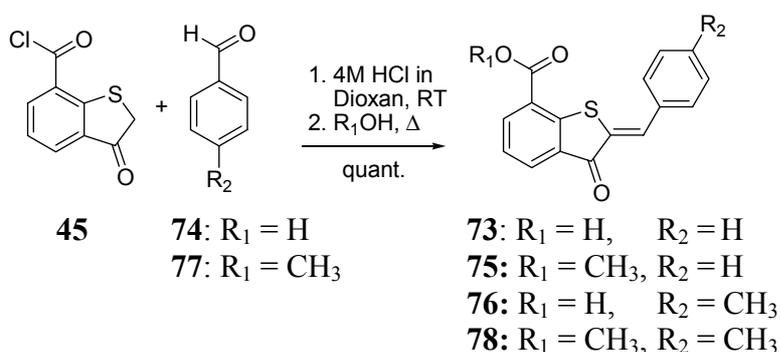
Abbildung 20: Modelle der Eisenligandensphäre der nativen LOX (a) und des LOX-Ebselen-Komplex (b). Die Abstände in Å wurden aus den EXAFS-Messungen ermittelt. Für beide Modelle ergibt sich ein sechsfach koordiniertes Eisen mit leicht verzerrter oktaedrischer Anordnung. Das Wasser wurde durch Ebselen als sechsten Liganden ersetzt. (Abbildung aus Literaturstelle<sup>108</sup> entnommen)

Die erhaltenen Ergebnisse sprechen dafür, daß das Wasser durch Ebselen als sechsten Eisenliganden unter Ausbildung einer Selen-Eisen-Wechselwirkung verdrängt.

Eine detaillierte Untersuchung des Hemmmechanismus ergab, daß die katalytisch aktive Eisen[III]-LOX reversibel durch Ebselen inhibiert wird, woraus sich schließen läßt, daß Ebselen mit dem Substrat um die Bindung am aktiven Zentrum in Konkurrenz tritt.<sup>108</sup>

Auf Grund der hohen Strukturhomologie von Ebselen mit dem HT-Grundgerüst sind die photoschaltbaren HT-Verbindungen **73**, **75**, **76**, **78** ebenso wie die Verbindungen **53**, **54** und **56** interessante Kandidaten als 15-LOX-Inhibitoren, da es vorstellbar wäre, daß eines der beiden Doppelbindungsisomeren in die LOX penetriert und sich bei Lichtaktivierung im Enzym verhakt und dieses so inhibiert.

Diese Überlegungen waren daher Anlaß zur Synthese der HT-Verbindungen **73**, **75**, **76**, **78** (Schema 33). Diese Strukturen besitzen kürzere Reste bzw. keine Reste am HT-Grundgerüst.



Schema 33: Synthese der HT-Verbindungen **73**, **75**, **76**, **78**.

Die Darstellung der HT-Verbindungen **73**, **75**, **76**, **78** erfolgte durch säurekatalysierte Aldolkondensation mit 4 M HCl in Dioxan bei Raumtemperatur und anschließender Hydrolyse, bzw. Veresterung mit Methanol unter Rückfluß. Die Verbindungen fielen alle in quantitativer Ausbeute an und eine anschließende Reinigung war nicht notwendig.

Die Untersuchungen zur Inhibitor-Aktivität der HT-Derivate **73**, **75**, **76**, **78**, ebenso wie der Verbindungen **53**, **54**, **56** werden demnächst in unserem Arbeitskreis begonnen.

## 4.5 Photochemische Eigenschaften von HT-Dicarbonsäuren und HT- $\omega$ -Aminosäuren

Die Untersuchung der photochromen Eigenschaften der HT-Verbindungen erfolgte mit Hilfe der UV/Vis-Spektroskopie sowie der  $^1\text{H}$  NMR-Spektroskopie. Die Lage der Absorptionsbanden im UV/Vis-Spektrum gibt Aufschluß über den Einfluß von Substituenten und Lösungsmitteln auf das Absorptionsverhalten der jeweiligen photochromen Verbindung. Mit Hilfe der  $^1\text{H}$  NMR-Spektroskopie läßt sich eine Aussage über die Verhältnisse der Photoisomere im photostationären Zustand (PSS) und die Halbwertszeit ( $t_{1/2}$ ) der *E*-Isomere nach Bestrahlung bei 406 nm treffen.

Die photochemische Isomerisierung von HT-Verbindungen erfolgt über eine *E*-/*Z*-Isomerisierung der zentralen Doppelbindung. HT-Verbindungen bestehen zum einen aus einem Thioindigo-Teil und zum anderen aus einem Stilben-Teil (Abbildung 21), die beide das Absorptionsverhalten beeinflussen.

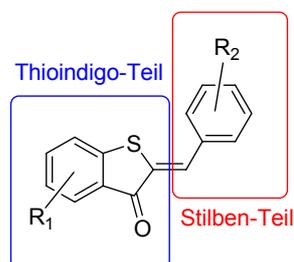
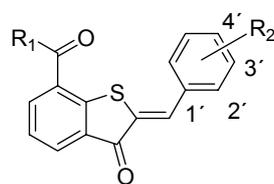


Abbildung 21: Unterteilung von HT-Verbindungen in Thioindigo- und Stilben-Teil.

Die photochemische Isomerisierung wurde durch Bestrahlung mit Hilfe einer optischen Bank realisiert (Abbildung 27 im Anhang).

In Tabelle 6 sind die UV/Vis-Daten von HT-Dicarbonsäure-Derivaten und HT-Aminosäure-Derivaten vor und nach Bestrahlung bei 406 nm bzw. 480 nm zusammengestellt. Ebenso enthalten sind die durch  $^1\text{H}$  NMR-spektroskopische Messungen erhaltenen Verhältnisse der Photoisomere im photostationären Zustand (PSS) sowie die Halbwertszeiten ( $t_{1/2}$ ) der *E*-Isomere.

Tabelle 6: UV/Vis-Daten von HT-Dicarbonsäure-Derivaten und HT-Aminosäure-Derivaten.



**53:** R<sub>1</sub> = OMe, R<sub>2</sub> = 4'-OCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Me

**54:** R<sub>1</sub> = N(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>, R<sub>2</sub> = 4'-OCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Bu

**56:** R<sub>1</sub> = OMe, R<sub>2</sub> = 4'-CO<sub>2</sub>Me

**57:** R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = 4'-OCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H

**62:** R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = 4'-CH<sub>2</sub>NHBoc

**64:** R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = 4'-CH<sub>2</sub>NHFmoc

**63:** R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = 3'-CH<sub>2</sub>NHBoc

**66:** R<sub>1</sub> = MeO-Lys-NH, R<sub>2</sub> = 4'-CH<sub>2</sub>NHBoc

**71:** R<sub>1</sub> = OMe, R<sub>2</sub> = 4'-CH<sub>2</sub>NHBoc

**73:** R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = 4'-H

**75:** R<sub>1</sub> = OMe, R<sub>2</sub> = 4'-H

**76:** R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = 4'-Me

**78:** R<sub>1</sub> = OMe, R<sub>2</sub> = 4'-Me

HT	LM	$\lambda_{\max}$ [nm]		$\epsilon$ $\left[ \frac{dm^{-3}}{M * cm} \right]$	Isosb. Punkte	$C_E^{a,b}$ [%]	$t_{1/2}$ [h]	$C_Z^{a,c}$ [%]
		Z	E <sup>d</sup>					
<b>53</b>	DCM	440	450	13830	376, 455	84 <sup>e</sup>	138 <sup>e</sup>	95 <sup>e</sup>
<b>53</b>	MeOH	438	457	7453	379, 456	-	-	-
<b>56</b>	DCM	438	447	10846	365, 454	90 <sup>e</sup>	-	-
<b>54</b>	DCM	443	451	18808	377, 456	-	-	-
<b>57</b>	MeOH	444	461	8667	381, 461	80 <sup>f</sup>	20.5 <sup>f</sup>	81 <sup>f</sup>
<b>60</b>	DCM	440	449	9896	369, 453	88 <sup>e</sup>	49.4 <sup>e</sup>	90 <sup>e</sup>
<b>60</b>	MeOH	437	451	6146	371, 451	-	-	-
<b>62</b>	DCM	438	450	6290	366, 449	-	-	-
<b>62</b>	MeOH	442	450	6155	365, 457	82 <sup>f</sup>	22 <sup>f</sup>	81 <sup>f</sup>
<b>64</b>	DMSO	435	448	13980	365, 455	54 <sup>g</sup>	9 <sup>g</sup>	95 <sup>g</sup>
<b>63</b>	MeOH	439	446	2328	362, 456	68 <sup>f</sup>	1 <sup>f</sup>	98 <sup>f</sup>
<b>66</b>	DCM	440	447	3022	364, 454	78 <sup>e</sup>	24.4 <sup>e</sup>	-
<b>73</b>	MeOH	432	445	7920	360, 450	-	-	-
<b>75</b>	MeOH	431	445	6942	361, 446	-	-	-
<b>76</b>	MeOH	433	450	12840	366, 458	-	-	-
<b>78</b>	MeOH	437	453	20515	371, 450	-	-	-

<sup>a</sup>Verhältnisse wurden durch <sup>1</sup>H NMR-Spektroskopie bestimmt. <sup>b</sup>Umsatz zum (E)-Isomer wurde im PSS bestimmt ( $\lambda = 406$  nm). Umsatz zum (Z)-Isomer wurde im PSS bestimmt ( $\lambda = 480$  nm). <sup>d</sup>Bestimmt im PSS nach Bestrahlung bei 406 nm. <sup>e</sup>CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 25 °C. <sup>f</sup>CD<sub>3</sub>OD, 25 °C. <sup>g</sup>d<sup>6</sup>-DMSO, 25 °C.

Die Wahl der Lösungsmittel erfolgte in Abhängigkeit des Lösungsverhaltens der jeweiligen Verbindung. Da die photochemischen Eigenschaften eines Chromophors vom Lösungsmittel abhängig sind, in dem die Messung erfolgt (Solvatochromie), wurden außerdem Lösungsmittel verwandt, die einen Vergleich der erhaltenen Daten für die molaren Extinktionskoeffizienten und die  $\lambda_{\max}$ -Werte mit den Werten von Yamaguchi et al. und Fyles et al. ermöglichten.<sup>9-12,56-59,73</sup> Die freien Carbonsäuren konnten teilweise in Dichlormethan selbst in den geringen Konzentrationen nicht gelöst werden, die für die UV/Vis-Spektroskopie notwendig sind und wurden daher in Methanol vermessen. Verbindung **64** ließ sich auf Grund

ihrer schlechten Löslichkeit lediglich in DMSO vermessen. Sämtliche vollgeschützten Verbindungen wurden in Dichlormethan vermessen.

Die Umsätze der *Z*/*E*-Isomerisierung nach Bestrahlung bei 406 nm ( $C_E$ ) und 480 nm ( $C_Z$ ) wurden durch  $^1\text{H}$  NMR-Spektroskopie ermittelt. Dazu wurden Substanzproben mit einer Konzentration von ca.  $10^{-2}$  mol/l hergestellt. Die jeweiligen Lösungsmittel sind für die Substanzen in Tabelle 6 vermerkt. Es wurden von jeder Substanz zwei Proben oben angegebener Konzentration hergestellt, die parallel in einer Zelle bestrahlt wurden. Nach Bestrahlung bei  $\lambda = 406$  nm bis zum PSS (Ermittlung von  $C_E$ ) wurde die eine Probe bei Raumtemperatur im Dunkeln aufbewahrt und in regelmäßigen Abständen  $^1\text{H}$  NMR-spektroskopisch vermessen, um die thermische Rückreaktion zu verfolgen, wie Abbildung 22 exemplarisch für **53** zeigt.

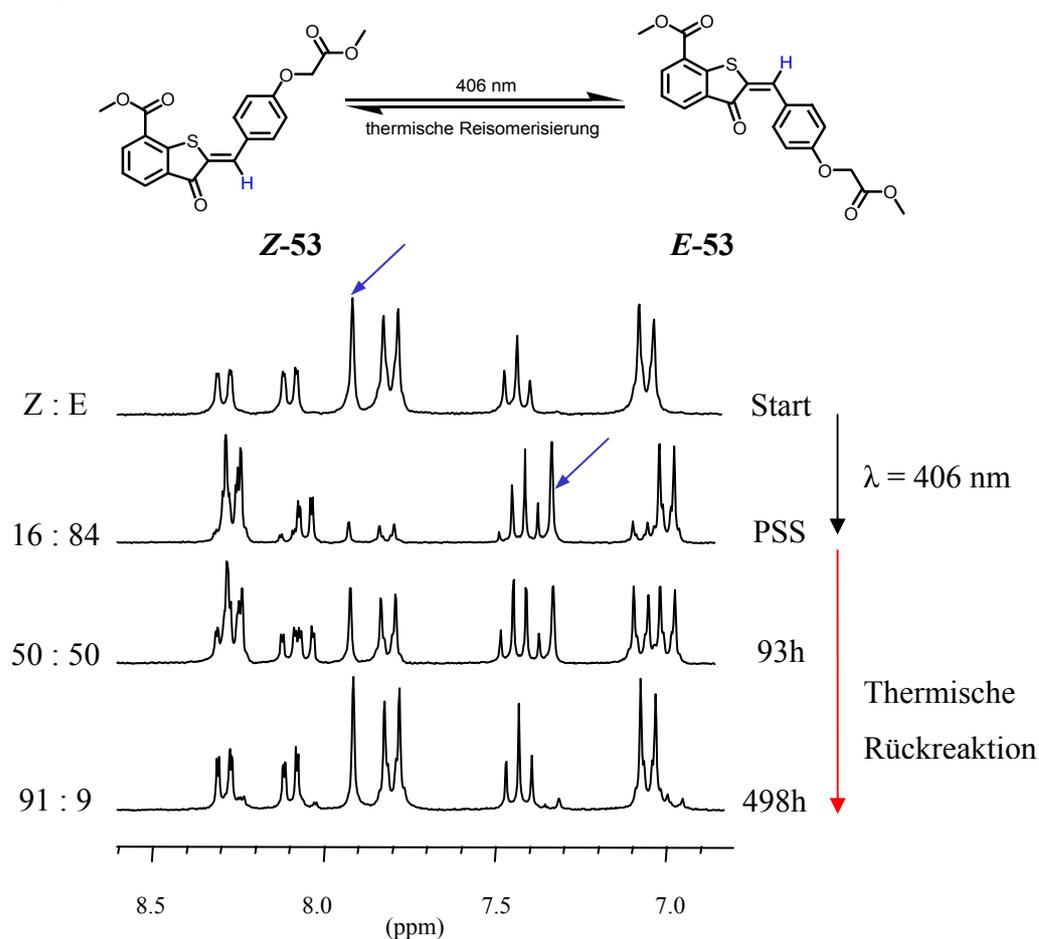


Abbildung 22:  $^1\text{H}$  NMR-spektroskopische Untersuchung der Photoisomerisierung bei 406 nm und anschließende thermische Rückreaktion von **53**.

Die zweite Probe wurde bei  $\lambda = 480$  nm unter *E*- zu *Z*-Isomerisierung (Rückreaktion) bestrahlt, bis das PSS angereichert mit dem *Z*-Isomer erreicht war. Der Umsatz des *Z*-Isomers zum *E*-Isomer und ebenso die Rückreaktion kann im  $^1\text{H}$  NMR-Spektrum einfach anhand des Hochfeld-Shifts des vinylichen Protons der zentralen Doppelbindung verfolgt werden.

Für alle untersuchten para-substituierten Verbindungen konnte ein Gehalt an *E*-Isomer im PSS nach Bestrahlung bei 406 nm sowohl in Methanol als auch in Dichlormethan von  $\geq 80$  % festgestellt werden, der höchste Wert wurde für Verbindung **56** mit  $C_E = 90\%$  erhalten. Die Halbwertszeiten lagen bei mindestens 20 h (**57**, **62**, **66**). Verbindung **60** zeigte eine Halbwertszeit von mehr als 2 d, für Verbindung **53** wurde  $t_{1/2} \approx 6$  d (138 h) beobachtet. Unter Berücksichtigung der Meßmethoden und von Lösungsmiteleinflüssen stimmen diese Ergebnisse mit den Daten überein, die von Yamaguchi et al.<sup>56-58</sup> bzw. von Fyles und Mitarbeiter<sup>73</sup> in zurückliegenden Jahren publiziert wurden. Die Halbwertszeit der meta-substituierten HT- $\omega$ -Aminosäure **63** in  $\text{CD}_3\text{OD}$  lag mit 1 h verglichen mit der para-substituierten HT- $\omega$ -Aminosäure **62** ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 22 h) sehr niedrig. Fyles et al. konnten dagegen keine Unterschiede zwischen den Halbwertszeiten der synthetisierten meta-substituierten HT-Bausteine gegenüber den para-substituierten Derivaten feststellen.

Der Anteil am *Z*-Isomer der vermessenen Verbindungen liegt im PSS nach Bestrahlung bei 480 nm ( $C_Z$ ) zwischen 80 und 95 %.

Abbildung 23 zeigt das UV-Spektrum von **53** in Dichlormethan vor (schwarz) und nach (rot) Bestrahlung bei 406 nm. Die Konzentrationen der Verbindungen für die UV/Vis-Spektroskopie lagen in Abhängigkeit von der Löslichkeit im jeweiligen Lösungsmittel bei  $10^{-4}$ - $10^{-5}$  mol/l.

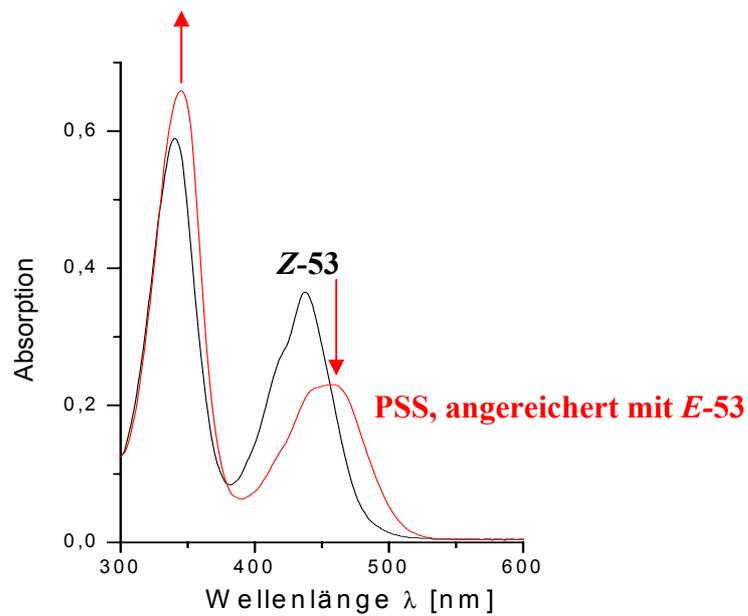
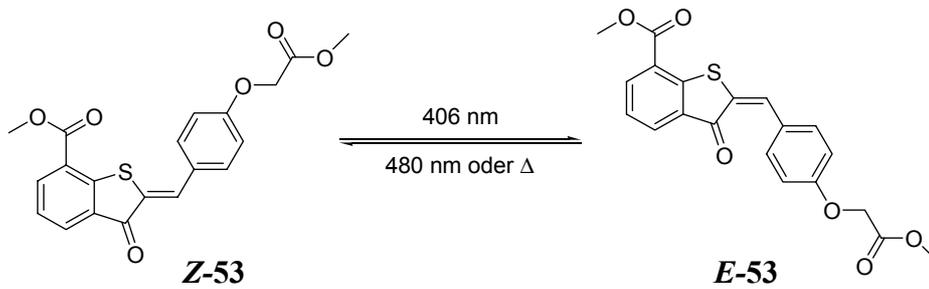


Abbildung 23: UV-Spektrum von **53** vor (**Z-Isomer**) und nach (**E-Isomer** angereichert) Bestrahlung bei 406 nm (DCM,  $c = 4.83 \cdot 10^{-5}$  mol/l).

Die zeitabhängige Aufnahme von UV-Spektren unter Bestrahlung mit Licht geeigneter Wellenlänge erlaubt die Bestimmung isosbestischer Punkte. Ein Beispiel zeigt Abbildung 24.

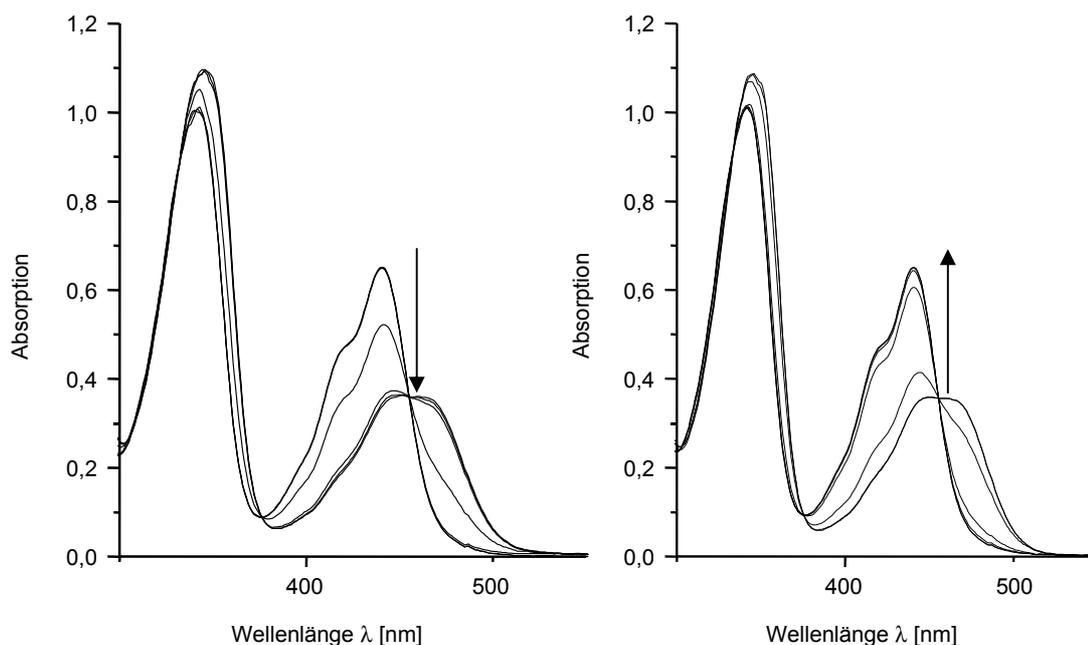


Abbildung 24: Zeitaufgelöste Aufnahme von UV-Spektren für **53**:  $c = 4.83 \cdot 10^{-5}$  mol/l in Dichlormethan, XBO 1000 W; links: Z-**53** 406-nm Filter,  $T_{max} = 50\%$ , HW: 10 nm, PSS nach 300 s, rechts: E-**53** 480-nm Filter,  $T_{max} = 50\%$ , HW: 10 nm, PSS nach 540 s.

Alle vermessenen Verbindungen zeigten jeweils zwei klare isobestische Punkte im Bereich zwischen 362 nm und 381 nm und im Bereich zwischen 449 nm bis 461 nm (Tabelle 6) was auf eine Photoreaktion 1. Ordnung schließen läßt. Die  $\lambda_{max}$ -Werte des ( $\pi$ - $\pi^*$ )-Übergangs der Z-Isomere aller hier gezeigten Verbindungen liegen im Bereich zwischen 437 nm und 444 nm. Die Banden, die nach Bestrahlung mit dem entsprechenden E-Isomer angereichert sind, sind gegenüber den Banden des reinen Z-Isomers bathochrom verschoben. Diese Beobachtungen stehen in Einklang mit der Literatur.<sup>9-12,56,57,59,73</sup>

Die UV-Spektren von Z-**53**, wie auch von allen anderen para-substituierten Verbindungen zeigen eine leichte Schulter links vom Maximum, dieser Effekt ist in Dichlormethan stärker ausgeprägt als in Methanol.

( $\pi$ - $\pi^*$ )-Übergänge werden beim Übergang von unpolaren zu polaren Lösungsmitteln normalerweise bathochrom verschoben (positive Solvatochromie).<sup>126</sup> Dieser Effekt kann jedoch beim Vergleich der UV-Spektren von Z-**53** in Dichlormethan ( $\lambda_{max} = 440$  nm) und Methanol ( $\lambda_{max} = 438$  nm) nicht beobachtet werden. Gleiches gilt für Z-**60** (DCM:  $\lambda_{max} = 440$  nm; MeOH:  $\lambda_{max} = 437$  nm). Z-**57**

hingegen zeigt diesen Effekt der positiven Solvatochromie, wenn auch nur geringfügig (DCM:  $\lambda_{\max} = 438$  nm; MeOH:  $\lambda_{\max} = 442$  nm). Genau umgekehrt verhält es sich dagegen für die entsprechenden Banden die mit dem *E*-Isomer angereichert sind. Für *E*-**53** verschiebt sich  $\lambda_{\max} = 450$  nm in Dichlormethan zu  $\lambda_{\max} = 457$  nm in Methanol, was einem  $\Delta\lambda = 7$  nm entspricht. Für *E*-**60** ist dieser Effekt wiederum nicht ganz so stark ausgeprägt, aber dennoch vorhanden (DCM:  $\lambda_{\max} = 449$  nm; MeOH:  $\lambda_{\max} = 451$  nm;  $\Delta\lambda = 2$  nm). *E*-**57** hingegen zeigt diesen Effekt nicht (DCM:  $\lambda_{\max} = 450$  nm; MeOH:  $\lambda_{\max} = 450$  nm).

Zusätzlich resultiert aus diesen Ergebnissen, daß die Unterschiede zwischen den  $\lambda_{\max}$ -Werten des *Z*- und des *E*-Isomers für **53** und **60** in Methanol weitaus größer sind als in Dichlormethan [**53**; DCM:  $\Delta\lambda_{\max} (Z-E) = 10$  nm; MeOH:  $\Delta\lambda_{\max} (Z-E) = 19$  nm); **60**; DCM:  $\Delta\lambda_{\max} (Z-E) = 9$  nm; MeOH:  $\Delta\lambda_{\max} (Z-E) = 13$  nm)]. Ganz anders verhält es sich bei **57** [DCM:  $\Delta\lambda_{\max} (Z-E) = 12$  nm; MeOH:  $\Delta\lambda_{\max} (Z-E) = 8$  nm)], wo die Absorptionsmaxima näher zusammenrücken.

Der Vergleich der  $\lambda_{\max}$ -Werte der im Stilben-Teil donorsubstituierten Verbindung **53** mit denen der akzeptorsubstituierten Verbindung **56** in Dichlormethan zeigt eine leichte bathochrome Verschiebung für **53** gegenüber **56**. Dies ist im Einklang mit allgemeinen Beobachtungen *Z*-/*E*-isomerisierbarer photochromer Verbindungen in der Literatur.<sup>126</sup>

4'-Donorsubstituierte HT-Derivate besitzen die längste Konjugationskette und sollten dem gemäß das längstwellige Absorptionsspektrum aufweisen. Der Vergleich der meta- und para-substituierten Aminosäuren **63** und **62** in Methanol zeigt, daß die para-substituierte Verbindung **62** gegenüber der meta-substituierten Verbindung **63** zu längeren Wellenlängen verschoben ist. Da die CH<sub>2</sub>NHBoc-Reste am Stilben-Teil lediglich einen induktiven Effekt und keinen Resonanzeffekt ausüben, ist der bathochrome Effekt für den para-substituierten Baustein **62** nicht ganz so stark ausgeprägt, als wenn die Amino-Funktion direkt mit dem Aromaten verbunden wäre.

Den UV-Daten in Tabelle 6 kann man weiterhin entnehmen, daß die molaren Extinktionskoeffizienten  $\epsilon$  in Dichlormethan im allgemeinen größer sind als für dieselbe Verbindung in Methanol.

## 4.6 Analytische Daten zu HT-Verbindungen

Ein charakteristisches Signal, daß jede Hemithioindigo-Verbindung zeigt, ist das Singulett, das im  $^1\text{H}$  NMR-Spektrum für das Proton an der Doppelbindung auftritt (Tabelle 7). Die chemische Verschiebung liegt in Abhängigkeit vom Lösungsmittel und den Substituenten am Thioindigo- und am Stilben-Teil im Bereich zwischen 7.80 ppm und 7.98 ppm.

Weiterhin erhält man auch eine charakteristische chemische Verschiebung für den Carbonyl-Kohlenstoff des zentralen  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Ketons. Diese liegt für die para-substituierten Verbindungen im Bereich zwischen 186.8 ppm und 188.8 ppm und für die meta-substituierte Verbindung **63** bei 191.0 ppm.

Tabelle 7: Charakteristische  $^1\text{H}$  NMR-,  $^{13}\text{C}$  NMR- und IR-Daten von HT-Derivaten.

HT	Lösungsmittel	$^1\text{H}$ -NMR $\delta$ [ppm] (C=CH)	$^{13}\text{C}$ -NMR $\delta$ [ppm] (C=O)	IR [ $\text{cm}^{-1}$ ] (C=O)
<b>52</b>	$\text{CDCl}_3$	7.92	188.0, 167.4, 165.7	1751, 1714, 1678
<b>53</b>	$\text{CDCl}_3$	7.94	188.1, 168.8, 165.8	1774, 1712, 1678
<b>54</b>	$\text{CDCl}_3$	7.95	188.0, 167.2, 166.9	1751, 1677
<b>55</b>	$\text{CDCl}_3$	7.91	187.2, 168.9, 167.2	1740, 1678
<b>56</b>	$\text{CDCl}_3$	7.97	188.1, 166.3, 165.6	1733, 1709, 1688
<b>57</b>	$\text{d}^6$ -DMSO	7.89	187.2, 169.6, 166.3	1704, 1639
<b>58</b>	$\text{d}^6$ -DMSO	7.94	187.0, 169.6, 165.5	1743, 1676
<b>59</b>	$\text{d}^6$ -DMSO	7.90	186.8, 169.6, 164.3	1740, 1712, 1669
<b>60</b>	$\text{CDCl}_3$	7.97	188.2, 165.6, 155.9	1710, 1681
<b>61</b>	$\text{CDCl}_3$	7.98	187.4, 168.8, 160.5, 155.9	1742, 1709, 1685
<b>62</b>	$\text{d}^6$ -DMSO	7.90	187.3, 166.2, 155.8	1684
<b>62</b>	$\text{CD}_3\text{OD}$	7.88	-	-
<b>63</b>	$\text{CD}_3\text{OD}$	7.83	191.0, 172.5, 158.6	1695
<b>64</b>	$\text{d}^6$ -DMSO	7.80	188.8, 167.6, 156.3	1693, 1677
<b>65</b>	$\text{d}^6$ -DMSO	7.90	187.2, 166.2, 156.4	1732, 1698
<b>66</b>	$\text{CDCl}_3$	7.91	188.4, 172.9, 165.5, 156.7, 155.9	1696, 1653

Tabelle 7: Charakteristische  $^1\text{H}$  NMR-,  $^{13}\text{C}$  NMR- und IR-Daten von HT-Derivaten. (Fortsetzung)

HT	Lösungsmittel	$^1\text{H}$ -NMR $\delta$ [ppm] (C=CH)	$^{13}\text{C}$ -NMR $\delta$ [ppm] (C=O)	IR [ $\text{cm}^{-1}$ ] (C=O)
67	$\text{CDCl}_3$	7.84	188.4, 172.8, 172.3, 165.5, 156.8, 156.7, 156.0	1700, 1654
68	$\text{d}^6$ -DMSO	7.89	187.5, 171.1, 165.2, 156.3, 156.0	1721, 1702
69	$\text{d}^6$ -DMSO	7.87	187.5, 172.1, 171.0, 165.1, 156.0, 156.0, 155.8	1682
70	$\text{d}^6$ -DMSO	7.92	187.5, 172.7, 169.3, 156.0	1739, 1643
72	$\text{d}^6$ -DMSO	7.89	187.6, 171.9, 165.1, 156.3	1701, 1680
71	$\text{CD}_3\text{OD}$	7.88	-	-
71	$\text{d}^6$ -DMSO	7.95	187.0, 164.9	1725, 1733, 1666
73	$\text{d}^6$ -DMSO	7.95	187.1, 166.1	1715, 1684
75	$\text{CDCl}_3$	7.97	-	1716, 1681
75	$\text{d}^6$ -DMSO	-	187.0, 164.8	-
76	$\text{d}^6$ -DMSO	7.93	187.1, 166.1	1714, 1665
78	$\text{CDCl}_3$	7.97	-	1713, 1677
78	$\text{d}^6$ -DMSO	-	187.0, 164.9	-

In den IR-Spektren können die Schwingungsbanden der Carbonyl-Funktionen zwischen  $1665\text{ cm}^{-1}$  und  $1774\text{ cm}^{-1}$  beobachtet werden. Hier zeigt sich allerdings, daß es bei der verwandten ATR-Technik zur Überlagerung und somit Verbreiterung von Carbonyl-Banden kommt. Die Carbonyl-Banden sind daher zum Teil nicht einzeln aufgelöst.

Die photochemische Isomerisierung kann am besten an Hand von  $^1\text{H}$  NMR-Spektren verfolgt werden. In manchen Fällen ist eine genaue Bestimmung der *Z*-/*E*-Isomerenverhältnisse im PSS über die chemische Verschiebung des Protons an der zentralen Doppelbindung möglich, das damit als Sonde dienen kann. Das Proton an der Doppelbindung erfährt im *E*-Isomer eine deutliche Hochfeldverschiebung, wie man am Beispiel von **53**, **57** und **62** deutlich sehen kann. Die chemische

Verschiebung für das Proton der zentralen Doppelbindung des *E*-Isomers liegt zwischen 0.5 ppm und 0.7 ppm zu hohem Feld verschoben gegenüber der chemischen Verschiebung des Protons im *Z*-Isomer. In allen übrigen Fällen kam es zu einer Überlagerung des Protons an der Doppelbindung, wodurch es notwendig war, andere Protonen als Sonde zu verwenden.

Tabelle 8:  $^1\text{H}$  NMR-spektroskopisch ermittelte charakteristische chemische Verschiebungen zur Erfassung der *Z/E*-Isomerenverhältnisse im PSS nach Bestrahlung bei  $\lambda = 406 \text{ nm}$ .

Verbindung	Lösungsmittel	c [mol/l]	$\delta$ [ppm]
<b>53</b>	CD <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	1,99*10 <sup>-2</sup>	Z: 7.78 (C=CH) E: 7.17 (C=CH)
<b>57</b>	CD <sub>3</sub> OD	1,02*10 <sup>-2</sup>	Z: 7.90(C=CH), 7.11 (d, Ar-H) E: 7.42 (C=CH) 7.00 (d, Ar-H)
<b>60</b>	CD <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	4.23*10 <sup>-2</sup>	Z: 7.83 (C=CH) E: 7.93 (d, Ar-H) Z: 7.98 (s, C=CH)
<b>62</b>	CD <sub>3</sub> OD	2,55*10 <sup>-2</sup>	7.77 (d, Ar-H) E: 7.50 (C=CH) 8.16 (d, Ar-H)
<b>63</b>	d <sup>4</sup> -MeOH	3.19*10 <sup>-2</sup>	Z: 7.83 (C=CH) E: 8.31-8.23 (m, Ar-H)
<b>66</b>	CD <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	2.88*10 <sup>-2</sup>	Z: 7.78 (C=CH) E: 4.24 (d, ArCH)

## Röntgenstrukturanalyse des Dicarbonsäureesters **Z-53**

Im Rahmen dieser Arbeit konnten erstmals geeignete Kristalle des Hemithioindigo-Derivats **53** für eine röntgenkristallographische Untersuchung erhalten werden. Dies ist die erste Kristallstruktur, die von einer HT-Verbindung ermittelt werden konnte.

Die ermittelte Struktur ist in Abbildung 25 dargestellt. Die Kristalle konnten aus einer  $\text{CDCl}_2$ -Lösung, die im Dunkeln bei  $4^\circ\text{C}$  aufbewahrt worden war, isoliert werden. Die Parameter der Strukturbestimmung sind in Tabelle 10 zusammengefaßt. Gemäß der Röntgenstrukturanalyse liegt **53** in der thermodynamisch stabileren *Z*-Konfiguration vor. **Z-53** kristallisiert in der monoklinen Raumgruppe  $P2_1/c$  mit einem Molekül pro asymmetrische Einheit. Die Elementarzelle enthält 4 Moleküle.

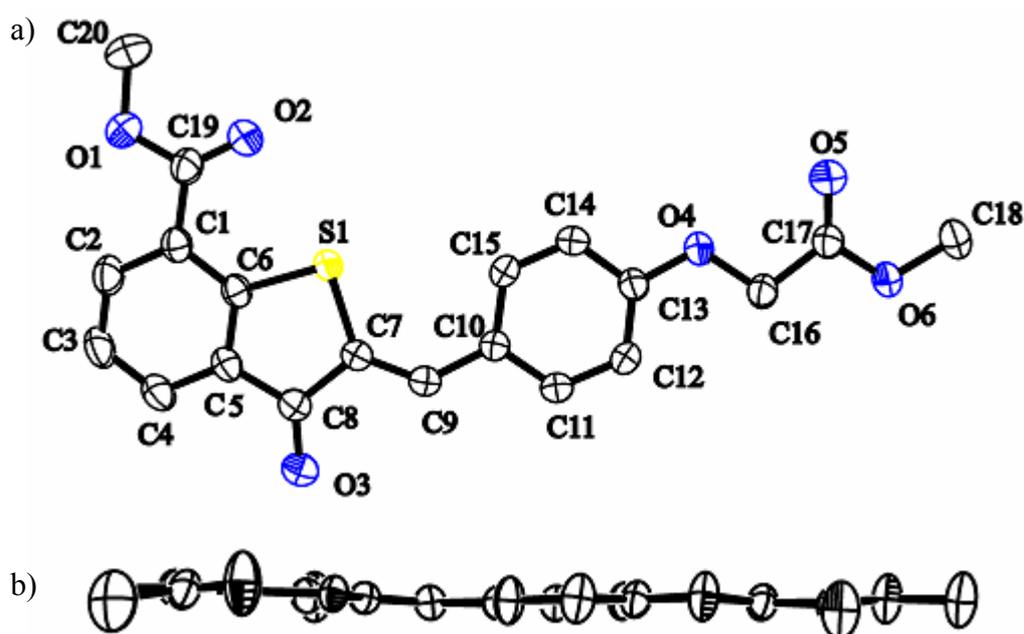


Abbildung 25: Kristallstruktur des HT-Dicarbonsäuremethylesters **Z-53**.

Anhand von Abbildung 25 b ist zu erkennen, daß sowohl das Phenylfragment wie auch der Benzo[*b*]thiophenon-Teil von **53** jeder für sich eine planare Struktur zeigt. Die räumliche Nähe des C15-Protons zum Ringheteroatom S1 sollte zum Herausdrehen des Phenylrings aus der Molekülebene führen. Der Torsionswinkel  $\Phi(\text{S1-C7-C9-C10})$  zeigt jedoch eine ebene Verknüpfung der Molekülfragmente. Auch die endständigen Reste an beiden Fragmenten liegen nahezu in der Molekülebene. Dem sterischen Konflikt zwischen dem Proton am C15-Atom und

dem Ringschwefelatom S1 weicht das Molekül unter Beibehaltung der Planarität durch Aufweitung des Bindungswinkels  $\theta(\text{C7-C9-C10}) = 131.9^\circ$  aus. Diese Ergebnisse decken sich mit den Beobachtungen von Ciszak et al.<sup>127a</sup>, King et al.<sup>127b</sup> an den Hemioxindigo-Derivaten **29**, **30** und **31** (Abbildung 26).

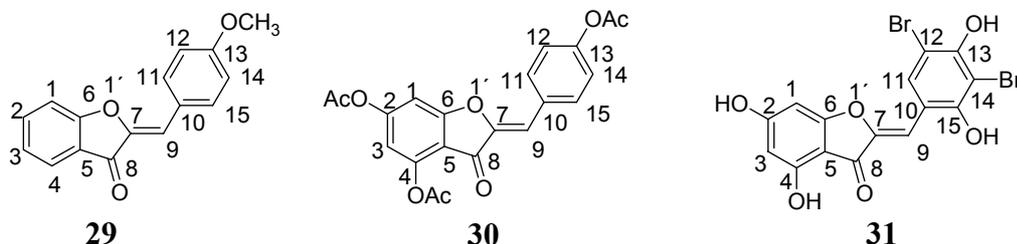


Abbildung 26: Literaturbeispiele röntgenkristallographisch untersuchter Hemioxindigo-Verbindungen.<sup>127</sup>

In allen Beispielen wurde das thermodynamisch stabilere *Z*-Isomer isoliert. Auch bei diesen Verbindungen wurde die Beibehaltung der Planarität unter Aufweitung des Bindungswinkels  $\theta(\text{C7-C9-C10})$  beobachtet (Tabelle 9).

Tabelle 9: Ausgewählte Bindungslängen, -winkel und Torsionswinkel in *Z*-**53**, **29**, **30**, **31**.

Bindung	<i>Z</i> - <b>53</b>	<b>29</b>	<b>30</b>	<b>31</b>
	Bindungslängen [ppm]			
O3-C8	121.9 (3)	123	-	-
S1-C7	176.0 (2)	-	-	-
O1'-C7	-	140	-	-
O4-C13	137.5 (3)	136	-	-
C7-C9	134.5 (3)	133	132.5	132.6
C7-C8	149.5 (3)	148	-	-
C9-C10	145.1 (3)	145	144.7	146.5
Bindungs-/Torsionswinkel	Bindungs-/Torsionswinkel [°]			
C7-C9-C10	131.9	131.8	132.1	127.6
S1-C7-C9-C10	-3.3(4)	-	0.5	-0.3
C7-C9-C10-C11	-175.2(2)	1.3	3.1	0.7

Die Bindungen und Winkel des Hemithioindigo-Grundgerüsts von *Z*-**53** sind mit denen der homologen Hemioxindigo-Derivaten **29-31** sehr gut vergleichbar. Es fällt lediglich auf, daß die Bindung S1-C7 im Hemithioindigo *Z*-**53** deutlich länger

ist, als die Bindung O1'-C7, die zur entsprechenden Bindung in den Hemioxindigo-Verbindungen **29-31** korrespondiert. Dies ist jedoch im Einklang mit Bindungslängen von Standard-S-C(sp<sup>2</sup>)-Bindungen verglichen mit Standard-O-C(sp<sup>2</sup>)-Bindungen.<sup>67</sup>

## 5 Zusammenfassung

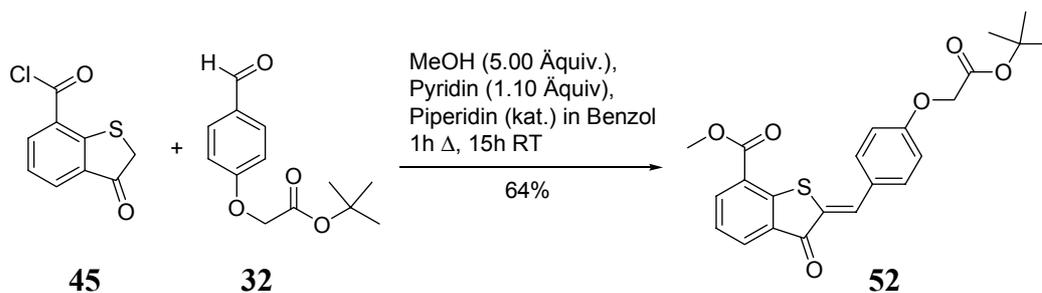
Ziel dieser Arbeit war die Synthese bifunktioneller Hemithioindigo (HT)-Verbindungen, die zum Einbau in Biomoleküle geeignet sind. Ihre Verwendung in der Peptidsynthese wurde untersucht und die photochromen Eigenschaften der synthetisierten Verbindungen wurden bestimmt.

Die Synthese von HT-Verbindungen kann durch eine säure- oder eine basenkatalysierte Aldolkondensation erfolgen, wobei die Wahl der Methode abhängig vom Substitutions- und Schutzgruppenmuster an der Aldehydkomponente bzw. der Methylenkomponente ist.

### 5.1 HT-Dicarbonsäure-Derivate

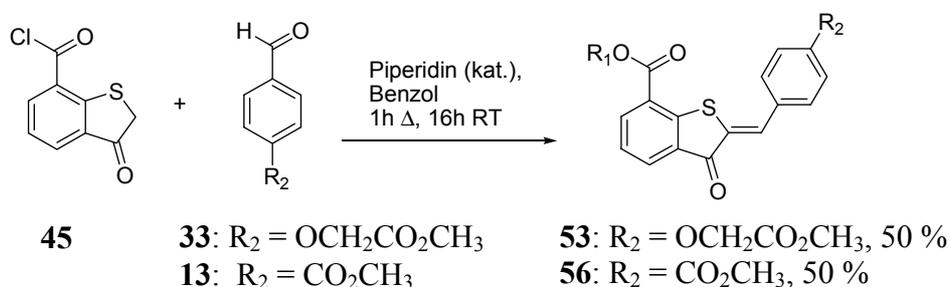
Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wurde die Synthese von HT-Dicarbonsäure-Derivaten untersucht, die über eine Verknüpfung mit Amino-Funktionen in Peptiden an diese angebunden werden können.

Zunächst wurde die Darstellung orthogonal geschützter HT-Dicarbonsäure-Derivate mit *tert*-Butylschutzgruppe im Stilben-Teil unter Verwendung unterschiedlicher Alkohole für die Veresterung in 7-Position am Thioindigo-Teil untersucht (Kapitel 4.1.3). Dabei kam es zur Bildung von Produktgemischen durch teilweise Entschützung des *tert*-Butylesters durch die entstehende Salzsäure. Dieses Problem konnte durch Zusatz von Pyridin als Abfangbase gelöst werden, wodurch die orthogonal geschützte Verbindung **52** in 64% Ausbeute erhalten werden konnte (Schema 34). Die Synthese unter Verwendung von Triethylamin als Abfangbase führte dagegen zur Zersetzung des Thioindoxyls (**45**), während der Einsatz von Piperidin im Überschuß die Bildung des Amids **54** (Schema 36) ergab.



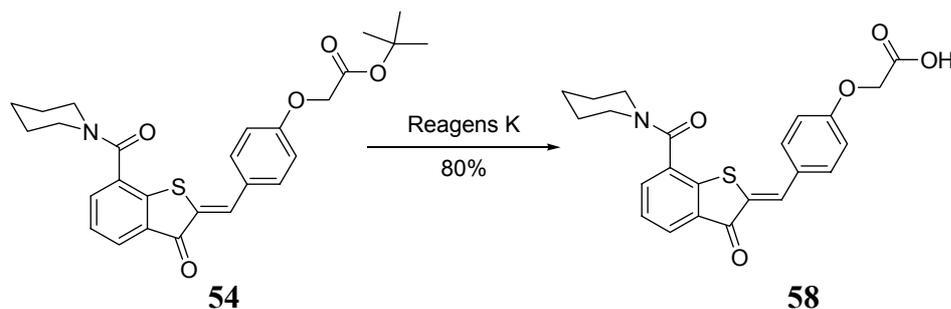
Schema 34: Darstellung der orthogonal geschützten HT-Dicarbonsäure **52**.

Die Synthese der Dimethylester **53** und **56** konnte mit katalytischen Mengen Piperidin in Benzol nach Umkristallisation mit Ausbeuten von 50 % erreicht werden (Schema 35).



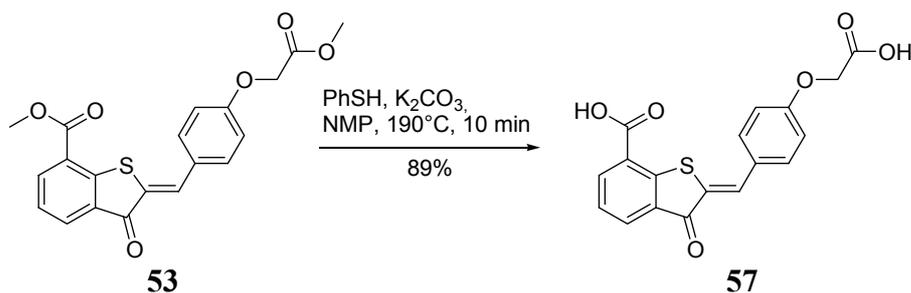
Schema 35.: HT-Dimethylester **53** und **56**.

Die synthetisierten Verbindungen wurden anschließend in Entschützungsexperimenten untersucht. Die Entschützung des *tert*-Butylesters an **46** gelang mit Eisessig/*i*-PrOH/Wasser unter Rückfluß, wobei **59** in 79% Ausbeute erhalten wurde. Da diese Methode auf Grund der harschen Bedingungen weniger als Entschützungsverfahren für Peptidsynthesen geeignet ist, wurde die Entschützung mit TFA und unterschiedlichen Abfangreagenzien untersucht. Die Entschützung des *tert*-Butylesters gelang an Verbindung **54** unter Verwendung von Reagenz K in 80% Ausbeute (Schema 36).



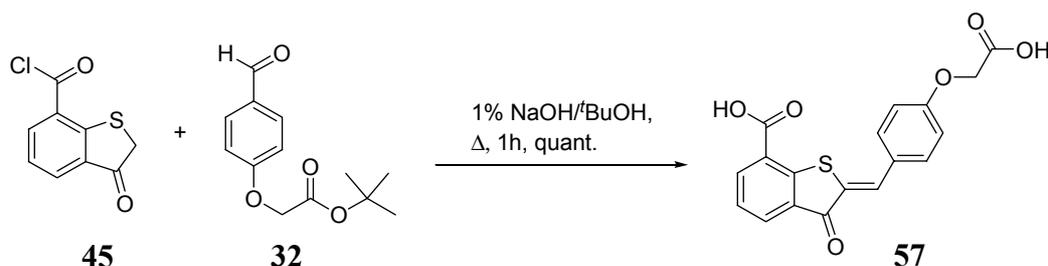
Schema 36: Entschützung des *tert*-Butylesters von **54**.

Die Entschützungsexperimente an den Methylestern gestalteten sich schwierig. Bei den Versuchen unter wässrigen basischen Bedingungen trat in allen Fällen Zersetzung unter Retro-Aldolreaktion auf. Durch Verwendung von  $K_2CO_3$  und PhSH in NMP unter Rückfluß konnte eine Entschützung an **53** zur HT-Dicarbonsäure **57** in 89% Ausbeute erreicht werden (Schema 37), diese Bedingungen sind jedoch sehr harsch und nicht als Entschützungsmethode in der Peptidchemie geeignet.



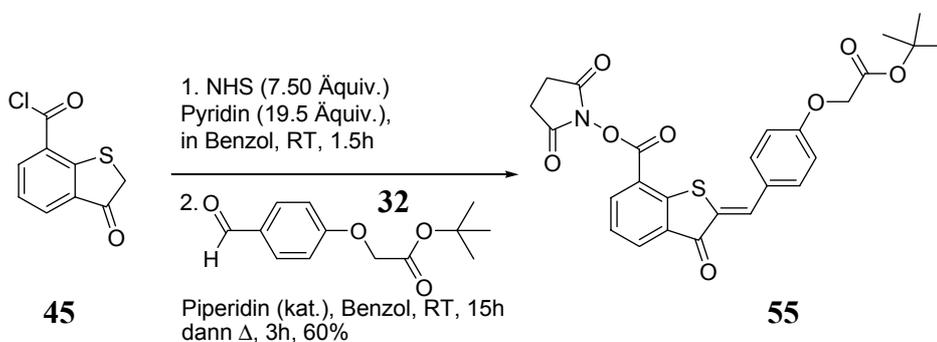
Schema 37: Synthese der HT-Dicarbonsäure **57** durch Entschützung der Methylester.

Der Versuch, unter wässrigen basischen Bedingungen eine einfach geschützte Dicarbonsäure mit *tert*-Butylester im Stilben-Teil zu synthetisieren, gelang nicht. Die Aldolkondensation des Thioindoxyls (**45**) mit dem Aldehyd **32** unter Verwendung von 1% NaOH in *tert*-Butanol führte zur Bildung der Dicarbonsäure **57** in quantitativer Ausbeute.



Schema 38: Synthese der HT-Dicarbonsäure **57**.

Da die Entschützung des Methylesters sich schwierig gestaltete, wurde aufbauend auf den für **52** optimierten Reaktionsbedingungen die Synthese des N-Hydroxysuccinimido-Aktivesters **55** untersucht (Schema 39), der sich direkt in die Peptidsynthese einführen läßt. Die Synthese des Aktivesters **55** wurde geplant und nach einem für das HT- $\omega$ -Aminosäure-Derivat **60** optimierten Reaktionsprotokoll durchgeführt. Dieses Protokoll beinhaltet eine sequentielle Reaktionsfolge, bei der zunächst das Thioindoxyl (**45**) in situ mit NHS unter Zusatz von Pyridin verestert wird und anschließend die Aldolkondensation mit dem Aldehyd **32** unter Verwendung katalytischer Mengen Piperidin durchgeführt wird (Schema 39). Der Aktivester **55** konnte in 60% Ausbeute erhalten werden. Die Synthese eines Aktivesters auf Basis von HOBt gelang dagegen nicht.



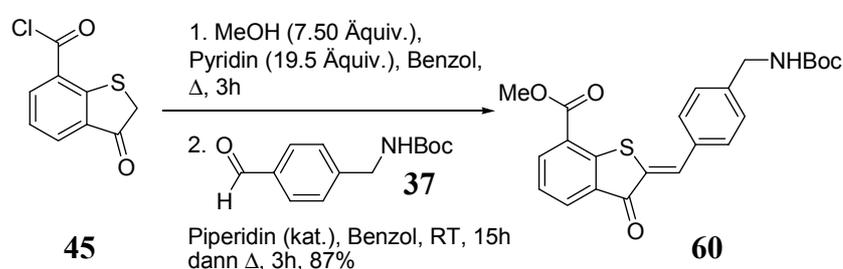
Schema 39: Synthese des NHS-Aktivesters **55** mit sequentielltem Reaktionsprotokoll.

Durch die Darstellung von **55** konnte die Entschützung des Methylesters umgangen werden und es stand eine Verbindung zur Verfügung, die direkt in der Peptidsynthese eingesetzt werden kann.

## 5.2 HT- $\omega$ -Aminosäure-Derivate und Peptide

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurden die Synthese von HT- $\omega$ -Aminosäure-Bausteinen und ihr Einbau in Peptide untersucht. Die Synthese von HT- $\omega$ -Aminosäurebausteinen sowohl mit Boc- als auch mit Fmoc-Schutzgruppe ermöglicht verschiedene orthogonale Synthesestrategien für Peptide sowohl in Lösung als auch an der festen Phase.

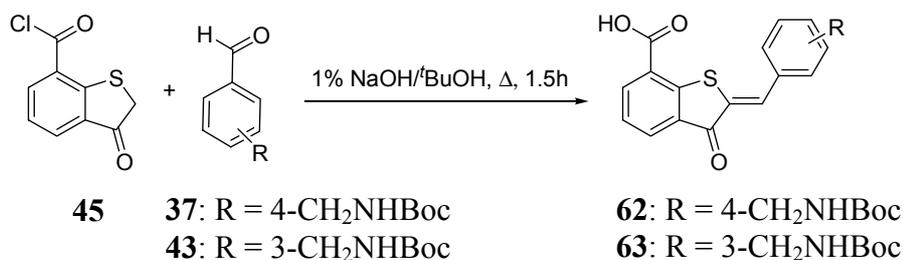
Die Synthese der orthogonal geschützten HT- $\omega$ -Aminosäure **60** wurde aufbauend auf den optimierten Reaktionsbedingungen für **52** über ein sequentielles Reaktionsprotokoll in 87% Ausbeute erreicht.



Schema 40: Synthese von **60** mit sequentielltem Reaktionsprotokoll.

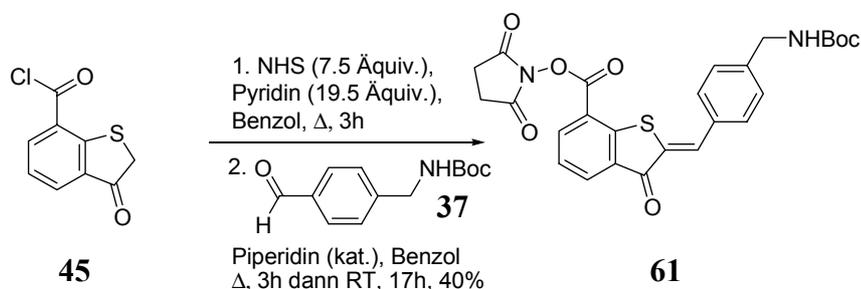
Verbindung **60** konnte zur Untersuchung der Boc-Entschützung herangezogen werden. Es zeigte sich, daß die Entschützung in quantitativer Ausbeute mit HCl in Dioxan durchgeführt werden konnte.

Da die Entschützungsreaktionen von Methylestern sich schwierig gestaltet hatten, wurde die Darstellung von Boc-geschützten HT- $\omega$ -Aminosäuren mit freier Carbonsäurefunktion untersucht. Für Bausteine mit Boc-Schutzgruppe wie **62** und **63** war die Synthese im wäßrigen basischen Milieu unter Verwendung von 1% NaOH/BuOH geeignet. Verbindung **62** wurde in 80 % Ausbeute erhalten und der Baustein **63** konnte in 44 % Ausbeute isoliert werden (Schema 41).



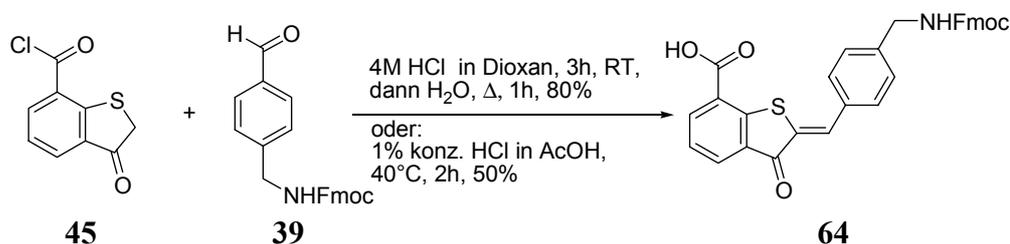
Schema 41: Synthese der freien Aminosäure-Bausteine **62**, **63**.

Mit der Synthese des Aktivesters **61** (Schema 42) gelang die Darstellung einer weiteren Verbindung, die für Peptidsynthesen verwendbar ist. Die Synthese wurde über den an **60** optimierten Reaktionsweg durchgeführt, wobei die Ausbeute bei 40% lag.



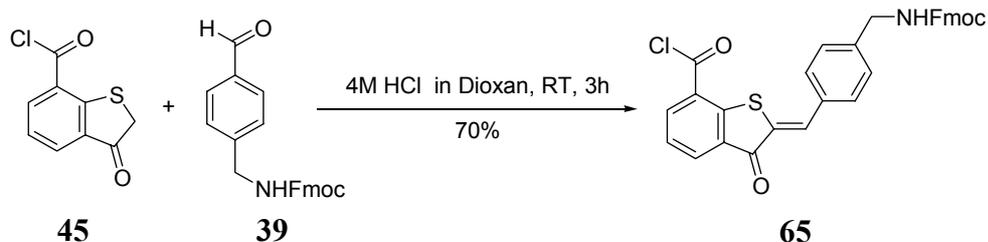
Schema 42: Synthese des HT- $\omega$ -Aminosäure-Aktivesters **61**.

Für die Synthese der Fmoc-Bausteine **64** und **65** (Schema 43) mußte eine Synthesemethode unter sauren Bedingungen gefunden werden. Die Darstellung von **64** gelang mit HCl in Eisessig (50% Ausbeute) sowie mit 4M HCl in Dioxan und anschließender Hydrolyse (80% Ausbeute).



Schema 43: Synthesewege zur Fmoc-geschützten HT- $\omega$ -Aminosäure **64**.

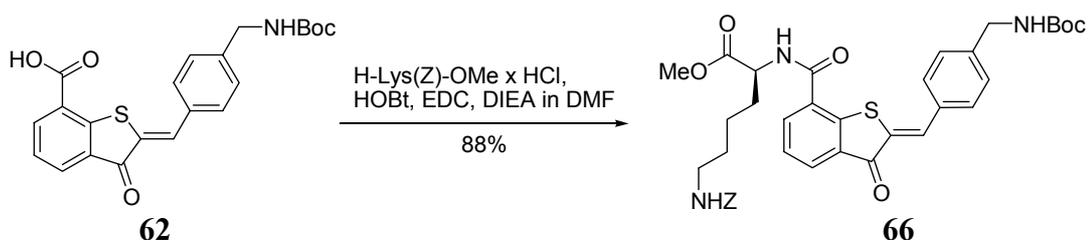
Die Synthese von **65** konnte ebenfalls mit HCl in Dioxan in 70% Ausbeute erreicht werden (Schema 44).



Schema 44: Synthese des HT- $\omega$ -Aminosäurechlorids **65**.

Die synthetisierten HT- $\omega$ -Aminosäurebausteine **62**, **64** und **65** konnten zu den Di- und Tripeptiden **66-69** umgesetzt werden.

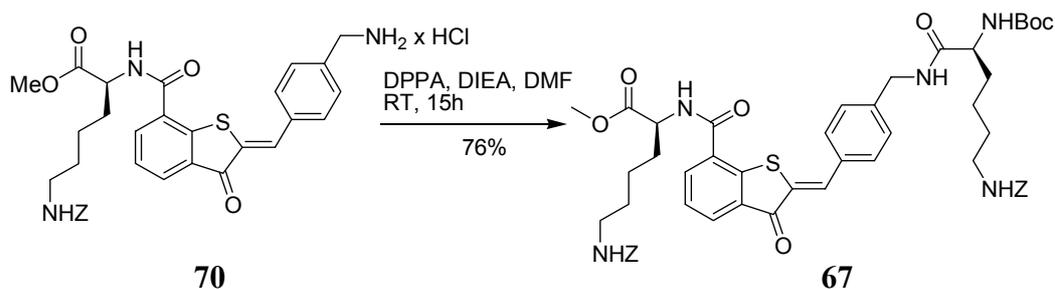
Die Synthese des Boc-geschützten Dipeptids **66** gelang mit EDC/HOBt als Kupplungsreagenzien und DIEA als Base in DMF in 88% (Schema 45). Wurde die Darstellung in einer Eintopfsynthese unter gleichzeitiger Kupplung der Aminosäure und Aldolkondensation durchgeführt, so wurde **66** in 36% Ausbeute erhalten.



Schema 45: Synthese des Boc-geschützten Dipeptids **66**.

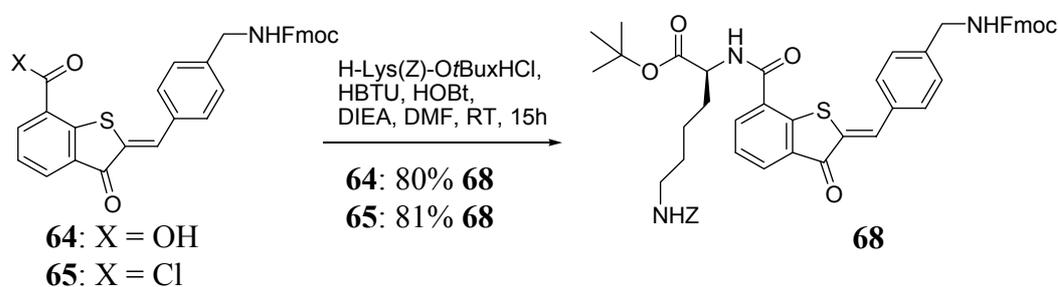
Die Entschützung des Dipeptids **66** wurde mit HCl in Dioxan durchgeführt, wobei das entschützte Dipeptid **70** quantitativ erhalten wurde.

Die Synthese des Boc-geschützten Tripeptids **67** ausgehend von **70** gestaltete sich schwieriger. Es wurden verschiedene Standard-Kupplungsmethoden untersucht, die jedoch nicht zum Erfolg führten. Die Synthese gelang schließlich mit DPPA als Kupplungsreagenz und DIEA als Base in DMF in 76%. Mit TEA als Base konnte **67** in einer Ausbeute von 73% erhalten werden (Schema 46).



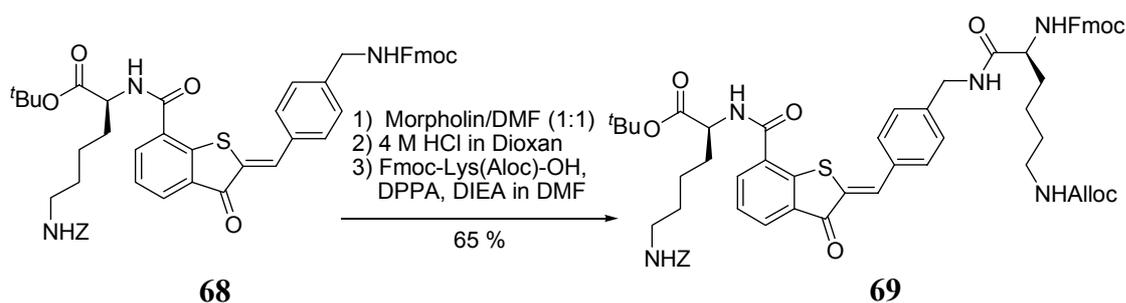
Schema 46: Synthese des Boc-geschützten Tripeptids **67**.

Die Darstellung des Fmoc-geschützten Dipeptids **68** konnte ausgehend von **64** sowie von **65** mit HBTU/HOBt als Kupplungsreagenzien und DIEA als Base in DMF in 80% Ausbeute durchgeführt werden (Schema 47).



Schema 47: Synthese des Fmoc-geschützten Dipeptids **68**.

Das Fmoc-geschützte Tripeptid **69** wurde analog zu **67** über die Azidmethode in 75% Ausbeute erhalten, wenn nach erfolgter Fmoc-Entschützung das entstandene Amin mit HCl in Dioxan in das HCl-Salz überführt worden war (Schema 48).



Schema 48: Synthese des Fmoc-geschützten Tripeptids **69**.

Wurde die Synthese mit dem freien Amin durchgeführt, so konnte das Tripeptid **69** lediglich in 30% Ausbeute erhalten werden, was unter Umständen auf die Instabilität des freienamins zurückgeführt werden kann.

Die Darstellung des Tripeptids **81** an der festen Phase gelang mit der Azidmethode ebenfalls, jedoch nur in geringen Ausbeuten ( $\leq 50\%$ ). Die Optimierung dieser Methode speziell für HT-Verbindungen bleibt zu untersuchen.

Auf dem Weg zur Darstellung eines zyklischen Peptids mit HT- $\omega$ -Aminosäure im Rückgrat als Antagonist für die SH2-Domäne von Grb2 wurde die Synthese des Hexapeptids **82** in der Festphasensynthese am Wang-Harz erprobt. Die Abspaltung von der festen Phase konnte mit TFA/Wasser/EDT in 90 % Ausbeute erreicht werden.

Die photochemische Charakterisierung der synthetisierten HT-Verbindungen zeigte, daß die para-substituierten Derivate Halbwertszeiten von 20 h bis zu 138 h besitzen. Die Umsätze zum *E*-Isomer im PSS nach Bestrahlung bei 406 nm lagen bei 80-90%. Der meta-substituierte Baustein **63** dagegen erwies sich als thermisch labiler ( $t_{1/2} = 1\text{h}$ ) und die Umsätze zum *E*-Isomer im PSS waren geringer als für den entsprechenden para-substituierten Baustein.

Die synthetisierten bifunktionellen HT-Derivate, insbesondere aber die HT- $\omega$ -Aminosäurebausteine mit Boc- und Fmoc-Schutzgruppe, erwiesen sich als sehr interessante Photoschalter. Auf Grund ihrer photochemischen Eigenschaften (hohe thermische Stabilität, hohe Umsätze zum *E*-Isomer im PSS nach Bestrahlung bei 406 nm, Absorption im sichtbaren Bereich) sind sie äußerst interessante Verbindungen für den Einbau in Peptide. Die Möglichkeit, ihre Synthese über basische sowie sauer katalysierte Methoden zu erreichen, eröffnet eine breite Palette an photochromen HT-Verbindungen mit verschiedenen Substitutionsmustern, die für die Anbindung an unterschiedliche funktionelle Gruppen in Biomolekülen geeignet sind.



## 6 Experimenteller Teil

### 6.1 Arbeitsmittel und Geräte

$^1\text{H}$  NMR-Spektren wurden mit den Spektrometern AC 200 und DRX 500 der Firma *Bruker* bei 200 MHz bzw. 500 MHz aufgenommen. Die Lösungsmittel sind für die jeweiligen Substanzen vermerkt. Die chemischen Verschiebungen sind als dimensionslose  $\delta$ -Werte in ppm angegeben. Als externer Standard diente Tetramethylsilan. Die Anzahl der Protonen wurde durch Integration der Signale bestimmt. Die Signalmultiplizitäten wurden wie folgt abgekürzt: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multipllett.

$^{13}\text{C}$  NMR-Spektren wurden mit den Spektrometern AC 200 und DRX 500 der Firma *Bruker* bei 50 MHz bzw. 125 MHz aufgenommen. Die Lösungsmittel sind für die jeweiligen Substanzen vermerkt. Die chemischen Verschiebungen sind als dimensionslose  $\delta$ -Werte in ppm angegeben. Als externer Standard diente Tetramethylsilan. Die Anzahl der direkt gebundenen Protonen wurden durch DEPT-Messungen bestimmt.

IR-Spektren wurden mit einem *Perkin-Elmer* Spektrometer 881 als ATR (Attenuated Total Reflectance) gemessen. Die Banden sind in Wellenzahlen ( $\text{cm}^{-1}$ ) angegeben. Die Bandenintensitäten sind wie folgt abgekürzt: vs = sehr stark, s = stark, m = mittelstark, w = schwach, br = breite Bande.

MS- und HRMS-Spektren wurden auf einem *Finnigan* MAT 95 SQ oder *Varian* MAT 711 aufgenommen. Die Proben wurden über einen Direkteinlaß gemessen und bei einem Ionisierungspotential von 70 eV durch Elektronenstoß ionisiert. Die relativen Signalintensitäten sind als Prozentwerte in runden Klammern, die Hauptfragmente in eckigen Klammern angegeben.

Schmelzpunkte wurden mit einem *Leica* Galen Heiztischmikroskop mit einer Steuereinheit von *Wagner-Munz* oder einer Schmelzpunktapparatur der Firma *Büchi* nach Dr. Tottoli bestimmt und sind nicht korrigiert.

Elementaranalysen wurden mit einem *Vario EL3* der Firma *Elementar Analysensysteme, Hanau* gemessen.

Die **Röntgenstrukturanalyse** von **Z-53** wurde mit einem *AXS Bruker* 3-Kreis-Diffraktometer mit Graphit-Monochromator durchgeführt.

**UV-Spektren** wurden in Lösungsmitteln der Firma Acros (spektroskopische oder HPLC-Qualität) in Quarzküvetten der Firma *Starna* (1x1x4 cm) mit einem *Shimadzu* UV Visible Spektrophotometer UV-1601 aufgenommen. Für die Untersuchungen der photochemischen Eigenschaften von HT-Verbindungen wurden Bestrahlungsexperimente auf einer optischen Bank (Abbildung 27, Anhang) bei 406 nm (406 nm Interferenzfilter, Amko, Tornesch) für die *Z/E*-Isomerisierung und bei 480 nm (480 nm Interferenzfilter, Amko, Tornesch) für die *E/Z*-Isomerisierung durchgeführt. Als Lichtquelle wurde eine 1000 W Xenon-Hochdrucklampe (1000 XBO, Osram, München) verwendet, die sich senkrecht zur Meßzelle befand. Die Proben wurden im Brennpunkt des Lichtstrahls (Suprasil-Sammellinse, Brennweite 10 cm) und direkt hinter den entsprechenden Interferenzfilter gebaut. Alle Experimente wurden mit einem 5 cm-Wasserfilter zwischen der Lampe und der Linse durchgeführt, um die IR-Strahlung der Lampe herauszufiltern. Die Isomerenverhältnisse im PSS wurden durch Bestrahlung der Proben in einem NMR-Rohr ermittelt und durch die Integration des Protons an der zentralen Doppelbindung bestimmt. Die zeitaufgelöste Änderung der UV-Absorption von **53** (Abbildung 24, DCM,  $c = 4.83 \cdot 10^{-5}$  mol/l) wurde ausgehend vom *Z*-Isomer durch Bestrahlung bei 406 nm (406-nm Interferenzfilter, Amko, Tornesch) und ausgehend vom *E*-Isomer im PSS durch Bestrahlung bei 480 nm (480-nm Interferenzfilter, Amko, Tornesch) verfolgt. Die Spektren wurden während der Bestrahlung mit einer Xenon-Lampe (1000 XBO, Osram, München) mit einem Diodenarray-Spektrometer (MCS 320/340, Zeis), das senkrecht zur Meßzelle angeordnet war, aufgenommen. Diese Messung wurde in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. H. Meier am Institut für Organische Chemie der Johannes Gutenberg Universität, Mainz, durchgeführt.

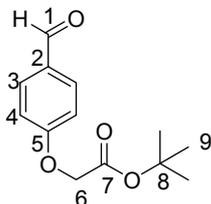
Die verwandten **Lösungsmittel** wurden in p.a.-Qualität bezogen oder wie folgt getrocknet: Diethylether über Lithiumaluminiumhydrid, Benzol über Natrium/Benzophenon, Methanol über Magnesium, Dichlormethan über Calciumhydrid, Piperidin, Pyridin und Triethylamin über Calciumhydrid. DMF und NMP wurden in p.a.-Qualität bezogen und über Molsieb 4 Å gelagert.

**Dünnschichtchromatogramme** wurden auf Aluminiumfolien mit Fluoreszenzindikator 254 der Firma Merck (Kieselgel 60 F 254, Schichtdicke 0.2

mm) entwickelt. Zur Detektion wurden Licht der Wellenlänge 254 nm oder Tauchreagenzien (Kaliumpermanganat-Lösung: 1.25 g  $\text{KMnO}_4$ , 6.25 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  in 250 ml Wasser; Seebach-Reagenz: 1.00 g  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ , 2.50 g Molybdato-phosphorsäure, 4.0 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  in 96 ml Wasser; Bromkresolgrün: 0.3 g Bromkresolgrün in 200 ml Isopropanol; Ninhydrin-Reagenz: 0.6 g Ninhydrin in 200 ml Ethanol) verwandt.

**Säulenchromatographien** wurden mit Florisil (-200 mesh) der Firma *Sigma Aldrich* bei Unterdruck nach Harwood durchgeführt.<sup>71</sup> Das Säulenmaterial wurde zwischen jeder Fraktion trocken gesaugt, bevor eine neue Lösungsmittelfraktion auf die Säule aufgegeben wurde.

## 6.2 Arbeitsvorschriften



### 32

**(4-Formylphenoxy)essigsäure-*tert*-butylester 32:** Zu einer Suspension von 12.0 g (82.0 mmol, 1.00 Äquiv.) Kaliumcarbonat in 50 ml Aceton wurden unter Rühren portionsweise 10.0 g (82.0 mmol, 1.00 Äquiv.) 4-Hydroxybenzaldehyd zugegeben. Anschließend wurden langsam 12.4 g (82.0 mmol, 1.00 Äquiv.) Chloressigsäure-*tert*-butylester hinzu getropft und über Nacht unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen der Lösung wurde mit 100 ml eiskaltem Wasser versetzt und die organische Phase abgetrennt. Die wäßrige Phase wurde noch zweimal mit 50 ml Ethylacetat extrahiert, die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Nach Umkristallisation aus Ethylacetat : Pentan (2 : 1) wurden 15.0 g (77%) **32** als farbloser Feststoff erhalten [Schmp.: 59°C,  $R_f = 0.85$  (Ethylacetat : Pentan, 1 : 1)].

**$^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 9.90 (s, 1H, CHO), 7.84 (d,  $^3J = 8.7$  Hz, 2H, Ar-H), 6.99 (d,  $^3J = 8.7$  Hz, 2H, Ar-H), 4.60 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.49 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ).

**$^{13}\text{C NMR}$  (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 190.4 (C1), 166.9 (C7), 162.5 (C5), 131.6 (C3), 130.3 (C2), 114.6 (C4), 82.5 (C8), 65.2 (C6), 27.7 (C9).

**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3073 (w), 2980 (m), 2935 (w), 2739 (w), 1750 (vs), 1695 (s), 1600 (vs), 1580 (s), 1509 (s), 1369 (s), 1313 (m), 1219 (vs), 1153 (vs), 1074 (s), 833 (s).

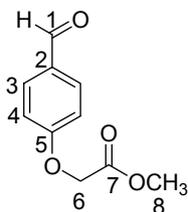
**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 236 (30) [ $\text{M}^+$ ], 180 (20) [ $\text{M}^+ - \text{C}(\text{CH}_3)_3$ ], 135 (76) [ $\text{M}^+ - \text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ], 57 (100).

**HRMS:**  $m/z$  für  $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_4$  ber.: 236.1049, gef.: 236.1044.

$C_{13}H_{16}O_4$  (236.11)

ber.: C, 66.07; H, 6.88

gef.: C, 65.98; H, 6.74.

**33****4-Formylphenoxymethylacetat<sup>69</sup> 33:**

1) Unter Verwendung von Bromessigsäuremethylester: Zu einer Suspension von 24.0 g (164 mmol, 1.00 Äquiv.) Kaliumcarbonat in 130 ml Aceton wurden unter Rühren portionsweise 20.0 g (164 mmol, 1.00 Äquiv.) 4-Hydroxybenzaldehyd zugegeben. Anschließend wurden langsam 25.0 g (164 mmol, 1.00 Äquiv.) Bromessigsäuremethylester zugetropft und die Lösung über Nacht unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen der Lösung wurde mit 200 ml eiskaltem Wasser versetzt und die organische Phase abgetrennt. Die wäßrige Phase wurde noch zweimal mit 50 ml Ethylacetat extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Umkristallisation aus Ethylacetat : Pentan (2 : 1) wurden 29.3 g (92%) **33** als farbloser Feststoff erhalten [Schmp.: 45°C,  $R_f = 0.50$  (Dichlormethan : Methanol, 1 : 1)].

2) Unter Verwendung von Chloressigsäuremethylester: Zu einer Suspension von 12.0 g (82.0 mmol, 1.00 Äquiv.) Kaliumcarbonat in 100 ml Aceton wurden unter Rühren portionsweise 10.0 g (82.0 mmol, 1.00 Äquiv.) 4-Hydroxybenzaldehyd zugegeben. Anschließend wurden langsam 9.00 g (82.0 mmol, 1.00 Äquiv.) Bromessigsäuremethylester hinzu getropft und die Lösung über Nacht unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen der Lösung wurde mit 200ml eiskaltem Wasser versetzt und die organische Phase abgetrennt. Die wäßrige Phase wurde noch zweimal mit 50 ml Ethylacetat extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Es wurden 10.0 g (63%) der Rohsubstanz erhalten. Nach Umkristallisation aus Ethylacetat :

Pentan (2 : 1) wurden 7.87 g (50 %) **33** als farbloser Feststoff erhalten [Schmp.: 45°C,  $R_f = 0.50$  (Dichlormethan : Methanol, 1 : 1)].

$^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 9.87 (s, 1H, CHO), 7.82 (d,  $^3J = 8.8$  Hz, 2H, Ar-H), 6.98 (d,  $^3J = 8.8$  Hz, 2H, Ar-H), 4.71 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.79 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C NMR}$  (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 190.5 (C1), 168.4 (C7), 162.4 (C5), 131.8 (C3), 130.6 (C2), 114.7 (C4), 64.9 (C6), 52.2 (C8).

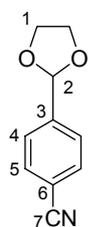
IR (ATR):  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 2954 (w), 1756 (s), 1685 (s), 1598 (vs), 1580 (s), 1508 (s), 1436 (m), 1207 (vs), 1159 (vs), 1076 (s), 830 (m).

MS (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 194 (100) [ $\text{M}^+$ ], 135 (64) [ $\text{M}^+ - \text{CO}_2\text{CH}_3$ ], 105 (45) [ $\text{M}^+ - \text{OCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$ ].

HRMS:  $m/z$  für  $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$  ber.: 194.0579; gef.: 194.0575.

$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$  (194.06) ber.: C, 61.85; H, 5.19

gef.: C, 61.83; H, 5.24.



**34**

**4-(1,3-Dioxolan-2-yl)benzotrile**<sup>83</sup> **34**: Zu einer Lösung von 10.0 g 4-Formylbenzotrile **19** (76.0 mmol, 1.00 Äquiv.) in 150 ml Toluol wurden 19.9 g Ethylenglykol (17.0 ml, 0.32 mol, 4.20 Äquiv.) gefolgt von 10.0 mg *p*-Toluolsulfonsäure (55.0  $\mu\text{mol}$ ,  $0.7 \times 10^{-3}$  Äquiv.) zugegeben und über Nacht am Wasserabscheider erhitzt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und mit 80 ml einer 5%igen wäßrigen Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum eingengt. Nach Umkristallisation aus Diethylether : Pentan (3 : 1) wurden 12.1 g (90%) **34** als farbloser Feststoff erhalten [Schmp.: 38°C,  $R_f = 0.76$  (Pentan : Ethylacetat, 1 : 1)].

**$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 7.67 (d,  $^3J = 8.3$  Hz, 2H, Ar-H), 7.58 (d,  $^3J = 8.3$  Hz, 2H, Ar-H), 5.84 (s, 1H,  $\text{CH}(\text{OCH}_2)_2$ ), 4.15-4.00 (m, 4H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ).

**$^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 142.9 (C3), 131.9 (C5), 126.9 (C4), 118.3 (C7), 112.5 (C6), 102.1 (C2), 65.2 (C1).

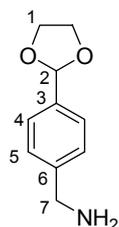
**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3062 (w), 2957 (m), 2891 (m), 2230 (s), 1421 (m), 1385 (s), 1220 (s), 1114 (s), 1099 (vs), 1021 (s), 980 (s), 942 (s), 830 (s).

**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 175 (40) [ $\text{M}^+$ ], 174 (100) [ $\text{M}^+ - \text{H}$ ], 144 (20), 130 (58), 115 (37) [ $\text{M}^+ - \text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ].

**HRMS:**  $m/z$  für  $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}_2$  ber.: 175.0633, gef.: 175.0631.

**$\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}_2$  (175.06)** ber.: C, 68.56; H, 5.18; N, 8.00

gef.: C, 68.58; H, 5.15; N, 7.93.



**35**

**[4-(1,3-Dioxolan-2-yl)benzyl]amin 35:** Zu einer Suspension von 3.25 g  $\text{LiAlH}_4$  (85.5 mmol, 3.00 Äquiv.) in 40 ml Diethylether wurden bei  $0^\circ\text{C}$  unter Stickstoffatmosphäre 5.00 g **34** (28.5 mmol, 1.00 Äquiv.) gelöst in 20 ml Diethylether tropfenweise unter Rühren zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 4h bei  $0^\circ\text{C}$  und anschließend bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Die Suspension wurde zunächst mit 100 ml Ethanol-Wasser (95:5 (v/v)) gefolgt von 100 ml Ethanol-Wasser (50:50 (v/v)) hydrolysiert. Die etherische Phase wurde abgetrennt und die wäßrige Phase dreimal mit 50 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum eingengt, wobei 4.40 g (85%) **35** als farbloses Öl erhalten wurden [ $R_f = 0.08$  (Ethylacetat : Pentan, 1 : 1)].

**$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 7.45 (d,  $^3J = 8.2$  Hz, 2H, Ar-H), 7.32 (d,  $^3J = 8.2$  Hz, 2H, Ar-H), 5.80 (s, 1H,  $\text{CH}(\text{OCH}_2)_2$ ), 4.17-3.98 (m, 4H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.87 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 1.52 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ).

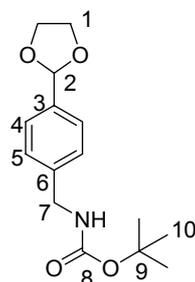
**$^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 144.2 (C6), 136.4 (C3), 127.0 (C4/C5), 126.6 (C4/C5), 103.6 (C2), 65.2 (C1), 46.2 (C7).

**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3370 (w), 3304 (br, w), 2951 (m), 2885 (s), 1663 (s), 1618 (m), 1429 (s), 1388 (s), 1372 (s), 1300 (m), 1222 (s), 1079 (vs), 1021 (s), 969 (s), 942 (s), 812 (br, s).

**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 178 (45) [ $\text{M}^+ - \text{H}$ ], 162 (25) [ $\text{M}^+ - \text{NH}_2 - \text{H}$ ], 149 (10) [ $\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{NH}_2$ ], 134 (31), 118 (22), 106 (100).

**HRMS:**  $m/z$  für  $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{NO}_2$  ber.: 178.0868, gef.: 178.0861 [ $\text{M}^+ - \text{H}$ ].

**$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NO}_2$  (179.22).**



**36**

***tert*-Butyl-[4-(1,3-dioxolan-2-yl)benzyl]carbamate **36**:**

a) Synthese unter Zusatz von Base<sup>84</sup>: Zu einer Lösung von 2.20 g **35** (12.3 mmol, 1.00 Äquiv.) in 20 ml Methanol wurden 1.8 ml Triethylamin (1.25 g, 12.3 mmol, 1.00 Äquiv.) unter Rühren hinzugefügt. Anschließend wurden portionsweise 3.36 g  $\text{Boc}_2\text{O}$  (15.4 mmol, 1.30 Äquiv.) zugegeben und für 2h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 60 ml Diethylether aufgenommen und die organische Phase dreimal mit 20 ml 1N Salzsäure gewaschen. Nach Trocknen über Magnesiumsulfat und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurden 2.85 g (98%) eines farblosen Feststoffgemisches von **36** und **37** erhalten (Verhältnis **36** : **37** = 80 : 20). Das Gemisch fiel durch teilweise Spaltung des Acetals bei der sauren Aufarbeitung an und wurde ohne Trennung weiter verwandt.

b) Synthese ohne Zusatz von Base<sup>85</sup>: Zu einer Lösung von 500 mg (2.80 mmol, 1.00 Äquiv.) **35** in 10 ml absolutem THF wurden unter Rühren in einer Stickstoffatmosphäre 910 mg (4.20 mg, 1.50 Äquiv.) Di-*tert*-butyldicarbonat zugegeben und für 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde mit 30 ml Diethylether aufgenommen und die organische Phase zweimal mit je 20 ml Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der gelbe ölige Rückstand wurde aus Dichlormethan umkristallisiert, wobei 450 mg (70 %) **36** als farbloser Feststoff erhalten wurden [Schmp.: 58°C,  $R_f = 0.67$  (Ethylacetat : Pentan, 2 : 1)].

**<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7.44 (d,  $^3J = 8.2$  Hz, 2H, Ar-*H*), 7.30 (d,  $^3J = 8.2$  Hz, 2H, Ar-*H*), 5.80 (s, 1H, CH(OCH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 4.80 (br s, 1H, NH), 4.32 (d,  $^3J = 5.7$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>NHBoc), 4.17-3.99 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 1.45 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR (50.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 155.8 (C8), 140.0 (C6), 136.8 (C3), 127.3 (C4/5), 126.6 (C4/5), 103.4 (C2), 79.4 (C9), 65.2 (C1), 44.3 (C7), 28.3 (C10).

**IR (ATR):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3329 (br, m), 2977 (m), 2888 (m), 1697 (vs), 1522 (s), 1391 (m), 1366 (s), 1271 (s), 1250 (s), 1166 (vs), 1080 (vs), 1020 (m), 943 (m).

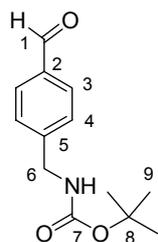
**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 222 (8) [M<sup>+</sup>-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>], 179 (36) [M<sup>+</sup>-CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>+H], 162 (10) [M<sup>+</sup>-NHCO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>-H], 149 (22) [M<sup>+</sup>-CH<sub>2</sub>NHCO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>], 57 (100).

**HRMS:**  $m/z$  für C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>NO<sub>4</sub> ber.: 222.0766, gef.: 222.0762 [M<sup>+</sup>-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>].

**C<sub>15</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub> (279.33)**

ber.: C, 64.50; H, 7.58; N, 5.01

gef.: C, 64.43; H, 7.62; N, 4.97.



37

**tert-Butyl-(4-formylbenzyl)carbamate**<sup>83</sup> **37**: Zu einer Lösung aus 1.84 g des Gemisches aus **36** und **37** (7.98 mmol, 1.0 Äquiv.) in 50 ml Aceton wurden 5 ml Wasser und 10 mg *p*-Toluolsulfonsäure (55.0  $\mu\text{mol}$ ,  $7.0 \times 10^{-3}$  Äquiv.) zugegeben und die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 50 ml Dichlormethan versetzt und die organische Phase mit 30 ml einer 5%igen wässrigen Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, wobei man 5.00 g (78 %) **37** als farblosen Feststoff erhielt [Schmp.: 74°C,  $R_f = 0.79$  (Aceton : Toluol 1:1)].

**$^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 9.99 (s, 1H, CHO), 7.85 (d,  $^3J = 8.1$  Hz, 2H, Ar-H), 7.44 (d,  $^3J = 8.1$  Hz, 2H, Ar-H), 4.98 (br s, 1H, NH), 4.39 (d,  $^3J = 6.0$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.46 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ).

**$^{13}\text{C NMR}$  (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 191.8 (C1), 155.9 (C7), 146.1 (C5), 135.6 (C2), 130.1 (C3), 127.7 (C4), 79.9 (C8), 44.4 (C6), 28.4 (C9).

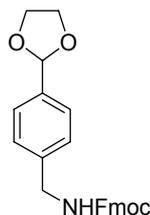
**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3352 (br, m), 2977 (m), 2932 (m), 1695 (vs), 1608 (s), 1519 (s), 1366 (s), 1273 (s), 1251 (s), 1169 (vs).

**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 179 (48) [ $\text{M}^+ - \text{C}(\text{CH}_3)_3 + \text{H}$ ], 162 (14) [ $\text{M}^+ - \text{OC}(\text{CH}_3)_3$ ], 150 (12), 134 (6) [ $\text{M}^+ - \text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ], 57 (100).

**HRMS:**  $m/z$  für  $\text{C}_9\text{H}_9\text{NO}_3$  ber.: 179.0582, gef.: 179.0582 [ $\text{M}^+ - \text{C}(\text{CH}_3)_3 + \text{H}$ ].

**$\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_3$  (235.28)** ber.: C, 66.36; H, 7.28; N, 5.95

gef.: C, 66.41; H, 7.28; N, 5.91.

**38**

**9H-Fluoren-9-ylmethyl [4-(1,3-dioxolan-2-yl)benzyl]carbamate<sup>86</sup> 38:** Zu einer Lösung von 5.00 g **35** (28.0 mmol, 1.00 Äquiv.) und 3.10 g Natriumhydrogencarbonat (37.5 mmol, 1.30 Äquiv.) in 100 ml THF/Wasser (1 : 1, v/v) wurden unter Rühren portionsweise 9.15 g FmocOSu (28.0 mmol, 1.00 Äquiv.) über eine Stunde zugegeben. Nach Rühren über Nacht bei Raumtemperatur wurde die Lösung mit Kaliumhydrogensulfat angesäuert (pH6) und noch dreimal mit 50 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, wobei 11.0 g (97 %, Reinheit ca.90%) **38** als farbloser Feststoff erhalten wurden [Schmp.: 134°C,  $R_f = 0.57$  (Ethylacetat : Pentan, 1:1)].

**<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 7.77 (d,  $^3J = 7.2$  Hz, 2H, Ar-H), 7.60 (d,  $^3J = 7.3$  Hz, 2H, Ar-H), 7.45 (d,  $^3J = 8.1$  Hz, 2H, Ar-H), 7.42-7.27 (m, 6H, Ar-H), 5.81 (s, 1H, CH(OCH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 5.10 (br s, 1H, NH), 4.46 (d,  $^3J = 6.7$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub> Fmoc), 4.38 (br d,  $^3J = 5.9$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>NHFmoc), 4.23 (t,  $^3J = 6.7$  Hz, 1H, CH Fmoc), 4.17-3.99 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O).

**<sup>13</sup>C NMR (50.3 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (ppm) = 156.4, 143.8, 141.3, 139.4, 137.2, 127.6, 127.5, 127.0, 126.8, 124.9, 119.9, 103.4, 66.6, 65.2, 47.2, 44.7.

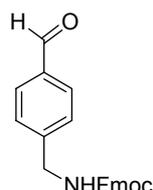
**IR (ATR):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3398 (m), 3338 (br, m), 3065 (w), 2949 (m), 2888 (m), 1710 (vs), 1525 (s), 1450 (s), 1246 (s), 1080 (s), 760 (s), 741 (s).

**MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 401 (60) [M<sup>+</sup>], 388 (10) [M<sup>+</sup>-CH<sub>2</sub>], 360 (48), 342 (100) [M<sup>+</sup>-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O], 337 (86), 326 (20), 309 (14).

**HRMS:**  $m/z$  für C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>4</sub>, ber.: 401.1627, gef.: 401.1638.

**C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>4</sub> (401.16)** ber.: C, 74.79; H, 5.77; N, 3.49

gef.: C, 74.83; H, 5.77; N, 3.47.



## 39

**9H-Fluoren-9-ylmethyl-(4-formylbenzyl)carbamate 39:** Zu einer Lösung von 9.90 g **38** (25.0 mmol, 1.00 Äquiv.) in 270 ml Aceton wurden 27 ml Wasser und 16.0 mg *p*-Toluolsulfonsäure (81.0  $\mu$ mol,  $0.3 \times 10^{-3}$  Äquiv.) zugegeben und die Lösung bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 100 ml Dichlormethan versetzt und die organische Phase zweimal mit je 50 ml einer 5%igen wäßrigen Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Umkristallisation aus Aceton wurden 6.60 g (71 %) **39** als farbloser Feststoff erhalten [Schmp.: 155°C,  $R_f = 0.69$  (Ethylacetat : Pentan, 1 : 1)].

**$^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 9.99 (s, 1H, CHO), 7.97 (t,  $^3J = 6.0$  Hz, 1H, NH), 7.89 (d,  $^3J = 6.8$  Hz, 2H, Ar-H), 7.87 (d,  $^3J = 7.6$  Hz, 2H, Ar-H), 7.71 (d,  $^3J = 7.2$  Hz, 2H, Ar-H), 7.46-7.39 (m, 4H, Ar-H), 7.36-7.29 (m, 2H, Ar-H), 4.40 (br d,  $^3J = 6.8$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$  Fmoc), 4.29 (d,  $^3J = 6.0$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{NHFmoc}$ ), 4.27-4.19 (m, 1H, CH Fmoc).

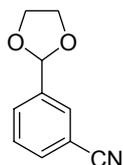
**$^{13}\text{C NMR}$  (50.3 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 192.6, 156.4, 146.8, 143.8, 140.7, 135.0, 129.6, 127.5, 127.4, 127.0, 125.1, 120.1, 65.3, 46.8, 43.6.

**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3402 (m), 3337 (br, m), 3065 (w), 2947 (m), 1790 (m), 1700 (vs), 1608 (s), 1523 (s), 1450 (s), 1255 (s), 1247 (s), 1212 (s), 1168 (m), 1141 (m), 1044 (m), 991 (m), 759 (s), 742 (s).

**MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 357 (20) [ $\text{M}^+$ ], 337 (100).

**HRMS:**  $m/z$  für  $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{NO}_3$  ber.: 357.1365, gef.: 357.1359.

**$\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{NO}_3$  (357.14)** ber.: C, 77.29; H, 5.36; N, 3.92  
gef.: C, 77.26; H, 5.37; N, 3.89.

**40**

**3-(1,3-Dioxolan-2-yl)benzonitril 40:** Zu einer Lösung von 14.3 g 3-Formylbenzonitril (0.11 mol, 1.00 Äquiv.) in 150 ml Toluol wurden 25 ml Ethylenglykol (27.3 g, 0.44 mol, 4.00 Äquiv.) und 10.0 mg *p*-Toluolsulfonsäure (55.0  $\mu\text{mol}$ ,  $0.5 \times 10^{-3}$  Äquiv.) zugegeben und die Lösung über Nacht am Wasserabscheider erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde mit 80 ml einer 5%igen wäßrigen Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum eingeeengt, wobei 17.9 g (93%) **40** als gelber Feststoff erhalten wurden [Schmp.:  $25^\circ\text{C}$ ,  $R_f = 0.71$  (Ethylacetat : Pentan, 1 : 4)].

**$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 7.76 (m, 1H, Ar-*H*), 7.69 (dt,  $^3J = 7.8$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, Ar-*H*), 7.63 (dt,  $^3J = 7.8$  Hz,  $^4J = 1.4$ , 1H, Ar-*H*), 7.46 (t,  $^3J = 7.8$  Hz, 1H, Ar-*H*), 5.79 (s, 1H,  $\text{CH}(\text{OCH}_2)_2$ ), 4.14-3.98 (m, 4H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ).

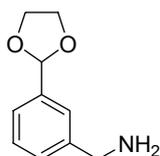
**$^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 139.6, 132.5, 130.8, 130.0, 129.1, 118.4, 112.3, 102.1, 65.3.

**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 2958 (w), 2893 (m), 2231 (s), 1483 (m), 1442 (m), 1382 (m), 1286 (w), 1242 (w), 1157 (vs), 1104 (vs), 1087 (vs), 1027 (m), 971 (s), 945 (s), 897 (m), 806 (s), 689 (s).

**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 174 (100) [ $\text{M}^+ - \text{H}$ ], 144 (20), 130 (48) [ $\text{M}^+ - \text{OCH}_2\text{CH}_2 - \text{H}$ ], 115 (23) [ $\text{M}^+ - \text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ], 103 (37) [ $\text{M}^+ - \text{CH}(\text{OCH}_2)_2 + \text{H}$ ].

**HRMS:**  $m/z$  für  $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}_2$  ber.: 175.0633, gef.: 175.0633.

**$\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}_2$  (175.18)**

**41**

**[3-(1,3-Dioxolan-2-yl)benzyl]amin 41:** Zu einer Suspension von 6.40 g  $\text{LiAlH}_4$  (0.17 mol, 3.80 Äquiv.) in 60 ml Diethylether bei  $0^\circ\text{C}$  unter Stickstoffatmosphäre 7.76 g **40** (44.2 mmol, 1.00 Äquiv.) in 20 ml Diethylether unter Rühren tropfenweise hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde für 4h bei  $0^\circ\text{C}$  und anschließend bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Die Suspension wurde zunächst mit 100 ml eines 95 : 5 (v/v) Ethanol-Wasser Gemisches und anschließend mit 100 ml Ethanol-Wasser (50 : 50 (v/v)) hydrolysiert. Die etherische Phase wurde abgetrennt und die wäßrige Phase noch dreimal mit je 50 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum eingeeengt, wobei 6.39 g (80%) **41** als farbloses Öl erhalten wurden [ $R_f$  = 0.07 (Pentan : Ethylacetat, 1 : 1)].

$^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 7.43 (br s, 1H, Ar-H), 7.38-7.29 (m, 3H, Ar-H), 5.79 (s, 1H,  $\text{CH}(\text{OCH}_2)_2$ ), 4.18-3.99 (m, 4H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.87 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), 1.75 (br s, 2H,  $\text{CH}_2\text{NH}_2$ ).

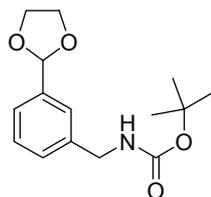
$^{13}\text{C NMR}$  (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 143.4, 138.0, 128.6, 127.9, 125.0, 124.9, 103.7, 65.3, 46.3.

**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3363 (w), 3298 (br, m), 2954 (m), 2887 (s), 2675 (w), 1660 (m), 1580 (br, s), 1474 (s), 1453 (s), 1383 (s), 1309 (m), 1243 (m), 1164 (s), 1094 (vs), 1076 (s), 1025 (m), 966 (s), 946 (m), 903 (m), 792 (s), 704 (s).

**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 178 (81) [ $\text{M}^+ - \text{H}$ ], 162 (34), 134 (61) [ $\text{M}^+ - \text{OCH}_2\text{CH}_2 - \text{H}$ ], 118 (38) [ $\text{M}^+ - \text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O} + \text{H}$ ], 106 (100) [ $\text{M}^+ - \text{CH}(\text{OCH}_2)_2$ ].

**HRMS:**  $m/z$  für  $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{NO}_2$  ber.: 178.0868, gef.: 178.0869 [ $\text{M}^+ - \text{H}$ ].

**$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NO}_2$  (179.22).**



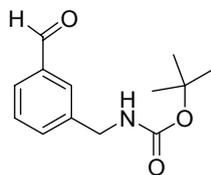
42

**tert-Butyl [3-(1,3-dioxolan-2-yl)benzyl]carbamate 42:** Zu einer Lösung von 6.39 g **41** (35.6 mmol, 1.00 Äquiv.) in 52 ml Methanol wurden 5 ml Triethylamin (3.63 g, 35.9 mmol, 1.00 Äquiv.) unter Rühren zugegeben. Anschließend wurde portionsweise mit 9.70 g  $\text{Boc}_2\text{O}$  (44.5 mmol, 1.30 Äquiv.) versetzt und für 2h bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 60 ml Diethylether versetzt und die organische Phase dreimal mit je 20 ml 1N Salzsäure gewaschen. Nach Trocknen über Magnesiumsulfat und Einengen der Lösung im Vakuum, wurden 7.15 g (69 %) eines farblosen Feststoffgemisches von **42** und **43** (Verhältnis 1 : 6) erhalten [ $R_f = 0.84$  (Pentan : Ethylacetat, 1 : 2)]. Das Gemisch fiel durch teilweise Spaltung des Acetals bei der sauren Aufarbeitung an und wurde ohne Trennung weiter verarbeitet.

**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 279 (6) [ $\text{M}^+$ ], 222 (100) [ $\text{M}^+ - \text{C}(\text{CH}_3)_3$ ], 206 (20), 178 (60) [ $\text{M}^+ - \text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ], 163 (24) [ $\text{M}^+ - \text{NHCO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ], 149 (20) [ $\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{NHCO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ], 134 (86), 119 (18), 105 (20).

**HRMS:**  $m/z$  für  $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{NO}_4$  ber.: 279.1471, gef.: 279.1476.

**$\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{NO}_4$  (279.33).**



43

**tert-Butyl-(3-formylbenzyl)carbamate 43:** Zu einer Lösung von 7.15 g des Gemisches aus **42** und **43** (31.9 mmol, 1.00 Äquiv.) in 120 ml Aceton wurden 12 ml Wasser und 10 mg *p*-Toluolsulfonsäure (55.0  $\mu\text{mol}$ ,  $0.6 \times 10^{-3}$  Äquiv.) zugegeben und die Lösung anschließend bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 80 ml Dichlormethan versetzt und die organische Phase

mit 50 ml einer 5%igen wäßrigen Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt durch Chromatographie an Florisil gereinigt (Ethylacetat : Pentan = 1 : 6), wobei 5.02 g (78 %, ca. 90% Reinheit) **43** als farbloser Feststoff erhalten wurden [Schmp.: 59°C,  $R_f = 0.79$  (Aceton: Toluol, 1:1)].

**$^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 10.00 (s, 1H, CHO), 7.81-7.77 (m, 1H, Ar-H), 7.77-7.74 (m, 1H, Ar-H), 7.60-7.48 (m, 2H, Ar-H), 5.02 (br s, 1H, NH), 4.39 (d, 2H,  $\text{CH}_2\text{NHBoc}$ ), 1.46 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ).

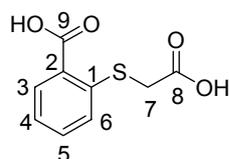
**$^{13}\text{C NMR}$  (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 192.2, 158.2, 140.3, 136.6, 129.9, 129.3, 128.9, 128.2, 80.3, 44.2, 28.3.

**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3342 (br, m), 2979 (m), 2932 (m), 1696 (vs), 1518 (s), 1454 (m), 1392 (m), 1367 (s), 1277 (s), 1251 (s), 1165 (vs), 748 (m).

**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 234 (4) [ $\text{M}^+ - \text{H}$ ], 194 (6), 179 (98) [ $\text{M}^+ - \text{C}(\text{CH}_3)_3 + \text{H}$ ], 162 (28), 150 (24), 134 (32) [ $\text{M}^+ - \text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ], 57 (100).

**HRMS:**  $m/z$  für  $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{NO}_3$  ber.: 234.1130, gef.: 234.1144 [ $\text{M}^+ - \text{H}$ ].

**$\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_3$  (235.28)** ber.: C, 66.36; H, 7.28; N, 5.95  
gef.: C, 66.38; H, 7.32; N, 5.88.



**44**

**2-Carboxylphenylthioessigsäure 44:** Zu einer Lösung von 30.0 g NaOH (0.75 mol, 2.50 Äquiv.) in 300 ml Wasser wurde portionsweise unter Rühren mit 45.6 g Thiosalicylsäure (0.30 mol, 1.00 Äquiv.) versetzt. Zu dieser Lösung wurden unter Rühren tropfenweise 55.0 g Chloressigsäure (0.52 mol, 2.00 Äquiv.) gelöst in 200 ml Wasser zugegeben. Es wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und anschließend wurden nochmals 18.0 g NaOH (0.45 mol, 1.50 Äquiv.) in 100 ml Wasser zugegeben. Die Lösung wurde noch 2 h gerührt und anschließend mit 6 N

Salzsäure auf pH 1 angesäuert. Der Niederschlag wurde abgesaugt und im Vakuum getrocknet. Nach Umkristallisation aus Aceton wurden 58.0 g (92%) **44** als farbloser Feststoff erhalten [Schmp.: 214°C,  $R_f = 0.27$  (Ethylacetat : Eisessig, 80 : 1)].

**$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 12.96 (br s, 2H, COOH), 7.92 (d,  $^3J = 7.6$  Hz, 1H, Ar-H), 7.48 (t,  $^3J = 7.6$  Hz, 1H, Ar-H), 7.35 (d,  $^3J = 8.0$  Hz, Ar-H), 7.18 (t,  $^3J = 7.4$  Hz, 1H, Ar-H), 3.81 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ).

**$^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 171.1 (C8), 167.8 (C9), 140.7 (C1), 132.8 (C5), 131.4 (C3), 128.0 (C2/6), 125.6 (C2/6), 124.5 (C4), 34.4 (C7).

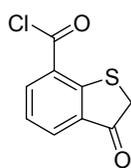
**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 2900 (b, m), 1708 (s), 1669 (vs), 1567 (s), 1468 (s), 1425 (s), 1416 (s), 1314 (s), 1290 (s), 1278 (s), 1260 (vs), 1193 (vs), 1175 (s), 1064 (s), 1047 (s), 886 (s), 739 (vs), 704 (s).

**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 212 (12) [ $\text{M}^+$ ], 194 (12) [ $\text{M}^+ - \text{OH} + \text{H}$ ], 153 (22) [ $\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ], 150 (100) [ $\text{M}^+ - \text{CO}_2\text{H} - \text{OH}$ ], 137 (40).

**HRMS:**  $m/z$  für  $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4\text{S}$  ber.: 212.0143; gef.: 212.0144.

**$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4\text{S}$  (212.01)** ber.: C, 50.94; H, 3.80; S, 15.11

gef.: C, 50.91; H, 3.85; S, 15.03.



**45**

**3-Oxo-2,3-dihydro-benzo[b]thiophen-7-carbonsäurechlorid 45:** Zu einer Lösung von 10.0 g **44** (47.0 mmol, 1.00 Äquiv.) in 30 ml (50.0 g, 420 mmol, 9.00 Äquiv.) frisch destilliertem Thionylchlorid wurden 0.1 ml N,N-Dimethylformamid (96 mg,  $1 \times 10^{-3}$  mmol,  $0.2 \times 10^{-3}$  Äquiv.) hinzugefügt und das Reaktionsgemisch über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Thionylchlorids im Vakuum wurde der verbliebene Rückstand mit 50 ml trockenem Dichlorethan aufgenommen und das Lösungsmittel wieder im Vakuum entfernt. Der ölige Rückstand wurde in 200 ml absolutem Dichlorethan gelöst und die Lösung auf 5°C gekühlt. Anschließend wurden 9.00 g Aluminiumchlorid (67.0 mmol, 1.40 Äquiv.) auf einmal hinzugefügt

und die Suspension gerührt bis die Gasentwicklung beendet war (ca. 1 h). Die Lösung wurde vorsichtig auf 200 g Eiswasser geschüttet und die organische Phase sofort abgetrennt. Die wäßrige Phase wurde noch zweimal mit je 150 ml Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organische Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, wobei 10.0 g (quant.) **45** als rotbrauner Feststoff erhalten wurden [Schmp.: 105°C,  $R_f = 0.23$  (Dichlormethan : Pentan, 1 : 1)].

**$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 8.53 (dd,  $^3J = 7.8$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, Ar-*H*), 8.05 (dd,  $^3J = 7.8$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, Ar-*H*), 7.42 (t,  $^3J = 7.8$  Hz, 1H, Ar-*H*), 3.83 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ).

**$^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 198.6, 165.9, 158.0, 140.7, 133.0, 132.4, 128.4, 125.0, 39.7.

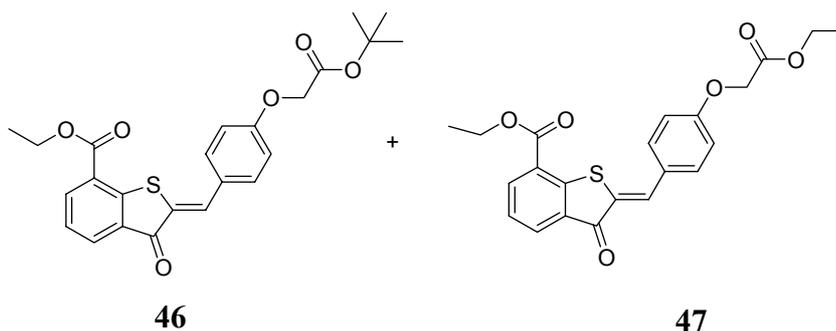
**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3293 (br, m), 3084 (w), 1729 (vs), 1700 (vs), 1587 (s), 1570 (s), 1556 (s), 1461 (s), 1405 (s), 1388 (s), 1236 (vs), 1140 (s), 1066 (m), 958 (vs), 723 (vs).

**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 212 (24) [ $\text{M}^+$ ], 177 (100) [ $\text{M}^+ - \text{Cl}$ ], 149 (10) [ $\text{M}^+ - \text{COCl}$ ], 121 (40).

**HRMS:**  $m/z$  für  $\text{C}_9\text{H}_5\text{ClO}_2\text{S}$  ber.: 211.9699, gef.: 211.9693.

**$\text{C}_9\text{H}_5\text{ClO}_2\text{S}$  (212.65)** ber.: C, 50.83; H, 2.37; S, 15.08

gef.: C, 50.83; H, 2.39; S, 15.00.



**(2Z)-7-Ethoxycarbonyl-2-[4'-(*tert*-butyloxycarbonylmethoxy)phenylmethyl]benzo[*b*]thiophen(2H)on 46 und (2Z)-7-Ethoxycarbonyl-2-[4'-(ethoxycarbonylmethoxy)phenylmethyl]benzo[*b*]thiophen(2H)on 47:** Zu einer Lösung von 1.70 g **45** (7.8 mmol, 1.00 Äquiv.) in 15 ml Benzol wurden unter Rühren 2.30 ml EtOH (1.78 g, 38.8 mmol, 5.00 Äquiv.), 2.20 g **32** (9.30 mmol, 1.20 Äquiv.) gelöst in 10 ml Benzol und anschließend 0.15 ml Piperidin (90 mg, 1.10 mmol, 0.15 Äquiv.) zugegeben. Es wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt und die Lösung anschließend für 1 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde dreimal mit je 25 ml gesättigter NaHSO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Nach Umkristallisation aus EtOH wurden 2.60 g (75%) des orangen (4 : 1)-Feststoffgemisches (aus <sup>1</sup>H NMR) aus **46** und **47** erhalten [R<sub>f</sub> = 0.36 (Ethylacetat : Pentan, 1 : 4)]. Da das Laufverhalten der beiden Verbindungen gleich ist, war eine Trennung durch Chromatographie nicht möglich.

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) = 8.30 (dd, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, 2 x 1H, Ar-*H*, **46** und **47**), 8.13 (dd, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, <sup>4</sup>J = 1.2 Hz, 2 x 1H, Ar-*H*, **46** und **47**), 7.94 (s, 2 x 1H, C=CH, **46** und **47**), 7.77 (d, <sup>3</sup>J = 8.8 Hz, 2 x 2H, Ar-*H*, **46** und **47**), 7.39 (t, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, 2 x 1H, Ar-*H*, **46** und **47**), 6.99 (d, <sup>3</sup>J = 8.8 Hz, 2 x 2H, Ar-*H*, **46** und **47**), 4.69 (s, 2H, CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> **46**), 4.59 (s, 2H, CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> **47**), 4.49 (q, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 2 x 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, **46** und **47**), 4.30 (q, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> **47**), 1.51 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> **46**), 1.47 (t, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 2 x 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, **46** und **47**), 1.32 (t, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 3H, CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> **47**). Die Signale beider Verbindungen lagen teilweise übereinander, es wurden daher lediglich einige aliphatische Signale den einzelnen Verbindungen zugeordnet. Die Verbindungen lagen in einem 4 : 1-Verhältnis (**46** : **47**) vor, bei der Zuordnung wurde die Anzahl der erwarteten

Protonen angegeben, die Verhältnisse der Verbindungen zueinander sind dabei nicht berücksichtigt.

**$^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 188.2, 168.3, 167.4, 165.31, 159.7, 159.5, 148.5, 136.2, 134.6, 133.4, 132.5, 130.8, 129.3, 127.8, 125.2, 124.9, 115.2, 82.8 ( $\text{C}_q$ , *tert*-Butyl **46**), 65.6, 65.4, 61.7, 61.6, 28.1 ( $\text{CH}_3$ , *tert*-Butyl **46**), 14.5. Bei den  $^{13}\text{C}$  NMR-Signalen erfolgte lediglich die Zuordnung des *tert*-Butylesters von **46**, da die Signale des HT-Grundgerüsts und der Ethylester der beiden Verbindungen **46** und **47** überlagern.

**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 2979 (m), 2935 (m), 1753 (s), 1709 (s), 1678 (s), 1588 (vs), 1559 (s), 1508 (vs), 1413 (s), 1369 (m), 1291 (m), 1265 (s), 1224 (s), 1181 (vs), 1153 (s), 1070 (s), 1049 (s), 823 (m), 746 (s). [4 : 1-Gemisch (**46** : **47**)]

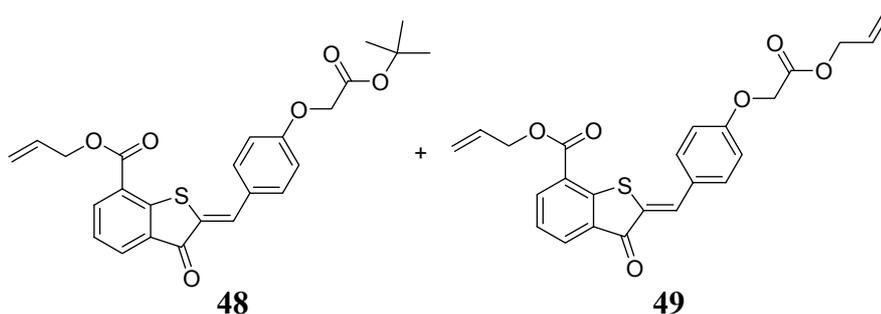
**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 440 (66) [ $\text{M}^+$  **46**], 412 (32) [ $\text{M}^+$  **47**], 384 (100) [ $\text{M}^+$ - $\text{C}(\text{CH}_3)_3+\text{H}$  **46**,  $\text{M}^+$ - $\text{CH}_2\text{CH}_3+\text{H}$  **47**], 339 (16) [ $\text{M}^+$ - $\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$  **46**,  $\text{M}^+$ - $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  **47**], 309 (10) [ $\text{M}^+$ - $\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3-\text{CH}_2\text{CH}_3+\text{H}$  **46**,  $\text{M}^+$ - $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3-\text{CH}_2\text{CH}_3+\text{H}$  **47**], 297 (14) [ $\text{M}^+$ - $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3-\text{CH}_2\text{CH}_3+\text{H}$  **46**,  $\text{M}^+$ - $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3-\text{CH}_2\text{CH}_3+\text{H}$  **47**], 281 (14) [ $\text{M}^+$ - $\text{OCH}_2\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3-\text{CH}_2\text{CH}_3+\text{H}$  **46**,  $\text{M}^+$ - $\text{OCH}_2\text{CO}_2-\text{CH}_2\text{CH}_3-\text{CH}_2\text{CH}_3+\text{H}$  **47**].

**HRMS:**  $m/z$  für  $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_6\text{S}$  (**46**) ber.: 440.1293, gef.: 440.1299.

**HRMS:**  $m/z$  für  $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_6\text{S}$  (**47**) ber.: 412.0981, gef.: 412.0982.

**$\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_6\text{S}$  (440.51, **46**).**

**$\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_6\text{S}$  (412.46, **47**).**



**(2Z)-7-Allyloxycarbonyl-2-[4'-(*tert*-butyloxycarbonylmethoxy)phenylmethylene]-benzo[*b*]-thiophen(2H) 48 und (2Z)-7-Allyloxycarbonyl-2-[4'-(allyloxycarbonylmethoxy) phenylmethylene]-benzo[*b*]-thiophen(2H)on 49:** Zu einer Lösung von 1.50 g **45** (7.00 mmol, 1.00 Äquiv.) in 15 ml Benzol wurden unter Rühren 2.40 ml Allylalkohol (2.00 g, 35.0 mmol, 5.00 Äquiv.), 2.00 g **32** (8.50 mmol, 1.20 Äquiv.) gelöst in 10 ml Benzol und anschließend 0.15 ml Piperidin (90 mg, 1.10 mmol, 0.16 Äquiv.) zugegeben. Es wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt und die Lösung anschließend für 1 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen der Lösung wurde dreimal mit je 25 ml gesättigter NaHSO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Nach Umkristallisation aus Aceton/Wasser (1 : 1) erhielt man 0.76 g (26%) des orangen (4.4 : 1)-Feststoffgemisches (aus <sup>1</sup>H NMR) aus **48** und **49** [*R<sub>f</sub>* = 0.22 (Ethylacetat : Pentan, 1 : 6)]. Da das Laufverhalten der beiden Verbindungen gleich ist, war eine Trennung durch Chromatographie nicht möglich.

**<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) = 8.32 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7.6 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.6 Hz, 2 x 1H, Ar-*H*, **48** und **49**), 8.14 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7.8 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.5 Hz, 2 x 1H, Ar-*H*, **48** und **49**), 7.95 (s, 2 x 1H, C=CH, **48** und **49**), 7.78 (d, <sup>3</sup>*J* = 8.8 Hz, 2 x 2H, Ar-*H*, **48** und **49**), 7.40 (t, <sup>3</sup>*J* = 7.8 Hz, 2 x 1H, Ar-*H*, **48** und **49**), 7.0 (d, <sup>3</sup>*J* = 8.8 Hz, 2 x 2H, Ar-*H*, **48** und **49**), 6.19-5.99 (m, 2 x 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>, **48** und **49**), 5.52-5.32 (m, 2 x 2H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>, **48** und **49**), 4.94 (d, <sup>3</sup>*J* = 5.9 Hz, 2 x 2H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>, **48** und **49**), 4.74 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub> **49**), 4.59 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> **48**), 1.51 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> **48**). Die Signale beider Verbindungen lagen teilweise übereinander, es wurden daher lediglich einige aliphatische Signale den einzelnen Verbindungen zugeordnet. Die Verbindungen liegen in einem 4.4 : 1-Verhältnis (**48** : **49**) vor, bei der Zuordnung wurde die Anzahl der erwarteten Protonen angegeben, die Verhältnisse der Verbindungen zueinander sind dabei nicht berücksichtigt.

$^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 188.1, 167.4, 165.0, 159.7, 148.6, 136.3, 134.7, 133.4, 132.5, 131.7, 130.9, 129.2, 127.7, 125.2, 124.6, 119.1, 115.3, 82.8 ( $\text{C}_q$  *tert*-Butyl **48**), 66.2, 65.6, 28.1 ( $\text{CH}_3$ , *tert*-Butyl **48**). Bei den  $^{13}\text{C}$  NMR-Signalen erfolgte lediglich die Zuordnung des *tert*-Butylesters von **48**, da die Signale des HT-Grundgerüsts und der Ethylester der beiden Verbindungen **48** und **49** überlagern.

IR (ATR):  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 2979 (m), 2932 (m), 1751 (s), 1713 (s), 1677 (s), 1589 (vs), 1559 (s), 1509 (vs), 1412 (s), 1368 (m), 1289 (s), 1262 (s), 1221 (s), 1180 (vs), 1155 (s), 1070 (s), 1049 (s), 832 (m), 746 (s). [4.4 : 1-Gemisch (**48** : **49**)].

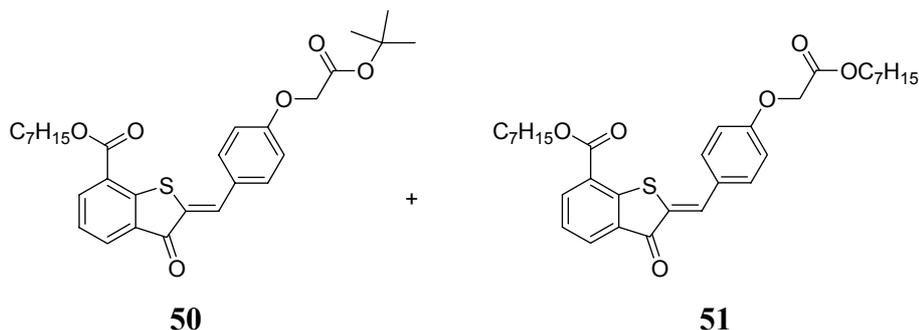
MS (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 452 (68) [ $\text{M}^+$  **48**], 436 (8) [ $\text{M}^+$  **49**], 396 (100) [ $\text{M}^+$ - $\text{C}(\text{CH}_3)_3+\text{H}$  **48**,  $\text{M}^+$ - $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_3+\text{H}$  **49**], 351 (16) [ $\text{M}^+$ - $\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$  **48**,  $\text{M}^+$ - $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_3$  **49**], 337 (20) [ $\text{M}^+$ - $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$  **48**,  $\text{M}^+$ - $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_3$  **49**], 321 [ $\text{M}^+$ - $\text{OCH}_2\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$  **48**,  $\text{M}^+$ - $\text{OCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_3$  **49**], 297 (6) [ $\text{M}^+$ - $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_3+\text{H}$  **48**,  $\text{M}^+$ - $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_3-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_3+\text{H}$  **49**], 281 (8) [ $\text{M}^+$ - $\text{OCH}_2\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_3+\text{H}$  **48**,  $\text{M}^+$ - $\text{OCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_3-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_3+\text{H}$  **49**].

HRMS:  $m/z$  für  $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_6\text{S}$  (**48**) ber.: 452.1294, gef.: 452.1301.

HRMS:  $m/z$  für  $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{O}_6\text{S}$  (**49**) ber.: 436.0981, gef.: 436.0981.

$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_6\text{S}$  (452.52, **48**).

$\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{O}_6\text{S}$  (436.48, **49**).



**(2Z)-7-Heptyloxycarbonyl-2-[4'-(*tert*-butylloxycarbonylmethoxy)phenylmethyl]benzo[*b*]thiophen(2H)on 50 und (2Z)-7-Heptyloxycarbonyl-2-[4'-(heptyloxycarbonylmethoxy)phenylmethyl]-benzo[*b*]-thiophen(2H)on 51:** Zu einer Lösung von 1.50 g **45** (7.00 mmol, 1.00 Äquiv.) in 15 ml Benzol wurden unter Rühren 4.10 g Heptylalkohol (4.07 g, 35.0 mmol, 5.00 Äquiv.), 2.00 g **32** (8.50 mmol, 1.20 Äquiv.) gelöst in 10 ml Benzol und anschließend 0.15 ml Piperidin (90 mg, 1.10 mmol, 0.16 Äquiv.) zugegeben. Es wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt und die Lösung anschließend für 1 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen der Lösung wurde dreimal mit je 25 ml gesättigter NaHSO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Nach Umkristallisation aus Aceton/Wasser (1 : 1) wurden 2.70 g (75%) des orange-roten (2.8 : 1)-Feststoffgemisches (aus <sup>1</sup>H NMR) aus **50** und **51** erhalten [R<sub>f</sub> = 0.86 (Aceton : Toluol, 1 : 1)]. Da das Laufverhalten der beiden Verbindungen gleich ist, war eine Trennung durch Chromatographie nicht möglich.

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) = 8.29 (dd, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz, 2 x 1H, Ar-H, **50** und **51**), 8.13 (dd, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz, 2 x 1H, Ar-H, **50** und **51**), 7.94 (s, 2 x 1H, C=CH, **50** und **51**), 7.77 (d, <sup>4</sup>J = 8.8 Hz, 2 x 2H, Ar-H, **50** und **51**), 7.39 (t, <sup>3</sup>J = 7.3 Hz, 2 x 1H, Ar-H, **50** und **51**), 7.00 (dd, <sup>3</sup>J = 9.0 Hz, <sup>4</sup>J = 2.6 Hz, 2 x 2H, Ar-H, **50** und **51**), 4.70 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>C<sub>7</sub>H<sub>15</sub> **51**), 4.60 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> **50**), 4.43 (t, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, 2 x 2H, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>, **50** und **51**), 4.20 (t, <sup>3</sup>J = 6.8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>13</sub> **50**), 1.90-1.82 (m, 2 x 10H, OCH<sub>2</sub>C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>CH<sub>3</sub>, **50** und **51**), 1.51 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> **50**), 0.93-0.87 (m, 2 x 3H, OCH<sub>2</sub>C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>CH<sub>3</sub>, **50** und **51**). Die Signale beider Verbindungen lagen teilweise übereinander, es wurden daher lediglich einige aliphatische Signale den einzelnen Verbindungen zugeordnet. Die Verbindungen lagen in einem 2.8 : 1-Verhältnis (**50** : **51**) vor, bei der Zuordnung wurde die Anzahl

der erwarteten Protonen angegeben, die Verhältnisse der Verbindungen zueinander sind dabei nicht berücksichtigt.

**$^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 188.2, 168.4, 167.4, 165.4, 159.7, 159.5, 148.4, 136.3, 134.5, 134.4, 133.4, 132.5, 130.8, 129.4, 129.3, 128.0, 127.8, 125.2, 125.0, 115.2, 82.8 ( $\text{C}_q$ , *tert*-Butyl **50**), 66.0, 65.7, 65.6, 63.1, 32.8, 31.8, 31.7, 29.0, 28.8, 28.7, 28.5, 28.1, 26.1, 25.8, 22.6, 14.1 ( $\text{CH}_3$ , *tert*-Butyl **50**). Bei den  $^{13}\text{C}$  NMR-Signalen erfolgte lediglich die Zuordnung des *tert*-Butylesters von, da die Signale des HT-Grundgerüsts und der Ethylester der beiden Verbindungen **50** und **51** überlagern oder ähnliche chemische Verschiebungen zeigen.

**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 2955 (m), 2929 (m), 2856 (m), 1755 (s), 1711 (s), 1679 (s), 1587 (vs), 1561 (s), 1509 (vs), 1412 (s), 1368 (m), 1289 (s), 1262 (s), 1222 (s), 1178 (vs), 1154 (s), 1070 (s), 1049 (s), 822 (m), 746 (s). [2.8 : 1-Gemisch (**50** : **51**)].

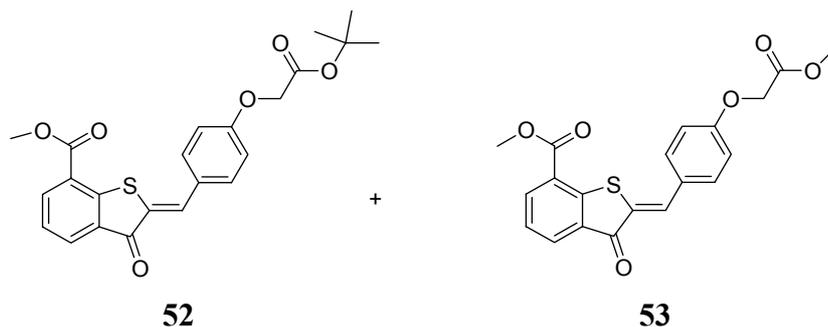
**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 552 (100) [ $\text{M}^+$  **51**], 510 (6) [ $\text{M}^+$  **50**], 454 (76) [ $\text{M}^+$ - $\text{C}(\text{CH}_3)_3+\text{H}$  **50**,  $\text{M}^+$ - $\text{C}_7\text{H}_{15}+\text{H}$  **51**], 395 (28) [ $\text{M}^+$ - $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$  **50**,  $\text{M}^+$ - $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{C}_7\text{H}_{15}$  **51**], 297 (14) [ $\text{M}^+$ - $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3-\text{C}_7\text{H}_{15}+\text{H}$  **50**,  $\text{M}^+$ - $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{C}_7\text{H}_{15}-\text{C}_7\text{H}_{15}+\text{H}$  **51**], 281 (8) [ $\text{M}^+$ - $\text{OCH}_2\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3-\text{C}_7\text{H}_{15}+\text{H}$  **50**,  $\text{M}^+$ - $\text{OCH}_2\text{CO}_2\text{C}_7\text{H}_{15}-\text{C}_7\text{H}_{15}+\text{H}$  **51**].

**HRMS:**  $m/z$  für  $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{O}_6\text{S}$  (**50**) ber.: 510.2076, gef.: 510.2083.

**HRMS:**  $m/z$  für  $\text{C}_{32}\text{H}_{40}\text{O}_6\text{S}$  (**51**) ber.: 552.2546, gef.: 552.2541.

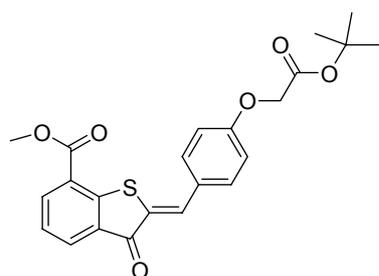
**$\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{O}_6\text{S}$  (510.61, **50**).**

**$\text{C}_{32}\text{H}_{40}\text{O}_6\text{S}$  (552.72, **51**).**



**(2Z)-7-Methyloxycarbonyl-2-[4'-(*tert*-butyloxycarbonylmethoxy)phenylmetylen]benzo[*b*]thiophen(2H)on 52 und (2Z)-7-Methyloxycarbonyl-2-[4'-(methyloxycarbonylmethoxy)phenylmetylen]benzo[*b*]thiophen(2H)on 53:** Zu einer Lösung von 2.00 g **45** (9.20 mmol, 1.00 Äquiv.) in 20 ml Benzol wurden unter Rühren 3.0 ml Methanol (1.50 g, 35.00 mmol, 5.00 Äquiv.), 2.50 g **32** (10.7 mmol, 1.20 Äquiv.) gelöst in 10 ml Benzol und anschließend 0.15 ml Piperidin (90 mg, 1.10 mmol, 0.12 Äquiv.) zugegeben. Die Lösung wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt und die Lösung anschließend für 1 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen der Lösung auf Raumtemperatur wurde dreimal mit je 25 ml gesättigter NaHSO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Umkristallisation aus Methanol wurden 2.50 g (64%) des gelben (1.7 : 1)-Feststoffgemisches aus **52** und **53** erhalten. Nach Chromatographie an Florisil (Ethylacetat : Pentan, 1 : 2) wurden 1.35 g (54 %) **52** [Schmp.: 157°C, R<sub>f</sub> = 0.62 (Ethylacetat : Pentan, 1 : 1)] und 0.90 g (36%) **53** [Schmp.: 201 °C, R<sub>f</sub> = 0.49 (Ethylacetat : Pentan, 1 : 1)] erhalten.

Die analytischen Daten für **52** und **53** sind im Anschluß an die Synthesevorschriften für die jeweilige Verbindung angegeben.



52

**(2Z)-7-Methyloxycarbonyl-2-[4'-(tert-butyloxycarbonylmethoxy)phenyl-**

**methylen]benzo[b]thiophen(2H)on 52:** Zu einer Lösung von 1.00 g **45** (4.60 mmol, 1.00 Äquiv.) in 10 ml Benzol wurden unter Rühren 1.5 ml Methanol (0.75 g, 23.6 mmol, 5.00 Äquiv.), 0.41 ml Pyridin (0.40 g, 5.10 mmol, 1.10 Äquiv.) und 1.25 g **32** (5.35 mmol, 1.20 Äquiv.) gelöst in 10 ml Benzol zugegeben. Zuletzt wurden 0.07 ml Piperidin (0.06 g, 0.80 mmol, 0.10 Äquiv.) hinzugefügt und die Lösung zunächst für 1 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend noch 2 h unter Rückfluß erhitzt. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur weiter gerührt. Es wurde mit 50 ml Dichlormethan aufgenommen und mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Umkristallisation aus Diethylether : Pentan (1:1) erhielt man 1.25 g (64%) **52** als gelben Feststoff [Schmp. 157°C;  $R_f = 0.62$  (Ethylacetat : Pentan, 1 : 1)].

**$^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 8.25 (dd,  $^3J = 7.8$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, Ar-*H*), 8.10 (dd,  $^3J = 7.6$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, Ar-*H*), 7.92 (s, 1H, C=CH), 7.75 (d,  $^3J = 8.8$  Hz, 2H, Ar-*H*), 7.36 (t,  $^3J = 7.7$  Hz, 1H, Ar-*H*), 6.98 (d,  $^3J = 8.8$  Hz, 2H, Ar-*H*), 4.58 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 4.01 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 1.50 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ).

**$^{13}\text{C NMR}$  (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 188.0, 167.4, 165.7, 159.7, 148.5, 136.2, 134.5, 133.3, 132.5, 130.8, 129.1, 127.7, 125.2, 124.6, 115.2, 82.6, 65.6, 52.5, 28.0.

**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3070 (w), 2979 (m), 1751 (s), 1714 (s), 1678 (s), 1588 (s), 1560 (s), 1509 (vs), 1411 (m), 1369 (m), 1292 (s), 1264 (s), 1222 (s), 1178 (s), 1154 (vs), 1071 (s), 1048 (s), 832 (m), 748 (m).

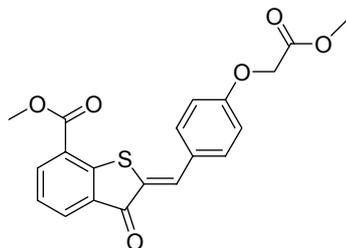
**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 426 (48) [ $\text{M}^+$ ], 370 (100) [ $\text{M}^+ - \text{C}(\text{CH}_3)_3 + \text{H}$ ], 325 (12) [ $\text{M}^+ - \text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ], 311 (40) [ $\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ], 295 (20) [ $\text{M}^+ - \text{OCH}_2\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3 + \text{H}$ ].

**HRMS:**  $m/z$  für  $C_{23}H_{22}O_6S$  ber.: 426.1137, gef.: 426.1133.

$C_{23}H_{22}O_6S$  (426.45)

ber.: C, 64.77; H, 5.20; N, 7.52

gef.: C, 64.63; H, 5.20; N, 7.63.



**53**

**(2Z)-7-Methoxycarbonyl-2-[4'-(methoxycarbonylmethoxy)phenyl-**

**methylen]benzo[*b*]thiophen(2*H*)on 53:** Zu einer Lösung von 1.70 g **45** (7.80 mmol, 1.00 Äquiv.) in 15 ml Benzol wurden unter Rühren 1.80 g **33** (9.30 mmol, 1.20 Äquiv.) gelöst in 10 ml Benzol, 1.6 ml Methanol (1.25 g, 36.8 mmol, 5.00 Äquiv.) und 0.15 ml Piperidin (0.13 g, 1.50 mmol, 0.20 Äquiv.) zugegeben. Es wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend 1 h unter Rückfluß erhitzt. Die Lösung wurde über Nacht weiter bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 50 ml Dichlormethan versetzt und die organische Phase zweimal mit je 25 ml 1N Salzsäure und zweimal mit je 25 ml ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Nach Umkristallisation aus Toluol : Methanol (1 : 1) wurden 1.50 g (50%) **53** als hellgelber Feststoff erhalten [Schmp.: 201 °C,  $R_f = 0.49$  (Ethylacetat : Pentan, 1 : 1)].

Kristallisation aus  $CD_2Cl_2$  ergab orange Kristalle, die für röntgenographische Untersuchungen geeignet waren.

**$^1H$  NMR (200 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 8.29 (dd,  $^3J = 7.8$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, Ar-*H*), 8.13 (dd,  $^3J = 7.4$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, Ar-*H*), 7.94 (s, 1H, C=CH), 7.78 (d,  $^3J = 8.8$  Hz, 2H, Ar-*H*), 7.40 (t,  $^3J = 7.6$  Hz, 1H, Ar-*H*), 7.02 (d,  $^3J = 8.8$  Hz, 2H, Ar-*H*), 4.72 (s, 2H,  $CH_2CO_2CH_3$ ), 4.03 (s, 3H,  $CO_2CH_3$ ), 3.84 (s, 3H,  $CH_2CO_2CH_3$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (ppm) = 188.1, 168.8, 165.8, 159.4, 148.5, 136.3, 134.5, 133.4, 132.5, 130.9, 129.4, 128.0, 125.2, 124.6, 115.2, 65.1, 52.6, 52.4.

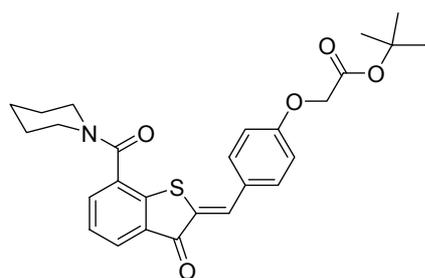
IR (ATR):  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3079 (w), 3039 (w), 2956 (w), 2916 (w), 1774 (vs), 1712 (s), 1678 (s), 1590 (s), 1555 (s), 1509 (s), 1435 (m), 1410 (m), 1299 (s), 1269 (s), 1261 (vs), 1204 (vs), 1182 (s), 1142 (s), 1086 (m), 1072 (s), 1051 (m), 1001 (m), 899 (m), 819 (s), 745 (s).

MS (EI, 70 eV):  $m/z$  (%) = 384 (100) [ $\text{M}^+$ ], 325 (4) [ $\text{M}^+ - \text{CO}_2\text{CH}_3$ ], 311 (32) [ $\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$ ], 295 (20) [ $\text{M}^+ - \text{OCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$ ].

HRMS:  $m/z$  für  $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{O}_6\text{S}$  ber.: 384.0668, gef.: 384.0667.

$\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{O}_6\text{S}$  (384.40) ber.: C; 62.49; H, 4.20; S, 8.34

gef.: C; 62.43; H, 4.18; S, 8.35.



54

**(2Z)-{4-[3-Oxo-7-(piperidin-1-carbonyl)-3H-benzo[b]thiophen-2-ylidenmethyl]-phenoxy}essigsäure-tert-butylester 54:** Zu einer Lösung von 2.00 g **45** (9.20 mmol, 1.00 Äquiv.) in 15 ml Benzol wurde unter Rühren eine Lösung von 2.60 g **32** (11.0 mmol, 1.20 Äquiv.) in Benzol, 2.1 ml Piperidin (1.80 g, 21.2 mmol, 2.30 Äquiv.) und 2.0 ml Methanol (1.58 g, 49.0 mmol, 5.00 Äquiv.) gegeben. Die Lösung wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend noch 1h unter Rückfluß erhitzt. Nach Rühren über Nacht bei Raumtemperatur wurde das Reaktionsgemisch mit 50.0 ml Dichlormethan versetzt und die organische Phase zweimal mit je 25 ml 1N Salzsäure und anschließend zweimal mit je 25 ml 5%iger Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Nach Umkristallisation

aus Methanol wurden 2.10 g (54 %) **54** als gelber Feststoff erhalten [Schmp.: 167°C,  $R_f = 0.33$  (Ethylacetat : Pentan, 1:1)].

**$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 7.97 (dd,  $^3J = 7.6$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, Ar-*H*), 7.95 (s, 1H, C=CH), 7.71 (d,  $^3J = 8.8$  Hz, 2H, Ar-*H*), 7.54 (dd,  $^3J = 7.6$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, Ar-*H*), 7.33 (t,  $^3J = 7.6$  Hz, 1H, Ar-*H*), 6.99 (d,  $^3J = 8.8$  Hz, 2H, Ar-*H*), 4.58 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 3.59 (br s, 4H,  $\text{N}(\text{CH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2)$ ), 1.69-1.59 (m, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2)$ ), 1.50 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ).

**$^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 188.0, 167.2, 166.9, 159.5, 144.6, 133.9, 133.0, 132.7, 131.5, 131.2, 128.0, 127.4, 125.1, 115.0, 82.6, 65.4, 48.2, 43.5, 27.9, 26.1, 24.3. Die Kohlenstoffe des zyklischen Amids erscheinen als breite, schlecht aufgelöste Signale.

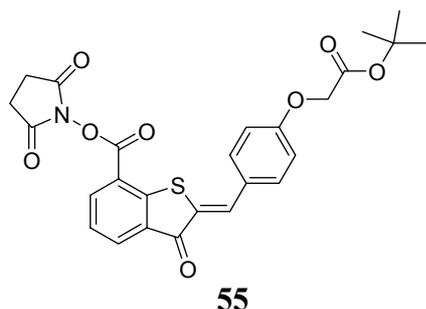
**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 2977 (w), 2937 (m), 2858 (w), 1751 (s), 1677 (s), 1630 (s), 1586 (s), 1560 (s), 1509 (s), 1435 (br, m), 1406 (m), 1368 (m), 1267 (s), 1223 (s), 1180 (s), 1154 (vs), 1067 (vs), 750 (m).

**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 479 (84) [ $\text{M}^+$ ], 423 (100) [ $\text{M}^+ - \text{C}(\text{CH}_3)_3 + \text{H}$ ], 378 (16) [ $\text{M}^+ - \text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ], 348 (10) [ $\text{M}^+ - \text{OCH}_2\text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ], 339 (20) [ $\text{M}^+ - \text{N}(\text{CH}_2)_5 - \text{C}(\text{CH}_3)_3 + \text{H}$ ].

**HRMS:**  $m/z$  für  $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{NO}_5\text{S}$  ber.: 479.1766, gef.: 479.1767.

**$\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{NO}_5\text{S}$  (479.59):** ber.: C, 67.62; H, 6.09; N, 2.92; S, 6.69

gef.: C, 67.69; H, 6.11; N, 2.92; S, 6.73.



**(2Z)-2-(4-*tert*-Butoxycarbonylmethoxybenzyliden)-3-oxo-2,3-dihydrobenzo[*b*]-thiophen-7-carbonsäure-2,5-dioxopyrrolidin-1-ylester 55:** Zu einer Lösung von 680 mg **45** (3.20 mmol, 1.50 Äquiv.) in 10 ml Benzol wurde unter Rühren 1.81 g N-Hydroxysuccinimid (15.9 mmol, 7.50 Äquiv.) in 10 ml Benzol und 3.30 ml Pyridin (3.30 g, 41.3 mmol, 19.5 Äquiv.) zugegeben und gerührt bis die Veresterung vollständig war (1.5h). Zu dieser Lösung wurde eine Lösung von 500 mg **32** (2.10 mmol, 1.00 Äquiv.) in 10 ml Benzol und 0.05 ml Piperidin (0.04 g, 0.50 mmol, 0.20 Äquiv.) zugegeben, über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und anschließend noch 3 h unter Rückfluß erhitzt. Die Lösung wurde mit 50 ml Dichlormethan aufgenommen und die organische Phase wurde zweimal mit je 30 ml Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Chromatographie an Florisil (Pentan : Ethylacetat, 1 :1) wurden 640 mg (60%) **55** als gelber Feststoff erhalten [Schmp.: 199°C,  $R_f = 0.41$  (Ethylacetat : Pentan, 1 : 1)].

**$^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 8.39 (dd,  $^3J = 7.8$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, Ar-*H*), 8.17 (dd,  $^3J = 7.6$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, Ar-*H*), 7.91 (s, 1 H, C=CH), 7.68 (d,  $^3J = 8.8$  Hz, 2H, Ar-*H*), 7.42 (t,  $^3J = 7.7$  Hz, 1H, Ar-*H*), 6.94 (d,  $^3J = 8.8$  Hz, 2H, Ar-*H*), 4.55 (s, 2H, Ar- $\text{OCH}_2$ ), 2.93 (s, 4H, N( $\text{COCH}_2$ ) $_2$ ), 1.47 (s, 9H, C( $\text{CH}_3$ ) $_3$ ).

**$^{13}\text{C NMR}$  (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 187.2, 168.9, 167.2, 160.4, 159.8, 150.1, 136.7, 135.4, 133.4, 132.7, 132.5, 127.9, 127.2, 125.4, 119.6, 115.2, 82.7, 65.4, 28.0, 25.6.

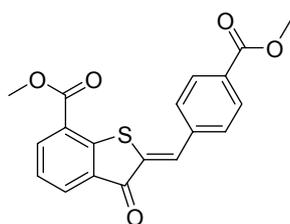
**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3526 (br, w), 3069 (w), 2978 (m), 1740 (vs), 1678 (s), 1586 (s), 1559 (s), 1508 (s), 1411 (m), 1368 (m), 1259 (s), 1223 (s), 1201 (s), 1181 (s), 1154 (s), 1093 (s), 1069 (s), 1046 (s), 928 (m), 834 (m), 818 (m), 742 (m).

**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 509 (38) [ $M^+$ ], 453 (36) [ $M^+ - C(CH_3)_3 + H$ ], 395 (12) [ $M^+ - CH_2CO_2C(CH_3)_3 + H$ ], 339 (100) [ $M^+ - N(COCH_2)_2 - C(CH_3)_3 + H$ ].

**HRMS:**  $m/z$  für  $C_{26}H_{23}NO_8S$ , ber.: 509.1144; gef.: 509.1134.

**$C_{26}H_{23}NO_8S$  (509.53)** ber.: C, 61.29; H, 4.55; N, 2.75; S, 6.29

gef.: C, 61.18; H, 4.42; N, 2.75; S, 6.32.



**56**

**(2Z)-2-(-(Methoxycarbonylbenzyliden)3-oxo-2,3-dihydrobenzo[*b*]thiophen-7-**

**carbonsäuremethylester 56:** Zu einer Lösung von 1.50 g **45** (7.05 mmol, 1.00 Äquiv.) in 15 ml Benzol wurden unter Rühren eine Lösung von 1.40 g 4-Formylbenzoesäuremethylester (8.50 mmol, 1.20 Äquiv.), 3 ml Methanol (2.37 g, 73.5 mmol, 10.0 Äquiv.) und 0.15 ml Piperidin (0.13 g, 1.50 mmol, 0.20 Äquiv.) zugegeben. Es wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend 1 h unter Rückfluß erhitzt. Die Lösung wurde über Nacht weiter bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 50 ml Dichlormethan versetzt und die organische Phase zweimal mit je 25 ml 1N Salzsäure und zweimal mit je 25 ml ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Umkristallisation aus Toluol : Methanol (1 : 1) erhielt man 1.25 g (50%) **56** als gelben Feststoff (Schmp.: 250°C,  $R_f$  = 0.48 (Ethylacetat : Pentan, 1 : 2)).

**$^1H$  NMR (200 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 8.31 (dd,  $^3J = 7.6$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, Ar-*H*), 8.16-8.11 (m, 1H, Ar-*H*), 8.14 (d,  $^3J = 8.8$  Hz, 2H, Ar-*H*), 7.97 (s, 1H, C=CH), 7.85 (d,  $^3J = 8.6$  Hz, 2H, Ar-*H*), 7.43 (t,  $^3J = 7.6$  Hz, 1H, Ar-*H*), 4.04 (s, 3H,  $CO_2CH_3$ ), 3.96 (s, 3H,  $CO_2CH_3$ ).

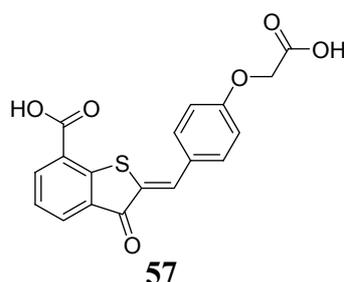
**$^{13}C$  NMR (50.3 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 188.1, 166.3, 165.6, 148.4, 138.3, 136.7, 133.4, 133.0, 131.9, 131.0, 131.0, 130.1, 125.6, 124.8, 52.7, 52.3.

**IR (ATR):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3080 (w), 2956 (w), 1733 (s), 1709 (vs), 1688 (s), 1607 (m), 1560 (m), 1436 (m), 1411 (m), 1289 (s), 1270 (m), 1065 (m), 1050 (m), 757 (s), 745 (m).

**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 354 (68) [M<sup>+</sup>], 339 (50) [M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>], 323 (12) [M<sup>+</sup>-OCH<sub>3</sub>], 295 (100) [M<sup>+</sup>-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>], 236 (10) [M<sup>+</sup>-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>].

**HRMS:**  $m/z$  für C<sub>19</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>S ber.: 354.0562, gef.: 354.0561.

**C<sub>19</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>S (354.38).**



**(2Z)-2-(4-Carboxymethoxybenzyliden)-3-oxo-2,3-dihydro-benzo[b]thiophen-7-carbonsäure 57:**

a) Durch Aldolkondensation: Zu einem Gemisch von 27 ml 1% NaOH und 12 ml *tert*-Butanol wurden unter Rühren 675 mg **45** (3.20 mmol, 1.50 Äquiv.) bei 0°C zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis eine homogene Lösung entstanden war (ca.15 min). Anschließend wurden 500 mg **32** (2.10 mmol, 1.00 Äquiv.) in 6 ml *tert*-Butanol hinzugefügt und 1 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Lösung mit Eisessig angesäuert (pH6) und der entstandene Niederschlag abgesaugt, wobei 865 mg (quant.) **57** als brauner Feststoff erhalten wurden (Schmp.: >280°C (Zers.), R<sub>f</sub> = 0.11 (Ethylacetat : Eisessig, 80 : 1)).

b) Durch Entschützung der Methylester: Eine Lösung von 50 mg **53** (0.13 mmol, 1.00 Äquiv.), 217 mg Thiophenol (2.00 mmol, 15.0 Äquiv.) und 30 mg K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.22 mmol, 1.70 Äquiv.) in 5 ml 1-Methyl-2-pyrrolidon wurde 10 min auf 190°C unter Stickstoffatmosphäre erhitzt. Nachdem die Lösung auf Raumtemperatur abgekühlt war, wurde mit 25 ml ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung aufgenommen und zweimal mit je 20 ml Diethylether extrahiert. Die wäßrige Phase wurde mit 6N Salzsäure angesäuert und dreimal mit je 30 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert

und im Vakuum eingengt, wobei 41 mg (89%) **57** als brauner Feststoff erhalten wurden [Schmp. >280°C,  $R_f = 0.11$  (Ethylacetat : Eisessig, 80 : 1)].

**$^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 8.28 (d,  $^3J = 7.2$  Hz, 1H, Ar-H), 8.06 (d,  $^3J = 7.2$  Hz, 1H, Ar-H), 7.89 (s, 1H, C=CH), 7.81 (d,  $^3J = 8.6$  Hz, 2H, Ar-H), 7.51 (t,  $^3J = 7.5$  Hz, 1H, Ar-H), 7.15 (d,  $^3J = 8.4$  Hz, 2H, Ar-H), 4.79 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ). Die Protonen der Carbonsäuren (COOH) sind im Spektrum nicht zu sehen.

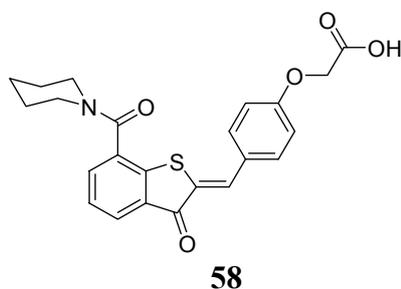
**$^{13}\text{C NMR}$  (50.3 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 187.2, 169.6, 166.3, 159.7, 146.8, 136.6, 133.6, 132.9, 131.5, 129.8, 128.8, 126.7, 126.4, 125.9, 115.4, 64.6.

IR (ATR):  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3070 (br, m), 2971 (m), 1704 (br, vs), 1639 (vs), 1604 (s), 1585 (s), 1509 (vs), 1408 (m), 1252 (br, vs), 1179 (vs), 1146 (s), 1072 (m), 1048 (m), 834 (m), 750 (m).

**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 356 (100) [ $\text{M}^+$ ], 355 (30) [ $\text{M}^+ - \text{H}$ ], 297 (56) [ $\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ], 281 (18) [ $\text{M}^+ - \text{OCH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ].

**HRMS:**  $m/z$  für  $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{O}_6\text{S}$ , ber.: 356.0355; gef.: 356.0354.

**$\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{O}_6\text{S}$  (356.35).**



**(2Z)-{4-[3-Oxo-7-(piperidin-1-carbonyl)-3H-benzo[b]thiophen-2-ylidenmethyl]-phenoxy}essigsäure **58**:** Eine Lösung von 200 mg **54** (0.30 mmol, 1.00 Äquiv.) in 6 ml Reagenz K (10 ml Reagenz K enthalten 8.25 ml Trifluoressigsäure, 0.5 ml Wasser, 0.5 ml Thioanisol, 0.5 g Phenol, 0.25 ml Ethandithiol) wurde 1 h unter Stickstoffatmosphäre bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde im Vakuum eingengt und es wurde tropfenweise eisgekühlten Diethylether auf den öligen Rückstand gegeben, wobei das Produkt langsam ausfiel. Nach Umkristallisation aus Diethylether wurden 140 mg (80%) **58** als hellgelber Feststoff erhalten [Schmp.: 223°C,  $R_f = 0.33$  (Ethylacetat : Eisessig, 80 : 1)].

**$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 13.12 (s, 1H,  $\text{CO}_2\text{H}$ ), 7.95 (s, 1H,  $\text{C}=\text{CH}$ ), 7.94 (d,  $^3J = 7.6$  Hz, 1H, Ar-H), 7.79-7.71 (m, 1H, Ar-H), 7.77 (d,  $^3J = 8.8$  Hz, 2H, Ar-H), 7.48 (t,  $^3J = 7.5$  Hz, Ar-H), 7.13 (d,  $^3J = 8.6$  Hz, 2H, Ar-H), 4.80 (s, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ), 3.48 (br s, 4H,  $\text{N}(\text{CH}_2)_2$ ), 1.61-1.56 (m, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2)$ ).

**$^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 187.0, 169.6, 165.5, 159.7, 147.2, 133.6, 133.2, 132.9, 131.5, 130.7, 127.0, 127.0, 126.5, 126.0, 115.4, 64.5, 23.8. Zwei Kohlenstoffatome des Amid-Rings sind im Spektrum nicht zu sehen.

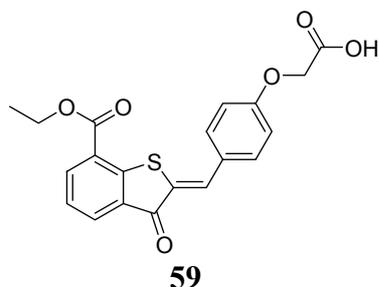
**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 2936 (br, m), 1743 (m), 1676 (m), 1587 (vs), 1559 (s), 1508 (vs), 1442 (m), 1406 (s), 1268 (s), 1205 (m), 1180 (vs), 1067 (s), 1046 (m), 751 (m).

**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 423 (32) [ $\text{M}^+$ ], 339 (10) [ $\text{M}^+ - \text{N}(\text{CH}_2)_5$ ], 187 (44), 121 (66), 91 (100).

**HRMS:**  $m/z$  für  $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{NO}_5\text{S}$ , ber.: 423.1140; gef.: 423.1144.

**$\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{NO}_5\text{S}$  (423.48)** ber.: C, 65.23; H, 5.00; N, 3.31; S, 7.57

gef.: C, 65.14; H, 5.07; N, 3.30; S, 7.64



**(2Z)-2-(4-Carboxymethoxybenzyliden)-3-oxo-2,3-dihydro-benzo[*b*]thiophen-7-carbonsäureethylester 59:** Eine Lösung von 200 mg **46/47** (0.50 mmol, 1.00 Äquiv.) in 4.5 ml Eisessig : *i*-PrOH : Wasser (1 : 4 : 4) wurde 15 h unter Rückfluß in einer Stickstoffatmosphäre erhitzt. Der beim Abkühlen entstandene Niederschlag wurde abgetrennt, indem die überstehende Lösung vorsichtig abdekantiert wurde. Nach Chromatographie an Florisil [Ethylacetat : Pentan (2 : 1) → Ethylacetat : Eisessig (80 : 1)] wurden 150 mg (86%) **59** als hellgelber Feststoff erhalten [Schmp.: 236°C,  $R_f = 0.24$  (Ethylacetat : Eisessig, 80 : 1)].

**$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 12.98 (br s, 1H, COOH), 8.29 (dd,  $^3J = 7.8$  Hz,  $^4J = 1.2$  Hz, 1H, Ar-H), 8.10 (dd,  $^3J = 7.4$  Hz,  $^4J = 1.2$  Hz, 1H, Ar-H), 7.90 (s, 1H, C=CH), 7.80 (d,  $^3J = 8.8$  Hz, 2H, Ar-H), 7.54 (t,  $^3J = 7.6$  Hz, 1H, Ar-H), 7.15 (d,  $^3J = 8.8$  Hz, 2H, Ar-H), 4.80 (s, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ), 4.42 (q,  $^3J = 7.2$  Hz, 2H,  $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1.39 (t,  $^3J = 7.2$  Hz, 3H,  $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

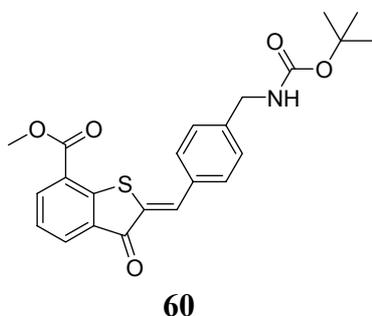
**$^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 186.8, 169.6, 164.3, 159.7, 146.8, 136.3, 134.0, 133.0, 131.7, 130.5, 128.1, 126.6, 126.1, 124.3, 115.4, 64.5, 61.5, 14.0.

**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 2927 (w), 1740 (m), 1712 (s), 1669 (s), 1587 (s), 1558 (s), 1511 (vs), 1419 (m), 1410 (m), 1295 (m), 1266 (vs), 1181 (vs), 1140 (s), 1072 (s), 1049 (s), 1029 (m), 744 (s).

**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 384 (100) [ $\text{M}^+$ ], 325 (16) [ $\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ], 309 (8) [ $\text{M}^+ - \text{OCH}_2\text{CO}_2\text{H}$ ], 297 (20) [ $\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{CO}_2\text{H} - \text{CH}_2\text{CH}_3 + \text{H}$ ].

**HRMS:**  $m/z$  für  $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{O}_6\text{S}$ , ber.: 384.0668; gef.: 384.0663.

**$\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{O}_6\text{S}$  (384.44).**



**(2Z)-2-[4-tert-Butoxycarbonylaminomethyl]benzyliden]-3-oxo-2,3-dihydro-**

**benzo[*b*]thiophen-7-carbonsäuremethylester 60:** Zu einer Lösung von 750 mg **45** (3.50 mmol, 1.50 Äquiv.) in 10 ml entgastem Benzol über MS 4Å wurden 1.15 ml Methanol (0.57 g, 17.7 mmol, 7.50 Äquiv.) und 3.75 ml Pyridin (3.66 g, 46.5 mmol, 19.5 Äquiv.) bei 0°C zugegeben und die Lösung wurde für 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch 3 h unter Rückfluß erhitzt und dann auf Raumtemperatur abgekühlt. Es wurden 480 mg **37** (2.40 mmol, 1.00 Äquiv.) gelöst in 10 ml Benzol unter Rühren tropfenweise bei 0°C zum Reaktionsgemisch hinzu gefügt. Nach Zugabe von 0.05 ml Piperidin (0.04 g, 0.50 mmol, 0.30 Äquiv.) wurde über Nacht bei

Raumtemperatur gerührt und anschließend noch 1 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Lösung mit 50 ml Diethylether aufgenommen und die organische Phase mit Eiswasser gewaschen. Die Lösung wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, wobei 920 mg (98 %, ca. 98% Reinheit) orange-gelbes **60** erhalten wurden. Nach Chromatographie an Florisil (Pentan : Ethylacetat, 3 : 1) wurden 800 mg (87%) **60** als hellgelber Feststoff erhalten [Schmp.: 173°C,  $R_f = 0.28$  (Pentan : Ethylacetat, 3 : 1)].

**$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 8.30 (dd,  $^3J = 7.8$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, Ar-*H*), 8.14 (dd,  $^3J = 7.6$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, Ar-*H*), 7.97 (s, 1H, C=CH), 7.78 (d,  $^3J = 8.2$  Hz, 2H, Ar-*H*), 7.41 (d,  $^3J = 8.2$  Hz, 2H, Ar-*H*), 7.40 (t,  $^3J = 7.7$  Hz, 1H, Ar-*H*), 4.92 (br s, 1H, NH), 4.38 (br d,  $^3J = 5.6$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 4.04 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 1.48 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ).

**$^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 188.2, 165.6, 155.9, 148.6, 141.7, 136.4, 134.4, 133.1, 132.2, 131.6, 130.9, 130.9, 127.9, 125.3, 124.6, 79.7, 52.6, 44.3, 28.4. Die Lage des Kohlenstoffs der  $\text{CH}_2$ -Gruppe wurde aus dem DEPT-Spektrum bestimmt.

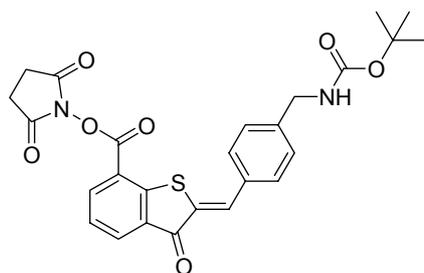
**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3346 (br, m), 2976 (m), 1710 (vs), 1681 (s), 1589 (m), 1572 (m), 1510 (m), 1411 (m), 1365 (m), 1283 (vs), 1265 (s), 1201 (m), 1169 (s), 1141 (s), 1068 (m), 1048 (m), 749 (s).

**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 425 (16) [ $\text{M}^+$ ], 369 (72) [ $\text{M}^+ - \text{C}(\text{CH}_3)_3 + \text{H}$ ], 324 (76) [ $\text{M}^+ - \text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3 + \text{H}$ ], 308 (36), 295 (40) [ $\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{NHCO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ], 208 (100).

**HRMS:**  $m/z$  für  $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{NO}_5\text{S}$ , ber.: 425.1297; gef.: 425.1293.

**$\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{NO}_5\text{S}$  (425.50)** ber.: C, 64.92; H, 5.45; N, 3.29; S, 7.54

gef.: C, 64.89; H, 5.49; N, 3.21; S, 7.51.



61

**(2Z)-{4-[7-(2,5-Dioxopyrrolidin-1-carbonyl)-3-oxo-3H-benzo[*b*]thiophen-2-ylidenmethyl]benzyl}carbaminsäure-*tert*-butylester 61:** Zu einer Lösung von 780 mg **45** (3.70 mmol, 1.60 Äquiv.) in 15 ml entgastem Benzol über Molekularsieb 4Å wurden 2.10 g N-Hydroxysuccinimid (18.3 mmol, 7.60 Äquiv.) und 4 ml Pyridin (3.76 g, 47.6 mmol, 19.8 Äquiv.) bei 0°C zugegeben und anschließend wurde die Lösung 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde 3 h unter Rückfluß erhitzt und anschließend auf Raumtemperatur abkühlt. Zu der Reaktionsmischung wurden 500 mg **37** (2.40 mmol, 1.00 Äquiv.) gelöst in 15 ml entgastem Benzol tropfenweise bei 0°C zugegeben. Nach Zugabe von 0.05 ml Piperidin (0.04 g, 0.50 mmol, 0.20 Äquiv.) wurde die Lösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und anschließend 1 h unter Rückfluß erhitzt. Die Lösung wurde mit 50 ml Diethylether versetzt und anschließend mit Eiswasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Chromatographie an Florisil (Ethylacetat : Pentan, 1 : 1) wurden 500 mg (40%) **61** als gelber Feststoff erhalten [Schmp.: 187°C,  $R_f = 0.40$  (Ethylacetat : Pentan, 1 : 1)].

**$^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 8.45 (dd,  $^3J = 7.8$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, Ar-*H*), 8.23 (dd,  $^3J = 7.6$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, Ar-*H*), 7.98 (s, 1H, C=CH), 7.72 (d,  $^3J = 8.4$  Hz, 2H, Ar-*H*), 7.47 (t,  $^3J = 7.6$  Hz, 1H, Ar-*H*), 7.38 (d,  $^3J = 8.2$  Hz, 2H, Ar-*H*), 4.94 (br s, 1H, NH), 4.36 (br d,  $^3J = 5.6$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{NHBoc}$ ), 2.95 (s, 4H,  $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ), 1.47 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ).

**$^{13}\text{C NMR}$  (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 187.4, 168.8, 160.4, 155.9, 150.4, 142.1, 137.0, 135.3, 132.9, 132.7, 132.6, 131.6, 130.0, 128.0, 125.6, 119.9, 79.8, 44.4, 28.4, 25.7. Die Lage des Kohlenstoffs der  $\text{CH}_2\text{NHBoc}$ -Gruppe wurde aus dem DEPT-Spektrum bestimmt.

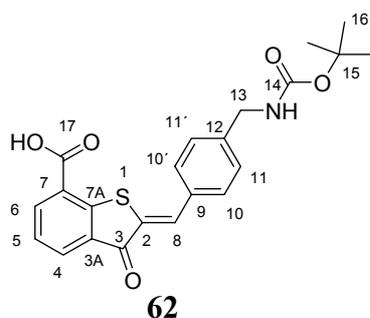
**IR (ATR):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3367 (br, m), 2976 (m), 1741 (vs), 1709 (s), 1685 (s), 1591 (s), 1512 (m), 1412 (m), 1366 (m), 1260 (s), 1201 (s), 1170 (s), 1096 (s), 1046 (s), 928 (m).

**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 508 (10) [M<sup>+</sup>], 452 (28) [M<sup>+</sup>-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>]+H], 407 (56) [M<sup>+</sup>-CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>], 392 (16) [M<sup>+</sup>-NHCO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>], 369 (88), 354 (28) [M<sup>+</sup>-N(COCH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>]+H], 324 (80), 115 (100).

**HRMS:**  $m/z$  für C<sub>26</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S, ber.: 508.1304, gef.: 508.1317.

**C<sub>26</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S (508.54)** ber.: C, 61.41; H, 4.76; N, 5.51; S, 6.31

gef.: C, 61.27; H, 4.80; N, 5.52; S, 6.35.



**(2Z)-2-[4-(tert-Butoxycarbonylaminomethyl)benzyliden]-3-oxo-2,3-dihydrobenzo[b]thiophen-7-carbonsäure 62:** Zu einer Lösung von 780 mg **45** (3.70 mmol, 1.50 Äquiv.) in einer entgasten Mischung von 30 ml 1% NaOH und 5 ml *tert*-Butanol wurde unter Rühren bei 0°C eine Lösung von 500 mg **37** (2.40 mmol, 1.00 Äquiv.) in 5 ml *tert*-Butanol zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend 1 h unter Rückfluß erhitzt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und die Lösung mit Eisessig angesäuert (pH 6). Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und im Vakuum getrocknet. Nach Chromatographie an Florisil (Ethylacetat : Pentan, 2 : 1 → Ethylacetat : Eisessig, 500 : 1) wurden 790 mg (80%) **62** als gelber Feststoff erhalten [Schmp.: > 290°C (Zers.), R<sub>f</sub> = 0.21 (Ethylacetat : Pentan, 2 : 1)].

**<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta$  = 8.31 (d, <sup>3</sup>J = 7.2 Hz, 1H, H6), 8.04 (d, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 1H, H4), 7.88 (s, 1H, H8), 7.75 (d, <sup>3</sup>J = 8.0 Hz, 2H, H10/H10'), 7.48-7.41 (m, 1H, H5), 7.42 (d, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 2H, H11/H11'), 4.28 (s, 2H, H13), 1.46 (s, 9H, H16). Die Protonen des Amins (NH) und der Carbonsäure (COOH) sind in diesem

Spektrum nicht zu sehen. Das Multiplett zwischen 7.48 und 7.41 müßte als Dublett vom Dublett aufspalten, durch Überlagerung mit einem anderen Dublett konnte jedoch keine Kopplungskonstante bestimmt werden.

**$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta = 8.29$  (d,  $^3J = 7.6$  Hz, 1H, H6), 8.08 (d,  $^3J = 7.6$  Hz, 1H, H4), 7.90 (s, 1H, H8), 7.77 (d,  $^3J = 8.0$  Hz, 2H, H10), 7.52 (t,  $^3J = 7.6$  Hz, 1H, H5), 7.47 (t,  $^3J = 6.1$  Hz, 1H, NH), 7.43 (d,  $^3J = 8.0$  Hz, 2H, H11), 4.19 (d,  $^3J = 6.1$  Hz, 2H, H13), 1.40 (s, 9H, H16).

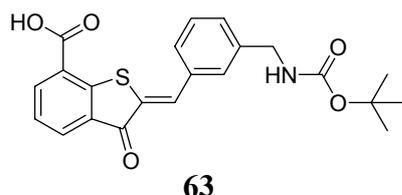
**$^{13}\text{C}$  NMR (150.9 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta = 187.3$  (C3), 166.2 (C17), 155.8 (C14), 147.0 (C7A), 143.2 (C12), 136.9 (C6), 133.6 (C8), 132.2 (C9), 131.0 (C2), 131.0 (C10), 130.7 (C3A/7), 130.2 (C4), 127.7 (C11), 126.2 (C5), 125.9 (C3A/7), 77.9 (C15), 43.2 (C13), 28.2 (C16).

**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3344 (br, m), 2977 (m), 2930 (m), 1684 (vs), 1589 (s), 1573 (s), 1559 (s), 1511 (s), 1470 (m), 1418 (s), 1368 (s), 1272 (s), 1253 (s), 1168 (s), 1146 (s), 1074 (m), 1049 (s), 748 (s).

**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 411 (4) [ $\text{M}^+$ ], 310 (8) [ $\text{M}^+ - \text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ], 194 (8), 56 (100).

**HRMS:**  $m/z$  für  $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{NO}_5\text{S}$ ,  $m/e$  411.1140; found,  $m/e$  411.1149.

**$\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{NO}_5\text{S}$  (411.47).**



**(2Z)-2-(3-(((tert-Butoxycarbonyl)amino)methyl)benzylidene)-3-oxo-2,3-dihydro-1-benzo[b]thiophen-7-carbonsäure 63:** Zu einer Lösung von 780 mg **45** (3.30 mmol, 1.20 Äquiv.) in einem entgasten Gemisch aus 30 ml 1% NaOH und 5 ml *tert*-Butanol wurden 570 mg **43** (2.80 mmol, 1.00 Äquiv.) gelöst in 10 ml *tert*-Butanol zugegeben und das Reaktionsgemisch wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend für 1.5 h unter Rückfluß erhitzt. Die wäßrige Mischung wurde dreimal mit je 20 ml Diethylether extrahiert, um wasserlösliche Nebenprodukte zu entfernen. Anschließend wurde die wäßrige Phase mit Eisessig angesäuert (pH 6) und die zweimal mit je 40 ml Diethylether extrahiert. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Nach einer ersten Chromatographie an Florisil (Ethylacetat: Eisessig, 80 : 1) wurden 795 mg (70%, 80% Reinheit) hellgelbes **63** erhalten. Das Produkt der Chromatographie wurde noch zweimal an Florisil chromatographiert, wobei schließlich 500 mg (44%, 95% Reinheit) **63** als gelber Feststoff erhalten wurden [Schmp.: 223°C,  $R_f$  = 0.66 (Ethylacetat: Eisessig, 80 : 1)].

**$^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 8.26 (dd,  $^3J = 7.6$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, Ar-H), 8.00 (dd,  $^3J = 7.4$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, Ar-H), 7.83 (s, 1H, C=CH), 7.66-7.60 (m, 1H, Ar-H), 7.61 (s, 1H, Ar-H), 7.42 (t,  $^3J = 7.8$  Hz, 1H, Ar-H), 7.40 (t,  $^3J = 7.6$  Hz, 1H, Ar-H), 7.32 (d,  $^3J = 7.6$  Hz, 1H, Ar-H), 4.24 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{NHBoc}$ ), 1.37 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ). Die Protonen des Amins (NH) und der Carbonsäure ( $\text{CO}_2\text{H}$ ) sind im Spektrum nicht zu sehen.

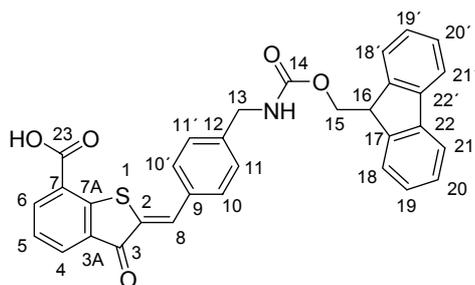
**$^{13}\text{C NMR}$  (50.3 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 191.0, 172.5, 158.6, 149.2, 142.2, 138.4, 137.9, 136.0, 134.5, 133.1, 132.6, 130.8, 130.3, 129.6, 129.3, 129.0, 126.4, 80.2, 44.8, 28.8.

**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3342 (br, m), 2976 (m), 2931 (m), 1695 (vs), 1591 (s), 1564 (s), 1521 (m), 1471 (m), 1410 (m), 1367 (m), 1266(s), 1253 (s), 1166 (s), 1146 (s), 1048 (s), 747 (m).

**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 411 (7) [ $M^+$ ], 368 (9), 354 (22) [ $M^+ - CO_2C(CH_3)_3$ ], 294 (18), 281 (44) [ $M^+ - CH_2NHCO_2C(CH_3)_3$ ], 56 (100).

**HRMS:**  $m/z$  für  $C_{22}H_{21}NO_5S$  ber.: 411.1140, gef.: 411.1144.

**$C_{22}H_{21}NO_5S$  (411.47).**



**64**

**(2Z)-2-{4-[9H-fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-methyl]-benzyliden}-3-oxo-2,3-dihydro-1-benzo[b]thiophen-7-carbonsäure 64:**

1) Unter Verwendung von HCl/Eisessig: Zu einer Lösung von 420 mg **45** (2.00 mmol, 1.50 Äquiv.) in 20 ml einer entgasten Lösung von 1% Salzsäure in Eisessig wurden 500 mg **39** (1.33 mmol, 1.00 Äquiv.) in 15 ml *tert*-Butanol bei Raumtemperatur zugegeben. Die Lösung 2 h bei 40°C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde mit 30 ml Wasser versetzt. Der entstandene Niederschlag wurde abgesaugt und an Florisil chromatographiert (Ethylacetat → Ethylacetat : Methanol 10 : 3), wobei 350 mg (50%) **64** als gelber Feststoff erhalten wurden.

2) Unter Verwendung von HCl in Dioxan und anschließender Hydrolyse: Zu einer Lösung von 297 mg **45** (1.40 mmol, 1.00 Äquiv.) in 10 ml einer entgasten Lösung von 4M HCl in Dioxan wurden 500 mg **39** (1.40 mmol, 1.00 Äquiv.) als Feststoff bei 0°C unter Stickstoffatmosphäre zugegeben. Die Lösung auf Raumtemperatur erwärmt und anschließend noch 3 h gerührt. Nachdem die Aldolkondensation vollständig war, wurden 3 ml Wasser hinzugefügt und das Gemisch 1 h unter Rückfluß erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 200 ml Ethylacetat aufgenommen und dreimal mit je 50 ml Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wurde anschließend im Vakuum entfernt, wobei 600 mg (80%) **64** als gelber Feststoff erhalten wurden [Schmp.: 218°C,  $R_f$  = 0.10 (Ethylacetat)].

**$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 8.25 (d,  $^3J = 7.0$  Hz, 1H, H6), 7.91 (t,  $^3J = 6.0$  Hz, 1H, NH), 7.89 (d,  $^3J = 7.5$  Hz, 2H, H21/H21'), 7.86 (d,  $^3J = 7.5$  Hz, 1H, H4), 7.80 (s, 1H, H8), 7.79 (d,  $^3J = 7.5$  Hz, 2H, H10/H10'), 7.71 (d,  $^3J = 7.5$  Hz, 2H, H18/H18'), 7.45 (t,  $^3J = 7.3$  Hz, 2H, H20/H20'), 7.40-7.31 (m, 5H, H5, H11/H11', H19/H19'), 4.41 (d,  $^3J = 6.5$  Hz, 2H, H15), 4.26-4.23 (m, 3H, H13/H16). Das Proton der Carbonsäure ist im Spektrum nicht zu sehen. Die Zuordnung der Protonen erfolgte aus HMQC- und HMBC-Spektren.

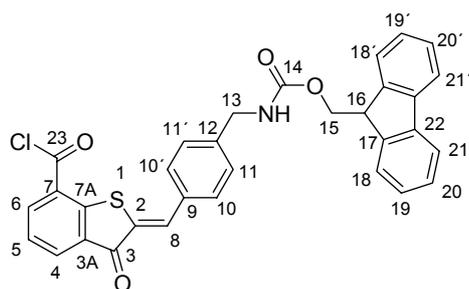
**$^{13}\text{C}$  NMR (125.7 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 188.8 (C3), 167.6 (C23), 156.3 (C14), 146.4 (C7A), 143.8 (C17), 142.0 (C12), 140.7 (C22), 136.4 (C6), 133.4 (C9), 132.9 (C3A/7), 131.6 (C8), 130.9 (C10), 130.5 (C3A/7), 127.6 (C11/C20), 127.0 (C19), 126.8 (C4), 125.2 (C5), 125.0 (C18), 120.0 (C21), 65.1 (C15), 46.8 (C16), 43.5 (C13). Das Kohlenstoffatom C2 wird durch ein benachbartes Kohlenstoffatom überlagert. Die Kohlenstoffatome C11 und C20 überlagern ebenfalls. Die Zuordnung der Kohlenstoffatome erfolgte aus HMQC- und HMBC-Spektren.

**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3301 (m), 3065 (w), 2957 (m), 2929 (m), 1693 (vs), 1677 (s), 1603 (vs), 1555 (s), 1465 (m), 1403 (s), 1390 (s), 1262 (s), 1145 (m), 1071 (m), 1046 (s), 759 (s), 742 (s).

**FAB-MS:**  $m/z$  (%) = 534 (92) [ $\text{M}^+$ ].

Im FAB-MS-Spektrum ist ein Peak bei  $m/z$  (%) = 554 (20) und 556 (100) zu sehen. Unter Berücksichtigung der Isotopenverteilung von Chlor könnten diese Peaks aus dem Säurechlorid **65** resultieren.

**$\text{C}_{32}\text{H}_{23}\text{NO}_5\text{S}$  (533.59).**



65

**(9H-Fluoren-9-yl)methyl{4-[(Z)-(7-chlorocarbonyl)-3-oxobenzo[*b*]thiophen-2-(3H)-ylidenemethyl]phenyl}methylcarbammat 65:** Zu einer Lösung von 1.69 g **45** (7.94 mmol, 1.00 Äquiv.) in 30 ml einer entgasten Lösung von 4M HCl in Dioxan wurden 3.00 g **39** (7.94 mmol, 1.00 Äquiv.) als Feststoff bei 0°C unter Stickstoffatmosphäre zugegeben. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur erwärmt und anschließend noch 3 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der verbleibende Feststoff wurde abfiltriert und der Filterkuchen dreimal mit je 30 ml heißem Ethylacetat gewaschen, wobei 2.97 g (70%) **65** als hellgelber Feststoff erhalten wurden [Schmp.: 157-160°C (Zers.),  $R_f = 0.25$  (Ethylacetat)].

**$^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 8.29 (d,  $^3J = 7.5$  Hz, 1H, H6), 8.09 (d,  $^3J = 7.0$  Hz, 1H, H4), 7.90 (s, 1H, H8), 7.89 (d,  $^3J = 7.5$  Hz, 2H, H21/H21'), 7.88-7.86 (m, 1H, NH), 7.76 (d,  $^3J = 8.0$  Hz, 2H, H10/H10'), 7.71 (d,  $^3J = 7.5$  Hz, 2H, H18/H18'), 7.53 (t,  $^3J = 7.5$  Hz, 1H, H5), 7.45 (t,  $^3J = 7.3$  Hz, 2H, H20/H20'), 7.34 (t,  $^3J = 7.0$  Hz, 2H, H19/H19'), 7.33 (d,  $^3J = 8.0$  Hz, 2H, H11/H11'), 4.45 (d,  $^3J = 6.5$  Hz, 2H, H15), 4.25-4.24 (m, 1H, H16), 4.24 (d,  $^3J = 5.5$  Hz, 2H, H13).

**$^{13}\text{C NMR}$  (125.7 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 187.2 (C3), 166.2 (C23), 156.4 (C14), 147.1 (C7A), 143.8 (C17), 142.8 (C12), 140.8 (C22), 136.9 (C6), 133.6 (C8), 132.2 (C9), 131.4 (C3A/7), 131.0 (C10), 130.6 (C2), 130.3 (C4), 127.6 (C11), 127.5 (C20), 127.0 (C19), 126.2 (C5), 125.5 (C3A/7), 125.1 (C18), 120.0 (C21), 65.0 (C15), 46.9 (C16), 43.5 (C13).

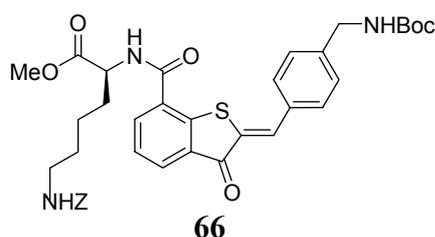
Die Zuordnung der Protonen und der Kohlenstoffatome erfolgte aus HMQC- und HMBC-Spektren.

**IR (ATR):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3316 (m), 3067 (w), 2972 (w), 1732 (s), 1698 (vs), 1577 (s), 1526 (m), 1468 (m), 1450 (m), 1259 (s), 1235 (vs), 1195 (s), 1144 (m), 1078 (m), 999 (s), 805 (m), 759 (s), 742 (s), 724 (s), 674 (m).

**FAB-MS:**  $m/z$  (%) = 552 (8) [M<sup>+</sup>], 551 (20) [M<sup>+</sup>-H].

**C<sub>32</sub>H<sub>22</sub>ClNO<sub>4</sub>S (552.04)** ber.: C, 69.62; H, 4.02; N, 2.54; S, 5.81

gef.: C, 69.58; H, 3.89; N, 2.53; S, 5.84.

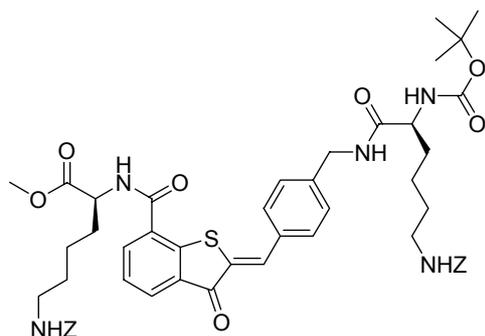


**(2Z)-6-Benzyloxycarbonylamino-2-({2-[4-(*tert*-butoxycarbonylaminomethyl)-benzyliden]-3-oxo-2,3-dihydro-benzo[*b*]thiophen-7-carbonyl}amino)hexansäuremethylester **66**:**

1) Durch Peptidkupplung von **62**: Eine Lösung von 50 mg der Boc-geschützten HT-Aminosäure **62** (0.12 mmol, 1.00 Äquiv.), 22 mg HOBt (0.14 mmol, 1.20 Äquiv.) und 28 mg EDC (0.14 mmol, 1.20 Äquiv.) in 3 ml N,N-Dimethylformamid wurde bei -30°C unter einer Stickstoffatmosphäre gerührt. Die Lösung wurde über einen Zeitraum von 90 min auf 5°C erwärmt und anschließend wurden 54 mg (*S*)-H-Lys(Cbz)-OMe x HCl (0.18 mmol, 1.50 Äquiv.) und 31 mg DIEA (0.05 ml, 0.24 mmol, 2.00 Äquiv.) zugegeben. Es wurde 29 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der verbleibende Rückstand mit 20 ml Ethylacetat/Isopropanol (75:25) aufgenommen. Es wurde zweimal mit je 10 ml 1 N Salzsäure und anschließend zweimal mit je 10 ml ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Chromatographie an Florisil (Ethylacetat : Pentan, 1 : 1) wurden 69 mg (88%) **66** als gelber Feststoff erhalten [Schmp.: 137°C, R<sub>f</sub> = 0.58 (Ethylacetat : Pentan, 1 : 1)].

2) Durch "In situ"- Kupplung und HT-Synthese: Zu einer Lösung von 770 mg **45** (3.53 mmol, 1.50 Äquiv.) in 10ml Benzol über MS 4 Å wurden 5.39 g (*S*)-H-Lys(Cbz)-OMe (18.3 mmol, 7.50 Äquiv.) in 10 ml Benzol bei 0°C unter





67

**(2Z)-6-Benzyloxycarbonylamino-2-[(2-{4-[(6-benzyloxycarbonylamino-2-*tert*-butoxycarbonylamino)hexanoylamino)methyl]benzyliden}-3-oxo-2,3-dihydrobenzo[*b*]-thiophene-7-carbonyl)-amino]-hexansäuremethylester 67:**

1) Durch Peptidkupplung mit TEA: Zu einer Lösung von 150 mg **70** (0.24 mmol, 1.00 Äquiv.) in 5 ml *N,N*-Dimethylformamid wurden unter Rühren 91 mg Boc-Lys(Z)-OH (0.24 mmol, 1.00 Äquiv.), 72 mg DPPA (0.26 mmol, 1.10 Äquiv.) und 24 mg TEA (0.24 mmol, 1.00 Äquiv.) nacheinander zugegeben und das Reaktionsgemisch 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurden 100 ml einer Mischung aus Ethylacetat und Benzol (4 : 1) hinzu gefügt und die organische Phase zweimal mit je 50 ml 2% Zitronensäure, zweimal mit je 50 ml Wasser und zweimal mit je 50 ml ges. NaCl Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde dreimal mit 20 ml Methanol digeriert und das Lösungsmittel wieder abdekantiert, wobei 160 mg (73%, 95% <sup>1</sup>H-NMR-Reinheit) **67** als gelber Feststoff erhalten wurden [Schmp.: 128°C, R<sub>f</sub> = 0.34 (Dichlormethan : Methanol, 1 : 1)].

2) Durch Peptidkupplung mit *N,N*-Diisopropylethylamin: Zu einer Lösung von 152 mg **70** (0.24 mmol, 1.00 Äquiv.) in 5 ml *N,N*-Dimethylformamid wurden unter Rühren 92 mg Boc-Lys(Z)-OH (0.24 mmol, 1.00 Äquiv.), 74 mg DPPA (0.26 mmol, 1.10 Äquiv.) und 26 mg DIEA (0.24 mmol, 1.00 Äquiv.) nacheinander hinzugefügt und das Reaktionsgemisch 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Es wurden 100 ml einer Mischung aus Ethylacetat und Benzol (4 : 1) zugegeben und die organische Phase zweimal mit je 50 ml 2% Zitronensäure, zweimal mit je 50 ml Wasser und zweimal mit je 50 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, flitriert und das Lösungsmittel im Vakuum

entfernt. Der Rückstand wurde dreimal mit 20 ml Methanol digeriert und das Lösungsmittel wieder abdekantiert, wobei 175 mg (76%, 95%  $^1\text{H}$  NMR-Reinheit) **67** als gelben Feststoff erhalten wurden [Schmp.: 128°C,  $R_f = 0.34$  (Dichlormethan : Methanol, 1 : 1)].

**$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 8.01 (d,  $^3J = 7.5$  Hz, 1H, Ar-H), 7.97 (d,  $^3J = 7.0$  Hz, 1H, Ar-H), 7.84 (s, 1H, C=CH), 7.68 (d,  $^3J = 7.5$  Hz, 2H, Ar-H), 7.39 (t,  $^3J = 7.5$  Hz, 1H, Ar-H), 7.35-7.20 (m, 13H, Ar-H, NH), 7.19-7.14 (m, 1H, NH), 6.88 (br s, 1H, NH), 5.35-5.26 (m, 1H, NH), 5.16-4.90 (m, 5H, 2 x  $\text{CH}_2$  Z, NH), 4.83-4.76 (m, 1H,  $H^a$ -Lys), 4.44 (br s, 2H,  $\text{CH}_2$  HT), 4.14-4.01 (m, 1H,  $H^a$ -Lys), 3.80 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.28-3.13 (br s, 4H, 2 x 2  $H^e$ -Lys), 2.05-1.98 (m, 1H,  $H^b$ -Lys), 1.92-1.84 (m, 2H, 2 x  $H^b$ -Lys), 1.69-1.62 (m, 1H,  $H^b$ -Lys), 1.60-1.48 (m, 5H, 2 x 2  $H^d$ -Lys,  $H^f$ -Lys), 1.46-1.30 (m, 3H,  $H^f$ -Lys), 1.41 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ). Im Aromatenbereich des Spektrums sind kleine Multipletts zu erkennen, die auf Konformere bzw. Rotamere zurück zu führen sind.

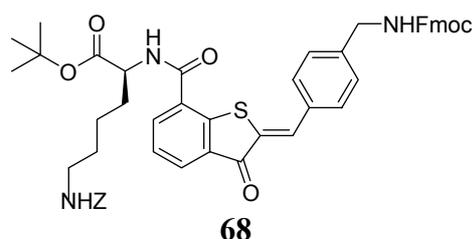
**$^{13}\text{C}$  NMR (50.3 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 188.4, 172.8, 172.3, 165.5, 156.8, 156.7, 156.0, 140.6, 136.5, 136.3, 134.0, 133.3, 132.5, 132.4, 131.6, 130.0, 129.7, 128.5, 128.1, 128.1, 127.9, 127.5, 126.1, 125.2, 120.7, 120.2, 120.1, 77.2, 66.7, 52.8, 52.7, 43.0, 40.3, 40.2, 31.7, 31.4, 29.6, 29.4, 28.3, 22.5, 22.4. Die Kohlenstoffatome der  $\text{CH}_2\text{Ph}$ -Gruppen überlagern. Ein Kohlenstoffatom  $\text{C}^a$ -Lys wird durch ein anderes Kohlenstoffatom überlagert.

**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3324 (m), 3065 (w), 3032 (w), 2935 (m), 1700 (vs), 1654 (s), 1532 (vs), 1490 (s), 1251 (vs), 1211 (s), 1165 (s), 776 (m), 752 (m), 694 (m).

**FAB-MS:**  $m/z$  (%) = 951 (26) [ $\text{M}^+\text{H}$ ], 950 (2) [ $\text{M}^+$ ], 850 (100) [ $\text{M}^+ - \text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3 + \text{H}$ ].

**$\text{C}_{51}\text{H}_{59}\text{N}_5\text{O}_{11}\text{S}$  (950.11)** ber.: C, 64.47; H, 6.26; N, 7.37; S, 3.37

gef.: C, 64.38; H, 6.22; N, 7.27; S, 3.41.



**(2Z)-6-Benzoyloxycarbonylamino-2-[(2-{4-[(9H-fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)methyl]benzyliden}-3-oxo-2,3-dihydrobenzo[b]thiophene-7-carbonylamino]hexansäure-tert-butylester 68:**

1) Durch Kupplung der Carbonsäure 64: Zu einer Lösung von 100 mg **64** (0.19 mmol, 1.10 Äquiv.) in 10 ml DMF wurden 101 mg HOBt (0.75 mmol, 4.00 Äquiv.), 284 mg HBTU (0.75 mmol, 4.00 Äquiv.), 96 mg DIEA (0.75 mmol, 4.00 Äquiv.) und 70 mg H-Lys(Z)-O<sup>t</sup>Bu x HCl (0.18 mmol, 1.00 Äquiv.) nacheinander zugegeben und anschließend 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 30 ml Dichlormethan versetzt und die organische Phase zweimal mit je 20 ml 0.5 N Salzsäure und zweimal mit je 20 ml 5 % Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde dreimal mit je 30 ml Methanol digeriert und das Lösungsmittel wieder abdekantiert. Nach Trocknen im Vakuum wurden 127 mg (80 %) **68** als gelber Feststoff erhalten [Schmp.: 144-146°C, R<sub>f</sub> = 0.34 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : Methanol, 1 : 1)].

2) Durch Kupplung des Säurechlorids 65: Zu einer Lösung von 2.00 g **65** (3.60 mmol, 1.10 Äquiv.) in 180 ml DMF wurden 2.58 g HOBt (19.5 mmol, 4.00 Äquiv.), 7.21 g HBTU (19.5 mmol, 4.00 Äquiv.), 2.46 g DIEA (3.32 ml, 19.5 mmol, 4.00 Äquiv.) und 1.42 g H-Lys(Z)-O<sup>t</sup>Bu x HCl (3.27 mmol, 1.00 Äquiv.) nacheinander hinzugefügt und anschließend 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 30 ml Dichlormethan versetzt und die organische Phase zweimal mit je 20 ml mit 0.5 N Salzsäure und zweimal mit je 20 ml 5 % Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, flitriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde dreimal mit je 30 ml Methanol digeriert und das Lösungsmittel wieder abdekantiert. Nach Trocknen im Vakuum wurden 2.62 g (81 %) **68** als gelber Feststoff erhalten [Schmp.: 144-146°C, R<sub>f</sub> = 0.34 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : Methanol, 1 : 1)].

**$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 9.00 (d,  $^3J = 7.5$  Hz, 1H, NH), 8.42 (d,  $^3J = 7.5$  Hz, 1H, NH), 8.05 (d,  $^3J = 7.0$  Hz, 1H, Ar-H), 7.96-7.85 (m, 4H, Ar-H, C=CH), 7.78 (d,  $^3J = 8.0$  Hz, 2H, Ar-H), 7.72 (d,  $^3J = 7.0$  Hz, 2H, Ar-H), 7.55 (t,  $^3J = 7.5$  Hz, 1H, Ar-H), 7.44 (t,  $^3J = 7.0$  Hz, 2H, Ar-H), 7.40-7.22 (m, 10 H, Ar-H, NH), 4.99 (s, 2H,  $\text{CH}_2$  Z), 4.44 (br d,  $^3J = 6.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$  Fmoc), 4.38 (q,  $^3J = 7.5$  Hz, 1H,  $\text{H}^\alpha\text{-Lys}$ ), 4.26 (br d,  $^3J = 5.5$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{NHFmoc}$ ), 4.25-4.21 (m, 1H, CH Fmoc), 3.07-3.01 (m, 2H,  $\text{H}^\epsilon\text{-Lys}$ ), 1.90-1.78 (m, 2H,  $\text{H}^\beta\text{-Lys}$ ), 1.53-1.35 (m, 4H,  $\text{H}^\gamma\text{-}$ ,  $\text{H}^\delta\text{-Lys}$ ), 1.43 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ). Im Aromatenbereich sind mehrere kleine Multipletts zu sehen, die auf die Konformere bzw. Rotamere des Dipeptids zurück zu führen sind.

**$^{13}\text{C}$  NMR (125.7 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 187.5, 171.1, 165.2, 156.3, 156.0, 146.0, 143.8, 142.6, 140.7, 137.2, 133.9, 133.1, 132.4, 131.4, 131.3, 131.0, 129.0, 128.2, 127.6, 127.6, 127.5, 127.0, 125.8, 125.0, 120.0, 80.6, 65.1, 65.0, 53.5, 48.5, 46.8, 43.5, 30.2, 29.0, 27.6, 23.0. Zwei Kohlenstoffatome im Aromatenbereich sind durch benachbarte Kohlenstoffatome überlagert.

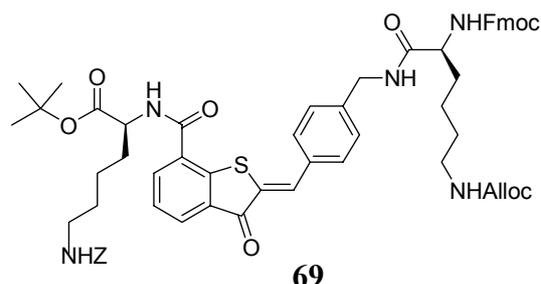
**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3410 (m), 3327 (br, m), 3065 (w), 3034 (w), 3034 (w), 2954 (s), 2930 (s), 2859 (m), 1721 (vs), 1702 (vs), 1653 (s), 1587 (m), 1530 (vs), 1451 (m), 1368 (m), 1257 (vs), 1153 (s), 1069 (m), 1047 (m), 846 (s), 759 (m), 742 (s).

**FAB-MS:**  $m/z$  (%) = 852 (12) [ $\text{M}^+$ ], 796 (8) [ $\text{M}^+ - \text{C}(\text{CH}_3)_3 + \text{H}$ ], 752 (100) [ $\text{M}^+ - \text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3 + \text{H}$ ].

**$\text{C}_{50}\text{H}_{49}\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$  (852.00)**

ber.: C, 70.48; H, 5.80; N, 4.93; S, 3.76

gef.: C, 70.38; H, 5.81; N, 4.83; S, 3.75.



**(2Z)-2-{{2-(4-{{6-Allyloxycarbonylamino-2-(9H-fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)hexanoylamino}methyl}benzyliden)-3-oxo-2,3-dihydro-benzo[b]thiophen-7-carbonyl]-amino}-6-benzyloxycarbonylamino}hexansäure-tert-butylester **69**:** Eine Lösung von 215 mg **68** (0.25 mmol, 1.00 Äquiv.) in 15 ml einer (1 : 1)-Mischung von N,N-Dimethylformamid und Morpholin wurde 40 min bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand wurde dreimal mit je 10 ml Toluol kodestilliert und der verbleibende grüne Feststoff 2 h im Vakuum getrocknet. Der Feststoff wurde in 5 ml 4 M HCl in Dioxan gelöst und das Lösungsmittel sofort wieder im Vakuum entfernt. Der rote Feststoff wurde erneut in N,N-Dimethylformamid gelöst und nacheinander wurden 120 mg Fmoc-Lys(Aloc)-OH (0.26 mmol, 1.10 Äquiv.), 0.06 ml DPPA (78 mg, 0.26 mmol, 1.10 Äquiv.) and 0.1 ml DIEA (66 mg, 0.52 mmol, 2.20 Äquiv.) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde mit 150 ml Ethylacetat versetzt und die organische Phase zweimal mit je 30 ml 2% Zitronensäure, zweimal mit je 30 ml ges. NaCl Lösung und zweimal mit je 30 ml Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der rote Rückstand wurde dreimal mit je 30 ml Methanol digeriert und das Lösungsmittel wieder abdekantiert. Nach Trocknen im Hochvakuum erhielt man 112 mg (42%) **69** als hellgelben Feststoff [Schmp.: 143°C (Zers.),  $R_f = 0.63$  (Ethylacetat)].

Die methanolische Waschlösung wurde nochmals eingengt und wiederum mit Methanol gewaschen, wobei noch einmal 60 mg (23%; 80 %  $^1\text{H}$  NMR-Reinheit) Tripeptid erhalten werden konnten. Bei gleicher Ansatzgröße wurde ohne Überführung in das HCl-Salz eine Ausbeute von 81 mg (30%) **69** erhalten.

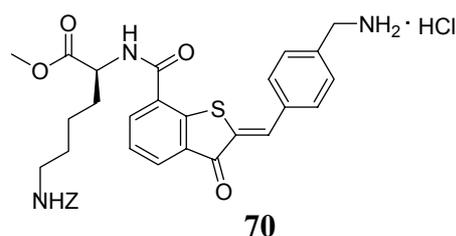
**$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 8.98 (d,  $^3J = 7.0$  Hz, 1H, NH), 8.50 (t,  $^3J = 5.5$  Hz, 1H, NH), 8.41 (d,  $^3J = 8.0$  Hz, 1H, Ar-H), 8.05 (d,  $^3J = 7.0$  Hz, 1H, Ar-H), 7.90-7.87 (m, 3H, Ar-H, C=CH), 7.77 (d,  $^3J = 7.5$  Hz, 1H, Ar-H), 7.76-7.71 (m, 2H, Ar-H), 7.58-7.52 (m, 2H, Ar-H), 7.45-7.37 (m, 3H, Ar-H), 7.36-7.25 (m, 8H, Ar-H, 2 x NH), 7.16 (d,  $^3J = 8.0$  Hz, 2H, Ar-H), 7.08 (t,  $^3J = 7.5$  Hz, 1H, NH), 5.92-5.88 (m, 1H,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.25 (d,  $^3J = 6.8$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.14 (br d,  $^3J = 4.0$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.98 (s, 2H,  $\text{CH}_2$  Z), 4.45 (br d,  $^3J = 4.0$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$  HT), 4.40-4.19 (m, 6H,  $\text{CH}_2$  Fmoc, CH Fmoc,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ,  $H^\alpha$ -Lys), 4.05-3.96 (m, 1H,  $H^\alpha$ -Lys), 3.92-2.91 (m, 4H,  $H^\epsilon$ -Lys), 1.90-1.71 (m, 2H,  $H^\beta$ -Lys), 1.70-1.50 (m, 2H,  $H^\beta$ -Lys), 1.49-1.20 (m, 8H,  $H^\gamma$ -Lys,  $H^\delta$ -Lys), 1.41 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ). Im Aromatenbereich sind mehrere kleine Multipletts zu sehen, die auf die Konformere bzw. Rotamere des Tripeptids zurück zu führen sind.

**$^{13}\text{C}$  NMR (125.7 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 187.5, 172.1, 171.0, 165.1, 156.0, 156.0, 155.8, 146.0, 143.8, 143.7, 142.3, 140.6, 137.1, 133.8, 132.3, 131.4, 131.1, 130.9, 130.3, 129.2, 128.2, 127.8, 127.6, 127.5, 127.0, 125.2, 123.3, 120.0, 119.8, 119.8, 116.7, 80.6, 65.5, 65.0, 64.0, 54.7, 53.4, 46.6, 41.8, 40.3, 31.4, 30.1, 29.0, 28.9, 27.5, 23.0, 22.8. Ein Kohlenstoffatom im Aliphatenbereich wird durch ein anderes Kohlenstoffatom überlagert.

**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3283 (br, m), 3064 (w), 2931 (w), 1682 (vs), 1643 (vs), 1531 (vs), 1261 (m), 1233 (m), 742 (s), 725 (s), 652 (s).

**FAB-MS:**  $m/z$  (%) = 1064 (44) [ $\text{M}^+$ ], 964 (100) [ $\text{M}^+ - \text{CO}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3 + \text{H}$ ].

**$\text{C}_{60}\text{H}_{65}\text{N}_5\text{O}_{11}\text{S}$  (1064.25).**



**4-[7-(5-Benzyloxycarbonylamino-1-methoxycarbonylpentylcarbamoyl)-3-oxo-3H-benzo[*b*]thiophen-2-ylidenemethyl]benzylaminhydrochlorid 70:** Eine Lösung von 190 mg des Dipeptids **66** (0.28 mmol, 1.00 Äquiv.) in 10 ml 4 M HCl in Dioxan wurde 1 h bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde im Vakuum getrocknet, wobei 170 mg (quant.) **70** als hellgelber Feststoff erhalten wurden (Schmp.: 194°C).

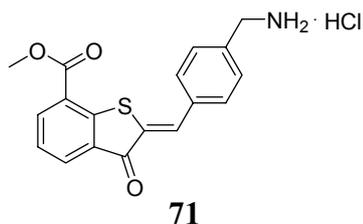
**<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, d<sup>6</sup>-DMSO):**  $\delta$  (ppm) = 9.16 (d,  $^3J = 7.2$  Hz, 1H, NH), 8.46 (d,  $^3J = 7.4$  Hz, 1H, Ar-H), 8.40 (br s, 3H, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 8.08 (d,  $^3J = 7.2$  Hz, 1H, Ar-H), 7.92 (s, 1H, C=CH), 7.88 (d,  $^3J = 8.4$  Hz, 2H, Ar-H), 7.68 (d,  $^3J = 8.4$  Hz, 2H, Ar-H), 7.58 (t,  $^3J = 7.6$  Hz, 1H, Ar-H), 7.33-7.23 (m, 6H, Ar-H Z, NH), 4.98 (s, 2H, CH<sub>2</sub> Z), 4.47 (q,  $^3J = 5.4$  Hz, 1H, H <sup>$\alpha$</sup> -Lys), 4.11 (br d,  $^3J = 5.0$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 3.68 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.05-2.95 (m, 2H, H <sup>$\epsilon$</sup> -Lys), 1.91-1.76 (m, 2H, H <sup>$\beta$</sup> -Lys), 1.49-1.35 (m, 4H, H <sup>$\delta$</sup> -Lys, H <sup>$\gamma$</sup> -Lys).

**<sup>13</sup>C NMR (50.3 MHz, d<sup>6</sup>-DMSO):**  $\delta$  (ppm) = 187.5, 172.7, 169.3, 165.1, 156.0, 146.1, 137.2, 137.2, 136.3, 133.9, 132.6, 132.2, 131.3, 131.0, 129.7, 129.2, 128.6, 128.2, 127.6, 127.1, 65.0, 51.8, 51.6, 41.8, 30.5, 28.9, 22.3. Das Kohlenstoffatom C <sup>$\epsilon$</sup> -Lys wird vom Lösungsmittelsignal überlagert.

**IR (ATR):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3323 (br, m), 3280 (m), 3032 (w), 2952 (s), 2931 (s), 2863 (m), 1739 (s), 1684 (vs), 1643 (vs), 1534 (vs), 1264 (s), 1216 (s), 1066 (m), 1049 (m), 746 (m), 696 (m).

**FAB-MS:**  $m/z$  (%) = 589 (50) [M<sup>+</sup>-HCl+H], 588 (100) [M<sup>+</sup>-HCl], 527 (43).

**C<sub>32</sub>H<sub>34</sub>CINO<sub>6</sub>S (624.15).**



**4-(7-Methoxycarbonyl-3-oxo-3H-benzo[b]thiophen-2-ylidenmethyl)benzyl-**

**ammoniumchlorid 71:** Bei 0°C wurden 50 mg **60** (0.13 mmol, 1.00 Äquiv.) in 10 ml einer Lösung von 4M HCl in Dioxan gelöst. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur erwärmt und noch 3h gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand mit Ethylacetat gewaschen und anschließend im Vakuum getrocknet, wobei 47 mg (quant.) **71** als gelber Feststoff erhalten wurden [Schmp.: 239°C (Zers.)].

**<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CD<sub>3</sub>OD):** δ (ppm) = 8.29 (dd, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, 1H, Ar-H), 8.05 (dd, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.88 (s, 1H, C=CH), 7.83 d, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.57 (d, J = 8.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.45 (t, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 1H, Ar-H), 4.13 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.94 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). Die Protonen der Ammoniumgruppe (NH<sub>3</sub><sup>+</sup>) sind im Spektrum nicht zu sehen.

**<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, d<sup>6</sup>-DMSO):** δ (ppm) = 8.56 (br s, 3H, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 8.32 (d, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, 1H, Ar-H), 8.13 (d, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.95 (s, 1H, C=CH), 7.87 (d, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.71 (d, <sup>3</sup>J = 8.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.57 (t, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 1H, Ar-H), 4.11 (br s, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.96 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR (50.3 MHz, d<sup>6</sup>-DMSO):** δ (ppm) = 187.0, 164.9, 147.0, 136.7, 136.6, 133.6, 133.3, 131.3, 131.0, 131.0, 130.8, 129.7, 126.5, 124.2, 52.7, 41.8.

**IR (ATR):** ν (cm<sup>-1</sup>) = 3493 (br, m), 3406 (br, m), 2957 (s), 2926 (s), 2857 (m), 1725 (s), 1713 (vs), 1666 (m), 1588 (m), 1559 (m), 1467 (m), 1411 (m), 1287 (s), 1271 (vs), 1200 (m), 1145 (s), 1073 (m), 1050 (m), 747 (s).

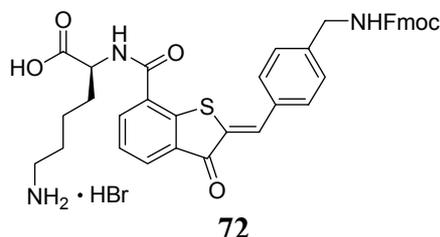
**MS (EI, 70 eV):** m/z (%) = 325 (100) [M<sup>+</sup>-HCl], 308 (96), 295 (36) [M<sup>+</sup>-OCH<sub>3</sub>-HCl+H].

**HRMS:** m/z für C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub>S, ber.: 325.0773; gef.: 325.0772 [M<sup>+</sup>-HCl].

**C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>ClNO<sub>3</sub>S (361.84)**

ber.: C, 59.75; H, 4.46; N, 3.87; S, 8.86

gef.: C, 59.84; H, 4.27; N, 3.73; S, 8.79.



**5-Carboxy-5-[(2-{4-[(9H-fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-methyl]-benzylidene}-3-oxo-2,3-dihydrobenzo[*b*]thiophene-7-carbonyl)amino]pentyl-aminhydrochlorid 72:**

Eine Lösung von 260 mg des Dipeptids **68** (0.35 mmol, 1.00 Äquiv.) in 15 ml 30% HBr in Eisessig wurde 40 min bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle). Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand noch zweimal mit je 20 ml Toluol kodestilliert. Das Produkt wurde im Vakuum getrocknet, wobei 259 mg (quant.) **72** als brauner Feststoff erhalten wurden [Schmp.: 189°C (Zers.)].

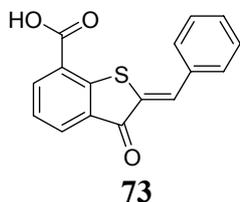
**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, d<sup>6</sup>-DMSO):** δ (ppm) = 9.05 (d, <sup>3</sup>*J* = 7.5 Hz, 1H, NH), 8.48 (d, <sup>3</sup>*J* = 8.0 Hz, 1H, Ar-*H*), 8.06 (d, <sup>3</sup>*J* = 7.5 Hz, 1H, Ar-*H*), 7.92 (t, <sup>3</sup>*J* = 6.0 Hz, 1H, NH), 7.90-7.86 (m, 3H, Ar-*H*, C=CH), 7.78 (d, <sup>3</sup>*J* = 7.5 Hz, 2H, Ar-*H*), 7.74 (br s, 3 H, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 7.71 (d, <sup>3</sup>*J* = 7.5 Hz, 2H, Ar-*H*), 7.57 (t, <sup>3</sup>*J* = 7.5 Hz, 1H, Ar-*H*), 7.44 (t, <sup>3</sup>*J* = 7.0 Hz, 2H, Ar-*H*), 7.39 (d, <sup>3</sup>*J* = 8.0 Hz, 2H, Ar-*H*), 7.34 (t, <sup>3</sup>*J* = 7.3 Hz, 2H, Ar-*H*), 4.47-4.40 (m, 1H, H<sup>α</sup>-Lys), 4.41 (d, <sup>3</sup>*J* = 6.5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> Fmoc), 4.27-4.22 (m, 3H, CH<sub>2</sub>NHFmoc, CH Fmoc), 2.84-2.77 (m, 2H, H<sup>ε</sup>-Lys), 1.91-1.84 (m, 2H, H<sup>β</sup>-Lys), 1.64-1.58 (m, 2H, H<sup>δ</sup>-Lys), 1.53-1.42 (m, 2H, H<sup>γ</sup>-Lys). Das Proton der Carbonsäure ist im Spektrum nicht zu sehen. Die Zuordnung der NH-Protonen wurde anhand eines H/D-Austauschexperimentes getroffen.

**<sup>13</sup>C NMR (125.7 MHz, d<sup>6</sup>-DMSO):** δ (ppm) = 187.6, 171.9, 165.1, 156.3, 146.1, 143.8, 142.6, 140.7, 133.9, 133.2, 132.4, 131.4, 131.3, 131.0, 129.1, 127.7, 127.6, 127.4, 127.0, 125.8, 125.1, 120.0, 65.1, 52.5, 46.8, 43.5, 38.5, 29.8, 26.4, 22.8.

**IR (ATR):** ν (cm<sup>-1</sup>) = 3312 (br, m), 3064 (w), 2964 (m), 2931 (m), 1701 (vs), 1680 (vs), 1643 (s), 1587 (s), 1556 (s), 1530 (vs), 1450 (m), 1406 (m), 1256 (s), 1070 (m), 1049 (m), 760 (m), 743 (s).

**FAB-MS:**  $m/z$  (%) = 663 (44) [ $M^+ - HBr + H$ ], 662 (100) [ $M^+ - HBr$ ].

**C<sub>38</sub>H<sub>36</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S (742.68).**



**2-Benzyliden-3-oxo-2,3-dihydrobenzo[*b*]thiophen-7-carbonsäure 73:** Zu einer Lösung von 500 mg **45** (2.35 mmol, 1.00 Äquiv.) in 10 ml entgaster Lösung von 4M HCl in Dioxan wurden unter Stickstoffatmosphäre 249 mg Benzaldehyd **74** (2.35 mmol, 1.00 Äquiv.) zugegeben und die Lösung für 3h bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre gerührt (DC-Kontrolle). Nachdem die Aldolkondensation beendet war, wurden 5 ml Wasser zugegeben und die Lösung für 1.5 h unter Rückfluß erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum eingeengt und der Rückstand getrocknet, wobei 663 mg (quant.) **73** als rot-brauner Feststoff erhalten wurden [Schmp.: 254 (Zers.);  $R_f$  = 0.12 (Ethylacetat)].

**<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, d<sup>6</sup>-DMSO):**  $\delta$  (ppm) = 13.86 (br s, 1H, COOH), 8.31 (dd, <sup>3</sup> $J$  = 7.6 Hz, <sup>4</sup> $J$  = 1.2 Hz, 1H, Ar-*H*), 8.12 (dd, <sup>3</sup> $J$  = 7.6 Hz, <sup>4</sup> $J$  = 1.2 Hz, 1H, Ar-*H*), 7.95 (s, 1H, C=CH), 7.85 (d, <sup>3</sup> $J$  = 7.0 Hz, 2H, Ar-*H*), 7.66-7.51 (m, 4H, Ar-*H*).

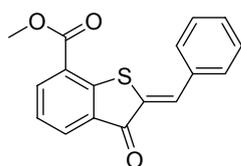
**<sup>13</sup>C NMR (50.3 MHz, d<sup>6</sup>-DMSO):**  $\delta$  (ppm) = 187.1, 166.1, 147.1, 136.8, 133.7, 133.6, 131.2, 131.0, 130.9, 130.4, 130.2, 129.2, 126.0, 125.4.

**IR (ATR):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3139 (br, m), 3082 (w), 3060 (w), 3025 (w), 1715 (vs), 1684 (s), 1655 (s), 1588 (s), 1577 (s), 1558 (vs), 1471 (s), 1447 (m), 1418 (s), 1272 (s), 1239 (s), 1189 (s), 1145 (s), 1050 (m), 750 (vs), 678 (s).

**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 281 (70) [ $M^+ - H$ ], 248 (26), 237 (4) [ $M^+ - CO_2H$ ], 216 (45), 91 (100).

**HRMS:**  $m/z$  für C<sub>16</sub>H<sub>9</sub>O<sub>3</sub>S, ber.: 281.0272; gef.: 281.0269 [ $M^+ - H$ ].

**C<sub>16</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>S (310.37).**



75

**2-Benzyliden-3-oxo-2,3-dihydrobenzo[*b*]thiophen-7-carbonsäuremethylester 75:**

Zu einer Lösung von 500 mg **45** (2.35 mmol, 1.00 Äquiv.) in 10 ml einer entgasten Lösung von 4 M HCl in Dioxan wurden unter Stickstoffatmosphäre 249 mg Benzaldehyd **74** (2.35 mmol, 1.00 Äquiv.) zugegeben und die Lösung für 3 h bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre gerührt (DC-Kontrolle). Nachdem die Aldolkondensation beendet war, wurden 5 ml Methanol zugegeben und die Lösung für 1.5 h unter Rückfluß erhitzt. Die Lösung wurde im Vakuum eingeeengt und der verbleibende Rückstand im Vakuum getrocknet, wobei 695 mg (quant.) **75** als rotbrauner Feststoff erhalten wurden [Schmp.: 161°C ;  $R_f = 0.79$  (Ethylacetat: Pentan, 1 : 1)].

**$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 8.28 (dd,  $^3J = 7.8$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, Ar-*H*), 8.12 (dd,  $^3J = 7.8$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, Ar-*H*), 7.97 (s, 1H, C=CH), 7.80 (dd,  $^3J = 7.8$ ,  $^4J = 1.6$  Hz, 2H, Ar-*H*), 7.54-7.45 (m, 3H, Ar-*H*), 7.39 (t,  $^3J = 7.7$  Hz, 1H, Ar-*H*), 4.02 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

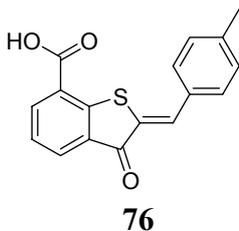
**$^{13}\text{C}$  NMR (125.7 MHz,  $\text{d}^6$ -DMSO):**  $\delta$  (ppm) = 187.0, 164.8, 147.0, 136.5, 133.9, 133.6, 131.3, 130.9, 130.7, 130.6, 130.5, 129.2, 126.3, 124.1, 52.6.

**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3049 (w), 3016 (w), 2958 (w), 2917 (w), 2849 (w), 1716 (vs), 1681 (vs), 1591 (s), 1562 (s), 1446 (s), 1409 (s), 1298 (s), 1292 (s), 1264 (vs), 1199 (s), 1142 (vs), 1049 (s), 754 (m), 749 (vs), 679 (s), 674 (s).

**MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 295 (100) [ $\text{M}^+ - \text{H}$ ], 281 (3) [ $\text{M}^+ - \text{CH}_3$ ], 236 (6) [ $\text{M}^+ - \text{CO}_2\text{CH}_3 + \text{H}$ ].

**HRMS:**  $m/z$  für  $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{O}_3\text{S}$ , ber.: 295.0429; gef.: 295.0422 [ $\text{M}^+ - \text{H}$ ].

**$\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_3\text{S}$  (296.34).**



**2-(4-Methylbenzyliden)-3-oxo-2,3-dihydrobenzo[*b*]thiophen)-7-carbonsäure 76 :**

Zu einer Lösung von 500 mg **45** (2.35 mmol, 1.00 Äquiv.) in 10 ml einer entgasten Lösung von 4 M HCl in Dioxan wurden 282 mg Tolylaldehyd **77** (2.35 mmol, 1.00 Äquiv.) zugegeben und die Lösung wurde anschließend 3 h bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre gerührt (DC-Kontrolle) Nachdem die Aldolkondensation beendet war wurden 5 ml Wasser zugegeben und die Lösung 1.5 h unter Rückfluß erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet, wobei 696 mg (quant.) **76** als rot-brauner Feststoff erhalten wurden [Schmp.: 277°C (Zers.) ; Rf = 0.14 (Etyhlacetat)].

**<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, d<sup>6</sup>-DMSO):**  $\delta$  (ppm) = 13.92 (br s, 1H, COOH), 8.31 (dd, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, 1H, Ar-H), 8.11 (dd, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, <sup>4</sup>J = 1.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.93 (s, 1H, C=CH), 7.76 (d, <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, 2H, Ar-H), 7.55 (t, <sup>3</sup>J = 7.7 Hz, 1H, Ar-H), 7.43 (d, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 2H, Ar-H), 2.40 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C NMR (50.3 MHz, d<sup>6</sup>-DMSO):**  $\delta$  (ppm) = 187.1, 166.1, 147.0, 140.8, 136.7, 133.8, 131.4, 131.0, 131.0, 130.1, 129.9, 129.8, 125.9, 125.3, 21.1.

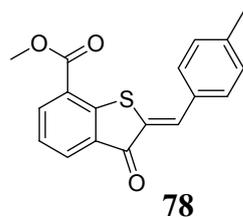
**IR (ATR):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3069 (br, m), 3027 (w), 2921 (m), 1714 (vs), 1655 (s), 1589 (s), 1555 (s), 1471 (m), 1416 (m), 1240 (m), 1187 (m), 1146 (m), 1084 (m), 1050 (m), 802 (m), 743 (s).

**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 296 (80) [M<sup>+</sup>], 295 (76) [M<sup>+</sup>-H], 281 (100) [M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>].

**HRMS:**  $m/z$  für C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>S, ber.: 296.0507; gef.: 296.0511.

**C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>S (296.34)** ber.: C, 68.90; H, 4.08; S, 10.82

gef.: C, 69.66; H, 4.38; S, 10.42.

**2-Benzyliden-3-oxo-2,3-dihydrobenzo[*b*]thiophen-7-carbonsäuremethylester 78:**

Zu einer Lösung von 500 mg **45** (2.35 mmol, 1.00 Äquiv.) in 10 ml einer entgasten Lösung von 4 M HCl in Dioxan wurden unter Stickstoffatmosphäre 282 mg Toluylaldehyd **77** (2.35 mmol, 1.0 Äquiv.) zugegeben und die Lösung für 3 h bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre gerührt (DC-Kontrolle). Nachdem die Aldolkondensation vollständig war, wurden 5 ml Methanol zugegeben und die Lösung für 1.5 h unter Rückfluß erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt wurde im Vakuum getrocknet, wobei man 696 mg (quant.) **78** als rot-braunen Feststoff erhielt [Schmp.: 185°C;  $R_f = 0.77$  (Ethylacetat : Pentan)].

**$^1\text{H NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) = 8.29 (dd,  $^3J = 7.8$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, Ar-*H*), 8.13 (dd,  $^3J = 7.6$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, Ar-*H*), 7.97 (s, 1H, C=CH), 7.71 (d,  $^3J = 8.2$  Hz, 2H, Ar-*H*), 7.39 (t,  $^3J = 7.7$  Hz, 1H, Ar-*H*), 7.30 (d,  $^3J = 8.2$  Hz, 2H, Ar-*H*), 4.03 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.42 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

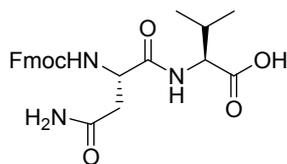
**$^{13}\text{C NMR}$  (50.3 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 187.0, 164.9, 147.0, 141.2, 139.8, 136.5, 134.2, 131.1, 130.9, 130.0, 129.5, 128.6, 126.3, 124.2, 52.7, 21.1.

**IR (ATR):**  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>) = 3073 (w), 3025 (w), 2999 (w), 2950 (w), 2915 (w), 1713 (vs), 1677 (vs), 1588 (s), 1572 (m), 1559 (s), 1409 (m), 1292 (s), 1284 (s), 1267 (s), 1144 (s), 1070 (m), 1050 (m), 802 (m), 763 (m), 745 (vs).

**MS (EI, 70 eV):**  $m/z$  (%) = 310 (64) [ $\text{M}^+$ ], 295 (100) [ $\text{M}^+ - \text{CH}_3$ ].

**HRMS:**  $m/z$  für C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>S, ber.: 310.0664; gef.: 310.0661 [ $\text{M}^+$ ].

C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>S (310.37).

**80**

**Fmoc-Asn-Val-OH 80:** Zu einer Lösung von 10.0 g Fmoc-Asn-OH (28.2 mmol, 1.00 Äquiv.) in 60 ml DMF wurden 4.58 g HOBt (33.9 mmol, 1.20 Äquiv.) als Feststoff zugegeben und die resultierende Lösung wurde auf  $-30^{\circ}\text{C}$  gekühlt. Zu dieser Lösung wurden 4.42 ml Diisopropylcarbodiimid (28.2 mmol, 1.00 Äquiv.) zugegeben und das Reaktionsgemisch wurde über 90 min auf  $5^{\circ}\text{C}$  aufgewärmt. Die Lösung wurde mit 8.80 g H-Val-O<sup>t</sup>Bu x HCl (41.9 mmol, 1.50 Äquiv.) und 10 ml Ethyldiisopropylamin (57.4 mmol, 2.00 Äquiv.) versetzt und anschließend für 3 h bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle). Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand mit einem Gemisch aus 75 ml Ethylacetat und 25 ml Isopropanol aufgenommen. Die organische Phase wurde erst mit 50 ml 1N HCl, dann mit 50 ml ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und anschließend mit ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, wobei ein farbloser Feststoff verblieb. Dieser wurde mehrmals mit Isopropanol gewaschen und anschließend im Vakuumexsikkator getrocknet, wobei man 12.0 g (83%) des Rohproduktes **79** erhielt. Das trockene Dipeptid **79** wurde in einem Gemisch aus 12 ml TFA und 3 ml Wasser gelöst und für 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand erneut mit einem Gemisch aus 12 ml TFA und 3 ml Wasser versetzt. Das Lösungsmittel wurde erneut im Vakuum entfernt und der verbleibende ölige Rückstand wurde mit THF versetzt, bis ein farbloser Feststoff ausfiel. Es wurden 9.97 g (76%) **80** als farbloser Feststoff erhalten [Schmp.:  $233^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f = 0.15$  (Ethylacetat)].

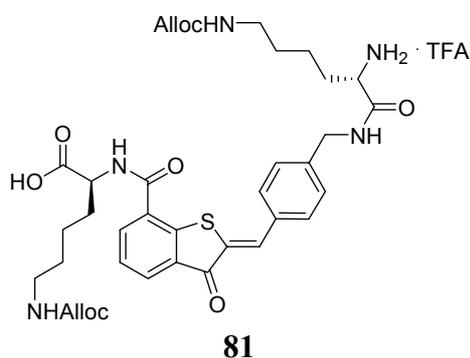
**$^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):** 7.89 (d,  $^3J = 7.5$  Hz, 2H, Ar-*H*), 7.71 (d,  $^3J = 7.3$  Hz, 2H Ar-*H*), 7.60 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, NH), 7.42 (dd,  $^3J = 7.5$  Hz,  $^3J = 7.3$  Hz, 2H, Ar-*H*), 7.32 (dd,  $^3J = 7.3$  Hz,  $^3J = 7.5$  Hz, 2H, Ar-*H*), 6.98-6.90 (m, 1H, NH), 4.45-4.41 (m, 1H,  $H^{\alpha}$ -Val), 4.24 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 4.23-4.20 (m, 1H,  $\text{CH}_2\text{CH}$ ), 4.12 (dd,  $^3J = 5.3$  Hz,  $^3J = 5.3$  Hz, 1H,  $H^{\alpha}$ -Asn), 2.47-2.38 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CONH}_2$ ), 2.17-1.94 (m, 1H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 0.84 (d,  $J = 6.4$  Hz, 6H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR (125.7 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):  $\delta$  (ppm) = 172.8, 171.5, 171.4, 155.8, 143.7, 140.6, 127.6, 127.1, 125.2, 120.0, 65.7, 57.0, 51.3, 46.6, 37.2, 29.9, 19.0, 17.7.

IR (ATR):  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3416 (m), 3294 (br, s), 3215 (m), 3066 (w), 2964 (m), 1696 (vs), 1652 (vs), 1539 (s), 1451 (m), 1265 (s), 1225 (m), 1046 (m), 758 (m), 738 (s).

FAB-MS: 454 (38) [ $\text{M}^+$ ].

$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{ClNO}_3\text{S}$  (453.49).



#### H-Lys(Alloc)-HT-Lys(Alloc)OH x TFA 81:

Die Festphasensynthese am Wangharz wurde nach folgendem Protokoll durchgeführt:

Fmoc-Lys(Alloc)-Wang-Harz (840 mg, 0.50 mmol, 1.00 Äquiv.; 0.60 mmol/g)

1) Fmoc-Abspaltung: Es wurde mit Morpholin/DMF (1 : 1; 2 x 30 ml, 1 x 60 ml; 3 x 30 min) geschüttelt. Die Absorption der Lösung wurde bei 280 nm gemessen (Fmoc-Monitoring).

2) Waschvorgang: Es wurde mit 50 ml DMF (jeweils 4 x 15 min) gewaschen.

3) Kupplung: Fmoc-HT-Cl **65** (1.11 g, 2.01 mmol, 4.00 Äquiv.), HBTU (763 mg, 2.01 mmol, 4.00 Äquiv.), HOBt (272 mg, 2.01 mmol, 4.00 Äquiv.), DIEA (260 mg, 2.01 mmol, 4.00 Äquiv.), 150 ml DMF; 15 h.

4) Waschvorgang: 50 ml DMF, jeweils 4 x 15 min.

5) Capping: Es wurde mit 40 ml  $\text{Ac}_2\text{O}$ /Pyridin (1 : 3; 1 x 15 min) geschüttelt.

6) Waschvorgang: Es wurde mit 50 ml DMF (jeweils 4 x 15 min) gewaschen.

7) Fmoc-Abspaltung: Es wurde mit 40 ml Morpholin/DMF (1 : 1; 4 x 30 min) geschüttelt (Fmoc-Monitoring).

Hier kam es zu einer Braunfärbung der Abspaltlösung bei den ersten beiden Spaltungen. Die braune Lösung wurde einrotiert und ein NMR gemessen, das NMR zeigte Dibenzofulven bzw. das Morpholin-Addukt sowie geringe Verunreinigungen (<5%) an. Beim Monitoring zeigte sich immer noch eine Absorption, daher wurde die Abspaltung noch zweimal für 30 min abgespalten, wobei die Lösung wieder dunkelbraun wurde. Obwohl die Absorption immer noch nicht abgenommen hatte, wurde dennoch die Abspaltung nach 2 h abgebrochen, um eine eventuelle Zersetzung zu vermeiden. Der Kaisertest/TNBS-Test war positiv.

8) Waschvorgang: Es wurde mit 50 ml DMF (jeweils 4 x 15 min) gewaschen.

9) Kupplung: Fmoc-Lys(Alloc)-OH (250 mg, 0.55 mmol, 1.10 Äquiv.), DPPA (166 mg, 0.55 mmol, 1.10 Äquiv.), DIEA (70 mg, 0.55 mmol, 1.10 Äquiv.), 15 h; der Kaisertest/TNBS-Test war negativ.

10) Waschvorgang: Es wurde mit 50 ml DMF (jeweils 5 x 15 min) gewaschen.

11) Fmoc-Abspaltung: Es wurde mit Morpholin/DMF (1:1; 2 x 30 ml, 1 x 60 ml; jeweils 30 min) geschüttelt (Fmoc-Monitoring).

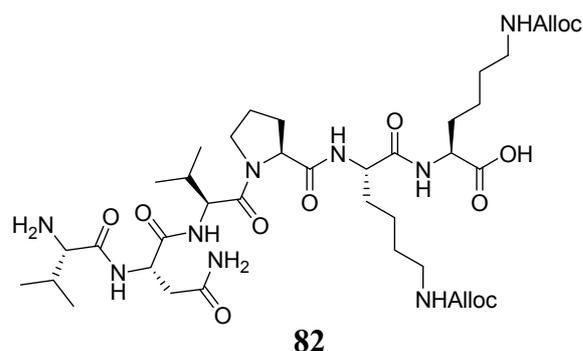
Die Lösung blieb bei Abspaltung klar. Die Spaltung war laut Fmoc-Monitoring vollständig.

12) Abspaltung vom Harz: Das Tripeptid **81** wurde mit Reagenz K (TFA/H<sub>2</sub>O/Phenol/Thioanisol/Ethandithiol; 82.5 : 5 : 5 : 2.5 : 2.5) abgespalten. Dazu wurde zweimal für jeweils 1h mit je 10 ml Spaltlösung geschüttelt. Nach Einengen der Lösung wurde der Rückstand mehrfach mit kaltem Diethylether digeriert und die etherische Lösung wieder abdekantiert, um die Abfangreagenzien zu entfernen. Nach Trocknen im Vakuum wurden 325 mg (83%) **81** als gelber Feststoff erhalten. Der Gehalt an Tripeptid in dem gelbbraunen Feststoff betrug gemäß <sup>1</sup>H NMR-Spektrum maximal 50%. Die Masse des Tripeptids konnte im FAB-Massenspektrum nachgewiesen werden. Auf eine weitere Reinigung wurde verzichtet.

**<sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, d<sup>6</sup>-DMSO)**: δ (ppm) = 7.94 Hz (s, 1H, C=CH), 5.71-6.01 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>), 4.16-4.22 (m, 2H, H<sup>α</sup>-Lys). Es konnten nur charakteristische Signale zugeordnet werden.

**FAB-MS**: 736 (44) [M<sup>+</sup>-CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H], 524 (4) [M<sup>+</sup>-C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H].

**C<sub>61</sub>H<sub>72</sub>N<sub>8</sub>O<sub>15</sub>S (735.85).**

**H-Val-Asn-Val-Pro-Lys(Alloc)-Lys(Alloc)-OH 82:**

Das Hexapeptid **82** wurde durch das folgende Kupplungsprotokoll am Wangharz synthetisiert:

Fmoc-Lys(Alloc)-Wang-Harz (1.07 g, 0.60 mmol, 1.00 Äquiv.; Belegung: 0.60 mmol/g)

1) Fmoc-Abspaltung: Es wurde mit Piperidin/DMF (20 %; 1 x 10 ml, 1 min, 1 x 10 ml, 20 min) geschüttelt. Die Absorption der Lösung wurde bei 280 nm gemessen (Fmoc-Monitoring).

2) Waschvorgang: Es wurde mit 10 ml DMF (jeweils 5 x 5 min) gewaschen.

3) Kupplung: Fmoc-Lys(Alloc)-OH (0.68 g, 1.50 mmol, 2.50 Äquiv.), Diisopropylcarbodiimid (0.19 g, 0.23 ml, 1.50 mmol 2.50 Äquiv.), HOBt (0.20 g, 1.50 mmol, 2.50 Äquiv.), 10 ml DMF; 15 h.

4) Waschvorgang: Es wurde mit 10 ml DMF (jeweils 5 x 5 min) gewaschen.

5) Capping: Es wurde mit 60 ml Ac<sub>2</sub>O/Pyridin (1 : 3; 1 x 10 min) geschüttelt.

6) Waschvorgang: Es wurde mit 10 ml DMF (jeweils 5 x 5 min) gewaschen.

7) Fmoc-Abspaltung: Es wurde mit Piperidin/DMF (20 %; 1 x 10 ml, 1 min, 1 x 10 ml, 20 min) geschüttelt. Die Absorption der Lösung wurde bei 280 nm gemessen (Fmoc-Monitoring).

8) Kupplung: Fmoc-Pro-OH (0.51 g, 1.50 mmol, 2.50 Äquiv.), Diisopropylcarbodiimid (0.19 g, 0.23 ml, 1.50 mmol 2.50 Äquiv.), HOBt (0.20 g, 1.50 mmol, 2.50 Äquiv.), 10 ml DMF; 15 h.

9) Waschvorgang: Es wurde mit 10 ml DMF (jeweils 5 x 5 min) gewaschen.

10) Capping: Es wurde mit 60 ml Ac<sub>2</sub>O/Pyridin (1 : 3; 1 x 10 min) geschüttelt.

11) Waschvorgang: Es wurde mit 10 ml DMF (jeweils 5 x 5 min) gewaschen.

12) Fmoc-Abspaltung: Es wurde mit Piperidin/DMF (20 %; 1 x 10 ml, 1 min, 1 x 10 ml, 20 min) geschüttelt. Die Absorption der Lösung wurde bei 280 nm gemessen (Fmoc-Monitoring).

13) Kupplung: Fmoc-Asn-Val-OH **80** (0.68 g, 1.50 mmol, 2.50 Äquiv.), Diisopropylcarbodiimid (0.19 g, 0.23 ml, 1.50 mmol 2.50 Äquiv.), HOBt (0.20 g, 1.50 mmol, 2.50 Äquiv.), 10 ml DMF; 15 h.

14) Waschvorgang: Es wurde mit 10 ml DMF (jeweils 5 x 5 min) gewaschen.

15) Capping: Es wurde mit 60 ml Ac<sub>2</sub>O/Pyridin (1 : 3; 1 x 10 min) geschüttelt.

16) Waschvorgang: Es wurde mit 10 ml DMF (jeweils 5 x 5 min) gewaschen.

17) Fmoc-Abspaltung: Es wurde mit Piperidin/DMF (20 %; 1 x 10 ml, 1 min, 1 x 10 ml, 20 min) geschüttelt. Die Absorption der Lösung wurde bei 280 nm gemessen (Fmoc-Monitoring).

18) Kupplung: Fmoc-Val-OH (0.51 g, 1.50 mmol, 2.50 Äquiv.), Diisopropylcarbodiimid (0.19 g, 0.23 ml, 1.50 mmol 2.50 Äquiv.), HOBt (0.20 g, 1.50 mmol, 2.50 Äquiv.), 10 ml DMF; 15 h.

19) Waschvorgang: Es wurde mit 10 ml DMF (jeweils 5 x 5 min) gewaschen.

20) Capping: Es wurde mit 60 ml Ac<sub>2</sub>O/Pyridin (1 : 3; 1 x 10 min) geschüttelt.

21) Waschvorgang: Es wurde mit 10 ml DMF (jeweils 5 x 5 min) gewaschen.

22) Fmoc-Abspaltung: Es wurde mit Piperidin/DMF (20 %; 1 x 10 ml, 1 min, 1 x 10 ml, 20 min) geschüttelt. Die Absorption der Lösung wurde bei 280 nm gemessen (Fmoc-Monitoring).

23) Waschvorgang: Es wurde mit 10 ml DMF (jeweils 5 x 5 min) und 10 ml DCM (2 x 10 min) gewaschen. Trocknung des Harzes für 2 h im Vakuum.

24) Abspaltung vom Harz: 0.11 g ( $6.60 \times 10^{-2}$  mmol) des Harzes wurde 2 x 5 ml mit TFA/Wasser/EDT (95:2.5:2.5) für 90 min geschüttelt.

25) Waschvorgang: Es wurde mit 2 x 5 ml DCM für jeweils 5 min gewaschen.

Die vereinigten organischen Phasen wurden im Vakuum eingengt und der verbleibende Rückstand mit kaltem Diethylether versetzt, bis das Produkt als farbloser Feststoff ausfiel, der anschließend im Vakuum getrocknet wurde. Es wurden 50 mg (90%) **82** als farbloser Feststoff erhalten.

Das Produkt wurde durch HPLC im analytischen Maßstab mit einem Gemisch aus Acetonitril/Wasser (30/70) getrennt. Die Retentionszeit ( $R_t$ ) von **82** betrug 10 min mit einer Quantität von 56% für den Produktpeak.

**$^1\text{H-NMR}$  (200 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 8.21-7.11 (m, 6H, NH), 6.04-5.85 (m, 2H, 2 x  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.35-5.16 (m, 4 H, 2 x  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.48 (br d,  $^3J = 4.2$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 4.44-4.13 (m, 9H,  $H^\alpha$ -Asn,  $H^\alpha$ -Lys,  $H^\alpha$ -Lys,  $H^\alpha$ -Pro,  $H^\alpha$ -Val, 2 x  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ,  $\text{CONH}_2$ ), 3.82-3.53 (m, 7H,  $H^\delta$ -Pro,  $H^\alpha$ -Val, 2 x  $H^\epsilon$ -Lys), 3.22-3.04 (m, 4H,  $H^\beta$ -Pro,  $H^\beta$ -Asn), 2.88-2.63 (m, 4H,  $H^\gamma$ -Pro, 2 x  $H^\beta$ -Val), 2.22-1.50 (m, 14H, 2 x  $H^\beta$ -Lys, 2 x  $H^\gamma$ -Lys, 2 x  $H^\delta$ -Lys,  $\text{CHNH}_2$ ), 1.04 (d,  $^3J = 5.0$  Hz, 6H,  $\text{CH}_3$  Val), 1.01 (d,  $^3J = 5.0$  Hz, 6H,  $\text{CH}_3$  Val).

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125.7 MHz,  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ ):**  $\delta$  (ppm) = 176.1, 173.4, 171.6, 171.2, 170.9, 174.3, 169.6, 167.7, 155.9, 133.9, 116.8, 64.1, 59.1, 57.2, 55.6, 51.7, 49.8, 47.1, 40.4, 36.9, 31.8, 30.6, 30.2, 29.8, 29.2, 29.0, 28.9, 24.4, 22.6, 22.4, 19.1, 18.3, 18.1, 17.3.

**IR (ATR):**  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) = 3310 (s), 3072 (m), 2965 (s), 2940 (s), 2877 (m), 1671 (vs), 1532 (s), 1448 (m), 1237 (m), 1202 (m), 1179 (m), 1139 (m).

**FAB-MS:**  $m/z$  (%) = 852 (24) [ $\text{M}^+ - \text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ ], 540 (100) [ $\text{M}^+ - \text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_4 - \text{C}_4\text{H}_5\text{O}_2 - \text{CF}_3\text{CO}_2\text{H} + \text{H}$ ].

**$\text{C}_{40}\text{H}_{67}\text{N}_9\text{O}_{11}$  (850.01).**

### 6.3 Röntgenstrukturanalyse von Z-53

Tabelle 10: Kristalldaten der Strukturbestimmung von Z-53.

Summenformel	C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub> S	
Molmasse [g/mol]	384.39	
Meßtemperatur [K]	293 (2)	
Kristallsystem	monoklin	
Raumgruppe	P2 <sub>1</sub> /c	
Moleküle pro Zelle Z	4	
Gitterkonstanten	a = 1120.62 (2) pm	$\alpha = 90^\circ$
	b = 951.58 (2) pm	$\beta = 107.0850(10)^\circ$
	c = 1731.690 (10) pm	$\gamma = 90^\circ$
Volumen	1.76511(5) nm <sup>3</sup>	
Berechnete Dichte [mg/m <sup>3</sup> ]	1.446	
Wellenlänge	MoK <sub><math>\alpha</math></sub> (71.073 pm)	
$\mu$ (MoK <sub><math>\alpha</math></sub> )	0.219 mm <sup>-1</sup>	
Beugungswinkelbereich	1.90° ≤ $\theta$ ≤ 27.50°	
Indexbereich	-12 ≤ h ≤ 14, -12 ≤ k ≤ 12, -19 ≤ l ≤ 22	
Absorptionskoeffizient [mm <sup>-1</sup> ]	0.219	
Absorptionskorrektur	$\psi$ -scans	
F(000)	800	
Anzahl der Reflexe	13132	
Unabhängige Reflexe in Verfeinerung	4060 [R(int) = 0.1168]	
Verfeinerte Parameter	245	
Gütefaktoren	R = 0.0445, R <sub>w</sub> = 0.1003	
Goodness of Fit	0.689	
Max. Restelektronendichte [e/nm <sup>3</sup> ]	362 und -444	

Tabelle 11: Atomkoordinaten (\*104) und äquivalente isotrope Versetzungsparameter ( $\text{\AA}^*103$ ) von **Z-53**;  $U_{eq}$  ist definiert als ein Drittel der Spur des orthogonalisierten  $U_{ij}$ -Tensors.

Atom	x	y	z	U(eq)
S(1)	8261(1)	5736(1)	403(1)	37(1)
O(1)	10225(2)	1757(2)	1486(1)	54(1)
O(2)	9319(2)	3784(2)	1636(1)	74(1)
O(3)	7240(2)	5964(2)	-1932(1)	62(1)
O(4)	6385(2)	12194(2)	1349(1)	52(1)
O(5)	6328(2)	14254(2)	2403(1)	66(1)
O(6)	5215(2)	15612(2)	1396(1)	53(1)
C(1)	9138(2)	2977(2)	317(1)	38(1)
C(2)	9298(2)	1863(2)	-167(2)	48(1)
C(3)	8893(2)	1928(2)	-996(2)	52(1)
C(4)	8330(2)	3128(2)	-1377(2)	47(1)
C(5)	8180(2)	4268(2)	-914(1)	38(1)
C(6)	8563(2)	4196(2)	-73(1)	34(1)
C(7)	7633(2)	6583(2)	-532(1)	35(1)
C(8)	7637(2)	5639(2)	-1221(1)	40(1)
C(9)	7187(2)	7900(2)	-673(1)	38(1)
C(10)	7021(2)	9003(2)	-135(1)	36(1)
C(11)	6437(2)	10242(2)	-476(1)	40(1)
C(12)	6209(2)	11332(2)	-10(1)	41(1)
C(13)	6574(2)	11195(2)	824(1)	40(1)
C(14)	7153(2)	9974(2)	1182(2)	52(1)
C(15)	7374(2)	8903(2)	710(2)	49(1)
C(16)	5880(2)	13495(2)	1015(2)	41(1)
C(17)	5850(2)	14460(2)	1700(2)	41(1)
C(18)	5109(3)	16658(3)	1983(2)	65(1)
C(19)	9555(2)	2903(2)	1207(2)	44(1)
C(20)	10710(3)	1619(3)	2354(2)	75(1)

## 7 Anhang

### 7.1 Aufbau einer optischen Bank

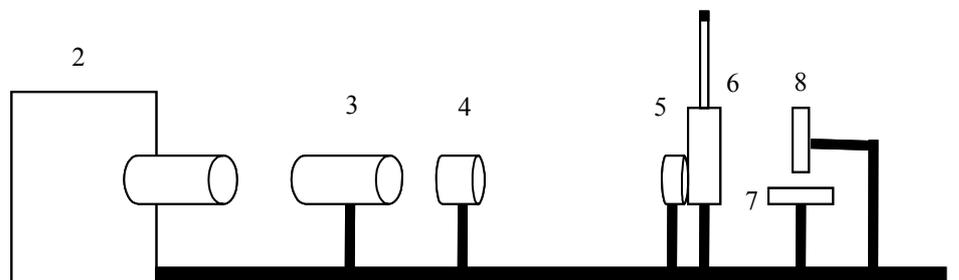


Abbildung 27: Aufbau einer optischen Bank (1) mit 1000 W Xenon-Lampe (2), Wasserfilter (3), Suprasil-Sammellinse (4), Interferenzfilter (5), NMR-Rohr-Kammer mit NMR-Rohr (6), Magnetrührer (7) und Küvettenhalterung (8).

### 7.2 UV-Vis-Spektren

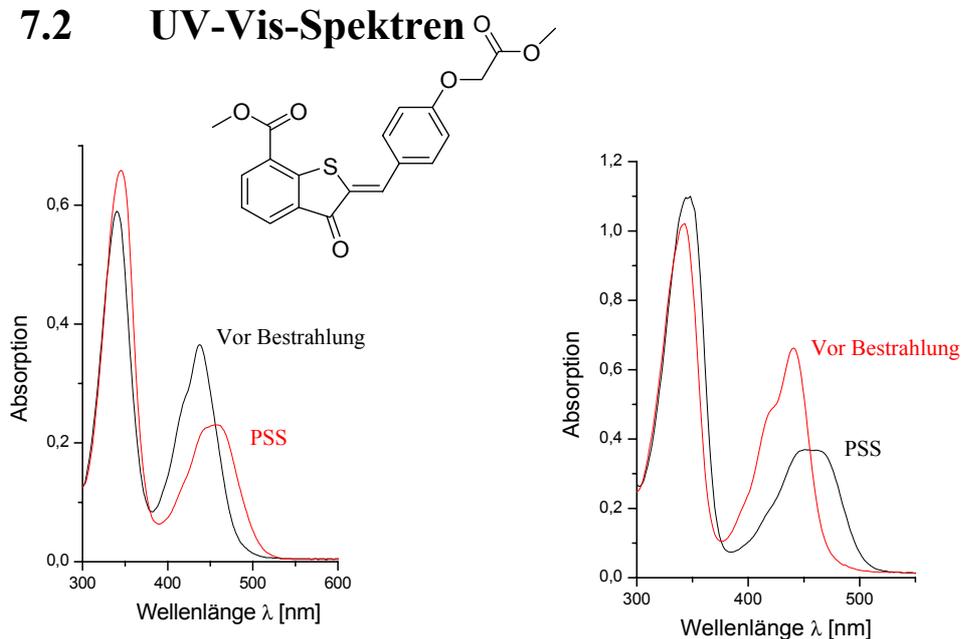


Abbildung 28: UV-Spektren von **53** in MeOH (links,  $c = 4.83 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$ ) und DCM (rechts,  $c = 4.83 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$ ) vor (rot) und nach Bestrahlung (schwarz) bei 406 nm.

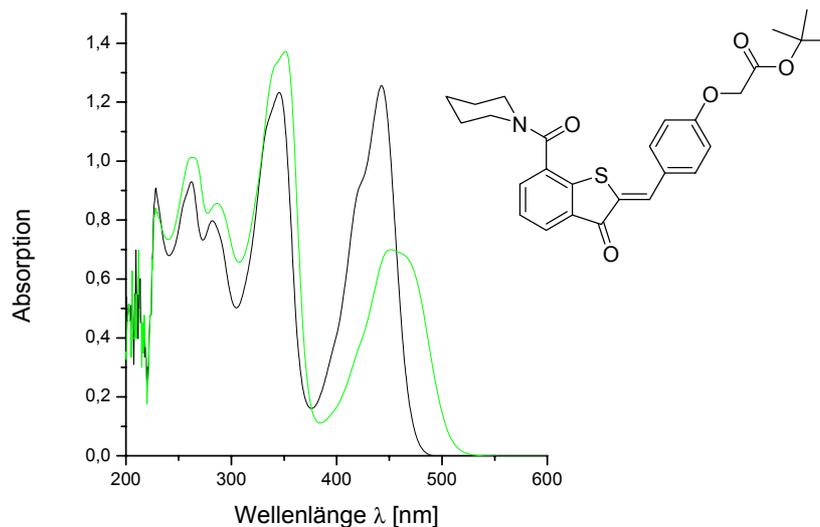


Abbildung 29: UV-Spektrum von **54** in DCM (links,  $c = 6.67 \cdot 10^{-5}$  mol/l) vor (schwarz) und nach (grün) Bestrahlung bei 406 nm.

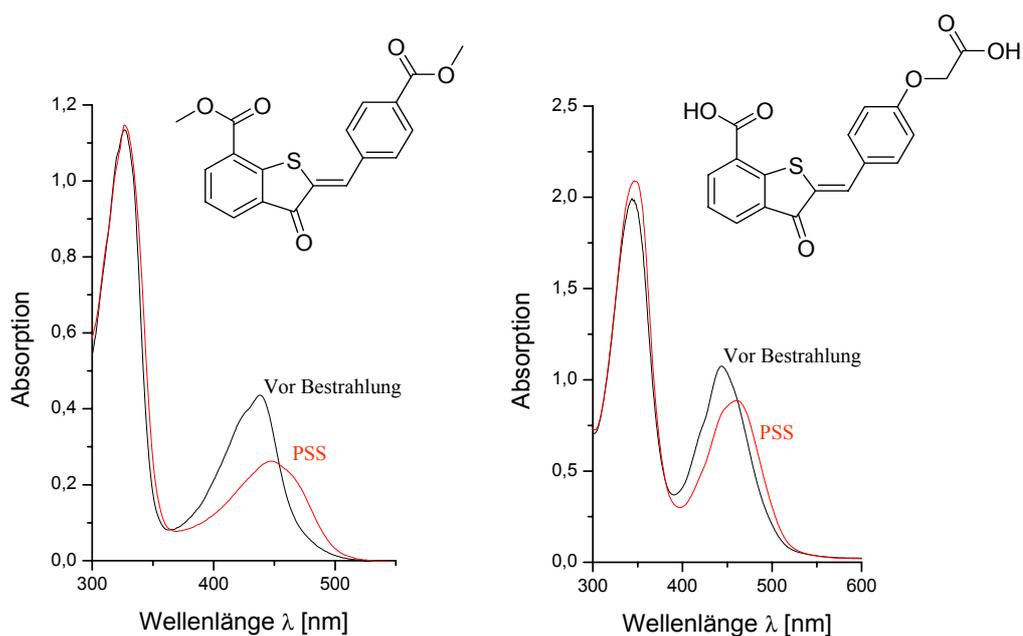


Abbildung 30: UV-Spektren von **56** in DCM (links,  $c = 4.02 \cdot 10^{-5}$  mol/l) und **57** in MeOH (rechts,  $c = 1.24 \cdot 10^{-4}$  mol/l) vor (schwarz) und nach (rot) Bestrahlung bei 406 nm.

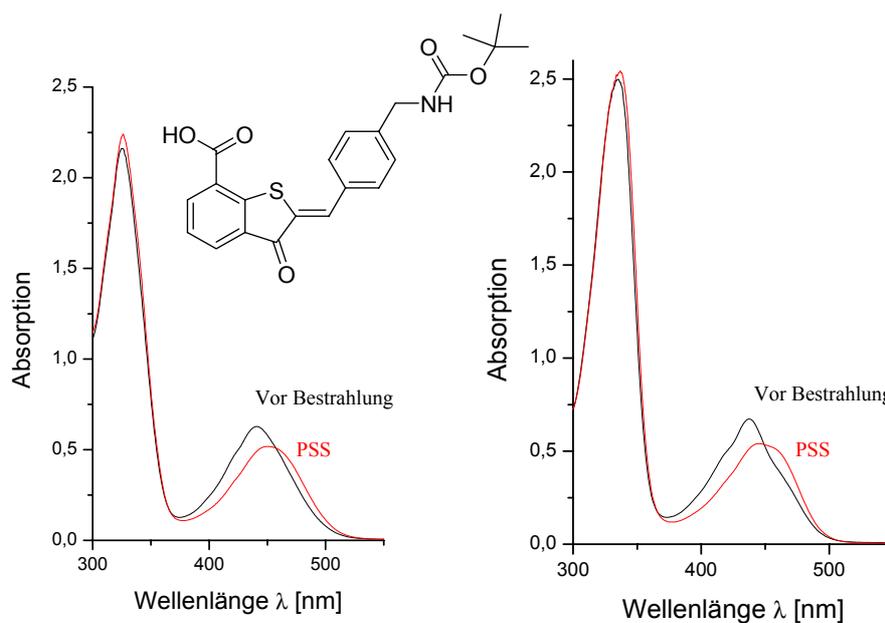


Abbildung 31: UV-Spektren von **62** in MeOH (links,  $c = 1.02 \cdot 10^{-4}$  mol/l) und DCM (rechts,  $c = 1.07 \cdot 10^{-4}$  mol/l) vor (schwarz) und nach (rot) Bestrahlung bei 406 nm.

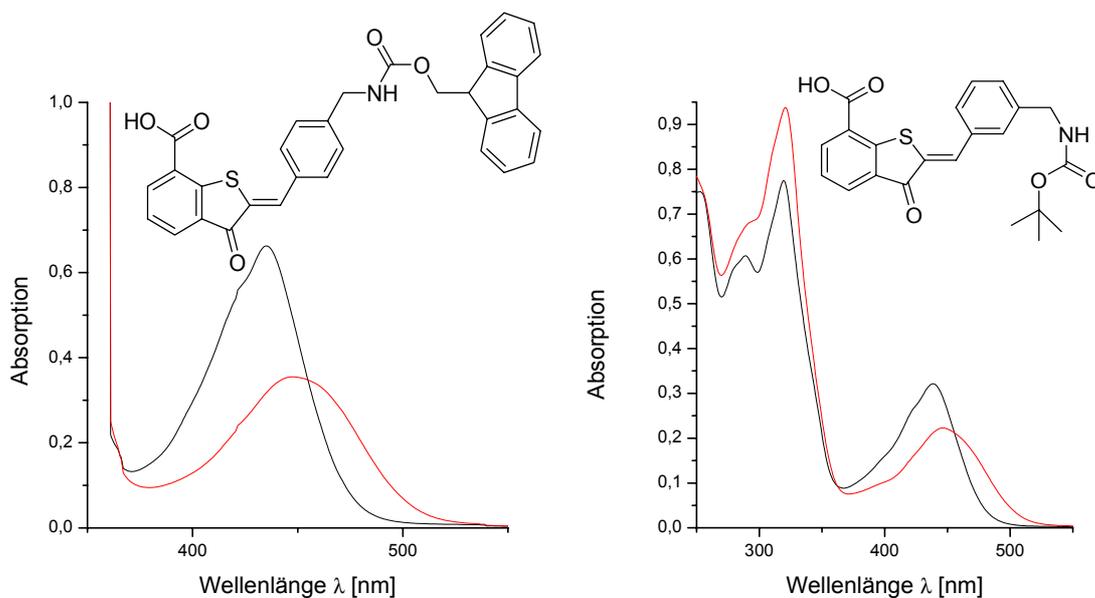


Abbildung 32: UV-Spektren von **64** in DMSO (links,  $c = 1.02 \cdot 10^{-4}$  mol/l) und von **63** MeOH (rechts,  $c = 1.41 \cdot 10^{-4}$  mol/l) vor (schwarz) und nach (rot) Bestrahlung bei 406 nm.

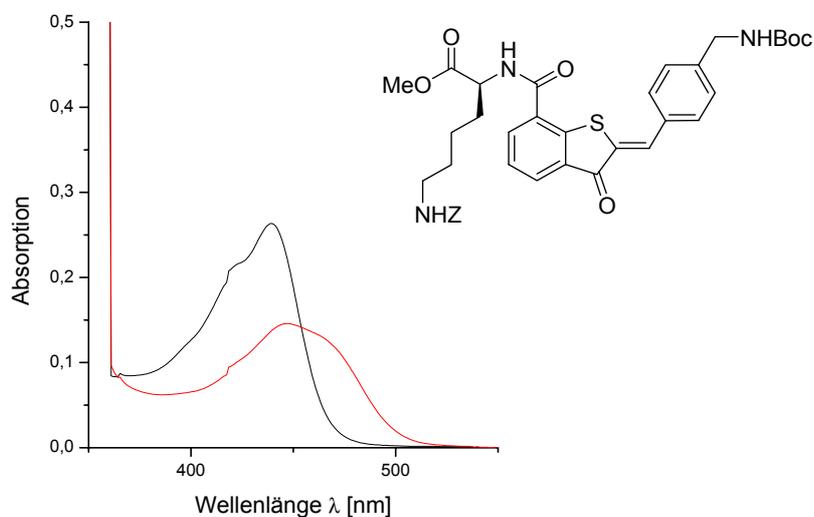


Abbildung 33: UV-Spektrum von **66** in DCM (rechts,  $c = 8.72 \cdot 10^{-5}$  mol/l) vor (schwarz) und nach (rot) Bestrahlung bei 406 nm.

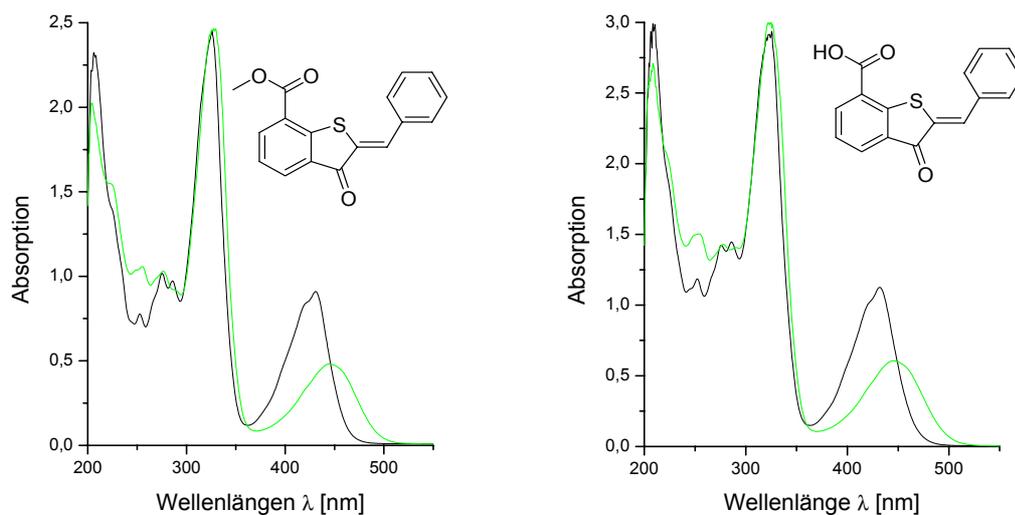


Abbildung 34: UV-Spektren von **75** in MeOH (links,  $c = 1.35 \cdot 10^{-4} \text{ mol/l}$ ) und **73** MeOH (rechts,  $c = 1.42 \cdot 10^{-4} \text{ mol/l}$ ) vor (schwarz) und nach (grün) Bestrahlung bei 406 nm.

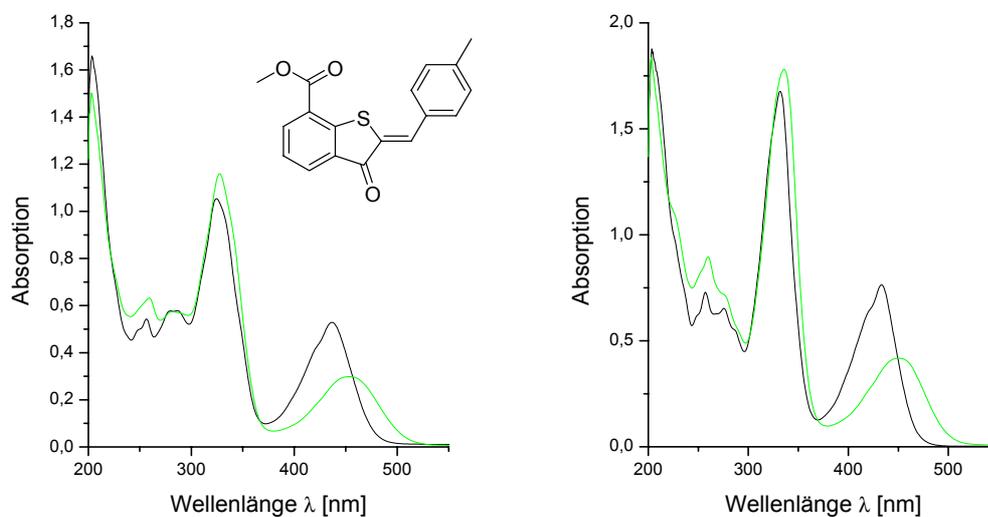
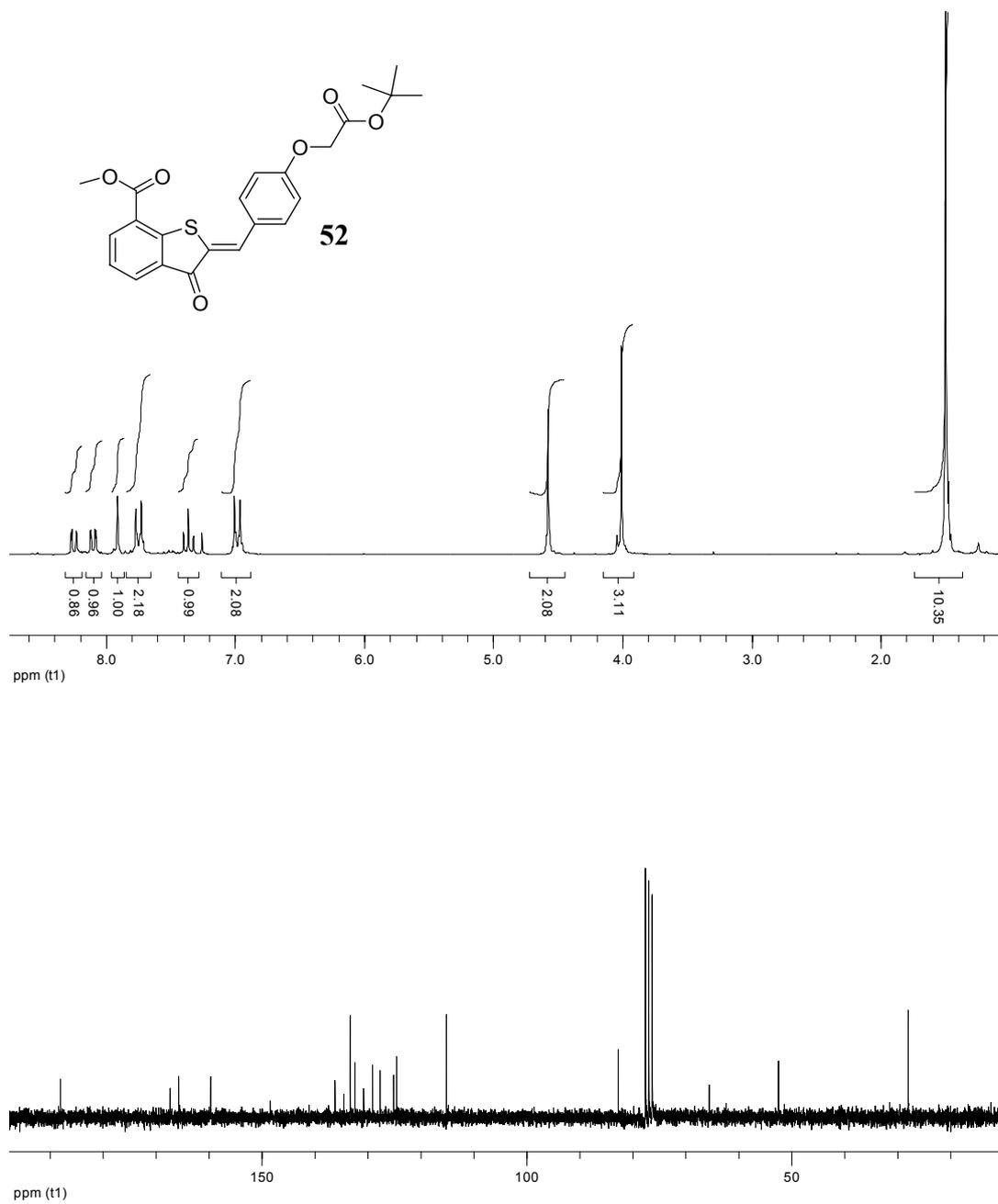
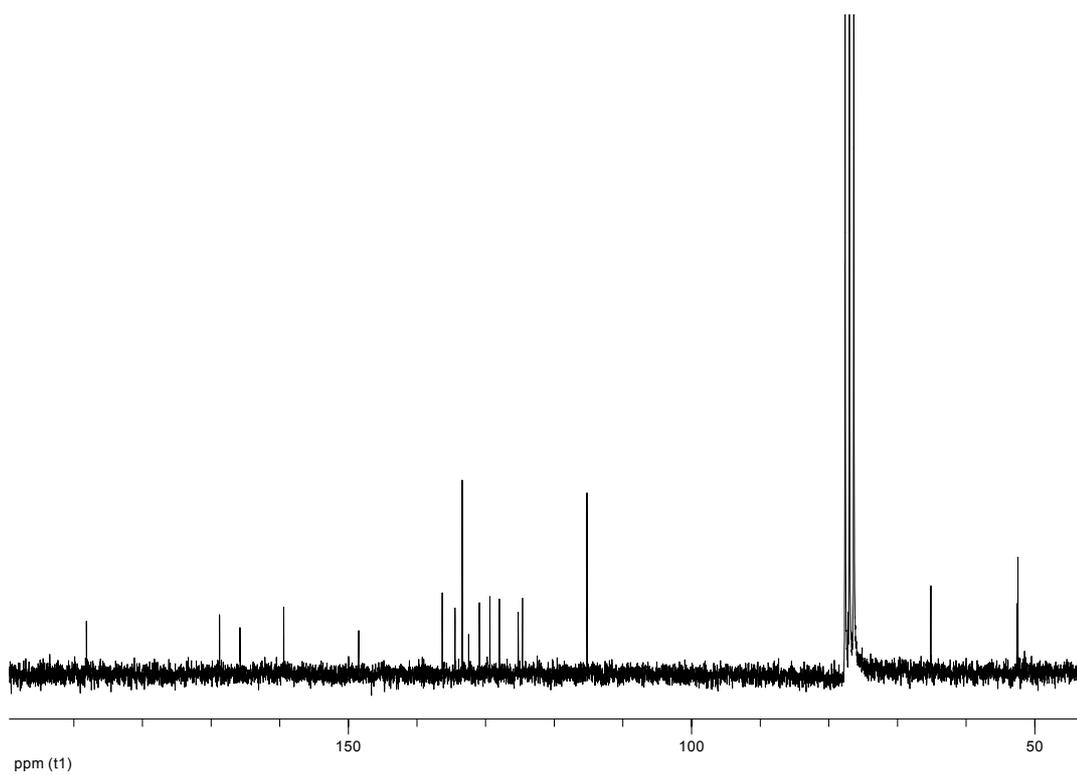
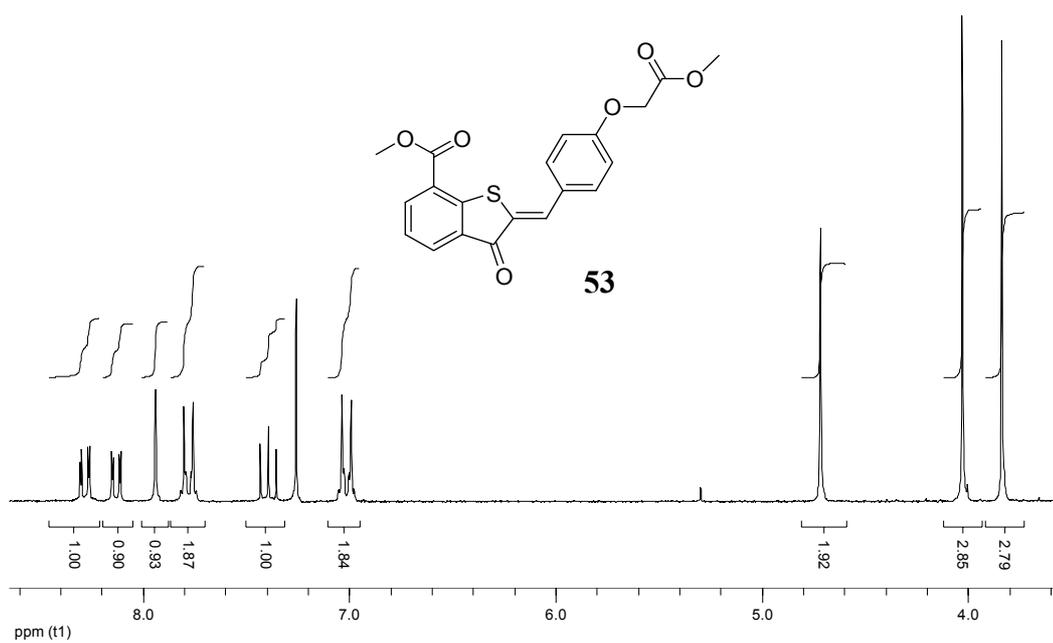
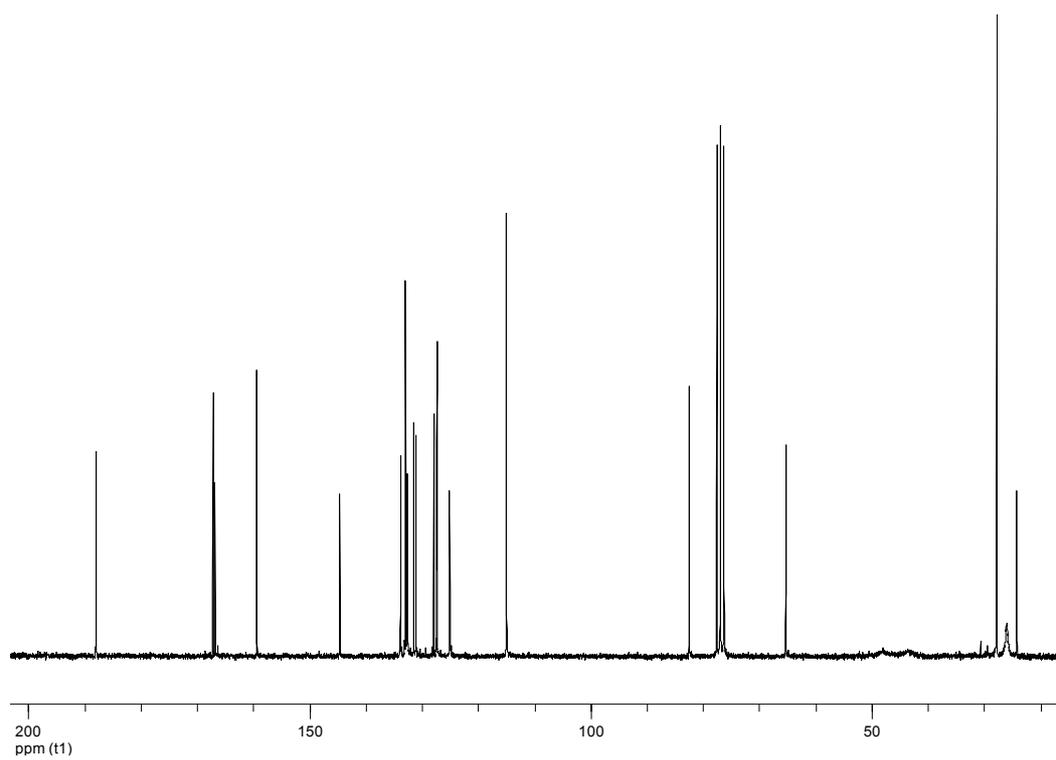
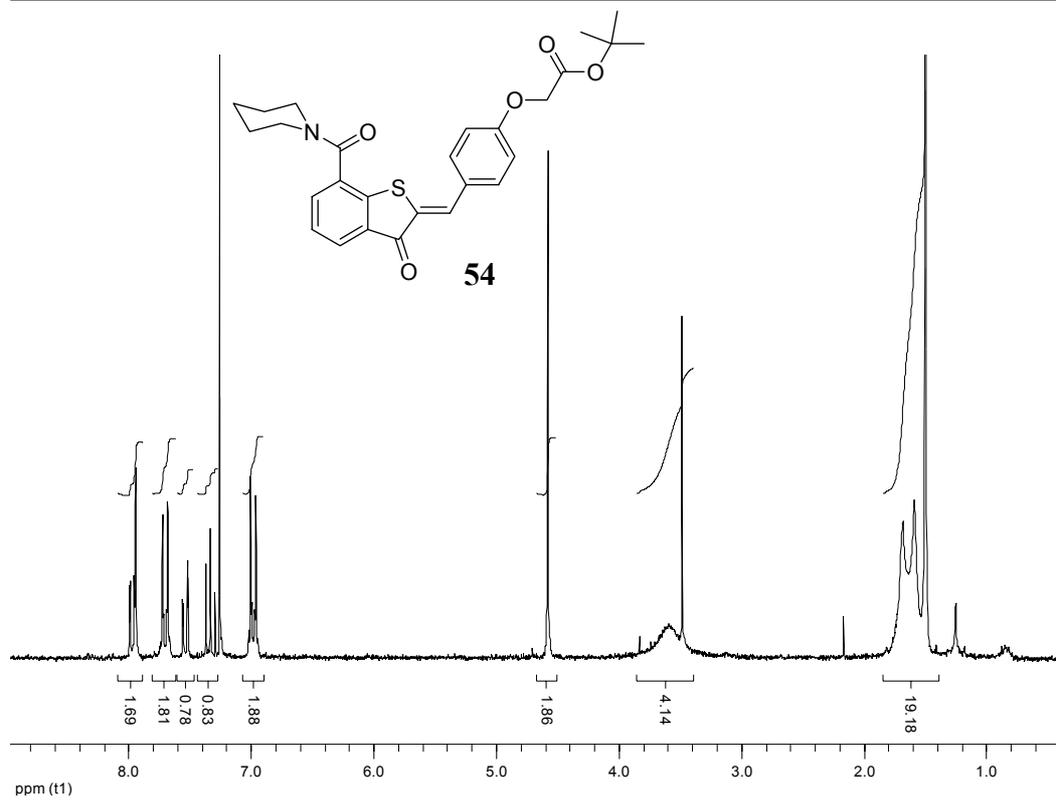


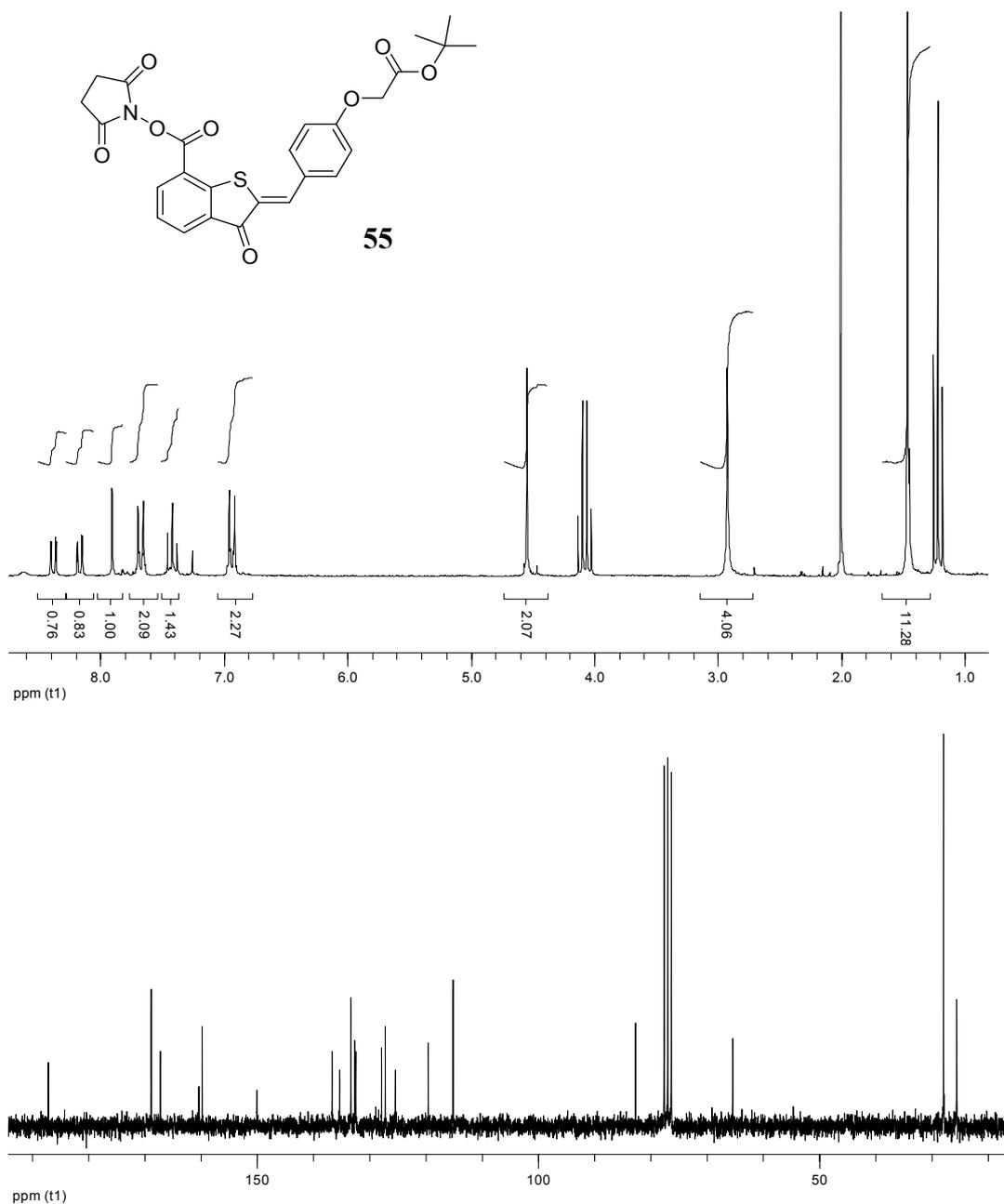
Abbildung 35: UV-Spektren von **78** in MeOH (links,  $c = 2.58 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$ ) und **76** MeOH (rechts,  $c = 5.95 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$ ) vor (schwarz) und nach (grün) Bestrahlung bei 406 nm.

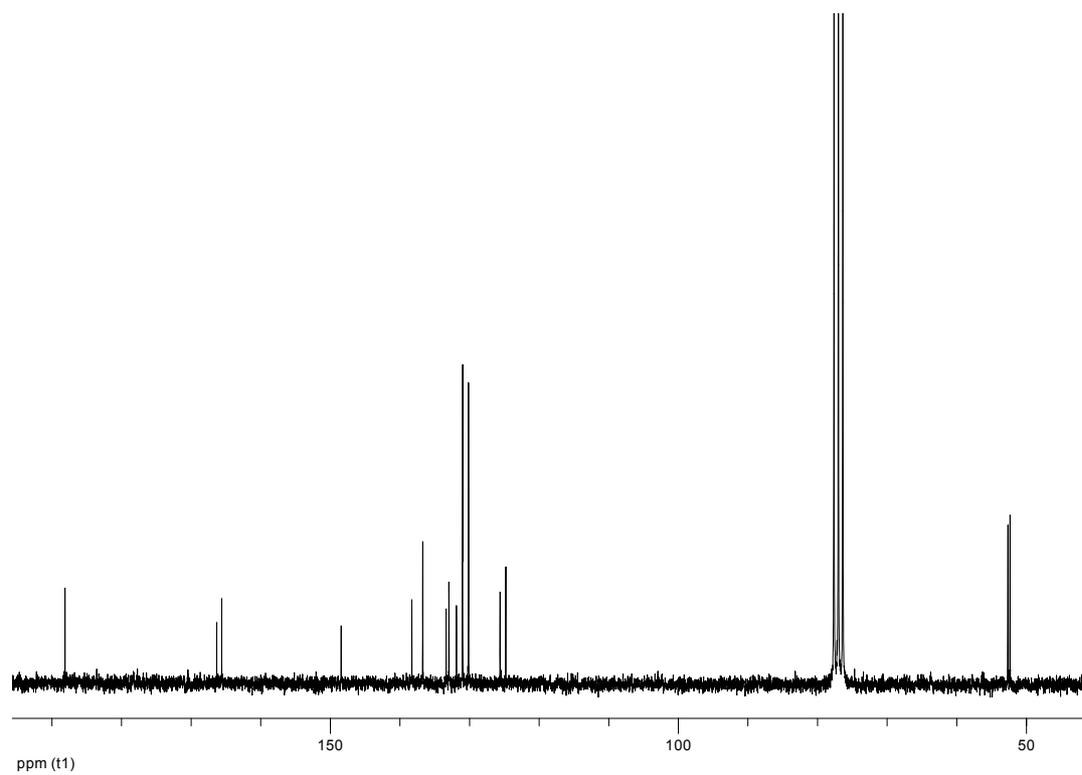
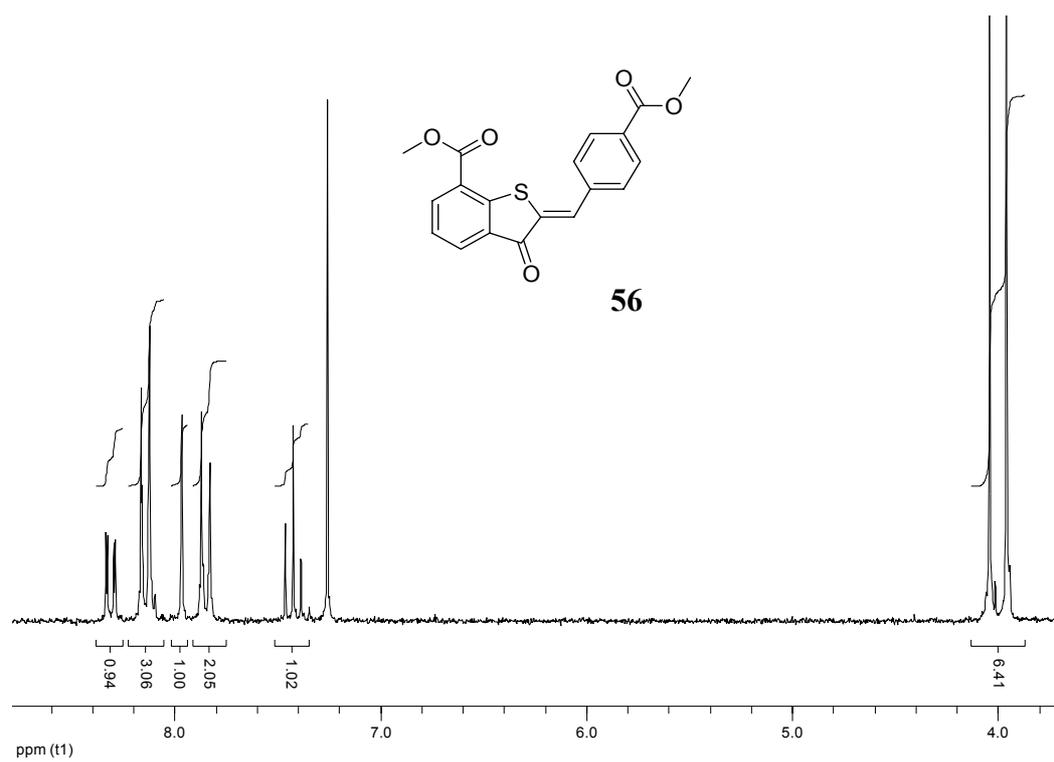
## 7.3 NMR Spektren

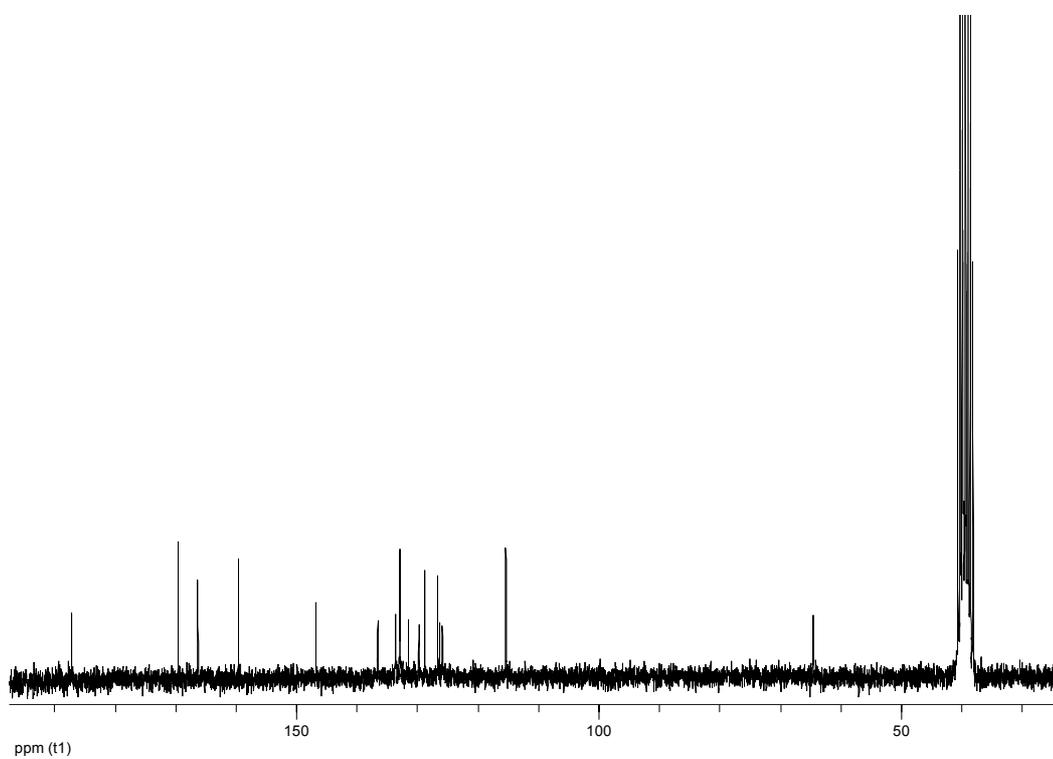
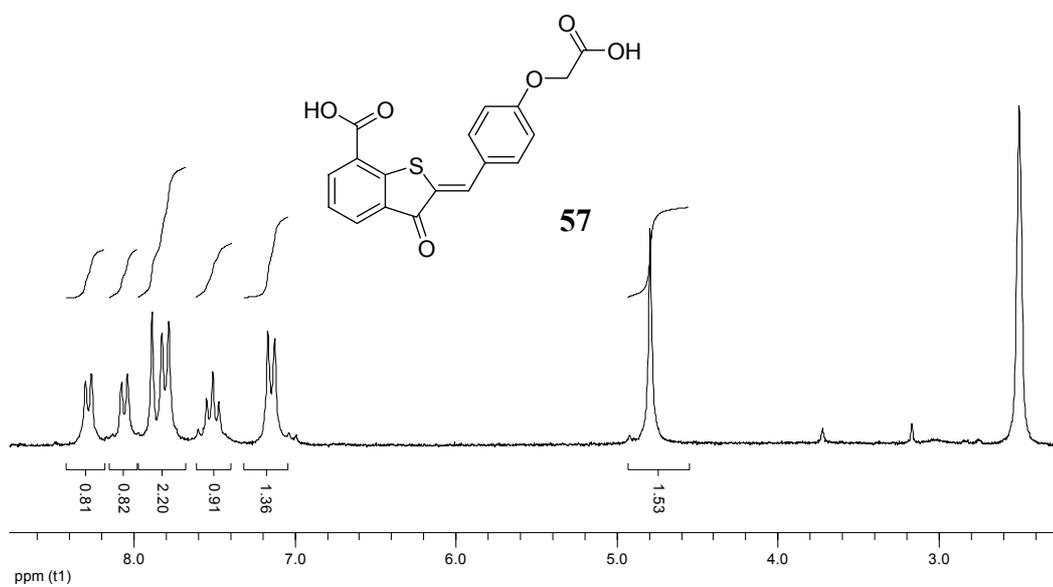


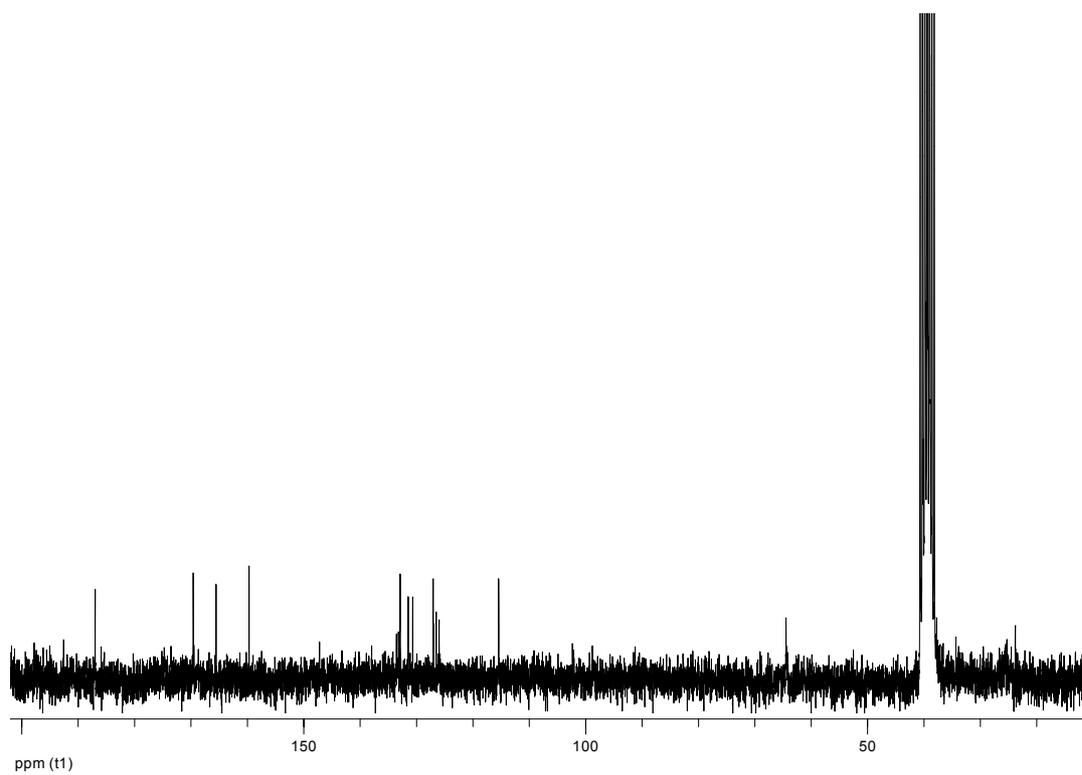
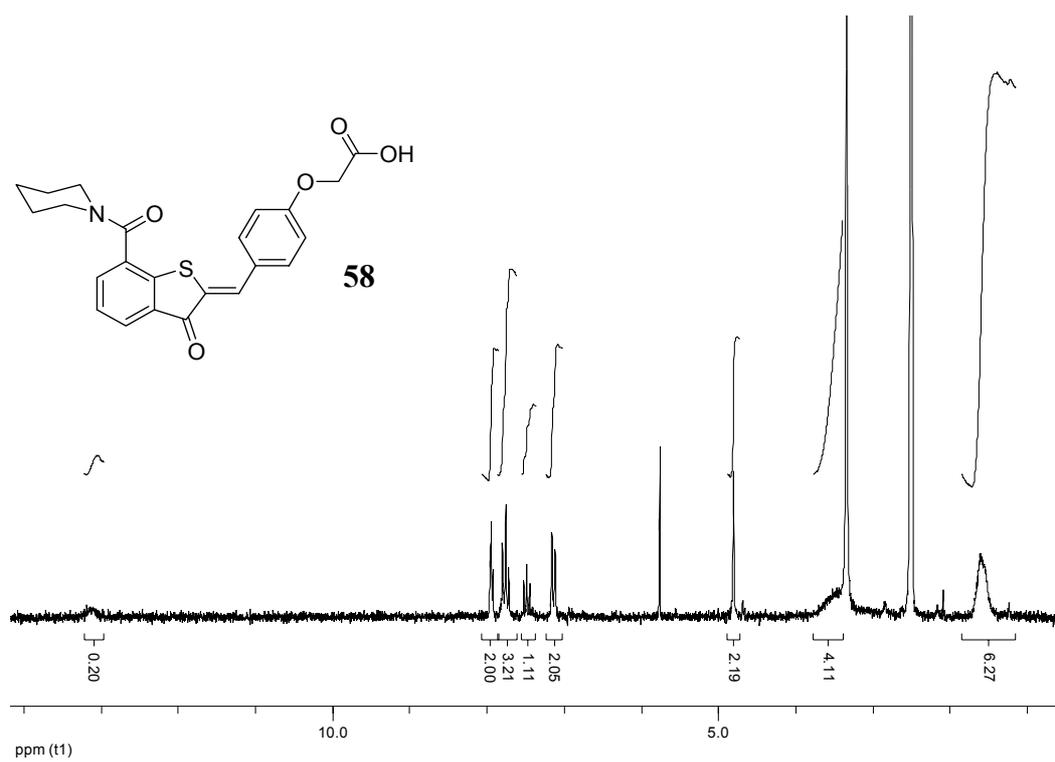


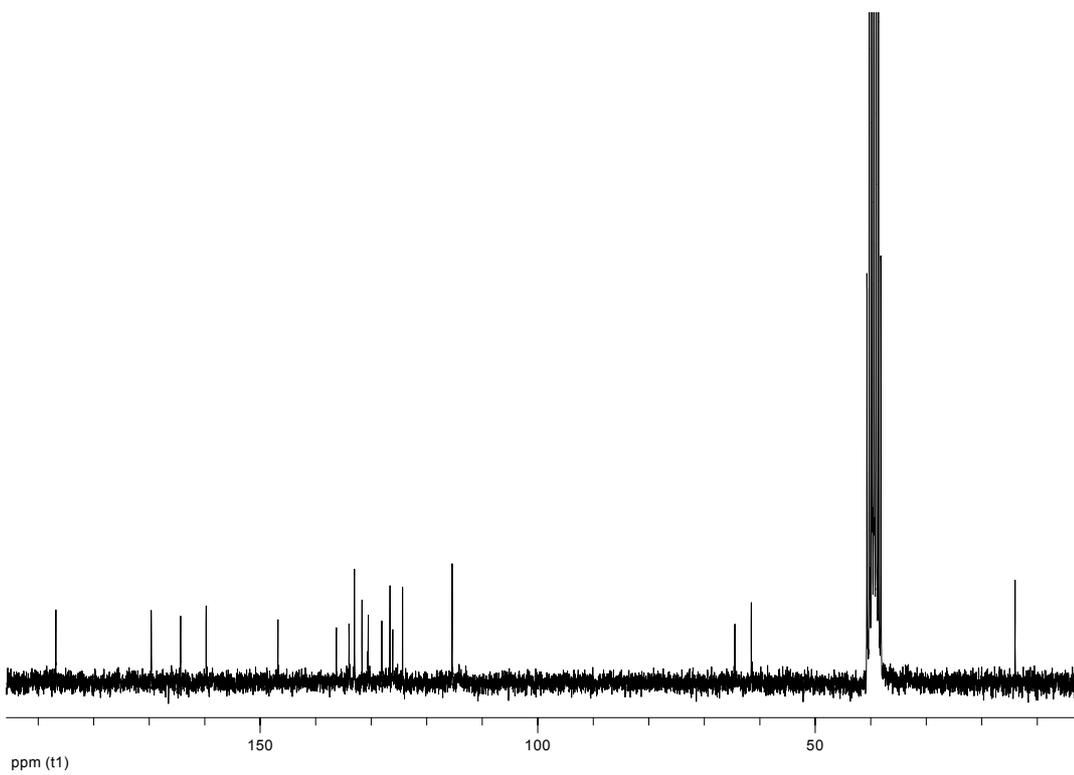
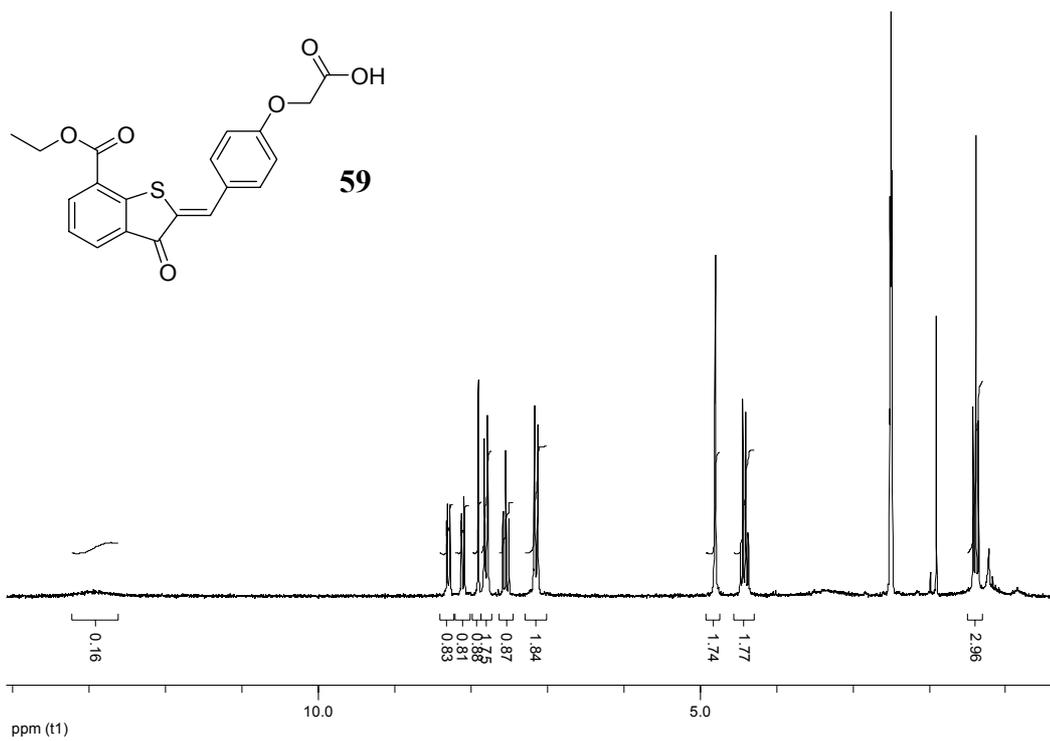


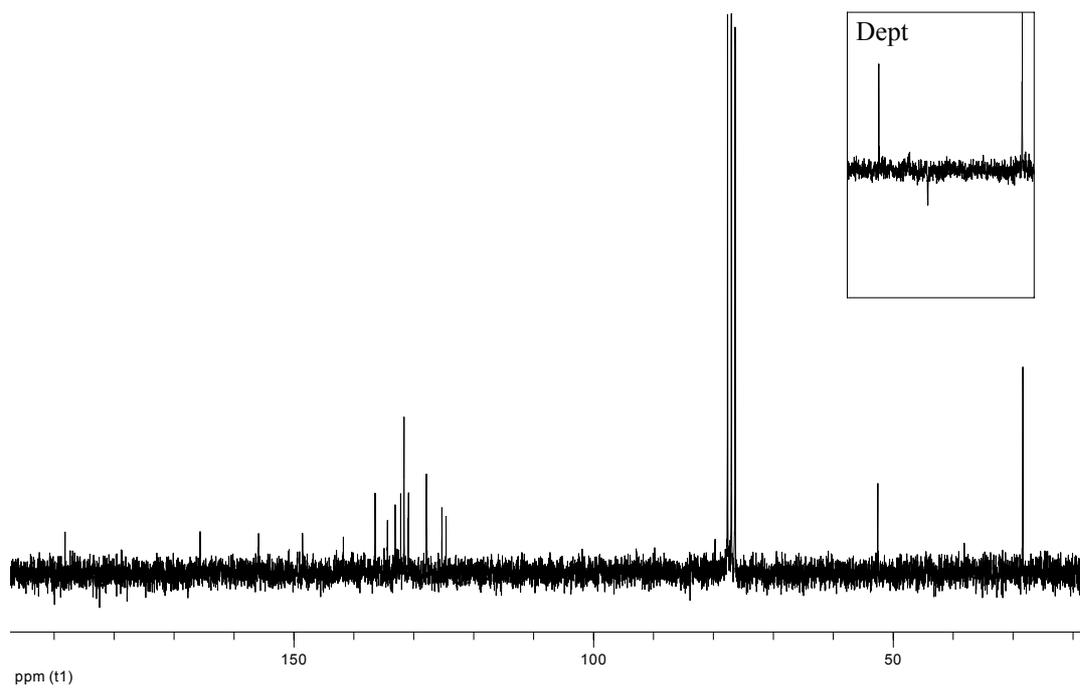
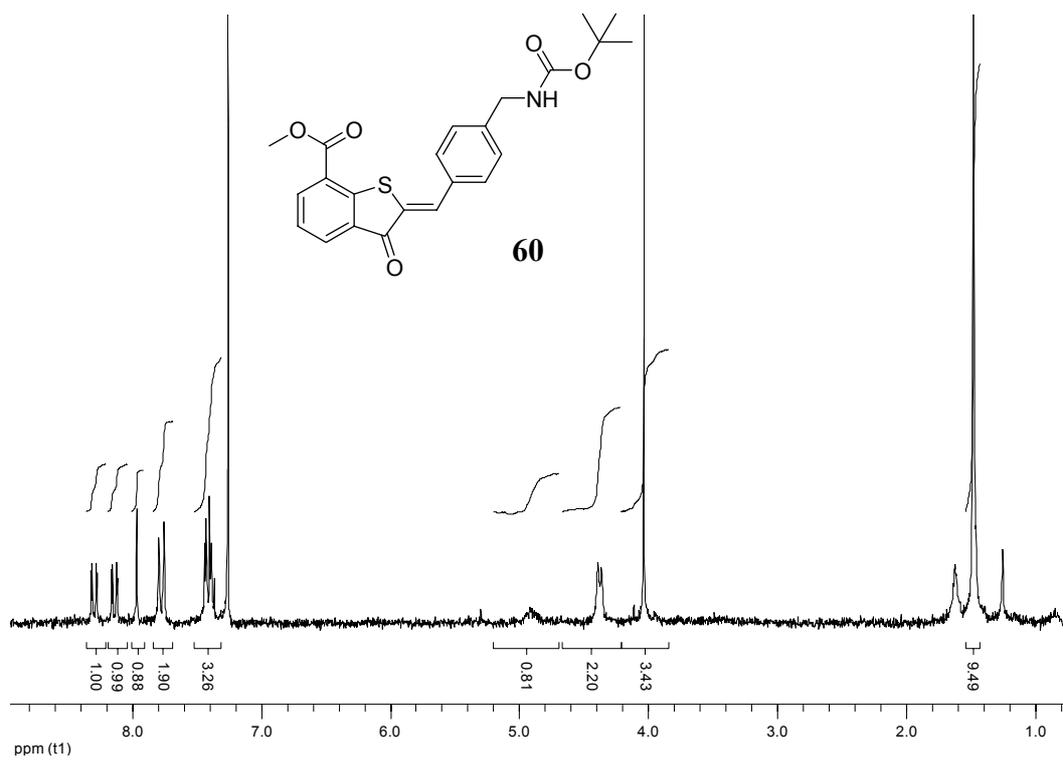


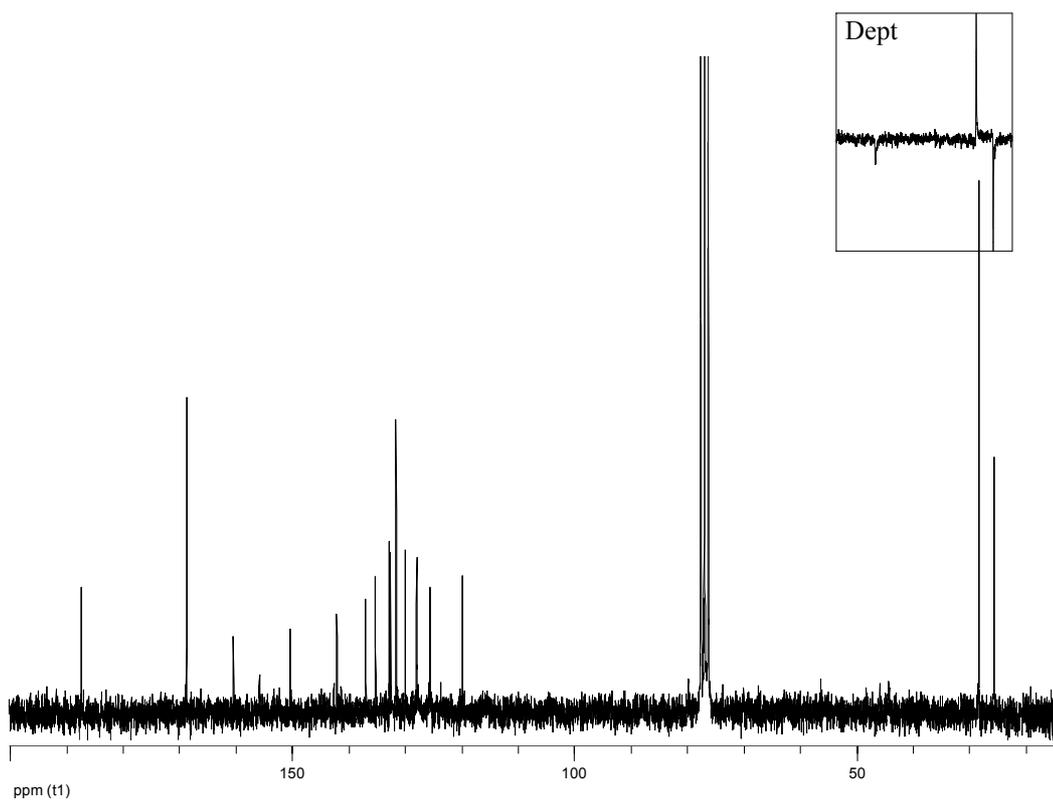
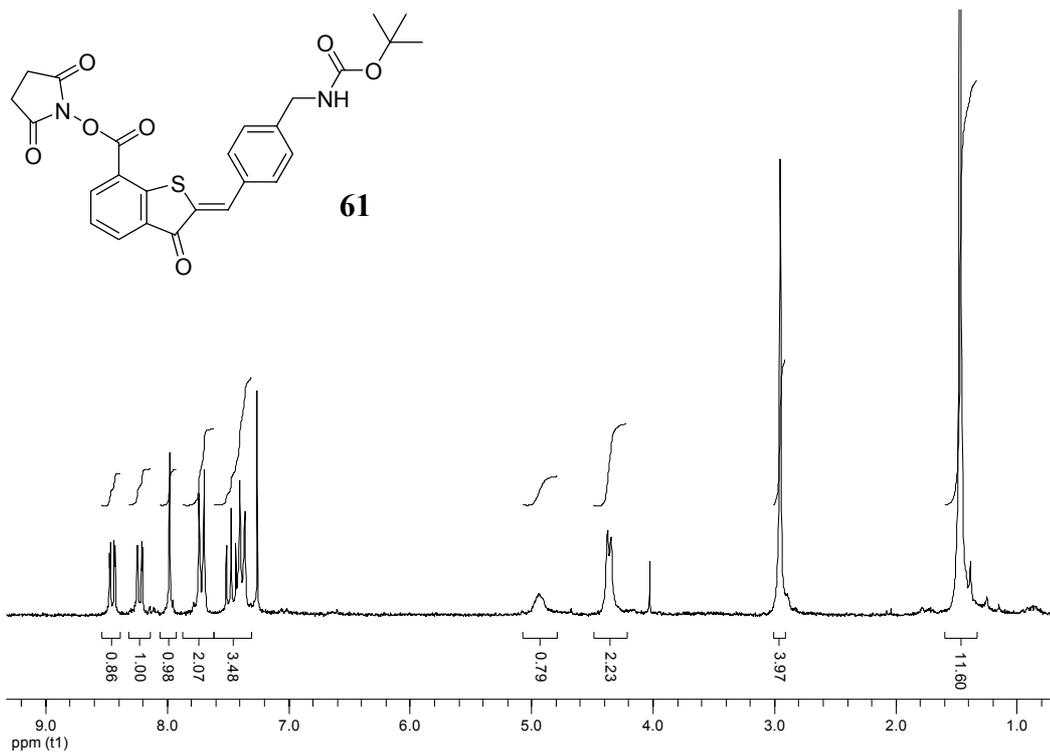


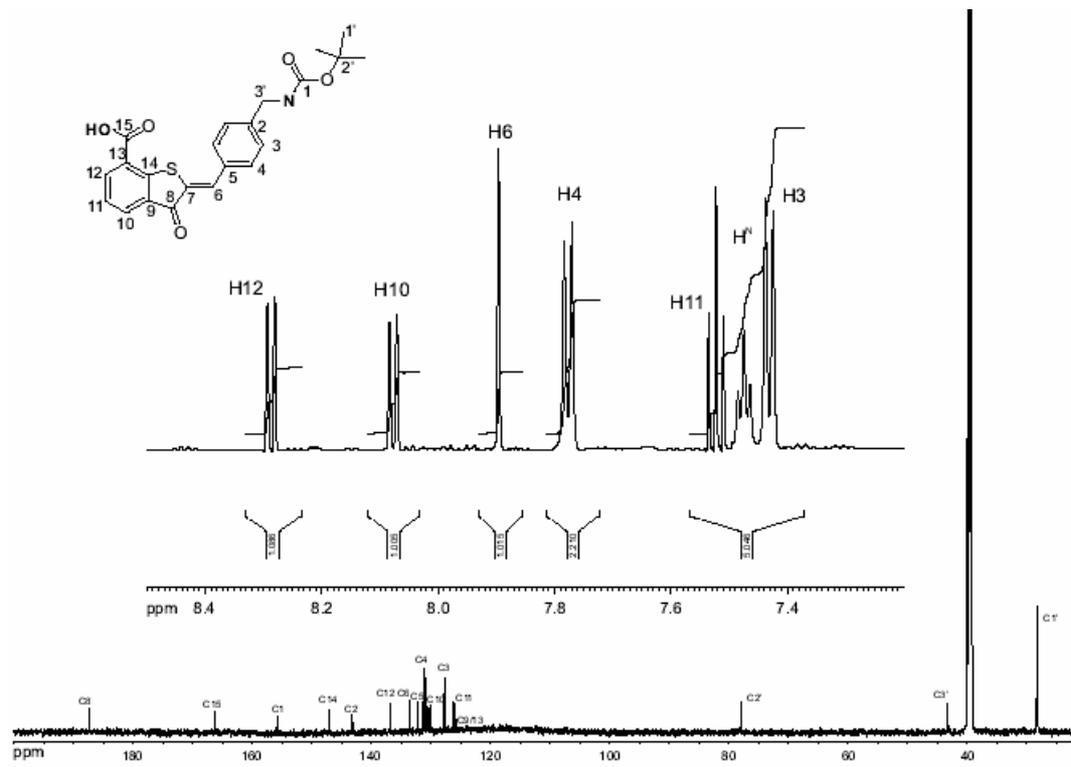
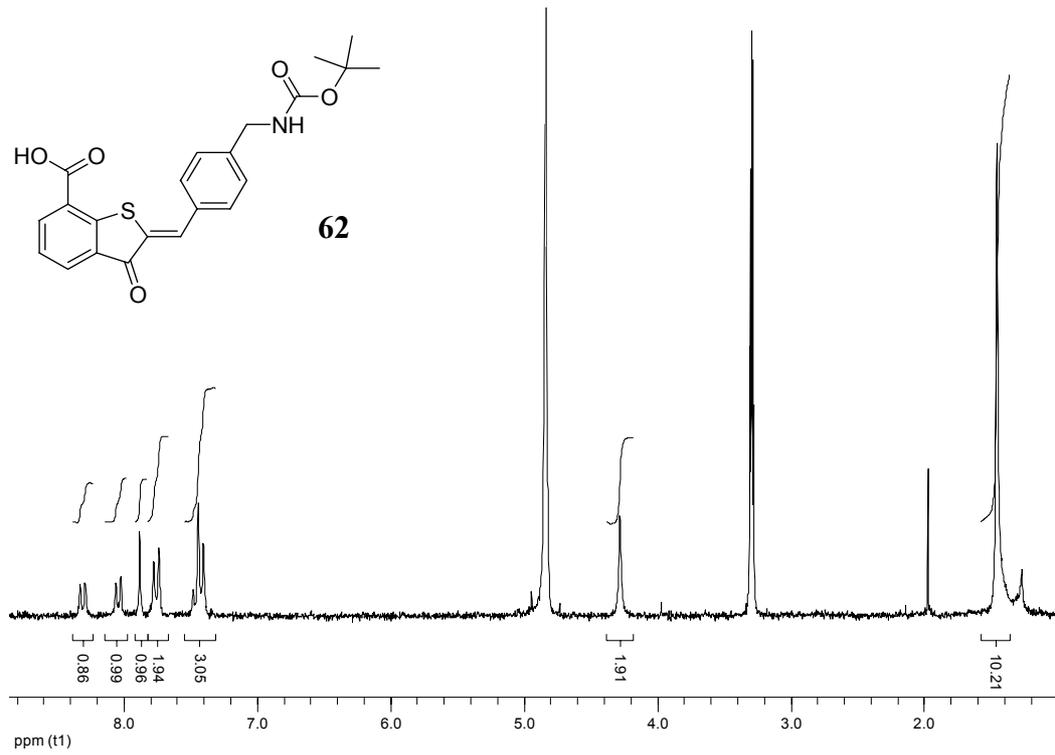


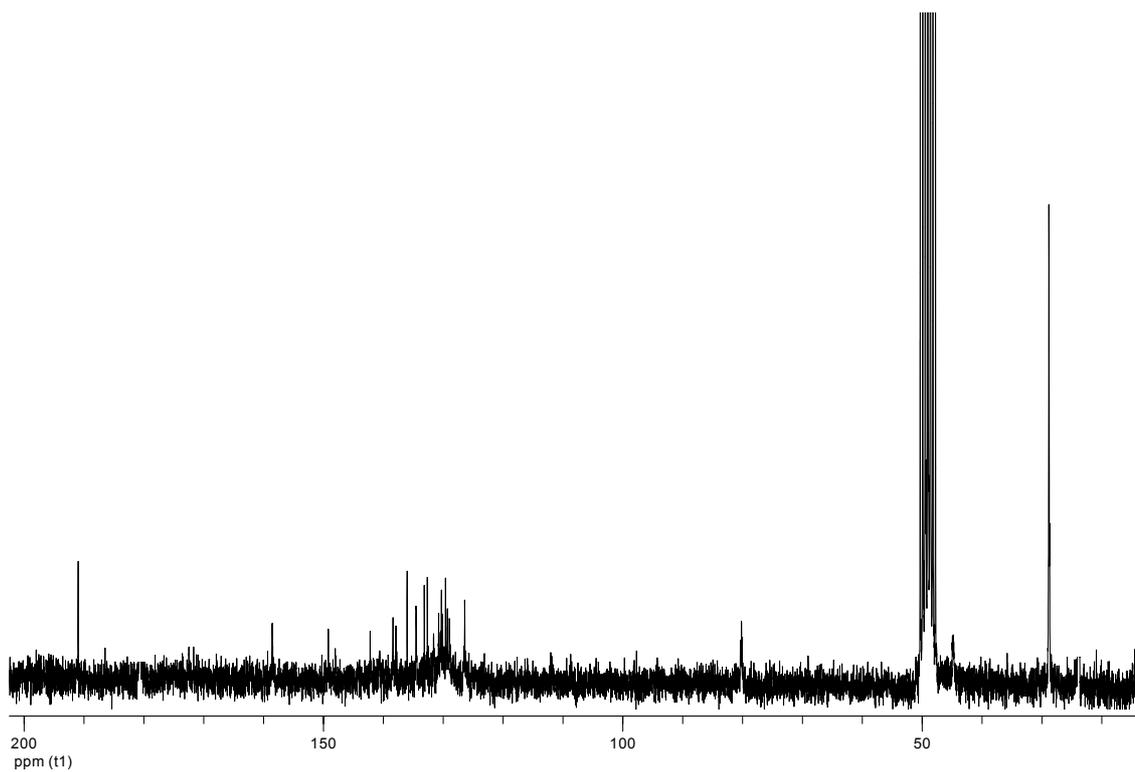
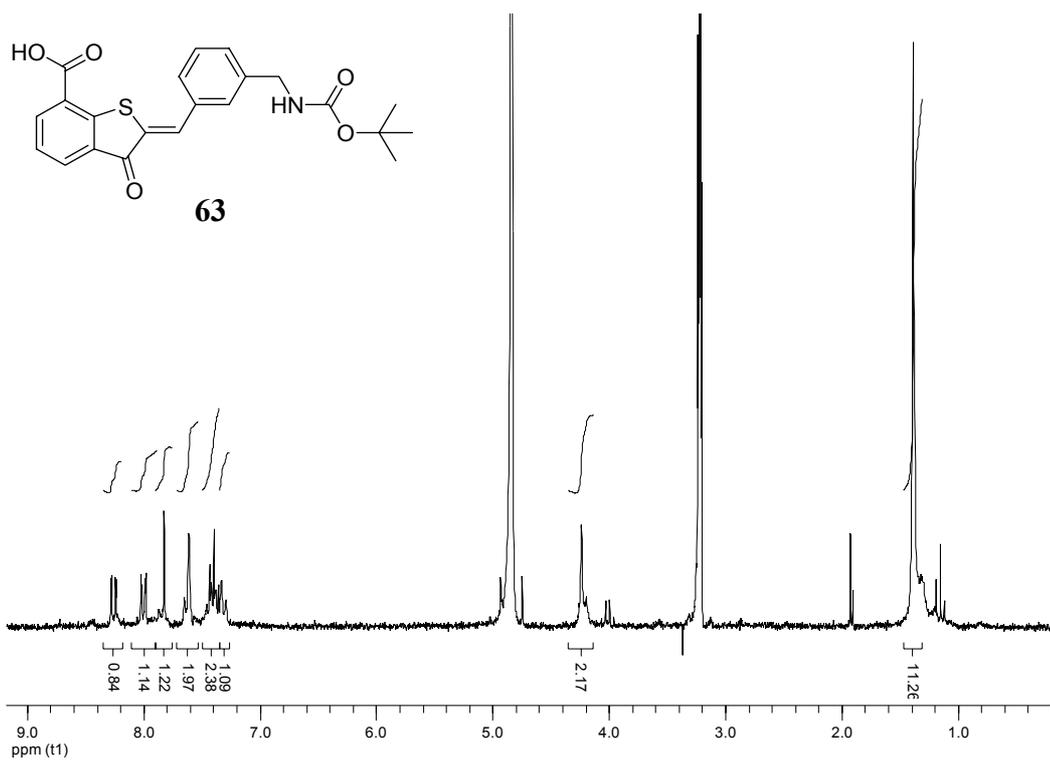


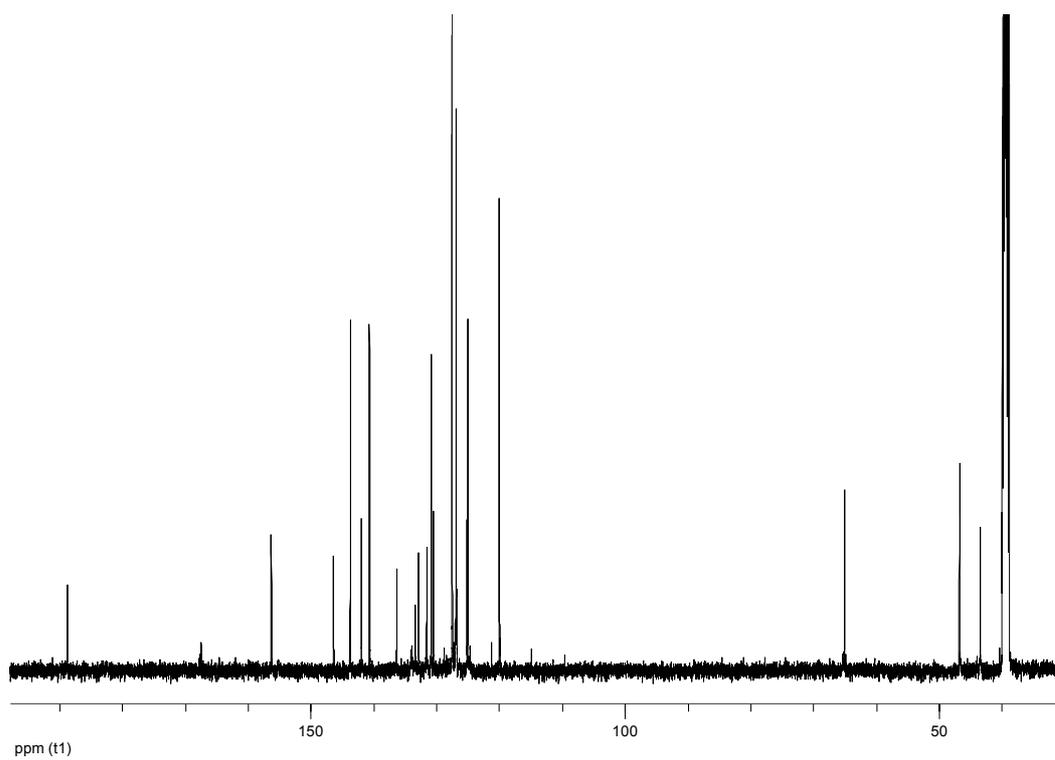
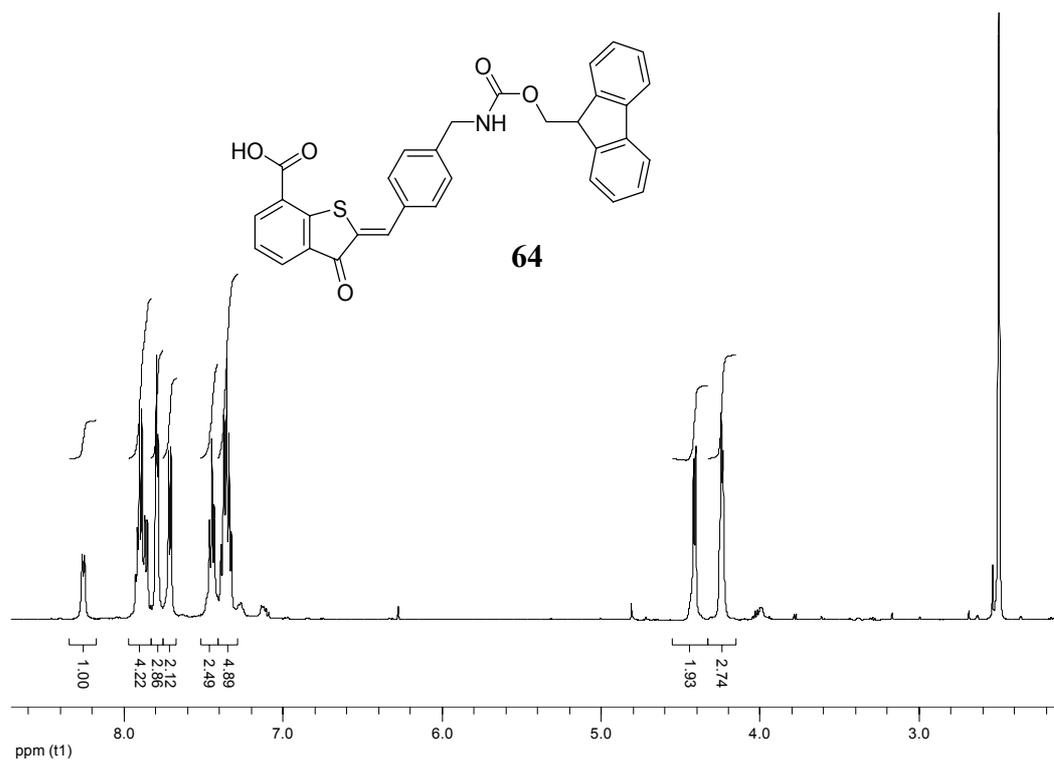


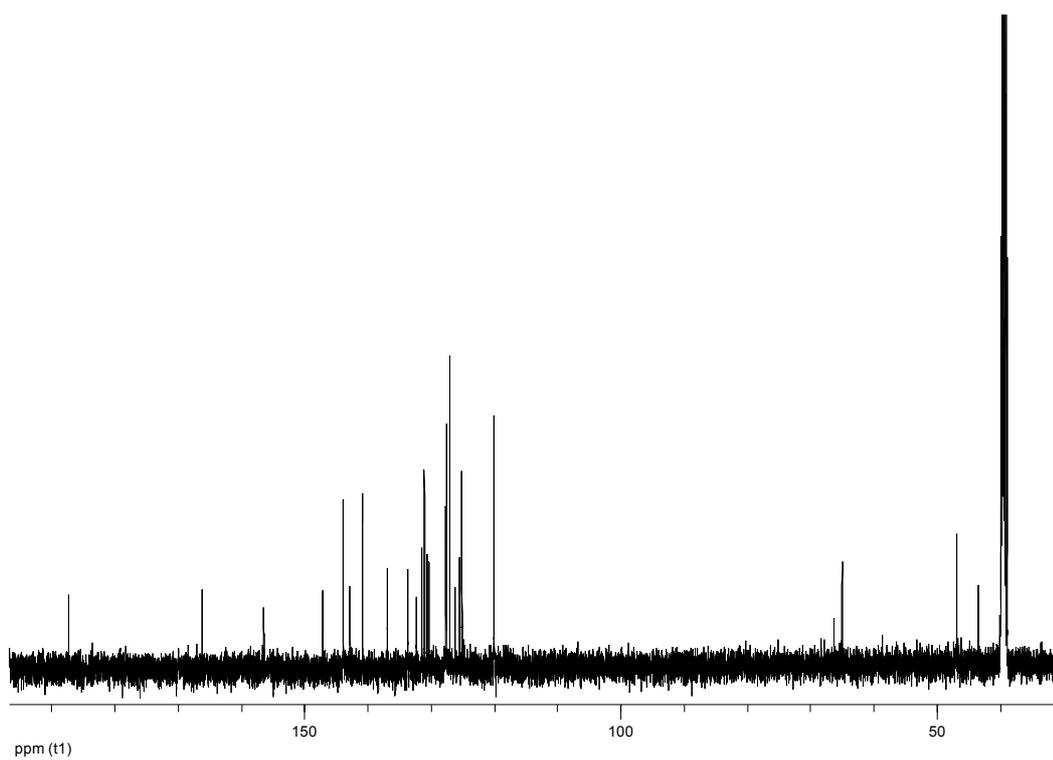
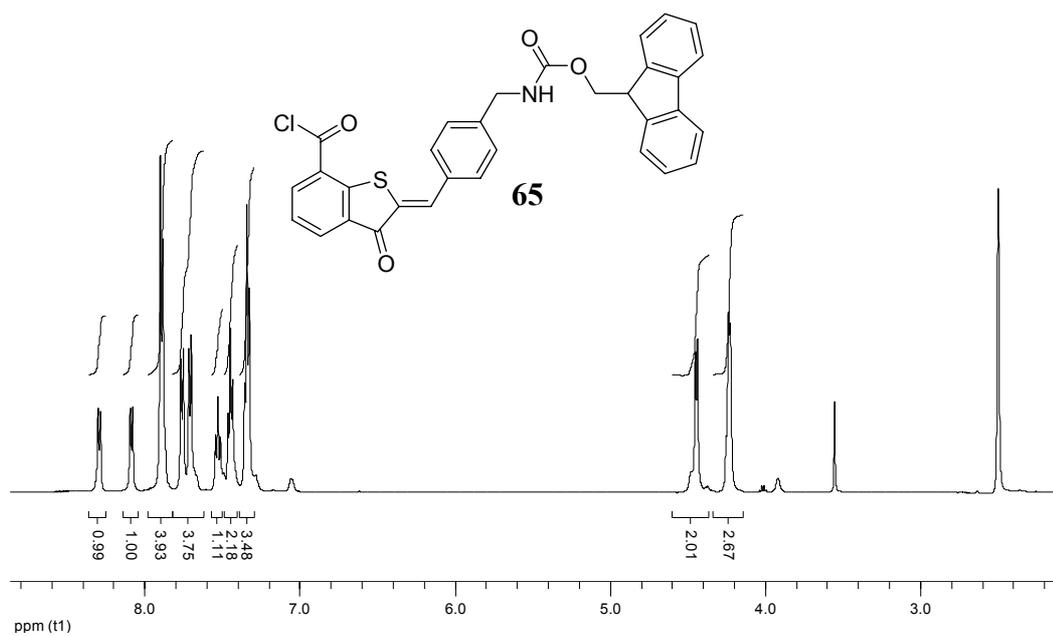


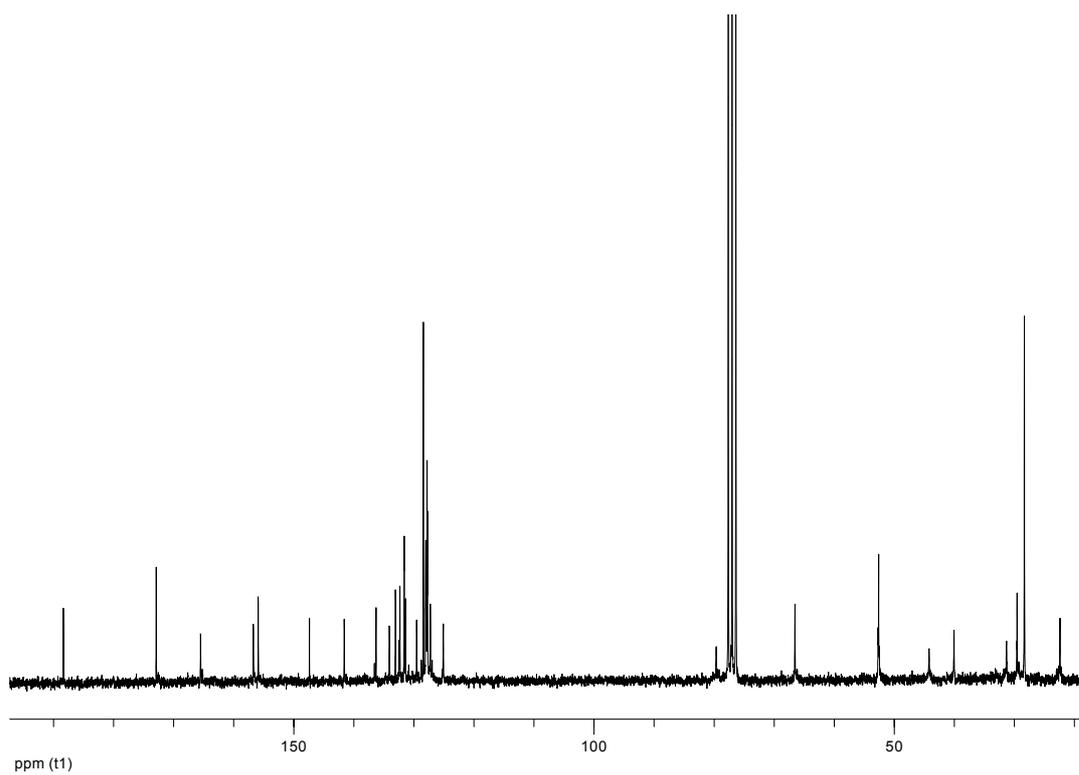
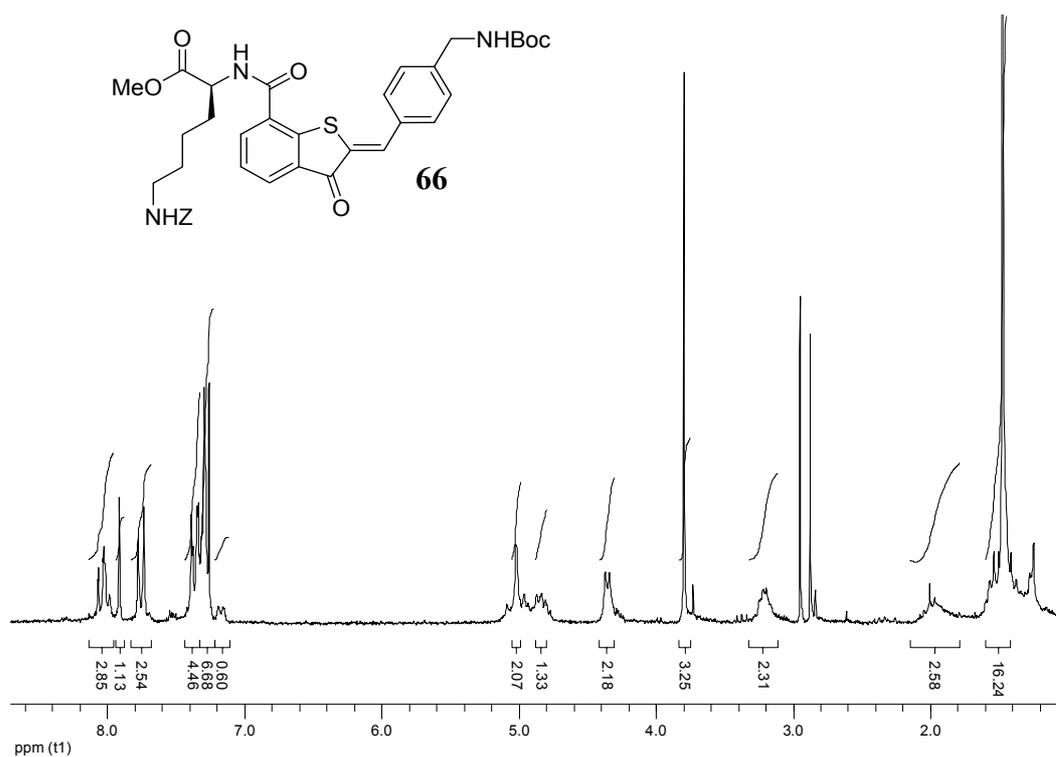


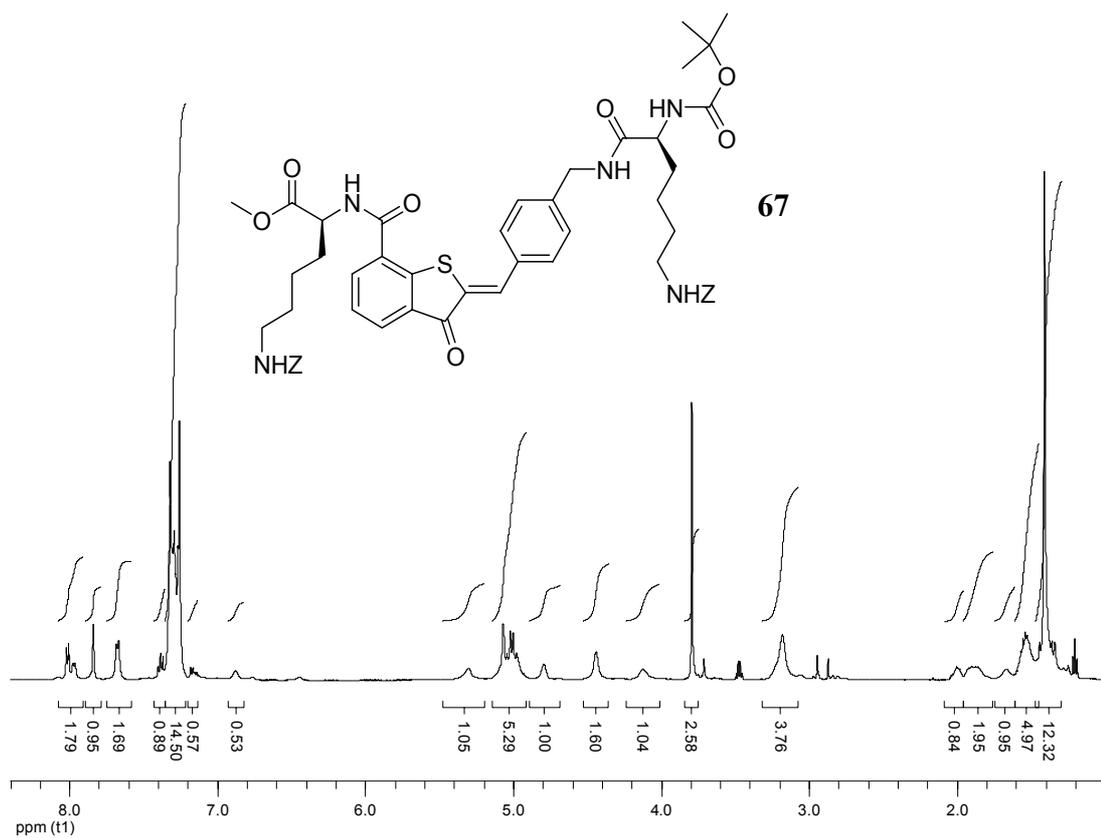


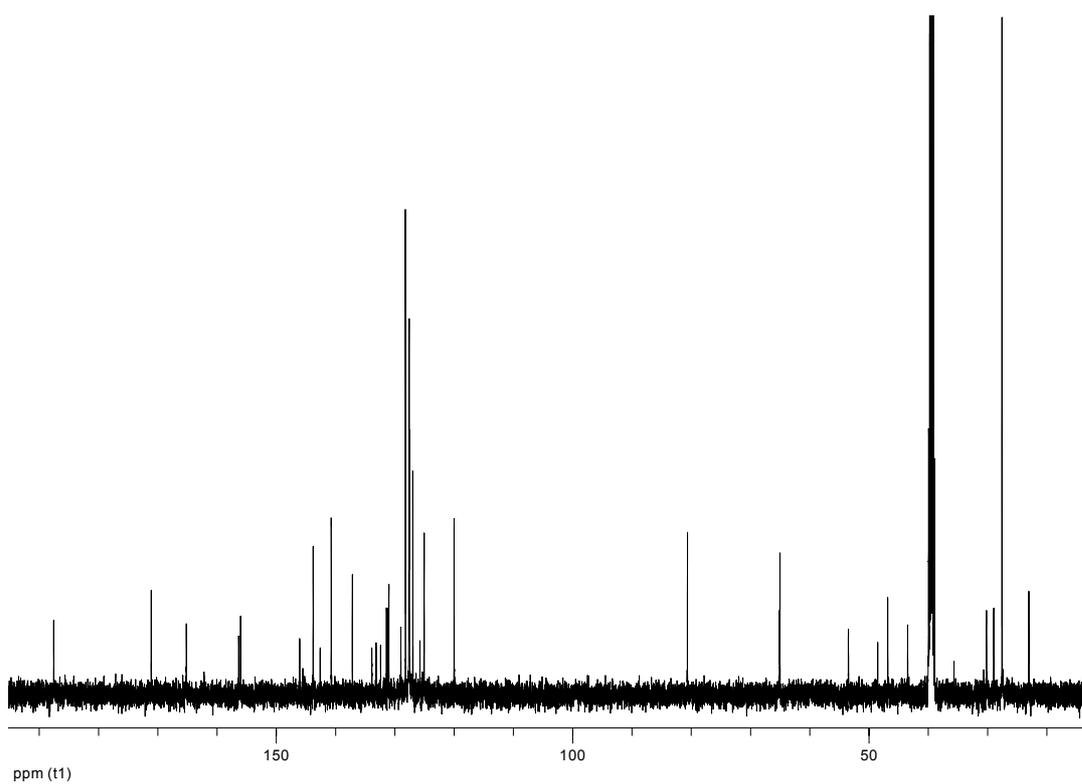
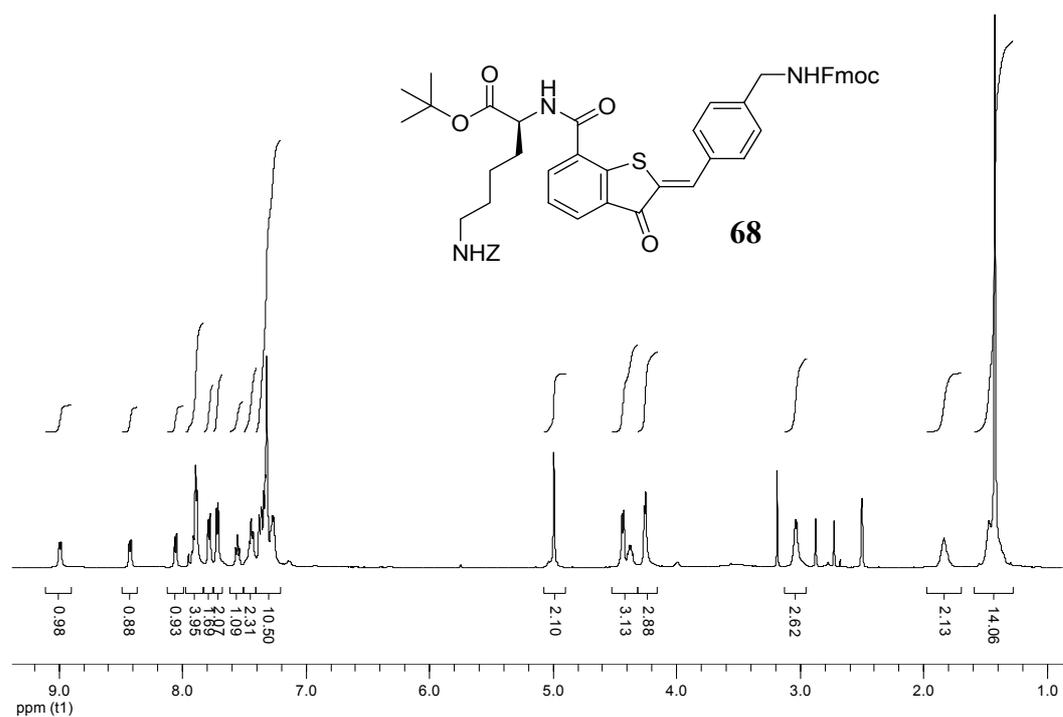


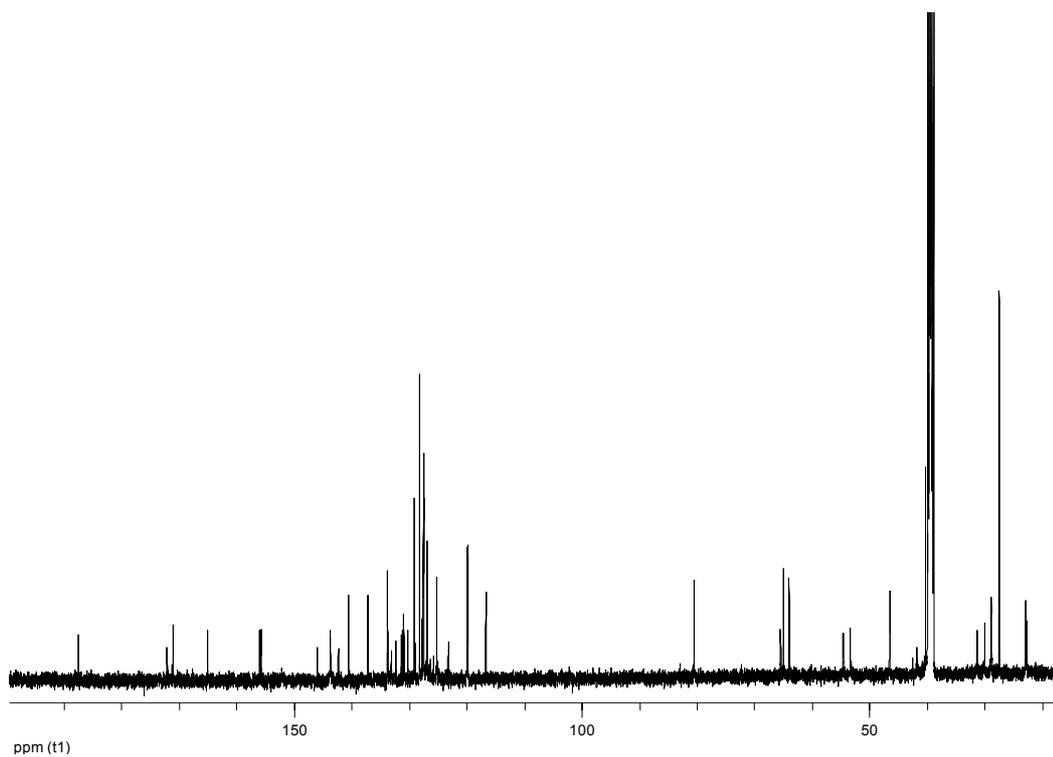
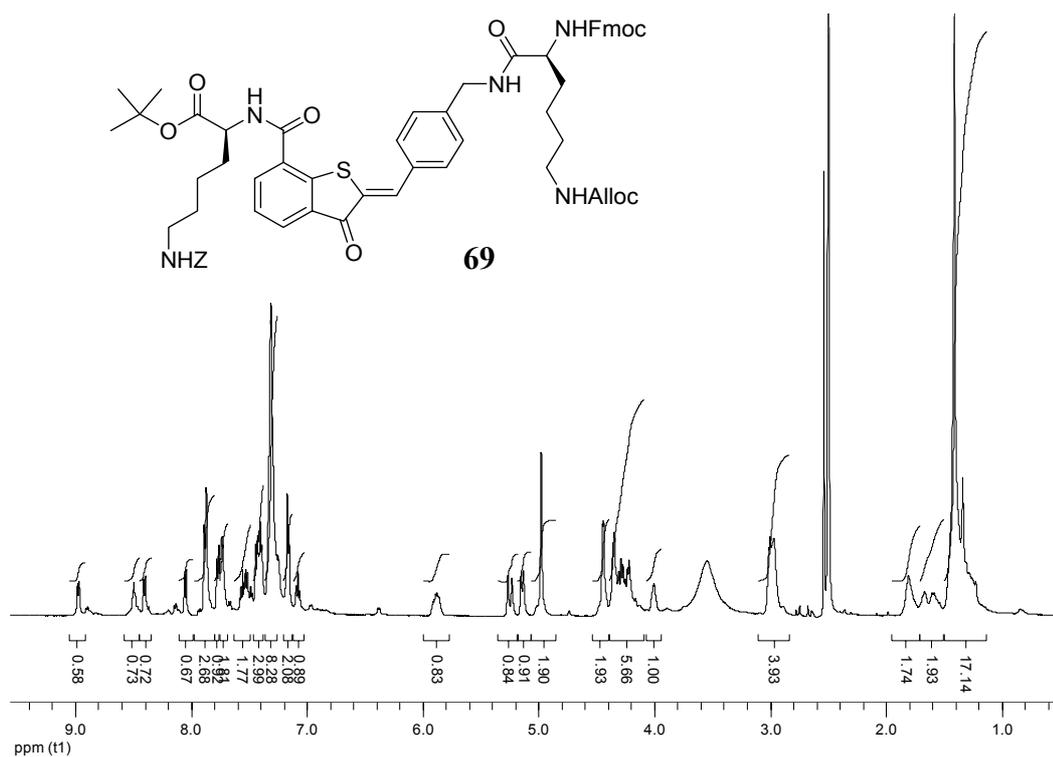


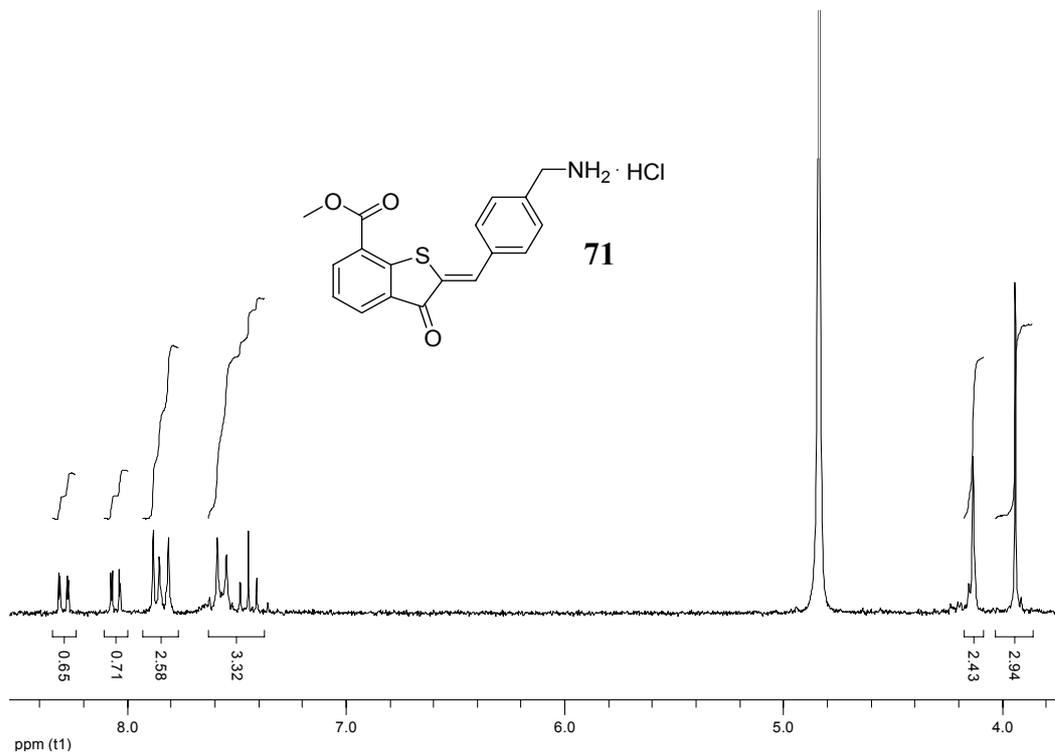
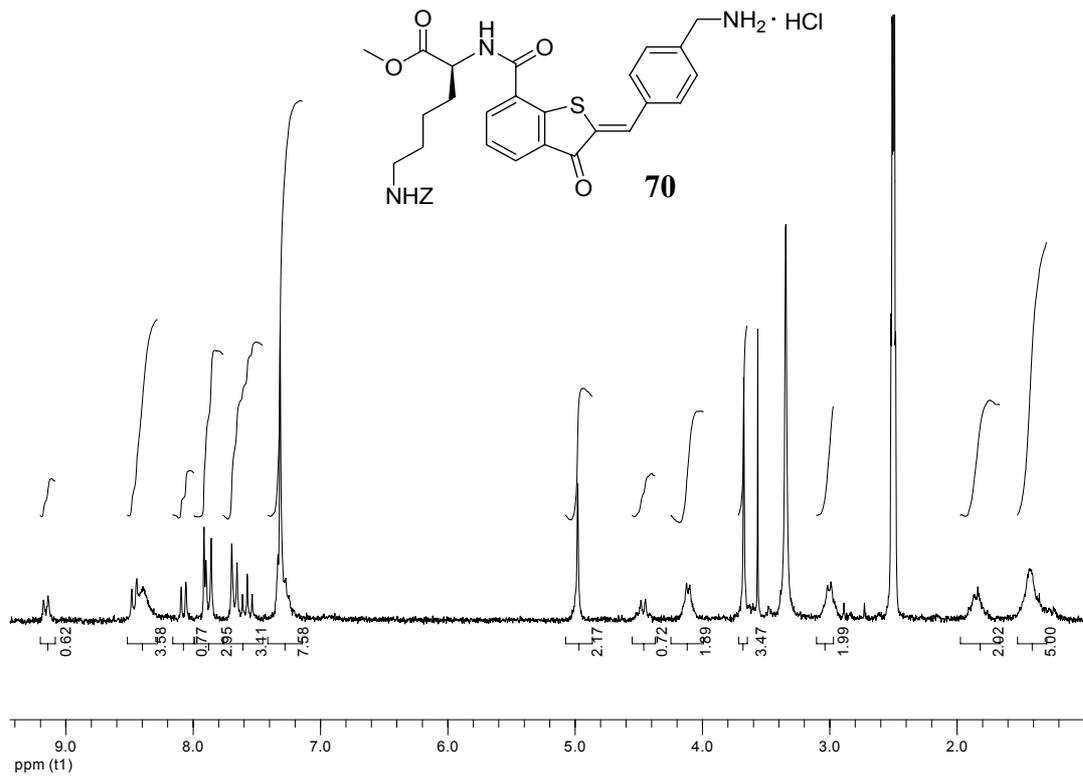


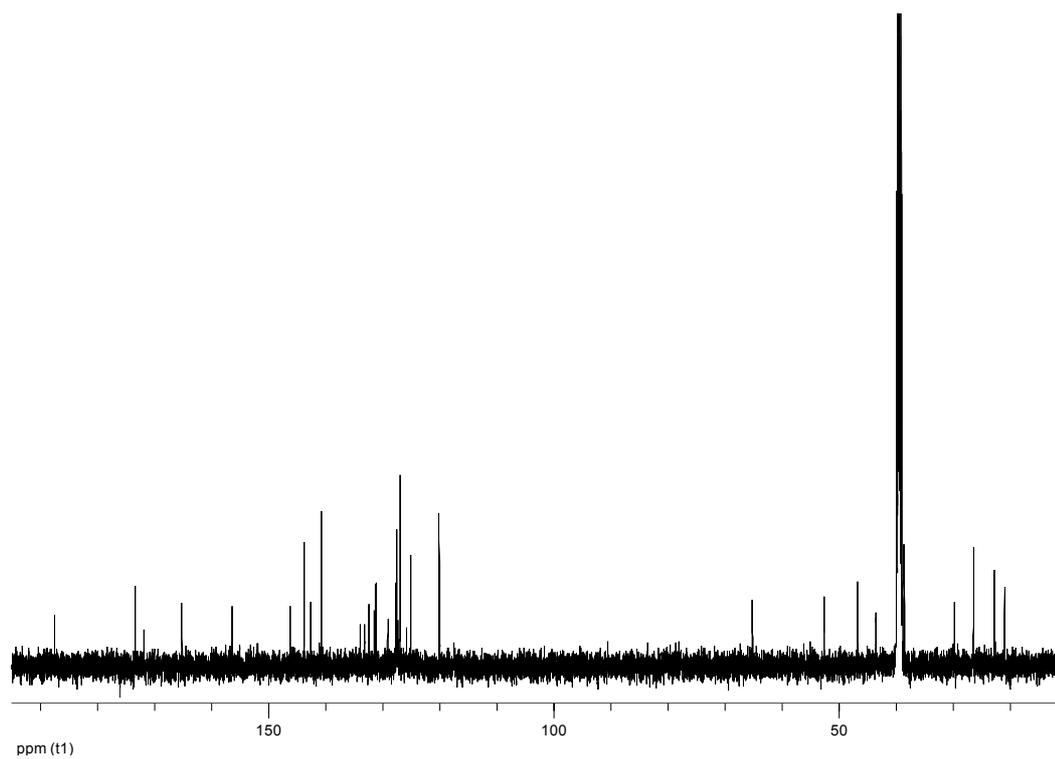
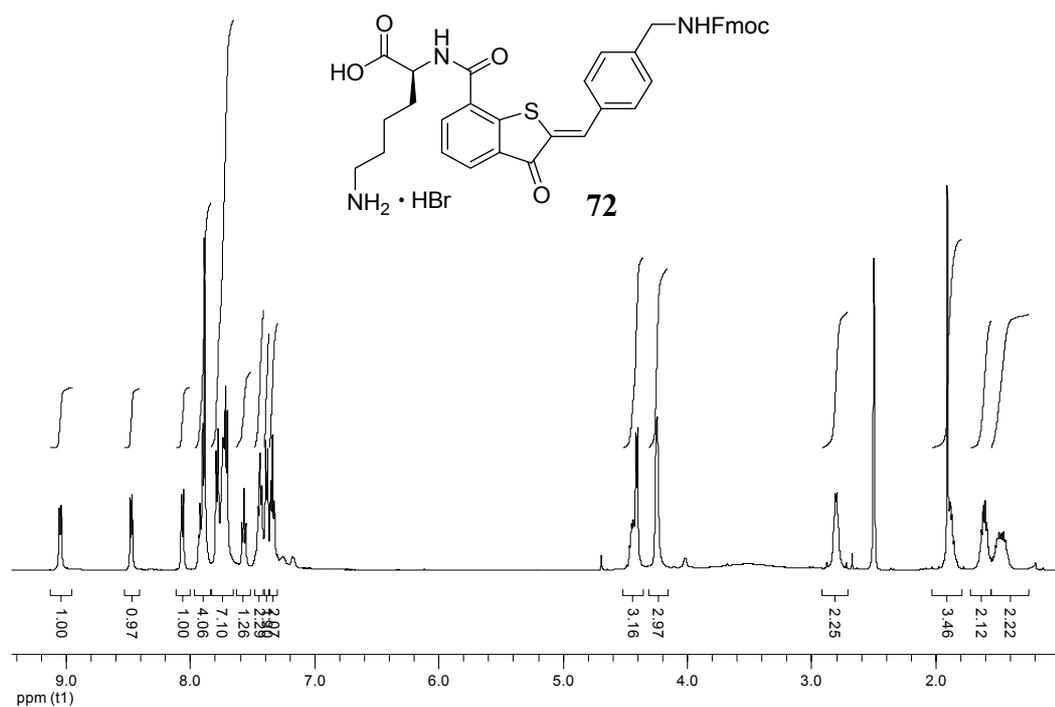


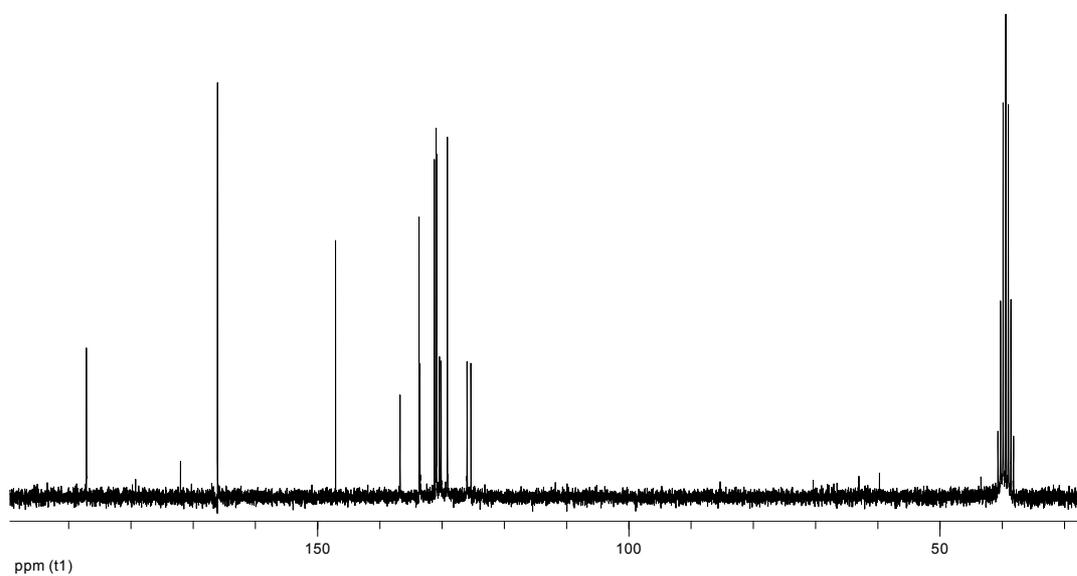
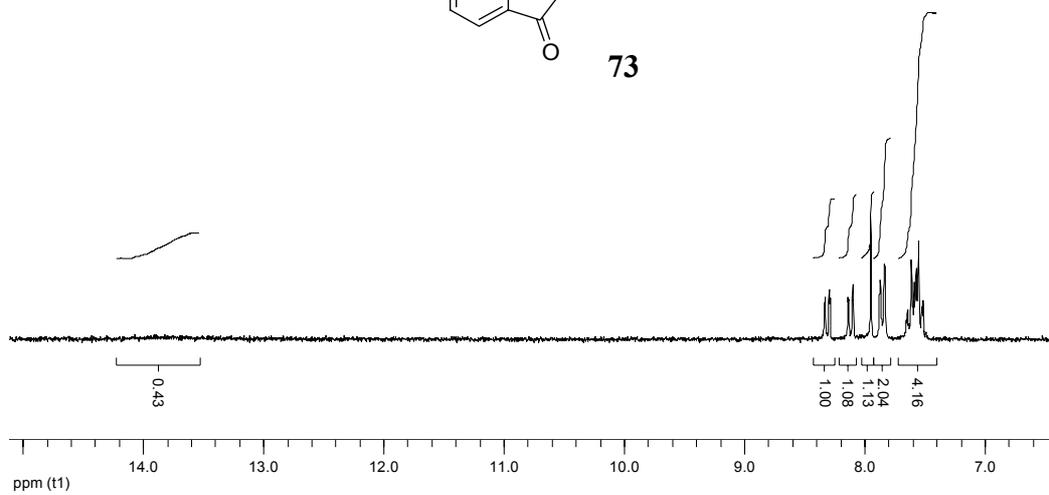
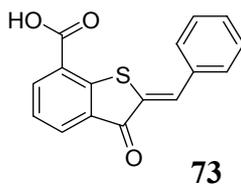


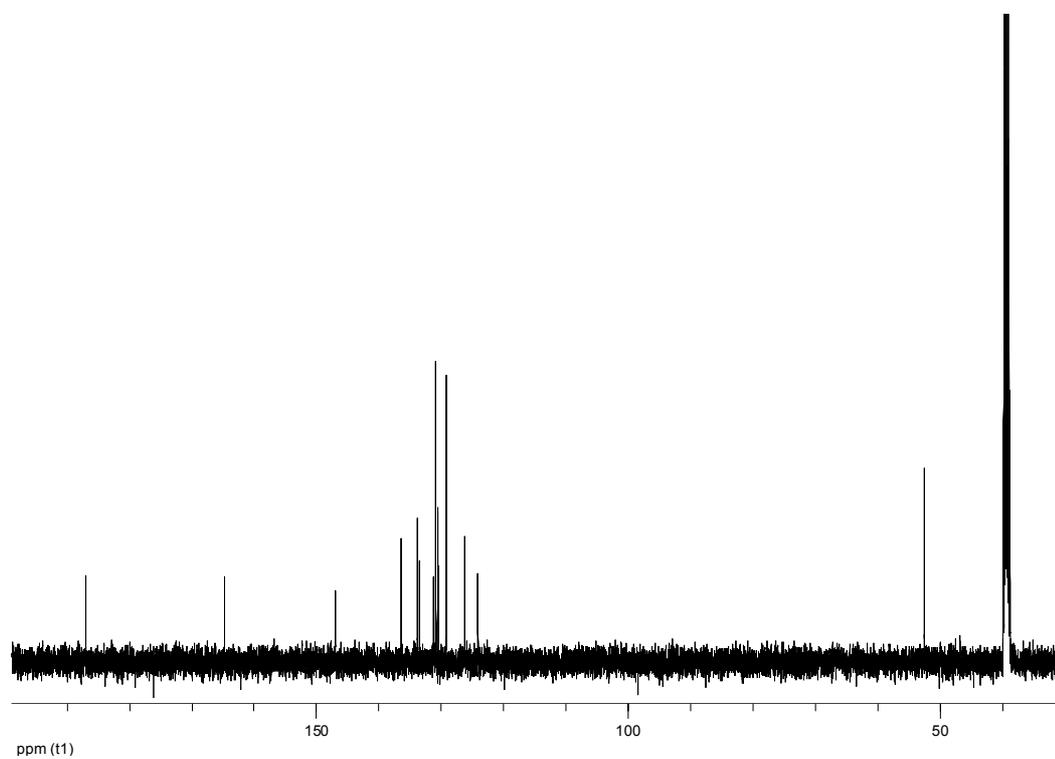
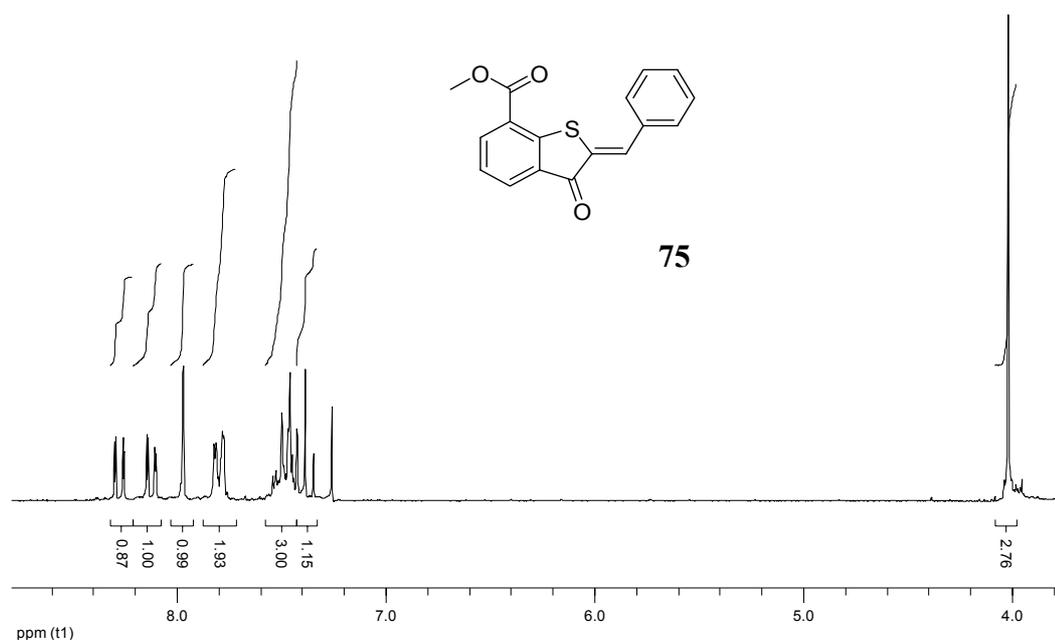


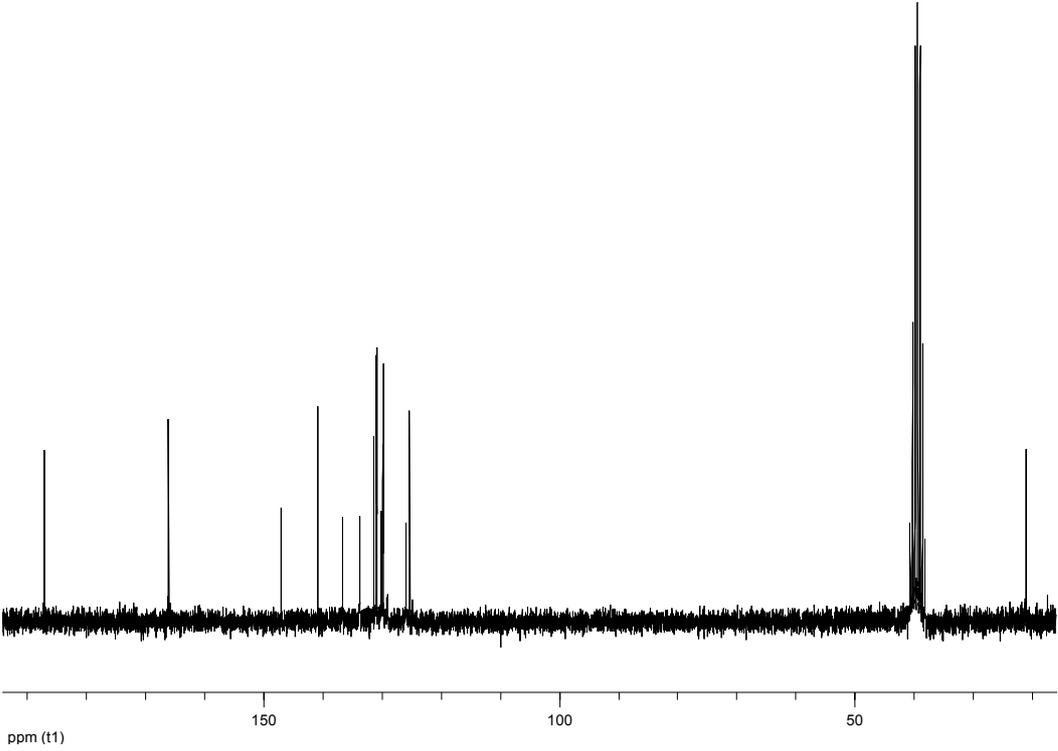
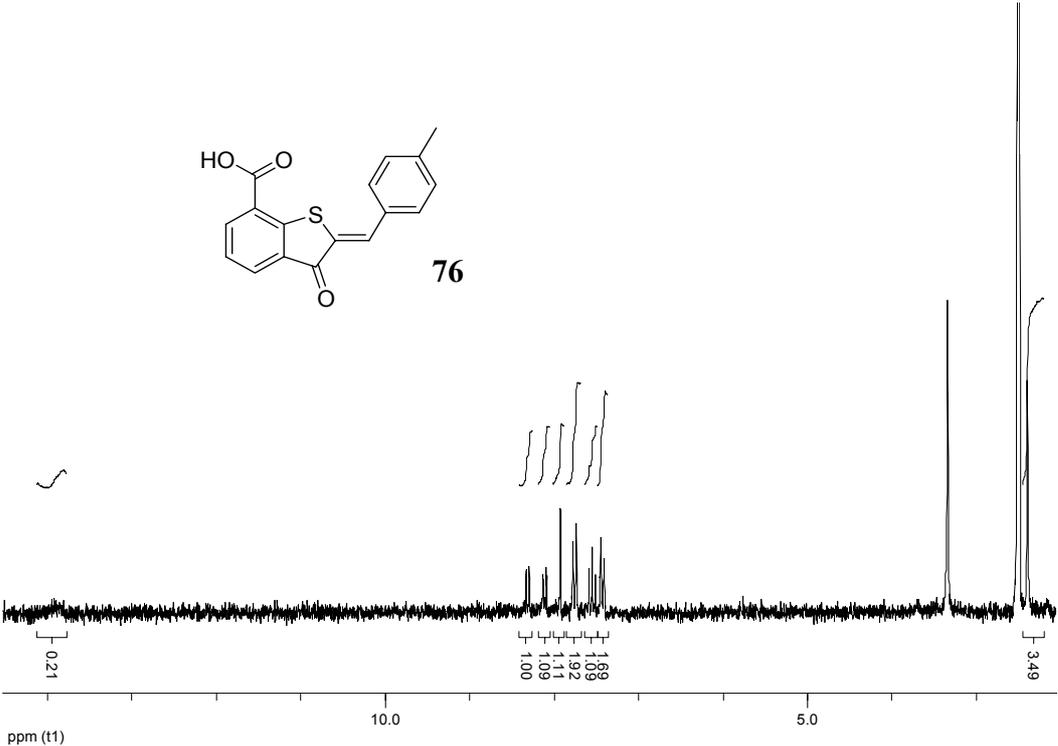
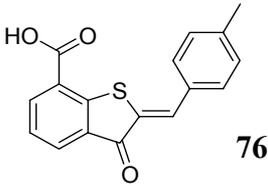


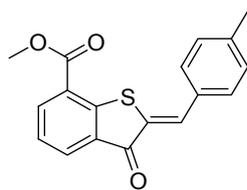




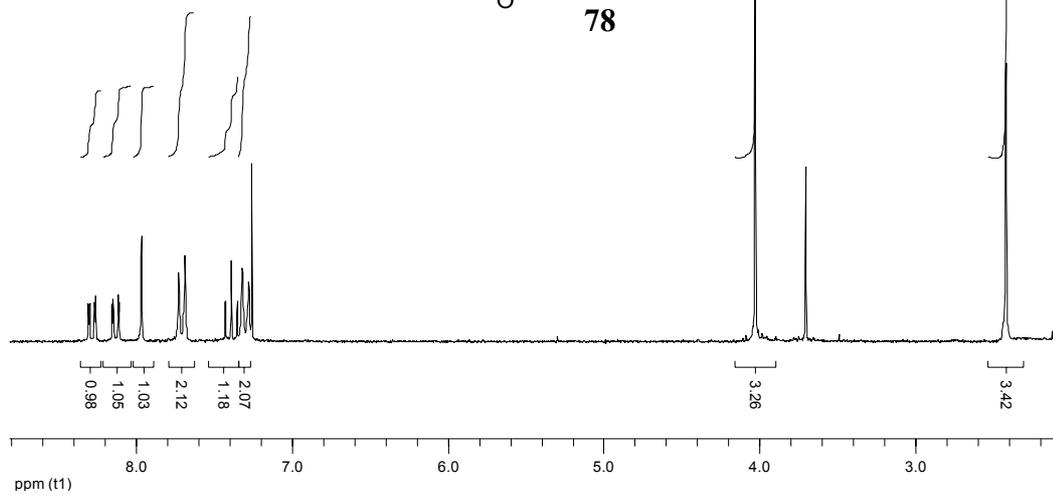








78





## 8 Literaturverzeichnis

---

- <sup>1</sup> R. Dessauer, J. P. Paris *Adv. Photochem.* **1963**, *1*, 275.
- <sup>2</sup> D. Wöhrle, M. W. Tausch, W.-D. Stroher in: *Photochemie*, Wiley-VCH: Weinheim, 1998.
- <sup>3</sup> Y. Hirshberg *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences*, **1950**, *231*, 903.
- <sup>4</sup> O. Mager Dissertation **2000**, Stuttgart.
- <sup>5</sup> E. ter Meer *Ann. Chem.* **1876**, *181*, 1.
- <sup>6</sup> D. L. Ross *Appl. Optics* **1971**, *10*, 571.
- <sup>7</sup> J. Saltiel, J. D'Agostino, E. D. Megarity, J. Metts, K. R. Neuberger, M. Wrighton, O. C. Zafiriou *Organic Photochemistry* **1973**, *3*, 1.
- <sup>8</sup> H. Rau in: *Photochromism: Molecules and Systems* Rev. Ed., H. Dürr, H. Bouas-Laurent, Eds.; Elsevier: Amsterdam, 2003.
- <sup>9</sup> M. A. Mostoslavskii, V. A. Izmail'skii *J. Gen. Chem. USSR*, **1961**, *17*, 21.
- <sup>10</sup> M. A. Mostoslavskii, V. A. Izmail'skii, M. M. Shapkina *J. Gen. Chem. USSR*, **1962**, *32*, 1731.
- <sup>11</sup> M. A. Mostoslavskii, V. A. Izmail'skii *J. Gen. Chem. USSR*, **1963**, *33*, 727.
- <sup>12</sup> M. A. Mostoslavskii, V. A. Izmail'skii *J. Gen. Chem. USSR*, **1965**, *35*, 519.
- <sup>13</sup> R. Guglielmetti in: *Photochromism: Molecules and Systems* Rev. Ed., H. Dürr, H. Bouas-Laurent, Eds.; Elsevier: Amsterdam, 2003.
- <sup>14</sup> M. Irie, M. Mohri *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 803.
- <sup>15</sup> J. Whittal in: *Photochromism: Molecules and Systems* Rev. Ed., H. Dürr, H. Bouas-Laurent, Eds.; Elsevier: Amsterdam, 2003.
- <sup>16</sup> D. Higelin, H. Sixl *Chem. Phys.* **1983**, *77*, 391.
- <sup>17</sup> *Photochromism: Molecules and Systems* Rev. Ed., H. Dürr, H. Bouas-Laurent, Eds.; Elsevier: Amsterdam, 2003.
- <sup>18</sup> H. Dürr *Angew. Chem.* **1989**, *101*, 427.
- <sup>19</sup> S. Kawata, Y. Kawata *Chem. Rev.*, **2000**, *100*, 1777.
- <sup>20</sup> J.-M. Lehn *Supramolecular Chemistry*, VCH: Weinheim, 1995.
- <sup>21</sup> <sup>a</sup>B. L. Feringa, W. F. Jager, B. de Lang *Tetrahedron* **1993**, *49*, 8267. <sup>b</sup>M. Irie (Ed.) *Materials for Ultrahigh-Density Optical Memory*, Elsevier: Amsterdam, 1994. <sup>c</sup>I. Willner, S. Rubin *Angew. Chem. Int Ed.* **1996**, *35*, 367. <sup>d</sup>M. Gomez-Lopez, J. F. Stoddart *Bull. Chim. Soc. Belg.* **1997**, *106*, 491. <sup>e</sup>V. Balzani, F. Scandola *Supramolecular Photochemistry*; Ellis Horwood: New York, 1991.

- 
- <sup>22</sup> I. Willner, B. Willner *Chemistry of Photobiological Switches in: Biological Applications of Photochemical Switches*, Wiley&Sons: New York, **1993**.
- <sup>23</sup> W. J. Deal, B. F. Erlanger, D. Nachmannsohn *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1969**, *64*, 1230.
- <sup>24</sup> N. Hampp *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1755.
- <sup>25</sup> B. L. Feringa, R. A. van Delden, N. Koumura, E. M. Geertsema *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1789.
- <sup>26</sup> N. Tamai, H. Miyasaka *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1875.
- <sup>27</sup> D. G. Flint, J. R. Kumita, O. S. Smart, G. A. Wooley *Chem. Biol.* **2002**, *9*, 391.
- <sup>28</sup> A. M. Caamano, M. E. Vasquez, J. Martinez-Costas, L. Castedo, J. L. Mascarenas *Angew. Chem. Intl. Ed.* **2000**, *39*, 3104.
- <sup>29</sup> S. Rudolph-Böhner, M. Krüger, D. Oesterhelt, L. Moroder, T. Nägele, J. Wachtveitl *J. Photochem. Photobiol. A* **1997**, *105*, 235.
- <sup>30</sup> H. Yamamoto, A. Nishida *J. Photochem. Photobiol. A* **1988**, *42*, 149.
- <sup>31</sup> L. Ulysse, J. Cubillos, J. Chmielewski *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 8466.
- <sup>32</sup> C. Renner, R. Behrendt, N. Heim, L. Moroder *Biopolymers* **2002**, *63*, 382.
- <sup>33</sup> A. Cattani-Scholz, C. Renner, C. Cabrele, R. Behrendt, D. Oesterhelt, L. Moroder *Angew. Chem. Intl. Ed.* **2002**, *41*, 289.
- <sup>34</sup> C. Renner, R. Behrendt, S. Sporlein, J. Wachtveitl, L. Moroder *Biopolymers* **2000**, *54*, 489
- <sup>35</sup> C. Renner, J. Cramer, R. Behrendt, L. Moroder *Biopolymers* **2000**, *54*, 501.
- <sup>36</sup> R. Behrendt, C. Renner, M. Schenk, F. Wang, J. Wachtveitl, D. Oesterhelt, L. Moroder *Angew. Chem. Intl. Ed.* **1999**, *38*, 2771.
- <sup>37</sup> X. Liang H. Asanuma, M. Komiyama *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1877.
- <sup>38</sup> L. Ulysse, J. Chmielewski *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 2145.
- <sup>39</sup> S. B. Park, R. F. Standaert *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 6557.
- <sup>40</sup> M. Goodman, A. Kossey *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 5010.
- <sup>41</sup> M. Goodman, M. L. Flaxa *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 3863.
- <sup>42</sup> V. Balzani, F. M. Raymo, J. F. Stoddart *Angew. Chem. Intl. Ed.* **2000**, *39*, 3348.
- <sup>43</sup> C. A. Stanier, S. J. Alderman, T. D. W. Claridge, H. L. Anderson *Angew. Chem. Intl. Ed.* **2002**, *41*, 1769.
- <sup>44</sup> L. Dugave, C. Demange *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2475.
- <sup>45</sup> T. Hugel, N. B. Holland, A. Cattani, L. Moroder, M. Seitz, H. E. Gaub *Scienc*, **2002**, *296*, 1103.
- <sup>46</sup> L. Ulysse, J. Chmielewski *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 2145.

- 
- 47 D. A. James, D. C. Burns, G. A. Wooley *Protein Engeneering* **2001**, 14, 983.
- 48 I. Willner, S. Rubin, A. Riklin *J. Pept. Res.* **1991**, 53, 560.
- 49 I. Willner, S. Rubin *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 367.
- 50 D. A. James, D. C. Burns, G. A. Woolley *Protein Engeneering* **2001**, 14, 983.
- 51 K. H. Schünderhütte in *Houben-Weyl*; Bd. 4, **1965**.
- 52 J. Wachtveitl, T. Nägele, B. Puell, W. Zinth, M. Krüger, S. Rudolph-Böhner, D. Oesterheld, L. Moroder *J. Photochem Photobiol. A* **1997**, 105, 283.
- 53 M. Klessinger *Chemie in unserer Zeit* **1978**, 12, 1.
- 54 L. Moroder SFB 533, TP8: Lichtinduzierte Konformationsübergänge in Modellpeptiden, **2004**.
- 55 B. Priewisch, unveröffentlichte Arbeiten zur Dissertation, 2004.
- 56 K. Ichimura, T. Seki, T. Tamaki, T. Yamaguchi *Chem. Lett.* **1990**, 1645.
- 57 T. Yamaguchi, T. Seki, T. Tamaki, K. Ichimura *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1992**, 65, 649.
- 58 T. Yamaguchi, T. Seki, T. Tamaki, K. Ichimura *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1992**, 65, 657.
- 59 L. S. S. Réamonn, W. I. O'Sullivan *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1977**, 1009.
- 60 W. Steinle, K. Rück-Braun *Org. Lett.* **2003**, 5, 141.
- 61 K. Auwers, F. Arndt *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1909**, 42, 537.
- 62 P. Friedländer *Monatsh.* **1909**, 30, 347.
- 63 S. K. Guha, J. N. Chatterjea *Chem. Ber.* **1959**, 92, 2769.
- 64 S. K. Guha, J. N. Chatterjea *Chem. Ber.* **1959**, 92, 2771.
- 65 S. K. Guha, J. N. Chatterjea, A. K. Mitra *Chem. Ber.* **1959**, 92, 2771.
- 66 T. Laue, A. Plagens *Namens- und Schlagwort-Reaktionen in der Organischen Chemie* 2. Aufl., Teubner: Stuttgart, 5-13, 1995.
- 67 Autorenkollektiv *Organikum*, 18. Aufl., Deutscher Verlag der Wissenschaften: Berlin, 1990.
- 68 M. Irie, M. Kato *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 1024.
- 69 D. N. Robertson *J. Org. Chem.* **1956**, 21, 1190.
- 70 G. Barany, R. B. Merrifield *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 7363
- 71 L. M. Harwood *Aldrichimica Acta* **1985**, 18, 25.
- 72 J. Leonard, B. Lygo, G. Procter *Praxis der Organischen Chemie* VCH: Weinheim, 1996.
- 73 K. Eggers, T. M. Fyles, P. J. Montoya-Pelaez *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 2966.
- 74 P.J. Koscienski *Protecting Groups*; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 1994.

- 
- <sup>75</sup> T. W. Green, P. G. M. Wuts *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley & Sons: New York, 1999.
- <sup>76</sup> P. Gmeiner, P. L. Feldman, M. Y. Chu-Moyer, H. Rapoport *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 3068.
- <sup>77</sup> G. A. Olah, A. Hussain, B. P. Singh, A. K. Mehrotra *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 3667.
- <sup>78</sup> L. Sharma, M. K. Nayak, A. K. Chakraborti *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 9595.
- <sup>79</sup> Novabiochem Katalog: Synthesis Notes, 2002/3, 3.1.
- <sup>80</sup> J. W. Anderson, J. E. Zimmerman, F. M. Callahan *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 1839.
- <sup>81</sup> <sup>a</sup>R. B. Merrifield *Fed. Proc., Fed. Proc. Am. Soc. Exp. Biol.*, **1962**, *21*, 412. <sup>b</sup>R. B. Merrifield *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, *85*, 2149. <sup>c</sup>G. R. Marshall, R. B. Merrifield in: *Biochemical Aspects of Reactions on Solid Support*, G. R. Stark Ed.; Academic: New York, 1971, 111. <sup>d</sup>G. Barany, R. B. Merrifield *The Peptides*, Academic: New York, 1980, 2.
- <sup>82</sup> „The Bachem Practice of SPPS“ zusammengestellt von M. Mergler, J. P. Durieux, Bachem, 2000.
- <sup>83</sup> O. Quari, F. Chalier, R. Bonaly, B. Pucci, p. Tordo *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1998**, 2299.
- <sup>84</sup> L. Moroder, A. Hallett, E. Wünsch, O. Keller, G. Wersin *Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem.* **1976**, *357*, 1651.
- <sup>85</sup> L. D. Fader *Org. Lett.* **2002**, *4*, 63.
- <sup>86</sup> B. Penke, J. Rivier *J. Org. Chem.*, **1987**, *52*, 1197.
- <sup>87</sup> E. Fischer, E. Otto *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1903**, *36*, 2106.
- <sup>88</sup> M. Bergmann, L. Zervas, H. Schleich, F. Leinert *Z. Physiol. Chem.* **1932**, *212*, 72.
- <sup>89</sup> G. Losse, K.-D. Wehrstedt *Z. Chem.* **1981**, *21*, 148.
- <sup>90</sup> L. A. Carpino, G. Y. Han *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 3404.
- <sup>91</sup> <sup>a</sup>L. A. Carpino, B. J. Cohen, K. E. Stephens Jr., S. Y. Sadat-Aalae, J.-H. Tien, D. C. Langridge *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 3732. <sup>b</sup>L. A. Carpino *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 875.
- <sup>92</sup> <sup>a</sup>M. Beyermann, M. Bienert, H. Niedrich, L. A. Carpino, D. Sadat-Aalae *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 721. <sup>b</sup>L. A. Carpino, D. Sadat-Aalae, M. Beyermann *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 1673.
- <sup>93</sup> *Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides*, P. Lloyd-Williams, F. Albericio, E. Giralt, Eds.; CRC: Boca Raton, FL, Kapitel 3; 1997.
- <sup>94</sup> <sup>a</sup>*Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides*, P. Lloyd-Williams, F. Albericio, E. Giralt, Eds.; CRC: Boca Raton, FL, Kapitel 2; 1997. <sup>b</sup>*Solid Phase Peptide Synthesis, 2<sup>nd</sup> Ed.*, J. M. Stewart, J. D. Young, Eds.; Pierce Chemical Co.: Raockford, IL, 1984. <sup>c</sup>*Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach*, E. Atherton, R. C. Sheppard, Eds.; IRL at Oxford University Press: Oxford, UK, 1989.

- 
- <sup>95</sup> *The Peptides: Methods of Peptidesynthesis*, E. Gross, J. Meienhoer, Eds.; Academic: New York, Vol. 5, Kapitel 4, 1981.
- <sup>96</sup> *Houben Weyl, Bd- E 22a: Synthesis of Peptides and Peptidomimetics* M. Goodman, A. Felix, L. Moroder, C. Toniolo, Eds.; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 2002.
- <sup>97</sup> L. Zhang, J. P. Tam *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 3311.
- <sup>98</sup> R. Behrendt, M. Schenk, H.-J. Musiol, L. Moroder *J. Pept. Sci.*, **1999**, *5*, 519.
- <sup>99</sup> P. Ettmayer, D. France, J. Gounarides, M. Jarosinski, M.-S. Martin, J.-M. Rondeau, M. Sabio, S. Topiol, B. Weidmann, M. Zurini, K. W. Bair *J. Med. Chem.*, **1999**, *42*, 971.
- <sup>100</sup> E. Fischer *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1894**, *27*, 2985.
- <sup>101</sup> R. Krelaus Dissertation **2003**, Paderborn.
- <sup>102</sup> J. B. Mayer, R. Gupta *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **1998**, *228*, 1.
- <sup>103</sup> J. Rahuel, B. Gay, D. Erdmann, A. Strauss, C. Garcia-Echeverria, P. Furet, G. Caravatti, H. Fretz, J. Schoepfer, M. G. Grütter *Nature Struct. Biol.* **1996**, *3*, 586.
- <sup>104</sup> A. M. Pendergast, L. A. Quilliam, L. D. Cripe, C. H. Bassing, Z. Dai, N. Li, A. Batzer, K. M. Rabun, C. J. Der *Cell* **1993**, *75*, 175.
- <sup>105</sup> M. MacDonald, J. Aubé *Current Org. Chem.* **2001**, 417.
- <sup>106</sup> A.C. Gibbs, L. H. Kodejewski, W. Gronwald, A. M. Nip, R. S. Hodges, B. D. Sykes, D. S. Wishart *Nature Strukt. Biol.* **1998**, *5*, 284.
- <sup>107</sup> <sup>a</sup>K. Barlos, D. Gatos, S. Kapos, G. Papaphotiu, W. Schäfer, Y. Wenqing *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 3947. <sup>b</sup> K. Barlos, D. Gatos, J. Kallitsis, G. Papaphotiu, P. Sotiriu, Y. Wenqing, W. Schäfer *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 3943.
- <sup>108</sup> M. Walther Dissertation **2003**, Berlin.
- <sup>109</sup> A. R. Brash *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 23679.
- <sup>110</sup> H. Kuhn, B. J. Thiele *FEBS Lett.* **1999**, *449*, 7.
- <sup>111</sup> A. Grechkin *Prog. Lipid. Res.* **1998**, *37*, 317.
- <sup>112</sup> E. H. Oliw *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* **2002**, *68-69*, 313.
- <sup>113</sup> R. L. Smith, M. J. Weidemann *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1980**, *97*, 973.
- <sup>114</sup> S. Yamamoto *Biochim. Biophys. Acta* **1992**, *1128*, 117.
- <sup>115</sup> J. C. Boyington, B. J. Gaffney, L. M. Amzel *Science* **1993**, *260*, 1482.
- <sup>116</sup> S. A. Gillmor, A. Villasenor, R. Fletterick, E. Sigal, M. F. Browner *Nat. Struct. Biol.* **1997**, *4*, 1003.

- 
- <sup>117</sup> R. J. Kuban, R. Wiesner, J. Rathman, G. Veldink, H. Nolting, V. A. Sole, H. Kuhn *Biochem. J.* **1998**, 332, 237.
- <sup>118</sup> Q. F. Gan, M. F. Browner, D. L. Sloane, E. Sigal, *Molecular modeling and mutagenesis J. Biol. Chem.* **1996**, 271, 25412.
- <sup>119</sup> T. Schewe *Gen. Pharmacol.* **1995**, 26, 1153.
- <sup>120</sup> <sup>a</sup>I. A. Cotgreave, S. K. Duddy, G. E. Kass, D. Thompson, P. Moldeus *Biochem. Pharmacol.* **1989**, 38, 649. <sup>b</sup>I. A. Cotgreave, U. Johansson, G. Westergren, P. W. Moldeus, R. Brattsand *Agents Actions* **1988**, 24, 313. <sup>c</sup>J. X. Gao, A. C. Issekutz *Immunopharmacology* **1993**, 25, 239.
- <sup>121</sup> C. Schewe, T. Schewe, A. Wendel *Biochem. Pharmacol.* **1994**, 48, 65.
- <sup>122</sup> <sup>a</sup>Q. J. Li, J. G. Bessems, J. N. Commandeur, B. Adams, N. P. Vermeulen *Biochem. Pharmacol.* **1994**, 48, 1631. <sup>b</sup>F. Lin, A. W. Girotti, *Photochem. Photobiol.* **1994**, 59, 320.
- <sup>123</sup> <sup>a</sup>C. E. Thomas, R. L. J. Jackson, *Pharmacol. Exp. Ther.* **1991**, 256, 1182. <sup>b</sup>J. P. Thomas, P. G. Geiger, A. W. Girotti *J. Lipid. Res.* **1993**, 34, 479.
- <sup>124</sup> V. Ullrich, P. Weber, F. Meisch, F. von Appen *Biochem. Pharmacol.* **1996**, 52, 15.
- <sup>125</sup> S. M. Rapoport, T. Schewe, R. Wiesner, W. Halangk, P. Ludwig, M. Janicke-Hohne, C. Tannert, C. Hiebsch, D. Klatt *Eur. J. Biochem.* **1979**, 96, 545.
- <sup>126</sup> *Einführung in die Photochemie*, H. G. O. Becker ,Ed.; Deutscher Verlag der Wissenschaften: Berlin, 3. Aufl., 1991.
- <sup>127</sup> <sup>a</sup>E. Ciszak, V. Cody, J. Luft, R. J. Kempton, B. S. Kesler *J. Mol. Struct.* **1991**, 251, 345. <sup>b</sup>T. J. King, J. S. Hastings, H. G. Heller *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1975**, 1455.

## Lebenslauf

---

Wencke Steinle, Wöllsteiner Straße 35, D-55599 Siefersheim

### Persönliche Daten

Geburtsdatum: 04. März 1975  
Geburtsort: Bad Kreuznach  
Staatsangehörigkeit: deutsch  
Familienstand: ledig

### Schulbildung

1981 – 1985 Grundschole in Siefersheim  
1985 – 1994 Gymnasium in Bad Kreuznach, Abschluß: Abitur

### Studium

1994 - 1996 Grundstudium der Chemie an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Vordiplom  
08/1997 – 03/1998 Austauschstudium an der Cornell University, Ithaca, USA, Forschungsprojekt im Arbeitskreis Prof. Dr. D. Y. Sogah; DAAD-Stipendium  
1997 – 1999 Hauptstudium der Chemie an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz  
1999 Diplomarbeit unter der Leitung von Prof. Dr. J. Okuda „Synthese und Charakterisierung von Tribenzylidenmethan-Komplexen“, Diplom  
01/2000 – 05/2000 Forschungspraktikum bei Prof. Dr. O. Reiser an der Universität Regensburg  
seit 6/2000 Dissertation unter der Leitung von Prof. Dr. K. Rück-Braun „Neuartige bifunktionelle Hemithioindigo-Chromophore – Synthese, Einbau in biologisch relevante Strukturen und photochrome Eigenschaften“  
10/2000 Wechsel von der Johannes Gutenberg-Universität Mainz an die Technische Universität Berlin

### Beschäftigung

01/2000 – 05/2000 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Chemie, Universität Regensburg  
06/2000 – 07/2000 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Chemie, Johannes Gutenberg-Universität Mainz  
10/2000- 07/2004 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Chemie, Technische Universität Berlin, SFB 498

## **Danksagung**

An erster Stelle danke ich Frau Prof. Dr. Karola Rück-Braun für die Möglichkeit in ihrem Arbeitskreis zu promovieren, die finanzielle Unterstützung und die interessante Themenstellung. Ebenfalls danke ich ihr für das in mich gesetzte Vertrauen, die wertvollen Diskussionen und den Freiraum bei der Gestaltung dieser Arbeit. Weiterhin danke ich ihr für die Möglichkeit zur Teilnahme an nationalen und internationalen Konferenzen.

Herrn Prof. Dr. Siegfried Blechert danke ich für die Übernahme der zweiten Berichterstattung.

Herrn Prof. Dr. R. Schomäcker danke ich für die Übernahme des Prüfungsvorsitzes.

Den gegenwärtigen und ehemaligen Kollegen der Arbeitsgruppe von Frau Prof. Dr. K. Rück-Braun, den Kollegen der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. S. Blechert und allen technischen und wissenschaftlichen Angestellten des Instituts für Chemie danke ich für die gute Zusammenarbeit und die stete Hilfsbereitschaft.

Für das Korrekturlesen dieser Arbeit geht ein großes Dankeschön an Beate Priewisch und Steffen Dietrich.

Für die Hilfe bei nicht enden wollenden Computer-Problemen danke ich ganz herzlich Tonia Freysoldt, Steffen Dietrich und Marcus Wulff.

Sarah Höfl, Anne Mengel und Beate Priewisch möchte ich für die schöne gemeinsame Zeit in Berlin danken.

Herzlichen Dank auch an Thorsten Neidhöfer, der mir seit unserer gemeinsamen Zeit im OCIII-Praktikum ein guter Freund geworden ist.

Der sicherlich größte Dank gilt jedoch meiner Familie, insbesondere meiner Mutter für ihre Liebe und Unterstützung in jeglicher Hinsicht.