Photochemie und Photophysik ausgewählter Modellverbindungen:

Synthese und Charakterisierung

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Daniela Maydt

aus Mönchengladbach

Juli 2009

Aus dem Institut für Organische Chemie und Makromolekulare Chemie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Gedruckt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Privatdozent Dr. K. Schaper
Koreferent: Prof. Dr. T. J. J. Müller
Tag der mündlichen Prüfung:

Hiermit versichere ich, dass ich die vorgelegte Arbeit selbständig durchgeführt und verfasst habe. Als Hilfsmittel wurden nur die angegebenen Quellen verwendet.

Mönchengladbach, den

(Daniela Maydt)

Herrn Privatdozent Dr. Klaus Schaper danke ich für die Vergabe des interessanten Themas, für den mir gewährten Freiraum zur Gestaltung dieser Arbeit sowie seine Anregungen und stete Diskussionsbereitschaft.

„Wir müssen unbedingt Raum für Zweifel lassen, sonst gibt es keinen Fortschritt, kein Dazulernen. Man kann nichts Neues herausfinden, wenn man nicht vorher eine Frage stellt. Und um zu fragen, bedarf es des Zweifels.“

(Richard P. Feynman)

Für meine Eltern,

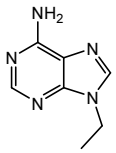
die mich immer unterstützen

Abstract

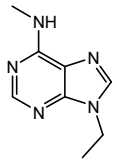
This thesis is divided into two parts:

1.Investigations to the self-aggregation of DNA bases:

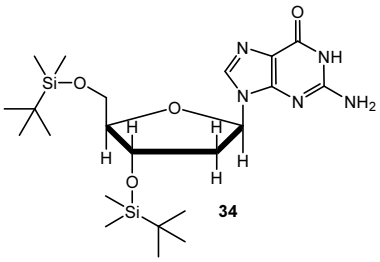
In previous investigations of DNA bases other isomers as the usual *Watson-Crick*-base pairs could be observed in gas phase-IR/UV-spectroscopy. In order to elucidate the structure of these isomers specific substituted derivatives of adenine were synthesized and analysed using IR-absorption-spectroscopy in cooperation with the physical chemistry.



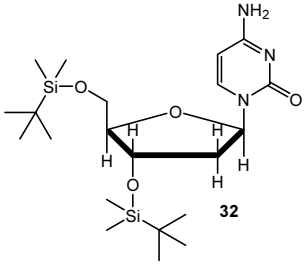
28



30



34

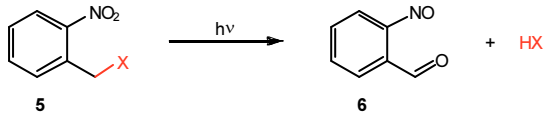


32

Thereby formation of three cyclic dimers and one trimer was identified for the compounds **28** and **30**. But it is to consider that compound **30** can be exist in *cis*- as well as *trans*-conformation for the orientation of the *N*-methyl-amino-group. Furthermore modified guanine **34**- and cytosine **32**-nucleosides were synthesized, whose investigations of the homo-/hetero base pairing are still in progress.

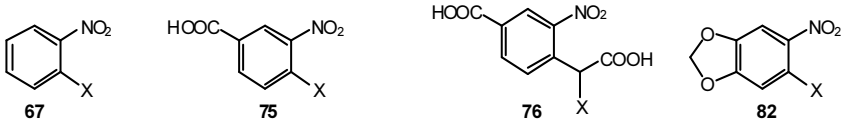
2. Photochemistry of *Caged Compounds* of the *o*-Nitrobenzyl type:

Caged compounds **5** are used as tools for the photochemical release of biological active molecules HX in biochemistry and biophysics. However, their photochemistry is not completely elucidated and till today a further improvement of their physical and photochemical properties is necessary. Therefore different compounds like **67**, **75**, **76** and **82** were synthesized for a better understanding of the photolysis mechanism and in cooperation with the physical chemistry they were investigated using femtoseconds-, ESI-mass- and IR/R2PI-spectroscopy.



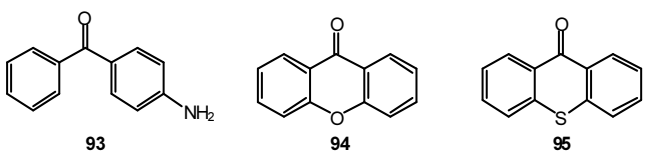
5 6

Furthermore these different model compounds were used for the synthesis of *caged Compounds* with improved properties. Among other things an increase of the quantum yield of the photolysis was desired. In order to achieve this increase I decided to use triplet sensitizers. Possible candidates (**93**, **94** and **95**) were discussed and the efficiency of sensitization was elucidated by HPLC. A drastic increase of the rate of photolysis was achieved.



67 75 76 82

It is planed to attach the sensitizer to the *caged compound* in order to form a bichromophoric system. In preliminary investigations I optimized the reaction conditions for such a coupling step. Furthermore, some compounds were synthesized as tools for biophysical applications.



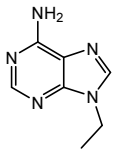
93 94 95

Kurzzusammenfassung

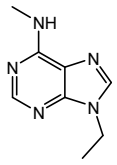
Die vorliegende Dissertation gliedert sich in zwei Teilbereiche:

1. Untersuchung zur Selbstaggregation von DNA-Basen:

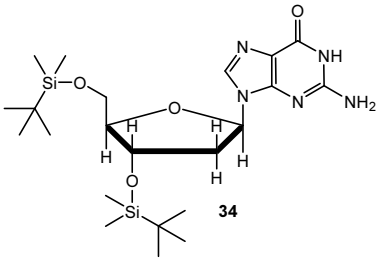
In früheren Untersuchungen an DNA-Basen konnten in Gasphasen-IR/UV-Spektren neben den üblichen *Watson-Crick*-Basenpaaren noch andere Isomere beobachtet werden. Um die Struktur dieser Isomere aufklären zu können, wurden im Rahmen einer Kooperation mit der physikalischen Chemie gezielt substituierte Derivate der DNA-Base Adenin synthetisiert und mittels IR-Absorptionsspektroskopie untersucht.



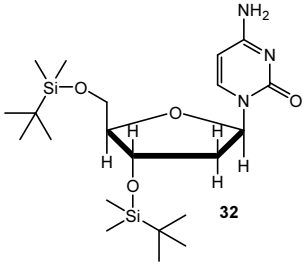
28



30



34

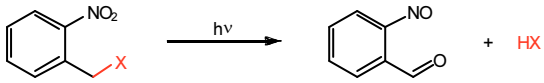


32

Dabei konnte für die Verbindungen **28** und **30** die Bildung von drei cyclischen Dimeren, aber auch einem stabilen Trimer nachgewiesen werden. Allerdings ist zu beachten, dass Verbindung **30** je nach Orientierung der *N*-Methyl-Aminogruppe dabei sowohl als *cis*- als auch als *trans*-Isomer vorliegen kann. Weiterhin wurden modifizierte Guanin **34**- und Cytosin **32**-Nukleoside synthetisiert, deren Homo-/Heterobasenpaarung zurzeit untersucht wird.

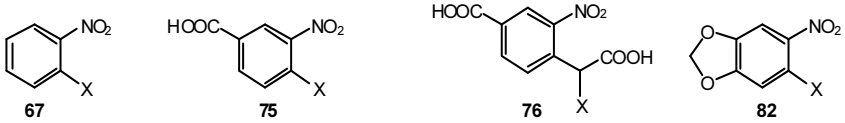
2. Photochemie *von Caged Compounds* des *o*-Nitrobenzyl-Typs:

Schon seit vielen Jahren werden *Caged Compounds* **5** als Werkzeuge zur photochemischen Freisetzung biologisch aktiver Moleküle HX in der Biochemie und Biophysik eingesetzt. Jedoch ist ihre Photochemie bis heute noch nicht vollständig aufgeklärt und eine weitere Verbesserung ihrer physikalischen und photochemischen Eigenschaften ist notwendig. Aus diesem Grund wurden zum besseren Verständnis des Photolysemechanismus der *Caged Compounds* verschiedene Modellverbindungen, wie z. B. **67**, **75**, **76** und **82** synthetisiert und in Kooperation mit der physikalischen Chemie mittels Femtosekunden-, ESI-Massen- und IR/R2PI- Spektroskopie untersucht.



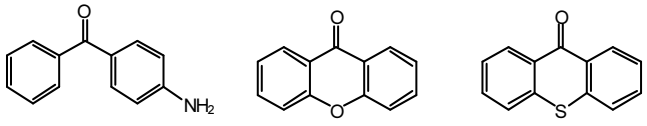
5 **6**

Weiterhin wurden diese Modellverbindungen auch für die Synthese von *Caged Compounds* mit verbesserten physikalischen und photochemischen Eigenschaften eingesetzt. Angestrebt wurde z. B. eine Erhöhung der Quantenausbeute der Photolyse, welche durch den Einsatz von Triplett-Sensibilisatoren erreicht werden sollte. Potentielle Sensibilisatoren (**93**, **94** und **95**) wurden vorgeschlagen und die Effizienz der Sensibilisierung wurde mittels HPLC in Hinsicht auf verschiedene *Caged Compounds* untersucht. Eine drastische Steigerung der Photolysegeschwindigkeit konnte erreicht werden.



67 **75** **76** **82**

Es wird angestrebt, Sensibilisator und *Caged Compound* zu einem Bichromophor zu koppeln. In Voruntersuchungen konnten die für diese anschließende Kopplung von Sensibilisator und *Caged Compound* notwendigen Reaktionsbedingungen optimiert werden. Zusätzlich konnten Verbindungen als Werkzeuge für eine direkte biophysikalische Anwendung synthetisiert und zur Verfügung gestellt werden.



93 **94** **95**

Inhaltsverzeichnis

1 EINLEITUNG 1

2 PROBLEMSTELLUNG 2

3 HAUPTTEIL 5

3.1 DNA 5

3.1.1 Theoretische Grundlagen 5

3.1.1.1 Entdeckungsgeschichte 5

3.1.1.2 Aufbau der DNA 6

3.1.1.3 DNA-Replikation 11

3.1.1.4 Mutationen 13

3.1.1.5 DNA-Reparatur und Präventiv-Maßnahmen 17

3.1.2 Syntheseplanung 21

3.1.3 Synthesen 21

3.1.3.1 Synthese von 9-Ethyladenin (28) 21

3.1.3.2 Synthese von 9-Ethyl-1-methyladenin (30) 22

3.1.3.3 Synthese von 3´,5´-Bis-(O-tert-butyldimethylsilyl)-2´-deoxy-cytidin (32) 22

3.1.3.4 Synthese von 3´,5´-Bis-(O-tert-butyldimethylsilyl)-2´-deoxy-guanosin (34) 23

3.1.4 Ergebnisse 25

3.2 CAGED COMPOUNDS 29

3.2.1 Theoretische Grundlagen 29

3.2.1.1 Das Nervensystem 30

3.2.1.2 Methoden zur Untersuchung der Zellkinetik 32

3.2.1.3 Die ortho-Nitrobenzylschutzgruppe 38

3.2.1.4 Anforderungen an Caged Compounds 42

3.2.2 Physikochemische Untersuchungen 43

3.2.2.1 Femtosekunden-Spektroskopie 43

3.2.2.1.1 Methodik 44

3.2.2.1.2 Synthese 45

3.2.2.1.3 Ergebnisse 45

3.2.2.2 Elektrosprayionisation-Massenspektrometrie 48

3.2.2.2.1 Methodik 48

3.2.2.2.2 Syntheseplanung 50

3.2.2.2.3 Synthesen ... 52
3.2.2.2.3.1 Synthese von (2-Nitrobenzyl-)4-aminobutanoat 73 ... 52
3.2.2.2.4 Voruntersuchungen ... 54
3.2.2.2.5 Ergebnisse ... 56
3.2.2.3 IR/R2PI-Spektroskopie ... 58
3.2.2.3.1 Methodik ... 58
3.2.2.3.2 Synthesen ... 61
3.2.2.3.2.1 Synthese von (4,5-Methylendioxy-2-nitrobenzyl)-acetat 82 ... 61
3.2.2.3.2.2 Synthese von [3-(Dimethylamino)benzyl]-acetat 84 ... 62
3.2.2.3.2.3 Synthese von 2,3-Dimethyl-1-nitronaphthalin 86 ... 62
3.2.2.3.2.4 Synthese von 4-Acetoxymethyl-7-methoxycumarin 88 ... 63
3.2.2.3.3 Ergebnisse ... 63
3.2.3 Verbesserung von physikalischen und photochemischen Eigenschaften ... 66
3.2.3.1 Energietransfer ... 67
3.2.3.2 Caged Compounds als Akzeptoren ... 74
3.2.3.3 Sensibilisatoren ... 74
3.2.3.4 Syntheseplanung ... 75
3.2.3.5 Synthesen ... 80
3.2.3.5.1 Synthese von 4-(Acetoxymethyl)-3-nitrobenzoesäure 112 ... 80
3.2.3.5.2 Synthese von 4-[Acetoxy(carboxy)methyl]-3-nitrobenzoesäure 114 ... 81
3.2.3.5.3 Synthese von 5-[Acetoxy(carboxy)methyl]-4-nitrobenzoesäure 115 ... 85
3.2.3.5.4 Synthese von 5-(α,4-Dicarboxy-2-nitrobenzyl)-L-glutamat 118 ... 87
3.2.3.5.5 Synthese von 2-Nitrobenzyl-acetat 119 ... 88
3.2.3.5.6 Synthese von 2-Nitrobenzylbenzoat 120 ... 89
3.2.3.6 Kopplungsreagenzien ... 90
3.2.3.7 Kopplungsvorversuche ... 95
3.2.3.7.1 Synthesen ... 97
3.2.3.7.1.1 Synthese von 3-Nitro-N-phenylbenzamid 138 ... 97
3.2.3.7.1.2 Synthese von 4-(Acetoxymethyl)-3-nitro-N-phenylbenzamid 139 ... 98
3.2.3.7.2 Ergebnisse der Kopplungsvorversuche ... 101
3.2.3.8 Sensibilisierte Bestrahlung ... 103
3.2.3.8.1 Screening potentieller Sensibilisatoren ... 103
3.2.3.8.1.1 Untersuchung von 4-Aminobenzophenon 93 ... 107
3.2.3.8.1.2 Untersuchung von Xanthon 94 ... 115
3.2.3.8.1.3 Untersuchung von Thioxanthon 95 ... 119
3.2.3.8.1.4 Vergleich der möglichen Sensibilisatoren: ... 124
3.2.3.8.2 Sensibilisierte Spaltung verschiedener o-Nitrobenzyl-Derivate ... 125
3.2.3.8.2.1 (4,5-Methylendioxy-2-nitrobenzyl)-acetat (4,5-MDNB-Acetat) 82 ... 126
3.2.3.8.2.2 4-(Acetoxymethyl)-3-nitrobenzoesäure (4-CNB-Acetat) 112 ... 129

3.2.3.8.2.3 4-[Acetoxy(carboxy)methyl]-3-nitrobenzoesäure (α,4-DCNB-Acetat) 114 ... 132

3.2.3.8.2.4 Vergleich der sensibilisierten Spaltung verschiedener o-Nitrobenzyl-Derivate: ... 134

4 ZUSAMMENFASSUNG ... 137

5 EXPERIMENTALTEIL ... 148

5.1 ALLGEMEINES ... 148

5.2 BESCHREIBUNG DER VERSUCHE ... 149

5.3 SENSIBILISIERTE BESTRAHLUNG ... 279

6 DANKSAGUNG ... 289

7 MOLEKÜLVERZEICHNIS ... 291

8 LITERATURVERZEICHNIS ... 298

Abkürzungsverzeichnis

A	Absorbanz
AB	Aminobenzophenon
abs.	absolut
AK	Arbeitskreis
ATP	Adenosintriphosphat
Boc	Butoxycarbonyl
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CDMT	2-Chlor-4,6-dimethoxy-triazin
Chl	Chlorophyll
4-CNB	4-Carboxy-2-nitrobenzyl
CT	Charge-Transfer
d	Dublett (NMR)
DBPO	Dibenzoylperoxid
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	*N,N*-Dicyclohexylcarbodiimid
α,4-DCNB	α,4-Dicarboxy-2-nitrobenzyl
DIEA	Diisopropylethylamin
DMAP	Dimethylaminopyridin
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Deoxyribonucleic Acid
E_T	Triplettenergie
EI	Electron Ionisation
ESI-MS	Elektrosprayionisation-Massenspektroskopie
ET	Energietransfer
FRET	Förster-Resonanz-Energietransfer
GABA	*γ*-Aminobuttersäure
GC	Gaschromatographie
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
IR	Infrarot (Spektroskopie)
ISC	Inter-System-Crossing
J	Kopplungskonstante (NMR)

konz.	konzentriert
Lit.	Literatur
m	Multiplett (NMR)
M	Molmasse
4,5-MDNB	4,5-Methylendioxy-2-nitrobenzyl
NB	Nitrobenzyl
NBS	*N*-Bromsuccinimid
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NPPOC	2-(2-Nitrophenyl)propoxycarbonyl
p.a.	pro analysis
ppm	parts per million
PyCloP	Chlortripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphat
qua	Quartett (NMR)
qui	Quintett (NMR)
R2PI	Resonant Two Photon Ionization
t	Triplett (NMR)
UV	Ultraviolett-Bereich des elektromagnetischen Spektrums
Vis	sichtbarer Bereich des elektromagnetischen Spektrums
VNS	vicarious nucleophilic substitution
ε	molarer dekadischer Extinktionskoeffizient
δ	chemische Verschiebung [ppm]
λ	Wellenlänge [nm]
Φ	Quantenausbeute
$\tilde{\nu}$	Wellenzahl [cm^{-1}]

1 Einleitung

Definition, Historie und Bedeutung der Photochemie

Unter photochemischen Reaktionen versteht man solche Reaktionen, die nicht ausschließlich - wie dies bei den thermischen Reaktionen der Fall ist - im elektronischen Grundzustand ablaufen, sondern bei denen auch ein oder mehrere elektronisch angeregte Zustände involviert sind.[1]

Die ersten Kenntnisse der Menschheit über Vorgänge unter Beteiligung von Licht verlieren sich in der Frühzeit der Kulturgeschichte. So verwendeten schon vor circa 4000 Jahren die Ägypter Licht zur Mumienpräparation und mit gebündeltem Sonnenlicht zündete *Archimedes* vor 2200 Jahren die Segel feindlicher Schiffe an. Selbst in der biblischen Schöpfungsgeschichte heißt es im Ersten Buch Moses, Vers 3 – 4: „Und Gott sprach: Es werde Licht! / Und es ward Licht. / Und Gott sah, dass das Licht gut war.“ Es ist bemerkenswert, dass selbst die Schreiber des Alten Testaments im Licht eine der Urschöpfungen erkannten, die für die Entstehung irdischen Lebens mit verantwortlich ist.[1] Dennoch blieb Licht über viele Jahrtausende hinweg ein Phänomen voller Magie und Mystik, bis 1669 der Hamburger Alchimist *Brand* das Element Phosphor und mit ihm das älteste Beispiel von Chemolumineszenz entdeckte. Um 1800 entdeckte der Physikochemiker *J. W. Ritter* während Untersuchungen mit Silbersalzen das UV-Licht, bevor 1862 *E. Bequerel* das Phänomen der Fluoreszenz und das der Phosphoreszenz erschloss. Die anschließende Zeit von 1875 – 1900 wurde unter anderem durch die Entwicklung der präparativen Chemie initiiert und durch die photochemischen Arbeiten von *C. T. Liebermann* zur Dimerisierung und cis/trans – Isomerisierung geprägt.[1] Von Beginn des 20. Jahrhunderts an trugen alsdann *G. Ciamician* und *A. Schönberg* zur Entwicklung der präparativen Photochemie wichtige Ergebnisse bei. Des Weiteren zog mit der lichtinduzierten Chlorierung von Aromaten und Alkanen auch die Photochemie in die chemische Großtechnik ein. Trotz all diesen Erkenntnissen führte die Photochemie dennoch bis etwa ins Jahr 1950 eher ein Schattendasein.[1] Seitdem hat sie jedoch immer mehr an Bedeutung gewonnen und besitzt heute einen großen praktischen Stellenwert.

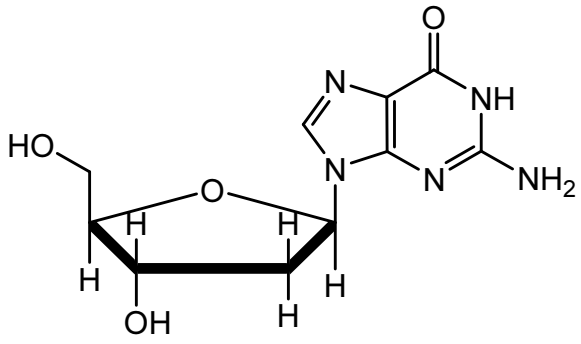
2 Problemstellung

Die vorliegende Dissertation gliedert sich in zwei Teile:

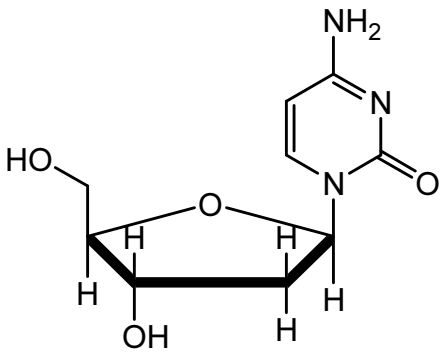
1. Untersuchungen zur Selbstaggregation von DNA-Basen

Die Basenpaarungen über Wasserstoffbrückenbindungen bestimmen schon seit jeher die Form und Funktion der DNA. Sie alleine sind für die Doppelhelixstruktur der DNA und für die Transkription des genetischen Codes eines jeden Lebewesens verantwortlich.[2] Jedoch sind bis heute genaue Informationen über die zwischen den Komplementärbasen herrschenden Wasserstoffbrückenbindungen noch nicht bekannt. In Gasphasen-IR/UV-Spektren konnten, neben der Adenin **1** –Thymin **16** - und der Guanin **13** –Cytosin **15** -Paarung, noch andere Isomere beobachtet werden.[2] Um die Struktur dieser Isomere genauer aufklären zu können, sollen in der physikalischen Chemie Untersuchungen zur Selbstaggregation und zur Aggregation in Lösung mit Hilfe der IR-Spektroskopie durchgeführt werden. Daher ist es Gegenstand dieser Arbeit Derivate der DNA-Base Adenin **1** und modifizierte Guanin- **2** und Cytosin-Nukleoside **3** zu synthetisieren.

1



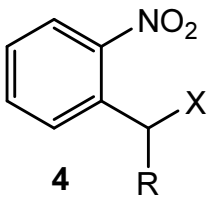
2



3

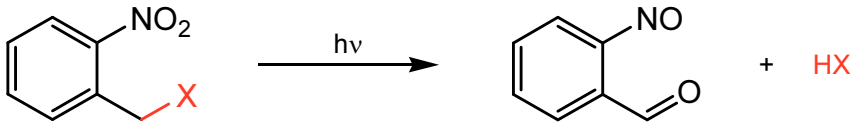
2. Photochemie von *Caged Compounds* des *o*-Nitrobenzl-Typs

Der zweite Teil der Arbeit beschäftigt sich mit der Photochemie von *Caged Compounds* des *o*-Nitrobenzyl-Typs **4**.



4

Dabei bezeichnet der Begriff *Caged Compounds* bioaktive Substanzen, die durch die Kopplung an eine photolabile Schutzgruppe in eine inaktive Form überführt werden und durch Lichteinstrahlung gezielt wieder freigesetzt werden können.



5 **6**

Caged Compounds werden zwar seit vielen Jahren als Werkzeuge in der Biochemie und Biophysik eingesetzt, jedoch ist ihre Photochemie bis heute noch nicht vollständig aufgeklärt und auch heute noch ist eine Verbesserung ihrer physikalischen und photochemischen Eigenschaften notwendig. Aus diesem Grund ist es in diesem Teil dieser Arbeit von großem Interesse in Kooperation mit der physikalischen Chemie ein verbessertes Verständnis des Photolysemechanismus der *Caged Compounds* zu erlangen. Dies soll unter anderem durch

a) die Aufnahme zeitaufgelöster UV-Vis-Spektren mittels Femtosekunden-spektroskopie,
b) die Verfolgung der photochemischen Reaktion mittels ESI-Massen-spektrometrie und
c) die Aufnahme von IR-Spektren angeregter Zustände in der Gasphase

neu synthetisierter Verbindungen erfolgen.

Zudem wird die Synthese von *Caged Compunds* mit verbesserten physikalischen und photochemischen Eigenschaften, wie z. B. einer erhöhten Quantenausbeute sowie einer niedrigeren Anregungsenergie angestrebt. Des Weiteren sollen synthetisierte Verbindungen als Werkzeuge für eine direkte biophysikalische Anwendung zur Verfügung gestellt werden.

3 Hauptteil

3.1 DNA

3.1.1 Theoretische Grundlagen

„We wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (DNA). This structure has novel features which are of considerable biological interest."

(J.Watson, F.Crick,1953)[3]

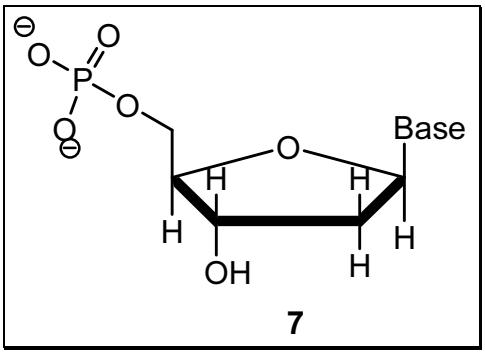
3.1.1.1 Entdeckungsgeschichte

Die Frage nach dem Geheimnis des Lebens beschäftigt die Menschheit schon seit unzähligen Jahren. So entdeckte 1869 der Schweizer Arzt *F. Miescher* erstmals bei der Untersuchung von Eiterzellen die ersten Nukleinsäuren, bevor es 1894 *A. Kossel* gelang drei, der - wie wir heute wissen - vier existierenden DNA-Basen zu identifizieren und sie schließlich im Jahre 1910 genauer als Pyrimidin **14** - und Purin **12** - Basen zu charakterisieren. Im Jahr 1929 konnte dann *P. Levene* die einzelnen Bestandteile der DNA: Base, Zucker und Phosphatrest nachweisen, bevor 1944 *O. Avery* die DNA als Speicher der genetischen Information beschrieb. Diese Erkenntnis wurde schließlich von *A. Hershey* und *M. Chase* im Jahre 1952 durch ihre Untersuchungen an T2-Phagen unterstützt. Allerdings wurden die grundlegenden Forschungsarbeiten, die zur allgemeinen DNA-Struktur führten, von den britischen Biophysikern *F. Crick*, *M. Wilkins* und *R. Franklin* sowie dem amerikanischen Biochemiker *J. Watson* durchgeführt. Mit Hilfe der Röntgenstrukturanalyse, konnte *R. Franklin* 1952 erstmals einen Beweis für die DNA-Helix-Struktur liefern. Des Weiteren gelang es *J. Watson* und *F. Crick* die räumliche und somit komplette Molekularstruktur der DNA aufzuklären,[4] so dass sie im Jahre 1953 die Doppelhelix-Struktur der DNA vorstellen konnten. Nach genau dieser Struktur erfüllt die DNA alle Anforderungen, die an einen Träger von Erbgutinformationen gestellt werden.[5] „Für ihre Entdeckungen über die Molekularstruktur der Nukleinsäuren und ihre Bedeutung für die Informationsübertragung in lebender Substanz" erhielten *J. Watson* und

F. Crick zusammen mit *M. Wilkins* dann im Jahre 1962 den Nobelpreis für Medizin.[6] *R. Franklin*, deren Rötgenbeugungsdiagramme wesentlich zur Entschlüsselung der DNA-Struktur beigetragen hatte, war zu diesem Zeitpunkt bereits verstorben und konnte daher nicht mehr für den Nobelpreis nominiert werden. Abschließend gelang es dem amerikanischen Biochemiker *A. Kornberg,* nach all diesen bahnbrechenden Erkenntnissen, im Jahre 1967 biologisch aktive DNA aus einfachen Bausteinen zu synthetisieren.[4]

3.1.1.2 Aufbau der DNA

Die DNA (Desoxyribonukleinsäure) gehört wie die ebenfalls in Zellen vorkommende RNA (Ribonukleinsäure) zu den Nukleinsäuren. Sie sind nach dem Zellkern (Nukleus) benannt, aus dem sie 1860 erstmals isoliert wurden. Bei der DNA handelt es sich um ein Makromolekül mit einer hochmolekularen Struktur, welches die genetische Information aller Lebewesen codiert und die Erbgutinformation von einer Generation zur Nächsten weitergeben kann.[7] Die Desoxyribonukleinsäure besteht aus einer Abfolge von durch Polykondensation miteinander verknüpften Bausteinen, den Nukleotiden. Dabei ist jedes einzelne Nukleotid aus dem Zucker 2-Desoxyribose, einer Phosphatgruppe und einer heterozyklischen Nukleobase aufgebaut.



7

Abbildung 1: Schematischer Aufbau eines Nukleotids **7**

Bei dem Zucker 2-Desoxyribose beschreibt die Vorsilbe „2-Desoxy“, dass diesem Zucker im Vergleich zur Ribose (dem Zucker der Ribonukleinsäure/ RNA) das Sauerstoffatom am 2`-C-Atom fehlt.[7]

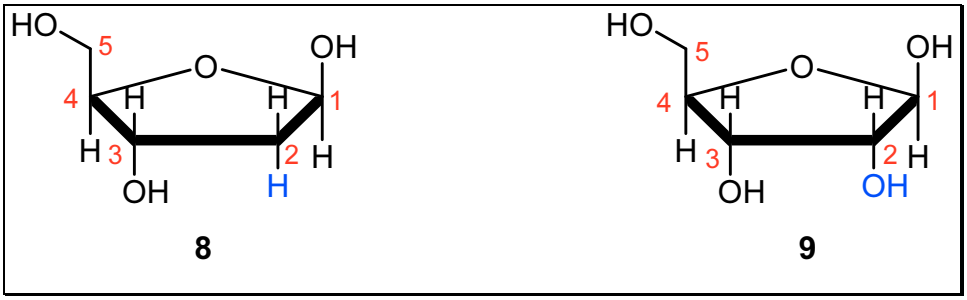


Abbildung 2: 2-Desoxyribose **8** und Ribose **9**

Die nur aus dem Zucker und der Nukleobase aufgebaute Untereinheit bezeichnet man als Nukleosid **10**. Die Verknüpfung der Pentose mit der Base erfolgt dabei unter Wasserabspaltung und Ausbildung einer *N*-glykosidischen Bindung über das 1´-C-Atom des Zuckers und das N-9-Atom (Purin **12** -Derivate) bzw. das N-1-Atom (Pyrimidin **14** -Derivate) der Base.[8]

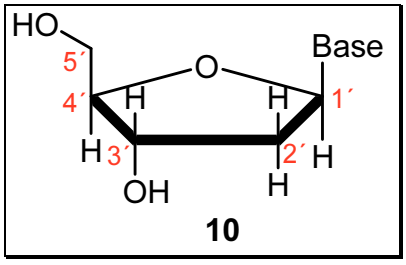


Abbildung 3: Schematische Darstellung eines Nukleosids **10**

Schreibt man die Strukturformel in der Standardorientierung, so liegt die Base oberhalb der Ebene des Zuckers, was für die *N*-glykosidische Bindung bedeutet, dass sie in einer *ß*-Konfiguration vorliegt. (siehe Abbildung 4)

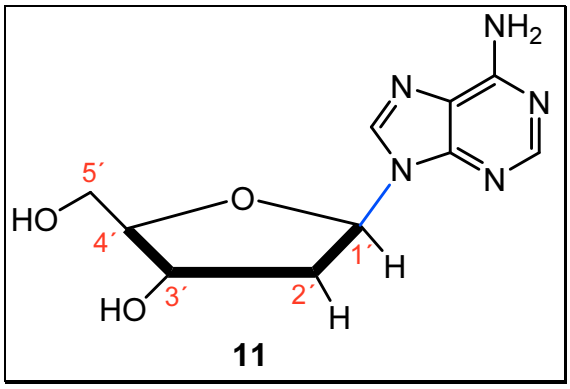


Abbildung 4: *ß*-glykosidische Bindung in einem Nukleosid **11**

Betrachtet man die in der DNA vorkommenden Nukleobasen, so muss zwischen den Purin-Derivaten **12**: Adenin (A) **1** und Guanin (G) **13** und den Pyrimidin-Derivaten **14**: Cytosin (C) **15** und Thymin (T) **16** unterschieden werden. Betrachtet man die RNA so wird dort das Thymin (T) **16** durch Uracil (U) **17** ersetzt.

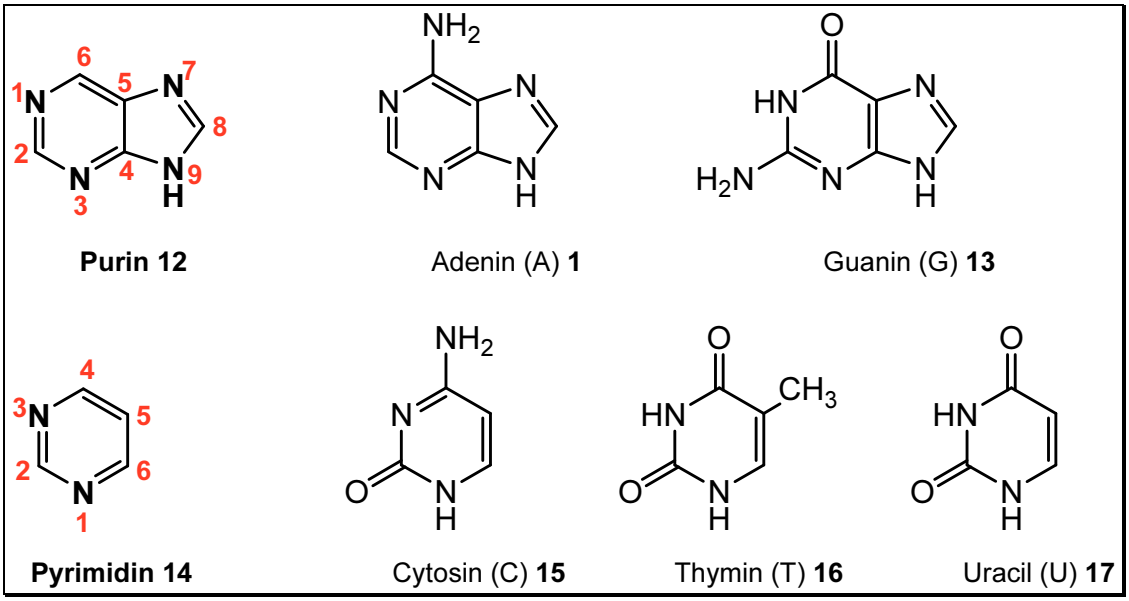


Abbildung 5: Heterozyklische Nukleobasen

Betrachtet man einen ganzen Nukleinsäurestrang, so ist die 3´-Hydroxylgruppe im Zuckerrest des einen Nukleotids **7** stets mit einer an die 5´-Hydroxylgruppe des benachbarten Zuckerrestes gebundenen Phosphatgruppe, verestert. Die über solche Phosphordiesterbrücken verbundenen Zucker werden als Rückgrat einer Nukleinsäure bezeichnet und sind über die ganze Länge der DNA bzw. RNA identisch. Nur die Basen können sich dabei von einem Monomer zum Nächsten unterscheiden.[7] In ihrer Sequenz allein ist daher die ganze genetische Information eines Lebewesens verschlüsselt.[9] Mit dieser „linearen“ Anordnung ergibt sich nun ein Einzelstrang mit einer bestimmten Richtung. Seine Enden werden dabei nach den freien Gruppen der 2-Desoxyribose benannt: der freien Hydroxylgruppe am 3´-Ende und der freien Phosphatgruppe am 5´-Ende.[5]

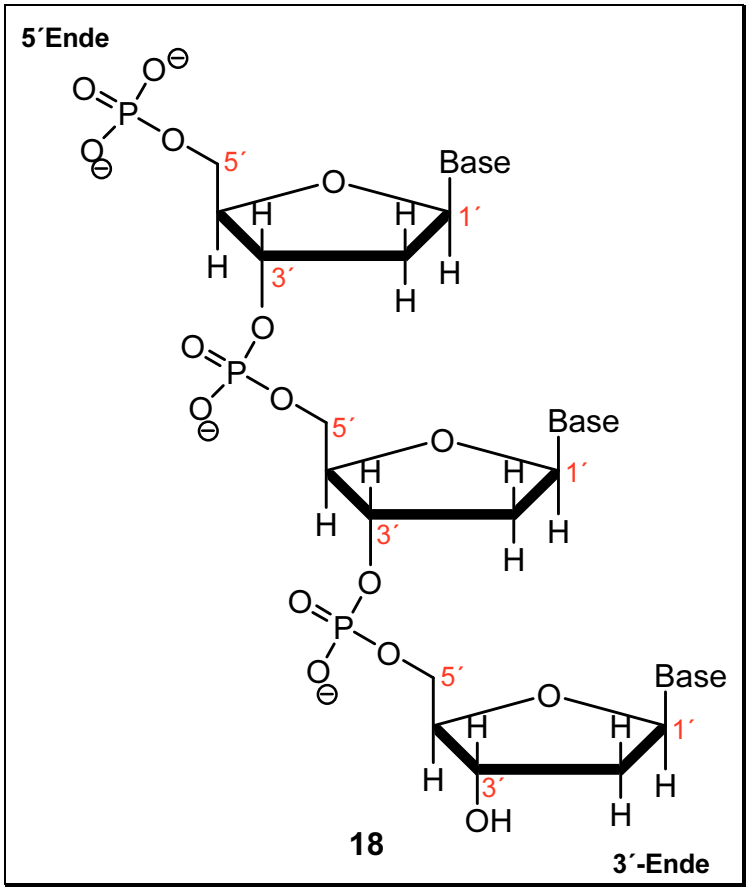


Abbildung 6: Rückgrat der Desoxyribonukleinsäure

Bei der Synthese einzelner DNA-Stränge können neue Nukleotide jedoch immer nur an die Hydroxylgruppe am 3´-C-Atom, jedoch nicht an das 5´-C-Atom angehängt werden. Dies hat zur Folge, dass der DNA-Einzelstrang immer nur vom 5´-Ende zum 3´-Ende wächst. Dazu wird zuerst ein Nukleosidtriphosphat als neuer Baustein angeliefert. Nach Abspaltung von zwei Phosphaten, in Form von Pyrophosphat, wird dann die verbleibende Phosphatgruppe an die Hydroxylgruppe am 3´-C-Atom des im Strang letzten Nukleotids unter Wasserabspaltung angelagert.[10] Betrachtet man die Stabilität der Nukleinsäuren, so stellt man fest, dass durch die negative Ladung der Phosphordiesterbindung diese weit aus weniger empfindlich gegenüber nucleophilen Angriffen ist als andere Ester, wie z. B. Carbonsäureester. Auch das Fehlen der Hydroxylgruppe am 2´-C-Atom führt zu einer größeren Resistenz gegenüber einer Hydrolyse.[7]

Allerdings wird bis jetzt mit dieser Verknüpfung der Nukleotide nur ein einzelner Strang des DNA-Moleküls beschrieben.[11] Jedoch konnten *J. Watson* und *F. Crick* mit ihren Untersuchungen auch zeigen, dass die DNA aus zwei umeinander gedrehte

Einzelstränge (Doppelhelix) aufgebaut sein muss. Dabei bilden die abwechselnd miteinander verknüpften Zucker- und Phosphatgruppen die Außenseite der Doppelhelix und die vier heterozyklischen Nukleobasen weisen ins Innere dieser. Im Inneren der Helix stehen sich dabei immer eine Purin **12** - und eine Pyrimidin **14** -Base gegenüber. Genauer gesagt: Adenin **1** paart mit Thymin **16** und Guanin **13** mit Cytosin **15**. Man bezeichnet sie auch als komplementäre Basen, die sich aufgrund von Wasserstoff-Brückenbindungen einander anziehen. Adenin **1** und Thymin **16** bilden dabei zwischen sich zwei, Guanin **13** und Cytosin **15** drei Wasserstoff-Brückenbindungen aus.

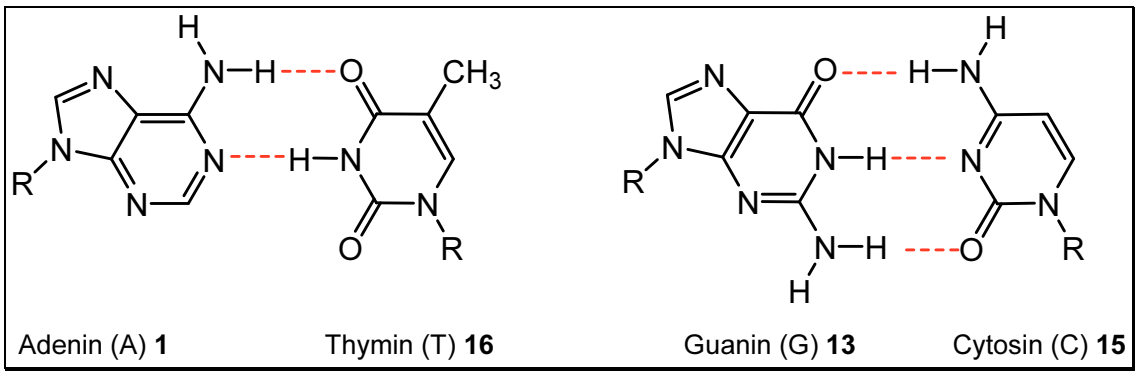


Abbildung 7: Komplementäre Basenpaarung in der DNA

Zwar weisen die gebildeten Wasserstoff-Brückenbindungen nur einen schwachen Bindungscharakter (4-21 kJ/mol) auf, jedoch tragen sie durch ihre große Anzahl zur guten Stabilität der Doppelhelix bei. Auskunft über die Stabilität der Verknüpfungen der beiden Komplementärstränge liefert hierbei der Anteil von Adenin **1** und Thymin **16** relativ zu Guanin **13** und Cytosin **15**. Wobei jedoch die Adenin **1** – Thymin **16** -Paarung aufgrund ihrer zwei Wasserstoff-Brückenbindungen eine schwächere Bindung der beiden Einzelstränge zur Folge hat als die Guanin **13** – Cytosin **15** -Paarung mit drei Wasserstoff-Brückenbindungen.[10] Allerdings ist eine Paarung der komplementären Basen nur dann möglich, wenn die beiden Einzelstränge in entgegengesetzter Laufrichtung aneinandergelagert sind. Das bedeutet, ein Strang verläuft immer vom 3´-Ende zum 5´-Ende und der andere Strang vom 5´-Ende zum 3´-Ende. Man bezeichnet diese beiden Stränge als antiparallel.[5]

Neben der helicalen Anordnung der beiden Einzelstränge fanden *J. Watson* und *F. Crick* auch heraus, dass der Abstand zwischen den beiden Einzelsträngen an

jeder beliebigen Stelle der Doppelhelix identisch ist, da immer ein Purin **12** - mit einem Pyrimidin **14** -Derivat kombiniert.[10] Die Basen stehen dabei senkrecht zur Helixachse und liegen 0.34 nm auseinander. Weiterhin wiederholt sich die Helixstruktur alle 3.4 nm, was bedeutet, dass eine Drehung stets aus 10 Basenpaaren besteht. Somit stehen also die einzelnen Basen in einem Winkel von 36 °C zueinander verdreht. Insgesamt hat die ganze Doppelhelix einen Durchmesser von 2 nm.[7]

3.1.1.3 DNA-Replikation

Nach der vollständigen Aufklärung der Struktur und des Aufbaus der DNA mit Hilfe von kristallographischen Daten, stellt sich nun die Frage: Wie werden Erbgutinformationen auf der DNA von Zellgeneration zu Zellgeneration weitergegeben?[11] Für die Beantwortung dieser so lebenswichtigen Frage, kann man die Forschungsergebnisse von *J. Watson* und *F. Crick* heranziehen, die nicht nur das Doppelhelix-Modell der DNA, sondern auch nebenbei noch den Replikationsmechanismus publizierten. Berühmtes Zitat aus ihrer Veröffentlichung im Jahre 1953 in der Zeitschrift Nature:

„It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material."

(„Es ist unserer Aufmerksamkeit nicht entgangen, dass die speziellen Paarungen, die wir postuliert haben, auch einen möglichen Vervielfältigungsmechanismus für das genetische Material implizieren.")[3]

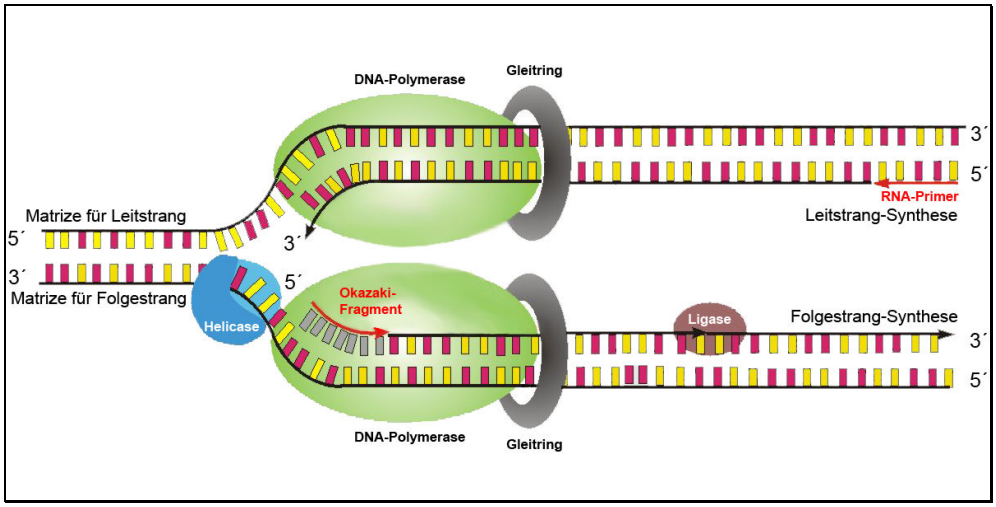


Abbildung 8: Replikationsgabel

Um eine Vererbung zu gewährleisten, muss die DNA in der Lage sein, die in ihr gespeicherten Informationen identisch zu reproduzieren, ohne dass dabei genetische Informationen verloren gehen. Dies bedeutet, dass während einer Zellteilung das „elterliche“ DNA-Molekül verdoppelt werden muss, so dass die entstehenden beiden Tochterzellen mit den identischen Erbinformationen ausgestattet werden. Diesen Vorgang bezeichnet man als Replikation. Bei einer solchen Replikation wird die zu Beginn vorliegende Doppelhelix erst entwunden und der Doppelstrang sodann durch das Enzym Helicase reissverschlussartig an den Wasserstoffbrücken der Basen in seine Einzelstränge aufgetrennt. Es entsteht eine so genannte Replikationsgabel. Jeder Elternstrang dient nun als Matrize für die Bildung eines neuen komplementären Stranges. Die DNA-Replikation verläuft somit semikonservativ - jedes Tochtermolekül besteht aus einem Strang der Eltern-DNA und einem neu synthestisierten Strang.[7, 10] Im Bereich der nun gebildeten Replikationsgabel markiert zunächst ein RNA-Primer, der durch das Enzym Primase synthetisiert wird, den Startpunkt der DNA-Neusynthese.[10] An dieses Startmolekül können dann die, zu den frei gewordenen Basen der Elternstränge, komplementären Nukleotide durch das Enzym DNA-Polymerase angehängt werden, bis die neue DNA wieder zu einem Doppelstrang vollständig ausgebildet ist. Die bei der Replikation aktive DNA-Polymerase kann allerdings nur am 3´-5´-Strang vom 5´-Ende in Richtung des 3´-Endes einen neuen Einzelstrang direkt und in einem ganzen Stück aufbauen.[5] Die Synthese am zweiten Strang (5´-3´) der Eltern-DNA kann hingegen nicht kontinuierlich durchgeführt werden. Hier erfolgt die Replikation nur stückweise entgegen der eigentlichen Richtung der Replikationsgabel. Diese Einzelstücke bezeichnet man als Okazaki-

Fragmente. Diese Fragmente können allerdings nach ihrer Synthese durch das Enzym DNA-Ligase wieder zu einem kompletten Strang verknüpft werden. Der für den Replikationsstart erforderliche RNA-Primer wird am Ende der Synthese enzymatisch abgebaut. Dadurch entstehen zwar Lücken im neuen DNA-Strang, die aber durch spezielle DNA-Polymerasen mit geeigneten Nukleotiden wieder aufgefüllt werden.[10] Die Geschwindigkeit einer kompletten Replikation beläuft sich bei Bakterien auf ungefähr 1000 Nukleotide/s und beim Menschen auf etwa 50 Nukleotide/s.[11]

Eine der erstaunlichsten Tatsachen ist die Präzision, mit der eine Replikation der DNA stattfindet. Grundvoraussetzung hierfür ist eine hohe Kopiergenauigkeit, um die genetischen Informationen unverändert an jede Zelle und an jede weitere Generation weiterzugeben.[11] Denn Kopierfehler können bei der Replikation schwere Schäden und Mutationen für die entstehenden Tochterzellen zur Folge haben. Die Kopiergenauigkeit liegt bei etwa einem Fehler pro 10^9 Nukleotiden. Damit solche Fehler nicht auftreten „lesen spezielle Enzyme hinter der Replikationsgabel Korrektur“ und ersetzen nicht komplementäre Nukleotide durch Komplementäre.[5]

3.1.1.4 Mutationen

Unter der Mutation von DNA-Abschnitten versteht man eine vererbbare Veränderung des Erbgutes. Mutationen finden immer zufällig und ungesteuert statt.[5] Spontane Mutationen, also solche deren Ursache meist nicht zu erkennen sind, sind relativ selten. Die Häufigkeit an Mutationen kann jedoch meist stark ansteigen, wenn chemische Stoffe (mutagene Agenzien) oder energiereiche Strahlen (Röntgen-, radioaktive und ultraviolette Strahlung) auf die Zellen einwirken.

Die Substitution eines Basenpaares durch ein Anderes ist der wohl bis heute verbreiteste Mutationstyp. Bei diesem Typ muss man jedoch zwischen der Transition und der Transversion differenzieren. Eine Transition ist dabei der Ersatz eines Purins **12** durch ein anderes Purin **12** -Derivat oder analog der Ersatz eines Pyrimidins **14** durch ein anderes Pyrimidin **14** -Derivat. Wird dagegen ein Purin **12** durch ein Pyrimidin **14** oder umgekehrt ersetzt, so spricht man von Transversion.[7]

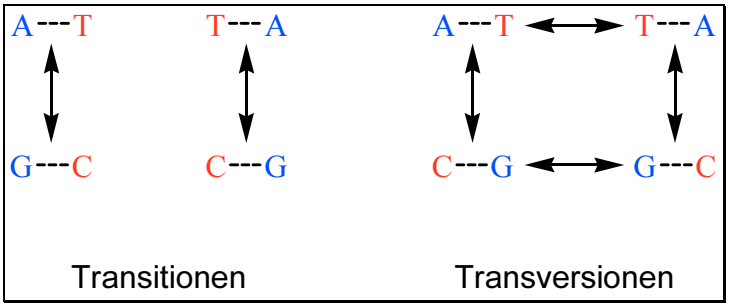


Abbildung 9:Mögliche Substitutionsreaktionen

J. Watson und F. *Crick* schlugen einen möglichen Mechanismus für das spontane Auftreten von Transitionen vor. Sie erkannten, dass einige Wasserstoffatome der vier Basen ihre Stellung unter der Bildung eines Tautomers wechseln können. Dabei kann durch Tautomerisierung eine Aminogruppe (-NH_2) in eine Iminoform (=NH) und eine Ketogruppe (C=O) in eine Enolform (=C-OH) übergehen. Der Anteil dieser Imino- bzw. Enol-Tautomere beträgt bei jeder Base etwa 10^{-4}. Solche vorübergehend auftretenden Tautomere können dann unübliche Basenpaare bilden, die in eine Doppelhelix passen und dort zu möglichen Mutationen führen. Dabei kann z.B. das Imino-Tautomer des Adenins **1** mit Cytosin **15** paaren. In diesem Adenin **1** – Cytosin **15** - Paar würde dann also der Einbau eines Cytosin´s **15** anstelle des erwarteten Thymin´s **16** in einem sich dublizierenden DNA-Strang erfolgen. Wird dieser Fehler nicht korrigiert, würde in der nächsten Replikationsrunde das Adenin **1** mit großer Wahrscheinlichkeit wieder seine übliche Form einnehmen und sich mit Thymin **16** paaren, wohingegen sich das Cytosin **15** aber mit Guanin **13** paaren wird. Dies hätte zur Folge, dass ein Tochter-DNA-Strang anstelle eines A-T-Paares ein G-C-Paar enthielte.[7]

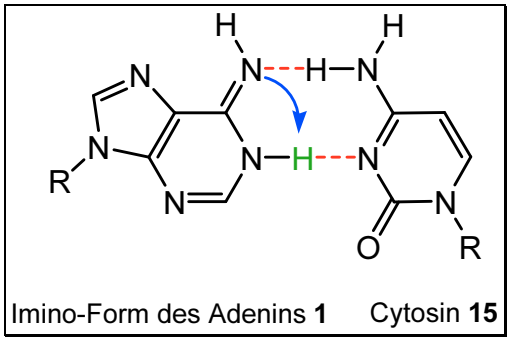


Abbildung 10: Basenpaar mit mutagenemTautomer

Weitere chemische Veränderungen treten auch durch die Einwirkung desaminierender und alkylierender Verbindungen auf.[2] So kann z. B. Salpetersäure Cytosin **15** zu Uracil **17** desaminieren und Methansulfonsäureester Guanin **13** alkylieren.[12] Als Folge dieser Modifikationen ist dann eine Ausbildung der Wasserstoff-Brückenbindungen zur komplementären Base nicht mehr möglich.

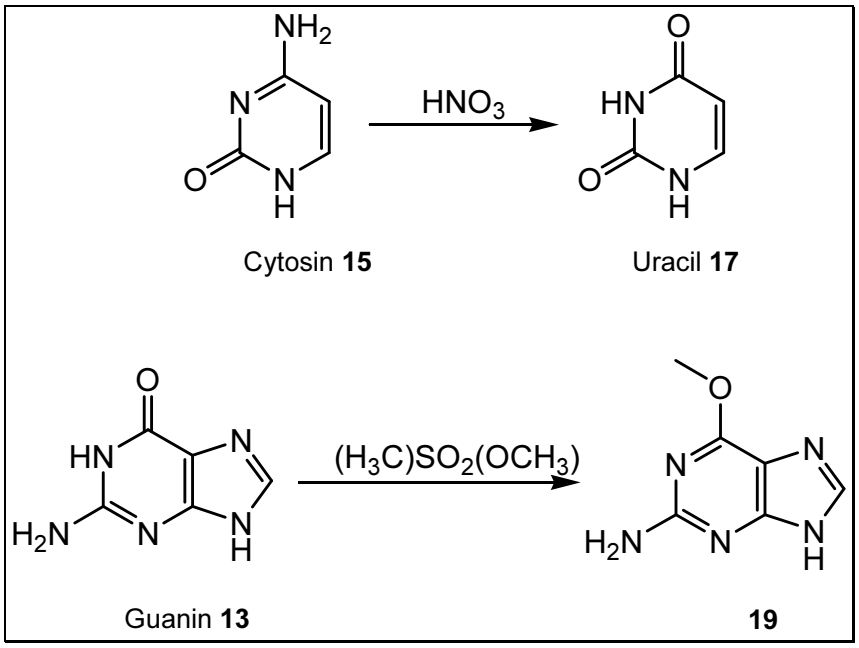


Abbildung 11: Chemische Modifikation von Cytosin **15** bzw. Guanin **13**

Eine andere Art von Mutation kann von flachen aromatischen Molekülen verursacht werden. So können sich z.B. Acridinfarbstoffe, wie das Acridinorange **20**, zwischen die in der DNA benachbarten Basenpaare einschieben und so zu einem Einbau einer zusätzlichen Base im Gegenstrang führen.[7] Damit ist dieser DNA-Strang und alle, die später nach seinem Muster aufgebaut werden, um ein Nukleotid länger.[5] Acridinfarbstoffe erzeugen also somit eine Leserasterverschiebung.[7] Man spricht von einer sogenannten Rastermutation.

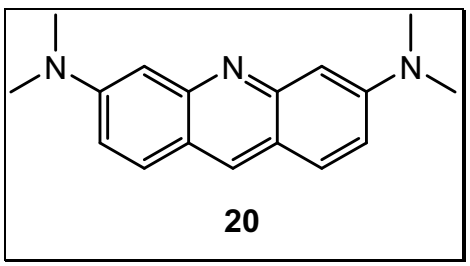
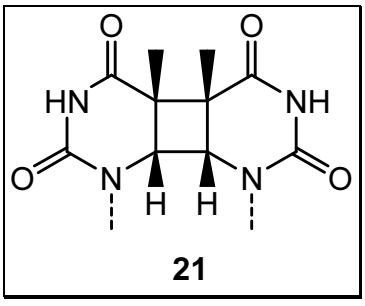


Abbildung 12: Acridinorange **20**

Energiereiche Strahlungen, wie radioaktive, Röntgen- und ultraviolette Strahlung, wirken ebenfalls mutagen. Künstliche Strahlenbelastungen stammen dabei meist aus Röntgenuntersuchungen, sowie der Anwendung radioaktiver Stoffe in der medizinischen Diagnostik und Therapie. Dabei dringt die von außen kommende Strahlung aber meist nicht tief in den Körper ein. Problematischer sind dagegen radioaktive Isotope, die wir mit der Atemluft und der Nahrung in uns aufnehmen, wie z. B. das nach dem Reaktorunfall von Tschernobyl in die Atmosphäre gelangte radioaktive Iod oder Cäsium. Radioaktive Strahlung und Röntgenstrahlung wirken aber nicht wie angenommen unmittelbar und direkt auf die DNA, sondern erzeugen in den Zellen eine Vielzahl von Ionen und Radikalen, welche mit der DNA chemische Reaktionen eingehen und sie so schädigen können.[5] Eine weitere häufige Ursache für DNA-Schäden ist der ultraviolette Anteil des Sonnenlichts. Seine Wirkung besteht darin in der DNA benachbarte Pyrimidin **14** -Basen durch eine photochemische Reaktion kovalent zu binden. Dabei kann sowohl ein Cyclobutan-Dimere **21** als auch ein Oxetan-Dimer **22**, welches anschließend zu einem 6-4-Photoschaden **23** führt, gebildet werden. Diese beiden möglichen Photoschäden machen eine Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zu den komplementären Basen nicht mehr möglich.[7] Da solche Dimere nicht mehr in die Doppelhelix passen, wird die DNA nicht mehr richtig repliziert und die stattfindende Replikation kommt zum Stillstand bis der Schaden behoben wird.[5, 7] Diese Art der DNA-Schädigung ist wohl die Hauptursache für die Entstehung von Hautkrebs.[10]



21

Abbildung 13: Lewis-Struktur eines Cyclobutan-Dimers **21**

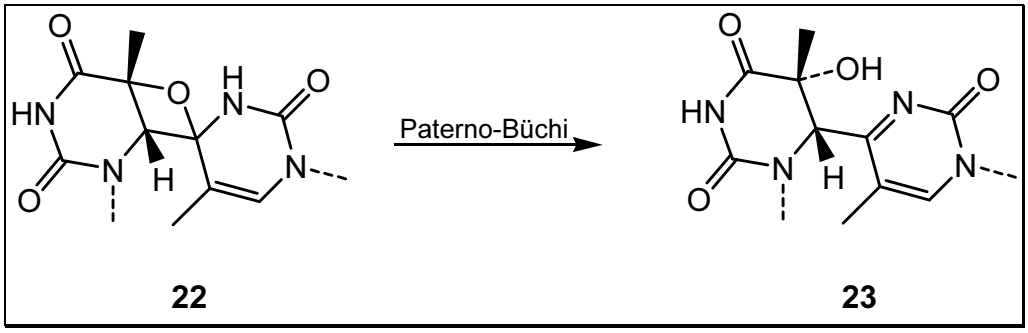


Abbildung 14: Oxetan-Intermediat **22** und durch eine Paterno-Büchi-Reaktion gebildeter 6-4-Photoschaden **23**

Ähnlich schwerwiegend ist eine Quervernetzung gegenüberliegender Basen. Hierdurch kann der DNA-Doppelstrang nicht mehr in seine Einzelstränge getrennt werden und eine Replikation wird somit unmöglich.[5]

Aufgrund ihrer mutagenen Eigenschaften und ihres häufigen Auftretens müssen DNA-Schäden rechtzeitig aus dem Genom entfernt werden. Nach Schätzungen beläuft sich die Anzahl der Schäden auf 10^4-10^6 neue Schäden pro Zelle und Tag. Zur Behebung der DNA-Schäden verfügen die Zellen jedoch über ein effizientes DNA-Reparatursystem.

3.1.1.5 DNA-Reparatur und Präventiv-Maßnahmen

Die Aufrechterhaltung der unversehrten genetischen Informationen ist eine unabdingbare Voraussetzung für das Leben. Deshalb besitzen alle Zellen verschiedene Mechanismen zur Reparatur beschädigter DNA.[7] Die drei möglichen Reparaturwege sind: die direkte Reparatur, die Basenexcisions-Reparatur und die Nukleotid-excisions-Reparatur. Bei der direkten Reparatur wird der beschädigte DNA-Bereich direkt an Ort und Stelle durch ein Enzym korrigiert, welches die chemische Änderung an der DNA-Base rückgängig macht. Bei der Basenexcisions-Reparatur wird die fehlerhafte Base alleine ausgeschnitten und die entstandene freie Stelle anhand der Information im Gegenstrang neu synthetisiert. Wohingegen bei der Nukleotid-excisions-Reparatur ein größerer DNA-Abschnitt rund um die Schadstelle entfernt und ausgetauscht wird.[7, 10] Ein Beispiel für eine direkte Reparatur ist die photochemische Spaltung von Pyrimidin **14**-Dimeren. In einem Forschungsprojekt der Uni-

versität Düsseldorf unter der Leitung von *Prof. Dr. med Jean Krutmann* gelang es die Wirksamkeit des photoreaktivierenden Enzyms DNA-Photolyase - ein Enzym von Zellen phototropher Organismen, wie z. B. der Blaualge - zu bestätigen und darüber hinaus für den Menschen nutzbar zu machen.[13] In einer Kooperation mit der Firma AGI Dematics aus Freeport, New York, USA untersuchte *Krutmann* wieweit die Möglichkeit besteht, UVB-induzierte Schäden in der menschlichen Haut mit Hilfe dieses Enzyms zu reparieren. Dieses Enzym besitzt die Fähigkeit Thymin **16** -Dimere nach Bestrahlung mit photoreaktivierendem (sichtbarem) Licht in ihre ursprüngliche Struktur umzuwandeln. Für diese Untersuchung trug *Krutmann* auf einen bestrahlten und durch Sonnenbrand geschädigten Hautbereich topisch eine Lotion mit dem DNA-Reparaturenzym der Blaualge auf und konnte mittels dieser Untersuchung nachweisen, dass die Zahl der UVB-induzierten Dimere um etwa die Hälfte reduziert werden konnte.[14] Seitdem werden die Photolyasen aus der Blaualge in biologisch-aktiver Form in Liposomen inkorporiert und in Produkten zur Linderung von Sonnenbränden vermarktet.

Neben der DNA-Reparatur solcher Schäden, ist es aber vor allem von grundlegender Bedeutung, diesen durch Sonneneinstrahlung verursachten DNA-Schäden, mit Hilfe von möglichen Präventiv-Maßnahmen rechtzeitig vorzubeugen. Eine Möglichkeit bietet dabei der exogene Hautschutz, der von außen auf den Körper einwirken kann. Hierzu werden z. B. Systeme - wie in Abb. 15 dargestellt- vor dem Sonnenbaden auf die Haut aufgetragen, um den direkten Kontakt zwischen der Hautoberfläche und der schädigenden UV-Strahlung weitestgehend auszuschließen. Die Aufgabe dieser Systeme ist es, energiereiche Strahlung aufzunehmen, diese in Wärmestrahlung umzuwandeln und somit für die Haut unschädlich zu machen.

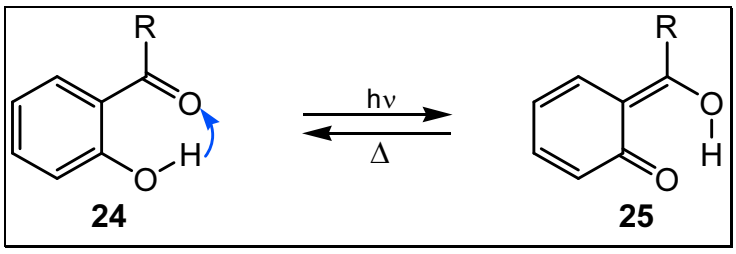


Abbildung 15: Sigmatrope [1,5]-H-Wanderung

Die photoreaktiven Systeme gelangen durch Absorption von UV-Strahlung in einen angeregten Zustand und in Analogie zum Initialschritt bei der Photolyse von *Caged Compounds* des *o*-Nitrobenzyltyps findet anschließend eine sigmatrope [1,5]-H-Wanderung statt.

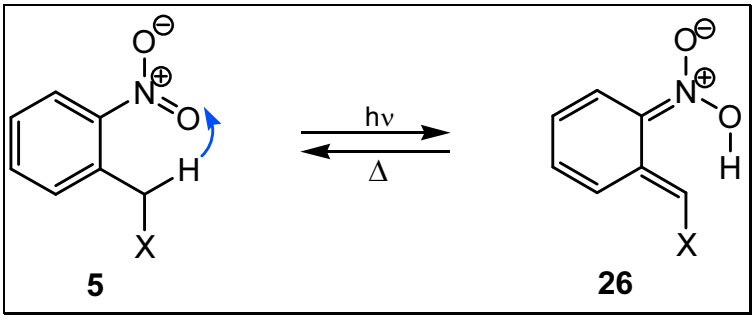
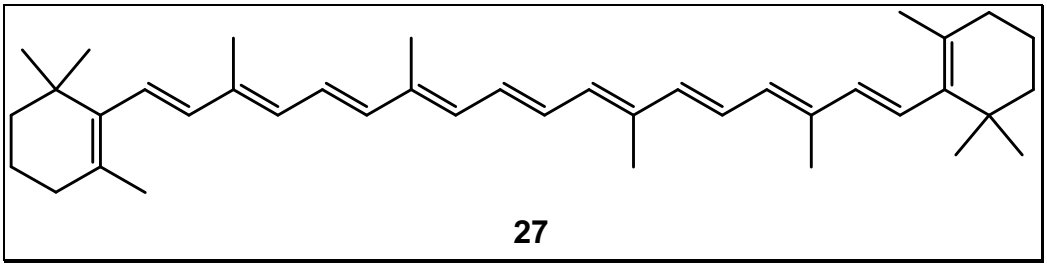


Abbildung 16: Sigmatrope [1,5]-H-Wanderung bei *Caged Compounds*

Nach abgeschlossener [1,5]-H-Wanderung reagiert das System schnell thermisch in den Ausgangszustand zurück und steht für eine neue Absorption eines schädlichen UV-Photons wieder zur Verfügung.

Neben dem exogenen Hautschutz ist aber auch eine endogene, systemische Photoprotektion durch Nährstoffe möglich. Ein bekanntes Beispiel stellen dabei die Carotinoide da. Carotinoide sind eine weit verbreitete Klasse von isoprenoiden Naturstoffen, die durch ihre zumeist rote und gelbe Farbe hervorstechen und als Farbstoffe in vielen Lebensmitteln eingesetzt werden (z. B. Einfärben von Limonaden). Carotinoide kommen in der Natur als Pflanzeninhaltsstoffe z. B. in Paprika, Tomaten und Möhren vor. Tierische Quellen sind Lachs und Krustentiere, die durch carotinoidhaltige Nahrung ihre charakteristische Farbe erhalten. Eines der bekanntesten Carotinoide ist das *ß*-Carotin **27**, welches 1831 von *Wackenroder* erstmals aus der Karotte isoliert wurde und aufgrund des lateinischen Namens, *Daucus Carota*, der ganzen Substanzklasse ihren Namen gab.[15-17]



27

Abbildung 17: ß-Carotin **27**

Charakteristisch für Carotinoide ist ihr System aus konjugierten Doppelbindungen, durch das sie in der Lage sind Licht im sichtbaren und im UV-Bereich zu absorbieren. Ihre photoprotektiven Eigenschaften beruhen dabei auf dieser Fähigkeit Licht zu absorbieren und auf der Fähigkeit Singulett-Sauerstoff zu deaktivieren („löschen“).[18] Dabei handelt es sich um einen physikalischen Prozess bei dem ein Carotinoid in der Lage ist, den in einer Reaktion mit angeregtem Chlorophyll Chl gebildeten Singulett-Sauerstoff abzufangen, ihn in Triplett-Sauerstoff umzuwandeln und somit unschädlich zu machen. Das sich danach im angeregten Zustand befindende Carotinoid geht anschließend unter Wärmeabgabe wieder in den Grundzustand zurück.

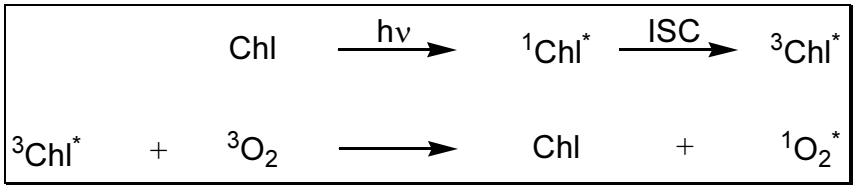


Abbildung 18: Bildung von Singulett-Sauerstoff

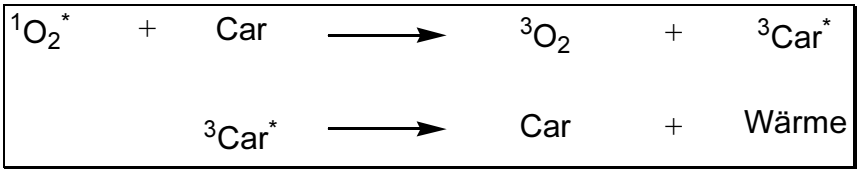


Abbildung 19: Deaktivierung von Singulett-Sauerstoff

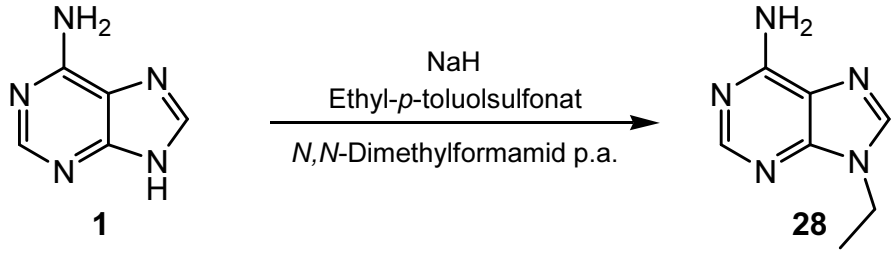
3.1.2 Syntheseplanung

Die Synthese der DNA-Base 9-Ethyladenin **28** erfolgt ausgehend von Adenin **1** nach einer Vorschrift von *Nair et al*.[19]. Die Synthese des 9-Ethyl-1-methyladenins **30** wird in Anlehnung an diese Vorschrift ausgehend von 1-Methyladenin **29** durchgeführt. Das Nucleosid 3´,5´-*O*-Bis(*tert*-butyldimethylsilyl)-2´-deoxycytidin **32** wird nach einer Vorschrift von *Zhang et al*.[20] in nur einer Stufe dargestellt. Ebenso kann 3´,5´-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-2´-deoxyguanosin **34** nach *Hofmann et al*.[21] ebenfalls in nur einem Schritt erhalten werden.

3.1.3 Synthesen

3.1.3.1 Synthese von 9-Ethyladenin (28)

Die Darstellung von 9-Ethyladenin **28** erfolgt unter Luft- und Feuchtigkeitsausschluss.[19, 22]

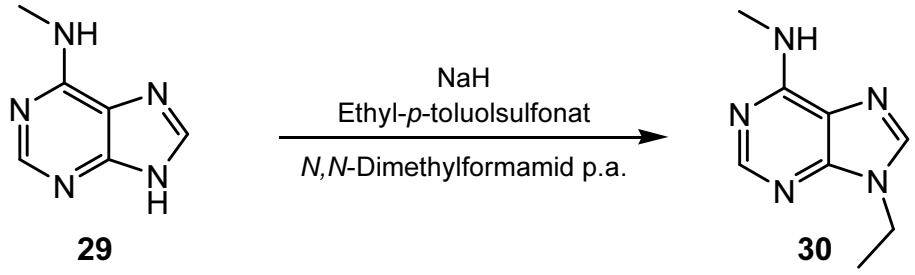


V 1

Dazu wird Adenin **1** in trockenem *N,N*-Dimethylformamid mit Natriumhydrid deprotoniert und anschließend mit Ethyl-4-toluolsulfonat in einer nucleophilen Substitution umgesetzt.

3.1.3.2 Synthese von 9-Ethyl-1-methyladenin (30)

Die Synthese zur Darstellung von 9-Ethyl-1-methyladenin **30** wird ebenfalls unter Luft- und Feuchtigkeitsausschluss durchgeführt.[19, 22]

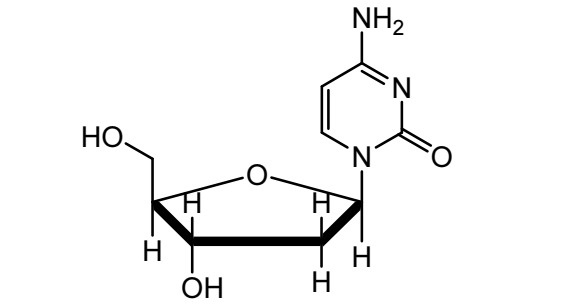


29 **30** **V 2**

9-Ethyl-1-methyladenin **30** wird dabei analog **V1** in trockenem *N,N*-Dimethylformamid durch Deprotonierung mittels Natriumhydrid und anschließendem nukleophilen Angriff an Ethyl-4-toluolsulfonat erhalten.

3.1.3.3 Synthese von 3´,5´-Bis-(O-tert-butyldimethylsilyl)-2´-deoxy-cytidin (32)

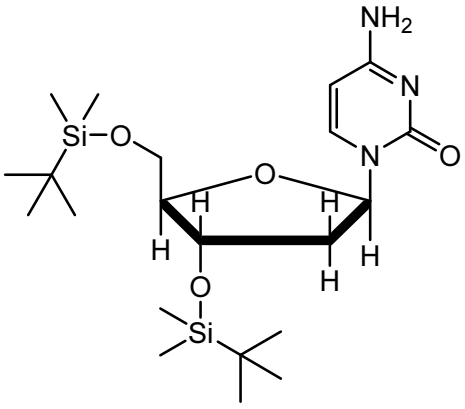
3´,5´-*Bis*-(*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)-2´-deoxycytidin **32** wird ausgehend von 2´-Deoxycytidin Monochlorid **31** in trockenem *N,N*-Dimethylformamid mit *tert*-Butyl-dimethylsilylchlorid (TBDMS-Cl) und Imidazol hergestellt.[2, 20]



31

TBDMS-Cl
Imidazol
N,N-Dimethylformamid p.a.

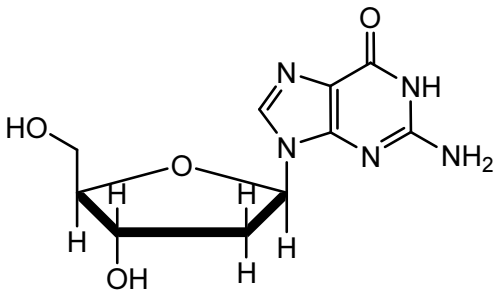
V 3



32

3.1.3.4 Synthese von 3´,5´-Bis-(O-tert-butyldimethylsilyl)-2´-deoxyguanosin (34)

Die Synthese von 3´,5´-Bis-(*O-tert*-butyldimethylsilyl)-2´-deoxyguanosin **34** erfolgt analog **V3**, jedoch unter Feuchtigkeitsausschluss.[2, 21] Dazu wird in trockenem *N,N*-Dimethylformamid 2´-Deoxyguanosin **33** mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (TBDMS-Cl) und Imidazol umgesetzt.

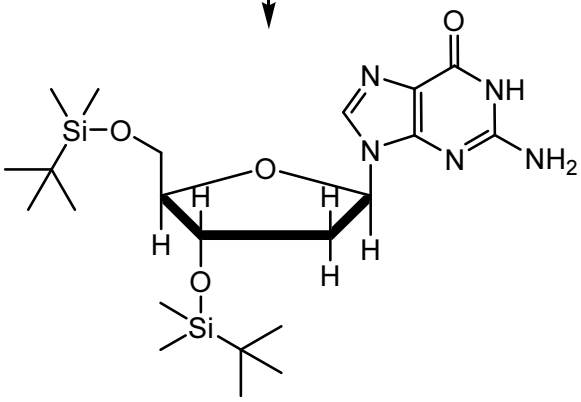


33

TBDMS-Cl
Imidazol

N,N-Dimethylformamid p.a.

V 4



34

3.1.4 Ergebnisse

In früheren Untersuchungen konnten in Gasphasen-IR/UV-Spektren neben den üblichen *Watson-Crick* - Basenpaaren Adenin **1** – Thymin **16** und Guanin **13** – Cytosin **15** noch andere Isomere beobachtet werden.[2] Um die Struktur dieser Isomere genauer aufklären zu können, war es das Ziel im Rahmen einer Kooperation mit der physikalischen Chemie AK *Kleinermanns*[22] Untersuchungen zur Selbstaggregation und zur Aggregation in Lösung mit Hilfe der IR-Spektroskopie durchzuführen. Die dafür benötigten Derivate der DNA-Base Adenin **1** wurden synthetisiert. Da es das Ziel war gezielte Aggregationen der Basen zu verfolgen, wurden selektiv substituierte Adeninderivate dargestellt.

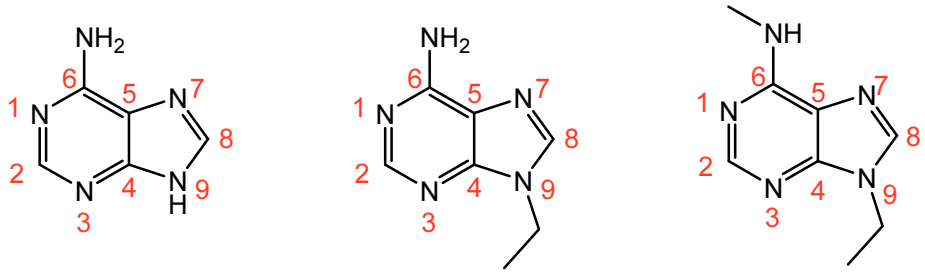
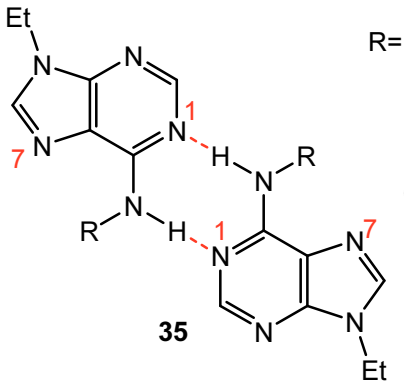


Abbildung 20: Adenin **1** und alkylierte Adeninderivate **28** und **30**

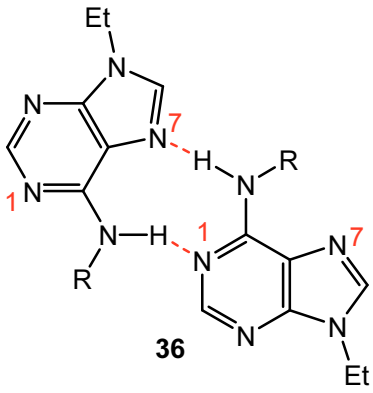
Die beiden in Position 9 durch einen Alkylrest blockierten Derivate wurden mittels IR-Absorptionsspektroskopie unter Gleichgewichtsbedingungen in deuteriertem Chloroform vermessen. Der Gebrauch von deuteriertem statt nicht deuteriertem Chloroform gewährleistet dabei, dass sich die spektralen Bereiche, welche von großem Interesse sind, nicht mit dem Absorptionsbereich des undeuterierten Lösungsmittels überlagern. Weiterhin besteht auch bei nicht deuteriertem Chloroform das Problem, dass die Dielektrizitätskonstante von Chloroform (ε = 4.9) mit der in der DNA ($\varepsilon \approx$ 3-5) vergleichbar ist. Die durchgeführten Messungen ergaben, dass in Position 9 ethyliertes Adenin **28** bevorzugt drei cyclische Dimere, aber auch ein stabiles Trimer ausbilden kann. Die Strukturen sind dabei nach den Positionen der Wasserstoffbrücke zum N-Atom 1 bzw. 7 im Purin-System, welches als H-Brücken-Akzeptor gesehen werden kann, benannt.



R=H,CH_3

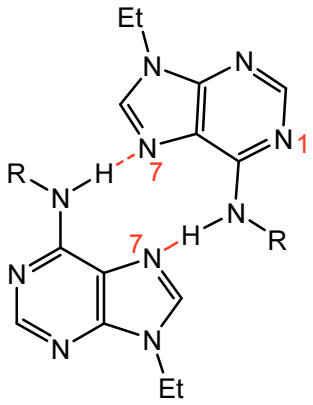
(1-1)

35



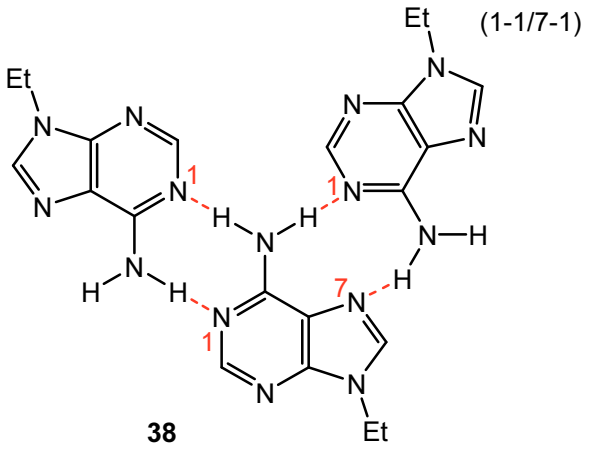
(1-7)

36



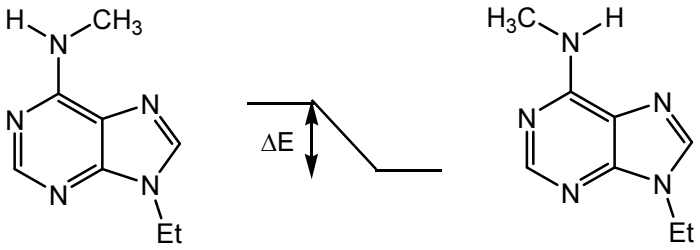
(7-7)

37



38

Weitere Untersuchungen ergaben, dass im Falle des 9-Ethyladenins **28** das symmetrische (1-1)-Dimer die stabilste Anordnung darstellt. Danach folgt das (1-7)- und abschließend das (7-7)-Dimer. Betrachtet man die Stabilitätsreihenfolge der Dimere für das 9-Ethyl-1-methyladenin **30**, so ist zu berücksichtigen, dass diese Verbindung in zwei verschiedenen Konformationen vorliegen kann. Je nach Orientierung der *N*-Methyl-Aminogruppe nämlich sowohl in Form des *cis*- als auch in Form des stabileren *trans*-Isomers (ΔE = 6.2 kJ/mol).



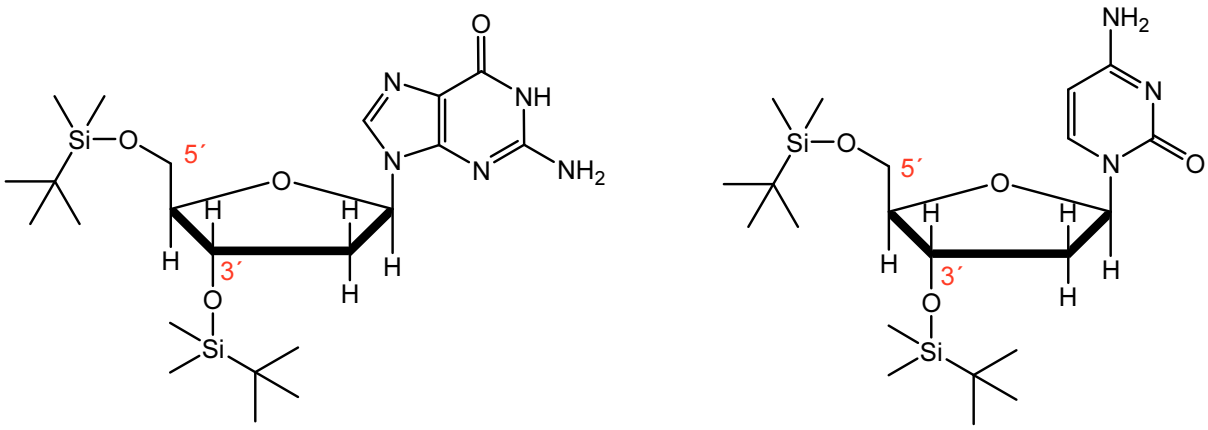
cis *trans*

39 **40**

Abbildung 21: *cis* **39** - und *trans* **40** -Isomer von 9-Ethyl-1-methyladenin **30**

Es ergibt sich dabei für das stabilere *trans*-Isomer, dass das (7-7)-Dimer vor dem (1-7)- und (1-1)-Dimer die stabilste Form bildet.

Aufgrund dieser Ergebnisse sollte in einem weiteren Schritt die angewandte Messmethode auch auf das Basenpaar Guanin **13** - Cytosin **15** übertragen und deren Homo-/Heterobasenpaarung (G-G, C-G, C-C) untersucht werden. Hierzu wurden modifizierten Guanin **34** - und Cytosin **32** – Nukleoside synthetisiert.



34 **32**

Abbildung 22: Modifizierte Nukleoside **34** und **32**

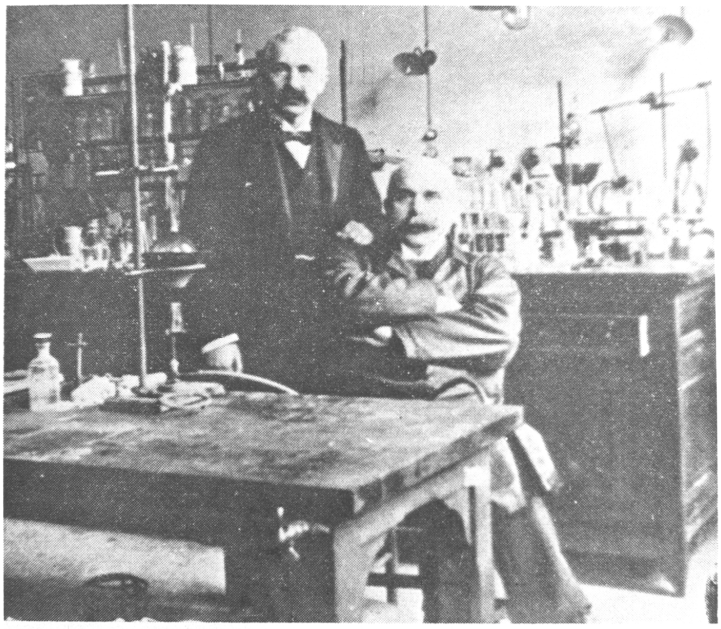
Bei der Synthese wurden die 3´ und 5´-Hydroxygruppen durch die sterisch anspruchsvolle *tert*-Butyldimethylsilyl-Gruppe ersetzt, um keine unspezifische Aggregation der Desoxyribose-OH-Gruppen zu erhalten. Da diese modifizierten Nukleoside in aprotischen Lösungsmitteln gut löslich sind und in diesen die Anordnung der Wasserstoffbrücken zwischen den Basen bevorzugt ist, wird auch bei deren Messungen deuteriertes Chloroform als Lösungsmittel verwendet. Die geplanten Messungen dieser beiden synthetisierten modifizierten Nukleoside **34** und **32** wurden allerdings zum Ende dieser Arbeit noch durchgeführt.

3.2 Caged Compounds

3.2.1 Theoretische Grundlagen

„Bezüglich der Wirkung des Lichtes auf organische, die Nitrogruppe enthaltende Körper haben wir bisher leider kein großes positives Beobachtungsmaterial sammeln können; um uns indessen gleichsam für die vielen fruchtlosen Versuche zu entschädigen, haben wir eine Reaktion gefunden, die den interessantesten, bisher bekannten, photochemischen Reaktionen an die Seite gestellt werden kann.“

(G. Ciamician, P. Silber, 1901)[23]



Giacomo Ciamician (standing) and Paul Silber in their Bologna laboratory

3.2.1.1 Das Nervensystem

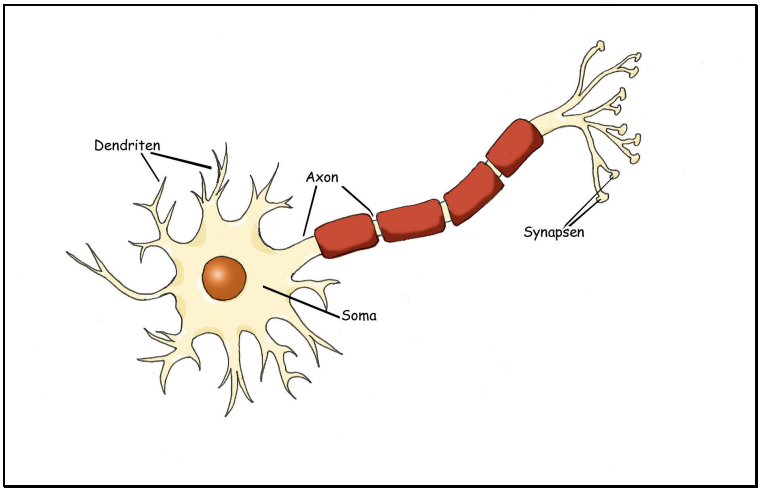


Abbildung 23: Aufbau eines Neurons[24]

Zusammen mit dem Hormonsystem dient das Nervensystem zur Erfassung, Auswertung, Speicherung und Aussendung von Informationen. Dabei besteht jedes Nervensystem aus Nervenzellen, den Neuronen, die auf Erregungsweiterleitung spezialisiert sind. Innerhalb einer solchen Nervenzelle werden Reize, die in den Dendriten ankommen als elektrische Impulse (Aktionspotentiale) über spezifische Fasern (Axon) an die präsynaptischen Endköpfe weitergeleitet. Dort öffnen sich spannungsgesteuerte Ca^{2+}-Kanäle in der präsynaptischen Membran. In der präsynaptischen Zelle befinden sich zudem Membrantaschen, auch synaptische Vesikel genannt, welche den Neurotransmitter enthalten. Das durch das Öffnen der Ca^{2+}-Kanälen einströmende Calcium verursacht ein Verschmelzen einiger Vesikel mit der präsynaptischen Membran, woraufhin ihr Inhalt in den synaptischen Spalt ausgeschüttet wird. Diesen Vorgang bezeichnet man als Exocytose.[25] Die nun freigesetzten Neurotransmitter diffundieren durch den synaptischen Spalt zur postsynaptischen Membran und bewirken dort, durch das Binden an für sie spezifische Rezeptoren, wiederum das Öffnen von Ionenkanälen. Als Folge des Öffnens strömen Na^{+}-Ionen durch die Membran zur negativ geladene Innenseite dieser, wodurch die Membran vorübergehend depolarisiert wird. Diese erregende Reaktion ist allerdings in ihrer Stärke von der Zahl der mit Liganden besetzten Rezeptoren und damit von der Anzahl geöffneter Ionenkanäle abhängig.

Ein Aktionspotential wird allerdings erst gebildet, wenn ein bestimmter Spannungswert - üblich ist 0.1 Volt[26] - überschritten wird.[25]

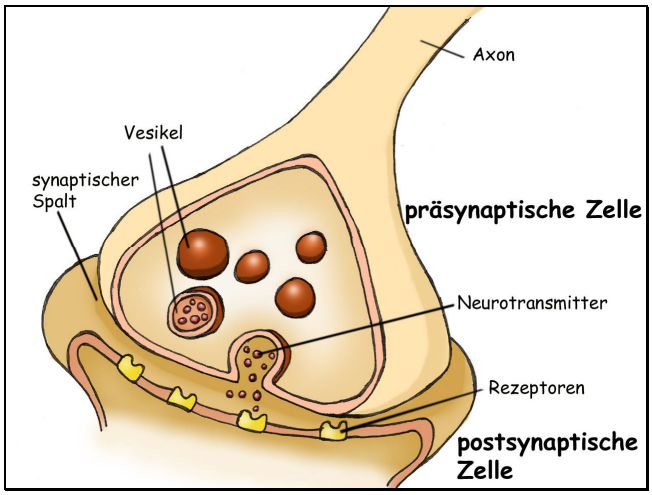
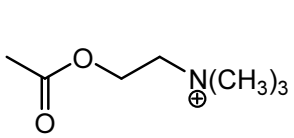


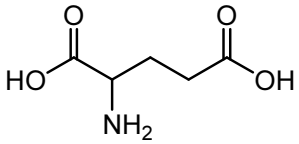
Abbildung 24: Aufbau einer Synapse[24]

Die für eine Weiterleitung von Reizen so wichtigen Neurotransmitter lassen sich generell in zwei Klassen einteilen. Man spricht dabei bei Monoaminen, biogenen Aminen, Aminosäuren oder löslichen Gasen von niedermolekularen und bei Neuropeptiden von hochmolekularen Neurotransmittern.[27] Man muss aber auch zwischen exzitatorischen (erregenden) und inhibitorischen (hemmenden) Neurotransmittern unterscheiden. Inhibitorische Neurotransmitter bewirken - im Gegensatz zu den Exzitatorischen - keine schnelle synaptische Übertragung, sondern eine schnelle synaptische Hemmung. Dies hat zur Folge, dass die Zelle daran gehindert wird ein Aktionspotential zu erzeugen.

Bekannte und viel untersuchte erregende Neurotransmitter sind das biogene Amin Acetylcholin **41** oder die Aminosäure *L*-Glutamat **42**.

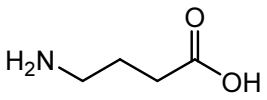


41



42

Ein hemmender Neurotransmitter ist die Aminosäure *γ*-Aminobuttersäure **43**.



43

3.2.1.2 Methoden zur Untersuchung der Zellkinetik

Die kinetische Untersuchung einer, wie oben beschriebenen, Signalübertragung ermöglicht es, Wechselwirkungen zwischen Neurotransmittern und liganden-gesteuerten Ionenkanälen zu untersuchen. Die Zahl der geöffneten Ionenkanäle ist dabei eine Funktion der Neurotransmitterkonzentration und der Zeit. Die Konzentration der geöffneten Ionenkanäle, ihre Ionenspezifität und ihre Ionenleitfähigkeit bedingen die Initiierung eines Aktionspotentials innerhalb einer Nervenzelle.[25, 28, 29] Ein typisches Reaktionsschema für einen Neurotransmitter-Rezeptor-Komplex liefert dabei der nicotinische Acetylcholin-Rezeptor.

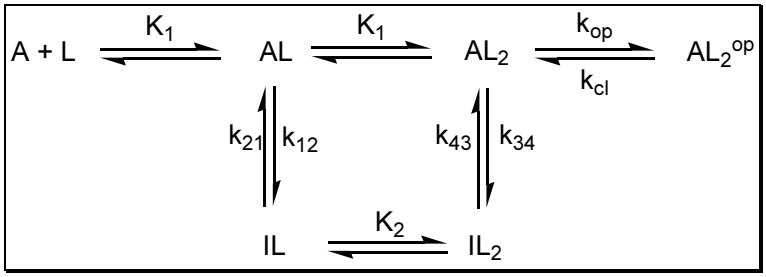


Abbildung 25: Darstellung des Acetylcholinrezeptors (A)-Ligand (L)-Gleichgewicht unter Berücksichtigung einer inaktiven Form

Die Reaktionsabfolge startet nach der Freisetzung des Neurotransmitter L in den synaptischen Spalt mit der Bindung des freien Neurotransmitters an eine Rezeptor A. Untersuchungen von *B. Katz* und *S. Thesleff* zeigten, dass zum Öffnen eines Ionenkanals die Bindung von zwei Liganden erforderlich ist.[25, 30] Es erfolgt dann eine Änderung der Konformation des nicotinischen Acetylcholin-Rezeptors, was ein Öffnen des transmembranen Ionenkanals zur Folge hat. Die Änderung der Konformation des Proteins wird dabei durch die beiden Geschwindigkeitskonstanten k_{op} (Kanalöffnung) und k_{cl} (Kanalschließung) beschrieben. Ebenso konnte gezeigt

werden, dass das Vorhandensein von Neurotransmittern eine Inhibierung hervorrufen kann, indem der Rezeptor in eine inaktive Form I übergeht.[25, 30] In dieser Konformation ist die Affinität zu einem Liganden herabgesetzt. Dies wird durch die Gleichgewichtskonstante K_2 beschrieben.[25]

Betrachtet man die geöffneten Ionenkanäle, so lässt sich ihre Konzentration $[AL_2^{op}]$ mit folgender Gleichung bestimmen:

$$[AL_2^{op}] = \frac{[L]^2}{([L]+K_1)^2 d+[L]^2} \qquad (1)$$

mit: [L] : Konzentration der aktivierenden Liganden

d : Verhältnis der Gleichgewichtskonstanten k_{cl} und k_{op}

$d=k_{cl}/k_{op}$

Für die Anzahl der zu öffnenden Rezeptorkanälen I_A gilt dann:

$$I_A = I_M R_M [AL_2^{op}] \qquad (2)$$

mit: I_M : Anzahl der zu öffnenden Kanäle bei einer Rezeptorkonzentration von 1 mol/l

R_M : Anzahl der Rezeptorproteine in der Zellmembran

Die linearisierte Form dieser Gleichung lautet:

$$\{I_M R_M (I_A)^{-1}-1\}^{1/2} = d^{1/2} + d^{1/2} K_1 [L]^{-1} \qquad (3)$$

Für die kinetische Untersuchung der oben beschriebenen Prozesse sind spezielle Rahmenbedingungen zu berücksichtigen. So finden die zu beobachtenden Prozesse im Mikro- und Millisekundenbereich statt, so dass Messtechniken erforderlich sind, deren zeitliche Auflösung sich in diesem Bereich befindet. Weiterhin muss darauf

geachtet werden, dass die Messungen die Zellaktivität nicht beeinflussen und die Messungen im wässrigen Milieu durchgeführt werden. Zudem ist zu berücksichtigen, dass die Untersuchung stets an der gesamten Zelle oder einem einzelnen Vesikel erfolgt, so dass der zu messende Effekt nachweisbar ist.

Für Messungen unter diesen besonderen Bedingungen wird eine Kombination von zwei Messtechniken benutzt:

- die *Patch-Clamp*-Technik und
- die *Laser-Puls-Photolyse*

Die *Patch-Clamp*-Technik:

Diese von *E. Neher* und *B. Sakmann* im Jahre 1976 eingeführte Technik zur Untersuchung von Ionenkanälen war revolutionär, denn sie ermöglichte Messungen von Zellaktivitäten in einer bis dahin noch nicht bekannten Genauigkeit.[7]
Man unterscheidet bei dieser Technik zwischen zwei möglichen Arten an Messungen: dem *single-channel-recording* und dem *whole-cell-recording*.

Beim *single-channel-recording* wird eine Glaspipette, welche einen Puffer und einen Ag-Draht enthält (Ag, AgCl-Elektrode) mit einer Öffnung von etwa 1 µm fest auf eine intakte Zelle gepresst.[7] Durch leichten Unterdruck wird eine starke Abdichtung erreicht, wodurch der elektrische Widerstand zwischen dem Inneren der Pipette und der äußeren Lösung bei einigen Gigaohm liegt. Diese starke Abdichtung ermöglicht einen zwischen Pipette und der von der Pipettenöffnung bedeckten Membranoberfläche identischen Stromfluss. Die Gigaohm-Versiegelung führt zu einer hochaufgelösten Messung von Strömen, während eine bestimmte Spannung an die Membran angelegt ist. Somit können der Ionenfluss durch einen, sich unter der Pipette befindenden einzelnen Kanal sowie die Übergänge zwischen den verschiedenen Zuständen eines Kanals mit einer zeitlichen Auflösung von Mikrosekunden verfolgt werden.[7] Zusätzlich ist es möglich eine solche Messung direkt in der natürlichen Umgebung der Zelle durchzuführen.

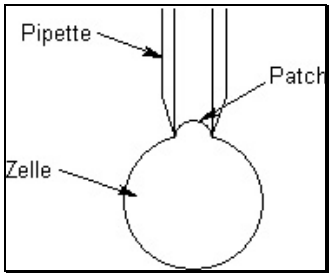


Abbildung 26: Schematische Darstellung des single-channel-recording[24]

Beim *whole-cell-recording* wird die gleiche Vorgehensweise wie beim *single-channel-recording* angewendet. Allerdings wird hier die Zellwand durch das kurzzeitige Anlegen eines kräftigen Unterdruckes zerstört, so dass die Pipette mit dem gesamten Inneren der Zelle verbunden ist und Ströme durch die ganze Zellmembran gemessen werden können. Auf diese Weise ist es möglich die Aktivitäten aller Rezeptoren gleichzeitig zu ermitteln.

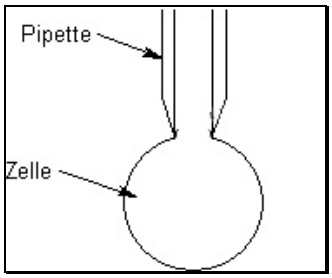


Abbildung 27: Schematische Darstellung des *whole-cell-recording*[24]

Befindet sich die zu untersuchende Zelle nun im „*whole-cell*-recording-Modus“ (siehe Abbildung 27), so wird die Zelle mit Hilfe eines Strömungsrohres schnell mit der Neurotransmitter-Lösung umspült. Der Neurotransmitter reagiert mit den Rezeptoren auf der Zelloberfläche und der resultierende Strom kann gemessen werden. Allerdings stellt die gleichmäßige Verteilung des Neurotransmitters um die Zelle ein Problem dar, da nicht beliebig hohe Strömungsgeschwindigkeiten der Neurotransmitter-Lösung möglich sind. Zu schnelle Strömungen können die frei an der Pipette hängende, sehr empfindliche Zelle beschädigen oder sogar von der Pipette abreißen. Jedoch ist eine gleichmäßige Verteilung des Neurotransmitters von entscheidender Bedeutung, da die Gleichgewichtseinstellung in der Lösung komplett erfolgt sein muss, bevor es zur Reaktion des Neurotransmitters mit dem Rezeptor kommt. Ist dies nicht der Fall, so spiegelt die gemessene Geschwindigkeitskonstante die Gleichgewichtseinstellung der Lösung wider.[31]

Weiterhin ergibt sich bei dieser Messtechnik, welche auch als *Cell-flow*-Technik bezeichnet wird, das Problem, dass die Ionenkanäle auf der Vorderseite der Zelle eher von der Neurotransmitter-Lösung umspült werden und somit eher öffnen als die Ionenkanäle auf der Zellenrückseite (siehe Abbildung 28). Deshalb ist es mit dieser Methode nicht möglich sehr schnell ablaufende Reaktionen hinreichend zu erfassen.

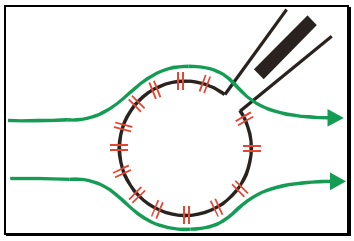


Abbildung 28: Darstellung der *Cell-flow*-Technik

Die *Laser-Puls-Photolyse*:

Das grundlegende Verfahren der *Laser-Puls-Photolyse* gleicht dem der *Cell-flow*-Technik. Hierbei wird die Zelle allerdings nicht wie bei der *Cell-flow*-Technik mit dem Neurotransmitter, sondern mit einer biochemisch inerten photolabilen Vorstufe dessen, einem so genannten *Caged Compound*, umspült. Ist die Zelle homogen mit der *Caged Compound*-Lösung umspült, so wird sie mit einem Laserpuls bestrahlt. Dies führt dazu, dass sich die Verbindung spaltet und der Neurotransmitter freigesetzt wird. Nun kann der Neurotransmitter an alle Rezeptoren gleichzeitig binden und eine Zellaktivität auslösen. Dies kann durch den resultierenden Strom mit einer Elektrode gemessen werden. Mit diesem Messverfahren ist es möglich eine hohe zeitliche Auflösung zu erreichen. Jedoch ist die Zeitauflösung mit Hilfe dieser Technik immer abhängig von der Geschwindigkeit der Freisetzung des Neurotransmitters und kann je nach Art der Schutzgruppe und des Neurotransmitters variieren.

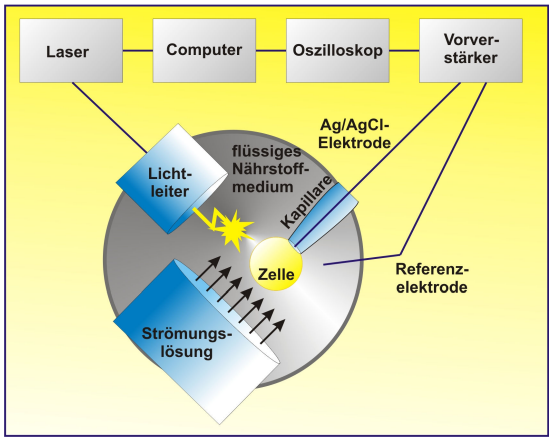


Abbildung 29: Darstellung der *Laser-Puls-Photolyse*

Zum Vergleich beider Messmethoden (*Cell-flow*-Technik vs *Laser-Puls-Photolyse*) ist in Abbildung 30 der, bei dem jeweiligen Verfahren, resultierende Strom in Abhängigkeit von der Zeit aufgetragen. Bei der Messung mit der *Laser-Pulse-Photolyse* ist zu beobachten, dass der Strom beim Öffnen der Ionenkanäle stark ansteigt bis er einen Maximalwert erreicht. An diesem Punkt sind alle Kanäle geöffnet. Anschließend nimmt der Strom während des Schließens der Ionenkanäle (siehe Abbildung 25: Übergang nach IL_2) mit einer langsameren Zeitskala wieder ab. Betrachtet man den Kurvenverlauf für die *Cell-Flow*-Technik, so ist zu beobachten, dass man rund das 30fache an Zeit benötigt bis das Strommaximum erreicht ist. Wie oben bereits erwähnt, liegt der Grund darin, dass bei der *Cell-flow*-Technik nicht alle Ionenkanäle gleichzeitig reagieren, sondern dass die Kanäle auf der Vorderseite der Zelle eher als die Kanäle auf der Rückseite öffnen.

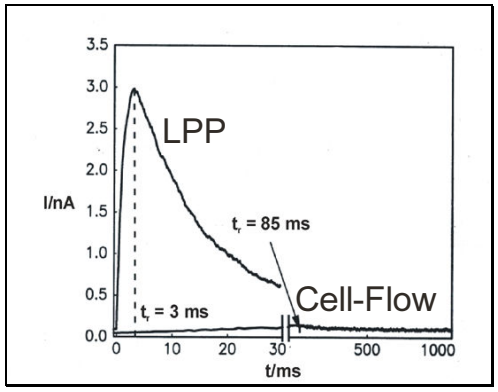


Abbildung 30: Vergleich der Messkurven von *Laser-Puls-Photolyse* und *Cell-flow*-Technik

3.2.1.3 Die ortho-Nitrobenzylschutzgruppe

Die lichtinduzierte Umlagerung von *o*-Nitrobenzaldehyd **44** zu *o*-Nitrosobenzoesäure **45** wurde im Jahre 1901 erstmals von *P. Silber* und *C. Ciamician* entdeckt[23] und bildet die Basis der Chemie der *Caged Compounds*.

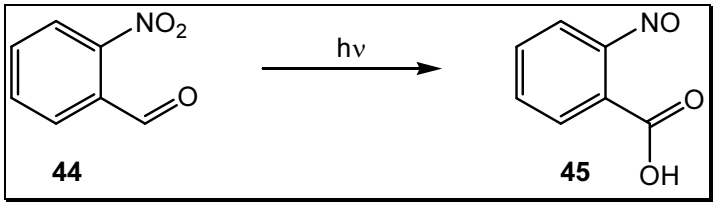


Abbildung 31: Photolyse von *o*-Nitrobenzaldehyd **44**

60 Jahre lang blieb diese Reaktion jedoch unbeachtet bis sie 1960 *R. B. Woodward* erstmals zur photochemischen Abspaltung von Schutzgruppen nutzte. Hierbei schützte er Amine in der Peptidsynthese.

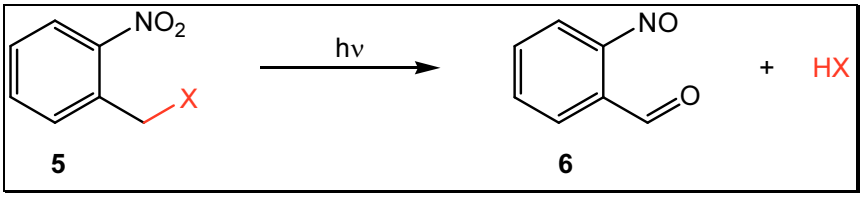
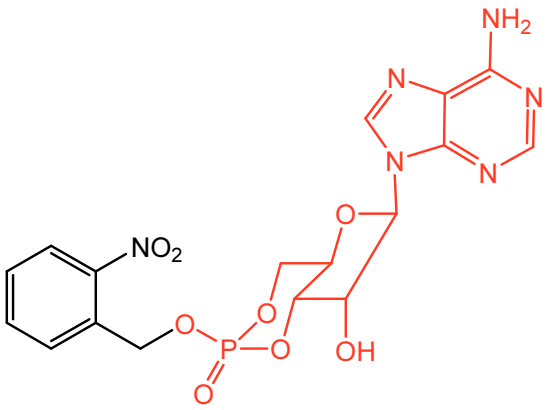


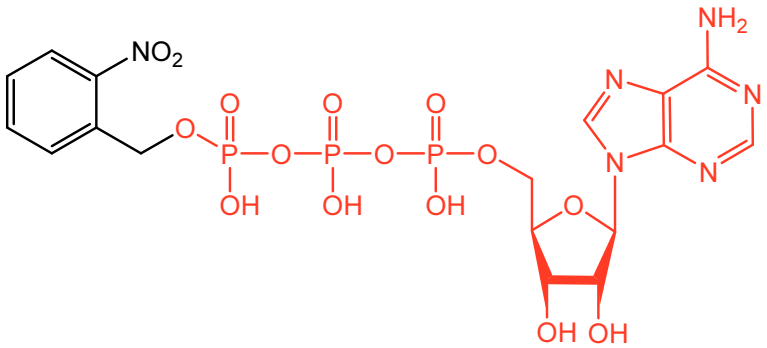
Abbildung 32: Abspaltung von Schutzgruppen unter Lichteinwirkung

1977 führte *J. Engels*[32, 33] die *o*-Nitrobenzylschutzgruppe in die Biophysik ein. Er koppelte cyclisches Adenosinmonophosphat (cAMP) mit der *o*-Nitrobenzyl-Schutzgruppe, wodurch dieses hydrophober und somit zellmembrangängiger wurde. *Engels* war es so möglich, nach Diffusion des geschützten cAMP´s durch die Zellmembran ins Innere der Zelle, dieses dort durch Bestrahlung wieder frei zu setzen.



46

J. H. Kaplan[34] entwickelte diese Methode im Jahre 1978 weiter. Er kombinierte sie mit der *Laser-Puls-Photolyse* und setzte an die *o*-Nitrobenzyl-Schutzgruppe gekoppeltes Adenosintriphosphat (ATP), so genanntes *caged* ATP **47**, direkt in der Zelle mit Hilfe eines Laserpulses zu einem definierten Zeitpunkt frei.

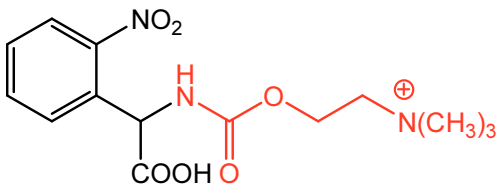


47

Bis zu diesem Zeitpunkt waren solche Untersuchungen nur möglich, indem eine vergleichsweise langsame Diffusion durch die Zellmembran abgewartet, beziehungsweise eine Injektion direkt in die Zelle durchgeführt wurde.[25] Auf diesem Wege gelang es aber erstmals solche elektrophysiologische Untersuchungen mit einer Zeitauflösung im Millisekundenbereich durchzuführen.[35]

Letztendlich war es auch *J. H. Kaplan*, welcher den Begriff *Caged Compound* für biologisch aktive Moleküle mit photolabilen Schutzgruppen einführte.

Der Gebrauch der *o*-Nitrobenzylschutzgruppe setzte sich immer weiter durch. Elf Jahre nach *J. H. Kaplan´s* Untersuchungen verwendete *G. P. Hess* diese Schutzgruppe erstmals zur Erforschung von neuronaler Kommunikation,[36, 37] als er *Caged* Carbamoylcholin **48** zur Untersuchung von Inhibitoren des Acetylcholinrezeptors einsetzte.[25, 38]



48

Allerdings modifizierte er die Schutzgruppe durch Einführen einer zusätzlichen Carbonsäure-Gruppe, wodurch das *Caged Compound* polarer, wasserlöslicher und somit geeigneter für photophysikalische und biologische Untersuchungen wurde. Weiterhin gelang es *G. P. Hess* dadurch auch die Zeitauflösung der Freisetzung der biologisch aktiven Substanz auf Mikrosekunden zu verbessern.

Caged Compounds werden zurzeit - wie bereits oben beschrieben - unter anderem zur Untersuchung transmembraner Ionenkanäle eingesetzt.

Obwohl bis heute zahlreiche Untersuchungen an *o*-Nitrobenzylderivaten durchgeführt wurden, konnte der Photolysemechanismus der *Caged Compounds* noch nicht vollständig geklärt werden. Lange Zeit war der von *D. Gravel* und *R. Giasson* vorgeschlagene Reaktionsmechanismus der allgemein Akzeptierte. Allerdings war mit ihm eine Reihe von Beobachtungen nicht hinreichend erklärbar. Jedoch kann heute nach *Schaper et al.* anhand theoretischer Untersuchungen und experimentellen Daten folgendes allgemeines Reaktionsschema im wässrigen Medium angenommen werden.[39, 40]

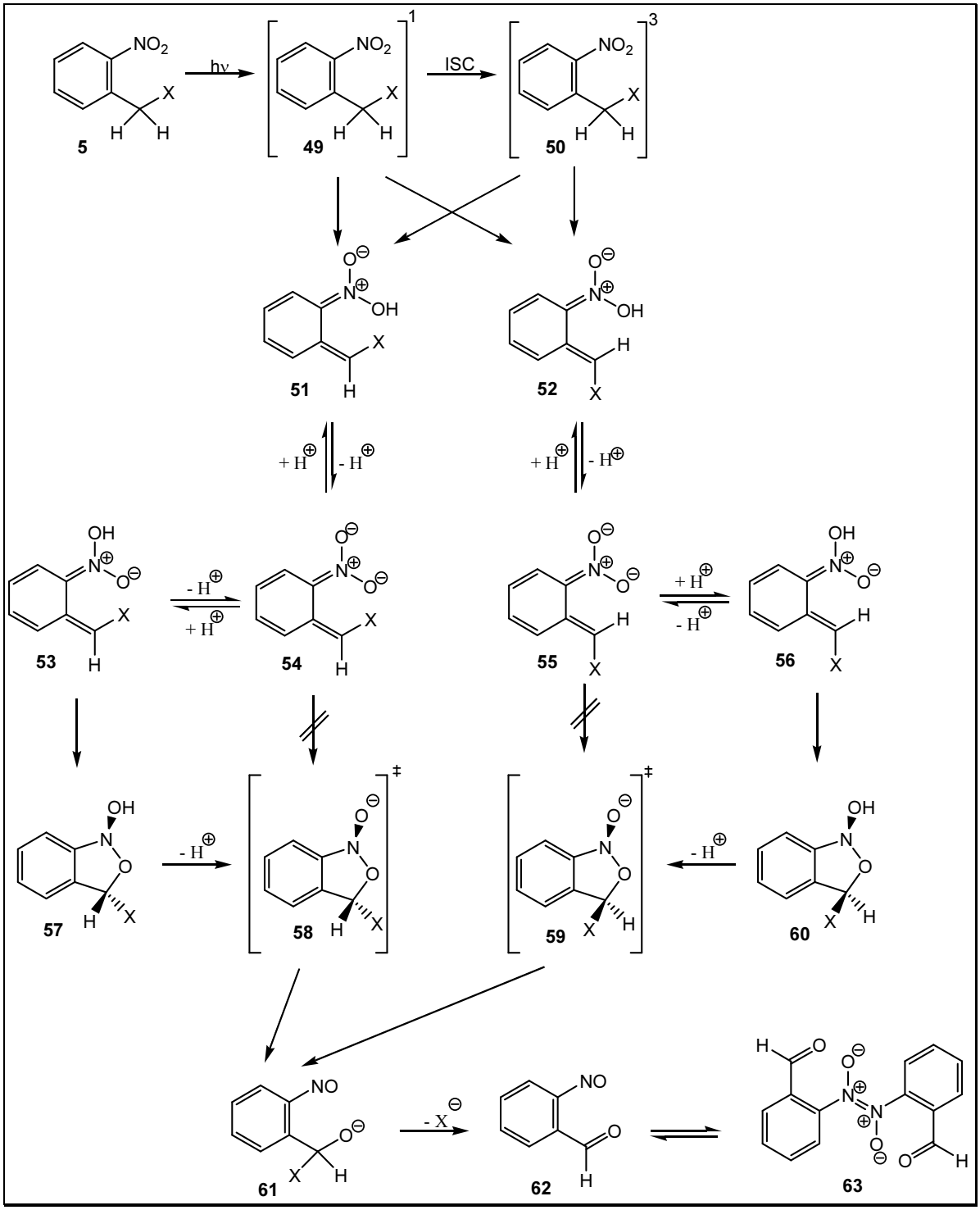


Abbildung 33: Photolysemechanismus der *o*-Nitrobenzylschutzgruppe

Durch Bestrahlung geht die *o*-Nitrobenzylverbindung **5** in den angeregten Singulett-Zustand **49** über. Von hier aus erfolgt entweder ein H-Transfer zu den Isomeren **51** und **52** oder ein Intersystem-Crossing (ISC) in den T_1-Zustand **50**. Auch aus dem T_1-Zustand ist eine [1, 5]-H-Wanderung nach **51** und **52** möglich. Aus den beiden *aci*-Nitroverbindungen **51** und **52** entstehen dann, unter Deprotonierung, die

Verbindungen **54** und **55**, welche durch anschließende Protonierung die Tautomeren **53** und **56** bilden. Diese beiden Tautomeren stellen nun die reaktive Spezies dar, die zu den Intermediaten **57** und **60** cyclisieren und schließlich über die Übergangszustände **58** und **59** zum Nitroso-Halbacylal/Halbaminal-Anion **61** zerfallen. Abschließend wird unter Freisetzung von $X^{\ominus}$ **62** gebildet, welches mit seinem Dimer **63** im Gleichgewicht steht.

3.2.1.4 Anforderungen an Caged Compounds

Die photochemische Freisetzung biologisch aktiver Substanzen hat sich als eine bewährte Methode zur Untersuchung biochemischer Prozesse etabliert, da bei dieser Art von Messungen eine homogene Verteilung der inaktiven Verbindung um die ganze Zelle möglich ist, ohne dass ein Ligand-Rezeptor-Komplex ausgebildet wird.[25] Um *Caged Compounds* allerdings erfolgreich als Werkzeug für biophysikalische und biochemische Untersuchungen mit Hilfe der *Laser–Puls-Photolyse* einsetzen zu können, müssen sie einigen Kriterien genügen (siehe Abbildung 34).

1) Die photolabil geschützte Substanz sollte unter physiologischen Bedingungen eine hohe Hydrophilie aufweisen.
2) Sie sollte hydrolytisch stabil sein.
3) Das *Caged Compound* darf nicht mit der Zelle wechselwirken.
4) Die Nebenprodukte der Photoreaktion dürfen keinen Einfluss auf die zu untersuchende Zelle haben.
5) Die photochemische Reaktion sollte mit einer möglichst geringen Anregungsenergie ausgelöst werden.
6) Die Quantenausbeute der photochemischen Reaktion sollte möglichst hoch sein.
7) Die Freisetzung der aktiven Verbindung sollte schnell erfolgen.
8) Die gewünschte photolabil geschützte Substanz sollte leicht zugänglich sein.

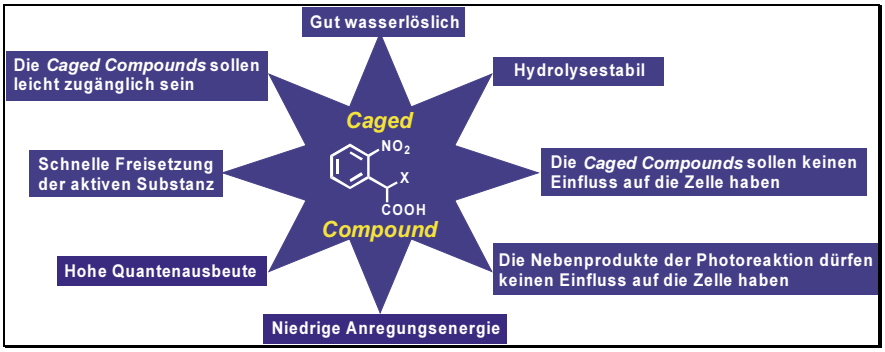


Abbildung 34: Schematisches Anforderungsprofil an *Caged Compounds*

Unter Beachtung dieser Kriterien sind ausgehend von der *o*-Nitrobenzyl-Schutzgruppe[41] in den vergangenen Jahren verschiedene Schutzgruppen entwickelt worden. Durch einzelne Modifikationen[34, 36, 42, 43] dieser, wie z. B. die Einführung zusätzlicher Carbonsäure-Gruppen, ist es teilweise gelungen eine gesteigerte Löslichkeit, eine höhere Quantenausbeute und eine geringere Toxizität der Zerfallsprodukte zu erreichen.

3.2.2 Physikochemische Untersuchungen

3.2.2.1 Femtosekunden-Spektroskopie

Wie bereits in der Problemstellung erwähnt, wird in dieser Arbeit die Synthese von *Caged Compounds* mit verbesserten physikalischen und photochemischen Eigenschaften, wie z. B. einer erhöhten Quantenausbeute angestrebt. Wichtig für eine gute Quantenausbeute ist dabei ein schneller Ablauf der [1,5]-H-Wanderung aus dem angeregten Singulett- **49** bzw. Triplett-Zustand **50** zu den beiden *aci*-Nitro-Intermediaten **51** und **52** (siehe Photolysemechanismus, Abbildung 33). Um nun genauere Angaben über die Geschwindigkeit, mit der dieser H-Transfer stattfindet, machen zu können, soll die Bildung der *aci*-Nitro-Intermediate **51** und **52** während der Photoreaktion von *Caged Compounds* des *o*-Nitrobenzyl-Typs **4** näher untersucht werden. Da diese Reaktion allerdings im Subnanosekunden-Bereich erfolgt, soll diese Untersuchung in einer Kooperation mit dem AK *Gilch* aus München mittels Femtosekunden-Spektroskopie erfolgen.

3.2.2.1.1 Methodik

Die Femtosekunden-Spektroskopie stellt eine spezielle Art der Laser-Spektroskopie dar. Mit ihr ist es möglich, besonders schnell ablaufende Reaktionen, wie z. B. den ersten Schritt der *o*-Nitrobenzylphotochemie (Subnanosekundenbereich) unter Verwendung ultrakurzer Lichtimpulse zu untersuchen. Möchte man eine Verbindung mittels Femtosekunden-Spektroskopie untersuchen, so wird mittels eines Titan-Saphir-Lasers ein Lichtimpuls erzeugt, der direkt in zwei Einzelstrahlen geteilt wird. In den „Pump“- und „Probe“-Laser. Mit Hilfe des „Pump“-Lasers kann nun die zu untersuchende Probe in den angeregten Singulett-Zustand angeregt werden (1.Schritt), wo mittels „Probe“-Laser ein UV-Vis-Spektrum des erreichten Zustandes aufgenommen wird. Die nun, über eine strahlungslose Deaktivierung (2.Schritt), Inter-System-Crossig (ISC) in den Triplett-Zustand (3.Schritt) etc. weiterlaufende Reaktion kann dabei weiter, durch die schnelle Aufnahme von UV-Vis-Spektren, der einzelnen dabei erreichten Zustände, verfolgt werden.

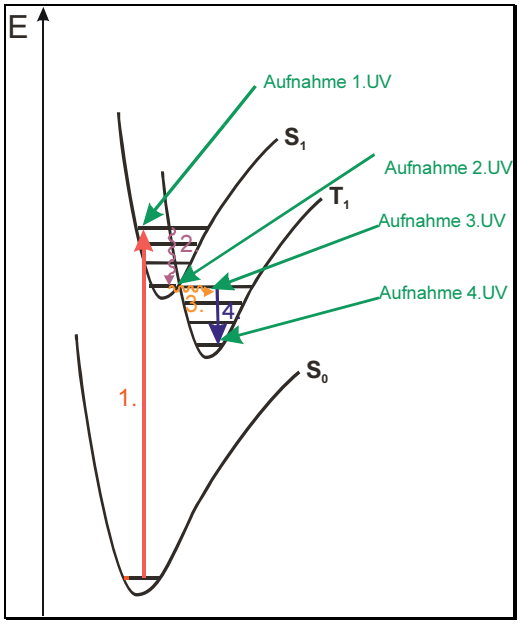


Abbildung 35: Graphische Darstellung der Femtosekunden-Spektroskopie

Mit dieser Methode ist es somit möglich, den aus den UV-Vis-Spektren erhaltenden Zwischenprodukten der Reaktion die gemessenen Lebensdauern zuzuordnen.

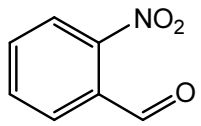
3.2.2.1.2 Synthese

Die Synthese, der für die Femtosekunden-Spektroskopie verwendeten Verbindung *o*-Nitrobenzylacetat **67** wird in Kapitel 3.2.3 Verbesserung von physikalischen und photochemischen Eigenschaften aufgeführt.

3.2.2.1.3 Ergebnisse

Im Rahmen der mechanistischen Studien des Photolysemechanismus der Photoreaktion von *Caged Compounds* des *o*-Nitrobenzyl-Typs war die Bildung der *aci*-Nitrointermediate **51** und **52** für uns von großem Interesse (siehe Photolysemechanismus).

Da die Photolyse der *Caged Compounds* allerdings im Subnanosekunden-Bereich erfolgt, wurden die Voruntersuchungen in einer Kooperation mit dem AK *Gilch* aus München mittels Femtosekunden-Spektroskopie durchgeführt. In der Arbeitsgruppe *Gilch* wurden bereits intensive spektroskopische Studien mittels Femtosekunden-Auflösung an der Modellverbindung *o*-Nitrobenzylaldehyd **44** unternommen.



44

Jedoch ist *o*-Nitrobenzylaldehyd **44** im Allgemeinen kein gutes Modell für die Photochemie von *o*-Nitrobenzyl-Verbindungen, da die Photolyse über ein Keten **66** als Zwischenprodukt verläuft (Abbildung 36).

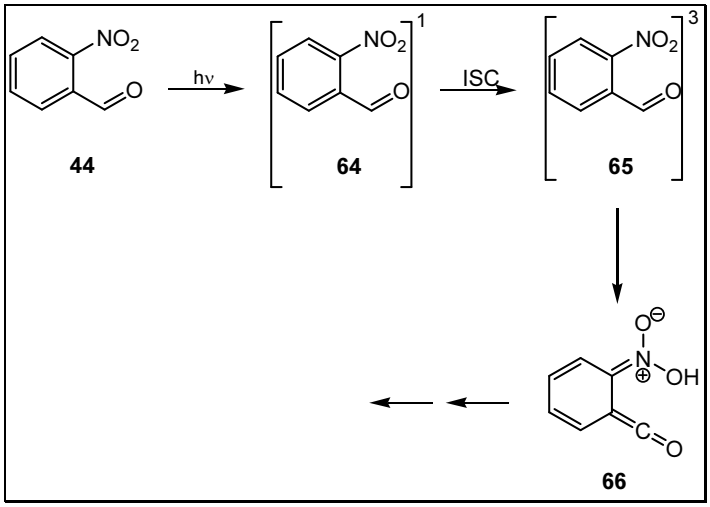
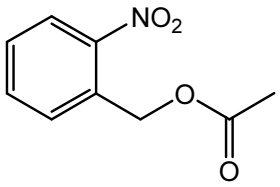


Abbildung 36: Graphische Teildarstellung der Photolyse von *o*-Nitrobenzylaldehyd **44**

Daher wurde für erste Voruntersuchungen die Verbindung *o*-Nitrobenzylacetat **X** synthetisiert und anschließend mittels Femtosekunden-Spektroskopie, in Acetonitril als Lösungsmittel, vermessen.



67

Folgende Absorptionsspektren wurden dabei (nach Bestrahlung) für Zeiten zwischen 0.2 ps und 2950 ps aufgezeichnet:

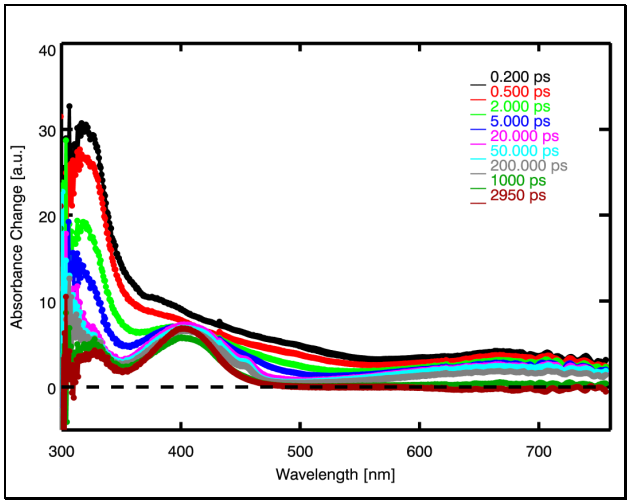


Abbildung 37: Für Verbindung **67** aufgezeichnete UV-Spektren

Trägt man nun die Messzeit, die Wellenlängen und die gemessene Absorption als 3D-Plot auf, so erhält man das in Abbildung 67 dargestellte zeitaufgelöste UV-VIS-Spektrum.

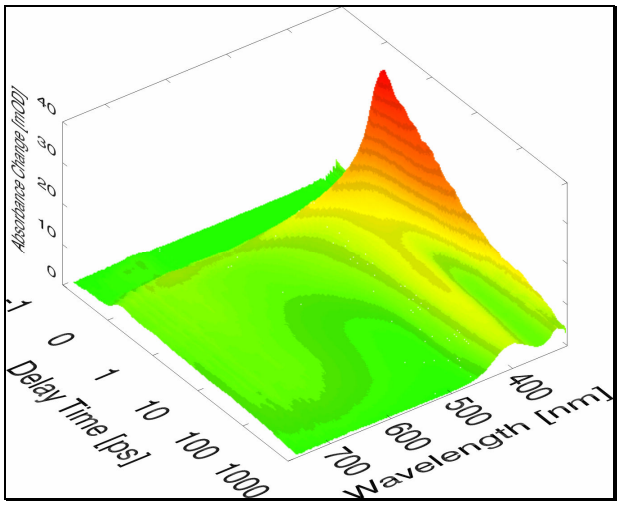


Abbildung 38: UV-VIS-Spektrum des bestrahlten *o*-Nitrobenzylacetat **67**

Hierbei zeigen die Zeitspuren das Verhalten an charakteristischen Wellenlängen und die transienten Spektren das spektrale Verhalten vor und nach wichtigen kinetischen Prozessen. Eine erste Analyse liefert für die Experimente fünf verschiedene Lebensdauern von τ_1 = 20 fs, τ_2 = 1 ps, τ_3 = 10 ps, τ_4 = 500 ps und τ_5 = 1500 ps. Die genaue Zuordnung dieser fünf gemessenen Lebensdauern zu den entsprechenden Prozessen ist noch unklar. Vergleicht man die Ergebnisse allerdings mit denen von früher vermessenem *o*-Nitrotoluol, so kann man in Analogie annehmen, dass τ_1 und τ_2 dem Singulett-Zerfall zuordnen sind. τ_3 könnte eine Signatur des Schwingungskühlens oder Prozesse zwischen Triplett-Zuständen sein und τ_4 kann dem Triplett-Zerfall zu geordnet werden. Das Spektrum nach ~ 1000 ps wird durch die Absorption der *aci*-Formen dominiert und das in diesen Voruntersuchungen nach 3 ns gemessene Spektrum entspricht dem *aci*-Nitrointermediate-Spektrum, welches schon in früheren Messungen in der AG *Schaper* mit Nanosekunden-Auflösung erhalten wurde.[44]

3.2.2.2 Elektrosprayionisation-Massenspektrometrie

Neben der Untersuchung der Photoreaktion von *Caged Compounds* des *o*-Nitrobenzyl-Typs **4** mittels Femtosekunden-Spektroskopie soll diese auch im Elektrosprayionisation-Massenspektrometer erforscht werden. Dabei ist es von Interesse, Informationen über die Zeitauflösung der Freisetzung der bioaktiven Substanz während der Photolyse des *Caged Compounds* zu erhalten. Zu diesem Zweck sollen verschiedene Verbindungen synthetisiert und anschließend im Rahmen der Messungen in der Injektionskapillare des ESI-Massenspektrometers kurz vor der Injektion und Ionisierung photolysiert werden.

3.2.2.2.1 Methodik

Der Begriff Elektrosprayionisation basiert auf Arbeiten von *Dole* und wurde im Jahre 1984 von *Fenn* etabliert. Die Elektrosprayionisation-Massenspektrometrie (ESI-MS) ist eine schonende Messmethode zur Massenbestimmung von sehr empfindlichen, aber auch sehr großen Molekülen. Die Moleküle werden dabei unter Atmosphärendruck ionisiert, was den Vorteil einer geringen Fragmentierung zur Folge hat.[45]

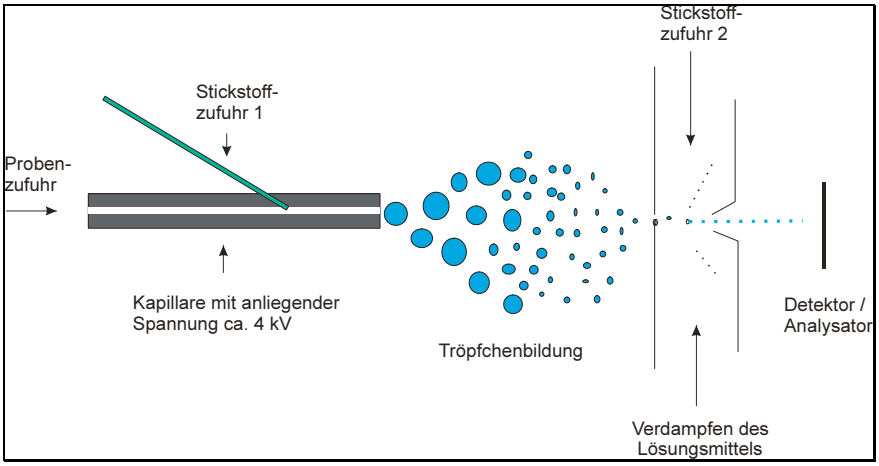


Abbildung 39: Aufbau eines ESI-Massenspektrometers[45]

Bei einer ESI-MS-Messung wird eine Probe der zu untersuchenden Substanz zunächst in einem Lösungsmittel gelöst. Dabei ist es wichtig, dass es sich bei der zu untersuchenden Substanz um ein geladenes Molekül (Kation oder Anion) handelt.

Die Lösung (10^{-3}-10^{-5} mol/l) wird durch eine Kapillare (ca. 0.1 mm Durchmesser), an deren feine Spitze eine Spannung (ca. 4 kV) anliegt, in die Ionisationskammer mit starkem elektrischen Feld gesprüht.[46] Die an der Kapillarspitze angelegte Spannung führt zur elektrostatischen Aufladung der Lösungsmitteltröpfchen. Zusätzlich wird ein Schutzgas, meist N_2, über die Kapillare hinweg geleitet, dass die Vernebelung unterstützt und das Lösen der Tröpfchen von der Kapillarspitze verbessert. Nach dem Lösen von der Kapillarspitze wandern die einzelnen Tröpfchen im elektrischen Feld zwischen Kapillare und der Gegenelektrode. Während dieser Wanderung wird das Aerosol von einem aufgeheizten Stickstoffstrom getrocknet, wodurch das Lösungsmittel aus den Tröpfchen verdampft und zu einer Ladungsanreicherung im diesen führt.[45] Diese Ladungsanreicherung hat zur Folge, dass ab einer bestimmten Ladungsdichte (Rayleigh-Limit) die Tröpfchen, aufgrund der coulombschen Abstoßung zwischen Teilchen gleicher Ladung, in kleinere Tröpfchen zerfallen.[45] Man bezeichnet diesen Vorgang als Coulomb-Explosion.

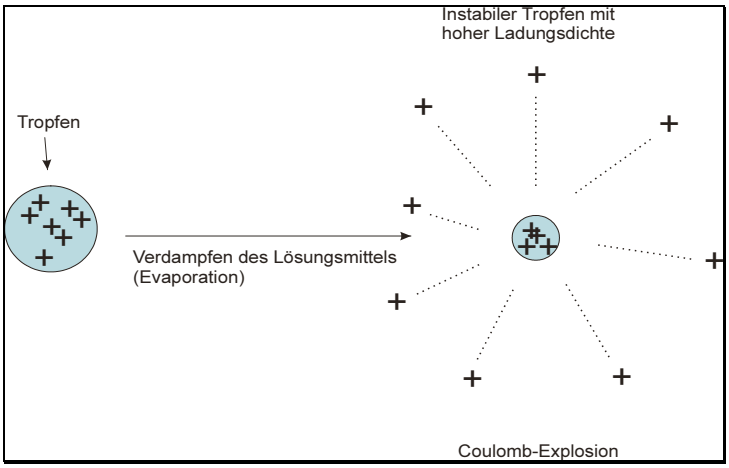
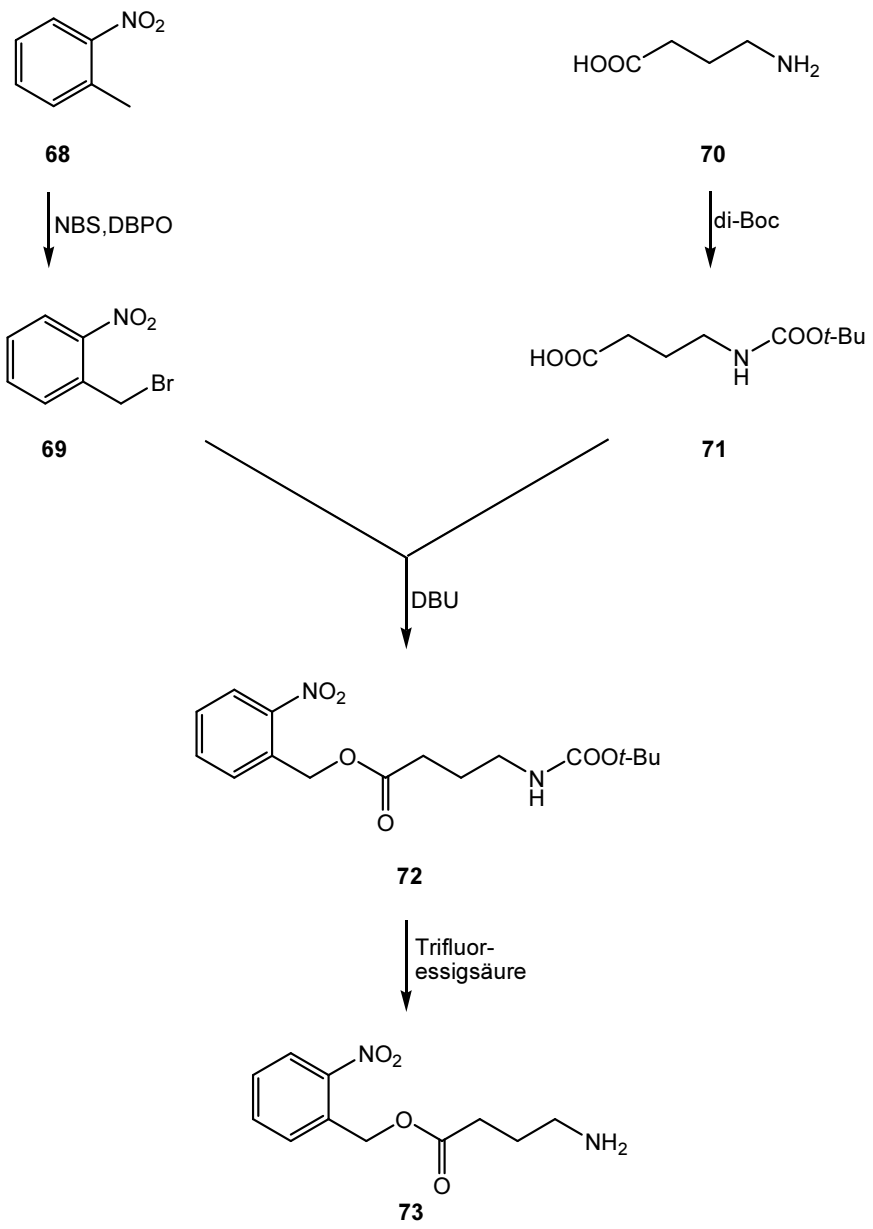


Abbildung 40: Graphische Darstellung einer Coulomb-Explosion[45]

Dieser Vorgang wiederholt sich nun solange bis die Probenmoleküle separiert vorliegen. Anschließend werden die einzelnen Moleküle in das Massenspektrometer weitergeleitet und dort detektiert. Ist dem Detektor eine Pauls-Falle vorgelagert, so können die separierten Moleküle dort erst gesammelt und dann Moleküle gewünschter Masse einzeln ausgewählt werden.[45]

3.2.2.2.2 Syntheseplanung

Um das für die ESI-MS-Messungen benötigte positiv geladene *Caged* GABA (geschützte *γ*-Aminobuttersäure) **73** darstellen zu können, ist es sinnvoll im ersten Schritt die gewünschte Schutzgruppe zu synthetisieren. Wie auch in Kapitel 3.2.3.4 ausführlich beschrieben, kann die Synthese der Schutzgruppen von *Caged Compounds* je nach Substituenten den präparativ aufwendigsten Teil der Arbeit darstellen. Jedoch lässt sich die für das *Caged* GABA **73** gewünschte Gruppe direkt in einem Schritt durch eine Wohl-Ziegler-Bromierung von 2-Nitrotoluol **68** erhalten. Da *γ*-Aminobuttersäure **70** zwei zur Kopplung befähigte Stellen (-Carbonsäure-Gruppe und Amino-Gruppe) besitzt, muss vor der Kopplung in einem weiteren Schritt die Amino-Funktion geschützt werden. Dabei hat sich die *tert*-Butoxycarbonyl-Gruppe (Boc-), die sich im schwach bis stark sauren Milieu leicht abspalten lässt, bewährt. Die aktivierte photolabile Schutzgruppe **69** und die mittels Boc-Gruppe amino-geschützte *γ*-Aminobuttersäure **71** lassen sich sodann mit der Base 1,8-Diaza-bicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) zum geschützten *Caged Compound* **72** umsetzen. Im letzten Schritt wird die vorhandene Boc-Schutzgruppe der Amino-Funktion in triflouressigsaurem Milieu entfernt.

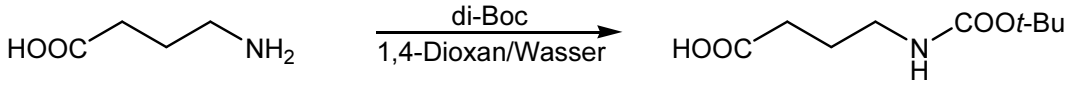


Die Synthesenplanung der weiteren vier, für die Voruntersuchungen verwendeten Substanzen **74**, **75**, **76** und **77** werden im Rahmen der Untersuchungen zur Verbesserung von physikalischen und photochemischen Eigenschaften in Kapitel 3.2.3.4 aufgeführt.

3.2.2.2.3 Synthesen

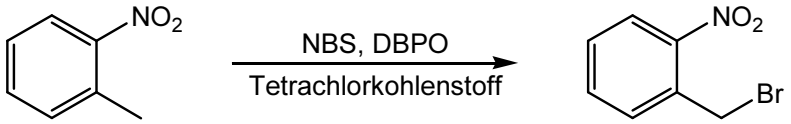
3.2.2.2.3.1 Synthese von (2-Nitrobenzyl-)4-aminobutanoat 73

Die Synthese von (2-Nitrobenzyl)-4-aminobutanoat **73** erfolgt über vier Stufen. Zu Beginn findet dabei die Einführung einer *tert*-Butoxycarbonyl-Schutzgruppe an die Aminofunktion der *γ*-Aminobuttersäure (GABA) **70** mittels di-*tert*-Butoxy-*ortho*-carbonat (di-BOC) statt.



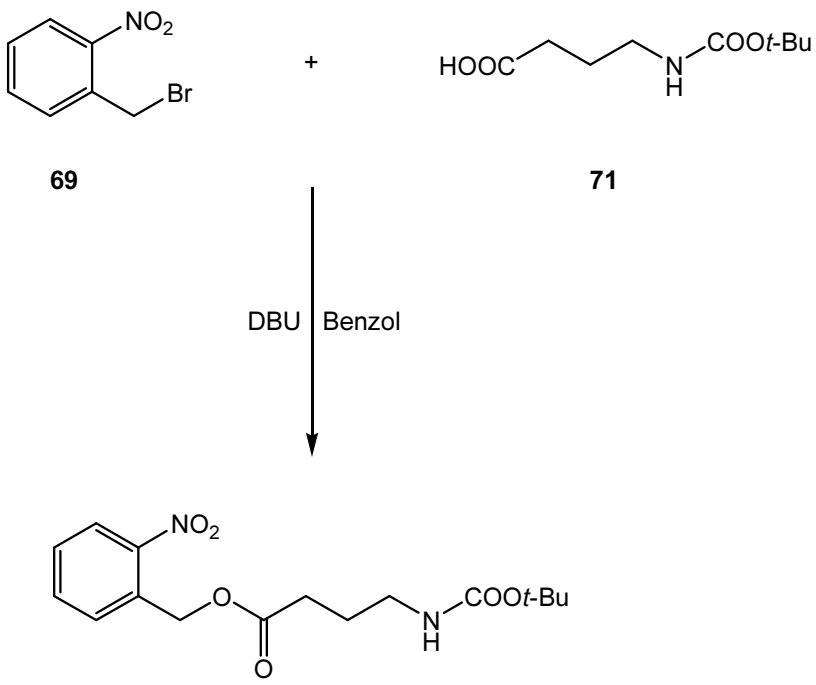
70 **71** **V 5**

Parallel erfolgt die Synthese der photolabilen Schutzgruppe in einem Schritt. Dies geschieht durch eine Wolf-Ziegler-Bromierung von 2-Nitrotoluol **68** in trockenem Tetrachlorkohlenstoff mit *N*-Bromsuccinimid (NBS) und Dibenzoylperoxid (DBPO) als Radikalstarter.



68 **69** **V 6**

Nach Darstellung der Schutzgruppe **69** erfolgt unter Lichtausschluss die Kopplung dieser mit der bereits im ersten Schritt geschützten *γ*-Aminobuttersäure **71** in Gegenwart von DBU.

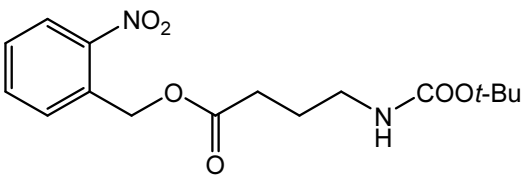


69 **71**

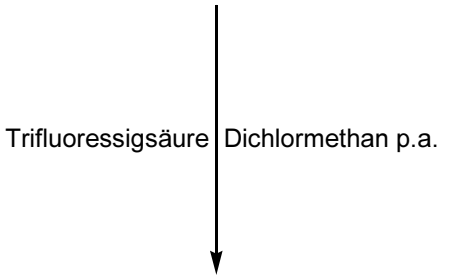
72

V 7

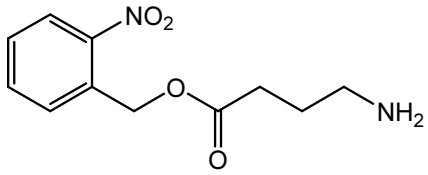
Abschließend wird im letzten Schritt unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluss die *tert*-Butoxycarbonyl-Schutzgruppe der Aminofunktion mittels Trifluoressigsäure entfernt.



72



V 8

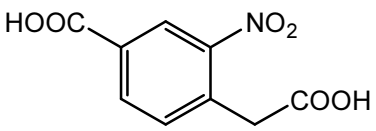


73

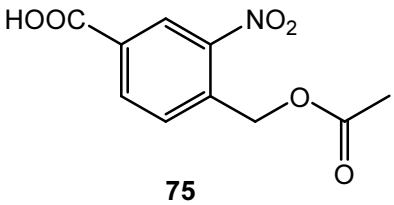
Die Synthesen der weiteren vier, für die Voruntersuchungen verwendeten Substanzen **74**, **75**, **76** und **77** werden in Kapitel 3.2.3.5 aufgeführt.

3.2.2.2.4 Voruntersuchungen

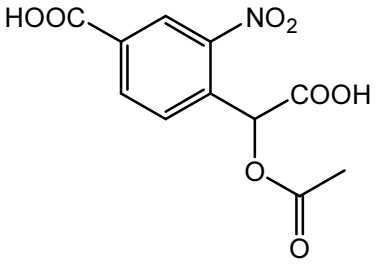
Um die Photoreaktion von *Caged Compounds* im ESI-Massenspektrometer untersuchen zu können, sollten zunächst Voruntersuchungen durchgeführt werden. Diese sollten Aufschluss geben, unter welchen Bedingungen ein Mutterion im ESI-Massenspektrum detektiert werden kann. Für diese Voruntersuchungen wurden die Verbindungen **74** bis **77** synthetisiert und anschließend vermessen. Es wurden diese vier Verbindungen dargestellt, das sie durch Deprotonierung der Carbonsäure-Gruppen bzw. Protonierung der Amino-Gruppe die für die Messungen notwendigen geladenen Teilchen bilden.



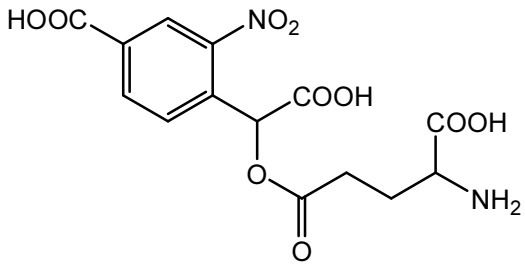
74



75



76



77

Für alle vier Verbindungen konnte ein Mutterion detektiert und in einer Ionenfalle isoliert werden. Des Weiteren konnte bei allen Verbindungen ein Ion mit doppelter Masse detektiert werden. Dies zeigt, dass diese Systeme nicht nur in Lösung, sondern auch in der Gasphase stabile Dimere ausbilden können. Untersucht man die ^{1}H-NMR-Spektren für Verbindung **74** und **76** näher, so beobachtet man einen doppelten Signalsatz, der genau diese Dimerenbildung widerspiegelt. Vergleicht man Dimer- und Monomer-Spektrum untereinander, so tritt im Dimer-Spektrum für das Signal der Methylengruppe eine Hochfeldverschiebung von 1.5 ppm auf. Diese Hochfeldverschiebung deutet darauf hin, dass es sich bei dem gebildeten Dimer um zwei Kopf-Schwanz gestapelte Moleküle handeln muss.

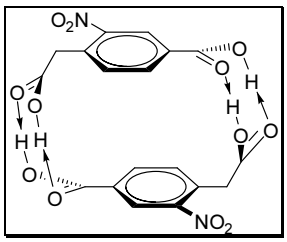
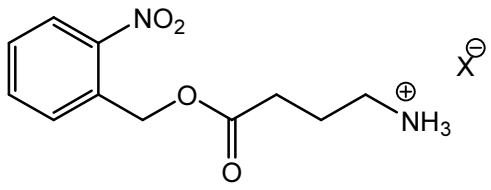


Abbildung 41: Schematische Darstellung eines Kopf-Schwanz geknüpften Dimers von **74**

Bei den ESI-MS-Messungen der Verbindungen **74** bis **77** wurde im Negativ-Modus gemessen. Dies bedeutet, von den Systemen wurden Carboxylat-Anionen detektiert. Messung mit dem synthetisierten Derivat **78**, *Caged* GABA wurden hingegen im

Positiv-Modus durchgeführt und die protonierte Spezies wurde als Kation detektiert. Auch in diesem Fall konnte - wie bei den vier übrigen Verbindungen - ein Mutterion detektiert werden (siehe Abbildung 42, rote Messkurve).



78

3.2.2.2.5 Ergebnisse

Nach abgeschlossenen Voruntersuchungen wurde in einem zweiten Schritt versucht, die Probe **78** direkt vor dem Einsprühen in die Ionisationskammer zu bestrahlen, um ihre Photoreaktion auch auf diesem Wege verfolgen zu können. Dazu wurde die Verbindung bei einer Wellenlänge von 308 nm bestrahlt und im Massenspektrometer analysiert. Das resultierende ESI-MS-Spektrum ist ebenfalls in Abbildung 42 gezeigt (blaue Kurve).

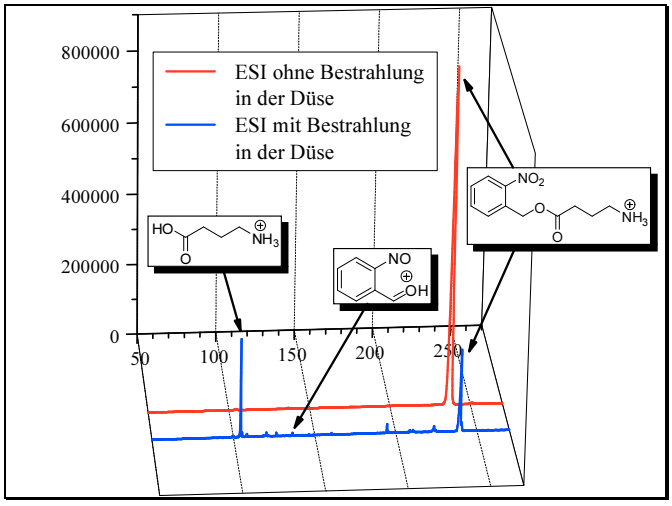


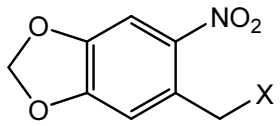
Abbildung 42: ESI-MS-Spektren von *Caged* GABA **78**

Betrachtet man das aufgenommene ESI-MS-Spektrum, so ist zu beobachten, dass die Intensität des Mutterions, der vor dem Einsprühen in den Ionisationsraum bestrahlten Probe abnimmt. Gleichzeitig erscheint ein zusätzlicher Peak mit hoher

Intensität. Dieser kann der durch die Photolyse freigesetzten protonierten *γ*-Aminobuttersäure (GABA) **70** zugeordnet werden. Dieses Ergebnis zeigt somit, dass sich die Photoreaktion mittels Elektrosprayionisations-Massenspektrometrie verfolgen lässt. Neben der Entstehung der freien protonierten *γ*-Aminobuttersäure **70** wird auch die Entstehung von protoniertem *o*-Nitrosobenzaldehyd **6** als zweites Produkt erwartet. Betrachtet man das aufgenommene ESI-MS-Spektrum, so erkennt man, dass auch für dieses erwartete Produkt eine entsprechende Masse detektiert werden konnte. Jedoch weist der zugehörige Peak nur eine sehr geringe Intensität auf. Dies ist vermutlich auf eine geringe Basizität der Verbindung zurückzuführen. Führt man die entsprechenden Messungen in alkalischer Lösung durch, so wird nur eine geringe Ausbeute an freier *γ*-Aminobuttersäure **70** beobachtet. Diese Tatsache bestätigt die Aussage, dass Photoreaktionen mit zunehmendem pH-Wert langsamer werden. Dies bedeutet, dass die Quantenausbeute Φ der Reaktion vermutlich abnimmt. Deswegen ist davon auszugehen, dass die geringe Ausbeute an freier *γ*-Aminobuttersäure **70** darauf zurückzuführen ist, dass eine Abspaltung der Abgangsgruppe aus dem geschützten GABA **73** noch nicht vollständig stattgefunden hat und die Ausbeute an freiem GABA **70** von der Zeit zwischen Photolyse und Detektion abhängt.

3.2.2.3 IR/R2PI-Spektroskopie

Schon in früheren Arbeiten war es zum Verständnis des Photolysemechanismus das Ziel, möglichst bathochrom absorbierende *Caged Compounds* des *o*-Nitrobenzyl-Typs **4** zu synthetisieren. Neben einer hohen bathochromen Absorption sollten diese zusätzlich auch schon eine möglichst hohe Quantenausbeute der Photolyse zeigen. Mit der Synthese folgenden Verbindungstyps **79** konnten solche Systeme dargestellt werden.



79

Untersuchungen dieser ergaben, dass die Verbindungen neben einem kurzlebigen reaktiven Singulett-Zustand auch einen noch nicht beobachteten, langlebigen, nicht reaktiven Triplett-Zustand besitzen.[35] Die Absorption dieses Zustandes kann dabei allerdings durch Sauerstoff als Triplett-Löscher deutlich reduziert werden, ohne dabei die Bildung des Photoproduktes zu beeinflussen. Hierbei handelt es sich nach Rechnungen um einen *Charge-Transfer*-Zustand (*CT*-Zustand).[47]

Zur Untersuchung des nicht reaktiven Triplett-Zustandes ist es nun geplant Verbindungen des Typs **79** zu synthetisieren und anschließend den angeregten Zustand dieser in Kooperation mit der physikalischen Chemie AK *Gerhards* mittels IR/R2PI-Messungen (R2PI = Resonant Two Photon Ionization) in der Gasphase zu charakterisieren.

3.2.2.3.1 Methodik

Die IR/R2PI-Spektroskopie erlaubt die Messung von Schwingungsspektren angeregter Zustände, bei der die Detektion der Signale massenspektrometrisch erfolgt. Man kann diese Methode in zwei Teilexperimente einteilen.

1. Teilexperiment (Abbildung 43):

Zur Untersuchung des Schwingungsspektrums des T_1-Zustandes wird im 1. Schritt die zu untersuchende Probe mittels UV-Laser in den S_1-Zustand angeregt. Von dort aus erfolgt eine strahlungslose Deaktivierung, mit anschließendem Inter-System-Crossing (ISC) in den angeregten T_1-Zustand (Schritt 2). Anschließend wird versucht, ausgehend vom T_1-Zustand zu photoionisieren ($D^{\bullet+}{}_0$). Dazu wird die Pulssequenz wiederholt und dabei die Wellenlänge des letzten Laserpulses solange variiert, bis diejenige Wellenlänge ermittelt ist, bei der die Ionisierung aus dem T_1 ihre maximale Ausbeute erreicht (maximales $D^{\bullet+}{}_0$). Die Ionisierung wird dabei im Massenspektrometer detektiert.

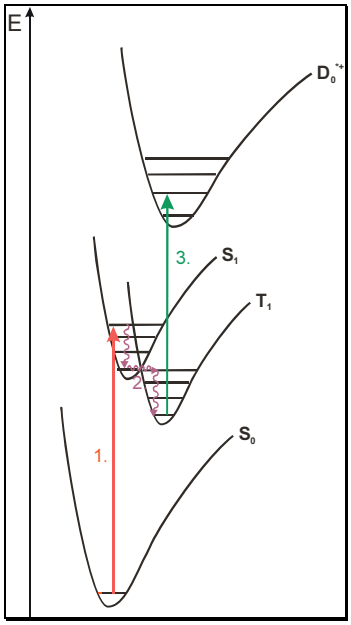


Abbildung 43: Graphische Darstellung des 1. Experiments der IR/R2PI-Spektroskopie

2. Teilexperiment (Abbildung 44):

Sind die optimalen Ionisierungsbedingungen gefunden, so wird im zweiten Experiment ebenfalls mit der Anregung der Probe mittels UV-Laser begonnen. Im 2. Schritt folgen analog dem des 1. Experimentes die strahlungslose Deaktivierung und der Übergang in ein niedriges Schwingungsniveau des angeregten T_1-Zustandes. Von dort aus wird nun mit Hilfe eines IR-Lasers gepulst (Schritt 3). Dabei wird dieser über verschiedene Wellenzahlen durchgestimmt. Nach einem Puls mit dem IR-Laser erfolgt abschließend ein erneuter Puls mittels UV-Laser. Bei diesem zweiten Experiment können nun zwei mögliche Fälle eintreten 1. Fall: Der eingestrahlte IR-Laser führt nicht zu einer Absorption. Dies hat nach einer weiteren Bestrahlung mit dem

UV-Laser zur Folge, dass sich die Menge der Radikalkationen ($D^{\bullet+}_0$) nicht ändert (Schritt 4). 2. Fall: Der eingestrahlte IR-Laser führt zu einer Absorption, welche dann nach weiterer Bestrahlung mit dem UV-Laser zu einer anderen Übergangswahrscheinlichkeit und somit einer anderen Menge an $D^{\bullet+}_0$ führt (Schritt 4´).

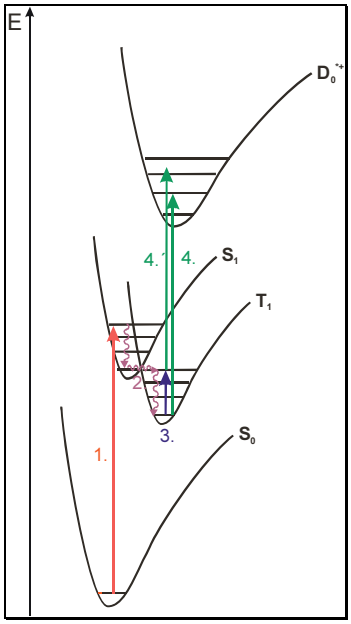


Abbildung 44: Graphische Darstellung des 2.Teils der IR/R2PI-Spektroskopie

Trägt man nun in einem Diagramm die Menge an gemessenem $D^{\bullet+}_0$ gegen die jeweiligen eingestellten Wellenzahlen auf, so erhält man für die vermessene Probe ein charakteristisches IR-Spektrum.

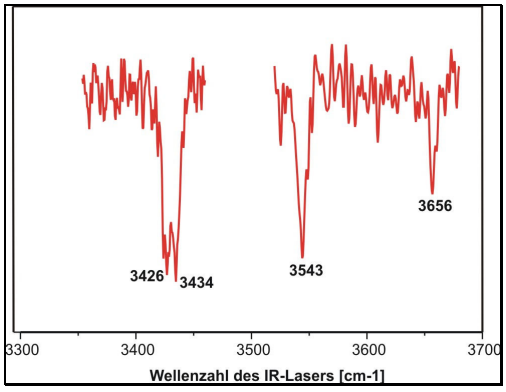


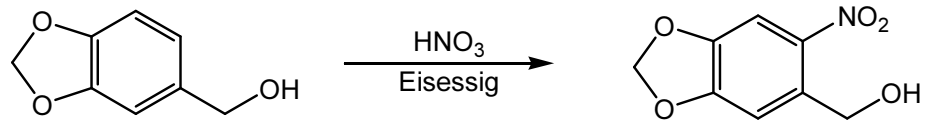
Abbildung 45: Beispiel für ein durch IR/R2PI-Spektrometrie erhaltenes IR-Spektrum des Peptidsystems Ac-Tyr-NH_2[48]

3.2.2.3.2 Synthesen

3.2.2.3.2.1 Synthese von (4,5-Methylendioxy-2-nitrobenzyl)-acetat 82

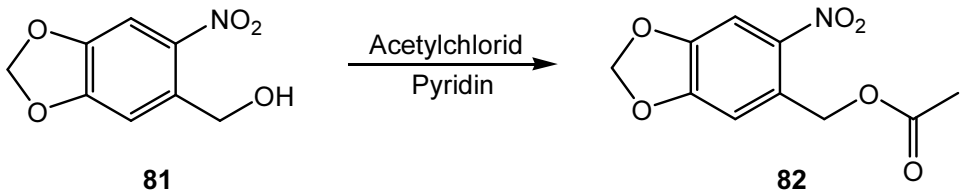
Die Darstellung von Verbindung **82** erfolgt ausgehend von käuflich erworbenem 4,5-Methylendioxybenzylalkohol **80** nach einer Synthesevorschrift von *F. Bley*[35] in zwei Schritten.

Im ersten Schritt erfolgt die Einführung einer Nitrogruppe in *o*-Position zur Alkohol-Funktion mittels Nitriersäure.



80 **81** **V 9**

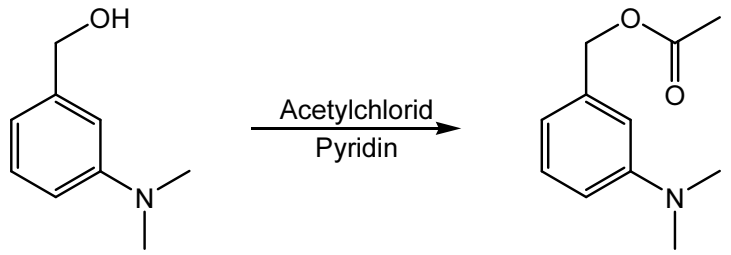
Abschließend erfolgt unter Lichtausschluss die Veresterung des Alkohols **81** mit Acetylchlorid in Pyridin.



81 **82** **V 10**

3.2.2.3.2.2 Synthese von [3-(Dimethylamino)benzyl]-acetat 84

Die Darstellung von [3-(Dimethylamino)benzyl]-acetat **84** erfolgt analog dem zweiten Schritt der Synthese von Verbindung **82**.



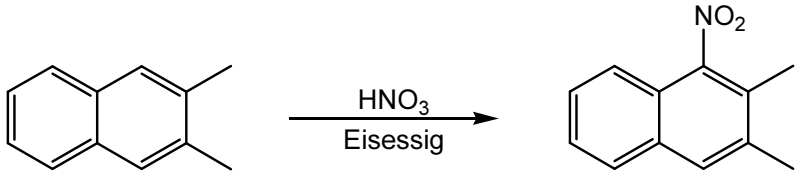
83 **84**

V 11

Jedoch ist hier aufgrund der hohen Reinheit keine säulenchromatoraphische Aufreinigung mehr erforderlich.

3.2.2.3.2.3 Synthese von 2,3-Dimethyl-1-nitronaphthalin 86

Nach einer Synthesevorschrift von *T. Wieland* und *E. Bäuerlein*[49] wird 2,3-Dimethyl-1-nitronaphtahlin **86** in einer einstufigen Synthese durch die Umsetzung von 2,3-Dimethylnaphthalin **85** mit einem Gemisch aus rauchender Salpetersäure und Eisessig synthetisiert.

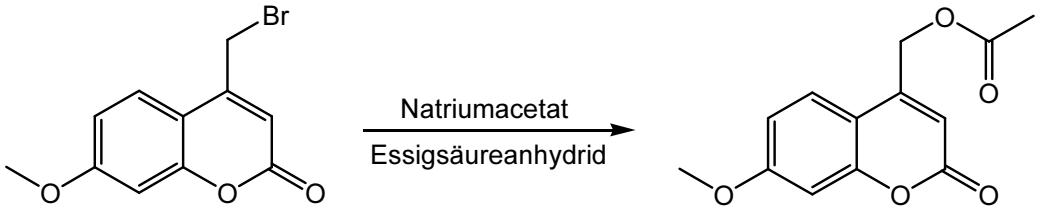


85 **86**

V 12

3.2.2.3.2.4 Synthese von 4-Acetoxymethyl-7-methoxycumarin 88

4-Acetoxymethyl-7-methoxycumarin **88** wird in Anlehnung an eine Synthesevorschrift von *T. Eckardt* et al [50] dargestellt.

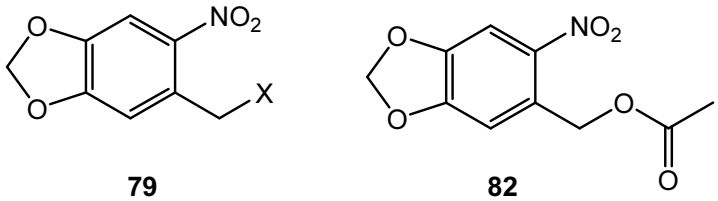


87 **88** **V 13**

Dazu wird in einer einstufigen Synthese käufliches 4-Brommethyl-7-methoxycumarin **87** mit Natriumacetat in Essigsäureanhydrid zum gewünschten Produkt verestert.

3.2.2.3.3 Ergebnisse

Um genauere Erkenntnisse über die nicht reaktiven Triplett-Zustände von bathochrom absorbierenden *Caged Compounds* des Verbindungstyps **79** erlangen zu können, war es in diesem Teil der Arbeit das Ziel, Verbindungen dieses Typs zu synthetisieren und in der Gasphase mittels IR/R2PI-Spektrometrie genauer zu charakterisieren. Für diese Untersuchungen wurde Verbindung **82** synthetisiert und IR/R2PI-Untersuchungen an ihr durchgeführt.

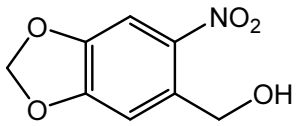


79 **82**

Da die Größenordnung der Ionisationspotentiale und damit die Anregungswellenlänge des UV-Lasers für *Caged Compounds* nicht bekannt waren, wurden für diese Verbindung große Wellenlängebereiche getestet. Jedoch zeigte sich in diesen Untersuchungen, dass es nicht möglich ist, IR/R2PI-Spektren von **82** zu erhalten, da

kein Mutterionensignal detektiert werden konnte. Jedoch wurden für verschiedene Anregungswellenlängen Fragmentierungen beobachtet, welche unter anderem der Abspaltung einer Nitrosogruppe und der Seitenkette zugeordnet werden können.

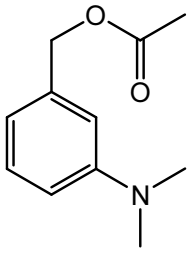
Infolge dessen wurde das stabilere Derivate **81** synthetisiert und untersucht.



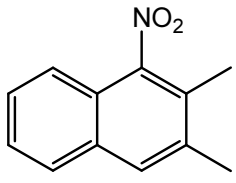
81

Allerdings konnte auch hier nur Fragmentierung beobachtet werden, welche der von **82** entspricht. Diese beiden Ergebnisse lassen somit darauf schließen, dass unter den gewählten Reaktionsbedingungen eine so schnelle Fragmentierung erfolgt, dass eine Analyse der Mutterionen mit Hilfe der kombinierten IR/UV-Methode für den angeregten Triplett-Zustand nicht möglich ist. Jedoch konnte eine massenspektrometrische und spektroskopische Analyse der einzelnen Fragmente vorgenommen werden.

Da beide synthetisierten Verbindungen leider nicht die gewünschten Ergebnisse lieferten, wurde die durch eine Amino-Gruppe, anstelle einer Nitro-Gruppe, stabilisierte Verbindung **84** und das, durch einen zusätzlichen aromatischen Ring, stabilere Naphthalen-Derivat **86** hergestellt.



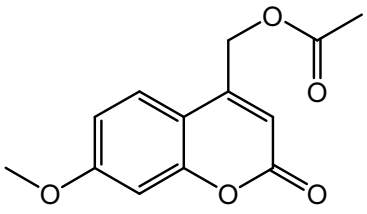
84



86

Aber auch bei diesen Systemen konnte keine Mutterionen-Detektion und somit auch keine erfolgreiche IR/R2PI-Untersuchung durchgeführt werden.

Um (unfragmentierte) *Caged Compounds* auch mit Hilfe der IR/R2PI-Spektrometrie in elektronisch angeregten Zuständen untersuchen zu können, wurde Verbindung **88**, ein Coumarinderivat, als Modell für eine alternative photolabile Schutzgruppe dargestellt.



88

Verbindung **88** wird zurzeit genauer im AK *Gerhards* untersucht. Erste Experimente zeigen allerdings, dass diese Verbindung im Gegensatz zu *Caged Compounds* des *o*-Nitrobenzyl-Typs **4** massenspektrometrisch als Mutterion infolge einer Zweiphotonen-Laseranregung nachgewiesen werden können. Die Aufnahme von IR/R2PI–Spektren elektronisch angeregter Zustände soll nun folgen.

3.2.3 Verbesserung von physikalischen und photochemischen Eigenschaften

Wie bereits im oberen Teil dieses Kapitels erwähnt, müssen *Caged Compounds* für den Einsatz in der *Laser-Puls-Photolyse* einige wichtige Kriterien erfüllen. Aus diesem Grund ist es im Rahmen dieser Arbeit weiterhin das Ziel, Verbindungen mit verbesserten physikalischen und photochemischen Eigenschaften zu synthetisieren. Hauptaugenmerk liegt dabei auf der Synthese von Systemen, die eine geringe Anregungsenergie und eine hohe Quantenausbeute aufweisen. Da es allerdings nicht möglich ist bathochromer absorbierende *Caged Compounds* wie die des Verbindungstyps **79** herzustellen (siehe Kapitel 3.2.2.3), sollen Triplett-Sensibilisatoren eingesetzt werden. Hierbei ist es das Ziel, durch einen Triplett-Triplett-Energietransfer zwischen Sensibilisator und *Caged Compound* eine Verbesserung hinsichtlich dieser beiden Kriterien zu erlangen. Voraussetzung für eine erfolgreiche Sensibilisierung ist allerdings, dass der verwendete Triplett-Sensibilisator eine höhere Triplettenergie als die *o*-Nitrobenzyl-Verbindung besitzt und eine möglichst hohe Quantenausbeute aufweist. Ein Triplett-Triplett-Energietransfer findet dabei jedoch nicht nach dem bekannten Förster-Mechanismus, sondern nach dem Dexter-Mechanismus statt. Dies hat zur Folge, dass der Triplett-Triplett-Energietransfer zwischen den beiden Verbindungen nur über einen kurzen Abstand möglich ist. Dies bedeutet, dass ein effektiver Transfer der Energie nur dann gewährleistet ist, wenn eine möglichst hohe Konzentration an Sensibilisator vorliegt oder der Sensibilisator kovalent an das *Caged Compound* gebunden ist. Jedoch müssen hohe Sensibilisator-Konzentrationen vermieden werden, da Triplett-Sensibilisatoren unerwünschte Reaktionen in biologischen Systemen auslösen können. Daher ist es sinnvoller Verbindungen zu synthetisieren, in denen *Caged Compound* und Sensibilisator aneinander gebunden sind. Dieses Konzept wurde von *Steiner* und *Wöll* bereits für die 2-(2-Nitrophenyl)propoxycarbonyl (NPPOC)-Schutzgruppe erfolgreich eingesetzt.[51-53]

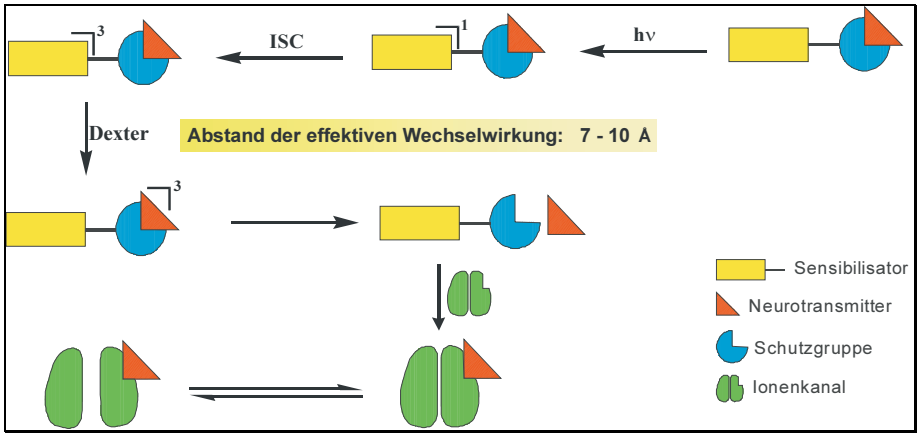


Abbildung 46: Schema für den Energietransfer zwischen Sensibilisator und *Caged Compound*[54]

Wie in Abbildung 46 dargestellt geht bei einem Energietransfer zwischen Sensibilisator und *Caged Compound* der Sensibilisator nach einer selektiven Anregung in den angeregten Singulett-Zustand und wechselt anschließend durch Inter-System-Crossing (ISC) in den Triplett-Zustand (T_1). Sodann erfolgt die Übertragung der Energie und des Spins des Sensibilisators auf das *Caged Compound* nach dem Dexter-Mechanismus und anschließend die Freisetzung des Neurotransmitters durch photochemische Abspaltung. Der freie Neurotransmitter kann dann an den Ionenkanal binden und führt so zu einem Öffnen dieser. Um eine effektive Wechselwirkung zwischen Sensibilisator und *Caged Compound* zu erhalten, darf beim Dexter-Mechanismus eine Distanz zwischen diesen von 7-10 Angström nicht überschritten werden. Um geeignete Systeme für einen solchen effizienten Energietransfer zu finden, wird die Synthese von *Caged Compounds* mit zur Kopplung geeigneten funktionellen Gruppen angestrebt und ein Screening nach potentiellen Sensibilisatoren durchgeführt.

3.2.3.1 Energietransfer

Wie im vorherigen Kapitel bereits erwähnt, ist es das Ziel durch den Einsatz von Sensibilisatoren verbesserte Systeme für die Anwendung in der Biochemie und Biophysik zu schaffen. Dabei hat der Sensibilisator die Aufgabe seine Energie mittels Energie- und Spintransfer auf das *Caged Compound* zu übertragen und es somit in einen Triplett-Zustand zu überführen.

Im Folgenden sollen die möglichen Mechanismen des Energietransfers näher erläutert werden.

Energietransfer

Bei einem Energietransfer (ET) wird ein angeregtes Molekül (Donor) zu einem niedriger liegenden Zustand deaktiviert, in dem es seine Anregungsenergie auf ein im Grundzustand befindliches Molekül (Akzeptor) überträgt. Dieses geht dabei in einen angeregten Zustand über.

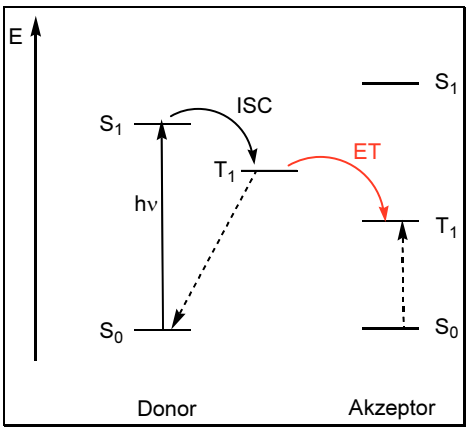


Abbildung 47: Schematische Darstellung eines Energietransfers

Den Donor einer solchen Reaktion bezeichnet man auch als „Sensibilisator“ und den Akzeptor als „Photoreaktives System“. Man unterscheidet bei einem Energietransfer zwischen zwei möglichen Mechanismen: Dem Förster-Mechanismus und dem Dexter-Mechanismus.

Förster-Mechanismus

Der Förster-Mechanismus wird auch als Fluoreszenz-Resonanz-Energietransfer (FRET), Förster-Resonanz-Energietransfer; Coulomb-Mechanismus oder Dipol-Dipol-Mechanismus bezeichnet.[55] Er beruht auf der Wechselwirkung zwischen Übergangsdipolmomenten und findet bei der Energieübertragung zwischen Molekülen statt, deren Abstand weniger als 10 nm beträgt. Er ist somit im Vergleich zum Dexter-Mechanismus ein weiter reichender Energietransfer.

$$^1D^* + A_0 \longrightarrow D_0 + {}^1A^*$$

Schematisch kann die Energieübertragung nach dem Resonanzmechanismus wie folgt dargestellt werden:[55]

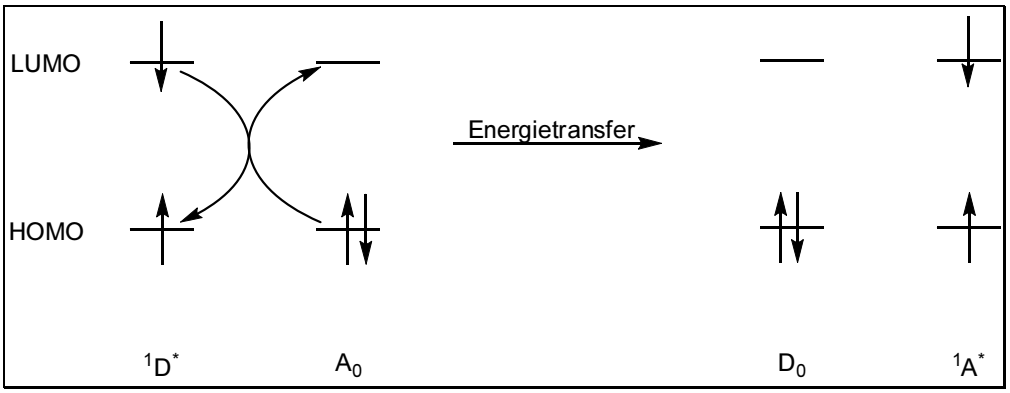


Abbildung 48: Singulett-Singulett-Energietransfer nach Förster

Beim Förster-Resonanz-Energietransfer wird das angeregte Molekül als schwingender Dipol-Oszillator betrachtet, von dem aus die Anregungsenergie als elektromagnetische Schwingung auf ein benachbartes Molekül übertragen wird. Damit ein FRET erfolgen kann, müssen bestimmte Bedingungen erfüllt sein.

- Donor- und Akzeptormolekül dürfen keinen zu großen Abstand voneinander aufweisen. Typische Abstände liegen zwischen 1 - 10 nm.
- Das Überlappungsintegral *J* des Absorptionsspektrums des Akzeptors mit dem Emissionsspektrum des Donors muss möglichst groß sein.

Das Überlappungsintegral *J* ist wie folgt definiert:

$$J = \int_0^\infty F_A(\tilde{\nu}) \cdot \varepsilon_D(\tilde{\nu}) \frac{d\tilde{\nu}}{\tilde{\nu}^4} \qquad (4)$$

mit: $$\int_0^\infty F_A(\tilde{\nu})d\tilde{\nu} = \int_0^\infty \varepsilon_D(\tilde{\nu})d\tilde{\nu} = 1$$

F_A: normierte Fluoreszenzwerte des Absorbers

ε_D: normierte Exktionswerte des Donors

$\tilde{\nu}$: Wellenzahl

- Die Dipole des Akzeptors und des Donors müssen möglichst parallel sein, da der FRET eine Dipol-Dipol-Wechselwirkung ist.

Die Transfergeschwindigkeitskonstante k_{ET} des Förster-Mechanismus wird wie folgt beschrieben:

$$k_{ET} \sim \frac{f_F f_A}{R_{FA}{}^6 \tilde{\nu}^2} \cdot J \qquad (5)$$

Es wird ein Orientierungsfaktor κ^2 definiert.

$$\kappa^2 = (\cos\theta_T - 3\cos\theta_D \cos\theta_A)^2 \qquad (6)$$

θ_T: Winkel zwischen Donor-Emission-Dipol und Akzeptor-Emission-Dipol

θ_A: Winkel zwischen Abstandsgeraden und Akzeptor-Emission-Dipol

θ_D: Winkel zwischen Abstandsgeraden und Donor-Emission-Dipol

Je nach Ausrichtung der Dipole zueinander, kann der Orientierungsfaktor κ^2 Werte zwischen 0 und 4 annehmen. In statistisch verteilten Systemen ist $\kappa^2 = 2/3$.

Handelt es sich bei Donor- und Akzeptormolekül um die gleiche Spezies, so erfolgt der FRET ohne Energieverlust. Bei ungleichen Molekülen kann der angeregte Zustand des Akzeptormoleküls energetisch niedriger liegen als der des Donormoleküls. Die dadurch entstehende Energiedifferenz wird in Form von Wärme abgegeben. Tritt der umgekehrte Fall auf, das heißt, findet eine Energieübertragung zu einem höher liegenden angeregten Akzeptorzustand statt, so kann die fehlende Energie hierbei aus Translations-, Schwingungs- und Rotationsenergien des Akzeptors gewonnen werden.

Als Maß für die Wechselwirkung zwischen Akzeptor (Emitter) und Donor (Absorber) wurde der Förster-Radius R_0 eingeführt. Dieser stellt den Donor-Akzeptor-Abstand dar, bei dem die Wahrscheinlichkeit für einen Resonanz-Energie-Transfer genau 50 % beträgt.[56] Es werden dann genau 50 % der angeregten Donormoleküle durch Energietransfer deaktiviert.

Der Förster-Radius kann wie folgt bestimmt werden:

$$R_0^6 = \frac{9000 \cdot (\ln 10) \cdot \kappa^2 \cdot \phi_A}{128 \cdot \pi^5 \cdot n^4 \cdot N} \cdot J \qquad (7)$$

ϕ_A: Quantenausbeute des Absorbers

κ^2: Orientierungsfaktor

n: Brechungsindex des Lösungsmittels

N: Avogadro-Zahl

J: Überlappungsintegral

Der Förster-Radius kann auch mit Hilfe der kritischen Konzentration C_0 berechnet werden:

$$R_0^3 = \frac{3000}{4 \cdot \pi \cdot N \cdot C_0} \qquad (8)$$

R_0: Förster-Radius (in cm)

N: Avogadro-Zahl

C_0: kritische Konzentration (in mol/l)

Die kritische Konzentration C_0 stellt die Akzeptor-Konzentration dar, bei der die Fluoreszenz des Donors zu 50 % durch FRET gelöscht wird.[56] Die Bestimmung der kritischen Konzentration erfolgt durch die Messung der Donorfluoreszenz in Abhängigkeit von der Akzeptor-Konzentration.

Es gilt die Stern-Volmer-Gleichung.

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K \cdot [A] \qquad (9)$$

F_0: Fluoreszenzintensität ohne Akzeptorzusatz
F: Fluoreszenzintensität mit Akzeptorzusatz
K: dynamische Transferkonstante
[A]: Akzeptorkonzentration

Trägt man (F_0 /F-1) gegen die Akzeptorkonzentration auf, so erhält man eine Gerade. Bei dem Wert (F_0 /F-1) = 1 gilt [A] = C_0. Eine solche Auftragung bezeichnet man als Stern-Volmer-Plot.[56]

Dexter-Mechanismus

Der Dexter-Mechanismus ist ein Energietransfer als Ergebnis einer Elektronenaustauschwechselwirkung.[1, 57] Beim Dexter-Mechanismus ist es wichtig, dass die Wellenfunktionen der beiden beteiligten Systeme miteinander überlappen, so dass der Energietransfer nur bei einem Molekülabstand von 0.7 - 1.0 nm erfolgen kann. Weiterhin muss die Spinerhaltungsregel von *Wigner* gelten, die besagt, dass sich der Gesamtspin eines angeregten Systems durch Transfer von elektronischer Energie zu einem anderen System im Grundzustand oder angeregten Zustand nicht ändern soll.[1] Der Energietransfer nach Dexter ist sowohl bei Triplett-Triplett-Energietransfer und bei Singulett-Singulett-Energietransfer möglich.

$$^3D^* + A_0 \longrightarrow D_0 + {}^3A^*$$

$$^1D^* + A_0 \longrightarrow D_0 + {}^1A^*$$

Jedoch tritt der Singulett-Singulett-Energietransfer seltener auf, da die Singulett-Zustände für einen Energietransfer meist zu kurzlebig (~10^{-11}-10^{-7} s) sind.[55, 58]

Die Transfergeschwindigkeitskonstante k_{ET} wird wie folgt beschrieben:[59]

$$k_{ET} = K*J*e^{-(2R/L)} \qquad (10)$$

K: Orientierungsfaktor
J: spektrales Überlappungsintegral
R: Abstand des Donors und des Akzeptors zueinander
L: effektiver mittlere Bohr-Radius

Im Folgenden sind die beiden möglichen Energieübertragungsreaktionen schematisch dargestellt. Jedoch ist dabei zu berücksichtigen, dass kein Elektronen-Transfer stattfindet; man aber den Prozess als virtuellen Elektronen-Transfer auffassen kann.

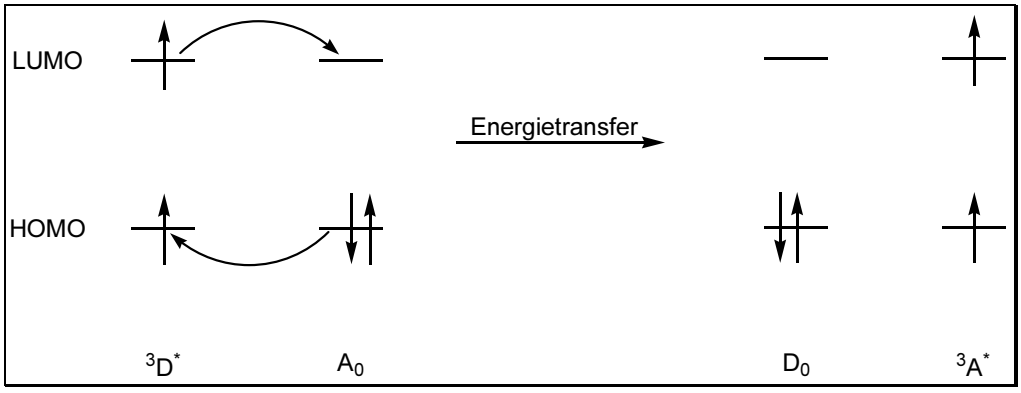


Abbildung 49: Triplett-Triplett-Energietransfer nach Dexter

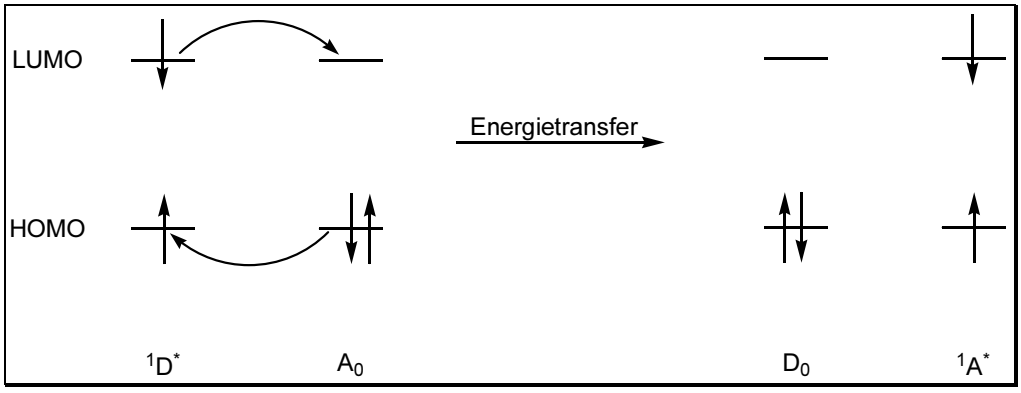
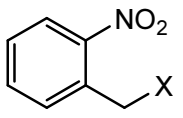


Abbildung 50: Singulett-Singulett-Energietransfer nach Dexter

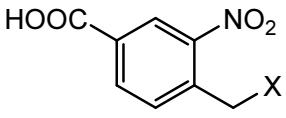
Beim Dexter-Mechanismus spielen Elektronenaustauschwechselwirkungen eine Rolle, die quantenmechanisch durch die Elektronenaustauschintegrale beschrieben werden.

3.2.3.2 Caged Compounds als Akzeptoren

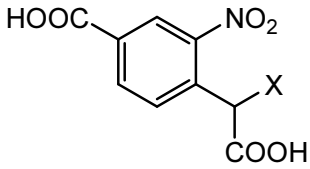
Für unsere Untersuchungen sollen nachstehende *Caged Compounds* vom *o*-Nitrobenzyl-Typ **4** dargestellt werden. Dabei dient Verbindung **89** als allgemeine Modellverbindung beim Screening nach für diesen *Caged Compound*-Typ geeigneten Sensibilisatoren. Weiterhin wird die Synthese der carboxylierten Verbindungen **90**, **91** und **92** angestrebt, durch deren Carbonsäurefunktion an der Schutzgruppe der gefundene Sensibilisator über z. B. eine Amid-Bindung an das *Caged Compund* angehängt werden soll. Durch diese Kopplung ist es möglich einen effizienten Energietransfer zwischen Sensibilisator und *Caged Compound* zu gewährleisten.



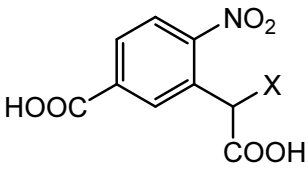
89



90



91

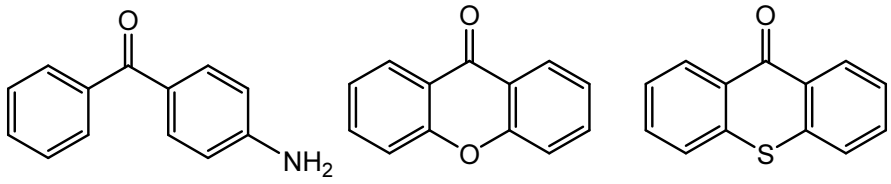


92

3.2.3.3 Sensibilisatoren

Um ein erfolgreiches Screening nach geeigneten Sensibilisatoren durchführen zu können, ist es erforderlich die Triplett-Energien von *Caged Compounds* zu kennen. Da diese allerdings bisher unbekannt sind, dient für die Untersuchungen die Triplett-Energie von Nitrobenzol (61 kcal/mol) als Anhaltspunkt. Bei der Auswahl geeigneter Sensibilisatoren sind zwei Kriterien zu berücksichtigen: Zum einen sollen sie eine höhere Triplettenergie als die *o*-Nitrobenzyl-Verbindung besitzen und zum anderen eine möglichst hohe Tripletrt-Quantenausbeute aufweisen. Werden diese beiden Kriterien berücksichtigt, so sind unter anderem folgende drei Substanzen als

mögliche Sensibilisatoren für unsere Messungen von Interesse. Es sind 4-Aminobenzophenon **93**, Xanthon **94** und Thioxanthon **95**.



93

4-Aminobenzophenon
E_T = 69 kcal/mol
Φ = 1

94

Xanthon
E_T = 74 kcal/mol
Φ = 1

95

Thioxanthon
E_T = 60 kcal/mol
Φ = 1

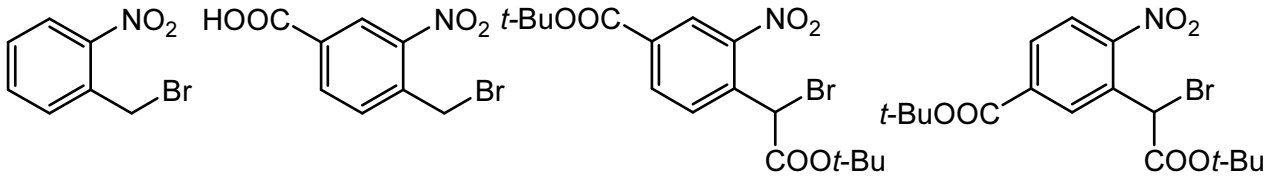
Um den oder die effizientesten Sensibilisatoren für die Sensibilisierung von **89** bis **92** identifizieren zu können, werden zunächst Messungen mit einer Mischung von Sensibilisator und *Caged Compound* in Lösung durchgeführt. In weiteren Arbeiten sollen diese dann miteinander zum Bichromophor gekoppelt werden. Aufgrund des so erhaltenen geringen Abstandes zwischen *Caged Compound* und Sensibilisator, welche für einen effizienten Energietransfer nötig ist, sind so hohe Konzentrationen an Sensibilisator nicht mehr erforderlich.

3.2.3.4 Syntheseplanung

Die vollständige Synthese von *Caged Compounds* lässt sich generell in zwei Abschnitte einteilen. Den ersten und auch zeitlich aufwendigsten Teil bildet dabei die Darstellung der Schutzgruppe. Den zweiten Teil stellt im Anschluss die Kopplung dieser mit einem Neurotransmitter dar. Da Neurotransmitter meist über eine oder mehrere funktionellen Gruppen mit nucleophilen Eigenschaften verfügen, wird eine von diesen für die Kopplung zwischen photolabiler Schutzgruppe und Neurotransmitter genutzt.[25] Jedoch müssen bei Neurotransmittern mit mehr als nur einer kopplungsfähigen Gruppe, wie z.B. GABA **70**, die zur Kopplung nicht erwünschten Stellen mit geeigneten Gruppen geschützt werden.

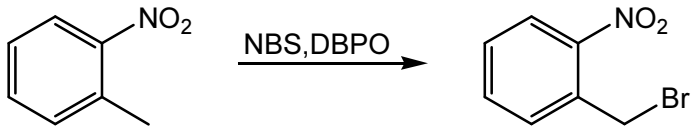
Die Synthese einer photolabilen Schutzgruppe mit einem an geeigneter Position[23] zur Kopplung sitzendem Nucleofug stellt ein wichtiges Syntheseziel dar. Da als gängiges Nucleofug ein Bromidion genutzt werden kann[60], zielt die Synthese der

Schutzgruppen auf eine Darstellung der für unsere Kopplungen geeigneten Bromide **69**, **96**, **97** und **98** ab.



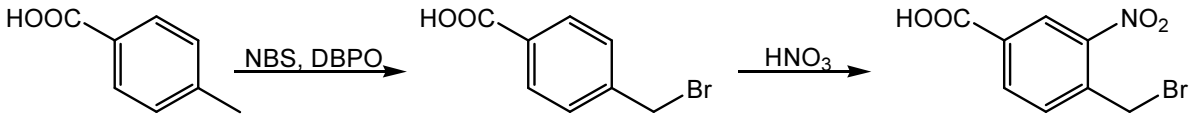
69 **96** **97** **98**

Die photolabile Schutzgruppe **69** wird, wie in Kapitel 3.2.2.2.3 bereits beschrieben, mittels Wohl-Ziegler-Bromierung von 2-Nitrotoluol **68** dargestellt.



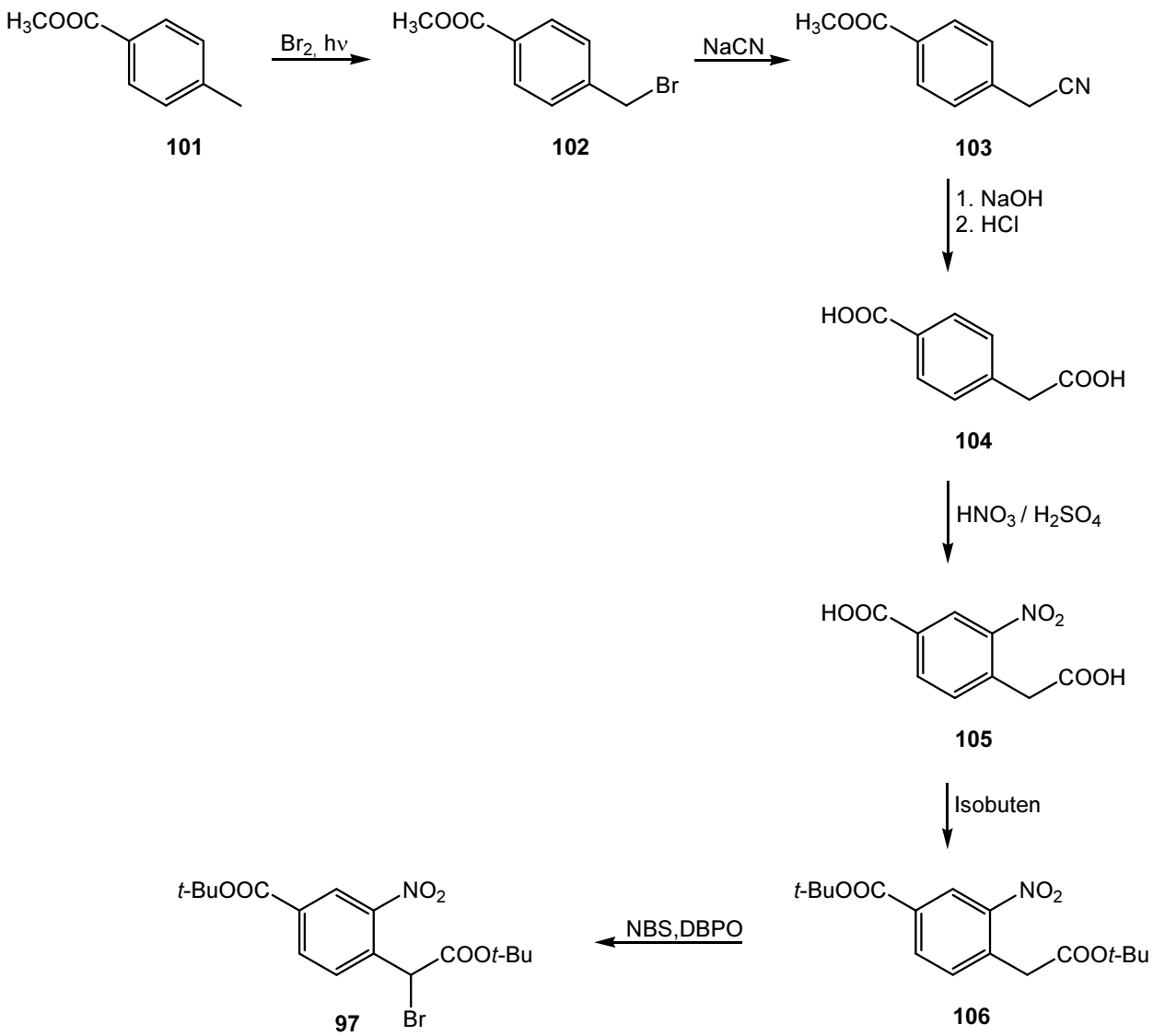
68 **69**

Der Syntheseweg der photolabilen Monocarbonsäure **96** verläuft wie folgt über zwei Schritte. Ausgehend von 4-Methylbenzoesäure **99** wird Verbindung **100** durch eine Bromierung mit *N*-Bromsuccinimid (NBS) dargestellt und anschließend in *m*-Position zur Carbonsäure-Gruppe nitriert.



99 **100** **96**

Die Synthese für die Schutzgruppe **97** geht von 4-Methylbenzoesäuremethylester **101** aus. Hier wird durch eine radikalische Substitution die Methylgruppe durch Brom aktiviert und es erfolgt eine Kettenverlängerung um ein C-Atom durch eine Kolbe-Nitrilsynthese zum Alkylnitril **103**. Anschließend folgt eine basische Hydrolyse des Nitrils **103** zur Homoterephthalsäure **104** und mittels aromatischer elektrophiler Substitution wird die Nitrogruppe in *m*-Position zur Carboxy-Gruppe eingeführt.



Möchte man das Prinzip des Aufbaus einer Dicarbonsäure nun analog auf die Synthese der Schutzgruppe **98** anwenden, so ist dies nicht möglich, da *m*-dirigierende Substituenten, nämlich –Nitro-Gruppe und –Carbonsäure-Gruppe, in gegenüberliegender *p*-Position vorliegen.[25] Dieses Problem kann allerdings mittels einer vermittelten nucleophilen Substitution (vicarious nucleophilic substitution, VNS-Reaktion) im 2. Schritt der Synthese umgangen werden.

Ausgehend von Thiophenol **107** und Chloracetonitril kann in einem Schritt Thiophenoxyacetonitril **108** als Reagenz für die Einführung der Seitenkette dargestellt werden. Durch die nun anschließende VNS-Reaktion mit 4-Nitrobenzoesäure im Basischen erhält man Verbindung **109**. Ausschlaggebend ist hierbei die, für die VNS-Reaktion wesentliche Aktivierung der Nitro-Gruppe auf die *o*- und *p*-Position im Aromaten. Die im vorliegenden Fall partiell positive Ladung in *o*-Position ermöglicht

den nucleophilen Angriff des Carbanions, welches durch die Baseneinwirkung auf Thiophenoxyacetonitril **108** entsteht. Eine anschließende wässrige Aufarbeitung ermöglicht die Rückbildung zum aromatischen System unter Protonierung.[25]

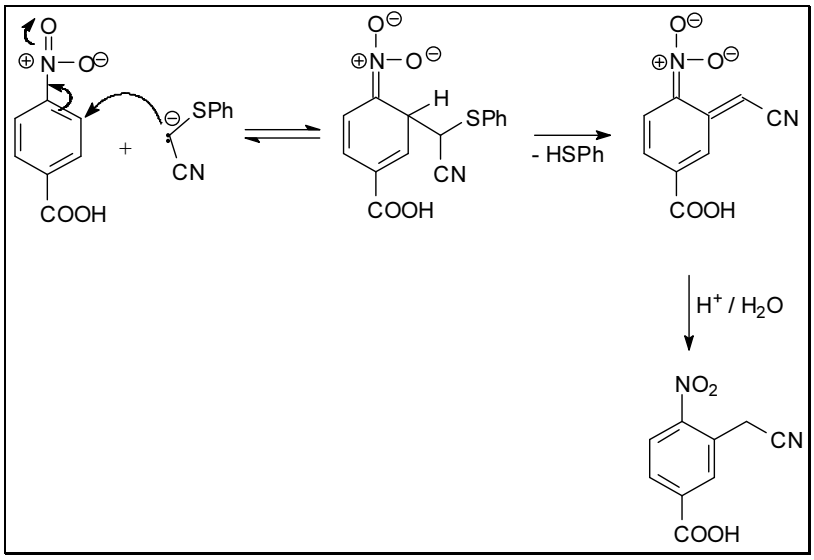
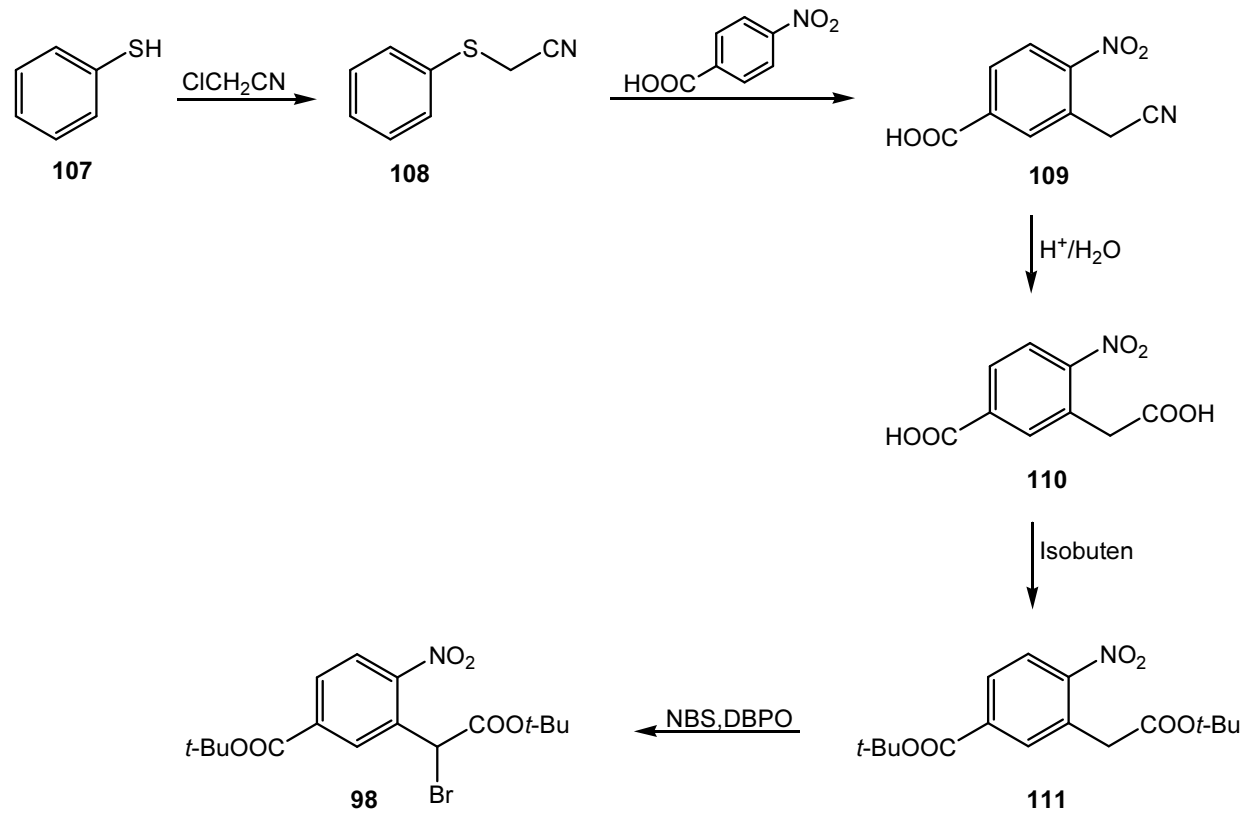


Abbildung 51: Mechanismus der VNS-Reaktion

Durch saure Hydrolyse des erhaltenen Nitrils **109** erhält man die Dicarbonsäure **110**.

Ausgehend von den beiden so erhaltenen Dicarbonsäuren werden im letzten Schritt die beiden gewünschten Schutzgruppen **97** und **98** nach Schützen der Carbonsäure-Gruppen als *tert*-Butylester und abschließender Aktivierung in α-Position durch NBS-Bromierung erhalten.

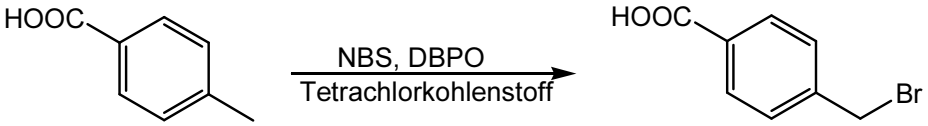


107 **108** **109** **110** **111** **98**

Die durch Bromierung aktivierten photolabilen Schutzgruppen **69**, **97** und **98** lassen sich nun mit entsprechenden Neurotransmittern koppeln. Dabei findet die Kopplung in beiden Fällen unter Verwendung von 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) als Base statt. Abschließend erfolgt die Entfernung der vorhandenen *tert*-Butyl-Schutzgruppen mittels Trifluoressigsäure. Die Kopplung von Schutzgruppe **96** erfolgt allerdings nicht mit DBU, sondern durch Umsetzen dieser mit Natriumacetat in Essigsäure.

3.2.3.5 Synthesen

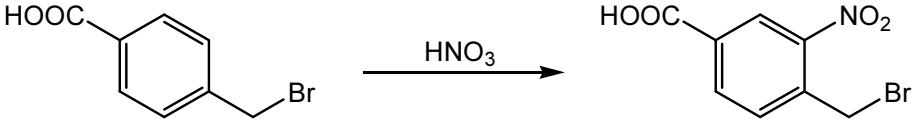
3.2.3.5.1 Synthese von 4-(Acetoxymethyl)-3-nitrobenzoesäure 112



99 **100** **V 14**

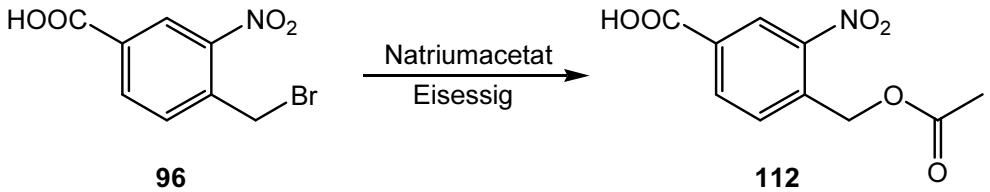
Nach einer Synthesevorschrift von *D. L. Tuleen* und *B. A. Hess, Jr.*[61] wird im ersten Schritt ausgehend von 4-Methylbenzoesäure **99** Verbindung **100** durch eine Bromierung mit *N*-Bromsuccinimid (NBS) in trockenem Tetrachlorkohlenstoff in Form von feinen, weißen Kristallen mit einer Ausbeute von 50 % erhalten.

Die erhaltene 4-Brommethylbenzoesäure **100** wird mit einer Ausbeute von 82 % nach einer Vorschrift von *G. Barany* und *F. Albericio*[62] mit rauchender Salpetersäure in *meta*-Position zur Carbonsäure-Funktion nitriert.



100 **96** **V 15**

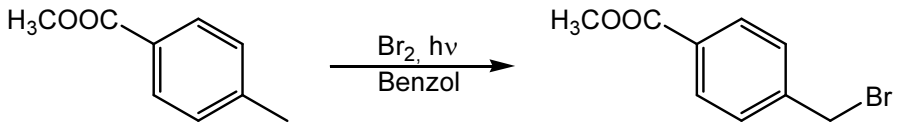
Die abschließende Veresterung zur 4-(Acetoxymethyl)-3-nitrobenzoesäure **112** mit wasserfreiem Natriumacetat in Eisessig bei 100 °C wird analog der Synthese-vorschrift von *G. Barany* und *F. Albericio*[62] durchgeführt. Man erhält dabei das gewünschte Produkt nach abschließender Umkristallisation in einer Ausbeute von 76 %.



96 **112** **V 16**

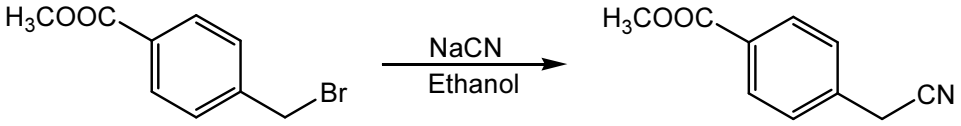
3.2.3.5.2 Synthese von 4-[Acetoxy(carboxy)methyl]-3-nitrobenzoesäure 114

Ausgehend von 4-Methylbenzoesäuremethylester **101** wird Verbindung **102** radikalisch mit elementarem Brom in Benzol unter Bestrahlung mit Licht erhalten. Die Aufarbeitung erfolgt durch fraktionierte Destillation im Ölpumpenvakuum und man erhält das Bromid in einer Ausbeute von 71 %.[25]



101 **102** **V 17**

Das Bromid **102** wird anschließend mittels Kolbe-Nitril-Synthese zum Methyl-4-(cyanomethyl)benzoat **103** umgesetzt. Jedoch beträgt nach vollständiger Aufreinigung die Ausbeute an reinem Produkt nur 6 %.

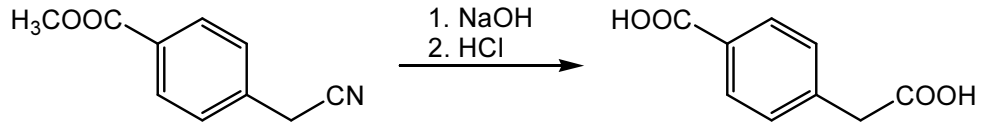


102 **103** **V 18**

Daher erwies es sich als günstiger auf eine Aufreinigung des Rohproduktes zu verzichten (siehe Versuchsbeschreibung **V 19** und **V 20**) und das Rohprodukt direkt in der nächsten Stufe einzusetzen. **V 19** **V 20**

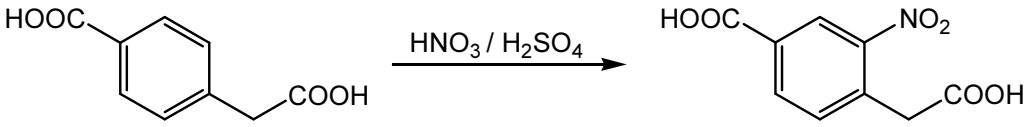
Die nun folgende doppelte Verseifung des Methyl-4-(cyanomethyl)benzoats **103** kann sowohl sauer als auch basisch erfolgen. Jedoch zeigte sich, dass eine basische Verseifung mit Natriumhydroxid empfehlenswert ist, da durch das Arbeiten unter zunächst basischen Bedingungen und anschließendem Ansäuern mit Salzsäure die gewünschte Dicarbonsäure **104** in relativ guten Ausbeuten ausfällt. Bei der sauren Hydrolyse hingegen ist die Isolierung des gewünschten Produkts wesentlich schwieriger und vor allem langwieriger, da erst durch die Lagerung über einen längeren Zeitraum bei 4°C ein Auskristallisieren erfolgt.

Zur weiteren Aufreinigung kann das Rohprodukt aber in beiden Fällen aus Eisessig umkristallisiert werden. Jedoch ist bei der Umkristallisation darauf zu achten, dass das Produkt nicht über einen längeren Zeitraum der hohen Siedetemperatur des Eisessigs (116-118 °C) ausgesetzt ist, da es ansonsten zu einer Decarboxylierung der Säuregruppen kommen kann.



103 **104** **V 21**

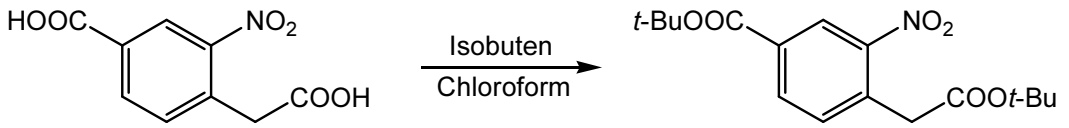
Die in einer Ausbeute von 23 % erhaltene (4-Carboxyphenyl)essigsäure **104** kann nun mittels Nitriersäure unter Eiskühlung bei 0 °C nitriert werden.



104 **105** **V 22**

Weiterhin wurde auch versucht durch Variation in der Reaktionsführung und der Säurenverhältnisse zueinander die Ausbeute der Reaktion zu steigern (siehe Versuchsbeschreibung **V 23** und **V 24**). Jedoch konnte bei diesen Synthesen mit Ausbeuten von 34 % bzw. 49 % die in **V 22** erreichte Ausbeute von 73 % nicht annähernd erzielt werden. **V 23** **V 24**

Im nächsten Schritt erfolgt nun die Einführung der Schutzgruppe für die beiden Carbonsäurefunktionen durch die Versterung zum *tert*-Butylester. Dabei hat sich im Arbeitskreis *K. Schaper* die Einkondensation von Isobuten in eine Dicarbonsäure-Chloroform-Suspension unter Zugabe von konzentrierter Schwefelsäure als Katalysator in den letzten Jahren etabliert. Die Reaktion wird dabei in einem Glas-autoklaven durchgeführt. Man erhält bei dieser Reaktion das gewünschte reine Produkt direkt ohne notwendige Aufreinigung in einer Ausbeute von 77 %.



105 **106**

V 25

Eine weitere Möglichkeit für das Schützen der Carbonsäuregruppen bietet die Verwendung von *tert*-Butylacetat mit Perchlorsäure als Katalysator. Hierbei wird die Reaktion ebenfalls in einem Glasautoklaven durchgeführt. Auf Grund der hohen Reinheit ist auch bei dieser Durchführung ein weiteres Aufreinigen des Rohproduktes nicht erforderlich. Jedoch wird das Produkt nur in einer Ausbeute von 57 % rein erhalten.

V 26

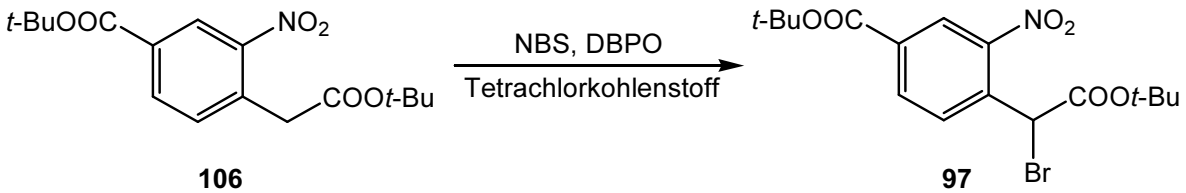
Führt man diese Synthese allerdings in Anlehnung an *A. Mobarekeh*[63] nicht im Autoklaven, sondern in einer nicht geschlossenen Apparatur durch, so erweist sich eine säulenchromatograpische Aufreinigung des Rohprodukts als notwendig. Jedoch erhält man das gewünschte Produkt danach nur noch in einer Ausbeute von 50 %. Dieser Ausbeuteverlust ist damit zu begründen, dass der Diester empfindlich gegenüber Säuren ist und selbst bei einem pH-Wert um vier eine vollständige Rückreaktion zur Dicarbonsäure beobachtet werden kann. Ist bei der säulenchromatographischen Aufreinigung nun das verwendete Kieselgel zu sauer, so kann es während der Aufreinigung zu einer Zersetzung des Rohproduktes auf der Säule kommen. Eine zufrieden stellende chromatographische Reinigung mit guten Ausbeuten ist daher nur unter Verwendung von Kieselgel besserer Qualität (YMC) oder durch eine vorherige Behandlung des sauren Kieselgels mit Triethylamin möglich.

V 27

Zwar stellen diese drei Methoden zuverlässig funktionierende Synthesen dar, allerdings sind sie oft mit langen Reaktionszeiten und je nach Durchführung mit einem relativ hohen Ausbeuteverlust verbunden. Deshalb wurde versucht alternative Synthesen zu finden, welche höhere Ausbeuten liefern und mit kürzeren Reaktionszeiten ablaufen. Jedoch lieferten die durchgeführten Versuche mit *tert*-Butanol in Dichlormethan unter der Verwendung von verschiedenen Katalysatoren, wie z.B. DMAP **124** oder 4-Pyrolidinopyridin **125** in Gegenwart von *N*,*N´*-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) **121** keine Ausbeuten. Auch eine in Anlehnung an *C. Y.* Chang

et al[64] durchgeführte Eintopfsynthese mit Einführung der Schutzgruppe und Bromierung in *α*-Position führte nicht zum Ziel.

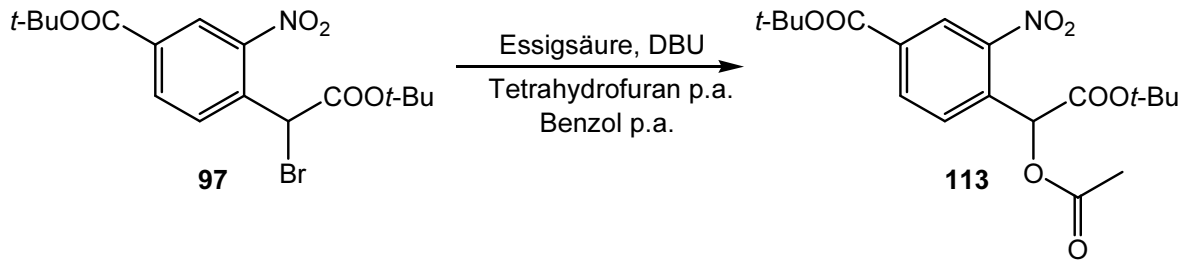
Die anschließende Bromierung der Diesterverbindung **106** in α-Position erfolgt unter Lichtausschluss mit *N*-Bromsuccinimid (NBS) in Tetrachlorkohlenstoff. Auch hier dient Dibenzoylperoxid (DBPO) als Radikalstarter. Bei dieser Reaktion wurde das gewünschte Bromid in einer Ausbeute von 60 % erhalten (Lit.: 24 %). Die Steigerung der Ausbeute kann dabei durch die Verwendung eines evtl. qualitativ guten Kieselgels (YMC) erklärt werden, so dass keine Rückreaktion des Diesters zur Dicarbonsäure stattgefunden hat.



106 **97** **V 28**

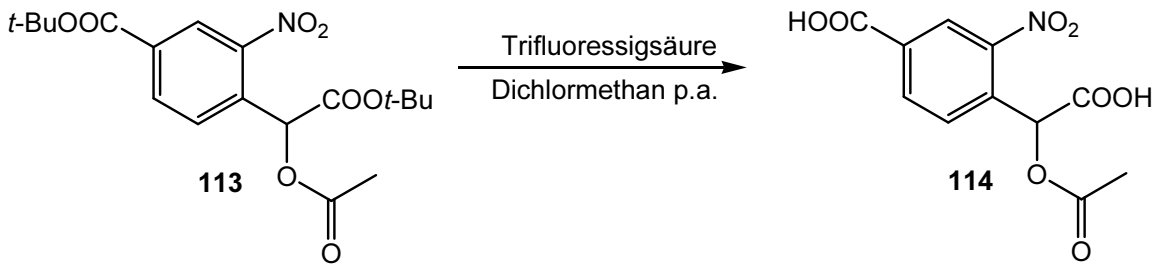
Nach erfolgter Bromierung in der *α*-Position ist es nun empfehlenswert alle weiteren Syntheseschritte unter Lichtausschluss durchzuführen, um mögliche Photoreaktionen der Nitrogruppe zu vermeiden.

Nach der Darstellung der Schutzgruppe **97** kann diese im nächsten Schritt mit Essigsäure als Modell für eine „biologisch aktive“ Verbindung in einer Ausbeute von 88 % zum *tert*-Butyl-geschützten *Caged Compound* **113** umgesetzt werden. Dies erfolgt unter der Verwendung von 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) als Base.



97 **113** **V 29**

Im letzten Schritt erfolgt die Entfernung der *tert*-Butylschutzgruppen mittels Trifluoressigsäure und man erhält 4-[Acetoxy(carboxy)methyl]-3-nitrobenzoesäure **114** in einer Ausbeute von 46 %.

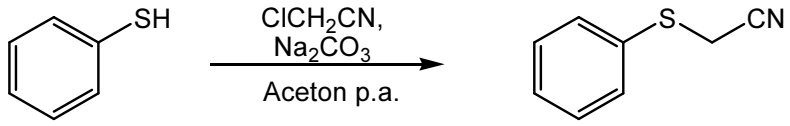


113 **114** **V 30**

3.2.3.5.3 Synthese von 5-[Acetoxy(carboxy)methyl]-4-nitrobenzoesäure 115

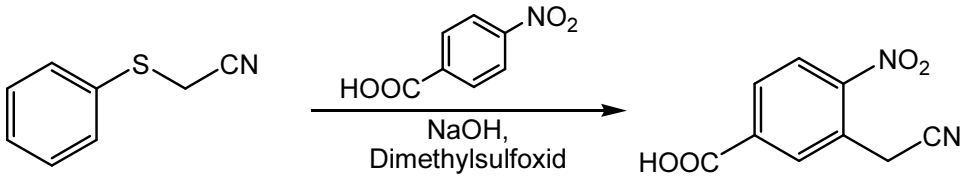
In Anlehnung an *I. Kullartz*[24] und *P. Doro*[25] erfolgt die Synthese von 5-[Acetoxy-(carboxy)methyl]-4-nitrobenzoesäure **115** in sieben Stufen.

Ausgehend von Thiophenol **107** und Chloracetonitril kann mit Natriumcarbonat als Base im ersten Schritt Thiophenoxyacetonitril **108** als Reagenz für die Einführung der Seitenkette in einer Ausbeute von 89 % dargestellt werden.



107 **108** **V 31**

Durch die nun anschließende VNS-Reaktion mit 4-Nitrobenzoesäure im Basischen erhält man Verbindung **109** in einer Ausbeute von 91 %.

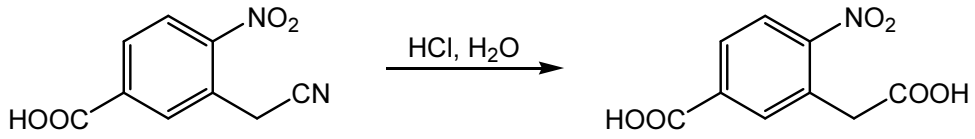


108 **109** **V 32**

Die hier aufgeführte VNS-Reaktion erfordert allerdings ein striktes Einhalten der Reaktionstemperatur. Die größten Ausbeuten können dabei erzielt werden, wenn zunächst sehr fein gemörsertes Natriumhydroxid in Dimethylsulfoxid bis knapp über den Gefrierpunkt von DMSO heruntergekühlt wird. Dabei ist allerdings zu beachten,

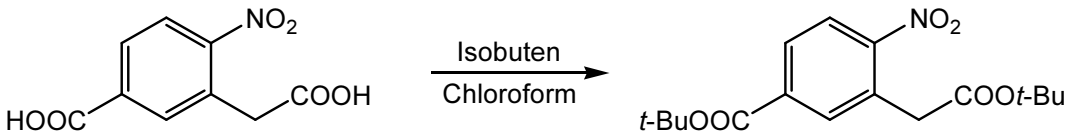
dass die Lösung nicht einfriert. Auch bei der anschließenden Zugabe der 4-Nitrobenzoesäure und des Thiophenoxyacetonitrils **108** ist eine möglichst niedrige Temperatur der Reaktionslösung unabdingbar. Wesentlich ist, dass ein gutes Rühren der Lösung noch möglich ist.

Im nächsten Schritt erfolgt sodann mit halbkonzentrierter Salzsäure die Hydrolyse zur Carbonsäure **110**, welche ohne weitere Aufreinigung in einer Ausbeute von 82 % rein erhalten wird.



109 **110** **V 33**

Nachdem die Dicarbonsäure **110** synthetisiert wurde, folgt nun die Einführung der Schutzgruppe für die beiden Carbonsäure-Funktionen durch Veresterung zum *tert*-Butylester.



110 **111** **V 34**

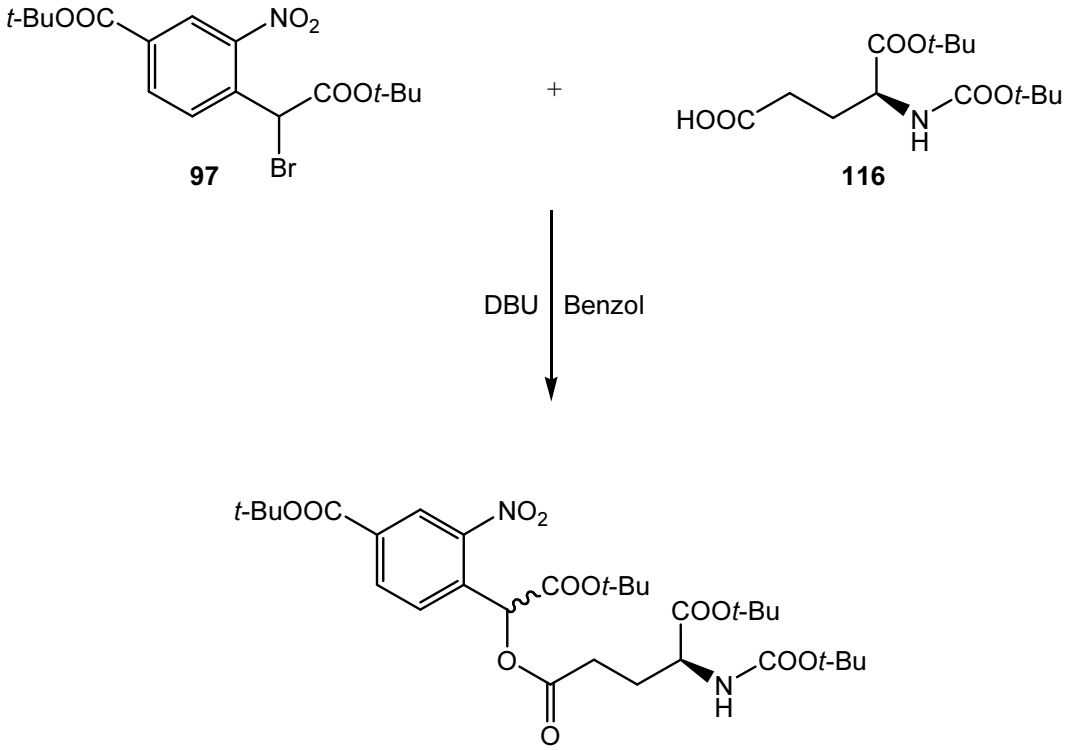
Auch hier wird die in der AG *Schaper* etablierte Methode der Einkondensation von Isobuten verwendet. Zur Einführung der Schutzgruppen erfolgt die Durchführung der Reaktion analog der Durchführung von **V 25**, welche den Diester in einer Ausbeute von 80 % liefert.

Eine weitere Möglichkeit zur Schützung der Carbonsäure-Gruppen stellt die Verwendung von *tert*-Butanol und 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) **124** in Gegenwart von *N*,*N´*-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) **121** in Anlehnung an eine Vorschrift von *A.* Mobarekeh[63] dar. Jedoch konnten bei dieser Reaktion nur eine Ausbeute von 16 % erzielt werden. **V 35**

Führt man die Versterung analog **V 26** mit *tert*-Butylacetat und Perchlorsäure als Katalysator durch, so wird das gewünschte Produkt nicht erhalten.
Aufgrund der anschließenden nicht erfolgreichen Kopplung wurde die weitere Synthese von **115** eingestellt.

3.2.3.5.4 Synthese von 5-(α,4-Dicarboxy-2-nitrobenzyl)-L-glutamat 118

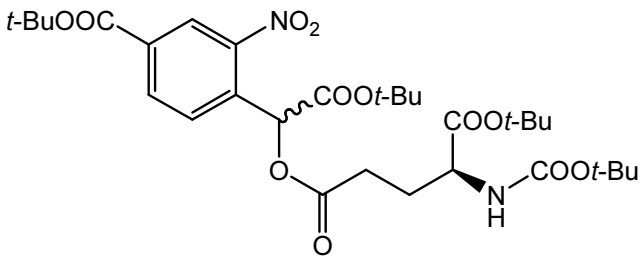
Zur Darstellung des *Caged* Glutamats **118** wird käuflich erworbenes 1-(*tert*-butyl)-*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-L-glutamat **116** unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluss mit der photolabilen Schutzgruppe **97** unter Verwendung der Base 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) in benzolischer Lösung gekoppelt. Man erhält dabei das *tert*-Butyl-geschützte *Caged Compound* in einer Ausbeute von 63 %. Die Synthese der photolabilen Schutzgruppe **97** wurde bereits im Kapitel 3.2.3.5.2 ausführlich beschrieben.



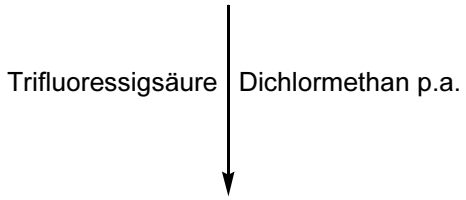
117

Abschließend werden unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluss die *tert*-Butylschutzgruppen der Carboxyfunktionen sowie die *tert*-Butoxycarbonyl-Schutzgruppe der

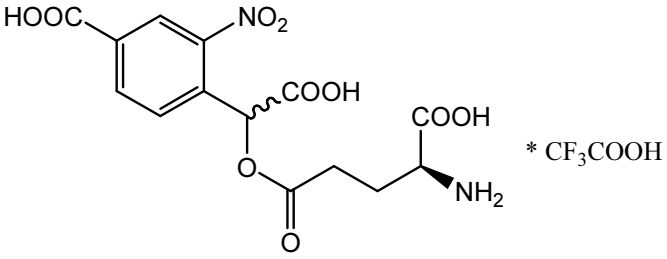
Aminofunktion mit Trifluoressigsäure entfernt und man erhält *Caged* Glutamat **118** mit 42 % Ausbeute.



117



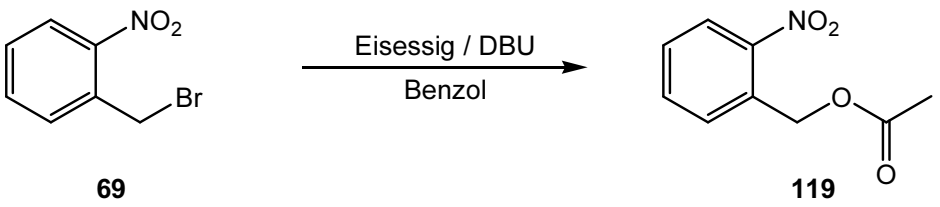
V 37



118

3.2.3.5.5 Synthese von 2-Nitrobenzyl-acetat 119

Die Synthese des 2-Nitrobenzyl-acetats **119** erfolgt wie die übrigen Kopplungsreaktionen unter Lichtausschluss und unter Verwendung von 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) als Base. Bei dieser Reaktion wird 2-Nitrobenzylacetat **119** in einer Ausbeute von 55 % gebildet.



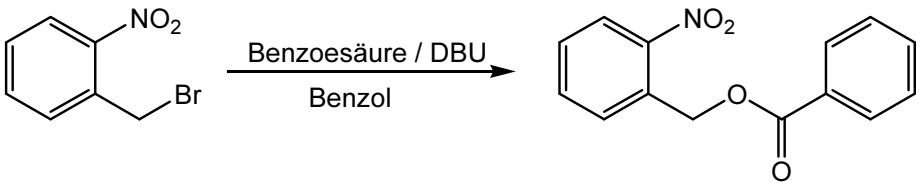
69 **119**

V 38

Zur Kopplung wird die bereits unter Kapitel 3.2.2.2.3 dargestellte photolabile *o*-Nitrobenzylschutzgruppe **69** mit Eisessig in Benzol verestert.

3.2.3.5.6 Synthese von 2-Nitrobenzylbenzoat 120

Die Synthese von 2-Nitrobenzylbenzoat **120** erfolgt in einer Ausbeute von 33 % analog **V 38** unter Lichtausschluss und unter Verwendung von 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) als Base.



69 **120**

V 39

Zur Kopplung wird die bereits unter Kapitel 3.2.2.2.3 dargestellte photolabile *o*-Nitrobenzyl-Schutzgruppe **69** mit Benzoesäure in Benzol verestert.

3.2.3.6 Kopplungsreagenzien

Im Folgenden werden die für die Kopplungsvorversuche verwendeten Kopplungsreagenzien auf ihre Verwendbarkeit und ihre Wirkungsweise hin näher beschrieben.

N,N´-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) **121**:

N,N´-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) **121** ist eine häufig bei der Synthesechemie eingesetzte reaktive organische Verbindung. Vor allem findet sie bei der Synthese von organischen Estern und Amiden ihre Verwendung. So wird sie z. B. häufig zur Kopplung von Amidbindungen in der Peptidchemie eingesetzt. Mit einer Säure reagiert DCC **121** zu einem sehr reaktiven *O*-acylierten Harnstoff **122**, der leicht unter Abspaltung eines dialkylierten Harnstoffes **123** mit einem Nucleophil reagiert.[65, 66] Dabei können neben Aminen auch Alkohole und Thiole als Nucleophile dienen.

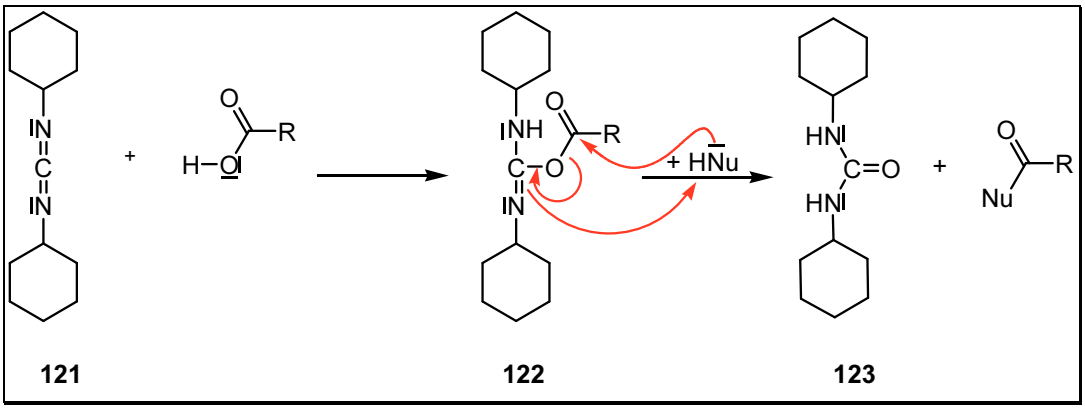
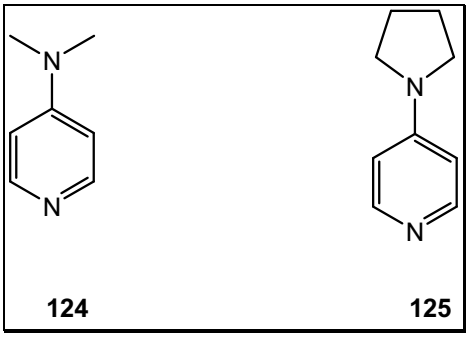


Abbildung 52: Reaktionsschema zur Kopplung einer Säure mit einem Nucleophil unter Verwendung von DCC **121**

Oft wird den Kopplungsreaktionen zusätzlich zum *N,N´*-Dicyclohexylcarbodiimid **121** noch ein Acylierungskatalysator, wie z. B. 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) **124** oder 4-Pyrrolidinopyridin **125** zugesetzt.[65] Denn *B. Neises* und *W. Steglich* fanden heraus, dass durch die Zugabe des Acylisierungskatalysators, die durch DCC **121** aktivierte Veresterung beschleunigt wird. Ferner werden weniger Nebenprodukte gebildet und auch sterisch anspruchsvolle Ester können in hohen Ausbeuten erhalten werden.[67]



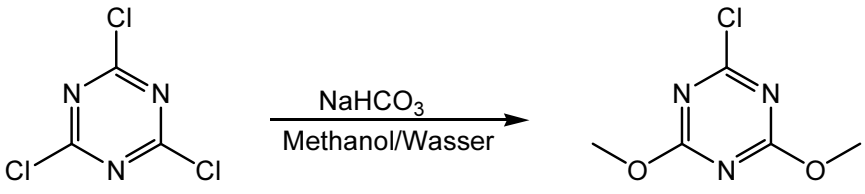
124 **125**

Abbildung 53: DMAP **124** und 4-Pyrrolidinopyridin **125**

An der Reaktion beteiligtes DMAP **124** kann den *O*-Acylester **122** durch einen nucleophilen Angriff unter der Bildung eines *N*-Acylpyridiniums angreifen. Dieses *N*-Acylpyridinium trägt eine sehr gute Abgangsgruppe und ist daher hoch reaktiv. So begünstigt es den Angriff eines Nucleophils. Außerdem kann DMAP **124** als Base fungieren und als solche eine Deprotonierung des Nucleophils erleichtern.[65, 68] DMAP **124** beschleunigt also die DCC **121** vermittelte Acylierung.

2-Chlor-4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin (CDMT) **127**:

2-Chlor-4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin (CDMT) **127** ist ein für die Darstellung von z. B. Amiden oder Estern sehr effizientes Kopplungsreagenz. Nach *Z. J. Kaminski*[69] lassen sich mit ihm die genannten Verbindungsklassen mit sehr hohen Ausbeuten darstellen. CDMT **127** erhält man dabei leicht durch die Reaktion von Cyanurchlorid **126** und Methanol in einer guten Ausbeute von 78 %.[65]



126 **127**

V 40

Wie bereits oben erwähnt, ist CDMT **127** ein sehr effizientes Kopplungsreagenz unter anderem zur Bildung von Peptiden, insbesondere auch von sterisch gehinderten Substraten, so dass *Z. J. Kaminski, P. Paneth* und *J. Rudzinski*[70] genauere Untersuchungen des Mechanismus durchführten. Sie fanden heraus, dass die Anwesen-

heit tertiärer Amine, nicht aber die Anwesenheit von Natrium-, Silber- oder quartiären Ammoniumsalzen der Carbonsäuren, zu einer erfolgreichen Aktivierung der Säure mittels CDMT **127**, notwendig ist. Als Intermediat bildet sich nicht wie anfangs angenommen ein Carbonsäurechlorid, sondern aus dem CDMT **127** und einem *tert*-Amin entsteht zuerst ein quartiäres Triazinylammoniumsalz **128**. Jedoch ist dabei zu berücksichtigen, dass die Bildung dieses Zwischenproduktes mit steigender sterischer Hinderung des tertiären Amins immer mehr verhindert wird und die Aktivierung der Carbonsäure abnimmt. Das quartiäre Triazinylammoniumsalz **128** reagiert dann mit einer Carbonsäure zum 2-Acyloxy-4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin **129**.[65] Dieses starke Acylierungsreagenz kann unter Abspaltung von 2-Hydroxy-4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin **130**, z. B. mit einem Amin, zum Amid reagieren. Analog reagieren Carbonsäuren zu Anhydriden und Alkohole zu Estern.[65, 69-71]

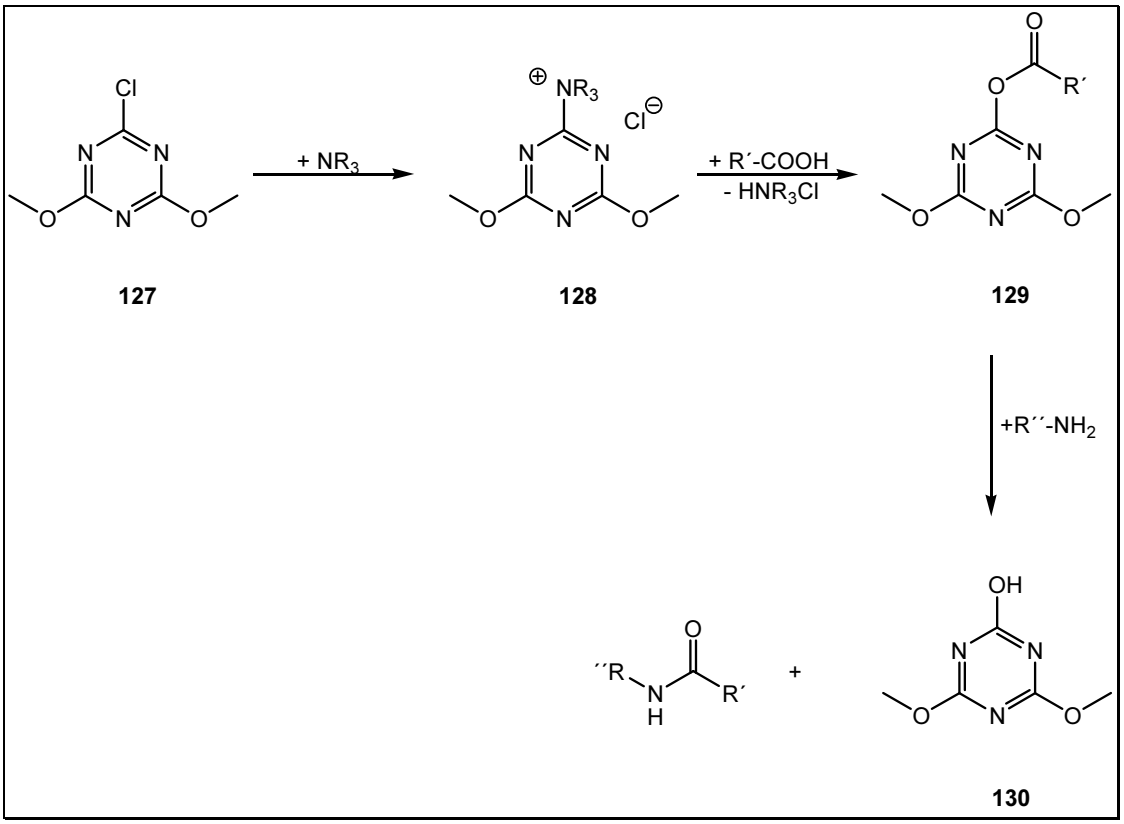
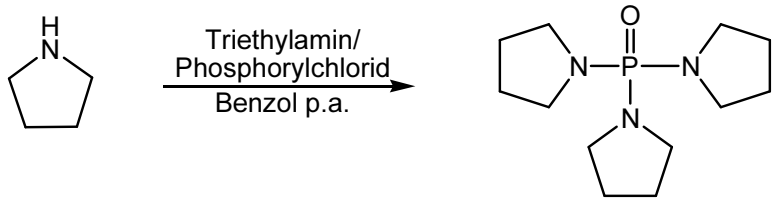


Abbildung 54: Vermuteter Kopplungsmechanismus bei der Verwendung von CDMT **127**

Chlortripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (PyCloP) **133**:

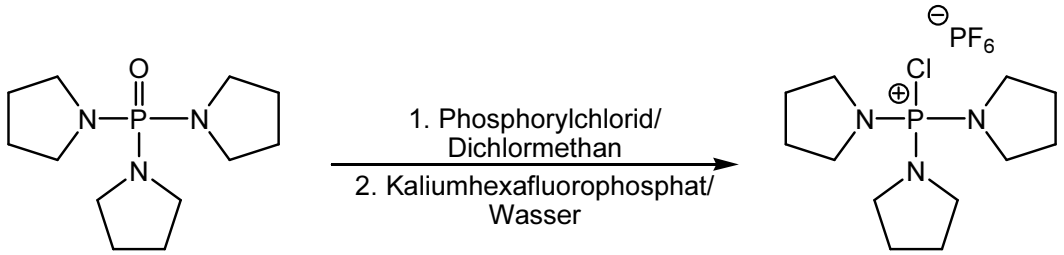
Ebenso wie CDMT **127** ist auch Chlortripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (PyCloP) **133** ein im Bereich der Peptidchemie oft verwendetes Kopplungsreagenz. PyCloP **133** lässt sich in zwei Stufen ausgehend von Pyrrolidin **131** darstellen.



V 41

131 **132**

Dazu wird im ersten Schritt Pyrrolidin **131** in benzolischer Lösung mit Triethylamin und Phoshorylchlorid zu Tripyrrolidinophosphinoxid **132** umgesetzt (Ausbeute: 24 %),



V 42

132 **133**

bevor im zweiten Schritt PyCloP **133** durch Reaktion von Phosphorylchlorid und Kaliumhexafluorophosphat erhalten wird (Ausbeute: 42 %).

Betrachtet man den möglichen Kopplungsmechanismus bei der Verwendung von PyCloP **133** als Kopplungsreagenz, so wird angenommen, dass die Carbonsäure zunächst unter Anwesenheit der Base Diisopropylethylamin (DIEA) deprotoniert wird und dann mit PyCloP **133** ein (Acyloxy)phosphoniumsalz bildet. Allerdings konnten *J. Coste*, *E. Frerot* und *J. Jouin*[72] dieses Intermediat nur bei sterisch gehinderten 2,4,6-Trimethylbenzoesäuren nachweisen. Allgemein werden direkt das Tripyrrolidinophosphinoxid **132** und die aktivierte Säure als Anhydrid vorliegend gebildet.

Nun kann ein Amin nucleophil an eine der Carbonylfunktionen des Säureanhydrids angreifen und es wird unter der Rückbildung eines Säuremoleküls das gewünschte Amid erhalten.[65]

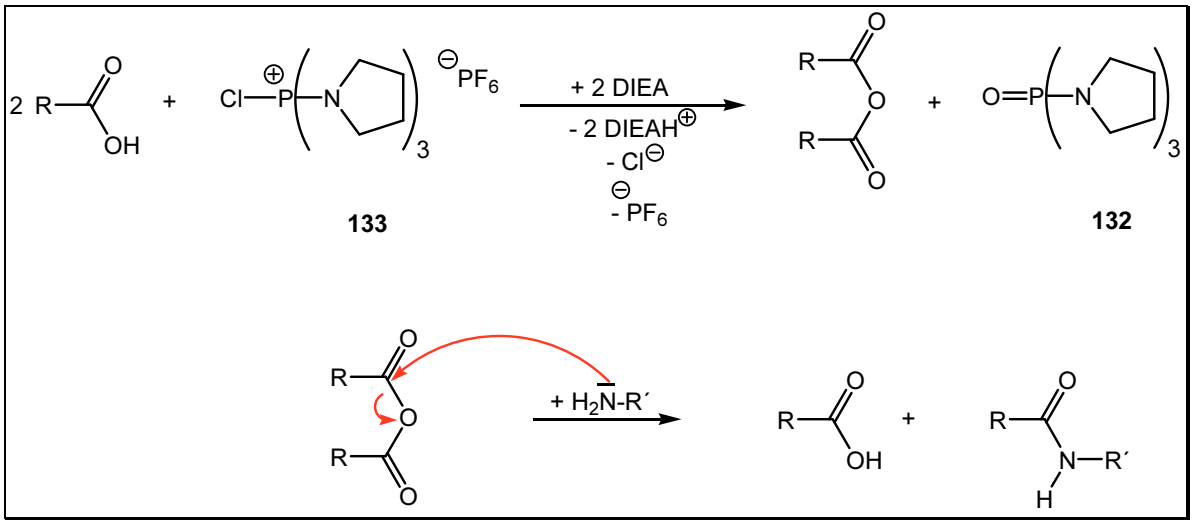
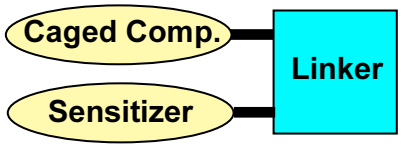


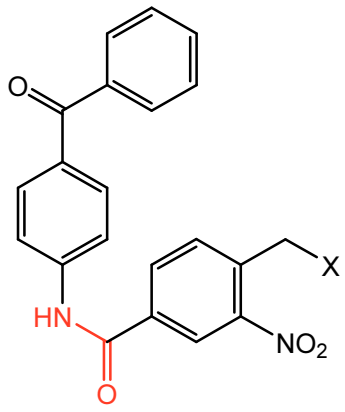
Abbildung 55: Vermuteter Kopplungsmechanismus bei der Verwendung von PyCloP **133**

3.2.3.7 Kopplungsvorversuche

Um einen geeigneten Sensibilisator mit dem *Caged Compound* koppeln zu können verfolgen wir zwei Möglichkeiten. Eine Möglichkeit stellt dabei die direkte Kopplung beider Verbindungen mit Hilfe eines Linkers dar.

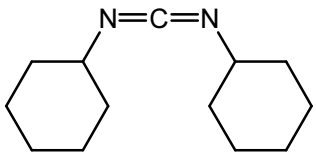


Hierbei ist es von Wichtigkeit, dass sowohl das *Caged Compound* als auch der Sensibilisator zur Kopplung geeignete funktionelle Gruppen besitzen. Ein Beispiel für einen solchen Fall wäre die Synthese eines Bichromophors **134** aus einem Carbonsäurederivat mit 4-Aminobenzophenon **93** als Sensibilisator, in der die entstehende Amid-Bindung den Linker darstellt.

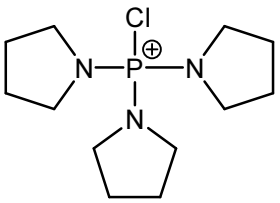


134

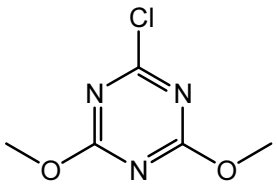
Die Kopplung kann außerdem wie bereits oben erwähnt unter Verwendung von Kopplungsreagenzien aus der Peptidchemie, wie z.B. DCC **121**, PyCloP **133** und CDMT **127**, erfolgen.



121



133

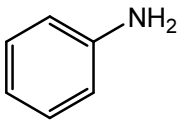


127

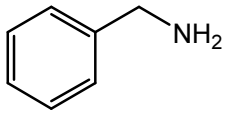
Um herauszufinden, welche Reaktionsbedingungen zur Synthese von Bichromophoren erforderlich sind, werden Modelstudien zur Kopplung von Aminen mit *Caged Compounds* durchgeführt.

Caged Compound + Amin —(Kopplungsreagenz)→ Bichromophor

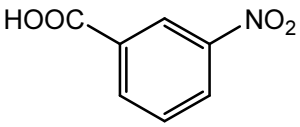
Für diese Voruntersuchungen werden als Amine Anilin **135** bzw. Benzylamin **136** und als *Caged Compounds* die Verbindungen **137**, **105** und **112** verwendet.



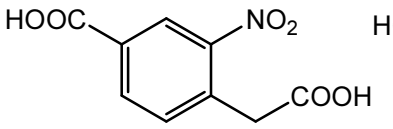
135



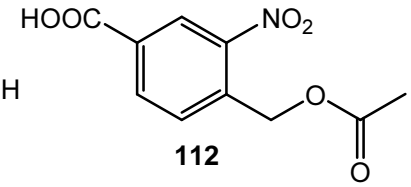
136



137



105



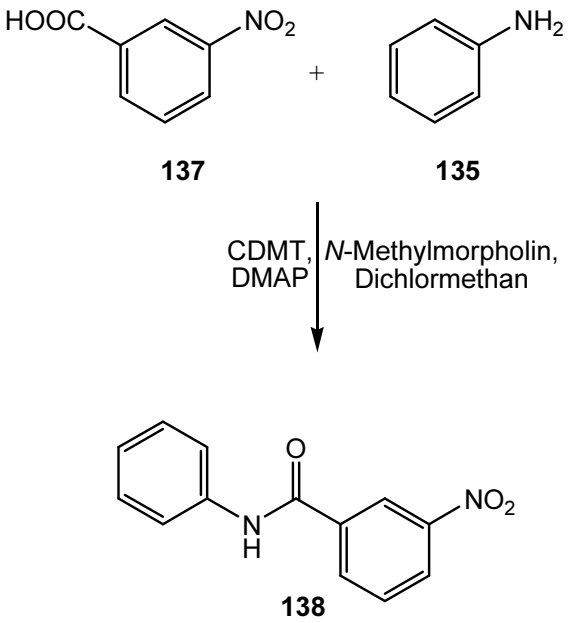
112

Weiterhin soll auch versucht werden Bichromophore durch Aktivierung der Carbonsäurefunktion des *Caged Compound* in Form eines Säurechlorids und anschließender Kopplung mit einem Amin zu erhalten.

3.2.3.7.1 Synthesen

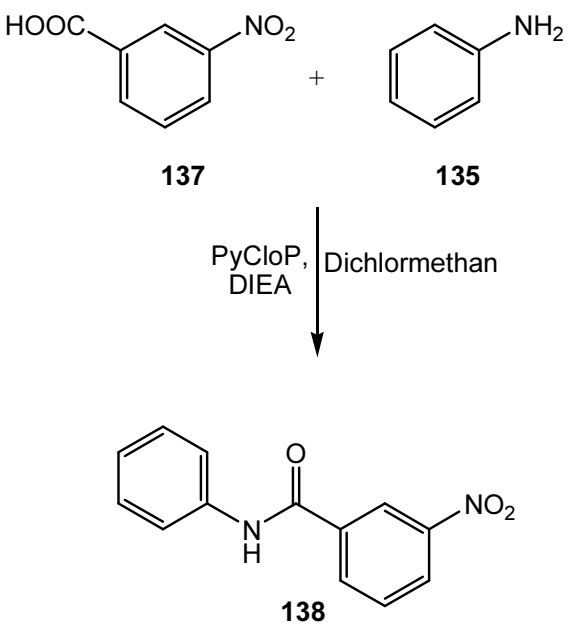
3.2.3.7.1.1 Synthese von 3-Nitro-N-phenylbenzamid 138

3-Nitro-*N*-phenyl-benzamid **138** wird unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluss durch eine 24-stündige Reaktion von 3-Nitrobenzoesäure **137**, Anilin **135**, CDMT **127**, *N*-Methylmorpholin und DMAP **124** in trockenem Dichlormethan bei Raumtemperatur dargestellt. Die Ausbeute dieser Kopplung beträgt 55 %.



V 43

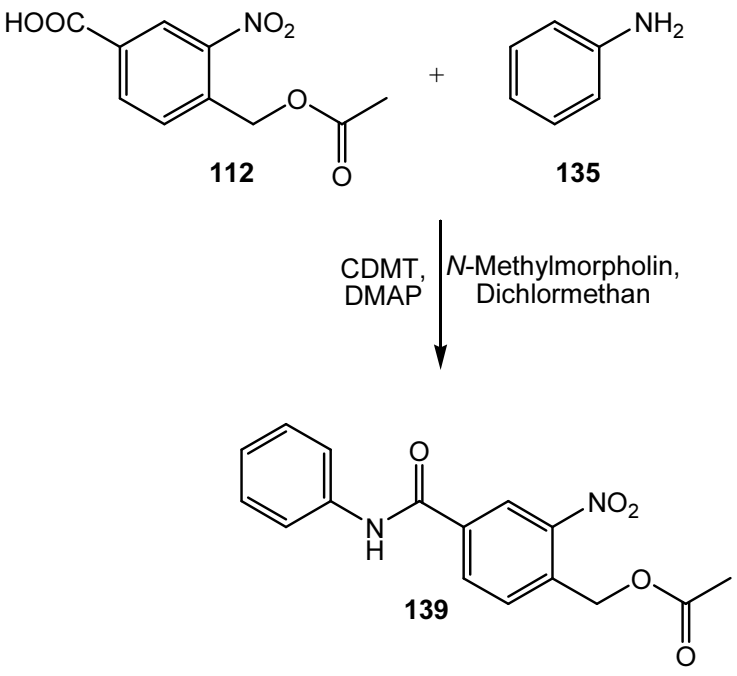
Nach der Synthese von Verbindung **138** unter Verwendung von CDMT **127,** wurde versucht diese auch mittels des Kopplungsreagenzes PyCloP **133** analog **V 43** darzustellen. Das gewünschte Produkt konnte dabei in einer Ausbeute von 20 % erhalten werden.



V 44

3.2.3.7.1.2 Synthese von 4-(Acetoxymethyl)-3-nitro-N-phenylbenzamid 139

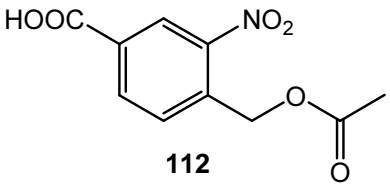
Die Darstellung von 4-(Acetoxymethyl)-3-nitro-*N*-phenylbenzamid **139** erfolgt analog der Synthese von Verbindung **138** und liefert das gekoppelte Amid in einer Ausbeute von 98 %.



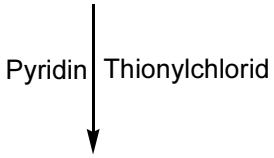
V 45

Führt man die oben beschriebene Reaktion mit PyCloP **133** als Kopplungsreagenz analog zu **V 45** durch, so erhält man das gewünschte Produkt **139** ebenfalls in einer guten Ausbeute von 88 %. **V 46**

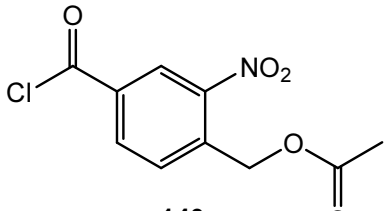
Alternativ ist es allerdings auch möglich Verbindung **139** durch Aktivierung von 4-(Acetoxymethyl)-3-nitrobenzoesäure **112** mittels Thionylchlorid (Ausbeute: 93 %)



112

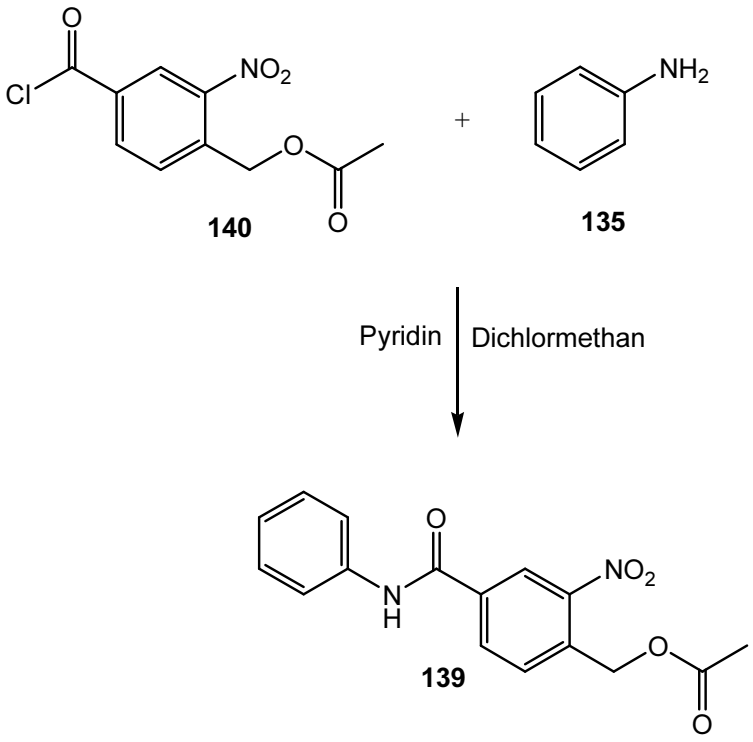


V 47



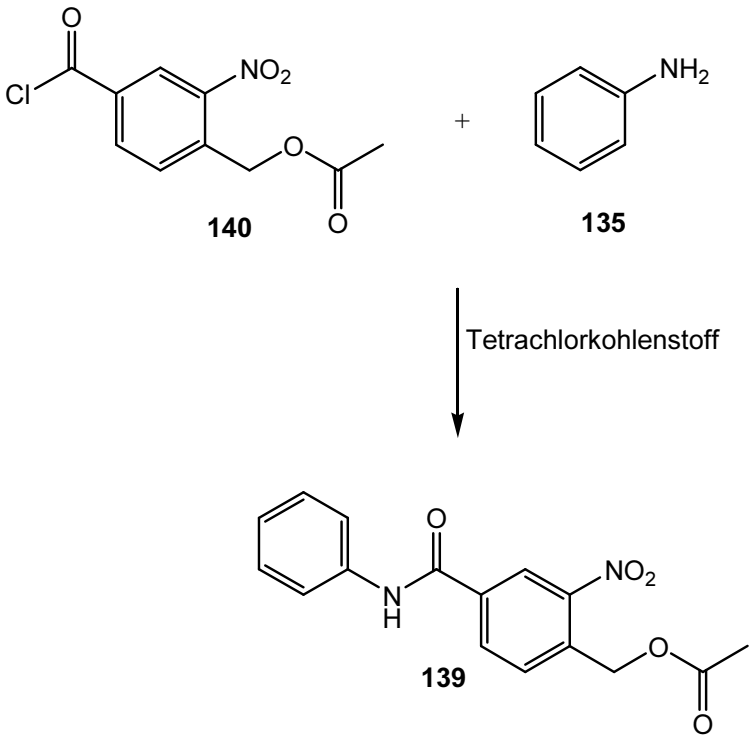
140

und anschließender Reaktion, in Anlehnung an eine Vorschrift von *P. Metz* und *C. Mues*[73] mit Anilin **135** in Pyridin zu erhalten. Die Ausbeute liegt nach vollständiger Aufreinigung bei 42 %.



V 48

Alternativ kann das frische Säurechlorid auch mit Anilin **135** in Tetrachlorkohlenstoff umsetzt werden. Im Vergleich zur vorherigen Reaktion kann dabei die Ausbeute an gewünschtem Amid von 42 % auf 98 % gesteigert werden.



V 49

Neben der Kopplung mittels der Reagenzien PyCloP **133** bzw. CDMT **127** und der direkten Kopplung des *Caged Compounds* mit dem Sensibilisator über ein Säurechlorid, wurde auch DCC **121** als Kopplungsreagenz eingesetzt. Jedoch konnten bei den Reaktionen von Benzylamin **136** bzw. Anilin **135** mit *Caged Compound* **105** unter Verwendung von DCC **121** als alternatives Kopplungsreagenz und 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) **124** als Hilfsbase keine positiven Ergebnisse erzielt werden. Es war bei allen Reaktionen nicht möglich, das Produkt sauber zu erhalten. Auch die Umsetzung von 4-(Acetoxymethyl)-3-nitrobenzoesäure **112** bzw 3-Nitrobenzoesäure **137** mit Hilfe von DCC **121** zeigte keinen erfolgreichen Umsatz zum gewünschten Bichromophor.

3.2.3.7.2 Ergebnisse der Kopplungsvorversuche

Wie bereits im oberen Teil dieser Arbeit erwähnt, ist es das Ziel Bichromophore, bestehend aus einem *Caged Compound* und einem Sensibilisator, zu designen. Da es sich bei den synthetisierten Verbindungen um Carbonsäuren handelt, liegt es daher nahe die Sensibilisatoren über eine Amid-Bindung anzuhängen. Aus diesem Grund wurde in ersten Voruntersuchungen versucht die für solche Kopplungen notwendigen Reaktionsbedingungen zu ermitteln. Dazu wurden Modellstudien zur Kopplung der Amine **135** und **136** mit den *Caged Compounds* **137**, **105** und **112** durchgeführt.

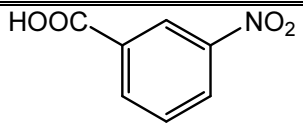
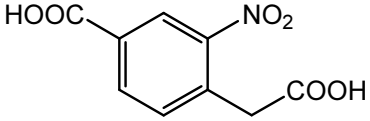
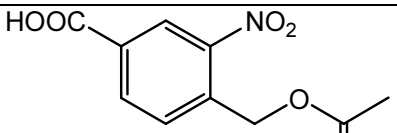
	DCC	CDMT	PyCloP	Thionylchlorid
 **137**	0 % (A)	55 % (A)	22 % (A)	
 **105**	0 % (B)			
 **112**	0 % (B)	98 % (A)	88 % (A)	42 % bzw. 98 % (A)

Tabelle 1: Ausbeuten der Kopplungs-Vorversuche

Wie Tabelle 1 zu entnehmen ist, konnten die gewünschten Produkte unter Verwendung der Kopplungsreagenzien CDMT **127** und PyCloP **133** in guten und sehr guten Ausbeuten erhalten werden. Dabei wurden bei den Voruntersuchungen für die Kopplung der 3-Nitrobenzoesäure **137** mit Anilin **135** als Sensibilisatormodell Ausbeuten von 55 % (CDMT **127**) und 20 % (PyCloP **133**) erzielt. Die Kopplung der 4-(Acetoxymethyl)-3-nitrobenzoesäure **112** mit Anilin **135** lieferte sehr gute Ergebnisse mit Ausbeuten von 98 % für CDMT **127** und 88 % für PyCloP **133**. Die direkte Aktivierung der Carbonsäure-Funktion mit z.B. Thionylchlorid ergab Ausbeuten von 42 bzw. 98 % je nach Durchführung und stellt somit eine gute Alternative zu den aus der Peptidchemie bekannten Reagenzien dar. Reaktionen mit DCC **121** als mögliches Kopplungsreagenz führten allerdings selbst unter verschiedenen Reaktionsbedingungen, wie z. B. Variation in den äquimolaren Verhältnissen der eingesetzten Edukte oder der Reaktionszeit, nicht zu guten Resultaten, da für alle drei *Caged Compound*-Modelle der gewünschte Bichromophor nicht rein isoliert werden konnte. Eine Aufreinigung der Rohprodukte und eine Abtrennung des DCC's **121** erwiesen sich dabei leider als nicht möglich.

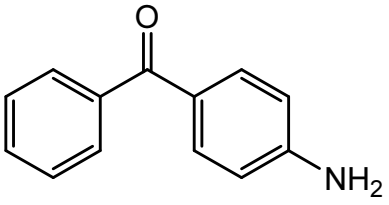
Somit kann nach diesen Modellstudien DCC **121** auf Grund seiner schlechten Resultate als mögliches Kopplungsreagenz für unsere weiteren Arbeiten ausgeschlossen werden. Mit CDMT **127**, PyCloP **133** und der Reaktion über ein Säure-

chlorid sind hingegen potentielle Kopplungsvarianten für die Synthese der Bichromophore denkbar.

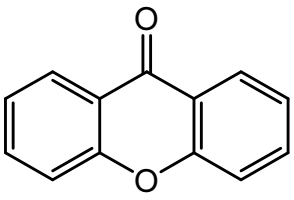
3.2.3.8 Sensibilisierte Bestrahlung

3.2.3.8.1 Screening potentieller Sensibilisatoren

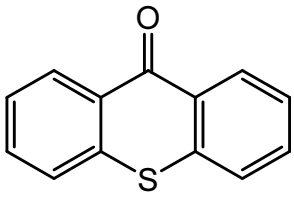
Nach Berücksichtigung der in Kapitel 3.2.3.3 aufgeführten Kriterien werden die sich daraus für uns als interessant ergebenen potentiellen Sensibilisatoren 4-Aminobenzophenon **93**, Xanthon **94** und Thioxanthon **95** auf ihre Effizienz als Triplett-Sensibilisator für die Sensibilisierung verschiedener *o*-Nitrobenzylderivate hin untersucht. Dazu werden sie zunächst mit 2-Nitrobenzylbenzoat (2-NB-Benzoat) **120** als allgemeines Modell für *Caged Compounds* des *o*-Nitrobenzyl-Typs **4** vermessen, da es bei dieser Verbindung möglich ist sowohl ihren photochemischen Abbau als auch die Bildung der dabei frei werdenden Benzoesäure mittels HPLC direkt zu verfolgen.



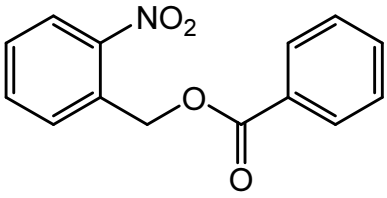
93



94



95



120

Für die Untersuchung des Photoabbaus (genaue Durchführungsbeschreibung: siehe Experimentalteil) und der damit verbundenen Sensibilisatoreffizienz werden zuerst eine Stammlösung des reinen *Caged Compound* und eine Stammlösung des zu untersuchenden *Caged Compound*/Sensibilisator-Gemisches angesetzt.

Anschließend wird von diesen jeweils eine luftgesättigte und eine durch Stickstoff entgaste Probe in einer Gräntzel-Apparatur bestrahlt (siehe Abbildung im Experimentalteil). Bei der verwendeten Gräntzel-Apparatur handelt es sich um einen 25 cm langen Zylinder, in dessen Wand sich zwei stabförmige Quecksilberniederdrucklampen mit einer Hauptemission von λ = 254 nm befinden. Durch Einsetzen von Fluoreszenzfiltern ist es möglich die Bestrahlungswellenlänge auf 320, 350 oder 410 nm zu ändern. Durch einen speziellen sich in dem Zylinder drehenden Küvettenhalter können vier Proben gleichzeitig bestrahlt werden.

Die Bestrahlung der zu untersuchenden Proben, wird in definierten Zeitintervallen unterbrochen, um den Umsatz an *Caged Compound* durch Detektion bei 250 nm mittels HPLC zu kontrollieren. Um eine genaue Aussage über die Wirksamkeit des Sensibilisators machen zu können, wird im Anschluss an die Messung die relative Reaktionsgeschwindigkeit zu Beginn der Bestrahlung für jede Probe bestimmt. Dazu werden die für jede Probe erhaltenen Messdaten graphisch aufgetragen und entsprechend linear oder mono-exponentiell angepasst.

Zur Berechnung dieser relativen Geschwindigkeit benötigt man die Steigung der angepassten Kurven zu Beginn der Bestrahlung. Diese lässt sich bei einem mono-exponentiellen Fit wie folgt berechnen:

Nach Gleichung (11) gilt für einen mono-exponentiellen Fit:

$$f(t) = y_0 + A_1 \cdot e^{-\frac{t}{t_1}} \tag{11}$$

Leitet man Gleichung (11) ab, so erhält man für die Ableitung Gleichung (12):

$$f'(t) = A_1 \cdot e^{-\frac{t}{t_1}} \cdot (-\frac{1}{t_1}) = -\frac{A_1}{t_1} \cdot e^{-\frac{t}{t_1}} \tag{12}$$

Um nun die relative Reaktionsgeschwindigkeit berechnen zu können, wird die Reaktion zum Zeitpunkt t = 0 s betrachtet.

Setzt man in Gleichung (12) t = 0, so erhält man Gleichung (13) und somit die Steigung m der Fitkurve aus den angepassten Werten für A_1 und t_1:

$$f'(0) = -\frac{A_1}{t_1} = m \tag{13}$$

Betrachtet man einen linearen Fit der erhaltenen Messdaten, so erhält man die Geradengleichung (14):

$$f(x) = mx + b \tag{14}$$

aus deren Ableitung man direkt die Steigung m erhält. Es gilt für die erste Ableitung:

$$f'(x) = m \tag{15}$$

Die für die Berechnung der Reaktionsgeschwindigkeiten notwendigen Messdaten sowie die für die Messungen verwendeten HPLC-Einstellungen sind im Experimentalteil ausführlich beschrieben.

Weiterhin wird neben den relativen anfänglichen Reaktionsgeschwindigkeiten die Absorbanz der einzelnen vermessenen *Caged Compound*/Sensibilisator-Mischungen berechnet. Diese ergibt sich nach Gleichung (16) aus:

$$A = \lg\frac{I_0}{I} = (\varepsilon_1 \cdot c_1 + \varepsilon_2 \cdot c_2) \cdot d \tag{16}$$

mit ε_1: Extinktionskoeffizient des *Caged Compound* für die verwendete Bestrahlungswellenlänge

ε_2: Extinktionskoeffizient des Sensibiliators für die verwendete Bestrahlungswellenlänge

c_1: Konzentration des *Caged Compound* in der Mischung

c_2: Konzentration des Sensibilisators in der Mischung

d: Schichtdicke der verwendeten Küvetten d=1 cm

Die verwendeten Extinktionskoeffizienten werden dazu den von den einzelnen Substanzen gemessenen UV-Vis-Spektren entnommen.

Möchte man die Menge an vom *Caged Compound* in der Mischung absorbierten Photonen im Vergleich zu der vom *Caged Compound* absorbierten Photonenmenge in der reinen *Caged Compound*-Lösung berechnen, so gilt:

$$\log \frac{I_0}{I} = A_{CC} = \varepsilon_1 \cdot c_1 \cdot d \tag{17}$$

und $$I_{abs}^{CC} + I = I_0 \tag{18}$$

Löst man nun Gleichung (18) nach I hin auf und setzt den für I erhaltenden Term in Gleichung (17) ein, so erhält man Gleichung (19).

$$\log \frac{I_0}{I_0 - I_{abs}^{CC}} = \varepsilon_1 \cdot c_1 \cdot d \tag{19}$$

Daraus ergibt sich ein I_{abs} für die reine *Caged Compound*-Lösung von:

$$I_{abs}^{CC} = I_0 \cdot \frac{10^{\varepsilon_1 \cdot c_1 \cdot d} - 1}{10^{\varepsilon_1 \cdot c_1 \cdot d}} = I_0 \cdot (1 - 10^{-\varepsilon_1 \cdot c_1 \cdot d}) \tag{20}$$

Für die Mischung ergibt sich analog ein I_{abs} nach Gleichung (21) von:

$$I_{abs}^{M} = I_0 \cdot [1 - 10^{-(\varepsilon_1 \cdot c_1 \cdot d + \varepsilon_2 \cdot c_2 \cdot d)}] \tag{21}$$

und für das *Caged Compound* in der Mischung ergibt sich ein I_{abs} von:

$$I_{abs}^{CC\,in\,M} = I_0 \cdot [1 - 10^{-(\varepsilon_1 \cdot c_1 \cdot d + \varepsilon_2 \cdot c_2 \cdot d)}] \cdot \frac{\varepsilon_1 \cdot c_1}{\varepsilon_1 \cdot c_1 + \varepsilon_2 \cdot c_2} \tag{22}$$

Analog Gleichung (22) kann auch I_{abs} für den Sensibilisator in der Mischung berechnet werden. Es gilt Gleichung (23):

$$I_{abs}^{S\,in\,M} = I_0 \cdot [1 - 10^{-(\varepsilon_1 \cdot c_1 \cdot d + \varepsilon_2 \cdot c_2 \cdot d)}] \cdot \frac{\varepsilon_2 \cdot c_2}{\varepsilon_1 \cdot c_1 + \varepsilon_2 \cdot c_2} \tag{23}$$

Dividiert man nun Gleichung (22) durch Gleichung (20), so erhält man mit Gleichung (24) die Menge an vom *Caged Compound* in der Mischung absorbierten Photonen bezogen auf die Menge vom *Caged Compound* in der reinen Lösung absorbierten Photonenmenge:

$$\frac{I_{abs}^{CC\,in\,M}}{I_{abs}^{CC}} = \frac{I_0[1-10^{-(\varepsilon_1\cdot c_1\cdot d+\varepsilon_2\cdot c_2\cdot d)}]\cdot\dfrac{\varepsilon_1\cdot c_1}{\varepsilon_1\cdot c_1+\varepsilon_2\cdot c_2}}{I_0(1-10^{-\varepsilon_1\cdot c_1\cdot d})} \qquad (24)$$

Möchte man die Menge der absorbierten Photonen in der Mischung im Vergleich zur absorbierten Photonenzahl in der reinen *Caged Compound*-Lösung berechnen, so dividiert man Gleichung (21) durch Gleichung (20) und erhält:

$$\frac{I_{abs}^{M}}{I_{abs}^{CC}} = \frac{I_0\cdot[1-10^{-(\varepsilon_1\cdot c_1\cdot d+\varepsilon_2\cdot c_2\cdot d)}]}{I_0\cdot(1-10^{-\varepsilon_1\cdot c_1\cdot d})} \qquad (25)$$

Abschließend gilt analog Gleichung (24) für den Sensibilisator in der Mischung:

$$\frac{I_{abs}^{S\,in\,M}}{I_{abs}^{CC}} = \frac{I_0\cdot[1-10^{-(\varepsilon_1\cdot c_1\cdot d+\varepsilon_2\cdot c_2\cdot d)}]\cdot\dfrac{\varepsilon_2\cdot c_2}{\varepsilon_1\cdot c_1+\varepsilon_2\cdot c_2}}{I_0\cdot(1-10^{-\varepsilon_1\cdot c_1\cdot d})} \qquad (26)$$

3.2.3.8.1.1 Untersuchung von 4-Aminobenzophenon 93

Als erste nach den Auswahlkriterien theoretisch als potentieller Sensibilisator in Frage kommende Verbindung wird 4-Aminobenzophenon **93** untersucht. Dazu werden die entgasten und sauerstoffgesättigten Proben der reinen *Caged Compound*-Lösung und die des *Caged Compound*/4-Aminobenzophenon (4-AB) **93**-Gemisches bei einer Wellenlänge von 320 nm bestrahlt. Diese Bestrahlungswellenlänge wird nach Aufnahme von UV/Vis-Spektren von 4-Aminobenzophenon **93** (Abbildung 56) und 2-NB-Benzoat **120** (Abbildung 57) ausgewählt, da 4-Aminobenzophenon **93** mit einem ε_{max} von 5086 l/(mol*cm) und auch 2-NB-Benzoat **120** mit einem ε von 196 l/(mol*cm) bei dieser Wellenlänge eine Absorption zeigen. Die

M 1

Absorbanz der *Caged Compound*/Sensibilisator-Mischung liefert bei einer Bestrahlungswellenlänge von 320 nm einen Wert von A = 20.35. Dies bedeutet, dass die eingestrahlten Photonen von der Mischung vollständig absorbiert werden.

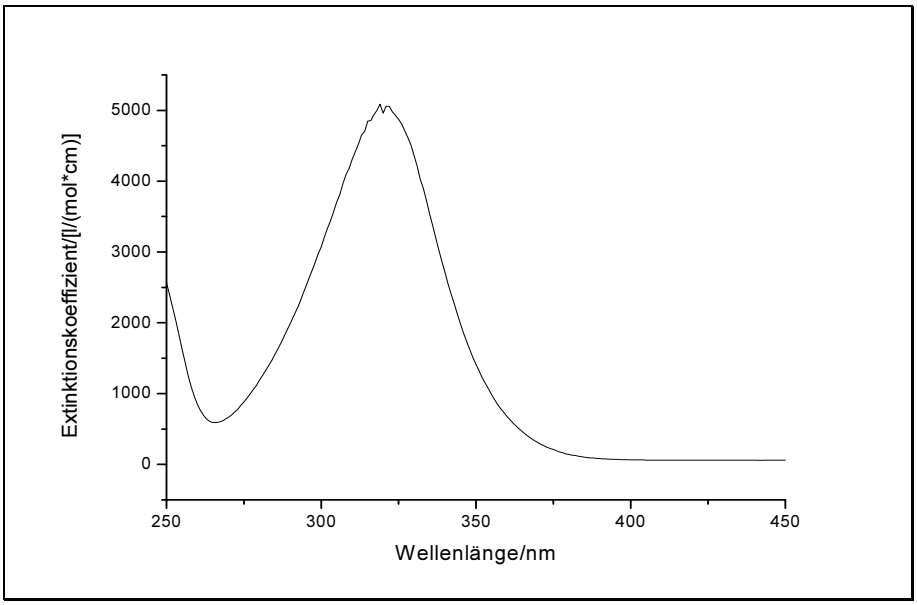


Abbildung 56: UV/Vis-Spektrum von 4-Aminobenzophenon **93** in Acetonitril (c = 0.31 mmol/l)

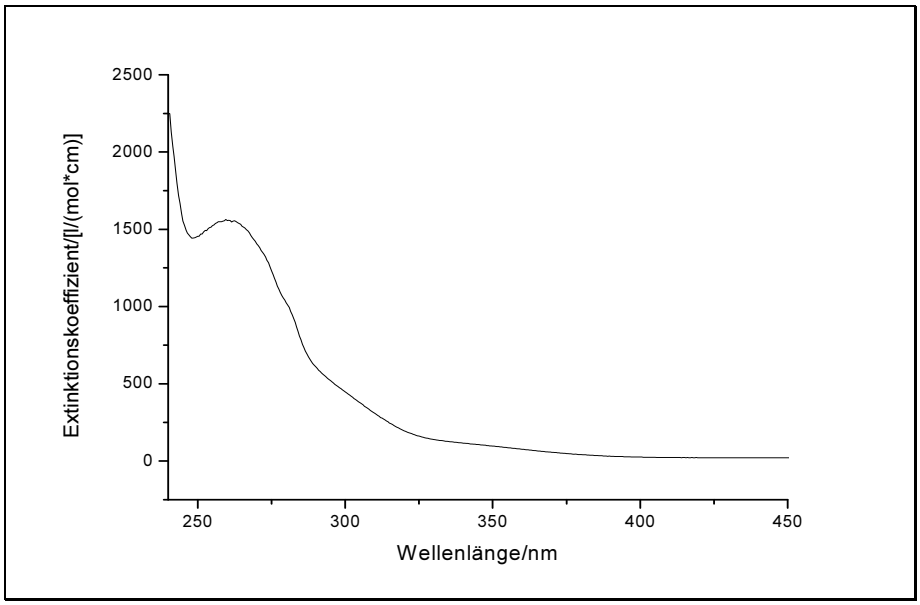


Abbildung 57: UV/Vis-Spektrum von 2-NB-Benzoat **120** in Acetonitril (c = 0.78 mmol/l)

Nach einer Bestrahlungszeit von 240 min ergibt sich für die vier vermessenen Proben durch Auftragung der detektieren Peakfläche gegen die Zeit und anschließendem Fit folgender Graph:

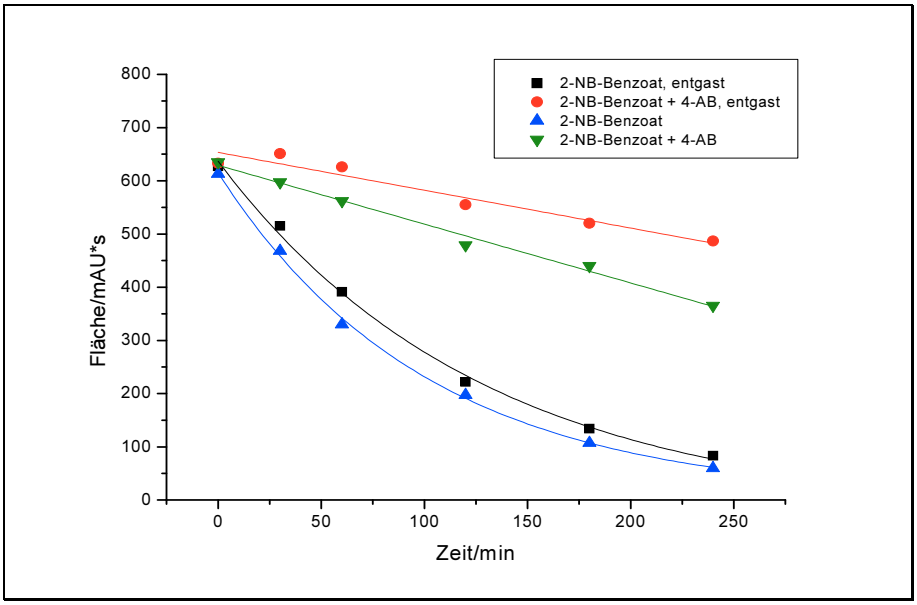


Abbildung 58: Photoabbau von 2-NB-Benzoat **120** unter Verwendung von 4-Aminobenzophenon **93** bei 320 nm in Acetonitril

An dieser Stelle soll ausführlich anhand des entgasten 2-NB-Benzoat **120** auf die Berechnung der relativen Reaktionsgeschwindigkeit aus der Steigung der mono-exponentiellen Fitkurve eingegangen werden. Verwendete Werte können dabei dem Experimentalteil entnommen werden.

Die Probe wird zu Beginn der Bestrahlung mittels HPLC getrennt und diese Trennung UV-spektroskopisch verfolgt. Für den Peak, der dem *Caged Compound* zugeordnet wird, ergibt sich eine Fläche von 627 mAU*s, welche der eingesetzten Konzentration von $2.6*10^{-3}$ mol/l gleichgesetzt werden kann. Daraus ergibt sich für 1 mAU*s eine Konzentration von $4.15*10^{-6}$ mol/l. Berechnet man nach Gleichung (13) die Steigung m der Kurve aus den Parametern des mono-exponentiellen Fits A_1 und t_1, so erhält man für den Startzeitpunkt der Reaktion einen Wert von -5.17 mAU*s/min.

$$f'(0) = -\frac{661.68\ mAU \cdot s}{127.92\ \min} = -5.17\ mAU \cdot s / \min$$

Setzt man nun die zuvor für 1 mAU*s berechnete Konzentration von $4.15*10^{-6}$ mol/l ein und rechnet auf mol/l*s um, so erhält man einen Wert von $-3.58*10^{-7}$ mol/l*s. Dieser entspricht nach Gleichung (27)

$$v = -\frac{d[E]}{dt} \tag{27}$$

einer relativen Reaktionsgeschwindigkeit für den Photoabbau von 2-NB-Benzoat (entgast) **120** von $3.58*10^{-7}$ mol/l*s.

Berechnet man die relative Reaktionsgeschwindigkeit für einen linearen Reaktionsverlauf, so kann man den über die Peakfläche und Konzentration berechneten Wert für 1 mAU*s direkt in die aus dem Fit erhaltene Steigung m einsetzen.

Die durch die einzelnen Fits der Kurven erhaltenen Werte sowie die daraus berechneten relativen Reaktionsgeschwindigkeiten der einzelnen Proben dieser ersten Messung können Tabelle 2 entnommen werden.

	Y_0 [mAU*s]	**A_1** [mAU*s]	**t_1** [min]	**f´(0)*** [mAU*s/min]	**v** [mol/l*s]
2-NB-Benzoat, entgast	-24.88	661.68	127.92	-5.17	$35.8*10^{-8}$
2-NB-Benzoat+4-AB, entgast	/	/	/	-0.71	$4.86*10^{-8}$
2-NB-Benzoat	3.76	611.34	101.39	-6.03	$42.6*10^{-8}$
2-NB-Benzoat+4-AB	/	/	/	-1.11	$7.57*10^{-8}$

Tabelle 2: Messdaten des Photoabbaus von 2-NB-Benzoat **120** unter Verwendung von 4-Aminobezophenon **93** bei 320 nm in Acetonitril

*: f´(0) wird nach Gleichung (13) aus den Parametern des mono-exponentiellen Fits A_1 und t_1 berechnet. Wenn keine Werte y_0, A_1 und t_1 in den Tabellen angegeben sind, wurde ein linearer Fit verwandt und f´(0) aus dem linearen Fit entnommen.

Betrachtet man den für eine Bestrahlung bei 320 nm erhaltenen Graphen, so ist zu erkennen, dass bei allen Reaktionen ein photochemischer Abbau des 2-NB-Benzoates **120** stattgefunden hat. Jedoch ist deutlich zu erkennen, dass in Gegenwart des 4-Aminobenzophenons **93** sowohl in der entgasten als auch in der luftgesättigten Lösung ein weitaus schlechterer Abbau des *Caged Compounds* zu verzeichnen ist, denn mit einer Reaktionsgeschwindigkeit von $35.0*10^{-8}$mol/l*s läuft der

Photoabbau der entgasten reinen 2-NB-Benzoat **120**-Lösung rund siebenmal so schnell ab wie die entsprechende Reaktion der entgasten 2-NB-Benzoat **120**/4-AB **93**-Lösung. Vergleicht man die beiden luftgesättigten Lösungen miteinander, so ist der Photoabbau in der reinen *Caged Compound*-Lösung etwa sechsmal so schnell. Berechnet man den Anteil der vom *Caged Compound* **120** in der Mischung absorbierten Photonen im Vergleich zu der in der reinen *Caged Compound*-Lösung absorbierten Photonenmenge nach Gleichung (24), so werden in der Mischung mit einem Wert von 0.04 nur noch 4 % der eingestrahlten Photonen vom *Caged Compound* selber absorbiert. Da nach Gleichung (25) in der Mischung allerdings 145 % an Photonen im Vergleich zu den 100 % in der reinen *Caged Compound*-Lösung absorbiert werden, muss der Sensibilisator die restlichen 141 % der eingestrahlten Photonen absorbieren. Daraus folgt, dass bei einer vollständigen Energieübertragung von Seiten des 4-AB **93** auf 2-NB-Benzoat **120** eine Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit um das anderhalbfache zu erwarten wäre. Findet keine Energieübertragung statt, so sollte eine Abnahme der Reaktionsgeschwindigkeit auf 4 % beobachtet werden. Dies ist nicht der Fall, denn die gemessenen Geschwindigkeiten für den Photoabbau des 2-NB-Benzoats **120** sind in der entgasten Mischung etwa dreimal und in der luftgesättigten Mischung rund viermal so hoch wie der berechnete Wert von 4 %. Dies bedeutet, dass 4-AB **93** zwar einen sehr starken inneren Filtereffekt aufweist, aber einen geringen Teil an Energie auf das *Caged Compound* **120** überträgt. Somit besitzt 4-AB **93** zwar eine sensibilisierende Wirkung, allerdings ist sein innerer Filtereffekt groß verglichen mit der übertragenden Energiemenge, so dass trotzdem eine Abnahme der relativen Reaktionsgeschwindigkeiten in der Mischung zu beobachten und keine effektive Sensibilisierung zu verzeichnen ist.

Zum Vergleich wird mit den angesetzten Stammlösungen eine zweite Messung mit einer Bestrahlung durch Licht der Wellenlänge 350 nm durchgeführt. Die für die *Caged Compound*/Sensibilisator-Mischung bei einer Bestrahlungswellenlänge von 350 nm berechnete Absorbanz hat einen Wert von A = 5.90. Dem zu folge werden auch bei dieser Bestrahlungswellenlänge die eingestrahlten Photonen von der Mischung vollständig absorbiert. **M 2**

Nach einer Bestrahlungszeit von 300 min wird folgender Graph erhalten:

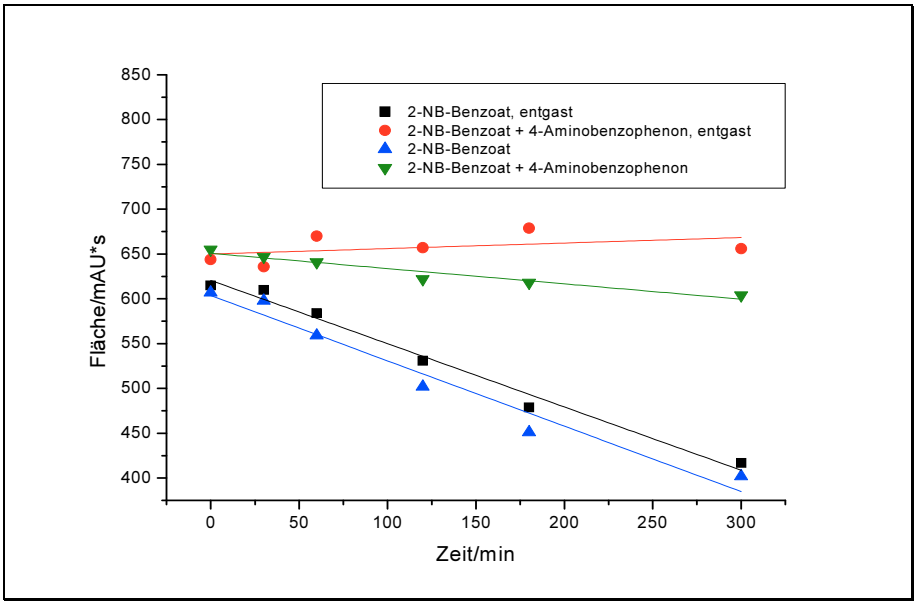


Abbildung 59: Photoabbau von 2-NB-Benzoat **120** unter Verwendung von 4-Aminobenzophenon **93** bei 350 nm in Acetonitril

Die durch die einzelnen linearen Fits erhaltenen Werte sowie die daraus berechneten relativen Reaktionsgeschwindigkeiten für die einzelnen Proben können nachstehender Tabelle entnommen werden.

	Y_0 [mAU*s]	A_1 [mAU*s]	t_1 [min]	$f'(0)^*$ [mAU*s/min]	v [mol/l*s]
2-NB-Benzoat, entgast	/	/	/	-0.71	$5.01*10^{-8}$
2-NB-Benzoat+4-AB, entgast	/	/	/	0.06	$0.40*10^{-8}$
2-NB-Benzoat	/	/	/	-0.73	$5.21*10^{-8}$
2-NB-Benzoat+4-AB	/	/	/	-0.17	$1.12*10^{-8}$

Tabelle 3: Messdaten des Photoabbaus von 2-NB-Benzoat **120** unter Verwendung von 4-Aminobenzophenon **93** bei 350 nm in Acetonitril

Auch bei einer eingestrahlten Wellenlänge von 350 nm ist keine effektive sensibilisierende Wirkung des 4-Aminobenzophenons **93** zu beobachten. Betrachtet man die Reaktionsgeschwindigkeit für den Photoabbau des *Caged Compounds* **120** in der

entgasten Mischung, so ist sogar im Rahmen der Messungenauigkeiten bei der eingestrahlten Wellenlänge für das gemessene Zeitintervall kein Photoabbau zu beobachten. Wohingegen in der reinen *Caged Compound*-Lösung der direkte photochemische Abbau mit einer Geschwindigkeit von $5.01*10^{-8}$ mol/l*s gemessen werden konnte. Betrachtet man die Reaktion der luftgesättigten 2-NB-Benzoat **120**-Lösung, so läuft diese mit einer relativen Geschwindigkeit von $5.21*10^{-8}$ mol/l*s etwa fünfmal so schnell ab wie die der luftgesättigten 2-NB-Benzoat **120**/ 4-AB **93**-Lösung. Berechnet man auch für diese Bestrahlungswellenlänge den Anteil der vom *Caged Compound* in der Mischung absorbierten Photonen im Vergleich zu der in der reinen *Caged Compound*-Lösung absorbierten Photonenmenge, so absorbiert das *Caged Compound* nach Gleichung (24) in der Mischung nur rund 10 % der Photonen. Berechnet man die absorbierte Photonenmenge der ganzen Mischung so beträgt diese 227 % im Vergleich zu der absorbierten Photonenmenge in der reinen *Caged Compound*-Lösung. Dies bedeutet, 217 % der eingestrahlten Photonen werden von 4-AB **93** absorbiert und bei einer vollständigen Energieübertragung vom 4-AB **93** aus würde der Photoabbau rund zweimal so schnell erfolgen wie in der reinen *Caged Compound*-Lösung. Betrachtet man nun die aus den Messungen erhaltenen Graphen, so ist im ersten Augenblick auch bei dieser Wellenlänge davon auszugehen, dass keine Energie vom 4-AB **93** auf 2-NB-Benzoat **120** übertragen wird und nur die etwa 10 % Photonen vom *Caged Compound* **120** absorbiert werden. Betrachtet man aber die für die luftgesättigte Mischung gemessene Geschwindigkeit, so ist diese etwa doppelt so schnell wie der berechnete Wert für 10 %. Dies bedeutet, dass 4-AB **93** auch bei 350 nm etwas Energie überträgt und eine geringe sensibilisierende Wirkung aufweist. Sein innerer Filtereffekt ist allerdings so groß, dass trotzdem eine Abnahme der relativen Reaktionsgeschwindigkeit erfolgt und keine effektive Sensibilisierung des Photoabbaus des *Caged Compound* **120** stattfindet.

Vergleicht man abschließend die relative Reaktionsgeschwindigkeit des Photoabbaus des *Caged Compound* **120** in der reinen entgasten Lösung mit der Geschwindigkeit in der reinen luftgesättigten Lösung, so verlaufen diese mit relativen Reaktionsgeschwindigkeiten von $35.8*10^{-8}$ mol/l*s (entgast) und $42.6*10^{-8}$ mol/l*s (luftgesättigt) bei einer Bestrahlungswellenlänge von 320 nm bzw. mit Werten von $5.01*10^{-8}$mol/l*s (entgast) und $5.21*10^{-8}$ mol/l*s (luftgesättigt) bei 350 nm wie erwartet

fast gleich schnell ab. Dies ist dadurch zu erklären, dass die photochemische Abbaureaktion von *Caged Compounds* aus dem angeregten Singulett-Zustand nicht durch die Gegenwart von Sauerstoff beeinflusst wird und die Reaktion vom angeregten Triplett-Zustand so schnell erfolgt, dass ein Löschen durch vorhandenen Sauerstoff nicht effektiv ist. Die Gegenwart von Sauerstoff ist somit für einen direkten Photoabbau von *Caged Compounds* in einer Sensibilisatorfreien Lösung nicht von Bedeutung.

3.2.3.8.1.2 Untersuchung von Xanthon 94

Zur Untersuchung von Xanthon **94** als möglichen Sensibilisator für *Caged Compounds* des *o*-Nitrobenzyl-Typs **4** wird auch von diesem zur Bestimmung der möglichen Einstrahlungswellenlänge und der Absorbanz der *Caged Compound*/ Sensibilisator-Mischung ein UV/Vis-Spektrum (siehe Abbildung 60) aufgenommen. Wird die Reaktionsmischung mit einer Wellenlänge von 350 nm bestrahlt, so erhält man aus den Konzentrationen der Mischungspartner und den aus den UV-Vis-Spektren ermittelten Extinktionskoeffiziente für die Absorbanz der Mischung einen Wert von A = 0.024. Mit A = 0.024 findet in der Mischung nur eine geringe Absorption der eingestrahlten Photonen statt.

M 3

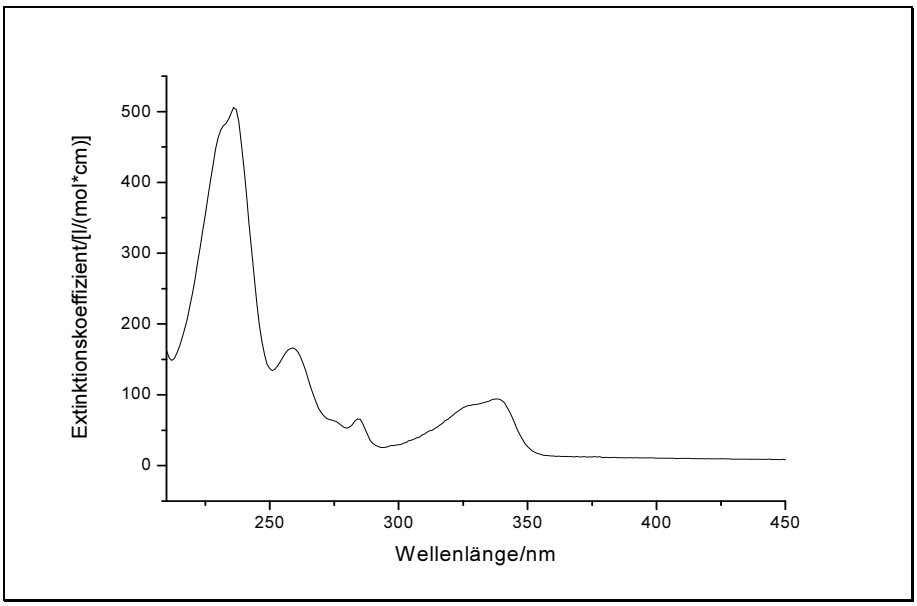


Abbildung 60: UV/Vis-Spektrum von Xanthon **94** in Acetonitril (c = 0.234 mmol/l)

Analog den vorher gehenden Messungen werden jeweils eine luftgesättigte und eine entgaste Probe der reinen 2-NB-Benzoat **120**-Lösung sowie der 2-NB-Benzoat **120**/Xanthon **94**-Lösung bestrahlt. Die Bestrahlungswellenlänge beträgt 350 nm.

Nach Auftragung der erhaltenden Messdaten werden die einzelnen Kurven linear und mono-exponentiell angepasst und man erhält den dargestellten Graphen:

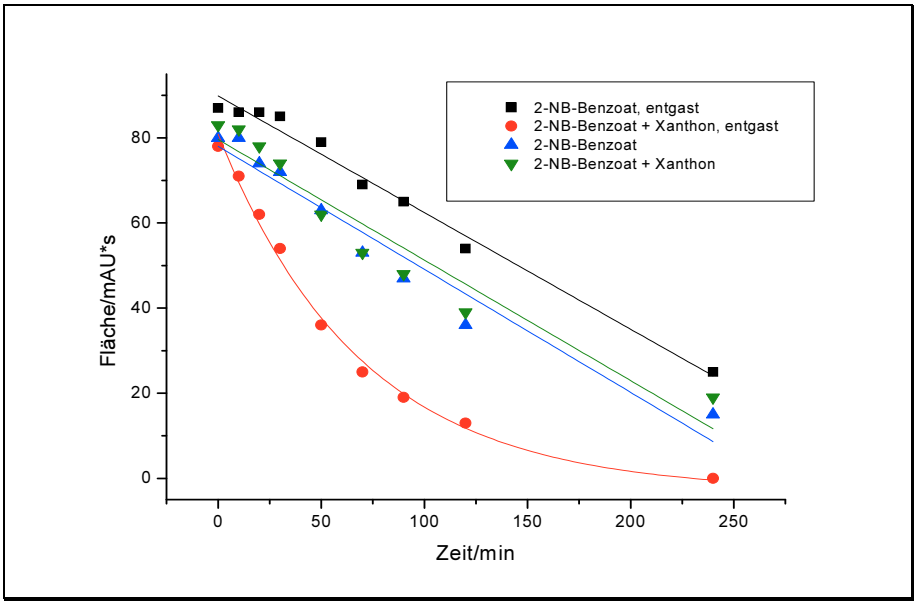


Abbildung 61: Photoabbau von 2-NB-Benzoat **120** unter Verwendung von Xanthon **94** bei 350 nm in Acetonitril

Die durch die einzelnen Fits erhaltenen Werte sowie die daraus berechneten relativen Reaktionsgeschwindigkeiten können der Tabelle 4 entnommen werden.

	Y_0 [mAU*s]	A_1 [mAU*s]	t_1 [min]	$f'(0)^*$ [mAU*s/min]	v [mol/l*s]
2-NB-Benzoat, entgast	/	/	/	-0.27	$0.99*10^{-8}$
2-NB-Benzoat+Xanthon, entgast	-3.03	83.89	69.24	-1.21	$4.66*10^{-8}$
2-NB-Benzoat	/	/	/	-0.29	$1.09*10^{-8}$
2-NB-Benzoat+Xanthon	/	/	/	-0.28	$1.08*10^{-8}$

Tabelle 4: Messdaten des Photoabbaus von 2-NB-Benzoat **120** unter Verwendung von Xanthon **94** bei 350 nm in Acetonitril

Berechnet man nach Gleichung (24) den in der Mischung alleine vom *Caged Compound* **120** absorbierten Anteil an Photonen relativ zu der in der reinen *Caged Compound*-Lösung absorbierten Photonenmenge, so beträgt dieser 99 %.

Berechnet man nach Gleichung (25) die absorbierten Photonen der ganzen Mischung, so beträgt diese 140 %, dass bedeutet es werden in der Mischung 1.4mal mehr Photonen absorbiert als in der reinen *Caged Compound*-Lösung. Somit werden in der Mischung vom *Caged Compound* **120** fast genau so viele Photonen wie in der *Caged Compound*-Lösung ohne Xanthon **94** -Zusatz und vom Xanthon **94** 40 % Photonen absorbiert. Betrachtet man die in dieser Messung erhaltenen Ergebnisse, so ist zu erkennen, dass mit Xanthon **94** eine gewünschte Sensibilisierung erfolgt und der photochemische Abbau von 2-Nitrobenzylbenzoat **120** um den Faktor fünf beschleunigt werden kann. Betrachtet man allerdings die für die Mischung berechnete Menge an absorbierten Photonen, so sollte man mit einem Wert von 140 % rein rechnerisch nur eine Steigerung der Geschwindigkeit für den Photoabbau des *Caged Compound* um etwa das anderthalbfache erwarten. Diese zunächst erstaunlich große Steigerung kann erklärt werden, wenn man Abbildung 62 genauer betrachtet.

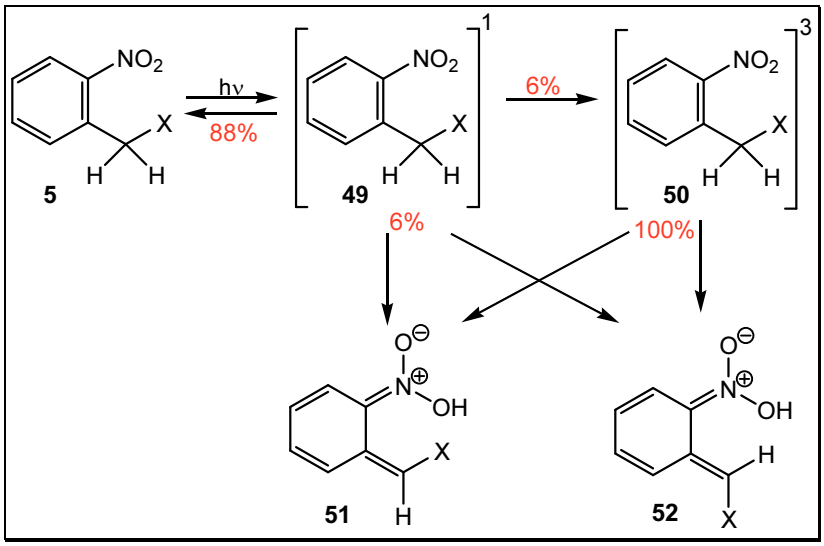


Abbildung 62: Ausschnitt des Photolysemachanismus

Die Quantenausbeute für die Photolyse von 2-NB-Benzoat **120** in Acetonitril ist 0.12, wie frühere Messungen zeigten. Dies bedeutet, dass 88 % aller Moleküle ohne zu reagieren in den Grundzustand zurückkehren. Die anderen 12 % der Moleküle reagieren zum Produkt. Die Reaktion verläuft dabei über zwei Kanäle (AK Gilch, unveröffentlichte Ergebnisse). Zum einen bilden sich die *aci*-Nitroformen **51** und **52** direkt aus dem Singulett-Zustand und zum anderen findet Inter-System-Crossing (ISC) statt und die Intermediate bilden sich aus dem Triplett-Zustand.

Die Bedeutung der beiden Reaktionswege ist nicht bekannt, aber der Einfachheit halber wollen wir in diesem Modell annehmen, dass sie die gleiche Bedeutung haben. Wir haben also ausgehend vom angeregten Singulett-Zustand eine 6%ige Wahrscheinlichkeit des ISC und eine 6%ige Wahrscheinlichkeit der direkten Produktbildung. Triplett-Zustände haben häufig Dank ihrer langen Lebensdauer eine hohe Reaktivität und deshalb nehmen wir im Rahmen unseres Modells an, dass die Reaktion aus dem Triplett-Zustand eine Quantenausbeute von 100 % aufweist. Nutzt man einen Triplett-Sensibiliator wie Xanthon **94**, so ergibt sich folgendes Bild. Xanthon **94** absorbiert ein Photon, zeigt zu (nahe zu) 100 % ISC, überträgt seine Energie mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit auf das *Caged Compound*, welches dann mit fast 100%iger Wahrscheinlichkeit zum Produkt reagiert. Ist die Energieübertragung effizient, so kann die gesamte Quantenausbeute für diesen Prozess nahe 100 % liegen. Der für die direkte Bestrahlung liegt aber bei 12 %. Photonen, die vom Sensibilisator absorbiert werden, können also bis zu ca. achtmal effektiver sein als die vom *Caged Compound* absorbierten Photonen. Diese Betrachtung zeigt, dass die beobachtete Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit so verstanden werden kann, wenn man die vernünftige Annahme macht, dass die Quantenausbeute für die Reaktion aus dem Triplett-Zustand sehr viel größer ist als die für die Reaktion aus dem Singulett-Zustand. Allerdings ist eine Sensibilisierung nur dann möglich, wenn unter Ausschluss von Sauerstoff gearbeitet wird. In luftgesättigter Lösung ist unter den gewählten Bedingungen im Rahmen der Messungenauigkeiten fast keine Änderung der relativen Reaktionsgeschwindigkeit für die Schutzgruppenabspaltung zu beobachten. Dies ist dadurch zu erklären, dass Sauerstoff den Triplett-Zustand des Xanthons **94** effektiv löschen kann. Dies bedeutet, der Triplett-Zustand des Xanthons **94** überträgt seine Energie auf den Sauerstoff anstatt auf die *o*-Nitrobenzyl-Schutzgruppe. Aufgrund dieses Konkurrenzprozesses wird daher weniger oder fast keine Energie auf die *o*-Nitrobenzyl-Schutzgruppe übertragen und diese reagiert nur noch durch die direkte (nicht-sensibilisierte) Aufnahme der Lichtenergie. Da Xanthon **94** nun einen Teil der Photonen abfängt und somit als Filter wirkt, empfängt das *Caged Compound* weniger Photonen, nämlich 99 % als bei Abwesenheit von Xanthon **94**. Somit kommt es zu einer etwas langsameren Reaktion.[74]

3.2.3.8.1.3 Untersuchung von Thioxanthon 95

Zur Untersuchung von Thioxanthon **95** als möglichen Sensibilisator werden auch von diesem und von 2-NB-Benzoat **120** zur Bestimmung der möglichen Einstrahlungswellenlänge und der Absorbanz der Mischung UV/Vis-Spektren (siehe Abbildung 63 und 64) in Methanol als Lösungsmittel aufgenommen. Dabei ergibt sich nach Berechnung für die *Caged Compound*/Sensibilisator-Mischung eine Absorbanz von $A = 5.39*10^{-3}$ für eine Bestrahlungswellenlänge von 410 nm.

M 4

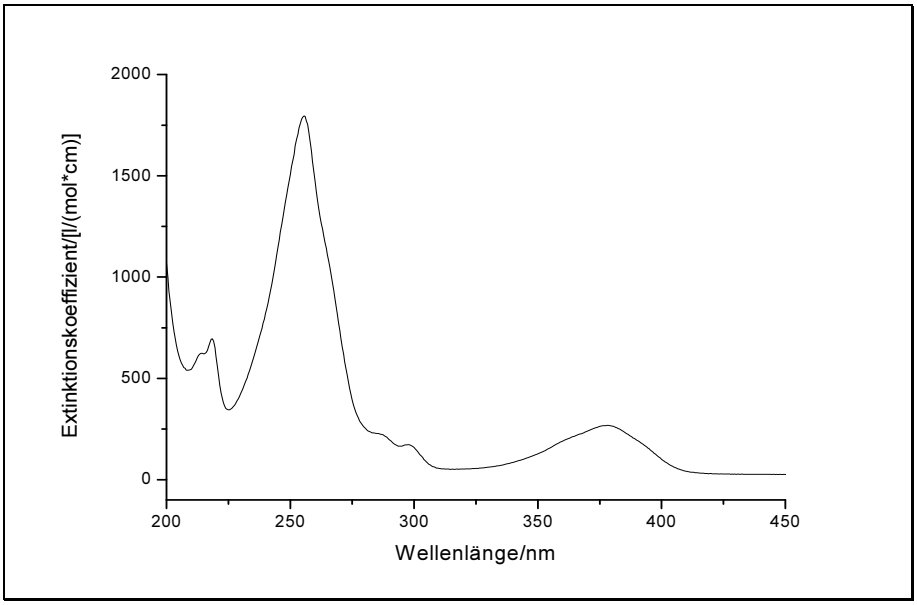


Abbildung 63: UV/Vis-Spektrum von Thioxanthon **95** in Methanol (c = 0.26 mmol/l)

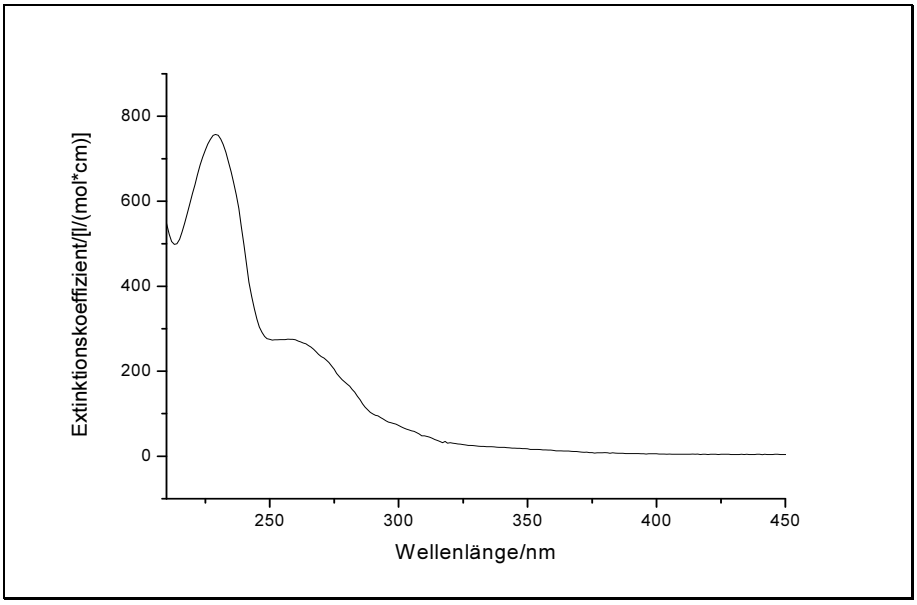


Abbildung 64: UV/Vis-Spektrum von 2-NBB **120** in Methanol (c = 0.210 mmol/l)

Anschließend werden analog den vorherigen Messungen jeweils eine luftgesättigte und eine entgaste Probe der reinen 2-NB-Benzoat **120**-Lösung sowie der 2-NB-Benzoat **120**/Thioxanthon **95**-Lösung bei einer Wellenlänge von 410 m bestrahlt.
Nach Auftragung der erhaltenden Messdaten werden die einzelnen Kurven linear und mono-exponentiell angepasst und man erhält den unten dargestellten Graphen:

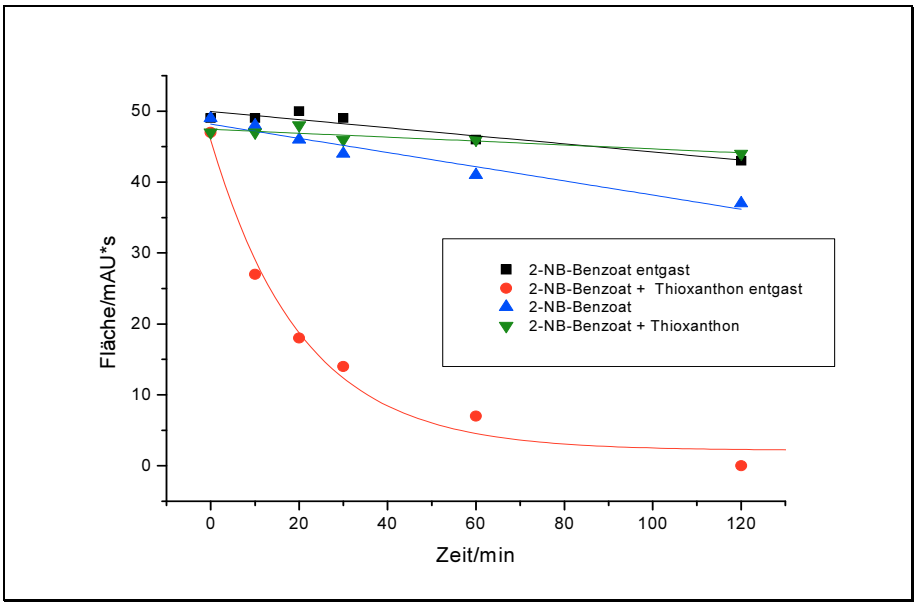


Abbildung 65: Photoabbau von 2-NB-Benzoat **120** unter Verwendung von Thioxanthon **95** bei 410 nm in Methanol

Die durch die einzelnen Fits erhaltenen Werte sowie die daraus berechneten relativen Reaktionsgeschwindigkeiten sind in nachstehender Tabelle aufgeführt:

	Y_0 [mAU*s]	A_1 [mAU*s]	t_1 [min]	$f'(0)^*$ [mAU*s/min]	v [mol/l*s]
2-NB-Benzoat, entgast	/	/	/	-0,06	$1.76*10^{-9}$
2-NB-Benzoat+Thioxanthon, entgast	2.17	43.76	20.59	-2.13	$65.7*10^{-9}$
2-NB-Benzoat	/	/	/	-0.1	$2.93*10^{-9}$
2-NB-Benzoat+Thioxanthon	/	/	/	-0.03	$0.93*10^{-9}$

Tabelle 5: Messdaten des Photoabbaus von 2-NB-Benzoat **120** unter Verwendung von Thioxanthon **95** bei 410 nm in Methanol

Betrachtet man die in dieser Messung erhaltenen Ergebnisse, so ist zu erkennen, dass mit Thioxanthon **95** im Vergleich zum Xanthon **94** ein noch schnellerer photochemischer Abbau des 2-Nitrobenzylbenzoat **120** erfolgt. Unter Verwendung von Thioxanthon **95** kann das *Caged Compound* mit einer Reaktionsgeschwindigkeit von $65.7*10^{-9}$mol/l*s sogar 40mal schneller abgebaut werden als dies bei einer direkten, also nicht-sensibilisierten Bestrahlung ($1.76*10^{-9}$mol/l*s) möglich ist. Allerdings findet auch hier nur eine Sensibilisierung unter Ausschluss von Sauerstoff statt. Auch bei Verwendung von Thioxanthon **95** in luftgesättigter Lösung ist auf grund des inneren Filtereffektes des Sensibilisators eine Verlangsamung der Schutzgruppenabspaltung zu beobachten. Berechnet man wie viele Photonen vom *Caged Compound* in der Mischung im Vergleich zu der Photonenmenge in der reinen *Caged Compound*-Lösung absorbiert werden, so sind nach Gleichung (24) 99 %. Berechnet man anschließend die Menge aller in der Mischung absorbierten Photonen nach Gleichung (25), so erhält man einen Wert von 15.4. Das heißt, 1540 % an Photonen werden im Vergleich zur reinen *Caged Compound*-Lösung absorbiert. Somit lässt sich für die in der Mischung vom Thioxanthon **95** absorbierten Photonen ein Wert von 1441 % berechnen. Aus diesen Rechnungen ergibt sich, dass bei einer vollständigen Energieübertragung des Thioxanthons **95** und der Annahme, dass $\Phi_S = \Phi_T$ ist, der photochemische Abbau des 2-NB-Benzoates **120** rund 15mal schneller abläuft als ohne Sensibilisator. Vergleicht man diesen berechneten Wert mit dem in unseren Messungen erhaltenen Wert, nämlich einer Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit um das 40fache, so kann man davon ausgehen, dass auch Thioxanthon **95** bei einer Bestrahlungswellenlänge von 410 nm Energie auf den zu 100 % weiterreagierenden, hoch reaktiven Triplett-Zustand des *Caged Compounds* **120** überträgt. Eine Steigerung der Gesamtquantenausbeute des photochemischen *Caged Compound*-Abbaus und somit eine Steigerung dessen relativen Reaktionsgeschwindigkeit ist die Folge.

Zum Vergleich wird mit den angesetzten Stammlösungen noch eine zweite Messung durch Bestrahlung mit Licht einer Wellenlänge von 350 nm durchgeführt, da beide Verbindungen bei dieser Wellenlänge eine stärkere Absorption aufweisen. Die Absorbanz für diese Einstrahlungswellenlänge beträgt für das Reaktionsgemisch A = 0.017 und ist somit rund dreimal so hoch wie bei einer Bestrahlungswellenlänge von 410 nm.

M 5

Nach einer Bestrahlungszeit von nur 30 min kann bei dieser Messung ein fast vollständiger Abbau des 2-Nitrobenzylbenzoat **120** beobachtet werden.

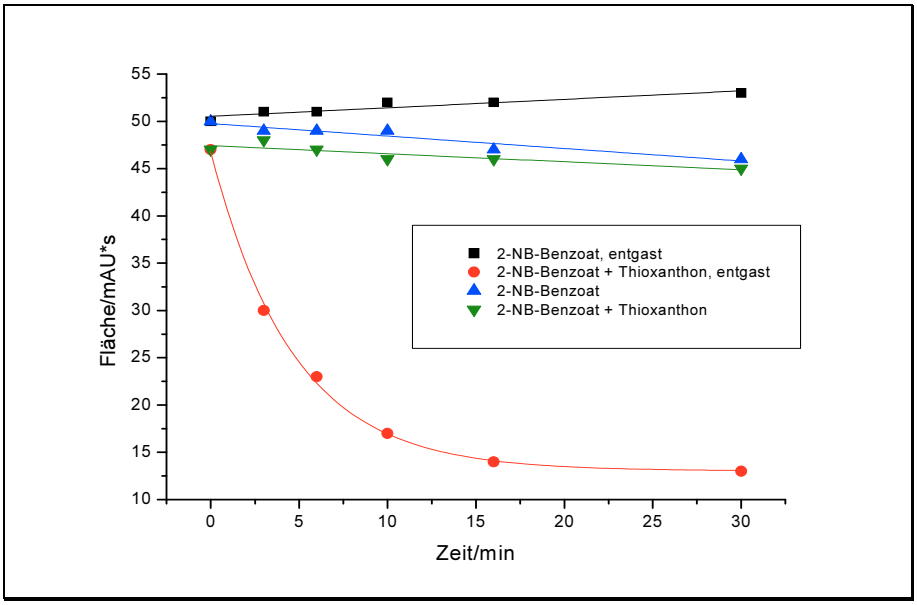


Abbildung 66: Photoabbau von **120** unter Verwendung von Thioxanthon **95** bei 350 nm in Methanol

Die durch die einzelnen linearen bzw. mono-exponentiellen Fits erhaltenen Werte sowie die daraus berechneten relativen Reaktionsgeschwindigkeiten für eine Bestrahlung bei 350 nm sind in der folgenden Tabelle aufgeführt:

	Y_0 [mAU*s]	A_1 [mAU*s]	t_1 [min]	$f'(0)^*$ [mAU*s/min]	v [mol/l*s]
2-NB-Benzoat, entgast	/	/	/	0.09	$-2.61*10^{-9}$
2-NB-Benzoat+Thioxanthon, entgast	13.04	33.77	4.64	-7.28	$224*10^{-9}$
2-NB-Benzoat	/	/	/	-0.13	$3.77*10^{-9}$
2-NB-Benzoat+Thioxanthon	/	/	/	-0.08	$2.41*10^{-9}$

Tabelle 6: Messdaten des Photoabbaus von **120** unter Verwendung von Thioxanthon **95** bei 350 nm in Methanol

Vergleicht man die in der Tabelle aufgeführten Werte mit denen aus der vorherigen Messung (Einstrahlungswellenlänge: 410 nm), so ist zu erkennen, dass bei einer Bestrahlung durch Licht mit einer Wellenlänge von 350 nm eine noch deutlichere Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit möglich ist. Dies ist wahrscheinlich darauf zurück zu führen, dass beide Verbindungen bei 350 nm eine größere Absorption als bei 410 nm aufweisen (siehe UV-Vis-Spektren). Die Sensibilisierung erfolgt dabei in der entgasten Mischung mit einer Geschwindigkeit von $224*10^{-9}$ mol/l*s rund 85mal so schnell wie die Reaktion ohne Sensibilisatorzusatz und es werden nur noch etwa 30 Minuten benötigt, bis ein vollständiger photochemischer Abbau des C*aged Compound* **120** erfolgt ist. Vergleicht man die gemessene Geschwindigkeit für den Photoabbau des 2-NB-Benzoat **120** in Gegenwart von Thioxanthon **95** bei 410 nm mit der gemessenen Geschwindigkeit des Abbaus bei 350 nm, so erfolgt der Abbau bei 350 nm rund dreieinhalbmal so schnell. Weiterhin ist auch wie beim Xanthon **94** zu beobachten, dass in Gegenwart von Thioxanthon **95** als Sensibilisator in der luftgesättigten Lösung eine Verlangsamung der Schutzgruppenabspaltung als Folge des inneren Filtereffektes des Sensibilisators stattfindet. Nach Gleichung (24) kann für die Bestrahlungswellenlänge von 350 nm mit 98 % eine fast vollständige Absorption der eingestrahlten Photonen durch das *Caged Compound* in der Mischung verglichen mit der absorbierten Photonenmenge in der reinen *Caged Compound*-Lösung beobachtet werden. Die gesamte Menge an absorbierten Photonen in der Mischung berechnet sich zu 1118 %. Damit beträgt der Anteil der durch das Thioxanthon **95** absobierten Photonen 1020 %. Nach dieser Rechnung würde bei einer vollständigen Energieübertragung und mit $\Phi_S = \Phi_T$ der photochemische Abbau von 2-NB-Benzoat **120** rund 10mal schneller erfolgen. In unseren Messungen konnten wir jedoch eine Steigerung der relativen Reaktionsgeschwindigkeit um das 85fache beobachten. Das Ergebnis lässt somit auch in diesem Fall die Annahme zu, dass die Quantenausbeute für die Reaktion aus dem Triplett-Zustand sehr viel größer ist als die Quantenausbeute für die Reaktion aus dem Singulett-Zustand.

3.2.3.8.1.4 Vergleich der möglichen Sensibilisatoren:

Betrachtet man nun abschließend die Ergebnisse der einzelnen Messungen (siehe Abbildung 67), so ist zu erkennen, dass 4-Aminobenzophenon **93** keine effektive Sensibilisierung des Photoabbaus von 2-Nitrobenzylbenzoat **120** zeigt. Vielmehr ist eine Verlangsamung der Schutzgruppenabspaltung zu beobachten. Zwar konnte durch Vergleich der gemessenen Reaktionsgeschwindigkeiten mit der theoretisch berechneten maximalen Geschwindigkeit eine Energieübertragung auf den Triplett-Zustand des *Caged Compound* nachgewiesen werden, allerdings ist der innere Filtereffekt des 4-Aminobenzophenons **93** so groß, dass sich diese Energieübertragung und damit eine Steigerung von Φ_T auf die Geschwindigkeit des Photoabbaus nicht effektiv auswirkt. Aus diesem Grund scheidet 4-Aminobenzophenon **93** als Sensibilisator für unsere weiteren Untersuchungen aus. Jedoch wäre es interessant zu untersuchen, ob eine Optimierung der erhaltenen Messergebnisse für 4-AB **93** durch Variation der Bestrahlungswellenlänge und der Sensibilisator- bzw. *Caged Compound*-Konzentrationen möglich ist. Xanthon **94** und Thioxanthon **95** hingegen sind als Sensibilisatoren für *Caged Compounds* des *o*-Nitrobenzyl-Typs geeignet. Mit ihnen konnten die relativen Geschwindigkeiten des Photoabbaus, je nach eingestrahlter Wellenlänge und Verbindung bis um das 85fache gesteigert werden. Allerdings ist eine Sensibilisierung nur dann möglich, wenn unter Ausschluss von Sauerstoff gearbeitet wird. Nur so kann verhindert werden, dass in einer Konkurrenzreaktion der Sensibilisator seine Energie zusätzlich noch auf den Sauerstoff der Lösung überträgt und so weniger Energie auf die *o*-Nitrobenzyl-Schutzgruppe übergehen kann.

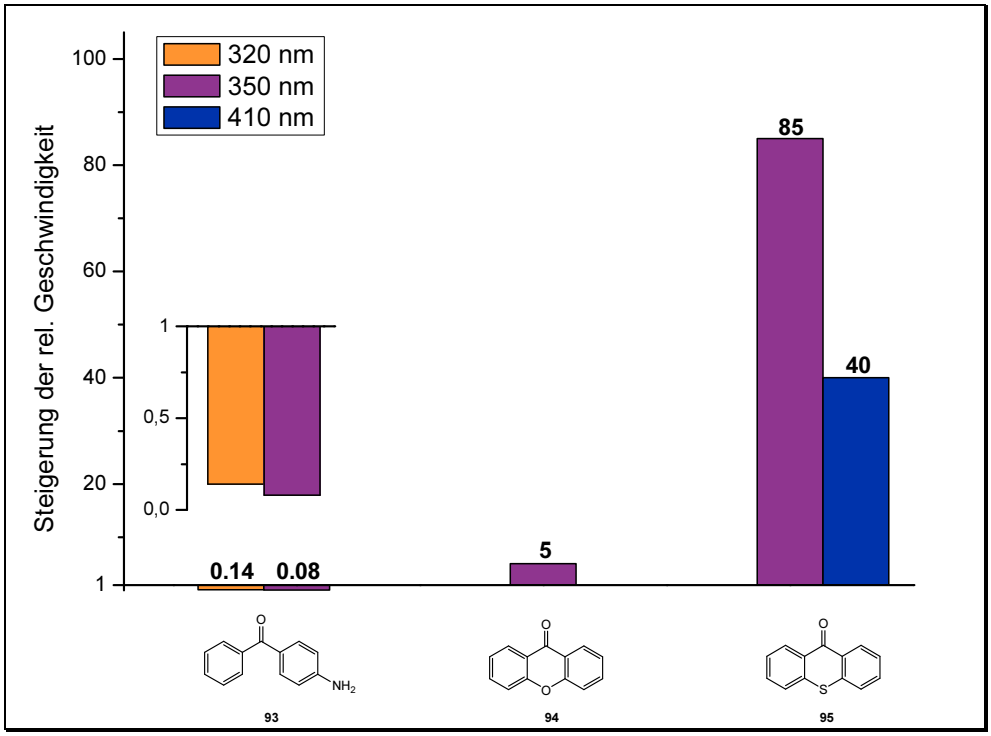
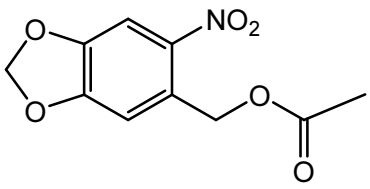


Abbildung 67: Vergleich der rel. Reaktionsgeschwindigkeiten potentieller Sensibilisatoren in entgasten Lösungen

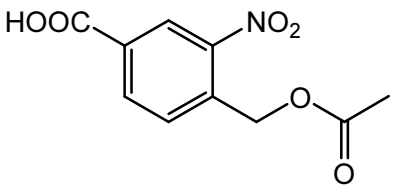
Aufgrund der großen Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit des photochemischen Abbaus um fast das 85fache und der somit besten Sensibilisierungseffizienz werden nachfolgende Sensibilisierungs-Messungen mit Thioxanthon **95** als Sensibilisator bei einer Bestrahlungswellenlänge von 350 nm durchgeführt.

3.2.3.8.2 Sensibilisierte Spaltung verschiedener o-Nitrobenzyl-Derivate

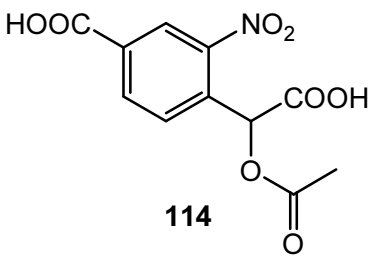
Nach dem Screening nach dem für *Caged Compounds* des *o*-Nitrobenzyl-Typs **4** effizientesten Sensibilisator soll nun neben 2-Nitrobenzylbenzoat **120** der Umsatz der synthetisierten Verbindungen **82**, **112** und **114** mit Thioxanthon **95** als Sensibilisator bei einer Bestrahlungswellenlänge von 350 nm mittels HPLC untersucht werden. Da allerdings eine Sensibilisierung nur unter Ausschluss von Sauerstoff möglich ist, wird auf die analogen Messungen sauerstoffhaltiger Proben direkt verzichtet.



82



112



114

3.2.3.8.2.1 (4,5-Methylendioxy-2-nitrobenzyl)-acetat (4,5-MDNB-Acetat) 82

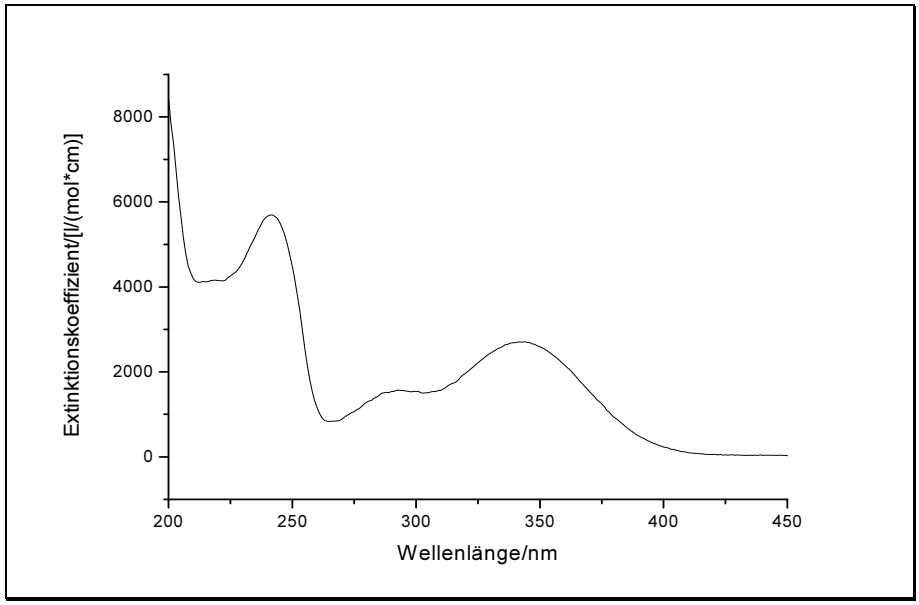


Abbildung 68: UV/Vis-Spektrum von 4,5-MDNB-Acetat **82** in Methanol (c = 0.087 mmol/l)

Analog den vorausgegangenen Messungen wird nach Aufnahme der für die Absorbanz notwendigen UV/Vis-Spektren jeweils eine entgaste Probe der reinen 4,5-MDNB-Acetat **82**-Lösung sowie der 4,5-MDNB-Acetat **82**/Thioxanthon **95**-Lösung (Absorbanz bei 350 nm = 0.24) bei 350 nm bestrahlt. **M 6**

Nach Auftragung der erhaltenden Messdaten werden die einzelnen Kurven mono-exponentiell angepasst und man erhält den dargestellten Graphen:

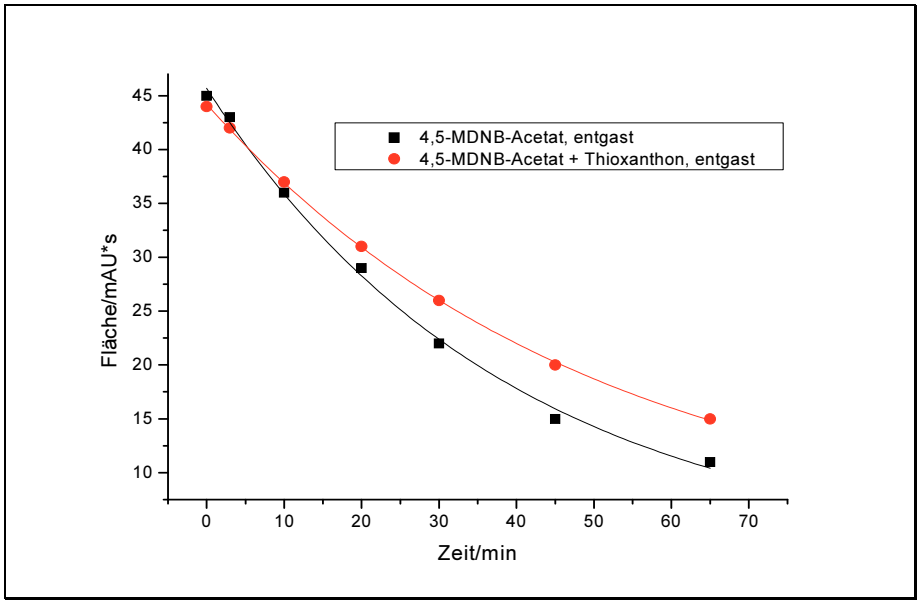


Abbildung 69: Photoabbau von 4,5-MDNB-Acetat **82** unter Verwendung von Thioxanthon **95** bei 350 nm in Methanol

Die durch die mono-exponentiellen Fits erhaltenen Werte sowie die daraus berechneten Reaktionsgeschwindigkeiten sind in der folgenden Tabelle aufgeführt:

	Y_0 [mAu*s]	A_1 [mAU*s]	t_1 [min]	$f'(0)^*$ [mAU*s/min]	v [mol/l*s]
4,5-MDNB-Acetat,	2.11	43.57	39.21	-1.11	$3.57*10^{-8}$
4,5-MDNB-Acetat+Thioxanthon	3.83	40.38	50.07	-0.81	$2.67*10^{-8}$

Tabelle 7: Messdaten des Photoabbaus von 4,5-MDNB-Acetat **82** unter Verwendung von Thioxanthon **95** bei 350 nm in Methanol

Vergleicht man nach Gleichung (24) die vom *Caged Compound* in der Mischung absorbierte Photonenmenge mit der in der reinen *Caged Compound*-Lösung, so ist dieser mit einem Wert von 98 % fast identisch. Berechnet man die Gesamtmenge an absorbierten Photonen in der Mischung, so beträgt diese bezogen auf die Menge in der reinen *Caged Compound*-Lösung 105 %. Dies bedeutet 7 % der Photonen werden in der Reaktionsmischung vom Thioxanthon **95** absorbiert. Würde das

Thioxanthon **95** nun seine Energie vollständig unter der Annahme, dass die Singulett- Φ_S und die Triplett- Quantenausbeute Φ_T ungefähr gleich sind, auf das *Caged Compound* übertragen, so würde eine Steigerung der relativen Geschwindigkeit des Photoabbaus um etwa 5 % erwartet werden. Betrachtet man aber die in dieser Messung erhaltenen Messergebnisse, so ist zu erkennen, dass für das 4,5-MDNB-Acetat **82** keine Sensibilisierung mit Thioxanthon **95** erfolgt. Es ist sogar eine leichte Abnahme der Geschwindigkeit für die Schutzgruppenabspaltung bei Gegenwart des eigentlichen Sensibilisators zu beobachten. Dies bestätigt unsere früheren Erkenntnisse, dass 4,5-MDNB-Acetat **82** einen langlebigen, nicht reaktiven Triplett-Zustand besitzt, aus dem keine Photochemie stattfindet. Zusätzlich wird die Reaktion bei Gegenwart des Thioxanthons **95** auch durch dessen inneren Filtereffekt langsamer, das bedeutet, Thioxanthon **95** absorbiert zwar wie bereits erwähnt 7 % der Photonen, überträgt aber keine Energie auf das 4,5-MDNB-Acetat **82**. Als Folge steht somit dem *Caged Compound* weniger Licht zur direkten, also nicht-sensibilisierten Reaktion zur Verfügung. Vergleicht man allerdings die relative Reaktionsgeschwindigkeit des 4,5-MDNB-Acetats **82** ($3.57*10^{-8}$ mol/l*s) bei direkter Bestrahlung mit der Reaktionsgeschwindigkeit des 2-NB-Benzoates **120** ($0.26*10^{-8}$ mol/l*s), so erfolgt ihr photochemischer Abbau rund 13mal so schnell, da 4,5-MDNB-Acetat **82** verglichen mit 2-NB-Benzoat **120** bei 350 nm eine weit aus höhere Absorption aufweist (siehe UV-Spektren).

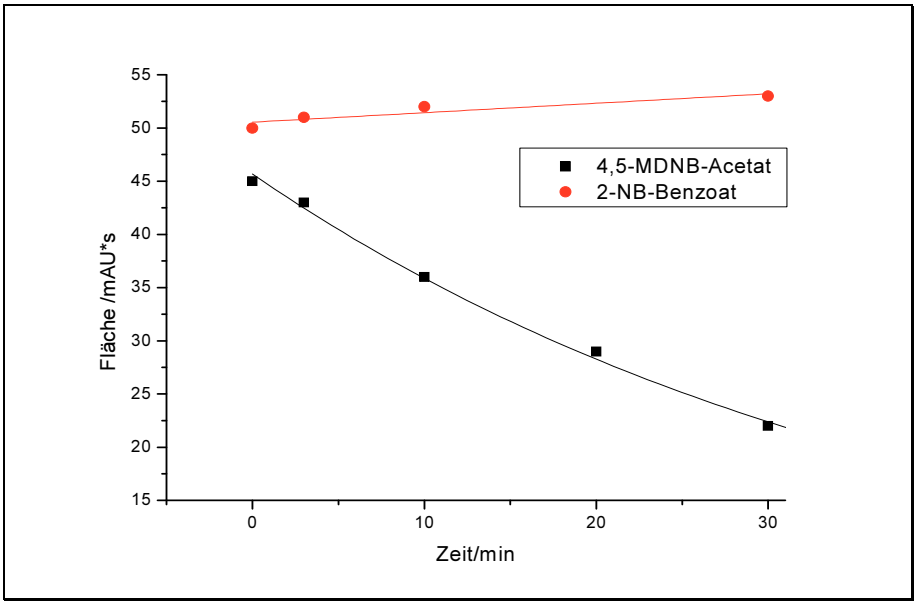


Abbildung 70: Vergleich des Photoabbaus von 4,5-MDNB-Acetat **82** und 2-NB-Benzoat **120** bei 350 nm

3.2.3.8.2.2 4-(Acetoxymethyl)-3-nitrobenzoesäure (4-CNB-Acetat) 112

Zur Untersuchung der Monocarbonsäure **112** werden von dieser und dem Thioxanthon **95** zur Bestimmung der möglichen Einstrahlungswellenlänge und der Absorbanz der Mischung UV/Vis-Spektren (siehe Abbildung 71 und 72) in Acetonitril als Lösungsmittel aufgenommen. **M 4**

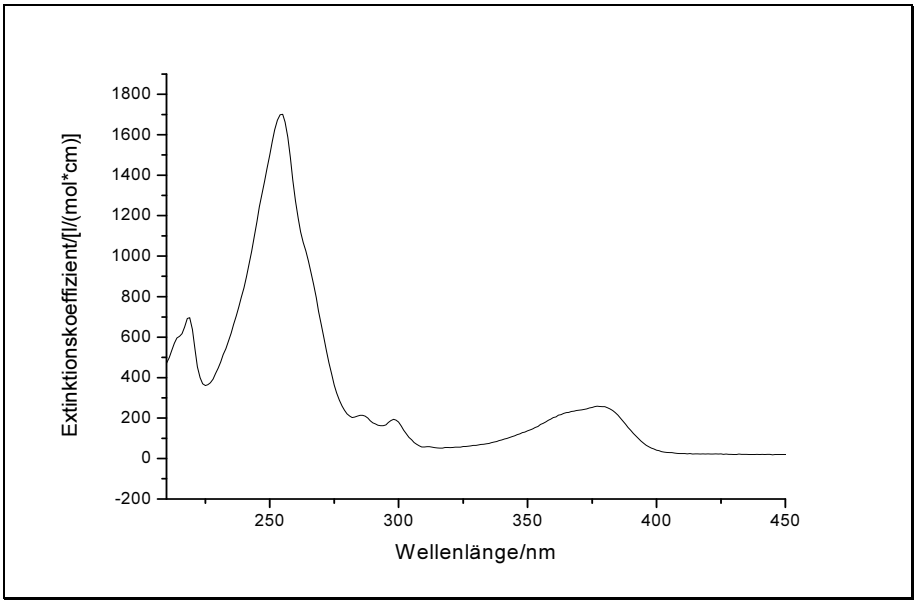


Abbildung 71: UV/Vis-Spektrum von Thioxanthon **95** in Acetonitril (c = 0.117 mmol/l)

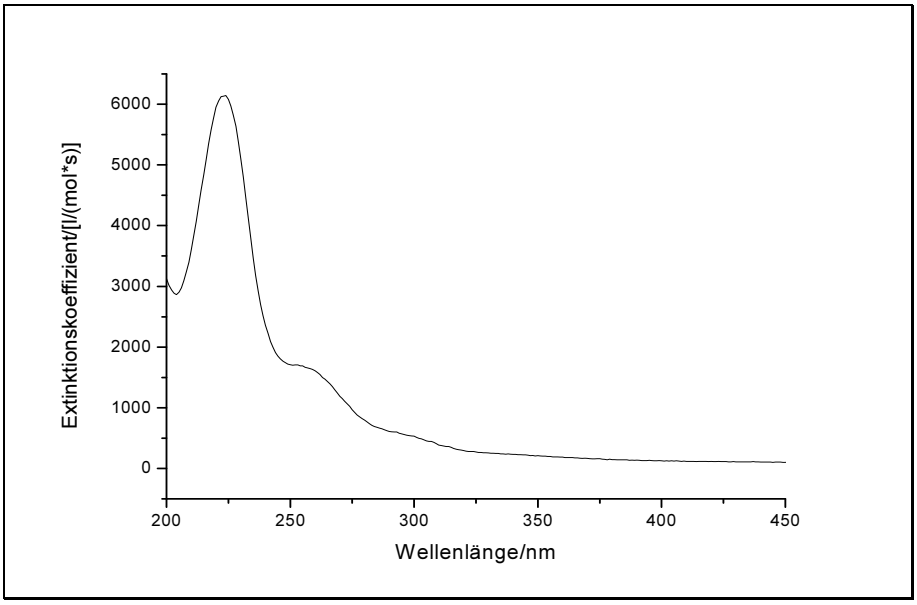


Abbildung 72: UV/Vis-Spektrum von 4-CNB-Acetat **112** in Acetonitril (c = 0.087 mmol/l)

Nach Bestrahlung der reinen *Caged Compound*-Lösung und der *Caged Compound*/ Sensibilisator-Lösung, mit einer Absorbanz von A = 0.035, werden die erhaltenden Messdaten aufgetragen und die sich ergebenen Kurven angepasst. Man erhält den unten dargestellten Graphen:

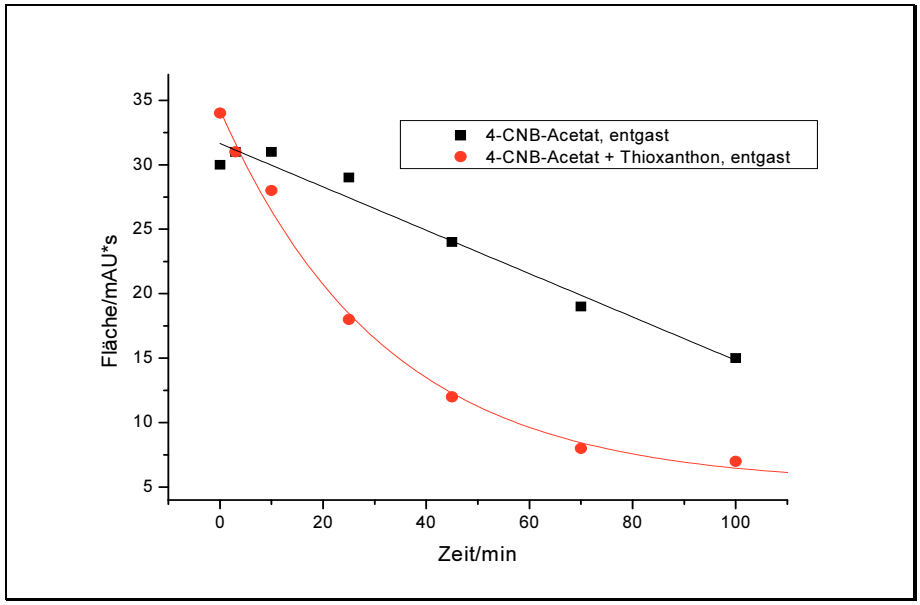


Abbildung 73: Photoabbau von 4-CNB-Acetat **112** unter Verwendung von Thioxanthon **95** bei 350 nm in Acetonitril

Die durch den linearen und mono-exponentiellen Fit erhaltenen Werte sowie die daraus berechneten relativen Reaktionsgeschwindigkeiten sind in der folgenden Tabelle aufgeführt:

	Y_0 [mAU*s]	A_1 [mAU*s]	t_1 [min]	$f'(0)^*$ [mAU*s/min]	v [mol/l*s]
4-CNB-Acetat,	/	/	/	-0.17	$8.22*10^{-9}$
4-CNB-Acetat+Thioxanthon	5.22	29.04	31.88	-0.91	$38.8*10^{-9}$

Tabelle 8: Messdaten des Photoabbaus von 4-CNB-Acetat **112** unter Verwendung von Thioxanthon **95** bei 350 nm in Acetonitril

Vergleicht man nach Gleichung (24) die vom *Caged Compound* in der Mischung absorbierte Photonenmenge mit der in der reinen *Caged Compound*-Lösung, so ist dieser mit einem Wert von 98 % fast identisch. Berechnet man die Gesamtmenge an

absorbierten Photonen in der Mischung, so beträgt diese bezogen auf die Menge der absorbierten Photonen in der reinen *Caged Compound*-Lösung 186 %. Folglich werden 88 % der eingestrahlten Photonen von Thioxanthon **95** absorbiert. Würde das Thioxanthon **95** nun seine Energie vollständig unter der Annahme, dass die Singulett- Φ_S und die Triplett- Quantenausbeute Φ_T ungefähr gleich sind, auf das *Caged Compound* übertragen, so würde eine Steigerung der relativen Geschwindigkeit des Photoabbaus um etwa den Faktor 2 erwartet werden. Vergleicht man aber die in der oben stehenden Tabelle aufgeführten Werte so erfolgt der photochemische Abbau von 4-CNB-Acetat **112** bei Sensibilisatorzugabe mit einer Geschwindigkeit von $38.8*10^{-9}$ mol/l*s rund fünfmal so effektiv wie bei einer direkten Bestrahlung ($8.22*10^{-9}$ mol/l*s). Nach etwa 100 Minuten ist die Monocarbonsäure **112** fast vollständig abgebaut. Dies bedeutet, dass auch im Falle der Monocarbonsäure **112** Energie von dem in der Mischung enthaltenen Thioxanton **95** auf den hoch reaktiven Triplett-Zustand des *Caged Compound* mit anschließender 100%igen Weiterreaktion stattfindet. Es kann somit eine Erhöhung der Gesamtquantenausbeute der Photoreaktion und somit eine Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit erzielt werden.

3.2.3.8.2.3 4-[Acetoxy(carboxy)methyl]-3-nitrobenzoesäure (α,4-DCNB-Acetat) 114

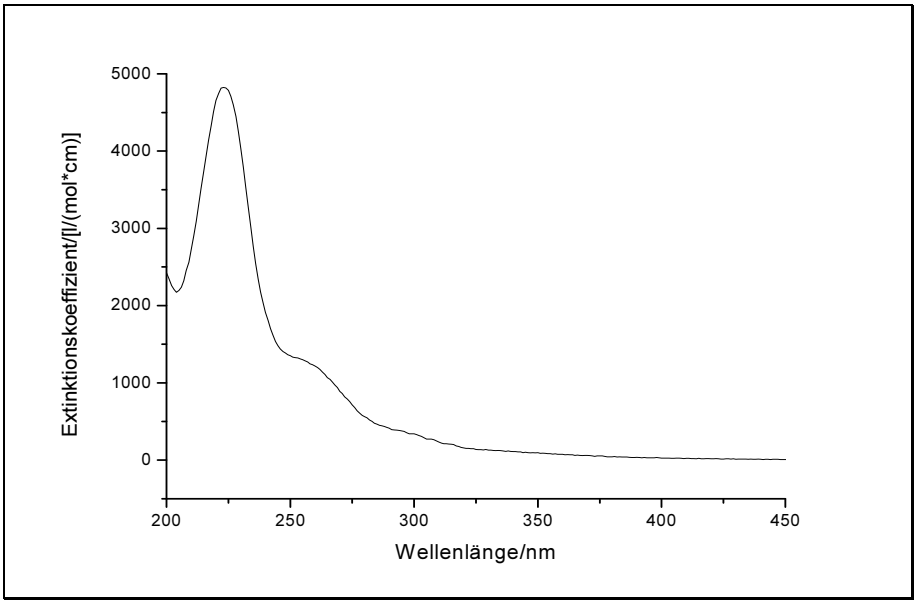


Abbildung 74:UV/Vis-Spektrum von α,4-DCNB-Acetat **114** in Acetonitril (c = 0.087 mmol/l)

Nach Aufnahme, des zur Bestimmung der möglichen Einstrahlungswellenlänge und der Absorbanz der Mischung notwendigen, UV/Vis-Spektrums der Dicarbonsäure (siehe Abbildung 74) in Acetonitril als Lösungsmittel, wird analog den vorherigen Messungen auch für diese Messung jeweils eine entgaste Probe des reinen *Caged Compounds* sowie des *Caged Compound*/ Sensibilisator-Gemisches (Absorbanz bei der Bestrahlungswellenlänge von 350 nm: A = 0.025) zeitkontrolliert bestrahlt und der Umsatz der zu untersuchenden Verbindung mittels HPLC kontrolliert. **M 4**

Nach Auftragung der erhaltenden Messdaten werden die einzelnen Kurven linear angepasst und man erhält den unten dargestellten Graphen:

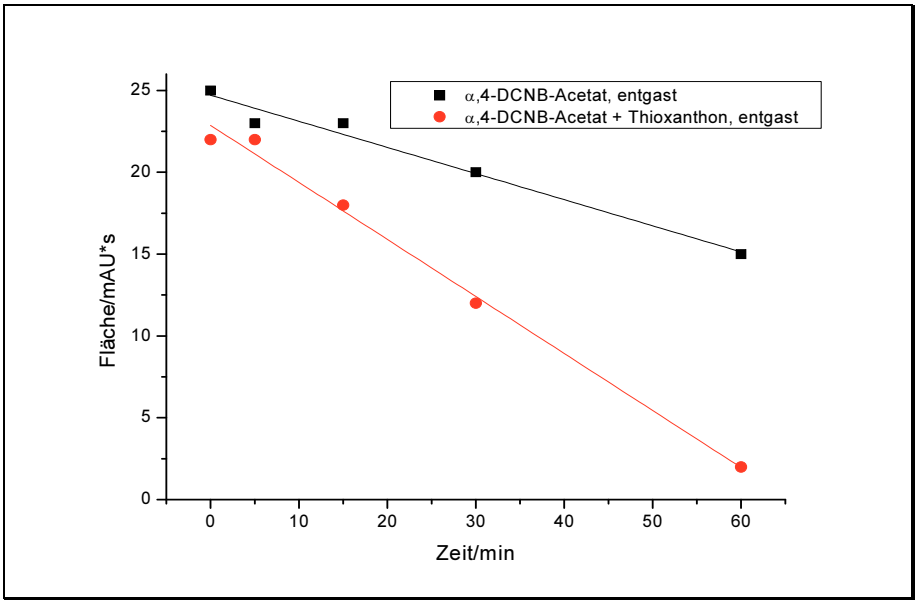


Abbildung 75: Photoabbau von α,4-DCNB-Acetat **114** unter Verwendung von Thioxanthon **95** bei 350 nm in Acetonitril

Die durch die linearen Fits erhaltenen Werte sowie die daraus berechneten relativen Reaktionsgeschwindigkeiten sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

	Y_0 [mAU*s]	A_1 [mAU*s]	t_1 [min]	$f'(0)^*$ [mAU*s/min]	v [mol/l*s]
α,4-DCNB-Acetat	/	/	/	-0.16	$9.68*10^{-9}$
α,4-DCNB-Acetat +Thioxanthon	/	/	/	-0.35	$23.0*10^{-9}$

Tabelle 9: Messdaten des Photoabbaus von α,4-DCNB-Acetat **114** unter Verwendung von Thioxanthon **95** bei 350 nm in Acetonitril

Berechnet man die vom *Caged Compound* in der Mischung absorbierte Photonenmenge im Vergleich mit der in der reinen *Caged Compound*-Lösung Absorbierten, so ist diese mit 98 % fast identisch. Berechnet man die Gesamtmenge an absorbierten Photonen in der Mischung, so beträgt diese 291 %. Folglich werden 193 % der eingestrahlten Photonen vom Thioxanthon **95** absorbiert. Daraus würde man bei einer vollständigen Energieübertragung des Thioxanthons **95** auf das *Caged Compound* eine Steigerung der relativen Geschwindigkeit des Photoabbaus um etwa

das dreifache erwarten, wenn $\Phi_S = \Phi_T$ gilt. Wie den Werten der oben stehenden Tabelle allerdings zu entnehmen ist, findet der Photoabbau von nicht luftgesättigtem α,4-DCNB-Acetat **114** bei Zugabe von Thioxanthon **95** nur etwa doppelt so schnell statt wie der Abbau in der reinen *Caged Compound*-Lösung. Dies bedeutet, dass das als Sensibilisator eingesetzte Thioxanthon **95** zwar Energie auf die Dicarbonsäure **114** überträgt, allerdings auch einen Teil der eingestrahlten Photonen durch einen inneren Filtereffekt absorbiert.

3.2.3.8.2.4 Vergleich der sensibilisierten Spaltung verschiedener o-Nitrobenzyl-Derivate:

Betrachtet man nun abschließend die Ergebnisse der einzelnen Sensibilisierungsmessungen der synthetisierten Zielverbindungen **120**, **82**, **112** und **114** unter Verwendung von Thioxanthon **95** als ausgewählten Sensibilisator bei einer Bestrahlungswellenlänge von 350 nm (siehe Abbildung 76),

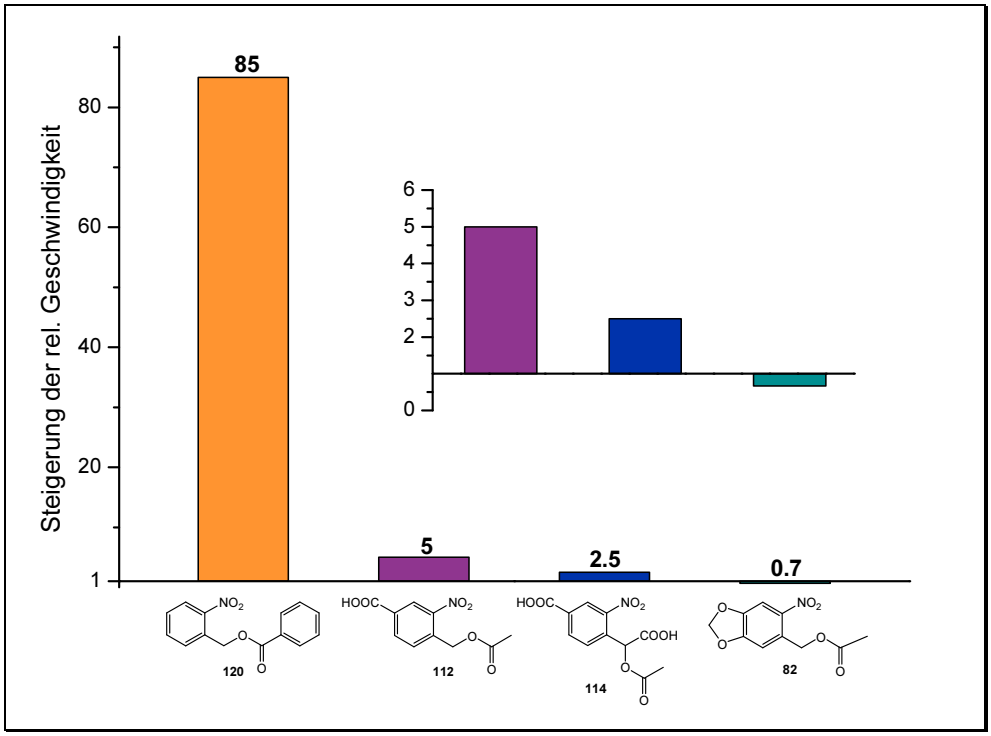


Abbildung 76: Vergleich der rel. Reaktionsgeschwindigkeiten synthetisierter *o*-Nitrobenzyl-Derivate

so ist zu erkennen, dass bei 2-NB-Benzoat **120** mit einer Steigerung der maximalen Reaktionsgeschwindigkeit um das 85fache mit Abstand die effizienteste Sensibilisierung erzielt werden konnte. Betrachtet man nämlich die für die Mischung berechnete Menge an absorbierten Photonen, so ist über diese rein rechnerisch nur eine Steigerung der Geschwindigkeit für den Photoabbau des *Caged Compounds* um etwa das 11fache möglich. Dies gilt aber wie bereits oben erwähnt nur dann, wenn die Quantenausbeute des Singulett-Zustandes Φ_S und die des Triplett-Zustandes Φ_T ungefähr gleich sind. Wird nun aber ein Teil der Energie vom Sensibilisator auf den Triplett-Zustand des *Caged Compound* übertragen, so reagiert dieser Anteil von dort aus zu 100 % weiter, da dieser verglichen mit dem Singulett-Zustand hoch reaktiv ist. Somit ist die Quantenausbeute des Triplett-Zustandes Φ_T deutlich höher als die des Singulett-Zustandes und als Folge wird die Gesamtquantenausbeute der Photoreaktion gesteigert. Diese Steigerung ist auf Grund der Langlebigkeit des Triplett-Zustandes plausibel und wird häufig beobachtet. Die Reaktion wird somit wesentlich schneller als im einfachen Model mit $\Phi_S = \Phi_T$ erwartet.

Bei 4,5-MDNB-Acetat **82** konnte hingegen keine Sensibilisierung verzeichnet werden. Es ist sogar wie bereits oben beschrieben eine Verlangsamung der Schutzgruppenabspaltung bei Gegenwart des eigentlichen Sensibilisators zu beobachten. Dies bestätigt unsere früheren Erkenntnisse, dass 4,5-MDNB-Acetat **82** einen langlebigen, nicht reaktiven Triplett-Zustand besitzt, aus dem die photochemische Spaltung nicht möglich ist. Zusätzlich wird die Reaktion bei Gegenwart des Thioxanthons **95** auch durch dessen inneren Filtereffekt langsamer, da durch diese dem *Caged Compound* weniger Licht zur direkten, also nicht-sensibilisierten Reaktion zur Verfügung steht. Vergleicht man allerdings die relative maximale Reaktionsgeschwindigkeit des Photoabbaus des 4,5-MDNB-Acetats **82** ohne Zusatz an Sensibilisator mit der Reaktionsgeschwindigkeit der entsprechenden Reaktion des 2-NB-Benzoates **120**, so erfolgt der Photoabbau des Acetats **82** aufgrund seiner höheren Bathochromie schneller (siehe Abbildung 70). Betrachtet man die Sensibilisierungsergebnisse der Monocarbonsäure 4-CNB-Acetat **112** und der Dicarbonsäure α,4-DCNB-Acetat **114**, so konnte für die beiden *o*-Nitrobenzyl-Derivate bei diesen Messungen eine Sensibilisierung erzielt werden. Allerdings konnte hier eine Steigerung der Geschwindigkeit wie sie bei 2-NB-Benzoat **120** erfolgt, nicht verzeichnet werden. Die für die

beiden Carbonsäuren gemessenen Geschwindigkeiten betrugen dabei nur das fünf- bzw. zweieinhalbfache der Geschwindigkeit für den Photoabbau der jeweiligen Verbindung in reiner Lösung.

Die für die einzelnen entgasten Messungen praktisch sowie theoretisch ermittelten Werte sind noch einmal der Übersicht halber in nachstehender Tabelle zusammengefasst. Neben den gemessenen Reaktionsgeschwindigkeiten für den Photoabbau der *Caged Compounds* in der reinen *Caged Compound*-Lösung bzw. in der Mischung und den von den einzelnen Komponenten (Sensibilisator, *Caged Compound* bzw. Mischung) absorbierten Photonenmengen, sind die theoretisch berechneten maximalen und tatsächlich gemessenen Steigerungen der Geschwindigkeiten angegeben. (Beispiel: Für Messung 5 wurde eine etwa 11fache Steigerung der Geschwindigkeit für den photochemischen Abbau von 2-NB-Benzoat **120** mit Thioxanthon **95** bei 350 nm berechnet. Tatsächlich gemessen wurde eine Steigerung um das 85fache).

	$\frac{I_{abs}^{CC\,in\,M}}{I_{abs}^{CC}}$	$\frac{I_{abs}^{M}}{I_{abs}^{CC}}$	$\frac{I_{abs}^{S\,in\,M}}{I_{abs}^{CC}}$	$k_{CC(entg.)}$ [mol/l*s]	$k_{M(entg.)}$ [mol/l*s]	$\frac{k_M}{k_{CC}}$
M1	0.04	1.45	1.41	$35.8*10^{-8}$	$4.86*10^{-8}$	0.14
M2	0.1	2.27	2.17	$5.01*10^{-8}$	$0.40*10^{-8}$	0.08
M3	0.99	1.4	0.41	$0.99*10^{-8}$	$4.66*10^{-8}$	4.71
M4	0.99	15.4	14.41	$1.76*10^{-9}$	$65.7*10^{-9}$	37.33
M5	0.98	11.18	10.2	$2.61*10^{-9}$	$224*10^{-9}$	85.82
M6	0.98	1.05	0.07	$3.57*10^{-8}$	$2.67*10^{-8}$	0.75
M7	0.98	1.86	0.88	$8.22*10^{-9}$	$38.8*10^{-9}$	4.72
M8	0.98	2.91	1.93	$9.68*10^{-9}$	$23.0*10^{-9}$	2.38

Tabelle 10: Messergebnisse

mit:
- $k_{CC(entg.)}$: Geschwindigkeit des Photoabbaus des *Caged Compound* in der reinen entgasten *Caged Compound*-Lösung
- $k_{M(entg.)}$: Geschwindigkeit des Photoabbaus des *Caged Compound* in der entgasten Mischung
- k_M/k_{CC}: Verhältnis der Geschwindigkeit der Mischung zu der Geschwindigkeit der reinen *Caged Compound*-Lösung

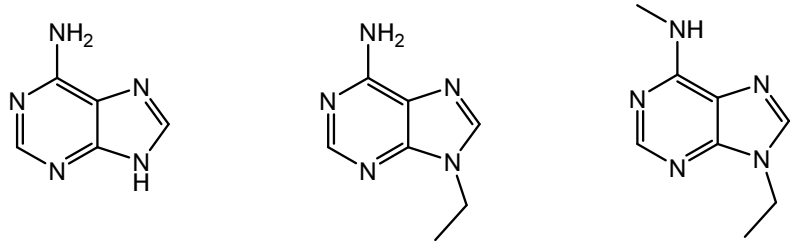
4 Zusammenfassung

Die vorliegende Dissertation gliedert sich in zwei Teile:

1. Untersuchungen zur Selbstaggregation von DNA-Basen
2. Photochemie von *Caged Compounds* des *o*-Nitrobenzyl-Typs

1. Untersuchungen zur Selbstaggregation von DNA-Basen:

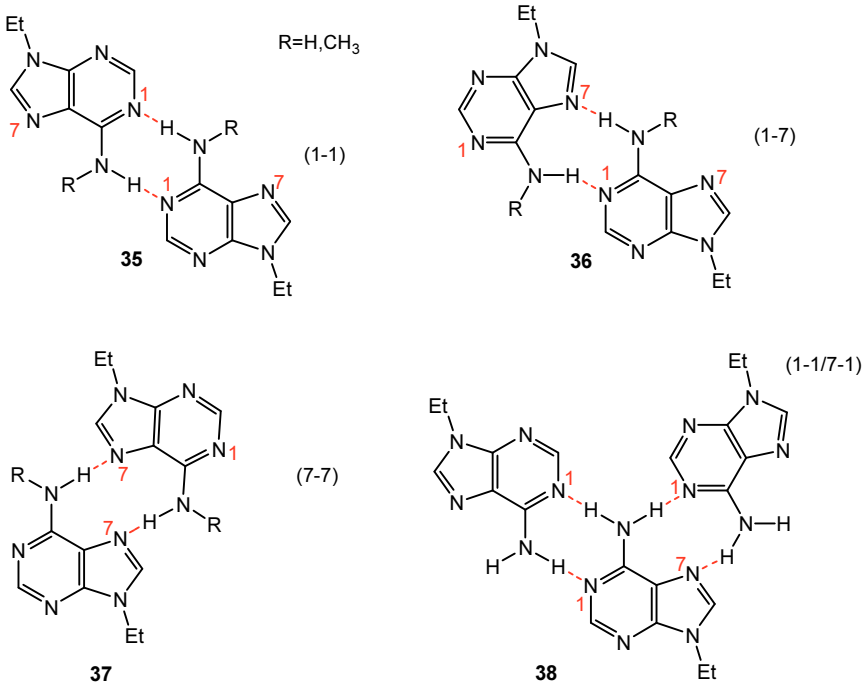
In früheren Untersuchungen konnten in Gasphasen-IR/UV-Spektren neben den üblichen *Watson-Crick* - Basenpaaren Adenin **1** – Thymin **16** und Guanin **13** – Cytosin **15** noch andere Isomere beobachtet werden.[2] Um die Struktur dieser Isomere genauer aufklären zu können, wurden im Rahmen einer Kooperation mit der physikalischen Chemie AK *Kleinermanns*[22] Untersuchungen zur Selbstaggregation und zur Aggregation in Lösung mit Hilfe der IR-Spektroskopie durchgeführt. Die dafür benötigten Derivate der DNA-Base Adenin **1** wurden synthetisiert. Da es das Ziel war gezielte Aggregationen der Basen zu verfolgen, wurden selektiv substituierte Adeninderivate dargestellt.



1 **28** **30**

Abbildung 77: Adenin **1** und alkylierte Adeninderivate **28** und **30**

Die beiden alkylierten Adeninderivate **28** und **30** wurden mittels IR-Absorptionsspektroskopie vermessen. Die durchgeführten Messungen ergaben, dass in Position 9 ethyliertes Adenin **28** bevorzugt drei cyclische Dimere, aber auch ein stabiles Trimer ausbilden kann.



Weitere Untersuchungen ergaben, dass im Falle des 9-Ethyladenins **28** das symmetrische (1-1)-Dimer die stabilste Anordnung darstellt. Danach folgt das (1-7)- und abschließend das (7-7)-Dimer. Betrachtet man die Stabilitätsreihenfolge der Dimere für das 9-Ethyl-1-methyladenin **30**, so ist zu berücksichtigen, dass diese Verbindung in zwei verschiedenen Konformationen vorliegen kann. Je nach Orientierung der *N*-Methyl-Aminogruppe sowohl in Form des *cis*- **39** als auch in Form des stabileren *trans* **40** -Isomers (ΔE = 6.2 kJ/mol).

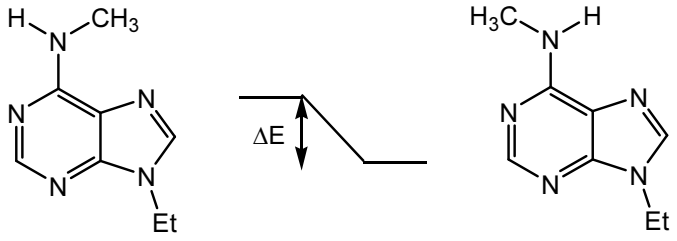
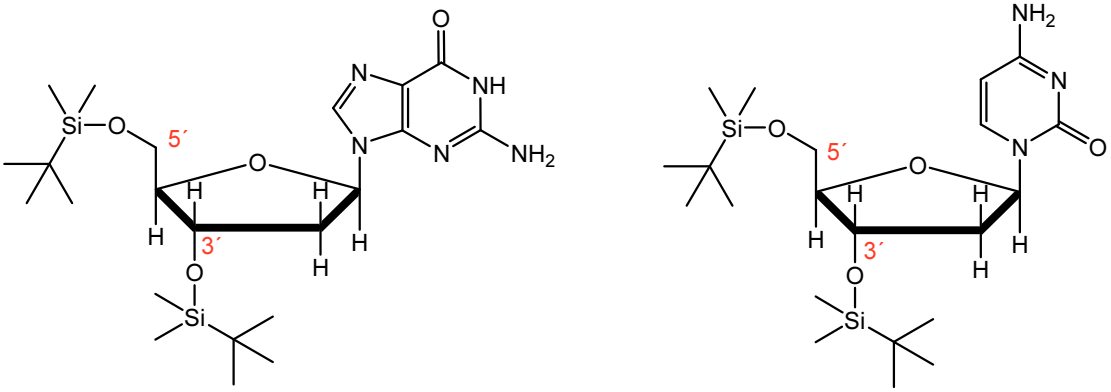


Abbildung 78: *cis* **39** - und *trans* **40** -Isomer von 9-Ethyl-1-methyladenin **30**

Es ergibt sich dabei für das stabilere trans **40**-Isomer, dass das (7-7)-Dimer vor dem (1-7)- und (1-1)-Dimer die stabilste Form bildet.

Aufgrund dieser Ergebnisse sollte in einem weiteren Schritt die angewandte Messmethode auch auf das Basenpaar Guanin **13** - Cytosin **15** übertragen und die Homo-/Heterobasenpaarung (G-G, C-G, C-C) untersucht werden. Hierzu wurden modifizierte Guanin **34** - und Cytosin **32** – Nukleoside synthetisiert.



34 **32**

Abbildung 79: Modifizierte Nukleoside **34** und **32**

Bei der Synthese wurden die 3´- und 5´-Hydroxlgruppen durch die sterisch anspruchsvolle *tert*-Butyldimethylsilyl-Gruppe ersetzt, um keine unspezifische Aggregation der Desoxyribose-OH-Gruppen zu erhalten. Da diese modifizierten Nukleoside in aprotischen Lösungsmitteln gut löslich sind und in diesen die Anordnung der Wasserstoffbrücken zwischen den Basen bevorzugt ist, wird auch für deren Messungen deuteriertes Chloroform als Lösungsmittel verwendet. Die geplanten Messungen dieser beiden synthetisierten modifizierten Nukleoside **34** und **32** werden allerdings zurzeit noch durchgeführt.

2. Photochemie von *Caged Compounds* des *o*-Nitrobenzyl-Typs

Schon seit vielen Jahren werden *Caged Compounds* als Werkzeuge in der Biochemie und Biophysik eingesetzt. Jedoch ist ihre Photochemie bis heute noch nicht vollständig aufgeklärt und auch heute noch ist eine Verbesserung der physikalischen und photochemischen Eigenschaften, wie z. B. eine Erhöhung der Gesamtquantenausbeute ihrer Photoreaktion notwendig. Aus diesem Grund bestand unter anderem im zweiten Teil dieser Arbeit das große Interesse in Kooperation mit der physikalischen Chemie ein verbessertes Verständnis des Photolysemechanismus der *Caged Compounds* zu erlangen. Die dafür benötigten Verbindungen wurden synthetisiert und physikochemisch untersucht.

Wichtig für eine gute Quantenausbeute ist ein schneller Ablauf der [1,5]-H-Wanderung aus dem angeregten Singulett- **49** bzw. Triplett-Zustand **50** zu den beiden *ac*i-Nitro-Intermediaten **51** und **52**.

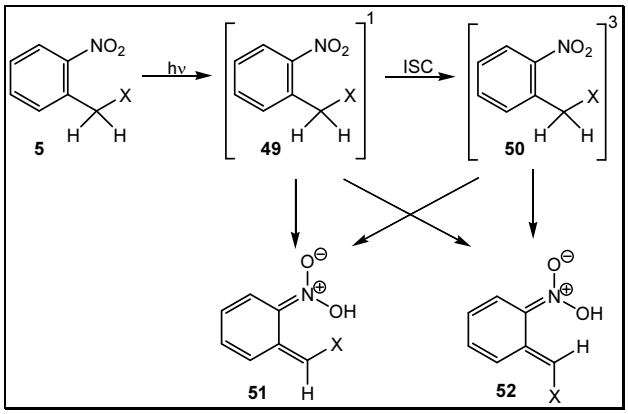
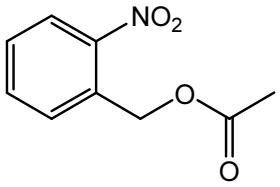


Abbildung 80: Ausschnitt des Photolysemechanismus von *Caged Compounds* des *o*-Nitrobenzyl-Typs

Um genauere Angaben über die Geschwindigkeit, mit der dieser H-Transfer stattfindet, machen zu können, wurde die Bildung der *ac*i-Nitro-Intermediate **51** und **52** während der Photoreaktion von 2-Nitrobenzyl-acetat **67** mittels Femtosekunden-Spektroskopie näher untersucht.



67

Dazu wurden nach erfolgter Bestrahlung Absorptionsspektren für Zeiten zwischen 0.2 ps und 2950 ps aufgezeichnet und die Messzeiten mit Wellenlängen und gemessenen Absorptionen als 3D-Plot aufgetragen.

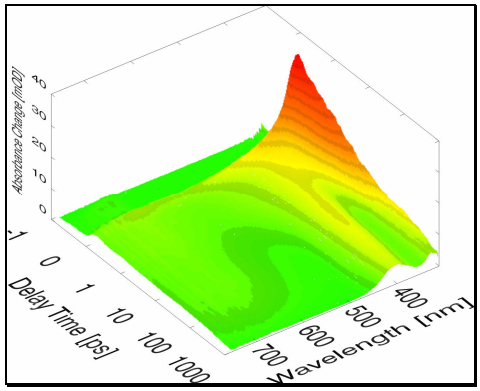
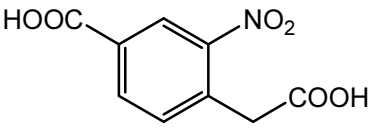


Abbildung 81: UV-Vis-Spektrum des bestrahlten *o*-Nitrobenzyl-acetat **67**

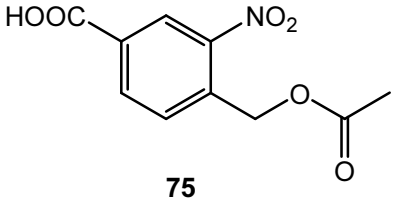
Hierbei zeigen die Zeitspuren das Verhalten an charakteristischen Wellenlängen und die transienten Spektren das spektrale Verhalten vor und nach wichtigen kinetischen Prozessen. Eine erste Analyse lieferte für die Experimente fünf verschiedene Lebensdauern von τ_1 = 20 fs, τ_2 = 1 ps, τ_3 = 10 ps, τ_4 = 500 ps und τ_5 = 1500 ps. Die genaue Zuordnung dieser fünf gemessenen Lebensdauern zu den entsprechenden Prozessen ist noch unklar. Vergleicht man die Ergebnisse allerdings mit denen von früher vermessenem *o*-Nitrotoluol, so kann man in Analogie annehmen, dass τ_1 und τ_2 dem Singulett-Zerfall zuordnen sind. τ_3 könnte eine Signatur des Schwingungskühlens oder Prozesse zwischen Triplett-Zuständen sein und τ_4 kann dem Triplett-Zerfall zu geordnet werden. Das Spektrum nach ~ 1000 ps wird durch die Absorption der *aci*-Formen dominiert und das in diesen Voruntersuchungen nach 3 ns gemessene Spektrum entspricht dem *aci*-Nitrointermediate-Spektrum, welches schon in früheren Messungen in der AG *Schaper* mit Nanosekunden-Auflösung erhalten wurde.[44]

Neben der Untersuchung der Photoreaktion von *Caged Compounds* des *o*-Nitrobenzyl-Typs mittels Femtosekunden-Spektroskopie sollte diese auch im Elektrosprayionisation-Massenspektrometer erforscht werden. Dabei war es von Interesse, Informationen über die Zeitauflösung der Freisetzung der bioaktiven Substanz während der Photolyse des *Caged Compounds* zu erhalten. Um die Photoreaktion von *Caged Compounds* im ESI-Massenspektrometer untersuchen zu können, wurden zunächst Voruntersuchungen durchgeführt, welche Aufschluss geben sollten, unter welchen Bedingungen ein Mutterion im ESI-Massenspektrum detektiert werden

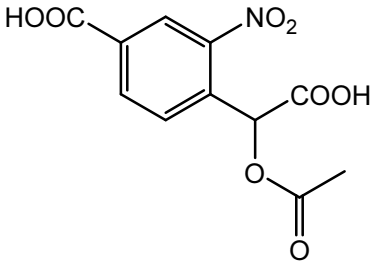
kann. Für diese Voruntersuchungen wurden zunächst die Verbindungen **74** bis **77** synthetisiert und dann anschließend vermessen.



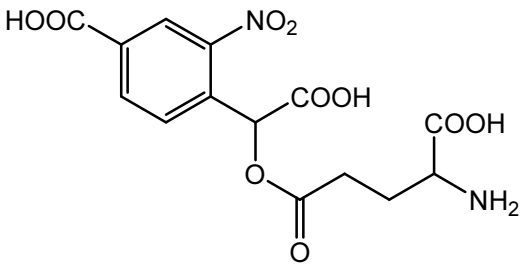
74



75



76



77

Für alle vier Verbindungen konnte dabei ein Mutterion detektiert und in einer Ionenfalle isoliert werden. Des Weiteren konnte bei allen Verbindungen ein Ion mit doppelter Masse detektiert werden. Dies zeigt, dass diese Systeme nicht nur in Lösung, sondern auch in der Gasphase stabile Dimere ausbilden können.

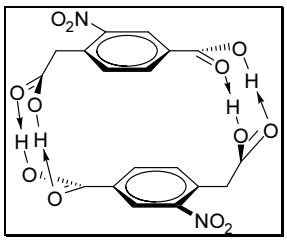
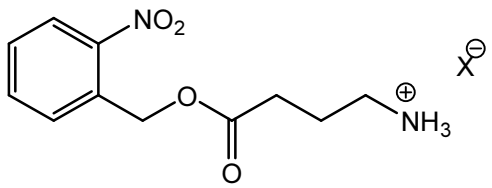


Abbildung 82: Schematische Darstellung eines Kopf-Schwanz geknüpften Dimers von **74**

Nach abgeschlossenen Voruntersuchungen wurde in einem zweiten Schritt versucht, die Probe **78**



78

direkt vor dem Einsprühen in die Ionisationskammer zu bestrahlen, um ihre Photoreaktion auch auf diesem Wege verfolgen zu können. Dazu wurde die Verbindung bei einer Wellenlänge von 308 nm bestrahlt und im Massenspektrometer analysiert.

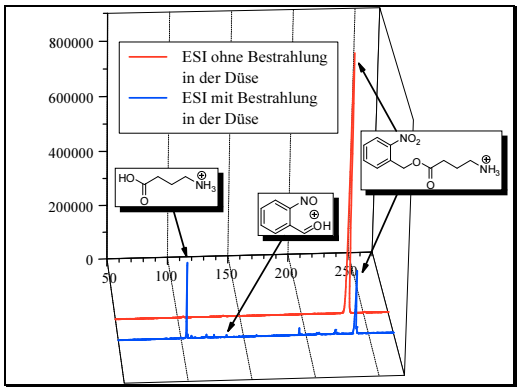
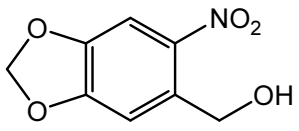


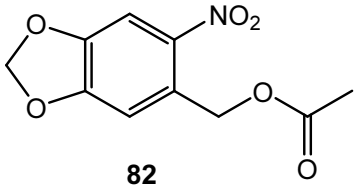
Abbildung 83: ESI-MS-Spektren von *Caged* GABA **78**

Betrachtet man nun das aufgenommene ESI-MS-Spektrum, so ist zu beobachten, dass die Intensität des Mutterions, der vor dem Einsprühen in den Ionisationsraum bestrahlten Probe abnimmt. Gleichzeitig erscheint ein zusätzlicher Peak mit hoher Intensität. Dieser kann der durch die Photolyse freigesetzten protonierten *γ*-Aminobuttersäure (GABA) **70** zugeordnet werden. Auch für die Entstehung von protoniertem *o*-Nitrosobenzaldehyd **6** als zweites Produkt konnte eine entsprechende Masse detektiert werden. Dieses Ergebnis zeigt somit, dass sich die Photoreaktion mittels Elektrosprayionisations-Massenspektroskopie verfolgen lässt.

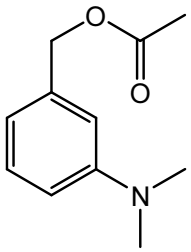
Weiterhin wurden auch zur Untersuchung angeregter Zustände von *Caged Compounds* mit nicht reaktiven Triplett-Zuständen bathochrom absorbierende Verbindungen synthetisiert und versucht diese mittels IR/R2PI-Spektroskopie zu charakterisieren. Jedoch zeigte sich, dass es nicht möglich ist, IR/R2PI-Spektren von den synthetisierten Verbindungen **81**, **82**, **84** und **86** zu erhalten, da keine Mutterionensignale detektiert werden konnten. Jedoch konnte für verschiedene Anregungswellenlängen eine Fragmentierung der Verbindungen beobachtet werden.



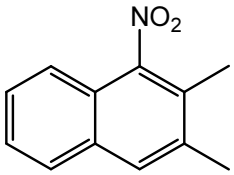
81



82



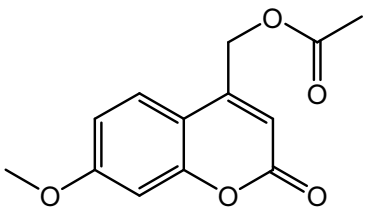
84



86

Dies lässt darauf schließen, dass unter den gewählten Bedingungen eine so schnelle Fragmentierung erfolgt, dass eine Analyse der Mutterionen mit Hilfe der kombinierten IR/UV-Methode für den angeregten Triplett-Zustand nicht möglich ist. Jedoch konnten die einzelnen Fragmente massenspektrometrisch und spektroskopisch analysiert werden.

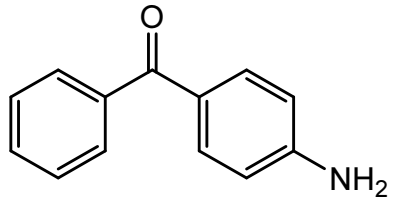
Um nun aber (unfragmentierte) *Caged Compounds* auch mit Hilfe der IR/R2PI-Spektrometrie in elektronisch angeregten Zuständen untersuchen zu können, wurde Verbindung **88**, ein Coumarinderivat, als Modell für eine alternative photolabile Schutzgruppe synthetisiert.



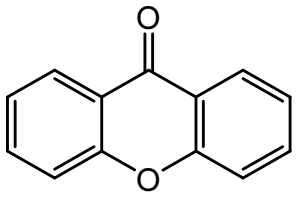
88

Verbindung **88** wird zurzeit genauer im AK *Gerhards* untersucht. Erste Experimente zeigen allerdings, dass diese Verbindung im Gegensatz zu *Caged Compounds* des *o*-Nitrobenzyl-Typs **4** massenspektrometrisch als Mutterion infolge einer Zwei-photonen-Laseranregung nachgewiesen werden kann. Die Aufnahme von IR/R2PI–Spektren elektronisch angeregter Zustände ist in Arbeit.

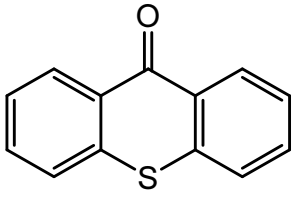
Neben den physikochemischen Voruntersuchungen zum Erlangen eines besseren Verständnisses des Photolysemechanismus von *Caged Compounds* des *o*-Nitrobenzyl-Typs **4**, war es im zweiten Teil dieser Arbeit auch das Ziel, *Caged Compounds* mit verbesserten physikalischen und photochemischen Eigenschaften zu synthetisieren. Hauptaugenmerk lag dabei auf der Synthese von Systemen, die eine geringe Anregungsenergie und eine hohe Quantenausbeute aufweisen. Da es allerdings nicht möglich ist bathochromer absorbierende *Caged Compounds* wie die des Verbindungstyps **79** herzustellen, sollten Triplett-Sensibilisatoren eingesetzt werden. Hierbei war es das Ziel, durch einen Triplett-Triplett-Energietransfer zwischen Sensibilisator und *Caged Compound* eine Verbesserung hinsichtlich dieser beiden Kriterien zu erlangen. Voraussetzung für eine erfolgreiche Sensibilisierung ist allerdings, dass der verwendete Triplett-Sensibilisator eine höhere Triplettenergie als die *o*-Nitrobenzyl-Verbindung besitzt und eine möglichst hohe Quantenausbeute aufweist. Nach Berücksichtigung dieser beiden Kriterien wurden die sich daraus für uns als interessant ergebenen potentiellen Sensibilisatoren 4-Aminobenzophenon **93**, Xanthon **94** und Thioxanthon **95** auf ihre Effizienz hin untersucht. Dazu wurden sie zunächst mit 2-Nitrobenzylbenzoat (2-NB-Benzoat) **120** als allgemeines Modell für *Caged Compounds* des *o*-Nitrobenzyl-Typs **4** vermessen und ihre Effizienz durch Berechnung der maximalen Geschwindigkeiten der einzelnen Photoreaktionen ermittelt.



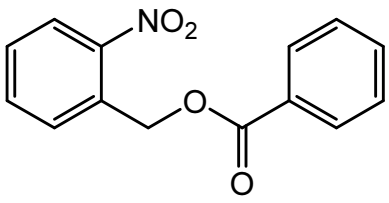
93



94

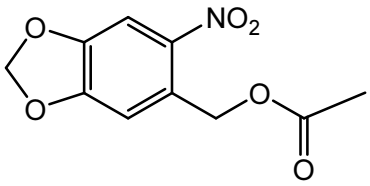


95

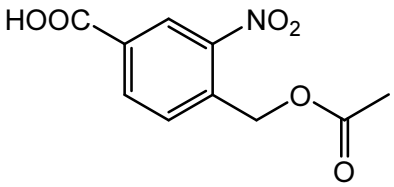


120

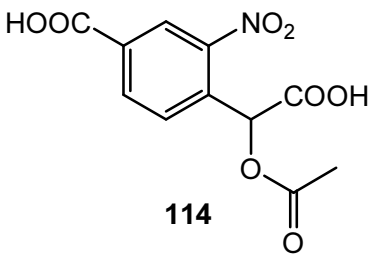
Dabei stellte sich Thioxanthon **95** als effizientester Sensibilisator für *Caged Compounds* des *o*-Nitrobenzyl-Typs **4** heraus. Sodann wurde nach erfolgreichem Screening neben 2-Nitrobenzylbenzoat **120** der Umsatz der synthetisierten Verbindungen **82**, **112** und **114** in Gegenwart von Thioxanthon **95** als Sensibilisator mittels HPLC verfolgt.



82



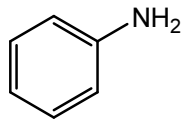
112



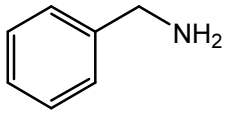
114

Bei den Messungen konnte gezeigt werden, dass bei 2-NB-Benzoat **120** mit einer Steigerung der maximalen Reaktionsgeschwindigkeit um das 85fache mit Abstand die effizienteste Sensibilisierung erzielt werden kann. Bei 4,5-MDNB-Acetat **82** konnte hingegen keine Sensibilisierung verzeichnet werden. Es ist sogar eine Verlangsamung der Schutzgruppenabspaltung bei Gegenwart des eigentlichen Sensibilisators zu beobachten. Dies bestätigt unsere früheren Erkenntnisse, dass 4,5-MDNB-Acetat **82** einen langlebigen, nicht reaktiven Triplett-Zustand besitzt, aus dem ein photochemischer Abbau bzw. eine Sensibilisierung der Verbindung nicht möglich ist. Vergleicht man allerdings die relative Reaktionsgeschwindigkeit des Photoabbaus des 4,5-MDNB-Acetats **82** ohne Zusatz an Sensibilisator mit der Reaktionsgeschwindigkeit der entsprechenden Reaktion des 2-NB-Benzoates **120**, so erfolgt der Photoabbau des Acetats **82** aufgrund seiner höheren Bathochromie schneller. Betrachtet man die Sensibilisierungsergebnisse der Monocarbonsäure 4-CNB-Acetat **112** und der Dicarbonsäure α,4-DCNB-Acetat **114**, so ist bei diesen Messungen eine Sensibilisierung des Photoabbaus des jeweiligen *Caged Compounds* zu beobachten. Allerdings kann hier eine Steigerung wie sie bei dem sensibilisierten photochemischen Abbau von 2-NB-Benzoat **120** erfolgt, nicht verzeichnet werden. Allerdings steigert Thioxanthon **95** die relative Reaktionsgeschwindigkeit des Photoabbaus von 4-CNB-Acetat **112** bezogen auf die Steigerung der Geschwindigkeit des Abbaus von α,4-DCNB-Acetat **114** noch um das Doppelte.

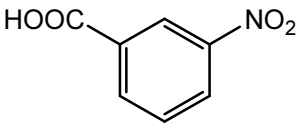
Unter Verwendung geeigneter Kopplungsreagenzien (PyCloP **133** und CDMT **127**) oder durch Aktivierung mittels Thionylchlorid konnten zusätzlich in Voruntersuchungen die für die Kopplung des Sensibilisators mit einem *Caged Compound* notwendigen Reaktionsbedingungen ermittelt werden. Dazu wurden Modellstudien mit Anilin **135** und Benzylamin **136** als Sensibilisatorderivate mit den *Caged Compounds* **127, 105** und **112** durchgeführt.



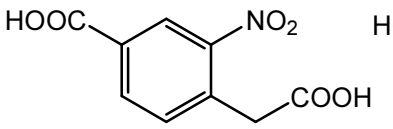
135



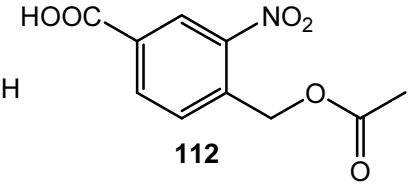
136



137



105



112

Abschließend gelang es zudem Verbindungen als Werkzeuge für eine direkte biologische Anwendung zu synthetisieren und zur Verfügung zu stellen.

5 Experimentalteil

5.1 Allgemeines

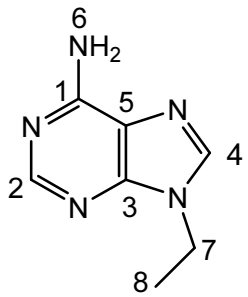
Folgende Geräte und Materialien wurden zur Darstellung und Charakterisierung der Verbindungen verwendet:

Dünnschichtchromatographie:	DC-Alufolien Kieselgel 60 mit UV-Indikator F_{254}, Merck
Säulenchromatographie:	Kieselgel 60 (0.04-0.063 mm), Fluka YMC-Gel Silica (6 nm; S-50 µm), YMC
Schmelzpunktbestimmung:	Reichardt Thermovar (unkorrigiert)
^{1}H-NMR-Spektroskopie:	Bruker Advance DRX 200 (200 MHz) Bruker Advance DRX 500 (500 MHz)
^{13}C-NMR-Spektroskopie	Bruker Advance DRX 500 (125 MHz)
^{31}P-NMR-Spektroskopie:	Bruker Advance DRX 200 (81 MHz)
FT-IR-Spektroskopie:	Bruker Vektor 22
UV/VIS-Spektroskopie:	Perkin Elmer Lambda 19
Elementaranalysen:	Institut für Pharmazeutische Chemie, HHU Düsseldorf
Massenspektroskopie:	Varian MAT 311A, 70eV, 100 µA, bis 300 °C Quelltemperatur
Hochdruckflüssigkeits-chromatographie (HPLC):	Agilent Series 1100, Säule: YMC Pro C18, 150*4.6 mm, S-5 µm, 12 nm YMC ODS-AQ, 50*4.0 mm, S-3 µm, 12 nm

5.2 Beschreibung der Versuche

Versuch 1:

Darstellung von 9-Ethyladenin (**28**)



Unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluss werden bei Raumtemperatur zu einer Suspension von 10 g (74 mmol) Adenin **1** in 160 ml trockenem *N,N*-Dimethylformamid 3.0 g (75 mmol) 60%iges Natriumhydrid portionsweise zugegeben. Nach beendeter Zugabe wird die Reaktionsmischung für 30 min bei Raumtemperatur und anschließend für weitere 30 min bei 60 °C gerührt. Nach Abkühlen auf 25 °C werden über einen Tropftrichter 15 g (75 mmol) Ethyl-4-toluolsulfonat, gelöst in 20 ml trockenem *N,N*-Dimethylformamid, zugetropft und es wird für weitere 10 min gerührt. Dann wird die Mischung 12 h auf 60 °C erwärmt. Nachfolgend wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der zurückbleibende Feststoff mit 200 ml Methanol/Dichlormethen 1/9 versetzt. Nicht lösliches Natrium-4-toluolsulfonat wird abfiltriert und das Filtrat bis zur Trockne eingeengt. Das Rohprodukt wird aus n-Butanon umkristallisiert und man erhält das gewünschte Produkt in Form eines weißen Pulvers.

$C_7H_9N_5$ (M = 163.18 g/mol)

Ausbeute: 7.98 g (48.9 mmol, 66 %) Lit.[19]: 40 %

Schmelzpunkt: 187 °C Lit.[19]: 192-193 °C

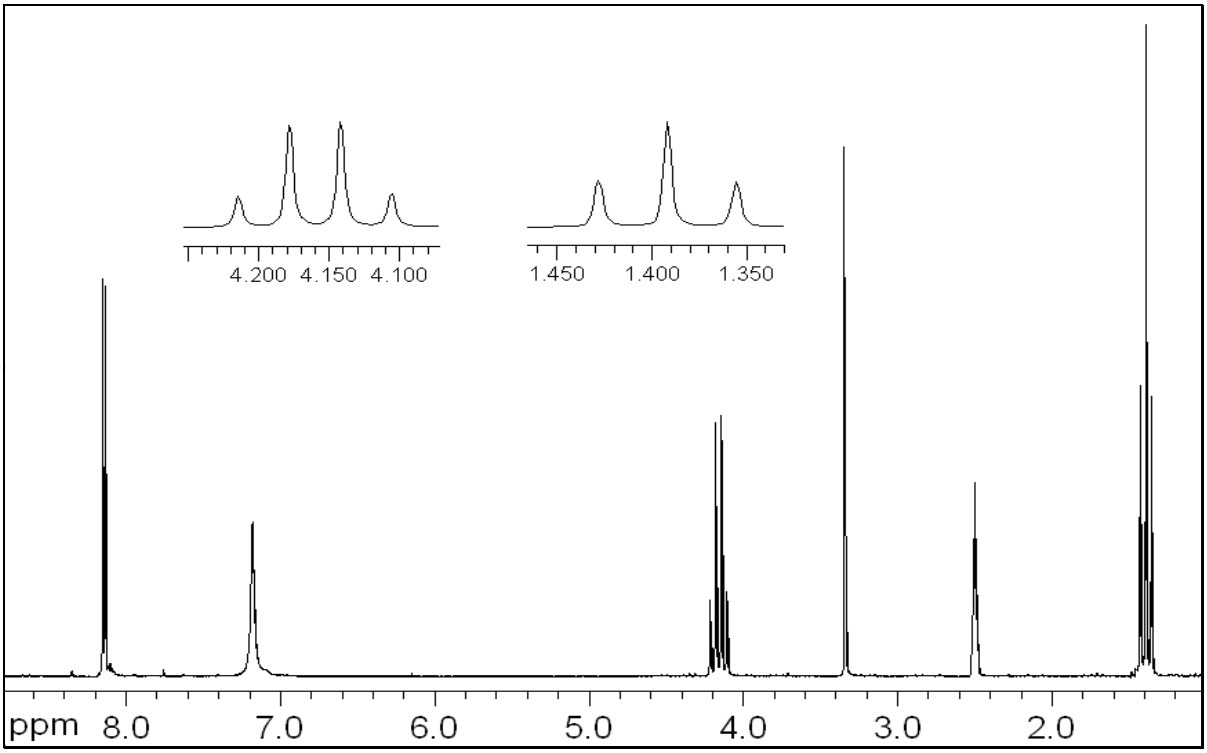


Abbildung 84: ^{1}H-NMR (200 MHz, DMSO-d_6) von **28**

^{1}H-NMR (200 MHz, DMSO-d_6): δ = 1.39 (t, 3H, $^{3}J_{HH}$ = 7.3 Hz, 8-H), 4.16 (q, 2H, $^{3}J_{HH}$ = 7.3 Hz, 7-H), 7.18 (s, 2H, 6-H), 8.13 (s, 1H, 2-H), 8.15 (s, 1H, 4-H) ppm.

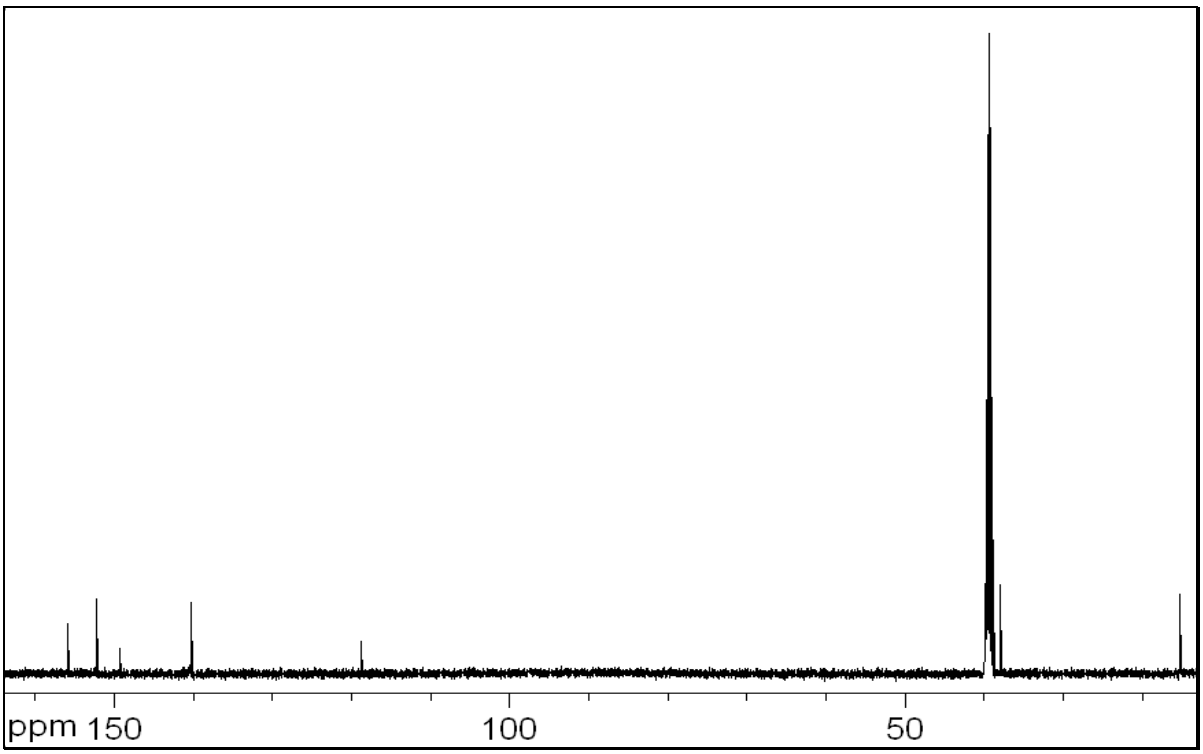


Abbildung 85: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6) von **28**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6): δ = 15.21 (8-C), 37.94 (7-C), 118.75 (5-C), 140.33 (4-C), 149.26 (3-C), 152.23 (2-C), 155.87 (1-C) ppm.

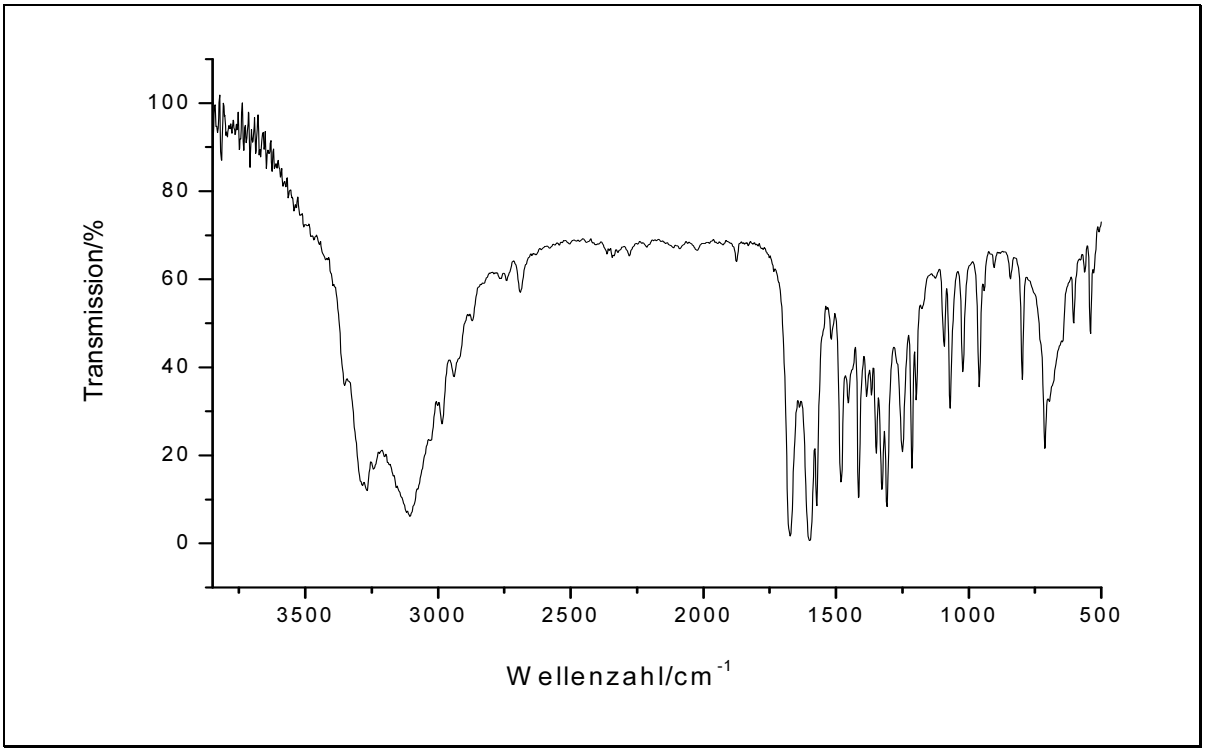


Abbildung 86: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **28**

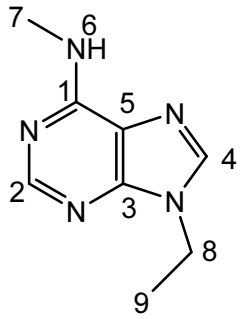
IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3267 (-N-H-Valenz), 1672 (C=N-Valenz), 1600 (Ringschwingung), 1415 (-CH_3 und -CH_2-Deformation), 1309 (-C-N-Valenz) cm^{-1}.

Massenspektrum (GC/MS):

m/z : 163 $[M]^+$, 148, 136, 135, 121, 109, 108, 94, 57, 54, 43

Versuch 2:

Darstellung von 9-Ethyl-1-methyladenin (**30**)



Unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluss werden bei Raumtemperatur zu einer Suspension von 1.00 g (6.70 mmol) 1-Methyladenin **29** in 15 ml trockenem *N,N*-Dimethylformamid 0.27 g (6.8 mmol) 60%iges Natriumhydrid portionsweise zugegeben. Nach beendeter Zugabe wird die Reaktionsmischung für 30 min bei Raumtemperatur und anschließend für weitere 30 min bei 60 °C gerührt. Nach Abkühlen auf 25 °C werden 1.34 g (6.69 mmol) Ethyl-4-toluolsulfonat hinzugegeben und es wird für weitere 10 min gerührt. Dann wird die Mischung 11 h auf 60 °C erwärmt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und der zurückbleibende Feststoff mit 18 ml Methanol/Dichlormethen 1/9 versetzt. Nicht lösliches Natrium-4-toluolsulfonat wird abfiltriert und das Filtrat bis zur Trockne eingeengt. Das Rohprodukt wird aus n-Butanon umkristallisiert und man erhält das gewünschte Produkt in Form eines weißen Pulvers.

$C_8H_{11}N_5$ (M = 177.21 g/mol)
Ausbeute: 0.15 g (0.85 mmol, 13 %)
Schmelzpunkt: 136 °C Lit.[75]:137-140 °C

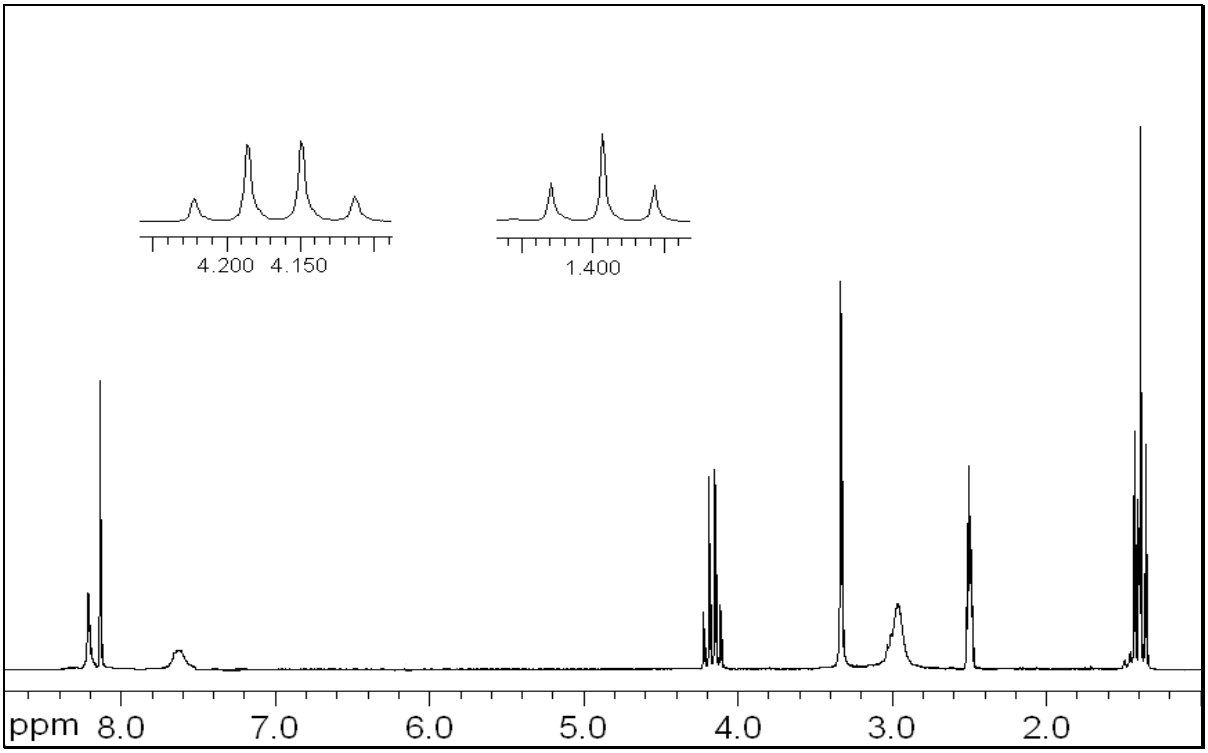


Abbildung 87: ^{1}H-NMR (200 MHz, Deuterochloroform) von **30**

^{1}H-NMR (200 MHz, Deuterochloroform): δ = 1.39 (t, 3H, ^{3}J = 7.3 Hz, 9-H), 3.33 (s, 3H, 7-H), 4.17 (q, 2H, ^{3}J = 7.3 Hz, 8-H), 7.62 (s, 1H, 6-H), 8.14 (s, 1H, 2-H), 8.21 (s, 1H, 4-H) ppm.

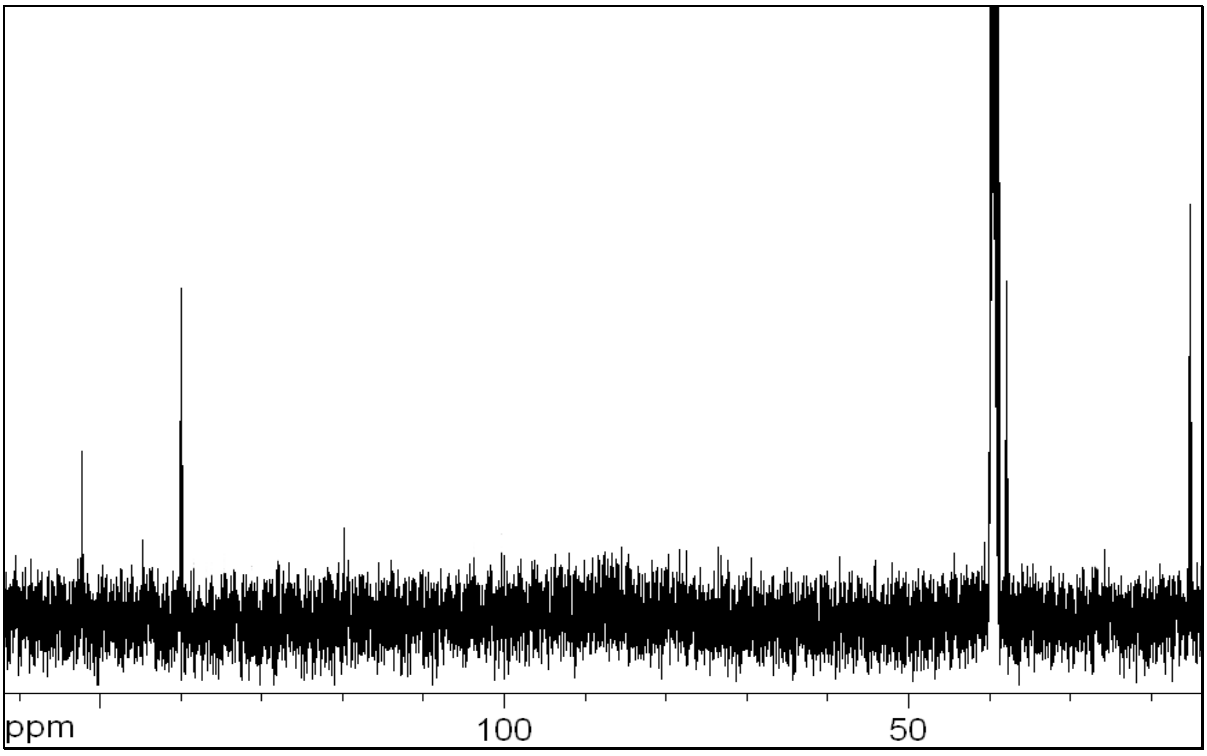


Abbildung 88: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6) von **30**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6): δ = 15.24 (9-C), 25.75 (7-C), 37.93 (8-C), 119.80 (5-C), 140.00 (4-C), 152.26 (1-C, 2-C, 3-C) ppm.

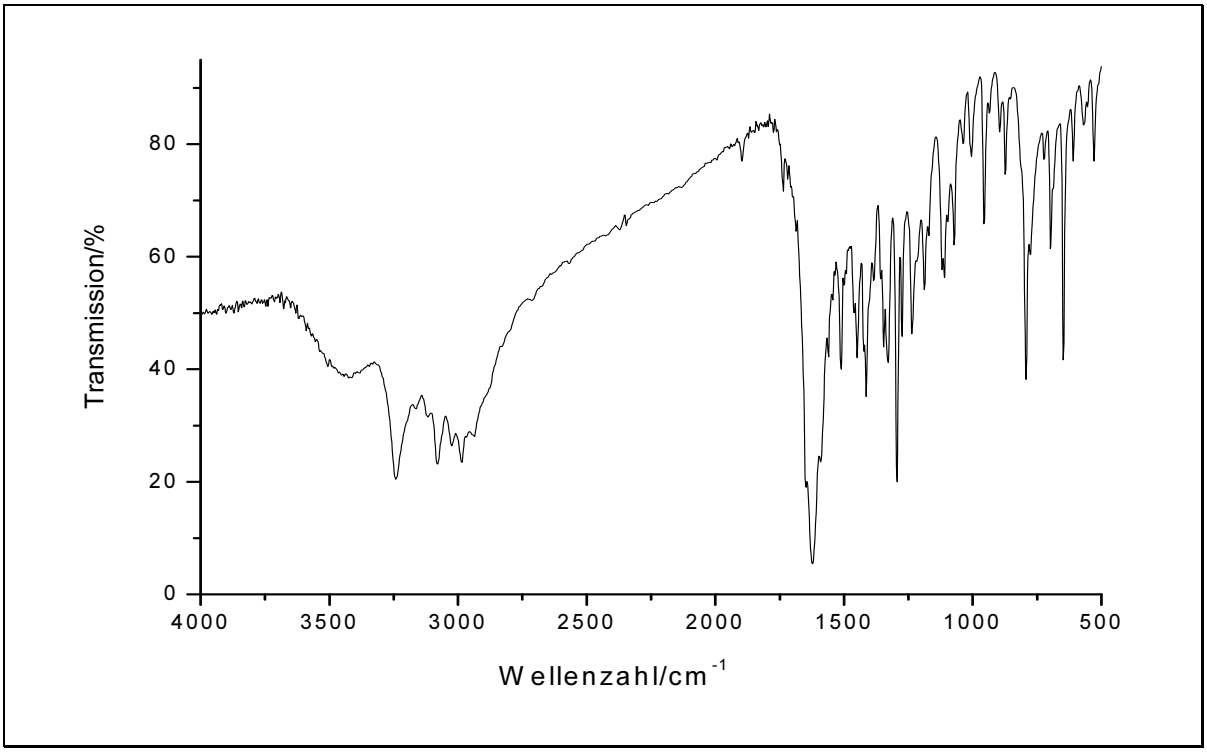


Abbildung 89: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **30**

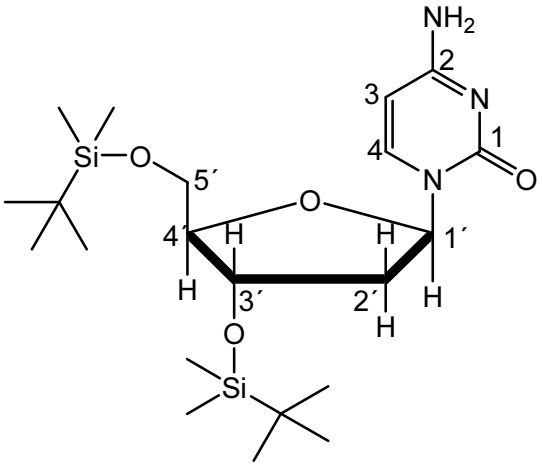
IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3242 (-N-H-Valenz), 1623 (Ringschwingung), 1414 (-CH_3 und CH_2-Deformation), 1295 (-C-N-Valenz) cm^{-1}.

Massenspektrum (GC/MS):

m/z : 177 $[M]^+$, 162, 150, 148, 120, 119, 106, 93, 42

Versuch 3:

Darstellung von 3´,5´-*O*-Bis(*tert*-butyldimethylsilyl)-2´-deoxycytidin (**32**)



3.16 g (12.0 mmol) 2´-Deoxycytidin Monochlorid **31**, 7.92 g (52.5 mmol) *tert*-Butyldimethylsilylchlorid und 7.20 g (105 mmol) Imidazol werden in 12 ml trockenem *N,N*-Dimethylformamid gelöst. Die Reaktionslösung wird für 24 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit 60 ml Wasser hydrolysiert. Danach wird die Lösung dreimal mit je 30 ml Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit 30 ml Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird sodann unter vermindertem Druck entfernt und der erhaltene Rückstand mit Acetonitril versetzt. Das dabei nicht lösliche gewünschte Produkt wird abfiltriert und anschließend im Ölpumpenvakuum getrocknet.

$C_{21}H_{41}N_3O_4Si_2$ (M = 455.74 g/mol)

Ausbeute: 3.25 g (7.13 mmol, 60 %) Lit.[20]: 93 %

Schmelzpunkt: 186 °C Lit.[20]: 184-186 °C

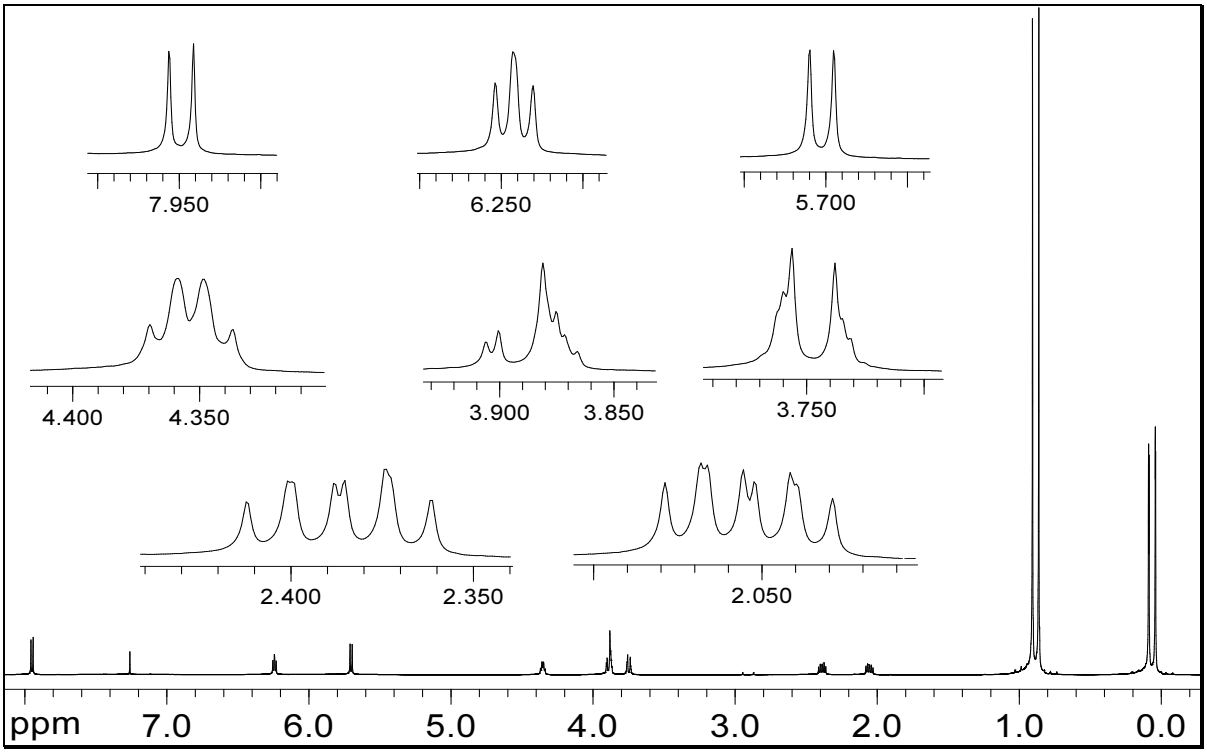


Abbildung 90: ^{1}H-NMR (500 MHz, Deuterochloroform) von **32**

^{1}H-NMR (500 MHz, Deuterochloroform): δ = 0.04 (2s, je 3H, $Si(CH_3)_2$), 0.09 (2s, je 3H, $Si(CH_3)_2$, 0.86 (s, 9H, $SiC(CH_3)_3$), 0.91 (s, 9H, $SiC(CH_3)_3$), 2.03-2.08 (m, 1H, 2´α-H), 2.36-2.41 (m, 1H, 2´β-H), 3.74-3.76 (m, 1H, 3´-H), 3.87-3.91 (m, 2H, 5´-H), 4.34-4.37 (m, 1H, 4´H), 5.70 (d, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 7.4 Hz, 3-H), 6.24 (t, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 6.1 Hz, 1´-H), 7.95 (d, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 7.5 Hz, 4-H) ppm.

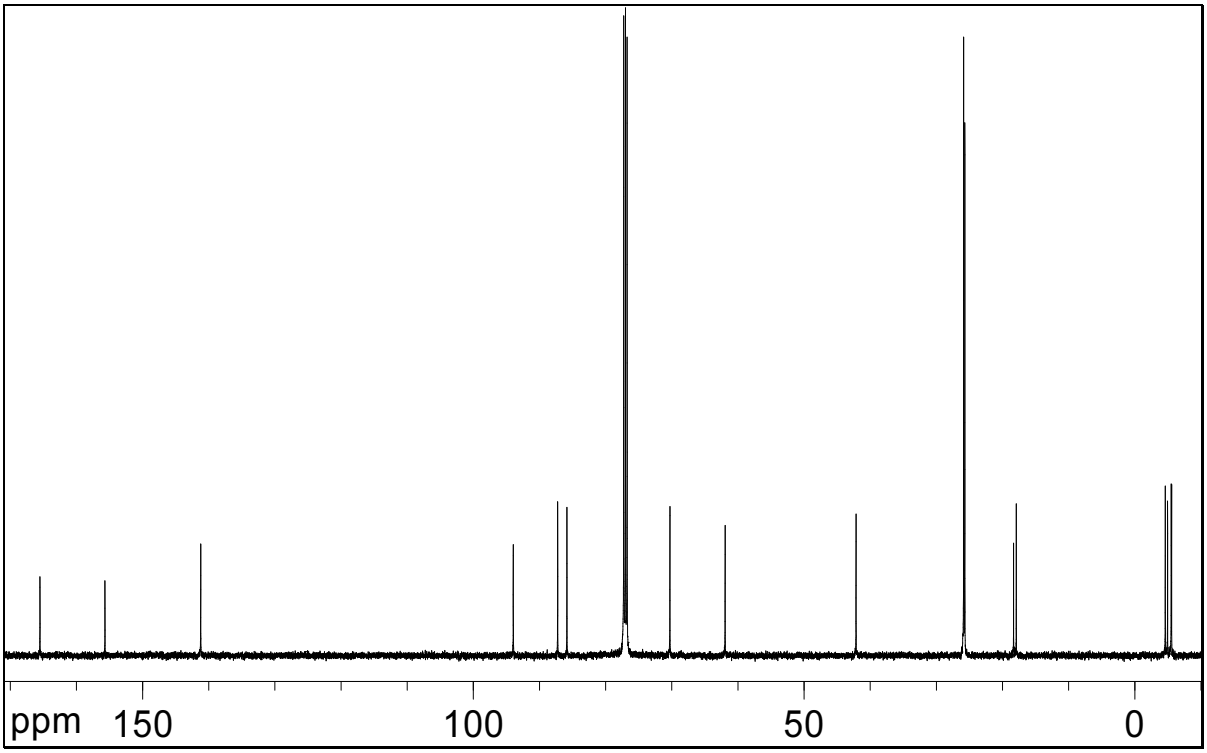


Abbildung 91: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform) von **32**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform): δ = -5.57, -5.50, -4.96 & -4.60 (Si($\underline{C}H_3)_2$), 17.91 & 18.32 (Si$\underline{C}(CH_3)_3$), 25.69 & 25.87 (SiC($\underline{C}H_3)_3$), 42.13 (2´-C), 61.93 (5´-C), 70.28 (3´-C), 85.85 (1´-C), 87.25 (4´-C),93.96 (3-C), 141.21 (4-C), 155.68 (1-C), 165.51 (2-C) ppm.

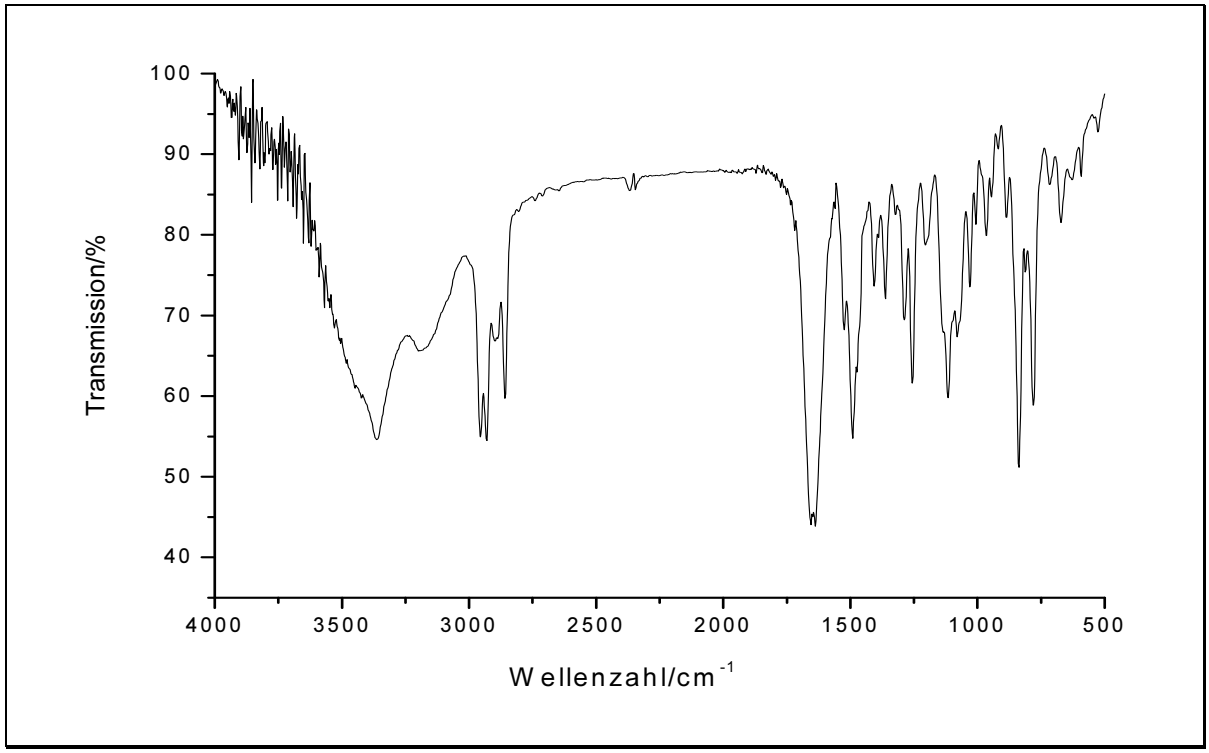


Abbildung 92: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **32**

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3364 (-N-H-Valenz), 2956 & 2859 (-C-H-Valenz), 1638 (C=O-Valenz), 1406 (-CH_3- & -CH_2-Deformation), 1363 (-C-N-Valenz), 1116 (-C-O-C-Valenz) cm^{-1}.

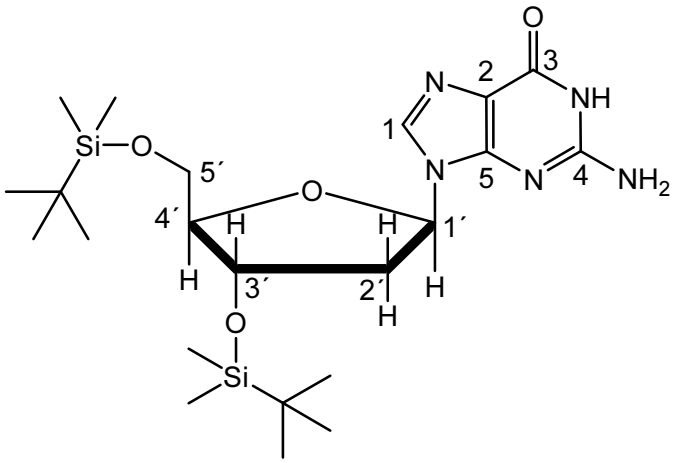
Massenspektrum (EI, Pt.: 170 °C):
m/z : 456 $[M]^+$, 399, 322, 287, 266, 226, 168, 73, 57

C-H-N-Elementaranalyse:

%C: 55.13	Theorie:	%C: 55.34
%H: 8.93		%H: 9.07
%N: 9.19		%N: 9.22

Versuch 4:

Darstellung von 3´,5´-*O*-Bis(*tert*-butyldimethylsilyl)-2´-deoxyguanosin (**34**)



Unter Stickstoffatmosphäre werden 1.02 g (3.82 mmol) 2´-Deoxyguanosin **33** in 5 ml trockenem Dimethylformamid suspendiert. Zu dieser Suspension werden dann eine *tert*-Butyldimethylsilylchlorid-Lösung (2.23 g (14.8 mmol) TBDMS-Cl in 15 ml Tetrahydrofuran) und 1.76 g (25.9 mmol) Imidazol zugegeben. Nach 10 min Rühren wird die Lösung klar, bevor das gewünschte Produkt auskristallisiert. Die Reaktionsmischung wird für weitere 24 h bei Raumtemperatur gerührt, anschließend mit 6 ml Ethanol versetzt und nach erneutem Rühren von 30 min unter vermindertem Druck eingeengt. Das Produkt wird abfiltriert, mit kaltem Ethanol gewaschen und abschließend im Vakuum getrocknet.

$C_{22}H_{41}N_5O_4Si_2$ (M = 495.76 g/mol)

Ausbeute: 4.46 g (9.00 mol, 81 %) Lit.[21]: 90 %

Schmelzpunkt: 249 °C

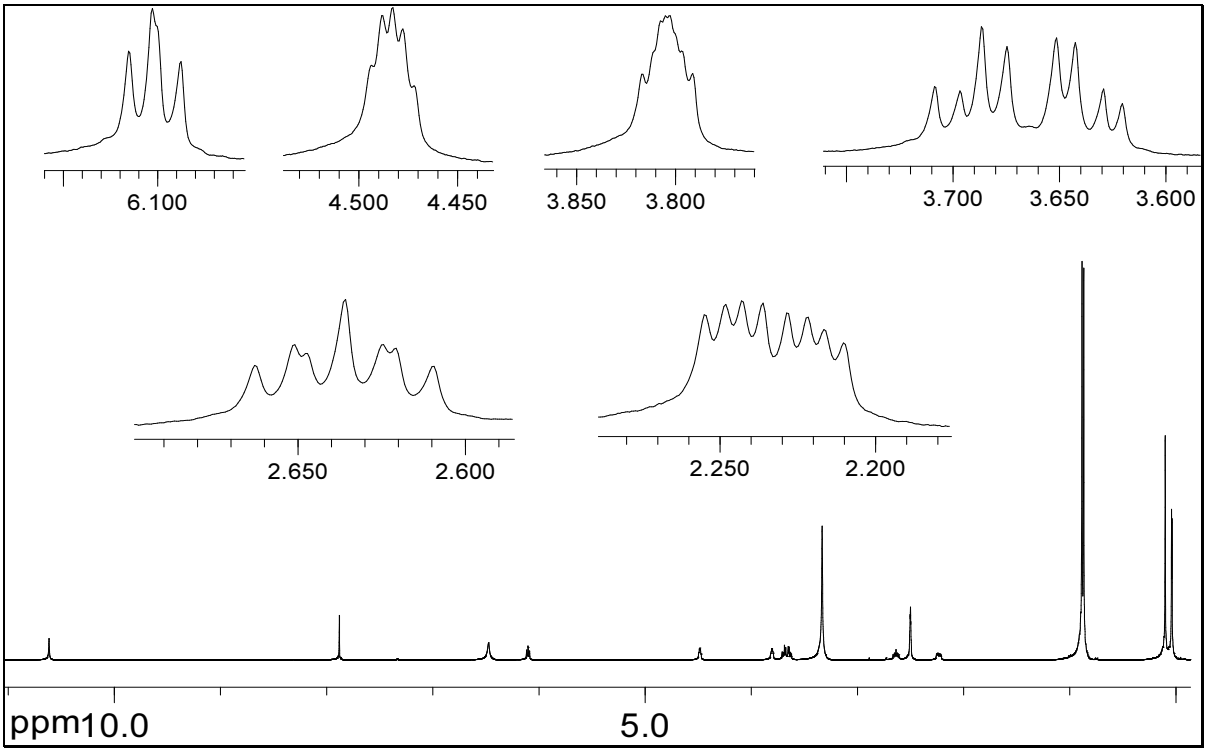


Abbildung 93: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6) von **34**

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ = 0.04 (2s, 6H, $Si(CH_3)_2$), 0.10 (s, 6H, $Si(CH_3)_2$, 0.90 (2s, 18H, $SiC(CH_3)_3$), 2.21-2.26 (m, 1H, 2´α-H), 2.61-2.66 (m, 1H, 2´β-H), 3.62-3.71 (m, 2H, 5´-H), 3.80-3.82 (m, 1H, 4´-H), 4.48-4.49 (m, 1H, 3´-H), 6.10 (t, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 6.2 Hz, 1´-H), 6.47 (s, 2H, NH_2), 7.88 (s, 1H, 1-H), 10.61 (s, 1H, NH) ppm.

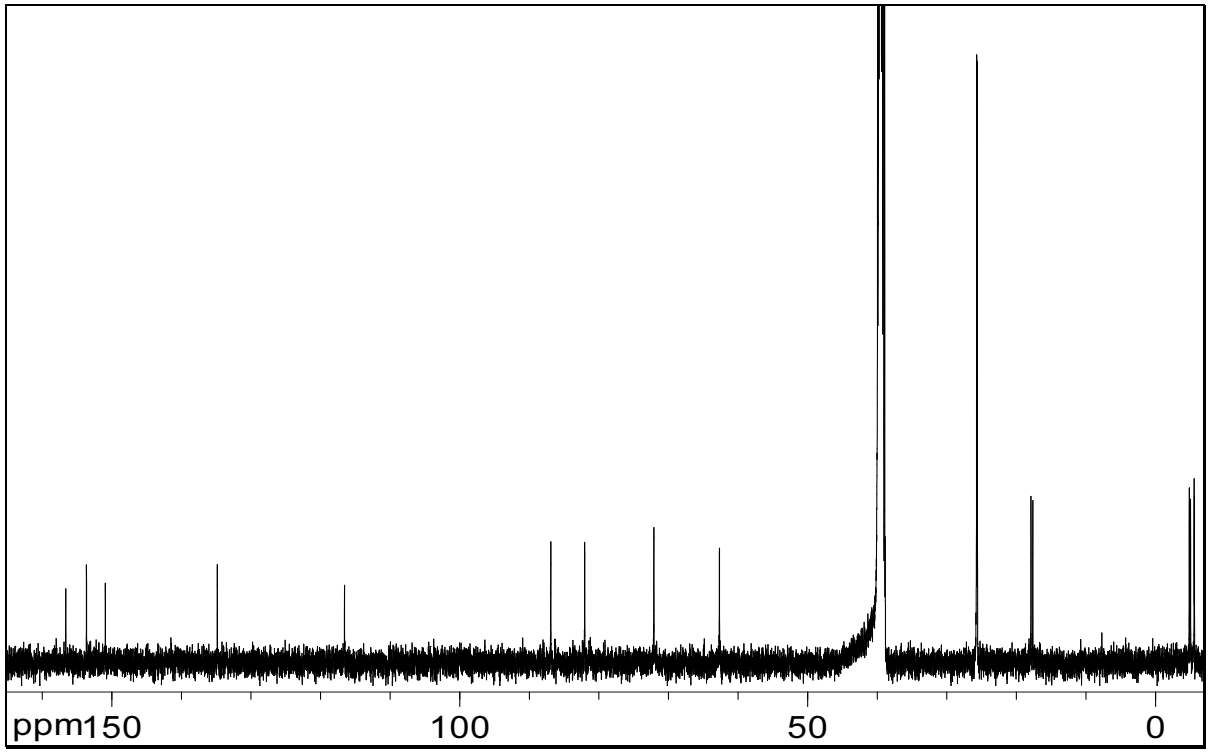


Abbildung 94: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6) von **34**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6): δ = -5.55, -5.60, -5.04 & -4.86 (Si($\underline{C}H_3)_2$), 17.63 & 17.89 (Si$\underline{C}(CH_3)_3$), 25.60 & 25.70 (SiC($\underline{C}H_3)_3$), 38.84 (2´-C), 62.66 (5´-C), 72.09 (3´-C), 82.03 (1´-C), 86.91 (4´-C), 116.55 (2-C), 134.83 (1-C), 150.92 (5-C), 153.64 (4-C), 156.61 (3-C) ppm.

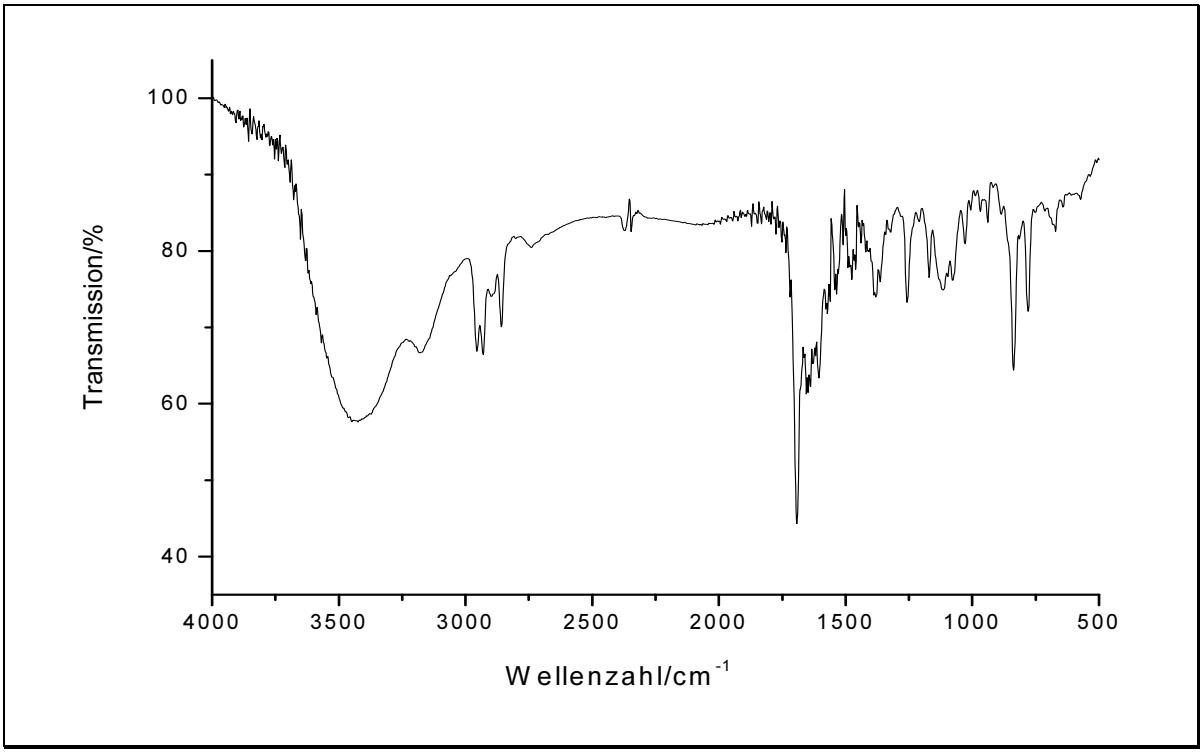


Abbildung 95: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **34**

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3424 (-N-H-Valenz), 2930 & 2858 (-C-H-Valenz), 1692 (C=O-Valenz), 1475 (-CH_3- & -CH_2-Deformation), 1381 (-C-N-Valenz), 1114 (-C-O-C-Valenz) cm^{-1}.

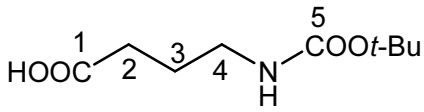
Massenspektrum (EI, Pt.: 180 °C):
m/z : 495 $[M]^+$, 439, 349, 306, 231, 178, 151, 89, 73, 41

C-H-N-Elementaranalyse:

%C: 53.19	Theorie:	%C: 53.30
%H: 8.10		%H: 8.34
%N: 14.11		%N: 14.13

Versuch 5:

Darstellung von *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-4-aminobutansäure (**71**)



Zu einer Lösung von 5.00 g (48.5 mmol) γ-Aminobuttersäure (GABA) **70** und 13.5 g (97.8 mmol) Kaliumcarbonat in einem Gemisch aus 61 ml Wasser und 120 ml 1,4-Dioxan werden bei einer Temperatur von 0 °C langsam 11.7 g (53.6 mmol) di-*tert*-Butoxy-orthocarbonat (di-BOC) zugegeben. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur wird die Reaktionsmischung für 4 h gerührt. Danach wird der weiße Niederschlag abfiltriert und das Lösungsmittel des Filtrates unter vermindertem Druck entfernt. Der Filtratrückstand wird in 100 ml Wasser gelöst und zweimal mit je 50 ml Essigsäureethylester extrahiert. Die wässrige Phase wird mit konzentrierter Salzsäure auf pH 3 eingestellt und erneut dreimal mit je 100 ml Essigsäureethylester extrahiert. Anschließende werden die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Man erhält das gewünschte Produkt als oranges Öl.

$C_9H_{17}NO_4$ (M = 203.24 g/mol)

Ausbeute: 9.60 g (47.2 mmol, 97 %) Lit.[63]: 99 %

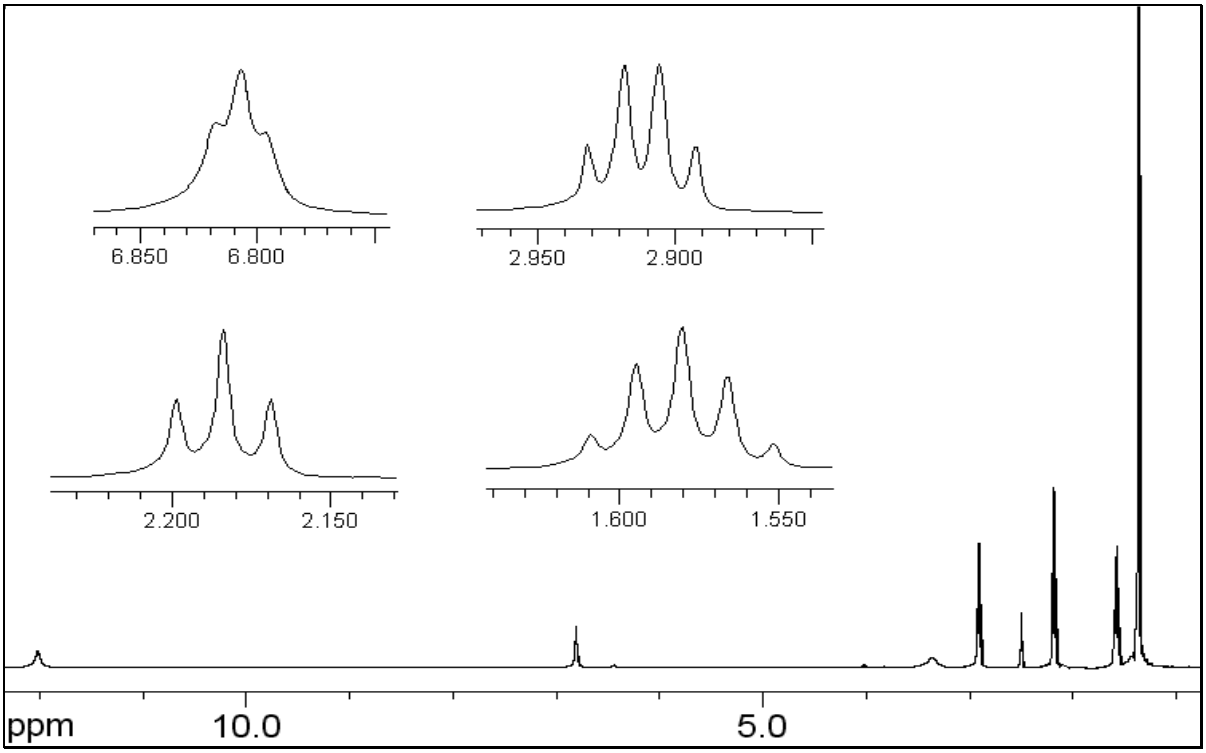


Abbildung 96: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6) von **71**

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ = 1.37 (s, 9H, *t*-Bu), 1.58 (qui, 2H, $^{3}J_{HH}$ = 7.2 Hz, 3-H), 2.18 (t, 2H, $^{3}J_{HH}$ = 7.4 Hz, 2-H), 2.91 (qua, 2H, $^{3}J_{HH}$ = 6.7 Hz, 4-H), 6.81 (t, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 5.2 Hz, N-H), 12.02 (s, 1H, -COOH) ppm.

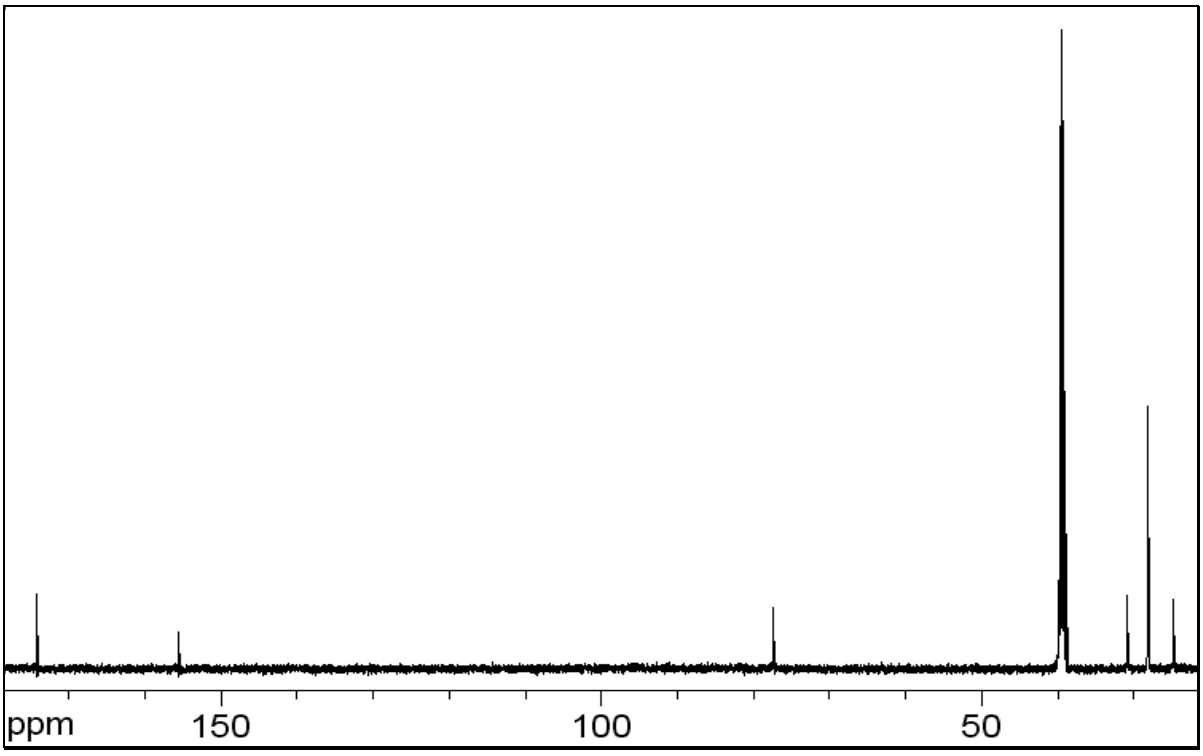


Abbildung 97: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6) von **71**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6): δ = 24.85 (3-C), 28.17 (C($\underline{C}H_3)_3$), 30.90 (2-C), 39.19 (4-C), 77.34 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 155.54 (5-C), 174.15 (1-C) ppm.

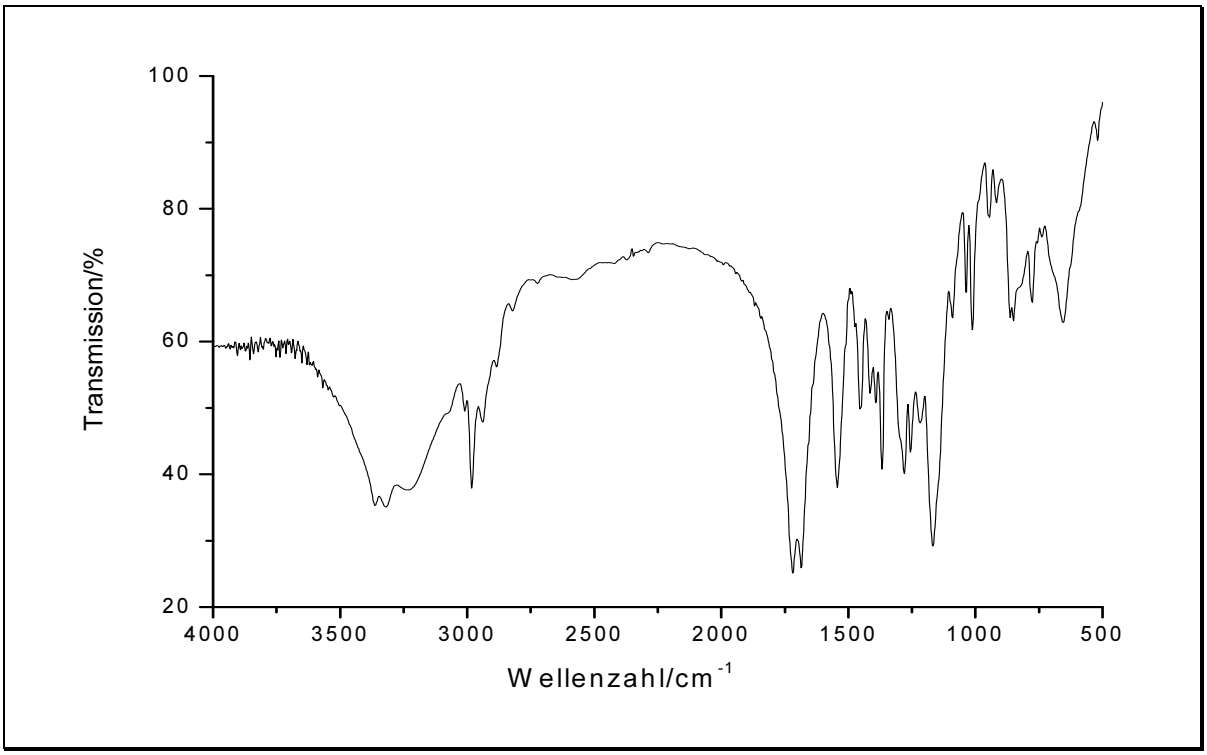


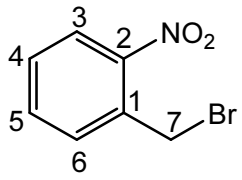
Abbildung 98: IR-Spektrum (Film) von **71**

IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 3500-3030 (-O-H-Valenz & -N-H-Valenz), 2981 (-C-H-Valenz), 1718 (-C=O-Va-lenz, Carbonylbindung), 1685 (-C=O-Valenz, sekundäres Carbonsäure-amid), 1543 (-N-H-Deformation), 1454 (-CH_2-Deformation), 1367 (-CH_3-Deformation), 1280 (-C-N-Valenz), 1168 (-C-O-C-Valenz) cm^{-1}.

Massenspektrum (GC/MS):
m/z (%)**:** 147 (50), 146 (8), 130 (26), 129 (26), 113 (2), 112 (25), 102 (21), 86 (14), 73 (3), 69 (5), 60 (4), 59 (40), 57 (100), 56 (16), 41 (34)

Versuch 6:

Darstellung von 1-(Brommethyl)-2-nitrobenzol (**69**)



Unter Lichtausschluss werden 9.77 g (54.9 mmol) *N*-Bromsuccinimid (NBS) und 9.78 g (71.3 mmol) 2-Nitrotoluol **68** in 60 ml trockenem Tetrachlorkohlenstoff suspendiert. Zu dieser Suspension wird eine Spatelspitze Dibenzoylperoxid (DBPO) zugegeben und die Reaktionsmischung 14 h zum Rückfluss erhitzt, wobei jeweils nach 2 h erneut eine Spatelspitze des Initiators zugegeben wird. Nach beendeter Reaktion wird das obenauf schwimmende Succinimid abfiltriert und die organische Phase mit 100 ml Wasser versetzt. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase zweimal mit je 100 ml Tetrachlorkohlenstoff extrahiert. Anschließend werden die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das braune Rohprodukt wird säulenchromatographisch mit n-Hexan/Essigsäureethylester 20/1 an Kieselgel der Firma Fluka gereinigt und man erhält das gewünschte Produkt in Form eines orangen Feststoffes.

$C_7H_6BrNO_2$ (M = 216.03 g/mol)
Ausbeute: 4.47 g (20.7 mmol, 38 %)
Schmelzpunkt: 45 °C

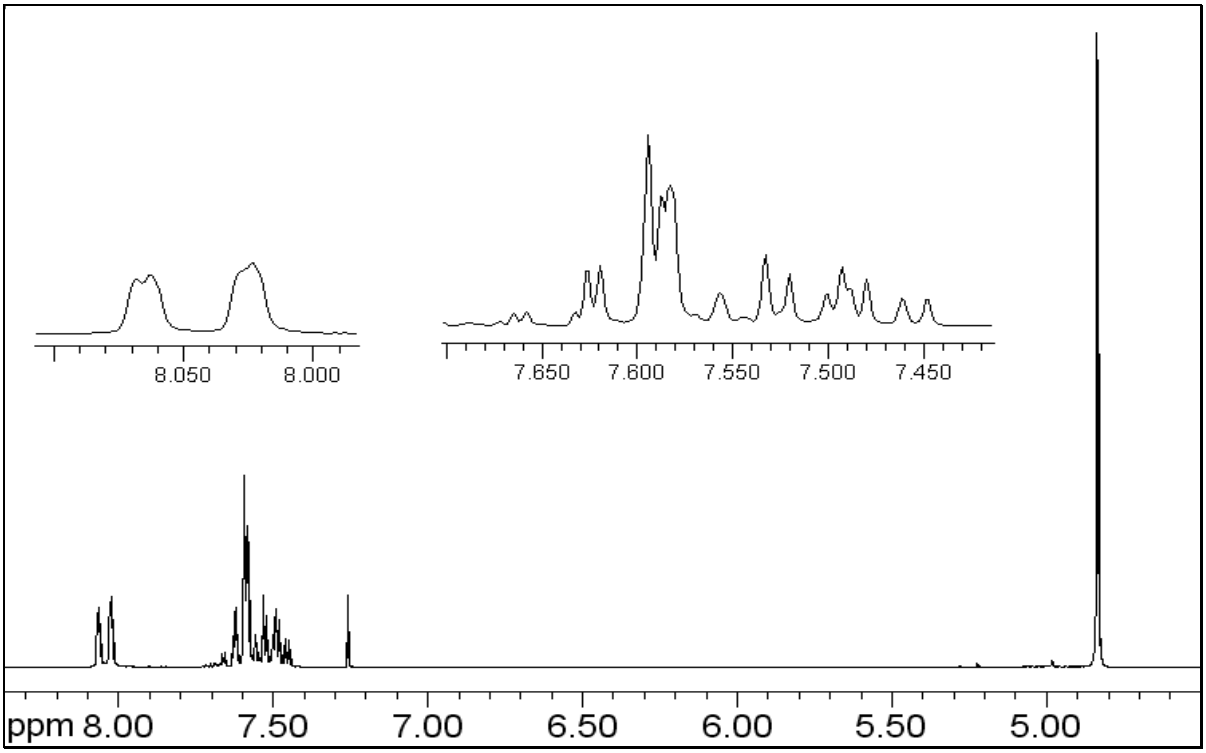


Abbildung 99: ^{1}H-NMR (200 MHz, Deuterochloroform) von **69**

^{1}H-NMR (200 MHz, Deuterochlorofom): δ = 4.84 (s, 2H, 7-H), 7.45 – 7.73 (m, 3H, 4-H, 5-H, 6-H), 8.05 (dd, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 7.8 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 1.1 Hz, 3-H) ppm.

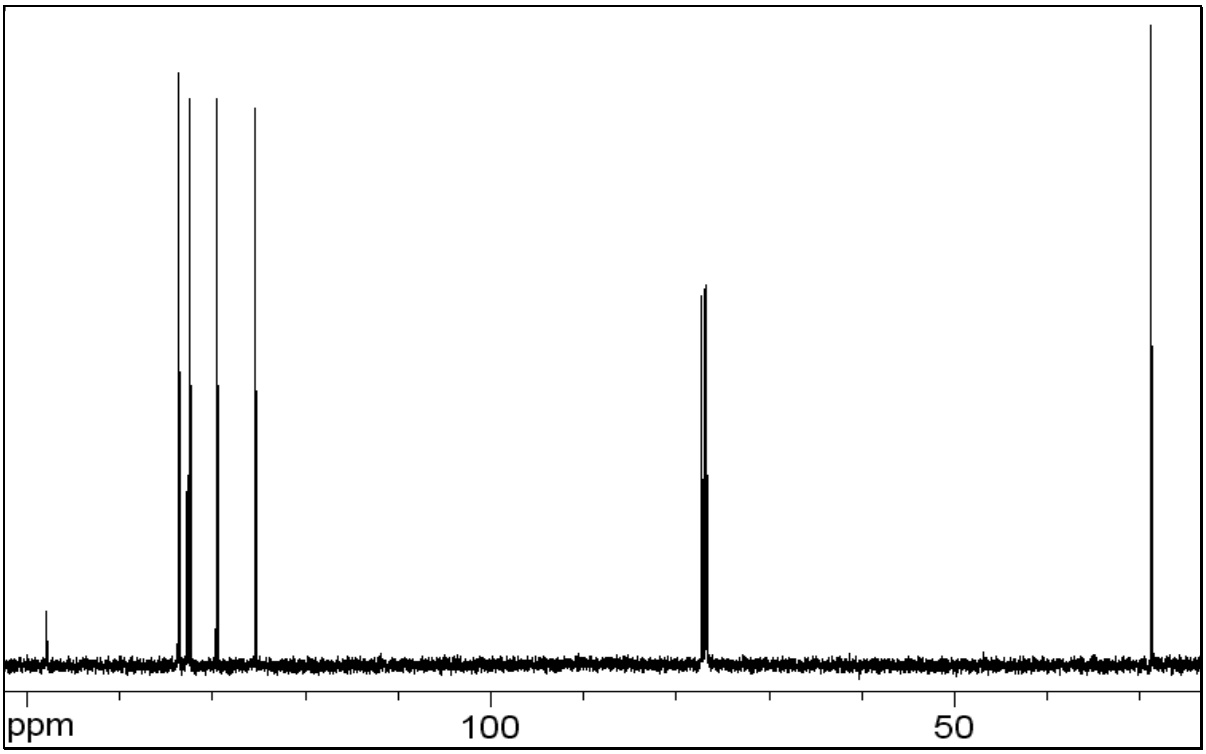


Abbildung 100: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform) von **69**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform): δ = 28.84 (7-C), 125.40 (3-C), 129.57 (6-C), 132.47 (4-C), 132.71 (1-C), 133.67 (5-C), 147.89 (2-C) ppm.

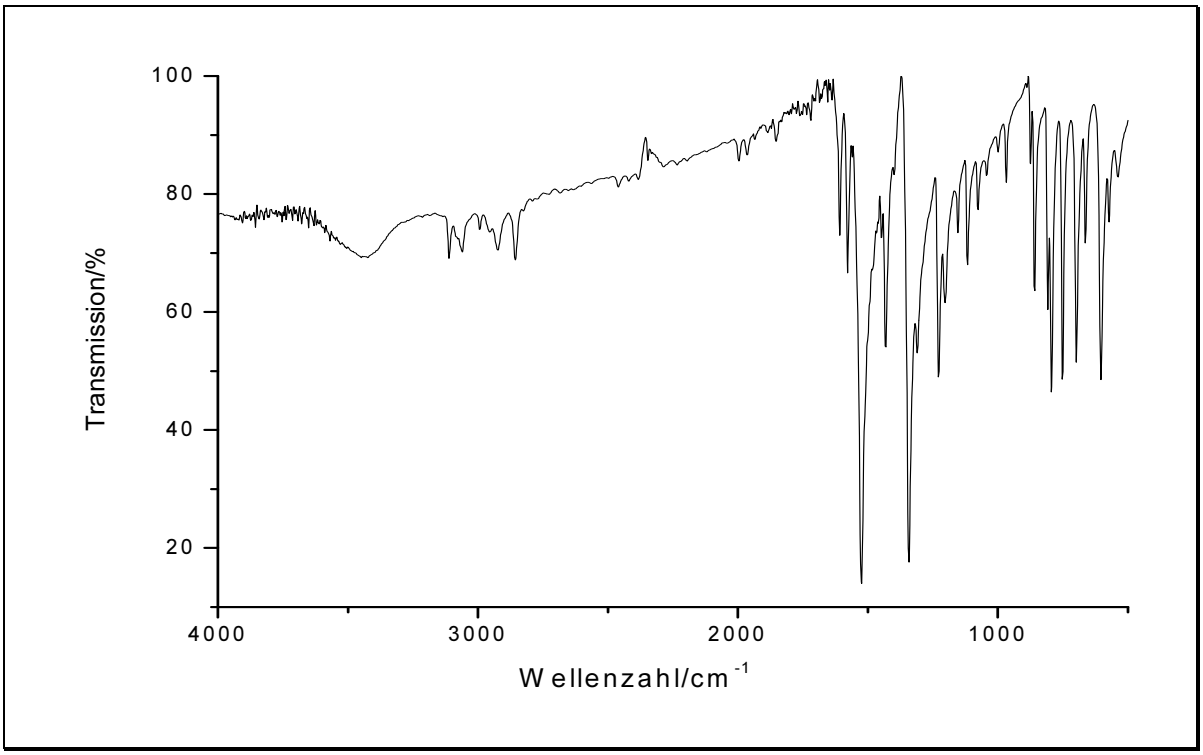


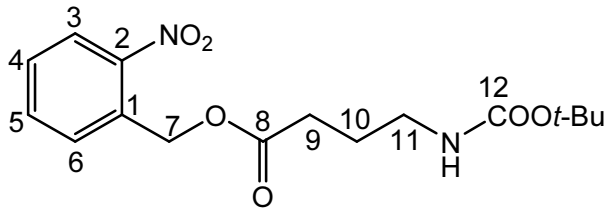
Abbildung 101: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **69**

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3061 (=C-H-Valenz, Aromat), 2922 (-C-H-Valenz), 2856 (-CH_2-Valenz), 1608 (Ringschwingung), 1524 (-NO_2-Valenz), 1433 (-CH_2-Deformation), 1342 (-NO_2-Valenz), 794 (-C-Br-Valenz), 752 (=C-H-Deformation, 1,2-disubstituierter Aromat) cm^{-1}.

Massenspektrum (EI, Pt.: 40 °C):
m/z (%)**:** 215 (2), 169 (2), 136 (72), 108 (33), 105 (17), 92 (83), 90 (45), 89 (60), 77 (26), 51 (24)

Versuch 7:

Darstellung von (2-Nitrobenzyl)-4-[*N*-(*tert*-butoxy)amino]butanoat (**72**)



Unter Lichtausschluss werden 1.14 g (5.61 mmol) *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-4-aminobutansäure **71** und 1.00 g (4.63 mmol) 1-(Brommethyl)-2-nitrobenzol **69** in 93 ml Benzol vorgelegt. Es werden 0.83 g (5.5 mmol) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) zugegeben und die Reaktionslösung über einen Zeitraum von 5 h zum Rückfluss erhitzt. Nach anschließendem Abkühlen auf Raumtemperatur wird die Reaktionsmischung über Nacht weitergerührt und danach mit 120 ml Wasser und 50 ml Essigsäureethylester versetzt. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase zweimal mit je 150 ml Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Man erhält das gewünschte Produkt ohne weitere Aufreinigung in Form eines braunen Feststoffes.

$C_{16}H_{22}N_2O_6$ (M = 338.36 g/mol)
Ausbeute: 1.53 g (4.52 mmol, 98 %)
Schmelzpunkt: 66 °C

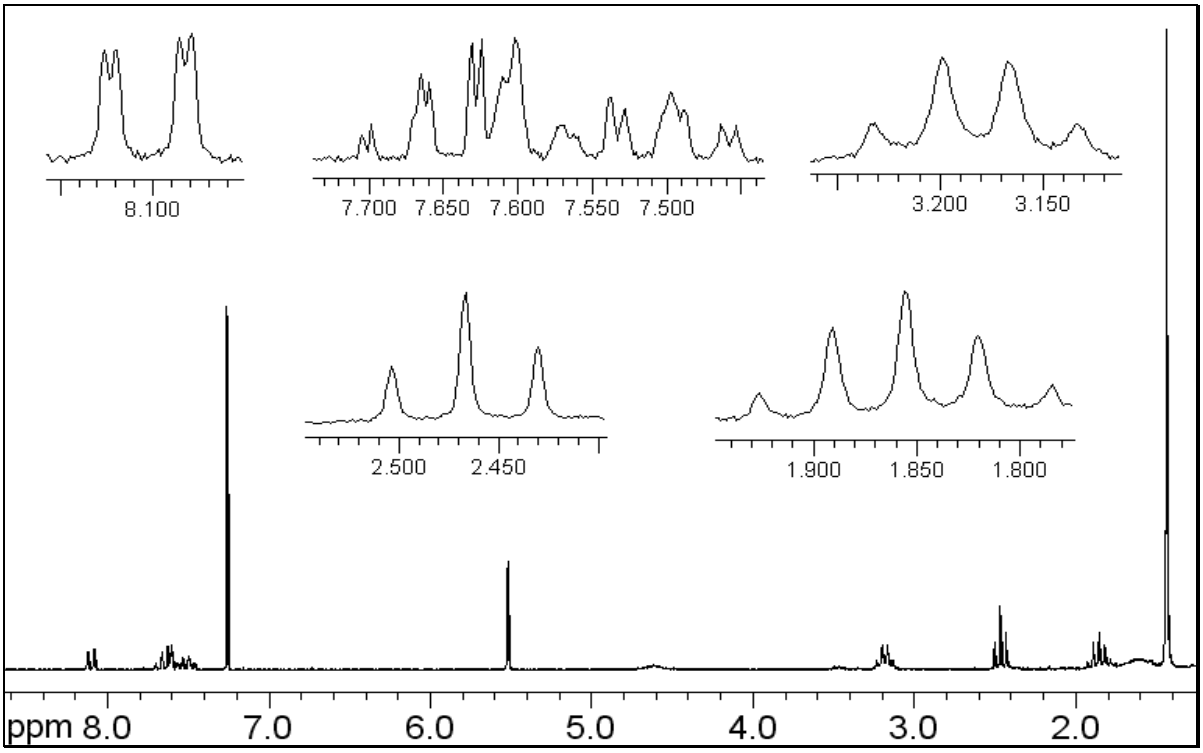


Abbildung 102: ^{1}H-NMR (200 MHz, Deuterochloroform) von **72**

^{1}H-NMR (200 MHz, Deuterochloroform): δ = 1.44 (s, 9H, *t*-Bu), 1.86 (qui, 2H, $^{3}J_{HH}$ = 7.1 Hz, 10-H), 2.46 (t, 2H, $^{3}J_{HH}$ = 7.4 Hz, 9-H), 3.18 (qua, 2H, $^{3}J_{HH}$ = 6.7 Hz, 11-H), 4.61 (bs, 1H, N-H), 5.52 (s, 2H, 7-H), 7.45–7.70 (m, 3H, 4-H, 5-H, 6-H), 8.10 (dd, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.1 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 1.3 Hz, 3-H) ppm.

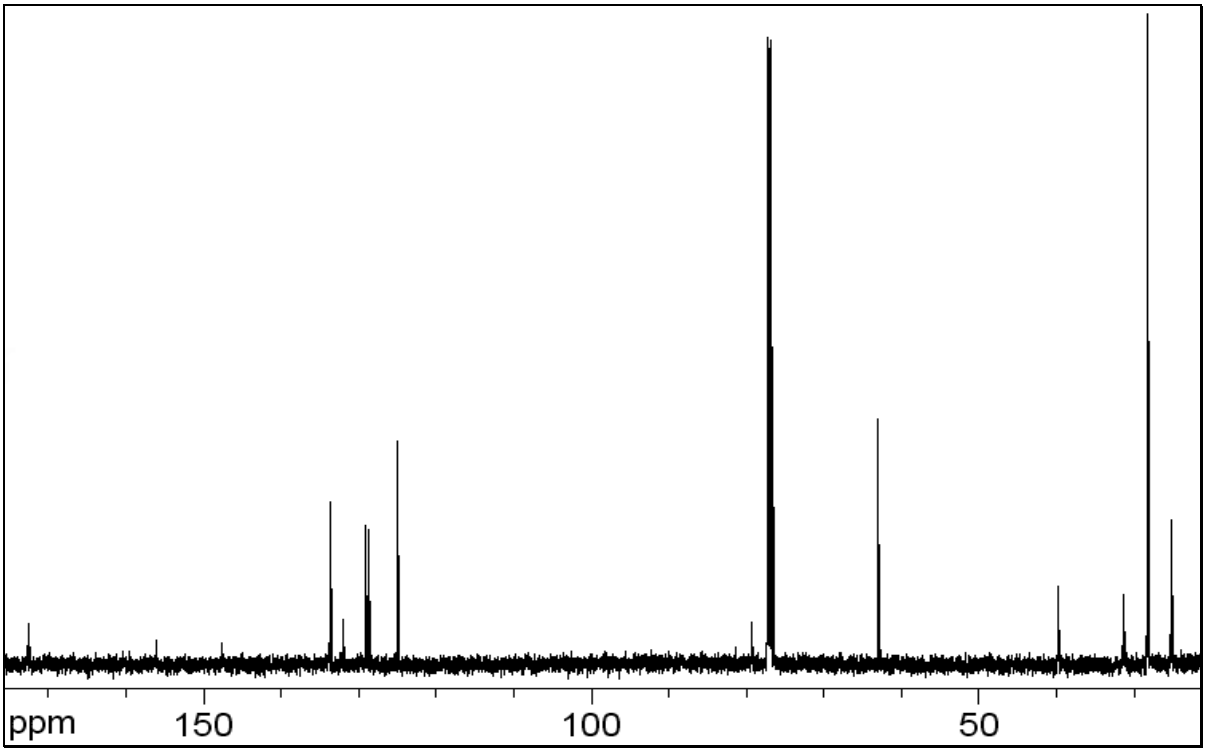


Abbildung 103: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform) von **72**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform): δ = 25.23 (10-C), 28.33 (C($\underline{C}H_3)_3$), 31.30 (9-C), 39.76 (11-C), 62.98 (7-C), 79.26 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 125.00 (3-C), 128.79 (6-C), 129.10 (4-C), 131.98 (1-C), 133.71 (5-C), 147.55 (2-C), 155.99 (12-C), 172.56 (8-C) ppm.

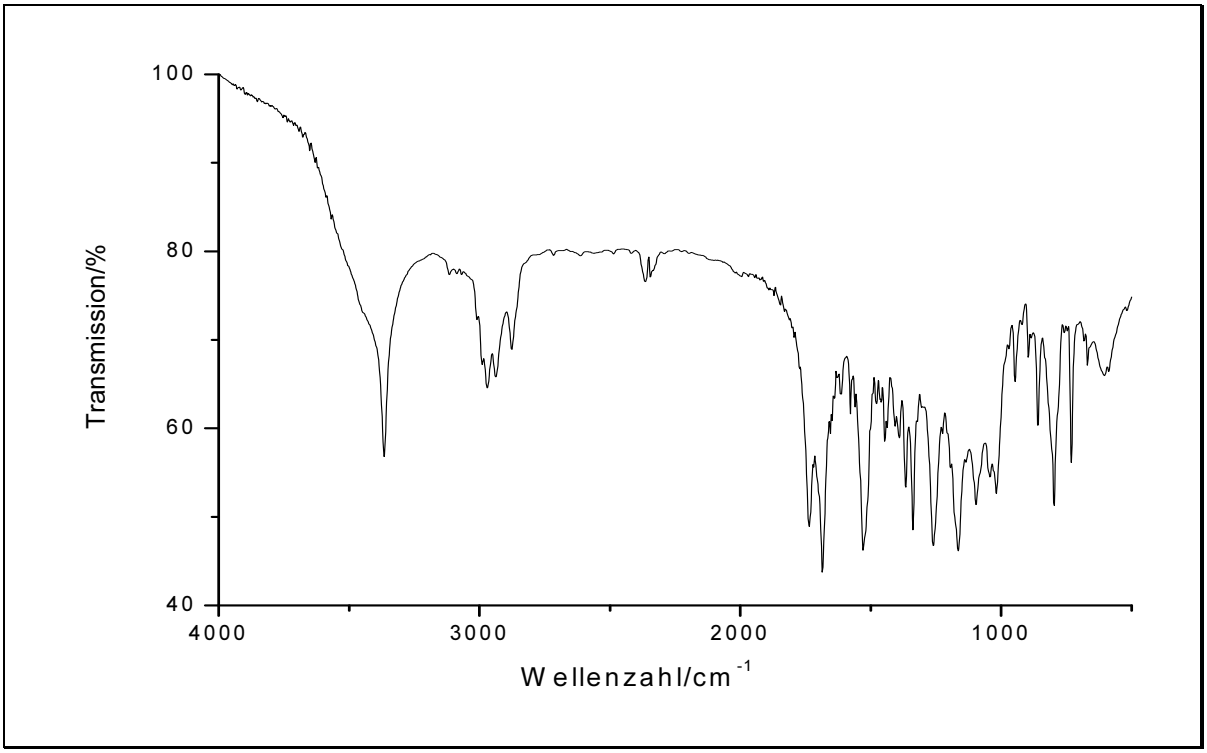


Abbildung 104: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **72**

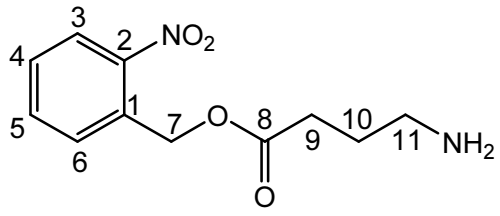
IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3366 (-N-H-Valenz), 2968 (-C-H-Valenz), 2938 (-CH_3-Valenz), 2875 (-CH_2-Va-lenz), 1736 (-C=O-Valenz, Carbonylbindung), 1686 (-C=O-Valenz, sekundäres Car-bonsäureamid), 1616 (Ringschwingung), 1530 (-NO_2-Valenz), 1446 (-CH_2- & -CH_3-Deformation), 1339 (-C-N-Valenz), 1261 (-C-O-C-Valenz), 1165 (-C-O-C-Valenz), 731 (=C-H-Deformation, 1,2-disubstituierter Aromat) cm^{-1}.

Massenspektrum (GC/MS):

m/z (%)**:** 152 (1), 150 (9), 149 (76), 137 (2), 136 (18), 135 (65), 120 (8), 107 (98), 105 (22), 91 (100), 89 (25), 77 (70), 76 (19), 75 (5), 56 (80), 51 (39), 40 (22)

Versuch 8:

Darstellung von (2-Nitrobenzyl)-4-aminobutanoat (**73**)



Unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluss werden 1.39 g (3.84 mmol) (2-Nitrobenzyl)-4-[*N*-(*tert*-butoxy)amino]butanoat **72** in 94 ml trockenem Dichlormethan gelöst. Anschließend werden vorsichtig 34.2 ml Trifluoressigsäure zugegeben und die Reaktionsmischung 21 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Reaktionsende wird das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand mit 20 ml Toluol versetzt. Nach kurzem Rühren werden das Lösungsmittel und die Trifluoressigsäure unter vermindertem Druck azeotrop entfernt. Dieser Vorgang wird insgesamt viermal durchgeführt. Das Rohprodukt wird abschließend säulenchromatographisch an Kieselgel der Firma Fluka mit Essigsäureethylester als Laufmittel gereinigt und man erhält das gewünschte Produkt als Öl, welches durch Lagerung bei 4 °C zu einem braunen Feststoff auskristallisiert.

$C_{11}H_{14}N_2O_4$ (M = 238.24 g/mol)
Ausbeute: 0.91 g (3.8 mmol, 99 %)
Schmelzpunkt: 44 °C

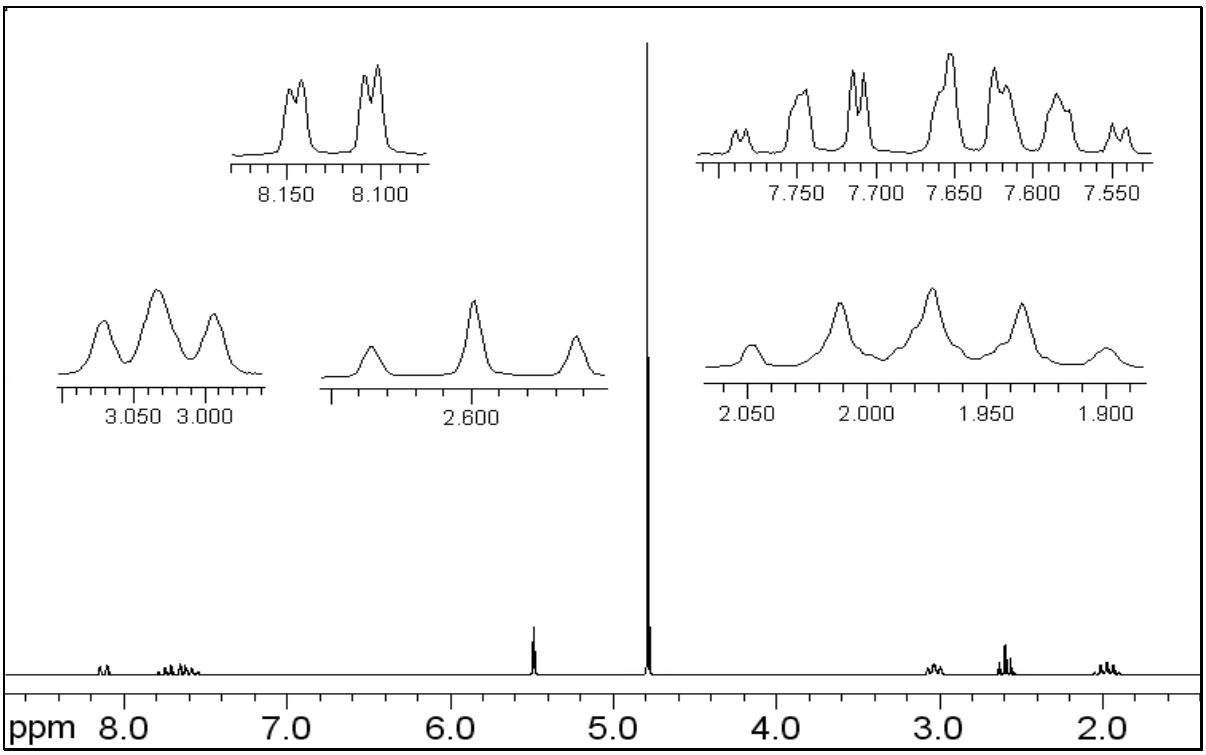


Abbildung 105: ^{1}H-NMR (200 MHz, D_2O) von **73**

^{1}H-NMR (200 MHz, D_2O): δ = 1.90-2.05 (m, 2H, 10-H), 2.60 (t, 2H, $^{3}J_{HH}$ = 7.3 Hz, 9-H), 3.03 (t, 2H, $^{3}J_{HH}$ = 7.5 Hz, 11-H), 5.49 (s, 2H, 7-H), 7.54 –7.79 (m, 3H, 4-H, 5-H, 6-H), 8.13 (dd, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.1 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 1.3 Hz, 3-H) ppm.

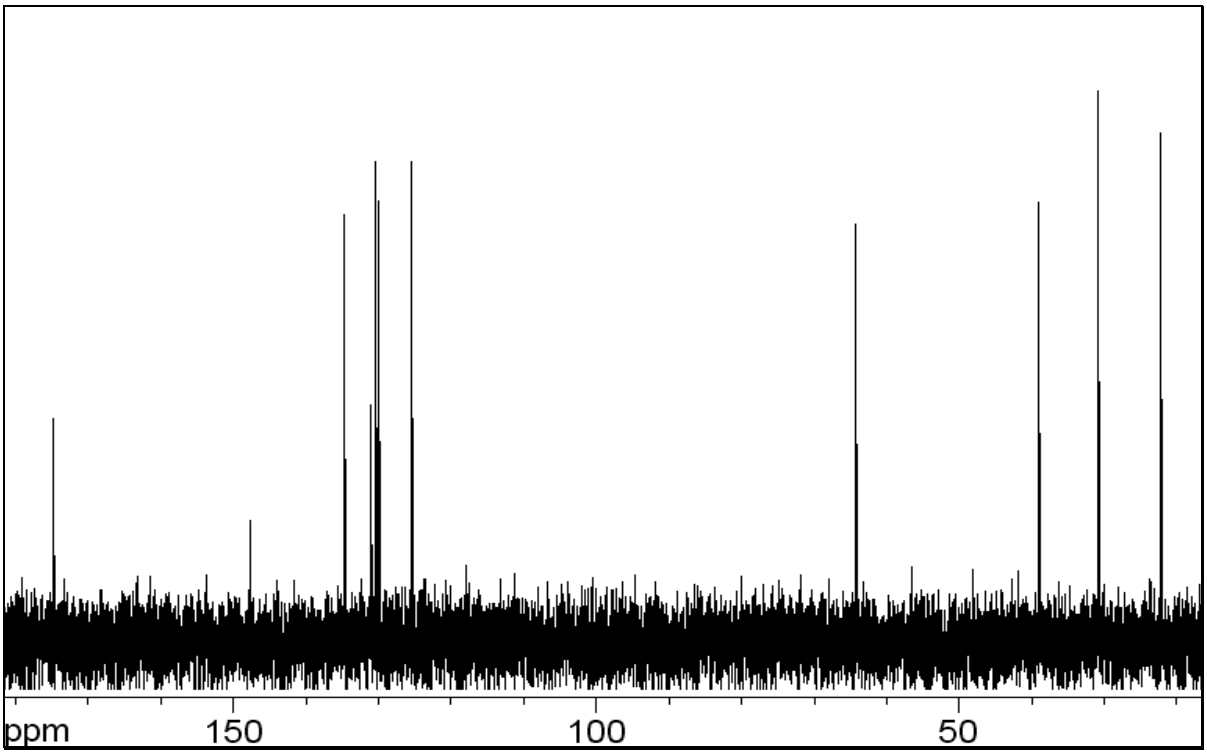


Abbildung 106: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, D_2O) von **73**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, D_2O): δ = 22.32 (10-C), 30.90 (9-C), 38.98 (11-C), 64.33 (7-C), 125.54 (3-C), 129.90 (6-C), 130.36 (4-C), 131.13 (1-C), 134.77 (5-C), 147.76 (2-C), 174.75 (8-C) ppm.

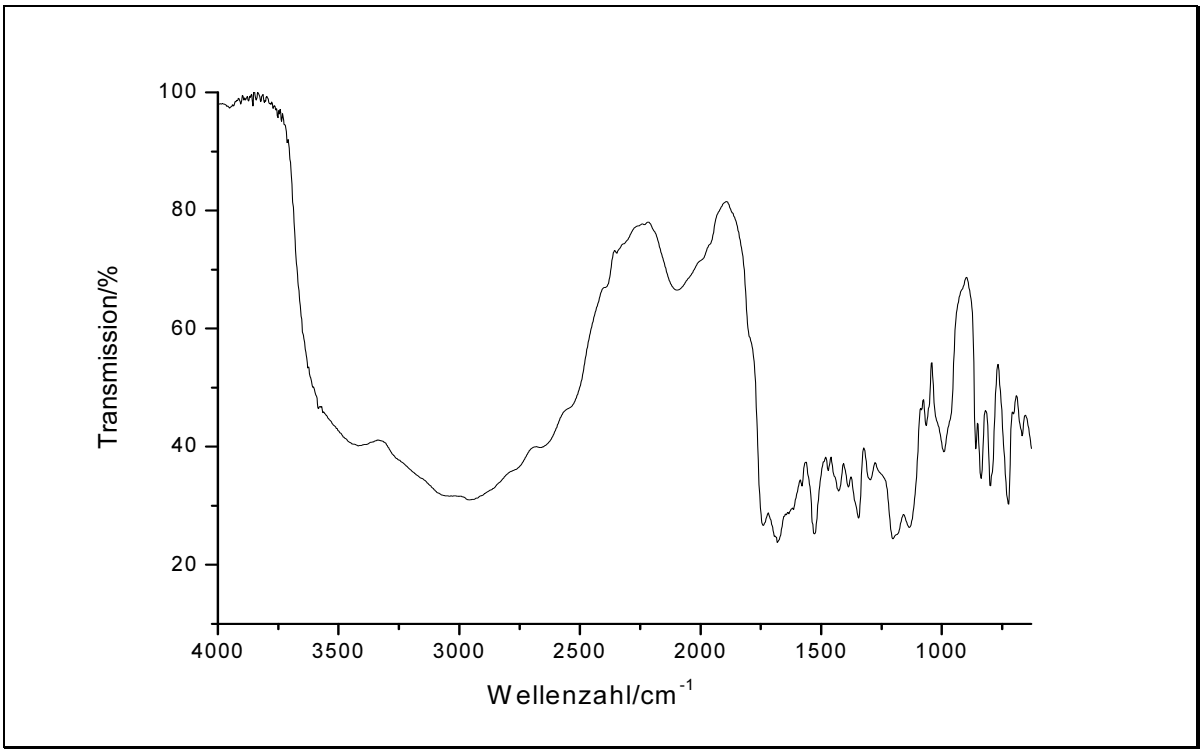


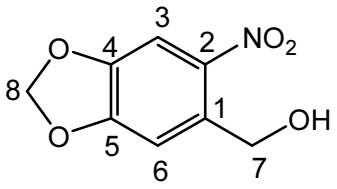
Abbildung 107: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **73**

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3426 (-N-H-Valenz), 2964 (-C-H-Valenz), 1738 (-C=O-Valenz, Carbonylbindung), 1682 (-C=O-Valenz, sekundäres Carbonsäureamid), 1530 (-NO_2-Valenz), 1425 (-CH_2-Deformation), 1348 (-C-N-Valenz), 1202 (-C-O-C-Valenz), 1136 (-C-O-C-Valenz), 723 (=C-H-Deformation, 1,2-disubstituierter Aromat) cm^{-1}.

Massenspektrum (FAB+MNBA):
m/z : 261 $[M+Na]^+$, 239 $[M+1]^+$, 154, 136, 102, 90, 89, 86

Versuch 9:

Darstellung von 4,5-Methylendioxy-2-nitrobenzylalkohol (**81**)



Es werden 2.00 ml (3.04 g, 48.2 mmol) rauchende Salpetersäure und 6.00 ml (6.03 g, 104 mmol) Essigsäure p.a. vorgelegt und auf -10 °C abgekühlt. Dann werden 2.00 g (13.1 mmol) 4,5-(Methylendioxy)benzylalkohol **80** unter Rühren portionsweise so zugegeben, dass eine Innentemperatur von 0 °C nicht überschritten wird. Nach vollständiger Zugabe kristallisiert das gewünschte Produkt in Form von gelben Kristallen aus. Die Mischung wird noch 15 min gerührt und anschließend auf Eiswasser gegossen. Der Feststoff wird abgesaugt, zweimal mit je 20 ml Wasser und einmal mit 10 ml kaltem Diethylether gewaschen. Danach wir er in 15 ml warmen Ethanol aufgenommen und die nicht löslichen Bestandteile abfiltriert. Abschließend wird das Filtrat vom Lösungsmittel befreit und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel der Firma Fluka mit Dichlormethan gereinigt.

$C_8H_7NO_5$ (M = 197.15 g/mol)

Ausbeute: 0.78 g (4.0 mmol, 30 %) Lit.[35]: 91 %

Schmelzpunkt: 122 °C Lit.[35]: 121-123 °C

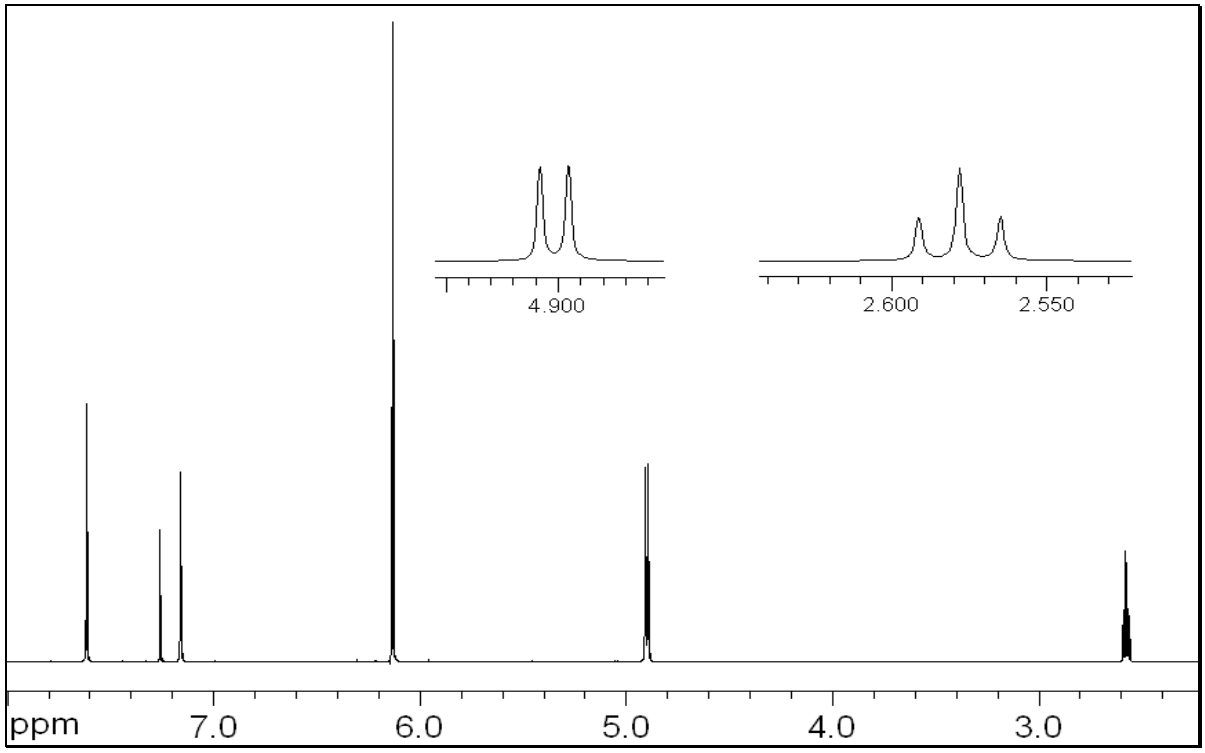


Abbildung 108: ^{1}H-NMR (500 MHz, Deuterochloroform) von **81**

^{1}H-NMR (500 MHz, Deuterochloroform): δ = 2.58 (t, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 6.6 Hz, -OH), 4.90 (d, 2H, $^{3}J_{HH}$ = 6.6 Hz, 7-H), 6.13 (s, 2H, 8-H), 7.15 (s, 1H, 6-H), 7.60 (s, 1H, 3-H) ppm.

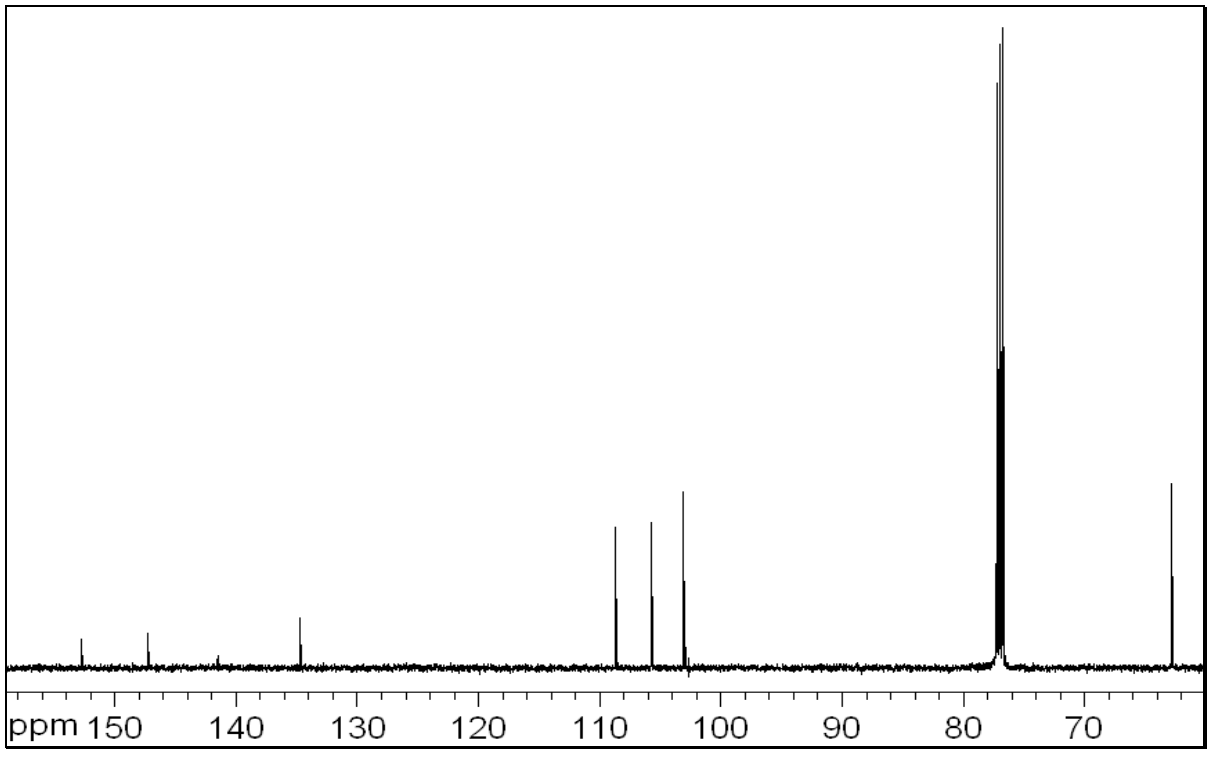


Abbildung 109: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform) von **81**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform): δ = 63.24 (7-C), 103.49 (8-C), 106.23 (3-C), 109.16 (6-C), 135.12 (1-C), 141.98 (2-C), 147.82 (4-C), 153.12 (5-C) ppm.

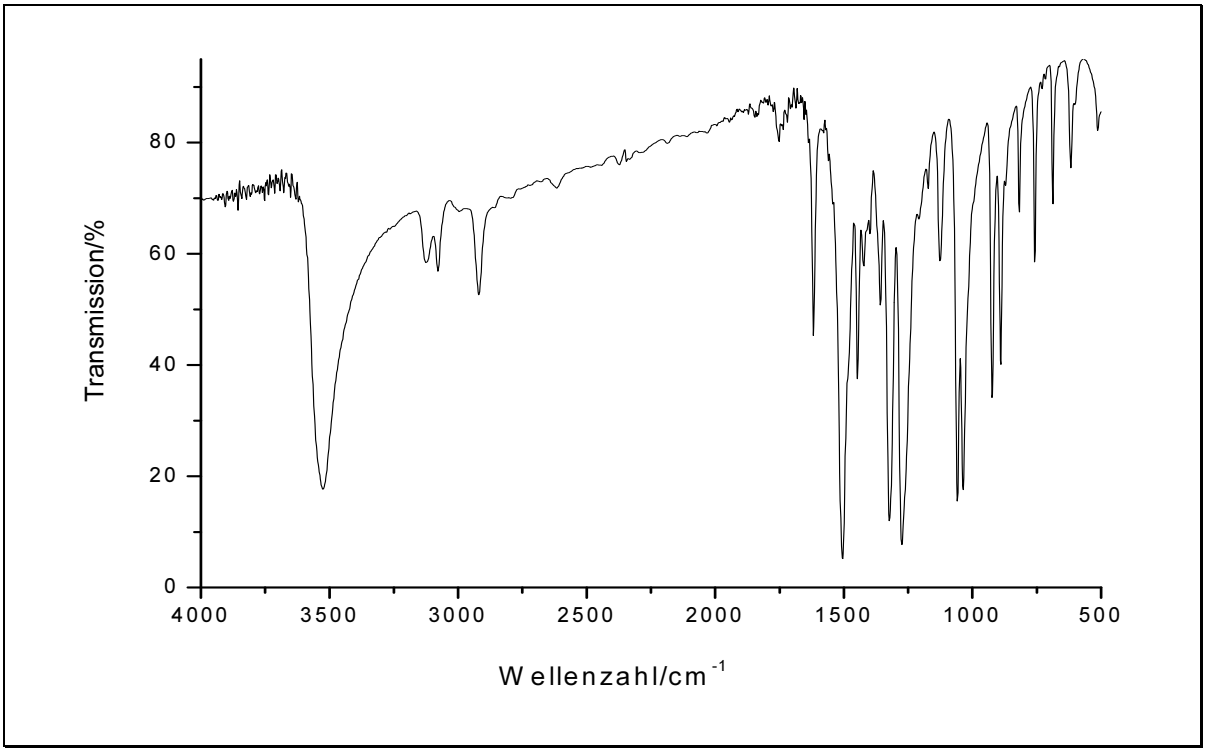


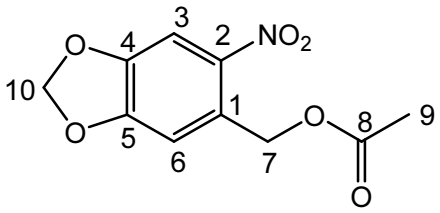
Abbildung 110: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **81**

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3750-3250 (O-H-Valenz), 3125, 3078 (=C-H-Valenz), 2919 (C-H-Valenz), 1618 (Ringschwingung), 1505, 1323 (NO_2-Valenz), 1447 (-CH_2-Deformation), 1274, 1126, 1059, 1036 (C-O-C-Valenz), 923, 890, 818 (=C-H-Deformation) cm^{-1}.

Massenspektrum (GC/MS):
m/z : 168, 167, 151, 138, 121

Versuch 10:

Darstellung von (4,5-Methylendioxy-2-nitrobenzyl)-acetat (**82**)



Unter Lichtausschluss werden 0.080 g (4.1 mmol) 4,5-Methylendioxy-2-nitrobenzylalkohol **81** in 5 ml Pyridin gelöst. Anschließend werden bei Raumtemperatur 0.32 ml (4.1 mmol) Acetylchlorid hinzugetropft und die Lösung 24 h gerührt. Danach werden 10 ml Eiswasser hinzugegeben, die Lösung für weitere 10 min gerührt und dann dreimal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit je 20 ml Wasser und einmal mit 20 ml verdünnter Salzsäure gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Abschließend wird das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel der Firma Fluka mit Dichlormethan gereinigt.

$C_{10}H_9NO_6$ (M = 239.18 g/mol)

Ausbeute: 0.14 g (0.58 mmol, 14 %) Lit.[35]: Quantitativ

Schmelzpunkt: 148 °C Lit.[35]: 149 °C

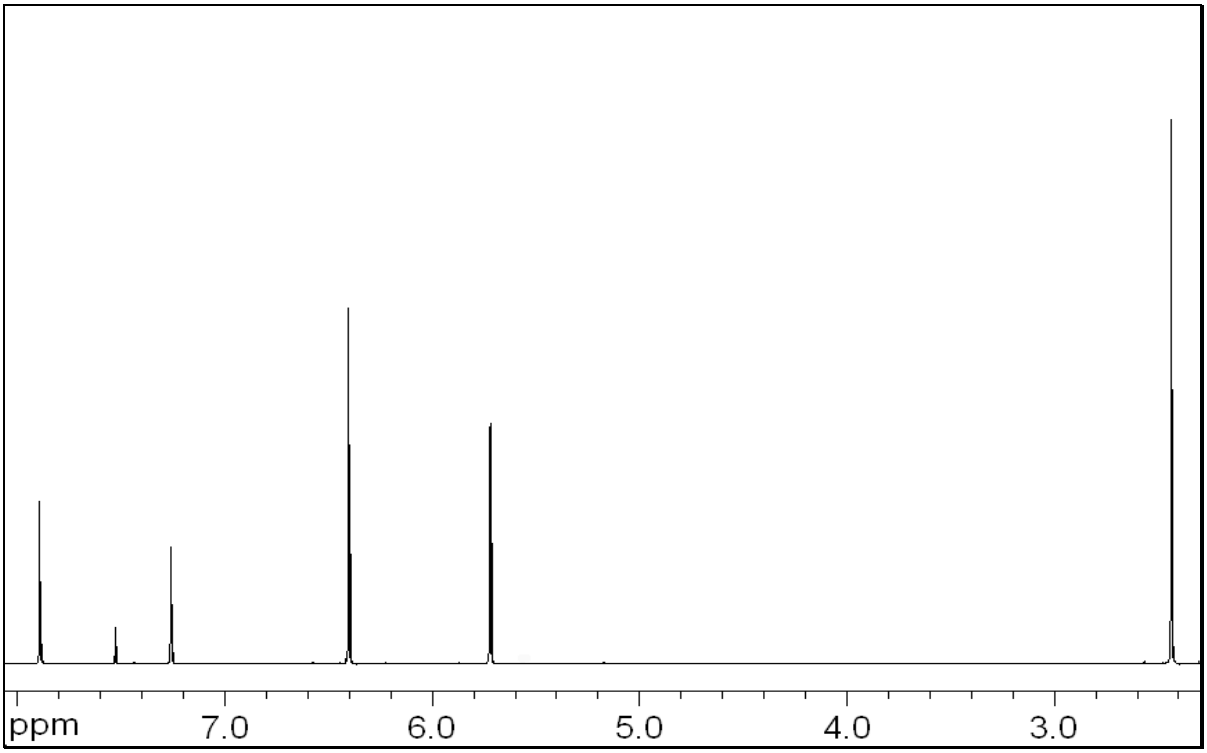


Abbildung 111: ^{1}H-NMR (500 MHz, Deuterochloroform) von **82**

^{1}H-NMR (200 MHz, Deuterochloroform): δ = 2.44 (s, 3H, 9-H), 5.72 (s, 2H, 7-H), 6.40 (s, 2H, 10-H), 7.52 (s, 1H, 6-H), 7.90 (s, 1H, 3-H) ppm.

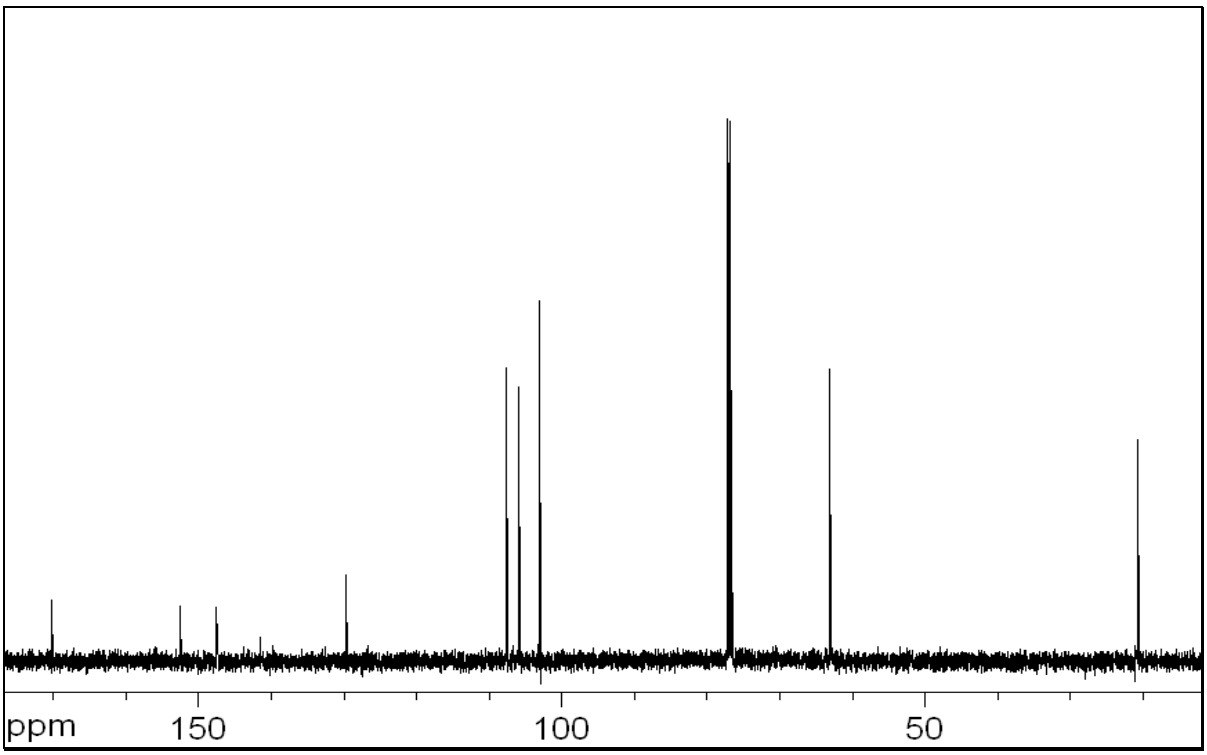


Abbildung 112: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform) von **82**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform): δ = 20.82 (9-C), 63.14 (7-C), 103.15 (10-C), 105.85 (3-C), 107.56 (6-C), 129.67 (1-C), 141.49 (2-C), 147.40 (4-C), 152.44 (5-C), 170.26 (8-C) ppm.

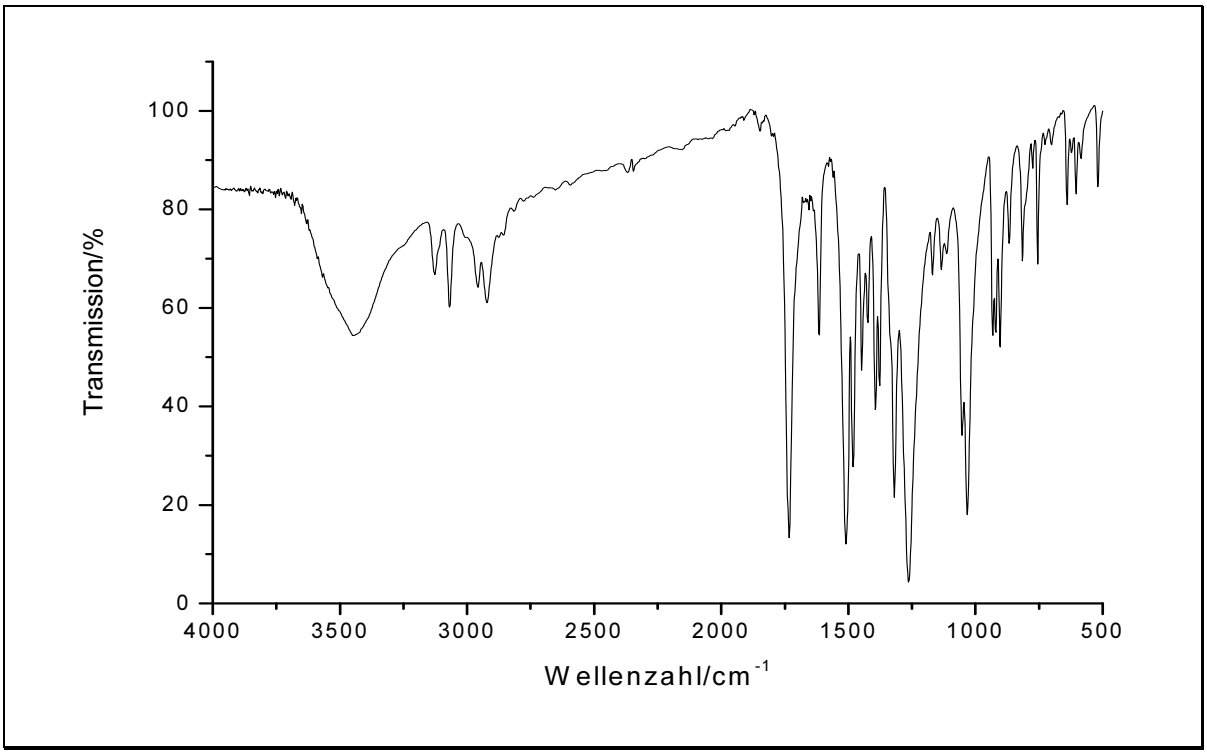


Abbildung 113: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **82**

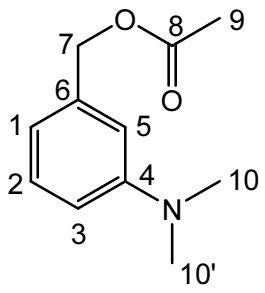
IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3069 (=C-H-Valenz), 2919 (C-H-Valenz), 1731 (C=OValenz), 1615 (Ringschwingung), 1510, 1319 (NO_2-Valenz), 1447 (-CH_2-Deformation), 1395 (-CH_3-Deformation), 1264, 1033 (C-O-C-Valenz), 904, 755 (=C-H-Deformation) cm^{-1}.

Massenspektrum (GC/MS):

m/z : 239 $[M]^+$, 193, 180, 178, 164, 153, 151, 135, 120, 69, 43

Versuch 11:

Darstellung von [3-(Dimethylamino)benzyl]-acetat (**84**)



Zu einer Lösung von 2.00 g (13.2 mmol) 3-(Dimethylamino)benzylalkohol **83** in 10 ml Pyridin werden unter Lichtausschluss 1.03 ml (1.13 g, 14.4 mmol) Acetylchlorid bei Raumtemperatur hinzugetropft. Nach beendeter Zugabe wird die Reaktionsmischung über Nacht gerührt. Dann werden 30 ml Eiswasser zugegeben, die Lösung noch einmal 30 min gerührt und anschließend dreimal mit je 50 ml Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit je 40 ml Wasser und einmal mit 30 ml verdünnter Salzsäure gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und abschließend bis zur Trockne eingeengt. Man erhält das gewünschte Produkt ohne weitere Aufreinigung in Form eines gelben Öles.

$C_{11}H_{15}NO_2$ (M = 193.24 g/mol)
Ausbeute: 1.92 g (9.94 mmol, 75 %)

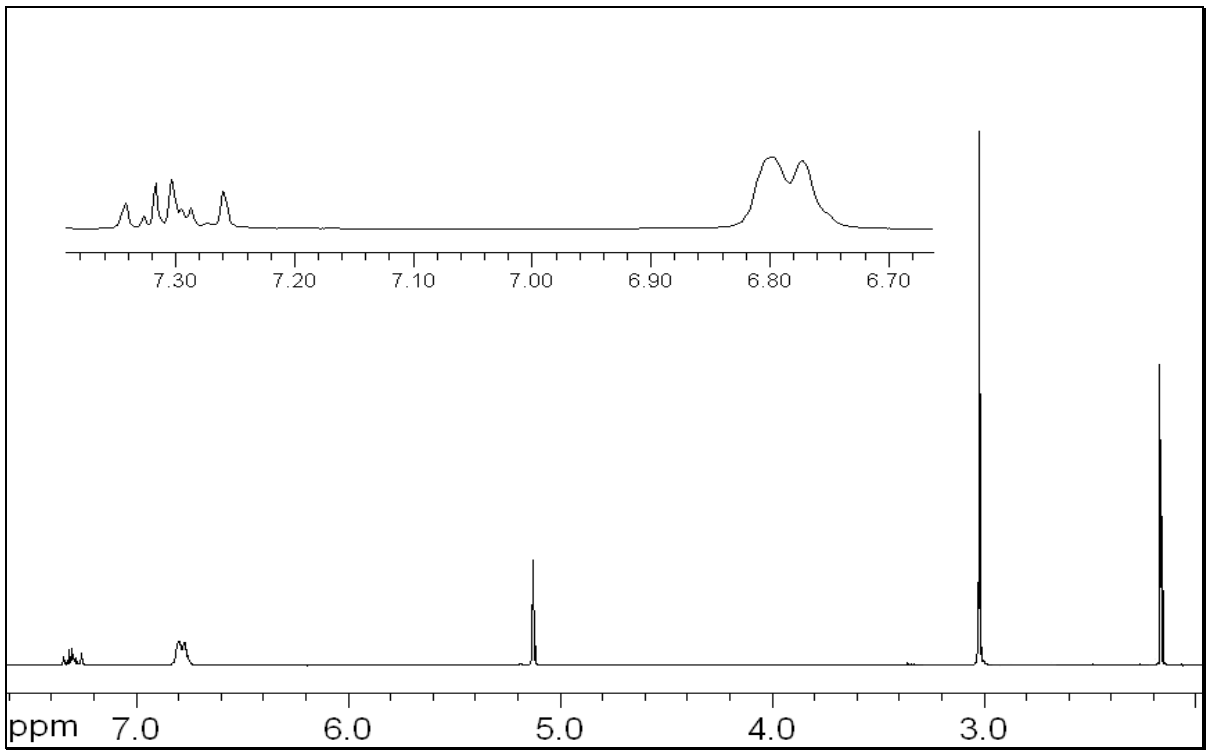


Abbildung 114: ^{1}H-NMR (200 MHz, Deuterochloroform) von **84**

^{1}H-NMR (200 MHz, Deuterochloroform): δ = 2.16 (s, 3H, 9-H), 3.02 (s, 6H, 10-H, 10'-H), 5.13 (s, 2H, 7-H), 6.82-6.75 (m, 3H, 1-H, 3-H, 5-H), 7.29-7.34 (m, 1H, 2-H) ppm.

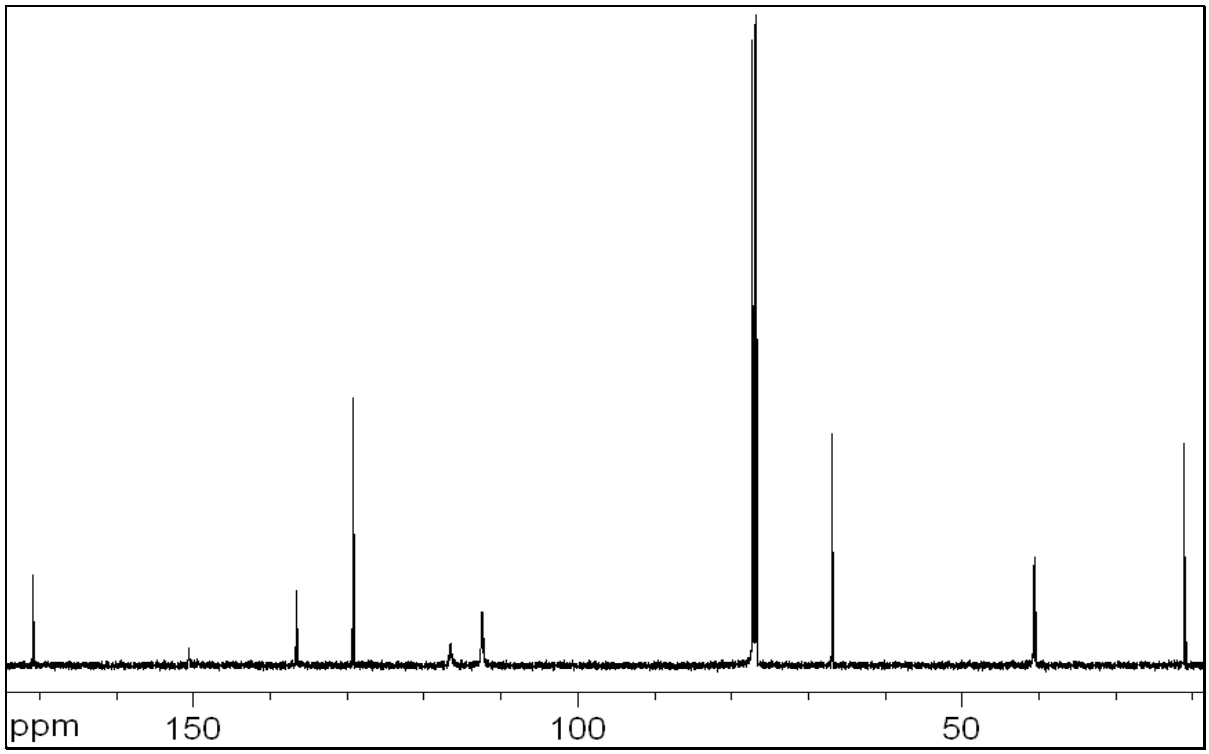


Abbildung 115: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform) von **84**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform): δ = 21.05 (9-C), 40.61 (10-C, 10'-C), 66.91 (7-C), 112.43 (5-C), 112.52 (3-C), 116.58 (1-C), 129.30 (2-C), 136.66 (6-C), 150.63 (4-C), 170.95 (8-C) ppm.

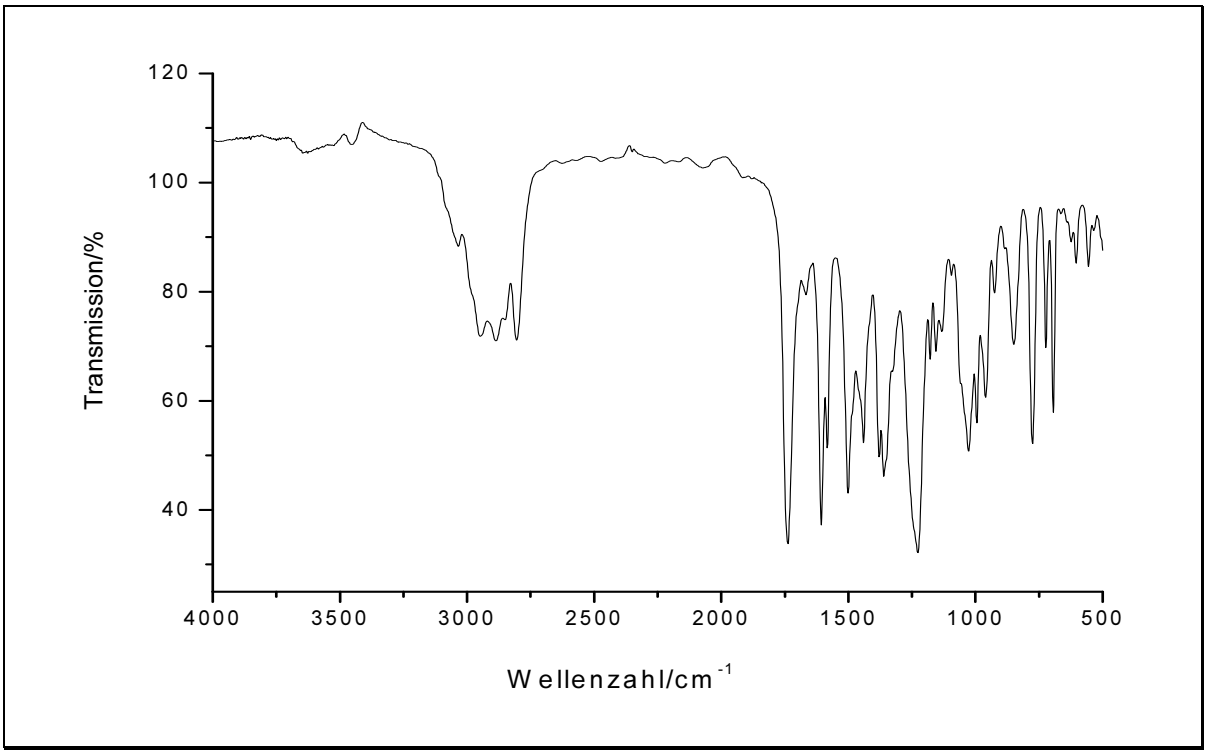


Abbildung 116: IR-Spektrum (Film) von **84**

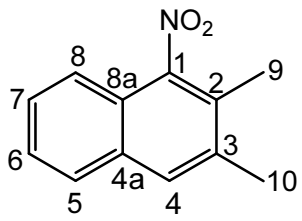
IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2948 (=C-H-Valenz), 2805 (-N-CH_3-Valenz), 1737 (C=OValenz), 1607 (Ringschwingung), 1440 (-CH_2-Deformation), 1379 (-CH_3-Deformation), 1227 (-C-N-Valenz), 1027 (C-O-C-Valenz), 776 (=C-H-Deformation) cm^{-1}.

Massenspektrum (GC/MS):

m/z: 193 $[M]^+$, 150, 148, 134, 132, 118, 108, 107, 91, 77, 43

Versuch 12:

Darstellung von 2,3-Dimethyl-1-nitronaphthalin (**86**)



5.00 g (32.0 mmol) 2,3-Dimethylnaphthalin **85** werden in 28.6 ml (30.0 g, 500 mmol) Eisessig vorgelegt und mit Hilfe eines Wasserbades langsam auf 70 °C erwärmt. Zu der 70 °C warmen Lösung werden dann unter Rühren 1.38 ml (2.10 g, 33.2 mmol) rauchende Salpetersäure so zu getropft, dass die Temperatur der Lösung nicht über 80 °C steigt. Nach vollständiger Zugabe wird für 1.5 h bei 70 °C nachgerührt. Anschließend lässt man die Reaktionslösung auf Raumtemperatur abkühlen, wobei langsam ein gelber Feststoff auskristallisiert. Nach Stehen über Nacht wird das ausgefallene Rohprodukt abfiltriert und aus Ethanol umkristallisiert. Man erhält das gewünschte Produkt in Form von gelben, kristallinen Nadeln.

$C_{12}H_{11}NO_2$ (M = 201.22 g/mol)

Ausbeute: 2.05 g (10.2 mmol, 32 %) Lit.[76]: 50 %

Schmelzpunkt: 109 °C Lit.[76]: 111-112 °C

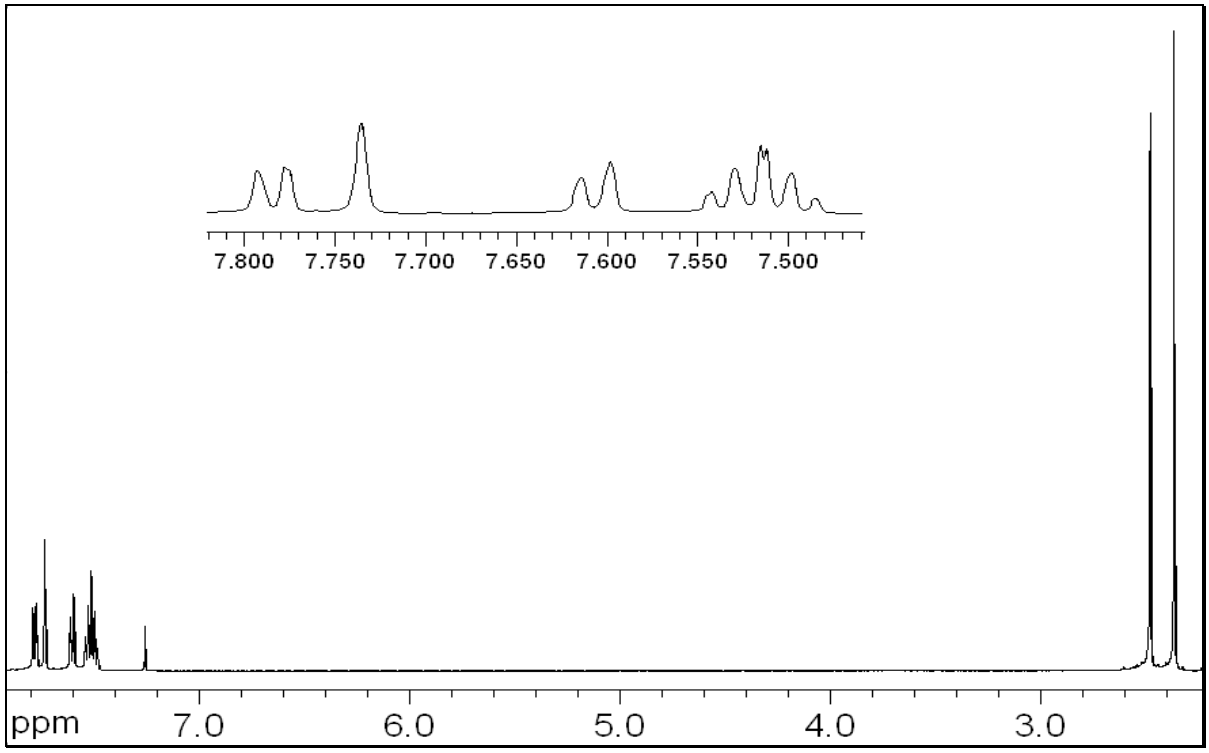


Abbildung 117: ^{1}H-NMR (500 MHz, Deuterochloroform) von **86**

^{1}H-NMR (500 MHz, Deuterochloroform): δ = 2.37 (s, 3H, 9-H), 2.48 (s, 3H, 10-H), 7.49-7.54 (m, 2H, 6-H, 7-H), 7.61 (d, 1H, ^{3}J=8.1 Hz, 8-H), 7.74 (s, 1H, 4-H), 7.79 (d, 1H, ^{3}J=8.1 Hz, 5-H) ppm.

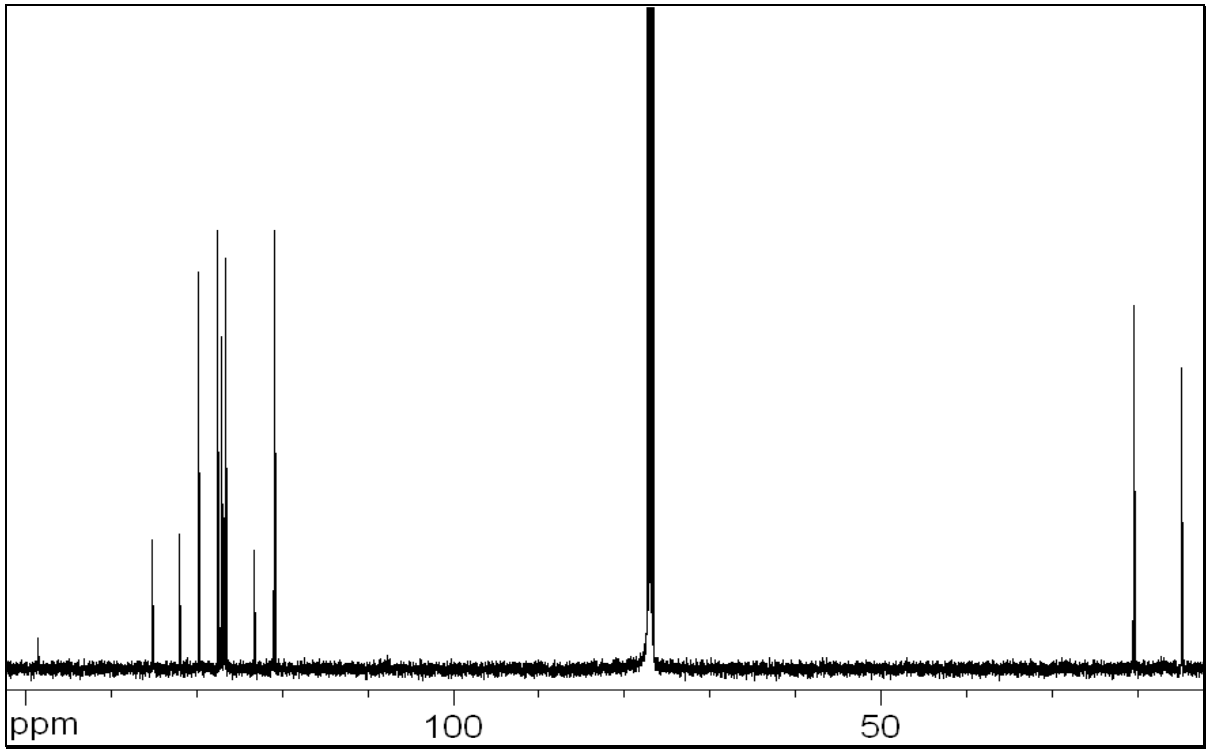


Abbildung 118: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 NHz, Deuterochloroform) von **86**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform): δ = 14.85 (9-C), 20.49 (10-C), 120.95 (8-C), 123.23 (8a-C), 126.65 (5-C), 126.81 (4a-C), 127.15 (6-C), 127.49 (7-C), 129.74 (4-C), 132.02 (3-C), 135.21 (2-C), 148.51 (1-C) ppm.

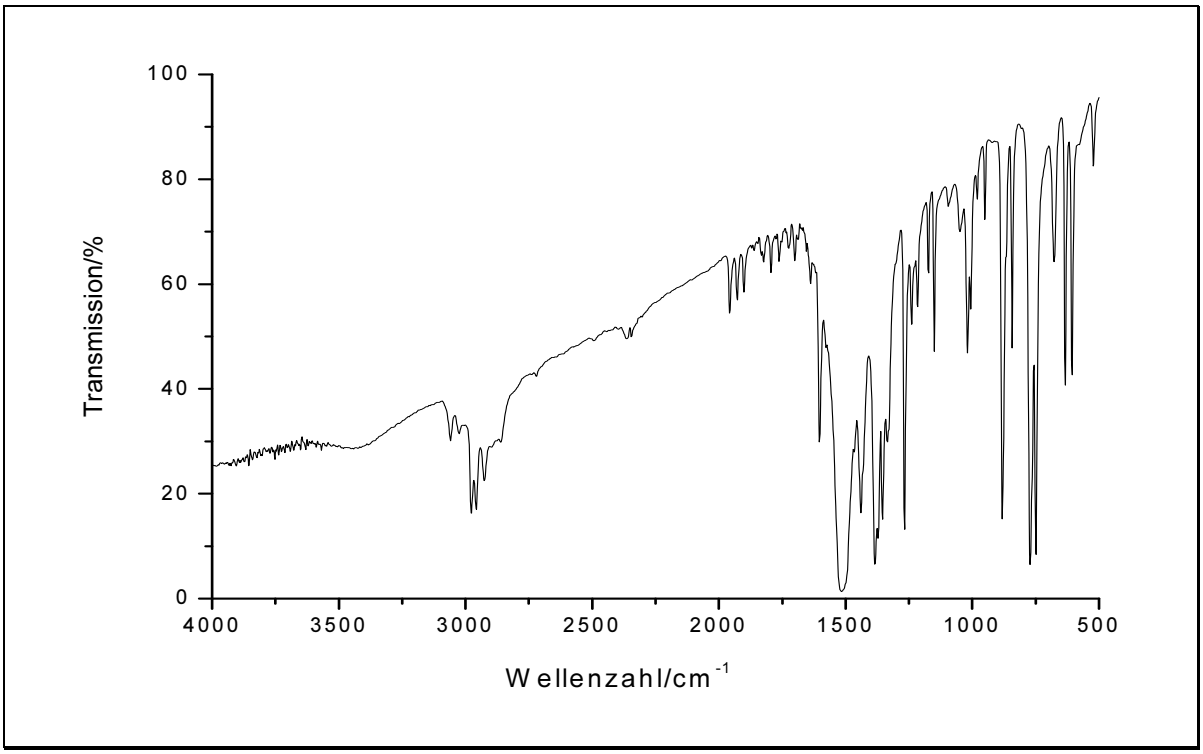


Abbildung 119: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **86**

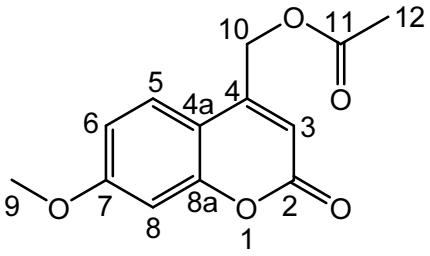
IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 2977 (-C-H-Valenz), 1602 (Ringschwingung), 1516, 1268 (NO_2-Valenz), 1384 (-CH_3-Deformation), 1355 (C-N-Valenz), 772, 749 (=C-H-Deformation) cm^{-1}.

Massenspektrum (GC/MS).

m/z : 201 $[M]^+$, 184, 171, 156, 143, 115, 113, 89, 76, 51, 39

Versuch 13:

Darstellung von 4-Acetoxymethyl-7-methoxycumarin (**88**)



Eine Mischung von 1.0 g (3.7 mmol) 4-Brommethyl-7-methoxycumarin **87** und 3.4 g (42 mmol) Natriumacetat in 18.8 ml Essigsäureanhydrid wird 6 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Ende der Reaktionszeit wird der gebildete Feststoff abfiltriert und mit 13 ml siedendem Essigsäureanhydrid gewaschen. Das erkaltete Filtrat wird unter Rühren in ein Eis/Wasser–Gemisch gegeben, worauf das gewünschte Produkt langsam als leicht gelber Feststoff ausfällt. Nach anschließender Filtration und Trocknung im Ölpumpenvakuum wird das Produkt in reiner Form erhalten.

$C_{13}H_{12}O_5$ (M = 248.23 g/mol)
Ausbeute: 0.69 g (2.8 mmol, 76 %)

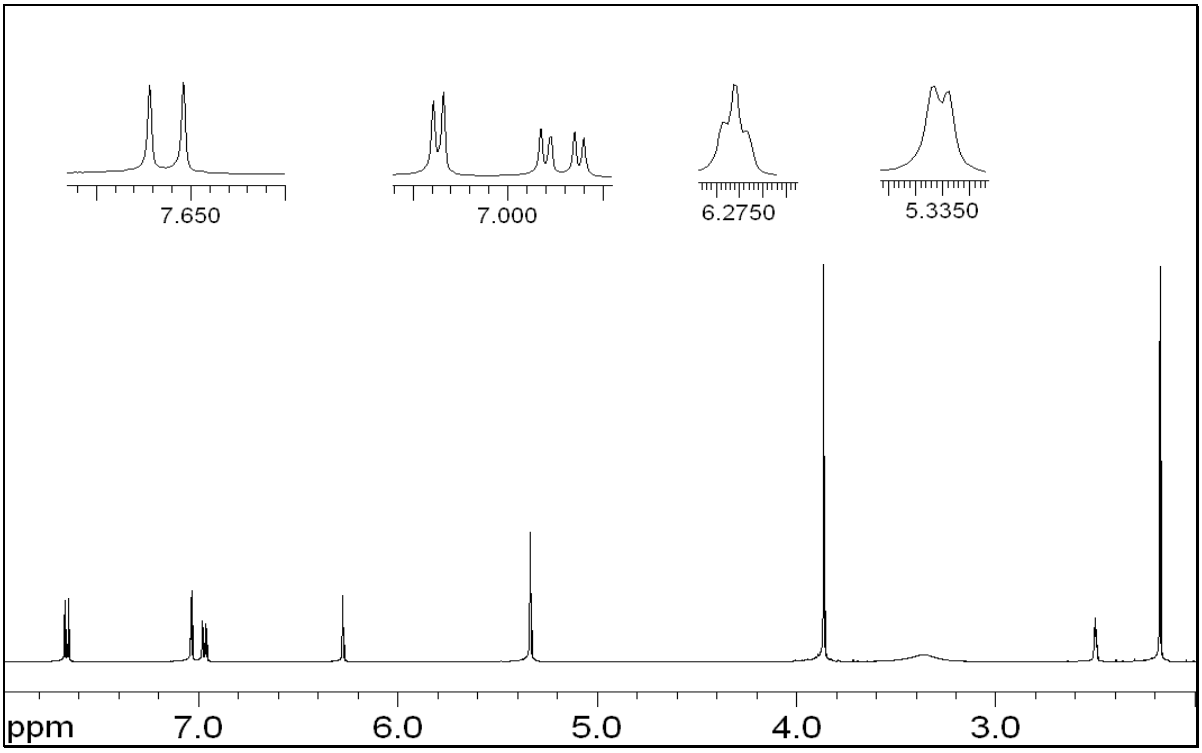


Abbildung 120: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6) von **88**

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ = 2.18 (s, 3H, 12-H), 3.86 (s, 3H, 9-H), 5.34 (d, 2H, $^{4}J_{HH}$ = 1.3 Hz, 10-H), 6.28 (t, 1H, $^{4}J_{HH}$ = 1.2 Hz, 3-H), 6.97 (dd, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.9 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 2.5 Hz, 6-H), 7.04 (d, 1H, $^{4}J_{Hh}$ = 2.5 Hz, 8-H), 7.67 (d, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.9 Hz, 5-H) ppm.

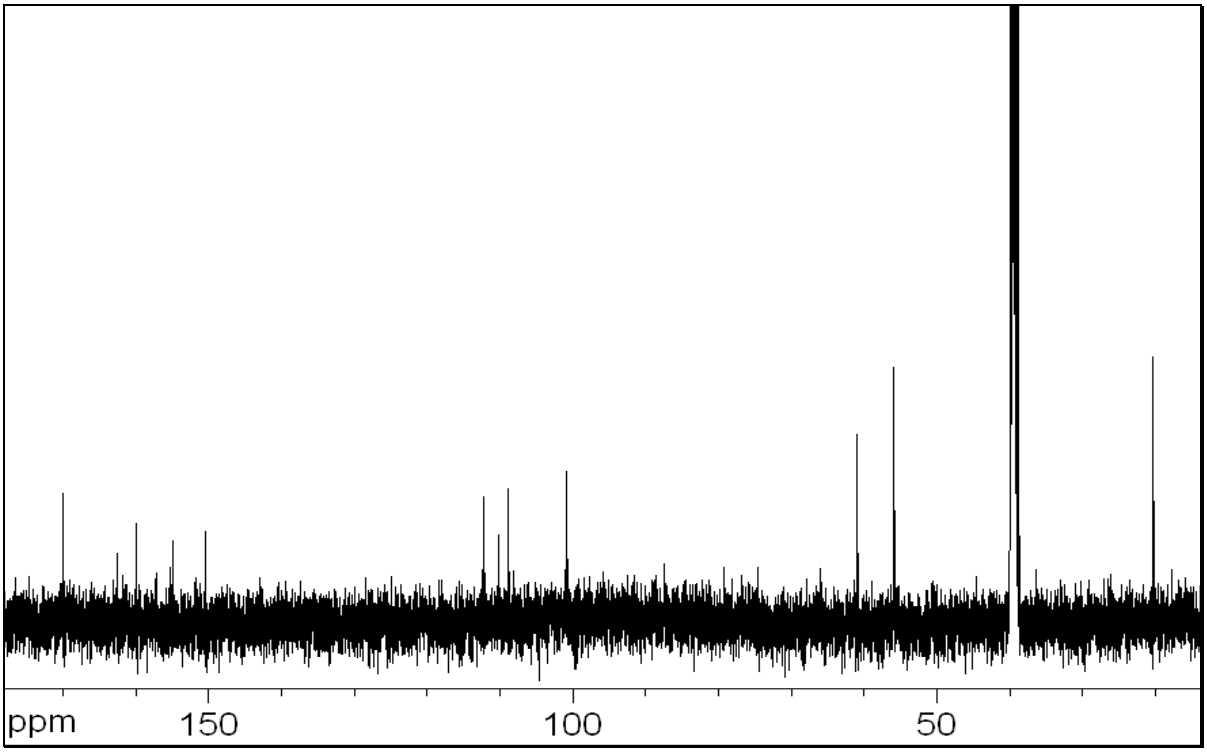


Abbildung 121: ^{13}C-{^{1}H}-NMR(125 MHz, DMSO-d_6) von **88**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6): δ = 20.45 (12-C), 55.90 (9-C), 61.03 (10-C), 100.92 (8-C), 108.83 (6-C), 110.17 (3-C), 112.28 (4a-C), 150.43 (5-C), 154.89 (4-C), 155.23 (8a-C), 159.99 (7-C), 162.47 (2-C), 169.90 (11-C) ppm.

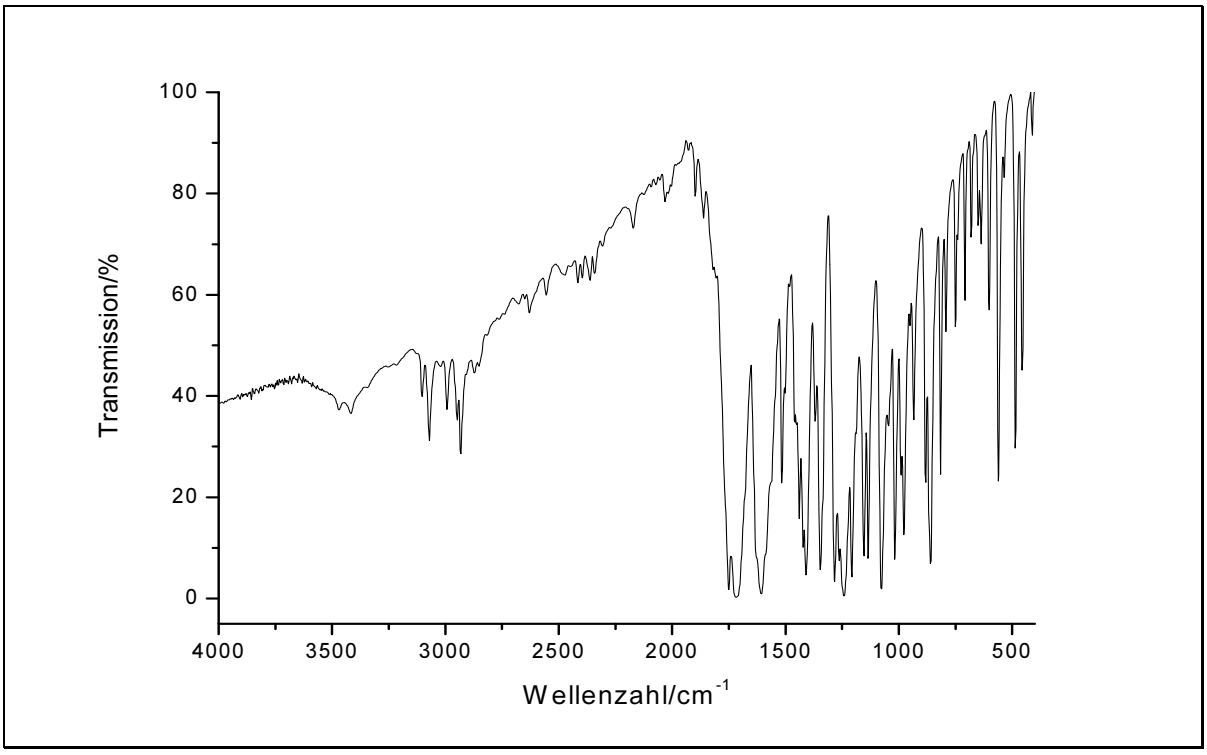


Abbildung 122: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **88**

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3103 (=C-H-Valenz,), 2932 (-C-H-Valenz), 1718 (-C=O-Valenz), 1606 (Ring-schwingung), 1410 (-CH_2- & -CH_3-Deformation), 1370 (-CH_3-Deformation), 1242 & 1077 (-C-O-C-Valenz) cm^{-1}.

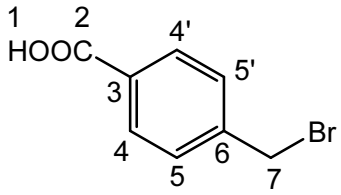
Massenspektrum (EI, Pt.: 120 °C):
m/z : 248 (19) $[M]^+$, 206 (40), 178 (24), 161 (34), 149 (32), 121 (18), 43 (100)

C-H-N-Elementaranalyse:

%C: 62.07	Theorie:	%C: 62.90
%H: 4.73		%H: 4.87
%N: /		%N: /

Versuch 14:

Darstellung von 4-Brommethylbenzoesäure (**100**)



Es werden 26.0 g (191 mmol) 4-Methylbenzoesäure **99** und 35.0 g (197 mmol) *N*-Bromsuccinimid in 500 ml trockenem Tetrachlorkohlenstoff mit 0.130 g (0.537 mmol) Dibenzoylperoxid versetzt. Das Reaktionsgemisch wird solange zum Rückfluss erhitzt bis sich die zwischendurch leicht orange-braun gefärbte Lösung wieder entfärbt. Nach 2 h wird erneut eine Spatelspitze des Initiators zugegeben und die weisse Suspension für weitere 7 h zum Rückfluss erhitzt. Anschließend erfolgen eine nochmalige Zugabe einer Spatelspitze des Dibenzoylperoxids und ein Erhitzen zum Rückfluss für 2 h. Dann wird der Reaktionskolben im Eisbad gekühlt. Der ausgefallene Feststoff wird abgesaugt und dreimal mit je 100 ml n-Pentan gewaschen. Anschließend wird der Feststoff in ein großes Becherglas überführt und mit 400 ml Wasser versetzt und einige Minuten gerührt, um das entstandene Succinimid herauszulösen. Der Feststoff wird abfiltriert, im Ölpumpenvakuum getrocknet und aus Ethanol/Essigsäureethylester 2/1 umkristallisiert. Das gewünschte Produkt erhält man in Form von feinen weißen Kristallen.

$C_8H_7O_2Br$ (M = 215.04 g/mol)
Ausbeute: 20.7 g (96.2 mmol, 50 %)
Schmelzpunkt: 226 °C Lit.[61]: 227-229 °C

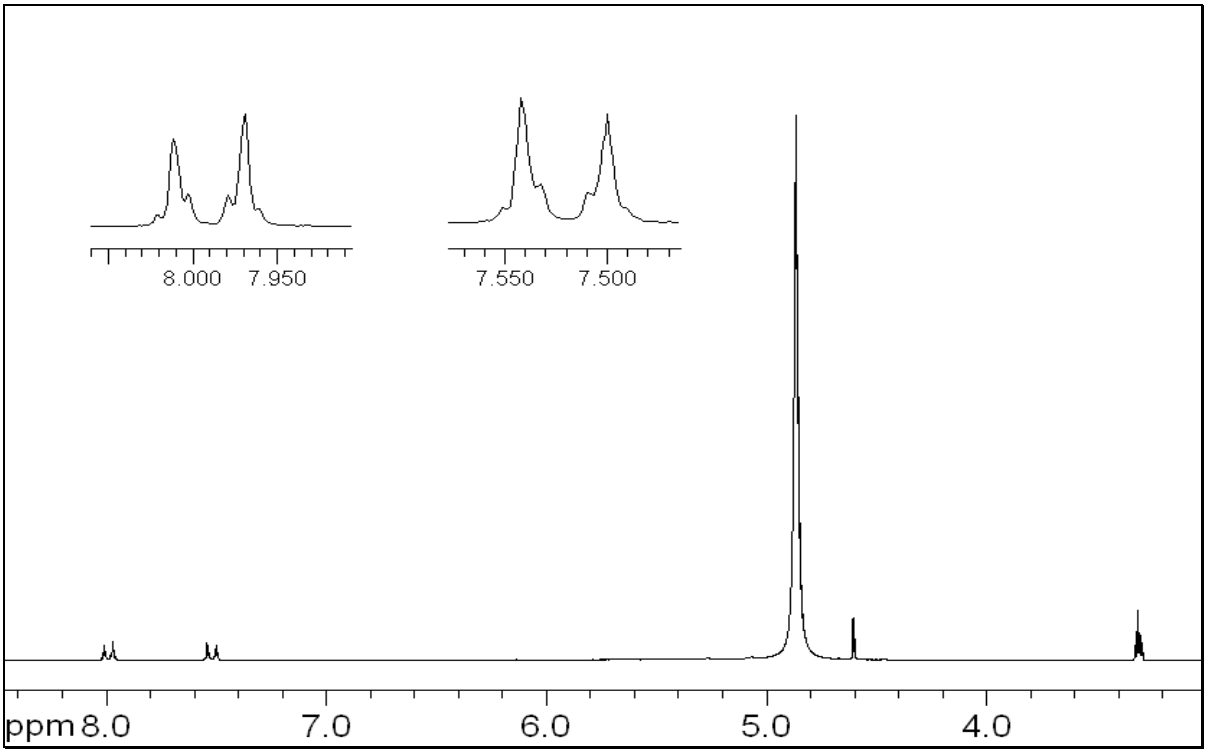


Abbildung 123: ^{1}H-NMR (200 MHz, Methanol-d_4) von **100**

^{1}H-NMR (200 MHz, Methanol-d_4): δ = 4.61 (s, Koaleszenspeak des Säureprotons und Wasser, 1H, 1-H), 4.87 (s, 2H, 7-H), 7.49 – 7.55 (m, B-Teil eines $[AB]_2$ – Systems, 2H, 5-H, 5'-H), 7.96 – 8.02 (m, A-Teil eines $[AB]_2$ – Systems, 2H, 4-H, 4'-H) ppm.

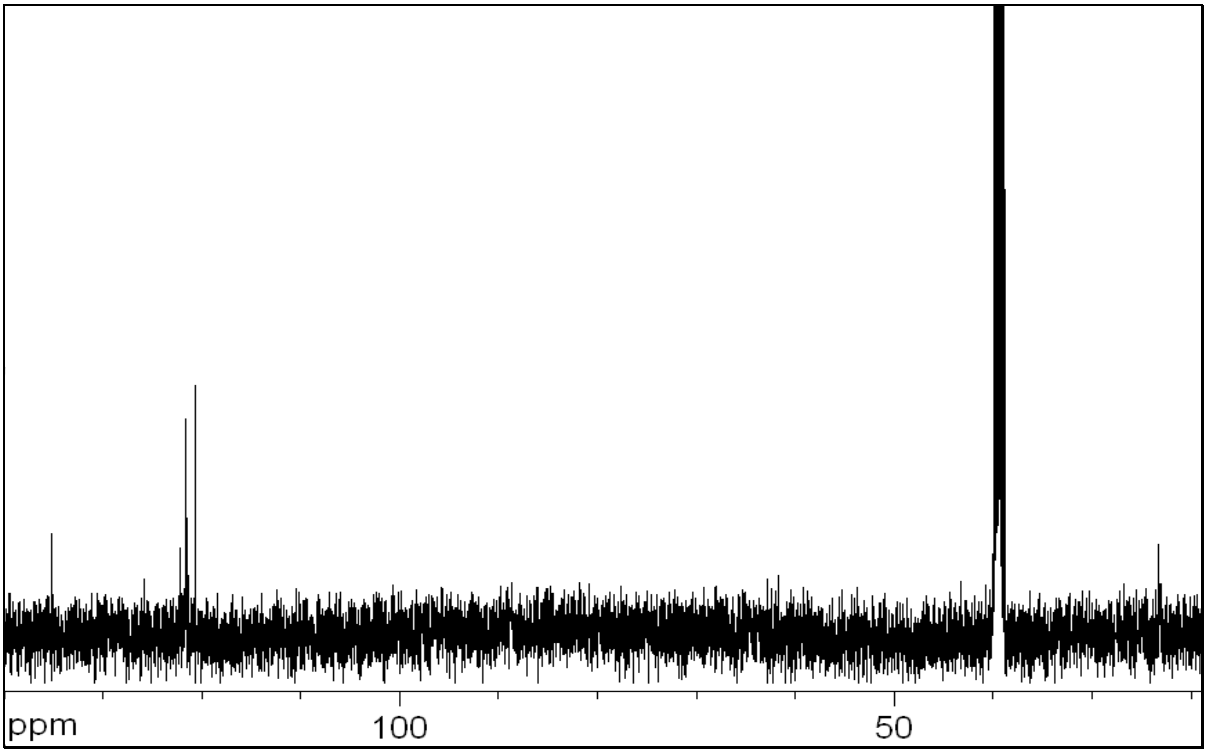


Abbildung 124: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6) von **100**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6): δ = 23.20 (7-C), 120.65 (5-C, 5'-C), 121.57 (3-C), 122.17 (4-C, 4'-C), 125.79 (6-C), 135.18 (2-C) ppm.

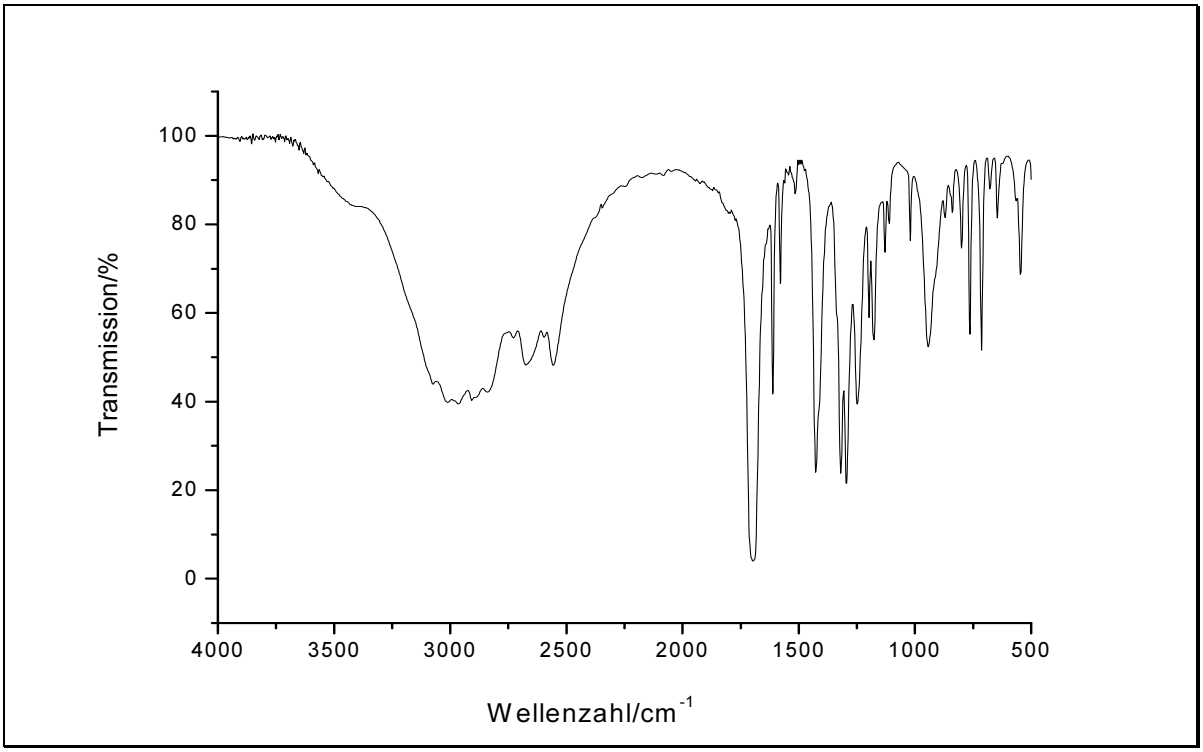


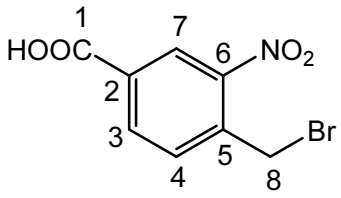
Abbildung 125: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **100**

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3500 - 2250 (O-H-Valenz), 2976, 2800 (-CH_2-Valenz), 1716 (C=O Carbonsäure),1610, 1577 (C=C-Valenz), 1509 (Ringschwingung), 1427 (-CH_2-Deformation), 1289 (C-O-Valenz), 863 (1,4-disubstituierte Aromaten), 600 (-C-Hal-Valenz) cm^{-1}.

Massenspektrum (GC/MS):
m/z : 215 $[M]^+$, 136, 135, 134, 119, 118, 108, 107, 91, 90, 89, 77, 44

Versuch 15:

Darstellung von 4-Brommethyl-3-nitrobenzoesäure (**96**)



Es werden 58.5 ml (88.9 g, 1410 mmol) rauchende Salpetersäure vorgelegt und auf -10 °C abgekühlt. Anschließend werden 10.0 g (46.5 mmol) 4-Brommethylbenzoesäure **100** über 1 h portionsweise so zugegeben, dass eine Innentemperatur von 0 °C nicht überschritten wird. Nach vollständiger Zugabe wird 1 h bei 0 °C weitergerührt. Die Reaktionslösung wird danach vorsichtig mit etwa 50 ml Eiswasser versetzt, worauf das gewünschte Produkt ausfällt. Der Feststoff wird abfiltriert, mit kaltem Wasser gewaschen und im Vakuum über Kaliumhydroxid getrocknet. Sodann wird das getrocknete Rohprodukt durch Lösen in heißem Dichlormethan, anschließender Zugabe von Pentan bei 25 °C und abschließender Kühlung bei 4 °C umkristallisiert.

$C_8H_6BrNO_4$ (M = 260.04 g/mol)
Ausbeute: 9.87 g (0.038 mmol, 82 %) Lit.[62]: 89 %
Schmelzpunkt: 97 °C Lit.[77]: 93-94 °C

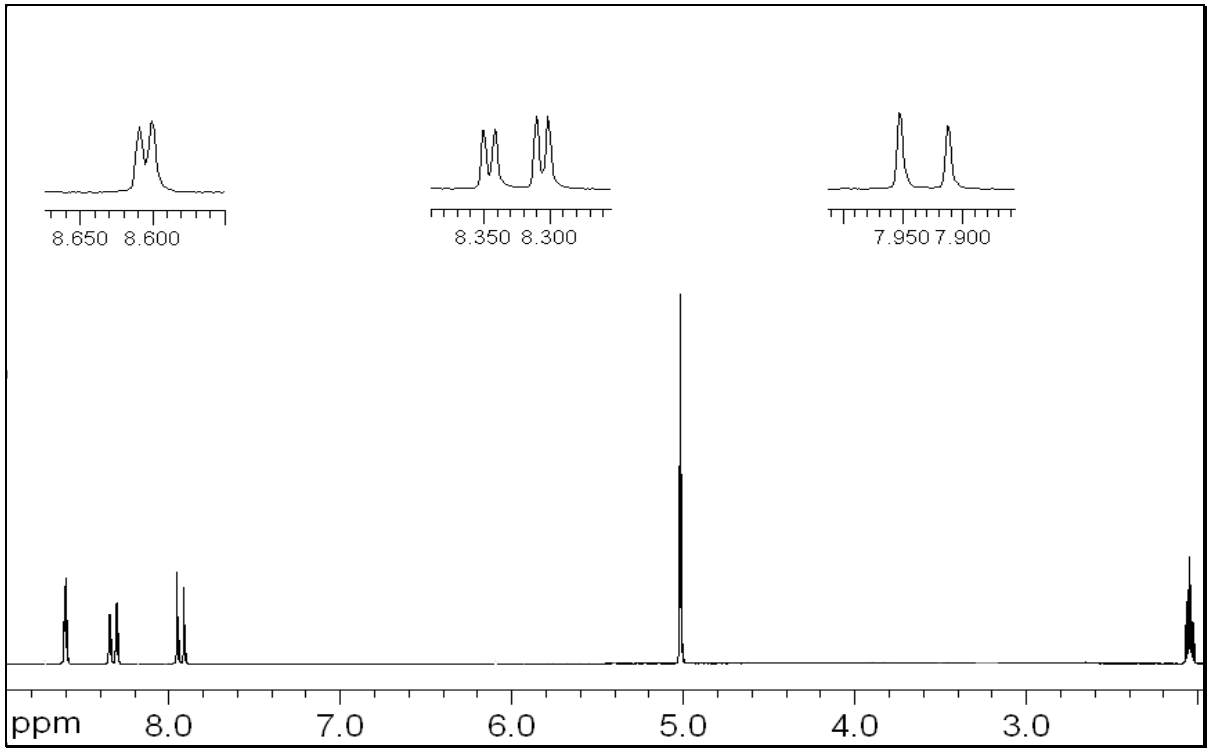


Abbildung 126: ^{1}H-NMR (200 MHz, Aceton-d_6) von **96**

^{1}H-NMR (200 MHz, Aceton-d_6): δ = 5.02 (s, 2H, 8-H), 7.93 (d, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.0 Hz, 4-H), 8.33 (dd, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.0 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 1.7 Hz, 3-H), 8.60 (d, 1H, $^{4}J_{HH}$ = 1.7 Hz, 7-H) ppm.

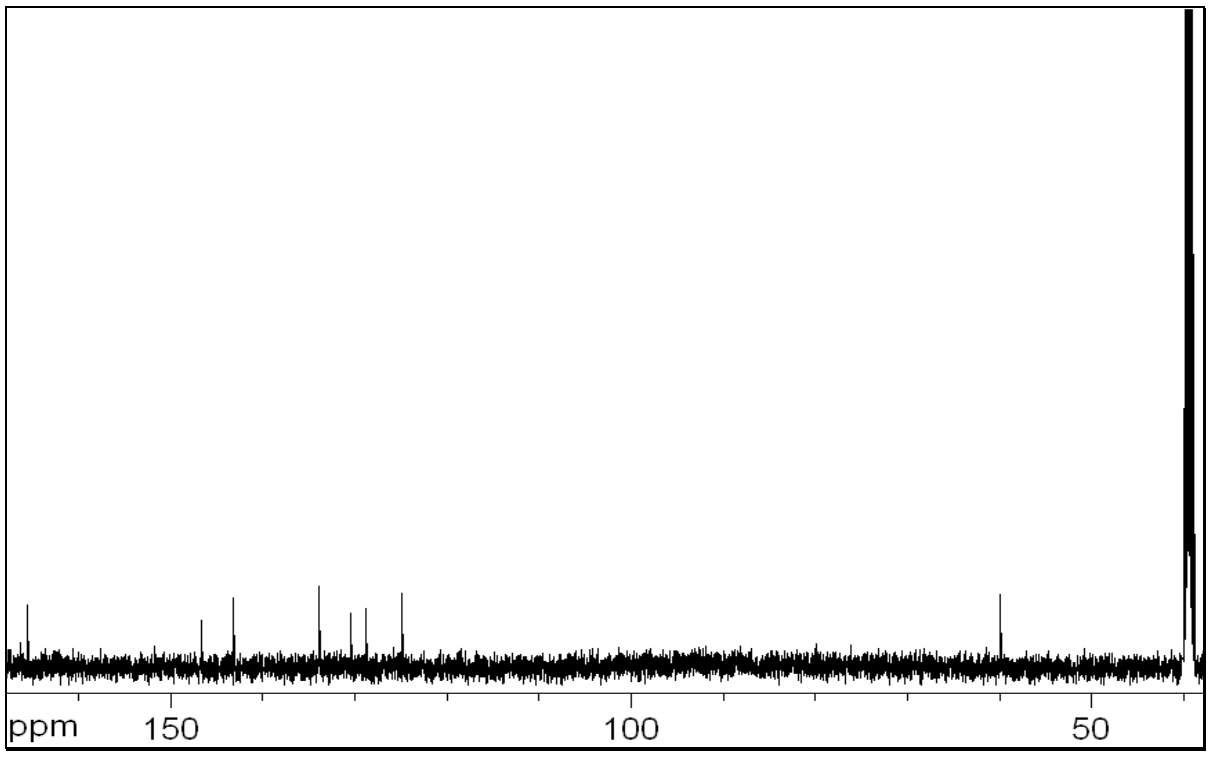


Abbildung 127: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6) von **96**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6): δ = 59.88 (8-C), 124.91 (7-C), 128.78 (4-C), 130.36 (2-C),133.87 (3-C),143.15 (5-C), 146.57 (6-C), 165.50 (1-C) ppm.

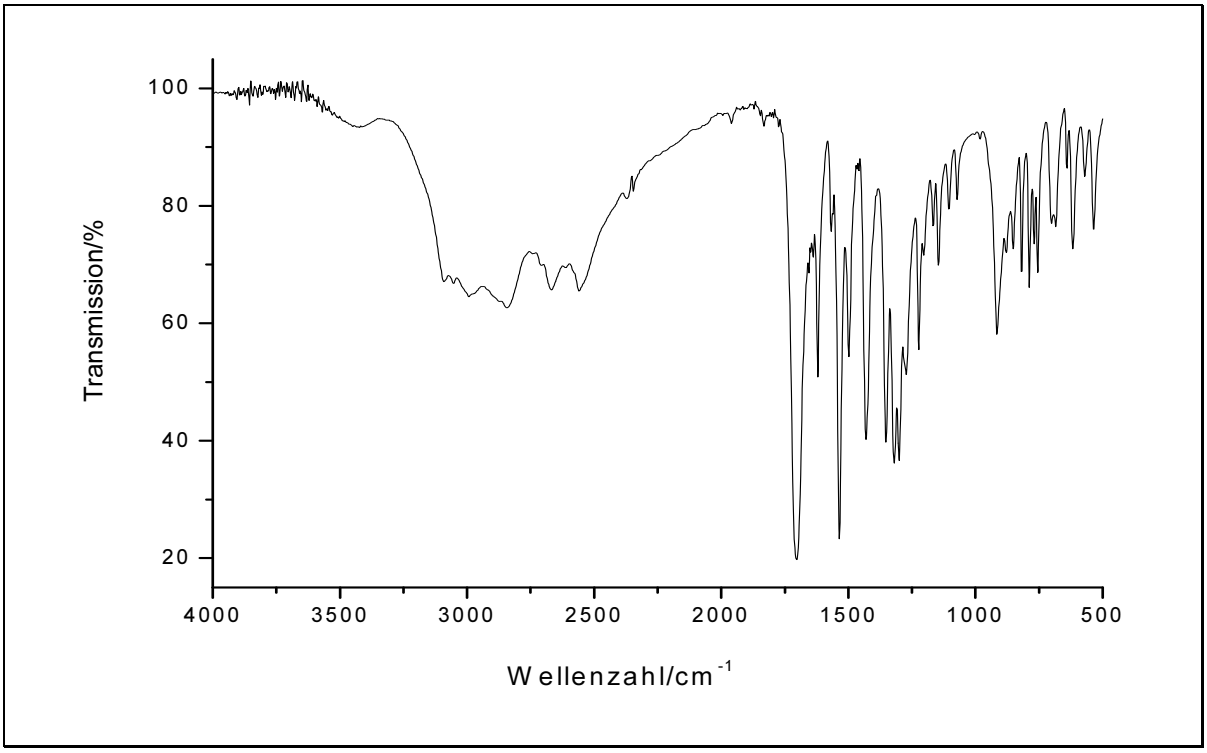


Abbildung 128: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **96**

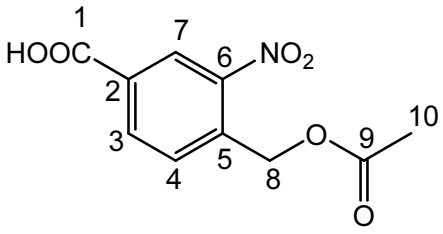
IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3100 – 2500 (O-H-Valenz), 2844 (C-H-Valenz), 1703 (C=O-Valenz), 1620 (Ringschwingung), 1536, 1353 (NO_2-Valenz), 1431 (-CH_2-Deformation), 1320 (C-O-Valenz), 617 (C-Hal-Valenz) cm^{-1}.

Massenspektrum (GC/MS):

m/z (%): 262 (3) [M(^{81}Br)+1]$^+$, 260 (3) [M(^{79}Br)+1]$^+$, 242 (5), 215 (2), 196 (5), 180 (100), 136 (44), 108 (65), 105 (80), 80 (51), 71 (2), 57 (2), 46 (4), 45 (12)

Versuch 16:

Darstellung von 4-(Acetoxymethyl)-3-nitrobenzoesäure (**112**)



Es werden 12.42 g (151.4 mmol) wasserfreies Natriumacetat bei 100 °C in 55 ml Eisessig gelöst. Nach anschließender Zugabe von 3.60 g (13.8 mmol) 4-Brommethyl-3-nitrobenzoesäure **96** wird die Reaktionsmischung 16 h bei 100 °C gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird die Reaktionsmischung mit 90 ml Wasser verdünnt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 50 ml 0.5 N wässriger Salzsäure aufgenommen und dreimal mit je 30 ml Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Das getrocknete Rohprodukt wird durch Lösen in heißem Essigsäureethylester, anschließender Zugabe von Petrolether bei 25 °C und abschließender Kühlung bei 4 °C umkristallisiert. Nach Umkristallisation wird das Produkt für einige Tage im Vakuum über Paraffinstreifen getrocknet.

$C_{10}H_9NO_6$ (M = 239.18 g/mol)

Ausbeute: 2.52 g (10.5 mmol, 76 %) Lit.[62]: 94 %

Schmelzpunkt: 125 °C Lit.[62]: 128-130 °C

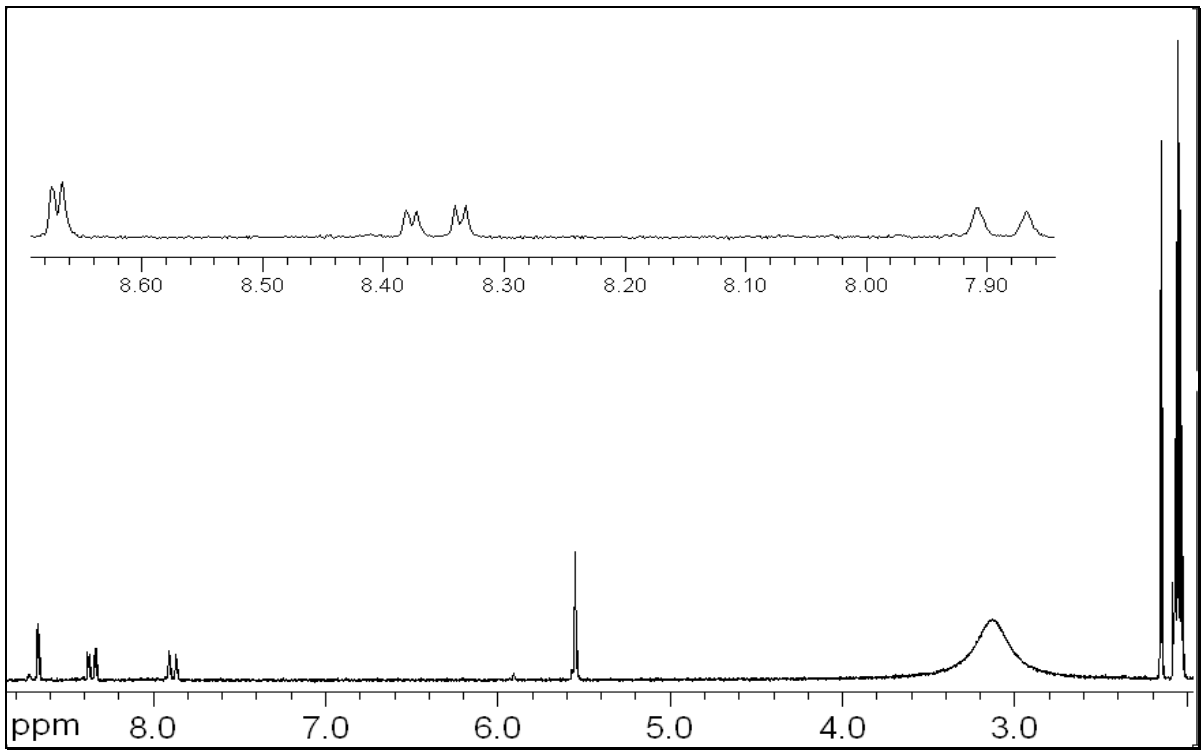


Abbildung 129: ^{1}H-NMR (200MHz, Aceton-d_6) von **112**

^{1}H-NMR (200 MHz, Aceton-d_6): δ = 2.15 (s, 3H, 10-H), 5.55 (s, 2H, 8-H), 7.89 (d, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.1 Hz, 4-H), 8.36 (dd, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.1 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 1.7 Hz, 3-H), 8.67 (d, 1H, $^{4}J_{HH}$ = 1.7 Hz, 7-H) ppm.

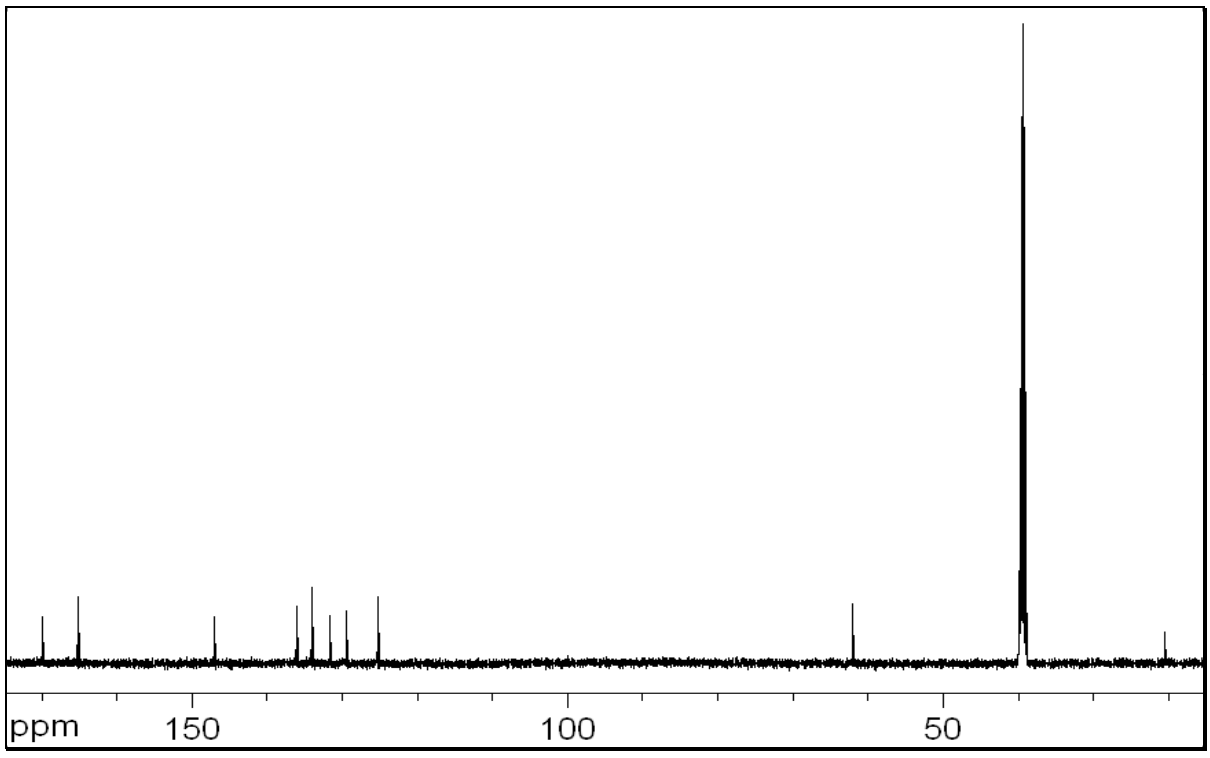


Abbildung 130: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6) von **112**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6): δ = 20.45 (10-C), 62.09 (8-C), 125.28 (7-C), 129.43 (4-C), 131.56 (2-C),134.07 (3-C),136.11 (5-C), 147.06 (6-C), 165.23 (1-C), 169.94 (9-C) ppm.

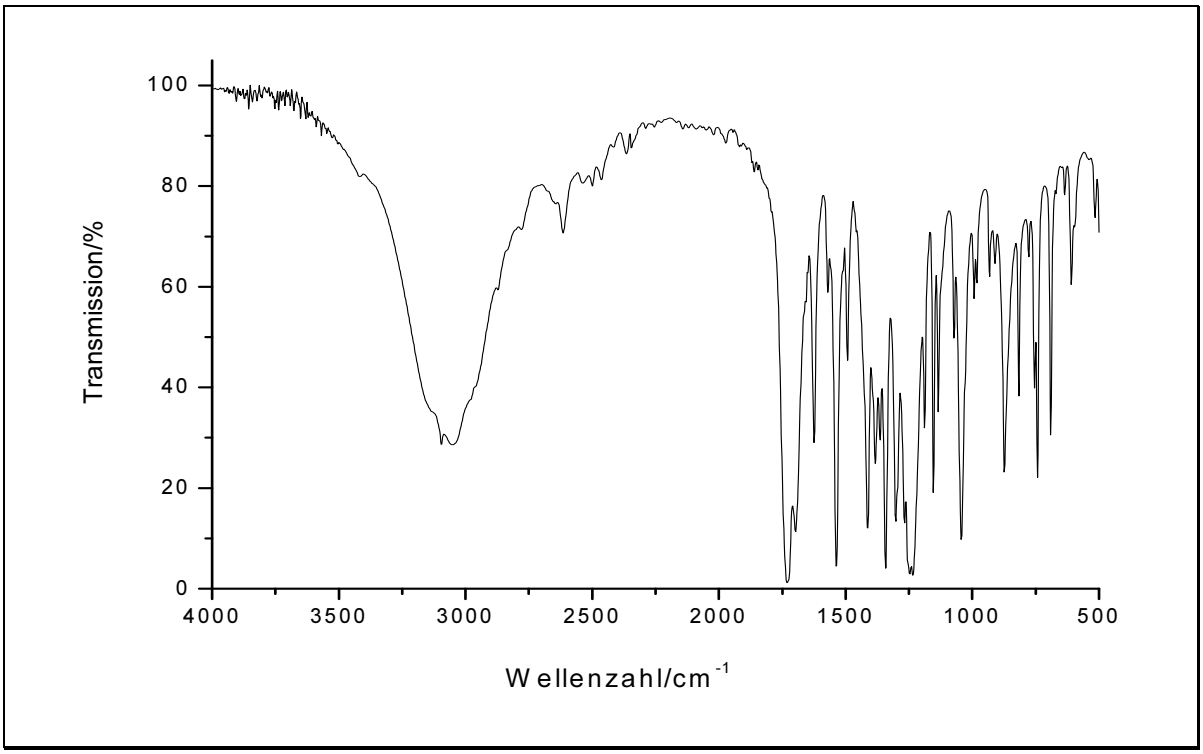


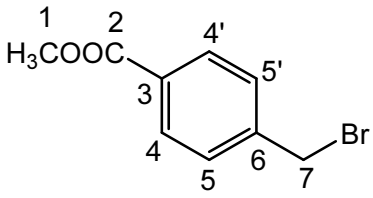
Abbildung 131: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **112**

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3095 (O-H-Valenz), 2615 (C-H-Valenz), 1731 (C=O-Valenz), 1624 (Ringschwingung), 1536, 1342 (NO_2-Valenz), 1431 (-CH_3, -CH_2-Deformation), 1342 (C-O-C-Va-lenz) cm^{-1}.

Massenspektrum (FAB+NBA):
m/z (%): 240 (3) $[M]^+$, 226 (2), 213 (1), 196 (2), 182 (1), 180 (7), 177 (3), 176 (19), 169 (3), 166 (4), 164 (2), 156 (4), 150 (5), 141 (2), 134 (3), 128 (3), 120 (14)

Versuch 17:

Darstellung von Methyl-4-(brommethyl)benzoat (**102**)



Es werden 76.02 g (506.2 mmol) 4-Methylbenzoesäuremethylester **101** in 95 ml Benzol gelöst. Bei Raumtemperatur und unter Bestrahlung mit einer 250 W Glühbirne werden 25 ml (50 mmol) Brom so zugetropft, dass die Lösung stets schwach rot-orange gefärbt bleibt. Nach vollständiger Zugabe des Broms wird für 3 h unter Bestrahlung weiter gerührt. Danach wird die Lösung mit wässriger Natriumdisulfitlösung so lange extrahiert bis die organische Phase entfärbt ist. Anschließend wird die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und das Benzol unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wird abschließend im Ölpumpenvakuum fraktioniert destilliert

$C_9H_9O_2Br$ (M = 229.07 g/mol)
Siedebereich: 80 °C bei $1.4*10^{-2}$ mbar
Ausbeute: 82.62 g (360.7 mmol, 71 %) Lit.[78]: 70-76 °C
Schmelzpunkt: 49 °C Lit.[78]: 52-55 °C

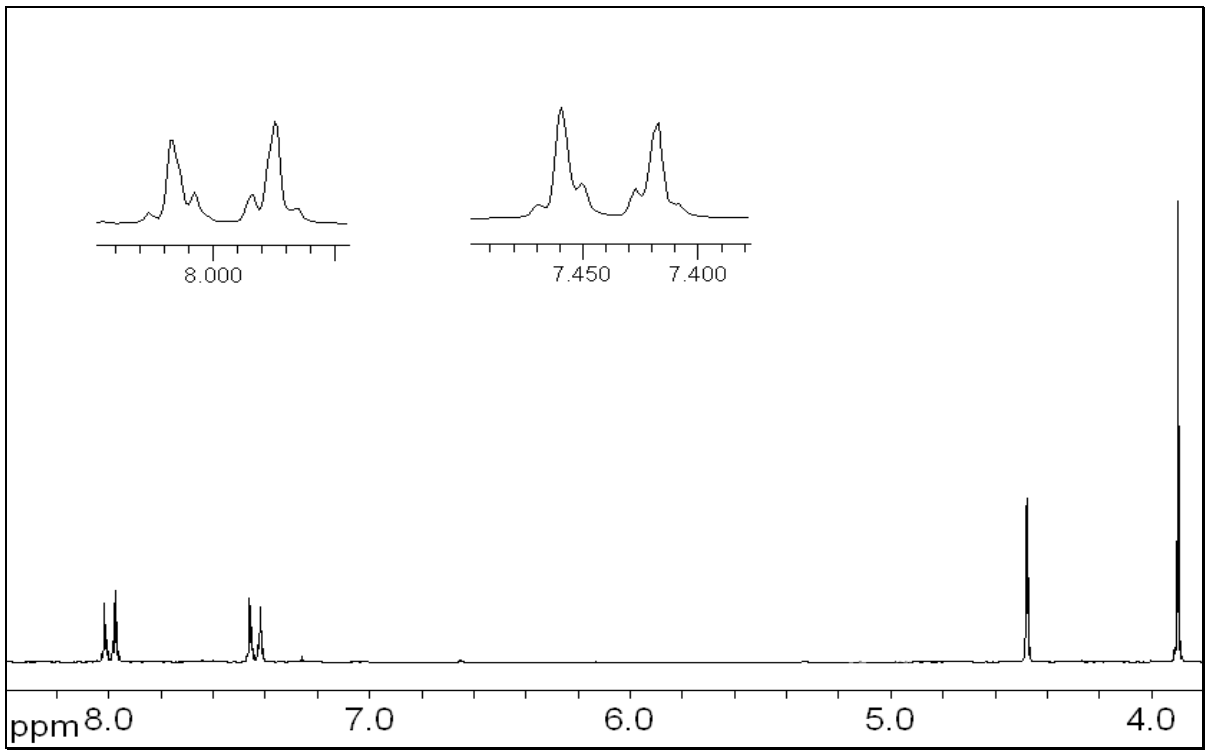


Abbildung 132: ^{1}H-NMR (200 MHz, Deuterochloroform) von **102**

^{1}H-NMR (200 MHz, Deuterochloroform): δ = 3.91 (s, 3H, 1-H), 4.49 (s, 2H, 7-H), 7.41 – 7.48 (m, B-Teil eines $[AB]_2$ – Systems, 2H, 5-H, 5'-H), 7.97 – 8.03 (m, A-Teil eines $[AB]_2$ – Systems, 2H, 4-H, 4'-H) ppm.

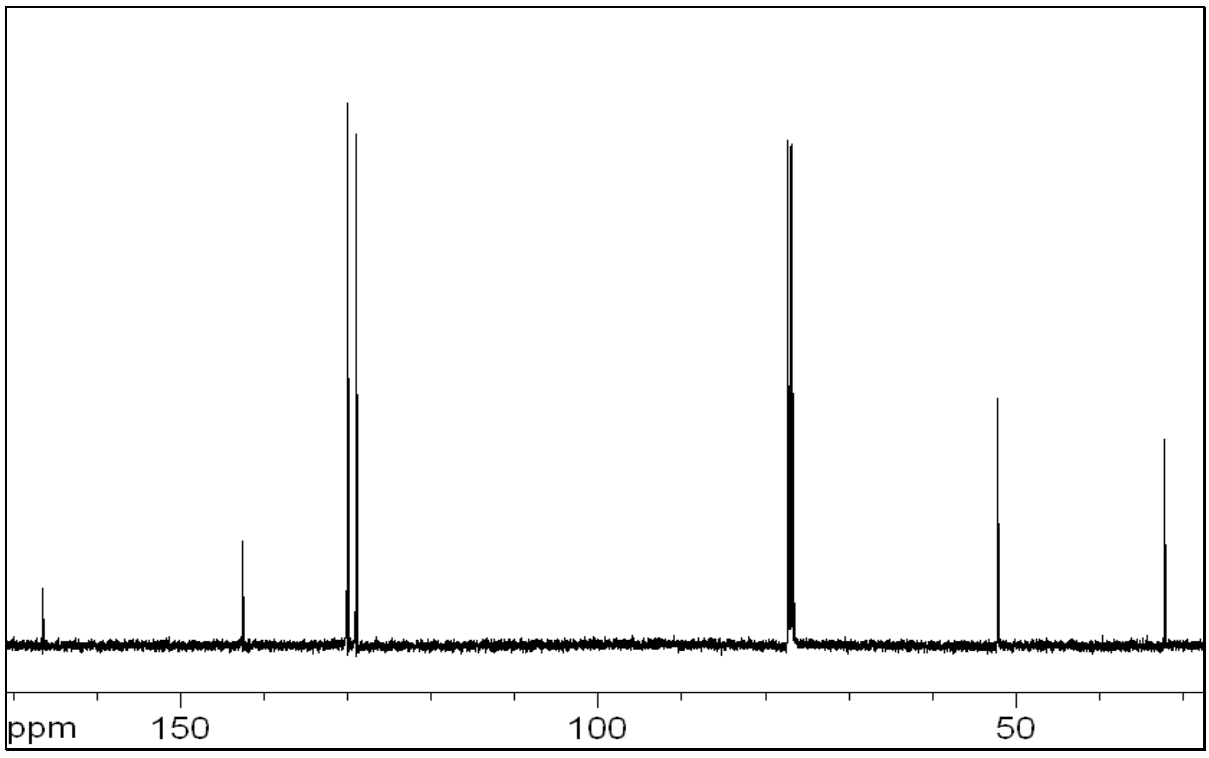


Abbildung 133: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6) von **102**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMDO-d_6): δ = 32.18 (7-C), 52.18 (1-C), 128.99 (5-C, 5'-C), 130.03 (3-C, 4-C, 4'-C), 142.52 (6-C), 166.48 (2-C) ppm.

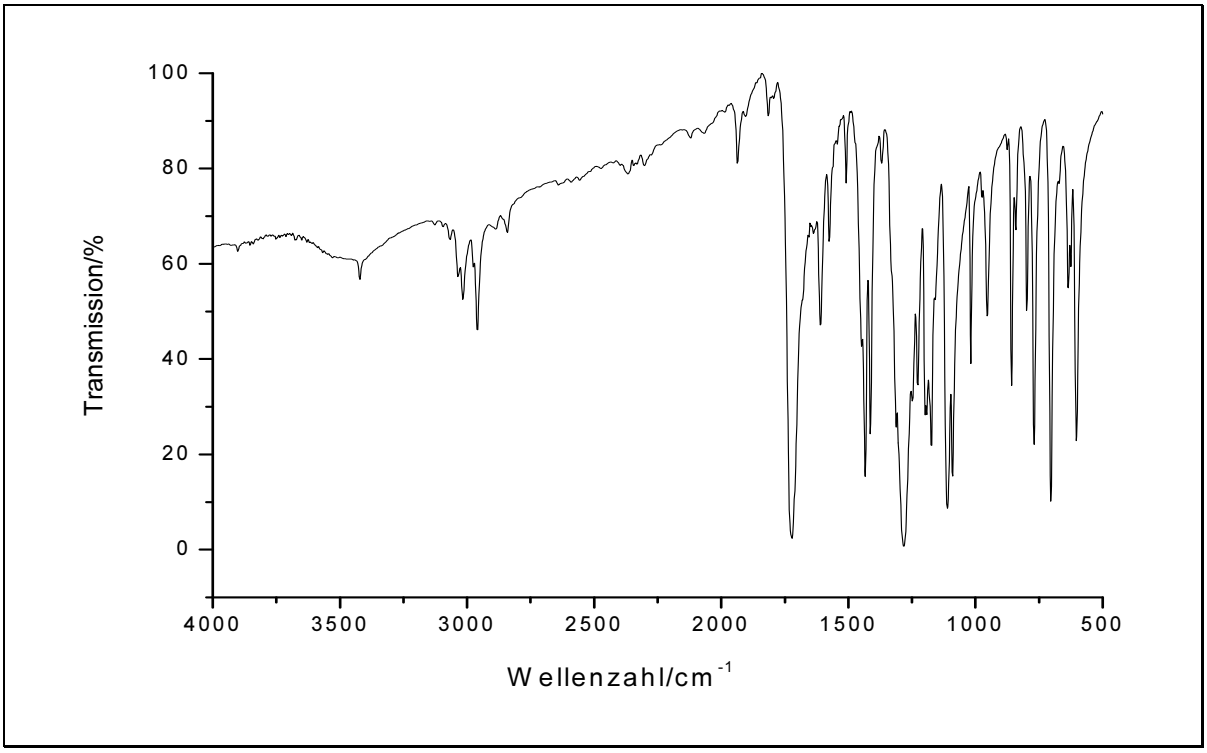


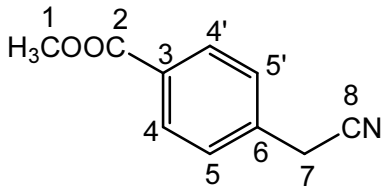
Abbildung 134: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **102**

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 2959 (C-H-Valenz), 1721 (C=O-Valenz), 1611 (Ringschwingung), 1434, 1414 (-CH_3, -CH_2-Deformation), 1282 (C-O-Valenz), 857 (1,4-disubstituierte Aromaten), 603 (-C-Hal-Valenz) cm^{-1}.

Massenspektrum (GC/MS):
m/z: 228 $[M]^+$, 199, 150, 149, 122, 121, 118, 91, 90, 89, 77, 45

Versuch 18:

Darstellung von Methyl-4-(cyanomethyl)benzoat (**103**)



Es werden 11.68 g (50.98 mmol) Methyl-4-(brommethyl)benzoat **102** in 100 ml Ethanol gelöst. Zu dieser Lösung werden bei Raumtemperatur 5.00 g (102 mmol) Natriumcyanid, gelöst in 30 ml Wasser, über 1 h langsam zugetropft. Anschließend wird die klare, leicht orange-gelb gefärbte Lösung 3 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird der Alkohol am Rotationsverdampfer von der dunkel-braunen Lösung entfernt. Der verbleibende Rückstand wird mit 50 ml Wasser versetzt und dreimal mit je 50 ml Diethylether gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch mit n-Hexan/ Essisäureethylester 3/1 gereinigt.

$C_{10}H_9NO_2$ (M = 175.18 g/mol)

Ausbeute: 0.51 g (2.9 mmol, 6 %) Lit.[78]: 70 %

Schmelzpunkt: 56 °C Lit.[78]: 56-59 °C

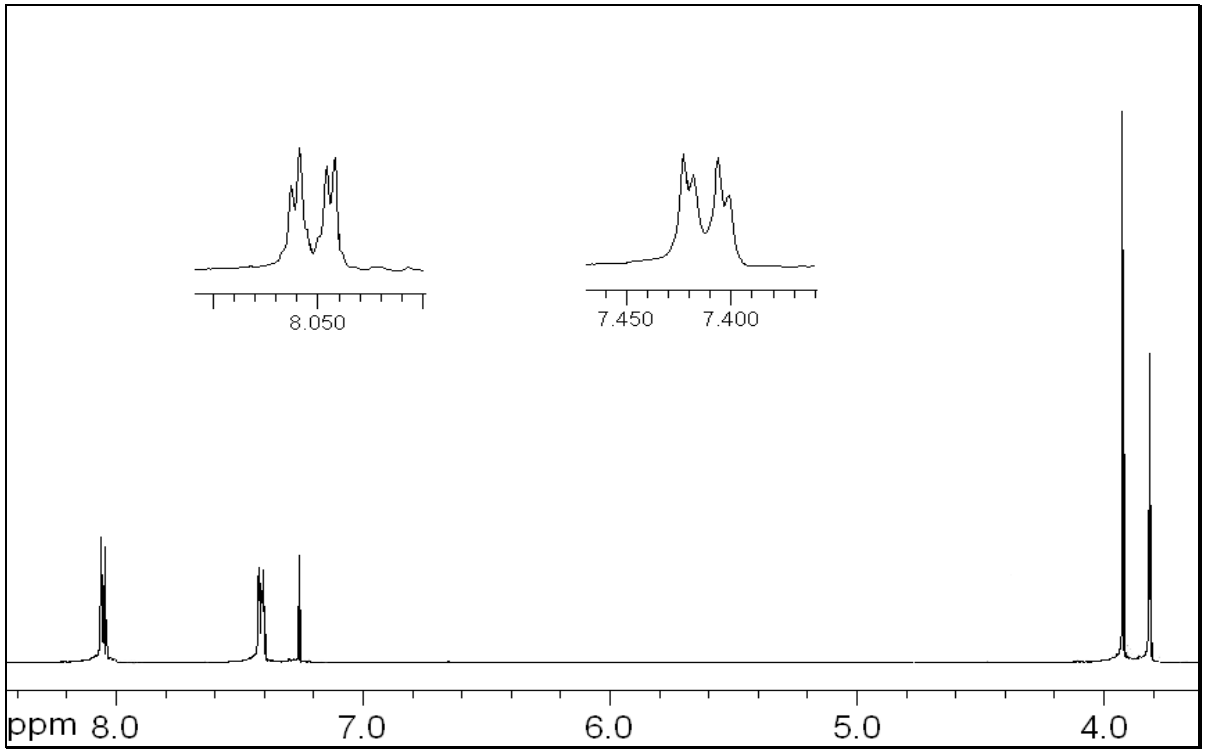


Abbildung 135: ^{1}H-NMR (500 MHz, Deuterochloroform**)** von **103**

^{1}H-NMR (500 MHz, Deuterochloroform): δ = 3.82 (s, 3H, 1-H), 3.92 (s, 2H, 7-H), 7.40 – 7.42 (m, B-Teil eines $[AB]_2$ – Systems, 2H, 5-H, 5'-H), 8.04 – 8.06 (m, A-Teil eines $[AB]_2$ – Systems, 2H, 4-H, 4'-H) ppm.

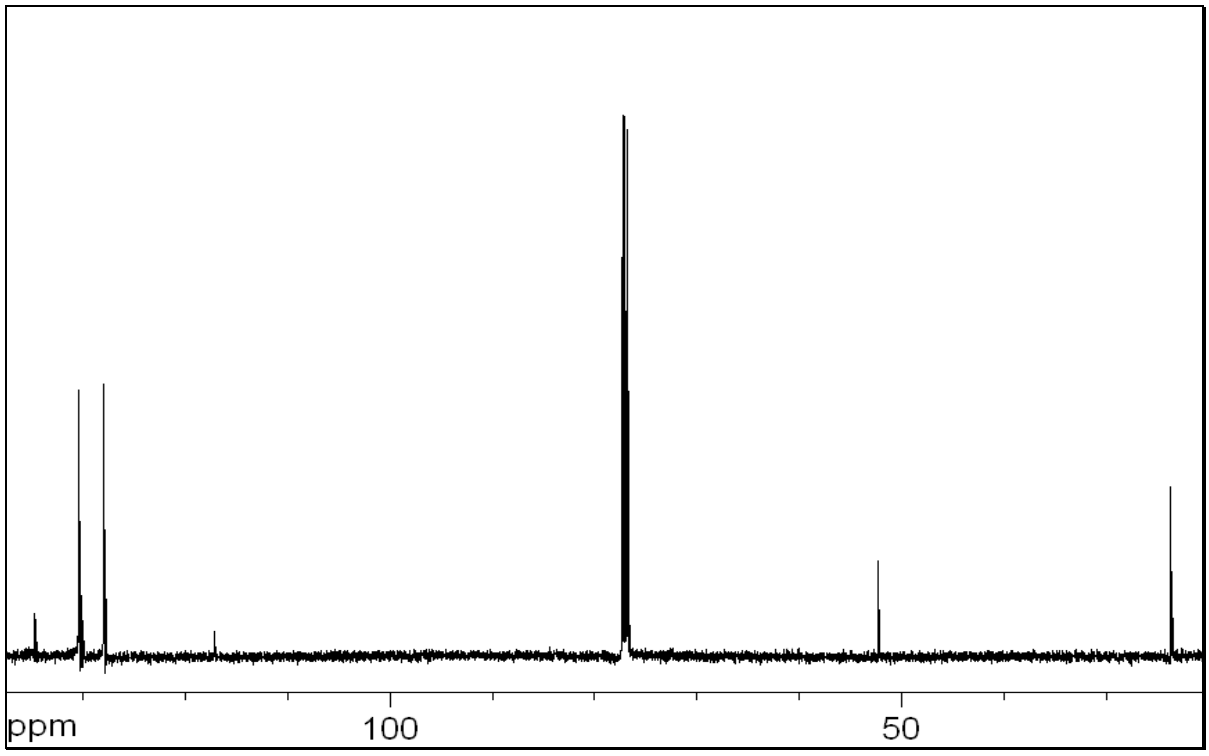


Abbildung 136: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform) von **103**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform): δ = 23.64 (7-C), 52.26 (1-C), 117.11 (8-C), 127.95 (5-C, 5'-C), 130.37 (3-C, 4-C, 4'-C), 134.64 (6-C), 165.64 (2-C) ppm.

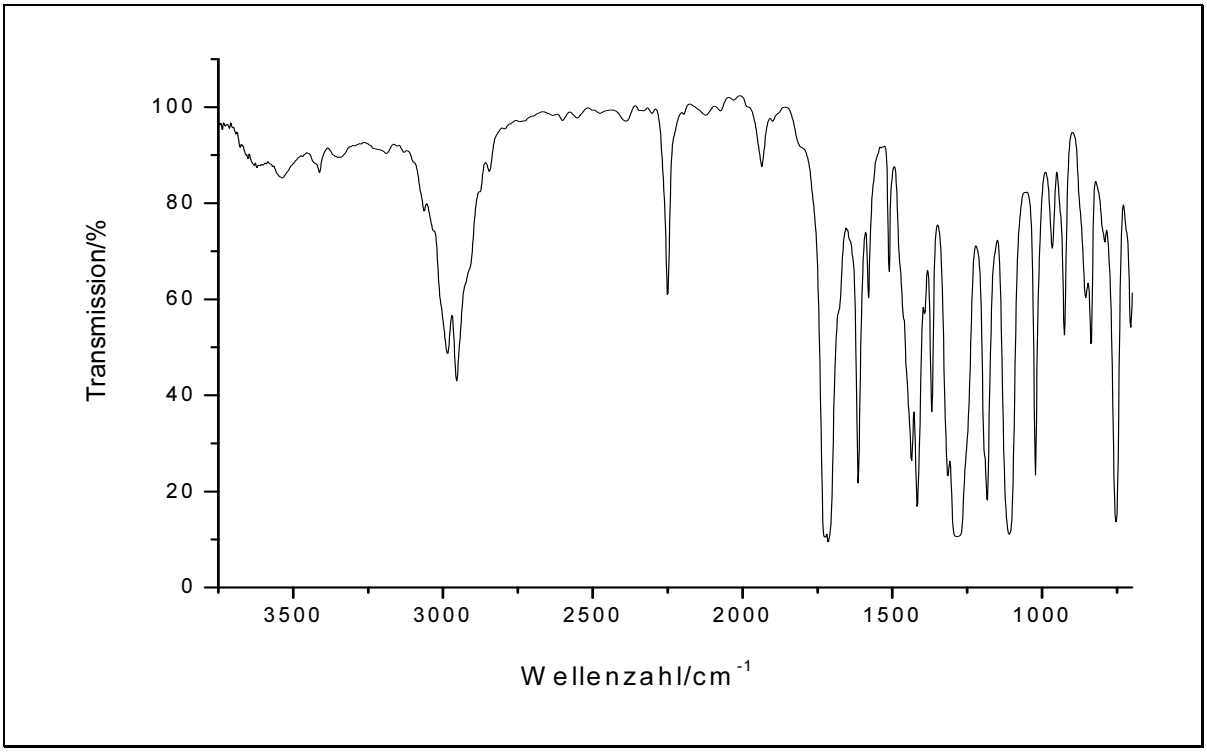


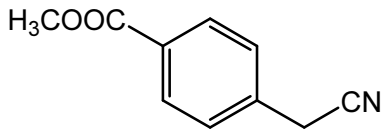
Abbildung 137: IR-Spektrum (Film) von **103**

IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2985 (=C-H-Valenz), 2954 (C-H-Valenz), 2250 (CN-Valenz), 1714 (C=OValenz),1614 (Ringschwingung), 1417 (-CH_3, -CH_2-Deformation), 1285, 1183 (C-O-C-Valenz) cm^{-1}.

Massenspektrum (GC/MS):
m/z: 175 $[M]^+$, 144, 116, 90, 76, 64, 39

Versuch 19:

Darstellung von Methyl-4-(cyanomethyl)benzoat (**103**)

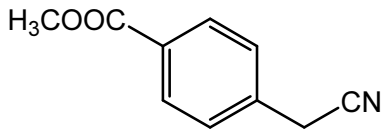


11.68 g (50.98 mmol) Methyl-4-(brommethyl)benzoat **102** werden in 100 ml Ethanol gelöst. Zu dieser Lösung werden bei Raumtemperatur 5.00 g (102 mmol) Natriumcyanid, gelöst in 30 ml Wasser, über 1 h langsam zugetropft. Anschließend wird die klare, leicht orange-gelb gefärbte Lösung 3 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird die dunkel-braun gefärbte Lösung direkt ohne weitere Aufreinigung in einer weiteren Stufe umgesetzt.

$C_{10}H_9NO_2$ (M = 175.18 g/mol)

Versuch 20:

Darstellung von Methyl-4-(cyanomethyl)benzoat (**103**)

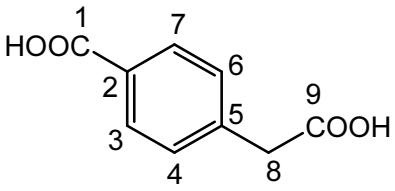


24.36 g (106.3 mmol) Methyl-4-(brommethyl)benzoat **102** werden in 160 ml Ethanol gelöst. Zu dieser Lösung werden bei Raumtemperatur 17.70 g (271.8 mmol) Kaliumcyanid, gelöst in 40 ml Wasser, über 1 h langsam zugetropft. Anschließend wird die weiße Suspension 3 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird die dunkel-braun gefärbte Lösung direkt ohne weitere Aufreinigung in einer weiteren Stufe umgesetzt.

$C_{10}H_9NO_2$ (M = 175.18 g/mol)

Versuch 21:

Darstellung von (4-Carboxyphenyl)essigsäure (**104**)



Die dunkel-braun gefärbte Lösung aus Versuch 5 wird langsam mit 32.16 g (800.0 mmol) Natriumhydroxid, gelöst in 100 ml Wasser, versetzt und 2 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur werden unter Eiskühlung zur Reaktionsmischung vorsichtig 96 ml konz. Salzsäure zugegeben, wobei ein gelb-weißer Feststoff ausfällt. Zur Vervollständigung der Fällung wird die Lösung solange mit konz. Salzsäure versetzt, bis sie einen pH-Wert von 1 besitzt. Sodann wird der Feststoff abfiltriert und aus Eisessig umkristallisiert. Jedoch ist darauf zu achten, dass das Produkt nicht über einen längeren Zeitraum der hohen Siedetemperatur des Eisessigs (116-118 °C) ausgesetzt wird, da es ansonsten zu einer Decarboxylierung der Säuregruppen kommen kann. Abschließend wird das erhaltene weiße Produkt für einige Tage im Vakuum über Kaliumhydroxid getrocknet.

$C_9H_8O_4$ (M = 180.16 g/mol)
Ausbeute: 4.33 g (24.0 mmol, 23 %)
Schmelzpunkt: 238 °C Lit.[78]: 239-241 °C

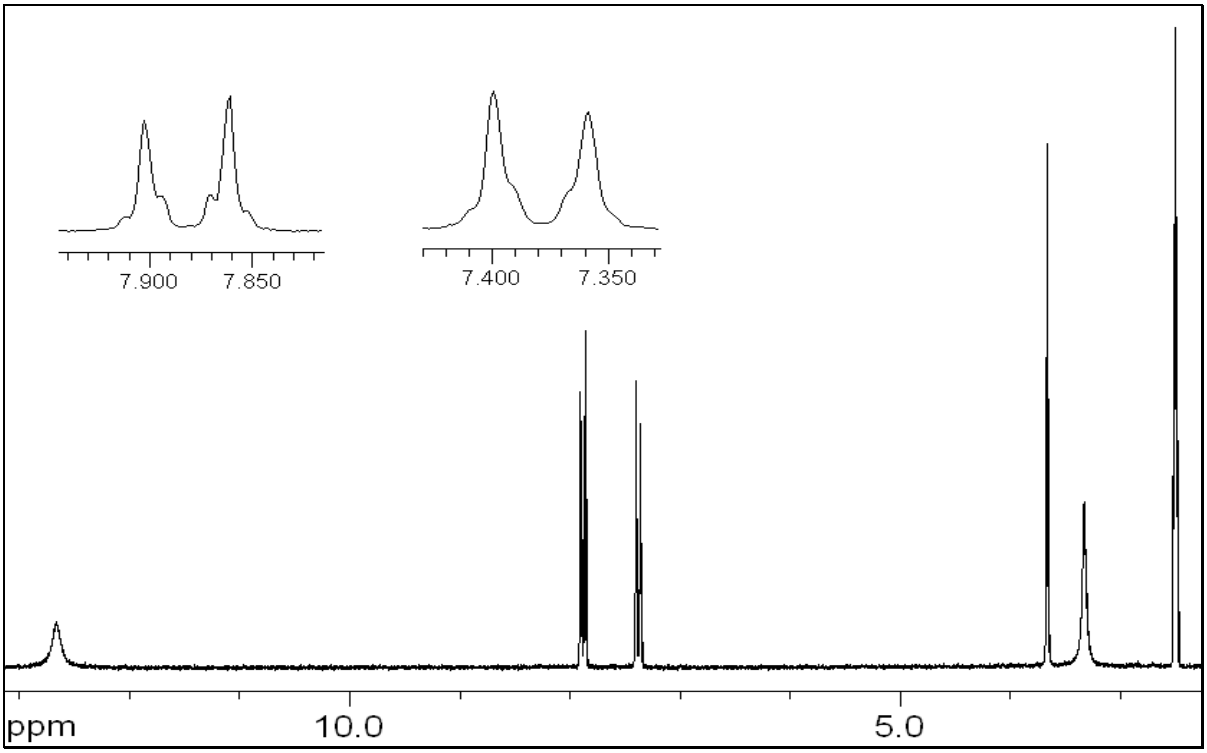


Abbildung 138: ^{1}H-NMR (200 MHz, DMSO-d_6) von **104**

^{1}H-NMR (200 MHz, DMSO-d_6): δ = 3.67 (s, 2H, 8-H), 7.36 – 7.40 (m, B-Teil eines $[AB]_2$ – Systems, 2H, 4-H, 6-H), 7.85 – 7.91 (m, A-Teil eines $[AB]_2$ – Systems, 2H, 3-H, 7-H), 12.66 (s, 2H, -COO<u>H</u>) ppm.

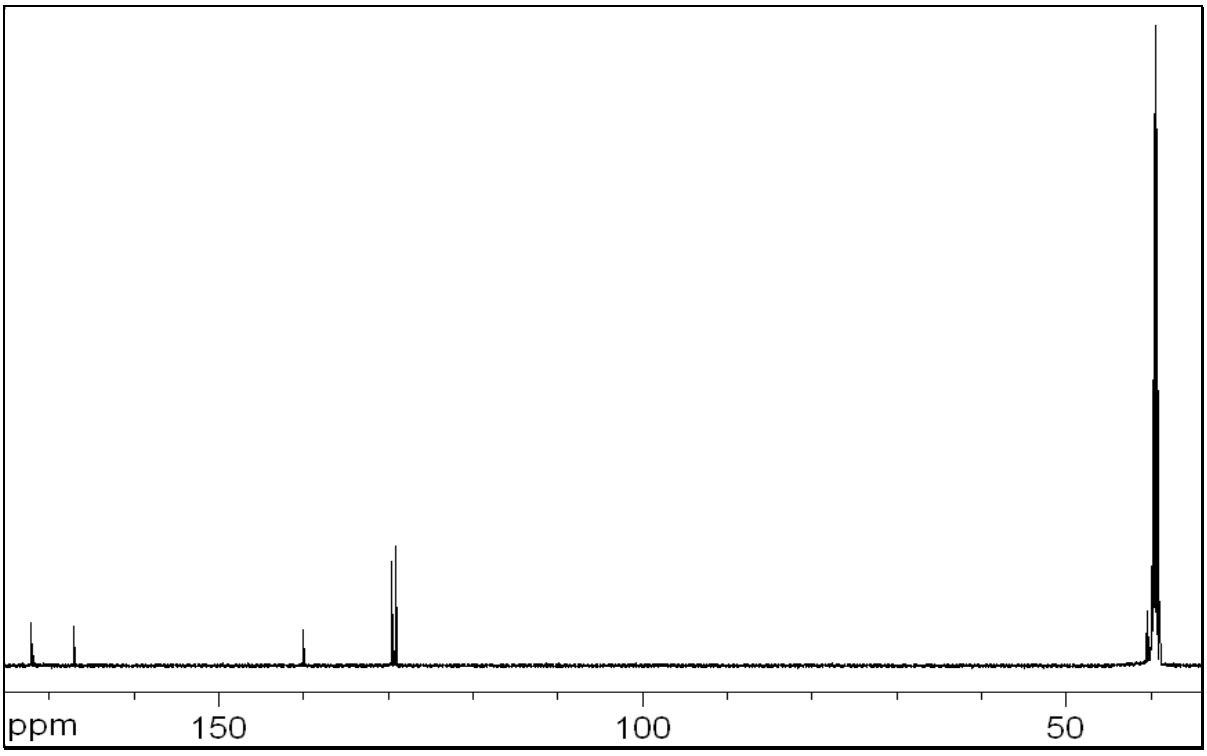


Abbildung 139: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6) von **104**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6): δ = 40.50 (8-C), 129.09 (5-C), 129.17 (4-C, 6-C), 129.59 (3-C, 7-C),140.90 (2-C), 167.11 (1-C), 172.07 (9-C) ppm.

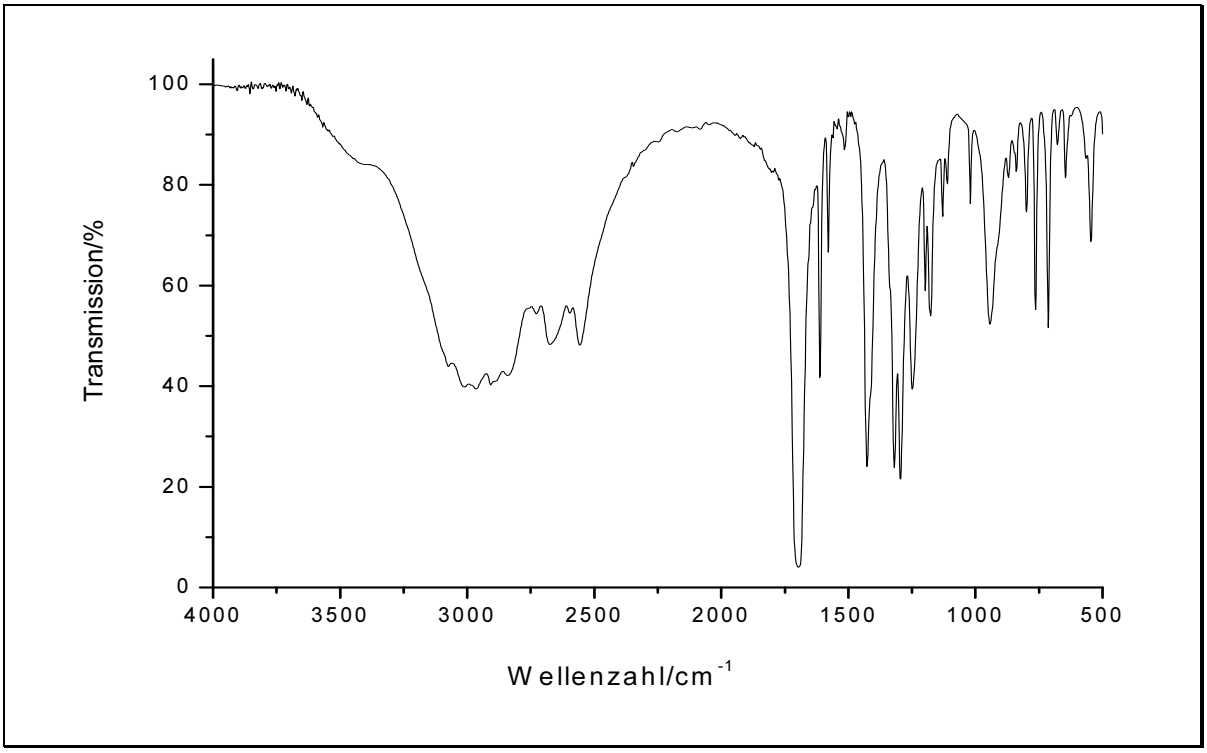


Abbildung 140: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **104**

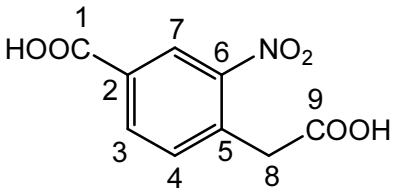
IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3300 – 2750 (O-H-Valenz), 2966 (C-H-Valenz), 1697 (C=O-Valenz), 1612 (Ringschwingung), 1427 (-CH_2-Deformation), 1295 (C-O-Valenz), 764 (=C-H-Deformation) cm^{-1}.

Massenspektrum (EI, Pt.: 150 °C):

m/z : 180 $[M]^+$, 163, 162, 149, 149, 136, 135, 121, 119, 118, 108, 105, 91, 89, 83, 77, 71, 45

Versuch 22:

Darstellung von (4-Carboxy-2-nitrophenyl)essigsäure (**105**)



Es werden 2.73 ml (4.15 g, 65.9 mmol) rauchende Salpetersäure und 9.00 ml (16.5 g, 168 mmol) konzentrierte Schwefelsäure vorgelegt und auf eine Temperatur von -10 °C abgekühlt. Anschließend werden innerhalb von 2.5 h 5.46 g (30.3 mmol) (4-Carboxyphenyl)benzoesäure **104** portionsweise so zugegeben, dass eine Innentemperatur von 0 °C nicht überschritten wird. Nach vollständiger Zugabe wird die Reaktionsmischung für 1 h bei 0 °C nachgerührt, bevor sie mit 40 ml Eiswasser übergossen und für 20 h bei Raumtemperatur weitergerührt wird. Es fällt ein gelber Niederschlag aus, welcher abfiltriert und mit Wasser gewaschen wird. Zusätzlich wird das Filtrat dreimal mit je 30 ml Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wird anschließend aus Eisessig umkristallisiert. Jedoch ist darauf zu achten, dass das Produkt nicht über einen längeren Zeitraum der hohen Siedetemperatur des Eisessigs (116-118 °C) ausgesetzt wird, da es ansonsten zu einer Decarboxylierung der Säuregruppen kommen kann. Das bei der Umkristallisation erhaltene Produkt und der bereits saubere Filtrationsrückstand werden für einige Tage im Vakuum über Kaliumhydroxid getrocknet.

$C_9H_7NO_6$ (M = 225.15 g/mol)

Ausbeute: 5.00 g (22.2 mmol, 73 %) Lit.[79]: 73 %

Schmelzpunkt: 224 °C Lit.[25]: 220 °C

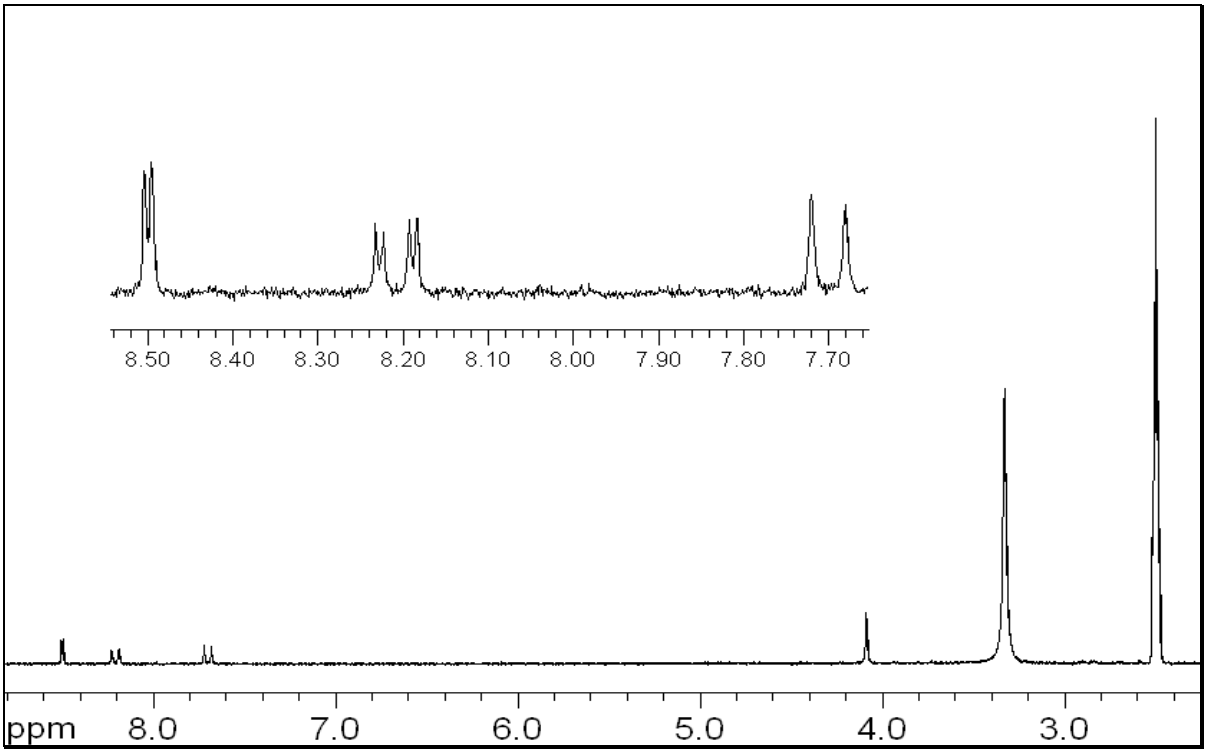


Abbildung 141: ^{1}H-NMR (200 MHz, DMSO-d_6) von **105**

^{1}H-NMR (200 MHz, DMSO-d_6): δ = 4.09 (s, 2H, 8-H), 7.70 (d, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.0 Hz, 4-H), 8.21 (dd, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 7.9 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 1.8 Hz, 3-H), 8.50 (d, 1H, $^{4}J_{HH}$ = 1.7 Hz, 7-H) ppm

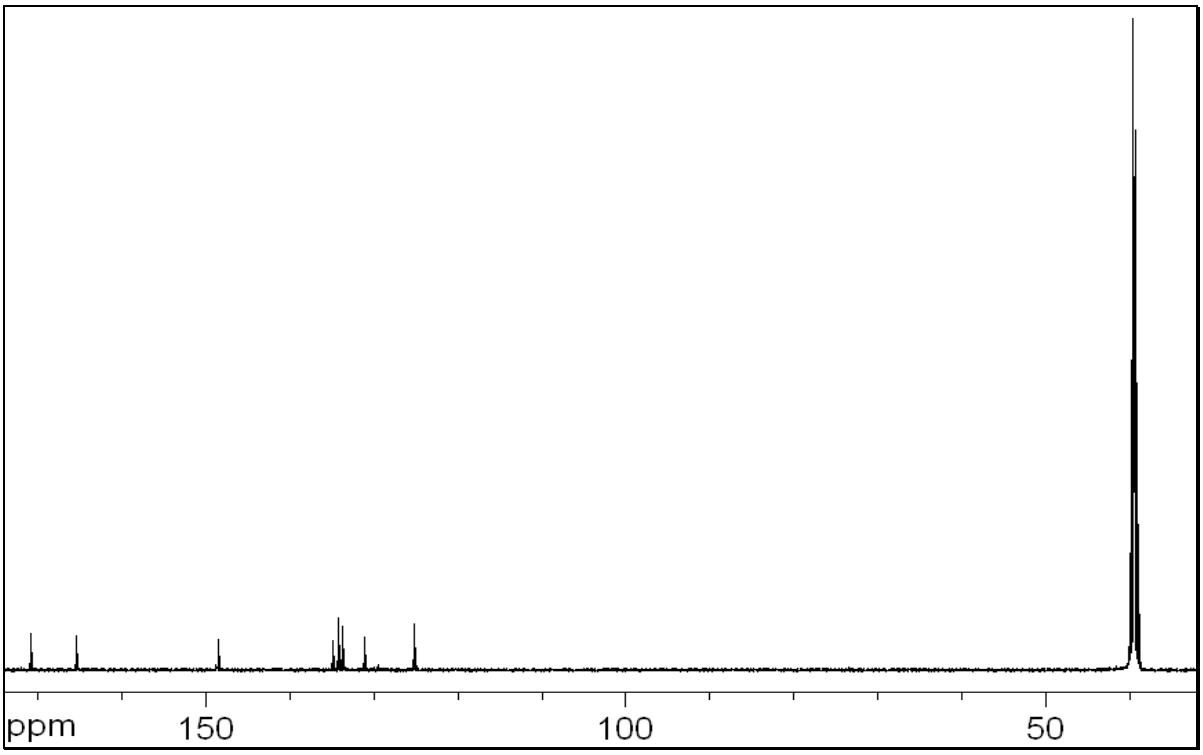


Abbildung 142: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6) von **105**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6): δ = 38.91 (8-C), 125.18 (7-C), 131.18 (2-C), 133.72 (3-C),134.24 (4-C),134.90 (5-C), 148.54 (6-C), 165.38 (1-C), 170.80 (9-C) ppm.

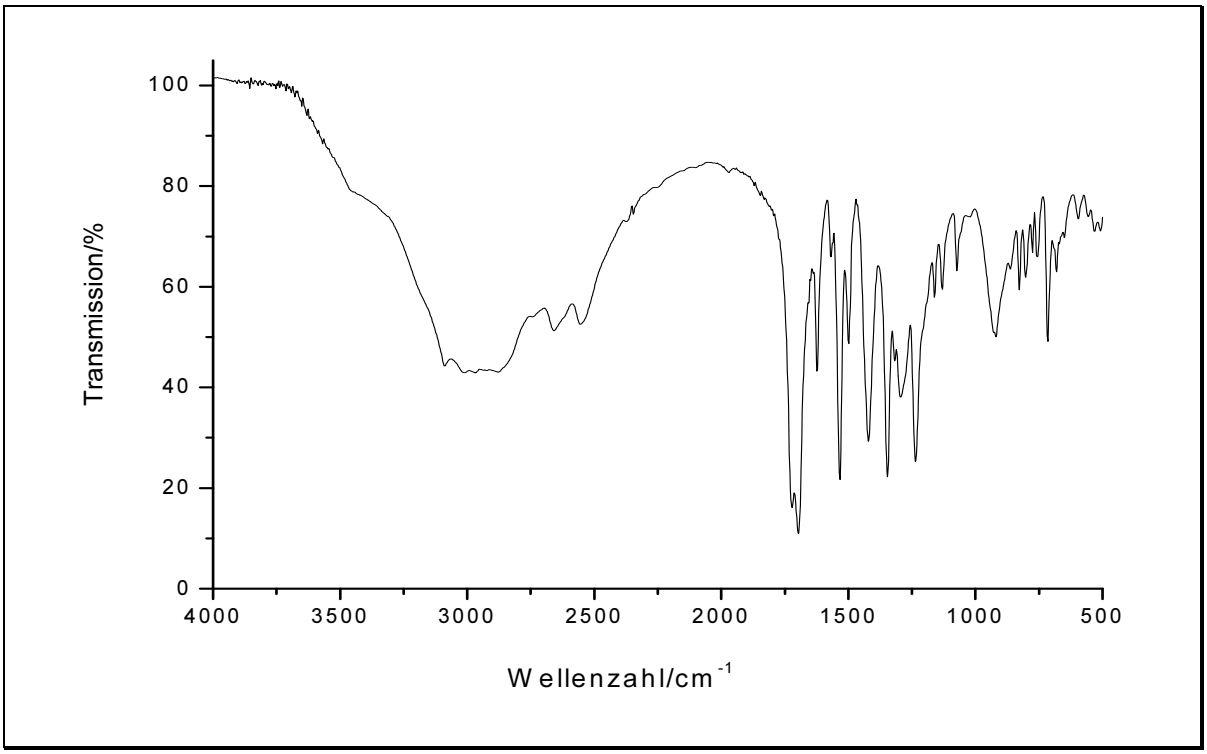


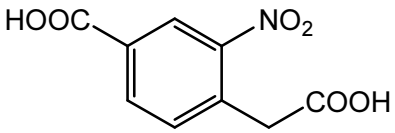
Abbildung 143: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **105**

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3100 – 2400 (O-H-Valenz), 2968 (C-H-Valenz), 1697 (C=O-Valenz), 1623 (Ringschwingung), 1533, 1346 (NO_2-Valenz), 1421 (-CH_2-Deformation), 1295 (C-O-Valenz) cm^{-1}.

Massenspektrum (EI,Pt.:190 °C):
m/z (%): 225 (12) $[M]^+$, 209 (5), 181 (9), 180 (16), 179 (66), 166 (8), 165 (15), 164 (100), 163 (11), 161 (5), 149 (16), 136 (24), 135 (9), 134 (8), 133 (7), 121 (7), 120 (9), 119 (9), 45 (11), 44 (17), 43 (8)

Versuch 23:

Darstellung von (4-Carboxy-2-nitrophenyl)essigsäure (**105**)



4.98 g (27.6 mmol) (4-Carboxyphenyl)-benzoesäure **104** werden in 10.7 ml (19.6 g, 200 mmol) konzentrierter Schwefelsäure gelöst und auf -10 °C abgekühlt. Dann werden 2.8 ml (4.3 g, 67 mmol) rauchende Salpetersäure so zugetropft, dass die Temperatur der Lösung 0 °C nicht übersteigt. Nach beendeter Zugabe wird die Reaktionsmischung für 2 h bei 0 °C gerührt und danach mit 35 ml Eiswasser hydrolysiert. Nach Rühren über Nacht und Erwärmen auf Raumtemperatur wird der ausgefallene Niederschlag abfiltriert und das Filtrat dreimal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wird anschließend aus Eisessig umkristallisiert und das erhaltene Produkt für einige Tage im Vakuum über Kaliumhydroxid gelagert.

$C_9H_7NO_6$ (M = 225.15 g/mol)

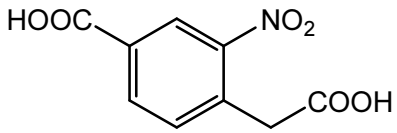
Ausbeute: 2.13 g (9.46 mmol, 34 %) Lit.[25]: 63 %

Schmelzpunkt: 222 °C Lit.[25]: 220 °C

Die spektroskopischen Daten stimmen mit jenen aus Versuch 22 überein.

Versuch 24:

Darstellung von (4-Carboxy-2-nitrophenyl)essigsäure (**105**)



Unter Eis/Kochsalzkühlung werden zu 69.94 ml einer 7:5 – Mischung von 98%iger Schwefelsäure (40.79 ml, 74.87 g, 763.4 mmol) und rauchender Salpetersäure (29.15 ml, 44.32 g, 703.2 mmol) 10.48 g (58.16 mmol) (4-Carboxyphenyl)-benzoesäure **104** so zugegeben, dass eine Innentemperatur von 0 °C nicht überschritten wird. Nach vollständiger Zugabe wird die Reaktionsmischung für 3 h bei 0 °C weitergerührt. Anschließend wird die Mischung auf 300 g Eiswasser gegossen, der ausfallende Feststoff abgesaugt und mit kaltem Wasser gewaschen. Zusätzlich wird das Filtrat dreimal mit Essigsäureethylester extrahiert, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel anschließend entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird aus Eisessig umkristallisiert. Abschließend wird das Produkt, ebenso wie der zuvor erhaltene Niederschlag im Vakuum über Kaliumhydroxid getrocknet.

$C_9H_7NO_6$ (M = 225.15 g/mol)

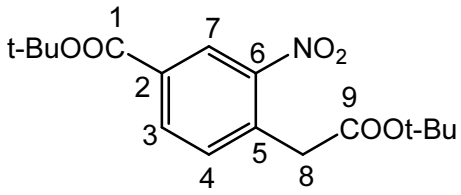
Ausbeute: 6.41 g (28.5 mmol, 49 %) Lit.[63]: 70 %

Schmelzpunkt: 224 °C Lit.[25]: 220 °C

Die spektroskopischen Daten stimmen mit jenen aus Versuch 22 überein.

Versuch 25:

Darstellung von *tert*-Butyl-2-(4-*tert*-butoxycarbonyl-2-nitrophenyl)-acetat (**106**)



In einem Glasautoklaven werden 10.3 g (45.7 mmol) (4-Carboxy-2-nitrophenyl)essigsäure **105** in 150 ml Chloroform suspendiert und unter Stickstoff mit 1.5 ml (2.7 g, 28.1 mmol) konzentrierter Schwefelsäure versetzt. Anschließend wird die Suspension mit Aceton/Trockeneis auf -78 °C abgekühlt. So dann werden 18 ml Isobuten eingeleitet. Die Mischung wird langsam auf Raumtemperatur erwärmt und 2 d bei dieser gerührt. Danach wird die hell-gelbe Lösung in 200 ml gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung gegeben und anschließend einmal mit Wasser gewaschen. Die gelbe organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Eine Aufreinigung des Rohprodukts ist nicht erforderlich. Es wird als rot-braunes Öl erhalten.

$C_{17}H_{23}NO_6$ (M = 337.37 g/mol)

Ausbeute: 11.85 g (35.12 mmol, 77 %) Lit.[25]: 26 %

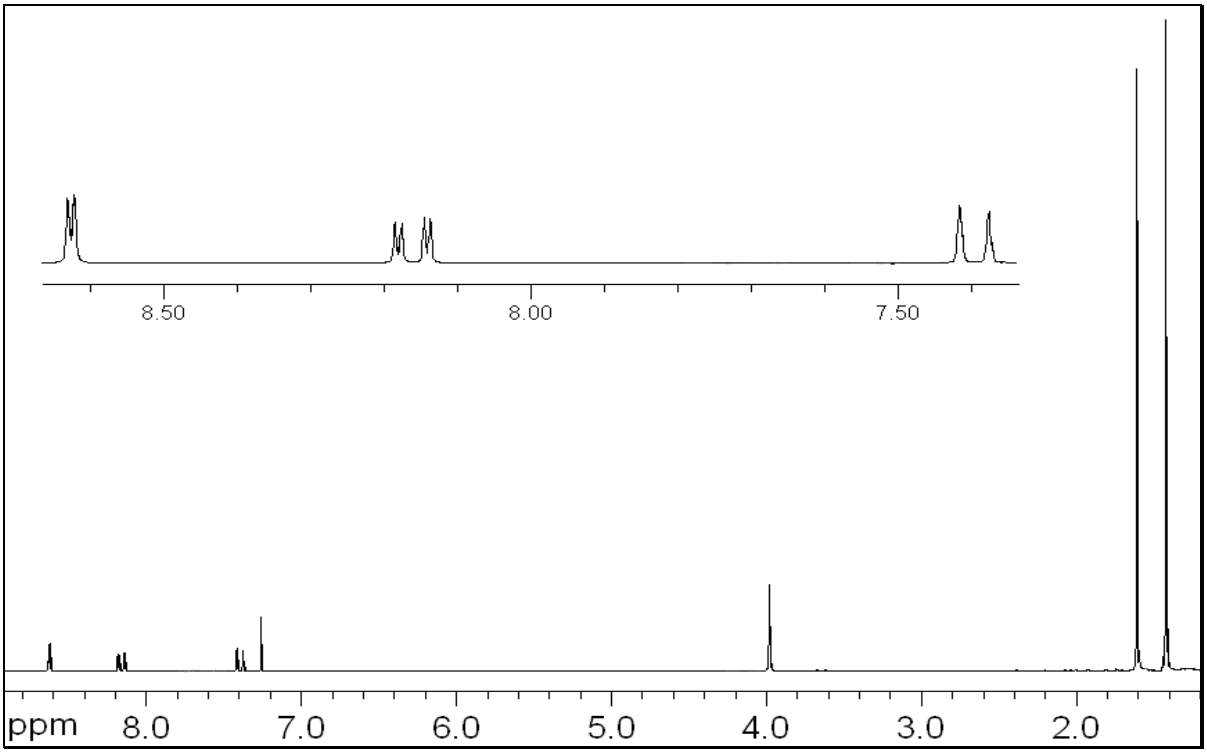


Abbildung 144: ^{1}H-NMR (200 MHz, Deuterochloroform) von **106**

^{1}H-NMR (200 MHz, Deuterochloroform): δ =1.42 (s, 9H,*t*-Bu), 1.61 (s, 9H, *t*-Bu), 3.98 (s, 2H, 8-H), 7.40 (d, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 7.9 Hz, 4-H), 8.16 (dd, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 7.9 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 1.8 Hz, 3-H), 8.63 (d, 1H, $^{4}J_{HH}$ = 1.7 Hz, 7-H) ppm.

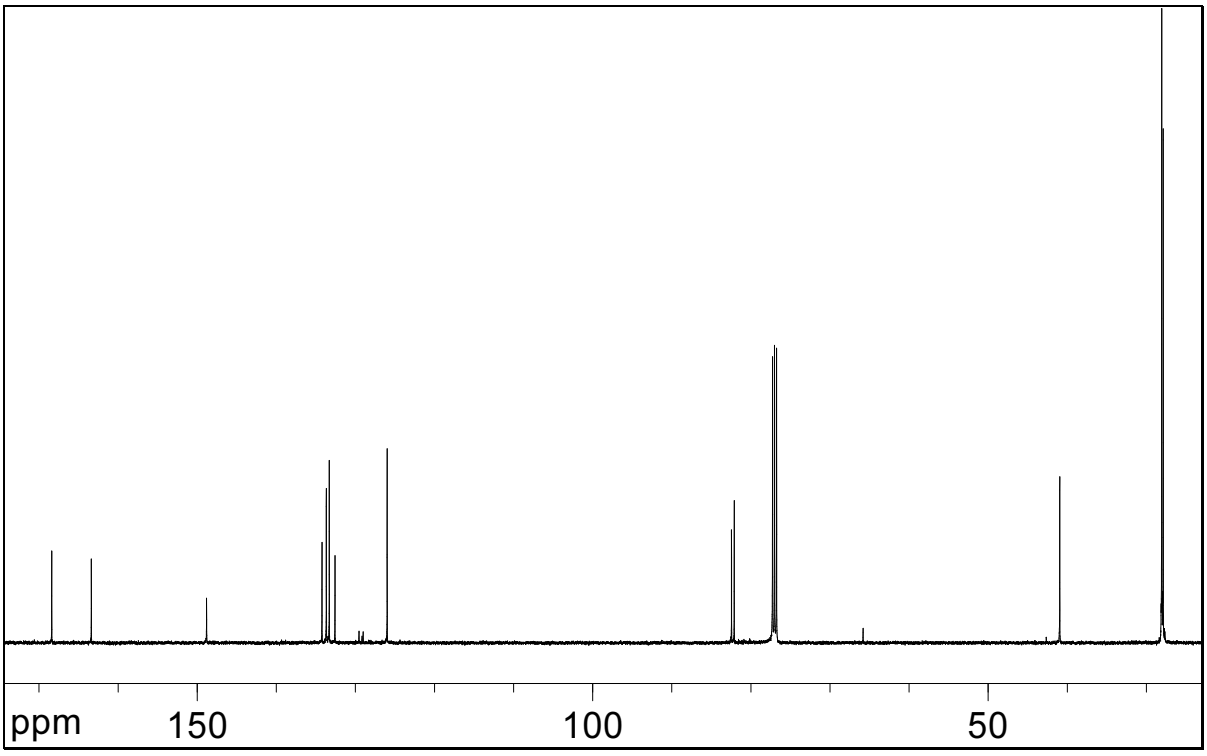


Abbildung 145: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform) von **106**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform): δ = 27.87 (C($\underline{C}H_3$)$_3$), 28.06 (C($\underline{C}H_3$)$_3$), 40.95 (8-C), 82.10 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 82.44 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 125.98 (7-C), 132.58 (2-C), 133.30 (3-C), 133.67 (4-C), 134.22 (5-C), 148.81 (6-C), 163.38 (1-C), 168.38 (9-C) ppm.

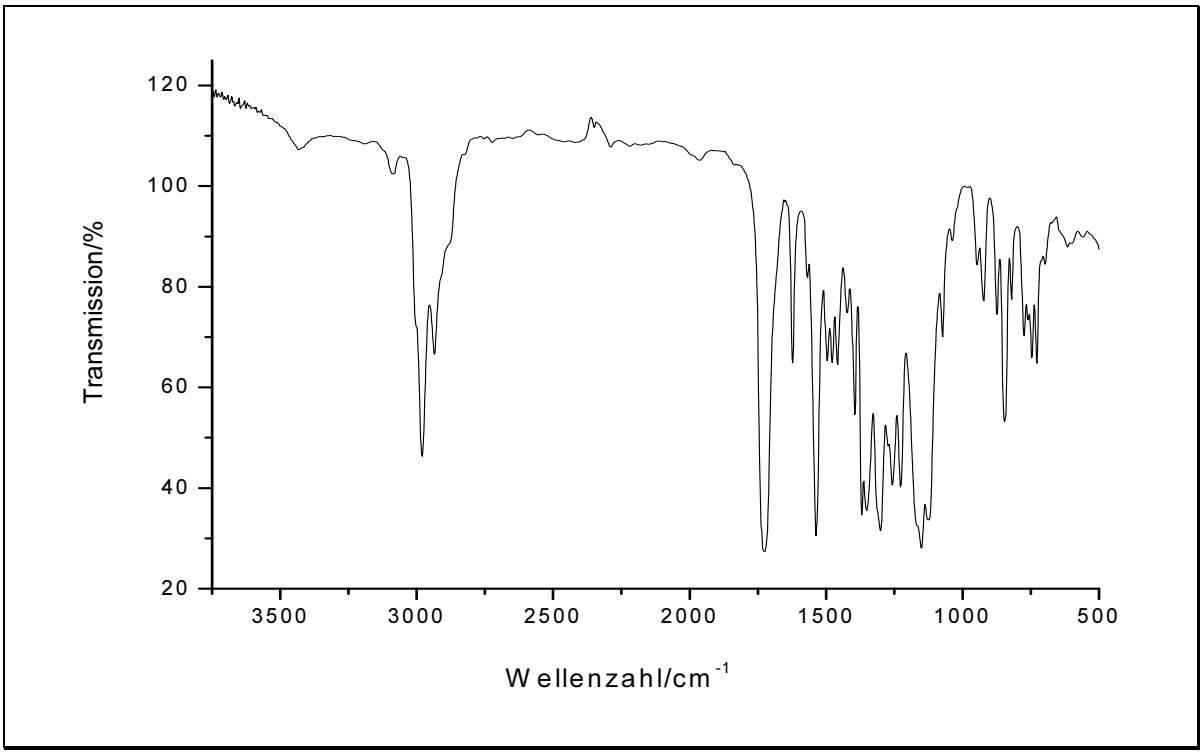


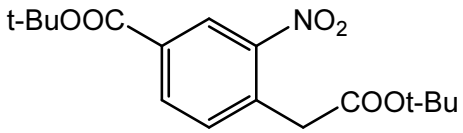
Abbildung 146: IR-Spektrum (Film) von **106**

IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2981 (C-H-Valenz), 1725 (C=O-Valenz), 1623 (Ringschwingung), 1537, 1369 (NO_2-Valenz), 1395, 1370 ($C(CH_3)_3$-Deformation), 1151 (C-O-Valenz) cm^{-1}.

Massenspektrum (GC/MS):
m/z: 264, 236, 220, 208, 190, 165, 135, 57

Versuch 26:

Darstellung von *tert*-Butyl-2-(4-*tert*-butoxycarbonyl-2-nitrophenyl)-acetat (**106**)



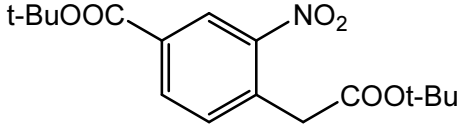
In einem Glasautoklaven werden 2.35 g (10.4 mmol) (4-Carboxy-2-nitrophenyl)essigsäure **105** in 55.3 ml *tert*-Butylacetat suspendiert. Anschließend werden 0.21 ml Perchlorsäure zugegeben und die Mischung 2 d bei Raumtemperatur gerührt bis sich die nitrierte Dicarbonsäure vollständig gelöst hat. Dann wird die klare, gelbliche Lösung vorsichtig in 350 ml kalte gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung gegeben. Die wässrige Phase wird dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden zweimal mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das gelb-braune ölige Rohprodukt kann direkt ohne weitere Aufreinigung in einer weiteren Stufe umgesetzt werden.

$C_{17}H_{23}NO_6$ (M = 337.37 g/mol)
Ausbeute: : 2.00 g (5.93 mmol, 57 %)

Die spektroskopischen Daten stimmen mit jenen aus Versuch 25 überein.

Versuch 27:

Darstellung von *tert*-Butyl-2-(4-*tert*-butoxycarbonyl-2-nitrophenyl)-acetat (**106**)



5.77 g (25.6 mmol) (4-Carboxy-2-nitrophenyl)essigsäure **105** werden in 134 ml *tert*-Butylacetat vorgelegt. Nach anschließender Zugabe von 0.51 ml Perchlorsäure wird die Reaktionslösung 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wird die Reaktions-

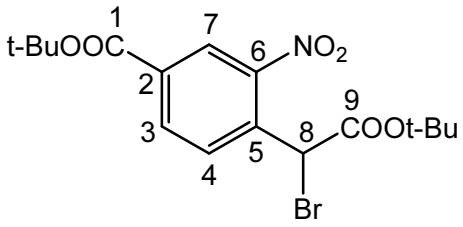
mischung mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung neutralisiert und zweimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden zweimal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Es bleibt eine klare Flüssigkeit zurück, die säulenchromatographisch an Kieselgel der Firma YMC mit n-Hexan/Essisäureethylester 5/1 gereinigt wird.

$C_{17}H_{23}NO_6$ (M = 337.37 g/mol)
Ausbeute: 4.30 g (12.7 mmol, 50 %)

Die spektroskopischen Daten stimmen mit jenen aus Versuch 25 überein.

Versuch 28:

Darstellung von *tert*-Butyl-2-brom-2-(4-*tert*-butoxycarbonyl-2-nitrophenyl)-acetat (**97**)



Unter Lichtausschluss werden 9.81 g (29.1 mmol) *tert*-Butyl-2-(4-*tert*-butoxycarbonyl-2-nitrophenyl)-acetat **106** in 145 ml absolutem Tetrachlorkohlenstoff gelöst. Zu dieser Lösung werden 9.45 g (53.1 mmol) *N*-Bromsuccinimid (NBS) und eine Spatelspitze Dibenzoylperoxid (DBPO) hinzugegeben. Die Suspension wird 24 h zum Rückfluss erhitzt, wobei alle 3 h erneut eine Spatelspitze Dibenzoylperoxid zugefügt wird. Anschließend wird das aufschwimmende Succinimid abfiltriert und mit Tetrachlorkohlenstoff gewaschen. Von dem roten Filtrat wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und es bleibt ein rötliches zähflüssiges Öl zurück, das säulenchromatographisch an Kieselgel der Firma YMC mit n-Hexan/Essigsäureethylester 5/1 gereinigt wird.

$C_{17}H_{22}BrNO_6$ (M = 416.26 g/mol)

Ausbeute: 7.32 g (17.6 mmol, 60 %) Lit.[79]: 24 %

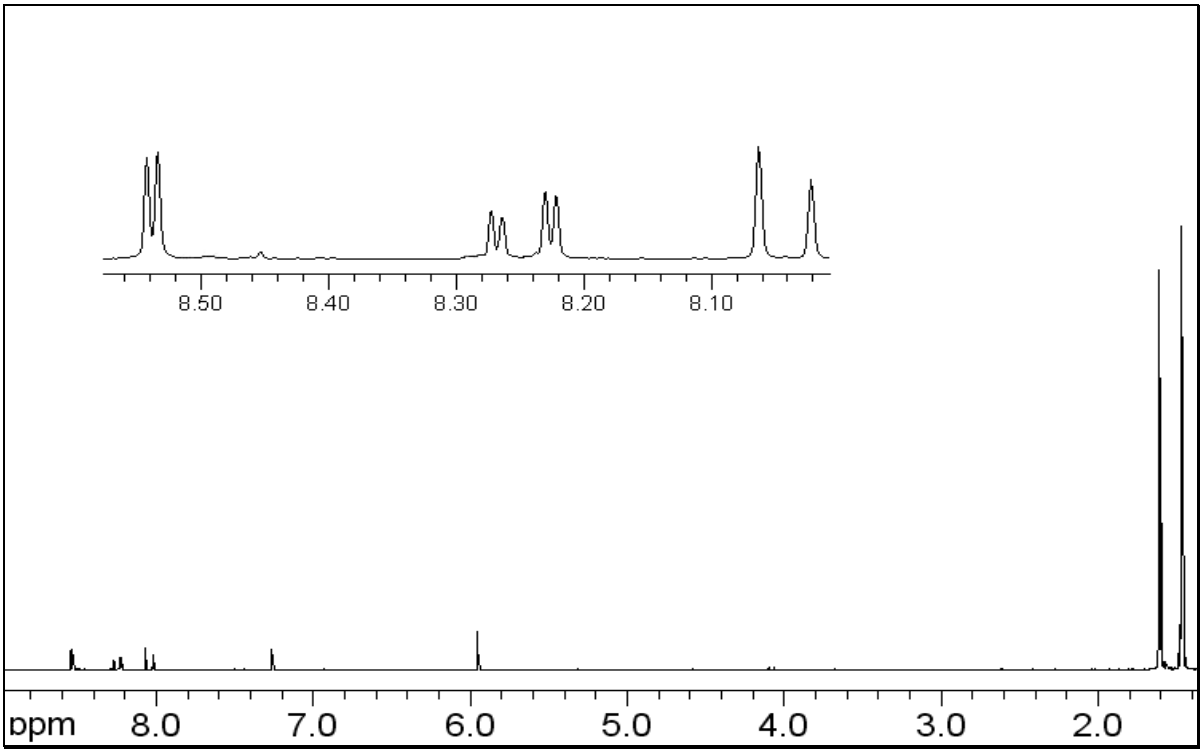


Abbildung 147: ^{1}H-NMR (200 MHz, Deuterochloroform) von **97**

^{1}H-NMR (200 MHz, Deuterochloroform): δ =1.46 (s, 9H,*t*-Bu), 1.61 (s, 9H, *t*-Bu), 5.95 (s, 1H, 8-H), 8.04 (d, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.2 Hz, 4-H), 8.25 (dd, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.2 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 1.7 Hz, 3-H), 8.54 (d, 1H, $^{4}J_{HH}$ = 1.7 Hz, 7-H) ppm.

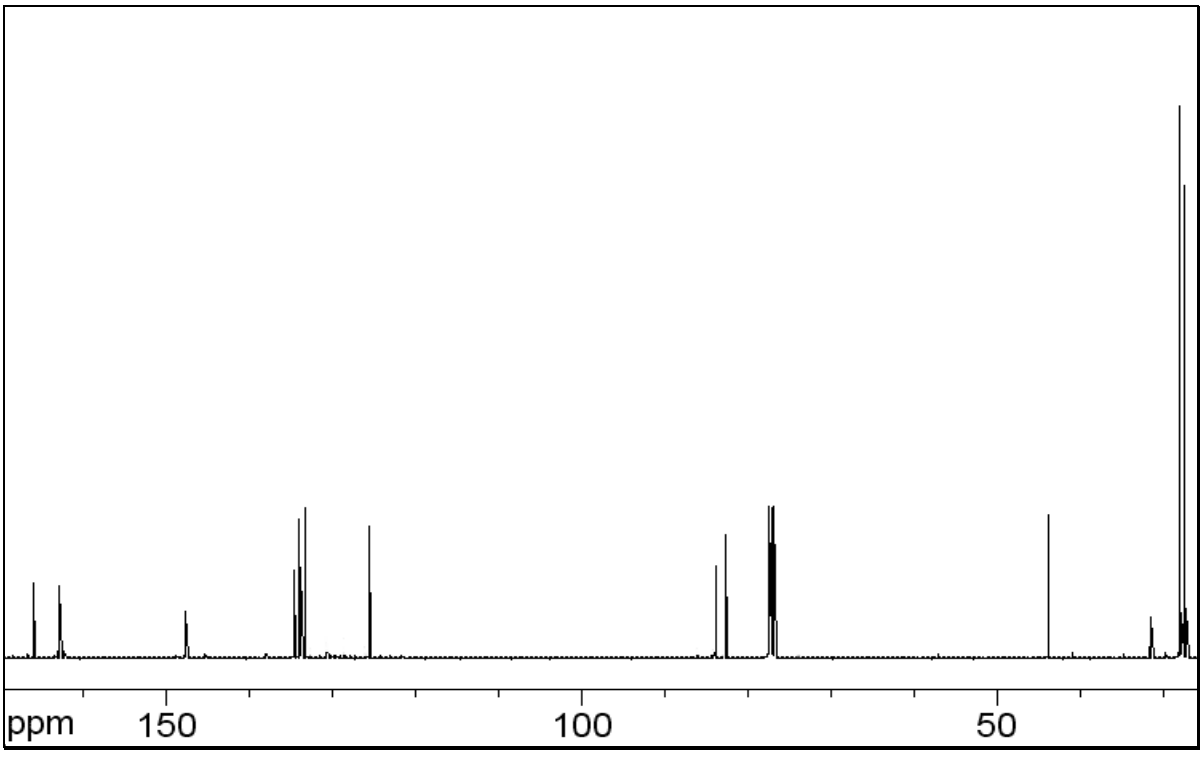


Abbildung 148: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform) von **97**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform): δ = 27.55 (*t*-Bu), 28.00 (*t*-Bu), 43.81 (8-C), 82.75 (C-*t*-Bu),83.94 (C-*t*-Bu),125.53 (7-C), 133.29 (2-C), 133.66 (3-C), 133.83 (4-C), 134.50 (5-C), 147.58 (6-C), 162.85 (1-C), 165.95 (9-C) ppm.

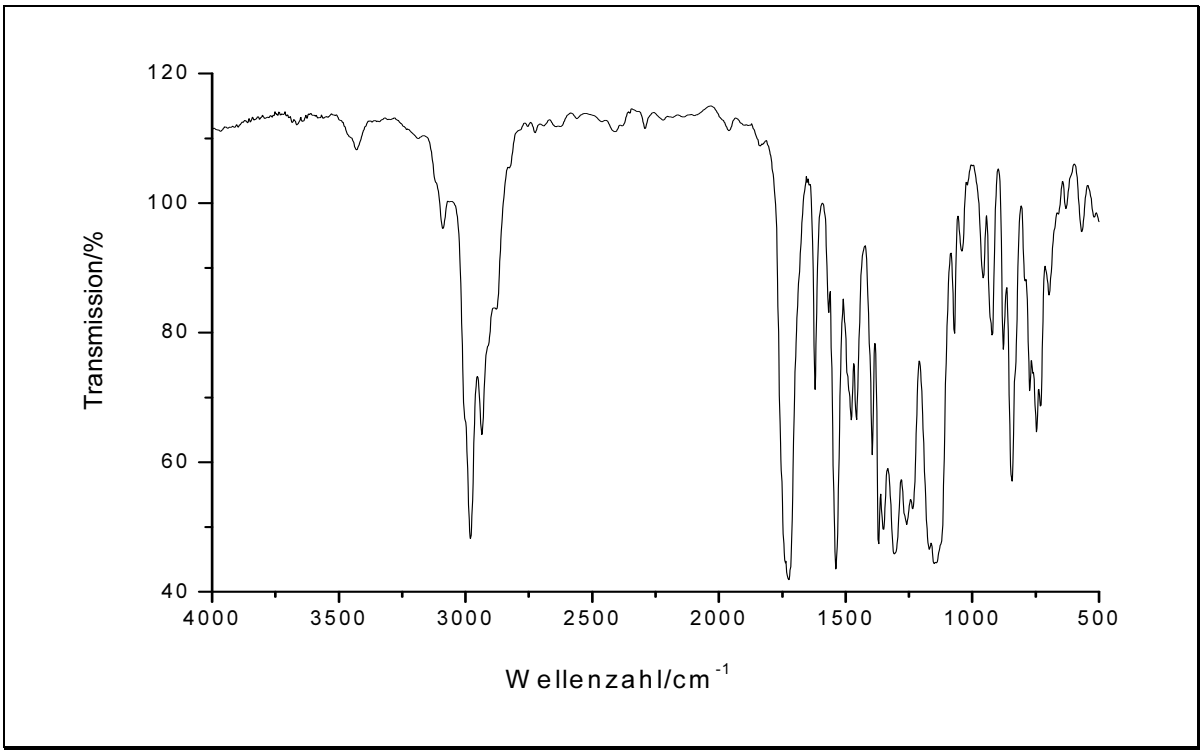


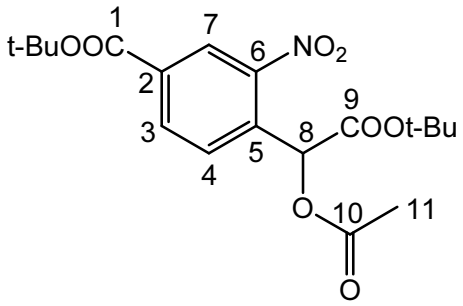
Abbildung 149: IR-Spektrum (Film) von **97**

IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2981 (C-H-Valenz), 1724 (C=O-Valenz), 1621 (Ringschwingung), 1537 (NO_2-Valenz), 1395, 1370 ($C(CH_3)_3$-Deformation), 1151 (C-O-Valenz), 746 (-C-Hal-Valenz) cm^{-1}.

Massenspektrum (GC/MS):
m/z: 344, 316, 286, 264, 258, 242, 236, 230, 209, 180, 179, 152, 148, 136, 57, 43

Versuch 29:

Darstellung von (*α*,4-Di-*tert*-butoxycarbonyl-2-nitrobenzyl)-acetat (**113**)



Unter Lichtausschluss werden 7.32 g (17.6 mmol) *tert*-Butyl-2-brom-2-(4-*tert*-butoxycarbonyl-2-nitrophenyl)-acetat **97**, 1.26 g (21.0 mmol) Essigsäure und 3.09 g (20.3 mmol) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) in einer Mischung von 350 ml absolutem Benzol und 85 ml absolutem Tetrahydrofuran gelöst und 2 h zum Rückfluss erhitzt. Danach wird das Lösungsmittel entfernt, das erhaltene Rohprodukt unter Rühren mit Aceton versetzt und der nicht lösliche Rückstand abfiltriert. Das Filtrat wird anschließend mittels Filtration über Kieselgel gereinigt und das Lösungsmittel anschließend unter vermindertem Druck entfernt. Eine weitere Aufreinigung des Rohprodukts ist nicht erforderlich.

$C_{19}H_{25}NO_8$ (M = 395.40 g/mol)
Ausbeute: 6.10 g (15.4 mmol, 88 %)

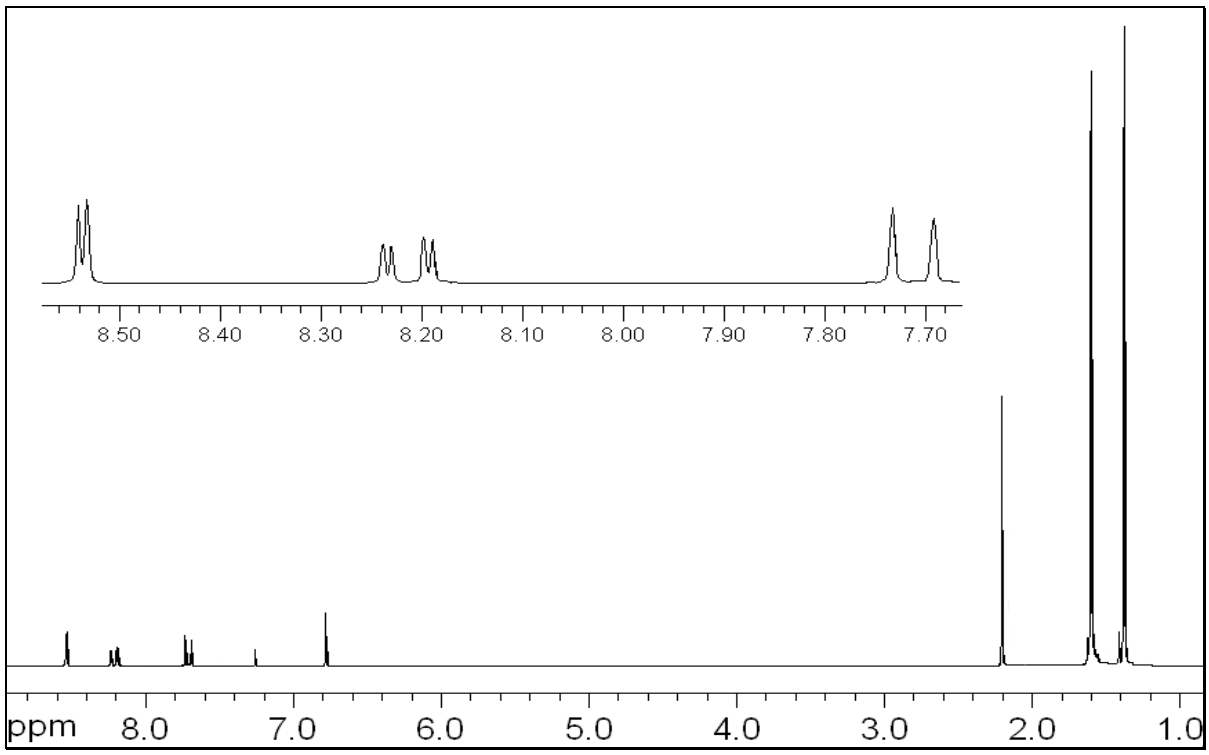


Abbildung 150: ^{1}H-NMR (200 MHz, Deuterochloroform) von **113**

^{1}H-NMR (200 MHz, Deuterochloroform): δ =1.38 (s, 9H, *t*-Bu), 1.60 (s, 9H, *t*-Bu), 2.21 (s, 3H, 11-H), 6.78 (s, 1H, 8-H), 7.71(d, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.2 Hz, 4-H), 8.21 (dd, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.1 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 1.7 Hz, 3-H), 8.54 (d, 1H, $^{4}J_{HH}$ = 1.7 Hz, 7-H) ppm.

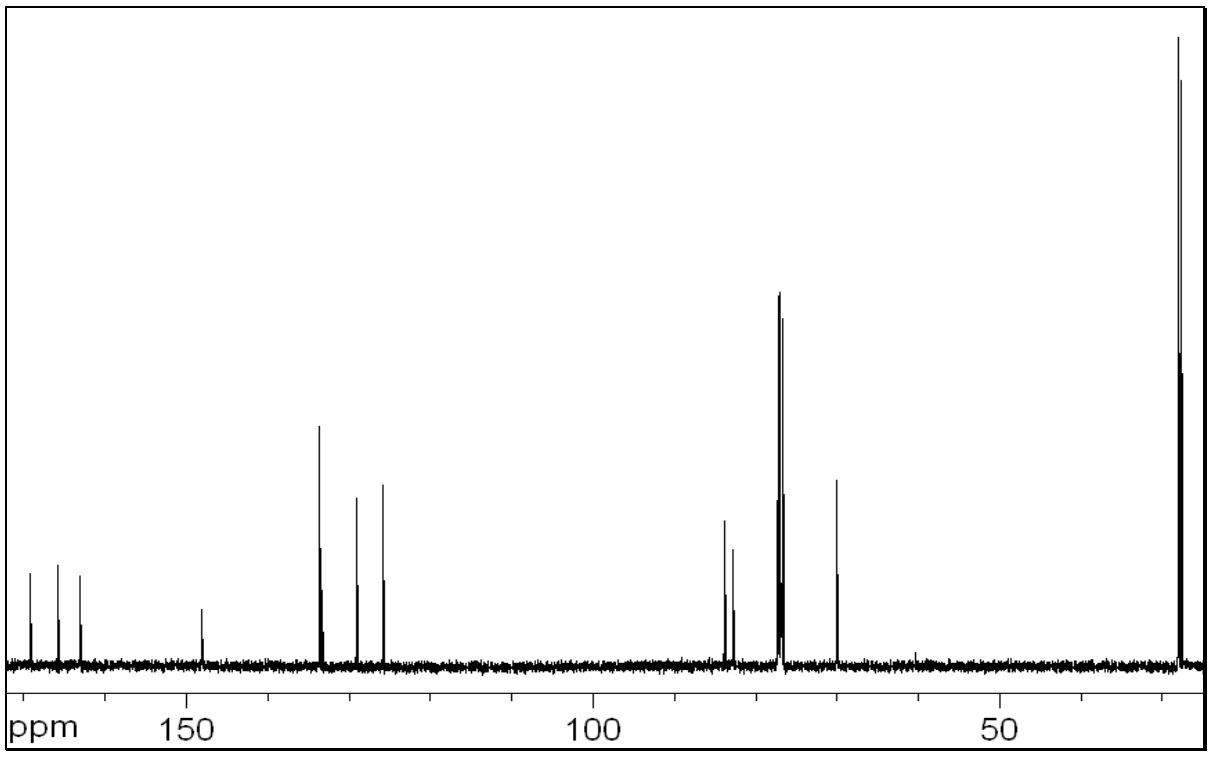


Abbildung 151: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform) von **113**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform): δ = 20.55 (11-C), 27.66 (C($\underline{C}H_3)_3$), 28.04 (C($\underline{C}H_3)_3$), 70.00 (8-C), 82.78 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 83.88 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 125.82 (7-C), 129.06 (2-C), 133.39 (3-C), 133.61 (4-C), 133.62 (5-C), 148.11 (6-C), 163.02 (1-C), 165.80 (9-C), 169.21 (10-C) ppm.

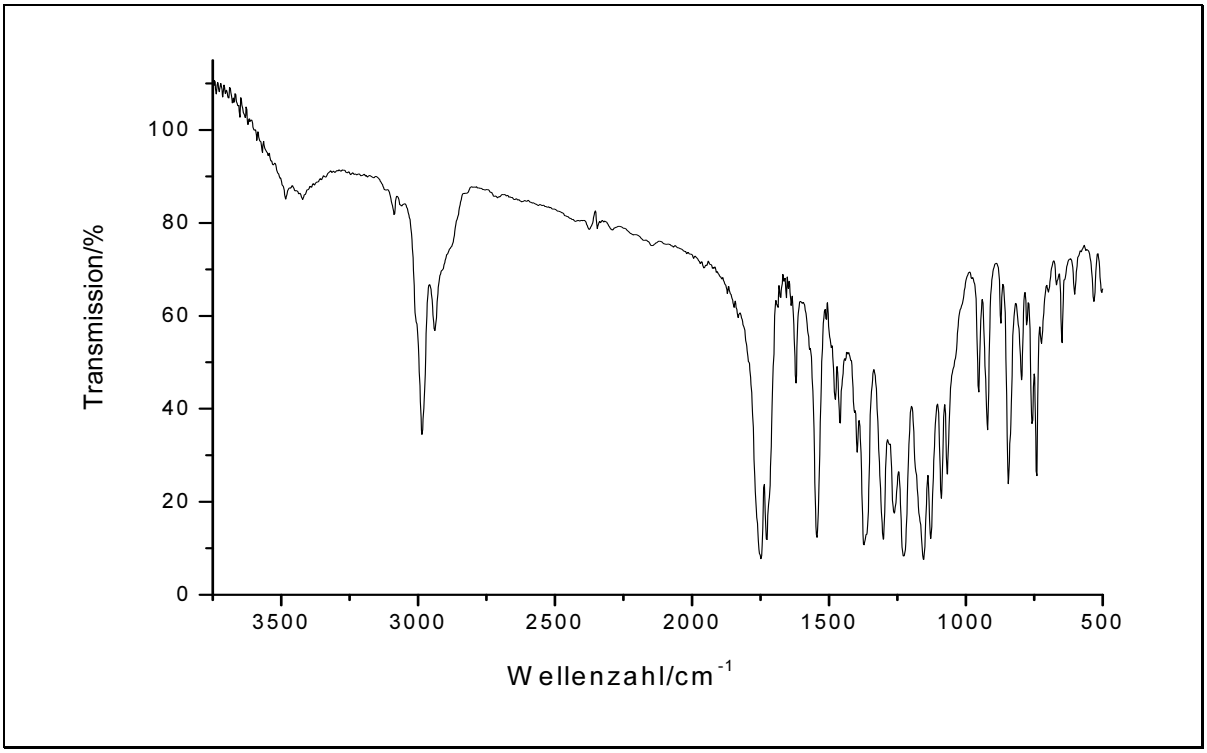


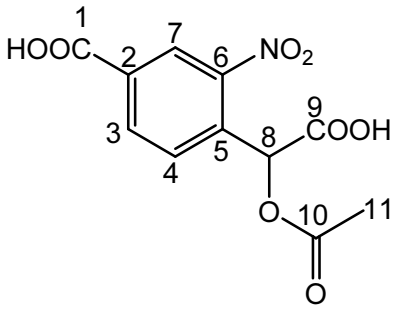
Abbildung 152: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **113**

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 2986 (C-H-Valenz), 1748 (C=O-Valenz), 1620 (Ringschwingung), 1543 (NO_2-Valenz), 1460 (-CH_3-Deformation), 1397, 1372 ($C(CH_3)_3$-Deformation), 1227 (C-O-C-Valenz), 1154 (C-O-Valenz) cm^{-1}.

Massenspektrum (GC/MS):
m/z: 322, 294, 278, 263, 251, 235, 207, 165, 149, 57, 43

Versuch 30:

Darstellung von 4-[Acetoxy(carboxy)methyl]-3-nitrobenzoesäure (**114**)



Unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluss werden 0.488 g (1.24 mmol) *tert*-Butyl-acetoxy-(4-*tert*-butoxycarbonyl-2-nitrophenyl)-acetat **113** in 8.2 ml trockenem Dichlormethan gelöst und mit 4.0 ml Trifluoressigsäure versetzt. Danach wird die Reaktionslösung für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Reaktionsende wird das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand mit Toluol versetzt. Nach kurzem Rühren werden das Lösungsmittel und die Trifluoressigsäure unter vermindertem Druck azeotrop entfernt. Dieser Vorgang wird insgesamt viermal durchgeführt. Das Rohprodukt wird abschließend säulenchromatographisch an Sephadex mit Wasser als Laufmittel gereinigt und man erhält das gewünschte Produkt in Form eines weißen Feststoffes.

$C_{11}H_9NO_8$ (M = 283.19 g/mol)
Ausbeute: 0.162 g (0.572 mmol, 46 %)

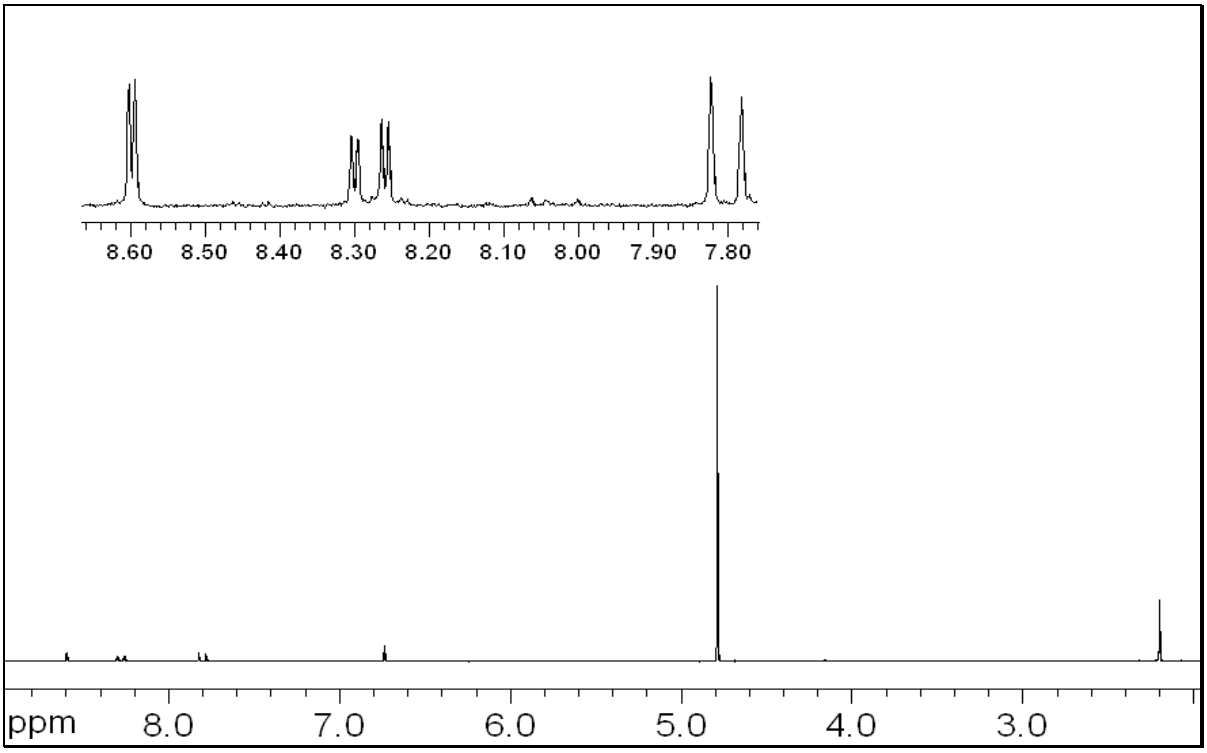


Abbildung 153: ^{1}H-NMR (200 MHz, D_2O) von **114**

^{1}H-NMR (200 MHz, D_2O): δ = 2.20 (s, 3H, 11-H), 6.74 (s, 1H, 8-H), 7.80 (d, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.2 Hz, 4-H), 8.28 (dd,1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.1 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 1.8 Hz, 3-H), 8.60 (d, 1H, $^{4}J_{HH}$ = 1.7 Hz, 7-H) ppm.

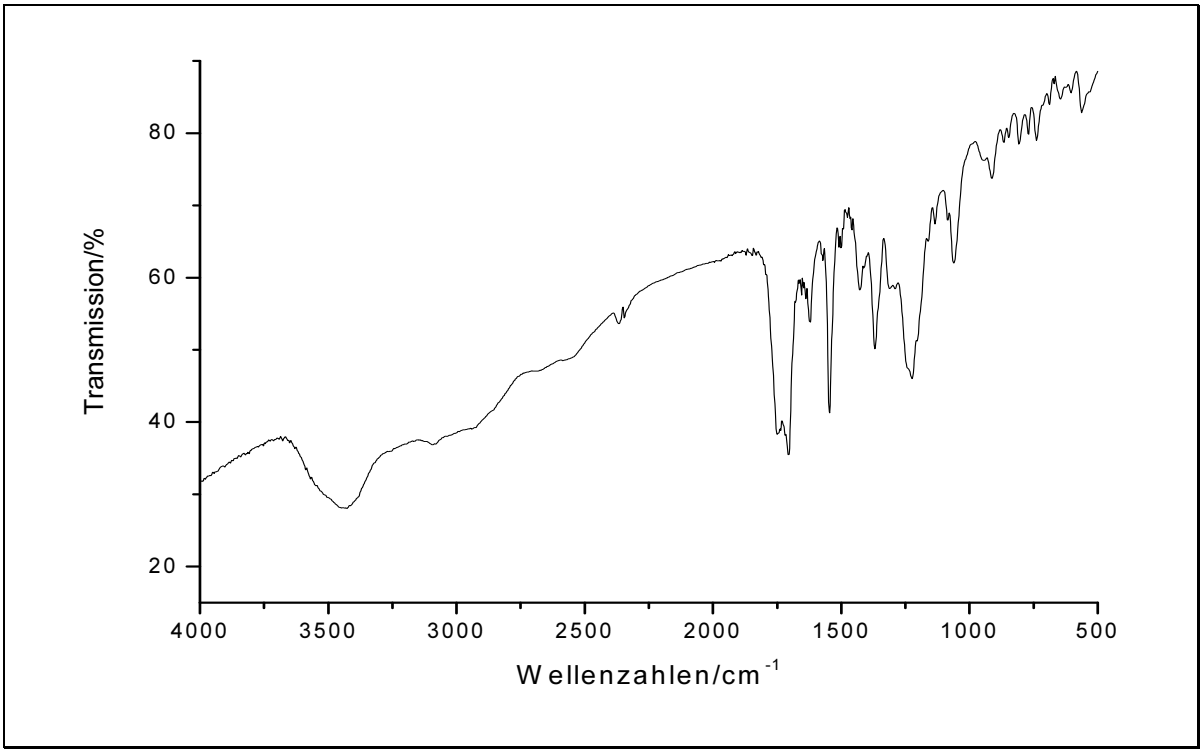


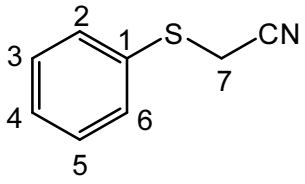
Abbildung 154: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **114**

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3427 (O-H-Valenz), 1706 (C=O-Valenz), 1621 (Ringschwingung), 1546 (NO_2-Valenz), 1428 (-CH_3-Deformation), 1224 (C-O-C-Valenz) cm^{-1}.

Massenspektrum (EI, Pt.: 140 °C):
m/z: 266 (2), 238 (2), 222 (1), 179 (55), 149 (47), 118 (22), 57 (30), 43 (100)

Versuch 31:

Darstellung von Thiophenoxyacetonitril (**108**)



Es werden 32.5 g (0.307 mol) Natriumcarbonat in 100 ml trockenem Aceton gelöst. Nach kurzem Rühren werden 20 ml (22 g, 0.20 mol) Thiophenol **107** und 15 ml (18 g, 0.24 mol) *α*-Chloracetonitril über ein Septum zugegeben und die Reaktionslösung 6.5 h zum Rückfluss erhitzt. Der entstehende Feststoff wird abfiltriert, mit Aceton gewaschen und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der erhaltene Rückstand wird in Diethylether aufgenommen und mit Wasser extrahiert. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und der Diethylether anschließend unter vermindertem Druck entfernt. Eine weitere Aufreinigung des Rohproduktes ist nicht erforderlich.

C_8H_7NS (M = 149.21 g/mol)
Ausbeute: 26.5 g (0.178 mol, 89 %) Lit.[80]:85 %

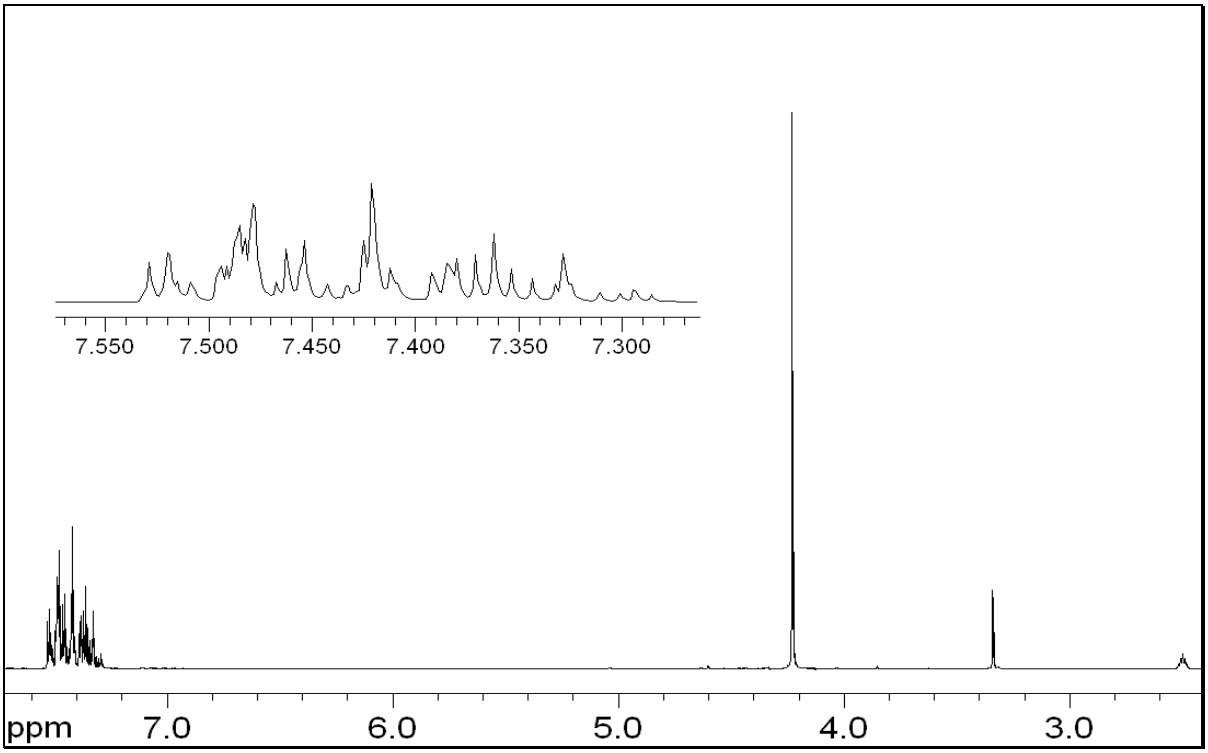


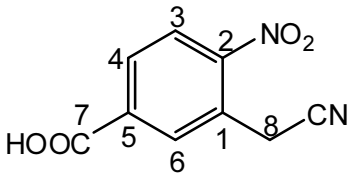
Abbildung 155: ^{1}H-NMR (200 MHz, DMSO-d_6) von **108**

^{1}H-NMR (200 MHz, DMSO-d_6): δ = 4.23 (s, 2H, 7-H), 7.29 – 7.53 (m, 5H, 2-H, 3-H, 4-H, 5-H, 6-H) ppm.

Auf eine vollständige Charakterisierung wurde auf Grund des intensiven Geruchs verzichtet.

Versuch 32:

Darstellung von (5-Carboxy-2-nitrophenyl)acetonitril (**109**)



11.0 g (0.275 mol) fein gemörsertes Natriumhydroxid werden in 100 ml Dimethylsulfoxid suspendiert und die Suspension unter starkem Rühren auf knapp über 18° C abgekühlt. Dann werden 8.0 g (0.048 mol) 4-Nitrobenzoesäure hinzugegeben und die Reaktionsmischung bei knapp über dem Festpunkt des Dimethylsulfoxids (18 °C) für 10 min gerührt. Schließlich werden 7.1 g (0.047 mol) Thiophenoxyacetonitril **108**, gelöst in 100 ml Dimethylsulfoxid, langsam zugetropft. Die tiefblaue Lösung wird für 1.5 h bei 18° C weitergerührt und nach Ende der Reaktionszeit unter starkem Rühren in eine Mischung aus 60 ml konzentrierter Salzsäure und 500 g Eis gegeben. Die nun gelbe Lösung wird anschließend mit Essigsäureethylester extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wird in Chloroform/Hexan 1/3 ausgekocht, der zurückbleibende Feststoff anschließend warm abfilitriert und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

$C_9H_6N_2O_4$ (M = 206.16 g/mol)

Ausbeute: 8.8 g (0.043 mol,91 %) Lit.[25]: 77 %

Schmelzpunkt: 181 °C Lit.[63]: 183-185 °C

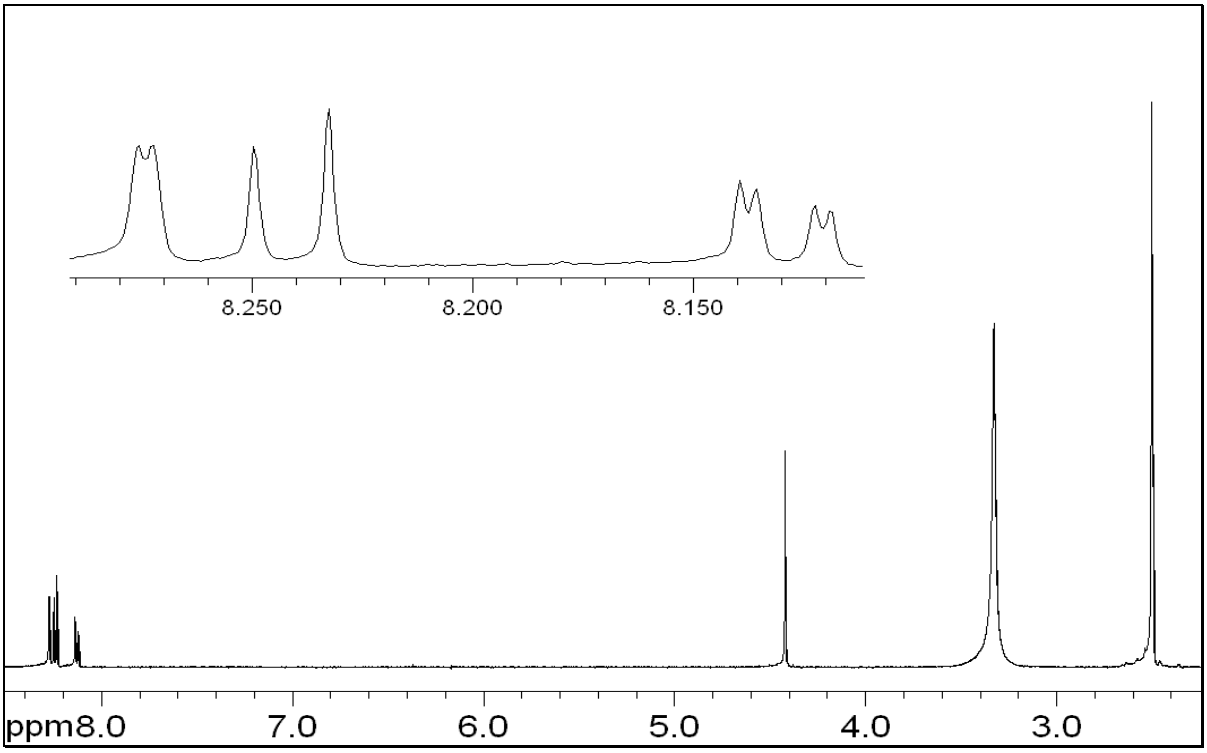


Abbildung 156: ^{1}H-NMR (200 MHz, DMSO-d_6) von **109**

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ = 4.42 (s, 2H, 8-H), 8.13 (dd, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.4 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 1.8 Hz, 4-H), 8.24 (d, 1H,$^{3}J_{HH}$ = 8.5 Hz, 3-H), 8.27 (d, 1H, $^{4}J_{HH}$ = 1.6 Hz, 6-H) ppm.

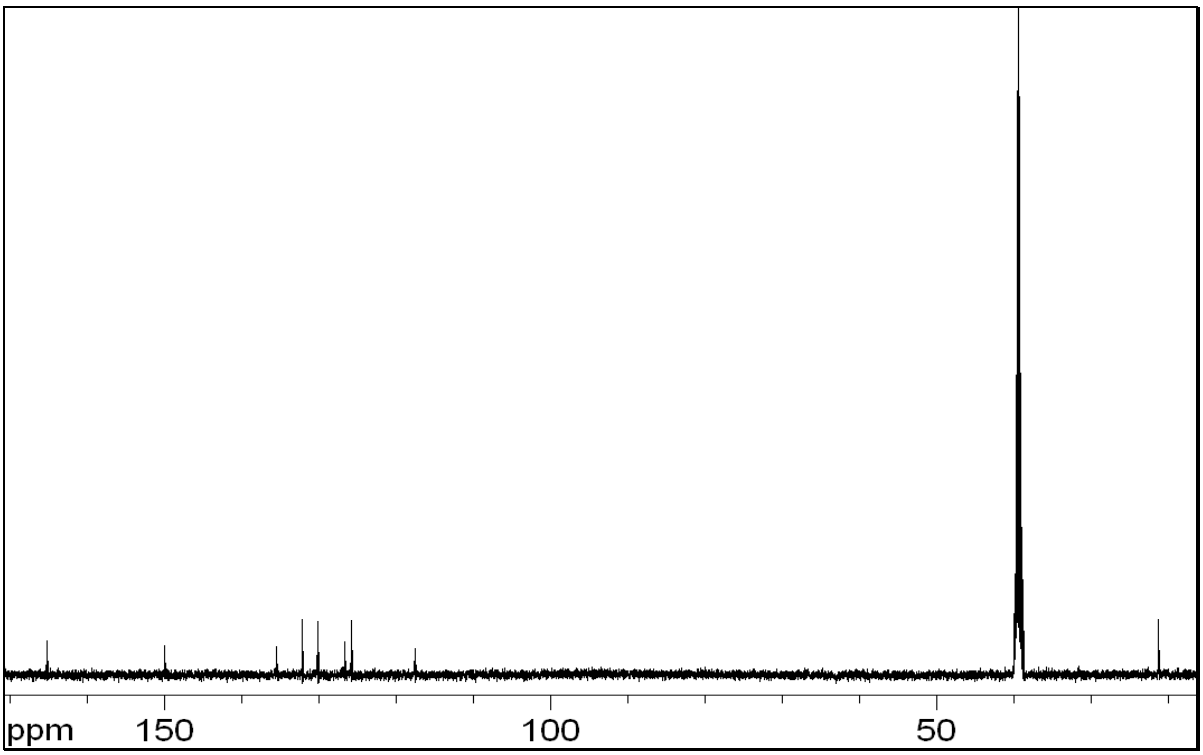


Abbildung 157: ^{13}C-{^{1}H}-NNMR (125 MHz, DMSO-d_6) von **109**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6): δ = 21.36 (8-C), 117.63 (-<u>C</u>N), 125.88 (3-C), 126.76 (1-C), 130.23 (4-C), 132.22 (6-C), 135.50 (5-C), 150.06 (2-C), 165.30 (7-C) ppm.

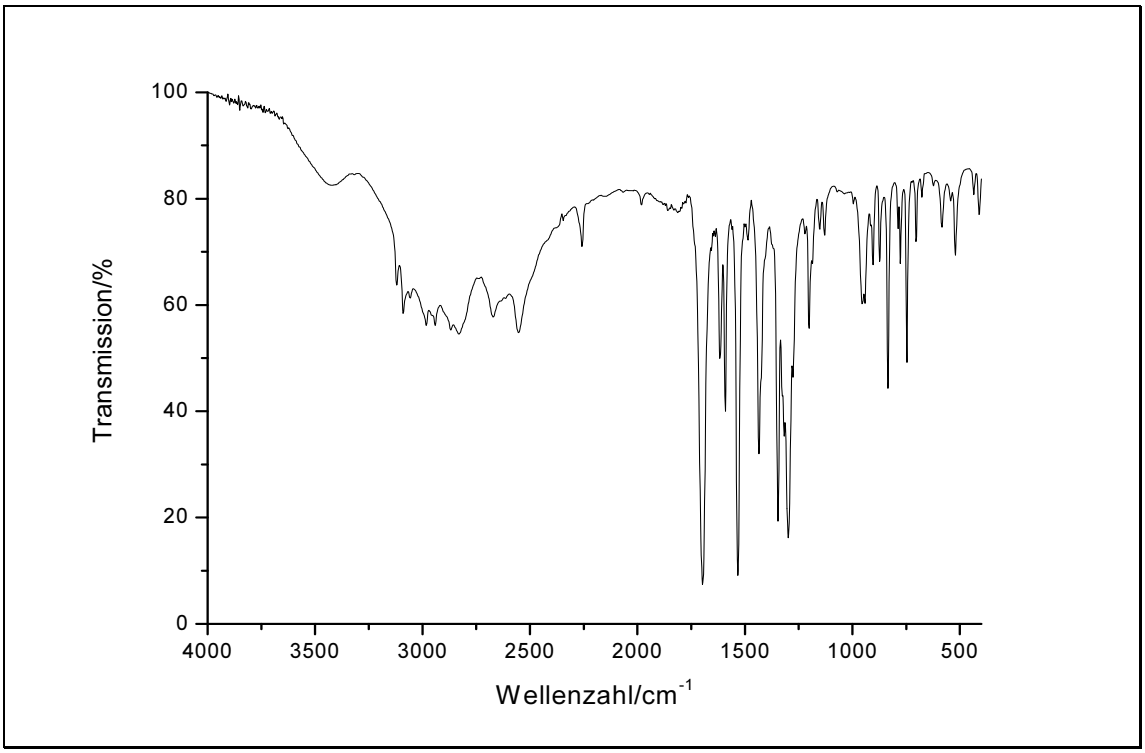


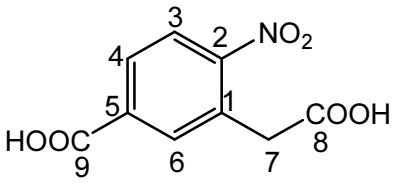
Abbildung 158: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **109**

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3090 (O-H-Valenz), 2553 (C-H-Valenz), 2258 (CN-Valenz), 1697 (C=O-Valenz),1616 (Ringschwingung), 1533, 1346 (NO_2-Valenz), 1435 (-CH_2-Deformation), 1298 (C-O-Valenz) cm^{-1}.

Massenspektrum (EI, Pt.: 140 °C):
m/z: 206 (5) $[M]^+$, 179 (82), 162 (13), 160 (13), 51 (51)

Versuch 33:

Darstellung von 2-(5-Carboxy-2-nitrophenyl)essigsäure (**110**)



4.5 g (0.022 mol) (5-Carboxy-2-nitrophenyl)acetonitril **109** werden mit 100 ml einer 20%igen Salzsäure versetzt und 6 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird die Reaktionslösung bei 4° C gelagert. Anschließend wird der ausgefallene Feststoff abfiltriert, mit kaltem Wasser gewaschen und über Kaliumhydroxid getrocknet. Eine weitere Aufreinigung ist nicht erforderlich.

$C_9H_7NO_6$ (M = 225.15 g/mol)

Ausbeute: 4.1 g (0.018 mmol, 82 %) Lit.[25]: 82 %

Schmelzpunkt: 169 °C Lit.[63]: 170-171 °C

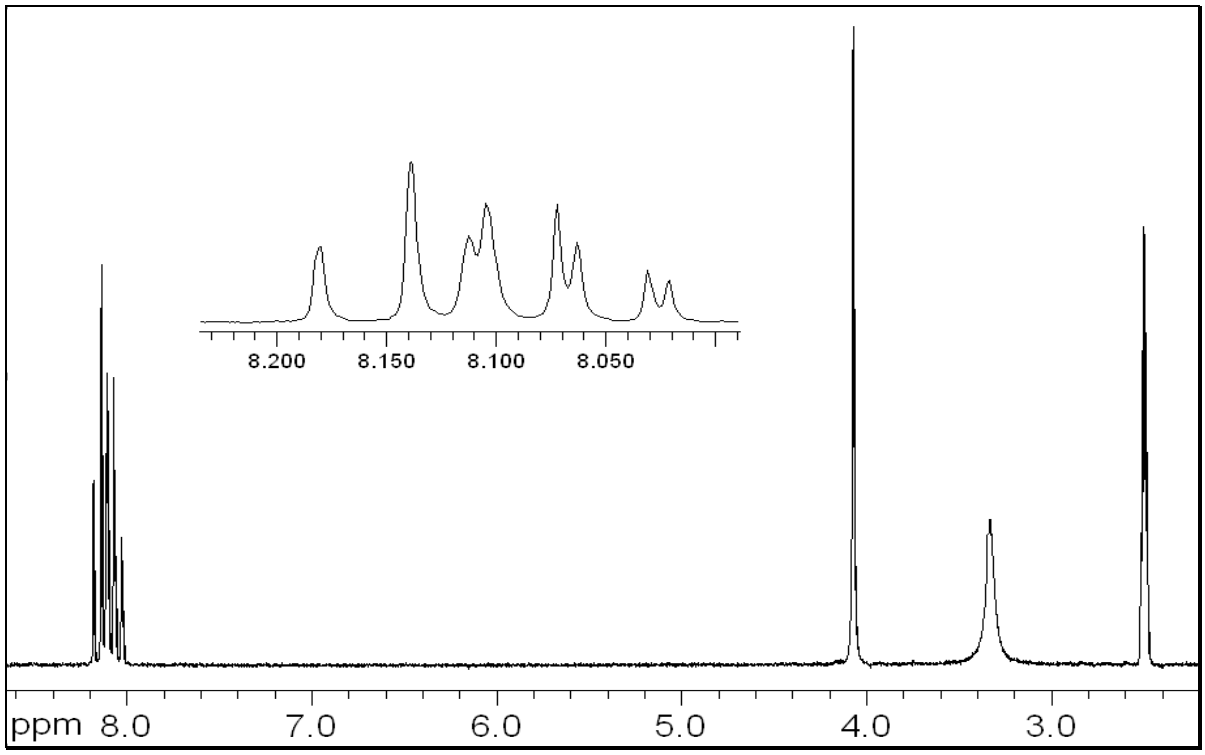


Abbildung 159: ^{1}H-NMR (200 MHz, DMSO-d_6) von **110**

^{1}H-NMR (200 MHz, DMSO-d_6): δ = 4.07 (m, 3H, 3-H, 4-H, 6-H), 8.02-8.18 (s, 2H, 7-H) ppm.

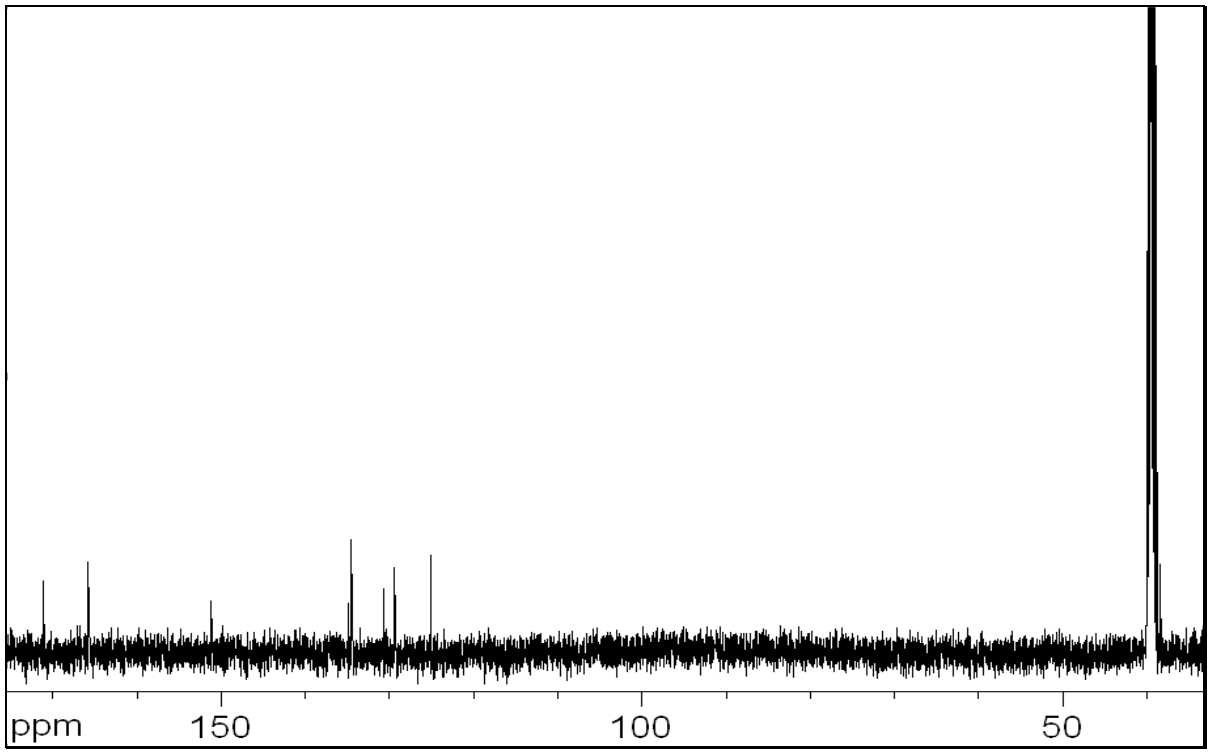


Abbildung 160: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6) von **110**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6): δ = 38.47 (7-C), 125.07 (3-C), 129.21 (4-C), 130.70 (1-C), 134.34 (6-C), 134.82 (5-C), 151.02 (2-C), 165.65 (9-C), 171.05 (8-C) ppm.

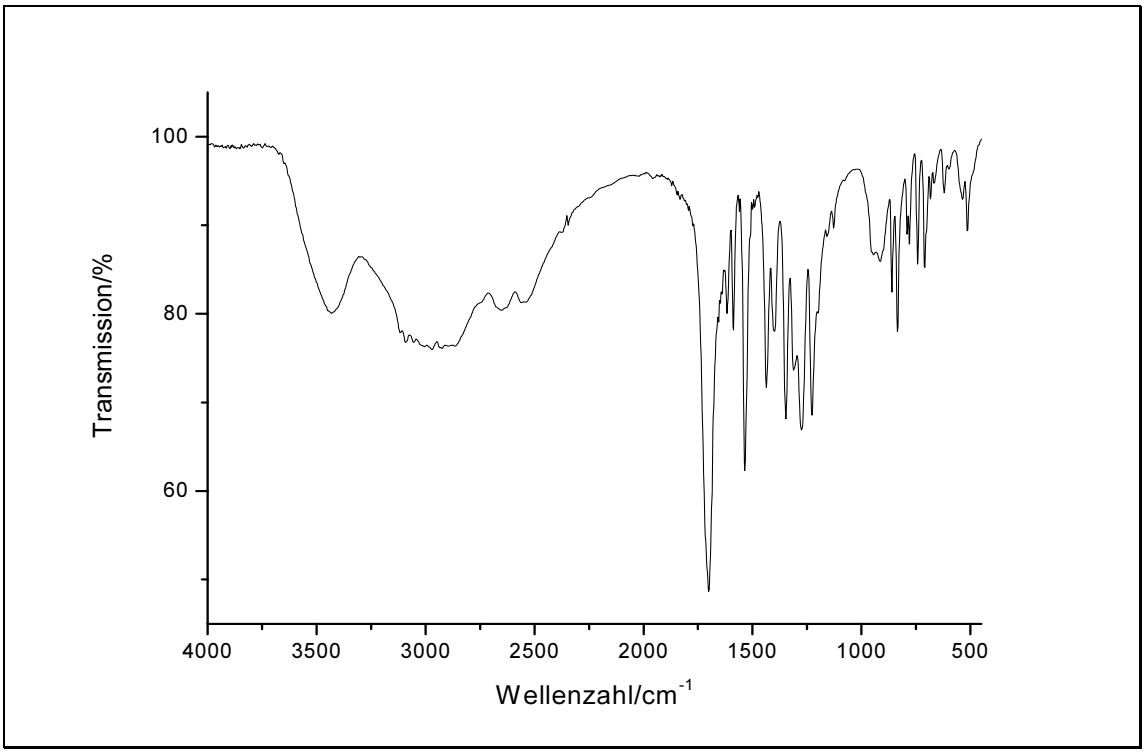


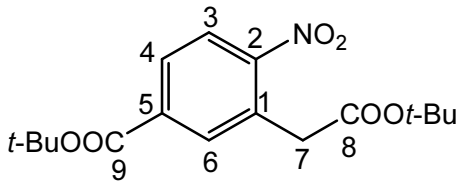
Abbildung 161: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **110**

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3250 – 2750 (O-H-Valenz), 2970 (C-H-Valenz), 1701 (C=O-Valenz), 1617 (Ringschwingung), 1535, 1347 (NO_2-Valenz), 1437 (-CH_2-Deformation), 1275 (C-O-Valenz) cm^{-1}.

Massenspektrum (EI, Pt.: 190 °C):
m/z: 208 (1), 179 (60), 164 (38), 151 (7), 136 (17),

Versuch 34:

Darstellung von *tert*-Butyl-2-[5-(*tert*-butoxycarbonyl)-2-nitrophenyl]-acetat (**111**)



In einem Glasautoklaven werden 8.47 g (37.6 mmol) 2-(5-Carboxy-2-nitrophenyl)-essigsäure **110** in 130 ml Chloroform suspendiert und unter Stickstoff mit 1.2 ml (2.2 g, 22 mmol) konzentrierter Schwefelsäure versetzt. Die Suspension wird mit Aceton/Trockeneis auf -78 °C abgekühlt und in diese 18 ml Isobuten eingeleitet. Die Mischung wird sodann langsam auf Raumtemperatur erwärmt und 4 d bei dieser gerührt. Danach wird die hell-gelbe Lösung in 250 ml gesättigte Natriumhydrogencarbonatlösung gegeben und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Eine Aufreinigung des Rohprodukts ist nicht erforderlich.

$C_{17}H_{23}NO_6$ (M = 337.37 g/mol)
Ausbeute: 10.2 g (30.2 mmol, 80 %)
Schmelzpunkt: 93 °C Lit.[63]: 92-94 °C

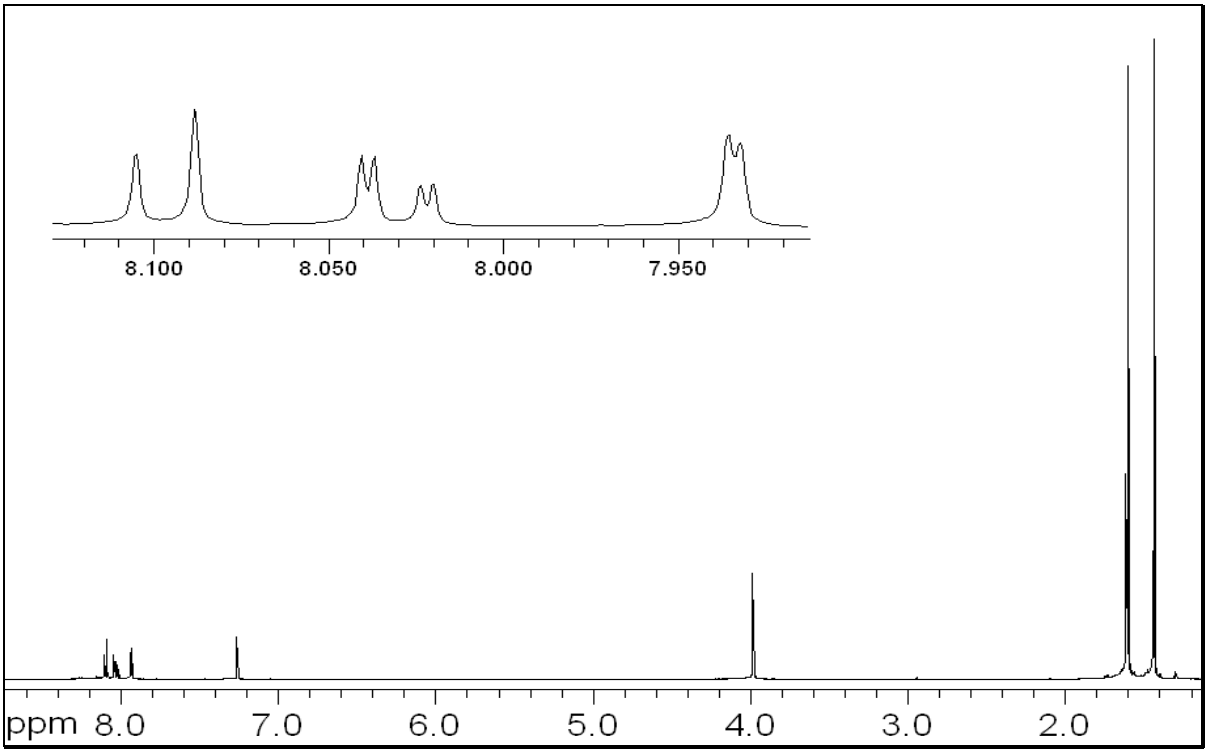


Abbildung 162: ^{1}H-NMR (500 MHz, Deuterochloroform) von **111**

^{1}H-NMR (200 MHz, Deuterochloroform): δ =1.44 (s, 9H,*t*-Bu), 1.61 (s, 9H, *t*-Bu), 3.98 (s, 2H, 7-H), 7.90 (d, 1H, $^{4}J_{HH}$ = 1.7 Hz, 6-H), 8.03 (dd, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.5 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 1.8 Hz, 4-H), 8.10 (d, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.5 Hz, 3-H) ppm.

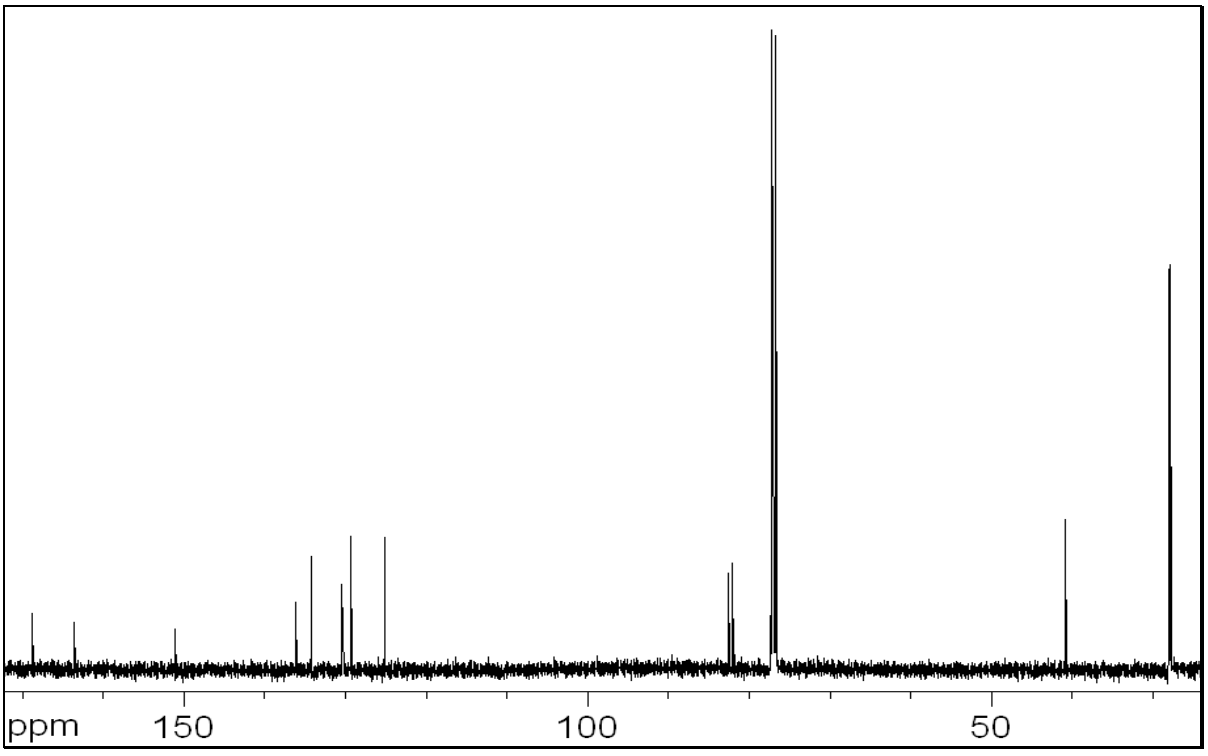


Abbildung 163: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform) von **111**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform): δ = 27.92 (C($\underline{C}H_3)_3$), 28.06 (C($\underline{C}H_3)_3$), 40.86 (7-C), 82.09 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 82.53 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 125.05 (3-C), 129.31 (4-C), 130.29 (1-C), 134.24 (6-C), 136.08 (5-C), 151.11 (2-C), 163.58 (9-C), 168.73 (8-C) ppm.

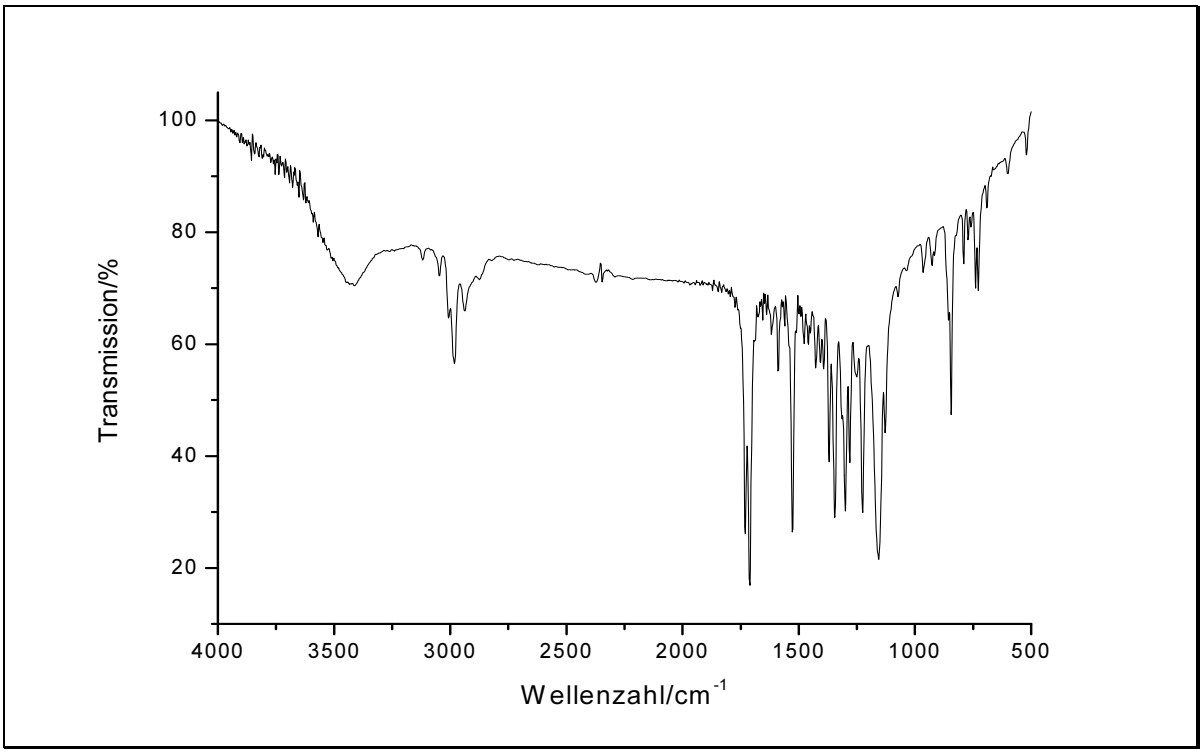


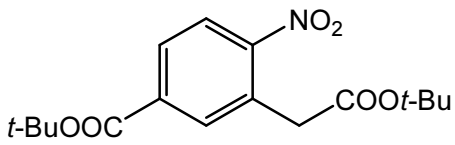
Abbildung 164: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **111**

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 2982, 2938 (C-H-Valenz), 1711 (C=O-Valenz), 1618 (Ringschwingung), 1527,345 (NO_2-Valenz), 1345 (-CH_3-Deformation), 1156 (C-O-Valenz) cm^{-1}.

Massenspektrum (EI, Pt.: 85 °C):
m/z: 264 (7), 237 (4), 220 (2), 180 (7), 164 (7), 135 (4), 57 (100), 41 (21)

Versuch 35:

Darstellung von *tert*-Butyl-2-[5-(*tert*-butoxycarbonyl)-2-nitrophenyl]-acetat (**111**)



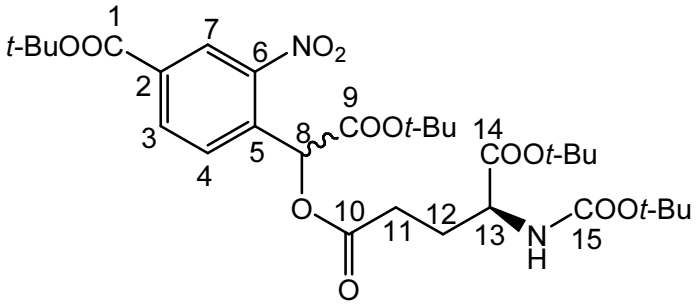
Zu einer Mischung von 1.0 g (4.4 mmol) 2-(5-Carboxy-2-nitrophenyl)essigsäure **110**, 12 g (98 mmol) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) und 2.0 ml (21 mmol) *tert*-Butanol in 20 ml Dichlormethan werden bei 0°C 2.0 g (9.7 mmol) *N*,*N´*-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) zugegeben. Nach vollständiger Zugabe wird die Reaktionsmischung 30 min bei 0°C und anschließend für 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Sodann wird die rotbraune Mischung abfiltriert und das Filtrat unter vermindertem Druck eingeengt. Das Rohprodukt wird in 20 ml Dichlormethan aufgenommen, erneut gefiltert und zweimal mit je 20 ml 0.5 N Salzsäure und zweimal mit je 60 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Die Lösung wird sodann über Natriumsulfat getrocknet und abfiltriert. Abschließend wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und man erhält das gewünschte Produkt in reiner Form.

$C_{17}H_{23}NO_6$ (M = 337.37 g/mol)
Ausbeute: 0.24 g (0.71 mmol, 16 %) Lit.[63]: 57 %

Die spektroskopischen Daten stimmen mit jenen aus Versuch 34 überein.

Versuch 36:

Darstellung von 1-(*tert*-Butyl)-5-[*α*,4-bis(*tert*-butoxycarbonyl)-2-nitrobenzyl]-*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-*L*-glutamat (**117**)



Unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluss werden 500 mg (1.20 mmol) *tert*-Butyl-2-brom-2-(4-*tert*-butoxycarbonyl-2-nitrophenyl)-acetat **97** und 320 mg (1.06 mmol) 1-(*tert*-Butyl)-*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-*L*-glutamat **116** in 65 ml Benzol gelöst. Dann werden 200 mg (1.31 mmol) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) zugegeben und die Reaktionsmischung 5 h zum Rückfluss erhitzt. Nach anschließendem Abkühlen auf Raumtemperatur wird die Reaktionslösung mit 40 ml Wasser und 40 ml Essigsäureethylester versetzt. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase zweimal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wird anschließend säulenchromatographisch an Kieselgel der Firma Fluka mit n-Hexan/Essigsäureethylester 4/1 gereinigt und man erhält das gewünschte Produkt in Form eines gelben Feststoffes als ein Diastereomerengemisch im Verhältnis 1:1.

$C_{31}H_{46}N_2O_{12}$ (M = 638.70 g/mol)
Ausbeute: 480 mg (0.75 mmol, 63 %)
Schmelzpunkt: 30 °C

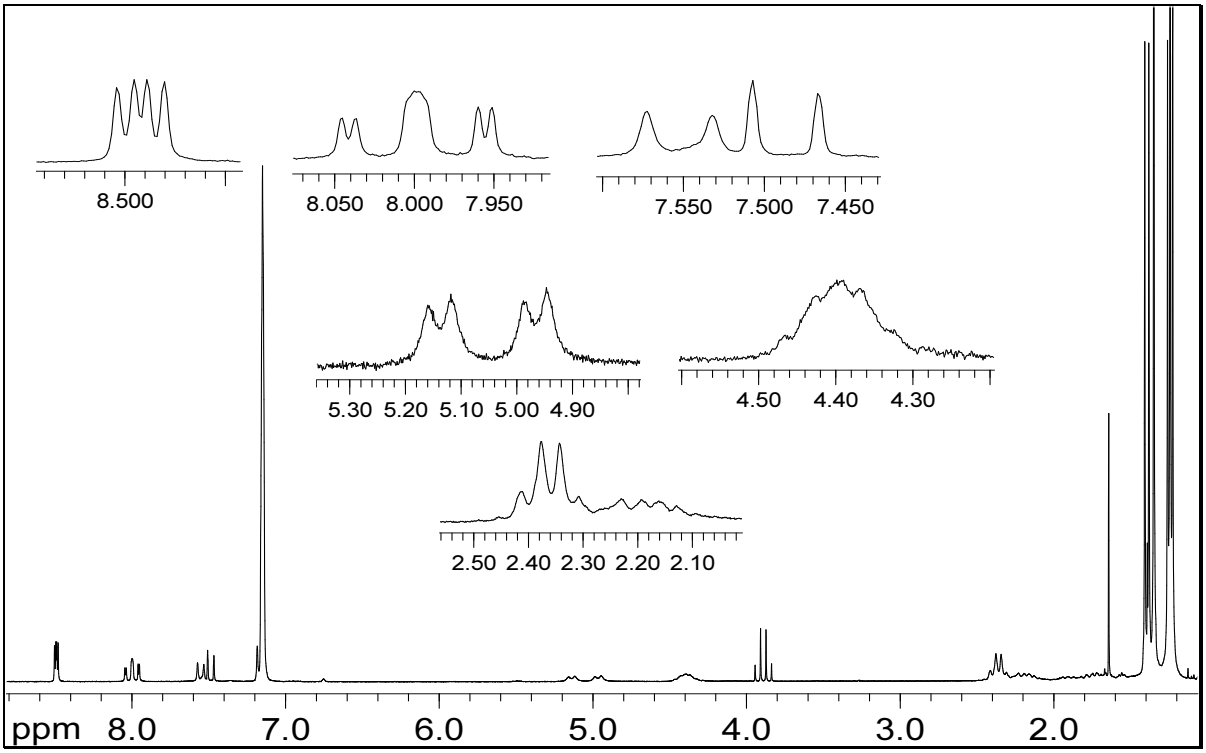


Abbildung 165: ^{1}H-NMR (200 MHz, Benzol-d_6) von **117**

^{1}H-NMR (200 MHz, Benzol-d_6): δ = 1.23-1.26 (m, 18H, *t*-Bu), 1.35-1.41 (m, 18H, *t*-Bu), 2.07-2.27 (m, 2H, 11-H), 2.31-2.41 (m, 2H, 12-H), 4.30-4.50 (m, 1H, 13-H), 4.97 & 5.14 (2d, $^{3}J_{HH}$ = 8.3 Hz & $^{3}J_{HH}$ = 7.4 Hz, -NH), 7.18 (s, 1H, 8-H), 7.46 & 7.58 (dd, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.1 Hz & $^{3}J_{HH}$ = 8.1 Hz, 4-H), 7.95-8.05 (m, 1H, 3-H), 8.48 & 8.50 (2d, 1H, $^{4}J_{HH}$ = 1.7 Hz & $^{4}J_{HH}$ = 1.7 Hz, 7-H) ppm.

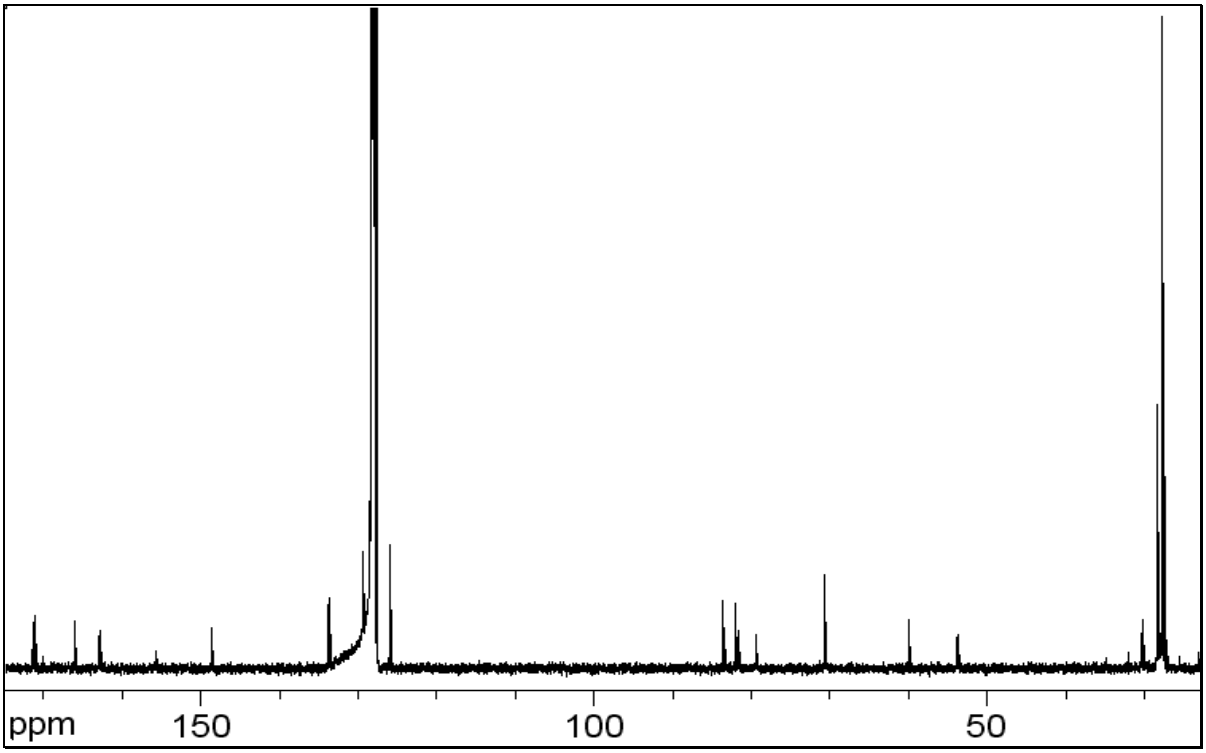


Abbildung 166: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125MHz, Benzol-d_6) von **117**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Benzol-d_6): δ = 27.20, 27.77, 27.81 & 28.36 ($C(\underline{C}H_3)_3$), 30.15 (12-C), 30.44 (11-C), 60.04 (13-C), 70.71 (8-C), 79.35, 81.59, 81.99 & 83.58 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 126.01 (7-C), 128.53 (2-C), 128.37 (4-C), 133.60 (5-C), 133.68 (3-C), 148.65 (6-C), 162.90 (15-C), 166.07 (1-C), 171.15 (14-C), 171.18 (9-C), 171.38 (10-C) ppm.

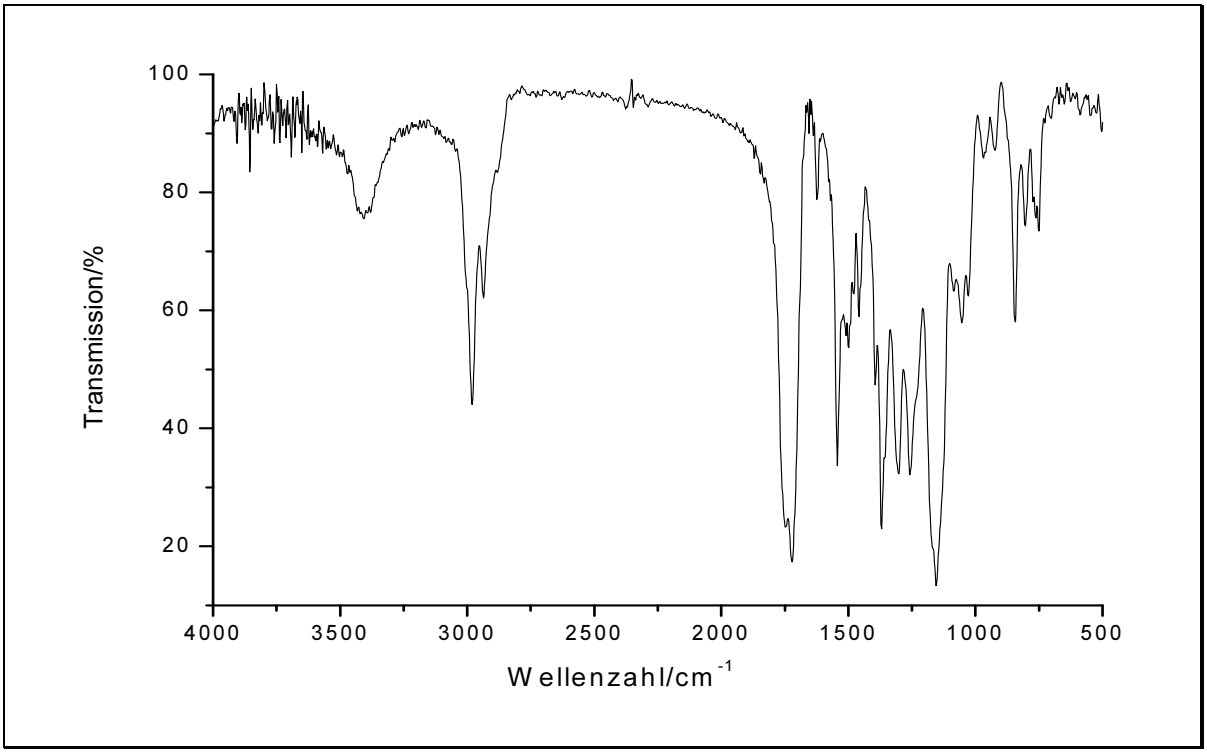


Abbildung 167: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **117**

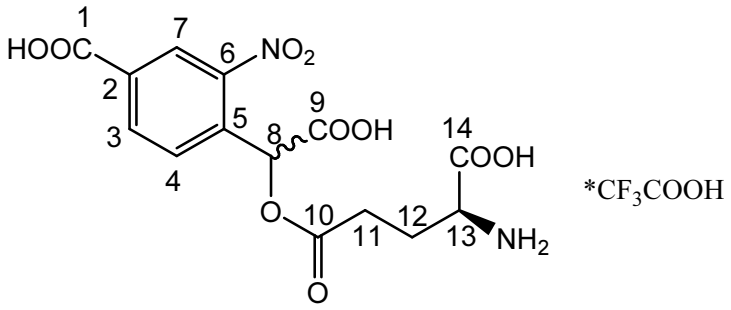
IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3404 (-N-H-Valenz), 2980 (-C-H-Valenz), 1720 (-C=O-Valenz), 1624 (Ringschwingung), 1543 (-NO_2-Valenz), 1369 (-CH_3–Deformation), 1301 (-NO_2-Valenz), 1232 (-C-N-Valenz), 1155 (-C-O-C-Valenz) cm^{-1}.

Masenspektrum (FAB + MNBA):

m/z: 661 $[M + Na]^+$, 583, 539, 527, 471, 427, 416, 415, 381, 371, 325, 224

Versuch 37:

Darstellung von 5-(*α*,4-Dicarboxy-2-nitrobenzyl)-*L*-glutamat (**118**)



Unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluss werden 357 mg (0.559 mmol) 1-(*tert*-butyl) 5-[*α*,4-bis(*tert*-butoxycarbonyl)-2-nitrobenzyl] *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-*L*-glutamat **117** in 45 ml trockenem Dichlormethan vorgelegt. Anschließend werden vorsichtig 16 ml Trifluoressigsäure zugegeben und die Reaktionsmischung 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Reaktionsende wird das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand mit 30 ml Toluol versetzt. Nach kurzem Rühren werden das Lösungsmittel und die Trifluoressigsäure unter vermindertem Druck azeotrop entfernt. Dieser Vorgang wird insgesamt fünfmal durchgeführt. Danach wird der ölige Rückstand mit Essigsäureethylester versetzt, wobei ein weißer Feststoff ausfällt. Dieser wird abfiltriert, mit Essigsäureethylester gewaschen und anschließend getrocknet. Man erhält das gewünschte Produkt in Form eines weißen Feststoffes.

$C_{14}H_{14}N_2O_{10}$*CF_3COOH (M = 484.29 g/mol)

Ausbeute: 115 mg (0.237 mmol, 42 %)

Schmelzpunkt: 116 °C Lit.[63]: 135-137 °C

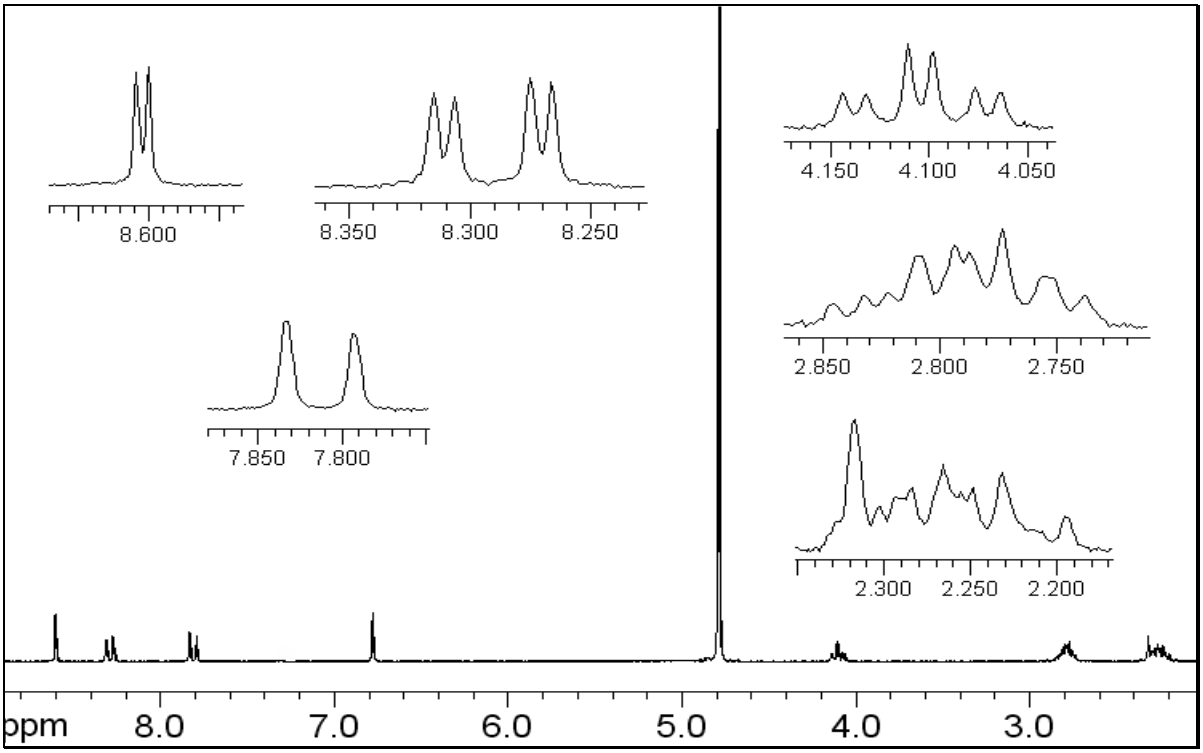


Abbildung 168: ^{1}H-NMR (200 MHz, D_2O) von **118**

^{1}H-NMR (200 MHz, D_2O): δ = 2.19-2.33 (m, 2H, 12-H), 2.74-2.85 (m, 1H, 11-H), 4.10 (dt, 2H, $^{3}J_{HH}$ = 6.8 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 2.5 Hz, 13-H), 6.78 (s, 1H, 8-H), 7.81 (d, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.0 Hz, 4-H), 8.30 (dd, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.1 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 1.8 Hz, 3-H), 8.60 (d, 1H, $^{4}J_{HH}$ = 1.7 Hz, 7-H) ppm.

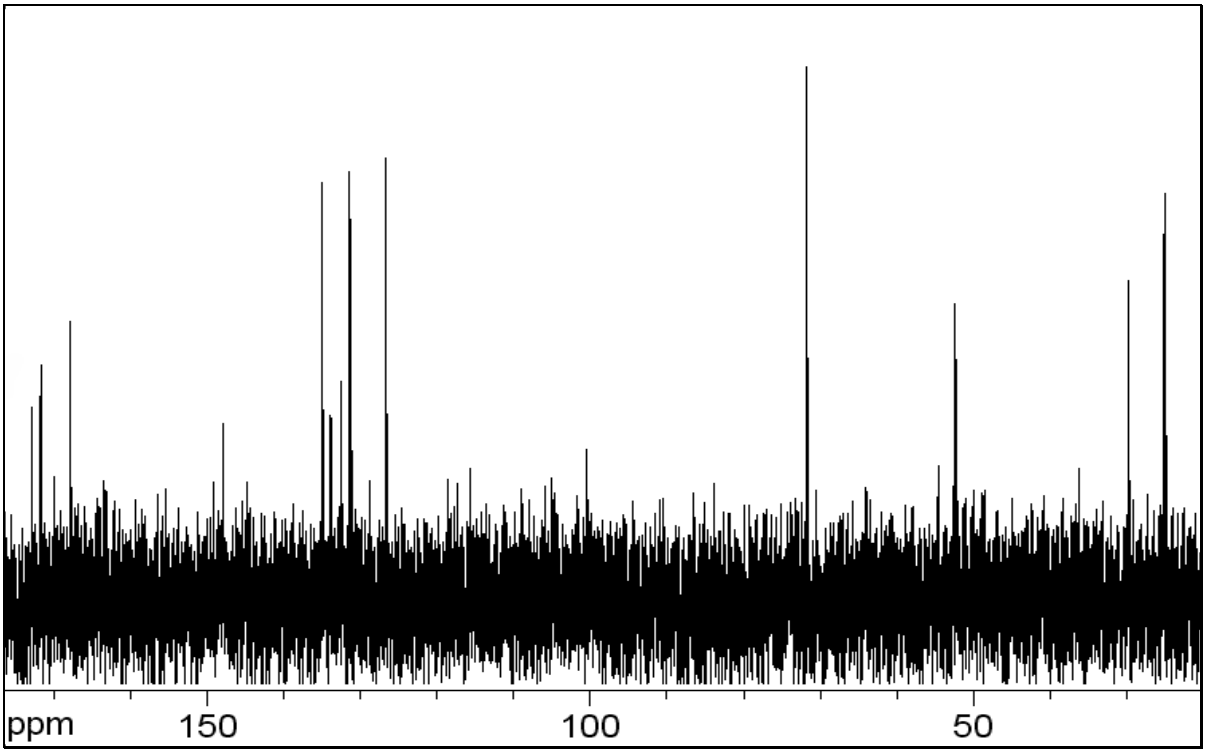


Abbildung 169: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, D_2O) von **118**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, D_2O): δ = 25.07 (11-C), 29.72 (12-C), 52.26 (13-C), 71.81 (8-C), 126.74 (7-C), 131.39 (2C), 132.60 (4-C), 133.88 (5-C), 135.02 (3-C), 147.89 (6-C), 167.89 (1-C), 171.57 (10-C), 171.83 (14-C), 172.88 (9-C) ppm.

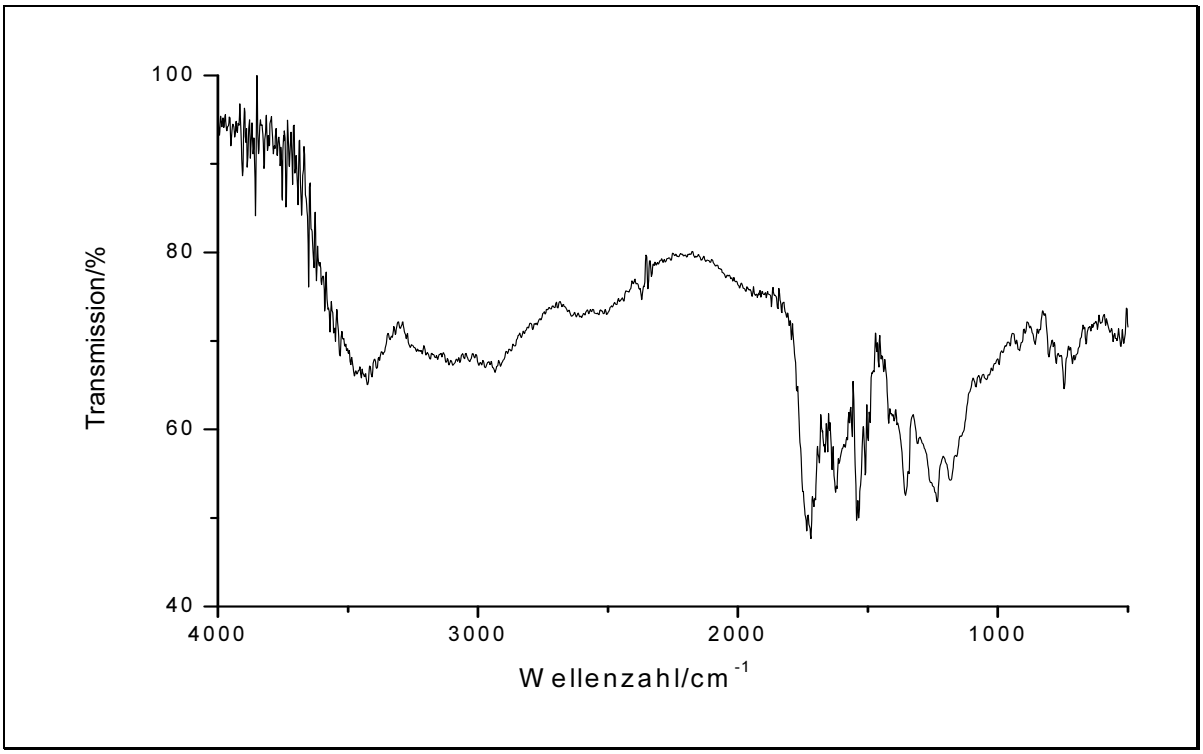


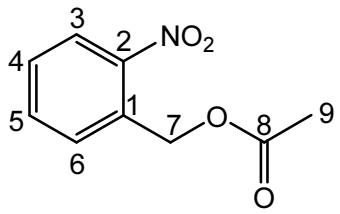
Abbildung 170: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **118**

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3427 (-N-H-Valenz), 3290-2686 (-C-H-Valenz & -O-H-Valenz), 1718 (-C=O-Valenz), 1626 (Ringschwingung), 1543 (-NO_2-Valenz), 1355 (-NO_2-Valenz), 1232 (-C-N-Valenz), 1180 (-C-O-C-Valenz) cm^{-1}.

Massenspektrum (FAB + MNBA):
m/z: 282, 226, 154, 137, 89, 57

Versuch 38:

Darstellung von 2-Nitrobenzyl-acetat (**119**)



Unter Lichtausschluss werden 5.00 g (23.1 mmol) 1-(Brommethyl)-2-nitrobenzol **69** in 40 ml Benzol vorgelegt. Nach der Zugabe von 8.0 ml (53 mmol) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) und 11.0 ml (11.5 g, 192 mmol) Eisessig wird die Reaktionslösung 5 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt mit 100 ml Wasser versetzt. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 50 ml Chloroform extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel anschließend im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch mit Chloroform als Laufmittel gereinigt und man erhält das gewünschte Produkt in Form eines hellgelben Öles, welches durch Lagerung bei 4 °C zu einem hellgelben Feststoff auskristallisiert.

$C_9H_9NO_4$ (M = 195.17 g/mol)
Ausbeute: 2.48 g (12.7 mmol, 55 %)
Schmelzpunkt: 35 °C Lit.[35]: 37 °C

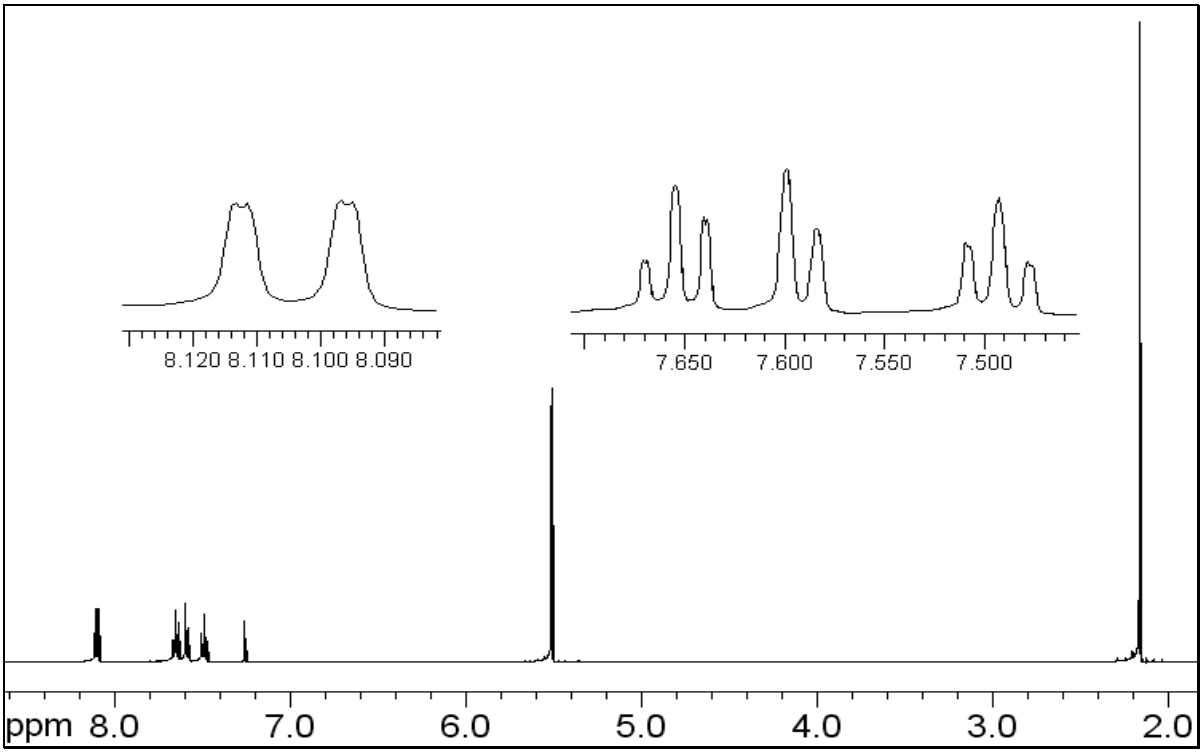


Abbildung 171: ^{1}H-NMR (500 MHz, Deuterochloroform) von **119**

^{1}H-NMR (500 MHz, Deuterochloroform): δ = 2.16 (s, 3H, 9-H), 5.51 (s, 2H, 7-H), 7.48 – 7.67 (m, 3H, 4-H, 5-H, 6-H), 8.10 (dd, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.2 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 0.9 Hz, 3-H) ppm.

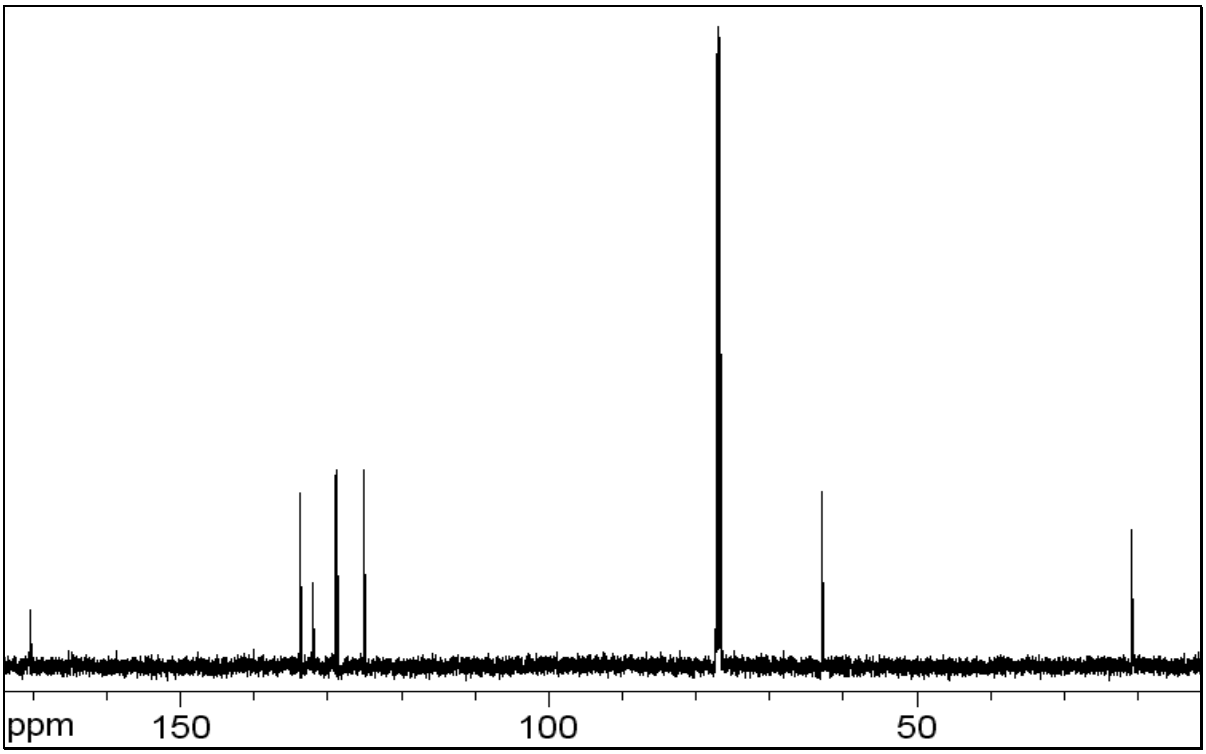


Abbildung 172: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform) von **119**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform): δ = 20.77 (9-C), 62.03 (7-C), 125.05 (3-C), 128.76 (6-C), 129.03 (4-C), 132.11 (1-C), 133.69 (5-C), 147.59 (2-C), 170.34 (8-C) ppm.

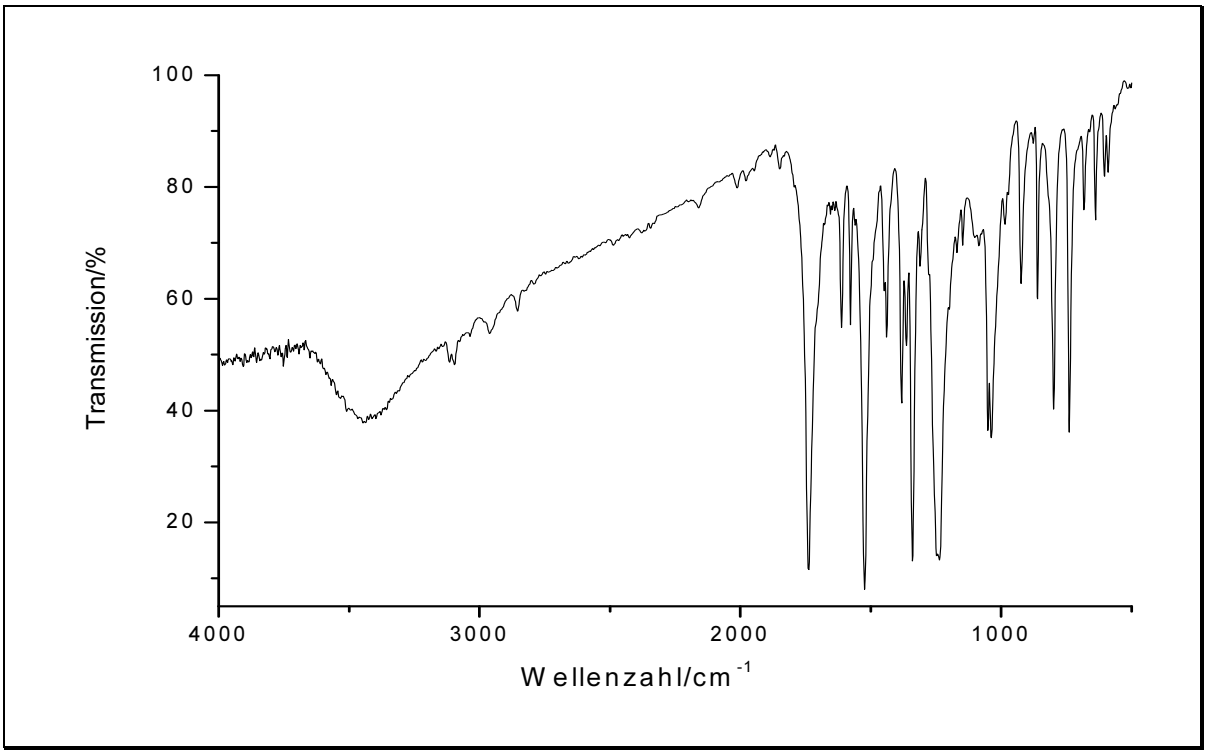


Abbildung 173: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **119**

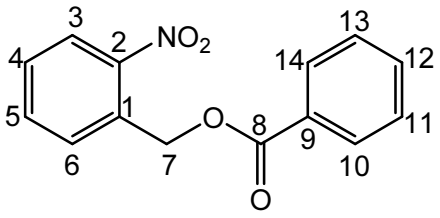
IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3095 (=C-H-Valenz), 2961 (-C-H-Valenz), 2855 (-CH_2-Valenz), 1738 (-C=O-Valenz), 1611 (Ringschwingung), 1524 (-NO_2-Valenz), 1440 (-CH_2- & -CH_3-Deformation), 1381 (-CH_3-Deformation), 1341 (-NO_2-Valenz), 1236 & 1036 (-C-O-C-Valenz), 739 (=C-H-Deformation, 1,2-disubstituierter Aromat) cm^{-1}.

Massenspektrum (GC/MS):

m/z (%)**:** 152 (1), 150 (9), 149 (76), 137 (2), 136 (18), 135 (65), 120 (8), 107 (98), 105 (22), 91 (100), 89 (25), 77 (70), 76 (19), 75 (5), 56 (80), 51 (39), 40 (22)

Versuch 39:

Darstellung von 2-Nitrobenzylbenzoat (**120**)



Unter Lichtausschluss werden 2.00 g (9.26 mmol) 1-(Brommethyl)-2-nitrobenzol **69** in 40 ml Benzol vorgelegt. Nach der Zugabe von 3.20 ml (21.2 mmol) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) und 8.94 g (73.2 mmol) Benzoesäure wird die Reaktionslösung 8 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt mit 40 ml Wasser versetzt. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 50 ml Chloroform extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel anschließend unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch mit Chloroform als Laufmittel gereinigt und man erhält das gewünschte Produkt in Form hellgelber Kristalle.

$C_{14}H_{11}NO_4$ (M = 257.24 g/mol)
Ausbeute: 0.784 g (3.05 mmol, 33 %)
Schmelzpunkt: 89 °C Lit.[35]: 93-95 °C

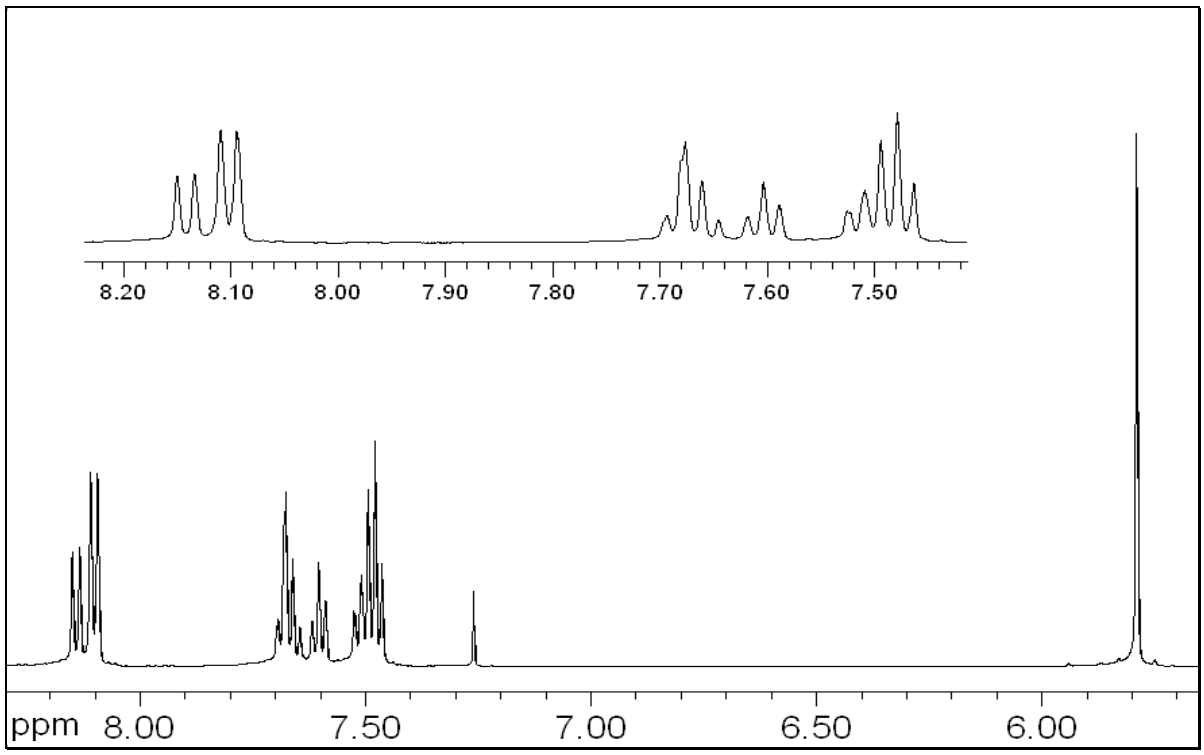


Abbildung 174: ^{1}H-NMR (500 MHz, Deuterochloroform) von **120**

^{1}H-NMR (500 MHz, Deuterochloroform): δ = 5.79 (s, 2H, 7-H), 7.46-7.53 (m, 3H, 6-H, 11-H, 13-H), 7.59 – 7.62 (m, 1H, 12-H), 7.65-7.69 (m, 2H, 4-H, 5-H), 8.10 (d, 2H, ^{3}J=7.5 Hz, 10-H, 14-H), 8.14 (d, 1H, ^{3}J=8.2 Hz, 3-H) ppm.

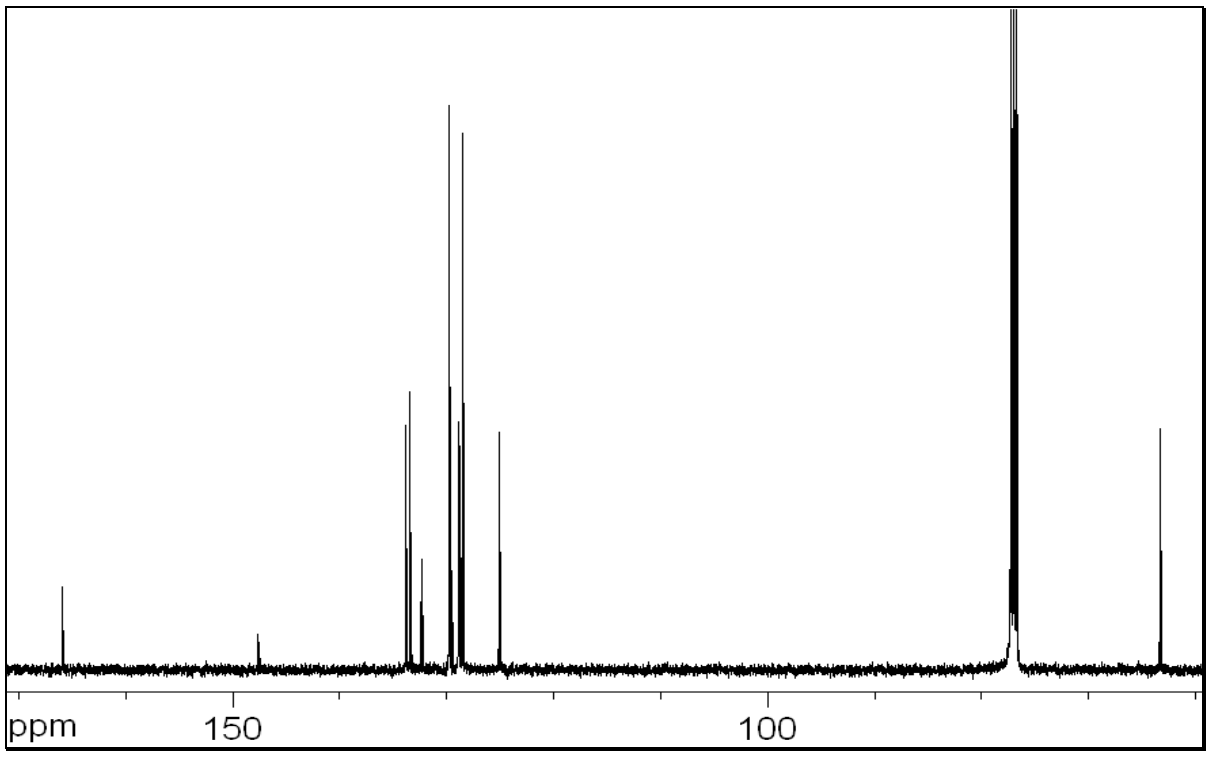


Abbildung 175: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform) von **120**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform): δ = 63.33 (7-C), 125.11 (3-C), 128.54 (6-C), 128.78 (4-C), 128.89 (11-C, 13.C), 129.54 (9-C), 129.76 (10-C, 14-C), 132.36 (12-C), 133.39 (5-C), 133.78 (1-C), 147.59 (2-C), 165.91 (8-C) ppm.

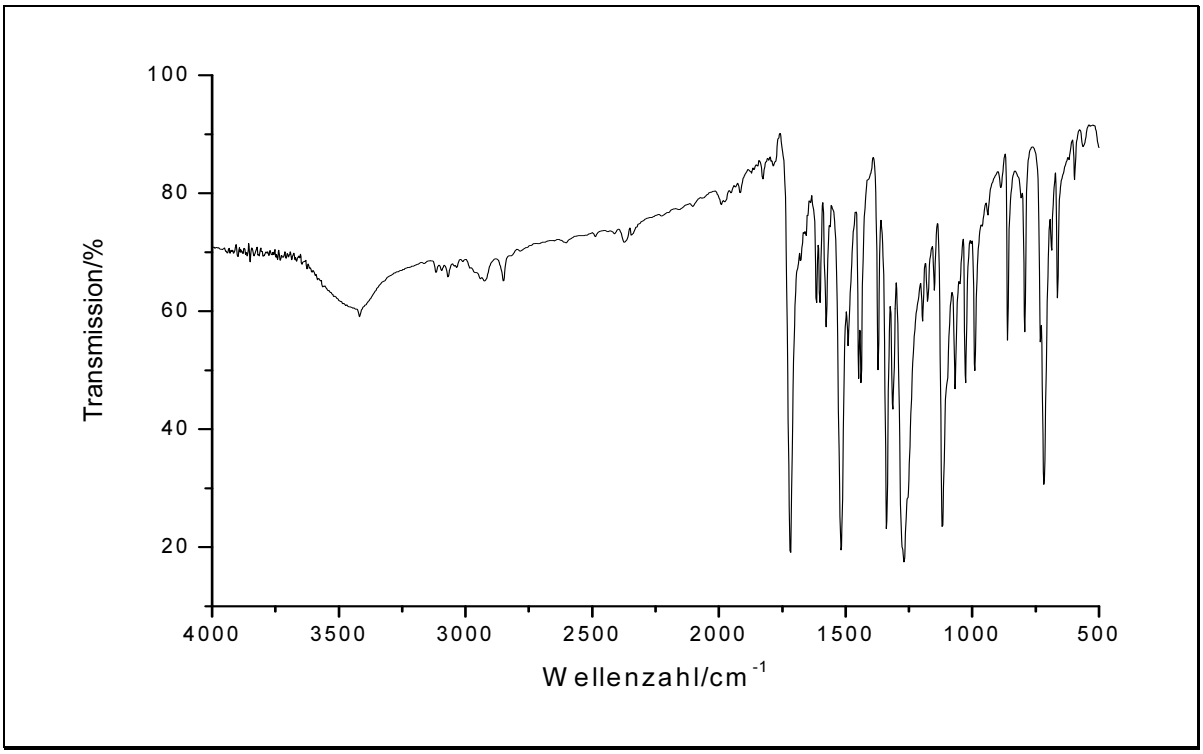


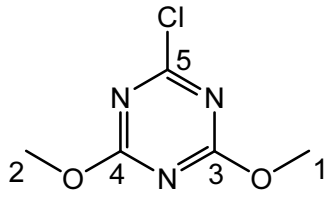
Abbildung 176: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **120**

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 1718 (-C=O-Valenz), 1615 (Ringschwingung), 1518 (-NO_2-Valenz), 1449 (-CH_2-Deformation), 1339 (-NO_2-Valenz), 1270 & 1118 (-C-O-C-Valenz), 717 (=C-H-Deformation, 1,2-disubstituierter Aromat) cm^{-1}.

Massenspektrum (EI, Pt.: 50 °C):
m/z (%)**:** 257[M^+] (1), 211 (15), 135 (21), 105 (100), 77 (28), 51 (7), 40 (9)

Versuch 40:

Darstellung von 2-Chlor-4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin (**127**)



Es werden 100 ml Methanol, 10 ml Wasser und 23.86 g (284.0 mmol) Natriumhydrogencarbonat suspendiert und unter Eiskühlung portionsweise mit 26.19 g (142.0 mmol) Cyanurchlorid **126** versetzt. Nach beendeter Zugabe wird die Reaktionslösung für 7 h bei 30 °C gerührt. Dann wird die Lösung in 600 ml Dichlormethan aufgenommen und die organische Phase solange mit Wasser gewaschen bis die wässrige Phase neutral ist. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wird abschließend aus Petrolether (40-60 °C) umkristallisiert und das erhaltene Produkt im Vakuum getrocknet.

$C_5H_6ClN_3O_2$ (M = 175.57 g/mol)

Ausbeute: 17.13 g (97.57 mmol, 78 %) Lit.[65]: 80 %

Schmelzpunkt: 69 °C Lit.[65]: 73-75 °C

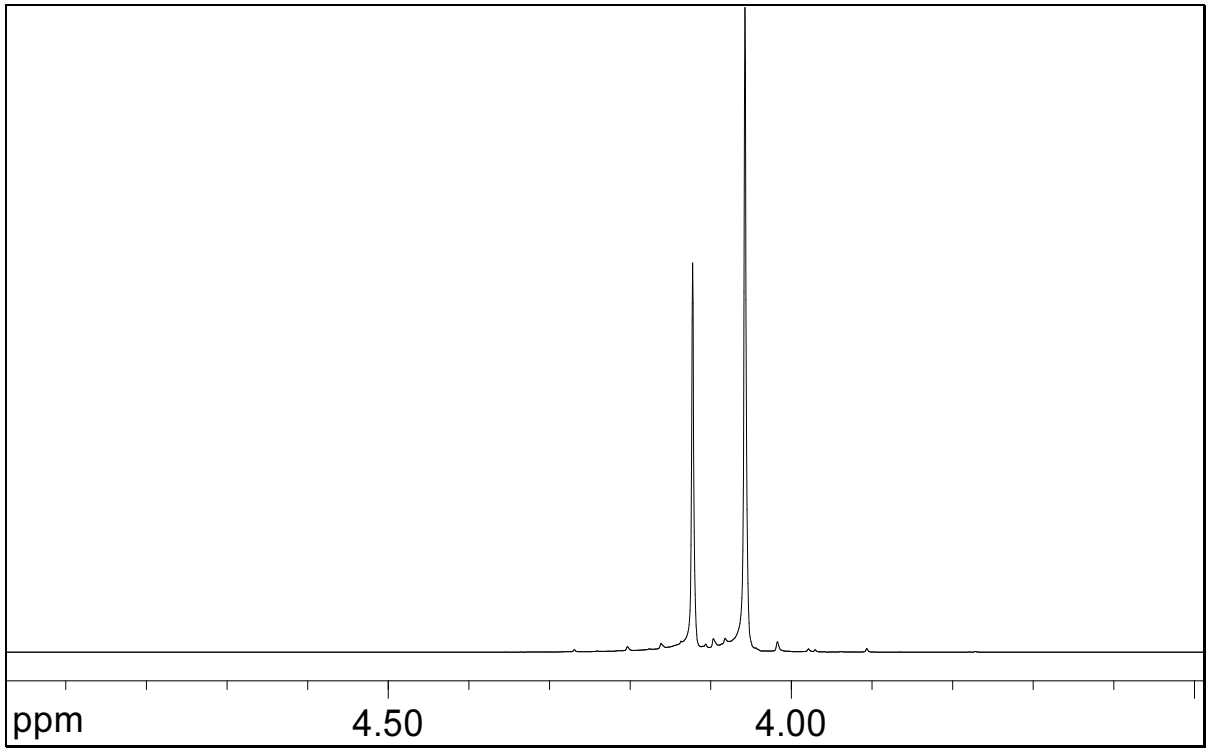


Abbildung 177: ^{1}H-NMR (500 MHz, Deuterochloroform) von **127**

^{1}H-NMR (500 MHz, Deuterochloroform): δ = 4.06 & 4.12(2s, 6H, 1-H, 2-H) ppm.

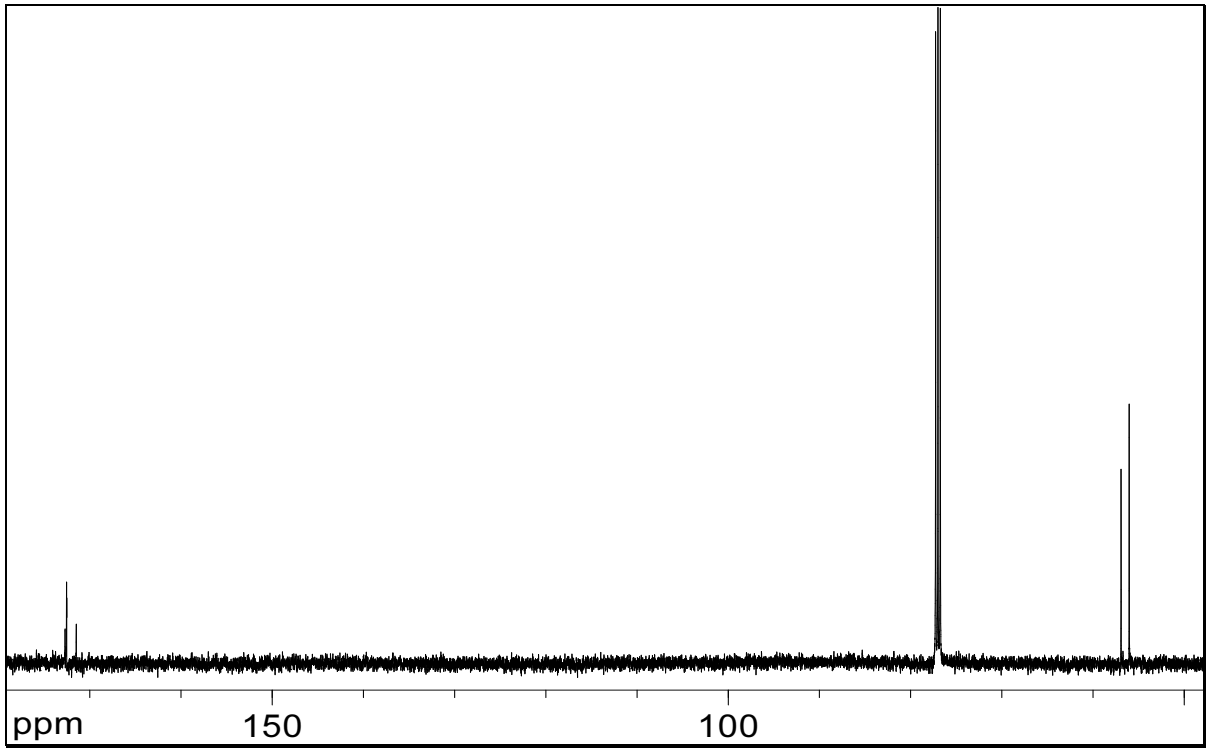


Abbildung 178: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform) von **127**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform): δ = 56.03 & 56.92 (1-C, 2-C), 171.48 (5-C), 172.54 & 172.70 (3-C, 4-C) ppm.

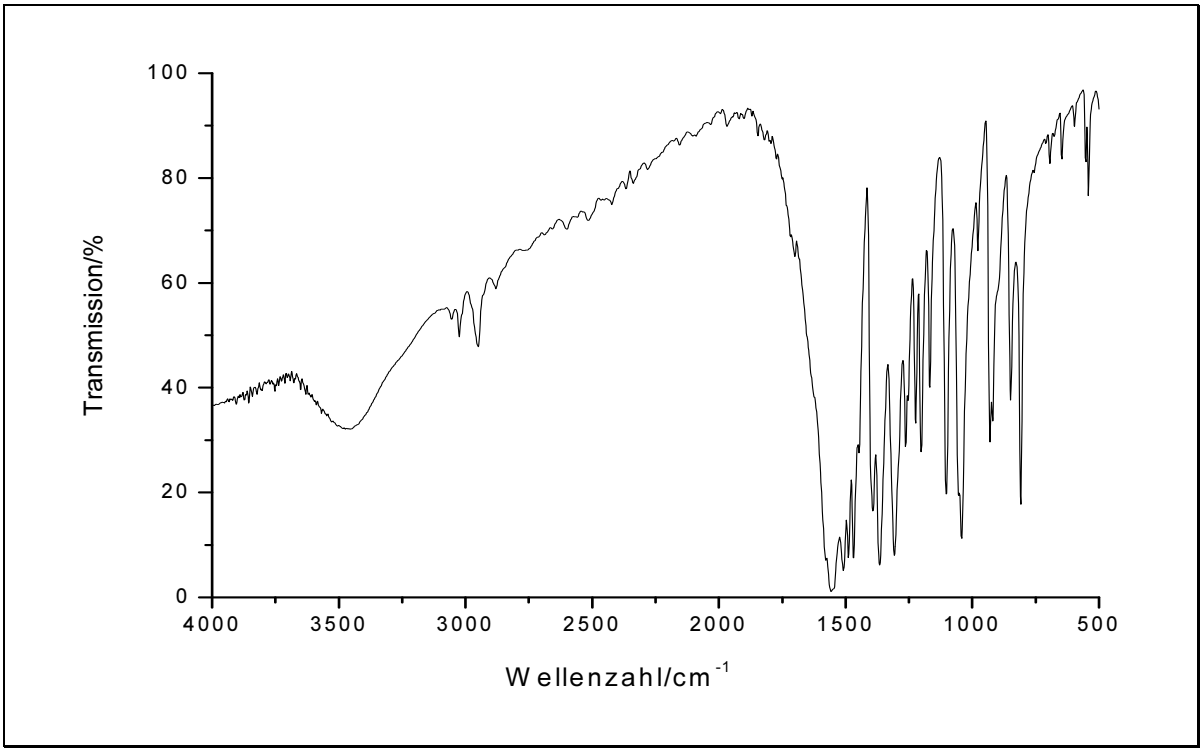


Abbildung 179: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **127**

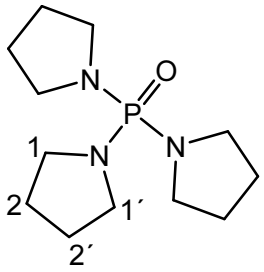
IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 2954 (-CH_3-Valenz),1559 (Ringschwingung), 1470 (-CH_3-Deformation), 1367 &1307 (-C-N-Valenz), 1201 (-C-O-Valenz), 809 (-C-Hal-Valenz) cm^{-1}.

Massenspektrum (GC/MS, RT: 5.50):

m/z: 175 $[M]^+$, 174, 162, 160, 148, 147, 145, 132, 130, 119, 117, 115, 105, 70, 58, 56, 42

Versuch 41:

Darstellung von Tripyrrolidinophosphinoxid (**132**)



100 ml wasserfreies Benzol, 13.11 g (129.6 mmol) Triethylamin und 9.21 g (129 mmol) Pyrrolidin **131** werden auf 0 °C abgekühlt. Zu dieser Lösung werden 14.90 g (97.16 mmol) Phosphorylchlorid so zugegeben, dass eine Innentemperatur von 5 °C nicht überschritten wird. Nach vollständiger Zugabe wird die Reaktionslösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das ausfallende Salz wird abfiltriert, das Filtrat eingeengt und im Vakuum fraktioniert destilliert.

$C_{12}H_{24}N_3OP$ (M = 257.32 g/mol)
Siedebereich: 42 °C bei $4*10^{-3}$ mbar
Ausbeute: 2.68 g (10.4 mmol, 24 %) Lit.[81]: 46 %

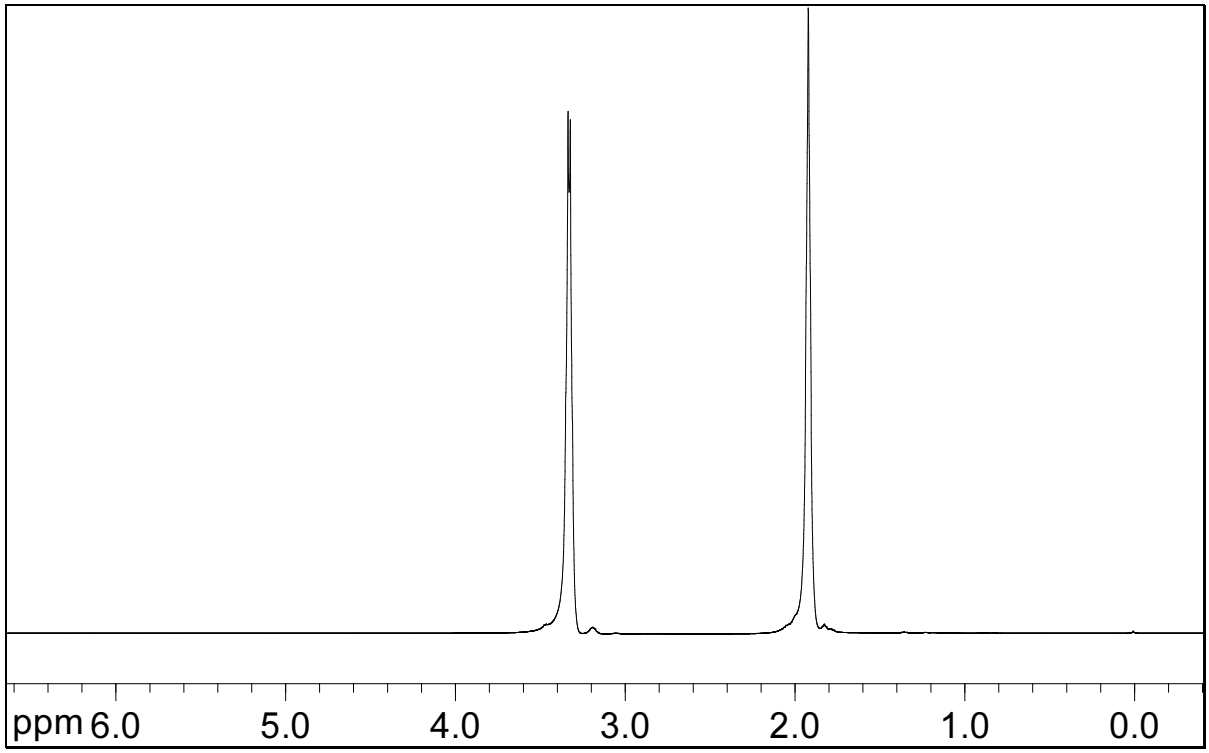


Abbildung 180: ^{1}H-NMR (500 MHz, Deuterochloroform) von **132**

^{1}H-NMR (500 MHz, Deuterochloroform): δ = 1.89-1.95 (m, 12H, 2-H, 2´-H), 3.30-3.36 (m, 12H, 1-H, 1´-H) ppm.

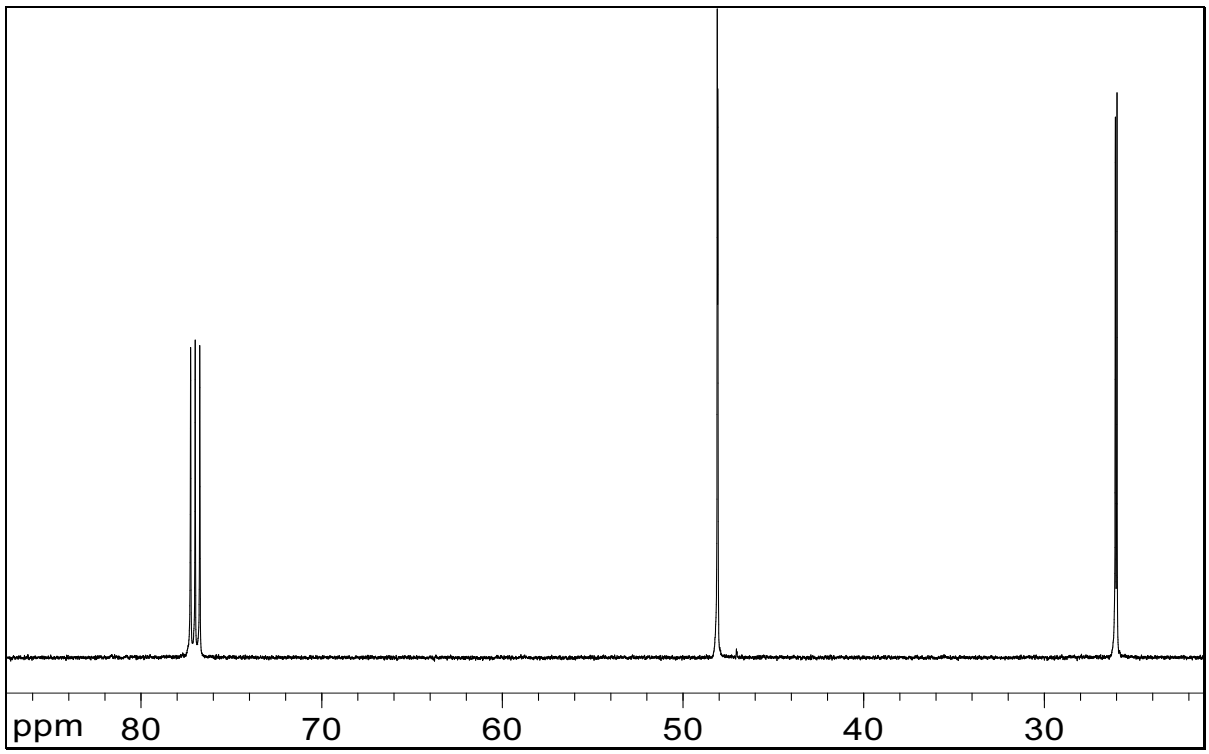


Abbildung 181: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform) von **132**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform): δ = 26.02 (2-C, 2´-C), 48.08 (1-C, 1´-C) ppm.

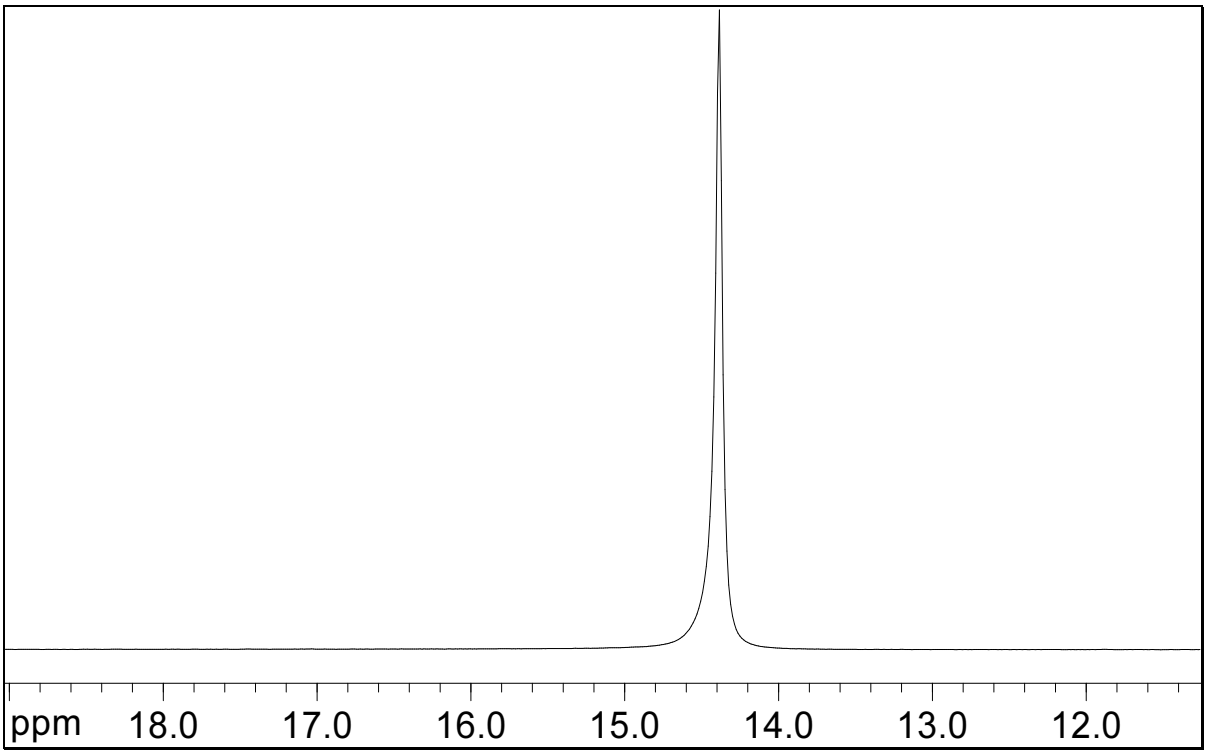
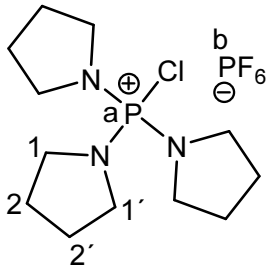


Abbildung 182: ^{31}P-NMR (81 MHz, Chloroform-d) von **132**

^{31}P-NMR (81 MHz, Chloroform-d): δ = 14.39 ppm.

Versuch 42:

Darstellung von Chlortripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (**133**)



1.53 g (9.98 mmol) Phosphorylchlorid werden in 20 ml Dichlormethan vorgelegt und unter Eiskühlung tropfenweise mit 2.53 g (9.83 mmol) Tripyrrolidinophosphinoxid **132**, gelöst in 15 ml Dichlormethan, versetzt. Nach beendeter Zugabe wird die Reaktionslösung 30 min bei Raumtemperatur gerührt, bevor 1.84 g (10.0 mmol) Kaliumhexafluorophosphat, gelöst in 100 ml Wasser, zugegeben werden. Anschließend wird die Lösung dreimal mit je 40 ml Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird entfernt und das Rohprodukt aus Eisessig umkristallisiert.

$C_{12}H_{24}ClF_6N_3P_2$ (M = 421.73 g/mol)

Ausbeute: 1.72 g (4.08 mmol, 42 %) Lit.[81]: 87 %

Schmelzpunkt: 144 °C Lit.[72]: 150-151 °C

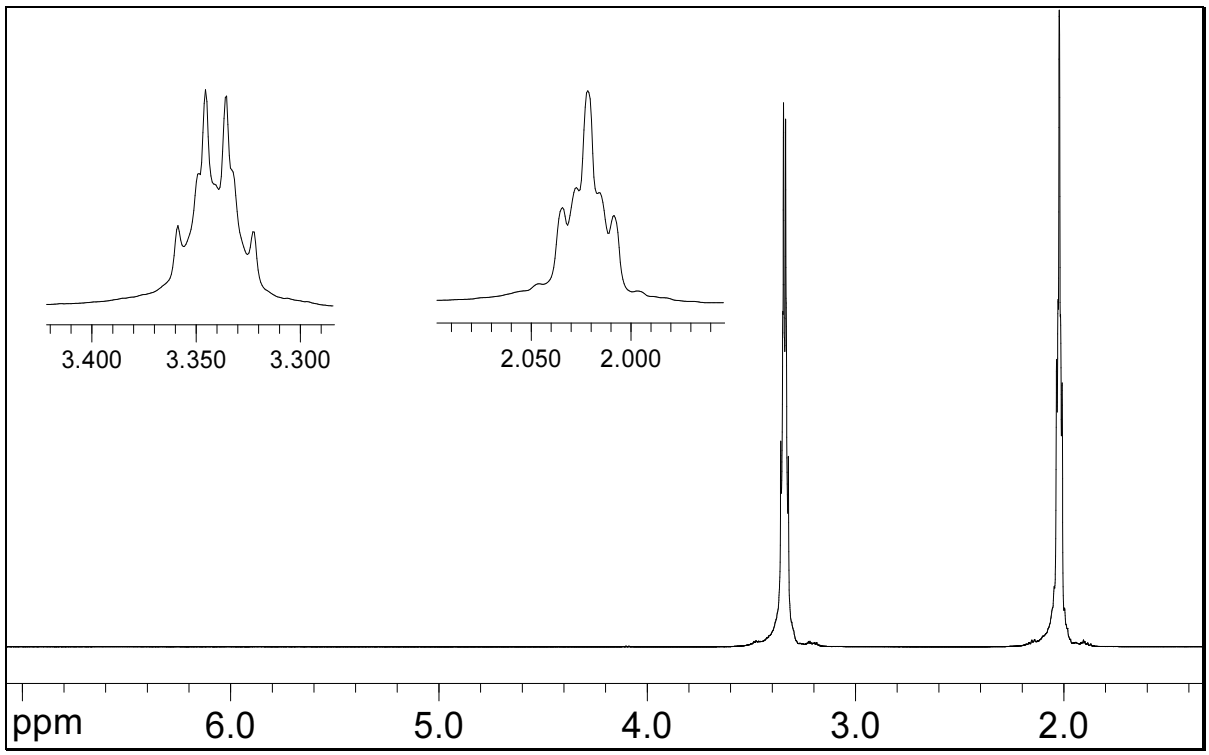


Abbildung 183: ^{1}H-NMR (500 MHz, Deuterochloroform) von **133**

^{1}H-NMR (500 MHz, Deuterochloroform): δ = 2.01-2.03 (m, 12H, 2-H, 2´-H), 3.32-3.36 (m, 12H, 1-H, 1´-H) ppm.

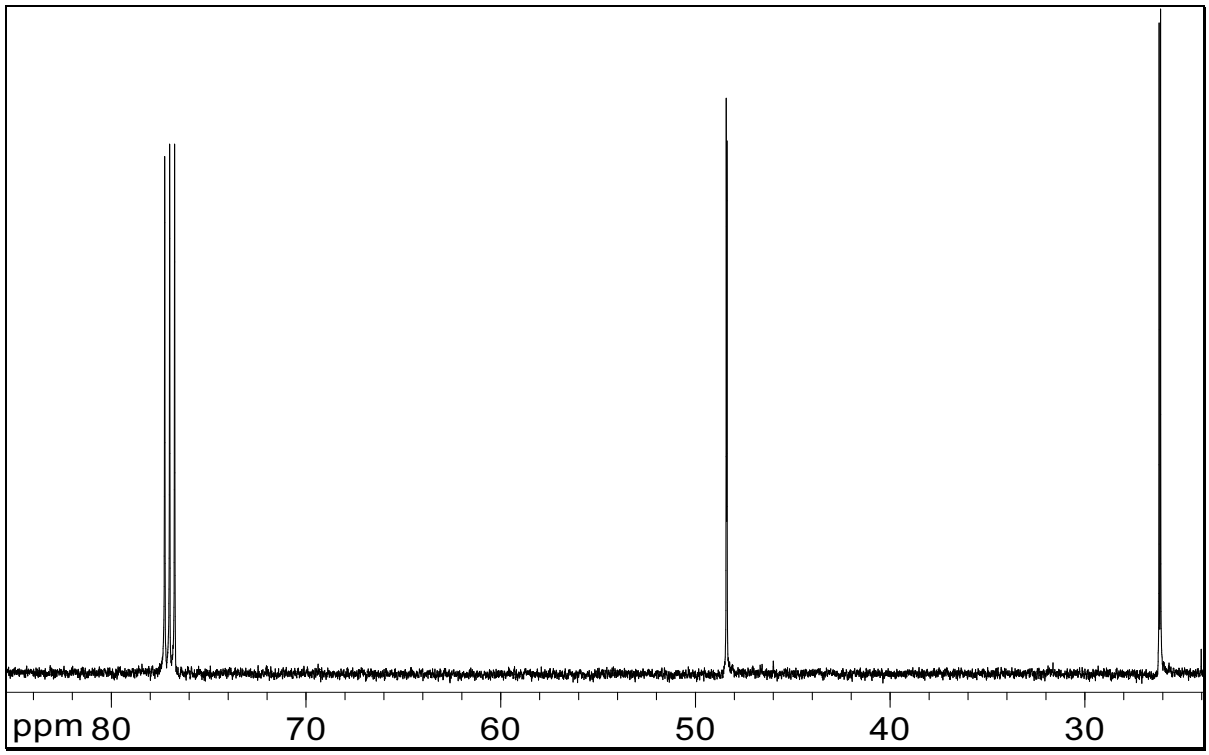


Abbildung 184: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform) von **133**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform): δ = 26.15 (2-C, 2´-C), 48.39 (1-C, 1´-C) ppm.

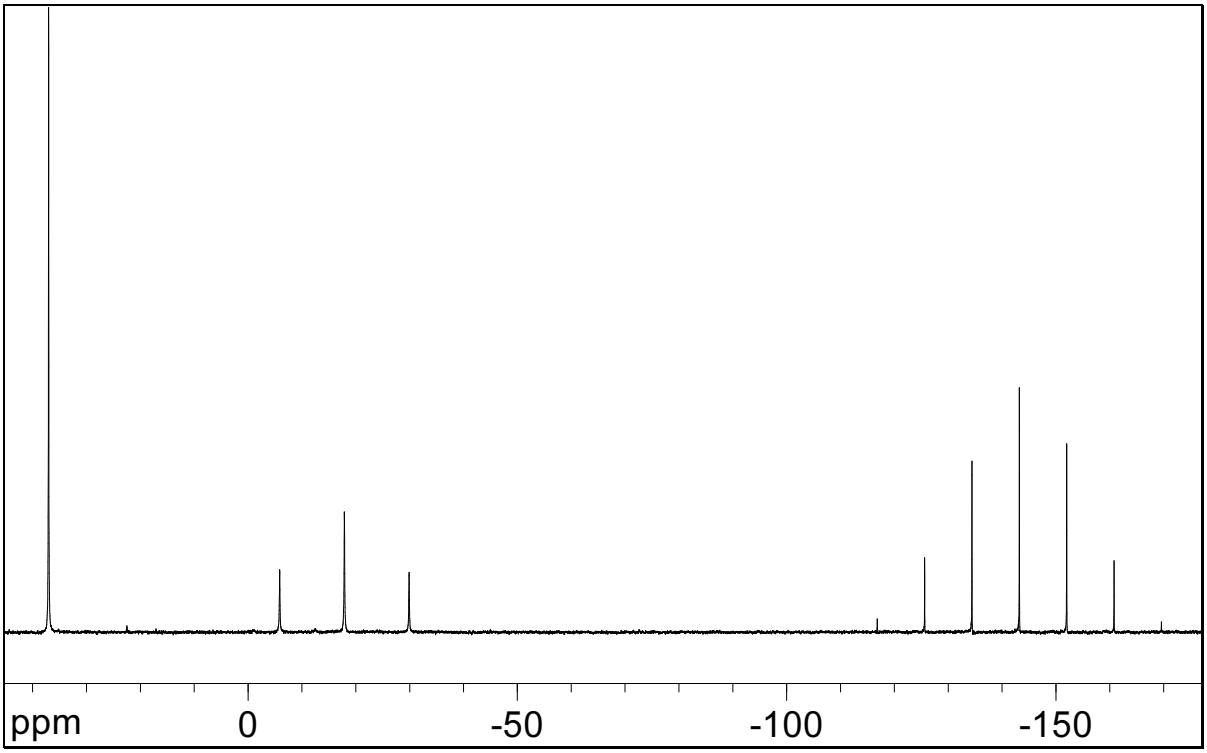


Abbildung 185: ^{31}P-NMR (81 MHz, Deuterochloroform) von **133**

^{31}P-NMR (81 MHz, Deuterochloroform): δ = -143.22 (sept, b-P, $^{1}J_{PF}$ = 712.3 Hz), 37.02 (s, a-P) ppm.

Im ^{31}P-NMR ist neben den für die untersuchte Verbindung charakteristischen Linien auch ein Triplett mit einer chemischen Verschiebung von -18 ppm zu erkennen. Dabei handelt es sich wahrscheinlich um ein Zerfallsprodukt, da diese Linien auch im Spektrum von käuflich erworbenem PyCloP auftreten.

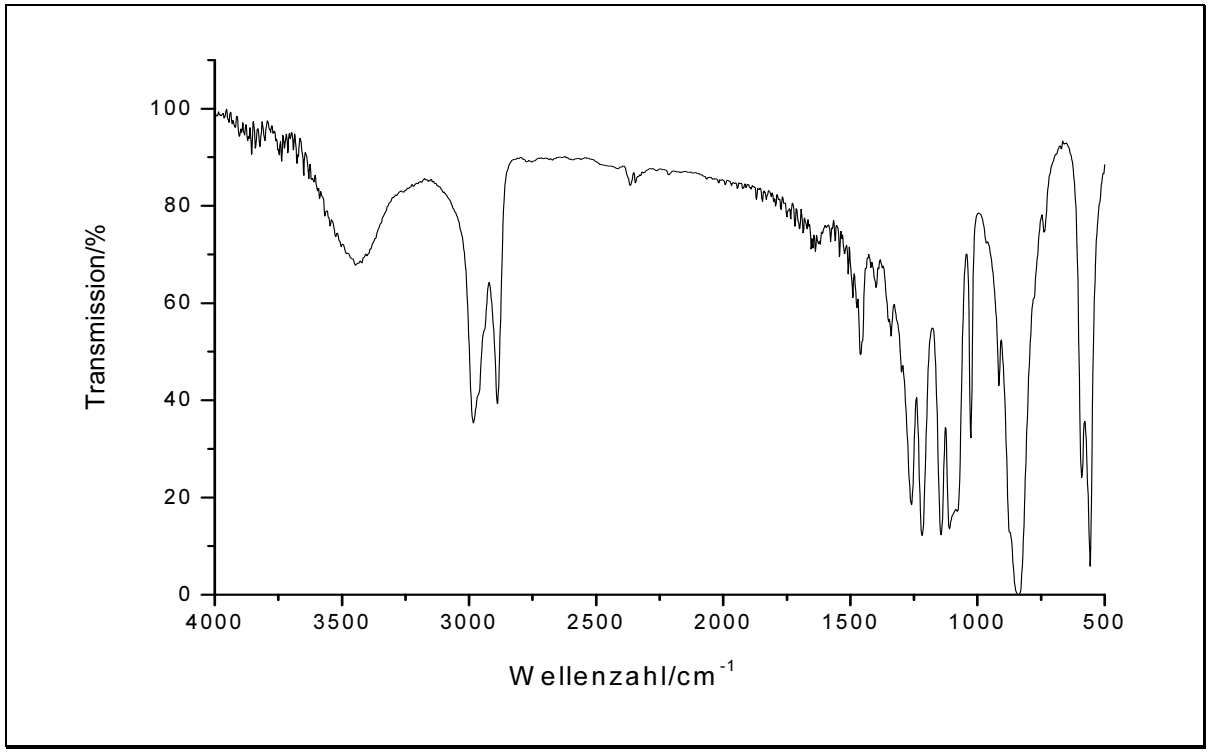


Abbildung 186: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **133**

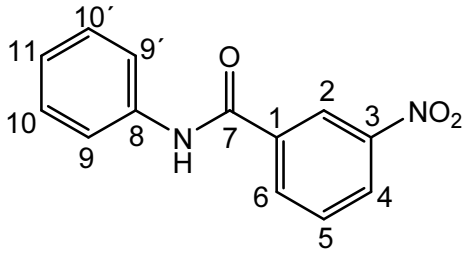
IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 2983 & 2888 (-C-H-Valenz), 1460 (-CH_2-Deformation), 1218 & 1143 & 1111 (-C-N-Valenz), 836 (-C-P-Valenz) cm^{-1}.

Massenspektrum (EI, Pt: 100 °C):

m/z: 421 $[M]^+$, 278, 277 $[M\text{-}PF_6]^+$,236, 234, 222, 171, 138, 136

Versuch 43:

Darstellung von 3-Nitro-*N*-phenylbenzamid (**138**)



Unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluss werden 500 mg (2.99 mmol) 3-Nitrobenzoesäure **137**, 270 mg (2.90 mmol) Anilin **135**, 615 mg (3.50 mmol) CDMT **127**, 405 mg (4.00 mmol) *N*-Methylmorpholin und 200 mg (1.64 mmol) *N,*N-Dimethylaminopyridin (DMAP) in 25 ml trockenem Dichlormethan gelöst und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit wird die Reaktionslösung mit 50 ml verdünnter Schwefelsäure hydrolysiert und die wässrige Phase dreimal mit je 50 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit je 30 ml gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Durch anschließende Lagerung bei 4 °C kristallisiert ein Feststoff aus, welcher abfiltriert und im Vakuum getrocknet wird. Zur weiteren Aufreinigung wird der erhaltene Feststoff in 200 ml Essigsäureethylester aufgenommen und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Der nichtlösliche Rückstand wird abfiltriert und das Filtrat säulenchromatographisch mit Essigsäureethylester als Laufmittel gereinigt.

$C_{13}H_{10}N_2O_3$ (M = 242.23 g/mol)
Ausbeute: 0.396 g (1.63 mmol, 55 %)
Schmelzpunkt: 146 °C

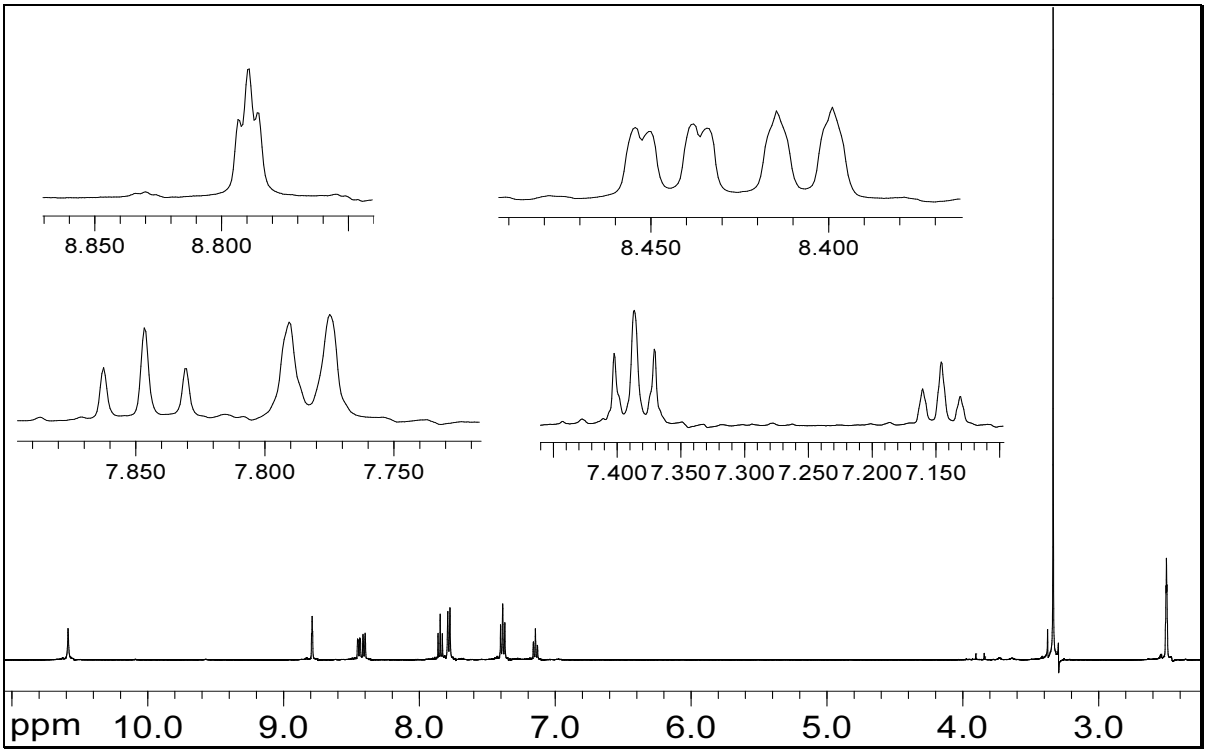


Abbildung 187: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6) von **138**

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ = 7.15 (t, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 7.4 Hz, 11-H), 7.39 (t, 2H, $^{3}J_{HH}$ = 7.9 Hz, 10-H, 10´-H), 7.78 (d, 2H, $^{3}J_{HH}$ = 7.9 Hz, 9-H, 9´-H), 7.85 (t, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.0 Hz, 5-H), 8.41 (d, 1H, $^{3}J_{HH}$ =7.8 Hz, 4-H), 8.44 (dd, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.1 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 2.1 Hz, 6-H), 8.79 (t, 1H, $^{4}J_{HH}$ = 1.9 Hz, 2-H), 10.59 (s, 1H, NH) ppm.

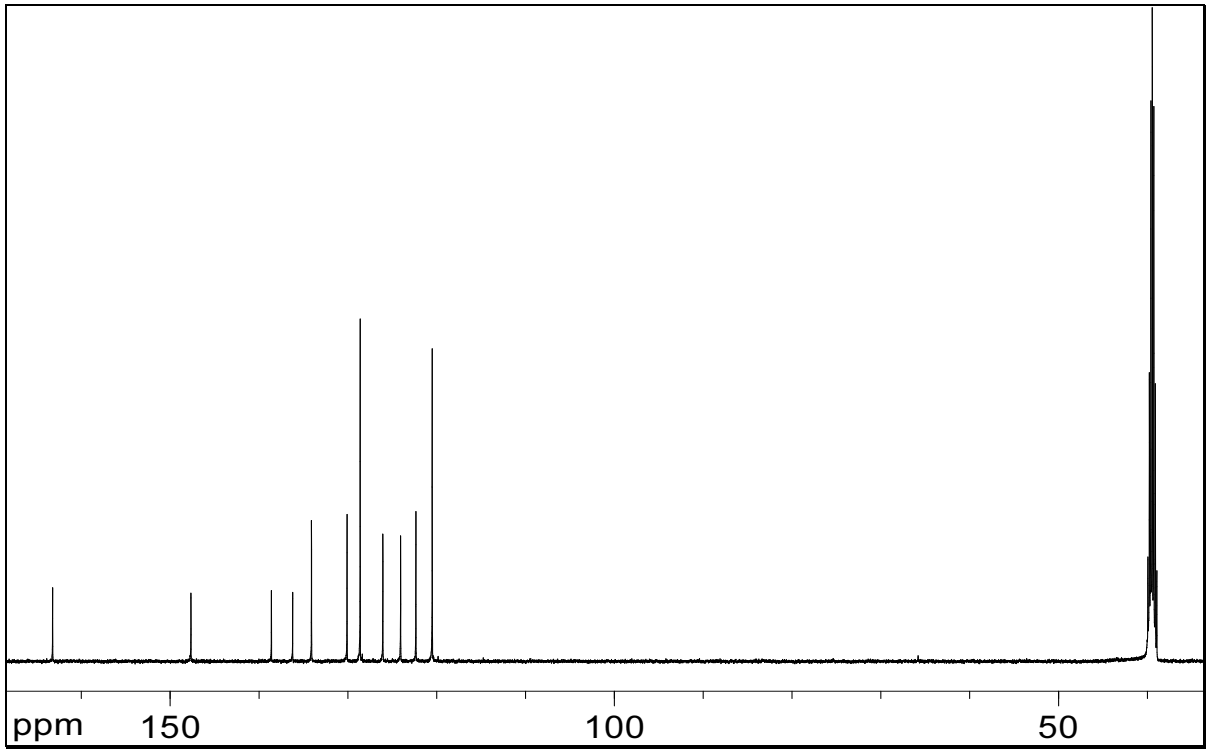


Abbildung 188: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6) von **138**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6): δ = 120.50 (9-C, 9´-C), 122.33 (2-C), 124.05 (11-C), 126.06 (4-C), 128.61 (10-C, 10´-C), 130.06 (5-C), 134.09 (6-C), 136.21 (1-C), 138.60 (8-C), 147.66 (3-C), 163.23 (7-C) ppm.

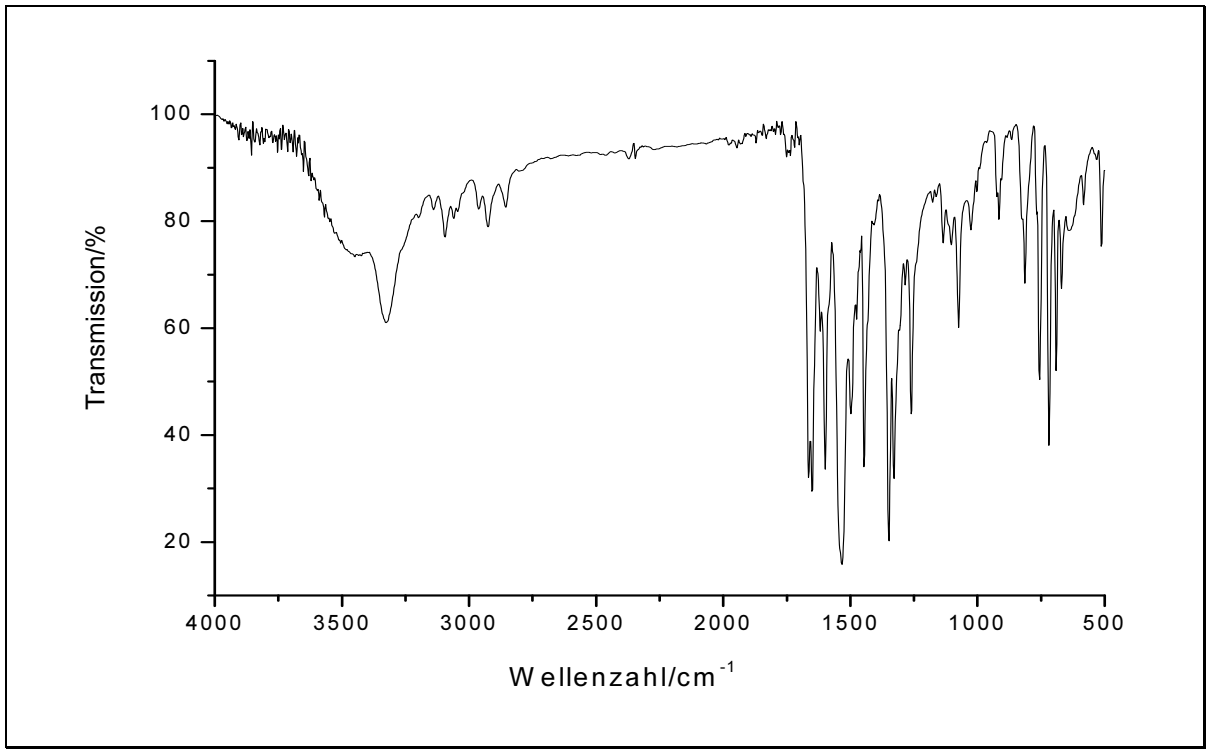


Abbildung 189: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **138**

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3327 (-N-H-Valenz), 3095 (=C-H-Valenz), 2925 (-C-H-Valenz), 1751 (-C=O-Valenz), 1650 (-N-H-Deformation), 1599 (Ringschwingung), 1533 & 1349 (-NO_2-Valenz), 1261 (-C-N-Valenz) cm^{-1}.

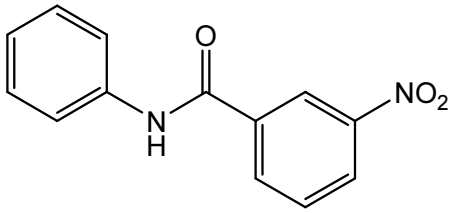
Massenspektrum (EI, Pt.: 170 °C):
m/z: 242 $[M]^+$, 181, 165, 150, 121, 104, 93, 84, 77, 65, 52, 40

C-H-N-Elementaranalyse:

%C: 64.03	Theorie:	%C: 64.46
%H: 4.58		%H: 4.16
%N: 11.38		%N: 11.56

Versuch 44:

Darstellung von 3-Nitro-*N*-phenylbenzamid (**138**)



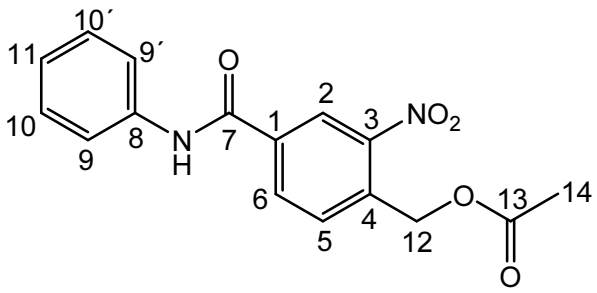
Unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluss werden 500 mg (2.99 mmol) 3-Nitrobenzoesäure **137**, 270 mg (2.90 mmol) Anilin **135**, 1.48 g (3.51 mmol) PyCloP **133** und 905 mg (7.00 mmol) *N,N*-Diisopropylethylamin (DIEA) in 25 ml trockenem Dichlormethan gelöst und 4 d bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit wird die Reaktionslösung mit 50 ml verdünnter Schwefelsäure hydrolysiert und die wässrige Phase dreimal mit je 50 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit je 30 ml gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Durch anschließende Lagerung bei 4 °C kristallisiert das gewünschte Produkt nach einigen Tagen aus.

$C_{13}H_{10}N_2O_3$ (M = 242.23 g/mol)
Ausbeute: 0.141 g (0.582 mmol, 20 %)

Die spektroskopischen Daten stimmen mit jenen aus Versuch 43 überein.

Versuch 45:

Darstellung von 4-(Acetoxymethyl)-3-nitro-*N*-phenylbenzamid (**139**)



Unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluss werden 718 mg (3.00 mmol) 4-(Acetoxymethyl)-3-nitrobenzoesäure **112**, 279 mg (3.00 mmol) Anilin **135**, 615 mg (3.50 mmol) CDMT **127**, 405 mg (4.00 mmol) N-Methylmorpholin und 200 mg (1.64 mmol) Dimethylaminopyridin (DMAP) in 25 ml trockenem Dichlormethan gelöst und 5 d bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit wird die Reaktionslösung mit 50 ml verdünnter Schwefelsäure hydrolysiert und die wässrige Phase dreimal mit je 50 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit je 30 ml gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Durch anschließende Lagerung bei 4 °C kristallisiert das gewünschte Produkt aus.

$C_{16}H_{14}N_2O_5$ (M = 314.29 g/mol)
Ausbeute: 0.925 g (2.94 mmol, 98 %)
Schmelzpunkt: 132 °C

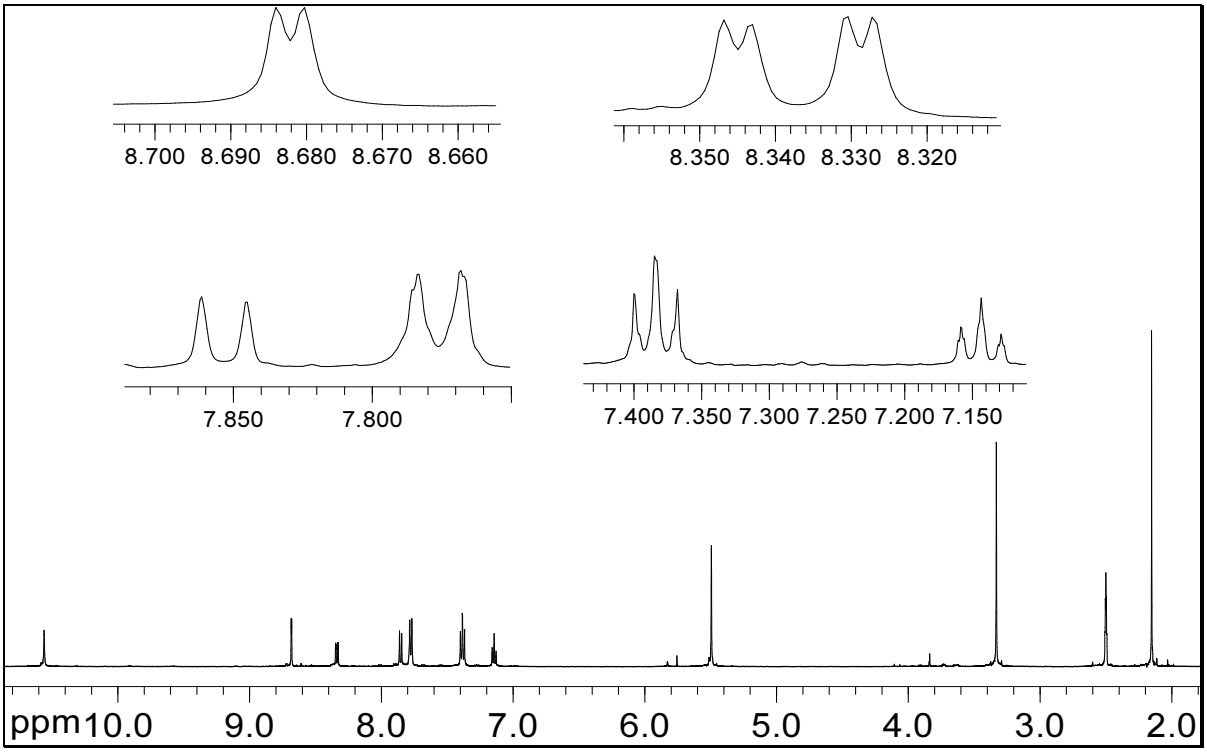


Abbildung 190: ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6) von **139**

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ = 2.15 (s, 3H, 14-H), 5.50 (s, 2H, 12-H), 7.14 (t, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 7.4 Hz, 11-H), 7.38 (t, 2H, $^{3}J_{HH}$ = 7.5 Hz, 10-H, 10´-H), 7.78 (d, 2H, $^{3}J_{HH}$ = 8.1 Hz, 9-H, 9´-H), 7.85 (d, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.1 Hz, 5-H), 8.34 (dd, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.1 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 1.8 Hz, 6-H), 8.68 (d, 1H, $^{4}J_{HH}$ = 1.8 Hz, 2-H), 10.56 (s, 1H, NH) ppm.

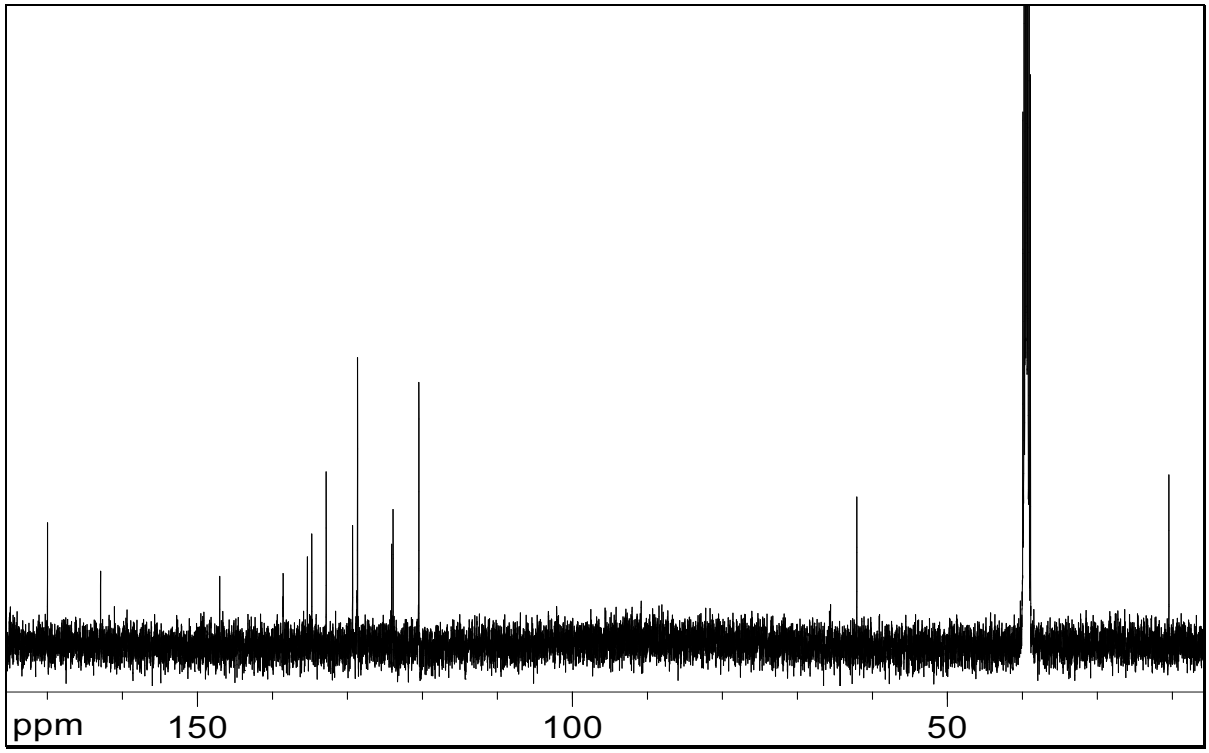


Abbildung 191: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6) von **139**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, DMSO-d_6): δ = 20.46 (14-C), 62.07 (12-C), 120.47 (9-C, 9´-C), 123.90 (2-C), 124.09 (11-C), 128.64 (10-C, 10´-C), 129.30 (5-C), 132.83 (6-C), 134.74 (1-C), 135.33 (8-C), 138.57 (4-C), 147.02 (3-C), 162.90 (7-C), 169.98 (13-C) ppm.

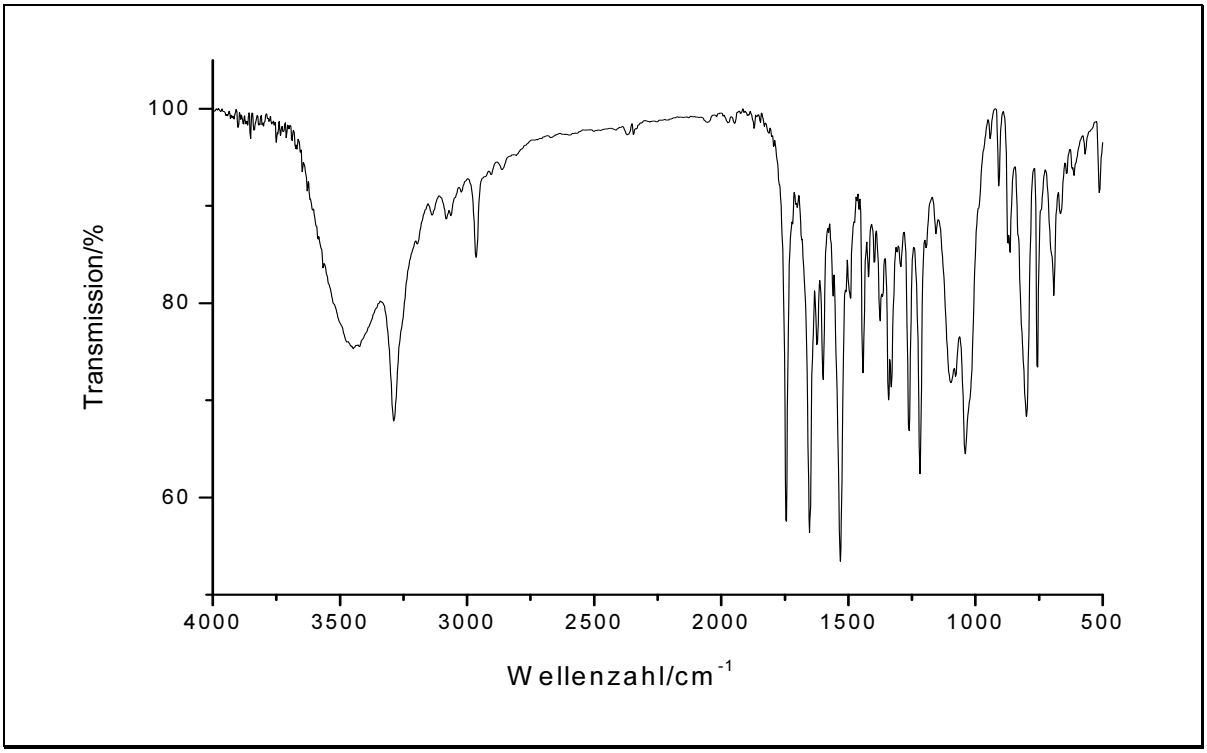


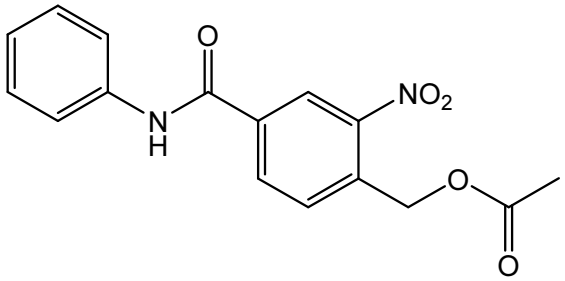
Abbildung 192: IR-Spektrum (KBr-Pressling) von **139**

IR (KBr-Pressling): $\tilde{\nu}$ = 3288 (-N-H-Valenz), 2964 (-C-H-Valenz), 1745 (-C=O-Valenz), 1653 (-N-H-Deformation), 1599 (Ringschwingung), 1532 & 1342 ($-NO_2$-Valenz), 1443 ($-CH_3$- & $-CH_2$-Deformation), 1262 (-C-N-Valenz), 1218 (-C-O-C-Valenz) cm^{-1}.

Massenspektrum (EI, Pt.: 170 °C):
m/z: 314 $[M]^+$, 287, 257, 256, 244, 242, 230, 222, 180, 162, 151, 132,
77, 43

Versuch 46:

Darstellung von 4-(Acetoxymethyl)-3-nitro-*N*-phenylbenzamid (**139**)



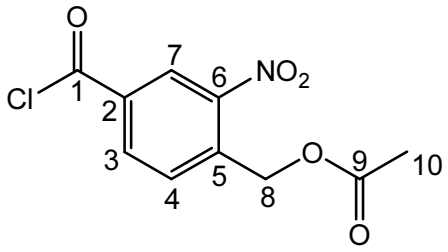
Unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluss werden 718 mg (3.00 mmol) 4-(Acetoxymethyl)-3-nitrobenzoesäure **112**, 279 mg (3.00 mmol) Anilin **135**, 1.48 g (3.51 mmol) PyCloP **133** und 905 mg (7.00 mmol) *N,N*-Diisopropylethylamin (DIEA) in 25 ml trockenem Dichlormethan gelöst und 4 d bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit wird die Reaktionslösung mit 50 ml verdünnter Schwefel säure hydrolysiert und die wässrige Phase dreimal mit je 50 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit je 30 ml ge sättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Durch anschließende Lagerung bei 4 °C kristallisiert das gewünschte Produkt nach einigen Tagen aus.

$C_{16}H_{14}N_2O_5$ (M = 314.29 g/mol)
Ausbeute: 0.826 g (2.63 mmol, 88 %)

Die spektroskopischen Daten stimmen mit jenen aus Versuch 45 überein.

Versuch 47:

Darstellung von 4-(Chlorcarbonyl)-2-nitrobenzyl-acetat (**140**)



Unter Lichtausschluss werden 1.02 g (4.26 mmol) 4-(Acetoxymethyl)-3-nitrobenzoesäure **112** und 1.5 ml (2.46 g, 20.6 mmol) Thionylchlorid solange zum Rückfluss erhitzt bis keine Gasentwicklung mehr erkennbar ist. Sodann wird das Reaktionsgemisch im Wasserstrahlvakuum unter Verwendung eines Kaliumhydroxid-Trockenturmes von überschüssigem Thionylchlorid befreit und man erhält das gewünschte Produkt in Form eines orange-gelben Öles. Eine weitere Aufreinigung ist nicht erforderlich.

$C_{10}H_8ClNO_5$ (M = 257.63 g/mol)
Ausbeute: 1.02 g (3.96 mmol, 93 %)

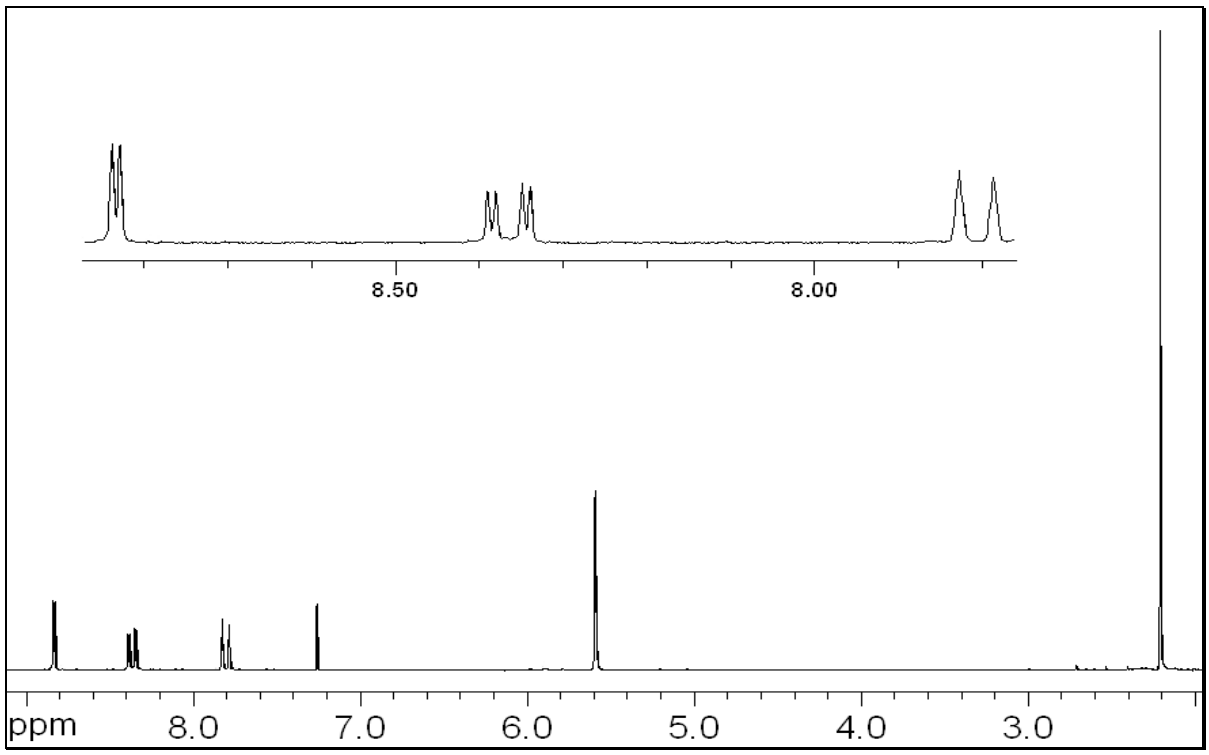


Abbildung 193: ^{1}H-NMR(200MHz, Deuterochloroform) von **140**

^{1}H-NMR (200 MHz, Deuterochloroform): δ = 2.21 (s, 3H, 10-H), 5.59 (s, 2H, 8-H), 7.81 (d, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.3 Hz, 4-H), 8.36 (dd, 1H, $^{3}J_{HH}$ = 8.3 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 1.9 Hz, 3-H), 8.83 (d, 1H, $^{4}J_{HH}$ = 1.9 Hz, 7-H) ppm.

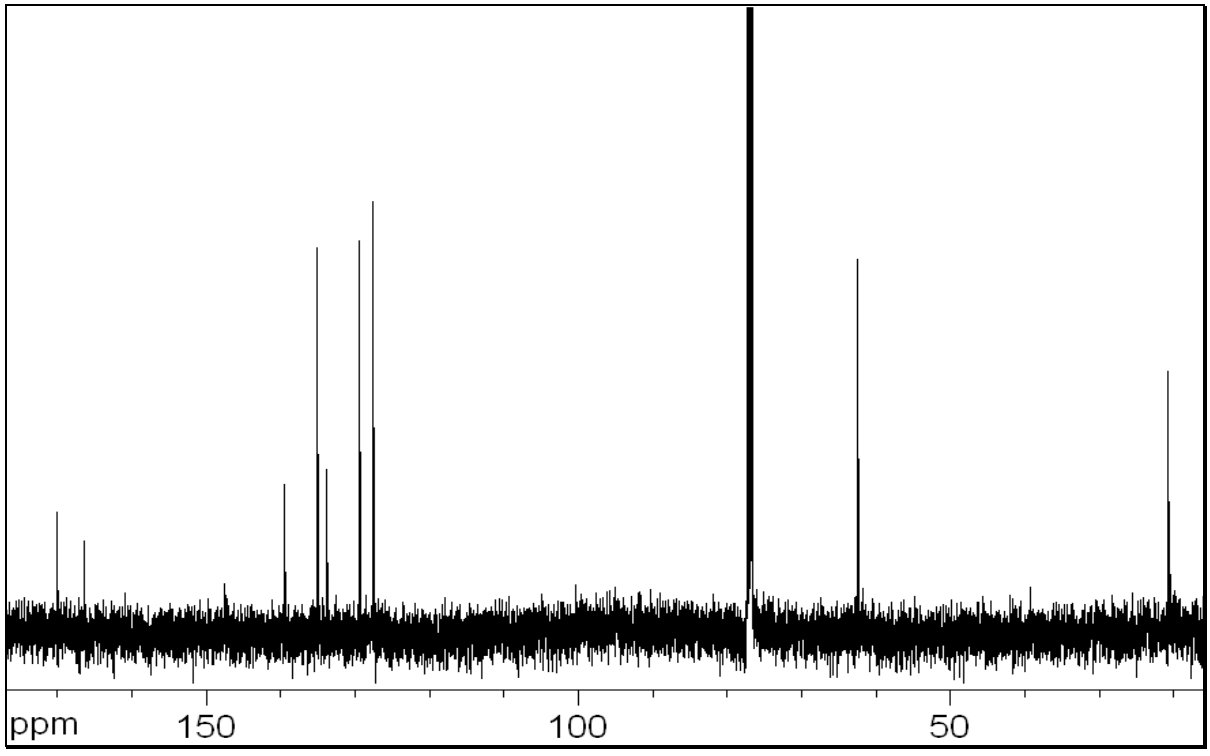


Abbildung 194: ^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform) von **140**

^{13}C-{^{1}H}-NMR (125 MHz, Deuterochloroform): δ = 20.70 (10-C), 62.44 (8-C), 127.62 (7-C), 129.43 (4-C), 133.82 (2-C),135.13 (3-C),139.49 (5-C), 147.49 (6-C), 166.32 (1-C), 170.04 (9-C) ppm.

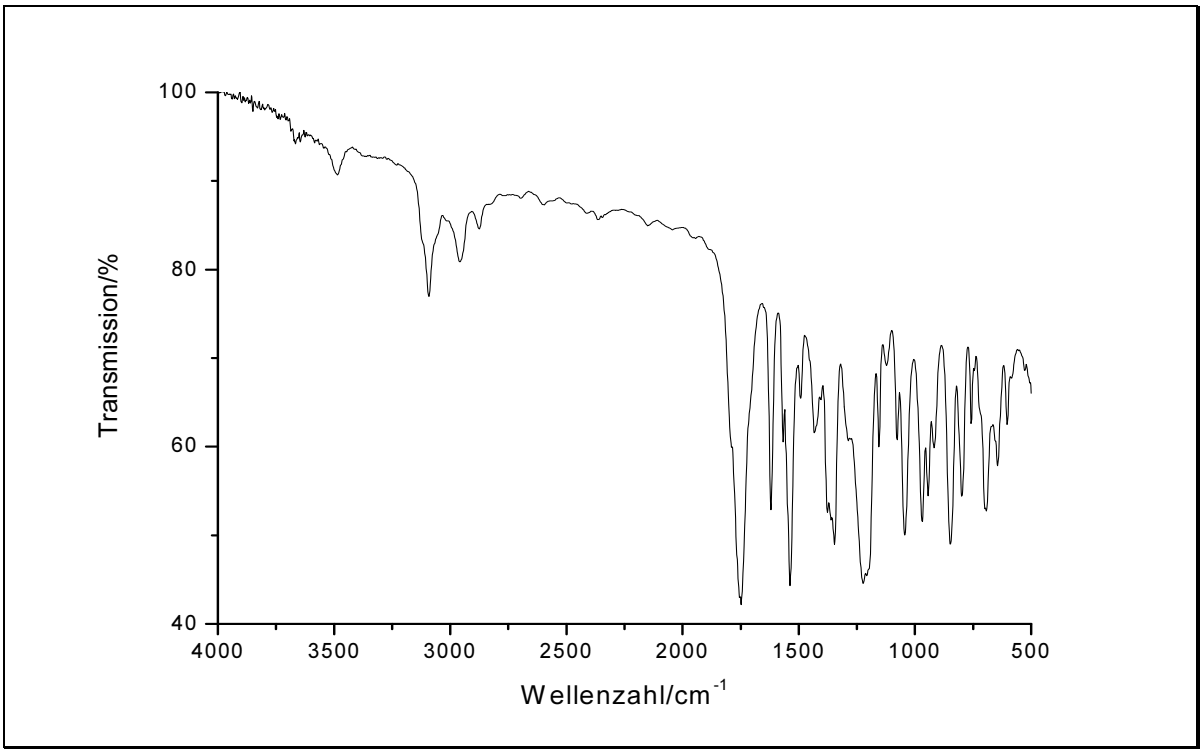


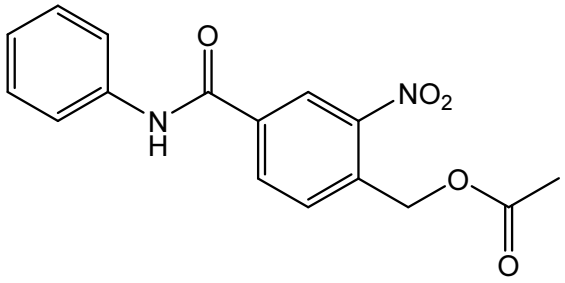
Abbildung 195: IR-Spektrum (Film) von **140**

IR (Film): $\tilde{\nu}$ = 2959 (C-H-Valenz), 1748 (C=O-Valenz), 1620 (Ringschwingung), 1538, 1346 (NO_2-Valenz), 1433 (-CH_3, -CH_2-Deformation), 1223 (C-O-C-Valenz), 693 (C-Hal-Valenz) cm^{-1}.

Massenspektrum (EI, Pt.: 90 °C):
m/z: 222 (5), 211 (4), 182 (1), 162 (18), 89 (11), 75 (12), 43 (100)

Versuch 48:

Darstellung von 4-(Acetoxymethyl)-3-nitro-*N*-phenylbenzamid (**139**)



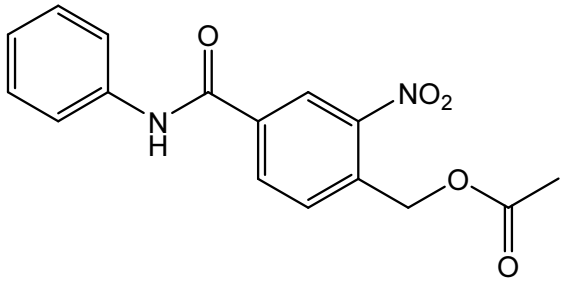
Unter Lichtausschluss werden 0.97 g (10 mmol) Anilin **135** und 1.06 g (13.4 mmol) Pyridin in 15 ml Dichlormethan gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Sodann werden 1.02 g (3.97 mmol) 4-(Chlorcarbonyl)-2-nitrobenzyl-acetat **140** in 40 ml Dichlormethan aufgenommen und langsam zur Lösung zugetropft. Nach vollständiger Zugabe wird die Reaktionslösung auf Raumtemperatur erwärmt und für 22 h bei dieser gerührt. Zur Aufarbeitung wird die Reaktionslösung dreimal mit Wasser und je einmal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat- und Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Anschließend wird die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch mit n-Hexan/Essigsäureethylester 10:1 als Laufmittel gereinigt.

$C_{16}H_{14}N_2O_5$ (M = 314.29 g/mol)
Ausbeute: 0.52 (1.7 mmol, 42 %)

Die spektroskopischen Daten stimmen mit jenen aus Versuch 45 überein.

Versuch 49:

Darstellung von 4-(Acetoxymethyl)-3-nitro-*N*-phenylbenzamid (**139**)



Unter Lichtausschluss werden 6.82 g (73.3 mmol) Anilin **135** in 25 ml Tetrachlorkohlenstoff vorgelegt. Sodann werden 1.02 g (3.97 mmol) 4-(Chlorcarbonyl)-2-nitrobenzyl-acetat **140** in 30 ml Tetrachlorkohlenstoff aufgenommen und langsam zur Lösung zugetropft. Nach vollständiger Zugabe wird die Reaktionslösung für 22 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wird der ausgefallene Feststoff abfiltriert und das Filtrat dreimal mit Wasser und je einmal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat- und Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Anschließend wird die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch mit n-Hexan/Essigsäureethylester 10:1 als Laufmittel gereinigt.

$C_{16}H_{14}N_2O_5$ (M = 314.29 g/mol)
Ausbeute: 1.22 (3.88 mmol, 98 %)

Die spektroskopischen Daten stimmen mit jenen aus Versuch 45 überein.

5.3 Sensibilisierte Bestrahlung

Allgemeine Beschreibung:

Für die Untersuchung des Photoabbaus und der damit verbundenen Sensibilisatoreffizienz werden zu Beginn der jeweiligen Messung eine Stammlösung des reinen *Caged Compounds* und eine Stammlösung des *Caged Compounds*/Sensibilisator-Gemisches angesetzt (Konzentrationen der einzelnen Stammlösungen: siehe jeweilige Messung im Experimentalteil). Sodann werden pro Stammlösung jeweils zwei Küvetten (Volumen: 3500 µl, Schichtdicke: 1 cm) gefüllt und mit einem Septum enthaltenden Deckel verschlossen. Dann wird für jede der vier Proben die in ihr enthaltende Anfangsmenge an *Caged Compound* mittels HPLC bestimmt. Sind die Anfangswerte bestimmt, so wird eine der reinen *Caged Compound*-Proben und eine der *Caged Compound*/Sensibilisator-Proben 1 h durch Stickstoff entgast. Somit hat man für jede der beiden Stammlösungen jeweils eine entgaste und eine luftgesättigte Probe. Anschließend werden die beiden luftgesättigten und die beiden entgasten Proben in einer Gräntzel-Apparatur bestrahlt.

Abbildung 196: Gräntzel-Apparatur

Bei der verwendeten Gräntzel-Apparatur handelt es sich um einen 25 cm langen Zylinder, in dessen Wand sich zwei stabförmige Quecksilberniederdrucklampen mit einer Hauptemission von λ = 254 nm befinden. Durch Einsetzen von Fluoreszenzfiltern ist es möglich die Bestrahlungswellenlänge auf 320, 350 oder 410 nm zu

ändern. Durch einen speziellen sich in dem Zylinder drehenden Küvettenhalter können vier zu untersuchenden Proben gleichzeitig bestrahlt werden. Während der Bestrahlung der vier Proben wird diese in definierten Zeitintervallen unterbrochen und mittels HPLC der Abbau an *Caged Compound* in den beiden (entgast & luftgesättigt) reinen *Caged Compound*-Lösungen bzw. in den beiden (entgast & luftgesättigt) *Caged Compound*/Sensibilisator-Mischungen durch Detektion bei einer Detektionswellenlänge von 250 nm kontrolliert. Da die für die Bestrahlung und Entgasung verwendeten Küvetten für die HPLC-Messungen nicht geeignet sind, wird für jede Messung ein Teil der zu untersuchenden Probe aus der jeweiligen Küvette in ein anderes Probengefäß überführt. Nach abgeschlossener Detektion wird der Rest der Lösung wieder in die Küvette zurückgefüllt und die beiden Proben für die „entgasten Messungen“ wiederum 1 h durch Stickstoff entgast. Sodann werden alle vier Proben gleichzeitig in der Gräntzel-Apparatur weiter bestrahlt und nach einem definierten Zeitintervall der Abbau an *Caged Compound* in den einzelnen Lösungen erneut bestimmt. Auf ein Abschalten der Quecksilberniederdrucklampen zwischen den einzelnen Bestrahlungsphasen wurde verzichtet, um ein immer wieder erneutes „Einbrennen“ der Lampen beim Anschalten dieser ausschließen und somit eine kontinuierliche Lampenleistung für jede Bestrahlungsphase voraussetzen zu können.

Bei den Messungen 6-8 wurde auf die Untersuchung von luftgesättigten Proben der beiden angesetzten Stammlösungen verzichtet. Es wurde nur jeweils eine durch Stickstoff entgaste Probe der reinen *Caged Compound*- Lösung bzw. eine entgaste Probe des *Caged Compound*/Sensibilisator-Gemisches vermessen.

Messung 1:

2-Nitrobenzylbenzoat (2-NB-Benzoat) **120** mit 4-Aminobenzophenon (4-AB) **93** in Acetonitril

Konzentration (2-NB-Benzoat):	2.6 mM	ε (320 nm)= 196 l/mol*cm
Konzentration (4-Aminobenzophenon):	4.0 mM	ε (320 nm)= 4961 l/mol*cm
Bestrahlungswellenlänge:	320 nm	

Chromatographie:

Säule:	YMC Pro C18, 150*4.6 mm, S-5 µm, 12 nm
Injektionsvolumen:	1 µl
Flussrate:	0.5 ml/min
Laufmittel:	80% Acetonitril/20% Wasser
Detektionswellenlänge (Absorption):	250 nm
Retentionszeit (2-NB-Benzoat):	7.01 min
Retentionszeit (4-Aminobenzophenon):	4.55 min

I) 2-NB-Benzoat, entgast
II) 2-NB-Benzoat + 4-Aminobenzophenon, entgast
III) 2-NB-Benzoat
IV) 2-NB-Benzoat + 4-Aminobenzophenon

Zeit/min	**Fläche/(mAU*s)**			
	I	**II**	**III**	**IV**
0	627	633	613	635
30	515	651	468	597
60	391	626	330	562
120	222	555	197	479
180	134	520	107	440
240	83	487	60	365

Tabelle 11: Messdaten des Photoabbaus von 2-NB-Benzoat **120** mit 4-Aminobenzophenon **93** bei 320 nm in Acetonitril

Messung 2:

2-Nitrobenzylbenzoat (2-NB-Benzoat) **120** mit 4-Aminobenzophenon (4-AB) **93** in Acetonitril

Konzentration (2-NB-Benzoat):	2.6 mM	ε (350 nm)= 97 l/mol*cm
Konzentration (4-Aminobenzophenon):	4.0 mM	ε (350 nm)= 1412 l/mol*cm
Bestrahlungswellenlänge:	350 nm	

Chromatographie:

Säule:	YMC Pro C18, 150*4.6 mm, S-5 µm, 12 nm
Injektionsvolumen:	1 µl
Flussrate:	0.5 ml/min
Laufmittel:	80% Acetonitril/20% Wasser
Detektionswellenlänge (Absorption):	250 nm
Retentionszeit (2-NB-Benzoat):	7.01 min
Retentionszeit (4-Aminobenzophenon):	4.55 min

I) 2-NB-Benzoat, entgast
II) 2-NB-Benzoat + 4-Aminobenzophenon, entgast
III) 2-NB-Benzoat
IV) 2-NB-Benzoat + 4-Aminobenzophenon

Zeit/min	**Fläche/(mAU*s)**			
	I	**II**	**III**	**IV**
0	615	644	607	655
30	610	636	598	647
60	584	670	559	641
120	531	657	502	622
180	479	679	451	618
300	417	656	402	604

Tabelle 12: Messdaten des Photoabbaus von 2-NB-Benzoat **120** mit 4-Aminobenzophenon **93** bei 350 nm in Acetonitril

Messung 3:

2-Nitrobenzylbenzoat (2-NB-Benzoat) **120** mit Xanthon **94** in Acetonitril

Konzentration (2-NB-Benzoat):	0.18 mM	ε (350 nm)= 97 l/mol*cm
Konzentration (Xanthon):	0.24 mM	ε (350 nm)= 27 l/mol*cm
Bestrahlungswellenlänge:	350 nm	

Chromatographie:

Säule:	YMC Pro C18, 150*4.6 mm, S-5 µm, 12 nm
Injektionsvolumen:	2 µl
Flussrate:	0.5 ml/min
Laufmittel:	100% Acetonitril
Detektionswellenlänge (Absorption):	250 nm
Retentionszeit (2-NB-Benzoat):	4.50 min
Retentionszeit (Xanthon):	5.12 min

I) 2-NB-Benzoat, entgast
II) 2-NB-Benzoat + Xanthon, entgast
III) 2-NB-Benzoat
IV) 2-NB-Benzoat + Xanthon

Zeit/min	**Fläche/(mAU*s)**			
	I	**II**	**III**	**IV**
0	82	78	80	78
10	86	71	80	82
20	86	62	74	78
30	85	54	72	74
50	79	36	63	62
70	69	25	53	53
90	65	19	47	48
120	54	13	36	39
240	25	0	15	19

Tabelle 13: Messdaten des Photoabbaus von 2-NB-Benzoat **120** mit Xanthon **94** bei 350 nm

Messung 4:

2-Nitrobenzylbenzoat (2-NB-Benzoat) **120** mit Thioxanthon **95** in Methanol

Konzentration (2-NB-Benzoat):	0.087 mM	ε (410 nm)= 4 l/mol*cm
Konzentration (Thioxanthon):	0.120 mM	ε (410 nm)= 42 l/mol*cm
Bestrahlungswellenlänge:	410 nm	

Chromatographie:

Säule:	YMC Pro C18, 150*4.6 mm, S-5 µm, 12 nm
Injektionsvolumen:	2 µl
Flussrate:	0.5 ml/min
Laufmittel:	90% Methanol/10% Wasser
Detektionswellenlänge (Absorption):	250 nm
Retentionszeit (2-NB-Benzoat):	5.58 min
Retentionszeit (Thioxanthon):	7.24 min

I) 2-NB-Benzoat, entgast
II) 2-NB-Benzoat + Thioxanthon, entgast
III) 2-NB-Benzoat
IV) 2-NB-Benzoat + Thioxanthon

Zeit/min	**Fläche/(mAU*s)**			
	I	**II**	**III**	**IV**
0	49	47	49	47
10	49	27	48	47
20	50	18	46	48
30	49	14	44	46
60	46	7	41	46

Tabelle 14: Messdaten des Photoabbaus von 2-NB-Benzoat **120** mit Thioxanthon **95** bei 410 nm in Methanol

Messung 5:

2-Nitrobenzylbenzoat (2-NB-Benzoat) **120** mit Thioxanthon **95** in Methanol

Konzentration (2-NB-Benzoat):	0.087 mM	ε (350 nm)= 17 l/mol*cm
Konzentration (Thioxanthon):	0.120 mM	ε (350 nm)= 128 l/mol*cm
Bestrahlungswellenlänge:	350 nm	

Chromatographie:

Säule:	YMC Pro C18, 150*4.6 mm, S-5 µm, 12 nm
Injektionsvolumen:	2 µl
Flussrate:	0.5 ml/min
Laufmittel:	90% Methanol/10% Wasser
Detektionswellenläne (Absorption):	250 nm
Retentionszeit (2-NB-Benzoat):	5.58 min
Retentionszeit (Thioxanthon):	7.24 min

I) 2-NB-Benzoat, entgast
II) 2-NB-Benzoat + Thioxanthon, entgast
III) 2-NB-Benzoat
IV) 2-NB-Benzoat + Thioxanthon

Zeit/min	**Fläche/(mAU*s)**			
	I	**II**	**III**	**IV**
0	50	47	50	48
3	51	30	49	48
6	51	23	49	47
10	52	17	49	46
16	52	14	47	46
30	53	13	46	45

Tabelle 15: Messdaten des Photoabbaus von 2-NB-Benzoat **120** mit Thioxanthon **95** bei 350 nm in Methanol

Messung 6:

(4,5-Methylendioxy-2-nitrobenzyl)-acetat (4,5-MDNB-Acetat) **82** mit Thioxanthon **95** in Methanol

Konzentration (4,5-MDNB-Acetat):	0.087 mM	ε (350 nm)= 2595 l/mol*cm
Konzentration (Thioxanthon):	0.120 mM	ε (350 nm)= 128 l/mol*cm
Bestrahlungswellenlänge:	350 nm	

Chromatographie:

Säule:	YMC Pro C18, 150*4.6 mm, S-5 µm, 12 nm
Injektionsvolumenvolumen:	2 µl
Flussrate:	0.5 ml/min
Laufmittel:	90% Methanol/10% Wasser
Detektionswellenlänge (Absorption):	250 nm
Retentionszeit (3,4-MDNB-Acetat):	4.54 min
Retentionszeit (Thioxanthon):	7.30 min

I) 4,5-MDNB-Acetat, entgast
II) 4,5-MDNB-Acetat + Thioxanthon, entgast

Zeit/min	**Fläche/(mAU*s)**	
	I	**II**
0	45	44
3	43	42
10	36	37
20	29	31
30	22	26
45	15	20
65	11	15

Tabelle 16: Messdaten des Photoabbaus von 4,5-MDNB-Acetat **82** mit Thioxanthon **95** bei 350 nm in Methanol

Messung 7:

4-(Acetoxymethyl)-3-nitrobenzoesäure (4-CNB-Acetat) **112** mit Thioxanthon **95** in Acetonitril

Konzentration (4-CNB-Acetat):	0.087 mM	ε (350 nm)= 212 l/mol*cm
Konzentration (Thioxanthon):	0.120 mM	ε (350 nm)= 137 l/mol*cm
Bestrahlungswellenlänge:	350 nm	

Chromatographie:

Säule:	YMC ODS-AQ, 50*4.0 mm, S-3 µm, 12 nm
Injektionsvolumen:	2 µl
Flussrate:	0.5 ml/min
Laufmittel:	50% Acetonitril/50% Wasser/TFA
Detektionswellenlänge (Absorption):	250 nm
Retentionszeit (4-CNB-Acetat):	2.19 min
Retentionszeit (Thioxanthon):	10.46 min

I) 4-CNB-Acetat, entgast
II) 4-CNB-Acetat + Thioxanthon, entgast

Zeit/min	**Fläche/(mAU*s)**	
	I	**II**
0	30	34
3	31	31
10	31	28
25	29	18
45	24	12
70	19	8
100	15	7

Tabelle 17: Messdaten des Photoabbaus von 4-CNB-Acetat **112** mit Thioxanthon **95** bei 350 nm in Acetonitril

Messung 8:

4-[Acetoxy(carboxy)methyl]-3-nitrobenzoesäure (α,4-DCNB-Acetat) **114** mit Thioxanthon **95** in Acetonitril

Konzentration (α,4-DCNB-Acetat):	0.087 mM	ε (350 nm)= 96 l/mol*cm
Konzentration (Thioxanthon):	0.120 mM	ε (350 nm)= 137 l/mol*cm
Bestrahlungswellenlänge:	350 nm	

Chromatographie:

Säule:	YMC ODS-AQ, 50*4.0 mm, S-3 µm, 12 nm
Injektionsvolumen:	2 µl
Flussrate:	0.5 ml/min
Laufmittel:	50% Acetonitril/50% Wasser/TFA
Detektionswellenlänge (Absorption):	250 nm
Retentionszeit (4-CNB-Acetat):	2.18 min
Retentionszeit (Thioxanthon):	10.46 min

I) α,4-DCNB-Acetat, entgast
II) α,4-DCNB-Acetat + Thioxanthon, entgast

Zeit/min	**Fläche/(mAU*s)**	
	I	**II**
0	24	22
5	23	22
15	23	18
30	20	12
60	15	2

Tabelle 18: Messdaten des Photoabbaus von α,4-DCNB-Acetat **112** mit Thioxanthon **95** bei 350 nm in Acetonitril

6 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei folgenden Damen und Herren herzlich bedanken, die auf ihre Weise zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

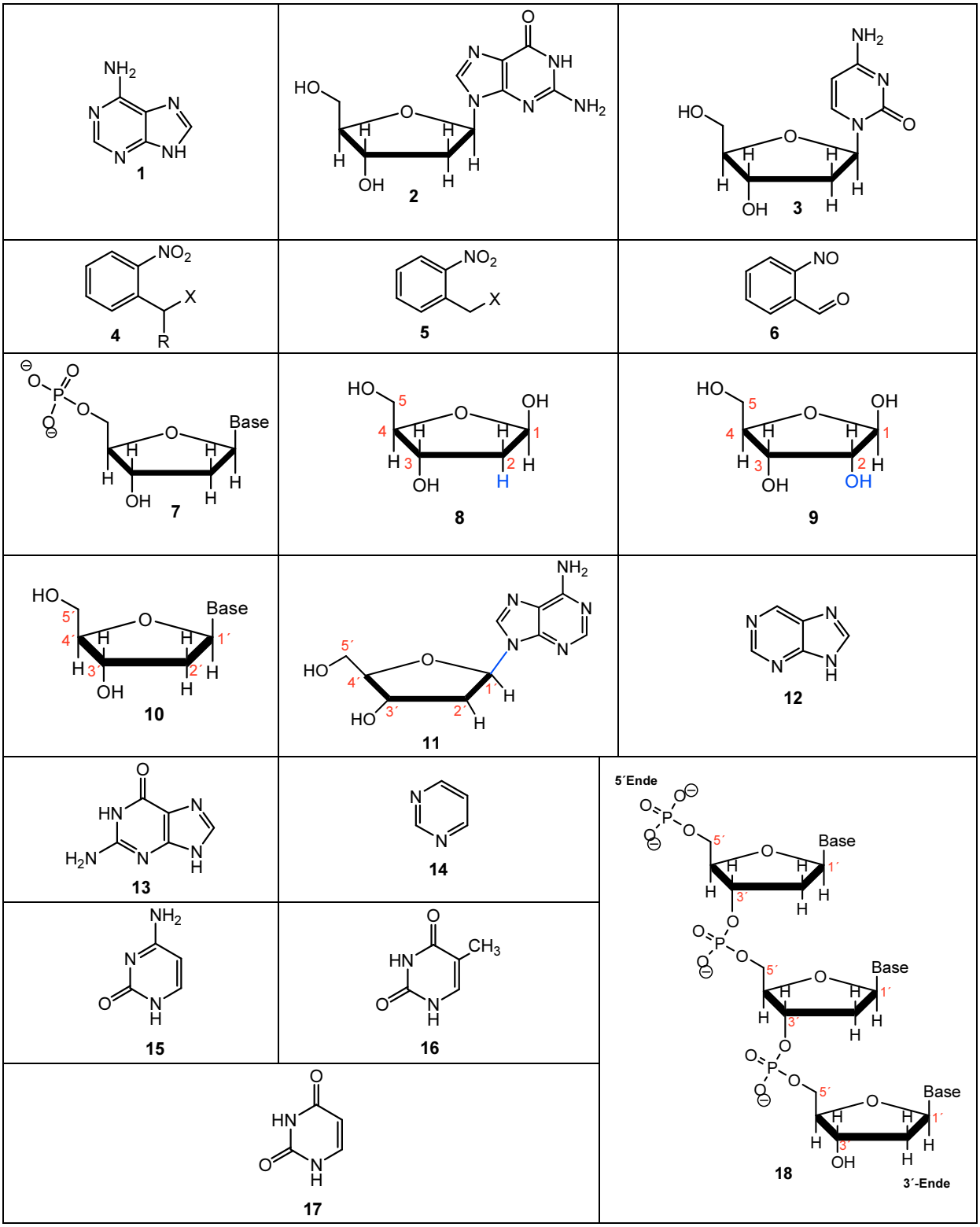
- Herrn P. Behm für die Aufnahme zahlreicher NMR-Spektren.
- Herrn R. Bürgel und Herrn Dr. P. Tommes für die Aufnahme der Massenspektren.
- Frau D. Koschel für die Aufnahme der IR-Spektren sowie für ihre stete Hilfsbereitschaft.
- Frau D. Riedel für Ihre Herzlichkeit und ihre stets gute Laune, die mir immer ein Lächeln auf mein Gesicht zaubert.
- Frau H. Webers für die vielen interessanten Gespräche auf dem Gebiet der literarischen Freizeitgestaltung sowie für ihr stets offenes Ohr und ihre unermüdliche Hilfsbereitschaft.
- Herrn E. Schönstein für die Bereitstellung von Laborgeräten und die netten Kaffeerunden.
- Allen Vertiefungsstudenten für ihre Beiträge zu meinen Synthesen.
- Herrn B. SC. Claas Hundsdörfer für die gute Zusammenarbeit im Labor, auch wenn wir eng zusammenrücken mussten.
- Herrn Dipl.-Chem. Swen Siegert für die kritische Durchsicht von Teilen dieser Arbeit und die netten wöchentlichen Teerunden.
- Herrn Dipl.-Chem. Holger Tüllmann für seine Freundschaft, seine uneingeschränkte Hilfsbereitschaft, sein stets offenes Ohr und seinen manchmal doch sehr trockenen Humor. Ich übe noch ihn zu verstehen! ☺
- Frau Dipl.-Chem. Brigitte Bier für ihre jahrelange Freundschaft, eine wunderbare und oft amüsante Arbeitsatmosphäre seit der Diplomarbeit an sowie für die vielen fachlichen und auch persönlichen Gespräche. Es war eine schöne Zeit mit Dir!

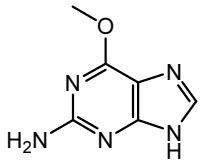
- Allen ehemaligen Kollegen, ganz besonders: Herrn Dr. Roger Scherrers, Herrn Dr. Peter Doro, Herrn Dr. Stefan Herweg und Frau Dr. Sonja Köhn für die herzliche Aufnahme in ihre Runde und eine wunderbare Zeit in der OC I, die ich nie vergessen werde.

Vor allem aber gilt ein ganz besonderer Dank:

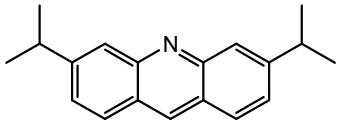
- Herrn Torsten Lechner für seine Liebe sowie für seine tatkräftige Unterstützung und unendliche Geduld mit mir bei der Fertigstellung dieser Arbeit.
- Meinem Onkel Heinz-Jürgen Pawlik für sein stetes Interesse an mir und meinem Tun, für seine wertvollen Ratschläge und dass er immer für mich da ist.
- Meiner Schwester Nadine für ihre unbeschwerte Art, die mich oft in harten Zeiten auf andere Gedanken brachte sowie für ihre aufmunternden Worte zum richtigen Zeitpunkt.
- Meinen Eltern für ihre immerwährende und liebevolle Unterstützung, für ihr Verständnis für mich in stressigen Zeiten sowie für ihren Glauben an mich und meine Fähigkeiten. Danke für Euer Vertrauen in mich!

7 Molekülverzeichnis

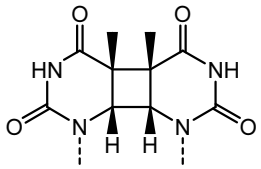




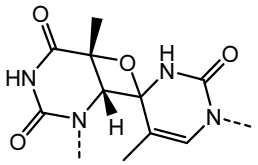
19



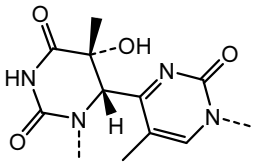
20



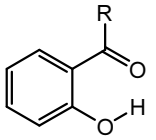
21



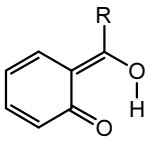
22



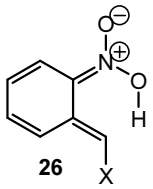
23



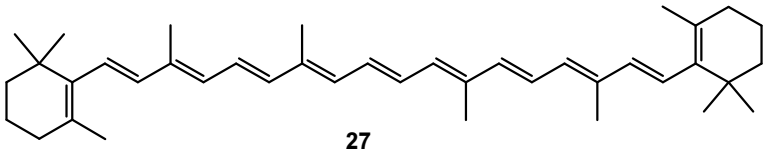
24



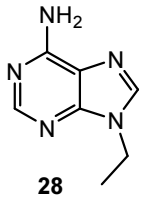
25



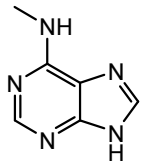
26



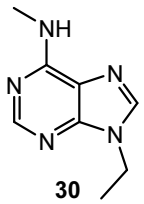
27



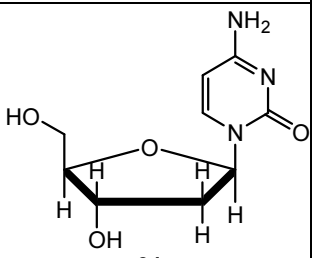
28



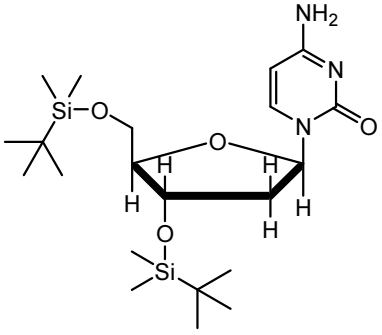
29



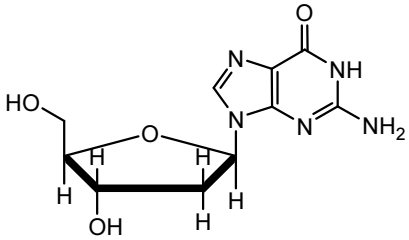
30



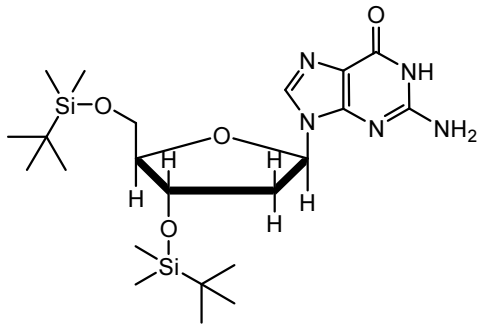
31



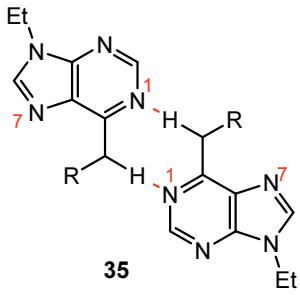
32



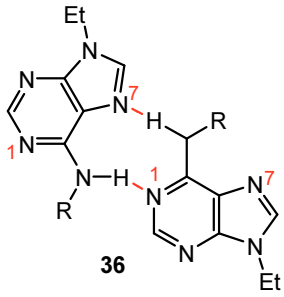
33



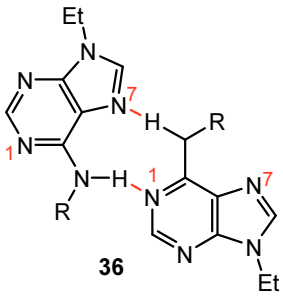
34



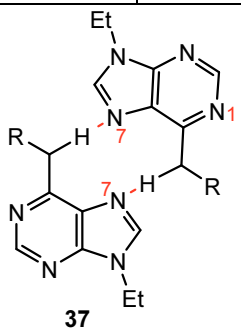
35



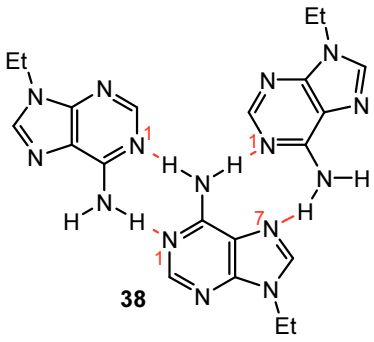
36



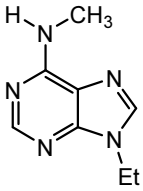
36



37

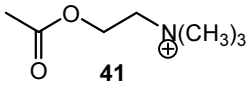


38

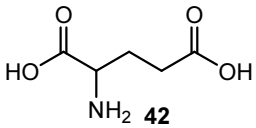


39

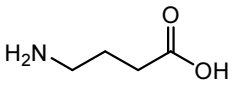
40



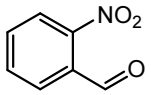
41



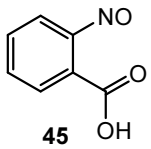
42



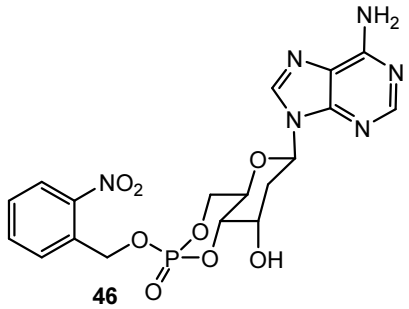
43



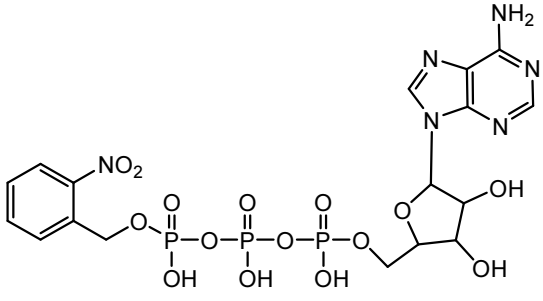
44



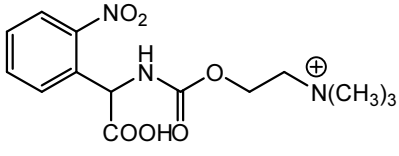
45



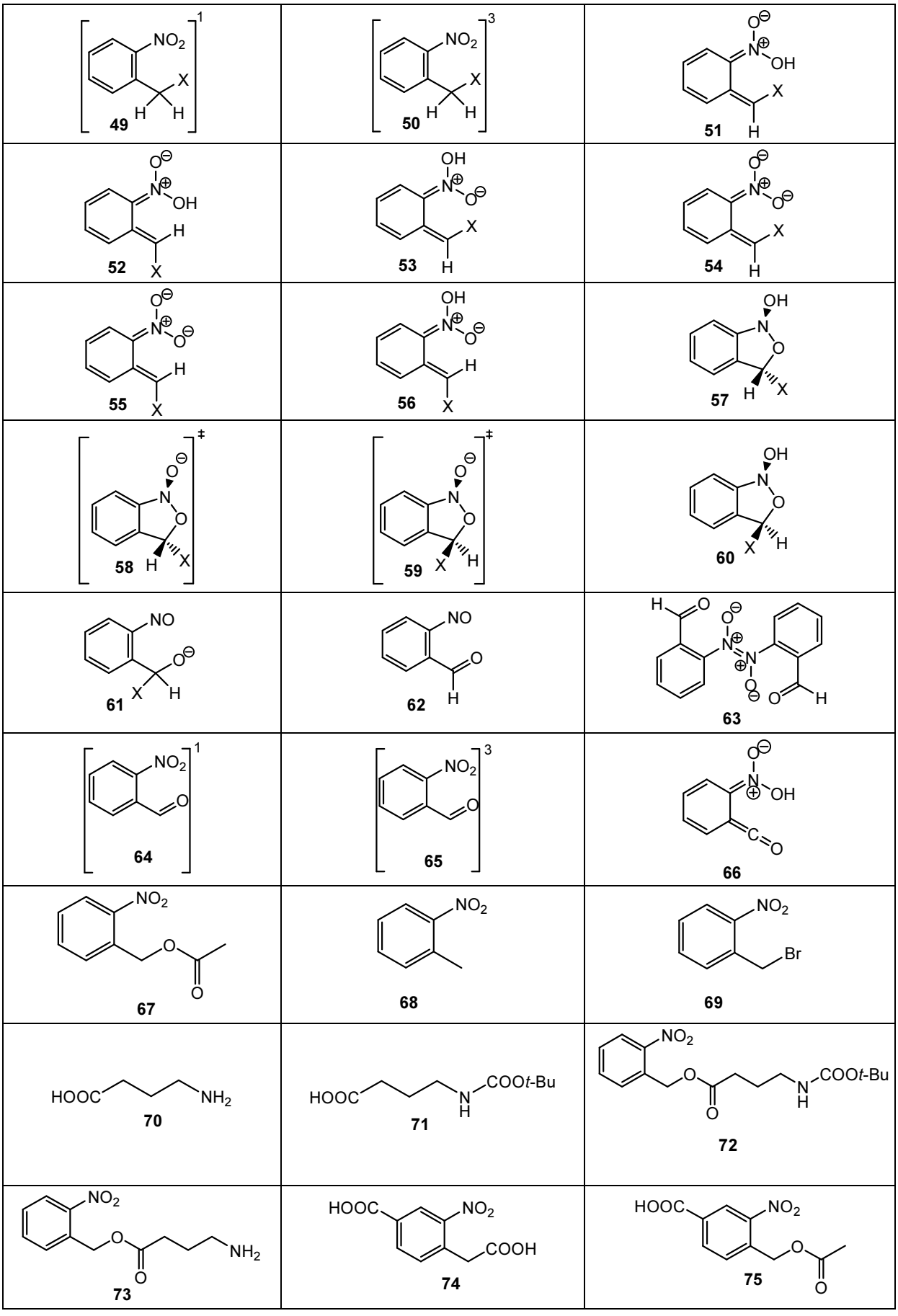
46

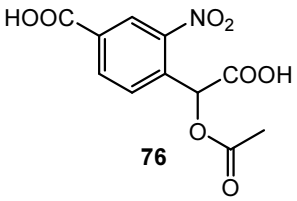


47

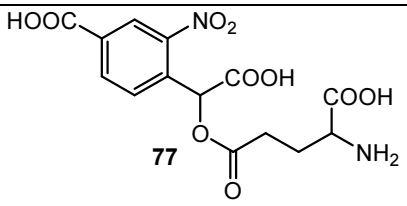


48

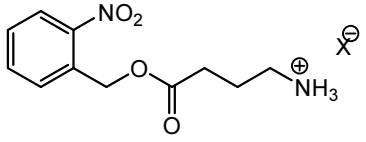

49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75



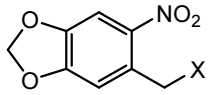
76



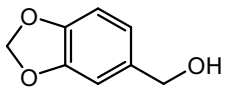
77



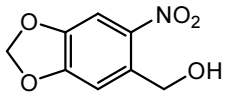
78



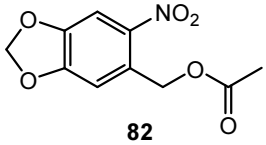
79



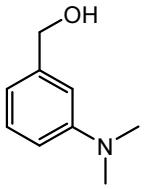
80



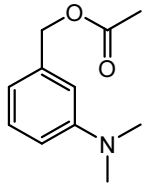
81



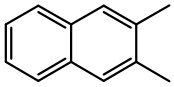
82



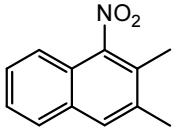
83



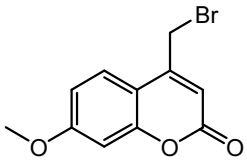
84



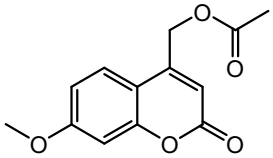
85



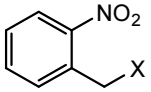
86



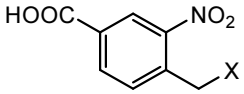
87



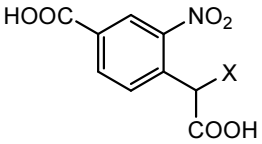
88



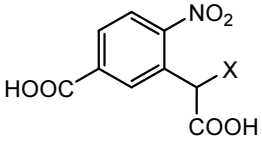
89



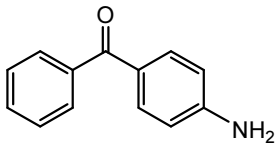
90



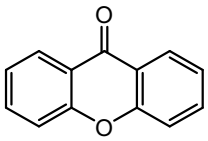
91



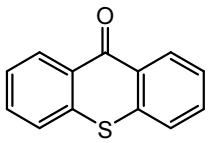
92



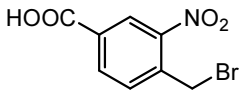
93



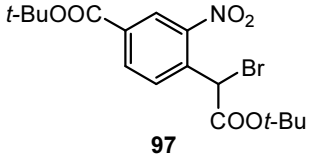
94



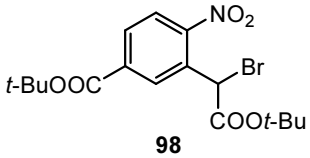
95



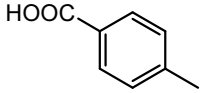
96



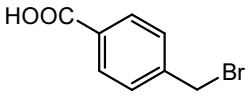
97



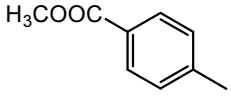
98



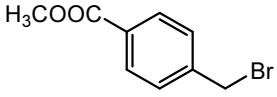
99



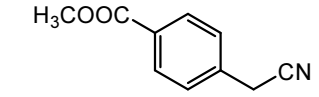
100



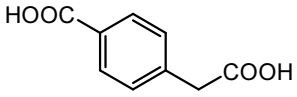
101



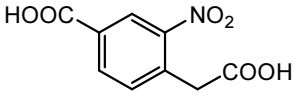
102



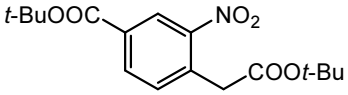
103



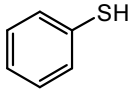
104



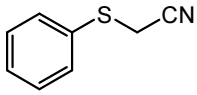
105



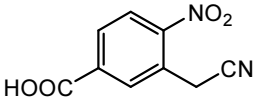
106



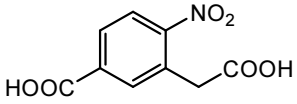
107



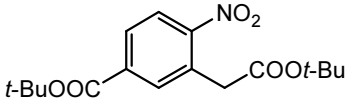
108



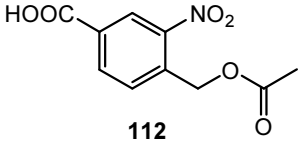
109



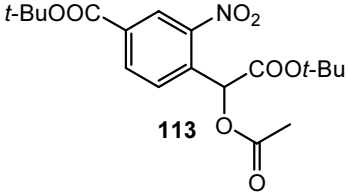
110



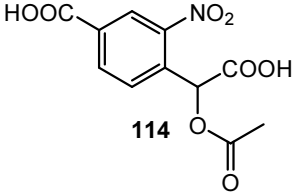
111



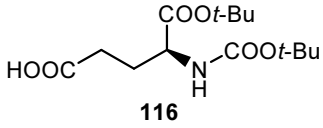
112



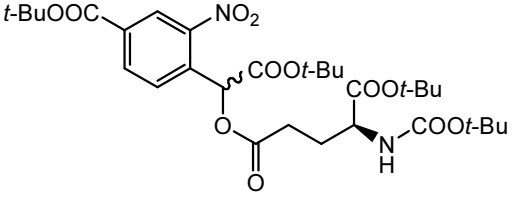
113



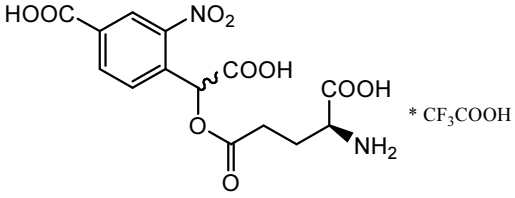
114



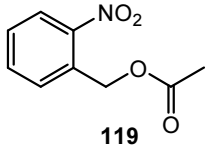
116



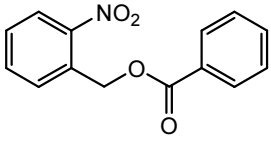
117



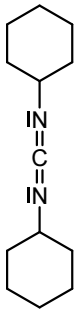
118



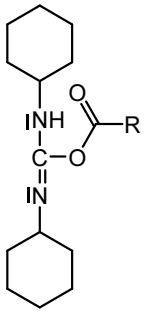
119



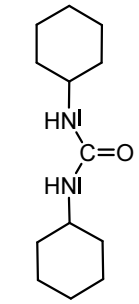
120



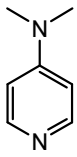
121



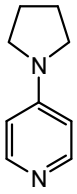
122



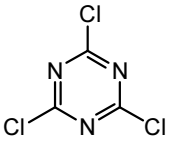
123



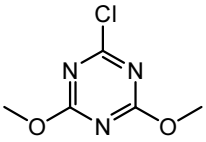
124



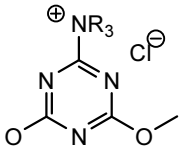
125



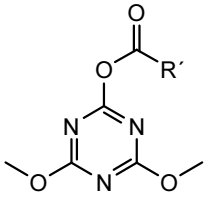
126



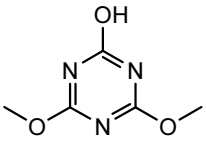
127



128

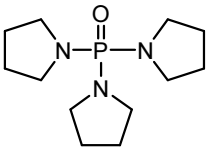


129

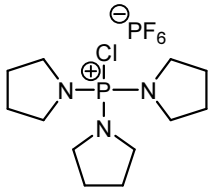


130

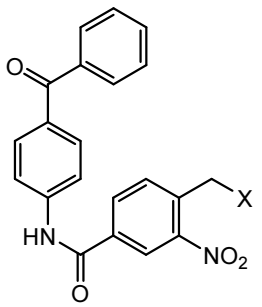
131



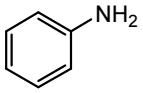
132



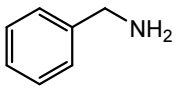
133



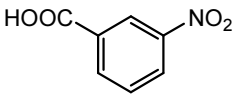
134



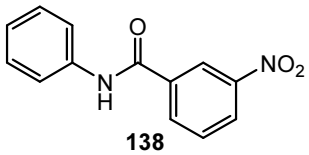
135



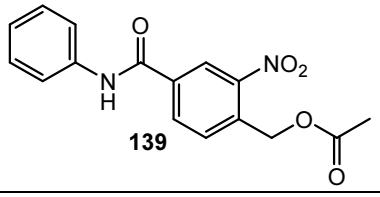
136



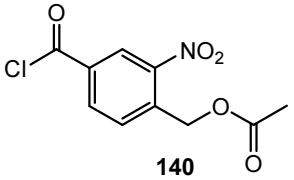
137



138



139



140

8 Literaturverzeichnis

[1] D. Wöhrle, M. W. Tausch, W.-D. Stohrer, *Photochemie: Konzepte, Methoden, Experimente*, WILEY-VCH Verlag GmbH, Weinheim, **1998**.

[2] S. Gandor, Diplomarbeit, *Synthese und Untersuchung von chemisch relevanten Modellverbindungen*, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, **2008**.

[3] J. Watson, F. Crick, *Nature* **1953**, *171*, 737-738.

[4] http://de.encarta.msn.com/encyclopedia_761568032/Nucleins%C3%A4uren.html, 20.03.2009.

[5] R. Frank, U. Sommermann, G. Ströhla, *Natura-Genetik und Immunbiologie*, Ernst Klett Verlag, Stuttgart, **1997**.

[6] Informationen der Nobelstiftung zur Preisverleihung,

[7] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Biochemie, 5.Auflage*, Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, Berlin, **2003**.

[8] H. Beyer, W. Walter, *Lehrbuch der organischen Chemie, 22.Auflage*, S.Hirzel Verlag, Stuttgart, **1991**.

[9] J. Falbe, M. Regitz, *Wörterbuch der Chemie*, Deutscher Taschenbuch Verlag GmbH&Co.KG, München, **1995**.

[10] *http://de.wikipedia.org/wiki/Desoxyribonukleins%C3%A4ure*.

[11] R. Kleinert, W. Ruppert, F. X. Stratil, *Biologie, Genetik-Steuerung und Vererbung von Merkmalen und Eigenschaften (Oberstufe)*, Mentor Verlag, München, **1998**.

[12] H. Beyer, W. Walter, *Lehrbuch der Organischen Chemie, 23.Auflage*, S.Hirzel Verlag Stuttgart, Leipzig, **1998**.

[13] *http://www.ladival.de/p-sps.htm* **20.03.2009**.

[14] http://www.dermotopics.de/german/ausgabe_1_03_d/photoaging_1_03_d.htm, 20.03.2009.

[15] K. Meyer, *Chemie in unserer Zeit* **2002**, *3*, 178-192.

[16] S. Köhn, Dissertation, *Polyendimere: Darstellung und spektroskopische Untersuchungen von Modellverbindungen zum Verständnis der Primär-Aggregation von Carotinoiden und verwandten Polyenverbindungen*, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf,, **2004**.

[17] C. Jäger, Dissertation, *Synthese und Spektroskopie von Modellverbindungen zur Untersuchung der Substituenteneinflüsse auf das Antioxidations- und Singulett-Sauerstoff- Quenchvermögen*, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf,, **1999**.

[18] S. De Spirt, Dissertation, *Effekte von Lipiden und lipophilen Antioxidantien: In-vivo und in-vitro Untersuchungen*, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, **2008**.

[19] V. Nair, S. G. Richardson, *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 3969-3974.

[20] W. Zhang, R. Rieger, C. Iden, F. Johnson, *Chem. Res. Toxicol.* **1995**, *8*, 148-156.

[21] T. Hofmann, K. Zweig, J. Engels, *Synthesis* **2005**, *11*, 1797-1800.

[22] L. Biemann, T. Häber, D. Maydt, K. Schaper, K. Kleinermanns, *The Journal of Chemical Physics* **2008**, *128*, 195103.

[23] G. Ciamician, P. Silber, *Chem. Ber.* **1901**, *34*, 2040-2046.

[24] I. Kullartz, Bachelorarbeit, *Beiträge zur Synthese von funktionalisierten o-Nitrobenzylverbindungen zum Aufbau von bichromophoren Systemen*, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, **2006**.

[25] P. Doro, Dissertation, *Beiträge zur Untersuchung der Photochemie der ortho-Nitrobenzylschutzgruppe*, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, **2006**.

[26] R. F. Thompson, *Das Gehirn, 2.Auflage*, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, **1994**.

[27] *http://www.neuro.psychologie.uni-saarland.de/downloads/0708/PS06.11.07.pdf*.

[28] J. W. Walker, Z. Lu, R. L. Moss, *J.Biol.Chem.* **1992**, *267*, 2459-2466.

[29] R. F. Willenbucher, Y. N. Xie, V. E. Eysselein, W. J. Snape Jr., *Am. J.Physol.* **1992**, *262*, 159-164.

[30] B. Katz, S. Thesleff, *J.Physiol. (Lond.)* **1957**, *138*, 63-66.

[31] A. P. Billington, K. M. Walstrom, D. Ramesh, A. P. Guzikowski, B. K. Carpenter, G. P. Hess, *Biochemistry*, **1992**, 5500-5507.

[32] J. Engels, R. Reidys, *Experientia* **1978**, *34*, 14-15.

[33] J. Engels, E. J. Schlaeger, *J.Med.Chem.* **1977**, *20*, 907-911.

[34] J. H. Kaplan, G. Forbush III, J. F. Hoffmann, *Biochemistry* **1978**, *17*, 1929-1935.

[35] F. Bley, Dissertation, *Design, Synthese und Untersuchung von o-Nitrobenzylsystemen mit gesteigerter Bathochromie und Hydrophilie*, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, **2005**.

[36] T. Milburn, N. Matsubara, A. P. Billington, J. B. Udgaonkar, J. W. Walker, B. K. Carpenter, W. W. Webb, J. Marque, W. Denk, J. A. McCray, G. P. Hess, *Biochemistry* **1989**, *28*, 49-55.

[37] L. Niu, G. P. Hess, *Biochemistry* **1993**, *32*, 3831-3835.

[38] G. P. Hess, *Biochemistry* **1990**, *29*.

[39] K. Schaper, D. Dommaschke, S. Globisch, S. A. Madani Mobarekeh, *J.Inf.Rec.* **2000**, *25*, 339-354.

[40] Y. V. Il´ichev, J. Wirz, *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104*, 7856-7870.

[41] R. S. Givens, L. W. Kuepper, *Chem.Rev.* **1993**, *93*, 55-66.

[42] J. M. Nerbonne, S. Richard, J. Nargeot, H. A. Lester, *Nature* **1984**, *310*, 74.

[43] J. W. Karpen, A. L. Zimmermann, L. Stryer, D. H. Baylor, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1988**, *85*, 1287-1291.

[44] F. Bley, K. Schaper, H. Görner, *Photochem. Photobiol.* **2008**, *84* 162-171.

[45] S. Ringsdorf, Diplomarbeit, *Beiträge zur Synthese von photolabilen Neurotransmittervorstufen*, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, **2007**.

[46] *http://www.oc.uni-koeln.de/ms-oc/download/esi.pdf*.

[47] K. Schaper, M. Etinski, T. Fleig, *Photochem. Photobiol.* **2009**, DOI: 10.1111/j.1751-1097.2009.00560.x

[48] K. Bartl, Diplomarbeit, *Kombinierte Infrarot/Ultraviolett Spektroskopie an aromtaischen Molekülen*, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, **2006**.

[49] T. Wieland, E. Bäuerlein, *Chemische Berichte* **1964**, *97*, 2103-2108.

[50] T. Eckhardt, V. Hagen, B. Schade, R. Schmidt, C. Schweitzer, J. Bendig, *J. Org. Chem* **2002**, *67*, 703-710.

[51] D. Wöll, J. Smirnova, Galetskaya, T. Prykota, J. Buhler, K. P. Stengele, W. Pfleiderer, U. E. Steiner, *Chemistry-a European Journal* **2008**, *14*, 6490-6497.

[52] D. Wöll, S. Walbert, K. P. Stengele, T. J. Albert, T. Richmond, J. Norton, M. Singer, R. D. Green, W. Pfleiderer, U. E. Steiner, *Helv. Chim. Acta* **2004**, *87*, 28-45.

[53] D. Wöll, S. Walbert, K. P. Stengele, R. D. Green, T. J. Albert, W. Pfleiderer, U. E. Steiner, *Nucleosides Nucleotides & Nucleic Acids* **2003**, *22*, 1395-1398.

[54] Die Abbildung wurde von K. Schaper zur Verfügung gestellt.

[55] H. G. O. Becker, *Einführung in die Photochemie, 3. Auflage*, Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, **1991**.

[56] M. Birmes, Dissertation, *Neuartige membranpotentialsensitive Fluoreszenzfarbstoffe mit Styrylpyridiniumchromophor*, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, **1995**.

[57] M. Klessinger, J. Michl, *Lichtabsorption und Photochemie organischer Moleküle*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, **1989**.

[58] B. Bier, Diplomarbeit, *Synthese und Charakterisierung von Mini-Carotinoiden*, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, **2006**.

[59] B. Incekara-Fleck, Dissertation, *Synthese von neuen Carotino-Porphyrin Modellsystemen zur Untersuchung von Energietransfer-Prozessen*, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, **2002**.

[60] R. Wieboldt, D. Ramesh, B. K. Carpenter, G. P. Hess, *Biochem.* **1996**, *35*, 8136-8142.

[61] D. L. Tuleen, B. A. Hess Jr., *J.Chem.Ed.* **1971**, *48*, 476-477.

[62] G. Barany, F. Albericio, *J.Am.Chem.Soc.* **1985**, *107*, 4936-4942.

[63] S. A. Madani Mobarekeh, Dissertation, *Design and Synthesis of New Photolabile Protected Active Substances for Biophysical Investigations*, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, **2003**.

[64] C.-Y. Chang, B. Niblack, B. Walker, H. Bayley, *Chemistry & Biology* **1995**, *2*, 391-400.

[65] S. Köhn, Dissertation, *Polyendimere: Darstellung und spektroskopische Untersuchungen von Modellverbindungen zum Verständnis der Primär-Aggregation von Carotenoiden und verwandten Polyenverbindungen*, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, **2004**.

[66] H. R. Christen, F. Vögtle, *Organische Chemie, Band I, 2.Auflage*, Salle Verlag, Frankfurt am Main, **1992**.

[67] B. Neises, W. Steglich, *Angew. Chem.* **1978**, *90*, 556-557.

[68] L. A. Paquette, *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, Chichester, **1995**.

[69] Z. J. Kaminski, *Tetrahedron Letters* **1985**, *26*, 2901-2904.

[70] Z. J. Kaminski, P. Paneth, J. Rudzinski, *J. Org. Chem* **1998**, *63*, 4248-4255.

[71] Z. J. Kaminski, *Synthesis* **1987**, *10*, 917-920.

[72] J. Coste, E. Frerot, P. Jouin, *J.Org.Chem.* **1994**, *59*, 2437-2446.

[73] P. Metz, C. Mues, *Tetrahedron Letters* **1988**, *44*, 6841-6853.

[74] D. Wöll, Dissertation, *Neue photolabile Schutzgruppen mit intramolekularer Sensibilisierung- Synthese, photokinetische Charakterisierung und Anwendung für die DNA-Chip-Synthese*, Universität Konstanz, Konstanz, **2006**.

[75] T. Fujii, T. Saito, *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, *33*, 3635-3644.

[76] T. Wieland, E. Bäuerlein, *Chem. Ber.* **1964**, *9*, 2103-2108.

[77] Y. Kashman, J. A. Edwards, *J.Org.Chem.* **1978**, *43* 1538-1540.

[78] J. F. Codington, E. Mosetting, *J.Org.Chem.* **1952**, *17*, 1035-1039.

[79] M. S. Gibson, R. W. Bradshaw, *Angew. Chem.* **1968**, *23*, 986-991.

[80] M. Makosza, J. Winiarski, *J. Org. Chem* **1980**, *45*, 1534.

[81] P. Casper, Dissertation, *Synthese von amphiphilen Blockcopolymeren auf Basis von Cystein- bzw. Thiol-modifiziertem Polyethylenglykol*, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf, **2004**.