

Amidopyrazolylguanidine -
Neue Haftmonomere für
molekular geprägte Polymere

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Karsten Knorr

aus Krefeld

Düsseldorf

2003

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

Referent: Prof. Dr. Günter Wulff

Korreferent: Prof. Dr. Helmut Ritter

Tag der mündlichen Prüfung: 9. Juli 2003

Für Fabian und Nicole

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Mai 1998 bis April 2003 am Institut für Organische Chemie und Makromolekulare Chemie II der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf unter der Leitung von Prof. Dr. Günter Wulff durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. G. Wulff danke ich für die vertrauensvolle Aufnahme in seinen Arbeitskreis und die damit verbundene Möglichkeit auf dem interessanten Arbeitsgebiet des „Molecular Imprinting“ zu arbeiten.

Meinen langjährigen Kollegen Marco Emgenbroich, Jochen Bitta, Lars Peters, Michael Herm, Thomas Grawe, Axel Lache, Guido Heinrichs und Byong Oh Chong danke ich für die freundliche Arbeitsatmosphäre und Kollegialität, für die unzähligen Stunden Wartezeit in der Mensa, sowie für die Daddelabende.

Marco Emgenbroich danke ich außerdem für die Korrektur des Manuskripts.

Steffi Manz danke ich für die tatkräftige sowie manchmal launische Unterstützung und Sonja Coors für die immer gute Laune.

Frau Mertens danke ich für die Hilfe in bürokratischen Fragen und Inge Karnut für den unbürokratischen Nachschub.

Allen weiteren Kollegen im Arbeitskreis danke ich für die ständige Hilfsbereitschaft.

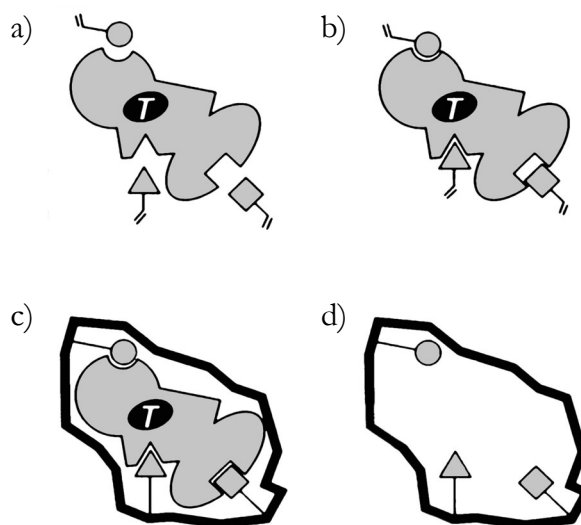
Diese Arbeit wurde von dem Fonds der chemischen Industrie finanziell unterstützt.

1	EINLEITUNG	1
<hr/>		
2	THEORETISCHER TEIL	18
<hr/>		
2.1	PROBLEMSTELLUNG UND ZIELE	18
2.2	DESIGN DES HAFTMONOMERS	22
2.3	SYNTHESE DER PYRAZOL-3-YL-GUANIDINE MIT AMINOCARBONYLALKYL-BRÜCKE	31
2.4	SYNTHESE DER PYRAZOL-5-YL-GUANIDINE MIT <i>m</i> -TOLYLENBRÜCKE	41
2.5	NMR-STUDIEN	51
2.6	GEPRÄGTE POLYMERE	72
<hr/>		
3	ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK	78
<hr/>		
4	EXPERIMENTELLER TEIL	81
<hr/>		
4.1	APPARATIVES	81
4.2	CHEMIKALIEN UND LÖSUNGSMITTEL	82
4.3	SYNTHESE DER 2-(IMIDAZOLIDIN-2-YLIDENAMINO)- <i>N</i> -(5-METHYL-1 <i>H</i> -PYRAZOL-3-YL)-ACETAMID-DERIVATE	84
4.4	SYNTHESE DER 3-(IMIDAZOLIDIN-2-YLIDENAMINO)- <i>N</i> -(5-METHYL-1 <i>H</i> -PYRAZOL-3-YL)-PROPIONAMID-DERIVATE	88
4.5	SYNTHESE DER <i>N</i> -{5-[3-(IMIDAZOLIDIN-2-YLIDENAMINOMETHYL)-PHENYL]-1 <i>H</i> -PYRAZOL-3-YL}-ACYLAMID-DERIVATE	93
4.6	SYNTHESE DER DIPEPTID-DERIVATE	106
4.7	SONSTIGE SYNTHESSEN	111
4.8	NMR-STUDIEN	116
4.9	GEPRÄGTE POLYMERE	117
<hr/>		
5	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	121
<hr/>		
6	LITERATUR	122
<hr/>		

1 Einleitung

Beim Molekularen Prägen werden typischerweise polymerisierbare Monomere - die Haftmonomere - an ein Templatmolekül über kovalente oder nicht kovalente Wechselwirkungen gebunden (Schema 1a)-b)). Copolymerisation dieses Gemisches in Anwesenheit eines großen Überschusses eines polyfunktionellen Monomers - dem Vernetzer - sowie eines Lösungsmittels - dem Porogen - führt zu rigiden, hochvernetzten, makroporösen Polymeren (c). Nach dem Entfernen des Templates bleiben im Polymer Mikrokavitäten zurück, deren Form und Anordnung der funktionellen Gruppen durch die Struktur der Templatmoleküle bestimmt wird (d). Die funktionellen Gruppen stammen dabei aus den Haftmonomeren, welche nun Bestandteil des Polymernetzwerkes sind. Man erhält Rezeptoren, die maßgeschneidert für die Templatmoleküle sind und diese somit selektiv binden können. (Übersichtsartikel siehe^[2-6])

Als Anwendungsgebiete ergeben sich für diese geprägten Polymere verschiedene



Schema 1:Prinzip des Molekularen Prägens: Templatmolekül (T) und Haftmonomere in Lösung (a) bilden einen Komplex (b). Durch Copolymerisation mit einem Vernetzer ergibt sich ein Hohlräum (c). Entfernen des Templatmoleküls ergibt den freien Hohlräum (d).^[1]

Bereiche. So können sie sowohl als selektive Adsorbentien in chromatographischen Trennungen, in Festphasenextraktionen, in Immunoassays als auch als signalgebende Schichten für Chemosensoren, als Mikroreaktoren für selektive Reaktionen und als

enzymanaloge Katalysatoren^[2-4, 7-11] eingesetzt werden.

Der Erfolg des Molekularen Prägens hängt im wesentlichen von der Polymerstruktur und der Art der Wechselwirkungen der Bindungsstellen in den Hohlräumen des Polymers ab. Diese Wechselwirkungen sind während der Polymerisation nötig und werden später - im vom Templat befreiten Polymer - für Bindung (und Katalyse) eines Substrates benutzt.

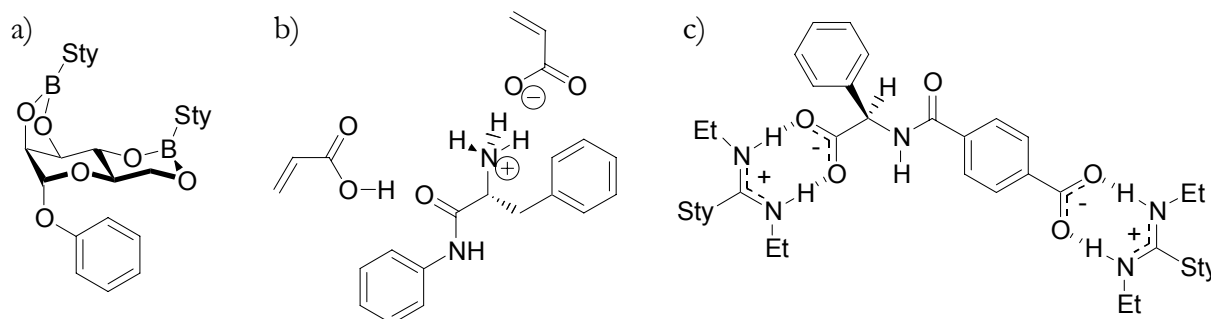
Detaillierte Untersuchungen haben gezeigt, daß die Selektivität eines geprägten Polymers von der Orientierung der funktionellen Gruppen innerhalb der Kavitäten sowie von der Form der Kavitäten selber abhängt.^[12-14] Dominierend ist jedoch der erstgenannte Faktor.^[13] Die Wechselwirkungen an der Bindungsstelle sind daher von besonderer Bedeutung. Sie haben verschiedene, recht unterschiedliche Funktionen. Einerseits sollte die Bindung zwischen dem Templatmolekül und den funktionellen Gruppen des Haftmonomers während der Polymerisation besonders stark sein. Dies ermöglicht eine Fixierung der funktionellen Gruppe der Bindungsstelle in einer definierten Orientierung relativ zum Templatmolekül während der vernetzenden Polymerisation. Andererseits sind sowohl eine vollständige Abspaltung des Templates aus dem Polymer als auch eine reversible Wechselwirkung zwischen einem Substrat - zum Beispiel dem Molekül welches bei der Polymerisation als Templat diente - und den Bindungsstellen im Hohlraum des Polymers erwünscht. Diese Wechselwirkung sollte so schnell und reversibel wie möglich erfolgen, damit eine chromatographische Trennung oder Katalyse schnell und effizient ablaufen kann. So steht der Notwendigkeit einer hohen Aktivierungs- und Stabilisierungsenergie für die Komplexbildung im ersten Schritt die umgekehrte Bedingung für die beiden anderen Schritte gegenüber.

Diese einander entgegengesetzten Forderungen werden von den verschiedenen Typen an Wechselwirkungen der Bindungsstellen, welche in der Literatur beschrieben sind, unterschiedlich gut erfüllt:

Kovalente Wechselwirkungen, also kovalente Bindungen, beispielsweise durch Bildung von Boronsäureestern^[15, 16], Schiffischen Basen^[16, 17], oder Ketalen^[14, 18] erfüllen leicht die erstgenannte Bedingung. Das Templat läßt sich im Falle von Boronsäureestern (Schema 2a) unter milden Bedingungen aus dem Polymer entfernen, bei Schiffischen Basen ist dies ebenfalls möglich, bei Ketalen allerdings schon eher problematisch. Aufnahme und Abgabe von Substratmolekülen, beispielsweise bei chromatographischen Trennungen, erfolgt nur langsam, womit Trennungen nur bedingt erfolgen. Im Falle von Polymeren, welche Boronsäuren als Haftgruppen besitzen, kann das Problem durch Zugabe von Ammoniak zur mobilen Phase umgangen werden, wobei das Bor von einer trigonalen in eine tetragonale

Form übergeht.^[16] Die Austauschgeschwindigkeit bei Schiffschen Basen und Ketalen hingegen kann durch Zugabe von Säuren gesteigert werden.

Durch den Einsatz nicht-kovalenter Wechselwirkungen sind geprägte Polymere auf einfache Weise zugänglich, da die meist kommerziell erhältlichen Komponenten des Polymerisationsgemisches einfach nur vermischt werden. Meist werden in diesen Fällen elektrostatische Wechselwirkungen sowie Wasserstoffbrückenbindungen ausgenutzt.^[19, 20] Viele Template können bei dieser Methode eingesetzt werden, allerdings stellen die niedrigen Assoziationskonstanten während der Polymerisation ein Problem dar. Um das Gleichgewicht möglichst auf die Seite des komplexierten Templatmoleküles zu verschieben, muss ein Überschuss des Haftmonomers (meist vierfach) eingesetzt werden. Durch dieses Vorgehen werden jedoch nicht-spezifische Bindungsstellen in dem Polymer erzeugt. Templatextraktion und Gleichgewichtseinstellung beim Einsatz der Polymere sind jedoch günstig. Nicht-kovalente Wechselwirkungen bringen ein weiteres Problem mit sich. Sellergren und Shea^[21] fanden, daß nur 15% der freien Kavitäten das Templat wieder aufnehmen. Die verbleibenden 85% sind für Trennung und Katalyse irreversibel verloren. Dies könnte auf ein Schrumpfen der Mehrzahl der Hohlräume zurückzuführen sein.^[16, 22] Daher sind solche Polymere weder für präparative Trennungen noch für Katalysestudien geeignet.



*Schema 2: Unterschiedliche Wechselwirkungstypen, die beim Molekularen Prägen eingesetzt werden:
 a) kovalente Bindung, b) nicht-stöchiometrische, nicht-kovalente Wechselwirkung, c) stöchiometrische, nicht-kovalente Wechselwirkung (Sty = *p*-Styryl)*

Wie von einigen Arbeitsgruppen^[11, 23, 24] gezeigt werden konnte, stellt die koordinative Bindung einen interessanten Typ der Wechselwirkung für das molekulare Prägen dar. Kupfer-, Kobalt- und andere Metallkomplexe wurden für diesen Zweck verwendet. Die Bindung während der Polymerisation war ausreichend stabil und schnelle Wechselwirkungen während der Equilibrierung konnten durch sorgfältige Optimierung erreicht werden.

Einen Fall, welcher zwei der genannten Wechselwirkungen kombiniert, um deren Vorteile teilweise zu vereinen, stellt der folgende dar. Dabei wird während der Polymerisation von kovalenter Bindung, während der Equilibrierung jedoch von nicht-kovalenter Bindung Gebrauch gemacht. „Kovalentes Prägen“ hat, wie bereits erwähnt, den Vorteil starker Bindung in einer genau definierten Stöchiometrie, wogegen leicht reversible nicht-kovalente Wechselwirkungen besser für schnelle Equilibrierungen geeignet sind. So kann zum Beispiel eine Amidbindung während des Prägens eingesetzt werden, die nach dem Abspalten des Templates eine elektrostatische Wechselwirkung zwischen Ammonium- und Carboxylatgruppe ermöglicht.^[15] Einige Beispiele, die dieses Prinzip demonstrieren, sind veröffentlicht.^[16, 25] Ein Spezialfall stellt der Einsatz von *sacrificial spacers* dar, so zum Beispiel Carbonat-Spacer, welche unter CO₂-Abgabe hydrolysiert werden. Anschließend ist eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen Alkohol (oder Phenol) und einem anderen Alkohol möglich.^[26]

Für eine weitere Art der Wechselwirkung zwischen Templatmolekül und Bindungsstelle wurde in unserem Arbeitskreis der Begriff „stöchiometrische nicht-kovalente Wechselwirkung“ eingeführt.^[16, 22, 27-29] Diese Art der Wechselwirkung erfüllt die für eine Haftgruppe geforderten Bedingungen in idealer Weise. Es handelt sich hierbei um untypisch starke nicht-kovalente Wechselwirkungen, welche im allgemeinen dadurch erreicht werden, daß mehrere ionische und Wasserstoffbrückenbindungen zugleich zwischen Templatmolekül und Haftmonomer wechselwirken. Daher wird es möglich, in schwach polaren, aprotischen Lösungsmitteln wie beispielsweise Acetonitril, hohe Komplexbildungskonstanten zu erreichen. So liegt bei einem stöchiometrischen Einsatz des Haftmonomers mehr als 95% der Templatmoleküle in komplexierter Form vor. Dieser Zustand wird bei für das Molekulare Prägen typischen Bedingungen (Konzentration ca. 0,1 mol/l) für einen 1:1-Komplex bei Assoziationskonstanten größer 3800 Mol⁻¹ erreicht. In stark polaren, protischen Lösungsmitteln wie Alkoholen und wasserhaltigen Lösungen sind die beschriebenen Wechselwirkungen allerdings nur noch sehr schwach, was einerseits ein nahezu quantitatives Abspalten des Templates vom Polymer garantiert, andererseits durch Einsatz von Lösungsmittelgemischen eine Feinabstimmung der Bindungseigenschaften des Polymers ermöglicht.

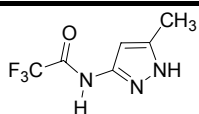
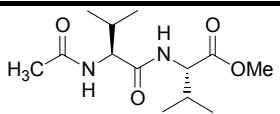
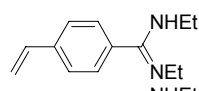
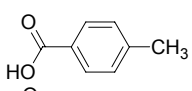
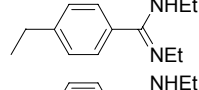
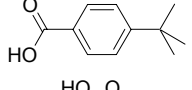
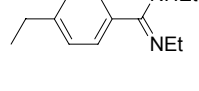
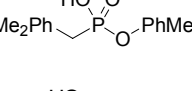
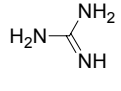
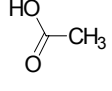
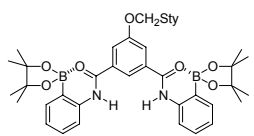
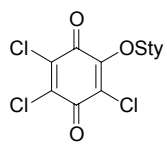
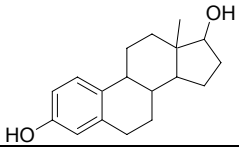
Stöchiometrische nicht-kovalente Wechselwirkungen können auch auf anderem Wege als durch den Einsatz mehrerer Wasserstoffbrücken und ionischer Wechselwirkungen erreicht werden. Einige in der Literatur beschriebene Beispiele sind in Tabelle 1 aufgeführt. Zum Vergleich sind auch einige Beispiele aufgeführt, welche nur schwächere, nicht-stöchiometrische nicht-kovalente Wechselwirkungen eingehen, ebenso ein paar Beispiele für einfache Wasserstoffbrücken, sowie ionische Wechselwirkungen.

Tabelle 1: Assoziationskonstanten von Komplexen zwischen Templaten und Haftmonomeren, die für das Molekulare Prägen mit stöchiometrische nicht-kovalenten Wechselwirkungen eingesetzt werden können. Aus Vergleichsgründen wurden auch einige nicht-stöchiometrische Beispiele aufgeführt.^[27]

Haftmonomer ⁽¹⁾	Templat ⁽¹⁾	K_{ass} (M ⁻¹)	Lösungs- mittel ⁽²⁾	T (°C)	x_{komplex} (%) ⁽³⁾	Lit.
		1,7 ⁽⁴⁾	CCl ₄	25	12,9	[3 0]
		3,3 ⁽⁴⁾	ACN	25	20,7	[3 1]
		3,0×10 ¹	ACN	23	56,6	[1 9]
		5,5	ACN	60	28,3	[1 9]
		N ¹ ,NH ₂ :			74,4	[3 2]
		1,1×10 ² ⁽⁵⁾	CDCl ₃	30	61,3	[3 2]
		N ⁷ ,NH ₂ :			26,8	[3 2]
		N ³ : 5				
		2,0×10 ²	CDCl ₃	22	80,0	[3 3]

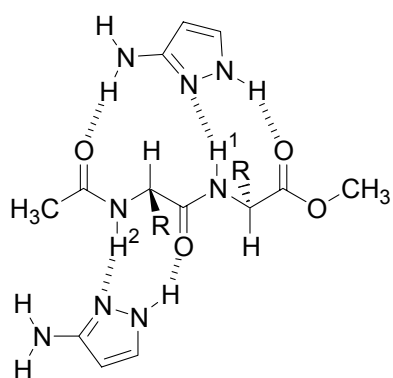
¹oder Modellverbindung ²Für ¹H-NMR-Experimente wurden deuterierte Lösungsmittel verwendet. ³Berechneter Molenbruch x an gebildeten Komplex, welcher sich aus einer Templat- und Haftmonomerkonzentration von jeweils 0,1 mol l⁻¹ ergibt. ⁴durch IR-Spektroskopie bestimmt. ⁵N-Atome, welche an H-Brücke teilnehmen, sind markiert.

Tabelle 1, Fortsetzung: Assoziationskonstanten von Komplexen zwischen Templaten und Haftmonomeren.^[27]

Haftmonomer ^{(1), (2)}	Templat ^{(1), (3)}	K_{ass} (M ⁻¹)	Lösungsmittel ⁽⁴⁾	T (°C)	x_{komplex} (%) ⁽⁵⁾	Lit.
		$8,9 \times 10^2$	CDCl ₃	25	90,0	[3 4]
		$> 10^6$ ⁽⁶⁾	CDCl ₃	25	$> 99,7$	[3 5]
		$1,2 \times 10^4$	ACN	25	97,2	[3 6]
		$8,7 \times 10^3$	ACN	25	96,7	[3 6]
		$7,6 \times 10^3$	ACN	60	96,4	[3 6]
		$7,9 \times 10^3$ ⁽⁷⁾	DMSO	25	96,5	[3 7]
	NBu ₄ ⁺ Ampicillin ⁻	$2,8 \times 10^2$	DMSO	25	82,8	[3 8]
	Ampicillin	$> 3 \times 10^4$ ⁽⁶⁾	DMSO	25	$> 98,2$	[3 8]
β-cyclodextrin		$4,7 \times 10^2$ ^{(8), (9)}	MeOH/ H ₂ O 45:55, v/v	30	86,4	[3 9]

¹oder Modellverbindung ²Sty = 4-Vinylphenyl- ³Me₂Ph = 3,5-Dimethylphenyl- ⁴Für ¹H-NMR-Experimente wurden deuterierte Lösungsmittel verwendet. ⁵Berechneter Molenbruch x an gebildeten Komplex, welcher sich aus einer Templat- und Haftmonomerkonzentration von jeweils 0,1 mol l⁻¹ ergibt. ⁶Assoziationskonstante zu hoch, um genau durch NMR bestimmt zu werden. ⁷Kalorimetrische Bestimmung. ⁸Durch Flüssigkeitschromatographie bestimmt. ⁹Berechnet aus ΔG .

Eine Klasse gut untersuchter Haftmonomere, welche mehrere Wasserstoffbrücken zu dem Templatmolekül ausbilden, stellen acylierte 3-Aminopyrazole dar. Sie stellen eine interessante Klasse von funktionellen Monomeren dar, da sie in der Lage sind, die β -Faltblattstruktur von N/C-geschützten Dipeptiden durch intermolekulare Wasserstoffbrücken zu stabilisieren (Schema 3).^[28, 34, 40] Ausführliche NMR-Studien wurden in Chloroform durchgeführt, um die Struktur des Aminopyrazol-Dipeptid-Komplexes aufzuklären. Die 2:1-Stöchiometrie konnte durch einen Job-Plot bestätigt werden. Dazu wurde die Änderung der chemischen Verschiebung $\Delta\delta$ der Amidprotonen von *N*-Acetyl-*L*-valyl-*L*-valinmethylester **1** bei Zugabe von 3-Amino-5-methyl-1*H*-pyrazol **3** verfolgt, wobei die Gesamtkonzentration beider Substanzen allerdings konstant gehalten wurde. Die Stöchiometrie ergab sich aus der Abzisse des Maximums des eigentlichen Job-Plots - der Graph, den den man durch Auftragung des Produkts aus Molenbruch und Änderung der chemischen Verschiebung $\Delta\delta \times X$ gegen den Molenbruch X erhält (siehe 2.5.1, S. 51). Da die „Oberseite“ des Dipeptides (NH(1)) drei, die „Unterseite“ (NH(2)) jedoch nur zwei Wechselwirkungen mit dem acylierten Heterozyklus eingehen kann, bindet erstere stärker mit diesem, was durch NMR-Titrationsen (siehe Kapitel 2.5.2, S. 53) belegt wurde. Der Komplexierungsgrad kann für beide Seiten durch Beobachten der Amid-NH-Signale NH(1) („oben“) und NH(2) („unten“) unabhängig voneinander gemessen werden. Während das unsubstituierte Pyrazol nicht zwischen den Seiten differenzieren kann ($K_1 = K_2 = 4 \text{ mol}^{-1}$), da es nur zwei Wasserstoffbrücken ausbilden kann. Das Einführen einer Aminogruppe (3-Amino-5-methylpyrazol **3**) und stärker noch, die Acylierung dieser, führt zu einer verstärkten



Schema 3: Ein 2:1-Komplex gebildet von zwei Molekülen 3-Aminopyrazol **2** und einem N/C-geschütztem Dipeptid.^[28, 34, 40]

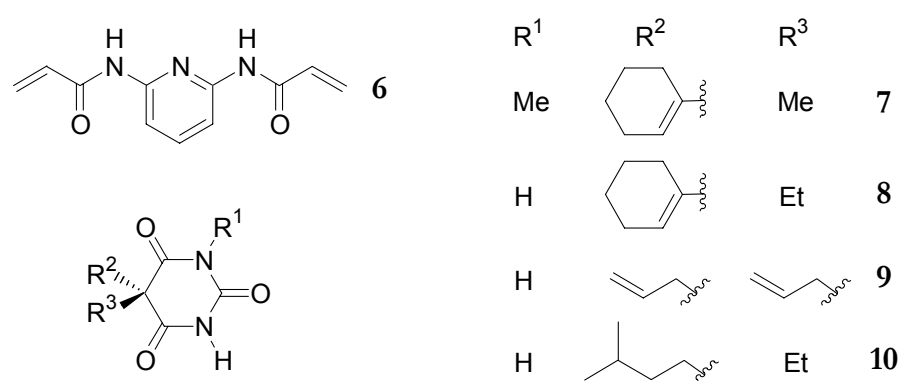
Tabelle 2: Bindung von *N*-Acetyl-*L*-valyl-*L*-valinmethylester **1** bei 25°C in CDCl_3 ^[34]

		K_{ass}
R ¹	R ²	(M ⁻¹)
CH ₃ -	H-	10
CH ₃ -	Methacroyl	80
CH ₃ -	Trifluoracetyl	890
4-vinylphenyl-	Pivaloyl-	81
4-vinylphenyl-	Acetyl-	370

Bindung der Oberseite und einer schwächeren der Unterseite (3-Methacryloylamino-methylpyrazol: $K_1 = 80 \text{ mol}^{-1}$, $K_2 = 2 \text{ mol}^{-1}$). Der Effekt von Substituenten an der Aminogruppe und am Heterozyklen in Position 5 ist in Tabelle 2 demonstriert. Elektronenziehende Substituenten in der Acylgruppe verstärken die Bindung zum Dipeptid durch verbesserte Wasserstoffbrückendonoreigenschaften des Amidprotons, wogegen elektronenreiche Substituenten in der Position 5 die Elektronendichte im Ring verstärken und so seine Wasserstoffbrückenakzeptoreigenschaften verbessern. Somit ist 3-Trifluoracetylamino-5-methylpyrazol **4** der stärkste Rezeptor in Chloroform mit einer Bindungskonstante $K_{\text{ass}} = 880 \text{ M}^{-1}$. Die Bindungskonstante des korrespondierenden polymerisierbaren Derivates 3-Trifluoracetylamino-5-(4-styryl)-pyrazol **5** ist mit $K_{\text{ass}} = 570 \text{ M}^{-1}$ etwas niedriger.

Trotz dieser vielversprechenden Ergebnisse waren Bindungsexperimente mit Polymeren, die mit polymerisierbaren Pyrazolderivaten synthetisiert wurden, eher unbefriedigend. Zwar konnten gute Abspaltraten (80-90%) und zum Teil hohe Enantio-selektivitäten in Batchbindungsexperimenten erreicht werden ($\alpha=1,8-2,7$), allerdings war die Wiederbelegungsrate generell nur sehr gering, was auf unzugängliche Kavitäten im Polymer hindeutet.^[41]

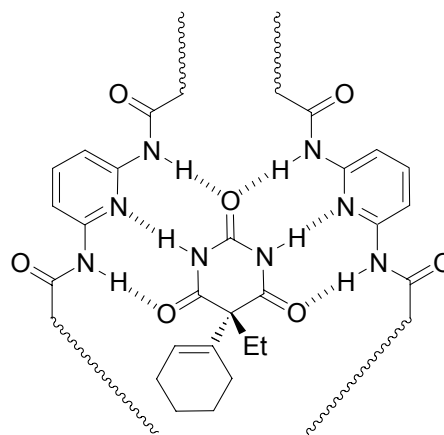
Ebenfalls über mehrere Wasserstoffbrücken bindet ein neues funktionelles Monomer an unsubstituierte Imide wie Barbiturate und andere Heterozyklen.^[42, 43] Indizien für ein Vorliegen intermolekularer Wechselwirkungen von 2,6-Bis(acrylamido)pyridin **6** und dem Templatmolekül wurden durch NMR-Experimente geliefert. Allerdings fehlen quantitative Messungen, die jedoch für Modellsubstanzen wie das 2,6-Bis(acetamido)pyridin mit



Schema 4: Struktur vom Haftmonomer 2,6-Bis(acrylamido)pyridin **6** und verschiedenen Barbituraten (Hexo-**7**, Cyclo-**8**, Allo-**9** und Amobarbital **10**), die als Analyten benutzt wurden.

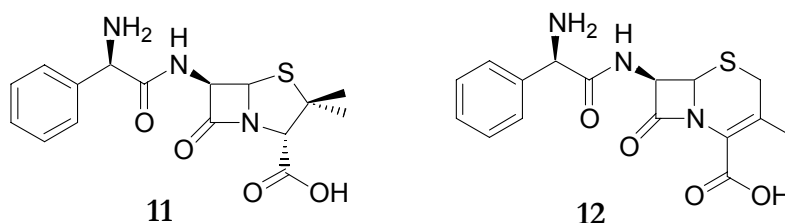
Barbituraten wie Hexobarbital **7** vorliegen.^[33] Die Assoziationskonstante wurde zu $K_{\text{ass}} = 200 \text{ mol l}^{-1}$ in Chloroform bestimmt, womit dieses Haftmonomer ein Grenzfall zwischen stöchiometrischer und nicht-stöchiometrischer kovalenter Wechselwirkung darstellt.

Das Haftmonomer **6** kann über mehrere Wasserstoffbrücken Bindungen eingehen. Takeuchi und Karube synthetisierten Polymere mit unterschiedlichen Templaten (siehe Schema 4). Polymere, welche mit Cyclobarbital **8** geprägt wurden, zeigten in HPLC-Experimenten eine bevorzugte Retention des Templates im Vergleich zu den anderen Barbituraten Hexo- **7**, Allo- **9** und Amobarbital **10**. Verbindungen, welchen das -CO-NH-CO- fehlte, wie Hexobarbital **7**, wurden nur sehr schwach gebunden. Dies deutet auf eine Bildung eines 2:1 Bis(acrylamido)pyridin-Templat-Komplexes hin (Schema 5).



Schema 5: Postulierter 2:1 Bis(acrylamido)pyridin-Templat-Komplex^[42]

Whitcombe und Mitarbeiter^[38] benutzten zwei verschiedene Haftmonomere, welche mit dem Antibiotikum Ampicillin **11** (Schema 6) stöchiometrische nicht-kovalente Wechselwirkungen eingehen. Da Ampicillin **11** sowohl eine Amino- als auch eine Carboxylgruppe besitzt, werden funktionelle Monomere gebraucht, welche nicht untereinander, jedoch mit dem Templatomolekül wechselwirken. Dieses Problem wurde gelöst, indem zwei neue elektrisch neutrale Haftmonomere für das Molekulare Prägen eingeführt wurden.

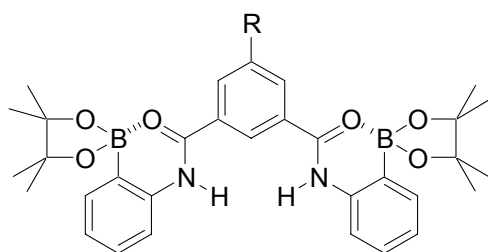


Schema 6: Strukturen von Ampicillin **11** und dem strukturanalogen Cephalexin **12**.

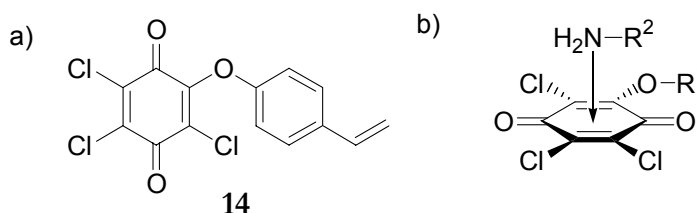
Als Haftmonomer für die Carboxylatgruppe wurde ein borhaltiger Rezeptor synthetisiert (Schema 8). Die Wechselwirkung von Carboxylaten zu dieser Klasse von Verbindungen wurde bereits von Hughes und Smith in Lösung untersucht ($R = H$).^[44] Die Assoziationskonstante des polymerisierbaren Rezeptors **13** ($R = p$ -Styrylmethoxy-) mit

Tetrabutylammoniumacetat wurde zu $1,4 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$ (in DMSO- D_6 , 25 °C) bestimmt.^[38] Dies ist eine Größenordnung niedriger als die für den nicht polymerisierbaren, unsubstituierten Rezeptor berichtet wurde^[44], was dem induktiven Effekt des Sauerstoffs der Etherbrücke zugeschrieben wurde. Die Assoziation mit dem Ampicillin Salz $\text{NBu}_4^+ \cdot \mathbf{11}$ war mit $K_{\text{ass}} = 2,8 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$ (in DMSO- D_6 , 25 °C) etwas höher.

Um die Bindung der Aminogruppe des Ampicillins zu ermöglichen, wurde eine Charge-Transfer-Wechselwirkung eingesetzt. Zu diesem Zweck wurde ein elektronenarmes Chinon **14** in einem Schritt aus *p*-Vinylphenol und Chloranil synthetisiert (Schema 7 a). Da das planare Chinon **14** zwei Koordinationsstellen für das Amin bietet, wurde eine 2:1-Komplexbildung für das Monomer und Ampicillin **11** in DMSO- D_6 beobachtet. Die Bindungskonstante konnte aufgrund seiner Größe nur auf deutlich über $3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ (DMSO- D_6 bei 25 °C) abgeschätzt werden.



Schema 8: Borhaltiger Rezeptor für Carboxylate



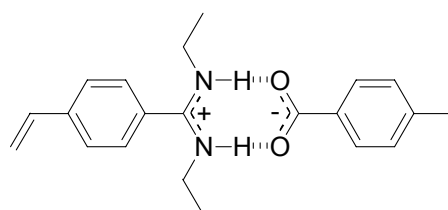
Schema 7: a) Polymerisierbares elektronenarmes Chinon **14**
 b) **14** als Bindungsstelle für Amine via $n\text{-}\pi$ -Wechselwirkung.^[38]

Mit diesen beiden neuen Haftmonomeren wurden nun geprägte Polymere mit dem Tetrabutylammoniumsalz von Ampicillin **11** und jeweils einem Äquivalent beider Haftmonomere **13** und **14** synthetisiert. Diese Polymere zeigten eine höhere Aufnahme des Templates **11** als nichtgeprägte Kontrollpolymere, welche zwar mit den gleichen Haftmonomere jedoch ohne das Templat hergestellt wurden. Bindungsstudien wurden durchgeführt, die zeigten, daß die geprägten Polymere Ampicillin **11** gegenüber dem strukturverwandten Cephalexin **12** bevorzugt wird. Obwohl diese Antibiotika im wesentlichen nur in der Größe des schwefelhaltigen Ringes voneinander abweichen (Schema 6), wurde von **12** im Vergleich zu **11** bei gleicher angebotener Konzentration nur etwa halb so viel gebunden.

Um ein tieferes Verständnis von den Bindungsstellen im Polymer zu erlangen, maßen Whitcombe und Mitarbeiter in Wasser Bindungsisotherme, welche als Scatchard Plots (Auftragung von $n_{\text{geb}}/n_{\text{frei}}$ als Funktion von n_{geb} ; Zahl der gebundenen Moleküle n_{geb} ; Zahl

der freien Moleküle n_{frei})^[45-47] ausgewertet wurden. Es ergaben sich zweiphasige Graphen, welche auf unterschiedliche Typen von Bindungsstellen hindeuten. Durch Anwenden eines *one-site*-Bindungsmodells auf beide Teilbereiche wurden sowohl Assoziationskonstanten wie auch Bindungskapazitäten bestimmt, welche bei $K_{\text{ass}} = 3,3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ und $5,8 \text{ } \mu\text{mol/g}$ für die stärkere Bindungsstellen und $K_{\text{ass}} = 1,0 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ und $42 \text{ } \mu\text{mol/g}$ lagen. Zwei zusätzliche Polymere, welche neben dem Templat **11** jeweils nur eine der beiden Haftgruppen **13** und **12** enthielten, belegten, daß diese starke Bindung in Wasser auf eine Bindung durch beide Haftgruppen zurückzuführen ist. Weiterhin wurde durch die Bindungsisotherme gezeigt, daß im Gegensatz zu nicht-stöchiometrischen Bindungen alle vorhandenen Kavitäten des Polymers wiederbelegt wurden.

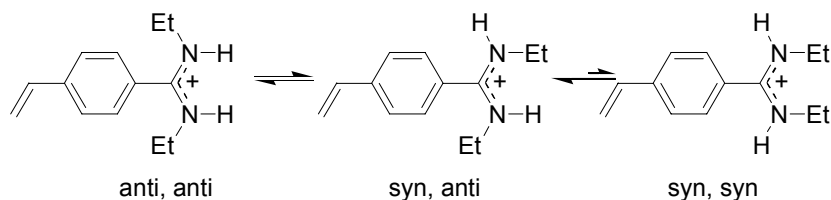
Eine Klasse von Substanzen, die dafür bekannt ist, ebenfalls starke Komplexe mit Carbonsäuren, Phosphonaten und Phosphaten einzugehen, sind Amidine.^[48, 49] Deren Gleichgewichte in Lösungen werden in unserem Arbeitskreis untersucht, da sie als Haftgruppe für das molekulare Prägen eingesetzt werden sollen. Die Wechselwirkung zwischen Amidiniumionen mit Carboxylaten ist recht stark, da sie auf einer Kombination einer elektrostatischen Wechselwirkung mit einer zweizähnigen Wasserstoffbrücke beruht (Schema 9). Systematische Untersuchungen^[35, 50] zeigten, daß unsubstituierte Amidine oft unlösliche Komplexe mit Carbonsäuren bilden. Dieser Nachteil kann durch Einsatz von *N,N'*-Dialkylbenzamidinen umgangen werden. Unter diesem Gesichtspunkt stellte sich *N,N'*-Diethyl-4-vinylbenzamidin **15** aus einer großen Serie von Verbindungen als das geeigneteste Haftmonomer heraus. Carboxylat-Komplexe mit diesem Monomer sind sogar in so unpolaren Lösungsmitteln wie Chloroform und Benzol löslich.



Schema 9: Wechselwirkung des Amidiniumions von **15** mit *p*-Methylbenzoat.

Das Komplexierungsverhalten von **15** bzw. einer Modellspezies von diesem, dem 4-Ethyl-Derivat **16**, wurde ausführlich untersucht. Job-Plots bestätigten die Bildung von 1:1 Komplexen mit Oxoanionen wie Carboxylaten, Phosphonaten und Phosphaten. Die Bindungsstärke nimmt dabei in der genannten Reihenfolge 12 über 8,7 bis $4,6 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ (in ACN- d_3 bei 25°C, Tabelle 3) ab.^[36]

Die Assoziationskonstanten des *N,N'*-Diethyl-4-vinylbenzamidiniums werden durch die Konformation seiner Ethylgruppen, welche *anti-anti*, *syn-anti* und *syn-syn* zueinander orientiert sein können (Schema 10), beeinflusst. Nur die ersten beiden sind in größeren Anteilen in Lösung vorhanden und können NMR-spektroskopisch detektiert werden. Das Vorliegen in der *anti-anti*-Konformation ist dabei für das Fungieren als zweizähliger Ligand zur Ausbildung stabiler Komplexe zwingend erforderlich. Diese Voraussetzung wird aber gerade in polaren Lösungsmitteln wie Dimethylsulfoxid nicht erfüllt, hier wird die *syn-anti*-Konformation bevorzugt. Dies behindert die Komplexbildung, da die aufzubringende Energie, welche für die Konformationsumwandlung nötig ist (ca. 10 kJ mol⁻¹), die Komplexbildungsenthalpie um diesen Betrag verringert.^[51]



Schema 10: Unterschiedliche Konformationen von **15**•H⁺

Tabelle 3: Assoziationskonstanten einiger Komplexe von dem 4,*N,N'*-Triethylbenzamidiniumion mit verschiedenen Anionen.^[G. Wulff, 36]

Verbindungen ⁽¹⁾	K _{ass} (M ⁻¹)	Lösungsmittel ⁽²⁾	T (°C)
	>10 ⁶ (3)	CDCl ₃	25
	1,2×10 ⁴	ACN	25
	8,7×10 ³	ACN	25
"	7,6×10 ³	ACN	60
	4,6×10 ³	ACN	25
	6,4×10 ²	ACN	25

¹Me₂Ph = 3,5-Dimethylphenyl. ²ACN = Acetonitril-*d*₃.

³Assoziationskonstanten zu hoch für exakte Bestimmung.

Die komplette Struktur der Komplexe konnte durch Röntgenstrukturanalyse von 4-Brombenzamidiumbenzoat **17** geklärt werden (Abbildung 1).^[52] Zwei starke Wasserstoffbrücken werden zwischen den Carboxylatsauerstoffatomen und den Amidiniumstickstoffatomen gefunden, wobei die Wasserstoffatome den Stickstoffatomen näher sind. Ein Torsionswinkel von 81° zwischen dem Benzolring und der NCN-Ebene der Base wird durch den Raumanpruch der „Zickzack“-Konformation der Diethylamidiniumgruppe verursacht.

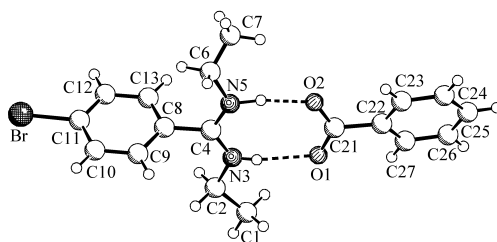


Abbildung 1: Kristallstruktur von 4-Brombenzamidiumbenzoat **17**^[52]

Mit Hilfe des *N,N'*-Diethyl-4-vinylbenzamidins **15** als Haftmonomer wurden geprägte Polymere mit hervorragenden Eigenschaften synthetisiert.^[51] Bei enantioselektiv geprägten Polymeren, welche mit *N*-Terephthaloyl-*D*-phenylglycin **18** als Templat, zwei Äquivalenten **15** und THF als Porogen synthetisiert wurden, ließ sich das Templat nahezu quantitativ abspalten. Die Bindungsisotherme (Abbildung 2), welche in Methanol aufgenommen wurde, zeigt, daß das Polymer, wenn ihm bis zu 100% Templat angeboten wird (bezogen auf die freien Kavitäten entsprechend der Abspaltrate), es dieses nahezu quantitativ (bis zu 98%)

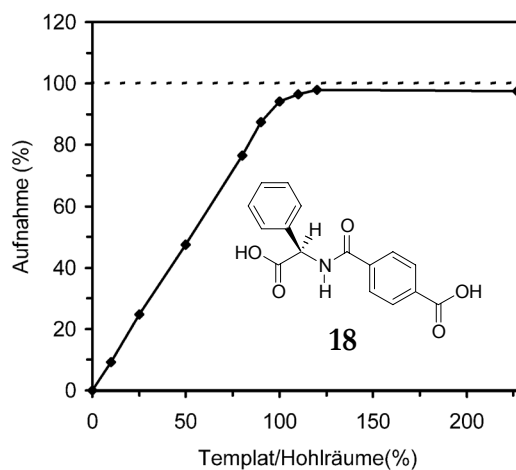


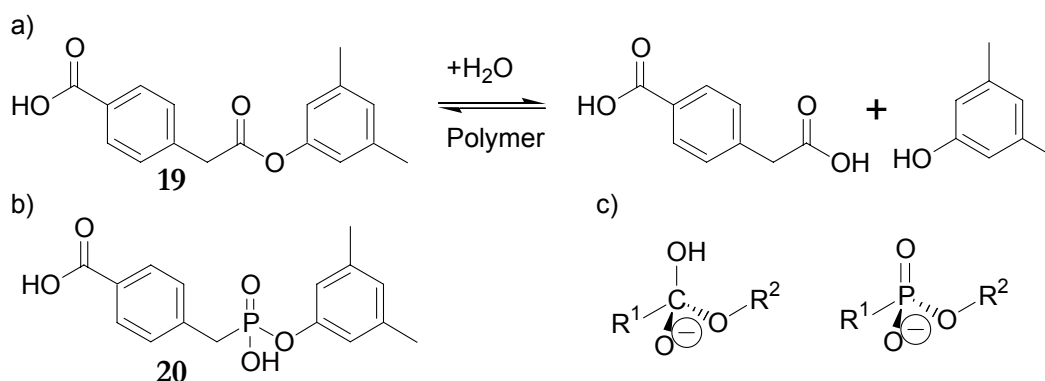
Abbildung 2: Bindungsisotherme des mit **18** und 2 Äquivalenten von **15** geprägten Polymers in Methanol.^[51]

wieder aufnimmt. Bei einem Überschuss nimmt es nur soviel auf, wie es freie Kavitäten aufgrund der Abspaltrate besitzt. Das Polymer weist also ein Sättigungsverhalten auf.

In Batch-Bindungsexperimenten mit dem Racemat von **18** wurde die Enantioselektivität des Polymers in THF demonstriert. Bei 200% angebotenen Racemates zeigte das Polymer einen α -Wert (Verhältnis der Verteilungskoeffizienten zwischen Lösung und Polymer der beiden Enantiomere: $\alpha = K_L/K_D = n_{L,\text{Poly}}/n_{L,\text{Lös}} \cdot n_{D,\text{Lös}}/n_{D,\text{Poly}}$) von 1,5, wobei alle Kavitäten, auch weniger selektive, des Polymers belegt werden. Durch Anbieten einer geringeren Menge an Templat (2,8 % bezogen auf die Zahl freier Kavitäten), wodurch nur die selektivsten Kavitäten Templatmoleküle binden, konnte die Selektivität auf $\alpha = 2,8$ gesteigert werden.

Weiterhin wurde *N,N'*-Diethyl-4-vinylbenzamidin **15** zur Synthese katalytisch aktiver Polymere eingesetzt. Solche Polymere werden analog zu katalytisch wirksamen Antikörpern erhalten. Dazu werden als Templatmoleküle für das molekulare Prägen sogenannte Übergangszustandsanaloga eingesetzt. Diese sind dem Übergangszustand der Reaktion in ihrer Ladungsverteilung sowie in ihrem räumlichen Aufbau ähnlich. Die Hohlräume eines Polymers, welches mit einem solchen Analogon geprägt wurde, können den Übergangszustand stabilisieren und so die entsprechende Reaktion katalysieren.

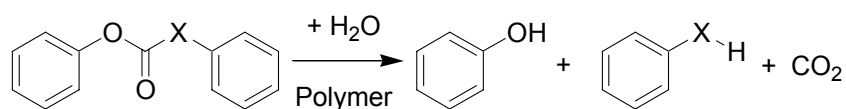
Ein Beispiel, um diesen Sachverhalt zu erläutern, ist die Hydrolyse des nicht aktivierten Phenylesters **19** (Schema 11). Ein Polymer wurde mit dem Übergangszustandsanalogon **20** als Templat geprägt. Die Koordinationssphäre am Phosphoratom ist wie bei dem Kohlenstoffatom des Übergangszustandes tetraedrisch und beide binden ein negativ geladenes Sauerstoffatom. Als Haftmonomer wurden zwei Äquivalente **15** eingesetzt. Ein



Schema 11: a) Hydrolyse eines nicht-aktivierten Phenylesters **19**, b) eingesetztes Übergangszustandsanalogon **20**, c) Vergleich der Ladungsverhältnisse sowie der Geometrie von Übergangszustand und Analogon^[53]

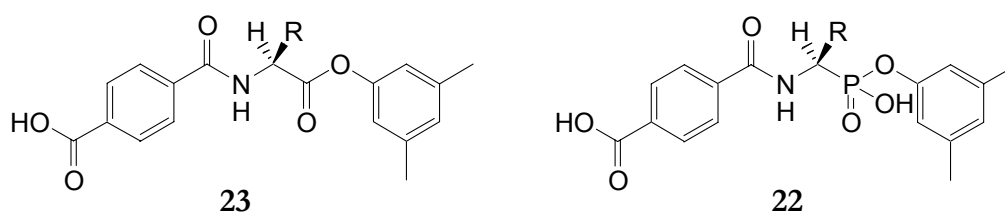
Molekül **15** dient sowohl dem Templat **20** als auch dem Substrat **19** als Bindungsstelle für die Carboxylatgruppe des Terephthaloyl-Restes. Das zweite Amidinmolekül geht bei dem Prägen eine zweite stöchiometrische nicht-kovalente Wechselwirkung mit dem Phosphonat **20** ein. Man glaubt jedoch, daß dieses während der Hydrolyse in der Kavität als katalytisch wirksame Gruppe fungiert, in dem sie den tetrahedralen Übergangszustand stabilisiert. Dieses Polymer war in der Lage, in einem acetonitrilhaltigen Puffer mit pH-Wert = 7,6 die in Schema 11a) aufgeführte Hydrolyse um den Faktor 100 gegenüber der Reaktion in Lösung gleichen pHs zu beschleunigen.^[53] Weitere Indizien für enzymanalogenes Verhalten dieser Polymere lieferten Michaelis-Menten-Kinetiken, welche unter anderem Sättigungsverhalten der Polymere bei höherem Substratangebot zeigten, d. h. bei höheren Substratkonzentrationen sind bereits alle Hohlräume belegt. Die Michaelis-Menten-Konstante (die Konzentration, bei die Hälfte der maximalen Reaktionsgeschwindigkeit erreicht wird)^[46] wurde zu $K_M = 0,60$ mM, die *turnover* Zahl (Anzahl der Umsetzungen pro aktives Zentrum und Zeit)^[46] zu $k_{cat} = 0,4 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ bestimmt. In Gegenwart des Templates **20** findet kompetitive Hemmung statt ($K_i = 0,025$ mM), d. h., daß dieses um den Faktor 20 stärker gebunden wird als das Substrat **19**.

Ein Nachteil des untersuchten Systems ist das Vorliegen von Produktinhibierung, wie man sie auch bei katalytisch wirksamen Antikörpern gefunden hat.^[54] Daher wurden ähnliche Systeme, wie die Hydrolyse von Carbonaten und Carbamaten untersucht (Schema 12).^[29] Bei diesen war keine Produktinhibierung zu erwarten, da das gebildete CO₂ aus der Lösung entweichen kann und das Phenol bzw. Anilin selber keine stabilen Komplexe mit Amidinen bilden. Die mit je einem Äquivalent Diphenylphosphat **21** und *N,N'*-Diethyl-4-vinylbenzamidin **15** geprägten Polymere zeigten die bisher höchsten veröffentlichten relativen Beschleunigungen von ca. 600 (Carbonate) bzw. 1400-3900 (Carbamate) gegenüber der Lösung. Auch im Vergleich zu Polymeren, welche gleiche Mengen an **15** statistisch enthielten, waren Beschleunigungen von 10 (Carbonate) bzw. 5,8 (Carbamate) zu messen.



Schema 12: Hydrolyse von Diphenylcarbonat ($X = O$) bzw. -carbamat ($X = NH$).^[29]

Noch eindrucksvoller werden enzymanaloge Eigenschaften durch ein System geprägter Polymere demonstriert, welches enantioselektiv Ester hydrolysieren kann (Schema 13).^[55] Optisch reine *N*-Terephthaloyl- α -aminophosphonsäuremonophenylester **22** (analog zu den *N*-Terephthaloyl-*L*-valin- bzw. -*L*-leucineestern **23**) als Übergangszustandsanaloga wurden mit zwei Äquivalenten *N,N'*-Diethyl-4-vinylbenzamidin **15** zu geprägten Polymeren umgesetzt. Diese zeigten analog den bereits oben beschriebenen Beispielen beträchtliche Beschleunigungen der Esterhydrolyse. Es wurden für das templat analoge Substrat (im Falle des Leucin-Derivates) im Vergleich zur Lösung Werte von über 325 erreicht, wobei sein Enantiomer nur um den Faktor 234 beschleunigt hydrolysiert wurde. Daraus ergibt sich eine Enantioselektivität von 1,39. Im Falle des valin-analogen Systems ergaben sich Werte von $249/204 = 1,21$. Die Polymere zeigten ebenso Sättigungskinetiken. Die stärker ausgeprägte Selektivität wurde auch durch die Michaelis-Menten-Parameter verdeutlicht. Es ergaben sich $k_{\text{cat}}/K_{\text{M}}(\text{L})/(k_{\text{cat}}/K_{\text{M}}(\text{D})) = 1,66$ für das Leucin- und 1,53 für das Valin-System. Außerdem wiesen beide Polymere Kreuzselektivität auf, d. h. sie hydrolysierten bevorzugt jeweils das Aminosäure-Derivat, welches analog zu ihrem Templat war.



Schema 13: Chirale Substrate **23** und Übergangszustandsanaloga **22** einer enantioselektiven Hydrolyse ($R = -\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ bzw. $-\text{CHCH}_2(\text{CH}_3)_2$).^[55]

Versuche zur Synthese katalytisch aktiver, molekular geprägter Polymere wurden auch in der Vergangenheit von anderen Gruppen verfolgt, wobei sie nicht-stöchiometrische nicht-kovalente bzw. Metalkoordinations-Wechselwirkungen einsetzten.^[56-59] Diese Polymere waren jedoch monoklonalen Antikörpern, welche ähnliche Reaktionen katalysierten, deutlich unterlegen. In einem dieser Fälle wurde eine Beschleunigung der Reaktion gegenüber dem der Lösung um den Faktor 6,7 erreicht.

Offenbar ist für den Erfolg eines katalytisch aktiven geprägten Polymers nicht nur die Wahl des Übergangszustandsanalogon der zu katalysierenden Reaktion, sondern auch die der Haftgruppe von entscheidender Bedeutung. Diese kann neben der Rolle als Bindungsstelle auch die der katalytisch wirksamen Gruppe übernehmen.

Der hier vorgestellte Bindungsmodus sowie die Bindungskonstanten von Amidiniumionen mit Carboxylaten ähneln denen von Guanidiniumionen (Tabelle 1). Assoziationskonstanten solcher Guanidiniumverbindungen wurden auch von weiteren Arbeitsgruppen bestimmt^[37, 60], Shea und Mitarbeiter nutzten dieses Prinzip für das Molekulare Prägen.^[61, 62] Als Haftmonomere wurden *N*-(2-Methylacryloyl)-guanidin sowie *N*-(3-Guanidinopropyl)-methacrylamid verwendet. Polymere mit gutem Bindungsvermögen für Carbonsäuren konnten erhalten werden, jedoch zeigten Polymere, welche mit optisch aktiven Carbonsäuren geprägt wurden, keine Enantioselektivität.

Diese Beispiele verdeutlichen einerseits das Potential, welches Haftmonomere mit stöchiometrischen nicht-kovalenten Wechselwirkungen bieten, andererseits aber auch, daß noch viele Studien unternommen werden müssen, damit sie dieses voll entwickeln können. Bei allen Anwendungsmöglichkeiten molekular geprägter Polymere - sei es bei enantioselektiv bindenden Polymeren, bei katalytisch wirksamen Polymeren oder bei Schichten für Chemosensoren - besitzt das jeweils eingesetzte Haftmonomer eine zentrale Bedeutung. Während das Templatmolekül meist durch die angestrebte Anwendung des geprägten Polymers bestimmt wird, kann das Haftmonomer frei gewählt werden. Daher ist es wünschenswert, eine breite Palette verschiedener Haftmonomere zur Verfügung zu haben, wobei dann das für den Anwendungsfall am besten geeignete eingesetzt werden kann. Die Entwicklung und Synthese neuer Haftgruppen ist somit für den zukünftigen Fortschritt molekular geprägter Polymere von zentraler Bedeutung.

2 Theoretischer Teil

2.1 Problemstellung und Ziele

Eine interessante Substanzklasse stellen wegen ihrer außerordentlichen Bedeutung in Organismen Peptide dar. Sei es als einfache Bau- und Gerüststoffe, als natürliche Katalysatoren in Form von Enzymen, als Botenstoffe (Hormone) oder als Rezeptoren - ohne sie ist Leben nicht möglich. Daher sind diese Stoffe auch für das Molekulare Prägen von großem Interesse.

Verschiedene Arbeitsgruppen synthetisierten Polymere, welche mit Oligopeptiden bzw. deren Derivate geprägt wurden. Meist wurden dabei Haftmonomere, welche unspezifische, nicht-stöchiometrische, nicht-kovalente Wechselwirkungen zu dem Templat ausbilden, eingesetzt, entweder durch den Gebrauch von Methacrylsäure^[63-67] oder anderen, schwach bindenden Molekülen.^[68, 69] Hart und Shea hingegen nutzten Metallkoordinations-Bindungen an einem polymerisierbaren Nickelkomplex, um Dipeptide mit einem *N*-terminalen Histidin in Wasser zu binden.^[70, 71] Allerdings wurden in keinem der beschriebenen Fälle Haftmonomere eingesetzt, welche stöchiometrische, nicht-kovalente Wechselwirkungen zu Peptiden ausbildeten.

In unserem Arbeitskreis gab es ebenfalls Versuche, Polymere mit Dipeptidderivaten zu prägen. Amidopyrazole zeigten gute Eigenschaften bei der Komplexierung von *N*-acylierten Dipeptidestern. Die Bildung eines konformativ rigiden Templat-Monomer-Komplexes durch Stabilisierung des Dipeptides in der β -Faltblattstruktur ist ideal für die Bildung möglichst ähnlicher („monoklonaler“) Kavitäten. Aufgrund der geringen Wiederbelegungsraten waren geprägte Polymere, bei denen acylierte Aminopyrazole als Haftmonomere eingesetzt wurden, nur eingeschränkt einsetzbar. Als eine der Ursachen für die ungünstigen Eigenschaften der Polymere galt das verwendete Porogen. Dieses war zwar aufgrund seiner geringen Polarität gut geeignet für die Bildung stabiler Haftmonomer-Templat-Komplexe, jedoch führt es zu einer ungünstigen Polymerstruktur, da es durch Übertragungsreaktionen während der radikalischen Polymerisation vermehrt in das Netzwerk eingebaut wurde und so dieses in unbestimmten Maße veränderte. Da jedoch die hohen Bindungskonstanten der Amidopyrazol-Dipeptid-Komplexe nur im unpolaren Chloroform erreicht wurden, konnte auf dieses als Porogen nicht verzichtet werden.

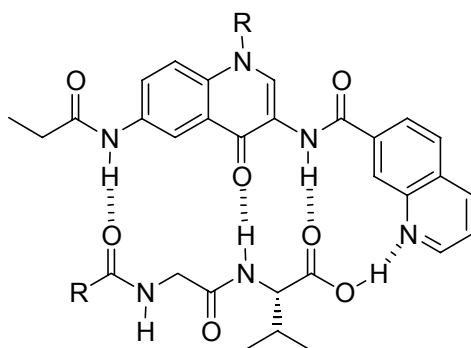
Polymere, welche auf *N,N'*-Diethyl-4-vinylbenzamidin **15** als Haftmonomer basierten,

zeigten diesen Nachteil nicht.^[51] Ihre Wiederbelegungsraten liegen typischerweise über 80% bzw. 90%. Assoziationskonstanten von Komplexen von **15** mit Carbonsäuren sind auch in Lösungsmitteln wie Acetonitril und Tetrahydrofuran ausreichend hoch, so daß diese als Porogen eingesetzt werden konnten.

Erste Untersuchungen, bei denen acylierte Aminopyrazole und *N,N'*-Diethyl-4-vinylbenzamidin **15** gleichzeitig, quasi als Co-Haftmonomere, für enantiomerenreine *N*-acylierte Dipeptidcarbonsäuren eingesetzt wurden, waren nur bedingt erfolgreich.^[72] Zwar zeigten die geprägten Polymere in Batchbindungsexperimenten hohe Wiederbelegungsraten, allerdings war keine Enantioselektivität der Polymere zu beobachten. Offenbar werden in diesen Polymeren die Templat-Polymer-Wechselwirkungen im wesentlichen durch die starken elektrostatischen sowie Wasserstoffbrücken-Wechselwirkungen zwischen Amidiniumgruppe und Carboxylat bestimmt. Die deutlich schwächere Interaktion der zweiten Haftgruppe zu dem Peptidrückgrat, welche nur über Wasserstoffbrücken stattfindet, kann somit keinen entscheidenden Einfluß ausüben. Diese Situation ist sowohl für die Komplexbildung beim Prägen als auch bei späteren Bindungsexperimenten gegeben. Dabei wirkt sich die unzureichende Bindung zwischen Aminopyrazol und Dipeptidcarbonsäure doppelt auf die Bindungseigenschaften des geprägten Polymers aus. Einerseits durch die Bildung uneinheitlicher Kavitäten schon während des Prägens, andererseits durch eine Einpunktbindung über die Amidinium-Carboxylat-Wechselwirkung im Polymer.

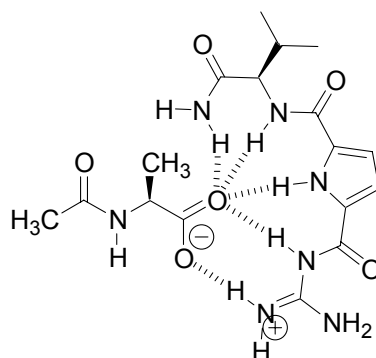
Ein Ansatz, um dieses Problem zu lösen, ist es, das Amidopyrazol an das Amidin kovalent zu binden. Das Amidin könnte somit aufgrund seiner starken Wechselwirkung mit der Carboxylgruppe des *N*-acylierten Dipeptides zur primären Bildung des Komplexes führen. Durch die räumliche Vororientierung des Amidopyrazols ist nun eine Ausbildung mehrerer Wasserstoffbrücken zu dem Rückgrat des Dipeptides möglich.

Rezeptoren, welche auf einem ähnlichen Grundprinzip basieren, sind in der Literatur bekannt. So beschreiben Weiner und Hamilton^[73] einen Rezeptor, der sowohl das Rückgrat einer freien Dipeptidcarbonsäure als auch deren C-Terminus komplexiert (Schema 14). Allerdings werden dabei keine ionischen Wechselwirkungen eingesetzt. Die Komplexbildungskonstante K_{ass} in Chloroform beträgt auf diese Weise ca. 10^4 M^{-1} , was eine ganze Größenordnung höher ist, als bei den von Kirsten untersuchten Haftmonomeren. Da aber als Lösungsmittel für die Komplexbildungsstudien das unpolare Chloroform diente, ist eine starke Abnahme der Assoziationskonstante zu erwarten, sobald für das Molekulare Prägen besser geeignete, polarere Lösungsmittel eingesetzt werden. Daher scheint dieses System für die Synthese geprägter Polymere nicht geeignet.



Schema 14: Komplex aus Dipeptidcarbonsäure und Rezeptor **24** nach Weiner und Hamilton.^[73]

Schmuck entwickelte Rezeptoren für acylierte Aminosäuren.^[74] Diese bestehen aus einem Guanidin zur Erkennung von Carboxylaten, welches mit Pyrrol-2,5-dicarbonsäurederivaten einfach acyliert wurde (siehe Schema 15). Die zweite Carboxylgruppe liegt dabei als Amid vor. Das korrespondierende Guanidiniumion ist deutlich acider ($\text{p}K_{\text{a}} \approx 7-8$) als ein freies oder gar alkyliertes Guanidiniumion ($\text{p}K_{\text{a}} \approx 13$). Die verbesserten Wasserstoffbrückendoneigenschaften führen zu hohen Bindungskonstanten (bis $\sim 10^3 \text{ M}^{-1}$) in polaren Lösungsmittelgemischen wie 40% Wasser in DMSO (v/v). Zu solch hohen Bindungskonstanten tragen neben der ionischen Wechselwirkung zwischen Guanidinium- und Carboxylatgruppe zahlreiche Wasserstoffbrücken zwischen den Carboxylatsauerstoffatomen und den verschiedenen Stickstoffatomen bei (Schema 15). In der Regel wird nur eine Bindung zur Carboxylatgruppe gefunden, auch wenn es bei strukturverwandten Derivaten von **25** auch zu einzelnen Wechselwirkungen zu der Seitenkette mancher acylierter Aminosäuren kommen kann.



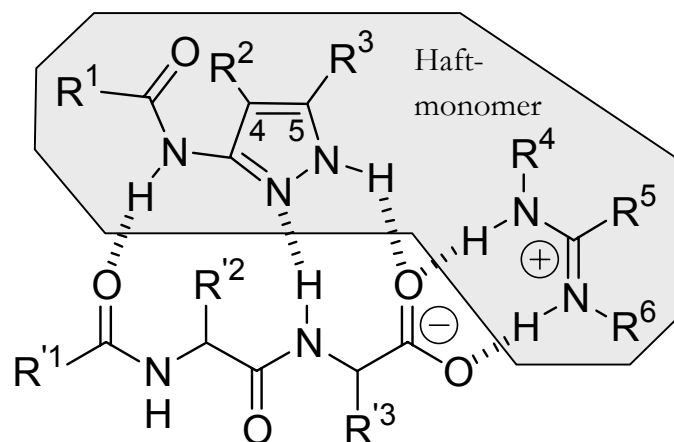
Schema 15: Ein (2-Guanidiniocarbonyl)pyrrol **25** als Carboxylatrezeptoren.^[74]

Im Gegensatz dazu sollen bei dem Konzept, welches im Rahmen dieser Arbeit entwickelt wurde, mehrfache Wechselwirkungen zwischen Peptidrückgrat und dem Amidopyrazol möglich sein. Außerdem muß der Rezeptor noch weitere Voraussetzungen erfüllen, welche typisch für ein Haftmonomer für das Molekulare Prägen sind.

Ziel dieser Arbeit ist es ein Haftmonomer zu synthetisieren, welches in der Lage ist, *N*-geschützte Dipeptide in polaren Lösungsmitteln zu komplexieren. Dabei sollte neben einer teils ionischen Wechselwirkung zum C-Terminus des Dipeptides auch sekundäre Wechselwirkungen zwischen dem Peptidrückgrat und der Haftgruppe stattfinden, um so einen konformativ eingeschränkten Komplex zu erhalten. Idealerweise soll dieses Haftmonomer also die Vorzüge beider Haftmonomertypen - Amidin und Amidopyrazol - in sich vereinen.

2.2 Design des Haftmonomers

Schema 16 stellt die räumliche Anordnung sowie die Lage der möglichen Wechselwirkungen eines Komplexes aus *N*-acylierter Dipeptidcarbonsäure und dem Haftmonomer dar.



Schema 16: Grundprinzip des zu entwerfenden Haftmonomers: Im Monomermolekül sollen einerseits eine Amidiniumgruppe zur starken Bindung der Carboxylatgruppe eines Dipeptides führen, andererseits sekundäre Wechselwirkungen zwischen Amidopyrazol und Peptidrückgrat dieses konformativ fixieren.

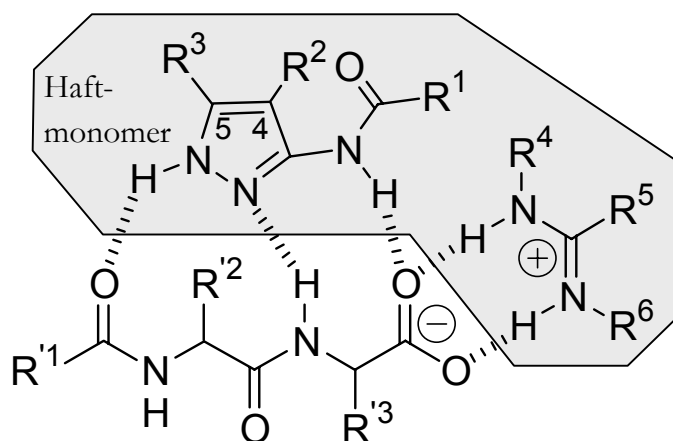
Die Amidiniumgruppe ist dabei vor dem C-Terminus des Dipeptides platziert, während der Heterozyklus das gesamte Dipeptid flankiert. Insgesamt ergibt sich eine L-förmige Struktur des Rezeptors, wobei das Dipeptid an der konkaven Innenseite des Moleküls gebunden wird.

In Schema 16 sind die synthetisch zugänglichen Positionen in den beiden Gruppen des Rezeptors markiert (R^1 bis R^6). An diesen Positionen müssen Reste eingeführt werden, die zwei Funktionen erfüllen: Einerseits muß das Haftmonomer mindestens eine polymerisierbare Gruppe enthalten, andererseits müssen beide Gruppen durch einen geeigneten Spacer miteinander verbunden werden. Der Wahl des Spacers kommt dabei die entscheidende Bedeutung zu, da dieser die gesamte Geometrie und konformative Flexibilität des Haftmonomers bestimmt.

Bei der Verknüpfung des Spacers mit dem Amidopyrazol sind prinzipiell drei Positionen denkbar: Als Rest R^1 durch Acylierung der Aminogruppe und am Pyrazolring in Position 4 oder 5 (R^2 bzw. R^3). Die Position 4 ist jedoch aus mehreren Gründen ungünstig.

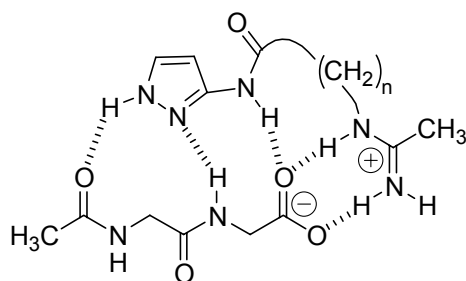
So zeigt eine Bindung an dieser Stelle von der Amidiniumgruppe weg, so daß ein hier angeknüpfter Spacer extrem lang gewählt werden müßte, um noch zu der geforderten Rezeptorstruktur zu führen. Außerdem ist eine sterische Repulsion zwischen Rest R^4 und Sauerstoffatom der benachbarten Carbonylgruppe zu erwarten, die die Konformation, wie sie in Schema 16 zu sehen ist, energetisch äußerst ungünstig erscheinen läßt. Bei der Position 5 ist der zweite Nachteil nicht zu befürchten. Auch die Ausrichtung der Bindung ist im Hinblick auf die Lage der Amidiniumgruppe günstiger, wenn auch nicht optimal.

Der Rest R^1 als Anknüpfungsstelle für einen Spacer kommt aufgrund seiner Lage zur Amidiniumgruppe in diesem Modell nicht in Betracht. Wird der Heterozyklus allerdings an der Vertikalen gespiegelt, so ist nach wie vor das gleiche Muster an Wasserstoffbrückenakzeptoren und -donoren (nämlich Donor-Akzeptor-Donor) gegeben (siehe Schema 17). Eine Verknüpfung der beiden Haftgruppen anstelle der Reste R^1 und R^4 bietet sich nun aufgrund ihrer Orientierung und Nähe an. Energetisch sollte diese Geometrie hinsichtlich der Amidopyrazol-Dipeptid-Wechselwirkungen jedoch ungünstiger als die vorherige sein, da jene der von Kirsten für das freie Amidopyrazol gefundenen entspricht. Es stellt sich nun die Frage, ob die Ausbildung der drei Wasserstoffbrücken zwischen Peptidrückgrat und Amidopyrazol in dieser Anordnung durch die starke teils ionische Wechselwirkung am C-Terminus erzwungen werden kann.



Schema 17: Alternative Anordnung der Amidopyrazolgruppe relativ zur Amidiniumgruppe im Haftmonomer. Die Aminogruppe ist nun nicht terminal sondern befindet sich zwischen Pyrazolring und Kation.

Um diese Frage zu beantworten, wurden mittels *molecular modeling* Berechnungen mit einem Dreiding 2.21 Kraftfeld^[75] durchgeführt. Dabei wurden Modellmoleküle simuliert, um den Rechenaufwand in Grenzen zu halten (Schema 18). Als *N*-acyliertes Dipeptidcarboxylat wurde der einfachste Vertreter, nämlich *N*-Acetyl-glycyl-glycinat **26** (Ac-Gly-Gly-O⁻) gewählt. Auf Seiten des Rezeptors wurden die beiden Gruppen durch eine Kette von Methylengruppen miteinander verbunden. Der Rest R⁵ an der Amidiniumgruppe wurde durch eine Methylgruppe, alle weiteren Reste durch Wasserstoffatome ersetzt. Um zu vermeiden, daß bei den Simulationen nur Strukturen gefunden wurden, die energetisch nur lokalen Minima entsprechen, wurden Dynamikberechnungen im Bereich von 0 bis 300 K durchgeführt.

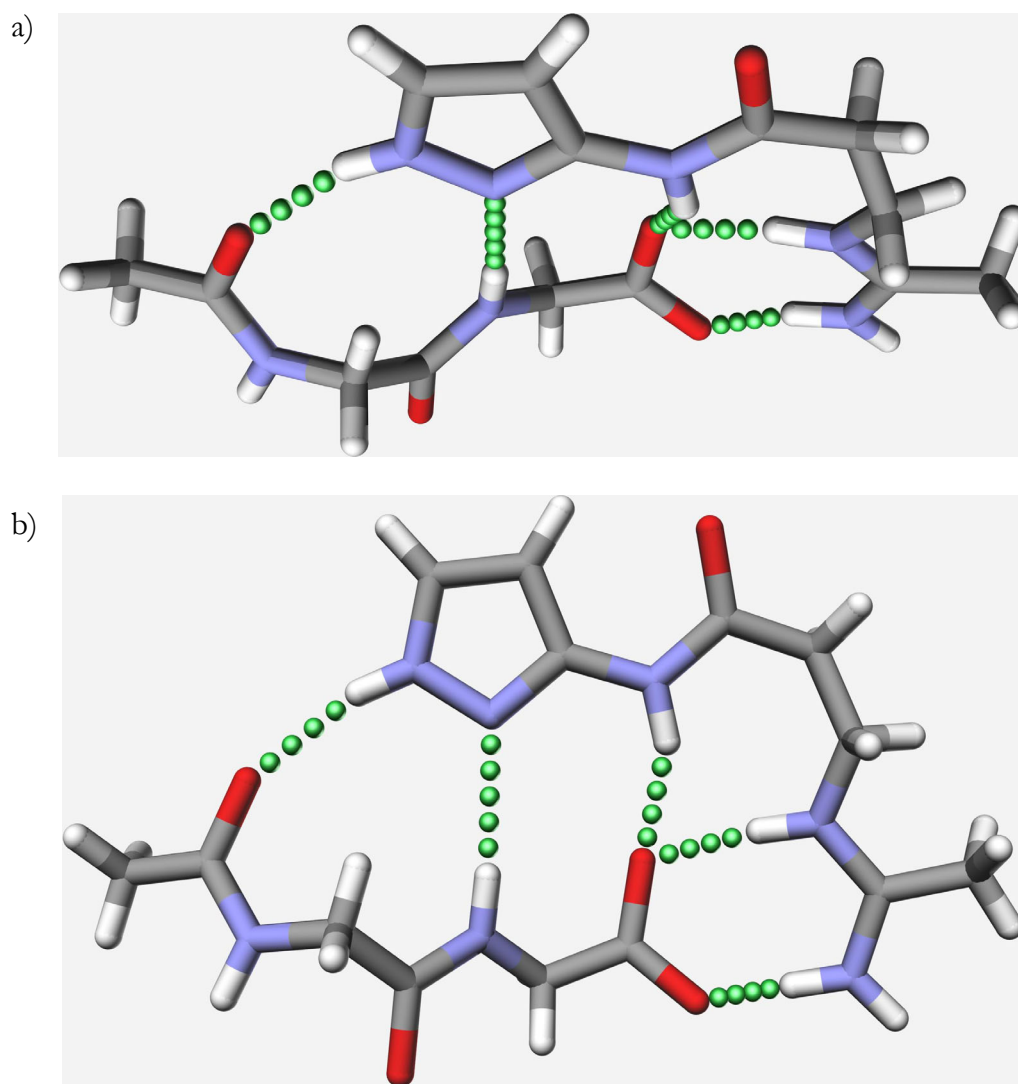


Schema 18: Struktur des mit Kraftfeldberechnungen zu optimierenden Komplexes.

Als Ergebnis dieser Simulationen ergab sich, daß die beiden Vertreter mit einer bzw. zwei Methylengruppen am vielversprechendsten waren. Dies ist auf verschiedene Faktoren zurückzuführen. So nimmt die konformative Flexibilität des Spacers mit steigender Zahl an Methylengruppen zu. Diese geht in den Entropieterm der freien Komplexstabilisierungsenergie ein, womit diese abnimmt. Es ist also allgemein idealer, einen rigiden Spacer zu nutzen, beispielsweise einen Aromaten oder ein anderes zyklisches System. Dies ist aber aufgrund des geringen freien Raumes zwischen Amidopyrazol- und Amidiniumgruppe nicht möglich bzw. nicht nötig.

Schema 19 zeigt die Struktur eines Komplexes mit zwei Methylengruppen, wie sie sich aus den Kraftfeldberechnungen ergab. Insgesamt weist der Rezeptor in erster Näherung eine planare Struktur auf, auch wenn sich die Methylengruppen des Spacers in *gauche*-Stellung zueinander befinden. Er bildet die in Schema 17 angedeutete konkave Struktur. Dies ermöglicht die Ausbildung aller postulierten Wasserstoffbrücken. Die NCN-Ebene der Amidiniumgruppe ist nur leicht gegen die Ebene der Carboxylatgruppe verdreht, wie dies auch in Kristallstrukturen von Amidinen gefunden wird.^[52, 76]

Die Simulation für den Spacer mit einer Methylengruppe zeigt, daß dieses Molekül sich zwar ebenfalls als Rezeptormolekül eignet, jedoch nicht in dem Maße wie das zuvor vorgestellte. Aufgrund des kürzeren Spacers ist die Struktur nicht so gewölbt, wie dies für eine gleichzeitige Ausbildung aller Wasserstoffbrücken nötig wäre. So wird das



*Schema 19: Modell eines kraftfeldoptimierten Komplexes aus Ac-Gly-Gly-O **26** und einem Modellrezeptor mit Ethylengruppe als Spacer und Amidopyrazol in inverser Anordnung.*

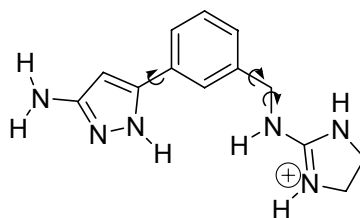
a) Aufsicht, b) Seitenansicht.

Peptidrückgrat meist über zwei der drei möglichen Wasserstoffbrücken gebunden. Trotzdem werden immer noch vier von fünf möglichen Wasserstoffbrücken gefunden.

Die Kraftfeldrechnungen machen also positive Aussagen über diese beiden Strukturen potentieller Haftmonomere. Offenbar ist die dreifache Wechselwirkung zwischen Heterozyklus und Peptidrückgrat flexibel genug, um auch bei dieser Anordnung des Amidopyrazols in Relation zu dem Dipeptid zur Komplexierung von diesem zu führen. Die benötigte Spacergruppe ist dabei nur relativ kurz, da bei dieser Anordnung die beiden Haftgruppen schon nahe beieinander liegen.

Ordnet man die beiden Haftgruppen jedoch wie ursprünglich vorgesehen an (siehe Schema 16), so ist ein deutlich längerer und stärker gewölbter Spacer notwendig, da hier - wie bereits erläutert - nur eine Verknüpfung in Position 5 des Pyrazols mit dem Rest R^4 des Stickstoffatoms der Amidiniumgruppe in Frage kommt. Auch in diesem Falle wurde zunächst eine wachsende Kette von Methylengruppen als Spacer in Kraftfeldberechnungen eingesetzt. Dabei ergaben sich nur mäßig geeignete Rezeptoren für *N*-Acetyl-glycyl-glycinat **26**: Aufgrund der Zahl an Methylengruppen und der damit verbundenen konformativen Freiheitsgrade, ergaben sich Rezeptoren mit „geknäulten“ Spacern. In keinem der Fälle konnten alle fünf Wasserstoffbrücken beobachtet werden.

Daher wurde versucht, diese einfachen Spacer durch ein zyklisches oder aromatisches System zu ersetzen, da diese konformativ deutlich eingeschränkter sind. Dabei wurde auch die in Schema 20 dargestellte Struktur untersucht, die als Spacer eine *m*-Tolylengruppe enthält. Durch Einsatz des Aromaten wird die Zahl der möglichen Bindungen, um die eine Rotation stattfinden kann, im Vergleich zu einem Tetramethylenspacer von fünf auf drei gesenkt (Schema 20). In Kraftfeldberechnungen stellte sich dieses Molekül als besonders geeignet heraus (Schema 21). Als Komplexpartner wurde wieder *N*-Acetyl-glycyl-glycinat **26** vorgegeben.



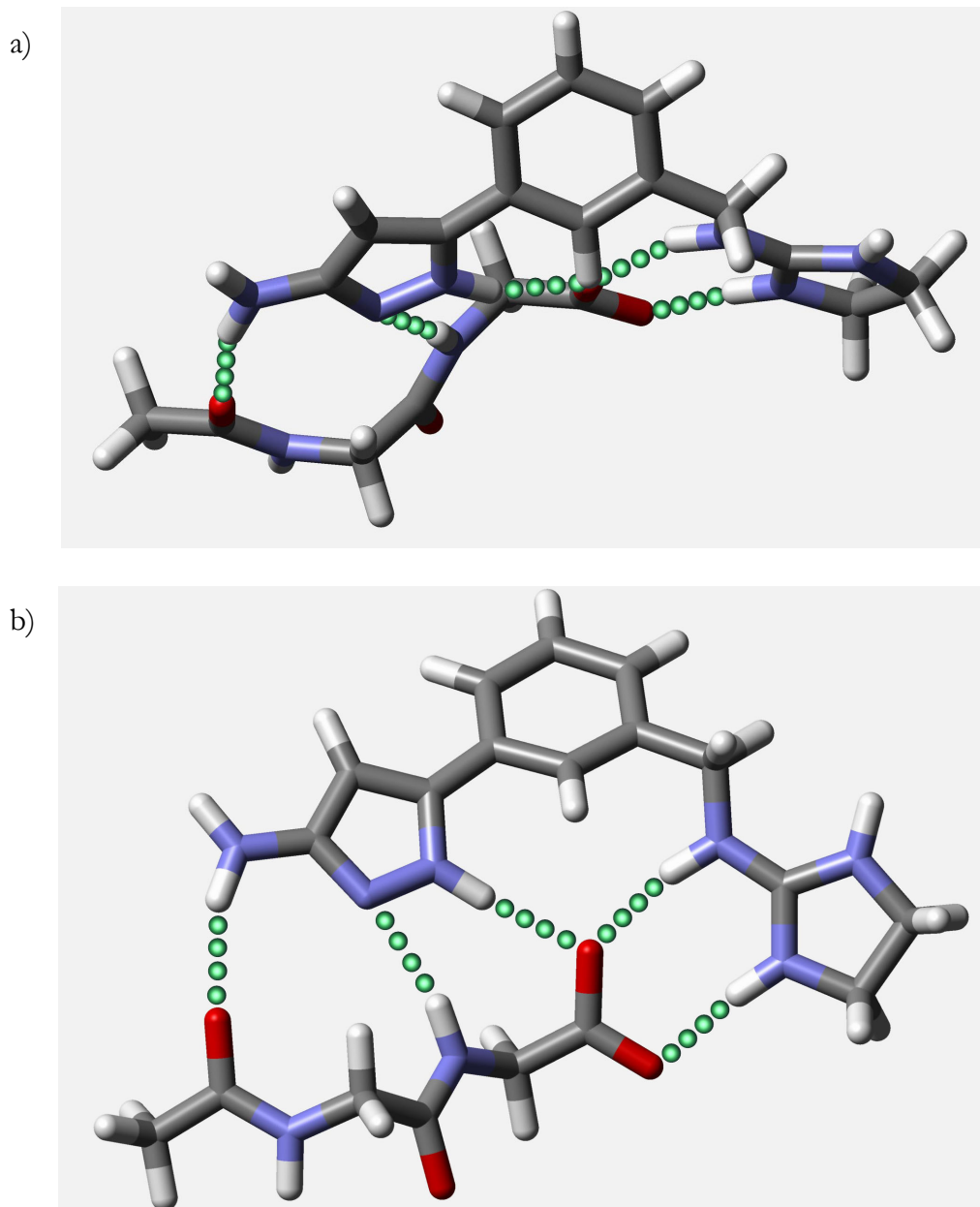
Schema 20: Rezeptor **27** mit *m*-Tolylenspacer und zyklischer Guanidiniumgruppe. Bindungen, um die eine Rotation erfolgen kann, sind markiert.

Bei den Berechnungen wurde weiterhin untersucht, ob sich die Amidiniumgruppe durch eine synthetisch leichter zugängliche, zyklische Guanidiniumgruppe ersetzen läßt, ohne Nachteile bei den Komplexierungseigenschaften des Rezeptors zu erhalten.

Das Ergebnis dieser Simulationen ist in Schema 21 dargestellt. Der Rezeptor besteht aus drei planaren Gruppen: Dem Aminopyrazol, dem *m*-Tolylenspacer sowie der Guanidiniumgruppe. Die beiden Haftgruppen befinden sich dabei nahezu in einer Ebene, wobei sich der Spacer aus dieser leicht herausdreht. Insgesamt nehmen sie, wie gefordert, eine konkave Struktur ein. Die Innenseite bietet durch Stickstoffatome die Möglichkeit zur Ausbildung von fünf Wasserstoffbrücken, welche auch im Komplex mit dem Gastmolekül **26** gefunden werden. Die Wechselwirkung der Guanidiniumgruppe ist dabei durchaus mit einer Amidiniumgruppe vergleichbar: Ihre Ebene ist nur leicht gegen die der Carboxylatgruppe verdreht. Die Konformation des Dipeptidcarboxylats läßt sich näherungsweise als β -Faltblatt beschreiben. Insgesamt sind die Simulationsergebnisse für diese Struktur vielversprechend.

Somit stehen drei Grundstrukturen zur Diskussion, die auf ihre synthetische Zugänglichkeit hin untersucht werden müssen. Einerseits die acylierten Aminopyrazole mit Methylen- bzw. Ethylenspacer, andererseits das in Position 5 alkylierte Aminopyrazol mit *m*-Tolylenbrücke. Dabei sollte die Darstellung der beiden ersteren aufgrund ihrer Homologie analog verlaufen.

Da die zyklische Guanidiniumgruppe laut Simulationen die gleiche Funktion wie die der Amidiniumgruppe übernehmen kann, dabei aber synthetisch leichter zugänglich ist, sollen die angestrebten Zielstrukturen diese anstelle eines Amidins enthalten. Dies wird auch durch zahlreiche Publikationen gestützt, die Guanidine als carboxylatbindende Gruppe sowohl in künstlichen ^[37, 77, 78] als auch in natürlichen Systemen - so beispielsweise in der Seitenkette des Arginins von Enzymen ^[79-81] - beschreiben.

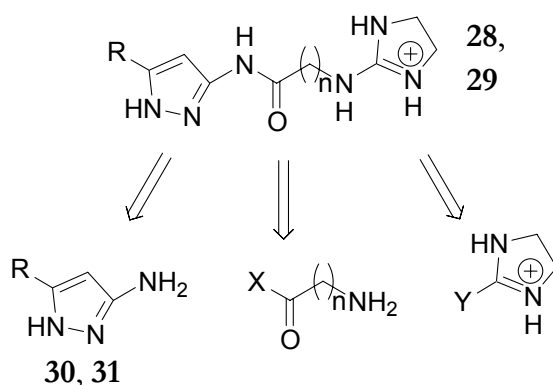


Schema 21: Modell eines kraftfeldoptimierten Komplexes aus Ac-Gly-Gly-O **26** und einem Modellrezeptor mit einer *m*-Tolylengruppe als Spacer zwischen Aminopyrazol- und einer zyklischen Guanidiniumgruppe.

a) Aufsicht, b) Seitenansicht.

Diese Rezeptoren besitzen einen noch nicht definierten Rest, der je nach Aufgabenstellung substituiert werden soll. Zunächst sollen Moleküle dargestellt werden, bei denen der Rest synthetisch möglichst leicht zugänglich ist. Anhand dieser Modellsubstanzen sollen die Bindungseigenschaften gegenüber Dipeptidcarboxylaten studiert werden. Die bei der Synthese gewonnenen Erkenntnisse sollen dann auf die der eigentlichen Haftmonomere übertragen werden. Deren Rest muß eine polymerisierbare Gruppe, eine C-C-Doppelbindung, tragen, um als Haftmonomer für das Molekulare Prägen eingesetzt werden zu können. Idealerweise haben Modellschubstanz und Haftmonomere viele gemeinsame Vorstufen.

Retrosynthetisch betrachtet bieten alle Strukturen zunächst jeweils zwei Angriffspunkte (Schema 22): Die Amidbindung am Pyrazol sowie die exozyklische C-N-Bindung des Guanidins. Im Falle der Rezeptoren **28** und **29** - Pyrazol-3-yl-guanidine mit Aminocarbonyl-alkyl-Brücke - ergeben sich als Vorstufen ein in Position 5 substituiertes 3-Amino-1H-pyrazol, ein ω -Aminocarbonsäurederivat und ein Imidazolidinderivat.

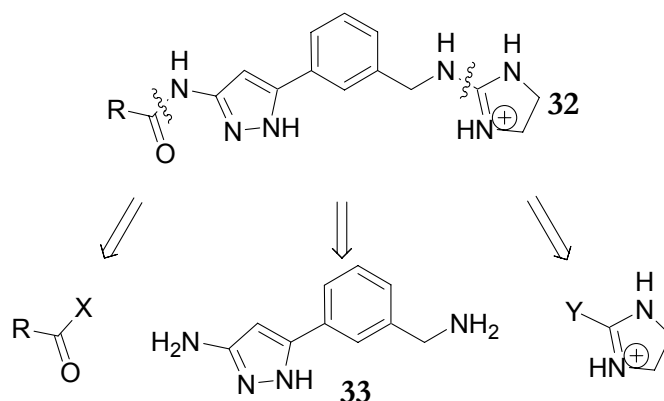


Schema 22: Retrosynthese der Rezeptormoleküle **28** ($n = 1$), **29** ($n = 2$) und korrespondierende Vorstufen (**30** (R = Methyl), **31** (R = p-Styryl), X, Y: Abgangsgruppen).

Geeignete Imidazolidinderivate als Vorstufen sind in der Literatur beschrieben und können ausgehend von kommerziell verfügbaren Substanzen in einer Stufe synthetisiert werden.^[82-84] Aminosäurederivate sind ebenso in weitem Umfang erhältlich und in der Literatur ausführlich beschrieben. 5-Methyl-3-amino-1H-pyrazol **30** kann bei der Synthese der Modellverbindungen dienen. Die zweistufige Synthese von 5-(4-Vinylphenyl)-3-amino-1H-pyrazol **31**, ein Edukt für die Synthese von Haftmonomeren, ist in unserem Arbeitskreis

bekannt.^[34, 40, 41]

Der Rezeptortyp **32** - ein Pyrazol-5-yl-guanidin mit *m*-Tolylen-Brücke – läßt sich retrosynthetisch in drei Bausteine zerlegen (Schema 23). Dies sind ein Acylierungsmittel, das Bisamin **33**, sowie eine für die Einführung eines Imidazolidins geeignete Vorstufe. Der größte synthetische Aufwand liegt dabei in der Darstellung des zentralen, polyfunktionellen Bausteins, 5-(3-Aminomethyl-phenyl)-1*H*-pyrazol-3-ylamin **33**, und dessen Derivatisierung.



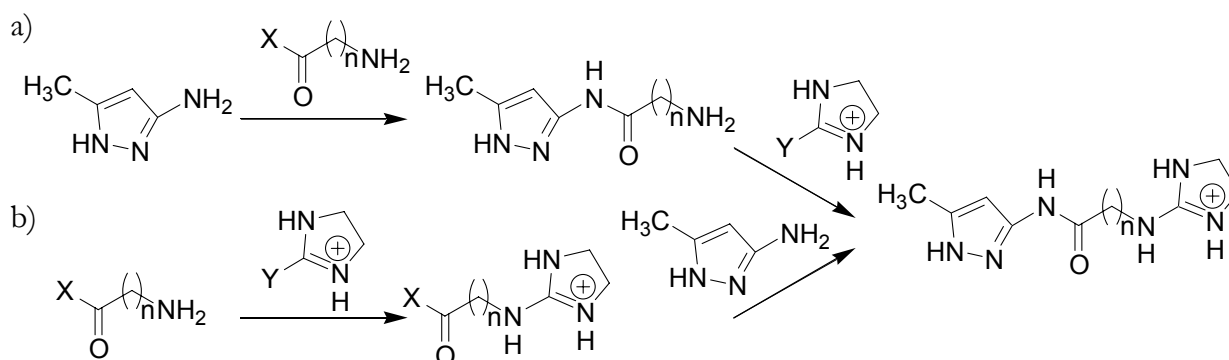
Schema 23: Retrosynthese des Rezeptormoleküls **32** und korrespondierende Vorstufen. (*X*, *Y*: Abgangsgruppen).

Im direkten Vergleich der Synthesekonzepte erscheint die Darstellung der Pyrazol-3-yl-guanidine **28** und **29** einfacher. Dabei kommen nämlich nur kommerziell erhältliche bzw. bereits bekannte Bausteine zum Einsatz. Für die Synthese des Pyrazol-5-yl-guanidins mit *m*-Tolylenbrücke **32** muß hingegen zunächst das noch nicht beschriebene, polyfunktionelle Amin **33** dargestellt werden, was große synthetische Anstrengungen erwarten läßt. Daher soll zunächst die erste Strategie verfolgt werden, um die Pyrazol-3-yl-guanidine **29** und **28** zu erhalten.

2.3 Synthese der Pyrazol-3-yl-guanidine mit Aminocarbonylalkyl-Brücke

2.3.1 Synthese der Modellrezeptoren

Zunächst sollen von diesem Rezeptortyp die nichtpolymerisierbaren Vertreter dargestellt werden. Die grundsätzliche Synthesestrategie wurde bereits im vorherigen Abschnitt beschrieben. Es stellt sich nun die Frage, in welcher Reihenfolge die drei Bausteine 5-Methyl-3-amino-1*H*-pyrazol **30**, ω -Aminocarbonyl-derivat und Imidazolidinvorstufe miteinander verknüpft werden sollen. Einerseits kann das Pyrazolylamin zunächst acyliert und anschließend zum Guanidin umgesetzt werden (Schema 24a), oder andererseits die

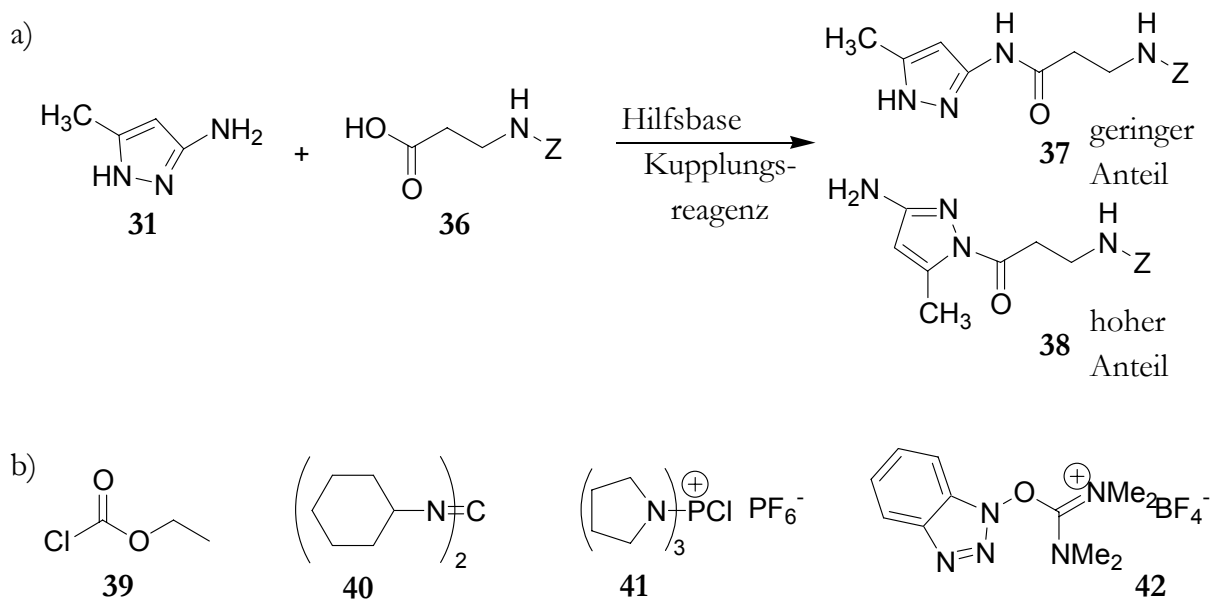


Schema 24: Alternative Synthesewege für die Rezeptoren **28** ($n = 1$) und **29** ($n = 2$).

Acylierung von **30** erfolgt erst nach Angriff der Aminogruppe des Spacers auf das Imidazolidinderivat (Schema 24b). Die Acylierung des Aminopyrazols stellt dabei immer den kritischen Schritt dar, weil der derivatisierte Heterozyklus über drei Stickstoffatome verfügt, die prinzipiell alle acyliert werden können. Somit muß bei dieser Synthesestufe mit einem Gemisch von Regioisomeren gerechnet werden. Um den Einfluß der damit verbundenen Ausbeuteverluste auf die Gesamtausbeute möglichst niedrig zu halten, sollte dieser Schritt zuerst erfolgen. Die Darstellung der Guanidine aus einfachen Aminen läuft laut Literatur mit hohen Ausbeuten bis nahezu quantitativ ab^[82-84] und sollte daher prinzipiell möglichst spät in einer Reaktionssequenz erfolgen.

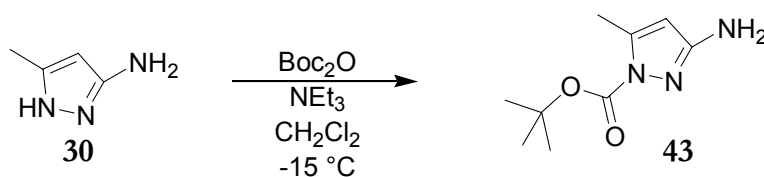
Als Vorstufen für die ω -Aminosäuren sollen diese selbst, d. h. Glycin **34** bzw. β -Alanin **35**, eingesetzt werden, allerdings soll die Aminogruppe mit einer Benzyloxycarbonylgruppe (Z-Gruppe) geschützt werden,^[85] um bei der Acylierung eine Oligo- bzw. Polymerisation zu vermeiden. Nach der Kupplung kann diese leicht entfernt werden, um die primäre Aminogruppe freizusetzen. Für die eigentliche Acylierung kann auf das breite Feld der Peptidchemie und deren Kupplungsreagentien zurück gegriffen werden. Diese versprechen eine selektive Acylierung unter sanften Reaktionsbedingungen.

So wurde zunächst versucht, ein 5-Methyl-3-amino-1*H*-pyrazol **30** und Z- β -Alanin **36** in äquimolaren Mengen mit Hilfe von diversen Reagenzien (Chlorameisenethylester (ClCOOEt)**39**, Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) **40** plus *N,N*-Dimethylaminopyridin (DMAP), Chlortripyrrolidinophosphonium-hexafluorophosphat (PyCloP) **41**, 2-(1-*H*-Benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (TBTU) **42**^[86]) zu koppeln (Schema 25). Bei sämtlichen Synthesen konnte nur überwiegend (ClCOOEt, TBTU, DCC) oder ausschließlich (PyCloP) das falsche Regioisomer **38**, welches an dem Ringstickstoffatom in Position 1 acyliert war, neben nicht umgesetztem Edukt **30** und geringen Mengen an 1-Acyl-3-methyl-5-aminopyrazol nachgewiesen werden.



Schema 25: Acylierung von **31** mit Kupplungsreagentien: a) Reaktionsschema, b) Kupplungsreagentien: Chlorameisenethylester **39**, DCC **40**, PyCloP **41**, TBTU **42**.

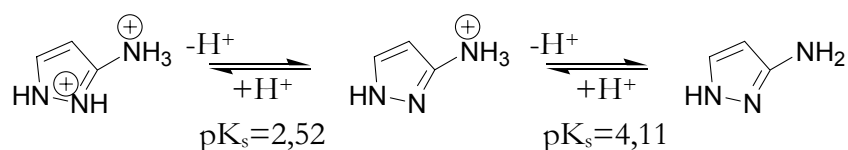
Um dieses Problem der Regioselektivität zu lösen, wurde versucht die Ringstickstoffe mit Schutzgruppen zu blockieren. Dabei ließ sich die *tert.*-Butyloxycarbonylgruppe (Boc) besonders leicht einführen. Der Umsatz von 5-Methyl-3-amino-1*H*-pyrazol **30** mit einem leichten Überschuß von Di-*tert.*-butylpyrocarbonat ergab zu 58% das gewünschte Produkt 3-Amino-1-*tert.*-butyloxycarbonyl-5-methylpyrazol **43** (AMBocP), wobei sich das falsche Regioisomer durch Umkristallisieren abtrennen ließ (Schema 26). Bei dieser Substanz ist nur noch eine Acylierung der Aminogruppe möglich.



Schema 26: Boc-Schützung von 5-Methyl-3-amino-1*H*-pyrazol **30**.

Umsetzungen von AMBocP **43** unter den gleichen Bedingungen und den gleichen Kupplungsreagentien, wie sie auch für das ungeschützte Aminopyrazol **30** angewandt wurden, führten jedoch nicht zu dem gewünschten acylierten Produkt. Statt dessen fand weitestgehend kein Umsatz statt, es konnte hauptsächlich nur das Edukt nachgewiesen werden. Auch unter forcierten Bedingungen (Temperaturerhöhung, längere Reaktionszeit) konnte kein wesentlich erhöhter Umsatz erreicht werden. Offenbar ist das Amin durch Einführung der Carbamatgruppe am Pyrazolring desaktiviert worden.

Einen Hinweis auf die Nucleophilie von **30** können die pK_s -Werte der zum strukturell verwandten 3-Aminopyrazols konjugierten Säuren geben (Schema 27)^[87], auch wenn es sich im Gegensatz zum kinetischen Parameter Nucleophilie bei der Basizität um eine thermodynamische Größe handelt. Dieses Amin liegt von der Basizität her in der Größenordnung von Pyridin ($\text{pK}_s = 4,60$ ^[88]). Ähnliche Verhältnisse können auch von dem Methylderivat **30** erwartet werden, denn aufgrund der Konjugation zu dem aromatischen System des Pyrazols sollte die Nucleophilie der Aminogruppe extrem verringert sein. Induktive und mesomere Effekte von Substituenten, wie der negative, induktive Effekt der *tert.*-Butyloxycarbonylgruppe am Heterozyklus, wirken sich auch auf die Aminogruppe aus. Die mit den Kupplungsreagentien aktivierten Carbonsäuren sind somit zu schwache Elektrophile, um die Acylierung des nur schwach nucleophilen Arylamins AMBocP **43** zu bewirken.



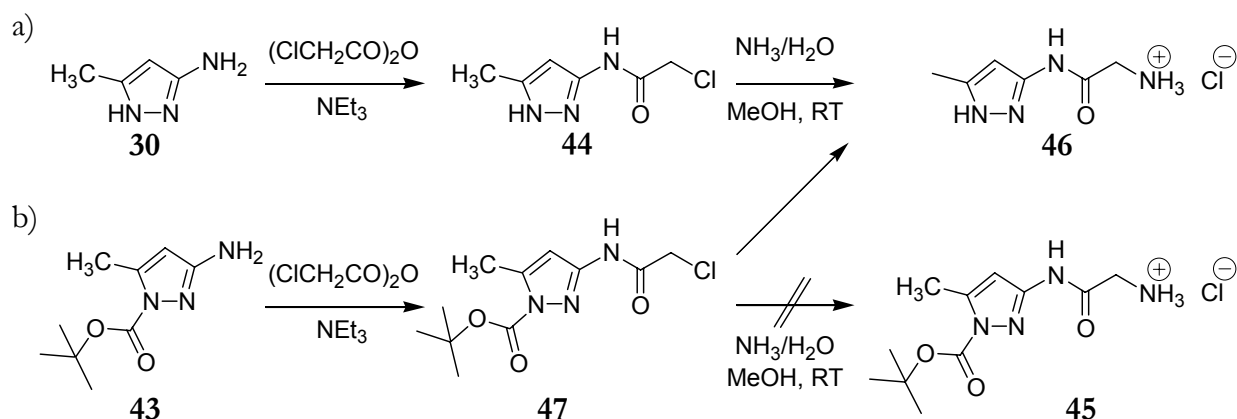
*Schema 27: pK_s -Werte der konjugierten Säuren von 3-Amino-1H-pyrazol **2** bei 25°C in Wasser.^[87]*

Als stärkere Acylierungsmittel bieten sich Carbonsäurechloride an. Die Synthese des entsprechenden Säurechlorids von Z- β -Alanin bzw. Z-Glycin gelang allerdings nicht. Selbst bei Einsatz des relativ milden Oxaloylchlorids konnten die Säurechloride weder isoliert noch *in situ* erzeugt werden, da die Benzyloxycarbonylgruppe unter diesen Bedingungen nicht stabil war und zu Benzylalkohol sowie einem nichtdefinierten Feststoff zerfiel. Ein Ausweichen auf andere klassische Amin-Schutzgruppen erschien nicht sinnvoll, da diese - als Carbamate bzw. Silylgruppen - ebenfalls das acide Reaktionsmilieu nicht tolerieren würden.^[89] Statt dessen sollten Säurechloride von Vorstufen dargestellt werden, aus denen sich die primäre Aminogruppe durch andere Methoden als einfaches Entfernen einer Schutzgruppe erzeugen läßt.

Als Vorstufe für den C₁-Spacer bieten sich α -Halogenessigsäurederivate an. Diese sind einerseits reaktive Acylierungsmittel, was auf den negativen induktiven Effekt des benachbarten Halogenatoms zurückzuführen ist und andererseits stellt das α -ständige Halogen eine gute Abgangsgruppe bei der folgenden Einführung einer primären Aminogruppe dar. So wurde 5-Methyl-3-amino-1H-pyrazol **30** in der Kälte mit einem Äquivalent Chloressigsäureanhydrid umgesetzt, wobei sich hauptsächlich das gewünschte Regioisomer ClAcAMP **44** (62% nach Reinigung) bildete (Schema 28a), welches eine unerwartet geringe Löslichkeit aufwies. Die Reaktivität des Halogenids^[90] zeigte sich in der folgenden Umsetzung. Die nahezu quantitative Einführung der Aminogruppe gelang durch Lösen von **44** in einem großen Überschuß von konzentriertem Ammoniak/Methanol 1:1, der einer mehrfachen Alkylierung entgegen wirken sollte, und mehrtägiges Rühren bei Raumtemperatur.

Weiterhin wurde ein analoger Syntheseweg für das Boc-geschützte Derivat **43** verfolgt (Schema 28b). Ziel war es, sowohl das Problem der Regioselektivität im Acylierungsschritt zu umgehen, als auch ein aminoacetyliertes Aminopyrazol **45** zu erhalten, welches am Pyrazolring geschützt ist, um eventuellen Regioselektivitätsproblemen in der folgenden

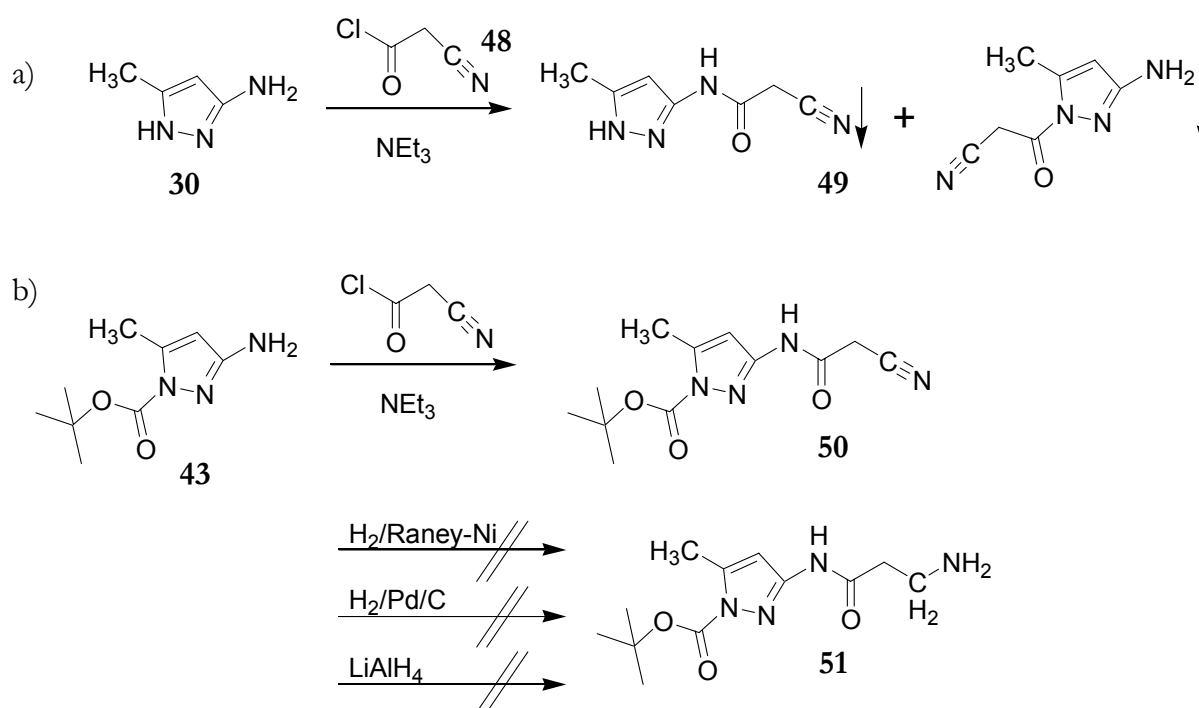
Synthesestufe - der Umsetzung zum zyklischen Guanidin - vorzubeugen. **43** ließ sich mit Chloressigsäureanhydrid acylieren, wobei die Ausbeute nicht deutlich über der der analogen Umsetzung des ungeschützten Derivates **30** lag, was wiederum auf die verringerte Nucleophilie von **43** zurückzuführen ist. Die anschließende Aminolyse lieferte jedoch das am Pyrazolring ungeschützte Produkt **46**, und nicht, wie zunächst erwartet, das Boc-Derivat **45**. Offenbar wurde bei der Aminolyse auch das Carbamat nucleophil angegriffen. Dieses besitzt im Gegensatz zu den Carbamaten, die beim Schützen primärer Amine entstehen, das Pyrazol als gute Abgangsgruppe.



Schema 28: Synthese der Zwischenstufe **46**: Sowohl der Reaktionsweg a), ausgehend von dem ungeschützten Aminopyrazol **30**, als auch b) Edukt AMBocP **43** führen nach Acylierung mit Chloressigsäureanhydrid und anschließender Aminolyse zum gleichen Produkt **46**.

Mit dem beschriebenen Weg stand somit ein praktikabler synthetischer Zugang für 3-(N-Glycyl-amino)-5-methyl-1H-pyrazol (GlyAMP*HCl) **46** zur Verfügung.

Dieser lässt sich allerdings nicht direkt auf die Synthese der C₂-spacerhaltigen Vorstufe übertragen, da ein β -Halogen-carbonsäurederivat offensichtlich eine deutlich verringerte Reaktivität verglichen mit seinem α -Homologen besitzt. Als „3,3,N,N-Tetrahydro- β -alanin“ kann jedoch Cyanoessigsäure als Vorstufe für den C₂-Spacer dienen. In der Literatur werden zahlreiche Methoden zur Hydrierung von Cyanofunktionen zu Aminomethylgruppen beschrieben.^[91, 92] Cyanoacetylchlorid **48** ist aufgrund des negativen induktiven Effektes der Cyanogruppe ein äußerst reaktives Acylierungsmittel, welches durch Umsatz der Säure mit Phosphorpentachlorid erhalten wurde.^[93] Bei der Reaktion mit dem ungeschützten Aminopyrazol **30** wurde ein Regioisomerengemisch erhalten, welches sich auf Grund seiner geringen Löslichkeit weder säulenchromatographisch noch durch Umkristallisation trennen ließ (Schema 29). Daher wurde das mit der löslichkeitsfördernden Boc-Gruppe geschützte AMBocP **43** acyliert, wobei das Produkt **50** säulenchromatographisch isoliert wurde, da sich auch hier die Labilität der Boc-Schutzgruppe am Pyrazolring zeigte. Bei



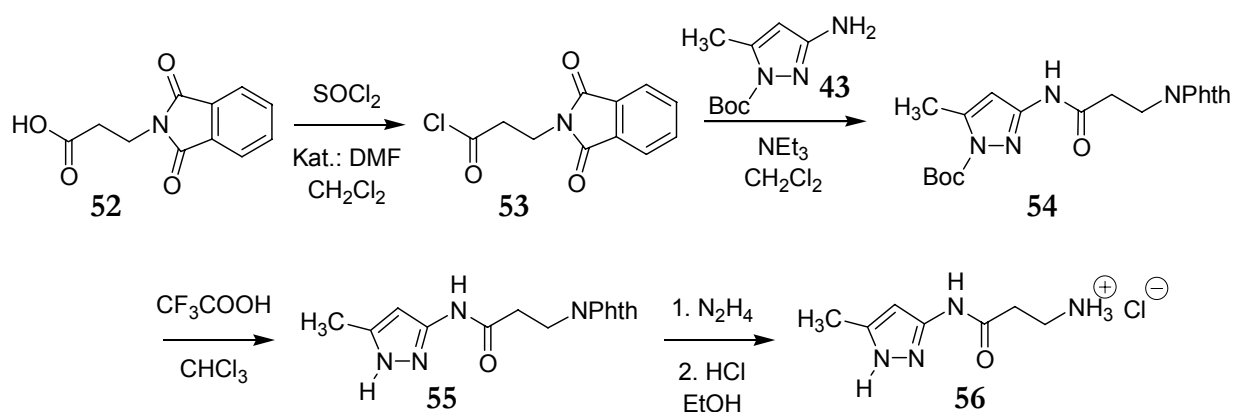
Schema 29: Einführung des C₂-Spacers durch Acylierung mit Cyanoacetylchlorid **48**. a) Acylierung von **30** führte zu einem unlöslichen Regioisomerengemisch, b) Acylierung von **43** lieferte das gewünschte Produkt **50**, welches sich jedoch nicht zu **51** hydrieren ließ.

Umkristallisationsversuchen aus Ethanol spaltete sich die *tert.*-Butyloxycarbonylgruppe zu einem hohen Anteil ab.

Eine Isolierung des reduzierten Folgeproduktes **51** scheiterte trotz verschiedener Ansätze. Eine heterogene Hydrierung mit Wasserstoff auf Raney-Nickel, wie in der Literatur^[91, 92] beschrieben, fand nicht statt. Auch der Einsatz des aktiveren Katalysators Palladium auf Aktivkohle^[91] brachte keine Änderung. Daher mußte ein alternativer Syntheseweg für den C₂-Spacer gefunden werden.

Im Hinblick auf klassische Methoden zur Einführung neuer Stickstoffatome als primäre Aminogruppen fiel das Augenmerk auf Phthalimide. Sie sind bekannt für ihre Stabilität und lassen sich nur unter extrem aciden bzw. extrem basischen Bedingungen langsam hydrolysieren.^[89, 94] Eine Ausnahme ist die Hydrazinolyse, bei der unter, im Vergleich zu den zuvor genannten, milden Bedingungen eine Spaltung des Phthalimids in primäres Amin und Phthalhydrazid erfolgt.^[94] Aufgrund ihrer Stabilität wird die Phthalimidgruppe zwar selten als Schutzgruppe in der klassischen Peptidchemie genutzt, sie ist in diesem Falle jedoch ideal geeignet, da sie die Reaktionsbedingungen toleriert, die zur Darstellung von Säurechloriden nötig sind.

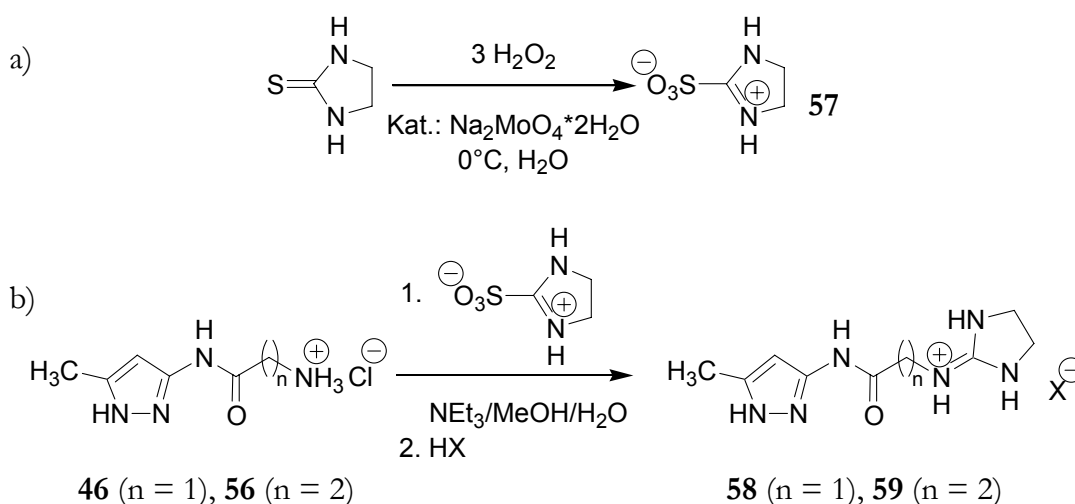
Zunächst wurde β -Alanin mit Phthalsäureanhydrid unter wasserabscheidenden Bedingungen zu Phthaloylalanin **52** umgesetzt (Schema 30).^[95] Reaktion mit Thionylchlorid unter Katalyse von *N,N*-Dimethylformamid in Methylenchlorid lieferte das feste Acylierungsmittel **53**. Die Acylierung des Pyrazolderivates **43** in Methylenchlorid verlief mit erwartungsgemäß durchschnittlicher Ausbeute. Dieser Reaktion schloß sich die Abspaltung der *tert.*-Butyloxycarbonylgruppe mit Trifluoressigsäure in Chloroform an, wobei **55** erhalten



Schema 30: Synthese der Zwischenstufe mit C₂-Spacer AlaAMP*HCl **56** via Phthalimide.

wurde. Durch Hydrazinolyse und anschließender Hydrolyse mit Salzsäure wurde die Phthaloylgruppe abgespalten und das Hydrochlorid von 3-(N-β-Alanyl-amino)-5-methyl-1H-Pyrazol **56***HCl (AlaAMP*HCl) erhalten.

Somit konnte nun die Einführung des zyklischen Guanidins erfolgen. Klassisch haben sich dazu Thiuroniumsalze bewährt, welche ausgehend von Thioharnstoffen erhalten werden können.^[82] Dabei wird der Schwefel in der Regel mit Methyljodid alkyliert, wobei man eine Spezies erhält, die als gute Abgangsgruppe das flüchtige Methanthiol enthält. Diese wird dann in der anschließenden Reaktion durch das primäre Amin - in vorliegendem Fall GlyAMP **46** bzw. AlaAMP **56** - substituiert. Eleganter ist es jedoch, anstelle einer Methylierung des Schwefelatoms eine Oxidation zum Sulfonat durchzuführen (Schema 31a).^[96] Das korrespondierende Sulfit stellt ebenfalls eine gute, wasserlösliche und zudem geruchsarme Abgangsgruppe dar.



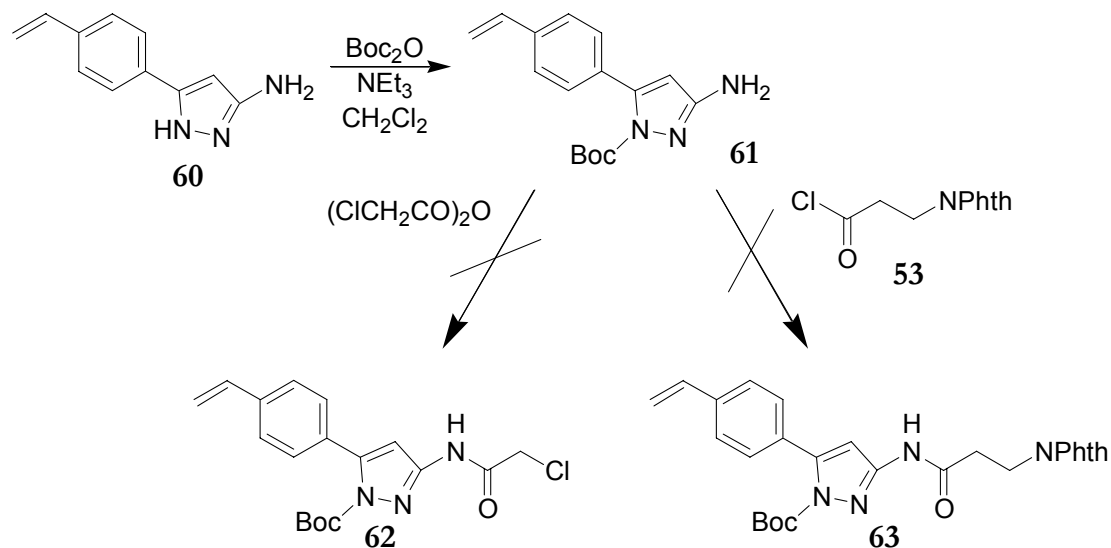
Schema 31: a) Darstellung von Imidazolin-2-ylsulfonsäure **57**^[96], b) Einführung der Iminoimidazolidin-
gruppe: Die Produkte ImGlyAMP **58** ($n = 1$) und ImAlaAMP **59** ($n = 2$) wurden als Pikrate ($X^- =$
2,4,6-Trinitrophenolat) isoliert.

Entsprechend waren die Hydrochloride von GlyAMP **46** bzw. AlaAMP **56** mit einem Äquivalent Imidazolin-2-ylsulfonsäure **57** bei Anwesenheit eines Überschusses von Triethylamin umgesetzt worden (Schema 31b). Die Produkte ImGlyAMP **58** und ImAlaAMP **59** wurden als gelbe, kristalline Pikrate isoliert. Da diese in den meisten Lösungsmitteln

schwerlöslich sind, wurden sie zunächst mit Hilfe eines Anionenaustauschers in das korrespondierende Hydrochlorid überführt. Somit standen die angestrebten Modellrezeptoren für NMR-Komplexierungsstudien zur Verfügung.

2.3.2 Versuche zur Synthese der Haftmonomere

Die Synthese der entsprechenden Haftmonomere sollte nun analog der der Modellverbindungen ImGlyAMP **58** und ImAlaAMP **59** durchgeführt werden. Die für ein Haftmonomer notwendige polymerisierbare Gruppe sollte dabei in Form eines *p*-Styryl-Restes anstelle der Methylgruppe in Position 5 des Pyrazolringes eingeführt werden. Die Synthese des somit benötigten 3-Amino-5-(4-vinylphenyl)-1*H*-pyrazol **60** war in unserem Arbeitskreis bekannt.^[34, 41] Dieses wurde zunächst am Ring geschützt (Schema 32). Eine weitere Umsetzung von **61** gelang jedoch weder mit Phthaloylalanin **53** noch mit Chloressigsäureanhydrid. Auch nach längerer Reaktionszeit und härteren Reaktionsbedingungen konnte kein Umsatz festgestellt werden. Dies läßt sich nur durch den elektronenziehenden Effekt des Styryl-Restes erklären, der zu einer weiteren Verringerung der Nucleophilie der schon beim Methylderivat **30** elektronenarmen aromatischen Aminogruppe führte. Ein analoges Reaktionsverhalten wurde auch bei verwandten

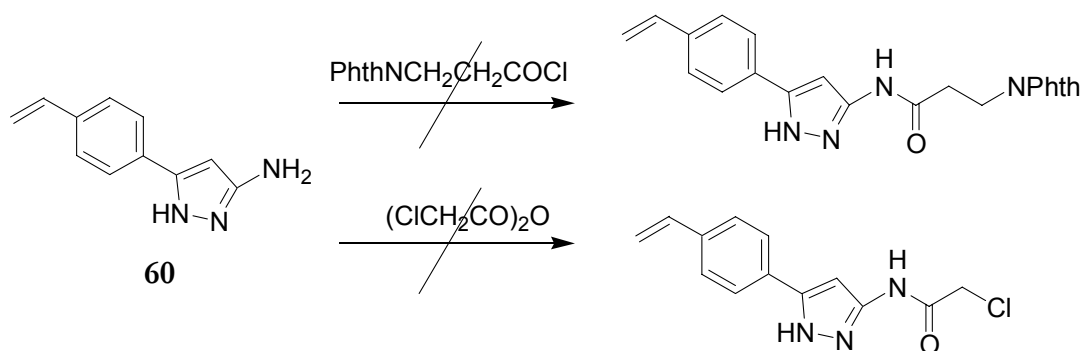


Schema 32: Strategie zur Synthese polymerisierbarer Pyrazol-3-yl-guanidine mit Aminocarbonylalkyl-Brücke über Boc-geschützte Derivate.

Pyrazolderivaten in unserem Arbeitskreis gefunden.^[97]

Daher mußte die Acylierung mit dem ungeschützten Derivat **60** durchgeführt werden. Im Falle beider Acylierungsmittel kam es zur Bildung unlöslicher Regioisomere, die bei der Reaktion ausfielen. Eine Trennung dieser gelang aufgrund ihres Löslichkeitsverhaltens nicht. Somit war eine Synthese der Haftmonomere von diesem Rezeptortyp nicht möglich.

Als Alternative sollten die Haftmonomere basierend auf Pyrazol-5-yl-guanidinen, die eine *m*-Tolylenbrücke besitzen, dargestellt werden. Deren Synthese wird im folgenden diskutiert.



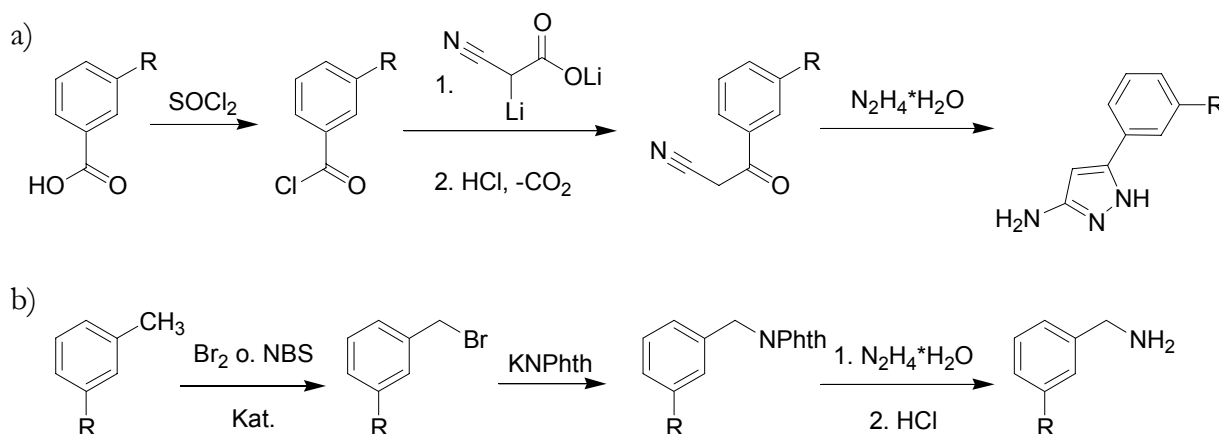
Schema 33: Alternative Strategie zur Acylierung von 3-Amino-5-styryl-1H-pyrazolen.

2.4 Synthese der Pyrazol-5-yl-guanidine mit *m*-Tolylenbrücke

2.4.1 Synthese des Bisamins 5-(3-Aminomethyl-phenyl)-1*H*-pyrazol-3-ylamin **33**

Die grundlegende Strategie zur Synthese der *m*-tolylen-verbrückten Pyrazol-5-yl-guanidine wurde bereits zuvor diskutiert (Schema 34). Entscheidend ist dabei die Darstellung von 5-(3-Aminomethyl-phenyl)-1*H*-pyrazol-3-ylamin **33**.

Als Edukte bieten sich *m*-Tolylsäure-Derivate an. So kann die Carboxylgruppe in die Aminopyrazolfunktion konvertiert (Schema 34a) und an der Methylgruppe eine Aminogruppe eingeführt werden (Schema 34b). Der Aufbau der 3-Aminopyrazolgruppe soll dabei ausgehend von einem Säurechlorid über ein β -Ketonitril verlaufen, welches



Schema 34: Synthesekonzept für 5-(3-Aminomethyl-phenyl)-1*H*-pyrazol-3-ylamin **33**: a) Aufbau der Aminopyrazolgruppe, b) Einführen der benzylischen Aminogruppe. Der Rest R ist dabei vom Fortschritt des jeweils anderen Reaktionsweges abhängig.

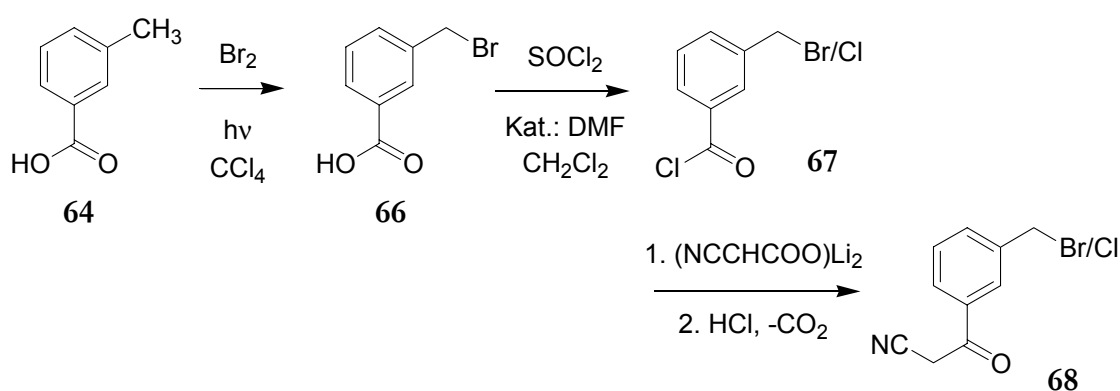
anschließend mit Hydrazin-Hydrat zyklisiert wird. Analog hat Kirsten 5-(4-Vinylphenyl)-3-amino-1*H*-pyrazol **31** aufgebaut.^[34, 41] Die Aminogruppe soll über eine Seitenkettenbromierung, gefolgt von einer Gabriel-Synthese und anschließender Hydrazinolyse, eingeführt werden.

Es stellt sich nun die Frage, in welcher Reihenfolge die einzelnen Syntheseschritte durchgeführt werden können, da nicht alle funktionellen Gruppen die Reaktionsbedingungen

sämtlicher Reaktionen tolerieren. Alternativ können auch Schutzgruppen eingeführt werden, was jedoch zusätzlichen synthetischen Aufwand erfordert. So kann beispielsweise die Bromierung nicht in Gegenwart des β -Ketonitrils erfolgen, ohne dieses ebenfalls anzugreifen. Vor der Einführung des Phthalimids muß die Carboxylgruppe umgesetzt oder maskiert sein, da diese sonst das Kaliumphthalimid desaktiviert. Die Zyklisierung des Pyrazols und die Hydrazinolyse werden wiederum idealerweise zusammen in einem Schritt durchgeführt.

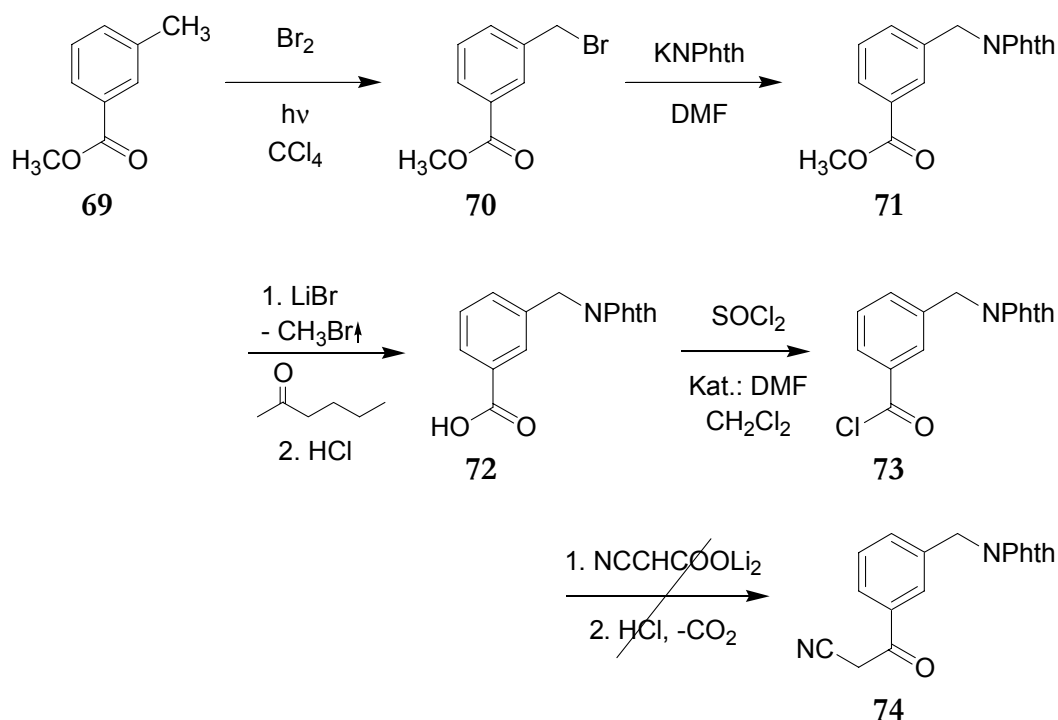
Die erste Reaktionssequenz, welche zur Synthese des Bisamins **33** angegangen wurde, ist in Schema 35 dargestellt. Um den Einsatz einer Schutzgruppe für das β -Ketonitril zu vermeiden, wurde zunächst *m*-Tolylsäure **64** mit elementarem Brom umgesetzt. Im Gegensatz zu der Bromierung von *p*-Tolylsäure **65** ^[51, 98] fand dabei allerdings eine erhebliche Dibromierung statt, was die Isolierung des monobromierten Produktes **66** von Edukt und Nebenprodukt erschwerte. Bei der folgenden Behandlung mit Thionylchlorid fand ein erheblicher Austausch des Bromatoms gegen Chlor statt, was durch GC-MS nachgewiesen werden konnte. Da sich das Produktgemisch **67** destillativ nicht trennen ließ, wurde die folgende Umsetzung mit dem Bislithiumsalz der Cyanoessigsäure und Decarboxylierung zum β -Ketonitril **68** mit diesem durchgeführt. Die Ausbeuten waren jedoch nur sehr gering und ein Teil des Produktes war erwartungsgemäß chloriert, welcher bei der folgenden Substitution deutlich schlechter reagieren würde. Eine Bromierung mit *N*-Bromsuccinimid versprach laut Literatur^[99] keine Verbesserung des ersten Syntheseschrittes.

Geringe Ausbeuten bei Bromierung und C-C-Bindungsknüpfung sowie ein ungewollter Br-Cl-Austausch sprachen somit gegen diese Syntheseroute. Daher wurde eine alternative Syntheseroute entwickelt.



Schema 35: Erste Strategie zur Synthese des Bisamins **33**.

Diese zweite Route ist in Schema 36 dargestellt. Ausgehend von *m*-Tolylsäuremethylester **69**^[100] wurde zunächst mit elementarem Brom unter UV-Licht-Einwirkung bromiert^[101], wobei neben dem monobromierten Produkt **70** auch das Dibromid erhalten wurde. Das Rohprodukt wurde einer Gabrielsynthese^[94] unterworfen, wobei das reine Phthalimid **71** erhalten wurde. Zur weiteren Umsetzung mußte nun die Methylestergruppe hydrolysiert werden. Da das Phthalimid in den meisten Lösungsmitteln selbst in der Siedehitze nur schlecht löslich war, und andererseits die Spaltung des Esters so mild wie möglich ablaufen sollte, um eine Hydrolyse der Phthalimidgruppe zu vermeiden, wurde die Spaltung mit wasserfreiem Lithiumbromid in siedendem 2-Hexanon durchgeführt.^[102, 103] Dabei findet ein nucleophiler Angriff des Bromidions auf das Alkylkohlenstoffatom statt, wobei das flüchtige Brommethan und das Lithiumcarboxylat in kurzer Reaktionszeit und nahezu quantitativer Ausbeute frei wird. Ansäuern mit Salzsäure lieferte die freie Säure **72**. Diese wurde mit einem Überschuß Thionylchlorid unter Katalyse von *N,N*-Dimethylformamid vollständig umgesetzt, was zum *m*-Phthalimidotoluoylchlorid **73** führte. Die C-C-Bindungsknüpfung unter Bildung des gewünschten β -Ketonitrils gelang nicht. Bei Optimierungsversuchen wurde



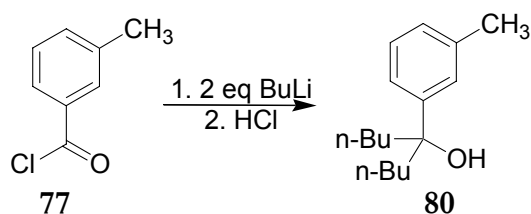
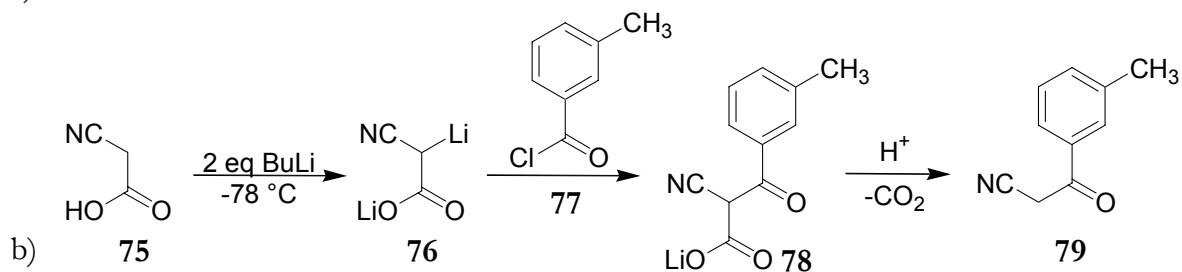
Schema 36: Alternative Syntheseweg zur Darstellung des Bisamins **33**.

immer ein komplexes Substanzgemisch erhalten, aus denen das gewünschte Produkt nicht isoliert werden konnte. Wahrscheinlich kam es hier zu Nebenreaktionen des Phthalimido-restes unter den stark basischen Reaktionsbedingungen.

Beide der zuvor beschriebenen Synthesestrategien führten also nicht zum gewünschten Produkt, da die Umsetzung zu dem jeweiligen β -Ketonitril mißlang. Diese stellte somit den entscheidenden Schritt dar, den es zu optimieren galt. Um Nebenreaktionen mit funktionellen Gruppen in der Seitenkette des Aromaten auszuschließen, sollte die C-C-Verknüpfung als erste Reaktion durchgeführt werden, so daß die Methylgruppe des Tolyrestes noch nicht derivatisiert war.

Die Umsetzung von *m*-Toluoylchlorid **77** wurde analog der Synthese von 3-(4-Vinylphenyl)-3-oxopropionitril durchgeführt.^[41] Ursprünglich wurden 2 Äquivalente Cyanoessigsäure **75** mit 4 Äquivalenten *n*-Butyllithium zum Bislithiumsalz **76** bei tiefen Temperaturen umgesetzt (Schema 37). Durch anschließenden elektrophilen Angriff mit dem Säurechlorid **77** entstand ein Lithium- α -cyano- β -ketocarboxylat **78**, welches beim Ansäuern zum 3-(3-Methylphenyl)-3-oxopropionitril **79** decarboxylierte. Insgesamt wurde also ein 100prozentiger Überschuß des nucleophilen Salzes **76** in bezug auf das Elektrophil **77** eingesetzt. Die Reaktionsführung konnte dadurch verbessert werden, daß *n*-Butyllithium unterschüssig (weniger als 3,6 Äquivalente) eingesetzt wurde, um die direkte

a)



Schema 37: a) Teilschritte der Synthese des β -Ketonitrils **79**, b) Nebenreaktion von a) bei einem Überschuß von Butyllithium.

Bisalkylierung von *m*-Toluoylchlorid **77** zum tertiären Alkohol 5-(3-Methylphenyl)-pentan-5-ol **80** durch nicht abreagiertes Reagenz zu vermeiden. Auf der anderen Seite mußte die extrem hygroskopische Cyanoessigsäure **75** wasserfrei eingesetzt werden, da sonst keine ausreichende Menge **76** gebildet werden kann.

Ein weiteres Nebenprodukt konnte bei der Umkristallisation des Rohproduktes in Essigsäureethylester/Hexan als unlöslicher weißer Feststoff isoliert werden. Das NMR-Spektrum dieser Substanz in CDCl₃/DMSO-D₆ 1:1 zeigte nur die Signale des Tolyrestes, das der Methylengruppe war nicht vorhanden. Es ist zu vermuten, daß eine Selbstkondensation des C-H-aciden β -Ketonitrils statt fand.

Da prinzipiell eine gezielte Seitenkettenbromierung weder des β -Ketonitrils noch auf der Stufe des Aminopyrazols möglich ist, mußte zunächst die Carbonylfunktion durch eine Schutzgruppe blockiert werden. Hierfür eignen sich gut zyklische Ketale, die unter aciden Bedingungen eingeführt bzw. abgespalten werden können, im basischen Medium jedoch stabil sind.^[89] Dazu wurde 3-(3-Methylphenyl)-3-oxopropionitril **79** unter wasserabscheidenden Bedingungen mit Ethan-1,2-diol und Katalyse von *p*-Toluolsulfonsäure in Toluol umgesetzt, um so das Dioxolan **81** zu erhalten.

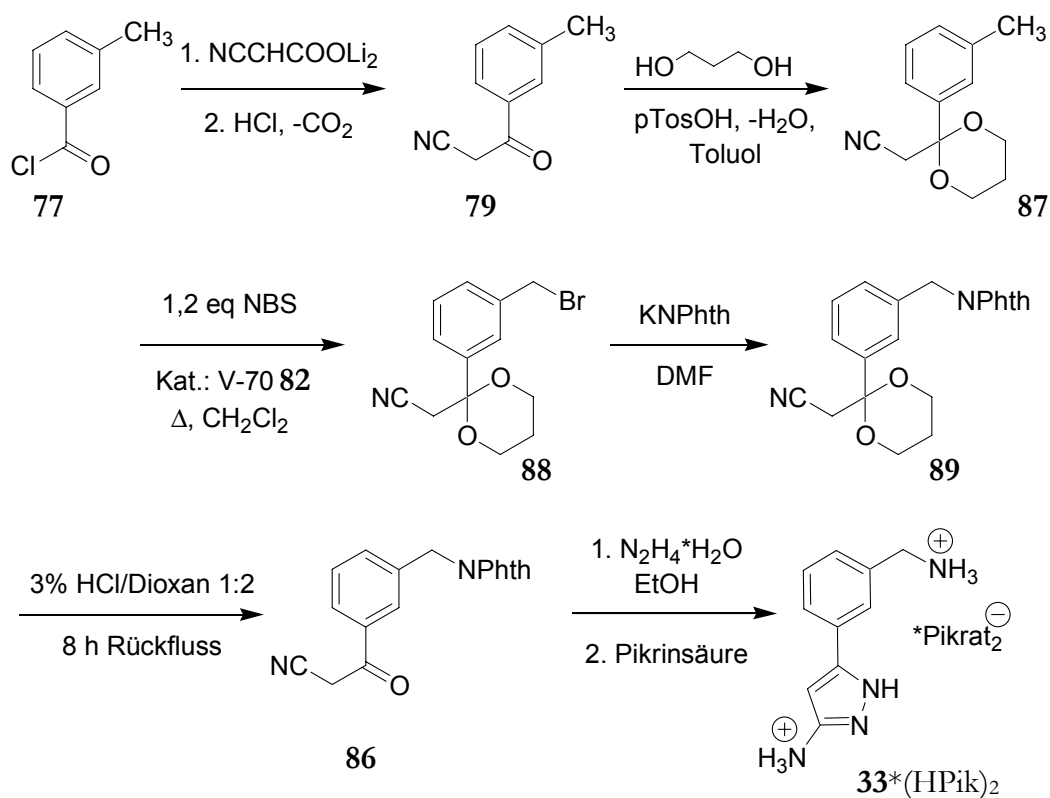
Bei der folgenden NBS-Bromierung wurde wie bei den vorherigen Bromierungen ein Gemisch von Edukt, mono- und dibromierten Produkt erhalten, dessen Zusammensetzung optimiert werden konnte. Durch den Einsatz von Dichlormethan anstelle von Tetrachlormethan als Lösungsmittel reagierte ein Teil des Bromierungsreagenzes mit diesem zum flüchtigen^[104] Bromdichlormethan.^[105] Dadurch wurde zwar die Ausbeute sowohl an di- als auch an monobromierten Produkt verringert, die des ersteren jedoch in stärkerem Ausmaß. Als Radikalinitiator wurde Azobis(4-methoxy-2,4-dimethylpentannitril) **82** (V-70), ein Azoradikalinitiator, welcher bei tieferen Temperaturen als das bekannte Azobisisobutyronitril **83** (AIBN) zerfällt, eingesetzt. Auf den Einsatz von UV-Licht konnte so verzichtet werden. Durch Zugabe von 1,6 Äquivalenten *N*-Bromsuccinimid konnte die Ausbeute von **84** auf 83% gesteigert werden, wobei 12% dibromiertes Produkt vorlagen. Bei der klassischen NBS-Bromierung in Tetrachlormethan mit einem Äquivalent Bromierungsmittel lag die Ausbeute bei 69%, wobei ebenfalls 12% des Dibromids im Produktgemisch enthalten wurden.

Das Rohprodukt wurde nun einer Gabrielsynthese unterworfen und das Phthalimid **85** isoliert.

Um eine gleichzeitige Abspaltung der Phthaloyl-Schutzgruppe sowie Zyklisierung des β -Ketonitrils **86** zum Aminopyrazol mit Hydrazin-Hydrat zu ermöglichen, mußte zunächst

der Dioxolanring gespalten werden. Dies gelingt typischerweise unter aciden Bedingungen in der Anwesenheit von Wasser.^[89, 106, 107] Das Dioxolan **85** erwies sich jedoch als extrem stabil. Erst mehrstündiges Kochen in einer Mischung aus halbkonzentrierter Salzsäure und Wasser (Dioxan (1:2 Volumenteile) hydrolysierte das Dioxolan vollständig, griff jedoch auch teilweise das Phthalimid an.

Daher wurde mit einem Überschuß Propan-1,3-diol ein 1,3-Dioxanring als Schutzgruppe anstelle eines 1,3-Dioxolanringes für das β -Ketonitril **79** eingeführt, wobei als Nebenprodukt der Polyether 3-(3-(3-Hydroxypropyloxy)-propyloxy)-propan-1-ol **90** abgetrennt wurde. Die folgende Reaktionssequenz wurde analog der zuvor beschriebenen durchgeführt. Dabei konnte die Aufarbeitung der Gabrielsynthese optimiert werden, indem das Produkt durch Fällen in Wasser isoliert und elementaranalysenrein in 68% Ausbeute (bezogen auf die letzten zwei Syntheseschritte) erhalten wurde.



Schema 38: Erfolgreiche Synthese von 5-(3-Aminomethyl-phenyl)-1H-pyrazol-3-ylamin **33**.

Die Hydrolyse des Dioxans zum β -Ketonitril **86** gelang quantitativ durch mehrstündiges Kochen in 1N Salzsäure/1,4-Dioxan 1:2.

Bei der folgenden Umsetzung von **86** mit Hydrazin-Hydrat fiel beim Erhitzen direkt Phthalhydrazid **91** als Nebenprodukt aus, und nicht wie für Hydrazinolyse üblich^[94], das in Position 4 substituierte 2*H*-phthalazin-1-on, welches sonst erst mit Salzsäure hydrolysiert werden muß. 5-(3-Aminomethyl-phenyl)-1*H*-pyrazol-3-ylamin **33** fiel somit als freies, extrem wasserlösliches Bisamin an und wurde deshalb durch Fällen mit Pikrinsäure als Bispikrat isoliert.

2.4.2 Acylierung des Bisamins **33** und Einführung des Imidazolidins

Nun konnte die Derivatisierung des Bisamins **33** zu dem Modellrezeptor bzw. dem eigentlichen Haftmonomer erfolgen. Dabei war zu erwarten, daß die benzyliche Aminogruppe das nucleophilste Stickstoffatom besaß, so daß eine Umsetzung zum zyklischen Guanidin eindeutig verlaufen sollte. Bei der regioselektiven Acylierung des Aminopyrazol-Teiles war jedoch vom Gegenteil auszugehen. Da das Problem der Regioselektivität durch das Einführen von zwei weiteren (nur schwer zu schützenden) nucleophilen Stickstoffatomen des Imidazolidins weiterhin verschärft würde, sollte der Acylierungsschritt zuerst erfolgen. Hierzu war eine vorherige Blockierung der benzylichen Aminogruppe nötig, wozu die *tert.*-Butyloxycarbonylgruppe eingeführt werden sollte.

Dazu wurde das schwerlösliche Bispikrat zunächst durch Ansäuern mit Salzsäure und Extraktion der Pikrinsäure mit Ethylacetat in das Hydrochlorid überführt, welches direkt als wässrige Lösung mit 1,4-Dioxan als Kosolvens und Triethylamin als Hilfsbase der Einführung der Boc-Gruppe unterworfen wurde. Bei der Umsetzung kam das Problem auf, daß ein äquimolarer Einsatz des Di-*tert.*-butylpyrocarbonat **92** nicht gewährleistet werden konnte, weil sich das Edukt **33** außer als Bispikrat nicht isolieren ließ. Dies war jedoch nötig, da ein Überschuss zur Bildung eines zweifach Boc-geschützten Produktes, ein Unterschuss nicht zur vollständigen Schützung des Eduktes und somit zu Ausbeuteverlusten führte. Die Ausbeuten beliefen sich daher auf unter 60%. Auch der Einsatz von Anionenaustauschern zur Umwandlung des Bispikrates in das korrespondierende Hydrochlorid verbesserte die Situation nicht. Bei der Suche nach einem geeigneteren Reaktionsmedium stellte sich heraus, daß *N,N*-Dimethylformamid unter dem Aspekt der Regioselektivität ein gutes Lösungsmittel war. Außerdem bot es die Möglichkeit, direkt das Bispikrat **33***(HPik)₂ ohne vorherige Konvertierung einzusetzen. Das einfach Boc-geschützte Derivat **93** konnte so in 80%-iger

Ausbeute erhalten werden, wobei die Pikrationen bei der säulenchromatographischen Aufarbeitung abgetrennt wurden.

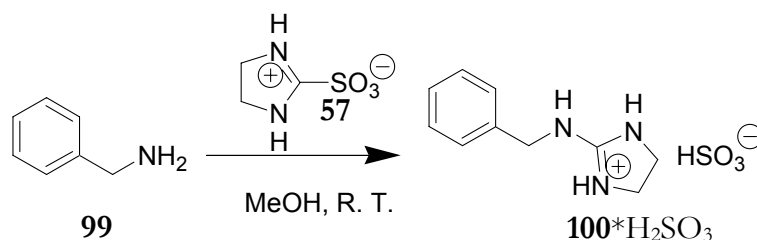
Bei der nun folgenden Acylierung entschied der Substituent im Acylierungsmittel über die Funktion des Rezeptors. Ein Rest, der eine C-C-Doppelbindung enthält, ist für ein Haftmonomer notwendig, für den Modellrezeptor ist er frei wählbar. Somit wurde für letzteren der Acetylrest gewählt. Um diesen einzuführen, wurden verschiedene Acylierungsmittel und Lösungsmittel auf ihre Regioselektivität hin untersucht, wobei Acetylchlorid in Dioxan die besten Ausbeuten mit 65% des Boc-Derivats **94** lieferte.

Bei der Synthese der Haftmonomervorstufe war Methacryloylchlorid dem reaktiveren Acryloylchlorid überlegen. Bei -78°C in Tetrahydrofuran konnte das gewünschte Regioisomer **95** zu 69 % erhalten werden.

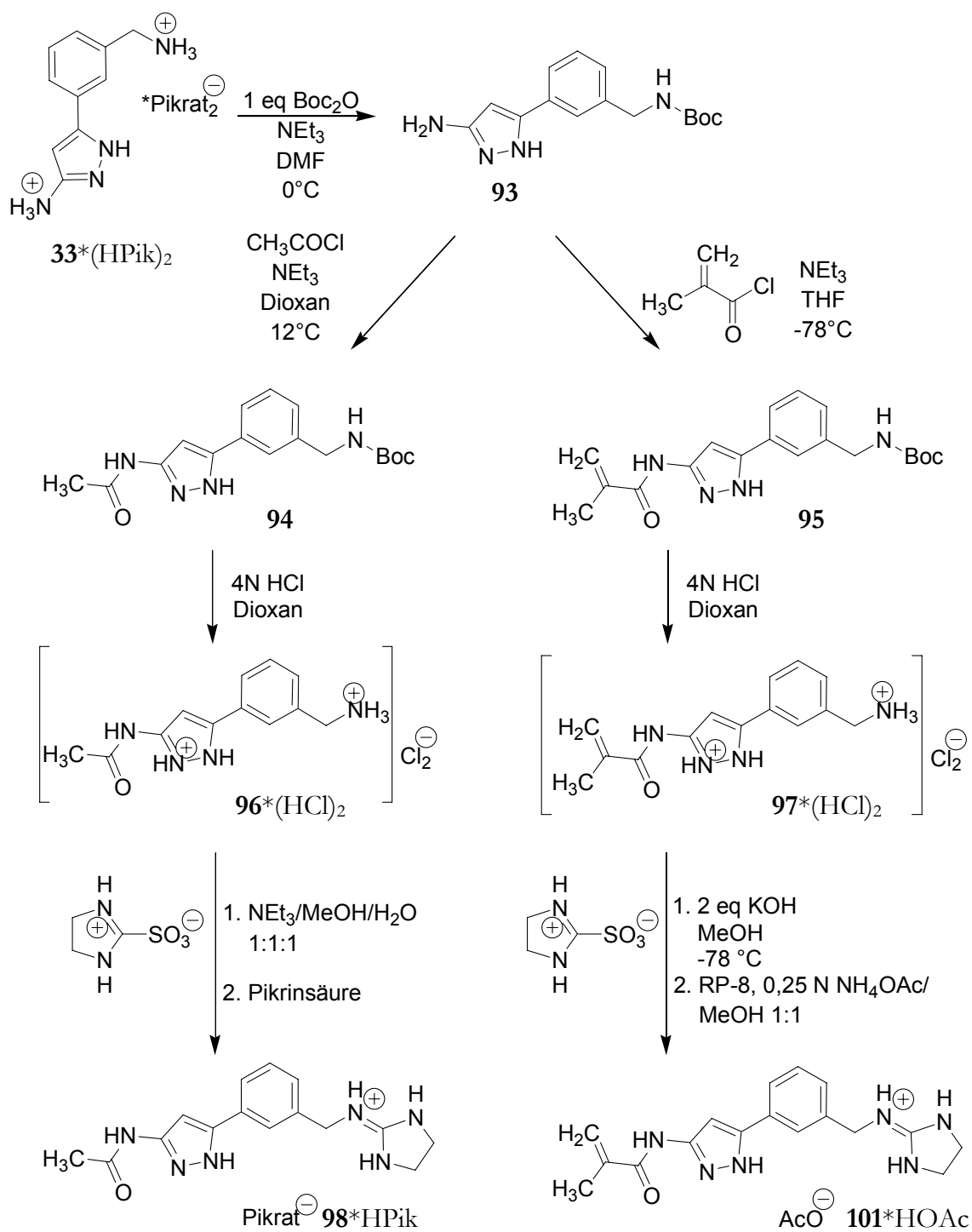
Die Boc-Schutzgruppe ließ sich bei beiden Zwischenstufen quantitativ mit 4 N Salzsäure in Dioxan abspalten, wobei die Produkte **96** und **97** als Bishydrochloride erhalten wurden, da unter den Reaktionsbedingungen auch der schwach basische Heterozyklus^[87] protoniert wird.

Die Einführung der Imidazolidingruppe, die zu dem acetylierten Modellrezeptor **98** führte, wurde analog der Darstellung der Pyrazol-3-yl-guanidine mit Aminocarbonylalkyl-Brücke **58** und **59** durchgeführt. Die Reaktion des 3-(3-Amidopyrazol-5-yl-phenylmethylamins **96** im basischen Milieu mit einem leichten Überschuß Imidazolin-2-ylsulfonsäure **57** lieferte den Rezeptor ImAMePhAcAP **98**, der als Pikrat isoliert wurde.

Bei der Synthese des Haftmonomers gestaltete sich dies nicht so einfach. Teilweise polymerisierte das Produkt bei der Aufarbeitung, in keinem Fall ließ es sich als Pikrat fällen. Offenbar war die Methacryloylgruppe gegenüber extremen pH-Werten empfindlich. Daher wurde versucht, möglichst pH-neutrale Bedingungen bei der Darstellung von **101** einzuhalten. Vorversuche mit der Umsetzung von Benzylamin **99** zu dem korrespondierenden Guanidin *N*-Benzyl-imidazolidin-2-yl-amin **100** (BnImA) zeigten, daß für die eigentliche Reaktion mit Imidazolin-2-ylsulfonsäure **57** keine Hilfsbase benötigt wird, wenn als Edukt das freie Amin vorliegt (Schema 39).



Schema 39: Synthese des zyklischen Guanidins **100** mit Imidazolin-2-ylsulfonsäure **57** ohne Hilfsbase.



Schema 40: Synthese des Modellrezeptors **98** und des Haftmonomers **101**.

So wurde das Bishydrochlorid von **97** mit exakt zwei Äquivalenten Kaliumhydroxid bei -78°C in Methanol deprotoniert und mit **57** umgesetzt. Die Aufarbeitung erfolgte chromatographisch auf einer RP8-Säule. Um das Haftmonomer unter milden Bedingungen kontrolliert in protonierter Form zu halten, wurde als flüchtige Puffersubstanz Ammoniumacetat^[108] eingesetzt. Das so gereinigte Haftmonomer ImAMePhMAcrAP **101** wurde als Acetat erhalten.

Für die weiteren Experimente wurden sowohl **98***HPik als auch **101***HOAc durch den Einsatz eines Chlorid-beladenen Ionenaustauschers in ihre Hydrochloride überführt.

2.5 NMR-Studien

Um die dargestellten Pyrazolyl-guanidine in bezug auf ihre Eigenschaften als Haftmonomere für das Molekulare Prägen zu charakterisieren, wurden ^1H -NMR-Studien durchgeführt, da diese sich zur Untersuchung von Komplexbildungsgleichgewichten in Lösung bewährt haben. Zum allgemeinen Verständnis sollen die hier eingesetzten Verfahren zunächst erläutert werden.

Vielen NMR-Methoden ist gemein, daß Lösungen der Komplexpartner, abhängig vom gewählten Experiment, in unterschiedlichen Mengen miteinander vermischt und NMR-Spektren der Lösungen aufgezeichnet werden. Findet eine Komplexbildung statt, so sind in der Regel Änderungen der chemischen Verschiebungen zu beobachten, da sich die chemische Umgebung der Protonen im Komplex von der der freien Komplexpartner unterscheidet. Allerdings werden im allgemeinen die Signale für den freien und den komplexierten Gast nicht getrennt, sondern nur als ein gemittelttes Signal beobachtet. Dies ist darauf zurückzuführen, daß die Komplexbildungsgleichgewichte, gemessen an der NMR-Zeitskala, schnell verlaufen. Man spricht von einem „schnellen Austausch“. Trotzdem lassen sich aus den Änderungen der chemischen Verschiebungen in Abhängigkeit der eingesetzten Konzentrationen die Komplexparameter ermitteln.

2.5.1 Ermittlung der Komplex-Stöchiometrie mit Hilfe von Job-Plots

Bevor die Bestimmung der Assoziationskonstante erfolgt, ist es sinnvoll, die Stöchiometrie eines Komplexes zu verifizieren. Ein Verfahren, welches dies ermöglicht, ist das der kontinuierlichen Variation nach Job.^[109] Dazu werden verschiedene Proben vermessen, deren Gesamtkonzentration konstant gehalten wird, die jedoch sukzessiv steigende Mengen des einen Komplexpartners sowie entsprechend abnehmende Mengen des anderen enthalten. Prinzipiell können verschiedene Eigenschaften des Systems gemessen und ausgewertet werden, welche sich bei der Komplexbildung charakteristisch ändern. Blanda und Mitarbeiter haben das Verfahren der kontinuierlichen Variation auf die NMR-Spektroskopie übertragen.^[110, 111] Für die Auswertung wird die Änderung der beobachteten chemischen Verschiebung eines Komplexpartners δ_{obs} (z. B. des Wirtes) im Vergleich zu der der unkomplexierten Substanz δ_{w} berechnet,

$$\Delta\delta = \delta_{\text{obs}} - \delta_{\text{W}}. \quad (1)$$

Weiterhin wird der Molenbruch x_{W} der Ausgangskonzentration des Wirtes wie folgt definiert:

$$x_{\text{W}} = \frac{[\text{W}]_0}{[\text{G}]_0 + [\text{W}]_0} = \frac{[\text{W}]_0}{c_0} \quad (2)$$

(Ausgangskonzentration an Gast $[\text{G}]_0$ bzw. Wirt $[\text{W}]_0$, Gesamtkonzentration c_0)

Die Auftragung des Produktes $\Delta\delta \cdot x_{\text{W}}$ als Funktion von x_{W} ergibt den sogenannten Job-Plot.

Folgende Zusammenhänge liegen diesem zugrunde: Durch den schnellen Austausch ergibt sich δ_{obs} als konzentrationsgewichteter Mittelwert aus der chemischen Verschiebung des freien Wirtes δ_{W} und der des Komplexes δ_{K} :

$$\delta_{\text{obs}} = \frac{[\text{W}]}{[\text{W}]_0} \delta_{\text{W}} + \frac{[\text{K}]}{[\text{W}]_0} \delta_{\text{K}} \quad (3)$$

(Konzentration an freiem Wirt $[\text{W}]$ bzw. Komplex $[\text{K}]$)

Einsetzen von (3) in (1) und Umformen unter Berücksichtigung der Stoffmengenbilanz für den Wirt, der n -mal im Komplex K enthalten ist, ergibt:

$$\begin{aligned} \Delta\delta &= \frac{[\text{W}]}{[\text{W}]_0} \delta_{\text{W}} + \frac{[\text{K}]}{[\text{W}]_0} \delta_{\text{K}} - \delta_{\text{W}} = \left(\frac{[\text{W}]}{[\text{W}]_0} - 1 \right) \delta_{\text{W}} + \frac{[\text{K}]}{[\text{W}]_0} \delta_{\text{K}} = -\frac{n[\text{K}]}{[\text{W}]_0} \delta_{\text{W}} + \frac{[\text{K}]}{[\text{W}]_0} \delta_{\text{K}} \\ &= \frac{[\text{K}]}{[\text{W}]_0} (\delta_{\text{K}} - n \cdot \delta_{\text{W}}) \end{aligned} \quad (4)$$

Somit erhält man für den Term, der beim Job-Plot als Ordinate aufgetragen wird, folgenden Zusammenhang:

$$\Delta\delta \cdot x_{\text{W}} = \frac{[\text{K}]}{[\text{W}]_0} (\delta_{\text{K}} - n \cdot \delta_{\text{W}}) \frac{[\text{W}]_0}{c_0} \quad (5)$$

$$\Delta\delta \cdot x_{\text{W}} = \frac{(\delta_{\text{K}} - n \cdot \delta_{\text{W}})}{c_0} [\text{K}] \quad (6)$$

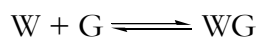
Alle Ausdrücke des rechten Terms der Gleichung (6) sind dabei bis auf die Konzentration

des Komplexes $[K]$ konstant. Somit ist $\Delta\delta \cdot x_W$ direkt proportional zur Komplexkonzentration. Diese ist aber gerade dann maximal, wenn die Ausgangskonzentrationen der Komplexbildungspartner $[G]_0$ und $[W]_0$ in dem Verhältnis vorliegen, in dem sie auch im Komplex enthalten sind. Somit ergibt sich die Komplexstöchiometrie als Abszisse des Maximums des Job-Plots. Man erhält beispielsweise bei einem 1:1-Komplex einen Molenbruch x_W von 0,5 (siehe Abbildung 3, Seite 55).

2.5.2 NMR-Titration

Ein Verfahren, welches sich zur Bestimmung von Komplexassoziationskonstanten K_{ass} etabliert hat, stellt die NMR-Titration dar.^[112, 113] Hierbei werden zu der Lösung des Wirtes steigende Mengen des Gastes zugegeben. Dabei wird die Konzentration des Wirtes nahezu konstant gehalten, während die des Gastes kontinuierlich erhöht wird. Die Konzentration des Wirtes sollte dabei so gewählt sein, daß bei der zu erwartenden Assoziationskonstante in einem Bereich von mindestens 20-80% Komplexierung gemessen wird, um so den systematischen Fehler gering zu halten, was bei $[W]_0 = 1/(2 \cdot K_{\text{ass}})$ gegeben ist.^[113] Die Proben, in welchen der Molenbruch des Gastes typischerweise von 0 bis 5 variiert wird, werden NMR-spektroskopisch vermessen. Zur Auswertung wird ein Signal des Wirtes verfolgt und die Änderung seiner chemischen Verschiebung $\Delta\delta$ ermittelt (siehe Abbildung 4, Seite 56).

Für die eigentliche Bestimmung der Assoziationskonstante gelten bei Vorliegen eines 1:1-Komplexes folgende Zusammenhänge:



$$K_{\text{ass}} = \frac{[WG]}{[W][G]} \quad (7)$$

Setzt man in diese Gleichung für die freien Komplexpartnerkonzentrationen $[W]$ und $[G]$, die Terme ein, die sich aus den Stoffmengenbilanzen ergeben, erhält man

$$K_{\text{ass}} = \frac{[WG]}{([W]_0 - [WG])([G]_0 - [WG])}, \quad (8)$$

wobei man durch Auflösen nach der Komplexkonzentration $[WG]$

$$[\text{WG}] = \frac{1}{2} \left([\text{W}]_0 + [\text{G}]_0 + \frac{1}{K_{\text{ass}}} - \sqrt{\left([\text{W}]_0 + [\text{G}]_0 + \frac{1}{K_{\text{ass}}} \right)^2 - 4[\text{W}]_0[\text{G}]_0} \right) \quad (9)$$

erhält. Setzt man (9) wiederum in die allgemein gültige Gleichung (4), welche für den Job-Plot hergeleitet wurde, mit $n = 1$ ein, ergibt sich der gesuchte Ausdruck

$$\Delta\delta = \frac{\delta_{\text{GW}} - \delta_{\text{W}}}{2[\text{W}]_0} \left([\text{W}]_0 + [\text{G}]_0 + \frac{1}{K_{\text{ass}}} - \sqrt{\left([\text{W}]_0 + [\text{G}]_0 + \frac{1}{K_{\text{ass}}} \right)^2 - 4[\text{W}]_0[\text{G}]_0} \right) \quad (10).$$

Die Änderung der chemischen Verschiebung des Wirtes $\Delta\delta$, welche experimentell bestimmt wird, ist abhängig von den experimentell vorgegebenen Gesamtkonzentrationen von Wirt und Gast. Die gesuchten Parameter K_{ass} sowie $\delta_{\text{GW}} - \delta_{\text{W}}$, die Differenz zwischen dem Wirtsignal im Komplex und im freien Wirt, lassen sich somit durch Kurvenanpassung mit Hilfe nichtlinearer Regression bestimmen.

2.5.3 NMR-Studien in Dimethylsulfoxid- d_6

Als Lösungsmittel für die ersten Untersuchungen wurde deuteriertes Dimethylsulfoxid (DMSO- d_6) eingesetzt, da zu erwarten war, daß die Bindungskonstanten in diesem Lösungsmittel in einem Bereich liegen, der meßtechnisch gut zugänglich war, nämlich $K_{\text{ass}} = 10^3$ bis 10^4 M^{-1} . Später sollen dann Messungen in Lösungsmitteln erfolgen, die für das Molekulare Prägen besser geeignet sind.

Als einfaches Modellsystem wurde dazu die Wechselwirkung im Komplex von BnImA **100** mit Benzoesäure **102** (BzOH) untersucht. Das Guanidin wurde dabei in Form des Hydrochlorids, das Carboxylat in Form des Tetrabutylammonium-Salzes **102b** (BzO-NBu_4^+) eingesetzt, da dieses, im Vergleich zum Acetat, nur in geringem Umfang hygroskopisch ist. Allgemein ist das Tetrabutylammoniumion (NBu_4^+) gut als Gegenion in Komplexierungsstudien geeignet, da es einerseits nicht nucleophil ist und somit kaum Wechselwirkungen mit Anionen eingeht, andererseits aufgrund der Alkylreste selbst in unpolaren, aprotischen Lösungsmitteln gut löslich ist.

Zunächst wurde die Stöchiometrie von **100*****102** mit einem Job-Plot, bei dem das *ortho*-ständige Proton des Benzoates verfolgt wurde, verifiziert. Wie erwartet, wurde eine 1:1-Stöchiometrie gefunden (Abbildung 3). Der Graph ließ sich gut durch eine Parabel zweiten Grades annähern, bei der die Abszisse des Maximums bei $x = 0,50$ lag. Die Bildung von 1:2-Komplexen wird in der Literatur nur für Imidazolidin-2-ylamine berichtet, deren exozyklische Aminogruppe unsubstituiert ist und somit als zweifacher Wasserstoffbrückendonator dienen kann.^[37]

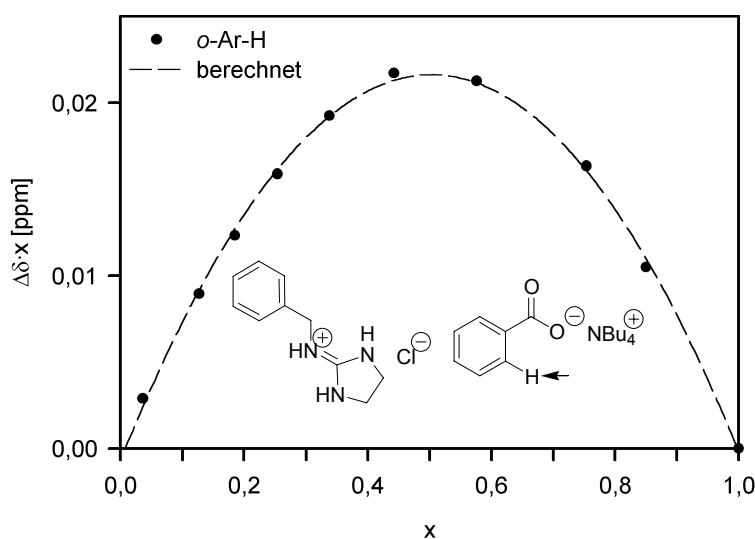


Abbildung 3: Job-Plot von $BzO-NBu_4^+$ **102b** mit $BnImA^*HCl$ **100*** HCl in $DMSO-d_6$ bei Raumtemperatur. Das markierte Proton wurde verfolgt. Die Meßpunkte wurden durch eine Parabel 2. Grades angenähert.

Zur Messung der Assoziationskonstante wurde eine NMR-Titration durchgeführt, wobei die Konzentration des Benzoats **102b** als Rezeptor nahezu konstant gehalten wurde, während steigende Mengen des Guanidiniumions zugegeben wurden. Wieder wurde das *ortho*-ständige Proton des Benzoats **102b** verfolgt, und seine Änderung gegen den Molenbruch aufgetragen (Abbildung 4). Nichtlineare Regression ergab eine Assoziationskonstante von $K_{ass} = 2500 M^{-1}$. Dieser Wert liegt in der gleichen Größenordnung, wie er in der Literatur für ähnliche Komplexe in DMSO bei Raumtemperatur durch mikrokolorimetrische Messungen bestimmt wurde.^[37]

Interessant ist auch ein Vergleich zu Bindungskonstanten, die in unserer Arbeitsgruppe

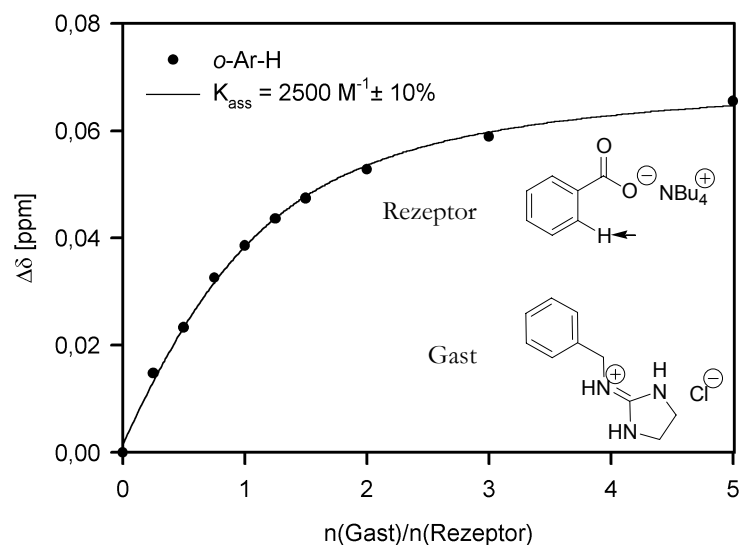
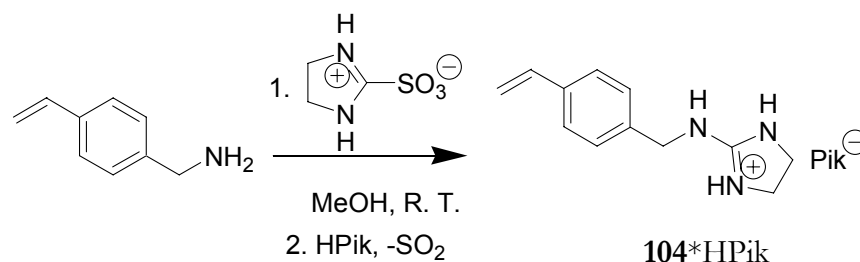


Abbildung 4: NMR-Titration von $BzO-NBu_4^+$ **102b** mit $BnImA^*HCl$ **100*HCl** in $DMSO-d_6$ bei Raumtemperatur. Das markierte Proton wurde verfolgt. Nichtlineare Regression ergab $K_{ass} = 2500 \pm 10\% M^{-1}$

für die Stabilität des Komplexes aus N,N' -Diethyl-4-vinylbenzamidin **15** und p -Methylbenzoesäure **65** gemessen wurden.^[51] Diese betrug nur $K_{ass} = 73,5 M^{-1}$ ($DMSO-d_6$ bei Raumtemperatur.), was auf das Vorliegen der Ethylreste an der Amidiniumgruppe in einer für die Komplexbildung ungünstigen Konformation zurückgeführt wurde. Für diese ist notwendig, daß die zwei N-H-Bindungen parallel zueinander orientiert sind, um so eine starke zweizählige Bindung bilden zu können. Diese Voraussetzung ist bei den hier untersuchten Guanidiniumionen aufgrund der Fixierung im Imidazolidinring immer gegeben. Im Gegensatz zu unsubstituierten Guanidinen, die diese Bedingung auch erfüllen, verhindert der Ring die Bildung höherer Aggregate und führt zu einer guten Löslichkeit in unpolaren Lösungsmitteln.

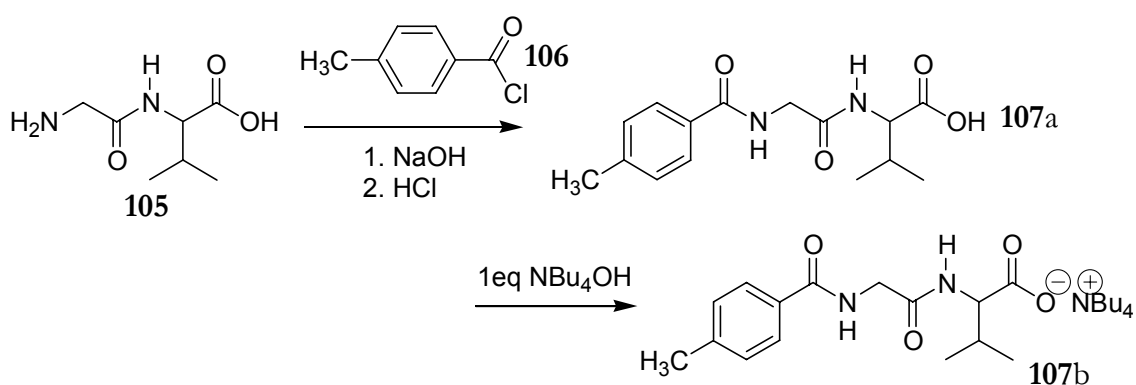
Motiviert durch dieses Ergebnis wurde ein zu **100** analoges Haftmonomer in zwei Reaktionstufen synthetisiert. 4-Vinylbenzylamin **103**, welches durch die von Itsuno beschriebene Reaktion von 4-Vinylbenzylchlorid mit Kalium-1,1,3,3-tetramethyldisilazid erhalten wurde,^[114] konnte mit Imidazolin-2-sulfonsäure **57** zu Imidazolidin-2-yliden-(4-vinylbenzyl)-amin-Hydropikrat **104*HPik** umgesetzt werden (Schema 41).



Schema 41: Synthese des Haftmonomers *ViBnImA* **104** als Pikrat

Aufgrund seiner guten Zugänglichkeit stellt **104** eine potentielle Alternative als Haftmonomer für Carboxylate zu dem bewährten *N,N'*-Diethyl-4-vinylbenzamidin **15** dar. Die Assoziationskonstante von **104** in Benzoat-Komplexen sollte dabei der von *BnImA***BzOH* **100*****102** entsprechen, da die Vinylgruppe in *p*-Stellung des Benzylrestes keine deutliche Änderung der Bindungseigenschaften erwarten läßt.

Für die Untersuchung der Bindung zwischen *N*-acylierten Dipeptidcarboxylaten und Rezeptoren wurde als Dipeptid *N*-Glycyl-*L*-valin (H-Gly-Val-OH) gewählt, da deren Derivate auch bereits vorher in unserer Arbeitsgruppe beim Studium der Amidopyrazol-Dipeptid-Wechselwirkungen eingesetzt wurden.^[34, 41, 72] Das freie Dipeptid wurde im basischen Milieu mit *p*-Toluoylchlorid zu Tol-Gly-Val-OH **107** acyliert (Schema 42). Der aromatische Acylrest bildet im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum einfache, scharfe Signale, und bietet für spätere HPLC-Untersuchungen die Möglichkeit zur UV-Detektion. Für die NMR-Studien wurde die Säure mit einem Äquivalent Tetrabutylammoniumhydroxid umgesetzt (Schema 42).



Schema 42: Synthese der Dipeptidderivate.

Als erstes System wurde die Wechselwirkung von Tol-Gly-Val-O-NBu₄⁺ **107b** zu dem protonierten BnImA **100***H⁺ untersucht. Dieses Guanidiniumion besitzt gegenüber den aufwendigeren Rezeptoren keine Seitenkette, die mit dem Peptidrückgrat wechselwirken kann, und ermöglicht somit die Bestimmung der reinen Guanidinium-Carboxylat-Wechselwirkung. Die Auswertung der NMR-Titration (Abbildung 5), bei der das Dipeptidderivat **107b** als Wirt vorgelegt wurde, ergab eine Bindungskonstante von $K_{\text{ass}} = 1500 \text{ M}^{-1}$, unabhängig davon, welches der Protonen, die an den α -C-Atomen gebunden sind, verfolgt wurde. Die NMR-Signale der diastereotopen Methylen-Protonen des Glycylrestes wurden bei den Auswertungen nicht getrennt (im Sinne von zwei Dubletts von Dubletts) behandelt, sondern es wurde der Mittelwert der chemischen Verschiebungen zur Erstellung der Graphen und Durchführung der Regression benutzt. Dies war zulässig, da die separate Behandlung zu den gleichen Bindungskonstanten und Fehlergrenzen führte. Aufgrund der identischen Kopplungskonstanten zum benachbarten Amid-Proton war es so außerdem möglich, trotz eventuell - durch das α -CH-Signal des Valins - verdeckter Signale die mittlere chemische Verschiebung zu berechnen. In allen Fällen war der unsystematische Fehler der Assoziationskonstante, welcher sich bei der Regression unter Annahme einer 1:1-Stöchiometrie ergab, mit etwa 12% gering, so daß auf eine gesonderte Bestimmung der Stöchiometrie durch einen Job-Plot verzichtet wurde.

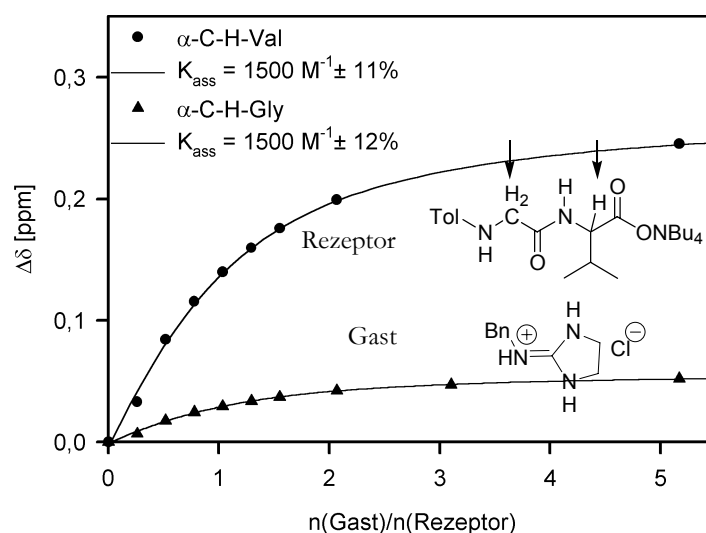


Abbildung 5: NMR-Titration von Tol-Gly-Val-O-NBu₄⁺ **107b** mit BnImA*HCl **100***HCl in DMSO-d₆ bei Raumtemperatur.

Die Bindung zwischen Guanidiniumion und Dipeptidcarboxylat ist im Vergleich zu der zum Benzoat um 40% kleiner. Dies ist im wesentlichen auf elektronische Effekte zurückzuführen. So hängt die Assoziationskonstante von der Eigenschaft des Carboxylats ab, als Wasserstoffbrückenakzeptor zu fungieren. Diese nimmt mit der Basizität des Carboxylats zu. Laut Literatur ist Benzoesäure ($pK_s = 4,21$ in Wasser bei 25°C)^[115] weniger acide als acylierte Valin-Derivate, beispielsweise *N*-Aminocarbonyl-valin ($pK_s = 3,56$ in Wasser bei 25°C)^[116]. Das Benzoat ist somit basischer als ein Valinat und somit auch ein stärkerer Wasserstoffbrückenakzeptor.

Als nächstes wurde die Komplexierung von Tol-Gly-Val-O⁻ NBu₄⁺ **107b** mit dem *m*-tolylen-verbrückten Pyrazol-5-yl-guanidin ImAMePhAcAP **98** untersucht. Da dieser Rezeptor aufgrund seiner Seitenkette deutlich komplexer als das zuvor studierte BnImA **100** ist, wurde die Komplexstöchiometrie zunächst durch einen Job-Plot verifiziert. Wie Abbildung 6a zeigt, wird auch in diesem Fall ein 1:1-Komplex ($x = 0,49$) gebildet. Die Assoziationskonstante wurde analog der vorherigen bestimmt und ergab, je nach beobachtetem Proton, $K_{\text{ass}} = 1700\text{-}1800 \text{ M}^{-1}$ (Abbildung 6b).

Somit wird Tol-Gly-Val-O⁻ **107** stärker durch ImAMePhAcAP **98** als durch das einfache BnImA gebunden. Ein Einfluß elektronischer Effekte, wie dies bei dem Vergleich der Wasserstoffbrückenakzeptor-Eigenschaften von Benzoaten und Valinaten der Fall war, kann hier ausgeschlossen werden, da die Amidopyrazolgruppe durch den *m*-Tolylenspacer weit von der Guanidiniumgruppe entfernt ist. Als plausible Erklärung kommt hier nur die zu Beginn postulierte Wechselwirkung zwischen Amidopyrazol und Peptidrückgrat in Frage.

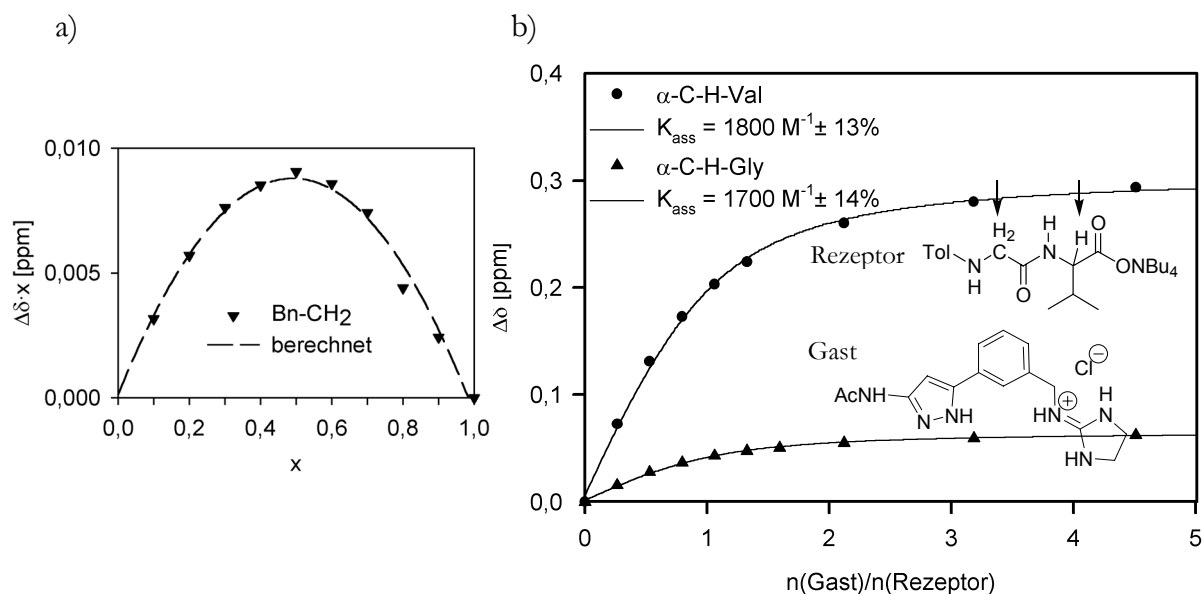
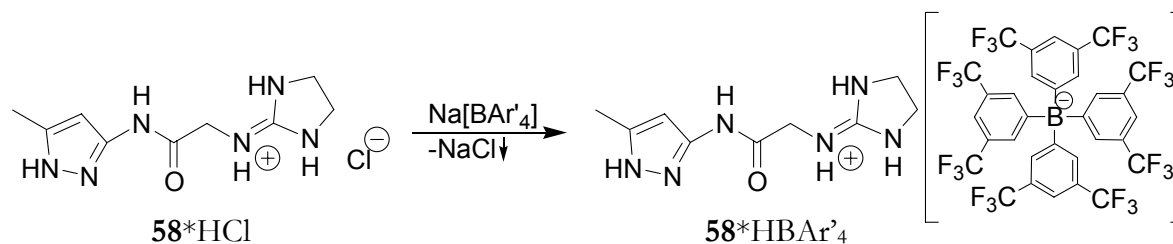


Abbildung 6: a) Job-Plot und b) NMR-Titration von Tol-Gly-Val-O⁺ NBu₄ **107b** mit ImAMePhAcAP*HCl **98***HCl in DMSO-d₆ bei Raumtemperatur.

Auch wenn der Effekt, der durch das Amidopyrazol hervorgerufen wird, gering ist, so ist er doch meßbar.

Bei der Untersuchung der Pyrazol-3-yl-guanidine mit Aminocarbonylalkyl-Brücke ImGlyAMP **58** und ImAlaAMP **59** trat das Problem auf, daß deren Hydrochloride selbst in Dimethylsulfoxid schlecht löslich waren, so daß NMR-Experimente mit diesen nicht möglich waren. Daher sollte das Gegenion gegen eines ausgetauscht werden, welches aufgrund seiner hohen Löslichkeit diesen Nachteil umgehen sollte. Nishida beschrieb das Tetrakis-(3,5-bis(trifluormethyl)phenyl)-boration ([BAR⁻₄]) als stabiles, voluminöses Anion, dessen negative Ladung stark delokalisiert ist.^[117] Daher ist dieses extrem lipophil und in der Lage, viele Kationen in organischen Lösungsmitteln wie Dichlormethan und Diethylether zu solvatisieren.^[117] Im Falle von ImAlaAMP **59** gelang dies nicht, jedoch konnte ImGlyAMP **58** in das Borat überführt werden (Schema 43).



Schema 43: Synthese eines löslichen Salzes von ImGlyAMP **58**.

Auch bei diesem Rezeptor sollte zunächst die Stöchiometrie der Wechselwirkung zu dem Dipeptidcarboxylat **107** durch einen Job-Plot ermittelt werden. Die Ergebnisse waren jedoch widersprüchlich (Abbildung 7). Während der Job-Plot von Peptidsignalen auf das Vorliegen eines 1:1 Komplexes hindeutete (z.B. α -C-H-Val: $x = 0,49$), so erhielt man aus den Signalen des Guanidins optimale Molenbrüche um $x_{\text{ImGlyAMP}} \approx 0,4$ (z.B. Imidazolidin-CH₂-Gruppe: $x = 0,39$).

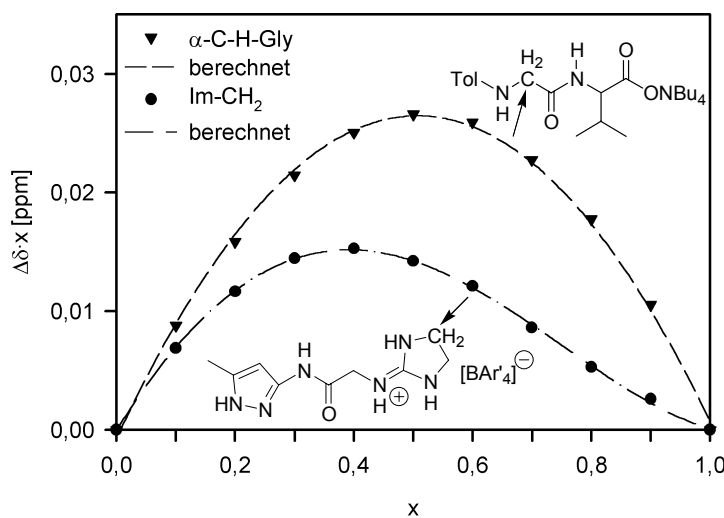


Abbildung 7: Job-Plots von Tol-Gly-Val-O-NBu₄⁺ **107b** mit ImGlyAMP*HBAr'₄ **58***HBAr'₄ in DMSO-*d*₆ bei Raumtemperatur. Die Auswertung der Dipeptidsignale deutete auf eine 1:1 Stöchiometrie hin ($x = 0,49$), die des Pyrazolyl-guanidins auf einen Gehalt dessen von $x = 0,39$.

Die Auswertung der Titrationskurve des Dipeptides mit dem Boratsalz von ImGlyAMP **58** nach dem 1:1-Modell führte erwartungsgemäß zu Assoziationskonstanten, die mit großen Fehlern behaftet waren (Abbildung 8). Sie lagen bei Beobachtung des Protons am α -C-Atom

des Glycins bei $K_{\text{ass}} = 2000 \text{ M}^{-1} \pm 29\%$ und bei $K_{\text{ass}} = 2800 \text{ M}^{-1} \pm 38\%$ für das entsprechende Valinproton. Aufgrund ihrer großen Fehler konnten aus diesen Ergebnissen keine exakten Aussagen getroffen werden. Denn offenbar fanden bei diesem Rezeptortyp mehrere Gleichgewichte in Lösung statt, die mit den benutzten Methoden nicht differenziert werden konnten.

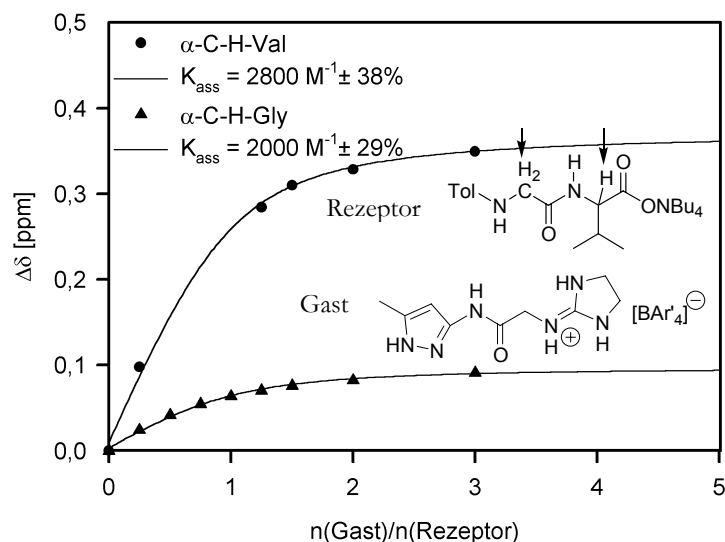


Abbildung 8: NMR-Titration von Tol-Gly-L-Val-O-NBu₄⁺ mit GuaAcAMP*HBAr'₄ **58***HBAr'₄ in DMSO-d₆ bei Raumtemperatur.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß der Rezeptor ImAMePhAcAP **98** in der Lage ist, das Dipeptidcarboxylat Tol-Gly-Val-O durch Bildung eines 1:1-Komplexes in DMSO-d₆ zu binden. Der Hauptanteil der Bindung ist dabei auf die Wechselwirkung zwischen der Carboxylat- und der Guanidiniumgruppe zurückzuführen. Der Vergleich zu der Bindung des Dipeptidcarboxylats durch das einfache zyklische Guanidiniumion BnImA*HCl **100***HCl zeigt, daß ein geringer Anteil auch auf die Wechselwirkung zwischen Amidopyrazol und Peptidrückgrat zurückzuführen ist. Allerdings ist das Lösungsmittel, in dem die Studien durchgeführt wurden, offenbar zu kompetitiv, um einen stärkeren Einfluß zu ermöglichen. Daher sollten nun Studien in dem schwächer polaren Lösungsmittel Acetonitril erfolgen.

2.5.4 NMR-Studien in Acetonitril- d_3

Für die NMR-Studien in Acetonitril- d_3 wurden die Guanidinium-Verbindungen BnImA **100** sowie ImAMePhAcAP **98** analog der Umsetzung in Schema 43 in ihre Borate überführt. Dies geschah, um einerseits eine gute Löslichkeit der Substanzen in Acetonitril zu gewährleisten, andererseits um Wechselwirkungen mit dem Gegenion möglichst gering zu halten. Es ist bekannt, daß es in Lösungsmitteln mit geringen Dielektrizitätskonstanten zur Bildung unspezifischer Ionenpaare kommen kann.^[60] Diese Reaktion konkurriert dann mit der eigentlichen Komplexbildung zwischen Carboxylat und Guanidiniumion und erschwert deren Studium, da die Komplexbildungsgleichgewichte nicht mehr dem Modell der Bildung eines einfachen 1:1-Komplexes folgen. Ähnliche Effekte wurden auch von Schönfeld bei Amidiniumhydrochloriden in deuteriertem Chloroform gefunden.^[51]

Bevor die eigentlichen Komplexbildungsreaktionen untersucht wurden, wurden Verdünnungsreihen von den isolierten Komplexpartnern durchgeführt und ^1H -NMR-Spektren von diesen aufgezeichnet. Diese Untersuchungen gaben darüber Aufschluss, ob eine Wechselwirkung mit dem Gegenion oder eine Selbstassoziation der Substanzen stattfand.

Bei den Modellrezeptoren BnImA*HBAr' $_4$ **100** sowie ImAMePhAcAP*HBAr' $_4$ **98** war dies nicht der Fall. In einem Konzentrationsbereich von 0,05 mM bis 5,00 mM kam es zu einer Änderung der chemischen Verschiebung von unter 0,002 ppm. Offensichtlich fand weder eine Ionenpaarbildung mit dem Boration [BAr' $_4$] $^-$ noch eine Wechselwirkung der Guanidiniumionen untereinander statt.

Die Auftragung der chemischen Verschiebungen von Tol-Gly-Val-O $^-$ NBu $_4^+$ **107b** bei der Verdünnung zeigten jedoch ein anderes Bild (Abbildung 9). Die Shifts sind stark konzentrationsabhängig. Mit steigendem Dipeptidcarboxylatgehalt werden die Protonen am α -C-Atom immer stärker abgeschirmt. Im Falle des Valinsignals wird ab ca. 1-2 mM ein gegenläufiger Effekt beobachtet. Dies deutet auf eine Selbstassoziation von **107b** hin, da eine Wechselwirkung mit dem stark abgeschirmten Gegenion NBu $_4^+$ unwahrscheinlich ist. Eine Bestimmung der Assoziationskonstante durch nichtlineare Regression unter Anwendung von Gleichung (10) mit der Vereinfachung, daß eine Dimerisierung stattgefunden hatte ($[\text{G}]_0 = [\text{W}]_0 = [\text{107b}]$), gelang nicht. Offenbar laufen bei höheren Konzentrationen komplexere Gleichgewichte ab, was durch das Minimum in dem Graphen des Valinprotons ebenfalls zum Ausdruck kommt.

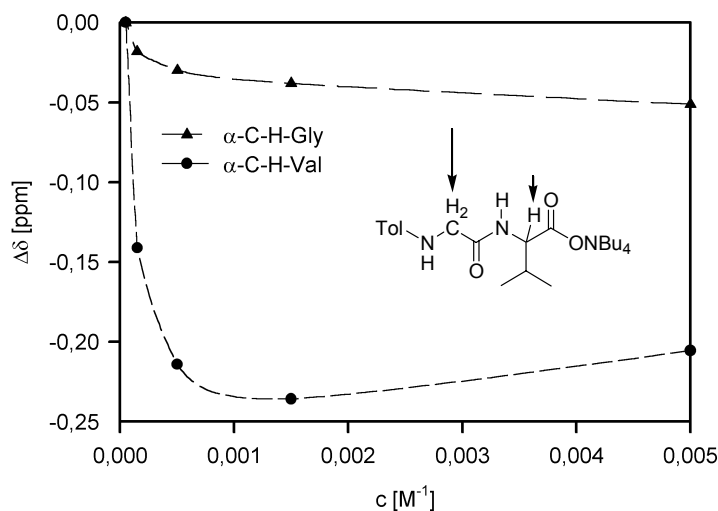


Abbildung 9: Verdünnungsreihe von Tol-Gly-Val-O⁻ NBu₄⁺ **107b** in ACN-*d*₃ von 0,05 mM bis 5,00 mM bei Raumtemperatur.

Im folgenden wurde die Komplexbildung von Tol-Gly-Val-O⁻ NBu₄⁺ **107b** durch BnImA*HBAr'₄ **100***HBAr'₄ sowie ImAMePhAcAP*HBAr'₄ **98***HBAr'₄ untersucht. Die Job Plots dieser Systeme weisen dabei Parallelen auf (Abbildung 10 und Abbildung 11). So ergibt sich bei der Auswertung der Guanidiniumsignale jeweils eine Komplexstöchiometrie von 1:1. Beobachtet man jedoch das Proton am α -C-Atom des Valins, so erhält man Stöchiometrien mit einem erhöhten Dipeptidanteil ($x = 0,55$ bzw. $x = 0,60$).

Diese zunächst widersprüchlichen Resultate sind miteinander vereinbar, wenn man die Hinweise auf die Neigung von Tol-Gly-Val-O⁻ NBu₄⁺ **107b** zur Selbstassoziation bedenkt. Nimmt man an, daß ein zentrales Dipeptidmolekül eine Bindung sowohl mit dem jeweiligen Modellrezeptormolekül als auch mit einem zweiten Dipeptidmolekül eingeht, so ist für den Job-Plot der Guanidiniumionen ein Maximum bei $x = 0,5$ zu erwarten. Diese können nicht zwischen einem einzelnen Dipeptidmolekül und einem Dimer differenzieren. Anders ist die Situation bei dem Signal des Dipeptidmoleküls, dessen Job-Plot die höhere Stöchiometrie zum Teil widerspiegelt.

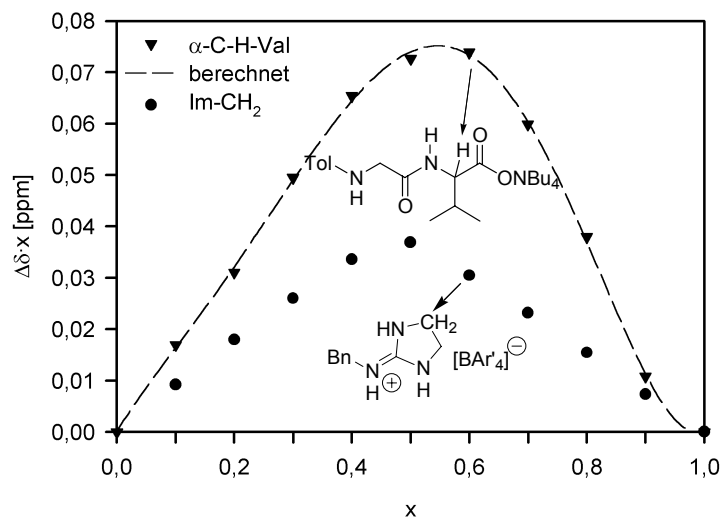


Abbildung 10: Job-Plots von Tol-Gly-Val-O-NBu₄⁺ **107b** mit BnImA*HBAr'₄ **100***HBAr'₄ in ACN-d₃ bei Raumtemperatur. Die Auswertung der Dipeptidsignale ergab ein Maximum bei $x_{107b} = 0,55$, die Guanidiniumsignale deuten auf einen 1:1-Komplex hin.

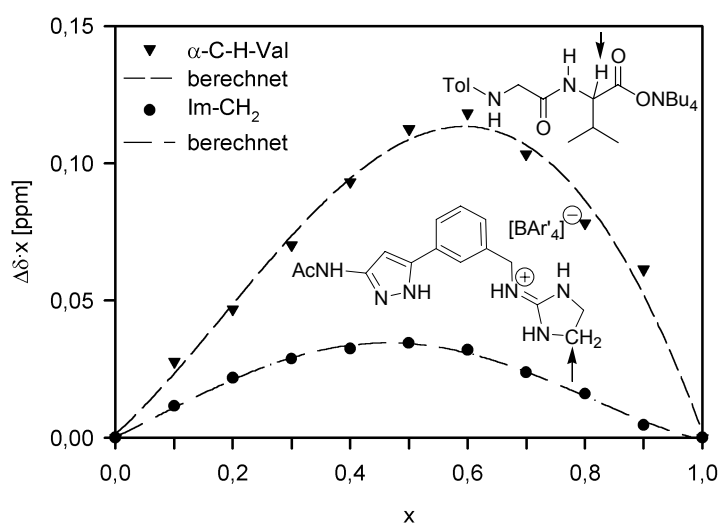
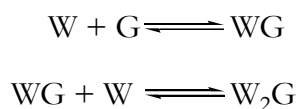


Abbildung 11: Job-Plots von Tol-Gly-Val-O-NBu₄⁺ **107b** mit ImAMePhAcAP*HBAr'₄ **98***HBAr'₄ in ACN-d₃ bei Raumtemperatur. Die Auswertung der Dipeptidsignale ergab ein Maximum bei $x_{107b} = 0,60$, für den Rezeptor wurde $x_{98} = 0,48$ gefunden.

Die Graphen für die Titration von Tol-Gly-Val-O⁻ NBu₄⁺ **107b** mit den Modellrezeptoren BnImA*HBAr'₄ **100***HBAr'₄ (Abbildung 12) sowie ImAMePhAcAP*HBAr'₄ **98***HBAr'₄ (Abbildung 13) als Gäste weichen erwartungsgemäß von den in DMSO-*d*₆ gefundenen Kurven ab. Ihre Steigung ist im Bereich von 0 bis ca. 1 Äquivalenten Gast größer und die Graphen durchlaufen bei etwa 1 Äquivalent ein leichtes Maximum. Beides läßt sich durch die Bildung eines 2:1-Komplexes (Dipeptidcarboxylat/Guanidiniumion) erklären. Dieser wird nämlich bevorzugt bei niedrigen Gehalten an Guanidiniumionen gebildet. Ist die chemische Verschiebung des beobachteten Protons in dieser Spezies größer als beim 1:1-Komplex, kann der Graph bei etwa x = 1 ein Maximum durchlaufen.

Die Überprüfung des Modells sowie die Bestimmung der Assoziationskonstanten sollte wie auch bei den 1:1-Komplexen durch nichtlineare Regression erfolgen. Für die Herleitung der benötigten Formeln gelten folgende Zusammenhänge. Dabei werden die Signale des Wirtes für folgende Gleichgewichte beobachtet:



Für diese gelten die Massenwirkungsgesetze

$$K_{\text{ass1}} = \frac{[WG]}{[W][G]} \Rightarrow [WG] = K_{\text{ass1}}[W][G] \quad (11)$$

$$K_{\text{ass2}} = \frac{[W_2G]}{[WG][W]} \Rightarrow [W_2G] = K_{\text{ass2}}[WG][W] \quad (12)$$

sowie die Stoffmengenbilanzen

$$[W]_0 = [W] + [WG] + 2[W_2G] \quad (13)$$

$$[G]_0 = [G] + [WG] + [W_2G] \quad (14)$$

Bilden der Differenz von (13) minus dem Doppelten von (14), Ersetzen von [WG] nach (11) und Auflösen nach [G] führt zu

$$[G] = \frac{[W] - [W]_0 + 2[G]_0}{K_{\text{ass1}}[W] + 2} \quad (15)$$

Einsetzen von (11) und (12) in(14) und Auflösen nach [G], ergibt

$$[G] = \frac{[G]_0}{1 + K_{\text{ass1}}[W] + K_{\text{ass1}}K_{\text{ass2}}[W]^2} \quad (16)$$

Gleichsetzen von (15) und (16) und Auflösen nach $[W]_0$ liefert

$$[G]_0 = \frac{([W]_0 - [W])(1 + K_{\text{ass1}}[W] + K_{\text{ass1}}K_{\text{ass2}}[W]^2)}{K_{\text{ass1}}[W] + 2K_{\text{ass1}}K_{\text{ass2}}[W]^2} \quad (17)$$

Aufgrund der Komplexizität dieser Zusammenhänge, läßt sich im Gegensatz zu dem Verfahren, welches für einen 1:1-Komplex angewendet wurde, kein direkter Zusammenhang zwischen den experimentellen Größen $[G]_0$, $[W]_0$ und δ_{obs} herstellen. Dies ist ein prinzipielles Problem, da das Auflösen von Gleichung (17) zu einer kubischen Gleichung führt, deren Lösung nur näherungsweise möglich ist. Somit läßt sich das Verfahren der nichtlinearen Regression hier nicht anwenden.

Es ist jedoch möglich, indirekt einen Bezug zwischen den experimentellen Größen zu erhalten. Dazu variiert man die unbekannte freie Wirkkonzentration $[W]$ in einem Bereich von 0 M^{-1} bis zur Gesamtwirkkonzentration $[W]_0$. Da diese während der Messreihe konstant gehalten wurde, lassen sich bei einem vorgegebenen Satz der Parameter K_{ass1} und K_{ass2} mit Hilfe von Gleichung (17), (15), (11) und (12) die Konzentrationen aller anderen Spezies in Lösung berechnen. Aus diesen ergibt sich die beobachtete Änderung der chemischen Verschiebung $\Delta\delta$ nach

$$\Delta\delta = \frac{[WG]}{[W]_0}(\delta_{\text{wG}} - \delta_{\text{w}}) + \frac{[W_2G]}{[W]_0}(\delta_{\text{w}_2\text{G}} - \delta_{\text{w}}) \quad (18)$$

Die chemische Verschiebung des freien Wirtes δ_{w} ist dabei von dem ersten Meßpunkt der Titrationskurve bekannt, die des Wirtes im 1:1-Komplex δ_{wG} durch die des letzten Meßpunktes.

Durch Vorgabe eines Parametersatzes von K_{ass1} , K_{ass2} und $\delta_{\text{w}_2\text{G}}$ kann nun eine theoretische Titrationskurve berechnet werden. Durch den Vergleich der simulierten Kurve mit den tatsächlichen Meßergebnissen und Änderung des Parametersatzes läßt dieser sich iterativ optimieren.

In Abbildung 12 sind Meßpunkte sowie die optimale, simulierte Titrationskurve für die Komplexierung von Tol-Gly-Val-O⁻ NBu₄⁺ **107b** mit BnImA*HBAr'₄ **100***HBAr'₄

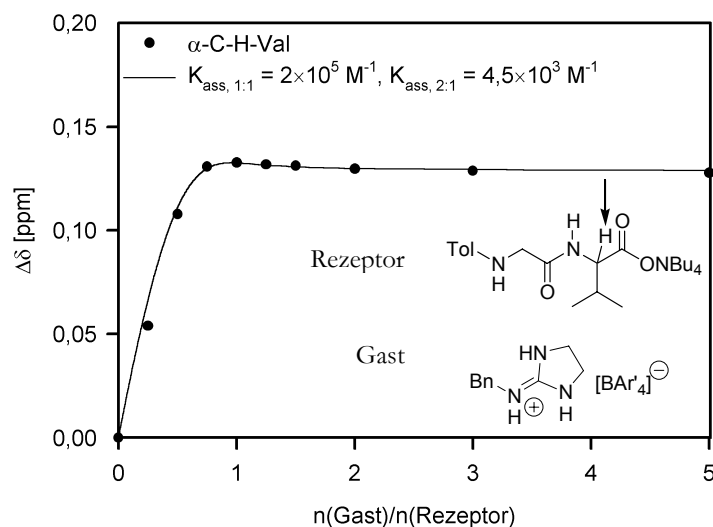


Abbildung 12: Titration von Tol-Gly-Val-O⁻ NBu₄⁺ **107b** mit BnImA*HBAr'₄ **100***HBAr'₄ in ACN-d₃ bei Raumtemperatur.

dargestellt. Das 2:1-Modell ist offenbar in der Lage, die Krümmung im Anfangsbereich sowie das Durchlaufen eines Maximums zu erklären.

Für die Bildung des 1:1-Komplexes ergab sich eine Assoziationskonstante von etwa $K_{\text{ass}1} = 2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$. Dieser Wert ist in guter Übereinstimmung mit Literaturwerten. Schmidtchen berichtet für die Assoziation eines bicyclischen Guanidinium-Tetrafluoroborats mit Tetraethylammonium-Benzoat in Acetonitril eine Assoziationskonstante von $K_{\text{ass}} = 4,14 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ (kalorimetrische Bestimmung bei 30 °C).

Die zweite Bindungskonstante von $K_{\text{ass}2} = 4,5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ deutete auf einen durchaus starken postulierten, zweiten Komplexierungsschritt hin. Trotzdem war er etwa zwei Größenordnungen geringer als die Guanidinium-Carboxylat-Wechselwirkung.

Abbildung 13 stellt die Meßergebnisse sowie den simulierten Graphen für die Titration von Tol-Gly-Val-O⁻ NBu₄⁺ **107b** mit ImAMePhAcAP*HBAr'₄ **98***HBAr'₄ dar. Als Bindungskonstante für den ersten Assoziationsschritt konnte $K_{\text{ass}1} = 3 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ abgeschätzt werden. Dieser Wert lag etwa eine Größenordnung über dem des soeben beschriebenen Systems. Er liefert somit einen deutlichen Hinweis auf die Wechselwirkung zwischen dem Amidopyrazol des Modellrezeptors und dem Peptidrückgrat in Acetonitril. Der zweite Bindungsschritt ist von der Stärke her mit $K_{\text{ass}2} = 6 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ mit dem des zuvor geschilderten

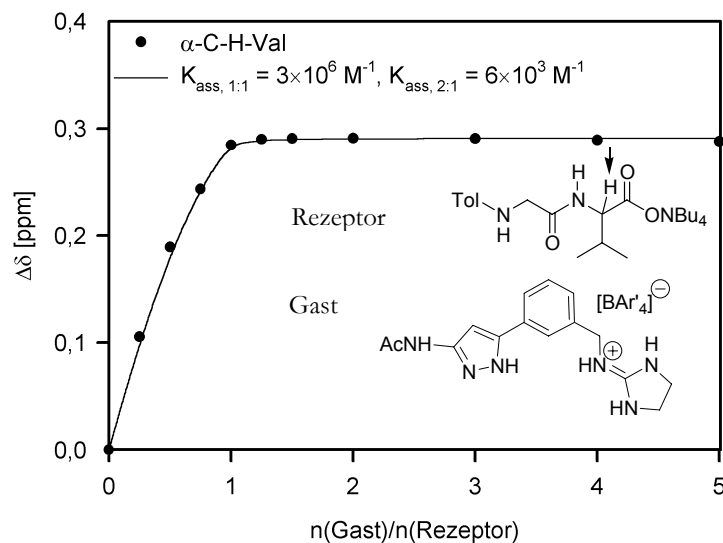


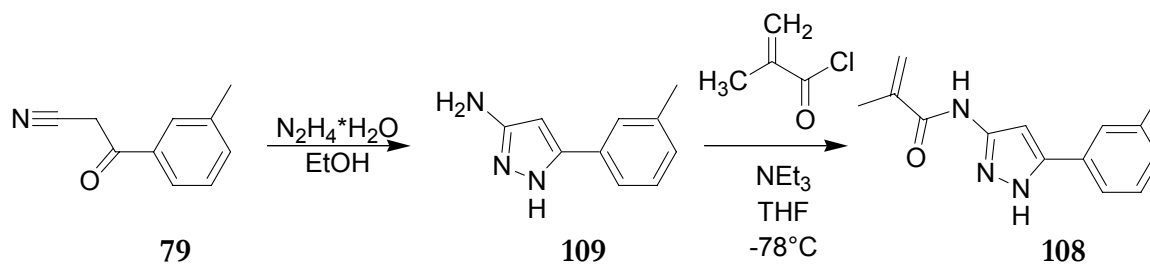
Abbildung 13: Titration von Tol-Gly-Val-O⁻NBu₄⁺ **107b** mit ImAMePhAcAP*HBAr'₄ **98***HBAr'₄ in ACN-d₃ bei Raumtemperatur.

Systems vergleichbar.

Auch wenn die hier beschriebenen Werte fehlerbehaftet sind und so nur Abschätzungen der tatsächlichen Komplexierungsverhältnisse in Acetonitril darstellen, so geben sie doch deren Größenordnung korrekt wider.

Daten über die Geometrie des Komplexes konnten nicht erhalten werden. Kern-Overhauser-Studien, die zu diesem Zweck durchgeführt wurden (NOESY- und NOE-Differenz-Spektren), gaben keinen Aufschluss über intermolekulare Wechselwirkungen, sondern zeigten nur einige intramolekulare Signale.

Um den Einfluß der Wechselwirkung der Amidopyrazolgruppe mit dem Peptidrückgrat weiter zu quantifizieren, wurde dieser getrennt gemessen, in dem eine Komplexierung zwischen dem Dipeptidcarboxylat Tol-Gly-Val-O⁻NBu₄⁺ **107b** und einem Modellrezeptor, der keine Guanidiniumgruppe enthielt, *N*-(5-*m*-Tolyl-1*H*-pyrazol-3-yl)-methacrylamid **108** (MePhMAcrAP), untersucht wurde. Dieser wurde in einer zweistufigen Synthese ausgehend von dem β-Ketonitril **79** dargestellt (Schema 44).

Schema 44: Synthese von **108**

In Abbildung 14 ist das Ergebnis der NMR-Studien zu sehen. Der Job-Plot ergab die Bildung eines 1:1-Komplexes, der laut NMR-Titration eine Bindungskonstante von $K_{\text{ass}} = 1000 \text{ M}^{-1}$ aufwies. Dies erschien unerwartet hoch, da die stärkste Bindung der von Kirsten studierten Dipeptidester-Amidopyrazol-Wechselwirkungen $K_{\text{ass}} = 900 \text{ M}^{-1}$ betrug. Diese Messungen wurden jedoch in dem weniger polaren Lösungsmittel Chloroform durchgeführt. Der wesentlichste Faktor, welche diese Studien von denen in Chloroform unterschied, war das Vorliegen einer Carboxylatgruppe anstelle eines Methylesters. Deshalb wurde eine Titration des Amidopyrazols **108** mit *N*-(*p*-Tolyl)-glycyl-*L*-valinmethylester in Acetonitril

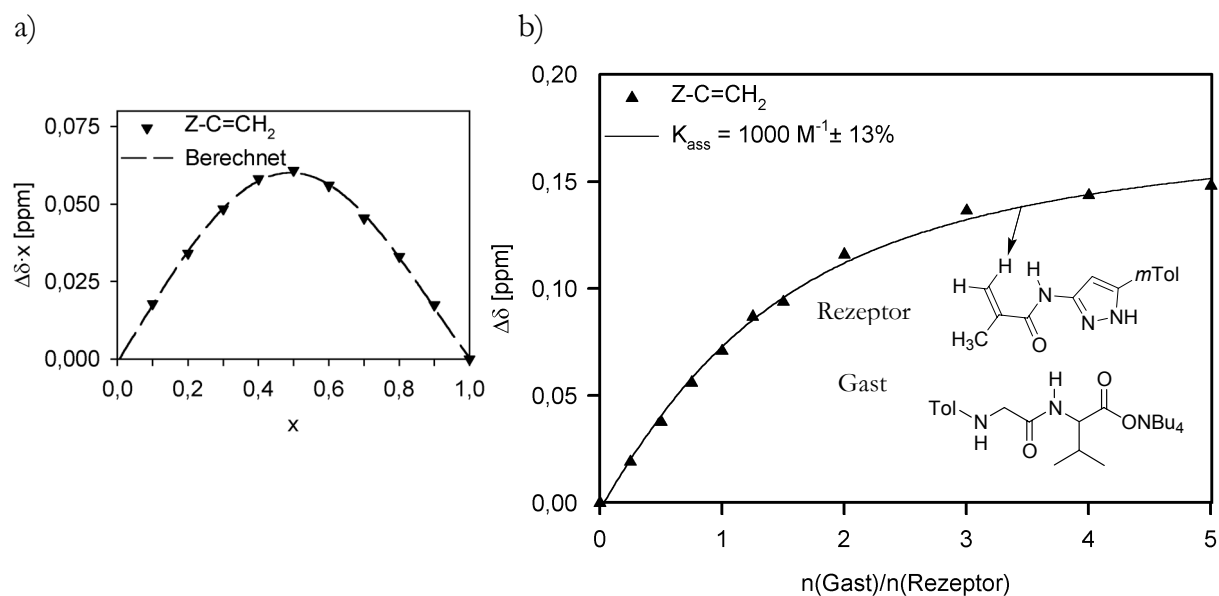


Abbildung 14: a) Job-Plot und b) NMR-Titration von MePhMAcrAP **108** mit Tol-Gly-Val-O⁻ NBu₄⁺ **107b** in ACN-*d*₃ bei Raumtemperatur.

durchgeführt. Erwartungsgemäß zeigte diese keine Shifts der beobachteten Signale. Somit schien an der Bindung zwischen **108** und **107b** die Carboxylatgruppe beteiligt zu sein. Genauere Daten über diese Bindung konnten nicht erhalten werden. Weder NOESY- noch NOE-Differenz-Spektren gaben Aufschluss über intermolekulare Wechselwirkungen.

Für die Komplexierung von Tol-Gly-Val-O⁻ NBu₄⁺ **107b** durch ImAMePhAcAP*HBAr'₄ **98***HBAr'₄ sollte die Wechselwirkung zwischen Carboxylatgruppe und Amidopyrazol unerheblich sein, da die Bindung zwischen Carboxylat- und Guanidiniumgruppe um Größenordnungen stärker ist und somit bevorzugt gebildet wird.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die vorgestellten Modellrezeptoren BnImA*HBAr'₄ **100***HBAr'₄ und ImAMePhAcAP*HBAr'₄ **98***HBAr'₄ starke Komplexe mit dem Dipeptidcarboxylat Tol-Gly-Val-O⁻ NBu₄⁺ **107b** in Acetonitril eingehen. Im wesentlichen werden dabei 1:1-Komplexe ausgebildet, bei höheren Gehalten des Dipeptids kommt es jedoch auch zur Bildung von 2:1-Komplexen. Werden allerdings im Fall von **98***HBAr'₄ gleiche Konzentrationen beider Komplexpartner angeboten, so liegen über 90% des Dipeptides als 1:1-Komplex vor, was darauf zurückzuführen ist, daß dessen Assoziationskonstante mehr als zwei Größenordnungen größer ist als die zur Bindung eines weiteren Dipeptidmoleküls. Der Vergleich der Assoziationskonstanten von **100***HBAr'₄ bzw. **98***HBAr'₄ zeigt zudem, daß die Bindung des letzteren um etwa eine Größenordnung höher ist, was auf eine Wechselwirkung der Amidopyrazolgruppe zu dem Peptidrückgrat zurückgeführt wird. Die NMR-Studien belegen also, daß sich die Bindung zwischen ImAMePhAcAP **98** und Tol-Gly-Val-OH **107** als stöchiometrische nicht-kovalente Wechselwirkung beschreiben läßt.

Basierend auf diesen Studien wurden im folgenden geprägte Polymere mit dem zu **98** korrespondierendem Haftmonomer ImAMePhMAcrAP **101** synthetisiert und studiert.

2.6 Geprägte Polymere

Wie in der Einleitung gezeigt wurde, werden viele geprägte Polymere synthetisiert, um künstliche Rezeptoren zu erhalten. Neben der Synthese von Polymeren, welche zwischen strukturverwandten Derivaten unterscheiden können, ist die von enantioselektiven Polymeren besonders herausfordernd. Bei geeigneten Systemen können enantiomerenreine Template ihre chirale Information auf die Kavitäten übertragen und somit Polymere bilden, deren Enantioselektivität durch die des Templatmoleküls vorher bestimmt wird. Das Enantiomer, mit dem das Polymer geprägt wurde, wird stärker gebunden.

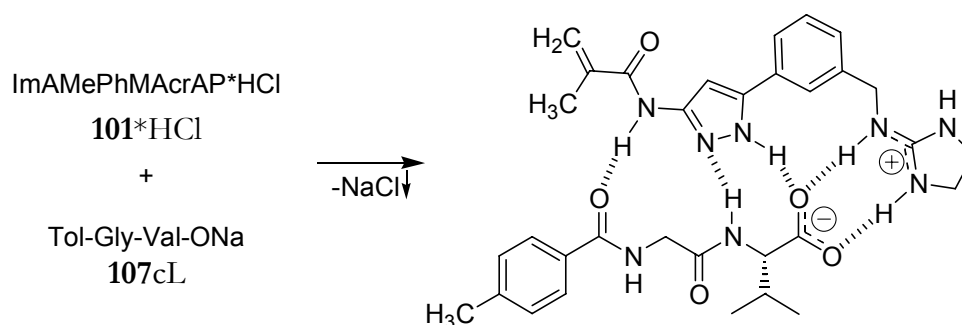
Zur Charakterisierung der Bindungseigenschaften solcher Polymere ist neben der Messung der Wiederaufnahme des Templates auch eine Messung der Enantioselektivität von Interesse. Beides lässt sich bequem in Bindungsexperimenten messen. Die Selektivität eines Polymers lässt sich dabei durch das Verhältnis der Verteilungskoeffizienten K zwischen Lösung und Polymer der beiden Enantiomere

$$\alpha = \frac{K_L}{K_D} = \frac{n_{L,\text{Polymer}}}{n_{L,\text{Lösung}}} \frac{n_{D,\text{Lösung}}}{n_{D,\text{Polymer}}} \quad (19)$$

quantifizieren.

Für die Synthese des Polymers **IP1** wurde als Templatmolekül das bereits bei den NMR-Studien untersuchte, enantiomerenreine *N-p*-Toluoyl-glycyl-*L*-valin **107aL** (Tol-Gly-Val-OH) eingesetzt. Die asymmetrische Umgebung am α -C-Atom des Valins sollte beim Prägen zur Ausbildung chiraler Kavitäten führen. Der aromatische Acylrest ermöglichte eine UV-Detektion bei der HPLC-Analytik.

Als Haftmonomer diente ImAMePhMAcrAP **101**. Da dies aber nicht als freie Base, sondern als Hydrochlorid isoliert worden war, musste das Gegenion ersetzt werden. Idealerweise geschah dies durch das Templatmolekül, wodurch die Polymerisationsmischung möglichst einfach gehalten wurde. Dies wurde durch den Umsatz von **101***HCl mit dem Natriumsalz des Dipeptides, Tol-Gly-Val-ONa **107cL**, in Methanol erreicht. Durch Aufnehmen des Komplexes **101*****107aL** in Acetonitril mit geringen Mengen Dimethylsulfoxid als Porogen konnte das Natriumchlorid, das in diesem unlöslich war, entfernt werden (Schema 45).



Schema 45: Für die Polymerisation eingesetzter Haftmonomer-Templat-Komplex **101*107aL**

Zu der Komplexlösung wurde ein großer Überschuss des Vernetzers Ethylenglykoldimethacrylat (EDMA) gegeben. Dabei kam es zur Bildung eines Niederschlages. Offenbar war der Haftmonomer-Templat-Komplex in der Porogen-Vernetzer-Lösung nur unzureichend löslich. Durch Erhöhung des Dimethylsulfoxidgehaltes auf 16% konnte der Komplex wieder in Lösung gebracht werden. Nach Zugabe von AIBN konnte die Polymerisation thermisch initiiert werden.

Das erhaltene Polymer **IP1** wurde gemahlen und das Templat im Basischen abgespalten. Das Polymer war makroporös, was durch seine hohe spezifische Oberfläche von 350 m²/g nachgewiesen wurde.

Für die benötigte Analytik der Abspaltraten sowie der Bindungsexperimente wurde die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) mit einer chiralen stationären Phase sowie UV-Detektion eingesetzt. Dieses System bot diverse Vorteile. Allgemein ermöglicht die HPLC eine Trennung komplexer Substanzgemische. Die stationäre Phase (ein immobilisiertes Cellulosederivat) erlaubte durch ihr enantioselektives Retentionsverhalten eine simultane Konzentrationsbestimmung beider Enantiomere. Aufgrund der Empfindlichkeit der stationären Phase ist die Wahl an einsetzbaren Elutionsmitteln stark eingeschränkt. Es werden im wesentlichen nur Laufmittelgemische aus wenigen Alkoholen und Alkanen toleriert. Durch ein Ethanol-Hexan-Gemisch unter Zusatz von Trifluoressigsäure (10:90:0,4), um die Dipeptidcarbonsäure in freier Form zu halten, konnte das Racemat getrennt werden. Durch den Einsatz von *O,O'*-Bisbenzoyl-*L*-weinsäure als interner Standard konnten durch UV-Detektion Konzentrationen von 10⁻⁴ bis 4×10⁻³ M⁻¹ bestimmt werden.

Das Templat wurde von **IP1** zu 83% abgespalten, was in dem Bereich liegt, der für geprägte Polymere, die stöchiometrische nicht-kovalente Wechselwirkungen nutzen, typisch ist.^[51, 55, 118, 119]

Zur Bestimmung des Bindungsverhaltens wurden Bindungsisotherme erstellt (Abbildung 15). Dazu wurden dem Polymer steigende Mengen eines racemischen Gemisches des Dipeptides Tol-Gly-DL-Val-OH **107aDL** angeboten. Die angebotene Templatmenge betrug dabei 10 bis 200 %, bezogen auf die Zahl freier Kavitäten, die sich aus der Menge des abgespaltenen Templates ergab. Die Menge an gebundenem Enantiomer wurde aus dem Restgehalt in der überstehenden Lösung ermittelt und gegen die angebotene Menge Racemat aufgetragen. Zu Vergleichszwecken enthält die Abbildung zusätzlich für niedrige Konzentrationen die Menge an freiem Dipeptidderivat.

Abbildung 15 zeigt, daß bis zu einem Angebot von 50% die Bindungsisotherme stark ansteigt. Die Gesamtmenge an aufgenommenem Templat beträgt etwa 30%. Danach flacht die Kurve stark ab, es ist nur noch eine geringfügige, weitere Aufnahme zu erkennen. Insgesamt wurden etwa maximal 34% an *N*-acyliertem Dipeptid aufgenommen, eine bevorzugte Bindung des *L*-Enantiomers wurde nicht beobachtet. Offenbar liegt die Kapazität an effektiv verfügbaren Bindungsstellen im Polymer bei etwa einem Drittel der abgespaltenen Templatmenge. Dieser Verlust an Bindungsstellen konnte nicht vollständig geklärt werden. Da das Haftmonomer nicht in der Abspaltung nachgewiesen werden konnte, ist ein

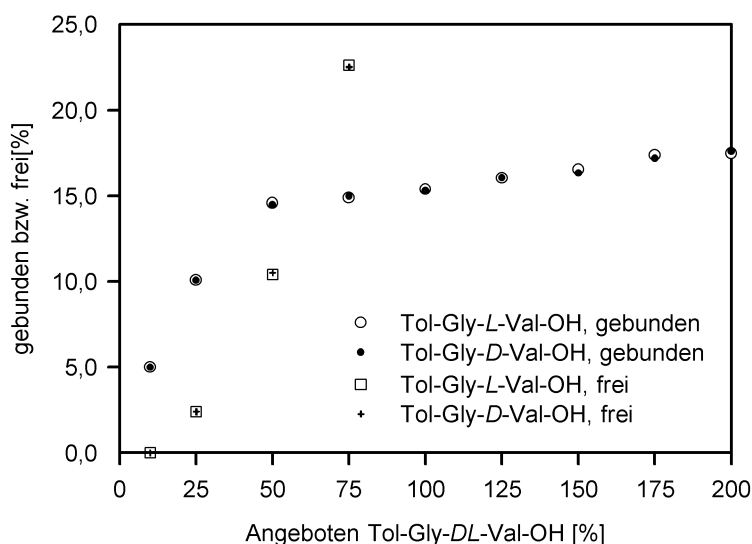


Abbildung 15: Bindungsisotherme von **IP1** bei Wiederbelegung durch Tol-Gly-DL-Val-OH **107aDL** in ACN/DMSO 95:5

Verlust durch nicht vollständiges Einpolymerisieren von diesem auszuschliessen. Die Hydrolyse der Guanidiniumgruppe stellt eine weitere Alternative dar, ist jedoch aufgrund der kurzen Kontaktzeit des basischen Mediums mit dem Polymer (weniger als eine Stunde) nicht wahrscheinlich. Schönfeld konnte durch Untersuchungen zur Hydrolyse polymerer Amidine zeigen, daß diese bei pH =13 in Acetonitril/Wasser nach 10 Stunden zu etwa 10% hydrolysiert waren.^[51]

Die Auftragung des Anteils an freiem, in der Lösung vorhandenem Dipetidderivats deutete auf die heterogene Verteilung der Bindungsstärke der Kavitäten hin. So wurde bei einem Angebot von 10% praktisch sämtliches Templat wieder aufgenommen. Die Bindung ist hier sehr stark. Mit steigender Menge an Racemat werden zunehmend schwächer bindende Kavitäten belegt. So wurde beispielsweise bei 25% Angebot 20% des Racemates gebunden, obwohl die noch etwa 10% an freien Kavitäten zur Verfügung standen.

Eine Möglichkeit zur Verbesserung der Bindungseigenschaften wurde darin gesehen, den Gehalt des recht polaren Dimethylsulfoxids im Porogen zu reduzieren. Dies wurde dadurch erreicht, daß anstelle von Tol-Gly-Val-OH **107** das Phenylalaninderivat Tol-Gly-Phe-OH **110** als Templat eingesetzt wurde. Mit dem Benzylrest besitzt dieses eine größere, unpolare Seitengruppe, was die Löslichkeit des Haftmonomer-Templat-Komplexes verbessern sollte.

Das Polymer **IP2** wurde analog **IP1** hergestellt. Dabei war zu einer vollständigen Lösung aller Komponenten des Polymerisationsgemisches ein Anteil von 9% DMSO (im Vergleich zu 16% bei **IP1**) notwendig. Sein Gehalt konnte somit nahezu halbiert werden.

Abbildung 16 zeigt die Bindungsisotherme für racemisches Tol-Gly-Phe-OH **110** in ACN/DMSO 95:5. Der maximale Anteil an wiederbelegbaren Hohlräumen lag bei etwa 50% bezogen auf die abgespaltene Templatmenge. Vollständige Wiederbelegung dieser Hohlräume wurde bei etwa 80% an angebotenen Racemat erreicht. Bis zu einem Angebot von 40% wurde praktisch sämtliches *N*-acyliertes Dipeptid aufgenommen. Dies spricht für einen erhöhten Anteil an stark bindenden Hohlräumen. Der schwächer gekrümmte Übergang bei 50 % bis 80% Templatangebot in den Sättigungsbereich deutet auf eine breitere Verteilung der Bindungsstärken der Kavitäten, als dies bei **IP1** der Fall war, hin. Eine Enantioselektivität konnte auch bei **IP2** nicht festgestellt werden.

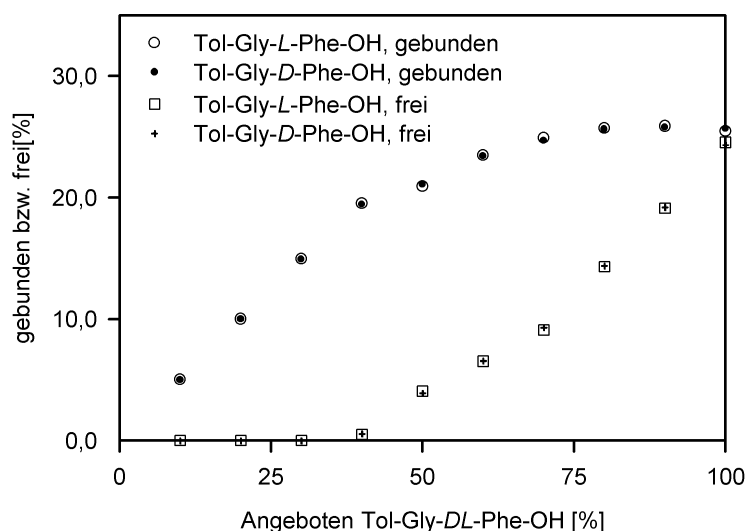


Abbildung 16: Bindungsisotherme von **IP2** bei Wiederbelegung durch Tol-Gly-DL-Phe-OH **110aDL** in ACN/DMSO 95:5

Daher sollte die Polarität des Porogens weiter reduziert werden. Dies war mit den eingesetzten Haftmonomer-Templat-Komplexen nicht möglich. Daher wurde dieser bei der Synthese von **IP3** erst in situ im Polymerisationsgemisch erzeugt. Die Komplexparker wurden dazu in Form der gut löslichen Salze ImAMePhMAcrAP*HBAr₄ **101***HBAr₄ sowie Tol-Gly-Phe-ONBu₄ **110b** separat in dem Porogen Acetonitril/Toluol 1:1 gelöst und erst in der eigentlichen Polymerisationsmischung vereinigt und polymerisiert. So wurde ein Ausfallen des Komplexes vermieden.

Die Bindungsisotherme (Abbildung 17) ähnelte zum Teil der von **IP1**. Die maximale Wiederbelegung lag bei etwa 30%. Die vollständige Aufnahme des Dipeptid-Derivates erfolgte bis etwa 20 % an angebotenem Racemat.

Wurde dieser Wert jedoch überschritten, so kam es zu einer, wenn auch geringen, bevorzugten Bindung des *L*-Enantiomers, mit dem auch das Polymer geprägt worden war. Die Selektivität war nur geringfügig von der Wiederbelegungsrate abhängig und wurde daher gemittelt nach Gleichung (19) zu $\alpha = 1,06 \pm 0,02$ bestimmt. Dieser Wert ist ein starkes Indiz dafür, daß es bei der Polymerisation tatsächlich zur der Ausbildung von chiralen Hohlräumen gekommen war, da nur diese das enantioselektive Verhalten des Polymers erklären können.

Der relativ geringe Betrag von α könnte eine Folge davon sein, daß das Haftmonomer mit nur einer Bindung mit dem Polymernetzwerk verbunden ist. Daher besitzt die

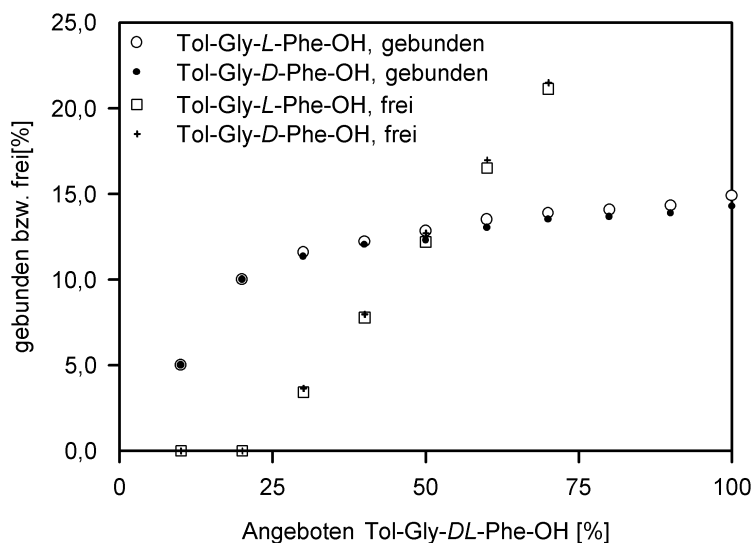


Abbildung 17: Bindungsisotherme von **IP3** bei Wiederbelegung durch Tol-Gly-DL-Phe-OH **110aDL** in Toluol/ACN 1:1

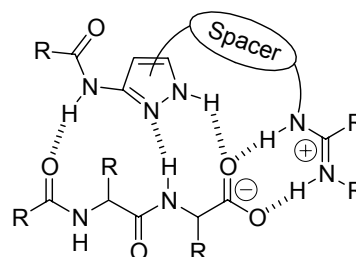
Haftgruppe im Hohlraum eine große Beweglichkeit und kann ihre Orientierung relativ zu der Form der Kavität, welche ja die chirale Information enthält, ändern. Dies wirkt sich offensichtlich nachteilig auf die Selektivität des Polymers aus. Abhilfe könnte die Einführung einer zweiten C-C-Doppelbindung, bevorzugt am Imidazolidinring, schaffen.

Es ist somit gelungen, ein enantioselektives, geprägtes Polymer zu synthetisieren, welches in der Lage ist, die *N*-acylierte Dipeptidcarbonsäure Tol-Gly-Phe-OH **110** zu binden und zwischen ihren Enantiomeren zu differenzieren, wobei das *L*-Enantiomer bevorzugt wird. Dabei wurde nur ein Äquivalent des Haftmonomers ImAMePhMAcrAP **101** zur Bindung des Templates **110L** beim Molekularen Prägen benötigt. Die Wiederbelegung sowie Enantioselektivität sind durchaus verbesserungsfähig, was in der Zusammenfassung und dem Ausblick diskutiert werden soll.

3 Zusammenfassung und Ausblick

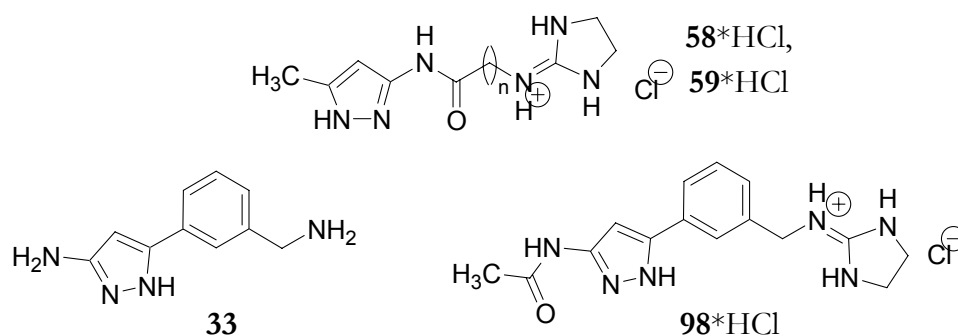
Das Ziel dieser Arbeit war es, ein neues Haftmonomer für das Molekulare Prägen zu synthetisieren, welches in der Lage ist, *N*-acylierte Dipeptidcarbonsäuren im Sinne einer starken, stöchiometrischen, nicht-kovalenten Wechselwirkung zu binden.

Hierzu wurden Grundstrukturen für verschiedene Modellrezeptoren entwickelt. Diese sollten einerseits durch eine starke, zweizählige Wasserstoffbrücke gepaart mit einer ionischen Wechselwirkung eines Guanidiniumions die Carboxylatgruppe des Dipeptidderivates binden. Ein mit der Guanidiniumgruppe über einen geeigneten



Spacer verbundenes Amidopyrazol sollte eine gleichzeitige Bindung zu dem Peptidrückgrat über drei Wasserstoffbrücken ermöglichen (Schema 46).

Zur Abschätzung der Eignung potentieller Rezeptorstrukturen wurden Molecular-Modeling-Studien^[75] durchgeführt, wobei auf die Ausbildung aller angestrebten Wechselwirkungen im Komplex mit dem Dipeptid geachtet wurde. Unter Berücksichtigung synthetischer Aspekte wurden die Strukturen der drei Modellrezeptoren in Schema 47 erhalten.

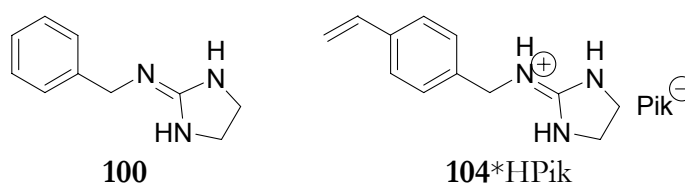


Schema 47: Die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Modellrezeptoren **58*HCl** ($n = 1$), **59*HCl** ($n = 2$) und **98*HCl**, sowie das Bisamin **33**.

58 und **59** konnten durch den Einsatz von geeigneten Schutzgruppen und Aminogruppen-Precursoren erhalten werden, wobei sich die regioselektive Acylierung der

schwach nucleophilen Pyrazol-3-ylamine als Schlüsselschritt erwies. Für die zehnstufige Darstellung des Modellrezeptors ImAMePhAcAP **98** war die Synthese des polyfunktionellen Amins **33** entscheidend, welches durch den Einsatz verschiedener Schutzgruppen in einer abgestimmten Reaktionssequenz erhalten wurde.

Zunächst in DMSO-*d*₆ durchgeführte ¹H-NMR-Bindungsstudien zeigten, daß die reine Guanidinium-Carboxylat-Wechselwirkung von BzOH*BnImA **102*****100** zur Bildung eines 1:1 Komplexes mit einer Assoziationskonstanten von $K_{\text{ass}} = 2500 \text{ M}^{-1}$ führt. Das zu **100** analoge ViBnImA **104** ist für die Zukunft von Interesse, da dieses potentielle Haftmonomer in nur zwei Stufen zugänglich war.



Schema 48: BnImA **100** und auf diesem basierendes Haftmonomer ViBnImA*HPik **104***HPik

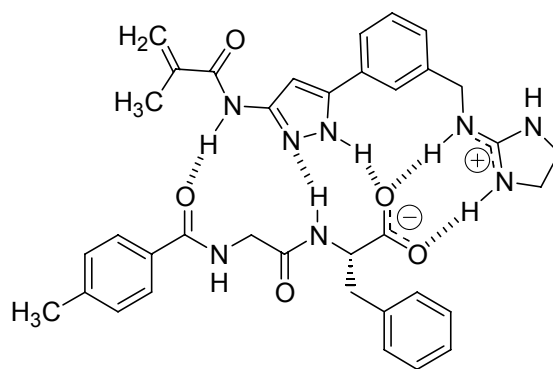
Die Assoziation im Guanidinium-Dipeptidcarboxylat-Komplex BnImA*Tol-Gly-Val-OH **100*****107** war aufgrund elektronischer Effekte etwas schwächer ($K_{\text{ass}} = 1500 \text{ M}^{-1}$) als die im Benzoat-Komplex.

Komplexierungsstudien von Tol-Gly-Val-O-NBu₄⁺ **107** mit dem schwerlöslichen Modellrezeptor ImGlyAMP **58** - solubilisiert als Tetrakis-(3,5-bis(trifluormethyl)phenyl)-borat - deuteten auf das Vorliegen höherer Komplexe in DMSO-*d*₆ hin. Die Bindungskonstante des Modellrezeptor-Dipeptidcarboxylat-Komplexes ImAMePhAcAP*Tol-Gly-Val-OH **98*****107** von $K_{\text{ass}} = 1700\text{-}1800 \text{ M}^{-1}$ hingegen belegte eine Erhöhung der Assoziation durch die Einführung der Amidopyrazolgruppe in das Rezeptormolekül.

Der Einfluß dieser Haftgruppe war in Acetonitril-*d*₃ stärker. NMR-Studien zeigten zunächst ein komplexes Assoziationsverhalten von Tol-Gly-Val-O-NBu₄⁺ **107**b. Es neigte zur Selbstassoziation und bildete mit den Guanidiniumboraten **100***HBAr'₄ und **98***HBAr'₄ Komplexe mit einer Stöchiometrie zwischen einem und zwei Molekülen Dipeptidcarboxylat pro Guanidiniumion. Eine Erklärung wurde durch die starke Bindung eines Guanidiniumions an ein zentrales Dipeptidmolekül, die von einer schwächeren Assoziation eines zweiten gefolgt wird, gegeben. Die Assoziationskonstanten wurden mit Hilfe simulierter Titrationskurven für **100***HBAr'₄ mit $K_{\text{ass}} = 2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, für den amidopyrazol-haltigen Rezeptor **98***HBAr'₄ mit $K_{\text{ass}} = 3 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ - also etwa eine Größenordnung höher -

abgeschätzt und somit das Vorliegen stöchiometrischer, nicht-kovalenter Wechselwirkungen nachgewiesen.

Zur Darstellung geprägter Polymere wurde das Haftmonomer ImAMePhMAcrAP **101** analog **98** synthetisiert. Durch die übliche Polymerisation mit den enantiomerenreinen *N*-acylierten Dipeptiden Tol-Gly-Val-OH **107** und Tol-Gly-Phe-OH **110** als Template und EDMA als Vernetzer in Gegenwart eines Porogens konnten makroporöse, molekular geprägte Polymere dargestellt werden. Die Abspaltraten der Template lagen zwischen 80 und 90%. Durch Messen von Bindungsisothermen wurden Wiederbelegungsraten von circa 30% ermittelt. Die Bindung der Templatmoleküle durch die Polymere war dabei stark, insbesondere, wenn man berücksichtigt, daß nur ein Molekül Haftmonomer pro Templatmolekül eingesetzt worden war. Der Wechsel des Porogens von DMSO-haltigem Acetonitril auf das unpolare Gemisch Toluol/Acetonitril 1:1 ermöglichte die Synthese des enantioselektiven Polymers **IP3**, wozu die gut löslichen Salze Tol-Gly-Phe-ONBu₄ **110b** und ImAMePhMAcrAP*HBar'₄ **101***HBar'₄ eingesetzt wurden. Die Enantioselektivität von $\alpha = 1,06$ bewies das Vorliegen von chiralen Kavitäten im Polymer.



Schema 49: Haftmonomer-Templat-Komplex **101*****110** zur Synthese von **IP3**

In Zukunft könnte eine rigidere Verknüpfung der Haftgruppe mit dem Polymernetzwerk eine stabile Orientierung dieser im Hohlraum bewirken. Durch den Einsatz eines Haftmonomers, welches eine weitere polymerisierbare Gruppe - idealerweise am Imidazolindering - trägt, könnte dies erreicht und somit die Enantioselektivität der geprägten Polymere gesteigert werden.

There is no sadder sight in the world than to see a beautiful theory killed by a brutal fact.

Thomas Henry Huxley

4 Experimenteller Teil

4.1 Apparatives

¹ H-NMR-Spektroskopie	Bruker Avance DRX 200 (200 MHz) Varian VXR 300 (300 MHz) Bruker Avance DRX 500 (500 MHz)
¹³ C-NMR-Spektroskopie	Bruker Avance DRX 500 (125 MHz)
IR-Spektroskopie	Bruker Vektor 22 FT-IR
C,H,N-Elementaranalyse	Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Düsseldorf
Massenspektrometrie	EI: Varian MAT 311 A (70 eV) CI (NH ₃): Finnigan INCOS 50 FAB: Finnigan Mat 8200 (3-Nitrobenzylalkohol als Matrix)
Polarimeter	Perkin Elmer 241 MC digital
Schmelzpunktbestimmung	Büchi Melting Point B-545
Säulenchromatographie	Kieselgel 60 (230-400 Mesh ASTM) von Merck
Dünnschichtchromatographie	Kieselgel 60 F ₂₅₄ auf Aluminiumfolie (Merck) RP-18 F ₂₅₄ auf Glasträger (Merck)
Dosierung	Hamilton, gasdichte Spritzen Infors AG, Perfusor Precidor HAT
spezifische Oberflächen:	JUWE Laborgeräte GmbH, Viersen Gerät: JUWE BET-A-MAT
Labormühle:	Janke & Kunkel, IKA A10
Membranfilter:	Whatmann, regenerierte Cellulose, 0,25µm

Siebe:	Siebtechnik GmbH, Mühlheim, Retsch
HPLC:	Gradientenpumpe: Waters 610
	Injektor: Rheodyne
	Säule: Chiralcel OD-H
	UV-Detektor: Waters 486
	Software:
	CSW Chromatography Station for Windows, Version 1.7, 2000, Apex Data Ltd.

4.2 Chemikalien und Lösungsmittel

Acros:	3,5-Bis(trifluormethyl)brombenzol n-Butyllithium, 1,6 N Lösung in Hexan Cyclohexan, p. A. Cyanoessigsäure n-Hexan, p. A. <i>m</i> -Toluoylchlorid <i>m</i> -Tolylsäure
Aldrich:	3-Amino-5-methylpyrazol Lithiumbromid Phthalimid, Kaliumsalz 1M Tetrabutylammoniumhydroxidlösung in Methanol
Bachem:	Sämtliche freien Dipeptide
Biosolve:	Acetonitril (HPLC - isocratic grade) Methylenchlorid (peptide grade) Methanol (dry)
Euriso-top:	DMSO-d ₆ , 99,8 Atom-% D Acetonitril-d ₃ , 99,8 Atom-% D
Fluka:	Hydrazinhydrat Isopropanol, p.A. Salzsäure, rauchend (37%), p.A.

Trifluoressigsäure

Merck:

Phthalsäureanhydrid

Pyrokohlensäure-di-*tert.*-butylester

DMF, p.A.

1,2-Ethandiol

Natriumcarbonat, wasserfrei p.A.

Natriumhydrogencarbonat, wasserfrei

N-Bromsuccinimid

Pikrinsäure, p. A.

1,3-Propandiol

Thionylchlorid

Triethylamin

Messer-Griesheim:

Argon 5.0, Stickstoff 5.0

Alle Lösungsmittel wurden vor Gebrauch durch Destillation gereinigt, bei Bedarf nach den literaturbekannten Standardmethoden getrocknet und durch ein 15minütiges Ultraschallbad unter Membranpumpenvakuum entgast.

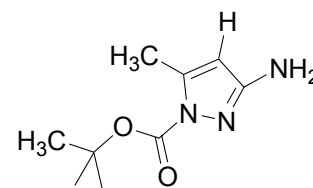
4.3 Synthese der 2-(Imidazolidin-2-ylidenamino)-*N*-(5-methyl-1*H*-pyrazol-3-yl)-acetamid-Derivate

4.3.1 3-Amino-5-methylpyrazol-1-carbonsäure-*tert*-butylester 43

Unter N₂-Atmosphäre wurden 20,43 g (0,21 mol) 3-Amino-5-methylpyrazol in 300 ml Dichlormethan, abs., sowie 36 ml (0,26 mol, 1,2 eq) Triethylamin gelöst und im Eis-Kochsalz-Bad gekühlt. 45 ml (45,9 g, 0,21 mol, 1 eq) Di-*tert*-butylpyrocarbonat, gelöst in 10 ml Dichlormethan, abs., wurden über 60 min. zugetropft. Der Ansatz wurde über Nacht gerührt, wobei er sich auf Raumtemperatur erwärmte, zweimal mit Wasser ausgeschüttelt, mit Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert. Das Regioisomeregemisch wurde durch Umkristallisation aus 60 ml Essigsäureethylester und 120 ml Hexan getrennt, das Produkt über P₂O₅ getrocknet.

Ausbeute: 23,85 g (58%)
Smp: Zersetzung bei 134°C

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 1,53 (s, 9H, Boc-CH₃), 1,99 (s, 3H, -CH₃), 5,14 (s, 1H, Pyrazol-CH), 6,22 (s, 2H, -NH₂)



¹³C-NMR: (126 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 14,2, 28,0, 83,8, 87,9, 150,4, 151,8, 152,0

MS (GC-MS): [M⁺] bei m/z = 197, Intensität = 65%, 141 (80), 97 (100), 68 (80), 57 (100)

IR (in KBr): ν [cm⁻¹] (NH₂), 3291 (NH₂), 2981 (CH₃), 1715 (C=O Carbamat)

C₉H₁₅N₃O₂: ber.: C: 54,81 % H: 7,67 % N: 21,30 % C₉H₁₅N₃O₂
 gef.: C: 54,75 % H: 7,96 % N: 21,23 % M = 197,23 g/mol

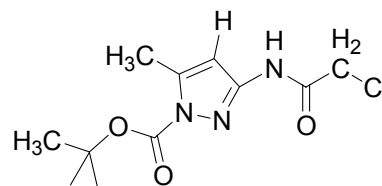
4.3.2 3-(2-Chloracetylamino)-5-methylpyrazole-1-carbonsäure-*tert*-butylester 47

Unter Ar-Atmosphäre wurden 401,3 mg (2,03 mmol) 3-Amino-5-methylpyrazol-1-carbonsäure-*tert*-butylester **43** in ca. 30 ml Dichlormethan, abs., gelöst und nach Zugabe von 0,59 ml (0,43 g, 4,23 mmol, 2 eq) Triethylamin in einem Eisbad gekühlt.

Chloressigsäureanhydrid, gelöst in 30 ml Dichlormethan, abs., wurde langsam zugetropft, und der Ansatz über Nacht gerührt, wobei er sich auf Raumtemperatur erwärmte. Die Reaktionslösung wurde zweimal mit Wasser und einmal mit NaHCO₃-Lösung ausgeschüttelt, mit Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Essigsäureethylester/Chloroform 1:10, R_f = 0,25) gereinigt.

Ausbeute: 412 mg (74%)
Smp: Zersetzung bei 272°C

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 1,59 (s, 9H, Boc-CH₃), 2,18 (s, 3H, -CH₃), 4,52 (s, 2H, -(CO)-CH₂-Cl), 6,59 (s, 1H, Pyrazol-CH), 10,65 (s, 1H, -NH-(CO)-)



¹³C-NMR: (126 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 13,7, 27,5, 42,9, 85,6, 98,5, 139,6, 149,5, 151,7, 163,5

MS (CI, +NH₃): [M+H⁺] bei m/z = 274, Intensität = 100%, 240 (90)

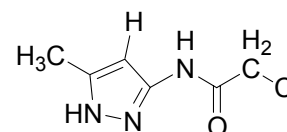
IR (in KBr): ν [cm⁻¹] 3313 (NH), 2992 (CH₂, CH₃), 1732 (C=O Carbamat), 1698 (C=O Amid), 1541 (C=O Amid)

C,H,N:
ber.: C: 48,27 % H: 5,89 % N: 15,35 % C₁₁H₁₆ClN₃O₃
gef.: C: 48,42 % H: 5,96 % N: 15,15 % M = 273,72 g/mol

4.3.3 3-(2-Chloroacetylamino)-5-methylpyrazole 44

Unter Ar-Atmosphäre wurden 3,45 g (35,5 mol) 3-Amino-5-methylpyrazol in 150 ml Dichlormethan, abs., sowie 5,44 ml (3,95 g, 39,0 mmol, 1,1 eq) Triethylamin gelöst und im Eis-Kochsalz-Bad gekühlt. 6,07 g (35,5 mmol, 1 eq) Chloressigsäureanhydrid, gelöst in 50 ml Dichlormethan, abs., wurden über 60 min. zugetropft. Der Ansatz wurde über Nacht gerührt, wobei er sich auf Raumtemperatur erwärmte, zweimal mit Wasser und einmal mit NaHCO₃-Lösung ausgeschüttelt, mit Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Methanol/Chloroform 1:10, R_f = 0,26) gereinigt.

Ausbeute: 3,82 mg (62%)
Smp: 183 °C



¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 2,20 (s, 3H, -CH₃), 4,20 (s, 2H, -

CO-CH₂-Cl), 6,27 (s, 1H, Pyrazol-CH), 10,61 (s, 1H, -CO-NH-), 12,08 (s, 1H, Pyrazol-NH)

¹³C-NMR: (126 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 10,5, 42,9, 95,4, 138,4, 146,7, 163,4

MS (Cl, +NH₃): [M+H⁺] bei m/z = 174, Intensität = 100%, 191 (45), 157 (18), 140 (60)

IR (in KBr): ν [cm⁻¹] 3325 (NH), 1605 (C=C Aromat), 1563 (C=O Amid)

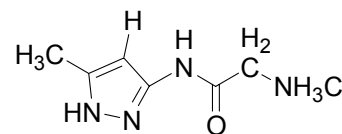
C,H,N: ber.: C: 41,51 % H: 4,65 % N: 24,41 % C₆H₈ClN₃O
gef.: C: 41,39 % H: 4,42 % N: 24,23 % M = 173,60 g/mol

4.3.4 2-Amino-N-(5-methyl-1H-pyrazol-3-yl)-acetamid-Hydrochlorid **46**

1,20 g (6,91 mmol) 3-(2-Chloracetyl-amino)-5-methylpyrazole **44** wurden 4 Tage in 60 ml MeOH und 60 ml 25%-iges Ammoniak gerührt. Der Ansatz wurde am Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung in der nächsten Stufe eingesetzt.

Ausbeute: 1,24 mg (94%)

Smp: 250 °C



¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 2,20 (s, 3H, -CH₃), 3,47 (br s, 3H, -NH₃⁺), 3,64 (s, 2H, -CO-CH₂-), 6,26 (s, 1H, Pyrazol-CH), 10,68 (s, 1H, -CO-NH-), 12,22 (s, 1H, Pyrazol-NH)

¹³C-NMR: (126 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 10,6, 40,4, 95,2, 138,6, 146,1, 163,7

IR (in KBr): ν [cm⁻¹] 3239 (NH), 3100 (br NH), 1670 (C=O Amid), 1563 (C=O Amid)

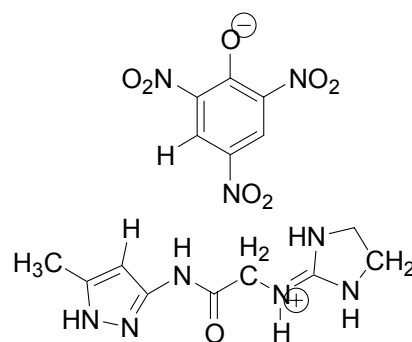
4.3.5 2-(Imidazolidin-2-ylidenamino)-N-(5-methyl-1H-pyrazol-3-yl)-acetamid-Hydropikrat **58*HPik**

372 mg (1,95 mmol) 2-Amino-N-(5-methyl-1H-pyrazol-3-yl)-acetamid-Hydrochlorid **46** wurden über Nacht mit 322,1 mg (2,21 mmol, 1,13 eq) 4,5-Dihydro-1H-imidazol-2-sulfonsäure in 8 ml Triethylamin/Methanol/Wasser 1:2:1 suspendiert, wobei eine klare Lösung entstand. Der Rückstand wurde mit 2 ml 1N Natronlauge alkalisch gemacht, einrotiert, in 40 ml Methanol/Wasser gelöst und mit 5,5 ml einer 0,36 N Pikrinsäurelösung in Methanol versetzt. Das Rohprodukt wurde im Filtrat zum Sieden gebracht, mit wenig

Methanol vollständig gelöst und kristallisierte beim Abkühlen in gelben Nadeln aus.

Ausbeute: 0,47 g (52 %)
Smp: Zersetzung bei 205 °C

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm]
 2,20 (s, 3H, -CH₃), 3,62 (s, 4H, -CH₂-CH₂-), 3,98 (d, ³J_H = 6,2 Hz, 2H, Pyrazol-CH₂-NH-), 6,25 (s, 1H, Pyrazol-CH), 7,90 (br s, 1H, -CH₂-NH-), 8,21 (t, ³J_H = 6,1 Hz, 1H, -CO-CH₂-NH-), 8,45 (br s, 1H, -CH₂-NH-), 8,60 (s, 2H, Pikrat-H), 10,50 (s, 1H, -CO-NH-), 12,04 (s, 1H, Pyrazol-NH)



¹³C-NMR: (126 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 10,6, 42,5, 44,6, 95,3, 124,1, 125,1, 138,3, 141,8, 146,7, 160,1, 160,7, 164,9

MS (Cl, NH₃): [Base+H⁺] bei m/z = 223

IR (in KBr): ν [cm⁻¹] 3385 (NH), 3299 (br NH), 1702 (C=O Amid), 1571 (C=O Amid), 1609 (NO₂), 1315 (NO₂)

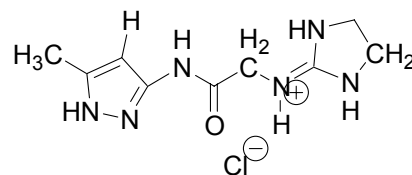
C, H, N:
 ber.: C: 39,92 % H: 3,80 % N: 27,93 % C₁₅H₁₇N₉O₈
 gef.: C: 40,09 % H: 4,04 % N: 27,90 % M = 451,35 g/mol

4.3.6 2-(Imidazolidin-2-ylidenamino)-N-(5-methyl-1H-pyrazol-3-yl)-acetamid-Hydrochlorid 58*HCl

230 mg (0,51 mmol) des Pikrates 58*HPik wurden in 6 ml DMF gelöst und auf eine Ionenaustauscher-Säule, Amberlite IRA-400 (mit Chlorid-Ionen beladen, methanolfeucht), aufgetragen und mit Methanol eluiert. Die produkthaltigen, farblosen Fraktionen wurden vereinigt, einrotiert, der Rückstand in wenig Methanol aufgenommen und das Produkt mit Essigsäureethylester gefällt.

Ausbeute: 129 mg (98 %)
Smp: 268 °C

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 2,19 (s, 3H, -CH₃), 3,60 (s, 4H, -CH₂-CH₂-), 4,05 (s, 2H, -CO-CH₂-NH-), 6,24 (s, 1H, Pyrazol-CH), 8,15 (br s, 1H, -CH₂-NH-), 8,38 (s, 1H, -CO-CH₂-NH-), 8,65 (br s, 1H, -CH₂-



NH-), 10,50 (s, 1H, -CO-NH-), 12,13 (s, 1H, Pyrazol-NH)

IR (in KBr): ν [cm⁻¹] 3309 (NH), 3179 (br NH), 1703 (C=O Amid), 1571 (C=O Amid)

C,H,N: ber.: C: 39,06 % H: 6,19 % N: 30,57% C₉H₁₅ClN₆O*H₂O
gef.: C: 39,26 % H: 6,17 % N: 30,59 % M = 276,72 g/mol

4.3.7 2-(Imidazolidin-2-ylidenamino)-*N*-(5-methyl-1*H*-pyrazol-3-yl)-acetamid als Guanidinium-[Tetrakis-(3,5-bis(trifluormethyl)phenyl)-borat]-Salz **58***HBAr'₄

276,0 mg (1 mmol) 2-(Imidazolidin-2-ylidenamino)-*N*-(5-methyl-1*H*-pyrazol-3-yl)-acetamid-Hydrochlorid-Monohydrat **58***HClF wurden zusammen mit 899,8 mg (1 mmol) Natrium[Tetrakis-(3,5-bis(trifluormethyl)phenyl)-borat] **111** in 30 ml Methanol, abs., gelöst. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand in 30 ml Acetonitril/Isopropylalkohol 1:1, gelöst, unlösliches Natriumchlorid mit einem Membranfilter abfiltriert, das Filtrat eingengt und der amorphe Rückstand im Turbopumpenvakuum getrocknet.

C,H,N: ber.: C: 43,87 % H: 2,78 % N: 7,49% C₄₁H₂₇BF₂₄N₆O*2H₂O
gef.: C: 43,58% H: 2,50 % N: 7,40 % M = 1086,48 g/mol

4.4 Synthese der 3-(Imidazolidin-2-ylidenamino)-*N*-(5-methyl-1*H*-pyrazol-3-yl)-propionamid-Derivate

4.4.1 3-(1,3-Dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-propionsäure **52**

3-(1,3-Dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-propionsäure wurde nach einer Vorschrift von Bose^[95] synthetisiert.

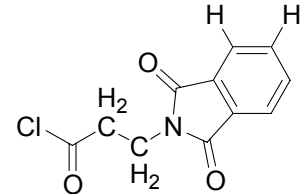
¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 2,60 (t, ³J_H = 7,4 Hz, 2H, -CH₂-CH₂-N=), 3,79 (t, ³J_H = 7,4 Hz, 2H, -CH₂-COOH), 7,86-7,81 (m, 4H, Phthaloyl-H), 12,40 (br s, 1H, -COOH)

4.4.2 3-(1,3-Dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-propionoylchlorid **53**

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 10,96 g (50 mmol) 3-(1,3-Dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-propionsäure **52** in 60 ml Dichlormethan, abs., suspendiert, mit 5,44 ml (8,92 g, 75 ml, 1,5 eq) Thionylchlorid und 4 Tropfen *N,N*-Dimethylformamid versetzt und 1h unter Rückfluss gekocht, wobei das Edukt unter Gasentwicklung in Lösung ging. Die Lösung wurde über Nacht gerührt, danach das Lösungsmittel weitestgehend abdestilliert, die Lösung mit 10 ml Toluol, abs., versetzt, und nun alle flüchtigen Bestandteile unter Vakuum entfernt. Es entstand ein cremefarbener Feststoff. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung in der folgenden Stufe eingesetzt.

Ausbeute: 11,16 g (94%)

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl₃, TMS) δ [ppm] 3,35 (t, ³J_H = 7,0 Hz, 2H, -CH₂-CH₂-N=), 4,04 (t, ³J_H = 7,1 Hz, 2H, -CH₂-COCl), 7,75 (dd, ³J_H = 5,4 Hz, ³J_H = 3,1 Hz, 2H, Phthaloyl-H), 7,87 (dd, ³J_H = 5,4 Hz, ³J_H = 3,1 Hz, 2H, Phthaloyl-H)



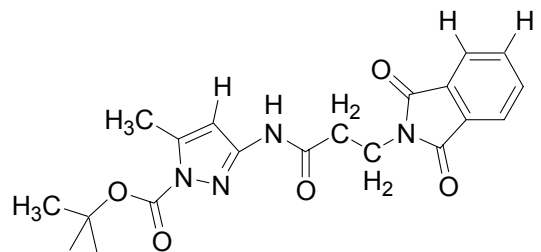
4.4.3 3-[3-(1,3-Dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-propionoylamino]-5-methylpyrazol-1-carbonsäure-*tert.*-butylester **54**

3,94 g (20 mmol) 3-Amino-5-methylpyrazol-1-carbonsäure-*tert.*-butylester **43** und 3,07 ml (2,23 g, 22 mmol, 1,1 eq) Triethylamin wurden in 100 ml Dichlormethan, abs., gelöst. 4,75 g (20 mmol) 3-(1,3-Dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-propionoylchlorid **53**, gelöst in 60 ml Dichlormethan, abs., wurde über ca. 20 min. zugetropft. Der Ansatz wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach zweimaligem Extrahieren der organischen Phase mit Wasser wurde diese über Na₂SO₄ getrocknet, das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt in Hexan/Essigsäureethylester/Dichlormethan 1:1:1 umkristallisiert.

Ausbeute: 5,13 g (64%)

Smp: 215 °C

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl₃, TMS) δ [ppm] 1,61 (s, 9H, Boc-CH₃), 2,23 (s, 3H, -CH₃), 2,86 (t, ³J_H = 7,3 Hz, 2H, -CH₂-N=), 4,08 (t, ³J_H = 7,2 Hz, 2H, -CH₂-CO-), 6,65 (s, 1H, Pyrazol-CH), 7,70 (dd, ³J_H = 5,5 Hz, ³J_H = 3,0 Hz, 2H, Phthaloyl-H), 7,83 (dd, ³J_H = 5,4 Hz, ³J_H = 3,0 Hz, 2H, Phthaloyl-H), 10,17 (s, 1H, -CO-NH-)



¹³C-NMR: (126 MHz, CDCl₃, TMS) δ [ppm] 14,8, 28,4, 34,2, 35,7, 86,9, 98,8, 123,7, 132,4, 134,4, 141,3, 151,3, 153,9, 166,7, 168,4

MS (CI, NH₃): [M+H⁺] bei m/z = 399, Intensität = 100%, 299 (25), 198 (20)

IR (in KBr): ν [cm⁻¹] 3339 (NH), 2291 (CH₂, CH₃), 1775 (CO Imid), 1717 (CO Imid), 1539 (C=O Amid)

C,H,N: ber.: C: 60,29% H: 5,57% N: 14,06% C₂₀H₂₂N₄O₅
gef.: C: 60,12% H: 5,66% N: 14,15% M = 398,41 g/mol

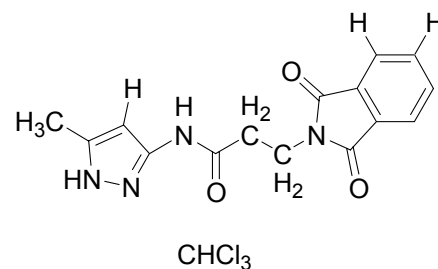
4.4.4 3-(1,3-Dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-N-(5-methyl-1H-pyrazol-3-yl)-propionamid 55

2,00 g (5 mmol) 3-[3-(1,3-Dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-propionoylamino]-5-methyl-pyrazol-1-carbonsäure-*tert.*-butylester **54** wurden in 50 ml Chloroform gelöst und mit 0,46 ml (6 mmol, 1,2 eq) Trifluoressigsäure versetzt und über Nacht gerührt. Nach Detektieren noch vorhandenen Edukts wurde zunächst weitere 0,46 ml Trifluoressigsäure, später nochmals 0,2 ml, zugegeben und erneut über Nacht gerührt. Der Ansatz wurde mit 48 ml 0,5 Natronlauge und 10 ml 2-Propanol ausgeschüttelt, die organische Phase über Na₂SO₄ getrocknet und einrotiert. Das Rohprodukt wurde in Chloroform/Ethanol 12:1 umkristallisiert. Das gereinigte Produkt enthält ein Äquivalent Chloroform.

Ausbeute: 1,31 g (62%)

Smp: 219 °C

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm]
2,18 (s, 3H, -CH₃), 2,66 (t, ³J_H = 7,1 Hz, 2H, -CH₂-N=), 3,86 (t, ³J_H = 7,1 Hz, 2H, -CO-CH₂-), 6,21 (s, 1H, Pyrazol-CH), 7,80-7,90 (m, 4H, Phthaloyl-H), 8,32 (s, 1H, CHCl₃), 10,41 (s, 1H, -CO-NH-)



¹³C-NMR: (126 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 10,6, 34,0, 34,0, 79,1, 95,4, 122,9, 131,6, 134,2, 138,5, 146,6, 167,5, 167,5

MS (CI, NH₃): [M+H⁺] bei m/z = 299, Intensität = 100%, 316 (15)

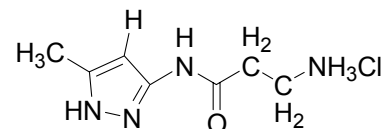
IR (in KBr): ν [cm⁻¹] 3331 (NH), 1770 (CO Imid), 1711 (CO Imid), 1610 (C=C Aromat), 1560 (C=O Amid)

<u>C,H,N:</u>	ber.:	C: 46,01%	H: 3,62%	N: 13,41%	C ₁₆ H ₁₅ Cl ₃ N ₄ O ₃
	gef.:	C: 46,03%	H: 3,60%	N: 13,71%	M = 417,67 g/mol

4.4.5 3-Amino-*N*-(5-methyl-1*H*-pyrazol-3-yl)-propionamid-Hydrochlorid **56**

0,89 g (3 mmol) 3-(1,3-Dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-yl)-*N*-(5-methyl-1*H*-pyrazol-3-yl)-propionamid **55** wurden 1,5 h mit ca. 1 ml (ca. 18 mmol) Hydrazin-Hydrat in 30 ml Ethanol gekocht. Der Reaktionsansatz inklusive ausgefallener Feststoff wurde am Rotationsverdampfer eingengt und über Nacht über P₂O₅ getrocknet. Der Feststoff wurde in 30 ml Ethanol und 10 ml 1N Salzsäure aufgenommen, 1 h gekocht und der Niederschlag abfiltriert. Beim Einengen des Filtrates erneut abscheidender Feststoff wurde entfernt, dann bis zur Trockne eingengt. Das Rohprodukt wurde in 40 ml Methanol/Essigsäureethylester 1:1 umkristallisiert.

<u>Ausbeute:</u>	0,56 g (91%)
<u>Smp:</u>	210 °C



¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 2,27 (s, 3H, -CH₃), 2,81 (t, ³J_H = 7,1 Hz, 2H, -CO-CH₂-), 3,10-3,00 (m, 2H, -CH₂-NH₃⁺), 6,26 (s, 1H, Pyrazol-CH), 8,22 (br s, 3H, -NH₃⁺), 11,40 (s, 1H, -CO-NH-)

¹³C-NMR: (126 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 10,6, 32,5, 34,5, 95,2, 141,6, 143,9, 168,0

IR (in KBr): ν [cm⁻¹] 3384 (NH), ~3000 (br NH), 2991 (CH₂, CH₃), 1699 (C=O Amid), 1595 (C=O Amid)

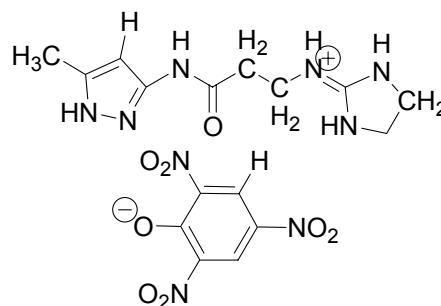
4.4.6 3-(Imidazolidin-2-ylidenamino)-*N*-(5-methyl-1*H*-pyrazol-3-yl)-propionamid-Hydropikrat **59*HPik**

0,20 g (0,98 mmol) 3-Amino-*N*-(5-methyl-1*H*-pyrazol-3-yl)-propionamid-Hydrochlorid **56** wurden über Nacht mit 0,15 g (1,0 mmol, 1,01 eq) 4,5-Dihydro-1*H*-imidazol-2-sulfonsäure in 6 ml Triethylamin/Methanol/Wasser 1:1:1 suspendiert, wobei eine klare Lösung entstand. Die Lösung wurde einrotiert, danach mit 1 ml (1 mmol, 1 eq) 1N Salzsäure versetzt und einrotiert. Nach Lösen des Rückstandes in Wasser wurden 4 ml (1 mmol, 1 eq) einer 0,25 normalen Lösung von Pikrinsäure in Methanol zugesetzt. Die gelbe Lösung wurde einrotiert

und der Rückstand mehrmals aus Wasser/Methanol umkristallisiert.

Ausbeute: 0,27 g (60 %)
Smp: Zersetzung bei 183 °C

¹H-NMR: (500 MHz, CD₃OD:DMSO-*d*₆ 1:1, TMS) δ [ppm] 2,19 (s, 3H, -CH₃), 2,56 (t, ³J_H = 6,5 Hz, 2H, -CH₂-CO-), 3,39 (t, ³J_H = 6,3 Hz, 2H, -CH₂-NH⁺=C=), 3,59 (s, 4H, -NH-CH₂-), 6,26 (s, 1H, Pyrazol-CH)



¹³C-NMR: (126 MHz, CD₃OD:DMSO-*d*₆ 1:1, TMS) δ [ppm] 11,0, 35,1, 38,7, 42,8, 95,8, 124,5, 125,6, 138,6, 142,2, 147,5, 159,6, 161,2, 168,0

MS (CI, NH₃): [Base+H⁺] bei m/z = 237, Intensität = 45%, 140 (100), 115 (70)

IR (in KBr): ν [cm⁻¹] 3375 (NH), ~3200 (br NH), 1682 (C=O Amid), 1640 (NO₂), 1587 (C=O Amid), 1563 (NO₂), 1332 (NO₂)

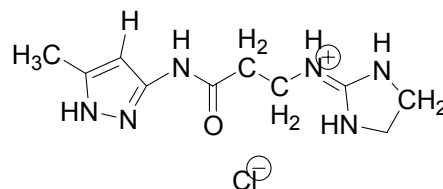
C,H,N: ber.: C: 41,29% H: 4,12% N: 27,09% C₁₆H₁₉N₉O₈
 gef.: C: 41,05% H: 4,14% N: 27,03% M = 465,38 g/mol

4.4.7 3-(Imidazolidin-2-ylidenamino)-*N*-(5-methyl-1*H*-pyrazol-3-yl)-propionamid-Hydrochlorid 59*HCl

115,7 mg (0,249 mmol) des Pikrates 59*HPik wurden in 2 ml DMF gelöst und auf eine Ionenaustauscher-Säule, Amberlite IRA-400 (mit Chlorid-Ionen beladen, methanolfeucht), aufgetragen und mit Methanol eluiert. Die produkthaltigen, farblosen Fraktionen wurden vereinigt, weitestgehend einrotiert und das Produkt mit Essigsäureethylester gefällt.

Ausbeute: 54 mg (80 %)
Smp: 243 °C

¹H-NMR: (500 MHz, CD₃OD, TMS) δ [ppm] 2,18 (s, 3H, -CH₃), 2,56 (t, ³J_H = 6,7 Hz, 2H, -CO-CH₂-), 3,41 (s, 2H, -CH₂-NH⁺=C=), 3,57 (s, 4H, -NH-CH₂-), 6,25 (s, 1H, Pyrazol-CH)



IR (in KBr): ν [cm⁻¹] 3395 (NH), ~3200 (br NH), 1675 (C=O Amid), 1592 (C=O Amid)

C,H,N: ber.: C: 44,04 % H: 6,28 % N: 30,81 % C₁₀H₁₇ClN₆O
gef.: C: 43,90 % H: 6,40 % N: 30,63 % M = 272,73 g/mol

4.5 Synthese der N-{5-[3-(Imidazolidin-2-ylidenaminomethyl)-phenyl]-1*H*-pyrazol-3-yl}-acylamid-Derivate

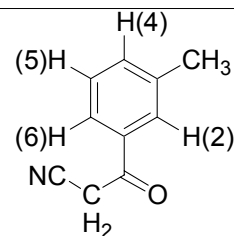
4.5.1 3-Oxo-3-*m*-tolyl-propionitril 79

Unter N₂-Atmosphäre wurden 15,31 g (0,18 mol) Cyanoessigsäure in 400 ml THF, abs. gelöst und im Aceton-Trockeneis-Bad auf -78°C abgekühlt. Zu dieser Lösung wurde unter starkem Rühren 200 ml einer 1,6 N Lösung (0,32 mol) von *n*-Butyllithium in Hexan über ca. 30 min. zuge tropft. Es bildete sich eine weiße Suspension. Das Gemisch wurde mit einem Wasserbad auf ca. 0°C erwärmt und 15 min. bei dieser Temperatur gehalten und anschließend wieder auf -78°C gekühlt. 13,85 g (90 mmol) *m*-Methylbenzoylchlorid, gelöst in ca. 25 ml THF, abs., wurden innerhalb von 10 min. zuge tropft. Das Reaktionsgemisch wurde 1 h bei -78°C gehalten, innerhalb von 30 min. auf Raumtemperatur gebracht und noch 1 h gerührt. Die Lösung wurde vorsichtig mit ca. 25 ml konz. Salzsäure auf pH ≈ 2 gebracht, 250 ml Wasser zugegeben und die Phasen getrennt. Zur organischen Phase wurde 250 ml Wasser gegeben und die Mischung gerührt und dabei mit festem NaHCO₃ versetzt, bis keine Gasentwicklung mehr auftrat, und die organische Phase am Rotationsverdampfer weitgehend eingengt. Die wässrige Phase des Reaktionsgemisches wurde noch zweimal mit je 250 ml Essigsäureethylester extrahiert, diese dann mit ges. NaHCO₃-Lösung ausgeschüttelt, mit der bereits eingengten organischen Phase vereinigt, mit Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel bis zur Trockne entfernt. Das leicht gelbe Rohprodukt wurde dann im Ölpumpenvakuum über ein 90°-Glasknie in einem mit Eis gekühlten Kolben destilliert (1×10⁻² mbar, 150°C Ölbad-Temperatur). Das noch leicht verunreinigte Produkt wurde in 50 ml Essigsäureethylester gelöst, vorsichtig mit 100 ml Hexan überschichtet und der Kolben langsam am Rotationsverdampfer gedreht, wobei das Produkt an der Phasengrenze in Nadeln auskristallisierte. Diese wurden abfiltriert und im Membranpumpenvakuum über P₂O₅ getrocknet.

Ausbeute: 10,17 g (71%)

Smp: 74 °C

$^1\text{H-NMR}$: (500 MHz, CDCl_3 , TMS) δ [ppm] 2,44 (s, 3H, $-\text{CH}_3$), 4,07 (s, 2H, $-\text{CH}_2-$), 7,41 (t, $^3J_{\text{H}} = 7,6$ Hz, 1H, Ar-H(5)), 7,47 (d, $^3J_{\text{H}} = 7,6$ Hz, 1H, Ar-H), 7,71 (d, $^3J_{\text{H}} = 7,7$ Hz, 1H, Ar-H), 7,74 (s, 1H, Ar-H(2))



$^{13}\text{C-NMR}$: (126 MHz, CDCl_3 , TMS) δ [ppm] 21,3, 29,4, 113,8, 125,7, 128,9, 129,0, 134,3, 135,5, 139,2, 187,2

MS (EI): $[\text{M}^+]$ bei $m/z = 159$, Intensität = 11%, 119 (100), 91 (78), 65 (33)

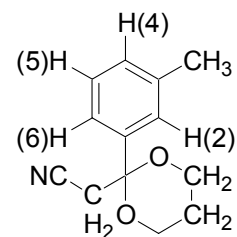
IR (in KBr): $\nu[\text{cm}^{-1}]$ 2950, 2917 ($-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2$), 2251 ($-\text{C}\equiv\text{N}$), 1691 ($\text{C}=\text{O}$, Keto)

C,H,N: ber.: C: 75,46% H: 5,70% N: 8,80% $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}$
gef.: C: 75,48% H: 5,71% N: 8,78% $M = 159,18$ g/mol

4.5.2 (2-*m*-Tolyl-1,3-dioxan-2-yl)-acetonitril 87

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden 24,32 g (153 mmol) von 3-Oxo-3-*m*-tolyl-propionitril **79** mit 110 ml (116 g, 1,5 mol) 1,3-Propandiol und 2,91 g (15,3 mmol) *p*-Toluolsulfonsäure-Monohydrat in 500 ml Toluol, abs. am Wasserabscheider gekocht. Die Reaktionslösung wurde solange unter Rückfluss gehalten, bis nur noch langsam Wasser abgespalten wurde (ca. 7 h, ca. 6 ml Wasser). Der Ansatz wurde nach Abkühlen unter Rühren zu einer Lösung von 12 g K_2CO_3 in 500 ml Wasser gegeben und dieses Gemisch mit 500 ml Essigsäureethylester ausgeschüttelt. Nach erneuter Extraktion der organischen Phase mit 12 g K_2CO_3 in 500 ml Wasser wurde diese abgetrennt, mit K_2CO_3 getrocknet, das Lösungsmittel entfernt und der ölige Rückstand unter Zugabe von ca. 5 g K_2CO_3 im Ölpumpenvakuum über eine kurze Vigreux-Kolonnen fraktioniert. Das farblose Produkt kristallisierte noch während der Destillation in der Vorlage aus.

Ausbeute: 29,99 g (90%)
Sdp: 126 °C ($2,1 \times 10^{-2}$ mbar)
Smp: 55 °C



$^1\text{H-NMR}$: (500 MHz, CDCl_3 , TMS) δ [ppm] 1,27 (m, 1H) + 2,06-2,30 (m, 1H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2, \text{eq}/\text{ax}^-$), 2,39 (s, 3H, CH_3), 2,72 (s, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CN}$), 3,78-3,86 (m, 2H) + 3,91-3,97 (m, 2H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2, \text{eq}/\text{ax}^-$), 7,19 (d, 1H, $^3J_{\text{H}} = 7,6$ Hz, Ar-H), 7,26-7,30 (m, 2H, Ar-H(2) + Ar-H), 7,33 (t, $^3J_{\text{H}} = 7,6$ Hz, 1H, Ar-H(5))

$^{13}\text{C-NMR}$: (126 MHz, CDCl_3 , TMS) δ [ppm] 21,6, 24,9, 34,5, 61,6, 98,5, 116,0, 124,3,

127,7, 129,0, 129,7, 136,8, 138,9

MS (EI): [M⁺] bei m/z = 217, Intensität = 1%, 177 (95), 119 (100), 91 (63)IR (in KBr): ν [cm⁻¹] 2976, 2943, 2870 (CH₃, CH₂), 2262 (-C≡N), 1717

C,H,N: ber.: C: 71,87% H: 6,96% N: 6,45% C₁₃H₁₅NO₂
 gef.: C: 72,10% H: 7,08% N: 6,21% M = 217,26 g/mol

4.5.3 [2-(3-Bromomethyl-phenyl)-1,3-dioxan-2-yl]-acetonitril **88**

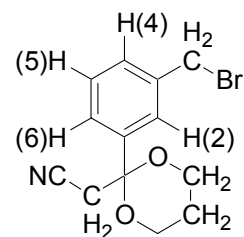
29,66 g (137 mmol) (2-*m*-Tolyl-1,3-dioxan-2-yl)-acetonitril **87** wurden zusammen mit 29,16 g (163 mmol, 1,2 eq) *N*-Bromsuccinimid (NBS) in 1,3 l Dichlormethan, abs. gelöst. Die Reaktionslösung wurde mit 0,42 g (1,36 mmol, 0,01 eq) V-70 (2-(1-Cyano-3-methoxy-1,3-dimethyl-butylazo)-4-methoxy-2,4-dimethyl-pentannitril) versetzt und unter Feuchtigkeitsausschluss unter Rückfluss gehalten, bis die Reaktion beendet war. Die farblose Lösung wurde dabei zunächst über orange rot; nach längerem Kochen nahm die Färbung wieder ab, bis nur noch eine leichte Gelbfärbung zu sehen war. Die Reaktion war beendet, wenn einige Tropfen der Lösung ein Gemisch aus 5 Tropfen KI-Lösung und 5 Tropfen Stärkelösung nicht mehr färbten, was etwa 5 h dauerte. Der Reaktionsansatz wurde am Rotationsverdampfer auf ca. 100 ml Gesamtvolumen eingengt und 100 ml Dichlormethan sowie 400 ml Hexan zugegeben. Nach kurzem Warten wurden das ausgefallene Succinimid abfiltriert (15,88 g nach Trocknen, 162 mmol, 0,99 eq des eingesetztem NBS), mit wenig Dichlormethan/Hexan 1:2 nachgewaschen und das Filtrat am Rotationsverdampfer eingengt. Nach weiterem Entfernen des Lösungsmittels mit Hilfe einer Ölpumpe wurde ein gelbes Öl erhalten.

Ausbeute: 43,34 g (107%)

Das Rohprodukt enthielt ca. 78 mol-% des Produkts **88**, ca. 16 mol-% des Edukts **87** sowie 6 mol-% des Dibromides (Integration ¹H-NMR: δ [ppm] 4,45 (Ar-CH₂Br), 2,32 (Ar-CH₃), 6,61 (Ar-CHBr₂))

Es ließ sich weder destillativ (Zersetzung) noch säulenchromatographisch weiter reinigen und wurde daher in diesem Reinheitsgrad weiter eingesetzt.

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl₃, TMS) δ [ppm] 1,27-1,20 (m, 1H, -CH₂-CH₂-CH₂-), 2,19-2,08 (m, 1H, -CH₂-CH₂-CH₂-), 2,33 (s, 3H, -CH₃), 2,67 (s, 2H, -CH₃), 3,75-3,68 (m, 2H, -O-CH₂-), 3,92-3,86 (m, 2H, -O-CH₂-), 4,45 (s,



2H, Ar-CH₂-Br), 7,67-7,07 (m, 4H, Ar-H)

4.5.4 {2-[3-(1,3-Dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-ylmethyl)-phenyl]-1,3-dioxan-2-yl}-acetonitril **89**

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurden eine Lösung aus 43,34 g des Rohprodukts von [2-(3-Bromomethyl-phenyl)-1,3-dioxan-2-yl]-acetonitril **88** mit 25,38 g (137 mmol) Kaliumphthalimid in 1000 ml *N,N*-Dimethylformamid, abs. bei 80 °C im Ölbad 60 h lang gehalten. Die abgekühlte Reaktionslösung wurde unter sehr schnellem Rühren (KPG-Rührer, 1500 U/min) in 4 l dest. Wasser langsam (über ca. 2 h) getropft, so dass sich ein extrem feines, beigefarbenes Pulver abschied. Dieses wurde abgesaugt und über P₂O₅ im Exsikkator getrocknet (41,89 g, 115,6 mmol). Dieses wurde in 250 ml Aceton, dest. suspendiert. Die Mischung wurde in einem auf 120 °C vorgeheiztem Ölbad zum Sieden gebracht, wobei der Feststoff zunächst vollständig in Lösung ging und nach kurzer Zeit wieder ausfiel. Die Suspension wurde mit 80 ml Hexan überschichtet und die Kristallisation über Nacht im Kühlschrank vervollständigt. Das weiße Produkt wurde abgesaugt und über P₂O₅ über Nacht getrocknet.

Ausbeute: 33,61 g (93 mmol, 68 % bezogen auf **87**)

Smp: 181-183 °C

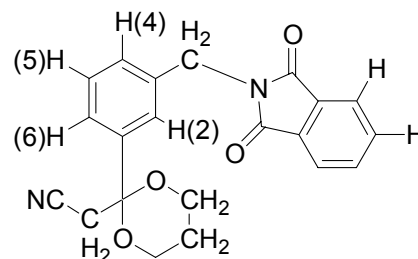
¹H-NMR: (500 MHz, CDCl₃, TMS) δ [ppm] 1,29-1,24 (m, -CH₂-CH₂-CH₂-), 2,25-2,13 (m, -CH₂-CH₂-CH₂-), 2,71 (s, 2H, -CH₂-CN), 3,77 (td, ³J_H = 12,3 Hz, ³J_H = 2,3 Hz, 2H, -O-CH₂-CH₂-), 3,97-3,92 (m, 2H, -O-CH₂-CH₂-), 4,89 (s, 2H, Ar-CH₂-N=), 7,46-7,39 (m, 3H, Ar-H), 7,54 (s, 1H, Ar-H(2)), 7,73 (dd, ³J_H = 5,5 Hz, ³J_H = 3,1 Hz, 2H, Phthaloyl-H), 7,86 (dd, ³J_H = 5,4 Hz, ³J_H = 3,1 Hz, 2H, Phthaloyl-H)

¹³C-NMR: (126 MHz, CDCl₃, TMS) δ [ppm] 24,8, 34,4, 41,5, 61,5, 98,3, 115,9, 123,4, 126,8, 127,4, 129,1, 129,6, 132,0, 134,1, 137,4, 137,5, 168,0

MS (EI): [M⁺] nicht detektierbar; [M - CH₂CN⁺] 322 (100), 264 (36)

IR (in KBr): ν[cm⁻¹] 2966 (CH₂), 1771, 1713 (C=O, Phthalimid)

<u>C₂₁H₁₈N₂O₄:</u>	ber.:	C: 69,60 %	H: 5,01 %	N: 7,73 %	C ₂₁ H ₁₈ N ₂ O ₄
	gef.:	C: 69,51%	H: 5,08 %	N: 7,51 %	M = 362,38 g/mol



4.5.5 3-[3-(1,3-Dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-ylmethyl)-phenyl]-3-oxo-propionitril **86**

31,78 g (88 mmol) {2-[3-(1,3-Dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-ylmethyl)-phenyl]-1,3-dioxan-2-yl}-acetonitril **89** wurden in 550 ml Dioxan suspendiert und die Reaktionsmischung 2 mal kurzzeitig "evakuiert" (30 mbar) und mit Argon belüftet. Die Suspension wurde zum Sieden erhitzt, wobei sich das Edukt löst. Nach vorsichtiger Zugabe von 25 ml (296 mmol) konz. HCl und 250 ml dest. Wasser wurde die Lösung 7½ h unter Rückfluss gehalten. Die Reaktionslösung wurde am Rotationsverdampfer bis auf ca. 100 ml eingengt, 100 ml Wasser zugegeben und vorsichtig mit 24,9 g (296 mmol) festem NaHCO₃ versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und über P₂O₅ im Exsikkator getrocknet.

Ausbeute Rohprodukt: 27,21 g (102 %)

Das Rohprodukt wurde mit CH₂Cl₂/Hexan umkristallisiert.

Ausbeute: 22,68 g (85 %)

Smp: 202 °C

¹H-NMR: (500 MHz, CDCl₃, TMS) δ [ppm] 4,09 (s, 2H, -CH₂-CN), 4,91 (s, 2H, Ar-CH₂-N=), 7,49 (t, ³J_H = 7,8 Hz, 1H, Ar-H(5)), 7,76-7,71 (m, 3H, Phthaloyl-H + Ar-H), 7,87-7,83 (m, 3H, Phthaloyl-H + Ar-H), 7,97 (s, 1H, Ar-H(2))

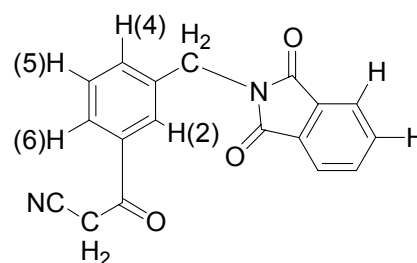
¹³C-NMR: (126 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 30,4, 40,9, 116,2, 123,6, 127,3, 128,1, 129,6, 131,9, 133,5, 135,0, 135,3, 137,9, 168,1, 189,9

MS (EI): [M⁺] bei m/z = 304, Intensität = 67%, 264 (94), 235 (88), 130 (100), 104 (57), 77 (86)

IR (in KBr): ν[cm⁻¹] 2940 (CH₂), 2261 (-C≡N), 1771, 1713 (C=O, Phthalimid), 1688 (C=O, Keto)

C,H,N:

ber.:	C: 71,05 %	H: 3,97 %	N: 9,21 %	C ₁₈ H ₁₂ N ₂ O ₃
gef.:	C: 70,81%	H: 3,90%	N: 9,41 %	M = 304,30 g/mol



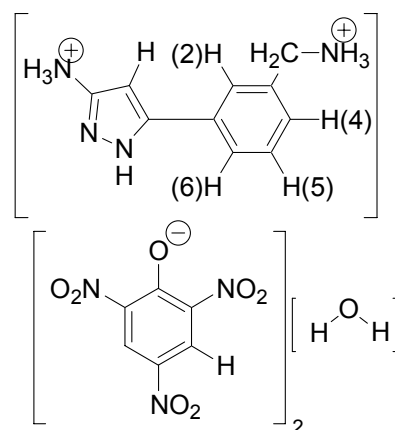
4.5.6 5-(3-Aminomethyl-phenyl)-1*H*-pyrazol-3-ylamin-Bispikrat-Monohydrat 33

1,96 g (6,44 mmol) 3-[3-(1,3-Dioxo-1,3-dihydro-isoindol-2-ylmethyl)-phenyl]-3-oxo-propionitril **86** wurden in 120 ml Ethanol, dest., gegeben. Die Suspension wurde dreimal bei ca. 100 mbar entgast, mit Argon belüftet und zum Sieden erhitzt, wobei eine klare Lösung entstand. 3,5 ml (3,6 g, 67 mmol, 10 eq) Hydrazin-Hydrat wurden zugegeben und die Lösung noch 2½ h unter Rückfluss gehalten, wobei schon nach 10 min. ein flockiger, weißer Niederschlag entstand. Der erkaltete Ansatz wurde filtriert und der Feststoff (Phthallydrazid, 1,03 g, 99 %) mit wenig Wasser gewaschen. Die Lösung wurde einrotiert, mit wenig Wasser versetzt, erneut einrotiert und über P₂O₅ getrocknet. Der Rückstand wurde in 100 ml Wasser/Methanol 1:1 aufgenommen und restliches Phthallydrazid abfiltriert (waschen mit 50 ml Wasser). Das Produkt wurde durch Zugabe von 57 ml (14,2 mmol, 2,2 eq) einer 0,25 N methanolischen Pikrinsäurelösung gefällt. Das Rohprodukt wurde durch Umkristallisation in der Mutterlauge gereinigt. Das Bisamin kristallisiert als Bispikrat-Monohydrat in Form gelber Nadeln.

Ausbeute: 3,31 g (77 %)

Smp: Zersetzung bei 210 °C

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 3,91 (br s, 3H, -CH₂-NH₃⁺), 4,10 (q, ³J_H = 5,7 Hz, 2H, Ar-CH₂-NH₃⁺), 6,39 (s, 1H, Pyrazol-CH), 7,53 (dt, ³J_H = 7,7 Hz, ³J_H = 1,5 Hz, 1H, Ar-H), 7,56 (t, ³J_H = 7,5 Hz, 1H, Pikrat-H), 7,78 (dt, ³J_H = 7,5 Hz, ³J_H = 1,6 Hz, 1H, Ar-H), 7,84 (t, ³J_H = 1,4 Hz, 1H, Ar-H(2)), 8,19 (br s, 3H, Pyrazol-NH₃⁺), 8,59 (s, 4H, Pikrat-H)



¹³C-NMR: (125 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 42,5, 93,0, 124,7, 125,6, 125,8, 127,0, 128,4, 129,8, 130,2, 135,3, 142,1, 145,7, 161,2

MS (FAB, + NBA): [M(Bisamin)+H⁺] bei m/z = 189, [Pikrat] bei m/z = -228

IR (in KBr): ν[cm⁻¹] 3350, ~3000 (br, NH₃⁺), 2893 (CH₂), 1629 (NO₂), 1565 (NO₂), 1320 (NO₂)

C₂₂H₂₀N₁₀O₁₅:
ber.: C: 39,77 % H: 3,03% N: 21,08% C₂₂H₂₀N₁₀O₁₅
gef.: C: 39,95% H: 3,06% N: 20,88% M = 664,45 g/mol

4.5.7 [3-(5-Amino-2*H*-pyrazol-3-yl)-benzyl]-carbaminsäure-*tert.*-butylester

93

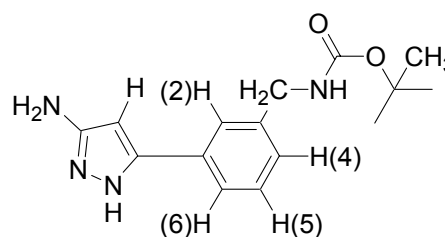
3,32 g (5 mmol) 5-(3-Aminomethyl-phenyl)-1*H*-pyrazol-3-ylamin-Bispikrat-Monohydrat **33** wurden in 20 ml *N,N*-Dimethylformamid (DMF), abs. gelöst und 5 ml Triethylamin zugegeben. Die Lösung wurde dreimal bei 30 mbar entgast und mit Argon belüftet. Unter Eiskühlung wurde 0,86 ml (0,87 g, 4 mmol, 0,8 eq) Di-*tert.*-butylpyrocarbonat, gelöst in 4 ml DMF, mit einem Perfusor über 60 min. zugetropft. Die Reaktionslösung wurde noch 80 min. bei 0 °C, dann 90 min. bei Raumtemperatur gerührt. Ein Dünnschichtchromatogramm (Laufmittel NH₃ in MeOH/CHCl₃ 1:5) zeigte, dass noch Edukt vorhanden war. Daraufhin wurde nochmals 107 µl (0,11 g, 0,1 eq) Di-*tert.*-butylpyrocarbonat bei 0 °C zugetropft, 1 h bei dieser Temperatur, dann 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde abkondensiert und das Rohprodukt über eine Kieselgelsäule (3 N NH₃ in MeOH/CHCl₃ 1:7, R_f = 0,26) gereinigt und das farblose Öl an einer Turbomolekularpumpe getrocknet.

Ausbeute: 1,16 g (80 %)

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS)

δ [ppm] 1,40 (s, 9H, Boc-CH₃), 4,14 (d, ³J_H = 6,1 Hz, 2H, Ar-CH₂-NH-),

4,79 (br s, 2H, Pyrazol-NH₂), 5,70 (s, 1H, Pyrazol-CH), 7,12 (d, ³J_H = 7,2 Hz, 1H, Ar-H(4)), 7,30 (t, ³J_H = 7,3 Hz, 1H, Ar-H(5)), 7,39 (t, ³J_H = 6,0 Hz, 1H, -CH₂-NH-CO-), 7,53-7,49 (m, 2H, Ar-H(2) + Ar-H(6)), 12,04-11,36 (br s, 1H, Pyrazol-NH)



¹³C-NMR: (126 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 28,3, 43,5, 78,0, 123,1, 123,6, 125,9, 128,6, 140,5, 156,0

MS (EI): [M⁺] bei m/z = 288, Intensität = 11%, 232 (50), 135 (21), 57 (100)

C,H,N:
ber.: C: 62,48 % H: 6,99 % N: 19,43 % C₁₅H₂₀N₄O₂
gef.: C: 62,25 % H: 6,70 % N: 19,21 % M = 288,35 g/mol

4.5.8 {3-[5-(2,2,2-Trifluoracetyl-amino)-2*H*-pyrazol-3-yl]-benzyl}-carbaminsäure-*tert.*-butylester **112**

In 10 ml Dioxan, abs. wurden 0,23 g (1,12 mmol) [3-(5-Amino-2*H*-pyrazol-3-yl)-benzyl]-

carbaminsäure-*tert.*-butylester **93** und 0,23 ml (0,17 g, 1,65 mmol, 1,5 eq) Triethylamin gelöst und im Wasserbad gekühlt. 0,24 g (1,12 mmol, 1,0 eq) Trifluoressigsäureanhydrid wurden langsam zugegeben. Nach 2h Rühren wurde das Lösungsmittel abgezogen, das verbleibende Öl in wenig Wasser aufgenommen und zweimal mit Essigsäureethylester aufgenommen. Die organische Phase wurde mit Na₂SO₄ getrocknet, das Lösungsmittel entfernt und das Produkt säulenchromatographisch gereinigt (Essigsäureethylester, R_f = 0,64).

Ausbeute: 0,24 g (56 %)

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS)

δ [ppm] 1,41 (s, 9H, Boc-CH₃),

4,18 (d, ³J_H = 5,9 Hz, 2H, Ar-

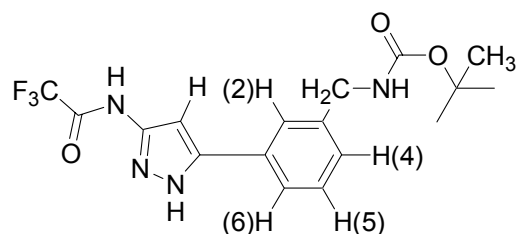
CH₂-NH-), 6,92 (s, 1H, Pyrazol-CH),

7,24 (d, ³J_H = 7,5 Hz, 1H, Ar-H(4)),

7,46-7,39 (m, 2H, Ar-CH₂-NH- + Ar-H(5)),

7,64-7,60 (m, 2H, Ar-H(2) + Ar-H(6)),

12,07 (s, 1H, -CO-NH-), 13,24 (s, 1H, Pyrazol-NH)



4.5.9 {3-[5-Acetyl-amino-2*H*-pyrazol-3-yl]-benzyl}-carbaminsäure-*tert.*-butylester **94**

In 50 ml Dioxan, abs. wurden 1,44 g (5,0 mmol) [3-(5-Amino-2*H*-pyrazol-3-yl)-benzyl]-carbaminsäure-*tert.*-butylester **93** und 1,39 ml (1,01 g, 10,0 mmol, 2 eq) Triethylamin gelöst und im Wasserbad gekühlt. 0,37 g (4,75 mmol, 0,95 eq) Acetylchlorid (frisch dest.) wurden langsam zugegeben. Nachdem die Reaktionslösung über Nacht gerührt wurde, wurde das ausgefallene Triethylammoniumchlorid abfiltriert, mit Dioxan gewaschen, und das Filtrat einrotiert. Das Regioisomerengemisch wurde säulenchromatographisch gereinigt (MeOH/Essigsäureethylester 1:9, R_f = 0,36).

Ausbeute: 1,07 g (65 %)

Smp: 182 °C

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS)

δ [ppm] 1,40 (s, 9H, Boc-CH₃), 2,02 (s, 3H, -CO-CH₃), 4,16 (d, ³J_H = 6,0

Hz, 2H, Ar-CH₂-NH-), 6,87 (s, 1H, Pyrazol-CH),

7,20 (d, ³J_H = 7,3 Hz, 1H, Ar-H(4)),

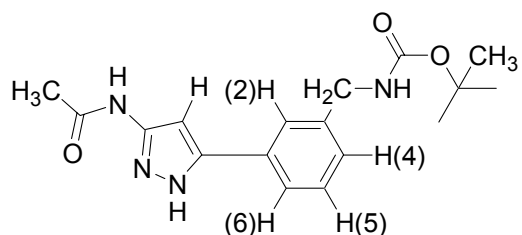
7,38 (t, ³J_H = 7,3 Hz, 1H, Ar-H(5)),

7,43 (t, ³J_H = 5,8 Hz, 1H, -CH₂-NH-CO-),

7,59-7,56 (m, 2H, Ar-H(2) + Ar-H(6)),

10,40 (br s, 1H, -CO-NH-),

12,77 (br s, 1H, Pyrazol-NH)



¹³C-NMR: (126 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 23,5, 28,6, 43,6, 78,2, 93,9, 123,3,

124,1, 127,0, 129,2, 141,3, 142,1, 148,7, 155,7, 156,2, 167,8

MS (FAB, + NBA): [M+H⁺] bei m/z = 331

IR (in KBr): ν [cm⁻¹] 3450 (Amid-NH), 3255, 2995 (CH₃, CH₂), 1701 (CO Carbamat/Amid), 1525 (CO Amid)

C,H,N: ber.: C: 58,61 % H: 6,94 % N: 16,08 % C₂₂H₂₀N₁₀O₁₅*H₂O
gef.: C: 58,66 % H: 6,78 % N: 16,23 % M = 348,40 g/mol

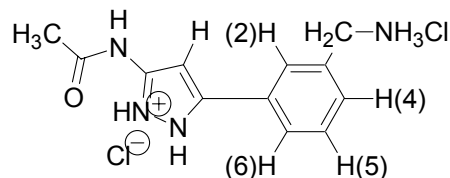
4.5.10 *N*-[5-(3-Aminomethylphenyl)-1*H*-pyrazol-3-yl]-acetamid-Bishydrochlorid **96**

1,05 g (3,2 mmol) {3-[5-Acetylamino-2*H*-pyrazol-3-yl]-benzyl}-carbaminsäure-*tert.*-butylester **94** wurden in 20 ml Dioxan, abs. gelöst und 40 ml einer 6 normalen Lösung von HCl in Dioxan wurden langsam unter Wasserkühlung zugegeben. Anschließend wurde noch eine Stunde gerührt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, 2 h mit Diethylether gerührt, erneut abfiltriert und über P₂O₅ im Membranpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute Rohprodukt: 0,72 g (75 %)

Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung in der nächsten Stufe eingesetzt.

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS)
 δ [ppm] 2,04 (s, 3H, -CO-CH₃),
4,06 (dd, ³J_H = 11,5 Hz, ³J_H = 5,6 Hz, 2H, Ar-CH₂-NH₃⁺), 6,88 (s, 1H, Pyrazol-CH), 7,46 (p, ³J_H = 5,6 Hz, 2H, Ar-H(4)+Ar-H(5)), 7,77 (d, ³J_H = 6,9 Hz, 1H, Ar-H(6)), 7,90 (s, 1H, Ar-H(2)), 8,51 (s, 3H, Ar-CH₂-NH₃⁺), 11,08 (s, 1H, -CO-NH-)



4.5.11 *N*-{5-[3-(Imidazolidin-2-ylidenaminomethyl)-phenyl]-1*H*-pyrazol-3-yl}-acetamid-Hydropikrat**98***HPik

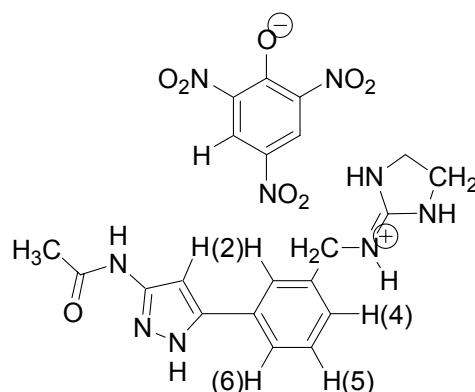
0,72 g (2,7 mmol) *N*-[5-(3-Aminomethylphenyl)-1*H*-pyrazol-3-yl]-acetamid-Bishydrochlorid **96** wurden über Nacht mit 0,41 g (2,7 mmol, 1 eq) 4,5-Dihydro-1*H*-imidazol-2-sulfonsäure in 30 ml Triethylamin/Methanol/Wasser 1:1:1 suspendiert, wobei eine klare Lösung entstand. Die Lösung wurde dreimal mit Ethanol/Wasser einrotiert, danach mit 8,1 ml (8,1 mmol, 3

eq) 1N Salzsäure versetzt und erneut dreimal mit Ethanol/Wasser einrotiert. Nach Lösen des Rückstandes in Ethanol/Wasser wurden 11 ml (2,7 mmol, 1 eq) einer 0,25 normalen Lösung von Pikrinsäure in Methanol zugesetzt. Der gelbe Niederschlag wurde abfiltriert und mehrmals aus Wasser/Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 0,63 g (44 %)

Smp: 207 °C (Zersetzung)

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 2,03 (s, 3H, -CO-CH₃), 3,63 (s, 4H, -NH-CH₂-CH₂-), 4,43 (d, ³J_H = 6,0 Hz, 2H, -CH₂-NH-), 6,86 (s, 1H, Pyrazol-CH), 7,28 (d, ³J_H = 7,5 Hz, 1H, Ar-H(4)), 7,46 (t, ³J_H = 8,0 Hz, 1H, Ar-H(5)), 7,66-7,72 (m, 2H, Ar-H(2)+(6)), 8,61 (s, 2H, Pikrat-H), 10,50 (s, 1H, CH₃-CO-NH)



¹³C-NMR: (126 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 23,4, 42,9, 45,7, 93,7, 124,2, 124,5, 124,7, 125,6, 127,2, 129,6, 130,5, 138,3, 142,2, 142,7, 147,6, 159,8, 161,2, 167,9

MS (FAB, + NBA): [M+H⁺] bei m/z = 299

IR (in KBr): ν[cm⁻¹] 3235 (br, NH), 1673 (CO Amid), 1636 (NO₂), 1561 (NO₂)

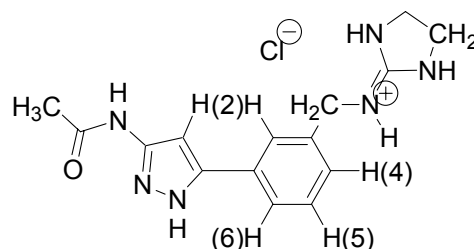
C,H,N: ber.: C: 47,82 % H: 4,01 % N: 23,90 % C₂₁H₂₁N₉O₈
gef.: C: 47,60 % H: 3,75 % N: 24,11 % M = 527,45 g/mol

4.5.12 N-{5-[3-(Imidazolidin-2-ylidenaminomethyl)-phenyl]-1H-pyrazol-3-yl}-acetamid-Hydrochlorid 98*HCl

Das Hydropikrat 98*HPik wurde analog 58*HPik (siehe 4.3.6, S. 87) in sein Hydrochlorid überführt.

Smp: 234 °C

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 2,03 (s, 3H, -CO-CH₃), 3,64 (s, 4H, -NH-CH₂-CH₂-), 4,44 (d, ³J_H = 6,1 Hz, 2H, -CH₂-NH-), 6,86 (s, 1H, Pyrazol-CH), 7,28 (d, ³J_H = 7,4 Hz, 1H, Ar-H(4)), 7,46 (t, ³J_H = 8,0



Hz, 1H, Ar-H(5)), 7,66-7,72 (m, 2H, Ar-H(2)+(6)), 10,55 (s, 1H, CH₃-CO-NH-)

4.5.13 {3-[5-Methacrylamino-2*H*-pyrazol-3-yl]-benzyl}-carbaminsäure-*tert*-butylester **95**

In 100 ml Tetrahydrofuran (THF), abs. wurden 4,24 g (14,7 mmol) [3-(5-Amino-2*H*-pyrazol-3-yl)-benzyl]-carbaminsäure-*tert*-butylester **93** und 2,49 ml (1,79 g, 17,6 mmol, 1,2 eq) Triethylamin gelöst. Nach dreimaligen "Evakuieren" sowie Belüften mit Argon wurde die Lösung auf -78°C gekühlt (Aceton/Trockeneisbad). Bei dieser Temperatur wurden 1,350 ml (1,46 g, 0,95 eq) Methacryloylchlorid (frisch destilliert), gelöst in 8 ml THF, abs. mit dem Perfusor über ca. 60 min. zugetropft. Die Reaktionslösung wurde über Nacht gerührt, wobei sie auf Raumtemperatur erwärmt wurde. Der Ansatz wurde einrotiert und die Regioisomere säulenchromatographisch getrennt (Aceton/Chloroform 1:2, R_f = 0,18).

Ausbeute: 3,48 g (69 %)

Smp: 168 °C (Zersetzung)

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS)

δ [ppm] 1,41 (s, 9H, Boc-CH₃),

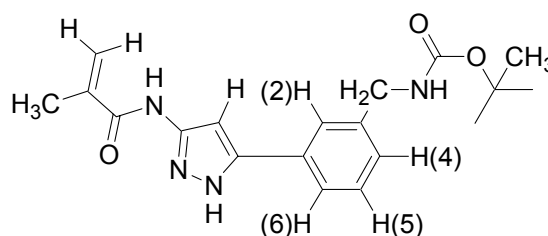
1,96 (s, 3H, -(C=CH₂)-CH₃), 4,18 (d, ³J_H = 6,1 Hz, 2H, Ar-CH₂-NH-),

5,49 (s, 1H, =CH₂), 5,89 (s, 1H, =CH₂), 6,95 (s, 1H, Pyrazol-CH), 7,22 (d,

³J_H = 7,1 Hz, 1H, Ar-H(4)), 7,40 (t, ³J_H = 7,5 Hz, 1H, Ar-H(5)), 7,46 (t, ³J_H

= 6,2 Hz, 1H, -CH₂-NH-CO-), 7,62-7,59 (m, 2H, Ar-H(2) + Ar-H(6)),

10,34 (br s, 1H, -CO-NH-), 12,90 (br s, 1H, Pyrazol-NH)



¹³C-NMR: (126 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 19,1, 28,6, 43,7, 78,2, 94,7, 120,8, 123,4, 124,2, 127,0, 129,3, 129,6, 139,9, 141,3, 142,0, 148,5, 156,2, 166,2

MS (EI): [M⁺] bei m/z = 356, Intensität = 29%, 300 (100), 255 (51), 69 (64), 41 (78)

IR (in KBr): ν [cm⁻¹] 3429 (Amid-NH), 3263, 2979 (CH₂), 1697 (CO Carbamat/Amid), 1522 (CO Amid)

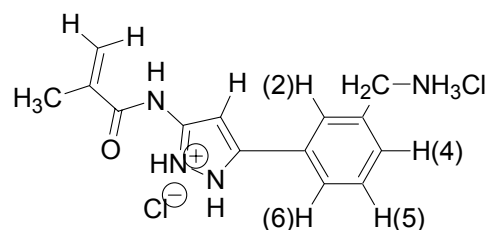
C,H,N:
ber.: C: 64,03 % H: 6,79 % N: 15,72 % C₁₉H₂₄N₄O₃
gef.: C: 64,15 % H: 6,69 % N: 15,68 % M = 356,42 g/mol

4.5.14 *N*-[5-(3-Aminomethylphenyl)-1*H*-pyrazol-3-yl]-methacrylamid-Bis-hydrochlorid **97**

Die Substanz wurde aus **95** analog **96** hergestellt.

Ausbeute Rohprodukt: 91 %

Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung in der nächsten Stufe eingesetzt.



¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 1,96 (s, 3H, -(C=CH₂)-CH₃), 4,07 (q, ³J_H = 5,7 Hz, 2H, Ar-CH₂-NH₃⁺), 5,53 (s, 1H, =CH₂), 5,92 (s, 1H, =CH₂), 6,93 (s, 1H, Pyrazol-CH), 7,51-7,45 (m, 2H, Ar-H(4)+Ar-H(5)), 7,79 (dt, ³J_H = 6,1 Hz, ³J_H = 2,1 Hz, 1H, Ar-H(6)), 7,93 (s, 1H, Ar-H(2)), 8,55 (br s, 3H, -CH₂-NH₃⁺), 10,51 (br s, 1H, -CO-NH-)

¹³C-NMR: (126 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 19,0, 42,4, 94,3, 121,2, 124,9, 126,3, 128,7, 129,5, 130,9, 135,2, 139,7, 143,5, 146,4, 166,1

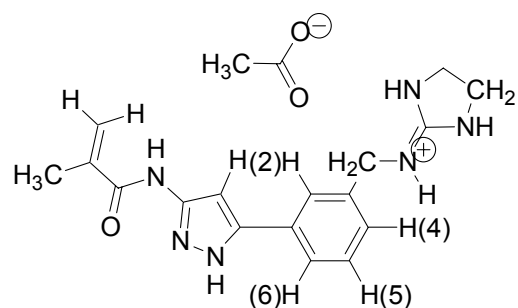
4.5.15 *N*-{5-[3-(Imidazolidin-2-ylidenaminomethyl)-phenyl]-1*H*-pyrazol-3-yl}-methacrylamid-Hydroacetat **101***HOAc

165,9 mg (0,504 mmol) *N*-[5-(3-Aminomethylphenyl)-1*H*-pyrazol-3-yl]-methacrylamid-Bis-hydrochlorid **97** und 78,6 mg (0,52 mmol, 1,04 eq) 4,5-Dihydro-1*H*-imidazol-2-sulfonsäure wurden in 20 ml Methanol suspendiert und auf -78°C gekühlt (Aceton/Trockeneisbad). 1 ml (1 mmol, 2 eq) einer 1N methanolischen Kalilauge wurde mit einem Perfusor über 60 min. zutropft, noch eine Stunde gerührt, das Kühlbad entfernt und über Nacht gerührt. Die Lösung wurde mit 1 ml (2 eq) einer 1N Salzsäure versetzt, am Rotationsverdampfer auf ca. 1 ml Volumen eingengt (Wasserbadtemperatur < 40°C) und in eine RP8-Säule (310mm×25mm, RP8, 40-63 μm) gegeben. Das Produkt wurde mit Methanol/0,25 N Ammoniumacetat in Wasser 1:1 (R_f(RP18) = 0,20) und einem Flow von 2 ml/min eluiert. Die produktenthaltenden Fraktionen wurden vereinigt, am Rotationsverdampfer weitestgehend eingengt und gefriergetrocknet.

Ausbeute: 137 mg (71 %)

Smp: Hygroskopisch

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 1,75 (s, 3H, CH₃-COO-),



1,95 (s, 3H, $-(C=CH_2)-CH_3$), 3,57 (s, 4H, Imidazolidin- CH_2 -), 4,38 (s, 2H, Ar- CH_2-NH^+ -), 5,50 (s, 1H, $=CH_2$), 5,91 (s, 1H, $=CH_2$), 6,87 (s, 1H, Pyrazol- CH), 7,24 (d, $^3J_H = 7,5$ Hz, 1H, Ar- $H(4)$), 7,42 (t, $^3J_H = 7,6$ Hz, 1H, Ar- $H(5)$), 7,65 (d, $^3J_H = 7,9$ Hz, 1H, Ar- $H(6)$), 7,73 (s, 1H, Ar- $H(2)$)

^{13}C -NMR: (126 MHz, DMSO- D_6 , TMS) δ [ppm] 19,1, 24,3, 42,8, 45,5, 93,9, 121,0, 124,1, 124,3, 126,8, 129,4, 138,7, 139,8, 160,9, 166,0, 175,6

MS (FAB, + NBA): $[M+H^+]$ bei $m/z = 325$

4.5.16 N-{5-[3-(Imidazolidin-2-ylidenaminomethyl)-phenyl]-1H-pyrazol-3-yl}-methacrylamid-Hydrochlorid 101*HCl

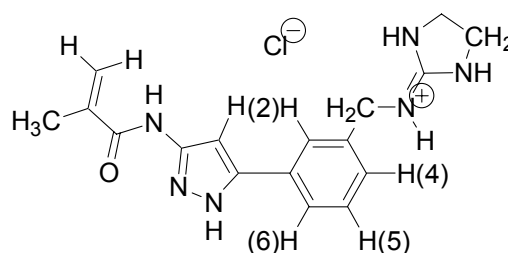
70,1 mg des Acetates **101***HOAc wurden Methanol gelöst und auf eine Ionenaustauscher-Säule, Amberlite IRA-400 (mit Chlorid-Ionen beladen, methanolfeucht), aufgetragen und mit Methanol eluiert. Die produktthaltigen, farblosen Fraktionen wurden vereinigt und das Lösungsmittel im Hochvakuum entfernt.

Ausbeute: 98%

Smp: Hygroskopisch

1H -NMR: (500 MHz, DMSO- D_6 , TMS)

δ [ppm] 1,96 (s, 3H, $-(C=CH_2)-CH_3$), 3,62 (s, 4H, Imidazolidin- CH_2 -), 4,46 (d, $^3J_H = 6,3$ Hz, 2H, Ar- CH_2-NH^+ -), 5,52 (s, 1H, $=CH_2$), 5,90 (s, 1H, $=CH_2$), 6,89 (s, 1H, Pyrazol- CH), 7,29 (d, $^3J_H = 7,6$ Hz, 1H, Ar- $H(4)$), 7,46 (t, $^3J_H = 7,7$ Hz, 1H, Ar- $H(5)$), 7,70 (d, $^3J_H = 7,9$ Hz, 1H, Ar- $H(6)$), 7,72 (s, 1H, Ar- $H(2)$), 8,86 (t, $^3J_H = 6,3$ Hz, 1H, Ar- CH_2-NH^+ -), 10,43 (br s, 1H, $-CO-NH-$)

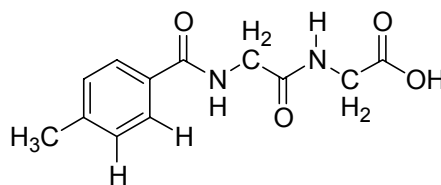


4.6 Synthese der Dipeptid-Derivate

4.6.1 Allgemeine Arbeitsvorschrift: *p*-Toluoylierung der Dipeptide

30 mmol des Dipeptides wurden in 60 ml unter Zugabe von 30 ml 1N Natronlauge gelöst und in einem Eisbad gekühlt. 4,64 g (30 mmol, 1 eq) *p*-Toluoylchlorid und 30 ml 1N Natronlauge wurden über 90 min. parallel zur der Lösung getropft. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur erwärmt, noch 2 h gerührt und dann mit 1N Natronlauge auf pH = 10 gebracht und mit Diethylether ausgeschüttelt. Die wässrige Phase wurde abgetrennt, und mit einem Pressluftstrom restliches Lösungsmittel entfernt. Anschließend wurde das Rohprodukt durch langsames Zutropfen konz. Salzsäure gefällt, wobei ein pH von 2 nicht unterschritten wurde. Das Rohprodukt wurde abgenutscht, über P₂O₅ getrocknet und aus Wasser/Ethanol umkristallisiert.

4.6.2 *N-p*-Toluoyl-glycyl-glycin 113a



Ausbeute: 73 %

Smp: 234 °C

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 2,36 (s, 3H, -CH₃), 3,78 (d, ³J_H = 5,8 Hz, 2H, -NH-CH₂-COOH), 3,90 (d, ³J_H = 5,9 Hz, 2H, Ar-CONH-CH₂-NH-), 7,28 (d, ³J_H = 7,9 Hz, 2H, Ar-H), 7,80 (d, ³J_H = 8,1 Hz, 2H, Ar-H), 8,19 (t, ³J_H = 5,7 Hz, 1H, -CO-NH-CH₂-COOH), 8,69 (t, ³J_H = 5,9 Hz, 1H, Ar-CO-NH-), 12,56 (br s, 1H, -COOH)

¹³C-NMR: (126 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 21,3, 41,0, 42,7, 127,7, 129,1, 131,6, 141,6, 166,7, 169,8, 171,5

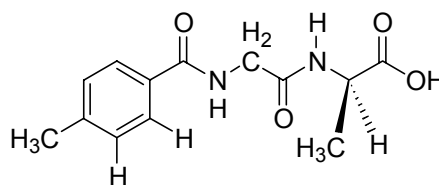
MS (EI): [M⁺] bei m/z = 250, Intensität = 3%, 149 (36), 119 (100), 91 (22)

IR (in KBr): ν [cm⁻¹] 3349 (N-H), 2922 (CH₃, CH₂), 1723 (C=O Carbonsäure), 1672 (C=O Amid), 1619 (C=C Aromat), 1560 (C=O Amid)

C,H,N:
ber.: C: 57,59% H: 5,64 % N: 11,19 % C₁₂H₁₄N₂O₄
gef.: C: 57,64% H: 11,19 % N: 11,09 % M = 250,25 g/mol

4.6.3 *N-p*-Toluoyl-glycyl-*L*-alanin 114aL

Ausbeute: 64 %
Smp: 219 °C



¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 1,29 (d, ³J_H = 7,2 Hz, 3H, -NH-CH(CH₃)CO-), 2,35 (s, 3H, Ar-CH₃), 3,87 (dd, ³J_H = 16,4 Hz, ³J_H = 6,0 Hz, 1H, -NH-CH₂-CO-), 3,94 (dd, ³J_H = 16,5 Hz, ³J_H = 5,9 Hz, 1H, -NH-CH₂-CO-), 4,25 (dt, ³J_H = 7,3 Hz, ³J_H = 7,3 Hz, 1H, -NH-CH(CH₃)CO-), 7,28 (d, ³J_H = 8,0 Hz, 2H, Ar-H), 7,79 (d, ³J_H = 8,1 Hz, 2H, Ar-H), 8,21 (d, ³J_H = 7,2 Hz, 1H, -CH₂-NH-CO-), 8,61 (t, ³J_H = 6,0 Hz, 1H, Ar-CO-NH-), 12,59-12,57 (br s, 1H, -COOH)

¹³C-NMR: (126 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 17,7, 21,3, 42,5, 47,8, 127,7, 129,1, 131,6, 141,5, 166,6, 169,1, 174,4

MS (EI): [M⁺] bei m/z =264, Intensität = 1%, 149 (45), 119 (100), 91 (22)

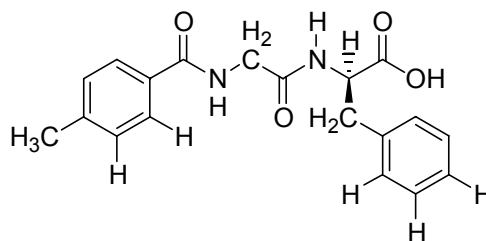
IR (in KBr): ν [cm⁻¹] 3360, 3313 (N-H), 2984 (CH₃, CH₂), 1732 (C=O Carbonsäure), 1657 (C=O Amid), 1625 (C=C Aromat), 1553 (C=O Amid)

Drehwert: [α]_D²⁵ = -4,0° (c = 1,0 in MeOH)

C,H,N: ber.: C: 59,08% H: 6,10 % N: 10,60 % C₁₃H₁₆N₂O₄
 gef.: C: 59,18% H: 6,03 % N: 10,39 % M = 264,28 g/mol

4.6.4 *N-p*-Toluoyl-glycyl-*L*-phenylalanin 110aL

Ausbeute: 73 %
Smp: 177 °C



¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 2,36 (s, 3H, Ar-CH₃), 2,90 (dd, ³J_H = 13,7 Hz, ³J_H = 8,7 Hz, 1H, Phe-β-CH), 3,05 (dd, ³J_H = 13,7 Hz, ³J_H = 5,0 Hz, 1H, Phe-β-CH), 3,82 (dd, ³J_H = 16,5 Hz, ³J_H = 5,9 Hz, 1H, Gly-α-CH), 3,90 (dd, ³J_H = 16,5 Hz, ³J_H = 6,1 Hz, 1H, Gly-α-CH), 4,45 (ddd, ³J_H = 8,3 Hz, ³J_H = 8,3 Hz, ³J_H = 5,0 Hz, 1H, Phe-α-CH), 7,26-7,16 (m, 5H, Ph-H), 7,28 (d, ³J_H = 7,9 Hz, 2H, Ar-H), 7,77 (d, ³J_H = 8,0 Hz, 2H, Ar-H), 8,14 (d, ³J_H = 8,0 Hz,

^1H , Phe-NH), 8,59 (t, $^3J_{\text{H}} = 6,0$ Hz, 1H, Gly-NH), 12,78 (br s, 1H, -COOH)

^{13}C -NMR: (126 MHz, DMSO- D_6 , TMS) δ [ppm] 21,3, 37,2, 42,6, 53,8, 126,8, 127,7, 128,5, 129,1, 129,5, 131,6, 137,7, 141,5, 166,6, 169,3, 173,1

MS (EI): $[\text{M}^+]$ bei $m/z = 340$, Intensität = 4%, 176 (40), 148 (28), 119 (100), 91 (30)

IR (in KBr): ν [cm^{-1}] 3434, 3367 (N-H), 2947 (CH_3 , CH_2), 1729 (C=O Carbonsäure), 1669 (C=O Amid), 1639 (C=C Aromat), 1543 (C=O Amid)

Drehwert: $[\alpha]^{25}_{\text{D}} = -6,1^\circ$ ($c = 1,0$ in MeOH)

$\text{C}_x\text{H}_y\text{N}_z$:	ber.:	C: 67,05 %	H: 5,92 %	N: 8,23 %	$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4$
	gef.:	C: 67,01%	H: 5,74 %	N: 8,41 %	$M = 340,37$ g/mol

4.6.5 *N-p*-Toluoyl-glycyl-*DL*-phenylalanin 110aDL

Ausbeute: 81 %

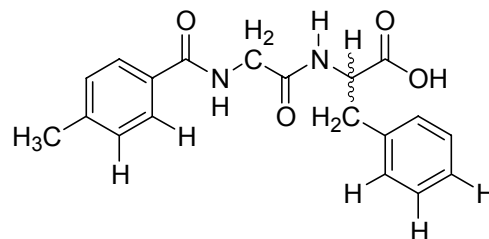
Smp: 215 °C

^1H -NMR: entspricht 110aL

^{13}C -NMR: entspricht 110aL

MS (EI): $[\text{M}^+]$ bei $m/z = 340$, Intensität = 8%, 176 (25), 148 (36), 119 (100), 91 (34), 44 (17)

$\text{C}_x\text{H}_y\text{N}_z$:	ber.:	C: 67,05 %	H: 5,92 %	N: 8,23 %	$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4$
	gef.:	C: 66,79%	H: 5,87 %	N: 8,14 %	$M = 340,37$ g/mol



4.6.6 Allgemeine Arbeitsvorschrift: Darstellung der *N*-Toluoyldipeptid-carbonsäuren-Natriumsalze

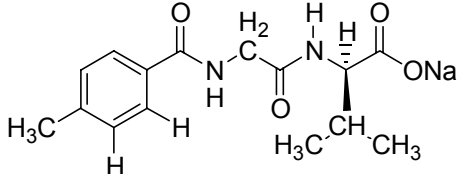
3 mmol der *N*-Toluoyldipeptidcarbonsäure wurden in MeOH weitestgehend gelöst und schließlich durch Zutropfen von 2,7 ml (2,7 mmol, 0,9 eq) einer 1N Natronlauge gelöst. Zu

der Lösung wurden 30 ml dest. Wasser und 30 ml Essigsäureethylester gegeben und die Phasen nach Schütteln getrennt. Die wässrige Phase wurde noch zweimal mit je 30 ml Essigsäureethylester extrahiert, danach am Rotationsverdampfer weitestgehend von dem Wasser befreit, mit 2-propanol versetzt, erneut einrotiert und der Rückstand über Nacht über P₂O₅ getrocknet. Das Rohprodukt wurde mit Methanol/Essigsäureethylester umkristallisiert.

4.6.7 *N-p*-Toluoyl-glycyl-*L*-valin-Natriumsalz 114cL

Ausbeute: 87 %

Smp: 274 °C

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS)  δ [ppm] 0,78 (d, ³J_H = 6,9 Hz, 3H, Val-CH₃), 0,79 (d, ³J_H = 6,9 Hz, 3H, Val-CH₃), 2,09-1,99 (m, 1H, Val-β-CH), 2,35 (s, 3H, -CH₃), 3,93-3,80 (m, 3H, Gly-α-CH+Val-α-CH), 7,27 (d, ³J_H = 8,1 Hz, 2H, Ar-H), 7,37 (d, ³J_H = 8,0 Hz, 1H, Val-NH), 7,80 (d, ³J_H = 8,0 Hz, 2H, Ar-H), 8,96 (t, ³J_H = 5,9 Hz, 1H, Gly-NH-)

¹³C-NMR: (126 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 18,5, 20,0, 21,3, 31,5, 43,5, 59,4, 127,7, 129,2, 131,6, 141,5, 166,7, 168,2, 174,2

IR (in KBr): ν [cm⁻¹] 3261 (br, N-H), 3065 (C-H, Aromat), 2959 (CH₃, CH₂), 1670 (C=O Amid), 1650 (C=O Carboxylat), 1588

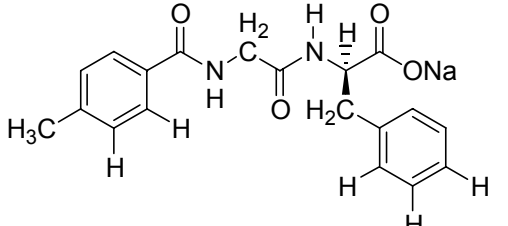
Drehwert: [α]²⁵_D = -4,1° (c = 1,0 in MeOH)

C,H,N: ber.: C: 57,32 % H: 6,09 % N: 8,91 % C₁₅H₁₉N₂NaO
gef.: C: 57,18 % H: 6,12 % N: 8,66 % M = 314,31 g/mol

4.6.8 *N-p*-Toluoyl-glycyl-*L*-phenylalanin Natriumsalz 110cL

Ausbeute: 88 %

Smp: 293 °C

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS)  δ [ppm] 2,34 (s, 3H, Ar-CH₃), 2,91 (dd, ³J_H = 13,2 Hz, ³J_H = 5,7 Hz, 1H, Phe-β-CH), 3,04 (dd, ³J_H = 13,2 Hz, ³J_H = 5,0 Hz, 1H, Phe-β-CH), 3,74 (dd, ³J_H = 16,2 Hz, ³J_H = 5,8 Hz, 1H, Gly-α-CH), 3,88 (dd, ³J_H

= 16,2 Hz, $^3J_{\text{H}} = 6,0$ Hz, 1H, Gly- α -CH), 4,07 (dd, $^3J_{\text{H}} = 12,0$ Hz, $^3J_{\text{H}} = 5,6$ Hz, 1H, Phe- α -CH), 7,15-7,05 (m, 5H, Ph-H), 7,26 (d, $^3J_{\text{H}} = 7,9$ Hz, 2H, Ar-H), 7,43 (d, $^3J_{\text{H}} = 6,9$ Hz, 1H, Phe-NH-), 7,78 (d, $^3J_{\text{H}} = 8,1$ Hz, 2H, Ar-H), 8,85 (t, $^3J_{\text{H}} = 5,9$ Hz, 1H, Gly-NH-)

^{13}C -NMR: (126 MHz, DMSO- D_6 , TMS) δ [ppm] 21,3, 37,9, 43,4, 55,6, 125,8, 127,7, 127,9, 129,1, 130,0, 131,5, 139,5, 141,5, 166,7, 168,2, 173,5

IR (in KBr): ν [cm^{-1}] 3325 (br, N-H), 3250 (br, N-H), 3064 (C-H, Aromat), 2967 (CH_3 , CH_2), 1670 (C=O Amid), 1649 (C=O Carboxylat), 1591

Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -6,5^\circ$ (c = 1,0 in MeOH)

C,H,N: ber.: C: 62,98 % H: 5,29 % N: 7,73 % $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{NaO}_4$
gef.: C: 62,90 % H: 5,05 % N: 7,78 % M = 362,36 g/mol

4.6.9 Allgemeine Arbeitsvorschrift: Darstellung der N-Toluoyl-dipeptid-carbonsäure-Tetrabutylammoniumsalze

Eine Stammlösung des entsprechenden Tetrabutylammonium-Salzes wurde erhalten, indem eine definierte Menge des N-Toluoyldipeptides in einem Maßkolben eingewogen, in Methanol, p. A., gelöst und mit exakt einem Äquivalent (Eppendorf-Pipette) einer ca. 1 N Stammlösung von Tetrabutylammoniumhydroxid in Methanol versetzt wurde. Die genaue Konzentration dieser Lösung wurde zuvor durch Titration eines aliquoten Teiles mit 0,01 N Salzsäure gegen Thymolblau bestimmt. Die Stammlösungen der N-Toluoyl-dipeptidcarbonsäure-Tetrabutylammoniumsalze waren typischerweise etwa 20 mM.

4.7 Sonstige Synthesen

4.7.1 Natrium[Tetrakis-(3,5-bistrifluormethylphenyl)-borat] 111

111 wurde nach einer Variation einer Literaturvorschrift^[17] synthetisiert.

Unter Schutzgasatmosphäre wurden 0,97 g (40 mmol) Magnesiumspäne in 30 ml Diethylether, abs. vorgelegt und 9,67 g (33 mmol) 1-Brom-3,5-bis(trifluormethyl)benzol in 20 ml Diethylether, abs. bis zum Anspringen der Reaktion langsam, dann zügig, zugetropft. Die dunkel gefärbte Lösung wurde noch 1 ½ h unter Rückfluss gehalten, dann 0,84 g (5,91 mmol) Bortrifluorid-Diethyletherat in 10 ml Ether, abs. innerhalb von 10 min. zugetropft. Die Reaktionslösung wurde 4 h gekocht, dann ca. 36 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde auf eine Lösung von 15 g Na₂CO₃ in 200 ml Wasser gegeben. Nach 1 h Rühren wurde die organische Phase abgetrennt, das ausgefallene MgCO₃ abfiltriert und mit 50 ml Ether gewaschen. Die wässrige Phase wurde zweimal mit 75 ml Ether extrahiert, alle organischen Phasen vereinigt, mit Na₂SO₄ getrocknet und zweimal mit je 2,5 g Aktivkohle gerührt und diese abfiltriert, wobei sich die Lösung aufhellt. Beim Einrotieren der Lösung und aufnehmen des Rückstandes in CHCl₃ kristallisiert das Produkt in feinen farblosen Kristallen aus. Nach Waschen dieser mit wenig CHCl₃/Hexan 1:1 und Trocknen im Hochvakuum sind diese elementaranalysenrein.

Ausbeute: 4,09 g (77 %)

Smp: 324 °C

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆/CDCl₃ 1:1, TMS) δ [ppm]
8,86 (m, 4H, Ar-H(4)), 9,40 (m, 8H, Ar-H(2))

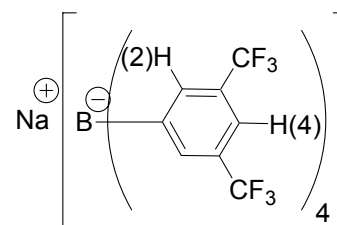
¹³C-NMR: (125 MHz, DMSO-D₆/CDCl₃ 1:1, TMS) δ [ppm]
117,4 (m, ≡C-H(4)), 122,1 (q, ¹J_F = 272 Hz, -C-F₃), 128,8 (qq, J = 32 Hz, J = 3 Hz, ≡C-CF₃), 134,4 (m, ≡C-H(2)), 161,4 (q, ¹J_B = 50 Hz, ≡C-B)

¹⁹F-NMR: (470 MHz, DMSO-D₆/CDCl₃ 1:1, CFCl₃) δ [ppm] -62,4

MS (FAB, + NBA): [Anion] bei m/z = -863

IR (in KBr): ν [cm⁻¹] 1144 (C-F)

C,H,N: ber.: C: 42,51 % H: 1,56 % C₃₂H₁₄BF₂₄NaO
gef.: C: 42,76 % H: 1,85 % M = 904,22 g/mol



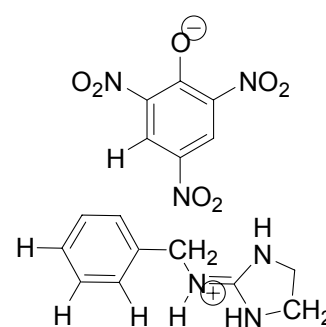
4.7.2 Benzyl-imidazolidin-2-ylidenamin-Hydropikrat 100b

1,07 g (10 mmol) Benzylamin wurden über Nacht mit 1,50 g (10 mmol, 1 eq) 4,5-Dihydro-1*H*-imidazol-2-sulfonsäure in 30 ml Triethylamin/Methanol/Wasser 1:1:1 suspendiert, wobei eine klare Lösung entstand. Die Lösung wurde dreimal mit Ethanol/Wasser einrotiert, danach mit 30 ml (30 mmol, 3 eq) 1N methanolischer Kalilauge versetzt und weitestgehend einrotiert. 40 ml (10 mmol, 1 eq) einer 0,25 normalen Lösung von Pikrinsäure in Methanol wurden zugegeben, der gelbe Niederschlag abfiltriert und das Rohprodukt aus Wasser/Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 3,18 g (79 %)

Smp: 150 °C (Lit.: 150,5 - 151,5 °C ^[120])

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 3,62 (s, 4H, Imidazolidin-CH₂-), 4,38 (s, 2H, Ar-CH₂-NH⁺-), 7,41-7,30 (m, 5H, Ph-H), 8,52-8,39 (br s, 3H, Ar-CH₂-NH⁺- + Imidazolidin-NH-), 8,60 (s, 2H, Pikrat-H)



MS (EI): [M-H⁺] bei m/z = 175, Intensität = 100, 106 (34), 91 (58)

IR (in KBr): ν [cm⁻¹] 3343 (NH), 3183 (br, N-H), 1675 (C=N), 1602 (C=C)

<u>C,H,N:</u>	ber.:	C: 47,53 %	H: 3,99 %	N: 20,78 %	C ₁₆ H ₁₆ N ₆ O ₇
	gef.:	C: 47,70 %	H: 3,92 %	N: 20,56 %	M = 404,33 g/mol

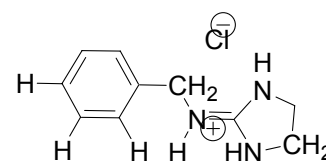
4.7.3 Benzyl-imidazolidin-2-ylidenamin-Hydrochlorid 100c

2,00 g (4,9 mmol) Benzyl-imidazolidin-2-ylidenamin-Hydropikrat **100b** wurde in 50 ml methanol durch Erwärmen gelöst und auf eine Ionenaustauscher-Säule (IRA-400, gereinigt und mit Chlorid-Ionen beladen und neutral gewaschen sowie mit Methanol gespült) aufgetragen und mit Methanol, dest. eluiert. Das Lösungsmittel wurde abrotiert, das verbleibende Öl in ca. 5 ml Methanol, dest., gelöst und das Hydrochlorid durch Zugabe von Essigsäureethylester zur Kristallisation gebracht. Die schuppenartigen Kristalle wurden mit Essigsäureethylester gewaschen und über P₂O₅ getrocknet.

Ausbeute: 0,90 g (87 %)

Smp: 202 °C (Lit.^[121]: 186-190 °C)

$^1\text{H-NMR}$: (500 MHz, DMSO- D_6 , TMS) δ [ppm] 3,58 (s, 4H, Imidazolidin- CH_2 -), 4,47 (s, 2H, Ph- CH_2 -NH-), 7,42-7,24 (m, 5H, Ph- H), 8,90 (br s, 3H, Ph- CH_2 - NH^+ - +Imidazolidin-NH-)



$^{13}\text{C-NMR}$: (126 MHz, DMSO- D_6 , TMS) δ [ppm] 42,8, 45,7, 127,7, 127,8, 128,8, 137,7, 159,8

IR (in KBr): ν [cm^{-1}] 3289, 3127 (N-H), 1667 (C=N), 1607 (C=C)

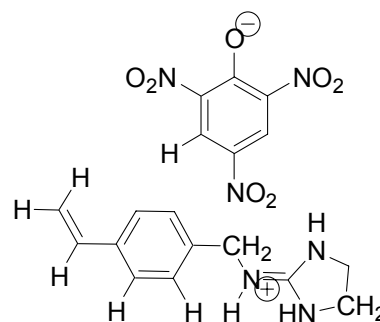
C,H,N: ber.: C: 56,74% H: 6,67% N: 19,85% $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{ClN}_3$
gef.: C: 56,83% H: 6,62% N: 19,89% $M = 211,69 \text{ g/mol}$

4.7.4 Imidazolidin-2-yliden-(4-vinylbenzyl)-amin-Hydropikrat 104*HPik

0,78 g (5,85 mmol) 4-Vinylbenzylamin wurden über Nacht mit 0,97 g (6,44 mmol, 1,1 eq) 4,5-Dihydro-1H-imidazol-2-sulfonsäure in 30 ml Methanol suspendiert, wobei eine klare Lösung entstand. Die Lösung wurde mit 10 ml Wasser und 25 ml (6,25 mmol, 1,07 eq) einer 0,25 normalen Lösung von Pikrinsäure in Methanol versetzt, der gelbe Niederschlag abfiltriert und das Rohprodukt aus Wasser/Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 1,86 g (74 %)
Smp: 154 °C (Zersetzung)

$^1\text{H-NMR}$: (500 MHz, DMSO- D_6 , TMS) δ [ppm] 3,61 (s, 4H, Imidazolidin- CH_2 -), 4,36 (d, $^3J_{\text{H}} = 6,3 \text{ Hz}$, 2H, Ar- CH_2 - NH^+ -), 5,25 (dd, $^3J_{\text{H}} = 11,0 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H}} = 0,7 \text{ Hz}$, 1H, *cis*- $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5,82 (dd, $^3J_{\text{H}} = 17,7 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H}} = 0,8 \text{ Hz}$, 1H, *trans*- $\text{CH}=\text{CH}_2$), 6,72 (dd, $^3J_{\text{H}} = 17,7 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H}} = 10,9 \text{ Hz}$, 1H, - $\text{CH}=\text{CH}_2$), 7,28 (d, $^3J_{\text{H}} = 8,2 \text{ Hz}$, 2H, Ar- H), 7,47 (d, $^3J_{\text{H}} = 8,1 \text{ Hz}$, 2H, Ar- H), 7,88 (br s, 1H, Imidazolidin-NH-), 8,53 (br s, 1H, Imidazolidin-NH-), 8,60 (s, 2H, Pikrat- H), 8,64 (t, $^3J_{\text{H}} = 6,2 \text{ Hz}$, 1H, Ar- CH_2 - NH^+ -)



$^{13}\text{C-NMR}$: (126 MHz, DMSO- D_6 , TMS) δ [ppm] 42,9, 45,5, 114,8, 124,7, 125,6, 126,6, 127,9, 136,5, 136,9, 137,0, 142,2, 159,7, 161,2

MS (FAB, + NBA): [Base+ H^+] bei $m/z = 202$

IR (in KBr): ν [cm⁻¹] 3361 (NH), 3187 (br, N-H), 1678 (C=N), 1632 (NO₂), 1600 (C=C), 1566 (NO₂), 1322 (NO₂)

C,H,N: ber.: C: 50,23 % H: 4,22 % N: 19,53 % C₁₈H₁₈N₆O₇
gef.: C: 50,33 % H: 4,24 % N: 19,21 % M = 430,37 g/mol

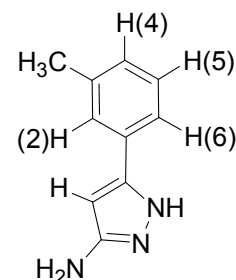
4.7.5 5-*m*-Tolyl-1*H*-pyrazol-3-ylamin **109**

0,36 g (2,26 mmol) 3-Oxo-3-*m*-tolyl-propionitril **79** wurden in 10 ml Ethanol gelöst und die Lösung dreimal durch Anlegen eines Vakuums entgast und mit Argon beflutet. 1 ml Hydrazin-Hydrat wurde zugegeben und die 90 min. lang refluxiert. Durch mehrfaches Einrotieren mit Ethanol wurde überschüssiges Hydrazin entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Methanol/Chloroform 1:6) gereinigt.

Ausbeute: 0,27 g (67 %)

Smp: 84 °C

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 2,32 (s, 3H, -CH₃), 4,77 (br s, 2H, Pyrazol-NH₂), 5,76 (s, 1H, Pyrazol-CH), 7,07 (d, ³J_H = 7,5 Hz, 1H, Ar-H(4)), 7,25 (t, ³J_H = 7,6 Hz, 1H, Ar-H(5)), 7,45 (d, ³J_H = 7,8 Hz, 1H, Ar-H(6)), 7,48 (s, 1H, Ar-H(2))



¹³C-NMR: (126 MHz, DMSO-D₆, TMS) δ [ppm] 21,4, 87,7, 122,2, 125,7, 128,2, 128,8, 132,2, 138,0, 145,7, 153,5

MS (EI): [M⁺] bei m/z = 173, Intensität = 100%

IR (in KBr): ν [cm⁻¹] 3398 (NH₂), 3201 (br, Pyrazol-N-H), 1578 (C=C Aromat), 1509 (C=C Aromat)

C,H,N: ber.: C: 69,34 % H: 6,40 % N: 24,26 % C₁₀H₁₁N₃
gef.: C: 69,49 % H: 6,21 % N: 24,46 % M = 173,21 g/mol

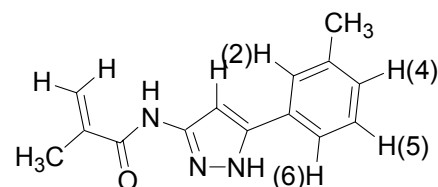
4.7.6 *N*-(5-*m*-Tolyl-1*H*-pyrazol-3-yl)-methacrylamid **108**

429 mg (2,5 mmol) 5-*m*-Tolyl-1*H*-pyrazol-3-ylamin **109** wurden in 20 ml Tetrahydrofuran, abs., gelöst, 412 μ l (301 mg, 3 mmol, 1,2 eq) Triethylamin zugegeben und dreimal durch

Anlegen eines Vakuums entgast und mit Argon beflutet. Nach kühlen auf $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Aceton/Trockeneisbad) wurde mit einem Perfusor innerhalb von 30 min. $239\text{ }\mu\text{l}$ (259 mg, 2,5 mmol, 1 eq) frisch destilliertes Methacryloylchlorid in 5 ml THF, dest., zugetropft. Die Lösung wurde über Nacht gerührt, wobei sie sich auf Raumtemperatur erwärmte und nach Abfiltrieren des ausgefallenen Triethylammoniumchlorids einrotiert und säulenchromatographisch (Aceton/Chloroform 1:2, $R_f = 0,26$) gereinigt.

Ausbeute: 0,44 g (73 %)

Smp: $196\text{ }^{\circ}\text{C}$



$^1\text{H-NMR}$: (500 MHz, DMSO- D_6 , TMS) δ [ppm] 1,96 (s, 3H, $-(\text{C}=\text{CH}_2)-\text{CH}_3$), 2,36 (s, 3H, Ar- CH_3), 5,49 (s, 1H, $=\text{CH}_2$), 5,89 (s, 1H, $=\text{CH}_2$), 6,94 (s, 1H, Pyrazol- CH), 7,16 (d, $^3J_{\text{H}} = 7,2\text{ Hz}$, 1H, Ar- $\text{H}(4)$), 7,33 (t, $^3J_{\text{H}} = 7,5\text{ Hz}$, 1H, Ar- $\text{H}(5)$), 7,53 (d, $^3J_{\text{H}} = 7,6\text{ Hz}$, 1H, Ar- $\text{H}(6)$), 7,57 (s, 1H, Ar- $\text{H}(2)$), 10,30 (br s, 1H, $-\text{CO}-\text{NH}-$), 12,84 (br s, 1H, Pyrazol- NH)

$^{13}\text{C-NMR}$: (126 MHz, DMSO- D_6 , TMS) δ [ppm] 19,1, 21,4, 94,8, 120,7, 122,4, 125,9, 129,0, 129,2, 129,7, 138,5, 139,9, 142,2, 148,5, 166,2

MS (EI): $[\text{M}^+]$ bei $m/z = 241$, Intensität = 63%, 212 (30), 69 (88), 41 (100)

IR (in KBr): ν [cm^{-1}] 3229 (br, Pyrazol-N-H), 1655 (C=O Amid)

C,H,N:

ber.:	C: 69,69%	H: 6,27 %	N: 17,41 %	$\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}$
gef.:	C: 69,80 %	H: 6,21 %	N: 17,13 %	$M = 241,29\text{ g/mol}$

4.8 NMR-Studien

Alle NMR-Studien wurden am Bruker DRX 500 (500 MHz) NMR-Spektrometer durchgeführt und die Proben jeweils mit 256 Pulsen, bei stark verdünnten Proben auch mit bis zu 1024 Pulsen, bei 298 K vermessen.

Für die Abmessung von Volumina wurden Eppendorf-Pipetten unterschiedlicher Größe verwandt.

4.8.1 Wirt-Gast-Studien: Job-Plots

Es wurden äquimolare Lösungen von Wirt und Gast (ca. 1 mM) im entsprechenden Lösungsmittel angesetzt. Die exakte Konzentration wurde dabei entweder nach Abwiegen der Substanz über die Menge des deutertierten Lösungsmittels oder durch den Gebrauch einer Stammlösung eingestellt. Im letzteren Fall wurde das benötigte Volumen der Stammlösung mit Hilfe einer Eppendorfpipette genau abgemessen, das Lösungsmittel im Vakuum komplett entfernt und der Rückstand im deutertierten Lösungsmittel aufgenommen. Die so erhaltenen Lösungen wurden auf 10 bzw. 11 NMR-Proben verteilt. Dies geschah so, daß das Volumen der einen Substanz von Probe zu Probe zu (z. B. 0 μl , 80 μl , 160 μl , ..., 800 μl) das der anderen entsprechend abnahm (z. B. 800 μl , 720 μl , ..., 0 μl) und sich ein konstantes Volumen (800 μl) und eine konstante Gesamtkonzentration (ca. 1 mM) ergab.

4.8.2 Wirt-Gast-Studien: NMR-Titrationsen

Es wurden zwei Stammlösungen für Gast und Wirt angesetzt, wobei die gewünschten Konzentrationen wie bei den Job-Plots beschrieben eingestellt wurden. Diese Lösungen wurden nun auf (10 bzw.) 11 NMR-Proben verteilt, wobei die des Wirtes gleichmässig auf alle Proben verteilt wurde (typischerweise 600 μl). Die Gastlösung wurde nun so auf die Proben verteilt, daß die Konzentrationen des Gastes in Bezug auf die Wirtes von Probe zu Probe anstieg, und zwar typischerweise in folgenden Verhältnissen: 0, 0,25, 0,50, 0,75, 1,00, 1,25, 1,50, 2,00, 3,00, 4,00, 5,00. Falls nötig wurde noch Lösungsmittel zugegeben bis ein Gesamtvolumen von 800 μl erreicht war.

Die Bestimmung der Stabilitätskonstanten aus den $\Delta\delta$ -Werten erfolgte durch nicht-lineare Regression der erhaltenen Titrationskurven mit dem PC-Programm Sigma-Plot 3.0.^[122]

4.8.3 Verdünnungsreihen

Zur Beobachtung von Änderungen der chemischen Verschiebung aufgrund von Selbstassoziationseffekten wurden Verdünnungsreihen durchgeführt. Eine Stammlösung der zu untersuchenden Substanz wurde hierzu auf 5 NMR-Proben verteilt, wobei das Volumen jeweils etwa um den Faktor 3 abnahm. Mit Lösungsmittel wurde nun auf ein Gesamtvolumen

von 800 μl verdünnt. Der Konzentrationsbereich der so untersucht wurde, war typischerweise 0,05 bis 5,00 mM. Die Zahl der Messpulse variierte von 1024 bis 128.

4.9 Geprägte Polymere

4.9.1 HPLC-Analytik

Sämtliche Konzentrationen von Dipeptidcarbonsäuren wurden mittels HPLC und UV-Detektion bestimmt.

Als stationäre Phase wurde die chirale Säule Säule Chiralcel OD-H (150x4mm) der Firma Diacel eingesetzt. Je nach untersuchter Dipeptidcarbonsäure ergaben sich unterschiedliche Trennungsbedingungen, die in Tabelle 4 aufgeführt sind. Die verwendeten Lösungsmittel wurden vor der Messung in einem Ultraschallbad 15 min. lang entgast. Das ethanolische Laufmittelgemisch musste täglich neu angesetzt werden, da es alterte.

	Tol-Gly- <i>DL</i> -Val-OH	Tol-Gly- <i>DL</i> -Phe-OH
Säule	Chiralcel OD-H (150x4mm)	Chiralcel OD-H (150x4mm)
Laufmittel	2-Propanol/Hexan/TFA 10:90:0,4	Ethanol/Cyclohexan/TFA 7:93:0,4
Flow	1,0 ml/min	1,0 ml/min
Detektionswellenlänge	240 nm	240 nm
Retentionszeit Standard	8,29 min	9,92 min
Retentionszeit <i>L</i> -Enantiomer	11,33 min	16,42 min
Retentionszeit <i>D</i> -Enantiomer	14,47 min	19,90 min

Tabelle 4: HPLC-Messbedingungen

Die so erhaltenen Chromatogramme zeigten basislinien-aufgelöste Peaks.

Zur quantitativen Bestimmung wurden die Peakflächen der Enantiomere im Verhältnis zu der eines internen Standards, *O,O'*-Bisbenzoyl-*L*-weinsäure, bestimmt. Dazu wurde eine ca. 4 mM Stammlösung der Standards im jeweiligen Laufmittel ohne TFA und erhöhtem Alkoholgehalt hergestellt. Eine Reihe wurde von 10 unterschiedlich konzentrierten Proben der jeweiligen Dipeptidcarbonsäure im gleichen Lösungsmittelgemisch wie das des Standards angesetzt. Jeweils gleiche Volumina (typischerweise 100 μl) der Probe- und der Standardlösung wurden gemischt, in eine 20 μl Probenschleife injiziert und auf die Säule

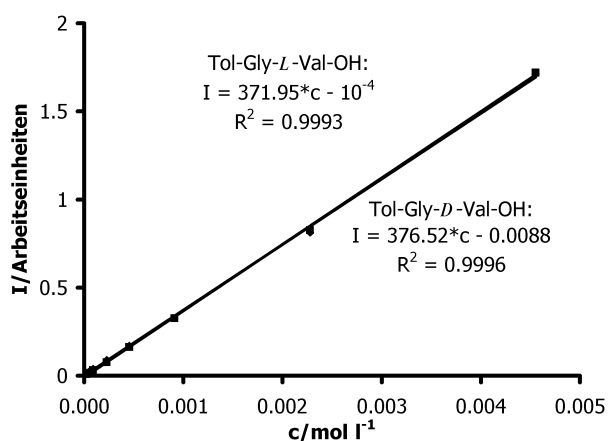


Abbildung 19: Kalibriergerade von
Tol-Gly-DL-Val-OH **107**

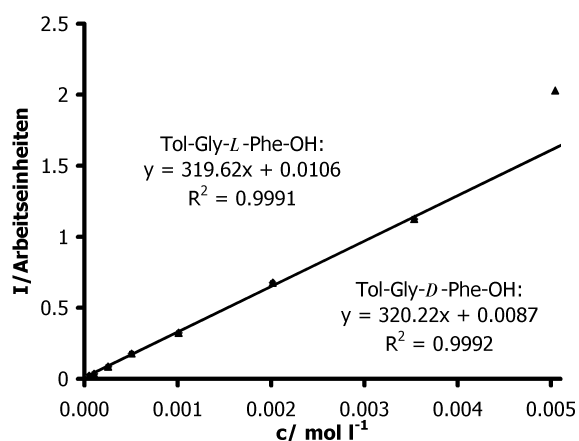


Abbildung 18: Kalibriergerade von
Tol-Gly-DL-Phe-OH **110**

gegeben. Die Kalibrierungsgeraden waren über einen weiten Bereich linear (Abbildung 19 und Abbildung 18).

Für die eigentliche Bestimmung wurden die Proben mit einem Volumenteil der StandardstammLösung versetzt, sämtliches Lösungsmittel im Hochvakuum entfernt, und der Rückstand in einem Lösungsmittelgemisch aus Alkohol und Alkan (entsprechend des Laufmittels) aufgenommen und vermessen.

4.9.2 Synthese der Polymere

Die Zusammensetzungen der synthetisierten geprägten Polymere sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Tabelle 5: Synthese der geprägten Polymere und deren Charakterisierung

	IP1	IP2	IP3
Templat	56,2 mg 107cL	62,1 mg 110cL	249,2 mg 110bL
Haftmonomer	63,4 mg 98*HCl	61,5 mg 98*HCl	500,4 mg 98*HBAr₄
Porogen	2,11 ml ACN + 422 µl DMSO	2,43 ml ACN + 243 µl DMSO	6,81 ml ACN + 6,81 ml Toluol
EDMA [ml]	2,53	2,70	6,00
AIBN [mg]	25	27	68
Abspaltrate [%]	83	80	90
Kavitätenzahl/Polymermasse	55,2 µmol/g	48,7 µmol/g	57,9 µmol/g
Spezifische Oberfläche [m ² /g]	348	377	297

Im Falle der Polymere **IP1** und **IP2** wurden die Template und Haftmonomere zunächst in ca. 1 ml Methanol, abs., gelöst und die klaren Lösungen vereinigt. Nach vollständigem Entfernen des Lösungsmittels im Hochvakuum wurde der Rückstand in wenig Acetonitril aufgenommen. Unlösliches Natriumchlorid wurde mit Membranfiltern entfernt, diese mit weiterem Porogen gespült. Die Templat-Haftmonomer-Lösung wurde mit restlichem Porogen und Ethylendimethacrylat in eine Ampulle gegeben und der Initiator AIBN zugefügt. Im Falle von **IP3** wurden Monomer und Templat separat im Porogen gelöst und erst mit zusammen mit dem restlichen Komponenten in das Reaktionsgefäß gefüllt. Die Templat-Haftmonomer-Lösung wurde mit restlichem Porogen und Ethylendimethacrylat in eine Ampulle gegeben und der Initiator AIBN zugefügt. Das Polymerisationsgemisch wurde dreimal nach der „Freeze and thaw“-Methode sorgfältig entgast, die Ampulle abgeschmolzen und die Polymerisation bei 65°C drei Tage im Trockenschrank durchgeführt.

Zur Aufarbeitung wurde die Ampulle zrsört und das Polymer zerstoßen, gemahlen und gesiebt. Für die weiteren Untersuchungen wurde nur die Fraktion von 45-125µm verwendet. Das Polymer wurde im Vakuumtrockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Zum Abspalten des Templates wurde das Polymer über Nacht in Acetonitril/Wasser 1:1 quollen gelassen. Anschließend wurde es mit möglichst wenig 0,1 N Natronlauge in Acetonitril/Wasser 1:1 (v/v) in einer Fritte gewaschen, bis das Filtrat nicht mehr UV-aktiv war (DC) und erneut mit Acetonitril/Wasser 1:1 bis zur pH-Neutralität des Filtrates gewaschen.

Zur Bestimmung der Abspaltrate wurden die templathaltigen wässrigen Acetonitrillösungen vereinigt, das Acetonitril weitestgehend abrotiert, die wässrige Lösung mit angesäuert (etwa pH = 2) und mit Essigsäureethylester extrahiert. Die organische Phase wurde in einem Meßkolben bis auf 100 ml aufgefüllt und drei Proben durch HPLC (s. u.) analysiert.

Die Zahl der Kavitäten pro g trockenes Polymer wurde auf Basis der Abspaltrate bestimmt.

Die Makroporosität der Polymere wurde durch die Vermessung der spezifischen inneren Oberfläche (BET-Isotherme) belegt.

4.9.3 Bindungsexperimente

Zur Ermittlung der Bindungseigenschaften der Polymere wurden in einem Eppendorfgefäß zwischen 50 und 100 mg des Polymers genau eingewogen und mit einer Stammlösung des betreffenden racemischen *N*-acylierten Dipeptides versetzt. Die gewünschte Stoffmenge wurde über Volumen der Stammlösung eingestellt. Die Probe wurde mit reinem Lösungsmittel so aufgefüllt, daß sich ein Gesamtvolumen an 10 ml Lösungsmittel/g Polymer ergab.

Die verschlossenen Gefäße wurden zur Äquilibration über Nacht geschüttelt.

Zur Bestimmung der Bindung wurden die Suspensionen membranfiltriert und das Filtrat wie in 4.9.1 beschrieben vermessen. Die in *Tabelle 6* bis *Tabelle 8* aufgeführten Werte sind die Mittelwerte aus zwei Messungen. Konzentrationen, die zu gering waren, um nachgewiesen zu werden, sind markiert (nicht nachweisbar; n. n.).

Tabelle 6: Wiederbelebung von **IP1**: Batchmedium: ACN/DMSO 95:5

Angeboten [%]	Frei [%]		Gebunden [%]	
	107aL	107aD	107aL	107aD
10	0,0 (n. n.)	0,0 (n. n.)	5,0	5,0
25	2,4	2,4	10,1	10,1
50	10,4	10,5	14,6	14,5
75	22,6	22,5	14,9	15,0
100	34,6	34,7	15,4	15,3
125	46,5	46,5	16,0	16,0
150	58,5	58,7	16,5	16,3
175	70,1	70,3	17,4	17,2
200	82,5	82,4	17,5	17,6

Tabelle 7: Wiederbelebung von **IP2**: Batchmedium: ACN/DMSO 95:5

Angeboten [%]	Frei [%]		Gebunden [%]	
	107aL	107aD	107aL	107aD
10,0	0,0 (n. n.)	0,0 (n. n.)	5,0	5,0
20,0	0,0 (n. n.)	0,0 (n. n.)	10,0	10,0
30,0	0,0 (n. n.)	0,0 (n. n.)	15,0	15,0
40,0	0,51	0,56	19,49	19,44
50,0	4,1	3,9	20,9	21,1
60,0	6,5	6,6	23,5	23,4
70,0	9,1	9,3	24,9	24,7
80,0	14,3	14,4	25,7	25,6
90,0	19,1	19,2	25,9	25,8
100,0	24,5	24,3	25,5	25,7

Tabelle 8: Wiederbelebung von **IP3**: Batchmedium: ACN/Toluol 1:1

Angeboten [%]	Frei [%]		Gebunden [%]	
	107aL	107aD	107aL	107aD
10,0	0,0 (n. n.)	0,0 (n. n.)	5,0	5,0
20,0	0,0 (n. n.)	0,0 (n. n.)	10,0	10,0
30,0	3,4	3,7	11,6	11,3
40,0	7,8	8,0	12,2	12,0
50,0	12,2	12,7	12,8	12,3
60,0	16,5	17,0	13,5	13,0
70,0	21,1	21,5	13,9	13,5
80,0	25,9	26,3	14,1	13,7
90,0	30,7	31,1	14,3	13,9
100,0	35,1	35,7	14,9	14,3

5 Abkürzungsverzeichnis

AIBN	Azobisisobutyronitril
A	Amino-
Ac	Acetylrest
ACN	Acetonitril
BAr' ₄	Tetrakis-(3,5-bis(trifluormethyl)phenyl)-borat
Boc	<i>tert.</i> -Butyloxycarbonylrest
br	breit
BuLi	Butyllithium
CI	Chemische Ionisation
d	Dublett
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
dest.	destilliert
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EDMA	Ethylendimethacrylat
EI	Elektronenstoß-Ionisation
eq.	Äquivalent
Et	Ethyl-Rest
HPik	Pikrinsäure (2,4,6-Trinitrophenol)
Im	Imidazolidin-2-yl
IR	Infrarot
K _{ass}	Assoziationskonstante
konz.	konzentriert
Me	Methyl-Rest
MS	Massenspektrum
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid
n. n.	nicht nachweisbar
NMR	Kernresonanzspektroskopie
Phth	Phthaloyl-Rest
PyCloP	Chlortripyrrolidinophosphonium-Hexafluorophosphat
q	Quartett
R. T.	Raumtemperatur
s	Singulett
Smp	Schmelzpunkt
t	Triplett
TBTU	2-(1- <i>H</i> -Benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-Hexafluorophosphat
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
V-70	(2-(1-Cyano-3-methoxy-1,3-dimethylbutylazo)-4-methoxy-2,4-dimethylpentannitril)

6 Literatur

- [1] *Templated Organic Synthesis* (Eds.: F. Diederich, P. J. Stang), Wiley-VCH, Weinheim, **2000**.
- [2] G. Wulff, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1958; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1995**, *34*, 1812.
- [3] *Molecular and Ionic Recognition with Imprinted Polymers, Vol. 703* (Eds.: R. A. Bartsch, M. Maeda), Washington, **1998**.
- [4] *Molecularly Imprinted Polymers - Man-Made Mimics of Antibodies and their Application in Analytical Chemistry* (Ed.: B. Sellergren), Elsevier, Amsterdam, **2001**.
- [5] K. Mosbach, O. Ramström, *Biotechnology* **1996**, *14*, 163.
- [6] M. T. Muldoon, L. H. Stanker, *Chem. Ind.* **1996**, 204.
- [7] K. Mosbach, *Trends Biochem. Sci.* **1994**, *19*, 9.
- [8] K. J. Shea, *Trends Polym. Sci.* **1994**, *2*, 166.
- [9] J. H. G. Steinke, I. R. Dunkin, D. C. Sherrington, *Adv. Polym. Sci.* **1995**, *123*, 81.
- [10] T. Takeuchi, J. Matsui, *Acta Polym.* **1996**, *47*, 471.
- [11] S. Mallik, S. D. Plunkett, P. K. Dhal, R. D. Johnson, D. Pack, D. Shnek, F. H. Arnold, *New J. Chem.* **1994**, *18*, 299.
- [12] D. J. O'Shannessy, L. I. Andersson, K. Mosbach, *J. Mol. Recognit.* **1989**, *2*, 1.
- [13] G. Wulff, S. Schauhoff, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 395.
- [14] K. J. Shea, D. Y. Sasaki, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 3442.
- [15] G. Wulff, A. Sarhan, K. Zabrocki, *Tetrahedron Lett.* **1973**, *44*, 4329.
- [16] G. Wulff, A. Biffis, in *Molecularly Imprinted Polymers - Man-Made Mimics of Antibodies and their Application in Analytical Chemistry* (Ed.: B. Sellergren), Elsevier, Amsterdam, **2001**, S. 71.
- [17] G. Wulff, B. Heide, G. Helfmeier, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 1089.
- [18] K. J. Shea, T. K. Dougherty, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 1091.
- [19] B. Sellergren, M. Lepistö, K. Mosbach, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5853.
- [20] B. Sellergren, in *Molecularly Imprinted Polymers - Man-Made Mimics of Antibodies and their Application in Analytical Chemistry* (Ed.: B. Sellergren), Elsevier, Amsterdam, **2001**, S. 113.
- [21] B. Sellergren, K. J. Shea, *J. Chromatogr.* **1993**, *635*, 31.
- [22] G. Wulff, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 1.
- [23] P. K. Dhal, in *Molecularly Imprinted Polymers - Man-Made Mimics of Antibodies and their Application in Analytical Chemistry* (Ed.: B. Sellergren), Elsevier, Amsterdam, **2001**, S. 185.
- [24] G. Chen, Z. Guan, C.-T. Chen, S. Fu, V. Sundaresah, F. H. Arnold, *Nature Biotechnology* **1997**, *15*, 354.
- [25] M. J. Whitcombe, E. N. Vulfson, in *Molecularly Imprinted Polymers - Man-Made Mimics of Antibodies and their Application in Analytical Chemistry* (Ed.: B. Sellergren), Elsevier, Amsterdam, **2001**, S. 203.
- [26] M. J. Whitcombe, M. E. Rodriguez, P. Villar, E. N. Vulfson, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 7105.
- [27] G. Wulff, K. Knorr, *Bioseparation* **2002**, *10*, 257.

- [28] G. Wulff, T. Groß, R. Schönfeld, T. Schrader, C. Kirsten, in *Molecular and Ionic Recognition with Imprinted Polymers, Vol. 703* (Eds.: R. A. Bartsch, M. Maeda), Washington, **1998**, S. 10.
- [29] A. G. Strikovskiy, D. Kasper, M. Grün, B. S. Green, J. Hradil, G. Wulff, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 6295.
- [30] E. Grunwald, W. C. Coburn, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 1322.
- [31] G. Albrecht, G. Zundel, *Z. Naturforsch.* **1984**, *39a*, 986.
- [32] G. Lancelot, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 7037.
- [33] H.-J. Schneider, R. K. Juneja, S. Simova, *Chem. Ber.* **1989**, *122*, 1211.
- [34] C. Kirsten, T. Schrader, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12061.
- [35] G. Wulff, R. Schönfeld, *Adv. Mater.* **1998**, *10*, 957.
- [36] X. Yan, Diplomarbeit, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf **1999**.
- [37] A. D. Hamilton, B. Linton, *Tetrahedron* **1999**, *55*, 6027.
- [38] C. Lübke, M. Lübke, M. J. Whitcombe, E. N. Vulfson, *Macromolecules* **2000**, *33*, 5098.
- [39] N. Sadlej-Sosnowska, *J. Chromatogr. A* **1996**, *728*, 89.
- [40] T. Schrader, C. Kirsten, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1996**, 2089.
- [41] C. Kirsten, Dissertationsarbeit, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf **1997**.
- [42] K. Tanabe, T. Takeuchi, J. Matsui, K. Ikebukuro, K. Yano, I. Karube, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 2303.
- [43] K. Yano, K. Tanabe, T. Takeuchi, J. Matsui, K. Ikebukuro, I. Karube, *Anal. Chim. Acta* **1998**, *363*, 111.
- [44] M. P. Hughes, B. D. Smith, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 4492.
- [45] G. Scatchard, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1949**, *51*, 660.
- [46] D. Voet, J. G. Voet, *Biochemie*, 1 ed., VCH, **1992**.
- [47] J. G. Nörby, P. Ottolenghi, J. Jensen, *Anal. Biochem.* **1980**, *102*, 318.
- [48] J. P. Kirby, N. A. van Dantzig, C. K. Chang, D. G. Nocera, *Tetrahedr. Lett.* **1995**, *36*, 3477.
- [49] J. A. Roberts, J. P. Kirby, D. G. Nocera, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 8051.
- [50] G. Wulff, R. Schönfeld, M. Grün, R. Baumstark, G. Wildburg, L. Häußling, (BASF AG), German patent Offenlegungsschrift DE-A 19720345 A 1, 1998; *Chem. Abstr.* **1998**, *128*, 49,155.
- [51] R. Schönfeld, Dissertationsarbeit, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf **1998**.
- [52] L. Peters, R. Fröhlich, A. S. F. Boyd, A. Kraft, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 3291.
- [53] G. Wulff, T. Groß, R. Schönfeld, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2049; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1997**, *36*, 1961.
- [54] R. A. Lerner, S. J. Benkovic, P. G. Schultz, *Science* **1991**, *252*, 659.
- [55] G. Wulff, M. Emgenbroich, *Chem. Eur. J.* **im Druck**.
- [56] D. K. Robinson, K. Mosbach, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 969.
- [57] B. Sellergren, K. J. Shea, *Tetrahedron Asymmetry* **1994**, *5*, 1403.
- [58] K. Ohkubo, Y. Urata, S. Hirota, Y. Honda, T. Sagawa, *J. Mol. Catal.* **1994**, *87*, L21.

- [59] M. E. Davis, *CATTECH* **1997**, 19.
- [60] M. Haj-Zaroubi, N. W. Mitzel, F. P. Schmidtchen, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 111; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2002**, *41*, 104.
- [61] D. Y. Sasaki, D. J. Rush, C. E. Daitch, T. M. Alam, R. A. Assink, C. S. Ashley, C. J. Brinker, K. J. Shea, in *Molecular and Ionic Recognition with Imprinted Polymers, Vol. 703* (Eds.: R. A. Bartsch, M. Maeda), ACS-Symposium Series, Washington, **1998**, S. 314.
- [62] K. J. Shea, D. Spivak, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 4627.
- [63] O. Ramström, I. A. Nicholls, K. Mosbach, *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, *5*, 649.
- [64] I. A. Nicholls, O. Ramström, K. Mosbach, *J. Chromatogr. A* **1995**, *691*, 349.
- [65] L. I. Andersson, R. Müller, K. Mosbach, *Macromol. Res. Comm.* **1996**, *17*, 65.
- [66] A. Rachkov, N. Minoura, *J. Chromatogr. A* **2000**, *889*, 111.
- [67] A. E. Rachhov, N. Minoura, *Biochimica et Biophysica Acta/Protein Structure and Molecular Enzymology* **2001**, *1544*, 255.
- [68] K. Yano, T. Nakagiri, T. Takeuchi, J. Matsui, K. Ikebukuro, I. Karube, *Anal. Chim. Acta* **1997**, *357*, 91.
- [69] I. Ichinose, T. Kikuchi, S. W. Lee, T. Kunitake, *Chemistry Letters* **2002**, *1*.
- [70] B. R. Hart, K. J. Shea, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2072.
- [71] B. R. Hart, K. J. Shea, *Macromolecules* **2002**, *35*, 6192.
- [72] K. Knorr, Diplomarbeit, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf **1998**.
- [73] W. S. Weiner, A. D. Hamilton, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 681.
- [74] C. Schmuck, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 709.
- [75] Es wurde das Programm Cerius² der Firma Molecular Simulations verwendet.
- [76] D. Papoutsakis, J. P. Kirby, J. E. Jackson, D. G. Nocera, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 1474.
- [77] M. S. G. Brian R. Linton, Erkang Fan, Scott A. van Arman, Andrew D. Hamilton, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 7313.
- [78] M. B. Franz P. Schmidtchen, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1609.
- [79] M. M. Islam, H. Hayashi, H. Mizuguchi, H. Kagamiyama, *Biochemistry* **2000**, *39*, 15418.
- [80] W. D. Morgan, B. Birdsall, P. M. Nieto, A. R. Gargaro, J. Feeney, *Biochemistry* **1999**, *38*, 2127.
- [81] G. Archontis, T. Simonson, D. Moras, M. Karplus, *J. Mol. Biol.* **1998**, *275*, 823.
- [82] S. R. Aspinall, E. J. Bianco, *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 602.
- [83] K. Kurz, M. W. Göbel, *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 1967.
- [84] M.-S. Muche, M. W. Göbel, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2263; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1996**, *35*, 2126.
- [85] A. E. Mera, J. R. Griffith, *J. Fluorine Chem.* **1990**, *49*, 313.
- [86] Mein Dank gilt der Arbeitsgruppe von Dr. Stefan Kubik für das Zurverfügungstellen von Kupplungsreagentien.
- [87] J. Catalan, L. Margarita, *J. Heterocycl. Chem.* **1985**, *22*, 997.
- [88] A. A. Silkov, *Russ. J. Phys. Chem. (Engl. Transl.)* **1999**, *73*, 1371.
- [89] T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective groups in organic synthesis*, 2 ed., Wiley, New York, **1999**.

- [90] R. Russell, R. W. Longmore, R. N. Warrener, *Austr. J. Chem.* **1991**, *44*, 1691.
- [91] R. Schröter, in *Methoden der organischen Chemie, Vol. 11/1*, 4 ed. (Ed.: E. Müller), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1957**, S. 550.
- [92] Bowman, Cavalla, *J. Chem. Soc.* **1954**.
- [93] B. T. Golding, D. R. Hall, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1975**, 1302.
- [94] G. Spielberger, in *Methoden der organischen Chemie, Vol. 11/1*, 4 ed. (Ed.: E. Müller), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1957**, S. 75.
- [95] Bose, *Org. Synth. Coll.* **1973**, *5*, 973.
- [96] M. Göbel, J. W. Bats, G. Dürner, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 217; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1992**, *31*, 207.
- [97] O. Molt, *persönliche Mitteilung*.
- [98] M.-J. Luche-Ronteix, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1970**, 2564.
- [99] P. T. Litak, J. M. Kauffman, *J. Heterocycl. Chem.* **1994**, *31*, 457.
- [100] P. S. Manchand, J. M. Townsend, P. S. Belica, H. S. Wong, *Synthesis* **1980**, *5*, 409.
- [101] F. A. Turner, J. E. Gearien, *J. Org. Chem.* **1959**, *24*, 1952.
- [102] H. Krawczyk, *Synthetic Communications* **1997**, *27*, 3151.
- [103] R. Karaman, A. Goldblum, E. Breuer, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1989**, 765.
- [104] W. H. Urry, N. Bilow, *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 1815.
- [105] C. Walling, G. M. El-Taliawi, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 5119.
- [106] H. Poerwono, K. Higashiyama, H. Takahashi, *Heterocycles* **1998**, *47*, 263.
- [107] M. Hoegberg, C. Sahlberg, P. Engelhardt, e. al., *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 4150.
- [108] A. Metzger, V. M. Lynch, E. V. Anslyn, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 911; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1997**, *36*, 862.
- [109] P. Job, *Ann. Chim.* **1928**, *9*, 113.
- [110] M. T. Blanda, J. H. Horner, M. Newcomb, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 4626.
- [111] K. A. Connors, *Binding constants*, Wiley, New York, **1987**.
- [112] C. S. Wilcox, in *Frontiers in Supramolecular Chemistry and Photochemistry* (Eds.: H.-J. Schneider, H. Dürr), VCH, Weinheim, **1991**.
- [113] H.-J. Schneider, R. Kramer, S. Simova, U. Schneider, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 6442.
- [114] S. Itsuno, T. Koizumi, C. Okumura, K. Ito, *Synthesis* **1995**, 150.
- [115] A. J. Hoefnagel, B. M. Wepster, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1989**, 977.
- [116] V. Stella, T. Higuchi, *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 1527.
- [117] H. Nishida, N. Takada, M. Yoshimura, T. Sonoda, H. Kobayashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1984**, *57*, 2600.
- [118] D. Kasper, *Dissertationsarbeit*, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf **1999**.
- [119] M. Emgenbroich, *Dissertationsarbeit*, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf **2003**.
- [120] McKay, *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, *71*, 766.
- [121] Wellcome Found., BE 667875, **1966**, *Chem. Abstr.* **1966**, *65*, 5398h
- [122] Es wurde das Programm Sigma-Plot 3.06 der Firma Jandel Corporation benutzt.